



도라지 수집종의 형태적 특성과 SSR마커에 의한 유연관계 분석

엄유리* · 이 이** · Jin Mei-Lan* · 이대영* · 이재원* · 김금숙* · 김창국*** · 홍창표**** · 김옥태*†

*농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부, **충북대학교 농업생명환경대학 특용식물학과,
농촌진흥청 국립농업과학원 농생명자원부 유전체과, *테라젠이텍스

Morphological Characteristics and Genetic Diversity Analysis of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC Determined Using SSR Markers

Yurry Um*, Yi Lee**, Mei-Lan Jin*, Dae Young Lee*, Jae Won Lee*, Geum Soog Kim*,
Chang Kug Kim***, Chang Pyo Hong**** and Ok Tae Kim*†

*Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

**Department of Industrial Plant Science and Technology, College of Agriculture, Life and Environment Sciences,
Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea.

***Genomics Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Jeonju 54874, Korea.

****TheragenEtex, Suwon 16229, Korea.

ABSTRACT

Background : Plant breeding requires the collection of genetically diverse genetic resources. Studies on the characteristics of *Platycodon grandiflorum* resources have not been carried out so far. The present study was carried out to discriminate *P. grandiflorum* based on morphological characteristics and genetic diversity using simple sequence repeat (SSR) markers.

Methods and Results : We collected 11 *P. grandiflorum* cultivars: Maries II, Hakone double white, Hakone double blue, Fuji white, Fuji pink, Fuji blue, Astra white, Astra pink, Astra blue, Astra semi-double blue and Jangbaek. Analyses of the morphological characteristics of the collection were conducted for aerial parts (flower, stem and leaf) and underground parts (root). Next, the genetic diversity of all *P. grandiflorum* resources was analyzed using SSR markers employing the DNA fragment analysis method. We determined that the 11 *P. grandiflorum* cultivars analyzed could be classified by plant length, leaf number and root characteristic. Based on the genetic diversity analysis, these cultivars were classified into four distinct groups.

Conclusions : These findings could be used for further research on cultivar development using molecular breeding techniques and for conservation of the genetic diversity of *P. grandiflorum*. Moreover, the markers could be used for genetic mapping of the plant and marker-assisted selection for crop breeding.

Key Words : *Platycodon grandiflorum*, Morphological Characteristics, Genetic Diversity, Simple Sequence Repeats

서 언

도라지 (*Platycodon grandiflorum* A. DC.)는 초롱꽃과 (Campanulaceae) 다년생 초본으로 생약명은 길경이라 한다. 도라지는 1속 1종의 약용작물이며 우리나라에서는 재래종, 선발육종에 의해 개발된 장백도라지, 배수체 육종에 의해 개발

된 으뜸도라지와 으뜸백도라지 등 총 3개 품종이 재배되고 있다. 도라지의 주요 약리성분은 triterpenoid계 saponin으로 platycodin A, C, D와 polygalacin D 등이 보고되었다. 특히 platycodin D에 대한 약리적인 효능은 진해거담작용, 중추신경 억제작용, 혈당강하 작용 및 콜레스테롤 대사개선작용, 항암활성효과, 항염증효과, 항비만 효과 등이 보고되어 있다 (Zhao

†Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5662 (E-mail) kimot@korea.kr

Received 2015 October 23 / 1st Revised 2015 November 12 / 2nd Revised 2015 November 20 / 3rd Revised 2015 December 17 / 4th Revised 2016 January 6 / Accepted 2016 January 6

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.

et al., 2006; Choi et al., 2001; Ahn et al., 2005; Wang et al., 2004; Lee et al., 2010). 이처럼 도라지는 식약 공용으로 이용되는 약용작물이며 관상용으로도 가치가 있는 품목으로 알려져 있다 (Mabberley, 1987). 2014년에 발표한 농림축산식품부 국내 특용작물 생산실적에 따르면 생산량 5,442톤, 생산액 1조 140억원으로 약용작물 중 생산량 5위에 해당하는 주요품목으로 약용작물에서는 큰 가치가 있는 품목이다 (MAFRA, 2014). 그럼에도 불구하고 우리나라 도라지 유전자원은 4개 품종에 의존하여 재배되고 있으며 품종육성을 위한 연구는 최근 수행된 배수체 육종 이외에는 보고된 바가 없다.

작물의 육종을 위해서는 다양한 유전자원 수집이 이루어져야 하는데 다양한 유전자원을 수집했다 하더라도 식물학적 형태적 특성으로는 잎의 모양, 꽃의 색깔 등으로 도라지의 지상부 생육부위의 구별에 의존하여 육종을 시도하고 있다. 하지만 이러한 형태적 특성만을 이용하여 품종을 구분하는 것은 환경에 영향을 많이 받으며 유전자원의 상위 작용이나 다면발현에 의한 영향을 받을 수 있기 때문에 혼동하기 쉽다 (Jo et al., 2013).

최근 개발된 분자생물학적 판별법은 형태적 및 이화학적 판별에서의 한계를 보완하고 종판별 결과의 신뢰도를 향상시켜 종 분류 및 계통분석에 관한 연구에 널리 활용되고 있다 (Williams et al., 1990; Moon et al., 2013; Kim et al., 2014). 특히 polymerase chain reaction (PCR) 기법을 이용한 random amplified polymorphic DNA (RAPD), single nucleotide polymorphism (SNP), simple sequence repeat (SSR) 등은 소량의 DNA를 이용하여 식물의 생장과 관계없이 모든 조직에서 안정적으로 탐색할 수 있으며 비교적 적은 비용으로 빠른 시간 안에 분석할 수 있다는 장점을 가진다 (Jo et al., 2013). 이들 중에서도 SSR을 이용하여 품종별 유전적 다양성을 분석하는 방법은 분자마커들 중 재현성이 가장 높고 분석이 비교적 쉬우며 간편하기 때문에 선호도가 높다. 선행연구자들은 SSR 마커를 활용하여 옥수수 (*Zea mays*), 자트로파 (*Jatropha curcas*), 사탕무 (*Beta vulgaris*), 양배추 (*Brassica oleracea*)에서 genetic diversity, phylogenetic relationship, population structure 등에 관한 결과를 보고하였다 (Vigouroux et al., 2005; Sirithunya and Ukoskit, 2010; Li et al., 2010; Saxena et al., 2011).

본 연구에서는 수집된 도라지 유전자원의 형태적 특성을 검토하고 SSR 마커를 이용해 그들의 유전적 다양성을 분석하여 차후 도라지 육종에 활용할 기초정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에 사용한 도라지는 국내에서 품종 등록된 장백과

미국 종자구입처인 Swallowtail Garden Seeds (Santa Rosa, CA, USA)에서 도라지로 분류된 품종 Maries II, Hakone double white, Hakone double blue, Fuji white, Fuji pink, Fuji blue, Astra white, Astra pink, Astra blue, Astra semi-double blue으로 10종을 구입하여 사용하였다.

2. 형태적 특성조사

포트 육묘는 30 × 60 cm 크기의 102구 육묘상자에 구당 2-3개씩 종자를 파종하여 하우스육묘장에서 55일간 육묘하였다. 이식은 인삼특작부 내 시험포장에서 조간거리 30 cm, 주간거리 10 cm로 2열씩 뚫린 구멍에 포트육묘한 도라지 1주씩 정식하였다. 시비는 질소-인산-加里 8-4-4 kg/10 a와 완숙퇴비 1,000 kg/10 a를 전량 기비로 사용하였으며 시험구는 난괴법 3반복으로 배치하여 육성하였다. 도라지 수집종의 농업 형질 관련 생육조사는 농림축산식품부 국립종자원의 특성조사요령 (특용작물-도라지; 초장, 주당 분지수, 경경, 엽수, 엽장, 엽폭, 근장, 근경, 주근 및 지근의 총수, 근중, 꽃 색, 꽃 엽수)에 따라 수행하였다 (KSVS, 2000). 지상부 생육특성 조사는 이식 일로부터 80일에 생육이 비교적 균일한 개체를 이용하여 조사하였으며 지하부 생육특성 조사는 이식일로부터 160일이 경과된 시점에서 시험포장으로부터 굴취하여 조사 개체수는 조사 구당 10개체씩 조사하였다. 지상부 생육특성 항목 중 초장은 지면으로부터 줄기 초단부까지의 길이를 측정하였으며 주당 분지수는 주경에서 발생한 줄기의 수를 조사하였다. 경경은 개체당 가장 굵은 주경의 마디 바로 아래를 버니어캘리퍼스 (CD-20CP, Kawasaki, Japan)로 측정하였다. 엽수는 가장 굵은 주경에 황화현상이 일어나지 않은 잎을 조사하였다. 엽장과 엽폭은 각 개체당 가장 큰 잎의 길이와 폭을 측정하였다. 지하부 생육특성은 뿌리가 절단되지 않도록 굴취하여 물에 씻어 흙을 제거한 후 물기를 완전히 제거한 상태에서 조사하였다. 지근수는 주근을 포함한 지근의 총수를 조사하였고 근장은 주근과 지근을 합해 가장 긴 뿌리의 길이를 측정하였다. 근경은 주근과 지근의 가장 굵은 부분은 각각 버니어캘리퍼스로 측정하였다. 근중은 지상부가 제거된 상태에서 주근과 지근을 모두 저울을 이용해 측정하였다.

분석된 데이터 값은 평균 ± 표준오차 (means ± SE) 값으로 나타내었으며 실험값의 통계처리 및 유의성 검정은 SAS (Statistical Analysis System) 프로그램을 사용하여 분산분석 (ANOVA)과 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 유의성을 검증하였으며 각 처리구간의 최소유의차는 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였다.

3. DNA 추출 및 PCR 분석

총 11종의 도라지 종자는 2% NaOCl 5분, 70% EtOH 3분간 표면 살균 후 멸균수에서 3회 세척하여 1/2 MS

(Murashige and Skoog, 1962; Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands)배지에 치상하였고 1일 16시간 조명, $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 3,000럭스의 광량으로 조절되는 배양실에서 7일간 배양하며 무균발아를 유도하였다. 발아가 유도된 유식물체는 동일한 조건에서 7일간 배양하여 사용하였다. 배양실에서 무균발아 된 11종의 도라지 유식물 0.1 g을 액체질소로 급랭시켜 막자사발을 이용하여 분말상태가 되도록 마쇄한 후, DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)을 이용하여 제조사가 제시한 실험방법에 따라 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) 기기를 이용하여 농도를 측정하였다. 각각의 DNA 최종농도는 멸균된 증류수를 이용하여 $5 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 로 조정하였다.

PCR 반응액의 총 부피는 $50 \mu\text{l}$ 로서, 10 ng genomic DNA, $1 \times \text{Ex buffer}$, $1 \mu\text{M primer}$, 0.2 mM dNTPs , 그리고 $0.5 \text{ unit Ex Taq DNA polymerase}$ (Takara Bio, Otsu, Japan)로 반응하였다. PCR 반응은 C1000 Touch™ Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하였다. PCR 조건은 95°C 에서 5분간 pre-denaturation한 후, 95°C 서 45초, $55 - 60^\circ\text{C}$ 에서 45초, 72°C 에서 45초로 35 cycles로 수행하였고, final extention 과정은 72°C 에서 10분간 반응시켰다. 증폭된 DNA 산물은 1.5% agarose gel에서 100 V로 전기영동한 후,

Safe Gel Stain (Inclone, Seoul, Korea)로 염색하여 gel documentation system (Gel Doc™ XR+ System, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)에서 PCR증폭 산물을 확인하였다.

4. 유전적 다양성 분석

도라지 유전자원에 대한 SSR 마커 다양성 분석은 DNA fragment 분석기법을 활용하였다. 본 실험에 이용된 22쌍의 도라지 SSR 프라이머는 선행연구자 (Lee *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2012)에 의해 개발된 것을 활용하였으며 (Table 1), DNA fragment 분석을 위해 각각의 SSR 정방향 프라이머에 형광물질인 FAM을 라벨하였다. FAM 라벨된 프라이머를 이용하여 PCR 증폭된 산물은 마크로젠 (Macrogen, Seoul, Korea)에 제공하였고 DNA fragment 분석을 수행하였다. DNA fragment 분석은 ABI3730xl DNA analyzer를 이용하였고 표지자는 GeneScan-500LIZ size standard (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하였다. 분석결과는 GeneMaker software (SoftGenetics, State College, PA, USA)를 이용하여 정리하였다. 수집된 11종의 도라지 유전자원 간 유연관계 분석은 NTSYS-pc 2.10 프로그램 (Exeter Software, Setauket, NY, USA)을 이용하여 수행하였다. 프로그램 내 옵션을 SIMQUAL 로 설정하여 수행하였고 UPGMA 알고리즘을 통

Table 1. SSR markers used in *Platycodon grandiflorum* researchs from literature and this study.

Primer ¹⁾ name	Forward primer (5' → 3')	Primer name	Forward primer (5' → 3')
GB-PG002F	AAGCGGAAACCAAACCTCC	GB-PG002R	GACCGCTCTCCATATCCC
GB-PG004F	TTTTCCAGAATCCTTCCTCA	GB-PG004R	GGCAAGTCTTGATAGGAAAG
GB-PG027F	TCGATTCACCCGAAAATG	GB-PG027R	AACCACCAACCTACCCGT
GB-PG029F	CATCCAGTTGGTTTATCCACA	GB-PG029R	CTGCCCGTGAGAGAAGTG
GB-PG032F	TTGTCTCAACCCATCGC	GB-PG032R	TGCTTCCTTCGACACACC
GB-PG038F	TAATAACCCACCCCTGC	GB-PG038R	CGACGATCCGATTGGTTA
GB-PG040F	GCAATCTCTTGAGCGAACTT	GB-PG040R	TGGTTCAGCTTTGTCAGC
GB-PG050F	ACCGTTTGTGTGTGTCGC	GB-PG050R	TGTGAACCGACCCATTC
GB-PG059F	CGACACAGCTACCAAATGC	GB-PG059R	CTGCTATGGTCAGTCGGC
GB-PG069F	TCCATTAAGGACCGCC	GB-PG069R	CCACCTCCTAAAGATGCCT
GB-PG076F	GATTTTCAACCGCCATCA	GB-PG076R	CGCTCAACAAAAAGGTCC
GB-PG086F	CGTCGCGTAGGACCTCTA	GB-PG086R	AGGGTCCCGCATCTTTTA
GB-PG096F	CATAGACAGCCACCGAGC	GB-PG096R	TTGCATCATCTTCTCCGTC
GB-PG099F	TTTATGCCTTGTGTTTGAAGC	GB-PG099R	AGGGAGATCGAGCCAAAA
GB-PG119F	TTGGTGGATGCCGTTAGT	GB-PG119R	GGATTCGGGTTTTCGAAGT
GB-PG127F	AGCTCCCTTCTGCCTTTG	GB-PG127R	TCGCTGACTCTCTCCCTTT
GB-PG128F	CCCACCACTTCCCTCTC	GB-PG128R	CGTTTGTGGAAGAACGG
GB-PG149F	GGCGATTTGAGAGGCATA	GB-PG149R	AGACCCGTTCCATAGAAAGTT
GB-PG171F	GTCGCTTGATGTGATGC	GB-PG171R	GGTTCAAAACGCAACTTCC
GB-PG177F	CCCAATGAGCAAATCAGC	GB-PG177R	GCCTATATCCCGTTGCC
GB-PG182F	AAAGACCGACCCAGAAGC	GB-PG182R	TATGCACGCAAAATTCCT
GB-PG197F	AGTCTGCCGTCCCATTTCT	GB-PG197R	TCCCTGCACAAACAAACA

¹⁾Origin of the primers used in *Platycodon grandiflorum* researchs from literature (Song *et al.*, 2012).

해 도출된 데이터를 바탕으로 SHAN 클러스터링을 거쳐 유전적 유연관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 도라지 형태적 특성 분석

수집된 도라지 유전자원의 지상지하부 형태적 특성을 비교한 결과는 Table 2, Fig. 1, 2에 나타내었다. 도라지의 지상부 형태적 특성을 조사한 결과로 초장에서 장백은 26.74 ± 1.52 cm로 가장 큰 수치를 나타내었고, 분지수는 Fuji blue가 5.33 ± 0.73 개로 가장 많은 분지수를 나타내었다. 경경은 Astra pink가 2.25 ± 0.06 mm로 가장 굵었으며 엽수는 Fuji white가 14.83 ± 0.73 개로 가장 많은 엽수를 가지고 있었다. 엽장에서도 Fuji white가 7.79 ± 0.34 cm, 엽폭은 Maries II가

4.57 ± 0.22 cm로 가장 큰 수치를 나타내었다. 지상부 생육특성을 조사한 결과 분지수, 경경, 엽장, 엽폭에는 수집된 도라지 유전자원간의 유의한 차이를 보이지 않았지만 초장과 엽수에서는 유전자원간 큰 차이를 보이는 것으로 조사되어 도라지의 형태적 특성조사 시 이들을 분류하는 기준이 될 수 있을 것으로 생각된다.

지하부 형태적 특성을 조사한 결과 근장은 장백 30.50 ± 0.78 cm, 근경 또한 장백이 12.31 ± 0.89 mm로 가장 큰 수치를 나타내었다 (Table 2, Fig. 1). 주근을 포함한 지근의 총합계는 Fuji pink가 13.90 ± 1.11 개로 가장 많은 지근수를 나타내었으나 Fuji white 13.60 ± 2.11 , 장백 13.10 ± 1.32 와 근사치를 보였다. 근생중량의 경우 근장과 근경에서 최고치를 나타낸 장백이 142.70 ± 20.55 g으로 가장 큰 수치를 보였다. 지하부 형태적 특성에서는 근장, 근경, 지근수, 근중량 모든 항

Table 2. Morphological characteristics of *Platycodon grandiflorum* cultivars.

Resources name	Plant length (cm)	No. of branches	Stem diameter (mm)	No. of leaf	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Root length (cm)	Root diameter (mm)	Branches number of root	Fresh weight of roots (g)
Maries II	25.10 ± 1.15^b	3.00 ± 0.43^{cd}	1.62 ± 0.09^e	14.17 ± 0.64^{bcd}	7.78 ± 0.41^{ab}	4.57 ± 0.22^a	23.50 ± 1.94^{bc}	10.05 ± 0.90^b	8.40 ± 0.90^b	63.70 ± 12.21^c
Hakone D white	10.02 ± 0.72^e	2.50 ± 0.46^d	1.52 ± 0.07^{de}	10.25 ± 0.47^e	6.05 ± 0.18^{cd}	3.50 ± 0.13^c	19.00 ± 1.53^c	5.64 ± 0.75^{df}	5.33 ± 0.88^c	20.67 ± 9.75^{de}
Hakone D blue	18.10 ± 1.00^c	4.82 ± 0.47^{ab}	1.44 ± 0.07^e	12.64 ± 0.40^d	7.34 ± 0.15^{ab}	4.20 ± 0.11^{ab}	23.90 ± 1.01^{bc}	7.01 ± 0.37^{de}	12.70 ± 1.59^a	46.60 ± 6.26^{cd}
Fuji white	25.46 ± 1.13^b	3.83 ± 0.35^{bcd}	2.03 ± 0.10^{bcd}	14.83 ± 0.73^{bc}	7.79 ± 0.34^{ab}	3.98 ± 0.17^c	24.60 ± 1.08^{bc}	8.12 ± 0.53^{cd}	13.60 ± 2.11^a	61.10 ± 12.74^c
Fuji pink	15.99 ± 1.20^{cd}	3.64 ± 0.44^{bcd}	1.51 ± 0.08^e	13.45 ± 0.64^{cd}	6.82 ± 0.34^{bcd}	3.93 ± 0.19^{bc}	26.40 ± 0.72^{ab}	9.01 ± 0.59^{bc}	13.91 ± 1.11^a	74.51 ± 10.02^c
Fuji blue	23.86 ± 0.90^b	5.33 ± 0.73^a	1.63 ± 0.11^e	16.75 ± 0.60^a	7.22 ± 0.25^{ab}	4.18 ± 0.17^{ab}	30.30 ± 3.09^a	12.54 ± 1.13^a	12.70 ± 1.10^a	109.90 ± 22.01^b
Astra white	11.14 ± 0.37^{ef}	4.33 ± 0.42^{abc}	2.21 ± 0.08^{ab}	9.42 ± 0.31^e	6.76 ± 0.18^{bc}	3.96 ± 0.10^{abc}	21.80 ± 0.92^c	3.63 ± 0.36^f	5.72 ± 0.40^{bc}	7.52 ± 1.23^e
Astra pink	16.23 ± 0.94^c	2.33 ± 0.34^d	2.25 ± 0.06^a	7.67 ± 0.49^f	6.20 ± 0.22^{cd}	3.94 ± 0.14^{bc}	21.20 ± 0.98^c	4.63 ± 0.41^f	5.91 ± 0.61^{bc}	8.40 ± 1.44^e
Astra blue	13.29 ± 0.34^{de}	3.50 ± 0.34^{bcd}	1.99 ± 0.05^{bc}	6.92 ± 0.29^f	6.15 ± 0.18^d	3.63 ± 0.10^f	22.20 ± 1.49^{bc}	5.14 ± 0.65^{ef}	6.22 ± 0.73^{bc}	1.81 ± 2.20^e
Astra SD blue	8.67 ± 0.24^f	3.64 ± 0.67^{bcd}	1.89 ± 0.13^{cd}	9.25 ± 0.41^e	6.35 ± 0.14^{cd}	4.23 ± 0.15^{ab}	20.30 ± 1.49^c	3.46 ± 0.45^f	6.30 ± 0.70^{bc}	5.40 ± 0.67^e
Jangbaek	26.74 ± 1.52^a	4.68 ± 0.54^{cd}	1.74 ± 0.11^{bc}	13.87 ± 0.71^{ab}	7.58 ± 0.22^{ab}	4.44 ± 0.12^a	30.50 ± 0.78^a	12.31 ± 0.89^a	13.10 ± 1.32^a	142.70 ± 20.55^a

*Means within a column followed by the same letter (a - f) are not significantly different based on the DMRT test ($p < 0.05$). All values are means \pm SE. Values are mean of triplicates.

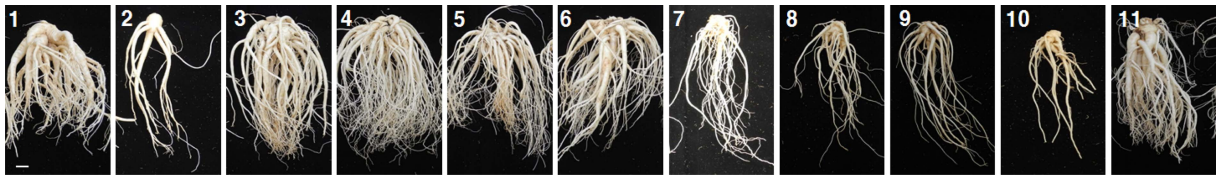


Fig. 1. Morphological characteristics of root in *Platycodon grandiflorum* cultivars. 1; Maries II, 2; Hakone double white, 3; Hakone double blue, 4; Fuji white, 5; Fuji pink, 6; Fuji blue, 7; Astra white, 8; Astra pink, 9; Astra blue, 10; Astra semi-double blue, 11; Jangbaek. Scale bars indicate as a 2 cm.



Fig. 2. Floral leaf characteristics of *Platycodon grandiflorum* cultivars. 1; Maries II, 2; Hakone double white, 3; Hakone double blue, 4; Fuji white, 5; Fuji pink, 6; Fuji blue, 7; Astra white, 8; Astra pink, 9; Astra blue, 10; Astra semi-double blue, 11; Jangbaek.

목에서 수집된 도라지 유전자원 각각 유의적 차이를 보이는 것으로 조사되었다. 특히 장백은 근장, 근경, 근중량에서 가장 큰 수치를 보였다.

화기의 형태적 특성을 조사한 결과 Maries II, Hakone double blue, Fuji blue, Astra blue, Astra semi-double blue 는 보라색을 띄었으며 Hakone double white, Fuji white, Astra white, 장백은 백색을 보였다. Fuji pink 와 Astra pink 는 옅은 분홍색을 확인할 수 있었다. Hakone double white, Hakone double blue 그리고 Astra semi-double blue 는 꽃잎이 비켜 돌아간 형태의 겹꽃잎을 나타내었다 (Fig. 2). 화기형태를 조사한 결과 수집된 도라지 유전자원은 색상으로 분류하였을 때 보라색, 분홍색, 흰색으로 분류할 수 있었으며 화기형태로 분류하였을 때는 홑꽃잎과 겹꽃잎으로 분류할 수 있었다. 국내 도라지 재래종은 주로 보라색을 띄고 있으며 본 연구에서 실험재료로 사용한 장백은 재래종 중 흰색꽃을 가지는 변종을 선발하여 집단순계로 유지된 품종이다 (Han *et al.*, 2014). 따라서 본 연구를 위해 수집된 도라지 품종 중 분홍색꽃을 가지는 Fuji pink와 Astra pink를 이용하여 차후 선발육종을 시도할 수 있을 것이라고 생각된다.

2. SSR 마커를 이용한 유전적 다양성 분석

Lee 등 (2012)과 Song 등 (2012)은 7개 제한효소를 이용하여 도라지의 genomic DNA에서 22개의 SSR을 개발하였다. 이들 22개 SSR 프라이머를 활용하여 본 연구에서 수집된 11종의 도라지 유전자원에 대해 PCR 분석하였다. 그 결과 GB-PG004, GB-PG029, GB-PG032, GB-PG038, GB-PG076, GB-PG119, GB-PG177 그리고 GB-PG182가 11종의 도라지

유전자원 genomic DNA에서 다양성을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 증폭된 PCR 밴드 (allele)의 정밀한 분석을 위하여 DNA fragment 분석을 수행하였다. DNA fragment 분석결과를 바탕으로 allele의 수를 조사하였더니 GB-PG004 3개, GB-PG029 4개, GB-PG032 3개, GB-PG038 3개, GB-PG076 2개, GB-PG119 3개, GB-PG177 2개 그리고 GB-PG182 2개의 allele로 총 22개의 allele를 확인할 수 있었고 SSR 마커 평균적으로 2.75개의 allele를 가지는 것을 알 수 있었다. 또한 DNA fragment 분석으로 얻어진 총 22개 allele의 정보를 이용하여 도라지 유전자원 간 유연관계를 분석하였는데 Fig. 3에서 보는바와 같이 유연관계 계수가 0.65인 위치에서 A, B, C, D인 4개 그룹으로 분류되는 것을 확인할 수 있었다. A그룹은 Maries II, Fuji white, Fuji pink, Fuji blue, 장백, Hakone double white, Hakone double blue 로 분류되었고 B그룹은 Astra pink, Astra blue, C와 D는 각각 Astra white와 Astra semi-double blue 로 분류되었다.

분자마커를 이용한 도라지 판별에 대한 선행연구는 SCAR를 이용한 청도라지와 백도라지의 판별 (Park *et al.*, 2007), SSR을 이용한 지역수집종 도라지의 판별 (Song *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012) 등이 보고되었지만 약 700 Mb 크기의 도라지 유전체를 커버하기에 분자마커에 대한 연구는 매우 미흡하다. 또한 형태적 특성과 연관된 마커에 대한 연구는 아직 보고되지 않았으며 차후 도라지의 육종을 위해서도 분자적인 연구는 지속되어야 한다.

본 연구에서 조사한 11종의 도라지 유전자원의 지상부 및 지하부 형태적 특성과 검증된 SSR은 도라지 품종 육성 시 조

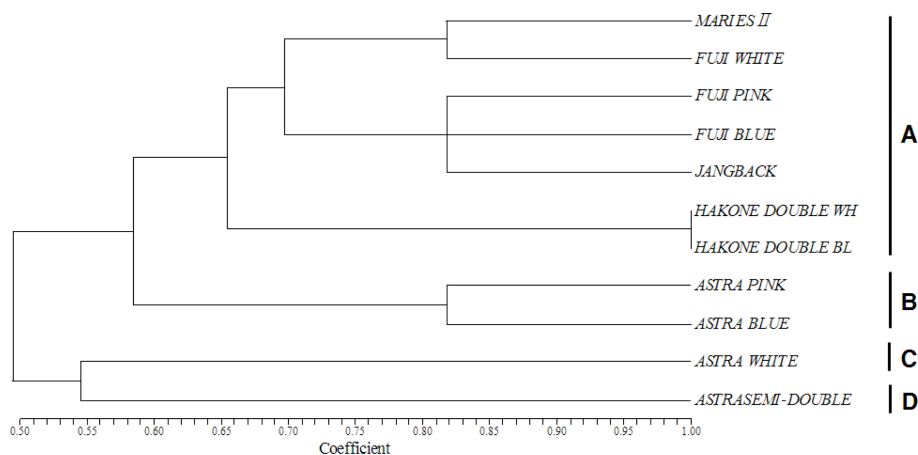


Fig. 3. Dendrogram illustrating genetic relationship among 11 *Platycodon grandiflorum* cultivars generated by UPGMA cluster calculated from 8 polymorphic SSR markers amplified. Scale at the bottom is genetic relatedness derived from coefficient of similarity. Cultivars in Maries II, Hakone double white, Hakone double blue, Fuji white, Fuji pink, Fuji blue, Astra white, Astra pink, Astra blue, Astra semi-double blue, Jangbaek.

기선발 마커 및 교배육종 시 집중세대 검정에 활용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 본 연구의 자료는 향후 순계선발 및 계통육성을 통한 도라지 품종 등록 시 표지자로 활용하여 국내 도라지 육성 품종에 대한 지적재산권 확보에 크게 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01035102)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ahn KS, Noh EJ, Zhao HL, Jung SH, Kang SS and Kim YS. (2005). Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase II by *Platycodon grandiflorum* saponins via suppression of nuclear factor-kB activation in RAW 264.7 cells. *Life Sciences*. 76:2315-2328.
- Choi CY, Kim JY, Kim YS, Chung YC, Seo JK and Jeong HG. (2001). Aqueous extract isolated from *Platycodon grandiflorum* elicits the release of nitric oxide and tumor necrosis factor- α from murine macrophages. *International Immunopharmacology*. 1:1141-1151.
- Han EH, Son YW, Kim MB, Shin YW, Cho YS and Lee SW. (2014). Establishment of tissue culture and acclimation of white balloon flower(*Platycodon grandiflorum* DC. cv. Jangbaek) for the raising of *in vitro* propagated seedlings. *Journal of Plant Biotechnology*. 41:134-139.
- Jo IH, Bang KH, Kim YC, Kim JU, Shin MR, Moon JY, Noh BS, Hyun DY, Kim DH, Cha SW and Kim HS. (2013). Analysis of mitochondrial DNA sequence and molecular marker development for identification of *Panax* species. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 21:91-96.
- Kim JH, Seo JW, Byeon JH, Ahn YS, Cha SW and Cho JH. (2014). Morphological characteristics and phylogenetic analysis of *Polygonatum* species based on chloroplast DNA sequences. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 22:489-496.
- Korea Seed and Variety Service(KSVS). (2000). Variety characteristics of test guideline. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Gimcheon, Korea. p.1-15.
- Lee GA, Song JY, Sung JS, Choi YM, Lee JR, Lee SY, Kim CY, Kim YG and Lee MC. (2012). Analysis of population structure and genetic diversity in balloon flower *Platycodon grandiflorum*(Jacq.) A. DC. germplasm using simple sequence repeat(SSR) markers. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 15:281-287.
- Lee HY, Kang RH, Kim YS, Chung SI and Yoon YS. (2010). Platycodin D inhibits adipogenesis of 3T3 L1 cells by modulating kruppel like factor 2 and peroxisome proliferator activated receptor gamma. *Phytotherapy Research*. 24:S161-S167.
- Li J, Schulz B and Stich B. (2010). Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers. *Euphytica*. 175:35-42.
- Mabberley DJ. (1987). *The plant-book: A portable dictionary of the higher plants*. Cambridge University Press. Cambridge, England. p.461.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs(MAFRA). (2014). Production performance of industrial crops. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Sejong, Korea. p.28.
- Moon BC, Kim WJ, Ji Y, Lee YM and Kim HK. (2013). Genetic diversity of *Curcuma* genus collected germplasm using analysis of AFLP. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 21:455-460.
- Murashige T and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia*

- Plantarum. 15:473-497.
- Park CG, Bang KH, Kim OT, Jin DC, Kim DH, Sung JS, Seong NS, Park HW and Lee SC.** (2007). Development of SCAR marker for discriminating between violet flowered lines and white flowered lines in Chinese bellflower(*Platycodon grandiflorum* A.). Korean Journal of Medicinal Crop Science. 15:1-5.
- Saxena B, Kaur R and Bhardwaj SV.** (2011). Assessment of genetic diversity in cabbage cultivars using RAPD and SSR markers. Journal of Crop Science and Biotechnology. 14:191-196.
- Sirithunya P and Ukoskit K.** (2010). Population genetic structure and genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm as investigated by 5'-anchored simple sequence repeat primers. Journal of Crop Science and Biotechnology. 13:147-153.
- Song JY, Lee GA, Yoon MS, Ma KH, Choi YM, Lee JR, Park HJ and Lee MC.** (2012). Development and characterization of 22 polymorphic microsatellite markers for the balloon flower *Platycodon grandiflorum*(Campanulaceae). Genetics and Molecular Research. 11:3263-3266.
- Vigouroux Y, Mitchell S, Matsuoka Y, Hamblin M, Kresovich S, Smith JSC, Jaqueth J, Smith OS and Doebley J.** (2005). An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellites. Genetics. 169:1617-1630.
- Wang C, Levis GBS, Lee EB, Levis WR, Lee DW, Kim BS, Park SY and Park E.** (2004). Platycodin D and D3 isolated from the root of *Platycodon grandiflorum* modulate the production of nitric oxide and secretion of TNF- α in activated RAW 264.7 cells. International immunopharmacology. 4:1039-1049.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Raafalski JA and Tingey SV.** (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. 18:6531-6535.
- Zhao HL, Cho KH, Ha YW, Jeong TS, Lee WS and Kim YS.** (2006). Cholesterol-lowering effect of platycodin D in hypercholesterolemia ICR mice. European Journal of Pharmacology. 537:166-173.