

# RAPD법을 이용한 국내 자생 더덕집단의 유전적 변이 평가

박진희, 김영호, 심일용, 강권규  
안성산업대학교 원예학과

Evaluation of Genetic Diversity in Korean Wide Codonopsis Populations by RAPD analysis

Jin-Hee Park, Young-Ho Kim, Il-Yong Shim and Kwon-Kyoo Kang  
Horticulture, Ansung National University

**실험목적:** 국내의 지리산, 설악산 주왕산, 덕유산, 치악산, 계룡산에 자생하고 있는 더덕 집단에 대하여 RAPD분석을 통한 유전적인 관계를 해석하기 위하여 실시함.

## 재료 및 방법

**식물재료:** 유전자원개발의 일환으로 국내 야생더덕의 산지로 알려져 있는 지리산, 설악산, 주왕산, 덕유산, 치악산 및 계룡산등지로부터 직접 수집하여 1996년 4월 하우스 내에 파종하여 생육시킨 야생집단으로부터 41개 Sample을 임의 선별하여 분석재료로 사용하였다(Table 1).

**실험방법:** RAPD용 전 DNA조제는 더덕의 신선한 잎(1 Cm<sup>2</sup>)을 채취하여 액체질소 하에서 유리봉으로 잘 마쇄한 후, 100ul 추출 Buffer( 10mM Tris-Cl, 450mM EDTA pH8.0, 1mg/ml Proteinase K, 1% Sarcosyl)을 넣고 50°C에서 1시간 방치한후, Tube에 옮겨 11000rpm으로 10분간 원심, 상층을 100ug/ml RNase으로 처리후, 100°C에서 5분간 끓여, Template DNA으로 사용하였다.

RAPD 분석을 위해 사용한 Primer는 Operon사에서 시판하고 있는 10-mer의 Random Primer을 사용하였으며, PCR 반응은 열변성을 94°C에서 30초, Annealing 37°C-45°C, 신장반응을 72°C에서 총 41 Cycle를 행하였다 (Fig. 2).

생성물은 2% Agarose gel 또는 6% Polyacrylamide gel 에 영동후, Et-Br염색 또는 Silver염색을 통해 Band Pattern을 Nei and Li(1979)의 유전적 유의도를 구하여, UPGMA법에 의해 계통수 분석을 행하였다.

**실험결과 :** 총 72개 Random Primer을 사용하여 증폭한결과 증폭이 매우 좋은 19개의 Primer을 선별하였으며, 이들중 2% Agarose gel에 영동후 나타난 Band 수는 가장많은 것은 OPC-05으로 14개이었고, 대부분이 5-9개의 Main band를 보였다. 또한 Polyacrylamide gel에서의 Band수는 Agarose gel보다도 훨씬 많이 나타났다. 조사한 Sample에서 산지별 Group은 보이지않았으며, 계통수는 크게 9 Group으로 나누어져, 예상하였던 것보다 Genetic variation이 적게 나타났다.(Fig 1) 이들결과로부터 각 산지별로부터 채집한 더덕군을 DNA marker을 통해 계통화가 가능하며, 이들 Group간 또는 Group내에서 교배 불화합 연구를 위한 유전 Marker로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

Table 1. Collection site or Source of 41 Korean wild Codonopsis plants

Sample No.	Location collected	Collection site and source
1	Girisan(H.T) I	Jullanamdo Girisan hwaamsa Temple
2	Girisan(H.T) II	Jullanamdo Girisan hwaamsa Temple
3	Girisan(H.T) III	Jullanamdo Girisan hwaamsa Temple
4	Girisan(H.T) IV	Jullanamdo Girisan hwaamsa Temple
5	Girisan(Kure) I	Jullanamdo Kureku Kureyup 2 ri
6	Girisan(Kure) II	Jullanamdo Kureku Kureyup Gurim 2 ri
7	Girisan(Kure) III	Jullanamdo Kureku Kureyup Gurim 2 ri
8	Girisan(Kure) IV	Jullanamdo Kureku Kureyup Gurim 2 ri
9	Girisan(Bemsa) I	Jullanamdo Girisan Bemsakol
10	Girisan(Bemsa) II	Jullanamdo Girisan Bemsakol
11	Girisan(Bemsa) III	Jullanamdo Girisan Bemsakol
12	Sulaksan(Hanke) I	Kangwondo sulaksan hankeyoung
13	Sulaksan(Hanke) II	Kangwondo sulaksan hankeyoung
14	Sulaksan(Hanke) III	Kangwondo sulaksan hankeyoung
15	Sulaksan(Ansan) I	Kangwondo sulaksan ansanmen ansanri
16	Sulaksan(JumBo) I	Kangwondo sulaksan jumbosan
17	Sulaksan(JumBo) II	Kangwondo sulaksan jumbosan
18	Juwangsan I	Collected from Kwungbuk do-won
19	Juwangsan II	Collected from Kwungbuk do-won
20	Juwangsan III	Collected from Kwungbuk do-won
21	Juwangsan IV	Collected from Kwungbuk do-won
22	Juwangsan V	Collected from Kwungbuk do-won
23	Juwangsan VI	Collected from Kwungbuk do-won
24	Dukyusan(Jangki)I	Jullabukdo Jangkimen Jangkiri
25	Dukyusan(Jangki)II	Jullabukdo Jangkimen Jangkiri
26	Dukyusan(Muju) I	Jullabukdo Mujukun muju
27	Dukyusan(Muju) II	Jullabukdo Mujukun muju
28	Dukyusan(Muju) III	Jullabukdo Mujukun muju
29	Dukyusan(Muju) IV	Jullabukdo Mujukun muju
30	Dukyusan(Koje) I	Jullabukdo Kojekun Kojeri
31	Dukyusan(Koje) II	Jullabukdo Kojekun Kojeri
32	Chiaksan(Sangwon)	Kangwondo wonju sangwon Temple
33	Chiaksan(Namte) I	Kangwondo wonju Namdebong
34	Chiaksan(Namte) II	Kangwondo wonju Namdebong
35	Chiaksan(Namte) III	Kangwondo wonju Namdebong
36	Keyoungsan I	Chungnam yusung Keyoungsan
37	Keyoungsan II	Chungnam yusung Keyoungsan
38	Keyoungsan III	Chungnam yusung Keyoungsan
39	Keyoungsan IV	Changnam kongju Keyoungsan
40	Keyoungsan V	Chungnam kongju Keyoungsan
41	Keyoungsan VI	Chungnam kongju Keyoungsan

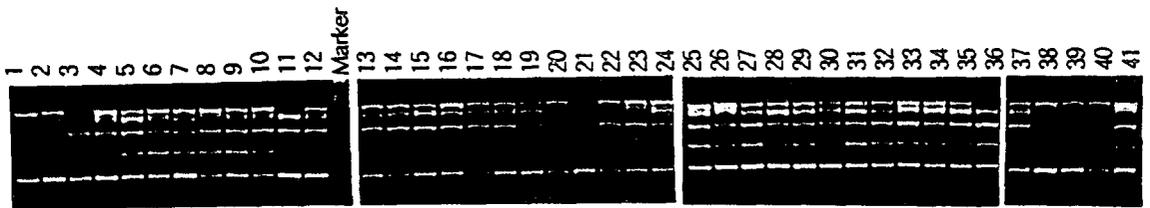


Fig. 1. RAPD banding pattern of 41 wild codonopsis plants with OPC-06 primer. Marker; Lambda Phage DNA/HindIII and EcoRI(double digested)

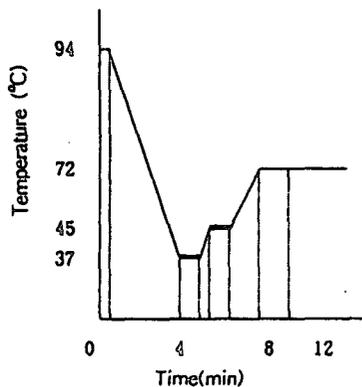


Fig. 2. Thermal conditions of a PCR cycle. DNA was amplified through 41 cycles