

## 쑥 수집종의 형태적 형질과 RAPD분석에 의한 분류

박상규\* · 정봉환\* · 김홍식\* · 조용구\*†

\*충북대학교 식물자원학과

### Classification of *Artemisia* spp. Collections Based on Morphological Characters and RAPD Analysis

Sang Kyu Park\*, Bong Hwan Chung\*, Hong Sig Kim\*, and Yong Gu Cho\*†

\*Department of Crop Science, Chungbuk National University, Chongju 361-763, Korea

**ABSTRACT :** This study was conducted to classify 80 *Artemisia* spp. collections based on morphological characters and RAPD analysis to get the basic information of *Artemisia* spp. collections as medicinal plants. The eighty *Artemisia* spp. collections were classified into 5 groups with the maximum distance 0.82 between clusters based on the complete linkage cluster analysis with morphological traits. Out of 80 operon primer, 10 primers showing polymorphic bands were selected for RAPD analysis. Among the 98 bands amplified with the primers, 68 (69%) bands showed polymorphism. The number of amplified bands ranged from 8 to 10 with an average number of 9.8 bands. *Artemisia* spp. collections classified into 6 groups with the similarity value of 0.63 in dendrogram derived from the cluster analysis based on RAPDs. Group consisted of 29 collections. Group , which is the largest one, contained 40 collections. Most of the *A. asiatica* and *A. feddei* LEV et VNT. were classified into Group and . The rest of the collections (31%) were classified into Group III-IV.

**Key words :** *Artemisia*, mugwort, morphological characters, RAPD, similarity value, phylogenetic

## 서 언

쑥은 국화과의 *Aretemisia*속에 속한 식물로 기후나 토양에 잘 적응하는 광역성 식물로 전 세계적으로 널리 분포하는데 지구 북반구에 약 200~300 여종이 있는 것으로 알려져 있으며, 방향성이 있다. 초장이 60~120 cm의 장초형으로 줄기에 능선이 있으며 전체적으로 거미줄 같은 털이 밀생하고 지하경이 옆으로 신장하면서 절로부터 신엽이 나와 군생한다. 줄기에 달린 잎은 어긋나고 깃처럼 갈라지며 갈래 조각은 2~4쌍으로 잎의 가장자리는 밋밋하거나 결각상(缺刻狀)이며 위로 올라가면서 잎이 작아진다. 꽃은 총상화 또는 원추화서로 설상화가 없는 풍매화이다. 열매는 수과(水瓜)라 하며 난형으로 털이 없거나 있다. 변종은 여러 가지로 관목류인 것, 다년생 초본형, 1년생 초본형인 것이 있으며, 초본류인 것은 분류학상으로 가장 진화한 형태이며, 관목류인 것은 대체로 약리 효과가 크며, 다년생 초본류는 식용인 경우가 많다. 쑥 속 식물의 형태적인 특성에 관한 연구에 의하면(노와 서, 1994), 쑥 수집종을 수집 지역에 따라서 북부, 중부, 남부로 나누었을때 경장, 경태 및 엽폭은 남쪽 지방으로 내려갈수록 작아지는 경향

이 있고, 엽장이 길면 엽폭도 넓었다. 수집된 종의 분지수는 15~55개로 수집종간 차이가 컸다. 그러나 쑥 속 식물은 동일 종에서도 생육단계 및 생육환경에 따라 매우 다르기 때문에 분류가 어려워 정확한 종의 동정법에 관한 연구가 필요하다. 식물의 종속간 및 품종간 특성이나 계통을 분류하는데 생육형질이나 형태적 특성에 의한 작물학적인 분류 방법 이외에 분자 생물학의 기술 발전에 힘입어 유전적 다형성을 이용한 분류 및 엽록체 DNA를 이용하여 유연관계를 분석하는 방법들이 있다. 분자 생물학적인 표지인자를 이용하는 방법으로 RFLP (Restriction fragment length polymorphism), RAPD (Random amplified polymorphic DNA), SSR (Simplified sequence repeats), AFLP (Amplified fragment polymorphism length) 등이 이용되고 있다. 분자 유전학적인 방법 중에서 RAPD는 무작위로 합성된 10-mer 정도의 짧은 oligonucleotide primer를 이용하여 종 혹은 속간의 유전적 변이를 탐색하는 기술로서 핵 DNA를 PCR로 증폭하여 생성된 다양한 밴드를 비교하는 방법으로 유전자 지도 작성(Mukai 등, 1995), 종 분류와 유연관계(Roman, 2001), 유용형질을 탐색할 수 있는 표지인자의 개발(권 등, 2000), 집단

†Corresponding author: (Phone) +82-43-261-2514 (E-mail) ygcho@chungbuk.ac.kr  
Received November 9, 2005 / Accepted December 30, 2005

유전학의 양적형질 분석 (서 등, 1999 : 임 등, 1995) 등에 많이 이용되고 있다. 이 방법은 RFLP 방법에 의해 나타나는 유전자의 밴드 패턴 변이에 상응할 수 있는 결과를 무작위적인 방법으로 손쉽게 얻을 수 있다. 일반적으로 쑥은 학명보다 편의상 지방명으로 불리고 있으며, 민간요법에서 이용하기 위하여 쑥을 채취하고자 할 때는 정확한 동정이 어려워 여러 가지 쑥 속 식물을 혼합 사용하게 된다. 또한 쑥 속 식물은 타가 수정을 하기 때문에 동일 속의 쑥이라 할지라도 생육단계 및 환경에 따라 매우 다르다. 따라서 쑥 속 식물의 분류를 위해서는 종내 변이에 관한 연구가 선행되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 전국에서 쑥을 수집하여 형태적인 형질, 분자 유전학적인 특성을 조사하여 쑥 수집종을 분류하고, 종간의 유연관계를 구명함으로써 쑥 연구의 기초적인 정보를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 형태적 형질

공시재료로 사용한 쑥의 수집은 2000년, 2001년에 걸쳐 전국의 산과 들에 자생하는 자생쑥 53종과 한국인삼연구소에서 분양 받은 27종을 합한 총 80종의 쑥 수집종을 재료로 사용하였다. 쑥의 재배법은 쑥 수집종을 충북대학교 농업생명환경대학 실험포장에 120 cm 이랑에 80 cm 간격으로 1주씩 이식하여 2001~2002년까지 2년에 걸쳐 재배하였으며, 재배시 잡초와의 경합(競合)을 막기 위해 부직포로 멀칭을 하였다. 쑥 수집종의 특성 조사는 농촌진흥청 조사 기준표에 준하여 조사하였는데, 형태 형질로는 경장, 분지수, 경대, 분지성상, 개화일, 경색, 엽색 및 10절위 분지장을 조사하였다. 분지 성상의 경우 1차분지의 성상을 상향인 1에서 하향인 7까지로 구분하여 조사하였다.

잎과 관련한 특성 조사는 김 (2000)의 방법을 일부 응용하여 종별로 석엽(葉) 표본을 제작하여 잎의 형태를 조사하였다. 쑥 수집종에 나타나는 상중위의 잎 모양은 선형이므로 잎과 관련한 특성 조사는 장상열(掌狀裂)인 하위엽을 조사하였으며, 2차 엽맥 상·하위각은 1차 엽맥 양옆의 2차 엽맥의 각도를 각도기로 측정하였다. 조사 항목으로는 엽장(L), 엽폭(W), 엽의 장/폭비(L/W), 열편의 길이(NL), 열편의 나비(NW), 엽의 2차 엽맥상위각(2UA), 2차 엽맥하위각(2LA)을 측정하였다.

### 2. 분류

쑥 수집종을 분류하기 위하여 조사한 모든 형질에 대하여 군집 분석을 수행하였다. 군집분석은 각 형질의 측정치를 이용하는데 분류를 위한 최소의 형질을 선정하기 위하여 형질의 수를 달리하여 군집분석을 수행하였다. 군집분석을 위한 통계분석은 SAS program (Version 8.1)의 평균 연결법을 사용하였다.

### 3. DNA 추출

DNA 추출은 Kang *et al.* (1998)의 방법을 변형하여 수집종 쑥에 대한 DNA 추출을 수행하였다. 쑥 어린잎 2g을 유발에 넣어 액체 질소로 마쇄하고 15 ml tube에 DNA추출용액 (200 mM Tris-HCl pH 8.0, 500 mM NaCl, 25 mM EDTA, Sodium bisulfate 0.38 g/100 ml) 3 ml를 첨가하여 유봉으로 완전히 용해시킨 후, 3,500 rpm에서 20분간 원심분리를 하여 상등액을 분리하였다. 이것을 새 튜브에 옮겨 phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) 동일량을 첨가하여 5분간 흔들어 잘 혼합한 다음 다시 3,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 다시 한번 동일량의 chloroform:isoamyl alcohol (24:1)을 처리하여 10분간 흔들어 주고, 12,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 추출한 후 2  $\mu$ l의 RNase (10 mg/ml)를 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 그 후 2/3~1 volume의 isopropanol을 첨가하여 DNA를 응축시킨 뒤 12,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 DNA를 침전시킨 후, 70% 에탄올로 세척하여, 12,000 rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 그 후 상등액을 버리고 1시간 가량 DNA를 풍건한 다음 100  $\mu$ l의 TE buffer에 DNA를 녹인 후 다시 한번 isopropanol을 첨가하여 DNA를 응축, 침전 및 세척 단계를 거친 후 PCR 분석에 사용하였다.

### 4. RAPD 분석

RAPD 분석은 Table 3과 같이 Operon사의 10-mer로 구성된 primer를 가지고 쑥 수집종 DNA를 증폭 실험하여 다형성 band를 보이는 primer를 선발하여 분석하였다. PCR반응 조건은 주형 DNA 3  $\mu$ l, dNTP 2  $\mu$ l, random primer 3  $\mu$ l, 10x PCR buffer (1 M Tris-HCl pH 8.3 1 ml, 1 M KCl 5 ml, 1 M MgCl<sub>2</sub> 150  $\mu$ l, dH<sub>2</sub>O 3.85 ml, Gelatin 10 mg) 3  $\mu$ l, Taq polymerase 0.5  $\mu$ l를 혼합하여 총 반응액을 30  $\mu$ l로 하였다. DNA 증폭은 MJ Research사의 Thermal Cycler (PTC-100, USA)를 사용하여 Hot step을 94°C에서 5분간 실시하였고, 94°C에서 1분간 Denaturation, 37°C에서 1분간 Annealing, 72°C에서 2분간 Extension의 과정을 총 40회 반복하여 수행하였다. 증폭된 DNA는 0.5 X TAE buffer를 사용하여 1.7% agarose gel에서 50 V로 전기영동 후 Ethidium bromide로 staining과 destaining 후 band를 확인 분석하였다.

### 5. 유연관계분석

유연관계의 분석은 NTSYS ver. 1.70을 사용하여 비가중 평균결합법으로 군집 분석하여 Dendrogram을 작성하였다. 구간 또는 수집종간 유사도는 군에 속하는 모든 가능한 조합의 유사도를 합한 후 조합수로 나누어 계산하였다. 평균 유사도가 1이면 유전적으로 완전히 동일하며, 평균 유사도가 0이면 유전적 동일성이 없다.

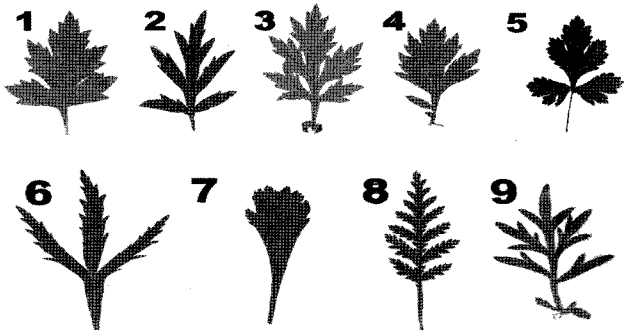


Fig 1. Typical leaf phenotypes of 80 *Artemisia* spp. collections 1) *Artemisia. asiatica* 2) *A. princeps* Pampanini 3) *A. lavandulaefolia* DC 4) *A. feddei* LEV. et VNT 5) *A. argyi* LEV. et VNT 6) *A. selengensis* Turcz 7) *A. japonica* Thunb 8) *A. iwayomogi* Kitamura 9) *A. subulata* Nakai.

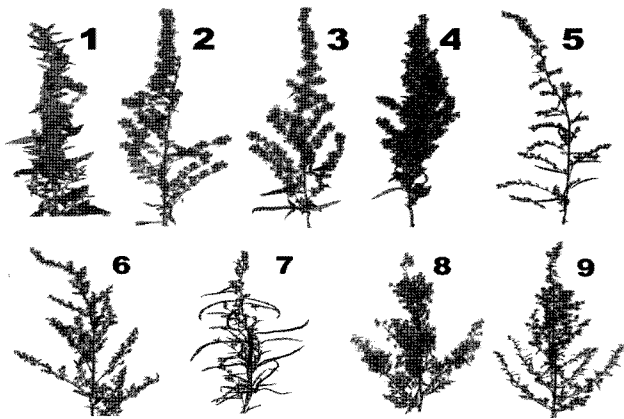


Fig 2. Typical inflorescence phenotypes of 80 *Artemisia* spp. collections 1) *Artemisia. asiatica* 2) *A. princeps* Pampanini 3) *A. lavandulaefolia* DC 4) *A. feddei* LEV. et VNT 5) *A. argyi* LEV. et VNT 6) *A. selengensis* Turcz 7) *A. japonica* Thunb 8) *A. iwayomogi* Kitamura 9) *A. subulata* Nakai.

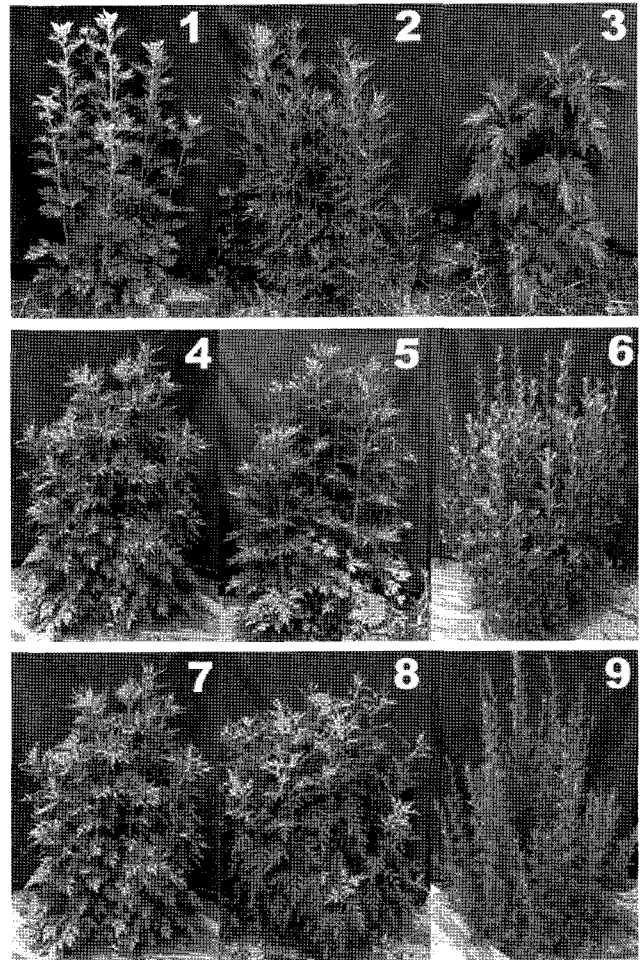


Fig 3. Morphology of 80 *Artemisia* spp. collections 1) *Artemisia. asiatica* 2) *A. princeps* Pampanini 3) *A. lavandulaefolia* DC 4) *A. feddei* LEV. et VNT 5) *A. argyi* LEV. et VNT 6) *A. selengensis* Turcz 7) *A. japonica* Thunb 8) *A. iwayomogi* Kitamura 9) *A. subulata* Nakai.

## 결과 및 고찰

### 1. 쑥 수집종의 종별 분포

수집 쑥의 엽형과 화서의 형태 및 초형에 따라 분류한 결과는 Fig. 1, 2, 3 및 Table 1과 같다.

약쑥 (*A. asiatica*)의 형태적인 특징으로는 전체적으로 백색 털이 밀생하고 잎은 우상(羽狀)으로 갈리며 열편(裂片)은 2~4쌍으로 긴 타원상의 피침형을 이루며 위로 올라 갈수록 잎이 작아지고 마침내는 3개로 갈라진다 (Fig. 1). 두상화의 경우 지름이 1.5mm~3mm로 연한 갈색을 띠며 꽃은 두상 원추화 서로 핀다 (Fig. 2).

쑥 (*A. princeps* var. *orientalis* (PAMPAN.) HARA)은 형태적으로 약쑥 (*A. asiatica*)과 비슷하게 구분되어 있으며, 문헌상으로도 애엽(艾葉), 애(艾), 사자발쑥이란 속명으로 같이

사용하고 있다. 하지만 약쑥의 경우 쑥에 비하여 경의 색이 전체적으로 회백색을 띠고 향기가 강한 것이 특징이다.

참쑥 (*A. lavandulaefolia* DC)은 주로 산에서 자라고 초장이 15~20cm이며, 잎은 어긋나고 중앙에 달린 잎은 2회 우상으로 갈라진다. 열편은 보통 2쌍이고 서로 떨어져있고 최종 열편은 줄 모양으로 표면에 긴 털과 흰 점이 있다 (Fig. 1). 두상화는 지름이 3~3.5mm이며 좁은 원추 꽃차례에 달린다 (Fig. 2).

뽕쑥 (*A. feddei* LEV. et VNT)은 쑥 수집종 중 가장 많은 분포를 나타내었다. 일반적으로 뽕쑥에서 나타나는 형태적인 특징은 거미줄 같은 백색털이 밀생하며, 전체적으로 경(莖)의 색이 자줏빛을 띤다. 잎은 우상으로 갈리고 열편(裂片)은 2~3쌍으로 위로 올라갈수록 화서부의 잎은 선형이 된다 (Fig. 1). 두상화의 경우는 지름이 1~2mm로 갈색을 띠며 꽃은 총상 원

**Table 1.** Classification of 80 *Artemisia* spp. collections based on phenotype

NO.	Collection area	Species	NO.	Collection area	Species
AC-01	Deajeon	<i>A. asiatica</i>	AC-30	Chungbuk	<i>A. selengensis</i>
AC-02	Kanghwa	<i>A. asiatica</i>	AC-31	Chungbuk	<i>A. asiatica</i>
AC-03	Deaduck	<i>A. asiatica</i>	AC-32	Hwasong	<i>A. feddei</i>
AC-04	Deaduck	<i>A. asiatica</i>	AC-33	Hwasong	<i>A. feddei</i>
AC-05	Kanghwa	<i>A. asiatica</i>	AC-34	Woraksan	<i>A. feddei</i>
AC-06	Deajeon	<i>A. selengensis</i>	AC-35	Suanbo	<i>A. feddei</i>
AC-07	Jinbu	<i>A. asiatica</i>	AC-36	Suwon	<i>A. feddei</i>
AC-08	Sosa	<i>A. asiatica</i>	AC-37	Jechon	<i>A. feddei</i>
AC-09	Dowon	<i>A. asiatica</i>	AC-38	Yongin	<i>A. feddei</i>
AC-10	Jinbu	<i>A. asiatica</i>	AC-39	Susan	<i>A. feddei</i>
AC-11	namyang	<i>A. asiatica</i>	AC-40	Oksan	<i>A. feddei</i>
AC-12	Jinbu	<i>A. asiatica</i>	AC-41	Kangnung	<i>A. feddei</i>
AC-13	Chonan	<i>A. asiatica</i>	AC-42	Geojedo	<i>A. feddei</i>
AC-14	Deajeon	<i>A. feddei</i>	AC-43	Geojedo	<i>A. japonica</i>
AC-15	Deagwallyong	<i>A. asiatica</i>	AC-44	Geojedo	<i>A. japonica</i>
AC-16	Deajeon	<i>A. japonica</i>	AC-45	Okchun	<i>A. feddei</i>
AC-17	Deajeon	<i>A. japonica</i>	AC-46	Woraksan	<i>A. feddei</i>
AC-18	Asanman	<i>A. asiatica</i>	AC-47	Okchun	<i>A. feddei</i>
AC-19	namyang	<i>A. asiatica</i>	AC-48	Goesan	<i>A. princeps</i>
AC-20	Deagwallyong	<i>A. asiatica</i>	AC-49	Goesan	<i>A. feddei</i>
AC-21	Deajeon	<i>A. lavandulaefolia</i>	AC-50	Yunpung	<i>A. feddei</i>
AC-22	Jinbu	<i>A. asiatica</i>	AC-51	Yunpung	<i>A. feddei</i>
AC-23	Deagwallyong	<i>A. asiatica</i>	AC-52	Suwon	<i>A. feddei</i>
AC-24	Deagwallyong	<i>A. asiatica</i>	AC-53	Jechon	<i>A. feddei</i>
AC-25	Deajeon	<i>A. asiatica</i>	AC-54	Danyang	<i>A. feddei</i>
AC-26	Gwacheon	<i>A. feddei</i>	AC-55	Cheongwon	<i>A. feddei</i>
AC-27	Deajeon	<i>A. iwayomogi</i>	AC-56	Sangju	<i>A. feddei</i>
AC-28	Chungbuk	<i>A. iwayomogi</i>	AC-57	Hwasong	<i>A. feddei</i>
AC-29	Deagwallyong	<i>A. asiatica</i>	AC-58	Hwasong	<i>A. feddei</i>
AC-59	Danyang	<i>A. feddei</i>	AC-70	Muju	<i>A. subulata</i>
AC-60	Jechon	<i>A. feddei</i>	AC-71	Muju	<i>A. feddei</i>
AC-61	Goesan	<i>A. princeps</i>	AC-72	Muju	<i>A. japonica</i>
AC-62	Cesan	<i>A. feddei</i>	AC-73	Muju	<i>A. feddei</i>
AC-63	Bumosan	<i>A. feddei</i>	AC-74	Muju	<i>A. feddei</i>
AC-64	Juwangsan	<i>A. feddei</i>	AC-75	Muju	<i>A. feddei</i>
AC-65	Juwangsan	<i>A. feddei</i>	AC-76	Wonju	<i>A. feddei</i>
AC-66	Dongkang	<i>A. princeps</i>	AC-77	Yeoju	<i>A. feddei</i>
AC-67	Dukyoosan	<i>A. feddei</i>	AC-78	Chunchon	<i>A. feddei</i>
AC-68	Muju	<i>A. subulata</i>	AC-79	Chunchon	<i>A. argyi</i>
AC-69	Dukyoosan	<i>A. princeps</i>	AC-80	Muju	<i>A. japonica</i>

추화서의 형태로 핀다 (Fig. 2).

황해쑥 (*A. argyi* LEV. et VNT)은 잎이 우상으로 깊게 갈리며 열편은 2쌍으로 타원형 또는 긴 타원상의 피침형이다 (Fig. 1). 두상화는 2~2.5 mm로 연갈색을 띠며 꽃은 총상 원추화서로 달린다 (Fig. 2).

수집종에서 형태적으로 그 차이를 분명히 알 수 있는 종들로서는 제비쑥, 물쑥, 더위지기, 가는잎쑥이 구분되었다 (Fig.

1, 2, 3).

물쑥 (*A. selengensis* Turcz)은 잎이 우상으로 깊게 갈리고 열편은 3개로 가장자리에 날카로운 톱니가 있는 것이 특징이다 (Fig. 1). 두상화는 지름 2~2.5 mm로 황갈색을 띠며 꽃은 좁은 원추화서로 핀다 (Fig. 2).

제비쑥 (*A. japonica* Thunb)은 주로 산간지에서 자라며 잎은 췌기형 또는 도란형이며 열편이 없는 것이 특징이다 (Fig.

1). 두상화의 경우 지름 1.5 mm의 연한 노란색을 띠며 꽃은 원 추화서로 핀다 (Fig. 2).

더위지기 (*A. iwayomogi* Kitamura)는 속명으로 한인진이라 불리며, 사철쭉과 함께 관목으로 산지에서 자라고 잎은 2회 우상으로 갈리며 피침형에 톱니가 있는 것이 특징이다 (Fig. 1). 두상화는 노란색의 종형으로 다른 쭉에 비하여 꽃이 크며 향기가 강하다 (Fig. 2).

가는잎쭉 (*A. subulata* Nakai)의 경우는 주로 산기슭에서 자라지며, 초장은 60~80 cm 정도이고 줄기가 곧다. 전체적으로 잔털이 많으나 차츰 없어진다. 줄기잎은 어긋나며 잎자루가 없는 것이 특징이다 (Fig. 1). 두상화는 지름 2~3 mm 얇은 황갈색 난형 (卵形)으로 두상화서를 이룬다 (Fig. 2).

이상의 분석결과 Table 1과 같이 대부분의 수집종 쭉이 약쭉 (*Artemisia asiatica*; 24종)과 뽕쭉 (*A. feddei* LEV. et VNT; 41종)으로 구분되었으며, 그 외에 쭉 (*A. princeps* Pampanini), 참쭉 (*A. lavandulaefolia* DC), 제비쭉 (*A. japonica* THUNB), 물쭉 (*A. selengensis* TURCZ), 황해쭉 (*A. argyi* LEV. et VNT), 더위지기 (*A. iwayomogi* KITAMURA), 가는잎쭉 (*A. subulata* Nakai)으로 구분되었다.

2. 형태적 형질의 변이

80개 쭉 수집종에 대하여 조사한 주요 형태적 형질을 살펴 보면 Table 2와 같다.

쭉 수집종의 경장은 전체 수집종이 40~220 cm 범위로 평균 134.42 cm 였다. 경장의 분포는 100~130 cm 인 개체가 38%로 가장 많았으며, 130~160 cm인 것들이 29% 그리고 160~190 cm 가 19%로 전체의 80% 이상이 100~190 cm 범위였다. 그 중 AC-06 (물쭉)이 40 cm로 가장 작았고 AC-55 (뽕쭉)는 220 cm 로 가장 컸다. 분지수는 11~81개로 수집종간에 차이가 컸으며, 평균 42.84개였다. 수집종 중 AC-06 (물쭉)이 10개로 가장 적었으며, AC-73 (가는잎쭉)이 81개로 가장 많았다. 분지수의 분포는 30~45개가 33%로 가장 많았으며 15~30개인 것들이 23% 및 45~60개인 것들이 20%로 70% 이상이 15~60 개의 분포를 나타내었다. 쭉 수집종의 분지성상에 대한 빈도

는 1~5 범위로 평균 3이었고, 분포는 2~3 범위 사이가 전체의 40%로 가장 많았고, 1~2의 범위를 갖는 것이 19%, 그리고 3~4의 범위를 나타내는 것이 15%를 차지하였다. 쭉 수집종의 10절위 분지장은 15.5~84.6 cm의 범위로 평균 62.60 cm 였으며, 분포는 45~60 cm의 경우가 32%로 가장 많았고, 60~75 cm가 28% 그리고 75~90 cm인 것들도 14%로 70% 이상이 45 cm~90 cm 범위였으며, 그 중 AC-44 (제비쭉)가 10.6 cm로 수집종 중 가장 짧았고, AC-77 (뽕쭉)이 95 cm로 가장 컸다. 쭉 수집종의 경태는 4.8~25.1 mm의 범위에서 평균 13.87 mm 이었고, 분포는 8~12 mm인 것들이 29%로 가장 많았고 12~16 mm인 것들이 28%로 그 다음으로 많았으며, 4~8 mm와 16~20 mm인 것들도 각각 13%와 19%를 차지하였다. 그 중 AC-16 (제비쭉)과 AC-75 (제비쭉)이 5.4 mm로 가장 작았고, AC-50 (쭉)이 25.1 mm로 가장 컸다. 쭉 수집종의 개화일은 9월15일~9월20일 사이에 개화한 것이 전체의 40%로 가장 많았고 9월10~9월15일 사이에는 28%, 9월20일~9월25일에는 18%로 9월10일~9월25일 사이에 개화한 개체수가 전체의 86%로 대부분의 쭉 수집종이 9월 중하순에 개화하였으며, 그 중 AC-09 (약쭉)가 8월30일로 가장 빨랐으며, AC-22 (약쭉)와 AC-28 (더위지기)이 9월30일로 가장 늦었다.

경색과 엽색의 분포는 Table 3과 같다. 수집종 쭉의 경색은 적갈색과 갈색이 전체의 81.3%로 대부분이었다. 이러한 결과는 쭉 수집종 대부분이 뽕쭉으로, 뽕쭉은 경의 색이 적갈색을 띠는 것이 특징이다. 가는잎쭉과 일부 약쭉에서도 경 (莖)이 적갈색이었는데 뽕쭉과는 달리 거미줄 같은 털이 밀생하지 않

Table 3. Frequency of colors of Stem and leaf of 80 *Artemisia spp* collections

Character	Color	No. of accessions	Frequency (%)
Stem	Green	17	21.3
	Brown	30	37.5
	Red brown	33	43.8
Leaf	Green	45	56.3
	Dark green	11	13.8
	Yellow green	24	30.0

Table 2. Mean values and ranges of growth characters of 80 *Artemisia spp* collections

Character	Mean±S.D	Range	C.V (%)
Stem length (cm)	134.4±24.5	40~220	27.91
No. of branches	42.4±13.4	11~81	14.88
Branch type	3.0±0.48	1~5	0.55
Branch length (cm)	62.6±14.8	15.5~84.6	17.23
Stem diameter (mm)	13.8±4.03	4.9~25.1	4.58
Angle of low secondary vein (°)	113.7±17.9	21~210	20.37
Angle of upper secondary vein (°)	73.9±11.8	32~113	13.46
Leaf length (mm)	57.9±11.6	25.3~105.4	13.21
Leaf width (mm)	41.7±9.54	18.4~83.5	10.84
Leaf length/width	1.4±0.26	0.78~2.35	0.30

았다. 약쑥의 경우 경색이 대체적으로 녹색인 경우가 많았지만 몇몇 수집종에서 연한 적갈색을 띠는 것들이 있었는데 이는 타가수정에 의하여 나타난 변이로 생각된다. 더위지기의 경우는 쑥류 중에서도 관목류에 해당하는 것으로 대체적으로 갈색이었다. 제비쑥, 물쑥은 경색이 대체적으로 녹색이었다.

엽색의 경우 쑥 수집종 중에서 녹색이 56%로 가장 많았고 그 다음으로 연녹색이 30%이었으며 전체 쑥 수집종 중에서 녹색과 연녹색이 86%를 차지하였다. 엽색의 경우도 같은 종이라 할지라도 수집지역에 따라 엽색에 차이가 관찰되었다.

3. 형태적 형질에 의한 군집 분석

형태적 형질을 이용하여 쑥 수집종에 대한 군집분석한 결과

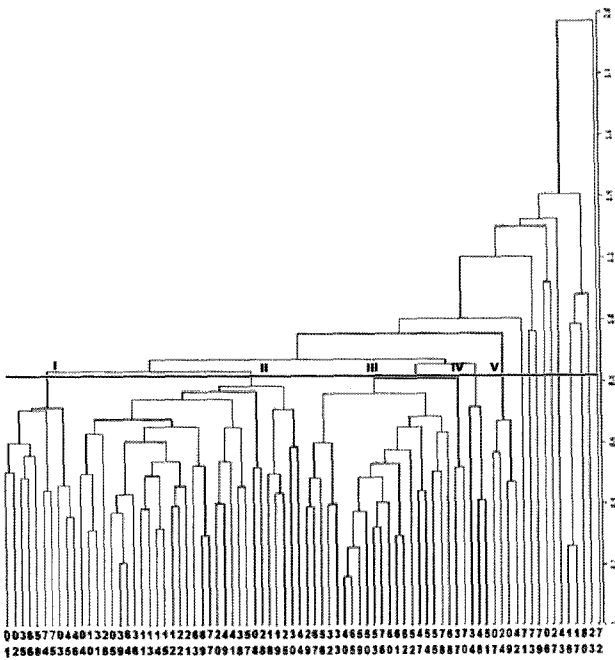


Fig. 4. Dendrogram of 80 collections by complete linkage cluster analysis with morphological traits in *Artemisia* spp.

는 Fig. 4 및 Table 4와 같다. 군집간의 최대거리 0.82를 기준으로 하여 분류하였을 때 1~2개로 이루어진 군을 제외하고 3개 이상이 속해있는 5개 군으로 분류할 수 있었다. I군은 쑥 수집종 중 약쑥 3개, 쑥 1개, 뽕쑥 6개로 총 10개가 분포하여, 전체 수집종 중 15%를 차지하였고 II군은 약쑥 14개, 뽕쑥 12개, 참쑥, 쑥, 더위지기, 물쑥이 각각 1개씩 속하여 총 30개로 전체 수집종 중 37.5%를 차지하였고 III군은 약쑥 1개, 뽕쑥 17개, 쑥과 제비쑥이 각각 1개씩 속하여 총 20개로 전체 수집종 중 25%를 차지하였다. IV군은 약쑥 1개, 뽕쑥 2개가 분포하였고, V군은 약쑥 3개, 뽕쑥 1개로 총 4개가 속하였다.

형태적인 분류에서 II·III군이 비교적 대군을 형성하였으며, II군은 약쑥 (14개), III군에는 뽕쑥 (17개)이 주로 분포하였다. 전체 80개 수집종 중 22개가 약쑥이었는데 형태적 형질에 의한 분류에서 64%가 같은 군에 속하였다. 뽕쑥의 경우는 전체 80종 중 40개이었는데, 이 중에서 43%가 같은 군을 이루는 것으로 나타났다.

형태적인 특성에 의한 분류에서 볼 때 뽕쑥, 쑥, 약쑥은 형태적으로 비슷하여 모든 군에 걸쳐 분포하였다. 또한 더위지

Table 4. Classification of 80 *Artemisia* spp. collections based on cluster analysis with morphological traits

Cluster	Collection number	No. of collections
Group I	AC-01, AC-02, AC-03, AC-35, AC-45, AC-46	10
	AC-58, AC-66, AC-74, AC-75	
Group II	AC-04, AC-05, AC-08, AC-10, AC-11, AC-12	30
	AC-13, AC-14, AC-15, AC-18, AC-19, AC-20	
	AC-21, AC-22, AC-25, AC-26, AC-28, AC-30	
	AC-31, AC-36, AC-38, AC-39, AC-41, AC-44	
	AC-49, AC-57, AC-63, AC-64, AC-69, AC-77	
Group III	AC-29, AC-32, AC-33, AC-40, AC-47, AC-50	20
	AC-52, AC-53, AC-54, AC-55, AC-56, AC-59	
	AC-60, AC-61, AC-62, AC-65, AC-67, AC-68	
	AC-76, AC-78,	
Group IV	AC-34, AC-48, AC-51	3
Group V	AC-07, AC-09, AC-24, AC-42	4

Table 3. Primer sequences and number of PCR products

Primer	Nucleotide sequence (5' to 3')	No. of amplified DNA bands	No. of polymorphic bands
OPA8	-GTGACGTAGG-	10	8
OPC8	-TGGACCGGTG-	11	7
OPC11	-AAAGCTGCGG-	11	10
OPC12	-TGTCATCCCC-	8	7
OPC16	-CACACTCCAG-	10	4
OPAB1	-CCGTCGGTAG-	9	6
OPAB7	-GTAAACCGCC-	11	8
OPAB10	-TTCCCTCCCA-	8	4
OPAB11	-GTGCCCAATG-	10	8
OPAB20	-CTTCTCGGAC-	10	6
Total		98	68 (69.4%)

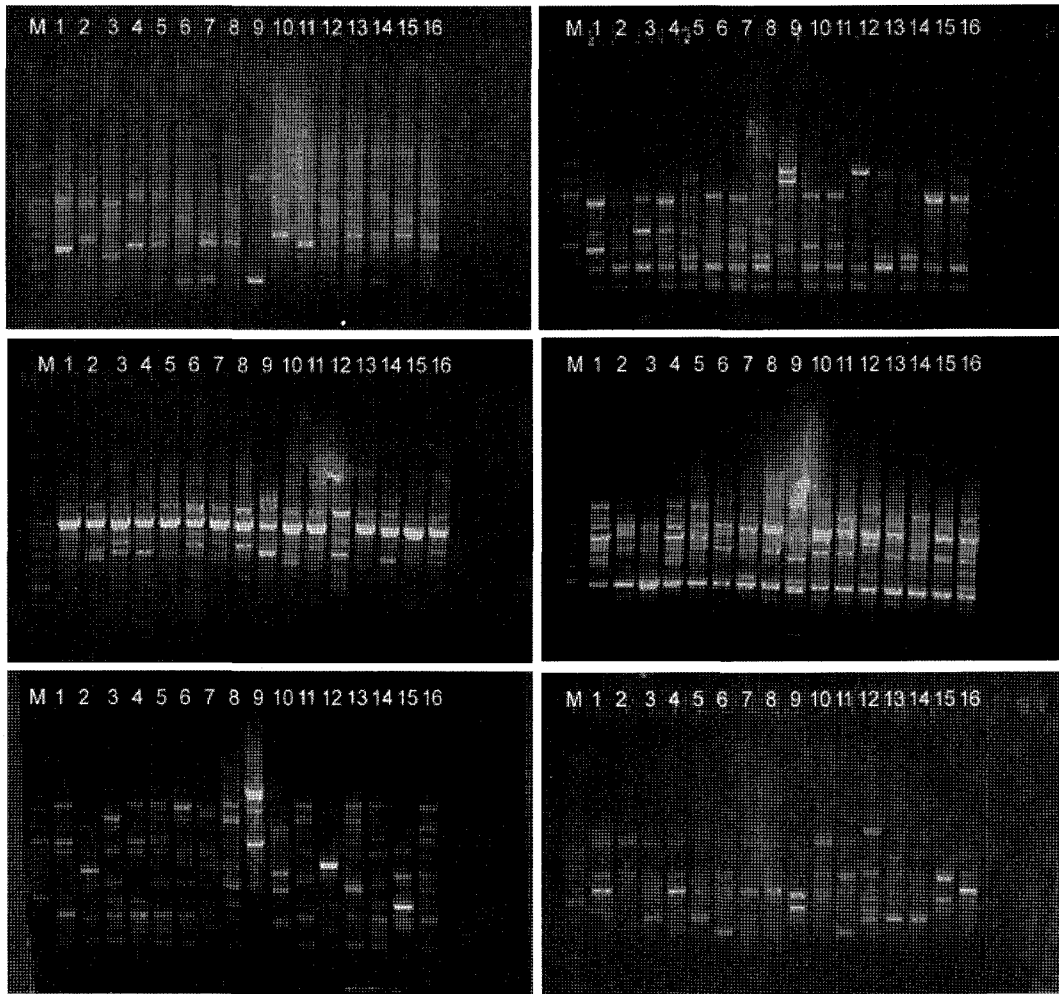


Fig. 5. RAPD profiles generated from genomic DNAs of 80 *Artemisia* spp. using OPC8 , OPC11, OPC11 OPAB1, OPC16 and OPAB10 primers.

기, 제비쭉, 물쭉과 같이 형태적으로 명확하게 분류가 가능한 종들도 일정한 군집으로 분류되는 경향이 없었다. 따라서 형태적 형질과 함께 생육 형질 및 종 내의 변이에 관한 조사가 함께 고려되어야 보다 정확한 분류가 가능할 것으로 생각된다.

#### 4. RAPD 분석

Operon 사의 10-mer로 구성된 primer를 사용하여 재현성과 다형성이 높은 primer를 탐색한 결과는 Fig. 5 및 Table 5와 같다 (Fig. 5, 6). 선발에 사용한 primer중 밴드가 분명하고 다형성이 높은 Primer 10개를 선발하였으며, 나머지 primer들은 다형성을 보이지 않거나 band가 분명하지 못하여 다형성을 검정하는데 적합하지 못하였다. 증폭된 DNA 산물은 100~2500 bp까지 다양하였으며, 총 98개의 밴드를 얻었는데, 그 중 다형성을 보이는 밴드가 68개로 69%였으며, 다형성을 보이지 않는 밴드가 31%였다. 각 primer에 의해 증폭된 밴드

의 수는 8~11개로 다양하였으며, 평균 9.8개의 DNA밴드가 증폭되었다. 또한 사용된 primer에 대하여 80종의 쭉 수집종 모두가 다형성을 보이는 band가 나타났다. 따라서 본 실험에서 10-mer random primer를 사용하여 증폭시킨 DNA 단편들을 쭉속 식물 종간의 유전적 유연관계를 밝힐 수 있는 분자 marker로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

#### 5. RAPD에 의한 유연관계 분석

RAPD에 의해 증폭된 98개의 밴드를 가지고 쭉 수집종의 유연관계를 분석한 결과는 Fig. 6 및 Fig. 6과 같다. 유연관계 분석에 의한 Dendrogram에서 유연계수 0.63을 기준으로 하여 구분한 결과 5개 군으로 분류하였다. 군집분류에서 I군과 II군에서 대군을 형성하였으며, I군에는 약쭉 18개, 뽕쭉 3개, 더위지기 2개, 물쭉 2개 그리고 쭉과 참쭉과 각각 1개씩 포함한 총 27개(34%)의 수집종이 분포하였으며 주로 약쭉이 많았다.

쑥 수집종의 형태적 형질과 RAPD분석에 의한 분류

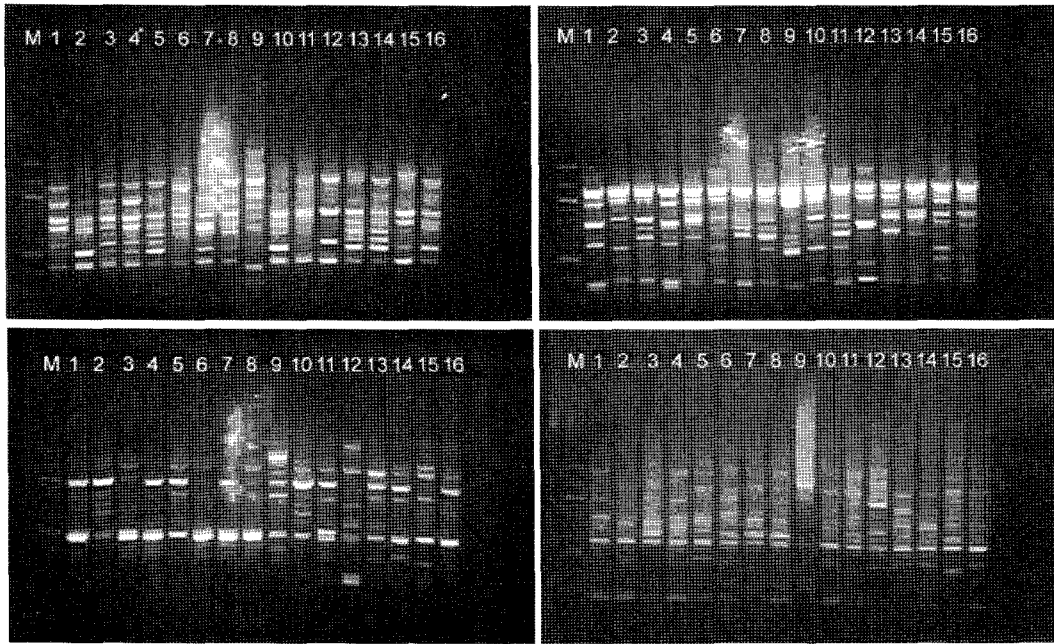


Fig. 6. RAPD profiles generated from genomic DNAs of 80 *Artemisia* spp. using OPAB7, OPC12, OPC11 and OPAB20 primers.

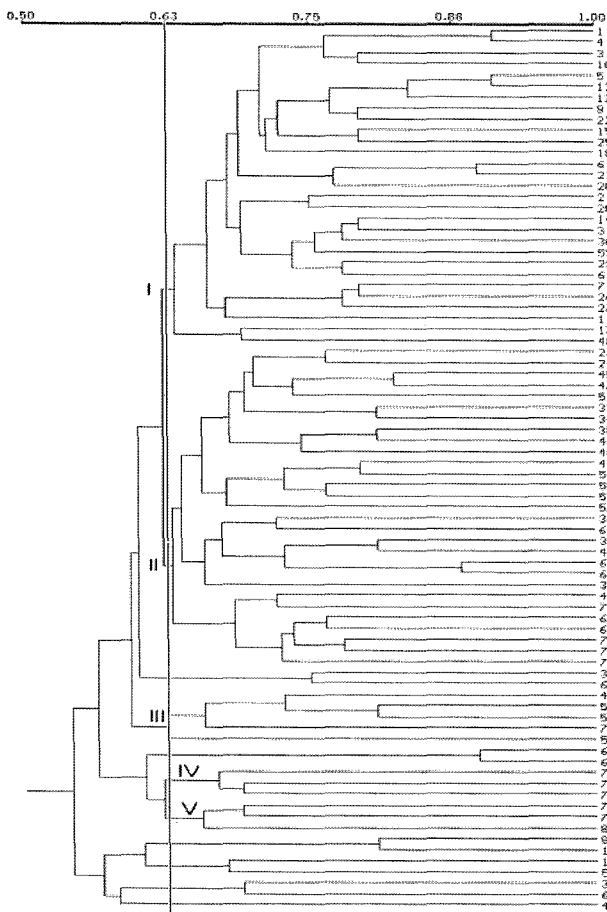


Fig. 7. Phylogenetic relationship of 80 *Artemisia* spp. collections based on RAPD analysis.

Table 6. Classification of 80 *Artemisia* spp. collections based on RAPD analysis

Cluster	Collection number	No. of collections
Group I	AC-01, AC-02, AC-03, AC-04, AC-05, AC-06	27
	AC-07, AC-09, AC-10, AC-11, AC-12, AC-13,	
	AC-14, AC-15, AC-18, AC-20, AC-21, AC-22	
	AC-25, AC-26, AC-27, AC-28, AC-29, AC-30	
	AC-31, AC-61, AC-59	
Group II	AC-23, AC-24, AC-32, AC-34, AC-35, AC-36	29
	AC-38, AC-39, AC-40, AC-42, AC-43, AC-44	
	AC-45, AC-47, AC-49, AC-50, AC-51, AC-52	
	AC-54, AC-57, AC-60, AC-62, AC-64, AC-65	
	AC-67, AC-70, AC-72, AC-72, AC-74	
Group III	AC-46, AC-53, AC-55, AC-63, AC-79	5
Group IV	AC-69, AC-71, AC-75, AC-78	4
Group V	AC-76, AC-77, AC-80	3

II군에는 뽕쑥 23개, 약쑥 2개, 제비쑥 3개를 포함한 총 29개 (36%)의 수집종이 분포하였고 주로 뽕쑥이 많이 분포하였다. III, IV, V군은 소군으로 III군에는 뽕쑥 4개와 황해쑥 1개, IV군에는 쑥 1개와 뽕쑥 3개, 군에는 뽕쑥 2개와 제비쑥 1개가 각각 포함되었다.

6. 형태적 형질과 RAPD에 의한 분류의 비교

형태적 형질로 쑥 수집종을 분류하였을 때 크게 5개의 군으로 분류되었으나, 이들은 식물학적인 동질성이 낮은 것으로 판단되었다. 이는 뽕쑥, 황해쑥, 쑥, 약쑥 등이 형태적으로 유사



하며, 종별로 수집종의 수 차이가 클 뿐만 아니라 특히 잎과 관련한 형질은 종 내에서도 변이가 중간 변이와 마찬가지로 컸기 때문이라고 판단된다.

한편, RAPD에 의한 분류에서는 1~2개가 속해있는 그룹은 제외하고 3개 이상 속해있는 그룹을 군으로 분류한 결과 6개 군으로 분류하였다. I군에는 약쭉 (18개)이 그리고 II군에서는 뽕쭉이 (23개)으로 주로 포함되었다. 식물학적으로 전체 80개 수집종 중 22개가 약쭉이었는데, RAPD에 의한 분류에서는 81%가 같은 군에 속하였다. 뽕쭉은 전체 80종중에서 40개 있었는데, RAPD에 의한 분류에서 58%가 같은 군을 이루는 것으로 나타나 형태적인 특성에 의한 분류보다 더 객관성이 높다고 판단된다. 본 연구의 결과와 마찬가지로 PCR 증폭에 의한 다양한 DNA 밴드 양상은 근연종간의 유연관계나 재배 품종들간의 유연관계를 밝히는데 주로 사용되어 왔으며 (Bellmany 등, 1996; Dubouzet 등, 1996), 최근 분류학적으로 불분명하고 미개발된 식물들에 있어 종내 변이 탐색에도 시도되어 일부에서는 유용한 방법으로 가치를 인정받고 있다. 또한 RAPD를 이용한 분류방법은 기존의 분류체계에 비해 미미한 변이에 대해서도 종내 변이를 탐색하는데 있어 간단하고 유용한 방법이라고 할 수 있다 (Lee와 Kim, 1996 ; Yoo 등, 1997).

## 적 요

쭉 수집종 80개를 대상으로 형태적 형질과 RAPD 분석을 하였고, 유전적 다양성을 이용하여 유연관계를 분석하고 이를 기초로 품종군을 분류하였다. 주요 형태적 형질을 이용하여 쭉 수집종에 대한 군집분석 결과, 군집간의 최대거리 0.82를 기준으로 하여 분류하였을 때 5개 군으로 분류하였는데, I군에 10개 (15%), II군에 30개 (37.5%), III군에 20개 (25%), IV군에 3개 (4%), V군에 4개 (5%)를 나타내었다. RAPD 분석에 이용한 10-mer primer 에 대하여 98개의 밴드를 얻었고, 그 중 다형성을 보인 밴드는 68개로 69%였는데, 선발된 Primer에서 증폭된 밴드 수는 8~11개로 다양하였으며, 평균 9.8개였다. RAPD에 의한 군집 분석에서 유연계수 0.63을 기준으로 하여 구분한 결과 6개의 군으로 분류되었다. I, II군이 각각 전체의 34%, 36%를 차지하여 가장 큰 군으로 분류되었고, 나머지 III~V군은 모두 소군으로 15%가 속하였다. 특히 I군에는 약쭉이 많았고, II군에는 뽕쭉이 많이 분포하였다.

## 사 사

본 연구는 산업자원부지원의 지역협력연구센터 충북대학교 생물건강산업개발연구센터의 지원에 의한 것임.

## LITERATURE CITED

- Bellmany AF, Vended, Banneret II** (1996) Varietal identification in *Cichorium intybus* L and determination of genetic purity F1 hybrid sed samples based on RAPD. *Plant Breeding* 115:128-132.
- Dubouzet JG, Etoh T, Arisumi K, Yshitake T** (1996) A diagnostic test to Confirm interspecific *Allium* hybride using RAPD from crude leaf DNA extracts. *J. Japan. Hort. Sci.* 65: 321-326.
- Kang HW, Cho YG, Yoon WH, Eun MY** (1998) A Rapid DNA Extraction Method for RFLP and PCR Analysis from a Single Dry Seed. *Plant Molecular Biology Reporter* 16:1-9.
- Lee CH, Kim KS** (1996) Genetic diversity of *Chrysanthemum zawadskii* HERB. native to Korea using marker analysis. *J. Kor. Soc. Hor. Sci. Abstract* 14:668-669.
- Mukai Y, Suyama Y, Tsumura Y, Kawahara T, Yoshimaru H, Kond T, Tomaru N, Kuramoto N, Murai M** (1995) A linkage map for Subi(Cryptomeria Japonica) based of RFLP, RAPD and isozyme loci. *Theor. Appl. Genet.* 90:835-840.
- Roman B, Rubiales D, Torres AM, Cubero JJ, Satovic Z** (2001) Genetic diversity in *Orobanche crenata* populations from southern Spain. *Theor. Appl. Genet.* 130:1108-1114.
- Yoo KO, Ahn SD, Yoo CY, Park KY, Lim HT** (1997) Intraspecific variations of the *Epimedium koreanum* by randomly and specifically amplified polymorphic DNA markers. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38:183-187.
- Kwon SJ, Ahn SN, Suh JP, Hong HC, Kim YK, Hwang HG, Moon HP, Choi HC** (2000) Genetic diversity of Korean rice varieties. 32(2):186-193.
- Rim YW, Hong BH, Nam JH, Park MW, Ha YW, Park KG, Shin JS** (1995) Detection of barley genes in barley X wheat intergeneric hybrids using random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Kor J Breed.* 27(4):417-422.
- Suh JP, Ahn SN, Moon HP, Suh HS** (1999) QTL analysis of low temperature germinability in a weedy rice. *Kor J Breed.* 31(3): 261-267.
- 김현주** (2000) 수집종 쭉(*Artemisia spp.*)에서 청색색소 Chamazulene 합성에 관여하는 유전적 및 환경적 요인에 관한 연구. 서울대학교 박사학위논문.
- 노태홍, 서완석.** 1994. 야생종 쭉의 조기재배시 생육특성과 화학 성분 함량. *한국약용작물학회지* 2(1):95-100.