

과제구분	기본	Code : LS0205	수행구분	전반기	연구기간	'00~'01(완결)
연구과제명	자원식물 개발에 관한 연구			연구책임자	윤종탁	
세부과제명	느쟁이냉이 번식기술 연구					
연구원별임무						
구분	소속	성명	담당임무			
세부과제책임자	작물경영연구과	윤종탁	연구계획 및 총괄			
공동연구자	"	노준현	종묘수집 및 재배			
	"	조병욱	종자수집 및 재배			
	화천군농업기술센터	손창열	종자 및 종자 수집			
	강원대학교	최익영	유연관계분석			
	"	유창연	"			
색인용어	느쟁이냉이, 종자저장법, 종자발아, 수집종, 유연관계					

## 1. 연구배경

느쟁이냉이(*Cardamine Komaroui* Nakai)는 십자화과로서 매운맛이 있어 생채 및 어린순을 민간에서 봄나물로 이용되고 있고, 분포생육지는 중부야산습지 및 산간복부이다. 다년초로서 높이가 30cm에 달하고 털이 없으며, 근생엽은 총생하며 길이 8cm 정도의 엽병이 있고 익상으로 갈라지는 것도 있다. 경생엽은 호생하며 원형 또는 난상 원형이고 길이 2~8cm, 나비 1~6cm로서 가장 자리에 결각상의 톱니와 더불어 불규칙한 톱니가 있으며, 엽병은 길이 1~2cm로서 엽신이 흘러 날개처럼 되고 밑부분에서는 귀처럼 되어 줄기를 열싸안으며, 중앙부에 1쌍의 소엽이 있는 것도 있다. 꽃은 6~8월에 피고 4개씩의 꽃잎과 꽃받침잎이 있으며, 6개의 수술 중 2개는 짧고 긴 것은 꽃잎과 길이가 거의 같다. 열매는 길이 2~3cm로서 양끝이 좁으며 2개로 갈라지고 소과경은 길이 1cm 정도로서 비스듬히 옆으로 퍼진다. 어린순은 나물로 이용되며 생것은 매운 맛이 있다. 느쟁이냉이는 비타민 A와 C 그리고 식이섬유가 많이 함유되어 있는 우수한 식품이다. 냉이는 아세틸콜린과 콜린 등의 특수성분이 있어 약리효과가 있으나 느쟁이냉이에 함유된 특수성분은 아직 분석되어 있지 않다. 그러나 냉이와 유사종 이므로 약리효과는 비슷할 것으로 추측된다. 요리법은 아직 개발되어 있지 않으나 민간에서는 물김치, 무침, 쌈용, 샐러드용 등으로 이용되고 있고, 강원도 화천군 농업기술센터에서는 느쟁이냉이 소스를 개발하기도 하였다.

냉이가 우리나라 어느 곳에서나 쉽게 찾아볼 수 있고, 고소득 작목으로 인식되어 많은 면적에서 재배되고 있는 것과는 달리, 느쟁이냉이는 습지나 야산 계곡주변을 따라서 자생하고 있는 특성 때문에, 재배화되어 판매되지 못하고 야생 채취 형태만으로 이용되고 있는 현실이다. 따라서 본 연구에서는 춘채로서 가치가 인정되는 느쟁이냉이의 작물화 가능성을 확인하고자 종묘 및 종자 발아특성을 구명하고, 느쟁이냉이 수집종 20종에 대해서 유연관계를 밝히고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### (시험1) 종묘 및 종자 발아특성 연구

본 시험에 공시한 논쟁이냉이(*Cardamine Komaroui* Nakai)는 강원도 춘천시 서면에서 2000년과 2001년에 수집한 종묘 및 종자이다. 실험은 2000년부터 2001년에 걸쳐 실시되었고 발아시험은 9cm Petridish에 Filter paper(Whatman no5)를 2장 깔고 증류수 2ml를 넣고 1% NaOCl로 30초간 소독한 논쟁이냉이 종자를 치상한후 Parafilm으로 밀봉하여 실시하였다. 처리당 3반복으로 하였으며, 반복당 50립을 사용하였다. 발아온도는 15, 25, 35±0.5℃였고, 광조건(3000lux)과 암조건에서 수행하였고, Multiroom incubator(LMI3004PL)에서 15일동안 발아율 조사를 하였다. 저장실험은 저장방법을 건조와 모래습윤저장으로, 저장온도는 0, 3, 8±1℃로, 저장기간은 30, 60, 90일이었다. 건조저장은 수분 8% 정도로 음건한 종자를 망사자루에 넣어 조건별로 저장하였고, 습윤층적저장은 수확직후 벤레이트-T로 소독한 모래를 종자와 4:1 비율로 혼합한 뒤 용기에 넣고 매질 무게의 10%에 해당하는 증류수를 공급한후 수분 증발을 막기 위해 용기 덮개를 막은후 조건별로 저장하였다. 논쟁이냉이의 개화 생리는 춘천시 서면에서 채취한 종묘를 온실에 이식한 후 생육이 건전한 10주를 선정하여 개화시기에 화수, 화당 개화일수, 분지당 개화일수, 주당 개화일수 등을 조사하였다.

### (시험 2) 분자마커를 이용한 수집종의 유연관계 구명

**식물재료** : 본 시험은 2000년부터 2001년까지 논쟁이냉이의 자생 군락지가 확인된 5개 시군 7지역을 대상으로 현지 종묘 채취를 한후 강원도 농업기술원내에 위치한 온실에 이식하여 실험을 실시하였다. 수집지 및 형태적 특성이 다른 20점을 대상으로 실험하였다(표10).

**DNA 추출** : DNA 분리는 Doyle와 Doyle(1987) 방법을 응용하여 채취한 논쟁이냉이의 어린잎을 1.5ml tube에 넣어서 액체질소에 급냉하여 급게 분쇄한후 DNA extraction buffer(200 mM Tris-HCl pH 8.0, NaCl 200mM, EDTA 25mM, 0.5% SDS) 0.72ml를 넣은후 65℃ 향온수조에서 15분동안 5분 간격으로 흔들여 주었다. Phenol : chloroform : isoamylalcohol(25:24:1)를 첨가하여 상온에서 10분간 천천히 흔들여 잘 혼합한 후 고속원심분리기를 이용하여 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. DNA 정제를 위하여 cholroform : isoamylalcohol(24:1)을 첨가하여 12,000rpm, 4℃ 조건에서 20분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 새로운 tube에 옮겨 차가운 100% alcohol을 상층액 volume의 2.5배를 넣어 -20℃에서 30분간 보관하여 DNA 가닥이 잘 뭉치게 하였다. 뭉쳐진 DNA는 70% alcohol로 세척하여 1.5ml tube에 옮겨 건조하였다. TE buffer(10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 7.4)를 넣어 65℃ 향온수조에서 DNA를 녹이고, 10µg/ml RNase를 넣어 37℃ incubator에서 RNA를 완전히 제거한 후 spectrophotometer를 이용하여 DNA 농도를 확인 한 후 4℃에 보관하면서 사용하였다.

**RAPD 분석** : PCR(polymerase chain reaction) 증폭은 Williams(1990)의 방법을 이용하여 수행하였으며, PCR 반응용액은 멸균증류수에 10× 반응 완충액, 200µM dNTP, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 300nM primer(UBS), 1 U DNA polymerase, 50ng DNA를 혼합하여 총 20µl로 조성하였다. PCR(Polymorphic chain reaction)은 PTC 100(MJ Research, INC)을 이용하여 94℃에서 5분간 predenature한 후 94℃에서 30초 denaturation, 37℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 1분간 extension을 35회 수행하고 마지막으로 72℃에서 10분간 반응

시켰다. 모든 PCR 증폭이 종료된 후 10 $\mu$ l/ml ethidium bromide가 함유된 1.5%(w/v) agarose gel에 올려 1x TBE buffer가 든 전기영동장치에서 100 V로 약 1시간정도 전기영동한 다음 UV 광선하에서 분자마커를 확인 하였다.

**Primer의 선발** : UBC(University of British Columbia)로 부터 구입한 Random primer 30 개중 다형성을 보이는 RP603 등 13개의 primer를 선발하였으며 각 primer의 번호와 염기 서열은 표 11과 같다.

**통계분석** : 유연관계 분석은 모든 논쟁이냉이 수집종에 대하여 PCR에 의하여 증폭된 DNA를 전기영동에 의하여 분리한 후 동일 분자량 위치에 존재하는 밴드(positive)는 1, 존재하지 않는 밴드(negative)는 0으로 점수를 매기어 컴퓨터에 입력한 후 NTSYS(Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) program의 UPGMA(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic average) 분석방법(Rohlf, 1989)을 이용하여 유사성을 확인하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### (시험1) 종묘 및 종자 발아특성 연구

##### 가. 일반성분 함량

표 1. 논쟁이냉이 잎의 일반성분 함량 (가식부 100g당)

영명	수분 (%)	단백질 (g)	지질 (g)	탄수화물(g)		회분 (g)
				당질	섬유소	
Wild plant, Nun Jaeng I	86.8	2.9	0.4	6.2	1.8	1.9



사진 1. 논쟁이냉이 전초 형태



사진 2. 논쟁이냉이 재배 포장전경

개화전 논쟁이냉이의 잎을 수확하여 일반성분 분석을 한 결과 가식부 100g당 함유량이 수분 87%, 단백질이 2.9%, 당질이 6.2% 그리고 섬유소가 1.8%를 나타내었다(표 1). 무침이나 냉이국으로 다량 소비되고 있는 냉이(Mo, 2000)의 일반성분 함유량은 수분이 97.8%, 단백질 4.7%, 당질 3.8% 그리고 섬유소 1.6% 이므로 냉이와 비교하여 볼때 수분과 섬유소는 비슷하고, 단백질은 1.8% 정도 낮고, 당질은 4.6%정도 높았다. 논쟁이냉이의 일반성분은 냉이와 비슷하고 맛도 비슷한 것으로 보아 소비자들의 기호에 맞을 것으로 생각되었다.

## 나. 형태적 특성 및 개화생리

표 2. 논쟁이냉이의 형태적 특성

엽수 (개)	경장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽색 <sup>1)</sup> (1~5)	초형 <sup>2)</sup> (1~3)	화경장 (cm)	화경절수 (개)
10.8	7.2	4.4	4.5	3, 4, 5	1, 2, 3	21.6	6.8

<sup>1)</sup>: 1(농자색), 2(자색), 3(녹색), 4(담녹색), 5(농녹색)

<sup>2)</sup>: 1(직립), 2(중간), 3(개장)

표 3. 논쟁이냉이의 종실 및 꼬투리 특성

길이 (cm)	꼬투리			종자수 (개/꼬투리)	종실중 (mg/꼬투리)		종자수분 함량(%)
	넓이 (cm)	두께 (cm)	생체중 (mg/개)		생체	건조	
2.3	1.2	1.9	33	8.2	9.6	5.4	56.0

표 4. 논쟁이냉이의 개화 특성

화수 (개/주)	화 개 화 기 간 (일)	분 지 당 개 화 기 간 (일)	주 당 개 화 기 간 (일)	분지당 개화기차이 (일)	주당 개화기 차이 (일)
114.8	5.6	10.6	12.0	6.8	7.8

표 2에서는 논쟁이냉이의 형태적 특성을 나타내었는데 엽수는 10.8개, 엽색은 녹색, 담녹색 그리고 농녹색이었고 초형은 직립, 중간형 그리고 개장형이고, 화경장은 21.6cm 였다. 종실과 꼬투리의 특성을 보면(표 3) 꼬투리의 길이는 2.3cm, 생체중은 33mg/개 이며, 꼬투리당 종자수는 8.2개 이고, 꼬투리당 종실 생체중과 건조중은 9.6과 5.4mg이었으며, 종자수분함량은 56%였다. 개화는 4월말에서 5월 중순이며 화경당 화수는 114.8개, 1화당 개화기간은 5.6일, 1화경당 개화기간은 12일, 1화경내 개화기 차이는 6.8일 이었으며, 화경내 개화순서는 각 분지의 하부로 부터 일제히 동시 개화하기 시작하여 각분지의 상부쪽으로 순차적으로 피어 올라가는데 개화시와 개화종기의 차가 6.8일이었다(표 4, 사진3).



사진 3. 논쟁이냉이 개화전경

#### 다. 종자 발아 특성

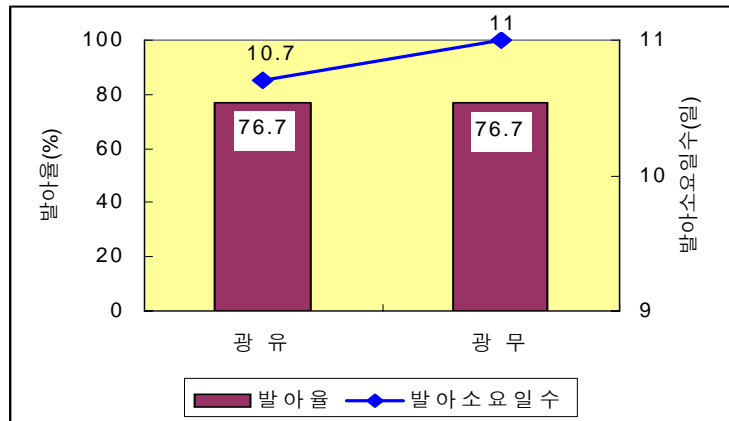
표 5. 수확 후 일수에 따른 종자 발아 특성

수확후 경과기간	종자보관 상태	발아율(%)	발아소요일수(일)
1년	건조, 상온	0 c	0
10일	건조, 상온	86.7 b	12.3
10일	습윤, 상온	100.0 a	11.0

표 6. 발아온도별 발아특성

구 분	15℃	25℃	35℃	비 고
발 아 율 (%)	86.7 a	90.0 a	0 b	재료 : 상온 10일 저장
발아소요일수(일)	15	12.3	0	

수확후 일수 및 저장상태에 따른 발아 특성(표 5)을 보면 논쟁이냉이 종자는 수확후 10일 경과시라도 종자 보관상태가 건조 또는 습윤에 따라서 발아율이 각각 86.7과 100%로 다르게 나타났고, 또한 건조상태로 상온에서 1년간 경과한 종자는 발아가 되지 않았다. 즉 논쟁이냉이 종자는 채종직후 발아율이 100%를 나타내나 건조와 수확후 경과일수에 비례하여 발아율이 낮아져서 종자 장기 저장에 어려움이 예상되었다. 상온저장 15일 경과된 종자를 대상으로 발아적온을 검정하기 위해 발아온도 15, 25 그리고 35℃에서 발아시험을 한 결과(표 6) 25℃에서 발아율 90%, 발아소요일수 12.3일로 가장 양호한 결과가 나타났고, 15℃에서는 발아율 86.7%, 발아기간 15일로 25℃에서 보다 다소 발아율이 낮고 발아소요일수가 2.7일 증가 되었으며, 35℃에서는 발아율 0%로 나타나 논쟁이냉이 종자는 고온에서 보다 25℃나 그 이하의 저온에서 발아율이 높은 특성을 보였다. 발아율에 광이 미치는 영향을 조사한 결과를 그림 1에서 보면 광(3000lux) 조건하에서 발아율 76.7%, 발아소요일수 10.7일 이었고, 암 조건하에서 발아율 76.7%, 발아소요일수 11일로 광의 유무에 관계없이 비슷한 발아율을 나타내서 논쟁이냉이 종자의 발아시 광의 영향은 없었다. 고추냉이 종자는 전형적인 recalcitrant 종자로 건조시키면 발아되지 않고 저온을 거쳐야 휴면이 타파되어 발아하는 등 저장과 발아에 문제가 많으며(Choi and Lee, 1995), 고추냉이 종자는 실온에서 1주일 건조 저장시는 발아력이 상실되고 5℃ 개방저장시는 3개월 내에 발아력이 상실된다고 하였다(Kim 등, 1996). 보통 야생종자는 호광성 종자이며 이러한 성질은 품종, 성숙환경, 종자의 상태, 저장조건, 발아조건 등에 따라서 달라지는데, 냉이의 발아적온 범위는 호냉성 채소의 발아온도와 비슷한 17℃ 정도이며 발아에 광은 크게 작용하지 않으며(Yang and Kim, 1993), 서양냉이는 암발아 종자이며 발아최적온도는 20~30℃이고 변온인 것이 좋다고 한다(Anderson, 1993). 논쟁이냉이 종자가 건조되면 발아력이 낮아지는 현상은 고추냉이의 종자와 같은 경향이고, 발아온도 15℃에서 25℃ 사이에서 발아율이 높으며 광의 유무에 관계없이 발아되는 특성은 서양냉이 종자와는 상반되지만 냉이 종자와는 같은 경향이 있다.



↓ 발아온도 : 25℃    ↓ : 15 ! 저장  
 그림 1. 광의 유무에 따른 발아율 비교

### 라. 저장 방법에 따른 종자 발아율

종자 채종후 경과 일수 및 상온 건조저장에 따라서 발아율이 낮아지기 때문에 종자의 안전 저장방법을 구명하기 위한 실험결과는 표 7과 표 8에 나타내었다. 저장조건은 건조와 습윤층적 이었고, 저장온도는 0, 3 그리고 8℃였으며, 저장기간은 30, 60 그리고 90일 이었다. 저장조건별로 비교하여 보면 습윤층적 저장보다는 건조저장 조건에서 발아율이 높았고, 저장온도별로 비교하면 건조 저장시에는 8℃ 보다 0 과 3℃에서 발아율이 높았고, 습윤층적 저장시에는 0℃ 보다 3 과 8℃에서 발아율이 높게 나타나서 저장 조건에 따른 적정 저장온도가 다르게 나타났다. 저장기간에 따른 발아율을 보면 습윤층적 저장과 8℃ 건조저장 시에는 저장기간이 길어질수록 발아율이 낮아지는 경향이었고, 0℃와 3℃ 건조저장 시에는 저장기간 30일과 60일 때의 발아율 33.3~38.7% 보다 저장기간 90일에 발아율 58.7~69.3% 로 저장기간이 길어질수록 발아율이 높아지는 결과가 나타났다. 또한 습윤층적 저장 조건에서 저장온도 3℃와 8℃ 에서 저장중 맹아가 출현하였는데(표8) 저장기간 30일에서는 15.8~18.5%이던 맹아율이 저장기간 90일에서는 25.2~32.0%로 더 높은 맹아율을 나타내서 는쟁이냉이 종자의 장기 저장방법으로는 어려울 것으로 생각되었다. 이와 같은 결과를 종합하여 볼 때 는쟁이냉이 종자의 최적 저장조건은 건조, 저온(0, 3℃) 이었다. 종자의 휴면을 타파하는 방법으로는 저온처리(Yang and Kim, 1993)의 효과가 보고 되었는데 이때 수분이 영향을 미친다고 하였고, 피, 올챙이고랭이, 냉이 그리고 닭의장풀 종자는 건조보다는 습윤조건에서 발아율이 높으며, 머느리배꼽은 저장기간이 길수록 발아율이 높다고 하였다. 또한 저온습윤 저장을 할수록 발아적온 폭이 넓어지는 현상이 일어난다는 연구도 있다(George, 1967). 본 실험에서 는쟁이냉이 종자의 발아율이 저온인 0℃ 저장에서 높게 나타난 것과 저장기간이 30일과 60일 보다는 90일에서 발아율이 높았던 결과는 휴면타파가 저온처리에 의해 촉진되며, 저장기간이 길수록 발아율이 높다는 보고와는 일치되는 결과였으나, 습윤층적보다 건조저장에서 발아율이 높았던 것은 습윤조건에서 발아율이 높은 닭의장풀 등의 종자와는 다른 결과로서 는쟁이냉이 종자는 습윤조건에서 저장되면 저장중 맹아 및 종자퇴화가 일어나며 따라서 습윤저장으로는 60일 이상의 저장이 불가능 하다는 것을 알수 있었다.

표 7. 저장 방법별 종자 발아 특성 변화

(단위 : %)

저장조건	저장온도 (°C)	저장기간별 발아율(%)			저장기간별 발아소요일수(일)		
		30일	60일	90일	30일	60일	90일
건조저장	0	38.7 a	33.3 a	69.3 a	8.7	9.0	11.3
	3	38.0 a	34.7 a	58.7 a	9.0	7.3	8.7
	8	14.7 b	14.7 b	8.0 b	6.3	9.0	9.5
습윤저장	0	2.7 b	0 b	0 a	9.5	-	-
	3	15.2 a	6.7 a	2.7 a	6.0	7.0	6.0
	8	14.7 a	6.7 a	1.3 a	7.7	4.5	5.0

표 8. 습윤층적 저장중 맹아율 변화

(단위 : %)

저장조건	저장온도(°C)	저장기간 (일)		
		30	60	90
습윤층적저장	0	0	0	0
	3	15.8	18.6	25.2
	8	18.5	21.3	32.0

(시험 2) 분자마커를 이용한 수집종의 유연관계 구명

가. 논쟁이냉이의 자생지및 종묘 특성

표 9는 논쟁이냉이의 자생지 환경 및 토양특성을 조사한 것이다. 자생지의 토성은 약 산성이고, 유기물 함량은 높은 편이며, 인산집적은 적은 특성을 나타내고 있어 논쟁이냉이는 부엽토 등의 유기물과 깨끗한 계곡물로 자라는 친환경 청정 채소로 판단되었다. 논쟁이냉이의 수집은 7지역에서 20종이었으며, 논쟁이냉이의 자생지는 산간계곡 주변이며, 지역 및 표고가 다양하게 분포하고 있는 것으로 보아서 재배가능 지역은 강원도 전역으로 추정되었고, 다만 노지에서는 차광시설과 관수시설이 구비되어야 할 것으로 생각된다. 논쟁이냉이의 수집 종묘의 형태적 특성(표 10, 사진 5)을 살펴보면 지역별로 그 특성이 다르고 같은 지역내에서도 다른 특성을 보여 주었다. 수집장소는 춘천시 서면, 양구군 대암산, 인제군 설악산과 대암산, 화천군 광덕리와 삼일리, 평창군 봉평면 이었고, 이외 홍천군 서면등 6지역의 자생지를 확인 하였다. 수집된 논쟁이냉이의 엽수는 5~23매 였고, 엽색은 녹색, 담녹색, 농녹색으로 구분이 가능하였고, 초형은 직립, 중간형, 개장형 이었으며, 엽모양은 조금씩 형태가 다르지만 구분하기가 어려움이 있어 사진을 찍어 번호를 부여하여 크게 7형태로 구분하였다(사진4). 엽장과 엽면적은 생육시기에 따라서 달라질수 있는 특징으로서 엽장은 3~7.5cm, 엽면적은 9.88~53.01cm<sup>2</sup> 였다. 오(1994)는 환경(햇볕, 바람, 수분, 토성)에 따른 냉이의 형태변화 연구에서 영양기관(잎 모양과 크기, 뿌리의 굵기와 길이)은 환경변화에 민감하였는데, 생식기관(꽃의 크기, 열매의 모양)은 비교적 환경변화의 영향을 적게 받으므로 생식기관이 식물분류에 좋은 형질이 될 수 있음을 시사한 바 있는데 본 조사에서도 수집종의 종묘특성은 영양기관 위주로 되어 있으므로 가변성을 지니고 있다는 전제를 두어야 되며, 추후 생식기관의 특성을 조사하여야 할 것으로 생각된다.

표 9. 논쟁이냉이 자생지 환경특성

자생지역	수 집 점 수	표고 (m)	자생지 환 경	토양특성			
				pH (1:5)	EC (dS/m)	O.M (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (ppm)
춘천서면	6	150	음지, 습지	6.4	0.145	1.4	30
화천 삼일리	1	570	음지, 습지	6.2	0.400	6.4	60
화천 광덕리	3	480	음지, 습지	5.8	0.130	1.9	35
양구 동면	2	550	음지, 습지	5.1	0.705	17.4	16
인제 북면	3	500	음지, 습지	5.4	0.510	10.6	24
인제 북면	2	400	음지, 습지	6.0	0.140	1.1	39
평창 봉평	3	600	음지, 습지	5.2	0.465	12.8	16

♪ 이외 분포지역 : 화천(명월리 검단계곡, 용담리 용담계곡, 풍산리 해산, 상서면 구운리 만산동 계곡), 철원(대성산), 홍천(서면 대명콘도 주변)

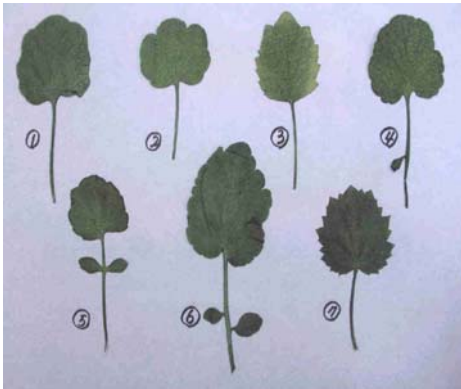


사진 4. 논쟁이냉이 엽모양



사진 5. 수집된 논쟁이냉이 종묘 모습

표 10. 논쟁이냉이 수집종 중요특성

수집 번호	수집지역	엽수 (개)	엽색 (1~5)	초형 (1~3)	엽모양 (1~7)	엽장 (cm)	엽면적 (cm <sup>2</sup> )
1	춘천 서면	12	4	3	4	4.5	17.92
2	"	8	4	3	3	4.1	9.88
3	"	9	4	3	1	4.1	15.41
4	"	5	4	3	5	4.0	17.80
5	"	8	3	3	1	4.3	13.81
6	"	7	4	3	4	5.0	13.82
7	양구 대암산	7	4	3	2	3.5	11.27
8	"	8	4	3	5	3.9	13.02
9	인제 설악산	14	5	1	4	4.1	16.70
10	"	9	3	1	4	4.0	13.27
11	"	13	3	1	3	4.0	12.11
12	인제 대암산	19	4	2	5	5.2	24.30
13	"	23	3	2	6	6.2	23.76
14	화천 광덕리	8	4	3	1	4.6	16.54
15	"	6	5	1	7	4.5	14.11
16	"	13	5	1	4	7.5	53.01
17	화천 삼일리	8	4	2	4	4.2	16.59
18	평창 봉평면	17	5	1	5	3.0	10.56
19	"	12	5	2	3	4.3	12.50
20	"	9	4	2	4	3.9	11.34

♩ 엽색 : 1(농자색) 2(자색) 3(녹색) 4(담녹색) 5(농녹색)

♪ 초형 : 1(직립) 2(중간) 3(개장)

♫ 엽모양 : 1-7 (사진참조)

#### 나. 전기영동분석

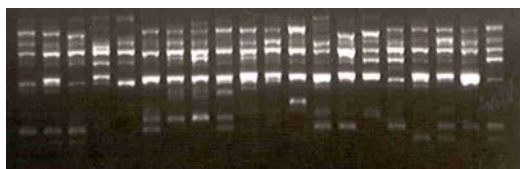


사진 6. The profiles of RAPD analysis using random primer RP603.

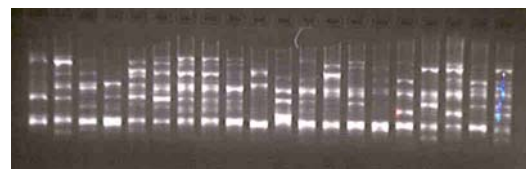


사진 7. The profiles of RAPD analysis using random primer RP610.

20점의 논쟁이유전자원으로부터 얻어진 genomic DNA를 임의 primer 30개를 이용하여 primer를 선발 실험결과 다형성이 확실하다고 인정된 primer는 13개였다. PCR 반응에 사용된 13개의 primer에서 총 70개의 밴드가 관찰되었으며, 다형성을 보이는 밴드의 수는 44개(64%)였고, 각 primer당 3.46 다형성 밴드가 확인되었다(표11). 각 primer마다 2개 밴드(RP617, RP618)에서 14개 밴드(RP603)까지 다양하게 나타났으며 평균 밴드수는 5.38개였다. 이러한 결과는 마늘 유전자원의 전기영동분석 결과 21%가 다형성을 보였는데 평균 2.42 다형성밴드였다는 Song 등(2001)의 보고 보다는 다소 높은 결과로서 논쟁이냉이의 유전자원은 유전적으로 매우 다양하다는 것을 말해주고 있는 것이다.

표 11. The primer used in RAPD analysis and number of molecular markers.

No.	Primers	Sequence	No. of bands observed	No. of polymorphic bands
1	RP602	GCG AAG ACT A	6	4
2	RP603	ACC CAC CGC G	14	12
3	RP605	CCG ATC ATT C	4	1
4	RP606	CGG TCG GCC A	5	4
5	RP608	GAG CCC GAA A	4	2
6	RP609	ACA GCA CCA T	8	6
7	RP610	TTT GCC GCC C	9	5
8	RP611	CCA TCG TAC C	3	2
9	RP614	GTA GTC GCG C	4	2
10	RP615	CGT CGA GCG G	5	2
11	RP617	CGG ACT ATG T	2	1
12	RP618	CGG ACT ATG T	2	1
13	RP620	TTG CGC CCG G	4	3
Total			70	45

#### 다. 유사도 분석

확실한 밴드를 기본으로 다형성의 밴드가 검출되는 것은 1, 검출되지 않는 것은 0으로 점수를 매기어 컴퓨터에 입력한 후 분석에 이용하였다. 유사성 분석 결과를 그림 2에 나타내었다. 20점의 논쟁이냉이 유전자원은 73%의 유사성이 관찰되었으며 유사성 82% 수준에서는 크게 6개의 그룹으로 분류되었다(표 12, 그림 2). 그중 각 그룹별로는 I그룹 6종(춘천 서면 5종, 평창 봉평면 1종), II그룹 6종(춘천 서면, 양구 대암산, 인제 대암산, 화천 광덕리와 삼일리, 평창 봉평면 각 1종), III그룹 4종(인제 설악산 3종, 인제 대암산 1종), IV그룹 1종(양구 대암산), V그룹 2종(화천 광덕리), VI그룹 1종(평창 봉평면) 이었다(그림 2). I그룹에서 6종중 5종이 서면 수집종이며, III그룹 4종에서 3종이 인제군 설악산 수집종이며, V그룹 2종이 화천 광덕리 수집종 이라는 결과는 논쟁이냉이가 지역내 유사성이 있다는 것을 말해주는 것이며, 또한 지역간에 서로다른 그룹이 형성되고 그룹II에서 6종이 모두 서로 다른 수집지역이라는 결과는 한종의 논쟁이냉이가 지역간 이동이 있었거나 원래 하나의 종에서 지역적으로 조금씩 다른 유전변이가 일어났다고 추측되어진다

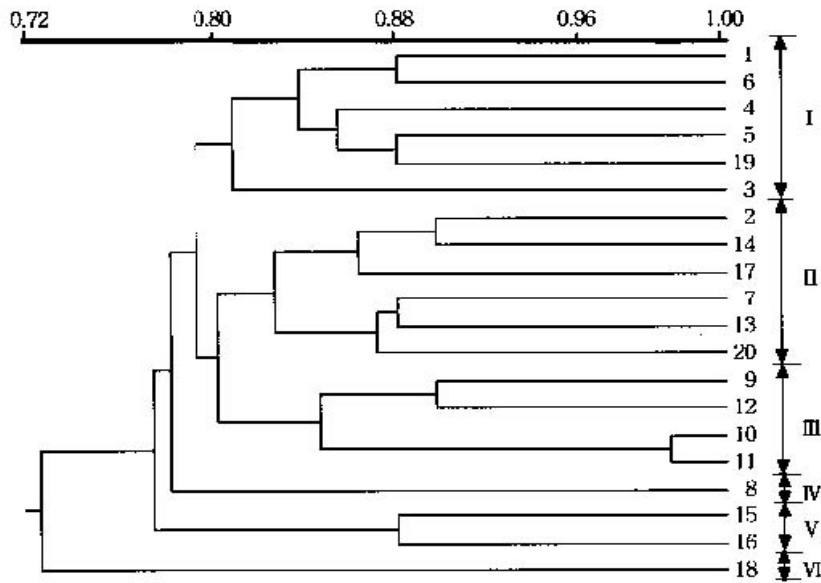


그림 2. The similarity of NTSYS analysis with RAPD molecular markers. In the similarity of 82% level, 6 groups were classed.

표 12. Distribution of collection sites in each varietal groups classified by cluster analysis based on RAPD analysis.

Variety group	Varieties	Collection site
G I	1, 3, 4, 5, 6, 19	춘천 서면(5), 평창 봉평면(1)
G II	2, 7, 13, 14, 17, 20	춘천 서면(1), 양구 대암산(1), 인제 대암산(1), 화천 광덕리(1), 화천 삼일리(1), 평창 봉평면(1)
G III	9, 10, 11, 12	인제 설악산(3), 인제 대암산(1)
G IV	8	양구 대암산(1)
G V	15, 16	화천 광덕리(2)
G VI	18	평창 봉평면(1)

## 4. 적 요

본 연구는 춘채로서 가치가 인정되는 논쟁이냉이를 재배화 하기 위해 종자 발아특성 및 종묘 특성을 구명하고, RAPD 분석을 이용해서 강원도에서 수집한 논쟁이냉이 수집종 20종을 분류하고자 시험을 수행하였다.

### (시험1) 종묘 및 종자 발아특성 연구

- 가. 개화기는 4월말부터 5월 중순이며, 꼬투리당 8.2개의 종자가 생기며 주당 개화일수는 12일임
- 나. 발아 최적온도는 25℃이며, 광이 발아특성에 미치는 영향은 없었음
- 다. 건조저장시 저장 온도가 높고 저장기간이 길수록 발아율이 낮아짐
- 라. 습윤층적저장시 발아율이 매우 낮고, 저장중 자연 발아율이 높았음
- 마. 0℃, 건조저장 90일후 발아율 69%로 가장 높아서 최적 저장방법은 저온·건조임

### (시험2) 수집종 형태적 특성 및 유연관계 구명시험

- 가. 자생지는 산간 계곡 주변이며 토성은 약산성이며, 유기물 함량은 높은 편이며, 인산질 적은 적었음
- 나. 논쟁이냉이 종묘 수집은 7지역 20종이었으며, 형태적으로 초형, 엽색, 엽모양 등으로 구분이 가능하였음
- 다. 강원도 춘천 서면을 비롯한 7지역에서 수집한 논쟁이냉이 20종을 RAPD 분석한 결과 100개의 primer 중 다형성이 확실하다고 인정되는 13개의 primer가 선발되었고, 총 69개의 밴드 중 다형성을 보이는 밴드는 44개였으며, 평균 밴드수는 5.38개 였다. 그리고 20종의 논쟁이냉이는 73%의 유사성이 관찰되었으며, 유사성 82% 수준에서는 6 그룹이 형성되었다. 그리고 지역간 유전변이가 다양하고 지역내 유사성이 큰 특징을 지내고 있었음

## 5. 인용문헌

- Anderson RN 1968. Germination and establishment of weeds for experimental purposes. Weed Sci. Soc. Amer. p. 236.
- Choi SY, Lee KS 1995. Effect of plant growth regulators on the germination and seeding growth of *Wasabia japonica* Matsum seeds. Korean J. Medicinal Crop Sci. 3(2): 111-115.
- Doyle JJ Doyle JL 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11-15.
- Fritsch P, Hanson MA, Spore CD, Pack PE, Reiseberg LH 1993. Constancy of RAPD primer amplification strength among distantly related taxa of flowering plants. Plant Molecular Biology 11: 10-20.
- George DW 1967. High temperature seed dormancy in wheat(*Triticum aestivum* L.). Crop Sci. 7: 249-253.

- Hong JI, Kweon MH, Ra KS, Sung HC, Yang HC 1995. Free radical scavenging activities and inhibitory effects on xanthine oxidase by ethanol extract from *Capsella bursa-pastoris*. Agricultural Chemistry and Biotechnology. 38(6): 590-595.
- Kim SK, Kim DW, Whang CJ, Nam SS 1996. Studies on dormancy breaking sowing time and inhibition of germination during storage of seed in *Wasabia japonica* Matsum. Korean J. Medicinal Crop Sci. 4(1): 64-67.
- Lee MY, Mo SY, Kim DH, Oh SE, Ko BS 2001. Discrimination and genetic relationship of *Adenophorae triphylla*(Thunb) A.DC. var. japonica Hara and *Codonopsis lanceolata* trauty using RAPD analysis. Korean J. Medicinal Crop Sci. 9(3): 205-210.
- Mo Y. M. 2000. Standard agricultural textbook-60. Wild plant cultivation. Rural Development Administration. p133-137.
- Oh YC, Lee CS 1994. Environmental variation of *Capsella bursa-pastoris*(L.) Medic. Korea J. Plant Tax. 24(1): 1-11.
- Oh YC, Lee CS 1994. Environmental variation of *Capsella bursa-pastoris*(L.) Medic. Kor. J. Plant Tax. 24(1): 1-11.
- Ryu SH, Park JY, Park KJ, Huh NK, Min HK 2001. Relationship between genetic distance and hybrid performance of black waxy corn(*Zea mays* L.). Korean J. Breed. 33(2): 95-103.
- Song YS, Choi IH, Kojima A, Hirai M, Chkoi WC 2001. Classification of garlic(*Allium sativum* L.) germplasm by RAPD analysis. Korean J. Breed. 33(1): 7-14.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.
- Yang YJ, Kim YS 1993. Seed germination of korean wild medicinal plants: *Capsella bursa-pastoris*, *Persicaria perfoliata* and *Commelina communis*. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 34(5): 315-319.

## 6. 연구결과 활용계획

는쟁이냉이 실생번식 및 종자저장법 ..... 영농활용(2001)