

과제구분	기본연구	Code : LS0205	수행구분	전반기	연구기간	'00 ~ '02(완결)
연구과제명	특산작목의 품종개발 연구			연구책임자	권 순 배	
세부과제명	고추냉이 품종분류 및 주요형질관련 DNA표지인자 개발					
연구원별임무						
구 분	소 속	성 명	담 당 임 무			
세부과제책임자	특화작목개발시험장	허 수 정	연구과제 총괄수행			
공동연구자	"	권 순 배	자료분석 협조			
	작물경영연구과	변 학 수	시료수집 협조			
색인용어	고추냉이, 품종분류, DNA표지인자					

## ABSTRACT

Randomly amplified polymorphic DNA banding patterns based on polymerase chain reaction(PCR) analysis were used to assess the genetic variations within *Wasabia japonica* cultivar. A collection 11 cultivars were resemble each other morphological characters. PCR amplification using 60 primers resulted in selection 14 primers. Primers OPA17 and OPC05 were found to be valuable molecular markers to evaluate the variations in *Wasabia japonica*.

### 1. 연구배경

고추냉이(*Wasabia japonica* Mastum)는 일본이 원산지로서 구주로부터 북해도에 이르는 지역에 넓게 분포된 다년생 십자화과 초본류이다. 수정양식이 타가수정을 원칙으로하나 자가수정도 가능하며, 이러한 복잡한 수정양식 때문에 고추냉이의 품종명은 원산지인 일본에서도 각각의 산지명에서 명명되거나 재배과정 중에서 선발된 것이 많기 때문에 육성과정에서 불확실한 것이 많다. 따라서 형태적으로 다른 것이 동일한 품종이 되기도 하고, 형태적으로 같은 것이 다른 품종이 되기도 한다(足立, 1987).

고추냉이는 근경과 전초에 독특한 매운 성분을 함유하고 있어 향신료로서 사용될 뿐만 아니라 비타민C의 산화억제작용, 베타 아밀라제 활성촉진, 식욕증진, 비타민 B1 합성촉진, 식후 체내 이상 발효 억제, 항균, 항암, 혈전 용해 등의 효과가 있어(Fuke et al, 1994) 건강식품으로도 각광을 받고 있으며, 국내에서도 식생활의 고급화로 인한 소비가 증가하고 있다. 또한 국내 고추냉이 재배 성공으로 고소득 작목으로 각광받고 있으나 기후에 대한 적응성에 차이가 있을 수 있으며 대부분이 일본에서 도입된 품종으로 국내에 재배환경에 적합한 품종의 선발 및 육종이 요구된다. 그러나 고추냉이의 특성상 외부의 형태적 특성만으로 품종을 구분하기 어려움으로 환경적 요인을 배제하여 유전적 형질을 분석하여 구분하고자 식물의 DNA를 이용한 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNAs) 표지인자를 개발하여 초기에 교잡여부를 확인, 육종기간을 단축할 수 있도록 하기 위해 본 실험이 수행되었다.

## 2. 재료 및 방법

본 실험에 사용한 재료는 일본에서 도입된 고추냉이 7품종과 울릉도 자생종 그리고 전북농업기술원에서 분양 받은 도입 교배계통 3종을 대상으로 하여 온실 및 하우스에서 개체를 유지하여 잎을 생체 재료로 사용하였다.

고추냉이 11종의 잎 절편을 액체질소를 이용하여 마쇄한 후 재료로 사용하였으며 genomic DNA 추출 및 증폭 등은 유 등(1996)의 방법을 변형하여 사용하였다. Random primer는 Operon사의 OPA01~20, OPC01~20, OPD01~20 primer를 사용하였고, PCR 반응조건은 94℃에서 1분, 35℃에서 1분, 72℃에서 2분을 한 cycle로 45 cycle을 반복한 다음 72℃에서 10분 더 유지시켜 주었다. 증폭되어 분리된 밴드의 분자량은 HindIII로 절단된 lambda DNA를 사용하여 추정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

형태적으로는 구분이 어려운 고추냉이 11품종에서 얻어진 genomic DNA를 10개의 염기서열로 구성된 60개의 random primer를 이용한 primer 선발실험 결과 대부분의 primer에서 증폭을 일으켰으며, 품종간에 동일하거나(그림 1) 서로 다른 밴드양상(그림 2)을 나타냈다. 증폭된 primer중 서로 다른 양상을 나타낸 primer의 염기서열은 표 1과 같다.

M I II III IV V VI VII VIII IX X XI

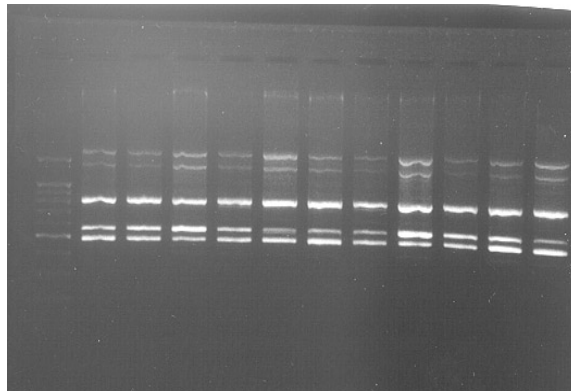


그림 1. OPD02에서 동일한 양상으로 증폭된 DNA( I 전복A, II 전복B, III 전복C, IV 달마, V 히메니시키, VI 후지달마, VII 사야토리, VIII 도근재래, IX 도근3호, X 울릉도자생종, XI 사와).

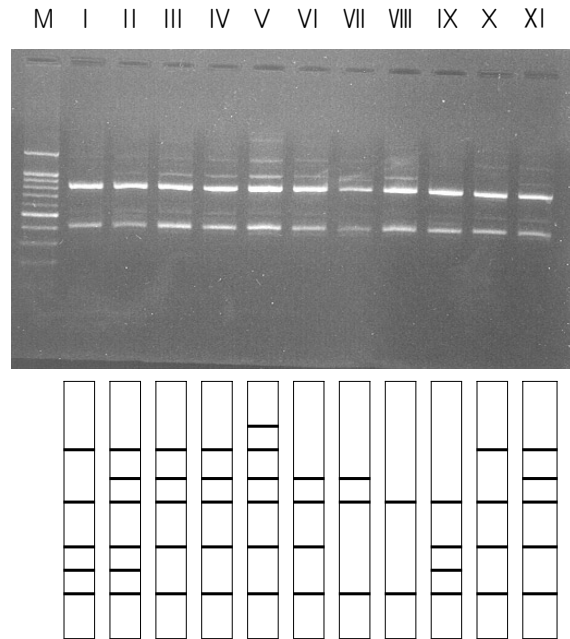


그림 2. OPA17에서 다양한 양상으로 증폭된 DNA( I 전복A, II 전복B, III 전복C, IV 달마, V 히메니시키, VI 후지달마, VII 사야토리, VIII 도근재래, IX 도근3호, X 울릉도자생종, XI 사와).

표 1. 품종 분류용으로 선발된 random primer 염기서열 목록

Primers	Sequence(5'→3')	특이band를 나타낸 품종	Primers	Sequence(5'→3')	특이band를 나타낸 품종
OPA02	TGCCGAGCTG	VII, IX	OPC06	GAACGGACTC	VII
OPA04	AATCGGGCTG	VII, XI	OPC07	GTCCCGACGA	
OPA10	GTGATCGCAG	IV, VII, X	OPC15	GACGGATCAG	I
OPA13	CAGCACCCAC	V, VI	OPC19	GTTGCCAGCC	V
OPA16	AGCCAGCGAA	X	OPC20	ACTTCGCCAC	
OPA17	GACCGCTTGT	I, II, V, VI, VII, VIII, IX, X	OPD03	GTCGCCGTCA	VII
OPC05	GATGACCGCC	III, IV, V, IX, X, XI	OPD05	TGAGCGGACA	IV, V, VI

※ I 전복A, II 전복B, III 전복C, IV 달마, V 히메니시키, VI 후지달마, VII 사야토리, VIII 도근재래, IX 도근3호, X 울릉도자생종, XI 사와

일반적으로 primer의 구성 염기는 DNA 증폭에 영향을 미치며(Williams at al. 1990), 특히 G+C의 수가 DNA 증폭에 영향을 준다는 결과와 마찬가지로(Fritsch at al. 1993) 본 연구 결과에서도 11품종 모두에서 증폭이 일어난 primer는 G+C의 빈도가 60%이상으로 높았다. 11품종 모두에서 증폭이 일어난 random primer 중 OPD02는 품종에 관계없이 모두

똑같은 밴드 양상을 나타냈으나 OPA17, OPC05를 이용한 결과에서는 다른 primer에 비해 품종간에 특히 뚜렷한 차이를 보여(표 1) 품종 분류용 표지인자로서 효율적으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

#### 4. 적 요

고추냉이의 품종을 구분할 수 있는 DNA marker를 선별하기 위해 울릉도자생종 등 11품종의 고추냉이를 대상으로 PCR 방법을 이용하여 DNA 수준에서 수행하였다. 이들 품종들은 잎의 형태, 초장 등 외부형태로는 구분이 되지 않았고, 사용된 60개의 primer 중 품종 구분이 가능한 14개의 primer를 선별하였으며, 이들 중 OPA17과 OPC05 경우는 다수 품종에서 특이적인 band를 나타내어 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

#### 5. 인용문헌

- Fritsch, P., M.A. Hanson, C.D. Spore, P.E., Pack and L.H. Reisberg. 1993 Constancy of RAPD primer amplification strength among distantly related of flowering plants. *Plant Molecular Biology*. 11:10 ~ 20.
- Fuke Y., Ohishi Y, Iwashita K., Ono H. and Shinohara K., 1994. Growth Suppression of MKT-28 Human Stomach Cancer Cells by Wasabi(*Eutrema wasabi* Maxim). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 41(10):709 ~ 711.
- 足立昭三. 1987. *ワサビ栽培*. 秀潤社. pp13 ~ 21.
- Williams, J.G.K., M.K. Hanafey, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Meth. Enzymol*. 218:704 ~ 740.
- 유기억, 이우철, 김남수, 김종화, 임학태. 1996. RAPD 방법에 의한 금강초롱꽃 (*Hanabusaya asiatica*)과 근연분류군의 비교연구. *한국원예학회지*. 37(2):324 ~ 328.

#### 6. 연구결과 활용제목

- 고추냉이 품종 구분을 위한 특이 마커 선별.....(2002, 기초)
- RAPD를 이용한 고추냉이의 품종간 유연관계 분석.....(2003, 논문발표)