

RAPD 방법에 의한 자생종 민들레류와 귀화종 민들레류의 유연관계 분석

Genetic Relationship among the Native *Taraxacum* and Naturalized *Taraxacum* species by the RAPD Analysis

중앙대학교 생물자원과학계열
안영희 · 박대식 · 정규환

I. 연구목적

민들레속 식물은 국화과(Compositae)의 민들레아과(Liguliflorae)에 속하는 쌍자엽성 다년생 초본류이다. 전 세계적으로 약 200여종이 알려져 있는데 주로 동아시아 지역에 집중적으로 분포한다고 보고되어 있다. 우리나라에는 2종의 귀화종을 포함하여 6종이 전국적으로 생육하고 있다. 대부분의 민들레속 식물은 햇볕이 잘 드는 길 가장자리나 인위적인 간섭이 심한 개활된 초지대 등에 흔히 자라는 식물로 예로부터 식용을 비롯하여 약용, 관상용 등으로 이용되던 친숙한 식물이다.

민들레(*Taraxacum mongolicum*), 좁민들레(*T. hallasanensis*), 산민들레(*T. ohwianum*), 현민들레(*T. coreanum*) 종은 한국 고유의 자생종이며 서양민들레(*T. officinale*) 및 붉은씨서양민들레(*T. laevigatum*)는 유럽에서 들어온 귀화종으로 알려져 있다. 최근 지구사회의 교역이 활발해지고 생활형태가 국제화됨에 따라 우리나라에도 다양한 종의 귀화식물들이 유입되고 있다. 귀화식물의 대부분은 생태전략적으로 성질이 강건하고 번식효율이 상대적으로 높아 자생종과의 경쟁에 의해 종종 고유 생태계의 교란을 일으킨다. 현재 우리나라의 대부분 도시지역에는 귀화식물인 서양민들레 및 붉은씨서양민들레가 차지하고 있다. 현재 우리나라에서 자생종 민들레류가 급격히 사라지고 있다. 이와 같은 결과는 단순히 귀화종 민들레류와의 생태적인 경쟁에서 자생종들이 도태되었거나 유전적으로 종간의 교잡에 의한 열성인자로 작용하는 자생종 민들레류의 형질적인 도태 가능성이 있다. 그러나 민들레속 식물의 형태학적인 분류가 까다롭기 때문에 외관상의 관찰만으론 그 구체적인 내용을 밝히기 어렵다. 그러므로 본 연구에서는 특정 DNA를 단시간에 증폭시켜 생물 종간 또는 개체간의 유전적 변이를 규명할 수 있는 RAPD 분석법을 이용하여 전국적으로 분포하고 있는 우리나라 민들레류의 유전적인 유연관계를 밝힘으로서 민들레의 분포 실태를 파악하고 금후 귀화식물 관리체계를 세우고자 한다.

II. 재료 및 방법

우리나라의 전국에 자생하는 민들레류를 비롯하여 미국과 영국에서 채집한 서양민들레 및 몽고민들레를 시료로 사용하였다. RAPD 분석을 위해 민들레류의 신선한 잎을 채취하여 4℃의 냉암실에 72시간 예비처리하여 -80℃의 Deep Freezer에 저장하였다.

(1) DNA 추출

전처리된 잎 조직을 마쇄하여 Extraction 용액(0.1M Tris-HCl(pH 7.5), 50mM EDTA(pH 8.0), 0.2M NaCl, 2% SDS, 1% β -MeEtoH)혼합 후 65°C에서 1시간 처리하여 같은 양의 Phenol/Chloroform(1:1)을 넣어 혼합 후 수회의 원심분리하여 DNA를 침전시킨 후 상등액을 취하고 최종적으로 70% Ethanol을 섞어 10분간 원심분리한 침전물을 실온에서 건조시켜 TE buffer로 녹여 4°C에 사용하였다.

(2) DNA 증폭

10개의 염기 서열로 구성된 Random Primers(Promega, USA)를 이용한 각 민들레종들의 Genomic DNA, Taq Polymerase 등의 혼합액을 DNA Thermal Cycle에서 95°C, 5분 Denaturation하여 95°C에 1분, 35°C에 2분, 72°C에 2분간 55 Cycle을 반복하여 72°C로 10분간 Extension하여 특정 DNA band들을 증폭하였다. 증폭된 DNA는 EtBr을 포함한 1.5% Agarose gel에서 전기영동하여 UV transilluminator로 출현한 밴드를 확인한 후, Polaroid 카메라로 촬영하였다. 증폭되어 분리된 밴드의 분자량은 λ -Hind III DNA stand marker로 추정하였다.

(3) 종간의 유연관계 분석

분자량에 따른 밴드의 유무를 확인하고 기초자료행렬을 작성한 후 이를 근거로 Treecon(Yves Van de Peer, University of Antwerp (UIA), 1994, 1998)을 이용하여 유사도 값을 구하고, UPGMA(Unweighted pair-group method with arithmetic average. 비가중 산술법) 방법으로 phenogram을 작성하여 비교 검토하였다.

III. 결과 및 고찰

Primer Screening 통해 선발된 30개의 Primer를 이용하여 RAPD를 행한 결과, Polymorphic band 수는 91개로 나타났다. 증폭된 DNA 단편들의 크기는 125-2322bp 사이의 범위에서 나타났다(Figure 1). 이 Band를 분석하여 작성한 Dendrogram에 의한 민들레속 수집 종간의 비유사계수(Table 1)의 결과를 이용해서 Phenogram을 작성하였다(Figure 2). Figure 2에서 RAPD분석결과는 크게 자생종과 귀화종의 두 개의 군으로 나타났다. I 군에는 서양민들레, 붉은씨 서양민들레의 귀화종이었으며, II 군은 민들레, 산민들레, 좁민들레, 흰민들레로 분류되었다. I 군에 속하는 것은 개화월수가 II 군에 비해 현저히 길고 총포의 방향, 털의 유무, 개화생리 및 종자의 색깔이 다르며, II 군에 속하는 흰민들레와 좁민들레는 다른 민들레종과는 화색과 크기에서 확연한 차이를 보여 다른 군으로 분류될 수도 있다고 사료된다. 비유사계수(Table 1)의 결과에서는 국내 및 영국, 미국에 분포하는 서양민들레는 가장 낮은 값인 0.09821을 나타내어 거의 동일한 종으로 판명되었고, 좁민들레와 서양민들레간의 비유사계수가 0.44724로서 가장 다르다고 나타났

다. 또한 민들레와 산민들레의 유연관계가 가까운 것으로 나타났으며, 좁민들레와 흰민들레는 자생 민들레 그룹에 속하지만 유전적인 거리는 먼 것으로 밝혀졌으며, 그 밖에 조사되지 않은 외부형태와 대사작용등에 특이적으로 작용하는 형질의 발현에 직·간접적으로 관여하는 단편일 가능성이 있으므로 생물체의 형태적 차이는 유전자를 구성하고 있는 DNA의 염기서열의 차이와 밀접한 관련이 있으므로 보다 정확한 유연관계를 밝히기 위해서는 RFLP방법이나 fragment sequence를 통해 분자유전학적 계통분류에 의한 분석이 요구된다고 사료된다.

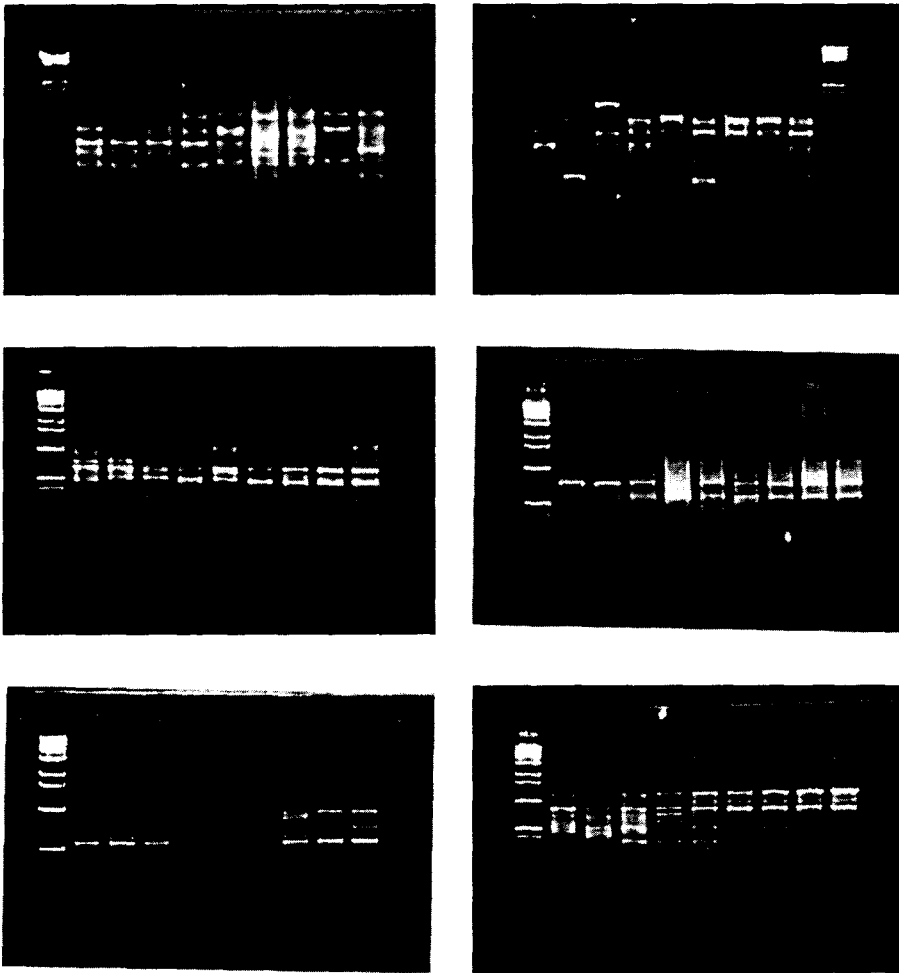


Figure 1. RAPD band profiles of the squasah separated on by 1.5% agarose gel electrophoresis

- * line 1: DNA size marker(λ -HindIII), 2: *Taraxacum mongolicum*(몽고), 3: *T. mongolicum*,
 4: *T. ohvianum*, 5: *T. hallasanensis*, 6: *T. coreanum*, 7: *T. laevigatum*, 8: *T. officinale*,
 9: *T. officinale*(영국), 10: *T. officinale*(미국)

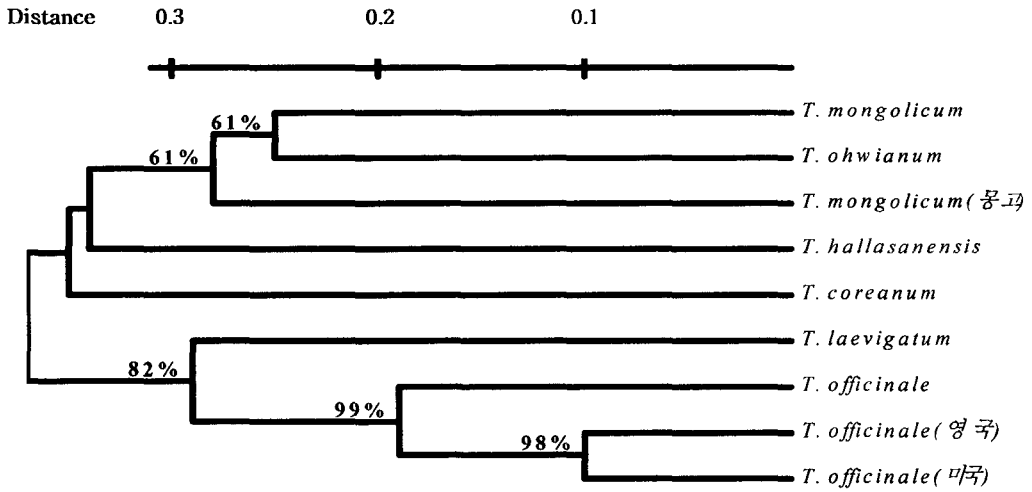


Figure 2. Phenogram generated from Nie and Li's coefficient demonstrating the relationship among *Taraxacum* species based on RAPD

Table 1. Dissimilarity matrix for intraspecific group of *Taraxacum* species

T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	
27.103	0.000	24.762	39.394	32.057	35.185	29.778	34.529	39.910	T2
28.713	24.762	0.000	30.108	35.025	37.255	38.028	35.545	38.389	T3
31.579	39.394	30.108	0.000	38.378	36.458	44.279	41.709	44.724	T4
36.318	32.057	35.025	38.378	0.000	34.975	35.849	36.190	38.095	T5
31.731	35.185	37.255	36.458	34.975	0.000	30.594	26.267	29.954	T6
33.641	29.778	38.028	44.279	35.849	30.594	0.000	16.814	22.124	T7
32.093	34.529	35.545	41.709	36.190	26.267	16.814	0.000	9.821	T8
35.814	39.910	38.389	44.724	38.095	29.954	22.124	9.821	0.000	T9

* T1: *Taraxacum mogolicum*(몽고), T2: *T. mogolicum*(국내), T3: *T. ohwianum*, T4: *T. hallaisanensis*
T5: *T. coreanum*, T6: *T. laevigatum*, T7: *T. laevigatum*(국내), T8: *T. laevigatum*(영국),
T9: *T. laevigatum*(미국)