

8. 韓國과 日本에 自生하는 더덕의 Isozyme變異에 關한 基礎學的 研究

Estimations of naturally *Codonopsis lanceolata* Benth.
et Hook. fil. polymorphic variations are zone in
Korea and Japan

緒 言

Campanulaceae科에 屬하는 더덕(*Codonopsis lanceolata* Benth. et Hook, fil.)은 多年生 蔓性植物로서 주로 深山의 腐植質이 豊富한 砂質土壤에서 서시하며, 種子繁殖을 하는 것으로 한반도 全域, 中國의 北部 및 日本地域에 分布되어 있다.⁹⁾ 藥用人蔘과 같이 主成分이 Saponin이며, 炭水化物·Vitamin B₁, B₂·蛋白質 等の 營養成分이 多量 含有되어 있어, 藥用植物로서, 清熱解毒·去痰排膿·養陰潤肺·抗癌等の 藥理作用에 利用價値가 높히 評價되어 있다.

그러나, 더덕의 植物分類學上 品種群의 分類와 栽培·交配試驗에 關한 諸研究 및 生化學的 研究가 사실상 거의 報告되어 있지 않은 실정이다.

Isozyme은 本來, 基質特異性을 같이 하는 酵素種의 分子多型을 意味하는 것으로, 現在, 國際酵素委員會(Enzyme Committee, EC로 略稱)에 登錄되어 있는 酵素種은 約 3,000여종으로, 대부분이 動物 및 微生物에서 發見된 것으로, Zymogram化된 Isozyme은 全體的으로 130種을 넘지 않고, 植物에 있어서도 60種前後로 報告되어 있다.¹⁾ 더덕에 關한 Isozyme研究는 尹등(1988)⁸⁾에 의하여 韓國의 7自生種 및 日本의 3自生種의 報告가 있으나, 供試材料가 적은 이유로 地域間 變異分析에 이르지

못하였다.

本 研究는 韓國과 日本地域의 自生 더덕을 等電點電氣泳動法을 利用하여, Isozyme banding pattern을 檢討하여 더덕의 地域間 變異分析에 관한 基礎學的 研究를 目的으로, 若干의 知見을 얻었기에 報告한다.

材料 및 方法

東京農業學校 作物學研究室의 研究圃場에서 栽培試驗中の 韓國의 9自生種과 1個體의 栽培種 및 日本의 5自生種(Table 1)의 잎을 供試하였다.

材料는 잎의 發生位置別로 採集하여 酵素蛋白質 變異의 程度가 比較的 安定된 最上端의 新鮮한 잎을 使用하였다. 採集된 잎은 蒸溜水로 2~3回 洗淨한 後, Homogenizer에 液體窒素(-196°C)를 適量부어 破碎한 Sample을 Micro tube에 옮긴 다음 buffer(100mM Mops, 0.05M EDTA(Na₂), 50mM β-Mercaptoethanol, 1% PVP(40))를 넣어(W/W), 시험관 Mixer로 完全混合하여 4°C에서 15,000rpm으로 30分間 遠心分離한 上清液을 2×8mm의 濾過紙(Whatman No.2)에 抽出液을 吸水시켰다.^{4,5)} 分畫酵素는 -20°C에 各各 保存하였다.

電氣泳動法은 Saravis et al(1979)⁶⁾의 報告에 準據한 平坂簿層 Agarose 等電點電氣泳動法이며, 泳動用 Gel은 0.83% D-Sorbitol 및 0.05% Agarose IEF(Pharmacia社)를 27ml의 蒸溜水에 完全溶解 後, 65°C에서 兩性擔體(Ampholine, pH 3.5-10 : LKB社)를 1ml 混合하여 127×245mm의 Gel Bond film上에 展着시켜 4°C에서 20分間 Gel化 시켰다.⁴⁾ Power supply는 800V(5分間) 및 1,000V(60分間)에서 計 65分間 泳動하였으며, 電極液은 十極側에 0.85%의 H₃PO₄를 포함한 30% Sucrose液을, 一極側에는 1%의 EDTA(Na₂)를 使用하였다.

染色液의 組成^{1,2,7)}은 Table은 2와 같으며 檢出된 Zymogram의 pH로 各 band의

位置를 確認한 後, 一部の 再現性이 없는 band를 分析에서 除外하고, 알칼리側에서 부터 Zymogram No.를 命名하였다.

Table 1. Collection data for samples of *Codonopsis lanceolata* examined electrophoretically

KOREA	茂 豊	Mu Poong
	白雲山	Back Un San
	茂 朱(自生種)	Mu Joo(wild Type)
	茂 朱(栽培種)	Mu Joo(Cultivar)
	平 昌	Pyung Chang
	珍 島	Chin Do
	俗離山	Sok Ri San
	洪 川	Hong Chun
	智異山	Chi Ri San
	德積島	Duck Chuck Do
JAPAN	富 山	Toyama
	北海道	Hokkaido
	秋 田	Akita
	德 度	Tokusima
	筑 波	Tsukuba

結果 및 考察

1. NDH

Fig. 1에 表示하는 것과 같이 pH5.0~6.0사이에서 全部 3개의 band가 檢出되었다. NDH-1은 俗離山과 德積島에서, NDH-2는 band의 濃淡의 差는 있지만 全品種에서 보였으며, NDH-3은 白雲山, 珍島 및 洪川地域의 것에서 檢出되었다.

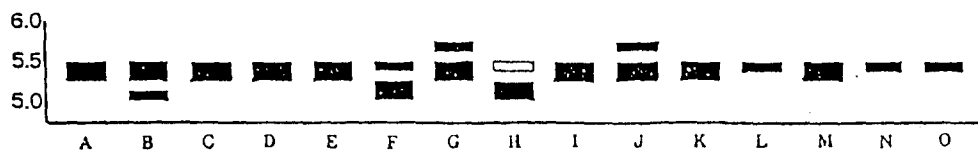


Fig 1. Electrophoretic patterns of NDH in *C. lanceolata*

A. Mupoong B. Backunsan C. Mujoo(Wild tape) D. Mujoo(Cultivar) E. Pyungchang F. Chindo G. Sokrisan H. Hongchun I. Chirisan J. Duckchuckdo K. Toyama L. Hokkaido M. Akita N. Tokusima O. Tsukuba

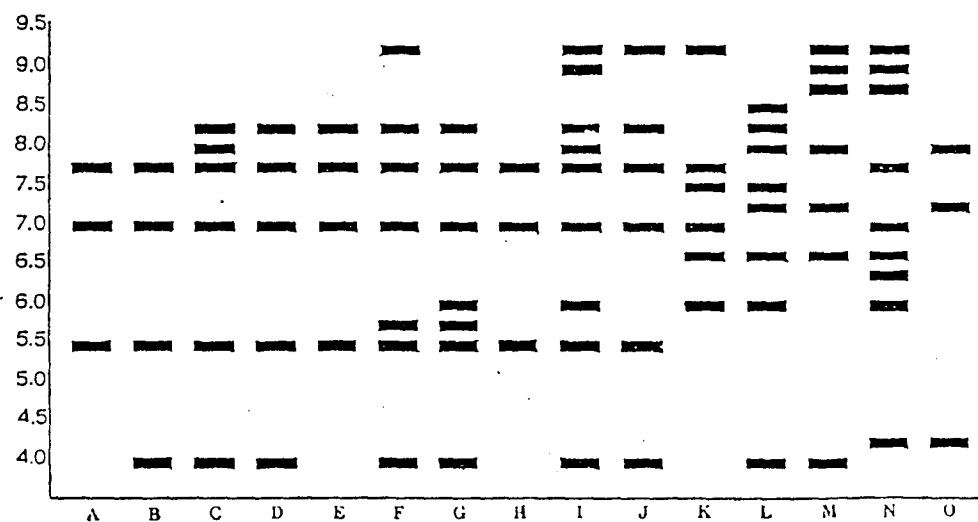


Fig 2. Electrophoretic patterns of α -Est in *C. lanceolata*

A. Mupoong B. Backunsan C. Mujoo(Wild tape) D. Mujoo(Cultivar) E. Pyungchang F. Chindo G. Sokrisan H. Hongchun I. Chirisan J. Duckchuckdo K. Toyama L. Hokkaido M. Akita N. Tokusima O. Tsukuba

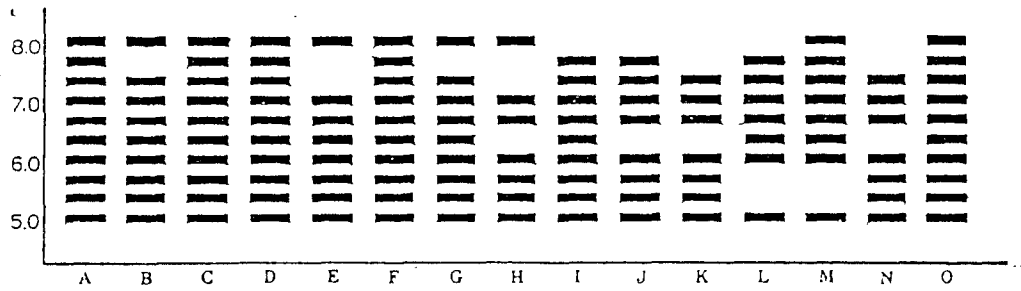


Fig 3. Electrophoretic patterns of β -Alp in *C. lanceolata*

A. Mupoong B. Backunsan C. Mujoo(Wild tape) D. Mujoo(Cultivar) E. Pyungchang F. Chindo G. Sokrisan H. Hongchun I. Chirisan J. Duckchuckdo K. Toyama L. Hokkaido M. Akita N. Tokusima O. Tsukuba



Fig 4. Electrophoretic patterns of Lap in *C. lanceolata*

A. Mupoong B. Backunsan C. Mujoo(Wild tape) D. Mujoo(Cultivar) E. Pyungchang F. Chindo G. Sokrisan H. Hongchun I. Chirisan J. Duckchuckdo K. Toyama L. Hokkaido M. Akita N. Tokusima O. Tsukuba

2. α -Est

pH4.0~9.5사이 에 全部 17개의 band가 檢出되었다.(Fig.2)

韓國地域의 10種에 한하여 Est-7, -10 및 -15가 共通 band로 보여졌고, Est-14는 韓國地域의 것에서만, Est-3, -4, -8, -9, -11, -12 및 -16은 日本地域의 것에서 檢出되었으며, 以外の band는 各各 多型으로 보여졌다.

Est-7, -10 및 -15는 茂豊 및 洪川에서, Est-6 및 -9는 日本의 北海道・秋田 및 筑波가, Est-1, -2 및 -3은 徳積島 및 秋田가, Est-7 및 -10은 富山 및 徳積島에서 共通되었다.

3. Alp

Fig.3에 表하는 것과 같이 pH5.0~8.0사이에 10개의 band가 檢出되었다.

Alp-4, -5, -7 및 -10의 band는 全品種에서 共通 band로 檢出되었고, Alp-8 및 -9는 韓國地域의 것에서만, Alp-3은 日本地域의 것에서만 共通 band로 檢出되었다. 茂豊・茂朱(自生種)・茂朱(栽培種)・珍島 및 筑波가 같은 band였고, 白雲山 및 俗離山이 같은 位置의 band로 檢出되었다.

4. Lap

Fig.4와 같이 pH5.0~6.0사이에 3개의 band가 檢出되었다. Lap-1은 韓國의 德積島와 日本의 筑波에서, Lap-2는 全品種에서, Lap-3은 茂豊・白雲山・茂朱(野生種)・平昌・珍島・俗離山・智異山 및 日本의 富山에서 檢出되었다.

α -Est에서 尹등은 pH3-9 사이의 14개의 band가 檢出된 것으로 報告하였으나, 本實驗의 結果, pH4-9.5사이에 17개의 band가 檢出되었으며, 平昌・德積島 및 筑波가 band의 位置가 달랐으며, Lap에서도 똑같은 差가 있었다. 이와같이 尹등의 報告와 本實驗의 差는, 植物의 器官 特異性에서 오는 것으로 判斷되었으며¹⁾, α -Est와 같이 band數의 顯著한 差異는 Est가 一般的으로 幼組織에서 活性이 높은것으로 알려져¹⁾ 尹등과의 band數의 差異가 說明된다.

以上の 結果를 Table 3을 通하여 分析해 볼때 NDH0-2와 Alp-4, -5, -7 및 -10 Lap-2가 全供試材料에서 共通된 band로 檢出된 것은, 韓國과 日本地域에 自生하는 더덕의 認識 band로 생각되며, 韓國地域에서만 檢出된 NDH-1 및 -3, Est-14, Alp-8 및 -9와, 日本地域에서만 檢出된 Est-3, -4, -8, -9, -11, -12 및 -16과 Alp-3 등은 韓國과 日本地域에 自生하는 地域群의 特徵으로 여겨지며, 地域群의 判別에 活用할 수 있음이 시사된다. 今後 韓國과 日本地域에 分布되어 있는 더덕의 自生種을

多數 供試함으로서 本 結果가 더욱 確實해 질것으로 생각된다.

要 約

本 研究는 韓國의 9自生種과 1個體의 栽培種 및 日本의 5自生種을 等電點電氣泳動法을 利用하여, 더덕의 地域間 多型分析에 關한 基礎學的 研究를 檢討한 것으로, 다음과 같은 知見을 얻었다.

1. NDH-2, Alp-4, -5, -7 및 -10, Lap-2는 全 供試材料에서 共通 band로 檢出되었다.
2. NDH-1 및 -3, Est-14, Alp-8 및 -9가 韓國地域에서만 檢出되었다.
3. Est-3, -4, -8, -9, -11, -12 및 -16 Alp-3은 日本地域에서만 檢出되었다.
4. 2와 3의 結果는 韓國과 日本地域에 自生하는 더덕의 地域群의 特徵으로 여겨졌으며, 地域群 判別에 活用할 수 있음이 시사되었다.

引 用 文 獻

1. 青木幸一郎・永井 裕. 最新 電氣泳動法, 廣川書店.
2. GUNNAR NIELSEN and HANNE BAY JOHANSEN. Proposal for the identification of barley varieties based on the genotypes for 2 hordein and 39 isoenzyme loci of 47 reference varieties. *Euphytica* 35, 717-728. 1986.
3. JINN LIH CHERN and TAIRA KATAYAMA. Genetic analysis and geographical distribution of acid phosphatase isozyme in cultivated rice. *Oryza sativa* L. *Jpn. J. Genet.* 57, 143-153.
4. PARK, SANG YONG., K. IZUMI, C. TAKAGI, T.SOMEYA, Y. KIMIZUKA and

- M. YAMAMOTO. Genetic studies on the Isozyme Proteins in Radish. I. Detect of Isozyme. Japan. J. Breed. Separate Vol. 39(2), 1989.
5. PARK, SANG YONG., K. IZUMI, C. TAKAGI. T. SOMEYA, Y. KIMIZUKA and M. YAMAMOTO. Genetic studies on the Isozyme Proteins in Radish II. Polymorphic in Isozyme. Japan, J. Bareded Separate Vol 39(2) 1989.
6. SARAIVIS, C.A., M. O'BRIEN and N. ZAMCHECK, J. of Immunol. Methods, 29, 97-100. 1979.
7. TANKSLEY, S.D and T.J.ORTON. Isozyme, in Plant Genetics and Breeding. Part A, Elsevier Science Publishers, 469-516. 1983.
8. YOON, EUI SOO., SANG REA LEE, YANG SOO LEE, Estimation of Genetic Relationships and Characterization among *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hook. Fil. Geographical Variety by the Electrophoretic Patterns of Isozymes. J. Oriental Bot. Res. 1(1)34-41. 1988.
9. 中藥大辭典, 第2卷. 上海科學技術出版社 小學館 編, 1985.