

DNA 지문분석을 통한 형개(*Schizonepeta tenuifolia*)의 유연관계 분석
 배갈마, 김명겸, 노종훈, 양덕춘*

Phylogenetic Analysis of Hyung-Gae (*Schizonepeta tenuifolia*)
 by DNA fingerprinting technique

Baigalmaa Jigden, Myung Kyum Kim, Jong-Hun Noh, Deok-Chun Yang*

Korean Ginseng Center for Most Valuable Products & Ginseng Genetic Resource
 Bank, Kyung Hee University,

1 Seocheon-dong, Giheung-gu Yongin-si, Gyeonggi-do 449-701, South Korea

Objectives

형개(*Schizonepeta tenuifolia* var *Japonica* KITAGAWA)는 중국이 원산이며 우리나라에 자생하지 않는 식물이었다. 중국에서 전량 수입하여 한약재로 쓰던것을 우리나라 남부지방에서 최근 재배하기 시작하였다. 현재 형개속(genus)에는 *S.tenuifolia* 와 *S.multifida* 의 두 종이 있는데 *S.tenuifolia* 종이 한약재로 유통되고 있다. 형개는 출하규모가 영세하기 때문에 유통기능의 상당부분을 수집상에 의존할 수밖에 없는데 거래의 기준이 되는 품질기준과 표준규격화가 부족하며, 저가인 수입한약재와 차별적 유통이 어려운 실정이며 이 두가지의 명확한 구별 방법이 없다. 현재 우리나라의 한약시장은 저가의 중국산 형개(35.9%)와 뉴질랜드가 18.8%, 소련이 7.0%로 비교적 많은 비중을 차지하고, 그 밖에 베트남(6.8%), 북한(4.6%), 캄보디아(3.2%), 라오스(3.9%), 미얀마, 태일랜드(2.8%) 캐나다(2.6%) 등의 순으로 수입을 하고 있다. 이런 상황에서 어지럽게 난무하고 있는 형개의 실정을 확실히 하기 위해 이 두 종류의 근연관계를 확실히 할 필요성이 증대되고 있다.

Material and methods

■ 식물재료

작물과학원과 경희대학교 농장, 식약청 약초시험장에서 채취한 형개 식물체와 현재 시중에서 유통되고 있는 형개(한국산, 중국산) 한약재를 구입하여 액체질소로 얼린 후 유발에서 마쇄하고 Plant DNA isolation kit(GeneAll 社)를 이용하여 DNA를 추출하였다. agarose gel과 UV spectrophotometer를 이용하여 정량하였다.

■ *trnL-F* 염기서열을 결정하기 위해, *trnL-F* 영역의 universal primer인 c와 f 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다. 프라이머의 염기서열은 c (5'-CGA AAT CGG TAG ACG CTA-3')와 f (5'-ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG-3')이었으며 (Taberlet et al, 1991), PCR condition은 pre-denaturation 94°C, 2 min; denaturation 94°C, 60 sec; annealing 56°C, 30 sec; extension 72°C, 120 sec; 34 cycles 이었다.

■ ITS 염기서열을 결정하기 위해, ITS 영역의 universal primer인 5F 와 4R 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다. 프라이머의 염기서열은 5F (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')와 4R(5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')이었으며, PCR condition은 pre-denaturation 96°C, 2 min; denaturation 96°C, 30 sec; annealing 60°C, 30 sec; extension 72°C, 120 sec; 35 cycles 이었다.

주저자 연락처 : 양덕춘 E-mail : dcyang@khu.ac.kr Tel : 010-2483-5434

Results and discussions

■ 형개의 염기서열을 얻은 후, NCBI에서 BLAST를 수행하여 근연관계에 있는 염기서열을 모두 수집하였다. CLUSTAL X 프로그램을 이용하여 MEGA 프로그램을 이용하여 phylogenetic tree를 작성하였다.

■ ITS 염기서열에서 얻어진 phylogenetic tree는 trnL-F 염기서열에서 얻어진 phylogenetic tree와 비슷한 양상을 보이고 있으며 두 계통수에서 *Glechoma* 속과 *Bupleurum* 속은 같은 clade를 형성했고, *Dracocephalum* 속과 *Hyssopus* 속은 같은 clade를 형성했다. 형개는 이 두 clade와 *Agastache* 속 clade와 가장 가까웠다.

■ 최근 NCBI Taxonomy browser에서는 형개가 꿀풀목 (*Lamiales*) 꿀풀과 (*Lamiaceae*)로 분류되어 있다. 본 연구에서 형개의 trnL-F 계통수와 ITS 계통수 결과가 유사한 결론을 도출하였는데 이것은 DNA 염기서열을 근거로 한 NCBI Taxonomy browser의 분류와 일치하고 있었다.

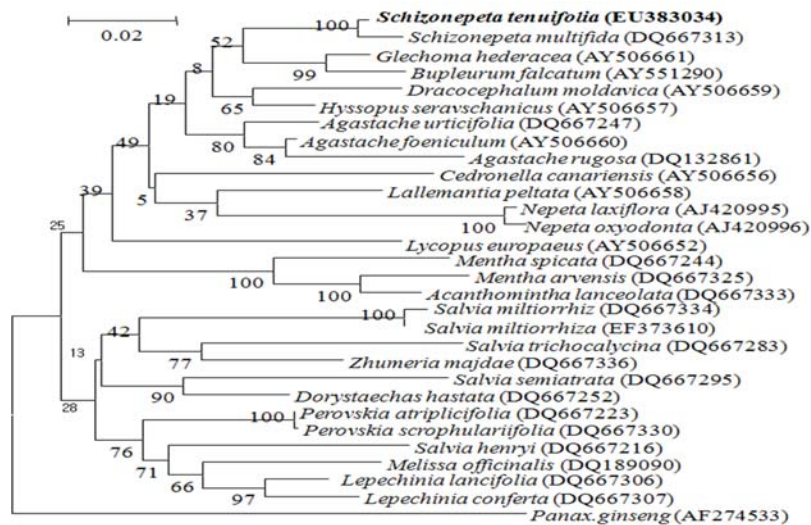


Fig.1. ITS 염기서열을 이용한 phylogenetic tree (Neighbor-Joining method)

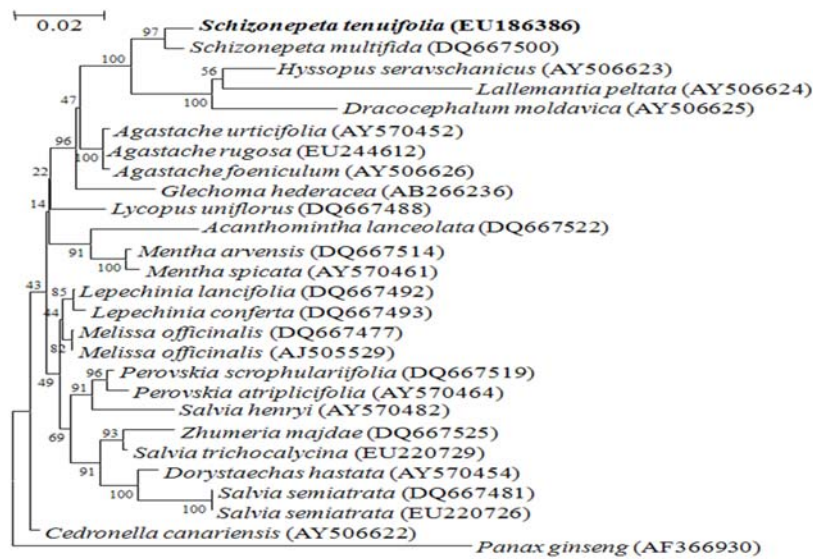


Fig.2. trnL-F 염기서열을 이용한 phylogenetic tree (Neighbor-Joining method)