

## 當歸類 韓藥材의 유전자 鑑別 研究

최호영, 정유헌, 고지완  
상지대학교 한의과대학

### Abstract

#### PCR-mediated Fingerprinting to Identify Dang-Gui(當歸)

Ho-Young Choi, Yoo-Hun Chung, Ji-Wan Koh  
College of Oriental Medicine, Sangji University

*Radix Angelicae Gigantis* is sweet and pungent in flavor, warm in property. Its effects are tonifying the blood, promoting blood circulation, relieving pain and moistening the bowels. Its indications are blood deficiency syndrome characterized by sallow complexion, dizziness, irregular menstruation, amenorrhea, pains due to blood stasis, and rheumatic arthralgia. Using genes of *A. gigas*, *A. acutiloba*, and *A. sinensis*, the origin of which is identified, as criteria, we analysed many kinds of *Angelica* with RAPD and RFLP on ITS region, in order to compare and discriminate genes extracted from crude drugs 'Dang-gui', that are produced in Korea on the one hand and imported on the other hand. We reached the following conclusion.

1. We could extract DNA from both original plant and dried plant.
2. Especially Uniprimer #1, Uniprimer #2, Uniprimer #4 and Uniprimer #9 were useful.
3. Among the restriction enzymes Sma I, Msp I, Hae III, and Hinf I, used in this experiment, four restriction enzymes except Hinf I could be used properly in discriminating all samples used as *A. gigas*.

We think that this result can be used as a method of discriminating crude drug of *Angelica L.* related drugs, and used in controlling quality and circulation. (*J Korean Oriental Med* 2000;20(4):11-15)

**Keywords :** RAPD, RFLP, *Angelica*,

### 緒 論

當歸는 神農本草經 中品에 처음으로 수재되었으며, 甘辛溫한 性味와 心肝脾經에 歸經하여, 補血和血 調經止痛 潤燥滑腸의 효능으로 月經不順 經閉腹痛

結聚 崩漏 血虛頭痛 眩暈 萎痺 腸燥便難 癰疽瘡瘍 跌打損傷 등의 치료에 임상에서 상용하는 한약재이다."

현재 한국에서 유통되고 있는 當歸類 한약재의 기원은 참당귀 *A. gigas*, 當歸 *A. sinensis*, 大和當歸 *A. acutiloba*이다. 그 중 참당귀 *Angelica gigas*와 大和當歸 *A. acutiloba*는 한국에서 재배되어 유통되고 있으며, 當歸 *A. sinensis*는 중국에서 일부 밀수되어 유통되고 있다.

· 접수 : 2000년 2월 1일 · 수정 : 2월 25일 · 채택 : 3월 20일  
· 교신저자 : 최호영, 강원도 원주시 오산동 산41  
(T. 0371-730-0669)

또한 當歸에 대하여 한국<sup>2)</sup>에서는 *A. gigas Nakai* (*Umbelliferae*)의 뿌리로 생약명은 ANGELICAE GIGANTIS RADIX, 일본<sup>3)</sup>에서는 *A. acutiloba Kitagawa* 및 동속근연식물(*Umbelliferae*)의 根으로 생약명은 ANGELICAE RADIX, 중국<sup>4)</sup>에서는 *A. sinensis* (Oliv.) Diels의 乾燥根으로 생약명은 RADIX ANGELICAE SINENSIS로 각국에서 규정하고 있는 한약재 當歸의 기원식물은 모두 다르다.

이렇게 기원이 다른 當歸類 한약재의 품질 및 효능이 차이가 있을 것이라는 것은 매우 당연하나, 현재 유통 및 품질관리가 구별되어 이루어지고 있지 않다.

한약재의 감별은 현재까지 주로 외부 형태와 내부 해부학적 특징 및 이화학적 분석에 의존하여 이루어져 왔으나, 식물체가 나타내는 형태는 복잡한 대사 경로의 최종 산물로서 유전적으로 독립된 다른 변화가 유사한 형태의 변화로 나타날 수 있는 경우가 있으므로, 계통학적으로 완전히 다른 식물이 유사한 형태를 지니게 된다. 특히 일부분만이 사용되는 한약재의 경우, 식물체가 지니는 전체적인 특징을 비교할 수 없기 때문에 일부 특정 부위만을 대상으로 식물종을 구별하는 것이 거의 불가능한 경우가 많다. 더욱이 當歸類 한약재처럼 주로 절편으로 유통되는 경우는 그 감별이 한층 불가능하게 되며, 향후 절편뿐만 아니라 가루내어 유통되는 경우는 더욱 어려워진다<sup>5)</sup>.

그러나, 식물체의 유전적 성질은 환경에 따라 변화되지 않고, 유전에 의하여 전달되는 고유한 정보이기

때문에 유전물질이 되는 핵산(DNA)의 분석은 식물체의 확인 혹은 종간 구별에 훌륭한 도구로서 활용되고 있다. 또한 산지와 채취시간이 다른 동일한 식물의 경우에도 그 PCR 산물의 DNA fingerprinting은 기본적으로 같으며, 이것은 PCR 기술이 한약재 감별법에 있어서 온정성과 재현성을 가지고 있음을 나타내는 것이라고 하였다<sup>6)</sup>.

이와 관련하여 최근 苦地膽類 약재<sup>7)</sup>, 人蔘類 약재<sup>8)</sup>, 으아리屬 약재<sup>9)</sup>와 木藍類 약재<sup>10)</sup>, 鬱金類 한약재<sup>11)</sup>, 白芷類 한약재<sup>12)</sup>를 RAPD 방법으로 분석한 바 있으며, 防風類 한약재<sup>13)</sup>를 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)방법으로 분석한 바 있다. 그러므로, 當歸類 한약재의 감별에 이러한 유전자 감식법은 매우 유용할 것으로 판단된다.

그러므로, 저자는 당귀류 한약재의 유전자 감별방법을 제시하기 위하여, RAPD 방법과 ITS(internal transcribed spacer) 부위의 RFLP방법을 이용하여 의미있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

### 材料 및 方法

#### 재료

DNA 분석을 위하여 *A. gigas*, *A. acutiloba*, *A. sinensis*는 한국에서 재배되는 것파(G, A, A1, S), 중국에서 재배되는 식물체(S1)를 채집하여 동정하였으며, 한약재는 국내에서 재배되고 있는 것파(G1, A2), 수입되어 유통되고 있는 것(G2, S2)을 구입하여 사용하였다(Table 1).

**Table 1.** Materials Used for DNA Analysis. Voucher Are College of Oriental Medicine in S.J.U.

Species	sample	voucher	origin	Locality	Date
<i>A. gigas</i>	plant(G)	K9901	cultivated	Kr : Chungnam: Seosan	Sep. 1999
AgR	sliced root(G1)	K9902	purchased	Kr : orgin Chungbuk (origin: Bongwha)	Oct. 1998
AgR	sliced root(G2)	K9903	purchased	Kr : local market(origin : chinal)	Sep. 1999
<i>A. acutiloba</i>	plant(A)	K9904	cultivated	Kr : Chungnam: Seosan	Sep. 1999
<i>A. acutiloba</i>	plant(A1)	K9905	cultivated	Kr : Kwangwon: Wheingge	Sep. 1999
AR	sliced root(A2)	K9906	purchased	Kr : local market	Oct. 1999
<i>A. sinensis</i>	plant(S)	K9907	cultivated	Kr : Kwangwon: Wheingge	Sep. 1999
<i>A. sinensis</i>	plant(S1)	K9908	cultivated	Cn : Jilin : Baekdu mt.	Oct. 1999
AsR	sliced root(S2)	K9910	purchased	Kr : local market(origin : china)	Sep. 1999

AgR ; Angelicae Gigantis Radix, AaR ; Angelicae Radix, AsR ; Angelicae Sinensis Radix ; Kr ; Korea, Cn ; China.

실험에 사용된 식물체 및 한약재는 일부 확증표본을 제작하여 상지대학교 한의과대학 본초학교실(S.J.U.)에 보관하였다.

#### DNA 추출 및 정제

시료의 DNA의 추출에는 plant isolation QIAGEN kit (QIAGEN Inc. USA)를 이용하였다. 시료를 액체 질소에 넣고 막자사발을 이용하여 분쇄한 후 약 25mg씩 1.5ml microcentrifuge tube에 넣은 후, 추출시약(Buffer AP1)을 400 $\mu$ l를 넣은 후 4 $\mu$ l의 RNase A stock solution(100mg/ml)을 첨가하여 vortex를 이용하여 혼합하였다. 그리고 65 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시킨 후 130 $\mu$ l 침전시약(Buffer AP2)을 첨가하여 혼합한 후 얼음 위에서 5분간 반응시키고, 1200rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 그 후 상층액을 QIAshredder spin column을 이용하여 이물질 제거하고, DNA 결합시약(Buffer AP3) 0.5 volume과 100% ethanol을 1 volume을 첨가하고, 피펫을 이용하여 혼합하였다. 그리고 DNeasy mini column으로 통과시켜 column의 membrane에 DNA를 결합시켰다. 그 후 column을 세척시약(Buffer AW) 500 $\mu$ l를 2회 통과시켜 세척한 후 column membrane을 건조시키고, 65 $^{\circ}$ C로 미리 데운 추출시약(Buffer AE)을 100 $\mu$ l씩 2회 통과시켜 membrane에 결합된 DNA를 추출한다.

DNA의 추출 상태는 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 관찰하였으며, DNA양은 spectrophotometer를 이용하여 280nm와 260nm의 흡광도를 이용하여 계산하였으며, 그의 비율이 1.7이상인 DNA만을 실험에 사용하였다.

#### PCR-RAPD

SRILS Uniprimer Kit(서린과학(주))를 이용하였다. 100ng/ $\mu$ l의 primer 와 20ng의 genomic DNA용액에 0.3mM의 dNTP Mixture, 2.5mM의 MgCl<sub>2</sub>, 10 $\times$  buffer(100mM Tris-HCl(pH 8.3), 500mM KCl), 2.5unit의 Taq polymerase(Takara co.)에 D.W를 50 $\mu$ l가 되도록 첨가하였다. 증폭조건은 Techne사의 GENIUS 기종을 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 denaturation을 1분, 55 $^{\circ}$ C에

서 annealing을 1분, 72 $^{\circ}$ C에서 extension을 2분으로 총 35cycle을 수행하였으며, 초기 denaturation은 5분간 시켰으며, 마지막 extension은 7분간 시켰다. 증폭된 DNA는 작은 크기의 DNA분리에 적합한 2.5% low melting agarose gel로 전기영동한 다음 ethidium bromide(EtBr)로 염색하여 UV light 상에서 비교 관찰하였다.

#### ITS region의 PCR

PCR primer는 'ITS1(internal transcribed spacer 1, 5' -TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')' 과 'ITS4(internal transcribed spacer 4, 5' -TCCTCCGCTTA TTGATATGC-3')' 를 사용하였다.<sup>13)</sup> 반응액은 각각 20pmol의 ITS primer 와 50ng의 genomic DNA용액에 0.3mM의 dNTP Mixture, 2.5mM의 MgCl<sub>2</sub>, 10 $\times$  buffer(100mM Tris-HCl(pH 8.3), 500mM KCl), 2.5unit의 Taq polymerase(Takara Co.)에 증류수를 50 $\mu$ l가 되도록 첨가하였다.

증폭은 Techne사의 GENIUS 기종을 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 전처리를 한 후, 94 $^{\circ}$ C에서 1분간 denaturation, 55 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 2분간 합성으로 이루어지는 온도변이 과정을 모두 30cycle을 반복하였으며, 72 $^{\circ}$ C에서 7분간 최종 합성 과정을 시켰다.

증폭된 DNA는 작은 크기의 DNA분리에 적합한 2.5% low melting agarose gel로 전기영동한 다음 EtBr(ethidium bromide)로 염색하여 UV light에서 비교 관찰하였다.

#### ITS region의 RFLP

RFLP 분석을 위해 PCR 산물을 먼저 Jetsorb gel extraction kit(GENOMED Co.)을 이용하여 정제하였다. 그 방법으로는 agarose gel에서 절단한 DNA조각 100mg을 gel solubilization buffer(A1) 300 $\mu$ l와 DNA binding 용액(Jetsorb suspension buffer) 10 $\mu$ l를 첨가하여 vortex를 이용하여 잘 혼합한 후 완전히 녹을 수 있도록 50 $^{\circ}$ C에서 5분마다 잘 혼합 될 수 있도록 섞어주면서 15분간 배양하였다. 그 후 10,000 $\times$ g 이상

에서 30초간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. pellet에 남아 있는 salt를 제거하기 위하여 buffer(A1) 과 buffer(A2)를 각각 300 $\mu$ l을 첨가하고, vortex를 이용하여 잘 혼합한 후 30초간 원심분리하여 상층액을 제거하고, pellet을 공기 중에서 건조하였다.

완전히 건조시킨 후 1 $\times$  TE buffer 20 $\mu$ l를 첨가하여 50 $^{\circ}$ C에서 5분간 배양하면서 DNA를 추출한 후 30초간 원심분리하여 상층액을 새로운 tube에 옮겨 RFLP 분석에 사용하였다.

정제된 DAN의 양과 순도를 확인하기 위하여, 1% agarose gel에서 100V의 정전압으로 전기영동 한 후 EtBr 염색법을 사용하여 DNA 밴드를 확인하였고, DNA 함량은 bacteriophage lamda DNA를 일련의 농도로 배열하여 상대적인 비교로 계산하였다.

총 5종류의 제한 효소(Sma I, Msp I, Hha I, Hae I, Hinf I)가 ITS region의 RFLP 분석에 이용되었다. PCR product 5 $\mu$ l에 각 제한효소 5unit와 reaction buffer를 첨가하여 최종 부피가 20 $\mu$ l가 되도록 하고, 2-3시간 37 $^{\circ}$ C에서 배양하여 절단하였다. 증폭된 ITS region을 제한효소로 절단한 후 얻어진 DNA단편은 2% agarose gel에서 전기영동하여 EtBr 염색으로 확인하였다.

### 結果 및 考察

본 실험결과 원식물의 신선한 잎에서 추출된 DNA 뿐만 아니라(G, A, A1, S, S1), 當歸類 한약재에서도(G1, G2, A2, S2) 비교적 깨끗한 밴드가 보이므로, 한약재의 보존상태가 양호했음을 알 수 있었다. 즉 건조된 한약재에서도 신선한 잎에서 추출된 genomic DNA와 거의 유사한 품질의 DNA를 추출할 수 있었다(Fig. 2).

한국, 중국, 일본에서 유통되는 當歸類 한약재의 유전자를 비교 감식하기 위하여 총 12개의 uniprimer를 이용하였다. Uniprimer는 매우 높은 재현성을 보였는데, 이것은 PCR 반응시 annealing 온도가 55 $^{\circ}$ C이상을 유지할 수 있었기 때문이라고 생각된다.

Uniprimer #1의 경우 일당귀류의 920bp에서 특이

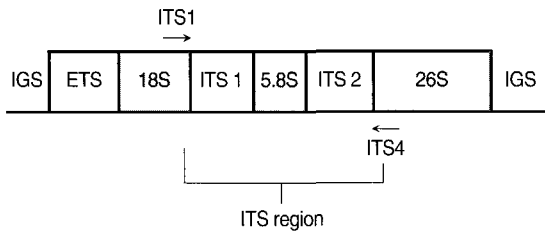
밴드가 나타났다(Fig. 3). Uniprimer #2의 경우 토당귀류의 1210bp와 일당귀류의 870bp와 560bp에서 특이 밴드가 나타났다(Fig. 4). Uniprimer #4의 경우 일당귀류의 920bp에서 특이 밴드가 나타났다(Fig 5). Uniprimer #6의 경우 토당귀류에서 1080bp에서 특이 밴드가 검출되었다(Fig. 6). Uniprimer #10의 경우 일당귀류의 1250bp에서 특이 밴드가 나타났다(Fig. 7).

즉, 모든 시료에 있어서 primer에 따라 특이 밴드가 검출되어 각 종별로 뚜렷한 차이가 나타나는 경우도 있었으나, 대부분 거의 유사한 양상을 나타내는 것은, 當歸類 한약재들이 모두 同屬인 Angelica 속에 속해 있기 때문으로 생각된다

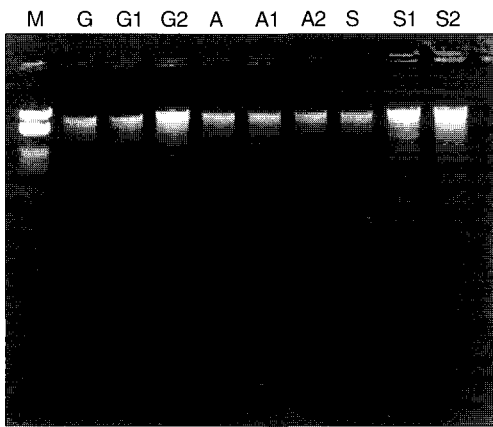
이러한 RAPD 방법은 迅速하고 有效하며 微量으로도 분석 가능하고 편리한 장점<sup>7)</sup>이 있어서, 다른 방법보다 폭 넓게 사용할 수 있으며, 또한 본 실험에서 사용된 random primer는 재현성이 있었으므로, 분석의 신뢰성을 더욱 높일 수 있었다.

핵 rDNA(nrDNA)는 수 개 내지 수천 개의 동일한 전사 단위들이 계속적으로 반복되면서 intergenic spacer들로 연결되어 있는 형태로 존재하는데, 식물체에서는 각 전사단위가 18S, 5.8S 그리고 26S gene 이 차례로 두 개의 internal transcribed spacer(ITS 1 & 2)로 연결되고, 다시 각각의 단위들은 intergenic spacer(IGS)에 의하여 연결되어 반복적으로 나열되어 있다<sup>14)</sup>. 또한 ITS 부위와 같이 빨리 진화하는 DNA 구간은 제한효소를 이용한 RFLP 분석을 통하여, 식물종간의 유전적 차이, 한약재의 원식물 규명, 한약재의 감별 등에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

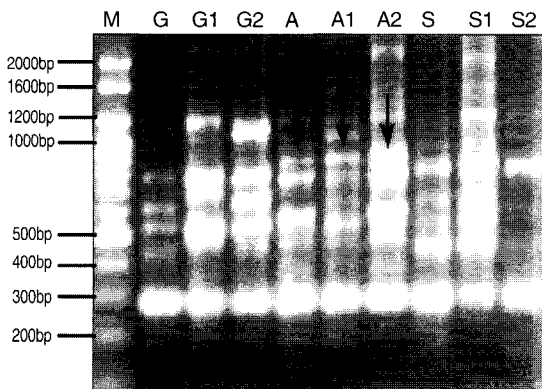
본 연구에서는 ITS 부위의 다형현상을 분석하여, RFLP maker로 사용하기 위하여 PCR 기법을 이용하여 각 원식물 시료에서 분리 정제한 DNA의 ITS 부위를 특정 염기서열을 갖는 primer로 증폭한 후 증폭 산물을 5종류의 제한효소를 사용하여 처리하였다. 우선 당귀류 한약재의 원식물에서 얻어진 DNA 시료에서 증폭된 ITS 부위의 PCR 산물은 약 700bp의 DNA 단편으로 검출되어 ITS 부위의 PCR 증폭이 성공적으로 수행되었음을 알 수 있었다(Fig. 8). 그 후 증폭된 ITS 부위의 RFLP 분석에 이용된 제한효소 중에서



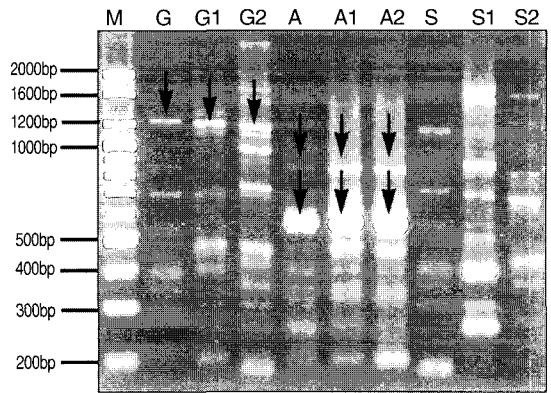
**Fig. 1.** The location of primers for PCR amplification and sequencing. (ETS, external transcribed spacer; ITS 2, internal transcribed spacer 2; IGS, intergenic spacer; 18S, 5.8S, 26S, coding regions of nuclear ribosomal DNA; arrow, the location of each primer.)



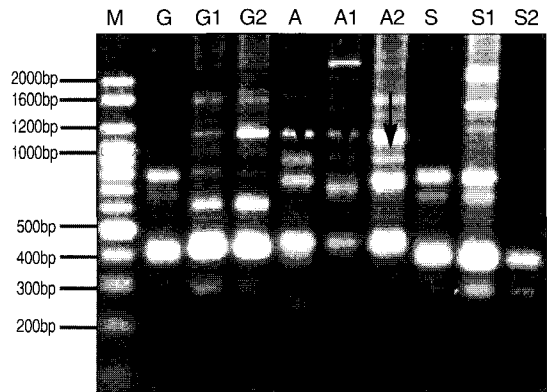
**Fig. 2.** Genomic DNA isolated by QIAGEN plant isolation method. Electrophoresis was carried out on 0.7% agarose gel and stained with EtBr. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, DNA/EcoR+Hind(bioneer co.).



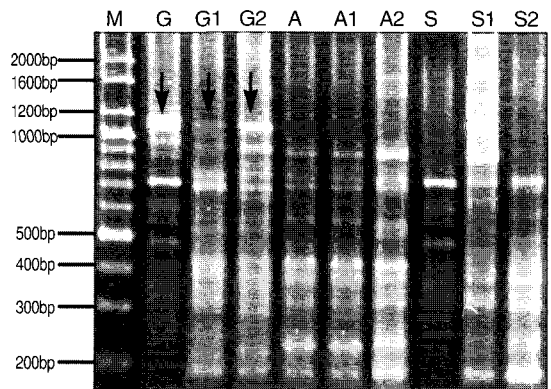
**Fig. 3.** RAPD patterns obtained with uniprimer #1. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder(bioneer co.).



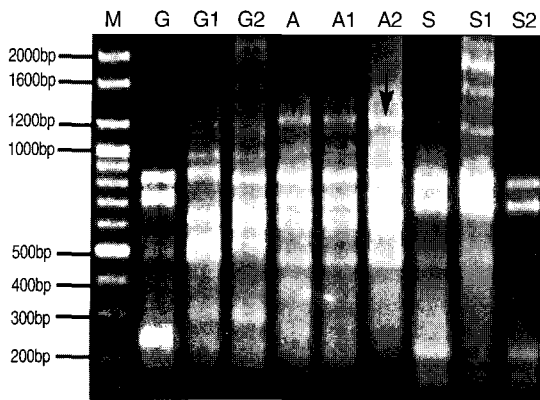
**Fig. 4.** RAPD patterns obtained with uniprimer #2. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder(bioneer co.).



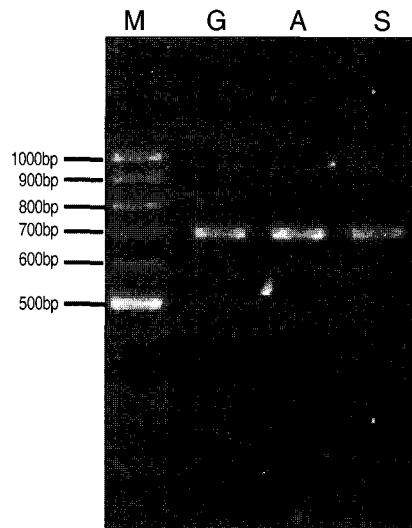
**Fig. 5.** RAPD patterns obtained with uniprimer #4. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder(bioneer co.).



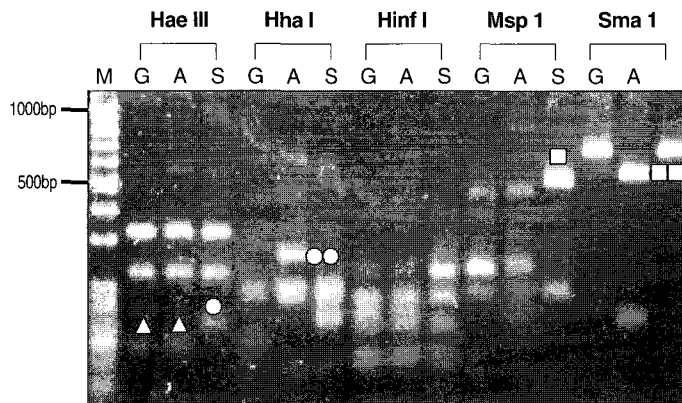
**Fig. 6.** RAPD patterns obtained with uniprimer #6. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder(bioneer co.).



**Fig. 7.** RAPD patterns obtained with uniprimer #10. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder(bioneer co.).



**Fig. 8.** Amplification of ITS region by using ITS1 and ITS4 primers. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 25-100 base pair ladder(bioneer co.).



**Fig. 9.** PCR product of ITS region digested with Hae III, Hha I, Hinf I, Msp I, Sma I.

Fragment were separated by electrophoresis in 2.0% agarose gel. Fragment were 105bp( $\Delta$ ) for *A. gigas*, *A. sinensis* and 130bp( $\circ$ ) for standard molecular size marker, 25-100 base pair ladder (bioneer co.). *A. acutiloba*, and 256bp( $\circ$ ) for *A. sinensis* and 520bp( $\square$ ) for *A. acutiloba* and 541bp( $\square$ ) for *A. sinensis*. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard.

Hinf I의 경우에는 같은 크기의 단편이 관찰되었으나, Hae III의 경우 모든 시료에서 각 3개의 단편이 생성되었으며, *A. gigas*와 *A. acutiloba*는 같은 부위에서 절단되었고, *A. sinensis*의 경우는 조금 다른 부위에서 절단됨이 관찰되었다. Hha I의 경우도 각각의 시료에서 각기 다른 크기의 단편이 관찰되었으며, Msp I의 경우는 *A. sinensis*에서 다른 시료와 다른 크기의 단편이 관찰되었으며, Sma I의 경우 일당귀에서만 2개의 단편이 형성되었다. 그러므로 본 연구에 사용한 5가지 제한효소 중 Hinf I를 제외한 4가지 제한효소는 當歸類 원식물의 RFLP marker로서 응용되어, 當歸로 사용되는 세 가지 한약재의 감별에 응용할 수 있을 것으로 생각된다(Fig. 9).

기원식물이 다르면 효능이 다르리라고 생각하는 것은 매우 당연한 것이다. 최근 국내시장에서 유통되는 당귀는 *A. gigas*와 *A. sinensis*를 기원으로 하고 있으며, 중국산인 *A. acutiloba*도 역시 일부 유통되고 있다. 향후 이 세가지 當歸類 한약재의 품질 관리가 필요할 것이라고 생각되며, 한의학 임상에서도 구별하여서 응용되어야 마땅하리라 생각된다.

이렇게 유전자 감식을 통한 한약재 감별법의 장점으로 한약재의 진위감별은 물론 기술의 발전에 따라 飮片뿐 아니라 散劑나 丸劑 등 다양한 제형의 품질 평가에서 구성 한약재 함유의 진위를 가리는 정확한 확증이 될 수 있으며, 실험에 사용된 한약재에 대한 정확한 정보를 제공할 수 있는 등 많은 장점이 있다고 하였다<sup>9)</sup>.

본 연구에서 사용된 RAPD방법과 RFLP방법을 이용한 결과들은 當歸類 한약재의 감별을 가능하게 하여, 향후 當歸類 한약재의 품질 및 유통관리에 이용될 수 있으리라고 생각된다.

## 參考文獻

1. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울: 永林社. 1991: 448-449.
2. 대한민국보건복지부대한보건공정서협회. 대한약전 제7개정. 서울: 대한메디칼인텍스사. 1998: 720.
3. 日本藥局方解説書編輯委員會. 第十三改定 日本藥局方解説書. 東京. 廣川書店. 1996: D-745-750.
4. 中華人民共和國衛生部藥典委員會. 中華人民共和國藥典(一部)(95年版). 廣東科技出版社. 上海: 1995: 109.
5. 최호영, 이상인, 서영배. 유전자 감식에 의한 防風의 감별. 생약학회지. 1997;28(1):1-8.
6. Shaw, P.C. and P. B. Paul. Authentication of Panax Species and their Adulterants by Random-Primed Polymerase chain Reaction. Planta Med. 1995; 61:466-469.
7. 曹暉, 華培曦, 邵鵬柱. 中藥材苦地膽의 DNA指紋鑑定. 中藥材. 1996;19(12): 608-611.
8. 최호영. RAPD법을 이용한 Panax屬 한약재 감별 연구. 大韓本草學會誌. 1998;(1):147-159.
9. 張榮, 邵建本, 田學明, 楊靜, 張步振, 葉浩. 用RAPD分析法對鐵線蓮屬7種中藥的鑑定研究. 中草藥. 1996; 27(11):686-687.
10. 張榮, 張步振, 葉浩. 用RAPD分析法鑑定木藍類生藥. 中國中藥雜誌. 1997; 22(2):72-73.
11. 陳毓亨, 白守梅, 程克棟, 章菽. 溫鬱金和川鬱金の RAPD研究. 中國中藥雜誌. 1999
12. 黃琦, 王敏, 付桂芳, 楊濱. 中藥白芷種質資源의 RAPD分析. 中國中藥雜誌. 1999; 24(8):457-459
13. White, T. J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocols: A guide to methods and application. M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky, and T. White(eds.). Academic Press. San Diego: 1990: 315-322.
14. 徐榮倍. 植物系統의 再建과 DNA의 利用. 식물분류학회지. 22(2):121-140.