

형태적 특징과 유전자분석을 통한半夏 감별 연구

김홍준 · 이미영 · 홍성미 · 고병섭 · 주영승*

한국한의학연구원, *우석대 한의학과대학

Abstract

Discrimination of *Pinellia* tuber through Morphological characteristics and Genetic analysis

Kim Hongjun, Lee Miyoung, Hong Seongmi, Ko Byoungseob, Ju Youngsung*
Korea Institute of Oriental Medicine, *Woosuk University Oriental Medical College

The following is a list of morphologic and genetic characteristics of *Pinellia* tuber.

1. The original plant of *Pinellia* tuber is *Pinellia ternata* (THUNB) BREIT. With regards to its external morphology, it is smaller than other Araceae species and its spadix is longer than its leaves, which trifurcate.
2. As regards its internal morphology, its mucous cell is elliptical and the vessel is helical or annular-shaped. Granules exist in abundance and in various shapes.
3. Distribution and size of laticifers are the key criteria on which to differentiate between domestic and imported *Pinellia* tuber. Laticifers are mainly distributed in the epidermis in domestic *Pinellia* tuber and in the cortical parenchyma in imported *Pinellia* tuber. The size of laticifers is somewhere between 1.3 and 8 μ m in diameter in imported *Pinellia* tuber bigger than its domestic counterpart.
4. RAPD markers display a great similarity in bands between domestic and Chinese *Pinellia* tuber. However, RAPD primers 352, 358, 365, 368 and 374 are distinctive markers for domestic *Pinellia* tuber. In the meantime, North Korean *Pinellia* tuber, morphologically similar to domestic *Pinellia* tuber, is genetically distinctive from its domestic counterpart in primers 354, 358, 365, 368, 374 and 379, a finding that supports the postulation that North Korean *Pinellia* tuber is tuber of another Araceae species.

Key words : *Pinellia* tuber, *Pinellia ternata* (THUNB) BREIT., RAPD, Morphological characteristics

I. 緒 論

본 연구에서는 한방의료에서 응용빈도가 대단히 높은半夏를 실험 대상으로 선정하였으며 우리 나라의 경우 현재 국내산과 중국산, 북한산이 유통되고 있다.半夏는天南星科(Araceae)에 속한多年生草本으로半夏 *Pinellia ternata* (THUNB) BREIT.^{1~14,16~30,32~37,39~41,44,47~50,54,55)}의塊莖을 건조한 것으로 여름과 가을에採取하여^{4~6,8,9,13,16,17,20,22,23,26,27~30,33~35,38,39,41,46~48,51~54)}외피를 벗겨 晒乾^{4~6,8,13,16,20,22~24,26,27,29,30,33~35,38, 39, 41,42,44,46~48,51~55)}한 것으로 痰濕飲을 다스리는 溫化寒痰藥으로 응용되고 있으며 전국 각지에서 자생하고 있고 주로 중부 이남에서 많이 생산되어지고 있다³⁵⁾. 『神農本草經』⁵³⁾에서는 下品에 “半夏 味辛平主傷寒寒熱心下堅下氣喉咽腫痛頭眩胸脹咳逆腸鳴止汗”으로 수재되어 있다. 『東醫寶鑑』⁵²⁾에는 “씩물웃 性平味辛有毒主傷寒寒熱……消痰涎開胃健脾止嘔吐去胸中痰涎…”이라고 그 效能이 기재되어 있으며 그밖에 『傷寒論』이나 『金匱要略』을 비롯한 古方을 포함하여 後世方 속에서 많은 응용을 하고 있다. 현재 한방 臨床에서는 溫辛有毒하여 脾胃肺經에 歸經하며, 燥濕化痰 降逆止嘔 消痞散結의 效能을 가지고 痰多喘咳 痰飲眩暈 風痰眩暈 痰厥頭痛 嘔吐反胃 胸脘痞悶 梅核氣症을 다스리는데 응용되고 있다. 보통의 한약재와 달리半夏는 毒性이 강하여 內服시에는 修治를 하는데 이에 따라 效能의 차이가 뚜렷하다³⁵⁾. 즉, 生用하면 外治癰腫痰核하고 薑半夏는 降逆止嘔하는데 많이 쓰이며 法半夏는 燥濕化痰하는데 주로 사용한다³⁵⁾. 유통에 있어半夏는 같은天南星科인 小南星 *Arisaema amurense* Max.이나 水半夏 *Typhonium flagelliforme* (Lodd) Blume 등과 잘 구분이 되지 않아 혼용되어 유통되고 있는 실정이며 중국의 경우 지역에 따라서 掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schoo.와 같은 것들을 代用品으로 사용하고 있기도 하다²⁶⁾.

본 연구에서는 형태적 특징의 관찰로 기원 한약재의 자연 상태와 약재상태에 대해 육안과 확대경, 현미경을 동원하여 외부형태와 내부형태에 대한 구조적 차이를 살펴보고, 더 나아가 유전적인 차이를 분석하여 한약재 기원과 혼종화에 대한 기초 자료를 확보하여 한약재

감별에 이용하고자 한다. 특히 유전자분석을 통해 한약재의 眞偽감별 혹은 기원에 대한 기초연구의 일환으로 1) 감별 특이 밴드를 조사하고, 2) 유통되는 약재와의 비교를 통해 재현성 유전자 감별 가능성 확인, 3) 품종간의 유연관계를 조사하여 유전적 다양성을 분석하여 간편하고 빠른 감별 방법의 개발을 모색하고자 한다. 즉,半夏의 정확한 기원 한약재를 채집 또는 수집하여 표준품을 확보하고, 내·외부 형태적 형질, DNA 표지 인자를 사용하여 품종간의 구조적 차이, 유전변이 및 유연관계 분석을 실시하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 研究材料 및 方法

1. 材 料

1) 재 료

본 실험에 사용한半夏는 2000년 3월 ~ 2001년 6월 사이에 기원식물의 형태를 현지에서 관찰·확인하고 채취하였으며, 실험실조건에서 陰乾하여 건조과정을 관찰하고 완전 건조 후 유통한약재와 비교하였다. 生葉 (fresh leaf)은 채취장소에서 즉시 Dry ice로 급냉시킨 후 -70℃에 냉동 보관하여 total DNA를 분리하였으며, 건조약재는 경동시장에서 유통 한약재를 직접 구입하여 사용하였다(Table 1).

2) 시약 및 기기

RAPD에 사용한 primer는 캐나다의 British Columbia 대학 (UBC)에서 개발한 것을 사용하였다(Table 2). Marker는 GibcoBRL Co.의 100bp DNA ladder를 사용하였고, 건조한약재의 DNA의 추출을 위해서 Nucleo Spin DNA extract kit (Macherey-Nagel, Germany)를 사용하였다. 기기는 UV/VIS spectrophotometer (Shimadzu, Japan), GeneAmp PCR system 2400 (Perkinelmer, USA), Image master (Pharmacia biotech, USA)를 사용하였다.

Table 1. Date and locality of sample collection for Morphological characteristics and RAPD analysis

Species	Locality	Plant material	Date of Collection	Lane
半夏 <i>Pinellia ternata</i> (THUNB) BREIT.	Chunju, Chonbuk	fresh leaf	2000. 5	1
	Chinan, Chonbuk		2000. 5	2
	Seosan, Chungnam	commercial dry root	2000. 5	3
	Jeju island		2000. 5	4
	North Korea		2000. 3	5
	China		2000. 3	6

Table 2. Primers used for RAPD analysis

Primer No.	Sequence(5'→3')	GC content (%)	Primer No.	Sequence(5'→3')	GC content (%)
351	CTC CCG GTG G	80	368	ACT TGT GCG G	60
352	CAC AAC GGG T	60	370	TCA GCC AGC G	70
354	CTA GAG GCC G	70	371	TCT CGA TTG C	50
358	GGT CAG GCC C	80	374	GGT CAA CCC T	60
359	AGG CAG ACC T	60	375	CCG GAC ACG A	70
361	GCG AGG TGC T	70	376	CAG GAC ATC G	60
362	CCG CCT TAC A	60	377	GAC GGA AGA G	60
363	ATG ACG TTG A	40	378	GAC AAC AGG A	50
364	GGC TCT CGC G	80	379	GGG CTA GGG T	70
365	TAG ACA GAG G	50	380	AGG AGT GAG A	50
366	CCT GAT TGC C	60	381	ATG AGT CCT G	50
367	ACC TTT GGC T	50	392	CCT GGT GGT T	60

2. 方 法

형태적 감별로는 文獻의인 연구의 기초 아래 내·외부 특징조사를 실시하였으며, 유전적 감별로 RAPD 분석과 그에 따른 유연관계를 분석하였다. 각각의 방법은 아래와 같다.

1) 外部 및 内部形態觀察

(1) Stereoscope를 이용한 外部形態觀察

채취한 표본한약재는 실험실조건에서 일정하게 건조

하였으며, 건조과정중의 변화를 관찰하였다. 외부적인 관능검사의 수준을 보강하기 위하여 Stereoscope를 이용하여 정확도를 높였다

(2) Butanol series를 이용한 橫斷面 관찰

시료 조직을 5mm × 5mm크기로 部位別로 잘라서 가늘하면 구조를 생체와 같은 상태로 고정하기 위해서 FAA 용액(formalin 5cc, glacial acetic acid 5cc, 50% ethyl alcohol 90cc)을 사용하여 24시간이상 고정시켰고, 고정액의 침투를 촉진하기 위해 데시케이터와 진공펌프를 이용하여 조직내부의 기포가 조직액 상면에 나타나

는 상태까지 탈기시켰다. 탈수는 Lang ' s butanol series 로 진행시켰으며 각 단계에서 탈수시간은 8시간으로 하였는데, 8단계가 끝난 후 다시 100% butanol로 2번 탈수하였다. Butanol과 soft paraffin을 1 : 1로 하여 재료가 담겨있는 용기에 넣고 incubator에서 58~60℃를 유지하면서 butanol을 5일 동안 완전히 기화시켰다. 여기에 동량의 hard paraffin을 넣어 incubator에서 60~70℃로 1~3일 동안 유지시켰다. 규정의 cake case에 넣어 bloking시킨 다음 1~2일 실온에 방치하였다. 칼날각도를 5도로 하고 두께를 5~10 μ m로 하여 절단한 후 albumin을 도포한 slide glass에 검체를 올려놓고, slide warmer에서 1~2일 동안 overnight시켰다. Hematoxylin (Heidenhain ' s), safranin 및 light green을 사용하여 삼원염색을 하고, Canada balsam으로 봉입하고, 광학현미경하에서 조직의 특징을 관찰 및 측정하고 사진을 촬영하였다.

2) DNA 추출

채집한 신선한 잎을 급냉시켜 CTAB방법⁸¹⁾으로 다음과 같이 분리, 정제하였다. 소량의 시료를 막자사발에 넣고 분말상태가 되도록 마쇄하여 700 μ l의 CTAB buffer [50mM Tris-HCl(pH 8.0), 0.7M NaCl, 50mM EDTA(pH 8.0), 140mM β -mercaptoethanol]를 넣고 섞어준 다음 60℃ 항온기에서 1시간 처리하여 phenol 350 μ l와 chloroform : isoamylalcohol (24:1) 350 μ l를 첨가하여 실온에서 3,500rpm로 5분간 원심분리하였다. 상층액 600 μ l에 chloroform : isoamylalcohol(24:1) 600 μ l를 첨가하여 완전히 섞이도록 흔들어준 다음 3,500rpm로 5분간 원심분리하여 상층액 500 μ l를 취하여 냉동고에 보관중인 500 μ l isopropanol을 넣고 -20℃에서 30분간 정치시켜 DNA를 침전시켰다. 침전시킨 DNA를 13,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액은 버리고 pellet에 70% EtOH을 첨가하여 가볍게 흔든 후 상층액을 버리고 자연건조 시켰다. 건조시킨 DNA에 100 μ l TE buffer [10mM Tris-HCl(pH8.0), 1mM EDTA]와

1mg/ml의 RNase를 넣어 37℃ 항온기에서 30분간, 47℃에서 30분간 방치한 후 1.5% agarose gel상에서 전기영동하여 확인한 후, UV/VIS spectrophotometer (Shimazu, Japan)로 280nm와 260nm에서 흡광도를 측정하여 DNA순도검정 및 정량을 하였다.

건조약재는 NucleoSpin DNA extract kit(Macherey-Nagel, Germany)로 설명서에 의하여 게놈 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA의 순도검정과 정량은 분광광도계 (Shimazu, Japan)로 측정하여 -4℃에서 보관하면서 사용하였다.

3) RAPD 분석

PCR(polymerase chain reaction)반응용액은 1 \times PCR buffer, 1.5mM MgCl₂, template DNA 50ng, dNTP 200 μ M, Taq DNA polymerase 1.0unit를 혼합하여 20 μ l로 조성하여 300nM random primer(UBC, The University of British Columbia)를 사용하여 94℃에서 5분간 predenaturation시킨 후, 94℃에서 30초간 denaturation을 시행하였다. 37℃에서 30초간 annealing한 뒤 72℃에서 1분간 extension시키는 과정까지를 1cycle로 하여 총 35 cycle을 수행한다. 마지막에 extension과정을 72℃에서 5분간 수행하여 발현된 band를 1.5% agarose gel에서 100bp DNA ladder(GibcoBRL)와 함께 전기영동하여 Image master(Pharmacia biotech, USA)에서 관찰하였다.

4) 유연관계 분석

유연관계 분석은 DNA polymorphic band를 각 개체당 band가 있을 경우 1을 주고 없을 경우 0을 주어서 이를 NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) computer program의 UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic average) 분석방법(Rohlf, 1989)을 이용하여 dendrogram을 작성하였다.

Ⅲ. 結果 및 考察

본 연구에서는 半夏에 대하여 1. 기원식물의 확정 2. 기원한약재와 근연한약재의 현장 확인을 통한 외부형태 3. 약재 내부형태 4. 한약재의 유전적 특성의 관찰을 통해 半夏의 내·외부형태 및 유전적 특징에 대한 기준을 설정하고자 하였다. 이런 연구는 향후 이루어질 이화학 반응, 생물학 반응, 지표물질 확정 등의 연구에 활용되어질 수 있을 것으로 보인다. 연구방법으로는 기원물질의 선정을 위한 문헌적 자료를 근거로 실험연구를 하였다. 문헌자료는 일반식물·약용식물·본초서를 참고로 하였고 실험연구로 기원식물을 자연 상태에서 확인 채취하여 실험실에서 보관하고 기준에 따라 건조하였다. 문헌적으로 정리된 내용과 한약재를 육안 및 현미경을 통하여 비교 관찰하였고 내부구조 관찰을 위해서 Butanol series를 이용하여 횡단면의 관찰을 실시하였다. 또한 본 연구에서는 내·외부 형태적 특징으로만 종을 판별하는 데는 한계가 있으므로 유전적인 차이를 분석하여 한약재 기원과 혼종화에 대한 기초 자료로서 이용과 한약재 감별에 이용하고자 하여, RAPD분석을 통해 半夏의 眞·僞감별 혹은 起源에 대한 기초연구의 일환으로 1) 감별 특이 밴드를 조사하고 2) 유통되는 약재와의 비교를 통해 재현성 유전자 감별가능성 확인 3) 품종간의 유연관계를 조사하여 유전적 다양성 분석을 통한 간편하고 빠른 감별 방법의 개발을 모색하고자 하였다. 즉, 정확한 기원의 半夏를 채집 또는 수집하여 표준품을 확보하고, 내·외부 형태적 형질, DNA 표지인자를 사용하여 품종간의 유전변이 및 유연관계 분석으로 정확한 감별 방법에 대한 기초 자료를 얻고자 하였다.

1. 형태적 관찰

1) 외부 형태 특징

半夏의 起源植物은 *Pinellia ternata* (THUNB) BREIT.이

고 多年生 草本으로 높이 15~30cm이며, 塊莖은 球形으로서 1~2cm이며 莖에서 나온다. 葉柄은 길이 6~23cm로 葉柄 하부의 안쪽에 白色의 珠芽가 1개 있다. 一年生の 莖은 單葉이고 卵狀의 心臟形이고, 2~3年生の 莖은 3小葉의 複葉으로서 小葉은 橢圓形 또는 披針形이며 中間의 小葉이 길이 5~8cm, 너비 3~4cm로 양측 小葉에 비해서 크다. 葉尖은 뾰족하고 葉基는 밧밧하며 葉緣은 밧밧하고 양면이 윤택하다. 肉穗花序로서 頂生하는데 花梗은 높이 20~40cm로 葉柄에 비해서 크다. 佛焰苞를 나타내는데 綠色이고 길이는 6~7cm정도이다. 筒部는 길이 1.5~2cm이며, 胼部는 披針形 圓頭로서 胼에 털이 없으나 안쪽에는 잔털이 있다. 꽃은 單性으로 花被가 없는 雌雄同株이다. 雄花은 花序의 윗부분에 붙고 白色이고 雄蕊는 밀집하여 圓筒形이 된다. 雌蕊는 雄蕊의 0.5~0.8cm쯤 아래에 綠色으로 붙어 있으며 花序中軸의 앞부분이 늘어나서 쥐꼬리모양으로 되는데 길이는 7~10cm로 직립하며 佛焰苞 바깥까지 늘어난다. 漿果는 卵狀의 橢圓形이며 綠色이고 길이 0.4~0.5cm이다. 開花期는 6~7月이고 結實期는 8~9月이다.

2) 내부형태 특징

半夏의 塊莖은 바깥의 기본조직에 澱粉粒은 적으나 안쪽으로 갈수록 많아지며 모양도 다양하였다. 대부분이 柔組織으로 구성되어 있었으며 많은 수의 粘液細胞는 주로 橢圓形이며 안에 草酸鈣針晶束을 함유하고 있는데, 針晶의 길이는 16~90 μ m이었다. 維管束은 外韌型 혹은 內韌型으로서 여러 군데에 흩어져 있었으며, 導管은 직경 4~40 μ m로서 螺紋 혹은 環紋導管으로서 보통 여러 개가 모여 무리를 이루어 배열하고 있었다. 澱粉粒의 종류 및 수는 매우 많았는데, 單粒의 경우에는 類圓形·半圓形·둔한 多角形 등으로 직경은 4~30 μ m이었으며 臍點이 방망이 모양이나 점모양 혹은 별모양 등이었으며, 複粒은 2~4개의 分粒을 많이 볼 수 있으며 심지어 8分粒도 가끔 있었다(Fig. 1). 국내산 半夏와 수입

半夏의 내부 형태의 차이는 크게 차이를 나타내지는 않았으나, 특징적으로 乳管의 분포와 크기에서 차이를 나타내었다. 수입半夏에서 乳管의 크기는 1.3~8 μ m로서

국내산半夏에 비하여 컸으며, 乳管의 분포는 국내산半夏가 주로 表皮부분에 집중된 반면 수입半夏는 皮層柔組織에 주로 흩어져 분포하였다(Fig. 2).

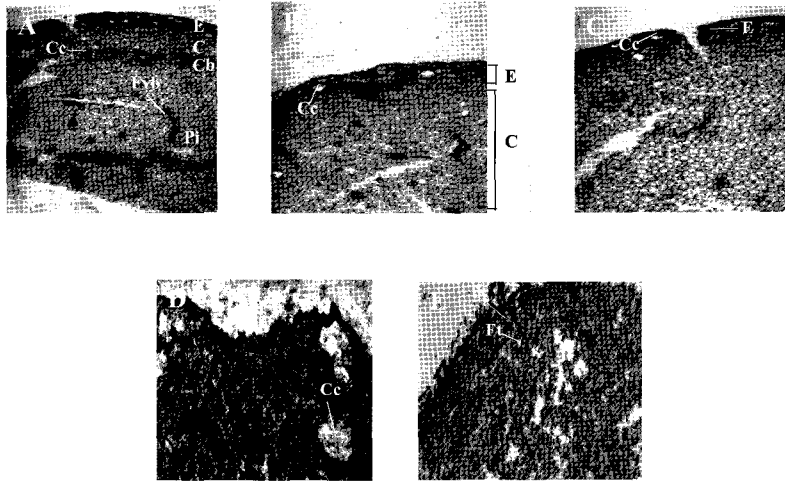


Fig. 1. Internal morphological features of *Pinellia ternata* (T_{HUNB}) BREIT. from Korea. A and B, Cross section 60X; C, longitudinal section 60X.

E, Epidermia; C, Cortex; Cb, Cambium; Pi, Pith; Ft, Fundamental tissue; Cc, Crystal cell.

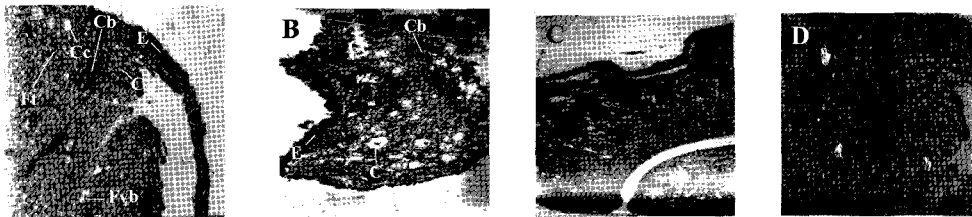


Fig. 2. Internal morphological features of *Pinellia ternata* (T_{HUNB}) BREIT. from China. A, B, C and D Cross section 60X

E, Epidermia; C, Cortex; Cb, Cambium; Pi, Pith; Ft, Fundamental tissue; Cc, Crystal cell.

3) 약재감별특징

(1) 약재성상

한쪽으로 눌러진 類球形으로 약간 기울어져 있는 형태로서 지름 1~1.5cm이다. 표면은 白色~灰白色 또는 옅은 黄色 등을 나타내고 있었으며 윗부분에 오목하게 들어간 줄기의 흔적이 있었고 주위에는 군데군데 점모양의 뿌리가 붙었던 흔적이 있다. 윗부분은 둥글고 편평하며, 아랫부분은 둔하게 둥글고 비교적 매끄럽다. 質은 단단하고 단면은 콩팥모양으로 깨끗한 흰색으로 粉性을 띤다. 냄새는 없으나 맛은 혀를 마비시킬 정도로 매우 자극성이 있다. 오래되거나 건조가 잘못된 것은 灰白色 혹은 黄色무늬가 있다.

(2) 감별특징

- 자연산 上品은 지름 5~10mm의 둥글고 흰 모양이며 外皮는 褐色으로 다른 것에 비해 색이 진한 편이며 1mm 정도의 두께로 두껍다. 맛은 맵고 특 쓰는 듯하다. 맛을 보면 혀에서는 별 맛을 못 느끼나 咽喉部를 강하게 수 시간 동안 자극한다.
- 재배품 上品은 자연산에 비해 상태가 좋고, 外皮는 연한 褐色이며 단면은 노란빛을 띤 白色이다. 中品은 전체적으로 노란빛을 띠고 있으며 크기가 고르지 않고 전체적으로 작으며 粉性도 없는 편이다.
- 수입된 통半夏 上品은 지름이 10mm 정도의 球形으로 꼭지부분이 약간 함몰되어 褐色을 띠고 그 주변에 褐色 점들이 있다. 절단품 上品은 10mm 내외의 크기로 外表와 속 모두 흰색으로 겉과 속의 구분이 없이 맑다. 粉性이 많아 뿌영고 표면은 매끈하다.
- 法製된 半夏는 3~10mm까지 다양한 크기를 가지며 法製를 하여 전체적인 색이 노르스름한 연한 褐色이다. 단단하여 쉽게 부러지지 않는다. 전체적으로 약간 매케한 냄새가 난다.

- 크고 白色으로 質이 단단하고 粉性이 있는 것이 좋다.

• 半夏偽品

가) 小南星 *Arisaema amurense* Max.은 약간 납작하고 고르지 않은 구형으로 지름 2~7cm로 바깥면은 黃褐色에서 灰褐色으로 윗부분에 줄기자국이 있고 아랫부분은 오목하고 뿌리가 붙어 있던 자국이 보인다. 質은 단단하고 橫斷面은 類白色으로 粉性이 있다. 냄새는 거의 없고 맛은 처음에는 텅텅하다가 뒤에 아리고 혀끝을 쓴다. 半夏보다는 外皮色이 진하여 半夏의 中品에 가깝고 덜 맵다.

나) 水半夏 *Typhonium flagelliforme* BL.는 半夏 특유의 윗부분이 오목하게 들어간 줄기의 흔적이 없고 輪節樣의 주름이 있으며 열은 褐色~赤褐色의 반점이 있다.

2. 유전자분석

1) RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) analysis

RAPD는 무작위로 만들어진 oligonucleotides를 primer로 사용하여 밝혀지지 않은 genomic DNA에 PCR(polymerase chain reaction)을 적용시켜 다형성인 (polymorphic) DNA를 증폭시키기 위한 기술 방법으로, 본 연구에서는 총 50여 개의 random primer를 사용하여 primer 선별실험을 한 결과, band 증폭이 전혀 이루어지지 않은 primer의 수는 6개였으며 나머지 46개 primer에서 다형성 band를 얻을 수 있었는데 band의 수와 선명성 등의 기준에 의해 최종적으로 24개의 primer를 선별하였다(Table 2).

최종적으로 선별된 24개 primer에서 증폭된 band의 수는 총 315개였으며, 증폭된 band의 크기는 최대 2.5kbp에서 최소 250bp까지 다양하게 나타났다.半夏의 경우 직접 채취한 전주와 진안의半夏 生葉(fresh

leaf)과 국내 시중에서 구입한 서산, 제주의 乾燥半夏 DNA polymorphism이 351, 377을 제외한 24개 primer에서 1~3개의 공통된 선명한 band가 관찰되었다. 이는 건조약재를 이용해 DNA분석이 가능하다는 것을 확인할 수 있었으며, 354, 358, 365, 368, 374, 379 primer에서와 같이 북한산半夏로 유통 중인半夏는 국내半夏와 비교하였을 때 중국산半夏보다 DNA polymorphism이 다르게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 3). 이는 북한산半夏와 국내半夏의 육안형태가 비슷한데 비해 중국산半夏는 육안으로 구별하였을 때 형태적으로 국내半夏와 다르게 보인다는 점에서 유전자분석과 육안구별의 차이점을 발견할 수 있다. primer 363의 경우 350bp에서 단일 band(Monomorphic)가 증폭률이 매우 적게 나

타났는데 이는 Table 3에서의 GC 함유량이 다른 primer와 비교해 볼 때, 40%정도인 것으로 보아 primer증폭 효율 비교에서 primer의 염기서열에 존재하는 (G+C)함량이 증폭시키는 힘과 상관관계가 있다(Fritsch 등 1993, Wong등, 1999)는 것과 일치하였다. 본 실험에서도 Primer의 GC 함유량이 70~80%일 때 증폭효율이 좋은 것으로 나타났다. 국내半夏를 구별하기 좋은 primer로는 352, 358, 365, 368, 374 등으로 나타났으며 이는 이후에半夏로 유통되고 있는 다른 天南星科 식물들과 비교시 본 연구에서의 RAPD 결과를 유용하게 활용할 수 있을 것으로 사료되며, 실험에 사용한 약재의 정확한 기원을 밝히는데 DNA산물을 이용하여 이들을 정확히 분류하는데 큰 의의가 있다고 판단된다.

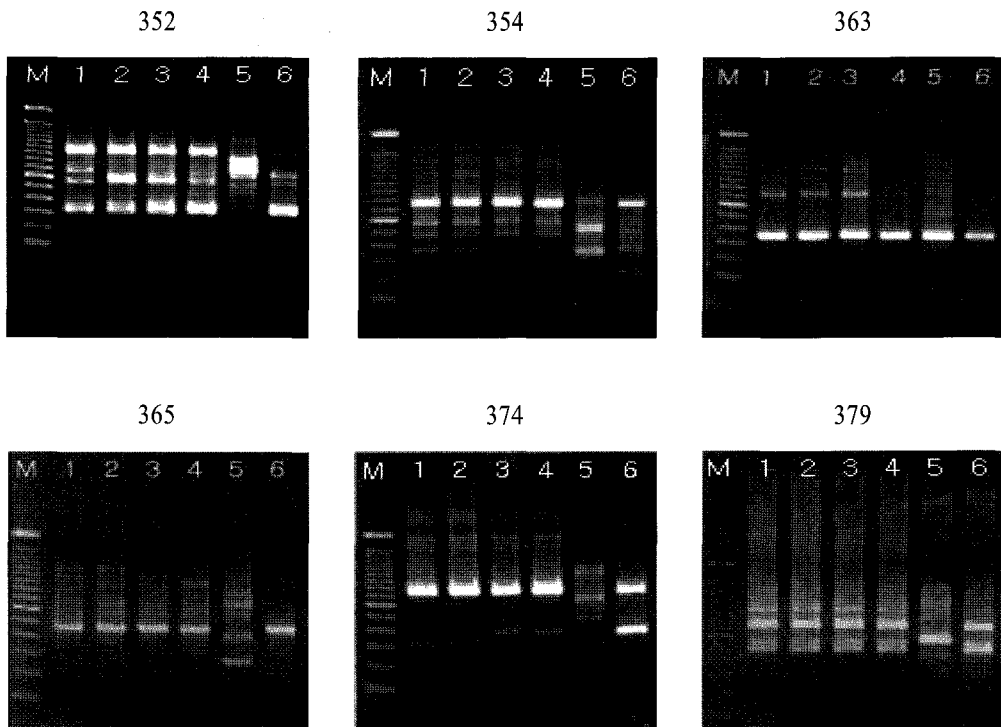


Fig. 3. RAPD profiles obtained with 352, 354, 363, 365, 374 and 379 primer
M: molecular weight marker(100bp ladder)

2) RAPD분석을 통한 半夏의 유연관계

半夏의 8개 selective primer에 의한 AFLP 분석에서 얻어진 polymorphism을 코드화하여 UPGMA 방법으로 분석한 유연관계는 Fig. 4와 같다. 분석결과 국내산

半夏의 유연거리는 신선한 잎의 경우는 비슷하게 나타났고 유통 상태의 것도 중국산 보다는 가깝게 나타났다. 중국산의 경우 0.721 정도로 유전거리가 먼 것으로 나타났으며 북한산半夏의 경우는 0.613수준으로 매우 먼 것으로 나타났다.

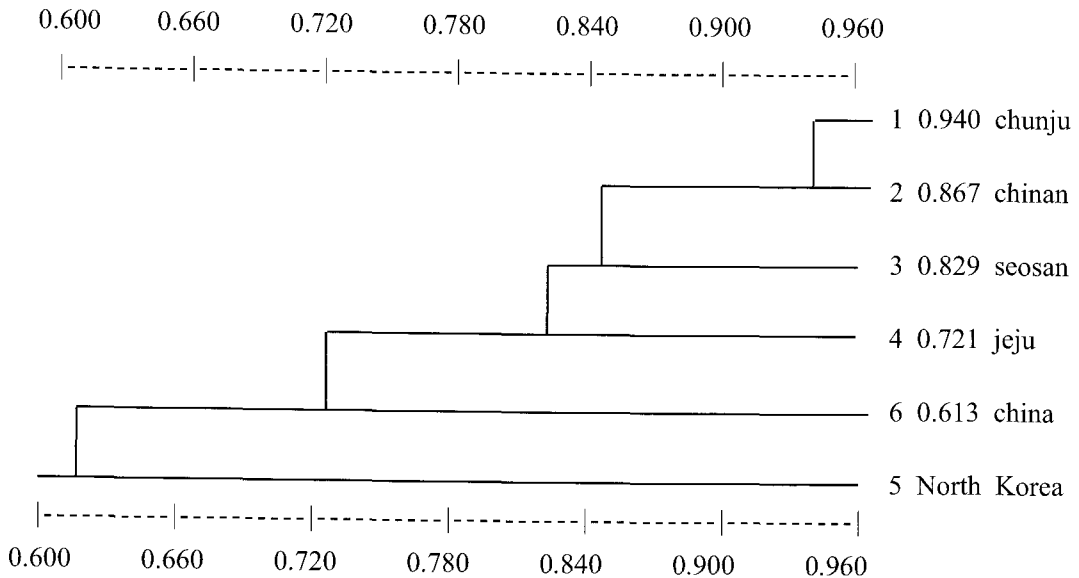


Fig. 4. Dendrogram of *Pinellia ternata* (T_{HUNB}) B_{REIT}. based on RAPD analysis

이후에 현재 중국에서 지역에 따라 유통되어지고 있는 掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schoon나 水半夏 *Typhonium flagelliforme* BL (Araceae)와 같은半夏의 偽品이나 代用品들과 비교연구가 추가로 이루어져야 될 것으로 보인다.

인 내용을 살펴본 바, 그 특징적인 내용은 다음과 같다.

- 1.半夏의 기원식물은 *Pinellia ternata* (T_{HUNB}) B_{REIT}.로 외부형태의 감별상 특징은 다른 天南星科 식물에 비해 小型으로 잎이 三出되며 肉穗花序는 잎보다 길은 것으로 나타났다.
- 2.半夏의 내부형태는 粘液細胞가 橢圓形이며 導管이 螺旋紋 혹은 環紋이고 澱粉粒의 종류 및 수가 많았다.

IV. 結 語

半夏의 起源品을 대상으로 내·외부 형태와 유전적

3. 국내산半夏와 수입산半夏의 내부형태의 차이점으로는 乳管의 분포와 크기에서 수입半夏가 1.3~8 μ m로 더 컸으며 국내산은 表皮부분에, 수입산은 皮層柔組織에 乳管이 주로 분포하는 차이점을 보였다.

4. RAPD분석 결과, 국내산半夏와 중국산半夏의 밴드 형태는 많은 유사성을 나타내었으며 그 중에서도 국

내산으로 구분하기 좋은 primer로는 352, 358, 365, 368, 374등으로 나타났다. 반면 북한산半夏는 육안적 형태는 비슷하나 유전자 분석결과 354, 358, 365, 368, 374, 379 primer에서 국내산半夏와 달라 天南星科의 다른 식물의 塊莖이라 생각된다.

<색인어> 반하, 유전자 분석, 내부·외부 형태

참 고 문 헌

- 1) 金泰正. 韓國의 資源植物. 서울대학교 出版部. 1996 : 105.
- 2) 이우철. 원색한국기준검색식물도감. 아카데미서적. 1996 : 447.
- 3) 이우철. 韓國植物名考(Ⅰ). 아카데미서적. 1996 : 1436.
- 4) 錢信忠. 中國本草彩色圖鑑 常用中藥篇(上). 人民衛生出版社. 1996 : 136,137.
- 5) 徐國鈞 外. 中國常用中藥彩色圖譜. 貴州科技出版社. 1993 : 142.
- 6) 周榮漢. 中藥資源學. 中國醫藥技術出版社. 1993 : 548~554.
- 7) 李尙仁外2人. 本草學實習. 癸丑文化社. 1984 : 54.
- 8) 張相文外. 韓藥資源植物學. 學文出版. 1996 : 338,339.
- 9) 원도희 외. 옥천약용식물재배시험장 약용식물도감. 1997 : 8.
- 10) 陸昌洙. 原色韓國藥用植物圖鑑. 아카데미서적. 1989 : 102.
- 11) 尹世永. 原色韓國資源植物圖鑑. 아카데미서적. 1995 : 101.
- 12) 김현삼외. 식물원색도감. 과학백과사전종합출판사. 1988 : 752.
- 13) 辛民敎. 臨床本草學. 永林出版社. 1986 : 819~821.
- 14) 高庚式. 野生植物生態圖鑑. 1993 : 415.
- 15) 閻文玟. 實用中藥彩色圖譜. 1992 : 39.
- 16) 徐國鈞. 中藥彩色圖譜. 福建科學技術出版社. 1994 : 252~281.
- 17) 舒普榮. 中藥彩色圖譜與驗方. 江西科學技術出版社. 1992 : 606.
- 18) 中國科學院中國植物志編輯委員會. 中國植物志 第十三卷 第二分冊. 科學出版社. 1979 : 200~206.
- 19) 高庚式. 韓國植物檢索圖鑑. 아카데미서적. 1991 : 382.
- 20) 陳貴廷. 本草綱目通釋(上). 學苑出版社. 1992 : 984~990.
- 21) 沈保安外. 中國藥材經驗鑑別辭典. 北京科學技術出版社. 1994 : 262,263.
- 22) 原色中國本草圖鑑編集委員會. 原色中國本草圖鑑(1). 人民衛生出版社. 1982 : 92,93.
- 23) 國家中醫藥管理局<中華本草>編委會. 中華本草(8). 上海科學技術出版社. : 513~520.
- 24) 胡廷松外. 中藥原色圖譜及栽培技術. 金盾出版社. 1994 : 219.
- 25) 한국의약품수출입협회. 1998년도 한약재 품질관리에 관한 조사연구(규격 및 기원 중심으로). 보건복지부. 1999 : 115~117.
- 26) 廣西壯族自治區藥品檢驗所. 中藥材真偽鑑別圖譜. 1992 : 35.
- 27) 高本釗. 中藥大辭典. 新文豐出版公司. 1982 : 500~504.
- 28) 方石林. 實用中藥鑑別. 1995 : 52~54.
- 29) 李家實外. 中藥鑑定學. 貴州科學技術出版. 1993 : 111~113.
- 30) 任仁安外. 中藥鑑定學. 上海科學技術出版社. 1986 : 206~208.
- 31) 羅緒和. 中藥混偽品經驗鑑別. 中國中醫藥出版社. 1994 : 18.
- 32) 崔同寅. 全國重名易混中藥鑑別手冊. 中國醫藥科技出版社. 1992 : 27,28.
- 33) 張貴君. 常用中藥鑑定大全. 黑龍江科學技術出版社. 1992 : 290~293.
- 34) 전통의학연구소. 本草藥材圖鑑. 成輔社. 1994 : 154.

- 35) 全國韓醫科大學 本草學教授共編. 本草學. 永林社. 1991 : 448,449.
- 36) 이영노. 原色韓國植物圖鑑. 교학사. 1996 : 1047,1048.
- 37) 李昌福. 大韓植物圖鑑. 鄉文社. 1979 : 181.
- 38) 世宗朝命撰. 鄉藥集成方. 정담. 2000 : 1040.
- 39) 凌一揆外1人. 中藥學. 上海科學技術出版社. 1984 : 168,169.
- 40) 陳存仁. 漢方醫藥大事典. 松嶽. 1988 : 258~261.
- 41) 中華人民共和國衛生部藥典委員會編. 中華人民共和國藥典(一部). 1990年版. 人民衛生出版社. 1990 : 96,97.
- 42) 于華光. 常用中草藥的加工炮制. 金盾出版社. 1992 : 55~58
- 43) 吳儀洛. 本草從新. 杏林書院. 1972 : 76,77.
- 44) 戴新民. 中國藥材學. 啓業書局. 1974 : 452~456.
- 45) 朱東樵. 本草詩箋. 施風出版社. 1974 : 84.
- 46) 李時珍. 本草綱目 卷十七. 宏業書局. 1975 : 57~62.
- 47) 尹國炳外1人. 몸에좋은山野草. 石悟出版社. 1989 : 59.
- 48) 金在佶 : 原色天然藥物大事典. 南山堂. 1984 : 247.
- 49) 陸昌洙外. 漢藥의 藥理成分臨床應用. 癸丑文化社. 1982 : 866~868.
- 50) 行政院衛生署中醫藥委員會. 中藥材品質管制-組織形態學鑑定. 臺北市衛生署中醫藥會. 1999 : 259,260.
- 51) 唐愼微. 重修政和經史證類備用本草. 南天書局有限公司. 1979 : 245,246.
- 52) 許浚. 東醫寶鑑. 南山堂. 1966 : 135,208,269,270,310,466,484,524,733,
- 53) 吳普. 神農本草經 卷三(下品). 醫道韓國史 1976. : 6,7.
- 54) 신민규, 고병섭, 주혜정, 이미영, 김인락, 주영승. 한약재 관능검사기준연구. 보건복지부, 1999.
- 55) 全國韓醫科大學 本草學教材編纂委員會編. 本草學實習. 永林社. 1991 : 390,391.
- 56) 都貞愛. 韓國産 천남성屬과 반하屬 식물의 분류학적 연구. 이화여자대학교박사논문. 1983.
- 57) 金在煥. 葉類藥材 9種의 外部 및 内部規格研究. 우석대학교대학원박사논문. 1999.
- 58) 장운성. 槐花의 外部 및 内部形態 規格研究. 우석대학교대학원석사논문. 2000.
- 59) 이원범. 玉蜀黍蕊의 外部 및 内部形態 規格研究. 우석대학교대학원석사논문. 2000.
- 60) 김중욱. 玫瑰花의 外部 및 内部形態 規格研究. 우석대학교대학원석사논문. 2000.
- 61) 서명연. 菊花의 外部 및 内部形態 規格研究. 우석대학교대학원석사논문. 2000.
- 62) 서정민. 金銀花의 外部 및 内部形態 規格研究. 우석대학교대학원석사논문. 2000.
- 63) 장운성의. 丁香에 관한 文獻的 考察. 대한외관과학회지 제12권2호. 2000 : 148~160.
- 64) 황성연. 5種 柑橘類 果皮의 外部 및 内部形態와 遺傳學的 研究. 우석대학교대학원박사논문. 2000.
- 65) 최용휴. 薏苡仁의 형태적 특성 및 생리활성에 관한 연구. 우석대학교대학원박사논문. 2002.
- 66) 이미영외. RAPD 분석과 뿌리의 내부구조 비교를 통한 당귀류의 감별. 한국약용작물학회지 Vol.8(3). 2000: 243-249.
- 67) Ayele M., Tefera H., Assefa K., Nguyen H.T. 1999. Genetic characterization of two *Eragrostis* species using AFLP and morphological traits. *Hereditas* 130: 33-40.
- 68) Baird, W.V. 1996. Progress in *Prunus* mapping and application of molecular markers to germplasm improvement. *HortScience* 31(7): 1099-1106.
- 69) aCheng K.T., Fu L.C., Wang C.S., Hsu F.L., Tsay H.S. 1998. Identification of *Anoectochilus formosanus* and *Anoectochilus koshunensis* Species with RAPD markers. *Planta Medica*. 64: 46-49.
- 70) bCheng K.T., Su C.H., Chang H.C., Huang J.Y. 1998. Differentiation of genuines and counterfeits of *Cordyceps* species using random amplified polymorphic DNA. *Planta Medica*. 64: 451-453.
- 71) Fritsch, P., M.A. Hanson, C.D. Spore, P.E. Pack, and L.H. Rieseberg. 1993. Constancy of RAPD primer amplification strength among distantly related taxa of flowering plants. *Plant Mol. Biol. Reporter* 11: 10-20.
- 72) Hosokawa K., Minami M., Kawahara K., Nakamura I., Shibata T. 2000. Discrimination among three species of medicinal *Scutellaria* plants using RAPD markers. *Planta Medica*. 66: 270-272.
- 73) Iwahori, and Shuichi, 1997. Recent advances in fruit research in Japan with reference to molecular biological approach. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38(4): 446-452.
- 74) Jacqueline H.A.Barker, Matthes M., Arnold G.M., Edwards K. J., Ahman I., Koebner RMD 1995. Predigestion of DNA template improves the level of polymorphism of random amplified DNAs in wheat. *Genetic analysis : Biomol. Eng.* 2: 63-67.
- 75) Larsson S., Karp A. 1999. Characterisation of genetic diversity in potential biomass willows(*Salix* spp.)by

- RAPD and AFLP analyses. *Genome* 42: 173-183.
- 76) Rajapakse, S., L.E. Belthoff, G. He, A.E. Estager, R. Scorza, I. Verde, R.E. Ballard, W.V. Baird, A. Callahan, R. Monet, and A.G. Abbott. 1995. Genetic linkage mapping in peach using morphological, RFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 90: 503-510.
- 77) Rohlf F.J. 1989. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exter, New York, USA
- 78) Shimada, T., K. Tanaka, T. Haji, M. Yamaguchi, and M. Yoshida. 1995a. Phylogenic studies on peaches by RAPD and PCR-RFLP analysis. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64: 150-151.
- 79) Vera S.C., Causse M., Gervais L., Philouze J. 2000. Efficiency of RFLP, RAPD, and AFLP markers for the construction of and intraspecific map of the tomato genome. *Gemone* 43: 29-40.
- 80) Waugh R and Powell W 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *TIBTECH*, 10: 186-191.
- 81) John Wiley and Song, 1999. Short protocols in molecular Biology (4th). Wiley. Canada. 2-11,12.