

의이인과 염주의 RAPD분석 및 해부학적 특징에 의한 감별

이미영*† · 임성희** · 김호경* · 한경식*** · 최용휴*** · 주영승*** · 오승은**** · 고병섭*

*한국한의학연구원, **경기도농업기술원 고양선인장시험장, ***우석대학교, ****건국대학교

The Discrimination of *Coisis Semen* and *Coisis lacrima-jobi Semen* by the Random Amplified Polymorphic DNAs and Anatomical Characteristics

Mi Young Lee*†, Seung Hi Im**, Ho Kyoung Kim*, Keong Sik Han***

Yong Hyu Choi***, Young Seung Ju***, Seong Eun Oh**** and Byoung Seob Ko*

*Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul, Korea

** Koyang Cactus Experiment Station, Kyonggi-Do ARES, Koyang, Korea

***Woosuk University, Chonju, Korea

****KonKuk University, Seoul, Korea

ABSTRACT : The seeds of *Coix lacryma-jobi* Linne var. mayuen Stapf. are used as dietary food for obesity and diabetes under the names of Yulmu in Korea and Yiyiren(薏苡仁) in China. It is one of the drugs promoting diuresis to eliminate the wetness-evil from the lower warmer in the traditional Korean medicine. According to ancient textbook of the traditional Korean medicine, it should be applied to patients with phlegm and heat, etc. The establishment of the method for the discrimination of *Coisis Semen* is very important for the quality control of drugs. Random amplified polymorphic DNA(RAPD) analysis and anatomical characteristics were used for the discrimination of *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* S_{TAPP}. and *C. lacryma-jobi* Linné. In the RAPD analysis with 20 primers, 8 primers gave informative and reproducible bands with the genomic DNA. From the cluster analysis, the genus *Coix* were divided into two groups at similarity coefficient of 0.863.

Key words : Anatomy, *Coix lacryma-jobi* Linné, *Coix lacryma-jobi* Linné var. mayuen Stapf, RAPD

서 언

한약재는 의약품으로서, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 하는 천연산물이고 유통의 형태도 생물보다는 건조 상태이어서 성상으로만 품질을 표시하는 것은 어려운 문제이며, 한약규격집 등에 수재된 규격 한약재는 514종으로 그 종류가 많고 각각의 기원의 수도 많아 유통시 위 품이나 불량품들이 혼입되는 경우도 있기 때문에 한약재

의 감별과 품질관리 기준 마련은 유통체계의 확립에 있어서 필수불가결한 중요한 일이다. 한약재의 감별은 첫째, 진·위 판정으로 한약재의 기원을 규명하여 진품과 위품을 감별하고, 둘째로는 품질등급 감별로서 한약재의 품질을 등급별로 판별하여 품질관리의 적정을 기하는 것이다. 현재, 한약재의 감별은 외부 형태를 보고 판별하는 오관에 의한 방법에 의존하고 있는데, 오관방법도 감별에 있어서 중요한 판별기준이지만 긴 시간의 경험과

† Corresponding author (Phone) : 3442-1994 (232), E-mail : mylee@kiom.re.kr
Received 8 January 2001 / Accepted 8 March 2002

지식이 필요하며 객관적이기 보다는 주관적인 요소가 강하다. 이러한 단점을 해소하기 위해서 이화학분석 및 내부형태관찰 등 여러가지 접근을 시도하고 있으며, 또한 식물의 육안적 관찰 또는 주관적인 판단에서 이루어지는 외부 형태학적, 생태학적인 방법보다 더 적극적인 방법인 RAPD 분석(Torres et al., 1993)을 이용하여 식물 분류 또는 유연관계 분석 등에 활발하게 이용하고 있다(Hu and Quiros 1991; Torres et al., 1993).

의이인(薏苡仁)은 울무(*Coix lachryma-jobi* Linné var. *mayuen* STAFF.)를 기원으로하고 있는데, 신농본초경(神農本草經)에는 상품(上品)으로 약효가 구풍습비(久風濕脾)로 기재되어 있고(吳普等述, 1976), 반고(班固)의 후한서(後漢書)와 도홍경(陶弘景)의 본초경집주(本草經集注)에는 “마수(馬授)가 의이인을 이식하였다”고 기재되어 있다. 의이인의 형태에 대해서는 본초경집주(本草經集注)에 “種子五六月結實 青白色形如珠子”라고 기록하고 있다(陶弘景選, 1955). 또한, 명대(明代)의 구황본초(救荒本草)에 “苗의 높이 3, 4尺, 初生葉 薔 稊의 葉과 비슷, 葉間 小黃白花을 叢開하여 열매를 맺고 草珠?와 비슷하며 味甘하다”고 염주종자를 설명하고 있다(朱橚選, 1959). 염주(*C. lachryma-jobi* Linné)는 한약명으로 천곡(川穀)이라 하며, 후한(後漢) 이전 의이인의 재래종이라는 기록이 본초서의 여러 문헌에서 찾을 수 있지만 현재 의이인으로 사용되고 있지 않다. 일본에서는 염주종자 (일본명: ジュズグマ)의 야생품이 채집되지만 유통되지 않고 있으며, 울무를 의이인의 표준약재로 하고 있다. 우리나라의 대한약전에 의이인은 울무를 표준약재로 정하고 있지만 가격면에서 저렴한 외국산 염주가 수입되어 종피를 제거한 상태로 유통되고 있으므로 오관에 의한 감별이 어려워 진·위 판정에 논란이 되고 있다. 본 연구에서는, 의이인과 염주에 대한 내부형태 특성조사와 정색반응, RAPD(random amplified polymorphic DNA)에 의한 유연관계를 비교하고 유통약재에서의 polymorphism을 함께 비교함으로써 의이인의 감별에 이용할 수 있는 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 생화학용 시약은 Sigma-Aldrich Co.의 제품을 사용하였고, 유기용매는 Merck Co.의 HPLC 급을 사용하였다. RAPD에 사용한 primer는 캐나다의 British Columbia대학 (UBC)에서 개발한 것을 사용하였다. Marker는 GibcoBRL Co.의 100bp DNA ladder를 사용하였고, 건조약재의 DNA의 추출을 위해서

NucleoSpin DNA extract kit (Macherey-Nagel, Germany)를 사용하였다. 기기는 UV/VIS spectrophotometer (Shimazu, Japan), GeneAmp PCR system 2400 (Perkin Elmer, USA), Image master (Pharmacia biotech, USA)를 사용하였다.

식물재료

본 실험에 사용한 울무 (*C. lachryma-jobi* Linné var. *ma-yeun* STAFF.)와 염주(*C. lachryma-jobi* Linné)은 경기도 연천군에 소재한 경기도농업기술원 북부시험장의 협조를 얻어, 보관하고 있는 울무 1호, 대청 울무, 울무 CNU (Chungnam National University), 예산 염주종자, 의성 염주종자, 중국 염주종자를 분양 받았고, 국내에서 시판되고 있는 의이인은 경동시장에서 정도물산, 보생약업사, 새한약국과 강원도 하조대농협에서 구입하였다.

내부형태 특성조사

시료 조직을 5 mm × 5 mm크기로 부위별로 자른 후, FAA용액 (Formalin 5 mL, Glacial acetic acid 5 mL, 50 % Ethyl alcohol 90 mL)에 24시간이상 고정시켰고, 고정액의 침투를 촉진하기 위해 데시케이터와 진공펌프를 이용하여 조직내부의 기포가 조직액 상면에 나타나는 상태까지 탈기시켰다. 탈수는 Lang's butanol series의 2단계에서 부터 진행시켰으며 각 단계에서 탈수시간은 8시간으로 하였으며, 8단계가 끝난 후 다시 100 % butanol로 2 번 탈수하였다. Butanol과 soft paraffin(1 : 1)을 재료가 담겨있는 용기에 넣고 incubator에서 58~60℃를 유지하면서 butanol을 5일동안 완전히 기화시켰다. 여기에 동량의 hard paraffin을 넣어 incubator에서 60~70℃로 1~3일 동안 유지시켰다. 규정의 cake case에 넣어 blocking시킨 다음 1~2일 실온에 방치하였다. 칼날각도를 5도로 하고 두께를 5~10 μm로 하여 절단한 후 albumin을 도포한 slide glass에 검체를 올려 놓고, Slide warmer에서 1~2일동안 overnight하였다. Hematoxylin(Heidenhain's), safranin 및 light green을 사용하여 삼원염색을 하고, Canada balsam으로 봉입하고 건조기에서 24시간 동안 건조한 후, 광학현미경하에서 조직의 특성을 관찰 및 측정하고 사진을 촬영하였다.

박층크로마토그래피(TLC) 및 정색반응

시료 1.0 g에 에탄올 50 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 환류추출한 후, 여과하여 농축하였다. 농축된 시료는 하루동안 vacuum dry oven에 넣어 건조시키고 다시 에탄올을 첨가하여 액기스를 녹여 총 부피가 10 mL 되게 한 후, 시료를 0.45 μm membrane으로 여과하여 TLC

분석에 사용하였다. TLC는 Merck社의 Kiesel gel 60F 254를 사용하였고, 직경 0.2mm의 유리관을 이용하여 희석액을 silicagel plate(10×10 cm, 0.1 mm)에 흡착시켜 전개용매(Hexane : Ethylacetate = 10 : 1)로 전개한 후, UV 단파장과 장파장을 조사하여 확인하고 10 % H₂SO₄를 분사하여 전열판에서 발색시켜 Rf를 구하였다. 정색 반응은 중국의 "상용중약감정대전"(張貴君主編, 1993)에서 제시된 요오드반응법에 의해 처리 하였다.

Total DNA 분리·정제 및 정량

채집한 신선한 잎에서 Doyle와 Doyle(1987)방법을 이용하여 다음과 같이 DNA를 추출하였다. 소량의 시료를 막자사발에 넣고 미세분말상태로 마쇄한 후, 분말 시료를 700 μl의 CTAB buffer (50 mM Tris-HCl(pH 8.0), 0.7 M NaCl, 50 mM EDTA(pH 8.0), 140 mM β-mercaptoethanol)와 혼합한 다음 60℃ 항온기에서 1시간 처리하여 phenol 350 μl와 chloroform : isoamylalcohol (24 : 1) 350 μl를 첨가하여 실온에서 3,500×g로 5분간 원심분리하였다. 상층액 600 μl와 chloroform : isoamylalcohol(24 : 1) 600 μl를 첨가하여 완전히 섞이도록 흔들어진 다음 3,500 × g로 5분간 원심분리하여 상층액 500 μl를 취하여 냉동고에 보관중인 500 μl isopropanol을 넣고 -20℃에서 30분간 정치시켜 DNA를 침전시켰다. 침전시킨 DNA를 3,500×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 pellet을 70 % EtOH로 세척하여 진공 혹은 자연건조시켰다. 건조시킨 DNA를 100 μl TE buffer(10 mM Tris-HCl (pH8.0), 1 mM EDTA)에 용해하여 1 mg/ml의 RNase를 첨가하고 37℃ 항온기에서 30분간, 47℃에서 30분간 처리한 DNA를 1.5 % agarose gel에서 전기영동하여 확인한 후, UV/VIS spectrophotometer(Shimazu, Japan)로 280 nm와 260 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA순도검정 및 정량을 실시하였다. 건조약재의 게놈 DNA는 NucleoSpin DNA extract kit(Macherey-Nagel, Germany)을 사용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 순도와 농도를 측정한 후 -4℃에 보관하면서 사용하였다.

RAPD 분석

PCR(polymerase chain reaction) 증폭은 Williams (1990)의 방법을 수정하여 사용하였다. PCR 반응용액은 멸균증류수에 10×반응 완충액, 200 μM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 300 nM primer(UBC, The University of British Columbia), 1 U DNA polymerase, 50 ng DNA를 혼합하여 총 20 μl로 조성하였다. PCR(Perkin-Elmer, USA)은 GeneAmp PCR system 2400을 이용하여 94℃에서 5분간 predenature한 후 94℃에서 30초

denaturation, 37℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 1분간 extension을 35회 수행하고 마지막으로 72℃에서 10분간 반응시켰다. 증폭된 산물은 1.5 % agarose gel에서 100 bp DNA ladder(GibcoBRL)와 함께 전기영동하여 EtBr로 염색한 후 Image master(Pharmacia biotech, USA)로 관찰하여 결과를 얻었다.

유연관계 분석

유연관계 분석은 DNA band를 분자량에 따라 band가 있을 경우를 1로 주고 없을 경우는 0으로 변환하여 NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) program의 UPGMA(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic average) 분석방법 (Rohlf, 1989)을 이용하여 dendrogram을 작성하였다.

결과 및 고찰

의이인은 한국, 중국 일본 등 동양삼국이 *C. lachryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf로 기원을 같이 하는 벼과 식물로 곡물류의 일종이어서 50~79 %가 전분으로 구성되어 있고 단백질이 16~19 %가 함유되어 있는데, 특히 지방(2~7 %)은 palmitic acid, stearic acid, myristic acid, linolic acid, 8-octadecenoic acid등의 glyceride로 구성되어 있다(難波恒雄, 1994). 의이인과 염주는 동속 근연종이어서 초본으로는 외형상 육안으로 구별하기가 어렵고, 과실이 맺히면 구별이 가능하다. 의이인과 염주의 외부형태는 의이인의 경우 타원형으로 다소 박질(薄質)이며 암갈색인데 비해 염주는 구형이며 복면(腹面)에 홈이 있으며 암회색이고 의이인보다 씨앗이 조금 더 굵고 단단하고 광택이 있고 회색이 강하다. 한약재로 사용되고 있는 의이인은 울무의 종피를 제거한 종인으로 한의학에서는 이수삼습약류(利水삼濕藥類)로 당뇨나 비만 등에 많이 사용하고 있다(신민교, 1997). 근래, 염주가 가격면에서 국내산 울무보다 저렴하게 곡물로 수입되어 의이인과 비슷한 크기로 종피를 제거한 상태로 유통되고 있어 진·위 판별에 논란이 되고 있다. 따라서 본 연구에서는 의이인의 유통품을 외부 형태적 특징으로만 감별하는데는 한계가 있어 내부형태 특성조사와 정색반응, RAPD등을 이용하여 감별을 위한 기초자료로 이용하고자 하였다.

내부형태 특성조사

울무의 종자는 약 300 μm 두께의 목질화된 과피로 싸여있고, 과피는 구성세포의 형태와 배열에 의해 뚜렷하게 구별되는 층상구조로 이루어져 있다. 외과피의 맨 외

측에는 단층의 표피가 분화되며, 그 외측벽은 각피층으로 덮여 있다. 표피의 아래에는 다양한 형태의 석세포가 4~7층으로 배열되고 있으며 석세포 아래에 대후벽세포(macroscleireids)와 섬유상 후벽세포(filiform sclereids)가 수평방향으로 배열됨으로써 뚜렷한 2층의 구조를 이루고 있다. 이러한 과피에 도관이 분포하며, 이를 이루는 도관절은 단천공판과 계단상 벽공을 갖고 있었다. 한편 울무의 종피는 반투명의 매우 얇은 막으로 되어 있으며, 종피의 바깥층을 이루는 세포는 장방형으로 수직벽은 파상의 형태를 띠고 있다. 배유의 맨 외측은 호분층으로 둘러싸여 있고, 주로 단백질을 저장하고 있으며, 그 나머지 대부분은 전분립으로 채워진 저장유조직으로 이루어지며, 세포간극은 발달하지 않았다. 전분립은 주로 구형의 단립형태로 크기는 약 6.3-20 μm 정도이며, 배는 배유의 중앙표면에 위치하여, 원통형으로 상당히 큰 것으로 관찰되었다 (Fig. 1).

염주는 심하게 목질화되어 매우 딱딱한 과피로 싸여 있으며, 과피의 두께는 약 550 μm 정도로 세포의 형태와 배열에 의해 뚜렷하게 구별되는 3층으로 이루어져 있었다. 외과피의 맨 외측에는 단층의 표피가 발달하며, 매우 두꺼운 각피층으로 덮여 있고, 표피의 아래에는 심하게 목질화된 석세포가 170 μm 두께의 층을 이루고 있었다. 그 아래에 위치한 중과피는 섬유상 후벽세포와 대후벽세포가 수평방향으로 배열되고 두께는 약 160 μm 이었다. 그리고, 가장 안쪽의 내과피는 외과피와 마찬가지로 목질화된 2차벽을 갖는 석세포로 구성되었고, 두께는 약

190 μm 정도이다. 종피는 매우 얇은 막질로 맨외측을 이루는 세포는 장방형으로 수직벽은 파상의 형태를 나타내고 있었다. 배유의 맨 외측은 조밀하게 배열된 호분층으로 둘러싸여 있고, 주로 단백질을 저장하고 있으며, 그 안쪽의 배유는 전분립으로 채워진 저장유조직으로 구성되었고, 세포간극은 거의 발달하지 않았다. 전분립은 구형으로 대부분의 단립이나 간혹 2립도 관찰되며, 크기는 5-20 μm 정도이었다(Fig. 1). 의이인의 과피는 석세포로 구성된 층과 대보강세포와 섬유상 보강세포로 이루어진 2층 구조로 구분되는 반면, 염주의 과피는 외과피와 내과피는 석세포로 이루어져 있고 중앙의 중과피는 대보강세포와 섬유상 보강세포로 구성되어 뚜렷한 3층의 구조로 이루어진다. 따라서 과피의 해부학적 특징에 의해 의이인과 염주는 뚜렷하게 식별된다. 즉, 과피의 해부학적 특징에 의해 의이인의 과피는 염주의 과피에 비해 비교적 얇을 뿐만 아니라 상대적으로 목질화의 정도가 약하고 비교적 덜 단단하여 뚜렷하게 구별된다. 이들 결과들은 의이인과 염주의 감별에 있어 유용하게 이용되리라 생각된다.

박층크로마토그래피(TLC) 및 정색반응

TLC를 이용한 확인시험은 Hexane : EtoAc = 10 : 1의 조건에서 전개하였다. TLC 분석결과 국내산 의이인과 염주에서 Rf가 각각 0.67과 0.2에서 밴드가 형성되었고, 중국산 염주에서는 Rf가 0.2에서만 밴드가 형성되었다(Fig. 2). 정색반응은 중국의 “상용중약감정대전(常用

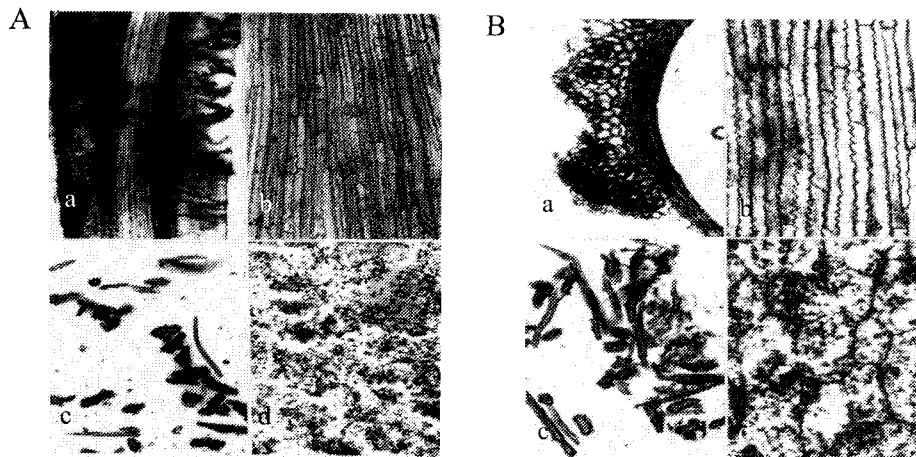


Fig. 1. Anatomical features of *Coix lachryma-jobi* L_{INNE} var. ma-yeun S_{TAPF}(A) and *C. lachryma-jobi* L_{INNE}(B). a; Epidermis of spermoderm, 100X, b; Pericarp, 100X, c; Endosperm and statocyst, 200X, d; Sclereid (stone cell, macroscleireid, fibre sclereid), 200X.

中藥鑑定大典”에서 제시된 요오드반응법(張貴君主編, 1993)에 의해 『1) 횡단면에 요오드를 떨어뜨리면 내유는 암적색, 배반은 암회색을 나타냄, 2) 소량의 시료를 슬라이드글라스에 놓고 요오드를 떨어뜨리면 반경성, 둔다 각형의 단전분립 및 복합전분립은 적색을 띤 갈색을 나타내고 호분립과 공존하는 유세포 중의 소형의 전분립은 청자색을 나타냄』과 같이 처리하였을 때, 본 실험 결과에 의하면 의이인과 염주의 정색반응은 구별이 어려워 실제로 의이인과 염주 사이의 감별 방법으로 적용하기에는 문제가 있다고 판단되었다. 식품의약품안전청의 “의약품등기준 및 시험방법 제2개정”에 고시된 방법(식품의약품안전청, 1998)을 이용하고자 하였으나 전개용매의 조건이 벤젠 : 초산에칠 = 4 : 1로 발암성 물질인 벤젠을 사용하고 있어 실험실에서 사용하기에 쉽지 않은 단점을 가지고 있어 비교적 저독성인 용매를 고려하여, 공정서의 혼합용매의 조건보다 비교적 비극성계를 선택하였다. 의이인과 염주는 초본의 외부형태가 육안으로 구별하기 어려울 정도로 닮아서 혼종될 확률이 높은 것으로 알려지고 있는데, TLC 분석결과, 국내의 의성과 예산 염주는 중국산 염주가 가지고 있는 Rf 0.2에서만 아니라 울무가 가지고 있는 Rf 0.67의 밴드도 형성하고 있었다. 작물이 생산하는 이차대사산물이 서로 연관관계를 갖고 있는 점을 고려하면, 이 결과들은 국내산 의이인과 염주가 많이 혼종되어 있음을 뒷받침해 주는 것이라 생각한다.

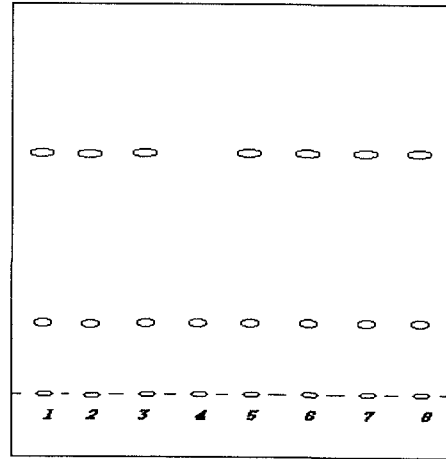


Fig. 2. TLC analysis of Coicis Semen *Coix lachryma-jobi* L_{INNE} var. ma-yeun S_{TAPF}; Lane 1(1-Ho), Lane 2(CNU), Lane 3 (Daecheong). *C. lachryma-jobi* L_{INNE}; Lane 4(China), Lane 5(Uiseong), Lane 6(Yesan), Lane 7(commercial crude material) and 8(commercial crude material). Hexan : EtOAc = 10 : 1.

RAPD 분석

RAPD 분석을 위해 20개의 UBC primer를 사용한 결과 primer 310, 314, 315, 322, 350, 352, 355,

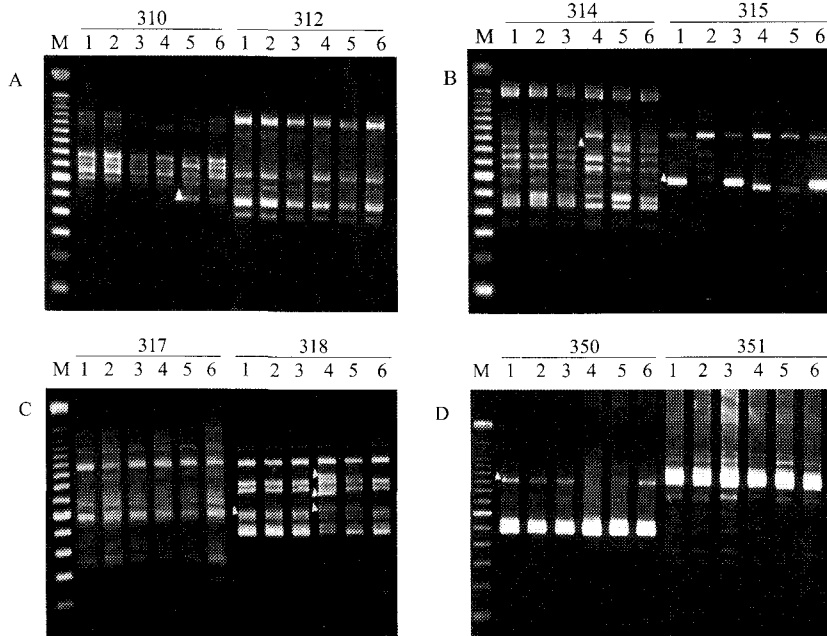


Fig. 3. RAPD polymorphism of Coicis Semen from primer 310, 312, 314, 315, 317, 318, 350 and 351. *Coix lachryma-jobi* L_{INNE} var. ma-yeun S_{TAPF}; Lane 1(1-Ho), 2(CNU), 3(Daecheong). *C. lachryma-jobi* L_{INNE}; Lane 4(China), 5(Uiseong), 6(Yesan). M, 100bp DNA ladder. Arrowheads indicate polymorphic bands.

362에서 품종간 다형성을 나타냈고, 특히 primer 355와 362에서 중국 염주와 의성 염주만 특이 밴드(500 bp, 1300 bp)를 나타냈다 (Fig. 4). 이를 시중에 유통중인 의이인에 적용한 결과, 의성 염주와 중국에서만 나타나는 특이 밴드가 유통되고 있는 의이인에서는 나타나지 않았다(Fig. 5). 따라서 염주가 의이인의 대용품으로 유통되고 있는 것으로 판단되어 보다 많은 시판품에 대해

모니터링 할 필요가 있으며, primer 355와 362은 의이인과 염주의 감별에 유용하게 이용할 수 있을 것으로 생각된다. 의이인과 염주에 대한 유연관계에서는 두 그룹으로 분류되었지만 차이가 매우 미미하였다. 울무 1호와 대청 울무는 같은 유전거리에 있었으며 CNU은 0.974로 유전적인 차이가 거의 없었다. 중국 염주와 의성 염주는 0.956으로 근연관계였고, 예산 염주는 0.863으로 의이

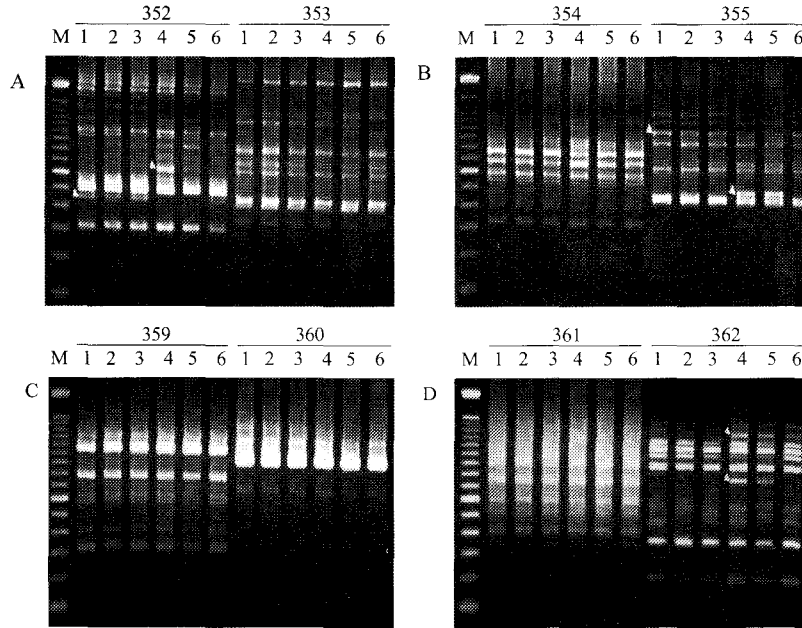


Fig. 4. RAPD polymorphism of Coicis Semen from primer 352, 353, 354, 355, 361 and 362. *Coix lachryma-jobi* L_{INNE} var. ma-yeun S_{TAPF}; Lane 1(1-Ho), 2(CNU), 3(Daecheong). *C. lachryma-jobi* L_{INNE}; Lane 4(China), 5(Uiseong), 6(Yesan). M, 100bp DNA ladder. Arrowheads indicate polymorphic bands.

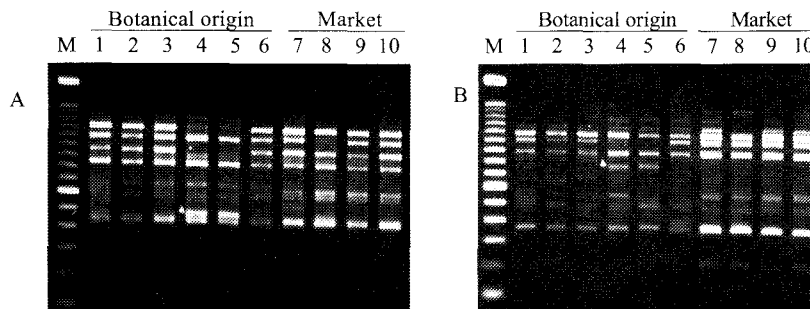


Fig. 5. Comparison of RAPD polymorphism of botanical origin and commercial crude material. The primers used were 355(A) and 362(B). *Coix lachryma-jobi* L_{INNE} var. ma-yeun S_{TAPF}; Lane 1(1-Ho), 2(CNU), 3(Daecheong). *C. lachryma-jobi* L_{INNE}; Lane 4(China), 5(Uiseong), 6(Yesan), Commercial crude material; Lane 7(Bosaengdang), 8(Saehan), 9(Hajodae), 10(Jeongdo). M, 100bp DNA ladder. Arrowheads indicate polymorphic bands.

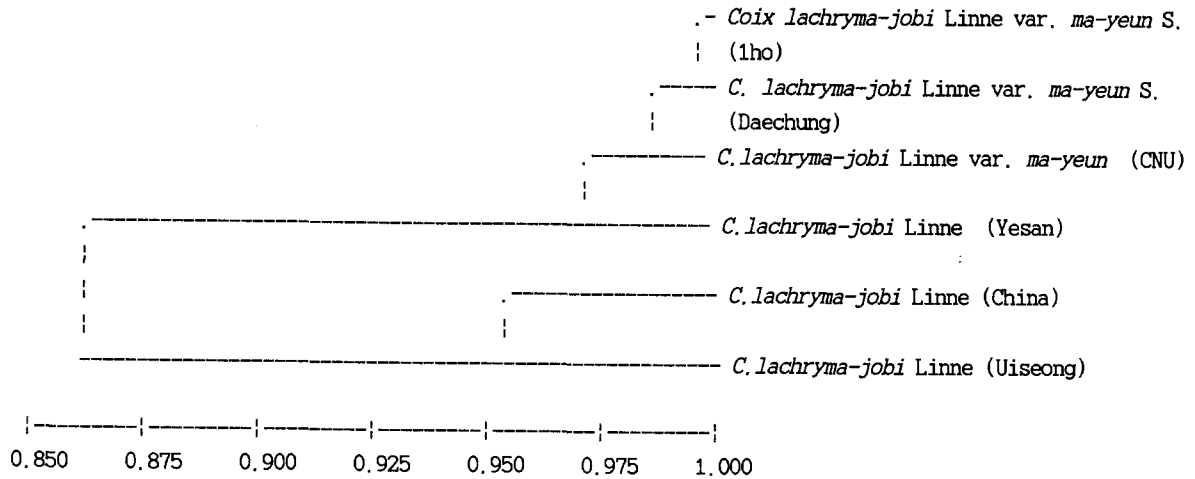


Fig. 6. Dendrogram showing the genetic relationship among *Coixis Semen* accessions based on RAPD markers.

인과 염주의 중간거리에 있었다 (Fig. 6). 이상의 결과에서 수집된 종자와 유통 약재에서 RAPD 분석법을 통해 종피를 제거한 의이인 감별에 적절히 이용할 수 있을 것으로 여겨진다.

주와 의성 염주의 특이 밴드(500bp, 1300bp)가 관찰되었다.

적 요

의이인과 염주는 동속 근연종으로 외부형태가 유사하고 종피를 깎아 유통하기 때문에 육안으로 식별하기에는 한계가 있다. 특히, 염주는 일부 수입품에서 의이인과 비슷한 크기로 염주 종피를 깎아 유통시키고 있어 진·위 판별에 논란이 되고 있다. 본 연구에서는 의이인의 유통품을 외부 형태적 특징으로만 식별하기 어려운 문제를 해결하고자 내부형태 특성조사와 정색반응, RAPD등을 이용하여 감별을 위한 기초자료로 이용하고자 한다.

1. 의이인의 과피는 석세포로 구성된 층과 대보강세포와 섬유상 보강세포로 이루어진 2층 구조로 구분되는 반면, 염주의 과피는 외과피와 내과피는 석세포로 이루어져 있고 중앙의 중과피는 대보강세포와 섬유상 보강세포로 구성되어 뚜렷한 3층의 구조로 이루어진다.

2. TLC를 이용한 확인시험에서 Hexane : EtoAc = 10 : 1의 조건으로 전개하였을 때 중국산 염주에서는 Rf가 0.2에서만 밴드가 형성되었다.

3. 중국의 "상용중약감정대전(常用中藥鑑定大典)"에서 제시된 요오드반응법에 의한 의이인과 염주의 정색반응은 구별이 어려웠다.

4. RAPD 분석에서 8개 primer에서 품종간 다형성 밴드가 관찰되었고, UBC primer 355와 362에서 중국 염

LITERATURE CITED

Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19 : 11-15

Hu, J. and C. F. Quiros. 1991. Identification of broccoli and cauliflower cultivars by RAPD markers. *The Cell Reports* 10 : 505-511

Roholf F. J. 1989. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exter, New York, USA.

Torres, A. M., T. Millan and J. I. Cubero. 1993. Identifying rose cultivars using random amplified polymorphic DNA markers. *Hortscience* 28(4) : 333-334

Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18 : 6531-6535

難波恒雄. 1994. 和漢藥百科圖鑑, 保育社, 東京 p. 306-309

陶弘景選. 1955. 本草經集注, 中國古典醫學叢刊, 群聯出版社, 北京 p. 312

식품의약품안전청. 1998. 고시 제1998-127호 의약품 등 기준 및 시험방법 제2개정, (주)약업신문 출판국, 서울 p. 1355

신민교. 1997. 임상본초학 개정증보판. 영림출판사. 서울 p. 654-655

吳普等述, 孫星衍, 孫馮翼 輯. 1976. 神農本草經. 嘉慶 4年 (1799年) 刊本復刻, 商務印書館, 北京 p. 135

張貴君主編. 1993. 常用中藥鑑定大典, 黑龍江科學技術出版社, 上海 p. 224

朱橚選. 1959. 救荒本草, 萬曆 14年(1586年) 刊復刻, 中華書局影印, 北京 p. 357