

## 할미꽃속 식물 5종의 핵형 분석

이우규\*† · 최혜운\* · 방재욱\*†

\*충남대학교 생명과학부

### Karyotype Analysis of Five Species of Genus *Pulsatilla*

Woo Kyu Lee\*, Hae Woon Choi\*, and Jae Wook Bang\*†

\*School of Biosciences and Biotechnology, Chungnam Natl. Univ., Daejeon 305-764, Korea.

**ABSTRACT** : Karyotypes were established in five *Pulsatilla* species from Korea : *P. cernua*, *P. davurica*, *P. koreana*, *P. chinensis* and *P. tongkangensis*. The somatic chromosome numbers of five species were all  $2n=2x=16$  with the basic number of  $x=8$ . The chromosome complement of *P. cernua* consisted of 5 pairs of metacentric, 1 pair of submetacentric and 2 pairs of subtelocentric. *P. davurica*, *P. koreana* and *P. chinensis* consisted of 5 pairs of metacentric and 3 pairs of subtelocentric. *P. tongkangensis* consisted of 5 pairs of metacentric, 2 pairs of submetacentric, and 1 pair of subtelocentric. Karyotype formulas of *P. davurica*, *P. koreana*, and *P. chinensis* were the same as  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 6st$ , while those of *P. cernua* was  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 2sm + 4st$  and *P. tongkangensis* was  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 4sm + 2st$ , respectively.

**Key words** : *Pulsatilla*, chromosome number, karyotype formula

## 서 언

할미꽃속 (*Pulsatilla*) 식물은 미나리아재비과 (Ranunculaceae)에 속하며, 한반도 전역의 산야에 자생하는 다년생 초본으로 개화기는 4~5월경이다 (Lee, 1985). 본 속의 식물은 북반구에 약 30종이 분포하며, 한국에는 가는잎할미꽃 (*P. cernua*), 분홍할미꽃 (*P. davurica*), 할미꽃 (*P. koreana*), 산할미꽃 (*P. nivalis*), 노랑할미꽃 (*P. cernua* Spreng. var. *koreana*), 중국할미꽃 (*P. chinensis*)과 미기록종으로 보고된 동강할미꽃 (*P. tongkangensis*)이 자생하고 있는 것으로 보고되어 있다 (Lee, 2000).

할미꽃은 뿌리를 백두옹이라 하며, 예로부터 한방 약초로서 널리 이용되어 왔다 (Kwon, 1993; Baek, 1995). 약용성분으로는 protoanemonin, anemonin 및 saponin I,

II, III 등이 있어 소염, 진통, 해독, 해열 등의 효능이 있다 (Park, 2002). 또한 잎, 줄기, 뿌리에서 짜낸 즙액은 항균 작용이 있다고 보고 (Sin & Jung, 1990) 된 바 있으며, 할미꽃 뿌리에서 제초 활성물질이 분리된 바 있다 (Jeong *et al.*, 1996). 이러한 효능과 성분 때문에 할미꽃에 대한 연구는 대부분 생화학적인 분야에서 이루어져 왔다 (Kim & Kim, 1971; Kang, 1989; Lee *et al.*, 1998; Cheon *et al.*, 2000).

최근 자생식물에 대한 관심이 높아지면서 식물 유전자원에 대한 보존과 이용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 (Bang, 2004), 약용식물로 이용되고 있는 할미꽃속에 대한 염색체에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다 (Darlington & Wylie, 1955; Lee, 1967a, 1967b). 본 연구는 한국에 자생하고 있는 할미꽃속 식물 5종의 핵형을 확립하여 세포유전학적인 기반을 마련하고자 수행되었다.

† Corresponding author : (Phone) +82-42-821-5497 (E-mail) bangjw@cnu.ac.kr  
Received October 6, 2004 / Accepted November 6, 2004

재료 및 방법

1. 식물재료

본 연구에 사용한 재료는 한택식물원 (경기도 용인시)에서 분양받은 가는잎할미꽃 (*P. cernua* Thunb. Spreng), 분홍할미꽃 (*P. davurica* Spreng), 중국할미꽃 (*P. chinensis* (Bunge.) Regel.), 동강할미꽃 (*P. tongkangensis* Y. Lee et TC Lee) 과 충남 공주군 반포면에서 채집한 할미꽃 (*P. koreana* Nakai)을 충남대학교 포장에 이식하여 재배하면서 연구 재료로 사용하였다.

2. 염색체 관찰 및 핵형 분석

염색체를 관찰하기 위하여 왕성하게 성장하고 있는 식물의 근단을 채취하여 1-bromonaphthalene 포화 수용액에서 6시간 전처리 한 다음, acetic acid-alcohol (1:3, v/v)에 고정하여 냉장실에 보관하면서 재료로 이용하였다. 고정된 근단은 1N HCl (60°C)에서 6분간 연화한 다음 Feulgen 용액에서 염색 후, 1% aceto-carmine을 이용하여 압착법으로 슬라이드를 제작하여 염색체를 관찰하고, 양호한 분열상은 현미경하에서 마이크로미터를 이용해 길이 측정 후 사진을 촬영하고, 핵형 분석에 사용하였다.

핵형은 Levan 등 (1964)의 방법에 따라 arm-ratio (R=L/S)를 비교하여 R=1.0-1.7일 경우 중부 염색체 (m, median), R=1.7-3.0일 경우 차중부 염색체 (sm, submedian), R=3.0-7.0일 경우 차단부 염색체 (st, subterminal), R=7.0 이상일 경우 단부 염색체 (t, terminal)로 상동염색체 쌍을 구분하였으며, 염색체의 배열은 긴 것로부터 짧은 순으로 고유 번호를 부여하였다.

결과 및 고찰

한국에 분포하는 할미꽃속 5종을 대상으로 핵형을 분석한 결과 모든 종에서 염색체 수는  $2n=2x=16$ , 기본 염색체 수는  $x=8$ 로 확인되었다. 상동염색체 쌍은 중부, 차중

부, 차단부 염색체로 구분되었으며, 단부 염색체는 관찰되지 않았다 (Table 1).

가는잎할미꽃 (*P. cernua*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5번), 1쌍의 차중부 염색체 (6번)와 2쌍의 차단부 염색체 (7, 8번)였으며, 염색체의 크기는  $4.62\sim 8.25\ \mu\text{m}$ 로 나타났다. 분홍할미꽃 (*P. davurica*)의 염색체의 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5 염색체)와 3쌍의 차단부 염색체 (6, 7, 8 염색체)였으며, 염색체의 크기는  $5.90\sim 10.66\ \mu\text{m}$ 로 나타났다. 할미꽃 (*P. koreana*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5 염색체)와 3쌍의 차단부 염색체 (6, 7, 8 염색체)였으며, 염색체의 크기는  $5.25\sim 8.80\ \mu\text{m}$ 로 나타났다. 동강할미꽃 (*P. tongkangensis*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5번), 2쌍의 차중부 염색체 (6, 7번)와 1쌍 차단부 염색체 (8번)였으며, 염색체의 크기는  $4.67\sim 8.97\ \mu\text{m}$ 로 나타났다. 중국할미꽃 (*P. chinensis*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5번)와 3쌍의 차단부 염색체 (6, 7, 8번)였으며, 염색체 크기는  $4.33\sim 6.99\ \mu\text{m}$ 로 나타났다 (Table 1, Fig. 1).

핵형 분석 결과 1번부터 5번 염색체는 5종 모두에서 중부 염색체로 나타났으며, 6번-8번 염색체는 종 사이에 차이를 보였고, 특히 인형성염색체는 가는잎할미꽃의 7번 염색체에서만 관찰되었다 (Table 1). Levan 등 (1964)의 방법에 따른 핵형 비교에서 분홍할미꽃, 할미꽃, 중국할미꽃은  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 6st$ 로 유형이 같게 나타났고, 가는잎할미꽃에서는 6번이 차중부 염색체로 핵형은  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 2sm + 4st$ , 동강할미꽃은 5번과 6번이 차중부 염색체로 핵형은  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 4sm + 2st$ 로 나타나 차이를 보였다. 할미꽃의 핵형 분석에서 Lee (1967a)는 핵형을  $K(2n) = 2x = 16 = 2m + 8sm + 6st$ 로 구분하여 본 연구에서 중부 염색체로 분석된 1, 2, 3, 5번을 차중부 염색체로 보고한 바 있는데, 이는 상동염색체 쌍을 비교한 기준의 차이 때문에 나타난 결과이다.

Table 1. Analysis of somatic metaphase chromosomes in five *Pulsatilla* species.

Species	Chromosome No.	Chromosome size ( $\mu\text{m}$ )	Karyotype Formula
<i>P. cernua</i>	$2n=16$	4.62- 8.25	$2A^m+2B^m+2C^m+2D^m+2E^m+2F^{sm}+2G^{st*}+2H^{st}$
<i>P. davurica</i>	$2n=16$	5.90-10.66	$2A^m+2B^m+2C^m+2D^m+2E^m+2F^{st}+2G^{st}+2H^{st}$
<i>P. koreana</i>	$2n=16$	5.25- 8.80	$2A^m+2B^m+2C^m+2D^m+2E^m+2F^{st}+2G^{st}+2H^{st}$
<i>P. tongkangensis</i>	$2n=16$	4.67- 8.97	$2A^m+2B^m+2C^m+2D^m+2E^m+2F^{sm}+2G^{sm}+2H^{st}$
<i>P. chinensis</i>	$2n=16$	4.33- 6.99	$2A^m+2B^m+2C^m+2D^m+2E^m+2F^{st}+2G^{st}+2H^{st}$

m : metacentric, sm : submetacentric, st : subtelocentric. Asterisk indicates the nucleolar-organizer.

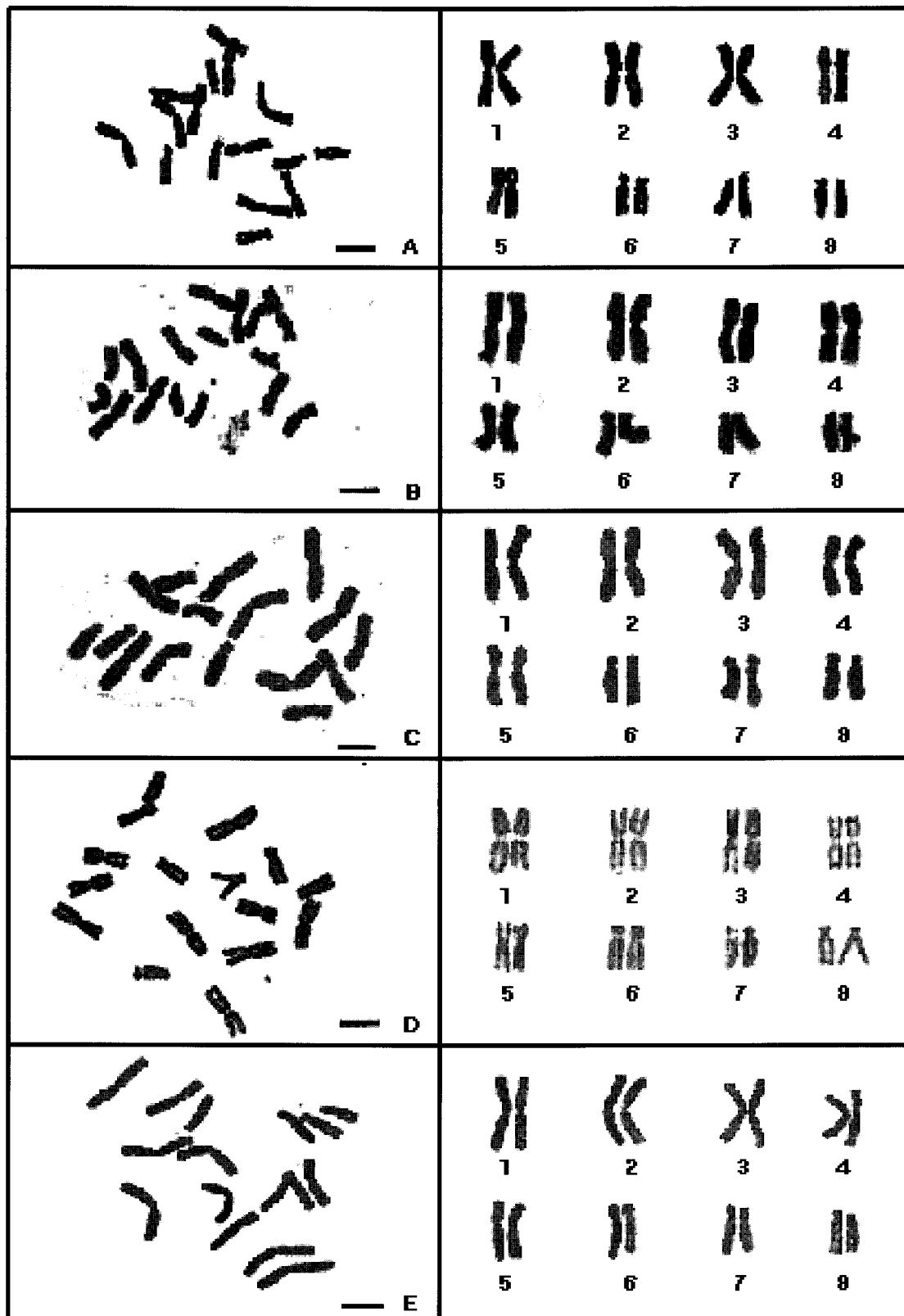


Fig. 1. Somatic methaphase chromosome complements ( $2n=2x=16$ ) and karyotypes of five *Pulsatilla* species  
 A: *P. cernua*, B: *P. davurica*, C: *P. koreana*, D: *P. tongkangensis*, E: *P. chinensis*. Bars 5  $\mu$ m.

염색체의 크기는 분홍할미꽃에서 5.90~10.66  $\mu\text{m}$ 로 다른 종에 비하여 길이가 다소 길고 크게 나타났으며, 중국 할미꽃에서는 4.33~6.99  $\mu\text{m}$ 로 다른 종에 비하여 염색체의 길이가 비교적 짧게 나타나 차이를 보였다 (Table 1).

본 연구에서 확립한 할미꽃속 5종의 핵형은 형태적으로 변이가 심하여 분류에 어려움이 있는 할미꽃속 식물의 자원화 연구에 기초 자료로 활용될 수 있을 것이다. 그리고 본 종들에 대한 보다 명확한 핵형과 종간의 세포학적인 구분을 위해서는 45S, 5S rDNA 등의 분자 마커를 이용한 분자세포유전학적 방법이 도입되어야 될 것으로 사료된다.

## 적 요

한국에 분포하고 있는 할미꽃속 5종에 대한 핵형 분석을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 체세포 중기 염색체 수는 모두  $2n=2x=16$ , 기본 염색체 수는  $x=8$ 로 관찰되었다. 가는잎할미꽃 (*P. cernua*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5번), 1쌍의 차중부 염색체 (6번)와 2쌍의 차단부 염색체 (7, 8번)로 핵형은  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 2sm + 4st$ 로 나타났고, 염색체의 크기는 4.62~8.25  $\mu\text{m}$ 였다. 분홍할미꽃 (*P. davurica*), 할미꽃 (*P. koreana*) 및 중국할미꽃 (*P. chinensis*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5번)와 3쌍의 차단부 염색체 (6, 7, 8번)로 핵형은  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 6st$ 로 유사하게 나타났다. 염색체의 크기는 분홍할미꽃에서 5.90~10.66  $\mu\text{m}$ , 할미꽃에서 5.25~8.80  $\mu\text{m}$ , 중국 할미꽃에서 4.33~6.99  $\mu\text{m}$ 로 차이를 보였다. 동강할미꽃 (*P. tongkangensis*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체 (1, 2, 3, 4, 5번), 2쌍의 차중부 염색체 (6, 7번)와 1쌍의 차단부 염색체 (8번)로 핵형은  $K(2n) = 2x = 16 = 10m + 4sm + 2st$ 로 구분되었으며, 염색체의 크기는 4.67~8.97  $\mu\text{m}$ 로 나타났다.

## 사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이용 기술개발사업단의 연구비 지원 (과제번호 : PF0300201-00, 방재욱)에 의해 수행되었습니다.

## LITERATURE CITED

- Baek YH (1995) Anti-tumor effects of extracts of *Pulsatilla koreana* (SB-31) *in vitro*. Ph. D. Thesis, Chungnam National Univ., Korea. p. 1-15.
- Bang JW (2004) Chromosome Index to Korean Native Plants-2004. Korea Plant Chromosome Research Center, p. 1-172.
- Cheon SA, Choi BK, Jeong CS, Li DW, Lee EB (2000) The anti-inflammatory and analgesic actions of the root of *Pulsatilla koreana*. Korean J. Pharmacogn. 31(2):174-184.
- Darlington CD, Wylie AP (1955) Chromosome Atlas of Flowering Plants. 2nd Ed. George Allen & Urwin Ltd. London, p. 23-24.
- Jeong HJ, Kim KW, Kim HD (1996) Isolation of herbicidal compounds from *Pulsatilla koreana* roots. Korean J. Plant Res. 9:47-54.
- Kang SS (1989) Saponin from the roots of *Pulsatilla koreana*. Arch. Pharm. Res. 12:42-47.
- Kim IH, Kim KH (1971) Studies on the pharmacologically active substances of *Pulsatilla koreana*. The isolation of hederagenin. Korean J. Pharmacogn. 2:121-123.
- Kwon HS (1993) Studies on the pharmaco-constituents of ether fraction of *Pulsatilla radix*. MS Thesis, Joongang Univ., Korea, p. 1-2.
- Lee HH, Ma SJ, Moon JH, Park KH (1998) Isolation and characterization of 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid and 3,4-Dihydroxycinnamic acid with antimicrobial activity from root of *Pulsatilla koreana*. Agri. Chem. Biotech. 41:191-196.
- Lee TB (1985) Illustrated flora of Korea. Hyangmoonsa, Seoul, Korea, p. 346-347.
- Lee YN (1967a) A comparative study on the Korean and Manchurian *Pulsatilla*. Kor. Res. Inst. Better Living 10:379-382.
- Lee YN (1967b) Chromosome numbers of flowering plants in Korea. J. Korean Cult. Res. Inst., Ewha Women's Univ. 11:455-464.
- Lee YN (2000) *Pulsatilla* in Korea. Bulletin of Korea Plant Research 1:9-15.
- Levan A, Frekga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centromeric position in chromosomes. Hereditas 52:201-220.
- Park JH (2002) The Encyclopedia of Chinese Crude Drugs. Sinilsangsa, Seoul, Korea. p. 307-309.
- Sin MK, Jung BS (1990) Herb Medicine Encyclopedia. Younglymsa, Seoul, Korea. p. 495.