

## Angelica속 식물 7종의 세포유전학적 분석

최혜운\* · 구달회\* · 이우규\* · 김수영\* · 성정숙\*\* · 성낙술\*\* · 서영배\*\*\* · 방재욱\*†

\*충남대학교 생명과학부, \*\*작물과학원 인삼약초과, \*\*\*서울대학교 천연물과학연구소

## Cytogenetic Analysis of Seven *Angelica* Species

Hae-Woon Choi\*, Dal-Hoe Koo\*, Woo-Kyu Lee\*, Soo-Young Kim\*, Jung-Sook Sung\*\*, Nak-Sul Seong\*\*, Youngbae Suh\*\*\*, and Jae-Wook Bang\*†

\*School of Biosci. & Biotech., Chungnam Natl. Univ., Daejeon 305-764, Korea.

\*\*National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea.

\*\*\*Natural Products Research Institute, Seoul Natl. Univ., Seoul 110-460, Korea.

**ABSTRACT :** Karyotypes were established in seven *Angelica* species cultivated in Korea. The somatic chromosome numbers were  $2n = 2x = 22$  with the basic number of  $x = 11$  in all *Angelica* plants examined. Their metaphase chromosomes ranged from  $3.56 \mu\text{m}$  to  $8.91 \mu\text{m}$  in length. Distinctive Karyotypes were found in two species, *A. tenuissima* with all metacentrics,  $K(2n) = 2x = 22m$ , and *A. genuflexa* with all subtelocentrics,  $K(2n) = 2x = 22st$ . Karyotype formulas of *A. gigas*, *A. acutiloba*, *A. sinensis*, *A. decursiva* and *A. dahurica* were  $K(2n) = 2x = 20m + 2sm$ ,  $K(2n) = 2x = 12m + 10sm$ ,  $K(2n) = 2x = 16m + 6sm$ ,  $K(2n) = 2x = 18m + 4sm$  and  $K(2n) = 2x = 10m + 10sm + 2st$ , respectively. Cytological data showed that chromosomal polymorphisms within species were observed in *Angelica* plants compare to other regions.

**Key words :** *Angelica*, chromosome number, karyotype

### 서 언

당귀속 (*Angelica*) 식물은 미나리과 (Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본식물로 동북 아시아에 널리 분포하고 있다. 본 속 식물들은 뿌리에 함유된 유용한 약용성분으로 인하여 한방의 주요 약재로 사용되어 왔으며, 특히 보혈, 빈혈, 해열, 진통, 건위, 진정 및 부인병 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다 (Park, 2002, 2004).

당귀속의 대표적인 식물인 참당귀나 일당귀 등에 대한 약용 성분 분석 (Ham *et al.*, 1996; Hwang & Yang, 1997; Cho *et al.*, 2003), 조직배양 (Miura *et al.*, 1988; Watanabe *et al.*, 1998), 분자적 연구 (Mizukami *et al.*, 1997; Lee & Rasmussen, 2000)가 수행된 바 있다. 당귀속은 기본 염색체수가  $x=11$ 로 알려져 있다 (Darlington & Wylie, 1955). 본 속 식물들의 세포유전학적 연구는 일본에 분포하는 일당귀를 비롯한 구릿대, 바다나물, 참당귀, 왜천궁 등에서 염색체 수와 핵형에 대한 연구가 수행된 바 있으며 (Hatano *et al.*, 1974, 1975; Arano & Saito, 1977, 1979). 중국과 러시아에 서식하는 본속 식물들에서도 핵형에 대한 보고 (Pan *et al.*, 1985;

Vasil'eva & Pimenov, 1991)가 있다. 한국에 분포하는 당귀속 식물에서는 참당귀, 바다나물 및 일본 원산의 일당귀에 대한 세포유전학적 연구가 있을 뿐 (To, 1970; Koo *et al.*, 2003), 약용작물로서 높은 가치를 지닌 본 속에 대한 유전자원 이용과 보존의 기초 자료가 되는 세포유전적 연구는 미진한 실정이다.

핵형은 체세포 중기 염색체의 형태적 특징에 따라 구분하는 방법으로 당귀속 식물과 같이 형태적 구분이 쉽지 않은 경우 핵형 분석을 통한 세포유전학적 수준에서 종의 구분이 가능하다. 또한 핵형 분석 자료는 종의 분류 및 계통 연구에도 유용한 자료가 될 수 있다. 본 연구에서는 우리나라에서 약용식물로 널리 재배하고 있는 당귀속 식물 7종을 대상으로 핵형 분석을 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 식물재료

본 연구에 사용한 재료는 농촌진흥청 작물과학원 (경기도 수원시 소재) 약용작물 유전자원 전시포장에 재배중인 참당귀

†Corresponding author: (Phone) +82-42-821-5497 (E-mail) bangiw@cnu.ac.kr

Received March 20, 2005 / Accepted March 31, 2005

Table 1. Karyotype analysis of *Angelica* species.

| Species              | Chromosome no. | Chromosome size ( $\mu\text{m}$ ) | Karyotype formula  |
|----------------------|----------------|-----------------------------------|--|
| <i>A. gigas</i>      | 2n = 22        | 4.67-6.88                         | 2A <sup>m</sup> +2B <sup>m</sup> +2C <sup>m</sup> +2D <sup>m</sup> +2E <sup>m</sup> +2F <sup>m</sup> +2G <sup>m</sup> +2H <sup>m</sup> +2I <sup>m</sup> +2J <sup>m</sup> +2K <sup>sm</sup>           |
| <i>A. acutiloba</i>  | 2n = 22        | 5.09-8.91                         | 2A <sup>m</sup> +2B <sup>sm</sup> +2C <sup>m</sup> +2D <sup>m</sup> +2E <sup>m</sup> +2F <sup>sm</sup> +2G <sup>sm</sup> +2H <sup>sm</sup> +2I <sup>m</sup> +2J <sup>m</sup> +2K <sup>sm</sup>       |
| <i>A. sinensis</i>   | 2n = 22        | 4.93-5.89                         | 2A <sup>m</sup> +2B <sup>m</sup> +2C <sup>m</sup> +2D <sup>m</sup> +2E <sup>m</sup> +2F <sup>sm</sup> +2G <sup>m</sup> +2H <sup>m</sup> +2I <sup>sm</sup> +2J <sup>m</sup> +2K <sup>sm</sup>         |
| <i>A. tenuissima</i> | 2n = 22        | 4.83-7.38                         | 2A <sup>m</sup> +2B <sup>m</sup> +2C <sup>m</sup> +2D <sup>m</sup> +2E <sup>m</sup> +2F <sup>m</sup> +2G <sup>m</sup> +2H <sup>m</sup> +2I <sup>m</sup> +2J <sup>m</sup> +2K <sup>m</sup>            |
| <i>A. decursiva</i>  | 2n = 22        | 5.43-7.16                         | 2A <sup>m</sup> +2B <sup>m</sup> +2C <sup>m</sup> +2D <sup>m</sup> +2E <sup>sm</sup> +2F <sup>sm</sup> +2G <sup>m</sup> +2H <sup>m</sup> +2I <sup>m</sup> +2J <sup>m</sup> +2K <sup>m</sup>          |
| <i>A. dahurica</i>   | 2n = 22        | 3.92-7.59                         | 2A <sup>m</sup> +2B <sup>m</sup> +2C <sup>m</sup> +2D <sup>sm</sup> +2E <sup>sm</sup> +2F <sup>sm</sup> +2G <sup>m</sup> +2H <sup>st</sup> +2I <sup>sm</sup> +2J <sup>sm</sup> +2K <sup>m</sup>      |
| <i>A. gemiflexa</i>  | 2n = 22        | 5.09-6.83                         | 2A <sup>st</sup> +2B <sup>st</sup> +2C <sup>st</sup> +2D <sup>st</sup> +2E <sup>st</sup> +2F <sup>st</sup> +2G <sup>st</sup> +2H <sup>st</sup> +2I <sup>st</sup> +2J <sup>st</sup> +2K <sup>st</sup> |

m: metacentric, sm: submetacentric, st: subtelocentric, t: telocentric. Asterisks indicate nucleolar-organizer.

(*A. gigas* Nakai), 일당귀 (*A. acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagawa), 당당귀 (*A. sinensis* Diels), 고본 (*A. tenuissima* Nakai), 바다나물 (*A. decursiva* (Miq.) Fr. et Sav.), 구릿대 (*A. dahurica* (Fisch) Benth. et Hooker f.)와 왜천궁 (*A. gemiflexa* Nutt) 등 7종을 분양받아 화분에 옮겨 심은 후 근단을 채취하여 염색체를 관찰하였다.

## 2. 염색체 관찰과 핵형 분석

염색체 관찰을 위해서 식물체의 근단을 채취하여 1-bromonaphthalene 포화 수용액에서 22~24시간 (4°C) 전처리 한 다음 1:3 고정액 (glacial acetic acid: ethanol, v/v)에 고정하여 냉장실에 보관하였다. 고정된 근단은 1N HCl (60°C)에서 6분간 연화시킨 다음 수세하여 Feulgen 용액에서 염색한 후 1% aceto-carmin 용액을 이용하여 압착법으로 슬라이드를 제작하여 현미경으로 염색체를 관찰하였다. 양호한 분열상은 마이크로미터로 길이를 측정하고 사진을 촬영 후 핵형 분석에 사용하였다.

핵형은 Levan *et al.* (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 것으로부터 짧은 순서로 하여 고유 번호를 부여하였다.

## 결과 및 고찰

한국에서 재배되고 있는 당귀속 식물 7종의 핵형 분석 결과는 Table 1에서와 같다. 7종의 염색체 수는 모두 2n=2x=22로 관찰되었으며, 기본 염색체 수는 x=11로 확인되었다 (Fig. 1).

참당귀 (*A. gigas*)의 염색체 조성은 10쌍의 중부 염색체와 1쌍의 차중부 염색체였으며, 염색체의 크기는 4.67-6.88  $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 일당귀 (*A. acutiloba*)의 염색체 조성은 6쌍의 중부 염색체와 5쌍의 차중부 염색체였으며, 염색체의 크기는 5.09-8.91  $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 당당귀 (*A. sinensis*)의 염색체 조성은 8

쌍의 중부 염색체와 3쌍의 차중부 염색체였으며, 염색체의 크기는 4.93-5.89  $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 또한 11번 염색체가 인형성염색체로 관찰되었다. 고본 (*A. tenuissima*)의 염색체 조성은 11쌍 모두 중부 염색체로 독특하였으며, 염색체 크기는 4.83-7.38  $\mu\text{m}$ 로 나타났고 9번 염색체가 인형성염색체로 관찰되었다. 바다나물 (*A. decursiva*)의 염색체 조성은 9쌍의 중부 염색체와 2쌍의 차중부 염색체로 나타났으며, 염색체 크기는 5.43-7.16  $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 구릿대 (*A. dahurica*)의 염색체 조성은 5쌍의 중부 염색체, 5쌍의 차중부 염색체 및 1쌍의 차단부 염색체로 나타났으며, 염색체 크기는 3.92~7.59  $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 왜천궁 (*A. gemiflexa*)은 11쌍 모두 차단부 염색체로 특징적이었으며, 염색체의 크기는 5.09~6.83  $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 5번 염색체가 인형성염색체로 관찰되었다.

당귀속은 120여종이 포함된 비교적 큰 속으로 북반구에 널리 분포한다. 특히 동북아시아 지역이 본 속 식물들의 중심 지역으로 종다양성이 높게 나타나는 것으로 알려져 있다 (Vasil'eva & Pimenov, 1991). 넓은 분포지와 지리적 차이로 인하여 일부 종에서 세포유전적 차이가 관찰되었다. 참당귀의 경우 핵형이 본 연구에서는 K(2n)=2x=20m+2sm으로 나타났으나, 기존의 보고에서는 K(2n)=2x=8m+12sm+2st (To, 1970), K(2n)=2x=8m+10sm+2st+2st<sup>sat</sup> (Arano & Saito, 1979) 및 K(2n)=2x=10m+12sm (Koo *et al.*, 2003)로 관찰된 바 있고, 본 연구에서 처음으로 기본 염색체 이외의 1개의 B염색체가 관찰되기도 하였다 (Fig. 1).

일당귀의 핵형은 본 연구에서 K(2n)=2x=12m+10sm으로 구분되었다. 일본 원산인 일당귀의 경우에는 K(2n)=2x=8m+6sm+6st+2st<sup>sat</sup>, K(2n)=2x=4m+10sm+6st+2st<sup>sat</sup> 등의 핵형적으로 차이를 보여 일본내에서 지리적으로 다형현상이 존재함이 보고된 바 있다 (Arano & Saito, 1979). 또한 일당귀의 핵형은 K(2n)=2x=8m+12sm+2st (To, 1970), K(2n)=2x=18m+4sm (Vasil'eva & Pimenov, 1991), K(2n)=2x=12m+2sm+8st (Koo *et al.*, 2003)으로 구분되어 보고된 바 있으며, 일본 집단에서 B염색체가 관찰되기도 하였다.

바다나물은 본 연구에서 K(2n)=2x=18m+4sm으로 구분되었으나, 기존의 보고에서는 K(2n)=2x=8m+12sm+2st (To, 1970), K(2n)=2x=6m+12sm+2st+2st<sup>sat</sup> (Arano &

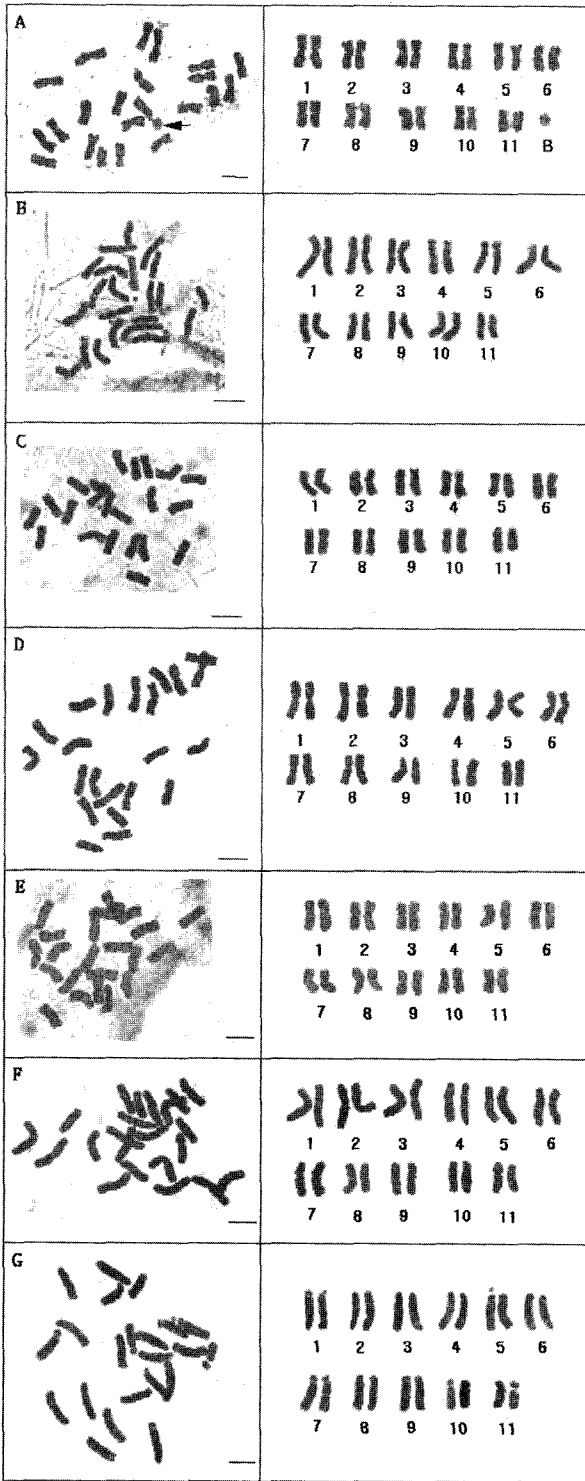


Fig. 1. Somatic metaphase chromosome complements and karyotypes of seven *Angelica* species. A, *Angelica gigas*; B, *A. acutiloba*; C, *A. sinensis*; D, *A. tenuissima*; E, *A. decursiva*; F, *A. dahurica*; G, *A. genuflexa*. Arrow indicates B-chromosome. Bars, 5  $\mu$ m.

Saito, 1977) 및  $K(2n)=2x=18m+4sm$  (Vasil'eva & Pimenov, 1991)로 구분한 바 있다. 구릿대의 경우에는 본 연구에서

$K(2n)=2x=10m+10sm+2st$ 의 핵형으로 구분되었으나, 기존 보고에서는  $K(2n)=2x=12m+2m^{sat}+4st+4st^{sat}$  (Pan *et al.*, 1985),  $K(2n)=2x=6m+12sm+2st+2st^{sat}$  (Arano & Saito, 1977),  $K(2n)=2x=18m+4st$  (Vasil'eva & Pimenov, 1991)로 보고된 바 있다. 일본에 서식하는 구릿대에서는 B염색체가 관찰되기도 하였다 (Hatano *et al.*, 1975).

왜천궁의 경우에는  $K(2n)=2x=22st$ 로 모두 차단부 염색체로만 관찰되어 본 속의 다른 종들과 비교하여 다소 이질적인 핵형으로 나타났으며, 기존의 보고에서는  $K(2n)=2x=10m+10sm+2st^{sat}$  (Arano & Saito, 1979),  $K(2n)=2x=18m+4sm$  (Vasil'eva & Pimenov, 1991)으로 구분하여 본 연구와 차이를 보였다. 중국 원산인 당당귀는  $K(2n)=2x=16m+6sm$ 으로 구분되었고, 고본은  $K(2n)=2x=22m$ 으로 모두 중부 염색체로만 구성되어 있었다.

핵형은 염색체의 크기와 형태에 따라 구분하는 것으로 동원체 (centromere)의 위치를 기준으로 염색체쌍이 분류되는데, Kihara & Yamamoto (1932)는 v, j, i shape 염색체로 구분하였고, Levan *et al.* (1964)은 median (중부), submedian (차중부), subterminal (차단부), terminal (단부)로 세분하였으며, White (1940)는 metacentric, submetacentric, subtelocentric, telocentric (acrocentric)으로 명명하기도 하였다. 최근에 와서는 염색체 구분에 Levan *et al.* (1964)의 분류 방법이 많이 이용되고 있다. 따라서 핵형의 차이는 연구자들 간에 동원체를 중심으로 장완과 단완 사이 비교한 기준의 따라 약간의 차이를 보이기도 한다. 그러나 일당귀, 바다나물, 구릿대, 왜천궁의 경우에는 본 연구에서와 동일한 Levan *et al.* (1964)의 기준에 따른 기존의 핵형 (Vasil'eva & Pimenov, 1991)에서 차이를 보여 러시아, 일본 등지에 분포하는 같은 종 사이에 상당한 핵형적 변이가 있음을 알 수 있었다. 특히 당귀속 식물들은 외부형태적으로 유사하여 약재를 혼용하는 등 동정에 어려움이 있으나, 핵형과 같은 세포학적 방법은 이들의 동정을 위하여 간접적으로 이용될 수 있을 것으로 여겨진다. 종간에 보다 명확한 구분을 위해서는 rDNA와 같은 분자 마커를 사용한 염색체의 FISH (fluorescence *in situ* hybridization)와 5S rDNA spacer sequence를 사용한 염기서열 비교와 같은 분자세포유전학적 방법의 도입이 요구되고 있다.

## 적 요

한국에서 재배되고 있는 당귀속 (*Angelica*) 식물 7종을 대상으로 핵형 분석을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 당귀속 식물들의 기본염색체 수는  $x=11$ 로, 체세포 염색체 수는 모든 종에서  $2n=2x=22$ 로 관찰되었다. 참당귀의 핵형은  $K(2n)=2x=20m+2sm$ , 일당귀의 핵형은  $K(2n)=2x=12m+10sm$ , 당당귀의 핵형은  $K(2n)=2x=16m+6sm$ , 고본의 핵형은  $K(2n)=2x=22m$ , 바다나물은  $K(2n)=2x=18m+4sm$ ,

구릿대는  $K(2n) = 2x = 10m + 10sm + 2st$ , 왜천궁은  $K(2n) = 2x = 22st$ 로 각각 구분되었다. 염색체 크기는  $3.56 \mu m - 8.91 \mu m$  사이였다. 고분의 체세포 염색체는 모두 중부 염색체로, 왜천궁은 모두 차단부 염색체로만 관찰되어 다른 종들과 이질적인 핵형을 보였다. 한국에 분포하고 있는 당귀속 식물의 핵형과 러시아, 일본, 중국에 분포하는 식물들의 핵형과 비교에서는 일부 다형현상이 관찰되었다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21 사업인 특용작물연구단의 연구비 지원 (PI, 방재욱)에 의해 수행되었습니다.

## LITERATURE CITED

- Arano H, Saito H** (1977) Cytological studies in family Umbelliferae. I. Karyotypes in *Angelica* 1. La Kromosomo II-5:146-157.
- Arano H, Saito H** (1979) Cytological studies in family Umbelliferae. IV. Karyotypes in genus *Angelica* 2. La Kromosomo II-15-16:417-426.
- Cho MG, Bang JK, Chae YA** (2003) Comparison of volatile compounds in plant parts of *Angelica gigas* Nakai and *A. acutiloba* Kitagawa. Korean J. Medicinal Crop Sci. 11:352-357.
- Darlington CD, Wylie AP** (1955) Chromosome Atlas of Flowering Plants. The McMillan Co., New York. p. 210.
- Ham MS, Kim SS, Hong JS, Lee JH, Chung EK, Park YS, Lee HY** (1996) Screening and comparison of active substances of *Angelica gigas* Nakai produced in Kangwon and *Angelica acutiloba* Kitagawa produced in Japan. Korean J. Appl. Microbial. Biotech. 24:624-629.
- Hatano K, Nishioka I, Iwasa S** (1974) Cytogenetical studies of Umbelliferous plants. I. The karyotype and cross-compatibility on the original plants of Japanese "Toki". Japan J. Pharmacognosy 28:51-60.
- Hatano K, Nishioka I, Iwasa S** (1975) Cytogenetical studies of Umbelliferous plants. III. The karyotype analyses of *Angelica* species in Japan. Japan J. Pharmacognosy 29:10-21.
- Hwang JB, Yang MO** (1997) Comparison of chemical compounds of *Angelica gigas* and *A. acutiloba* Kitagawa. Korean J. Food Sci. Technol. 29:1113-1117.
- Kihara H, Yamamoto Y** (1932) Karyomorphologische untersuchungen an *Rumex acetosa* L and *Rumex montanus* Desf. Cytologia 3: 84-118.
- Koo DH, Kim SY, Bang KH, Seong NS, Bang JW** (2003) Cytogenetic analyses of *Angelica* plants using feulgen staining and multicolor fluorescence *in situ* hybridization. Korean J. Plant Biotech. 30:123-127.
- Lee SB, Rasmussen SK** (2000) Molecular markers in some medicinal plants of the Apiaceae family. Euphytica 114:87-91.
- Levan A, Frekga K, Sandberg A** (1964) Nomenclature for centromeric position in chromosomes. Hereditas 52:201-220.
- Miura Y, Fukui H, Tabata M** (1988) Reduced inhomogeneity of *Angelica acutiloba* plants propagated clonally through somatic embryoids. Planta Med. 54:79-81.
- Mizukami H, Hao BS, Tanaka T** (1997) Nucleotide sequence of 5S-rDNA intergenic spacer region on *Angelica acutiloba*. Natural Med. 51:376-378.
- Pan ZH, Chin HC, Wu ZJ, Yuan CQ** (1985) The Karyotype of *Angelica dahurica* and their taxonomical significance (Umbelliferae). Acta Phytotaxon. Sinica 23:185-187.
- Park JH** (2002) The Encyclopedia of Chinese Crude Drugs. Shinilsangsa Publishing Co., Seoul. p. 1-973.
- Park JH** (2004) Medicinal Plants of Korea. Shinilsangsa Publishing Co., Seoul. p. 988-1017.
- To CA** (1970) Cytotaxonomical study of genus *Angelica*. J. Kor. Res. Inst. Better Living 5:57-61.
- Vasil'eva MG, Pimenov MG** (1991) Karyotaxonomical analysis in the genus *Angelica* (Umbelliferae). Plant Syst. Evol. 177:117-138.
- Watanabe A, Araki S, Kobari S, Sudo H, Tsuchida T, Uno T, Kosaka N, Shimamura K, Yamazaki M, Saito K** (1988) In Vitro propagation, restriction fragment length polymorphism, and random amplified polymorphic DNA analyses of *Angelica* plants. Plant Cell Rep. 18:187-192.
- White MDJ** (1940) The origin and evolution of multiple sex-chromosome mechanisms. J. Genet. 40: 303-336.