

## 천년초 선인장의 기원연구

(주)바이오피아, <sup>1)</sup>충남농업기술원, <sup>2)</sup>경희대학교  
인준교, 이범수, 한승호<sup>1)</sup>, 신철우<sup>1)</sup>, 양덕춘<sup>2)</sup>\*

### A Study of the Origin of Chunyeoncho Opuntia

BioPia Co., Ltd, <sup>1)</sup>Chungnam A.R.E.S. <sup>2)</sup>KyungHee University  
Jun-Gyo In, Bum-Soo Lee, Seung-Ho Han<sup>1)</sup>, Cheol-Woo Shin<sup>1)</sup>, Deok-Chun Yang<sup>2)</sup>\*

#### 연구목적

부채선인장과에 속하는 천년초는 외래종으로 국내의 환경조건에 적응하여 한 겨울에도 노지에서 월동이 가능해 진 것으로 보인다. 제주도에서 군락을 형성하여 자생하는 백년초 선인장은 월동이 불가능하며 천년초와 같이 월동이 가능한 선인장이 전라도 등에서 발견되고 있는데 생존률은 천년초에 비해서 떨어진다. 천년초 선인장의 형태적인 특징을 살펴보면 부채선인장과 *Opuntia humifusa*와 유사한 형태를 하고 있으나 명확한 근거는 없는 실정이다. 현재 천년초 선인장은 충남 아산을 중심으로 점차 재배면적이 확대되고 있으며, 식품원료와 화장품원료로서의 수요가 점차 증대하고 있어 중요한 농가소득 작물로서 자리잡아가고 있다. 천년초 선인장의 소비시장이 확대됨에 따라서 명확한 기원 규명에 대한 필요성이 대두되고 있다. 본 연구에서는 국내에서 자생하는 백년초, 전라도 선인장을 비롯하여 *Opuntia* 속 선인장으로부터 internal transcribed sequence region을 분리하고 염기서열분석을 통하여 천년초선인장의 기원을 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

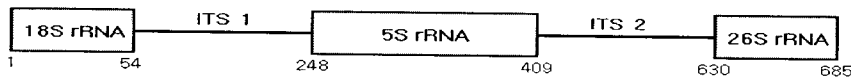
#### 재료 및 방법

- 식물재료 : *Opuntia humifusa*을 비롯한 *Opuntia*속 선인장은 미국에서 구입하였으며, 국내에서 자생하는 천년초, 백년초, 전라도 선인장은 충남 아산시 소재 (주)여러분의 천년초 농장에서 분양 받아 사용하였다. 각 선인장의 줄기를 일부 채취하여 액체질소로 얼린 후 -80℃에 보관하였다.
- Genomic DNA 추출 : 동결 건조한 선인장들의 줄기를 막자사발에 넣고 액체질소를 첨가하여 완전히 마쇄한 후 추출버퍼에 용해시키고 GENE<sup>ALL</sup>™ SV column (Generalbiosystem, Korea)으로 정제하였다. 추출된 DNA는 spectrophotometer (Amersham Biosciences, USA)를 사용하여 정량 한 후 0.8% agarose gel에 전기영동하여 확인하였고, 50 ng/ul로 희석한 후 소량씩 분주하여 -20℃ 냉동고에 보관하면서 사용하였다.
- ITS 유전자 cloning 및 sequence 분석 : 식물 ITS primer(rev-TCCTCCGCTTAT TGATATGC, for-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAG G)를 사용하여 PCR증폭(95℃ 30sec, 55℃ 30sec, 72℃ 1min) 35회 실시하여 ITS 영역을 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물은 pGEM-T easy vector(Promega, USA)에 cloning하여 염기서열분석을 실시하였다. DNASIS 프로그램(Hitachi)을 사용하여 벡터영역을 제거한 후 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 blast algorithm에 따라서 상동성 검색을 실시하였고, 과 유연관계 분석을 실시하였으며, Clustal W (1.82)로 유연관계를 조사하였다.

## 결과 및 고찰

국내에 자생하는 천년초의 기원 규명을 목적으로 전라도 선인장, 백년초와 더불어 외국산 *Opuntia*속 선인장 22종을 수집하고 이들로부터 DNA를 추출한 후 PCR 증폭을 실시하였다. PCR 증폭 산물을 전기영동하여 확인한 후 agarose gel로부터 정제하였고, pGEM-T easy 벡터에 cloning하였다. rDNA 영역의 cloning 여부를 확인하고자 *Eco* RI 제한효소를 처리한 후 전기영동하여 insert 유무를 확인하고 염기서열분석을 실시하였다. 그 결과 천년초 선인장으로 부터는 685 bp의 염기정보를 얻었다(Fig. 1). 천년초 rDNA 영역은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 18S rRNA, ITS1, 5S rRNA, ITS2, 26S rRNA의 coding gene이 직렬적인 배열로 연결되어 있다. 18S rRNA의 길이는 54 bp로서 3'말단의 partial sequence이고 162 bp의 5S rRNA, 26S rRNA는 56 bp로서 5'부분의 partial sequence로 구성되어 있으며, 이들 사이에 스페이서 영역인 193 bp의 ITS1과 220 bp의 ITS2로 구성되어 있다. 천년초 선인장의 기원을 명확히 하기 위해서는 유연관계가 가까운 *Opuntia*속 선인장들의 ITS 영역 유전자를 cloning하여 염기서열을 비교할 필요성이 있다. 미국에서 *Opuntia humifusa*를 비롯한 21종의 *Opuntia*속 선인장 중에서 *O. humifusa*, *O. rufida*, *O. invicta*, *O. grahamii* 4종의 ITS 영역을 cloning하여 염기서열을 분석하여 국내에 자생하는 천년초, 전라도 선인장, 백년초와 비교하였다. 그 결과 천년초와 미국산 *Opuntia humifusa*는 99%의 매우 높은 유사도를 내었고, 국내 자생종인 전라도 선인장, 백년초, *O. rufida* 등과도 마찬가지로 99%의 높은 유사도를 보였다.

A



B

ITS-for  
**GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTC**  
**GAAA** 60  
CCTGCCCAGCAGAAAGACCCGCGAACATGTTTTTCCCATGAACACGCAGGGAGGGGCGCC  
**T** 120  
CTGCCCCATCCCTGGCGCAACAACAACCCCGGCGCAACCGCGCCAAGGAACACGAAC  
**T** 180  
AAAGGCGTGCCCGCCCGCGCCCGGTCCGCGGCGCACGGGGCGGCACCTGTCCCTACTT  
 240  
AAAACGTAACGACTCTCGGCAACGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAG  
**CG** 300  
AAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCA  
**AG** 360  
TTGCGCCCAAAGCCTTCCGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTC  
**C** 420  
CCCCCGCTGCCGGGGGAAGGATGATGGCCTCCCGTACCCTAACCGGGCGCGGCTGGCC  
 480  
TAAAACGGGAGCCCGCGGCGACGAGCTGCAGCGGCGATTGGTGGTGGACGAGGCCTTCG  
**C** 541  
GGCCCCTGTTTGCATCGCGTCGCGCACGCACCGTCCGGAGAAGGGCTCGTTGGACCCCT  
**A** 600  
AGGTGTTGCTGAAAAGCACAAACCGTTGCGACCCAGGTCAGGCGGGGCTACCCGCTGA  
**G** 660  
**TTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA** 685

ITS-rev

Fig. 1. Schematic diagram of chunnyeoncho rDNA region and nucleotide sequence. Pair of ITS primers are represented with boldic. ITS 1 and ITS2 spacer region are underlined.