

人蔘品種間 Isozyme pattern 比較

손 응룡* · 박 원목* · 이 용세* · 안 상득** · 천 성룡**

Comparison of Isozyme Patterns among Varieties of Ginseng, *Panax* spp.

Eung Ryong Son*, Won Mok Park*, Yong Se Lee*,
Sang Deug Ahn** and Seong Ryong Chun**

ABSTRACT

The present researches were carried out to classify the species of ginseng by electrophoretic methods with isozyme patterns of LAP, esterase, GOT, phosphatase, peroxidase and proteins.

All variants of Korean and Japanese ginseng had identical band patterns of the investigated enzymes in roots as well as in seeds. However, American ginseng had different patterns from those of Korean or Japanese.

緒 言

高麗人蔘(*Panax ginseng*)에 관한 연구는 生理, 生態學的인 特性, 成分, 成分의 人體에 대한 生理, 生化學的인 作用, 藥理作用, 臨床的 研究 등에서 많이 이루어져 왔으며^{1,12)} 農學的 側面의 研究는 育種, 栽培 및 土壤, 病·害虫에 관한 研究가 활발히 進行 되어 오고 있다.³⁾

그러나 人蔘의 育種에 관한 研究는 未盡하여 系統이나 品種의 分化조차 명확히 이루어지지 않은 狀態로 古來로부터 現在까지 栽培되어오고 있으며 그러한 人蔘은 環境의 要因에 따라 形態的, 生理的, 生態的 形質의 變異가 다양한 것으로 알려져 있다.^{2,6)} 실제로 現在 栽培되고 있는 人蔘을 紫莖種(Violet-stem variant)이라 하며 줄기와 葉柄의 色 및 果實의 色에 의해 黃熟種(Yellow-berry variant), 青莖種(Green-stem variant), 橙黃熟種(Orange yellow-berry variant) 등이 變種으로 알려져 있어 遺傳 및 育種의 研究에 利用되어지고 있다.

電氣泳動法을 使用하여 植物의 系統發生學的인 研

究²⁾ 集團遺傳學的 研究⁷⁾ 및 genom 分析⁵⁾ 등의 研究가 여러가지 植物에서 이루어져 왔다. 本 研究는 電氣泳動法을 利用하여 現在 알려진 人蔘의 變種들이 실제로 어떤 遺傳形質의 變異에서 基因한 別個의 品種으로 確立할 수 있는지를 알아보고 그들 品種間의 系統發生的인 類緣關係를 밝히고저 실시하였다.

材料 및 方法

1. 植物 材料

國內産 人蔘으로 紫莖種, 黃熟種, 青莖種 및 산양삼(山養蔘)을 使用하였고 日本品種으로는 紫莖種, 黃熟種 및 미마끼를 使用하였으며 美國蔘 1個 品種 등 8個 品種을 使用하였다.

2. 電氣泳動 試料의 採取

酵素抽出 완충용액으로는 0.1M Tris-HCl buffer (pH 7.5)를 使用하였다. 使用된 buffer의 量은 種子는 種皮를 除去한 무게의 3倍, 뿌리는 2倍의 量을 첨가하였으며, 유발로 마쇄한 後 冷凍高速遠心分離機(4°C)에서 12,000 ×g로 30分間 遠心分離시킨 다

* 高麗大學校 農科大學(College of Agriculture, Korea University)

** 韓國人蔘煙草研究所(Korea ginseng and tobacco research institute) <1984. 8. 16 接受>

음 上澄液을 다시 12,000×g로 30分間 遠心 分離 시켜 上澄液을 電氣泳動試料로 使用하였다.

3. 電氣泳動法

2~30% polyacrylamide gradient tube gel 을 使用하였으며 gel buffer는 0.25M Tris-HCl beffer (pH 8.9)를 使用하였다.¹¹⁾ 電流은 처음 100volt 로 1時間 泳動 後 電壓을 상승시켜 200volt 로 固定하여 23時間 電氣泳動시켰다.

Isoelectric focusing은 pH 4~9인 Servalyt를 使用하였다.¹⁰⁾

4. 發色法

Protein의 發色은 Coomassie-brilliant-blue R-250을 使用하였으며 esterase, phosphatase, peroxidase는 朴 등¹⁰⁾의 方法을 使用하였다. Leucine aminopeptidase (LAP)는 L-leucine-B-naphthylamide-HCl과 Fast black K salt를 使用하였고 glutamate-oxalate transaminase (GOT)는 L-aspartic acid 400mg, Fast Blue BB salt 300mg, α-ketoglutaric acid 200mg, Pyridoxal-5'-phosphate 1.0mg, Tris-HCl buffer (0.1M, pH 8.0) 100ml를 混合한 溶液으로 37°C에서 약 30分間 發色시켰다.⁷⁾

結 果

同一品種內에서 個體間的 同位酵素 變異는 觀察되지 않았으며, 서로 다른 지역의 圃場에서 採取한 2年生 뿌리와 3年生 뿌리間에도 各品種間的 protein과 시험된 同位酵素의 表現型에 差異가 없었다(Fig. 1, 2). 그러나 同一品種에서도 部位間에는 差異가 있어 뿌리와 種子間에는 protein과 各 同位酵素의 表現型에 差異가 있었다(Fig. 1, 2).

紫莖種과 黃熟種의 種子에서 추출된 protein과 시험한 모든 同位酵素의 表現型은 同一하였다(Fig. 3).

各 品種間 뿌리의 protein과 同位酵素 表現型의 比較는 다음과 같았다.

Protein: 國內變種과 日本變種은 모두 同一한 表現型을 보였으나 美國種은 다른 表現型을 觀察할 수 있었다(Fig. 4).

LAP: 供試한 모든 品種이 同一한 表現型을 보여 品種間 差異가 없었다(Fig. 4).

Esterase: 國內變種과 日本變種은 모두 E1, E3,

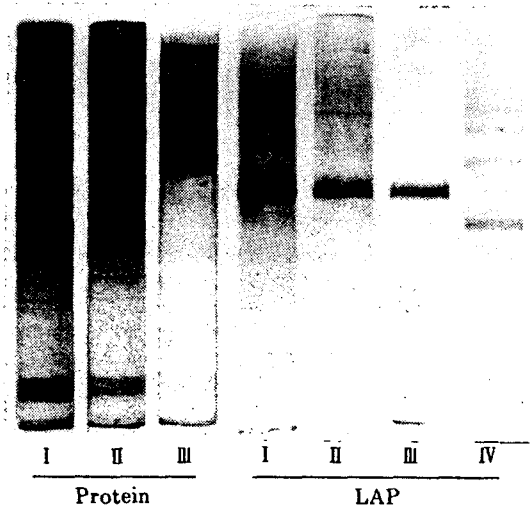


Fig. 1. Protein and LAP patterns from the roots and seeds of ginseng (c.v. Violet-stem variant) on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. 2 years old root, II. 3 years old root, III. Seed, IV. MW-markers, oligomers of 67kd protomer.

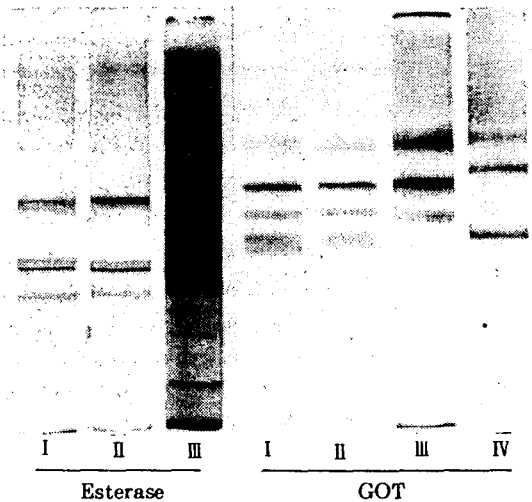


Fig. 2. Esterase and GOT patterns from the roots and seeds of ginseng (c.v. Violet-stem variant) on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. 2 years old root, II. 3 years old root, III. Seed, IV. MW-markers, oligomers of 67kd protomer.

E4, E5의 band를 갖는 同一한 表現型을 보였으며 美國種은 E2, E3, E5의 表現型을 가지고 있었다

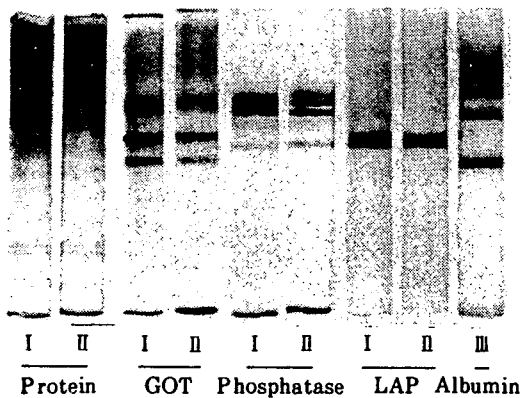


Fig. 3. Protein, GOT, Phosphatase and LAP patterns from the seeds of ginseng on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. Violet-stem variant, II. Yellow-berry variant, III. MW-markers, oligomers of 67kd protomer.

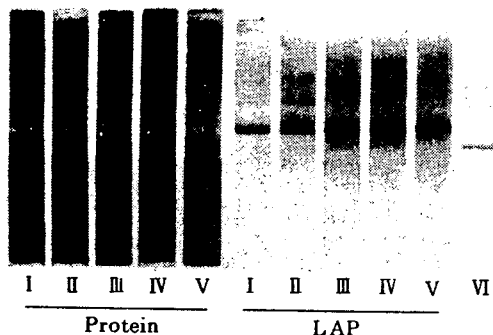


Fig. 4. Protein and LAP patterns from the roots of ginseng on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. Violet-stem variant, II. Yellow-berry variant, III. Japanese Violet-stem variant, IV. Japanese Yellow-berry variant, V. American ginseng (*Panax quinquefolium*), VI. MW-markers, oligomers of 67kd protomer.

(Fig. 5).

國內紫莖種의 試料과 美國蔘의 試料를 混合하여 電氣泳動한 結果 E1과 E2가 同時에 觀察되어 서로 다른 band 임을 확인할 수 있었다(Fig.6).

GOT: 國內品種과 日本品種은 모두 G2, G3의 表現型을 보여 品種間 差異가 없었으나 美國種은 G1, G3의 表現型을 가지고 있었다(Fig.5). G1과 G2가 서로 다른 表現型임은 esterase와 같은 方法으로 확인하였다(Fig.6).

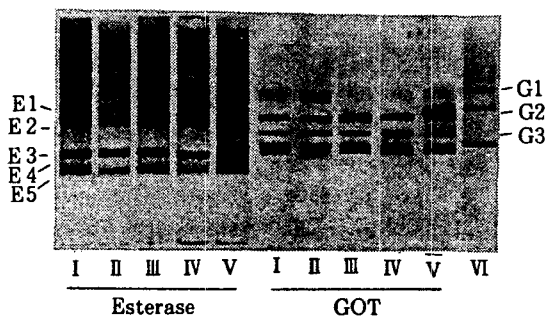


Fig. 5. Esterase and GOT patterns from the roots of ginseng on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. Violet-stem variant, II. Yellow-berry variant, III. Japanese Violet-stem variant, IV. Japanese Yellow-berry variant, V. American ginseng (*Panax quinquefolium*), VI. MW-markers, oligomers of 67kd protomer.

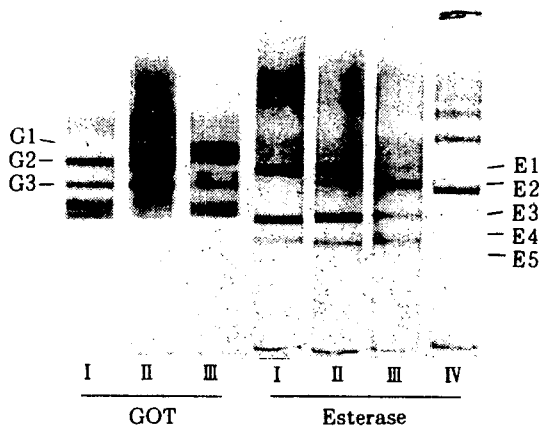


Fig. 6. GOT and esterase patterns from the roots of ginseng on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. Violet-stem variant, II. I+III, III. American ginseng (*Panax quinquefolium*), IV. MW-markers, oligomers of 67kd protomer.

Isoelectricfocusing에 의한 esterase의 同位酵素도 國內種과 日本種은 同一한 表現型을 보였다(Fig.7).

이상 觀察한 protein과 LAP, esterase, GOT, phosphatase, peroxidase(Fig. 8)의 表現型에 의해

Stout¹³⁾의 方式으로 $\frac{\text{동일 band 수}}{\text{총 band 수}} \times 100 (\%)$ 로 類

群關係를 表 1에 表示하였다.

Table 1. Percentage of similarity between cultivars of the ginseng

	VSV	YBV	GSV	SYS	JVSV	JYBV	MMG	AG
VSV	—	100	100	100	100	100	100	65*
YBV			100	100	100	100	100	65
GSV				100	100	100	100	65
SYS					100	100	100	65
JVSV						100	100	65
JYBV							100	65
MMG								65
AG								—

$$* \frac{\text{number of same bands}}{\text{total number of bands}} \times 100$$

VSV: Vilot-stem variant, YBV: Yellow-berry variant, GSV: Green-stem variant, SYS: San yang sam, JVSV: Japanese Violet-stem variant, JYBV: Japanese Yellow-berry variant, MMG: Mimagi, AG: American ginseng (*Panax quinquefolium*)

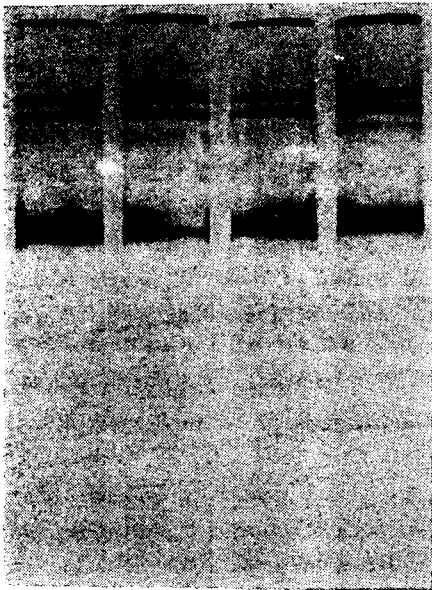


Fig. 7. Polyacrylamide gel isoelectric focusing patterns of esterase isozymes (pH 4-9) from the roots of ginseng. I. Violet-stem variant, II. Yellow-berry variant, III. Japanese Violet-stem variant, IV. Japanese Yellow-berry variant.

考 察

植物生體內的 酵素가 몇개의 서로 다른 分子型 즉 同位酵素 (Isozyme)로 存在하고 있음이 알려진 以後 遺傳因子的 一次産物인 酵素蛋白質을 分析함으로써 蛋白質의 構造 및 subunit의 遺傳的 研究⁵⁾ 遺傳分析



Fig. 8. Peroxidase patterns from the roots of ginseng on 2~30% polyacrylamide gradient tube gel. I. Violet-stem variant, II. Yellow-berry variant, III. Green-stem variant, IV. San-yang sam, V. Japanese Violet-stem variant, VI. Japanese Yellow-berry variant, VII. Mimagi, VIII. American ginseng (*Panax quinquefolium*).

을 통해 확인된 標識遺傳子(marker gene)를 利用하는 集團遺傳學的 研究,⁷⁾ 品種의 判別¹¹⁾ 등 여러 分野에 利用되고 있다.

人蔘의 變種分類는 줄기, 葉柄 및 果實의 色 등 주로 外形의 形質에 의한 것으로서 葉柄이 紫色 혹은 靑紫色을 띠며 果實이 成熟되면 빨간색을 띠는 것을 紫莖種이라 하며 黃熟種은 果實이 成熟하면 노란색을 띠는 것으로서 1926年 開豐郡, 1928年 長湍郡에서 變異體로 發見된 것이며 靑莖種은 줄기와 葉柄의 色이 純綠色으로 1926年 長湍郡에서 發見된 것이

다.¹⁾

이와 같이 人蔘의 各 變種은 變異特性에 의해서 系統分離되어 現在 育種材料로서 研究에 利用 되어지고 있으나 이러한 形態의 差異에 의한 變種의 分類는 環境的 要因에 의해서 同一品種內의 個體間에도 外形의 形質의 差異가 다양하다는 것을²⁾ 고려할 때 未盡한 面이 있으며 電氣泳動法을 利用한 同位酵素의 表現型分析과 같은 生化學的인 研究가 有效하게 利用되어질 수 있으리라 思料되었다.

本 實驗의 結果에서는 國內 紫莖種과 黃熟種, 靑莖種, 산양삼(山養蔘) 등이 모두 同一한 同位酵素의 表現型을 가지고 있어 100%의 類緣關係를 보임으로서 모든 變種들이 遺傳的으로 同一함을 알 수 있었다. 實地 人蔘은 古來로부터 各 變種에 새로운 gene 의 導入이 없이 現在까지 栽培되어 왔다. Protein과 各 同位酵素의 表現型은 同一한 變種內의 個體間과 栽培 環境이 다른 圃場의 2年生 뿌리와 3年生 뿌리에서도 同一하게 觀察되어 外形의 形質의 變異는 遺傳 因자의 變異에 基因되는 것이 아닐까 알 수 있었다.

日本人蔘은 1727年 淸國의 商人인 俞枚吉이 우리나라의 人蔘 8뿌리와 種子 60個를 가지고 日本에 건너간 것이 現在 日本人蔘의 始祖라고 하였는데³⁾ 本 實驗에서도 國內人蔘과 同一한 protein과 同位酵素의 表現型을 보임으로서 日本人蔘은 國內人蔘과 同一한 系統이라고 믿어졌다.

美國蔘은 species가 다른 것으로서 國內人蔘이나 日本人蔘과 比較할 때 65%의 類緣關係를 보여 species가 다르다는 것을 확인할 수 있었다.

電氣泳動法을 利用한 本 實驗의 結果에서 觀察한 바와 같이 人蔘變種間 同位酵素 表現型의 分析에 의해 모든 變種이 同一한 遺傳的 素質을 가지고 있다는 것을 알 수 있었으므로 國內種과 日本種의 모든 人蔘은 同一한 遺傳的 素質을 가지고 있는 것으로 思料된다.

摘 要

本 實驗은 現在 줄기, 葉柄 및 果實의 色에 의해 紫莖種, 黃熟種 및 靑莖種으로 分類되어 있는 人蔘의 變種들이 遺傳因자의 變異에 따른 것인지의 與否를 확인하기 위하여 國內 紫莖種, 黃熟種의 種子와 2, 3年生의 뿌리 그리고 靑莖種, 산양삼, 日本紫莖種, 黃熟種, 미마가와 美國蔘의 2年生 뿌리를 使用하여 protein과 esterase, phosphatase, GOT, LAP 및

peroxidase의 同位酵素 表現型을 2~30% polyacrylamide gradient tube gel을 使用 電氣泳動法에 의해 觀察한 結果는 다음과 같았다.

1. 同一 變種內에서 個體間 및 2年生 뿌리와 3年生 뿌리間에는 同一한 同位酵素의 表現型을 가지고 있었으나 種子와 뿌리는 다른 表現型을 보였다.

2. 紫莖種과 黃熟種의 種子는 protein 및 觀察한 모든 同位酵素의 表現型間에 差異가 없었다.

3. 2年生 뿌리에서 國內人蔘과 日本蔘은 同一한 protein과 同位酵素의 表現型을 보였으나 美國蔘은 다른 表現型을 보였다.

따라서 本 實驗結果로서는 國內人蔘과 日本蔘의 變種들은 모두 同一한 것으로 思料된다.

引 用 文 獻

1. Bae, H. W. 1978. Characteristics of variants of ginseng plants. In Korean Ginseng, 57-58. Samhwa Printing Co., Seoul Korea.
2. 崔光泰·李種華·千成龍. 1979. 人蔘의 開花期 變異에 關한 研究. 高麗人蔘學會誌 3:35~39.
3. Chung, H. S. and C. H. Yim. 1978. Biological control of roots of ginseng with soil amendments. Proceeding Inter. Ginseng Symp. 67~74. Seoul Korea.
4. Han, B. H. 1974. Chemical components of Korean ginseng. Korean Ginseng Symp. Kor. Soci. Pharmacognosy.
5. Hirofumi, U. and S. G. Wildman. 1978. Evolution of fraction I protein in relation to origin of amphidiploid Brassica species of the Cruciferae. The Journal of Heredity 69:299~303.
6. 金暎來·曹在星. 1974. 人蔘 主要鹽的 形質의 遺傳에 關한 研究. 忠南大學校 農業技術研究報告 1:5~8.
7. Kim, Z. S. and Y. P. Hong. 1982. Genetic analysis of some polymorphic isozymes in *Pinus densiflora* (L.). Jour. Korean For. Soc. 58:1~7.
8. 高麗人蔘研究文獻編纂委員會. 1979. 人蔘의 栽培. 25. 서울.
9. Nakagahra, M., T. Akihama, and K. Hayaishi. 1975. Genetic variation and geographic

- cline of esterase isozyme in native rice varieties. *Japan J. Genetics* 50:373~382.
10. Park, W. M., Y. S. Lee and E. R. Son. 1984. Effect of gibberellic acid on isozyme patterns of rice plant. *Korean J. of Crop Sci.* 29:39~45.
 11. Park, W. M. and H. Stegemann. 1979. Rice protein patterns. Comparison by various PAGE-techniques in slabs. *Z. Acker-u. Pflanzenbau* 148:446~454.
 12. Son, E. R., W. M. Park, Y. H. Kim. and K. M. Chang. 1980. Comparison of the saponin content in different aged fresh ginseng roots. Thesis collection to commemorate the sixties birthday of Prof. Dr. Son, E. R. 17~20.
 13. Stout, D. L. and R. S. G. Charles. 1974. Genetic distance among certain species of *Mucor*. *Mycologia* 66:967~977.