

지모의 핵형 분석

김수영 · 구달희 · 방재욱[†]

충남대학교 자연과학대학 생물학과

Karyotype Analysis of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge

Soo Young Kim, Dal Hoe Koo and Jae Wook Bang[†]

Department of Biology, College of Natural Sciences, Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT : Cytogenetic analysis of *Anemarrhena ashodeloides* BUNGE, which is one of medicinal plants belonging to Haemodoraceae was carried out using Feulgen staining. The somatic metaphase chromosome number was identified to $2n=22$ ($x=11$) and the size of chromosomes ranges from 1.27-3.80 μm . Three pairs of chromosomes were relatively long in total length and the others were short. The karyotype was bimodal in chromosome length and arm ratios. The chromosome complement comprise eight pairs of metacentric (chromosome 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, and 11), two pairs of submetacentric (chromosome 4 and 5), and one pair of subtelocentric (chromosome 1).

Key words : *Anemarrhena ashodeloides*, arm ratio, karyotype, metacentric, submetacentric, subtelocentric

서 언

지모(*Anemarrhena ashodeloides* Bunge)는 지모과(Haemodoraceae)에 속하는 다년초로서 세계에 17속 40종이 분포하며, 우리 나라에서는 약용으로 1종이 재배되고 있다(Bae, 2000). 지모의 근경은 굵고 옆으로 뻗으며, 잎은 근경의 끝에서 총생한다(Lee, 1985). 지모는 전국 각지에서 약용으로 재배하는 작물로 주요 약효로는 혈당강하 작용, 해열작용, 혈소판 응집작용, 이뇨작용, 항암작용 등이 보고되어 있으며 한방에서는 소염, 해열, 지사, 이뇨, 진통약으로 이용되고 있다(Lee et al., 1995). 지모의 주 약효성분인 saponin 함량(Ma et al., 1997)이나 항당뇨 활성 물질인 mangiferin 함량(Ichiki et al., 1998), 유효성분 분리(Kim et al., 1999) 등의 연구는 이루어진 바 있으나, 식물 유전자원의 보존 및 이용에 기반이 되는 염색체에 대한 연구는 Sato(1942)에 의해 염색체 수가 $2n=22$ ($x=11$)로 밝혀

진 외에 세포유전학적으로 연구된 바가 없다.

식물 종의 핵형은 염색체의 구조와 행동 연구와 함께 유전체 연구에 기반이 된다. 핵형 분석은 체세포 중기 염색체의 특징에 따라 이루어지며, 동원체의 위치는 염색체의 형태적 구별이나 명명에서 매우 유용하게 이용된다(Battaglia, 1955; Levan et al., 1964; Naranjo et al., 1983). Levan 등(1964)은 장완(long arm, L)과 단완(short arm, S)의 상대적인 길이의 비($R=L/S$)에 따라 염색체를 중부(metacentric, $R=1.0-1.7$), 차중부(metacentric, $R=1.7-3.0$), 차단부(metacentric, $R=3.0-7.0$) 및 단부(metacentric, $7.0 < R$) 염색체로 구분하였다. 염색체의 식별은 길이나 arm-ratio 외에 부수체(satellite)의 위치에 따라 구별되기도 하며, C-분열에 의한 이형 염색질 양상의 비교 등을 통해서도 이루어진다.

지모의 염색체 조성을 이루는 기본 염색체 수는 $x=11$ (Darlington and Wylie, 1955)로 3쌍의 상대적으로 길이가 긴 염색체와 8쌍의 작은 염색체들로 이루어져 있으

† Corresponding author (Phone) : Jae Wook Bang, 82-42-821-5497, E-mail : bangjw@cnu.ac.kr

Received May 11 2002 / Accepted May 31 2002

며, 크기가 작은 염색체쌍 중에서 1쌍의 차중부 염색체는 말단에 2차 협착을 지니고 있는 것으로 알려져 있으나 (Sato, 1942) 정확한 핵형은 아직 보고된 바 없다.

본 연구는 현재까지 염색체의 수만 보고되고, 세포유전학적으로 핵형 분석이 연구된 바가 없는 지모의 기본 핵형을 확립하고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용한 재료는 충남농업기술원의 포장에서 재배하고 있는 식물을 대상으로 사용하였다.

염색체 관찰 및 핵형 분석

염색체 관찰을 위하여 왕성하게 생장하고 있는 뿌리에서 근단을 채취하여 1-bromonaphthalene 포화 수용액에 담가서 4시간 전처리 한 다음, acetic acid-alcohol (1 : 3, v/v)에 고정하여 냉장실에 보관하면서 재료로 이용하였다. 고정한 근단은 1N HCl (60°C)에서 3분간 연화한 다음 Feulgen 용액에서 염색 후, 1% aceto-carmine을 이용하여 압착법으로 슬라이드를 만들어 염색체를 관찰하고, 양호한 분열상을 사진을 찍어 분석에 사용하였다. 핵형 분석은 Levan 등 (1964)의 방법에 따라 arm-ratio (R-L/S)를 비교하여, 그 비가 1.0-1.7일 경우 중부 염색체(M, median), 1.7-3.0일 경우 차중부 염색체 (SM, submedian), 3.0-7.0일 경우 차단부 염색체 (ST, subterminal), 7.0 이상일 경우 단부 염색체 (T, terminal)로 구분하여 분석하였으며, 염색체의 배열은 긴 것으로부터 짧은 순으로 하여 고유 번호를 부여하였다.

결과 및 고찰

지모의 체세포 염색체 수는 $2n=22$ 로, 길이가 상대적으로 긴 6개의 염색체와 길이가 짧은 16개의 염색체로 구분되어 관찰되었다 (Fig. 1). 염색체의 크기는 1.27-3.80 μm 로 나타났으며, arm-ratio에 따라 8쌍의 중부 염색체, 2쌍의 차중부 염색체 그리고 1쌍의 차단부 염색체로 구분되었는데, 이는 지모를 대상으로 이루어진 핵형 확립에 대한 최초의 보고이다 (Table 1).

지모의 염색체에 관한 연구는 1942년 Sato에 의해 그 수가 처음으로 밝혀졌는데, 그는 길이가 긴 2쌍의 염색체와 길이가 짧은 9쌍의 염색체로 구분하여 보고하였으나, 본 연구에서는 길이가 긴 3쌍의 상동염색체와 8쌍의 길이가 짧은 염색체쌍으로 관찰되어 차이를 보였다.

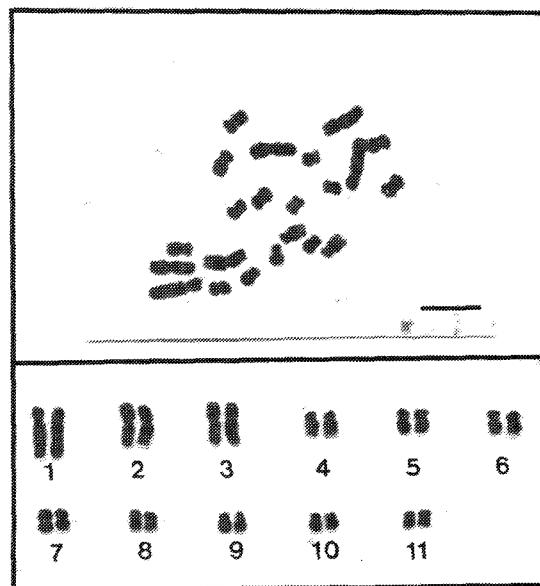


Fig. 1. Somatic metaphase chromosome complement ($2n=22$) and karyotype of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge. Bar, $4\mu\text{m}$.

Table 1. Analyses of somatic metaphase chromosome of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge

Chromosome No.	Chromosome size (μm)			Arm ratio (L/S)	Centromeric index
	Long arm	Short arm	Total		
1	2.87	0.93	3.80	3.08	ST
2	1.74	1.39	3.13	1.25	M
3	1.71	1.39	3.10	1.23	M
4	1.24	0.62	1.86	2.00	SM
5	1.30	0.55	1.85	2.36	SM
6	1.09	0.69	1.78	1.58	M
7	0.90	0.85	1.75	1.06	M
8	0.78	0.69	1.47	1.13	M
9	0.80	0.63	1.43	1.27	M
10	0.84	0.59	1.43	1.42	M
11	0.73	0.54	1.27	1.35	M

M : metacentric, SM : submetacentric, ST : subtelocentric

본 연구에서 얻은 상동염색체들의 형태적 특징은 다음과 같다.

염색체 1 : 길이가 가장 긴 염색체로 평균 길이는 3.80 μm 였으며, arm ratio는 3.08로 차단부 염색체로 확인되었다.

염색체 2 : 염색체의 평균 길이는 3.13 μm 였으며, arm

ratio는 1.25로 중부 염색체로 관찰되었다.

염색체 3 : 염색체의 평균 길이는 $3.10 \mu\text{m}$ 로 현미경 하에서 염색체 2번과 구별이 어려웠으나 여러 개의 세포에서 비교 관찰한 결과 길이와 arm ratio에서 차이를 보여 구별이 가능하였다.

염색체 4 : 염색체의 평균 길이는 $1.86 \mu\text{m}$ 였으며, arm ratio는 2.0으로 차중부 염색체로 관찰되었다.

염색체 5 : 염색체의 평균 길이는 $1.86 \mu\text{m}$ 로 염색체 4와 같게 나타났으나, arm ratio가 2.36으로 확실하게 구별이 되었다.

염색체 6 : 염색체의 평균 길이는 $1.78 \mu\text{m}$ 였으며, arm ratio는 1.58로 중부 염색체로 관찰되었다.

염색체 7 : 염색체의 평균 길이는 $1.75 \mu\text{m}$ 로 염색체 6과 비슷하게 관찰되었으나, arm ratio가 1.06으로 크게 차이를 보여 확실하게 구별이 가능하였다.

염색체 8 : 염색체의 평균 길이는 $1.47 \mu\text{m}$ 였으며, arm ratio는 1.13로 중부 염색체로 관찰되었다.

염색체 9 : 염색체의 평균 길이는 $1.43 \mu\text{m}$ 로 염색체 8과 비슷하게 관찰되었으나, arm ratio가 1.27로 차이를 보여 구별이 가능하였다.

염색체 10 : 염색체의 평균 길이는 $1.43 \mu\text{m}$ 로 염색체 9와 같게 나타났으나, arm ratio가 1.42로 크게 차이를 보여 구별이 가능하였다.

염색체 11 : 염색체의 평균 길이는 $1.27 \mu\text{m}$ 로 상동염색체상 중 가장 짧게 나타났으며, arm ratio는 1.35로 중부 염색체였다.

이들 상동염색체들의 특징에 따를 ideogram은 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

Sato (1942)는 1쌍의 차중부 염색체 말단에서 2차 협착을 지니고 있는 것으로 보고하였으나 본 연구에서는 관찰되지 않았다. 이는 rDNA를 이용한 FISH (fluorescence in situ hybridization) 연구에서 밝혀질 수 있을 것이다.

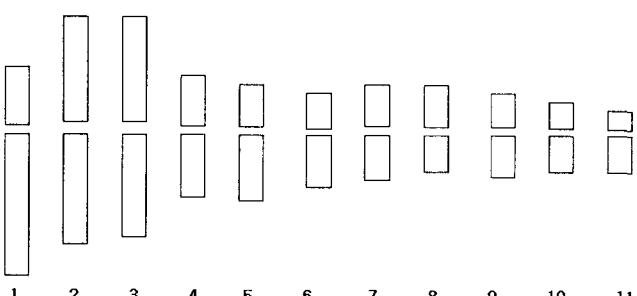


Fig. 2. Ideogram of somatic chromosome ($2n=22$) in *Anemarrhena asphodeloides* Bunge

사 사

본 연구는 21세기 프론티어연구개발사업인 자생식물이 용기술개발사업단의 연구비 지원 (과제번호 : PF001201-03, PI 방재욱)에 의해 수행되었습니다.

적 요

약용으로 재배되고 있는 지모의 세포유전학적인 연구인 핵형 분석 결과는 다음과 같다. 지모의 체세포 염색체 수는 $2n=22$ 였으며, 외형으로 비교해 보았을 때, 3쌍의 상대적으로 길이가 긴 염색체와 길이가 짧은 8쌍의 염색체로 구별이 되었다. 염색체의 평균 길이는 염색체의 길이는 $1.27\text{--}3.80 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다. Armatio 비교를 통한 핵형 분석에서는 8쌍의 중부 염색체 (염색체 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10 및 11), 2쌍의 차중부 염색체 (염색체 4와 5) 그리고 1쌍의 차단부 염색체 (염색체 1)로 구분되었다.

LITERATURE CITED

- Bae KH (2000) The medicinal plants of Korea. pp. 546.
- Bataglia E (1955) Chromosome morphology and terminology. *Caryologia* 8 : 179-187.
- Darlington CD, Wylie AP (1955) Chromosome Atlas of Flowering Plants. 2nd Ed. George allen & Unwin Ltd, London. p 365.
- Ichiki H, Miura T, Kubo M, Ishihara E, Komatsu Y, Tanigawa K, Okada M (1998) New antidiabetic compounds, mangiferin and its glucoside. *Biol Pharm Bull* 21 : 1389-1390.
- Kim SM, Park CK, Seong JD, Kim HT, Han SI, Kwack YH (1999) Isolation and HPLC analysis of timosaponin A III from rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* BUNGE. *Korean J Medicinal Crop Sci* 7 : 45-50.
- Lee CB (1985) Illustrated flora of Korea. Hyangmoonsa co. Ltd., pp. 222.
- Lee SH, Ryu SY, Choi SU, No ZS, Kim SK, Lee CO, Ahn JW (1995) Antitumor agent from the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides*. *Kor J Pharmacogn* 26 : 47-50.
- Levan AK, Fredga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52 : 201-220.
- Ma B, Wang B, Dong J, Yan X, Zhang H, Tu A (1997) New spirostanol glycosides from *Anemarrhena asphodeloides*. *Planta Med* 63 : 376-379.
- Naranjo CA, Poggio L, Brandham PE (1983) A practical method of chromosome classification on the basis of centromere position. *Genetica* 62 : 51-53.
- Sato D (1942) Karyotype alteration and phylogeny in Liliaceae and allied families. *Jap J Bot* 12 : 57-161.