

해부형태적 특징과 SCAR Marker를 이용한 백출의 기원식물 판별

방경환* · 성정숙* · 박충현* · 김동순* · 박춘근* · 유흥섭* · 박희운* · 성낙술*†

*작물과학원 인삼약초과

Discrimination of *Atractylodes* Rhizome White Using Anatomical Characteristics and SCAR Markers

Kyong Hwan Bang*, Jung Sook Sung*, Chung Heon Park*, Dong Chun Jin*
Chun Geon Park*, Hong Seob Yu*, Hee Woon Park*, and Nak Sul Seong*†

*Division of Ginseng & Medicinal Crop, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea.

ABSTRACT : Finding a means to discriminate the commercial herb medicines when they were dried and sliced is a very important and imminent project in Korea. To differentiate plant origins and the commercial herb medicines of *Atractylodes japonica* and *A. macrocephala*, two discriminative methods using anatomical characteristics and SCAR marker were applied. It was possible to discriminate plant origins and the commercial herb medicines between *A. japonica* and *A. macrocephala* by anatomical characteristics: development of periderm, layer of stone cell, distribution of laticiferous vessels, development of xylem fiber in xylem ray, contained quantity of clustered crystals and others. While, two SCAR markers were developed from RAPD clones: *SAjR2* (600 bp) from *AjR2* and *SAmR1* (1,200 bp) from *AmR1*. These two markers were enough for discrimination plant origins and the commercial herb medicines between *A. japonica* and *A. macrocephala*. The result of application of anatomical characteristics and SCAR markers to investigate current status in domestic herb market, Daegu and Kumsan herb market, it was identified to be current herb medicines of *A. japonica*.

Key words : *Atractylodes japonica*, *A. macrocephala*, anatomical characteristics, SCAR marker, discrimination, commercial herb medicine

서 언

백출은 그 뿌리를 한약재로 사용하며 어린줄기와 잎은 독특한 향과 함께 쓴맛을 지닌 나물용 채소로 한국에서는 오래 전부터 이용되어 왔다. 특히 한방에서는 소화촉진 및 위장보호용으로 어느 처방에나 이용되는 매우 중요한 약재이다. 그 식물명은 삽주이며 *Atractylodes*속에 속하는 종으로 대한약전에는 백출 (*A. japonica*, *A. macrocephala*), 창출 (*A. lancea*, *A. chinensis*)로, 중국약전에서는 백출 (*A. macrocephala*), 창출 (*A. lancea*, *A. chinensis*)로 구

분하여 기록하고 있다 (Kim et al., 1988; The Korea Phamacopeia 8th ed., 2002). 이들 종의 함유성분은 atractylon, atracylenolide III, 3-acetoxyatractylon 등으로 차이가 있는 것으로 보고되고 있다 (Sakurai et al., 1993; Hwang et al., 1996).

한방에서는 소화촉진 및 위장을 보호하는 용도로 이 식물의 근경을 이용하는데 20여년 전만해도 야생채취로 국내 수요를 충당하였으나 급격히 수요가 증가하면서 중국으로부터의 수입량도 증가하고 있다. 한편 10여년 전부터 중국으로부터 도입된 *A. macrocephala*의 재배가 시도되

† Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6810 (E-mail) nsseong@rda.go.kr

Received December 11, 2003 / Accepted January 28, 2004

고 있으나 습해에 약하고 뿌리썩음병의 발생이 심해 재배 면적의 확대가 어려운 실정이다. 근년 들어 건강보조식품 산업과 한방의 제재 산업이 급신장하면서 한약재 용도는 줄고 식품용도의 백출수입은 전체 한약재 수입량에서 감소 다음으로 많은 위치를 차지할 만큼 증가하였다. 중국에서 수입된 백출이 국산으로 표시되거나 국산과 섞여서 유통되는 문제가 사회문제로 되고 있으나, 절단된 상태에서 유통되기 때문에 이를 구분하기 어려운 실정이다.

이러한 현실적 문제 이외에 국내 자생종인 *A. japonica*는 수입종인 *A. macrocephala*에 비해 현저히 고가에 거래되고 있고, 함유된 성분이 차이가 있으므로 두 종간의 구별은 중요한 의미를 갖는다. 식물학적 특성으로는 잎의 모양이나 꽃의 색깔, 꽃의 크기 및 근경의 형태로 종간의 구별이 가능하지만 이용부위인 근경은 견조과정을 거쳐 얇게 썰어 유통이 되면 구별이 어렵다. 따라서 본 연구에서는 RAPD clone으로부터 개발된 *A. japonica*와 *A. macrocephala*의 특이적인 SCAR 마커와 해부 형태적 특성을 이용하여 시중에 유통 중인 견조된 약재를 무작위로 수집하여 두 종간의 식별이 가능한지를 확인코자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

시험재료로는 충남 금산과 경북 대구의 한약재 유통 시장 6곳을 임의로 선정하여 한국백출과 중국백출로 명명되어 유통되고 있는 견재약재를 사용하였다 (표 1).

Table 1. Samples used for SCAR analysis.

Entry no.	Samples	Collection sites
1 [†]	<i>A. japonica</i>	Suwon
2	<i>A. macrocephala</i>	Suwon
3	Korean Packchul	Daegu 1
4	Korean Packchul	Daegu 2
5	Korean Packchul	Daegu 3
6	Korean Packchul	Daegu 4
7	Korean Packchul	Kumsan 1
8	Korean Packchul	Kumsan 2
9	Chinese Packchul	Daegu 1
10	Chinese Packchul	Daegu 2
11	Chinese Packchul	Daegu 3
12	Chinese Packchul	Daegu 4
13	Chinese Packchul	Kumsan 1
14	Chinese Packchul	Kumsan 2

[†]1~2, plant; 3~14, herb medicines

2. 해부형태 특징 분석

기원 식물의 뿌리와 견재약재는 직경 0.6~1.2 cm의 것을 선택하여 사용하였고, 견재약재는 상온에서 3시간 물에 불려서 각각 5 mm 길이로 잘라 사용하였다. 각 시료는 Freezing Microtome (Leica CM3050)을 이용하여 8~12 μm의 두께로 절편을 만들었으며, 만들어진 절편은 50~100% alcohol로 탈수과정을 거쳐 1% safranin으로 염색하고 canada balsam으로 봉입하여 영구프레파라트를 제작하였다. 조직은 광학현미경을 이용하여 관찰, 측정 및 사진촬영을 하였다. 본 실험에 사용된 기원 식물과 견재약재는 표본으로 제작되어 작물시험장 약용식물표본실에 보존하였다.

3. DNA 추출

*A. japonica*와 *A. macrocephala*의 기원식물과 시중 유통 견재약재 DNA는 QIAGEN DNeasy Plant Kit의 실험 방법에 준하여 추출하였다 (Dellaporta, 1983; Doyle & Doyle, 1987). DNA 함량을 측정하기 위하여 λDNA를 *Hind*III로 처리한 DNA 단편을 기준으로 1.0%의 아가로스 젤 상에서 전기영동한 밴드의 강도를 비교하여 정량 하였고, 각 DNA는 5 ng/μl로 회석하였으며, DNA의 농도는 3회 반복 측정하여 그 평균값으로 DNA의 양을 정하였다.

4. SCAR analysis

SCAR 마커를 개발하기 위하여 우선 *A. japonica*와 *A. macrocephala*를 판별하기에 유용한 OPERON primer (OPA11, OPB01)를 선별하였고, 이를 primer를 이용하여 PCR을 한 후 1.0% 아가로스 젤에 전기영동하여 목적하는 DNA의 다형성을 재확인하였다. 그 후 종 특이적인 DNA 밴드를 오려내어, Geneclean II kit를 이용하여 아가로스 젤에서 target DNA를 회수하였으며, 회수된 DNA는 pGEM-vector로 ligation 시킨 후 *E. coli* DH5 (Sambrook et al., 1989)에 transformation 시켰다. 성공적으로 transformation된 colony는 염기서열 분석을 수행하였다.

염기서열 분석은 automatic DNA sequencer (ABI377)를 이용하였으며, 분석된 염기서열 데이터는 BLAST (Altshul et al., 1997)를 이용하여 기준에 알려진 유전자 염기서열과 유사성이 있는지를 확인하였다. 염기서열 분석을 통해 얻은 데이터를 바탕으로 새로운 primer들을 디자인 하였으며 (표 2), 이 primer를 이용하여 시중에 유통 중인 한국백출 (*A. japonica*)과 중국백출 (*A. macrocephala*)의 판별을 시도하였다.

Table 2. Characteristics of five SCAR markers used for discrimination of *A. japonica* and *A. macrocephala*.

Markers	Size of markers (bp)	SCAR primer sequences	Annealing Tm. (°C)	Size of amplified fragments (bp)	Specificity	SCAR markers
<i>AjR2</i> [†] (RAPD marker)	619	Forward primer 5' CTCCAATTCTT -TATCCAGCAGC 3' Revese primer 5' AAGTTATGAGTG -TTTCAGGTTTCC 3'	58	600	<i>A. japonica</i>	<i>SAjR2</i> [†]
<i>AmR1</i> (RAPD marker)	1325	Forward primer 5' CCGTCAATAAAC -CAAACATCACTG 3' Revese primer 5' TCCTTGATGCCT -ACCTCCTGTTAG 3'	54	1200	<i>A. macrocephala</i>	<i>SAmR1</i>

[†]A/R stands for *A. Atractylodes*: *j.* *japonica*; *R*, RAPD.

AmR stands for *A. Atractylodes*: *m.* *macrocephala*; *R*, RAPD.

^{*}*SAjR* stands for S, SCAR marker; *A. Atractylodes*: *j.* *japonica*; *R*, RAPD.

SAmR stands for S, SCAR marker; *A. Atractylodes*: *m.* *macrocephala*; *R*, RAPD.

결과 및 고찰

1. 해부형태 특징에 의한 약재 판별

약재 백출 (白朮)의 기원식물인 *A. japonica* Koidzumi와 *A. macrocephala* Koidzumi는 외형상으로 유사하나, *A. japonica*는 두상 화서의 크기가 작고 꽃은 흰색이며 종자 형성이 어렵고 괴근이 적어 *A. macrocephala*와 형태적으로 차이가 있다. 유통약재의 경우 *A. japonica*는 절편의 단면이 회황색~엷은 황백색을 띠며 갈색의 분비물이 관찰되나, *A. macrocephala*는 단면이 황백색~엷은 갈색을 띠며 황갈색의 분비물은 거의 관찰되지 않는다고 하나 (대한약전 8th ed., 2002), 육안으로 정확히 약재를 판별하는 것은 불가능하다. 小倉 (1954)은 *A. japonica*와 *A. macrocephala* 해부 형태적 특성 비교 연구에서, 백출은 뿌리 횡단면에 발달한 유관속과 laticiferous vessels (분비기관) 및 유세포 내 clustered crystals (침상결정물)를 가지고 있어 매우 진화된 식물 군에 속하며, 전형적인 국화과 식물임을 알 수 있다고 하였다.

한편 본 실험에서 해부 형태적 특성을 이용하여 백출 두 기원 식물을 비교 관찰한 결과, *A. japonica*에서는 주피에 코르크층이 매우 발달하여 있고, 코르크층 내부 또는 아래에 석세포대가 연속적으로 발달하고 있었다. 이에 반해 *A. macrocephala*는 코르크층이 빈약하며 석세포가 코르크층

아래에서 거의 관찰되지 않았으며, 간혹 관찰되는 석세포는 연속적이지 않았다. 황갈색의 분비물을 분비하는 유실은 *A. japonica*에서 120~420 μm의 크기로 뿌리횡단면에 전체적으로 다수 분포하였으며 *A. macrocephala*의 것보다 잘 발달하고 있었다. 이것은 秦 등 (1996)이 제시한 *A. macrocephala*의 유실이 *A. japonica*보다 더 크며 발달하고 있다는 내용과는 차이가 있었다. *A. japonica*에서는 펴 층부분과 잘 발달된 방사조직 내에서 목섬유다발이 관찰되었고 유세포 내의 침상결정물도 *A. macrocephala*보다 많이 함유하고 있었다. 도관절의 길이와 직경은 *A. japonica* 이 각각 95~105 μm, 20~30 μm으로 *A. macrocephala*의 100~150 μm, 25~35 μm 보다 짧고 작아, 계통상 더 진화한 종이라 할 수 있다 (정, 1996).

이러한 특징들을 기호 (ⓐ~ ⓘ)를 주어 유통되는 국산과 수입 (중국) 백출에 적용하여 관찰한 결과(표 3, 표 4), 국내 유통 국산 및 수입 백출은 모두 *A. japonica*의 해부 형태적 특징을 따르고 있어 *A. japonica*로 동정되었다.

2. SCAR 마커를 이용한 약재 판별

약용식물의 수집 및 보존, 종 구분 및 다양한 유전자원 평가 등을 위해 분자생물학적인 방법이 유용하게 이용되어지고 있다. 그 중 RAPD 방법은 다양한 분석방법 중에 분석이 쉽고, 간편하기 때문에 가장 보편적으로 이용되어져

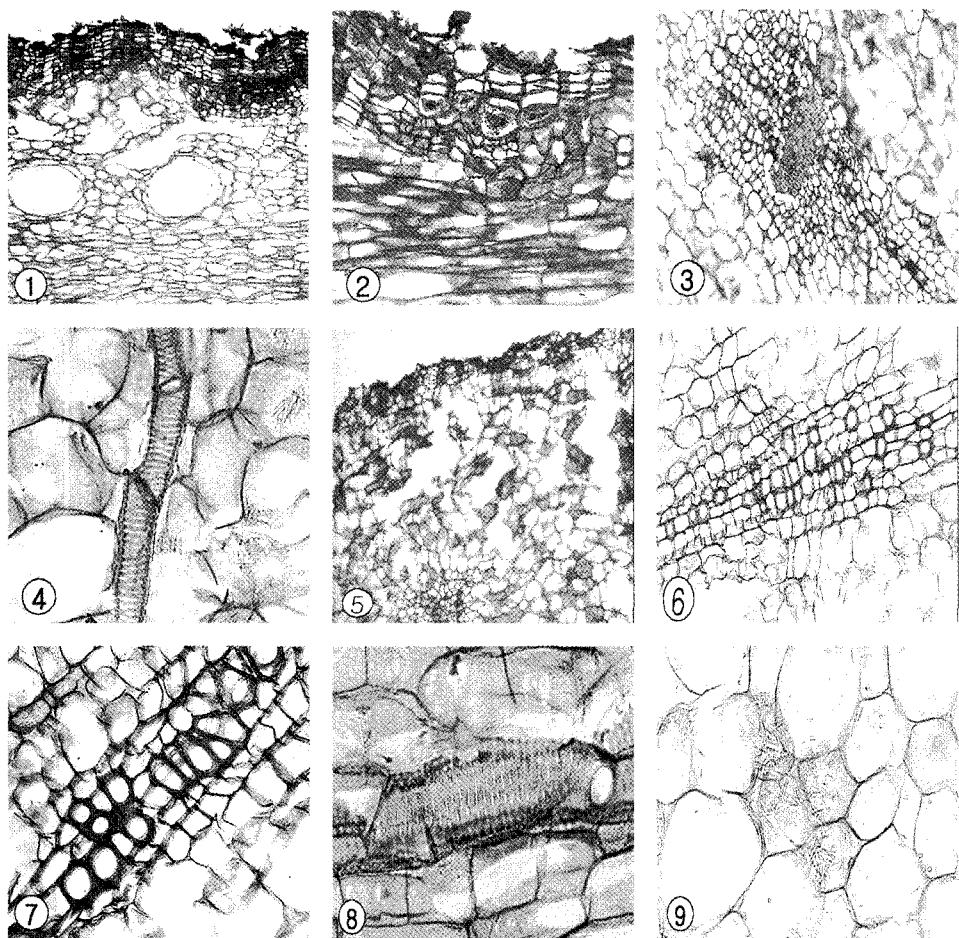


Plate 1. Anatomical characteristics of the commercial herb medicines, *Atractylodes* rhizome white.

- | | |
|-------------------------------|----------------------------|
| ①~④ <i>A. japonica</i> | ⑤~⑨ <i>A. macrocephala</i> |
| ①×4 : Periderm and Latex tube | ⑤×4 : Periderm and Cortex |
| ②×20 : Stone cell layer | ⑥×10 : Vessel and Cambium |
| ③×10 : Xyelm fiber | ⑦×20 : Xylem |
| ④×20 : Vessel | ⑧×20 : Scalariform vessel |
| | ⑨×20 : Raphide crystal |

Table 3. Anatomical characteristics of *A. japonica* and *A. macrocephala* in root.

Characters	<i>A. japonica</i>	<i>A. macrocephala</i>
Periderm	Phellem	ⓐ 3~5 layers
	Stone cell	ⓑ continuous or ⓒ discontinuous or ⓓ 1~2 layers in phellem
Xylem fiber	ⓔ observed in Cortex	ⓕ undeveloped ⓖ unobserved
Laticiferous vessels	ⓗ abundant (in Cortex)	ⓘ rare (in Cortex)
Xylem ray	ⓚ xylem fiber	ⓙ no xylem fiber
Clustered crystals	ⓜ abundant	ⓝ rare (compared with <i>A. japonica</i>)

Table 4. Discrimination of the commercial herb medicines using anatomical characteristics.

Sites \ Characters		(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)	(m)	(n)	Discrimination
<i>A. japonica</i>	ences	◎	◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	-
Domestic production	d1	◎	◎			◎	◎					◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	d2	◎				◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	d3	◎				◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	d4	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	k1	◎	◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	k2	◎	◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
<i>A. macrocephala</i>	ences	◎		◎	◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	-
Importation	d1	◎	◎			◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	d2	◎				◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	d3	◎	◎			◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	d4	◎	◎			◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	k1	◎	◎			◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>
	k2	◎	◎			◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	<i>A. japonica</i>

왔으나, 반응조건에 따라 결과가 달라질 수가 있어 정확한 실험 결과를 기대하기가 어렵다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 RAPD 분석 결과에서 생성된 특이 DNA 밴드들을 cloning과 sequencing 과정을 거쳐 새로운 SCAR primer를 제작하여 PCR을 수행하는 것이 필요하다. Behura *et al.* (1999)은 SCAR marker가 벼의 품종 판별에 유용하다고 보고하였고, 또한 SCAR marker는 병저항성 유전자나 온도민감성 유전자의 탐색과 같은 다양한 분야에도 효율적으로 이용되어지고 있다 (Dedryver *et al.*, 1996; Lang *et al.*, 1999).

본 시험에서 *A. japonica*와 *A. macrocephala*의 기원을 구분하기 위하여 RAPD 분석을 수행한 결과, 다형성을 나타내는 다양한 DNA 밴드들을 얻을 수 있었으며 이 밴드들을 cloning, sequencing 하여 두 개의 종 특이적인 SCAR primer (*SAjR2*, *SAmR1*)를 제작하였다.

A. japonica 특이적인 SCAR 마커 *SAjR2*의 적정 PCR 조건을 탐색한 결과, 5 ng DNA, 5 pM primer, 0.5 unit Taq DNA Polymerase가 혼합된 총 20 μ l의 반응혼합물로, DNA thermal cycler에서 최초 annealing 온도를 68°C를 시작으로 1°C씩 낮춰 10 cycle 동안 touch-down PCR을 수행하고, 최종적으로 94에서 30초 동안 denaturation, 58°C에서 1분 동안 annealing, 72°C에서 1분간 extension의 과정을 25 cycle 수행하였을 때 가장 양호한 밴드의 형성을 나타내었다. 한편 *A. macrocephala* 특이적인 SCAR 마커 *SAmR1*의 경우에는 최초 annealing 온도를 64°C로 하여 touch-down PCR을 하였을 때 가장 양호한 밴드의 형성을

나타내었으며 다른 조건은 *SAjR2*의 조건과 동일하였다.

SCAR marker (*SAjR2*, *SAmR1*)의 주요 특성을 표 2에 나타내었는데, 백출 기원식물을 대상으로 *SAjR2* primer를 이용하여 PCR을 하였을 때에는 600 bp 크기에서 오직 *A. japonica* 수집 종들에서 특이적인 밴드가 형성되었으며, *SAmR1*의 경우에는 1200 bp에서 *A. macrocephala* 수집 종들에서만 특이적인 밴드가 관찰되었다.

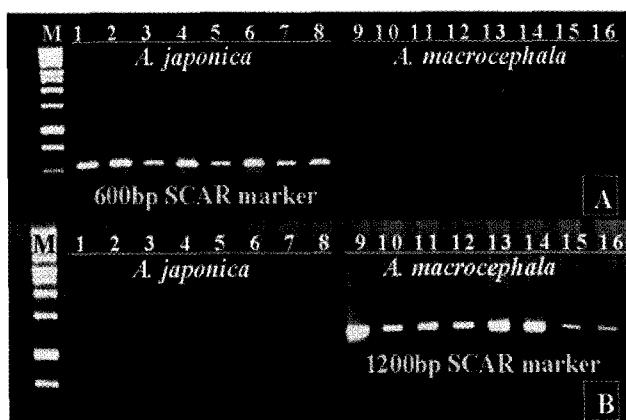


Fig. 1. PCR products of *A. japonica* and *A. macrocephala* plant DNA using *SAjR2* (A) and *SAmR1* (B) primers. 0.6 kb and 1.2 kb bands were detected only in *A. japonica* and *A. macrocephala*, respectively. Lane M, 1 kb DNA ladder; lanes 1~8, *A. japonica*; lanes 9~16, *A. macrocephala*.

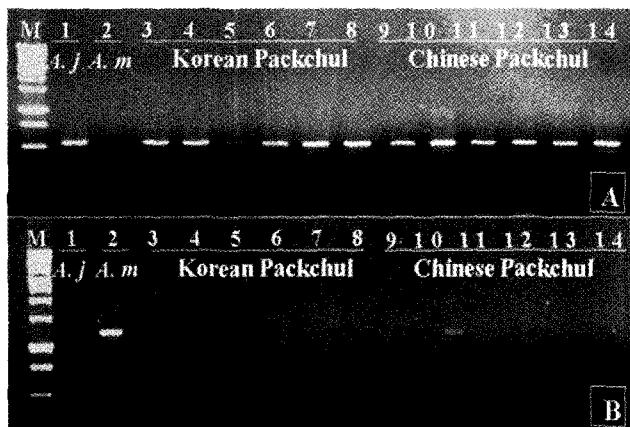


Fig. 2. PCR products of *A. japonica* and *A. macrocephala* plants and dried herb medicines DNA using *SAjR2* (A) and *SAmR1* (B) primers. Lane M, 1 kb DNA ladder; lanes 1, 2, *A. japonica* and *A. macrocephala* cultivated in NCES, respectively; 3~14, the commercial herb medicines, Korean and Chinese Packchuls, distributed at Korean herb market.

RAPD 방법으로부터 개발된 SCAR 마커를 실제 응용하기 위하여, 충남 금산과 경북 대구의 한약재 시장에서 한국백출과 중국백출로 명명되어 유통되고 있는 한약재의 기원을 판별하고자 실험한 결과는 다음과 같다. 600 bp 크기의 *A. japonica* 특이적인 *SAjR2*를 이용하여 PCR한 결과 모든 샘플에서 밴드가 형성되었으며, 1200 bp 크기의 *A. macrocephala* 특이적인 *SAmR1*을 이용한 결과에서는 작물시험장에서 재배중인 *A. macrocephala*에서만 밴드가 형성되었다.

이상의 해부형태적 특징과 SCAR 마커를 이용한 약재 판별 결과를 종합하여 볼 때, 시중에서 유통되고 있는 한국백출과 중국백출은 모두 *A. japonica*로 동정되었다. 이는 현행 국내에서 두 식물을 모두 백출로 사용한다는 규정에는 무리가 없겠다고 하겠으나 수입되는 중국산 백출의 기원식물이 중국인민공화국약전(國家藥典委員會, 2000)에서 규정하는 *A. macrocephala*가 아니라 것을 확인하였으며, 시중 유통한약재를 이용하여 성분분석 등의 실험을 할 경우 이점에 각별히 유의해야 할 사항이다.

결론적으로 해부특성과 SCAR 마커는 *A. japonica*와 *A. macrocephala* 기원식물과 유통 전재 약재를 판별하기에 유용한 방법으로 사료되지만, 동종의 약용작물을 재배지역을 달리 하였을 때 이것의 원산지를 판별할 수 있는 방법은 아직 없는 실정이므로 이것을 해결하기 위한 새로운 방법이 개발되어져야 할 것으로 생각된다.

적 요

국내 한약재 시장에서 유통되고 있는 백출 전재약재의 기원을 판별하고자 해부형태적 특징과 종 특이적인 SCAR 마커 (*SAjR2*, *SAmR1*)를 적용한 실험 결과는 다음과 같다.

해부형태적 특징으로 *A. japonica*에서는 주피에 코르크층이 매우 발달하여 있었고, 코르크층 내부 또는 아래에 석세포대가 연속적으로 발달하고 있었다. 유실은 *A. japonica*에서 뿌리횡단면에 전체적으로 다수 분포하여 잘 발달하고 있었으며 꾀총부분과 잘 발달된 방사조직 내에서도 목섬유다발이 다수 관찰됐다. 또한 유세포 내의 침상 결정물도 *A. macrocephala*보다 많이 함유하고 있었다. 이러한 특징들을 종합한 결과, 국내 유통 국산 및 수입 백출은 모두 *A. japonica*의 해부형태적 특징을 따르고 있어 *A. japonica*로 동정되었다.

한편 RAPD clone으로부터 개발된 *A. japonica* 특이적인 *SAjR2*를 이용하여 PCR 한 결과 모든 샘플에서 600 bp 크기의 한국백출 특이적인 밴드가 형성되었으며, *A. macrocephala* 특이적인 *SAmR1*을 이용한 결과에서는 작물시험장에서 재배중인 *A. macrocephala*에서만 1200 bp 크기의 특이적인 밴드가 형성되어, 시중에서 유통되고 있는 한국백출과 중국백출은 모두 *A. japonica*로 동정되었다. 결론적으로 해부형태적 특성과 SCAR 마커는 *A. japonica*와 *A. macrocephala* 기원식물의 동정과 유통 전재 약재를 판별하기에 유용한 방법이었다.

LITERATURE CITED

- Altschul FS, Thomas L, Madden AA, Schaffer, Jinghui Z, Zheng Z, Web M, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.
- Behura SK, Sahu SC, Rajamani S, Devi A, Mago R, Nair S, Mohan M (1999) Differentiation of asian rice gall midge, *Orseolia oryzae* (Wood-mason), biotypes by sequence characterized amplified regions (SCARs). Int. Mol. Biol. 8:391-397.
- Dedryver F, Jubier MF, Thouvenin J, Goyeau H (1996) Molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr24* in different shear cultivar. Genome 39:830-835.
- Dellaporta SL (1983) A plant DNA minipreparation: version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1:19-25.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19:11-15.
- HANS S (1908) Systematic anatomy of the dicotyledons. Oxford. p. 456-469.
- Hwang JM, Tseng TH, Hsieh YS, Chou FP, Wang CJ, Chu CY (1996) Inhibitory effect of atracylone on tert-butyl hydroperoxide induced DNA damage and hepatic toxicity in

해부형태적 특징과 SCAR Marker를 이용한 백출의 기원식물 판별

- rat hepatocytes. Arch. Toxicol. 70: 640-644.
- Kim JH, Joung H, Kim HW, Lim YP (1998) Estimation of genetic variation and relationship in potato (*Solanum tuberosum L.*) cultivars using AFLP markers. Am. J. Potato Res. 75:107-112.
- Lang NT, Subudhi PK, Virmani SS, Brar DS, Khush GS, Li Z, Huang N (1999). Development of PCR based markers for thermosensitive genetic male sterility gene *tms3(t)* in rice (*Oryza sativa L.*). Heredity 131:121-127.
- Sakurai T, Yamada H, Saito K, Kano Y (1993) Enzyme inhibitory activities of acetylene and sesquiterpene compounds in *Atractylodes Rhizome*. Biol. Pharm. Bull. 16:142-145.
- Sambrook J, Maniatis R, Fritsch EF (1989) Molecular Cloning; A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, New York.
- The Korea Pharmacopeia 8th Edition (2002) 약업신문. p. 1317-1318, p. 1484.
- 國家藥典委員會 (2000) 中華人民共和國藥典. 北京:化學工業出版社. p. 77-78.
- 樓之苓, 秦波 (1996) Species systematization and quality evaluation of commonly used Chinense traditional drugs, North-China edition Vol. III. 北京醫科大學, 中國協和醫科大學. 聯合出版社. p.779-808.
- 小倉謙 (1954) 植物解剖及形態學. 義腎堂. p. 52.
- 鄭濬 (1996) 植物形態學. 螢雪出版社. p. 111-120.