

한약재 마늘(*Allium sativum* L.)의 식별을 위한 유전자 감식연구

손오경^{1#}, 서부일², 이선하³, 박선주^{1*}

1 : 영남대학교 생명과학과, 2 : 대구한의대학교 한의학과, 3 : 경운대학교 보건대학

The Study of DNA markers to identify of *Allium sativum* L.

OGyeong Son^{1#}, Bu-iI Seo², Seon-Ha Lee³, Seon-Joo Park^{1*}

1 : Department of Biology, College of Science, Yeungnam University

2 : Department of Herbology, College of Oriental medicine, Daegu Haany University

3 : College of Health, Kyungwoon University

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to identify DNA markers of "*Allium sativum*" be circulated from Korea and China, which is difficult to discriminate from morphological characters because of fragmental materials of bulb. That is, all these studies focused on the discrimination of *Allium sativum* L. But these day, Chinese *A. sativum* was in circulated Korean *A. sativum* in Korean medicine markets. Therefore, the purpose of our study was to develop molecular markers for discrimination between Korean *A. sativum* and imports from China.

Methods : Materials were collected randomly from a markets in Korea and China and be analyzed with *matK*, *ndhF* and *trnL-F* regions of chloroplast DNA (cpDNA). We collected 45 *A. sativum* individuals from Korean and Chinese medicine markets, in 2013.

Results : As a results, *matK* and *ndhF* regions of cpDNA was shown to be identify. Species that grow from warm place and cold place can divide as five SNP (Single nucleotide polymorphisms) markers in *matK* and *ndhF* genes. Also, in *trnL-F* regions, found one SNP that can divide Korean *A. sativum* and Chinese *A. sativum*.

Conclusions : From the analysis of *matK* and *ndhF* regions of cpDNA, we presumed that three markers of cpDNA were found by useful marker that can distinguish Korean, Chinese, Warm place type, and Cold place type. Individual differences of Korean and Chinese was thought that appear in geographical difference and genetic difference by environment for long hour even if same species.

Key words : DNA markers, *Allium sativum* L., SNP

서론

마늘(*Allium sativum* L.)은 백합과(*Liliaceae*)의 부추속(*Allium* L.)에 속하는 식물¹⁾로 식물의 비늘줄기를 마늘이라 부르며 날것을 통으로 먹거나, 매운맛을 내는 향신료로서 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 식생활에 필수적인 양념 채소로 사용되고 있다. 또한, 마늘은 한약재로는 대산(大蒜)이라고 하며 비위를 튼튼하게 하고 정장(整腸)작용을 한다²⁾.

마늘의 주성분으로는 탄수화물 20 %, 단백질 3.3 %, 지방

0.4 %, 섬유 0.92 %, 회분 13.4 %, 비타민C 5.5mg %가 함유되어 있고, glutamic acid를 포함하여 15종의 아미노산이 확인되었다. 취기, 신미성분은 황화 아릴(allyl) 유로서 알리신(allicin)의 모체인 알린(allin)이 약 2.7 % 함유되어있다. 이 밖에도 베타-카로텐(β -carotene), 베타-시토스테롤(β -sitosterol), 커피산(Coffeic acid), 클로로젠산(Chlorogenic acid), 아황화다이알릴(Diallyl sulfide), 페룰릭산(Ferulic acid), 게라니올(Geraniol), 캄페롤(Kaempferol), 리날로올(Linalool),

*교신저자 : 박선주, 경북 경산시 대학로 208 영남대학교 이과대학 생명과학과
· Tel : 053-810-2377 · E-mail : sjpark01@ynu.ac.kr

#제1저자 : 손오경, 경북 경산시 대학로 208 영남대학교 이과대학 생명과학과
· Tel : 053-810-3865 · E-mail : ogson@ynu.ac.kr

· 접수 : 2013년 12월 13일 · 수정 : 2014년 1월 20일 · 채택 : 2014년 1월 20일

올레놀산(Oleanolic acid), 파라쿠마릭산(Para-coumaric acid), 프로로글루치놀(Phloroglucinol), 피트산(Phytic acid), 케르센틴(Quercetin), 루틴(Rutin), 사포닌(Saponin), 시나프산(Sinapic acid), 스티크마스테롤(Stigmasterol) 등이 있으며, 칼슘, 엽산, 철, 마그네슘, 망간, 인, 칼륨, 셀렌, 아연, 비타민 B1, B2, B3, C가 등이 함유된 것으로 알려져 있다³⁾.

마늘은 많은 황화합물을 포함하고 있으며, S-S(O)-기를 분자구조로 가지고 있는 알리신으로 인해 항균작용, 항진균작용, 항바이러스작용 등을 나타내며, 알리신이 미생물의 RNA 합성, DNA 및 단백질의 합성을 부분적으로 억제함으로써 항균작용을 하고 염증을 일으키는 cytokine의 발현을 억제하여 항염 효과를 나타낸다고 보고되어 있다^{4,5)}.

이러한 마늘은 생태형에 따라 구분되는데 국내산 마늘의 77 %가 난지형이며, 23 %는 한지형으로 구분되는데, 국내 주요산지별 화학 성분 및 항균 활성과 영양성분을 비교 분석하는 연구결과가 있다. 마늘에 존재하는 알린의 함유량은 품종에 따라 다르고, 같은 품종일지라도 다르게 나타나는데 thiosulfinate의 구성 비율이 재배된 기후조건에 따라 차이가 있으며, 한지형 마늘(주생단지 : 의성, 단양, 서산)이 난지형 마늘(주생단지 : 무안, 고흥, 남해, 해남)보다 allyl group의 비율이 높다고 보고되어 있다⁶⁻⁸⁾.

또한 생마늘의 산지별 열처리에 따른 마늘의 향기 특성과 항산화 활성도에 관한 선행 연구 결과 항산화 활성이 우수한 것으로 알려진 diallyl disulfide, methyl-2-propenyl trisulfide 및 di-2-propenyl trisulfide 등이 난지형 마늘과 중국산 마늘보다 한지형 마늘이 많이 함유하고 있음을 밝혔다⁹⁾.

최근 사회적 웰빙(well-being)의 삶의 질적 수준의 향상으로 먹거리에 대한 관심이 높으며, 건강식품에 대한 관심이 증대하고 있다. 그중 마늘의 우수한 약리효과가 많은 연구자에 의해 다양한 기능이 보고되고 있으며 많은 기능성 식품이 소비되고 있다. 최근 우리나라의 마늘과 관련된 농가 및 시장은 FTA 등 세계 무역화 시대에 대량으로 국산마늘 가격의 20% 정도에 불과한 중국산 마늘에 의해 농민들이 위협을 받고 있으며, 일반 소비자의 혼란이 야기되고 있다. 이에 따라 지역 농산물의 안정적인 생산과 소비자에 대한 신뢰회복을 위해 우리 고유의 마늘에 대한 객관적이고 과학적인 원산지 식별이 요구된다.

이러한 마늘에 관한 연구로는 외부 형태적 특성, 체세포 배형성과 식물체 분화, 돌연변이 유기와 변이체 선발 등에 대한 연구가 수행되었으며, 세포유전학 연구로 마늘을 포함한 부추(*Allium*)속 식물을 대상으로 계통학적 연구와 2배체의 한국산 마늘 3품종에 관한 핵형분석이 수행된바 있으나 방법상의 어려움에 불구하고 품종간의 유연관계를 밝혀내지 못했다. 그 후 유연관계, 집단유전학의 양적 유전형질 분석 등에 사용되는 실험 기법인 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)를 기초로 한국 재래마늘 10종과 중국 외 2종의 외국마늘의 유연관계를 분석연구가 있으나 이들 마커는 재현성의 문제가 있는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾.

식물에는 핵, 엽록체, 미토콘드리아에 DNA가 포함되어 있으며, 본 연구에 사용된 marker는 엽록체 DNA (chloroplast DNA, cpDNA)로 광합성작용에 필요한 광계 I, 광계 II, ATP 합성 등 유전 작용을 조절하는데 필요한 DNA를 포함하여 coding 지역은 비교적 느리게 진화가 일어나 종이상의 계통

발생학적 유연관계분석에 주로 사용되며, non-coding지역은 높은 돌연변이율을 가지고 있어 DNA 바코딩, 개체군의 유전적 다양성, 중간 유전적 변이 연구 등 다양한 분야에 사용되고 있다^{11,12)}.

따라서 본 논문에서는 외부형태학적인 큰 차이가 없으며 RAPD의 재현성문제로 인한 구별이 쉽지 않은 한국 토종마늘과 중국산 마늘을 간편하게 구분할 수 있는 DNA marker를 이용하여 한국토종마늘의 식별을 용이하기 위해서 수행되었다. 또한 서론 중반부에서 서술하였듯이 중국산 마늘이 한국산 마늘로 유통되고 있는 문제점이 있어 원산지 마늘의 유전적 특성을 파악하고, 한국산의 지역별 한지형 마늘과 난지형 마늘을 구분 지을 수 있는 marker를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 마늘(*Allium sativum* L.)은 국내에서 재배되는 한지계(의성, 단양, 서산: 3종)와 난지계(남해: 1종) 및 중국에서 수입되는 개체를 통마늘의 형태로 구입하여 사용하였다. 의성에서 재배되는 10개체(US1~10), 서산에서 재배되는 5개체(SS1~5), 단양에서 재배되는 10개체(DY1~10), 남해에서 재배되는 10개체(NH1~10), 한국에 수입되어 유통되고 있는 10개체(CN1~10)를 포함하여 총 45개체를 내군(ingroup)으로 하고 외군(outgroup)으로는 선행연구¹³⁾에서 비교군으로 이용하였던 무릇(*Scilla scilloides* (Lindl.) Druce)를 이용하였다 (Table 1).

Table 1. *Allium sativum* L. with related taxa and outgroup included in this study. Some cpDNA sequences were obtained from Genbank.

Taxa(Korean name)	Abbreviation	Locality
<i>Allium sativum</i> L. (마늘)	US1	Korea : Uiseong-gun
	US2	
	US3	
	US4	
	US5	
	US6	
	US7	
	US8	
	US9	
	US10	
	SS1	Korea : Seosan-si
	SS2	
	SS3	
	SS4	
	SS5	
	DY1	Korea : Dandyang-gun
	DY2	
	DY3	
	DY4	
	DY5	
	DY6	
	DY7	

DY8	
DY9	
DY10	
NH1	
NH2	
NH3	
NH4	
NH5	Korea : Namhae-gun
NH6	
NH7	
NH8	
NH9	
NH10	
CN1	
CN2	
CN3	
CN4	
CN5	China : unknown
CN6	(exportation)
CN7	
CN8	
CN9	
CN10	
Genbank : HM640632(matK)	
<i>Scilla scilloides</i> (Lindl.) Druce (무릇)	SC JX903401(ndhF) AJ507999(trnL-F)

2. DNA 추출 및 PCR 증폭

DNA 추출은 유통되는 마늘을 실험실로 운반하여 재료를 Precellys[®]24 Homogeniser (Bertin Technologies, France)를 이용하여 분쇄시킨 후, CTAB 방법¹⁴⁾으로 추출하였다. 추출된 DNA는 1.2% agarose gel 상에서 전기영동 후, EtBr 염색법으로 UV 조명아래서 형광 밝기를 상대 비교하고 흡광도를 측정하여 농도를 확인하였다.

본 실험에서 사용된 cpDNA 지역은 matK¹⁵⁾(primer matK472F, matK1248R), ndhF¹⁶⁾(primer ndhF5F, ndhF1318R, ndhF972F, ndhF2110R), trnL-F¹⁷⁾(primer trnC, trnF)를 이용하였다. 각 지역의 증폭을 위한 Polymerase chain reaction (PCR) 반응용액의 조성은 주형 DNA 20~50ng, 10X Diastar[™] Taq DNA buffer 2.5 μ l, 10mM의 dNTPs mix 0.5 μ l, 10pmol의 primer 각각 1 μ l, 2.5 unit의 Diastar[™] Taq DNA Polymerase (SolGent Co., Korea)에 total volume이 총 25 μ l가 되도록 증류수를 조절하여 첨가하였다.

조제된 PCR 반응 용액은 다음의 조건하에서 PCR을 하여 DNA를 증폭시켰다. PCR의 첫 cycle에서는 DNA의 완전한 denaturation을 위해 95 $^{\circ}$ C에서 3분 동안 1차 denaturation을 한 후, denaturation은 95 $^{\circ}$ C에서 20초를 두고 primer의 annealing을 위해서 matK의 경우는 48 $^{\circ}$ C, ndhF는 53 $^{\circ}$ C, trnL-F는 52 $^{\circ}$ C에서 40초, 그리고 primer의 확장을 위해서는 72 $^{\circ}$ C에서 1분으로 구성된 반응을 35회 반복한 후 최종적으로 완전한 primer extension을 위해 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 extension하였다. PCR 반응액은 Solg[™] Gel & PCR purification

system kit (Solent Co., Korea)으로 정제하였다.

3. 염기서열 분석

증폭한 DNA는 ABI PRISM BigDye Terminator 3.1[™] Cycle Sequencing ready reaction Kit (PE Applied Biosystems, USA)으로 염기서열을 결정하기 위하여 cyclic sequencing reaction 과정을 수행하였다. Cyclic sequencing reaction은 정제된 PCR product 10~20ng, BigDye Ready Reaction Mix 4 μ l, 5 pmol의 primer를 넣고 증류수로 총 부피가 10 μ l가 되게 조절하였다. Reaction condition 은 96 $^{\circ}$ C에서 10초간 denaturation을 수행한 후, annealing을 위해서 50 $^{\circ}$ C에서 5초 동안 반응을 시키고, extension은 60 $^{\circ}$ C에서 4분간 수행하는 반응을 30회 반복하였다.

Sequencing reaction 과정을 수행한 후, sequencing 반응에 참여하지 않는 형광물질로 lable된 ddNTP를 제거하기 위해 acetate와 70% EtOH을 이용하여 정제하였다. 염기서열은 automatic DNA analyzer system ABI PRISM 3730xl analyzer을 이용하였다.

4. 자료분석

총 46개의 samples에서 얻어진 각 지역의 forward와 reverse 방향의 염기서열들은 Geneious pro v6.1.6¹⁸⁾으로 조합, 정렬하였고 최종 세부정렬은 수작업을 통해 수행하였다. 정렬결과 gap은 결여형질 (missing data)로 처리하였고, 각 지역별의 유형간의 염기서열 분석은 PAUP Ver. 4.0b¹⁹⁾로 최대절약분석 (parsimony analysis)를 하였으며, 분석방법으로는 Heuristic search를 이용하였다. Heuristic search의 option은 ACCTRAN, MULPARS, 그리고 TBR을 이용하였다.

각 분계도의 지지정도를 알아보기 위하여 Bootstrap (BS)²⁰⁾과 Jackknife (JK)²¹⁾를 이용하여 형질 재추출 과정을 1,000회 반복하였으며, 이를 통해 값을 산출하였고, Kimura's Two-parameter methods²²⁾로 계산된 염기변이 값을 기초로 하여 neighbor-joining tree (NJ)를 산출하였다²³⁾.

결 과

1. 외부형태

한국에서 재배되고 있는 마늘과 중국에서 수입된 마늘 (*Allium sativum*) 육안적 외부 형태 차이는 큰 차이가 없어 보이거나 절편의 형태로 가로로 자르면 안의 마늘의 쪽수가 차이가 난다. 한국산의 한지형 마늘인 의성, 단양, 서산마늘의 경우에는 6~8쪽으로 나타났으며, 난지형 마늘인 남해 마늘과 본 실험에서 사용된 중국산 마늘은 다소 7~12쪽으로 한지형 마늘보다 쪽수가 더 많은 것으로 관찰되었다(Fig 1).

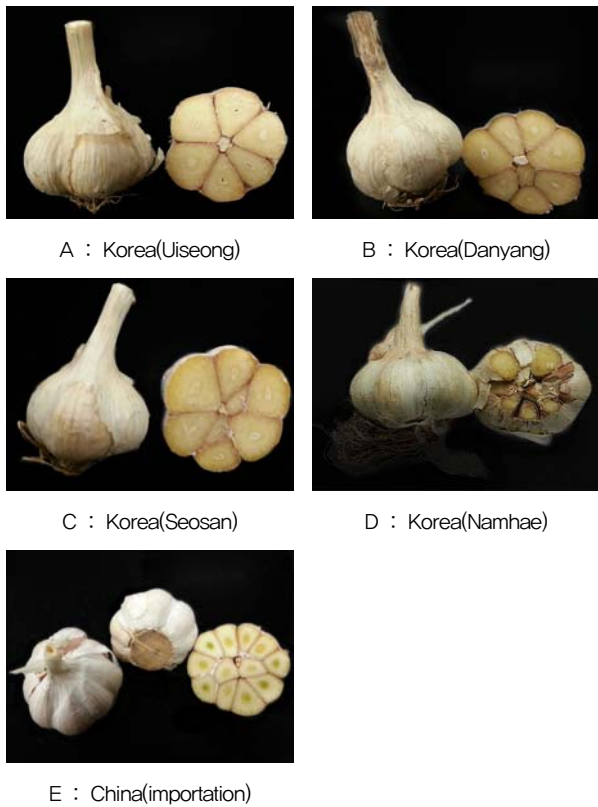


Fig. 1. A photograph of *Allium sativum*

2. 염기서열 특징

국내에 재배되는 마늘과 본 실험에서 사용된 중국에서 수입된 마늘에 대하여 cpDNA의 *matK* 지역의 염기서열을 분석한 결과, 총 염기서열 길이는 모두 763 bp로 이 중에서 672개는 변화가 없었고, 계통적으로 유용한 공유파생형질은 4개로 나타났다. 또한, 염기 조성의 평균은 A가 31.3 %, C가 15.8 %, G가 14.0 %, T가 39.0 %였고, *matK*의 구조 및 물리적 특성을 결정하는 마늘의 G+C의 염기조성은 모두 29.8 %로 나타났다. *ndhF* 지역의 염기서열을 분석한 결과 총 염기서열 길이는 모두 1,496 bp로 이 중 1,324개는 변화가 없었으며, 계통적으로 유용한 공유파생형질은 1개로 나타났다. 또한, 염기 조성의 평균은 A가 30.4 %, C가 15.0 %, G가 15.2 %, T가 39.4 %였고, *ndhF*의 구조 및 물리적 특성을 결정하는 G+C의 염기조성은 의성, 단양, 서산마늘은 29.9%이며, 남해마늘과 중국산 마늘은 30.0 %로 나타났다. Intron과 exon을 포함한 *trnL-F* 지역 염기서열의 길이는 599 bp로 이 중에서 67개는 변화가 없었으며, 계통적으로 유용한 공유파생형질은 1개로 나타났다. 또한, 염기 조성의 평균은 A가 35.0 %, C가 17.3 %, G가 16.8 %, T가 30.8 %였고, *trnL-F*의 G+C의 염기조성은 의성, 단양, 서산, 남해마늘은 21.5 %이며, 중국산마늘은 21.3 %로 평균 21.4 %로 나타났다(Table 2).

Table 2. Size of *matK*, *ndhF*, *trnL-F* and G+C contents in different garlics

Taxon	matK		ndhF		trnL-F	
	Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)
US1	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US2	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US3	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US4	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US5	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US6	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US7	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US8	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US9	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
US10	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
SS1	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
SS2	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
SS3	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
SS4	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
SS5	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY1	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY2	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY3	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY4	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY5	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY6	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY7	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY8	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY9	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
DY10	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH1	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH2	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH3	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH4	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH5	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH6	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH7	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH8	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH9	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
NH10	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.5 %
CN1	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN2	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN3	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN4	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN5	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN6	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN7	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN8	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN9	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
CN10	763 bp	29.8 %	1484 bp	29.9 %	599 bp	21.3 %
SC	763 bp	31.3 %	1494 bp	33.4 %	946 bp	33.2 %

46개체의 마늘을 대상으로 cpDNA의 *matK*, *ndhF*, *trnL-F* 지역을 모두 유입한 Neighbor-joining (NJ) tree를 분석한 결과 마늘은 3개의 clade으로 유입되었다. group I에서는 한국산 의성, 단양, 서산마늘이 유입되었고, group II에서는 중국산 마늘이 유입되었으며, group III에서는 한국산 남해마늘이 하나로 유입되었다. 또한 이들 group간에는 group II 과 group III이 가깝게 유입되었고, 이 분계조가 다시 group I과 가까운 유연관계를 나타내었다 (Fig. 2).

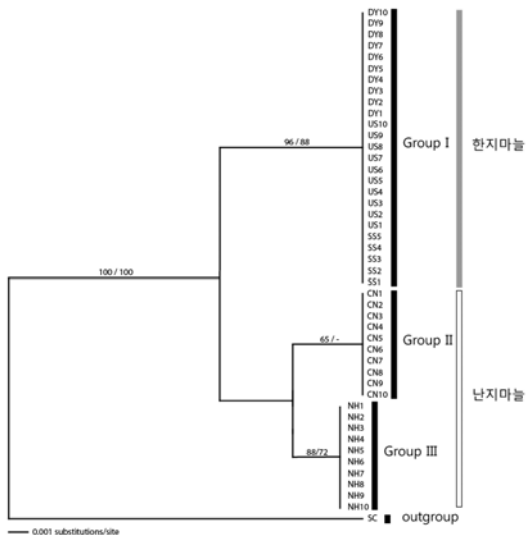


Fig. 2. Neighbor-joining (NJ) tree showing the relative distance among branches.

군외군을 포함한 46개의 cpDNA의 *matK*, *ndhF*, *trnL-F* 지역을 모두 유합한 염기서열의 최대절약 (parsimony) 분석 결과는 전체 340단계의 길이를 갖는 계통수를 얻었으며, 일치도 (consistency index, CI)는 0.974, 보유계수 (retention index, RI)는 0.916을 나타내었다 (Fig. 3).

Strict consensus 계통수에서 군내군은 BS와 JK에서 각각 100 %의 강한 지지도로 단계통을 이루며 또한, group I은 한국산 마늘 중 의성, 단양, 서산 마늘이 BS와 JK가 96 %, 88 %로 높게 유집되면서 각각 하나의 clade로 나뉘지 않고 다분지 (polytomy)를 형성하였다. group II와 III은 BS와 JK가 각각 88 %, 75 %로 유집되면서 자매군을 형성하였다.

group II인 중국산 마늘은 BS가 64 %로 유집되었고, group III인 남해마늘은 군내에서 다분지를 형성하고 있다 (Fig. 3).

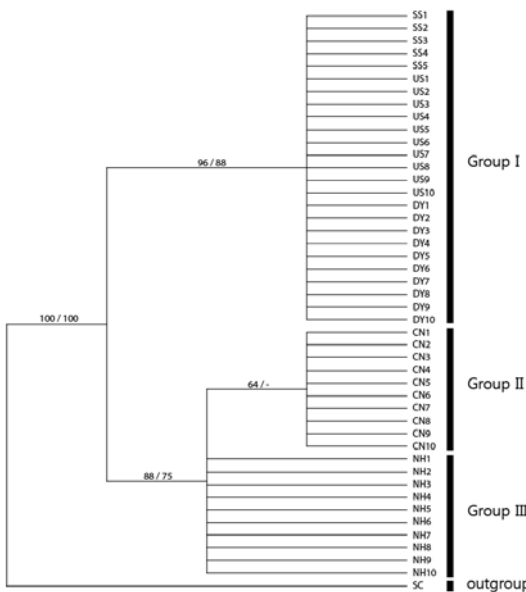


Fig. 3. Strict consensus tree of the two parsimony tree (340 steps, CI = 0.974, RI = 0.916) derived from heuristic search of combined *matK*, *ndhF*, *trnL-F* sequences data. Numbers below branches are bootstrap and jackknife values greater than 50% in 1000 replicates. Refer Table 1 for taxon abbreviations.

3. cpDNA의 marker 분석

시중에 유통되고 있는 마늘의 육안적 식별이 어려움에 따라 이를 세포적 수준에서 구분하고자 시행된 본 연구에서 cpDNA의 *matK*, *ndhF*, *trnL-F*지역에서 한지형 마늘인 의성, 서산, 단양마늘과 난지형마늘인 남해마늘 그리고 중국산 마늘에서 개체 간의 염기서열 차이가 존재한다는 것을 확인하였다. 한국산마늘과 중국산 마늘 두 집단 간의 식별 가능한 SNPs (Single nucleotide polymorphisms)는 *trnL-F*지역에서 439 bp(G↔A) 한 위치에서 확인됐다. 또한, 한국산 마늘 중 의성, 단양, 서산마늘과 한국산 남해마늘, 중국산 마늘 집단을 구분 가능한 SNPs는 *matK*지역에서 134 bp(A↔G), 416 bp(A↔G), 559 bp(C↔T), 662 bp(A↔G)의 4개 위치에서 확인하였으며, *ndhF*지역에서는 929 bp(A↔G)의 한 위치에서 확인되었다 (Table 3).

Table 3. Haplotypes of SNPs sequences.

Location	Abbreviation	<i>matK</i>			<i>ndhF</i>	<i>trnL-F</i>	
		134bp	416bp	559bp	662bp	929bp	439bp
Korea	US	A	A	C	G	A	C
	DY	A	A	C	G	A	C
	SS	A	A	C	G	A	C
	NH	G	G	T	A	G	C
China	CN	G	G	T	A	G	A

고찰

마늘은 중국에서 마늘이 기원지 2세기경에 이란지방으로부터 인도, 열대 아시아를 거쳐 도입되었다는 중국 고대 의서 本草綱目的 기록이 있다. 정확한 도입 시기는 알 수 없으나 단군신화에 마늘이 등장하며, 삼국사기에 마늘의 재배기록으로 보아 통일신라 시대에 마늘의 재배와 이용이 있었음을 알 수 있다.

또한, 마늘은 특유한 냄새가 있고, 매운맛이 나며 널리 애용되는 향신료로써 사용될 뿐만 아니라 약리적인 효능인 항균 및 항염효과, 항암효과 및 혈중콜레스테롤 수치를 감소시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있어 현재 마늘진액, 발효마늘, 흑마늘 등의 제품도 다양하다²⁴⁻²⁶⁾.

최근 FTA 등 세계 무역화 시대에 다량 유입되는 수입 농산물로 원산지 불명확으로 인해 시중에 유통되고 있는 농산물 원산지 구분에서 일반 소비자의 혼란이 가중되고 있다. 원산지 식별을 위한 방법으로 식물의 관능적, 화학적, 물리적 방법을 이용한 식별은 자라는 환경에 따라 변화하는 식물 고유 속성에 따라 식별이 오차 한계가 존재하게 되며 상당한 어려움이 있다. 일반적으로 마늘은 비늘줄기, 다진 마늘 등의 형태로 시중에 유통되고 있는 실정으로 외부형태학적인 형질인 미세한 색의 차이와 마늘 쪽수의 차이 등으로 구분되고 있어 중국산과 한국산 구분의 어려움이 존재한다.

본 연구를 통하여 cpDNA coding 지역인 *matK*, *ndhF*지역에서 한지형 마늘과 난지형 마늘 group이 명확하게 구분되며, non-coding 지역인 *trnL-F*지역에서 중국산 마늘과 한국산 마늘 두 개의 group으로 명확하게 구분되었다.

이 결과로 마늘(*Allium sativum* L.)을 재배지역별로 식별

할 수 있는 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)가 확인되었다. 그중 한국산 마늘과 중국산 마늘을 식별할 수 있는 SNPs는 *trnL-F*지역의 439 bp (C↔A)를 확인하였으며, 한국산 한지형 마늘과 난지형 마늘을 구별할 수 있는 SNPs는 *matK*지역에서 134 bp (A↔G), 416 bp (A↔G), 559 bp (C↔T), 662 bp (A↔G)의 4개 위치에서 확인하였으며, *ndhF*지역에서는 929 bp (A↔G)의 한 위치에서 확인되어 cpDNA의 3개의 marker가 한국산과 중국산, 한지형, 난지형 마늘을 식별하는 데 유용한 marker가 될 수 있다는 것을 확인하였다. 이 결과로 항산화 활성도가 높은 한지형 마늘을 구별하는 중요한 자료가 될 것이다.

하지만 본 연구에 사용된 중국산 마늘이 정확하게 어느 지역에서 어떠한 경로로 유입되었는지 확인할 수는 없지만, 국내산 난지형 마늘과 유입되는 것으로 보아 중국 내 수입지역이 남방일 것으로 추측되나 좀 더 정확한 중국산 마늘의 유입 경로 파악 및 추가적인 샘플링과 더 많은 marker 실험이 요구된다.

또한, 한국산과 중국산 마늘의 개체 간의 차이는 동일종이라 하여도 긴 시간 동안 지리적 차이와 환경에 의한 유전적 차이에서 기인한 결과로 사료된다.

결론

본 연구에서 한국산 마늘과 중국산 마늘, 한지형과 난지형 마늘의 형태적 식별의 어려움으로 인하여 세포적 수준에서 식별 가능성을 확인하고자 cpDNA의 *matK*, *ndhF*, *trnL-F* 지역을 유합 후 분석한 결과 유의한 결과를 얻었다.

1. 마늘의 쪽수나 색도의 형태적 관찰에는 수가 중첩되거나 다소 미세한 차이가 있으나 쉽게 구분되는 객관적인 형태를 관찰하지 못하였다.
2. 마늘에 대한 cpDNA의 *matK*, *ndhF*, *trnL-F* 지역의 유합된 염기서열을 분석한 결과, informative character는 6개로 나타났고, 총 염기서열의 길이는 2,858 bp로 (*matK* 지역 763 bp, *ndhF*지역 1,496 bp, *trnL-F* 지역 599 bp) DNA의 구조 및 물리적 특성을 결정하는 마늘의 G+C의 염기조성은 평균 30.9%로 나타났다.
3. 한지마늘(의성, 단양, 서산)과 난지마늘(남해)은 두 개의 분계조로 형성하고 있는 것으로 나타났다. 중국산 마늘은 남해마늘과 자매군을 형성하며, 높은 지지율로 하나의 분계조를 형성하고 있는 것으로 나타났다.
4. 한국산 마늘과 중국산 마늘의 두 집단 간 식별 가능한 SNPs (Single nucleotide polymorphisms)는 *trnL-F* 지역의 439 bp (C↔A) 1개의 지역에서 확인되었다.
5. 한국산 마늘 내에서 한지형과 난지형 마늘의 두 집단 간 식별 가능한 SNPs (Single nucleotide polymorphisms)는 *matK*지역에서 134 bp (A↔G), 416 bp (A↔G), 559 bp (C↔T), 662 bp (A↔G)의 4개 위치에서 확인

하였으며, *ndhF*지역에서는 929 bp (A↔G)의 한 위치에서 확인되었다.

감사의 글

본 논문은 산업통상자원부 지역연고산업육성사업중 경운대학교 「의성 연고자원을 활용한 바이오산업 육성사업」의 일환으로 연구되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Lee TB. Illustrated Flora of Korea. Seoul : Hyangmoonsa, 1979 : 701.
2. The textbook compilation committee of Korean pharmacognosy. Herbal medicine. Seoul : Academy Book, 2006 : 882-5.
3. Kim SK, Kyung KH, Ko BK, Kim SS, Park JH. Dictionary of food science and technology. Paju : Kyomunsa, 2012 : 196.
4. Kwon SK. Organosulfur Compounds from *Allium sativum* and Physiological Activities. *Biomol Ther*, 2003 ; 11(1) : 8-32.
5. Kim KJ, Do JR, Kim HK. Antimicrobial, Antihypertensive and Anticancer Activities of Garlic Extracts. *Korean J Food Sci Technol*, 2005 ; 37(2) : 228-323.
6. Cha BC, Lee EH. Inhibition activity of Garlic on a drug metabolizing enzyme CYP3A4. *Kor J Pharmacogn*, 2006 ; 37(2) : 97-102.
7. Jeong CH, Bae YI, Lee JH, Roh JG, Shin CS, Choi JS, Shim KH. Chemical Components and Antimicrobial Activity of Garlics from Different Cultivated Area. *J Agric Life Sci*, 2009 ; 43(1) : 51-9.
8. Shin JH, Lee SJ, Jung WJ, Kang MJ, Sung NJ. Physicochemical characteristics of Garlic (*Allium sativum* L.) on collected form the different regions. *J Agric Life Sci*, 2011 ; 45(2) : 103-14.
9. Jeong JY, Woo KS, Hwang IG, Yoon HS, Lee YR, Jeong HS. Effects of heat treatment and antioxidant activity of aroma on garlic harvested in different cultivation areas. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2007 ; 36(12) : 1637-42.
10. Lee YK, Yoon YH, Chung IS, Lee JS, Lim SJ, Song IG, Kim DU. Analysis of Genetic Relationship by RAPD Technique in *Allium sativum* L. *Korean J Breed Sci*, 1996 ; 28(3) : 332-41.
11. Choi HY, Kim DW, Kim DE, Suh YB, Ham IH. The Relative Identification of *C. officinale* and *L. chuanxiong* by PCR-Mediated Fingerprinting. *Kor J Herbology* 2005 ; 20(4) : 151-61.
12. Kim MK, Jigden B, Sun H, Yang DC. Phylogenetic

- analysis of Ji-Mo (*Anemarrhena asphodeloides*) on the basis of trnL-F sequences. Korean J Medicinal Crop Sci. 2008 ; 16(1) : 20-6.
13. Kim JH., Kim dohg Kap Kim, Foest F, Fay MF, Chase MW. Molecular phylogenetics of Rusceaceae sensu lato and related families (Asparagales) based on plastid and nuclear DNA sequens. Ann Bot. 2010 ; 106 : 775-90.
 14. Doyle J, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 1987 ; 19 : 11-5.
 15. YU J, XUE JH, ZHOU SL. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. J Syst Evol. 2011 ; 49(3) : 176-81.
 16. Clark LG, Zhang W, Wendel JF. A phylogeny of the grass family (Poaceae) based on ndhF sequence data. Syst Bot. 1995 ; 20(4) : 436-60.
 17. Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Mol Biol. 1991 ; 17 : 1105-09.
 18. Drummond AJ, Ashton, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Duran C, Field M, Heled J, Kearse M, Markowitz S, Moir R, Stones-Havas S, Sturrock S, Thierer T, Wilson A. Geneious v6.1.6. Available from <http://www.geneious.com/>. 2013.
 19. Swofford DL. PAUP* : Phylogenetic analysis using parsimony, ver. 4.10b. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA. 2002.
 20. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies : an approach using the bootstrap. Evolution. 1985 ; 39 : 783-91.
 21. Farris JS, Albert VA, Källersjo M, Lipscomb D, Kluge AG. Parsimony jackknifing outperforms neighborjoining. Cladistics 1996 ; 12 : 99-124.
 22. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol. 1980 ; 16 : 111-20.
 23. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method : A new for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol. 1987 ; 4 : 406-25.
 24. Hwang WI, Lee SD, Son HS, Baik NG, Ji RH. Effect of Fresh Garlic Extract on the tumor cell growth and immunopotentiating activity. J Korean Soc Food Nutr. 1990 ; 19(5) : 494-508.
 25. Knowles LM, Milner JA. Allyl sulfides modify cell growth. Drug Metabol Drug Interact. 2000 ; 17 : 81-107.
 26. Sheo HJ, Seo YS. A Study on the Antidotal Effects of Dietary Garlic Juice on Lead Poisoning Rats. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2005 ; 34(3) : 342-50.