

발간등록번호

11-1543000-001244-01

향토자원 식용 모시의
기능성 규명 및 우량품종 선발
(Identification of Functional Compounds and
Selection of A Superior Variety from Edible Ramie,
A Local Resource)

영광군농업기술센터

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 농생명산업기술개발사업 자유응모과제(향토자원 식용 모시의 기능성 규명 및 우량품종 선발)의 보고서로 제출합니다.

제1세부 : 모시 유전자원 이용 특성검정을 통한 우량품종 선발

제1협동 : 모시잎의 *in vitro* 및 *in vivo* 유용성탐색 및 기능성물질 규명

제2협동 : 모시 유전자원 분석 및 가공식품 원료 표준화를 위한 분자마커개발

2016년 2월 일

주 관 연 구 기 관 명 : 영광군농업기술센터

주 관 연 구 책 임 자 : 김영길

제1세부연구책임자 : 김영길

참 여 연 구 원 : 이현삼, 이동호, 김영미, 박금룡, 고윤자,
고현아, 장지현, 유정훈, 정영인, 김경현,
양연순, 박정훈

제1협동연구기관명 : 중앙대학교

제1협동연구책임자 : 이상현

참 여 연 구 원 : 조성훈, 이재민, 이강희, 이윤경

제2협동연구기관명 : (주)바이오메딕

제2협동연구책임자 : 김호방

참 여 연 구 원 : 엄윤경, 고승희, 우진규, 김지현, 이해영,
오창재

요 약 문

모시잎송편은 우리의 옛 전통을 계승하는 대표 식품으로 국내시장은 물론 해외시장에서도 소비가 지속적으로 증가하고 있다. 이에 부응하여 소비자로부터 안전한 식품으로 신뢰성을 구축하기 위해서는 안정적인 원료 확보 및 원료 표준화가 요구되고 있으며, 향산화, 항균 등 기능성 물질을 규명함으로써 국민 건강복지 향상에 기여하는 식품으로 자리 잡고자 한다. 따라서 본 연구에서는 모시잎 특유의 고유한 기능성물질 탐색과 효능을 검정하며, 모시 유전자원의 효율적 관리 및 식품용 모시 품종의 규격화를 위해 품종 판별용 분자마커를 개발하고, 떡 가공식품 원료로 적합한 우량품종을 선발하고자 하였고 그 결과는 다음과 같다.

1. 우량품종 선발 신품종 보호출원

모시 품종연구에 관한 자료도 많지 않으나 그나마도 섬유생산이 목적인 연구 위주여서 식용모시 특성조사 기준 마련이 시급하였다. 이에 국립식량과학원, 국립농업과학원, 한국연구재단 소속 전문가들을 초청하여 수차례 자문을 받아 식용 모시 특성조사 기준을 자체적으로 마련하였고, 이를 바탕으로 국립종자원에 UPOV 기준과의 부합성 여부를 검토 받았으며(2013.12.) 연구 수행 과정 및 협의회를 통해 꾸준히 재정비하여 최종적으로 식용 모시 특성조사 기준을 마련하였다. 기존에 섬유용으로는 섬유질 중심의 줄기 위주 수량성을 검토하였으나 식용으로는 잎을 이용하기 때문에 잎의 크기 및 색 중심의 특성과 함께 엽의 수량성을 부여하였다. 영광군 농업기술센터에서 보유하고 있는 국가생명자원으로 등록되어 있는 90점의 모시 유전자원을 공시재료로 하여 영광군농업기술센터에서는 생엽수량을 포함한 생육적 특성을 조사하고, 중앙대에서는 향산화, 항균, 항염증, 항당뇨 활성 등 기능성 물질을 분석, (주)바이오메딕에서는 각 자원별 순도 분석을 맡아 수행하였으며, 각 기관별 결과 자료를 종합하여 1차년도에 9개 자원을 선발하였다. 2차년도에는 (주)바이오메딕연구소에서 실시한 순도 분석 결과 9개 자원 중 분리가 되는 중에 대하여 순계분리 과정을 거쳐 순도를 유지시키는 한편, 1년차에 선발된 9개 자원을 대상으로 농업적으로 유용한 고유특성과 가변특성을 조사하고, 모시잎의 가공적성을 보기 위하여 삶기 전과 삶은 후의 무게 및 색도를 측정하였으며 삶은 모시잎의 식이섬유 함량을 분석하여 그 결과를 바탕으로 최종적으로 우량하다고 판단되는 1품종을 선발하였다. 3차년도에는 섬유용으로 등록된 유일한 모시 품종인 '서방'을 대비품종으로 하여 특성검정 시험 및 시제품을 제작하여 가능성을 검토하였고, 명칭 부여 협의회를 거친 후 2015년 11월 5일 국립종자원에 '옥당'이라는 명칭으로 신품종 보호 출원하였다.

2. 모시잎 특유의 고유한 기능성물질 탐색과 효능 검정

1차년도에는 모시품종의 *in vitro* 유용성 및 약리활성 탐색을 위하여 90점의 모시잎을 가지고 향산화 활성 탐색[1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 소거능 측정, Hydroxy radical (\cdot OH) 소거능 측정], 항균 활성 탐색(디스크 확산법), 항암 활성 탐색(MTT assay), 항염증 활성

탐색(NO 생성 억제 측정, MTT assay)과 항당뇨 활성 탐색(Aldose Reductase 억제활성 측정)을 진행하였다. 그 결과 DPPH 소거활성 능력을 보면 총 90점의 추출물 중에서 34점이 80% 이상의 소거율을 나타내었으며, 그 중 Bn-13, Bn-82는 각각 95.17%, 90.71%로 가장 높은 소거능력을 보였다. ·OH의 소거능을 측정한 결과, Bn-3을 제외한 모든 추출물에서 80% 이상의 ·OH 소거 효과를 보였으며, 81점이 90% 이상을 나타냈고 이중 7종(Bn-37, -42, -65, -71, -73, -78, -80)이 99% 이상으로 ·OH에 대한 독성 제거 효과가 매우 우수함을 보였다. 따라서, *Boehmeria nivea*는 *in vitro*에서 free radical 소거에 의한 항산화 효과가 뛰어난 것으로 사료된다. 그람 음성균 중 하나인 *Escherichia coli*에 대한 *B. nivea*의 생육 억제환을 살펴본 결과 11점(Bn-6, -10, -15, -17, -25, -29, -39, -40, -41, -43, -60)의 추출물이 항균효과가 있는 것으로 나타났고, 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성을 측정한 결과 7점(Bn-3, -16, -25, -33, -35, -38, -41)의 추출물이 항균 효과를 보였으며, *Helicobacter pylori*의 항균활성을 측정한 결과 90점의 모시 추출물은 15 µg/ 30 µL 농도에서 7점의 추출물(Bn-3, -5, -21, -37, -38, -45, -61)이 강한 항균력을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 90점의 모시 추출물을 100 µg/mL 농도로 처리하였을 때, 5점의 추출물(Bn-2, -7, -10, -23, -28)에서 50% 이상의 위암 세포 성장 억제율을 나타냈다. 특히 이들 중에서도 Bn-2와 Bn-23은 85% 이상의 높은 위암 세포 성장 억제율을 보였고, Bn-23은 90.79%로 위암세포의 증식을 가장 크게 억제하는 것으로 사료된다. 90점의 추출물을 100 µg/mL의 농도로 Raw 264.7 세포에 처리 시 LPS와 INF-γ가 내독소로 작용하여 cell viability에서는 Normal 군과 Control 군의 차이가 크지 않았다. NO 생성율을 보면 Normal 군은 44.18%, Control 군이 100%의 NO 생성율을 보였고, 총 90점의 추출물 중 88점이 80% 이하의 NO 생성율을 나타내었으며, Bn-09, -65에서 항염증 효과가 있는 것으로 나타났다. 90점의 모시 추출물의 Aldose reductase 억제 활성을 측정한 결과, 총 11점의 추출물(Bn-06, -07, -08, -09, -31, -33, -44, -46, -47, -48, -52)에서 50% 이상의 억제 활성을 나타냈고, 그 중 Bn-08, Bn-33, Bn-48은 각각 64.94, 60.63, 63.58%로 60% 이상의 비교적 강한 억제활성을 나타냈다. 또한 HPLC 분석을 통해 모시잎 4점(Bn-09, -40, -82, -90)과 모시식품 4종(모시찰보리짬떡, 모시잎송편, 모시잎떡, 모시잎차)의 기능성 물질(Epicatechin과 Epicatechin gallate)의 함량분석 및 표준화 작업을 수행한 결과 Bn-09는 Epicatechin의 함량이 4점 중에서 가장 높았으나 Epicatechin gallate의 함량은 가장 적었고 Bn-90은 가장 높은 Epicatechin gallate 함량을 보였다. 또한 4점 모두 Epicatechin보다 Epicatechin gallate를 더 많이 함유하고 있음을 확인할 수 있었다. 모시식품 4종 내의 성분함량을 분석한 결과, 마음소리 모시잎차 내 두 성분의 함량이 식품 4종 중에서 가장 높은 것으로 확인되었다.

2차년도에서는 모시잎의 고유 기능성물질 분리분석 및 함량 탐색을 실시하였으며, 먼저 모시 잎 2 kg을 건조시킨 후 MeOH을 이용 추출용매와 함께 가열해 끓이면서 동시에 환류냉각을 시키는 온침법을 이용하였다. 위 방법으로 추출된 추출물을 filter paper를 이용해 걸러준 다음 evaporator를 이용해 감압 농축하였다. 이 과정을 3번 반복하여 시행하였고, 총 294.6 g의

methanol 추출물을 얻었다. 분획은 *n*-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, 그리고 *n*-butanol 순으로 진행하였다. Methanol 추출물 294.6 g을 증류수를 이용해 현탁한 후 분획여두에 넣고 그 위에 *n*-hexane을 넣은 다음 흔들어 잘 섞어준 후 극성의 차와 비중에 따라 분리된 용매 층만을 얻었다. 여기에서 남은 물 층을 같은 방법으로 CH₂Cl₂, EtOAc 그리고 *n*-butanol으로 다시 분획을 하였고 각각 3회씩 반복하여 주었다. 그 결과 *n*-hexane fr. 106.9 g CH₂Cl₂ fr. 4.1 g, EtOAc 분획 2.4 g, *n*-butanol 분획 23.8 g의 분획물을 수득하였고 각각의 분획물은 chromatography (MPLC, open Column Chromatography)를 이용하여 물질분리를 하였다. 그 결과 hexane 분획에서 분리된 물질 중 4번 분획 물질의 TLC를 확인한 결과, 단일 물질임을 확인하여 NMR과 MS를 찍어서 β -sitosterol로 물질의 구조를 동정하였고, 6-8번 분획 물질의 TLC를 확인한 결과, 단일 물질임을 확인하여 ¹H-NMR과 MS를 찍어서 물질의 구조를 (-)-loliolide로 동정하였다. EtOAc 분획에서 분리된 물질 중 7번 분획의 물질의 TLC를 확인한 결과, 단일 물질임을 확인하여 NMR과 MS를 찍어서 Rutin으로 구조 동정하였다. BuOH 분획에서 분리된 물질 중 2번 분획 물질의 TLC를 확인한 결과, 단일 물질임을 확인하여 NMR과 MS를 찍어서 물질의 구조를 Pyrimidinedione으로 동정하였다. 분리한 물질 중 (-)-loliolide와 rutin 두 물질에서 좋은 효능들이 보고되어서 총 9점(Bn-02, -07, -10, -23, -38, -41, -67, -76, -90)의 모시잎을 각각 6, 7, 8, 9월에 채집하여 추출물에서 함량 비교 실험을 진행하였다. 그 중에서 (-)-loliolide와 rutin은 각각 Bn-23과 -76에서 가장 함량이 많은 것으로 나왔으며, 월별로는 9월에 채집한 모시잎에서 가장 많은 함량을 보였다.

3차년도에서는 모시잎 고유 기능성물질의 *in vivo* 동물실험을 통한 약리 연구를 진행하였으며, 총 9점(Bn-02, -07, -10, -23, -38, -41, -67, -76, -90)의 모시잎 추출물과 rutin을 이용하여 진행하였다. *In vivo*에서의 모시의 인지능력 향상효과를 보았으며, 인지능력 향상효과는 T-maze 실험과 물체 인지 실험을 통해 공간인지 능력과 물체인지 능력향상을 보았다. 조직에서의 산화적 스트레스 개선 효과는 지질과산화 생성 억제 효과, NO 소거 효과와 혈청 중의 ALT와 AST 측정을 하였으며, 위 실험 결과 Bn-02와 Bn-90에서 효과가 우수한 것으로 나타났다. 또한 활성물질 분리물(rutin)의 *in vivo* 효능 및 작용을 보았으며, 신경세포 보호효과와 기능성 작용의 관계를 보았다. 신경세포의 염증반응에 대한 보호효과를 알아보기 위해 C6 glial cell에 SNP를 처리하여 NO를 유발시켰으며, rutin을 처리한 결과 세포 생존율이 상승하여 염증에 대한 보호효과가 있는 것으로 사료된다. H₂O₂와 A β ₂₅₋₃₅처리로 유도된 산화적 스트레스 개선 효과를 본 결과, 신경세포의 세포사멸 보호능 및 세포내 ROS 소거능과 상관관계를 가지고 있으며, 이러한 활성이 ROS에 의해 야기되는 뇌세포 사멸에 대한 보호 작용의 역할을 할 것으로 사료된다.

3. 품종 판별용 분자마커 개발

모시풀은 쟁기풀과에 속하는 목본성 다년생 초본식물이며, 한국을 포함한 아시아 지역의 여러 국가들에서 주요 섬유작물로 재배하고 있다. 모시잎은 전통적으로 한국 남부지방(특히, 영

광 지역)에서 송편을 비롯한 떡의 주요 성분으로 사용되어 오고 있다. 모시풀의 경제적 중요성에도 불구하고, 모시풀의 분자유전학적 측면에 관한 연구는 이루어진 바가 없다. 모시풀의 경제 산업적 활용을 위해 영광군 농업기술센터에 의해 모시풀 유전자원이 전국적으로 수집되었다. 90점의 모시풀 유전자원으로부터 증폭된 핵 리보소말 ITS 서열을 비교한 결과, 유전자원 간에 크기나 서열 변이가 없었으며, 모시풀에 대한 기준 시료와도 서열 변이가 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 모든 유전자원이 분류학적으로 모시풀로 분류됨을 제시한다. 모시풀 유전자원의 체계적이며 효율적인 관리를 위해 마그네틱 비드 혼성화 선발 방법을 이용하여 모시풀 SSR 마커를 발굴하였다. 최종적으로 유전자원 간에 다형성을 보이는 17개 SSR 마커가 선발되었으며, 모시풀 유전자원의 유전다양성 분석을 수행하였다. 선발된 17개 SSR 마커는 총 140개 대립유전자를 검출하였다(유전자원당 3-17개). 유전다양성과 PIC의 평균값은 각각 0.61과 0.56이었다(유전다양성은 0.37-0.84 범위, PIC는 0.34-0.82 범위). SSR 데이터에 기초한 유전 군집 분석 결과, 모시풀 유전자원은 4개 그룹으로 나누어질 수 있음을 보여주었다. 8개 SSR 마커를 이용한 일부 유전자원의 순도검정 결과는 일부 유전자원의 순도에 문제가 있을 수 있음을 제시하였다. 향후 모시풀 품종에 대한 고효율 저비용의 지노타이핑을 위해서 본 연구에서 개발된 12개 SSR 마커를 이용하여 동시 다중 지노타이핑 플랫폼을 구축하였다.

엽록체 유전체는 진화와 계통에 관한 풍부한 정보를 제공한다. 높은 빈도의 삽입-결실(InDel)이나 단일염기다형성(SNP)과 같이 빠른 진화가 일어나는 부위가 엽록체 유전체상의 특정 유전자, 유전자간 서열(IGS) 및 인트론 등에 집중해서 나타난다. 따라서 진화속도가 빠른 부분에서의 서열 변이 정보를 활용하여 종과 변종을 구분하기 위한 DNA 바코딩 마커로 개발하고 있다. 모시풀 품종 구분을 위한 바코딩 마커를 개발하기 위하여 Illumina Hiseq 플랫폼을 이용하여 모시풀 엽록체 유전체를 완전히 해독하였다. 모시풀 엽록체 유전체의 크기는 156,037 염기쌍이었으며, 한 쌍의 역반복, 각각 한 개씩의 large single copy (LSC)와 small single copy (SSC) 영역으로 이루어져 있었다. 모시풀 엽록체에는 전체 118개의 유전자가 존재하였는데, 83개의 단백질 암호화 유전자, 31개의 tRNA 유전자, 4개의 rRNA 유전자가 존재하였다. 유전자간 서열(*atpF-atpH*, *psbK-psbI*, *trnL-trnF*)과 인트론(*atpF*, *trnL*, *trnV*)을 선발하여 16개 모시풀 유전자원간 서열변이를 탐색하였다. 2개의 IGS 서열(*atpF-atpH*, *psbK-psbI*)과 2개의 인트론(*atpF*, *trnL*)은 16개 자원간 InDel이나 SNP를 보여주었다. 그러나 *trnL-trnF* IGS와 *trnV* 인트론 영역은 유전자원간 서열변이가 존재하지 않았다. 따라서 IGS와 인트론에서 발굴된 서열변이는 모시풀 유전자원, 품종 구분, 원산지 판별 등을 위한 중요한 바코딩 마커로 활용될 수 있을 것이다.

SUMMARY

Mosiddeok (half moon shaped rice cake which is made of the mixed dough with ramie leaves) is one of the Korean traditional dishes that has increased in consumption at domestic and foreign market. Therefore, it is very important to secure the supply of raw materials and standardization of quality, and investigation of the functional materials like antibiotic and antioxidative effects in order to gain consumer's truth in the age of well-being.

This studies carried out the selection of elite variety with high yield and good quality, *in vitro* and *in vivo* investigation of the functional materials, and its potency test, and identification of genetic resources using SSR markers. The results were as follows.

1. Selection of elite line and application for plant variety protection right in ramie

Ramie was mainly used as a material of summer clothing not for edible purposes in most of regions in Korea. However, in some parts of the country including Yeonggwang-gun, ramie leaves have long been used to make Songpyeon because ramie leaves contain various and beneficial nutrients for human health.

Ramie is a clonal crop, so the breeding methods applied are similar to sugar cane or potato. A clone is a group of genetically identical plants that was vegetatively propagated from a single plant. In this experiment, breeding procedures were grouped into (1) germplasm collection and maintenance, and (2) clonal selection of natural variants. As with crops that reproduce sexually, the initial step for the breeding of asexually propagated species is to establish a germplasm collection and maintenance system. Yeonggwang-gun Agricultural Technology Center collected ninety ramie accessions in 2013 through RDA and local collection of clones. Selection procedures of the elite ramie clone for edible leaf were consisted of the elite clone selection and the test of specific characters including leaf size, leaf color, processing quality, and fresh leaf yield. Forty elite accessions were selected from the primary step, and then ten accessions were finally selected from the last step on the basis of yield and quality. Ten elite accessions including a control variety, 'Seobang' (a variety for fiber developed in 1961) were used for the evaluation of yield potential and genetic characteristics from 2014 to 2015 at the greenhouse and the field. As a result, we selected Bn-90-22 and designated as "Yeonggwang 1" in 2015. "Yeonggwang 1" has various traits such as erect stem, purple flower color, white pubescence, dark green leaf color, light brown petiole color, and large leaf size. The total fresh leaf yield per year was 1,578 kg/10a, which was higher by 10% than 'Seobang', a control variety.

The elite accession, "Yeonggwang 1" (Bn-90), was named 'Ogdang' as a new variety and applied variety protection in 2015. Ogdang, a new mid-late maturing ramie variety for edible leaf, was derived from a clone of Bn-90, and was promoted through a pure line selection method.

2. Screening of phytochemicals and biological activities of *Boehmeria nivea*

Anti-oxidant (DPPH and $\cdot\text{OH}$ radical-scavenging activity), anti-bacterial, anti-cancer (MTT assay), anti-inflammatory activities, and aldose reductase (AR) inhibition were to evaluate the biological activities of extracts of ramie (*Boehmeria nivea*, Bn). Bn extracts from various collecting area (90 kinds) were extracted with methanol. Among them, 34 kinds of Bn extracts are responsible for more than 80% of the observed radical scavenging activity at a concentration of 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. In particular, Bn-13 and -82 showed a higher capacity than the other extracts, showing 95.17 and 90.71%, respectively. Also, the result of $\cdot\text{OH}$ radical scavenging activity demonstrated that all Bn extracts showed over 80% scavenging activity. The results from radical scavenging systems reveal that Bn extracts have a significant anti-oxidant effect. The result of anti-bacterial activity against *Escherichia coli*, a Gram negative bacteria, demonstrated that the following 11 Bn extracts (Bn-06, -10, -15, -17, -25, -29, -39, -40, -41, -43, and -60) showed growth inhibition zones greater than 15 mm. Seven kinds of Bn extracts (Bn-03, -16, -25, -33, -35, -38, and -41) produced inhibition zones of *Staphylococcus aureus* greater than 15 mm. The result for *Helicobacter pylori*, which causes gastritis and gastric cancer, includes seven Bn extracts (Bn-03, -05, -21, -37, -38, -45, and -61) that produced zones of *H. pylori* inhibition greater than 12-14 mm. We found that Bn-02 and -23 significantly inhibited the growth of AGS cells by greater than 85%. Bn-23 had the greatest anti-cancer effect, with growth being inhibited by 90.79%. NO production from LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 cells was inhibited by Bn extracts (Bn-01, -11 and -37), which showed less than 85% of NO generation at a non-toxic concentration. Bn-37 significantly inhibited the production. The following 11 Bn extracts (Bn-06, -07, -08, -09, -31, -33, -44, -46, -47, -48, and -52) exhibited a high degree of inhibition (>50% at 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on rat lens AR. Also, content analysis of flavonoids (epicatechin and epicatechin gallate) present in the leaves of *B. nivea* (Bn-09, -40, -82, and -90) and their commercial products (ramie tteok, ramie songpyeon, ramie bory-tteok, and ramie tea) was conducted by HPLC. The content of epicatechin and epicatechin gallate was highest in the leaves of *B. nivea* from Bn-09 and Bn-90, respectively. With respect to commercial products, the content of epicatechin and epicatechin gallate was highest in ramie tea.

Furthermore, phytochemical constituents were isolated from Bn. The dried and powdered Bn-90 (2 kg) were extracted with MeOH (8 L × 10) under reflux at 65–75°C and filtered. The filtrate was concentrated in vacuo to afford a material of MeOH extract (294.6 g). The MeOH extract (280.5 g) was suspended in H₂O, and then partitioned successively using n-hexane (106.9 g), CH₂Cl₂ (4.1 g), EtOAc (2.4 g), and n-BuOH (23.8 g). Their structures were identified as β-sitosterol, (-)-loliolide, rutin, and pyrimidinedione by MS, ¹H-, and ¹³C-NMR spectroscopic analysis. Among them, (-)-loliolide was isolated for the first time from the plant. In addition, content analysis of (-)-loliolide and rutin in Bn collected from different regions and harvest times were conducted by HPLC. The highest content of (-)-loliolide and rutin were found in Bn-23 and -76 harvested in September.

Finally, we demonstrated the protective effects of Bn-02 and -90 extracts against cognitive dysfunction using an Aβ-injected mice model of Alzheimer disease. We carried out mouse behavior tests using the T-maze, novel objective recognition, and Morris water maze tests. Normal rats and Aβ₂₅₋₃₅-induced rats administered with rutin showed the high spatial memory ability under Morris water maze. Moreover, the inhibitory effects on lipid peroxidation, as well as NO scavenging activity, were also investigated. We screened their neuroprotective effect to attenuate H₂O₂ and Aβ₂₅₋₃₅-induced oxidative stress in C6 glial cells. Treatments with Bn extracts led to an increase in cell viability and decrease in ROS production induced by H₂O₂ and Aβ₂₅₋₃₅.

3. Development of molecular markers for the identification of ramie cultivars

Ramie (*Boehmeria nivea* L.) is a hardy perennial herbaceous plant of the Urticaceae family and has been grown as an important fiber crop for many centuries in Asian countries including Korea. Ramie leaves also have been traditionally used as a major ingredient of a type of rice cake called 'Song-pyun' in the Southwest area of Korea. Despite its economic importance, the molecular genetics of ramie have not been studied in detail yet. Genetic resources of ramie were widely collected from domestic local sites by Yeong-Gwang Agricultural Technology Center. Nuclear ITS sequences amplified from 90 genetic resources showed no variation in size and sequence among the resources and from the reference samples for *B. nivea*, indicating that all of the genetic resources is taxonomically classified into *B. nivea*. For the systematic and efficient management of the genetic resources, we developed ramie SSR markers using the magnetic bead hybridization selection method. Finally, we selected 17 SSR markers, possibly showing polymorphism among the genetic resources and analyzed their genetic diversity. The selected 17 SSR markers detected a total of 140 alleles, ranging from 3 to 17. The average values of

genetic diversity and PIC were 0.61 and 0.56, ranging from 0.37 to 0.84 and from 0.34 to 0.82, respectively. A genetic cluster analysis based on SSR data revealed that the ramie genetic collection could be distinctly classified into 4 clusters. The purity test on several genetic resources using 8 polymorphic SSR markers also revealed that some of the resources is not pure. For the rapid and money-saving genotyping, we also set up a multiplex genotyping platform using 12 polymorphic SSR markers developed in the study.

Chloroplast (cp) genomes provide rich evolutionary and phylogenetic information. Evolutionary hot spots showing high levels of insertion-deletions (InDels) with high incidences of SNPs are concentrated on specific gene, intergenic spacers (IGS) and introns in the cp genome. Therefore, sequence variation on the evolutionary hot spots is adopted to develop DNA barcoding markers that are able to discriminate species and cultivars. In order to develop the barcoding markers for ramie cultivar identification, we determined the complete cp genome sequence using Illumina Hiseq platform. The complete cp genome is 156,037 bp in length, and has a pair of inverted repeat (IR), a large single copy (LSC), and a small single copy regions. A total of 118 gene species are contained within the ramie cp genome, including 83 protein-coding genes, 31 tRNA genes, and 4 rRNA genes. IGS (*atpF-atpH*, *psbK-psbI* and *trnL-trnF*) and intron (*atpF*, *trnL* and *trnV*) regions were selected to search sequence variations among 16 ramie accessions. Two IGS (*atpF-atpH*, *psbK-psbI*) and *atpF* intron showed SNPs and InDels among the accessions. SNPs were detected among *trnL* introns of the accessions. However, no sequence variations among the accessions were detected in *trnL-trnF* IGS and *trnV* intron regions. The sequence variations detected in IGS and introns will be valuable barcoding markers to discriminate ramie accessions and cultivars.

CONTENTS

Chapter 1	Outline of research and development	11
Passage 1.	Objective of research and development	11
Passage 2.	Necessity of research and development	11
Passage 3.	Strategy of research and development	13
Chapter 2	Present state of research and development	14
Chapter 3	Experiments, results, and discussion	16
Passage 1.	Elite line selection and apply for plant variety protection right in ramie	16
Passage 2.	Screening of phytochemicals and biological activities of <i>Boehmeria nivea</i>	40
Passage 3.	Development of molecular markers for identification of ramie cultivars	85
Chapter 4	Attainment of goal and contribution to society	112
Passage 1.	Attainment of goal of research and development	112
Passage 2.	Contribution to society	114
Chapter 5	Outcome and application plan of research and development	116
Passage 1.	Outcome of research and development	116
Passage 2.	Application plan of research and development	119
Chapter 6	Collected international scientific information	120
Passage 1.	International Food Fair in Singapore (2013.5.30–6.03)	120
Passage 2.	Visiting of ramie habitat in Cambodia (2014.8.27–8.31)	128
Passage 3.	Maryu Research Institute in China (2015.5.10–5.14)	133
Chapter 7	Equipment and facilities of research and development	142
Chapter 8	Safety management of laboratory	143
Chapter 9	Reference	145

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	11
제 1절.	연구개발과제의 목적	11
제 2절.	연구개발과제의 필요성	11
제 3절.	연구개발과제의 추진전략 및 방법	13
제 2 장	국내외 기술개발 현황	14
제 3 장	연구개발 수행 내용 및 결과	16
제 1절.	모시 유전자원 이용 특성검정을 통한 우량품종 선발	16
제 2절.	모시잎의 <i>in vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 유용성 탐색 및 기능성 물질 규명	40
제 3절.	모시 유전자원 분석 및 가공식품 원료 표준화를 위한 분자마커 개발	85
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	112
제 1절.	연차별 연구개발 수행내용 및 목표 달성도	112
제 2절.	관련분야에의 기여도	114
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	116
제 1절.	연구성과 목표 대비 실적	116
제 2절.	성과활용 목표 대비 실적	119
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	120
제 1절.	싱가포르 국제식품박람회(2013.5.30-6.03)	120
제 2절.	캄보디아 모시 자생지 탐방(2014.8.27-8.31)	128
제 3절.	중국 마류연구소(2015.5.10-5.14)	133
제 7 장	연구시설·장비 현황	142
제 8 장	연구실 안전관리 이행실적	143
제 9 장	참고문헌	145

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절. 연구개발의 목적

모시잎송편은 우리의 옛 전통을 계승하는 대표 식품으로 국내시장은 물론 해외시장에서도 소비가 지속적으로 증가하고 있다. 이에 부응하여 소비자로부터 안전한 식품으로 신뢰성을 구축하기 위해서는 안정적인 원료 확보 및 원료 표준화가 요구되고 있으며, 항산화, 항균 등 기능성 물질을 규명함으로써 국민 건강복지 향상에 기여하는 식품으로 자리 잡고자 한다. 따라서 본 연구에서는 모시잎 특유의 고유한 기능성물질 탐색과 효능을 검정하며, 모시 유전자원의 효율적 관리 및 식품용 모시 품종의 규격화를 위해 품종 판별용 분자마커를 개발하고, 떡 가공식품 원료로 적합한 우량품종을 선발하고자 하였다.

제 2절. 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

생물 산업의 패러다임 변화(바이오혁명) 중 생물 산업은 고도지식, 첨단기술, 최신정보에 기초를 둔 신산업이다. 미래 성장산업으로 발전가능성이 가장 큰 분야로는 바이오신의약, 바이오신소재 그리고 BIT 등의 융합기술 분야이고, 바이오산업 중 “바이오의약 및 BIT·측정시스템” 분야의 세계시장 규모는 2003년 555억 달러, 2007년 819억 달러, 2012년 1,331억 달러로, 전체 바이오산업의 70% 이상을 차지하는 가운데 고속 성장할 전망이다. 과거부터 모시는 섬유작물로 인식되어 있으며 그간 모시 관련 연구 또한 섬유생산량 증대 위주로 이루어져 왔기 때문에 석유산업의 발달로 경제적 실익이 없는 관계로 국가기관과 대학에서도 연구작목에서 제외되어 왔으나 최근에는 모시잎 재배 면적이 '08년 30ha에서 '12년 현재 60ha로 2배 증가하였다. 이에 따라 전통적으로 이어온 모시잎 재배·이용 기술을 토대로 좀 더 체계적이고 효율적인 재배기술을 정립할 필요가 있으며, 품종 간 정확한 판별기준이 없기 때문에 모시잎 송편산업 활성화를 위한 원료표준화 사업의 일환으로 품종 구분 마커 개발이 요구된다.

2. 경제 및 산업적 측면

세계적으로 바이오산업의 포커스는 생물 유전자원에 맞춰져 가고 있으며, 특히 자원식물에 대한 경제적 효능가치를 평가하여 보다 다양한 식물 종의 확보에 주력하고 있고, 이들로부터 신기능성의 약품소재를 분리 생산하는 체계적인 개발 정책을 펼치고 있다. 이러한 경향에 발맞춰

최근 세계 각국에서는 천연물을 통한 신소재 개발을 중요한 연구테마로 삼고 있으며 천연물 특히 신청건수가 날로 크게 증가하는 추세이다. 국제보건 기구(WHO)에 따르면 천연물 의약품 시장은 600억 달러 이상의 가치를 가지며, 전 세계의 인구 중 80%가 1차적인 healthcare로 천연물 의약품을 사용한다고 밝히고 있다. 국내 자생식물 다양성은 우리나라의 가장 중요한 생물학적 자산으로 현재 세계 각국은 생물다양성 협약으로 자국 내 생물자원을 보호하는 추세이며 대외유출방지를 하고 있어 우리나라에서도 우리의 자생식물을 수집·보존·활용 대책 마련이 시급한 실정이다. 현재 모시잎 송편의 연매출액은 전국 기준 400억 내외로 소비가 점차 증가추세에 있으며, 수출도 증가추세에 있어 가공식품 원료용 모시잎 품종 개발이 시급하다. 모시잎 송편 산업으로 인한 노인 일자리 창출, 쌀 소비 촉진, 농지이용 극대화, 떡가공 기계산업, 택배 등 연관 산업의 파급효과가 클 것으로 보인다. 전남 영광군 모시잎 송편 생산업체 수는 '08년 35개에서 '12년 현재 120여개로 크게 늘었고, 매출액도 2008년 80억원대에서 2012년 현재 200억원대로 증가하였다. 영광군은 지역 명품화 사업 일환으로 원료표준화 방안을 강구하고 있으며, 원료의 안정적 공급이 절실히 요구됨에 따라 모시잎 송편산업의 농림수산물식품부 지방단체향 토산업으로 지정('09~'11년)된 바 있다.

3. 사회·문화적 측면

다양한 생물 종은 신약개발의 보고이므로 기초자원으로서 생물다양성의 경제적 가치는 날이 갈수록 높아지고 있으며, 오늘날 사용하고 있는 약물의 50% 정도는 천연물에서 유래한다. 천연물은 과거 인류가 경험적으로 사용하였던 것으로부터 분리·개발하게 되므로 화학합성 신약 개발에 비해 상대적으로 독성이 적으며, 이는 신약개발의 실패요인 중 13~25%가 독성 및 안정성문제로 인한다는 부분을 볼 때 상대적으로 높은 개발성공률과 그에 따른 비용절감을 예상할 수 있다. 인구고령화로 증가하고 있는 만성질환에 대한 대책이 치료의학에서 예방의학으로 변모됨에 따라 천연물신약에 대한 제약사들의 관심이 크게 증가하고 있으며, 실제로 현재 의약시장에서의 천연물 의약품의 연간 판매액은 400억 US \$, 매년 평균 15% 이상의 성장률로 발전하고 있는 것으로 그 경제성과 성장가치는 급격하게 상승하고 있다. 통계 가능한 국내 천연물 시장의 규모를 살펴보면 천연물 의약품은 약 4,000억원, 천연물공산품 5,000억원 등을 포함하여 건강과 관련된 천연물 소재 시장은 10조원을 상회할 것으로 추산된다. 모시잎의 향산화, 항균, 항염증, 항당뇨 등 기능성 물질을 규명함으로써 국민 건강복지 향상, 고가의 의료비용 경감, 화학약품과 같은 부작용을 최소화하는데 기여하는 만큼 적극적인 지원이 필요한 실정이며, 소비자로부터 안전한 식품으로 신뢰성을 구축하기 위해서는 안정적인 원료 확보 및 원료 표준화가 요구된다. 이에 따라 각 지역에 산재되어 자생하고 있는 모시잎을 수집·유전자원화 함으로써 보다 체계적인 자원관리 및 미래자원으로 활용해야 할 것이다.

제 3절. 연구개발의 추진전략 및 방법

기술정보 수집을 위해 NCBI PubMed 및 Web of Science database, SCOPUS database, 인터넷 검색 등을 통해 최신 연구 동향을 파악하며, 정기적인 국내·외 학술회의 참석을 통해 최신 연구 동향을 파악하여 본 연구에 적극 활용하였다. 또한 세미나, 심포지엄 및 학회 참석 등을 통해 관련 분야의 전문가들을 확보하고, 필요할 경우 자문료를 지급하여 본 과제의 성공적 수행 및 개선에 적극 활용하였다. Microsatellite 분자마커의 개발, SSR multiplexing 및 유전자원 분석에 관해서는 품종관리센터 김용율 박사팀, 충북대학교 이이 교수팀 및 영남대학교 석호영 교수팀과의 협력을 통해 수행하였고 모시풀 엽록체 유전체 정보 해독 및 엽록체 비해독 부위 정보를 활용한 계통수 작성 등에 관한 연구는 대구대 원효식 교수, 국립생물자원관 임채은 연구관의 자문을 통해 수행하였으며 현지 포장 전개와 관리 등은 본 과제의 주관 기관인 영광군 농업기술센터 연구팀, 재배 농가, 모시 제품 생산 업체 등과의 상호 협력을 통해 수행하였다. 아울러 타 기관과의 협조 방안으로는 국내 자생 모시속 식물 기준종은 한국의 식물 DNA 은행(<http://pdbk.korea.ac.kr>)에서 제공받아 사용하였고, 2013년 11월에 농촌진흥청 국립유전자원센터에 유전자원기관으로 등록하여 모시 유전자원을 체계적으로 관리하였다. 성공적 과제 수행을 위해 영광군농업기술센터(공공기관), 중앙대학교(학교), (주)바이오메딕(기업체)가 참여하므로 과제간 유기적 관계를 긴밀히 유지하기 위해서 최소 연 2회 협의회를 통해 연구 진행 상황 점검과 정보 교류의 시간을 가짐으로써 성공적인 연구가 이루어지도록 하였다.

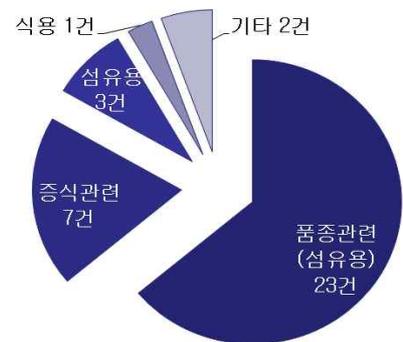
제 2 장 국내외 기술개발 현황

국내 관련 논문 검색을 위해 농촌진흥청 농업과학도서관, 학술연구정보서비스 (RISS), 과학기술학회마을 (KISTI), 국가과학기술정보센터 (NDSL) 사이트를 이용하였으며, 검색어는 모시, 모시풀, 모시잎, 모시잎, ramie를 사용하여 검색하였다. 1973년부터 1999년까지 26년 동안 총 10건의 논문이 발표되었는데, 그중 9건이 섬유용으로 확인되었으며, 주로 모시 직물의 특성에 관한 내용이 주를 이루고 있었다. 그 이후 뜸하다가 2006년부터 2013년까지 7년 동안 총 16건의 논문이 발표되었는데, 그중 4건만이 섬유용인데 반해 12건이 섬유용에서 벗어난 식용과 모시 식물계통학 분석에 관한 것이었다. 섬유용 모시논문은 염색과 관련된 물성 중심의 내용이었고, 식용으로써의 논문은 모시잎 분말을 첨가한 가공식품의 특성 변화 연구가 대다수였고, 항비만, 변비개선 등 식이섬유를 활용한 기능성 연구가 일부 수행되었다. 상기 논문들은 대다수가 대학원의 석·박사학위논문이었으며, 그중 한국산 모시풀속(*Boehmeria*) 식물의 계통분류학적 연구(영남대 양성애, 2010), 영광 모시잎송편 산업을 중심으로 전통 식품산업 지식기반 체계구축(전남대학교 김한얼, 2011), 건조방법에 따른 모시잎의 이화학적 성분 및 생리활성(조선대, 2013) 논문 등이 최근 보고되었다.

<국내 논문 현황 조사 집계표>

구분	1973~1999	2006~2013	계
섬유용	9	4	13
식용	1	10	11
기타	-	2	2
계	10	16	26

농진청에서 소장하고 있는 모시 관련 연구보고서는 총 36건이었는데 33건이 섬유용이었고, 그중에서도 품종관련 연구보고서가 23건으로 ‘모시세섬유 다수성 품종 육성시험 및 생산력검정시험’에 관한 내용 위주였으며, 7건의 증식관련 연구 또한 섬유작물 재배기술 체계확립시험의 일환으로 추진되었다. 증식관련 연구는 식용 모시에도 적용가능하나 70년대에서 90년대까지 이루어진 연구로 자필로 작성한 일부 자료는 읽기조차 힘들어 이를 검증하는 차원이나 최근 자료로 갱신을 위해서는 증식관련 모시의 재연구가 필요할 것으로 보인다. 식용연구로는 ‘모시풀잎을 이용한 송편제조기술개발(2000, 오환중 외 3) 1건이 확인되었다.



<농진청 모시 연구보고서 현황>

학술잡지 검색 결과 총 8건이 검색, 그중 섬유수량에 미치는 요인 처리(비료, 동계피복, 식물생장조절제, 재식밀도, 수확기)에 관한 내용이 5건(1993), 모시풀 조직배양에 관한 내용 1건(1996), 모시풀 첨가에 따른 떡의 텍스처 특성 1건(1993), 그리고 모시의 흡지면적 및 줄기삽목방법이 1건(1992) 확인되었다.

국내에서 모시풀의 분자유전학적 측면에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다. 다만 ITS 서열을 활용하여 7종 2변종이 자생하는 것으로 알려진 국내 모시속 식물의 계통분류학적 연구가 이루어진 바가 있다(Liang, 2009). 모시풀 유전자원 관리, 품종 판별, 핵심집단 구축 등에 활용 가능한 RAPD (random amplified polymorphic DNA), ISSR (inter-simple sequence repeat), SSR (simple sequence repeat) 분자마커가 주로 중국 연구자들에 의해 제한적으로 개발되어 왔으나(Jie et al., 2002; Zhou et al., 2005; Liu et al., 2009; Liu et al., 2013a), 최근의 추세는 서열 기반의 SSR 마커로 전환되고 있다. 향후 모시풀에서도 서열 기반의 SSR, SNP (single nucleotide polymorphism) 마커가 대규모로 발굴될 것으로 전망된다.

최근, 모시풀에 관한 분자유전학적 연구는 중국 연구자들에 의해 매우 활발히 이루어지고 있는데, 연구의 최종 목적은 주로 섬유작물로서의 활용을 위한 것이다. 중국 농업과학원 Institute of Bast Fiber Crops 산하의 National Ramie Germplasm Nursery는 2000 여점의 모시풀 유전자원을 보유한 것으로 알려져 있다. 중국 연구자들은 차세대유전체 분석 기술의 도입을 통해 다량의 모시풀 SSR 마커를 발굴하고(Liu et al., 2013; Chen et al., 2015), 유전자원 분석(Luan et al., 2015), 섬유 질(fiber quality) 연관 마커 탐색(Chen et al., 2015), 핵심집단 구축(Luan et al., 2014) 등에 활용하고자 하는 연구가 진행되고 있다.

분자마커 발굴 및 활용 외에도 RNA-seq 방법을 통해 다양한 조건하에서 모시풀의 전사체 분석에 관한 연구가 중국 연구자들에 의해 이루어지고 있는 상황이다(Liu et al., 2013b; Liu et al., 2013c; Chen et al., 2014a; Chen et al., 2014b; Huang et al., 2014; Liu et al., 2014; Zhu et al., 2014; An et al., 2015; Liu et al., 2015; She et al., 2015; Yu et al., 2015). 전사체 연구는 유용 유전자 발굴 및 기능 연구, 형질 연관 마커 발굴, 유전지도 작성을 위한 마커(SSR, SNP 등) 발굴 등에 매우 유용하게 활용될 것으로 전망된다.

모시풀의 효능에 관해서 뿐만 아니라 향후 모시풀 품종 육성 기반 구축을 위한 분자유전학적 연구가 중국 연구자들에 의해 매우 활발히 이루어지고 있는 상황이다. 최근 5년간의 NCBI PubMed db 검색 결과, 모시풀의 분자유전학적 측면에 관한 논문이 26편 검색되었는데, 중국 연구자 논문 24편, 대만과 인도 연구자 논문이 각 1편이었다. 중국에서 모시풀에 관한 연구는 거의 대부분 화중농업대학교(Huazhong Agricultural University)와 농업과학아카데미 산하의 인피섬유작물 연구소(Institute of Bast Fiber Crops)에서 이루어지고 있다. 특히, 인피섬유작물 연구소는 2,000 여점의 모시풀 유전자원을 보유하고 있는 것으로 알려져 있다. 중국 연구자들은 차세대유전체 분석 기술을 모시풀 연구에도 도입하여, 다량의 모시풀 SSR 마커를 발굴하여 유전자원 분석, 형질 연관 마커 탐색, 핵심집단 구축 등에 활용하는 연구를 진행하고 있다. 대상 작물의 효율적 유전육종을 위해서는 분자유전학적 연구를 통한 기반구축이 필수적이다. 모시풀을 섬유작물로서 뿐만 아니라 생리활성 효능을 기반으로 하는 가공식품 원료로 하여 지속 가능한 향토 산업으로 육성하기 위해서는 품종 육성을 비롯한 꾸준한 연구개발 투자가 이루어져야 할 것이다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1절. 모시 유전자원 이용 특성검정을 통한 우량품종 선발

1. 모시잎송편 원료용 우량품종 선발

가. 연구 내용 및 방법

(1) 식용 모시 특성조사 기준 마련

모시 품종연구에 관한 자료도 많지 않으나 그나마도 섬유생산이 목적인 연구 위주여서 식용 모시 특성조사 기준 마련이 시급하였다. 이에 국립식량과학원, 국립농업과학원, 한국연구재단 소속 전문가들을 초청하여 수차례 자문을 받아 식용 모시 특성조사 기준을 자체적으로 마련하였고, 이를 바탕으로 국립종자원에 UPOV 기준과의 부합성 여부를 검토 받았으며(2013.12.) 연구 수행 과정 및 협의회를 통해 꾸준히 재정비하여 최종적으로 식용 모시 특성조사 기준을 마련하였다. 기존에 섬유용으로는 섬유질 중심의 줄기 위주 수량성을 검토하였으나 식용으로는 잎을 이용하기 때문에 잎의 크기 및 색 중심의 특성과 함께 엽의 수량성을 부여하였다.

(2) 식용 모시 우량자원 선발

영광군농업기술센터에서 보유하고 있는 국가생명자원으로 등록되어 있는 모시 90자원을 공시재료로 하여 영광군농업기술센터에서는 생엽수량을 포함한 생육적 특성을 조사하고, 중앙대에서는 향산화, 향균, 항염증, 항당뇨 활성 등 기능성물질을 분석, (주)바이오메딕에서는 각 자원별 순도 분석을 맡아 수행하였으며, 각 기관별 결과 자료를 종합하여 1차년도에 9개 자원을 선발하였다. 2차년도에는 (주)바이오메딕에서 실시한 순도 분석 결과 9개 자원 중 분리가 되는 종에 대하여 순계분리 과정을 거쳐 순도를 유지시키는 한편, 1년차에 선발된 9개 자원을 대상으로 농업적으로 유용한 고유특성과 가변특성을 조사하고, 모시잎의 가공적성을 보기 위하여 삶기 전과 삶은 후의 무게 및 색도를 측정하였으며 삶은 모시잎의 식이섬유 함량을 분석하여 그 결과를 바탕으로 최종적으로 우량하다고 판단되는 1품종을 선발하였다. 3차년도에는 섬유용으로 등록된 유일한 모시 품종인 ‘서방’을 대비품종으로 하여 특성검정 시험 및 시제품을 제작하여 가능성을 검토하였고, 명칭 부여 협의회를 거친 후 2015년 11월 5일 국립종자원에 ‘옥당’이라는 명칭으로 신품종 보호 출원하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 식용 모시 특성조사 기준 마련

현재 섬유용이긴 하나, 공식적으로 등록된 모시 품종은 ‘서방’이 유일하기 때문에 표준품종을

‘서방’으로 설정하였으며, ‘(u)’ 표시는 UPOV 조사기준, ‘(*)’ 표시는 객관성 있는 품종을, ‘(+)’ 표시는 변화가능성 있는 특성을 나타내었다.

<표 1-1. 식용모시 특성조사 기준 - 생육특성>

번호	특 성	표현형태	계급	표준품종	조사기준 및 방법	비고
1 (*) (u)	식물체 : 생육습성	직립 늘어짐	1 2	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체	관찰
2 (u)	수고(개화기 때)	낮다 중간 높다	3 5 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후	관찰
3	맹아시	빠르다 중간 늦다	3 5 7	서방	◦ 관찰시기 : 봄철 ◦ 규모 : 전체 ◦ 맹아시 : 2~3개체에서 맹아가 시작된 날	관찰
4 (*) (u)	맹아기	빠르다 중간 늦다	3 5 7	서방	◦ 관찰시기 : 봄철 ◦ 맹아시 : 맹아가 시작된 날 ◦ 맹아기 : 전 개체의 40~50%에서 싹이 나왔을 때	관찰
5	맹아기때 초생엽의 갈색	없다 중간 강하다	3 5 7	서방	◦ 관찰시기 : 봄철 맹아 후 7일 전후 ◦ 규모 : 전체	관찰
6 (u)	경장 (stem height)	매우 짧다 짧다 중간 길다 매우 길다	1 3 5 7 9	서방	◦ 측정시기 : 맹아후 30일 ◦ 규모 : 3주(주당 3개 측정) ◦ 측정방법 : 지표에서 정아의 선단까지의 길이 - 소수점 첫째자리까지 표시	측정단위 : cm
7 (u)	경 직경 (Diameter)	가늘다 중간 굵다	3 5 7	서방	◦ 측정시기 : 맹아 후 30일 전후 경장을 측정한 경의 두께 - 지상 30cm부위를 조사	측정단위 : mm
8 (u)	절수	매우 적다 적다 중간 많다 매우 많다	1 3 5 7 9	서방	◦ 측정시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 측정방법 : 지표에서 정부 전 개엽까지의 절수 ◦ 측정규모 : 3주(주당 3개체)	측정
9 (*) (u)	절 간장	매우 짧다 짧다 중간 길다 매우 길다	1 3 5 7 9	서방	◦ 측정시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 3주(주당 3개체) ◦ 산출방법 : 경장과 절수에서 산출(경장 ÷ 절수)	산출
10	분지수	적다 중간 많다	3 5 7	서방	◦ 측정시기 : 결실기 ◦ 측정방법 : 10개 줄기(經)에서 2마디 이상인 1차 가지(分枝) 수를 측정	측정

번호	특 성	표현형태	계급	표준품종	조사기준 및 방법	비고
11 (u)	엽장	매우 짧다 짧다 중간 길다 매우 길다	1 3 <u>5</u> 7 9	서방	◦ 맹아기후 30일 전후 1) 엽의 중앙부 세로길이 (잎 꼬리 제외) 2) 줄기 끝으로부터 하위 5~9절 사이의 3개 엽 측정 ◦ 측정규모 : 3주(주당 1줄기를 선택하여 3개 엽 측정)	측정단위 : cm 소수점 1자리
12 (u)	엽폭	매우 짧다 짧다 중간 길다 매우 길다	1 3 <u>5</u> 7 9	서방	◦ 맹아기후 30일 전후 ◦ 측정방법 : 중앙부의 가로 길이 - 그 외는 엽장과 동일	측정단위 : cm 소수점 1자리
13 (*)	엽 색깔 (Leaf color)	연한녹색 녹색 진한녹색	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체 - 측정시는 줄기 선단으로부터 하위 5~9절 사이 3개 엽 측정	관찰 또는 측정
14	엽 이면색 (Leaf color of Down side)	연한녹색 녹색 진한녹색	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체 - 측정시는 줄기 선단으로부터 하위 5~9절 사이 3개 엽 측정	관찰 또는 측정
15 (u)	엽 광택	약하다 중간 강하다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체 ◦ 방법 : 달관 조사	관찰
16 (*) (u)	엽 모양	원형 타원형 장타원형	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체 ◦ 방법 : 달관 조사	관찰
17	엽 모양 (장폭비)	원형 타원형 장타원형 피침형	1.09> 1.10≤1.20 1.21≤1.30 1.31<	서방	◦ 산출방법 : 엽장 ÷ 엽폭 * 엽장, 엽폭 측정치에서 산출	산출
18	엽 두께	얇다 중간 두껍다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 규모 : 3주 측정(주당 30개 잎 편칭) ◦ 측정방법 : Cork borer 직경 10mm사용 - 잎의 중앙부 편칭(중심부 엽맥 회피)	측정 및 환산
19 (u)	엽 결각 (incisions)	작고 섬세함 중간 거칠고 크다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체	관찰
20 (*) (u)	엽 크기	작다 중간 크다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체	관찰
21 (*) (u)	모용의 다소 (Distribution of pubescence)	없거나 적다 중간 많다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰 : 줄기 끝에서 아래 쪽으로 5~6엽의 뒷면 ◦ 규모 : 3반복	관찰

번호	특 성	표현형태	계급	표준품종	조사기준 및 방법	비고
22 (+) ㉔	엽병색	연한 녹색 녹색 연한 갈색 갈색 진한 갈색	1 <u>3</u> 5 7 9	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체 * 측정시는 줄시 선단으로부터 하위 5~9절 사이 3개 엽병 측정	관찰
23 ㉔	엽병 길이	짧다 중간 길다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 측정시기 : 맹아기후 30일 전후 ◦ 측정방법 : 줄기 끝으로부터 하위 5~9절 사이의 3개 엽병 측정 ◦ 측정규모 : 3주(주당 1줄기를 선택하여 3개엽 측정)	측정 단위 : cm
24 ㉔	엽병 두께	가늘다 중간 두껍다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 측정시기 : 맹아기후 30일 전후 ◦ 측정방법 : 엽병 길이 측정에 준함 * 엽병 기부(줄기에 가까운 부분)에서 1cm부위 측정	측정 단위 : mm
25	줄기색	황녹색 녹색 갈색	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 맹아후 30일 전후 ◦ 규모 : 전체 ◦ 방법 : 달관 조사	관찰
26 (*) ㉔	엽수	적다 중간 많다	3 5 <u>7</u>	서방	◦ 경장을 측정한 줄기에 달린 엽의 총 개수 ◦ 측정규모 : 3주(주당 3개 줄기) * 정단 및 하위엽 중 크기가 보통 엽의 2/1이하 크기 또는 황화된 엽은 제외한다.	측정
27 (*) ㉔	꽃색	노란색 담갈색 갈색	<u>3</u> 5 7	서방	◦ 관찰시기 : 봄철 개화기 때 ◦ 규모 : 전체	관찰
28 (*) ㉔	개화시	빠르다 중간 늦다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 봄, 가을 개화기 때 ◦ 규모 : 전체 ◦ 개화시 : 2~3개체에서 꽃이 피기 시작한 날	관찰 해당월, 일기 기록
29 (*) ㉔	개화기	빠르다 중간 늦다	3 <u>5</u> 7	서방	◦ 관찰시기 : 가을 개화기 때 ◦ 규모 : 전체 ◦ 개화기 : 전체의 40~50%가 개화된 날	관찰 해당 기 월, 일 기록
30 (*) ㉔	결실기	매우 빠르다 빠르다 중간 늦다 매우 늦다	1 3 <u>5</u> 7 9	서방	◦ 관찰시기 : 가을 개화기 이후 ◦ 규모 : 전체 ◦ 성숙기 : 전체의 80~90%가 성숙된 때	관찰 해당 기 월, 일 기록
31	동해	매우 강하다 강하다 중간 약하다 매우 약하다	1 3 <u>5</u> 7 9	서방	◦ 조사시기 : 봄 맹아기때 ◦ 규모 : 시험구 전체 1 : 맹아율 91% 이상, 3 : 71~90%, 5 : 41~70% 7 : 21~40%, 9 : 20%이하	측정 단위 : %

<표 1-2. 식용모시 특성조사 기준 - 엽 수량>

번호	조 사 항 목	조 사 기 준	방 법	규 모	단 위
32	1) 10a당 전체 생체중 (엽 + 엽병 + 줄기)	일정면적의 채취한 수확물의 전체 무게를 10a당으로 환산	산 출	전체 시험구	kg
33	2) 10a당 엽 생체중	엽병을 제거한 엽 무게를 10a당 수량으로 환산	"	"	"
34	3) 10a당 엽병 생체중	엽을 제거한 엽병 무게를 10a당 수량으로 환산	"	"	"
35	4) 10a당 줄기 생체중	채취한 수확물(엽과 엽병을 제외한 줄기 무게)	"	"	"

(2) 식용 모시 우량자원 선발

(가) 모시 자원 생육특성 조사

모시 보유자원 90점 중 생육 불량한 14자원을 제외하고 76자원에 대해 생육특성 조사를 실시한 결과는 아래 표와 같다. 맹아는 평균적으로 4월 2일에 이루어지고 경장 72.8 cm, 경폭 7.2 mm, 엽장 13.6 cm, 엽폭 11.8 cm, 엽병장이 6.9 cm, 엽수 12.7매, 주당 엽중 17.4 g의 특성을 보여주었다. 수량과 밀접한 관계가 있는 생육특성을 살펴보면, 경장 100 cm 이상인 자원은 Bn-25와 Bn-90이고, 경폭 9.5 mm 이상인 자원은 Bn-82, Bn-90, Bn-66, Bn-40 순이며, 엽장 16 cm 이상인 자원은 Bn-66, Bn-90, Bn-33순, 엽폭 15cm 이상인 자원은 Bn-66, Bn-90 순이었다. 또한 주당 엽중이 25 g 이상인 자원은 Bn-66이 가장 높았고 Bn-40, Bn-41, Bn-33, Bn-90, Bn-82순으로 나타났다.

<표 2-1. 모시 자원 생육특성 조사결과, 예취 후 30일 경과>

자원 구분	경장 (cm)	경폭 (mm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽병장 (cm)	엽병두께 (mm)	엽수 (매)	엽중 (g/주)
Bn-01	60.1	8.1	14.3	12.0	8.3	3.1	12.9	15.7
Bn-02	58.9	6.6	12.2	11.1	4.9	2.8	13.5	17.6
Bn-08	67.1	7.5	13.0	12.1	6.7	2.9	14.9	17.0
Bn-09	60.4	6.9	13.7	11.8	6.0	2.9	10.7	12.8
Bn-11	47.9	4.5	10.2	8.3	4.9	1.8	7.7	6.1
Bn-12	63.5	7.1	13.5	11.1	6.9	2.9	12.7	17.7
Bn-13	52.4	5.9	14.2	10.9	6.7	2.3	11.4	13.6
Bn-14	65.6	6.8	12.4	10.4	7.0	2.6	12.9	14.9
Bn-15	78.0	7.3	12.6	11.5	8.5	2.8	11.8	14.0
Bn-16	61.2	6.4	14.8	11.7	6.2	3.0	12.0	19.5
Bn-17	84.2	7.9	15.2	13.3	7.5	2.9	15.5	20.8
Bn-18	52.6	7.0	15.0	13.7	7.2	3.3	11.6	18.9
Bn-19	63.6	5.6	12.6	11.7	4.8	2.4	10.8	9.0
Bn-21	52.6	5.8	13.5	12.2	6.4	2.5	9.7	17.4
Bn-22	65.3	6.0	11.3	9.7	6.8	2.5	9.3	9.6

Bn-23	52.2	5.4	10.5	9.1	5.9	2.2	9.0	8.5
Bn-24	78.5	6.8	13.5	10.9	7.6	2.5	13.1	16.9
Bn-25	102.0	8.6	15.9	13.5	9.0	3.2	14.0	17.8
Bn-26	58.3	5.8	12.0	9.8	8.0	2.5	12.0	9.0
Bn-27	82.4	7.7	13.4	12.7	8.1	3.4	12.9	15.7
Bn-28	77.3	6.0	12.3	11.2	6.9	2.4	11.0	9.5
Bn-29	76.5	6.9	14.0	12.4	8.2	3.0	12.9	17.1
Bn-30	87.3	8.0	12.4	11.2	8.8	2.9	13.8	16.7
Bn-31	89.7	7.6	14.2	12.0	7.5	2.9	14.5	18.3
Bn-32	78.5	6.8	13.5	10.9	7.6	2.5	13.1	13.4
Bn-33	96.0	8.5	16.0	13.1	10.0	3.1	15.4	27.6
Bn-34	80.8	8.4	13.5	12.2	7.3	2.4	16.4	21.0
Bn-35	71.1	6.8	13.4	11.9	7.8	2.8	11.8	15.1
Bn-36	87.5	7.8	13.5	12.3	7.4	3.2	12.2	15.2
Bn-37	78.3	7.0	13.9	11.4	7.3	2.4	13.4	19.6
Bn-38	83.1	7.3	14.0	12.3	7.8	2.6	12.5	17.1
Bn-39	73.5	6.8	13.5	11.2	5.4	2.6	12.4	16.1
Bn-40	80.5	9.5	15.6	13.7	7.0	3.5	14.3	28.4
Bn-41	81.3	9.3	14.8	13.7	6.4	3.4	14.6	28.1
Bn-42	69.8	6.7	15.5	12.3	7.1	2.2	14.0	20.0
Bn-43	77.8	7.6	14.8	13.7	7.7	3.2	12.9	20.5
Bn-44	71.1	7.9	12.9	11.8	4.7	2.6	12.6	16.5
Bn-45	64.2	6.5	14.7	10.3	7.6	2.7	14.2	17.2
Bn-47	66.2	6.4	14.6	11.7	7.6	2.2	12.5	15.9
Bn-48	58.2	5.6	12.5	9.2	4.8	2.5	13.7	16.1
Bn-52	54.7	5.8	11.8	9.7	6.7	2.2	12.9	13.8
Bn-53	80.5	5.9	11.5	10.4	6.6	2.0	12.5	9.4
Bn-54	69.3	5.5	11.4	8.7	5.8	2.4	12.8	12.7
Bn-55	69.7	6.2	12.7	10.2	4.9	2.7	13.8	14.4
Bn-56	77.2	7.7	15.2	13.8	8.9	3.3	14.5	22.4
Bn-57	63.7	6.8	13.1	12.0	7.2	2.8	11.8	13.3
Bn-58	48.2	6.3	13.7	11.2	6.7	2.8	11.6	15.4
Bn-59	80.7	9.1	14.6	13.5	9.2	3.4	12.5	23.4
Bn-60	74.6	7.6	13.2	11.5	8.5	2.9	12.1	14.3
Bn-61	95.4	9.0	15.6	14.5	7.7	3.7	13.5	22.2
Bn-62	61.8	8.0	14.9	13.2	6.9	3.2	13.5	18.4
Bn-63	70.0	7.9	13.1	12.2	4.9	2.8	12.6	18.6
Bn-64	85.6	7.0	12.4	10.0	5.2	2.2	14.8	15.8
Bn-65	86.1	8.4	14.5	13.6	8.2	3.1	10.9	18.9
Bn-66	92.3	9.7	16.9	15.3	10.8	3.9	13.3	30.2
Bn-67	71.7	8.6	15.0	12.3	6.6	3.4	13.1	18.5
Bn-68	62.5	6.8	12.6	11.5	6.7	2.9	13.3	18.1
Bn-69	60.2	6.3	13.0	10.9	5.4	3.0	9.6	11.5
Bn-70	73.6	8.5	16.1	13.7	8.2	4.0	12.1	25.3
Bn-71	66.6	6.9	11.4	11.7	6.9	2.9	12.1	17.4
Bn-72	69.4	7.1	12.9	12.1	6.4	2.7	13.3	20.7
Bn-73	70.5	8.0	13.3	13.1	5.2	2.9	12.1	18.4
Bn-74	72.6	7.9	12.1	11.2	7.0	2.6	13.0	17.3
Bn-75	79.5	8.3	13.3	13.8	8.8	3.8	11.1	20.4
Bn-76	77.8	6.3	12.5	11.7	8.3	2.3	12.6	15.9
Bn-77	69.9	6.9	13.1	10.8	6.1	2.1	14.8	16.9

Bn-78	76.6	7.4	13.8	11.3	6.2	2.8	13.7	18.3
Bn-79	75.3	7.0	13.6	11.3	7.7	2.6	12.2	16.5
Bn-80	82.8	7.5	14.5	12.4	7.0	3.2	12.3	18.6
Bn-81	86.3	8.6	14.7	14.3	5.8	3.1	13.9	27.1
Bn-82	86.7	9.8	15.0	14.8	4.8	4.0	12.9	25.9
Bn-83	71.5	6.8	14.5	12.8	6.6	3.4	13.1	23.8
Bn-87	77.9	7.9	13.8	12.1	6.3	3.0	11.7	17.4
Bn-88	69.9	6.0	11.9	8.6	4.9	2.2	13.0	10.2
Bn-89	67.5	6.1	10.7	8.2	3.6	1.8	13.2	10.4
Bn-90	100.3	9.7	16.4	15.0	8.4	3.5	12.5	26.8
평균	72.8	7.2	13.6	11.8	6.9	2.8	12.7	17.4

(나) 우량자원 9점 선발 특성조사

식용으로의 모시 우량자원이 가지는 특성 중 대표적인 것이 엽의 크기이며, 그 다음으로 색이 진하고 향이 나며 삶았을 때 물러지지 않는 것이다. 이러한 특성에 더해 기능성이 높고 순도가 높은 종을 우량자원이라 할 수 있다. 1년차에 그러한 특성을 감안하여 9점을 선발하였는데, 항산화 활성이 상대적으로 강한 Bn-13, -82와 항암 활성이 높은 Bn-02, -23, 항염증의 기능을 많이 지닌 Bn-09, 65, 외관 특성이 우수한 자원 Bn-41, -67, -90이 그것이다. 이렇게 1년차 선발한 우량자원 9점에 대해 특성조사를 실시한 결과는 다음과 같다.

① 9개 유전체의 양적, 질적 특성조사

표 2-2에서 보는 바와 같이 멍아기는 Bn-23이 3월 30일로 다른 자원에 비하여 가장 빨랐으며, Bn-13은 4월 3일로 가장 늦은 경향을 보였다. 그 외 자원의 멍아기는 4월 1~2일 이었다. 생장습성에서는 선발된 자원 모두 직립이었고 잎색은 녹색에서 진녹색을 보였다. 엽병색은 Bn-13, -41, -90이 담갈색이었으며 그 외 유전체들은 녹색을 나타내었고, 줄기색은 모두 녹색이었다. 꽃색은 모든 선발 유전체에서 노란색을 나타내었으며 개화기에 있어서는 Bn-09, -23, -41이 상대적으로 빨라서 조생계통으로 보였으며, Bn-2, -13, -65, -67, -82, -90은 개화가 매우 늦은 이유로 만생계통으로 판단되었다. 경장은 모시송편 원료인 모시잎은 잎을 이용하기 때문에 잎 수량 증대를 위해서는 개화기가 늦을수록 유리하다고 판단되며 경장, 엽장, 엽폭을 포함한 양적특성은 수치가 높을수록 수량 확보가 용이할 것으로 생각된다.

<표 2-2. 선발 9자원의 일반적 특성>

자원구분	멍아기	생육습성	엽병색	줄기색	꽃색	개화기	경장(cm)	경폭(mm)	모용의 다소
Bn-02	04-02	직립	녹색	녹색	노란색	늦다	58.9	6.6	많다
Bn-09	04-01	직립	녹색	녹색	노란색	빠르다	60.4	6.9	중간
Bn-13	04-03	직립	연한갈색	녹색	노란색	늦다	52.4	5.9	많다
Bn-23	03-30	직립	녹색	녹색	노란색	빠르다	52.2	5.4	많다
Bn-41	04-02	직립	연한갈색	녹색	노란색	빠르다	81.3	9.3	많다
Bn-65	04-02	직립	녹색	녹색	노란색	늦다	86.1	8.4	중간
Bn-67	04-01	직립	녹색	녹색	노란색	늦다	71.7	8.6	적다
Bn-82	04-02	직립	녹색	녹색	노란색	늦다	86.7	9.8	많다
Bn-90	04-02	직립	연한갈색	녹색	노란색	늦다	100.3	9.7	많다

표 2-3은 선발된 유전체들의 잎과 관련된 특성을 나타낸 것으로 잎 색깔은 Bn-02, Bn-09, Bn-13, Bn-65, Bn-90이 짙은 녹색이었고 그 외는 녹색을 띠었다. 잎의 가로 너비는 Bn-23, Bn-13이 각각 9.1 cm, 10.9 cm로 소엽종이었고, Bn-90, Bn-82는 각각 15.0 cm, 14.8 cm로 대엽종이었는데 이와 같은 잎의 크기로 볼 때 소엽종은 우리나라 고유 토종자원, 대엽종은 백엽종에서 유래한 유전체로 보인다. 이에 본 조사에서는 엽수량 확보 측면에서 볼 때 Bn-41, Bn-82, Bn-90이 가장 좋은 조건을 가진 자원으로 판단되었다.

<표 2-3. 선발 9자원의 엽 특성>

자원 구분	엽색	엽크기(cm)		엽수 (매/주)	생엽중 (g/주)	엽결각	엽모양	엽병장 (cm)	엽병두께 (cm)
		엽장	엽폭						
Bn-02	진한 녹색	12.2	11.1	13.5	17.6	중간	원형	4.9	2.8
Bn-09	진한 녹색	13.7	11.8	10.7	12.8	거칠고크다	원형	6.0	2.9
Bn-13	진한 녹색	14.2	10.9	11.4	13.6	작고 섬세함	타원형	6.7	2.3
Bn-23	녹색	10.5	9.1	9.0	8.5	중간	원형	5.9	2.2
Bn-41	녹색	14.8	13.7	14.6	28.1	중간	원형	6.4	3.4
Bn-65	진한 녹색	14.5	13.6	10.9	18.9	거칠고크다	원형	8.2	3.1
Bn-67	녹색	15.0	12.3	13.1	18.5	중간	타원형	6.6	3.4
Bn-82	녹색	15.0	14.8	12.9	25.9	작고 섬세함	원형	4.8	4.0
Bn-90	진한 녹색	16.4	15.0	12.5	26.8	거칠고크다	원형	8.4	3.5

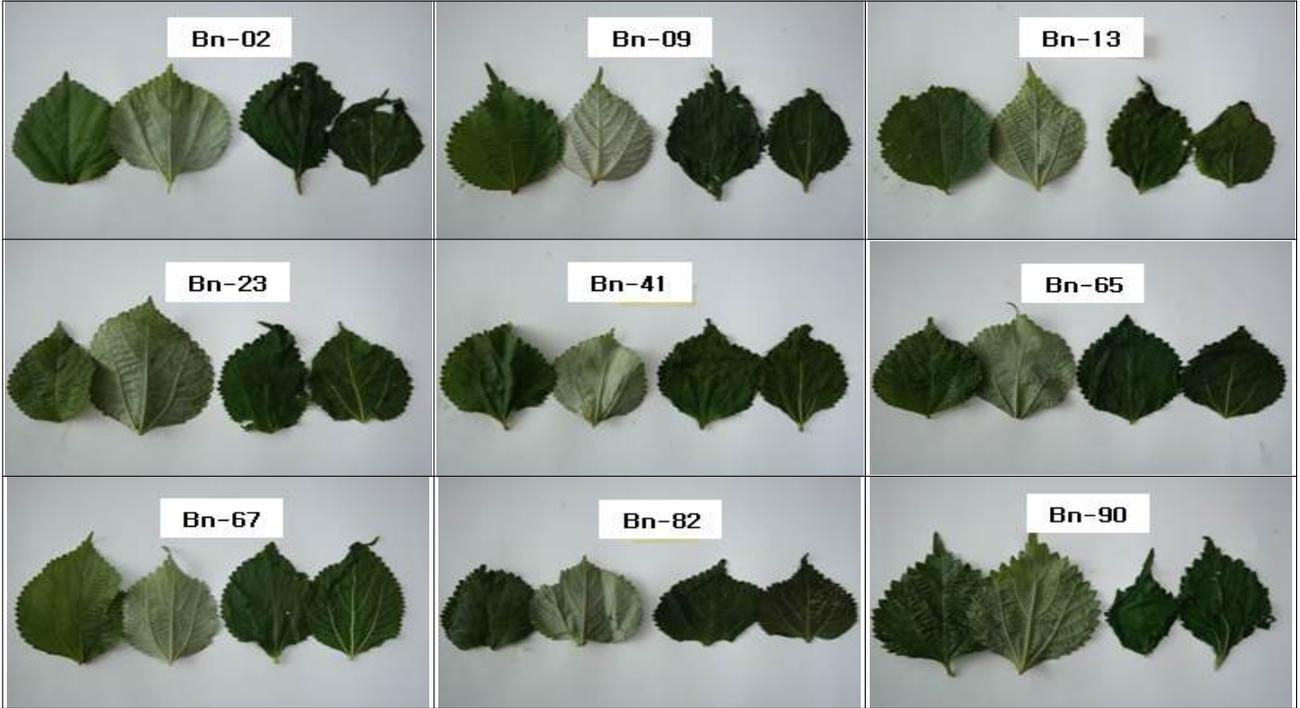
② 가공수율 및 색도분석

<표 2-4. 선발 9자원의 가공적성>

자원 구분	무게(g)		수율 (%)	색도						식이 섬유 (g/100g)
	삶기전	삶은후		생잎			삶은후			
				L (명도)	a (적색도)	b (황색도)	L (명도)	a (적색도)	b (황색도)	
Bn-02	210	168	80	33.7	- 15.7	23.5	24.1	- 9.8	13.5	4.7
Bn-09	299	208	70	33.5	- 15.3	22.3	24.7	- 9.2	13.5	5.9
Bn-13	185	155	84	36.5	- 15.1	22.0	24.8	- 10.9	15.3	4.7
Bn-23	173	160	92	34.2	- 15.0	22.9	25.0	- 8.6	11.9	4.1
Bn-41	204	180	88	35.4	- 15.7	24.9	25.7	- 9.6	15.3	6.1
Bn-65	359	321	89	32.6	- 15.0	20.2	24.3	- 9.9	13.7	5.3
Bn-67	239	183	77	35.9	- 15.9	25.9	25.8	- 8.8	14.6	5.8
Bn-82	226	195	86	32.0	- 12.8	17.1	24.3	- 7.5	12.1	5.6
Bn-90	217	175	81	32.8	- 12.3	16.1	22.8	- 11.4	14.5	5.6

모시잎을 삶기 전과 삶은 후의 무게를 측정 한 결과는 표 2-4와 같다. Bn-23이 가장 가공수율이 높았으나, 단순히 가공수율이 높다고 해서 모시잎 송편용으로 적합하고 단정하기는 어려우며 좀 더 면밀한 검토로 기준을 정할 필요가 있다. 생잎과 삶은 잎의 색도는 표와 같고, 생잎의 측정치에 비해 삶은 잎의 색도는 값이 확연히 떨어지는 것을 볼 수 있다. 다만 다른 품

중에 비해 Bn-90은 삶았을 때에 삶기 전에 비해 적색도와 황색도 변화가 크지 않았으며 특히 적색도가 가장 낮은 수치를 보여 다른 품종에 비해 색소 침출이 덜 된다는 결론을 얻을 수 있었다. 식이섬유는 Bn-41이 가장 높았고 관심을 갖고 있는 Bn-90은 5.6으로 평균적인 수치를 나타내었다.



<그림 2-1. 생잎과 삶은 잎의 외관비교 (좌 ; 생잎, 우 ; 삶은 잎)>

③ 우량자원 1점 선발 및 특성검정

1년차 보유자원 90점 중에서 우수한 특성을 지닌 자원을 9점 선발하였고, 그중 잎이 적당히 크고 색이 진하며 향이 나고, 특히 항균활성이 상대적으로 높은 Bn-90을 우량자원으로 최종 선발하였다. Bn-90은 유전적으로 매우 다양한 특성을 지니고 있어 DNA 분석 결과 여러 유전형으로 분리되는 특성을 나타냈으며, 순계분리를 통해 그중에서도 우량한 자원을 선발하여 서방을 대비품종으로 하여 특성검정 과정을 거쳐 국립종자원에 2015년 11월 5일에 품종보호 출원하였다. 출원번호는 출원2015-633(품종보호)과, 명칭2015-1539(품종명칭)이며, 주요 특성검정 결과는 다음과 같다.

㉠ 고유특성

- 생육습성은 직립, 모용밀도는 중간이며 엽병은 담자색임
- 맹아기 초엽은 담자색, 꽃은 자색이며 분지발생은 중간정도임

품종 및 계통명	생육 습성	모용 밀도	줄기 색	엽병색	맹아초기 엽색	꽃색	분지	내동성
옥당(영광1호) 서방	직립 직립	중간 중간	녹 녹	담자 녹	담자 담자	자 황	중간 적음	강 강

- 엽 크기는 대형, 엽색은 진한녹색으로 엽 전면에 광택이 강함
- 엽의 결각은 큰편이며 엽이면색은 회백색을 나타냄

품종 및 계통명	엽수	엽 크기	엽색	광택	엽형	결각	엽이면색
옥당(영광1호) 서 방	중간 중간	대 중간	농록 녹	강 중간	원형 원형	큼 중간	회백 회백

㉔ 가변특성

- 경장은 140 cm로 서방종보다 6 cm 더 길었으나, 주경절수는 39마디로 서방종 35마디보다 4마디가 많음
- 월동 후 맹아기는 4월 7일로 서방종보다 5일 늦고, 개화기는 8월 30일로 서방종과 비슷함
- 경직경은 12.6 mm로 1.1 mm 두껍고, 엽병장은 9.4 cm로 2 cm 길었음

품종 및 계통명	경장 (cm)	주경절수 (마디)	경직경 (mm)	맹아기 (월·일)	개화기 (월·일)	엽병장 (cm)
옥 당(영광1호) 서 방	140	39	12.6	4.07	8.30	9.4
	134	35	11.5	4.02	9.01	7.4

- 유효엽수는 줄기당 13.9매, 엽록소함량은 46.5 SPAD로 서방종 대비 12.3 SPAD가 높았음
- 엽두께는 10.04 mg/cm²로 서방종 11.74 mg/cm²보다 얇았고, 엽병의 두께(직경)는 3.0 mm로 서방종 2.5 mm보다 두꺼웠음
- 엽의 장, 폭 모두 서방종보다 컸으며 장폭비는 1.10으로 서방종 1.16보다 더 둥근편이었음

품종 및 계통명	유효엽수 (매/줄기)	엽록소 (SPAD)	엽두께 (mg/cm ²)	엽병 두께 (mm)	엽 특성		
					장 (cm)	폭 (cm)	장/폭비
옥당(영광1호) 서 방	13.9	46.5	10.04	3.0	15.7	14.2	1.10
	15.5	34.2	11.74	2.5	14.9	12.9	1.16

- 엽병을 제외한 엽과 줄기의 생체중과 건물중은 서방종보다 낮았음

품종 및 계통명	생체중(g/줄기)				건물중(g/줄기)			
	엽	엽병	줄기	계	엽	엽병	줄기	계
옥당(영광1호) 서 방	28.74	9.33	49.98	88.05	7.8	<u>0.95</u>	9.51	18.26
	30.39	7.44	53.49	91.32	8.04	0.77	9.03	17.84

- 지상부 생·건중 분포비율을 보면 엽병 10.6으로 서방종 8.1보다 높았음

품종 및 계통명	생체중 분포비율(%)				건물중 분포비율(%)			
	엽	엽병	줄기	계	엽	엽병	줄기	계
옥당(영광1호) 서 방	32.6	10.6	56.8	-	42.7	5.2	52.1	-
	33.3	8.1	58.6	-	45.0	4.3	50.6	-

㉔ 병해충 저항성

- 잣빛곰팡이병 저항성은 “중”, 모시나방 저항성은 “약”에 해당함

품종 및 계통명	잣빛곰팡이병 저항성	모시나방 저항성
옥당(영광1호)	중	약
서 방	중	약

㉕ 생엽의 품질특성

- 수분함량은 72.3%로 대비품종인 서방종과 비슷하였으며 단백질은 6.61%로 서방종 5.92%에 비해 0.69% 높은 반면 지질은 0.86%로 서방종 1.16% 보다 0.3%정도 낮은 수준이었음
- 식이섬유 함량은 서방종과 비슷하였으나 칼슘은 987 mg으로 서방종 1,250 mg에 비해 낮았고 철분함량은 높은 경향을 보였음

품종 및 계통명	수분 (%)	단백질 (%)	지질 (%)	식이섬유 (%)	회분 (%)	칼슘 (mg)	철분 (mg)
옥당(영광1호)	72.3	6.61	0.86	11.42	4.11	987	5.27
서 방	72.4	5.92	1.16	11.97	5.18	1,250	4.30

* 분석기관 : 전남식품산업연구원('15. 9월)

㉖ 생엽 수량(kg/10a)

- 하우스 재배에서 총 생엽수량은 2,479 kg/10a로 서방종 대비 98% 수준이었으나 정식 후 시간이 경과함에 따라 서방종에 비해 상대적으로 생엽수량이 증가되는 경향이 있었음
- 노지재배에서는 1,578 kg/10a으로 서방종에 비해 10% 증수하였으며 특히 정식 후 시간이 경과함에 따라 생엽수량이 상대적으로 높은 경향이 있었음

(kg/10a)

시험 장소	옥 당					지수	서 방 (표준)				
	1차	2차	3차	4차	계		1차	2차	3차	4차	계
하우스	410	475	775	819	2,479	98	443	546	822	721	2,523
노 지	160	416	466	536	1,578	110	174	445	372	438	1,429

<관련사진>



2. 식용 모시 재배방법 연구

가. 수확횟수에 따른 수량성 조사

(1) 재료 및 방법

본 시험의 현지포장으로 영광군 군남면에 위치한 식재 4년차 모시밭을 설정하여 월동 전에 퇴비를 10a당 1,000 kg 살포하고, 월동 후 생육재생기에 밑거름으로 복합비료(21-17-17)를 10a 당 80 kg 기준으로 시비하였다. 모시풀 수확빈도 처리구로 30일, 40일 및 50일 간격의 3수준의 처리구를 난피법 3반복으로 배치하였으며, 모든 처리구에 대하여 5월 13일 모시를 일시에 예취하여 폐기한 후 10a당 요소 40 kg(2포)을 시비하였다. 이후 매 수확시마다 동일한 양의 요소를 시비하였다. 전체 처리구에 대하여 6월 14일 첫 수확을 기점으로 30일 후, 40일 후 및 50일 후에 각각 2회째 생육 및 수량을 조사하였다. 결과적으로 30일, 40일 및 50일 간격의 수확처리구에서 각각 연간 총 5회, 4회 및 3회 수확하여 생육과 수량을 조사하였다. 조사는 처리구별로 매 조사마다 10개체를 무작위로 취하여 경장, 경폭, 엽장, 엽폭과 생엽중(수량)을 측정하였다.

(2) 결과 및 고찰

첫 수확 이후 다음 수확까지 30~50일 범위에서 생육경과일수가 길어질수록 경폭, 엽장 및 엽폭은 유의하게 감소하였다(표 1-1). 경장과 생엽중의 생육경과일수 반응에는 유의한 차이가 인정되지 않았으나, 전자는 소폭 증가하고 후자는 감소하는 경향이였다. 최초 수확을 포함하여 30일, 40일 및 50일 간격으로 수확한 경우 연간 수확가능횟수는 각각 5회, 4회 및 3회였으며, 개체 당 연간 누적 생엽수량은 5회 수확(30일 간격)≥4회(40일 간격)>3회(50일 간격) 순으로 유의하게 증가하였다(표 1-2). 즉, 2014년 6월 24일 최초수확하고, 이후 40일과 50일 간격으로 수확한 개체 당 연간 누적수량은 30일 간격으로 수확한 누적수량(91.5 g) 대비 각각 81.4%(74.5 g)와 53.8%(49.2 g)에 그쳤다.

<표 1-1. 수확 후 경과 일수에 따른 주요 생육 특성 비교>

수확 후 경과일수(일)	줄기		잎		
	경장 (cm)	경폭 (mm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	생엽중 (g/주)
30	99.8 ^a	8.0 ^a	18.2 ^a	13.2 ^a	26.5±2.2 ^a
40	100.0 ^a	7.6 ^{ab}	18.1 ^{ab}	13.3 ^a	24.1±4.4 ^a
50	103.4 ^a	7.3 ^b	15.6 ^b	11.8 ^b	17.3±3.3 ^a

평균값 ± 표준오차 (n = 4 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)

<표 1-2. 수확후 경과 일수에 따른 연간 총 생엽중 비교>

	수확후 경과일수(일)		
	30	40	50
연간 총 생엽중 (g/주/년)	91.5±4.8a (100)	74.5±5.7a (81.4)	49.2±8.7b (53.8)

평균값 ± 표준오차 (n = 4 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)

기온이나 일사량 등 기상여건이 작물생육을 제한하지 않는 조건에서 작물 성장량은 최대에 달할 때까지 생육일수 경과에 따라 증가하는 것이 일반적인 패턴이다. 모시의 경우 최초 수확 이후 수차례 계속되는 수확의 간격에 따라 연간 수확가능 횟수가 결정되며, 또 수확 횟수 별 일정기간 크게 상이한 기상조건에서 생육한 모시를 수확하게 된다. 본 연구에서도 최초 수확(6월 14일) 후 30일, 40일 및 50일 간격으로 수확한 모시의 해당 생육기간 평균 기온/일조시간은 각각 23.3°C/5.5h, 23.9°C/5.3h 및 24.3°C/5.5h으로, 특히 평균기온에 비교적 큰 차이가 있었다. 이러한 기온경과와 수확기별 모시풀 생육특성 및 수량을 보면(표 1-3), 시험지역에서 6월 중순에 최초 수확할 경우, 그로부터 30일후에 잎 모시수확에 최적의 상태에 도달하는 것으로 판단된다. 이에 반하여, 첫 수확 후 40~50일에 수확할 경우에는 해당기간에 일조시간은 증가하지 않은 반면, 기온이 높아져 소위 소모도장효과가 발생하여 경장은 증가하는 반면, 경폭, 엽장 및 엽폭 등 주요 생육특성과 생엽수량의 감소가 시사되었다(이와 안, 1967). 한편, 시험지역의 모시재배 절기상 9월~10월에는 기온이 점차 적은 이하로 하강함에 따라 생육과 수량이 감소하기 때문에 가능한 9월 중순까지 최종 수확을 종료하는 것이 바람직하며, 이 경우 30일과 40일 간격으로 각각 5회와 4회의 수확빈도가 경제적 최대 생엽 수량 확보에 적정할 것으로 판단되었다.

<표 1-3. 수확일수에 따른 생육 및 수량 분석>

구분	수확횟수	초장(cm)	경폭(mm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	생엽중(g/주)
30일간격	1회 (6.14)	80.2	7.6	14.1	12.3	20.1
	2회 (7.15)	99.8	8.0	18.2	13.2	26.5
	3회 (8.13)	91.4	7.4	17.6	12.7	23.9
	4회 (9.15)	90.5	6.3	16.0	11.2	14.9
	5회 (10.14)	35.6	4.1	11.6	8.0	6.0
40일간격	1회 (6.14)	80.2	7.6	14.1	12.3	20.1
	2회 (7.23)	100.0	7.6	18.1	13.3	24.1
	3회 (9.01)	107.5	7.7	17.6	12.8	24.4
	4회 (10.14)	57.3	4.7	12.5	8.7	5.7
50일간격	1회 (6.14)	80.2	7.6	14.1	12.3	20.1
	2회 (8.06)	103.4	7.3	15.6	11.8	17.3
	3회 (9.23)	110.7	7.5	15.1	10.9	11.8

나. 심토파쇄기를 이용한 구근(10년) 절단 시험

(1) 재료 및 방법

농용트랙터 부착용 진동형 심토파쇄기(그림 2-1)를 이용하여 영광군 군서면 만곡리에 위치한 식재 10년차 모시풀 재배 농가 포장을 2013년 4월 10일 파쇄 처리하였다. 진동형 심토파쇄기(SW-3)는 주로 토양 물리성 개선, 지하 배수 개선 및 통기성 개선 등에 이용되나, 본 시험에서는 지중 흡지 절단을 통한 모시밭 갱신효과를 검토하기 위하여 이용하였다. 4륜 저속1~2단의 견인구동으로 작동하는 본 파쇄기의 최대 파쇄 폭과 깊이는 각각 180cm와 90cm이었다. 시험구는 파쇄처리 하지 않은 대조구, 1회 파쇄처리구 및 2회 파쇄처리구를 난괴법 3반복으로 배치하였다. 처리 후 26일째 되는 5월 6일부터 1주 간격으로 단위면적(m^2) 당 입모개체와 경장을 총 4회 조사하였다. 이후 8월 5일에 생육을 고르게 하기 위해 일시에 예취하여 폐기한 후 9월 5일과 10월 7일에 총 2회에 걸쳐 각 처리구별로 10개체씩 무작위 추출하여 경장, 경폭, 엽장 및 엽폭을 조사하고, 단위면적(m^2) 내에 있는 모든 잎을 수거하여 생엽 수량을 측정하였다. 그 이듬해인 2014년에는 5월 27일 첫 수확을 기점으로 30일 간격으로 총 5회 동일한 조사를 반복하였다.



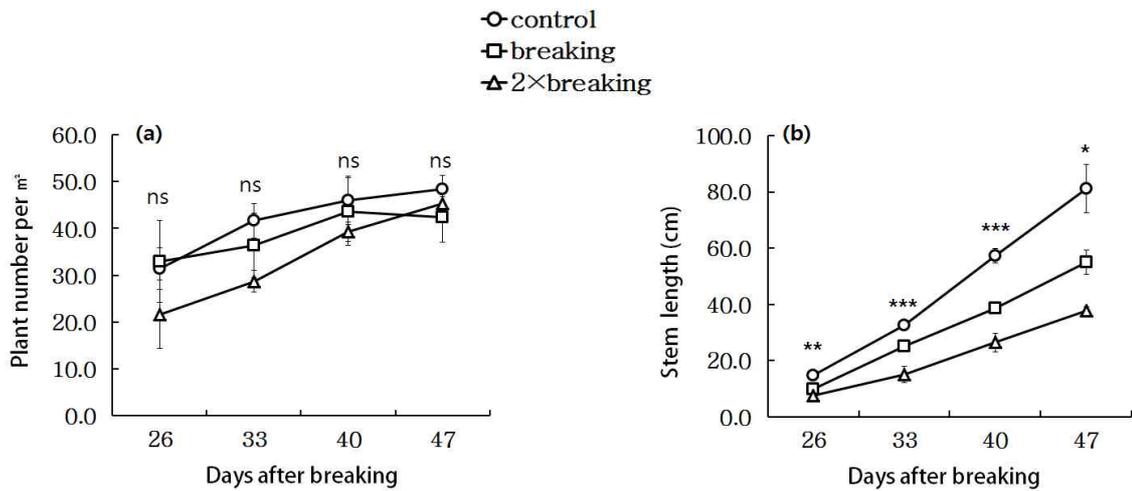
<그림 2-1. 심토파쇄 장면>

(2) 결과 및 고찰

(가) 1년차 (2013)

노후화 모시밭의 심토파쇄처리(2013년 4월 10일) 26일후부터 지상부로 출현한 개체수를 기준으로 입모상태를 조사한 결과, 대조구에 비하여 처리구에서 입모 개체수가 감소하는 경향이 있으나, 통계적 유의성은 인정되지 않았으며, 그 감소경향도 경시적으로 완화되었다(그림 2-2a). 그러나 출현한 개체의 경장 신장속도는 파쇄 강도가 증가할수록 현저히 감소하였으며, 그 감소정도는 조사기간을 통하여 경시적으로 확대되었다(그림 2-2.b). 예를 들면, 심토파쇄 2회 처리구의 경장은 대조구 대비 처리 후 26일에 51.0% 에서 47일에는 46.7% 수준으로 그 차

이가 확대되었다. 본 연구에서 심토파쇄 처리는 지하부 흡지의 절단을 유도하기 위하여 실시하였으나, 실제로 흡지 절단이 적절히 이루어졌는지는 확인되지 않았다. 그러나 심토파쇄 처리 후 개체 출현(입모)과 경장 신장속도가 지연되었던 것으로 미루어, 흡지가 적절히 절단되었다기 보다는 흡지의 기계적·물리적 상흔과 근권 교란이 일어난 것으로 판단된다. 바꾸어 말하면, 심토파쇄에 따른 근권 교란과 흡지의 부분적 상흔이 출현 개체수와 경장신장 등 모시의 전체적인 생육지연과 생육불량을 초래한 것으로 사료된다.



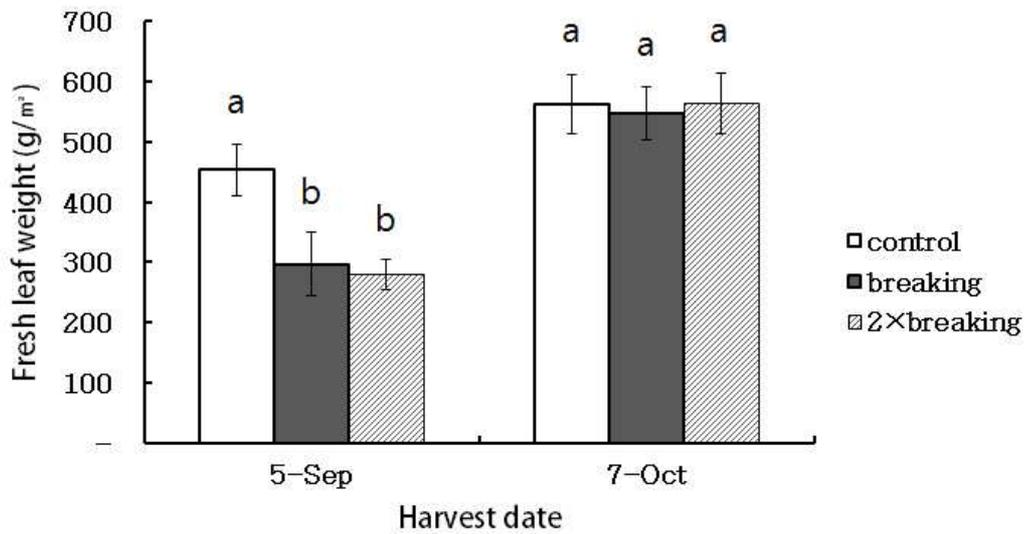
<그림 2-2. 10년차 모시재배 토양에서 심토파쇄 처리에 따른 모시 생육상황 비교, 2013년>

(a) 입모 개체수 (b) 경장,

평균값 ± 표준오차 ($n = 3$ 반복)

ns는 95%수준에서 통계적 유의성이 인정되지 않는다는 것을 나타내고, *는 95%, **는 99%, ***는 99.9%수준에서 완벽하게 유의성이 인정됨을 표현

심토파쇄 처리 약 5개월 후(9월 5일) 및 6개월 후(10월 7일)에 수확한 생엽수량을 그림 2-3에 나타내었다. 처리 후 1차 수확에 해당하는 9월 5일의 생엽수량은 유의하게 감소하였으며, 대조구 대비 34(1회 처리구)~38%(2회 처리구) 낮은 수준이었다. 그러나 2차 수확기(10월 7일)에는 처리 간 생엽수량에 유의한 차이가 검출되지 않았으며, 1-2회 처리구의 생엽수량은 모두 대조구에 필적하는 수준이었다. 이러한 결과는 심토파쇄 처리에 의한 근권 교란과 흡지의 기계적·물리적 상흔 또는 충격에 따른 입모불안정, 양·수분 흡수기능저하, 생육지연 및 불량(그림 2-2)과 회복경과와 관련이 있는 것으로 판단되었다. 즉, 초기 입모불안정, 양·수분 흡수 기능저하, 줄기신장 지연·불량 등은 단위면적당 개체수와 개체당 출엽수 및 잎의 확대생장을 제한하고, 나아가 광합성을 제한함으로써 생육과 수량에 부의 피드백으로 작용한 것으로 판단할 수 있다. 또한, 심토파쇄의 충격으로부터 모시의 생육활성이 회복되어 대조구 수준의 수량에 도달하는 회복경과에는 처리 후 약 6개월이 소요되어 처리 당해 연도 누적수량의 대폭적인 감소 가능성이 시사되었다. 그러나 처리 후 수확빈도와 시비수준을 조절하여 작물생육활성을 적극적으로 자극할 경우의 회복속도 변화 등, 향후 회복경과 기간에 대한 추가 연구가 요구된다.



<그림 2-3. 10년차 모시재배 토양에서 심토파쇄 처리 후 수확시기(9, 10월)에 따른 생엽수량 비교, 2013년> 평균값 ± 표준오차 ($n = 3$ 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)

(나) 2년차(2014)

노후화 모시밭 심토 파쇄 처리 2년차에 해당하는 2014년 작기에 5회에 걸친 생육 및 생엽 수량 조사 결과를 표 2-1에 제시하였다. 작기 전반에 걸쳐 처리구와 대조구 간에 생육 및 수량에 유의한 차이는 발견되지 않았다. 그러나 단위면적당 출현 개체수(경수)와 수량은 대조구보다 처리구에서 증가하는 경향이였다. 특히 연간 누적수량은 처리구에서 유의한 증가를 나타내어 심토파쇄 효과가 인정되었다(표 2-2). 그러나 처리강도에 따른 누적수량의 차이는 인정되지 않았다. 처리 2년차 포장에서 증가하는 연간 누적수량은 주로 단위면적당 경수증가에 의존하였다(그림 2-4). 이러한 결과는 당해 연도의 경수 및 수량감소와 충돌하지만, 처리 2년차 이후 모시밭 갱신효과의 구현 가능성을 시사한다.

경반층 과원의 혼층 및 심토파쇄 처리는 심토의 경도와 용적중을 감소시키고 액상과 공극율 및 통기성을 증대시켜 심토의 뿌리밀도를 2~8배 높여주었으며, 배의 증수효과를 인정한 보고가 있다(조 등, 1993). 본 연구에서 당초 목적인 심토 파쇄기의 지하경(흡지)절단 기능 구현여부는 확인하지 않으나, 적어도 파쇄기 구동으로 교란된 지하부의 통기성, 배수성 등의 개선효과는 기대할 수 있었으므로, 이러한 지하부의 물리적 환경 개선효과가 발휘되면서 2년차 이후 신규 출현 개체수(경수)의 증가에 기여한 것으로 판단된다. 그러나 심토 파쇄의 증수 또는 노후화 모시밭 갱신효과를 명확히 검증하기 위해서는 2년차 이후에 나타나는 효과의 지속성에 대한 모니터링과 보다 과학적/체계적인 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

<표 2-1. 심토파쇄 처리에 따른 10년차 모시재배 토양의 2년차 생육 및 생엽수량 비교, '14>

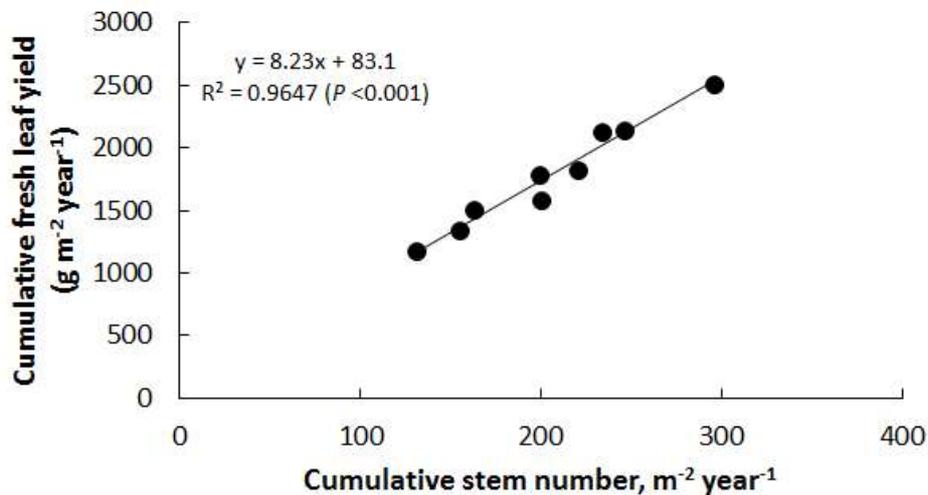
수확일 (월/일)	처리	줄기		잎		입모수/m ²	생엽수량 (g/m ²)
		경장(cm)	경폭(mm)	엽장(cm)	엽폭(mm)		
1차 (05/27)	대조구	78.1	6.8	13.4	10.5	22	316.7 ^a
	1차 파쇄	77.1	6.8	13.7	10.6	36	496.7 ^a
	2차 파쇄	73.0	5.6	13.1	10.2	35	513.3 ^a
2차 (07/01)	무처리	59.0	4.0	12.4	8.7	42	186.5 ^a
	1차 파쇄	58.4	4.6	13.4	9.6	60	293.0 ^a
	2차 파쇄	59.5	4.3	13.5	9.3	67	329.7 ^a
3차 (08/01)	무처리	98.9	6.0	15.6	10.7	32	362.4 ^a
	1차 파쇄	104.3	6.4	15.6	11.7	48	502.7 ^a
	2차 파쇄	95.5	5.9	16.6	11.4	46	470.2 ^a
4차 (09/01)	무처리	87.3	5.9	15.3	10.5	35	305.0 ^b
	1차 파쇄	96.7	6.4	15.8	10.7	41	482.9 ^a
	2차 파쇄	93.6	6.1	17.0	10.6	38	389.2 ^b
5차 (10/02)	무처리	57.3	5.8	15.1	10.4	31	194.8 ^a
	1차 파쇄	54.7	5.5	14.7	9.7	41	245.9 ^a
	2차 파쇄	56.0	5.9	15.6	10.1	40	248.6 ^a

평균값 ± 표준오차 (n = 3 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)

<표 2-2. 심토파쇄 처리에 따른 10년차 모시재배 토양의 2년차 단위면적당 출현 입모개체수와 생엽수량 비교, 2014년>

처리내용	입모개체수	생엽수량(g/m ²)
무처리	32.4	1,365±119 ^{ab}
1차파쇄	45.2	2,021±119 ^a
2차파쇄	45.2	1,951±297 ^a

평균값 ± 표준오차 (n = 3 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)



<그림 2-4. 심토파쇄 처리에 따른 10년차 모시재배 토양의 2년차 생엽수량과 경장의 상관계수>

다. 번식법 연구

(1) 재료 및 방법

(가) 흡지 직경에 따른 유묘 활착률 조사

본 연구에 사용한 흡지 시료는 영광군 군남면에 위치한 식재 4년차 된 모시재배 농가 포장에서 2014년 4월 17일 평균 경장 25 cm의 재래종 모시로부터 채취하였다. 시료 채취 당일 결눈이 있는 흡지를 선별하여 4 cm 길이로 절단한 후, 직경을 12~14 mm, 8~10 mm, 5~7 mm로 각각 분류하여(그림 3-1) 시판 원예용 일반상토로 충전한 32공 트레이에 식재하였다. 공시상토는 용적 밀도 0.3 Mg/m³ 미만이고, pH는 5-7, EC는 1.2 ds/m 이하인 초경량 상토2호(등록번호 : 괴산 01-가-11102호)를 사용하였다. 32공 트레이에는 가로 8개, 세로 4개의 셀이 배치되어 있으며, 1개의 셀 크기는 가로 5.2 cm, 세로 5.2 cm, 높이 6.0 cm이었다. 트레이 배치는 난괴법 3반복으로 하고 무가운 유리온실에서 50일간 육묘 관리하였다. 식재 후 매일 1회 관수하고 30일 후부터 10일 간격으로 경장, 엽수, 엽장, 엽폭을 3회 전수 조사하였다. 식재 30일을 기준으로 출현한 개체수를 조사하여 활착률을 산출하였다. 유묘의 생육 특성과 활착률 데이터의 통계적 유의성 검정은 분산분석 후, Duncan의 다중 범위 검정법(Duncan's multiple range test, DMRT)으로 실시하였다. 본 연구에서 수행한 일체의 통계분석은 모두 동일한 절차와 방법으로 실시하였다.



<그림 3-1. 본 시험에 사용 된 모시뿌리(흡지라고도 칭함)>

(나) 상토종류에 따른 줄기 삼목 유묘 활착률 조사

2014년 7월 21일 영광군농업기술센터에서 관리하는 모시풀 유전자원포장에서 평균 경장 1.0m 크기의 모시풀 모체로부터 무작위로 줄기시료를 채취하였다. 시료채취 당일 줄기하단으로부터 멍아부위를 감안하여 7.5cm 길이로 줄기당 두 부위까지 절단한 다음, 시판 원예용 상토, 마사, 혼합상토(원예용상토 : 마사=1 : 1)로 각각 충전한 32공 트레이에 식재 후 난피 법 4반복으로 배치하여 무가온 유리온실에서 37일간 육묘 관리하였다. 흔히 마사와 마사토를 혼동하기 쉬운데, 마사토는 화강암이 땅속에서 풍화되어 흩어짐 된 것이고 마사는 화강암이 부서진 작은 돌조각을 말한다. 본 시험에 공시한 상토는 마사이며, 마사 입자의 크기는 대, 중, 소로 나뉘는데 모래와 가장 비슷한 소형 입자의 마사를 사용하였다. 식재 후 매일 1회 관수하고 삼목 23일째 되는 날을 기준으로 입모수를 조사하여 활착률을 산출하였으며, 1주 간격으로 유묘의 초기생육 파라미터로서 경장, 엽수, 엽장, 엽폭을 전수조사하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 흙지 직경에 따른 유묘 활착률

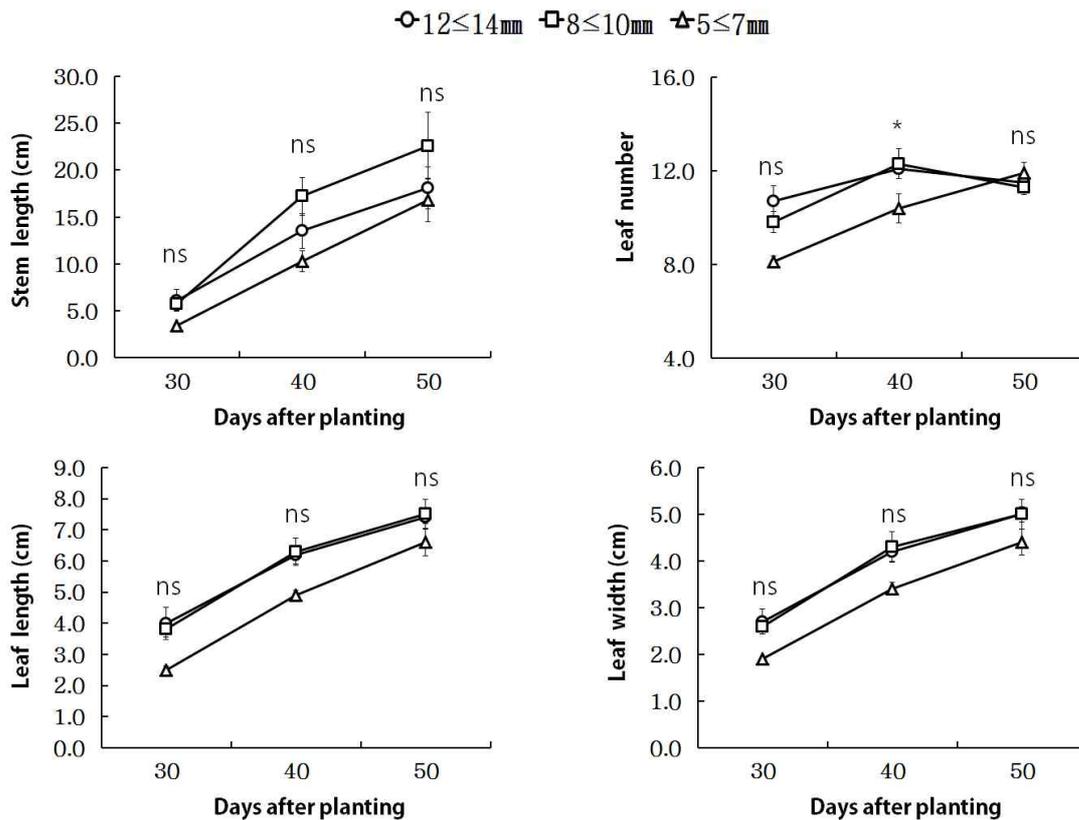
흙지 직경에 따른 유묘활착률은 8~10 mm(93.8%)>5~7 mm(76.0%)>12~14 mm(75.0%)의 순으로 나타났으나, 통계적 유의성은 인정되지 않았다(표 3-1). 이러한 결과는 모시의 흙지 번식체계에 서 직경 5.0mm 이상의 흙지를 이용할 경우 활착률은 직경과 독립적인 관계에 있음을 시사한다. 김 등(1992)은 목포에서 3월 하순~6월 하순에 걸쳐 흙지 채취시기를 달리한 경우, 활착률은 흙지 채취시기를 늦출수록 높아진다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 동일시기(4월 17일)에 채취한 시료를 공시하였기 때문에 채취시기에 따른 영향은 제거되었다고 볼 수 있다. 다만, 본 연구에서는 직경이외에 결눈의 부착상태를 고려하여 시료를 선별하였던 바, 직경과 관계없이 온전한 눈을 보유한 흙지를 이용하는 것이 활착률을 확보하는데 유리한 것으로 판단되었다. 시험지역과 조건 등이 상이하어 직접비교는 곤란하겠으나, 본 연구의 활착률(75.0~93.8%)은 선행 연구(김 등, 1992)에서 보고된 61.0~89.0%보다 높은 편이었으며, 4월 17일 채취한 흙지의 전체 평균 활착률(81.6%)도 김 등(1992)이 6월 28일 채취한 흙지 활착률(89.0%)에 필적하는 수준이었다.

<표 3-1. 모시뿌리 직경에 따른 유묘 활착률 비교>

	뿌리 직경(mm)		
	5≤7	8≤10	12≤14
유묘 활착률 (%)	76.0±7.5 ^a	93.8±4.8 ^a	75.0±1.8 ^a

평균값 ± 표준오차 (n = 3 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)

직경이 서로 다른 흡지로부터 번식한 모시풀 유묘의 활착 이후 초기생장 특성에서도 통계적으로 유의한 차이가 인정되지 않았다(그림 3-2). 직경이 가장 작은 흡지(5~7 mm) 유래의 유묘에서 전체적인 생장특성이 다소 열악한 경향이었으나, 생육경과에 따라 회복(엽수)하거나, 유의한 수준은 아니었다. 이상의 결과로부터, 본 시험지역(영광군)에서는 4월 중순 이후 온전한 결눈을 보유한 직경 5 mm 이상의 흡지를 선별하여 4.0 cm의 길이로 시판 원예용 상토에 식재할 경우 우량 유묘의 대량번식이 가능할 것으로 판단되었다.



<그림 3-2. 직경이 서로 다른 흡지로부터 번식한 모시풀 유묘의 활착 이후 초기생장 특성비교>

평균값 ± 표준오차 (n = 3 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (턴컨검정)

(나) 상토종류에 따른 줄기 삼목 유묘 활착률

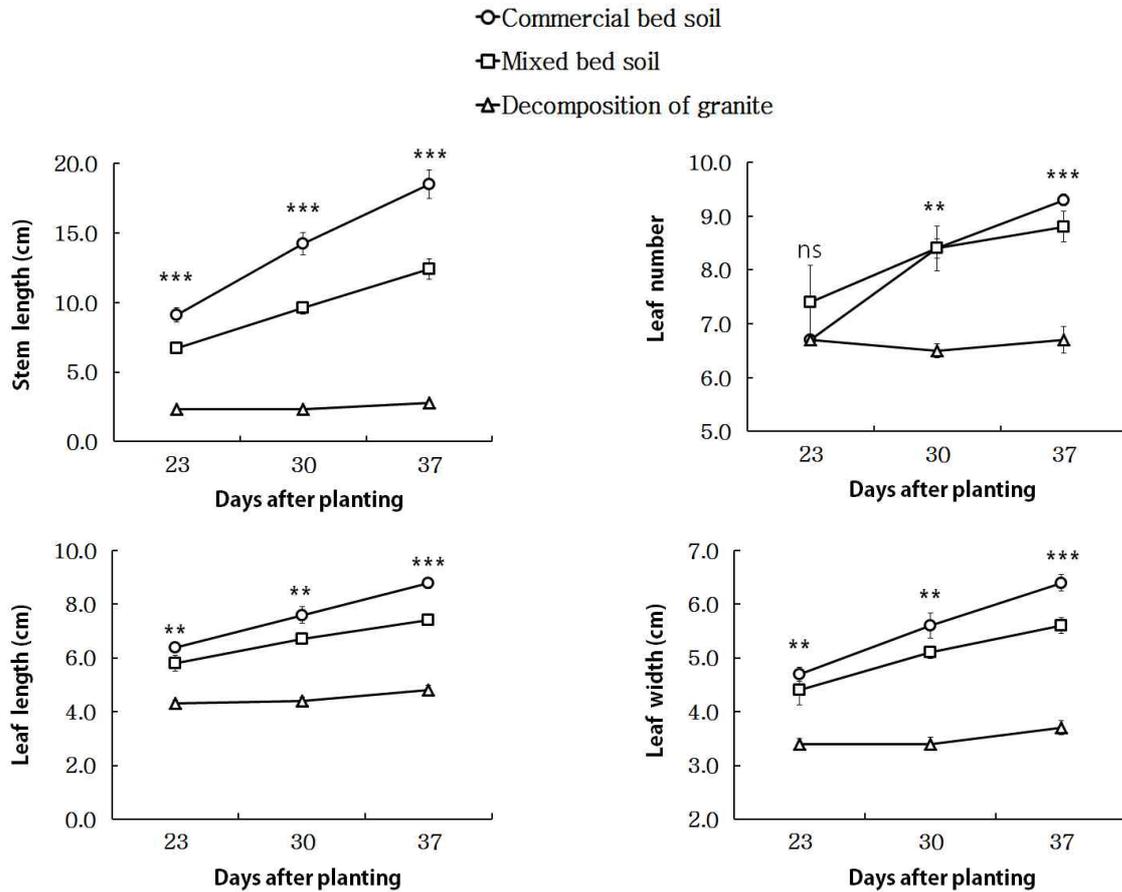
상토조성에 따른 줄기 삼목의 유묘 활착률은 원예용 상토(75.0%)>마사(71.9%)>혼합 상토(71.1%) 순으로 높았으나 통계적 유의성은 인정되지 않았다(표 3-2). 따라서 줄기삼식 23일 후 정상적으로 발근·출엽한 개체수를 기준으로 정의한 모시의 유묘 활착률은 본 연구에 공시한 상토 조성 범위에서는 큰 차이가 없는 것으로 판단되었다. 국내에서 시판되고 있는 원예용 상토는 코코피스, 피트모스, 질석, 펄라이트, 토양, 마사, 퇴비 등 15~20여종의 원료로 제조되고 있으며 주로 건묘육성에 필요한 양·수분의 제공과 가스교환 및 작물지지 기능을 수행한다(농촌진흥청, 2007). 이러한 원예용 상토의 기능을 고려할 때 적어도 양·수분 제공측면에서 마사보다 우수한 배양토로 볼 수 있겠으나, 본 연구결과로부터 모시풀 줄기삼식의 유묘 활착에 영향하는 요인으로 배양토 조건과 같은 외적요인보다 삼식에 이용한 줄기의 품질과 같은 내적요인이 중요한 것으로 판단되었다. 미선나무의 경우를 보면 높은 발근능력을 보여주는 시기에는 상대적으로 내생 IAA, zeatin, 전탄수화물, 전분, fructose 및 glucose의 함량이 높게 나타난 반면 ABA, 질소 및 sucrose의 함량은 낮게 나타났다(Yoo와 Kim, 1996). 그러나 천궁이나 버즈뿔 트레포일과 같은 작물의 줄기삼식에서는 상토조성에 따른 활착(발근)율 차이가 보고 된 바 있다(옥 등, 1993; 김 등, 2007). 따라서 향후 모시를 포함한 다양한 영양번식 작물의 줄기삼식 유묘 활착률과 줄기의 품질 및 배양토의 상호관계에 대한 상세한 검토가 필요할 것으로 판단된다.

<표 3-2. 상토구성에 따른 줄기 삼목의 유묘 활착률 비교>

	상토 조성		
	원예용 상토	마사토	혼합상토(1:1)
활착률 (%)	75.0±3.1 ^a	71.1±4.6 ^a	71.9±4.3 ^a

평균값 ± 표준오차 (n = 4 반복). 95% 수준에서 유의성 검정 (던컨검정)

한편, 활착이후 유묘의 경장, 엽수, 엽장 및 엽폭 등 초기생장반응은 모두 원예용 상토>혼합 상토>마사 순으로 유의한 차이를 나타냈다(그림 3-3). 줄기삼식의 유묘 활착률에는 공시상토 간 차이가 검출되지 않은 반면(표 3-2), 활착이후 유묘생장은 마사조건에서는 거의 정체상태로 경과하였다(그림 3-3). 일반적으로 수분공급이 충분한 조건에서 상토의 배수성과 통기성에 차이가 없을 경우, 유묘의 생장은 상토로부터 공급되는 양분에 크게 의존하게 된다. 따라서 본 연구에서 줄기삼식 유묘의 초기생장 반응이 상토조성에 따른 양분경사(원예용 상토>혼합 상토>마사)와 대체로 일치한 것으로 보아 공시상토의 물리정보다 화학성(양분)의 차이가 활착이후 유묘생장을 지배한 것으로 판단되었다. 김 등(1993)도 모시풀의 줄기신장에 질소와 칼리비료의 증시효과를 인정한 바 있다.

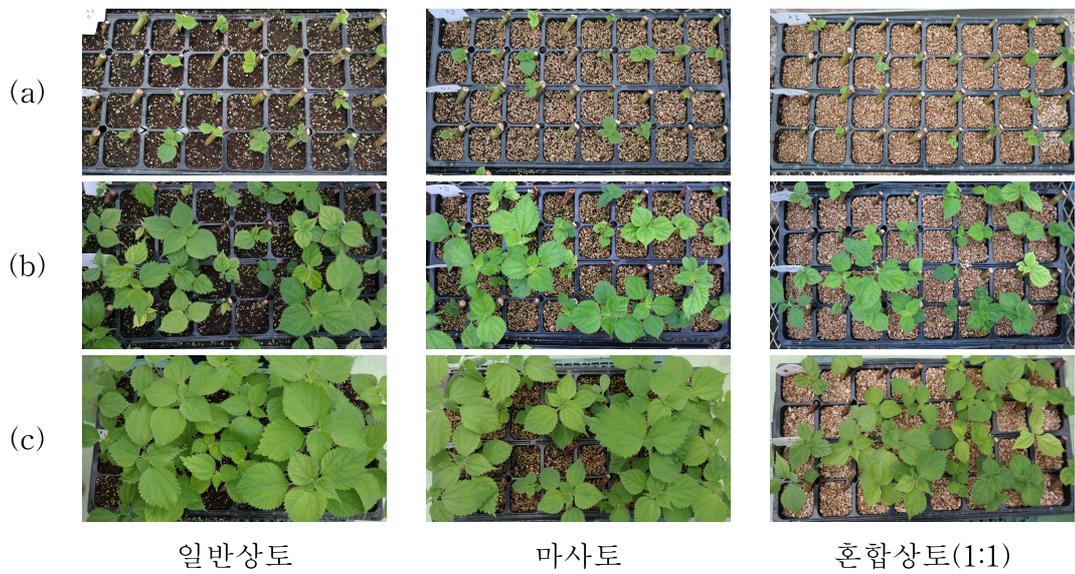


<그림 3-3. 상토 구성에 따른 활착이후 유묘생장 반응 비교>

평균값 ± 표준오차 (n = 4 반복).

ns는 95%수준에서 통계적 유의성이 인정되지 않는다는 것을 나타내고, **는 95%, ***는 99%수준에서 완벽하게 유의성이 인정됨을 표현

또 그림 3-4에 나타난 바와 같이 마사조건에서는 줄기삽식 2주 이후 비절현상이 가시화되기 시작하였다. 이는 줄기삽수가 보유하고 있는 내적양분의 소진을 의미하며, 마사조건에서 줄기삽식으로 모시를 정상적으로 번식시키고자 할 경우, 적어도 활착이후 적절한 양분 공급 체계의 필요성을 시사한다. 특히, 마사에서는 활착이후 지상부의 생육뿐만 아니라, 지하부의 발달이 미흡하여 원예용 상토나 혼합 상토에 비하여 매트형성이 매우 불량하였다(그림 3-5). 매트형성을 결정하는 발근에는 삽수자체의 영양물질, 호르몬 등 내적요인과 산소, 온·습도 등 외적요인이 관여하는 것으로 알려져 있다(유 등, 1999; 양 등, 2001). 따라서 삽수와 외기조건을 동일하게 설정한 본 연구에서 삽식 유묘의 매트형성은 주로 공시상토의 양분 공급능력에 의존한 것으로 판단된다. 즉, 마사자체의 양분부족이 활착이후 지상부의 동화작용과 생장을 제한하고, 지하부에 분배되는 동화물을 제한하는 등의 부의 피드백 영향으로 뿌리의 발달과 매트형성이 불량한 것으로 판단되었다.



<그림 3-4. 상토 구성에 따른 줄기 삽식 이후 기간 별 비교 (a) 1주차 (b) 2주차 (c) 3주차 >



일반상토 혼합상토(1:1) 마사토

<그림 3-5. 상토 구성에 따른 줄기 삽식 35일 후 뿌리매트 형성 비교>

이상의 결과로부터, 모시풀 줄기삽식의 유묘활착률 그 자체는 공시상토의 종류와 독립적인 관계에 있으나, 유묘활착 이후 지상·지하부 초기생장에 기초한 줄기삽식의 상토 적합성은 원예용 상토>혼합상토>마사 순으로 높다는 사실이 규명되었다. 그러나 각 상토에서 줄기삽식으로 번식한 유묘의 본포 적응성은 향후 별도의 상세한 검토를 필요로 한다.

제 2절. 모시잎의 *in vitro* 및 *in vivo* 유용성탐색 및 기능성물질 규명

1. 모시품종의 *in vitro* 유용성 및 약리활성 탐색

가. 재료 및 방법

1) 항산화 활성 탐색

○ 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 소거능 측정: 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 ethanol에 녹인 시료 100 μL 와 60 μM DPPH 용액 100 μL 를 96-well plate에 혼합하여 30분간 실온에 방치시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 free radical 소거효과를 백분율(%)로 나타내었다.



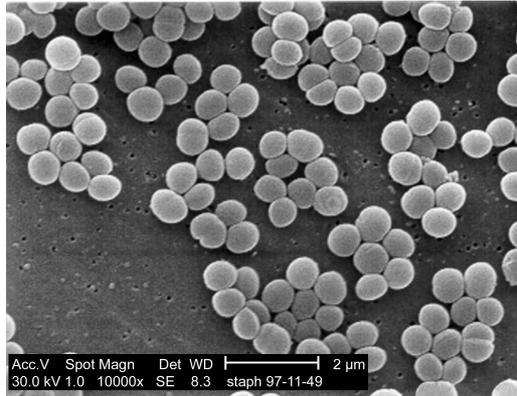
○ Hydroxy radical ($\cdot\text{OH}$) 소거능 측정 : Fenton 반응에 따라 10 mM $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -EDTA에 10 mM의 2-deoxyribose solution과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 민속식물 시료와 혼합한 다음, 10 mM의 H_2O_2 를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 배양한다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid 와 1.0% thiobarbituric acid solution을 각각 첨가하여 20분간 boiling한 후 cooling 하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) 항균 활성 탐색

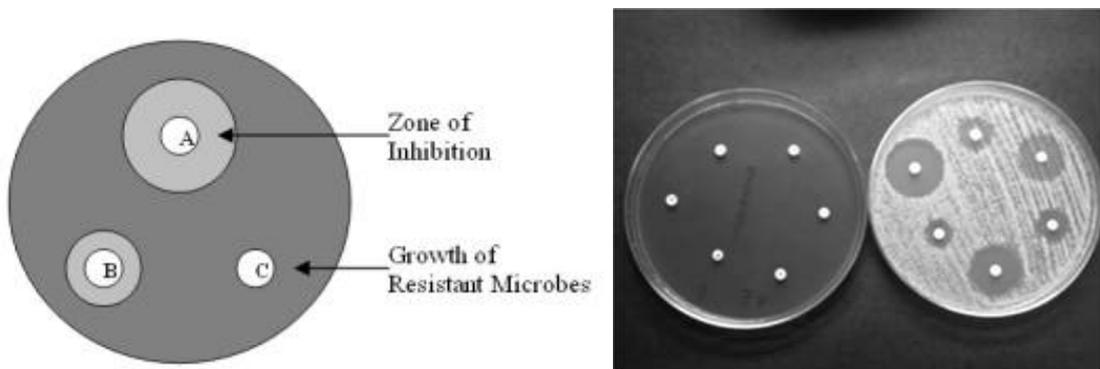
○ 사람과 가축에 식중독 및 화농성질환을 유발하는 대표적인 인수공통 감염성 병원균인 그람 양성균 *Staphylococcus aureus*는 현재 알려진 항생제에 대해 저항성이 매우 높은 것으로 알려져 있다. 또한 그람 음성균 *Escherichia coli*는 물로 인해 쉽게 감염이 될 수 있지만 역시 항생제에 대한 내성으로 인하여 동물의 분변에서 많이 발견이 된다.

○ 일반 세균 배양 : 그람 양성균 *Staphylococcus aureus*는 nutrient 배지 (30 g beef

extract, 50 g peptone, 증류수 1L), 그람 음성균 *Escherichia coli*는 luria-bertani 배지 (LB 배지, 10 g bacto tryptone, 5 g yeast extract, 50 g NaCl, 증류수 1L)를 조제하여 사용하고, 37°C incubator에서 배양한다.



○ 디스크 확산법 (disc diffusion assay) : 미생물에 대한 항생물질의 역가, 순도, 또는 함량을 측정하는 방법으로써, 미생물을 이용한 생물학적 검정법(bioassay)인 확산법(antibiotic diffusion assay)이 널리 이용되고 있다. 디스크 확산법은 항생물질이 확산되어 생성되는 증식 저지환(growth inhibition zone)의 크기를 비교함으로써 역가를 계산하는 방법이다. 한천의 표면에 면봉으로 세균을 도말한 한천배지 위에 일정 농도의 약제를 포함한 디스크를 접촉시켜 배양하면 약제는 배지 내를 일정한 속도로 확산하여 디스크 주위에 세균발육 저지대가 형성되고 그 크기는 약제농도, 균의 감수성 정도에 비례하게 된다. 각 균의 최적배지 plate에 균분산액 100 μL를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper (지름 8mm)를 올리고 0.45 μm membrane filter로 제균한 각 추출물을 vacuum evaporator로 농축한 후 멸균수로 희석하여 다양한 농도의 각 추출물 100 μL를 disc paper에 흡수시키고, 대조구로는 멸균수를 흡수시킨 후 37°C의 미호기성 조건에서 24~48시간 동안 incubation한 다음 disc주위의 clear zone 생성 유무를 확인한다.



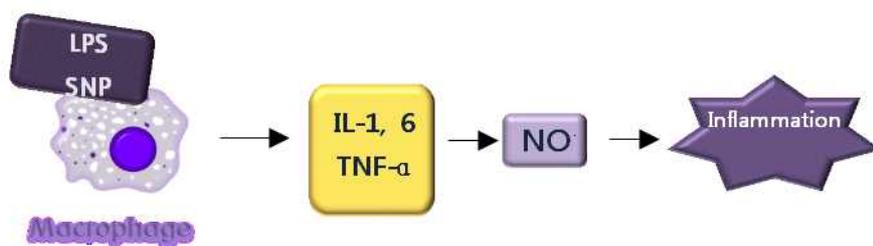
3) 항암 활성 탐색

- Cell line : AGS human gastric adenocarcinoma cell
- 세포 배양 : 10% FBS와 1% PS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한다.
- 세포 생존 억제율 측정 : 물질의 위암세포 생존 억제율을 살펴보기 위해 MTT assay를 실행한다. 배양된 세포를 24 well plate에 분주하고 세포 부착 시킨 후 시료를 처리하여 48시간 배양 후 5 mg/mL의 MTT 용액을 각 well에 첨가하여 4시간 후 생성된 formazan결정을 DMSO에 녹여서 540 nm에서 흡광도를 측정한다.

4) 항염증 활성 탐색

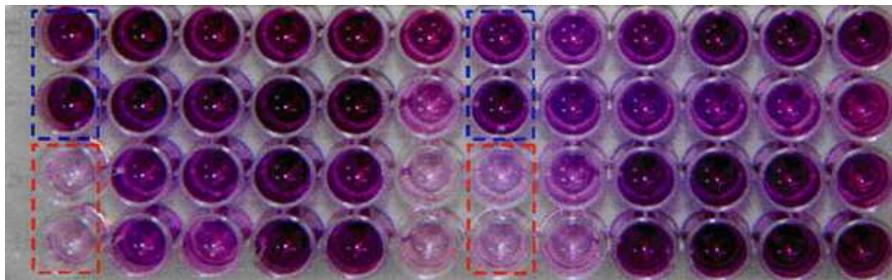
○ 염증반응은 과잉의 프리라디칼 생성에 의한 산화적 스트레스에 의해 유발되어지며, 특히 NO가 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 염증반응에 관여하는 세포는 대식세포, 임파구, 단구, 비만세포, 혈소판, 섬유아세포 등이 있으며, 이들 세포가 LPS, SNP등에 의해 자극을 받게 되면 염증성 cytokines의 발현을 유도하게 되어 NO의 생성을 일으키며 염증반응을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.

○ RAW 264.7 mouse 대식세포의 배양 : RAW 264.7은 10% fetal bovine serum (FBS)을 첨가한 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 농도에서 배양한다. 배양된 세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 3~4일 만에 부착된 세포를 떼 내어 실험에 이용한다. Macrophage cell은 생체 내 모든 조직에 골고루 분포되어 있으며 선천성면역을 담당하는 면역세포이다.



○ NO 생성 억제 측정 : RAW 264.7 대식세포는 세균감염에 의한 숙주의 비특이적 면역반응에 중요한 역할을 하는 세포로서 SNP (sodium nitroprusside), LPS (lipopolysaccharide)와 같은 자극물질에 노출되면 세포의 활성이 유도되는 기능을 갖고 있다. SNP는 NO 생성 화합물로서 neuroprotective agent로 작용하며 SNP가 함유하는 nitrosonium ion으로 인해 SNP 용액이 가시광선에 노출될 때 exotoxin로 NO가 생성된다. 그람음성균의 endotoxin인 LPS를 국소적, 또는 전신적으로 투여하여 유발시킨 포도막염 모델에서 IL-1, tumor necrosis factor-α (TNF-α), IL-6등 염증을 유발

하는 cytokine의 분비와 혈관 투과성의 변화 등이 NO의 생성을 증가시키는 것으로 보고되어 있다. LPS 및 IFN- γ 는 서로 밀접한 연관성을 가지고 신체 염증반응을 증폭할 것으로 생각된다. 이렇게 생성된 NO를 griess reagent를 이용하여 측정한다. NO synthase에 의하여 생성되는 NO는 빠른 속도로 nitrate (NO_3^-)와 nitrite (NO_2^-)로 변환 되므로 총 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 의 측정치를 전체 NO 생성의 marker로 이용 가능하다. nitrate reductase를 이용하여 NO_3^- 를 NO_2^- 로 환원시킨 후, griess reagent로 NO_2^- 의 양을 측정할 수 있다. 24-well plate에 well당 2×10^5 cells/mL로 cell을 seeding 하여 2시간 배양한 후, NO 생성 유발물질인 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS와 1 ng/mL INF- γ 또는 500 μM SNP를 24시간 처리한 후 시료와 반응시켜, 24시간동안 37°C에서 산화시킨다. 이 혼합액을 모아 96-well plate에 넣고 griess reagent와 1:1로 반응시켜 실온에서 15분간 배양한 후 540 nm에서 흡광도를 측정한다.

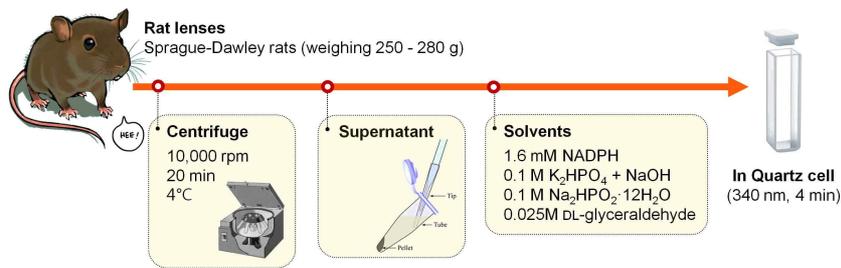


○ 세포 생존율 측정(MTT assay) : MTT assay는 탈수소 효소작용에 의하여 노란색의 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색을 띄는 비수용성의 MTT formazan (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사법이다. MTT formazan의 흡광도는 540 nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고 대사가 왕성한 세포의 농도를 반영한다. RAW 264.7 세포에 SNP를 이용하여 oxidative stress를 유도 후 염증이 생긴 경우는 세포에 exotoxin 유발로 세포 생존율이 낮아지게 된다. 반면 LPS와 INF- γ 를 처리한 경우에는 세포에 endogenous 하게 oxidative stress가 유발되어 세포 생존율에는 영향을 미치지 않게 된다. 96-well plate에 1×10^5 cells/well로 cell을 seeding 하여 2시간 배양하여 세포를 부착시킨 후 시료를 처리하여 24시간 배양한 뒤 5 mg/mL의 MTT solution을 각 well에 주입하여 37°C에서 재배양한 후 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정한다.

5) 항당뇨 활성 탐색

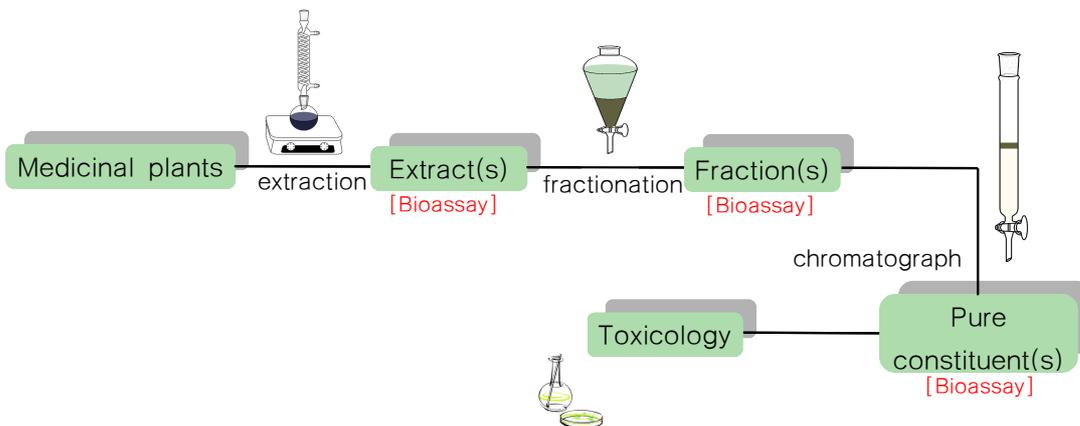
○ Aldose Reductase 억제활성 측정: 시료전처리과정으로 음건한 샘플을 각각 건조중량 3.0 g에 300 ml MeOH을 이용하여 온침출법으로 농축물을 수득하였다. 수득한 농축물 1 mg을 1 ml 의 DMSO로 희석하여 실험을 진행하였다. Aldose reductase 효소적출을 위해

Sprague-Dawley rat(무게 250-280 g)으로부터 눈을 적출하여 deep freezer에 하루 이상 보관 후 수정체만 분리하여 원심분리(10,000 rpm, 4°C, 20분)를 통해 효소를 분리하여 사용하였다. 사용한 시약은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.2), 1.6 mM NADPH와 0.025 M dl-glyceraldehyde를 사용하였다. 비교 대조군으로는 quercetin을 동일농도로 조제하여 IC₅₀ 수치를 비교하였다. 그리고 분석방법은 Hitachi U-3210 spectrophotometer를 이용하여 측정하였으며, 340 nm에서 4분간 측정하여 데이터화 하였다.

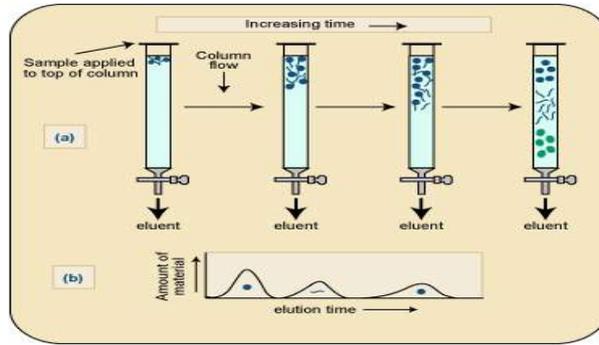


6) 기능성 물질 분리 동정 및 분석

○ 크로마토그래피: 각 시료는 음건한 후 methanol을 이용해 계통적 추출을 실시하며 3회 이상 실시하여 충분한 methanol extract양을 확보한다. 시료의 methanol extract는 극성별 유기 용매를 통해 분획물을 수득하여 초기 extract와 마찬가지로 가장 약리효과를 보이는 분획물을 선정하여 성분분리를 진행한다.



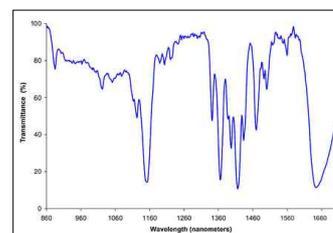
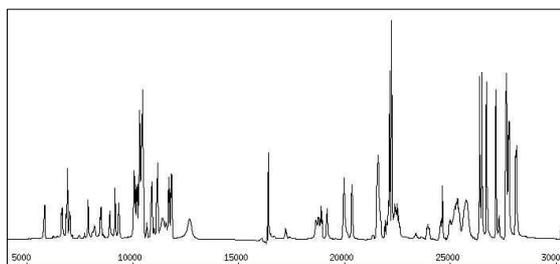
○ 선정된 분획물층은 chromatography를 통해 물질을 분리 정제하여 이 과정은 물질을 수순하게 분리하기 위해 반복 진행된다.



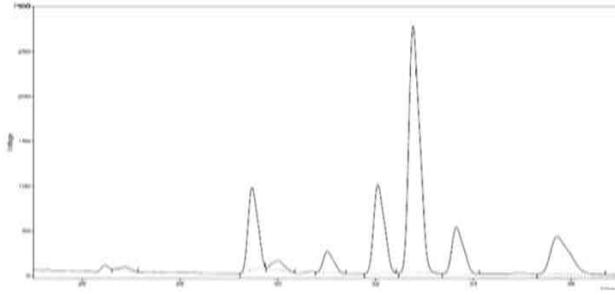
○ 또한 recycling prep-HPLC 등의 기계를 이용하여 소량의 물질을 분리하며 전개용매는 TLC를 통해 분리능이 좋은 용매를 선정하여 실험을 진행한다. 그 외 분획물에서도 신물질 발견과 성분종류의 database 구축을 위해 동일하게 물질분리를 실시한다.



○ 스펙트럼 분석: Chromatography를 통하여 분리된 순수결정은 HPLC 방법으로 순도를 확인하고 각 분석스펙트럼을 찍는다. 사용하는 분석기기는 IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT, COSY, HMQC, HMBC, MS, FAB-MS 등을 이용하여 각 스펙트럼 데이터 분석을 통하여 구조를 결정하며 분리된 단일물질의 구조를 밝힌다.



○ HPLC 분석: HPLC를 이용한 기능성 물질의 함량분석 및 표준화 작업을 수행한다.



나. 결과 및 고찰

1) 항산화 활성

*B. nivea*의 항산화 활성을 DPPH와 $\cdot\text{OH}$ 소거능을 통하여 알아보았다. DPPH 소거활성 능력을 보면 총 90점의 추출물 중에서 34점이 80% 이상의 소거율을 나타내었으며, 그 중 Bn-13, Bn-82는 각각 95.17%, 90.71%로 가장 높은 소거능력을 보였다. $\cdot\text{OH}$ 능을 측정한 결과, Bn-3을 제외한 모든 추출물에서 80% 이상의 $\cdot\text{OH}$ 소거 효과를 보였으며, 81점이 90% 이상을 나타냈고 이중 7점(Bn-37, -42, -65, -71, -73, -78, and -80)이 99% 이상으로 $\cdot\text{OH}$ 에 대한 독성 제거 효과가 매우 우수함을 보였다. 따라서, *B. nivea*는 *in vitro*에서 free radical 소거에 의한 항산화 효과가 뛰어난 것으로 사료되어진다.

Table 1. Antioxidant activity of ramie

Sample (100 $\mu\text{g/mL}$)	Scavenging activity (%)	
	DPPH	$\cdot\text{OH}$
Bn-01	84.91 \pm 0.06	97.87 \pm 0.07
Bn-02	86.36 \pm 0.11	93.71 \pm 0.12
Bn-03	59.71 \pm 1.81	75.69 \pm 0.04
Bn-04	84.35 \pm 0.49	94.56 \pm 0.11
Bn-05	81.49 \pm 0.36	94.59 \pm 0.34
Bn-06	76.28 \pm 0.35	96.93 \pm 0.02
Bn-07	80.69 \pm 0.16	98.03 \pm 0.16
Bn-08	78.30 \pm 0.42	90.15 \pm 0.19
Bn-09	75.66 \pm 0.08	98.32 \pm 0.49
Bn-10	81.40 \pm 0.10	97.00 \pm 0.02
Bn-11	76.45 \pm 0.25	98.81 \pm 0.37
Bn-12	82.68 \pm 0.18	97.53 \pm 0.16
Bn-13	95.17 \pm 0.04	91.32 \pm 0.28
Bn-14	83.57 \pm 0.11	93.87 \pm 0.15
Bn-15	71.64 \pm 1.08	93.94 \pm 0.02
Bn-16	74.07 \pm 0.06	93.49 \pm 0.08
Bn-17	80.13 \pm 0.40	89.77 \pm 0.20
Bn-18	84.10 \pm 0.09	93.37 \pm 0.20
Bn-19	79.19 \pm 0.04	91.69 \pm 0.46
Bn-20	86.52 \pm 0.27	94.58 \pm 0.97

Bn-21	87.40 ± 0.82	92.98 ± 0.21
Bn-22	85.45 ± 0.03	93.73 ± 0.03
Bn-23	89.24 ± 0.18	94.36 ± 0.01
Bn-24	65.98 ± 0.10	95.05 ± 0.55
Bn-25	73.67 ± 0.03	93.87 ± 0.21
Bn-26	83.37 ± 0.12	89.20 ± 0.02
Bn-27	88.78 ± 0.34	98.17 ± 0.06
Bn-28	70.98 ± 0.00	98.96 ± 0.45
Bn-29	84.31 ± 0.03	95.31 ± 0.06
Bn-30	54.68 ± 1.26	96.30 ± 0.31
Bn-31	78.21 ± 0.50	90.22 ± 0.13
Bn-32	82.76 ± 0.20	93.62 ± 0.01
Bn-33	68.55 ± 0.04	93.08 ± 0.06
Bn-34	81.23 ± 0.93	91.02 ± 0.03
Bn-35	51.90 ± 0.34	91.06 ± 0.06
Bn-36	83.02 ± 0.25	91.93 ± 0.08
Bn-37	81.29 ± 0.45	99.39 ± 0.47
Bn-38	81.69 ± 0.11	97.13 ± 0.40
Bn-39	85.33 ± 0.68	92.20 ± 0.13
Bn-40	88.25 ± 1.02	94.74 ± 0.08
Bn-41	73.89 ± 0.72	98.64 ± 0.85
Bn-42	50.67 ± 0.54	99.04 ± 0.07
Bn-43	54.25 ± 0.12	93.40 ± 0.04
Bn-44	45.53 ± 1.13	93.37 ± 0.01
Bn-45	76.99 ± 0.13	98.87 ± 0.01
Bn-46	43.86 ± 0.33	98.09 ± 0.60
Bn-47	37.65 ± 0.95	89.65 ± 0.16
Bn-48	77.30 ± 0.74	89.87 ± 0.16
Bn-49	82.30 ± 0.40	91.03 ± 0.52
Bn-50	86.50 ± 0.04	97.56 ± 0.40
Bn-51	64.47 ± 0.61	91.54 ± 0.21
Bn-52	55.78 ± 0.18	91.04 ± 0.66
Bn-53	21.01 ± 0.31	91.11 ± 0.42
Bn-54	78.43 ± 0.48	92.31 ± 0.65
Bn-55	77.72 ± 0.27	96.01 ± 0.57
Bn-56	66.53 ± 0.52	97.18 ± 1.03
Bn-57	56.63 ± 0.24	88.61 ± 0.24
Bn-58	36.33 ± 0.10	89.74 ± 0.66
Bn-59	71.38 ± 0.32	92.47 ± 0.13
Bn-60	76.09 ± 1.00	90.59 ± 0.01
Bn-61	79.66 ± 0.36	98.78 ± 0.12
Bn-62	53.74 ± 0.16	94.34 ± 0.08
Bn-63	80.21 ± 0.18	91.91 ± 0.13
Bn-64	52.65 ± 0.48	95.80 ± 0.26
Bn-65	67.28 ± 0.34	99.54 ± 0.14
Bn-66	67.63 ± 0.35	87.83 ± 0.11
Bn-67	55.76 ± 0.11	98.09 ± 0.23
Bn-68	60.43 ± 0.16	94.58 ± 0.13
Bn-69	78.66 ± 0.23	96.46 ± 0.04
Bn-70	86.62 ± 0.29	94.54 ± 0.70
Bn-71	75.06 ± 0.02	99.20 ± 0.09
Bn-72	81.43 ± 0.28	93.35 ± 0.42
Bn-73	77.51 ± 0.32	99.08 ± 0.28

Bn-74	81.22 ± 0.01	95.92 ± 0.28
Bn-75	64.76 ± 0.26	92.30 ± 0.07
Bn-76	88.30 ± 0.28	95.10 ± 0.01
Bn-77	79.33 ± 0.35	92.57 ± 0.14
Bn-78	77.37 ± 0.14	99.08 ± 0.21
Bn-79	76.08 ± 0.10	97.83 ± 1.46
Bn-80	82.63 ± 0.28	99.08 ± 1.24
Bn-81	78.94 ± 0.01	98.77 ± 0.44
Bn-82	90.71 ± 0.07	96.57 ± 1.10
Bn-83	78.50 ± 0.16	94.22 ± 1.33
Bn-84	44.36 ± 0.24	97.84 ± 0.13
Bn-85	62.36 ± 0.42	98.71 ± 1.44
Bn-86	33.90 ± 0.04	90.76 ± 0.28
Bn-87	37.50 ± 0.62	90.89 ± 1.22
Bn-88	55.49 ± 0.25	94.40 ± 0.13
Bn-89	53.66 ± 0.17	90.67 ± 0.28
Bn-90	65.43 ± 0.23	85.82 ± 0.87
Vitamin C*	2.17 ± 0.11	0.04 ± 0.00
(IC ₅₀ , µg/mL)		

2) 항균 활성

가) 그람 음성균 중하나인 *E. coli*에 대한 *B. nivea*의 생육 억제환을 살펴본 결과, 11개 (Bn-6, -10, -15, -17, -25, -29, -39, -40, -41, -43, and -60)의 추출물이 15 mm 이상을 나타내어 효과가 있는 것으로 나타났고 특히 Bn-40은 positive control인 penicillin (17 mm) 보다 더 높은 18 mm를 나타내는 것으로 보아, *E. coli*에 대한 높은 항균활성이 있는 것을 알 수 있었다.

나) 반면 대표적 그람 양성균인 *S. aureus*에 대한 항균활성을 측정한 결과, 7개 (Bn-3, -16, -25, -33, -35, -38, and -41)의 추출물이 15 mm 이상을 나타내어 *S. aureus*에 대한 항균 효과를 보였으며, 그 중 Bn-33은 19 mm을 나타내어 항생제의 한 종류로서 모시의 효능을 비교하는 대조군인 penicillin (18 mm)보다 높은 효과를 나타내었다. Bn-25와 Bn-41은 *E. coli*와 *S. aureus* 모두에서 15 mm 이상을 나타내어 강한 항균 활성을 가지고 있다고 사료되어진다.

다) *H. pylori*에 대한 항균활성 탐색

위염 및 위암 발생의 원인으로 잘 알려진 *H. pylori*의 항균활성을 측정한 결과, 90점의 모시 추출물은 15 µg/ 30µL 농도에서 7개의 추출물 (Bn-3, -5, -21, -37, -38, -45, and -61)이 12-14 mm 생육 억제환을 나타내어 강한 항균력을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 이 중에서 특히 Bn-5가 14 mm의 생육 억제환을 나타내어 *H. pylori*에 대한 항균활성이 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

Table 2. Antimicrobial activity of ramie

Sample (15 µg/30 µL)	Clear zone (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>H. pylori</i>
Bn-01	14.0 ± 0.7	14.0 ± 2.1	11.0 ± 0.7
Bn-02	13.0 ± 1.4	14.0 ± 2.8	11.0 ± 2.1
Bn-03	13.0 ± 0.0	15.0 ± 0.7	12.0 ± 0.7
Bn-04	12.0 ± 1.4	12.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-05	14.0 ± 1.4	14.0 ± 0.7	14.0 ± 3.5
Bn-06	17.0 ± 0.7	11.0 ± 1.4	11.0 ± 0.7
Bn-07	14.0 ± 0.7	11.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-08	12.0 ± 0.0	11.0 ± 2.1	8.0 ± 0.0
Bn-09	10.0 ± 0.0	14.0 ± 2.8	8.0 ± 0.0
Bn-10	15.0 ± 0.7	11.0 ± 0.7	10.0 ± 0.0
Bn-11	11.0 ± 0.7	10.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-12	14.0 ± 2.1	11.0 ± 2.1	8.0 ± 0.0
Bn-13	10.0 ± 0.7	9.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-14	13.0 ± 5.0	13.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-15	16.0 ± 3.5	13.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-16	11.0 ± 0.0	16.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-17	15.0 ± 0.7	13.0 ± 0.7	11.0 ± 0.7
Bn-18	13.0 ± 0.0	11.0 ± 0.0	9.0 ± 0.0
Bn-19	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-20	10.0 ± 1.4	10.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-21	12.0 ± 2.1	12.0 ± 0.7	12.0 ± 0.7
Bn-22	13.0 ± 0.7	10.0 ± 0.0	11.0 ± 0.0
Bn-23	14.0 ± 0.7	12.0 ± 0.7	10.0 ± 1.4
Bn-24	12.0 ± 0.0	13.0 ± 1.4	10.0 ± 0.0
Bn-25	16.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-26	14.0 ± 0.7	14.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-27	14.0 ± 0.7	11.0 ± 0.0	9.0 ± 0.7
Bn-28	12.0 ± 0.7	11.0 ± 2.1	8.0 ± 0.0
Bn-29	16.0 ± 0.7	13.0 ± 0.0	10.0 ± 1.4
Bn-30	14.0 ± 2.8	12.0 ± 1.4	10.0 ± 0.7
Bn-31	13.0 ± 0.7	11.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-32	13.0 ± 0.0	12.0 ± 3.5	8.0 ± 0.0
Bn-33	12.0 ± 0.0	19.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-34	12.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-35	13.0 ± 1.4	17.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-36	11.0 ± 0.0	13.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-37	14.0 ± 6.4	14.0 ± 1.4	13.0 ± 2.8
Bn-38	13.0 ± 5.0	17.0 ± 1.4	12.0 ± 0.7
Bn-39	15.0 ± 0.7	13.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-40	18.0 ± 2.8	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-41	15.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-42	12.0 ± 0.7	13.0 ± 0.7	10.0 ± 0.7
Bn-43	15.0 ± 0.7	12.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-44	14.0 ± 2.1	14.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-45	11.0 ± 2.1	13.0 ± 0.7	12.0 ± 1.4
Bn-46	12.0 ± 3.5	11.0 ± 1.4	11.0 ± 0.7
Bn-47	11.0 ± 2.1	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-48	10.0 ± 1.4	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-49	10.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0	9.0 ± 0.0
Bn-50	11.0 ± 0.7	13.0 ± 2.8	8.0 ± 0.0

Bn-51	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	9.0 ± 0.7
Bn-52	9.0 ± 1.4	11.0 ± 2.1	8.0 ± 0.0
Bn-53	10.0 ± 1.4	12.0 ± 3.5	8.0 ± 0.0
Bn-54	13.0 ± 1.4	14.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-55	14.0 ± 0.7	13.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-56	11.0 ± 2.1	10.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-57	8.0 ± 0.0	9.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-58	8.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	9.0 ± 0.0
Bn-59	12.0 ± 0.7	14.0 ± 0.7	10.0 ± 1.4
Bn-60	17.0 ± 6.4	12.0 ± 3.5	11.0 ± 0.7
Bn-61	8.0 ± 0.0	13.0 ± 0.7	13.0 ± 3.5
Bn-62	10.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-63	14.0 ± 6.4	11.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-64	10.0 ± 0.0	11.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-65	10.0 ± 1.4	14.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Bn-66	10.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Bn-67	13.0 ± 2.1	13.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0
Bn-68	12.0 ± 0.7	11.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Bn-69	12.0 ± 0.7	13.0 ± 1.4	11.0 ± 1.4
Bn-70	8.0 ± 0.0	13.0 ± 0.7	11.0 ± 0.7
Bn-71	8.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	11.0 ± 0.7
Bn-72	10.0 ± 0.7	8.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-73	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-74	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-75	11.0 ± 2.1	12.0 ± 0.7	10.0 ± 1.4
Bn-76	10.0 ± 0.7	11.0 ± 0.7	10.0 ± 1.4
Bn-77	8.0 ± 0.0	12.0 ± 1.4	8.0 ± 0.0
Bn-78	8.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7	10.0 ± 0.0
Bn-79	10.0 ± 0.7	14.0 ± 2.1	10.0 ± 0.7
Bn-80	8.0 ± 0.0	13.0 ± 2.1	8.0 ± 0.0
Bn-81	11.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Bn-82	11.0 ± 0.0	11.0 ± 1.4	10.0 ± 0.0
Bn-83	8.0 ± 0.0	13.0 ± 0.0	10.0 ± 0.0
Bn-84	8.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	10.0 ± 0.7
Bn-85	11.0 ± 0.7	12.0 ± 0.0	9.0 ± 0.0
Bn-86	8.0 ± 0.0	13.0 ± 2.1	9.0 ± 0.0
Bn-87	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-88	8.0 ± 0.0	11.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-89	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Bn-90	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0
Penicillin	17.2 ± 0.7	17.1 ± 0.7	17.0 ± 0.7

3) 항암 활성

AGS 인체 위암세포에 대한 모시 추출물의 세포 성장 억제율을 살펴보았다. 90종의 모시 추출물을 100 µg/mL 농도로 처리하였을 때, 5점의 추출물(Bn-2, -7, -10, -23, and -28)에서 50% 이상의 위암 세포 성장 억제율을 나타냈다. 특히 이들 중에서도 Bn-2 와 Bn-23은 85% 이상의 높은 위암 세포 성장 억제율을 보였고, Bn-23은 90.79%로 위암세포의 증식을 가장 크게 억제하는 것으로 사료된다.

Table 3. Anticancer activity of ramie

Sample	AGS cell growth inhibition rate (%)
Bn-01	46.10 ± 0.35
Bn-02	87.99 ± 0.14
Bn-03	26.92 ± 0.69
Bn-04	43.08 ± 0.30
Bn-05	28.91 ± 0.21
Bn-06	41.51 ± 0.55
Bn-07	50.56 ± 0.94
Bn-08	41.30 ± 0.25
Bn-09	29.62 ± 0.48
Bn-10	52.21 ± 0.43
Bn-11	32.51 ± 0.56
Bn-12	35.72 ± 0.54
Bn-13	28.27 ± 0.55
Bn-14	27.79 ± 0.10
Bn-15	35.24 ± 0.25
Bn-16	32.51 ± 0.24
Bn-17	41.09 ± 0.52
Bn-18	38.85 ± 0.51
Bn-19	35.78 ± 1.58
Bn-20	23.50 ± 0.11
Bn-21	44.97 ± 0.41
Bn-22	32.94 ± 0.50
Bn-23	90.79 ± 0.20
Bn-24	32.98 ± 0.37
Bn-25	25.63 ± 4.71
Bn-26	39.73 ± 0.55
Bn-27	32.27 ± 0.22
Bn-28	66.13 ± 6.14
Bn-29	33.72 ± 1.31
Bn-30	38.94 ± 0.66
Bn-31	36.87 ± 0.62
Bn-32	32.66 ± 0.21
Bn-33	27.50 ± 0.18
Bn-34	26.33 ± 0.17
Bn-35	24.06 ± 0.57
Bn-36	39.80 ± 0.37
Bn-37	28.14 ± 0.34
Bn-38	46.09 ± 0.07
Bn-39	34.09 ± 0.41
Bn-40	37.98 ± 1.18
Bn-41	33.15 ± 0.48
Bn-42	26.00 ± 3.40
Bn-43	35.86 ± 0.83
Bn-44	35.89 ± 0.39
Bn-45	35.28 ± 0.26
Bn-46	36.36 ± 0.41
Bn-47	44.96 ± 0.58
Bn-48	46.06 ± 0.20
Bn-49	38.84 ± 0.20
Bn-50	33.74 ± 0.14
Bn-51	31.77 ± 0.61

Bn-52	29.75 ± 0.20
Bn-53	40.81 ± 0.31
Bn-54	28.06 ± 0.58
Bn-55	35.49 ± 0.87
Bn-56	44.93 ± 0.75
Bn-57	37.31 ± 0.15
Bn-58	30.58 ± 0.55
Bn-59	28.02 ± 1.21
Bn-60	34.81 ± 0.70
Bn-61	26.47 ± 0.48
Bn-62	34.33 ± 0.16
Bn-63	20.60 ± 0.62
Bn-64	23.10 ± 0.40
Bn-65	21.17 ± 0.11
Bn-66	27.53 ± 0.50
Bn-67	28.89 ± 0.27
Bn-68	24.52 ± 0.80
Bn-69	21.01 ± 0.48
Bn-70	40.26 ± 2.31
Bn-71	22.78 ± 3.83
Bn-72	38.13 ± 0.30
Bn-73	37.28 ± 1.10
Bn-74	18.83 ± 0.31
Bn-75	37.73 ± 0.67
Bn-76	43.82 ± 0.15
Bn-77	45.64 ± 0.10
Bn-78	40.13 ± 0.45
Bn-79	40.71 ± 0.16
Bn-80	31.28 ± 0.17
Bn-81	36.97 ± 0.52
Bn-82	30.79 ± 0.25
Bn-83	25.54 ± 0.18
Bn-84	36.41 ± 0.14
Bn-85	37.09 ± 2.17
Bn-86	48.77 ± 0.26
Bn-87	40.87 ± 1.95
Bn-88	36.11 ± 0.79
Bn-89	19.80 ± 0.25
Bn-90	27.82 ± 0.15

4) 항염증 활성

* Cell viability 50% 이하는 세포 독성이 있는 것으로 사료되어 NO 생성 자체가 제대로 이루어지지 않았을 것으로 사료됨(Bn-10, -23). Cell viability가 70% 이상인 것 중 NO 생성률이 60% 미만인 시료임(Bn-9 and -65).

* 위의 실험 결과는 Raw 264.7 cell에서 Lipopolysaccharide (LPS) 와 Interferon-gamma (INF-γ)에 의한 NO 생성 및 Cell viability를 측정 한 결과이다. 본 실험에서는 90종의 추출물을 100 μg/mL의 농도로 Raw 264.7 cell 에 처리 시 LPS와 INF-γ가 내독소로 작용하여Cell viability

에는 Normal 군과 Control 군의 차이가 크지 않았다. NO 생성률을 보면 Normal 군은 44.18% Control 군이 100%의 NO 생성률을 보였고, 총 90개의 추출물 중 88종이 80% 이하의 NO 생성률을 나타내었다. 그 중 60% 이하의 생성률을 나타내는 추출물은 Bn-08, -09, -10, -23, -48, -65, and -76이다. 그러나 Bn-10과 -23은 Cell viability가 50% 이하이므로 이는 세포 독성이 있는 것으로 사료되어 NO 생성이 제대로 되지 않았음을 알 수 있다. 따라서 Cell viability가 70% 이상인 것 중 NO 생성률이 60% 미만인 시료는 Bn-09, -65으로 항염증 효과가 있는 것으로 사료되어진다.

Table 4. Antiinflammatory activity of ramie

Sample	NO generation (%)	Cell viability (%)
Bn-01	78.79 ± 1.09	66.99 ± 1.20
Bn-02	67.57 ± 1.09	77.65 ± 0.55
Bn-03	91.48 ± 1.16	81.13 ± 2.52
Bn-04	77.55 ± 0.51	71.29 ± 1.77
Bn-05	71.62 ± 0.47	80.75 ± 4.69
Bn-06	77.96 ± 0.79	67.71 ± 1.39
Bn-07	66.84 ± 1.14	71.95 ± 1.50
Bn-08	53.01 ± 0.68	61.29 ± 0.21
Bn-09	55.09 ± 0.64	71.99 ± 0.93
Bn-10	54.47 ± 0.85	28.36 ± 0.18
Bn-11	62.27 ± 2.03	80.60 ± 1.89
Bn-12	72.97 ± 0.68	72.21 ± 1.08
Bn-13	72.56 ± 0.94	80.74 ± 1.47
Bn-14	77.75 ± 0.94	60.12 ± 3.72
Bn-15	77.03 ± 2.49	72.09 ± 0.44
Bn-16	88.15 ± 1.56	72.11 ± 0.84
Bn-17	74.43 ± 2.22	69.90 ± 0.23
Bn-18	61.64 ± 1.83	57.37 ± 1.38
Bn-19	67.88 ± 2.41	63.01 ± 0.23
Bn-20	71.41 ± 1.61	91.55 ± 0.38
Bn-21	74.64 ± 2.61	62.88 ± 0.99
Bn-22	77.44 ± 1.65	66.09 ± 1.50
Bn-23	55.09 ± 0.64	42.37 ± 1.15
Bn-24	60.91 ± 2.36	77.86 ± 1.87
Bn-25	72.56 ± 0.76	65.49 ± 0.37
Bn-26	69.96 ± 1.83	64.86 ± 0.26
Bn-27	70.79 ± 1.75	63.92 ± 1.43
Bn-28	68.71 ± 1.21	74.00 ± 1.55
Bn-29	72.04 ± 0.86	61.10 ± 0.66
Bn-30	61.85 ± 1.21	74.23 ± 0.52
Bn-31	60.71 ± 1.09	59.35 ± 0.30
Bn-32	69.96 ± 1.14	85.16 ± 0.16
Bn-33	70.58 ± 0.47	85.17 ± 0.49

Bn-34	67.36 ± 1.31	73.51 ± 0.10
Bn-35	67.98 ± 0.88	55.66 ± 0.40
Bn-36	67.05 ± 0.65	60.02 ± 0.33
Bn-37	62.89 ± 1.07	68.31 ± 0.61
Bn-38	66.63 ± 0.61	58.62 ± 0.28
Bn-39	71.00 ± 0.73	57.65 ± 0.71
Bn-40	70.89 ± 0.64	52.09 ± 0.27
Bn-41	69.44 ± 0.94	78.99 ± 0.43
Bn-42	68.50 ± 0.47	58.90 ± 0.51
Bn-43	61.54 ± 0.76	49.89 ± 1.26
Bn-44	71.21 ± 0.61	58.86 ± 0.18
Bn-45	61.54 ± 1.16	55.61 ± 0.77
Bn-46	61.43 ± 0.76	39.62 ± 0.38
Bn-47	67.36 ± 0.56	49.65 ± 0.25
Bn-48	57.59 ± 1.35	54.75 ± 0.36
Bn-49	67.15 ± 1.40	54.23 ± 0.47
Bn-50	74.32 ± 0.92	57.74 ± 0.63
Bn-51	69.75 ± 0.83	53.28 ± 0.29
Bn-52	71.83 ± 1.33	70.60 ± 0.68
Bn-53	72.56 ± 1.16	66.97 ± 0.26
Bn-54	73.80 ± 1.23	80.23 ± 0.69
Bn-55	70.89 ± 0.64	75.03 ± 0.90
Bn-56	62.16 ± 1.23	70.71 ± 0.24
Bn-57	65.38 ± 1.00	51.97 ± 0.66
Bn-58	66.94 ± 1.16	62.74 ± 0.52
Bn-59	64.66 ± 0.85	69.93 ± 0.22
Bn-60	65.38 ± 1.21	70.71 ± 0.82
Bn-61	61.10 ± 0.61	79.46 ± 0.77
Bn-62	61.85 ± 0.61	70.25 ± 0.94
Bn-63	62.58 ± 0.76	56.13 ± 0.31
Bn-64	63.20 ± 0.51	74.86 ± 1.92
Bn-65	59.46 ± 0.51	76.99 ± 1.05
Bn-66	68.30 ± 0.86	69.88 ± 1.36
Bn-67	67.46 ± 1.39	55.92 ± 1.19
Bn-68	76.72 ± 1.48	64.47 ± 1.00
Bn-69	72.66 ± 1.17	68.38 ± 0.43
Bn-70	62.68 ± 1.29	58.90 ± 0.50
Bn-71	74.32 ± 0.83	85.40 ± 0.87
Bn-72	60.81 ± 1.23	67.94 ± 0.63
Bn-73	64.76 ± 1.00	72.71 ± 0.27
Bn-74	69.85 ± 0.68	74.22 ± 0.75
Bn-75	66.74 ± 0.56	73.41 ± 0.95
Bn-76	59.67 ± 0.51	60.96 ± 0.63
Bn-77	75.99 ± 0.73	83.90 ± 0.22
Bn-78	60.71 ± 0.64	60.12 ± 0.29
Bn-79	73.70 ± 1.95	64.35 ± 0.17
Bn-80	66.22 ± 0.73	71.36 ± 0.20
Bn-81	70.37 ± 1.00	65.25 ± 0.37
Bn-82	68.40 ± 0.32	65.09 ± 0.94
Bn-83	73.70 ± 0.47	84.55 ± 0.78
Bn-84	62.79 ± 1.23	49.41 ± 0.36
Bn-85	67.46 ± 1.33	77.47 ± 0.53
Bn-86	72.14 ± 0.76	56.03 ± 1.06

Bn-87	70.79 ± 0.52	86.23 ± 1.06
Bn-88	71.73 ± 0.68	76.09 ± 0.26
Bn-89	61.85 ± 0.92	53.20 ± 0.38
Bn-90	71.83 ± 1.39	68.12 ± 0.53
Control	100.00 ± 0.04	69.74 ± 3.49
Normal	44.18 ± 1.39	100.00 ± 0.37

5) 항당뇨 활성

90점의 모시추출물의 각 Aldose reductase 억제 활성을 측정한 결과 총 11점의 추출물 (Bn-06, -07, -08, -09, -31, -33, -44, -46, -47, -48, and -52) 에서 50% 이상의 억제 활성을 나타냈고, 그 중 Bn-08, Bn-33, Bn-48은 각각 64.9364, 60.6272, 63.5783%로 60% 이상의 비교적 강한 억제활성을 나타냈다.

Table 5. Aldose reductase inhibitory activity of ramie

Sample	Inhibition (%)	Sample	Inhibition (%)	Sample	Inhibition (%)
Bn-01	18.1849	Bn-31	57.4913	Bn-61	14.7368
Bn-02	32.2791	Bn-32	0.0000	Bn-62	30.8772
Bn-03	40.5294	Bn-33	60.6272	Bn-63	21.7544
Bn-04	10.9660	Bn-34	0.0000	Bn-64	22.1053
Bn-05	28.4978	Bn-35	0.0000	Bn-65	9.4737
Bn-06	57.7174	Bn-36	5.5749	Bn-66	0.0000
Bn-07	53.2485	Bn-37	7.6655	Bn-67	17.8947
Bn-08	64.9364	Bn-38	0.0000	Bn-68	15.4386
Bn-09	55.9986	Bn-39	16.0279	Bn-69	17.8947
Bn-10	26.1668	Bn-40	37.9791	Bn-70	20.3509
Bn-11	20.0459	Bn-41	28.7540	Bn-71	26.9103
Bn-12	24.2540	Bn-42	0.0000	Bn-72	10.6312
Bn-13	26.5493	Bn-43	0.0000	Bn-73	31.2292
Bn-14	12.7774	Bn-44	52.3962	Bn-74	17.9402
Bn-15	17.7506	Bn-45	21.0863	Bn-75	18.9369
Bn-16	26.5493	Bn-46	54.3131	Bn-76	13.9535
Bn-17	17.3680	Bn-47	57.5080	Bn-77	21.2625
Bn-18	17.7506	Bn-48	63.5783	Bn-78	15.9468
Bn-19	20.0459	Bn-49	20.1278	Bn-79	18.6047
Bn-20	27.3307	Bn-50	25.2396	Bn-80	18.9369
Bn-21	18.1141	Bn-51	27.7439	Bn-81	25.0951
Bn-22	15.2783	Bn-52	50.0000	Bn-82	26.2357
Bn-23	19.8866	Bn-53	32.3171	Bn-83	15.2091
Bn-24	25.2038	Bn-54	23.4756	Bn-84	26.9962
Bn-25	14.9238	Bn-55	18.9024	Bn-85	33.8403
Bn-26	27.6852	Bn-56	40.5488	Bn-86	34.9810
Bn-27	8.1886	Bn-57	41.7683	Bn-87	25.8555
Bn-28	26.9762	Bn-58	48.1707	Bn-88	25.4753
Bn-29	3.5803	Bn-59	47.5610	Bn-89	30.7985
Bn-30	7.1251	Bn-60	40.8537	Bn-90	33.4601
				TMG	89.3536

6) 기능성 물질분리 동정 및 분석

Bn-09는 Epicatechin의 함량이 4종 중에서 가장 높았으나 Epicatechin gallate의 함량은 가장 적었고 Bn-90은 가장 높은 Epicatechin gallate 함량을 보였다. 또한 4종 모두 Epicatechin 보다 Epicatechin gallate를 더 많이 함유하고 있음을 확인할 수 있었다(Table 6).

Table 6. Content of epicatechin and epicatechin gallate in ramie

Sample	Content (mg/g)	
	Epicatechin	Epicatechin gallate
Bn-09	0.138 ± 0.047	0.233 ± 0.011
Bn-40	0.025 ± 0.024	1.227 ± 0.010
Bn-82	0.022 ± 0.020	1.230 ± 0.082
Bn-90	0.025 ± 0.018	1.654 ± 0.181

모시식품 4종 내의 성분함량을 분석한 결과 모싯잎차(4번) 내 두 성분의 함량이 식품 4종 중에서 가장 높은 것으로 확인되었다.(Table 7)

1.모시찰보리짬떡, 2.모싯잎송편, 3.모싯잎송편(원형), 4.모싯잎차

Table 7. Content of epicatechin and epicatechin gallate in ramie product

Sample	Content (ug/g)	
	Epicatechin	Epicatechin gallate
#1	0.655 ± 0.082	0.842 ± 0.004
#2	0.055 ± 0.001	0.039 ± 0.001
#3	0.010 ± 0.001	0.042 ± 0.002
#4	1.879 ± 0.255	1.090 ± 0.017

2. 모시잎 고유 기능성물질 분리분석 및 함량 탐색

가. 추출 및 분획

모시 잎 2 kg을 건조시킨 후 MeOH을 이용 추출용매와 함께 가열해 끓이면서 동시에 환류냉각을 시키는 온침법을 이용하였다. 위 방법으로 추출된 추출물을 filter paper를 이용해 걸러준 다음 evaporator를 이용해 감압 농축하였다. 이 과정을 3번 반복하여 시행하였고, 총 294.6 g의 methanol 추출물을 얻었다.

분획은 *n*-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, 그리고 *n*-butanol순으로 진행하였다. Methanol 추출물 294.6 g을 증류수를 이용해 현탁한 후 분획여두에 넣고 그 위에 *n*-hexane을 넣은 다음 흔들어 잘 섞어준 후 극성의 차와 비중에 따라 분리된 용매 층만을 얻었다. 여기에서 남은 물 층을 같은 방법으로 CH₂Cl₂, EtOAc 그리고 *n*-butanol으로 다시 분획을 하였고 각각 3회씩 반복하여 주었다. 그 결과 *n*-hexane fr. 106.9 g CH₂Cl₂ fr. 4.1 g, EtOAc fr. 2.4 g, *n*-butanol fr. 23.8 g의 분획물을 수득하였다(Fig. 1).

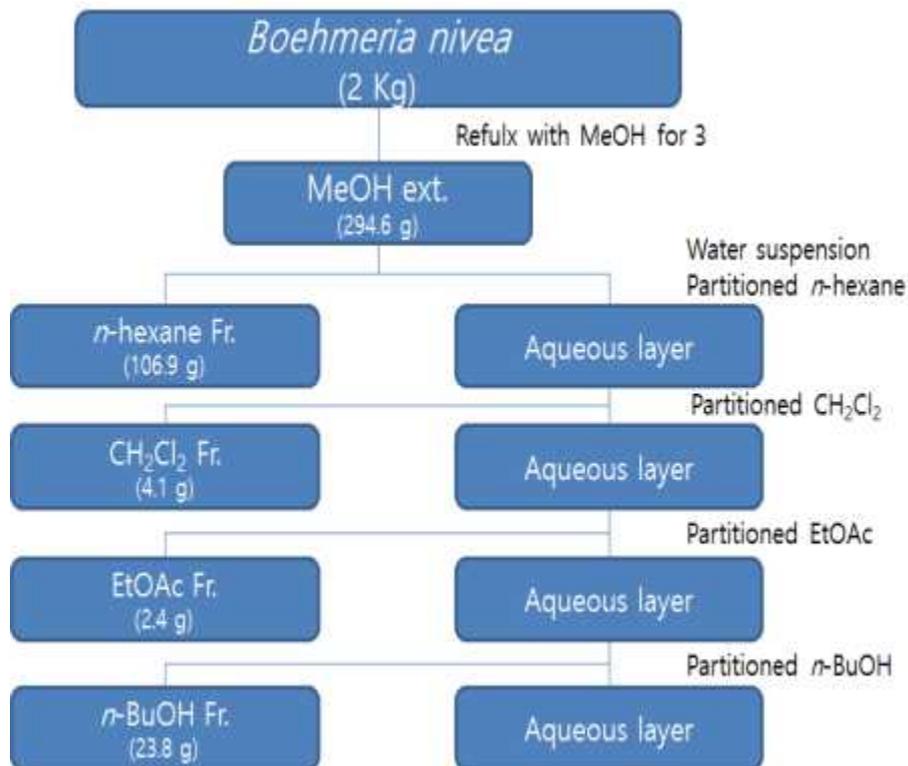


Figure 1. 모시 잎의 추출과 분획과정 모식도

나. Hexane 분획물

Hexane fr. 을 MPLC 기계를 이용하여 분리를 하였다. 용매는 *n*-hexane, ethyl acetate와 methanol를 사용하였으며 용매의 조성을 *n*-hexane 100%에서 ethyl acetate 100%까지 ethyl acetate 100% 부터 ethyl acetate : methanol 5 : 5까지 극성변화를 주면서 chromatography를 시행하였다 (Fig. 2).

Chromatography를 하여 분리된 물질들의 TLC를 전개하여 Rf값을 확인하면서 진행하였고 Rf 값과 TLC의 패턴이 같은 물질끼리 grouping을 하였다. Grouping을 한 후 1(1-6), 2(3-7), 3(8), 4(9-10), 5(12-20), 6(21-26), 7(27-30), 8(31-37), 9(38-44), 10(45-48), 11(49-61)으로 번호를 붙여 총 11개의 fraction을 얻었다(Fig. 3).

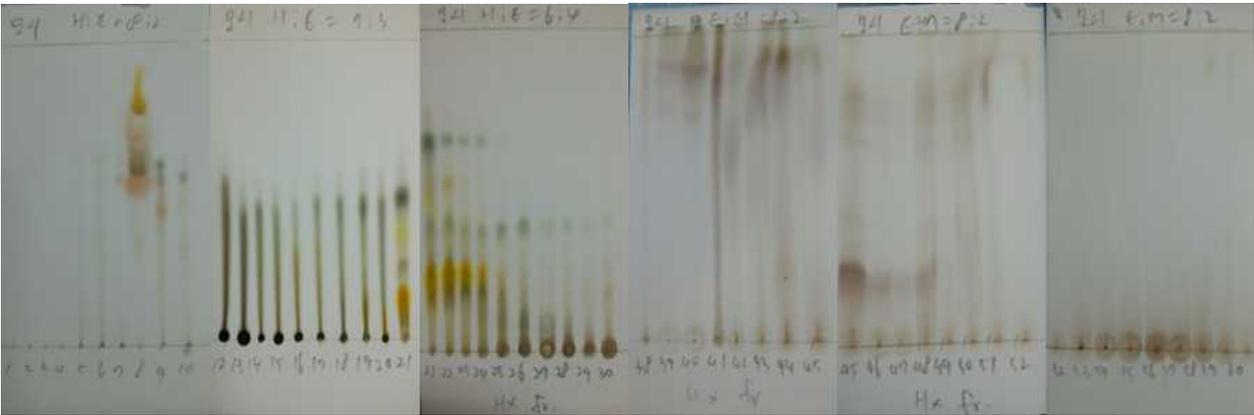


Figure 2. Hexane fr.에서 분리된 물질의 TLC 사진

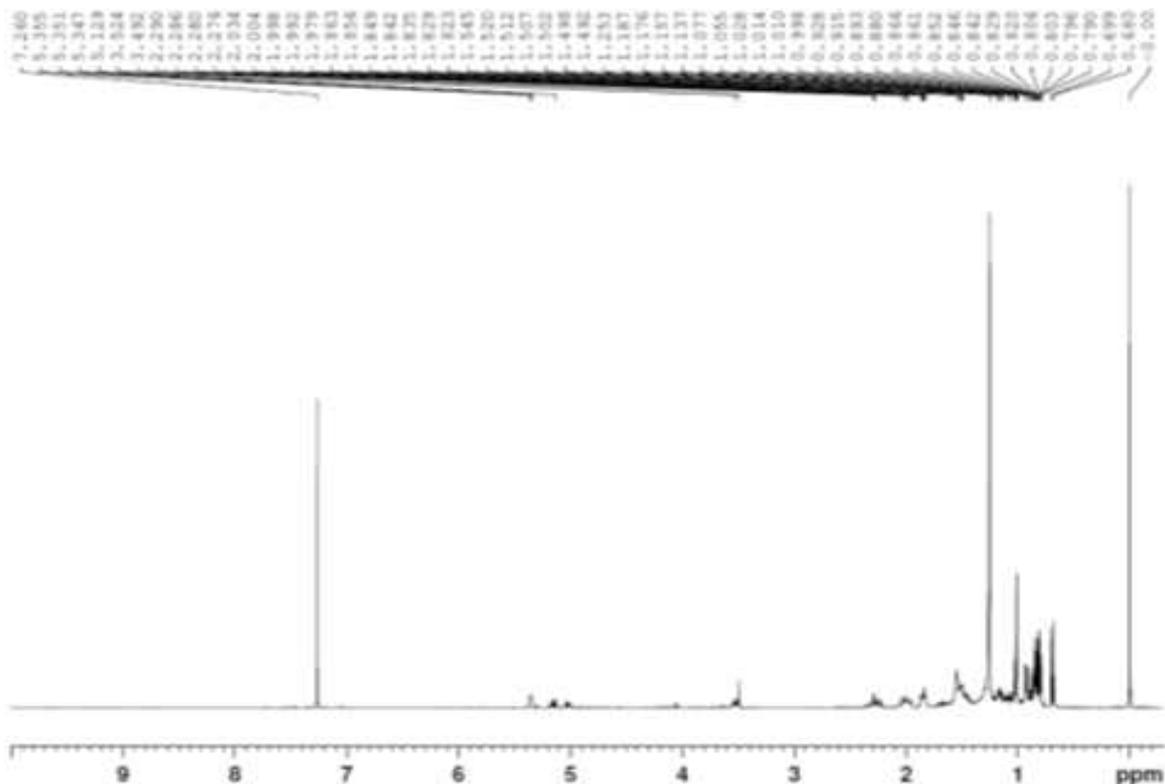


Figure 3. Grouping 한 후 TLC 사진

Hexane fr.에서 분리된 물질 중 4번 fr.의 물질의 TLC를 확인한 결과, 단일 물질임을 확인하여 NMR과 MS를 찍어서 물질의 구조를 동정하였다(Fig. 4). MS data를 확인했을 때 414의 값이 나왔고, $^1\text{H-NMR}$ data를 확인하였을 때 peak가 1-2 ppm 영역에 많이 몰려 나오고 각각의 특징적인 peak를 확인하여 terpenoid의 구조임을 문헌을 통해 확인하였고 특징적인 peak로는 3.5 ppm 정도에 나오는 hydroxyl group과 5.3 ppm에서 이중결합의 수소를 확인하였다(Fig. 5). 이러한 data들을 종합적으로 β -sitosterol로 구조 동정하였다(Fig. 6).



Figure 4. 모시 hexane 층 4번 fr.의 TLC 사진



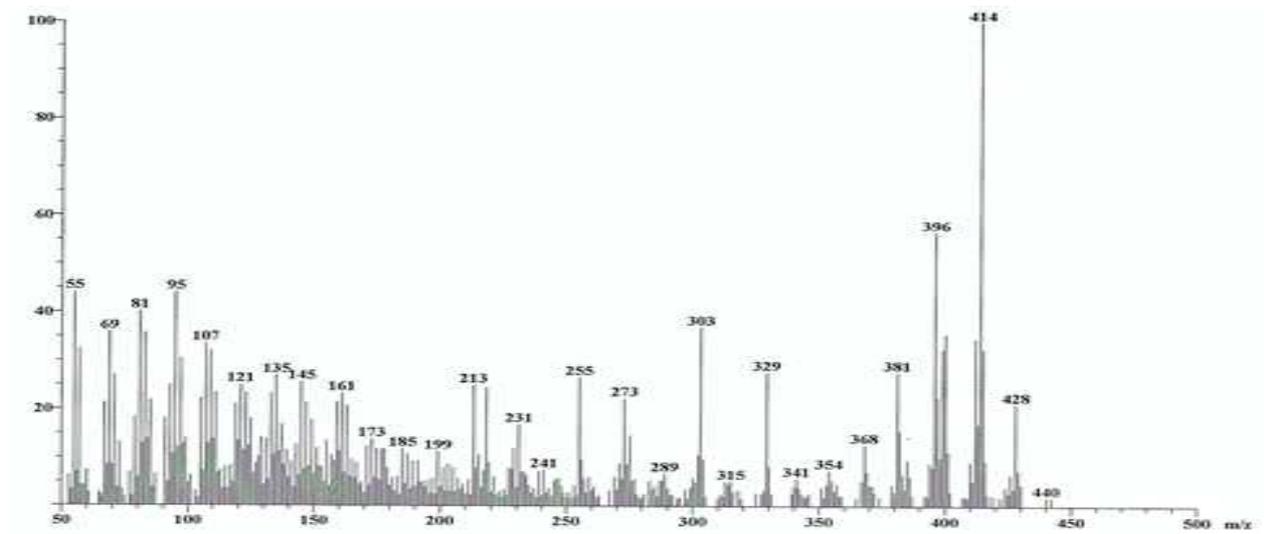


Figure 5. 모시 hexane 층 4번 fr의 MS와 NMR spectrum

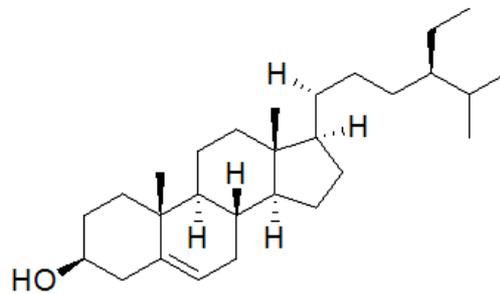


Figure 6. β -sitosterol의 구조

Hexane fr.에서 분리된 물질 중 6번 fr.의 물질의 TLC를 확인한 결과, 여러 물질이 섞여 있음을 확인하여 6 fr.을 MPLC 기계를 이용하여 다시 분리를 하였다(Fig. 7). *n*-hexane과 ethyl acetate를 사용하였으며 용매의 조성을 *n*-hexane 100%에서 ethyl acetate 100%까지 ethyl acetate 100%부터 ethyl acetate : methanol 5 : 5까지 극성변화를 주면서 chromatography를 시행하였다. 그 중 8번 fr.의 TLC를 확인한 결과, 단일 물질임을 확인하여 $^1\text{H-NMR}$ 과 MS를 찍어서 물질의 구조를 (-)-loliolide로 동정하였다(Fig. 8, 9).

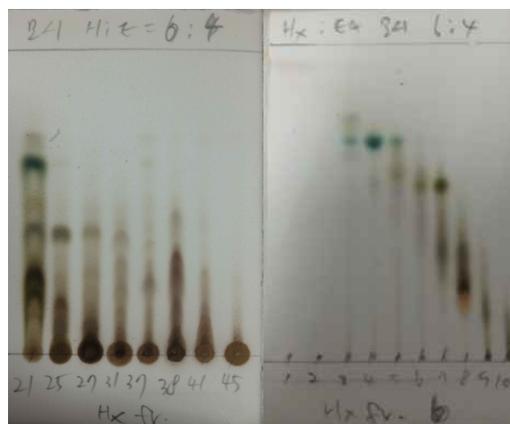


Figure 7. 모시 hexane 층 6번 fr.의 재컬럼 전 후 TLC사진

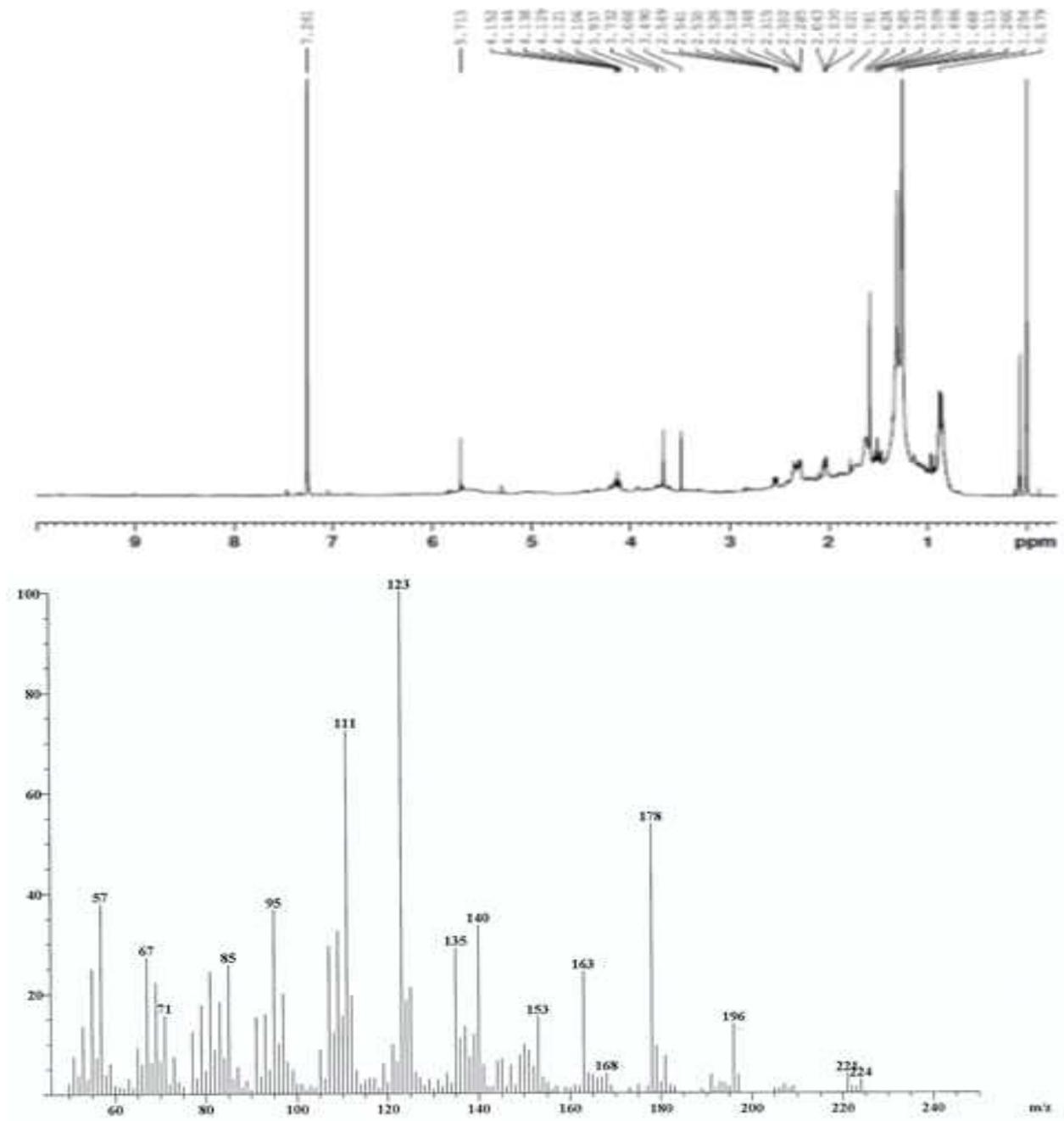


Figure 8. 모시 hexane 층 6번 fr.의 MS와 NMR spectrum

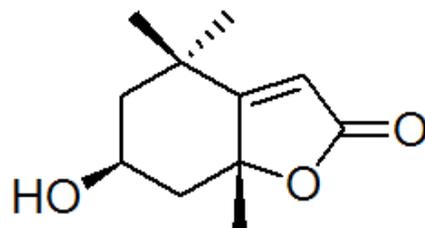


Figure 9. (-)-loliolide 의 구조

다. MC 분획물

CH₂CL₂ fr. 을 Open Column Chromatography을 이용하여 분리를 하였다. 용매는 *n*-hexane, ethyl acetate와 methanol를 사용하였으며 용매의 조성을 *n*-hexane 100%에서 ethyl acetate 100%까지 ethyl acetate 100%부터 ethyl acetate : methanol 5 : 5까지 극성변화를 주면서 chromatography를 시행한 후 TLC를 찍어 각각의 fraction들을 확인하였다(Fig. 10). 그 중 53번 fr.의 물질을 재결정 후에 TLC를 찍어 단일물질을 확인하였다.

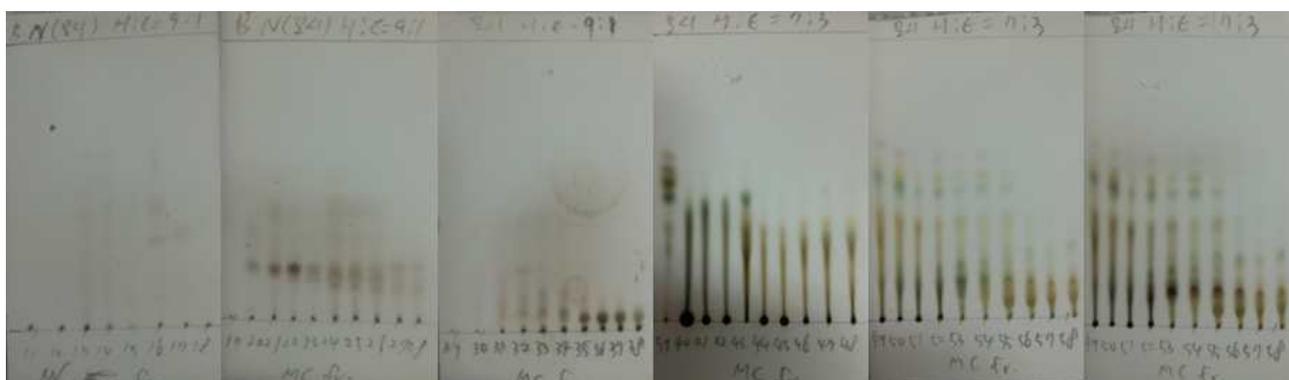


Figure 10. CH₂CL₂ fr.에서 분리된 물질의 TLC사진

라. EtOAc 분획물

EtOAc fr. 을 Open Column Chromatography을 이용하여 분리를 하였다. 용매는 methanol과 water를 사용하였으며 용매의 조성을 methanol 70%, water 30% 비율로 chromatography를 시행한 후 TLC를 찍어 각각의 fraction들을 확인하였다(Fig. 11). TLC를 확인 후 R_f 값과 TLC의 패턴이 같은 물질끼리 grouping을 하였다.

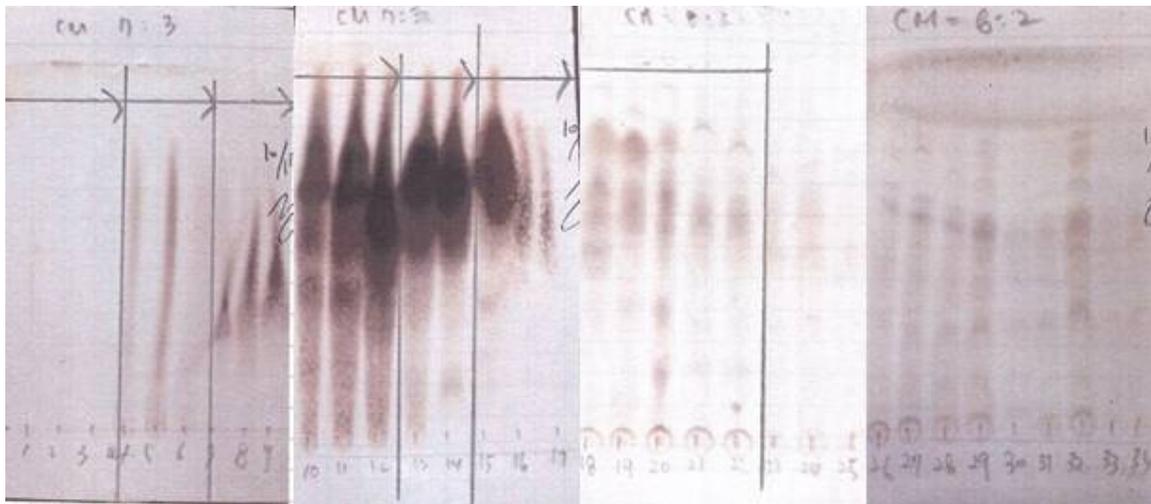
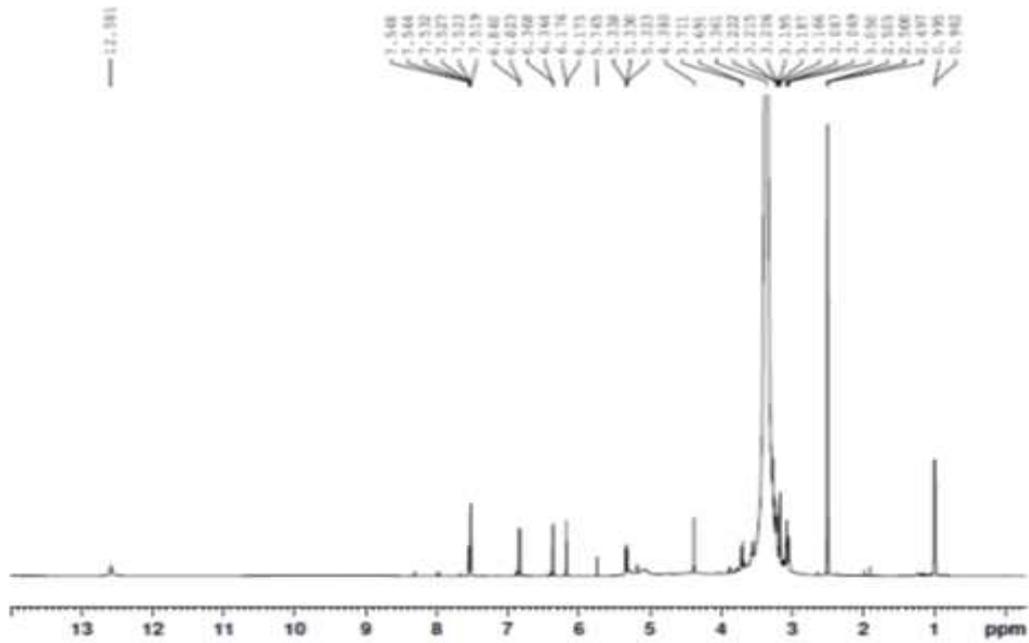


Figure 11. EtOAc fr.에서 분리된 물질의 TLC사진



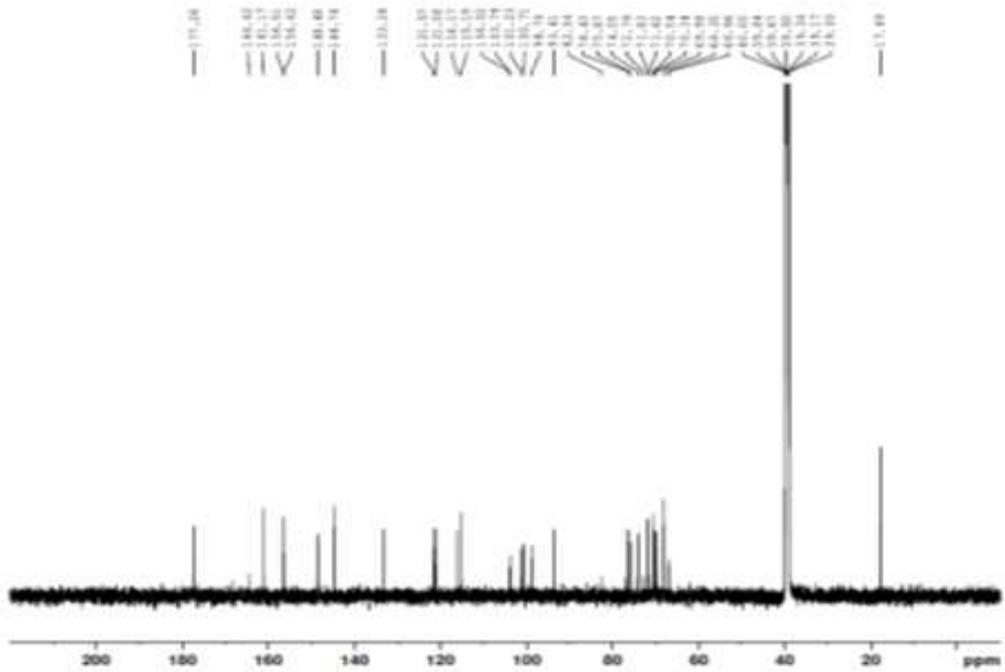


Figure 12. 7번 fr.의 TLC 사진과 ¹H-과 ¹³C-NMR spectrum

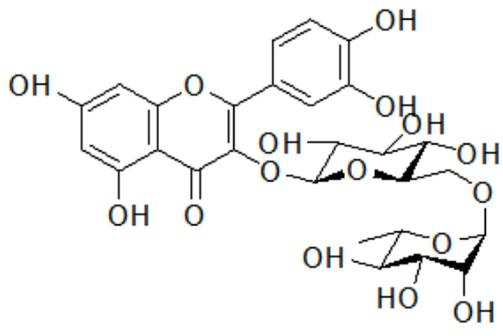


Figure 13. Rutin의 구조

EtOAc fr.에서 분리된 물질 중 7번 fr.의 물질의 TLC를 확인 결과 단일 물질임을 확인하여 NMR과 MS를 찍어서 물질의 구조를 동정하였다. ¹H-NMR data의 6.17, 6.36 ppm에 6, 8번 carbon에 proton이 하나씩 있음을 알았으며, 6.83, 7.52, 7.54 ppm의 peak의 갈라짐으로 Bring이 ABX Type의 구조를 확인하였다. 4.38 ppm과 5.33 ppm에 나오는 anomeric proton을 확인하고, 0.99 ppm의 CH₃ peak를 확인하여 glucose와 rhamnose가 붙어있음을 알았다(Fig. 12). 위 data들을 분석하여 **Rutin**으로 구조 동정하였다(Fig. 13).

마. BuOH 분획물

BuOH fr. 을 MPLC 기계를 이용하여 분리를 하였다. 용매는 CHCl₃과 methanol를 사용하였으며 용매의 조성을 CHCl₃ 100%에서 CHCl₃ 50% : methanol 50%까지 chromatography를 시행한 후

TLC를 찍어 각각의 fraction들을 확인하였다(Fig. 16).

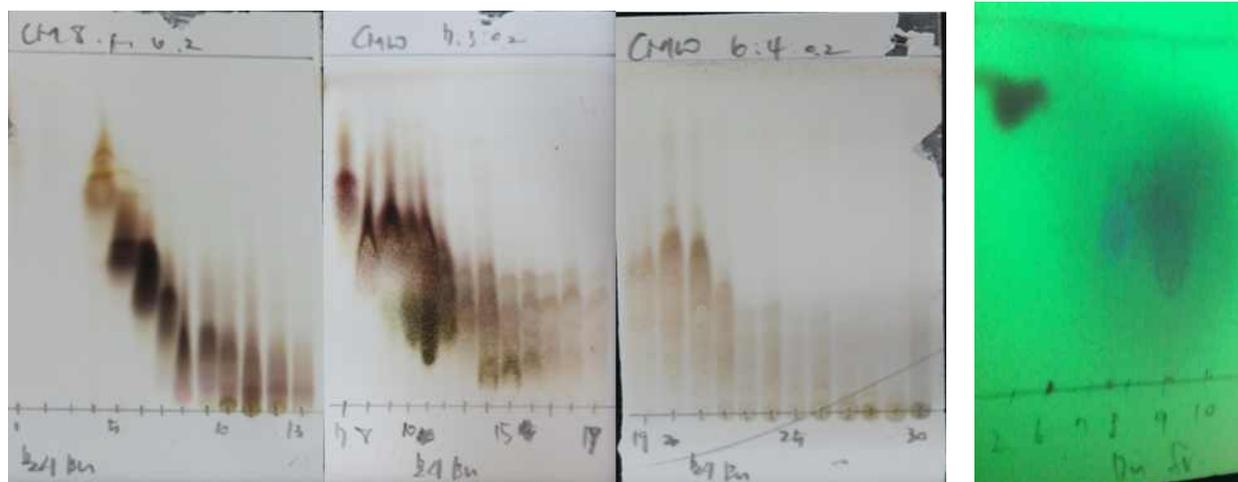


Figure 16. BuOH fr.에서 분리된 물질의 TLC사진

BuOH fr.에서 분리된 물질 중 2번 fr.의 물질의 TLC를 확인 결과 단일 물질임을 확인하여 NMR과 MS를 찍어서 물질의 구조를 동정하였다 $^1\text{H-NMR}$ data에서 5.43, 7.35 ppm이 이중결합을 나타내는 peak임을 확인했고, 10.93, 10.94 ppm이 NH기의 proton을 나타냄을 알았다. $^{13}\text{C-NMR}$ data를 통해 100.1, 142.1 ppm이 이중결합을 나타내고, 151.4, 164.2 ppm이 ketone기를 나타냄을 기존 문헌을 통해 알아냈다(Fig. 17, 18). 위 data들을 종합하여 이 화합물은 **Pyrimidinedione**으로 구조 동정하였다(Fig. 19).

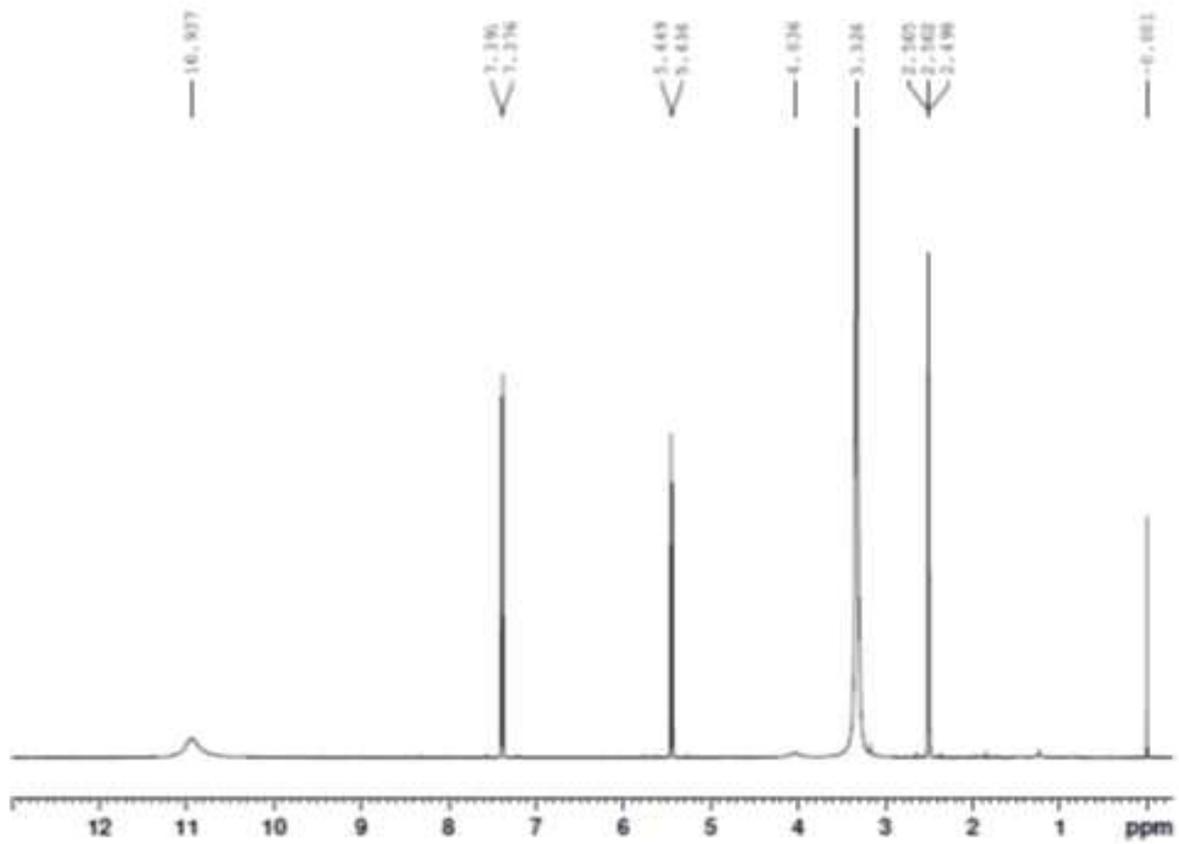


Figure 17. 7번 fr.의 ^1H -NMR spectrum

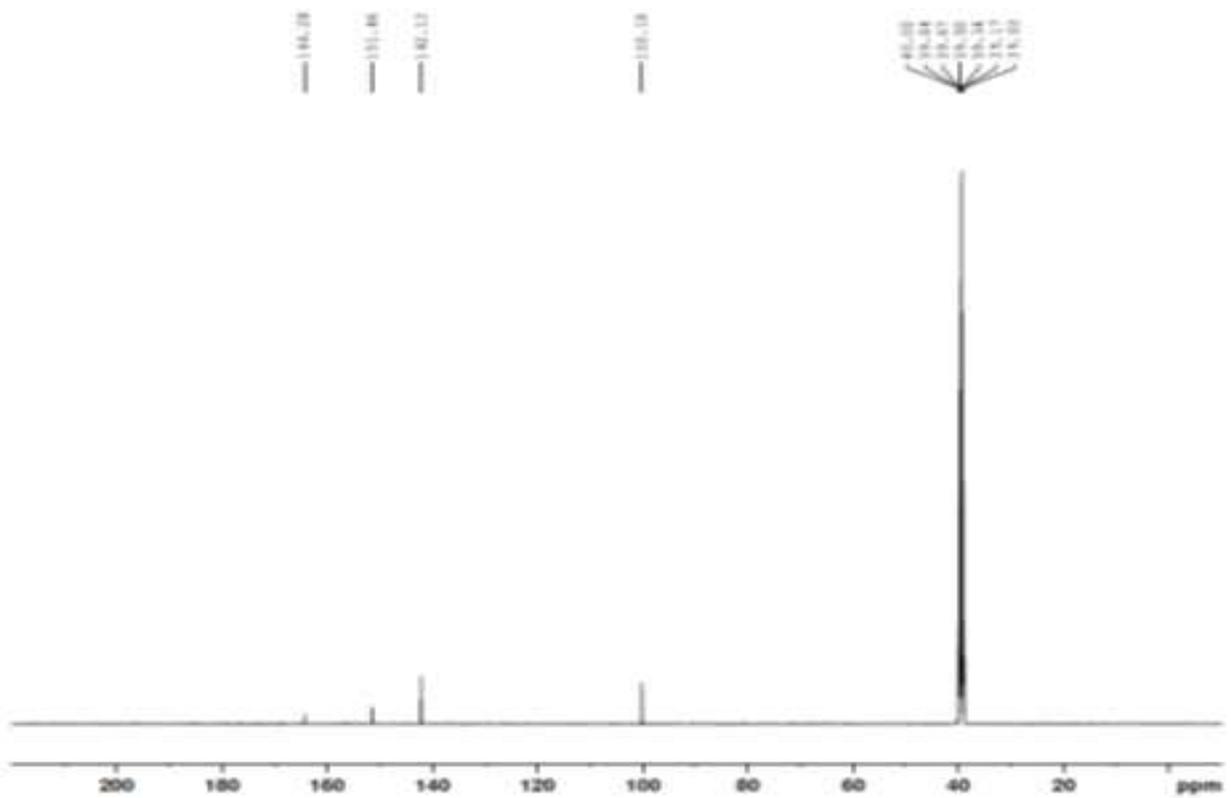


Figure 18. 7번 fr.의 ^{13}C -NMR spectrum

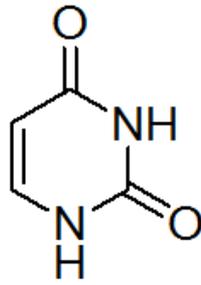


Figure 19. Pyrimidinedione의 구조

바. 기능성 물질 분석

(-)-Loliolide는 세포 독성 화합물로서 조류 성장억제, 항균, 개미 구충제와 면역 억제 효과의 다양한 효과를 가지고 있다. 루틴은 플라보노이드의 한 종류로서 항당뇨, 항산화, 항고혈압, 항염증과 항암의 효과가 보고되었다. 따라서 2차년도에 분리한 물질 중 위 두 물질에서 좋은 효능 등이 보고 되어서 함량 비교 실험을 진행하였다.

1) Loliolide의 함량 비교 결과

총 9점의 모시샘플을 각각 6, 7, 8, 9월별로 채집하여 추출물에서 loliolide의 함량을 알아보았다. Loliolide의 함량은 9월에 채집한 모시에서 가장 높은 함량을 보였다. 그 중에서 23번 모시에서 가장 함량이 많은 것으로 나왔다 (Table 1).

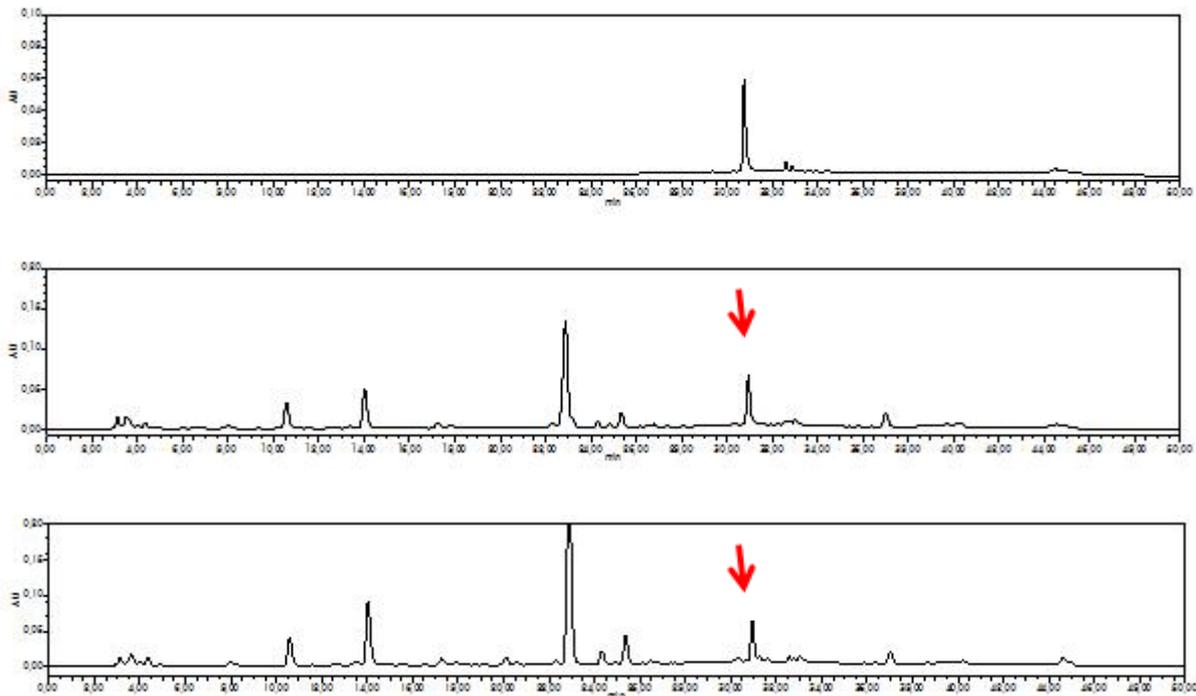


Figure 1. Loliolide, Bn-23, and Bn-90의 HPLC chromatograms

Table 1. 모시추출물에서 loliolide의 함량

Harvest time	Bn-02	Bn-07	Bn-10	Bn-23	Bn-38	Bn-41	Bn-67	Bn-76	Bn-90
June	5.02	6.35	6.93	5.89	4.31	4.24	4.91	5.12	5.46
July	4.32	6.42	7.72	7.97	4.05	4.32	5.65	6.67	5.39
August	3.52	5.17	3.90	4.27	3.26	4.72	3.82	3.30	3.31
September	7.04	7.25	7.43	7.86	6.76	6.38	7.60	6.79	4.77

Data is represented as the mean \pm SD (n = 3) in mg/g.

2) Rutin의 함량 비교 결과

총 9점의 모시샘플을 각각 6, 7, 8, 9월별로 채집하여 추출물에서 rutin의 함량을 알아보았다. Rutin의 함량은 9월에 채집한 모시에서 가장 높은 함량을 보였다. 그 중에서 76번 모시에서 가장 함량이 많은 것으로 나왔다 (Table 2).

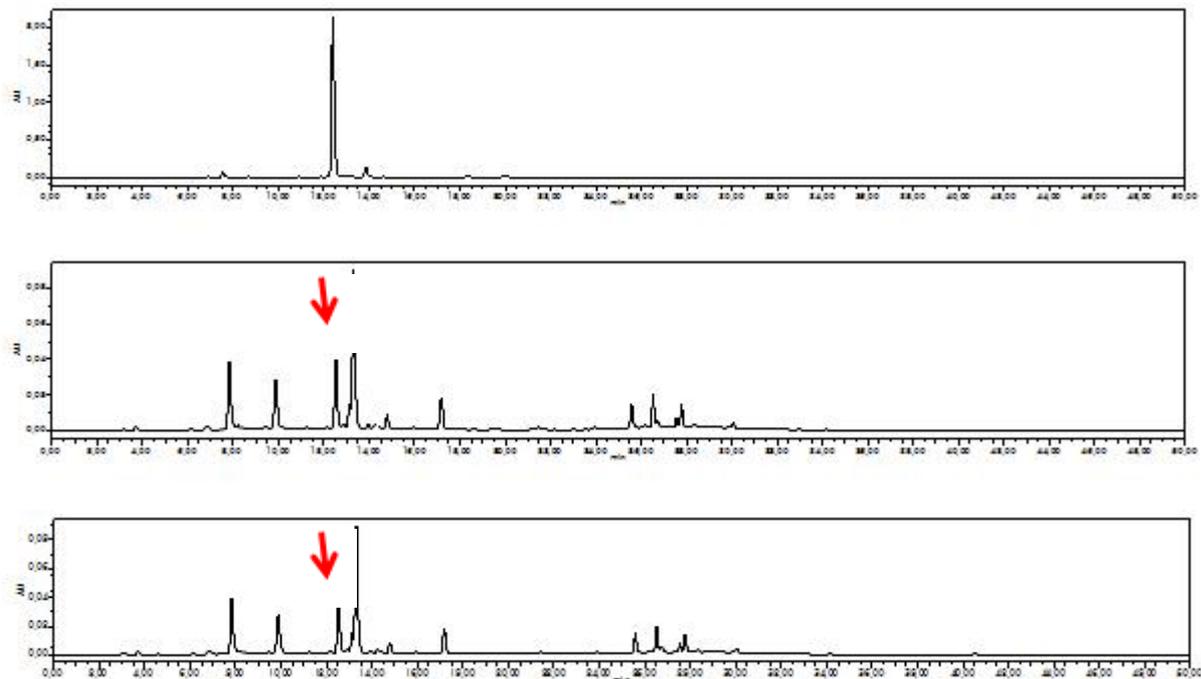


Figure 2. Rutin, Bn-23, and Bn-90의 HPLC chromatograms

Table 2. 모시추출물에서 rutin의 함량

Harvest Time	Bn-02	Bn-07	Bn-10	Bn-23	Bn-38	Bn-41	Bn-67	Bn-76	Bn-90
June	2.79	3.37	3.36	3.64	2.78	2.02	3.05	4.06	4.29
July	4.47	4.24	5.69	8.89	2.84	1.93	7.60	6.51	7.22
August	1.87	8.04	5.96	5.34	3.56	6.52	2.33	2.58	3.15
September	1.63	8.28	14.78	14.77	16.68	19.49	2.86	27.03	4.71

Data is represented as the mean \pm SD (n = 3) in mg/g.

3. 모시잎 고유 기능성물질의 *in vivo* 동물실험을 통한 약리 연구

가. *In vivo*에서의 모시의 인지능력 향상효과

1) 몸무게 추이 변화와 조직 무게

실험을 시작한 날부터 해부 마지막 날까지 체중의 변화량을 측정하였다(Fig. 1). Normal 군에서는 평균 5.25 g, AD를 유발하기 위해 $A\beta_{25-35}$ 를 주입한 control 군에서는 6.03 g, $A\beta_{25-35}$ 를 주입하고 나서 모시를 위내투여한 Bn-02 군은 6.75 g, Bn-90 군은 7.63 g의 체중 증가량을 보였다. 따라서 실험기간 동안 전 실험군에서 체중의 유의적 변화를 보이지 않았다. 행동실험 기간에도 체중이 유의적인 변화를 나타내지 않았다. Fig. 2는 해부 시 장기무게를 나타낸 결과이다. 간, 신장과 뇌의 무게는 각 군 간의 유의적인 차이는 보이지 않은 것으로 사료된다.

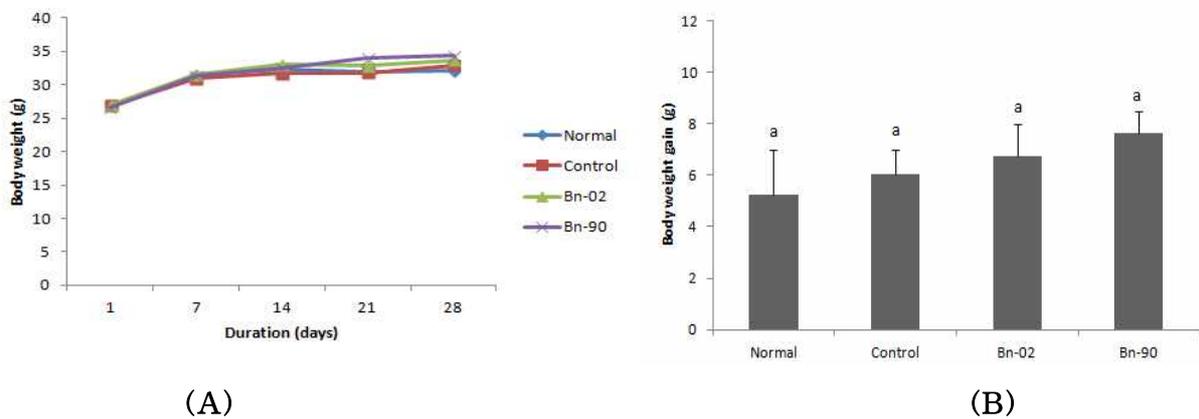


Figure 1. Effect of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. methanol extract on body weight (A) and body weight gain (B) against $A\beta_{25-35}$ injection to ICR mouse

Values are means \pm SD.

^{a,b}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Normal : 0.9% NaCl injection + oral administration of 0.5% CMC

Control : $A\beta_{25-35}$ injection + oral administration of 0.5% CMC

Bn-02 : $A\beta_{25-35}$ injection + oral administration of Bn-02 methanol fraction (200 mg/kg/day)

Bn-90 : $A\beta_{25-35}$ injection + oral administration of Bn-90 methanol fraction (200 mg/kg/day)

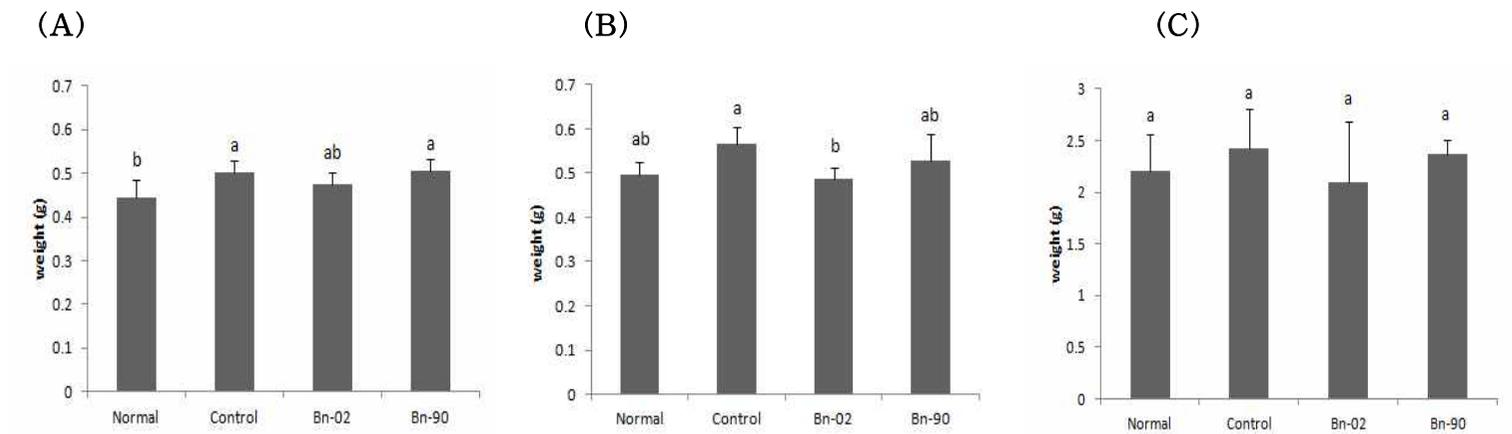


Figure 2. Effect of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. methanol extract on brain (A), kidney (B), liver (C) weight against $A\beta_{25-35}$ injection to ICR mouse

Values are means \pm SD.

^{a~b}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

나. 행동실험을 통한 인지능력 향상효과

1) T-maze 실험을 통한 공간 인지능력 향상효과

T-maze test는 mouse의 공간 인지능력과 기억능력을 평가하기 위한 방법 중 하나이다. 공간을 탐지하는 mouse의 자연적인 행동에 의존되어 새로운 공간을 탐지하는 횟수를 측정하였다. 따라서 Aβ₂₅₋₃₅를 주입한 AD model에 모시 추출물을 경구투여한 후 T-maze test를 통한 공간인지능력 향상에 효과가 있는지 살펴보았다. Mouse를 훈련기간 동안 한 쪽 구역을 막아 훈련시킨 다음 24시간 후 한 쪽 팔을 막았던 장치를 치우고 새로운 길을 탐지하는 횟수를 측정하였다. 새로운 길을 탐지한 횟수를 비율로 나타내었을 때 normal 군은 기존의 길보다 새로운 길을 탐지하는 횟수가 증가하여 비율이 55.78%이었으나 control 군은 새로운 공간을 탐지하는 능력이 부족하여 50.23%로 나타났다. 반면 Bn-02군과 Bn-90군은 각각 55.95%와 56.72%로 normal과 비슷한 수치를 보여 새로운 공간을 인식하는 능력이 향상된 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 3).

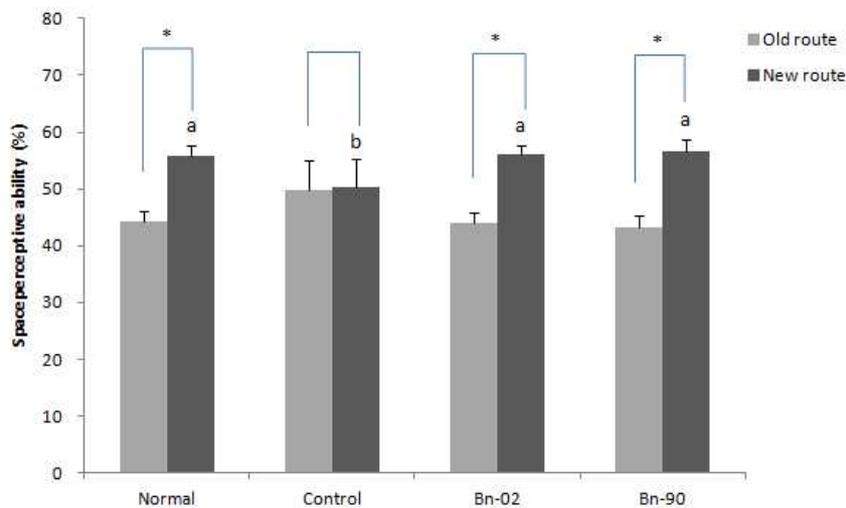


Figure 3. Spatial alternation test in the T-maze

Values are means±SD.

^a_bMeans with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

*Mean the space perceptive ability of old route and new route are significantly different as determined by one-way ANOVA, followed by Duncan's post hoc test ($P<0.05$).

2) 물체 인지 실험을 통한 물체 인지능력 향상효과

물체 인지 테스트는 실험으로 새로운 환경에 노출된 mouse의 자연, 탐구능력을 기반으로 하여 서로 다른 두 개의 물체를 인지하는 능력을 평가하는 실험으로 mouse는 기존의 물체보다 새로운 물체에 대한 호기심이 월등히 많다. 따라서 훈련 날에는 서로 같은 모양의 물체를 주어 탐지하게 하였을 때 탐지하는 횟수가 비슷하나 24시간 후 기존의 물체 중 하나를 새로운 물체로 바꾸었을 때 mouse는 새로운 물체에 대한 호기심을 더 많이 보여 탐지하는 횟수가 증가하게 된다. Normal 군의 경우 새로운 물체를 탐지하는 횟수가 59.51%로 나타났으나 $A\beta_{25-35}$ 주입으로 인해 뇌 손상이 유발된 control 군은 50.03%로 새로운 물체에 대한 인지도 차이를 보이지 않았다. 또한 Bn-02과 Bn-90 군은 각각 61.14%, 61.00%로 새로운 물체에 대한 호기심으로 탐지하는 횟수가 증가된 것으로 보아 모시 추출물의 투여는 물체 인지 능력이 향상 되어 기억, 학습 능력에 대한 보호효과가 있는 것으로 사료 된다(Fig. 4).

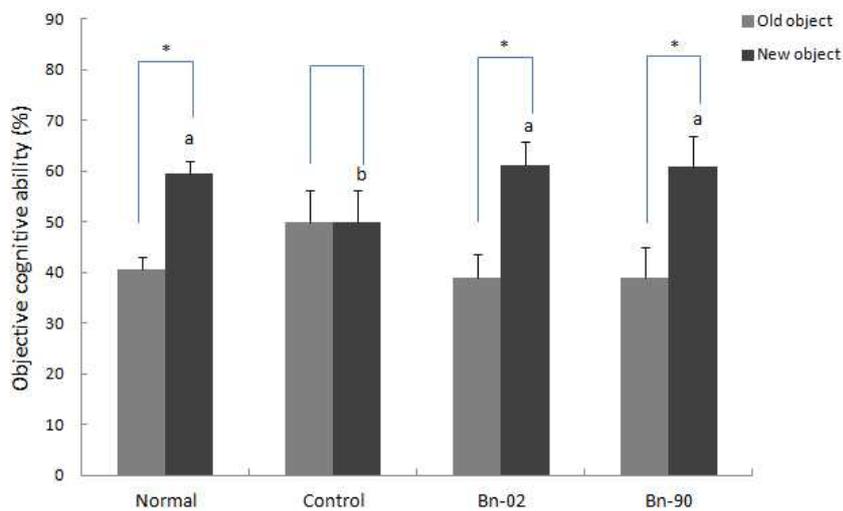


Figure 4. Percentage change of objective cognitive test scores

Values are means±SD.

^{a,b}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

*Mean the space perceptive ability of old route and new route are significantly different as determined by one-way ANOVA, followed by Duncan's post hoc test ($P<0.05$).

3) Morris water maze 실험을 통한 공간인지 능력 향상효과

Fig. 5는 mouse가 도피대에 도달하는 시간의 변화를 나타내는 것으로 normal 군의 경우 훈련을 반복함에 따라 도피대를 찾아가는 시간이 점차 줄어들었으나 $A\beta_{25-35}$ 투여로 인한 기억손상을 유도한 control 군은 훈련기간이 길어져도 도피대를 찾는 시간의 감소폭이 가장 적은 것

을 확인 할 수 있었다. 반면 Bn-02 군과 Bn-90 군은 normal 군과 비슷하게 도피대를 찾아가는 시간이 단축 된 것을 확인 할 수 있었다. 마지막 날에 마우스의 공간인지 기억능력 향상효과에 대해 알아보기 위해 도피대를 치우고 도피대가 있던 사분면에 마우스가 머문 시간을 측정하였다 (Fig. 6). Control 군이 도피대가 있던 사분면에 머무는 시간을 25%라 하였을 때 normal 군이 머문 시간이 40.59%이며 Bn-02 군과 Bn-90 군은 각각 41.83%와 40.59%로 normal 군과 유사한 수준으로 도피대가 있던 사분면에 머무는 시간이 증가한 것으로 보아 모시 투여군은 사분면이 있던 공간단서를 기억하는 능력이 향상된 것을 확인할 수 있었다. 마지막에 숨겨진 도피대의 경우 Bn-02과 Bn-90 군은 도피대를 찾아가는 시간이 normal 군과 유사하였으나 노출된 도피대의 경우 normal, control, Bn-02, Bn-90 군 모두 도피대를 찾아가는 시간에 유의적 차이가 없는 것으로 보아 mouse가 도피대를 찾아가는 것이 시각능력이 아닌 기억능력에 의한 것임을 확인할 수 있었다 (Fig. 7). 따라서 모시는 T-maze와 물체인지 test를 통한 단순 기억능력뿐만 아니라 장기 기억능력과 그에 따른 공간인지능력의 향상에도 우수한 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

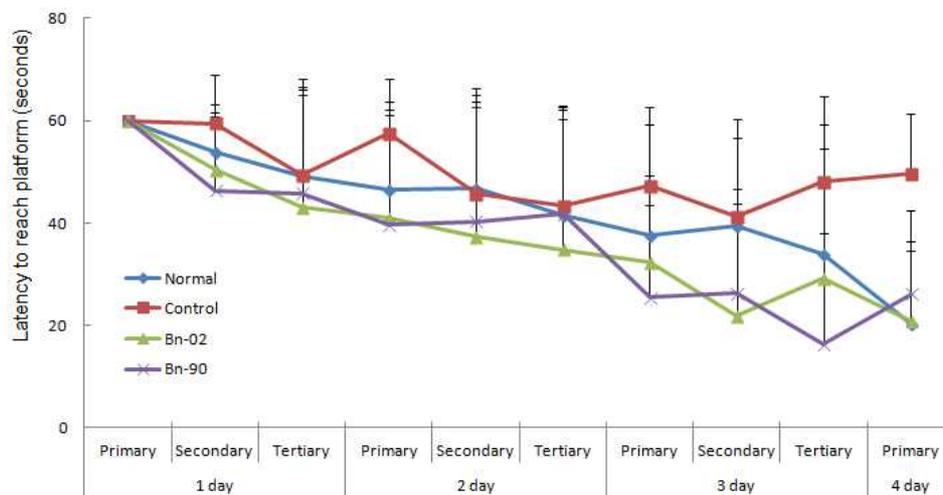


Figure 5. Effect of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. on spatial learning and memory impairment in mice by injection of $A\beta_{25-35}$ in Morris water maze test
Values are means \pm SD.

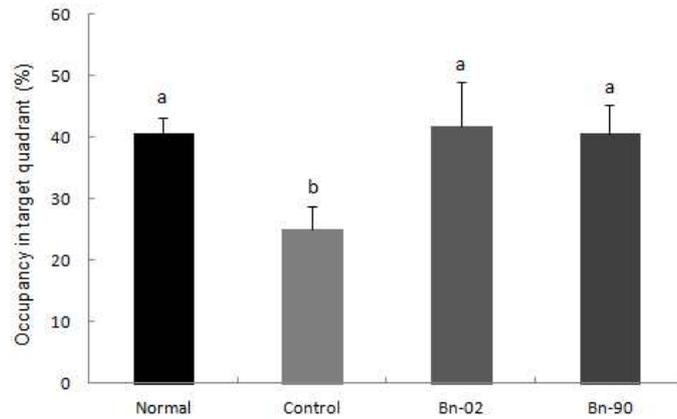


Figure 6. Effect of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. on memory impairment induced by injection of $A\beta_{25-35}$ in Morris water maze test

Values are means \pm SD.

^a^bMeans with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

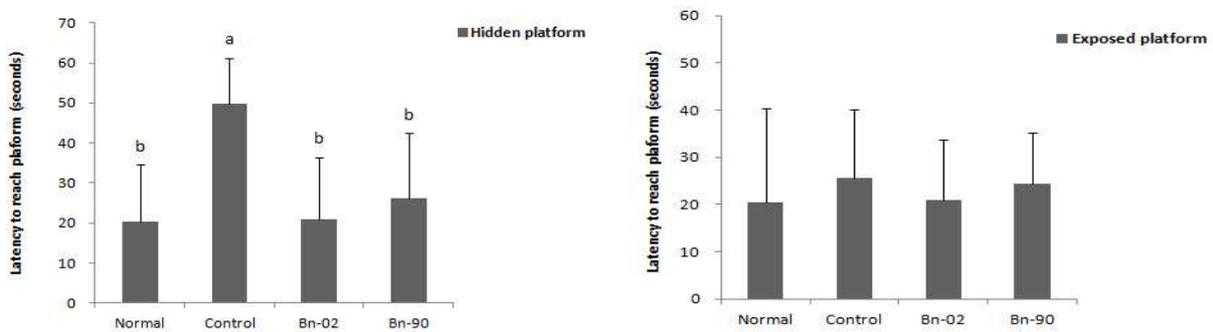


Figure 7. The latency on reach hidden and exposed platform in Morris water maze test

Values are means \pm SD.

^a^bMeans with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

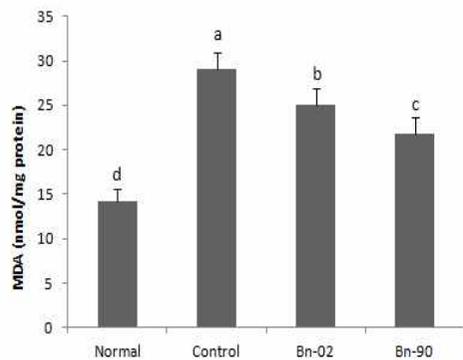
다. 조직에서의 산화적 스트레스 개선 효과

1) 조직에서의 지질과산화 생성 억제 효과

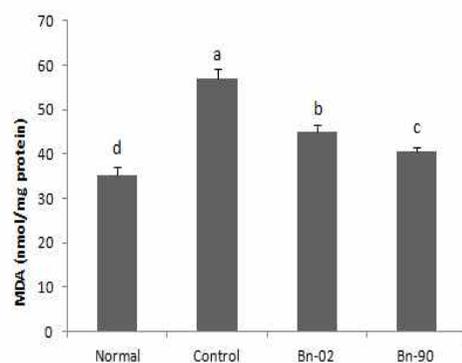
뇌의 지질과산화 정도를 살펴보면 MDA수치가 normal 군은 35.37 nmol/mg protein이었고 control 군은 57.10 nmol/mg protein으로 지질과산화가 더 많이 생성되었으나 Bn-02 군과 Bn-90 군은 각각 45.14 nmol/mg, 40.58 nmol/mg protein으로 control보다 낮은 수준을 나타내었다. 이러한 결과로 볼 때 모시 추출물은 뇌에서의 지질과산화에 대한 보호 효과가 있음을 확

인할 수 있었다 (Fig. 8). 신장에서의 지질과산화 억제 효과를 살펴보면 normal 군은 51.32 nmol/mg protein이었고 control 군은 70.58 nmol/mg protein으로 신장에서의 지질과산화가 증가한 것을 알 수 있다. 반면에 Bn-02 군과 Bn-90 군은 각각 58.41 nmol/mg, 54.66 nmol/mg protein이었고 normal과 비슷한 수준으로 나타내어 모시 추출물은 신장에서의 지질과산화 억제 효과가 뛰어난 것을 알 수 있다 (Fig. 8). 간장에서의 지질과산화 억제 효과를 살펴보면 MDA 수치가 normal 군은 14.15 nmol/mg protein인 반면에 control 군은 29.10 nmol/mg protein으로 A β ₂₅₋₃₅에 의해 간에서도 지질과산화가 일어났음을 확인할 수 있었다(Fig. 8). 반면 Bn-02 군과 Bn-90 군은 각각 25.01 nmol/mg protein, 21.86 nmol/mg protein으로 모시가 지질과산화 정도를 억제하는 것으로 사료되어진다.

(A)



(B)



(C)

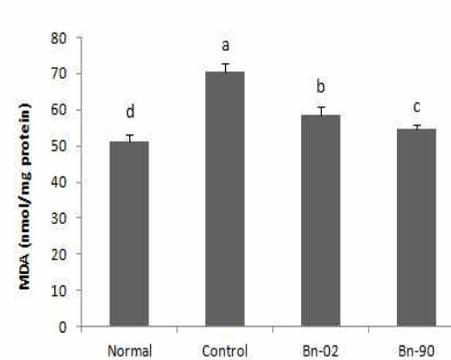


Figure 8. Effect of administration of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. methanol extract from lipid peroxidation in mouse brain (A), kidney (B), liver (C)

Values are means \pm SD.

^{a~d}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 조직에서의 NO 소거 효과

뇌 조직에서 NO 생성량 측정 결과를 살펴보면, normal 군에서는 13.06 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 이었고 control 군은 18.44 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 으로 $A\beta_{25-35}$ 주입으로 인해 NO가 증가하는 것을 알 수 있었다. 반면에 Bn-02 군과 Bn-90 군은 각각 16.13 $\mu\text{mol/L/mg protein}$, 13.86 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 으로 normal과 유사한 생성량을 보여 모시의 우수한 NO 생성 억제 효과를 확인할 수 있었다(Fig. 9). 신장에서의 NO 생성량에 대한 모시 추출물의 보호효과를 살펴본 결과(Fig 9), normal 군은 8.91 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 이었고 control 군은 10.34 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 으로 NO가 증가하는 것을 알 수 있었다. 반면에 Bn-02 군과 Bn-90 군은 각각 8.74 $\mu\text{mol/L/mg protein}$, 8.42 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 으로 normal과 유사한 생성량을 보여 우수한 NO 형성 억제 효과를 나타내었다. 간에서의 NO 생성량 측정 결과를 살펴보면, normal 군에서는 10.76 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 이었고 control 군은 19.67 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 이 생성된 반면에 Bn-02군과 Bn-90군은 각각 18.59 $\mu\text{mol/L/mg protein}$, 14.10 $\mu\text{mol/L/mg protein}$ 으로 NO 형성 억제 효과를 나타내었다 (Fig. 9).

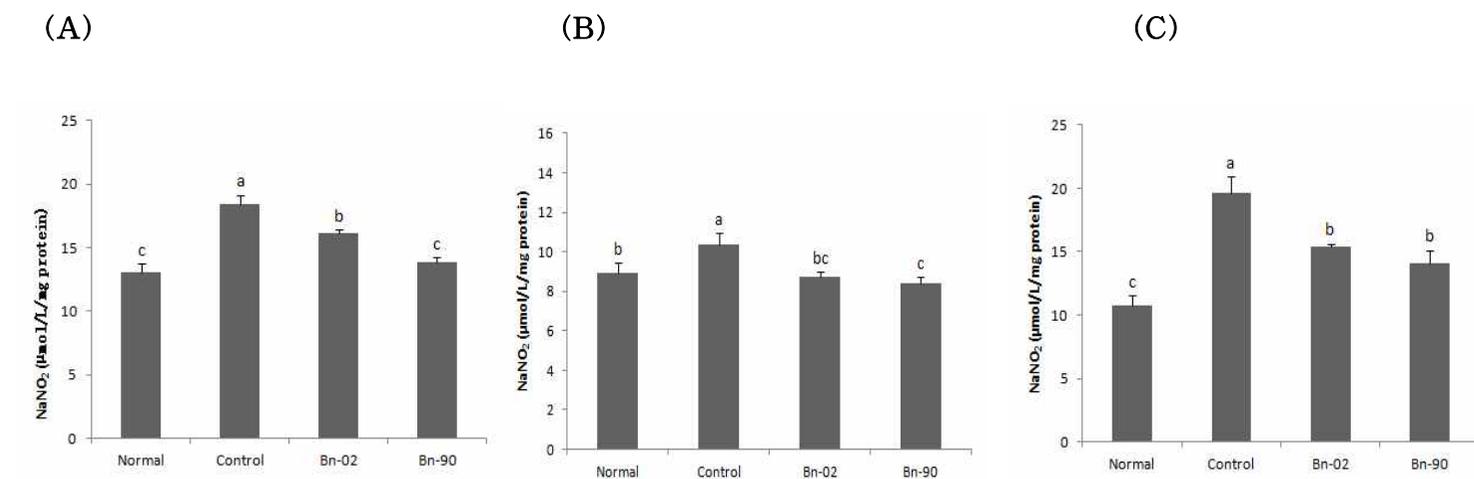


Figure 9. Effect of administration of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. methanol extract on A β_{25-35} -induced NO formation in mouse brain (A), kidney (B), liver (C)

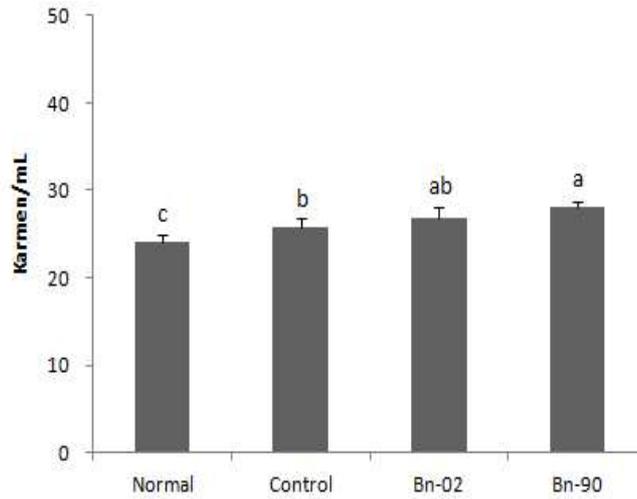
Values are means \pm SD.

^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) 혈청 중의 ALT와 AST 측정

모시 추출물의 투여가 간 손상을 일으켰는지를 알아보기 위해 ALT와 AST를 측정한 결과 모든 군에서 간 독성이 나타나지 않은 것을 확인할 수 있었다(Fig. 10).

(A)



(B)

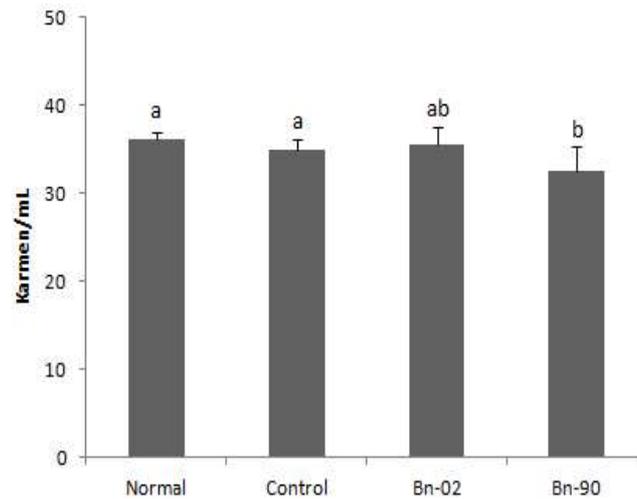


Figure 10. Activity of ALT (A) and AST (B) in the serum of mouse. Values are mean±SD.

^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

라. 활성물질 분리물의 *in vivo* 효능 및 작용 메카니즘 구명

1) Cellular system에서의 신경세포 보호효과와 기능성 작용 메카니즘 연구

○ SNP 처리로 유도된 산화적 스트레스 개선 효과 : 본 실험은 신경세포의 염증반응에 대한 보호효과를 알아보기 위해 C6 glial cell에 SNP를 처리하여 NO를 유발시켰다. SNP를 처리한 군의 NO 생성량은 13.59 μ M로 normal군에 비해 2배 이상 증가하였고 rutin을 처리한 결과 농도 유의적으로 normal군과 비슷한 수치를 나타냈다. 특히 50 μ g/mL에서 4.62 μ M의 NO 생성량을 나타내어 NO 생성 억제에 뛰어난 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 또한 SNP만 처리한 control군에 있어서는 세포생존율이 22.81%로 나타나 산화적 스트레스에 의한 손상을 확인할 수 있었고, rutin을 처리한 결과 세포생존율이 상승하여 염증에 대한 보호효과가 있는 것으로 사료된다(Fig. 2). Fig. 3 에서는 아무 것도 처리하지 않은 normal군에 비해 SNP를 단독 처리한 실험군에서는 유의성 있는 형광강도의 증가를 보이는 것을 확인할 수 있었다. 60분 동안 측정된 결과 SNP를 처리한 군에서는 시간이 지남에 따라 산화적 스트레스가 증가함을 알 수 있었다. 60분을 기준으로 control군을 100%로 하였을 때 normal군은 78.2%의 ROS 생성률을 보였고 rutin을 처리한 군은 control군보다 ROS 생성률이 낮아졌음을 알 수 있었다.

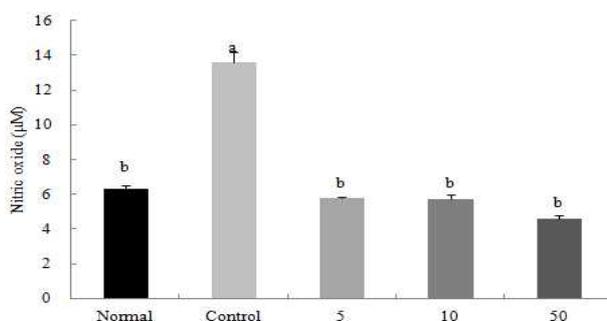


Figure 1. Effect of rutin from *B. nivea* on NO scavenging activity of C6 glial cells treated with SNP

Values are mean \pm SD.

^a^bMeans with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

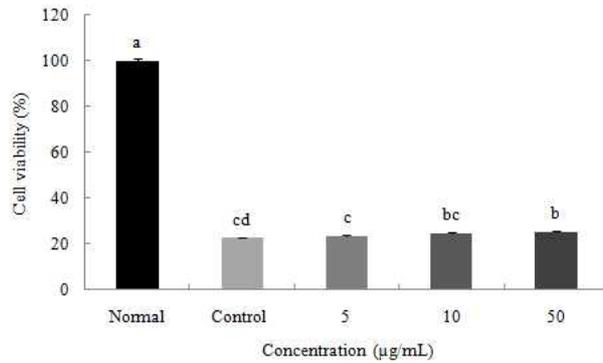


Figure 2. Effect of rutin from *B. nivea* on viability of C6 glial cells treated with SNP
Values are mean±SD.

^{a~cd}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

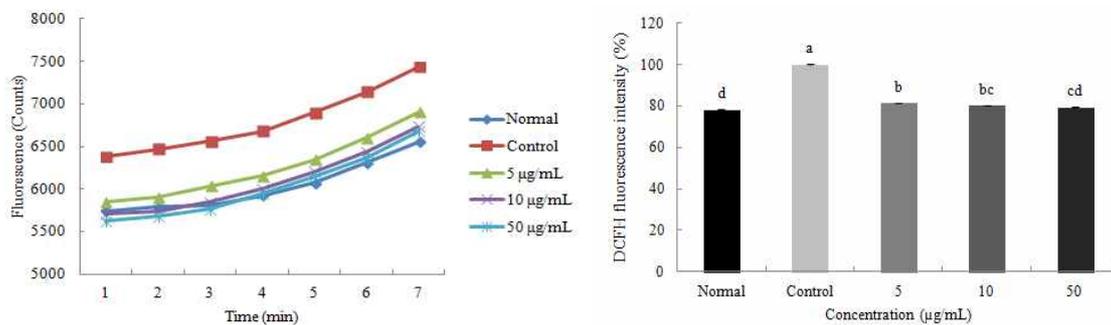


Figure 3. Effect of rutin from *B. nivea* on level of reactive oxygen species
in C6 glial cell treated with SNP

Values are mean±SD.

^{a~d}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

○ H₂O₂ 처리로 유도된 산화적 스트레스 개선 효과 : Rutin의 C6 glial cell에서 H₂O₂에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 보호효과를 측정 한 결과이다(Fig. 4). 세포생존율은 normal 100% 대비 H₂O₂를 처리한 control군에서는 44.9% 생존율을 나타내어 신경세포가 손상을 받은 것을 확인할 수 있었다. Rutin을 처리한 결과 control군보다 유의적으로 높은 세포생존율을 보였으며 농도에 의존적으로 세포생존율이 높아지는 것도 관찰할 수 있었다. 이에 따라 모시풀의 생리활성물질인 rutin은 인체 내에서 발생하는 활성산소의 생성을 억제하거나, 활성산소를 제거함으로써 신경세포를 보호하는 것으로 생각된다. Rutin의 세포 내 활성산소종 억제효과를 알아

보기 위해 C6 glial cell을 이용하여 DCFDA assay를 행하였다. Fig. 5 에서 control군은 시간이 지나감에 따라 normal군에 비해 ROS 생성량이 증가하였고 이를 통해 산화적 스트레스가 유발되었음을 알 수 있었다. 60분 기준으로 control군을 100%로 하였을 때 rutin을 농도별로 처리한 결과, 농도 유의적으로 ROS 생성량이 감소하는 것을 확인할 수 있었고 특히 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 normal군과 비슷하게 ROS 생성량이 감소된 것을 볼 수 있었다. 이 결과는 신경세포의 세포사멸 보호능 및 세포내 ROS 소거능과 상관관계를 가지고 있으며, 이러한 활성이 ROS에 의해 야기되는 뇌세포 사멸에 대한 보호 작용의 역할을 할 것으로 사료된다.

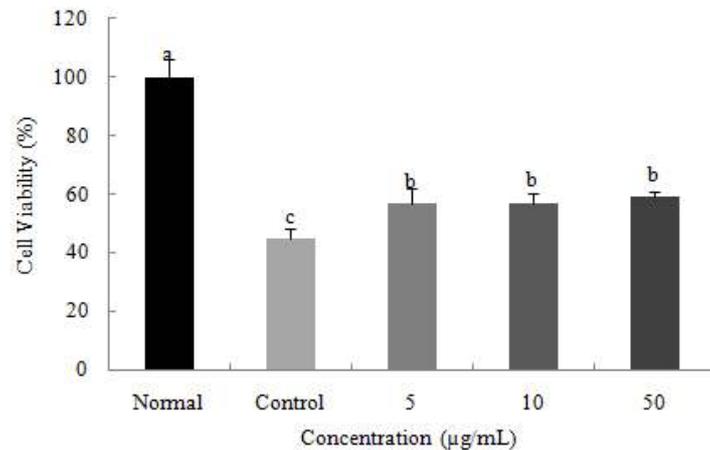


Figure 4. Effect of rutin from *B. nivea* on viability of C6 glial cells treated with H_2O_2 . Values are mean \pm SD.

^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

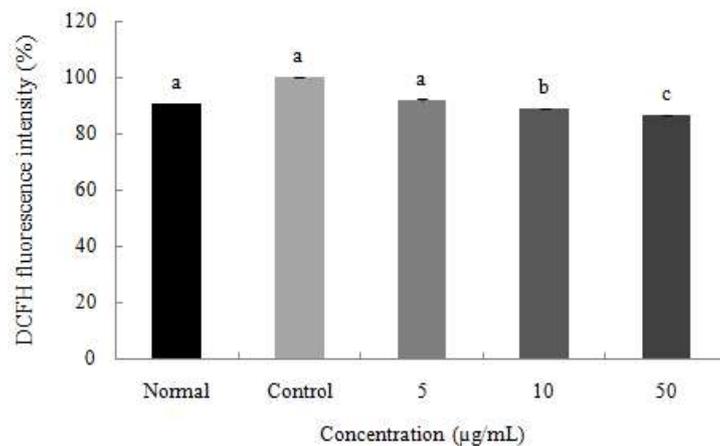


Figure 5. Effect of rutin from *B. nivea* on level of reactive oxygen species in C6 glial cell treated with H_2O_2

Values are mean \pm SD.

^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

A β_{25-35} 에 의한 산화적 스트레스 개선 효과 : C6 glial cell 세포에 A β_{25-35} 를 처리하여 산화적 손상을 유발함으로써 신경세포사멸을 일으킨 control군이 normal군에 비해 세포생존율이 42.3%로 감소한 것을 확인할 수 있었고 rutin을 농도별로 처리한 결과, 농도 유의적으로 세포 생존율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 6).

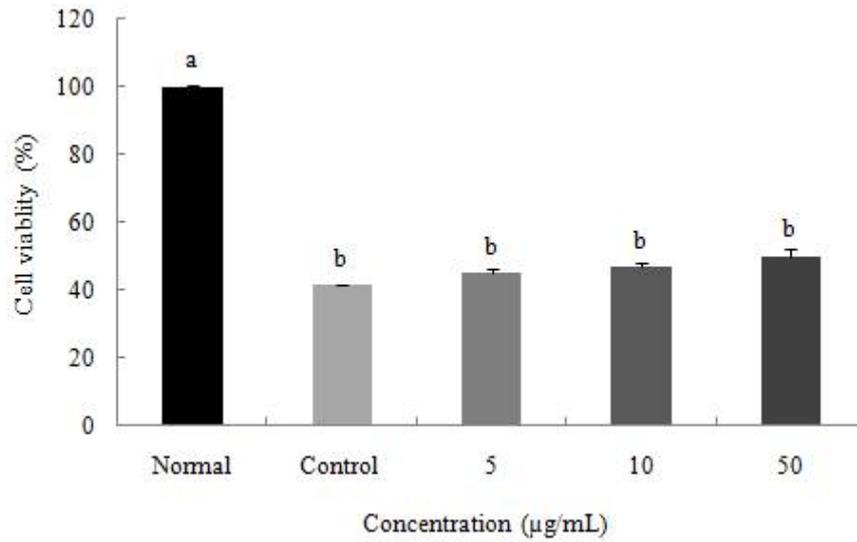


Figure 6. Effect of rutin from *B. nivea* on viability of C6 glioma cells treated with A β_{25-35}

Values are mean \pm SD.

^{a~b}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

제 3절. 모시 유전자원 분석 및 가공식품 원료 표준화를 위한 분자마커개발

1. 모시 유전자원 분석 및 품종 판별을 위한 SSR 분자 마커 개발(10개 마커 이상)

가. 재료 및 방법

식물 재료 및 게놈 DNA 추출

본 연구에 사용된 90점의 모시풀(*Boehmeria nivea*) 유전자원은 공동 연구진에 의해 발표된 이전 논문에 제시되었다(Lee et al., 2014). 모시풀(*B. nivea*; DNA No. 2005-1461)과 섬모시풀(*B. nivea* var. *tenacissima*; DNA No. 2012-1453)에 대한 DNA 시료는 고려대학교 김기중 교수가 운영하는 한국의 식물 DNA 은행(<http://pdbk.korea.ac.kr>)에서 분양 받았다. 각 유전자원 당 2개의 독립적인 식물체로부터 잎 조직을 채취하였다. 채취한 잎은 액체 질소로 얼린 후 게놈 DNA 추출을 위해 -80도에 보관하였다. 게놈 DNA의 대량 분리를 위하여 잎 조직을 액체 질소로 마쇄한 후 Doyle (1991)의 방법에 따라 게놈 DNA를 분리하였다. PCR과 세노타이핑을 위한 게놈 DNA의 소량 분리는 Biomedic[®] Genomic DNA Extraction Kit (Biomedic, Bucheon, Korea)를 사용하여 분리하였다. 분리된 게놈 DNA의 양과 질은 각각 DeNovix DS-11+ Spectrophotometer (DeNovix, Wilmington, DE, USA)와 아가로스 겔 전기영동을 통해 결정하였다.

핵 리보소말 ITS 영역의 증폭 및 계통수 분석

ITS 영역은 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 프라이머로 HSTM Taq DNA polymerase (Dongsheng Biotech, Guangzhou, China)를 사용하여 증폭시켰다. PCR 증폭을 위한 조건은 다음과 같다: 초기 열변성(1회)-96도 5분, DNA 증폭(총 30회 반복)-94도 30초, 55도 30초, 72도 1분, 최종 신장 반응(1회)-72도 5분. PCR 산물은 Biomedic[®] Gel & PCR DNA Purification Kit (Biomedic)를 사용하여 정제한 후, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)와 ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems)를 이용하여 ITS1과 ITS4 프라이머로 시퀀싱을 수행하였다. 9개 한국 자생 모시풀 속(*Boehmeria*) 종과 변종의 ITS 서열은 이전의 논문(Liang, 2009)을 참고하였다. 계통수 분석은 Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) 소프트웨어(version 5.0.; Tamura et al., 2011)로 수행하였으며, 계통수는 neighbor-joining tree 방법에 따라 작성하였다. 최종 계통수는 1,000회 반복을 토대로 한 부트스트랩 분석으로 산정하였다.

SSR 마커의 개발

미소부수체[마이크로새틀라이트 또는 SSR (simple sequence repeat)] 농축 라이브러리는

Glenn과 Schable (2005)의 방법에 따라 제작하였다. 간략히 서술하면, 모시풀(한산 백피 품종)의 게놈 DNA를 제한효소 *Rsa* I으로 절단하여 대략 300~1,000 염기쌍에 해당하는 DNA 절편들을 얻고, 이들 절편을 링커와 연결반응을 수행하였다. 연결반응 산물은 3' 말단이 비오틴으로 표지된 미소부수체 탐침과의 혼성화를 통한 증폭 농축 단계에 사용하였다. 미소부수체 서열이 풍부한 DNA 절편은 pGEM-T 벡터(Promega, Madison, WI, USA)와의 연결반응에 사용하였으며, 연결반응 산물을 대장균 DH5a 균주의 형질전환에 사용하였다. 형성된 콜로니로부터 재조합 클론을 확인하기 위하여 M13 정방향 및 역방향 프라이머 세트를 이용하여 콜로니 PCR을 수행하였다. 증폭산물을 정제하여 ABI3730 DNA 서열 분석기를 이용한 염기서열 분석에 사용하였다. 벡터와 링커 서열을 제거한 후, Lasergene SeqMan 소프트웨어(ver. 7.0.0; DNASTAR, Madison, WI, USA)를 이용하여 염기서열을 조립하고 중복이 제거된 콘티그를 확보하였다. 2개에서 6개 뉴클레오티드에 대해서는 최소 3회 반복, 복합 형태에 대해서는 100개 염기쌍 이내의 간격을 갖는 경우를 기준으로 MISA 소프트웨어(<http://www.pgrc.ipk-gatersleben.de/misa>)를 사용하여 잠재적인 SSR 마커들을 확보하였다. PCR 프라이머 디자인을 위해 증폭 크기는 85~350 염기쌍, 프라이머 결합 온도는 57-60도를 기준으로 하였다. 본 실험에 사용된 프라이머는 (주)바이오메딕에서 합성하여 제공하였다. 프라이머의 특이성 여부는 게놈 DNA를 주형으로 사용한 통상적인 PCR 증폭 반응을 통해 검증하였다. 다형성 마커의 일차 선별은 10개의 모시풀 유전자원에서 추출한 게놈 DNA를 동량 혼합하여 주형으로 사용한 PCR을 통해 수행하였다. PCR 증폭 산물은 2% 아가로스 겔에서 전기영동하였다.

Gene Ontology (GO) 주석달기

SSR 영역을 함유하는 유전자들은 컷오프 E-value를 $\leq 1e^{-10}$ 으로 하여 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)와 Phytozome (<http://www.phytozome.net>) 데이터베이스를 검색하여 서열 유사도로 확인하였다. GO 주석달기는 Blast2GO 소프트웨어 (Conesa *et al.*, 2005)로 유전자 산물의 특성을 나타냄으로써 수행하였다. 유전자 산물은 3가지 GO 용어에 따라 배정하였다: 생물학적 과정(BP), 분자적 기능(MF), 세포내 구성 요소(CC).

PCR 증폭 및 genotyping

게놈 DNA는 핵산가수분해효소가 제거된 멸균 증류수(Biomedic)에 25 ng/ μ l이 되도록 희석하였다. PCR 반응은 50 ng 게놈 DNA, 1 x HSTM Taq DNA 중합효소 완충액, 1.5 mM MgCl₂, 각각 0.2 mM dNTP, 각각 0.2 μ M의 프라이머, 1.25 unit HSTM Taq DNA 중합효소를 포함하는 50 μ l의 반응부피에 ABI 2720 thermal cycler (Applied Biosystems)를 사용하여 수행하였다. PCR 증폭을 위한 조건은 다음과 같다: 초기 열변성(1회)-95도 5분, DNA 증폭(총 34회 반복)-94도 30초, 57-60도 30초, 72도 1분, 최종 신장 반응(1회)-72도 30분. PCR 증폭산물은 증폭여부를 확인하기 위하여 1.5% 아가로스 겔에서 전기영동하였다. 본 실험에 사용한

PCR 프라이머 세트는 Table 2에 정리하였다. 정방향 프라이머의 5' 말단은 형광염료인 6-FAM (Applied Biosystems)으로 표지하였다. PCR 증폭 후, 0.2 μ l의 PCR 증폭산물을 9.8 μ l의 Hi-Di formamide, 0.2 μ l의 GeneScanTM 500 LIZ[®] 사이즈 스탠다드(Applied Biosystems)와 혼합하였다. 혼합물은 95도에서 5분간 변성시킨 후 얼음에 방치하였다. 증폭된 DNA 절편은 50 cm 모세관이 장착된 ABI3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems) 상에서 모세관 전기영동을 통해 DNA 절편들을 분리하였다. 대립유전자의 크기는 GeneMapper 소프트웨어(ver. 4.0; Applied Biosystems)를 사용하여 분석하였다.

데이터 분석

주요 대립유전자 빈도(MAF), 대립유전자 수(NA), 유전 다양성(GD), 다형성 정보 함유량(PIC)을 포함한 유전적 매개변수는 PowerMarker 소프트웨어(version 3.25; Liu and Muse, 2005)를 이용하여 공유하는 대립유전자 빈도를 계산함으로써 측정하였다. 이형접합도 기대치(HE)와 관찰치(HO)는 POPGENE (version 1.31; Yeh et al., 1999)을 이용하여 분석하였다. UPGMA 계통수는 MEGA 소프트웨어(version 5.0; Tamura et al., 2011)를 사용하여 작성하였다.

유전자원의 순도 검정

일부 모시풀 유전자원의 순도 검정을 위하여 각 유전자원당 17-20개의 식물체로부터 게놈 DNA를 Biomedic[®] Genomic DNA Extraction Kit (Biomedic, Bucheon, Korea)를 이용하여 분리하였다. PCR 증폭과 제노타이핑은 8개의 SSR 마커를 사용하여 수행하였고, UPGMA 계통수는 MEGA 소프트웨어(version 5.0; Tamura et al., 2011)를 사용하여 작성하였다.

SSR 마커의 multiplex genotyping

SSR 마커를 활용한 multiplex genotyping을 위하여 12개 마커에 대해 4개 마커를 하나의 조합으로 하는 3개 조합을 구성하였다. 각 조합당 작은 사이즈 절편 2개, 큰 사이즈 절편 2개로 구성하였으며, 4개의 프라이머 조합에 대해 정방향 프라이머는 각각 FAM, NED, VIC, PET 형광 dye로 표지하였다. PCR 당 4개 프라이머 조합을 적절한 비율로 조정하여 주형 DNA와 혼합한 후, HSTM Taq DNA 중합효소(Dongsheng Biotech)를 이용하여 PCR 반응을 수행하였다. 아가로스 겔 전기영동을 통해 PCR 증폭 여부를 확인한 후, 전술한 방법에 따라 ABI3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems)를 이용하여 fragment analysis를 수행하였다.

나. 결과 및 고찰

핵 리보소말 ITS 서열을 이용한 모시풀 유전자원의 계통수 분석

한국에는 모시풀 속에 속하는 식물이 7종, 2변종이 자생하는 것으로 알려져 있다(Kim, 2007; Liang, 2009). 모시풀 유전자원의 모든 수집 자원들이 모시풀(*B. nivea*)로 분류되는지의 여부를 파악하기 위하여 90점의 유전자원으로부터 ITS 영역을 증폭하여 염기서열을 결정하였다. 또한 한국의 식물 DNA 은행(<http://pdbk.korea.ac.kr>)으로부터 모시풀과 섬모시풀 DNA를 분양 받아 ITS 서열을 증폭하여 염기서열을 결정하였다. 모시풀 속에 속하는 7종, 2변종에 대한 ITS 서열은 이전의 논문을 참고하였다(Liang, 2009). 90점의 모시풀 유전자원에서 확보된 ITS1, 5.8S, ITS2 영역의 크기는 각각 214, 164, 229 염기쌍이었다. ITS1 영역의 116번째 위치에서 A→C 염기변이를 보이는 Bn-55 자원과 BNI2 (모시풀; Liang, 2009)를 제외한 나머지 모시풀 유전자원 및 모시풀에 대한 기준종(Liang, 2009; PDBK No. 2005-1461) 간에 ITS 영역의 크기와 서열 변이는 없었다(Fig. 1). ITS 서열을 토대로 90점의 모시풀 유전자원과 국내 자생 모시풀속 식물 7종 2변종의 계통학적 유연관계를 추가로 분석하기 위하여 neighbor-joining tree 방법으로 계통수를 작성하였다. 췌기풀과에 속하는 모시물통이(*Pilea mongolica*)의 ITS 서열을 외집단(outgroup)으로 사용하였다. 계통수 작성 결과, 89점의 자원은 PDBK 2005-1462 (*B. nivea*) 및 BNI (*B. nivea*; BNI1, 3, 4; Liang, 2009)와 같은 그룹을 형성하였는데, 이는 거의 모든 모시풀 유전자원이 모시풀(*B. nivea*)로 분류될 수 있음을 나타낸다. 반면, Bn-55 자원은 PDBK 2012-1453(*B. nivea* var. *tenacissima*), BNI2, BNT(*B. nivea* var. *tenacissima*; BNT1, 3; Liang, 2009)와 서브그룹을 형성하였다(Fig. 2와 3). Bn-55 자원이 섬모시풀로 분류될 수 있는지의 여부를 파악하기 위해서는 염색체 바코딩 마커나 SCAR, SNP와 같은 다른 유형의 분자 마커를 이용한 추가분석이 필요하다(Shaw et al., 2007; Li et al., 2010; Costion et al., 2011).

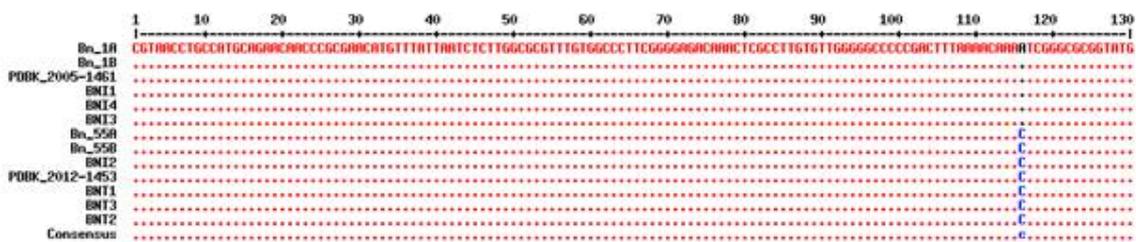


Fig. 1. Multiple sequence alignment of a part of ITS1 region. Two individual plants for Bn-1 accession were used as representatives of 90 ramie resources except for the accession Bn-55. BNIs and BNTs are accessions for *B. nivea* and *B. nivea* var. *tenacissima*, respectively, which were inferred from a literature (Liang, 2009). PDBK_2005-1461 and PDBK_2012-1453 are also accessions for *B. nivea* and *B. nivea* var. *tenacissima*, respectively, which were obtained from Plant DNA Bank in Korea (PDBK, <http://pdbk.korea.ac.kr>). The nucleotide sequences that were completely conserved among accessions are denoted by red dots.

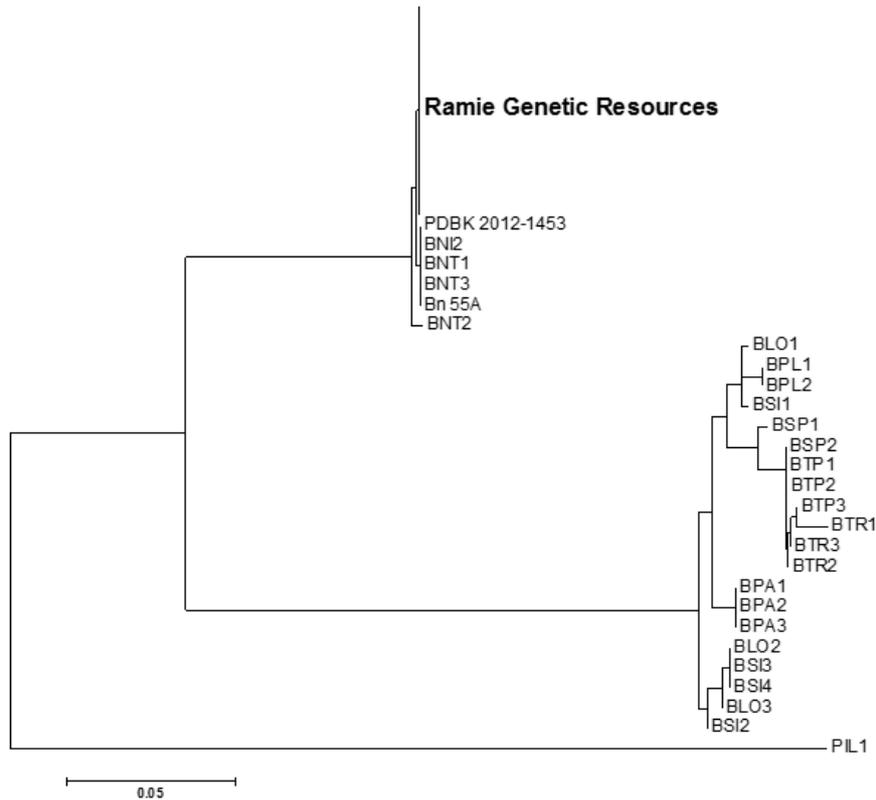


Fig. 3. A simplified Neighbor-Joining tree of ramie genetic resources using ITS sequences. Except for Bn55A that was clustered with PDBK 2012-1453 (a specimen for *B. nivea* var. *tenacissima* of PDBK) and BNT accession (Liang, 2009), all of the ramie genetic resources were clustered with PDBK 2005-1461 (a specimen for *B. nivea* of PDBK) and BNI accession (Liang, 2009).

SSR 마커의 개발 및 특성 분석

미소부수체(마이크로세틀라이트) 농축법은 식물을 포함한 다양한 생물체로부터 효율적으로 SSR 마커를 발굴하기 위하여 광범위하게 사용되어 왔다(Glenn and Schable, 2005; Zhao et al., 2012). 2-, 3-, 4-뉴클레오티드 유형의 SSR 모티프가 효율적으로 농축된 라이브러리를 모시풀 게놈 DNA를 사용하여 작성하였다. 전체 376개의 재조합 클론에 대해 벡터 프라이머를 이용하여 양방향 염기서열을 결정하였다. 최종적으로 콘티그 어셈블리 과정을 통해 255개의 비중복 콘티그 서열을 확보하였다. 이들 중에서 247개 콘티그가 SSR을 함유하였으며, 콘티그 합의 길이는 168,478 염기쌍이었다(Table 1). MISA 소프트웨어를 사용하여 분석한 결과, 전체 1,220개의 SSR 좌위가 콘티그 서열로부터 확인되었다. 이상의 결과는 미소부수체(마이크로세틀라이트) 농축법이 이전에 보고된 바와 같이(Zane et al., 2002) SSR을 분리하기 위한 효율적인 방법임을 제시한다. 2-뉴클레오티드 반복이 가장 풍부하였으며(808, 66.2%), 3-뉴클레오티드 반복(205, 16.8%), 4-뉴클레오티드 반복(123, 10.1%), 6-뉴클레오티드 반복(23, 1.9%), 5-뉴클레오티드 반복(22, 1.8%) 및 복합 유형을 포함한 기타(39, 3.2%) 순이었다(Table 1과 2). 2-, 3-,

4-뉴클레오티드 반복 중에서 TC(139), CGG(12), CTT(12), TCT(12), TTG(10) 모티프가 우세하였다(Fig. 3과 Table 2). 3-뉴클레오티드 반복이 식물에서 가장 풍부한 것으로 알려져 있다 (Varshney et al., 2005; Kalia et al., 2011). 그러나, 식물 계통에서 2- 또는 3-뉴클레오티드 반복의 빈도는 때로 식물 종에 따라 다르다. 예를 들면, 거베라(*Gerbera hybrida* H.)의 계통에 2-뉴클레오티드 반복이 가장 풍부하며(62.3%), 3-뉴클레오티드 반복(36.8%)이 그 다음이다(Seo et al., 2012). 모시풀 EST-SSR 분석에 의하면, 2-뉴클레오티드 반복의 빈도가 3-뉴클레오티드 반복과 매우 유사하였다(Liu et al., 2013a). Yu 등(2004)의 보고에 의하면, 3-뉴클레오티드 반복은 비해독 부위에 비해 해독부위에서 더욱 빈번하게 발견되었다. Metzgar 등(2000)은 해독부위에서 3-뉴클레오티드(또는 6-뉴클레오티드)가 풍부하게 존재하는 것은 해독 DNA 영역에서의 SSR 확장을 제한하기 위하여 틀변경 돌연변이에 대응한 특이적 선택에 기인하는 것으로 제안하였다. 본 연구에서 2-뉴클레오티드 반복의 높은 빈도는 우리의 SSR 마커는 계통 DNA에서 개발한 것에 기인한 것으로 판단된다.

비중복 컨티그 서열을 이용하여 Phytosome 데이터베이스에 대한 BlastX 검색 결과, 129개의 컨티그가 전사조절인자, 대사경로 효소 등을 비롯한 다양한 기능 단백질과 서열 유사도를 보였다(Table 3). 이들 중에서, BnR2087과 BnR3039 컨티그가 *WALLS ARE THIN1 (WATI)* 과 pectin methyltransferase 유전자와 높은 서열 유사도를 보였다. *WALLS ARE THIN1 (WATI)*은 2차 세포벽 형성에서 중요한 역할을 수행하며(Ranocha et al., 2010), pectin methyltransferase는 세포벽 구성 성분인 펙틴의 demthylesterification을 통해 세포벽 변형에 관여하는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2015). 이들 두 유전자는 섬유 형질과 연관된 분자마커의 선별을 위한 후보 유전자가 될 수 있을 것이다. SSR을 함유하는 비중복 컨티그의 특성을 나타내기 위하여 GO 주석달기를 수행하였다. 그 결과, 70개 컨티그가 3개의 GO 카테고리 중에서 하나로 배정되었다: 생물학적 과정(BP), 분자적 기능(MF), 세포내 구성 요소(CC)(Supplementary Table 3 and Supplementary Fig. 3). BP 카테고리에서는 세포 물질대사 과정 및 유기물 대사 과정이 가장 우세했으며, 1차 대사 과정이 그 뒤를 이었다. MF 카테고리에서는 유기 고리 화합물 결합과 헤테로고리 화합물 결합이 가장 우세하였다. CC 카테고리에서는 세포내 파트가 주요 그룹이었다(Fig. 4).

Table 1. Summary of searches for genomic SSRs of ramie.

Search item	Numbers
Total number of non-redundant contigs examined	255
Total number of non-redundant contigs containing SSRs	247
Total size of contigs containing SSRs (bp)	168,478
Total number of SSRs identified	1,220
2-nucleotide type	808
3-nucleotide type	205
4-nucleotide type	123
5-nucleotide type	22
6-nucleotide type	23

7-nucleotide type	1
9-nucleotide type	1
Composite type	37

Table 2. Motif types and counts of simple SSRs from the non-redundant contigs.

Repeat type	Motif type	Counts	Repeat type	Motif type	Counts	Repeat type	Motif type	Counts	Repeat type	Motif type	Counts	Repeat type	Motif type	Counts	Repeat type	Motif type	Counts	Repeat type	Motif type	Counts
2-nt	AC	48	3-nt	AA C	6	4-nt	AAA C	7	5-nt	AAA AC	1	6-nt	ACATA T	1	7-nt	AGAGAG A	1	9-nt	AGGAAGAG G	1
	AG	123		AA G	4		AAA G	2		AAA AG	1		AGAGG C	1						
	AT	72		AA T	4		AAA T	1		AAG AG	1		AGGCGG	1						
	CA	29		AC A	5		AAC A	5		AAT AA	1		CAAAA C	1						
	CG	14		ACC	2		AAG A	4		ACA AA	1		CAACTC	1						
	CT	128		AG A	7		AAT C	2		ACAC A	1		CAATT T	1						
	GA	91		AG G	2		AAT G	1		CAAC A	1		CACTCT	3						
	GC	22		AG T	1		ACA G	1		CCAA A	1		CCAAAC	1						
	GT	37		AT A	2		ACA T	1		CCAT T	1		CCCAGA	1						
	TA	60		AT C	7		ACT A	1		CCCG G	1		CTCACT	1						
	TC	139		AT G	1		ACTC	2		CTCT G	1		CTCTGC	1						
	TG	45		AT T	3		ACT G	1		CTT TT	1		GAACC A	1						
				CA A	5		AGA A	2		GCAG T	1		GAGGT C	1						
				CAC	4		AGA C	2		GGA TG	1		GATGG T	1						
				CAG	1		AGA T	1		GGG TC	1		TAGGG T	1						
				CA T	5		AGT C	1		GTT GT	1		TAGTT G	1						
				CCA	4		AGT G	1		TCAC T	1		TCTTC G	1						
				CCG	8		AGT T	1		TTA TT	1		TGACT C	1						
				CCT	3		ATA C	3		TTG AT	1		TTAGC G	1						
				CGA	2		ATG T	1		TTG TG	1		TTTTC T	1						
				CGC	4		ATT T	2		TTT CT	1		TTTTT A	1						
				CGG	12		CAA A	1		TTT GT	1									
				CT A	2		CAAC	1												
				CTC	2		CAA T	2												
				CT T	12		CACT	2												
				GA A	7		CAG A	2												
				GAC	2		CAT A	1												
				GA G	7		CCTC	1												
				GCC	3		CTCA	5												
				GCG	2		CTCG	1												
				GCT	2		CTG T	1												
				GG A	5		CTTC	1												
				GGC	3		CTT T	5												
				GG T	2		GAA A	1												
				GTC	2		GAA G	1												
				GT G	1		GAA T	1												
				TA A	3		GAG T	1												
				TA C	3		GTA T	3												
				TA G	3		GTG A	2												
				TA T	1		GTT A	1												
				TC A	2		GTT T	1												
				TCC	5		TAT C	2												
				TCG	6		TAT G	5												
				TC T	12		TCAC	2												
				TG A	1		TCA G	1												
				TGC	1		TCT G	1												
				TG G	2		TCT T	5												
				TG T	4		TGA A	1												
				TT A	4		TGA G	1												
				TT C	7		TGA T	1												
							TGT A	3												
							TGT C	2												
							TTC A	1												
							TTCC	2												
							TTC T	4												
							TTT A	2												
							TTT C	4												
							TTT G	10												
Total		808			205			123			22			23			1			1

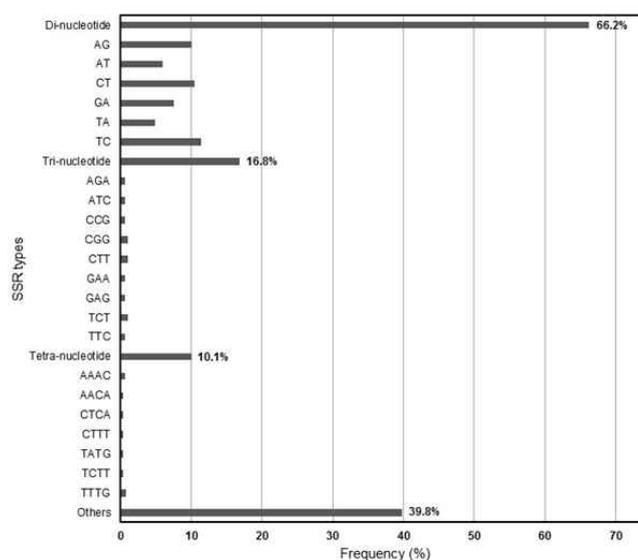


Fig. 3. Frequency distribution of SSRs based on motif sequence types.

Table 3. BlastX search results against the Phytozome database using the non-redundant contigs containing SSRs as queries. Threshold for E-value was $1e-10$.

Contigs ID	Contig length (bp)	E-value	Identity (%)	Species	TAIR gene ID	TAIR description
BnR2002	623					
BnR2003	1,184					
BnR2004	550	$3.00E-14$	60.76	Malus_domestica	AT5G23060.1	calcium sensing receptor
BnR2006	175					
BnR2007	429					
BnR2008	289	$1.00E-12$	40.43	Fragaria_vesca	AT1G61740.1	Sulfite exporter TauE/SafE family protein
BnR2011	366	$2.00E-13$	63.46	Prunus_persica	AT4G11270.1	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
BnR2013	733					
BnR2014	387					
BnR2015	595	$1.00E-18$	55.34	Malus_domestica	AT5G01550.1	lectin receptor kinase a4.1
BnR2016	553					
BnR2017	594					
BnR2019	477					
BnR2020	515	$2.00E-22$	88.46	Fragaria_vesca	AT2G07360.1	SH3 domain-containing protein
BnR2021	613					
BnR2022	1,196	$2.00E-17$	57.78	Aquilegia_coerulea	AT1G08410.1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
BnR2023	1,045	$3.00E-19$	42.34	Manihot_esculenta	AT5G67080.1	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 19
BnR2024	459					
BnR2026	1,146					
BnR2027	575					
BnR2028	717	$4.00E-66$	63.74	Populus_trichocarpa	AT1G60560.1	SWIM zinc finger family protein
BnR2029	653	$6.00E-30$	100	Phaseolus_vulgaris	ATCG00065.1	ribosomal protein S12A
BnR2030	564					
BnR2033	306					
BnR2035	679	$1.00E-32$	42.38	Carica_papaya	AT1G51940.1	protein kinase family protein / peptidoglycan-binding LysM domain-containing protein
BnR2036	434					
BnR2037	901					
BnR2038	1,141	$4.00E-60$	73.29	Cucumis_sativus	AT4G18760.1	receptor like protein 51
BnR2039	435	$1.00E-22$	80	Theobroma_cacao	AT2G29050.1	RHOMBOID-like 1
BnR2040	582					
BnR2041	865					
BnR2042	797	$7.00E-11$	87.18	Prunus_persica	AT1G79050.1	recA DNA recombination family protein
BnR2044	791	$8.00E-41$	61.11	Prunus_persica	AT3G18020.1	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein
BnR2045	614					
BnR2047	386	$7.00E-11$	81.82	Aquilegia_coerulea	AT2G19520.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
BnR2048	1,028					
BnR2049	310	$5.00E-23$	88.06	Citrus_clementina	AT5G40770.1	prohibitin 3
BnR2051	872	$7.00E-19$	61.11	Mimulus_guttatus_v1.1	AT2G43710.2	Plant stearoyl-acyl-carrier-protein desaturase family protein
BnR2052	524					
BnR2053	782					
BnR2054	738					

BnR2055	680	$2.00E-2$ 7	80.95	Gossypium_raidmondii	AT3G51950. 1	Zinc finger (CCCH-type) family protein / RNA recognition motif (RRM)-containing protein
BnR2057	879					
BnR2058	566					
BnR2060	1,314	$2.00E-2$ 0	48.31	Prunus_persica	AT1G58120. 1	
BnR2061	683	$4.00E-2$ 0	55.1	Gossypium_raidmondii	AT2G02230. 1	phloem protein 2-B1
BnR2062	681					
BnR2063	652	$6.00E-6$ 5	56.28	Theobroma_cacao	AT3G60400. 1	Mitochondrial transcription termination factor family protein
BnR2064	790					
BnR2065	1,002	$4.00E-5$ 8	78.67	Manihot_esculenta	AT2G30110. 1	ubiquitin-activating enzyme 1
BnR2066	908					
BnR2069	874	$4.00E-1$ 7	55.83	Solanum_tuberosum	AT4G10840. 1	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
BnR2070	1,373					
BnR2071	616					
BnR2073	987					
BnR2076	1,060	$2.00E-6$ 3	86.84	Medicago_truncatula		
BnR2078	471					
BnR2079	601					
BnR2080	549					
BnR2081	795	$5.00E-1$ 7	54.76	Theobroma_cacao		
BnR2084	635	$2.00E-1$ 8	37.55	Ricinus_communis	AT1G64690. 1	branchless trichome
BnR2086	552	$4.00E-6$ 2	79.35	Eucalyptus_grandis	AT3G26780. 1	Phosphoglycerate mutase family protein
BnR2087	1,162	$4.00E-8$ 4	65.7	Carica_papaya	AT3G14310. 1	pectin methylesterase 3
BnR2088	484					
BnR2089	741	$5.00E-1$ 4	42.15	Citrus_clementina	AT3G29750. 1	Eukaryotic aspartyl protease family protein
BnR2090	353					
BnR2093	584					
BnR2094	410					
BnR2095	384					
BnR2097	519					
BnR2098	670					
BnR2099	828					
BnR2100	542					
BnR2101	580					
BnR2103	546					
BnR2105	636	$1.00E-1$ 9	62.69	Malus_domestica	AT5G63260. 2	Zinc finger C-x8-C-x5-C-x3-H type family protein
BnR2106	840					
BnR2107	728					
BnR2108	552	$1.00E-2$ 2	51.28	Malus_domestica		
BnR2109	606	$8.00E-3$ 0	94.92	Manihot_esculenta	AT4G37940. 1	AGAMOUS-like 21
BnR2111	890					
BnR2113	610					
BnR2116	621					
BnR2117	719					
BnR2119	776	$5.00E-2$ 4	82.46	Citrus_clementina	AT5G42000. 1	ORMDL family protein
BnR2121	588	$9.00E-7$ 4	83.97	Prunus_persica	AT1G09930. 1	oligopeptide transporter 2
BnR2122	259					
BnR2123	405	$6.00E-2$ 1	68.97	Glycine_max_Wm82.a2.v1	AT4G26080. 1	Protein phosphatase 2C family protein
BnR2124	394	$3.00E-3$ 0	78.57	Gossypium_raidmondii	AT5G22360. 1	vesicle-associated membrane protein 714
BnR2125	692	$9.00E-2$ 1	62.75	Fragaria vesca	AT5G57390. 1	AINTEGUMENTA-like 5
BnR2126	676					
BnR2127	679					
BnR2128	401	$2.00E-2$ 4	88.89	Prunus_persica	AT4G07410. 1	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
BnR2131	918	$1.00E-1$ 1	75	Theobroma_cacao	AT4G02425. 1	
BnR2132	630	$2.00E-1$ 1	56.52	Fragaria vesca	AT4G34030. 1	3-methylcrotonyl-CoA carboxylase
BnR2133	821					
BnR2134	796					
BnR2136	550					
BnR2137	462	$1.00E-3$ 2	80.56	Solanum_tuberosum	AT3G03680. 1	C2 calcium/lipid-binding plant phosphoribosyltransferase family protein
BnR2138	779					
BnR2139	439					
BnR2140	302					
BnR2141	1,017	$3.00E-2$ 2	94.12	Malus_domestica	AT3G57670. 1	C2H2-type zinc finger family protein
BnR2142	637	$2.00E-1$ 1	50	Linum_usitatissimum	AT4G29000. 1	Tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein
BnR2143	907					
BnR2144	738	$4.00E-1$ 7	82.98	Glycine_max_Wm82.a2.v1	ATCG00670. 1	plastid-encoded CLP P
BnR2147	679					
BnR2148	464					
BnR2149	709	$4.00E-1$ 9	61.04	Populus_trichocarpa	AT5G20110. 1	Dynein light chain type 1 family protein
BnR2150	673					
BnR3001	895	$4.00E-1$ 4	47.3	Prunus_persica	AT1G31190. 1	myo-inositol monophosphatase like 1

BnR3002	804					
BnR3003	372	$2.00E-1$ 5	46.58	Linum_usitatissimum	AT1G24430. 1	HXXXD-type acyl-transferase family protein
BnR3010	512					
BnR3011	746	$5.00E-7$ 7	66.86	Theobroma_cacao		
BnR3012	541	$1.00E-4$ 8	59.38	Citrus_clementina	AT1G08650. 2	phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 1
BnR3014	777					
BnR3016	1.037	$2.00E-5$ 7	91	Malus_domestica	AT1G12910. 1	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
BnR3017	497					
BnR3019	827	$2.00E-2$ 9	70	Linum_usitatissimum	AT5G08500. 1	Transmembrane CLPTM1 family protein
BnR3020	762					
BnR3022	288	$3.00E-1$ 4	88.57	Malus_domestica	AT2G39570. 1	ACT domain-containing protein
BnR3025	851					
BnR3026	578					
BnR3031	534					
BnR3032	789					
BnR3034	597					
BnR3036	1.135	$5.00E-4$ 9	91.18	Glycine_max		
BnR3039	631	$1.00E-4$ 2	60.74	Eucalyptus_grandis	AT1G75500. 1	Walls Are Thin 1
BnR3042	919					
BnR3043	540					
BnR3047	927	$3.00E-1$ 20	61.59	Theobroma_cacao	AT1G22360. 1	UDP-glucosyl transferase 85A2
BnR3049	992	$4.00E-6$ 1	78.12	Theobroma_cacao	AT2G24370. 1	Protein kinase protein with adenine nucleotide alpha hydrolases-like domain
BnR3051	526					
BnR3054	606	$2.00E-3$ 0	65.85	Malus_domestica	AT5G38460. 1	ALG6, ALG8 glycosyltransferase family
BnR3055	796					
BnR3057	741	$5.00E-1$ 8	95.24	Malus_domestica	AT2G23930. 1	probable small nuclear ribonucleoprotein G
BnR3058	864					
BnR3063	670	$3.00E-2$ 6	86.21	Populus_trichocarpa	AT3G45640. 1	mitogen-activated protein kinase 3
BnR3064	405					
BnR3065	639					
BnR3068	578	$1.00E-1$ 5	88.68	Mimulus_guttatus_v2.0	AT5G11980. 1	conserved oligomeric Golgi complex component-related / COG complex component-related
BnR3070	641					
BnR3071	445					
BnR3099	422					
BnR3200	408	$1.00E-1$ 1	67.92	Gossypium_raidmondii	AT1G64510. 1	Translationelongation factor EF1B/ribosomal protein S6 family protein
BnR3215	631					
BnR3217	764					
BnR3220	690					
BnR3221	1.326	$4.00E-5$ 3	58.6	Prunus_persica	AT2G18940. 1	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
BnR3223	747	$1.00E-3$ 8	91.03	Carica_papaya		
BnR3224	420					
BnR3225	402					
BnR3226	457					
BnR3228	592					
BnR3230	667	$2.00E-2$ 3	55.56	Glycine_max_Wm82.a2.v1	AT5G16660. 1	
BnR3231	518					
BnR3236	654	$2.00E-4$ 6	70.27	Manihot_esculenta	AT3G50380. 1	Protein of unknown function (DUF1162)
BnR3239	647	$1.00E-3$ 1	84.27	Solanum_lycopersicum	AT3G12870. 1	
BnR3241	321					
BnR3242	737					
BnR3243	936	$4.00E-1$ 6	39.87	Ricinus_communis	AT3G13300. 1	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
BnR3246	816	$5.00E-1$ 4	59.68	Linum_usitatissimum	AT3G51730. 1	saposin B domain-containing protein
BnR3249	481	$8.00E-1$ 1	66.67	Fragaria_vesca	AT5G50400. 1	purple acid phosphatase 27
BnR3250	250					
BnR3253	623	$2.00E-5$ 2	89.39	Carica_papaya	AT2G44100. 1	guanosine nucleotide diphosphate dissociation inhibitor 1
BnR3256	780					
BnR3260	640	$2.00E-1$ 2	87.88	Carica_papaya	AT1G14400. 1	ubiquitin carrier protein 1
BnR3262	809	$2.00E-6$ 8	84.25	Prunus_persica	AT4G00150. 1	GRAS family transcription factor
BnR3263	278					
BnR3264	425	$1.00E-4$ 0	59.78	Ricinus_communis	AT4G07350. 1	
BnR3266	604	$8.00E-4$ 4	96.08	Zea_mays	AT3G53730. 1	Histone superfamily protein
BnR3267	918	$2.00E-4$ 0	52.29	Malus_domestica	AT3G59380. 1	farnesyltransferase A
BnR3268	906					
BnR3269	1.107	0	75.82	Fragaria_vesca	AT1G30010. 1	Intron maturase, type II family protein
BnR3270	578					
BnR3271	607	$2.00E-2$ 5	76.47	Citrus_sinensis	AT3G08510. 3	phospholipase C 2
BnR3272	599	$3.00E-5$ 7	93.65	Malus_domestica	AT2G17510. 1	ribonuclease II family protein
BnR3273	476	$5.00E-1$ 3	87.5	Cucumis_sativus	AT5G52450. 1	MATE efflux family protein

BnR3276	666	$2.00E-3$ ₁	57.93	Manihot_esculenta	AT1G08250. ₁	arogenate dehydratase 6
BnR3280	903	$7.00E-1$ ₂₂	84.33	Solanum_lycopersicum	ATCG00830. ₁	ribosomal protein L2
BnR3283	624	$3.00E-4$ ₇	70.83	Medicago_truncatula	AT5G16890. ₁	Exostosin family protein
BnR4002	456					
BnR4005	419					
BnR4007	454					
BnR4011	457					
BnR4014	911	$1.00E-7$ ₉	72.6	Theobroma_cacao	AT5G01710. ₁	methyltransferases
BnR4015	680	$3.00E-5$ ₀	90	Glycine_max_Wm82.a2.v1	AT4G31480. ₁	Coatomer, beta subunit
BnR4029	677					
BnR4039	1,106	$1.00E-1$ ₄	38.76	Prunus_persica		
BnR4040	535					
BnR4055	509	$8.00E-3$ ₀	63.64	Fragaria_vesca	AT3G03570. ₁	Protein of unknown function (DUF3550/UPF0682)
BnR4180	645	$2.00E-1$ ₃	74.47	Vitis_vinifera	AT1G50030. ₂	target of rapamycin
BnR4181	630	$3.00E-5$ ₃	49.28	Malus_domestica	AT3G07040. ₁	NB-ARC domain-containing disease resistance protein
BnR4184	485					
BnR4185	1,267					
BnR4186	176					
BnR4187	580					
BnR4191	562					
BnR4192	524	$6.00E-1$ ₅	61.25	Populus_trichocarpa		
BnR4193	1,378					
BnR4195	1,091					
BnR4198	781	$1.00E-6$ ₈	86.36	Ricinus_communis	AT5G56260. ₁	Ribonuclease E inhibitor RraA/Dimethylmenaquinone methyltransferase
BnR4199	754	$9.00E-6$ ₁	41.8	Cucumis_sativus	ATMG00860. ₁	DNA/RNA polymerases superfamily protein
BnR4201	633	$1.00E-2$ ₂	83.93	Mimulus_guttatus_v2.0	AT5G19890. ₁	Peroxidase superfamily protein
BnR4202	761					
BnR4205	559	$1.00E-2$ ₀	49.47	Capsella_rubella	AT5G64560. ₁	magnesium transporter 9
BnR4206	402					
BnR4207	675					
BnR4208	547	$1.00E-1$ ₈	84.09	Prunus_persica	AT2G47260. ₁	WRKY DNA-binding protein 23
BnR4209	882	$1.00E-1$ ₃	62.9	Prunus_persica	AT3G51830. ₁	SAC domain-containing protein 8
BnR4211	598	$2.00E-4$ ₃	85.88	Malus_domestica	AT1G60500. ₁	Dynamin related protein 4C
BnR4212	453					
BnR4213	549					
BnR4217	985					
BnR4220	548	$3.00E-2$ ₂	61.9	Prunus_persica	AT2G40200. ₁	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
BnR4221	1,041	$3.00E-6$ ₃	46.96	Malus_domestica	AT1G56145. ₂	Leucine-rich repeat transmembrane protein kinase
BnR4222	657					
BnR4225	847	$8.00E-2$ ₅	57.29	Gossypium_rajmondii	AT2G41700. ₁	ATP-binding cassette A1
BnR4226	435					
BnR4227	929	$9.00E-1$ ₈	68.66	Malus_domestica	AT1G19230. ₁	Riboflavin synthase-like superfamily protein
BnR4228	763					
BnR4231	583	$7.00E-1$ ₇	57.14	Phaseolus_vulgaris	AT4G21410. ₁	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 29
BnR4233	1,485	$1.00E-1$ ₃₈	85.83	Citrus_clementina	AT5G06850. ₁	C2 calcium/lipid-binding plant phosphoribosyltransferase family protein
BnR4235	869					
BnR4236	794					
BnR4239	971	$2.00E-4$ ₃	65.56	Prunus_persica	AT3G13060. ₂	evolutionarily conserved C-terminal region 5
BnR4240	501					
BnR4244	595					
BnR4246	344					
BnR4248	1,279	$4.00E-2$ ₅	48.45	Prunus_persica	AT2G17900. ₁	SET domain group 37
BnR4250	511	$2.00E-7$ ₄	73.96	Medicago_truncatula	ATMG00580. ₁	NADH dehydrogenase subunit 4
BnR4255	798					
BnR4257	826					
BnR4258	836					
BnR4259	565	$2.00E-1$ ₂	46.81	Prunus_persica	AT1G12700. ₁	ATP binding/nucleic acid binding/helicases
BnR4260	534	$7.00E-1$ ₀₉	98.31	Theobroma_cacao	ATCG00680. ₁	photosystem II reaction center protein B
BnR4263	733					
BnR4264	667					
BnR4265	703					
BnR4268	936	$3.00E-1$ ₈	47.32	Prunus_persica	AT4G36280. ₁	Histidine kinase-, DNA gyrase B-, and HSP90-like ATPase family protein
BnR4269	669	$1.00E-1$ ₇	37.76	Fragaria_vesca	AT1G40390. ₁	DNAse I-like superfamily protein
BnR4270	820	$1.00E-8$ ₅	58.65	Brassica_rapa_Chiifu_401_v1. ₂	AT4G23160. ₁	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 8
BnR4272	793					
BnR4273	686					
BnR4282	1,015	$4.00E-5$ ₂	36.55	Cucumis_sativus	ATMG00860. ₁	DNA/RNA polymerases superfamily protein
BnR4285	1,046					

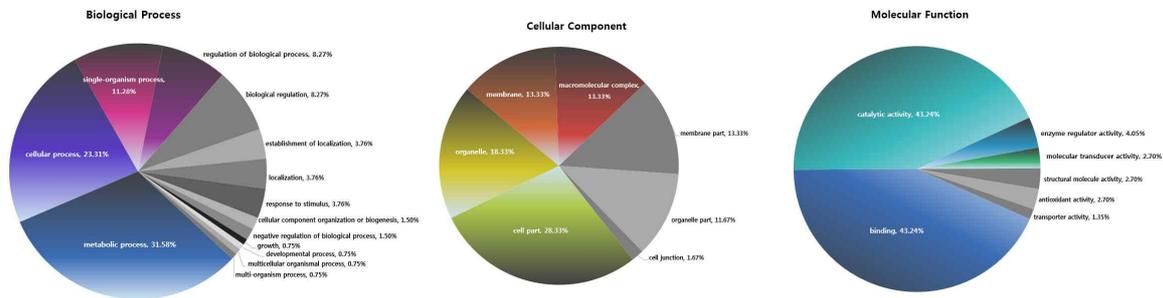


Fig. 4. Pie charts of the second level GO terms. 247 of non-redundant contigs containing SSRs were used for GO annotation. Among them, 70 contigs were classified into three GO categories: biological process, molecular function, and cellular component.

다형성 SSR 마커의 선발 및 유전적 다형성

SSR 모티프 바깥 부분에서 프라이머 세트를 디자인하였으며, 다형성 프라이머 세트의 일차 선발을 위해 사용되었다. 디자인된 프라이머 세트를 이용한 SSR 좌위의 다형성 테스트를 위하여 10개 지역에서 수집한 자원으로부터 게놈 DNA를 추출한 후, PCR 반응에 사용하였다: Bn-02, Bn-04, Bn-10, Bn-15, Bn-22, Bn-46, Bn-54, Bn-55, Bn-56, Bn-90 (Lee et al., 2014; **Fig. 5**). 다형성 SSR 마커의 1차 선발은 PCR 산물에 대한 아가로스 겔 전기영동 양상으로부터 선발하였다. 20개의 다형성 SSR 마커가 FAM-표지 정방향 프라이머와 일반 역방향 프라이머 세트에 증폭된 PCR 산물의 절편 분석으로부터 선발되었다. 선발된 20개 다형성 SSR 마커를 90점의 모시풀 유전자원에 적용해서 최종적으로 17개의 SSR 마커를 선발하였다. 선발된 17개의 마커는 개체당 2개 이하의 대립유전자를 감지하였으며, 깨끗한 PCR 증폭과 분명한 대립유전자 피크 패턴을 보였다(Table 4). 다형성 마커 선발 과정에서 5개의 유전자원(Bn-9, Bn-19, Bn-81, Bn-82 and Bn-89)에 대해서는 일부 마커들에 대해 3개 이상의 대립유전자를 감지하여 이후의 유전 분석에는 포함시키지 않았다.

최종적으로 선발된 SSR 마커에 대해 각 유전좌위에서의 변이성을 검정하기 위하여 각 유전자원당 2개 식물체에 대해 17개 SSR 마커를 사용하여 유전 분석을 수행하였다. Table 5는 175 개체(2개체 x 85개 수집자원)에 대한 DNA 절편 분석 결과를 토대로 17개 SSR 마커의 특징을 요약해서 보여준다. 적게는 3개(BnR2008)에서 많게는 17개(BnR2003)에 이르기까지 전체적으로 140개 대립 유전자가 관찰되었으며, SSR 좌위당 평균 대립유전자수는 8.24개였다. 주요 대립 유전자 빈도(MAF)는 0.24 (BnR3019b)에서 0.78 (R4221)에 이르기까지 다양하였다. 유전 다양성(GD)은 0.37 (BnR4221)에서 0.84 (BnR3019b)의 범위를 보였고, 평균값은 0.61이었다. 다형성 정보 함유량(PIC)은 0.34 (BnR4221)에서 0.82 (BnR3019b)의 범위를 보였고, 평균값은 0.56이었다. 이형접합도 기대치(HE)는 0.37 (BnR4221)에서 0.85 (BnR3019b)의 범위였으며, 평균값은 0.61이었다. 이형접합도 관찰치(HO)는 0.09 (BnR3012)에서 0.76 (BnR3019b)의 범위였으며 평균값은 0.5였다.

모시풀에 대한 계놈 SSR 마커의 개발이 이전에 보고된 바 있는데, 13개 유전좌위에 대한 SSR 마커로 19개 모시풀 품종을 구분할 수 있었다(Zhou et al., 2005). 그러나, 기존 SSR 마커의 평균 PIC 값은 0.441로 본 연구의 평균값(0.56)에 비해 현저히 낮았다(Table 5). 따라서, 기존에 보고된 SSR 마커는 본 연구에서 사용된 것과 같은 대규모 유전자원을 분석하기에는 충분하지 않을 수 있다. 최근, Liu 등(2013a)은 모시풀에 대한 대규모 expressed sequence tags (EST)로부터 전사조절인자와 셀룰로오스 생합성 효소 등에 위치하는 81개의 다형성 SSR 마커를 발굴을 보고한 바 있다. 차세대 염기서열 분석 기술을 이용한 EST 분석법은 SSR 마커를 대규모로 확보하기 위한 효율적인 방법일 수 있다. 전통적인 계놈 SSR에 비해, EST-SSR 마커(유전자 SSR로도 불림)가 동일 속을 넘어서서 동일 과 내의 속간과 같이 비교적 유연관계가 먼 분류군 간에도 적용이 가능한 것으로 알려져 있다(Ellis and Burke, 2007). EST-SSR은 계놈 내 발현되는 영역에서의 변이를 검출함으로써 형질연관 유전좌위를 표지할 수 있기 때문에 계놈 SSR에 비해 장점을 가지고 있다(Ellis and Burke, 2007; Kalia et al., 2011). 그러나 EST-SSR은 스택 밴드(혹은 피크)의 존재, 무효(null) 대립유전자, 인트론, 유전자 가족의 존재로 인한 이종(heterologous) 증폭 등을 포함하여 잠재적인 약점을 가지고 있다. 또한 낮은 다형성으로 인해 EST-SSR은 밀접하게 연관된 유전자형으로 이루어진 유전자원을 구분하는데 있어서는 계놈 SSR보다 효과적이지 않을 수 있다(Varshney et al., 2005; Wang et al., 2009; Kaila et al., 2011). 본 연구에서 개발된 계놈 SSR은 비교적 높은 PIC 값을 가지며, 기존에 보고된 SSR과 중복되지 않은 신규성을 가진다.

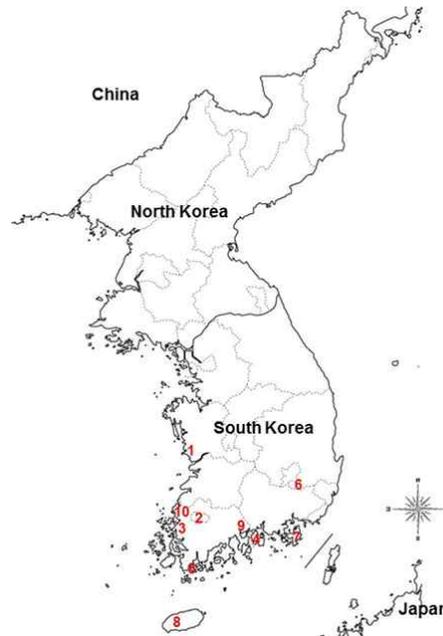


Fig. 5. Collection areas of 10 genetic resources for polymorphism test of the isolated SSR loci. The collection areas were marked with serial numbers; 1, Seocheon (genetic resource code No. Bn-02); 2, Gwangju (Bn-04); 3, Muan (Bn-10); 4, Namhae (Bn-15); 5, Wando (Bn-22); 6, Cheongdo (Bn-46); 7, Geoje (Bn-54); 8, Jeju (Bn-55); 9, Gwangyang (Bn-56); 10, Yeonggwang (Bn-90).

Table 4. Seventeen novel and polymorphic SSR markers that were finally selected from the polymorphism test.

Marker	Primer sequence (5'→ 3')	Repeat motif	Ta (°C)	Size range (bp)
BnR2003	FAM-CCTCCCTTATCCCAACCCTA GTTTAGGAACGTGGCAGTGCTATT	(TC)19...(CAC)4	55	271-342
BnR2008	FAM-GGGTGAGAAAAGGGTGTGAA GTTTCTCCATAGCGATTGCCTCT	(ATC)6(GTC)3	55	239-242
BnR2013a	FAM-GAGGTTACAAGTCGGCGAAG GTTTCCTCTTCACGTTGGTGAATC	(GAGGTC)4...(TAGGGT)4	55	260-273
BnR2013b	FAM-GTTTACCTGGCGGAGAATGA GTTTCCTCTTCACGTTGGTGAATC	(TTC)7...(GA)11	55	258-268
BnR3001b	FAM-CACCACTCTGGGGTATTGCT GTTTCGCCAAGCTTATCATATTTTTGT	(TCAC)6	55	316-324
BnR3012	FAM-CATGGATGCCCTGATTTTTTC GTTTCAGGTTCCCGACTAGGGTTT	(AACA)5	55	275-284
BnR3019b	FAM-GTCCGAGCCCTTGGTATGTA GTTTGGGAAAGGGTATTTGAGGA	(TGAT)3... (AACA)5	55	254-264
BnR4002	FAM-TTCATTGATACCAATTGAGACGA GTTTGTGGCTGACTAGAGGCTTG	(TGTA)6	55	209-221
BnR4011	FAM-TCGAAGAATACCAAACCTTGC GTTTGGCCTTTTCGGACATAGCTT	(TA)3(TCTA)5	55	299-324
BnR4205	FAM-GTCCCTCTCAACATCCCGTA GTTTGCCTGTGATTTTGTCTTTGA	(AATC)4	55	344-353
BnR4207	FAM-CCCCTAAAAAGGAACACTG GTTTGCTAGTTGGAAACCATGC	(AT)5(TG)4G(TGTA)3(TA) 3	55	249-255
BnR4208b	FAM-CATCCAATTCCTCCTCAGA GTTTCCTCCTCTCATTACACACAAA	(ATC)8	55	250-256
BnR4209a	FAM-TCCGTTTTGAGAAGGTTTTGA GTTTGAAACTCGAGTCCCACGAAA	(AG)18	55	203-224
BnR4211a	FAM-TCTGGAGCCTCATGACGAGT GTTTGTCTTACAACGAGCGAGTCC	(CGA)4	55	329-337
BnR4221	FAM-GACGATCATCCCTGTCCTGT GTTTAACTGCTGCATTCCAAAAC	(GTAT)4	55	227-228
BnR4257	FAM-TCACAAACTCATGCAAGGCTA GTTTCTGCAGAAGGGGGATTAGA	(CTTT)3...(TCTT)4...(TCT) T)3	55	205-227
BnR4285	FAM-TTTTGCACATTAGTTGCCATT GTTTGCCTTCAAATCTTCATCCA	(ATAC)9	55	348-364

Table 5. Characteristics of 17 polymorphic SSR loci from ramie.

Locus	SS	NOBS	Availability	MAF	NA	GD	HE	HO	PIC
BnR2003	170	170.00	1.00	0.34	17.00	0.82	0.82	0.56	0.80
BnR2008	170	170.00	1.00	0.62	3.00	0.48	0.48	0.66	0.37
BnR2013a	170	170.00	1.00	0.45	8.00	0.62	0.62	0.14	0.54
BnR2013b	170	170.00	1.00	0.62	11.00	0.58	0.58	0.52	0.56
BnR3001b	170	170.00	1.00	0.56	4.00	0.54	0.55	0.62	0.45
BnR3012	170	170.00	1.00	0.56	7.00	0.54	0.54	0.09	0.45
BnR3019b	170	170.00	1.00	0.24	11.00	0.84	0.85	0.76	0.82
BnR4002	170	170.00	1.00	0.59	8.00	0.61	0.62	0.54	0.58
BnR4011	170	170.00	1.00	0.56	8.00	0.62	0.62	0.66	0.57

BnR4205	170	170.00	1.00	0.48	5.00	0.58	0.58	0.45	0.49
BnR4207	170	170.00	1.00	0.48	11.00	0.71	0.71	0.64	0.68
BnR4208 b	170	170.00	1.00	0.48	8.00	0.59	0.59	0.58	0.50
BnR4209 a	170	170.00	1.00	0.27	12.00	0.81	0.81	0.71	0.79
BnR4211 b	170	170.00	1.00	0.77	7.00	0.39	0.39	0.36	0.37
BnR4221	170	170.00	1.00	0.78	7.00	0.37	0.37	0.41	0.34
BnR4257	170	170.00	1.00	0.46	6.00	0.59	0.59	0.60	0.50
BnR4285	170	170.00	1.00	0.49	7.00	0.69	0.69	0.22	0.65
Mean	170	170.00	1.00	0.51	8.24	0.61	0.61	0.50	0.56

SS, sample size; NOBS, number of observations; M_{AF} , major allele frequency; N_A , number of alleles; GD, genetic diversity; H_E , expected heterozygosity; H_o , observed heterozygosity; PIC, polymorphism information content.

모시 유전자원의 유전 다양성 검정 및 유연관계

17개 다형성 SSR 마커에서 유래한 전체 140개 대립유전자를 이용하여 85개 모시풀 유전자원의 유전 다양성과 유연관계를 평가하였다. 유전자원간의 유전적 유사도 매트릭스를 토대로 UPGMA 계통수를 작성하였다. Fig. 6은 SSR 데이터를 토대로 작성한 군집 분석 결과를 보여준다. 계통수 분석 결과, 모시풀 유전자원은 4개 군집으로 나눌 수 있음을 보여주었다. 군집 I과 III은 각각 12개와 34개 자원으로 이루어졌다. 군집 II는 40개 자원으로 이루어진 주요 그룹이었다. 군집 IV는 3개 자원으로만 이루어졌다. Bn-8, Bn-33, Bn-35, Bn-36 자원의 2개 식물체는 2개의 서로 다른 군집에 위치하였다(Bn-8, 35, 36, 군집 II와 III; Bn-33, 군집 I과 III). Liu 등(2013a)은 81개 다형성 EST-SSR 마커에 대한 군집 분석 결과를 토대로 중국 내 9개 지방에서 수집한 24개 모시풀 수집자원이 3개 군집으로 나누어짐을 보고하였다. 본 연구에서 조사된 85개 모시풀 유전자원들 중에서 57개 유전자원은 각 유전자원당 2개 식물체 간에 유전형이 완전히 동일하거나(18개 자원), 거의 동일하였다(39개 자원). 반면, 28개 자원은 동일 수집자원의 2개체 간에 서로 다른 군집 분포 양상을 보여주었다(Fig. 6과 Table 6). 이러한 결과는 28개 수집자원은 순도 문제를 가질 수 있음을 제시하여 준다. Bn-10A/B, Bn-11A/B, Bn-12A, Bn-22B, Bn-24A/B와 같이 수집지가 다른 몇몇 유전자원은 조사된 17개 유전자원에 대해 서로간에 동일한 유전자형을 보여주었는데(Fig. 6과 Table 6), 이는 이들이 동일한 유전적 배경을 가질 수 있음을 제시한다.

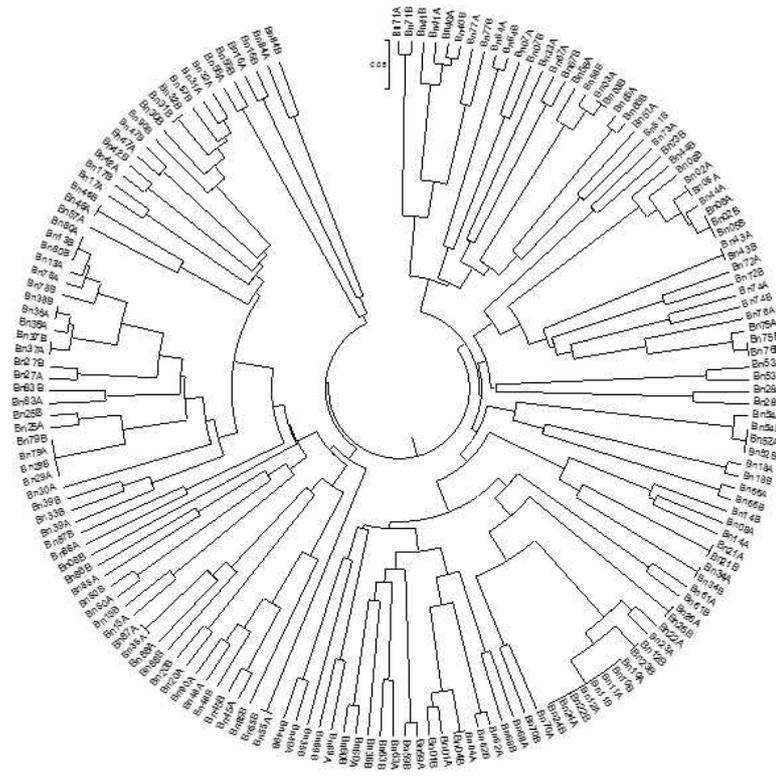


Fig. 6. A UPGMA tree based on genetic distances among 170 individuals (2 individuals per genetic resource) from 85 of ramie genetic resources using 17 polymorphic SSR markers. Genomic DNA was extracted from 2 individual plants per each genetic resource and was subjected to genotype analysis.

Table 6. Allele size data of 170 individuals from 85 genetic resources (2 individual plants per each genetic resource) using 17 polymorphic SSR markers.

Sample ID	Markers																
	BaR200 2	BaR200 3	BaR2013a	BaR2013b	BaR3001b	BaR3012	BaR3019b	BaR400 2	BaR401 1	BaR420 5	BaR420 7	BaR4208b	BaR4209a	BaR4211b	BaR4221	BaR4257	BaR4285
Ba01A	303/303	242/242	273/273	258/262	320/324	282/282	256/259	210/220	299/324	349/349	249/255	256/256	204/210	329/333	205/205	348/352	394/394
Ba01B	303/303	242/242	273/273	259/263	320/324	282/282	256/259	210/220	299/324	349/349	250/255	256/256	204/210	329/333	205/205	348/352	394/394
Ba02A	303/303	239/242	273/273	258/262	316/320	275/283	259/264	213/220	299/322	349/349	250/256	256/256	210/224	329/329	205/209	348/351	390/390
Ba02B	303/303	239/242	273/273	258/262	316/320	275/282	259/264	213/220	299/322	349/349	250/256	256/256	210/224	329/329	205/209	348/351	390/390
Ba03A	303/318	242/242	273/273	258/262	320/324	283/283	258/258	210/220	322/324	349/351	250/256	256/256	210/222	329/329	205/205	348/352	390/394
Ba03B	303/318	242/242	273/273	258/262	320/324	283/283	258/258	210/220	322/324	349/351	250/256	256/256	210/222	329/329	205/205	348/352	390/394
Ba04A	303/303	242/242	273/273	258/262	320/324	283/282	256/259	210/220	299/324	349/349	250/256	256/256	204/210	329/333	205/205	348/352	394/394
Ba04B	303/303	242/242	273/273	258/262	320/324	283/282	256/259	210/220	299/324	349/349	250/256	256/256	204/210	329/333	205/205	348/352	394/394
Ba05A	303/303	239/242	273/273	258/262	316/320	275/283	259/264	213/220	299/322	349/349	250/256	256/256	210/224	329/329	205/209	348/351	390/390
Ba05B	303/303	239/242	273/273	258/262	316/320	275/282	259/264	213/220	299/322	349/349	250/256	256/256	210/224	329/329	205/209	348/351	390/390
Ba06A	303/303	239/242	273/273	258/262	316/320	275/282	259/264	213/220	299/322	349/349	250/256	256/256	210/224	329/329	205/209	348/351	390/390
Ba06B	303/303	239/242	273/273	259/263	316/320	275/282	259/264	213/220	299/322	349/349	250/256	256/256	210/224	329/329	205/209	348/351	390/390
Ba07A	303/313	236/242	273/279	258/262	320/320	283/283	256/258	209/209	299/299	349/349	249/249	253/256	204/212	329/333	205/205	348/352	394/394
Ba07B	303/313	236/242	273/279	258/262	320/324	283/282	256/258	209/209	299/299	349/349	250/250	253/256	204/212	329/333	205/205	348/352	394/394
Ba08A	312/320	242/242	273/273	262/262	324/324	283/282	255/264	220/220	322/327	349/349	250/254	253/256	199/203	333/333	205/205	348/352	395/395
Ba08B	303/342	239/242	272/272	262/262	320/324	283/283	259/259	220/220	299/299	344/344	249/249	256/256	202/204	329/336	206/213	348/372	396/396
Ba10A	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/282	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394
Ba10B	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/282	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394
Ba11A	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/282	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394
Ba11B	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/282	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394
Ba12A	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/282	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394
Ba12B	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	256/259	210/214	322/324	349/353	250/250	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394
Ba13A	312/342	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	254/264	220/220	299/322	344/344	249/253	253/256	224/224	329/329	205/205	348/352	394/394
Ba13B	312/342	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	254/264	220/220	299/322	344/344	249/254	253/256	224/224	329/329	205/205	348/352	394/394
Ba14A	312/320	242/242	273/273	262/262	324/324	283/282	254/264	220/220	322/326	349/349	249/253	253/256	199/203	333/337	205/205	348/352	395/395
Ba14B	311/320	242/242	273/273	262/262	324/324	283/282	254/264	220/220	322/327	349/349	249/254	253/256	199/203	333/337	205/205	348/352	396/396
Ba15A	303/303	242/242	272/272	262/262	324/324	275/283	255/257	214/214	299/324	344/344	254/256	253/256	224/224	320/330	206/210	348/352	395/395
Ba15B	303/303	242/242	272/272	262/262	324/324	275/283	255/257	214/214	299/324	344/344	254/256	253/256	224/224	329/329	205/209	348/352	395/395
Ba16A	342/342	239/239	273/273	264/264	320/324	273/283	259/259	214/220	322/322	344/344	249/253	253/256	222/222	329/329	205/205	348/348	395/395
Ba16B	342/342	239/239	273/273	264/264	320/324	273/283	259/259	214/220	322/322	344/344	250/254	253/256	222/222	329/329	205/205	348/348	395/395
Ba17A	312/342	239/242	272/272	262/264	320/324	283/283	254/264	214/220	299/299	344/344	249/249	253/253	222/227	329/329	205/205	348/352	396/396
Ba17B	311/342	239/242	273/273	262/264	320/324	283/283	254/264	214/220	299/299	344/344	249/249	253/253	222/227	329/329	205/205	348/352	396/396
Ba18A	325/325	242/242	273/278	262/262	320/320	282/282	254/259	220/220	299/324	344/349	249/255	256/256	210/222	329/329	203/205	348/352	390/390
Ba18B	325/325	242/242	273/278	262/262	320/320	283/282	255/257	220/220	299/324	344/349	249/255	256/256	210/222	329/329	203/205	348/352	390/390
Ba20A	303/342	239/242	269/272	262/266	324/324	283/283	264/264	210/214	299/299	344/353	249/254	253/256	201/203	329/333	205/209	348/348	386/395
Ba20B	303/342	239/242	269/272	262/266	324/324	282/282	264/264	210/214	299/299	344/353	249/254	253/256	201/203	329/333	205/209	348/348	386/396
Ba21A	320/320	236/242	273/273	262/262	324/324	283/282	259/259	220/220	322/324	349/349	249/249	256/256	199/210	329/329	205/205	352/352	390/394
Ba21B	320/320	236/242	273/273	262/262	324/324	283/282	259/259	220/220	322/324	349/349	249/249	256/256	199/210	329/329	205/205	352/352	390/394
Ba22A	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/283	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	390/394
Ba22B	303/303	239/242	272/272	262/262	320/324	283/282	256/259	210/214	322/324	349/353	249/249	253/256	210/222	329/329	205/205	352/352	394/394

Bn78A	312/342	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	255/264	220/220	299/322	344/344	249/254	253/256	224/224	329/329	205/205	348/352	394/394
Bn78B	311/342	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	254/263	220/220	299/322	344/344	249/254	253/256	224/224	329/329	205/205	348/352	394/394
Bn79A	303/311	242/242	272/272	262/262	324/324	282/282	254/264	220/220	299/299	344/344	249/254	253/253	202/222	329/337	205/205	348/348	394/394
Bn79B	303/311	242/242	272/272	262/262	324/324	282/282	254/264	220/220	299/299	344/344	249/254	253/253	202/222	329/337	205/205	348/348	394/394
Bn80A	312/342	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	254/264	220/220	299/322	344/344	249/254	253/256	224/224	329/329	205/205	348/352	394/394
Bn80B	312/342	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	254/264	220/220	299/322	344/344	249/254	253/256	224/224	329/329	205/205	348/352	394/394
Bn83A	312/345	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	255/262	220/220	299/322	344/344	249/254	253/253	202/222	329/329	205/205	348/352	396/396
Bn83B	312/344	239/242	272/272	262/262	320/324	282/282	254/261	220/220	299/322	344/344	250/254	253/253	202/222	329/329	205/205	348/352	396/396
Bn84A	271/342	239/239	272/272	262/262	320/324	282/282	257/262	220/220	299/322	349/349	247/247	251/251	222/222	329/329	205/205	352/352	395/395
Bn84B	271/342	239/239	272/272	262/262	320/324	282/282	256/261	220/220	299/322	349/349	247/247	252/252	222/222	329/329	205/205	352/352	395/395
Bn85A	303/342	242/242	272/272	262/262	324/324	282/282	258/264	214/220	299/299	344/344	248/251	252/252	222/222	329/329	205/209	348/352	395/395
Bn85B	342/351	239/242	273/273	260/263	324/324	282/282	257/257	217/220	299/324	344/348	249/254	249/249	199/222	329/329	205/209	352/352	395/395
Bn86A	303/303	242/242	273/273	258/262	320/324	282/282	262/262	220/220	299/299	344/344	249/254	253/253	224/224	329/329	205/209	348/351	394/394
Bn86B	303/342	242/242	272/272	262/262	324/324	282/282	258/264	214/220	299/299	344/344	249/254	253/253	222/222	329/329	205/209	348/352	395/395
Bn87A	322/342	239/242	260/272	262/266	312/324	282/282	259/264	209/214	299/322	344/349	249/254	253/259	199/222	329/329	205/209	348/352	387/395
Bn87B	303/303	242/242	273/273	259/263	320/324	282/282	261/261	220/220	299/299	344/344	249/254	250/250	224/224	329/329	205/209	348/351	394/394
Bn88A	322/343	239/242	260/272	262/266	312/324	282/282	259/264	209/214	299/322	344/349	248/251	253/259	199/222	329/329	205/209	348/352	387/396
Bn88B	322/342	239/242	260/272	262/266	312/324	282/282	258/262	209/214	299/322	344/349	250/254	248/251	199/222	329/329	205/209	348/352	387/395
Bn90A	342/351	239/242	273/273	262/266	324/324	282/282	259/259	217/220	299/324	344/348	249/254	253/253	199/222	329/329	205/209	352/352	396/396
Bn90B	303/311	239/242	272/272	262/264	324/324	282/282	254/258	220/220	299/299	344/344	249/254	253/253	224/224	329/337	205/209	348/352	395/395

모시풀 유전자원의 순도 검증

모시풀 유전자원에 대한 유전적 유연관계 분석 결과는 순도 문제의 가능성을 제시하였다 (Fig. 6). 순도 문제를 보다 분명하게 하기 위하여, 4개 유전자원에 대해 유전형 분석을 수행하였다. 각 유전자원당 17-20개의 식물체로부터 게놈 DNA를 추출한 후 8개 SSR 마커 (BnR2013a, BnR3001b, BnR4002, BnR4011, BnR4211b, BnR4221, BnR4257, BnR4285)를 이용하여 유전형 분석을 수행하였다. SSR 유전형 분석 결과에 의하면, Bn-40과 Bn-71은 8개 유전 좌위에 대해 각 유전자원의 모든 식물체 간에 동일한 유전형을 보여주었다(Table 7). 반면, Bn-88과 Bn-90은 각 유전자원의 개체간에 유전형 변이를 보여주었다(Supplementary Table 5). SSR 데이터 세트를 토대로 작성한 UPGMA 계통수는 Bn-88과 Bn-90은 각각 2개의 서로 다른 유전형을 갖는 식물체로 섞여있음을 보여주었다(Fig. 7). 따라서 본 실험 결과는 모시풀 유전자원이 일부 수집자원에 대해서는 순도 문제가 있음을 명확히 보여주었다. 따라서 본 연구에서 개발된 모시풀 게놈 SSR 마커는 타가수분을 하며 양성화를 갖는 모시풀 유전자원의 효율적 관리를 위한 강력한 도구가 될 수 있다. 또한 본 연구에서 개발된 SSR 마커는 육종을 위한 모시풀 핵심집단의 구축을 위한 유용한 도구가 될 수 있다.

결론적으로, ITS 서열을 이용한 계통학적 분석은 본 연구에서 확보된 모시풀 유전자원이 모시풀(*B. nivea*)로 분류될 수 있음을 보여주었다. 다형성이 높은 17개 SSR 마커가 개발되었으며, 이들을 유전 다양성 분석 및 수집된 유전자원의 순도 검증에 활용하였다. 본 연구에서 확보된 SSR 마커는 향후 유전자원 관리, 핵심집단 구축, 품종 판별 및 가계도 분석 등을 포함한 다양한 유전 분석에 활용될 것이다.

Table 7. Allele size data of 4 genetic resources for purity test using 8 polymorphic SSR markers. Alleles of 17-20 individual plants per each genetic resource were determined by fragment analysis.

Genetic Resources	Sample ID#	Markers							
		BnR2013a	BnR3001b	BnR4002	BnR4011	BnR4211a	BnR4221	BnR4257	BnR4285
Bn40	Bn40-01	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-02	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-03	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-04	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-05	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-06	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-07	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-08	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-09	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-10	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-11	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-12	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-13	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-14	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394

Bn40	Bn40-15	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-16	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-17	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-18	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-19	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
	Bn40-20	267/273	320/324	216/219	300/335	328/336	205/213	372/372	390/394
Bn71	Bn71-01	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-02	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-03	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-04	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-05	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-06	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-07	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-08	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-09	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-10	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-11	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-12	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-13	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-14	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-15	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-16	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
	Bn71-17	273/273	320/324	219/219	300/300	328/335	209/213	372/372	390/394
Bn88	Bn88-01	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-02	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/372	387/395
	Bn88-03	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-04	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-05	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-06	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-07	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-08	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-09	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-10	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-11	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-12	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-13	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-14	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-15	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-16	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-17	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-18	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-19	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
	Bn88-20	260/273	312/324	209/214	300/322	328/328	205/209	352/352	387/395
Bn90	Bn90-01	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-02	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-03	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-04	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-05	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-06	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-07	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-08	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-09	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-10	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-11	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-12	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-13	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-14	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-15	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-16	272/272	324/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/395
	Bn90-17	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-18	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398
	Bn90-19	272/272	320/324	219/219	300/300	328/337	205/209	352/352	395/398

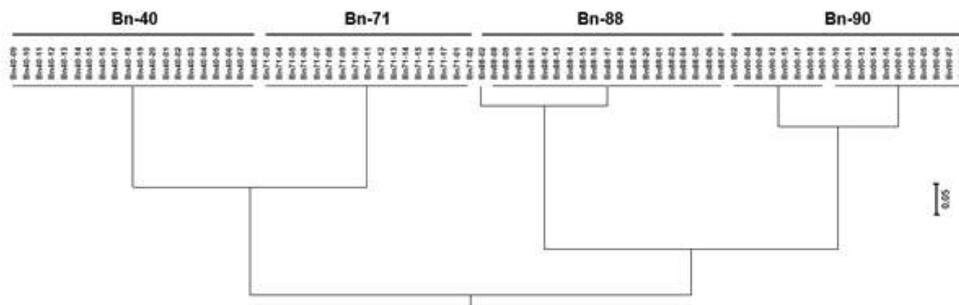


Fig. 7. Purity test of several genetic resources using 8 polymorphic SSR markers. Genomic DNA was extracted from 17-20 individual plants per each genetic resource and was subjected to genotype analysis. A UPGMA tree based on genetic distances among individual plants of each genetic resource using 8 polymorphic SSR markers.

SSR 마커를 활용한 multiplex genotyping 체계 확립

고효율의 모시풀 유전자원 및 품종 판별을 위해 발굴된 17개 SSR 마커 중 12개 마커를 활용하여 multiplex genotyping 체계를 확립하였다. 12개 마커를 4개씩 3개 그룹으로 나누었으며, 그룹별 4개의 마커에 대해 정방향 프라이머는 각기 다른 형광(FAM, VIC, NED, PET)으로 각각 표지하였다(Table 8). 3개 그룹의 multiplex 프라이머 조합을 일부 모시풀 유전자원 시료에 적용하여 multiplex PCR 및 ABI3730 DNA Analyzer를 이용한 fragment analysis 수행 결과, 모든 마커들이 효율적으로 증폭됨을 확인할 수 있었다(Fig. 8).

Table 8. PCR primer sets for efficient multiplex genotyping in ramie.

	Locus		Sequence (5'-3')	Repeat motif	Size range(bp)
A set	BnR4002 NED	F R	TTCATTGATACCAATTGAGACGA GTTTGTGGCTGACTAGAGGCTTG	(TGTA)6	209-221
	BnR2013b VIC	F R	GTTTACCTGGCGGAGAATGA GTTTCCTCTTCACGTTGGTGAATC	(TTC)7...(GA)11	258-268
	BnR3001b PET	F R	CACCACTCTGGGGTATTGCT GTTTCGCCAAGCTTATCATATTTTTGT	(TCAC)6	316-324
	BnR4285 FAM	F R	TTTTGCACATTAGTTGCCATT GTTTGCCCTTCAAATCTTCATCCA	(ATAC)9	348-364
B set	BnR4193a VIC	F R	TGCAAATGGAATGAGGACAA GTTTTGAGAAGCACAGGCCTAAAGA	(TTATT)3	200-202
	BnR4208b PET	F R	CATCCAATCCCTCCTCAGA GTTTCCTCCTCTCATTACACACAAA	(ATC)8	250-256
	BnR4011 NED	F R	TCGAAGAATACCAAACCTTGC GTTTGGCCTTTTCGACATAGCTT	(TA)3(TCTA)5	299-324
	BnR4207 FAM	F2 R2	GAACCCATAGAATTGACCCAGT GGGCATCTTGAATTATTGTATGAA	(AT)5(TG)4G(TGTA)3(TA)3	249-255
C set	BnR4221 NED	F R	GACGATCATCCCTGTCTGT GTTAACCTGCTGCATTCCAAAAC	(GTAT)4	227-228
	BnR2013a VIC	F R	GAGGTTACAAGTCGGCGAAG GTTCCGCCAGGTAACAAAATC	(GAGGTC)4,(TAGGGT)4	260-273
	BnR4211b PET	F R	GGACTCGCTCGTTGTAGGAC GTTTGATCGACCAAGCAAATCT	(CTT)3(CTA)3...(TTCT)6	327-335
	BnR4205 FAM	F2 R2	CGCTGAAGCTCCTCGATAAC CTGCTCTCGATCCCTCGAC	(AATC)4	344-353

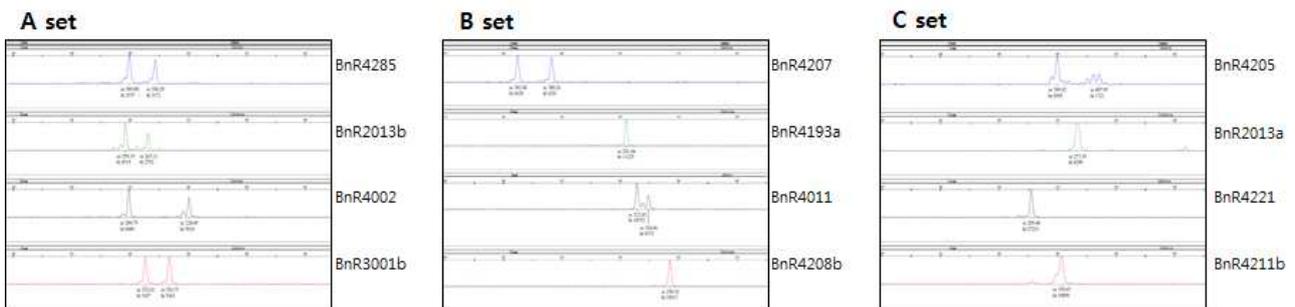


Fig. 8. An example of the fragment analysis using multiplex PCR primer sets. Multiplex genotyping plots for Bn58A accession are shown as a representative.

2. 모시 염색체 유전체 해독 및 비해독 서열을 이용한 DNA 바코딩 마커 개발

가. 재료 및 방법

식물 재료 및 게놈 DNA 추출

본 연구에 사용된 모시풀(*Boehmeria nivea*) 유전자원은 공동 연구진에 의해 발표된 이전 논문에 제시되었다(Lee et al., 2014). 모시풀(*B. nivea*; DNA No. 2005-1461)과 섬모시풀(*B. nivea* var. *tenacissima*; DNA No. 2012-1453)에 대한 DNA 시료는 고려대학교 김기중 교수가 운영하는 한국의 식물 DNA 은행(<http://pdbk.korea.ac.kr>)에서 분양 받았다. 각 유전자원당 2개의 독립적인 식물체로부터 잎 조직을 채취하였다. 채취한 잎은 액체 질소로 얼린 후 게놈 DNA 추출을 위해 -80도에 보관하였다. 게놈 DNA의 분리는 Biomedic[®] Genomic DNA Extraction Kit (Biomedic, Bucheon, Korea)를 사용하여 분리하였다. 분리된 게놈 DNA의 양과 질은 각각 DeNovix DS-11+ Spectrophotometer (DeNovix, Wilmington, DE, USA)와 아가로스 겔 전기영동을 통해 결정하였다.

엽록체 유전체 해독 및 gene annotation

모시풀 엽록체 유전체 해독을 위하여 마크로젠(Macrogen, Seoul, Korea)의 Illumina Hiseq2000 (Illumina, San Diego, CA, USA) 플랫폼을 이용하여 약 1.2 Gb의 서열 정보를 생산하였다. 엽록체 유전체는 파이젠(www.phyzen.com)의 생물정보학 파이프라인을 이용하여 low coverage whole genome sequence의 *de novo* assembly를 수행하여 얻어졌다. Illumina 사의 지침에 따라 500 bp paired end (PE) 라이브러리를 제작하여 평균 101 bp 크기를 갖는 reads를 생산하였다. 전체 PE reads 중에서 CLC-quality trim tool을 이용하여 Phred 값이 20 이하인 raw reads를 제거한 후, CLC genome assembler (ver. 4.06 beta, CLC Inc., Rarhus, Denmark)를 이용하여 trimmed reads에 대해 *de novo* assembly를 수행하였다. 모시풀 엽록체를 대표하는 principal contigs (Ctgs)는 뽕나무과 식물인 *Morus indica*의 cp 유전체 (NC_008359.1)를 기준 서열로 하여 MUMmer (Kurtz et al., 2004)를 사용한 전체 Ctgs로부터 회수하였다. Cp Ctgs는 기준 서열과의 BLASTZ 분석(Schwartz et al., 2003)을 수행하여 순서대로 배열하고, 겹쳐지는 말단 서열들을 서로 연결하여 하나의 draft 서열을 확보하였다. Gene annotation은 DOGMA (Wyman et al., 2004; <http://dogma.cccb.utexas.edu/>)를 이용하여 수행하였으며, 기준 서열과의 비교를 통해 교정 및 편집을 수행하였다. 모시풀 엽록체 원형 지도는 OrganellarGenomeDRAW 소프트웨어(Lohse et al., 2013; <http://ogdraw.mpimp-golm.mpg.de>)를 이용하여 작성하였다.

RT-PCR

예측된 인트론 서열을 검증 및 교정하기 위하여 일부 인트론에 대해 RT-PCR을 수행한 후, 염기서열을 결정하고 유전체 서열과 비교 분석을 수행하였다. 전체 RNA는 TRIzol Reagent

(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 제조회사의 지침에 따라 분리하였다. 역전사 반응은 Universal Reverse Transcriptase (MCLAB, China)를 이용하여 제조회사의 지침에 따라 수행하였다. 역전사 반응 산물을 이용한 PCR은 HSTM Taq DNA 중합효소 (Dongsheng Biotech)를 이용하여 수행하였으며, ABI3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems)를 이용하여 염기서열을 결정하였다.

IGS (intergenic spacer) 및 인트론 서열을 활용한 자원간 SNP 분석

IGS와 인트론 서열을 이용하여 자원간 서열 변이 여부를 탐색하기 위하여 3개의 IGS (*atpF-atpH*, *psbK-psbI*, *trnL-trnF*)와 3개의 인트론(*atpF*, *trnL*, *trnV*) 영역을 선정하였다. 일부 유전자원으로부터 이들 영역의 서열 정보를 파악하기 위하여 한 쌍의 프라이머로 PCR을 수행한 후 상기 방법에 따라 염기서열을 결정하였다. 같은 서열 크기를 갖도록 trimming한 후, MultAln (Corpet, 1988; <http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>)을 이용하여 다중 염기서열 비교를 수행하여 single nucleotide polymorphism (SNP) 또는 insertion-deletion (InDel) 변이를 확인하였다.

나. 결과 및 고찰

모시풀 엽록체 유전체 해독 및 특성 분석

Illumina Hiseq2000 플랫폼을 이용하여 모시풀에 대해 whole genome sequencing을 수행하고 뽕나무과 식물인 *Morus indica*의 cp 유전체(NC_008359.1; Ravi et al., 2006)를 기준서열로 하여 *de novo assembly*를 수행하고, 기준서열과의 비교를 통해 교정 및 편집을 수행하여 draft 서열을 완성하고, gene annotation을 수행하였다(Fig. 9). *M. indica*와 비교한 모시풀 엽록체 유전체의 일반적인 특징은 Table 9와 같다. 모시풀 엽록체 유전체의 전체 크기는 156,037 bp였으며, 한 쌍의 inverted repeat (IRA와 IRB), large single copy (LSC) 및 small single copy (SSC) 구간을 가졌다. 모시풀 엽록체에 존재하는 전체 유전자 종류는 118개였으며, 이들 중 4개는 rRNA, 31개는 tRNA, 83개는 단백질 암호화 유전자였다. 모시풀 엽록체 유전체에 존재하는 유전자들을 기능별 카테고리 분류하여 Table 10에 정리하였다.

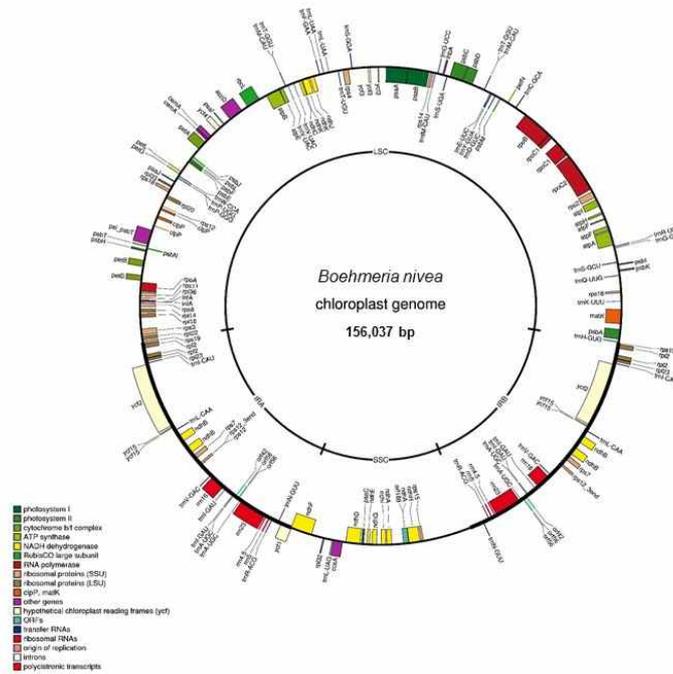


Fig. 9. Complete chloroplast genome map of *B. nivea* L. Genes drawn inside and outside the circle are transcribed clockwise and anticlockwise, respectively. Differential functional gene groups are color-coded. LSC, large single copy; SSC, small single copy; IRA, inverted repeat A; IRB, inverted repeat B.

Table 9. General features of the *B. nivea* chloroplast genome. Cp genome of *M. indica* that is a taxonomically closely related species was used for the comparison.

Features	<i>B. nivea</i>	<i>M. indica</i>
Taxonomy	Urticales, Urticaceae	Urticales, Moraceae
Size (bp)	156,037	158,484
Total gene number	118/140	130
No. of protein-coding genes (unique gene/total gene)	83/92	84
No. of rRNA genes	4/8	8
No. of tRNA genes	31/40	37
No. of pseudo genes	0	1

Table 10. Genes identified in the chloroplast genome of ramie.

Functional categories (unique gene/total gene)	Genes
Subunits of photosystem I (5/5)	<i>psaA, psaB, psaC, psaI, psaJ</i>
Subunits of photosystem II (15/15)	<i>psbA, psbI_psbT/psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbN, psbT, lhbA/psbZ</i>
Ribosomal RNAs (4/8)	<i>rrn4.5 (x2), rrn5 (x2), rrn16 (x2), rrn23 (x2)</i>
Transfer RNAs (31/40)	<i>trnA-UGC* (x2), trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC, trnF-GAA, trnG-GCC, trnG-UCC, trnH-GUG, trnI-CAU (x2), trnI-GAU* (x2), trnK-UUU, trnL-CAA (x2), trnL-UAA*, trnL-UAG, trnM-CAU,</i>

	<i>trnM-CAU</i> (x2), <i>trnN-GUU</i> (x2), <i>trnP-GGG</i> , <i>trnP-UGG</i> , <i>trnQ-UUG</i> , <i>trnR-ACG</i> (x2), <i>trnR-UCU</i> , <i>trnS-GCU</i> , <i>trnS-GGA</i> , <i>trnS-UGA</i> , <i>trnT-GGU</i> (x2), <i>trnT-UGU</i> , <i>trnV-GAC</i> (x2), <i>trnV-UAC*</i> , <i>trnW-CCA</i> , <i>trnY-GUA</i>
Proteins of small ribosomal subunit (12/14)	<i>rps2</i> , <i>rps3</i> , <i>rps4</i> , <i>rps7</i> (x2), <i>rps8</i> , <i>rps11</i> , <i>rps12**</i> , <i>rps14</i> , <i>rps15</i> , <i>rps16*</i> , <i>rps18</i> , <i>rps19</i> (x2)
Proteins of large ribosomal subunit (9/11)	<i>rpl2*</i> (x2), <i>rpl14</i> , <i>rpl16</i> , <i>rpl20</i> , <i>rpl22</i> , <i>rpl23</i> (x2), <i>rpl32</i> , <i>rpl33</i> , <i>rpl36</i>
Subunits of RNA polymerase (4/4)	<i>rpoA</i> , <i>rpoB</i> , <i>rpoC1*</i> , <i>rpoC2</i>
Subunits of NADH-dehydrogenase (11/12)	<i>ndhA*</i> , <i>ndhB*</i> (x2), <i>ndhC</i> , <i>ndhD</i> , <i>ndhE</i> , <i>ndhF</i> , <i>ndhG</i> , <i>ndhH</i> , <i>ndhI</i> , <i>ndhJ</i> , <i>ndhK*</i>
Large subunits of Rubisco (1/1)	<i>rbcL</i>
Subunits of cytochrome <i>b/f</i> complex (6/6)	<i>petA</i> , <i>petB</i> , <i>petD</i> , <i>petG</i> , <i>petL</i> , <i>petN</i>
Subunits of ATP synthase (6/6)	<i>atpA</i> , <i>atpB</i> , <i>atpE</i> , <i>atpF*</i> , <i>atpH</i> , <i>atpI</i>
Acetyl-CoA carboxylase (1/1)	<i>accD</i>
Cytochrome <i>c</i> biogenesis (1/1)	<i>ccsA</i>
Maturase (1/1)	<i>matK</i>
Protease (1/1)	<i>clpP*</i>
Envelope membrane (1/1)	<i>cemA</i>
Conserved hypothetical chloroplast reading frames (5/7)	<i>ycf1</i> , <i>ycf2</i> (x2), <i>ycf3*</i> , <i>ycf4</i> , <i>ycf15*</i> (x2)
Open Reading Frames (ORFs) (3/5)	<i>orf42</i> (x2), <i>orf56*</i> (x2), <i>orf188</i>
Others (1/1)	<i>infA*</i>

*Intron-containing gene.

모시풀 유전자원간 IGS 및 인트론 영역의 SNP 변이 탐색

모시풀 엽록체 유전체 정보로부터 IGS와 인트론 영역을 확인하였다. 이들 중에서 3개의 IGS (*atpF-atpH*, *psbK-psbI*, *trnL-trnF*)와 3개의 인트론(*atpF*, *trnL*, *trnV*) 영역을 선정하여 모시풀 유전자원간 서열 변이를 탐색하고, 모시풀 유전자원 및 품종구분을 위한 바코딩 마커로 개발하고자 하였다. 총 16개 유전자원에 대해 분석한 결과, *trnL-trnF* IGS와 *trnV* 인트론 영역은 자원간 서열 변이가 전혀 없었다(자료 미제시). *atpF-atpH*, *psbK-psbI* IGS와 *atpF* 인트론에서는 자원간 SNP 또는 InDel을 확인할 수 있었으며, *trnL* 인트론에서는 SNP를 확인할 수 있었다(Table 11과 Table 12). 따라서 이들 SNP나 InDel 정보를 조합하여 사용하면 모시풀 유전자원 또는 품종을 판별하기 위한 엽록체 바코딩 마커로 활용가능한 것으로 판단된다.

Table 11. Sequence variation of *atpF-atpH* and *psbK-psbI* IGS regions among ramie accessions.

IGS	<i>atpF-atpH</i>									<i>psbK-psbI</i>						
	69	88	90	111	152	153	184	287	421	14	62	200	214	226-230	297	664
PDBK_2005-1461	ND*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	T	-	T	A	-	A	T
Bn13A	T	-	G	A	T	-	T	A	A	-	-	G	A	-	A	T
Bn14A	T	-	G	A	T	-	T	A	A	T	-	G	A	-	A	T
Bn15A	T	-	T	A	-	-	T	A	A	T	-	T	A	-	A	T
Bn16A	T	-	T	C	T	-	T	C	-	T	G	T	A	-	A	T
Bn17A	C	-	T	C	T	T	T	A	A	T	-	T	-	-	G	T
Bn18A	T	-	T	A	-	-	T	A	A	-	-	T	A	-	A	T

Bn19A	T	—	G	A	T	—	T	A	A	T	—	G	A	—	A	T
Bn20A	T	—	T	C	T	—	T	C	—	T	—	T	A	—	A	T
Bn41A	T	—	T	A	—	—	T	A	A	T	—	T	A	—	A	T
Bn42A	T	—	G	A	T	—	C	A	A	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bn43A	T	—	G	A	T	—	T	A	A	T	—	G	A	—	A	T
Bn44A	T	—	T	A	—	—	T	A	A	T	—	T	A	—	A	T
Bn45A	T	T	T	A	T	—	T	A	A	T	—	T	A	CAATC	G	G
Bn46A	C	—	T	C	T	T	T	A	A	T	—	T	—	—	G	T
Bn47A	T	—	G	A	T	—	T	A	A	T	—	G	A	—	A	T
Bn48A	T	T	T	A	T	—	T	A	A	T	—	T	A	CAATC	G	T
Variation	C/T	InDel	G/T	A/C	InDel	InDel	C/T	A/C	InDel	InDel	InDel	T/G	InDel	InDel	A/G	T/G

*ND, not determined yet.

Table 12. Sequence variation of *atpF* and *trnL* introns among ramie accessions.

Introns	<i>atpF</i>			<i>trnL</i>
Positions	23	345–346	875	405
PDBK_2005–1461	—	TA	—	C
Bn13A	—	TA	T	C
Bn14A	—	TA	—	C
Bn15A	—	TA	—	C
Bn16A	—	TA	—	C
Bn17A	—	—	—	C
Bn18A	—	TA	—	C
Bn19A	—	TA	—	C
Bn20A	—	TA	—	C
Bn41A	—	TA	—	C
Bn42A	G	TA	—	C
Bn43A	—	TA	—	C
Bn44A	—	TA	—	C
Bn45A	—	—	C	A
Bn46A	—	—	—	C
Bn47A	—	TA	—	C
Bn48A	—	—	—	A
Variation	InDel	InDel	T/C, InDel	C/A

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절. 연차별 연구개발 수행내용 및 목표달성도

1. 1차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
유전자원 특성조사 및 우량품종 10종 선발	<ul style="list-style-type: none"> - 유전자원별 생육조사 (90종, 연 3회 수확 기준) <ul style="list-style-type: none"> · 엽면적, 생엽중, 연결엽의 육안판별 등 ↳ 우량품종 10종 선발 - 심토과쇄기 이용 구근(10년)절단 시험 <ul style="list-style-type: none"> · 시험요인 : 구근절단 유, 무 · 생육상황점검 및 생엽중 비교 - 수확횟수에 따른 수량성 검토 <ul style="list-style-type: none"> · 3회(50일 간격), 4회(40일 간격), 5회(30일 간격) <p>※ 횟수별 수량성 추이 검토</p>	100
모시품종의 <i>in vitro</i> 유용성 및 약리활성 탐색	<ul style="list-style-type: none"> - 표준 추출물 및 분획물 조제 <ul style="list-style-type: none"> · 제1세부과제에서 확보되어 제공된 모시잎 품종의 메탄올 이용 표준 추출물 조제 · 계통적 추출법을 통한 <i>in vitro</i> 스크리닝용 표준 분획물 조제 - <i>In vitro</i> 유용성 탐색 <ul style="list-style-type: none"> · 항산화활성 탐색: DPPH 및 hydroxy radical 소거능 측정 · 항균활성 탐색: 디스크 확산법 (disc diffusion assay) · 항염증활성 탐색: NO 생성 억제 측정 · 항암활성 탐색: AGS 위암세포 억제능력 측정 · 항당뇨활성 탐색: Aldose Reductase 억제활성 측정 	100
모시 SSR 마커 개발과 모시풀(<i>B. nivea</i>) 엽록체 유전체 해독	<ul style="list-style-type: none"> - 모시풀 자원간 다형성을 보이는 SSR 마커 발굴 - 차세대유전체 분석기술을 활용하여 유전체 해독을 수행하고, 엽록체 유전체 assembly 완성 - SSR 마커 발굴 결과에 대해 2013년 한국작물학회 추계학술발표회 발표 	100

2. 2차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
<p>유전자원의 가공성 검정으로 가공식품 원료용 모싯잎 우량품종 선발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 선발된 우량 10종의 재배적 특성 및 가공수율 조사 <ul style="list-style-type: none"> · 초장, 엽수량 등 재배적 특성 조사 · 엽을 삶은 후 무게 측정 및 생엽중과 비교 <ul style="list-style-type: none"> ☞ 우량품종 1종 선발 - 심토파쇄기 이용 구근(10년)절단 시험구 생육조사 <ul style="list-style-type: none"> · 시험요인 : 구근절단 유, 무 · 생육상황점검 및 생엽중 비교 - 수확횟수에 따른 수량성 검토(2회차) <ul style="list-style-type: none"> · 3회(50일 간격), 4회(40일 간격), 5회(30일 간격) <p>※ 횟수별 수량성 추이 검토</p>	<p>100</p>
<p>모시고유 기능성물질 분리분석 및 함량 탐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 선발모시품종의 활성분획이용 크로마토그래피와 prep-HPLC 분리분석 <ul style="list-style-type: none"> · 1차년도에서 활성이 확인된 모시품종으로부터 물질 분리 실시 - 분리물질의 <i>in vitro</i> 유용성 및 약리활성 탐색 <ul style="list-style-type: none"> · 활성분획으로부터 분리된 물질의 항산화, 항균, 항염증, 항암, 항당뇨 등 활성 탐색 - 재배환경에 따른 성분변화의 모시품종간 기능성물질 함량 비교연구 <ul style="list-style-type: none"> · <i>In vitro</i> 상에서 생리활성이 밝혀진 기능성 물질의 모시품종간 함량비교 및 밸리데이션 연구 	<p>100</p>
<p>개발된 SSR 마커를 활용한 모시 유전자원 분석과 모시 유전자원들에 대한 엽록체 비핵독 부위 서열 결정 및 분자 계통수 작성</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 모시풀 유전자원과 국내 자생 모시풀속 식물 기준종들의 ITS 서열을 이용한 분자계통수 작성 - SSR 마커를 이용하여 모시풀 유전자원 분석 - 모시풀 엽록체 유전체에 대한 gene annotation 및 유전체 특성 분석 - SSR 마커를 이용한 유전자원 분석 결과를 2014년 한국식물학회 및 한국육종학회 학술발표회 발표 	<p>100</p>

3. 3차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
모시 우량품종 선발 및 특성검정	<ul style="list-style-type: none"> - 우량품종 순계분리 및 실증시험 - 고유특성과 가변특성 검정 : 연중 - 우량품종 이용 가공시제품 제작 및 홍보활동 - 컷트높이에 따른 수량성 조사(연4회) <ul style="list-style-type: none"> · 지상부로부터 5cm이내, 15cm, 25cm 	100
모시고유 기능성물질의 <i>in vivo</i> 동물실험을 통한 약리 연구	<ul style="list-style-type: none"> - 동물실험용 기능성물질의 HSCCC를 이용한 대량분리 <ul style="list-style-type: none"> · 2차년도에서 기능이 확인된 물질의 CCC를 이용한 대량분리 및 고순도 물질의 조제 - <i>In vitro</i> 활성물질의 <i>in vivo</i> 동물실험 효능 연구 <ul style="list-style-type: none"> · 대량분리된 고순도 물질을 가지고 항산화, 항균, 항염증, 항암, 항당뇨 등 효능이 있는 활성에 대하여 <i>in vivo</i> 동물실험 연구 및 효능 확인 	100
개발된 SSR 마커를 활용한 모시 유전자원 분석 및 multiplex genotyping 체계 구축과 모시풀 엽록체 비핵독 부위(IGS, intron) 변이 부분을 이용한 SNP/InDel 마커 발굴	<ul style="list-style-type: none"> - SSR 마커를 이용한 모시풀 유전자원 분석 최종 완료 및 multiplex genotyping 체계 구축. - 모시풀 엽록체 비핵독 부위(IGS, intron) 변이 부분을 이용하여 SNP 및 InDel 마커 발굴 	100

제 2절. 관련분야에의 기여도

DNA 기반의 SSR 마커나 엽록체 바코딩 마커는 국제적으로도 공인받고 있는 기술이다. 특히, SSR 마커의 경우 국제식물신품종보호연맹(UPOV)에서도 품종 판별을 위해 사용을 권장하고 있는 과학적이고 객관적인 기술이다. 본 연구를 통해 확보된 다형성 SSR 마커들은 신규성이 있는 마커이며, 국내에서 수집된 모시풀 고유 유전자원을 효율적으로 분석할 수 있음이 제시되었다. 또한 본 연구를 통해 확보된 17개의 신규 SSR 마커는 국내 특허 출원을 완료하였다. 본 과제를 통해 확보된 SSR 마커는 품종 육성, 핵심집단 구축, 품종 판별을 통한 가공식품 원료물질 표준화 등 다양한 분야에 활용이 가능하다.

엽록체 유전체는 품종 판별을 위한 중요한 정보를 IGS (intergenic spacer) 혹은 인트론 영역에 다수 포함하고 있다. 모시풀 엽록체 유전체에 대해서는 현재까지 중국 연구자들에 의해서도 보고된 바 없다. 일부 IGS 및 인트론 서열을 모시풀 유전자원에 적용하여 다수의 서열 변이(SNP, InDel) 정보를 파악하였으며, 이를 활용하여 품종 판별을 통한 가공식품 원료물질 표준화에 효율적으로 사용할 수 있다.

모시풀 엽록체에 대해서는 본 과제를 통해 처음으로 해독되어 근연 분류군을 비롯한 식물의 진화 및 계통 연구에 활용될 것으로 전망된다. 엽록체 비해독 부위(IGS, intron)는 종, 품종, 변종 등을 구분할 수 있는 바코딩 마커로써 계통식물학 분야에서 보편적으로 활용되고 있다. 본 과제를 통해 서열 변이가 심한 IGS와 intron 마커가 확보되어 모시풀 및 근연 분류군의 종, 품종, 변종 등의 판별에 활용될 수 있다. 모시풀 엽록체 유전체 및 바코딩 마커에 대해서는 국제 학술지 논문 투고 및 국내 특허 출원이 이루어질 것이다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절. 연구성과 목표 대비 실적

1. 정량적 성과

(단위 : 건수)

구분		특허		신품종			학회발표	논문		기타	
		출원	등록	품종명칭등록	품종생산수입판매신고	품종보호		SCI	비SCI		
						출원					등록
1차년도	목표	1					3		1		
	달성	1					4				
2차년도	목표						3	1	2		
	달성						7		1		
3차년도	목표	1	1				3	2	2		
	달성	2				1	8	1	2		
계	목표	2	1				9	3	5		
	달성	3	-			1	19	1	3		

2. 지식재산권(특허 및 신품종)

구분	지식재산권 등 명칭	국명	출원		
			출원인	출원일	출원번호
발명특허	모시 추출물을 유효성분으로 함유하는 위암 예방 또는 치료용 조성물	대한민국	중앙대학교 산학협력단	2013.12.03	10-10-2013-0149453
발명특허	더덕 품종 구별을 위한 SSR 분자마커 및 이의 용도{SSR molecular markers for discriminating of Codonopsis lanceolata cultivars and uses thereof}	대한민국	(주)바이오메딕	2015.11.03	10-2015-0153482
신품종	품종보호출원(옥당)	대한민국	영광군수	2015.11.05	출원2015-633 명칭2015-1539
발명특허	모시풀 품종 구별을 위한 SSR 분자마커 및 이의 용도{SSR molecular markers for discriminating Boehmeria nivea cultivars and uses thereof}	대한민국	(주)바이오메딕	2015.12.04	10-2015-0172105

3. 논문게재 및 학술회의 발표

가. 논문게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행 기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Various Biological Activities of Ramie (<i>Boehmeria nivea</i>)	Journal of applied biological chemistry	이상현	57	대한민국	응용생명화학회	비SCI
2	Plant-derived molecules from <i>Saussurea grandifolia</i> as inhibitors of aldose reductase	J Korean Soc Appl Biol Chem	이상현	58	대한민국	응용생명화학회	SCI
3	Protective Effects of Ramie (<i>Boehmeria nivea</i>) against Oxidative Stress in C6 Glial Cells	Korean J. Plant Res.	이상현	28	대한민국	자원식물화학회	비SCI
4	Quantitative Analysis of the Flavonoid Content in the Leaves of <i>Boehmeria nivea</i> and Related Commercial Products	Natural Product Sciences	이상현	21	대한민국	생약학회	비SCI
5	Identification of Phytochemicals from <i>Boehmerianivea</i> Leaves and Content Analysis of (-)-Loliolide by HPLC	Natural Product Sciences	이상현	투고	대한민국	생약학회	비SCI
6	The protective effect of <i>Boehmeria nivea</i> extracts against cognition and memory impairments in an A β -injected alzheimer's disease model	Food Chemistry	이상현	투고	미국	식품학회지	SCI
7	Development of novel simple sequence repeat (SSR) markers from ramie (<i>Boehmeria nivea</i> L. Gaudich) and genetic relation analysis of its genetic resources	PLoS ONE	김호방	투고	미국	PLoS	SCI
8	모시의 부위별 일반성분 분석	한작지	김영미	투고 예정	대한민국	한국작물학회지	비SCI

나. 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	한국약용작물학회 춘계학술발표회	Young-mi Kim, Yon-su Jung, Ok Ran Lee	2013.05.09.	전남대학교 컨벤션홀	대한민국
2	한국작물학회 추계학술발표회	김영미, 정용수, 장지현, 김경현, 최병옥, 유정훈, 김광수	2013.10.17	고령지농업연구센터	대한민국
3	한국작물학회 추계학술발표회 및 심포지엄	엄윤경,김영미,정용수,이상 현,김호방	2013.10.17	국립식량과학원 고령지농업연구센터	대한민국
4	응용생명화학학회	Ah Young Lee, Eun Ju Cho, Sanghyun Lee	2013.10.24	강릉KIST	대한민국
5	2014년 한국작물학회 추계학술발표회	김영미, 정용수, 박금용, 장지현, 최병옥, 김한용	2014.10.16	단국대학교 천안캠퍼스	대한민국
6	응용생명화학회친연물분과	Dong-Gu Lee, Yong-Su Jung, Sanghyun Lee	2014.05.06	태국 푸켓 모벤픽리조트	태국
7	원예학회	Dong-Gu Lee, Yong-Su Jung, Sanghyun Lee	2014.05.28	서울대학교 평창캠퍼스	대한민국
8	한국응용생명학회	Sunghun Cho, Yong-Su Jung, Sanghyun Lee	2014.10.24	목포대학교 대외협력관	대한민국
9	한국육종학회 차세대BG21사업단 골든씨드프로젝트사업단 공동심포지엄	엄윤경,김영미,정용수,장영석, 임상현,김재준,이상현,김호방	2014.07.02	라마디플라자제주호텔	대한민국
10	한국식물학회 정기학술대회	엄윤경,김영미,정용수,김지현, 임상현,김재준,이상현,김호방	2014.11.06	대전 생명공학연구원	대한민국
11	한국영양학회 추계국제학술대회	Sanghyun Lee, Eun Ju Cho	2014.11.05	Ramada Plaza Jeju Hotel	대한민국
12	한국약용작물학회춘계학술발표회	김영미,이동호,정용수,김영 길,박금룡,김한용	2015.05.07	건국대학교 새천년관 국제회의장	대한민국
13	한국작물학회추계학술대회	김영미,박금룡,김영길,이현 삼,이동호,정용수,박홍재	2015.09.23	충원대학교 본관(대강당 11층,CEO룸 2층)	대한민국
14	한국약용작물학회 심포지엄 및 춘계학술발표회	Sunghun Cho, Sanghyun Lee	2015.05.07	건국대학교	대한민국

15	2015 International Symposium on Plant Sciences & The Annual Conference of the Korean Society of Plant Biologists	엄윤경,이혜영,우진규,김지현,이상현,김영미,정용수,이상현,김호방	2015.11.05	충남대학교	대한민국
16	한국응용생명화학회 천연물분과 및 호남제주지회 합동 심포지엄	Sunghun Cho, Sanghyun Lee	2015.10.22	제주대학교	대한민국
17	3rd International Conference and Exhibition on Traditional & Alternative Medicine	Sunghun Cho, Sanghyun Lee	2015.08.03	영국 버밍엄	영국
18	International Symposium and Annual Meeting of The KSABC	Sunghun Cho, Sanghyun Lee	2015.08.17	서울대학교 평창캠퍼스	대한민국
19	202015 한국육종학회 차세대BG21사업단 골든씨드프로젝트사업단 공동심포지엄	엄윤경,이혜영,우진규,김지현,김영미,김영미,정용수,이현삼, 이상현,김호방	2015.07.01	부산 벅스코 컨벤션홀	대한민국

제 2절. 성과활용 목표 대비 실적

구분	기술실시(이전)	사업화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타*
활용건수	목표	1	2	5	3	1
	달성	3	4	6	37	9

* 기타 : 인력양성 4건, 교재제작 1건, 전시·박람회 참가 3건, 수상 1건

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1절. 싱가포르 국제식품박람회 (2013. 5. 30 ~ 6. 03)

1. 싱가포르 기본현황

면 적	인구('12년)	1인당 GDP (US\$, '12년)	국가원수	특 징
697km ² (서울의 1.15배)	5,300천명	50,323	토니 탄 (陳慶炎)	2009년 기업하기 좋은 국가 1위 선정 (world bank)

2. 싱가포르 식품 시장의 특성

가. 싱가포르 시장 현황

구 분	내 용
관세	· 한국과 자유무역협정 발효 (2006. 3)
한국수출액 (2010년)	· 약 US\$6,398백만달러
주요 진입 한국식품	· 신선농수산물 및 가공식품 전반
주요 판매처	· 슈퍼마켓, 백화점, 약재상 등 건강식품 체인점
시장 특성	· 식품이 각 나라별로 다양하게 수용되어 있음.
주요 특성	<ul style="list-style-type: none"> · '11년 아시아지역 1인당GNP 1위(세계 11위) · 언어 : 말레이어, 중국어, 영어 · 기후 : 전형적인 열대기후로 고온, 다습, 다우 · 무역자유화 및 외자유치를 통한 세계적 비즈니스 센터 · 세계적인 교통, 물류, 금융, 원유 거래 중심지 · 2009년 국제경쟁력 3위(1위 : 스위스, 2위 : 미국)

나. 싱가포르시장의 장·단점

구 분	내 용
장점	· 무역자유화, 투자환경이 좋음, 세계교통, 금융, 물류 중심지
단점	· 투자의 해외 의존도가 높음, 경쟁이 치열함

3. 싱가포르 국제식품박람회 참관

가. 개요

- 행사명 : 2013 싱가포르 국제식품박람회(14회)
- 기간 : 2013. 5. 30(목) ~ 6. 3(월), 5일간
- 장소 : SINGAPORE EXPO Hall 4
- 주최 : Singex
- 품 목 : 음식, 음료, 주류, 슈퍼마켓, 베이커리 산업, 생활/건강식품 등
- 성 격 : 격년 개최되는 아시아 식품박람회로 싱가포르를 비롯한 중국, 대만, 싱가포르 등 동남아시아 바이어 대거 참가



Singapore expo hall

나. 한국관 참관

- 참가업체 : 10업체
- 전시품목 : 불고기, 잡채, 김밥, 라면, 떡볶이 등
- 참가주관 : aT(한국농수산물유통공사)
- 수출업체관 : 부류별 배치로 공동 홍보 효과 거양



다. 『KOREAN-FOOD 시식관』 참관

- 운영주관 : aT 센터
- 운영목적 : 우리음식 잡채, 불고기, 김밥 등을 시식하게 하는 시연행사를 통해 한국상품과 식문화를 동시에 알려 홍보 효과 거양
- 운영규모 : 4부스 규모
- 내 용
 - 한국의 K-POP 걸 그룹 대형 포스터를 통해 인지도 상승
 - 잡채, 불고기, 김밥등을 실시간 조리해서 시식 할수 있도록 함
 - 판촉방식 : 옆 판매부스를 통해 잡채 등 식재료를 저렴하게 판매



라. 가공식품 현황

- 주로 싱가포르 현지 생활음식이 주를 이룸
- 대부분의 음식이 향료냄새가 강하며 지역색을 나타내고 있음
- 가공하지 않은 곡물 그대로 포장은 진공 포장인 주를 이룸
- 지역적인 특색으로 특별한 모양을 갖췄거나 독특한 요리법등을 포함



우리나라 육포와 비슷하나 육포보다 부드럽고 맛은 진하지 않고 부드러움



오리고기를 숯불에 굽는 모습



전통빵과 같으나 빵 하나하나에 특별한 모양이 새겨져 있어 풍미를 더함



찐 만두에 고추를 덧뿌려 매운맛이 베게함



견과류 같은 간단하게 먹을수 있는 음식을 통조림으로 제조하여 판매



통마늘을 소량으로 포장해서 판매, 우리나라의 간마늘 포장 판매보다 신선도를 유지할수 있고 위생적으로 보임



싱가포르의 향토음식(떡볶이 같은 음식)을 시식후 판매



전통빵과 같으나 빵 하나하나에 특별한 모양이 새겨져 있어 풍미를 더함



찐만두에 고추를 덧뿌려 매운맛을 스며들게 함



한국식품관은 쌀국수를 종류별로 진열 판매하고 있음
싱가포르 마켓이나 편의점에 한국라면이 대중화 되어 있어 그 시장의 틈새를 공략



TAPIOCA의 전분을 이용해 연한 연두색을 띄도록 부침개를 만들어 색다른 맛을 나타냄



나물류 같은 건조시켜 판매하는 것들은 나물의 상태를 한눈에 볼수 있도록 전체가 투명한 용기를 사용하여 품질을 확인할수 있음



만두의 피를 타피오카전분을 이용하여 두가지 색이 나타나게 하여 시각적인효과를 부각시킴



튀김류나 찜류에 녹색을 띤 잎사귀를 깔아 자연적인 맛을 가미한듯한 효과를 나타냄



소고기를 원추형으로 말려 육포를 만들 더욱 먹음직스럽게 보임



현지과일을 직접 갈아 만든 과일 주스



투명 용기에 여러 가지 색깔의 떡을 한 용기에 담아 미적효과를 가미함



떡 포장할 때 밑 부분에 같이 삶은 잎을 깔음



우리나라에서는 주로 삶아먹는 꽃게를 기름에 튀겨 만든 요리



우리나라 연밥과 비슷함



빈대떡과 비슷한 음식



어묵을 매콤하게 만든 요리



팬케익에 초록색을 더해 신선한 느낌이 남

	
팬케익	Shark Fin Soup

마. 박람회 출품 식품 특성

1) 치열한 가격 경쟁

- 높은 임대 가격으로 유통업체 및 요식업체의 식품 판매 단가 등에 매우 민감함
- 한국산 농산물 및 식품 등은 상대적으로 가격이 높아 현지 소비 수준 및 세계 각국 경쟁 품목가의 시장내 경쟁력을 확보하기 위해서는 가격 전략이 필요

2) 품질에 대한 차별화

- 중국의 저가 식품에 대한 불신과 일본제품의 품질 수준을 기대하는 소비자를 대상으로 차별화 양상을 보임
- 상품 자체의 품질 뿐 아니라 포장 등에 대한 소비자 관심도가 높음

3) 안전한 먹거리 선호

- 최근 주변국의 안전성 이슈발생 등으로 현지 소비자의 식품 안전성 관심도가 높아짐
- 원산지 추적 등 식품의 안전성 등에 관심이 높아짐
- 스마트한 식문화
 - 인터넷 보급 등 트렌드에 민감한 소비자의 휴대전화 및 트윗 문화 등이 식품 분야의 트렌드 내 중요 이슈임
 - 최근 스마트폰을 활용한 요식업체 및 식품 관련 프로모션 다수 진행 중
- 퓨전 음식 및 유명요리사 마케팅 믹스
 - 유명요리사와 요리 마케팅 믹스
 - 박람회 기간중 요리 경연대회 추진

바. 시사점 및 특이사항

1) 시사점

- 싱가포르의 수입의존도가 높은 동남아·중화권의 중계무역 기지로 지속적인 수출확대를 위한 기반조성 필요
- 한류영향으로 한국식품에 대한 관심이 높아지고 있어 수입품목 다변화에 따른 시장선점 필요

- 원료 가공품보다는 다른 곡류와 두류 및 씨앗류를 혼합한 가공품이 주를 이룸
- 또한 빵 안에 싱가포르 주요 특산품을 넣어 현지인의 간단한 식사대용으로 선호
- 도정만 거친 가공하지 않은 곡물 포장은 일반 포장과 진공 포장 방법으로 소포장하여 유통

2) 특이사항

- 농업을 하지 않고 유통업이 주를 이루는 싱가포르 시장은 다양한 가공식품의 유통현황과 선호하는 가공식품 현황을 알 수 있는 주요 시장임
- 빵의 주요 포장 방법은 날개로 개별포장 되어 있어 테이크 아웃에 적합하였음
- 우리군 특화작목이며 본 연구과제의 주작목인 모싯잎을 활용하려면 원료의 첨가와 함께 만두나 빵 등 색깔을 낼 수 있는 부분에 활용하는 것도 효과적일 것 같으며 음식 조리 시에 생잎을 통째로 바닥에 깔아 활용하는 것도 모싯잎을 소비하는데 도움이 될 거라 사료됨

사. 총 평

- 농림수산식품부 연구개발사업으로 추진하는 향토자원 식용모시의 기능성 규명 및 우량 품종 선발과 관련된 자료를 수집하고 다양한 가공식품의 동향을 파악하기 위해 해외 벤치마킹을 2013. 5. 30부터 6. 3까지 싱가포르로 추진함
- 방문국 방문 기간 동안 싱가포르 국제식품박람회를 참관하면서 박람회에 출품한 곡물 가공식품을 조사하고 모싯잎 가공식품의 활용방안에 대하여 벤치마킹함
- 농업을 하지 않고 유통업, 금융업이 주를 이루는 싱가포르 시장은 다양한 가공식품의 유통현황과 선호하는 가공식품 현황을 알 수 있는 매력있는 배움터였음
- 싱가포르는 도심에 횡단보도가 거의 있지 않고 건물들이 City Link라는 명목하에 다 연결 되어 있어서 이동이 편리 하였으며 기후가 급변하여 비가 자주 오는데도 거의 비를 맞지 않고 이동할 수 있도록 되어있어 해외 관광객들이 불편 없이 쇼핑을 하거나 관광을 할 수 있게 된 점이 인상적이었음

제 2절. 캄보디아 모시 자생지 탐방 (2014. 8. 27 ~ 8. 31)

1. 캄보디아 일반현황

캄보디아(Kingdom of Cambodia)는 동남아시아 인도차이나 반도의 남부에 위치하고 있고 181,035km² 면적과 약 1,400만명의 인구(2007년 기준)를 가지고 있다. 국토의 모양은 캄퐁툼주를 중심으로 사각형의 모양을 하고 있으며, 남북 거리는 440km, 동서 거리는 560km로 아세안 10개 국가 중 면적으로는 8번째이며, 인구로는 7번째이다. 북위 10도와 15도, 동경102도와 108도 사이에 위치하고 있다. 북쪽으로는 라오스와 동쪽으로는 베트남, 서쪽으로는 태국과 국경을 접하고 있다. 지형은 크게 4가지 형태로 구분되는데 수도 프놈펜을 포함한 끈달주, 캄퐁참주, 스베이리엥주, 프레이벵주, 다케오주의 평지와 캄퐁툼주, 시엠리엥주, 반티에이 멘체이주, 바탐방주, 프레이벵주, 다케오주의 평지와 캄퐁툼주, 시엠리엥주, 반티에이 멘체이주, 바탐방주, 프셋주, 캄퐁츠낭주, 오다멘체이주, 파일린시티의 톤레삼호수 주변지대, 시하눅후, 캄퐁주, 꼬룽주, 께시

티의 해안지대, 캄퐁스프주, 크랏체주, 스통트렝주, 프레아비히어주, 라타나기리주, 몬둘끼리주의 고원 및 산간지대이다. Mekong강(江)이 중앙부를 관류하는 대규모 평원국가이다. 지형은 남쪽을 제외한 전 방향이 산지로 둘러싸여 있고, 산지로 둘러싸인 중심부에는 넓은 평원이 전개되어 있으며 평원의 중앙부에는 톤레삿(Tonle sap) 호수가 있어, 마치 넓은 그릇모양의 지형을 이룬다. 동쪽과 남동쪽은 베트남과 국경을 접하고, 북쪽은 라오스, 북쪽과 서쪽은 태국과 국경을 접하고 있다. 북부·서부·남서부의 산지에서 흘러내리는 강은 모두 톤레삿(Tonle sap)호수로 유입되며, 호수의 동쪽 끝에서 톤레삿(Tonle sap)강이 남동쪽으로 흘러서 동부 구릉의 가장자리로 흐르는 메콩강과 합류한다. 북동부 산지에서 흘러내리는 지류는 메콩강으로 유입된다. 기후는 전형적인 열대몬순기후로 10월 중순~5월 초의 건기와 5월 중순~10월 초의 우기로 나누어진다. 캄보디아 인구의 80%가 종사하는 농업은 국가경제의 주를 이룬다. 주산물은 쌀인데 전체 경작지의 85%를 차지하며 메콩강과 Tonle sap 주변이 주산지이다. 그밖에 고무, 옥수수, 카사바, 목화, 야자, 잎담배 등의 농림산물이 있다. 캄보디아는 1963년에 사회주의 정책을 채택하여 은행의 국유화, 수출입의 국가독점, 주요 산업체의 국가관리 등의 조치를 취하였으며, 공산독재를 행하여 전체 생산수단의 국유화, 화폐의 폐기, 생활필수품의 소량배급제를 실시함으로써 극심한 생산의 정체를 가져왔고, 국민경제는 파탄에 이르렀으며 심각한 식량부족을 초래하였다. 1989년 시장경제를 도입한 이후 외국인 투자를 유인하려는 제도적 노력 등에 의하여 2006년 GDP는 \$7,256억으로 1인당 GDP는 \$513, 경제 성장률은 10.8%이다. 2006년 인플레이션은 2.6%수준이고, 2007년 추정치는 6.2%이다. 1인당 국민소득은 빠른 속도로 증가하고 있지만, 주변 지역의 다른 나라에 비하면 아직도 낮은 수준이다. 대부분의 도시 주거는 농업에 의존해 있고, 그 관련 하부 구역도 마찬가지이다. 벼농사, 어업, 목재, 의류, 고무는 캄보디아의 주요 수출품이다. 2000년도에 이르러서야 쌀의 자급자족이 이루어지게 되었다. 캄보디아는 풍부한 천연자원과 수자원뿐만 아니라 적은 인구에 비해 넓은 국토를 갖고 있다. 따라서 캄보디아의 주력 수출품인 쌀, 콩, 옥수수, 고구마, 야자유, 천연고무, 타피오카 등의 농업생산에 장기적인 안목을 갖고 투자 진출한다면 향후 자원의 안정성 확보뿐만 아니라 수익성이 높은 투자로 관리 될 수 있을 것으로 전망된다.

2. 캄보디아의 농업 현황

가. 농업개황

캄보디아는 천혜의 농업환경을 가지고 있음에도 불구하고, 내전 등의 정치적 영향으로 인해 발전이 늦어졌다는 인상을 주었다. 1996년 이후 농업발전에 힘을 쏟아 착실하게 기반을 조성하고 있다고 할 수 있을 것이다. 그들의 농업잠재력은 광대한 토지자원, 농·축산에 적합한 기후, 화학적 비료의 저사용으로 인해 친환경재배가 쉬울것으로 보인다. 따라서 고부가가치 유기농 사업진출 등 선진 영농기법의 도입과 교육이 적절하게 이루어진다면, 우리 농업의 해외개척지로 모자람이 없다 할 것이다. 그리고 동남아시아의 중앙에 위치한 지형학적 유리성을 가진 방대한 농경지, 풍부한 강수량 등의 장점을 가지고 있다. 그런데 불충분한 관개시설, 많은 자연의존도, 유통망 미 구축, 농촌지원금융 미비, 운송시설 부족 등 후진국 어디에서나 볼 수 있는 저해 요인도 있다. 이를 역으로 보면, 이미 동일한 경험을 갖고 있는 우리나라로서는 기회

요인으로 작용 할 수 있을 것이다. 현재 캄보디아 농업의 GDP기여율은 1998년 44.8%, 2001년 36.2%, 2005년 31.1%에서 2007년 28.5%로 감소하고 있으나 이는 산업발전에 따른 비율의 감소일 뿐이다. 캄보디아 농림부를 위시한 수상, 기상자원부 등의 노력으로 2000년도 2,318,496ha의 경작 면적에서 1,903,159톤을 수확 ha 당 2.115톤의 생산량을 나타냈고, 2007년에는 2,585,905ha 경작면적에서 2,566,852톤을 생산하여 ha 당 2.621톤의 증산을 이루었다.

나. 농업의 주요 작물 및 벼 작부체계

캄보디아의 쌀 산업은 농업의 50.8%를 차지하는 기간산업이다. 벼는 대부분 우기가 시작될 때 파종 하거나 이앙하며 벼 재배 방식에는 다음과 같은 5가지가 있다. ① 저지대 천수답(직파) : 천수답의 직파재배는 일반적인 방법이며, 토양을 1~2회 경운하고, 마른 종자를 직파하며 파종 후 1회 정지작업을 한다. 직파 할 경우에는 묘, 출아한 종자, 건조 종자 등을 사용한다. 경운 정지 작업은 이앙재배와 비슷하며, 건조 종자의 직파 준비는 심수 재배와 비슷하다. 대개 출아 후 6~8주차에 경운하여 잡초를 방제하며 천수답에서는 국지적 잡초방제, 우기에는 배수와 담수의 반복으로 잡초를 제거한다. ② 천수답 이앙재배 : 못자리의 준비는 강우시기에 따라 지역마다 차이가 있다. 우기초인 4~5월에 벼농사를 시작하며, 전년도 벼 등걸 등도 이때 불에 태운다. 굳어진 땅을 소나 물소를 이용하여 경운이 될 수 있도록 몇 차례 비가 온 후 퇴비 살포를 한다. 이후 1~2주 간격으로 건운 2회, 정지 1~2회 실시 후 배수로 작업을 한다. 대개 5월 중순 시작하여 만생종부터 파종한다. ③ 밭 벼 천수재배 : 화전 방식으로 준비된 밭에 파종막대를 사용하여 직파하는데 우기직전에 파종하여, 10~11월에 수확한다. ④ 보충 관개로 건기재배(심수 및 부도재배) : 부도는 우기가 시작되면 전년도 벼 등걸을 태운 다음 2회 경운을 하고 1회 정지 작업을 한 후에 직파한다. 7월 중순 이전에 충분한 강우가 있어야 성숙기에 메콩강의 수위상승에 따라 성장할 수 있다. ⑤ 건기 저지대 관개재배 : 우기 벼 다음의 후작재배로 이앙과 직파의 방법을 모두 사용한다.

다. 보조작물 및 산업작물 재배

○ 두류

캄보디아의 두류는 땅콩, 녹두, 대두 등이다. 두류의 주 재배지역은 북서부국경에서 남동부 국경을 잇는 좁은 지역에서 전국적으로 적은 양이 재배된다. 두류 재배에 좋은 토양인 강변의 충적토와 경사지의 황토에서 재배되며, 우기 벼 재배 후 재배되거나 밭 벼와 혼작되기도 한다. 캄보디아에서의 두류는 거의 자급용으로 경작되고 있으나 품질 개량을 하여 벼와 윤작체계 확립, 가공산업의 개발 등을 추진하면 농가소득의 증가에 큰 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다. 주요 두류의 생산현황을 보면 2006~2007년 땅콩의 재배면적이 14,438ha, 수확량은 23,811톤으로 ha 당 생산량은 1.322톤이며, 녹두의 재배면적 86,584ha에서 수확량은 59,866톤으로서 ha 당 생산량은 평균 0.798톤이다.

○ 카사바

카사바는 99,207ha를 재배하여 2,182,043톤을 생산하여 ha 당 23.080톤의 생산량을 보였다. 그런데 한국의 무학주정이 캄퐁스푸에 세운(생산/일 200톤)바이오 에탄올 공장의 수요 등 바이오 연료 수요와 관련하여 재배면적의 급증이 예상된다.

○ 주요 산업작물 재배

옥수수, 황옥수수(사료용), 카사바, 고구마, 야채, 녹두 등이 재배된다. 2007년 이들 작물은 경작면적 349,14ha, 생산량 2,887,064톤으로 8.841톤/ha을 기록하였다. 구체적으로는 옥수수 376,938톤, 황옥수수 326,378톤, 카사바 2,182,043톤, 고구마 45,286톤 야채 222,893톤 녹두 59,899톤이 생산되었다.

○ 주요 산업작물 재배

땅콩, 간장콩, 상탕수수, 참깨, 담배, 황마가 재배되는데 2007년에 163,117ha에서 326,389톤을 생산하여 ha당 1.938톤/ha를 기록하였다. 작물별로는 땅콩 12,811톤, 간장콩 98,298톤, 사탕수수 141,704톤, 참깨 24,789톤, 담배 14,231톤, 황마 575톤이 생산되었다.

라. 축 산

캄보디아의 축산은 소규모의 상업생산이 있고 대부분 자급생산이다. 수준으로서 소의 경우 거의 모든 농가에서 역용으로 기르고 있으며, 하리아나종과 재래종의 교잡종이 많다. 그리고 현금 수입원과 단백질 공급원으로 돼지와 닭을 기르고 있으나 가축 방역이나 가축질병에 대한 대책이 부족한 실정이다. 2005년 이후, 국제 NGO, 축산 선진국의 원조 및 기술지원으로 체계 확립중이다.

마. 농산물 유통

캄보디아의 농산물 유통구조는 2000년 초에 비해 크게 변화된 것이 없다. 아직까지 프놈펜 등 몇몇 대도시 위주로 시장이 형성되어 있고, 나머지는 자급적 생산활동 위주이기 때문이다. 농업생산의 대부분인 쌀이 50% 정도이다. 약간의 어류와 가공목재(원목수출금지)와 고무가 농업수출의 대부분이다. 외국으로의 수출은 시아누크빌항에서 대부분이 이루어지고 있다. 거리가 먼 지역의 작물은 대개 인접 국경(태국, 베트남)을 통해 밀수출되기 때문에 정확한 수출·입 통계를 파악하기 어렵다. 현재 대부분의 농민들은 영세농으로서 영농자금의 부족으로 인해 생산 즉시 출하에 바쁜 실정이다. 이는 태국, 베트남 중간상들에게 유리하게 작용되는 요인이다. 농업금융은 있으나 선이자 공제, 고리 등의 이유로 영세 농가들을 더욱 어렵게 하고 있다. 일반적으로 생산자—중간수집상—상업적 도정업자—무역상(베트남, 태국)—도매상—소매상의 유통되고 있다. 운송은 프놈펜을, 중심으로 7개의 국도를 중심으로 이루어지고 있는데 주도로를 제외하고는 운송여건이 열악한 편이다. 철도는 바탐방—프놈펜—시아누크빌 노선들이 있으나 협궤이며 5곳의 회사에서 운송권을 선점하고 있어 일반회사가 사용하기에는 제약이 따른다. 2007년 ADB차관으로 2009(2010년)완공을 목표로 현대화 작업이 진행 중이다. 캄보디아의 유통정보시스템(MIS)은 FAO의 지원으로 구축되어 97년부터 운영되고 있다. 지방의 가격정보를 수집, 라디오를 통해 제공하는 형태이며 중앙정부의 기획부에서도 정보를 취합 발표한다.

3. 모시 자생지 탐방 및 조사

캄보디아 바탐반주에서는 50여년 전에 주로 소를 다루는 끈을 만드는 소재로 활용하기 위하여 집 근처에 모시를 재배하였다고 한다. 대단위 재배지역에서 섬유용으로도 활용하였으나 나일론섬유가 나오면서 지금은 활용되지 않고 있다. 현지 주민 중 일부는 모시 뿌리를 이용한

건강음료로 활용하고 있으며, 모시음료를 먹으면 원기가 회복되고 건강하여진다고 예로부터 전해지고 있다고 하였으며 모시가 건강에 도움이 되는 식물로 인식하고 있고 혈압을 낮춰주는 효과도 있다고 하였다. 모시는 정상적으로 생육하였을 때 키는 160 cm내외로 자라며 연중 내내 생육하다가 건기시 낙엽져서 우기가 되면 다시 생육하는 형태로 성장한다고 하였다. 모시 이용으로는 끈으로 활용시 9월이나 10월경 수확하여 박피 끈으로 사용하며 수확시 지상부를 20 cm 남기고 수확한다고 한다. 건기시 해충이 발생하나 방제는 하지 않고 비료도 사용하지 않은 자연상태에서 채취하여 활용한다. 지역 원주민을 만나 함께 모시 자생지를 조사하였으나 현재는 재배지가 훼손되어 정상적인 생육은 찾아볼 수 없고 울타리밑에서 어린싹만을 어렵게 확인하였다. 2년전에도 약용으로 사용하기 하기 위하여 굴취하였다고 하였다.



농장 이동 수단



모시 뿌리



모시 자생지 주변



모시자원 발견



카사바농장

제 3절. 중국 마류 연구소 (2015. 5. 10 ~ 5. 14)

1. 모시 연구 세미나 (좌장 : Prof SU Jianguang)

- BFC(bast fiber crops)의 부소장 Li Defang 교수 환영사
- 박금룡 박사 발표(PPT) - 한국 모시 R&D 와 산업화 현황
- SU 교수 팀 소속 Chen Jiquan 연구원 발표(PPT)- IBFC 소개
- Zhu Aiguo 교수(PPT) - 중국에서의 모시 R&D 현황

		
상호 교류 인사	박금룡 박사	IBFC 측
		
Chen Jiquan 연구원	Zhu Aiguo 교수	단체 기념촬영

2. 마류 연구소 시설 및 모시유전자원포 견학

가. 모시 유전자원 종자 보존실 및 마류 연구소 전시관, 실험실 견학

- 저온저장고 온도 : 2~4℃
- 마류 연구 역사, 수상내역, 역대소장 사진 등 전시

		
종자보존실	모시종자 보관형태	마류 연구소 전시관

나. 모시 시험포 및 유전자원포 견학

- 모시 유전자원 보유점수 : 2,052 accessions
- 펠렛 실험중(동물 먹이용), 양 먹이용, 버섯배지로의 이용성 실험
- 모시 교배 실생포, 잡초와 모시의 경합양상 실험, 우량묘 증식포 등
- 피복재 실험 : 동일 작물에 일반 비닐피복재와 인피작물의 잔여물을 이용해 만든 인피작물피복재 비교 실험
 - 비닐가격의 2.5배, 환경친화형이면서 걷어내는 수고를 덜어줌
 - 비닐은 썩지 않으나, 인피작물 피복재는 썩는데 6~7개월 걸림
- 모시 육종법 : 타가수분, 자가수분 둘 다 이용, 종자를 심어 우량묘 선발
- 모시 증식법
 - 모시 줄기 정단부를 잘라내어 아래쪽에서부터 잎을 따내고 땅에 삽목 후 비닐을 씌우고 관리하는데 햇빛이 강할 때는 차광망을 이용해 광을 차단시켜 주고, 한 낮에는 비닐을 올려 통풍을 시켜줌(15일 소요)



다. 모시 야생현황 조사

- 앞 뒷면에 털이 없는 녹엽종, 털이 있는 백엽종 등 갖길에 다양한 종 자생
- 차를 타고 달리다가도 도로가에 모시풀을 흔하게 볼 수 있음
- 고도 1,500m 높이에 도 산사 주변으로 모시풀이 자라고 있음



3. 중국 모시산업 및 연구동향

가. 방문기관(IBFC)

1) 청사



<이전청사, Yuan Jiang, Hunan, 1958>



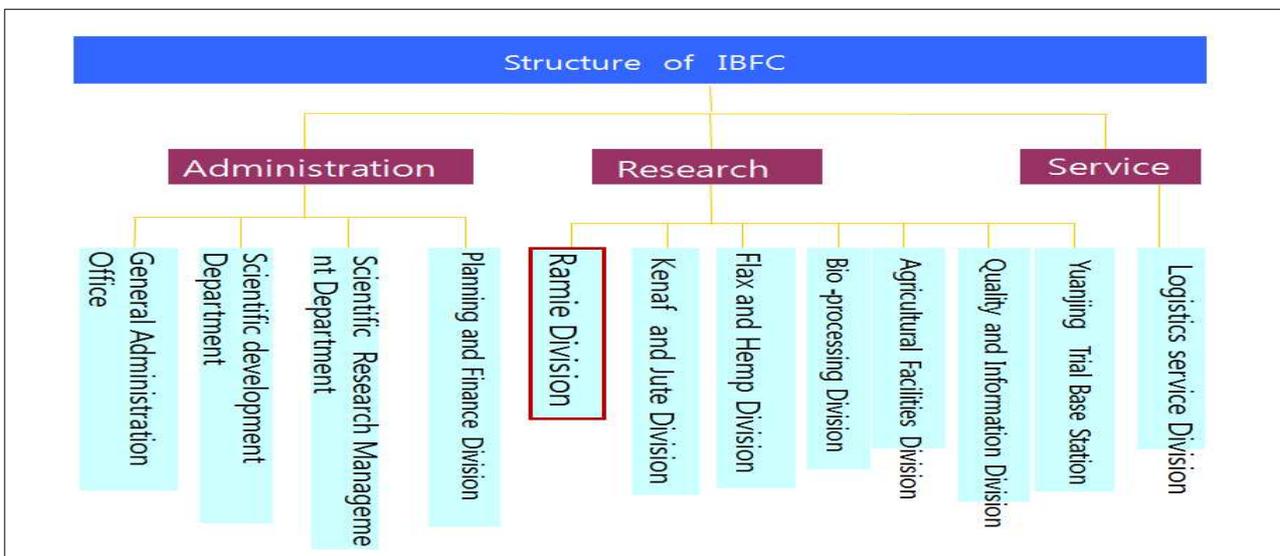
<현재청사 : Changsha, 2001>

* 중국의 인피섬유작물을 연구하는 유일한 전문국가연구소로 이전청사는 재배시험포로 활용하고 있음



<IBFC의 전경>

2) 조직도 (정원 : 178명)



3) 연구분야

- 모시, 아마, 대마, 케나프와 황마의 유전육종
- 유전자와 이용
- 바이오 정련 기술
 - * 정련 : 섬유에서 불순물을 제거하여 염색 가공이 지장 없이 이루어질 수 있도록 하는 공정
- 식물 병해충 방제
- 기계의 R&D
- 품질 측정 및 표준

4) IBFC에서 육성한 품종

- 모시(Ramie)
 - Zhong Zhu No.1, Zhong Zhu No. 2 and Zhong Si Zhu No.1.



<Zhong Si Zhu No.1>



<Zhong Zhu No.2>

- 케나프(Kenaf)
 - China kenaf 12 , Kenaf hybrid H305 and China hybrid kenaf 318
- 황마(Jute) : Zhong Huangma No.1-5, Di Wangcai No.1-2
- 아마(Flax) : Zhong Yama No.1 and Zhong Yama No.2

5) 보유 자원(Germplasm)

- 케나프(Kenaf) : collected 1964 accessions , wild type collections: 13 species
- 아마(Jute) : collected 1546 accessions , wild type collections: 11 species
- 모시(Ramie) : collected 2052 accessions
- Other fiber crops: flax, hemp, velvetleaf and sisal

6) 인피섬유작물의 이용

- 가방, 옷, 커튼, 이불, 카펫, 벽지, 매트리스
- 인피섬유 멀칭필름
 - 주요 성분 : 케나프와 황마 섬유
 - 생 분해성 : 오염없이 분해

- 질병 및 잡초 증가 수율, 공기 및 수분 조절 양방향 방지
- 중국 우수 특허상 수상



○ 버섯배지로 이용



苳麻杆栽培平菇
Pleurotus ostreatus cultivation using ramie core



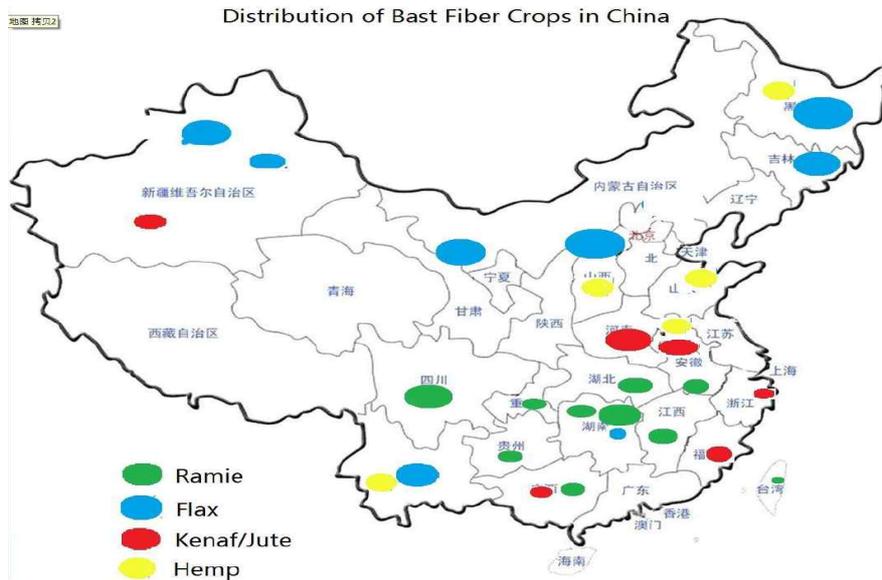
苳麻杆栽培杏鲍菇
Pleurotus eryngii cultivation using ramie core



苳麻杆栽培金针菇
Flammulina velutipes cultivation using ramie core

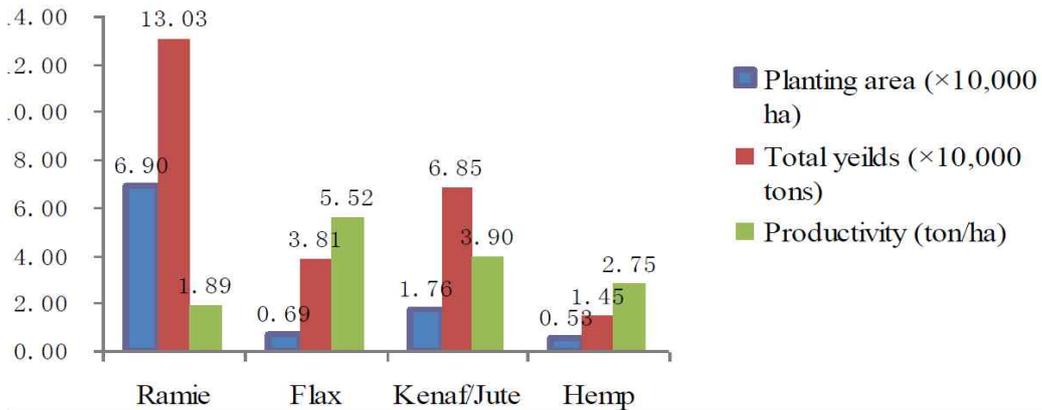
나. 중국 모시 생산 및 다양한 용도

1) 중국 인피작물의 분포



2) 중국에서 인피작물의 생산량

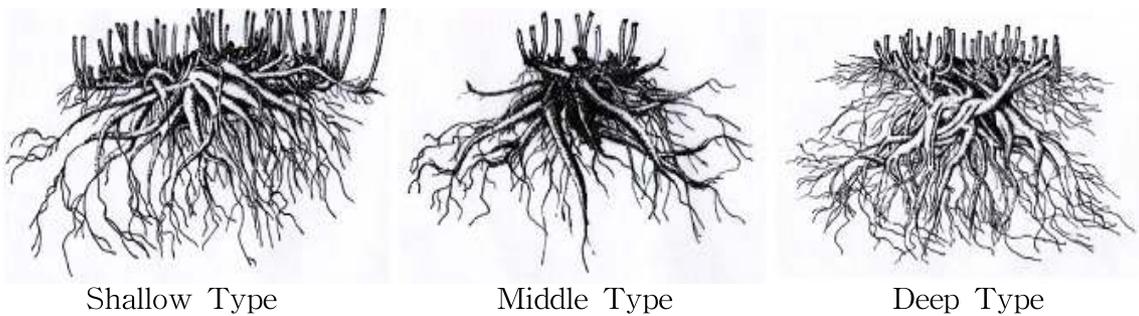
**Production of Bast Fiber Crops in China
(Data from Ministry of Agriculture, 2012)**



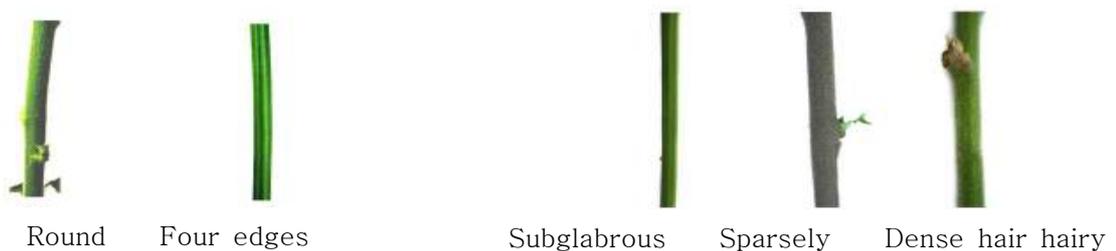
3) 모시 자원포 소개 (2,052 자원 보유)



○ 뿌리 타입별 모시 종류



○ 줄기 모양별 모시 종류



○ 잎 모양 및 색상별 모시 종류



Heart shape

Oval

Long oval

Yellow green to dark green

○ 모시 꽃 색상별 종류



Yellow green

Pink red

Light red

Red

Dark red

4) 중국의 주요 모시 품종

<p>Zhongzhu No.1</p>	<p>Xiangzhu No.2/Yuan yeqing</p>	<p>Xiangzhu No.3</p>
<p>Huazhu No.5</p>	<p>Chuanzhu No.8</p>	<p>Chuanzhu No.9</p>

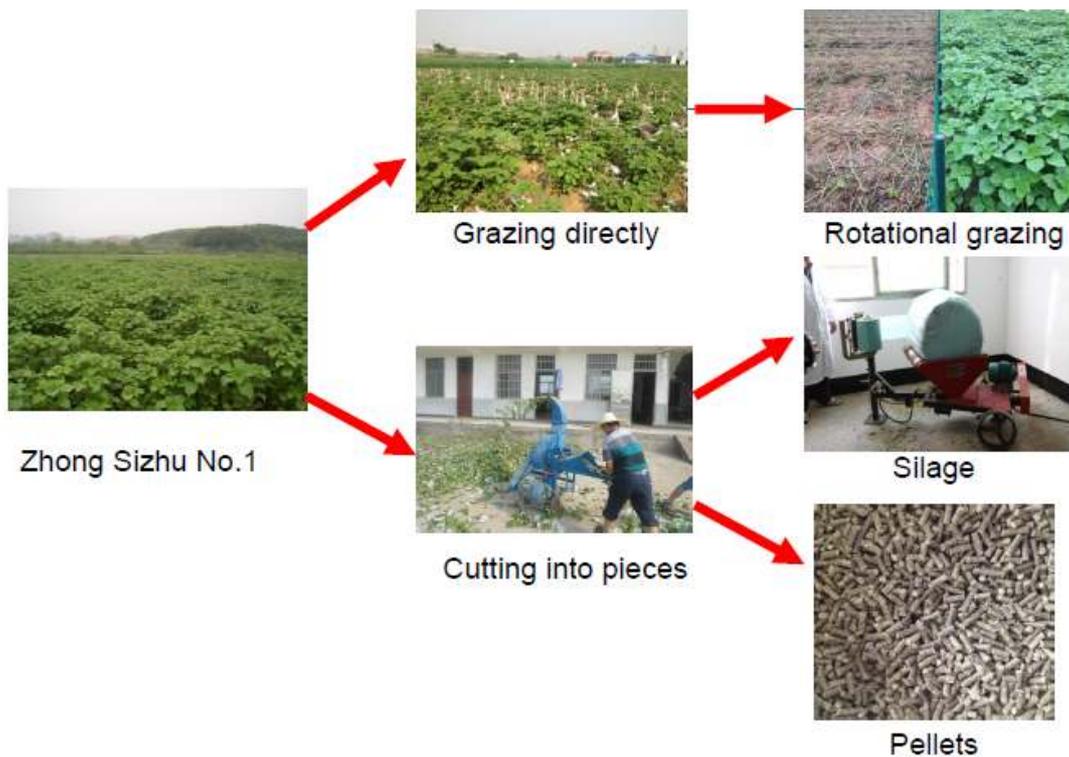
5) 모시의 이용

○ 섬유와 동물 먹이



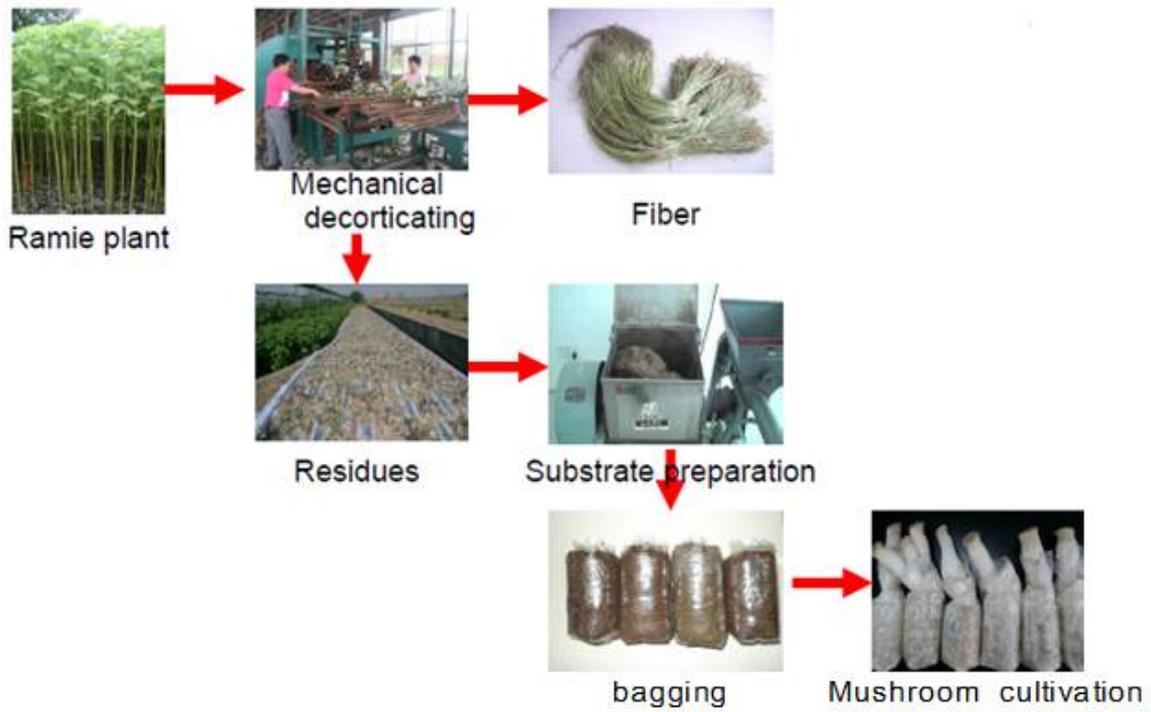
* 모시풀 줄기의 껍질을 벗겨 섬유를 만들고, 잔여물을 이용해 사일리지나 펠릿을 만들어 사료로 이용

○ 먹이 전용 품종



* 식용 전용품종인 Zhong Sizhu No.1으로 양에게 직접 먹이거나 잘게 잘라 사일리지나 펠릿을 만들어 사료로 이용

○ 버섯 배지용



* 모시풀을 이용해 섬유를 만들고, 그 잔여물로 식용버섯의 배지로 활용

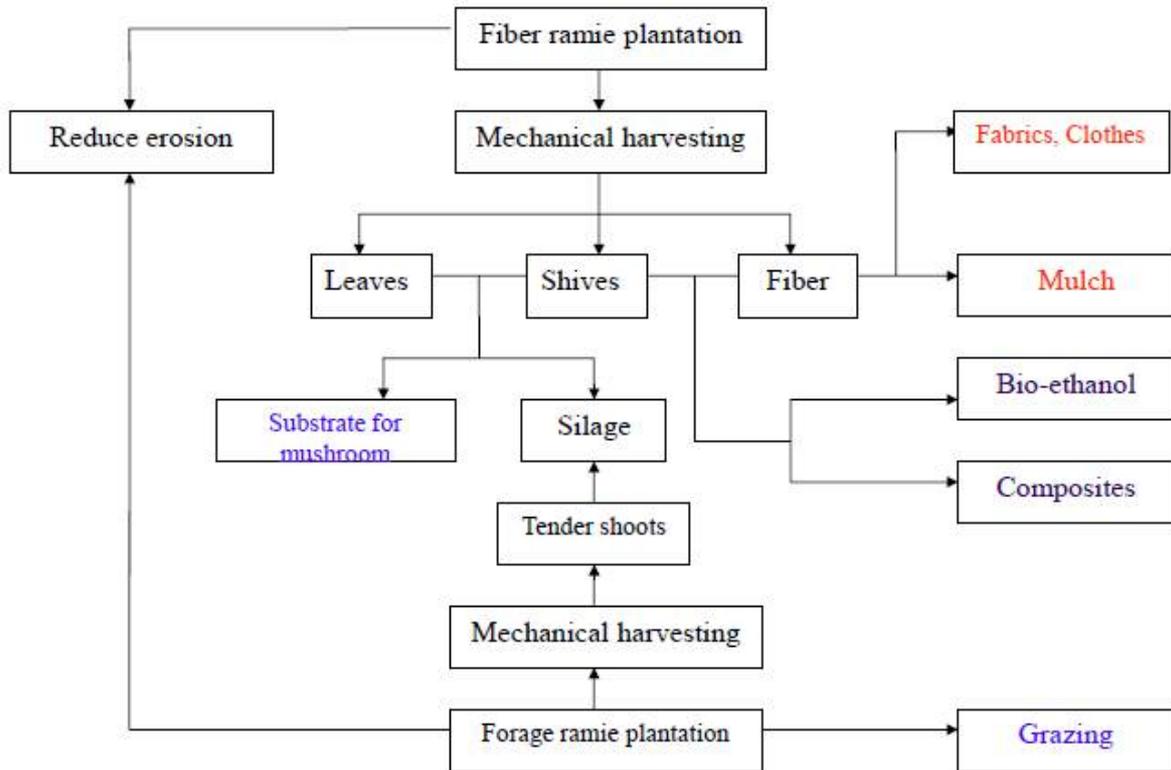
○ 물과 토양 보존에 이용



* 언덕과 산악지대 침식 감소 효과

- 연간 침식량 0.45 톤/ha, 1년생 작물에 비해 87 % 침식 감소

○ 모시의 다양한 용도의 모식도



제 7 장 연구시설·장비 현황

* 해당없음

제 8 장 연구실 안전관리 이행실적

제 1절. 연구실 안전 점검 체계

1. 일상점검

연구실 안전담당자(정:담당교수, 부:선임조교)의 책임하에 연구활동 종사자는 연구활동을 시작하기 전에 연구개발활동에 사용되는 기계기구 및 약품, 병원체 등의 보관상태 및 보호 장비의 관리상태, 전기·소방 관련 시설의 관리상태 등을 육안으로 점검하여 안전점검표 양식에 의거 일일 작성 보관한다.

2. 정기안전점검

안전관리총괄자(시설팀/시설지원팀)는 연구실 전반의 위험성에 대하여 일정 요건을 갖춘 전문기관으로 하여금 세부적인 점검을 1년에 1회 이상 실시한다.

3. 정밀안전진단

안전관리총괄자는 폭발사고, 화재사고 등 연구활동 종사자의 안전에 치명적인 위험을 야기할 가능성이 있을 것으로 예상되는 경우와 안전성확보 등을 위하여 필요하다고 인정되는 경우, 일정 요건을 갖춘 전문기관으로 하여금 정밀안전진단을 2년에 1회 실시한다.

제 2절. 연구실 안전 예방 조치

1. 연구실 정밀안전진단 및 정기점검 결과에 따른 연구실 환경개선공사
2. 비상세안기 설치
3. 밀폐형환기시약장 및 인화물질보관함 설치
4. 안전교육 우수학과 연구실 안전용품 지급
5. 각종 안전표지판 설치
6. 실험실 공기질 측정 및 환기설비 강화

제 3절. 연구실 안전교육

1. 관련근거 : 연구실안전환경조성에관한법률 제18조(교육·훈련 등)
2. 교육대상 : 연구활동종사자(학부생, 대학원생, 연구원 등)
3. 교육방법 : 온라인 안전교육
4. 교육시간 : 학기당 6시간(온라인 1강좌=1시간 인정)
5. 교육과목 : 16강좌 중 전공학과 구분에 따라 12강좌 이수
6. 기타사항 : 상시 연구활동종사자는 교육이수증을 해당 연구실에 부착함

제 4절. 보험 가입 현황

1. 가입업체 : (사)교육시설재난공제회
2. 가입대상 : 연구활동 종사자(학부생, 대학원생, 연구원, 교수 및 직원 제외)
3. 보험특약
 - 가. 상해사망 : 1인당 1억원
 - 나. 상해, 후유장애 : 1인당 1억원 한도로 장애등급별 정액 보상
 - 다. 부상 : 1인당 1천만원 한도로 상해등급별 정액 및 실손 보상

제 5절. 건강검진

1. 관련근거

연구실안전환경조성에관한법률 제18조제4항에 따라 「산업안전보건법 시행령」 제29조에 따른 유해물질 및 같은 법 시행규칙 별표 12의2에 따른 유해인자를 취급하는 연구활동종사자에 대하여 일반건강검진과 특수건강검진을 실시하여야 한다.

2. 검진대상

상시 연구활동종사자 중 관련유해물질 취급자

제 9 장 참고문헌

1. An X, Chen J, Zhang J, Liao Y, Dai L, Wang B, Liu L, Peng D (2015) Transcriptome profiling and identification of transcription factors in ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) in response to PEG treatment, using illumina paired-end sequencing technology. *Int J Mol Sci.* 16(2):3493-3511.
2. Angelini, L.G., A. Lazzeri, G. Levita, D. Fontanelli and C. Bozzi. 2000. Ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.) and Spanish Broom (*Spartium junceum* L.) fibres for composite materials: agronomical aspects, morphology and mechanical properties. *Ind. Crops Prod.* 11:145-161.
3. Araujo, D.M. and C.W. Cotman. 1992. Beta-amyloid stimulates glial cells *in vitro* to produce growth factors that accumulate in senile plaques in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 569:141-145.
4. Behl, C., J.B. Davis, R. Lesley and D. Schubert. 1994. Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity. *Cell* 77:817-827.
5. Butterfield, D.A. and C.M. Lauderback. 2002. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 32:1050-1060.
6. Butterfield, D.A., J. Drake, C. Pocernich and A. Castegna. 2001. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide. *Trends Mol. Med.* 7:548-554.
7. Byun, Y.J., S.K. Kim, Y.M. Kim, G.T. Chea, S.W. Jeong and S.B. Lee. 2009. Hydrogen peroxide induces autophagic cell death in C6 glioma cells via BNIP3-mediated suppression of the mTOR pathway. *Neurosci. Lett.* 461:131-135.
8. Cai, X.F., Jin, X.J., Lee, D.H., Yang, Y.T., Lee, K., and Hong, Y.S. Phenanthroquinolizidine alkaloids from the roots of *Boehmeria pinnosa* potently inhibit hypoxia-inducible factor-1 in AGS human gastric cancer cells. *J. Nat. Prod.* 2006, 69, 1095 - 1097.
9. Castoria, R., L. Caputo, C.F. De and C.V. De. 2003. Resistance of postharvest biocontrol yeasts to oxidative stress: a possible new mechanism of action. *Phytopathol.* 93:564-572.
10. Chang JM, Huang KL, Yuan TT, Lai YK, Hung LM (2010) [The Anti-hepatitis B virus activity of *Boehmeria nivea* extract in HBV-viremia SCID mice.](#) *Evid Based Complement Alternat Med.* 7:189-195.
11. Chen J, Liu F, Tang Y, Yuan Y, Guo Q (2014a) Transcriptome sequencing and profiling of expressed genes in phloem and xylem of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud).

PLoS One 9(10):e110623.

12. Chen J, Pei Z, Dai L, Wang B1, Liu L, An X, Peng D (2014b) Transcriptome profiling using pyrosequencing shows genes associated with bast fiber development in ramie (*Boehmeria nivea* L.). BMC Genomics 15:919.
13. Chen J, Yu R, Liu L, Wang B, Peng D (2015) Large-scale developing of simple sequence repeat markers and probing its correlation with ramie (*Boehmeria nivea* L.) fiber quality. Mol Genet Genomics. [Epub ahead of print]
14. Chen, Y. and S.B. Gibson. 2008. Is mitochondrial generation of reactive oxygen species a trigger for autophagy? Autophagy 4:246-248.
15. Conesa A, Gotz S, Garcia-Gomez JM, Terol J, Talon M, Robles M (2005) Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. Bioinformatics 21:3674-3676.
16. Corpet F (1988) Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. Nucl. Acids Res. 16(22):10881-10890.
17. Costion C, Ford A, Cross H, Crayn D, Harrington M, Lowe A (2011) Plant DNA barcodes can accurately estimate species richness in poorly known floras. 6(11):e26841.
18. Doyle J (1991) DNA protocols for plants. Molecular Techniques in Taxonomy NATO ASI Series 57:283-293.
19. Ellis JR, Burke JM (2007) EST-SSRs as resource for population genetic analyses. Heredity 99:125-132.
20. Fukumoto, L.R. and Mazza, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities and phenolic compounds. J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 3597 - 3604.
21. Gill, S.S. and N. Tutej. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochem. 48:909-930.
22. Glenn TC, Schable NA (2005) Isolating microsatellite DNA loci. Methods Enzymol. 395:202-222.
23. Gupta, K. and D.S. Wagle. 1988. Nutritional and antinutritional factors of green leafy vegetables. J. Agric. Food Chem. 36:472-474.
24. Han, W. and M.H. Wang. 2010. Phenylalanine ammonia - Lyase gene (NtPAL4) induced by abiotic stresses in tobacco (*Nicotiana tabacum*). Korean J. Plant Res. 23:535-540.
25. Huang KL, Lai YK, Lin CC, Chang JM (2006) Inhibition of hepatitis B virus production by *Boehmeria nivea* root extract in HepG2 2.2.15 cells. World J Gastroenterol. 12:5721-5725.
26. Huang X, Chen J, Bao Y, Liu L, Jiang H, An X, Dai L, Wang B, Peng D (2014)

Transcript profiling reveals auxin and cytokinin signaling pathways and transcription regulation during *in vitro* organogenesis of Ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud). PLoS One 9(11):e113768.

27. Jie Y, Zhou Q, Chen P (2002) Genetic relation analysis of ramie cultivars with RAPD marker. Acta Agronomica Sinica 28:254-259.
28. Jung, H.A., Jung, Y.J., Yoon, N.Y., Jeong da, M., Bae, H.J., Kim, D.W., Na, D.H., and Choi, J.S. Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* leaves on rat lens aldose reductase, advanced glycation end products formation and oxidative stress. Food Chem. Toxicol. 2008b, 46, 3818 - 3826.
29. Jung, H.A., Yoon, N.Y., Kang, S.S., Kim, Y.S., and Choi, J.S. Inhibitory activities of prenylated flavonoids from *Sophora flavescens* against aldose reductase and generation of advanced glycation end products. J. Pharm. Pharmacol. 2008a, 60, 1227 - 1236.
30. Juvenet, J. 1889. Ramie. J. Franklin Inst. 128:371-376.
31. Kador, P.F., and Kinoshita, J.H. Diabetic and galactosaemic cataracts. Ciba Found. Symp. 1984, 106, 110-131.
32. Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R, Dhawan AK (2011) Microsatellite markers: an overview if the recent progress in plants. Euphytica 177:309-334.
33. Kamalakkannan, N., and Prince, P.S. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol. 2006, 98, 97-103.
34. Kawanishi, K., Ueda, H., and Moriyasu, M. Aldose reductase inhibitors from the nature. Curr. Med. Chem. 2003, 10, 1353 - 1374.
35. Kim CH (2007) Urticaceae, In: Park CW, editor. The genera of vascular plants of Korea. Seoul: Flora of Korea Editorial Committee. pp. 258-261.
36. Kim, M.K., Kim, S.Y., and Lee, H.S. Rat lens aldose reductase inhibitory activities of oriental medicinal plants. Agric. Chem. Biotechnol. 2001, 45, 84 - 88.
37. Kim SC, Uhm YK, Ko S, Oh CJ, Kwack YB, Kim HL, et al (2015) *KiwiPME1* encoding pectin methylesterase is specifically expressed in the pollen of a dioecious plant species, kiwifruit (*Actinidia chinensis*). Hort Environ Biotechnol. 56:402-410.
38. Kim, S.H., M.J. Sung, J.H. Park, H.J. Yang and J.T. Hwang. 2013. *Boehmeria nivea* stimulates glucose uptake by activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma in C2C12 cells and improves glucose intolerance in mice fed a high-fat diet. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2013:1-9.
39. Kim SI, An MJ, Han YS, Pyeun JH (1993) Sensory and instrumental texture properties of rice cakes according to the addition of songpy (pine tree endodermis) or mosipul

- (china grass leaves). J Korean Soc Food Sci Nutr. 22:603–610.
40. Kim SM, Shin DI, Song HS, Kim SK, Yoon ST (2006) Geographical distribution and habitat characteristics of *Boehmeria* in South Korea. Korean J Medicinal Crop Sci. 14:14–18.
 41. Kinoshita, J.H. Cataracts in Galactosemia. The Jonas S. Friedenwald Memorial Lecture. Invest. Ophthalmol. 1965, 4, 786 - 799.
 42. Kurtz S, Phillippy A, Delcher AL, Smoot M, Shumway M, Antonescu C, Salzberg SL (2004) Versatile and open software for comparing large genomes. Genome Biol. 5(2):R12.
 43. Lee AY, Wang X, Lee DG, Kim YM, Jung YS, Kim HB, et al (2014) Various biological activities of ramie (*Boehmeria nivea*). J Appl Biol Chem. 57:279–286.
 44. Lee, E. and E.J. Cho. 2007. Effects of Coptidis Rhizoma on Lowering Lipid and Oxidative Stress. Korean J. Plant Res. 20:544–547.
 45. Lee, YR, Nho, JW, Hwang, IG, Kim, WJ, Lee, YJ, Jeong, HS (2009) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Ramie Leaf (*Boehmeria nivea* L.). Food Science and Biotechnology. 18 : 1096–9.
 46. Liang S (2009) A phylogenetic study of the genus *Boehmeria* in Korea. M.Sc. Thesis, Yeungnam University.
 47. Li CI, Chiou SJ, Tong TS, Lee CY, Lee LT, Cheng CM (2010). Development and validation of molecular markers for characterization of *Boehmeria nivea* var. *nivea* and *Boehmeria nivea* var. *tenacissima*. Chinese Med. 5:40.
 48. Lin CC, Yen MH, Lo TS, Lin CF (1997) [The antiinflammatory and liver protective effects of *Boehmeria nivea* and *B. nivea* subsp. *nippononivea* in rats.](#) Phytomedicine 4:301–308.
 49. Lin CC, Yen MH, Lo TS, Lin JM (1998) [Evaluation of the hepatoprotective and antioxidant activity of *Boehmeria nivea* var. *nivea* and *B. nivea* var. *tenacissima*.](#) J Ethnopharmacol. 60:9–17.
 50. Liu, F., X. Liang, N. Zhang, Y. Huang and S. Zhang. 2001. Effect of growth regulators on yield and fiber quality in ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.), China grass. Field Crops Res. 69:41–46.
 51. Liu KJ, Muse SV (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics 21:2128–2129.
 52. Liu LJ, Meng ZQ, Wang B, Wang XX, Yang JY, Peng DX (2009) Genetic diversity among wild resources of the genus *Boehmeria* Jacq. from west china determined using inter-simple sequence repeat and rapid amplification of polymorphic DNA markers.

Plant Prod Sci. 12:88-96.

53. Liu T, Zhu S, Fu L, Tang Q, Yu Y, Chen P, et al (2013a) Development and characterization of 1,827 expressed sequence tag-derived simple sequence repeat markers for ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud). PLoS One 8(4):e60346.
54. Liu T, Zhu S, Tang Q, Yu Y, Tang S (2013b) Identification of drought stress-responsive transcription factors in ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud). BMC Plant Biol. 13:130.
55. Liu T, Tang S, Zhu S, Tang Q, Zheng X (2014) Transcriptome comparison reveals the patterns of selection in domesticated and wild ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud). Plant Mol Biol. 86(1-2):85-92.
56. Liu T, Zhu S, Tang Q, Tang S (2015) Genome-wide transcriptomic profiling of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) in response to cadmium stress. Gene 558(1):131-137.
57. Lohse M, Drechsel O, Kahlau S, Bock R (2013) OrganellarGenomeDRAW—a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets. Nucleic Acids Res. 41:W575 - W581.
58. Luan MB, Zou ZZ, Zhu JJ, Wang XF, Xu Y, Ma QH, Sun ZM, Chen JH (2014) Development of a core collection for ramie by heuristic search based on SSR markers. Biotechnol Biotechnol Equip. 28(5):798-804.
59. Luan MB, Chen BF, Zou ZZ, Zhu JJ, Wang XF, Xu Y, Sun ZM, Chen JH (2015) Molecular identity of ramie germplasms using simple sequence repeat markers. Genet Mol Res. 14(1):2302-2311.
60. Macarisin, D., S. Droby, G. Bauchan and M. Wisniewski. 2010. Superoxide anion and hydrogen peroxide in the yeast antagonist-fruit interaction: a new role for reactive oxygen species in postharvest biocontrol? Postharvest Biol. Technol. 58:194-202.
61. Madeo, F., E. Föhlich, M. Ligr, M. Grey, S.J. Sigrist, D.H. Wolf and K.U. Fröhlich. 1999. Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast. J. Cell Biol. 145:757-767.
62. Mansour, M.A. Aldose reductase in the retina. Curr. Enzym. Inhib. 2007, 3, 49 - 60.
63. Manzanaro, S., Salva, J., and de la Fuente, J.A. Phenolic marine natural products as aldose reductase inhibitors. J. Nat. Prod. 2006, 69, 1485 - 1487.
64. Matsuda, H., Murakami, T., Yashiro, K., Yamahara, J., and Yoshikawa, M. Antidiabetic principles of natural medicines. IV. Aldose reductase and alpha-glucosidase inhibitors from the roots of *Salacia oblonga* Wall. (Celastraceae): Structure of a new friedelane-type triterpene, kotalagenin 16-acetate. Chem. Pharm. Bull. 1999, 47, 1725 - 1729.
65. Markesbery, W.R. 1997. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. Free Radic.

Biol. Med. 23:134-147.

66. Metzgar D, Bytof J, Wills C (2000) Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA. *Genome Res.* 10:72-80.
67. Michener CD, Sokal RR (1957) A quantitative approach to a problem of classification. *Evolution* 11:490 - 499.
68. Middleton, E.Jr., Kandaswami, C., and Theoharides, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.* 2000, 52, 673-751.
69. Miller, E.W., B.C. Dickinson and C.J. Chang. 2010. Aquaporin-3 mediates hydrogen peroxide uptake to regulate downstream intracellular signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107:15681-15686.
70. Mok, S.Y., Shin, H.C., and Lee, S. Screening of aldose reductase inhibitory activity of white-color natural products, *CNU J. Agric. Sci.* 2012, 39, 69-73.
71. Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65:55-63.
72. Myhre, O. 2003. Evaluation of the probes 2',7'-dichlorofluorescein diacetate, luminal, and lucigenin as indicators of reactive species formation. *Biochem. Pharmacol.* 65:1575-1582.
73. Nho JW, Hwang IG, Kim HY, Lee YR, Woo KS, Hwang BY, et al (2010) Free radical scavenging, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, and *in vitro* anticancer activities of ramie (*Boehmeria nivea*) leaves extracts. *Food Sci Biotechnol.* 19:383-390.
74. Nunomura, A., G. Perry, G. Aliev, K. Hirai, A. Takeda, E.K. Balraj, P.K. Jones, H. Ghanbari, T. Wataya, S. Shimohama, S. Chiba, C.S. Atwood, R. B. Petersen and M.A. Smith. 2001. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60:759-767.
75. Oyarzún, M.L., Garbarino, J.A., Gambaro, V., Guilhema, J., and Pascard, C. Two triterpenoids from *Boehmeria excelsa*. *Phytochemistry.* 1986, 26, 221 - 223.
76. Park, J.E., H.J. Bae, N.M. Joo, S.J. Lee, H.A. Jung and E.M. Ahn. 2010. The quality characteristics of cookies with added *Boehmeria nivea*. *Korean J. Food Nutr.* 23:446-452 (in Korean).
77. Patel, M.B., and Mishra, S. Isoquinoline alkaloids from *Tinospora cordifolia* inhibit rat lens aldose reductase. *Phytother. Res.* 2012, 26, 1342 - 1347.
78. Petrash, J. All in the family: Aldose reductase and closely related aldo-keto reductases. *Cell Mol. Life Sci.* 2004, 61, 737 - 749.
79. Pike, C.J., A.J. Walencewicz-Wasserman, J. Kosmoski, D.H. Cribbs, C.G. Glabe and C.W. Cotman. 1995. Structure-activity analyses of β -amyloid peptides; contribution of

- the β 25–35 region to aggregation and neurotoxicity. *J. Neurochem.* 64:253–265.
80. Ranocha P, Denancé N, Vanholme R, Freydier A, Martinez Y, Hoffmann L, et al (2010) *Walls are thin 1 (WAT1)*, an Arabidopsis homolog of *Medicago truncatula NODULIN21*, is a tonoplast-localized protein required for secondary wall formation in fibers. *Plant J.* 63:469–483.
 81. Ravi V, Khurana JP, Tyagi AK, Khurana P (2006) The chloroplast genome of mulberry: complete nucleotide sequence, gene organization and comparative analysis. *Tree Genetics Genomes* 3:49 - 59.
 82. Sancheti, S., Sancheti, S., Bafna, M., Kim, H.R., You, Y.H., and Seo, S.Y. Evaluation of antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich., Urticaceae, root extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Braz. J. Pharmacogn.* 2011, 21, 146–154.
 83. Santos, M.J., R.A. Quintanilla, A. Toro, R. Grandy, M.C. Dinamarca, J.A. Godoy and N.C. Inestrosa. 2005. Peroxisomal proliferation protects from beta-amyloid neurodegeneration. *J. Biol. Chem.* 280:41057–41068.
 84. Schwartz S, Kent WJ, Smit A, Zhang Z, Baertsch R, Hardison RC, et al (2003) Human-mouse alignments with BLASTZ. *Genome Res.* 13:103 - 107.
 85. Seo KI, Lee GA, Park SG, Yoon MS, Ma KH, Lee JR, et al (2012) Genome shotgun sequencing and development of microsatellite markers for gerbera (*Gerbera hybrid* H.) by 454 GS-FLX. *African J Biotechnol.* 11:7388–7396.
 86. Shao, L.J., and Wang, J.N. Studies on the chemical constituents of radix Boehmeriae. *J. Chin. Med. Mat.* 2010, 33, 1091–1093.
 87. Shinozaki K, Ohme M, Tanaka M, Wakasugi T, Hayashida N, Matsubayashi T, Zaita N, Chunwongse J, Obokata J, Yamaguchi-Shinozaki K, Ohto C, Torazawa K, Meng BY, Sugital M, Deno H, Kamogashira T, Yamada K, Kusuda J, Takaiwa F, Kato A, Tohdoh N, Shimada H, Sugiura M (1986) The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *EMBO J.* 5: 2043–2049.
 88. Sugiura M (1992) The chloroplast genome. *Plant Mol Biol* 19:149–168.
 89. Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose conoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. 94:275–288.
 90. She W, Zhu S, Jie Y, Xing H, Cui G (2015) Expression profiling of cadmium response genes in ramie (*Boehmeria nivea* L.) root. *Bull Environ Contam Toxicol.* 94(4):453–459.
 91. Sung MJ, Davaatseren M, Kim SH, Kim MJ, Hwang JT (2013) *Boehmeria nivea*

- attenuates LPS-induced inflammatory markers by inhibiting p38 and JNK phosphorylations in RAW264.7 macrophages. *Pharm Biol.* 51:1131-1136.
92. Takemoto, T., Miyasi, T., and Kusano, G. Flavones and other compounds of *Boehmeria tricuspis* and *B. holosericea*. *Phytochemistry.* 1975, 14, 2534 - 2536.
93. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 28(10):2731-2739.
94. Tatone, C., G.D. Emidio, M. Ventol, R. Ciriminna and P.G. Artini. 2010. Cryopreservation and oxidative stress in reproductive cells. *Gynecol. Endocrinol.* 26:563-567.
95. Tian XY, Xu M, Deng B, Leung KS, Cheng KF, Zhao ZZ, et al (2011) The effects of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. on embryonic development: *in vivo* and *in vitro* studies. *J Ethnopharmacol.* 134:393-398.
96. Varshney RK, Graner A, Sorrells ME (2005) Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotech.* 23:48-55.
97. Wang ML, Barkely NA, Jenkins TM (2009) Microsatellite markers in plants and insects. Part I: applications of biotechnology. *Genes Genomes Genomics* 3:54-67.
98. Wang, J.Y., L.L. Wen, Y.N. Huang, Y.T. Chen and M.C. Ku. 2006. Dual effects of antioxidants in neurodegeneration: direct neuroprotection against oxidative stress and indirect protection via suppression of glia-mediated inflammation. *Curr. Pharm. Des.* 12:3521-3533.
99. Wei J, Lin L, Su X, Qin S, Xu Q, Tang Z, et al (2014) Anti-hepatitis B virus activity of *Boehmeria nivea* leaf extracts in human HepG2.2.15 cells. *Biomed Rep.* 2:147-151.
100. Woo, H.A., H.Z. Chae, S.C. Hwang, K.S. Yang, S.W. Kang, K. Kim and S.G. Rhee. 2003. Reversing the inactivation of peroxiredoxins caused by cysteine sulfinic acid formation. *Science* 300:653-656.
101. Wood, I.M. and J.F. Angus. 1974. A review of prospective crops for the Ord irrigation area. II. Fibre Crops. CSIRO Aust. Div. Land Use Res. Tech. Pap. 36:1-27.
102. Wyman SK, Jansen RK, Boore JL (2004) Automatic annotation of organellar genomes with DOGMA. *Bioinformatics* 20(17):3252 - 3255.
103. Xio, X.Q., R. Wang, Y.F. Han and X.C. Tang. 2000. Protective effects of huperzine A on β -amyloid25-35 induced oxidative injury in rat pheochromocytoma cells. *Neurosci. Lett.* 286:155-158.
104. Xu QM, Liu YL, Li XR, Li X, Yang SL (2011) Three new fatty acids from the roots of *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich and their antifungal activities. *Nat Prod Res.*

25:640–647.

105. Yang, W., Lu, J., Weng, J., Jia W., Ji, L., Xiao, J., Shan, Z., Liu, J., Tian, H., Ji, Q., Zhu, D., Ge, J., Lin, L., Chen, L., Guo, X., Zhao, Z., Li, Q., Zhou, Z., Shan, G., and He, J. Prevalence of Diabetes among Men and Women in China. *N. Engl. J. Med.* 2010, 362, 1090–1101.
106. Yatin, S.M., S. Varadarajan, C.D. Link and D.A. Butterfield. 1999. *In vitro* and *in vivo* oxidative stress associated with Alzheimer's amyloid beta-peptide (1–42). *Neurobiol. Aging* 20:325–330.
107. Yeh FC, Yang R, Boyle T (1999) POPGENE Version 1.32. Microsoft window-based free ware for population genetic analysis. Computer program and documentation distributed by University of Alberta and Centre for International Forestry Research, Alberta, Canada. 1999.
108. Yoshikawa, M., Shimada, H., Nishida, N., Li, Y., Toguchida, I., Yamahara, J., and Matsuda, H. Antidiabetic principles of natural medicines. II. Aldose reductase and alpha-glucosidase inhibitors from Brazilian natural medicine, the leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Structures of myrciacitrins I and II and myrciaphenones A and B. *Chem. Pharm. Bull.* 1998, 46, 113 - 119.
109. Yoo, Y. K., K. S. Kim. 1996. Seasonal variation in rooting ability, plant hormones, carbohydrate, nitrogen, starch, and soluble sugar contents in cuttings of white forsythia (*Abeliophyllum distichum* Nakai). *J. Korean Soc. Hort. Sci.* 37(4):554–560.
110. Yoon, S.J. and M.S. Jang. 2006. Characteristics of quality in Jeolpyun with different amounts of ramie. *Korean J. Food Cookery Sci.* 22:636–641 (in Korean).
111. Yu JK, Dake TM, Singh S, Benscher D, Li W, Gill B, et al (2004) Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome* 2004;47: 805–818.
112. Yu, Y.B., Lee, J.H., Choi, J.S., Ok, K.D., and Park, J.C. Phenolic compounds from the rachis of *Cedrela sinensis*. *Kor. J. Pharmacogn.* 1996, 27, 219–223.
113. Yu Y, Zeng L, Yan Z, Liu T, Sun K, Zhu T, Zhu A (2015) Identification of rmie genes in response to *Pratylenchus coffeae* infection challenge by digital gene expression analysis. *Int J Mol Sci.* 16(9):21989–22007.
114. Zane L, Bargelloni L, Patarnello T (2002) Strategies for microsatellite isolation: a review. *Mol Ecol.* 11:1–6.
115. Zhang, X.N., Li, J.M., Yang, Q., Feng, B., Liu, S.B., Xu, Z.H., Guo, Y.Y., and Zhao, M.G. Anti-apoptotic effects of hyperoside via inhibition of NR2B-containing NMDA receptors. *Pharmacol. Rep.* 2010, 62, 949–955.

116. Zhao W, Lee GA, Kwon SW, Ma KH, Lee MC, Park YJ (2012) Development and use of novel SSR markers for molecular genetic diversity in Italian millet (*Setaria italica* L.) Genes Genom. 34:51-57.
117. Zhou J, Jie Y, Jiang Y, Zhong Yi, Liu Y, Zhang J (2005) Development of simple sequence repeats (SSR) markers of ramie and comparison of SSR and inter-SSR marker systems. Prog Nat Sci. 15:137-142.
118. Zhu S, Tang S, Tang Q, Liu T (2014) Genome-wide transcriptional changes of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) in response to root-lesion nematode infection. Gene 552(1):67-74.
119. 고곡겸. 1954. 공예작물정예. p. 166-167.
120. 계봉명, 김상곤. 1965a. 공업원료 저마삼목의 삼수장시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 1452-1459.
121. 계봉명, 김상곤. 1965b. 저마 비료용량 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 390-401.
122. 계봉명, 이정일, 김상곤. 1965a. 저마 삼목시기 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 670-678.
123. 계봉명, 이정일, 김상곤. 1965b. 저마 재식밀도 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 645-669.
124. 계봉명, 전호석, 김상곤. 1965c. 저마 삼목시기 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 562-567.
125. 계봉명, 전호석, 김상곤. 1965d. 저마 시비량대 재식밀도 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 411-415.
126. 권병선, 김상곤, 정동희, 임준택. 1993. 동계피복이 모시풀의 생육 및 섬유수량에 미치는 영향. 한국작물학회지 38(3):208-212.
127. 김기용, 최기준, 이상훈, 이종경, 지희정, 이병현, 김진석. 2007. 배양토 종류 및 IBA 처리가 Birdsfoot Trefoil의 뿌리 유도에 미치는 영향. 한국초지학회지 27(4):229-234.
128. 김상곤. 1970a. 섬유작물 재배기술 체계 확립시험, 모시삼수 이용시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 283-284.
129. 김상곤. 1970b. 섬유작물 재배기술 체계 확립시험 모시풀 삼수의 활착 촉진 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 285-286.
130. 김상곤. 1971. 섬유작물 재배기술 체계 확립시험 모시 삼목 시험. 작물시험장 시험연구보고서. p. 434-444.
131. 김상곤, 정동희, 권병선, 임준택. 1993. 모시풀의 생육과 섬유수량에 미치는 비료의 영향. 한국작물학회지 38(3):235-239.
132. 김상곤, 정동희, 권병선, 이정일. 1993. 수확기 이동에 따른 모시풀의 생육 및 섬유수량. 농업논문집 35(2):141-144.

133. 김상곤, 정동희, 권병선, 임준택. 1993. 재식밀도가 모시풀의 생육 및 섬유수량에 미치는 영향. 농업논문집 35(2):137-140.
134. 김상곤, 황종진, 정동희, 권병선. 1992. 모시의 흡지면식 및 줄기삼목 방법. 한국육종학회지 25(1):28-33.
135. 김순임, 안미정, 한영실, 변재형. 1993. 송피 및 모시풀 첨가에 의한 떡의 관능적, 기계적 텍스처 특성 변화. 한국영양식량학회지 22(5):603-610.
136. 김아라. 2013. 건조방법에 따른 모시잎의 이화학적 성분 및 생리활성. 조선대학교 이화학 박사학위논문.
137. 김주형, 백기엽, 김시동, 김학현, 이희두, 이종원, 윤태. 2003. 생장 조절제 처리가 하추국 '백광' 품종 재절화 재배 시 흡지 발생 및 절화 품질에 미치는 영향. 한국원예학회지 44(4):535-538.
138. 김한얼. 2011. 전통식품산업 지식기반체계 구축 - 영광 모시잎 송편산업을 중심으로 -. 전남대학교 석사학위논문.
139. 김호락, 최승운, 임수호. 1991. 뽕나무 유합촉진 고조삼목에 관한 연구, 삼목온도가 발근생장에 미치는 영향. 한국잠사학회지 33(2):68-71.
140. 농촌진흥청. 2007. 우리나라 원예용 상토의 특성과 발정방안. p. 1-42.
141. 문운호, 김철우, 박홍재, 황종진. 1991. 섬유작물 재배법 개선연구, 모시 육묘방법 개선시험, 작물시험장 시험연구보고서. p. 438-440.
142. 박홍태, 문운호, 오용비. 1996. 모시풀 조직배양에서 소독방법 및 생장조절제의 Multiple Shoot 유기 효과. 한국작물학회지 41(6):704-709.
143. 손미화. 2007. 모시풀의 이화학적 특성과 향균활성. 순천대학교 석사학위논문.
144. 양성애. 2009. 한국산 모시풀속(*Boehmeria*) 식물의 계통분류학적 연구. 영남대학교 석사학위논문.
145. 양승구, 최경주, 황인택, 김정근, 김광수. 2001. 양액농도와 근권의 양액온도가 토마토 측지 삼목묘의 발근과 생육에 미치는 영향. 한국원예학회지 42(1):17-20.
146. 오환중, 김영옥, 이건만, 김용두. 2000. 모시풀잎을 이용한 송편 제조기술 개발. 충남농업기술원 연구보고서. p. 630-638.
147. 옥현충, 이홍석, 채영암. 1997. 천궁의 줄기 삼식시 발근과 생육에 영향하는 요인. 한국약용작물학회지 5(2): 119-125.
148. 유홍섭, 방진기, 김영국, 이봉호. 1999. 토천궁의 줄기삼목에 의한 대량번식. 한국약용작물학회지 7(3):200-204.
149. 이동창, 안수봉. 1977. 수도 안전 고위수량 증대에 관한 시험, 영양생장기 소모도장 효과. 작물시험장 시험연구보고서. p. 488-494.
150. 이재철, 강영식, 권경학, 김성민. 2006. 모시풀 재배농가 현황 및 실태조사. 충남농업기술원 시험연구보고서.

151. 이정일. 1982. 특용작물 품종 및 재배기술의 1962년 이후 변천. 한국작물학회지 27(4):470~479.
152. 이종한, 김동일, 유승갑, 이억세. 1986. 뽕나무 고조삼목에 관한 연구, 삼목방법 및 시기가 활착율에 미치는 영향. 한국생명과학회지. 28(2):9-14.
153. 정동희, 김상근, 권병선, 황종진. 1993. 식물생장조절제의 처리가 모시풀의 생육 및 섬유수량에 미치는 영향. 한국작물학회지 38(3) 213-218.
154. 조인상, 조영길, 전홍용, 이협성, 엄기태. 1993. 경반층 과원의 심토파쇄에 의한 토양물리성 개선과 배수량 변화. 농업논문집 35(2):256-260.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.