SSR 마커를 이용한 복숭아 품종의 유전적 다양성 분석

홍지화^{1*} · 이승인² · 권용삼¹ · 김영³ · 최근진¹

¹농림수산식품부 국립종자원 재배시험과, ²농림수산식품부 국립종자원 품종심사과

³농림수산식품부 국립종자원 서부지원

Genetic Diversity Analysis of Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] Varieties Using SSR Markers

Jee-Hwa Hong^{1*}, Seung-In Yi², Yong-Sham Kwon¹, Young Kim³, and Keun-Jin Choi¹

¹Variety Testing Division, Korea Seed & Variety Service, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Suwon 443-400, South Korea

²Plant Variety Protection Division, Korea Seed & Variety Service, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Anyang 430-822, South Korea

³Seobu Office, Korea Seed & Variety Service, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Iksan, 570-892, South Korea

Abstract : The objective of this study was to evaluate genetic diversity in 72 major peach varieties by using SSR markers. A set of 189 SSR primer pairs was screened and 74 primer pairs showed polymorphism in 9 varieties. Twenty primer pairs out of 74 primer pairs showed clear band pattern and repetitive reproducibility. The relationship between 20 markers genotypes and 72 varieties was analyzed. A total of 71 polymorphic amplified fragments were obtained by using 20 SSR markers. Two to nine SSR alleles were detected for each locus with an average of 3.6 alleles per locus. Average polymorphism information content (PIC) was 0.523, ranging from 0.246 to 0.771. A total of 71 marker loci were used to calculate Jaccard's distance coefficients for cluster analysis using UPGMA. Clustering group was largely divided 2 groups according to absence or presence of pubescence on the fruit surface and genetic distance of cluster ranging from 0.39 to 1.00. Analysis of genetic diversity revealed that these 20 SSR marker sets discriminated a total of 68 varieties except for 4 mutant varieties among 72 varieties. These SSR markers will be utilized as molecular evidence in variety identification of peach.

Keywords : Peach, SSR marker, Genetic diversity, Variety identification

서 언

복숭아[*Prunus persica* (L.) Batsch]는 장미과(Rosaceae), *Prunus*속에 속하며 온대 및 아열대 지역에서 재배되는 과일이다(Scorza & Sherman 1996). 복숭아의 기원은 중국이며 4000년 이상 재배 된 것으로 보고된 바 있다(Hesse 1975). 복숭아의 대표적인 형태적 특성의 구분 요소로는 과일표면의 솜털(pubescence)의 유무가 있으며 이에 따라 털있는 복숭아

(유모종: 백도계, 황도계)와 털없는 복숭아(무모종: 천도계)로 분류한다. 복숭아는 실생선발과 변이선발에 의해 쉽게 육종이 되는 관계로 개인육종가의 활동이 많고 품종보호 등록된 품종수는 79품종으로 과수작물 중 가장 많다(http://www.seed.go.kr). 또한 영양번식으로 쉽게 증식이 되는 관계로 육종가의 품종 보호권 강화를 위해서는 품종식별을 위한 분자표지의 개발과 국내에 수집된 복숭아 품종을 대상으로 한 유연관계 분석이 반드시 필요한 실정이다.

복숭아의 게놈(genome) 크기는 5.9×10^8 base pairs/diploid nucleus (Baird et al. 1994)로서 장미과 작물 중 가장 작은 게놈 크기로 인하여 국제 장미과 작물 게놈 프로젝트(http://www.rosaceae.org)에서 분자표지 연구의 모델이 되는 작물

*Corresponding author (E-mail: hongjh19@korea.kr, Tel: +82-31-8008-0221, Fax: +82-31-203-7431)

(Received on November 27, 2012. Revised on September 3, 2013.
Accepted on September 6, 2013.)

이다(Abbott et al. 2002). 복숭아의 분자표지 연구 동향을 살펴보면, 일본에서는 43개의 simple sequence repeat (SSR) 마커를 이용하여 복숭아 품종의 친자관계를 분석하였고(Yamamoto et al. 2003), 미국에서는 genomic library 유래 SSR 마커를 개발하였으며(Sosinski et al. 2000), bacterial artificial chromosome (BAC) library로부터 SSR 마커를 개발한 바 있다(Wang et al. 2002). 이탈리아에서는 17개의 SSR 마커를 개발하여 *Prunus*속내 여러 종에 활용 연구를 수행한 바 있으며(Cipriani et al. 1999), 중국에서는 복숭아 96개 품종을 공시하여 품종식별에 효과적인 SSR 분자표지 세트를 보고한 바 있다(Yoon et al. 2006). 국내에서는 sequence characterized amplified region (SCAR) 마커를 이용하여 복숭아 30품종에 대한 품종판별 연구를 수행하였다(Han et al. 2010). 그러나 선행연구만으로 국내품종 이용에 한계가 있기 때문에 국내에 수집된 복숭아 품종을 대상으로 정밀하고 체계적인 복숭아

품종식별 방법을 연구할 필요성이 있다고 판단되었다.

본 연구에서는 복숭아 품종보호 출원품종에 대한 효과적인 대조품종 선정에 위한 체계설정과 향후 품종보호 권리침해 및 분쟁 발생시 효과적인 대응방안을 마련하고자 복숭아 72 품종에 대한 유전적 다양성을 분석하여 얻어진 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시품종 및 DNA 분리

경북농업기술원 청도복숭아시험장에는 국내 육성품종과 중국, 일본, 미국 등으로부터 육성된 품종들이 도입되어 유전자원 형태로 보존되어 있다. 본 연구에서는 경북농업기술원 청도복숭아시험장에 보존된 72품종의 잎을 채취하여 SSR 분석을 위한 재료로 활용하였다(Table 1). 2 ml 튜브에 공시품종의

Table 1. Peach varieties used for genetic diversity using SSR markers.

No.	Varieties	Origin	Parentage	Pubescence of fruit ^z	Classification ^y
1	Flavortop	America	Faretime open pollination	A	C
2	Fantasia	America	(Goldking x Redking) open pollination	A	C
3	Sunglo	America	Sun Grand open pollination	A	C
4	Cheonhong	Korea	Garden State open pollination	A	C
5	Redgold	America	Sun Grand open pollination	A	C
6	Earliscarlet	America	Unknown	A	C
7	Red Start	Japan	Cheondo variety open pollination	A	C
8	May Grand	Unknown	Unknown	A	C
9	Sunfre	America	Unknown	A	C
10	Shuho	Japan	Heungjin open pollination	A	C
11	Armking	America	(Palomar x Springtime) x (Palomar x Springtime)	A	C
12	Josaeng Armking	Korea	Armking bud mutation	A	C
13	Derby	America	(Halehaven x Redskin) x Candor	P	H
14	Canadian Harmony	Canada	Redskin x Sunhaven	P	H
15	Harbrite	Canada	Redskin x Sunhaven	P	H
16	Richhaven	America	Redhaven x J.H.hale x Halehaven	P	H
17	Collins	America	Jerseland x (J.H.hale x Goldpinch)	P	H
18	Jujosaeng Hwangdo	Korea	Chance seedling of Yumyeong	P	H
19	Fisher	America	Baliant mutation	P	H
20	Elberta	America	Unknown	P	H
21	Myojo	Japan	Unknown	P	H
22	Sweet Koki	Japan	Manami x Yuuzora	P	H
23	Hakuho	Japan	Baekdo x Guljosaeng	P	B

Table 1. Continued.

No.	Varieties	Origin	Parentage	Pubescence of fruit ^z	Classification ^y
24	Benishimizu	Japan	Chance seedling	P	B
25	Nagasawa Hakuho	Japan	Hakuho bud mutation	P	B
26	Amato No.2	Japan	Kawanakajima Hakutou x Benikunimi	P	B
27	Amato No.1	Japan	Unknown	P	B
28	Matsumoriwase	Japan	Hakuho bud mutation	P	B
29	Hanilbaekdo	Korea	Chance seedling	P	B
30	Setouchi Hakuto	Japan	Hakuto mutation	P	B
31	Jinmi	Korea	Hakuho x Nunomewase	P	B
32	Odama Akatsuki	Japan	Unknown	P	B
33	Jambo Akatsuki	Unknown	Unknown	P	B
34	Yonghwang Baekdo	Korea	Hanilbaekdo bud mutation	P	B
35	Yuuzora	Japan	Hakuto x Akatsuki	P	B
36	Mika	Japan	Yuuzora mutation	P	B
37	Nishino Hakuto	Japan	Discovery in mixed planting of Okubo and Hakuto	P	B
38	Kanamissuimitsu	Japan	Unknown	P	B
39	Selected Shimizu Hakuto	Japan	Unknown	P	B
40	Aichi Hakuto	Japan	Graft variation	P	B
41	Izumi Hakuto	Japan	Kawanakajima Hakutou x Sanguenbaekdo	P	B
42	Hikawa Hakuto	Japan	Hakuho early maturing mutation	P	B
43	Kanoiwa Hakuto	Japan	Cheongan baekdo mutation	P	B
44	Yamato Hakuto	Japan	Hakuto x Carmen	P	B
45	Yamatowase	Japan	Yamato Hakuto mutation	P	B
46	Gwanseong Baekdo	Korea	Chance seedling of Yumyeong	P	B
47	Yonggung Baekdo	Korea	Early maturing bud mutation of Mibaekdo	P	B
48	Shiga Hakuto	Japan	Unknown	P	B
49	Daemyeong	Korea	Yumyeong bud mutation	P	B
50	Yumyeong	Korea	Yamatowase x Nunomewase	P	B
51	Wolmi	Korea	Early maturing variation of Yumyeong	P	B
52	Mishima Hakuto	Japan	Chance seedling	P	B
53	Josaeng Mibaek	Unknown	Unknown	P	B
54	Baekseol	Korea	Chance seedling of Yumyeong	P	B
55	Miharu Hakuto	Japan	Chance seedling	P	B
56	Abe Haluto	Japan	Chance seedling of Okubo + Hakuto	P	B
57	Chaohui	China	Baekhwasumil x Guljosang	P	B
58	Okayama 3	Japan	Toyong x Suhsquehanna	P	B
59	Hyeongbojosaeng	Korea	Kurakatawase seedling	P	B
60	Yamanashi Hakuho	Japan	Chance seedling of Hakuho	P	B
61	Wolbongjosaeng	Korea	Early maturing variation of Kurakatawase	P	B
62	Wolhajosaeng	Korea	Early maturing variation of Kurakatawase	P	B
63	Kurakatawase	Japan	(Tuscan x Hakuto) x seedling	P	B

Table 1. Continued.

No.	Varieties	Origin	Parentage	Pubescence of fruit ^z	Classification ^y
64	Baekmijosaeng	Korea	Mishima Hakuto x Nunomewase	P	B
65	Momoyama Hakuho	Japan	Hakuho mutation	P	B
66	Kawanakajima Hakutou	Japan	Discovery in mixed planting of Shanhai Sumitsuto and Hakuto	P	B
67	Kunika	Japan	Yazi Hakuto bud mutation	P	B
68	Selected Kawanakajima Hakuto	Japan	Chance seedling	P	B
69	Bokjosaeng Baekdo	Korea	Yumyeong seedling	P	B
70	Takei Hakuho	Japan	Hakuho open pollination	P	B
71	Nunomewase	Japan	Chance seedling	P	B
72	Sunagowase	Japan	Chance seedling of Shingyoku or Okubo	P	B

^zA: Absence, P: Presence^yC: Cheondo, H: Hwangdo, B: Baekdo

잎과 텅스텐 구슬을 넣은 다음 액체질소를 이용하여 샘플을 마쇄 하였다. 충분히 마쇄된 조직은 NucleoSpin® PlantII (Macherey-Nagel Cat. 740 770.250) 키트를 이용하여 게놈 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA는 1% 아가로스 젤에서 전기영동하여 DNA 농도를 확인한 후 μ 당 20 ng의 농도로 희석하여 PCR 분석에 이용하였다.

PCR 및 전기영동 분석

복숭아 품종식별에 효과적인 SSR 마커를 선발하기 위하여 ‘SunGlo’, ‘Cheonhong’, ‘Armking’, ‘Elberta’, ‘Hakuho’, ‘Yumyeong’, ‘Wolbongjosaeng’, ‘Kurakatawase’, ‘Kawanakajima Hakutou’의 게놈 DNA와 국외에서 개발된 189개의 SSR 마커를 이용하였다. PCR을 통한 유전자 증폭 산물은 6% polyacrylamide gels을 이용하여 전기영동 한 다음 silver sequence™ staining reagents (Promega, USA)으로 염색하였고 각 품종별 대립유전자(밴드)의 차이를 분석하여 다형성을 보이는 마커를 선발하였다. 다형성을 보이는 마커 중 반복간 재현성이 높고 밴드가 선명한 마커를 선정한 후 프라이머의 정방향에 FAM, VIC, NED, PET 중 한가지로 형광 표시하여 복숭아 72품종의 유전적 다양성 분석에 활용하였다.

PCR 반응은 복숭아 게놈 DNA 20 ng, 0.1 μ M의 SSR primer, 2.0 μ l dNTP mixture (2.5 mM), *Taq* polymerase 1.0 units, 2.5 μ l의 10 x PCR buffer (50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, pH8.0, 2.0 mM MgCl₂)(Genet Bio, Korea)에 증류수를 첨가하여 총 반응액을 25 μ l로 조정하였다. PCR은 Tprofessional™ thermocycler (Biometra, Germany)에서 40

회 실시하며, denaturation은 94°C에서 30초, annealing은 55°C에서 30초, 그리고 extension을 72°C에서 45초간 수행하였다. PCR이 완료된 후 4.0 μ l의 증폭산물을 2% 아가로스 젤에서 전기영동하여 증폭 여부를 확인한 다음, 증류수 200 μ l에 PCR 산물을 증폭량에 따라 1~3 μ l씩 첨가하여 희석하였다. 희석 시에는 하나의 PCR plate에 서로 다른 형광으로 표시된 4개의 프라이머를 다중(multiplex)으로 혼합하였다. 희석된 PCR 증폭 산물 1.0 μ l는 탈이온된 포름아마이드(Deionized formamide) 10 μ l, size marker (LIZ500 size standard) 0.25 μ l를 혼합한 다음 94°C에서 2분간 denaturation 시켰다. 변성시킨 PCR 증폭 산물은 자동염기서열 분석장치(Genetic Analyzer 3130XL, Applied Biosystem, USA)를 활용하여 전기영동하고, GeneMapper 프로그램(Applied Biosystem, USA)을 이용하여 마커별 대립 유전자의 크기를 분석하였다.

데이터 분석

자동염기서열 분석장치를 통해 분석된 대립유전자(피크)의 유무에 따라 유 = 1, 무 = 0로 기록하였다. SSR 마커의 다형성을 조사하기 위하여 아래의 공식을 이용하여 polymorphism information content (PIC)값을 산출하였다. 아래 공식에서 P_{ij} 는 마커 i 의 밴드들 중에서 j 번째 공통 밴드 패턴의 빈도수이다(Anderson et al. 1993).

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

증폭된 밴드의 유무를 NTSYSpC (version 2.10b)(Rohlf 2000) 컴퓨터 프로그램에 입력하고 Jaccard 방법(Sneath & Sokal 1973)에 따라 유전적 유사도 값을 계산한 후 unweighted pair-group method with arithmetical average (UPGMA) (Sneath & Sokal 1973) 방법을 통해 덴드로그램을 작성하였고, 본 연구를 통해 선발된 expressed sequence tags (ESTs) 유래 SSR 마커의 기능을 추정하기 위해 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에서 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 분석 프로그램 중 BLASTX분석을 수행하여 복숭아EST 염기서열과 기존에 밝혀진 단백질과의 유사성을 분석하였다.

결과 및 고찰

SSR 분석

복숭아 품종식별 분자표지를 선발하기 위하여 ‘SunGlo’ 등 9품종을 공시하고 복숭아, 체리, 매화, 배 및 사과로부터 개발된 189개의 SSR 마커를 이용하여 다형성 정도를 분석한 바, 총 189개 마커 중에서 74개 마커가 공시품종 내에서 다형성을 나타내었다(Table 2). 국외에서 개발된 복숭아 genomic library 유래 SSR 마커(genomic SSR)에 대한 다형성 분석

Fig. 1. Amplified SSR fragments of 3 peach varieties at the EPPCU2432 locus. The PCR products were separated using a Genetic Analyzer 3130XL (Applied Biosystem, USA) and detected using GeneMapper software (Applied Biosystem, USA). Lane1: ‘Yumyeong’, 2: ‘Redgold’, 3: ‘Mishima Hakuto’.

Table 2. SSR markers screened for identifying peach varieties and polymorphism of amplified SSR markers.

No. of used markers for screening	Type of SSR makers	No. of polymorphic markers	Ratio of polymorphism (%)	SSR marker source
17	gSSR ^z of peach	13	76.5%	Cipriani et al. (1999)
10	gSSR of peach	5	50.0%	Sosinski et al. (2000)
17	gSSR of peach	4	23.5%	Wang et al. (2002)
8	gSSR of peach	5	62.5%	Yamamoto et al. (2003)
2	gSSR of peach	1	50.0%	Kaçar et al. (2005)
61	EST-SSR of peach	30	49.2%	http://www.rosaceae.org
4	gSSR of sour cherry (<i>Prunus cerasus</i> L.)	2	50.0%	Kaçar et al. (2005)
5	gSSR of sour cherry (<i>Prunus cerasus</i> L.)	2	40.0%	Sosinski et al. (2000)
7	gSSR of sweet cherry (<i>Prunus avium</i> L.)	1	14.3%	Kaçar et al. (2005)
13	gSSR of pear (<i>Pyrus pyrifolia</i> Nakai)	3	23.1%	Yamamoto et al. (2002)
14	EST-SSR of mei (<i>Prunus mume</i>)	2	14.3%	Li et al. (2010)
14	gSSR of apple (<i>Malus pumila</i> Miller)	1	7.1%	Guilford et al. (1997)
17	gSSR of apple (<i>Malus x domestica</i>)	5	29.4%	Gianfranceschi et al. (1998)
189		74	39.2%	

^zgSSR: genomic SSR

형광 표지된 선발 마커를 이용하여 복숭아 72품종의 다형성 정도를 조사한 결과는 표와 같다(Table 3). SSR 마커에 의해 분석된 대립유전자의 수는 2~9개였고, 총 71개의 대립

[illegible]

유전자가 분석되었으며 마커 당 평균 대립유전자의 수는 3.6 개로 나타났다. 각 마커 별로 유전적 다형성 정도를 나타내주는 PIC값은 0.246~0.771까지 나타났으며, 평균값은 0.523 으로 조사되었다. 이는 108개의 genomic SSR 마커를 이용하여 96품종을 분석한 선행연구(Yoon et al. 2006)의 PIC값 0.8보다는 다소 낮았다. 이는 본 연구에 사용된 복숭아 공시 품종에서 변이지 육종에 의해 육성된 품종과 교배 육종에 의해 육성된 친자품종들이 많은 비율을 차지하면서 유전적 다양성이 상대적으로 낮고 EST-SSR 마커를 활용하였기 때문인 것으로 사료된다.

복숭아의 품종식별을 위해 최종 선발한 20개의 SSR 마커 중에서 14개는 복숭아 EST-SSR 마커이다. EST-SSR 마커는 genomic SSR 마커에 비해 다형성은 낮으나 표현형의 발현과 연관이 되어있는 개연성이 높으며 관련된 중간에 활용이 가능한 마커로 알려져 있다(Kalia et al. 2011). 또한 EST-SSR 마커는 작은피크(stutter)가 적고 밴드가 선명하여 품종지문화에 적합하다는 연구 보고가 있었다(Leigh et al. 2003). 따라서 품종보호 심사에 활용하기 위한 마커 조합으로는 genomic SSR 마커와 EST-SSR 마커를 함께 적절히 혼용하여 사용하는 것이 품종식별에 효과적임이 보고된 바 있다(Leigh et al. 2003). 본 연구에서도 복숭아 품종식별 분자표지 선발에 다형성이 상대적으로 낮더라도 염색체 전체에 골고루 분포하면서

대립유전자가 선명하며 재현성이 뛰어난 EST-SSR 마커와 다형성이 높은 genomic SSR 분자표지를 조합하여 마커세트로 선정하였다(Table 3). 최종 선발된 EST-SSR 마커의 기능을 유추하고자 기존에 알려진 단백질과의 유사성을 분석한바 14개 EST-SSR 마커 중 12개 마커에서 여러 종류의 단백질과 유사성을 나타내어(Table 4) 상기 마커들은 활용측면에서 복숭아의 분자표지와 형태적 특성과의 상관관계를 높이는 데 기여할 것이며 향후 주요 형질과 연관된 유용한 마커로도 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

유전적 유연관계 분석

최종 선발된 20개 SSR 마커를 이용하여 복숭아 72품종에 대한 유전적 유연관계를 분석한 덴드로그램은 그림과 같다(Fig. 2). 공시품종의 전체 유사도 지수는 0.39~1.00의 범위로 나타났으며, 돌연변이 육성 품종을 제외한 모든 품종이 본 연구에서 선발된 20개 SSR 마커의 유전자형(genotype)에 따라 식별이 됨을 확인하였다. 복숭아 72품종의 유전적 유사도는 유사도 지수 0.43을 기준으로 할 때 복숭아의 계통분류에 이용되는 대표적 형태적 특성인 솜털의 유무에 따라 크게 2개의 그룹으로 구분되었다. 제 I그룹에는 솜털이 없는 천도계 복숭아가 속하였고, 제 II그룹에는 솜털이 있는 백도계 복숭아가 속하였으며 황도계 복숭아는 총 10품종 중 8품종은 제

Table 4. Putative function of peach EST-SSR markers selected for identifying peach varieties in this study.

Primer name	EST ID	Putative punction ^z	Species	E-value
EPPCU1589	BU041589	Lipoic acid synthetase	<i>Ricinus communis</i>	2.00E-42
EPPCU6522	BU046522	Protein MLO	<i>Ricinus communis</i>	6.00E-34
EPPCU3090	BU043090	Hypothetical protein VITISV_035770	<i>Vitis vinifera</i>	2.00E-55
EPPCU1775	BU041775	Endo-polygalacturonase	<i>Prunus persica</i>	7.00E-123
EPPCU9566	BU039566	Predicted protein	<i>Populus trichocarpa</i>	2.00E-26
EPPCU8702	BU048702	No significant similarity found	-	-
EPPCU2432	BU042432	Transcription factor bHLH135-like	<i>Glycine max</i>	2.00E-09
EPPCU9268	BU039268	Thioredoxin M4, chloroplastic-like	<i>Glycine max</i>	5.00E-21
EPPCU1106	BU041106	No significant similarity found	-	-
EPPCU1098	BU041098	Ring-H2 finger protein ATL3C	<i>Ricinus communis</i>	1.00E-28
EPPCU2828	BU042828	Ring-finger protein	<i>Ricinus communis</i>	3.00E-30
EPPCU2005	BU042005	Zinc finger CCH domain-containing protein 48	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1.00E-18
EPPCU9168	BU039168	Uncharacterized protein LOC100246080	<i>Vitis vinifera</i>	2.00E-37
EPPCU7190	BU047190	Transcription factor bHLH135-like	<i>Glycine max</i>	1.00E-42

^zThe putative punctions were acquired by comparing the NCBI nonredundant protein sequence database with BLASTX using a threshold E-value of 1.00E-05

I그룹에 속하였고, 2품종은 제 II그룹에 속하였다. 제 II그룹에 그룹핑 된 황도 품종인 ‘Jujosaeng Hwangdo’의 경우 ‘Yumyeong’의 우연실생으로 육성되어 백도 그룹에 그룹핑 된 것으로 추정된다.

공시품종 중 돌연변이에 의해 육성된 것으로 확인된 1)

‘Armking’과 ‘Josaeng Armking’, 2) ‘Yamato Hakuto’와 ‘Yamatowase’, 3) ‘Yumyeong’과 ‘Daemyeong’, 4) ‘Yuuzora’와 ‘Mika’의 경우 분자표지에 의해 구분되지 않았다. 이들 품종의 육성내역을 살펴보면 1) ‘Josaeng Armking’은 ‘Armking’의 아조변이로 육성되었고, 2) ‘Yamatowase’은 ‘Yamato

Fig. 2. Dendrogram of 72 peach varieties based on SSR markers. The scale at the bottom is Jaccard's coefficient of similarity.

I : Cheondo group, II : Baekdo group, * : Hwangdo.

Hakuto'의 돌연변이이며, 3) 'Daemyeong'은 'Yumyeong'의 아조변이이고, 4) 'Mika'은 'Yuuzora'의 돌연변이로 육성된 품종으로 알려져 있다. 돌연변이에 의해 육성된 품종의 경우 분자표지로 구분되지 않는다는 점에서 Yamamoto et al. (2003)의 연구와 일관된 결과를 보였다. 일반적으로 돌연변이로 육성된 품종은 형태적 특성에서 원품종(initial variety)과 뚜렷하게 구별성을 보이는데, 이와 같은 경우에도 두 품종간에 유래관계를 증명할 수 있는 분자표지의 개발이 필요한 것으로 보고된 바 있다(UPOV-BMT, 2008a). 본 연구의 경우에서 보면, 돌연변이로 육성된 품종 중 'Hikawa Hakuho'의 경우 'Hakuho'의 아조변이로 알려져 있지만 본 연구에서 선발된 분자표지로 구분되었는데, 이는 선행 연구결과(Yamamoto et al. 2003)와 일치한다. 또한 'Wolbongjosaeng'과 'Wolhajosae'는 각각 'Kurakatawase'의 조생변이와 조숙변이로 육성된 품종이나 'Kurakatawase'와는 본 연구결과의 분자표지로 구분되었다. 이들 품종과 'Kurakatawase'와의 유사도는 각각 0.82로 분석되었으며 'Wolbongjosaeng'과 'Wolhajosae' 품종간 유사도는 0.94를 나타내었다. 이는 원품종과 돌연변이 품종간에 비교적 광범위한 유전적 변이가 존재함을 시사하는 결과로 국소적으로 일어난다고 알려져 있는 일반적인 아조변이의 패턴과는 상이한 결과로 파악된다. 정확한 유전적 양상을 파악하기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

교배로 육성된 복숭아 품종에 대한 유전적 유사도를 살펴보면, 'Canadian Harmony'와 'Harbrite'는 유전적 유사도가 0.96으로 높게 나타났는데 이는 복숭아 품종의 육성 내역을 살펴볼 때 두 품종 모두 'Redskin'과 'Sunhaven'의 교배후손으로 품종 육성에 제한된 유전자원을 활용했기 때문에 나타난 결과라고 판단되었다. 'J.H.hale' 품종을 한쪽 친으로 사용하여 교배 육성된 품종인 'Richhaven'과 'Collins'의 유사도는 0.78을 나타내었고, 'Amato No.2'는 'Kawanakajima Hakutou'와 'Benishimizu'의 교배후손으로 'Benishimizu'와는 0.73의 유사도를 나타내었다. 이는 일본에서 친자관계로 추정되는 'Shanghai Suimitsuto'와 'Hakuto' 품종이 10개의 SSR 마커로 분석시 0.73의 유사도를 보인 것과 대체로 비슷한 유사도 분포 결과이다(Yamamoto et al. 2003). 한편 'Flavortop'과 'Fantasia'는 서로 다른 품종의 자연교잡 후대로 실생 선발된 것으로 알려져 있으나 유사도는 0.97로 높게 분석되었는데 형태적 특성에서 숙기, 착색정도 등에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 그리고 5) 'Hakuho'와 'Benishimizu', 6) 'Odama

Akatsuki'와 'Jambo Akatsuki', 7) 'Mishima Hakuto'와 'Josaeng Mibaek'의 품종간 유사도는 각각 0.94, 0.97 및 0.97로 높게 분석되어 밀접한 유전적 연관관계를 시사하나 이들 품종의 육성내역이 명확하게 알려져 있지 않아 향후 연관관계를 추정하기 위해서는 형태적 특성이 추가적으로 조사되어야 할 것으로 판단된다.

복숭아의 신품종이 품종보호 등록되기 위해서는 구별성(Distinctness), 균일성(Uniformity), 안정성(Stability)의 3가지 DUS 기술적 요건과 신규성(Novelty), 품종명칭(Denomination)의 2가지 방식적 요건을 갖추어야 한다. 과수작물의 경우 DUS 검정시 통상 육종가 포장에서 현지조사를 통해 특성조사를 하며 대조품종 선정과 형태적 특성을 조사하는데 많은 시간이 소요되기에 특성조사를 보완할 수 있는 방법으로 분자표지를 통해 빠른 시간 안에 품종의 유전적 유사도를 1차 검정하는 방법의 개발이 우선 필요하다. International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) 산하 기술위원회 중의 하나인 분자생물학 및 생화학 실무작업반회의(Working Group on Biochemical and Molecular Techniques, and DNA-Profiling in Particular: BMT)에서는 분자표지를 품종보호 분야에서 이용할 경우 몇 가지 이용 기준을 제시하고 있다(UPOV-BMT 2011a). 여기에서는 분자표지를 품종의 구별성 판단에 직접적으로 활용하는 것은 인정하지 않고 있으나 형태적 특성을 고려하여 기존품종의 관리, 품종 확인 및 유래품종의 식별 등의 분야에서 분자생물학적 기술을 활용할 수 있다고 제안하고 있는 실정이다. 돌연변이, 형질전환 등에 의해 육성된 유래품종에 대한 분자수준에서의 식별연구와 논의가 UPOV-BMT와 국제종자연맹(International Seed Federation: ISF)에서 활발하게 진행되고 있으나, 유래품종의 경우 유전적 유사도만으로 원품종과의 관계를 증명하기는 어려운 것으로 알려져 있다(UPOV-BMT 2008b). 그러나 한편 과수작물에서 일반적으로 그렇듯이 복숭아의 경우 세계적으로 많은 유래품종이 존재하기 때문에 유럽의 품종보호 기관 연합(Community Plant Variety Office: CPVO)에서는 500품종 이상의 효과적인 복숭아 기존품종 관리를 위해서 SSR 마커를 선발 중에 있으며, 기존품종의 특성을 평가하여 분자표지와 형태적 특성과의 상관관계를 비교분석 하고 있다(UPOV-BMT 2011b).

본 연구에서는 72품종에 대해서 SSR 마커의 분포를 살펴 보았으며, 여기에 더하여 형태적 특성과의 상관관계가 구체적으로 밝혀진다면 복숭아 품종보호 출원품종의 대조품종 선정,

품종보호 침해 및 분쟁 발생시 이를 해결하는 분자생물학적 근거로 유용한 자료가 될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 국내외에서 육성 및 수집된 복숭아 주요품종에 대하여 SSR 마커를 이용하여 유전적 다양성 분석을 수행하였다. 복숭아 품종식별에 적합한 SSR 마커를 선정하기 위하여 9개의 주요품종을 대상으로 총 189개의 SSR 마커를 분석하였다. 최종 선발된 20개의 SSR 마커를 대상으로 72품종을 이용하여 분석하였을 때, SSR 마커에 의해 분석된 대립유전자의 수는 2~9개였고, 총 71개의 대립유전자가 분석되었으며 마커 당 평균 대립유전자의 수는 3.6개로 조사되었다. PIC 값은 0.246~0.771의 범위에 속하였으며 평균값은 0.523으로 나타났다. SSR 마커를 이용하여 분석된 복숭아 72품종의 품종간 유전적 거리는 0.39~1.00의 범위를 나타내었고, 복숭아의 대표적 형태적 특성인 솜털의 유무에 따라 천도계 복숭아 그룹과 백도계 복숭아 그룹으로 나눌 수 있었으며, 72품종 중 68품종은 SSR 마커의 유전자형에 의해 구분되었으나, 돌연변이로 육성된 품종은 분자표지로 식별되지 않았다. 본 연구결과는 복숭아 품종의 유전적 다양성 및 품종식별 연구를 위한 자료로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

인 용 문 헌

- Abbott AG, Georgi L, Inigo M, Sosinski B, Yvergnaux D, Wang Y, Blenda A, Reighard G. 2002. Peach: the model genome for *Rosaceae*. *Acta Hort.* 575: 145-155.
- Anderson JA, Churchill GA, Autrigue JE, Tanksley SD. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome.* 36: 181-186.
- Baird WV, Estager AS, Wells JK. 1994. Estimating nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119: 1312-1316.
- Cipriani G, Lot G, Huang W-G, Marrazzo MT, Peterlunger E, Testolin R. 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.* 99: 65-72.
- Gianfranceschi L, Seglias N, Tarchini R, Komjanc M, Gessler C. 1998. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1069-1076.
- Guilford P, Prakash S, Zhu JM, Rikkerink E, Gardiner S, Bassett H, Forster R. 1997. Microsatellites in *Malus x domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theor. Appl. Genet.* 94: 249-254.
- Han SE, Cho KH, Nam EY, Shin IS, Kim CH, Kim HR, Kim DH. 2010. Identification of new breeding lines by *Prunus Persica* cultivar-specific SCAR primers. *Korean J. Breed. Sci.* 42: 495-501.
- Hesse CO. 1975. Peaches. In: Janick J, Moore JN (eds) *Advances in fruit breeding*. Purdue Univ Press, W Lafayette, IN, USA, pp. 285-335.
- Kaçar YA, Iezzoni A, Çetiner S. 2005. Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers. *J. Biol. Sci.* 5: 616-619.
- Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R, Dhawan AK. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica.* 177: 309-334.
- Leigh F, Lea V, Law J, Wolters P, Powell W, Donini P. 2003. Assessment of EST- and genomic microsatellite markers for variety discrimination and genetic diversity studies in wheat. *Euphytica.* 133: 359-366.
- Li X, Shanguan LF, Song CN, Wang C, Gao ZH, Yu HP, Fang JG. 2010. Analysis of expressed sequence tags from *Prunus mume* flower and fruit and development of simple sequence repeat markers. *BMC Genetics.* 11: 66.
- Rohlf FJ. 2000. NTSYSpc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system-version 2.10b. Applied Biostatistics Inc., New York.
- Scorza R and Sherman WB. 1996. Peaches. In: Janick J, Moore JN(eds) *Fruit breeding, vol 1: tree and tropical fruits*. John Wiley & Sons, Inc, pp.325-440.
- Sneath PHA and Sokal RR. 1973. *Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification*. W. H. Freeman, San Francisco.
- Sosinski B, Gannavarapu M, Hager LD, Beck LE, King GJ, Ryder CD, Rajapakse S, Baird WV, Ballard RE, Abbott AG. 2000. Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theor. Appl. Genet.* 101: 421-428.
- UPOV-BMT. 2008a. BMT/11/16 The assessment of essential derivation in grapevine, Madrid.
- UPOV-BMT. 2008b. BMT/11/24 Concepts of dependence and essential derivation the possible use of DNA markers, Madrid.

19. UPOV-BMT. 2011a. INF/18/1 Possible use of molecular markers in the examination of distinctness, uniformity and stability (DUS).
20. UPOV-BMT. 2011b. BMT/13/11 Management of peach tree reference collections. The working group on biochemical and molecular techniques and DNA-profiling in particular, Brasilia.
21. Wang Y, Georgi LL, Zhebentyayeva TN, Reighard GL, Scorza R, Abbott AG. 2002. High-throughput targeted SSR marker development in peach (*Prunus persica*). Genome. 45: 319-328.
22. Yamamoto T, Kimura T, Shoda M, Ban Y, Hayashi T, Matsuta N. 2002. Development of microsatellite markers in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Molecular Ecology Notes. 2: 14-16.
23. Yamamoto T, Mochida K, Hayashi T. 2003. Shanhai Suimitsuto, one of the origins of Japasese peach cultivars. J. Japan Soc. Hort. Sci. 72: 116-121.
24. Yoon JH, Liu DC, Song WS, Liu WS, Zhang AM, Li SH. 2006. Genetic diversity and ecogeographical phylogenetic relationships among peach and nectarine cultivars based on simple sequence repeat (SSR) markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131: 513-521.