포도 무핵 유전자원의 유연관계 분석 및 무핵 형질과 연관된 P3_VvAGL11 마커의 활용성 평가

허윤영¹ · 정찬진¹ · 노정호¹ · 정성민¹ · 남종철¹ · 마경호² · 박교선^{1*}

¹농촌진흥청 국립원예특작과학원, ²농촌진흥청 국립농업과학원

Analysis of Genetic Relationship of Seedless Germplasm and Validation Assay of the P3_VvAGL11 Marker Linked to Seedlessness in Grapevines

Youn Young Hur¹, Chan Jin Jung¹, Jung-Ho Noh¹, Sung-Min Jung¹, Jong-Chul Nam¹,
Kyung Ho Ma², and Kyo-Sun Park^{1*}

¹National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Suwon 440-706, Republic of Korea

²National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Republic of Korea

Abstract : The genetic relationships of twenty seedless grape cultivars, used as parents for seedless grape breeding, were analyzed and the validation assay of the P3_VvAGL11 marker related to the seedlessness was examined. Total 218 polymorphic bands were generated by 30 SSR markers. The average number of alleles per marker was 7.3. The polymorphism information contents (PIC) averaged 0.442, value ranging from 0.052 to 0.083 by each SSR marker. Eighteen seedless grape cultivars derived from ‘Sultanina’ and ‘Kishmish Chernyi’ had 196-bp alleles of the P3_VvAGL11 associated with seedlessness. The unweighted pair-group method arithmetic average (UPGMA) cluster analysis was performed using selected 218 polymorphic bands. And four groups were derived on the similarity index 0.722. Each group accorded with the classification by the ratio of the European species (*Vitis vinifera*), the American species (*V. labrusca*) and the inter-specific hybrid between the two species (*V. labruscana*). Similarity values among the tested seedless grape cultivars were ranged from 0.592 for ‘Beauty Seedless’ and ‘Honey Seedless’ to 0.844 for ‘Emerald Seedless’ and ‘Ruby Seedless’, the average similarity value was 0.715. These results could be used as useful reference for selecting parents with diverse backgrounds and early selection of seedless seedlings in breeding program of seedless grape cultivars.

Keywords : Genetic diversity, Grapevine, Seedlessness, Validation, UPGMA

서 언

생식용 포도의 품질을 결정하는 요인으로 당도, 산도, 육질, 향기, 색택, 과립 크기 등이 있으며, 이러한 형질들은 포도 육종이 시작되면서부터 육종 목표로 고려되어 왔던 것들이다. 그러나 무핵(seedlessness) 특성은 상대적으로 최근, 소비수준의 향상과 육종 기법의 발달로 인해 그 중요성이 인식되기 시작하였으며, 이제는 대부분의 생식용 포도 육종 프로그램에서

조숙 특성과 함께 주요 육종 목표로 여겨지고 있다(Adam-Blondon et al. 2001, Park et al. 2003). 포도에서는 두 가지 형태의 무핵 기작이 보고되었는데, 수정(fertilization)없이 수분(pollination) 자극에 의해 착립되는 단위결과(parthenocarpy)와 수분과 수정은 정상적으로 이루어지지만, 종자가 발달 과정에서 퇴화하여 흔적만 남는 위단위결과(stenospermocarpy)가 그것이다(Ledbetter and Burgos 1994, Pratt 1971). 교배육종 시 무핵 특성을 도입하기 위한 소재로는 상대적으로 과립이 큰 위단위결과성(stenospermocarpic) 무핵 품종이 이용되고 있다(Ledbetter and Burgos 1994, Park et al. 2003).

무핵 포도에 대한 많은 연구와 육종 노력에도 불구하고 새로운 무핵 포도 품종을 육성하는 것이 쉽지 않았던 이유는,

*Corresponding author (E-mail: kyosun@korea.kr, Tel: +82-31-240-3694, Fax: +82-31-240-3708)

(Received on October 22, 2013. Revised on February 17, 2014.
Accepted on February 24, 2014.)

무핵 품종을 화분친으로 하는 ‘유핵 × 무핵’ 조합만 가능하며, 교배 실생 중 무핵인 개체의 수가 적었기 때문이다. 그러나 80년대에 들어오면서 생장 조절 물질의 이용과 조직 배양 기술을 포함한 관련 기초 학문의 발달로 ‘무핵 × 무핵’ 조합에서 배구제(embryo rescue) 방법을 이용해 다수의 무핵 실생을 얻고, 이를 이용하여 새로운 무핵 품종을 육성할 수 있게 되었다(Akkurt et al. 2012, Cain et al. 1983). 그러나 계속되는 무핵 유전자원들 간의 교배는 무핵 품종들의 유전적 다양성을 감소시키고, 근교약세(inbreeding depression) 현상을 야기할 수 있는데(Karaagac et al. 2012), 실제로 재배되고 있는 약 40여 개 무핵 품종들의 무핵 특성은 대부분 ‘Sultanina (Thompson Seedless)’와 ‘Kishmish Chernyi’ 품종으로부터 유래하였다(Dangl et al. 2001, Ibáñez et al. 2009, Ledbetter and Ramming 1989, Vargas et al. 2009).

교배로 얻은 종자에서 다시 종자를 얻기까지 3년 이상 소요되는 포도 육종의 특성 상, 조기에 무핵 개체를 선발할 수

있는 분자표지의 개발은 교배 실생의 유지 비용을 절감할 수 있는 핵심 기술이다(Cabezas et al. 2006, Lahogue et al. 1998, Mejía et al. 2007, 2011). 포도에서 무핵 형질은 독립적으로 유전하는 3개의 열성 보족 유전자인 a1, a2, a3와 이들의 발현을 조절하는 우성유전자 *SDI* (seed development inhibitor)의 유무에 의해 결정된다고 보고되었고(Adam-Blondon et al. 2001, Bouquet and Danglot 1996, Doligez et al. 2002, Lahogue et al. 1998), *SDI* 유전자와 연관된 sequence-characterized amplified region (SCAR) 마커인 SCC8 (Lahogue et al. 1998)과 SCF27 (Mejía et al. 2007), 그리고 *SDI* 후보 유전자로 제안된 *VvAGL11*의 예상 ORF의 463bp upstream에 위치하는 VMC7F2 (Cabezas et al. 2006)와 같은 유전자의 전사조절 부위에 위치한 P3_VvAGL11 (Mejía et al. 2011) 등 4개의 마커가 개발되었다. 본 연구에서는 SSR 마커를 이용하여 주요 양친으로 사용하는 무핵 품종 20점의 유연관계를 분석함으로써 무핵 유전자원의 유전적 다양성을 평가

Table 1. The list of seedless grape cultivars used in this study.

No.	Cultivars	Parentage	Source of Seedlessness	Origin
1	Aki Seedless	Muscat Bailey A × Himrod	Sultanina	Japan
2	Beauty Seedless	Koenigin der Weingaerten × Kishmish Chernyi	Kishmish Chernyi	USA
3	Blush Seedless	Emperor × (Koenigin der Weingaerten × (Alphose Lavallee × Sultana Moscata))	Sultanina	USA
4	Bronx Seedless	(Goff × Iona) × Sultanina	Sultanina	USA
5	Centennial Seedless	Gold × (Emperor × Sultana Moscata) F ₂	Sultanina	USA
6	Cheongsu	Seibel 9110 × Himrod	Sultanina	Korea
7	Concord Seedless	Concord mutant	Concord Seedless	USA
8	Crimson Seedless	Emperor × USDA selection C33-199 ²	Sultanina	USA
9	Emerald Seedless	Emperor × Sultanina Moscata	Sultanina	USA
10	Flame Seedless	(Cardinal × Sultanina) × ((Red Malaga × Tifafihi Ahmer) × (Muscat of Alexandria × Sultanina))	Sultanina	USA
11	Himrod	Sultanina × Ontario	Sultanina	USA
12	Honey Seedless	Kyoho × Concord Seedless	Concord Seedless	Japan
13	Merbein Seedless	Planta Pedralba × Sultanina	Sultanina	Australia
14	Orlando Seedless	(Norris × Schuyler) × ((Koenigin der Weingaerten × Sultanina) × Perlette)	Sultanina	USA
15	Remaily Seedless	Lady Patricia × (Ontario × Kishmish Chernyi)	Kishmish Chernyi	USA
16	Ruby Seedless	Emperor × Sultana Moscata	Sultanina	USA
17	Suffolk Red	Fredonia × Kishmish Chernyi	Kishmish Chernyi	USA
18	Thompson Seedless	Sultanina	Sultanina	Turkey
19	Vanessa Seedless	Seneca × (Bath × Interlaken)	Sultanina	Canada
20	Venus	Alden × (Buffalo × (Ontario × Kishmish Chernyi))	Kishmish Chernyi	USA

²USDA selection C33-199, (Italia × (Calmeria × (Muscat of Alexandria × Sultanina))) × (Calmeria × (Muscat of Alexandria × Sultanina))

하고, 무핵 형질과 연관되었다고 보고된 P3_VvAGL11 마커의 marker-assisted selection (MAS) 이용 가능성을 검토하여 무핵 품종 육성을 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 DNA 추출

시험재료는 농촌진흥청 국립원예특작과학원에서 보존 중인 포도 무핵 유전자원 20점을 이용하였다(Table 1). DNA

추출은 DNeasy plant mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하였으며 NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)로 정량 후 20 ng μL^{-1} 로 희석하여 PCR 반응에 사용하였다.

SSR 및 무핵 연관 분자표지 분석

포도 품종 간 분석에서 높은 다형성이 보고된 VMC1B11 등(Laucou et al. 2011) 30종의 SSR 마커를 사용하여 각 마커의 조건에 따라 PCR을 수행하였다(Table 2). 또한 무핵 특

Table 2. Characteristics of SSR markers including product size, allele numbers, PIC values and references in 20 seedless grape cultivars.

SSR name	Chr.	Product size (bp)	No. of alleles	PIC value	Reference	Repeat motif
UDV-038	13	160-196	8	0.350	Bowers et al. 1999	(TG) _n
VMC1B11	8	166-184	4	0.883	Laucou et al. 2011	(GA) _n
VMC1C10	9	132-184	13	0.728	Doligez et al. 2006	(TGC) _n
VMC1G7	3	221-261	10	0.695	Doligez et al. 2006	(TG) _n (GA) _n
VMC2F12	8	193-232	8	0.460	Doligez et al. 2006	(AG) _n
VMC3G8-2	9	149-179	10	0.490	Doligez et al. 2006	(AG) _n
VMC4F3	12	167-206	12	0.605	Di Gaspero et al. 2000	(CT) _n TT(CT) _n
VMC7H3	4	118-136	6	0.208	Riaz et al. 2004	(GA) _n AAA(GA) _n
VMC8C2	2	130-189	8	0.283	Adam-Blondon et al. 2004	(GA) _n
VMC8D1	1	194-220	4	0.535	Adam-Blondon et al. 2004	(CT) _n
VMC8D3	10	159-177	6	0.298	Adam-Blondon et al. 2004	(AG) _n
VMC9G4	17	151-187	8	0.288	Doligez et al. 2006	(CT) _n
VrZAG62	7	187-205	6	0.408	Sefc et al. 1999	(CT) _n
VrZAG79	5	235-264	10	0.270	Sefc et al. 1999	(CA) _n
VVIC50	6	76-82	2	0.575	Merdinoglu et al. 2005	(AG) _n
VVIH54	13	146-168	5	0.445	Merdinoglu et al. 2005	(GA) _n
VVIP60	1	315-323	4	0.783	Merdinoglu et al. 2005	(TG) _n A(GT) _n (GA) _n
VVIQ61	15	359-363	3	0.138	Merdinoglu et al. 2005	(GT) _n
VVIN52	16	77-101	8	0.588	Merdinoglu et al. 2005	(AG) _n
VVIP31	19	174-189	7	0.585	Merdinoglu et al. 2005	(GA) _n
VVIV33	19	340-365	7	0.440	Merdinoglu et al. 2005	(AG) _n
VVIV67	15	335-400	12	0.620	Merdinoglu et al. 2005	(CA) _n AT(CA) _n (GA) _n TT(GA) _n (AG) _n
VVMD5	16	223-235	6	0.490	Bowers et al. 1996	(CT) _n AT(CT) _n ATAG(AT) _n
VVMD7	7	233-251	8	0.358	Bowers et al. 1996	(CT) _n
VVMD21	6	237-262	5	0.052	Bowers et al. 1999	(CT) _n CTAGAAGG(A) _n
VVMD24	14	204-218	6	0.413	Bowers et al. 1999	(CT) _n
VVMD25	11	237-255	7	0.205	Bowers et al. 1999	(CT) _n
VVMD27	5	174-192	5	0.240	Bowers et al. 1999	(CT) _n
VVMD28	3	217-266	11	0.558	Bowers et al. 1999	(CT) _n
VVS2	11	212-155	9	0.275	Thomas and Scott 1993	(TC) _n
Total	-	-	218	-		
Mean	-	-	7.27	0.442		

성을 검정하기 위해 Mejía 등(2011)이 무핵 형질과 연관되었다고 보고한 P3_VvAGL11 (F, 5'-CTCCCTTTCCCTCTCCCTCT-3'; R, 5'-AAACGCGTATCCCAATGAAG-3') 마커를 사용하여 조건에 따라 PCR을 수행하였다(Mejía et al. 2011). DNA 증폭은 MJ Research PTC-100 96 Plus thermal cycler를 사용하였고 PCR 산물은 자동염기서열 분석장치(Genetic Analyzer 3130XL, Applied Biosystem)를 활용하여 전기영동 한 후, GeneMapper 프로그램(Applied Biosystem)을 이용하여 분자표지 별 대립 유전자의 크기를 결정하였다. SSR 마커의 다형성 정도를 나타내는 지표인 PIC (polymorphism information content) 값은 PIC calculator Extra (Anderson et al. 1993) 프로그램을 사용하여 계산하였다.

Data 분석 및 dendrogram 작성

다형성을 보이는 밴드를 마커로 선별하고 밴드의 유(1), 무(0)에 따라 data matrix를 작성하였다. NTSYS-pc (version 2.11 a) 프로그램에 data matrix를 입력하고 Jaccard 방법(Sneath and Sokal 1973)에 준하여 유전적 유사도 값을 계산한 후, UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average) 방법으로 군집분석(cluster analysis)하여 dendrogram을 작성하였다.

결과 및 고찰

SSR 분석

SSR 마커 30개를 이용하여 포도 무핵 품종 20 점을 분석한 결과 모두 218개의 대립인자가 확인되었다. 각 마커 별 대

립인자의 수는 2개에서 최대 13개까지 다양했고, 평균 대립인자 수는 7.3개였다(Table 2). 본 실험에서 얻은 평균 대립인자의 수(7.3)는 기존에 보고된 재배 품종에 대한 평균 대립인자 수 7.9개(Lefort and Roubelakis-Angelakis 2001) 및 포도 속(*Vitis*) 야생 유전자원에 대한 평균 대립인자 수 13.2개(Hur et al. 2012) 보다 적었다. 이러한 결과는 재배되는 대부분의 무핵 품종들의 무핵 특성이 'Sultanina'와 'Kishmish Chernyi' 품종으로부터 유래하였는데(Ibáñez et al. 2009, Ledbetter and Ramming 1989, Vargas et al. 2009), 제한된 무핵 유전자원들 간의 교잡으로 인해 변이의 폭이 좁아졌기 때문으로 판단되었다. 분석에 사용한 30개 SSR 마커의 PIC 값은 0.052에서 0.883의 범위였으며 평균 PIC값은 0.442이었다(Table 2). 분석에 이용된 30개의 SSR 마커 중에서 VMC1B11, VVIP60 및 VMC1C10은 PIC값이 0.70이상으로 포도 무핵 품종들에서 높은 다형성을 나타내었으며, PIC 값이 0.728, 0.605로 높고 대립인자가 각각 13개, 12개인 VMC1C10과 VMC4F3 두 개의 primer를 이용하여 시험에 사용한 20개 무핵 품종을 구분할 수 있었다(Table 3). 이러한 결과는 각국의 언어로 명명, 표기(동종이명 또는 이종동명)되어 유통되는 포도 무핵 품종들을 판별하는데 이용될 수 있을 것이다.

무핵 연관 분자표지 분석

무핵 특성과 연관되었다고 보고된 P3_VvAGL11 마커를 이용하여 포도 무핵 품종 20 점을 분석한 결과 'Concord Seedless'와 이를 화분친으로 육성된 무핵 품종인 'Honey

Table 3. Identification of 20 seedless grape cultivars using VMC1C10 and VMC4F3 SSR markers.

Cultivars	Markers		Cultivars	Markers	
	VMC1C10	VMC4F3		VMC1C10	VMC4F3
Aki Seedless	141:151	192:206	Himrod	151:175	173:192
Beauty Seedless	157:175	192:206	Honey Seedless	141:163	167:171:183
Blush Seedless	184	186:206	Merbein Seedless	166	167:192
Bronx Seedless	151:166	190:204	Orlando Seedless	135:154	167:173
Centennial Seedless	-	173:192	Remaily Seedless	151:163	175:183
Cheongsu	151:157	179:192	Ruby Seedless	169:184	181:186
Concord Seedless	141	171:204	Suffolk Red	-	173:204
Crimson Seedless	-	208:213	Thompson Seedless	166:175	190:192
Emerald Seedless	132:144:166	181:186	Vanessa Seedless	141	173:190
Flame Seedless	163:166	167	Venus	138:151	-

Seedless'를 제외한 18개 품종에서 무핵 특성 특이적인 밴드 (196 bp)가 증폭되는 것을 확인하였다(Table 4). 이러한 결과는 'Sultanina'와 'Kishmish Chernyi', 그리고 'Concord Seedless'가 서로 다른 기작을 통해 무핵 계통이 되었을 가능성을 제시하는 것이다. Akkurt 등(2012)은 무핵 특성과 연관되었다고 보고된 SCC8 (Lahogue et al. 1998), SCF27 (Mejía et al. 2007), VMC7F2 (Cabezas et al. 2006) 등 3개의 마커를 이용하여 372개 교배 실생을 평가한 결과, VMC7F2 마커가 무핵 특성을 가장 잘 설명한다고 보고하였고(Akkurt et al. 2012), Mejía 등(2011)은 P3_VvAGL11 마커가 VMC7F2 마커보다, *SDI* 후보 유전자로 제안된, *VvAGL11* 유전자의 ORF에 더 가깝게 위치한다고 보고하였다(Mejía et al. 2011). Carlo 등(2013)은 101개 포도 유전자원 및 서로 다른 23개 교배조합으로부터 유래한 374개 개체 등 총 475점의 재료를 대상으로 P3_VvAGL11 마커의 유용성을 확인한 결과, Duca di Magenta, Pirovano 77, Martellata, Prosperi 105, Pizzutello

Bianco 등 5개 유핵 품종과 유핵 교배 실생 3개체에서 무핵 특성 특이적인 밴드가 증폭되는 것을 관찰하였는데, 이러한 false positive가 나타나는 개체들에서 증폭된 단편의 염기서열이 무핵 특성 특이적인 밴드의 염기서열과 다를 것으로 추측하였다. 또한 무핵 표현형을 보인 모든 개체에서는 무핵 특성 특이적인 밴드가 증폭되는 것을 관찰하였는데, Carlo 등(2013)이 실험한 재료는 'Sultanina'와 'Kishmish Chernyi' 품종으로부터 유래한 무핵 품종 및 이들을 양친으로 만들어진 조합들만 포함되어, 같은 기원을 가진 집단에 한해 무핵 개체 조기 선발용 마커로 P3_VvAGL11이 유용하게 사용될 수 있음을 보여주었다(Carlo et al. 2013).

포도 무핵 유전자원 간 유연관계 분석

선발된 218개의 다형성 밴드를 이용하여 포도 무핵 유전자원들 간의 유전적 다양성을 조사한 결과, 유사도 지수는 0.592에서 0.844의 범위로 나타났으며 평균 유사도 지수는

Table 4. Evaluation of 20 seedless grape cultivars using P3_VvAGL11 marker linked to seedlessness.

Marker	Allele (bp) ^z	Cultivars																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
P3_VvAGL11	174	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	176	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	186	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+
	196*	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

^zAsterisks indicate the size of the seedless allele for *VvAGL11* intragenic markers (Mejía et al. 2011)

+, allele present; -, allele absent

Table 5. Average genetic similarity values of 19 possible comparisons for the 20 seedless grape cultivars.

Cultivars	Average similarity	Cultivars	Average similarity
Aki Seedless	0.696	Himrod	0.737
Beauty Seedless	0.696	Honey Seedless	0.666
Blush Seedless	0.712	Merbein Seedless	0.709
Bronx Seedless	0.735	Orlando Seedless	0.713
Centennial Seedless	0.722	Remaily Seedless	0.720
Cheongsu	0.713	Ruby Seedless	0.709
Concord Seedless	0.721	Suffolk Red	0.716
Crimson Seedless	0.724	Thompson Seedless	0.752
Emerald Seedless	0.699	Vanessa Seedless	0.722
Flame Seedless	0.746	Venus	0.692
		Average	0.715

0.715이었다(Table 5). 평균 유사도 지수가 가장 높은 품종은 ‘Thompson Seedless’로 0.752이었고, 가장 낮은 품종은 유럽종과 미국종과의 교잡종(*V. labruscana*) 품종인 ‘Kyoho’와 미국종(*V. labrusca*)인 ‘Concord Seedless’ 품종 간 교배로 육성된 ‘Honey Seedless’로 이 품종의 평균 유사도 지수는 0.666이었다(Table 5). 가장 높은 유사도 지수(0.844)를 나타낸 것은 같은 교배조합에서 유래한 ‘Emerald Seedless’와 ‘Ruby Seedless’ 품종 간이었고, 가장 낮은 유사도 지수(0.592)를 나타낸 것은 ‘Kishmish Chernyi’에서 유래한 ‘Beauty Seedless’와 ‘Concord Seedless’에서 유래한 ‘Honey Seedless’ 품종 간이었다. 시험에 사용된 재료들은 유사도 지수 0.722에서 크게 4개 그룹으로 나눌 수 있었다(Fig. 1).

제1그룹은 ‘Himrod’와 이를 화분친으로 사용하여 육성된 품종인 ‘Cheongsu’ 및 ‘Aki Seedless’가 분류되었다. 제2그룹에는 9품종이 속하였고 유사도 지수 0.746에서 세 개 소그룹으로 나눌 수 있었는데, 각 그룹은 교배친으로 사용된 품종들의 유전적 background에 유럽종(*V. vinifera*), 미국종(*V. labrusca*), 그리고 이들의 중간교잡종인 *V. labruscana*의 비율에 따른 분류와 일치하였다. 첫 번째 소그룹에는 무핵 특성의 기원인 ‘Sultanina’와 유럽종(*V. vinifera*) 유전자원들의 교배로 육성된 ‘Merbein Seedless’와 ‘Beauty Seedless’가 분류되었고,

두 번째 소그룹에는 유럽종(*V. vinifera*)과 교잡종(*V. labruscana*) 간의 교배로 만들어진 ‘Vanessa Seedless’, ‘Bronx Seedless’, ‘Suffolk Red’ 및 ‘Flame Seedless’가 분류되었으며, 세 번째 소그룹에는 유럽종(*V. vinifera*)과 미국종(*V. labrusca*) 간의 교배로 육성된 ‘Remaily Seedless’와 ‘Orlando Seedless’가 분류되었다. 제3그룹에는 ‘Emperor’를 종자친으로, ‘Muscat of Alexandria’와 ‘Sultanina’ 조합에서 유래한 무핵 품종인 ‘Sultana Moscata’를 화분친으로 사용한 조합에서 유래한 ‘Ruby Seedless’, ‘Emerald Seedless’, ‘Crimson Seedless’ 등 6품종이 분류되었다 제4그룹에는 포도주스의 원료로 이용되는 미국종(*Vitis labrusca*) 품종 ‘Concord’에서 유래한 자 연돌연변이 무핵 품종인 ‘Concord Seedless’와 이를 화분친으로 사용하여 육성된 ‘Honey Seedless’, 그리고 ‘Alden’, ‘Buffalo’, ‘Ontario’ 등 미국종(*Vitis labrusca*) 품종들의 조합으로 육성된 ‘Venus’가 포함되어 유럽종(*V. vinifera*) background가 포함된 앞의 세 그룹과 다른 그룹으로 분류됨을 알 수 있었다. 국내에서는 생식용 포도 품종(Yoo et al. 2009, Cho et al. 2011), 국내 수집 자생머루(Yun et al. 2010) 및 포도 속 (*Vitis*) 야생 유전자원(Hur et al. 2012)에 대한 유전적 다양성을 분석한 연구가 보고되었으나, 무핵 품종 육성을 위해 양친으로 사용되고 있는 주요 품종에 대한 유전적 다양성 분석 및

Fig. 1. UPGMA dendrogram based on genetic similarity by 30 SSR markers in 20 seedless grape cultivars. The Roman numerals besides the vertical bars indicate the cluster number and the Arabic numbers indicate plant materials shown in Table 1.

무핵 특성 연관 마커에 대한 평가는 없었다. 국내에서 육성된 포도 무핵 품종 ‘Cheongsu’는 1965년 ‘Seibel 9110’과 무핵 품종인 ‘Himrod’ 간의 교배 이후, 1993년 최종 선발되기까지 29년이 걸렸다. 이처럼 과수 품종 육성에 오랜 시간이 소요됨에도 불구하고, 특정 형질을 목표로 하는 육종프로그램의 역사는 매우 짧다. 유전적 background가 다양한 양친을 선정하고, 무핵 특성을 보이는 개체를 조기 선발하는데 있어 본 실험의 결과가 기초 자료로 활용 될 수 있을 것이다.

적 요

무핵 포도 품종 육성 시, 주요 교배친으로 사용되는 무핵 품종 20점의 유연관계를 분석 하고, 무핵 형질과 연관된 P3_VvAGL11 마커의 이용 가능성을 검토하였다. SSR 마커 30종을 이용한 결과 218개의 대립인자가 확인되었고, 마커 당 대립인자 수는 평균 7.3개였다. PIC (Polymorphism information contents) 값은 SSR 마커에 따라 0.052에서 0.883으로 나타났고 평균 값은 0.442이었다. 또한 P3_VvAGL11 마커를 이용하여 포도 무핵 유전자원 20 점을 분석한 결과 ‘Sultanina’와 ‘Kishmish Chernyi’ 품종으로부터 유래한 18개 무핵 품종에서 무핵 특성 특이적인 밴드가 증폭되었다. 선발된 218개의 다형성 밴드를 이용하여 UPGMA 군집분석한 결과 유사도 지수 0.722를 기준으로 4개의 그룹으로 구분할 수 있었다. 각 그룹은 교배친으로 사용된 품종들의 유전적 background에 유럽종(*V. vinifera*), 미국종(*V. labrusca*), 그리고 이들의 중간교잡종인 *V. labruscana*의 비율에 따른 분류와 일치하였다. 품종 간 유전적 유사도는 0.592에서 0.844의 범위로 나타났으며 평균 유사도 지수는 0.715였다. 가장 높은 유사도 지수를 나타낸 것은 ‘Emerald Seedless’와 ‘Ruby Seedless’ 품종 간이었으며, 가장 낮은 유사도 지수를 나타낸 것은 ‘Beauty Seedless’와 ‘Honey Seedless’ 품종 간이었다. 이러한 결과는 무핵 포도 품종 육성 시, 유전적 background가 다양한 양친 선정 및 무핵 교배 실생 조기 선발에 활용 될 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(과제번호: PJ00821302) 및 어젠다 과제(과제번호: PJ00682204)의 지원에 의해 이루어진 것임

References

1. Adam-Blondon AF, Lahogue-Esnault F, Bouquet A, Boursiquot JM, This P. 2001. Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless grapevine cultivars. *Vitis* 40: 147-155.
2. Adam-Blondon AF, Roux C, Claux D, Butterlin G, Merdinoglu D, This P. 2004. Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1017-1027.
3. Akkurt M, Çakır A, Shidfar M, Çelikkol BP, Söylemezoğlu G. 2012. Using SCC8, SCF27 and VMC7f2 markers in grapevine breeding for seedlessness via marker assisted selection. *Genet. Mol. Res.* 11: 2288-2294.
4. Anderson JA, Churchill GA, Autrigue JE, Tanksley SD. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36: 181-186.
5. Aradhya MK, Dangl GS, Prins BH, Bouriquot JM, Walker MA, Meredith CP, Simon CJ. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genet. Res. Camb.* 81: 179-792.
6. Arroyo-García R, Ruiz-Garcia L, Bolling L, Ocete R, Lopez MA, Arnold C, Ergul A, Soylemezoğlu G, Uzun HI, Cabello F, Ibanez J, Aradhya MK, Atanassov A, Atanassov I, Balint S, Cenis JL, Costantini L, Goris-Lavets S, Grando MS, Klein BY, McGovern PE, Merdinoglu D, Pejic I, Pelsy F, Primikirios N, Risovannaya V, Roubelakis-Angelakis KA, Snoussi H, Sotiri P, Tamhankar S, This P, Troshin L, Malpica JM, Lefort F, Martinez-Zapater JM. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. spp. *Sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Mol. Ecol.* 15: 3707-3714.
7. Bouquet A, Danglot Y. 1996. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 35: 35-42.
8. Bowers JE, Dangl GS, Meredith CP. 1999. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *Am. J. Enol. Vitic.* 50: 243-246.
9. Bowers JE, Dangl GS, Vignani R, Meredith CP. 1996. Isolation and characterization of the new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* 39: 628-633.
10. Cabezas JA, Cervera MT, Ruiz-Garcia L, Carreno J, Martinez-Zapater JM. 2006. A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine. *Genome* 49: 1572-7585.

11. Cain DW, Emershad RL, Tarailo RE. 1983. In-ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 22: 9-14.
12. Carlo B, Cardone MF, Anaclerio A, Perniola R, Pichierri A, Genghi R, Alba V, Forleo LR, Caputo AR, Montemurro C, Blanco A, Antonacci D. 2013. Validation assay of p3_VvAGL11 marker in a wide range of genetic background for early selection of stenospermocarpy in *Vitis vinifera* L. *Mol. Biotechnol.* 54: 1021-1030.
13. Cho KH, Bae KM, Noh JH, Shin IS, Kim SH, Kim JH, Kim DH, Hwang HS. 2011. Genetic diversity and identification of Korean grapevine cultivars using SSR markers. *Korean J. Breed. Sci.* 43: 422-429.
14. Dangl GS, Mendum ML, Prins BH, Walker MA, Meredith CP, Simon CJ. 2001. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: a tool for managing a grape germplasm collection. *Genome* 44: 432-438.
15. Di Gaspero G, Peterlunger E, Testolin R, Edwards KJ, Cipriani G. 2000. Conservation of microsatellite loci within the genus *Vitis*. *Theor Appl Genet.* 101: 301-308.
16. Doligez A, Adam-Blondon AF, Cipriani G, Di Gaspero G, Laucou V, Merdinoglu D, Meredith CP, Riaz S, Roux C, This P. 2006. An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations. *Theor. Appl. Genet.* 113: 369-382.
17. Doligez A, Bouquet a, Danglot Y, Lahogue F, Riaz S, Meredith CP, Edwards KJ, This P. 2002. Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theor. Appl. Genet.* 105: 780-795.
18. Hur YY, Choi YJ, Kim EJ, Yoon MS, Park YS, Jung SM, Noh JH, Park SJ, Ma KH, Park KS. 2012. Analysis of genetic relationship of grape rootstock cultivars and wild *Vitis* species using RAPD and SSR markers. *Korean J. Breed. Sci.* 44: 19-28.
19. Ibáñez J, Vargas AM, Palancar M, Borrego J, de Andrés MT. 2009. Genetic relationships among table-grape varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* 60: 35-42.
20. Karaagac E, Vargas AM, de Andrés MT, Carreño I, Ibáñez J, Carreño J, Martínez-Zapater JM, Cabezas JA. 2012. Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding. *Tree Genet. Genomes* 8: 1003-1015.
21. Lahogue F, This P, Bouquet A. 1998. Identification of a codominant SCAR marker linked to the seedlessness character in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 97: 950-959.
22. Laucou V, Lacombe T, Dechesne F, Siret R, Bruno JP, Dessup M, Dessup T, Ortigosa P, Parra P, Roux C, Santoni S, Vare's D, Pe'ros JP, Boursiquot JM, This P. 2011. High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. *Theor. Appl. Genet.* 122: 1233-1245.
23. Ledbetter CA, Burgos L. 1994. Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in *Vitis vinifera* L. *J. Heredity* 85: 157-160.
24. Ledbetter CA, Ramming DW. 1989. Seedlessness in grapes, in *Horticultural Reviews*, Volume 11 (ed J. Janick). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. Doi: 10.1002/9781118060841.ch5.
25. Mejía N, Gebauer M, Munoz L, Hewstone N, Munoz C, Hinrichsen P. 2007. Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless × seedless table grape progeny. *Am. J. Enol. Vitic.* 58: 499-507.
26. Mejía N, Soto B, Guerrero M, Casanueva X, Houel C, Miccono MA, Ramos R, Le Cunff L, Boursiquot JM, Hinrichsen P, Adam-Blondon AF. 2011. Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL11 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine. *BMC Plant Biology* 11: 57.
27. Merdinoglu D, Butterlin G, Bevilacqua L, Chiquet V, Adam-Blondon AF, Decroocq S. 2005. Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Mol. Breeding* 15: 349-366.
28. Park KS, Yun HK, Roh JH, Jeong SB, Kang SJ, Lee HJ. 2003. Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in grapes (*Vitis* spp.). *J. Korean Soc. Hort. Sci.* 44: 675-677.
29. Pratt C. 1971. Reproductive anatomy in cultivated grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 22: 92-109.
30. Riaz S, Dangl GS, Edwards KJ, Meredith CP. 2004. A microsatellite marker based framework linkage map of *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.* 108: 864-872.
31. Sefc KM, Regner F, Turetschek E, Gloessl J, Steinkellner H. 1999. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome* 42: 367-373.
32. Sneath PHA, Sokal RP. 1973. Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman, San Francisco.
33. Thomas MR, Scott NS. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.* 86:

- 985-990.
34. Vargas AM, de Andrés MT, Borrego B, Ibáñez J. 2009. Pedigrees of fifty table-grape cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 60: 525-532.
35. Yoo KY, Cho KH, Shin IS, Kim JH, Heo S, Noh JH, Kim HR. 2009. Analysis of genetic relationships of grapevine cultivars (*Vitis* spp.) in Korea using RAPD markers. *Korean J. Breed. Sci.* 41: 437-443.
36. Yun HG, Kim SH, Noh JH, Park KS. 2010. Genetic diversity of *Vitis* species native to Korea by RAPDs with universal rice primers. *Korean J. Intl. Agri.* 22: 59-66.
35. Yoo KY, Cho KH, Shin IS, Kim JH, Heo S, Noh JH, Kim HR. 2009. Analysis of genetic relationships of