

참외와 멜론의 유전적 다양성에 대한 RAPD 분석

모숙연^{1*} · 임성희¹ · 고관달² · 안종문³ · 김두환¹
¹건국대학교 원예과학과¹ · ²원예연구소² · ³농우종묘(주) 육종연구소³

RAPD Analysis for Genetic Diversity of Melon Species

Mo, Suk-Youn^{1*} · Im, Sung-Hee¹ · Go, Gwan-Dal² · Ann, Chong-Mun³ · Kim, Doo Hwan¹

¹Dept. of Horticultural Science, kon-kuk University, Seoul 143-701, Korea

²National Horticultural research Institute, Tap-dong, Suwon, 441-440, Korea

³Nongwoo Seed Co., Yeosu 469-880, Korea

* corresponding author

ABSTRACT RAPD markers were analyzed in order to detect the genetic variation and diversity of the fifty-two melon lines. SDS extraction method produced more and purer DNA than CTAB method. RAPD reaction conditions were optimized as follows ; 10ng template DNA, 270nM primer, 200 μM each of dATP, dCTP, dGTP and dTTP, 0.3 μ unit dynazyme and 10x buffer brought to 15 μl final volume with distilled water. The adequate annealing temperature was 39°C and forty cycles of amplification produced the best RAPD band patterns. Among a total of 123 bands from 12 random primers, 25 polymorphic bands(20%) were selected as reliable markers. The average number of polymorphic bands per primer was 2.1 among the 52 lines. Intragroup genetic relationship based on the marker difference was closer than intergroup genetic relationship. The 52 lines could be grouped into two major group (Korean landraces and melon lines) and then melon group subdivided into two subgroups (net melon lines and no-net melon). This result corresponded to morphological grouping. Eight RAPD markers separated the Korean landraces and melon groups and four RAPD markers separated net melon and no-net melon groups.

Additional key words: genetic variation, PCR, polymorphism

서 언

참외와 멜론(*Cucumis melo* L.)의 원산지는 분명치 않으나 이집트북부와 인도지방으로 알려져 있으며 이들은 원산지로부터 전파되는 과정에서 분포지역의 환경조건에 적응된 생태형으로 발전되어 서양계멜론과 동양계멜론으로 분리되었다(표 등, 1996). 우리나라에서는 참외가 삼국 시대에 만주를 걸쳐 들어온 것으로 추측되며 재배가 쉽고 참외과실의 독특한 향기, 시원한 맛, 아삭아삭한 육질 등이 국민들의 기호에 맞아 멜론보다 더욱 많이 선호하고 있다. 최근에는 국민들의 소득수준이 높아짐에 따라 고품질 참외가 요구되어 여러 공공기관과 육종회사에서 이를 위한 품종육성이 활발히 이루어져 왔다.

품종육성에 있어 새로운 유전적 조합을 위하여 육종재료를 선택할 때 유전자원의 다양성에 대한 정보와 종이나 집단의 유전적 연관성에 대한 평가는 매우 중요하다(백 등, 1997). 지금까지는 작물간 혹은 품종간의 유전적 유연관계를 평가하기 위해 유전자원의 형태적 특성과 육종기록에 의존하여 재배환경의 차이에 따라 균일한 데이터를 얻을 수 없었으나 최근 생화학적인 인자인 동위효소와 분자적 수준의 Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP)를 이용하여 환경의 영향없이 균일한 데이터를 얻을 수 있었다.

본 연구는 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업 연구결과 중의 일부임

그러나 동위효소 종류의 제한성과 RFLP의 기술적 복잡성 및 방사성 동위원소 이용에 따른 위험때문에 그 이용이 점차 제한되고 있다. 이러한 단점을 극복한 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)분석이 많은 작물에서 널리 이용되고 있다.

RAPD 방법은 인위적으로 합성된 oligonucleotide(random primer)를 이용하여 DNA 특정부위를 Polymerase Chain Reaction(PCR)을 이용하여 증폭시키는 것이다. 증폭된 DNA 단편들의 다형성(polymorphism)을 통해 작물의 분류(Fukuoka 등, 1992; Tinker 등,

1993) 및 유전적 다양성, 유전자원 평가(Tinker 등, 1993), 외래유전자 도입확인(Devos 등, 1992; Grsy 등, 1994), 유용 유전형질을 탐지할 수 있는 표지인자 개발(Fukuoka 등 1992) 및 유전자연관 지도 작성(Grsy 등, 1994) 등에 이용되어 왔다. 이 방법을 이용하여 백 등(1997)은 Glycine 속 14종의 유전적 다양성을 평가하고 그들간의 유연관계를 규명하였으며 신 등(1995)은 한국재래종 및 도입종 수박(*Citrullus vulgaris* L.)을 RAPD 분석에 의하여 소집단화 시켰다.

본 실험에서는 참외와 멜론의 RAPD 조건을 확립하고 RAPD를 이용한 품종분류 및 유전적 다양성에 대한 분석을 통하여 참외육종의 기본자료로 이용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 재료는 원예연구소와 농우종묘(주) 육종연구소에서 수집 및 교배한 것으로 재래종 참외 26개 계통, 은천계 참외 7개 계통, 참외 F1 2개 품종, 멜론 17개 품종 등 총 52개 계통 및 품종을 분양받아 사용하였다(Table 1).

2. DNA 추출 및 정제

어린잎 0.5g을 채취하여 액체질소를 넣고 유리봉으로 마쇄한 후 보다 순수한 DNA 추출방법을 발견하기위하여 CTAB(8.6%), CTAB(8.6%)+PVP(1%), SDS(0.5%), SDS(0.5%)+PVP(1%), CTAB(8.6%)+SDS(0.5%)+PVP(1%) 등 4가지 방법을 비교하였다. 추출한 DNA는 1.3% agarose와 UV spectrometer (260nm/280nm)를 통해 순도 및 농도검정을 하여 다양성 분석에 사용하였다.

CTAB(8.6%) 방법 : 전체 DNA는 CTAB방법과 microextraction 방법을 변형하여 추출하였다. 신포 0.5g을 취하여 1.5ml microcentrifuge tube에 넣고 액체질소를 이용하여 곁게 간 후 추출용액(50mM Tris-HCL(pH8.0), 25mM EDTA, 0.35M sorbitol, 0.1% β-mercaptoethanol) 266μl를 첨가하였다. 세포막을 제거하기 위해 5% sarkosyl 용액 36μl와 0.7mM NaCl에 녹인 8.6% CTAB용액 37 μL를 첨가하여 잘 섞은 뒤

Table 1. List of the 52 melon lines and cultivars used for RAPD analysis.

Group	Names of lines and cultivars
Korean landrace	Got-Kam(1) ² , Ggan-chi(2), Mug(3), Gam I (4), Gam II (5), Gam III (6), Chung(7), I-Chon(8), Hong(9), Hong I (10), ChoSun II (11), SunKaw(green,12), SunKaw(yellow,13), SunKaw I (14), SunKaw II (15), SunKaw III (16), EumSungKaeGuRi(17), SaTang(18), ShinGamLo(19), V-3-6(20), ChunHyang(21), HanKuk No18(22), NoLang(23), YoulGoal(24), ChungKuk(25), ChungKuk4(35)
	Eunchon line Ko-9-3(28), Kiss 1(29), Kiss2(30), ShinGaeTong 1(31), ShinGaeTong 2(32), ShinGaeTong 3(33), SW3(34)
Net melon line	HMS139(36), NongHyupSiGuo(37), InNiSan(38), HMS11044(40), HMS11066(41), f72(42), JukYuk R328(43), IeeSu(44), Joo(45)
No-net melon line	HMS11108(39), BaekPeeJukYuk(47), BaekHap(48), BaekPee(46), AJ(49), Sapode-oro(50), HongHap(51), HwangPiJukYuk(52)
F ₁ hybrid	KooHyang(26), KeumNoDaJi(27)

²Number within parenthesis is the genotype number at Fig. 1.

65°C에서 15분간 처리한 후 동량의 phenol/chloroform(phenol:chloroform: isoamylalcohol = 25: 24: 1)을 넣어 10,000rpm으로 원심분리하였다. 원심분리한 상등액 반량분의 7.5M NH₄OAc와 두배의 95% 에탄올을 넣어 -20°C에서 1시간 이상 보관하여 DNA를 침전시킨 후 15,000rpm으로 10분간 원심분리시켰다. 침전물을 80% EtOH로 수세하고 건조시킨 후 200μl의 TE buffer(10mM Tris-HCl(pH8.0), 0.1mM EDTA)로 녹이고 RNase (1mg/ml, DNase-free) 2μl를 넣어 37°C에서 40분간 반응시켜 RNA를 분해시켰다.

CTAB(8.6%)+PVP(1%) 방법 : 1% PVP를 CTAB 용액과 함께 첨가하며 나머지 과정은 CTAB 방법과 동일하다.

SDS(0.5%) 방법 : 신초 0.5g을 1.5ml tube에 넣어 조직이 녹지 않도록 액체질소를 공급하면서 고퍽게 간 후 DNA extraction buffer(0.25M EDTA 200ml, 20% SDS 62.5ml, 1M Tris-HCl(pH8.0)100ml, 5M NaCl 100ml)를 700μl 넣어 흔들어서 여기에 동량의 phenol/chloroform(phenol: chloroform: isoamylalcohol = 25: 24: 1)을 넣어 10분 정도 손으로 흔들어 준 후 65°C incubator에 15분간 넣어 준 뒤 12,000rpm에서 15분간 원심분리하였다. 이 중 상등액 500μl를 취하여 동량의 chloroform을 넣어 주고 다시 12,000 rpm에서 5분간 원심분리시켜 상등액을 뜬 후 동량의 isopropanol을 넣어 -20°C에서 2시간 보관하였다. 2시간 후 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 tube의 상등액을 조심히 버리고 tube에 95% EtOH 800μl를 첨가하여 12,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 버리고 80% EtOH로 한번 더 수세한 뒤 건조시켰다. Pellet이 건조되면 0.1X TE buffer를 300μL 넣어주고 RNase (1mg/ml)를 3μL 넣어 잘 흔들어 준 뒤 50-60°C incubator에 넣어 DNase를 제거시키고 37°C에서 1시간 정도 두었다.

SDS(0.5%)+PVP(1%) 방법 : 1% PVP를 SDS가 첨가된 DNA extraction buffer와 함께 첨가하며 나머지 과정은 SDS 방법과 동일하다.

CTAB(8.6%)+SDS(0.5%)+PVP(1%) 방법 : 0.5% SDS와 1% PVP를 CTAB 용액과 함께 첨가하며 나머지 과정은 CTAB 방법과 동일하다.

3. PCR 조건 및 전기영동

참외와 멜론의 total DNA를 이용하여 RAPD marker를 탐색함에 있어서 PCR에 관여하는 주요 요소들의 첨가량 차이가 PCR 산물에 어떤 영향을 주는지를 확인하고 아울러 이들 각 요소들의 최적 농도를 확인함으로써 RAPD분석 적정조건을 구명하고자 다음과 같은 실험을 수행하였다. Template DNA(10, 20, 30, 40, 50 ng), dNTP(100, 200, 300 nM), primer(135, 270, 540 nM), DNA polymerase(0.15, 0.3, 0.6, 1.2 unit) 등의 농도와 PCR 증폭횟수(35, 40, 45, 50 cycle), PCR 기기 조건인 denaturation(94°C, 96°C를 각각 30,

40, 50, 60초), annealing(35°C, 37°C, 39°C, 40°C를 각각 30, 40, 50초), extension(72°C를 30, 40, 50, 60초)의 온도와 시간 등에 대한 실험을 수행하였다. PCR 반응을 위한 기본용액은 template DNA 30ng, primer (Canada의 British Columbia 대학에서 인위합성된 random primer #237) 200nM, dATP, dCTP, dGTP, 및 dTTP 각각 200uM, dynazyme (Thermus brockianus, finnzymes, Finland) 0.5unit, 10X reaction buffer 1.5μl 그리고 나머지는 DEPC처리된 3차 증류수로 충당하여 총 반응 용액량을 15μl로 하였다.

PCR기기는 MJ Research의 PTC-100을 사용하였고 PCR 기기 setting 전에는 denaturation 94°C 30초, annealing 37°C 30초, extension 72°C 30초로 40cycle를 수행하였으며 초기 denaturation을 5분, 마지막 extension을 10분간 더 수행하였다. 최종 반응물은 agarose gel을 사용하여 반응물의 band수와 선명도를 비교하였다. 1μl의 EtBr이 첨가된 1.3% agarose gel을 사용하여 100V에서 2시간 45분 반응시킨 후 polaroid상으로 현상하여 polymorphism을 조사분석하였다.

PCR 반응에 사용된 primer는 University of British Columbia (UBC)에서 구입한 random primer (10-mer) 중 set no. 3(#201-300) 100개를 검색하여 polymorphism을 조사하였다.

4. 유연관계 분석

Polymorphism을 보이는 DNA 밴드가 있으면 1, 없으면 0으로 표시하였다. 각 계통들 간의 비유사계수(dissimilarity)수치와 각 근연관계를 분석하기 위해 Sneath와 Sokal(1973)에 의해 개발된 microcomputer program인 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean)를 사용하였다. 유전자원간의 비유사계수(F)는 Nei와 Li의 방법(1979)으로 계산하였다(F=1-2MX/MX+MY). 여기서 MX와 MY는 X와 Y 유전자원 각각에서 나타난 DNA 밴드의 총수를 표시한 것이며 MXY는 X와 Y 유전자원 식물체에서 공통으로 나타난 DNA 밴드 즉, 같은 분자량 위치의 밴드수를 나타낸다.

5. Marker의 명명

선발된 marker들은 각 primer에서 polymorphism을 분명하게 나타낸 band들이며 선발된 marker의 순서대로 번호를 주어 명명하였다. 예를 들어 marker '203-1'에서 203은 UBC에서 구입한 random primer의 일련번호에 해당되며 1은 선발된 순서를 의미한다.

결과 및 고찰

1. DNA 추출 및 정제

참외와 멜론에서는 CTAB(8.6%), CTAB(8.6%)+PVP(1%), SDS(0.5%), SDS(0.5%)+PVP(1%), CTAB(8.6%)

Table 2. List of 12 arbitrary 10-mer primers used for the PCR reaction.

Primer	Sequence(5'→3')	GC content(%)
203	CAC GGC GAG T	70
212	GCT GCG TGA C	70
220	GTC GAT GTC G	60
232	CGG TGA CAT C	60
254	CGC CCC CAT T	70
261	CTG GCG TGA C	70
262	CGC CCC CAG T	80
273	AAT GTC GCC A	50
275	CCG GGC AAG C	80
285	GGG CGC CTA G	80
287	CGA ACG GCG G	80
295	CGC GTT CCT G	70

+SDS(0.5%)+PVP(1%)등의 DNA 추출방법중 SDS(0.5%)방법에서 DNA가 가장 많이 추출되었고 UV spectrometer(260nm/280nm)에서 순도 1.7이상으로 높게 나타났다. CTAB(8.6%)+SDS(0.5%)+PVP(1%)는 DNA가 가장 적게 추출되었으며 그 이유는 추출용액이 고농도때문인 것으로 사료된다.

2. PCR 조건

RAPD분석을 위한 PCR 반응의 최적 농도는 template DNA 30ng, dNTP 200uM, primer 270nM, DNA polymerase 0.3unit였으며 여기에 10X reaction buffer 1.5μl 그리고 나머지는 DEPC처리된 3차 증류수를 넣어 총 반응 용액량을 15μl로 하였을 때 가장 높은 반응률을 보였다. PCR 기기의 최적조건은 denaturation 94°C 30초, annealing 39°C 30초, extension 72°C 60초를 40cycle 반복하였을 때 가장 좋은 반응을 보였다.

3. 전기영동 및 유연관계 분석

UBC에서 구입한 random primer (10-mer) 중 set no. 3(#201-300) 100개를 검색한 결과 반응이 일어난 primer는 50여개이나 이중 다양성이 나타나면서 확실한 band를 나타낸 primer는 12개였다. 일반적으로 RAPD에 있어서 primer의 염기구성이 DNA 증폭에 많은 영향을 미치며(Williams 등 1990), 특히 전체 10-mer중 G, C의 구성비율이 높을수록 DNA의 증폭이 잘 일어난다고 보고(Devos 등 1992)되었는데 본 실험에서도 12개 primer 중 11개 primer의 G와 C 구성비율이 60%이상으로 나타났다(Table 2).

RAPD에 사용된 12개 primer에 의하여 생성된 polymorphic band들은 모두 재현성이 있고 분명하여 참외와 멜론의 유전적 다양성을 평가할 수 있었다. 123개의 band 중 25개(20%)가 polymorphism을 보였고 나머지 98개(80%)는 monomorphic band를 나타냈다. 각 primer에서 얻을 수 있었던 band수는 6개에서 15개(#295)로 다양하게 나타났으며 평균 10.3개였고, primer당 polymorphic band는 1개에서 4개(#295)로 나타났으며 평균 2.1개였다. 위에서 언급한 25개

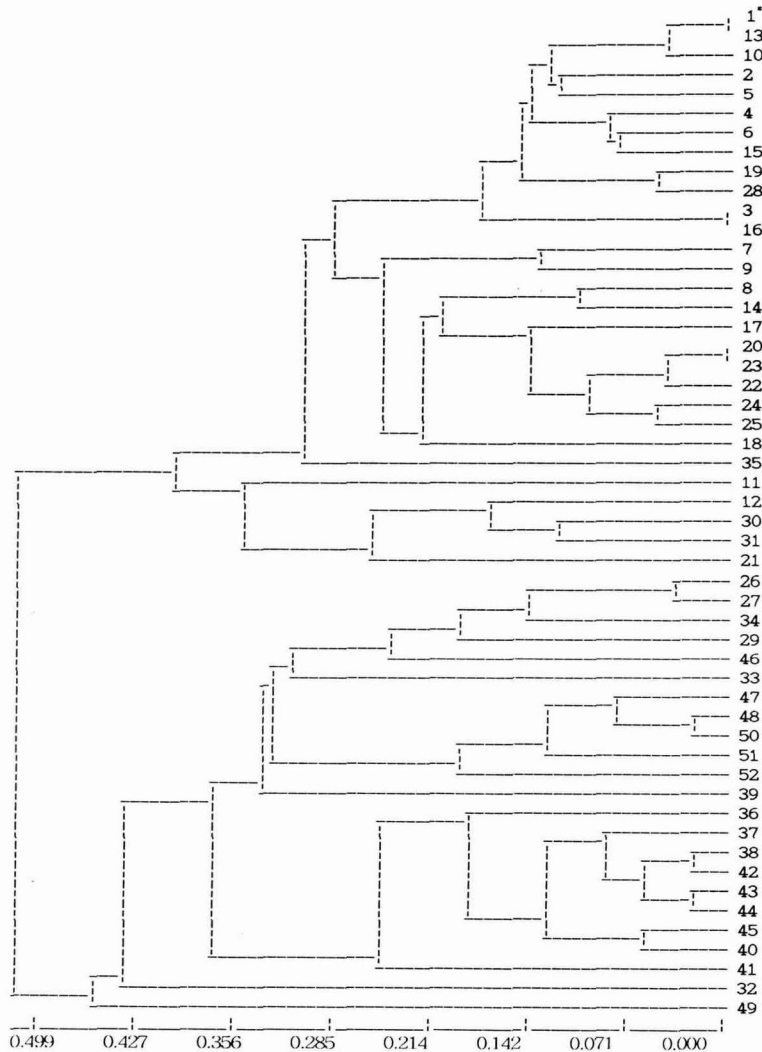


Fig.1. Dendrogram obtained from the UPGMA cluster analysis based on cosine similarity coefficient by using 25 RAPD bands with 52 melon lines and cultivar.

* Number indicates the line number used for this study at Table 1.

의 polymorphic band들은 타작물에 비해 적지만 모두 재현성 실험을 했을 때 명확하고 재현성있는 band들로 분석되었다. Yu와 Nguyen(1994)은 13개 벼(*Oryza sativa* L.) 품종에서 42개의 primer를 사용하여 총 260개의 band중 208개 (80%)가 polymorphism을 보였다고 보

고하였으며 홍 등(1996)은 밀에서 12개의 primer를 사용하여 총 147개의 band중 77%가 polymorphism을 보였고 primer당 평균 밴드수가 8.4개였다고 보고하였으나 실제 이용한 band는 0.5-1.5kb 범위에 속하는 재현성이 있는 34개 polymorphic band를 선택하여 primer당

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52*

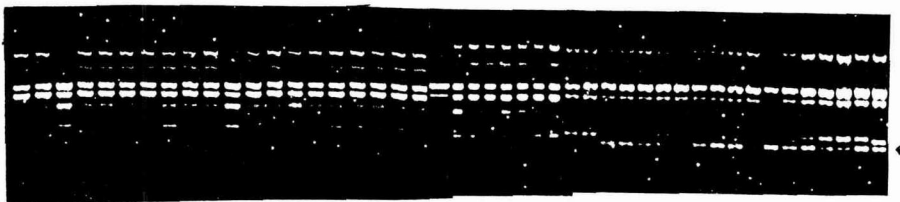


Fig.2. RAPD profiles generated from the 35 Korean landraces and 17 melon lines with the primer #220. The arrow indicates the marker separated Korean landraces and 17 melon lines

*Numbers on top refer to the genotype number listed in Table 1 and Figure 1

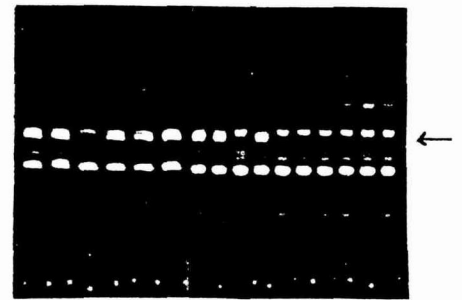


Fig.3. RAPD profiles generated from 9 net melon and 8 no-net melon lines with primer #287. The arrow indicates the marker separated net melon and no-net melon lines.

*Numbers on top refer to the genotype number listed in Table 1 and Figure 1

평균 2.8개 band를 이용하였다고 보고하였다. 참외와 멜론의 전체 DNA band 수가 적고 polymorphic band 수가 적은 것은 타작물에 비해 전체 genome 크기가 작고 *C. melon* 종의 유전적 변이(분화)가 적기 때문인 것으로 사료된다.

참외와 멜론은 UPGMA program을 이용한 분석에 의하여 크게 재래종 참외 그룹과 멜론 그룹으로 나뉘었으며 그중 멜론 그룹은 다시 net melon과 no-net melon으로 나뉘었다. 은천계 참외 중 4개 계통은 재래종 참외 그룹에 속하였으며 3개 계통은 멜론 그룹에 속한 것으로 나타났다(Fig 1).

재래종 참외 그룹내의 총 polymorphic band 수는 19개로 나타났으며 간치와 조선II간의 polymorphic band가 11개 (F=0.647)로 가장 원연관계로 나타났고 꽃감참외와 선과, 먹과 성환III, V-3-6과 노랑간에 polymorphic band가 하나도 없어 아주 가까운 근연관계임을 보였다.

멜론 그룹 중 no-net melon 그룹과 net melon 그룹내의 총 polymorphic band 수는 각각 16개와 13개로 나타났으며 no-net melon 그룹에서는 백합과 Sapodeoro 간에, net melon 그룹에서는 인니산과 F42 간에 polymorphic band가 각각 1개(F=0.103), 1개(F=0.029)로 가장 가까운 근연관계로 나타났고 no-net melon 그룹에서는 백피와 AJ간에, net melon 그룹에서는 HMS139와 적육R328간의 polymorphic band가 각각 11개(F=0.5), 8개(F=0.289)로 가장 원연관계로 나타났다. 또한 no-net melon 그룹과 net melon 그룹간의 총 polymorphic band 수는 21개로 나타났으며 재래종 참외그룹과 멜론그룹간에는 25개로 나타났다. 이러한 결과를 통해 그룹내의 유전적변이보다 그룹간의 유전적변이가 크다는 것을 알 수 있었고 보다 많은 primer를 이용하면 좀더 자세한 유전관계를 알 수 있으리라 사료된다. 홍과 박(1996)도 밀에서 조합내의 polymorphic band 수가 조합간의 polymorphic band 수보다 적었다고 보

고하였으며 Yang과 Quiros(1993)는 23개 celery종을 이용하여 근연관계를 나타낸 결과 종내의 polymorphic band 수가 종간의 polymorphic band 수보다 적었다고 보고하여 본 실험결과와 같은 양상을 보였다.

RAPD 분석에 의해 생성된 25개의 polymorphic band 중 8개 polymorphic band(273-1, 273-2, 273-3, 203-1, 220-1, 285-2, 295-3, 232-1)에 의해 재래종 참외 그룹과 멜론 그룹이 구분되었으며 멜론 그룹내의 net melon 그룹과 no-net melon 그룹은 3개 polymorphic band(212-1, 261-2, 287-1)에 의해 구분되었다(Fig 2, 3). 홍과 박(1996)은 밀에서 11개의 RAPD marker를 이용하여 NILs 조합들을 구분하였으며 Shin 등(1996)은 39개의 수박품종에서 몇 개의 품종을 구별할 수 있는 8개의 marker를 선발하였다고 보고하였다.

이상의 결과로 어느정도 그룹간 구별이 marker에 의해 가능하나 좀더 많은 수의 primer를 선발하여 이용하면 더욱 정확한 그룹간 및 그룹내 구분이 가능할 것으로 사료된다.

초 록

참외와 멜론의 다양성 분석을 위하여 RAPD 분석 최적조건과 군집분석하였다.

참외와 멜론계통의 DNA 추출은 0.5% SDS 방법이 가장 순수하고 많은 DNA를 얻을 수 있었으며 DNA 증폭시 최적 반응조건은 총 volum 15 μ L 중 DNA 10ng, Primer 270nM, dNTP 200 μ M, dynazyme 0.3unit, 10x buffer 1.5 μ L이었으며 나머지는 3차 증류수로 보충된다. PCR기기의 최적 setting은 DNA denaturation 94 $^{\circ}$ C 30초, primer annealing 39 $^{\circ}$ C 30초, DNA extension 72 $^{\circ}$ C 30초이며 최적 증폭 횟수는 40 cycle 이었다. 사용된 12개의 primer 만들어진 총 123개의 band 중 신뢰도가 높은 25개(20%)의 polymorphic band를 선발하여 이용하였으며 평균 polymorphic band 수는 2.1개로 나타났다 그룹내 polymorphic band 수가 그룹간보다 적어 그룹내의 유전적변이가 적음을 보여주었다. 군집분석 결과 크게 참

외와 멜론그룹으로 나뉘었고 멜론그룹은 다시 net melon과 no-net melon으로 나뉘었으며 이러한 결과는 기존의 표현형질에 의한 분류와 일치하였다. 재래종 참외와 멜론 그룹은 8개의 marker에 의해 구분되었고 net melon 그룹과 no-net melon 그룹은 4개의 marker에 의해 구분되었다.

추가 주요어 : PCR, 다형성, 유전적 다양성

인용 문헌

Devos, K. M. and M. D. Gale. 1992. The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 84:567-572.

Fritsch, P., M. A. Hanson, C. D. Spore, P. E. Pack, and L. H. Riseberg. 1993. Constancy of RAPD primer amplification strength among distantly related taxa of flowering plants. *Plant Molecular Biology* 11:10-20.

Fukuoka, S., K. Hosaka, and O. Kamijima. 1992. Use of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) for identification of rice accessions. *Jpn. J. Genet.* 67: 243-252.

Grsy, L., A. L. Rayburn, and A. Mujeeb-Kawi. 1994. Development of DNA markers based on randomly amplified polymorphic sequences in *Triticum aestivum* L. \times *Thinopyrum bassarabicum* amphiploid. *J. Genet. Breed.* 48: 1-6.

홍병희, 박철수. 1996. RAPD 표식인자를 이용한 밀 간장 근동질 계통의 유전변이 분석. *한육지* 28(4):420-428.

Michelmore, R. W., I. Paran, and R. V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis. A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA.* 88:9828-9832.

Nei, M and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Soc. USA.* 76:5269-5273.

백인열, 윤용휘, 신두철 외 3인. 1997. RAPD 방법에 의한 콩 속의 종간 유연관계 분석. *한육지* 29(3) : 308-317.

표현구, 최영일, 이병희. 1996. 채소원에 각론 3:53-76.

Rowland, L. J. and A. Levi. 1994. RAPD-based genetic linkage map of blue berry derived from a cross between diploid species(*Vaccinium darrowi* and *v. elliotii*). *Theor. Appl. Genet.* 87:863-868.

Shin, J. S., S. J. Lee, and K. W. Park. 1995. Genetic diversity in watermelon(*Citrullus vulgaris* L.) germplasm through RAPD analysis. *Kor. J. Breed.* 27(1): 94-107.

Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal. 1973. The principles and practice of numerical classification. Numerical taxonomy. p.1-15. W. H. Freeman and Company, San Francisco.

Tinker, N. A., M. G. Fortin, and D. E. Mather. 1993. Random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) and pedigree relationships in spring barley. *Theor. Appl. Genet.* 86:365-370.

Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.

Yang, X. and C. Quiros. 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 86: 205-212.

Yu, L. W. and H. T. Nguyen. 1994. Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars(*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 87:668-672.