

PCR-RAPD 기법을 이용한 세포 유형이 다른 무릇 (*Scilla scilloides* Complex) 체세포클론의 유전적 분석

오정순 · 방재욱*

충남대학교 자연과학대학 생물학과

Genetic Analysis of Somaclones Derived from Different Cytotype Plants of *Scilla scilloides* Complex using RAPD

OH, Jeong Soon · BANG, Jae Wook*

Department of Biology, Chungnam National University, Taejon, 305-764, Korea

ABSTRACT The usefulness of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) was evaluated to access the genetic variation in somaclones derived from different cytotype plants of *Scilla scilloides* Complex, AA ($2n=16$), BB ($2n=18$) and AABB ($2n=34$). Three arbitrary decamer primers were successfully used to amplify genomic DNA from the somaclones. DNA polymorphism was observed between cytotypes. The total number of bands in AA, BB and AABB somaclones were 110, 116 and 103, and marker bands examined were 15, 19 and 26, respectively. The diversity of types using PCR in AA, AABB and BB somaclones were 39.2%, 72.3% and 45.7%, respectively. RAPD band patterns suggest that type AA is more stable than type BB and AABB. The frequencies of specific band in AA, BB or AABB somaclones were 0.9%, 4.3% and 4.9%, respectively. The applicability and reliability of RAPD markers for evaluating the somaclones are discussed.

Key words: PCR, polymorphism, RAPD, *Scilla scilloides* Complex, somaclone,

서 론

무릇 (*Scilla scilloides* Complex)은 백합과 (Liliaceae)에 속하는 식물로 한국, 중국 및 일본을 포함한 동북 아시아 지역에 1속 1종이 한정되어 분포하고 있다. 무릇의 게놈 조성은 A ($x=8$)와 B ($x=9$) 두 가지로 이루어져 있으며, 이들의 조합에 의하여 2배체인 AA ($2n=16$)와 BB ($2n=18$)로부터 8배체인 AAAABBBB ($2n=68$)에 이르기까지 다양한 세포유전적 유형의 식물들이 자연 집단에서 발견되고 있어 그에 대한 세포유전학적인 연구가 많이 보고되어 왔다 (Araki 1972; 1985; Noda and Lee 1980; Yü and Araki 1991; Choi 1996).

조직 배양에서 나타나는 체세포클론 변이는 표현형적 수준 (Secor and Shepard 1981; Evans 1989)에서 뿐만 아니라 염색체의 수적·구조적 변이 (Fish and Karp 1986; Karp 1991; Bang et al. 1994)가 보고되어 왔다. 단백질이나 동위효소의 분석 (Brettell et al. 1986; Jackson and Jones 1989) 및 제한 효소를 이용한 DNA 절편의 RFLP (restriction fragment length polymorphism) 비교와 같은 분자 수준에서의 연구도 진행되고 있다 (Isabel et al. 1993). 그러나, 핵형 분석은 특정 유전자의 변화나 염색체 내의 작은 재배열을 알아낼 수 없으며, 동위효소 분석은 유전적 변화의 탐색에 편리한 방법으로 이용될 수 있기는 하나, 발생 단계별 변이로 한정되기 쉽고, 수용성 단백질에 대한 DNA 영역만이 연구 대상이 되는 문제점을 지니고 있다 (Bassiri 1976). 제한 효소를 이용하여 핵, 또는, 염색체나 미토콘드리아 DNA를 절단한 절편 길이의 차이를 통해 유전적 변이 분석을 하는 RFLP는 게놈의 다양성

*Corresponding author. Tel 042-821-5497

E-mail bangjw@hanbat.chungnam.ac.kr

연구에 유용하지만, 시간과 비용이 많이 소요될 뿐 아니라 방사성 동위원소를 사용하는 제한이 따르고, 순수한 DNA를 다량 필요로 하므로 많은 양의 식물 조직을 필요로 하는 등의 여러가지 단점이 있어 동일 종 내에서는 다형현상을 밝히기 어렵기 때문에 종내 계통 분석이나 체세포클론 변이분석에 사용하는데 많은 문제점이 있다 (Beckman and Soller 1983; Foolad et al. 1993).

이러한 문제점을 보완할 수 있는 기술이 William 등 (1990)에 의해 개발되어 사용되고 있는 PCR (polymerase chain reaction)에 기반을 둔 RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) 분석법이다. 무작위로 합성한 primer를 이용하는 RAPD 분석의 장점은 실험 과정이 빠르고, 간편하며, 많은 시료를 동시에 분석할 수 있어 경제적이고, 10 ng 정도의 적은 양의 DNA만으로도 분석이 가능하며, primer가 결합하는 부위의 염기 변이나 증폭된 부위에 있는 결실, 중복, 역위 등의 염색체 변이에 의해 절편의 길이가 달라지거나 그에 따른 절편이 생기지 않기 때문에 DNA 수준에서 변이를 알아낼 수 있어 종간 변이는 물론이고 종내의 계통 분석에도 유용하다 (Chalmers et al. 1992; Foolad et al. 1993; Wilkie et al. 1993).

RAPD 분석은 감자 (*Solanum tuberosum* L.)와 마늘 (*Allium sativum* L.)에서 유전적 변이의 분석 (Singsit and Ozias-Akins 1993; Wilkie et al. 1993; Demeke et al. 1996), 셀러리 재배종들의 동정 및 분류 (Yang and Quiros 1993), 감자에서 유전자 도입의 확인 (Waugh et al. 1992) 등에 이용된 바 있다. 조직 배양에서는 배양 과정 중 재분화 단계에 따른 유전적 변이 분석 (Brown et al. 1993), 감자에서 체세포 잡종의 확인 (Xu et al. 1993; Takemori et al. 1994), *Picea mariana*에서 체세포 배발생에서 유도된 재분화 식물체에서 유전적 보존성의 평가 (Isabel et al. 1993), 사탕무에서 체세포클론의 변이의 분석 (Munthali et al. 1996) 등에 이용되어 왔으며, 양배추의 경우 잎의 표현형적 변이를 보이는 protoclone들이 RAPD 밴드에서 차이를 보이는 것도 보고되었다 (Lee et al. 1997). 그러나, 무릇과 같이 동일 종에 속하면서 계통 유형이 다른 식물의 체세포클론을 대상으로 수행된 RAPD 분석은 이루어진 바 없다.

본 연구에서는 동일종 내에서 A와 B의 두 계통으로 분화되어 있고 이들의 조합에 의해 다양한 세포유전적 조성의 식물이 출현하고 있는 무릇의 조직 배양에서 얻은 체세포클론을 대상으로 RAPD 분석을 수행하여 계통 유형에 따른 체세포클론 간의 다형현상을 구명하고, 계통별 특이 marker를 탐색하여 보고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물 재료

본 연구에서 사용한 재료 식물은 무릇 (*S. scilloides* Complex)에서 세포유전적 유형이 확인된 2배체 AA (2n=16)와 BB (2n=18) 및 4배체인 AABB (2n=34) 식물의 조직 배양을 통하여 얻은 재분화 식물 (Choi 1996)을 재료로 사용하였다.

계통 DNA 추출 및 순도 분석

재분화 식물체의 잎 조직을 재료로 Fang 등 (1992)의 방법을 변용하여 계통 DNA를 추출하였고, DNA 순도는 분광 광도계를 사용하여 260 nm에서의 흡수치로 측정하였으며, 4°C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

RAPD 분석

DNA 증폭은 멸균 증류수에 10× 반응 완충액, 120 μM dNTPs, 5 μM primer, 0.75 U *Taq polymerase*, 100 ng 주형 DNA가 혼합된 총 25 μl의 반응 혼합물에 mineral oil을 첨가 후, DNA 증폭기 (Hybaid Omnigene)에서 94°C로 5분간 pre-denaturation 시킨 후, 94°C 30초, 36°C 30초, 72°C 120초 간 2 cycles, 94°C 20초, 36°C 15초, 45°C 15초, 72°C 90초간 20 cycles, 94°C 20초, 36°C 15초, 45°C 15초, 72°C 120초간 19 cycles, 마지막으로 72°C 10분간 post-elongation하여 수행하였다. 반응 생성물 8 μL를 취하여 0.5× TBE 완충액과 2 μL의 6× loading dye를 첨가하여 1 μg/100 ml의 ethidium bromide가 첨가된 1.2% agarose gel에서 전기 영동한 후, UV 하에서 증폭된 DNA를 확인하고, 사진을 촬영하여 분석하였다. Primer는 Operon Technologies Co. (Alameda, California)로부터 10 mer random primer Kit 를 구입하여 사용하였다.

결과 및 고찰

무릇 체세포클론의 RAPD 분석을 위해 20가지의 10 mer primer를 사용하여 PCR을 수행한 결과 primer A1 (5'-CAGGCCCTTC-3'), A2 (5'-TGCCGAGCTG-3') 및 A3 (5'-AGTCAGCCAC-3')에서 계통별로 비교 가능한 다형현상을 관찰할 수 있었다.

AA 유형 체세포클론의 경우 primer-A1에서 0.5-2.1 kb 사이에 있는 7개의 밴드가 관찰되었으며 (Figure 1), 밴드의 유무와 위치를 비교한 결과 체세포클론은 5가지 유형으로 구분되었다 (Table 1). Primer-A2의 경우 9개체의 체세포클론에서 0.6-1.8 kb 내에 있는 6개의 밴드에서 다형 현상이 나타났으며, 체세포클론은 4가지 유형으로 구분되었다. Primer-A3의 경우에는 8개체의 체세포클론에서 2개의 밴드가 0.5 kb-1 kb 사이에서 관찰되었으며, 유형은 두 가지로 구분되었다.

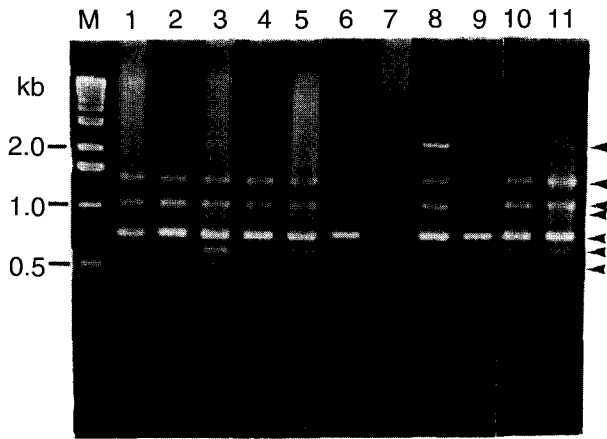


Figure 1. PCR amplified products of genomic DNA using primer A1 in AA somaclones. M, size markers (1kb ladder); lane 1-11, regenerants. Arrows indicate the polymorphic bands.

Table 1. Matrix of polymorphic DNA fragments in AA, BB and AABB somaclones using primer A1. +; presence, -; absence.

Band No.	AA somaclones										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A1-1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
A1-2	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
A1-3	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
A1-4	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
A1-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A1-6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
A1-7	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

Band No.	BB somaclones											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A1-1	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
A1-2	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
A1-3	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
A1-4	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
A1-5	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
A1-6	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
A1-7	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
A1-8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A1-9	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
A1-10	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
A1-11	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-

Band No.	AABB somaclones											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
A1-1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A1-2	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
A1-3	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
A1-4	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
A1-5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
A1-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A1-7	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
A1-8	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-

BB 유형 체세포클론의 경우 primer-A1에서 0.5-2.8 kb 내에 있는 11개의 밴드가 관찰되어 다형현상이 가장 높게 나타났으며 (Figure 2), 밴드의 유무와 위치에 따른 유형도 10가지로 나타나 변이가 가장 심한 것으로 관찰되었다 (Table 1). Primer-A2에서는 8개의 체세포클론에서 0.6-1.8 kb 사이에서 6개의 밴드가 관찰되었고, 다형현상에 따른 유형은 7가지로 구분되었다. Primer-A3에서는 13개의 체세포클론에서 0.6-2 kb 내에 있는 9개의 절편이 다형현상을 보였으며, 체세포클론의 유형은 6가지로 구분할 수 있었다. 특히, BB 유형에서는 AA와 AABB 유형에서 볼 수 없는 다양한 밴드들이 관찰되어 다형현상이 높게 나타나는 것이 특징이었다.

AA와 BB의 교잡에 의하여 형성된 AABB 유형 체세포클론의 경우 primer-A1에서는 11개체에서 0.5-2.1 kb 내에 있는 8개의 절편에서 다형현상이 관찰되었으며 (Figure 3), 관찰된 밴드의 유무와 위치에 따른 비교 결과 5가지 유형으로 구분할 수 있었다 (Table 1). Primer-A2에서는 10개의 체세포

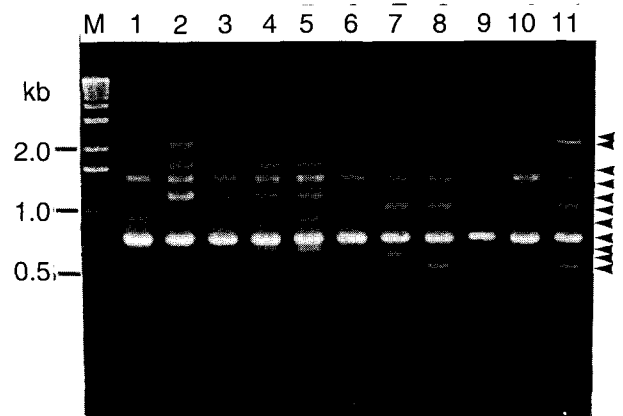


Figure 2. PCR amplified products of genomic DNA using primer A1 in BB somaclones. M, size markers (1kb ladder); lane 1-11, regenerants. Arrows indicate the polymorphic bands.

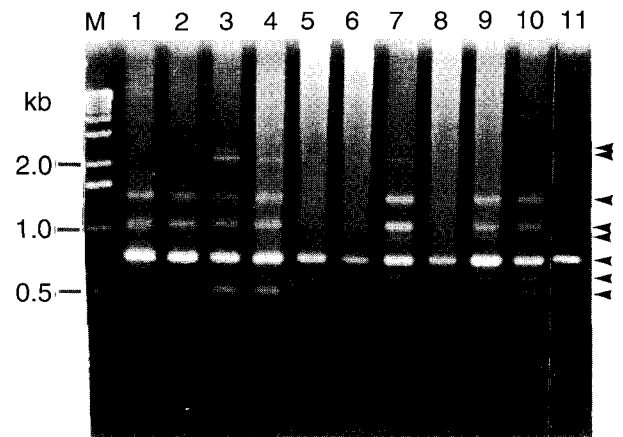


Figure 3. PCR amplified products of genomic DNA using primer A1 in AABB somaclones. M, size markers (1kb ladder); lane 1-12, regenerants. Arrows indicate the polymorphic bands.

포클론에서 6개의 밴드가 0.6 kb-1.8 kb 사이에서 관찰되었으며, 유형은 6가지로 구분되었다. Primer-A3에서는 14개의 체세포클론에서 5개의 밴드가 0.5-1.7 kb 사이에서 관찰되었고, 유형은 5가지로 구분되었다. 이와같이 primer와 계놈 유형에 따라 밴드의 수가 달리 나타나는 현상은 band 자체에 의미를 두어 다형현상 분석에 적용될 수 있으며, 다른 한편으로는 계놈별 특이 marker 선발의 이용 가능성을 보여주는 것이다.

이상의 결과를 종합하여 보면 AA 유형의 체세포클론의 경우 primer-A1, A2 및 A3에서 각각 45.4% (5/11), 44.4% (4/9) 및 25.0% (2/8)로 평균 39.2% (11/28)의 다형성을 보였다. BB 유형의 경우에는 primer-A1, A2 및 A3에서 각각 83.3% (10/12), 87.5% (7/8) 및 46.2% (6/13)로 평균 72.3% (23/33)로 세 가지 유형 중 가장 높은 다형성을 보였다. AABB 유형에서는 primer-A1, A2 및 A3에서 각각 45.5% (5/11), 60.0% (6/10) 및 45.7% (5/14)로 평균 45.7% (16/35)로 AA유형과 유사한 다형성을 보였다 (Table 2). 이와같이 높은 다형성은 한 종 내에서 10가지 이상의 계놈 유형으로 다양하게 진화한 무릇에서 볼 수 있는 특이한 현상인 것으로 사료된다. 또한 3가지 계놈 식물을 각각 primer-A1으로 PCR 한 결과 AA 유형에서 관찰된 A1-15 밴드, BB 유형에서 관찰된 A1-8 밴드, AABB 유형에서 관찰된 A1-6 밴드와 같이 각 계놈별 체세포클론에서 공통적으로 출현한 밴드들은 계놈 특이 marker로서의 탐색 가능성을 보여주며, 앞으로 진행될 FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 실험을 통하여 확인 가능할 것이다.

BB 유형에서 가장 높은 다형현상을 보이는 것은 무릇의 조직배양에서 유도된 캘러스 염색체 변이 조사에서 AA 유형에서 보다 BB와 AABB 유형에서 안정성이 높다는 보고 (Bang et al. 1994)와는 상이한 결과였다. 용담의 재분화 식물체를 대상으로 수행한 RAPD 분석에서는 체세포클론이 모두 동일한 밴드 유형을 나타낸다는 보고 (Lee 1998)와 비교하여 볼 때, 계놈 유형에 따라 다르게 나타나는 무릇에서의 다형현상은 매우 흥미있는 사실이며, 이는 체세포클론의 선발에 이용할 수 있는 marker의 개발에 유용하게 이용될 수 있을 것이다. 무릇 체세포클론의 경우 RAPD 분석에서 AA 유형에 비하여 BB 유형이 AABB 유형 식물과 유전적으로 유연 관계가 더 가까운 것으로 나타났는데, 이는 야생 식물을 대상으로 동위효소를 비교 분석한 결과와 일치하였다 (Choi 1996).

Table 2. The diversity of types showing polymorphism in AA, AABB and BB plants.

Primer	Diversity of types (%)		
	AA	BB	AABB
A1	45.4%(5/11)	83.3%(10/12)	45.5%(5/11)
A2	44.4%(4/9)	87.5%(7/8)	60.0%(6/10)
A3	25.0%(2/8)	46.2%(6/13)	35.7%(5/14)
Means	39.2%(11/28)	72.3%(23/33)	45.7%(16/35)

체세포 배발생에서 유도된 재분화체에서 유전적 안정성을 측정하기 위한 RAPD 분석에서 *Picea mariana*의 경우 체세포클론 사이에서 변이가 나타나지 않는다고 보고되었다 (Isabel et al. 1993). 그러나, 무릇의 경우 primer에 따라 다형현상을 관찰할 수 있었고, AA 계놈의 경우 primer-A1, A2 및 A3에서 총 110개 밴드 중 하나의 밴드가 특이성을 보여 0.9%의 변이율을, BB 계놈에서는 116개 밴드 중 5개의 특이 밴드로 4.3%의 변이율을, 그리고, AABB 계놈에서는 103개의 밴드 중 5개의 특이 밴드가 나타나 4.9%의 변이율을 보였다. 변이율의 비교에서 AA 계놈의 체세포클론이 가장 안정적이었으며, AABB 계놈과 BB 계놈에서는 비슷한 변이율을 보여 AA 계놈과 차이를 보이는 것이 특징이었다 (Table 3).

미나리 (*Oenanthe stolonifera*)를 재료로 배발생 캘러스와 비배발생 캘러스 및 줄기와 뿌리 조직의 RAPD 양상의 비교에서 DNA상의 변화가 체세포클론 변이에 기인한 결과일 가능성이 있으나, 분화 과정에서 일어나는 계놈상의 변화가 원인일 수 있다고 제안된 바 있다 (Been and Kim 1997). 또한, 양배추에서 정상적인 2배체의 재분화체와 4배체의 재분화체 사이에서 RAPD 밴드가 차이를 보이지 않는 것으로 보고된 바 있는데 (Lee et al. 1997), 무릇에서 계놈 유형에 따라 다르게 나타난 체세포클론 변이는 차이는 A와 B 두 가지의 서로 다른 계놈으로 이루어진 이질배수체이기 때문에 나타나는 것으로 여겨진다.

적 요

무릇 (*S. scilloides* Complex)에서 계놈 유형이 다른 AA, BB 및 AABB 계놈 식물의 조직배양을 통하여 유도된 재분화체를 대상으로 RAPD 기법을 이용한 유전적 분석을 통해 계놈의 안정성과 계놈 유형에 따른 차이를 분석한 결과, 적용한 20가지의 primer 중 A1, A2 및 A3에서 계놈 유형에 따른 다형현상을 관찰할 수 있었다. RAPD 분석 결과 AA 계놈에서 39.2%로 다형성이 세 가지 유형 중 가장 낮게 나타났으며, BB 계놈에서는 72.3%로 가장 높은 다형성을 보였고, AABB 계놈에서는 45.7%의 다형성이 관찰되었다. AA 유형에서 관찰된 총 110개의 밴드 중 특이 밴드가 A3에서 하나

Table 3. The frequency of somaclonal polymorphisms in the different cytogenetic somaclones.

Primer	Somaclonal polymorphisms		
	AA	BB	AABB
A1	61	57	44
A2	40	18	29
A3	9	41	30
Total band No.	110	116	103
Specific band No.	1	5	5
Frequency	0.9%(1/110)	4.3%(5/116)	4.9%(5/103)

나타나 0.9%의 변이율을 보였으며, BB 계놈의 경우 총 116개의 밴드 중 특이 밴드는 A3에서 5개 나타나 4.3%의 변이율을 보여 주었고, AABB 유형에서는 총 103개의 밴드중 특이 밴드가 A1에서 2개, A2에서 1개, A3에서 2개로 총 5개가 나타나 4.9%의 변이율을 나타내었다. RAPD 분석은 계놈 유형이 다른 무릇 체세포클론의 유전적인 안정성 분석에 유용하게 이용될 수 있다.

사사 - 본 논문은 한국과학재단 핵심전문 연구비 (Grant No. 961-0504-034-2) 지원으로 수행되었음.

인용문헌

- Araki H (1972) Cytogenetic study of *Scilla scilloides* complex from Korea. *Jap J Genet* **47**: 147-150
- Araki H (1985) The distribution of diploids and polyploids of the *Scilla scilloides* Complex from Korea. *Genetica* **66**: 3-10
- Bassiri A (1976) Barely cultivar identification by use of isozyme electrophoretic patterns. *Can J Pl Sci* **56**: 1-6
- Bang JW, Park JH, Choi EY (1994) Chromosome variation in callus cells derived from different cytogenetic type plants of *Scilla scilloides* Complex. *Kor J Plant Tissue Cul* **21**: 59-63
- Beckman JS, Soller M (1983) Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement : Methodologies, mapping and costs. *Theor Appl Genet* **67**: 35-43
- Been CG, Kim BD (1997) Totipotential, morphological, biochemical comparisons between nonxmbryogenic callus and embryogenic callus in water dropwort (*Oenanthe stolonifera* DC). *Kor J Plant Tissue Cul* **24**: 167-173
- Brettell RIS, Dennis ES, Scowcroft WR, Peacock WJ (1986) Molecular analysis of somaclonal mutant of maize alcohol dehydrogenase. *Theor Appl Genet* **202**: 235-239
- Brown PT, Lange FD, Kranz E, Hamburg FRG (1993) Analysis of single protoplasts and regenerated plants by PCR and RAPD technology. *Mol Gen Genet* **273**: 311-317
- Chalmers KJ, Waugh R, Sprent JI, Simons AJ, Powell W (1992) Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers. *Heredity* **69**: 465-472
- Choi HW (1996) Cytogenetic diversity in *Scilla scilloides* Complex from Korean natural populations and chromosome stability in somaclones. Ph.D. Thesis, Chungnam National University. pp 143-146
- Demeke T, Lynch DR, Kawchuk LM, Kozub GC, Armstrong JD (1996) Genetic diversity of potato determined by random amplified polymorphic DNA analysis. *Plant Cell Rep* **15**: 662-667
- Evans DA (1989) Somaclonal variation: Genetic basis and breeding application. *Trends in Genet* **5**: 46-50
- Fang G, Hammar S, Grumet R (1992) A quick and inexpensive method of removing polysaccharides from plant genomic DNA. *Biotechniques* **13**: 52-55
- Fish N, Karp A (1986) Improvements in regeneration from protoplasts of potato and studies on chromosome stability. 1. The effect of initial culture media. *Theor Appl Genet* **72**: 405-412
- Foolad MR, Jones RA, Rodriguez RL (1993) RAPD markers for constructing intraspecific tomato genetic maps. *Plant Cell Rep* **12**: 293-297
- Isabel N, Tremblay L, Michaud M, Tremblay FM, Bousquet J (1993) RAPDs as an aid to evaluate the genetic integrity of somatic embryogenesis-derived populations of *Picea mariana* (Mill). *Theor Appl Genet* **86**: 81-87
- Jackson JA, Jones MGK (1989) Somaclonal variation of *Lolium multiflorum* L. and *L. temulentum*. *Plant Cell Rep* **8**: 161-164
- Karp A (1991) On the current understanding of somaclonal variation. In: Mifflin BJ (ed) *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cellular Biology* Vol 2, pp 1-58
- Lee MK (1998) Molecular-cytogenetic analysis and establishment of a regeneration system in *Gentiana scabra* var. *buergeri*. Ph.D Thesis, Chungnam National University, pp 1-133
- Lee YH, Cho HS, Kim HI, Na JH, Lee YW (1997) Protoclonal variation in cabbage (*Brassica oleracea* spp. *capitata*). *Kor J Plant Tiss Cult* **24**: 175-181
- Munthali MT, Newbury HJ, Ford-Lloyd BV (1996) The detection of somaclonal variants of beet using RAPD. *Plant Cell Rep* **15**: 474-478
- Noda S, Lee HS (1980) Relationship between chromosome constitution of 3 species of *Liliaceae* and human activities. *Rep Scientific Res Funded by Mini of Education of Japan*, pp 33-55
- Secor G, Shepard GF (1981) Variability of protoplast-derived potato clones. *Crop Sci* **21**: 102-105
- Singsit C, Ozias-Akins P (1993) Genetic variation in monploids of diploid potatos and detection of clone-specific random amplified polymorphic DNA markers. *Plant Cell Rep* **12**: 144-148
- Takemori N, Shinoda K, Kadotani N (1994) RAPD markers for confirmation of somatic hybrids in the dihaploid breeding of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Rep* **13**: 367-371
- Waugh R, Baird EX, Powell W (1992) The use of RAPD markers for the detection of gene introgression in potato. *Plant Cell Rep* **11**: 466-469
- Wilkie SE, Isaac PG, Slater RJ (1993) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in *Allium*. *Theor Appl Genet* **86**: 497-504
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* **18**: 6531-6535
- Xu YS, Clark MS, Pehu E (1993) Use of RAPD markers to screen somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Plant Cell Rep* **12**: 107-109

- Yang X, Quiros C** (1993) Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theor Appl Genet* **86**: 205-212
- Yü Z, Araki H** (1991) The distribution of diploids and polyploids of the *Scilla scilloides* Complex in the northeastern district of China. *Bot Mag Tokyo* **104**: 183-190

(접수일자 1999년 7월 12일)