

박과 작물 4종의 핵형분석

권지연 · 박혜미 · 이성남 · 최선희 · 송경아 · 김현희*

삼육대학교 과학기술대학 생명과학과

Received June 13, 2008 / Accepted June 30, 2008

Chromosome Compositions of Four Cultivated Cucurbitaceae Species. Kwon Ji Yeon, Park Hye Mi, Lee Sung Nam, Choi Sun Hee, Song Kyung A and Kim Hyun Hee*. *Department of Life Science, Sahmyook Univ., Seoul 130-650, Korea* - The chromosome numbers and compositions were investigated in four cultivated species of Cucurbitaceae; *Cucumis sativus* L., *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai, *Cucumis melo* L., *Luffa cylindrica* (L.) Roemer. through general aceto-orcein staining method. The chromosome compositions of four species were diploids of $2n=22$, $2n=24$ and $2n=26$ respectively. The chromosomes were relatively small and showed gradual length degradation from 2.50 μm to 2.16 μm in *Cucumis sativus*, 3.71 μm to 2.11 μm in *Cucumis melo*, 3.20 μm to 2.40 μm in *Citrullus lanatus* and 3.17 μm to 1.97 μm in *Luffa cylindrica*. The chromosome types consisted of all metacentrics in *Cucumis sativus*, seven pairs submetacentrics and five pairs metacentrics in *C. melo*, four pairs of submetacentrics and seven pairs metacentrics in *Citrullus lanatus*, and two pairs submetacentrics and eleven pairs metacentrics in *Luffa cylindrica* (L.) Roemer.. The satellites were found in a pair of chromosomes in *C. melo* and two pairs in *Luffa cylindrica*. The chromosome compositions in these four species showed species-specific patterns and seemed to provide useful informations for breeding and molecular cytogenetic works on Cucurbitaceae.

Key words : Cucurbitaceae, karyotype, *Cucumis*, *Citrullus*, *Luffa*

서 론

열대와 난, 온대에 약 100속 860종이 분포하고 있으며 우리나라에는 6속 6종이 보고되어 있는 박과 식물(Cucurbitaceae Juss.)은[14] 오이, 호박, 수박, 참외, 수세미 등 주요 작물을 포함하여 채소, 의약품 및 화장품의 재료로 그 개발의 가치가 주목되는 식물 분류군이다[18].

염색체 연구를 기반으로 하는 세포유전학적 연구는 종의 유전적 특성 및 종간 유연관계를 밝혀 작물 육종에 유용하게 활용되어 왔다[2,15,16]. 최근 식물 유전자원의 보존 및 효율적인 활용을 위한 기초 연구의 필요성이 증대되고 형질전환식물 연구가 활발히 진행되면서 삽입 유전자의 염색체 내 위치 확인과 식물의 물리적 유전자지도 작성 등, 분자세포유전학적 연구로서 염색체 관련 연구가 다시 활기를 띠고 있다[1].

전 세계적으로 박과 식물의 염색체 조성에 대한 연구는 오래 전부터 이루어져 기본 염색체 수가 $x=7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14$ 이며[5] 종에 따라 염색체 수가 $2n=14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 32, 36, 40, 42, 48, 64, 72$ [3]로 이배체 혹은 팔배체를 이루고 있는 것으로 보고되어 있으나 이들 연구들은 염색체 수와 대체적인 조성을 밝혔을 뿐 자세한 핵형분석은 이루어지지 않았다. 국내에서 박과 식물에 대한 연구는 병해충 억제[8], 발아율[9] 비교 등, 주로 생산성 증대를 위한 기초 연구가

대부분이다. 염색체 관련 연구는 최근 Koo 등[10,11,12]이 오이(*Cucumis sativus* L.)에 대해 핵형분석 및 특정 DNA서열에 대한 염색체 내 물리적 위치를 보고한 바 있으나 기타 종에 대해서는 작물로서의 중요성에도 불구하고 염색체 연구가 보고되어 있지 않은 실정이다. 이는 박과 식물의 염색체가 매우 작고 기존 방법의 염색법으로는 염색이 잘 되지 않아 분석에 어려움이 있었기 때문인 것으로 보인다[4,17,20].

본 연구는 염색체 분석법을 개선 적용하여 국내에서 주요 작물로 재배되고 있는 4종류의 박과 식물의 염색체 수와 구성을 밝혀 각 종의 세포유전학적 계통 조성에 기반한 육종의 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

본 연구의 실험 재료인 오이(*Cucumis sativus* L. IT번호 110878), 수박(*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai, IT번호 104713), 참외(*Cucumis melo* L., IT번호 173156), 수세미(*Luffa cylindrica* (L.) Roemer, IT번호 173156)의 종자는 농촌진흥청 농업생명공학연구원 유전자원센터에서 분양을 받았으며 삼육대학교 온실에서 발아 뒤 근단을 본 실험의 공식 재료로 이용하였다.

새로 발근된 1~1.5 cm의 근단을 2 mM 8-hydroxyquinoline 용액에서 18°C를 유지하면서 암 상태로 4~5시간 전처리 후 aceto-ethanol (acetic acid, glacial: 95% ethanol=1:3 v/v)에서 2시간 이상 고정하였다. 고정된 식물 재료는 70%

*Corresponding author

Tel : +82-2-3399-1715, Fax : +82-2-3399-1729

E-mail : kimhh@syu.ac.kr

ethanol에서 냉장 저장한 후 표본 제작의 재료로 이용하였다. 저장된 재료를 기존의 전통적인 염색체 표본 제작방법에 의해 60°C의 1N HCl에서 15초간 해리하여 45% acetic acid 하에서 압착표본을 제작한 후 1% aceto-orcein으로 1분간 염색하여 표본을 제작하였다. 일부의 식물 재료는 고정 후 citric acid-sodium citrate buffer (CA-SC buffer, pH 4.69)로 충분히 수세 후 CA-SC buffer로 제조한 효소액(2% Cellulase 'Onozuka' R-10, 1% pectinase, Sigma)에서 37°C를 유지하며 1.5시간 처리한 다음[19] 충분히 수세하였다. 1~2 ml의 고정액에서 Pasteur pipette을 이용하여 세포 현탁액을 만들어 flame spreading 방법[13]에 의해 표본을 제작하여 3% Giemsa액으로 염색하여 분석의 자료로 삼았다.

뚜렷한 중기상은 Olympus BX51 현미경 하에서 배율 ×1,000으로 관찰하였고, 이에 장착된 ER-3339 CCD 카메라를 이용하여 촬영 후 APPLIED IMAGING사(USA)의 핵형 분석 시스템 GENUS Version 3.1 프로그램을 이용하여 분석하였다.

염색체의 형태는 Levan 등[14]의 기준에 따라 염색체의 동원체를 중심으로 하여, 단완(short arm, S)과 장완(long arm, L)의 길이를 이용한 염색체 완의 비(arm-ratio, L/S)를 비교하여, 그 비가 1.00~1.67일 경우 중부동원체 염색체(M, metacentric), 1.68~3.00일 경우 차중부동원체 염색체(SM, submetacentric), 3.01~7.00일 경우 차단부동원체 염색체(T, telecentric)로 구분하여 분석하였고, 염색체의 배열은 긴 것부터 짧은 순으로 고유번호를 부여하였다. 부수체는 전체 길이에는 포함시켰으나 완의 비 산출 시에는 그 길이를 포함시키지 않았다.

결과 및 고찰

본 연구의 식물 재료인 박과 속 식물 4종 오이(*Cucumis sativus* L.), 수박(*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai), 참외(*Cucumis melo* L.), 수세미(*Luffa cylindrica* (L.) Roemer)에 대한 중기상 및 핵형분석 결과가 Fig. 1, 2에 나타나 있다.

박과 식물은 염색체가 매우 작고 기존 방법의 염색법으로는 염색이 잘 되지 않는 것으로 보고되어져 있다[4,17,20]. 본 연구에서는 염색체 크기가 작고 수가 많아 분석하기 어려웠던 콩(*Glycine max.* (L.) Merr.)[19]과 벼(*Oryza sativa* L.)[13]의 염색체 분석을 위해 개발되었던 방법을 다소 변경하여 혼합 적용한 결과 비교적 뚜렷한 중기상을 얻을 수 있었다.

핵형 조성은 4종 모두 이배체로 염색체수와 형태적 조성에서 종 특이성을 보였다(Table 1).

오이의 체세포 염색체 수는 $2n=14$ (Fig. 1A, 2A, 3A)로 기존의 Koo 등[12]의 연구 결과와 동일하게 나타났으며 염색체의 길이가 1.43~2.33 μm 로 염색체 완의 비에 따라 모두 중

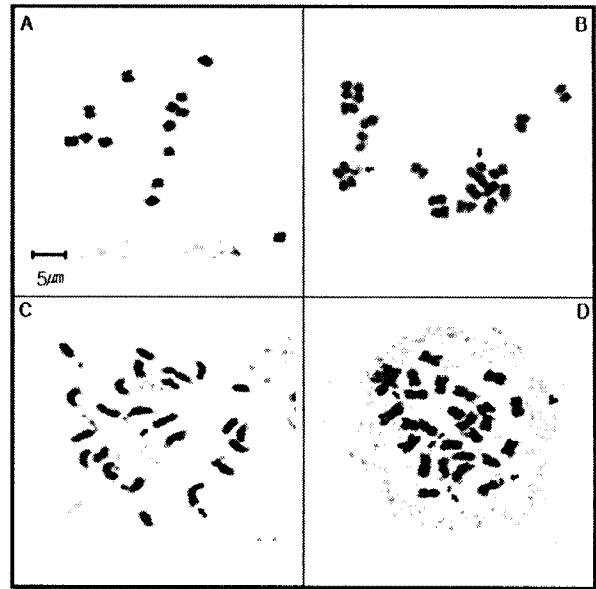


Fig. 1. Mitotic metaphase chromosome complements of *Cucumis sativus* L. (A), *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai (B), *Cucumis melo* L. (C), and *Luffa cylindrical* (L.) Roemer (D). The arrows indicate satellite chromosomes. Scale bar; 5 μm .



Fig. 2. Karyotypic idiograms of *Cucumis sativus* L. (A), *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai (B), *Cucumis melo* L. (C), and *Luffa cylindrical* (L.) Roemer (D). The arrows indicate satellite chromosomes.

부동원체형 염색체로 분류되었다(Table 1A). Koo 등[12]은 7번 염색체를 차중부동원체형 염색체로 보고한 바 있으나 중부동원체형 염색체에 대한 염색체 완의 비를 1.00~1.67, 차중부동원체형에 대해서는 1.68~3.00의 기준으로 한 것을 감안할 때 표본에 따른 염색체 응축 정도에 따라 차이가 날 수 있을 것으로 여겨진다.

수박의 체세포 염색체 수는 $2n=22$ (Figs. 1B, 2B, 3B)로 Idehen 등[7]이 보고한 자료와 동일한 염색체 수가 확인되었다. 염색체의 길이는 1.1~2.5 μm 범위 내에 있었으며 염색체 형태는 모두 중부동원체형 염색체로 11쌍이 관찰되었으며 2번 염색체에서는 기존에 보고되지 않았던 부수체가 단완의

Table 1. Karyotype data of 4 taxa of Cucurbitaceae, A) *Cucumis sativus* L., B) *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai, C) *Cucumis melo* L., D) *Luffa cylindrica* (L.) Roemer

Species	Chr. No. (2n)	Chr. length	Karyotypic formula	Sat Chr.* (pairs)
A	14	1.43~2.33	2m+2m+2m+2m+2m+2m+2m	0
B	22	1.10~2.50	2m+2m*+2m+2m+2m+2m+2m+2m+2m+2m	1
C	24	2.21~7.07	2sm+2m+2sm+2m+2m+2sm+2m*+2m+2m+2m+2m+2m	1
D	26	1.99~6.60	2m*+2m+2m+2m+2m+2m+2m*+2m+2m+2m+2m+2m+2m	2

m: metacentric, sm: submetacentric, *: satellite chromosome

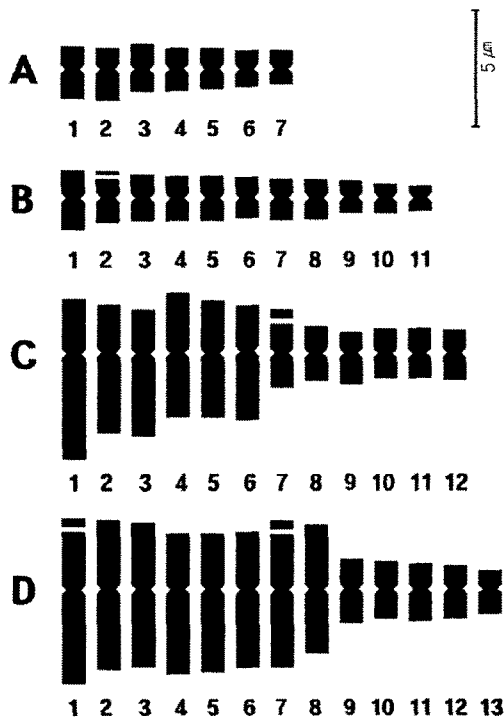


Fig. 3. Diagrammatic idiograms of *Cucumis sativus* L. (A), *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai (B), *Cucumis melo* L. (C), and *Luffa cylindrica* (L.) Roemer (D).

말단에서 관찰되었다(Table 1B).

참외의 체세포 염색체 수는 2n=24(Figs. 1C, 2C, 3C)로 그 길이가 2.21~7.07 μm 범주 내에 있었으며 염색체 수에 있어서는 Dewet 등[6]이 보고한 결과와 동일하였으나 염색체의 형태적 조성에는 차이를 보였다. Dewet 등[6]은 참외의 염색체 조성이 10쌍의 중부동원체형 염색체와 2쌍의 차중부동원체형 염색체로 구성되어 있으며, 2쌍의 차중부동원체형 염색체중 1쌍에 부수체가 존재하는 것으로 보고한 바 있으나 본 연구에서는 9쌍의 중부동원체형 염색체(Chr. # 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12)와 3쌍의 차중부동원체형 염색체(Chr. # 1, 3, 6)로 구성되어 있는 것으로 나타났으며 부수체는 1쌍의 중부동원체형 염색체(#7)의 단완의 말단에서 관찰되었다(Table 1C).

수세미의 염색체 수는 2n=26(Figs. 1D, 2D, 3D)으로 나타났으며 그 길이는 1.99~6.60 μm 범주 내에 존재하였다. 염색체의 형태는 모두 중부동원체형 염색체로 1번 염색체의 단완

의 말단에서 부수체가 관찰되었다.

본 연구에서 염색체 형태적 특징에 대해 기존의 보고와 차이가 있는 점에 대해서 염색체 형태를 구분하는 기준인 완의 비에 따른 허용할 수 있는 범위의 변이로 고려될 수 있다. 그러나 실제 식물 재료의 차이로 인한 것이거나, 혹은 종 내 핵형의 변이에 기인한 것일 수도 있으므로 이에 대해서는 염색체 분염기술 및 DNA분자적 마커를 이용한 보다 정밀한 계통 분석 등의 추가적인 연구를 통해 밝혀져야 할 것으로 보인다.

염색체 연구를 기반으로 하는 세포유전학적 연구는 식물 종의 계통 구성을 밝혀 종 특이성을 규명하고 중간 유연관계를 추적하는데 유용한 도구로 쓰이고 있다. 경제적 부가가치가 높은 박과 작물 4종에 대한 핵형분석 결과 각 종에 따라 특징적인 염색체 조성이 나타나 이들 작물의 육종화 작업의 기초 자료로써 활용할 수 있으리라 사료된다.

요 약

박과 작물 4종(오이, 수박, 참외, 수세미)에 대한 핵형분석 연구를 수행하였다. 염색체 조성은 모두 이배체로 염색체 수와 형태적 특징에 있어서 종에 따라 차이를 나타냈다. 오이의 핵형은 2n=14=14m, 수박은 2n=22=22m으로 2번 염색체가 부수체를 지니며, 참외는 2n=24=18m+6sm으로 7번 염색체가 부수체를 지니고 있었다. 수세미는 2n=26=26m으로 1번 염색체가 부수체를 지니고 있었다. 핵형분석 결과 종에 따라 특징적인 염색체 수와 조성을 나타내었으며 중간 계통 구성의 정보에 따른 박과 작물 육종화 작업의 기초 자료를 제공할 수 있으리라 본다.

References

1. Bang, J. W. 2001. Chromosome Index to Korean Native Plants. pp. 16-17. Korean Plant chromosome research center, Chungnam National University, Korea.
2. Battalia, E. 1955. Chromosome morphology and terminology. *Caryologia* 8, 179-187.
3. Bolkhovskikh, Z., V. Grif, T. Matvejeva and O. Zakharyeva. 1969. Chromosome Numbers of flowering plants. pp.

- 242-245, Academy of Sciences of the USSR, Komarov Bot. Inst., Russia.
4. Dane, F. 1991. Cytogenetics in genus *Cucumis*. In Tsuchiya, T. and P. K. Gupta (eds.), Chromosome engineering in plants, Part B; Genetics, Breeding, and Evolution. pp. 201-214, Elsevier, Amsterdam.
 5. Darlington, C. D. and A. P. Wylie. 1956. Chromosome Atlas of flowering plants. pp. 396, The MacMillan Company, New York.
 6. Dewet, M., G. Zhenhuai, Z. Chenghe, G. Suozhu and W. Ming. 1995. A study on chromosome number and karyotype of melons (*Cucumis Melo* L.). *Acta Horticulture* (ISHS) **402**, 61-65.
 7. Idehen, E. O., O. B. Kehinde and A. E. Adegbite. 2006. Somatic chromosome counts and yields performance of some accessions of 'egusi' melon (*Citrullus lanatus*). *Afr. J. Biotech.* **5**, 2049-2052.
 8. Kim, D. J. 2006. Senescence-associated cDNA clones from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their gene expression in cotyledon development. *Bull. Sci. Ed.* **22**, 1-11.
 9. Kim, J. H., Y. W. Byeon, Y. H. Kim and C. G. Park. 2006. Biological Control of Thrips with *Orius strigicollis* (Poppius) (Hemiptera: Anthocoridae) and *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) on Greenhouse Green pepper, Sweet pepper and Cucumber. *Kor. J. Appl. Entomol.* **45**, 1-7.
 10. Koo, D. H. 2005. Large-scale organization of the cucumber genome and its evolution unrevealed by repetitive DNA sequences at the centromeric and telomeric regions. Ph.D. thesis of Chungnam Nat'l. University. Korea.
 11. Koo, D. H., H. W. Choi, J. Cho, Y. Hur and J. W. Bang. 2005. A high-resolution karyotype of cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. 'Winter Long') revealed by C-banding, pachytene analysis, and RAPD-aided fluorescence *in situ* hybridization. *Genome* **48**, 534-540.
 12. Koo, D. H., Y. Hur, D. C. Jin and J. W. Bang. 2002. Karyotype analysis of a Korean cucumber cultivar (*Cucumis sativus* L. cv. 'Winter Long') using C-banding fluorescence *in situ* hybridization. *Mol. Cells* **13**, 413-418.
 13. Kurata, N., N. Iwata and T. Omura. 1981. Karyotype analysis in rice II. Identification of extra chromosomes in trisomic plants and banding structure on some chromosomes. *Jpn. J. Genet.* **56**, 41-50.
 14. Lee, Y. N. 1996. Flora of Korea. pp. 516. Kyohak Publ., Seoul.
 15. Levan, A., K. Fredga and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position in chromosomes. *Hereditas* **52**, 201-220.
 16. Naranjo, C. A., L. Poggio and P. E. Brandham. 1983. A practical method of chromosome classification on the basis of centromere position. *Genetica* **62**, 51-53.
 17. Ramachandran, C. and V. S. Seshadri. 1986. Cytological analysis of the genome of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and Muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Pflanzenzüchtg* **96**, 25-38.
 18. Shippers, R. R. 2000. African indigenous vegetables, pp. 57-58. An overview of the cultivated species, Natural Resources institute ACP-EU Technical Center for Agriculture and Rural Cooperation. UK.
 19. Singh, R. J., H. H. Kim and T. Hymowitz. 2001. Distribution of rDNA loci in the genus *Glycine* Willd.. *Theor. Appl. Genet.* **103**, 212-218.
 20. Trivedi, R. N. and R. P. Roy. 1970. Cytological studies in *Cucumis* and *Citrullus*. *Cytol.* **35**, 561-569.