

## 배나무(*Pyrus* spp.) 유전체 연구 현황

오영재 · 신현석 · 김금선 · 한현대 · 김윤경 · 김대일

## Researches of pear tree (*Pyrus* spp.) genomics

Youngjae Oh · Hyunsuk Shin · Keumsun Kim · Hyeondae Han · Yoon-Kyeong Kim · Daeil Kim

Received: 16 December 2015 / Revised: 23 December 2015 / Accepted: 27 December 2015  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** Based on the place of its origin, pear tree (*Pyrus* spp.) is largely divided into European pears (*P. communis*, cultivated mainly in Europe and the U.S.) and Asian pears (*P. pyrifolia*, *P. bretschneideri*, and *P. ussuriensis*, distributed and grown in East Asian countries including China, Japan, and Korea). Most pear trees have 17 chromosomes (diploidy,  $2n=2x=34$ ). Their genetic studies and precise cultivar breeding are highly restricted by conditions such as self-incompatibility controlled by S-locus and juvenility as one major character of fruit crops. Genetic studies on *Pyrus* have been promoted by the development of various molecular markers. These markers are being utilized actively in various genetic studies, including genetic relationship analysis, genetic mapping, and QTL analysis. In addition, research on pear genetic linkage maps has been extended to studies for the identification of QTL for target traits such as disease resistance and genetic loci of useful traits. NGS technology has radically reduced sequencing expenses based on massive parallel reactions to enable high-capacity and high-efficiency. NGS based genome analyses have been completed for Chinese pear ‘Danshansuli’ and European pear ‘Bartlett’. In Korea, GWAS for agricultural

valuable traits such as floral structure, ripening, and total soluble contents have been conducted through resequencing. GBS has been performed for ‘Whangkeumbae’, ‘Cheongsilri’, and ‘Minibaek’.

**Keywords** *Pyrus* spp, Next-generation sequencing, Genome-wide association study

### 서론

배나무는 장미과(Rosaceae) 배나무아과(Maloideae) 배나무속(*Pyrus*)에 속하며 17개의 기본 염색체를 지니고 있다. 배나무아과에는 30개의 속(genus)에 약 1,000여 종(species)이 속해있으며, 사과(*Malus* spp.), 모과(*Cydonia Oblonga*), 비파(*Eriobotrya japonica*), 서양모과(*Mespilus germanica*), 산사나무(*Crataegus* spp.) 등의 중요한 온대 과수작물들이 포함된다(Kovanda 1965; Westwood and Challice 1978; Ferree and Warrington 2003). 배나무속 식물은 신생대 제3기에 중국 서부 산악지역에서 기원되었으며, 산맥의 동-서쪽을 따라 종의 분화가 이루어졌다고 알려져 있다(Rubzov 1944; Zeven and Zhukovsky 1975). 원생지로부터 종의 분화방향에 따라 서양배와 동양배 2개의 그룹으로 나뉘며(Bailey 1917), 서양배(*P. communis*)는 유럽, 미국, 아프리카, 호주 등의 지역에서 폭넓게 재배된다(Bell 1990). 동양배는 *P. pyrifolia*, *P. ussuriensis*, *P. bretschneideri*, *P. sinkiangensis*의 네 개의 주요 그룹으로 나뉘며, 이중 *P. pyrifolia*는 남방형 동양배로 중국의 중부와 남부, 일본, 한국, 대만 등 아시아 남부지역에서 주로 재배되고, *P. ussuriensis*와 *P. bretschneideri*는 북방형 동양배로 러시아 극동지역, 한국을 포함하는 중국과 일본의 북부지역에서 자란다(Bao et al. 2007; Challice and Westwood 1973; Chun et al. 2012; Yakovin et al. 2011; Yamamoto and Chevreau 2009). 다양한 종들 중에서 *P. communis*

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this work.

Y. Oh<sup>†</sup> · H. Shin<sup>†</sup> · K. Kim · H. Han · D. Kim (✉)  
충북대학교 원예학과  
(Department of Horticulture, Chungbuk National University,  
Cheongju 28644, Korea)  
생물건강소재산업화사업단  
(Brain Korea 21 Center for Bio-Resource, Chungbuk National  
University, Cheongju 28644, Korea)  
e-mail: dkpomo@cbnu.ac.kr

Y. K. Kim  
국립원예특작과학원 배연구소  
(Pear Research Institute, National Institute of Horticultural &  
Herbal Science, Rural Development Administration, Naju 58216,  
Korea)

와 *P. pyrifolia*가 특히 상업적으로 중요하게 재배되고 있고(Wu et al. 2013; Yakovin et al. 2011), *P. pashia*, *P. calleryana* 등 다양한 배나무속 종들이 대목이나 장식용으로 사용되고 있다(Yamamoto and Chevreau 2009). 배의 전세계 생산량은 낙엽성 과수 작물 중 사과, 포도에 이어 3위를 차지하고 있으며, 전세계 온대지역의 50여개국은 1.6백만ha의 면적에서 25.2백만 톤을 생산하였고(FAO 2013), 국내에서는 국내 과수 재배면적 중 8.1%를 차지하고 있으며 2014년 13,127ha의 면적에서 302,731톤을 생산되었다(KOSAT).

### 배나무속 식물의 유전적 다양성

대부분의 배나무속 식물은 이배체이며( $2n=2x=34$ ), 3배체( $2n=3x=51$ )나 4배체( $2n=4x=68$ )도 존재한다. 배 품종들은 단일 S 유전자좌에 의해 조절되는 자가불화합성으로 인해 근연종과는 물론이고 배나무속의 품종간에도 교배불친화성이 존재하여 고도로 이형접합인 유전적 배경을 가지고 있다(Yamamoto and Chevreau 2009). 이처럼 유전적으로 잡박하기 때문에 육종을 위한 유전자 풀의 다양성을 확보하고 증대시키기에는 유리하지만, 배나무속 식물의 종들 간에 경계가 뚜렷하지 않아 유전적 다양성을 평가하는데 어려움이 있으며, 내흔계를 작성하여 정밀육종을 하는 것이 매우 어렵다. 또한, 사과나무 등과 마찬가지로 실생묘는 유년성이 크기 때문에 세대를 진전하기가 어렵고 따라서 세대간 비교를 통한 연구가 제한된다(Lamoureux et al. 2006). 이러한 배나무의 유전적, 생리적 특이성들은 주요 특성에 대한 정확한 유전 연구를 어렵게 하며, 유전형상에 대한 이해도가 낮기 때문에 효율적이고 정밀한 품종 육성에도 큰 제한요인이 되고 있다.

### 배나무속 식물의 유전연구와 분자표지

초기 배나무속 식물의 유전연구는 주로 형태적 특성과 차이를 바탕으로 종간 또는 품종간 분류를 시도하는 수준이었다(Kikuchi 1948; Rehder 1915; Yuan and Du 1980). 하지만 표현형을 이용한 분류는 야생종 집단의 부족이나 낮은 형태적 다양성에 따른 품종 특이적 특성의 부족과 비의도적인 상호교배 등으로 인해 한계가 있었다. 또한 형태적 특성은 환경의 영향을 받는다는 단점이 있어 그 활용이 제한적일 수 밖에 없었다(Mondini et al. 2009; Winter and Kahl 1995). 이후 2차 대사산물에 해당하는 동위효소나 페놀화합물 특성 등의 생화학적 표지가 배의 종 및 품종 구분에 이용되었으나, 이러한 표지들 역시 동일개체에서도 식물의 발달단계와 노출된 환경에 의해 대사산물의 차이가 나거나 분류에 적용할 수 있는 다형성 높은 표

지의 수가 제한되어 정밀한 분류나 유전양상의 분석에 활용하기에는 한계가 있었다(Challice and Westwood 1973; Jang et al. 1991; Kajiura et al. 1979; Lin and Shen 1983; Westwood and Challice 1978; Zou et al. 1986).

최근 식물 분자생물학 분야의 발전과 기술의 발달에 따라 DNA의 다형성에 근거한 다양한 분자표지들이 개발되면서 이를 이용한 배나무의 유전연구도 급격히 증가하였다(Fig. 1). 기존의 형태적, 생화학적 표지에 비해 DNA 정보에 근거한 분자표지들은 환경적 요인이나 식물의 발달단계에 영향을 받지 않는 장점을 가지고 있으며 다형성이 높고 적용 가능한 표지의 수가 충분하여 대량의 분자표지들을 개발하여 연구에 이용할 수 있게 되었다(Belaj et al. 2002). 배나무속에서는 1997년 RFLP (restriction fragment length polymorphisms) (Kim et al. 2002; Okada et al. 2004; Tan et al. 2008)를 이용한 연구가 진행되었으며, 이후 AFLP (amplified fragment length polymorphisms) (Dolatowski et al. 2004; Monte-Corvo et al. 2000), RAPD (random amplification of polymorphic DNA) (Kim et al. 2000; Kim and Ko 2004; Teng et al. 2001, 2002), SSR (simple sequence repeats) (Bao et al. 2007; Bassil et al. 2005; Kimura et al. 2002), SNP (Single nucleotide polymorphisms) (Montanari et al. 2013; Terakami et al. 2014; Wu et al. 2013, 2014; Yamamoto et al. 2011) 등의 분자표지들이 유연관계분석, 품종구분, 양친분석, 유전자 지도 작성, 양적형질 유전자좌(quantitative trait loci, QTL) 연구 등에 이용되었다. 특히, 2001년부터 현재까지 SSR 표지를 활용한 연구에 가장 많이 진행되고 있는데, 이는 SSR 표지가 진핵생물의 유전체 내에 많이 분포하며(Litt and Luty 1989; Luty et al. 1990), 짧은 단편(2-6bp)의 염기 서열이 반복되어 길이에 의한 차이에 의해 매우 높은 다형성을 보이고(Moore et al. 1991), SSR의 반복이나 발생의 빈도가 종들 사이에서 다르게 나타난다는 특징을 가지고 있기 때문이다. 또한 SSR 표지는 공우성이고 유전자좌당

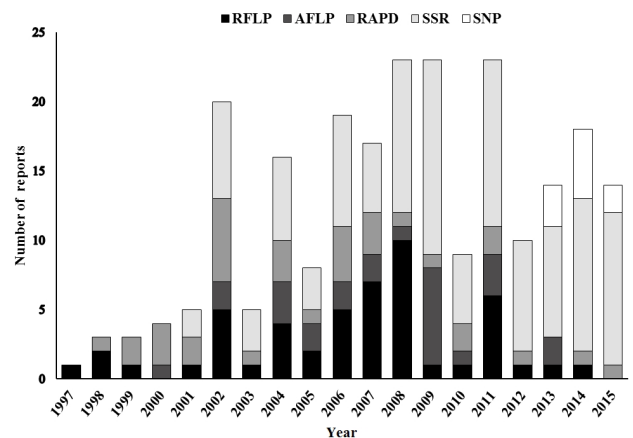


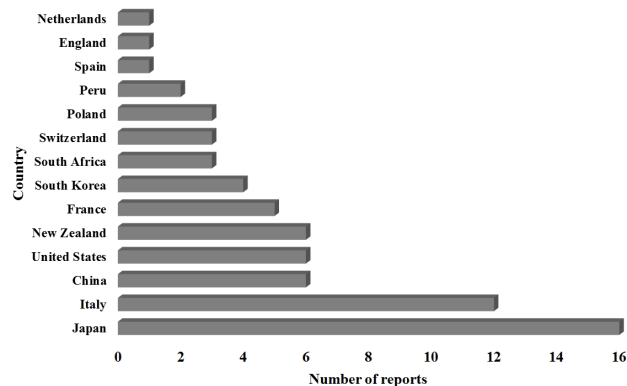
Fig. 1 The number of reports on molecular markers of genus *Pyrus* between 1997 and 2015

대립유전자의 수가 많으며 PCR 기술을 기반으로 하기 때문에 비교적 분석이 쉬워 배나무를 비롯한 다른 작물의 유전연구에도 많이 이용되고 있다(Maghuly et al. 2005; Moore et al. 1991; Powell et al. 1996; Weber and May 1989).

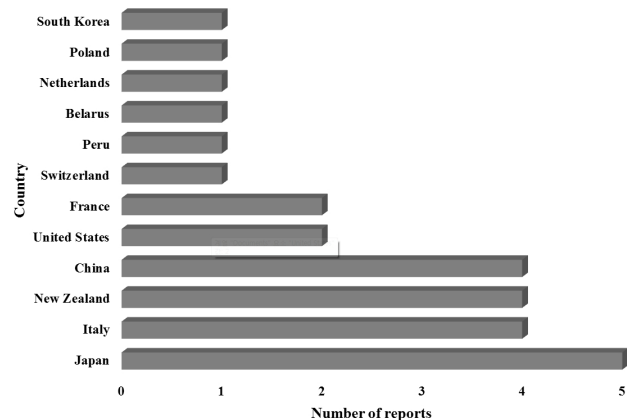
### 배나무 유전자지도의 작성과 활용

유전자지도의 작성은 유전연구의 기초작업으로서 배나무속의 유전체연구 및 정밀한 신품종 육종을 위해서도 꼭 필요한 것으로 받아들여진다. 고밀도 유전자지도는 목적 형질과 연관된 QTL의 위치를 예측할 수 있으며, 분자표지이용선택(marker-assisted selection, MAS), 분자표지이용육종(marker-assisted breeding) 등을 가능하게 해주기 때문에 많은 연구팀들에서 이를 작성하고 활용도를 높이는 시도가 이루어지고 있다(Yamamoto et al. 2007).

배나무의 유전자지도는 일본배(*P. pyrifolia*)와 서양배(*P. communis*), 중국배(*P. bretschneideri*), 중간잡종(*P. hybrid*) 등에서 작성되었다. 국가별 배의 유전자지도 작성과 관



**Fig. 2** The number of reports on genetic linkage map construction for genus *Pyrus* using various molecular markers in different countries



**Fig. 3** The number of reports on quantitative trait locus (QTL) analysis for genus *Pyrus* using molecular markers in different countries

련된 연구 현황은 Figure 2와 같다. 현재까지 일본에서 동양배와 중간잡종 집단을 대상으로 유전자지도 작성에 대하여 가장 많은 연구가 진행되고 있으며, 뒤를 이어 중국에서 최근 연구가 활발히 이루어지고 있다. 서양배는 이탈리아, 미국, 뉴질랜드 등 주요 배 생산국들을 중심으로 연구가 이루어지고 있다. 배나무의 유전자지도에는 AFLP, SSR, SNP 등의 다양한 분자표지들을 이용하여 작성되고 있으며(Iketani et al. 2001; Montanari et al. 2013; Pierantoni et al. 2004, 2007; Sun et al. 2009; Terakami et al. 2014; Yamamoto et al. 2002, 2007; Zhang et al. 2013), 다양한 분자표지가 집적되어 지도가 포화됨에 따라 QTL에 대한 정확도 높은 분석도 수행되고 있다(Fig. 3). 배나무속 식물에서의 QTL에 대한 연구는 배흑성병(Iketani et al. 2001; Pierantoni et al. 2004, 2007), 배화상병(Dondini et al. 2004) 등 병 저항성 유전자좌에 관한 연구가 주로 진행되었으며, 영양생장(Sun et al. 2009), 과실 특성(Zhang et al. 2013) 등에 관한 연구도 진행되었다. 최근 차세대 염기서열 분석(next generation sequencing, NGS) 기술을 이용한 연구가 진행되면서 대량의 분자표지들이 개발되고 있고, 이를 이용한 고밀도 유전자지도 작성할 수 있게 되어 다양한 집단과 형질을 대상으로 하는 배나무속 식물의 유전연구가 더 활발히 진행되고 있다(Chagné et al. 2014; Montanari et al. 2013; Terakami et al. 2014; Wu et al. 2013).

### 배나무의 차세대 염기서열 분석

차세대 염기서열 분석(next generation sequencing, NGS)에 기반한 대량 유전정보의 활용 기술은 과수작물에서도 복잡한 유전현상의 해석에 따른 어려움을 극복할 수 있는 새로운 기술로 각광 받고 있다. 기존의 DNA 염기서열분석에 이용된 Sanger 분석법(Sanger et al. 1997)은 초기에 비해 리드의 길이나 효율, 비용적 측면에서 크게 개선이 되었다(Madabhushi 1998; Prober et al. 1987; Smith et al. 1986). 하지만 시료의 처리 방법과 모세관 전기영동(capillary electrophoresis) 기술을 이용한 분석구조는 비용 절감의 한계 요인으로 작용하였다. 나노기술이나 생물정보학 분야의 기술 발달로 DNA 염기서열 분석 속도 및 용량을 획기적으로 증가시킬 수 있는 새로운 기술이 등장하게 되었으며, NGS는 Sanger 염기서열 분석법의 대안으로 나타난 대량분석이 가능한 신속하고 저렴한 기술들을 통칭한다(Varsheny 2009). 다양한 NGS 기술들은 대량 병렬 반응 및 다중처리를 토대로 획기적으로 염기서열 분석 비용의 감소를 이루어 냈다(Smailus et al. 2005). 최근 NGS 기술을 이용하여 대용량, 고효율, 저비용으로 식물의 유전체를 해독할 수 있게 되었으며(Mardis 2008; Morozova and Marra 2008), 배나무속에서도 이를 이용한 유전체 해독

연구가 다수 진행되고 있다.

배나무속에서 차세대 염기서열 분석을 이용한 유전체 분석은 대표적 중국배 품종인 ‘Danshansuli’ (*P. bretschneideri*)를 대상으로 중국에서 가장 먼저 수행되었다. Wu (2013) 등은 BAC-by-BAC과 Illumina HiSeq을 이용하여 유전체를 분석하였으며(194x), 유전체의 크기는 배나무 전체 유전체의 97.1%에 해당하는 512Mb였다. 17개의 염색체에 2,005개의 SNP로 구성된 고밀도 유전자지도를 작성하였으며, 42,812개의 단백질 코딩 유전자를 확인하였다. 또한 자가 불화합성, 석세포, 솔비톨, 과실 휘발성 화합물 등에 관련된 유전자들을 동정하였다. 서양배의 유전체는 대표적 서양배 품종인 ‘Bartlett’ (*P. communis*)을 대상으로 뉴질랜드에서 드래프트 분석을 완료하였다(Chagné et al. 2014). 서양배는 총 142,083개의 scaffold로 구성되었으며, 600Mb로 추정되는 배나무속 유전체 크기 중 577.3Mb를 조립하였다. 또한 유전자 예측을 통해 다른 12개의 식물들의 게놈과 비교하였을 때 서양배에서만 나타나는 독특한 1,219개의 단백질을 발견하였으며, 과실의 연화와 관련하여 세포벽에서 발견되는 expansin 유전자를 서양배와 근연속인 사과(*Malus x domestica*)의 유전체와 비교하여 분석하였다.

### 배나무의 게놈전체연관분석

게놈전체연관분석(genome-wide association study, GWAS)는 대상 생물의 유전체 전체에 조밀하게 분포된 분자표지들의 유전자형과 분석하고자 하는 표현형과의 관련성을 통계적으로 분석하고 연구하는 방법으로, 인간의 복잡한 유전체에서 질병에 관련된 유전자를 동정하기 위한 매우 효과적인 접근법으로 알려져 있다(Altshuler et al. 2008; International HapMap Consortium 2005; Nordborg and Weigel 2008). 그러나 GWAS는 식물에서 복잡한 유전체와 형질의 분석에는 많이 적용되지 않았는데(Atwell et al. 2010; Gore et al. 2009; Nordborg and Weigel 2008) 이는 주로 식물에서 적용하여 활용할 수 있는 효과적인 유전자형 동정하는 기술과 고밀도 유전자지도의 개발에 대한 한계 때문이었다(International HapMap Consortium 2005; International HapMap Consortium 2007). 하지만 최근 NGS 기술의 발달과 이를 이용한 GBS(genotyping by sequencing) 기술은 대량의 SNP를 저렴하고 효율적으로 탐색하여 고밀도 유전자지도 작성을 가능하게 하였으며 이들은 정확한 표현형 자료와의 비교를 통한 GWAS를 통해 유용한 유전자 발굴하고 정밀한 분자표지의 개발을 가능하게 하였다(Buckler et al. 2009; Cockram et al. 2010; Famoso et al. 2011). 배나무에서 게놈전체 연관분석은 NGS 기반의 고밀도 유전자지도를 활용한 것은 아니지만 일본의 Yamamoto (2014) 등은 배

의 생산성과 관련된 9가지 형질에 관하여 162개의 분자표지를 대상으로 연관 분석을 수행하였으며, 76개의 일본배 품종에서 4개의 분자표지가 검은점무늬병 저항성, 수확시기, 가지의 수 등 3가지 형질과 연관되어있음을 확인하고 GWAS의 유용성과 활용 가능성을 강조하였다. 아직까지 배나무속 식물에서 GWAS에 대한 연구는 다른 작물에 비해 많이 부족하지만 저렴하고 효율적인 대량의 분자표지 개발과 농업적 중요 형질에 대한 정확한 표현형 분석을 기반으로 하는 연구가 선진국을 중심으로 진행되고 있어 이를 활용한 유용 유전자 발굴과 유전자양상에 대한 이해는 배 육종 효율을 획기적으로 향상시킬 수 있는 강력한 도구가 될 것이다.

### 국내의 배나무 유전체 연구현황 및 전망

국내에서 동양배에 대한 유전체 연구는 Illumina HiSeq 2000을 이용하여 남방형 동양배인 ‘황금배’(*P. pyrifolia*)와 북방형 동양배인 한국재래종 ‘청실리’(*P. ussuriensis*), 이들의 유전체를 함께 보유하고 있는 중간잡종에 해당하는 ‘미니배’(*P. hybrid*)를 대상으로 resequencing 분석을 실시하였다. 표준 유전체로 사용된 중국배(Wu et al. 2013)와 비교하여 맵핑한 결과, 세 품종은 총 리드 중 약 73.4%가 맵핑되어 총 444.5Mb로 조립되었다(Oh et al. 2015b). 이후 세 품종간에 비교 분석을 통해 다형성을 가지는 SNP, SSR, InDel(insertion and deletion) 마커를 개발하였고, 국내의 배나무 유전자원에 적용하여 개발된 분자표지들의 유용성을 검증하였다(Oh et al. 2015a; Won et al. 2015). 또한, 배나무의 형태형질과 연관한 유전체 연구가 진행 중인데 국내에 수집된 배나무의 유전자원 전체를 대상으로 형태형질 및 분자표지 분석 연계를 통해 691점의 유전자원 중 54점(7.8%)의 자원을 핵심자원으로 선발하였으며, 그 중 배나무 유전자원 320점의 30%에 해당하는 95자원의 핵심집단에 대한 GBS를 수행하고 있다. 이를 이용하여 얻어진 분자표지들을 이용하여 우선적으로 정밀 유전자 지도를 작성하고 개발된 SNP를 이용하여 숙기, 과중, 당도 등 유용형질과 연관된 GWAS를 수행할 예정이다.

한국은 중국과 함께 동양배의 발달과 분화에 관련한 2차 기원지(Chellice and Westwood 1973; Kim and Ko 2004; Sax 1931), 3종 이상의 기본종이 자생하고 있으며 오랜 재배역사를 통해 이들의 중간교잡에 의한 재래품종들이 존재하고 있을 뿐 아니라 과수작물 중 가장 먼저 교배육종이 시작되어 많은 교배품종들이 육성되고 다양한 배나무 유전자원이 확보되어 있다. 또한 동양배에 대한 유전이나 육종 관련 연구는 실질적으로 한국과 일본, 중국에서만 수행되고 있으며 유전체 해독에 대한 연구는 대부분의 국가에서 아직 시작단계의 수준에 있다. 최근 미국은

RosBREED 1단계 프로젝트(2009~2013년)를 통하여 장미과 과수에서 분자표지를 이용한 육종 연구를 수행하였으며, RosBREED 2단계 프로젝트(2015~2019)에서는 기존의 대상 작물에 배, 블랙베리, 장미 등의 장미과 작물을 추가하였고, 1단계 연구 결과를 기반으로 병 저항성 유전육종 연구를 실시하여 비교유전체 분석을 통한 장미과 작물의 분자육종 실현을 최종 목표로 하고 있다(Iezzoni et al. 2010, 2015). 서양의 경우 과수 작물의 유전체 정보 획득 및 형질 연관 분자표지 개발에 주력하고 있으며, 이러한 유전체 정보를 이용하여 정밀한 과수 육종 기반을 구축하고 있다(Laurens et al. 2010). 국내에서 과수 유전체 정보의 집적 및 활용 연구는 초본성 작물에 비하여 부족하지만 선진국의 과수 작물에 대한 연구현황과 비교하여 그 수준 차이가 크지 않기 때문에 연구와 기술개발의 경쟁력이 있다고 할 수 있다. 따라서 현재 추진 중인 NGS 기술을 기반으로 한 GWAS 분석은 배나무에 있어 유용 유전자의 동정 및 중요 농업적 주요형질과 연관된 분자마커의 개발을 통해 과수작물이 가진 유전분석의 어려움을 극복할 수 있는 신뢰성 있는 대안이 될 것이다. 유전체 정보를 이용한 배나무의 고효율 정밀 육종은 생산자의 어려움을 경감시키는 것은 물론이고 시장과 소비자의 기호에 맞는 배나무 신품종의 육성에 기여하여 국내 과수산업의 활성화와 국제 경쟁력을 높이는데 중요한 역할을 담당할 것이다.

## 사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구개발사업(세부과제번호: PJ01105601)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## 적 요

배나무는 원산지와 분화방향에 따라 유럽, 미국, 호주 등에서 주로 재배되는 서양배와 중국, 일본, 한국 등 동남아시아 지역을 중심으로 분포 및 재배되고 있는 동양배로 구분된다. 17개의 기본염색체를 가진 배나무는 대부분 이배성( $2n=2x=34$ )이며, 단일 S 유전자좌에 의해 조절되는 자가불화합성과 과수 작물의 주요 특징인 유년성으로 인해 유전 연구 및 정밀한 품종 육성에 큰 제한을 받고 있다. 배나무속 식물의 유전연구는 분자생물학 관련 기술의 발달로 다양한 형태의 분자 표지의 개발이 이루어짐과 동시에 유연관계분석, 유전자지도작성, QTL 분석과 같은 다양한 유전연구에 활발히 이용되었다. 또한 배나무의 유전자지도는 병 저항성이나 다양한 유용형질과 연관된 QTL 확인을 위한 연구로 이어지고 있다. 대량 병

역 반응 및 다중처리를 토대로 획기적인 염기서열 분석 비용의 감소를 이뤘던 NGS 기술은 대용량, 고효율, 저비용으로 식물 유전체 해독을 가능하게 하여, 중국배 'Danshansuli'와 유럽배 'Bartlett'에서 유전체 분석이 완료되었다. 최근 국내에서는 황금배, 청실리 및 미니배의 resequencing 및 GBS를 통한 SNP 탐색 등의 연구를 통해 화기, 숙기 당도 등 농업적으로 유용형질에 대한 게놈전체 연관분석을 수행하고 있다.

## References

- Altshuler D, Daly MJ, Lander ES (2008) Genetic mapping in human disease. *Science* 322:881-888
- Atwell S, Huang YS, Vilhjálmsson BJ, Willems G, Horton M, Li Y, Meng D, Platt A, Tarone AM, Hu TT, Jiang R, Muliyaati NW, Zhang X, Amer MA, Baxter I, Brachi B, Chory J, Dean C, Debieu M, de Meaux J, Ecker JR, Faure N, Kniskern JM, Jones JDG, Michael T, Nemri A, Roux F, Salt DE, Tang C, Todesco M, Traw MB, Weigel D, Marjoram P, Borevitz JO, Bergelson J, Nordborg M (2010) Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature* 465:627-631
- Bailey LH (1917) *Pyrus*. Standard cyclopedia of horticulture. Vol. 5. Macmillan, New York
- Bao L, Chen K, Zhang D, Cao Y, Yamamoto T, Teng Y (2007) Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus* L.) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers. *Genet Resour Crop Evol* 54:959-971
- Bassil NV, Postman JD, Neou C (2005) *Pyrus* microsatellite markers from genebank sequences. *Acta Hort* 671:289-292
- Belaj A, Satovic Z, Rallo L, Trujillo I (2002) Genetic diversity and relationships in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. *Theor Appl Genet* 105:638-644
- Bell RL (1990) Pears (*Pyrus*), p. 655-697. In: JN Moore, JR Ballington Jr. (eds.). Genetic resources of temperate fruit and nut crops I. ISHS, Wageningen, Netherlands
- Buckler ES, Holland JB, Bradbury PJ, Acharya CB, Brown PJ, Browne C, Ersoz E, Flint-Garcia S, Garcia A, Glaubitz JC, Goodman MM, Harjes C, Guill K, Kroon DE, Larsson S, Lepak NK, Li H, Mitchell SE, Pressoir G, Peiffer JA, Rosas MO, Rocheford TR, Romay MC, Romero S, Salvo S, Villeda HS, da Silva HS, Sun Q, Tian F, Upadaya N, Ware D, Yates H, Yu J, Zhang Z, Kresovich S, McMullen MD (2009) The genetic architecture of maize flowering time. *Science* 325:714-718
- Cockram J, White J, Zuluaga DL, Smith D, Comadran J, Macaulayb M, Luoc Z, Kearsyc MJ, Werner P, Harrap D, Tapsell C, Liub H, Hedley PE, Steine N, Schultee D, Steuernagele B, Marshall DF, Thomasb WTB, Ramsayb L, Mackaya I, Baldingf DJ, The AGOUEB Consortium, Waughb R, O'Sullivan DM (2010) Genomewide association mapping

- to candidate polymorphism resolution in the unsequenced barley genome. *Pro Natl Acad Sci USA* 107:21611–21616
- Chagné D, Crowhurst RN, Pindo M, Thrimawithana A, Deng C, Ireland H, Fiers M, Dzierzon H, Cestaro A, Fontana P, Bianco L, Lu A, Storey R, Knäbel M, Saeed M, Montanari S, Kim YK, Nicolini D, Llarger S, Stefani E, Allan AC, Bowen J, Harvey I, Johnston J, Malnoy M, Troggio M, Perchepped L, Sawyer G, Wiedow C, Won K, Viola R, Hellens RP, Brewer L, Bus VGM, Schaffer RJ, Gardiner SE, Velasco R (2014) The draft genome sequence of European pear (*Pyrus communis* L. ‘Bartlett’). *PLOS ONE* 9:e92644
- Challice JS, Westwood MN (1973) Numerical taxonomic studies of genus *Pyrus* using both chemical and botanical characters. *Bot J Linn Soc* 67:121–148
- Chun JA, Do KR, Kim SH, Cho KH, Kim HR, Hwang HS, Shin IS (2012) In vitro shoot regeneration from leaf tissue of ‘Whangkeumbae’ pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *J Plant Biotechnol* 39:288–294
- Dolatowski J, Nowosielski J, Podyma W, Szymanska M, Zych M (2004) Molecular studies on the variability of Polish semi-wild pears (*Pyrus*) using AFLP. *J Fruit Orn Plant Res* 12:331–337
- Dondini L, Pierantoni L, Gaiotti F, Chiodini R, Tartarini S, Bazzi, Sansavini S (2004) Identifying QTLs for fire-blight resistance via a European pear (*Pyrus communis* L.) genetic linkage map. *Mol Breed* 14:407–418
- Famoso AN, Zhao K, Clark RT, Tung C-W, Wright MH, Bustamante C, Kochian LV, McCouch SR (2011) Genetic architecture of aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through genome-wide association analysis and QTL mapping. *PLoS Genet* 7:e1002221
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013) FAOSTAT-Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Ferree DC, Warrington IJ (2003) Apples: Botany, production and uses. CABI publishing
- Gore MA, Chia JM, Elshire RJ, Sun Q, Ersoz ES, Hurwitz BL, Peiffer JA, McMullen MD, Grills GS, Ross-Ibarra J, Ware DH, Buckler ES (2009) A first-generation haplotype map of maize. *Science* 326:1115–1117
- Iketani H, Abe K, Yamamoto T, Kotobuki K, Sato Y, Saito T, Terai O, Matsuta N, Hayashi T (2001) Mapping of disease-related genes in Japanese pear using a molecular linkage map with RAPD markers. *Breed Sci* 51:179–184
- International HapMap Consortium (2005) A haplotype map of the human genome. *Nature* 437:1299–1320
- International HapMap Consortium (2007) A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 449:851–861
- Iezzoni A, Weebadde C, Luby J, Yue C, van de Weg E, Fazio G, Main D, Peace CP, Bassil NV, McFerson J (2010) RosBREED: Enabling marker-assisted breeding in Rosaceae. *Acta Hort* 859:389–394
- Iezzoni A, Peace CP, Bassil NV, Coe M, Finn C, Gasic K, Luby J, Main D, McFerson, Norelli J, Olmstead M, Whitaker VM, Yue C (2015) RosBREED: Combining disease resistance with horticultural quality in new Rosaceous cultivars. In: Plant and animal genome XXIII conference. PAG
- Jang JT, Tanabe K, Tamura F, Banno K (1991) Identification of *Pyrus* species by peroxidase isozyme phenotypes of flower buds. *J Jpn Soc Hort Sci* 60:513–519
- Kajiura I, Yamaki S, Omura M, Akihama T, Machida Y (1979) Improvement of sugar content and composition in fruits, and classifications of East Asian pears by the principal component analysis of sugar compositions in fruits (in Japanese with English summary). *Jpn J Breed* 29:1–12
- Kikuchi A (1948) Horticulture of fruit trees. Vol. 1. Yokendo, Tokyo
- Kim D, Ko KC (2004) Identification markers and phylogenetic analysis using RAPD in Asian pears (*Pyrus* spp.). *J Kor Soc Hort Sci* 45:194–200
- Kim HT, Kim HJ, Nou IS, Hirata Y, Kang KK (2002) Identification of self-incompatibility alleles by S-RNases sequencing and PCR-RFLP analysis in Korean-bred pear (*Pyrus pyrifolia*) strains. *Acta Hort* 587:467–476
- Kim CS, Lee GP, Han DH, Ryu KH, Lee CH (2000) Classification and identification of *Pyrus pyrifolia* using RAPD. *J Kor Soc Hort Sci* 41:119–124
- Kimura T, Zhong SY, Moriyuki S, Kazuo K, Nagao M, Tateki H, Yoshiyuki B, Toshiya Y (2002) Identification of Asian pear varieties by SSR analysis. *Jpn Breed Sci* 52:115–121
- KOSTAT (2014) [http://kostat.go.kr/portal/korea/kor\\_nw/2/7/1/index.board](http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/7/1/index.board)
- Kovanda M (1965) On the generic concepts in the Maloideae. *Preslia (Praha)* 37:27–34
- Lamoureux D, Bernole A, Le Clainche I, Tual S, Thureau V, Paillard S, Legeai F, Dossat C, Wincker P, Oswald M, Merdinoglu D, Vignault C, Delrot S, Caboche M, Chalhou B, Adam-Blondon A-F (2006) Anchoring of a large set of markers onto a BAC library for the development of a draft physical map of the grapevine genome. *Theor Appl Genet* 113:344–356
- Laurens F, Aranzana MJ, Arús P, Bonany J, Corelli L, Patocchi A, Peil A, Quilot B, Salvi S, van de Weg E, Vecchiotti A (2010) Fruit-Breedomics: A new European initiative to bridge the gap between scientific research and breeding Rosaceae fruit tree crops. Book of abstracts v 2. IHC Lisbon, p. 242
- Lin B, Shen D (1983) Studies on the germplasmic characteristics of *Pyrus* by use of isozymic patterns (in Chinese with English summary). *Acta Agr Univ Zhejiang China* 9:235–243
- Litt M, Luty JA (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet* 44:397–401
- Luty JA, Guo Z, Willard HF, Ledbetter DH, Ledbetter S, Litt M (1990) Five polymorphic microsatellite VNTRs on the human X chromosome. *Am J Hum Genet* 46:776–783
- Madabhushi RS (1998) Separation of 4-color DNA sequencing extension products in noncovalently coated capillaries using low viscosity polymer solutions. *Electrophoresis* 19:224–230
- Maghuly F, Fernandez EB, Ruthner SZ, Pedryc A, Laimer M (2005) Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca*

- L.) reflects their geographic origin and breeding history. *Tree Genet Genomes* 1:151–165
- Mardis ER (2008) The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet* 24:133–141
- Mondini L, Noorani A, Pagnotta MA (2009) Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity* 1:19–35
- Montanari S, Saeed M, Knäbel M, Kim Y, Troggio M, Malnoy M, Velasco R, Fontana P, Won K, Durel C-E, Perchepped L, Schaffer R, Wiedow C, Bus V, Brewer L, Gardiner SE, Crowhurst RN, Chagné D (2013) Identification of *Pyrus* single nucleotide polymorphisms (SNPs) and evaluation for genetic mapping in European pear and interspecific *Pyrus* hybrids. *PLoS ONE* 8:e77022
- Monte-Corvo L, Cabrita L, Oliveira C, Leitao J (2000) Assessment of genetic relationships among *Pyrus* species and cultivars using AFLP and RAPD markers. *Genet Resour Crop Evol* 47:257–265
- Moore SS, Sargeant LL, King TJ, Mattick JS, Georges M, Hetzel DJS (1991) The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. *Genomics* 10: 654–660
- Morozova O, Marra MA (2008) Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics. *Genomics* 92:255–264
- Nordborg M, Welgel D (2008) Next-generation in plants. *Nature* 456:720–723
- Oh Y, Kim S, Shin H, Won J, Oh S, Kim YK, Kim D (2015a) High-throughput SSR marker development in Korean pear using next-generation sequencing. In: Plant and animal genome XXIII conference. PAG
- Oh Y, Kim YK, Kim D (2015b) Current status of knowledge and research perspectives in Korean pear genomics. *Plant Breed Biotech* 3:323–332
- Okada K, Takasaki T, Saito T, Moriya Y, Castillo C, Norioka S, Nakanishi T (2004) Reconsideration of S-genotype for a Japanese pear 'Kumoi'. *J Jpn Soc Hortic Sci* 73:524–528
- Pierantoni L, Cho KH, Shin IS, Chiodini R, Tartarini S, Dondini L, Kang SJ, Sansavini S (2004) Characterisation and transferability of apple SSRs to two European pear F<sub>1</sub> populations. *Theor Appl Genet* 109:1519–1524
- Pierantoni L, Dondini L, Cho KH, Shin IS, Gennari F, Chiodini R, Tartarini S, Kang S-J, Sansavini S. (2007) Pear scab resistance QTLs via a European pear (*Pyrus communis*) linkage map. *Tree Genet Genomes* 3:311–317
- Powell W, Machray GC, Provan J (1996) Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci* 1:215–222
- Prober JM, Trainor GL, Dam RJ, Hobbs FW, Robertson CW, Zagursky RJ, Cocuzza AJ, Jensen MA, Baumeister K (1987) A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain terminating dideoxynucleotides. *Science* 238:336–341
- Rehder A (1915) Synopsis of the Chinese species of *Pyrus*. *Proc Amer Acad Art Sci* 50:225–241
- Rubzov GA (1944) Geographical distribution of the genus *Pyrus* and trends and factors in its evolution. *Am Naturalist* 78: 358–366
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci* 74:5463–5467
- Sax K (1931) The origin and relationships of the Pomoideae. *J Arnold Arboretum* 12:3–22
- Smailus DE, Marziali A, Dextras P, Marra MA, Holt RA (2005) Simple, robust methods for high-throughput nanoliter-scale DNA sequencing. *Genome Res* 15:1447–1450
- Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes P, Dodd C, Connell CR, Heiner C, Kent SBH, Hood LE. (1986) Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* 321:674–679
- Sun W, Zhang Y, Le W (2009) Construction of a genetic linkage map and QTL analysis for some leaf traits in pear (*Pyrus* L.). *Front Agric China* 3:67–74
- Tan XF, Wuyun T, Zhang DQ, Zeng TL, Li XG (2008) Isolation and identification of seven new S-RNase genes from *Pyrus pyrifolia* in China. *Acta Hort* 769:289–296
- Teng Y, Tanabe K, Tamura F, Itai A (2001) Genetic relationships of pear cultivars in Xinjiang, China as measured by RAPD markers. *J Hortic Sci Biotech* 76:771–779
- Teng Y, Tanabe K, Tamura F, Itai A (2002) Genetic relationships of *Pyrus* species and cultivars native to East Asia revealed by randomly amplified polymorphic DNA markers. *J Am Soc Hortic Sci* 127:262–270
- Terakami S, Nishitani C, Kunihisa M, Shirasawa K, Sato S, Tabata S, Kurita K, Kanamori H, Katayose Y, Takada N, Saito T, Yamamoto T (2014) Transcriptome-based single nucleotide polymorphism markers for genome mapping in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Tree Genet Genomes* 10:853–863
- Varshney RK, Nayak SN, May GD, Jackson SA (2009) Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends Biotechnol* 27:522–530
- Weber JL, May PE (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 44:388–396
- Westwood MN, Challice JS (1978) Morphology and surface topography of pollen and anthers of *Pyrus* species. *J Amer Soc Hort Sci* 103:28–37
- Winter P, Kahl G (1995) Molecular marker technologies for plant improvement. *World J Microbiol Biotechnol* 11:438–448
- Won J, Oh Y, Kim S, Shin H, Oh S, Kim YK, Kim D (2015) Development of high-throughput Indel marker based on next generation sequencing in Korean pears (*Pyrus* spp.). In: Plant and animal genome XXIII conference. PAG
- Wu J, Li L-T, Li M, Khan MA, Li X-G, Chen H, Yin H, Zhang S-L (2014) High-density genetic linkage map construction and identification of fruit-related QTLs in pear using SNP and SSR markers. *J Exp Bot* doi: 10.1093/jxb/eru311
- Wu J, Wang Z, Shi Z, Zhang S, Ming R, Zhu S, Khan MA, Tao S, Korban SS, Wang H, Chen NJ, Nishio T, Xu X, Cong L, Qi I K, Huang X, Wang Y, Zhao X, Wu J, Deng C, Gou C, Zhou W, Yin H, Qin G, Sha Y, Tao Y, Chen H, Yang Y, Song Y, Zhan D, Wang J, Li L, Dai M, Gu C, Wang Y, Shi D, Wang X, Zhang H, Zeng L, Zheng D, Wang C, Chen M, Wang G, Xie L, Sovero V, Sha S, Huang W, Zhang S, Zhang M, Sun J, Xu

- L, Li Y, Liu X, Li O, Shen J, Wang J, Paull RE, Bennetzen JL, Wang J, Zhang S (2013) The genome of the pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *Genome Res* 23:396–408
- Yakovin NA, Fesenko IA, Isachkin AV, Karlov GI (2011) Polymorphism of microsatellite loci in cultivars and species of pear (*Pyrus* L.). *Rus J Genet* 47:564–570
- Yamamoto T, Kimura T, Shoda M, Imai T, Saito T, Sawamura Y, Kotobuki K, Hayashi T, Matsuta N. (2002) Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears. *Theor Appl Genet* 106:9–18
- Yamamoto T, Kimura T, Terakami S, Nishitani C, Sawamura Y, Saito T, Kotobuki K, Hayashi T (2007) Integrated reference genetic linkage maps of pear based on SSRs and AFLPs. *Breed Sci* 57:321–329
- Yamamoto T, Chevreau E (2009) Pear genomics, p. 163–186. In: Genetics and genomics of Rosaceae. Springer, New York
- Yamamoto T, Terakami S, Moriya S, Hosaka F, Kurita K, Kanamori H, Katayose Y, Saito T, Nishitani C (2011) DNA markers developed from genome sequencing analysis in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). In: XIII Eucarpia symposium on fruit breeding and genetics 976:477–483
- Yamamoto T, Terakami S, Takada N, Nishio S, Onoue N, Nishitani C, Kunihisa M, Inoue E, Iwata H, Hayashi T, Itai A, Saito T (2014) Identification of QTLs controlling harvest time and fruit skin color in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Breed Sci* 64:351–361
- Yuan F, Du S (1980) Pears of northwestern China (in Chinese). Shaanxi Sci Technol Press, Xian, People's Republic of China
- Zhang R-P, Wu J, Li X-G, Khan MA, Chen H, Korban SS, Zhang S-L (2013) An AFLP, SRAP, and SSR genetic linkage map and identification of QTLs for fruit traits in pear (*Pyrus* L.). *Plant Mol Biol Rep* 31:678–687
- Zeven AC, Zhukovsky M (1975) Dictionary of cultivated plants and their centres of diversity. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen
- Zou L, Zhang X, Zhang Z, Sun B, Guo S (1986) Studies on the systematic relationship of some of the species in the genus *Pyrus* based on pollen grain morphology (in Chinese with English summary). *Acta Hort Sinica* 13:219–224