

블루베리 유전체 연구현황 및 전망

김진국 · 윤해근

Current status and prospects of blueberry genomics research

Jin Gook Kim · Hae Keun Yun

Received: 16 December 2015 / Revised: 29 December 2015 / Accepted: 29 December 2015
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Blueberry (*Vaccinium* spp.) is a bush that grows well at special cultural environments such as acid soil, high organic matter content, and a good drainage and aeration compared to other general crops. Blueberries are well known to contain high amounts of anthocyanins and phenolic compounds, resulting in high antioxidant activity that provides health benefits, and expanding the cultivation areas and consumer's demand in the worldwide. However, the full genome of blueberry has not been announced until now. Furthermore, the genomic analysis and transcriptome approaches are not so popular compare to major crops such as orange, apple, and grape. The aim of the review about blueberry genomic research is to establish the platform for setting blueberry breeding target, increasing proficiency of blueberry research, and making the practical cultivation techniques in Korea. The main topics in the blueberry genomic research including transcriptome, genetic mapping, and various markers are related with cold hardiness, chilling requirement, hot tolerance, anthocyanin content, and flavonoid synthesis pathway on various tissues like flower bud, leaf bud, shoot, root, and berry fruit. The review of the current status of blueberry genomic research will provide basic information to the breeders and researchers and will contribute to development of blueberry industry with sustainable productions

and increase of blueberry consumption as new profitable crops in Korea.

Keywords *Vaccinium*, Genomics, Marker assisted breeding, Transcriptome

서론

블루베리 과실은 기능성이 우수하여 21세기의 슈퍼푸드 로 불리고 있고, 세계적으로 재배면적이 증가하고 있으며, 소비자의 수요 역시 급증하고 있다. 따라서 블루베리 육종가들과 연구자들은 보다 효율적인 블루베리 신품종 개발과 우수한 품질의 과실생산을 목표로 연구 중이다. 블루베리는 현재 서로 다른 여러 가지 종들이 다양한 기후대에서 널리 재배되고 있으며, 재배기간의 온도, 토성, 강수량 등 환경요인과 생물학적 및 비생물학적 스트레스에 의하여 수량성, 과실품질, 수세 등이 크게 영향을 받게 된다. 그러므로 이러한 다양한 환경 조건에서 보다 안정적인 수량 확보와 기능성이 높은 품종 선발과 재배기술 향상에 대한 연구가 필요하다.

이러한 목표를 달성하기 위해서는 블루베리 유전체와 생리적 특성의 이해를 기반으로 내한성, 저온요구도, 내서성, 내병성, 내충성이 강한 계통에 대한 유전체 해석 및 유전체 활용 전략이 필요하다. 또한 소비자들을 위해서는 높은 함량의 안토시아닌과 식이섬유, 식미도 증진, 보다 저렴한 가격의 과실 생산이 가능하도록 하여야 하며, 육종가에게는 위와 같은 다양한 유전적 정보들을 제공할 필요성이 있다(Lobos and Hancock 2015; Mudd et al. 2013). 이와 같은 다양한 목표를 효율적이고 단기간에 이루기 위해서는 블루베리의 유전체, 전사체 분석과 함께 마커를 기반으로 한 육종, 유전자지도 작성 등이 필요하

J. G. Kim
경상대학교 원예학과, 경상대학교 농업생명과학연구원
(Dept. of Horticulture, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea, Insti. of Agric. & Life Sci., Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea)

H. K. Yun (✉)
영남대학교 원예생명과학과
(Department of Horticulture & Life science, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea)
e-mail: haekun@ynu.ac.kr

다. 본 논문에서는 블루베리 유전체 연구에 대한 최근 동향과 앞으로의 연구전망에 대하여 소개하고자 한다.

블루베리의 식물학적 특성 및 가치

블루베리(*Vaccinium* spp.)는 히말라야, 뉴기니, 남아프리카의 안데안까지 세계적으로 자생하는 진달래과(Ericaceae)의 관목식물이며, 진달래과 식물의 기원은 남아메리카로 추정되고 150~450종이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Retamales and Hancock 2012). 진달래과에는 *Cyanococcus* (blueberries)속, *Oxycoccus* (cranberries)속, *Vitis-Idaea* (lingonberry)속, *Myrtillus* (bilberry, whortleberry)속으로 분류되며, 대다수의 종들은 다배수성(polyploidy)이며 복수의 염색체들로 이루어져 있다. 염색체수는 2배체($2N=2X=14$), 4배체($2N=4X=28$), 6배체($2N=6X=42$)가 있다. 상업적으로 재배되고 있는 주요 블루베리는 *Vaccinium corymbosum* L. (highbush blueberry), *V. ashei* Reade (rabbiteye blueberry; syn. *V. virgatum* Ait.), *V. angustifolium* Ait. (lowbush blueberry)이 있으며, 하이부쉬 블루베리는 저온요구도, 내한성과 같은 생리적 특성에 따라 북부하이부쉬(northern highbush), 남부하이부쉬(southern highbush), 반수고하이부쉬(half highbush)의 3종류로 구분된다.

블루베리는 최근에 상업화된 신생과수로서 1900년대에 미국의 뉴저지에서 육종을 시작하여 1908년에 Frederick Coville박사에 의해서 최초의 블루베리 교잡종이 탄생한 이후, 현재까지 100여종류 이상의 품종들이 출시되었으며, 세계각지에서 재배면적이 증가하고 있다. 그러나 블루베리는 pH 4.2~5.5 정도의 산성토양에서 생육이 우수하고 유기물함량이 높고, 배수성과 통기성이 우수한 토양에서 생육이 양호한 특성을 지니고 있어 타 과수작물과 비교하여 재배지 토성에 따른 수량성과 과실품질, 수세 등이 현저하게 다르므로 자생지역 이외의 재배지역에서는 예정지 관리 등을 통한 과원준비가 반드시 필요하다. 따라서 보다 광범위한 지역과 토양조건, 환경조건에 적응이 가능한 품종선발과 육종전략이 필요하다.

블루베리에 함유된 다양한 기능성 물질들은 인체 내에서 자유라디칼로서 작용하여 DNA의 안정성을 유지하고, 뇌기능 증진, 암세포 형성을 억제하며 심혈관질환의 발병을 억제하는 것으로 보고되었다(Zafra-Stone et al. 2007). 이러한 이유로 블루베리는 21세기의 슈퍼푸드라는 별칭을 얻었고, 현재 세계적으로 소비가 지속적으로 증가하고 있으며 소비자들은 보다 기능성이 높은 과실과 맛있는 블루베리 과실을 선호하고 있다.

블루베리 유전체 연구 현황

현재까지 블루베리의 전체 유전체에 대한 염기서열 분석이 완료되지 않았으나 추정된 유전체 크기는 500~608 Mb/haploid 유전체로 *Arabidopsis* 보다 5배 정도 크다(Costich et al. 1993). 이는 목본성 과수인 포도, 복숭아, 나무딸기보다 1.5~3배 큰 것으로 추정된다(Arús et al. 2012; Graham and Jennings 2009; Jaillon et al. 2007).

최근까지 진달래과(Ericaceae), 진달래속(*Rhododendron*)의 식물로부터 1,200개, 블루베리로부터 5,000개의 ESTs (Expressed Sequence Tags)가 동정되었으며 이에 대한 정보가 이용 가능하게 되었다(Rowland et al. 2008, 2011). 이러한 ESTs들은 블루베리와 블루베리속 식물들의 저온순화 연구에서 도출되었으며, 블루베리에서는 꽃눈에서의 비순화와 저온순화에 대한 연구(Dhanaraj et al. 2004, 2006)와 진달래속 식물에서는 비순화와 저온순화에 대한 잎눈에서의 발현 유전자 단편조합들이 구축되었다(Wei et al. 2005). 그 외의 16,000개의 ESTs들은 뉴질랜드의 Plant & Food Research Ltd에서 구축되었으나, 현재 공식적으로 이용할 수 없는 상태이다. 2013년까지 22,400개의 블루베리 EST가 NCBI GenBank에 등록되었으며, 96.5%가 표준 라이브러리 형태이며 식물체로서는 131번째의 순위를 차지하였다(Die and Rowland 2012).

현재까지 진행된 블루베리 유전체 연구는 (1) 블루베리의 과실, 꽃눈, 잎, 줄기에서 보다 많은 EST를 구축하고 (2) 이러한 EST를 활용하여 SSR 마커와 EST-PCR 마커를 개발하고 (3) 이러한 마커들을 이용하여 2배체와 4배체 매핑 집단에서 저온요구도, 내한성, 과실 품질에 대한 QTLs 매핑을 보고하였다(Rowland et al. 2011).

블루베리 전사체 분석 연구

블루베리의 저온내성, 탈순화에 대한 전사체 연구

로우부쉬 블루베리는 내한성이 강하여 북미와 캐나다와 같은 극저온에서도 생육이 우수한 반면, 래빗아이 및 남부하이부쉬 블루베리는 저온에 민감하여 주로 플로리다와 같은 온난한 지역에 재배되고 있다. 세계적으로 주요한 상업적 재배종인 북부하이부쉬의 경우도 동계기 저온에 대한 내한성에 의하여 재배한계지가 결정되고 있다(Rowland et al. 2011). 이러한 블루베리의 저온내성에 대한 다양한 변이와 저온요구도 차이, 탈순화에 대한 분자적인 기작 구명을 위하여 블루베리의 꽃눈, 과실, 잎과 줄기에서의 전사체 발현을 분석 하였고, 노지에서의 저온과 저온실에서의 환경에 따른 저온에 대한 전사체 발현을 비교 보고하였다(Dhanaraj et al. 2006; Die and Rowland

2014; Rowland et al. 2012).

전사체에 대한 염기서열 분석은 식물체의 조직 및 상태와 관련된 genome-wide expression profiling을 포함한 유전자들의 downstream 분석에 있어서 아주 중요한 정보를 제공할 수 있다. 이러한 목표를 달성하기 위해서는 annotated reference 전사체에 대한 이용여부가 아주 중요하다.

블루베리에 있어 내한성이 강한 품종 선발은 안정적인 과실 생산과 수확 생육 및 재배지 확대를 위해 아주 중요하다. 블루베리의 내한성에 대한 유전적 요인들에 대한 이해도 증진을 위하여 Dhanaraj 등(2006)은 내한성이 강한 '블루크롭'을 대상으로 노지와 저온생육상에서의 저온순화 후의 꽃눈에서의 유전자의 발현 변화에 대하여 비교 조사하였다. 흥미롭게도 노지환경에서의 저온순화보다는 인위적인 저온생육상에서의 저온에 대하여 보다 많은 유전자들의 발현이 유도된 것으로 조사되었다. 저온생육상에서 유도된 많은 유전자들은 크게 세가지 그룹으로 구분할 수 있었다. 첫째, 스트레스 저항성과 관련된 유전자들이 발현 되었으며, 둘째, 해당경로와 TCA 회로에 관여하는 유전자들로 조사되었으며, 셋째로 단백질 생합성 기작에 관련된 유전자들이었다. 반면에 노지환경에서 발현된 유전자들은 약한 스트레스에 대한 유전자들이 보고 되었다.

Die와 Rowland (2014)는 시기적인 저온 순화의 차이를 비교하기 위하여 2개의 cDNA 라이브러리로부터 454개 염기서열 조합을 조립하였고 Gene ontology 기능분류를 통해 4,343 (80.0%)개의 유전자를 기능별로 분류하였다. 저온에 대한 노출시간이 0시간과 397시간 부여된 블루베리 '블루크롭' 품종에 대한 저온순화와 내한성의 기작에 대한 분석결과, 블루베리의 저온순화는 저온요구도가 397시간 충족되었을 때 저온순화 기간 동안 탄수화물 대사 경로에 중요한 변화가 이루어지는 것으로 조사되었다.

Microarray 기술을 이용하여 블루베리의 저온 순화 증가에 따라 다양한 전사체들이 증가하는 것으로 조사되었으며, 온실과 노지환경에서의 저온에 따른 전사체 비교 시, 발현 양상이 다른 것으로 보고되었고, 내한성 품종과 저온에 민감한 품종간의 전사체 발현이 다른 것으로 조사되었다(Dhanaraj et al. 2006; Rowland et al. 2008).

블루베리 과실발육 관련 전사체 분석 연구

최근에는 NGS를 이용한 전사체 분석이 이루어지고 있으며 미국의 Rowland 등(2012a)은 pyrosequencing 방법(454 EST sequencing)을 이용하여 북부하이부시 '블루크롭'의 과실발육 시기별, 저온순화 시기별 꽃눈, 잎과 줄기의 전사체 600,000개 이상을 profiling하여 약 15,000개의 contig와 124,000개의 singleton을 조립하고 기능 염색체지도를 작성하였다. 조합된 염기서열은 SSR을 위해 선발 발굴되

었으며 NCBI의 SRA database에 공개하였다. Rowland 등 (2012a)의 연구결과에 따르면 완숙된 과실의 전사체에서 aspartic proteinase, burp domain-containing protein, flavonoid 3-hydroxylase, ethylene-forming enzyme, aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 유전자가 높게 발현 되었다. 대조적으로 미숙 과실의 경우는 metallothionein-like protein, burp domain-containing protein, lipid transfer protein, dehydrin protein, 2s albumin 등의 유전자가 가장 높게 발현되었다. 과실의 발육시기별 분석은 꽃눈과 과실 발육간의 세포내의 변화 과정과 전사 조절에 대한 보다 명확한 이해에 대한 정보를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

이와 같은 전략으로 Li 등(2012)은 안토시아닌 함량이 많고, 항산화 활성이 높은 '노스랜드' 품종의 안토시아닌 생합성과 관련된 분자 메카니즘에 대한 연구를 수행하였다. 만개 후 50일에 과피와 과육으로부터 라이브러리를 구축하였고 Illumina RNA-Seq 염기서열 분석 결과를 이용 de novo assembly를 수행하여 34,464개의 unigene을 분리하였다. 또한 전사체 profiling 비교를 통하여 과실 성숙 기간 중의 대사변화와 안토시아닌 함량을 조절하는 90개의 서로 다른 유전자를 확인하였다(Li et al. 2012).

현재까지 연구 분석된 블루베리 염기서열 결과는 몇 곳의 웹사이트에 등록되어 있다. Floral Genome Project에서 관리하는 Plant Genome Network(PGN: <http://www.pgn.cornell.edu/>)에는 블루베리 꽃눈에서 1,758개의 EST와 1,549개의 unigene에 대한 정보를 수록하고 있다(Albert et al. 2005). Blueberry Genomics Database (BBGD: <http://bioinformatics.towson.edu/BBGD/>)에는 블루베리의 저온순화와 동해에 대한 유전자 동정을 위한 EST와 microarray 분석 결과가 등록되어 있다. 최근에는 블루베리, 크렌베리와 다른 진달래과 식물에 대한 유전체, 유전학, 육종과 관련된 연구 분석결과가 Genome Database (<http://www.vaccinium.org/>)에 공개되어 있다.

블루베리 기능성 물질에 대한 전사체 연구

건강을 유지하는데 도움이 되는 기능성 식품에 대한 이해도 증진과 연구결과의 뒷받침으로 베리류생산이 세계적으로 급증하고 있다. 베리류에 함유된 비타민C, 셀룰로스, 펙틴, 안토시아닌, 플라보노이드 등은 항암, 항궤양, 항산화, 항염작용 같은 각종 질병에 대한 치유능력으로서의 중요한 위치를 차지한다. RFLP, RAPD, AFLP, ISSR EST-PCR 같은 DNA 기반의 마커를 활용한 기능성 물질의 발현도 조사는 환경에 대한 영향을 배제하면서 신속하고 저비용으로 분석이 가능하여 다양한 유전적 변이 집단에서의 고 기능성 개체 및 품종 선발에 활용할 수 있다 (Debnath et al. 2012).

블루베리에 있어서 중요한 기능성 물질인 안토시아닌

(Gupta et al. 2015; Li et al. 2012)과 플라보노이드 생합성 (Li et al. 2015; Zifkin et al. 2012)에 관련된 여러 가지 유전자 및 전사체에 대한 연구가 보고 되었다. Li 등(2012)은 안토시아닌 함량이 높은 ‘노스랜드’ 품종을 대상으로 RNA-seq 분석을 통하여 안토시아닌 생합성에 관련된 34,464 개의 unigene과 1,236개의 transcript, 862개의 잠정적인 전사인자를 보고하였고, 블루베리 과피에서 안토시아닌과 관련된 92개의 유전자들이 서로 다르게 발현되었다.

Gupta 등(2015)은 블루베리 과실의 발육 기간 중의 과실들과 성숙단계의 과실을 대상으로 생리활성 물질들과 과실 성숙에 관련된 후보 유전자들을 대상으로 RNA-Seq 분석을 통하여 *ab initio* gene finder를 통하여 약 60,000개의 유전자 모델을 도출하였고, 이는 포도 *Vitis vinifera* 종의 단백질들의 약 절반이 넘는 것으로 보고하였다. RNA-Seq 유전체 profiling의 결과 블루베리의 성장, 발육, 성숙 기간 중 대사경로의 효소들과 전사 조절인자들의 상향 및 하향조절에 대한 조절을 포함한 활발한 유전자 발현이 이루어지는 것으로 조사되었다.

이와 같은 안토시아닌과 플라보노이드의 생합성에 관련된 다양한 전사체 정보들은 블루베리 및 베리류의 유전자 발현, 유전체학, 기능성 유전체학 연구에 중요한 역할을 할 것으로 기대된다.

블루베리 관련 분자표지 및 유전자지도 작성 연구

최초의 블루베리 유전자 지도 작성은 분자표지 기반의 육종을 위한 준비작업으로 시작되었다. Rowland 연구팀 (USDA-ARS, Beltsville, Maryland)은 저온요구도에 대한 2배체 집단의 분리를 위해서 유전자지도를 작성하였다 (Rowland and Levi 1994). 이 유전자 지도는 중간 교잡된 F1 (*V. darrowii* x *V. elliotii*)과 *V. darrowii*의 영양체와의 교잡으로부터 작성되었으며 72개의 RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) 마커를 이용하였으며 그 결과는 블루베리의 염색체수와 일치하였다. 또한 RAPD 마커를 이용하여 *V. corymbosum* (*V. caesariense* Mack.) x *V. darrowii* hybrids와 *V. darrowii* 및 *V. corymbosum*의 조합으로 저온요구도와 내한성 분리를 위한 목적으로 유전자 지도를 작성하였다. Hancock 연구팀(미시간주립대학교)은 140개의 RAPD 마커를 이용하여 4배체 ‘US 75’ x *V. corymbosum* ‘Bluecrop’의 조합으로 유전자지도를 제작하였다(Ou and Hancock, 1997).

새로운 마커 기반의 유전체 분석방법의 발전에 의해 기존의 유전자지도에 SSR (simple sequence repeat) 마커 (Rowland et al. 2003a; Boches et al. 2005; 2006), EST-PCR 마커를 추가하여 새로운 유전자지도를 보고하였다. QTL (quantitative trait locus) 지도 분석을 통해 블루베리에서의 내한성 변이는 약 20% 정도로 보고되었다(Rowland et al.

2003b). 최근에는 EST-PCR, EST-SSR, QTL 분석방법이 블루베리의 내한성, 저온요구도, 유전자 패턴분석, 품종식별, 유전적 변이와 유전물질의 이동성에 대한 다양한 연구들에 활용되고 있다(Bian et al. 2014; Debnath 2014; Liu et al. 2014; Rowland et al. 2010; Rowland et al. 2014).

블루베리 유전체 연구 전망

지난 수십 년간 유전체 분석 방법의 획기적인 발전에 의해 블루베리의 생리학적 특성에 대한 이해도가 증가하고 있다. 그러나 블루베리는 유전적인 다양성이 상당히 크며, 세대가 길고, 높은 이질성, 자식약세, 다배성 등으로 인하여 전통 육종 방식에 의한 품종 개량은 상당한 시간이 소요되고 있는 실정이다(Lobos and Hancock 2015).

최근 유전체의 염기서열 분석을 보다 신속하고 저비용으로 가능하게 하는 NGS 분석방법을 통한 유전체 해독을 활용한 마커 기반의 육종 시스템은 육종연한을 단축함은 물론 여러 가지 제반 비용을 획기적으로 줄여 줄 것으로 기대된다. 또한 블루베리 유전체 해독을 통하여 저온순화, 내한성, 토양 적응성, 고온피해, 고기능성, 내병성, 내충성 등의 기작에 관여하는 유전자 분리 및 유용 유전자를 활용하여 우수 품종 육성에 기여할 것으로 기대된다.

블루베리 재배 및 수요는 세계적으로 증가추세에 있으며 아니라 국내에서도 지속적으로 재배면적 증가와 더불어 소비자의 수요가 증가하고 있다. 그러나 블루베리는 국내에 도입된 역사가 짧고 연구가 시작된 지 얼마 되지 않은 관계로 아직까지 건전한 수체관리, 안정적인 과실 생산, 고품질 과실 생산에 대한 체계적인 관리지침이 확립되지 않은 실정이다. 또한 국내 재배환경에서 보다 우수하고 고기능성의 과실 생산을 위한 품종 선발과 재배 기술에 대한 연구가 필요한 실정이다. 따라서 블루베리 유전체 해석과 전사체 분석, 다양한 마커를 활용한 분자 육종을 병행한다면 국내에서도 안정적인 블루베리 생산과 고기능성 과실생산이 가능할 것으로 기대된다.

적 요

블루베리는 유기물 함량이 높고 통기성과 배수성이 양호한 산성토양에서 생육이 우수한 관목식물이다. 블루베리 과실은 안토시아닌 함량이 높고 항산화 활성이 우수한 기능성 과실로서 소비자 수요가 급증하고 있으며 전 세계적으로 재배면적이 급속하게 증가하고 있다. 그러나 아직까지 블루베리 전체 유전체에 대한 해독이 이루어지지 않았으며, 타 작목에 비하여 유전체 연구가 많이 이루어

어지지 않고 있다. 본 총설의 목적은 블루베리 유전체 연구현황 분석을 통하여 국내 블루베리 유전체 연구에 대한 목표 설정, 효율성 증진, 실용화 방안에 대한 플랫폼을 구축하는데 있다. 지금까지의 블루베리 유전체, 전사체, 마커에 대한 연구는 블루베리의 내한성, 저온요구도, 환경적인 스트레스 요인에 대한 이해 증진과 재배 적응성을 높이기 위한 식물학적 이해와 우량 계통 및 품종 선발에 대한 육종 효율성을 높이기 위한 목표로 연구가 수행되었다. 본 총설에서 살펴본 블루베리 유전체 연구에 대한 현황분석은 국내의 유전체 연구자 및 블루베리 연구자들에게 국내환경에서 보다 재배적응성이 우수하고 지속적이며 고기능성의 과실생산을 위한 품종 육성과 재배기술 연구에 대한 기초자료를 제공할 것이며 국내에서 신소득 과수로서 블루베리가 정착하고 발전하는데 크게 기여할 것으로 생각된다.

References

- Albert V, Soltis D, Carlson J, Farmerie W, Wall PK (2005) Floral gene resources from basal angiosperms for comparative genomics research. *BMC Plant Biol* 5:5
- Arús P, Verde I, Sosinski B, Zhebentyayeva T, Abbott A (2012) The peach genome. *Tree Genetics Genomes* 8:531–547
- Bian Y, Ballington J, Raja A, Brouwer C, Reid R, Burke M, Wang X, Rowland, LJ, Bassil N, Brown A (2014) Patterns of simple sequence repeats in cultivated blueberries (*Vaccinium* section *Cyanococcus* spp.) and their use in revealing genetic diversity and population structure. *Mol Breeding* 34:675–689
- Boches PS, Bassil NV, Rowland LJ (2005) Microsatellite markers for *Vaccinium* from EST and genomic libraries. *Mol Ecol Notes* 5:657–660
- Boches P, Bassil NV, Rowland LJ (2006) Genetic diversity in the highbush blueberry *Vaccinium corymbosum* L. evaluated with microsatellite markers. *J Amer Soc Horti Sci* 131:674–686
- Chen L, Liu Y, Liu H, Kang L, Geng J, Gai Y, Ding Y, Sun H, Li Y (2015) Identification and expression analysis of MATE genes involved in flavonoid transport in blueberry plants. *PLoS ONE* 10(3):e0118578
- Costich DE, Ortiz R, Meagher TR, Bruederle LP, Vorsa N (1993) Determination of ploidy level and nuclear DNA content in blueberry by flow cytometry. *Theor Appl Genetics* 86:1001–1006
- Debnath SC (2014) Structured diversity using EST-PCR and EST-SSR markers in a set of wild blueberry clones and cultivars. *Biochem System Ecol* 54:337–347
- Debnath SC, Siow YL, Petkau J, An D, Bykova NV (2012) Molecular markers and antioxidant activity in berry crops: Genetic diversity analysis. *Canadian J Plant Sci* 92:1121–1133
- Dhanaraj AL, Slovin JP, Rowland LJ (2004) Analysis of gene expression associated with cold acclimation in blueberry floral buds using expressed sequence tags. *Plant Sci* 166:863–872
- Dhanaraj AL, Alkharouf NW, Beard HS, Chouikha LB, Matthews BF, Wei H, Arora R, Rowland LJ (2006) Major differences observed in transcript profiles of blueberry during cold acclimation under field and cold room conditions. *Planta* 225:735–751
- Die JV, Rowland LJ (2013) Advent of genomics in blueberry. *Mol Breeding* 32:493–504
- Die JV, Rowland LJ (2014) Elucidating cold acclimation pathway in blueberry by transcriptome profiling. *Environ Exper Bot* 106:87–98
- Graham J, Jennings N (2009) Raspberry breeding, p. 233–248. In: SM Jain, PM Priyadarshan (Eds.). *Breeding plantation tree crops: temperate species*. Springer, New York, USA
- Gupta V, Estrada A D, Blakley I, Reid R, Patel K, Meyer MD, Anderson SU, Brown A, Lila MA, Loraine AE (2015) RNA-Seq analysis and annotation of a draft blueberry genome assembly identifies candidate genes involved in fruit ripening, biosynthesis of bioactive compounds, and stage-specific alternative splicing. *GigaScience* 4:5
- Jaillon O, Aury J-M, Noel B (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449:463–467
- Li X, Sun H, Pei J, Dong Y, Wang F, Chen H, Sun Y, Wang N, Li H, Li Y (2012) De novo sequencing and comparative analysis of the blueberry transcriptome to discover putative genes related to antioxidants. *Gene* 511:54–61
- Liu YC, Liu S, Liu DC, Wei YX, Liu C, Yang YM, Tao CG, Liu WS. (2014) Exploiting EST databases for the development and characterization of EST-SSR markers in blueberry (*Vaccinium*) and their cross-species transferability in *Vaccinium* spp. *Sci Hort* 176:319–329
- Lobos GA, Hancock JF (2015) Breeding blueberries for a changing global environment: a review. *Front Plant Sci* 6:782
- Mudd AB, White EJ, Bolloskis MP, Kapur NP, Everhart KW, Lin Y-C, Brown RH (2013) Students' perspective on genomics: from sample to sequence using the case study of blueberry. *Front Genet* 4:245
- Qu L, Hancock JF (1997) RAPD-based genetic linkage map of blueberry derived from an interspecific cross between diploid *Vaccinium darrowii* and tetraploid *V. corymbosum*. *J Amer Soc Horti Sci* 122:69–73
- Retamales JB, Hancock JF (2012) *Blueberries*. CABI Publishing, Wallingford, UK
- Rowland L, Alkharouf N, Darwish O, Ogden E, Polashock J, Bassil N, Main D (2012a) Generation and analysis of blueberry transcriptome sequences from leaves, developing fruit, and flower buds from cold acclimation through deacclimation. *BMC Plant Biol* 12:46
- Rowland LJ, Alkharouf N, Bassil N, Beers L, Bell DJ, Buck EJ, Drummond FA, Finn CE, Graham J, Hancock JF, McCallum SM, Olmstead JW (2012b) Generating genomic tools for blueberry improvement. *Int J Fruit Sci* 12:276–287
- Rowland LJ, Ogden EL, Ehlenfeldt MK (2010) EST-PCR markers developed for highbush blueberry are also useful for genetic fingerprinting and relationship studies in rabbiteye blueberry. *Sci Hort* 125:779–784

- Rowland LJ, Levi A (1994) RAPD-based genetic linkage map of blueberry derived from a cross between diploid species (*Vaccinium darrowii* and *V. elliotii*). Theor Appl Genetics 87:863–868
- Rowland LJ, Dhanaraj AL, Naik D, Alkharouf N, Matthews B, Arora R (2008) Study of cold tolerance in blueberry using EST libraries, cDNA microarrays and subtractive hybridization. HortScience 43:1975–1981
- Rowland LJ, Hancock JF, Bassil NV (2011) Blueberry, p. 1–40. In : KM Folta, C Kole (Eds.). Genetics, Genomics and Breeding of Berries. Science Publishers, Enfield, NH, USA
- Rowland LJ, Mehra S, Dhanaraj A, Ogden EL, Arora R. (2003a) Identification of molecular markers associated with cold tolerance in blueberry. Acta Hort 625:59–69
- Rowland LJ, Ogden EL, Bassil N, Buck EJ, McCallum S, Graham J (2014) Construction of a genetic linkage map of an interspecific diploid blueberry population and identification of QTL for chilling requirement and cold hardiness. Mol Breed. 34:2033–2048
- Rowland LJ, Smriti M, Dhanaraj A, Ehlenfeldt M, Ogden E, Slovin J (2003b) Development of EST-PCR markers for DNA fingerprinting and mapping in blueberry (*Vaccinium*, Section *Cyanococcus*). J Amer Soc Horti Sci 128:682–690
- Wei H, Dhanaraj AL, Rowland LJ, Fu Y, Krebs SL, Arora R (2005) Comparative analysis of expressed sequence tags from cold-acclimated and nonacclimated leaves of *Rhododendron catawbiense* Michx. Planta 221:406–416
- Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D (2007) Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. Mol Nutr Food Res 51:675–683
- Zifkin M, Jin A, Ozga JA, Zaharia LI, Scherthner JP, Gesell A, Abrams SR, Kennedy JA, Constabel CP (2012) Gene expression and metabolite profiling of developing highbush blueberry fruit indicates transcriptional regulation of flavonoid metabolism and activation of abscisic acid metabolism. Plant Physiol 158:200–224