J Plant Biotechnol (2016) 43:466-472
DOI:https://doi.org/10.5010/JPB.2016.43.4.466

ISSN 1229-2818 (Print)
ISSN 2384-1397 (Online)

Research Article

SSR 마커를 이용한 배 유전자원의 유연관계

천재안 · 조강희 · 김세희 · 이한찬 · 최인명 · 박서준

Genetic relationships of pear germplasms using simple sequence repeat marker

Jae An Chun · Kang Hee Cho · Se Hee Kim · Han-Chan Lee · In Myong Choi · Seo Jun Park

Received: 19 October 2016 / Revised: 14 November 2016 / Accepted: 14 November 2016
ⓒ Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract This study analyzed the genetic diversity of 115 pear germplasms using 15 SSR markers. Three to forty-one SSR alleles were detected for each locus with an average of 16 alleles per locus. The average availability of markers was 0.966. The average observed heterozygosity (H_{obs}) was 0.603 (range: 0.140 to 0.929). The average expected heterozygosity (H_{exp}) was 0.718 (range: 0.463 to 0.904). The average polymorphism information content (PIC) was 0.692 (range: 0.403 to 0.897). The genetic relationships of pear germplasms were classified into two major groups by geographic origins and genetic characteristics according to genetic distance. The first group was composed of European pear belonging to *Pyrus communis*. The second group consisted of *P. pyrifolia, P. ussuriensis, P. bretschneideri*, *P. betulaefolia*, *P. calleryana,* interspecific hybrids, and unclear germplasms. The results of this study suggest that genotype analysis of pear germplasms using SSR markers can identify the genetic diversity of germplasms, and can be used to provide basic information for pear breeding.

Keywords *Pyrus*, SSR marker, Genetic diversity, Germplasms

서 론

배(*Pyrus* spp.)는 2000년 전부터 재배되어 온 주요 온대 과수로서 남방형 동양배(*P. pyrifolia* Nakai)와 북방형 동양배(*P. bretschneider* Rehd., *P. ussuriensis* Maxim.) 그리고 유럽과 미국에서 재배되고 있는 서양배(*P. communis* L.)로 구분된다(Bell 1990). 배는 현재 22종이 분류되었으며, 상업적으로 중요한 일부만이 50개 이상의 나라에서 재배되고 있다(Bell et al. 1996). 배는 자가불화합성으로 오랜 기간 진화를 거쳐 유전적 다양성을 가지게 되었다. 따라서 유전적 다양성을 가지는 배 유전자원을 분류하기 위해 형태학적 특징과 생리학적 특징 및 동질효소 분석이 이용되었으나, 환경 조건에 의한 영향, 종간 차이를 나타내는 형태학적 다양성 부족, 널리 퍼져있는 교잡으로 인해 많은 한계를 가지고 있었다(Yamamoto et al. 2002a). 이러한 한계를 극복하기 위해 DNA를 바탕으로 하는 restriction fragment length polymorphisms (RFLPs), amplified fragment length polymorphisms (AFLPs), random amplified polymorphic DNA (RAPD), simple sequence repeats (SSRs) 등의 분자 마커가 개발되었으며, 유전자원의 유전적 다양성 분석과 품종 구분에 이용되어져 왔다(Powell et al. 1996; Phillips and Vasil 2001). 이 중 SSR 마커는 많은 수의 마커와 높은 다형성으로 인해 동물과 식물에서 유전자 표지로서 사용되어 왔으며(Weber and May 1989), PCR 방법을 이용하기 때문에 적은 양의 DNA만으로도 분석이 가능한 장점을 가지고 있다(Kimura et al. 2002). 또한 다른 분자 마커와 비교하여 높은 재현성과 게놈에서의 위치 특이적 및 유전자 좌에 대한 다중대립유전자 등의 특징을 가지고 있어 작물의 유전적 다양성 및 계통의 유연관계를 분석하기에 유리하며, DNA fingerprinting 등에 활용되고 있다(Kimura et al. 2002). SSR 분석은 사과(Hokanson et al. 2001), 복숭아(Dirlewanger et al. 2002), 포도(Emanuelli et al. 2013), 감귤(Barkley et al. 2006) 등 다양한 과수에서 유전

J. A. Chun · K. H. Cho · S. H. Kim · H.-C. Lee · I. M. Choi · S. J. Park (✉)
농촌진흥청 국립원예특작과학원 과수과
(Fruit Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea)
e-mail: grapepark@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

적 다양성, 계통유연관계, 집단구조 분석을 위해 사용되어 왔으며, 유전자원의 수집 및 보존과 품종 판별에 활용되고 있다.

SSR 마커를 이용한 배의 연구동향을 살펴보면 유럽배의 경우 10개의 SSR 마커를 이용한 유전자원 94점의 유전적 다양성 분석(Sehic et al. 2012)과 동양배에서 9개의 SSR 마커를 이용한 유전자원 60점에 대한 유전적 다양성 분석(Kimura et al. 2002) 그리고 8개의 SSR 마커를 이용한 북방형 동양배 72점에 대한 유전적 다양성 분석(Cao et al. 2012) 등 다양한 연구 결과가 보고되었다. 또한 Yamamoto 등 (2001)은 배에서 개발되어진 SSR 마커 뿐만 아니라, 사과에서 개발된 SSR 마커를 이용해 *P. pyrifolia*, *P. bretschneider*, *P. ussuriensis*, *P. communis*. *P. calleryana* Decne의 기본종 5종과 교잡종의 유전적 유연관계를 분석하여 동일한 종 또는 속에 속하는 작물에서 개발된 SSR 마커가 이용될 수 있음을 보고하였다. 하지만 선행된 연구만으로 수집된 배 유전자원의 유전적 관계를 추정하기에는 한계를 가지고 있으며, 특히 국내 육성품종과 국내에서 수집한 재래종에 대한 유전적 유연관계 분석은 미비한 실정이다.

본 연구에서는 SSR 마커를 이용하여 국내외에서 수집된 배 유전자원 115점의 유전적 다양성을 분석하여 유전자원을 이용한 육종의 기초 자료로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물 재료 및 DNA 분리

본 연구에 사용한 재료는 농촌진흥청 국립원예특작과학원에서 보존 중인 배 유전자원 115점을 사용하였다(Table 1). 배의 어린 잎을 채취한 후 액체질소를 이용하여 조직을 마쇄하였으며, DNeasy plant mini kit(Qiagen, Germany)를 사용하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA는 0.7% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였으며, Nanodrop spectrophotometer (Thermo Scientific, USA)로 정량하고, 10 ng·μL^{-1}의 농도로 희석하여 PCR 분석에 사용하였다.

SSR 분석

배 유전자원 분류에 효과적인 SSR 마커를 선발하기 위하여 '신고', 'Bartlett', *P. aromatica*, *P. dimorphophyll*의 genomic DNA와 보고된 CH04d02 등 SSR 마커 200종을 사용하여 (Liebhard et al. 2002; Nishitani et al. 2009; Silfverberg-Dilworth et al. 2006; Yamamoto et al. 2002b) 15종의 다형성을 가지는 마커를 선발하였다(Table 2).

선발된 SSR 마커는 5`말단에 FAM, VIC, NED, PET 중 한가지로 형광표지를 하였으며, 다형성을 분석하였다. PCR 반응은 게놈 DNA 10 ng, 10 pmol의 형광 primer, 1 unit *Taq* polymerase (Takara, Japan), 200 μM dNTP, 1× PCR buffer를 첨가하여 총 반응액을 20 μL로 조정하였다. PCR 증폭은 94°C에서 pre-denaturation 2분 후, 94°C에서 denaturation 30초, annealing 30초, 72°C에서 extension 45초 과정을 35회 반복하였다. PCR 산물은 1/10로 희석하여 서로 다른 형광표지를 가지는 시료를 다중(Multiplex)로 혼합하였으며, Hi-Di Formamide (Applied Biosystem, USA)와 size standard 500LIZ를 첨가한 후 94°C에서 변성시켰다. 변성된 multiplex PCR 산물은 Genetic Analyzer 3730XL (Applied Biosystem, USA) 유전자 분석기를 사용하여 유전자형 분석을 수행하였다. 분석된 data는 GeneMapper® software 4.0 (Applied Biosystem, USA)을 이용하여 대립유전자의 크기를 결정하였다.

통계분석

PowerMarker V3.0 (Lui and Muse 2005) 프로그램을 이용하여 대립유전자(allele), 유전자형(genotype), 마커의 이용도(availability), 관측이형접합률(observed heterozygosity, H_{obs}), 기대이형접합률(expected heterozygosity, H_{exp}), 다형성정보지수(polymorphism information content, PIC) 값을 계산하였다. PowerMarker V3.0 프로그램을 통해 각 집단의 유전적 거리는 Unweighted pair-group method with arithmetical average (UPGMA) (Sneath and Sokal 1973) 방법을 이용하여 집괴분석하여 덴드로그램을 작성하였으며, 이를 바탕으로 유전적 유연관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

SSR genotyping

국내외에서 수집된 유전자원 115점에 대해 15개의 SSR 마커를 이용하여 SSR genotyping을 수행하였으며, 품종간의 유전적 다양성을 분석하였다. 통계분석 결과 대립유전자 수는 3 ~ 41개였으며, 마커당 평균 16개로 나타났다. 각각의 SSR 마커에 대한 대립유전자수는 Hi01c11에서 28개로 가장 높은 다형성을 보였으며, TsuENH012는 3개로 가장 낮았다.

SSR 마커를 이용한 배 유전자원의 연구결과를 살펴보면, Kimura 등 (2002)은 배 유전자원 60종을 대상으로 9개의 SSR 마커를 이용하여 평균 14.8개의 대립유전자를 확인하였으며, Cao 등 (2012)은 배 유전자원 72점을 대상으로 9개의 SSR 마커를 이용하여 평균 13.5개의 대립유전자를 확인함으로서 본 결과와 유사한 대립유전자 수를 보여주었다. 유전자형의 수는 6 ~ 59로 평균 31개였으며, 마커의 이용도는 평균 0.966으로 높게 나타났으며, 특히

Table 1 Pear accessions used in this study

No.	Accession	Origin	No.	Accession	Origin
1	Cheongseori	Korea	59	Kumoi	Japan
2	Goesanhwangbae	Korea	60	Kuratsuki	Japan
3	Gongjucheongsilri	Korea	61	Laiyangcili	Japan
4	Hajinbu 1	Korea	62	Matsushima	Japan
5	Heuksung 1-Wonkyo Na	Korea	63	Meigetsu	Japan
6	Heuksung 2-Wonkyo Na	Korea	64	Namsui	Japan
7	Heuksung 3-Wonkyo Na	Korea	65	Niitaka	Japan
8	Hongcheonnaemyeon 2	Korea	66	Ninomiyahakuri	Japan
9	Hongcheonnaemyeon 3	Korea	67	Okusankichi	Japan
10	Hongcheonnaemyeonjaun 3	Korea	68	Oushuu	Japan
11	Hongcheonsambong 3	Korea	69	Sagami	Japan
12	Injebukmyeonjangsudae 1	Korea	70	Seigyoku	Japan
13	Injegirinbukmyeon 3	Korea	71	Sekaiichi	Japan
14	Injegiringwidun 1	Korea	72	Shichiho	Japan
15	Injegiringwidun 3	Korea	73	Shinchu	Japan
16	Jinbu 1	Korea	74	Shinko	Japan
17	Jinbu 2	Korea	75	Shinsei	Japan
18	Jungsanri 1	Korea	76	Shinseiki	Japan
19	Jungsanri 2	Korea	77	Shinsetsu	Japan
20	Jungsanri 3	Korea	78	Shinsui	Japan
21	Jungsanri 4	Korea	79	Shinzu	Japan
22	Kihu 1	Korea	80	Shishuu	Japan
23	Manpoongbae	Korea	81	Shugyoku	Japan
24	Minibae	Korea	82	Shuurei	Japan
25	Noksu	Korea	83	Shuusui	Japan
26	Pyeongchangbongpyeong 1	Korea	84	Suisei	Japan
27	Pyeongchangbongpyeong 2	Korea	85	Taihaku	Japan
28	Senken	Korea	86	Taihei	Japan
29	Shincheon	Korea	87	Tama	Japan
30	Shinil	Korea	88	Tanzawa	Japan
31	Suhwangbae	Korea	89	TH-11	Japan
32	Suyeong	Korea	90	TH-17	Japan
33	Taebaekchangjuk	Korea	91	TH-7	Japan
34	Yeongmokri	Korea	92	Tosanishiki	Japan
35	Aikansui	Japan	93	Waseaka	Japan
36	Akiakari	Japan	94	Wasehattatsu	Japan
37	Akibae	Japan	95	Yasato	Japan
38	Akizuki	Japan	96	Zuisuu	Japan
39	Amanogawa	Japan	97	Datouhuangli	China
40	Atogo	Japan	98	Dongyangri	China
41	Backri	Japan	99	Gaeryanghongli	China
42	Chikusui	Japan	100	Huangxianchangba	China
43	Chojuro	Japan	101	Manyuanxiang	China
44	Doitsu	Japan	102	Qinglongtian	China
45	Echigonishiki	Japan	103	Anjou-Dwarf	USA
46	Eri	Japan	104	Bartlett-Max Red	USA
47	Gion	Japan	105	Beurre Diel	USA
48	Hakataao	Japan	106	Beurre Superfin	USA
49	Hattatsu	Japan	107	Mustafabey	USA
50	Hokushin	Japan	108	OPR-113	USA
51	Imamuranatsu	Japan	109	OPR-195	USA
52	Ishiiwase	Japan	110	OPR-249	USA
53	Kimizukawase	Japan	111	OPR-264	USA
54	Kinchaku	Japan	112	Passe Crassane	USA
55	Kiraseiki	Japan	113	Gongryong	Unknown
56	Kisui	Japan	114	Chousen	Unknown
57	Kosui	Japan	115	Hayatama	Unknown
58	Kouzou	Japan			

Table 2 Characteristics of the 15 polymorphic SSR markers of genetic diversity of pear accessions

Primer Name	Repeat motif	Annealing Temp. (°C)	Expected product size (bp)	No. of allele	No. of genotype	Availability	Observed heterozygosity (H_{obs})	Expected heterozygosity (H_{exp})	Polymorphism Information Content (PIC)
AF527800	GA	55	168-194	24	40	0.826	0.826	0.904	0.897
CH04d02	GA	55	118-146	21	54	0.983	0.735	0.886	0.877
CH04f03	GA	55	175-191	18	42	1.000	0.583	0.754	0.742
CH04e05	GA	55	174-227	27	59	1.000	0.922	0.900	0.893
CH04g07	GA	55	149-211	25	52	1.000	0.930	0.861	0.850
Hi01c11	GT	55	138-260	41	58	0.983	0.867	0.863	0.858
Hi02d05	GA	60	153-205	7	10	0.991	0.140	0.463	0.424
TsuENH007	(CT)16	55	179	9	18	0.983	0.274	0.484	0.469
TsuENH012	(CT)7.5A(CT)3	55	133	3	6	0.930	0.308	0.467	0.403
TsuENH017	(GA)16	60	188	7	13	1.000	0.539	0.609	0.532
TsuENH049	(GCA)4	55	184	7	14	0.983	0.690	0.722	0.684
TsuENH071	(CTTCTT)3	55	199	7	13	0.913	0.552	0.673	0.624
TsuENH079	(CCA)6	55	192	14	29	0.939	0.759	0.788	0.763
TsuENH087	(TCC)4	55	194	15	27	0.991	0.447	0.580	0.566
TsuENH093	(TGC)4	55	157	16	35	0.974	0.929	0.821	0.804
Mean				16	31	0.966	0.603	0.718	0.692

CH04f03, CH04e05, CH04g07 및 TsuENH017은 이용도가 1.0으로 배 유전자원 115점 모두 관찰되었다. 전체 집단의 관측이형 접합률 H_{obs}는 0.140 ~ 0.929를 가지며, 평균 0.603였으며, 기대이형 접합율 H_{exp}는 0.463 ~ 0.904으로 평균 0.718로 분석되었다. SSR 마커의 변이에 판별 기준으로 사용하는 다형보정지수인 PIC 값은 0.403~0.897이고, 평균 0.692로 분석되었다(Table 2).

배 유전자원 유연관계 분석

SSR genotyping을 이용하여 배 유전자원 115점의 유전적 유연관계를 분석한 결과, 크게 서양배 그룹과 동양배 그룹으로 구분되었다. 서양배 그룹(I)은 8개의 계통으로 구성되었으며, 동양배 그룹(II)는 105계통의 6개 소그룹(II-1, II-2, II-3, II-4, II-5, II-6)으로 분류되었다.

I그룹은 *P. communis*에 속하는 'Mustafabey', 'Bartlett-Max Red', 'Beurre Superfin', 'Passe Crassane', 'Anjou-Dwarf', 'Beurre-Diel'과 국내 육성품종으로서 *P. pyrifolia* 와 *P. communis*의 종간 교배종인 흑성-원교 나(Heuksung-Wonkyo Na) 2 그리고 종이 불명확한 중국에서 도입된 '동양리(Dongyangri)'로 구성되었다. 따라서 '동양리'는 *P. communis*와 다른 종과의 종간 교배종으로 추정된다.

II-1그룹은 9계통의 국내 재래배와 *P. ussuriensis*에 속하는 '만원향(Manyuanxiang)'으로 구성되었으며, 본 그룹에 포함된 재래배는 *P. ussuriensis*로 추정된다. 지리적으로 근접한 장소에서 수집한 '홍천내면(Hongcheonnaemyeon) 3'과 '홍천 내면 자운(Hongcheonnaemyeonjaun) 3', '평창봉평(Pyeongchangbongpyeong) 1'과 '평창봉평(Pyeongchangbongpyeong) 2'은 각각 다른 장소에서 수집한 재래배와 가까운 유전거리를 나타냈는데, '홍천내면 3'은 '인제북면장수대(Injebukmyeonjangsudae) 1'과 가장 가까웠으며, '평창봉평 1'은 '평창봉평 2'와 cluster를 형성하였으나, '홍천 내면 자운 3'과 가장 가까운 유전적 거리를 나타내었다. Kim 등(2015)은 SSR 마커를 이용해 한국에서 수집된 돌배나무의 유전적 다양성을 조사한 결과, 대부분 지역에 따라 그룹화 되었지만 서로 다른 장소에서 수집한 재래배가 가까운 유전거리를 보이기도 하였고, 본 연구에서도 유사한 결과를 나타내었다.

II-2그룹은 콩배 그룹으로 특징지어 졌으며, Callery 콩배(*P. calleryana* Decne) 'OPR-195', 'OPR-249'와 북지콩배(*P. betulaefolia* Bunge) 'OPR-113', 'OPR-264'로 구성되었다. Teng 등(2002)은 RAPD 마커를 이용하여 배 유전자원의 유연관계를 분석한 결과, Callery 콩배와 북지콩배가 서로 다른 그룹을 형성하였는데, 본 연구에서는 동일한 그룹을 형성하여 높은 유연관계를 보여주었다.

II-3그룹은 3계통의 국내 재래배와 1계통의 북방형 동양배로 구성되었는데, 국내 재래배 '진부(Jinbu) 2', '중산리(Jungsanri) 2', '인제기린 북면(Injegirinbukmyeon) 3'은 *P. bretschneideri*에 속하는 '황현장파(Huangxianchangba)'와 동일한 그룹을 형성함으로써 *P. bretschneideri*로 추정된다. 북방형 동양배의 기본종인 *P. bretschneideri*는 *P. pyrifolia*와 *P. ussuriensis*의 종간잡종으로 *P. ussuriensis*에 가까운 유

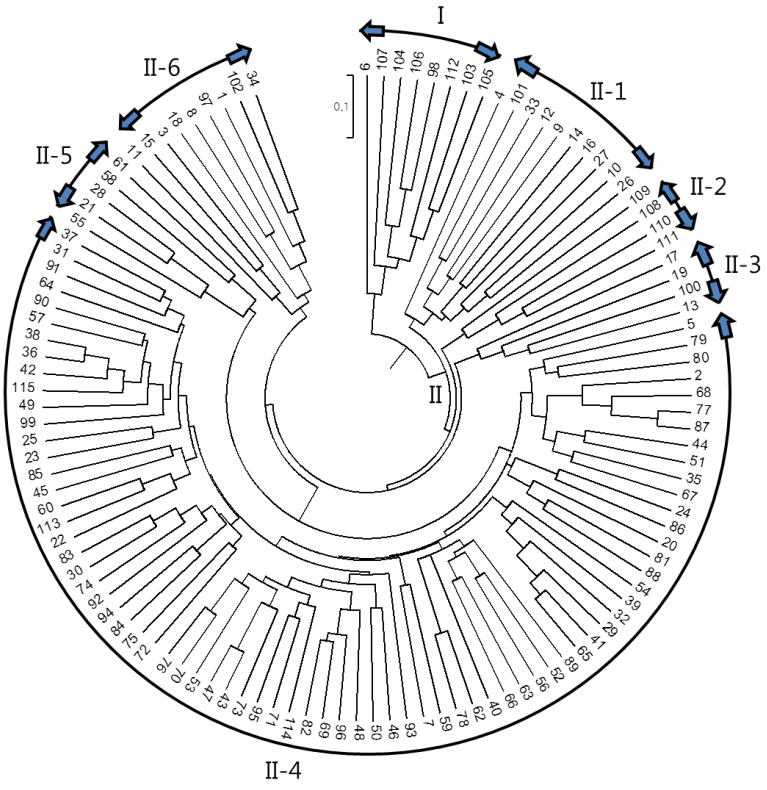

Fig. 1 Phylogenetic tree of 115 pear accessions from UPGMA cluster analysis based on genetic distance using 15 SSR markers. Numbers represent pear accessions as shown in Table 1

전적 특성을 가지고 있으며(Kim, 1998), *P. bretschneideri*와 *P. ussuriensis*에 속한 품종들이 명확하게 구분되지 않는다고 보고하였다(Kimura et al. 2002). 본 연구에서 대부분의 국내 재래배는 *P. bretschneideri* 또는 *P. ussuriensis* 그룹으로 분류되어 많은 수의 국내 재래배는 북방형 동양배로부터 유입된 것으로 추정되었다.

II-4그룹은 *P. pyrifolia*에 속하는 61계통의 남방형 동양배와 10계통의 국내 육성품종으로 구성되었으며, 국내 재래배 '괴산황배(Goesanhwangbae)', '태백창죽 3', '중산리 3'과 북방형 동양배 '개량홍리(Gaeryanghongli) 35', '백리(Backri)'가 포함되었다. 국내 교배육성종인 흑성-원교 나(Heuksung-Wonkyo Na) 1은 *P. pyrifolia*에 속하는 '선황'과 *P. communis*에 속하는 'Bartlett'의 종간 교배종으로 '수수(Shishuu)', '진수(Shinzu)'와 가까운 유전적 거리를 보여주었다. 국내 재래배 '괴산황배'는 *P. bretschneideri* 유전자가 혼입된 '왕추(Oushuu)'와 가까운 유전적 거리를 가지며 '수진조생(Tama)', '신성(Shinsei)'과 cluster를 구성하였다. 따라서 국내 재래배 '괴산황배'는 *P. bretschneideri* 유전자가 혼입되어 있으나, 유전적으로 *P. pyrifolia*에 가까운 것으로 추정된다. 국내 재래배 '태백창죽(Taebaekchangjuk) 3', '중산리(Jungsanri) 3'은 '미니배(Minibae)', '수옥(Shugyoku)', '단택(Tanzawa)'과 cluster를 구성하였으며 *P. pyrifolia* 계통으로 추정된다. '신고(Niitaka)'와 '신고'의 육성 부본인 '천의천(Amanogawa)', '신고'의 교배조합을 이용하여 육성한 국내 육성품종 수영(Suyeong), 신천(Shincheon)이 cluster를 형성하였으며, 교배조합이 불명확한 '건착(Kinchaku)'이 포함되었다. 우연실생 '명월(Meigetsu)'과 '이궁백리(Ninomiyahakuri)'는 0.20의 유전적 거리를 가지며, '명월'의 교배조합인 '희수(Kisui)'와 cluster를 형성하였다. 교배조합이 불분명한 '조생적(Waseaka)', '박다청(Hakataao)', '조선(Chousen)', '세계일(Sekaiichi)', '진유(Shinchu)', '기원(Gion)'은 '이십세기'를 교배조합으로 육성한 '신세기(Shinseiki)', '청옥(Seigyoku)', '팔리(Yasato)', '상모(Sagami)', '서추(Zuisuu)', '북신(Hokushin)'과 cluster를 형성하였으며, '이십세기'와 '장십랑'의 교배조합인 '신세기'와 '청옥'은 0.10의 유전적 거리를 나타내었다. 교배조합이 불명확한 '조생팔달(Wasehattatsu)'은 '취성(Suisei)'과 0.15의 유전적 거리를 나타내었는데, '취성'의 교배조합인 '국수'와 '팔운'은 '이십세기'를 교배조합으로 육성한 품종이며, 동일한 cluster에 '이십세기' 교배조합 품종을 교배조합으로 육성한 '신성(Shinsei)', '칠보(Shichiho)', '추수(Shuusui)', '신일(Shinil)'과 '이십세기'의 자연교잡실생 '신흥(Shinko)'과 cluster를 형성하였다. 종의 분류가 명확하지 않은 '공룡(Gongryong)', '태백(Taihaku)'은 *P. pyrifolia*에 속하는 '안월(Kuratsuki)', '월후금(Echigonishiki)', '기후(Kihu) 1'과 cluster를 구성하였으며, *P. pyrifolia*로 추정된다. '신고'와 '풍수'의 교배조합 품종을 부본으로 육성한 '아끼아까리(Akiakari)'

와 '아끼즈끼(Akizuki)'는 0.06의 유전적 거리를 나타내었는데, '아끼아까리'는 '운정'과 '행수'의 교배조합 품종을 모본으로 '아끼즈끼'는 '행수'를 모본으로 육성한 품종으로서 이러한 교배조합의 유사성에 의해 유전적 유연관계가 높은 것을 보여주었다.

II-5그룹은 종의 구분이 명확하지 않았으며, 국내 재래배 '중산리(Jungsanri) 4'는 *P. bretschneideri*와 *P. pyrifolia* 교잡종 '세검(Senken)'과 0.13의 가까운 유전적 거리를 가졌으며, *P. pyrifolia*에 속하는 '길량세기(Kiraseiki)', '행장(Kouzou)'과 *P. bretschneideri*에 속하는 '래양자리(Laiyangcili)'가 포함되어 있었다.

II-6그룹은 국내 재래배 '홍천삼봉(Hongcheonsambong) 3', '공주청실리(Gongjucheongsilri)', '인제기린 귀둔(Injegiringwidun) 3', '중산리(Jungsanri) 1', '홍천내면(Hongcheonnaemyeon) 2', '청서리(Cheongseori)', '영목리(Yeongmokri)'와 북방형 동양배 '대두황리(Datouhuangli)' '청룡점(Qinglongtian)'으로 구성되었는데, '청서리'와 '영목리', '대두황리'는 *P. ussuriensis*로 알려져 있으며, '청룡점'은 *P. bretschneideri*로 알려져 있다. 따라서 본 그룹에 포함된 국내 재래배는 북방형 동양배인 *P. bretschneider* 또는 *P. ussuriensis*로 추정된다.

SSR 마커를 이용한 배 유전자원의 분류에서 Wünsch와 Hormaza (2007)는 7개의 SSR 마커를 사용하여 유럽배 63종의 분석한 결과, 혈통과 지리적 기원에 의해 분류되는 것을 보고하였으며, Sawamura 등 (2008)은 18개의 SSR 마커를 사용하여 남방형 동양배 55종을 분석한 결과 교배혈통에 의해 품종이 분류됨을 보고하였다.

본 연구에서도 국내외에서 수집한 유전자원 115점을 대상으로 15개의 SSR 마커를 이용하여 유전자원의 유연관계를 분석한 결과, 지리적 기원에 의해 크게 서양배와 동양배 그룹으로 분류되었으며 혈통에 따라 구분이 이루어 지는 것을 확인하였다. 종의 분류가 불명확한 국내 재래배의 경우 대부분 *P. bretschneider* 또는 *P. ussuriensis* 그룹으로 분류되는 것을 보여주었는데, 종의 분류가 불명확한 유전자원과 다른 종과의 유전적 유연관계를 분석함으로써 이러한 종의 유전적 특성을 추정할 수 있었다. 하지만 일부 유전자원의 경우 분류가 명확하지 않았는데, 추후 정확한 분류를 위해 마커의 숫자를 늘리고 형태학적 특성을 검정함으로써 보다 정확한 분류가 가능할 것으로 생각되며, 이러한 결과는 유전적 다양성을 가지는 품종을 육성하기 위한 기초자료로 유용하게 활용될 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 15개의 SSR 마커를 이용하여 배 유전자원 115점에 대한 유전적 다양성을 분석하였다. 분석된 마커당 대립유전자수는 3 ~ 41개로 평균 16개였으며, 마커의 이용도는 평균 0.966이었다. H_{obs}는 0.140 ~ 0.929로 평균 0.603이었으며 H_{exp}는 0.463~0.904로 평균 0.718로 분석되었다. PIC 값은 0.403 ~ 0.897의 범위에 속하였으며 평균값은 0.692이었다.

배 유전자원의 유전적 거리에 따라 계통간 유연관계를 분석한 결과 지리적 분포와 유전적 특성에 의해 크게 2개의 그룹으로 구분되었다. 첫 번째 그룹은 유럽종 *P. communis*에 속하는 품종으로 구성되었으며 두 번째 그룹은 동양배 그룹으로 *P. pyrifolia, P. ussuriensis, P. bretschneideri, P. betulaefolia*, *P. calleryana*와 교잡종 및 종의 분류가 명확하지 않은 유전자원이 포함되었다. 본 연구는 배 유전자원의 유전자형 분석을 통하여 유전적 다양성을 가지는 품종들을 분류하였으며, 육종을 위한 기초자료로 활용 가능할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구과제(세부과제번호:PJ01022801)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

Barkley NA, Roose ML, Krueger RR, Federici CT (2006) Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). Theor Appl Genet 112:1519-1531

Bell RL (1990) Pears (*Pyrus*). In: Moore JN, Ballington JR Jr (eds) Genetic resources of temperate fruit and nut Crops I. International Society for Horticultural Science, Wageningen, the Netherlands, pp 655-697

Bell RL, Quamme HA, Layne REC, Skirvin RM (1996) Pears. In: Janick, Moore JN (eds), Fruit breeding, Vol I : Tree and tropical fruits. John Willey & Sons, London, pp 441-514

Cao Y, Tian L, Gao Y, Liu F (2012) Genetic diversity of cultivated and wild Ussurian Pear (*Pyrus ussuriensis* Maxim.) in China evaluated with M13-tailed SSR markers. Genet Resour Crop Evol 59:9-17

Dirlewanger E, Cosson P, Tavaud M, Aranzana M, Poizat C, Zanetto A, Arús P, Laigret F (2002) Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). Theor Appl Genet 105:127-138

Emanuelli F, Lorenzi S, Grzeskowiak L, Catalano V, Stefanini M, Troggio M, Myles S, Martinez-Zapater JM, Zyprian E, Moreira FM (2013) Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. BMC Plant Biol 13:39

Hokanson, S., W. Lamboy, A. Szewc-McFadden, and J. McFerson.

2001. Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids. Euphytica 118:281-294

Kim DI (1998) Taxonomy of oriental pear (*Pyrus sp*.) based on multivariate and RAPD analysis. Ph.D. Thesis. Seoul Natl Univ pp 81-82

Kim MS, Kim SH, Han JG, Song JH, Kim HS, Kim DH, Kwon YS (2015) Genetic diversity of wild pear accessions collected in Korea. Korean J Breed Sci 47:45-53

Kimura T, Shi YZ, Shoda M, Kotobuki K, Matsuta N, Hayashi T, Ban Y, Yamamoto T (2002) Identification of Asian pear varieties by SSR analysis. Breed Sci 52:115-121

Liebhard R, Gianfranceschi L, Koller B, Ryder C, Tarchini R, Van de Weg E, Gessler C (2002) Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus* × *domestica* Borkh.). Mol Breed 10:217-241

Lui K, Muse S (2005) PowerMarker: integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatics 21:2128-2129

Nishitani C, Terakami S, Sawamura Y, Takada N, Yamamoto T (2009) Development of novel EST-SSR markers derived from Japanese pear(*Pyrus pyrufolia*). Breed Sci 59:391-400

Phillips RL, Vasil IK (2001) DNA-based markers in plants. Vol. 6. Springer Science & Business Media

Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol Breed 2:225-238

Sawamura Y, Takada N, Yamamoto T, Saito T, Kimura T, Kotobuki K (2008) Identification of Parent-offspring Relationships in 55 Japanese Pear Cultivars Using S-RNase Allele and SSR markers. J Jpn Soc Hortic Sci 77:364-373

Sehic J, Garkava-Gustavsson L, Fernández-Fernández F, Nybom H (2012) Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. Sci Hortic 145:39-45

Silfverberg-Dilworth E, Matasci CL, Van de Weg WE, Van Kaauwen MPW, Walser M, Kodde LP, Soglio V, Gianfranceschi L, Durel CE, Costa F, Yamamoto T, Koller B, Gessler C, Patocchi A (2006) Microsatellite markers spanning the apple (*Malus x domestica Borkh*.) genome. Tree Genet. Genomes 2:202-224

Sneath PHA, Sokal RR (1973) Numerical taxonomy : The principles and practice of numerical classification, W. H. Freeman, San Francisco

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

Wünsch A, Hormaza J (2007) Characterization of variability and genetic similarity of European pear using microsatellite loci developed in apple. Sci Hortic 113:37-43

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

Yamamoto T, Kimura T, Sawamura Y, Kotobuki K, Ban Y, Hayashi T, Matsuta N (2001) SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. Thero Appl Genet 102:865-870

Yamamoto T, Kimura T, Sawamura Y, Manabe T, Kotobuki K, Hayashi T, Ban Y, Matsuta N (2002a) Simple sequence repeats for genetic analysis in pear. Euphytica 124:129-137

Yamamoto T, Kimura T, Shoda M, Ban Y, Hayashi T, Matsuta N (2002b) Development of microsatellite markers in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Mol Ecol Not 2:14-16