

RAPD와 SRAP 마커를 이용한 참다래 유전자원의 유전적 다양성

조강희 · 곽용범 · 박서준 · 김세희 · 이한찬 · 김미영

Genetic diversity in kiwifruit germplasm evaluated using RAPD and SRAP markers

Kang Hee Cho · Yong-Bum Kwack · Seo Jun Park · Se Hee Kim · Han Chan Lee · Mi Young Kim

Received: 30 May 2017 / Revised: 27 July 2017 / Accepted: 31 July 2017
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract In this study, random amplified polymorphic DNA (RAPD) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) analyses were used for evaluation of genetic diversity of 61 kiwifruit (*Actinidia* spp.) germplasms including domestic and overseas collection cultivars. Forty RAPD primers were detected in a total of 230 polymorphic bands with an average of 5.75. Thirty-two SRAP primer combinations were detected in a total of 204 polymorphic bands with an average 6.38. By unweighted pair-group method arithmetic average cluster analysis using 434 polymorphic bands, kiwifruit germplasms were classified in three groups with similarity value of 0.680. Cluster I consisted of 46 kiwifruit germplasms belonging to *A. deliciosa*, *A. chinensis*, *A. deliciosa* × *A. arguta*, *A. chinensis* × *A. arguta*, and *A. chinensis* × *A. deliciosa*. Cluster II consisted of seven germplasms belonging to *A. arguta* and ‘Skinny Green’, a cultivar derived from a cross between *A. arguta* and *A. deliciosa*. Cluster III consisted of seven germplasms belonging to *A. rufa*, *A. hemsleyana*, *A. macrosperma*, *A. polygama*, and *A. eriantha*. Genetic similarity values among tested kiwifruit germplasms ranged from 0.479–0.991, and average similarity value was 0.717. Similarity value was highest (0.991) between NHK0038 (*A. deliciosa*) and NHK0040

(*A. deliciosa*), and lowest (0.479) between ‘Hayward’ (*A. deliciosa*) and K5-1-22 (*A. arguta*).

Keywords *Actinidia*, Genetic diversity, Polymorphism, RAPD, SRAP

서 언

참다래(*Actinidia* spp.)는 다래나무과(*Actinidiaceae*) 다래나무속(*Actinidia* Lindl.)에 속하는 덩굴성 낙엽 과수이며, 중국 양자강 유역이 원산지로서 세계적으로 76종이 분포하고 있다(Ferguson and Huang 2007). 우리나라에는 개다래나무(*A. polygama*), 다래나무(*A. arguta*), 쥐다래나무(*A. kolomikta*), 섬다래나무(*A. rufa*), 녹다래나무(*A. arguta*)가 자생하는 것으로 밝혀져 있다(Park et al. 2011). 전 세계적으로 *Actinidia* 종 중에서 *A. deliciosa*와 *A. chinensis*가 널리 재배되고 있고 *A. arguta*와 같은 다른 종도 상업적으로 개발이 가능하다(Ferguson et al. 1996). 참다래의 주요 재배품종인 ‘헤이워드’(*A. deliciosa*)는 신선한 녹색과육과 오랫동안 저장이 가능하여 전 세계 시장을 차지하고 있으며(Jaeger and Harker 2005), 우리나라는 ‘헤이워드’의 단일 재배에서 현재 황색, 적색 과육 등으로 다양한 품종이 재배되고 있다. 국립원예특작과학원에서는 녹색, 황색, 적색의 다양한 과육색 등 소비자 기호의 다양성을 충족할 수 있는 품종과 웰빙 추세에 부응하여 건강 기능 성분이 강화된 품종 등을 육성하고자 노력하였고, 1995년 ‘보옥’을 시작으로 2015년까지 21품종을 육성하였다. 그러나 육종 프로그램에 제한된 유전자원을 활용하고 있기 때문에 품종 육성 시 *Actinidia* 속내의 다양성을 도입하여 다양한 형태의 기존과 다른 참다래를 육성할 필요가 있다(Ferguson

K. H. Cho (✉) · S. J. Park · S. H. Kim · H. C. Lee · M. Y. Kim
농촌진흥청 국립원예특작과학원 과수과
(Fruit Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Wan-ju 565-852, Korea)
e-mail: khc7027@korea.kr

Y.-B. Kwack
농촌진흥청 국립원예특작과학원 남해출장소
(Namhae Branch, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Namhae 668-812, Korea)

2007). 이를 위해서 유전자원에 대한 정확한 평가가 선행되어야 한다. 현재 국립원예특작과학원에서는 약 140점의 참다래 유전자원을 확보하고 있으며 이에 대한 원예적 형질에 대한 특성 평가가 이루어지고 있다.

참다래 유전자원에 대한 유전적 다양성 및 유연관계를 파악하기 위하여 형태형질뿐만 아니라 분자생물학적 분석법인 restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Crowhurst et al. 1990), random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Cipriani et al. 1996; Huang et al. 2002; Palombi and Damiano 2002), amplified fragment length polymorphism (Prado et al. 2007), simple sequence repeats (Korkovelos et al. 2008; Zhen et al. 2004)와 같은 다양한 DNA 마커들이 이용되고 있다. 그 중에서 RAPD 마커는 재현성은 낮지만 다른 분석방법들에 비해 쉽게 이용할 수 있어 유전자원의 분류 및 유연관계 분석에 효과적이다(Cho et al. 2010). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) 마커는 Li와 Quiros (2001)에 의해 Brassica 작물에서 처음 개발되어 엑손(exon) 부분과 인트론(intron), 프로모터(promoter) 부분을 증폭할 수 있는 2개의 primer를 이용하여 open reading frames 부분이 증폭되도록 고안된 것으로 배(Zhao et al. 2013),

포도(Guo et al. 2012), 복숭아(Ahmad et al. 2004), 살구(Uzun et al. 2010) 등 다양한 작물에 이용되고 있다.

본 연구는 참다래 유전자원을 대상으로 RAPD와 SRAP 마커를 이용하여 유연관계를 분석함으로써 유전적 다양성을 파악하여 신품종 육종 시 교배친 선정 등 육종 연구의 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 DNA 추출

본 연구에 사용한 재료는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 남해출장소에서 보존 중인 참다래 재배품종 및 국내·외에서 수집된 유전자원 총 61점을 이용하였다(Table 1). 참다래 어린 잎을 채취하고 DNeasy plant mini kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 0.8% agarose gel에 전기영동하여 확인하였고 DNA 양은 NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific,

Table 1 Kiwifruit germplasms used in this study, including parentages and species

No.	Germplasm	Parentage or origin	Species
1	26-1-8	Korean collection	<i>A. arguta</i>
2	26-1-12	Korean collection	<i>A. arguta</i>
3	26-7-10 (male)	Korean collection	<i>A. rufa</i>
4	2005-2-101	Sensation Apple × Tara Vine	<i>A. chinensis</i> × <i>A. arguta</i>
5	Deliwoong (male)	NHK0042 × NHK0041	<i>A. deliciosa</i>
6	Abbott	Chance seedling	<i>A. deliciosa</i>
7	Bangwoori	Tara Vine × Tomuri	<i>A. deliciosa</i> × <i>A. arguta</i>
8	Bidan	SKK s20 × SKK s10	<i>A. eriantha</i>
9	Bruno	Chance seedling	<i>A. deliciosa</i>
10	CG-2	<i>A. chinensis</i> var. <i>rufopulpa</i> OP	<i>A. chinensis</i> var. <i>rufopulpa</i>
11	Chieftain (male)	New Zealand collection	<i>A. deliciosa</i>
12	Garmrok	NHK0042 × NHK0041	<i>A. deliciosa</i>
13	NHK0154	New Zealand collection	<i>A. deliciosa</i>
14	Goldrush	ACT-12 × ACT-13	<i>A. chinensis</i>
15	NHK0155	New Zealand collection	<i>A. chinensis</i>
16	Golden King	China collection	<i>A. chinensis</i>
17	Golden Yellow	China collection	<i>A. chinensis</i>
18	Goldone	NHK0047 × NHK0013	<i>A. chinensis</i>
19	Haegeum	Jinfeng × SKK2	<i>A. chinensis</i>
20	Halla Gold	Golden Yellow × Songoku	<i>A. chinensis</i>
21	Hayward	Chance seedling	<i>A. deliciosa</i>
22	NHK0031	China collection	<i>A. hemsleyana</i>
23	Hongyang	<i>A. chinensis</i> var. <i>rufopulpa</i> OP	<i>A. chinensis</i> var. <i>rufopulpa</i>
24	Hort16A	CK01 × CK15	<i>A. chinensis</i>
25	Jecy Gold	Golden Yellow × Songoku	<i>A. chinensis</i>
26	Jecy Green	Sensation Apple × Tomuri	<i>A. chinensis</i> × <i>A. deliciosa</i>
27	K5-1-22	Korean collection	<i>A. arguta</i>
28	K5-2-22 (male)	Korean collection	<i>A. arguta</i>
29	K5-3-18 (male)	Korean collection	<i>A. arguta</i>
30	K5-4-3	Korean collection	<i>A. arguta</i>

Table 1 Continued.

No.	Germplasm	Parentage or origin	Species
32	M51-2 (male)	New Zealand collection	<i>A. deliciosa</i>
33	NHK0027	China collection	<i>A. macrosperma</i>
34	Matua (male)	Chance seedling	<i>A. deliciosa</i>
35	NHK0156	New Zealand collection	<i>A. chinensis</i>
36	Octogreen	HA8457 × Matua	<i>A. deliciosa</i>
37	Pohwa (male)	Hayward × Tara Vine	<i>A. deliciosa</i> × <i>A. arguta</i>
38	Po-ok	Hayward × Tara Vine	<i>A. deliciosa</i> × <i>A. arguta</i>
39	NHK0024	China collection	<i>A. arguta</i> var. <i>purpurea</i>
40	Redvita	NHK0047 × NHK0013	<i>A. chinensis</i>
41	NHK0127 (male)	China collection	<i>A. polygama</i>
42	NHK0050 (male)	China collection	<i>A. eriantha</i>
43	NHK0051	China collection	<i>A. eriantha</i>
44	Samdong Lee's Gold	Korean collection	<i>A. chinensis</i>
45	Sensation Apple	China collection	<i>A. chinensis</i>
46	Skinny Green	KN8903 × Tara Vine	<i>A. arguta</i> × <i>A. deliciosa</i>
47	NHK0012	China collection	<i>A. chinensis</i>
48	NHK0013 (male)	China collection	<i>A. chinensis</i>
49	NHK0019	China collection	<i>A. deliciosa</i>
50	NHK0021	China collection	<i>A. chinensis</i>
51	NHK0022	China collection	<i>A. chinensis</i>
52	NHK0117 (male)	China collection	<i>A. chinensis</i>
53	NHK0023	China collection	<i>A. chinensis</i>
54	NHK0038	China collection	<i>A. deliciosa</i>
55	NHK0040	China collection	<i>A. deliciosa</i>
56	NHK0041 (male)	China collection	<i>A. deliciosa</i>
57	NHK0042	China collection	<i>A. deliciosa</i>
58	Red Princess	China collection	<i>A. deliciosa</i>
59	NHK0048	China collection	<i>A. deliciosa</i> × <i>A. arguta</i>
60	Songoku (male)	Japan collection	<i>A. chinensis</i>
61	Tomuri (male)	Chance seedling	<i>A. deliciosa</i>

MA, USA)로 정량한 후 10 ng·μL⁻¹의 농도로 희석하여 PCR 분석에 이용하였다.

RAPD 분석

참다래 RAPD 분석에 적합한 primer를 선발하기 위해서 Operon (Operon Technologies, Alameda, CA, USA)과 University of British Columbia (UBC, Vancouver, BC, Canada)에서 제조된 10개의 염기로 구성된 380종의 primer를 검정하였다. 참다래 유전자원간 다형성을 나타내는 RAPD 마커 선발에는 primer 검정에서 선발된 총 40종의 임의 primer를 이용하였다(Table 2). Polymerase chain reaction (PCR) 반응은 genomic DNA 40 ng, 1 × PCR buffer, 0.36 μM 임의 primer, 200 μM dNTP, 3 mM MgCl₂와 0.4 units *Taq* DNA polymerase (Genetbio, Daejeon, Korea)를 첨가하여, 반응액을 12.5 μL로 조정하여 사용하였다. PCR 반응은 94°C에서 5분간 초기 변성시키고, 94°C에서 45초(denaturing), 37°C에서 45초(annealing), 그리고 72°C에서 2분간(extension) 과정을 10회 반복 수행한 다음 94°C에서 45초, 42°C에서 45초, 그리고 72°C에서 2분간 30회 반복한 후 72°C에서 5분간 처리하였다. 증폭된 PCR 생성물은 1.4%

agarose gel에서 150V로 3시간 동안 전기영동하여 품종 간 다형성을 탐색하였다.

SRAP 분석

참다래 유전자원의 SRAP 분석에는 primer 검정에서 선발된 총 32종의 조합을 이용하였다(Zhao et al. 2013, Table 3). SRAP 분석은 기존의 Li와 Quiros (2001)의 방법을 약간 변형하여 수행하였다. PCR 반응액은 총 15 μL로 genomic DNA 40 ng, 1 × PCR buffer, 0.36 μM primers, 200 μM dNTP, 2 mM MgCl₂와 0.5 units *Taq* DNA polymerase(Genetbio)로 구성하였다. PCR 반응은 thermocycler(iCycler, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용하여 94°C에서 5분간 초기 변성시키고, 94°C에서 1분(denaturing), 35°C에서 1분(annealing), 그리고 72°C에서 1분간(extension) 과정을 5회 수행한 다음 94°C에서 1분, 50°C에서 1분, 72°C에서 1분간 35회 수행하였다. 마지막으로 72°C에서 10분간 처리하였다. 증폭된 PCR 생성물은 RAPD와 동일하게 1.4% agarose gel에서 150V로 3시간 동안 전기영동하여 품종 간 다형성을 탐색하였다.

Table 2 Random amplified polymorphic DNA primers used in this study, sequences and numbers of polymorphic fragments produced

Primer	Sequence (5' → 3')	No. of polymorphic bands
OPA-09	GGGTAACGCC	4
OPA-11	CAATCGCCGT	4
OPA-16	AGCCAGCGAA	5
OPD-12	CACCGTATCC	7
OPE-08	TCACCACGGT	6
OPE-09	CTTCACCCGA	9
OPG-01	CTACGGAGGA	5
OPG-05	CTGAGACGGA	7
OPG-09	CTGACGTCAC	6
OPG-10	AGGGCCGTCT	8
OPG-12	CAGCTCACGA	6
OPG-18	GGCTCATGTG	5
OPG-19	GTCAGGGCAA	5
OPK-01	CATTCGAGCC	8
OPK-07	AGCGAGCAAG	3
OPK-08	GAACACTGGG	5
OPL-07	AGGCGGGAAC	4
OPM-05	GGGAACGTGT	5
OPM-06	CTGGGCAACT	6
OPM-07	CCGTGACTCA	4
OPM-14	AGGGTCGTTC	10
OPM-15	GACCTACCAC	3
OPN-05	ACTGAACGCC	5
OPN-10	ACAACCTGGGG	4
OPN-16	AAGCGACCTG	5
OPN-19	GTCCGTA CTG	4
UBC186	GTGCGTCGCT	8
UBC248	GAGTAAGCGG	7
UBC254	CGCCCCATT	6
UBC268	AGGCCGCTTA	7
UBC269	CCAGTTCGCC	6
UBC381	ATGAGTCCTG	4
UBC402	CCCGCCGTTG	8
UBC517	GGTCGCAGCT	5
UBC519	ACCGGACACT	4
UBC530	AATAACCGCC	7
UBC531	GCTCACTGTT	5
UBC533	GCATCTACGC	4
UBC536	GCCCCTCGTC	7
UBC600	GAAGAACCGC	9

통계분석

RAPD와 SRAP 분석에서 증폭된 다형성 밴드의 유무에 따라 1(유)과 0(무)으로 scoring하였고 참다래 유전자원간의 유연관계는 MVSP (multi-variate statistical package) version 3.13 (Kovach computing services)을 이용하여 추정하였다. Simple matching coefficient에 의해 유전적 유사도 값을 계산하고 이 값을 기초로 하여 비가중평균결합(UPGMA: unweighted pair-group method with arithmetic averages)법으로 집괴분석(cluster analysis)을 하여 dendrogram을 작성하였다.

결과 및 고찰

RAPD와 SRAP 분석을 통한 참다래 유전자원의 다형성 탐색

국내육성 품종인 ‘골드윈’ 및 국내·외에서 수집한 참다래 유전자원 61점의 유전적 변이를 알아보기 위하여 RAPD와 SRAP 분석을 하였다. Fig. 1A와 B는 UBC600의 임의 primer와 me10/em13 primer 조합을 이용하여 수행한 RAPD와 SRAP 분석의 profile을 나타낸 것이다. RAPD 분석한 결과 품종 간 다형성을 나타내는 밴드 수는 230개로서 평균 5.75개였다 (Table 2). Primer에 따라 선발된 다형성 밴드의 수는 최소 3개

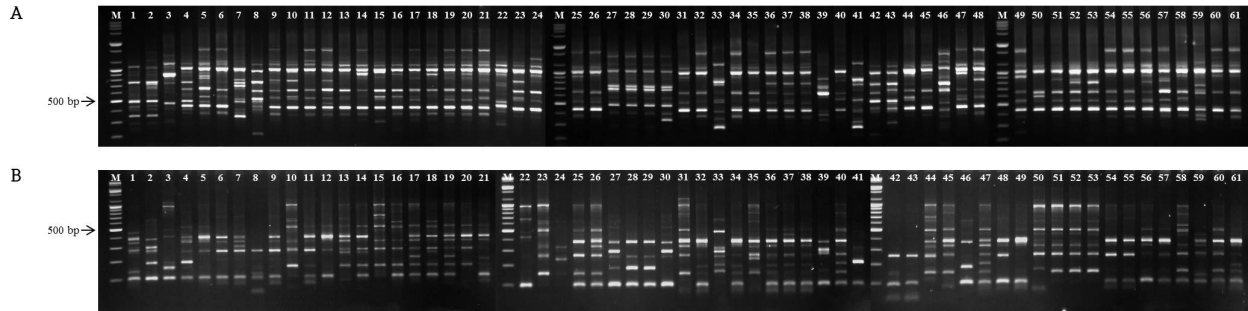


Fig. 1 Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) profiles of 61 kiwifruit germplasm amplified using UBC600 primer (A) and me10/em13 primer combination (B), respectively. Lane numbers represent kiwifruit germplasm as shown in Table 1. M, 100 bp plus DNA ladder

(OPK-07, OPM-15)에서 최대 10개(OPM-14)였다. Huang et al.(2002)은 31종(species)이 포함된 40개 분류군(taxon)의 참다래를 대상으로 22개의 primer를 이용하여 RAPD 분석을 실시한 결과 총 188개의 다형성 밴드를 얻어 평균 8.55개의 다형성 밴드를 보고하였다. Novo et al. (2010)은 6개의 임의 primer를 이용한 개화기가 다른 숫나무 41개 식물체의 RAPD 분석에서 총 37개의 다형성 밴드를 얻었다. 다형성 밴드 수는 primer에 따라 2~11개였으며 평균 6.11개였다. 이와 같이 RAPD 분석에서 다형성 밴드 수의 차이는 사용한 primer의 종류가 다르고 시험재료로 이용한 품종의 유전적 차이에 기인하는 것으로 판단되었다. RAPD 분석은 쉽고 빠르게 다량의 변이를 검출할 수 있다는 장점이 있지만 PCR 반응 시 낮은 온도에서 짧은 길이(10~12-mer)의 primer를 결합시키기 때문에 미세한 반응조건의 차이에 따라 비특이적인 밴드가 증폭되어 안정적인 검출에 문제가 있다(Ellsworth et al. 1993). 따라서 신뢰할 수 있는 결과를 얻기 위해서는 재현성이 뚜렷한 다형성 밴드만 선별하는 것이 중요하다.

32종의 SRAP primer 조합을 이용한 분석 결과, 선별된 다형성 밴드의 수는 최소 4개(me1/em2, me2/em4, me2/em16 등)에서 최대 11개(me1/em22)였다(Table 3). 총 204개의 다형성 밴드를 획득하였고, 평균 다형성 밴드는 6.38개로 나타났다. Primer 조합 중에서 me1/em22 조합에서 11개로 가장 높은 다형화 현상을 보였고 me1/em4와 me5/em19에서도 각각 10개와 9개의 다형성 밴드를 나타내어 이들 조합이 참다래 유전자원들을 분류하는데 이용성이 높은 것으로 판단하였다. 과수작물에 있어서 SRAP 분석을 이용한 품종의 다양성에 관한 연구는 복숭아, 포도 등에서 보고되었다(Ahmad et al.2004; Guo et al. 2012). Ahmad et al. (2004)은 38종의 복숭아와 넥타린(nectarine) 품종을 10개의 SRAP primer 조합을 분석하여 49개의 다형성 밴드를 선별하였고, 이 중 30품종에서 고유의 밴드가 증폭되어 복숭아와 같이 변이가 적은 종에서의 유전적 다양성을 분석하는데 효과적이었음을 보고하였다. Guo et al. (2012)은 76종의 포도 재배품종과 야생종의 유전자원을 이용한 SRAP 분석을 통해 중국에서 재배되고 있는 품종과

야생종 유전자원 간에는 유전적 다양성이 높은 것을 알 수 있었다. 또한 버펄로그래스(buffalograss)에서도 SRAP 마커가 RAPD, SSR 등 다른 마커 시스템에 비해 다형성률이 높아 가깝게 연관된 품종들 간의 유전적 다양성을 분석하는데 더 유용한 방법으로 보고되었다(Budak et al. 2004).

집괴분석을 이용한 참다래 유전자원의 유전적 다양성

RAPD와 SRAP 분석에서 얻어진 434개의 다형성 밴드를 이용하여 참다래 유전자원의 유사도 값을 측정하고 결과 전체 범위는 0.479~0.991이었다. 가장 높은 유사도 값(0.991)을 나타낸 것은 *A. deliciosa*에 속한 중국에서 수집한 NHK0038과 NHK0040로서 과실의 모양 등 표현형을 고려할 때 동일한 개체로 추정되었으며, 가장 낮은 유사도 값(0.471)을 나타낸 것은 *A. deliciosa*인 ‘헤이워드’와 *A. arguta*인 국내에서 수집한 K5-1-22 간이었다. 평균 유사도 값은 0.717이었으며, 가장 높은 평균 유사도 값(0.777)을 나타낸 것은 *A. chinensis*인 중국에서 수집한 ‘Golden King’이었고, 가장 낮은 것(0.583)은 K5-1-22이었다(Table 4). *A. arguta*에 속하는 K5-1-22, K5-2-22, K5-3-18, 26-1-8, NHK0024 등의 유사도 값은 0.583-0.613으로 다른 유전자원에 비해 대체적으로 낮았다. 유사도 지수를 이용하여 집괴분석한 결과 유사도 0.680를 기준으로 하여 나누었을 때 3개 그룹으로 분류되었다(Fig. 2). 제1그룹은 *A. deliciosa*와 *A. chinensis*에 속하는 품종과 이 2종을 모본으로 사용한 교배조합인 *A. deliciosa* × *A. arguta*, *A. chinensis* × *A. arguta* 및 *A. chinensis* × *A. deliciosa*의 교잡종에 속하는 46점의 유전자원이 포함되었다. *A. deliciosa*에 속하는 품종 및 유전자원은 ‘헤이워드’를 포함한 17점이었고, *A. chinensis*에 속하는 것은 ‘Hort16A’를 비롯한 23점이었다. *A. deliciosa* × *A. arguta*의 교잡종에 속하는 것은 NHK0048, ‘방울이’, ‘보화’, ‘보옥’의 4점이었고, *A. chinensis* × *A. arguta*의 교잡종에 속하는 것은 ‘Sensation apple’과 ‘Tara Vine’를 교배하여 육성된 ‘2005-2-101’이었다. 또한 *A. chinensis* × *A. deliciosa*의 교잡종에는 ‘Sensation apple’과 ‘Tara Vine’를 교배하여 육성된 ‘제시

Table 3 Sequence-related amplified polymorphism primer combinations used in this study, sequences and numbers of polymorphic fragments produced

Primer combination	Sequence (5' → 3')		No. of polymorphic bands
	Forward (me)	Reverse (em)	
me1/em2	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTGC	4
me1/em3	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTGAC	6
me1/em4	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTGA	10
me1/em6	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTGCA	4
me1/em10	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTAG	7
me1/em11	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTTCTG	6
me1/em13	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTGGT	4
me1/em15	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTCTG	5
me1/em17	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTCCA	7
me1/em18	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTGAT	8
me1/em21	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTCTA	8
me1/em22	TGAGTCCAAACCGGATA	GACTGCGTACGAATTCTC	11
me2/em2	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTTGC	7
me2/em3	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGAC	6
me2/em4	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTTGA	4
me2/em6	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTGCA	5
me2/em9	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTTCA	4
me2/em10	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTTAG	8
me2/em16	TGAGTCCAAACCGGAGC	GACTGCGTACGAATTCGG	4
me3/em3	TGAGTCCAAACCGGAGT	GACTGCGTACGAATTGAC	7
me3/em4	TGAGTCCAAACCGGAGT	GACTGCGTACGAATTTGA	7
me3/em10	TGAGTCCAAACCGGAGT	GACTGCGTACGAATTTAG	6
me5/em14	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTCAG	7
me5/em17	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTCCA	5
me5/em19	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTCAG	9
me5/em22	TGAGTCCAAACCGGAAG	GACTGCGTACGAATTTCTC	5
me6/em2	TGAGTCCAAACCGGTAA	GACTGCGTACGAATTTGC	7
me6/em3	TGAGTCCAAACCGGTAA	GACTGCGTACGAATTGAC	6
me8/em5	TGAGTCCAAACCGGATG	GACTGCGTACGAATTAAC	8
me8/em8	TGAGTCCAAACCGGATG	GACTGCGTACGAATTAGC	6
me9/em20	TGAGTCCAAACCGGACA	GACTGCGTACGAATTCAT	5
me10/em13	TGAGTCCAAACCGGGAT-	GACTGCGTACGAATTGGT	8

그린'이 포함되었다. 중국에서 수집한 NHK0042와 NHK0040을 교배하여 육성된 '감록'과 '텔리옹'은 양친인 NHK0042와 동일한 cluster에 위치하였고 '감록'과 '텔리옹' 간의 유사도 값은 0.912였다. '감록'은 2013년에 국립원예특작과학원에서 육성한 감미가 높고 신맛이 적은 녹색 과육 품종이고, '텔리옹'은 2014년에 육성된 수분수 품종으로 기존 수분수보다 5~7일 일찍 개화하며 '골드윈'과 '헤이워드'에 적합한 수분수이다. *A. chinensis* var. *rufopulpa*에 속하는 과심 주변 내과피가 적색인 CG-2와 '홍양' 간의 유사도 값은 0.984로서 매우 유사한 품종으로 추정되어, 정밀한 형태학적 분석이 필요한 것으로 판단되었다. 본 연구에서는 대체적으로 *A. deliciosa*와 *A. chinensis*에 속하는 품종끼리 각각 동일한 cluster로 분류되었다. *A. deliciosa*와 *A. chinensis*는 형태학적으로 매우 밀접하게 연관되어 있어 하나의 종으로 여겨졌지만 핵과 엽록체를 탐침(probe)으로 한 RFLP 분석에서 두 계통 간의 차이가

명확히 다른 종으로 분류되었다(Crowhurst et al. 1990; Ferguson et al. 1996). Liu et al. (2010)는 10개 지역에서 수집한 *Actinidia* 7종을 대상으로 유전적 변이 양상과 종 사이의 유전자 이동 (gene flow)에 관해 조사하기 위하여 SSR 분석한 결과, 이들 중에서 *A. deliciosa*와 *A. chinensis*의 유전적 유사성이 가장 높았고 81%의 대립인자(allele)를 공유하고 있음을 보고하였다.

제2그룹에는 *A. arguta*에 속하는 유전자원 7점과 *A. arguta* × *A. deliciosa*의 교잡종인 '스키니그린'이 포함되었다. *A. arguta*에 속하는 유전자원은 국내에서 수집된 26-1-8, 26-1-12, K5-1-22, K5-2-22, K5-3-18, K5-4-3과 중국에서 수집된 NHK0024였다. 이 중에서 K5-2-22와 K5-3-18 간의 유사도 값은 0.989로 가장 높았다. *A. arguta*는 동아시아가 자생지로 추위에 강하고, 배수성이 다양하여 2, 4, 6, 7, 8배체가 존재하는데 동아시아에 전반적으로 분포되어 있는 것은 4배체로 알려져 있다(Ferguson and Huang 2007). 과실은 단맛과 신맛의 조화가 잘 어우러지

Table 4 Average genetic similarity values of 60 possible comparisons for 61 kiwifruit germplasms

No.	Germplasm	Average genetic similarity value	No.	Germplasm	Average genetic similarity value
1	26-1-8	0.602	32	M51-2	0.747
2	26-1-12	0.608	33	NHK0027	0.633
3	26-7-10	0.668	34	Matua	0.754
4	2005-2-101	0.689	35	NHK0156	0.769
5	Deliwoong	0.731	36	Octogreen	0.744
6	Abbott	0.731	37	Pohwa	0.743
7	Bangwoori	0.678	38	Po-ok	0.743
8	Bidan	0.646	39	NHK0024	0.613
9	Bruno	0.743	40	Redvita	0.760
10	CG-2	0.751	41	NHK0127	0.631
11	Chieftain	0.745	42	NHK0050	0.635
12	Garmrok	0.752	43	NHK0051	0.636
13	NHK0154	0.772	44	Samdong Lee's Gold	0.753
14	Goldrush	0.763	45	Sensation Apple	0.765
15	NHK0155	0.772	46	Skinny Green	0.598
16	Golden King	0.777	47	NHK0012	0.763
17	Golden Yellow	0.765	48	NHK0013	0.744
18	Goldone	0.771	49	NHK0019	0.751
19	Haegeum	0.758	50	NHK0021	0.763
20	Halla Gold	0.754	51	NHK0022	0.752
21	Hayward	0.733	52	NHK0117	0.751
22	NHK0031	0.643	53	NHK0023	0.761
23	Hongyang	0.750	54	NHK0038	0.746
24	Hort16A	0.761	55	NHK0040	0.752
25	Jecy Gold	0.759	56	NHK0041	0.741
26	Jecy Green	0.761	57	NHK0042	0.729
27	K5-1-22	0.583	58	Red Princess	0.774
28	K5-2-22	0.586	59	NHK0048	0.692
29	K5-3-18	0.585	60	Songoku	0.758
30	K5-4-3	0.591	61	Tomuri	0.744
31	Lushanxiang	0.761	-	Mean	0.717

고 향이 뛰어나며 비타민 C와 폴리페놀 함량이 높다(Nishiyama and Oota 2007). 껍질째 식용이 가능하고 건강 기능 성분이 풍부하여 *A. arguta*의 시장에서의 가치가 증가함에 따라 여러 나라에서 더 우수한 품종을 선발하려고 노력하고 있으며, 미국, 칠레, 뉴질랜드 등에서 상업적으로 재배되고 있다 (Kabaluk et al. 1997; Stănică and Zuccherelli 2007; Williams et al. 2003). ‘스키니그린’은 KN8903과 ‘Tara Vine’을 교배하여 2007년에 육성된 품종으로 과피에 털이 없고 껍질이 얇아 껍질째 식용이 가능하고 추위에 다소 강한 특성이 있다. 제3그룹에는 *A. rufa*, *A. hemsleyana*, *A. macrosperma*, *A. polygama*, *A. eriantha* 종에 속하는 유전자원 7점이 포함되었다. 국내에서 수집된 26-7-10(*A. rufa*)과 중국에서 수집된 NHK0031 (*A. hemsleyana*), 그리고 NHK0027 (*A. macrosperma*)과 NHK0127 (*A. polygama*)과는 각각 동일한 cluster에 위치하였는데 이는 Huang et al. (2002)의 결과와도 유사하다. *A. eriantha*에 속하는 ‘비단’도 같은 종인 NHK0050, NHK0051과 동일한 cluster에 포함되었

다. 이상의 RAPD와 SRAP 마커를 이용한 집괴분석에서 참다래 유전자원의 대부분은 동일한 종끼리 그룹으로 분류되었다.

현재 참다래의 품질 경쟁력을 강화하기 위해 소비자의 수요에 맞는 다양한 품종과 난온대 기후에 적합하고 꽃 수기 등 생산 노력을 노력을 절감할 수 있는 생력형에 중점을 둔 품종 개발 연구가 추진되고 있다. 따라서 새로운 육종 목표에 부합되는 품종을 육성하기 위해서는 다양한 유전자원을 수집하여 유전적 변이의 폭을 확대할 필요가 있고, 이를 위해서는 현재 보존 중인 많은 유전자원에 대한 형태적 형질 등의 정밀한 평가가 매우 중요하다. 본 연구에서 도출된 다양한 지역에서 수집된 참다래 유전자원에 대한 유전적 다양성 및 유연관계에 대한 정보는 축적된 형태적 형질의 정보와 더불어 효율적인 유전자원 관리 및 품종 육성을 위한 교배조합 작성 등 육종연구에 유용할 것으로 기대된다.

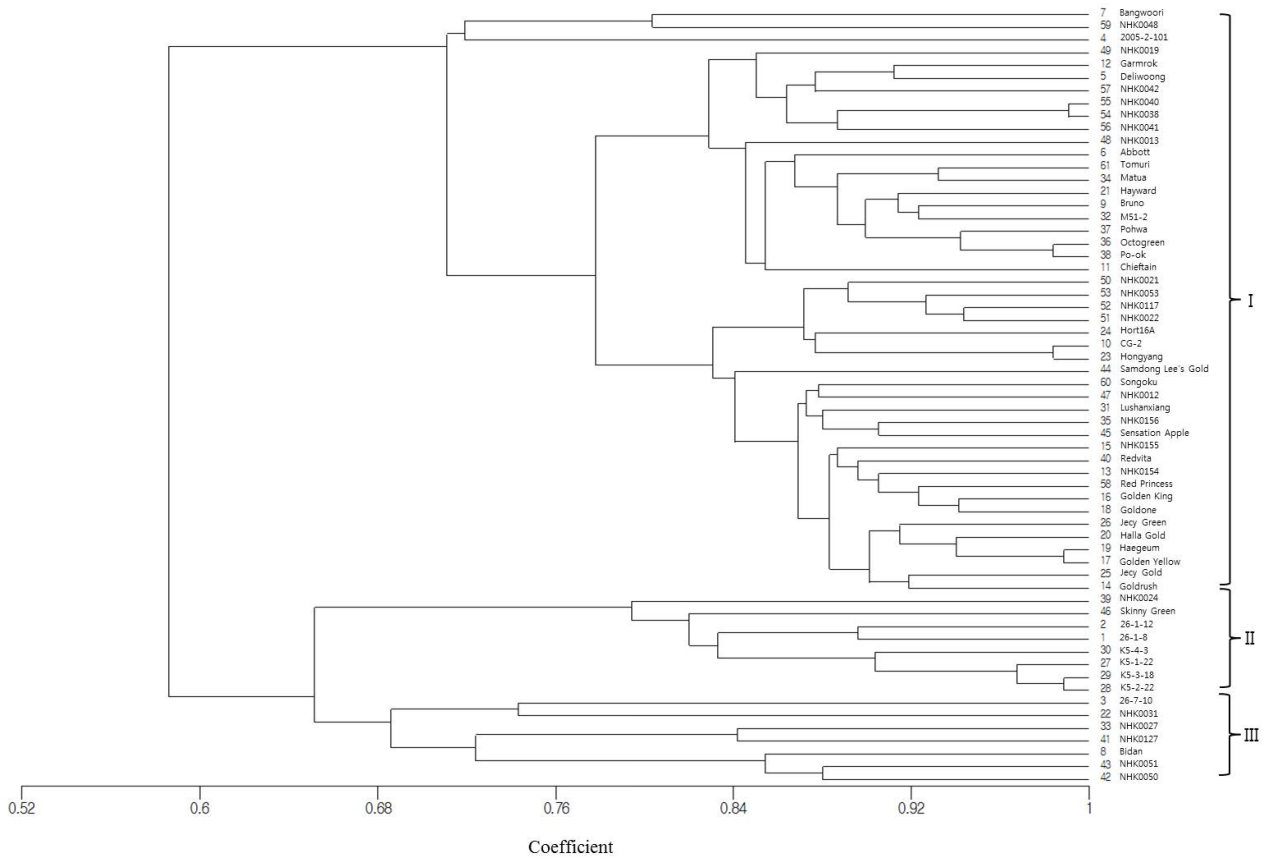


Fig. 2 Dendrogram of 61 kiwifruit germplasm accessions based on genetic similarity values collected from RAPD and SRAP data. Scale indicates genetic similarity values

적 요

본 연구는 참다래(*Actinidia* spp.) 유전자원의 유전적 다양성을 평가하기 위하여 재배품종 및 국내·외에서 수집한 참다래 61점을 대상으로 RAPD와 SRAP 분석을 수행하였다. RAPD 분석에서 40종의 선발 primer를 이용하여 230개의 다형성 밴드를 얻었으며, 평균 다형성 밴드 수는 5.75개였다. 32종의 primer 조합을 이용한 SRAP 분석에서 204개의 다형성 밴드를 획득하였고, 평균 다형성 밴드 수는 6.38 개였다. RAPD와 SRAP 분석에서 획득된 434개의 다형성 밴드를 이용하여 비가중 평균결합 방식으로 집괴분석한 결과 유전적 유사도 지수 0.680을 기준으로 3개의 그룹으로 분류되었다. 제1그룹에는 *A. deliciosa*와 *A. chinensis*에 속하는 품종과 *A. deliciosa* × *A. arguta*, *A. chinensis* × *A. arguta*, *A. chinensis* × *A. deliciosa*의 교잡종에 속하는 46점의 유전자원이 포함되었다. 제2그룹에는 *A. arguta*에 속하는 유전자원 7점과 *A. arguta* × *A. deliciosa*의 교잡종인 ‘스키니그린’이 포함되었다. 제3그룹에는 *A. rufa*, *A. hemsleyana*, *A. macrosperma*, *A. polygama*, *A. eriantha* 종에 속하는 유전자원 7점이 포함되었다. 참다래 유전자원 간 유전적 유사도 값은 0.479~0.991의 범위로 평균 유전적 유사도는 0.717이었다. 가장 높은 유사도 값(0.991)을 나

타낸 유전자원은 NHK0038(*A. deliciosa*)과 NHK0040(*A. deliciosa*) 간이었고 가장 낮은 유사도 값(0.479)을 나타낸 유전자원은 ‘헤이워드’(*A. deliciosa*)와 K5-1-22(*A. arguta*) 간이었다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01022805)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Ahmad R, Potter D, Southwick SM (2004) Genotyping of peach and nectarine cultivars with SSR and SRAP molecular markers. *J Am Soc Hort Sci* 129:204-210
- Budak H, Shearman RC, Parmaksiz I, Dweikat I (2004) Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs. *Theor Appl Genet* 109:280-288
- Cho KH, Heo S, Kim JH, Shin IS, Kim SH, Kim DH, Han SE, Kim HR (2010) Analysis of genetic diversity of apple cultivars using RAPD and SSR markers. *Kor J Breed Sci* 42:525-533

- Cipriani G, Bella RD, Testolin R (1996) Screening RAPD primers for molecular taxonomy and cultivar fingerprinting in the genus *Actinidia*. *Euphytica* 90:169-174
- Crowhurst RN, Lints R, Atkinson RG, Gardner RC (1990) Restriction fragment length polymorphisms in the genus *Actinidia* (*Actinidiaceae*). *Plant Syst Evol* 172:193-203
- Ellsworth DL, Rittenhous KD, Honeycutt RL (1993) Artifactual variation in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns. *BioTechniques* 14:214-217
- Ferguson AR (2007) The need for characterisation and evaluation of germplasms: kiwifruit as an example. *Euphytica* 154: 371-382
- Ferguson AR, Huang HW (2007) Genetic resources of kiwifruit: domestication and breeding. *Hor Rev* 33:1-121
- Ferguson AR, Seal AG, McNeilage MA, Fraser LG, Harvey CF, Beatson RA (1996) Kiwifruit, p. 371-417. In: J Janick, JN Moore (eds.). *Fruit breeding, Vol. II: Vine and small fruit crops*. Prentice Hall, New York
- Guo D, Zhang J, Liu C, Zhang G, Li M, Zhang Q (2012) Genetic variability and relationships between and within grape cultivated varieties and wild species based on SRAP markers. *Tree Genet Genom* 8:789-800
- Huang HW, Li Z, Li J (2002) Phylogenetic relationships in *Actinidia* as revealed by RAPD analysis. *J Amer Soc Hort Sci* 127:759-766
- Jaeger SR, Harker FR (2005) Consumer evaluation of novel kiwifruit: willingness-to-pay. *J Sci Food Agric* 85:2519-2526
- Kabaluk JT, Kempler C, Toivonen PMA (1997) *Actinidia arguta*-characteristics relevant to commercialization production. *Fruit Var J* 51:117-122
- Korkovelos AE, Mavromatis AG, Huang WG, Hagidimitriou M, Giakoundis A, Goulas CK (2008) Effectiveness of SSR molecular markers in evaluating the phylogenetic relationships among eight *Actinidia* species. *Sci Hortic* 116:305-310
- Li G, Quiros CF (2001) Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet* 103:455-461
- Liu Y, Liu Y, Huang H (2010) Genetic variation and natural hybridization among sympatric *Actinidia* species and the implications for introgression breeding of kiwifruit. *Tree Genet Genomes* 6:801-813
- Nishiyama I, Oota T (2007). Fruits of the *Actinidia* genus. *Adv Food Nutr Res* 52:293-324
- Novo M, Rome S, Rey M, Prado MJ, González (2010) Identification and sequence characterisation of molecular markers polymorphic between male kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa* (A. Chev.) A. Chev.) accessions exhibiting different flowering time. *Euphytica* 175:109-121
- Palombi MA, Damiano C (2002) Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev). *Plant Cell Rep* 20: 1061-1066
- Park YK, Han Si, Kim SH, Kang MS (2011) Changes of photosynthesis, leaf and fruit characteristics of *Actinidia arguta* and hybrid kiwi (*A. arguta* × *A. deliciosa*) according to crown layer. *J Korean For Soc* 100:8-13
- Prado MJ, Gonzalez MV, Romo S, Herrera MY (2007) Adventitious plant regeneration on leaf explants from adult male kiwifruit and AFLP analysis of genetic variation. *Plant Cell Tiss Cult* 88:1-10
- Stănică F, Zuccherelli G (2007) New selections of *Actinidia arguta* from the Romanian breeding program. *Acta Hortic.* 753: 263-267
- Uzun A, Gulsen O, Seday U, Bircan M, Yilmaz KU (2010) SRAP based genetic analysis of some apricot cultivars. *Romanian Biotechnol Lett* 15:5396-5404
- Williams MH, Boyd LM, McNeilage MA, MacRae EA, Ferguson RA, Martin PJ (2003) Development and commercialization of ‘Baby Kiwi’ (*Actinidia arguta* Planch). *Acta Hortic* 610: 81-86
- Zhao Y, Lin H, Guo Y, Liu Z, Guo X, Li K (2013) Genetic linkage maps of pear based on SRAP markers. *Pak J Bot* 45: 1265-1271
- Zhen Y, Li Z, Huang H (2004) Molecular characterization of kiwifruit (*Actinidia*) cultivars and selections using SSR markers. *J Amer Soc Hort Sci* 129:374-382