

재배종 고구마 [*Ipomoea batatas* L. (Lam)]의 기원종에 관한 분자생물학적 연구 동향

이신우 · 김윤희

Current status on the molecular biological research for the origin of cultivated sweetpotato [*Ipomoea batatas* L. (Lam)]

Shin Woo Lee · Yun-Hee Kim

Received: 15 October 2021 / Revised: 10 December 2021 / Accepted: 10 December 2021

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Several hypotheses for the origin of cultivated sweetpotato [*Ipomoea batatas* L. (Lam)] have been suggested but the exact progenitor is still unknown. Based on the results of RFLP patterns, microsatellite markers, SNP markers, FISH analyses, and genome analyses of haplotypes, wild species belonging to batatas group, *I. trifida*, *I. leucantha*, *I. littoralis*, *I. tabascana*, *I. tenuissima*, *I. tiliacea*, and *I. triloba* have been suggested as a progenitor. However, recently, advanced genomic technologies and characterization of the inserted T-DNA fragments of *Agrobacterium* in the genome of cultivated sweetpotato and wild species through horizontal gene transfer suggest that there may be an older progenitor than the wild species suggested so far.

Keywords Sweetpotato, *Ipomoea batatas*, progenitor, T-DNA, horizontal gene transfer

서론

현재 재배종으로 이용되고 있는 고구마는 6배체로 학명이 [*Ipomoea batatas* L. (Lam)]로서 메꽃과(*Convolvulaceae*)의 한 해살이 뿌리채소이다. 전분이 많고 단맛이 나는 혹은 줄기를 가진 작물인 재배종인 고구마와 가까운 근연종으로는 4배체인 [*I. batatas* (L.) Lam]도 존재하는 것으로 알려져 있다 (Ozias-Akins and Jarret, 1994). 이들 두 종을 구분하기 위하여 편의상 약어로 Ib6x와 Ib4x로 각각 표기하도록 하였다. Ib4x 이외에 *I. cordatotriloba*, *I. cynanchifolia*, *I. grandiflora*, *I. lacunosa*, *I. leucantha*, *I. littoralis*, *I. ramosissima*, *I. splendor sylvae*, *I. tabascana*, *I. tenuissima*, *I. tiliacea*, *I. trifida*, *I. triloba* 등의 야생종이 batatas 그룹에 속하며 가까운 근연종으로 알려져 있다 (Khoury et al. 2015). 이들을 대상으로 현존하는 고구마 재배종의 기원종을 추적하기 위한 다수의 연구 결과들이 보고되고 있으나 아직 정확한 기원종은 밝혀지지 않고 여러 가지 가설만 제시되고 있다.

첫 번째 가설은 2배체인 *I. leucantha* Jacq.가 배수성에 의하여 4배체인 *I. littoralis* Blume로 되고 이들의 교잡종으로 출현한 3배체인 *I. trifida* (H.B.K.) Don이 염색체 배개로 현재의 6배체인 재배종(Ib6x)이 되었다는 설이다 (Nishiyama 1971). 두 번째 가설은 *I. trifida*와 *I. triloba*의 교잡종이 기원 종이며 그 이유는 이들 2종이 형태학적, 생태학적, 세포학적으로 현존하는 6배체인 고구마 재배종인 Ib6x와 가장 가까운 근연관계를 보여주기 때문이라고 하였다. 아마도 이 교잡종이 이질배수화(allopolyploid)를 거치면서 현재의 재배종으로 정착이 되었을 것이라고 추정을 하였다 (Austin 1987). 세 번째 가설은 Shiotani (1987)가 주장한 것으로, 기원 종인 2배체인 *I. trifida*가 동질배수화(sexual polyploidization)로 인하여

S. W. Lee
경상국립대학교, 생명과학대학, 향노화신소재과학과
(Department of Plant & Biomaterials Science, Chilam Campus,
Gyeongsang National University, Jinju, Korea)

Y.-H. Kim (✉)
경상국립대학교, 사범대학, 생물교육과(농업생명과학연구원)
(Department of Biology Education, College of Education, IALS,
Gyeongsang National University, Jinju, Korea)
e-mail: cefle@gnu.ac.kr

여 현재의 재배종이 되었다는 학설이다. 이에 대한 증거로 2배체인 *I. trifida*와 4배체인 Ib4x로부터 2배체인 화분이 생성됨을 확인한 연구 보고서를 제시하였다(Orjeda et al. 1990; Freyre et al. 1991). 한편, Yang 등(2017) 등은 다양한 야생종과 재배종간의 반수체 조합에 대한 유전체 분석 데이터를 상호 비교 조사한 결과를 바탕으로 2배체인 *I. trifida*와 아마도 4배체인 Ib4x의 교잡에 의하여 Ib6x가 출현하였다고 주장하였다.

최근 *Agrobacterium tumefaciens*의 Ti-plasmid 내 존재하는 T-DNA 단편이 자연 상태에서 담배 식물체의 염색체 내에 전이된 사례(Horizontal Gene Transfer, HGT)가 최초로 보고되었다(White et al. 1983; Fumer et al. 1986). Chen 등(2014; 2016)은 담배 재배종 및 야생종들을 대상으로 T-DNA 단편의 삽입을 확인함과 동시에 삽입유전자의 특성, 염색체 내 삽입 위치, 염색체 재배열 등을 조사한 결과 이는 현존하는 재배종 담배의 먼 조상 계통에 전이된 다음 오랜 세월을 거치는 육종 과정에서 선택적으로 선발이 되어 왔을 것이라고 추론하였다. 이 외에도 현재의 재배종 고구마(Kyndt et al. 2015), 당근(*Daucus carota*)(Spano et al. 1982), carpet bugleweed (*Ajuga reptans*)(Tanaka 2008) 등의 식물에서도 자연상태의 HGT 결과로 염색체 내 삽입된 T-DNA 단편이 확인된 것으로 보고되었다 (Lee and Kim 2020).

본 리뷰는 다양한 고구마 야생종을 대상으로 자연 상태에서 삽입된 T-DNA의 삽입 유전자 단편, 삽입 위치, 염색체 재배열 등을 조사하여 현존하는 고구마 재배종의 기원종을 추적하는 분자생물학적 연구 결과들을 조사하고 시사점을 분석하고자 하였다.

세포유전 및 분자생물학적 기원 분석 연구

현재의 고구마 재배종에 대한 기원종에 관하여 제안된 다양한 가설에 관한 연구 결과들을 종합하여 보면 *I. trifida*가 현재의 재배종인 Ib6x와 가장 가까운 조상종일 것이라는 설이 거의 정설로 추정되어 왔다. 이에 대한 현재까지의 분자생물학적 연구결과들을 표 1에 요약하였다(표 1). Jarret 등(1992)은 Ib6x와 가까운 근연종에 속하는 다양한 수집 계통들을 대상으로 제한효소단편다형성(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) 패턴을 조사하여 *I. trifida*, *I. tabascana* 및 아직 종이 밝혀지지 않은 *Ipomea* 속에 속하는 K233(등록번호) 등이 Ib6x와 가장 가까운 종이라고 보고하였다. Butler 등(1999)은 Ib6x, Ib4x 그리고 4배체 *I. trifida*, 2배체 *I. trifida*계통들에 대하여 microsatellite 또는 simple sequence repeat (SSR) 마커를 찾아 이들에 대한 유사한 멘델 유전 현상을 확인하였으며, Rajapakse 등(2004)은 β -amylase 유전자의 인트론과 엑손 부위의 염기서열을 비교한 결과 *I. trifida*, *I. tabascana*가 Ib6x와 가장 가까운 것으로 보고하였다.

Srisuwan 등(2006)은 fluorescence in situ hybridization (FISH) 기법 및 chromomycin A3 (CMA) 시약을 이용한 GC-특이염색법을 통하여 염색체 내 5S와 18S-5.8S-26S (18S) rDNA의 구조 및 존재 양식을 분석하여 세포유전학적으로 *I. trifida*가 현재 고구마 재배종의 기원 종일 가능성이 가장 높으며, *I. tabascana*는 이들 두 종간의 교잡종일 가능성을 제시하였다. 이들은 Ib6x에 속하는 10계통, 4배체인 *I. trifida* (5계통), 2배체인 *I. trifida*, *I. triloba*, *I. tiliacea*, *I. leucantha* 및 *I. setosa*와 4배체인 *I. tabascana* 등 총 21 계통의 수집종들을 대상으로

Table 1 List of proposed progenitors for cultivated sweetpotato [*Ipomoea batatas* L. (Lam)] along with applied techniques for experimental evidence

Proposed progenitors for Ib6x	Techniques applied	Reference
<i>I. trifida</i> , <i>I. tabascana</i> , collection K233	RFLP patterns	Jarret et al. 1992
<i>I. trifida</i>	Sequence characterization of microsatellites	Butler et al. 1999
<i>I. trifida</i> , <i>I. tabascana</i>	SNP of a nuclear-encoded β -amylase gene	Rajapakse et al. 2004
<i>I. trifida</i> , <i>I. tabascana</i>	FISH pattern of 5S, 18S-5.8S-26S rDNA	Srisuwan et al. 2006
<i>I. trifida</i>	Phylogenetic analysis of haplotypes based on the assembly of a monoploid genome	Yang et al. 2017
<i>I. trifida</i>	Whole chloroplast genome analyses and 605 single-copy nuclear regions from 199 specimens representing the sweet potato and all of its crop wild relatives	Muñoz-Rodríguez et al. 2018
<i>I. trifida</i> , <i>I. triloba</i>	Comparative whole genomics analyses between <i>I. trifida</i> (2x), <i>I. triloba</i> (2x), and Ib6x (cv, Tanzania), and grouping of <i>I. trifida</i> type and <i>I. triloba</i> type's alleles	Wu et al. 2018
Unidentified progenitors	Characterization of naturally inserted <i>IbTDNA</i> fragments, <i>IbTDNA-1</i> , and <i>IbTDNA-2</i>	Quispe-Huamanquis et al. 2019

FISH기법을 사용하여 조사한 결과 이러한 결론을 도출할 수 있었다고 하였다. 반면에, *I. leucantha*는 *I. tiliacea*와 가장 가까운 근연관계를 나타내었으나 재배종인 고구마계통과는 다소 거리가 있는 것으로 조사되었다. 이는 Nishiyama (1971)가 제시한 첫 번째 가설로 2배체인 *I. leucantha* Jacq.가 배수성에 의하여 4배체인 *I. littoralis* Blume로 되고 이들의 교잡종에 의하여 3배체인 *I. trifida*가 출현하였다는 주장과는 상반된 결과이었다.

최근, Yang 등(2017)은 Ib6x의 계보를 분석하여 2배체(*I. trifida*)와 아직 정확하게 밝혀지지 않은 4배체(아마도 Ib4x)와의 교잡에 의하여 3배체가 만들어지고 이후 염색체 배가에 의하여 Ib6x가 출현하였다고 가정하였다. 저자들은 재배종인 고구마(Ib6x)를 포함하는 다양한 계통의 비교유전체 분석을 통하여 6계통의 반수체 염색체조합(n=15, Ib6x=90)을 확인하였으며, 이들을 기본으로 한 15개의 유사염색체(pseudochromosomes)에 대한 상동염색체들의 계통발생학적(phylogenetic)분석을 수행한 결과, 현재의 재배종(Ib6x)은 이배체인 기원종(*I. trifida*)과 또 다른 4배체인 기원종(아마도 Ib4x)의 교잡에 의하여 출현하였다고 주장하게 되었다.

한편, Muñoz-Rodríguez 등(2018)은 근연종으로 알려진 그의 모든 야생종을 포함하는 199계통의 수집종에 대하여 염색체의 전체 계통분석과 핵 DNA의 단일 카피로 알려진 609종의 DNA 단편에 대한 염기서열을 비교하여 계통학적 근연관계를 분석한 결과 Ib6x는 동질배수체(autopolyploid origin)를 기원으로 하며 *I. trifida*가 조상종이며, 다른 야생종들은 Ib6x의 진화에 관여하였다는 증거를 발견하지 못하였다고 하였다. 또한, *I. trifida*가 어떻게 현재의 재배종인 Ib6x의 출현에 관여하였는지에 대하여 다음과 같이 두 가지 역할을 하였다고 추측하였다. 첫째는 *I. trifida*가 동질배수화로 인하여 생성된 하나의 계통이 현재까지 유지되도록 하였다는 것이고, 둘째는 이 동질배수체(6x)가 또 다른 새로운 계통을 생산하기 위한 교잡용 모본으로 사용되었다는 가설을 제시하였다.

두 번째 가설은 Wu 등(2018)의 연구 결과로 지지를 받았다. Wu 등(2018)은 미국, 중국, 호주, 남미의 페루, 케냐, 우간다 등의 대학교 및 국·공립연구소, 국제감자연구소(International Potato Center, CIP) 등으로 구성된 국제프로젝트를 수행하여 현재 고구마 재배종(Ib6x)과 가장 가까운 야생종으로 현존하는 조상종(progenitor)일 것이라고 추정되어 온 *I. trifida* (2x)와 *I. triloba* (2x) 및 재배종(Ib6x)으로 알려진 Tanzania 계통을 대상으로 유전체분석 프로젝트를 수행하여 *I. trifida* type과 *I. triloba* type의 대립유전자(allele)들을 그룹화 하여 조사하였다. 그 결과 두 가지 type의 allele그룹이 모두 재배종 고구마 (Tanzania, Ib6x)에서 확인되었으며, *I. trifida* type이 *I. triloba* type 보다 2배나 더 많이 존재함을 확인하였다. 따라서 저자들은 Ib6x의 기원종(progenitor)은 *I. trifida*-like

progenitor와 *I. triloba*-like progenitor가 존재한다고 주장하였다. 즉, Muñoz-Rodríguez 등(2018)이 제시한 *I. trifida*-like progenitor(2x)의 유전체의 배수화를 통하여 출현한 동질배수체가 또 다른 조상종인 *I. triloba*-like progenitor에 의하여 교잡종이 된 후 배수화를 통하여 현존하는 재배종이 되었다는 가설을 주장하며 *I. triloba*-like progenitor는 Ib4x라는 가능성이 높다고 하였다.

최근 Kyndt 등(2015)과 Quispe-Huamanquis 등(2019)은 전세계에서 수집된 다양한 야생종 계통으로부터 *Agrobacterium*의 T-DNA 단편이 자연 상태에서 전이되었다는 사실을 보고하였다. 현재까지 HGT에 의하여 고구마의 유전체에 삽입된 것으로 밝혀진 T-DNA 단편은 2종류로 이들을 각각 IbT-DNA1과 IbT-DNA2로 명명 되었다. Quispe-Huamanquis 등(2019)은 IbT-DNA1과 IbT-DNA2 단편의 삽입이 현재의 재배종(Ib6x)이 분화하기 전에 삽입되었느냐 아니면 그 이후에 삽입되었는지에 대한 의문을 해결하기 위하여 Ib4x, Ib6x를 포함하여 이들과 가까운 근연종으로 알려진 13종의 야생종을 대상으로 조사한 결과 두 가지 단편 모두가 4배체(Ib4x)와 6배체(Ib6x)인 *I. batatas* (L.) Lam에서 확인되었으며, 삽입 위치와 염기서열이 현재의 재배종인 6배체 *I. batatas* (L.) Lam와 거의 동일하다는 사실을 확인하였다. 그러나 13종의 야생종들 중 *I. cordatotriloba*와 *I. tenuissima*에서만 IbT-DNA1 단편이, 그리고 IbT-DNA2는 단지 *I. trifida*에서만 확인이 되었다.

이러한 연구 결과에 따라 저자들은 현존하는 고구마 재배종이 분화되기 이전 조상종에 이들 두 종류의 IbT-DNA 단편들이 각각의 단일 이벤트 또는 동시에 전이된 다음 4배체인 *I. batatas* (L.)으로 전이되고, 현재의 재배종인 *I. batatas* (L.) Lam (6x)가 되었다고 가정하였다. 아마도 IbT-DNA1과 IbT-DNA2 단편이 *I. trifida*, *I. tenuissima*, *I. cordatotriloba*, *I. triloba*의 공통 조상에 해당하는 한 종에 각각 단일 이벤트로 전이되고, 그 후 독립적 또는 동시에 이들 4종의 야생종으로 유전된 다음 이들 중 한 종이 IbT-DNA 단편을 4배체인 *I. batatas* (L.) (4x)으로 전이한 다음 현재의 재배종인 *I. batatas* (L.) Lam (6x)가 되었다고 가정하였다. 아니면, 아직 밝혀지지 않은 한 조상종에 2회 이상의 T-DNA 전이가 일어났다고 가정하여 IbT-DNA1과 IbT-DNA2 단편이 개별적으로 또는 동시에 전이된 다음 *I. batatas* (L.) Lam (4x)와 (6x)의 공통 조상에 병합되었다고 추측하였다. 따라서, 기존에 제시된 여러 가지 가설들로 제시된 기원종 보다 더 오래된 조상종의 존재를 밝혀야 하게 되었다. 문제는 이들 조상종, 예를 들면 Wu 등(2018)이 주장한 *trifida*-like 조상종과 *triloba*-like 조상종이 현재까지 수집되어 보존되고 있을 가능성이 희박하며, 설사 보존되어 있다고 하더라도 이들을 대상으로 보다 심도 있는 추가적인 연구가 필요하다.

적 요

재배종 고구마 [*Ipomoea batatas* L. (Lam)]의 정확한 기원종은 아직 밝혀지지 않았으며 다양한 가설들이 보고되었다. 재배종과 동일한 *batatas* 그룹에 속한 야생종을 대상으로 RFLP 패턴, microsatellite 마커, SNP 마커, FISH 기법, 반수체에 대한 계통분석 등의 비교 연구에 의하면 *I. trifida*, *I. leucantha*, *I. littoralis*, *I. tabascanica*, *I. tenuissima*, *I. tiliacea*, *I. triloba* 등이 가능성이 있는 것으로 제안되었다. 그러나, 최근의 진보된 유전체분석기술과 자연상태에서 수평전이현상에 의하여 재배종 고구마 및 다양한 야생종들의 염색체 내 삽입된 T-DNA의 유전자 구조, 삽입위치, 유전자 재배열 등의 특성을 조사한 연구 결과들을 종합하여 보면 기존에 제안된 이들보다 오래된 조상종이 존재할 것이라는 새로운 가설이 제시되었다.

References

- Austin DF (1987) The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweet potatoes and related wild species, in: Exploration, maintenance and utilization of sweet potato genetic resources, in: Proceedings of the First Planning Conference, Lima, Peru, International Potato Center (CIP), pp 27-59
- Buteler MI, Jarret RL, LaBonte DR (1999) Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploid *Ipomoea*. *Theor Appl Genet* 99:123-132
- Chen K, Dorlhac de Borne F, Szegedi E, Otten L (2014) Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana*. *Plant J* 80:669-682
- Chen K, Borne FD, Julio E, Obszynski J, Pale P, Otten L (2016) Root-specific expression of opine genes and opine accumulation in some cultivars of the naturally occurring genetically modified organism *Nicotiana tabacum*. *Plant J* 87:258-269
- Freyre R, Iwanaga M, Orjeda G (1991) Use of *Ipomoea trifida* (HBK.) G. Don germplasm for sweet potato improvement. Part 2. Fertility of synthetic hexaploids and triploids with 2n gametes of *I. trifida*, and their inter-specific crossability with sweet potato. *Genome* 34:209-214
- Furner IJ, et al. (1986) An *Agrobacterium* transformation in the evolution of the genus *Nicotiana*. *Nature* 319(6052):422-427
- Jarret RL, Gawe N, Whittemore A (1992) Phylogenetic Relationships of the Sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]. *J Amer Soc Hort Sci* 117:633-637
- Khoury CK, Heider B, Castañeda-Álvarez NP, Achicanoy HA, Sosa CC, Miller RE, Scotland RW, Wood JR, Rosse G, Eserman LA, Jarret RL, Yencho GC, Bernau V, Juarez H, Sotelo S, Haan S, Struik PC (2015) Distributions, *ex situ* conservation priorities, and genetic resource potential of crop wild relatives of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam., I. series *Batatas*]. *Front Plant Sci* 6:251-265
- Kyndt T, Quispea D, Zhaic H, Jarret R, Ghislain M, Liu Q, Gheysen G, Kreuze JF (2015) The genome of cultivated sweetpotato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: an example of a naturally transgenic food crop. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:5844-5849
- Lee SW, Kim YH (2020) Scientific considerations for the biosafety of the off-target effects of gene editing in crops. *J Plant Biotechnol* 47:185-193
- Muñoz-Rodríguez P, Carruthers T, Wood JRI, Williams BRM, Kevin Weitemier K, Kronmiller B, Ellis D, Anglin NL, Longway L, Harris SA, Rausher MD, Kelly S, Liston A, Scotland RW (2018) Reconciling conflicting phylogenies in the origin of sweetpotato and dispersal to polynesia. *Curr Biol* 28:1246-1256
- Nishiyama I (1971) Evaluation and domestication of sweet potato. *Bot Mag Tokyo* 84:377-387
- Orjeda J, Freyre R, Iwanaga M (1990) Production of 2n pollen in diploid *Ipomoea trifida*, a putative wild ancestor of sweet potato. *J Hered* 81:462-467
- Ozias-Akins P, Jarret RL (1994) Flow cytometric determination of ploidy levels in *Ipomoea*. *J Am Soc Hortic Sci* 119:110-115
- Quispe-Huamanquis DG, Gheysen G, Yang J, Jarret R, Rossel G, Kreuze JF (2019) The horizontal gene transfer of *Agrobacterium* T-DNAs into the series *Batatas* (Genus *Ipomoea*) genome is not confined to hexaploid sweetpotato. *Sci Rep* 9:12584-12597
- Rajapakse S, Sasanda D, Nilmalgoda, Molnar M, Ballard RE, Austin DF, and Bohacc JR (2004) Phylogenetic relationships of the sweetpotato in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) based on nuclear β -amylase gene sequences. *Mol Phylogenet Evol* 30:623-632
- Shiotani I (1987) Genomic structure and the gene flow in sweet potato and related species, in: P. Gregory, (Ed.), Exploration, maintenance and utilization of sweet potato genetic resources. Rep 1st Sweet Potato Planning Conference CIP, Lima, Peru, pp 61-73
- Spano L, Pompon M, Costantino P, van Slogteren GMS, Tempé J (1982) Identification of T-DNA in the root-inducing plasmid of the agropine type *Agrobacterium rhizogenes* 1855. *Plant Mol Biol* 1:291-304
- Srisuwan S, Sihachakr D, Sonja Siljak-Yakovlev S (2006) The origin and evolution of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches. *Plant Sci* 171:424-433
- Tanaka N (2008) Horizontal gene transfer in *Agrobacterium*: from Biology to Biotechnology, eds T. Tzfira and V. Citovsky (New York, NY: Springer), 623-647
- Yang J, Moeinzadeh M-H, Kuh H, Helmuth J, Xiao P, Haas S, Liu G, Zheng J, Sun Z, Fan W, Deng G, Wang H, Hu F, Zhao S, Fernie AR, Boerno S, Timmermann B, Zhang P, Vingron M (2017) Haplotype-resolved sweetpotato genome traces back its hexaploidization history. *Nat Plant* 9:696-712
- White FD, Garfinkel J, Huffman GA, Gordon MP, Nester EW (1983) Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants. *Nature* 301:348-350

Wu S, Lau KH, Cao Q, Hamilton JP, Sun H, Zhou C, Eserman L, Gemenet DC, Olukolu BA, Wang H, Crisovan E, Godden GT, Jiao C, Wang X, Kitavi M, Manrique-Carpintero N, Vaillancourt B, Wiegert-Rininger K, Yang X, Bao K, Schaff J, Kreuze J, Gruneberg W, Khan A, Ghislain M, Ma D, Jiang

J, Mwanga ROM, Leebens-Mack J, Coin LJM, Yencho GC, Buell CR, Fei Z (2018) Genome sequences of two diploid wild relatives of cultivated sweetpotato reveal targets for genetic improvement. *Nat Commun* 9:4580–4592