

동위효소 분석과 제한효소 단편 다형화현상을 이용한 보리 품종의 분류

진병순 · 박노동 · 은무영* · 이은섭**

전남대학교 농화학과, *농업유전공학연구소, **원예시험장

초록 : 등전점 전기영동법에 의한 동위효소 분석과 제한효소 단편 다형화현상(RFLP) 분석기법을 이용하여 보리 품종 19종의 품종형을 구분하고 근연관계를 검토하였다. 보리 19품종은 동위효소 형태특성에 따라 esterase는 7가지형으로, phosphoglucose isomerase는 3가지형으로, peroxidase는 4가지형으로, alcohol dehydrogenase는 2가지 형으로 각각 분류되었으며, 그 핵 DNA를 제한효소 EcoRV로 절단하여 DNA probe pMSU 71로 RFLP를 분석한 결과 2가지 품종형으로 구분되었다. 이 4가지 동위효소의 형태특성 및 핵 DNA의 RFLP 특성을 종합하면 보리 19품종을 13가지 품종형으로 구분할 수 있었다. 이렇게 구분된 13가지 품종형들은 Nei's F-statistics의 계산식으로 그 근연관계를 분석하였더니 97.4~66.5% 범위의 근연관계를 보였다(1992년 12월 12일 접수, 1993년 5월 24일 수리).

생물의 유전적 표현형은 세포내 유전 인자의 정보에 따라 만들어진 수많은 효소들의 복잡한 작용의 복합적 표현이라고 할 수 있다. 생체 중에 존재하는 여러가지 효소 중에는 동일한 기질에 반응하나 분자의 구조가 다른 동위효소가 존재하는데, 이들 동위효소의 형태특성(polymorphism) 변이는 작물의 품종 유연관계 분석,¹⁻⁶⁾ 진화양식의 추정,⁷⁻⁹⁾ 돌연변이의 특성 파악,¹⁰⁾ hormon 반응,¹¹⁾ 생육시기 및 부위별 유전자 발현 특성 파악,¹⁰⁾ FI 종자 순도 검증,¹²⁾ 임목의 clone¹³⁾ 등 많은 유전연구 분야에 이용되어 왔다.

최근에는 생화학적 또는 분자유전학적인 첨단기술이 개발됨에 따라 염색체의 DNA 단편을 유전자의 marker로 이용하는 제한효소 단편 다형화현상(RFLP, restriction fragment length polymorphism)과 동위효소 다형화 현상(isozyme polymorphism)을 작물의 형태적 및 생화학적 특성과 관련지을 수 있게 되었으며, 실제로 토마토나 옥수수 등 몇가지 작물에서 DNA 단편이나 동위효소를 선발 표지인자로 사용하여 관련 유전자의 유전자 지도의 작성, 품종의 분류, 육종에 응용하고 있다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 그러나 우리나라에서는 이에 관한 연구가 아직 미진한 실정이며, 근래 동위효소 형태특성을 이용하여 수도 품종의 분류가 시도된 바 있다.^{1,18,19)}

본 연구는 RFLP와 동위효소 분석을 이용하여 19가지

보리 품종의 유연관계를 생화학적으로 규명하여 보리의 기초 유전연구 및 육종에서 선발지표로 이용할 수 있는 유전자 지도 작성을 위한 기초자료를 얻고자 수행되었다.

재료 및 방법

동위효소 분석

1) 효소의 추출

농촌진흥청의 맥류연구소 대맥과에서 형태적 특성이 뚜렷히 구분되는 보리 품종 19종을 분양받아 사용하였다. 이들의 주요 표현형적 특징을 Table 1에 나타내었다. 각 종자의 영을 제거한 후 막자사발에서 마쇄한 분말 1g에 삼차 증류수 5ml를 첨가하여 2분간 vortexing한 후 12,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 그 상등액을 냉동 보관하여 전기영동 시료로 사용하였다.

2) 등전점 전기영동

Polyacrylamide gel 등전점 전기영동은 Osterman의 방법을²⁰⁾ 일부 변형하여 행하였다. Esterase(EST)는 pH 3~10 범위의 gel과 pH 4~6.5의 phamalytes를 강화 첨가한 gel을 각각 이용하여 분석하였고, peroxidase (POD)는 pH 8~10.5 범위의 phamalytes를 강화 첨가한 gel을, alcohol dehydrogenase(ADH)와 phosphoglucose isomerase(PGI)는 두 효소 모두 pH 3~10 범위의 gel을

사용하여 분석하였다.

전기영동은 7 cm×22 cm×0.75 mm 규격의 수평형 전기영동장치를 사용하였으며, 100 V에서 1시간 동안 pre-focusing한 다음 겔 위에 strip을 얹고 20 μl의 sample을 적가한 후에 200~500 V에서 약 3시간 전기영동시켰다. 각 효소는 농업유전공학연구소 표준 염색법에¹⁸⁾ 준하여 염색하였다.

RFLP 분석

1) DNA의 추출

19품종의 보리를 15일 동안 발아 생육시켜 발육이 왕성한 완전 전개엽을 채취하여 Urea-phenol법으로⁹⁾ DNA를 추출하여 시료로 사용하였다.

2) Marker의 표지 및 Southern Hybridization

RFLP의 probe로는 이미 보리 핵 DNA로부터 마련되어 염색체상의 위치가 밝혀진 DNA 단편이 삽입된 2가지 clone(pMSU 51 and pMSU 71)을 대장균 strain DH5-α를 이용하여 증식시켜 사용하였다(이 클론들을 고려대 식량자원학과 신정섭 박사로부터 분양받았으며, 이에 감사를 드린다). Clone pMSU 51과 pMSU 71은 ampicil-

lin resistant gene을 함유한 pBR322 vector의 Bam HI site에 보리 핵 DNA 단편을 삽입시킨 각각 3 Kb와 4 Kb의 것이다. 이 plasmid를 대장균에 형질전환시키고 ampicillin(50 μg/ml)이 첨가된 LB agar plate에 transformant를 넓게 펼친 후 37°C에서 거꾸로하여 하루밤 두어서 colony를 형성시켰다. 이렇게 하여 형질전환된 대장균을 선발한 다음 이를 대량증식하여 plasmid를 순수 분리 하였다. 이 plasmid의 Bam HI site에 삽입된 단편을 α-³²P-dCTP를 사용하여 hexamer labeling법에 의하여 표지한 다음 보리 DNA의 RFLP 탐색을 위한 probe로 사용하였다.²¹⁾

보리의 DNA를 제한효소 EcoRV(KOSCO 제품)로 절단하여 전기영동 후 GeneScreen plus filter로 blotting 시켰다. 이를 표지된 marker와 65°C에서 hybridization 시켰으며, 이 filter를 2X SSC를 사용하여 실온에서 10 분간 65°C의 2X SSC와 1% SDS용액에서 30분간 세척 후 실온의 0.1X SSC에서 최종적으로 세척하여 건조시킨 다음 intensifier screen사이에 넣어 X-ray film에 노출 시켰다.

결과 및 고찰

동위효소 분석

1) Esterase(EST)

등전점 전기영동법에 의하여 분석한 esterase(EC 3.1.1.?) 동위효소의 표현형 차이는 pH 3~10의 gel에서 그 분리양상에 따라 높은 pH의 group C, 중간 pH의 group B 및 낮은 pH의 group A로 분류할 수 있었다(Fig. 1). Group A는 pH 3~10의 gel에서는 잘 분리되지 않았으며, 이를 다시 pH 4~6.5의 gel에서 전기영동하여 보다 좋은 결과를 얻었다(Fig. 1B). 이렇게 하여 group C에서 11, group B에서 2, group A에서 4개의 esterase 동위효소를 분리할 수 있었다. Group C는 band pattern에 따라 a-f의 6가지 유형으로, group B는 a, b의 2가지 유형으로, group A는 a-c의 3가지 유형으로 각각 구분되었다. 이상의 esterase 동위효소의 유형은 Fig. 1C에 나타난대로 major band만으로 단순화시킬 수 있었으며, 그 유형에 따라 19품종 보리의 esterase 동위효소는 총 7가지 표현형(I-VII)으로 분류되었다. 이 결과는 esterase의 동위효소 유형으로 볼때 이 연구에 사용된 19품종의 보리는 7가지 품종형으로 분류될 수 있음을 제시해준다. 14번에서 19번 까지 Betzes 품종의 isogenic line들은 모두 품종형 I로 분류되어 esterase 동위효소로는 서로 구분할 수가 없었으며, Titan isogenic line은 II품종형과 III품종형으로 분류되었다.

Table 1. Some characteristics of the 19 varieties of barley used

No.	Variety	Characteristics
1	Olbori	sr, c, nw
2	Songhakbori	sr, n, nw, uzu
3	Sachen 6	tr, c, nw
4	Chalssalbori	sr, n, w
5	Chalbori	sr, c, w
6	Boonong	sr, c, nw, long-culm
7	Paldalbori	sr, c, nw, short-culm
8	Dongbori 1	sr, c, nw, cold tolerant
9	Black Russian	black lemma
10	Wusein	purple lemma
11	KY62-3898	awnless
12	Titan 1	sr, c, nw
13	Titan 15	tr, n, w, awnless
14	Beztes 1 (origin)	tr, c, nw
15	Beztes 11(binubet)	tr, n, nw, shrunken endosperm
16	Beztes 12 (wafrabet)	tr, c, w, chalky
17	Beztes 2 (nubet)	tr, n, nw
18	Beztes 4 (wabet)	tr, c, w
19	Beztes 9 (wafranubet)	tr, n, w, chalky

Abbreviations: sr, six row; tr, two row; c, covered; n, naked; w, waxy; nw, non-waxy

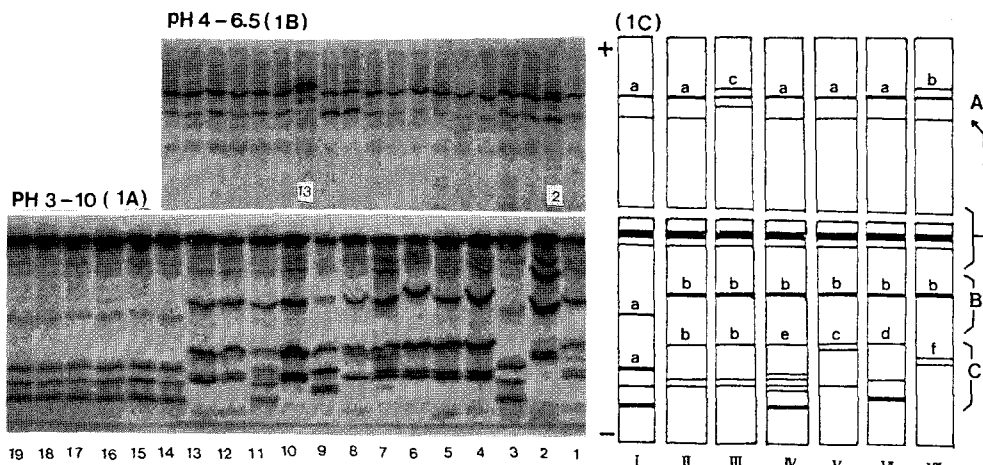


Fig. 1. Typical zymograms of esterase isozymes in barley seeds analyzed by isoelectric focusing in the range of pH 3~10 (1A) and pH 4~6.5 (1B). Only acidic esterases are shown in 1B. The simplified zymograms are shown in 1C which includes major bands only. A, B, and C in 3C represent acidic, neutral, and basic esterases groups, respectively. Acidic esterases %had 3 subphenotypes (a-c), neutral 2 (a-b), and basic 6 (a-f). The esterase isozymes polymorphisms are classified to 7 phenotypes from I to VII. 1, Oilbori; 2, Songhabori; 3, Sachen 6; 4, Chalssalbori; 5, Chalbori; 6, Boonong; 7, Paldalbori; 8, Dongbori 1; 9, Black Russian; 10, Wusein; 11, KY62-3898; 12, Titan 1; 13, Titan 15; 14, Betzes 1; 15, Betzes 11; 16, Betzes 12; 17, Betzes 2; 18, Betzes 4; 19, Betzes 9

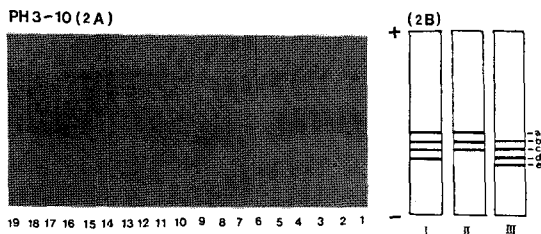


Fig. 2. Typical zymograms of phosphoglucose isomerase isozymes in barley seeds analyzed by isoelectric focusing in the range of pH 3~10 (2A). The simplified zymograms are shown in 2B which only includes major bands. The phosphoglucose isomerase isozymes polymorphisms are classified into 3 phenotypes from I to III. Numbers below represent varieties of barley as shown in Fig. 1.

Esterase 동위효소는 작물의 품종 분류에서 단백질 수준의 분자유전자의 하나로 그동안 많은 관심을 받아 왔다. 1977년 Hvid와 Nielsen은²²⁾ 일반 전기영동법으로 이를 분석하고 그 분리 양상을 보고하였으며, Kahler와 Allard는²³⁾ 세계 각국의 보리 품종들의 esterase 동위효소를 분석하고 그 pattern이 다양하게 존재한다는 것을 보고한 바 있다. 본 실험에서는 등전점 전기영동을 응용하여 보리 19품종의 esterase를 분석하였으며, 그 band pattern의 유형에 근거하여 7가지 품종형으로 나눌 수

있었다. 은무영 등은²⁴⁾ 벼종실의 esterase 동위효소를 등전점 전기영동법으로 분석하여 4개의 esterase 유전자좌를 확인한 바 있다.

2) Phosphoglucose isomerase(PGI)

보리 종실의 phosphoglucose isomerase(EC 5.3.1.9) 동위효소의 다형화현상을 등전점 전기영동법으로 pH 3~10 범위에서 분석한 결과는 Fig. 2A와 같았고, 이를 그 major band 만으로 단순화시킨 것은 Fig. 2B에 나타났다.

종실의 PGI 동위효소는 대부분의 품종에서 3~4개의 band로 구성되어 있었고 이에 따라 공시한 19 보리 품종은 3개의 품종형으로 분류되었다. 즉, a에서 e까지의 동위효소 중에 a-d band가 존재하는 품종을 PGI-I 품종형으로, a-c band의 품종을 PGI-II 품종형으로, b-e band의 품종을 PGI-III 품종형으로 구분하였다. 보리 19 품종 중에서 Betzes isogenic line과 Titan isoline은 PGI-I 품종형으로 분류되었다.

3) Peroxidase(POD)

1976년 Felder는²⁵⁾ starch gel 전기영동으로 보리의 POD 1, POD 2, POD 3으로 명명된 peroxidase(EC 1.11.1.7) 동위효소를 분리한 바 있는데, 본 실험에서 등전점 전기영동으로 얻은 19개 품종 보리의 종실 peroxidase 동위효소 pattern을 보면 Fig. 3A와 같았다. 그것을 major band만으로 단순화시킨 것은 Fig. 3B와 같으며, a에서

e까지 5개의 동위효소로 분리되었다. 이들은 pH 8~10.5 phamalytes를 강화 첨가하였을 때 분리가 잘 되는 염기성 peroxidase였다. 그 major band의 조합에 따라 4개의 품종형으로 구분할 수 있었는데, band e를 갖은 품종형 IV와 갖지않는 품종형 I, II, III으로 대별되었다(Fig. 3B). 특기할만한 것은 다른 동위효소 다형화 pattern에서 동일한 양상을 보이는 6개의 Betzes isogenic line이 품종형 II과 품종형 III으로 나뉘어진다는 사실이다. 이것은 품종형 II인 Betzes 12, Betzes 4, Betzes 9는 찰성을 띠며 품종형 III인 Betzes 1, Betzes 11, Betzes 2는 메성을 띠는 isogenic line이라는 점에서, 이 POD 동위효소 양상이 표현형적 분류양상과 일치하고 있어 흥미롭다. 따라서 POD의 특성과 메/찰의 표현형 형질과의 관계에 대한 더욱 깊은 검토가 필요하다고 생각된다.

4) Alcohol dehydrogenase(ADH)

보리의 alcohol dehydrogenase(EC 1.1.1.1)는 보리의 발아력과의 밀접한 관계 때문에 많은 관심을 받아온 효소로서, 1980년 Brown 등이²⁰⁾ 일반 전기영동법으로 보리의 ADH 동위효소를 분석하여 ADH 1과 ADH 2을 분리한 바 있다. 본 연구에서는 보리 종실의 ADH를 등전점 전기영동법으로 pH 3~10 범위에서 분석하여 7종의 ADH 동위효소를 분리할 수 있었다(Fig. 4). ADH 동위효소는 중성 pH부근에 집중되어 a에서 e까지 major band 5개와 2개의 minor band가 존재하여 2가지의 품종형으로 구분되었다. 즉 b, c, d, e band를 가진 품종을 ADH 품종형 I로, a, d, e band를 가진 품종을 ADH 품종형 II로 구분하였다. 대부분의 보리 품종들이 품종형 I에 속하였고, 표현형적 특징이 6조, 피맥, 메성, 장간인 Boonong만이 band a를 포함하여 품종형 II로 구분되었

다.

제한효소 단편 다형화 분석

보리 종실에서 추출 정제한 DNA는 A₂₆₀/A₂₈₀ 값이 1.8 정도였으며 그 크기는 30 Kb 이상으로 RFLP 분석에 적당한 것이었다. 이를 제한효소 EcoRV로 절단하면 다양한 크기의 DNA 조각들이 생성되었으며, 이를 각각 pMSU 71과 pMSU 51로 hybridization하고 autoradiography 하였다. pMSU 51를 probe로 사용하였을 때에는 19 품종 모두 2개의 band를 보여 동일한 품종군으로 나타났으나(data not shown), pMSU 71을 probe로 사용하였을 때에는 2가지의 RFLP 품종군으로 구분되었다(Fig. 5). 본 연구의 RFLP 결과로는 19 품종의 보리가 오직 2개의 품종군으로만 분류되어있을 뿐이지만, 앞으로 보다 다양한 DNA probe를 사용하여 RFLP 분석을 행한다면 보다 자세하게 품종군을 분류해내는 데 기여할 수 있을 것이다.

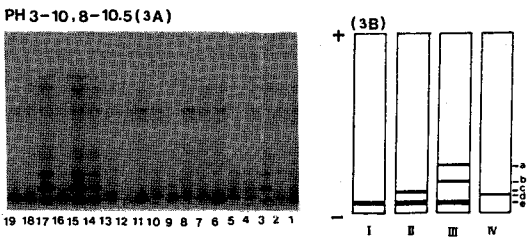


Fig. 3. Typical zymograms of peroxidase isozymes in barley seeds analyzed by isoelectric focusing in the range of pH 3~10 and 8~10.5 (3A). The simplified zymograms are shown in 3B which only includes major bands. The peroxidase isozymes polymorphisms are classified into 4 phenotypes from I to IV. Numbers below represent varieties of barley as shown in Fig. 1.

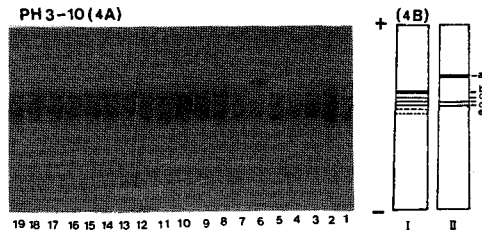


Fig. 4. Typical zymograms of alcohol dehydrogenase isozymes in barley seeds analyzed by isoelectric focusing in the range of pH 3~10 (4A). The simplified zymograms are shown in 4B which only includes major bands. The alcohol dehydrogenase isozymes polymorphisms are classified into 2 phenotypes from I to II. Numbers below represent varieties of barley as shown in Fig. 1.

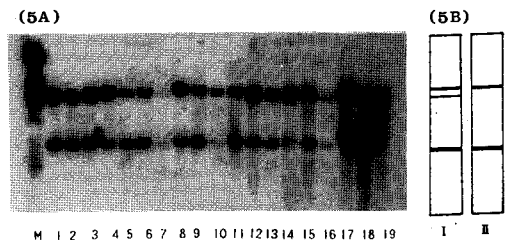


Fig. 5. Autoradiograph of EcoRV-digested barley DNAs. Restriction fragments of DNAs were probed with barley DNA marker pMSU 71. The simplified autoradiograms are shown in 5B. Numbers below represent varieties of barley as shown in Fig. 1.

Table 2. Varietal classification of barley into biochemical phenotypes based on esterase (EST), peroxidase (POD), phosphoglucose isomerase (PGI) and alcohol dehydrogenase (ADH) isozymes and RFLPs

Biochemical Phenotype	Isozyme				RFLP			Cultivars	No. of Cultivar	Ratio (%)
	EST	POP	PGI	ADH	pMSU 71	pMSU 51				
I	I	II	I	I	I	I	Betzes 4, Betzes 9, Betzes 12	3	15.8	
II	I	III	I	I	I	I	Betzes 1, Betzes 11, Betzes 2	3	15.8	
III	I	III	II	I	I	I	Sachen 6	1	5.26	
IV	II	I	I	I	I	I	Olbori	1	5.26	
V	II	I	II	II	II	I	Boonong	1	5.26	
VI	II	II	I	I	I	I	Titan 1	1	5.26	
VII	II	IV	I	I	II	I	Wusein, Chalbori	2	10.32	
VIII	II	IV	II	I	II	I	Paldalbori, Chalssalbori	2	10.32	
IX	III	II	I	I	I	I	Titan 15	1	5.26	
X	IV	I	I	I	II	I	KY62-3898	1	5.26	
XI	V	IV	II	I	II	I	Dongbori 1	1	5.26	
XII	VI	II	III	I	II	I	Balack Russian	1	5.26	
XIII	VII	IV	II	I	I	I	Songhakbori	1	5.26	
Total								19	100	

Table 3. Genetic similarity values between each biochemical phenotype of barley varieties calc by calculated by Nei's F-statistics

BIOCHEMICAL PHENOTYPES													
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
X	92	90	81	65	84	72	69	77	77	69	76	67	I
X		97	79	63	77	70	67	67	75	67	77	65	II
X			76	65	74	67	69	67	72	71	65	67	III
X				82	97	90	86	90	88	82	83	74	IV
X					79	77	80	74	80	77	73	63	V
X						87	83	92	87	80	87	69	VI
X							96	81	87	91	80	77	VII
X								78	83	94	77	79	VIII
X									80	72	79	70	IX
X										78	79	65	X
X											71	79	XI
X												63	XII
X													XIII

$$F = (2M_{xy}) / (M_x + M_y) \times 100$$

Where M_x is the total number of bands in variety x , M_y is the total number of bands in variety y , and M_{xy} is the number of shared bands between x and y .

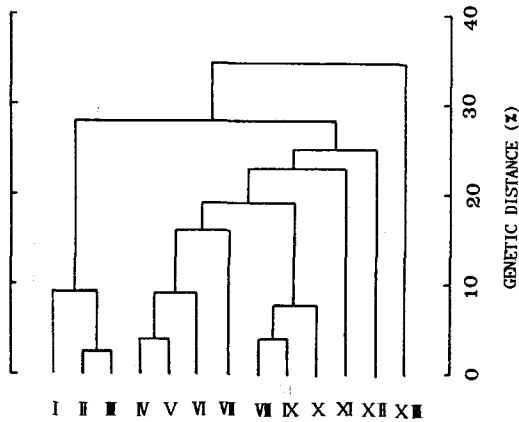


Fig. 6. Phylogenetic dendrogram of the 13 biochemical phenotypes based on isozymes and RFLPs.

동위효소 및 RFLP 분석에 의한 보리품종의 분류 및 유연관계 분석

이상의 4가지 동위효소와 2종의 DNA probe를 사용한 RFLP 분석을 종합하면 Table 2에 정리한 바와 같이 공시된 19개의 보리품종을 13개의 생화학적 품종군으로 구분할 수 있었다. Betzes line들과 titan line들은 각 2 품종군으로 나누어졌고, 팔달보리와 찰찰보리, 그리고 찰보리와 Wusein이 각각 같은 품종군으로 분류되었다. 이 품종군의 구분은 결국 esterase, peroxidase, phosphoglucose isomerase의 동위효소 다형화에 의하여 이루어진 셈이며, alcohol dehydrogenase나 RFLP는 결정적 영향을 미치지 않은 셈이 되었다. 이들 각각의 품종군별 근연관계를 다음에 보인 Nei's F-statistics 계산식²⁷⁾ 계산한 결과는 Table 3과 같다.

$$F = 2(M_{xy}) / (M_x + M_y) \times 100$$

이 때 M_x 와 M_y 는 비교하고자 하는 두 품종군 x와 y에서 동위효소 및 RFLP 분석에 의하여 나타난 품종형별 band 수이며, M_{xy} 는 두 품종군 사이의 공통된 band 수이다. Table 3에 따르면 II군과 III군, IV군과 VI군, VII군과 VIII군 사이의 유전적 거리가 각각 서로 가장 가까운 것을 알 수 있었다. Table 3의 F값을 이용하여 각 품종군을 평균연관법(average linkage method)²⁸⁾ 클러스터링(clustering) 하였다. 그 결과를 Fig. 6에 나타내었는 바, 이 phylogenetic dendrogram을 보면 Betzes isogenic line들은 사천보리와 91%의 높은 근연관계를 보이고 있으며, 찰보리는 찰찰보리와 96%의 근연관계를 나타내고 있다.

참 고 문 헌

1. 은무영, 김용권, 조용구, 김영우, 정태영, 최해춘: 한국육종학회지 21 : 293(1990)
2. Ainsworth, C. C., P. Doherty, K. G. K. Edwards, R. A. Martissen and M. D. Gale: Theor. Appl. Genet. 7 : 400(1985)
3. Aliaga-Morell, J. R., F. A. Culianez-Macia, G. Clemente-Marin and E. Primo-Yufera: Theor. Appl. Genet. 74 : 224(1987)
4. Glaszmann, J. C.: in 'Rice Genetics', IRRI, pp 83~90(1985)
5. Konishi, T. and S. Matsuura: Japan. J. Breed. 37 : 412(1987)
6. Son, E. R., W. M. Park, Y. S. Lee, S. D. Ahn and S. R. Chun: Kor. J. Crop Sci. 29 : 350(1984)
7. Ainsworth, C. C., M. D. Gale and S. Barid: Theor. Appl. Genet. 68 : 219(1984)
8. Second, G.: Japan. J. Genet. 57 : 25(1982)
9. Tanksley S.: Plant Mol. Biol. 1 : 3(1983)
10. Abbott A. G., C. C. Ainsworth and R. B. Flavell: Thero. Appl. Genet. 67 : 469(1984)
11. 박원목, 이용세, 손선용: 한국작물학회지 29 : 39(1984)
12. Arus, P., S. D. Tanksley, T. J. Orton and R. A. Jones: Euphytica 31 : 417(1982)
13. Park. Y. G. and J. SL. Choi: Kor. J. For. Soc. 18 : 17 (1973)
14. Bernatzky R. and S. D. Tanksley: Genetics 120 : 1095(1988)
15. Sharp P. J., S. Desai and M. D. Gale: Theor. Appl. Genet. 76 : 691(1988)
16. Watkins P. C.: Biotechniques 6 : 310(1988)
17. Weeden Norman F.: Plant Breeding Reviews 6 : 11 (1988)
18. 은무영, 조용구, 정태영: 농시논문집(생명공학편) 30 (1) : 21(1988)
19. 권태오, 기종호, J. C. Glaszmann: 농시논문집(수도편) 30(2) : 14(1988)
20. Osterman L. A.: in 'Methods of Protein and Nucleic Acid Research', pp.153-209, Springer Verlag, Berlin(1984)
21. Rigby, P., M. Dieckmann, C. Rhodes, and P. Berg: J. Mol. Biol. 113 : 237(1977)
22. Hvid, S. and g. Nielsen: Hereditas 87 : 155(1977)
23. Kahler, A. L. and R. W. Allard: Crop. Sci. 10 : 444 (1970)
24. 은무영, 김용권, 조용구, 정태영: 한국육종학회지 22 : 252(1990)

25. Felder, M. R.: J. Hered. 67 : 39(1976) 76 : 5269(1979)
26. Brown, A. H. D., E. Nevo, D. Zohary, and O. Dagan: 28. 이영만, 채영암, 구자옥, 서학수: 응용생물통계학, pp. 189-206, 향문사. 서울(1991)
Genetica 49 : 97(1978)
27. Nei, M. and W. H. Li: Proc. Natl. Acad. Sci, USA.

Varietal Classification of Barley by Isozymes and Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs)

Byung-Soon Jin, Ro-Dong Park, Moo-Young Eun* and Eun-Seop Lee** (Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, *Agricultural Biotechnology Institute, Suwon, 441-707 and **Horticulture Experimental Station, Suwon, 441-797, Korea)

Abstract : The methods of isoelectric focusing of 4 isozymes in polyacrylamide horizontal slab gels and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) were applied to characterize the biochemical phenotypes of 19 cultivars of barley. Among 19 barley cultivars screened, 7 esterase, 3 phosphoglucose isomerase, 4 peroxidase and 2 alcohol dehydrogenase isozyme phenotypes were distinguished by isoelectric focusing. When purified DNA of each cultivar was digested with restriction enzyme EcoRV and analyzed its RFLPs with barley DNA markers pMSU 51 or pMSU 71, two distinct RFLP patterns were shown. Based on the four isozymes and two RFLP polymorphisms, 19 cultivars of barley were classified into 13 biochemical phenotypes. Phylogenetical relationships among 13 biochemical phenotypes classified were determined using Nei's F-statistics and the phylogenetic dendrogram was constructed.