

RAPD를 이용한 고추(*Capsicum annuum*) 유전자원의 분류

남승현¹ · 최근원^{1*} · 유일웅²

¹경희대학교 원예학과, ²중앙종묘(주)

Classification of *Capsicum annuum* Germplasm Using Random Amplified Polymorphic DNA

Nam, Seung-Hyun¹ · Choi, Geun-Won^{1*} · Yoo, Il-Woong²

¹Dept. of Horticulture, Kyunghee University, Suwon 449-701, Korea

²Choongang Seed Co. Ltd., Chonan 330-170, Korea

*corresponding author

ABSTRACT This study was initiated to evaluate genetic relationship among various domestic and exotic pepper accessions using random amplified polymorphic DNA(RAPD) markers. The results suggested that the optimum conditions for PCR with random primers in *Capsicum* spp. could be obtained with 3mM of MgCl₂, 1.5U of Taq. DNA polymerase, 10ng of template DNA, 200μM of dNTPs, 200nM of random primer, and 42°C of annealing temperature. Sixteen random primers showing high band intensity and reproducibility were selected from 80 random primers. Primers having 70% GC content were more effective in DNA amplification than primers having 60% GC content. The total 93 DNA bands including 71 polymorphic bands and 22 monomorphic bands were obtained with selected 16 random primers for 31 pepper cultivars and lines. About 4.4 polymorphic bands per primer were produced. Similarity coefficients were calculated by using 71 polymorphic bands and dendrogram based on the similarity coefficient showed clear classification of 31 peppers into three *Capsicum* species of *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense* and *Capsicum chacoense*.

Additional key words: cluster analysis, PCR, polymorphism

서 언

유전자원의 유연 관계에 따른 분류는 작물 육종의 효율과 직결되는 중요한 기초 자료가 되기 때문에 육종과정에 선행되어야 한다. 과거 이러한 분류작업은 유전자원들의 형태학적인 혹은 세포화학적 특성들에 의존하여 이루어졌으나 최근 들어 분자생물학의 급속한 발전은 분자표지를 이용한 유전자원의 분류를 가능하게 하였다. 특히 소량의 DNA를 대상으로 특정부분만을 짧은 시간 내에 기하급수적으로 증폭시킬 수 있는 기술인 polymerase chain reaction (PCR)을 이용한 random amplified polymorphic DNA(RAPD)방법은 10-mer 정도의 짧은 random primer를 이용하여 PCR을 하는 방법으로 주형 DNA에 대해 random primer가 상보적 염기서열을 갖는 부위와 결합하여 DNA가 복제되기 때문에(Williams 등, 1990) 증폭되어 나타난 밴드패턴을 분석하여 여러 개체들 사이의 유전적 유사성을 비교할 수 있는 새로운 수단이다(Deragon 과 Landry, 1992). 이는 기존의 분자표지들을 이용하는 restriction fragment length polymorphism(RFLP)이나 동위 효소법에 비해 훨씬 신속하고 간편하여 유전, 육종학자들에 의해 유연 관계 확인 및 분석(Ronnis 등, 1995), 유전자 지도작성(Beckman 과 Soller, 1983) 특정 형질관련 표지개발(Martin 등, 1991) 등의 여러 분야에 활용되고

있다.

본 연구는 최근에 확산되고 있는 RAPD를 이용하여 국내외에서 수집, 활용되고 있는 *Capsicum annuum* 고추 유전 자원들을 대상으로 유연 관계를 평가할 수 있는 효과적인 방법을 제시하여 기존의 육종에 있어 고추유전자원의 활용 폭을 넓히고 선별효율을 높일 수 있는 기반을 제공하고자 실시되었다.

재료 및 방법

1. 고추의 PCR 요인의 최적화

PCR 요인의 최적화를 위한 실험의 공시재료로는 중앙종묘 육종연구소에서 육성한 양진과 1대 잡종 등 두 조합('1121E', '153B', '1121E' × '153B'; '1171W', '135Q', '1171W' × '135Q')의 고추(*Capsicum annuum*)를 사용하였다. DNA추출에 사용된 잎은 생장점에서 가장 가깝게 전개된 신초를 사용하였으며 간단하게 변형된 CTAB법에 의해 추출되었다(Sul과 Korbán, 1996).

적정농도 구명을 위한 기본 반응조건은 template DNA 20ng, Taq DNA polymerase (Promega) 1unit, primer 200nM, dNTPs 200μM, MgCl₂ 3mM, 1×PCR buffer, H₂O 이며 Operon사의 10-mer random primer OPC02(5'-GTGAGCGTC)와 OPC08(5'-TGACCGGTG)을 primer로 사용하였다. 각 요

인들에 대한 적정화는 MgCl₂의 농도, Taq. DNA polymerase의 농도, 주형 DNA의 양, dNTPs의 농도, primer의 농도, 그리고 annealing 온도의 순서로 최적조건을 선정하여 고정시킴으로써 진행되었다. 즉 MgCl₂농도 4수준(0mM, 1mM, 3mM, 5mM), dNTPs농도 4수준(100μM, 200μM, 300μM, 400μM), primer농도 4수준(100nM, 200nM, 300nM, 400nM), Taq. DNA polymerase량 4수준(0.5U, 1.0U, 1.5U, 2.0U), 주형 DNA량 4수준(10ng, 20ng, 30ng, 40ng)으로 증폭하여 반응물들의 가장 적절한 농도와 양을 선정하였으며 또한 annealing 온도를 3수준(30°C, 36°C, 42°C)으로 달리하여 annealing 온도를 최적화하였다. DNA증폭을 위한 PCR robot으로는 미국 MJ Research사의 Minicycler와 독일 Biometra사의 UNOII Thermocycler를 이용하였으며 PCR을 위한 program은 94°C에서 3분 동안 변성시킨 후 94°C에서 1분, 42°C에서 1분, 72°C에서 2분으로 45회 반복하여 증폭시켰으며 마지막으로 72°C에서 5분 동안 DNA를 연장시킨 후 4°C에서 저장하였다.

증폭된 DNA들은 1.4% agarose gel상에서 100V로 2시간 전개시킨 후 ethidium bromide로 염색하여 UV상에서 polaroid필름으로 촬영, 분석하였다(Sambrook 등, 1989).

2. Random primer 검색

고추 유전자원의 분류를 위한 다형화 밴드를 재현성 있게 증폭 시켜줄 수 있는 random primer의 선별을 위해 각 kit당 20개의 random primer를 포함하고 있는 미국 Operon사의 random primer A~Z kit 중 C, D, E, F 4개 kit의 총 80개 primer를 이용하였다. *Capsicum annuum*인 'Corno di toro', *Capsicum chinense*인 'Prigkeenuu'와 *Capsicum chacoense*인 'Chacoense' 등 서로 다른 3종을 대상으로 고추의 PCR 최적화 작업에서 얻어진 조건에 따라 최종 25μL의 반응액을 만들어 증폭한 후 형성된 밴드 수 및 선명도를 조사, 분석하였다.

3. RAPD에 의한 고추의 분류

RAPD에 의한 유연관계평가를 위해 공시재료로 사용된 고추 유전자원은 중앙종묘 육종연구소에서 수집, 유지된 것으로 *Capsicum annuum* 29점, *Capsicum chinense* 1점, *Capsicum chacoense* 1점으로 전체 31계통 또는 품종을 이용하였는데 화색, 과형, 과색, 초장 등에 있어 다양한 형태적 특징을 갖고 있었다. 고추 DNA의 추출 및 PCR산물의 검정은 위의 실험과 동일한 방법으로 수행하였다.

RAPD분석을 위해 재현성이 없거나 구분하기에 불명확한 밴드들은 분석에서 제외한 후 뚜렷하게 구분이 되는 DNA 밴드들만 분석에 이용하였다. 먼저 polymorphic 밴드와 monomorphic 밴드로 구분하여 polymorphic 밴드

Table 1. Effect of random primer GC content(%) on PCR amplification of DNA in pepper.

GC content(%)	Number of primers examined	Number of primers		
		No band	Low band intensity	High band ^z intensity
60	62	53	2	7
70	18	8	1	9
Total	80	61	3	16

^zPrimers selected for RAPD analysis.

Table 2. RAPD banding patterns generated by 16 Operon random primers with 31 pepper genotypes.

Random Primer Code	Primer Sequence (5'-3')	GC content(%)	Number of bands			Polymor- ^z phism(%)
			Poly-morphic	Mono-morphic	Total	
OPC-01	TTCGAGCCAG	60	3	0	3	100
OPC-02	GTGAGGCGTC	70	4	2	6	67
OPC-05	GATGACCGCC	70	5	0	5	100
OPC-06	GAACGGACGA	60	5	1	6	83
OPC-08	TGGACCGGTG	70	6	4	10	60
OPD-02	GGACCAACC	70	3	4	7	43
OPD-03	GTCGCCGTCA	70	6	3	9	67
OPD-07	TTGGCACGGG	70	4	1	5	80
OPD-11	AGCGCCATTG	60	4	0	4	100
OPD-13	GGGGTGACGA	70	3	2	5	60
OPE-07	AGATGCAGCC	60	2	3	5	40
OPE-12	TTATCGCCCC	60	5	1	6	83
OPE-14	TGCGGCTGAG	70	4	0	4	100
OPE-15	ACGCACAACC	60	6	0	6	100
OPF-13	GGCTGCAGAA	60	4	0	4	100
OPF-14	TGCTGCAGGT	70	7	1	8	88
Total			71	22	93	76

^zPolymorphic / Total×100

들은 밴드가 있으면 1, 없으면 0으로 코드화 하여 Jaccard's coefficient를 이용하여 similarity coefficient를 구하였고 이것을 바탕으로 비가중 평균결합(UPGMA ; unweighted pair group mean arithmetic)방법으로 dendrogram을 작성하여 재료로 사용된 고추 유전자 원들의 유연관계를 밝혔다. 이때 사용한 통계 program은 Applied Biostatistics Inc.(美)의 NTSYS-pc(Version 1.70)이었다.

결과 및 고찰

1. 고추 PCR 요인의 최적화

일대 잡종과 그 양친들을 포함하는 2조합의 고추 genomic DNA에 대한 MgCl₂ 농도에 따른 증폭효과는 MgCl₂가 첨가되지 않았거나 1mM의 저농도로 처리된 경우에는 반응산물을 얻을 수가 없었으며 3mM 이상의 처리농도에 서만 DNA 증폭이 가능하였다. 이는 Munthali 등(1992)이 지적한 바와 같이 MgCl₂가 DNA 증폭에 직접적인 영향을 미칠 수 있음을 나타내며 고추에 있어서는 3mM 이상이 필요하다는 것을 의미하였다. Taq. DNA polymerase의 수준에 따른 DNA 증폭은 두 고추 조합에서 약간의 차이를 보였지만 전체적인 경향은 높은 농도에서 PCR 반응이 효과적이었다. 1.5U이상에서 효과적인 것으로 나타난 본 실험의 결과는 2U의 Taq. DNA polymerase로 최적의 DNA 증폭을 얻었고 1U이하에서는 밴드형성이 불규칙하였던 Yoon(1992)의 결과와 유사하나 다른 연구결과들(Deragon 과 Landry, 1992; Kim,

1996)에서는 1U이하에서의 성공적인 증폭을 보고하고 있어 다른 PCR 반응 요인들의 조건에 따라 상대적으로 변할 수 있음을 암시하였다. 주형 DNA의 양은 plasmid DNA의 경우는 10~1000ng, genomic DNA의 경우는 0.05~1µg의 수준이 RAPD에 적합한 것으로 알려져 있고(Hosta 와 Flick, 1991) 가능한 최소한의 양을 이용하는 것이 전기영동후 젤상의 smear 현상을 줄일 수 있어 바람직하였다. 본 실험에서는 10, 20, 30, 40ng의 4수준이 검정되었으나 4수준에서 모두 밴드가 형성되었고 처리간 차이가 없어 가장 낮은 수준인 10ng을 적정 수준으로 선발하였다.

MgCl₂, Taq. DNA polymerase, 주형 DNA의 적정 수준을 결정하여 고정된 후 dNTPs의 농도를 50, 200, 400, 600µM의 4수준으로 처리한 결과 모든 농도에서 DNA 증폭이 일어났으나 저농도의 dNTPs 조건에서는 primer specificity가 증가하는 반면 낮은 증폭효과를 가져오는데(Hosta와 Flick, 1991), 여러 작물에서(Kim, 1996; Yang 과 Choi, 1994) 200µM의 사용으로 효과적인 증폭을 달성한 바 있어 이 농도를 고추에서도 적정농도로 결정하였다. 상기 선정된 조건하에서 primer 농도를 100, 200, 300 그리고 400nM로 처리하여 PCR을 수행한 결과 전반적으로는 primer 농도가 높아짐에 따라 주밴드들의 선명도가 높아지는 경향을 보였으나 높은 농도에서는 불특정한 PCR 산물의 생성확률이 크기 때문에 본 실험에서는 200nM을 primer의 적정농도로 정하였다.

MgCl₂ 3mM, Taq. DNA polymerase 1.5U, 주형 DNA 10ng, dNTPs 200µM, 그리고 primer 200nM의 조건으로 30, 36, 42°C의 annealing 온도에 대한 검정을 실시한 결과 annealing 온도가 높아질수록 불특정밴드의 수가 감소하고 주밴드의 선명도가 높아지는 경향을 보여 불특정한 annealing이 감소함을 보여 주어 42°C의 annealing온도가 최적인 것으로 판단하였다.

2. Random primer 검색

Operon random primer C, D, E, F set 80개의 10-mer primer를 대상으로 유전적 배경이 다른 고추 3계통에 대해 DNA 증폭 효과를 검정하여 1차로 19개의 random primer들을 선발하였고 이들에 대해 재현성 검정을 실시한 결과 16개의 random primer가 고추 DNA 증폭에 효과적인 것으로 최종 선발되었다(Table 1). 이러한 결과는 22품종의 백합 품종 구분(Lee 등, 1996)과 12개의 장미 품종 및 영양계에 대한 유전적 변이 분석(Matsumoto 와 Fukui, 1996)에 각각 3개의 primer를 사용하여 뚜렷한 RAPD 마커를 얻었으며 9개의 pointtia 품종구분에는 9개의 Operon random primer가 이용되었다(Ling 등, 1997)는 보고들과 비교하여 볼 때 고추 품종구분에 필요한 충분한 수의 random primer가 확보된 것으로 사료되었다.

검색에 이용된 random primer들의 GC함량은 전체 80개의 primer중 62개가 60%였으며 18개가 70%였다. GC함량이 60%인 primer는 전체 62개중 14.5%인 9개에서 DNA 밴드가 형성되었으나 이중 7개만이 뚜렷한 DNA 밴드를 형성하였고 2개의 primer는 아주 희미한 밴드를 보여 7개만이 RAPD 분석에 이용될 수 있는 primer로 선발되었다. 한편 GC함량이 70%인 primer의 경우는 전체 18개중에서 56%인 10개의 primer에서 DNA 증폭이 관찰되었으며 이중 한 개만을 제외한 9개의 primer가 뚜렷한 DNA 밴드형성을 보여 RAPD 분석용 primer로 선발되었다. 또한 GC함량이 60%인 random primer로만 구성된 F set에서는 다른 set에서보다 훨씬 적은 수인 2개만이 선발되었는데 이것은 GC함량이 증가할수록 증폭되는 밴드의 수(Ozaki 등, 1995)나 밝기(Moon, 1996)가 증가한다는 이전의 연구결과와 일치하는 면을 보이는 것으로 고추의 PCR에 있어 random primer의 GC함량이 DNA 증폭에 매우 중요한 요인으로 고려되어야 함을 나타내었다.

3. RAPD에 의한 고추의 분류

Random primer 검색을 통해 선발된 16개의 primer들을 31점의 고추 유전자원을 대상으로 RAPD 분석을 수행한 결과 전체 93개의 밴드가 형성되었으며 그 중에서 약 76%인 70개가 polymorphic하였고 약 26%인 22개의 밴

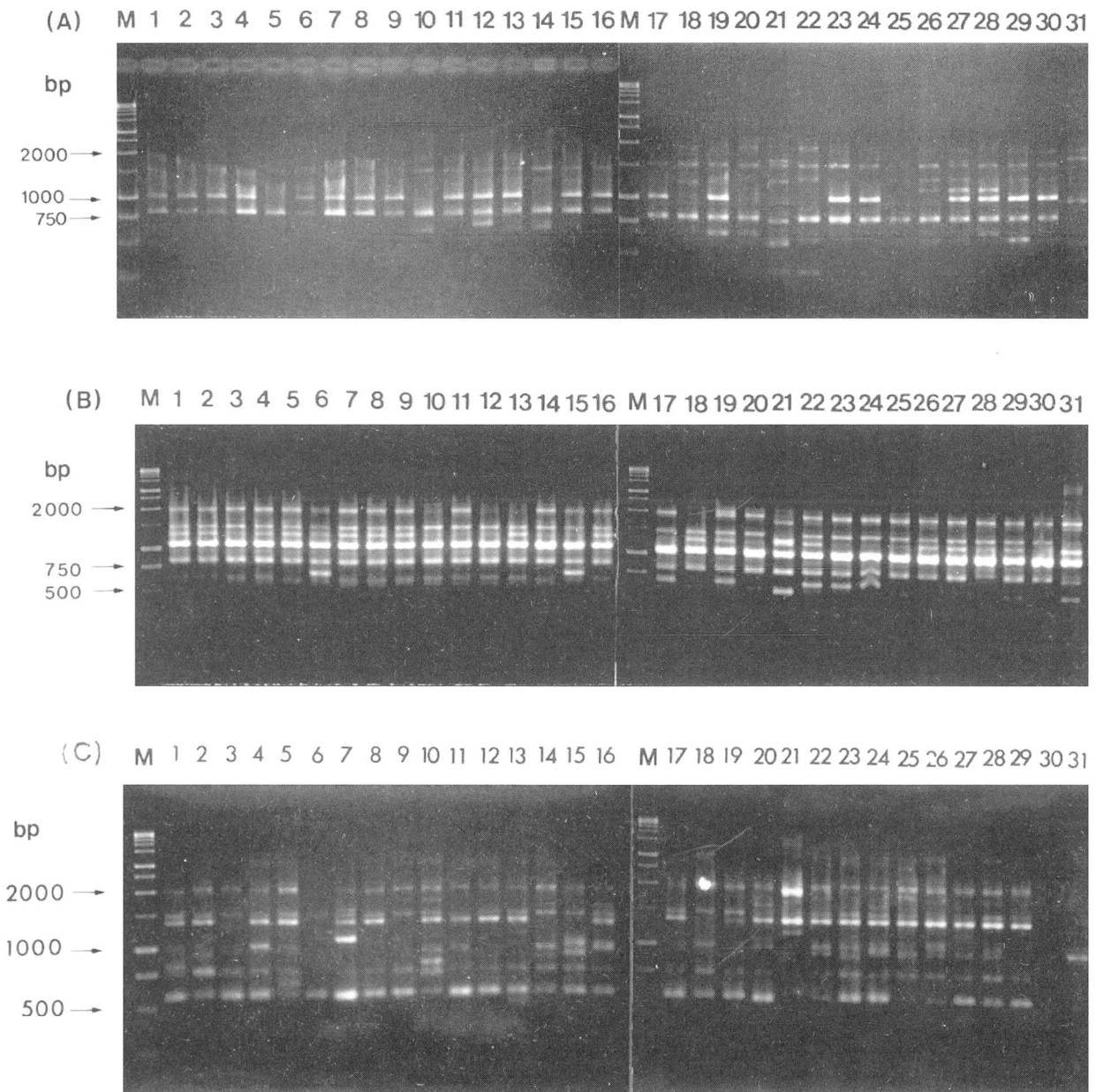


Fig. 1. RAPD profiles of 31 different hot peppers using random primer OPC01(5'TTCGAGCCAG3')(A), OPE07(5'AGATGCAGCC3')(B), and OPE14(5'TGCGGCTGAG3')(C).

M : DNA size marker, 1Kb ladder, (1) Corno di toro, (2) Do, (3) Sisido, (4) Rapidium, (5) Anadalu, (6) Anaheim, (7) Jupiter, (8) Jumbo Green, (9) Milyangjaerae, (10) Hat Vani, (11) H. Wax, (12) Bulgaria, (13) Jungkugwukagchu, (14) Hongcheonggwari, (15) Jungkongcho, (16) Imsiljaerae, (17) Cheongsong-Dopyeongjaerae, (18) Chejujaerae, (19) Daehwacho, (20) Taebaegjaerae, (21) C. M. Prigkeenuu, (22) Dungwonicho, (23) Kyeongsanjaerae, (24) Pungkagjaerae, (25) Haneuilcho, (26) Taekugjaerae, (27) Malaysia, (28) Keriting, (29) Sacheon, (30) Vietnam, (31) Chacoense.

드가 monomorphic하여 76%의 polymorphism을 나타내어(Table 2) 1개 primer당 약 4.4개의 polymorphic 밴드가 형성되어 분석에 이용되었다. 이와 같은 높은 polymorphism은 본 실험에 사용된 고추유전자원들이 비교적 유전적 거리가 먼 것으로 알려진 *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense* 그리고 *Capsicum chacoense*의 3종이 포함되었고 *Capsicum annuum*내의 공시재료들도 다양한 과실 모양, 과색등을 갖는 품종 및 계통들이었기 때문인 것으로 보여진다.

공시된 고추 3종간 분류를 나타내는 명확한

밴드들을 primer당 적어도 한 개 이상 확인 할 수 있었다(Fig. 1). OPC05 primer에서 1.7 Kb 크기의 밴드와 OPE12 primer의 1.5 Kb 밴드는 *Capsicum annuum*에서만 형성되었고, OPC01 primer에서 0.9 Kb 밴드, OPC05 primer의 1.5 Kb 밴드, OPE12 primer의 2.1Kb 밴드 등은 *Capsicum chacoense*에서만 증폭되어 나타났으며, OPC05 primer의 2.2 Kb 밴드, OPD03 primer의 2 Kb 밴드, OPE14 primer의 2.3 Kb 밴드 등은 *Capsicum chinense*에서만 나타나는 등 공시된 3종간의 구분을 가능하게 하는 중간 분류용 RAPD

표지들이 확인되었다. *Capsicum annuum*계통 및 품종들에 대해서는 35개의 다형화밴드가 형성되어 primer당 약 2.2개의 *Capsicum annuum*내 계통 및 품종분류를 가능케 하는 RAPD 표지들이 확인되었다. 본 실험의 이러한 높은 polymorphism과 다수의 중간 및 종내 계통분류용 RAPD 표지들의 확인은 RAPD를 이용한 고추속내 중간 유전적 변이 분석의 유용성을 입증한 Kim(1996)의 결과와도 일치하는 것으로 고추 종간뿐 아니라 종내에도 매우 많은 염색체상의 변이가 존재함을 보여주는 것이다.

Polymorphic 밴드들에 대해 밴드가 있으면

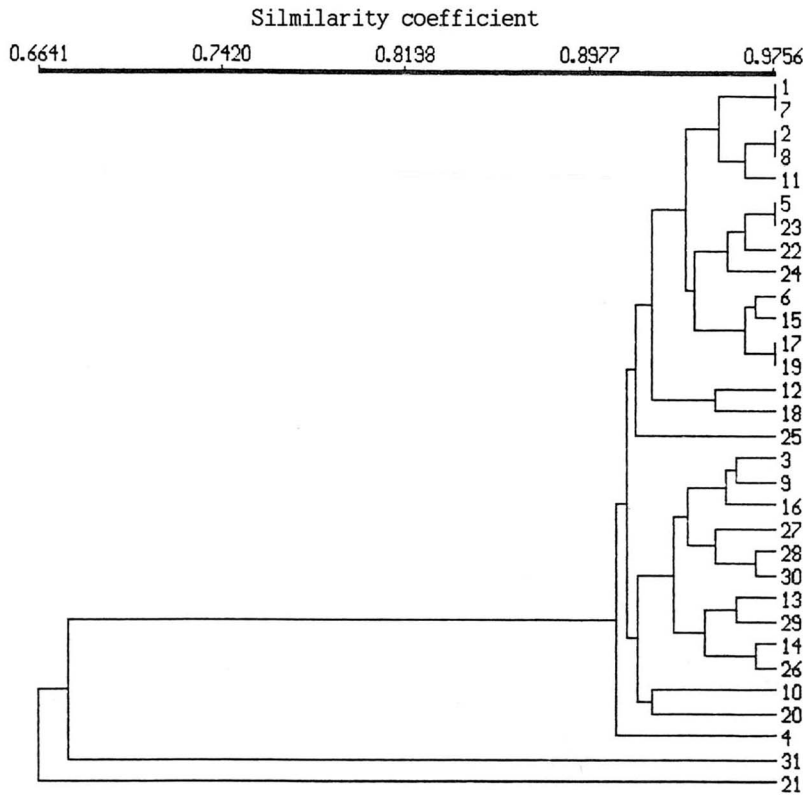


Fig. 2. Dendrogram from UPGMA cluster analysis based on similarity coefficient by using 93 RAPD bands of pepper lines and cultivars. (1) Corno di toro, (2) Do, (3) Sisido, (4) Rapidium, (5) Anadalu, (6) Anaheim, (7) Jupiter, (8) Jumbo Green, (9) Milyangjaerae, (10) Hat Vani, (11) H. Wax, (12) Bulgaria, (13) Jungkugwukagch, (14) Hongcheongwari, (15) Jungkongcho, (16) Imsiljaerae, (17) Cheongsong-Dopyeongjaerae, (18) Chejujaerae, (19) Daehwacho, (20) Taebaegjaerae, (21) C. M. Prigkeenuu, (22) Dungwonicho, (23) Kyeongsanjaerae, (24) Pungkagjaerae, (25) Haneuilcho, (26) Taekugaerae, (27) Malaysia, (28) Keriting, (29) Sacheon, (30) Vietnam, (31) Chacoense.

1, 없으면 0으로 코드화한 데이터를 근거로 31 계통 및 품종간 유사도 지수를 구하여 분석에 이용하였다. 31계통 및 품종간 유사도 지수의 범위는 0.604에서부터 0.977까지로 *Capsicum annuum* 종내 계통들 사이에서는 0.864이상의 높은 유사도 지수를 보였으나 *Capsicum chinense*, *Capsicum chacoense*와 *Capsicum annuum*과의 유사도 지수는 0.711이하의 낮은 수치를 보임으로써 종간의 유전적 거리가 먼 것을 보여주었다. 각 계통간의 유사도 지수를 근거로 UPGMA cluster analysis program을 이용하여 dendrogram을 작성하였다(Fig. 2). Dendrogram위의 수치는 유사도 지수를 나타내며 그래프의 가로 선은 계통들간의 유전적 거리를 나타내는데, 'Chacoense'가 'Prigkeenuu'보다 *Capsicum annuum*종에 더 가깝기는 하나 두 종 모두 상당히 먼 유전관계를 갖고있어 종간 구분이 뚜렷하게 나타났음을 알 수 있다. *Capsicum annuum*내의 29계통 및 품종들은 유사도지수 0.9를 분류기준점으로 할 때 크게 3개의 그룹으로 분류되어 종내 유전적 변이를 뚜렷이 나타내었는데 특히 유럽원산의 'Rapidium'은 다른 28계통 및 품종들과 가장 먼 유전관계를 보였다. 이것은 표현형에 따른 분류와 차이를 보이는 것으로 종내의 품종 및 계통에서도 많은 유전적 변이가 존재함을 나타

낸다. 이와 같은 결과는 Hu와 Quiros(1991)가 14개의 broccoli와 12개의 cauliflower 품종들에 대해 4개의 random primer를 이용한 품종구분 결과 300-2600bp사이의 다양한 밴드들이 형성되었고 이 중 28%의 밴드들을 RAPD표지로 선정함으로써 broccoli와 cauliflower의 품종구분을 위한 신속하고도 신뢰할만한 방법을 제시한 것이나 국내에서 보고된 4종을 포함하는 22개의 백합품종에 대한 품종구분에서 3개의 primer에 의해 나타난 15개의 RAPD 표지로 UPGMA cluster분석을 한 연구결과들에 비추어 볼 때 (Lee 등, 1996) 고추의 종간 혹은 종내 변이분석에 RAPD 표지가 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 판단되었다. RAPD 표지를 이용한 작물의 유전적 변이 분류(Zhang 등, 1996) 및 품종분류(Ling 등, 1997), 유용유전자와 연관된 표지를 이용한 선발효율 증대(Dax 등, 1994), 연관지도작성(Prince 등, 1993) RAPD 표지는 육종과정 전반에 걸쳐 매우 다양한 기술로써 적용될 수 있어 육종의 효율을 증대시키고 있다. 이러한 RAPD 표지의 활용은 종간 혹은 종내 계통 및 품종간의 염색체 상에 존재하는 염기서열의 차이에 의존하기 때문에 특정작물에서의 적용은 그 적용의 타당성을 확인하는 일과 유용성을 검

증하는 것이 선행되어야 한다. 본 실험에서는 고추의 RAPD를 위한 PCR의 효율을 높이기 위해 PCR 요인들의 최적조건을 확인하였으며 16개의 선발된 random primer에 의하여 증폭된 DNA 밴드들이 높은 polymorphism을 보이며 UPGMA cluster 분석에서 종내의 뚜렷한 구분을 나타내 고추의 유전적 변이 분석에 대한 RAPD의 적용 가능성을 확인할 수 있었다. 이 같은 결과들은 고추속 내의 신속한 유전적 변이 탐색과 육종과정 전반에 RAPD 표지가 활용되는데 있어 유용하게 이용될 것으로 보인다.

초 록

본 연구는 RAPD표지를 이용하여 국내외에서 수집된 고추 유전자원들간의 유전적관계를 평가하고자 수행되었다. Random primer를 이용한 고추의 PCR반응은 MgCl₂ 3mM, Taq. DNA polymerase 1.5U, 주형 DNA 10ng, dNTPs 200μM, random primer 200nM 그리고 42℃의 annealing 온도조건으로 최적화하였다. 80개의 random primer로부터 높은 밴드선명도와 재현성을 보이는 16개가 선발되었으며 70%의 GC함량을 갖는 primer들이 GC함량이 60%인 것보다 DNA증폭에 있어 효과적이었다. 31개의 고추품종 및 계통들에 대해 71개의 polymorphic밴드와 22개의 monomorphic밴드를 포함하는 총 93개의 DNA밴드가 선발된 16개의 random primer들로부터 형성되었다. Primer당 약 4.4개의 polymorphic밴드가 형성되었다. 이들 71개의 polymorphic밴드를 이용하여 유사도지수가 구해졌으며 이를 근거로 31고추 계통 또는 품종들을 뚜렷이 구분하는 dendrogram이 작성되었다.

추가 주요어 : 집괴분석, PCR, 다형화,

인용문헌

- Beckmann, J. S. and M. Soller. 1983. Restriction fragment length polymorphism in genetic improvement; methodologies, mapping and costs. Theor. Appl. Genet. 67:35-43.
- Dax, E., O. Edelbaum, N. Kedar, N. Gavish, H. Karchi, J. Milo, I. Sela, and H. D. Rabinowitz. 1994. A random amplified polymorphic DNA molecular marker for the Tm-2^a gene in tomato. Euphytica 74:159-163.
- Deragon, J. M. and B. S. Landry. 1992. RAPD and other PCR-based analysis of plant genomes using DNA extracted from small leaf disk. PCR methods and applications 1:175-180.
- Hosta, L. and P. Flick. 1991. Enhancement of specificity and yield in PCR. Editorial comments 1991-1992 18(3): 1-5.
- Hu, J. and C. F. Quiros. 1991. Identifica-

- tion of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. *Plant Cell Reports* 10(10):505-511.
- Kim, Y. J. 1996. Studies on genetic diversity within and among the *Capsicum* spp. and discrimination of pepper cultivars using RAPD markers. M. S. Thesis, Seoul National University.
- Lee, J. S., P. O. Lee, Y. P. Lim, E. M. Shin, S. Y. Park, and M. S. Roh. 1996. Classification of lilies using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Acta Horticulturae* 414:137-144.
- Ling, J. T., R. Sauve, and N. Gawel. 1997. Identification of poinsettia cultivars using RAPD markers. *HortScience* 32(1): 122-124.
- Martin, G. B., J. G. K. Willams, and S. D. Tanksley. 1991. Rapid identification of markers linked to *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primer, and near-isogenic lines. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA.* 88:2336-2340.
- Matsumoto, S. and H. Fukui. 1996. Identification of rose cultivars and clonal plants by random amplified polymorphic DNA. *Scientia Horticulturae* 67:1-2, 49-54.
- Moon, J. H. 1996. The study for identification of RAPD markers linked to genic male sterility gene in *Capsicum annuum*. M. S. Thesis, Seoul National University.
- Munthali, M., B. V. Ford-Lloyd, and H. J. Newbury. 1992. The random amplification of polymorphic DNA for fingerprinting plants. *PCR methods and applications* 1:274-276.
- Ozaki, T., T. Shimada, T. Nakanish, J. Yamamoto, and M. Yoshida. 1995. RAPD analysis for parentage determination in *Prunus mume* Sieb. et Zucc. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64(2): 235-242.
- Prince, J. P., E. Pochard, and S. D. Tanksley. 1993. Construction of a molecular linkage map of pepper and a comparison of synteny with tomato. *Genome* 36:404-407.
- Ronnis, C. M., R. J. Schell, and S. Gazit. 1995. Using RAPD markers to identify *Annona* cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(5):726-729.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Lab. Press.
- Sul, I. W. and S. S. Korban. 1996. A highly efficient method for isolating genomic DNA from plant tissues. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 2(2): 113-116.
- Willams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Libak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18(22): 6531-6535.
- Yang, G. M. and J. S. Choi. 1994. Identification of native *Zoysia* grass species using RAPD. *Kor. Hort. Abst.* 12(1): 138-139.
- Yoon, C. S. 1992. Examination of parameters affecting polymerase chain reaction in studying RAPD. *Kor. J. Mycol.* 20(4):315-323.
- Zhang, J. H., M. B. McDonald, P. M. Sweeney, and J. H. Zhang. 1996. Soybean cultivar identification using RAPD. *Seed Science and Technology* 24(3):589-592.