

절화장미 품종간 정역교배에 있어서 EST-SSR 마커의 유전

김진기¹ · 안동춘¹ · 오혜정² · 김광환² · 최영미² · 오승용³ · 강남준⁴ · 정병룡⁴ · 김주현⁴ · 박영훈^{2*}

¹경남화훼연구소, ²부산대학교, ³승용 원예자문 및 경영연구소, ⁴경상대학교

Skewed Inheritance of EST-SSR Alleles in Reciprocal Crosses of Cut Roses

Jin Ki Kim¹, Dong Chun Ahn¹, Hye Jeong Oh², Kwang Hwan Kim², Young Mi Choi², Seung Yong Oh³, Nam Jun Kang⁴, Byoung Ryong Jeong⁴, Zhoo Hyeon Kim⁴, and Young Hoon Park^{2*}

¹Flower Research Institute, Gyeongnam Agricultural Research & Extension Services, Changwon 621-802, Korea

²Department of Horticultural Bioscience, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

³Seung Yong Horticultural Consulting & Management Institute, Hwaseong 445-992, Korea

⁴Department of Horticulture, Division of Applied Life Science (BK21 Program), Graduate School, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract. Matroclinal inheritance of morphological characters in interspecific crosses of *Rosa* spp. can be influenced by cytoplasmic inheritance, apomixis, and asynaptic heterogamy. In asynaptic heterogamy, which is often observed from interspecific crosses of *Rosa* sect. *Caninae*, the polyploidy of the seed parent (especially for $5x=35$) is recovered in the progeny through the pollens that include only a set of bivalents ($x=7$) and egg cells that contain a set of bivalents ($x=7$) and other univalents ($3x=21$). In this study, we investigated the causes of matroclinal offsprings observed from reciprocal crosses of tetraploid cut rose cultivars (*Rosa hybrida* L.) by analyzing EST-SSR marker distribution in the progeny populations. From EST-SSR marker analysis of eight offsprings per six reciprocal crosses among six cultivars, cases of cytoplasmic inheritance were not observed. Apomixis was also very rare as compared to the reports on interspecific crosses of sect. *Caninae*; only one apomitic plant was identified from the cross 'Redtem' x 'Red Sandra'. Although a clear-cut pattern of asynaptic heterogamy was not found, cultivar-specific marker transmission skewed to seed parent in four cultivars implied that genetic inheritance can be highly influenced by the seed parent depending on crosses among cut rose cultivars; especially, 10 out of 11 alleles specific to 'Yellow King' distributed in progenies at higher ratios when the cultivars were crossed as the seed parent.

Additional key words: aberrant chromosomal distribution, canina meiosis, maternal transmission

서 언

장미(*Rosa hybrida* L.)는 장미과(*Rosaceae*)에 속하는 관상 식물로 산업적으로 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 영양번식 작물인 장미의 육종에서는 교잡육종법이 근간이 되는데, 장미의 교잡육종에 사용되는 교배친들의 대부분은 다양한 배수성과 이형접합(heterozygosity)적 유전특성을 지닌다. 따라서, 교잡 1세대 집단에서 다양한 개체 변이를 보이며, 이들 중에서 선발된 계통이 품종화 되는데, 교배친 중 어떤 것을 종자친, 또는 화분친으로 하느냐가 후대집단에서

형질변이의 분포에 영향을 미친다고 알려져 있다(Oh, 1998).

많은 장미의 종간교잡 연구에서 얻어진 교잡후대의 엽형(Phillips와 Rix, 1988), 생장 습성(Krüssmann, 1982), 가시 발생(de Vries, 1993; Krüssmann, 1982), 수형(Hwang과 Paek, 1997), 초장, 분지수, 수세(Oh, 1998), 휴면타파(Oh, 1998) 등 주요형질의 분포가 종자친의 영향을 많이 받는 것으로 보고되었다. 또한, 절화장미 품종간 다양한 정역교배에서도 후대집단의 화색, 가시 등의 주요 원예형질들이 종자친의 특성을 많이 닮는다고 보고되었다(Han, 2002; Kim, 2010; Oh, 1998).

*Corresponding author: ypark@pusan.ac.kr

※ Received 5 February 2010; Accepted 30 March 2010. 이 연구는 농촌진흥청과 경상남도농업기술원이 지원한 장미특화작목산학협력단의 연구과제(과제번호: PJ005373)로 수행되었다.

후대의 형질이 종자친의 특성을 따르는 이러한 경모유전(matroclinal inheritance) 현상은 장미속 식물에서 흔히 관찰되는데, 품종간 교잡뿐만 아니라, 특히 배수성(polyploidy)이 다른 종간교잡에서 두드러지게 나타난다(Graham과 Primavesi, 1993; Kroon과 Zeilinga, 1974; Melville, 1975). 경모유전의 생물학적 원인으로는 일반적으로 세포질 유전(cytoplasmic inheritance)과 단위결과(apomixis)에서와 같이 모계의 세포질 또는 핵 염색체의 비생식적 후대전이(asexual inheritance)가 알려져 있는데, 장미에서는 이들 기작과 더불어, 생식을 통한 핵 내 특정 염색체의 모계유전이 알려져 있다. 이러한 현상은 *Caninae* 아절(*Rosa* L. sect. *Caninae* DC.)의 dogrose라 불리는 배수체 장미의 종간교잡에서 독특하게 보고 되었으며, 염색체들이 한 교배친에 치우쳐 후대개체에 전달되는, 즉 비정상적 염색체 분배(aberrant chromosomal distribution) 현상으로 설명된다(Graham과 Primavesi, 1993; Kroon과 Zeilinga, 1974; Melville, 1975).

Dogrose종의 배수성(ployploid taxa, $x=7$)은 주로 5배체(*canine*, $5x=35$)이며, 4배체와 6배체로도 존재한다. 이들 배수체 종들은 상동염색체를 가지지 못하는 계놈을 지닌 비대합적 이형배수체로서 배수성 회복을 위해 *canina* meiosis라고 불리는 특수한 감수분열을 하는 것으로 보고되었다(Blackburn과 Heslop-Harrison, 1921; Wissemann, 2003). 비대합적 이형배우체의 수정(asynaptic heterogamy, 또는 balanced heterogamy)이 일어나는 *canina* 감수분열에서는, 소포자 형성과정을 통해서 상동염색체 간 쌍을 이루는 2가 염색체(bivalent chromosome)의 한 계놈($x=7$)만을 지니고, 나머지 쌍을 이루지 못하는 1가 염색체의 계놈들(5배체에서는 $3x=21$)은 배제된 화분(pollen)이 생성되는 반면, 대포자 형성과정을 통해서 2가 염색체의 한 계놈과 나머지 1가 염색체의 계놈들을 동시에 지니는 난세포(egg cell)가 생성되어 후대에서 동일한 배수성이 회복됨과 동시에 모계 염색체를 더 많이 전달 받게 된다(Blackburn과 Heslop-Harrison, 1921; Krüssmann, 1982; Richards, 1997; Wissemann, 2003).

이러한 기작은 분자마커를 통해 더욱 명확해졌는데, Nybom

등(2004, 2006)은 일련의 초위성(microsatellite), 또는 단순반복 염기서열(simple sequence repeat) 마커를 이용해, 2가 또는 1가 염색체에 존재하는 대립유전자들을 알아내었으며, 이들이 *canina* 감수분열의 법칙에 따라 후대에 전이된다는 사실을 분자적 수준에서 밝혀내었다. 또한 화분세포 내 염색체의 특이적인 SSR 마커들은 후대에 전혀 전달되지 않는 반면, 오로지 난세포 염색체 특이적 마커만이 후대로 전해지는 경우를 관찰함으로써, *Caninae* 아절의 종간 교잡시 낮은 빈도이지만 단위결과성(apomixis) 개체들이 생성됨을 보고하였다. 더불어, 각 대립유전자 마커의 PCR 증폭수준(microsatellite DNA allele counting-peak ratios, MAC-PR)(Esselink 등, 2004)의 비교분석을 통해 이들 대립유전자가 계놈상에 동형접합(homozygote), 또는 이형접합(heterozygote)으로 존재하는지 판단하여 정확한 대립유전자의 배치(allelic configuration)를 밝혀냄으로써, SSR 마커가 유전분석뿐 만 아니라 염색체 핵형분석에도 매우 유용하게 쓰일 수 있음을 제시하였다.

앞서 언급한 단위결과성과 *canina* 감수분열은 *Caninae* 아절의 종간 교잡에서 후대의 주요 표현형 특성이 화분친 보다 종자친을 주로 따른다는 관찰결과의 원인을 유전학적으로 뚜렷이 설명하고 있다. 하지만, 주로 4배체인 절화장미 품종간 교잡후대에서 보이는 경모유전 현상은 그 정도나 원인에 대한 충분한 연구가 이루어지지 못하였으며, 이를 위한 각 품종의 핵형분석 또한 미비한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 최근 개발된 EST-SSR(expressed sequence tag-simple sequence repeat) 마커(Park 등, 2010)를 이용하여 품종간 정역교배 후대집단을 분석함으로써, 1) 정역교배시 품종에 따른 종자친 유전자의 후대유전 수준, 2) *canina* 감수분열에 의한 'asynaptic heterogamy' 현상의 존재 여부, 그리고 3) 단위결과성 개체들의 출현빈도를 분석하였다.

재료 및 방법

식물재료

식물재료는 경남화훼연구소에서 작성된 절화장미 품종

Table 1. Plant materials used in the reciprocal crosses and description of abbreviations.

Cultivar	Abbreviation	Flower type	Origin	Ployploidy ²
Pascha	PC	Standard	Germany	4x
Red Calypso	RC	Standard	Netherlands	4x
Redtem	RT	Standard	Korea	4x
Red Sandra	RS	Standard	Germany	4x
Amethyst	AT	Spray	Netherlands	4x
Yellow King	YK	Spray	Korea	3x

²Ployploidy was determined by a flow cytometric analysis by Kim (2010).

간 정역교배 후대집단 중 비교적 후대개체가 많이 확보된 6개의 조합을 이용하였다. 교배에 사용된 6개 품종(Table 1) 과 각 교배조합 당 8개의 후대개체들로부터 어린 잎을 채취 하여 분석에 사용하였다.

DNA 추출 및 PCR

각 식물재료로부터 총 genomic DNA를 Gene-All spin-column kit(General Biotechnology, Korea)을 사용하여 분리하고, Nano-drop 1000(Thermo Scientific, USA) 분광광도계를 이용해 농도 및 순도를 검정한 후, EST-SSR primer의 PCR 검정과 SSR 대립유전자의 품종 간 다형성 분석에 사용하였다. 사용된 EST-SSR primer의 염기서열과 SSR motif, gene homology에 대한 정보는 Kim(2010)과 Park 등(2010)에 의해 요약되었다.

모든 PCR 반응은 genomic DNA 20ng, forward와 reverse primer 각 0.3 μ M, 1X PCR buffer, 0.2mM dNTPs, 그리고 0.6U *Taq* polymerase(Solgent, Daejeon, Korea)를 함유한 20mL 혼합액을 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 처리 후, 95 $^{\circ}$ C에서 15초간, 60 $^{\circ}$ C에서 30초간(2-10 cycle 동안 각 cycle 간 0.5 $^{\circ}$ C 감소), 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 10 cycle, 95 $^{\circ}$ C에서 15초간, 55 $^{\circ}$ C에서 30초간, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 35 cycle의 touch-down PCR 단계를 거쳐 반응시켰다. 전기영동은 2.5% agarose gel을 사용하여 TAE buffer 내에서 80 V로 2시간 실시하였고, 분리된 PCR 생성물은 ethidium bromide를 이용하여 염색한 후 UV light 하에서 관찰하였다.

EST-SSR 마커의 유전 분석

각 EST-SSR primer에 의해 증폭된 PCR 밴드, 즉 마커를 primer가 제작된 특정 유전자의 대립유전자라고 간주하고, 각 정역교배의 부모본 간 다형성을 보이는 마커들을 PCR 밴드의 크기에 따라 a, b, c, 등의 알파벳 순으로 표기하였다 (Table 3). 품종 간 다형성을 보이는 밴드를 각 품종 특이적 마커로 구분하고, 품종 특이적 마커가 각 정역교배 후대 8개

개체에서 어떠한 빈도로 나타나는지 조사하였다. 품종 특이적 대립유전자 마커(PCR 밴드)가 특정 품종을 화분친(pollen parent)으로 했을 때 후대에서 더 많이 나오면 화분친에 치우쳐 유전(skewed to pollen parent)되고, 종자친(seed parent)으로 썼을 때, 후대에서 더 많이 나오면 종자친에 치우쳐 유전(skewed to seed parent)되고, 화분친, 종자친에 관계없이 동일한 비율로 유전되면 정상 유전(unskewed transmission)으로 간주하였다.

대립유전자 클로닝과 염기서열 분석

Agarose gel로부터 PCR 밴드를 칼로 잘라낸 다음, Gene-All gel cleanup SV kit(General Biotechnology, Korea)을 이용하여 DNA 단편을 젤로부터 분리하였다. 분리된 DNA 단편들을 T&A cloning vector kit(RBC, Taiwan)을 이용하여 플라스미드 벡터에 ligation한 다음, Hit-DH5a competent cell(RBC, Taiwan)에 형질전환 시켰다. 형질전환 된 세포의 colony는 ampiciline 저항성과 blue/white colony selection 방법을 통해 선별하였고, Gene-All mini-columns Plasmid SV kit(General Biotechnology, Korea)을 이용해 플라스미드 DNA를 cell로부터 수거하였다. 수거된 플라스미드 내 삽입된 DNA 단편들의 염기서열은 ABI 3730 DNA sequencer와 Dye termination 염기서열분석법을 통해 분석하였다. ClustalW 프로그램을 이용하여 획득한 대립유전자의 염기서열을 EST-SSR primer가 유래한 EST sequence와 alignment 한 다음, 염기서열의 동일성(sequence homology), SSR의 위치 및 반복수의 차이를 확인하였다.

결 과

마커 다형성 및 품종 특이적 마커 분석

EST-SSR 마커의 후대전이 분석에 사용될 primer를 선별하기 위해 6개 정역교배조합의 부모본 간 다형성(polymorphism)을 분석하였다(Table 2). 총 40개 EST-SSR primer의 다형성

Table 2. Polymorphic EST-SSR primers between the rose cultivars used for reciprocal crosses and the number of alleles revealed by PCR amplification.

Reciprocal cross ²	Polymorphic primers	Total alleles	Polymorphic alleles	Monomorphic alleles
AT-PC	14	37	24	13
AT-YK	7	17	9	8
PC-RT	12	30	17	13
PC-RC	5	11	6	5
RT-RS	15	40	25	15
RT-YK	12	29	18	11

²For symbols, refer to abbreviations in Table 1.

Table 4. Summary of inheritance pattern of alleles specific to each rose cultivar in reciprocal crosses revealed by EST-SSR markers.

Alleles specific to ^z	Investigated reciprocal cross	No. of alleles		
		skewed to seed parent ^y	skewed to pollen parent ^x	unskewed transmission ^w
RT	RT - RS	7	3	0
	RT - PC	2	1	1
	RT- YK	6	1	1
	Total	15	4	2
PC	PC - RT	7	2	1
	PC - RC	3	1	1
	PC- AT	7	4	3
	Total	17	7	5
RS	RS - RT	7	3	0
	Total	7	3	0
RC	RC - PC	0	1	0
	Total	0	1	0
AT	AT - PC	4	2	3
	AT - YK	2	3	1
	Total	6	5	4
YK	YK - AT	3	0	0
	YK - RT	7	1	0
	Total	10	1	0

^zFor symbols, refer to abbreviations in Table 1.

^yThe number of alleles inherited to the progenies skewed to the seed parent.

^xThe number of alleles inherited to the progenies skewed to the pollen parent.

^wThe number of alleles inherited to the progenies of the reciprocal crosses at the same ratio.

배 방향에 상관없이 동일한 비율로 나타나, ‘Amethyst’에서는 특정 교배친에 치우쳐 나타나는 유전양상은 발견되지 않았다. ‘Pascha’를 화분친이나 종자친으로 정역교배한 조합들(PC-RT, PC-RC, PC-AT)에서 ‘Pascha’ 특이적 대립유전자 마커 29개 중, 7개는 화분친일 때 높은 빈도로 유전된 반면, 종자친에 치우쳐 유전된 마커는 17개로, ‘Pascha’에서는 대립유전자의 유전에 모계의 영향이 강하게 나타났음을 알 수 있었다. 이러한 현상은 세 개의 교배조합 모두에서 동일하게 일어났다. ‘Red Calypso’를 화분친이나 종자친으로 정역교배한 조합(PC-RC)에서는 ‘Red Calypso’ 특이적 대립유전자 마커가 단 1개 조사되어 정확한 분석이 어려웠다. ‘Red Sandra’를 이용한 정역교배한 조합(RS-RT)에서는 ‘Red Sandra’ 특이적 대립유전자 마커 10개 중, 3개가 화분친에, 7개가 종자친에 치우친 빈도로 나타나, ‘Red Sandra’에서도 모계의 영향이 강하게 나타났다. ‘Redtem’을 이용한 정역교배조합(RT-PC, RT-RS, RT-YK)에서 ‘Redtem’ 특이적 대립유전자 마커 21개 중 4개가 화분친일 때, 15개가 종자친일 때 후대유전 빈도가 높고, 양친의 영향 없이 동일한 빈도로 나타난 마커가 2개로서, ‘Redtem’에도 강한 모계유전적

성향이 관찰되었다. 마지막으로 ‘Yellow King’을 이용한 정역교배 조합(AT-YK, RT-YK)에서 ‘Yellow King’ 특이적 대립유전자 마커 11개 중 1개를 제외한 10개가 모두 화분친으로 교배되었을 때보다 종자친일 때 유전 빈도가 높아, 본 실험에 사용된 6 품종 중 가장 뚜렷한 모계유전성이 관찰되었다.

염기서열분석을 통한 대립유전자 확인

본 연구에서처럼 특정 유전자의 유전을 PCR 밴드의 분석에 의존하여 유추할 경우, 분석 대상이 되는 PCR 밴드들이 primer가 실질적으로 EST 염기서열로부터 증폭한 유전자-특이적(locus-specific)인 것임을 확인할 필요가 있다. 따라서 본 실험에서는 primer RSP6.63에 의해 증폭된 두 PCR 밴드, *b*와 *c*(Fig. 1의 A), 그리고 RSP17.185로부터 증폭된 *a*와 *b*(Fig. 2의 C)를 클로닝하고 염기서열을 알아내어, 각각의 primer가 유래된 유전자의 EST 염기서열인 BQ105562 [SSR motif; (ATA)₄, gene homology; Glutathione S-transferase GST 12]와 EC586469 [SSR motif; (AG)₁₄, gene homology; Phosphatase PP-X Isozyme 2](Kim, 2010; Park 등, 2010)와

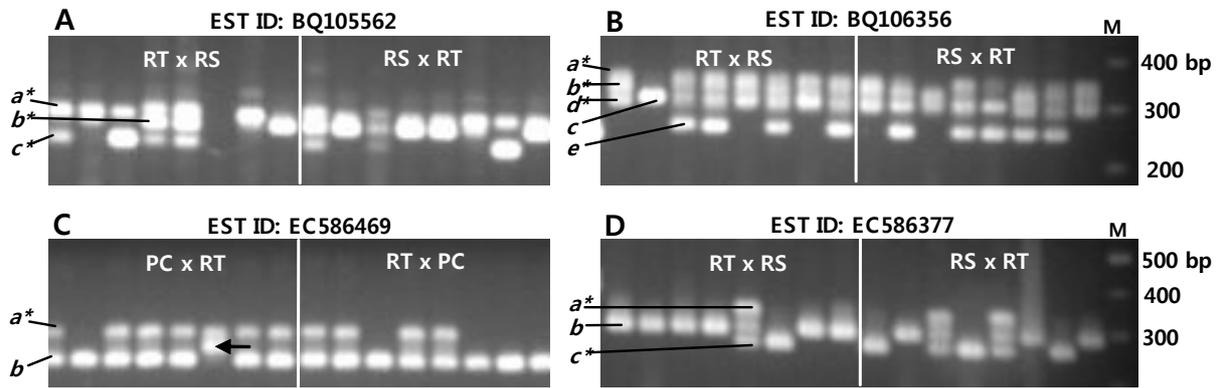


Fig. 1. Agarose gel images showing allele inheritance patterns of reciprocal crosses. Images A, B, and D show the genotypes of eight progenies derived from each reciprocal cross between 'Redtem (RT)' and 'Red Sandra (RS)' that were revealed by EST-SSR primer sets, RSP6.63, RSP10.1046356, and RSP16.181, respectively. Lanes of DNA samples from the left side correspond to the progeny plants from the top shown in Table 3. Lower-case alphabets marked with * indicate the polymorphic alleles (cultivar-specific PCR bands) that were scored for allele inheritance as shown in Table 3. Other lower-case alphabets indicate the monomorphic alleles between the parental cultivars, which were excluded from further analysis. Image C shows the result on the primer set, RSP17.185 for the reciprocal crosses between 'Pascha (PC)' and 'Redtem (RT)'. A PCR band that was absent in the parent cultivars but present in a progeny was marked with an arrow. The PCR fragments *b* and *c* in the gel image A, and *a* and *b* in C were isolated and sequenced for SSR allele confirmation (for results, refer to Fig. 2). The lane 'M' indicates DNA size ladder.

의 일치성을 확인하였다.

염기서열을 비교분석(sequence alignment)한 결과, 각 primer로부터 증폭된 PCR 밴드들의 염기서열이 각 EST 염기서열과 상동함을 관찰 할 수 있었다(Fig. 2). RSP6.63의 경우, 밴드 *b*는 233bp로서 EST인 BQ105562와 100% 동일한 염기서열을 보였으며, 밴드 *c*는 'ATA' 반복서열부위의 결실(deletion)과 더불어 4개의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 지니고 있어, 한 유전자에 대한 상이한 대립 유전자임을 알 수 있었다. 또한 RSP17.185의 경우에도, 밴드 *a*는 281bp로서 2개의 SNP와 'AG' 반복염기서열부위에 2bp 차이를 제외하고는 EST인 EC586469와 동일하였으며, 밴드 *b*는 10개의 SNP와 반복염기서열 부위 내 18bp 정도의 결실만이 확인되어, 이 또한 한 유전자에 대한 두 개의 대립유전자임을 알 수 있었다.

고 찰

장미의 모계유전성 또는 경모유전의 원인으로는 '세포질 유전', '단위결과', 그리고 dogrose에서 관찰되는 'canina 감수분열' 즉, '비대합적 이형배우자 수정' 등을 들 수 있다 (Graham과 Primavesi, 1993; Kroon과 Zeilinga, 1974; Melville, 1975; Richards, 1997). 세포질 유전의 경우, 미토콘드리아나 엽록체와 같은 세포질 내 계놈 상의 특정 유전자, 또는 분자마커가 모든 후대개체에서 보여야 하는데, 본 연구에서는 이러한 대립유전자 마커는 발견되지 않았다. 또한 모계유전이 단위결과에 의한 경우, 종자의 성립은 부모본 생식세포

의 정상적인 감수분열과 융합에 의한 것(sexual inheritance)이 아니라, 오로지 모본의 난세포 내 유전자만이 후대에 유전되어야 하는 현상이다. 따라서, 단위결과에 의해 생성된 후대개체는 모든 유전자에 대해 모계의 대립유전자를 가져야 하는데, 이러한 단위결과성 개체가 낮은 빈도로 *Caninae* 아절의 중간교잡 후대에서 나타남을 SSR 마커를 통해 Nybom 등(2004, 2006)이 밝힌 바 있다. 본 실험에서는 이러한 단위결과성 후대전이 양상이 'Redtem' x 'Red Sandra' 교배 후대개체 2번(Table 3)을 제외하고는 거의 발견되지 않았는데, 이 개체가 진정 단위결과성 후대인지 확인하기 위해서는 마커 수를 늘려 재검정할 필요가 있다. Dogrose 중간교잡에서 Nybom 등(2004)이 보고 한 6%의 단위결과 후대 생성과 비교한다면, 4배체 절화장미 품종간 교배에서는 단위결과성은 매우 드문 현상이라 생각된다.

본 연구에서 관찰된 모계유전의 특성은 품종 특이적 대립유전자가 품종이 종자친일 경우에 화분친일 경우보다 상대적으로 더욱 높은 빈도로 후대에 유전되며, 이러한 현상이 다수 대립유전자 마커에서 발견되었다는 점이다. 이는 품종에 따라 특정 대립유전자를 지닌 화분의 퇴화나 활력 또는 수정능력의 차이에 의해 나타날 수도 있으나, dogrose로 알려진 *Caninae* 아절의 5배체에서 발견되는 'asynaptic heterogamy'라고 하는 독특한 감수분열(*canina meiosis*)에 의한 비 대합적 모계유전을 통한 후대에서의 배수성 회복 기작과 어느 정도 관련이 있으리라는 추측도 가능하다(Blackburn과 Heslop-Harrison, 1921; Krüssmann, 1982; Oh, 1998; Richards, 1997). 특히 유세포분석기(flow cytometry)를 통한 배수성

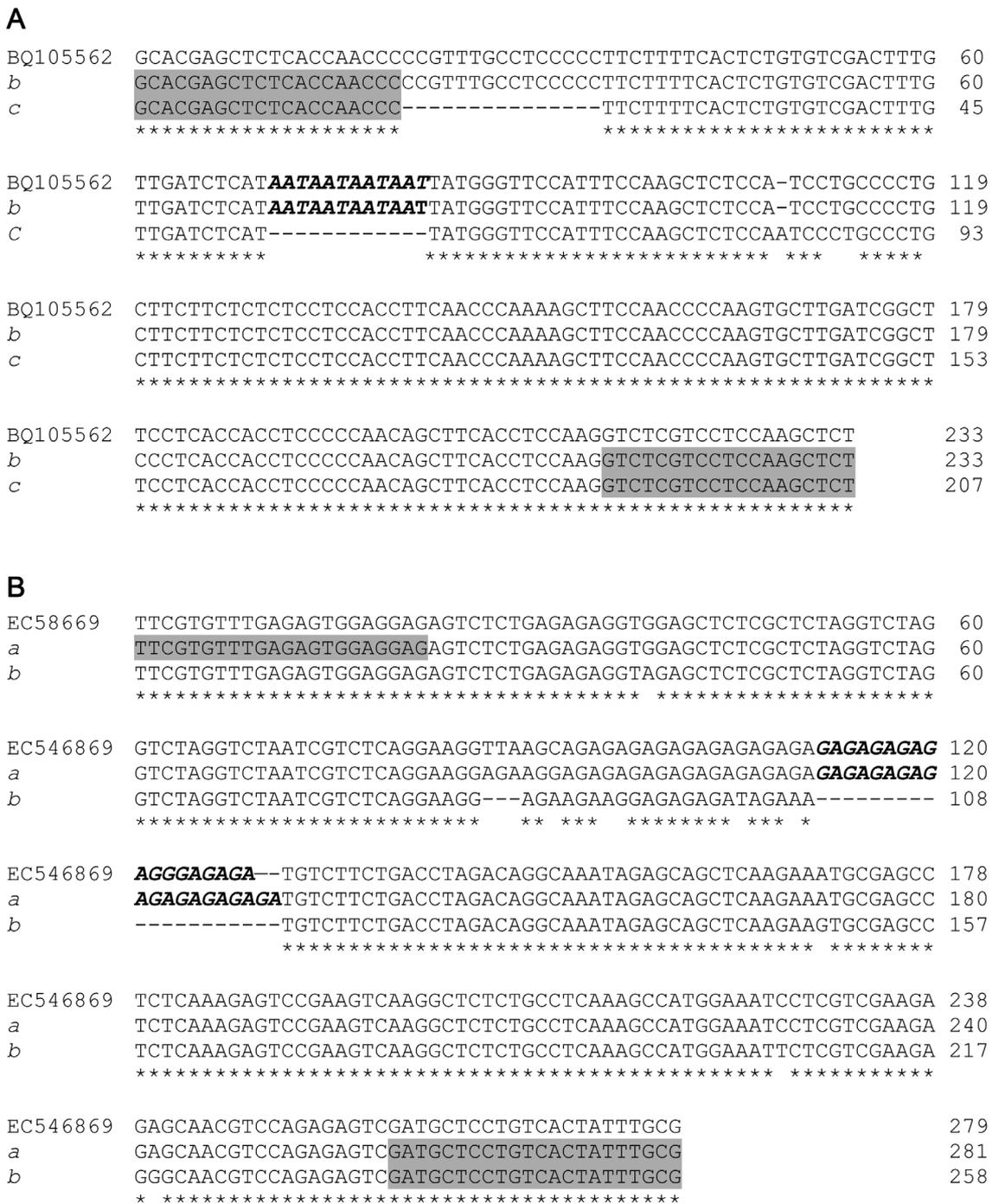


Fig. 2. A, DNA sequence alignment of alleles *b* and *c* shown in Fig. 1A with the original EST sequence, BQ105562 [glutathione S-transferase GST 12, (ATA)₄]; B, DNA sequence alignment of alleles *a* and *b* shown in Fig. 1C with the original EST sequence, EC586469 [phosphatase PP-X isozyme 2, (AG)₁₄]. In both alignments, strong homology among DNA sequences was observed, demonstrating that these EST-SSR primer sets specifically amplified different alleles of an identical gene targeted by each primer set. Several insertion/deletion regions (In/Dels) and single nucleotide polymorphisms (SNPs) including major SSR polymorphisms (italic characters) were detected. The EST-SSR primer sequences are indicated by gray boxes.

검정에 관한 연구(Kim, 2010)에 의하면, EST-SSR 검정에서 가장 강한 모계유전성을 보인 ‘Yellow King’ 품종은 3배체로 관찰되었으며, 이 품종의 자가수분 후대와 정역교배 후대들 또한 3배체로 관찰되었다. ‘Asynaptic heterogamy’ 유전기작이 ‘Yellow King’의 정역교배에 작용하였다면, 3배체

인 ‘Yellow King’을 종자친으로 이형4배체(allotetraploid) 품종과 교배할 경우, 후대가 화분친으로부터는 2가 염색체의 한 계놈($x=7$)을, 종자친으로부터는 2가 염색체의 한 계놈($x=7$) 및 1가 염색체의 계놈($x=7$)을 이어 받아 다시 종자친의 배수성($3x=21$)을 회복하는 것으로 설명될 수 있다. 또한,

본 연구에서 강한 모계유전성을 보인 EST-SSR 마커들은 ‘Yellow King’의 이러한 1가 염색체 상의 대립유전자일 가능성을 제시한다. 하지만 본 연구의 정역교배에서 dogrose의 중간교잡에서처럼 뚜렷한 *canina* meiosis에 의한 1가 염색체의 모계유전이 있었다면, 특정 품종이 종자친일 경우가 품종의 특이적 마커가 8개 후대개체 모두에서 관찰되는 반면, 화분친일 경우에는 어떠한 후대에서도 발견되지 않은 예가 있어야 하는데, 그렇지 않았다.

3배체 또는 4배체의 장미 품종에서도 *canina* meiosis와 유사한 기작이 제한적으로 일어날 수 있다면 즉, 불규칙적인 *canina* meiosis에 의해 1가 염색체들의 배제가 완전히 통제되지 않아 일부 염색체가 화분에 남게 된다면, 본 실험의 결과에서와 같이 일부 후대개체에서 화분친을 통한 마커의 유전이 낮은 빈도로 나타날 수 있으리라 생각된다(El Mokadem 등, 2002; Werlemark 등, 1999; Werlemark와 Nybom, 2001). 그러나, 분석된 후대개체 수가 8개로 한정되어 통계분석이 어려웠다는 점과 ‘Yellow King’이 단지 3배체일 가능성을 관찰하였을 뿐, 어떠한 핵형(동형, 또는 이형배수체)을 가지고 있는지, 그리고 사용된 EST-SSR 마커가 어떤 계통상에 존재하는 유전자인지가 밝혀져 있지 않은 상황에서 위의 가설을 구체화하기는 어렵다.

그럼에도 불구하고, 일부 4배체, 또는 3배체 절화장미 품종에서 화색과 같은 주요 원예형질들이 강한 경모유전 양상을 보였던 것이(Han, 2002; Kim, 2010; Oh, 1998), 실질적으로 종자친의 대립유전자들이 화분친의 대립유전자에 비해 보다 높은 빈도로 후대에 유전되기 때문임을 EST-SSR 마커를 통해 본 연구에서 간접적으로 증명하였다고 할 수 있다. 단지, 이러한 유전자들의 유전이 모계를 통해 우위적으로 나타날 수 있는 유전적 기작에는 더욱 많은 연구가 필요하리라 사료된다. 나아가, 대립유전자 마커의 모계유전성이 품종에 따라 상이함이 밝혀진 바, 보다 광범위한 육종재료를 대상으로 마커 유전 빈도를 분석한다면 후대집단의 형질발현 분포를 미리 예측할 수 있는 교배조합 작성이 가능할 것이다.

PCR 밴드의 염기서열 분석은 본 연구의 대립유전자 유전 분석 결과에 신뢰성을 부여하였다고 생각된다, 비록 2개의 primer에 대한 검정이었지만, 검정된 primer모두 타겟으로 한 유전자 염기서열에 매우 특이적으로 반응하여 SSR 변이를 가진 특정 유전자의 대립유전자들을 찾아 내고 후대집단에서 추적하는데 매우 효과적이었다. 이러한 결과로 미루어 보아, 본 연구에 사용된 EST-SSR primer 중, 품종 간 3-4개 이상의 다형성 밴드들을 보이는 마커들은 배수체가 지니는 계통들 상에 존재하는 동일유전자의 대립유전자들일 가능

성이 높다고 생각된다. 따라서, 이러한 분자 마커들을 활용하면 장미 유전자원의 복잡한 핵형 및 대립유전자 배치에 대한 분석이 매우 용이해지리라 생각되며, 보다 구체화 된 유전적 정보를 토대로 과학적인 장미육종이 가능하리라 기대한다.

초 록

장미속 중간교잡 후대에서 발견되는 경모유전(matroclinal inheritance) 현상은 세포질 유전, 단위결과, 그리고 비대합적 배우자생식(asynaptic heterogamy)의 결과로 설명될 수 있다. 비대합적 배우자생식은 *Caninae* 아절(*Rosa hybrida* L. sect. *Caninae* DC.)의 중간교잡에서 독특하게 관찰되며, 5배체의 경우, 화분세포를 통해서는 2가염색체($2x=14$)를 이루는 상동계놈 중 한 계놈($x=7$)만이, 난세포에서는 이러한 계놈($x=7$)과 더불어 1가 염색체를 이루는 나머지 계놈들($3x=21$)이 동시에 유전되어 후대에서 종자친의 배수성($5x=35$)이 회복된다. 본 연구에서는 절화장미 품종간 정역교배시 대립유전자의 후대유전 빈도를 관찰함으로써, 4배체 품종교배에서 관찰되는 경모유전의 요인을 분석하고자 하였다. 절화장미 6품종을 이용한 6개 정역교배조합 당 8개의 후대개체를 총 30개의 EST-SSR 마커로 검정해 본 결과, 뚜렷한 세포질 유전의 경우는 발견되지 않았다. 또한, 단위결과의 경우도 ‘Redtem’ x ‘Red Sandra’ 조합의 후대개체 하나에서만 발견되어, *Caninae* 아절의 중간교잡에서와 비교하여 상당히 낮은 빈도였다. 비대합적 배우자생식의 예도 *Caninae* 아절의 경우처럼 뚜렷하게 나타나지는 않았다. 하지만, 6개 공시품종 중, 4개의 품종에서 화분친 보다 종자친으로 교배시 품종 특이적 마커의 후대유전빈도가 상대적으로 높게 나타나 품종에 따라 대립유전자의 모계유전적 성향이 존재함을 증명하였다. 특히 ‘Yellow King’의 경우, 11개의 대립유전자 중 10개가 종자친일 경우에 후대집단에서 높은 빈도로 나타나 공시품종 중 가장 강한 모계유전성을 보였다.

추가 주요어 : 염색체 이상 분리, *canina* 감수분열, 모계유전

인용문헌

- Blackburn, K. and J.W. Heslop-Harrison. 1921. The status of the British rose forms as determined by their cytological behaviour. *Ann. Bot.* 35:159-188.
- El Mokadem, H., L. Crespel, J. Meynet, and S. Gudin. 2002. The occurrence of $2n$ -pollen and the origin of sexual polyploids in dihaploid roses (*Rosa hybrida* L.). *Euphytica* 125:169-177.
- Esselink, G.D., H. Nybom, and B. Vosman. 2004. Assignment

- of allelic configuration in polyploids using the MAC-PR (microsatellite DNA allele counting-peak ratios) method. *Theor. Appl. Genet.* 109:402-408.
- Graham, C.G. and A.L. Primavesi. 1993. *Roses of Great Britain and Ireland*. BSBI Handbook No. 7. Botanical Society of the British Isles, London.
- Han, Y.Y. 2002. Studies on cross-fertility, genetic analysis of cross-progenies and breeding of new cultivars in genus *Rosa*. Ph.D Thesis, Daegu-Catholic Univ, Daegu, Korea.
- Hwang, H.J. and K.Y. Paek. 1997. Breeding theory and practice of rose. *Chungbuk Natl. Univ.* p. 57-90.
- Kim, J.K. 2010. Genetic analysis of cut rose (*Rosa hybrida* L.) by reciprocal crosses among cultivars. Ph.D Thesis, Gyeongsang National University, Jinju.
- Kroon, G.H. and A.E. Zeilinga. 1974. Apomixis and heterogamy in rose rootstocks (*Rosa canina* L.). *Euphytica* 23:345-352.
- Krüssmann, G. 1982. *Roses*. G. BT Batsford Ltd., London. p. 435.
- Oh, Y.N. 1998. Genetic analysis of several characters in the interspecific hybridization of *Rosa* spp. Ph.D Thesis, Seoul National University, Seoul.
- Melville, R. 1975. *Rosa* L. p. 212-227. In: C.A. Stace (ed.). *Hybridization and the flora of the British Isles*. Academic Press, London.
- Nybom, H., G.D. Esselink, G. Werlemark, and B. Vosman. 2004. Microsatellite DNA marker inheritance indicates preferential pairing between two highly homologous genome in polyploid of hemisexual dog-roses, *Rosa* Sect. *Caninae*. *Heredity* 92: 139-150.
- Nybom, H., G.D. Esselink, G. Werlemark, L. Leus, and B. Vosman. 2006. Unique genomic configuration revealed by microsatellite DNA in polyploid dogroses, *Rosa* sect. *Caninae*. *J. Evol. Biol.* 19:635-648.
- Park, Y.H., S.G. Ahn, Y.M. Choi, D.C. Ahn, J.G. Kim, J.S. Kang, Y.W. Choi, and B.R. Jeong. 2010. Rose (*Rosa* spp.) EST-derived microsatellite markers and their transferability to strawberry (*Fragaria* spp). *Sci. Hort.* 125:733-739.
- Phillips, R. and M. Rix. 1988. *Roses*. Random House. New York. p. 224.
- Richards, A.J. 1997. *Plant breeding systems*. 2nd ed. Chapman & Hall. London. p. 529
- de Vries, D.P. 1993. The vigour of glasshouse rose. Ph.D Thesis, Agricultural University, Wageningen, Netherlands.
- Wissemann, V. 2003. Conventional taxonomy (wild roses). p. 111-117. In: A.V. Robert, T. Debner, and S. Gudin (eds.). *Encyclopedia of rose science*. Elsevier Academic Press, Oxford.
- Werlemark, G. and H. Nybom. 2001. Skewed distribution of morphological character scores and molecular markers in three interspecific crosses in *Rosa* section *Caninae*. *Theor. Appl. Genet.* 98:557-563.
- Werlemark, G., M. Ugglä, and H. Nybom. 1999. Morphological and RAPD markers show a highly skewed distribution in a pair of reciprocal crosses between hemisexual dogrose species, *Rosa* sect. *Caninae*. *Theor. Appl. Genet.* 98:557-563.