

Evaluation of Genetic Diversity among Persimmon Cultivars (*Diospyros kaki* Thunb.) Using Microsatellite Markers

Ji Hyeon Hwang, Yu-Ok Park¹, Sung-Churl Kim¹, Yong-Jae Lee, Jum Soon Kang, Young Whan Choi, Beung-Gu Son and Young-Hoon Park*

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

¹Sweet Persimmon Research Institute, Gyeongnam Agricultural Research & Extension Service, Gimhae 621-802, Korea

Received March 30, 2010 / Accepted April 9, 2010

The genetic diversity among 48 persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) accessions, indigenous in Korea and introduced from Japan and China, was evaluated by using simple sequence repeat (SSR) markers. From 20 SSR primer sets, a total of 114 polymorphic markers were detected among 12 pollination-constant non-astringent (PCNA), 13 pollination-variant non-astringent (PVNA), 15 pollination-variant astringent (PVA), and 8 pollination-constant astringent (PCA) cultivars. Analysis of pair-wise genetic similarity coefficient (Nei-Li) and unweighted pair-group method with arithmetic averaging (UPGMA) clustering revealed two main clusters and four subclusters for cluster I. The subclustering pattern was in accordance with the classification of persimmon cultivars based on the nature of astringency loss. Phenetic relationships among the subclusters showed a closer relatedness of the PCNA group with the PVNA group, and the PVA with the PCA group. Genetic similarity co-efficiency was 0.499 on average and the highest (0.954) similarity was observed between 'Cheongdo-Bansi' and 'Haman-Bansi'. The similarity was lowest (0.192) between 'Damopan' and 'Atago'. Identification of each cultivar with the exception of 'Cheongdo-Bansi' and 'Gyeongsan-Bansi' was possible based on the SSR fingerprints, suggesting that these SSR markers are a useful tool for protecting intellectual property on newly developed cultivars.

Key words : *Diospyros kaki*, microsatellite, simple sequence repeat, genetic distance

서 론

감나무는 감나무과에 속하며, 학명은 *Diospyros kaki* THUNB. var. *domestica* MAK이다. 전세계에 분포하는 감나무속(*Diospyros* L.) 식물은 약 190여종이며 이 중 과수로 이용되고 있는 것은 감(*Diospyros kaki* THUNB), 고욤(*Diospyros louts* L.), 미국감(*Diospyros virginiana* L.), 유시(*Diospyros oleifera* Cheng) 등 4종이다[10].

감은 크게 단감과 뽕은감으로 구분한다. 단감은 과실이 성숙함에 따라 뽕은 맛의 원인인 감 탄닌이 물에 녹아 뽕은맛을 느끼게 하는 가용성탄닌에서 물에 녹지 않는 불용성탄닌으로 변한다[6,17]. 따라서 소비자의 입에 들어갔을 때 뽕은 맛이 완전히 제거되고 단맛만이 남는다. 이러한 단감과 뽕은감은 과실 내의 종자와 감삼(달고 뽕음)과의 관계로 4가지 그룹으로 분류한다. 즉, 단감에는 완전단감(pollination constant non-astringency, PCNA)과 불완전단감(pollination variant non-astringency, PVNA), 뽕은감에도 완전뽕은감(pollination constant astringency, PCA)과 불완전뽕은감(pollination variant astringency, PVA)이 있다[7,18]. 완전단감은 종자의 유무에 관

계없이 지속적으로 뽕은맛을 잃기 때문에 단감재배 시 인위적으로 수분하지 않아도 뽕은맛을 잃어 단감이 된다. 또한 불완전단감은 종자를 가짐으로써 과육의 색이 갈변됨과 동시에 뽕은맛을 잃게 된다. 따라서 완전단감 품종은 단감의 과육색을 유지함과 동시에 뽕은 맛이 없어 상업적인 측면에서 재배 농가에게 매우 중요한 품종이다.

현재 국내 단감생산에 이용되는 품종은 '부유(Fuyu)', '서촌조생(Nishimurawase)' 등과 같은 일본품종이 대부분이며, 종자산업법의 신품종보호제도 실시에 따른 일본 단감품종에 대한 로열티 지급으로 인해 국내 단감품종의 개발과 보급이 시급한 실정이다. 신품종 육성을 위해서는 육종에 이용되는 유전자원 선별 및 유전적 다양성의 확보와 이들에 대한 정확한 유전적 정보를 파악하는 것이 매우 중요하다. 더불어 신품종 육성시 품종에 대한 지적 재산권을 보호할 수 있는 품종 판별 기술 또한 마련되어야 한다.

최근 들어서는 DNA 마커를 이용한 육종선발 및 품종분류가 여러 작물에서 이용되고 있다[4,9,13]. DNA 마커는 유전형상의 본질인 DNA의 염기서열 차이를 대상으로 하기 때문에 개체간 변이 수준이 매우 높으며, 식물의 발육단계와 관계없이 안정적으로 관찰되며, 모든 조직에서 탐지할 수 있다. 또한 환경에 영향을 받지 않고, 유전자간의 상위작용이나 다면발현에 의한 영향을 받지 않아 보다 정확한 선발과 유전학적 분류

*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5525, Fax : +82-55-350-5529

E-mail : ypark@pusan.ac.kr

가 가능하다[1,5,16]. DNA 마커에는 RAPD (random amplified polymorphic DNA), RFLP (restriction fragment length polymorphism), AFLP (amplified fragment length polymorphism) 및 microsatellites (simple sequence repeat, SSR) 등의 다양한 기법이 있는데 이 중 SSR 마커는 품종 또는 개체 간 다양성이 상대적으로 높고, 마커 검정 절차 또한 매우 신속하고 비용이 절감되는 장점을 지니고 있다.

따라서, 본 연구는 최근 감으로부터 개발된 SSR 마커를 이용하여, 주요 육종재료로 쓰이고 있는 일본과 중국의 도입종 및 국내 재래감 품종들간 유전적 다양성과 유연관계를 평가하고 단감 품종의 육성 및 품종보호를 위한 품종 판별용 마커개발을 위한 기초자료를 제공하고자 실시하였다.

재료 및 방법

식물 재료

SSR 마커를 이용한 감 품종간 유연관계분석을 위해 경남단감육종연구소(창원) 에서 보존 중인 국내품종 14점, 중국품종 1점, 일본품종 33점을 포함하여 총 48점을 선발하여 이용하였다(Table 1).

DNA 추출

-70°C에서 동결 보존한 단감 잎 3-5 g을 잘게 썰어 막자사발에 넣고 액체질소를 사용하여 곱게 간 분말에 65°C의 extraction buffer 15 ml를 첨가하여 잘 혼합한 다음, 65°C water-bath에 넣고 15분 간격으로 혼합하면서 60분 동안 반응시켰다. 그 다음 chloroform-isoamyl alcohol (24:1)용액 10 ml를 첨가한 후 10분간 잘 혼합한 후, 12,000× g에서 15분간 원심분리하였다. 13 ml 정도의 상층액을 새로운 tube에 옮긴 다음 isopropanol 용액 13 ml를 첨가 후 잘 혼합하여 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 이를 12,000× g에서 25°C로 15분간 원심분리시키고 난 뒤 생긴 pellet을 70% ethanol 용액 3 ml로 세척하였다.

Pellet을 5분간 완전히 건조 시킨 후 TE buffer (Tris 1 M, EDTA 0.5 M)용액 0.7 ml를 넣어 녹인 뒤 10 mg/ml RNase 용액 5 µl를 첨가 한 뒤 37°C에 30분간 반응 시켰다. 반응 시킨 용액을 1.5 ml microcentrifuge tube에 옮겨 담고, phenol 25:24:1 용액 0.65 ml를 첨가 한 후 5분간 흔들어 준 다음 12,000× g에서 25°C로 15분간 원심분리 하였다. 가라 앉은 pellet을 제외한 상층액 0.6 ml를 새로운 tube로 옮기고 chilled isopropanol 용액을 0.5 ml 첨가 한 후 몇 번 흔들어 주고,

Table 1. List of 48 persimmon cultivars used for the evaluation of genetic relationship by SSR markers

Sample no.	Cultivar ^a	Type ^b	Origin	Entry no.	Cultivar ^a	Type ^b	Origin
1	Toyouchi*	PCNA	Japan	25	3-225	PVNA	Korea
2	Fujiwaragoshō*	PCNA	Japan	26	Tonewase	PVA	Japan
3	Jiro*	PCNA	Japan	27	Sugitawase	PVA	Japan
4	Midai*	PCNA	Japan	28	Superhiratanenashi	PVA	Japan
5	Mammoth*	PCNA	Japan	29	O-tanenashi	PVA	Japan
6	Sunami*	PCNA	Japan	30	Hiratanenashi	PVA	Japan
7	MazumotowaseFuyu*	PCNA	Japan	31	O-miyawase	PVA	Korea
8	Fuyu*	PCNA	Japan	32	Yeuseung-Sagoksi	PVA	Korea
9	Ichikikeijiro*	PCNA	Japan	33	Myeongju-Kojongsi	PVA	Korea
10	Suruga*	PCNA	Japan	34	Cheongdo-Bansi	PVA	Korea
11	Okugoshō*	PCNA	Japan	35	Gyeongsan-Bansi	PVA	Korea
12	104*	PCNA	Japan	36	Haman-Mulgam	PVA	Korea
13	Johongsi*	PVNA	Japan	37	Haman-Bansi	PVA	Korea
14	Nishimurawase*	PVNA	Japan	38	Goesan-Durigam	PVA	Korea
15	Migatanigoshō*	PVNA	Japan	39	80Eugeon	PVA	Korea
16	Haschiuri*	PVNA	Japan	40	Sangju-Dungsi	PVA	Korea
17	Amahyakume	PVNA	Japan	41	Damopan	PCA	China
18	Koharu	PVNA	Japan	42	Wasezizya	PCA	Japan
19	Kyara	PVNA	Japan	43	Atago	PCA	Japan
20	Zenjimarū	PVNA	Japan	44	Wasesaijo	PCA	Japan
21	Sanggokuitsy	PVNA	Japan	45	Gogseung-Tabaegam	PCA	Korea
22	Akagaki	PVNA	Japan	46	Sancheong-Danseongsi	PCA	Korea
23	Tenrubou	PVNA	Japan	47	Sancheong-Kojongsi	PCA	Korea
24	Toyoga	PVNA	Japan	48	Yeongdeong-Weolhasi	PCA	Korea

^a * indicates 16 samples that were pretested for PCR with 20 SSR primer sets.

^bPCNA, pollination-constant non-astringent; PVNA, pollination-variant non-astringent; PVA, pollination-variant astringent; and PCA, Pollination-constant astringent.

DNA pellet이 생기는지 확인 한 뒤 12,000× g 에서 4°C로 15분간 원심분리 하였다. 상등액을 버리고 난 뒤 DNA pellet을 70% ethanol 용액 1 ml로 세척한 다음, 5분간 건조 시킨 뒤 12,000× g에서 4°C로 5분간 원심분리 한 후 ethanol을 완전히 제거 하고 15분간 실온에 건조 시켰다. 1~0.7 ml의 TE buffer에 DNA pellet을 녹인 뒤 Nano-drop 1000 (Thermo Scientific, USA) 분광광도계와 전기영동으로 DNA를 정량 분석하였다.

SSR 마커 분석

SSR 마커 다형성 분석을 위해 Soriano 등[15]이 개발한 20개의 SSR primer set (Table 2)을 사용하였다. 먼저 16개 품종의 DNA 샘플을 이용하여 1차 PCR 검정을 하였으며, PCR이 성공적으로 이루어졌음을 확인 후 48개 모든 공시 품종에 대한

2차 PCR 검정을 하였다.

PCR 용액의 조성은 20 ng의 genomic DNA, 10X PCR buffer, 25 mM MgCl₂, 10 mM dNTPs, 50 uM forward primer, 50 uM reverse primer, 5 U/ul Taq DNA polymerase 0.2 ul (solgent, 대전)를 혼합하여 이용하였다. DNA 증폭은 Bio-RAD사의 MyCycler™을 사용하여, Hot step을 95°C에서 2분간 실시하였고, 94°C에서 15초간 denaturation, 60°C에서 부터 30초씩 0.5°C 떨어지도록 touch down으로 10 cycle 하여 55°C까지 annealing 시켜 각 primer를 binding 시킨 후 72°C에서 1분간 extension 시켰다. 그 다음 다시 94°C에서 15초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension의 과정을 35회 반복하였고, 최종적으로 72°C에서 3분간 extension을 수행하였다.

Table 2. DNA polymorphisms among 48 persimmon cultivars revealed by 15 SSR primers

Primer	Primer sequence (5'-3')	Expected Size (bp)	observed size (bp)	Total no. of bands	No. of polymorphic bands	Polymorphism rate ^a
<i>ssr</i> DK04/ DQ097472	CATTGAAAGCAGTCGTCCA/ GCGCCAAATCATTGCTATCT	344	300-400	4	3	0.75
<i>ssr</i> DK06/ DQ097474	CGGCATGAAGGAATAAGGAA/ GCTCACATTCCAACCAATCA	165	120-200	10	10	1.00
<i>ssr</i> DK08/ DQ097476	GGCATTAGACTTGGCGAAAG/ TTTTTCATCCATGCCACTGA	187	170-220	9	9	1.00
<i>ssr</i> DK12/ DQ097480	AGATGGAGTGACAGAGACTG/ CCCCTTAAGTCTTAGCTAATTAC	165	150-210	11	11	1.00
<i>ssr</i> DK13/ DQ097481	GTAATTAGCTAAGACTTAAGGGG/ TGCTACAACAACCTGGAAGAC	141	120-210	6	6	1.00
<i>ssr</i> DK14/ DQ097482	GTGAAGGAACCCCATAGAA/ CCATCATCAGGTAGGAGAGA	160	160-200	4	4	1.00
<i>ssr</i> DK16/ DQ097484	ACTACAACGGCGGTGAGAAC/ GTCCTTCACTTCCCGCATT	153	120-180	9	9	1.00
<i>ssr</i> DK22/ DQ097490	ATGAGAGAGAGAGAATGATTGATGC/ CATTTCACGCAGTGAGAT	150	100-230	6	5	0.83
<i>ssr</i> DK24/ DQ097492	GAACCAACAAAACACAGAAA/ AATAACTCCGTTTCTCTCCA	173	170-200	4	4	1.00
<i>ssr</i> DK25/ DQ097493	GGGTAATATGAATTGAATC/ CTCAGAGAGGAGAAGAAATAG	253	200-260	12	12	1.00
<i>ssr</i> DK27/ DQ097495	AGCACTGTAATTCTCCTCGT/ AAAGGGCAGCTATAAAAGAA	171	160-260	3	3	1.00
<i>ssr</i> DK29/ DQ097497	ATCATGAGATCAGAGCCGTC/ CACGTTAACGTTACGGAACA	131	110-160	8	8	1.00
<i>ssr</i> DK30/ DQ097498	TGGTGATCGTGGTAGTGGTT/ GGCCTAATCTCTGTCCATCC	157	150-200	13	13	1.00
<i>ssr</i> DK31/ DQ097499	AGTTCCTGCGATGGGATTTG/ GATGAGATGGGCTGATTGCT	190	180-210	6	6	1.00
<i>ssr</i> DK36/ DQ097504	GGGAAGAACAAAGAGAACTG/ ACGAAGTTGTAATCCTGAGC	227	200-240	9	9	1.00

^aPolymorphism rate of each SSR primer set was calculated as a ratio of polymorphic bands in the number of total bands.

전기영동은 1차 PCR 검정시에는 2.5% Agarose gel (Certified™ Molecular Biology, Biorad, USA)을, 2차 PCR 검정시에는 PCR 밴드의 분리 효율이 더욱 높은 2.5% SFR™ agarose (Amresco, USA) gel을 사용하여 110 V 에서 약 2~3시간 동안 수행하였다. PCR 생성물은 EtBr로 stain 시킨 후 UV light로 확인 하였다.

유연관계 분석

PCR에 의해 증폭된 산물을 2.5% agarose gel에서 분리한 후 분자량 확인용 100 bp DNA ladder band를 기준으로 하여 각 SSR 마커의 정확한 band 위치를 확인하였다. 특정 분자량의 band가 있는 것을 '1' 없는 것을 '0'으로 하여 data matrix를 작성하여 NTSYS-pc software (version 2.02k) [14]에 의해 유전적 유사도 분석에 이용하였다.

품종간 유전적 유연관계를 보여주는 dendrogram은 유전적 거리값을 기초로 비가중평균결합법(UPGMA)을 사용한 SHAN clustering 방법으로 작성하였다[12].

결과 및 고찰

총 20개의 감 SSR primer set을 사용하여 완전단감(PCNA) 12품종, 불완전단감(PVNA) 13품종, 불완전 뽕은감(PVA) 15 품종, 완전 뽕은감(PCA) 8품종 등, 총 48개 유전자원의 유전적 연관성을 분석 하였다.

완전단감(sample no. 1-12)과 불완전 단감(sample no. 13-16)으로 구성 된 16개 품종만을 대상으로 한 1차 PCR 검정결과, 20개의 primer set 모두에서 PCR 증폭이 성공적으로 이루어졌으며, PCR 산물(대립유전자) 또한 예상되었던 분자량 범위 내에 있었다[15]. 품종간 다형성 분석결과에서는 본 실험의 전기영동 방식으로는 분석이 매우 어려웠던 5개의 primer set을 제외한 15개 primer set에서 평균 3.5개의 다형성 밴드가 관찰되었으며, *ssrDK22/DQ097490*에서 6개의 다형성 밴드가 관찰되어 가장 높은 다형성을 보였다.

1차 PCR 검정에서 뚜렷한 다형성이 관찰된 15개 primer set을 이용하여 48개의 감 품종에 대한 2차 PCR 검정을 수행하였다. 그 결과, 총 114개의 PCR 밴드가 확인 되었고, 이 중 112개가 품종간 다형성을 나타냈다(Table 2, Fig. 1). 각 유전자별로는 최소 3개(*ssrDK27/DQ097495*)에서 최대 13개(*ssrDK30/*

DQ097498)까지 확인 되었으며, primer 당 평균 7.6개의 대립 인자가 확인되었다(Table 2).

총 114개 PCR 밴드를 대상으로 48개 품종 간 유연관계를 분석한 결과, 'Dice' 유사도 값의 전체 범위는 0.192~0.954였으며, 평균 유사도의 값은 0.499였다. 품종간 가장 높은 유사도 값(0.954)를 나타낸 것은 '청도반시(Cheongdo-Bansi)'와 '함안반시(Haman-Bansi)'였고, 가장 낮은 유사도 값(0.192)을 나타낸 것은 '대마반(Damopan)'과 '애당(Atago)'이었다. 상대적으로 낮은 유사도 지수는 본 실험재료로 이용된 품종의 기원이 국가적으로 다를 뿐 아니라, 유전적 조성에 있어서도 매우 차이가 있음을 의미한다.

DICE 유사계수에 기초한 비가중평균결합법(UPGMA)의 집괴분석 결과 48개 품종들은 크게 2개의 그룹(cluster)으로 나누어졌으며, 제 1 cluster는 다시 4개의 subcluster를 형성하였다(Fig. 2). 제 1 subcluster는 대부분 완전 단감 품종들로 구성되었는데, 크게 '부유(Fuyu)'군과 '어소(Gosho)'군, '차랑(Jiro)'군으로 나누어졌다. '부유(Fuyu)'군에서는 '쓰나미(Sunami)'와 '부유(Fuyu)'가 0.89의 유사도값을 가져 가장 가까웠으며, 그 다음으로 '쓰나미(Sunami)'와 '송본조생부유(MazumotowaseFuyu)'가 0.87로 가까웠다. 반면, '일목계차랑(Ichikikeijiro)'과 '등원어소(Fujiwaragosho)'가 0.43으로 가장 낮은 유사도를 가졌다. '차랑(Jiro)'군에서 '차랑(Jiro)'과 그의 아조변이인 일목계차랑(Ichikikeijiro)의 유사도는 0.70이었다. '송본조생부유(MazumotowaseFuyu)'와 '쓰나미(Sunami)'는 '부유(Fuyu)'의 아조변이종이며 '차랑(Jiro)'과 '조흥시(Johngsi)'와 함께 같은 군으로 묶인 것은 나무의 수세나 과실의 무게, 형태, 과실의 갈색반점, 성숙시기와 같은 생태적 특징의 유사성을 비교하였을 때 그 근거를 추론할 수 있다. '준하(Suruga)'는 '화어소(Hanagosho)'와 '만어소(Okugosho)'를 교배한 것으로 '만어소(Okugosho)'와 0.72의 비교적 높은 유사도를 나타냈다. '104'는 1998년 창원 북면에서 수집한 계통으로 품종명칭등록을 추진하였으나 출처가 불분명하여 보류중에 있으나, '맘모스(Mammoth)'와 0.82, '차랑(Jiro)'과 0.72로 높은 유사도 값을 나타낸 것을 보면 일본원산인 품종이 국내로 도입되어 정착한 것으로 추정된다.

제 2 subcluster에는 대부분 불완전단감으로 구성되었으며, 불완전 뽕은감인 '애당(Atago)'과 '조생사사(Wasezizya)'도 포함되었다. '서촌조생(Nishimurawase)' 과 '어부(Koharu)'가

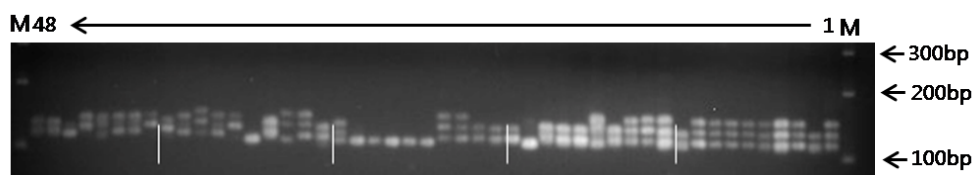


Fig. 1. Agarose gel image showing PCR products amplified by SSR primer *ssrDK30/DQ097498* from persimmon cultivars. From the right, each lane represents a cultivar designated by Entry no. 1 to 48 as shown in Table 1. M, size standard marker.

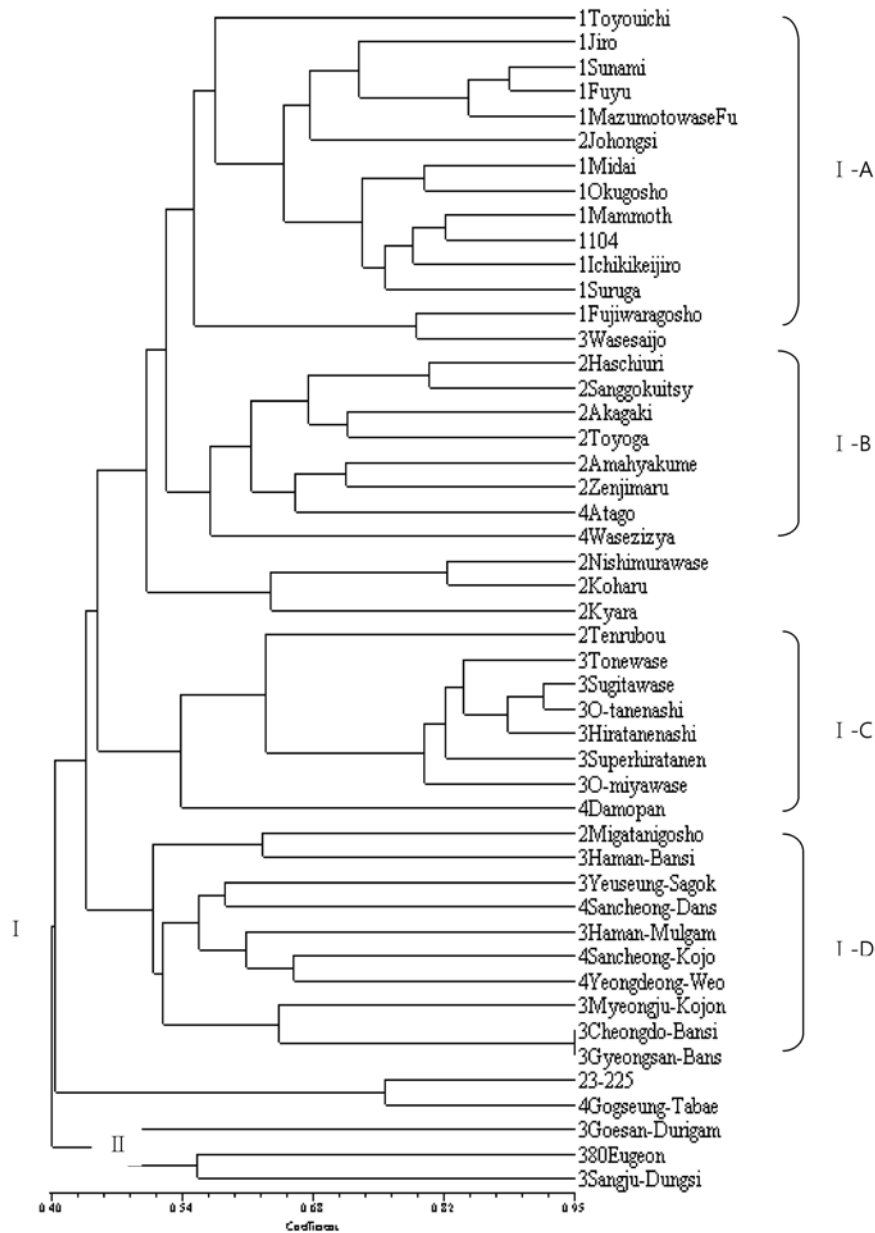


Fig. 2. Dendrogram of 48 persimmon cultivars obtained by UPGMA cluster analysis based on Nei-Li's similarity coefficient.

0.82로 유전적으로 가장 가까운 유사도를 나타냈고, '서촌조생(Nishimurawase)'과 '적시(Akagaki)'는 0.57의 낮은 유사도를 나타냈다. 하지만 '서촌조생(Nishimurawase)'은 극조생의 우량단감으로 '부유(Fuyu)'와 '적시(Akagaki)'의 자연교잡에서 얻어진 우연실생으로 추정된다. '서촌조생(Nishimurawase)'은 수꽃이 함께 핀다는 점에서 '적시(Akagaki)'와 유사하며, 숙기나 형태적으로도 비슷하다. 따라서 SSR 마커의 유사도지수는 '서촌조생(Nishimurawase)'과 '어부(Koharu)'가 더 가깝지만 형태형질적으로는 '서촌조생(Nishimurawase)'과 '적시(Akagaki)'가 가깝게 보여지는데, 이러한 결과는 RAPD 마커를 사용한 분석에서도 보고되었다[8]. 그 다음으로 '삼국일

(Sanggokuitsy)'과 '하찌우리(Haschiuri)'가 0.80으로 높은 유사도를 나타냈으며 '가라(Kyara)'와 '적시(Akagaki)'가 0.35로 가장 낮은 유사도를 보였다.

제 3 subcluster는 불완전 단감인 '천용방(Tenrubou)'과 완전 뚝은감인 '대마반(Damopan)'을 제외하고 모두 '평핵무(Hiratanenashi)'의 가지변이나 아조변이에 의해 생긴 불완전 뚝은감으로 구성되었다. 이들 6개 불완전 뚝은감 품종들은 과색, 과형, 숙기 등 형태형질적으로 구분이 힘들 정도로 비슷했는데, 품종간 유사도 지수 또한 0.75~0.92로 상당히 높게 나타났다. 반면에, '천용방(Tenrubou)'과 '대마반(Damopan)'의 유사도가 0.45로 가장 낮았다. 중국 원산인 '대마반(Damopan)'은

우리나라 뽕은감 품종들보다는 일본 품종들과 더 밀접한 유연 관계를 나타냈는데 이는 AFLP를 이용한 국내 뽕은감의 유연 관계분석 결과 중 일부와 일치한다[2].

제 4 subcluster에서는 국내 재래종 완전뽕은감 3 품종과 불완전 뽕은감 6 품종으로 구성되었다. 국내 재래감은 대부분 뽕은 감이며, 주로 과실형태, 육질, 과피특성, 지역명 등 몇가지 형태형질에 의해 불려졌기 때문에 이명동종 또는 동명이종이 많다[3,11]. '산청고종시(Sancheong-Kojongsi)'와 '산청단성시(Sancheong-Danseongsi)'는 0.53의 유사도를, '의성사곡시(Yeuseung-Sagoksi)'와 '영동월하시(Yeongdeong-Weolhasi)'는 0.62의 유사도 나타났다. 가장 높은 유연관계(0.95)는 불완전 뽕은감인 '청도반시(Cheongdo-Bansi)'와 '경산반시(Gyeongsan-Bansi)'에서 나타났다. 또한 제 1 cluster의 가장 외각에 위치한 '3-225'은 완전단감인 '송본조생부유(MazumotowaseFuyu)'를 모본으로, 불완전단감인 '서촌조생(Nishimurawase)'을 부분으로 육성된 계통으로 감삼의 정도 불완전단감이라 할 수 있다. '송본조생부유(MazumotowaseFuyu)'와는 0.53의 유사도를, '서촌조생(Nishimurawase)'과는 0.54의 유사도를 보였는데, 완전단감인 '고성 따베감(Gogseung-Tabaegam)'과는 0.75의 높은 유연관계를 보여 품종 감삼특징과 육종계보와는 상반된 결과를 보였다.

SSR 마커를 이용한 UPGMA cluster 분석결과를 전반적으로 고찰 해볼 때, SSR 마커의 다형성에 따른 품종군의 분류결과가 탈삼의 특성을 기준으로 분류한 품종군과 대체로 일치함을 알 수 있었다. 또한 품종군간의 유연관계에 있어서도 완전단감군은 불완전 단감군과, 그리고 완전 뽕은감은 불완전 뽕은감군과 유연관계가 더욱 높은 것으로 관찰되었다.

본 연구에 사용된 20개의 SSR primer 들은 유럽의 감품종의 DNA 염기서열분석으로부터 개발되었지만, 일본 및 국내 품종의 연구에서도 효과적으로 사용될 수 있어, 앞으로 감 유전체 연구에 활용도가 더욱 증가할 것으로 예상된다. 또한 이들 마커들을 통해, 48개 품종 중 '청도반시(Cheongdo-Bansi)'와 '경산반시(Gyeongsan-Bansi)'를 제외한 모든 품종간 구별이 가능하였으며, 이는 향후 신품종개발시 품종보호를 위한 품종 특이적 마커로 효율적으로 사용될 수 있음을 보여준다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

References

- Baird, W. V., R. E. Ballard, S. Rajapakse, and A. G. Abbott. 1996. Progress in *Prunus* mapping and application of molecular markers to germplasm improvement. *Hort. Science* **31**, 1099-1106.
- Cho, D. H., I. J. Chun, S. T. Kwon., Y. S. Song, and Y. D. Chou. 2007. Genetic Relationships of Korean Astringent Persimmon Varieties Using AFLP Analysis. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **25**, 114-118.
- Cho, S. K. and T. H. Cho. 1965. Studies on the local varieties of persimmon in Korea (in Korea with English summary). *Res. Rep. RDA* **8**, 147-190.
- Hagidimitriou, M., A. Katsiotis, G. Menexes, C. Pontikis, and M. Loukas. 2005. Genetic diversity of major Greek olive cultivars using molecular (AFLPs and RAPDs) markers and morphological traits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **130**, 21-217.
- Helentjaris, T., G. King, M. Slocum, D. Siedenstang, and S. Wegman. 1985. Restriction fragment length polymorphisms as probes for plant diversity and their development as tools for applied plant breeding. *Plant Mol. Biol.* **5**, 109-118.
- Ikegami, A., A. Kitajima, and K. Yonemori. 2005. Inhibition of flavonoid biosynthetic gene expression coincides with loss of astringency in pollination-constant, non-astringent (PCNA)-type persimmon fruit. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* **80**, 225-228.
- Ikeda, I., M. Yamada, A. Kurihara, and T. Nishida. 1985. Inheritance of astringency in Japanese persimmon (in Japanese with English Summary). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **54**, 39-45.
- Jae, H. J., J. H. Hwang, Y. O. Park, S. C. Kim, Y. J. Lee, B. G. Son, and Y. H. Park, 2009. Evaluation of genetic relationships among persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cultivars introduced and indigenous in Korea. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **27**, 448-455.
- Kwon, Y., J. Moon, Y. Kwon, D. Park, W. Yoon, I. Song, and S. Yi. 2003. AFLP analysis for cultivar discrimination in radish and Chinese cabbage. *Kor. J. Breed.* **35**, 319-328.
- Kikuchi, A. 1948. Pomology—Part I.(in Japanese), pp. 347-400, Yokendo, Tokyo.
- Kim, T. C. 1993. Taxonomic studies of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb) by multivariate and isozyme analyses. Seoul Nat'l. Univ. ph.D. Disser. (in Korean).
- Nei, M. and W. H. Lee. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 5296-5273.
- Prado, M. J., M. T. Herreara, R. A. Vazquez, S. Rome, and M. V. Gonzalez. 2005. Micropropagation of two selected male kiwifruit and analysis of genetic variation with AFLP markers. *HortScience* **40**, 740-746.
- Rohlf, F. J. 2002. NTSYSpc: numerical taxonomy system, version 2.1. Exeter Publishing, Ltd., Setauket, N.Y.
- Soriano, J. M., S. Pecchioli, C. Romero, S. Vilanova, G. Llacer, E. Giordani, and M. L. Badenes. 2006. Development of microsatellite markers in polyploid persimmon (*Diospyros kaki* Lf) from an enriched genomic library. *Molecular Ecology Note* **6**, 368-370.
- Williams, M. N. V., N. Pande, S. Nair, M. Mohan, and J. Bennett. 1991. Restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain reaction products amplified from mapped loci of rice (*Oryza sativa* L.) genomic DNA.

Theor. Appl. Genet. **82**, 489-498.

17. Yonemori, K. and J. Matsushima. 1985. Property of development of the tannin cells from non-astringent and astringent type fruits of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*) and its

relationship to natural astringency. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **54**, 201-208.

18. Yonemori, K., M. Yamada, and A. Sugiura. 2000. Persimmon genetics and breeding. *Plant Breed. Rev.* **19**, 191-225.

초록 : 초위성 마커를 이용한 감(*Diospyros kaki* Thunb.)의 유연관계 분석

황지현 · 박여옥¹ · 김성철¹ · 이용재 · 강점순 · 최영환 · 손병구 · 박영훈*

(부산대학교 생명자원과학부 원예생명과학과, ¹경상남도 농업기술원 단감연구소)

총 20개의 감 SSR primer set을 사용하여 완전단감(PCNA) 12품종, 불완전단감(PVNA) 13품종, 불완전 뚫은감(PVA) 15품종, 완전 뚫은감(PCA) 8품종 등, 총 48개 유전자원의 유전적 연관성을 분석하였다. 획득된 114개의 다형성 밴드를 이용하여 UPGMA 방식으로 유사도 및 집괴분석을 수행한 결과 48개 품종들은 크게 2개의 그룹(cluster)으로 나뉘어졌으며, 제 1 cluster는 다시 4개의 subcluster를 형성하였다. 이는 탈삼의 특성을 기준으로 분류한 품종군과 대체로 일치 함을 알 수 있고, 품종군간의 유연관계에 있어서는 완전단감군은 불완전 단감군과, 그리고 완전 뚫은감은 불완전 뚫은감군과 유연관계가 더욱 높은 것으로 관찰되었다. 평균 유사도의 값은 0.499였고 품종간 가장 높은 유사도 값(0.954)를 나타낸 것은 '청도반시'와 '함안반시'였고, 가장 낮은 유사도 값(0.192)를 나타낸 것은 '대마반'과 '애탕'이었다. 본 연구에 사용된 2SSR primer 들은 유럽 감품종으로부터 개발되어 보고 되었지만, 일본 및 국내 품종의 연구에서도 효과적으로 사용될 수 있었고, 이들 마커들을 통해, 48개 품종 중 청도 반시(Cheongdo-Bansi)와 경산반시(Gyeongsan-Bansi)를 제외한 모든 품종간 구별이 가능하였다. 이는 향후 신품종 개발시 품종보호를 위한 품종 특이적 마커로 효율적으로 사용될 수 있음을 보여준다.