

파프리카 시판 품종에 대한 유전자적 응성불임성의 대립성 및 분자표지의 유용성 검정

이준대¹ · 도재왕¹ · 한정현¹ · 안철근² · 권오열³ · 김용권³ · 윤재복^{1*}

¹(주)고추와육종 기업부설연구소, ²경남농업기술원 수출농식품연구과, ³농협 NH종묘개발센터

Allelism and Molecular Marker Tests for Genic Male Sterility in Paprika Cultivars

Jundae Lee¹, Jae Wahng Do¹, Jung-Heon Han¹, Chul-Geon An²,
Oh Yoel Kweon³, Yong Kwon Kim³, and Jae Bok Yoon^{1*}

¹Research and Development Unit, Pepper and Breeding Institute, Business Incubator, Seoul National University,
Suwon 441-853, Korea

²Division of Exportable Crops and Foods Science, Research and Development Bureau, Gyeongsangnam-do
Agricultural Research & Extension Services, Jinju 660-360, Korea

³NH Seed Research & Development Center, National Agricultural Cooperative Federation, Anseong 456-824, Korea

Abstract. Paprika (*Capsicum annuum* L.), a colored bell-type sweet pepper, is one of the most important money making vegetable crops in Korea. The cultivation area, total production, and exports of paprika are gradually getting increased, but the paprika cultivars used in Korea are all imported. It was well-known that the genic male sterility (GMS) is the main way to produce paprika hybrid seeds. However, it is little known that how many and what kinds of *ms* genes are used for breeding of paprika F₁ varieties. In this study, eight paprika cultivars ('Special', 'Debla', 'Plenty', 'Fiero', 'Boogie', 'Fiesta', 'Derby', and 'Minibell'), popularly cultivated in Korea and three different genic male sterile lines ('GMSP', 'GMS3', and 'GMSK') were used. For allelism test among the F₁ cultivars, half diallel crosses were performed. The result demonstrated that the most of the GMS in paprika cultivars except for 'Minibell' were same allele. To identify which GMS gene(s) were used for paprika F₁ cultivars, top crosses between previously known GMS lines and the F₁ cultivars were performed. As a result, we found that the *ms_k* and the *ms_p* genes were alleles for the GMS of 'Minibell' and for the other cultivars, respectively. We also confirmed that the GMS gene identification using GMSK-CAPS marker linked to the *ms_k* gene and the PmsM1-CAPS marker linked to the *ms_p* gene in F₂ progenies of 'Minibell' and 'Fiesta' and 'Derby' cultivars, respectively. In addition, we developed the PmsM2-CAPS marker for 'Plenty', 'Fiero', and 'Boogie' cultivars. We expect that these markers will be very useful for breeding new maternal (male sterile) line of paprika.

Additional key words: allelism test, GMS, molecular breeding, sweet pepper

서 언

파프리카(paprika)는 원래 유럽 지역에서 모든 고추를 지칭하는 용어로 사용되지만 우리나라와 일본에서는 착색단 고추를 지칭하는 용어로 한정되어 사용되고 있다. 우리나라의 파프리카 재배는 1994년 0.1ha의 소규모로 처음 도입되

었고, 재배가 본격화된 것은 1995년 1ha규모의 유리온실에서 일본 수출용으로 재배된 이후이며(Song et al., 2009), 2008년에는 총생산액이 1,013억원(85,341천\$)에 달하고, 생산지수(2004년에서 2006년까지 총생산액의 평균을 100으로 산정)가 139.8로 꾸준한 증가 추세에 있다고 보고되었다(Korean Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2009).

*Corresponding author: yoonjb2@snu.ac.kr

※ Received 9 August 2010; Accepted 10 March 2011. 본 연구는 농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원에서 수행하는 파프리카 연구사업단(과제번호: 607004-05)의 지원에 의해 이루어진 것임.

파프리카 생산량의 상당 부분이 일본으로 수출되고 있기 때문에 생산 농가에게 고소득을 보장하고 있어 재배면적과 생산량이 지속적으로 늘어나고 있는 추세이며 국내시장에서의 소비 또한 꾸준한 증가를 보이고 있다. 그럼에도 불구하고 국내에서 재배되고 있는 파프리카 종자는 전량 수입에 의존하고 있는 실정이다. 따라서 최근 농림수산물부와 일부 국내 종묘회사에서는 파프리카 품종의 국산화에 적극적인 투자와 노력을 기울이고 있다.

농가에서 재배하고 있는 파프리카 종자는 잡종강세(heterosis)를 이용한 일대잡종(F_1 hybrid seed)으로서 교잡육종에 의해 만들어지고 있으며 F_1 종자의 생산은 주로 유전자적 웅성불임성(genic male sterility, GMS)을 이용하지만 아직도 일부 품종에 있어서는 제웅교배를 통하여 종자를 생산하고 있다. 고추에서 유전자적 웅성불임성은 우리나라에서 가장 많이 사용하고 있는 ms_k 를 비롯하여 지금까지 20여 종류가 보고되고 있는데(Shifriss, 1997; Wang, 2006), 파프리카 육종에는 정확히 어떤 소재가 사용되고 있는지 알려져 있지 않다. 최근 본 연구팀은 네덜란드로부터 수입되고 있는 일부 파프리카의 상용품종을 분리하여 유전자적 웅성불임성에 대한 유전분석을 수행하여 그 결과를 바탕으로 웅성불임 유전자와 연관된 분자표지(PmsM1-CAPS)를 개발하였고 그 웅성불임 유전자를 ms_p 로 표기하였으며, 개발된 분자표지는 새로운 파프리카 모계(웅성불임 계통)를 육성하는데 사용할

수 있음을 밝혔다(Lee et al., 2010b).

본 연구는 우리나라에서 재배되고 있는 다양한 파프리카 품종에 사용된 유전자적 웅성불임(ms) 유전자가 서로 같은지 다른지를 확인하는 한편, 파프리카 유전자적 웅성불임성이 어떤 ms 유전자에 의한 것인지를 밝히고자 대립유전자 검정(allelism test)을 수행하였다. 또한 기 개발된 분자표지를 이용하여 대립성 검정 결과를 확인하는 한편, 개발된 분자표지를 적용할 수 없는 파프리카 품종에 이용할 수 있는 새로운 분자표지를 탐색하고자 수행되었다.

재료 및 방법

식물재료 및 대립유전자 검정

우리나라에 재배되고 있는 국내·외 종묘회사의 파프리카 품종에 사용된 ms 유전자가 같은지 다른지를 확인하기 위하여 유전자적 웅성불임성을 사용한 파프리카 품종 8개('Special', 'Debla', 'Plenty', 'Fiero', 'Boogie', 'Fiesta', 'Derby' 및 'Minibell')를 이용하여 이들 사이에 제웅을 하고 반 이면교잡(half diallel cross)을 수행하였다(Tables 1 and 2).

또한 파프리카 품종에 사용된 ms 유전자가 어떤 것인지를 확인하기 위하여 서로 다른 세 개의 ms 계통[GMS3(ms_3ms_3 , Lee 등, 2010a), GMSP(ms_pms_p , Lee et al., 2010b) 및 GMSK(ms_kms_k , Lee et al., 2010c)]에 파프리카 품종 5개('Debla',

Table 1. Plant materials used in this study and summary of this work.

Cultivar	Company	Fruit color	ms gene	ms -linked marker	Marker reference
Special	Enza Zaden	Red	ms_p	None	-
Debla	Rijk Zwaan	Red	ms_p	None	-
Boogie	Rijk Zwaan	Orange	ms_p	PmsM2-CAPS	In this study
Fiesta	Enza Zaden	Yellow	ms_p	PmsM1-CAPS	Lee et al., 2010b
Derby	De Ruiter Seeds	Yellow	ms_p	PmsM1-CAPS	Lee et al., 2010b
Minibell	Samsung Seeds	Yellow	ms_k	GMSK-CAPS	Lee et al., 2010c

Table 2. Allelism tests for genic male sterility genes in eight commercial F_1 paprika cultivars using half diallel crosses.

Maternal parent	Number of plants (male fertile: male sterile) in the crossed progeny						
	Paternal parent (heterozygous male fertile, $Msms$)						
	Debla F_1	Plenty F_1	Fiero F_1	Boogie F_1	Fiesta F_1	Derby F_1	Minibell F_1
Special F_1	20 : 1	11 : 3	14 : 5	14 : 2	NA ^z	9 : 2	14 : 0
Debla F_1	-	10 : 6	17 : 5	7 : 6	10 : 4	NA	14 : 0
Plenty F_1	-	-	15 : 5	NA	NA	NA	NA
Fiero F_1	-	-	-	7 : 3	NA	NA	NA
Boogie F_1	-	-	-	-	7 : 7	10 : 2	13 : 0
Fiesta F_1	-	-	-	-	-	6 : 4	15 : 0
Derby F_1	-	-	-	-	-	-	14 : 0

^zNA, not analyzed.

Table 3. Allelism tests for genic male sterility genes in three male sterile lines and five commercial F₁ paprika cultivars.

Maternal parent (genotype)	Number of plants (male fertile: male sterile) in the crossed progeny				
	Paternal parent (heterozygous male fertile, <i>Msms</i>)				
	Debla F ₁	Fiero F ₁	Fiesta F ₁	Derby F ₁	Minibell F ₁
GMS3 (<i>ms₃/ms₃</i>)	NA ²	NA	11 : 0	10 : 0	15 : 0
GMSp (<i>ms_p/ms_p</i>)	4 : 5	2 : 5	4 : 3	7 : 9	NA
GMSk (<i>ms_k/ms_k</i>)	NA	21 : 0	11 : 0	13 : 0	8 : 6

²NA, not analyzed.

‘Fiero’, ‘Fiesta’, ‘Derby’ 및 ‘Minibell’)를 각각 교배하여 대립유전자 검정을 수행하였다(Table 3).

웅성불임 조사

2009년 서울대학교 농생명과학대학 부속농장의 유리온실에서 교잡후대 종자를 각각 18개 또는 24개씩 파종하였고, 웅성불임성은 꽃이 핀 후 개체당 3개의 꽃을 육안으로 관찰하여 화분의 존재 유무에 따라 가임과 불임으로 판별하였다.

분자표지 분석

각 개체의 어린잎으로부터 genomic DNA 추출은 Prince 등(1997)의 방법을 이용하였고 추출된 DNA는 1.5% 아가로스젤에서 확인 후 10ng·μL⁻¹ 농도로 맞추어 사용하였다.

고추 *ms_k* 유전자와 연관된 분자표지인 GMSK-CAPS 분석방법은 Lee et al.(2010c)의 방법에 따라 수행되었고, *ms_p* 유전자와 연관된 분자표지인 PmsM1-CAPS 분석방법은 Lee et al.(2010b)의 방법대로 수행되었다.

PmsM2-CAPS 분석은 다음과 같이 수행되었다. PCR 반응액은 genomic DNA 10ng, 10 × PCR 버퍼 2μL(CoreBio, Korea), 10mM dNTP mixture 1μL(CoreBio), 0.5 unit Top-Taq polymerase(CoreBio), 각각의 10pmole μL⁻¹ 프라이머(Forward, 5'-CCTTGTCTTGGTTCCTGTATC-3'; Reverse, 5'-ACGCTCTACTCGCTTAATCATTTTC-3') 1μL, 그리고 멸균된 삼차염류수로 총 20μL로 맞추었다. PCR 반응은 T1 thermal cycler(Biometra Co., Germany) 모델을 이용하여 95°C에서 3분간 초기 변성(denaturation)을 수행한 뒤, 95°C에서 30초간 변성(denaturation), 55°C에서 30초간 가열냉각(annealing), 72°C에서 1분간 길이확장(extension) 과정을 35회 반복하였다. 마지막으로 72°C에서 5분 동안 완전한 길이 확장(full extension) 반응을 시켰다. PCR 산물은 CviQI 제한효소(New England Biolabs Inc., USA)로 37°C에서 2시간 동안 반응한 후, EtBr을 포함한 1.5% 아가로스젤 상에서 250V로 1시간 전기영동을 실시한 후, 자외선 투과기(UV transilluminator)를 이용하여 다형성 밴드를 구별하였다.

결과 및 고찰

파프리카 시판 품종간 유전자적 웅성불임성의 대립유전자 검정

본 실험의 가정은 다음과 같다. 두 개의 서로 다른 파프리카 품종이 같은 *ms* 유전자를 사용하였다면 교잡후대에서 웅성불임 개체가 25% 나타나고, 서로 다른 *ms* 유전자를 사용하였다면 후대에서 모두 가임 개체가 나타난다. 그 이유는 유전자적 웅성불임성을 사용한 파프리카 품종은 모두 *ms* 유전자 좌에 대해 이형접합형(*Msms*)이기 때문에, 같은 유전자일 경우 *MsMs*, *Msms* 및 *msms* 분리비가 1:2:1이 되어 25%는 웅성불임이 되는 반면에 다른 유전자일 경우 A품종(*Ms₁ms₁*, *Ms₂Ms₂*)과 B품종(*Ms₁Ms₁*, *Ms₂ms₂*)의 교잡이 되기 때문에 후대에서 불임이 나타나지 않게 된다.

이론적으로 가임과 불임이 3:1로 분리가 되는 집단(200개 종자)에서 15, 20 및 25개의 종자를 선발하였을 경우, 모두 가임이 나타날 확률은 각각 1.11%, 0.23% 및 0.04%이다. 이는 실제로 불임이 나타나는 집단을 불임이 나타나지 않는 집단으로 평가할 어려움이다. 즉, 15, 20 및 25개의 종자를 심어 모두 가임으로 나타났다면 각각 98.89%, 99.77% 및 99.96%의 확률로 모두 가임인 집단으로 평가할 수 있다.

5개의 서로 다른 회사(Enza Zaden, Rijk Zwaan, De Ruiter Seeds, Syngenta 및 Samsung Seeds; Table 1)에서 개발된 8개의 파프리카 품종(‘Special’, ‘Debla’, ‘Plenty’, ‘Fiero’, ‘Boogie’, ‘Fiesta’, ‘Derby’ 및 ‘Minibell’; Table 1)에 사용된 유전자적 웅성불임(*ms*) 유전자가 서로 같은지 다른지를 확인하기 위하여 반이면교잡(half diallel cross)을 수행하였다(Table 2).

그 결과, ‘Special’은 ‘Debla’, ‘Plenty’, ‘Fiero’, ‘Boogie’ 및 ‘Derby’와의 교잡후대에서 웅성불임 개체가 나타난 반면 ‘Minibell’과의 교잡후대에서는 웅성불임 개체가 전혀 나타나지 않았다(Table 2). 이 결과는 ‘Special’은 ‘Debla’, ‘Plenty’, ‘Fiero’, ‘Boogie’ 및 ‘Derby’와 같은 *ms* 유전자를 사용하였고, ‘Minibell’과는 다른 *ms* 유전자를 사용하였다는 것을 의미한다. ‘Debla’도 마찬가지로 ‘Plenty’, ‘Fiero’, ‘Boogie’, ‘Fiesta’와는 같은 *ms* 유전자를 사용하였고, ‘Minibell’과는

다른 *ms* 유전자를 사용하였다는 것을 알 수 있다. 이와 같은 방법으로 모든 결과를 정리해 보면 ‘Special’, ‘Debla’, ‘Plenty’, ‘Fiero’, ‘Boogie’, ‘Fiesta’ 및 ‘Derby’는 모두 같은 *ms* 유전자를 사용하고 있고, ‘Minibell’만 다른 *ms* 유전자를 사용하고 있는 것을 알 수 있다(Table 2).

파프리카 시판 품종의 유전자적 응성불임 유전자 동정

본 연구기관에서는 대립유전자 검정을 통해 확인된 세 가지 서로 다른 유전자적 응성불임 계통(GMS3, GMSP 및 GMSK)을 보유하고 있는데, 파프리카 품종의 *ms* 유전자가 이 셋과 서로 같은 것인지, 아니면 전혀 다른 *ms* 유전자인지를 확인하기 위하여 Table 3과 같이 대립유전자 검정을 수행하였다.

그 결과, GMSP에 ‘Debla’, ‘Fiero’, ‘Fiesta’ 및 ‘Derby’를 교배한 후대에서 응성불임 개체가 나타났고, ‘Minibell’은 GMSK에 교배한 후대에서 응성불임 개체가 나타났다(Table 3). 이는 ‘Minibell’의 유전자적 응성불임 유전자는 ms_k 이고, ‘Minibell’을 제외한 나머지 7개의 품종은 ms_p 유전자임을 의미한다(Table 1).

파프리카 유전자적 응성불임성에 연관된 분자표지

위의 결과를 바탕으로 ‘Minibell’ 품종의 F₂ 분리집단에서 GMSK-CAPS 분자표지(Lee et al., 2010c)를 적용하여 보았다(Fig. 1). 총 48개체를 분석하였는데 표현형과 마커형이 모두 일치하는 결과를 얻었다(Fig. 1). 이는 ‘Minibell’ 품종의 후대 분리 육종에 있어서 GMSK-CAPS 분자표지를 이용할 수 있다는 것을 의미한다(Table 1).

나머지 7개의 품종(‘Special’, ‘Debla’, ‘Plenty’, ‘Fiero’, ‘Boogie’, ‘Fiesta’ 및 ‘Derby’)은 모두 ms_p 유전자를 사용하였기 때문에 이들 F₁ 품종에 대해 PmsM1-CAPS 분자표지를 적용하여 보았다. 그 결과, ‘Fiesta’와 ‘Derby’에서만 이

형접합형(heterozygous)으로 나타났고, 각각의 F₂ 분리집단 72개체를 분석하였을 때 재조합체(recombinant)가 각각 2개씩만 나타났다(data not shown). Lee 등(2010b)의 연구에서도 ‘Fiesta’ 품종에 PmsM1-CAPS 분자표지를 사용할 수 있다고 하였고, 본 연구에서 사용된 재료는 아니지만 ‘Mirage’와 ‘Helsinky’ 품종에 대해서도 PmsM1-CAPS 분자표지를 이용할 수 있다고 하였다.

나머지 5개의 품종(‘Special’, ‘Debla’, ‘Plenty’, ‘Fiero’ 및 ‘Boogie’)에서는 PmsM1-CAPS 분자표지에 대해 모두 ms_p 에 연관된 마커형으로 고정되어 있어 PmsM1-CAPS 분자표지를 이용할 수 없었다. 따라서 PmsM1-CAPS 분자표지와 연관 거리가 약 5cM 정도 떨어져 있는 PmsM2-CAPS 분자표지를 나머지 5개의 품종에 적용하여 본 결과, 3개의 품종(‘Plenty’, ‘Fiero’ 및 ‘Boogie’)에서 이형접합형으로 나타났고(Table 1), 후대 분리집단에서 표현형과 마커형이 연관되어 있는 것을 확인하였으며, 약 5-6% 정도 일치하지 않는 결과를 얻었다(Fig. 2). 이들 세 품종 후대 분리 육종에서는 PmsM2-CAPS 분자표지를 이용할 수 있을 것으로 판단하였다.

본 연구에서는 파프리카 품종에 사용된 응성불임성의 대립유전자 검정을 통해 *ms* 유전자의 동일성 여부를 알아내어(Tables 2 and 3), 기 개발된 분자표지의 이용 가능성을 알아 보았고(Table 1), 기 개발된 분자표지를 사용할 수 없었던 파프리카 품종에 대하여 적용할 수 있는 새로운 분자표지를 개발하였다(Fig. 2). 이들 결과는 현재 전량 외국으로부터 수입되고 있는 파프리카 품종의 국산화를 위한 새로운 계통 및 품종 육성 과정에 있어서 세대단축을 통한 육종효율 증진에 크게 기여할 수 있다고 판단된다. 그러나 기 개발된 마커들은 현재까지 일부 품종에 국한하여 사용할 수 있으며 ‘Special’과 ‘Debla’ 품종에 적용할 수 있는 분자표지를 본 연구에서는 찾지 못하였다(Table 1). 이는 기 개발된 마커가 실제 응성불임 유전자와 아주 가깝게 연관되어 있지 않음에

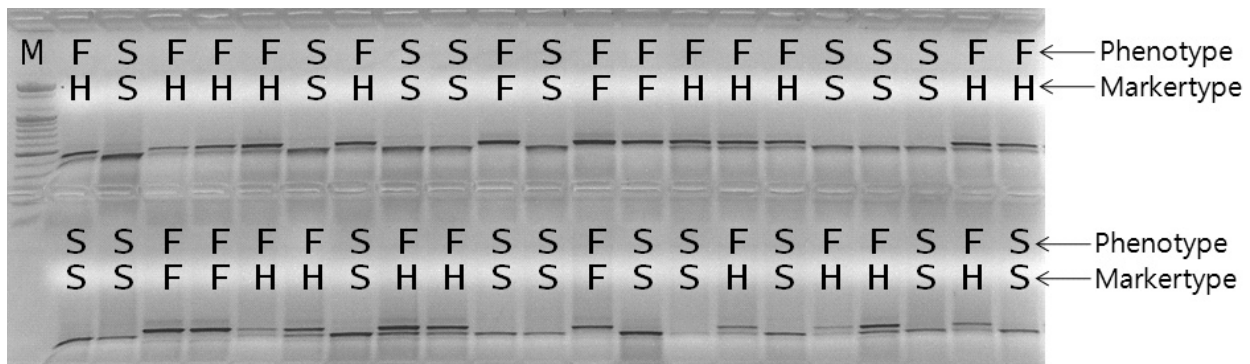


Fig. 1. Analysis of GMSK marker in F₂ progeny of a commercial cultivar ‘Minibell’. F in phenotype, male-fertile plants; S in phenotype, male-sterile plants; F in markertype, Ms_kMs_k ; H in markertype, Ms_kms_k ; S in markertype, ms_kms_k .

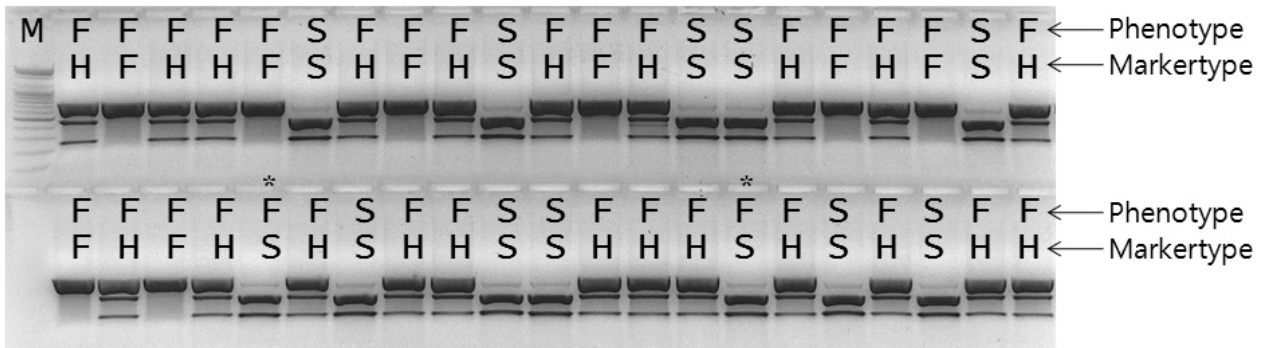


Fig. 2. Analysis of PmsM2 marker in F₂ progeny of a commercial cultivar 'Plenty'. F in phenotype, male-fertile plants; S in phenotype, male-sterile plants; F in markertype, *Ms_pMs_p*; H in markertype, *Ms_pms_p*; S in markertype, *ms_pms_p*; *, recombinant plants.

다른 재조합 현상의 결과라고 판단되는바, 본 연구에서 더 나아가 *ms_p* 유전자를 사용한 파프리카 품종에 모두 적용할 수 있는 분자표지를 개발하는 연구가 앞으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

초 록

우리나라에서 파프리카(착색단고추)는 재배면적, 생산량 및 수출량이 해마다 증가하는 추세에 있어 농가 소득에 매우 중요한 채소작물의 하나이지만 재배되고 있는 파프리카 종자는 전량 외국 종자회사에서 개발된 일대잡종종자를 수입하고 있다. 최근 파프리카 품종의 국산화를 위하여 정부의 지원을 받아 국내 종묘회사에서 파프리카 품종 개발에 힘쓰고 있다. 파프리카 일대잡종종자의 생산은 주로 유전자적 웅성불임성을 이용한다. 하지만 파프리카 품종에 사용된 유전자적 웅성불임성이 어떤 종류인지 몇 가지 종류가 사용되고 있는지 잘 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 시판되고 있는 8개의 파프리카 품종('Special', 'Debla', 'Plenty', 'Fiero', 'Boogie', 'Fiesta', 'Derby' 및 'Minibell')을 사용하여 이들의 유전자적 웅성불임 유전자가 같은 것인지 다른 것인지를 확인하기 위하여 반 이면교잡(half diallel cross)를 수행하였는데, 'Minibell'을 제외한 나머지 7개의 파프리카 품종은 같은 유전자적 웅성불임을 사용하였다는 것을 알아냈다. 또한 어떤 종류의 유전자적 웅성불임 유전자인지를 확인하기 위하여 세 종류의 유전자적 웅성불임 계통(GMS3, GMS_P 및 GMS_K)에 교배하여 대립유전자 검정을 수행하였는데, 'Minibell'은 *ms_k* 유전자를 사용하였고, 나머지 7개의 품종은 *ms_p* 유전자를 사용하였다는 것을 알아냈다. 따라서, 'Minibell' 품종에서는 기 개발된 GMSK-CAPS 분자표지를 사용할 수 있음을 확인하였고, 'Fiesta' 및 'Derby' 품종에서

는 PmsM1-CAPS 분자표지가 사용될 수 있음을 확인하였다. 또한 'Plenty', 'Fiero' 및 'Boogie' 품종 등에 사용할 수 있는 새로운 분자표지 PmsM2-CAPS를 개발하였다. 이들 분자표지는 새로운 파프리카 웅성불임(모계) 계통 및 품종 개발에 큰 도움이 될 것으로 판단된다.

추가 주요어 : 대립성 검정, 유전자적 웅성불임성, 분자유종, 단고추

인용문헌

- Korean Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2009. Statistics of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries for 2009. Ministry Food Agr. For. Fisheries, Gwacheon, p. 82.
- Lee, J., J.B. Yoon, J.H. Han, W.P. Lee, S.H. Kim, and H.G. Park. 2010a. Three AFLP markers tightly linked to the genic male sterility *ms₃* gene in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) and conversion to a CAPS marker. *Euphytica* 173:55-61.
- Lee, J., J.H. Han, C.G. An, W.P. Lee, and J.B. Yoon. 2010b. A CAPS marker linked to a genic male-sterile gene in the colored sweet pepper, 'Paprika' (*Capsicum annuum* L.). *Breed. Sci.* 60:93-98.
- Lee, J., W.P. Lee, J.H. Han, and J.B. Yoon. 2010c. Development of molecular marker linked to a genic male-sterile gene, *ms_k* in chili pepper. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:270-274.
- Prince, J.P., Y. Zhang, E.R. Radwanski, and M.M. Kyle. 1997. A versatile and high-yielding protocol for the preparation of genomic DNA from *Capsicum* spp. (pepper). *Hortscience* 32:937-939.
- Shifriss, C. 1997. Male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica* 93:83-88.
- Song, J.Y., I. Sivanesan, C.G. An, and B.R. Jeong. 2009. Micro-propagation of paprika (*Capsicum annuum*) and its subsequent performance in greenhouse cultivation. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27:293-298.
- Wang, D. 2006. The genes of *Capsicum*. *Hortscience* 41:1169-1187.