

ISSR 마커를 이용한 달래와 산달래의 분류

이새별^{1†} · 김창길^{1,2†} · 오중열¹ · 김경민^{1,3*}

¹경북대학교 생태자원응용학부, ²경북대학교 원예과학과, ³경북대학교 식물생명과학전공

Classification of *Allium monanthum* and *A. grai* by ISSR Markers

SaisBeul Lee¹, ChangKil Kim^{1,2}, Jung-Yeol Oh¹, and Kyung-Min Kim^{1,3*}

¹School of Applied Ecological Resources, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea

²Department of Horticultural Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

³Division of Plant Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract. One hundred twenty two accessions of 6 species in genus *Allium* were collected throughout 5 regions of Korea. Their genetic relationship was investigated by using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. The morphological analysis was measured for 6 quantitative and quantified for 1 qualitative trait. ISSR analysis obtained a total of 370 polymorphic bands by using seventeen primers. The cluster analysis of genus *Allium* based on morphological data could identify three groups. The accessions of *Allium* belonged to the *Allium monanthum* clustered into five groups at genetic distance ranging from 0.94 on the base of ISSR analysis. Correlation analysis between morphological and ISSR analysis showed low coefficient($r = 0.036$). These markers are thought to be used in research of molecular markers for classification and cross breeding of *Allium monanthum* and *A. grai*.

Additional key words: genetic distance, morphological analysis, quantitative trait

서 언

달래와 부추는 한국에 널리 자생하는 *Allium*속 식물로 오래 전부터 독특한 맛과 향기 때문에 이른 봄 인경과 유엽을 산채로 이용해 왔다. 최근에는 이들 *Allium*속 식물에 함유되어 있는 다양한 약리성분으로 인해 건강기능성 식품으로 각광을 받으면서 그 수요도 급격히 늘고 있다(Lee, 2006). 지금까지 *Allium*속 식물을 대상으로 한 연구에서 Hahn(1989)은 달래를, Oh et al.(1996, 2001)은 산달래를, 그리고 Kim and Park(1994)은 한라산에 자생하는 한라부추를 실험재료로 이용하여 이들 각각의 수집종에 대한 배수체 분포, 휴면성, 성분함량 및 생태적인 특성에 대하여 보고한 바 있다. 그러나 이들 대부분의 연구가 새로운 품종 육성을 위한 유전자원 수집 및 생육특성 조사에 국한되어 있어 체계적인 품종육성을 위한 연구는 부족한 실정이다. 지금까지 품종간 특성은 전통적으로 형태적인 특성 조사로 구분하고 있고, 이러한 형태적인 특성은 환경적 요소에 의하여 양적 특성이 변화할 수 있기 때문에 품종간 유전자형

차이를 항상 수량화 하지 못한다(Cooke, 1995; UPOV, 2001). 반면 restriction fragment length polymorphism(RFLP), random amplified polymorphic DNA(RAPD), amplified fragment length polymorphism(AFLP), simple sequence repeats(SSR) 등의 마커는 환경변이에 대해 독립적으로 나타나기 때문에 품종구분에 보다 효과적이다(Lee and Henry, 2001). 특히, SSR 마커는 여러 가지 분자 마커 시스템 중에서 유전자적 공우성의 특성, 마커의 높은 재현성, 복대립유전자좌 변이 등의 특성을 가지고 있어 품종 구분을 위한 분자 마커로서의 신뢰도가 매우 높다(Powell et al., 1996). 최근 *Allium*속 류에 대해서 Riuet al.(2004)과 Heo et al.(1998)이 RAPD (random amplified polymorphic DNAs) 마커로 달래와 산달래의 유연관계를 밝힌바 있으나, 마커의 수가 적어 사용한 재료간의 유전적 다양성 판별이 불가능하여 교배육종의 양친선발에 이용할 수 없었다.

따라서 본 연구는 다양한 *Allium*속 유전자원을 수집하고 이들의 수집자원을 ISSR(inter simple sequence repeat) 마커

*Corresponding author: kkm@knu.ac.kr

※ Received 4 April 2011; Accepted 18 July 2011. †These authors are contributed equally to this work. 이 논문은 2010년도 경북대학교 학술연구비에 의하여 연구되었음.

를 이용하여 다양하게 수집된 *Allium*속 류에 맞는 마커를 개발하고 유전적 관계를 분석함으로써 육종 프로그램에서 교배조합 작성시 계획적으로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료

경북대학교 유전자원관리기관에서는 2007년도부터 *Allium*속의 유전자원을 수집, 보존, 증식 중에 있다. 이들의 유전자원 중 제주도를 포함한 5개 지역에서 수집 및 보존하고 있는 산달래(*A. grayi* Regel) 26점, 달래(*A. monanthum* Maximowicz) 89점, 한라부추(*A. taquetii* Léveillé et Vaniot) 2점, 산부추(*A. thunbergii* Regel) 3점, 부추(*A. tuberosum* Rottler) 1점, 산마늘(*A. victorialis* Linné) 1점 등 전체 122점을 이용하였다(Table 1). 재배 방법은 1점을 120 × 15cm, 5-6주/줄로 심고, 수분관리는 자동 수분 공급장치로 하여 재배하였다.

형태적 특성 조사

형태적 조사는 수집한 6종의 122점을 이용하였으며, 종들을 구분한 특성을 선별하여 양적형질 6항목과 질적형질 1항목을 작성 조사하였다. 특히 꽃대 형성은 존재 유무로 유는 1 무는 0로 수치화 하였다. 6종의 양적형질은 측정치를 SPSS program 17.0(SPSS Inc., USA)을 통해 평균과 표준오차로 나타냈으며, 질적형질은 수치화하였다. 조사는 1점당 6개체를 조사하여 평균과 표준편차를 구했으며, 형질관련 dendrogram 작성에는 평균값만 입력하여 분석하였다.

ISSR 방법

노지상태에서 재배되고 있는 각 식물의 초장이 10cm 정도 무렵 200mg 잎을 채취하여 액체질소에 냉각시킨 후 작은 입자로 갈아서 DNeasy®Plant Mini Kit(QiagenInc.,

USA)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 농도는 분광광도계 ND-100(Nanodrop Tech., USA)을 사용하여 측정하였다. 40개의 ISSR(UBC #9, USA)을 이용하였다. ISSR 반응액의 총량은 25 μ L로 DNA 농도는 5ng $\cdot\mu$ L⁻¹, primer 10pmol, dNTP 2 μ L, 10 × PCR buffer(50mM KCl, 20mM Tris-HCl, 2.0mM MgCl₂, pH 8.0)를 혼합하여 사용하였다. 증폭은 PTC(Peltier ThermalCycler)-200(MJ Research, USA)을 사용하여, initial denaturation는 94°C에서 5분, denaturation은 94°C에서 30초, annealing은 50-58°C에서 30초, extension은 72°C에서 45초 동안 수행하고 40 cycle 반복 후 final extension은 72°C에서 10분간 수행하였다. PCR 산물은 Qiagxel (QiagenInc., USA)을 이용하여 확인하였다.

Data 분석

형태적 특성 분석은 조사 결과를 바탕으로 NTSYS-pcprogram ver. 2.0(Rohlf, 1998)을 사용하여 군집분석은 유클리디안 거리계수와 비가중산술법을 통해 작성하였다. ISSR 분석은 밴드의 유무에 따라 '1'과 '0'으로 표시하여 이진법 행렬로 작성하였다. 유전적 거리는 Nei and Li(1979)의 방법에 의해 산출 또는 계산되었고, dendrogram은 TREECON program ver.1.3b(Van de Peer and De Wachter, 1993)을 사용하여 Nei and Li(1979)의 유전적 거리 지수를 바탕으로 비가중산술법으로 군집분석을 수행하였다. 형태적 분석과 ISSR 분석간의 상관관계는 수집한 6종의 122점을 이용하였으며, Manteltest(Mantel, 1967)는 NTSYS-pc program ver. 2.0(Rohlf, 1998)의 MXCOMP를 사용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

형태적 특성 분석

형태적 특성 조사는 수집한 6종의 122점을 사용하였고,

Table 1. One hundred seventy six accessions of 6 species used to study genetic relationships in the genus *Allium*.

Genus <i>Allium</i>	Number of the accession collected throughout 5 regions of Korea					Total
	Gyeonggi (gg) ^z	Chungcheong (cc)	Jeolla (jl)	Gyeongsang (gs)	Jeju (jj)	
<i>grayi</i> (gr)	0	0	7	18	1	26
<i>monanthum</i> (mo)	11	7	31	40	0	89
<i>taquetii</i> (ta)	0	0	1	1	0	2
<i>thunbergii</i> (th)	1	0	0	2	0	3
<i>tuberosum</i> (tu)	0	0	0	1	0	1
<i>victorialis</i> (vi)	0	0	1	0	0	1
Total	12	7	40	62	1	122

^zgg: Gyeonggi, cc: Chungcheong, jl: Jeolla, gs: Gyeongsang, jj: Jeju, gr: *A. grayi*, mo: *A. monanthum*, ta: *A. taquetii*, th: *A. thunbergii*, tu: *A. tuberosum*, vi: *A. victorialis*.

6개의 양적형질과 1개의 질적형질을 조사하였으며(Table 2) 이를 통해 NTSYS-pc 프로그램에서 유클리디안 거리계수를 이용해 행렬을 작성한 후 비가중산술법으로 군집분석을 수행하였다. 형태적 특성 조사 결과에서 양적형질은 6종의 평균과 표준오차로 나타냈으며 질적형질은 특성을 수치화하였다(Table 3), 이를 바탕으로 군집분석을 수행한 결과, 유클리디안 거리 0.16에서 약 3개의 그룹으로 나누어졌으나 *Allium*속류는 형태적 특성에 따라 한라부추(*A. taquetii* Léveillé et Vaniot), 산부추(*A. thunbergii* Regel), 부추(*A. tuberosum* Rottler), 산마늘(*A. victorialis* Linné)은 산달래(*A. grayi*

Regel)와 달래(*A. monanthum* Maximowicz)와의 종 구분은 명확하지 않게 나타났다(Fig. 1). 또한 89점인 달래와 26점 산달래조차도 명확하게 구분이 되지 않았다. Kim et al.(2009)이 보고한 한국에 자생하는 달래속 4종의 고도별 분포특성에서 *A. grayi*와 *A. monanthum*의 자생지는 우리나라 다양한 장소에서 분포하고 있으며, 특히 동일 장소에서 *A. grayi*와 *A. monanthum*는 혼재하고 있다고 하였다. 그리고 Cooke (1995)가 보고한 형태적인 특성은 환경적 요소에 의하여 양적특성이 변화할 수 있기 때문에 품종 구분에는 어려움이 있다고 하였다. 본 연구에서도 다양한 장소 및 환경에서 수

Table 2. Seven traits of 6 species in the genus *Allium*.

Genus <i>Allium</i>	Traits						
	Quantitative						Qualitative
	Plant height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Leaf sheath length (cm)	Leaf sheath diameter (cm)	No. of tillering per plant (no.)	Flower stalk (no. of present)
<i>grayi</i>	34.9 ± 13.3 ^z	3.4 ± 0.9	26.8 ± 11.0	0.3 ± 0.2	3.7 ± 2.2	0.3 ± 0.2	17
<i>monanthum</i>	33.4 ± 11.5	3.4 ± 1.4	26.8 ± 8.9	0.4 ± 1.2	3.9 ± 6.9	0.3 ± 0.1	30
<i>taquetii</i>	25.1 ± 4.8	3.2 ± 0.7	23.5 ± 4.5	0.2 ± 0.0	1.5 ± 0.7	0.3 ± 0.1	1
<i>thunbergii</i>	34.4 ± 17.5	4.1 ± 0.9	23.0 ± 4.5	0.4 ± 0.2	3.1 ± 2.7	0.5 ± 0.2	3
<i>tuberosum</i>	55.1 ± 0.0	4.0 ± 0.0	25.0 ± 0.0	0.4 ± 0.0	5.8 ± 0.0	0.4 ± 0.0	1
<i>victorialis</i>	19.5 ± 0.0	2.7 ± 0.0	20.5 ± 0.0	0.2 ± 0.0	7.0 ± 0.0	0.3 ± 0.0	1

^zMean ± Standard deviation.

Table 3. Seven traits of 122 lines in the genus *Allium*.

Item ^z	Traits						
	Plant height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Leaf sheath length (cm)	Leaf sheath diameter (cm)	No. of tillering per plant (no.)	Existence and nothingness of flower stalk ^y
gr-gs-GBA168	21.0 ^x	3.3	19.7	0.2	3.6	0.3	1
gr-gs-GBA171	20.7	3.0	16.0	0.2	3.3	0.2	0
gr-gs-GBA175	61.0	2.3	20.7	0.4	5.2	0.4	1
gr-gs-GBA180	38.3	3.3	34.2	0.3	4.2	0.4	0
gr-gs-GBA183	23.7	3.7	23.3	0.2	0.3	0.0	0
gr-gs-GBA185	22.0	3.3	20.0	0.3	2.0	0.3	1
gr-gs-GBA186	28.2	3.0	24.7	0.3	3.2	0.3	1
gr-gs-GBA187	17.0	3.7	14.3	0.1	2.7	0.2	0
gr-gs-GBA189	23.8	2.7	21.0	0.2	2.8	0.3	1
gr-gs-GBA193	40.3	4.0	27.0	0.4	5.8	0.5	1
gr-gs-GBA194	47.7	2.7	22.0	0.3	9.3	0.4	1
gr-gs-GBA196	34.0	3.7	24.0	0.4	5.3	0.4	1
gr-gs-GBA197	42.0	4.0	23.3	0.3	6.3	0.4	1
gr-gs-GBA222	42.3	3.0	20.8	0.3	6.8	0.3	1
gr-gs-GBA223	21.7	3.3	19.0	0.2	2.0	0.2	1
gr-gs-GBA291	46.4	5.7	44.7	0.5	1.9	0.5	0
gr-gs-GBA292	54.0	4.7	49.9	0.4	2.9	0.4	0
gr-gs-GBA293	53.7	4.7	52.2	0.5	1.0	0.5	0
gr-jj-GBA296	48.9	3.0	45.7	0.3	3.3	0.3	0
gr-jl-GBA191	15.0	2.3	12.7	0.3	2.7	0.3	1
gr-jl-GBA192	26.0	3.0	23.0	0.8	2.4	0.5	1
gr-jl-GBA203	18.5	2.7	17.2	0.2	1.0	0.1	1

Table 3. Continued.

Item ^z	Traits						
	Plant height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Leaf sheath length (cm)	Leaf sheath diameter (cm)	No. of tillering per plant (no.)	Existence and nothingness of flower stalk ^y
gr-jl-GBA206	41.3 ^x	5.0	20.7	0.3	6.0	0.4	1
gr-jl-GBA227	37.5	3.3	27.7	0.4	5.7	0.5	1
gr-jl-GBA230	49.7	4.0	38.8	0.7	6.3	0.7	1
gr-jl-GBA237	32.7	2.0	33.3	0.2	0.3	0.1	0
mo-cc-GBA158	17.7	2.0	15.4	0.1	1.7	0.2	0
mo-cc-GBA240	39.1	2.7	31.8	0.3	2.3	0.3	0
mo-cc-GBA241	30.8	3.7	31.5	0.4	1.0	0.4	0
mo-cc-GBA242	35.2	3.0	32.3	0.2	3.3	0.3	0
mo-cc-GBA243	17.5	1.0	15.8	0.4	4.1	0.2	0
mo-cc-GBA244	34.5	3.3	29.7	0.3	1.5	0.3	0
mo-cc-GBA245	32.7	3.0	28.7	0.2	2.1	0.2	0
mo-gg-GBA228	37.0	3.0	29.3	0.6	2.8	0.7	1
mo-gg-GBA255	41.3	3.7	35.2	0.3	1.7	0.3	0
mo-gg-GBA281	38.3	2.7	34.5	0.3	2.4	0.3	1
mo-gg-GBA282	41.1	3.3	32.5	0.2	3.8	0.2	0
mo-gg-GBA283	44.9	2.3	38.4	0.2	3.0	0.2	0
mo-gg-GBA284	41.1	2.7	32.8	0.2	5.1	0.2	0
mo-gg-GBA285	47.8	4.3	40.9	0.4	3.2	0.4	0
mo-gg-GBA287	17.0	1.3	14.8	0.1	1.2	0.1	1
mo-gg-GBA288	48.2	3.3	37.3	0.4	3.7	0.4	0
mo-gg-GBA289	47.3	2.3	34.8	0.4	2.3	0.4	0
mo-gg-GBA290	47.7	3.0	38.7	0.4	3.8	0.5	0
mo-gs-GBA159	16.8	2.0	15.0	0.1	1.2	0.1	0
mo-gs-GBA169	30.7	3.0	26.2	0.3	5.0	0.3	1
mo-gs-GBA170	22.3	2.7	18.0	0.1	3.3	0.2	1
mo-gs-GBA172	22.7	3.0	18.3	0.2	4.0	0.2	0
mo-gs-GBA177	47.3	4.3	30.0	0.4	7.8	0.5	1
mo-gs-GBA182	29.7	5.3	29.7	0.5	0.0	0.0	0
mo-gs-GBA184	20.7	2.7	18.7	0.2	2.0	0.2	1
mo-gs-GBA199	23.0	3.0	21.3	0.2	1.7	0.3	1
mo-gs-GBA201	26.7	2.7	23.3	0.4	3.0	0.3	0
mo-gs-GBA208	32.3	5.3	23.0	0.3	4.3	0.0	1
mo-gs-GBA209	40.0	5.3	18.0	0.3	3.3	0.0	1
mo-gs-GBA210	31.7	3.3	24.3	0.2	3.5	0.3	1
mo-gs-GBA211	40.3	6.0	33.3	0.4	5.3	0.5	1
mo-gs-GBA212	34.0	3.3	32.3	0.5	1.7	0.5	1
mo-gs-GBA213	26.7	3.0	14.0	0.3	5.0	0.3	1
mo-gs-GBA214	33.0	2.3	27.0	0.2	6.2	0.4	1
mo-gs-GBA215	25.7	3.3	21.3	0.3	2.3	0.3	1
mo-gs-GBA216	33.3	4.0	21.0	0.4	4.5	0.5	1
mo-gs-GBA217	24.3	3.3	21.3	0.4	2.2	0.2	0
mo-gs-GBA218	25.0	3.7	22.3	0.3	2.3	0.3	1
mo-gs-GBA219	63.0	2.3	24.0	0.3	6.3	0.4	1
mo-gs-GBA220	19.0	11.0	2.5	11.8	65.3	0.3	1
mo-gs-GBA221	20.7	3.0	19.0	0.2	1.5	0.2	1
mo-gs-GBA224	27.5	3.0	17.7	0.2	13.3	0.3	1
mo-gs-GBA225	18.7	3.7	16.3	0.2	1.8	0.2	1
mo-gs-GBA226	62.2	4.7	32.5	0.4	8.2	0.5	1
mo-gs-GBA257	22.3	0.7	15.3	0.3	0.0	0.0	0
mo-gs-GBA266	34.3	2.3	27.7	0.2	1.7	0.2	0
mo-gs-GBA275	44.9	6.7	38.0	0.4	1.7	0.4	0
mo-gs-GBA276	43.0	5.0	39.8	0.3	3.9	0.4	0

Table 3. Continued.

Item ^z	Traits						
	Plant height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Leaf sheath length (cm)	Leaf sheath diameter (cm)	No. of tillering per plant (no.)	Existence and nothingness of flower stalk ^y
mo-gs-GBA297	17.8 ^x	3.0	16.3	0.1	1.2	0.1	0
mo-gs-GBA298	14.8	2.0	12.3	0.2	3.0	0.2	0
mo-gs-GBA299	31.0	4.0	28.5	0.2	2.5	0.4	0
mo-gs-GBA300	13.0	2.0	12.5	0.1	0.4	0.1	0
mo-gs-GBA301	14.3	2.0	13.3	0.2	1.0	0.2	0
mo-gs-GBA302	16.0	2.0	14.0	0.1	2.0	0.2	0
mo-gs-GBA304	29.5	2.0	23.7	0.3	6.7	0.2	0
mo-gs-GBA305	30.0	3.3	25.3	0.3	4.2	0.3	0
mo-gs-GBA306	18.3	4.3	11.7	0.3	6.4	0.4	0
mo-gs-GBA307	37.7	3.7	34.3	0.2	3.3	0.3	0
mo-jl-GBA160	21.8	2.7	19.0	0.1	1.7	0.2	0
mo-jl-GBA161	38.0	4.0	32.0	0.3	4.5	0.4	0
mo-jl-GBA162	31.0	4.7	26.5	0.3	4.5	0.5	0
mo-jl-GBA163	31.0	4.3	26.7	0.2	3.8	0.4	0
mo-jl-GBA167	16.3	2.3	13.2	0.2	1.2	0.2	1
mo-jl-GBA204	36.0	5.3	30.9	0.9	4.7	0.5	1
mo-jl-GBA205	49.7	5.7	27.3	0.6	5.3	0.0	1
mo-jl-GBA231	40.6	3.0	28.2	0.3	3.0	0.3	1
mo-jl-GBA232	19.7	1.3	18.0	0.1	1.7	0.1	1
mo-jl-GBA233	24.9	2.0	26.0	0.2	1.3	0.1	0
mo-jl-GBA234	36.0	3.0	27.7	0.3	3.3	0.3	0
mo-jl-GBA246	47.7	4.7	38.7	0.4	4.5	0.3	0
mo-jl-GBA247	42.5	3.3	33.3	0.3	5.8	0.3	0
mo-jl-GBA248	39.7	4.0	39.5	0.3	2.7	0.4	0
mo-jl-GBA249	39.0	3.7	34.3	0.3	4.2	0.4	0
mo-jl-GBA251	48.3	6.0	40.8	0.5	3.0	0.5	0
mo-jl-GBA252	37.3	3.3	38.7	0.3	1.8	0.2	0
mo-jl-GBA253	36.0	3.0	31.2	0.2	2.3	0.2	0
mo-jl-GBA254	41.0	3.3	38.0	0.2	1.8	0.2	0
mo-jl-GBA258	25.7	2.3	25.3	0.2	1.7	0.2	0
mo-jl-GBA259	14.3	1.7	13.0	0.1	2.0	0.1	0
mo-jl-GBA260	53.3	5.0	43.7	0.5	3.0	0.4	0
mo-jl-GBA261	42.0	3.7	36.3	0.2	2.3	0.3	0
mo-jl-GBA263	52.2	2.0	32.0	0.3	2.0	0.3	1
mo-jl-GBA264	52.8	2.0	27.3	0.3	10.5	0.4	0
mo-jl-GBA265	42.7	3.7	34.2	0.3	4.0	0.3	0
mo-jl-GBA269	35.2	3.3	31.7	0.2	1.2	0.3	0
mo-jl-GBA271	47.7	4.0	41.7	0.3	2.2	0.3	0
mo-jl-GBA272	33.5	3.3	29.3	0.2	2.2	0.2	0
mo-jl-GBA273	41.7	4.7	34.2	0.3	1.7	0.4	0
mo-jl-GBA274	35.2	3.3	28.4	0.4	3.3	0.3	0
ta-gs-GBA173	21.7	3.7	20.3	0.2	1.0	0.4	0
ta-jl-GBA165	21.0	6.0	21.0	0.1	2.0	0.3	1
th-gg-GBA229	57.7	3.7	27.3	0.6	6.2	0.7	1
th-gs-GBA181	37.8	5.3	26.3	0.5	4.3	0.6	0
th-gs-GBA195	19.0	3.3	18.0	0.2	1.0	0.4	1
tu-gs-GBA202	23.2	4.0	20.3	0.4	0.7	0.3	1
vi-jl-GBA164	19.5	2.7	20.5	0.2	7.0	0.3	1

^zName of genus-collected area-accession no. gr: *A. grayi*, mo: *A. monanthum*, ta: *A. taquetii*, th: *A. thunbergii*, tu: *A. tuberosum*, vi: *A. victoralis*, gg: Gyeonggi, cc: Chungcheong, jl: Jeolla, gs: Gyeongsang, jj: Jeju.

^yExistence and nothingness of flower stalk: 1 (existence), 0 (nothingness).

^xValues of mean.

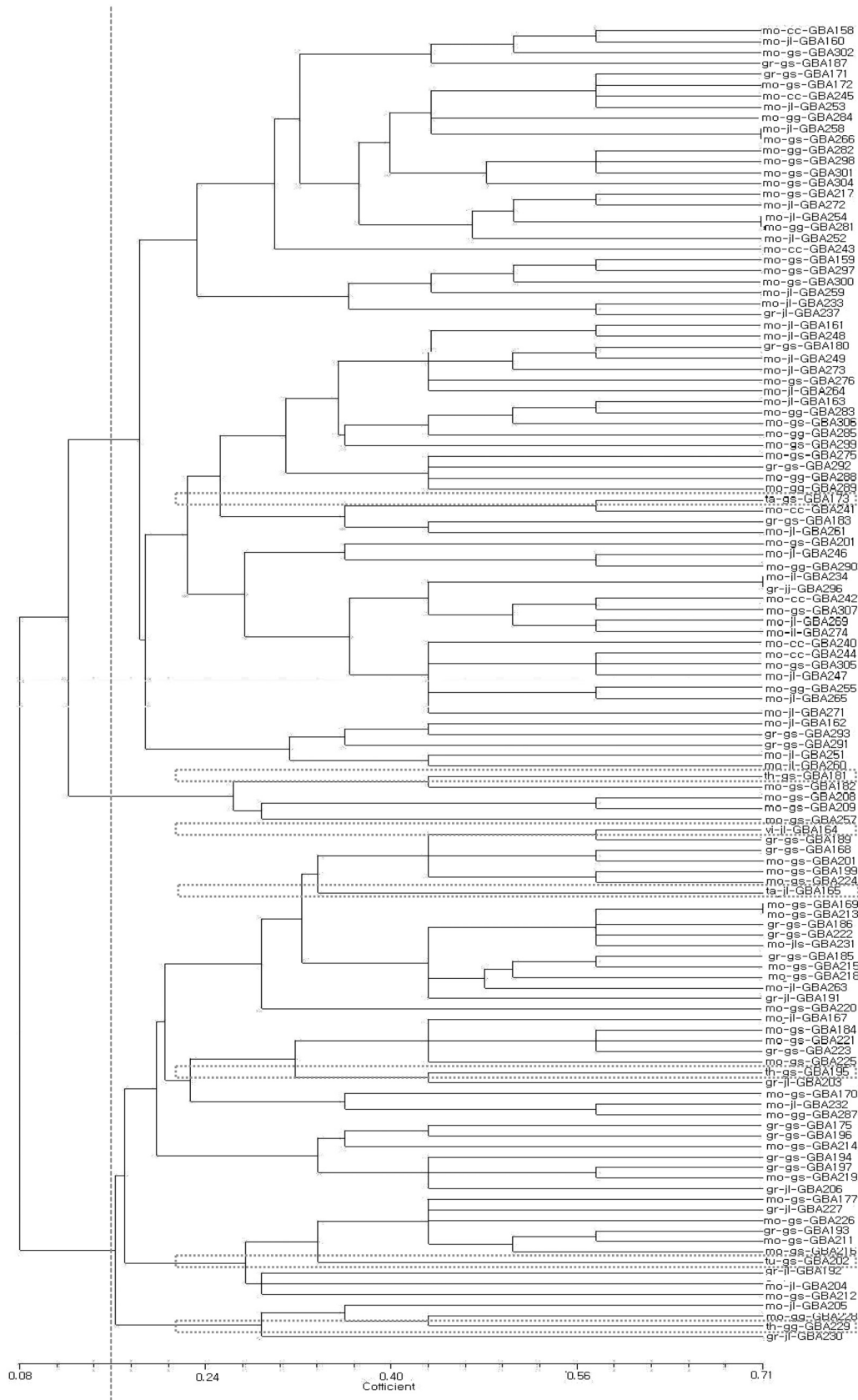


Fig. 1. Dendrogram obtained from morphological traits of 6 species in the genus *Allium*, based on UPGMA clustering analysis and Euclidean distance coefficient using the NTSYS-pc program. Dotted line box are ta-gs-GBA173, th-gs-GBA161, vi-ji-GBA164, ta-ji-GBA165, th-gs-GBA195, tu-gs-GBA202, and th-gg-GBA229 in order. Name of genus-collected area-accession no. gr: *A. grayi*, mo: *A. monanthum*, ta: *A. taquetii*, th: *A. thunbergii*, tu: *A. tuberosum*, vi: *A. victorialis*, gg: Gyeonggi, cc: Chungcheong, jl: Jeolla, gs: Gyeongsang, jj: Jeju.

집된 *Allium*속류의 형태적인 특징으로는 *Allium*속의 종구분이 어려웠다. 이는 한국에 자생하는 산달래와 달래는 지역에 따라 생태적 및 형태적인 형질의 변이가 다양하고, 이들의 변이는 오랜 세월 동안 수많은 세대를 거듭하면서 자생지의 환경에 적응하여 생태적으로 고정된 결과로 추정되었다(Kim et al., 2010). 또한 우량 지방종의 선발과 우량 품종의 육성을 위해서는 보다 많은 형태적 측정 조사 항목을 늘리고 이들에 대한 생리, 생태 실험을 통한 실용농업형질의 검토에 관한 연구가 필요하다고 판단된다.

ISSR 유전적 다양성 분석

ISSR 분석은 수집한 6종의 122점을 사용하였고, 40개의 ISSR primer를 이용하여 재현성이 있는 17개의 SSR primer를 통해 다양성이 있는 총 370개의 밴드를 얻었다(Table 4). 각각의 밴드는 scoring한 후 TREECON program을 이용하여 유전적 거리는 Nei and Li(1979) 방법으로 이진행렬을 작성하고, 비가중산술법으로 군집분석을 수행하였다. 군집분석의 결과(Fig. 2), 6종의 *Allium*속은 유전적 거리 0.91에서 크게 하나의 집단을 이루어지고 있으며, 유전적 거리 0.94에서 5개의 그룹으로 구분되었다. ISSR 마커를 이용한 *Allium*속류의 분류는 형태적 특성에 따라 분류한 것보다는 세분되었다. 특히 산마늘(vi-ji-GBA164)과 한라부추(ta-ji-GBA165)는 달래와 가깝게 나타나 형태적 특성에서 나타난 것과는 다르게 나타났다. 부추(tu-gs-GBA202), 산부추(th-gg-GBA229) 산달래와 가깝게 나타났다. 형태적 군집분석에서 달래와 산달래의 분류가 어려웠으나, 유전적 분석에서는 어느정도 2

개 군에 각각 군집되어 있음이 분석되었다. 이는 Heo et al.(1998)의 RAPD 분석결과에서 산달래에서 3개군으로 분류되었고, Riu et al.(2004)의 RAPD 분석 결과에서 달래와 산달래는 혼재하여 2개군으로 분리되었다. 따라서 본 실험에서 이용한 ISSR 마커로 분석한 결과와는 차이가 있었는데, 이는 Powell et al.(1996)이 보고한 ISSR 마커가 갖고 있는 특징 중 복대립유전자와 변이에 의하여 나타나는 결과로 기인되며, ISSR 마커가 형태적 마커보다는 종을 분류하는데 이용가치가 높을 것으로 판단된다.

형태적 분석과 ISSR 분석간의 상관관계

본 연구는 6종의 122점을 이용하였으며, 형태적 그리고 ISSR 분석간 상관관계는 NTSYS-pc 프로그램을 사용하여 Mantel test를 통해 확인하였다. 형태적 조사의 유사도 거리와 ISSR 분석의 유전적 거리간의 유의성은 r 값이 0.036으로 매우 낮았다. 기존 연구에서는 *Allium*속에 대한 형태적인 특성과 분자마커간의 연관분석 연구는 없었다. 그러나 최근 토마토(Kwon et al., 2009), 장미(Jounget al., 2010) 연구에서 형태적 형질을 통해 분석하는 것이 한계가 있다고 보고하고 있다. Kwon et al.(2009)이 토마토에서 33개의 SSR 마커를 선발하였고, Qureshi et al.(2004)은 목화에서 9,948개의 sequence 분석을 이용하여 84개의 EST-SSR primer를 만들어 연구를 하였고, Kim et al.(2010)은 장미에서 30개의 EST-SSR 마커를 이용한 바 있다. Oh et al.(2010)은 당근의 EST sequence 바탕으로 50개를 이용하여 당근의 계통 분류 및 여러 가지 형질관련 분자 마커 연구에 활용 가능할 것을

Table 4. The 17 primer used for ISSR analysis of 122 germplasm collections in the genus *Allium*.

Primer name	Sequence(5'→3')	GC content (%)	Annealing temp. (°C)	Polymorphic bands
UBC 809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	52.9	50	31
UBC 813	CTC TCT CTC TCT CTC TT	47.1	50	18
UBC 815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	52.9	52	14
UBC 816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	47.1	58	10
UBC 817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	47.1	58	20
UBC 818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	52.9	58	26
UBC 820	GTG TGT GTG TGT GTG TC	52.9	53	17
UBC 821	GTG TGT GTG TGT GTG TT	47.1	52	9
UBC 825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	47.1	56	28
UBC 826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	52.9	58	36
UBC 834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	44.4	53	30
UBC 842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	50.0	53	26
UBC 855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	44.4	58	28
UBC 856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	44.4	58	24
UBC 857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	50.0	55	24
UBC 858	TGT GTG TGT GTG TGT GRT	44.4	55	10
UBC 864	ATG ATGATGATGATGATG	33.3	50	19
Total				370

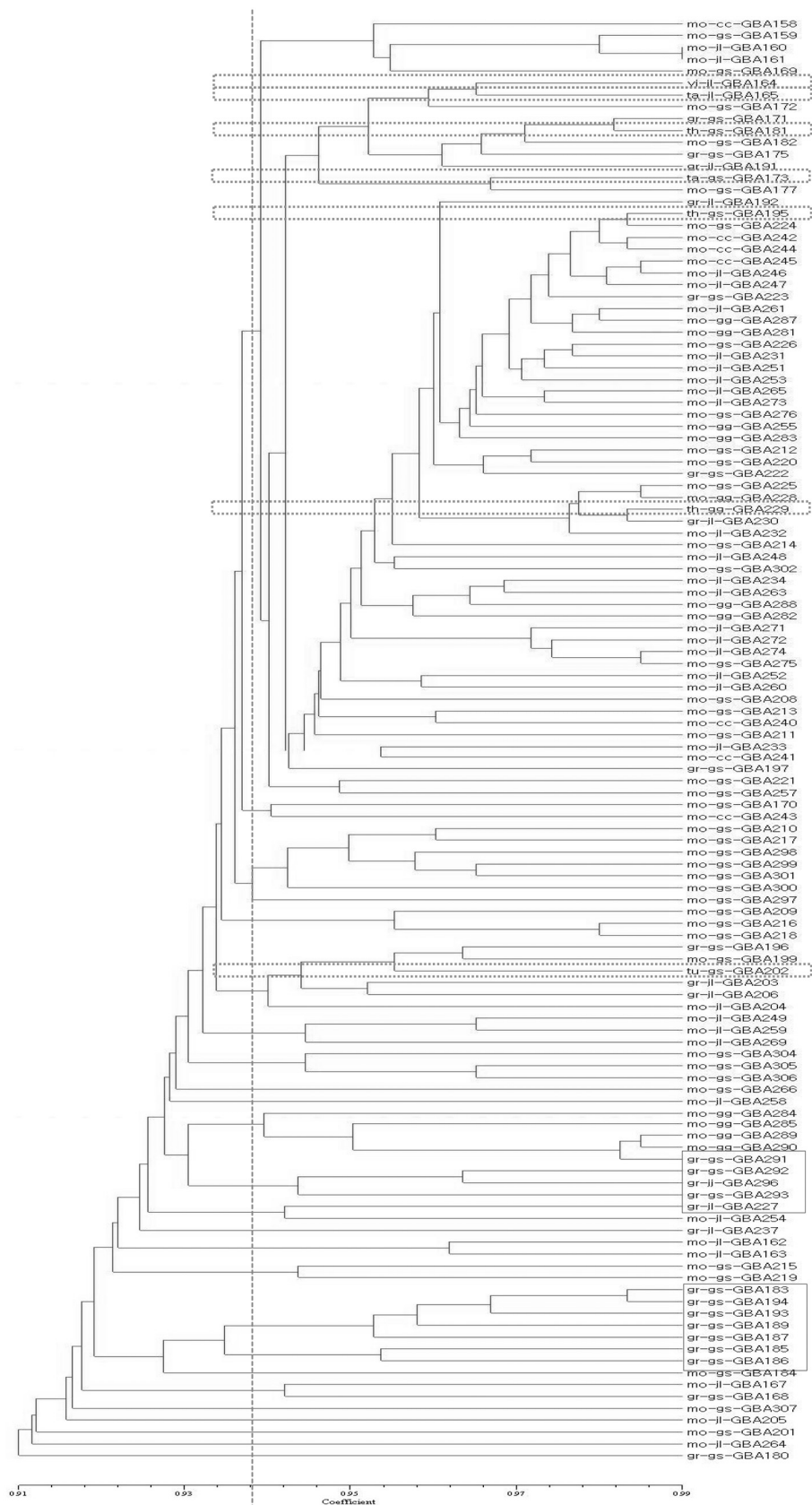


Fig. 2. Dendrogram depicting the classification of 6 species *Allium* constructed using UPGMA and based on EST-SSR markers. The major clusters are marked on the left side of the dendrogram. The scale at the bottom is Jaccard's coefficient of similarity. Dotted line box are vi-ji-GBA164, ta-ji-GBA165, th-gs-GBA161, ta-gs-GBA173, th-gs-GBA195, th-gg-GBA229, and tu-gs-GBA202 in order. Line box are *A. grayi*. Name of genus-collected area-accession no. gr: *A. grayi*, mo: *A. monanthum*, ta: *A. taquetii*, th: *A. thunbergii*, tu: *A. tuberosum*, vi: *A. victorialis*, gg: Gyeonggi, cc: Chungcheong, jl: Jeolla, gs: Gyeongsang, ji: Jeju.

기대된다고 보고하고 있다. 따라서 본 연구에서도 본 실험에서 개발된 17개의 ISSR마커를 이용한다면 교배육종에 활용 가능성이 크다고 사료된다.

초 록

*Allium*속에 포함된 6종의 122점을 수집하고, 이 종들의 유전적 관계는 ISSR 마커를 이용하여 확인하였다. 형태적 분석은 6개의 양적 형질을 측정하고 1개의 질적 형질은 수치화하였다. SSR 분석은 17개의 primer를 사용하여 총 370개의 다형성 밴드를 얻었다. 형태적 특성 분석은 유전적 거리로 구분할 경우 3개의 그룹으로 분류되었으나, 부분적으로 몇몇 종들은 분류에 어려움이 있었다. ISSR 결과를 바탕으로 *Allium* 속의 군집분석은 5개의 그룹으로 분리되었다. 형태적 분석과 SSR분석 간의 상관 관계는 유의성이 매우 낮았다($r = 0.036$). 따라서 본 연구에서 개발한 ISSR 마커는 달래와 산달래의 분류와 교배 육종에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

추가 주요어 : 유전적 거리, 형태적 분석, 양적 형질 특성

인용문헌

Chung, H.D., M.S. Kim, and J.S. Kim. 1976. Studies on the morphological characteristics and dormancy of *Allium monanthum* Max. Theses collection of Youngnam Univ. 9:363-369.

Cooke, R.J. 1995. Varietal identification of crop plants, p. 33-63. In: J.H. Skerrett and R. Appels (eds.). New diagnostics in crop sciences. CAB Int., Wallingford.

Hahn, S.J. 1989. Effects of keeping warm cultivation on the growth and yield of *Allium grayi* Regel in Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 30:11-18.

Hahn, S.J., S.D. Kim, and C.G. Sang. 1977. Agronomic characteristics and food value of 'Wild Welsh Onion' (*Allium schoenoprasum* L.) in Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 18:40-47.

Heo, K.O., C.I. Chung, and S.J. Hahn. 1998. Analysis of phylogenetic relationship among Korean landraces of *Allium grayi* by RAPD. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39:273-277.

Joung, Y.H., S.T. Kim, G.J. Kim, J.H. Lee, G.Y. Gi, and T.H. Han. 2010. Genetic relationship of genus *Rosa* germplasm and genetic diversity of *Rosa rugosa* in Korea. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28:1003-1013.

Kawano, S. and Y. Nagai. 1975. The productive biology of flowering plants. 1. Life history strategies of three *Allium* species in Japan. Bot. Mag. Tokyo 88:281-318.

Kim, J.K., D.C. Ahn, H.J. Oh, K.H. Kim, Y.M. Choi, S.Y. Oh, N.J. Kang, B.R. Jeong, Z.H. Kim, and Y.H. Park. 2010. Skewed inheritance of EST-SSR alleles in reciprocal crosses of cut roses. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28:618-626.

Kim, K.M., C.K. Kim, and J.Y. Oh. 2009. Distribution characteristics

of the four species of genus *Allium* at different altitudes in south Korea. Kor. J. Agricul. Fore. Mete. 11:252-255.

Kim, K.M., C.K. Kim, and J.Y. Oh. 2010. Natural habitats' characteristics of *Allium grai* in Korea. J. Life Sci. 20:219-224.

Kim, K.T. and Y.B. Park. 1994. Physio-ecological characteristics of *Allium taquetii* at different altitudes. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 35:12-19.

Kim, W.B., B.L. Huh, and K.C. Yoo. 1990. Studies on the establishment of cultural practices of *Allium grayi* REGEL. 2. Effect of planting methods with different seed bulbs and planting density on the growth and yield. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 31:377-384.

Kim, W.B., K.K. Lee, B.L. Huh, and K.C. Yoo. 1985. Studies on the establishment of cultural practices of *Allium grayi* REGEL. 1. Effect of seeding time and different seed bulbs on the growth and yield. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 27:15-21.

Kim, W.B., K.K. Lee, D.W. Lee, and K.C. Yoo. 1992. Studies on the establishment of cultural practices of *Allium grayi* Regel. III. Effect of fertilizer application level on the growth and yield. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 33:1-7.

Kwon, Y.S., S.G. Park, and S.I. Yi. 2009. Assessment of genetic variation among commercial tomato (*Solanum lycopersicum* L.) varieties using SSR markers and morphological characteristics. Genes Genomics 31:1-10.

Lee, L.S. and R.J. Henry. 2001. Commercial applications of plant genotyping, p. 256-273. In: R.J. Henry (ed.). Plant Genotyping the DNA Fingerprinting Plants. CABI Publ., Oxon.

Lee, T.B. 2006. Coloured flora of Korea. Hyangmunsa, Seoul, Korea p. 701-707.

Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and ageneralized regression approach. Cancer Res. 27:209-220.

Nei, M. and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:5269-5273.

Oh, G.D., E.M. Hwang, E.J. Shim, S.J. Jeon, and Y.D. Park. 2010. EST profiling for seed, hair characteristic and development of EST-SSR and SNP markers in carrot. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28:1025-1038.

Oh, J.Y. and S.J. Hahn. 1998. Dormancy of *Allium grayi* in Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39:661-665.

Oh, J.Y., M.G. Park, S.W. Kang, H.G. Park, S.J. Hahn, and S.M. Oh. 1996. Polyploid distribution of *Allium grayi* REGEL in Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 37:95-98.

Oh, J.Y., S.J. Kang, C.K. Kim, H.D. Kim, and S.J. Hahn. 2001. Growth characteristics *Allium grayi* in Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 42:177-183.

Powell, W., M. Morgants, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, and A. Rafalski. 1996. A comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR markers for germplasm analysis. Mol. Breed. 2:225-238.

Qureshi, S.N., S. Saha, R.V. Kantety, and J.N. Jenkins. 2004. EST-SSR: A new class of genetic markers in cotton. J. Cotton Sci. 8:112-123.

Rohlf, F.J. 1998. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.0. Exter Publ., New York.

Riu I., C.K. Kim, K.M. Kim, and J.Y. Oh. 2004. Growth characteristics and analysis of phylogenetic relationship of

- Allium monanthum* and *Allium grayi*. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 22:270-277.
- The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV). 2001. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability-tomato [*Solanum lycopersicum* (L.) Karsten ex Farw.]. UPOV, Geneva, Switzerland.
- Van de Peer, Y. and R. De Wachter. 1993. TREECON: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees. Comput. Appl. Biosci. 9:177-182.