

배추 SSR 마커를 이용한 무의 육성 계통 및 수집종의 유전적 다양성 분석

박수형^{1†} · 최수련^{2†} · 이정수¹ · 뉴엔 반단² · 김성길³ · 임용표^{2*}

¹국립원예특작과학원 채소과, ²충남대학교 원예학과, ³전남대학교 식물생명공학과

Analysis of the Genetic Diversity of Radish Germplasm through SSR Markers Derived from Chinese Cabbage

Suhyoung Park^{1†}, Su Ryun Choi^{2†}, Jung-Soo Lee¹, Van Dan Nguyen², Sunggil Kim³, and Yong Pyo Lim^{2*}

¹Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Suwon 441-440, Korea

²Department of Horticulture, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

³Department of Plant Biotechnology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Abstract. Since the early 1980s, the National Institute of Horticultural & Herbal Sciences has been breeding and collecting diverse radish breeds to select those samples with better horticultural characteristics, to ultimately expand and develop as good radish produce. Genetic diversity is a crucial factor in crop improvement and therefore it is very important to obtain various variations through sample collection. The collected samples were compared with one another in order to assess the level of diversity among the collections, and this procedure allowed for increased application of the gathered resources and aided in determining the direction to secure further samples. Towards this end, this experiment was conducted in order to examine whether the SSR markers derived from Chinese cabbage samples could be transferred to the radish samples. Among the radish breeding lines and introduced resources, 44 lines were used as materials to analyze the genotype using 22 SSR markers selected. As a result, the analysis showed that among all the selected markers, ‘cnu_m139’ and ‘cnu_m289’ were the most useful markers for diversity evaluation. The genetic relationship of the radish genetic resources showed that the geographic origins affected the diversity. Furthermore, the different types of radish groups were also determined by the year they were bred. This result demonstrated that there are differences between the older radish breeds and the more recently developed radish breeds. Even though a relatively small number of markers were used in the analysis, it was possible to distinguish whether the radish was bred 30 years ago or in the 2000s, and that the similar physical shapes comprised a particular group, showed that the SSR markers can indeed be successfully applied to study the diversity within radish breeding lines. Through the results of this study, it can be concluded that the SSR marker developed for the Chinese cabbage can be applied to examine the genetic diversity and analyze the relationship (genetic resource determination) of radish.

Additional key words: genetic resource, polymorphism, *Raphanus sativus*, transferability

서 언

무 유전자원을 SSR(simple sequence repeats) 마커를 이용하여 유전적 다양성을 분석하고자 하였다. 유전적 다양성은 작물의 개량에 있어 주요 소재이기에 자원의 수집을 통한 변이의 확보하는 것이 매우 중요하다. 국립원예특작

과학원에서는 무의 품종 육성 기반 확립을 위해 다양한 무 품종을 수집하여 재배한 후 원예적 특성이 양호한 자원을 선발하여 계통으로 육성하는 작업을 1980년대 초반부터 지속적으로 수행하여 왔다. 따라서 30여 년간 수집하고 육성된 계통과 최근 육성된 계통 및 품종은 유전적으로 거리가 있을 것으로 예상되나 보다 객관적 지표를 설정할 필요가

*Corresponding author: yplim@cnu.ac.kr

†These authors contributed equally to this work.

※ Received 27 July 2012; Revised 7 January 2013; Accepted 2 April 2013. 본 논문은 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(식물분자육종사업 단 과제번호: PJ007992)의 지원에 의해 수행되었음.

있으며, 더불어 확보한 자원간의 다양성 정도를 측정함으로써 자원의 활용도를 높이고 자원확보의 방향성을 재고할 필요가 있다.

유전자원의 평가는 재배종의 형태에 따른 검정과 분자 생물학적인 방법으로 나뉜다. 유전자원 평가의 전통적인 방법은 형태적 또는 생태적인 특성을 검정하거나 생화학적 차이, 즉 동위효소 변이, 저장 단백질 변이 등을 이용하는 것이다. 또한 분자 생물학적인 방법으로는 RAPD(random amplified polymorphic DNA), AFLP(amplified fragment length polymorphism), SSR(simple sequence repeats) 등의 다양한 분자마커를 이용하여 생육 환경에 영향을 받지 않고 유전자원의 유전적 다양성 및 유연관계 분석을 수행하고 있다(Powell et al., 1996; Vos et al., 1995; Williams et al., 1990).

무(*Raphanus sativus* L.)는 배추과(십자화과)에 속한 작물로 한국에서는 10대 주요 채소 중 하나이며, 동북 아시아권 역에서 국, 탕, 나물 및 초절임의 형태로 다양하게 소비되는 채소이다. 국내 채소종자 시장 및 해외 수출에서도 작목별 매출액 비교에서 고추, 양배추 다음으로 높았다(Ministry for food, agriculture, forestry and fisheries, 2012). 그러나 농업에서 중요한 채소 작물임에도 불구하고 배추, 양배추, 유채 등의 다른 배추과 작물에 비해 유전학적, 분자생물학적인 연구가 미진하다.

분자마커를 활용하여 고추(Lefebvre et al., 2001; Tam et al., 2005), 밀(Barrett et al., 1998; Cooke et al., 2003), 목화(Zhang et al., 2005), 벼(Kwon et al., 1999), 옥수수(Dillmann et al., 1997), 토마토(Cooke et al., 2003), 콩(Chowdhury et al., 2002), 배추(Kwon et al., 2007; Li et al., 2007; Swabe et al., 2002; Zhao et al., 2005;), 유채(Tommasini et al., 2003; Warwick et al., 2006) 등에서 유연관계와 유전적 다양성에 관한 연구가 보고되었다.

일본에서 동아시아에 분포하는 야생종 무간에 AFLP, SSR 마커를 이용하여 분석한 결과를 보고하였고(Huh and Ohnishi, 2002; Ohsako et al., 2010), 미토콘드리아의 염기서열을 이용하여 야생종 무와 재배종의 근연관계 분석을 통해 유럽과 아시아의 재배종 무의 기원에 대한 연구(Yamagishi and Terachi, 2003; Yamane, 2004)와 엽록체 염기서열을 이용한 분석 결과(Lü et al., 2008; Yamane et al., 2005)를 보고하였다. 한국에서는 RAPD 마커를 이용하여 한국 재래종과 야생종과의 근연관계 분석을 보고하였으며(Choi et al., 2008), AFLP 마커를 이용하여 품종구분에 관하여 보고하였다(Kwon et al., 2003). 한국 재래종 및 야생종의 유전적 근연관계에 대한 분석은 있었으나, 육성소재로 활용되고 있는 계통과

품종에 관한 근연관계 연구는 미흡하였다.

SSR 마커는 microsatellite이라고도 하는데 1-6개의 염기서열이 단위로 하여 반복되어 존재하는 염기서열을 의미하는 것으로, 반복 염기서열 부위에 인접한 염기서열을 프라이머로 이용하여 PCR(polymorphic chain reaction) 반응하였을 때 반복 횟수의 차이에 의해 나타나는 다형성을 분석한다. 이는 유전체에 다수가 있고 유전체 전반에 걸쳐 고르게 분포하며 개체간의 다형성 정도가 크게 나타나는 특성이 있으며, RAPD나 AFLP 방법보다 실험과정이 간단하며 공유성으로 나타나 데이터의 정확성이 높고, 실험 결과에 있어 재현성이 매우 높은 것으로 알려져 있다(Ishii and McCouch, 2001; Richards and Sutherland, 1994). 또한 관련된 종에서 개발한 마커를 타 종에 적용 가능성(transferability)이 높아 유전자 지도 작성, 중요 형질 유전자좌 위치 탐색, 육종에서 선발 표지 인자, 유전적 차이를 구분(다양성 분석)하는데 적합한 것으로 보고되었다(Jewell et al., 2006; McCouch et al., 1997).

분류학상으로 무는 배추과에 속하는데, 동일 과에서 유전적으로 가까운 배추의 유전체 프로젝트(Multinational Brassica Genome Project, MBGP)가 활발히 진행되어 방대한 유전체 정보가 해독되었으며, 이들 정보의 이용도 가능하게 되었다(Mun et al., 2009, 2010). 배추에서 이미 보고된 유전자 지도에는 대량의 SSR 마커 정보가 집적되어 있으며(Kim et al., 2006, 2009; Li et al., 2010; Ramchiary et al., 2011), 최근 배추 유전체에 대한 초안이 발표되어 분자마커 개발에도 활용이 가능하다(Wang et al., 2011). 따라서 이미 발표된 배추의 SSR 마커가 계통분류학상 가까운 관계에 있는 무에 적용이 가능한지를 검정하고자 하였다. 실험재료로는 70년대 초반부터 국립원예특작과학원에서 수집해온 육성 계통과 도입자원을 이용하였다.

재료 및 방법

식물재료

식물재료로는 농촌진흥청 국립원예특작과학원에서 1970년대부터 육성하여 온 무(*Raphanus sativus* L.) 44 계통을 사용하였다. 터키, 중국 및 유럽에서 도입된 자원 후대에서 육성된 5계통, 국내 시판 품종인 ‘관동여름’과 원예원 육성 품종인 ‘평지여름’의 교배 후대에서 육성된 15계통, 국내 시판 품종인 ‘하령무’와 ‘팔광무’의 교배후대에서 육성된 13계통, 80년대 육성된 9계통 및 제주지역 수집종인 ‘단지무’ 유래 1계통, 한국재래종 ‘알타리’ 1계통으로 구성된다(Table 1).

Table 1. The 44 representative plant resources used for genetic diversity.

No.	Accession ID	Parental materials (Inbred name)	Origin	No.	Accession ID.	Parental materials (Inbred name)	Origin
1	10-SD01	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	Korea	23	10-SD27	(83-30-2-4-5-1-2-9-1-4)	Korea, Developed in the 1980s
2	10-SD02	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum'	Korea	24	10-SD28	(83-1-52-1-1-2-2-3-3-1-5)	Korea, Developed in the 1980s
3	10-SD03	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	Korea	25	10-SD29	(83-1-52-1-1-5-4-1-8-3-1)	Korea, Developed in the 1980s
4	10-SD04	Unidentified genetic resource	Unknow	26	10-SD30	(83-1-52-1-1-2-3-2-1-1)	Korea, Developed in the 1980s
5	10-SD05	Local variety	Turkey	27	10-SD31	(83-1-57-1-7-5-2-3-2-5)	Korea, Developed in the 1980s
6	10-SD06	Commercial variety	China	28	10-SD32	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10028ho)	Korea, Developed in the 2000s
7	10-SD07	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	Korea	29	10-SD33	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10029ho)	Korea, Developed in the 2000s
8	10-SD08	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	Korea	30	10-SD34	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10030ho)	Korea, Developed in the 2000s
9	10-SD09	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	Korea	31	10-SD35	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10031ho)	Korea, Developed in the 2000s
10	10-SD10	Introduced species	China	32	10-SD36	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10032ho)	Korea, Developed in the 2000s
11	10-SD11	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	Korea	33	10-SD37	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10033ho)	Korea, Developed in the 2000s
12	10-SD12	Jeju island's local variety (Danjimu)	Korea	34	10-SD38	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10034ho)	Korea, Developed in the 2000s
13	10-SD13	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	Korea	35	10-SD39	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10035ho)	Korea, Developed in the 2000s
14	10-SD14	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	Korea	36	10-SD40	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10036ho)	Korea, Developed in the 2000s
15	10-SD15	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	Korea	37	10-SD41	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10037ho)	Korea, Developed in the 2000s
16	10-SD16	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	Korea	38	10-SD42	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10038ho)	Korea, Developed in the 2000s
17	10-SD17	Local variety (Altari)	Korea	39	10-SD43	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10039ho)	Korea, Developed in the 2000s
18	10-SD19	Introduced species	Europe	40	10-SD44	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10040ho)	Korea, Developed in the 2000s
19	10-SD21	(83-1-30-6-2-6-7-1-1-1-1)	Korea, Developed in the 1980s	41	10-SD45	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10041ho)	Korea, Developed in the 2000s
20	10-SD22	(83-1-35-2-3-1-4-2-10-3-3)	Korea, Developed in the 1980s	42	10-SD46	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10042ho)	Korea, Developed in the 2000s
21	10-SD23	(83-1-52-4-3-7-2-1-3-5-5)	Korea, Developed in the 1980s	43	10-SD47	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10043ho)	Korea, Developed in the 2000s
22	10-SD24	(83-1-57-4-7-3-2-2-6-3-4)	Korea, Developed in the 1980s	44	10-SD48	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10044ho)	Korea, Developed in the 2000s

DNA 추출

파종하여 5주 자란 식물체의 잎 조직을 채취하여 동결 건조하고 액체 질소를 넣고 고운 가루가 되도록 갈아 각각 1.5mL micro centrifuge 튜브에 옮겼다. DNA는 Genomic DNA Extraction Kit Protocol(RBC Real Biotech Corp, Korea)에 따라 추출하였다. 추출한 DNA를 0.8%의 아가로스젤에 전기영동하여 추출여부를 확인하였고, DNA의 농도는 260nm의 UV 흡광도를 spectrophotometer로 측정하였다. DNA 농도는 PCR 반응에 사용하기 전에 시료간에 농도가 크게 차이가 나지 않도록 5-10ng· μL^{-1} 로 희석하여 등분하였다.

SSR 마커를 이용한 PCR 증폭

분자마커 재료로는 배추 내흔계 'Chiifu-401-41'의 genomic 염기서열을 기반으로 개발하여 배추 유전자 지도에 사용된 SSR 마커 중 50개를 선발하여 전체 식물재료에 사용하기 전에 다형성 검정을 하였다. 각 SSR 마커에 대한 염기서열 정보는 Kim(2009)에서 확인할 수 있다.

PCR 반응의 조성은 0.1unit의 Taq polymerase(Intron, Daejeon, Korea), 각각 0.5 μM 의 Primer, 250 μM 의 dNTP 혼합용액(각 2.5mM), 2.0mM의 MgCl_2 , 1 μL 의 10X PCR 완충액, 10-15ng의 genomic DNA를 주형으로 하였으며 총 반응 조성물 부피는 10 μL 로 하였다.

PCR 반응 조건은 94°C에서 4분간의 변성(denaturation)을 한 후에, DNA 변성 단계 94°C에서 45초간, 결합(annealing) 단계에서는 각 primer별 적정온도에서 45초간, 신장 단계 72°C에서 45초간으로 35반복을 하였으며, 최종 신장 단계는 72°C에서 7분간으로 하였다(Bioneer, Daejeon, Korea). PCR로 증폭한 생성물은(PCR amplicon) 2% 아가로스젤 및 PAGE 전기영동법(Poly Acrylamide Gel Electrophoresis)으로 분리하였다. PAGE 전기영동 및 은염색(silver staining) 방법은 6% denaturing polyacrylamide gel 상에서 90W로 2시간 전기영동을 한 후 시판되는 은염색 키트(k-1050, Bioneer, Korea)를 사용하여 염색하고, 상온에서 2시간 건조시킨 후 분석에 사용하였다.

통계/데이터 분석

무의 유전적 유사도는 NTSYS-pc(numerical taxonomy and multivariate analysis system 1.8, Applied Biostatistics Inc., USA) 프로그램을 이용하여 simple matching 방법에 의해 산출하고 이 값을 근거로 하여 비가중산술방식(UPGMA; unweightes pair group method using arithmetic average)을 이용하여 집괴분석(cluster analysis)을 하였다(Rohlf, 1993; Sneath and Sokal, 1973).

총 50쌍의 프라이머를 이용한 다형성 검정에서 재현성을 가지고 뚜렷하게 증폭되며 다형성을 나타내는 프라이머쌍을 선발하여 유전적 다양성(genetic diversity)을 알아보기 위해 사용하였다.

44개 식물재료 집단에서 다형성(polymorphism)을 나타내는 유전자좌의 유전자형(genotype)을 분석하여 품종간 유전적 유연관계를 분석하기 위한 기본 자료로 사용하였다. PCR 수행결과 밴드가 증폭된 것은 1, 증폭되지 않은 것은 0으로 기록하여 자료를 변환하여 기초자료 행렬을 작성하고 이를 NTSYS-pc 프로그램을 이용하여 유전적 유연관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

분석에 사용된 일부 무 계통의 원예적 특성 및 육성 내역

국립원예특작과학원에서 김치용 육종 소재 개발을 위해 중국, 터키 및 국내 보유 자원을 이용하여 1983년부터 2009년까지 44 계통을 육성 하였다. 육성된 계통은 모두 뿌리가 형성되는 *Raphanus sativus* L.에 속하는 무로서, 민간 종묘 회사의 무 육종가와 공동으로 평가하여 원예적 특성이 우수한 '10-SD32' 부터 '10-SD48'까지 17계통은 '원교10028호' 부터 '원교10044호'로 각각 품종등록을 추진하고 있다(Table 1). 이들 중 종자 생산량이 충분한 '10-SD01' 등 33계통의 뿌리 및 잎의 주요 원예적 특성을 2009년 가을 재배로 조사한 결과 뿌리 길이는 11.5-41.5cm의, 잎의 길이는 26.0-65.0cm의, 당도는 4.0-7.0°Brix의 분포를 보였다(Table 2). 특성 조사에 사용된 계통들은 국내 시판 품종간의 교배 후대, 중국 및 터키 도입자원 후대, 제주 수집 단지무 후대 및 미상자원의 후대로 구성된다. 뿌리 길이가 가장 길었던 계통은 '10-SD04'로(41.5cm) 미상 자원 유래 이었으며, 뿌리 길이가 가장 짧았던 계통은 '10-SD05'로(11.5cm) 터키 재래종에서 유래되었다. 잎의 길이는 '하령무'와 '팔광무'의 교배 후대 계통인 '10-SD01'이 65cm로 가장 길었으며, '관동여름'과 '평지여름'의 교배 후대 계통인 '10-SD37'이 26cm로 가장 짧았다. 당도는 '하령무'와 '팔광무' 및 '관동여름'과 '평지여름' 교배 후대 계통 각각 내부에서 가장 높은 것과 낮은 것이 발견되었다(Tables 1 and 2). '10-SD01' 등 13계통은 국내 시판 품종인 '하령무'와 '팔광무' 교배 후대를 이용하여 육성되었는데(Table 1), 뿌리 길이는 15-35cm, 잎의 길이는 37.7-65cm의 다양한 분포를 보였다(Table 2). '10-SD02' 등 15계통은 '관동여름'과 '평지여름'의 교배 후대를 이용하여 육성되었으며(Table 1), 뿌리 길이는 12-31cm, 잎의 길이는 25.5-49cm의 분포를 보였다(Table 2). Riaz(2001)는 유

Table 2. Horticultural characteristics of 33 plant resources.

Accession ID	Parental materials (Inbred name)	Plant weigh (g)	Root Weight (g)	Root Length (cm)	Upper root width (mm)	Root width (cm)	Lower root width (mm)	Leaf number	Leaf Length (cm)	Sugar content (°Brix)
10-SD01	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	2928.0	2123.0	35.0	63.5	11.0	34.0	42.5	65.0	4.4
10-SD02	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum'	957.0	857.0	31.0	30.5	9.5	26.0	26.0	28.5	5.2
10-SD03	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	2359.0	1423.0	15.0	71.5	14.5	30.5	46.5	47.5	4.7
10-SD04	Unidentified genetic resource	1538.0	919.0	41.5	48.0	7.0	20.0	49.5	40.0	5.0
10-SD05	Local variety	1055.0	870.0	11.5	73.5	13.5	37.5	24.0	36.0	5.2
10-SD06	Commercial variety	1717.0	1342.0	35.0	48.0	11.0	27.5	23.5	42.5	6.6
10-SD07	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	2257.0	1846.0	23.5	56.0	14.0	23.5	27.0	41.5	5.0
10-SD08	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	1284.0	1096.0	22.5	55.5	10.5	28.0	26.0	32.0	5.9
10-SD09	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	1533.0	906.0	32.0	44.5	9.0	17.0	40.0	43.5	5.3
10-SD10	Introduced species	1678.0	1410.0	27.5	40.0	13.5	28.0	18.5	40.0	5.9
10-SD11	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	1441.0	1181.0	20.5	37.0	14.0	29.5	24.5	41.0	5.4
10-SD12	Jeju island's local variety (Danjimu)	1577.0	513.0	18.5	57.5	9.0	25.5	49.0	58.5	6.4
10-SD13	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	895.0	779.0	25.5	36.5	9.5	25.5	27.0	27.5	4.6
10-SD14	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	1235.0	1061.0	23.5	45.0	10.5	26.5	30.5	25.5	4.8
10-SD15	'Gwandongyeoreum' × 'Pyeongjiyeoreum'	1602.0	1302.0	19.0	57.0	13.5	26.5	27.5	36.5	5.5
10-SD16	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu'	1758.0	1445.0	31.5	44.5	12.0	30.0	26.5	39.5	5.1
10-SD32	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10028ho)	2186.7	1737.3	25.3	52.0	14.3	27.3	24.3	49.0	5.4
10-SD33	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10029ho)	617.0	401.0	12.0	34.5	8.5	18.5	17.5	38.5	7.0
10-SD34	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10030ho)	3144.0	2544.0	24.0	70.0	17.0	30.0	35.0	40.0	5.2
10-SD35	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10031ho)	2260.0	1800.7	25.7	64.7	13.0	28.7	41.7	35.7	4.0
10-SD36	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10032ho)	1398.0	1176.7	27.0	46.0	10.0	23.7	42.0	30.7	5.1
10-SD37	'Gwandongyeoreum' × 'Peongjiyeoreum' (Wonkyo 10033ho)	1023.3	876.7	23.7	41.3	10.7	24.7	32.3	26.0	4.9
10-SD38	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10034ho)	2280.0	1861.7	29.3	56.3	12.3	29.3	33.7	37.7	5.1
10-SD39	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10035ho)	1524.0	1229.3	30.3	45.7	11.7	18.7	21.7	39.7	5.2
10-SD40	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10036ho)	1602.0	948.0	25.3	54.0	9.7	20.7	27.3	53.3	6.2
10-SD41	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10037ho)	1592.7	1328.0	28.0	36.7	9.3	15.7	25.3	32.7	5.8
10-SD42	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10038ho)	1810.7	1429.3	22.3	55.0	12.3	32.3	24.0	38.0	4.8
10-SD43	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10039ho)	3074.0	2636.0	25.0	60.3	15.0	33.7	29.3	43.0	5.1
10-SD44	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10040ho)	1961.2	1640.0	26.0	53.8	12.8	25.6	23.8	43.2	4.7
10-SD45	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10041ho)	2908.7	2462.7	26.3	68.0	16.0	31.3	31.3	40.7	4.6
10-SD46	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10042ho)	1845.3	1525.3	22.0	53.3	14.7	32.3	25.3	37.7	5.4
10-SD47	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10043ho)	635.3	362.0	15.3	35.3	8.7	23.3	24.3	37.7	7.0
10-SD48	'Haryeongmu' × 'Palgwangmu' (Wonkyo 10044ho)	3282.7	2710.0	30.7	75.3	15.7	33.3	28.7	51.3	5.3

채에서 양친의 유전적 거리가 그 후대들의 heterosis에 통계적으로 유의하게 영향을 끼침을 보고하였다. 실제로 국내 시판품종의 RAPD 분석 결과에서도 유사한 결과가 나왔다.

'하령무'와 '팔광무'의 유전적 거리가 '관동여름'과 '평지여름'의 거리보다 더 멀었으며(자료 미제시), 따라서 '하령무'와 '팔광무' 교배 후대에서 뿌리 및 잎의 길이 변이가 더 큰

것으로 나타났는데, 이는 이들의 유전적 거리가 더 멀었기 때문으로 생각된다.

무 유전자원에서 SSR 마커의 다형성 관찰 및 선발

배추에서 보고된 SSR 마커를 이용하여 무 유전자원의 다형성 분석에 적용하고자 하였다. 동일 십자화과에 속하는 배추에서 개발 및 보고된 SSR 마커를 무에서의 적용 가능성을 확인하기 위해 50개의 마커에서 예비실험(다형성 검정)을 통해서 재현성을 가지고 증폭되어 선발한 프라이머 22종을 사용하였다(Table 3). 국립원예특작과학원에서 육성한 계통 및 수집한 무 유전자원 44개체를 식물재료로 사용하여 SSR 마커로 PCR 반응을 하였을 때, 계통간에 선택적으로 증폭된 밴드의 크기 차이를 확인하여 다형성 분석을 수행하였다.

무의 다형성 관찰을 위해 선발한 22종의 SSR 마커는 배추 유전체에서 가장 높은 빈도로 존재하는 motif 형태인 di-, tri-nucleotide를 반복염기서열로 가지고 있었다. 또한 di-nucleotide를 반복하고 있는 SSR 마커는 20종으로 4종류의 motif(AG, AT, CT, TG)를, tri-nucleotide를 반복하고 있

는 SSR 마커는 2종은 2종류의 motif(TGC, ATA)를 가지고 있었다(Table 3). 총 대립인자수는 80개였으며, 프라이머당 대립인자수의 범주는 1-6개였다. SSR 마커 'cnu_m139'와 'cnu_m289'가 6개로 가장 많았으며, 다음으로 'cnu_m568', 'cnu_m568', 'cnu_m098', 'cnu_m049'와 'cnu_m298'이 5개씩 증폭되었다. SSR 마커 중 'cnu_m471'가 1개로 가장 적었으며, 전체 SSR 마커 당 평균 대립인자수는 3.6개였다. 22종의 SSR 마커가 motif 형태별로 고루 가지고 있지 않았으나, motif 형태별로 다형성을 나타내는 대립유전자좌 개수를 비교해 보면, AG를 motif로 하는 SSR 마커의 평균은 4.8로 가장 높았고, CT를 motif로 하는 SSR 마커는 4.7, TG는 4.0으로 나타났으며 이들 motif를 이용한 SSR 마커는 유전적 다형성 분석시 마커로서 유용할 것으로 생각된다. AT motif를 가지고 있는 프라이머에서 평균대립 유전자수가 현저하게 적은 것으로 나타났다.

Fig. 1은 SSR 마커 'cnu_m289'로 PCR 반응하여 증폭한 산물을 전기영동한 사진이다. 이 마커를 이용한 PCR 반응으로 증폭한 산물은 150-200bp 사이에서 분포하였는데 밴드의 크기에 있어 차이가 있음을 육안으로 구별할 수 있었

Table 3. The information of SSR primers and number of alleles revealed.

Marker type	Marker ID	SSR motif	Annealing temperature (°C)	Forward primers	Reverse primers	No. of alleles
SSR	cnu_m598	(AG)12	55	TTCACCGTCTGCTCTTATCG	CTGCTCCCATACGATCCACT	5.0
SSR	cnu_m316	(AG)15	58	TCAAGCATGTCCTTAAACTCTGA	GCGTTCACGTTTCCCATATC	4.0
SSR	cnu_m568	(AG)35	57	TAAAATCTGAACCCGAACCC	TTGTTGCTCCAACCCAACA	5.0
SSR	cnu_m098	(AG)11	59	TGCGACCCAAGTAGGTGAAAC	TGTCTCTCGCTCATTATCCAA	5.0
SSR	cnu_m220	(AT)14	59	ATCAGAACC GAATCCGACCA	CAATGGTTGCAATGTTATTTGGA	3.0
SSR	cnu_m461	(AT)16	58	GCCGAAACCGACCTCAACTA	CAGTTTGAGTTTCGGAATGCAC	3.0
SSR	cnu_m176	(AT)22	59	TGTAAGTCACGTTTCGTTTGTCT	AGGCATGTATGGAGATGTAGAGTGA	2.0
SSR	cnu_m377	(AT)26	58	TCAGTTGTCCGATCGTCTATG	CACCTATCTTTCTTTGAAGTTGTTG	2.0
SSR	cnu_m040	(AT)27	55	AAAGCATACACATTTTAGGGAAGC	TCAAACGCAAATTC AATAAGACA	3.0
SSR	cnu_m049	(AT)13	55	GGGAATTCAGCTGGCATCTA	GATTGGAGGGAATTGGGTTT	5.0
SSR	cnu_m207	(AT)16	59	GGACCCGGAATACCTCAAAGA	CATCAATAGCTCCGACACAATCC	3.0
SSR	cnu_m114	(AT)21	59	AGTCGGAGGAAACGCGAAATTA	CGAAATAAGACAGACAGAGACATCCA	2.0
SSR	cnu_m471	(AT)24	58	GGAACGACTTCTCCCGTAT	ACTCGAACCATTCTGGCAA	1.0
SSR	cnu_m310	(ATA)14	58	GGCAGGTGGAATATGTGGAA	GCACTATCATCATCAACAGAACA	3.0
SSR	cnu_m432	(CT)13	58	CAAACCTCGTCTTAAGCAGAA	ACCTGAAGATGACCCAGACG	4.0
SSR	cnu_m139	(CT)17	59	TCAAGCGCAACAAACATTGG	TGGTGTAGGGTTAAGGTTGTGG	6.0
SSR	cnu_m280	(CT)23	59	TGTTACCACAGGAACCGTTCAA	CTTGGGCACACCATCATCTG	3.0
SSR	cnu_m415	(CT)28	58	TGATGTAACCCCGGAGAAGA	TTTCTCCCCTGAAAGCACAC	3.0
SSR	cnu_m298	(CT)20	58	GGAGAGGTGTTTCTCGAACCT	TTCAGTGTGCTATGCAGATCG	5.0
SSR	cnu_m289	(CT)26	58	CCCCTGGACTCCGTTTATCT	GATCTACGACGATCGGATGC	6.0
SSR	cnu_m355	(TG)16	59	CCCCAAAACAGTGCCAAAG	GGCCCTAATCCCATCACA	4.0
SSR	cnu_m338	(TGC)7	59	GCAACGATGAATCCCTAAACGA	AAATCCTCCACTGTTTCCGAT	3.0
Total	22					80

다. 따라서 본 연구에서는 이와 같이 선발한 마커를 이용하여 육성계통 및 수집자원을 분석하는데 사용하였다.

무 유전자원의 유연관계

국립원예특작과학원에서는 무의 품종 육성 기반 확장을 위해 다양한 무 품종을 수집하여 재배한 후 원예적 특성이 양호한 자원을 선발하여 계통으로 육성하는 작업을 1980년대 초반부터 지속적으로 수행하여 왔다. 30년 이전에 육성된 계통과 최근 육성된 계통 및 수집된 품종은 유전적으로

거리가 있을 것으로 예상되나 보다 객관적 지표를 설정하고자 하였다.

배추에서 이용되는 SSR 마커를 이용하여 무 유전자원에 대한 SSR 마커의 유전형 분석결과를 이용하여 유연관계를 구분할 수 있었다(Fig. 2). 무 유전자원을 NTSYS-pc 프로그램으로 UPGMA 집괴분석(cluster analysis)하여 유전적 유사도(유연계수)에 따라 그룹을 나누었다(Table 4). 44점의 무 유전자원에서 각 SSR 마커를 이용하여 증폭된 다형성 밴드를 관찰하여 구별이 명확한 DNA 밴드들의 유무를

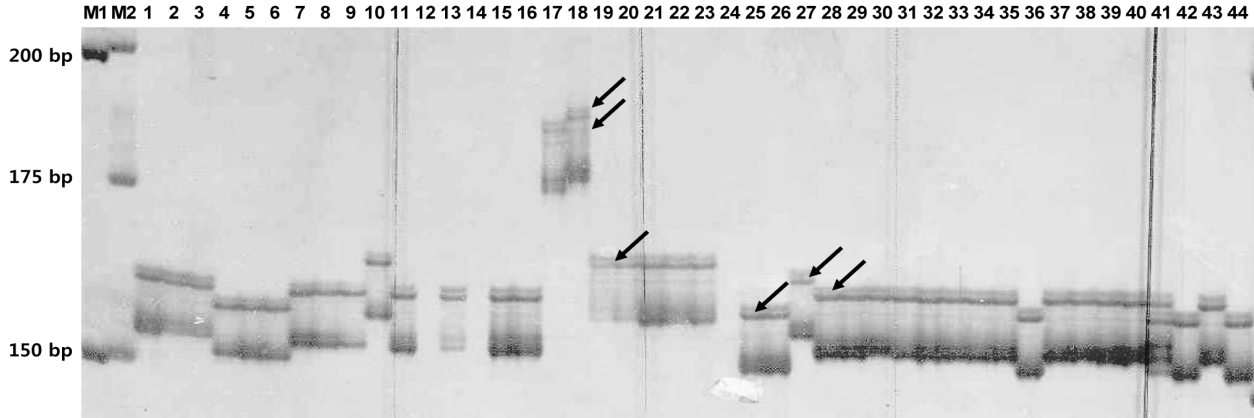


Fig. 1. Gel electrophoresis profile of PCR amplicon using SSR marker, cnu_m289. M1, 50 bp size standard ladder; M2, 25 bp size standard ladder; lane No. designated by 1-44 represents a plant resource explained in Table 1, respectively.

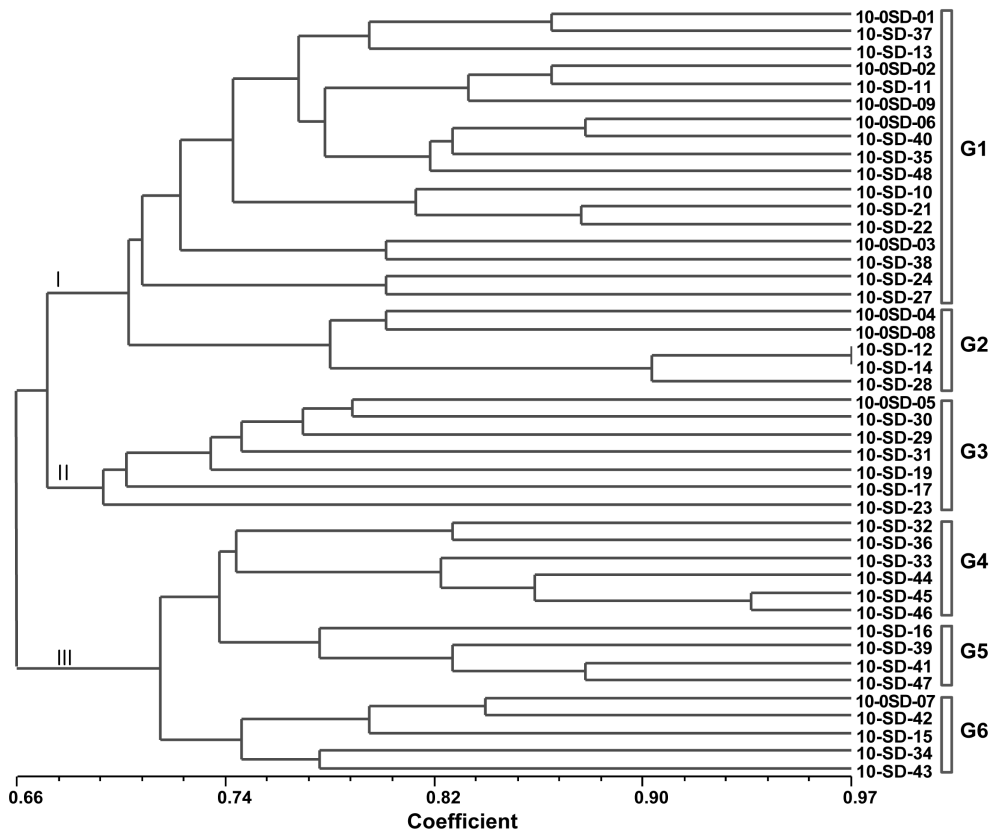


Fig. 2. The phylogenetic tree results of 44 radish samples using UPGMA cluster analysis of similarity coefficient.

Table 4. The cluster results of plant resources.

Group	Sub-group	No. of plant resource	Accession No.
I	G1	17	10-SD01, 10-SD02, 10-SD03, 10-SD06, 10-SD09, 10-SD10, 10-SD11, 10-SD13, 10-SD21, 10-SD22, 10-SD24, 10-SD27, 10-SD35, 10-SD37, 10-SD38, 10-SD40, 10-SD48
	G2	5	10-SD04, 10-SD08, 10-SD12, 10-SD14, 10-SD28
II	G3	7	10-SD05, 10-SD17, 10-SD19, 10-SD23, 10-SD29, 10-SD30, 10-SD31
III	G4	6	10-SD32, 10-SD33, 10-SD36, 10-SD44, 10-SD45, 10-SD46
	G5	4	10-SD16, 10-SD39, 10-SD41, 10-SD47
	G6	5	10-SD07, 10-SD15, 10-SD34, 10-SD42, 10-SD43
Total		44	

확인하여 행렬을 작성하였는데, 전체 유전적 유사도 값이 0.66-0.97의 범위에 속하며 0.68에서 3개의 그룹으로 나뉘는 것으로 나타났다. 무 유전자원의 3개의 군집화(grouping) 되는 형태를 보면, 0.66에서 크게 2그룹으로 나뉘고, 다시 0.68에서 한 그룹이 나뉘어 총 3개의 그룹(그룹 I, 그룹 II, 그룹 III)으로 군집을 형성하는 것으로 나타났다. 23개의 계통으로 이루어진 그룹 I은 유연계수 0.70에서 다시 2개의 소그룹(G1, G2)으로 나뉘었다. 그룹 II는 7개의 계통으로 한 개의 소그룹을 이루었다. 그룹 III은 15계통으로 0.72에서 3개의 소그룹(G4, G5, G6)로 분리되는 것으로 나타났다.

소그룹 G1은 계통번호 ‘10-SD01’, ‘10-SD02’, ‘10-SD03’, ‘10-SD06’, ‘10-SD09’, ‘10-SD10’, ‘10-SD11’, ‘10-SD13’, ‘10-SD21’, ‘10-SD22’, ‘10-SD24’, ‘10-SD27’, ‘10-SD35’, ‘10-SD37’, ‘10-SD38’, ‘10-SD40’, ‘10-SD48’ 계통들로 중국유래종 2점을 제외하고 대부분이 국립원예특작과학원에서 육성종이었다. 1980년대 육성종과 2000년대 육성종이 혼재하고 있으나, 시대별 육성종들이 연관되어 소그룹 내에서 무리를 지어 묶이는 현상을 나타냈다.

소그룹 G2로 분류된 계통번호 10-SD04, 10-SD08, 10-SD12, 10-SD14, 10-SD28 번의 계통들은 포함하고 있었는데 형태적으로 매우 가늘고 긴(일본무 형태) 모양과 제주 단지무 유래 계통을 포함하고 있었다.

소그룹 G3은 계통번호 10-SD05, 10-SD17, 10-SD19, 10-SD23, 10-SD29, 10-SD30, 10-SD31을 포함하고 있었는데 터키에서 유래한 자원과 유럽에서 도입한 자원을 포함하고 있었다. 이 중 터키에서 유래한 자원은 근경이 짧으며 굵고 동그란 형태에 근피가 붉은색이었다.

소그룹 G4는 계통번호 10-SD32, 10-SD33, 10-SD36, 10-SD44, 10-SD45, 10-SD46를 포함하고 있었는데 이들은 모두 2000년대에 동일 계통을 이용하여 만든 육성종으로 중간 길이에 근피가 날렵한 특성을 보였다. 소그룹 G5는 계통번호 10-SD16, 10-SD39, 10-SD41, 10-SD47로 구성되었으며

대부분이 보통 굵기에 긴 형태적 특성을 나타내었으며 모두 육성종이었다. 소그룹 G6은 계통번호 10-SD07, 10-SD15, 10-SD34, 10-SD42, 10-SD43을 포함하고 있었으며 이들은 모두 동일한 계통을 교배하여 자가수정을 통해 유전적으로 고정되도록 육성한 육성종이었고 형태적으로 보면 대부분이 보통 길이에 굵은 모습이었다.

이상의 결과를 보면 배추에서 개발한 SSR 마커를 이용한 PCR 반응은 국내 무에 대한 유전적 다양성 및 유연관계 분석에 유용하게 이용될 수 있는 것으로 판단되었다. 비교적 적은 수의 마커로 분석했음에도 30년 이전에 육성종과 근래에 육성한 2000년대에 육성종을 구분하고, 한 그룹내에서 비교적 형태적으로 유사한 개체들이 그룹을 구성하는 대부분을 나타낸 결과는 SSR 마커가 무에 성공적으로 적용 가능함을 시사한다고 할 수 있다. 따라서 SSR 마커의 숫자를 늘리고 도입종과 재래종의 종류도 늘려서 심층적으로 검토하면, 육성 자료 활용시 기초자료로 유용하리라 생각된다.

초 록

국립원예특작과학원에서는 무의 품종 육성 기반 확장을 위해 다양한 무 품종을 수집하여 재배한 후 원예적 특성이 양호한 자원을 선발하여 계통으로 육성하는 작업을 1980년대 초반부터 지속적으로 수행하여 왔다. 유전적 다양성은 작물의 개량에 있어 주요 소재이기에 자원의 수집을 통한 변이의 확보는 매우 중요하다. 자원 수집과 더불어 확보한 자원간의 다양성 정도를 측정함으로써 자원의 활용도를 높이고 자원확보의 방향성을 재고하는데 도움을 줄 수도 있다. 이런 연구를 위하여 이미 배추에서 개발된 SSR 마커를 이용하여 계통분류학상 가까운 관계에 있는 무에 적용이 가능한지를 검토하기 위해 본 실험을 실시하였다. 무 육성 계통과 도입자원 중에서 44점의 보유 유전자원을 재료로 하여 22종의 선발한 마커로 유전형을 분석하였으며, 이 중에서

‘cnu_m139’와 ‘cnu_m289’ 등이 다형성 검증에 유용한 마커임을 확인할 수 있었다. 무 유전자원의 유전적 유연관계 분석 결과, 무는 지역적 유래에 따라 차이를 보였으며, 품종 육성 연도에 따라 일부 그룹을 형성함을 알 수 있어, 최근 육성되고 있는 품종들과 기존의 품종과의 차이를 보여주는 것으로 나타났다. 또한 각 그룹에 해당하는 계통들의 특성을 제시함으로써 차후 연구결과의 활용도를 높이고자 하였다. 비교적 적은 수의 마커로 분석했음에도 30년 이전에 육성종과 근래에 육성한 2000년대에 육성종을 구분하고, 한 그룹 내에서 비교적 형태적으로 유사한 개체들이 그룹을 구성하는 대부분을 나타낸 결과는 SSR 마커가 무에 성공적으로 적용 가능함을 시사한다고 할 수 있다. 본 연구결과를 통해 배추에서 개발한 SSR 마커를 이용하여 무에 대한 유전적 다양성 및 유연관계 분석(유전자원 식별)에 적용이 가능한 것으로 판단된다.

추가 주요어 : 유전자원, 다형성, 무, 마커전이성

인용문헌

- Barrett, B.A. and K.K. Kidwell. 1998. AFLP-based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Corp Sci.* 38:1261-1271.
- Choi, W.J., S.A. Lee, S.M. Yoo, S.S. Lee, J.H. Kang, and H.C. Ko. 2008. Genetic relationship by RAPD analysis of Korean wild radish and local cultivars in radish. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 26:427-431.
- Chowdhury, M.A., B. Vandenberg, and T. Warkentin. 2002. Cultivar identification and genetic relationship among selected breeding lines and cultivars in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica* 127:317-325.
- Cooke, R.J., G.M.M. Bredencijer, M.W. Ganal, R. Peeters, P. Issac, S. Randell, J. Jacson, M.S. Roder, V. Kozun, K. Wendehake, T. Areschchenkova, M. Dijcks, D. Laboric, L. Bertrand, and B. Vosman. 2003. Assessment of the uniformity of wheat and tomato varieties at DNA microsatellite loci. *Euphytica* 132: 331-341.
- Dillmann, C., A. Bar-Hen, D. Guerin, A. Characosset, and A. Murigneux. 1997. Comparison of RFLP and morphological distances between *Zea Mays* L. inbred lines. Consequences for germplasm protection purposes. *Theor. Appl. Genet.* 95: 92-102.
- Huh, M.K. and O. Ohnishi. 2002. Genetic diversity and genetic relationships of East Asian natural populations of wild radish revealed by AFLP. *Breeding Sci.* 52:79-88.
- Ishii, T., Y. Xu, and S.R. McCouch. 2001. Nuclear-and chloroplast microsatellite variation in A-genome species of rice. *Genome* 44:658-666.
- Jewell, E., A. Robinson, D. Savage, T. Erwin, C.G. Love, G.A. Lim, X. Li, J. Batley, G.C. Spangenberg, and D. Edwards. 2006. SSR Primer and SSR taxonomy tree: biome SSR discovery. *Nucleic Acids Res.* 34:W656-W659.
- Kim, H., S.R. Choi, J. Bae, C.P. Hong, S.Y. Lee, M. Hossain, V.D. Nguyen, M. Jin, B.S. Park, J. Bang, I. Bancroft, and Y.P. Lim. 2009. Sequenced BAC anchored reference genetic map that reconciles the ten individual chromosomes of *Brassica rapa*. *BMC Genomics* 10:432-446.
- Kim, J.S., T.Y. Chung, G.J. King, M. Jin, T.J. Yang, Y.M. Jin, H.I. Kim, and B.S. Park. 2006. A sequence-tagged linkage map of *Brassica rapa*. *Genetics* 174:29-39.
- Kwon, S.J., D.H. Kim, M.H. Lim, Y. Long, J.L. Meng, K.B. Lim, J.A. Kim, J.S. Kim, M. Jin, H.I. Kim, S.N. Ahn, S.R. Wessler, T.J. Yang, and B.S. Park. 2007. Terminal repeat retrotransposon in miniature (TRIM) as DNA markers in *Brassica* relatives. *Mol. Genet. Genomics* 278:361-370.
- Kwon, S.J., S.N. Ahn, H.C. Hong, Y.K. Kim, H.G. Hwang, H.C. Choi, and H.P. Moon. 1999. Genetic diversity of Korean japonica rice cultivars. *Korean J. Breed. Sci.* 21:268-275.
- Kwon, Y.S., J.Y. Mun, Y.S. Kwon, D.Y. Park, H.M. Yun, I.H. Song, and S.I. Seung. 2003. AFLP analysis for cultivar discrimination in radish and Chinese cabbage. *Kor. J. Breed. Sci.* 35:319-328.
- Lefebvre, V., B. Goffinet, J.C. Chauvet, B. Caromel, P. Signoret, R. Brand, and A. Palloix. 2001. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD, and phenotypic data. *Theor. Appl. Genet.* 102:741-750.
- Li, M., C. Zhang, W. Qian, and J. Meng. 2007. Genetic diversity of *Brassica* species revealed by amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeat markers. *Hort. Environ. Biotechnol.* 48:9-15.
- Li X., N. Ramchiary, S.R. Choi, D. Van Nguyen, M.J. Hossain, H.K. Yang, and Y.P. Lim. 2010. Development of a high density integrated reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. *Theor. Appl. Genet.* 53:939-947.
- Lü, N., K. Yamane, and O. Ohnishi. 2008. Genetic diversity of cultivated and wild radish and phylogenetic relationships among *Raphanus* and *Brassica* species revealed by the analysis of trnK/matK sequence. *Breeding Sci.* 58:15-22.
- Ministry for food, agriculture, forestry and fisheries (MIFAFF). 2012. Production and status of greenhouse and open-field in vegetables. MIFAFF, Gwacheon, Korea.
- McCouch, S.R., X. Chen, O. Panaud, S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho, N. Huang, T. Lshii, and M.W. Blair. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Mol. Biol.* 35:89-99.
- Mun, J.H., S.J. Kwon, and B.S. Park. 2010. The strategy and current status of *Brassica rapa* genome project. *Plant Biotechnol.* 37:153-165.
- Mun, J.H., S.J. Kwon, T.J. Yang, Y.J. Seol, M. Jin, J.A. Kim, M.H. Lim, J.S. Kim, S. Baek, B. Choi, H.J. Yu, D.S. Kim, N. Kim, K. Lim, S.I. Lee, Y. Lim, I. Bancroft, J.H. Hahn, and B. Park. 2009. Genome-wide comparative analysis of the *Brassica rapa* gene space reveals genome shrinkage and differential loss of duplicated genes after whole genome triplication. *Genome Biol.* 10:R111.1-R111.18.
- Ohsako, T., M. Hirai, and M. Yamabuki. 2010. Spatial structure of microsatellite variability within and among populations

- of wild radish *Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Backer f. *raphanistroides* Makino (Brassicaceae) in Japan. *Breeding Sci.* 60:195-202.
- Powell, W., C.M. Gordon, and J. Provan. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci.* 1:215-222.
- Riaz, A., G. Li, Z. Quresh, M.S. Swati, and C.F. Quiros. 2001. Genetic diversity of oilseed *Brassica napus* inbred lines based on sequence-related amplified polymorphism and its relation to hybrid performance. *Plant Breeding* 120:411-415.
- Richards, R. and G.R. Sutherland. 1994. Simple repeat DNA is not replicated simply. *Nat. Genet.* 6:114-116.
- Rohlf, E.J. 1993. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80. Applied Biostatistics Inc., Setauket, New York, USA.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. W. H. Freeman and Company, San Francisco, USA.
- Swabe, K., H. Iketani, T. Nunome, T. Kage, and M. Hirai. 2002. Isolation and characterization of microsatellite in *Brassica rapa* L. *Theor. Appl. Genet.* 104:1092-1098.
- Tam, S.M., C. Mhiri, A. Vogelaar, M. Kerkveld, S.R. Pearce, and M.A. Grandbastien. 2005. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theor. Appl. Genet.* 110:819-831.
- Ramchiary, N., V.D. Nguyen, X. Li, C.P. Hong, V. Dhandapani, S.R. Choi, G. Yu, Z.Y. Piao, and Y.P. Lim. 2011. Genic microsatellite markers in *Brassica rapa*: Development, characterization, mapping, and their utility in other cultivated and wild *Brassica* relatives. *DNA Res.* 18:305-320.
- Tommasini, L., J. Bately, G.M. Arnold, R.J. Cooke, P. Monini, D. Lee, J.R. Law, C. Lowe, C. Moule, M. Trick, and K.J. Edwardw. 2003. The development of multiplex simple sequence repeat markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. *Theor. Appl. Genet.* 2003:1091-1101.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Lee, M. Hornes, A. Friters, J. Pot, J. Paleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting *Nucl. Acids Res.* 23:4407-4414.
- Wang, X., H. Wang, J. Wang, R. Sun, J. Wu, S. Liu, Y. Bai, J.H. Mun, I. Bancroft, F. Cheng, S. Huang, X. Li, W. Hua, J. Wang, X. Wang, M. Freeling, J.C. Pires, A.H. Paterson, B. Chalhoub, B. Wang, A. Hayward, A.G. Sharpe, B.S. Park, B. Weisshaar, B. Liu, B. Li, B. Liu, C. Tong, C. Song, C. Duran, C. Peng, C. Geng, C. Koh, C. Lin, D. Edwards, D. Mu, D. Shen, E. Soumpourou, F. Li, F. Fraser, G. Conant, G. Lassal, G.J. King, G. Bonnema, H. Tang, H. Wang, H. Belcram, H. Zhou, H. Hirakawa, H. Abe, H. Guo, H. Wang, H. Jin, I.A. Parkin, J. Batley, J.S. Kim, J. Just, J. Li, J. Xu, J. Deng, J.A. Kim, J. Li, J. Yu, J. Meng, J. Wang, J. Min, J. Poulain, J. Wang, K. Hatakeyama, K. Wu, L. Wang, L. Fang, M. Trick, M.G. Links, M. Zhao, M. Jin, N. Ramchiary, N. Drou, P.J. Berkman, Q. Cai, Q. Huang, R. Li, S. Tabata, S. Cheng, S. Zhang, S. Zhang, S. Huang, S. Sato, S. Sun, S.J. Kwon, S.R. Choi, T.H. Lee, W. Fan, X. Zhao, X. Tan, X. Xu, Y. Wang, Y. Qiu, Y. Yin, Y. Li, Y. Du, Y. Liao, Y. Lim, Y. Narusaka, Y. Wang, Z. Wang, Z. Li, Z. Wang, Z. Xiong, and Z. Zhang. 2011. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nat. Genet.* 43:1035-1038.
- Warwick, S.I., R.K. Gugel, T. McDonald, and K.C. Falk. 2006. Genetic variations of Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) germ plasm in western Canada. *Genetic Res. Crop Evolution* 53:297-312.
- Williams, J., A. Kubelik, K. Livak, J. Rafalski, and S. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 15:6531-6535.
- Yamagishi, H. and T. Terachi. 2003. Multiple origins of cultivated radishes as evidenced by a comparison of the structural variations in mitochondrial DNA of *Raphanus*. *Genome* 46:89-94.
- Yamane, K. 2004. Assessment of cytoplasmic polymorphisms by PCR-RFLP of the mitochondrial orfB region in wild and cultivated radishes. *Plant Breeding* 123:141-144.
- Yamane, K., N. Lü, and O. Ohnishi. 2005. Chloroplast DNA variations of cultivated radish and its wild relatives. *Plant Sci.* 168:627-634.
- Zhang, J.F., Y. Lu, H. Adragna, and E. Hughes, 2005. Genetic improvement of New Mexico acala cotton germ plasm and their genetic diversity. *Crop Sci.* 45:2363-2373.
- Zhao, J., X. Wang, B. Deng, P. Lou, J. Wu, R. Sun, Z. Xu, J. Vromans, M. Koornneef, and G. Bennema. 2005. Genetic relationship within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints. *Theor. Appl. Genet.* 110:1301-1314.