

SSR Marker를 이용한 감귤속 품종 및 유전자원에 대한 DNA Profile Data Base 구축

홍지화¹ · 채치원² · 최근진³ · 권용삼^{4*}

¹농림축산식품부 국립농산물품질관리원 시험연구소, ²농림축산식품부 국립종자원 제주지원, ³국립원예특작과학원 채소과, ⁴동아대학교 생명자원과학대학 유전공학과

A Database of Simple Sequence Repeat (SSR) Marker-Based DNA Profiles of *Citrus* and Related Cultivars and Germplasm

Jee-Hwa Hong¹, Chi-Won Chae², Keun-Jin Choi³ and Yong-Sham Kwon^{4*}

¹Experiment Research Institute, National Agricultural Products Quality Management Service, Ministry for Agriculture, Food & Rural Affairs, Gimcheon 39660, Korea

²Jeju Office, Korea Seed & Variety Service, Ministry for Agriculture, Food & Rural Affairs, Seogwipo 63613, Korea

³Vegetable Research Center, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Wanju 55365, Korea

⁴Department of Genetic Engineering, College of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 49315, Korea

*Corresponding author: yskwon3@dau.ac.kr

Abstract

The present study investigated identification of cultivars through phylogenetic analysis of 108 *Citrus* varieties and related cultivars using simple sequence repeat (SSR) markers. Two hundred three SSR primer pairs were used to detect polymorphic markers among 8 *Citrus* cultivars consisting of 4 mandarins, 1 orange, 1 tangor, 1 tangelo, and 1 pumelo. Eighteen SSR primer pairs were reproducible and showed highly polymorphic alleles. These markers were applied to assess genetic variations of the 108 varieties. Each marker detected 5-14 alleles, with an average of 9.28. The polymorphism information content varied from 0.417 to 0.791 with an average of 0.706. Cluster analysis with SSR markers resulted in 13 major groups reflecting cultivar types and pedigree information. Twelve orange cultivars in the I-1st sub-cluster and 23 mandarin cultivars in the II-1st sub-cluster, respectively, were not discriminated using the SSR markers. This could be due to narrow genetic backgrounds originated through bud mutation or nucellar seedlings. The SSR profile database of *Citrus* cultivars will be useful as a tool for protection of plant breeders' intellectual property rights in addition to assessing genetic diversity in *Citrus* cultivars and germplasms.

Additional key words: cultivar identification, genetic relationship, mandarin, microsatellite, molecular marker

Korean J. Hortic. Sci. Technol. 34(1):142-153, 2016
<http://dx.doi.org/10.12972/kjhst.20160012>

pISSN : 1226-8763
eISSN : 2465-8588

Received: August 31, 2015

Revised: October 14, 2015

Accepted: January 25, 2016

Copyright©2016 Korean Society for Horticultural Science.

This work was supported by the Dong-A University research fund.

서 언

감귤류라고 하면 식물분류상 운향과(Rutaceae)중에서 감귤아과(Auranti-oideae)의 감귤속(*Citrus*), 금감속(*Fortunella*), 탕자속(*Poncirus*)에 속하는 식물들을 지칭한다. 감귤속은 만다린, 오렌지, 레몬, 문단, 유자, 자몽, 파페다, 시트론, 탕자 등이 속하며, 이들을 종속간 교잡하여 양성한 탄골(만다린 × 오렌지), 탄젤로(만다린 × 자몽), 탄골젤로(탄골 × 만다린), 탄젤로로(탄젤로 × 자몽), 오렌젤로(자몽 × 오렌지), 시트루멜로(자몽 × 탕자) 등 다양한 변종들이 존재한다. 감귤속 식물의 분류 및 유전적 유연관계 분석은 감귤 및 근연속과의 교잡 친화성, 아조변이의 발생 빈도, 재배 역사와 지역적 분포 등에 따라 분류하기가 단순하지 않으나, 감귤류의 형태적 특성이나 지리적 기원에 따라 Swingle and Reece(1967)와 Tanaka(1977) 분류를 가장 광범위하게 활용하고 있다.

특정 작물의 유전자원과 품종의 유전적 유사성 정도는 형태적 특성 조사나 유전자 분석에 의한 방법으로 크게 나눌 수 있다. 형태적 특성 조사는 재배방법, 조사자의 주관, 연차간 변이 등과 같은 문제점의 발생이 상존하고 있다. 그러나 분자표지를 이용한 유전자 분석은 표현형에 의한 검정 방법보다 객관적이고 반복 재현성이 높다는 장점이 있다. 이러한 이유 때문에 국제식물신품종보호동맹(International union for the protection of new varieties of plants; UPOV)에서는 품종의 구별성, 즉 유사성 여부를 확인하기 위하여 분자표지의 활용에 대한 논의를 지속적으로 진행하여 분자표지의 활용기법, 분자 마커의 선정 기준, DNA 분리 방법 등에 대한 가이드라인을 제시하고 있다(UPOV, 2010). 이에 따르면 여러 가지 DNA 분석 기법 중에서 염기서열 분석에 기반하여 제작된 마커인 simple sequence repeat(SSR), single nucleotide polymorphism(SNP), cleaved amplified polymorphic sequences(CAPS) 등과 같은 방법을 제안하고 있다는 것이다. 그리고 분석 마커가 품종 및 유전자원에 대한 충분한 다형성을 나타낼 뿐만 아니라 반복 재현성이 높아야 된다는 점이다.

감귤속 식물에 대한 유전자 분석 방법은 1990년대 후반에 미국에서 restriction fragment length polymorphism(RFLP)와 random amplified polymorphic DNA(RAPD) 마커를 이용하여 유전적 다양성을 분석하기 시작하였다(Federici et al., 1998). UPOV가 제안하는 기법인 SSR 분석의 경우 미국 (Chen et al., 2006; Kijas et al., 1997), 캐나다(Ahmed et al., 2003), 브라질(Palmieri et al., 2007), 프랑스(Ollitrault et al., 2010)에서 감귤속 식물에서 유래된 SSR 마커를 개발하여 프라이머의 염기서열 정보를 공개하고 있다. 그러나 대부분의 연구자는 여러 가지 종류의 SSR 마커를 감귤속 식물의 유전자원 특성평가에 활용하지 않고 Kijas et al.(1997)과 Ahmed et al.(2003)이 개발한 SSR 마커 15개 내외를 활용하였다는 점이다(Barkley et al., 2006; Jannati et al., 2009). 따라서 지금까지 여러 연구자(Ahmed et al., 2003; Kijas et al., 1997; Ollitrault et al., 2010; Palmieri et al., 2007)에 의해 개발된 SSR 마커를 활용하여 다형성 정도와 반복 재현성이 높은 마커의 새로운 선발은 감귤속 식물의 유전적 근연 관계 분석과 품종식별력의 정밀도 향상에 크게 기여할 것이다. 한편, 우리나라의 경우 감귤에 대한 유전자 분석은 RAPD 기법을 활용하여 일본 유전자원 9점의 분류에 관한 단편적인 연구결과가 보고된 바 있으나(Kim et al., 1996), SSR 마커를 이용하여 만다린, 오렌지, 자몽 등과 같은 다양한 유형의 감귤속 식물의 유전자원 및 품종과 제주도에서 자생하고 있는 유전자원, 국내에서 개발된 품종을 대상으로 유전적 근연 관계 분석 및 품종식별에 대한 연구결과는 보고된 바 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 SSR 마커를 이용한 국내외 감귤류 유전자원 및 품종 108개에 대한 DNA 데이터베이스를 구축하기 위하여 SSR 마커의 선발과 유전자원 및 품종간 유전적 근연도 분석 등과 같은 일련의 연구를 수행하여 얻어진 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시품종 및 DNA 추출

본 연구에서는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 감귤연구소에서 수집 보존하고 있는 감귤속 유전자원 및 품종 85개, 제주재래종 10점('Gamja', 'Dangyooja', 'Dongjungkyool', 'Bungkyool', 'Binkyool', 'Sadoogam', 'Jinkyool', 'Cheongkyool',

'Punkyoool', 'Hongkyool') 국내에서 육성된 13 품종('Sangdojosaeng', 'Samdajosaeng', 'Tamnajojaeng', 'Haraejosaeng', 'Tamdo 1ho', 'Seolbongmi', 'Sinyegam', 'Wonkyoah Danbaiseong 1ho', 'Wonkyoah Danbaiseong 2ho', 'Wonkyoah Danbaiseong 3ho', 'Tamdo 3ho', 'Tambit 1ho', 'Suneat')을 공시하여 SSR 마커의 분석 재료로 활용하였다(Table 1). 공시 품종의 어린잎과 텡스텐구슬2개를2mL 튜브에 넣고 분쇄기(Pulverisette6, Fritsch)를 이용하여 시료를 고르게 마쇄한다. NucleoSpin® Plant II (Cat. 740 770,250, Macherey-Nagel GmbH & Co., KG, Deutsch) 키트를 이용하여 genomic DNA를 분리하였다. 추출된 DNA는 1.5% 아가로스젤에서 전기 영동하여 DNA 농도를 확인한 후 μL 당 10ng의 농도로 정량하여 polymerase chain reaction(PCR) 분석에 이용하였다.

Table 1. List of *Citrus* species and related genera assayed for genetic characterization using SSR markers.

No.	Cultivar name	Parentage/Origin	Scientific name (Swingle)	Scientific name (Tanaka)	Group
1	Robinson	Clementine mandarin × Orlando tangelo	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
2	Sunburst	Robinson mandarin × Osceola mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
3	Pixie	Open pollinated seedling derived from Kincy (King tangor × Willowleaf mandarin)	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
4	Kinnow	King tangor × Willowleaf mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
5	Fairchild	Clementine mandarin × Orlando tangelo	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
6	Cleopatra	Open pollinated seedling	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reshni</i> hort. ex Tanaka	Mandarin
7	Wilking	King tangor × Willowleaf mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
8	Willowleaf	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. deliciosa</i> Ten.	Mandarin
9	Clementine	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
10	Nova	Clementine mandarin × Orlando tangelo	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
11	Osceola	Clementine mandarin × Orlando tangelo	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
12	Ellendale	Tangor originating in Queensland of Australia	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
13	Fortune	Clementine mandarin × Dancy mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
14	Changsha	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
15	Batangas	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
16	Rohde Red Valencia	Selection from a mutated branch from a normal Valencia	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Sweet Orange
17	Rio Grande	Parents unknown	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Navel Orange
18	Succari	Parents unknown	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Acidless Orange
19	Marrs	Discovery in Texas	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Sweet Orange
20	Cara Cara	Mutant occurred on a Washington navel orange tree	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Navel Orange
21	Lane Late	Discovered in Australia	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Navel Orange
22	Hamlin	Parents unknown	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Sweet Orange
23	Dream	Parents unknown	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Navel Orange
24	Ambersweet	Orlando tangelo × Clementine mandarin	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Sweet Orange
25	Tarocco #7	Introduction from an unknown Mediterranean country	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Blood Orange
26	Enterprise	Parents unknown	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Sweet Orange
27	Sanguinelli	Limb sport of Doblefina blood orange	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Blood Orange
28	Yoshida navel	Parents unknown	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Navel Orange
29	Seike	Early-maturity bud sport of Washington navel orange	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	Navel Orange
30	Hiroshimakaken 7gou	Nucellar seedling which resulted from the cross, Imadawase × Trifoliate orange	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
31	Sangdojosaeng	Bud sport of Sasaki mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
32	Ueno Wase	Bud sport of Miyagawa Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
33	Iwasaki Wase	Bud sport of Okitsu Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
34	Yura Wase	Bud sport of Miyagawa Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin

No.	Cultivar name	Parentage/Origin	Scientific name (Swingle)	Scientific name (Tanaka)	Group
35	Nichinan 1gou	Bud sport of Okitsu Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
36	Hinanohime	Grafting mutant of Okitsu Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
37	Hinoakebono	Nucellar seedling that resulted from Kusumoto Wase mandarin × Amanatsu mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
38	Hinosayaka	Nucellar seedling that resulted from Ueno Wase mandarin × Fukuhara orange	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
39	Miyagawa Wase	Limb sport in a Zairai tree in Fukuoka Prefecture	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
40	Samdajosaeng	Nucellar seedling that resulted from Tachima Wase mandarin × Natsu Mikan	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
41	Tachima Wase	Bud sport of Owari wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
42	Tamnajosaeng	Nucellar seedling that resulted from Shigeta Unshiu mandarin × Natsu Mikan	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
43	Harajosaeng	Nucellar seedling that resulted from Tachima Wase mandarin × Natsu Mikan	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
44	Okitsu Wase	Nucellar seedling that resulted from Miyagawa Wase mandarin × Trifoliolate orange	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
45	Saebo Unshiu	Bud sport of Miyagawa Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
46	Isizi Unshiu	Bud sport of Sugiyama Unshiu mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
47	Morita Unshiu	Bud sport of Miyagawa Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
48	Sasaki Unshiu	Bud sport of Yamazaki wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
49	Kawada Unshiu	Bud sport of Miyagawa Wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
50	Aoshima Unshiu	Bud sport of Owari wase mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. unshiu</i> Marcov.	Mandarin
51	Dweet	Mediterranean sweet orange × Dancy mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangor
52	Shiranuhi	Kiyomi tangor × Ponkan mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
53	Kiyomi	Miyagawa Wase × Trovita orange	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangor
54	Seihou	Kiyomi tangor × Minneola tangelo	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
55	Tsunokaori	Kiyomi tangor × Okitsu Wase mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
56	Setoka	Kiyomi tangor × Encore No.2 mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
57	Kanpei	Nishinokaori tangor × Shiranui mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
58	Satonokaori	Kiyomi tangor × Murcott tangor	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
59	Nishinokaori	Kiyomi tangor × Trovita sweet orange	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
60	Seinannohikari	(Encore mandarin × Okitsu mandarin) × Haruka orange	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
61	Setomi	Yoshiura ponkan mandarin × Kiyomi tangor	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
62	Kashi 28gou	Kiyomi tangor × Harumi mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
63	Ariake	Seike navel orange × Clementine mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
64	Tsunokagayaki	(Kiyomi tangor × Okitsu mandarin) × Encore mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
65	Harehime	(Kiyomi tangor × Osceola mandarin) × Miyagawa Wase mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
66	Seedless Kishu	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. kinokuni</i> Hort. ex Tanaka	Mandarin
67	Yosida Ponkan	Bud sport of Taiwan ponkan mandarin	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
68	Natsumi	Cara navel orange × Yoshiura Ponkan mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
69	Amakusa	(Kiyomi tangor × Okitsu Wase mandarin) × Page tangelo	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
70	Page	Minneola tangelo × Clementine mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangelo
71	Lee	Clementine mandarin × Orlando tangelo	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin
72	Orlando	A sibling of Minneola tangelo	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangelo
73	Minneola	Duncan grapefruit × Dancy mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangelo
74	Sexton	Parents unknown	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangelo
75	Sampson	Parents unknown	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangelo
76	Murcott	Parents unknown	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Tangor
77	Tamdo Iho	Kiyomi tangor × Bungkyool	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-

No.	Cultivar name	Parentage/Origin	Scientific name (Swingle)	Scientific name (Tanaka)	Group
78	Lisbon	Parents unknown	<i>C. limon</i> (L.) Burm. f.	-	Lemon
79	Allen-Newman Eureka	Open pollinated seedling	<i>C. limon</i> (L.) Burm. f.	-	Lemon
80	Banpeiyu	Open pollinated seedling	<i>C. grandis</i> (L.) Osbeck	<i>C. maxima</i> (Burm.) Merr.	Pummelo
81	Tadanishiki	Parents unknown	<i>C. ichangensis</i> Swingle	<i>C. junos</i> Sieb. ex Tanaka	Yuzu
82	Macrophylla	Parents unknown	<i>C. celebica</i> Koord.	<i>C. celebica</i> Koord.	Papeda
83	Ichang	Parents unknown from China	<i>C. ichangensis</i> Swingle	<i>C. ichangensis</i> Swingle	Papeda
84	Golden Special	Selection of the Australian Pooman Orange	<i>C. paradisi</i> Macfad.	<i>C. paradisi</i> Macfad.	Grapefruit
85	Fingered Citron	Parents unknown	<i>C. medica</i> L.	<i>C. medica</i> L.	Citron
86	Ganja	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. benikoji</i> Hort. ex Tanaka	Mandarin
87	Dangyooja	Parents unknown	-	<i>C. grandis</i> (L.) Osbeck	Pummelo
88	Dongjungkyool	Parents unknown	<i>C. tachibana</i> (Makino) Tanaka	<i>C. erythroa</i> Hort. ex Tanaka	-
89	Bungkyool	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. platymamma</i> Hort. ex Tanaka	-
90	Binkyool	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> hybrid	<i>C. leiocarpa</i> Hort. ex Tanaka	-
91	Sadoogam	Parents unknown	<i>C. maxima</i> (Burm.) Merr.	<i>C. pseudogulgul</i> Hort. ex Shirai	-
92	Jinkyool	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. sunki</i> (Hayata) Hort. ex Tanaka	-
93	Cheongkyool	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> hybrid	<i>C. nippokoreana</i> Tanaka	-
94	Punkyool	Parents unknown	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. tangerine</i> Hort. ex Tanaka	-
95	Hongkyool	Parents unknown	<i>C. tachibana</i> (Makino) Tanaka	-	-
96	Neihakinkan	Parents unknown	<i>F. crassifolia</i> Swingle	-	Kumquat-
97	Trifoliate Orange	Parents unknown	<i>P. trifoliate</i> (L.) Raf.	-	Trifoliate
98	Flying Dragon	Parents unknown	<i>P. trifoliate</i> (L.) Raf.	-	Trifoliate
99	Swingle	Duncan grapefruit × <i>P. trifoliate</i>	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	Citrumelo
100	Seolbongmi	Kiyomi tangor × Sunburst mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
101	Sinyeogam	Kiyomi tangor × Wilking mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
102	Wonkyoah	Kiyomi tangor × Jinkyool	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
	Danbaiseong 1ho				
103	Wonkyoah	Kiyomi tangor × Bungkyool	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
	Danbaiseong 2ho				
104	Wonkyoah	Kiyomi tangor × Nankou mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
	Danbaiseong 3ho				
105	Tamdo 3ho	Kiyomi tangor × Sunburst mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
106	Tambit 1ho	Prince Kiyomi tangor × Bungkyool	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
107	Prince Kiyomi	Kiyomi tangor × Sunburst mandarin	<i>C. hybrid</i>	<i>C. hybrid</i>	-
108	Suneat	Shiranuhi mandarin mutant breeding	<i>C. reticulata</i> Blanco	<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin

SSR 분석

감귤류 식물의 품종식별에 효과적인 분자 마커를 선발하기 위하여, 만다린에 속하는 ‘Sangdojosaeng’, ‘Hiroshimakaken 7gou’, ‘Sunburst’, ‘Dancy’, 오렌지인 ‘Rohde Red Valencia’, 탄골인 ‘Dweet’, 탄젤로인 ‘Page’, 문단류에 속하는 ‘Yuma Ponderosa’를 대상으로 기 보고된 203개 SSR 프라이머(Ahmed et al., 2003; Kijas et al., 1997; Ollitrault et al., 2010; Palmieri et al., 2007)를 활용하여 다형성 정도를 조사하였다. PCR(Cat. C1000, Biorad, USA)을 통한 유전자 증폭 산물은 QIAxcel Advanced System(Cat. 9001941, QIAGEN, Deutsch)을 이용하여 전기영동하고 컴퓨터 프로그램 (QIAxcel ScreenGel)을 활용하여 각 품종별 대립 유전자의 차이를 분석하였다. 반복 재현성이 높고 밴드의 패턴이 깨끗한 분자표지를 선정하여 프라이머의 정방향에 FAM, VIC, NED, PET의 화학 물질 중 한가지로 형광 표지한 다음 감귤류 108품종(Table 1)에 대한 DNA 프로파일 데이터베이스를 구축에 이용하였다. PCR 반응은 게놈 DNA 30ng, 0.1µM의 SSR primer, 2.0µL dNTP mixture(2.5mM), Taq polymerase 1.0U, 2.5µL의 10×PCR buffer(50mM KCl, 20mM Tris-HCl, pH 8.0, 2.0mM MgCl₂)에 초순수를 첨가하여

전체 부피를 30 μ L로 조절하였다. PCR 증폭은 94 $^{\circ}$ C에서 30초간 denature한 후, 55 $^{\circ}$ C에서 30초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 45초간 extension을 40cycle 수행하였다. PCR 증폭 산물 1.0 μ L와 탈이온된 포름아미드(deionized formamide) 10 μ L, size marker(LIZ500 size standard) 0.25 μ L를 혼합하고 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 변성시킨 다음 자동염기서열분석기(Genetic Analyzer 3130XL, Applied Biosystems, Foster, USA)를 활용하여 전기 영동 하였다. SSR 마커에 의해 증폭된 대립 유전자의 크기는 GeneMapper(version 3.7) 컴퓨터 프로그램(Applied Biosystems, Foster, USA)을 이용하여 분석하였다.

유전적 다양성 및 품종식별력 검정

SSR 마커의 다형성 정도를 조사하기 위하여 대립 유전자의 수, 대립 유전자의 출현빈도, 기대된 이형접합성, 관찰된 이형접합성 및 polymorphism information content(PIC) 값은 PowerMarker(version 3.25)(Liu and Muse, 2005)를 이용하여 산출하였다. NTSYSpc(version 2.10b)(Rohlf, 2000) 컴퓨터 프로그램을 이용하여 Jaccard 방법에 준하여 유전적 유사도 값을 계산한 다음 unweighted pair-group method with arithmetical average (UPGMA)(Sneath and Sokal, 1973) 방법으로 집괴 분석하고 계통도를 작성한 다음 수집종별 유전적 다양성 및 유연 관계를 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

SSR 분석

감귤류 식물의 품종 식별에 효과적인 SSR 마커를 선발하기 위하여, 만다린인 'Sangdojosaeng', 'Hiroshimakaken 7gou', 'Sunburst', 'Dancy', 오렌지인 'Rohde Red Valencia', 탄골인 'Dweet', 탄젤로인 'Page', 문단에 속하는 'Yuma Ponderosa' 품종과 203개의 SSR 프라이머를 활용하여 다형성 정도를 조사한 바(Fig. 1), 총 203개 primer중에서 78개는 PCR 반응을 보이지 않거나 다형성을 보이지 않았으며, 85개는 특정 유형의 감귤속 품종에만 다형성을 보이는 양상을 보였고, 다형성이 나타나더라도 대립유전자의 양상이 복잡하였다. 그러나 나머지 40개는 대립유전자의 수가 많을 뿐만 아니라 밴드의 패턴이 양호한 것으로 나타났다. 따라서 40개의 SSR 정방향 프라이머의 5'-말단에 형광물질인 FAM, VIC, NED, PET를 각각 표지하여 감귤류 108품종의 genomic DNA와 PCR하고 증폭산물을 자동염기서열분석기를 이용하여 전기 영동 한 바(Fig. 2), 40개중 18개는 반복 재현성이 높을 뿐만 아니라 GeneMapper 컴퓨터 프로그램에서 검출된 피크가 깨끗하여 품종별 genotyping에 용이하였다. 그러나 나머지 22개는 PCR 조건에 따라 대립유전자의 수가 안정적이지 않을 뿐만 아니라 특정 품종에서 복잡한 대립유전자 양상을 보여 이를 제외시켰다.

감귤류 품종 식별용 분자표지 선발과정에서 다형성 정도 및 반복 재현성을 고려하여 최종 선정된 18개의 SSR 프라이머와

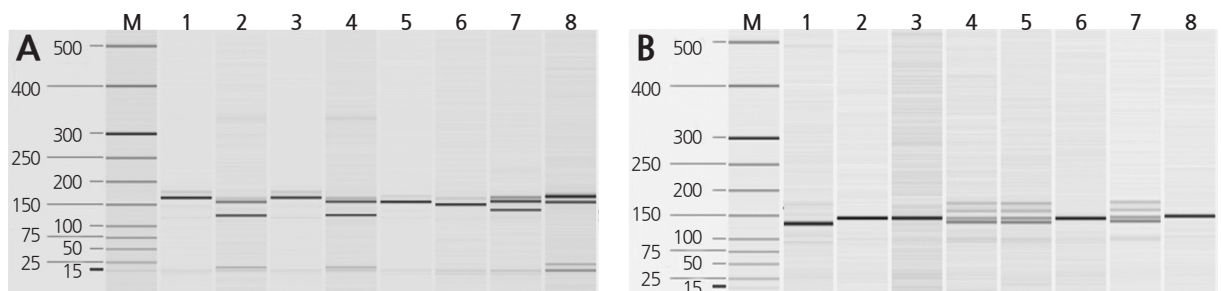


Fig. 1. Polymorphism of two SSR markers, CAT01 (A) and CCSMEc8 (B). The PCR products were analyzed using a QIAxcel Advanced System (Qiagen). M: QX DNA size marker (50-800bp), Lane 1, 'Sangdojosaeng'; 2, 'Hiroshimakaken 7gou'; 3, 'Sunburst'; 4, 'Rohde Red Valencia'; 5, 'Dweet'; 6, 'Page'; 7, 'Dancy'; 8, 'Yuma Ponderosa'.

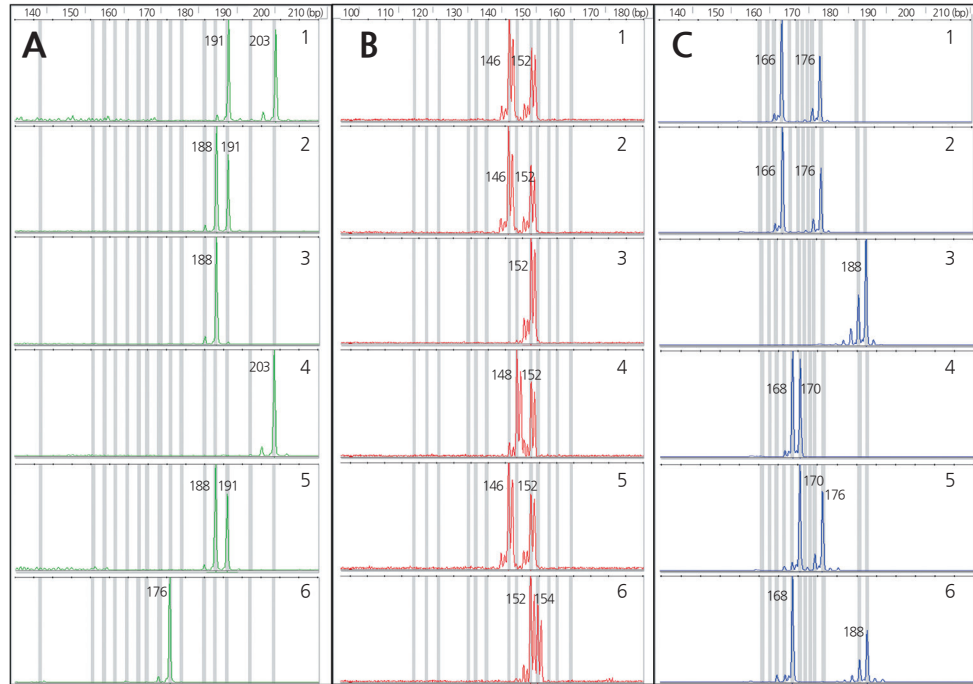


Fig. 2. Amplified fragment pattern of three SSR markers TAA15A (A), AG14 (B) and CIBE2493 in 6 *citrus* cultivars. PCR products were separated and detected using 3130 xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) with a 36 cm array and POP-7 polymer. Lane 1, 'Robinson'; 2, 'Sunburst'; 3, 'Pixie'; 4, 'Kinnow'; 5, 'Fairchild'; 6, 'Cleopatra'.

감귤류 식물 108품종에 대한 다형성 정도를 조사한바(Table 2), SSR 프라이머에 따라 검출된 대립유전자의 수는 5-14개로 다양하게 나타났으며 총 167개의 대립유전자가 검출되었고, 마커당 평균 대립유전자의 수는 9.28개로 분석되었다. 본 연구에서 활용된 SSR 마커의 유전적 다양성 정도를 나타내는 관찰된 이형접합성과 기대된 이형접합성의 평균 값은 각각 0.621과 0.654로 높게 나타났다. 한편 각 마커 별 공시 품종의 유전적 다양성 정도를 나타내는 지수인 PIC 값은 0.417-0.782까지 다양한 범위에서 분포하였으며, 평균값도 0.606으로 높은 경향을 보였다. 총 18개의 SSR 마커 가운데 10개가 0.60 이상의 높은 PIC 값을 나타내어 본 연구에서 선발된 SSR 마커는 여러 가지 감귤류의 품종 식별 및 유전자원의 다양성 평가에 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 나타났다.

SSR 마커를 이용한 감귤속 식물의 유전적 근연관계 분석에 대한 연구가 여러 연구자에 의해 보고되고 있는데, Barkley et al.(2006)은 24개의 SSR 마커를 이용하여 370개 감귤속 식물의 유전자원을 특성 평가하였을 때 평균 대립유전자의 수는 11.5개, PIC 값은 0.625로 나타났고, Amar et al.(2011)도 61개의 SSR 마커를 활용하여 24개의 감귤속 식물 유전자원을 분석하였을 때 전체 대립유전자의 수는 596개이며 PIC 값도 0.97로 높게 나타남을 제시하였다. Jannati et al.(2009)도 23개의 감귤속 식물과 15개의 SSR 마커를 활용하여 이란 지역의 감귤속 식물 품종 및 유전자원의 유전적 다양성을 조사하였을 때 마커당 평균 대립유전자의 수가 8.27개로 분석되고 평균 PIC 값은 마커에 따라 0.52-0.89까지 다양하다고 발표하였다. 본 연구에서 감귤속 식물의 유전자원 및 품종들을 분석하였을 때 평균 대립유전자의 수의 경우 9.28개로 다른 연구결과와 유사한 경향을 나타내었으나 평균 PIC 값의 경우 0.624로 다소 낮게 나타났는데 이러한 연구결과는 마커의 다형성이 낮은 것보다는 분석되는 감귤속 식물의 유전적 다양성의 차이에서 비롯된 결과라고 추정된다.

지금까지 대부분의 연구자는 SSR마커를 활용한 감귤속 식물의 유전자원의 특성평가 및 품종별 fingerprinting 하였을 때 Kijas et al.(1997)와 Ahmed et al.(2003)가 개발한 SSR마커를 활용하여 그 결과를 보고하여 왔다(Hazarika et al., 2014). 최근

Table 2. Repeat motif, no. of alleles, and polymorphism information content (PIC) value of SSR markers selected for genetic characterization of genus *Citrus* and related genera.

SSR designation	Primer sequence	Repeat motif	Annealing temp.	Product size (bp)	No. of alleles	Expected heterozygosity	Observed heterozygosity	PIC value
TAA15A	F: VIC-GAAAGGGTTACTTGACCAGGC R: ATCCAGCTGCACAAGC	TAA	55	142-203	14	0.805	0.889	0.782
CAT01	F: FAM-GCTTTTCGATCCCTCCACATA R: GATCCCTACAATCCTTGGTCC	CAT	55	117-186	11	0.728	0.352	0.705
AG14	F: PET-AAAGGGAAAGCCCTAATCTCA R: CTCCTCTTGCAGAGTGTTT	AG	55	118-164	13	0.599	0.556	0.579
TC26	F: VIC-CTTCCTCTTGCAGAGTGTTT R: GAGGGAAAGCCCTAATCTCA	TC	55	120-168	13	0.599	0.556	0.579
CiBE1644	F: FAM-ACAGAAGAGGAGCCATTATTT R: CAGAGAGAACCCGAAGAAG	(GTT)11	55	341-379	10	0.624	0.639	0.599
CiBE2165	F: VIC-AATCCACTCTCAAACACCAG R: AACTGCCAAATAACTACCATT	(TG)9	55	259-329	9	0.736	0.732	0.696
CiBE2285	F: NED-CATACGGTCTCTGCTAAGTGT R: CATTGCTGATGTGTTGATAAG	(CT)10	55	323-343	6	0.498	0.509	0.417
CiBE2493	F: FAM-GCAAATACCAATCACCTTCTAC R: GTTACCTACCTTACCACCT	(AG)8	55	160-188	12	0.815	0.870	0.791
CiBE3397	F: VIC-AGGCGGAGATAGAGAAGTAAA R: ATCACAACCTACGAATACCCAC	(TTAT)5	55	187-213	8	0.519	0.639	0.430
CiBE4039	F: NED-ATCAGCAAATAAAGTGGACAA R: TAGGATAGAAGTTGGGAGATG	(AG)10	55	235-274	10	0.658	0.204	0.604
CiBE4825	F: NED-ATAAGTGGAAAGAGGTATCGG R: GAACACCAAGCATCAAGAC	(TTATT)4	55	107-132	6	0.514	0.556	0.420
CiBE5866	F: PET-ATCTCGTCACTTCAGAGTT R: GGATTATTGTGTTTCTCTCTC	(AAT)8	55	211-239	10	0.672	0.417	0.615
CCSMEc8	F: PET-ACCAGAGAGGCTGTGTGCTT R: TCCACGTAGTCTTGCCAT	(GAA)11	55	146-161	8	0.515	0.519	0.483
CCSME17	F: NED-AATGCGTGGGCAATAACTTC R: TTCAATATCGGCCAAACTC	(GGC)7	55	201-229	7	0.765	0.861	0.728
CCSME24	F: FAM-GCTTCTTGAATGGAGCAAG R: CGTTTTTCTGAGGTCACGGT	(AT)11	55	193-213	8	0.721	0.769	0.678
CCSME28	F: PET-AAAAAGAACAGGAGCAGGCA R: AGAACCCACATGCAGAAACC	(CGG)7	55	231-246	5	0.525	0.676	0.421
CCSME50	F: FAM-GAGTTGGGATTCTGCTGTTGA R: GACTGTTGTTCTGATGCCGA	(GAA)7	55	118-137	9	0.692	0.556	0.634
CCSM147	F: PET-GCTATGTTATGATACGTTCTG R: AGACTCACGTAACCTACTTC	-	55	111-129	8	0.777	0.889	0.744
Total					167	11.761	11.185	10.902
Mean					9.28	0.653	0.621	0.606

에 프랑스에서 *Citrus clementina*를 BAC-end sequencing 하여 79개의 SSR 마커를 개발하고 이를 이용하여 45개의 감귤속 식물에 유전적 유연관계를 분석한 바 있고(Ollitrault et al., 2010), 브라질에서도 감귤속 작물의 expressed sequence tag(EST)로부터 68개의 SSR 마커를 개발하여 탄골, 탄젤로, 오렌지 등과 같은 감귤속 식물의 유전자원 특성 평가에 활용 가능성을 제시하였다. 그러나 본 연구에서는 감귤속 식물의 유전적 유연관계 및 품종지문화 작업의 정밀도를 향상시키기 위하여 Kijas et al.(1997)와 Ahmad et al.(2003)이 개발한 SSR 마커에 대한 다형성 정도를 재검정하고 프랑스 및 브라질에서 개발된 마커를 추

가격으로 이용하여 활용하여 반복 재현성이 높은 18개를 최종 선발하였다. 이러한 연구 결과는 국외의 연구자들이 감귤속 식물의 품종식별 및 유전자원의 특성평가에 활용하지 않았던 새로운 마커 세트로서 자동염기서열 분석기로 분석시 대립유전자 유전자형이 복잡하지 않고 반복 재현성이 높기 때문에 향후 품종의 진위 확인과 관련된 다양한 분야에 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

품종식별력 검정 및 유전적 유사도 분석

203개의 감귤속 식물에서 유래된 SSR 마커중에서 반복재현성 및 다형성 정도가 높은 18개를 이용하여 감귤속 식물 108품종 및 유전자원에 대한 유전적 유사도 정도를 분석한 결과(Fig. 3), 공식품종 및 유전자원의 전체 유사도 지수는 0.10-1.00의 넓은 범위에 속하였고, 유전적 유사도 지수 0.34를 기준으로 할 때 SSR 마커의 유전자형에 의해 13개의 대그룹으로 크게 구분할 수 있었다. I그룹은 만다린인 'Robinson' 등 40품종이 분포하였으며, 유전적 유사도 지수 0.41을 기준으로 할 때 3개의 소그룹으로 다시 구분되었다. I-1 소그룹에는 오렌지에 속하는 'Succari' 등 14품종, 만다린인 'Clementine'과 'Orlando'가 교배되어 육성된 'Robinson' 등 9품종, 탄골인 'Dweet', 탄젤로인 'Orlando' 등 4품종, 탄골과 탄젤로가 교배된 'Sampson', 탄골인 'Prince Kiyomi'와 재주재래종인 'Byungkyool'을 교배하여 우리나라에서 육성한 'Tambit 1ho'가 속하였다. 한편, I-1에 속하는 31품종중 14개의 오렌지 품종이 속하였는데 이들 품종중에서 'Sanguinelli'와 'Ambersweet'를 제외한 12품종은 100%의 유전적 유사도를 나타내었다. I-2 그룹의 경우 탄골인 'Kiyomi'와 만다린인 'Encore No.2'가 교배된 'Setoca'와 육성 계보도가 알려지지 않은 'Murcott'이 분포하였으며, I-3 그룹은 탄골인 'King'과 만다린인 'Willowleaf'를 교배하여 육성된 'Kinnow'와 'Wilking'을 포함한 7품종이 속하였다. 그리고 품종 육성 계보도상 양친의 특성을 알 수 없는 'Batangas'와 'Taiwan Ponkan'의 아조 돌연변이에서 유래된 'Yoshida Pokan'은 100%의 유전적 유사도를 나타내었다.

II 그룹은 우리나라에서 육성된 'Sangdojosaeng' 등 51품종이 그룹화되었으며 유전적 유사도 0.38을 기준으로 할 때 3개의 소그룹으로 나눌 수 있었다. II-1은 온주밀감에 속하는 'Ueno Wase' 등 20품종과 제주도에서 자생하고 있는 'Sadugam'과 'Dnagyooja', 탄골인 'Kiyomi'나 만다린인 'Okitsu Wase'가 모본이나 부분으로 활용된 품종들이 속하였다. 특히, 우리나라에서 육성한 감귤 품종인 'Sangdojosaeng', 'Samdajosaeng', 'Tamnajosaeng', 'Haraejosaeng' 4품종과 일본에서 육성한 'Yura Wase' 등 18품종, 'Shiranui'와 'Suneat', 'Nishinakaori', 'Prince Kiyomi' 및 'Ariake'가 SSR 마커의 유전자형에 의해 식별이 되지 않았다. II-2는 'Setomi'와 자몽인 'Golden Special'이 속하였고 이 두 품종간 유전적 유사도는 0.40으로 분석되었다. II-3은 탄골인 'Kiyomi'와 재주재래종인 'Byungkyool'을 교배모본으로 활용하여 우리나라에서 육성한 'Tamdo 1ho', 'Wonkyoah Danbaiseong 1ho', 'Wonkyoah Danbaiseong 2ho'와 파페다인 'Ichang'과 제주재래종인 'Gamja', 'Punkyoool', 'Dongjungkyool', 'Jinkyool'이 포함되었다.

III 그룹은 탄골인 'King'과 만다린인 'Willowleaf'를 교배하여 양성된 'Pixie'가 속하였고 IV 그룹은 유자인 'Tadanishuki'가 위치하였다. V와 VI 그룹은 만다린인 'Cleopatra'와 'Changsha'가 속하였으며, VII과 VIII 그룹에는 제주도에서 자생하고 있는 'Binkyool', 'Cheongkyool', 'Hongkyool'이 분포하였고, IX 그룹은 문단류인 'Banpeiyu', X 그룹은 레몬류에 속하는 'Lisbon'과 'Allen-Newman Eureka'가 속하였으며 이 두 품종간에는 100%의 유전적 유사도를 나타내었다. XI 그룹은 파페다로 분류되는 'Macrophylla'와 시트론에 속하는 'Fingered Citron'이 속하였으며, 이 두 품종은 유사도 지수 0.47에서 구분이 되었다. XII 그룹은 금감류에 속하는 'Neihakinkan'이 XIII 그룹은 탕자인 'Trifoliolate orange'와 'Flying Dragon'과 자몽과 탕자 교잡종인 'Swing'이 속하였다. 국내에서 육성된 감귤속 식물 13품종과 제주재래종 10점을 해외 유전자원과 비교 분석하였을 때, 'Tambit 1ho'는 해외 수집종인 'Sexton tangelo'와 59%의 유전적 유사도를 나타내었으며, 'Sangdojosaeng', 'Samdajosaeng', 'Tamnajosaeng', 'Haraejosaeng'은 일본에서 육성된 18개의 감귤 품종들과 'Suneat'와 'Shiranui'는 100%의 유전적 유사도를 나타내었다. 그러나 'Dangyooja', 'Sadoogam', 'Tamdo 3ho', 'Seolbongmi', 'Sinyeogam', 'Wonkyoah Danbaiseong 3ho'의 경우 II-1 그룹 내에 분포하면서 SSR 마커의 유전자형에 의해 해외 유전자원과 뚜렷하게 식별이 되었다. 그리고 'Tamdo 1ho',

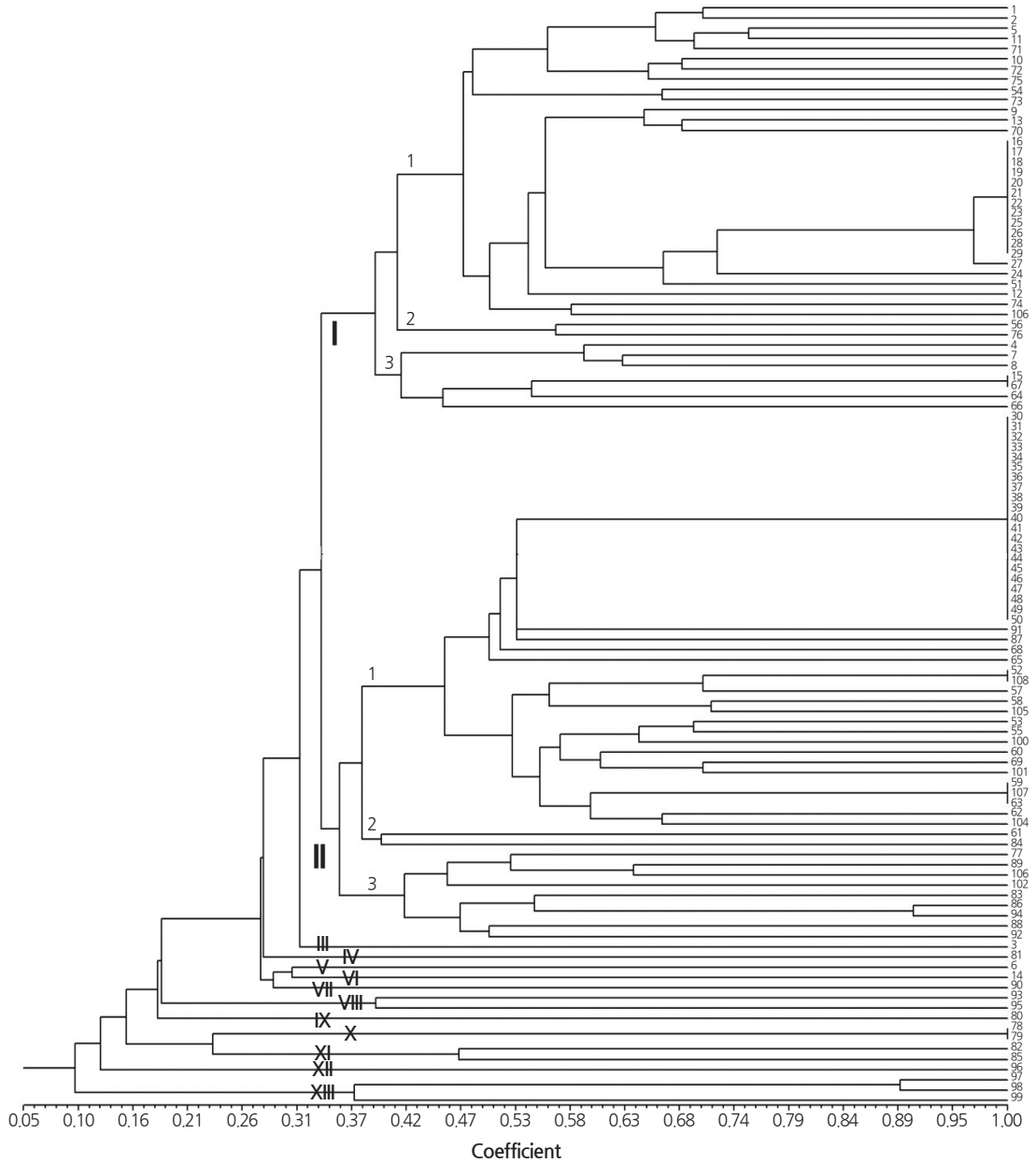


Fig. 3. Dendrogram depicting the classification of 108 *Citrus* and related genera constructed using UPGMA and based on SSR markers. The numbers (1 to 108) on the right side refer to the list of cultivars in Table 1. The scale at the bottom is Jaccard's coefficient of similarity.

'Bungkyool', 'Wonkyoah Danbaiseong 1ho', 'Wonkyoah Danbaiseong 2ho', 'Gamja', 'Punkyoool', 'Dongjungkyool', 'Jinkyool' 은 II-3 그룹, 'Binkyool'은 VII 그룹, 'Cheongkyool'과 'Hongkyool'은 VIII 그룹 내에 분포하였으며 외국 수집종과는 유전적 유사도가 아주 낮게 나타났다. 따라서 이들 품종 및 유전자원은 감귤속 식물의 품종 개발에 매우 유용한 육종 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 한편, 본 연구에 공시된 감귤속에 속하는 108개 품종 및 유전자원에 대하여 18개의 SSR 마커를 이용하여 분석하였을 때, 감귤속 식물의 분류학적 특성 및 품종 육성 계보도에 따라 뚜렷하게 그룹화되는 경향을 보여, 본 연구에서 선정된 분자마커들은 품종간 유연관계 설정을 통한 유전자원 특성 평가에 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 오렌지에 속하는 12품종과 밀감에 속하는 21품종은 SSR 마커의 유전자형에 따라 구분이 되지 않았는데 이는 감귤속 식물

의 품종 개발은 제한된 유전자원을 교배모본으로 활용하여 유발된 아조변이나 주심배 실생에 의한 방법으로 품종을 육성하기 때문에 품종들간 유전적 거리가 매우 가깝기 때문에 나타난 결과라고 사료된다. Novelli et al.(2006)은 여러 가지 형태를 가진 41개 품종의 스위트 오렌지를 대상으로 50개의 SSR마커로 분석하였을 때 8품종만이 식별이 가능할 정도로 유전적 유사도가 높게 나타남을 보고하였고, Al-Mouei and Choumane(2014)도 레몬, 오렌지, 만다린, 자몽 등을 대상으로 SSR 마커로 분석하였을 때 스위트 오렌지 15품종 중 12품종이 식별이 되지 않음을 지적한 바 있다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 SSR이나 SNP 마커를 추가적으로 개발하여 정밀 분석이 이루어져야 될 뿐만 아니라 형태적 특성과 마커의 연관성 여부를 비교 분석하여 품종 특이적인 새로운 마커 개발이 필요할 것으로 사료된다. 한편, 본 연구에서 선정된 SSR 마커 세트를 이용하여 감귤속 식물의 품종 및 유전자원을 분석한 결과, 오렌지와 온주 밀감은 품종 식별력이 다소 낮지만 품종 육성 계보도와 품종 개발 방법에 따라 일치하는 양상을 나타내었다. 이러한 연구결과는 향후 감귤류 식물의 신품종 육성 시 유전거리의 사전 예측이 가능하여 육종효율을 향상시킬 뿐만 아니라 우리나라에서 자생하는 감귤 유전자원의 보호 및 품종보호제도 강화 등과 같은 분야에 활용도가 높을 것으로 판단된다.

초 록

국내외에서 재배되고 있는 감귤속 식물 108 품종 및 유전자원과 SSR 마커를 활용하여 유전적 유사도 분석을 통한 품종식별력 검정 등에 대한 연구를 수행하였다. 감귤 8품종을 203개의 SSR 마커로 검정하여 반복 재현성이 높은 뿐만 아니라 다형성 정도가 높은 18개를 선정하였다. 이들 마커와 국내외에서 재배되고 있는 감귤 108품종을 검정하였을 때 마커당 평균 대립유전자 수는 9.28개로 나타났고, 5-14개까지 다양한 분포를 나타내었다. PIC 값은 분자표지에 따라 0.417-0.791 범위에 속하였으며 평균값은 0.606으로 나타났다. 감귤류 108품종에 대하여 계통도를 작성하였을 때 감귤류 식물의 분류학적 특성 및 품종 육성의 계보도에 따라 13개의 그룹으로 크게 나누어졌다. 감귤류 식물 품종중 오렌지나 온주 밀감의 경우 대부분의 품종이 SSR 마커의 유전자형에 의해 구분이 되지 않은 것으로 나타났다.

본 연구에서 개발된 감귤속 식물의 품종별 SSR DNA 프로파일 데이터베이스는 감귤속 식물의 유전자원 특성평가와 육종가의 지식재산권 보호의 수단으로 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

추가주요어: 감귤류, 유전적 유연관계, 초위성체, 분자표지, 유전자원, 품종보호

Literature Cited

- Ahmad, R., D. Struss, and S. Southwick. 2003. Development and characterization of microsatellite markers in *Citrus*. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 128:584-590.
- Al-Mouei, R. and W. Choumane. 2014. Assessment of genetic variability within the genus *Citrus* in Syria using SSR markers. Am. J. Exp. Agric. 4:939-950.
- Amar, M.H., M.K. Biswas, Z. Zhang, and W.W. Guo. 2011. Exploitation of SSR, SRAP and CAPS-SNP markers for genetic diversity of *Citrus* germplasm collection. Sci. Hortic. 128:220-227.
- Barkley, N.A., M.L. Roose, R.R. Krueger, and C.T. Federici. 2006. Assessing genetic diversity and population structure in a *citrus* germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). Theor. Appl. Genet. 112:1519-1531.
- Chen, C., P. Zhou, Y.A. Choi, S. Huang, F.G. Gmitter Jr. 2006. Mining and characterizing microsatellites from *citrus* ESTs. Theor. Appl. Genet. 112:1248-1257.
- Federici, C.T., D.Q. Fang, R.W. Scora, and M.L. Roose. 1998. Phylogenetic relationships within the genus *Citrus* (Rutaceae) and related genera as revealed by RFLP and RAPD analysis. Theor. Appl. Genet. 96:812-822.
- Hazarika, T.K., B.N. Hazarika, and A.C. Shukla. 2014. Genetic variability and phylogenetic relationships studies of genus *Citrus* L. with the application of molecular markers. Genet. Resour. Crop Evol. 61:1441-1454.
- Jannati, M., R. Fotouhi, A.P. Abad, and Z. Salehi. 2009. Genetic diversity analysis of Iranian *citrus* varieties using microsatellite (SSR) based markers. J. Hortic. For. 1:120-125.
- Kijas, J.M.H., M.R. Thomas, J.C.S. Fowler, and M.L. Roose. 1997. Integration of trinucleotide microsatellites into a linkage map of

- Citrus*. Theor. Appl. Genet. 94:701-706.
- Kim, Y.H., S.Y. Kawabata, and R.Z. Sakiyama. 1996. Classification of *Citrus* cultivars by using random amplified polymorphic DNA analysis. Korean J. Int. Agric. 8:155-159.
- Liu K. and S.M. Muse. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics 21: 2128-2129.
- Novelli, V.M., M. Cristofani, A.A. Souza, and M.A. Machado. 2006. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers for the sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Genet. Mol. Biol. 29:90-96.
- Ollitrault, F., J. Terol, J.A. Pina, L. Navarro, M. Talon, and P. Ollitrault. 2010. Development of SSR markers from *Citrus clementina* (Rutaceae) BAC end sequences and interspecific transferability in *Citrus*. Am. J. Bot. e124-e129.
- Palmieri, D.A., V.M. Novelli, M. Bastianel, M. Cristofani-Yaly, G. Astúa-Monge, E.F. Carlos, A.C. de Oliveira and M. A. Machado. 2007. Frequency and distribution of microsatellites from ESTs of *Citrus*. Genet. Mol. Biol. 30:1009-1018.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, ver. 2.10b. Applied Biostatistics Inc., New York.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification, Freeman W.H., San Francisco.
- Swingle, W.T. and P.C. Reece. 1967. The botany of *Citrus* and its wild relative, p. 190-430. In: W. Reuther, H.J. Webber, and L.D. Batchelor (eds.). The *Citrus* Industry, Vol 1. University of California Press, Berkeley, USA.
- Tanaka, T. 1977. Fundamental discussion of *Citrus* classification. Stud. Citrologia 14:1-6.
- UPOV. 2010. UPOV/INF/17/1 Guideline for DNA-Profiling: Molecular Marker Selection and Database Construction ("BMT Guideline"), Geneva.