

Study on the Genetic Characteristics of Waterlogging Tolerant Pepper (*Capsicum annuum* L.) for Breeding Tolerant Varieties against Flooding Stress

Eun Young Yang*, Soo-Young Chae, Jong-Pil Hong, Hye-Eun Lee, Eun Joon Park, Ji-hye Moon, Tae-Sung Park, Mi-Young Roh, Ok Rye Kim, Sang Gyu Kim, Dae Young Kim, Sun Yi Lee and Myeong Cheoul Cho

Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Wanju 55365, Korea

Received September 1, 2017 / Revised October 24, 2017 / Accepted October 26, 2017

This study was conducted to select pepper lines that were tolerant to excessive water injury among the pepper germplasm and investigate the genetic characteristics of those lines to contribute to the breeding of pepper cultivars with stable productivity in abnormal weather. Each of the tolerant and susceptible lines went through immersion treatment, and differentially expressed genes between them were analyzed. The tolerant line showed increased expression of the CA02g26670 gene, which is involved in the CONSTANS protein pathway and regulation of flowering by day length, but it exhibited decreased expressions of CA01g21450, CA01g22480, CA01g34470, CA02g00370 and CA02g00380. The susceptible line showed increased gene expressions of CA02g09720, CA02g21290, CA03g16520, CA07g02110, and CA12g17910, which are involved in the inhibition of proteolytic enzyme activity, DNA binding, inhibition of cell wall-degrading enzyme, and inhibition of nodulin, respectively. Meanwhile the expressions of CA02g02820, CA03g21390, CA06g17700 and CA07g18230 decreased in the susceptible line, in relation to calcium-ion binding, high temperature, synthesis of phosphocholine and cold stress, respectively. The expressions of genes related to apoptosis and peroxidase increased, while that of CA02g16990, which functions as a nucleoside transporter, decreased in both the tolerant and susceptible lines. Based on the different gene expressions between the tolerant and susceptible lines, further studies are needed on breeding abiotic stress-tolerant lines.

Key words : Abiotic stress, *Capsicum annuum*, DEG, gene annotation, tolerant lines

서 론

고추는 매운 맛의 대표적인 채소이며 산업 소재로, 전 세계 채소 중에서 생산량이 7번째로 많아[9] 세계인의 식단을 책임지는 중요한 식재료로 사용되고 있다. FAO 통계에 따르면 2014년 기준 고추가 많이 재배되는 국가는 중국, 인도, 미얀마, 방글라데시, 태국, 베트남, 한국, 미국, 페루 등으로 주요 생산국의 대부분이 열대, 아열대 지역인 동남아시아에 집중되어 있다. 이 지역은 우기와 건기의 구분이 뚜렷하며, 연간 강수량이 우기에 집중되어 토양침수로 인한 습해 피해 발생이 매우 잦다[6, 30].

고추는 대표적인 천근성 작물로 침수 조건에서 48시간 이상 방치되면 90% 이상 고사하는 것으로 알려져 있다. 또한 식물체 일부가 잠긴 침수상태(沈水狀態) 보다 전체가 물에 잠긴 상태인 관수상태(冠水狀態)가 고추 생육에 더 큰 피해를 주며

뿌리가 제대로 활착되기 전인 정식 초기에 피해가 더 크다. 토양이 침수되면 침수 자체가 주는 피해와 더불어 다습한 조건에서 발생하는 토양전염성병에 의한 생산량 감소가 함께 일어나므로 피해가 가중된다[24].

최근 전 세계적으로 문제가 되고 있는 폭우, 폭염, 일조부족 등 이상기상 현상은 우리나라 채소생산량에도 큰 영향을 미치며, 특히 기습적인 폭우로 인한 토양 과습 혹은 침수는 고추 생산량 감소의 큰 원인이 된다[20]. 이제까지의 고추 저항성 품종 개발은 과습한 환경에서 많이 발생하는 역병[5, 12, 13], 풋마름병[2, 3], 탄저병[19, 32], 흰가루병[15] 저항성 등 내병성 개량에 집중되었으며 침수, 고온, 저온 등 고추가 재배 중 겪을 수 있는 다양한 불량환경에 대한 내성품종 개발은 아직 초기 단계이다.

토양수분 조건에 민감한 고추의 생태적인 특성을 고려할 때 습해에 저항성이 강한 고추 품종의 선발, 육성 및 재배기술 개발이 반드시 필요하다. 국외에서는 이미 이상 기후에 대비한 재해 안정성이 높은 품종육성에 관한 연구가 본격화되고 있다. 그 예로 습해에 강한 콩[20], 보리[33], 저항성 관련 유전 분석[7, 10, 27]에 관한 연구가 선행되었으며, 내습성 고추 품종 육성에 관한 연구는 초기단계이다.

본 연구는 고추 내습성과 감수성 계통의 유전적 특성을 구명하여 습해 등 이상기상 조건에서도 안정적인 생산이 가능한

*Corresponding author

Tel : +82-63-238-6613, Fax : +82-63-238-6605

E-mail : yangyang2@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

고추 품종육성에 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 처리내용

고추 유묘기 내습성 검정 및 논 토양에서의 습해 검정 결과 내습성 계통으로 선발한 DIR1과 감수성 계통으로 선발한 DIS1 두 계통을 실험재료로 하여 두 실험재료에 같은 조건으로 침수 스트레스를 주었을 때 발현되는 유전자의 차이를 조사하였다. 공시재료를 30°C 항온 발아실에서 2일간 발아를 촉진시켜 육묘상에서 관리한 후, 주간(16시간) 온도 28±0.5°C, 야간(8시간) 온도 18±0.5°C로 유지된 생육상에서 파종 후 45일 된 고추 묘를 지체부만 물에 잠기도록 하여 5, 10, 15일간 침수 처리하였다. 생육상 내 광원은 나트륨등, 메탈할라이드등, 형광등을 혼합사용하여 주간 광량 180±10 μmol m⁻²s⁻¹ PPF 수준으로 유지하였다.

mRNA-Seq Data 분석

5, 10, 15일간 처리한 고추 잎을 한번에 채취하여 분석시료를 준비하였다. TruSeq mRNA library kit (Illumina, USA)를 이용하여 전사체 염기서열 분석에 이용될 cDNA 라이브러리를 제작하였으며, 이에 이용된 total RNA는 시료 당 1 μg이다. 본 라이브러리의 품질 검증은 qPCR 방식과 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 방식을 이용하여 진행하였다. 이 라이브러리를 Illumina HiSeq4000 장비에 투입 후, 각 라이브러리 절편 당 100개씩 양말단 염기서열 분석을 MACROGEN Inc (Korea)에서 진행하였다. 전사체 염기서열 분석을 위하여 생산된 각 reads를 고추 종의 표준유전체 서열에 TopHat 프로그램을 사용하여 맵핑하였고, split-read alignments의 판정은 Cufflinks 프로그램의 고정값을 사용하여 진행하였다[25,26]. 고추 표준유전체의 정보는 The Pepper Genome Platform (PGP) ftp site (<http://passport.pepper.snu.ac.kr/?t=PGENOME>)에서 다운로드로 제공받아 사용하였다.

Gene-GO (Gene ontology) term enrichment 분석

내습성과 감수성 선발계통을 침수처리한 후 대조구와 다르게 발현되는 DEG 리스트를 DAVID tool (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 데이터베이스에 대입하였다[11]. If EASE Score는 각 GO-term 별로 0.05 이하로 설정하였고, 생물학적 과정(biological processes), 분자 기능(molecular function), 그리고 세포 요소(cellular component) 세 가지로 분류하였다. 데이터 분석은 R 3.1.2 (www.r-project.org) 프로그램을 이용하였다.

RT-PCR 분석

발현이 확인된 유전자들을 이용하여 고추 유묘기 침수처리 시 내습성 계통과 감수성 계통의 발현 패턴을 비교하기 위해

RT-PCR을 수행하였다. 침수 시간대별 채취한 고추 유묘의 잎에서 total RNA를 추출하여 cDNA 합성 후 RT-PCR을 수행하였으며, 동일한 양의 cDNA를 사용했음을 확인하기 위해 *CaActin* 유전자를 loading control로 사용하였다[18].

결과 및 고찰

RNA-seq에 의한 분석을 통해 유전자 발현값을 얻어 차별 발현 유전자를 분석하고, 유의한 유전자에 대하여 기능분류 및 gene annotation을 수행하였다. GO 분석을 통해 추출된 유전자들을 DAVID tool을 이용하여 생물학적 과정(biological process), 생화학 수준에서 유전자 생산물에 대하여 다루는 분자 기능(molecular function), 마지막으로 유전자 생산물의 위치에 대하여 다루는 세포 요소(cellular component) 등 세 가지로 분류하였다.

침수피해를 받은 고추 유묘에서 가장 많이 변화한 것은 생물학적 과정에 관여하는 유전자들이었는데 내습성 계통에서는 452개, 감수성 계통에서는 185개가 분석되어 내습성 계통이 침수처리를 받을 경우 발현에 변화를 보이는 유전자가 감수성 계통에 비해 두드러지게 많았다. 분자기능과 세포요소에 관여하는 유전자는 내습성 계통은 각각 296개, 299개로 감수성 계통의 118개, 121개에 비해 2.5배 정도 수준으로 발현 하였다(Fig. 1).

유전자 발현 변화양상을 보다 자세히 살펴보면 생물학적 과정에 관여하는 유전자 중 두 계통 모두 외부자극(response to stimulus)에 반응하는 유전자 발현 변화가 가장 많았음을

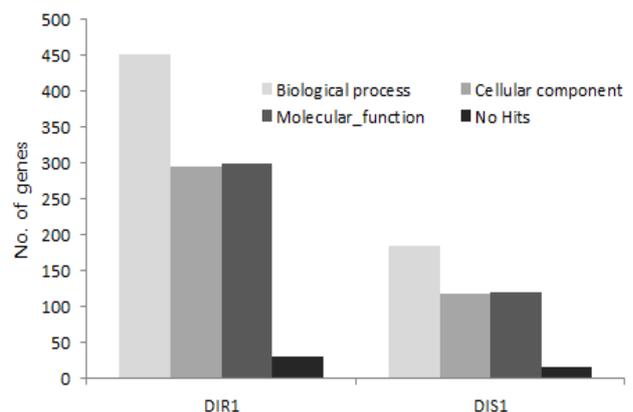


Fig. 1. GO term enrichments analysis of genes influenced by waterlogging treatment at DIR1 and DIS1 pepper seedlings. The 1,078 and 439 genes were used as total gene set in DAVID for DIR1 and DIS1, respectively. GO terms of which EASE score is lower than 0.05 at least are collected. DAVID categorize each gene according to their GO terms, biological processes, cellular component, and molecular function and mode of gene expressions either up or down regulation.

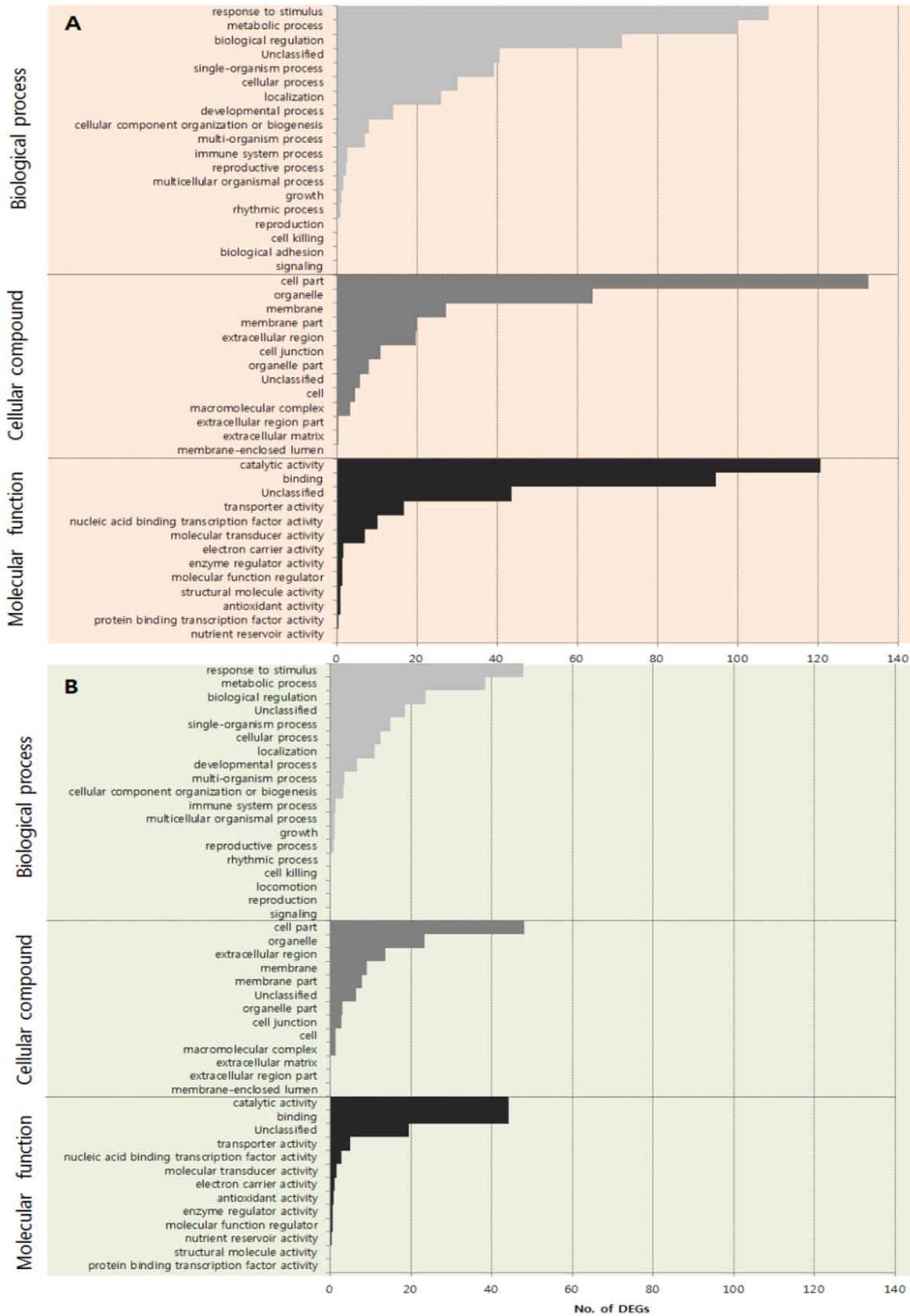


Fig. 2. GO term enrichments analysis of genes induced by waterlogging tolerant line, DIR1 (A) and susceptible line, DIS1 (B) after waterlogging treatment in 45-day-old pepper seedlings.

알 수 있었으며, 발현 수준의 차이는 있었으나 변화된 유전자의 양상이 비슷한 경향을 보였다(Fig. 2). 외부자극에 관련된 유전자는 대부분 생물적, 비생물적 스트레스에 반응하는 유전자로 내습성 계통이 감수성 계통에 비해 외부자극인 침수 스트레스에 민감하게 반응한 것으로 추정된다. 세포 요소와 연관된 유전자 중에서는 세포, 기관, 세포막, 세포결합 등과 연관된 유전자 발현 변화가 주로 이루어졌으며, 내습성 계통에 비해 감수성 계통의 발현 수준은 전체적으로 감소하였으나 기능별 유전자 발현 변화의 양상은 매우 흡사하였다(Fig. 2).

분자 기능의 변화는 촉매활성, binding, transporter activity, nucleic acid binding transcription factor activity에 반응하는 유전자가 많이 발현되었다. 그리고 감수성 계통은 침수 피해를 받은 후 전체적인 유전자 발현변화 수준이 내습성 계통에 비해 절반 이상 낮아졌으며, 가장 많이 감소한 것은 촉매활성과 binding 관련 유전자 기능이였다(Fig. 2).

공개된 고추 표준 유전체 정보(Pepper. v.1.55, SNU) 데이터베이스를 이용하여 습해 저항성과 감수성 계통 간 유전자의 발현 차이를 분석한 결과 발현이 감소한 유전자는 DIR1에서 331개, DIS1에서는 276개였으며 두 계통 모두에서 감소한 유전자는 44개였다. 반면 침수처리 시 발현이 증가한 유전자는 DIR1은 684개, DIS1는 100개, 두 계통에서 모두 증가한 유전자는 19개였다(Fig. 3).

각 영역에서 up 혹은 down regulation이 가장 많은 차이를 보인 유전자 5개씩을 선발하여 고추 유묘기 침수처리 시 시간에 따른 발현 패턴을 알아보기 위해 RT-PCR을 수행하였다. 그 결과 내습성 계통에서 발현량이 증가한 유전자 중 CA02g

26670은 CONSTANS protein과 관련있는 유전자로 일장조건에 따른 개화조절에 관여하며[27], CA08g09640은 아직 기능이 밝혀지지 않은 유전자로 확인되었다(Table 1, Fig. 4).

내습성 계통에서 down regulation이 많이 일어난 CA01g21450, CA01g22480, CA01g34470, CA02g00370, CA02g00380 모두 RT-PCR 결과 발현량 감소가 확인되었으며, CA01g21450은 식물체 내 cytokinin 감소에 촉매역할을 하는 cytokinin oxidase [1] 관련 유전자로 특히 침수처리 15일 후 크게 감소하였다(Table 2, Fig. 5). CA01g22480은 내생합성 지베렐린을 불활성시켜 식물 생장을 조절하는[17] gibberellin 2-oxidases 관련 유전자이며, CA01g21450와 마찬가지로 침수시작 15일째 크게 감소하였다. CA01g34470은 WRKY transcription factor-30과 관련된 유전자로 알려져 있는데 침수 10일차에는 발현량이 다소 감소하다가 15일차에 크게 감소하는 경향을 보였다. WRKY transcription factor-30은 식물 생장에 있어서 다양한 역할을 수행하는 유전자로 구명된 바 있으며, 특히 식물이 다양한 abiotic stress를 받을 경우 증가하는 ABA 신호체계의 activator로 작용한다[23].

감수성 선발계통인 DIS1의 유전자 발현량 증가확인을 위해 RT-PCR 분석을 수행한 유전자는 CA02g09720, CA02g21290, CA03g16520, CA07g02110, CA12g17910였다(Table 3). 단백질 분해효소 활성을 저해하는 기능을 가진 CA02g09720은 침수처리 초반인 5일차에 발현량이 증가하였으며, DNA binding에 관여하는 CRT binding factor 3 (CA03g16520)는 침수 10일차에 증가하였다가 15일에는 감소하는 경향을 보였다. CA07g02110은 polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP)와 관련된 유전자로 세포벽 분해효소 억제에 관여하는데[14] 침수 5일차와 10일차에 발현량이 증가한 것을 확인하였다. CA12g17910은 콩과식물 뿌리에서 특이적으로 합성되는 단백질인 nodulin 관련 유전자로[8] CA07g02110와 비슷한 경향으로 발현되었다(Fig. 6).

DIS1에서 발현량이 감소한 유전자는 CA02g02820, CA03g21390, CA06g17700, CA07g18230로 각각 칼슘이온결합[15], 고온환경 발현기작[22], 레시틴 생합성 경로의 수용성중간대사체인 phosphocholine 합성[24] 및 dynein light chain LC6 [30] 등의 기능을 하는 것으로 보고된 바 있다(Table 4, Fig. 7). CA06g01390은 아직 기능이 밝혀지지 않은 것으로 나타났다(Table 4).

내습성 계통과 감수성 계통에서 동시에 발현이 증가한 유전자는 CA02g27860, CA04g02730, CA06g12040로 확인되었다. CA02g27860은 고온 등 환경스트레스로 인한 Apoptosis와 관련된 유전자로[4] 침수기간이 길어질수록 발현량이 증가하였으며, CA04g02730은 Peroxidase와 연관이 있어 침수처리 10일까지는 발현이 증가하다가 15일째에는 감소하였다(Table 5, Fig. 8). 두 계통에서 발현이 동시에 감소한 유전자는 Nucleoside transporter 기능을 하는 CA02g16990 한가지로 확인되었

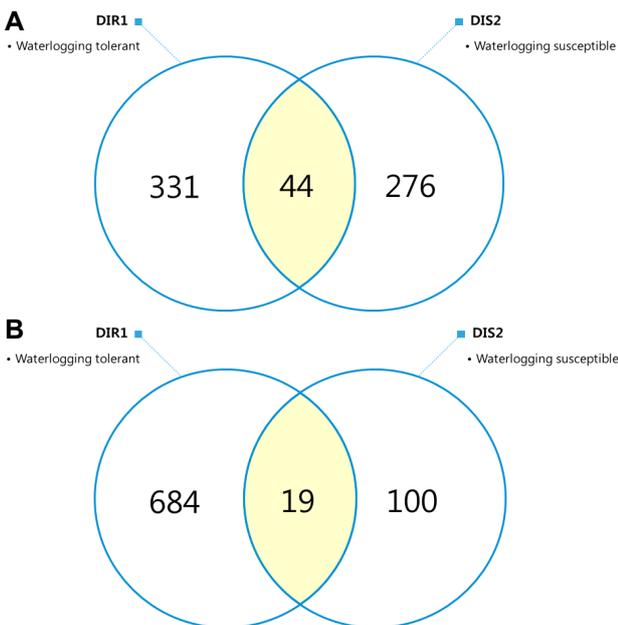


Fig. 3. Venn-Diagram of common up (A) and down (B) transcripts.

Table 1. Lists of sequence-specific primers increased in the DIR1 after waterlogging treatment used for cloning by RT-PCR

Accession No.	Gene description	Primer name	Tm(°C)	Primer sequences
CA02g06340	bZIP domain class transcription factor	CA02g06340-F CA02g06340-R	53	5'-ACGTTTCGCTTGTGAAGG-3' 5'-AAATCTTCTCCTCCTAGG-3'
CA02g26670	CONSTANS protein	CA02g26670-F CA02g26670-R	55	5'-CCAACGGACAGAGAAACC-3' 5'-CATCTGGTCTACTTCAGC-3'
CA04g21390	Cytokinin oxidase	CA04g21390-F CA04g21390-R	56	5'-GTCGCATTTCTGAGGTCG-3' 5'-CTCCAAAATGGTCCCTCC-3'
CA06g12020	PREDICTED: nitrate transporter 1.1-like	CA06g12020-F CA06g12020-R	55	5'-GTGACCACGAAAACAAGG-3' 5'-ATCCCTGCTCAGCTAGC-3'
CA08g09640	Detected protein of unknown function	CA08g09640-F CA08g09640-R	55	5'-AACTGGAATGGATGCAGC-3' 5'-TCTCGACTTCGCCAATCC-3'

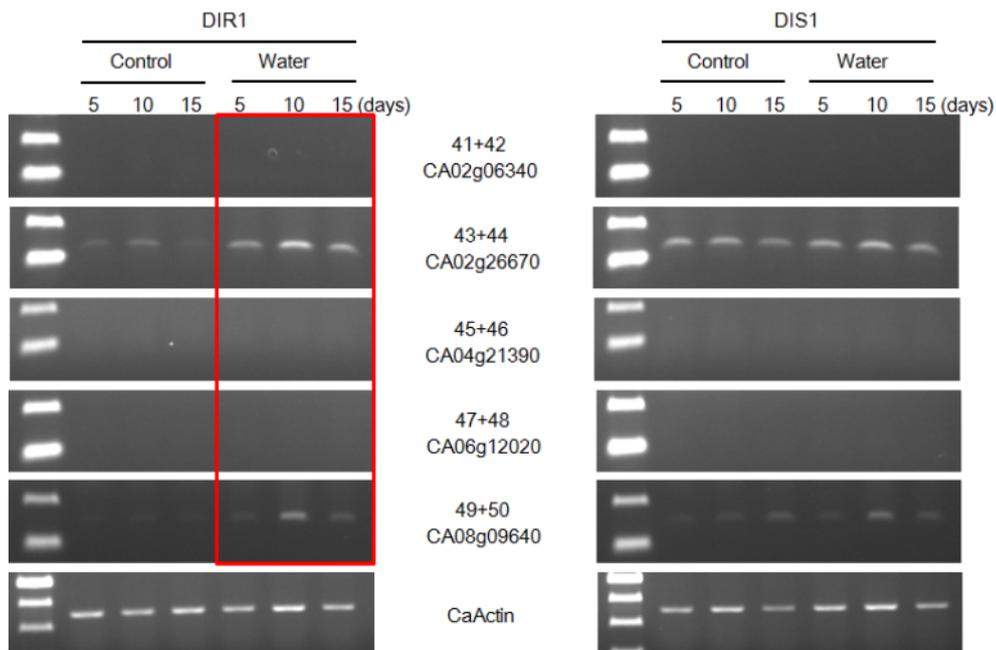


Fig. 4. Result of RT-PCR analysis with pepper leaves treated waterlogging stress on increased 5 DEGs in the DIR1.

Table 2. Lists of sequence-specific primers decreased in the DIR1 after waterlogging treatment used for cloning by RT-PCR

Accession No.	Gene description	Primer name	Tm (°C)	Primer sequences
CA01g21450	Cytokinin oxidase	CA01g21450-F CA01g21450-R	55	5'-TGGAGTTTCACACCTTGG-3' 5'-AGCTAAGGGGTCATAAGC-3'
CA01g22480	Gibberellic acid 2-oxidase	CA01g22480-F CA01g22480-R	55	5'-TAAGACATAGGGTGGTGG-3' 5'-GTCAAGACGACTATCAGC-3'
CA01g34470	WRKY transcription factor-30	CA01g34470-F CA01g34470-R	55	5'-AGCGTCTTTTGTCTCTCC-3' 5'-TCGTTGTGGAAGTGTTGG-3'
CA02g00370	Zinc/iron transporter, putative	CA02g00370-F CA02g00370-R	55	5'-GCTCAATGCATCATCAGC-3' 5'-GACAGACATCCACCAGC-3'
CA02g00380	Iron-regulated transporter 2	CA02g00380-F CA02g00380-R	55	5'-GCACTGTCAAGTACTTACG-3' 5'-GAAGGACAGCCATGTAGG-3'

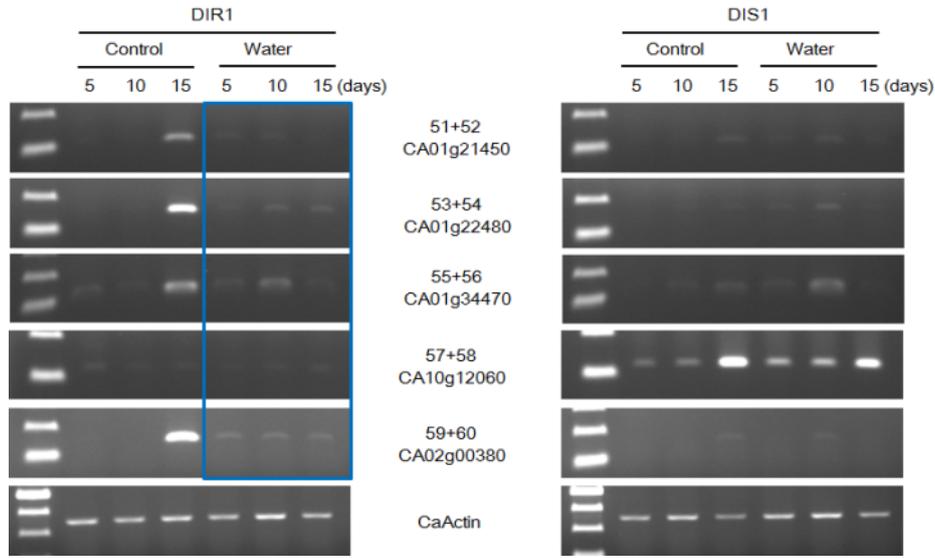


Fig. 5. Result of RT-PCR analysis with pepper leaves treated waterlogging stress on decreased 5 DEGs in the DIR1.

Table 3. Lists of sequence-specific primers increased in the DIS1 after waterlogging treatment used for cloning by RT-PCR

Accession No.	Gene description	Primer name	Tm (°C)	Primer sequences
CA02g09720	Kunitz-type protease inhibitor	CA02g09720-F CA02g09720-R	55	5'-GATAGCAGTTGGTTCAGG-3' 5'-AGTAGTCACAACACCTGC-3'
CA02g21290	Unknown protein	CA02g21290-F CA02g21290-R	55	5'-TAAGGATCAGTGGAGTCC-3' 5'-TTGAGTCCAGCTTCGAGC-3'
CA03g16520	CRT binding factor 3	CA03g16520-F CA03g16520-R	55	5'-CTGCTAGAGCTCATGACG-3' 5'-ACTTCAATGGTCGGAAGG-3'
CA07g02110	Polygalacturonase inhibiting protein (Fragment)	CA07g02110-F CA07g02110-R	55	5'-AGGGATTATGGAGGTGG-3' 5'-TCTCTGCATAGATCCACC-3'
CA12g17910	Nodulin-like protein	CA12g17910-F CA12g17910-R	55	5'-CAATAGGTGCAATCGTGC-3' 5'-CATAGCAAACCATCCACC-3'

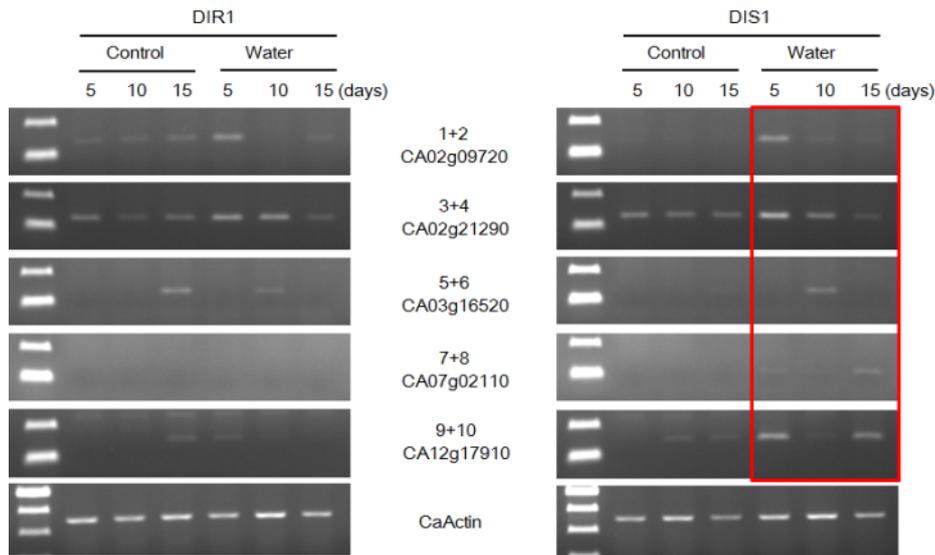


Fig. 6. Result of RT-PCR analysis with pepper leaves treated waterlogging stress on increased 5 DEGs in the DIS1.

Table 4. Lists of sequence-specific primers decreased in the DIS1 after waterlogging treatment used for cloning by RT-PCR

Accession No.	Gene description	Primer name	Tm (°C)	Primer sequences
CA02g02820	Calcium-binding EF-hand family protein, putative	CA02g02820-F CA02g02820-R	53	5'-AGAATGGAGACGGAAAGC-3' 5'-TAATACCCCATTGGAGG-3'
CA03g21390	Heat shock protein 26 (Type I)	CA03g21390-F CA03g21390-R	55	5'-GGAAATGATGAGCACTCG-3' 5'-ACATGCACGTCAATGACC-3'
CA06g01390	Unknown protein	CA06g01390-F CA06g01390-R	50	5'-TGACATTGGAGCAAGTCC-3' 5'-TCCAACAAATTTCCCACC-3'
CA06g17700	Phosphoethanolamine n-methyltransferase, putative	CA06g17700-F CA06g17700-R	50	5'-CCAAGAATGTAATGCTGG-3' 5'-AGGCATACCAATTCCTCC-3'
CA07g18230	PREDICTED: dynein light chain LC6, flagellar outer arm-like	CA07g18230-F CA07g18230-R	55	5'-TTGGCAGTGCATAGTAGG-3' 5'-AGCACAGAAAATCGGTCCG-3'

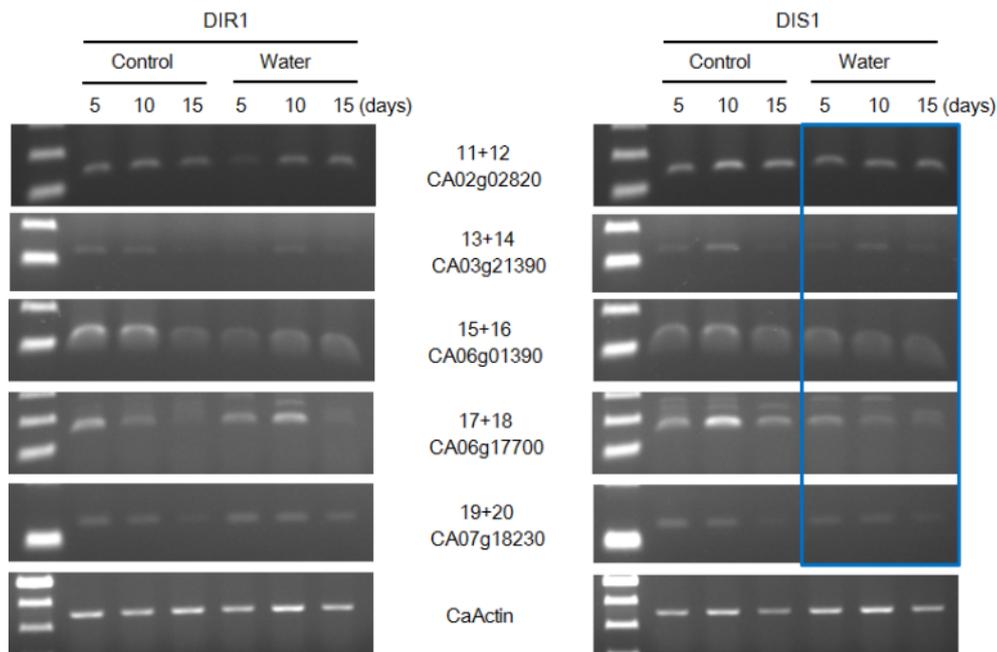


Fig. 7. Result of RT-PCR analysis with pepper leaves treated waterlogging stress on decreased 5 DEGs in the DIS1.

Table 5. Lists of sequence-specific primers increased in the DIR1 and DIS1 after waterlogging treatment used for cloning by RT-PCR

Accession No.	Gene description	Primer name	Tm (°C)	Primer sequences
CA02g04280	Phospholipase A1	CA02g04280-F CA02g04280-R	55	5'-GGAGATATCCTCACTTGG-3' 5'-TGTGTTTTGGAGTCCACC-3'
CA02g27860	Lamin-like protein	CA02g27860-F CA02g27860-R	55	5'-CCACTTCACAATTGGACC-3' 5'-ACTGTGTACTGGAGCAGC-3'
CA04g02730	Peroxidase	CA04g02730-F CA04g02730-R	55	5'-GCTGGATTTGATGACTCC-3' 5'-CTGAACTCCACGAGATGG-3'
CA05g07450	Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein	CA05g07450-F CA05g07450-R	53	5'-TGCGCTTCTTAATGAAGC-3' 5'-TCTACCTTACCTCTATGC-3'
CA06g12040	Unknown protein	CA06g12040-F CA06g12040-R	55	s5'-GGTGCATGTTGTTGTTGG-3' 5'-TTTAGGGGCAGTCTTTCC-3'

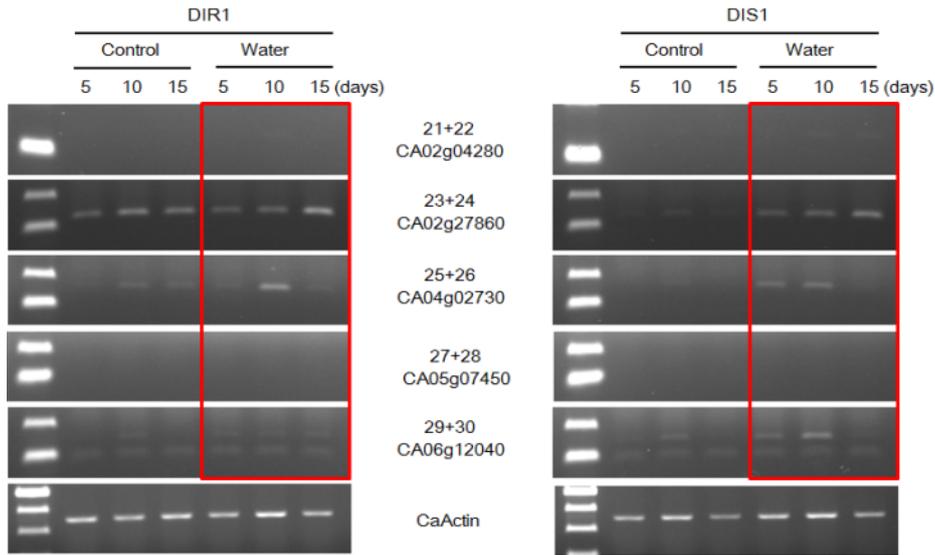


Fig. 8. Result of RT-PCR analysis with pepper leaves treated waterlogging stress on increased 5 DEGs in the DIR1 and DIS1.

Table 6. Lists of sequence-specific primers decreased in the DIR1 and DIS1 after waterlogging treatment used for cloning by RT-PCR

Accession No.	Gene description	Primer name	Tm (°C)	Primer sequences
CA02g16990	Nucleoside transporter, putative	CA02g16990-F CA02g16990-R	55	5'-TCCTCGTATCCTTCTTGG-3' 5'-CCACAACCAACCTAGAGC-3'
CA02g28000	Detected protein of unknown function	CA02g28000-F CA02g28000-R	53	5'-GGATCAAAGGTCATTTCC-3' 5'-TTAGCGTAATCAGCTAGC-3'
CA06g07140	PREDICTED: protein EARLY FLOWERING 4-like	CA06g07140-F CA06g07140-R	55	5'-GCAGTCCGTATTGGATCG-3' 5'-TTCTTCCTCTGATGGAGC-3'
CA10g10750	PREDICTED: non-specific lipid-transfer protein 2-like	CA10g10750-F CA10g10750-R	55	5'-TAAGGATCTGCTGACTGC-3' 5'-GGGACTGATCTTGTATGG-3'
CA10g12060	PREDICTED: non-specific lipid-transfer protein 2-like	CA10g12060-F CA10g12060-R	54	5'-GTGGAGTTAAGGATCTGC-3' 5'-TGAATACGTACGTGGAGC-3'

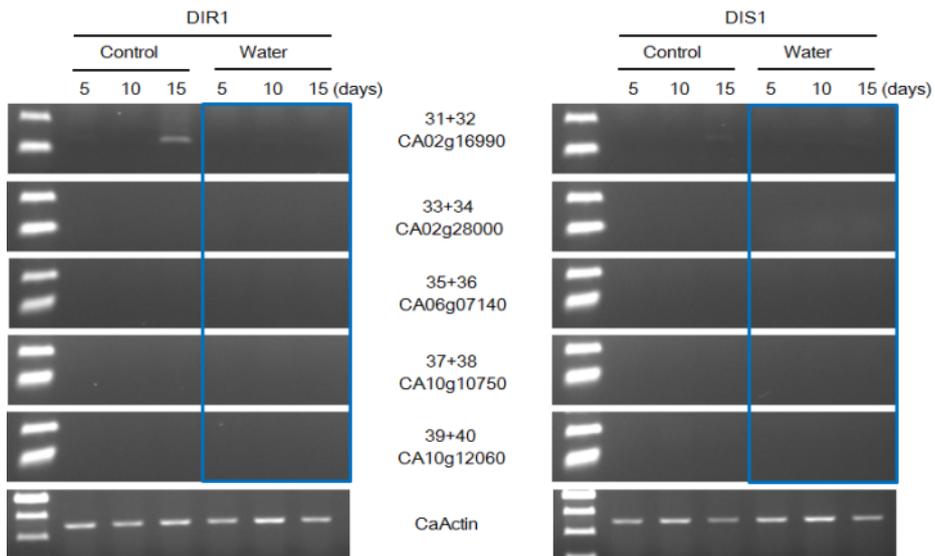


Fig. 9. Result of RT-PCR analysis with pepper leaves treated waterlogging stress on decreased 5 DEGs in the DIR1 and DIS1.

으며, 나머지 선발 유전자는 발현이 확인되지 않았다(Table 6, Fig. 9). 내습성 및 감수성 계통간 습해 조건에서 발현에 차이를 보이는 유전자 구멍을 기반으로 향후 불량환경에 대해 저항성을 보이는 계통 육성 및 관련 생리반응에 대한 다양한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

침수처리 후 GO 분석을 통해 추출된 유전자들을 기능별로 분류해보면 생물학적 과정(biological process)에 관여하는 유전자 발현이 가장 크게 영향을 받았으며, 분자 기능(molecular function)과 세포 요소(cellular component) 관련 유전자를 포함하여 모든 기능의 유전자 발현 변화가 감수성 계통보다 내습성 계통에서 크게 일어났다. 생물학적 과정에 관여하는 유전자 중 두 계통 모두 외부자극(response to stimulus)에 반응하는 유전자 발현 변화가 가장 많았음을 알 수 있었으며, 발현 수준의 차이는 있었으나 변화된 유전자의 양상이 비슷한 경향을 보였다. 외부자극에 관련된 유전자는 대부분 생물적, 비생물적 스트레스에 반응하는 유전자로 내습성 계통이 감수성 계통에 비해 외부자극인 침수 스트레스에 민감하게 반응한 것으로 추정된다.

침수처리 후 발현 양상이 유의하게 차이 나는 유전자의 보다 자세한 기능을 분석한 결과 내습성 계통에서 발현량이 증가한 유전자는 일장조건에 따른 개화조절에 관여하는 유전자이며 감수성 계통에서 침수처리 후 발현량이 증가한 유전자는 단백질 분해효소 활성 저해, DNA binding, 세포벽 분해효소 억제, nodulin 관련 유전자 등으로 밝혀진 유전자들이었다. 감수성 계통에서 발현량이 감소한 유전자는 각각 칼슘이온결합, 고온 환경 발현기작, 레시틴 생합성 경로의 수용성중간대사체인 phosphocholine 합성 및 저온스트레스 관련 등의 기능을 하는 것으로 보고된 바 있다. 내습성 및 감수성 계통 간 습해 조건에서 발현에 차이를 보이는 유전자 구멍을 기반으로 향후 불량환경에 대해 저항성을 보이는 계통 육성 및 관련 생리반응에 대한 다양한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01267102)의 지원에 의해 수행된 연구 결과입니다.

References

- Brugiere, N., Jiao, S., Hantke, S., Zinselmeier, C., Roessler, J. A., Niu, X. and Habben, J. E. 2003. Cytokinin oxidase gene expression in maize is localized to the vasculature, and is induced by cytokinins, abscisic acid, and abiotic stress. *Plant Physiol.* **132**, 1228-1240.
- Chae, S. Y., Yang, E. Y., Lee, W. M., Cho, M. C., Choi, H. S., Kim, K. T. and Jeong, H. B. 2009. Evaluation of characteristics for high red pigments contented pepper variety breeding. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **27**, 76-76.
- Chae, S. Y., Yang, E. Y., Won, J. H., Choi, H. S., Lee, W. M., Kim, S., Park, D. G. and Yoon, M. K. 2013. Germplasm evaluation and selection for breeding of resistant rootstock varieties to bacterial wilt in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **31**, 92-92.
- Chen, C., Edelstein, L. C. and Gélinas, C. 2000. The Rel/NF- κ B family directly activates expression of the apoptosis inhibitor Bcl-xL. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 2687-2695.
- Choi, S. M. and Lee, J. M. 2005. Evaluation of hot pepper genotypes for selection of phytophthora disease resistant rootstocks. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **23**, 149-149.
- Colmer, T. D., Gibberd, M. R., Wiengweera, A. and Tinh, T. K. 1998. The barrier to radial oxygen loss from roots of rice (*Oryza sativa* L.) is induced by growth in stagnant solution. *J. Exp. Bot.* **49**, 1431-1436.
- Cornelius, B., Chen, P., Chen, Y., de Leon, N., Shannon, J. G. and Wang, D. 2005. Identification of QTLs underlying water-logging tolerance in soybean. *Mol. Breed.* **16**, 103-112.
- Denancé, N., Szurek, B. and Noël, L.D. 2014. Emerging functions of nodulin-like proteins in non-nodulating plant species. *Plant Cell Physiol.* **55**, 469-474.
- Food and Agriculture Organization-World Health Organization. (FAO/WHO) 2016. Food and agriculture data. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>.
- Githiri, S. M., Watanabe, S., Harada, K. and Takahashi, R. 2006. QTL analysis of flooding tolerance in soybean at an early vegetative growth stage. *Plant Breed.* **125**, 613-618.
- Huang, D. W., Sherman, B. T. and Lempicki, R. A. 2009. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. *Nat. Protoc.* **4**, 44-57.
- Kim, B. S., Kwon, T. R., Hwang, J. E., Lee, J. M., Park, D. G., Ahn, J. H. and Kim, H. Y. 2010. Resistance to phytophthora blight of commercial pepper cultivars in Korea. *Res. Plant Dis.* **16**, 141-147.
- Kim, D. H., Cho, M. C., Chae, Y., Cho, Y. S. and Shin, Y. A. 2005. The Selection of Phytophthora capsici Resistant Lines for Pepper (*Capsicum* spp.) Breeding. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **23**, 42-42.
- Lee, J. H., Trenholm, L. E., Unruh, J. B. and Hur, J. H. 2006. Sensor-based technology for assessing drought stress in two warm-season turfgrasses. *Kor. J. Turfgrass Sci.* **20**, 213-221.
- Lee, O. H., Hwang, H. S., Kim, J. Y., Han, J. H., Yoo, Y. S. and Kim, B. S. 2001. A search for sources of resistance to powdery mildew (*Leveillula taurica* (Lev.) Arn) in pepper (*Capsicum* spp.). *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **19**, 7-11.
- Lewit-Bentley, A. and Réty, S. 2000. EF-hand calcium-binding proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **10**, 637-643.
- Lo, S. F., Yang, S. Y., Chen, K. T., Hsing, Y. I., Zeevaert, J. A., Chen, L. J. and Yu, S. M. 2008. A novel class of gibberellin 2-oxidases control semidwarfism, tillering, and root development in rice. *Plant Cell* **20**, 2603-2618.
- Oh, S. K., Yoon, J. S., Choi, G. J., Jang, H. A., Kwon, S. Y. and Choi, D. I. 2013. *Capsicum annuum* homeobox 1 (CaHB1) is a nuclear factor that has roles in plant development, salt tolerance, and pathogen defense. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **442**, 116-121.

19. Pae, D. H., Chae, Y., Wang, T. C., Engle, L. M. and Shanmugasundaram, S. 2006. Selection of new breeding materials with resistance to anthracnose in *Capsicum annuum*. 27th International Horticultural Congress & Exhibition. 419-419.
20. Pathan, M. S. and Sleper, D. A. 2008. Advances in soybean breeding. In Genetics and genomics of soybean. Springer. New York. 113-133.
21. Rhee, D. A. and Park, S. K. 1975. The effect of soil moisture level on flowers and fruits drop of red pepper. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **16**, 99-105.
22. Rossi, J. M. and Lindquist, S. 1989. The intracellular location of yeast heat-shock protein 26 varies with metabolism. *J. Cell Biol.* **108**, 425-439.
23. Rushton, P. J., Somssich, I. E., Ringler, P. and Shen, Q. J. 2010. WRKY transcription factors. *Trends Plant Sci.* **15**, 247-258.
24. Smith, D. D., Summers, P. S. and Weretilnyk, E. A. 2000. Phosphocholine synthesis in spinach: Characterization of phosphoethanolamine N methyltransferase. *Physiol. Plantarum.* **108**, 286-294.
25. Stolzy, L. H. and Sojka, R. E. 1984. Effects of flooding on plant disease. In: Flooding and plant growth. Academic Press. 221-264.
26. Trapnell, C., Pachter, L. and Salzberg, S. L. 2009. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics* **25**, 1105-1111.
27. Trapnell, C., Williams, B. A., Pertea, G., Mortazavi, A. M., Kwan, G., van Baren, M. J., Salzberg, S. L., Wold, B. and Pachter, L. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat. Biotechnol.* **28**, 511-515.
28. Valverde, F., Mouradov, A., Soppe, W., Ravenscroft, D., Samach, A. and Coupland, G. 2004. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science* **303**, 1003-1006.
29. Van Toai, T. T., St. Martin, S. K., Chase, K., Boru, G., Schnipke, V., Schmitthenner, A. F. and Lark, K. G. 2001. Identification of a QTL associated with tolerance of soybean to soil waterlogging. *Crop Sci.* **41**, 1247-1252.
30. Wilkes, D. E., Rajagopalan, V., Chan, C. W., Kniazeva, E., Wiedeman, A. E. and Asai, D. J. 2007. Dynein light chain family in tetrahymena thermophila. *Cell Motil. Cytoskeleton* **64**, 82-96.
31. Win, P. P., Kyi, P. P. and Waele, D. D. 2011. Effect of agroecosystem on the occurrence of the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* on rice in Myanmar. *Australas. Plant Pathol.* **40**, 187-196.
32. Yoon, J. B. and Park, H. G. 2005. Trispecies bridge crosses, (*Capsicum annuum* × *C. chinense*) × *C. baccatum*, as an alternative for introgression of anthracnose resistance from *C. baccatum* into *C. annuum*. *J. Kor. Hort. Sci.* **46**, 5-9.
33. Zhou, M. X., Li, H. B. and Mendham, N. J. 2007. Combining ability of waterlogging tolerance in barley. *Crop Sci.* **47**, 278-284.

초록 : 내습성 고추 품종 육성을 위한 선발계통의 유전적 특성 구명

양은영* · 채수영 · 홍종필 · 이해은 · 박은준 · 문지혜 · 박태성 · 노미영 · 김옥례 · 김상규 · 김대영 · 이선이 · 조명철
(농촌진흥청 국립원예특작과학원 채소과)

내습성 및 감수성 선발계통 각 1점씩을 대상으로 침수처리 후 GO 분석을 통해 추출된 유전자들을 기능별로 분류해보면 생물학적 과정(biological process)에 관여하는 유전자 발현이 가장 크게 영향을 받았으며, 분자 기능(molecular function)과 세포 요소(cellular component) 관련 유전자를 포함하여 모든 기능의 유전자 발현 변화가 감수성 계통보다 내습성 계통에서 크게 일어났다. 침수처리 후 발현 양상이 유의하게 차이나는 유전자의 보다 자세한 기능을 측정한 결과 내습성 계통에서 발현량이 증가한 유전자는 CA02g26670은 CONSTANS protein과 관련된 유전자로 일장조건에 따른 개화조절에 관여하는 유전자이며, 발현량이 감소한 유전자는 CA01g21450, CA01g22480, CA01g34470, CA02g00370, CA02g00380이었다. 감수성 계통에서 침수처리 후 발현량이 증가한 유전자는 CA02g09720, CA02g21290, CA03g16520, CA07g02110, CA12g17910이었는데 각각 단백질 분해효소 활성 저해, DNA binding, 세포벽 분해효소 억제, nodulin 관련 유전자 등으로 밝혀진 유전자들이었다. 감수성 계통에서 발현량이 감소한 유전자는 CA02g02820, CA03g21390, CA06g17700, CA07g18230로 각각 칼슘이온결합, 고온환경 발현기작, 레시틴 생합성 경로의 수용성중간대사체인 phosphocholine 합성 및 저온스트레스 관련 등의 기능을 한다. 내습성 계통과 감수성 계통에서 동시에 발현이 증가한 유전자는 고온 등 환경스트레스로 인한 apoptosis와 관련된 유전자와 peroxidase와 관련된 유전자로 확인되었고, 발현이 동시에 감소한 유전자는 nucleoside transporter인 CA02g16990로 확인되었으며, 나머지 선발 유전자는 유전자 발현이 확인되지 않았다. 내습성 및 감수성 계통간 습해 조건에서 발현에 차이를 보이는 유전자 구명을 기반으로 향후 불량환경에 대해 저항성을 보이는 계통 육성 및 관련 생리반응에 대한 다양한 연구가 필요하다.