



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

한국 재래 감귤 당유자 변이계통의  
형태·유전학적 특성 분석

제주대학교 산업대학원

원예학과

진국림

2020년 8월

# 한국 재래 감귤 당유자 변이계통의 형태·유전학적 특성 분석

지도교수 송 관 정

진 국 립

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함

2020년 8월

진국립의 농학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 조 영 열 교수님 \_\_\_\_\_

위 원 한 상 현 교수님 \_\_\_\_\_

위 원 송 관 정 교수님 \_\_\_\_\_

제주대학교 산업대학원

2020년 8월



# Morphological and Genetic Characterization of the Variants of Dangyooza, Korea Landrace Citrus.

Kook-Lhim Zhin

(Supervised by professor Kwan Jeong Song)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the  
degree of Master of Agriculture

Department of Horticulture  
GRADUATE SCHOOL OF INDUSTRY  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

# 목 차

목 차.....	i
List of Tables.....	ii
List of Figures.....	iii
Abstract.....	iv
I. 서언.....	1
II. 재료 및 방법.....	3
1. 식물재료.....	3
2. 형태·생화학적 특성.....	3
3. 핵형분석.....	4
4. 엽록체 유전변이.....	4
III. 결과 및 고찰.....	6
1. 잎 및 과실의 형태적 특성.....	6
2. 과실의 생화학적 특성.....	12
3. 엽색체의 CMA 핵형 특성.....	15
4. 엽록체 trnL-trnF intergenic 부위의 염기서열 특성.....	17
IV. 초록.....	19
인용문헌.....	20

## LIST OF TABLES

Table 1. Morphological characteristics of leaf in three different types of DY (DY, BDY and SDY) . .....	9
Table 2. Morphological characteristics of fruits in three different types of DY (DY, BDY and SDY). .....	11
Table 3. Individual flavonoid concentration in DY, BDY and SDY. ....	14

## LIST OF FIGURES

Fig. 1. Phenotypes of leaves and fruits from DY, BDY and SDY. ....	8
Fig. 2. Relationship between volume of fruit and fruit weights of BDY and SDY. ....	10
Fig. 3. CMA/DAPI stained somatic chromosomes in BDY and SDY. ....	16
Fig. 4. Nucleotide sequence alignment and amplified DNA barcode ( <i>trnL-trnF</i> ) region of DY, BDY, and SDY according to the sequence alignment of the chloroplast <i>trnL-trnF</i> region. ....	18

# ABSTRACT

The study was carried out to evaluate the morphological and genetic characteristics of two variants, buk-dangyooza (BDY) and sol-dangyooza (SDY) with a comparison of common dangyooza (DY), a Jeju landrace citrus, growing in Gawkji-ri, Aewole-up, Jeju, Korea. The leaf morphology of BDY was very similar to that of common DY, however a little different from that of SDY. The fruit morphology showed a very similar tendency among three variants, in which the fruit size, peel thickness, and peel hardness of BDY were a very similar to those of DY being large, thick and soft, respectively. However, those of SDY being small, thin, and hard, were different from those of SDY and DY. These fruit characteristics were related to puffiness indicated as a specific gravity. There was a great difference of flavonoid content in fruits, which was especially distinguishable in pulp than peel. The pulp of SDY showed higher flavonoid content compared to that of DY and BDY by 1.1–1.4, 1.4–1.8, 1.7–1.9, 2.1–2.3, and 2.1–2.4 times, in narirutin, naringin, rutin, neohesperidin, and hesperidin, respectively. The karyotype on CMA banding pattern was same with 1A + 3B + 1C + 7D + 6E in all three types of DY. The sequence alignment of chloroplast DNA trnL-trnF region indicated by PCR amplification also was the same in all three types of DY. Therefore, the study indicates that morphological and genetic variations for DY variants, Jeju landrace citrus might be caused by a variation induced from the seedling of nucellar origin, not sexual hybridization. Further research is needed on genetic and epigenetic variations in the future



## I. 서 언

감귤은 세계 과수 생산량의 약 17%로서(FAO, 2018) 세계에서 가장 많이 재배 생산되고 가치 높은 중요한 과수 중의 하나이다. 우리나라 제주도의 감귤 재배 면적, 생산량 및 농가수의 관점에서 보면, 감귤은 대단히 중요한 산업적 가치를 가진 농작물로서 제주 경제사회 공동체 상에 매우 큰 영향력을 주고 있다. 그럼에도 불구하고 제주지역에서 감귤의 분명한 기원과 유래는 물론 그 유전적 특성에 대해서도 알려진 바가 거의 없다(Jung et al., 2005).

제주 재래 감귤은 고려시대부터 왕에게 진상되는 매우 중요한 지역 토산품의 하나로 기록되어 있으나, 그 종류에 대해서는 조선시대 초기에 와서야 알려지기 시작하였다(Kim, 1988; Kim et al., 2001; Jung et al., 2005; Moon et al., 2007). 조선시대 후기에는 동정귤(*Citrus erythrosa*. Hort, ex Tam), 유감(*Citrus suavissima* Hort, ex Tam)과 당유자 [*Citrus grandis* (L.) Osb] 를 포함하여 20여 종이 재배된 것으로 알려져 있다. 그러나 현재 단지 12종의 재래 감귤만이 유전자원으로서 보존되고 있다. 재래 감귤 중에서 당유자는 과실이 가장 크고 정월 명절 등의 제사용 과실로 중요하게 취급되어 왔는데, 오랜 전부터 민간에서 감기 예방 등의 기능성 효과가 알려져 있다(Lim et al., 2006; Kim et al., 2009). 또한 삭막한 겨울에 정원의 나무에 달린 주황색의 큰 과실을 감상할 수 있음은 그 집안을 더욱 운치있게 만들기 때문에, 예로부터 집의 정원이나 뒤 뜰에 정원수로 재식되어 현재까지 남아 있게 된 것으로 생각된다. 제주 재래 감귤 당유자는 외관상으로 구별되는 과실 형질의 뚜렷한 차이에 따라 북당유자와 솔당유자로 구분되어 불리워져 왔다. 그렇지만 아직도 이들 변이 감귤들에 대한 형태학적 특성이나 화학적 성분 및 유전학적 특성에 대한 연구는 전무한 실정이다.

감귤의 종 및 품종의 분화 발생 관계는 매우 복잡하여 명확히 알려져 있지 않았으나,

최근 분자생물학적 기술의 발달로 점차 밝혀지고 있다. 감귤속 식물의 분류학적 연구는 주로 형태학적 특성과 생화학적 특성에 기저하고 있으며(Tatum et al., 1974 ; Barret and Rhode, 1976 ; Scora, 1988), 그 다음으로는 isozyme의 분석(Rahman and Nito, 1994)과 DNA 분석(Feferici et al., 1998 ; Nicolosi et al., 2000 ; (Asadi Abkenar et al., 2004)이 citrus 분류군을 더 명확히 설명하는 데 적용되어 졌다. RADP와 SSR maker를 사용한 유전적 다양성에 대한 연구도 만다린 내의 한정된 유전 염기 서열을 밝혀 내었다 (Colette-Filho et al., 1981; Machado et al., 1996; El-Mouei et al., 2011). 또한 염색체의 핵형 분석이 종 형성 및 품종 분화를 밝히는 데 사용되어 왔다(Guerra, 1993; Miranda et al., 1997; Befu et al., 2000; Yamamoto and Tominoga, 2003; Carvalho et al., 2005; Yi et al., 2018a and 2018b).

그러므로 본 연구에서는 제주 재래 당유자의 변이체인 북당유자와 술당유자에서 여러 가지 형태학적 특성을 평가함은 물론 핵형 및 세포질 유전체의 염기서열 분석 등의 유전학적 특성을 분석하여 제주 재래 감귤 당유자 변이체의 기원에 대한 단서를 탐구하고 가치를 발굴하여 신품종 개발 등의 활용 가능성을 평가하고자 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물재료

제주도에서 예로부터 알려져 오던 재래 감귤 당유자(*Citrus grandis*)의 2가지 변이 형태인 북당유자(Bukdangyooza, BDY)와 솔당유자(Soldnagyoza, SDY)의 잎과 과실을 제주시 애월읍 곽지리 마을에서 채취하여 본 연구의 식물재료로 이용하였다. 보통의 당유자의 식물은 제주특별자치도 농업기술원의 유전자원 포장에 보존하고 있는 것을 이용하였다.

### 2. 잎과 과실의 형태적 · 생화학적 특성 분석

잎의 형태적 특성에 대해서는 잎의 형태, 선단의 형태, 길이, 폭, 엽병 익엽의 크기를 각각 조사하였다. 과실의 형태적 특성으로는 과중, 길이, 직경, 과피의 두께, 당도 및 산도, 그리고 비중을 각각 측정하였다. 과실의 당도와 산도는 과즙 착즙하여 디지털당산측정기(GMK-707R, G-won Co., Korea)로 측정하였다. 과실의 비중은 과중과 부피를 측정한 후 그 비율로 산출하였다.

과실의 생화학적 특성에 대해서는 과피와 과즙의 플라보노이드 성분을 70% 에탄올로 추출한 후 농축한 다음 증류수로 희석하여 UV-VISs decter(Wters 2489)가 장착된 HPLC(e 2695 Separation module, Waters, USA)로 그 함량을 측정하였다. HPLC 분석 컬럼으로는 YMC-Triart C18 column(size 250 x 4.6mm, particle size 5 $\mu$ m, pore size 8nm)(YMC Co., Ltd., Japan)을 사용하였고, 이동상으로 유속 10mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>의 acetonitrile과 20mM phosphoric acid의 혼합(2:8, v/v) 용액을 이용하였으며, 280nm에서 검출하여 정량하였다.

### 3. 핵형 분석

염색체 시료는 Dutt 방법(Dutt et al., 2010)을 변형하여 준비하였다. 과실의 종자를 채취하여 25℃의 암실에서 발아시킨 후 1cm 정도가 자란 뿌리의 선단을 절취하였다. 절취한 뿌리 끝은 2mM 8-Hydroquinoline에 담가 암상태에서 4℃로 12시간 처리한 후 고정액(absolute ethanol: glacial acetic acid, 3:1)에 담가 분석 전까지 냉동 보관하였다. 고정된 근단 시료는 증류수로 세척한 후 2% cellulase(Sigma-Aldrich, USA)와 1% macerozyme R-200(Yakurt, Japan) 및 0.3% pectolyase Y-23(Kyowa Chemical Industry Co., Ltd., Japan)가 혼합된 효소액에 37℃에서 1시간 동안 처리하였다. 이들 근단 시료들을 슬라이드 글라스 위에 올려놓고 위에서 미세한 핀셋을 사용하여 고정액을 한 방울 떨어뜨려 세포 내용물을 퍼트린 후 공기 중에서 건조시켰다.

건조 후 현미경으로 관찰할 표본을 Befu et al. (2000)의 방법에 따라 chromomycin A3(CMA)와 4', 6-diamidino-2-phenylindole(DAPI)로 염색하였다. 표본 시료를 5mM MgCl<sub>2</sub>를 함유한 McIlvaine's buffer로 30분 동안 처리한 후 0.5mg·ml<sup>-1</sup> CMA로 1시간 처리한 다음, McIlvaine 완충액으로 10분간 세척하였다. 이를 1.5µg·ml<sup>-1</sup> DAPI(Vector Laboratories, Burlingame, CA)를 함유한 Vectashield mounting medium을 떨어뜨린 후 커버글라스를 얹은 다음 UV filter cassette가 내장된 형광현미경(Olympus BX51, Olympus Co., Japan)으로 핵형을 조사하였다.

염색체의 핵형을 CCD 사진기(Olympus DP71, Olympus Co., Japan)로 촬영하고 DP manager software(Olympus Co., Japan)을 사용하여 분석하였다. 핵형의 유형은 5-10개 세포에 대해 CMA 형광 밴드의 수와 위치에 근거하여 결정하였다.

#### 4. 엽록체 trnL-trnF intergenic 부위의 유전변이 분석

엽록체의 DNA를 추출한 후 trnL-trnF intergenic 부위를 universal primer를 사용하여 증폭하였다(Jung et al., 2005). PCR 증폭은 20ng genomic DNA, 5 $\mu$ L 2X HS<sup>TM</sup> Taq mix (Dongsheng Biotech Co., Ltd., Guangzhou, China)와 10pmol forward·reverse primer의 0.2 $\mu$ L로 구성된 10 $\mu$ L의 반응액을 ABI 2720 thermal cycler(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 initial denaturation 후 95 $^{\circ}$ C에서 30초 denaturation, 55 $^{\circ}$ C에서 30초 annealing, 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 1분 extension를 30회 반복한 후, 72 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 extension으로 수행하였다.

PCR 증폭 산물은 Biomedic<sup>®</sup> Gel & PCR purification Kit(Biomedic Co., Ltd., Korea)를 이용하여 정제한 후 염기서열을 dGTP Big Dye<sup>®</sup> Terminator v3.0 Reaction Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems, USA)를 사용하여 결정하였다.

### Ⅲ. 결과 및 고찰

#### 1. 잎 및 과실의 형태적 특성

당유자의 변이 계통인 북당유자(BDY)와 솔당유자(SDY)의 잎과 과실의 형태적 특성을 일반 당유자와 비교하여 Fig.1과 Table 1에 나타내었다. 북당유자의 잎 형태는 약간 타원형(elliptical)으로 일반 당유자와 거의 동일하게 나타났으나, 솔당유자의 난형(ovate)과는 약간 차이가 있었다(Fig. 1). 잎 선단의 형태도 북당유자와 일반 당유자는 참침두(acuminate)를 나타내었으나, 솔당유자는 예두(acute)를 나타내어 차이가 있었다(Table 1). 잎의 길이는 비슷하였으나, 잎의 너비는 솔당유자가 약간 넓은 편이었다. 엽병의 익엽은 북당유자와 일반 당유자에서 작게 나타났으나, 솔당유자는 약간 커서 뚜렷한 편이었다.

과실의 형태적 특성에 있어서는 북당유자와 일반 당유자는 크기가 크고 꼭지는 약간 도출된 편이며, 과피가 두껍고 과심에 공간이 많은 편으로 서로 비슷하게 나타났으나, 이와 달리 솔당유자의 과실은 약간 작고 과피가 얇으며 과육과 밀착되어 있고 과심의 중심부도 공간이 적었으며 과피의 경도가 단단한 편이었다(Fig. 1 및 Table 2). 과실의 당도는 거의 차이가 없었으며, 산도는 솔당유자가 약간 높은 편이었다. 과실의 비중은 북당유자가 솔당유자보다 높게 나타났다(Fig. 2). 과실의 형태적 특성에서는 그 이름의 유래를 짐작할 수 있었는데, 북은 제주어로 부서부서하다는 의미로 사용되어 과실의 부피(puppy) 현상을 나타내고 있으며, 솔은 제주어로 쌀의 단단한 의미로 사용되어 과실의 부피 현상이 나타나지 않음을 의미하고 있다. 이는 과실의 비중과 과피의 경도에서 조사된 바와 같이, 북당유자의 과실은 과피와 과육이 분리되어 과실이 큰 편이었고 비중은 낮았으며

술당유자의 과실은 과피와 과육이 밀착되고 단단하여 과실의 크기도 작게 나타난 것과 관계되었다(Fig. 1). 또한 민간에서는 북당유자의 과실은 신맛보다 단맛이 강하고 붕이 있어 정월 명절의 차례상의 제물로 올려져 이용되어 왔으나, 술당유자의 과실은 신맛이 매우 강하여 고팡(제주 고어의 팡을 뜻함)에 저장하였다가 한 두 달 후에 식용하거나 감기에 걸리면 차를 만들어 먹곤 하였는데, 본 연구에서 조사된 과실 당산도의 특성은 이를 반영하고 있었다(Table 2). 감귤 과실에서 albedo 또는 중과피층은 flabedo 또는 과피의 최외층과 양낭(segment)사이에 위치하는 흰 spongy와 같은 물질이다. 이 albedo의 breakdown에 의한 분리 현상(puffiness)은 온주밀감 등의 만다린 감귤에서 나타나는 공통된 특징인데(Li and Chen, 2017), 문단 또는 그레이프프루트에서는 잘 보고되지 않은 특성으로 향후 유전자 발현 특성을 분석하는데 좋은 연구 재료로 활용될 수 있을 것으로 판단되었다.



Fig. 1. Phenotypes of leaves and fruits from common dangyooza (DY), buk-dangyooza (BDY), and sol-dangyooza (SDY).



Table 1. Morphological characteristics of leaf in three different types of common dangyooza (DY), buk-dangyooza (BDY), and sol-dangyooza (SDY).

Varietal type	Leaf shape	Leaf apex shape	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Size of petiole wings
DY	Elliptical	Acuminate	10.4±0.2 <sup>z</sup>	5.0±0.1	Small
BDY	Elliptical	Acuminate	10.2±0.5	4.8±0.3	Small
SDY	Ovate	Acute	10.5±0.4	6.5±0.4	Medium

<sup>z</sup>Data presented means±SE (n=10).

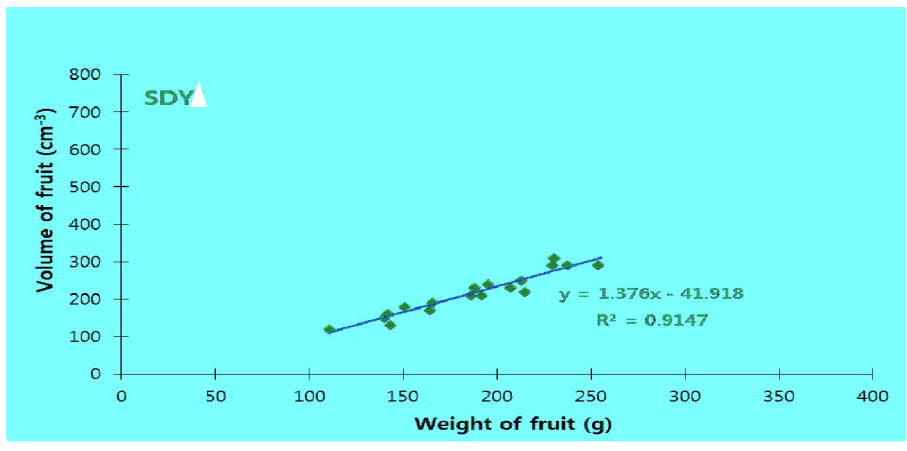
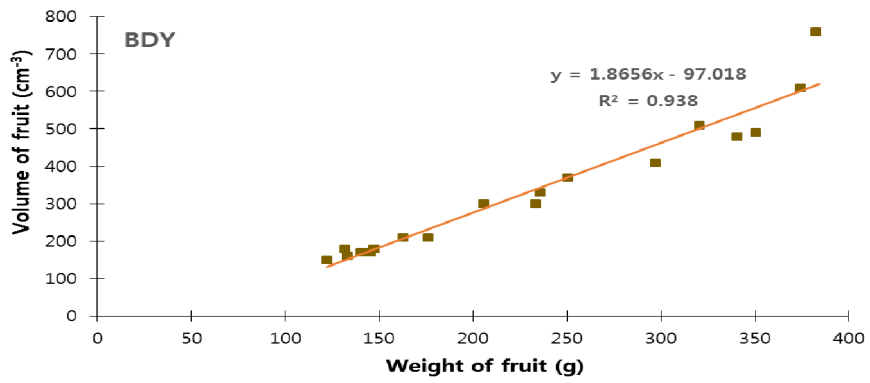


Fig. 2. A specific gravity calculated by correlation between the volume and weight of fruits of buk-dangyooza (BDY) and sol-dangyooza (SDY).

Table 2. Morphological characteristics of fruits in three different types of common dangyooza (DY), buk-dangyooza (BDY), and sol-dangyooza (SDY).

Varietal type	Fruit weight (g)	Fruit length (mm)	Fruit diameter (mm)	Fruit firmness (kg•cm <sup>-2</sup> )	Peel thickness (mm)	SSC (°Brix)	Acidity (%)
DY	323.0±47.0 <sup>z</sup>	94.5±8.1	93.9±4.5	3.16±0.15	12.5±0.6	10.8±0.3	3.1±0.1
BDY	336.4±12.9	98.7±3.0	96.2±1.3	3.52±0.08	11.8±0.7	9.0±0.3	3.2±0.3
SDY	240.8±7.5	84.0±2.0	79.6±2.7	4.33±0.09	8.9±0.3	10.5±.4	3.5±0.2

<sup>z</sup>Data presented means±SE (n=10).

## 2. 과실의 생화학적 특성

당유자 변이체 과실의 생화학적 성분 특성은 Table 3에 나타난 바와 같다. 루틴을 포함하여 7종의 플라보노이드 함량을 분석하였는데, 과피에서만 함량이 나타나는 노빌리틴과 탄제레틴을 제외하면 거의 대부분의 플라보노이드 함량은 과육보다는 과피에서 더 높게 나타남을 확인할 수 있었다. 플라본의 하나인 루틴은 감귤에서 공통적으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있는데(Nogata et al., 2006), 당유자 계통에서는 과육보다는 과피에서 1.8-2.5배 더 높은 농도로 검출되었다. 당유자 과육의 루틴 농도는 당유자와 복당유자의 과육에 함유된 것보다 55% 더 높았다. 나리루틴, 나린진, 헤스페리딘, 그리고 네오헤스페리딘을 포함한 감귤에서의 주요 플라보논은 솔당유자 과피에서의 나리루틴만을 제외하면 솔당유자의 과육과 과피 둘 모두에서 더 높게 나타났다. 솔당유자의 과육과 과피에서 헤스페리딘과 네오헤스페리딘의 농도는 당유자와 복당유자의 것들보다 현저하게 높게 나타났다. 예외적으로 솔당유자의 과육은 다른 두 계통보다도 헤스페리딘과 네오헤스페리딘의 농도가 거의 2배나 더 높게 나타났다. 감귤의 외과피에서 특이적으로 함유하고 있는 것으로 알려진 polymethoxylate flavone(PMFs)의 노빌리틴과 탄제레틴은 3개 계통 모두의 과피에서만 검출되었으며, 그 함량에 있어서는 별 차이를 보이지 않았다. (Gattuso et al., 2007 ; Yang et al., 2019) 감귤에서의 PMFs은 감귤 과실의 외과피에서만 검출되었다고 보고되고 있다.

과실의 형태적 특성에 더해서 생화학적 분석에 대한 연구가 감귤의 계통 분류에 적용되어 왔으며(Barrett and Rhodes, 1976), 또한 어린 신초의 methoxy flavonoid 화합물을 분석하여 주심배 실생과 교잡 실생의 구별에도 이용되어 왔다. 그러므로 당유자 계통에서도 변이 계통 간의 구분이나, 또는 주심배 기원과 교잡 기원의 실생 구별에도 플라보노이드 성분의 특성 분석이 활용될 수 있을 것으로 보아진다. 또한 당유자 계통에 따른 플라보노이드 함량의 차이는 관련 유전자의 발현 양상의 차이를 반영하고 있는 것으

로서 플라보노이드 관련 유전자 발현 특성을 연구하는 연구재료로 충분히 활용될 수 있을 것으로 판단되었다.

Table 3. Individual flavonoid concentration (mg•100mg<sup>-1</sup> FW)in three different types of common dangyooza (DY), buk-dangyooza (BDY), and sol-dangyooza (SDY).

Flavonon	DY		BDY		SDY	
	Pulp	Peel	Pulp	Peel	Pulp	Peel
Rutin	914.54±35.95 <sup>z</sup>	2320.31±120.15	825.15±32.60	1605.47±65.70	1553.44±56.46	2814.37±129.30
Narirutin	165.25±6.87	191.12±10.98	213.76±7.68	242.88±9.27	231.82±9.20	188.31±8.85
Naringin	2126.25±95.59	3234.51±166.73	1644.30±61.60	3028.63±112.84	2895.95±111.15	3532.71±159.19
Hesperidin	32.66±2.70	108.70±6.17	36.78±1.42	104.73±4.61	77.51±3.62	155.13±10.29
Neohesperidin	1225.67±59.50	3445.06±181.75	1134.21±44.14	2654.91±104.85	2595.72±105.55	4547.19±210.24
Nobiletin	-	113.20±4.23	-	113.47±4.61	-	117.51±3.86
Tangeretin	-	68.77±1.86	-	62.45±1.40	-	57.44±1.01

<sup>z</sup>All data presented means±SE(n=3).

### 3. 염색체의 CMA 핵형 특성

복당유자와 술당유자의 체세포 전중기의 염색체는 모두 2배체( $2n=18$ )로 나타났다 (Fig. 3). 염색체의 CMA 핵형은 Befu 등(Befu et al., 2000)과 Miromda 등(Miromda et al., 1997)이 보고한 바와 같이 CMA banding의 수와 위치에 근거하여 A형은 한 염색체의 CMA 양성 반응 부위가 두 곳의 말단 부위와 한 곳의 중앙부에 나타나고, B형은 말단부 한 곳과 중앙부 한 곳에, C형은 말단부 두 곳에, D형은 말단부 한 곳에 양성반응을 나타내며, E형은 banding이 전혀 나타나지 않은 것으로 구분된다. Fig. 3에서와 같이 복당유자와 술당유자의 핵형은 A형이 1개, B형이 3개, C형이 1개, D형이 7개, 그리고 E형이 6개로 나타나, 두 계통 모두  $1A+3B+1C+7D+6E$ 로 동일하였으며, 이는 기존에 보고된 당유자의 핵형(Yi et al., 2018)과 동일하였다. 그러므로 이들 당유자 변이 계통들은 교잡에 의해 나타나는 변이가 아닌, 주심배 또는 아조변이 유래로 발생할 수 있는 변이체로 볼 수 있을 것이다. 그러나 당유자는 다른 재래 감귤과는 달리 자가불화합성이 강하지만 (Pok et al., 2015), 다른 종의 꽃가루에 의해 교배될 때 종자의 형성은 주심배와 교잡배가 혼재하는 것으로 알려져 있다(Woo et al., 2019). 또한 조선시대에는 감귤의 접목 기술이 알려져 있지 않기에 종자 번식에 의존하여 증식되었을 가능성이 매우 높기 때문에, 이들 당유자 간의 변이는 아조변이 기원이 아닌 주심배 기원으로 파생된 것으로 추정하는 것이 타당할 것이다. 그러나 이들 계통 간 형태적 또는 생화학적 변이가 유전자 돌연변이에 기인한 것인지, 아니면 후성유전적 영향에 기인한 것인지는 알 수 없으므로 향후 추가적인 연구가 필요한 실정이다.

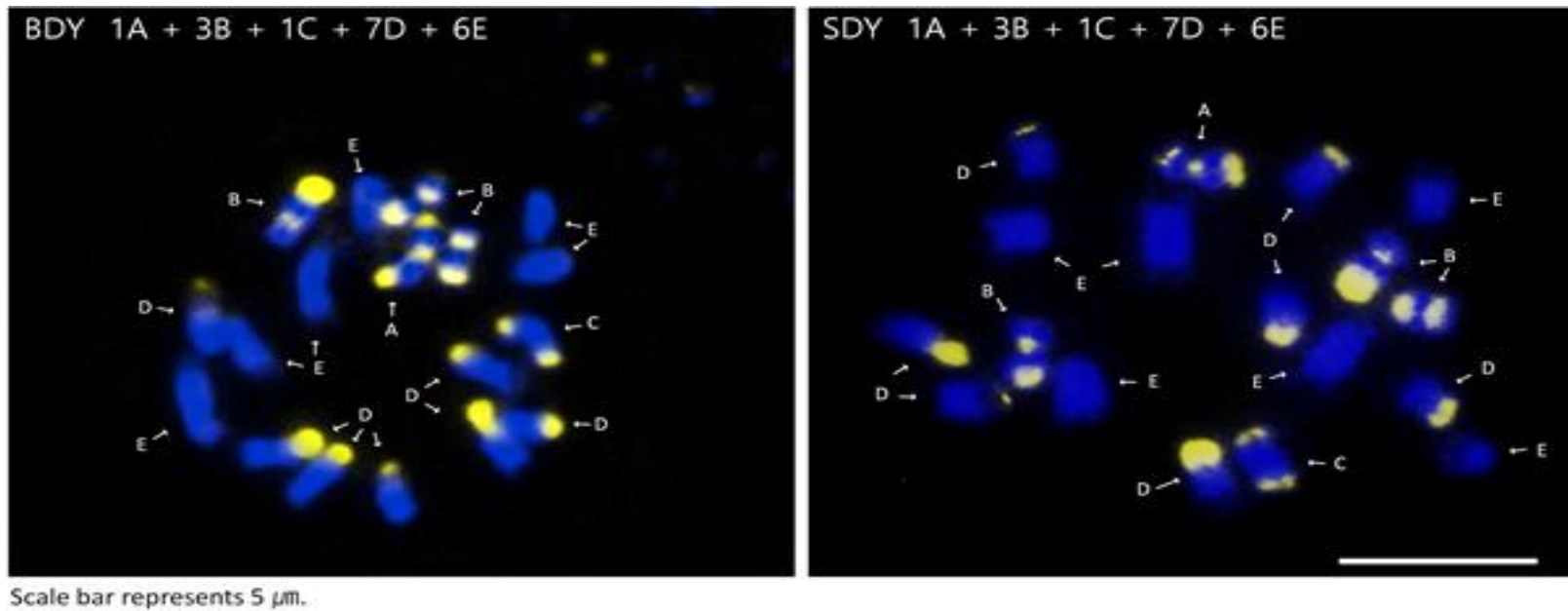


Fig. 3. CMA/DAPI stained somatic chromosomes in buk-dnagyoza (BDY) and sol-dangyoza (SDY). Alphabetical letters are labeled according to the number and distribution of CMA positive bands. A: two telomeric and one proximal bands, B: one telomeric and one proximal bands, C: two telomeric bands, D: one telomeric band, E: no band. The gray regions signify CMA positive bands. Scale bar indicates 5  $\mu$ m.



#### 4. 엽록체 trnL-trnF intergenic 부위의 염기서열 특성

엽록체 DNA 분석은 교잡에서 종자친의 유래와 유연관계를 확인할 수 있는 방법의 하나이다(Jin et al., 2019). 엽록체 trnL-trnF intergenic 영역은 leucine-tRNA를 coding하는 trnL 유전자와 phenylalanine을 coding하는 trnF 유전자 사이의 영역을 말하는데, 일반적으로 세 가지 영역 즉, trnL intron, trnL 3'exon, trnL-trnF 사이의 intergenic non-coding 영역으로 구성되어 증폭되도록 PCR을 수행한다(Kim et al., 2008). 본 연구에서 이들 영역을 PCR 증폭한 결과를 Fig.4에 제시하였는데, 당유자 3개 계통 모두에서 엽록체 trnL-trnF의 염기서열은 일치하였으며 361bps로 동일하게 나타났다. 이는 앞의 결과에서 보여준 핵형의 일치와 함께 이들 당유자 변이 계통들이 교잡 기원이 아님을 분명하게 보여주고 있다.

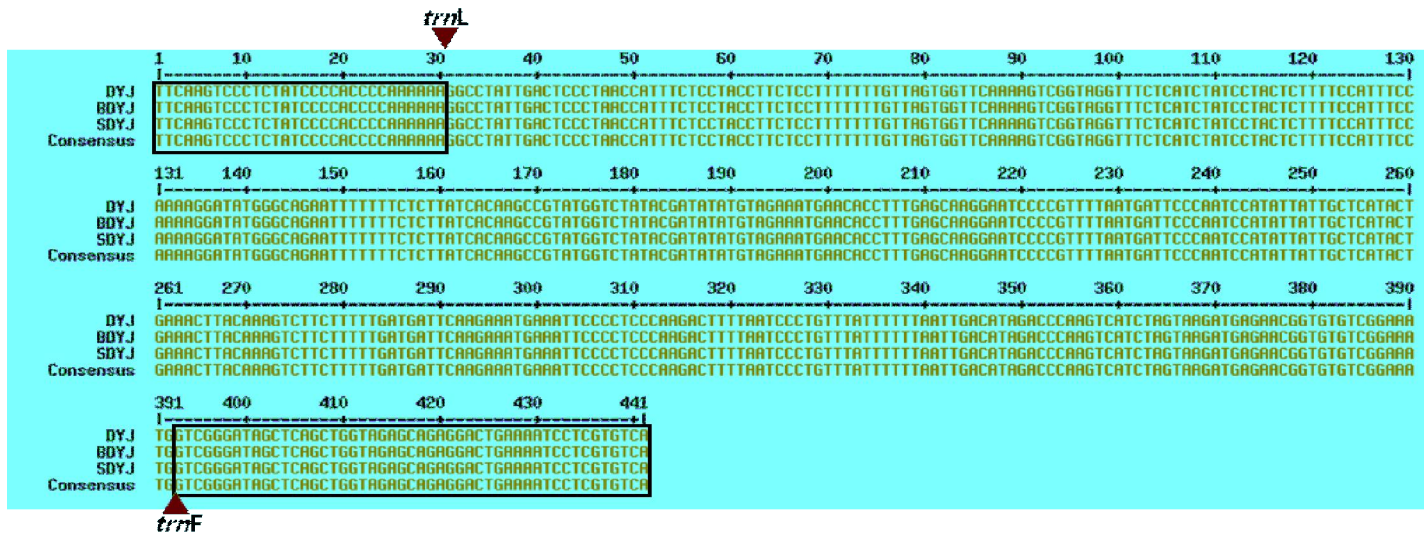


Fig. 4. Nucleotide sequence alignment and amplified DNA barcode (chloroplast *trnL-trnF*) region in three different types of common dangyooza (DY), buk-dangyooza (BDY), and sol-dangyooza (SDY).

#### IV. 초록

본 연구는 제주도 애월읍 광지리에서 자라고 있는 제주 재래 감귤의 당유자 변이 계통인 북당유자와 솔당유자의 형태적 및 유전적 특성을 규명하고자 수행하였다. 북당유자의 잎 형태는 일반 당유자와 유사하였으나, 솔당유자의 잎 형태와는 약간 다르게 나타났다. 과실의 형태도 잎의 형태와 매우 유사한 양상을 보였는데, 북당유자의 과실 크기, 과피의 두께 및 경도는 일반 당유자와 매우 유사하여 각각 크고, 두꺼우며, 연하게 나타났다. 반면 솔당유자는 과실은 작고, 과피가 얇으며, 단단하여 북당유자와 일반 당유자의 과실 특성과는 다르게 나타났다. 이들 과실의 특성들은 비중에 의해 나타난 바와 같이 부피 발생과 관련되었다. 과실의 플라보노이드 함량에 있어서도 차이가 있었는데, 특히 과피보다는 과육에서 분명하게 나타났다. 솔당유자의 과육은 일반 당유자와 북당유자의 과육에서의 플라보노이드 함량이 높게 나타났는데, 나리누틴, 나린진, 루틴, 네오헤스페리딘 및 헤스페리딘에서 약 1.1-1.4, 1.4-1.8, 1.7-1.9, 2.1-2.3, 그리고 2.1-2.4배 정도 높았다. DMA 염색 양상에 근거한 핵형은 1A+3B+1C+7D+6E로 모든 당유자 변이 계통에서 동일하게 나타났다. 엽록체 DNA의 trnL-trnF 영역의 PCR 증폭 염기서열도 모두 동일하였다. 그러므로 본 연구결과 제주 재래 감귤 당유자 변이 계통의 형태적 변이는 교잡 실생이 아닌 주심심 기원 유래의 변이로 발생된 것으로 확인되었으며 향후 유전적·후성적 변이에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 판단되었다.

## 인 용 문 헌

- Abkenar AA, Isshiki S, Tashiro Y (2004) Phylogenetic relationships in the “True citrus fruit trees” revealed by PCR-RELP analysis of cpDNA. *Sci Hortic* 102:233–242
- Barett HC, Rhodes AM (1976) A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultured citrus and close relatives. *Syst Bot* 1:105–136 (Abstr.)
- Befu M, Kitajima A, Yang X, Hasegawa K (2000) Classification of ‘Tosa-Buntan’ pummelo (*Citrus grandis* [L.] Raf.) chromosome using young leaves. *J Japan Soc Hortic Sci* 69:22–28
- Carvalho R, Soares Filho WS, Brasileiro-Vidal AC, Guerra M (2005) The relationships among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison. *Cytogenet Genome Res* 109:276–282
- Coletta-Filho H, Machado MA, Targon MLPN, Moreira MCPQDG, Pompeu Jr J (1998) Analysis of the genetic diversity among mandarins (*Citrus spp.*) using RAPD markers. *Euphytica* 102:133–139
- Dutt M, Vasconcellos M, Song KJ, Gmitter FG, Grosser JW (2010) In vitro production of autotetraploid Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) using cell suspension cultures. *Euphytica* 173:235–242
- El-Mouei R, Choumane W, Dway F (2011) Molecular characterization and genetic diversity in genus *Citrus* from Syria. *Int J Agric Biol* 13:351–356
- Federici CT, Fang DQ, Scora RW, Roose ML (1998) Phylogenetic relationships within

- the genus *Citrus* (Rutaceae) and related genera as revealed by RFLP and RALP analysis. *Theor Appl Genet* 96:812–822
- FAO** (2018) FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy
- Gattuso G, Barreca D, Gargiull C, Leuzzi U, Caristi C** (2007) Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* 12:1641–1673
- Guerra M** (1993) Cytogenetics of Rutaceae. V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA/DAPI staining. *Heredity* 71:234–241
- Jin SB, Park JH, Park SM, Lee DH, Yun SH** (2019) A phylogenic analysis of *Citrus* cultivars native to Jeju using chloroplast DNA trnL–trnF and internal transcribed spacer region sequences. *Hortic Sci Technol* 36:585–597
- Jung YH, Kwon HM, Kang SH, Kim SC** (2005) Investigation of the phylogenetic relationships within the genus *Citrus* (Rutaceae) and related species in Korea using plastid trnL–trnF sequences. *Sci Hortic* 104:179–188
- Kim HY** (1988) Distribution, taxonomy, horticultural characters of local *Citrus* spp. in Cheju and the genetic markers among them. Ph.D. Diss. Cheonnam Nat’l Univ, Korea
- Kim MK, Baigalmaa J, Sun H, Yang DC** (2008) Phylogenetic analysis of ji–mo (*Anemarrhena asphodeloides*) on the basis of trnL–F sequences. *Korean J Medicinal Crop Sci* 16:1–7
- Kim YC, Koh KS, Koh JS** (2001) Changes of flavonoids in the peel of Jeju native *Citrus* fruits during maturation. *Food Sci Biotechnol* 10:483–487
- Kim YD, Lo WJ, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH** (2009) Composition of flavonoids and antioxidative activity from Juice of Jeju native citrus fruits during maturation

Korean J Nutr 42:278–290

**Li J, Chen Z** (2017) Citrus fruit–cracking: Causes and occurrence. *Hortic Plant J* 3:255–260

**Lim HK, Yoo ES, Moo JY, Jeon YJ, Cho SK** (2006) Antioxidant activity of extracts from Dangyuja (*Citrus grandis* Osbeck) fruit produced in Jeju Island. *Food Sci Biotechnol* 15(2):312–316

**Machado MA, Coletta Filho HD, Targon MLPN, Pompeu Jr J** (1996) Genetic relationship of Mediterranean mandarins (*Citrus deliciosa* Tenore) using RAPD markers. *Euphytica* 92:321–326

**Miranda M, Ikeda F, Endo T, Morigushi T, Omura M** (1997) Comparative analysis on the distribution of heterochromatin in *Citrus*, *Poncirus* and *Fortunella* chromosomes. *Chromosome Res* 5:86–92

**Moon DK, Kim KS, Kwon HM, Kim CM** (2007) *Citrus* (*Citrus* spp., Rutaceae). pp. 224–234. In JM Lee, GW Choi, J Janick, eds, *Horticulture in Korea*. Korean Soc Hortic Sci Press, Suwon, Korea

**Pok P, Oh EU, Yi KU, Kang JH, Ko BY, Kim HB, Song KJ** (2015) Characterization of microspore development and pollen tube growth response to self– and cross–pollination in Jeju old local citrus species. *Hortic Environ Biotechnol* 56:225–232

**Nicolosi E, Deng ZN, Genetic A, La Malfa S, Continella G, Tribulato E** (2000) Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theor Appl Genet* 100:1155–1166

**Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H** (2006) Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Biosci Biotechnol Biochem* 70(1):178–192

- Rahaman MM, Nito N** (1994) Phylogenetic relationships among the “True citrus fruit trees” by glutamate oxaloacetate transaminase isozymes analysis. *J Japan Soc Hort Sci* 62:755–760
- Scora RW** (1988) Biochemistry, taxonomy, and evolution of modern cultivated citrus. *Proc Int Soc Citricult* 6(1):277–289
- Tatum JH, Berry RE, Hearn CJ** (1974) Characterization of citrus cultivars and separation of nucellar and zygotic seedling by thin-layer chromatography. *Proc Florida State Hort Soc* 87: 75–81
- Woo JK, Park YC, Lee JW, Yun SH, Kim MJ, Park SM, Lee Y, Song KJ, Kim HB** (2019) Evaluation of polyembryony for genetic resources and efficacy of simple sequence repeat markers for the identification of nucellar and zygotic embryo-derived individuals in citrus. *Appl Biol Chem* 62:30
- Yamamoto M, Tominaga S** (2003) High chromosomal variability of mandarins (*Citrus spp.*) revealed by CMA banding. *Euphytica* 129:267–274
- Yang YT, Kim HB, Lee SH, and Park YC** (2019) Composition characteristic of flavonoid in citrus juice. *Hortic Sci Technol* 37:10–19
- Yi KU, Kim HB, Song KJ** (2018) Cytogenetic phenogram with high resolution chromosome configuration of some Korean landrace citrus by CMA banding and rDNA loci. *Sci Hortic* 240:417–424

## 감사의 글

본 연구를 수행하고 논문이 완성되기까지 세심한 안내와 배려 그리고 치밀한 지도를 아끼지 않으신 송관정 교수님께 충심으로 깊은 감사를 드립니다. 또한 심사과정에서 세심한 조언을 해주신 심사위원장 조영열 교수님과 심사위원이신 한상헌 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

대학원 석사학위 전 교육과정을 통하여 많은 학술적 가르침과 학문의 바른 방향에 대하여 충고를 아끼지 않았던 원예학과 강훈 교수님, 소인섭 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

같은 실험실에서 실험과정을 도와주고 애월읍 광지리 2005번지의 제주 재래 감귤 북당유자와 쓰·르당유자의 자생지 답사와 채집을 함께 하여 주신 이경옥 박사님, 논문 발표 준비에 함께 심혈을 기울여 주신 오은의 선생과 김주영 선생을 비롯한 육종학 연구실의 석박사 과정 여러분께도 깊은 감사를 드립니다.

오늘이 있기까지 항상 헌신적으로 그리고 정성과 인내로 뒷바라지를 해주고 있는 사랑하는 아내 서점숙과 기쁨을 함께 하고 싶으며, 학문에의 불타는 정열과 즐기찬 인내를 사랑하는 장남 혜준과 며느리 신수경, 차남 혜정과 며느리 이미선, 장손 훈성, 차손 훈석, 삼손 수한, 손 성훈, 손녀 승현, 그리고 장녀 혜미와 외손 진희에게 전하고 싶다.

사람들은 살아가면서 많은 사람들과 만나고, 만난 사람들과 헤어지곤 합니다. 그러나 스승과 제자 사이의 만남은 보통의 인연과 다른 것 같습니다. 스승의 제자 사랑은 부모의 자식사랑 못지않다는 것을 이 학위과정을 통하여 다시 깨닫게 되었습니다. 학문적 스승의 위대한 참모습을 보게 되었습니다. 감사합니다.