

RAPD를 이용한 장려누에품종의 원종간 유전적 유연관계

Genetic Relationships among the Parental *Bombyx mori* Strains of the Current F₁ Hybrid Silkworm based on RAPD황재삼 · 이진성¹ · 강현아 · 이상몽² · 손해룡³Jae Sam HWANG, Jin Sung LEE¹, Hyun Ah KANG
Sang Mong LEE² and Hae Ryong SOHN³

ABSTRACT The genetic relationships among the twenty parental silkworm, *Bombyx mori* strains authorized in Korea were evaluated using RAPDs-PCR(Random Amplified Polymorphic DNAs-Polymerase Chain Reaction). Twenty-six different 10-mer oligonucleotide primers were used to screen genetic characteristics of parental twenty silkworm strains by RAPD-PCR analysis. 24 primers showed different banding patterns among the strains. Based on these RAPD patterns, the genetic relationships among the silkworm strains were analyzed by UPGMA(Unweighed Pair-Group Method with Arithmetic average) method. The phylogenetic relationships in the twenty silkworm strains were classified into two major sub-groups at the genetic similarity coefficient of 0.60. The first sub-group included Jam113, Jam119, Jam120, Jam123, Jam125 and Jam127. Jam114, Jam121, Jam122, Jam124, Jam126, Jam128, Jam129, Jam130, Jam131, Jam132, Jam133, Jam134, Jam301 and Jam302 were included in the 2nd group. The genetic distance values among Jam114, Jam120 and Jam127 were lower than those among the other strains, while Jam129 is very closely related to Jam131 as showing coefficient value of 1.0.

KEY WORDS Silkworm, *Bombyx mori*, PCR, RAPD

초 록 본 연구에서는 현재 농가에서 일대잡종으로 보급되고 있는 장려누에품종 원종 잠113 등 20계통에 대해서 RAPD-PCR방법을 이용하여 누에 품종간 유전적 유연관계를 분석, 검토하였다. 그 결과 공시한 26개의 primer중 24개의 primer에서 다형화 밴드패턴의 마커가 확인되어, 이들 마커를 UPGMA법에 의해 분석하였다. 그 결과, 유전적 유연계수 0.60을 기준으로 하였을 때 2개의 group으로 나눌 수 있었는데 제 1 group에는 잠 113, 잠 119, 잠 120, 잠 123, 잠 125와 잠 127로서 중국종계 잠 120을 제외하고는 모두 일본종계 품종이 포함되어 있었으며, 제 2 group은 잠114, 잠121, 잠122, 잠 124, 잠126, 잠128, 잠 129, 잠 130, 잠 131, 잠 132, 잠 133, 잠 134, 잠 301과 잠 302로서 일본종계 5품종 중국종계 9품종이 포함되었다. 또한, 잠 114와 잠 120 및 잠 114와 잠 127은 유전거리가 다른 품종에 비해서 가장 낮게 분석되었으며, 잠 129와 잠 131은 유전적 유연계수가 1.0으로 두 품종간에는 유전적 유사도가 아주 높았다.

검색어 누에, PCR, RAPD

농진청 잠사곤충연구소(National Sericulture and Entomology Research Institute, R.D.A., Suwon, Korea, 441-100)

¹KIST 생명공학연구소(Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejeon, Korea)

²밀양산업대학교(Miryang National University, Miryang, Kyung-nam, Korea, 627-130)

³경북대학교 농과대학(College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu, Korea, 702-701)

서론

인류의 누에치기는 BC 2600년경 중국의 양자강을 중심으로 시작되었으며 우리나라에서도 이미 단군시대 이전부터 양잠이 장려된 것으로 보고되어 있다. 이와 같이 누에는 옛날부터 우리 인간의 의, 식, 주 생활 가운데衣의 문제를 해결해 주는데 큰 공헌을 해왔으며, 지금까지도 천연소재 선호경향과 더불어 산업적으로 그 기호성이 증대되고 있다. 그러므로 최초의 야생누에가 인간의 손에 의해 수천 년간 사육되어 오면서 순화, 육종되어 가축근종으로서 오늘날 누에 특유의 성질을 지니게 되었다(川口, 1923; Sasaki, 1898; Yazu, 1913).

누에는 자연적 또는 인위적인 교배와 도태에 의해 수많은 돌연변이가 발생과 함께 각각 고유의 유전형질을 보유하고 있는 누에 품종으로 분화되어 왔다. 누에 품종은 원산지에 따라서 일본종, 중국종, 조선종, 유럽종, 열대종 등으로 분류된다(蒲生, 1980).

누에의 계통분류는 지역적 서식지를 중심으로 한 지리적 분류 외에도 화성, 편성, 견색, 유충반문 및 체액단백질 다형 등이 있으며, 이러한 여러 형질변이에 기초하여 분류하는 방법도 있다(蒲生, 1980; 吉武, 1984). 그러나 상당수의 유전형질들은 수개의 유전자에 의해 복합적인 지배를 받아 발현되는 수가 많고 환경에 의한 영향도 크기 때문에 단순히 외부적인 형질변이만으로 누에품종을 정확하게 동정한다는 것은 대단히 어려운 일이며 한계가 있다.

최근 분자생물학의 발달로 DNA 수준에서 다양한 생물종 및 개체군에 대한 유전적 특성에 따른 유연관계 분석을 가능하게 하는 여러 기술들이 축적되었다. 그 대표적인 것이 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)와 RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNAs)를 이용하는 기술이다.

AP-PCR (Arbitrarily primed-PCR) 또는 DAF (DNA Amplification Fingerprinting)의 한 분석방법인 RAPDs 기법은 임의로 합성한 oligonucleotide를 primer로 하여 대상 생물의 DNA를 증폭하는 기술로서, 증폭된 DNA 밴드의 유무, 수, 패턴 등의 특성은 계통발생학적 분석, 품종판별, 유전적 변이 및 연관 분석 등에 활발히 응용되고 있다 (Black, 1993; Weish & McCland, 1990; Henry, 1992). 이 기법은 대개 유용작물인 감자 (Motoyuki *et al.*, 1992), 토마토 (Micheimore *et al.*, 1991), 벼 (Fukuoka *et al.*, 1992) 등

에서 유전 육종연구에 활발히 이용되고 있으며, 곤충을 대상으로 한 경우는 진딧물 (Black 1993, Weish & McCland, 1990), 모기 (Kambhampati *et al.*, 1992), 메뚜기 (Chapco *et al.*, 1992), 꿀벌 (Greg & Robert, 1995), 집파리 (Gawel & Bartlett, 1993), 벌목 (Edwards & Hoy, 1993; Saul, 1993) 등이다. 또 3800여개의 유전자가 동정된 노랑초파리에서는 이 기법을 이용하여 이들 유전자의 고밀도 분석이 활발히 진행되고 있으며 (Kafatos *et al.*, 1991), 누에에서는 RAPD와 RFLP마커의 탐색 및 이들을 이용한 연관지도 작성, 성특이적인 마커와 멧누에 특이적인 마커가 분리되었다 (Abe *et al.*, 1995; Doira *et al.*, 1992; 小林, 1995).

RFLP는 특정 제한효소의 작용에 의해 생성되는 DNA 절편의 길이가 DNA 염기서열의 변화에 의해 서로 다르게 나타나는 것을 말하는데, 이 방법은 DNA 염기서열상의 자연 돌연변이에 의한 염기하나의 변이만으로도 분석할 수 있으므로 매우 정밀한 유전자변이 식별방법으로 많이 사용되지만, RFLP 검색에 사용하는 probe의 선발 및 확보에는 시간과 비용, 노력을 많이 필요로 하는 단점이 있다 (Paran & Michelmore, 1993; Wild & Powell, 1992). 따라서 적은 노력과 비용으로 신속하게 유전적 특성을 분석할 수 있는 PCR (Polymerase Chain Reaction) 기법으로 random primer를 이용한 RAPD 방법이 개발되어 종의 분류와 유전자 지도 작성에 많이 적용되고 있으며 (Williams, 1990), 본 연구는 현재 농가에 일대 잡종 (F₁)으로 보급되고 있는 장려누에품종 원종 잠 113 등 20계통에 대하여 RAPD 방법을 이용, 유전적 유연관계를 분석하고 RAPD결과의 유전육종적 이용 가능성을 타진하였다.

재료 및 방법

1. 공시곤충

현재 농가에 보급되고 있는 10개 장려누에품종 (F₁)의 원종 20계통을 본 연구의 공시곤충으로 사용하였다 (표 1).

2. 후부건사선 추출 및 보관

Genomic DNA의 추출을 위하여 5령 3일째의 누에 유충을 해부하여 건사선을 꺼내어 차가운 1×SSC 완충액 (0.15M NaCl, 0.015M sodium citrate, pH 7.0)으로 여러번 세척하면서 후부실샘 이외의 조직,

Table 1. Parental silkworm strains and their characteristics used for the present RAPD analysis

Parental silkworm strains	Combination of crossing	Authorized hybrid names	Best seasons for rearing	Characteristics of F ₁ hybrids
Jam 113 Jam 114	Jam113 × Jam114	Sasongjam	Summer and Autumn	high yielding in silk production
Jam 119 Jam 120	Jam119 × Jam120	Jangchunjam	Spring	Jam120:sex limited larval marking strain
Jam 121 Jam 122	Jam121 × Jam122	Yangchujam	Summer and Autumn	healthy and high-yielding in silk production
Jam 123 Jam 124	Jam123 × Jam124	Baegokjam	Summer and Autumn	high-yielding in silk production and for artificial diet rearing
Jam 125 Jam 126	Jam125 × Jam126	Daesongjam	Summer and Autumn	Jam126:sex limited larval marking strain
Jam 127 Jam 128	Jam127 × Jam128	Younggangjam	Spring	high yielding in silk production
Jam 129 Jam 130	Jam129 × Jam130	Eunbaekjam	Summer and Autumn	high yielding in silk production
Jam 131 Jam 132	Jam131 × Jam132	Samkwangjam	Spring	Jam132:sex limited larval marking strain
Jam 133 Jam 134	Jam133 × Jam134	Bunongjam	Spring	high yielding in silk production
Jam 301 Jam 302	Jam301 × Jam302	Sekwangjam	Spring	able to produce fine filament

기관, 체액 등을 제거한 후 액체 질소(-196°C)에 급속 동결한 후 사용시까지 -80°C에 냉동 저장하였다.

3. Genomic DNA 분리

누에 genomic DNA는 Suzuki (1990)의 방법을 일부 변형하여 소량을 사용하는 방법으로 분리하였다. -80°C에 저장되어 있는 후부 견사선을 꺼내어 시료당 2.5배 (W/V)의 DNA 추출용 완충액 (0.5% SDS, 5 mM EDTA, 20 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.1M NaCl, 10 ug/ml의 proteinase K)을 첨가, homogenizer로 잘 마쇄하여 37°C에서 10~20분 정도 incubation한 후 2ml의 1M Tris-HCl (pH 7.5)과 3ml의 phenol을 가하여 천천히 혼합, 저온원심 (5°C, 5,000 rpm)하여 상층액을 취하여 2회의 phenol/chloroform 추출 후 3배의 salted ethanol (2% potassium acetate 포함)을 첨가하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA를 유리봉으로 취하여 TE 완충액에 녹인 후 다시 3배의 salted ethanol을 가하여 DNA를 침전시키고 70% ethanol에 washing한 후 건조시켜 1ml의 TE 완충액 (20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA)을 가한 다음 10

ug/ml이 되도록 RNase A를 처리하였다. 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 2회의 phenol/chloroform 추출 및 salted ethanol (2% potassium acetate 포함)로 DNA를 침전시켜 70% ethanol에 washing한 다음 건조시켜 TE 완충액에 녹여 실험용 genomic DNA로 사용하였다.

4. Primer와 PCR반응

1) Primer

Oligonucleotide primer는 UBC사 (University of British Columbia)의 random primer 301~400 series 중 24개를 사용하였으며 (표 2), dNTP 및 Taq DNA polymerase는 한국생공(주) 제품을, PCR반응기는 화인사(한국)의 제품을 각각 사용하였다.

2) PCR 반응

25 µl 용량에 대해 황 등 (1996)이 설정한 DNA 30 ng, dNTP mixture 200 µM, random primer 300 nM을 첨가해서, 94°C에서 5분간 DNA를 변성시킨 다음 Taq polymerase 1 unit를 첨가한 뒤 94°C에서 60초, 72°C에서 90초, 35°C에서 60초의 반응을 45회 반복한 후 72°C에서 300초간 last extension시켰다.

Table 2. Random primers used for RAPD analysis of the parental silkworm strains.

Code numbers of Primers	Nucleotide sequences
UBC322	5' -GCCGCTACTA-3'
323	5' -GACATCTCGC-3'
324	5' -ACAGGGAACG-3'
327	5' -ATACGGCGTC-3'
329	5' -GCGAACCTCC-3'
330	5' -GGTGGTTTCC-3'
333	5' -GAATGCGACG-3'
337	5' -TCCCGAACCG-3'
345	5' -GCGTGACCCG-3'
347	5' -TTGCTTGGCG-3'
349	5' -GGAGCCCCCT-3'
350	5' -TGACGCGTC-3'
353	5' -TGGGTCGCT-3'
354	5' -CTAGAGGCCG-3'
357	5' -AGGCCAAATG-3'
358	5' -GGTCAGGCC-3'
361	5' -GCGAGGTGCT-3'
362	5' -CCGCCTTACA-3'
369	5' -GCGCATAGCA-3'
372	5' -CCCACTGACG-3'
374	5' -GGTCAACCCT-3'
375	5' -CCGGACACGA-3'
376	5' -CAGGACATCG-3'
379	5' -GGCTAGGGT-3'
381	5' -ATGAGTCCTG-3'
383	5' -GAGGCGCTGC-3'

5. 전기영동

PCR 반응이 끝난 12 µl의 증폭된 DNA를 2% agarose gel에 loading하여 110V에서 2시간 30분 동안 0.5×TBE완충액(0.045M Tris-borate, 0.001M EDTA pH 8.0) 중에서 전기영동후 ethidium bromide로 염색, 자외선하에서 사진 촬영하였다.

6. 계통간의 유전적 유연관계분석

계통간의 유전적 유연관계 분석은 NTSYS-PC program을 이용하여 계산하였으며, 동 결과를 기초로 dendrogram을 작성하였다.

결과 및 고찰

장려누에품종의 20개 원종간의 RAPD 다형성 검정 실험을 위해 우선 동일 원종계통내의 개체간 및 암수간의 유전적 변이성 여부를 검정하였다. 황등(1996)이 설정한 최적 PCR 반응조건으로 공시 누

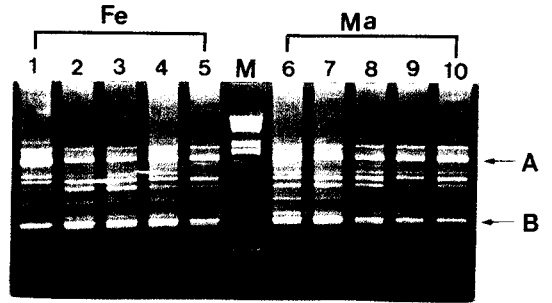


Fig. 1. Detection of variation in RAPD patterns between the individuals of an example silkworm variety Jam 113. Agarose gel of amplification fragments produced with primer UBC #327 was stained with ethidium bromide. Lane 1 to 10 indicate the corresponding individuals of an example silkworm variety, Jam113. Fe, female; Ma, male; M, DNA size markers. A and B are major marker bands.

에 원종중 잠113(일본종계 원종)의 암, 수 각 5개체에 대해 UBC primer 327로 genomic DNA를 증폭한 결과 PCR 증폭산물의 주 밴드 패턴에 있어서 개체간 또는 암수간에 변이가 보이지 않았다. 또한 마이너 밴드 패턴에 있어서도 개체에 따라 약간의 변이는 보였으나 실험결과 해석상 무시해도 좋을 정도의 변이로 생각되었다(그림 1). 즉 장려누에 품종 사성잠(잠113×잠114)의 일본종계 원종인 잠113의 개체간의 유전적 변이는 매우 적으므로 본 연구의 목적 달성에 유익한 원종계통으로 판단된다. 따라서 본 연구에 공시된 20계통의 원누에 품종은 대체로 동일한 육종자, 육종방법 및 육종과정을 거쳐 육성된 품종이므로 잠113의 RAPD패턴 분석 결과를 나머지 19계통에도 동일하게 적용가능하리라 생각되어 더 이상 품종내의 개체간 변이성 검정을 하지 않고 20계통을 공시누에로 사용하였다. 따라서 20계통의 공시누에 품종은 교잡육종방법에 의해 수세대에 걸쳐 형질을 고정시켜 왔으므로 동일품종내의 유전적 배경은 매우 homogenous한 것으로 생각된다.

보존누에품종 계통분류에서 품종간 polymorphism을 보인 26개의 primer(황 등, 1995)를 사용하여 장려누에품종의 원종 잠113 등 20계통에 대한 PCR 반응 결과 24개의 primer에서 품종간 polymorphic한 밴드를 보였고, 나머지 2개의 primer에서는 monomorphic한 밴드를 보였다. 이들 polymorphism

Table 3. Profiles of thirty seven RAPD bands generated by twenty four random primers

Silkworm strains RAPD bands	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20
322a	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
323a	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1
324a	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
b	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
c	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
d	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
327a	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
329a	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
b	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0
330a	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
333a	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
b	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
337a	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
b	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1
345a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
b	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
347a	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
349a	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
350a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
353a	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1
b	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
354a	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
357a	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
358a	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0
362a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
368a	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1
b	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1
372a	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1
374a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
b	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
375a	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1
b	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
c	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
376a	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
b	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
379a	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
383a	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0

Number "1" and "0" in the profile indicate presence or absence of the corresponding RAPD bands, respectively. S1, Jam113; S2, Jam119; S3, Jam121; S4, Jam123; S5, Jam125; S6, Jam127; S7, Jam129; S8, Jam131; S9, Jam133; S10, Jam301; S11, Jam114; S12, Jam120; S13, Jam122; S14, Jam124; S15, Jam126; S16, Jam128; S17, Jam130; S18, Jam132; S19, Jam134; S20, Jam302.

을 보이는 24개의 primer로부터 37개의 RAPD 마커를 얻었으며, 이들 마커에 대해서 밴드가 있으면 "1", 밴드가 없으면 "0"으로 코드화하여 품종별로 표시하였다(표 3). UBC primer 376의 PCR 결과를 예를 들어 설명하면, 누에 품종별 polymorphic한 밴드가 2개로 품종에 따라 변이가 있었다(그림 2). 이와 같이 24개의 primer로부터 PCR 증폭산물에 대해 품

종별 DNA밴드의 변이여부를 검증하였다. 장려누에 품종의 원종 잠113 등 20계통에 대해 24개의 primer에서 증폭된 37개의 RAPD마커를 얻어 NTSYS-PC program에 의해 dendrogram을 작성한 결과 공시한 20계통의 유전적 유연계수의 범위는 0.378~1.0이었고, 공시한 품종 중 잠129와 잠131은 그 유연계수가 1.0으로 같은 거리에 있었으며,

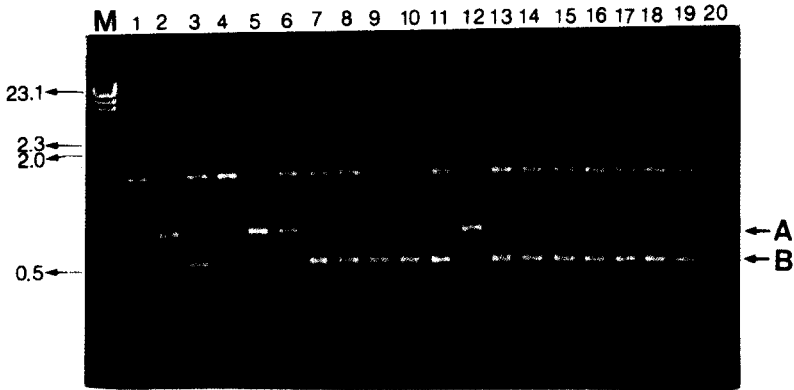


Fig. 2. Examples of RAPD profiles of the parental silkworm strains. Amplification fragments were generated by UBC primer # 376. A are B show Polymorphic marker bands. Lane 1 to 20 indicate the parental silkworm strains. 1, Jam113; 2, Jam119; 3, Jam121; 4, Jam123, 5, Jam125; 6, Jam127; Lane 7, Jam129; 8, Jam131; 9, Jam133; 10, Jam301; 11, Jam114; 12, Jam120; 13, Jam122; 14, Jam124; 15, Jam126; 16, Jam128; 17, Jam130; 18, Jam132; 19, Jam134; 20, Jam302.

Table 4. Similarity coefficient matrix between the silkworm strains

	Jam113	Jam119	Jam121	Jam123	Jam125	Jam127	Jam129	Jam131	Jam133	Jam301	Jam114	Jam120	Jam122	Jam124	Jam126	Jam128	Jam130	Jam132	Jam134	Jam302
Jam113	1																			
Jam119	0.945	1																		
Jam121	0.621	0.567	1																	
Jam123	0.918	0.864	0.648	1																
Jam125	0.729	0.729	0.513	0.756	1															
Jam127	0.756	0.756	0.540	0.783	0.702	1														
Jam129	0.567	0.513	0.837	0.648	0.513	0.486	1													
Jam131	0.567	0.513	0.837	0.648	0.513	0.486	1.000	1												
Jam133	0.513	0.459	0.783	0.540	0.405	0.594	0.783	0.783	1											
Jam301	0.567	0.513	0.675	0.648	0.459	0.540	0.729	0.729	0.729	1										
Jam114	0.432	0.432	0.720	0.459	0.378	0.405	0.756	0.756	0.702	0.594	1									
Jam120	0.891	0.891	0.567	0.864	0.837	0.756	0.513	0.513	0.459	0.513	0.378	1								
Jam122	0.540	0.486	0.810	0.621	0.486	0.567	0.918	0.918	0.756	0.756	0.729	0.486	1							
Jam124	0.540	0.540	0.810	0.621	0.486	0.567	0.864	0.864	0.864	0.756	0.783	0.486	0.837	1						
Jam126	0.594	0.540	0.720	0.675	0.432	0.621	0.702	0.702	0.702	0.756	0.621	0.540	0.729	0.837	1					
Jam128	0.594	0.540	0.864	0.621	0.432	0.567	0.810	0.810	0.810	0.756	0.729	0.540	0.837	0.837	0.783	1				
Jam130	0.594	0.540	0.810	0.675	0.486	0.621	0.864	0.864	0.810	0.756	0.729	0.540	0.891	0.891	0.783	0.891	1			
Jam132	0.513	0.459	0.837	0.594	0.405	0.486	0.891	0.891	0.729	0.729	0.729	0.459	0.918	0.810	0.756	0.864	0.864	1		
Jam134	0.459	0.405	0.729	0.540	0.513	0.486	0.729	0.729	0.675	0.621	0.756	0.459	0.720	0.756	0.648	0.810	0.756	0.729	1	
Jam302	0.540	0.486	0.594	0.621	0.432	0.567	0.648	0.648	0.648	0.702	0.513	0.486	0.675	0.621	0.621	0.675	0.621	0.702	0.540	1

잠114와 잠120 및 잠114와 잠127은 그 유연계수가 0.378로 가장 낮게 분석되었다(표 4).

이상의 결과에서 잠129와 잠131은 유전적 유연 계수가 1.0으로 두 품종이 가지고 있는 유전자의 조성이 비슷하다고 추론할 수 있고 잠114와 잠120 및 잠114와 잠127은 유전적 유연계수가 0.378로 가장

낮은 것은 두 품종이 가지고 있는 유전자의 조성이 아주 다른 것으로 생각되며, 이들 두 품종간의 교배 육종시(원종 또는 교배조합육성시) 가장 높은 잡종 효과가 나올 것으로 예상된다. 또한, 유전적 유연계수 0.60을 기준으로 하여 grouping 한 결과 2개의 group으로 나눌 수 있었으며, 제1 group에는 잠113,

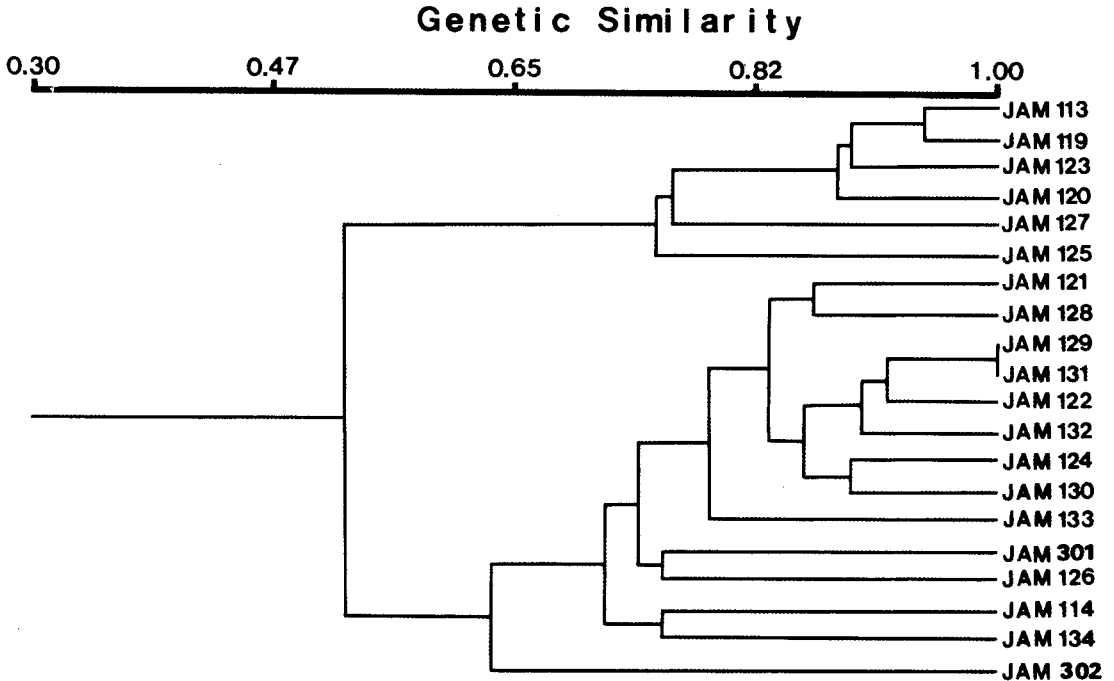


Fig. 3. Dendrogram based on a 20 × 20 matrix of similarity coefficients calculated from RAPD data of 37 amplification products generated by 24 primers for the identification of the parental silkworm strains.

잠 119, 잠 120, 잠 123, 잠 125와 잠 127로서 중국종계 잠 120(한성누에 품종 우:형잠, 송:희잠)을 제외하고 모두 일본종계 품종이 포함되어 있었으며, 제2group에는 잠 114, 잠 121, 잠 122, 잠 124, 잠 126, 잠 128, 잠 129, 잠 130, 잠 131, 잠 132, 잠 133, 잠 134, 잠 301과 잠 302로서 일본종계 5품종, 중국종계 9품종이 포함되어 있었다(그림 3). 이러한 결과는 품종 유래 및 외부형태(일본종: 형잠, 중국종: 희잠)에 의해 분류되어 품종화한 결과와 다소 차이가 있었는데, 이러한 차이는 현재 농가에 보급되고 있는 누에 품종이 교잡 후대에서 우수한 양적형질을 중심으로 선발, 고정, 품종화한 개량종이며, 순수유전적 계통이 아니기 때문에 교잡 이전 또는 초기 단계에서 모본 혹은 부본이 동일한 계통에서 유래되었을 가능성과 교잡육종과정에서 일본종계에 중국종계의 형질도입 또는 그 반대의 경우 및 품종 자체가 가지고 있는 유전자 구성에 의한 차이의 결과라고 추측할 수 있으며, 보다 정밀한 분석을 위해서는 RFLP법이나 mt DNA 법 등을 이용하면 가능할 것으로 생각된다.

누에의 품종분류 또는 계통발생학적인 분석에는 동위효소(松村, 1951; 吉武, 1968), 아미노산조성

(Inoguchi & Ito, 1973), 光線(小泉, 1950), 양적형질(蒲生, 1982; 정 등, 1989) 등을 이용한 연구가 많이 있으나 그 어느 방법도 직접적인 유전자의 비교분석에는 환경적 영향 때문에 한계가 있으며, 본 연구의 RAPD에 의한 누에품종 분류는 어느 정도 유전자에 근접한 품종분류 방법으로 생각된다.

본 연구는 기존의 일본종 : 중국종의 품종분류 방식에서 유전자의 차이에 의한 품종분류에 보다 근접하였다고 생각되며, 금후 원종의 유전자 조성의 차이를 육종계획에 곧바로 적용할 수 있는 보다 체계적인 유전자 검색 및 F₁ 잡종강세 추측 모델 개발이 기대되며 이러한 유전 육종법은 보다 미래형 경제적 육종이 될 것이다.

인용문헌

Abe, H., Shimada, T., Yokoyama, T., Oshiki, T. & Kobayashi, M. 1995. Identification of random amplified polymorphic DNA on the W chromosome of the Chinese 137 strains of the silkworm, *Bombyx mori*. Jpn. J. Seric. Sci. 64(1): 19-22.
 Black, W.C. 1993. PCR with arbitrary primer; approach

- with care. insect Mol. Biol. 2: 1-5
- Chapco, W., Ashton, N., Maetel, R. & Antonishyn, N. 1992.** A feasibility study of the use of random amplified polymorphic DNA in the population genetics and systematics of glasshoppers. *Genome*. 35: 569-574.
- 정도섭, 이인진, 이상몽, 김삼은. 1989.** 다변량 해석법에 의한 누에 육종소재의 탐색 1. 주성분 분석과 집락분석을 이용한 누에 품종 분류. *한잠학지* 31(2): 102-112.
- Doira, H., Fuji, H., Kawaguchi, Y., Kihara, H. & Ftledman, Y. 1992.** Genetical stocks and mutations of *Bombyx mori* : Important genetic resources. Isseido press, Fukuoka, Japan.
- Edwards, O. & Hoy, M. 1993.** Polymorphisms in two parasitoids detected using random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Biol. Control*. 3: 243-257.
- Fukuoka, S., Hosaka, K. & Kamizima, O. 1992.** Use of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) for identification of rice accessions. *Jpn. J. Genet.* 67: 243-252.
- 蒲生卓磨, 大塚雄. 1980.** 血液의蛋白質多型にもとづく蠶品種の系統發生學的研究. *蠶試報*. 28: 15-50.
- 蒲生卓磨, 中川浩. 1982.** 主成分分析による蠶品種比較試験の解析. *蠶試彙報*. 116: 13-28.
- Gawel, N. & McInnis, D. 1993.** Resolution populations of the mediterranean fruit fly at the DNA level using random primers for the polymerase chain reaction. *Genome*. 37: 244-248.
- Gerg, J.H. & Robert, E.P. 1995.** Linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, based on RAPD markers. *Genetics*. 139: 1371-1382.
- Henry, A.E. 1992.** Genetic analysis using the polymerase chain reaction. *Annu. Rev. Genet.* 26: 479-506.
- 황재삼, 이진성, 강현아, 이상몽, 황석조, 서동삼. 1995.** 누에 RAPD-PCR 분석을 위한 기초연구. *한잠학지* 38(1): 7-12.
- 황재삼, 이진성, 강현아, 이상몽, 서동삼. 1995.** RAPD-PCR을 이용한 누에 계통간 유연관계 분석. *한국유전학지* 17(4): 291-300.
- Inokuchi, T. & T. Ito. 1973.** Variations in free amino acid composition of larval hemolymph among varieties of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Jap.* 42(2): 105-116.
- Kafatos, F.C., Louis, C., Savakis, D., M. & Glover, M.A. 1991.** Integrated maps of the *Drosophila* genome : Progress and prospects. *Trends Genet.* 7: 155-161.
- Kambhampati, S., Black, W. & Rai, K. 1992.** Random amplified polymorphic DNA of mosquito species and populations : techniques, statistical analysis and applications. *J. Med. Entomol.* 29: 939-945.
- 川口榮作. 1923.** 家蠶と野蠶との雜種に於ける細胞學的研究(豫報). *動雜*. 35: 427-429.
- 小林正彦. 1995.** 家蠶の致死遺傳子と發生抑制に關する研究. 日本蠶絲昆蟲生産技術研究所(一般研究(A)研究成果報告書)
- 小泉二郎. 1950.** 光線に對する蟻蠶の行動. *日蠶雜* 19(5): 417-421.
- 送村秀美. 1951.** 日本種,支那種,印度支那種及び歐羅巴種のアメリカ型の分析. *蠶試報* 13: 521-533.
- Micheimore, R.W., Paran, I. & Kessell, R.V. 1991.** Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis : A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 9828-9832.
- Motoyuki, M., Kazuyoshi, H., Yoshiki, U. & Chukichi, K. 1993.** Rapid identification of japnesw potato cultivars by RAPDs. *Jpn J. Genet.* 68: 167-174.
- Paran, I. and Michelmore, R.W. 1993.** Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genetics.* 85: 985-993.
- Sasaki, C. 1898.** On the affinity of our wild and domestic silkworm. *Annot. Zool. Japan.* 2: 33-41.
- Saul, G.B. 1993.** Gene map of the parasitic wasp, *Nasonia vitripennis*. *Genetic map. Ed.* 6: 3277-3280.
- Suzuki, Y.S., Takiya, T., Suzuki, C.C., Hui, K., Matsuno, M., Fukuta, T., Nagata, K. 1990.** Developmental transition of silk gene expression in the *Bombyx mori*. "in molecular insect science". Plenum press, New York. pp. 88-89.
- Weish, J. & McClelland, M. 1990.** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18: 7213-7219.
- Wilde, J.R. and Powell, W. 1992.** Genetic fingerprinting of theobrona clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genetics.* 83: 871-877
- Williams, J.G., Kubelik, K.J, Livak, J.A., Tingy, S.V. 1990.** DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids. Res.* 18: 6531-6535.
- Yazu, N. 1913.** Notes on the spermatogenesis of the wild

- and domesticated silkworms. *Annot. Zool. Japan.* **8**: 215-220.
- 吉武成美, **1968**. 家蠶日本種の起源に関する-考察. *日蠶雜* **37**: 83-87.
- 吉武成美, **1984**. 家蠶生化學. 1-19. (1997년 3월 13일 접수, 1997년 8월 22일 수리)