

최 종
연구보고서

배추종자 수출확대를 위한 품종·기술개발

Development of Varieties and Breeding
Technologies for the Export Expansion of
Chinese Cabbage Seeds

주식회사 농우바이오

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “배추종자 수출확대를 위한 품종·기술개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 9월 일

주관연구기관명 : (주)농우바이오
총괄연구책임자 : 박 영 수
연 구 원 : 양 승 균
연 구 원 : 채 원 기
연 구 원 : 고 현 주
연 구 원 : 허 남 한
연 구 원 : 이 장 하
연 구 원 : 남 석 현
연 구 원 : 김 봉 규
연 구 원 : 이 경 아

위탁연구기관명 : 한국종자협회
위탁연구책임자 : 김 한 수 (1년차)
위탁연구책임자 : 서 기 호 (2년차)
연 구 원 : 이 수 성
연 구 원 : 박 현 경
연 구 원 : 신 현 호

협동연구기관명 : 원예연구소
총괄연구책임자 : 윤 무 경
연 구 원 : 강 화 정
연 구 원 : 박 수 형
연 구 원 : 안 울 균
연 구 원 : 강 용 구
연 구 원 : 김 기 택
연 구 원 : 이 우 문

위탁연구기관명 : 순천대학교
위탁연구책임자 : 노 일 섭
연 구 원 : 김 현 중
연 구 원 : 이 인 호
연 구 원 : 정 효 진

요 약 문

I. 제 목

배추종자 수출확대를 위한 품종·기술개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

채소 종자 중 수출량이 많은 작물은 고추, 무, 배추 등이며 이중 배추 종자의 수출량은 10년 전에 비해 2배 이상 증가하였다. 현재 배추종자는 20여 국에 수출되고 있으며 총 수출액은 약 298만 불이고 이중 67%정도가 중국에 수출되고 있다. 또한 배추의 주요 소비국은 한국, 중국, 일본 등으로 그 중에서도 중국이 가장 많은 재배 면적을 가지며 배추 소비국이다. 중국의 배추 재배면적은 약 3천만무 (2백만ha)이고 이중 大白菜(결구배추) 재배면적은 1,000만무(67만ha)정도이며 배추종자의 시장규모는 2,000 Ton 정도로 추정된다. 따라서 중국은 우리나라 주요 수출국이나 더 많은 수출량 증가를 위해서는 지역별 배추 기호도 등 중국시장에 대한 체계적이고 효율적인 정보 수집을 통한 수출 전략 수립 및 시장 확대가 반드시 필요하다. 배추의 기호도는 국가와 지역에 따라 다르므로 중국내의 각 지역에 적합한 배추 품종 육성이 적실히 요구되고 있다. 과거의 중국 재배 품종은 재래종이 대부분을 차지하였으나 최근에는 일대잡종의 보급률이 점차 증가되고 있고 우수한 품질의 품종을 점차 더 요구하고 있다. 그러므로 우리나라의 우수한 품종 보급 시 배추 종자 수출량이 증가할 것이며 기업은 이윤의 극대화도 국가 경쟁력도 확보될 것이다.

관세청에 따르면 중국산 김치 수입은 2000년 473t에 불과했으나 3년이 지난 2003년 2만7555t, 2004년에는 7만3280t으로 매년 두배 이상의 기하급수적인 증가세를 보이고 있다. 이러한 현상은 국내 배추 산업기반 자체가 붕괴될 수 있을 뿐만 아니라 김치의 부재료인 고추, 마늘 등에도 큰 타격을 주고 있다.

이러한 변화에 능동적으로 대처하기위해서도 무한의 종자시장인 대 중국 수출종자 확대가 무엇보다도 절실히 필요하다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 배추 종자 수출확대를 위한 품종·기술개발이다. 이를 위해 배추의 원산지인 중국의 유전자원을 확보하고 중국의 지역별 작형별 배추 품종 및 기호도 등의 정보를 수집하여 배추 품종 육성의 기반을 확충한다. 수집된 품종의 특성조사를 통해 중국 지역별 기호도를 파악하는 것이며 이와 병행으로 내병성 검정을 거쳐 병저항성 신계통을 육성하여 육성 소재로 활용하는 것이다. 또한 주관기관이 계속 육성하여 온기 고정 및 분리계통과 앞의 소재를 이용하여 중국지역별 기호도 알맞은 품종을 육성하는 것이다. 3년의 짧은 기간동안 품종을 개발하기는 어렵다. 따라서 약배양 및 소포자배양 기술을 이용하고 유묘 상태에서 자가불화합성을 분류하고 계통 간의 원연관계를 분석하여 단기 육종체계를 확립한다면 육종 기간을 현저히 단축시킬 수 있을 것이다. 개발된 품종은 고 순도의 품질과 품종 보호를 위해 융성불임 연구도 필요하다.

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 중국 지역별 작형별 품종 특성 탐색, 정보 및 유전자원 수집

중국 지역별 작형별 재배 품종 및 기호도 등의 수집된 정보를 세미나를 통해 정보를 공유하였으며 수집된 233점의 유전자원은 농촌진흥청 원예연구소, 유전자원과 및 민간종자회사에 분양하여 육성 소재로 이용토록 하였다.

2. 중국 지역별 작형별 수출용 품종 개발

과제 기간동안 총 4,959계통의 성능검정을 수행하여 4,178개체를 선발하였으며 내병성 검정으로 바이러스병 373개체, 무사마귀병 1,231개체, 복합내병성 1,266개체를 선발하였다. 이를 통해 획득한 계통은 후대 종자를 채종하였고 고정 작업을 지속적으로 수행하였다. 또한 단기육종체계 확립을 위해 약배양 및 소포자 배양 등 총 1,698개체의 식물을 획득하여 성능검정을 수행하였으며 3년 동안 기 보유계통과 중국 수집계통을 포함하여 약 5,500여개의 SI를 분석하였으며 이들 분석결과는 실제 육종 교배에 매우 유용하게 이용되어 졌다. 우량 F₁조합성능검정은 총 1,501조합을 공시하였으며 이에 우수한 17조합을 선발하였다. 선발된 조합은 격리된 하우스에서 별 방사에 의한 체중시험을 거쳐 농가실증시험을 실시하였다. 이들 중에서 남방계 품종으로는 02CC843, 00CC240조합이 중국 현지 적응성 시험 결과 우수하여 생산 계획에 들어갔고 북방계로는 융성불임을 이용한 04CC713조합과 바이러스 저항성인 04CC718을 선발하였으며 '05년 가을 중국 현지 실증시험을 할 예정이다. 수집된 유전자원 및 육성

계통은 과제 종료 후에도 지속적으로 중국 시장용 품종 육성에 적극 활용코자 한다.

3. 우량 교잡종 단기 육종 체계 확립 및 적용 연구

- 1) 중국에 수집된 '북경신 3호' 등 67점을 가을 작형으로 재배해 평가한 결과, 대표적인 수량 관련 특성인 주중은 580g~4,230g, 엽수는 31.3개~67개 사이에 분포하였으며, 숙기는 극조생~만생, 결구형은 반결구대두형, 결구장타원형, 결구역삼각형, 결구장원통형, 결구대두원통형, 결구구형, 결구원통형, 결구도란형 등 다양한 특성을 보였다.
- 2) 계통 육성을 위한 소포자 배양에서 3~4월에 배양한 경우 가장 많은 배가 발생하였으며, 기본배지는 NLN, 성장조절제로는 BA 0.05mg·L⁻¹, kinetin 0.05mg·L⁻¹ 등 저 농도의 cytokinin 처리가 소포자 배 발생에 중요한 요인으로 작용하는 것으로 추정되었다. Genotype별 배 발생에는 차이가 있어 BA 0.05mg·L⁻¹ 처리에서 페트리디쉬당 'Baicai 98-1'은 168.6개, 'Lubai 3'은 0.2개의 배가 발생하였다.
- 3) 식물체 재분화율도 모본에 따라 차이가 있어 'Beijingxiaoza 61'에서 유래된 배의 재분화율이 38.8%로 가장 높았는데 페트리디쉬당 20개 이내의 배가 발생한 것이 정상적인 식물체로 재분화하는데 효과적이었다.
- 4) 소포자 유래 454개체에 대해 배수성을 검정한 결과, 반수체가 60개체, 2배체 239개체, 4배체 46개체, 6배체 1개체로 다양한 배수성을 가진 식물체가 출현하였으며 mixoploid로 추정되는 개체가 99점, 배수성 구분이 명확하지 않은 개체가 9점이 있었다.
- 5) 소포자 유래 7계통 중 3계통이 SSI(single-spore isolate) TuMV race 4 (SSI79-2-1) 균주에 저항성을 보였으며, 7계통의 원예적 특성은 결구형은 장타원형, 도란형, 원통형, 숙기는 조생~만생, 주중은 2.0~3.7kg, 엽수는 51.7~65.3개에 분포하였다.
- 6) 일대잡종 육성의 기초 자료로 이용하고자 96점의 배추 유전자원을 대상으로 RAPD 분석 결과 1개의 프라이머 당 평균 7.65개의 단편이 증폭되었으며, 단편의 크기는 0.3~3kb 정도였고 유사도 수준을 0.72를 기준으로 하였을 때 12개 그룹으로 구분되었다.
- 7) 유사도 0.72를 기준으로 그룹별로 교배 조합을 작성하고 원예적 특성을 조사한 결과, 그룹 내 또는 그룹 간의 차이가 명확하게 구분되지 않았으며, 수량 관련 특성인 주중은 양친에 비해 일대잡종에서 많이 나가는 경향이었으나 엽수는 양친에 비

해 증가하지 않았다.

- 8) 일대잡종 육성은 일반적으로 잡종 강세를 이용한 품종으로 알려져 있어 생명공학기법을 이용한 유연관계 분석을 통해 유전적 거리가 먼 조합을 작성할 경우 우수한 일대잡종 품종을 육성할 수 있을 것이란 가정 하에 RAPD 표지를 이용하여 계통간의 유전적 거리를 분석하였다. 그 결과 유사도 0.72을 기준으로 12개의 그룹으로 구분되었으나, 그룹을 구분할 수 있는 특성이 명확하지 않아 일반적인 특성과 RAPD 분석으로 구분되어진 그룹 간에는 차이가 있었다.
- 9) RAPD 분석을 기초로 그룹 간의 교배조합을 작성하여 원예적 특성을 조사한 결과 그룹 내와 그룹 간의 뚜렷한 차이가 없었다. 그룹에 관계없이 결구형은 양친의 중간형을 보였으며 숙기는 양친보다 빨라지지 않았으나, 수량 관련 형질인 주중의 경우 양친에 비해 일대잡종에서 증가하는 경향이 있었다. 또한 엽수의 경우 일대잡종이 양친에 비해 증가하지 않아 엽수에서는 잡종강세 현상이 일어나지 않았다.
- 10) 중국 남방계 바이러스병 저항성 품종 육성을 위하여 중국에서 바이러스병 저항성 품종을 수집하여 F₁ 조합을 작성하고 이들 조합을 이용하여 소포자배양을 하였다. 소포자 유래계통들 간의 조합을 작성하여 조합 능력 검정을 한 결과 결구형, 숙기 등 원예적 형질이 다양하였으며 바이러스병에 강한 조합도 선발할 수 있었다.
- 11) *EcoR* I +ANN primer와 *Mse* I +CNN 16조합의 primer를 이용하여 소포자 유래 99개체를 대상으로 AFLP 분석한 결과 총 216개의 다형성 밴드를 얻었다. 16개 조합에서 primer당 polymorphic band는 8(E+AAT/M+CAC 등)개에서 22(E+AAT/M+CCG)개까지로 평균 13.5개였다.
AFLP 분석에 의해 얻어진 216개의 다형 밴드들의 존재 부재를 0과 1로 코드화하여 data matrix를 작성하였고 이 data matrix를 가지고 SM(simple matching) 유사지수(similarity coefficient)를 이용한 다변량 분석을 통해 소포자 유래 계통들간의 유사도를 측정하였다.

4. 자가불화합성 인자형 동정 기술 개발

본 연구는 배추의 *SLG/SRK/SP11* 자가불화합성 유전자 해석을 통하여, 자가불화합성에 대한 분자적 정보를 확보하고, 확보된 정보를 기초로 하여 육성계통에서 S haplotype 동정을 위한 PCR-RFLP 방법을 개발하였다.

- 1) 주두측 자가불화합성 유전자인 SLG와 SRK 유전자 영역을 이용한 PCR-RFLP법에 의하여 국내에서 육성된 배추의 F₁ 종자 생산에 이용되고 있는 육성계통에 있어서 S-haplotype을 동정하였다. Class I내의 S-haplotype의 분류는 SRK보다 SLG를 이용하는 것이 정확하며, SLG class I 특이적 primer를 이용하여 증폭된 PCR 산물을 Mbo I으로 소화 하였을 때 F₁ 교배조합과 일치하였다. Class II는 SLG을 이용할 경우 band pattern이 S-haplotype간에 차이가 없어 분류가 불가능하였으며, SRK class II specific primer로 증폭후 Hinf I으로 소화하였을 때 정확한 분류가 가능하였다.
- 2) SLG 및 SRK에 의하여 동정된 13 S-haplotype에 대하여 SP11/SCR과 특이적 promoter 영역의 염기서열 결정에 의해 S-allele 특이적 primer를 선발하였다. Class I의 SP11/SCR의 증폭을 위한 PCR 결과, 9개 haplotype은 SPIF와 SPIR의 primer에 의해 S^a와 S^b에서 약 500bp의 단일 단편이 증폭되었으나 S^c에서는 약 1,300bp의 단일 단편이 증폭되었다. 증폭된 산물은 cloning후 DNA 염기서열을 결정하였다.
- 3) SP11/SCR 유전자들의 5'-flanking 영역들은 53%~96%의 높은 상동성을 나타내었다. *B. rapa*와 *B. oleracea*간의 5'-flanking 영역 염기들의 상동성은 76%~96%로 *R. sativus*와의 염기 상동성(60%~91%)보다 더 높았다. 추가적으로, 추정되는 TATA box의 위치와 염기들은 *B. rapa*, *B. oleracea* *R. sativus* line 모두에서 보존되어 있었다.
- 4) S15-SP11을 포함하는 2종류의 게놈 단편들(0.4와 0.9 kb)은 Class-II SP11 유전자들을 특이적으로 증폭시킬 수 있는 primer조합에 의해 S15 homozygote의 genomic DNA로부터 증폭되었으며, 증폭된 2개의 단편들을 cloning 및 염기서열을 결정한 결과, 하나의 SP11 유전자를 포함하고 있는 0.4-kb 단편(S15-SP11a)과 2개의 SP11 유전자들을 포함하고 있는 0.9-kb 단편(S15-SP11a, S15-SP11b)들이 동정되었다. 2개의 증폭된 단편들은 각각 동일한 S15-SP11a 염기들을 포함하고 있었으며, S15 haplotype의 S-locus영역에서 2개의 SP11 유전자(S15-SP11a과 S15-SP11b)는 동일한 전사방향으로 배열되어 있었다.
- 5) S15-SP11a와 S15-SP11b의 DNA 염기를 비교한 결과, exon 1, intron 1, exon 2에 상응하는 염기 유사성들은 각각 65.2%, 100%, 98.5%이었다. 또한, S15-SP11a의 5-upstream 영역을 증폭하여 염기서열을 결정한 결과, 추정되는 TATA-box element와 Class-II S60-SP11의 5-promoter 영역에 유사한 염기들이 동정되었다.

이것은 S15-SP11a가 약에서 정상적으로 전사되어 진다는 것을 의미한다. S15-SP11a와 S15-SP11b를 분리하는 239-bp intergenic 영역은 S15-SP11a와 다른 Class-II SP11 유전자들의 5-promoter 영역과 상동성이 없었다. 이것은 이 intergenic 영역이 S15-SP11b을 위한 promoter element를 포함하지 않는다는 것을 의미할 것이다.

- 6) 농우에서 육성한 배추 9계통의 화분 특이적 promoter 분석 및 화분측 자가불화합성 S 유전자(*SP11/SCR*)의 분석을 실시한 결과 9개 계통의 S haplotype간 78~99%의 상동성을 나타내었다. 결정된 염기서열을 바탕으로 개시코돈을 포함한 7종의 Class I 특이적 forward primer를 합성한 후 화뢰에서 약을 채취하여 mRNA를 추출, cDNA를 합성하였으며 PCR법에 의해 4계통의 exon 영역에서 염기서열 및 아미노산 코돈을 결정하였다. 또한 농우에서 육성한 배추 3계통의 class II 염기 서열을 분석하여 gene bank에 등록되어 있는 *SP11* 유전자와 비교한 결과 전체적으로 82~99%라는 높은 상동성을 보였다.

SUMMARY

I . Title

Development of Varieties and Breeding Technologies for the Export Expansion of Chinese Cabbage Seeds.

II . Importance and objectives

Among vegetable seeds, the crops showing good result in export are pepper, radish, Chinese cabbage etc. and out of which the export quantity of the Chinese cabbage increased more than twice compared with ten years ago. Now we are exporting the Chinese cabbage seeds to more than 20 countries summing up to 2,980 million sales and 67% of it is being exported to China. The main countries consuming Chinese cabbage are Korea, China, and Japan. Especially China has the largest cultivated land and, therefore, consumes the most. The cultivation area of China is about 2 million ha, and the area of bulbing formation type is 670,000 ha that is 20 times of the one cultivating in Korea. The total seed market of Chinese cabbage is estimated about 2,000 ton in China. Therefore, China is the main country for the seed export from Korea. In order to increase the export amount we need to establish exportation strategy and market extension through systematic and efficient research, for instance the local preference for Chinese cabbage etc. As the taste of Chinese cabbage differs in their country and region, it is demanded fervently to breed hybrid varieties of Chinese cabbage suitable each region in China. Previously, in China, local seeds were occupied the most part but recently the F1 hybrid is being popularized more and more and they demand the superior seeds. Therefore, if we develop superior varieties, we will be able to increase the seed exports. This will lead to the profit maximization of enterprises and eventually to Korea more competitive internationally.

According to the Customs Administration, the import of *kimchi* was only 473 ton in 2000 but 27,555 ton in 2003 and 73,280 ton in 2004, continuously showing a twice increase at every year. Owing to this, not only the industrial business of Chinese cabbage falls down but also those would give an additive damage to the pepper and

garlic industry etc., secondary materials of *Kimchi*.

For coping with these situations, first of all, we must actively engage in increasing export the elite Chinese cabbage to China that holds the infinity market of the seeds.

III. Contents and scope of the project

This project is to develop varieties and breeding technologies for the expansion of exporting Chinese cabbage seeds. For this, we establish the basis of breeding for varieties of Chinese cabbage through securing hereditary resources present in China, the original place of Chinese cabbage, and collecting informations on preference and regional type of cultivation. From the varieties collected, we understand the preference of Chinese cabbage regionally and at the same time we select the new line that has disease resistance through the trials for disease resistance. Besides, using former fixed line and division line having been bred by Nong Woo Bio Co. and this new line, we will breed varieties eligible for cultivating in China. It is difficult to develop the new varieties within 3 years. However, we will shorten the breeding term considerably by establishing a breeding system that could use the skill of anther culture, microspore culture, classifying SI (self-incompatibility) in a bud state and analyzing affinity-relation between lines.

IV. Results and suggestions of Application

1. Search of variety characteristics, genetic sources, general information based on regional and cultivation type in China

We shared the collected informations with this project investigators through seminars. A total of 233 varieties collected were distributed to department of hereditary resource in NHRI RDA and private seed companies to utilize as breeding resources.

2. Development of varieties for regional and cultivational types toward export in China

During this project, we have done the performance test with 4,959 lines and selected 4,178 individuals from the test. Among them, we selected 373 individuals for TuMV

resistance, 1,231 individuals for club root resistance, 1,266 individuals for multiple resistance through the trials for diseases resistance. The selected individuals were planted for the next generation and plants that showed good characteristics have been fixed. Also in order to establish a short-term breeding system, we obtained 1,698 individuals through anther culture and microspore culture and conducted a performance test. During 3 years, we analyzed SI (self-incompatibility) test with 5,500 plants including the present lines and the new line collected in China. And the results of these analysis were used in breeding experiments. A total of 1,501 combinations were planted in field by the excellent F1 combination performance test and among them 17 superior combinations were selected. The selected combinations have been applied to an actual farm by letting bees to fertilize in plastic house to obtain seeds properly. Thereupon, we selected for the tropical plant, 02CC843 and 00CC240, that shows an excellence in application test in China allowing marketing already. For the cold-adaptation, 03CC713 combination by MS (male sterile) and 04CC718 combination resistant to TuMV were selected. These are scheduled to be tested for actual experiments in China at this autumn in 2005. We will utilize these collected hereditary resources and breeding-lines continuously in breeding program so that we can develop more varieties for marketing in China even though this project ends.

3. Establishment of a short-term system of breeding and its application from elite hybrids

1) The 67 Chinese cabbage germplasm collected from China was cultivated following typical autumn cultivation method in NHRI. The plant weight varied from 580 to 4,230g, leaf number was 31.3~67, maturation was from early to late and showed various heading types.

2) To shorten the breeding period and rapidly obtain elite lines in Chinese cabbage, microspore culture to facilitate haploid breeding was studied. NLN medium was more effective than 1/2NLN as a basal medium for embryo production. Many embryos were induced from microspores cultured from March to April. Treatment with low concentration of cytokinin such as BA ($0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), kinetin ($0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) or thidiazuron ($0.001\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), was more effective in inducing embryogenesis than treatment with

combinations of BA and NAA. Varietal differences for embryogenic ability were observed. Among 37 accessions evaluated, 'Baicai 98-1' showed the highest rate of embryo induction at 168.6 embryos per Petri dish (1×10^5 microspores), while 'Lubai 3' was the lowest at 0.2 embryos per Petri dish (1×10^5 microspores).

3) Frequency of plant regeneration from embryos was dependent on genotypes and density of embryos in the Petri dish. 'Beijingxiaoza 61' had the highest rate of plant regeneration (38.8%), and induced fewer than 20 embryos per Petri dish.

4) Out of 7 Chinese cabbage lines regenerated from microspores, 3 were resistant to clubroot SSI-race 4 (SSI79-2-1). The 7 lines had heading types ranging from ovate to cylindrical and stout-cylindrical, maturation periods varying from early to late, plant weights of 2.0 to 3.7kg, and leaf numbers from 51.7 to 65.3.

5) In order to improve the efficiency of breeding F_1 hybrid varieties in Chinese cabbage, 96 germplasm accessions were evaluated by RAPD analysis. Out of 30 random primers screened, 28 primers produced a total of 213 polymorphic bands with the size of amplified fragments of ranging from 0.3 to 3kb. The germplasm accessions were classified into twelve clusters using a similarity index of 0.72.

6) Hybrids made with crosses both within and between the seven clusters displayed no clear distinctions in morphology or traits due to the clustering. Head weight of hybrids tended to be heavier than their parents, but the number of leaves did not increase compared with parents.

7) For the purpose of developing viral disease resistant varieties for southern China using microspore culture, F_1 hybrid materials was made with crossing among varieties showing viral disease resistance collected from China. After testing cross compatibility through field test with DH inbred lines derived from micro spore culture, some inbred lines could be selected that having viral disease resistance with various heading type and maturation.

8) The AFLP test using 16 combination of primers in 99 inbreds showed 216 polymorphic band patterns. In average, 13.5 polymorphic band was detected from each primer combination. The genetic diversity of the inbred lines was measured through simple matching and similarity coefficient which was calculated with data matrix.

9) Based on the RAPD analysis, horticultural characteristics of cross-combination among groups were examined and no significant difference was observed among groups. Irrespective of groups, the bulbing type showed a type in between both parents and the maturity in growth was not faster than parents. The quantity wise, some F1 plants showed heterosis, but no hybrid vigor was seen for the leaf number.

10) In order to develop a virus resistant variety for the Southern region, we collected a virus resistant variety and proceeded a F1 cross-combination, and finally conducted the microspore culture from the F1. From the microspore culture derived lines, the cross-combination was performed and elite combinations were selected for the bulbing, maturity and virus resistance.

11) We obtained a total of 216 polymorphic bands by analyzing 99 microspore derived lines using 16 combination of *EcoR1* + ANN primer and *MseI* + CNN. A number of the average polymorphic band per each primer was 13.5. The presence and absence of 216 polymorphic bands was coded by 1 and 0, and the data matrix was established. Using this matrix and SM (simple matching) similarity coefficient, the similarity among microspore derived lines was estimated.

4. Identification Skill Development for Self-incompatible factor types

Through analysis of genomic organization of the *SLG/SRK/SP11* gene of the *S* locus in radish, we wish to secure molecular information. And, this research performed the PCR-RFLP system(primer design and restriction enzyme selection) development for determination of *S* haplotype in inbred lines. Through the analysis of the *SLG/SRK/SP11* self-incompatible genes, we developed the PCR-RELP skills for the *S*

haplotype identification in breeding lines on the base of the molecular information on the self-incompatibility.

1) We identified S haplotype in the breeding lines used in F₁ seed production of the Chinese cabbage grown home through the PCR-RELP method using the *SLG* and *SRK* gene area, a self-incompatibility genes of the stigma surface. The assortment of S-haplotype in class I is more accurate when using *SLG* than when using *SRK*, and amplified PCR produce through the specific primer in class I was consistent with F₁ cross fertilization compounding when used in Mbo I. The assortment of the class II was impossible because there was no difference in the band pattern of the S-haplotype when using *SLG*, and after amplified by the *SRK* class II specific primer and used in *Hinf* I, it was possible.

2) We chose the S-allele specific primer by the decision of the *SP11/SCR* and the basic orders of the specific promoter area against the 13 S-haplotypes identified by *SLG* and *SRK*. As a result of the PCR for the amplification of *SP11/SCR* in class I, 9 haplotypes were amplified by the SPIF and SPIR primer at S^a and S^b by about 500bp, but, at S^e by about 1,300bp.

3) 5-flanking areas of the *SP11/SCR* genes showed high homology of 53% to 96%. The basic homology of 5 flanking areas of *B. rapa* and *B. oleracea* was 76% to 96%, higher than the homology of *R. sativus*(60%~91%). In addition, the locations of TATA boxes and bases were kept in the *B. rapa*, *B. oleracea* and *R. sativus* lines.

4) Two genomic pieces(0.4 and 0.9 kb) including S15-SP11 was amplified by the primer composition capable of amplifying SP11 genes in the class-II from the S15 homozygote genomic DNA, and according to the result of the cloning and basic orders of the 2 pieces, 0.4-kb pieces(S15-SP11a) including a SP11 gene and 0.9-kb pieces(S15-SP11a, S15-SP11b) including 2 SP11 genes were identified. 2 amplified pieces each included the same S15-SP11a bases, and 2 SP11 genes(S15-SP11a and S15-SP11b) were arranged in the same direction in the S-locus areas.

5) According to the result of the comparison of the DNA bases of the S15-SP11a and S15-SP11b, the similarities of exon 1, intron 1, exon 2 were 65.2%, 100%, 98.5% each. And, also, after deciding the basic orders by amplifying the 5 upstream areas of S15-SP11a, similar bases were identified in the 5 promoter areas of the TATA-box elements and class-II S60-SP11. That means that S15-SP11a is normally transcribed at the low position. In the 239-bp intergenic areas dividing S15-SP11a and S15-SP11b, there was no homology in the S15-SP11a and the SP11 genes in the class-II. That could mean the intergenic area doesn't include the promoter elements for S15-SP11b.

6) Nine chinese cabbage in inbred lines from Nong-Woo by nucleotide sequences of the promoter analysis and *S* haplotypes(*SP11/SCR*). Analysis were degrees of similarity of the nucleotide sequences to *SP11* of *B. rapa* ranged from about 78% to 99%. We synthesized that could be amplified by PCR using the class I specific seven primer designed based including the initiation codon. mRNA were isolated from anther of bud, We synthesized that could be amplified by PCR using. We determined the nucleotide sequences and amino acid cordon of 4 exons region. Also, in the analysis of the class II from inbred line in Nong-Woo by comparing of *SP11* genes. Similarities between the nucleotide sequences from the *SP11* ranged from 82~99%.

CONTENTS

I . Introduction of Research and Development -----	1
Chapter 1. Necessities of Research and Development -----	1
Chapter 2. Objectives of Research and Research Scope -----	2
II . Present Situation of Technology in Korea and Foreign Countries -----	3
III. Results and Discussion of Research Projects -----	6
Chapter 1. Materials and Methods -----	6
Chapter 2. Results of Research and Development -----	25
IV. Levels of Contribution Pertinent to Objectives -----	131
Chapter 1. Objectives of research and development -----	131
Chapter 2. Levels of achievement toward research objectives -----	132
Chapter 3. Expectation effect of achievement toward research objectives -----	133
V . Application Plans from Results -----	135
VI. Information Obtained from Foreign Countries during Research Program -----	136
VII. Reference -----	137

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	-----	1
제 1 절	연구개발의 필요성 및 배경	-----	1
제 2 절	연구개발의 목표 및 범위	-----	2
제 2 장	국내외 기술개발 현황	-----	3
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	-----	6
제 1 절	재료 및 방법	-----	6
제 2 절	연구 개발 결과	-----	25
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	-----	131
제 1 절	연구 개발 목표	-----	131
제 2 절	연구개발 목표에 대한 달성도	-----	132
제 3 절	관련분야의 기술발전예의 기여도	-----	133
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	-----	135
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	-----	136
제 7 장	참고문헌	-----	137

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성 및 배경

채소 종자 중 수출량이 많은 작물은 고추, 무, 배추 등이며 이중 배추 종자의 수출량은 10년 전에 비해 2배 이상 증가하였고 앞으로도 계속 증가할 것이다. 현재 배추종자는 20여개 국에 수출되고 있으며 총 수출액은 약 298만 불이고 이중 67%정도가 중국에 수출되고 있다. 배추의 주요 소비국은 한국, 중국, 일본 등으로 그 중에서도 중국이 가장 많은 재배 면적을 가지며 배추 소비국이다. 중국의 배추 재배면적은 약 3천만무 (2백만ha)이고 이중 大白菜(결구배추) 재배면적은 1,000만무(67만ha)정도이다. 또한 배추종자 시장규모가 2,000Ton 정도로 추정되며 우리나라 주요 수출국이나 더 많은 수출량 증가를 위해서는 지역별 배추 기호도 등 중국시장에 대한 체계적이고 효율적인 정보 수집을 통한 수출 전략 수립 및 시장 확대가 반드시 필요하다.

국내 배추는 자가불화합성을 이용한 일대잡종 품종이 95% 이상이며, 일대잡종 품종육성에 관련된 육종 기술은 세계적인 수준이다. 이에 비해 중국은 배추 품종육성에 절대적으로 필요한 자가불화합성을 이용한 육성기술이 부족하여 만추대, 내병성, 내서성, 고품질 등의 형질을 갖춘 품종이 요구되지만 이에 미치지 못하고 있으므로 우수한 국내 배추품종 육성능력과 중국의 유전자원을 적극 활용한다면 중국에서 요구하는 형질을 갖춘 우수한 품종 개발이 가능하다고 본다.

배추의 기호도는 국가와 지역에 따라 다르므로 중국내의 각 지역에 적합한 배추 품종 육성이 적실히 요구되고 있다. 즉 중국의 남부지방에 많이 재배되고 있는 남방계 배추에는 연부병, 무사마귀병등의 내병성품종을, 북부지방에 많이 재배되고 있는 직통형 배추에는 바이러스 내병성품종을 원하고 있다. 이에 부합된 품종을 개발하여 보급한다면 한국제품의 우수성을 보다 널리 알릴 수 있는 계기가 될 것이다.

과거의 중국 재배 품종은 재래종이 대부분을 차지하였으나 최근에는 일대잡종의 보급률이 점차 증가되고 있고 우수한 품질의 품종을 점차 더 요구하고 있어서, 우수한 품종 보급 시 기업 이윤의 극대화도 국가 경쟁력도 확보될 것이다.

관세청에 따르면 중국산 김치 수입은 2000년 473t에 불과했으나 3년이 지난 2003

년 2만7555t, 2004년에는 7만3280t으로 매년 두배 이상의 기하급수적인 증가세를 보이고 있다. 이러한 현상은 국내 배추 산업기반 자체가 붕괴될 수 있을 뿐만 아니라 김치의 부재료인 고추, 마늘, 등에도 큰 타격을 주고 있다.

이러한 변화에 능동적으로 대처하기위해도 무한의 종자시장인 대 중국 수출종자 확대가 무엇보다도 절실히 필요하다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 범위

배추 종자 수출확대를 위하여 첫째, 중국 현지 출장으로 지역별 작형별 품종의 정보 및 유전자원을 수집하여 공공기관 및 민간기업에 정보공유로 품종육성의 재료로 이용함은 물론 수집된 품종의 특성 조사를 통해 재배 품종의 기호도를 조사하여 중국용 품종육성 방향을 설정코자 하였다. 둘째, 자체적으로 육성하여온 고정 또는 분리계통 및 수집된 재료의 성능검정과 내병성 검정을 통해 중국지역별 기호도에 알맞은 병저항성 계통 육성 및 F_1 조합을 작성하여 이 합성조합을 이용한 신계통을 육성하고 동시에 우량 F_1 조합 성능검정 및 중국 현지 지역적응성 시험을 거쳐 중국 수출용 품종을 개발하고자 하였다. 한편으로는 고 순도의 품종을 보급하고 품종의 양친을 보호하기위한 응성불임 탐색도 병행되었다. 셋째, 3년의 짧은 기간동안 품종을 개발하기는 어려우므로 단기간 계통 육성법 확립을 위한 원연관계 분석 기술 개발과 조기 계통확보를 위해 소포자 배양기술 확립에 중점을 두었다. 넷째, 또한 유묘기때 자가불화합성을 검정하여 조기 조합을 작성하여 성능검정을 할 수 있도록 주두측 자가불화합성 유전자형 동정법 확립, 화분측 자가불화합성 유전자형 동정법 확립과 PCR-CAPS분석에 의한 자가불화합성 인자형 동정 기술을 확립하고자 하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

우리나라 배추 육종기술은 보편적으로 다른 나라에 비하여 월등히 진보되었다고 할 수 있다. 특히 배추 일대잡종 채종에 관련된 자가불화합성을 이용한 육종기술은 세계적인 수준이다. 또한 엽수, 노란속 잎색, 만추대, 내병성(바이러스, 무사마귀병)등 배추 품질에 관련된 특성의 품종 육성 기술은 세계에서 최상의 수준이다.

자가불화합성에 관한 유전학적, 생리학적 연구는 금세기 초부터 시작되었다. 유전작이 정확하게 밝혀진 것은 1952~1955년의 Bateman에 의해서이다. 즉 배추과 식물의 자가불화합성은 조포체 반응이며 단인자와 복대립인자라는 것이다. 그리고 그 후 1961년 하루다(治田)에 의해 이러한 사실이 확인됨과 동시에 서로 다른 복대립인자 간에는 주두와 화분쪽 모두 우열관계가 있어서 4가지 형의 우열관계가 개체에 따라 나타날 수 있음이 밝혀졌다. 우리나라에서는 1950년 우장춘박사가 환국하여 한국 농업과학연구소의 소장 직을 맡으면서 활용하기 시작하였는데 1960년에 원예 1, 2호 배추가 자가불화합성을 이용한 F₁으로 육성되게 되었다.

미국 코넬대학의 Nasrallah 등은 주로 게놈 DNA해석으로부터 *SLG*, *SRK* 유전자 주변에 존재하며 화분에서 발현하는 유전자를 탐색하고 있으며 그 중 *SLA*라고 불리우는 유전자를 분리하였지만 화분측 인자의 본체는 아니었다. 또한 그들은 자가불화합성을 나타내는 배추과 식물과 자가화합종인 애기장대 게놈의 상동영역을 비교하고 애기장대에는 S 유전자 좌에 해당되는 부분이 결여되어 있다는 것을 보고하였다. 영국의 Dickinson 등은 화분측인자의 탐색법으로서 *SLG*와의 결합성을 지표로 하는 방법을 고찰해서 화분단백질을 정제하고 PCP(pollen coat proteain)A-1등의 단백질을 분리하였으나 S 유전자 특이성이 없고 화분측 인자의 본체가 아니었다. 일본 이와테대학의 Watanabe 등은 *SLG* 및 *SRK*를 포함하는 약 80kb의 게놈단편을 해석하여 약 및 화분에서 발현하는 유전자를 cloning하였다. 또한 나라 선단대학원대학의 Isogai 등은 현재 biacore 시스템을 이용해서 *SLG*등에 결합성을 갖는 화분 단백질 PCP를 정제하고 있다. 또한 화분에서 발현하고 S 유전자형이 다른 mRNA를 탐색하여 화분 인자를 분명히 하려고 하고 있으며, 동북대학의 Nishio 등은 지금까지 배추과 식물에 있어서 많은 S test line을 정리하였고, 이들을 이용해서 *SLG*, *SRK*의 염기배열을 결정함과 동시에 이들의 종내에서의 변이를 명확히 하여 왔다. 주두에는 S 유전자 산물로서

SLG 이외에 이것과 구조가 극히 유사하면서 *S* 유전자 좌에 연쇄되어 있지 않은 *SLRI*이 있다. 영국의 Dumas 등은 *SLRI*의 antisense유전자를 도입한 브로콜리를 작성하였고 화분의 접착력이 감소된다는 것을 발견하였다. Isogai 등은 이 *SLRI*에 특이적으로 결합하는 화분표층단백질도 분리하였고 이러한 것이 종간의 불화합성에 관여하고 있는 가능성을 시사하였다. 최근 Nasrallah팀은 화분에서 특이적으로 발현하는 유전자(*SCR*; *S* locus cysteine-rich protein)을 보고하였다. 현재, 자가불화합성 연구의 세계적인 토픽은 화분측 자가불화합성 유전자가 동정됨에 따라 이 유전자를 형질 전환 시킴으로써 자가불화합성 기구의 기능을 해석하는데 초점이 모아지고 있다.

우리나라에서도 Brassica류의 주두측에서 발현하는 자가불화합성 유전자(*SLG*; *S*-locus glycoprotein, *SRK*; *S*-locus receptor kinase)를 계속 동정, 분석하여 왔으며, 최근 화분측 자가불화합성 유전자(*SP11/SCR*)를 활용한 *S*-유전자형 동정용 primer를 개발하고 있다.

배추에 있어 자가불화합성의 연구 전망은 주두측 및 화분측에서 발현하는 자가불화합성 유전자를 동정·분석함으로써 몇 개의 gene bank에 등록된 주두측 자가불화합성 유전자인 *SLG*유전자와 더불어 배추의 자가불화합성 기구의 해석이 분명히 될 것이며, 화분측 발현 유전자를 동정함으로써 배추 뿐만아니라 배추과 작물의 자가불화합성 기능분석에 관한 기초자료가 확보될 것이다. 또한 자가불화합성 유전자를 포함하는 promoter영역의 분석과 화분측에서 발현하는 유전자를 동정함으로써 자가불화합성 유전자형 분석이 가능할 것이다.

수출 대상국인 중국의 상황은 과거 재래종이 대부분이었으나 현재는 교배종 비율이 점차 높아지고 있으며 채종 체계는 자가불화합성이 위주이나 MS를 이용한 연구도 활발히 진행되고 있다. 특히 요녕성, 북경, 중국농과원에서는 품종보호차원에서 MS 이용을 활발하게 연구하고 있는데 요녕성은 GMS이용단계이며, 중국농과원은 MS 연구와 분자표지인자 개발에 주력하고 있다. 북경농과원의 경우 폴리마 CMS는 온도에 민감하여 이용하지 않고 있으며 Ogura CMS는 잡종강세가 생기지 않아 문제가 있으나 최근 프랑스에서 도입한 신재료를 이용한 계통은 양호한 것으로 평가하고 있었다. 산동성 농과원은 여교잡에 의한 형질변이를 우려하여 MS이용은 고려하지 않고 SI를 이용하고 있다고 한다.

한편 중국은 육성목표에서 개량대상형질을 바이러스병, 연부병, 노균병 및 흑반병에 대한 복합내병성 육성은 모든 연구기관 공히 추진하고 있었다. 한국 배추 품종은 만추대성이 우수하여 선호하고 있는데 만추대성 계통선발요령 등에 대한 관심이 높았다. 품질면에서는 저섬유질, 고당도, 고비타민으로 조리할 때 빨리 익으면서 물러지지 않아야 하며, 탕의 국물에서 맛과 향이 있고, glucosinolate의 함량이 낮아야 한다. Ca, Zn의 함량을 높이기 위한 중국농과원과 화란의 공동연구가 진행되고 있으며 산동성 농과원에서는 4배체 배추를 연구 중이다.

육종 연한 단축을 위한 배추 반수체 육종기술은 어느 정도 체계화되어 실용화 하고 있으나 유전형에 따라 차이가 많은 단점이 있다. 소포자 이용기술은 Lichter가 1982년에 유채의 약에서 분리한 소포자를 배양하여 반수성 식물을 얻는데 성공하였다. 우리나라에서는 Lee 등에 의하여 결구배추, 한국순무, 녹색꽃양배추 등에서 소포자 배양 기술이 개발되었다.(1985, 1986, 1999) 한편 중국에서는 북경농과원에서 소포자배양으로 연간 30품종 정도 공시하여 반수성 2배체 1,000여개 계통을 육성하고 있으며 바이러스 내병성을 가진 다양한 형태의 계통을 육성하고 있다고 한다.

또한 국제적으로 미국 위스콘신대학 등에서 배추 유전자 지도의 작성을 하고 있으며, 노르웨이 스완슨그룹, 미국 코넬대학에서 배추 원형질체 융합 연구와 유전자 클로닝, 형질전환등 생명공학 관련 연구가 진행되고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 재료 및 방법

1. 중국 지역별 작형별 품종 특성 탐색, 정보 및 유전자원 수집

중국 지역별 배추 품종 및 기호도 등의 정보와 품종을 수집하고 특성을 파악하여 수출품종개발 유전자원으로 활용하기 위하여 중국 북부 및 남부 지역을 선정하여 봄, 가을 작형별 배추 재배시기에 중국을 방문 조사하고 관련 정보 및 유전자원을 수집하였다.

가. 중국 북부지역 출장 조사

1차년도 가을(2002. 10. 27-11. 3)에 북경시, 요녕성 심양시, 산둥성 제남시를 방문하여 가을배추 종자 67점을 수집하여 유관기관 및 종자회사에 분양하였으며, 중국 연구기관 및 종자회사 6개소와 종자시장을 방문하여 육종현황, 육종방향 등의 정보를 수집하고 연구포장을 견학하는 등 전반적인 배추품종육종현황을 파악하였다.

2차년도 가을(2003. 9. 25-10. 1)에 흑룡강성 하얼빈시, 길림성 장춘시, 하남성 정주시를 방문하여 가을배추 종자 94점을 수집하여 유관기관 및 종자회사에 분양하였으며, 중국 연구기관 및 종자회사 9개소와 종자시장을 방문하여 육종관련 정보를 수집하고 연구포장을 견학하였다.

나. 중국 남부지역 출장 조사

1차년도 봄(2003. 5-6월)에 실시예정이었던 남부지역 봄배추에 대한 종자 및 정보수집은 중국내 SARS(중증급성호흡기증후군) 발병으로 인해 중국방문이 여의치 못하여 농림기술관리센터의 승인하에 출장조사를 보류하였다(기평02101-10278 : 2003. 5. 20).

2차년도 봄(2004. 5. 31-6. 8)에 운남성 곤명시, 광서성 계림시, 광둥성 연주시를 방문하여 배추종자 72점을 수집하여 유관기관 및 종자회사에 분양하였으며 중국 연구기관, 종자회사 등 10개소와 종자시장 및 농가재배포장을 방문하여 육종관련 정보를 수집하였다.

2. 중국 지역별 작형별 수출용 품종 개발

일반적으로 F₁ 품종 개발에서 육성 연한을 고려할 때 3년 내에 수출용 품종을 개발한다는 것은 불가능하기 때문에 본 과제의 목표를 달성하기 위하여 주관 연구기관에서는 첫째는 그동안 중국 수출용으로 개발 중인 기 분리계통을 활용하여 고정화시켜 조합작성에 이용토록 하고, 둘째로는 기 분리 계통 및 고정계통에 대한 각종의 내병성 계통을 확보하여 육성에 활용하였다. 셋째 당사에서 보유하고 있는 고정계통을 이용하여 조합작성부터 시험을 수행하여 기간 내에 품종을 개발코자 하였으며, 넷째 주관연구기관과 원예연구소에서 개발한 약배양 및 소포자 배양 유래 식물체를 활용하여 연구기간 내에 F₁ 조합 작성과 성능검정을 실시하였다. 한편, 수집된 유전자원을 평가하여 이들 중 육성에 유용 형질을 함유한 계통은 합성조합을 작성하여 약배양과 소포자배양의 모본으로 사용하고, 또한, 연구기간 내에 품종화는 어렵지만 연구 종료 후에 조합작성에 이용하기 위하여 순화 고정을 하였다. 순계분리, 계통 성능검정, 재종능력 검정 등 모든 시험연구의 재배법이나 검정기술은 주관 연구기관에서 확립하여 이용하고 있는 관행에 따랐다.

가. 기 보유계통(고정 및 분리계통) 및 수집한 재료의 계통성능검정은 봄 하우스에서 월동성능검정까지 표 1과 같이 계통 성능검정을 실시하였다. 각 작형별 선발기준은 표 2와 같으며 선발된 계통은 다음 세대 진전을 위한 증식 및 F₁조합 작성, 합성조합에 이용하였다. 합성조합은 기 보유계통과 수집된 품종과 교배하여 이용하였으며 이 중 일부는 원예연구소에 분양하여 소포자 배양용 모본으로 사용토록 하였다.

내병성 검정은 바이러스(C4-race), 무사마귀병, 복합내병성(TuMV+무사마귀병) 접종을 실시하였다. 바이러스(TuMV) 접종은 원예연구소에서 분양받은 TuMV-C4를 사용했으며 (주) 농우바이오의 매력배추로 증식하였다. 바이러스 증상이 심하게 나타난 배추잎을 인산완충액과 1:4로 넣고 마쇄하여 바이러스 접종원을 만들었고 이 접종원을 어린 식물의 어린 잎 2장에 카보런덤법으로 접종하였다. 무사마귀병 접종은 강원도 평창에서 채집된 균주(race 11)를 사용했으며 (주) 농우바이오의 매력배추를 사용하여 증식하였다. 접종은 과중된 배추에 증식된 무사마귀병균을 마쇄하여 일정농도로 희석된 병원균을 일정량씩 관주접종을 실시하였다. 복합내병성(TuMV+무사마귀병) 접종은 증식된 무사마귀병균을 마쇄하여 일정농도로 희석시킨 현탁액을 관주 접종을 실시한 후 TuMV-C4를 카바란덤법으로 접종을 실시하였다. 내병성 검정을 통해 얻어진

개체는 다음 세대 진전을 위해 저온 처리 후 증식을 도모하였다. 내병성 검정 경종개요는 표 3과 같다.

표 1. 계통 성능검정 경종개요

재배작형	파종기	정 식	조 사	구당주수	비 고
봄 하우스	12. 16	1. 16	3.20 - 4.10	18주×1반복	
봄노지	3. 20	4. 15	5.20 - 6.10	20주×1반복	
여름배추	7. 20	8. 10	9. 1 - 9. 25	"	
중국남방계	7. 25	8. 15	9. 1 - 9. 30	"	
가을배추	8. 10	9. 1	10. 1 - 11. 1	"	
중국북방계	8. 8	8. 28	10. 1 - 10. 20	"	
월동	9. 1	9. 25	2. 10 - 2. 20	18주×1반복	

표 2. 각 작형별 선발기준

o 봄 배추

외엽색	내엽색	엽수	숙기	순도	추대성	내병성 ^Z
농록	노랑	많음	조생	양호	만추대	강

내병성^Z : 무사마귀병, 바이러스병, 노균병

o 여름 배추

외엽색	내엽색	엽수	숙기	순도	내서성	내병성 ^Z
농록	노랑	많음	조생	양호	강	강

내병성^Z : 무사마귀병, 바이러스병, 노균병

o 가을 배추

외엽색	내엽색	엽수	숙기	순도	품질	내병성 ^Z
농록	노랑	많음	중생	양호	우수	강

내병성^Z : 무사마귀병, 바이러스병, 노균병

o 남방계 배추

외엽색	엽질	엽수	숙기	순도	내서성	내병성 ^Z
농록	강	많음	조생	양호	강	강

내병성^Z : 무사마귀병, 바이러스병, 무름병

o 북방계 배추

외엽색	내엽색	엽수	숙기	순도	품질	내병성 ^Z
농록	노랑	많음	중생	양호	우수	강

내병성^Z : 무사마귀병, 바이러스병

o 월동 배추

외엽색	내엽색	엽수	숙기	순도	품질	내한성	내병성 ^Z
농록	노랑	많음	중만생	양호	우수	강	강

내병성^Z : 무사마귀병, 바이러스병, 노균병

표 3. 내병성 검정 경종개요

검정작형	파종기	접종시기	조사 및 선발	비 고
봄 내병성	5월 중순	6월 상순	7월 상순	
가을 내병성	9월 상순	9월 하순	10월 하순	

나. 중국 지역별 기호도에 알맞은 병저항성 신계통 육성을 위해 기보유종인 내병계와 수집된 품종의 상호 합성조합을 작성하여 신계통의 육성 모본으로 이용하였다. 합성조합 모본을 원예연구소에 인계하여 소포자 배양을 실시하였으며 주관기관인 농우바이오에서도 약배양 및 소포자배양의 모본으로 이용하였다. 획득한 약배양 및 소포자배양 모본은 내병성 검정을 시행하여 개체선발을 하였다. 또한 선발되어진 개체는 기 고정계통과 F₁조합 작성에 이용하였다.

다. 우량 F₁ 조합 성능검정 및 지역적응성 검정

본 과제 시작 전에 작성되어진 F₁조합, 과제 진행 중에 획득한 약배양 및 소포자배양 모본과 기 고정계통과의 F₁조합을 이용하여 F₁ 성능검정을 봄 하우스에서 월동까지 시험하였으며 경종개요는 표 4와 같다. 각 작형별 선발기준은 표 2와 같으며 우량 F₁ 조합은 미숙모본으로 파종하여 저온 처리 후 격리된 하우스에서 벌을 이용한 채종시험을 수행하였다. 채종 능력이 우수하고 순도가 좋은 조합은 지역적응시험을 실시하였다.

중국현지 지역적응성 시험은 2차년도에서 1차년도에 선발되어진 조합중 일반계는 국내에서 바이러스에 저항성인 계통을 이용한 7조합을 북경근교에서 시험하였으며 남방계 지역적응성 시험은 광동성 2곳에서 시험하였다. 또한 3차년도에서는 2차년도에서 선발되어진 조합과 우량 F₁ 조합으로 북경 세농 연구소에서 중국현지 지역적응성 시험을 실시하였다. 경종개요는 표 5와 같다.

표 4. 우량 F1조합 성능검정 경종개요

재배작형	파종기	정 식	조 사	구당주수	비 고
봄 하우스	12. 16	1. 16	3. 20 - 4. 10	20주×2반복	
봄노지	3. 20	4. 15	5. 20 - 6. 10	20주×3반복	
고랭지 봄	5. 6	5. 30	7. 1 - 7. 20	"	
고랭지 여름	6. 15	7. 6	8. 10 - 8. 25	"	
여름배추	7. 20	8. 10	9. 1 - 9. 25	20주×2반복	
중국남방계	7. 25	8. 15	9. 1 - 9. 30	"	
가을배추	8. 10	9. 1	10. 1 - 11. 1	20주×3반복	
중국북방계	8. 8	8. 28	10. 1 - 10. 20	20주×2반복	
월동	9. 1	9. 25	2. 10 - 2. 20	20주×3반복	

표 5. 중국현지 적응시험 경종개요

재배작형	파종기	정 식	조 사	구당주수	비 고
일반계 봄	04. 3월	04. 4월	04. 6월	20주×3반복	북경
남방계	04. 7월	04. 8월	04. 9월	20주×3반복	광동성
일반계 가을	05. 8월	05. 8월	05. 11월	20주×3반복	북경
남방계	05. 7월	05. 8월	05. 9월	20주×3반복	광동성

라. 웅성불임 유전자원탐색은 기 보유중인 Ougura 유래 19계통 및 타 수집계통을 이용하여 여교잡법으로 웅성불임을 유기하고 있다.

마. 원연관계 분석 및 자가불화합성 검정

1) 기 보유계통에 대한 원연관계 분석

가) RAPD를 이용한 기 보유계통 분석

-재 료 : 여름 성숙모본 30개체와 남방계, 북방계 배추의 엽육 조직

-실험방법 : (1) PxE-0.2(ThermoHybaid) PCR 기기를 이용하여 OPERON 10mer primer와 genomic DNA를 이용하여 RAPD를 수행하였다. PCR 반응은 template DNA 10ng, primer 농도 25pmol, Bioneer premix kit (dNTP 250uM, Taq DNA polymerase 1U, MgCl₂ 1.5mM, Tris-HCl 10mM, KCl 40mM)에 멸균 3차 증류수를 첨가하여 최종 용량을 20 μ l로 하였으며, PCR 조건은 94 $^{\circ}$ C 5min 1cycle로 DNA를 pre-denature 후 94 $^{\circ}$ C 1min, 37 $^{\circ}$ C 2min, 72 $^{\circ}$ C 1min으로 45cycle 반응시켰으며 72 $^{\circ}$ C에서 10분동안 post-extension을 수행하였다. 선발되어진 primer 만을 이용하여 여름 성숙모본 30개체와 북방계, 남방계 배추를 위 조건으로 반응을 수행하였다. 이를 2.0% QA-AgaroseTM 에 전기영동으로 분리 후 UV trans-illuminator상에서 확인하였다.

(2) 개체간 원연 관계분석 : 증폭된 DNA band의 존재 유무(유는 1, 무는 0)에 따라 data matrix를 작성한 후(자료생략), numerical taxonomy and multivariate analysis system(NTSYS) ver. 1.70 computer program을 이용, 개체간의 유전적 유사성과 원연관계를 파악하였다. 이때 개체간의 유전적 유사도 계수(similarity coefficient)는 Sokal 과 Sneath의 방법에 따라 구하였으며, 이를 토대로 한 유전적 관련성에 대한 계통수는 unweighted pair group method using arithmetic average(UPGMA)법에 의하여 구하였다.

나) 주두측 자가불화합성 유전자형별 분류

- 재 료 : 5500 육성계통(S-haplotype)

- 실험방법 : 엽육조직으로부터 DNA 추출 및 정제

(1) 자가불화합성 유전자 증폭 : PxE-0.2 PCR (ThermoHybaid)을 이용하였으며, SLG primer (class I specific primer)와 SRK primer (class II specific primer) 사용 시 94 $^{\circ}$ C 5min, pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94 $^{\circ}$ C 30sec. annealing은 55 $^{\circ}$ C 30sec. extension은 72 $^{\circ}$ C 1min. 30회 반응시켰으며, post-extension은 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 수행하였다.

(2) RFLP 분석 : SRK class II specific primer에 의해 증폭된 PCR 산물은 *Hinf* I으로 SLG class I specific primer에 의해 증폭된 산물은 *Rsa* I으로 동정하였다. 반응 조건으로 2 μ l의 10 \times buffer(750mM KCl, 150mM tris-HCl, pH 7.5, 92.5mM MgCl₂,

10mM dithiothreitol)를 첨가하고 PCR산물 13.5 μ l, restriction endonuclease 2.5units, 멸균 증류수 4 μ l 을 더한 다음 최종 volume을 20 μ l로 하였다. 반응액은 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 이상 incubation시킨 후 3% QA-AgaroseTM High Resolution에 전기영동으로 분리하여 UV trans-illuminator상에서 확인하였다.

3. 우량교잡종 단기 육종체계 확립 및 적용연구

가. 교배종 모본 육성 및 반수체 육종법 확립

1) 교배종 모본 재료 작성(주관연구기관에서 제공)

가) 재 료

○ 교배모본

- 남방계 : 농우바이오 제공(10점)
- 병저항성 : 원예연구소 보유
 - 바이러스병 저항성 계통 : BP079, 원예20024호
 - 무사마귀병 저항성 자원 : 저항성 순무, ECD04
 - 무름병 저항성 계통 : 원예연 육성 2계통

나) 처 리 : 수집자원의 F₁ 작성

2) 반수체 육종법 확립

가) 처 리 : 최적 소포자 배양 조건 확립을 위한 배지, 온도 및 성장조절제 처리

나) 조사내용 : 배상체 발생율

나. 중국수집 자원의 특성 평가

1년차에 수집한 중국배추 품종 67점을 2003년 8. 8.에 72공 플러그 트레이에 파종하여 한달간 육묘하여 2003. 9. 8.에 재식거린 70×50cm로 하여 정식하였으며 2003. 10. 27~28.에 결구형, 주중, 속잎색 등이 원예적 특성을 조사하였다. 결구형은 농사시험연구소사기준표에 준하여 불결구형 등 12가지의 결구모양에 대한 조사를 수행하였으며 결구된 잎 모양이 겹치는 정도로 포합형, 포피형 등을 조사하였다. 엽색이나 속잎색 등 색깔 관련 특성은 DIC 칼라차트를 이용하여 조사하였으며, 수량 관련 형질인 주중은 뿌리부분을 제외한 포기의 무게를 측정하였으며 엽수의 경우 엽장이 1cm이상 되는 잎의 수를 헤아려 조사하였다.



그림 1. 엽색 및 속잎색 조사에 이용한 색차표

다. 저항성 계통 육성을 위한 소포자 배양

1) 배지, 모본, 생장조절제 처리에 의한 배 발생

다양하고 신속한 무사마귀병 저항성 계통 육성을 위해 반수체 육종법의 하나인 소포자 배양기술을 활용하기 위해 무사마귀병 저항성으로 판명된 'MSH-128' 등 일본 4 품종과 국내에서 작형별로 시판되는 품종을 교배한 F₁ 12조합 및 농우바이오에서 분양 받은 11점 등 총 23개의 모본을 이용하여 소포자 배양을 수행하였다.

라. 소포자 배양에 의한 계통 획득

바이러스병 검정을 위하여 과종 후 3주된 배추에 TuMV- C4를 카보랜덤을 이용한 인공접종하여 2주후에 병징을 조사하였으며, 소포자 배양을 통한 다양한 계통 확보를 위하여 1년차에 배발생이 가장 좋았던 배지인 NLN+BA 0.05mg/ℓ 등 3개의 배지를 이용하여 배양하였으며 재료로는 1년차 중국수집 배추 품종 67점과 보유 유전자원 5점을 이용하였다. 소포자(microspore) 배양은 Coventry 등(1988)이 *B. napus*에서 확립한 방법을 토대로 수행하였다. 1세포성(late uni-nucleate) 후기의 소포자가 있는 2~3mm 크기의 꽃봉오리를 수집하여 95% ethanol에 2~3초, 2% NaOCl에 15분 소독한 후 멸균수로 3회 이상 수세하였다. 소독된 꽃봉오리는 sucrose 13%의 B5(Duchefa, G0210) washing 배지를 넣은 유발에서 부드럽게 파쇄한 후 1,000rpm에서 3분간 원심분리한 후 상징액은 버리고 B5 washing 배지를 넣어 다시 2~3회 원심

분리하였다. 마지막 원심분리한 후 B5 대신 sucrose 10% NLN[Duchefa, N0252+N0253, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $500\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]배지를 넣은 다음 hemacytometer를 이용하여 $10^5 \text{microspores} \cdot \text{mL}^{-1}$ 개로 희석한 후 직경 5cm 페트리디쉬에 3~5mL씩 분주하여 파라필름으로 2겹 씌운 후 32.5°C에서 24시간 암 상태로 고온처리한 후 25°C의 암상태에서 배양하였다.

소포자 유래 배가 발생하면 Keller와 Armstrong(1983)의 보고를 토대로 자엽모양이 잘 전개되고 크기가 5mm이상인 정상 배는 sucrose 2%의 MS에, 비정상적인 배는 sucrose 3%의 MSK(MS+BA $1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.02\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)에서 식물체 재분화를 유도하였다.

소포자 배양 조건 확립을 위해 NLN배지를 기초로 다량요소의 양을 1/2로 감소시킨 1/2NLN 배지처리 및 성장조절제 BA 0, 0.05, 0.25, 0.5($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)및 NAA를 4수준(0, 0.25, 0.5, 1.0($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)) 단독 및 혼합 16처리하였으며, cytokinin류인 kinetin 0.05, 0.1, 0.5, 1.0($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)과 thidiazuron 0.001, 0.005, 0.01, 0.05($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)를 각각 단독처리 하였다.

마. 소포자 유래 개체의 배수성 검정

소포자 유래 개체의 배수성 검정은 ploidy analyzer(Patec PA-1, Germany)를 이용한 핵 내의 DNA 함량으로 조사하였다. 소포자 유래 454개체의 잎을 0.5cm×0.5cm 크기로 절단하여 잎 조직 분리 용액 HR(High resolution plant)-A(Partec, Germany) 0.5mL를 절편체 위에 부어 날카로운 칼로 잘게 잘랐다. 잘게 자른 시료 용액을 20~30 μm 체에 걸러 조직을 제거한 후 형광 염색 시약인 HR-B(DAPI, 4,6-diamidino, Partec Germany) 2mL 첨가하여 배수성 판정기에서 핵 내의 DNA량을 조사하였다.

바. 소포자 유래 계통의 특성 검정

소포자 배양 후 정상적으로 식물체로 재분화된 개체 중 춘화처리하여 종자증식에 성공한 7계통에 대한 원예적 특성 및 병 저항성을 검정하였다.

원예적 특성 검정을 위해 2004년 8월 16일에 105공 플러그트레이에 파종, 육묘하여 9월 2일 포장에 난괴법 3반복, 반복당 10주씩 정식하였으며, 11월 1일에 수확하여 조사하였다. 재식거리는 150cm 이랑에 주간 간격 50cm 2줄로 정식하고 10월말에 수확, 조사하는 가을재배법에 준하였다. 평가 형질로는 결구형, 숙기, 모용, 결잎색, 속잎색, 주중, 엽수 등이었다. 결구형은 농사시험연구조사기준표(농촌진흥청, 2004)에 준하여

불결구형 등 12가지의 결구모양에 대한 조사를 수행하였으며, 결구된 잎 모양이 겹치는 정도에 따라 포합형, 포피형 등으로 구분하였다. 결잎색이나 속잎색 등 색깔 관련 특성은 DIC칼라차트로 조사하였으며, 수량 관련 형질인 식물중은 뿌리부분을 제외한 포기의 무게를 측정하였고 엽수의 경우 엽장이 1cm이상 되는 것을 조사하였다.

사. 자가불화합성 인자 분류 및 원연관계 분석

소포자 유래 24개체와 원예연구소 보유 97계통의 DNA를 Raz와 Ecker(1997) 방법으로 추출하였다. DNA 분석을 위하여 배추의 잎으로부터 핵산을 추출하는방법은 식물체당 잎 조직을 0.5g 채취하여 액체질소로 얼려 마쇄하여 가루로 만든 후 15mL의 추출용 완충액(buffer)(100 mM Tris.Cl; 50mM EDTA; 500 mM NaCl; 100 mM beta-mercaptoethanol; 1% SDS)을 넣고 잘 섞어준 다음 65℃에서 10분간 보관하였다. 여기에 다시 5mL의 5M potassium acetate를 넣고 0℃에서 20분간 보관한 후 12,000rpm에서 20분간 원심분리한 후 상정액을 회수하여 용액의 0.6배 isopropanol을 넣고 잘 섞은 후 10,000rpm에서 10분간 다시 원심분리하였다. 침전물을 5mL의 Tris-EDTA 용액(50mM Tris, 10mM EDTA, pH 8.0)에 잘 녹인 후 50 μ L의 10 mg·mL⁻¹ RNase를 처리한 다음 동량의 phenol 및 chloroform-isoamyl alcohol(24:1) 용액으로 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA 용액에 100 μ L의 3M sodium acetate와 500 μ L의 isopropanol을 넣고 다시 원심분리하여 70% ethanol을 이용하여 침전된 DNA를 씻어낸 후 말려서 500 μ L의 TE buffer(10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0)에 녹인 후 PCR반응을 위하여 DNA를 10ng· μ L⁻¹로 희석하였다.

RAPD는 Williams 등(1990)의 방법에 따라 수행하였는데 총 25 μ L의 반응액에 20ng의 genomic DNA, dATP, dCTP, dGTP, dTTP 각각 100 μ M, 0.2 μ M의 임의 프라이머, 1 \times *Taq* polymerase buffer(10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM Mg²⁺, 0.001% gelatin)와 0.8 units의 *Taq* DNA polymerase (Boehringer Mannheim)를 첨가하였다. PCR 반응주기는 94℃에서 3분간 주형 DNA를 변성시킨 후, 94℃에서 1분, 35℃에서 1분, 72℃에서 2분간 각각 변성, annealing 및 extension 과정을 45회 반복하였으며 마지막 반복 후에는 72℃에서 5분간 처리한 후 반응을 종료하였다. PCR반응이 끝난 후 합성된 산물을 1.4% agarose 겔에서 전기영동하여 RAPD 표지(marker)를 선별하였다.

유연관계 분석을 위해 Operon사의 임의 프라이머 Kit U01~U20과 V01~10 30개를 이용하여 RAPD 분석 후, 다형성을 보이는 단편(band)의 유, 무에 따라서 1과 0으로

coding하고 NTSys 프로그램을 이용하여 유사도 및 군집분석을 실시하였다. NTSys 프로그램 내에서 1과 0으로 coding한 marker data는 단편의 강도나 증폭량에 따라 가중치를 부여하지 않는 비가중평균분석(UPGMA)법으로 유사도를 결정하였으며, 얻어진 유사도 값을 phylogenetic tree의 작성 자료로 이용하였다.

아. 소포자 유래 계통의 유연관계 분석

1) 시험재료

소포자 유래 계통의 유연관계를 분석하고자 총 99개체를 이용하였다(표 6).

2) Genomic DNA 추출

소포자 유래 계통의 어린 잎으로부터의 DNA 추출은 Raz와 Ecker의 방법을 사용하였다(Roger와 Gemmill, 1997). 채취한 유엽 0.5g을 유발에 넣고 액체질소로 동결하여 완전히 분말이 되도록 곱게 마쇄하였다. 분말상태의 시료를 2ml 튜브에 넣고 추출용 buffer(3% CTAB, 100mM Tris-Cl(pH 8.0), 20mM EDTA, 1.4M NaCl, 2% PVP, 1% 2-mercaptoethanol) 800 μ L를 첨가하여 완전히 섞이도록 한 후 65°C 항온수조에서 30분간 반응시켰다. 여기에 동량의 chloroform : isoamyl alcohol(24 : 1)을 첨가하여 shaker에서 10분간 혼합한 후 10,000 $\times g$ 에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상정액을 새 튜브로 옮겨 동량의 isopropyl alcohol을 첨가하여 천천히 섞어 실온에 10분간 둔 후 10,000 $\times g$ 에서 10분간 원심분리하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA를 70% ethanol로 세척한 후 진공건조시켜 400 μ L의 TE buffer(10mM Tris-Cl; 1mM EDTA, pH 8.0)에 녹인 다음 4 μ L RNase(10mg/ml)를 넣어 37°C에서 1시간 반응시켰다. 동량의 chloroform: isoamylalcohol(24:1)를 넣어 잘 섞은 후 원심분리 하였고, 원심분리 후 상정액을 새 튜브에 옮겨 동량의 isopropanol을 첨가하여 -20°C에서 20분간 둔 후 10,000 $\times g$ 에서 15분간 원심분리 하였다. DNA pellet을 70% 에탄올로 세척한 후 진공건조한 다음 100 μ L TE buffer에 녹였다. 추출된 DNA는 0.8% agarose gel 상에 전기영동하여 확인하였고 DNA양은 Fluorometer(Turner, TD-360, USA)로 정량하여 실험에 이용하였다.

표 6. AFLP 분석용 소포자 배양 유래 99개체

No.	Line	No.	Line	No.	Line
1	105-15-3	36	123-36-7	71	140-24-3
2	105-44-40	37	123-36-20	72	140-25-2
3	105-56-1	38	123-36-22	73	140-25-3
4	105-56-4	39	123-40-1	74	140-27-3
5	108-7-1	40	123-40-5	75	140-31-3
6	108-7-2	41	123-40-14	76	140-33-1
7	123-1-1	42	123-40-16	77	140-35-1
8	123-1-4	43	123-40-18	78	140-35-2
9	123-1-11	44	123-40-23	79	140-35-4
10	123-1-19	45	128-1-8	80	140-36-1
11	123-1-20	46	128-28-2	81	140-47-3
12	123-1-65	47	139-2-1	82	140-48-1
13	123-1-70	48	139-7-2	83	140-63-1
14	123-2-2	49	139-36-1	84	140-66-1
15	123-2-3	50	139-45-1	85	140-69-4
16	123-2-23	51	139-56-1	86	140-78-1
17	123-2-27	52	140-2-4	87	140-83-1
18	123-3-6	53	140-2-6	88	140-86-1
19	123-3-49	54	140-3-1	89	140-90-1
20	123-3-51	55	140-5-5	90	140-97-1
21	123-3-96	56	140-7-1	91	140-98-3
22	123-3-98	57	140-8-1	92	140-102-1
23	123-4-6	58	140-9-2	93	143-28-1
24	123-4-11	59	140-9-3	94	143-28-4
25	123-5-1	60	140-14-1	95	143-30-1
26	123-5-11	61	140-14-2	96	144-5-1
27	123-6-2	62	140-14-3	97	144-5-4
28	123-6-8	63	140-14-4	98	144-5-6
29	123-6-21	64	140-14-6	99	144-15-1
30	123-6-86	65	140-17-1		
31	123-7-1	66	140-18-1		
32	123-7-5	67	140-19-1		
33	123-7-10	68	140-22-2		
34	123-7-26	69	140-23-1		
35	123-7-50	70	140-24-2		

3) AFLP 분석

AFLP 분석은 Vos 등(1995)의 방법을 약간 변형하여 수행하였다. DNA 250ng 에 제한효소 *EcoR* I 과 *Mse* I 을 각 5 unit 씩 첨가하고 8 μ L의 5 \times restriction ligation (RL) buffer(10 mM Tris acetate (pH 7.5), 10 mM magnesium acetate, 50

mM potassium acetate, 5 mM DTT, 50ng/ μ L BSA)를 넣어 총 반응액을 40 μ L로 조정하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 이 반응액에 5 pmol *EcoR* I adapter, 50 pmol *Mse* I adapter, 10 mM ATP, 2 μ L 5 \times RL buffer로 구성된 10 μ L의 ligation 반응액을 첨가하여 37°C에서 3시간 동안 adapter와 제한효소 단편을 결합시킨 후 5배로 희석하여 preamplification의 template로 이용하였다. Preamplification은 총 20 μ L 반응액에 희석한 ligation 반응액 5 μ L, 5 pmol의 *EcoR* I +A primer, 5 pmol의 *Mse* I +C primer, 200 μ M dNTP, 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl 및 1 unit *Taq* DNA polymerase를 첨가하였다. PCR 반응은 94°C에서 45초, 56°C에서 30초, 72°C에서 1분간 24회 반복하였다. Selective amplification은 preamplification 반응액을 20배로 희석한 후 5 μ L를 취하고 여기에 선택염기 3개가 포함된 각 5 pmol의 *EcoR* I +ANN primer와 *Mse* I +CNN primer, 200 μ M dNTP, 1 \times PCR buffer, 1 unit *Taq* DNA polymerase를 첨가하여 반응액은 15 μ L로 조정하였다. PCR 반응은 94°C에서 30초 변성, 30초 annealing, 72°C 1분간 변성 과정을 36회 수행하였는데 annealing 온도는 65°C에서 매회 0.7°C씩 낮추면서 13회 반복하였고 이후에는 56°C에서 23회 수행하였다. PCR 증폭산물에 10 μ L의 loading buffer (98% formamide, 10 mM EDTA pH 8.0, 0.1% bromophenol blue, 0.1% xylene cyanol)를 넣어 95°C에서 5분간 변성시키고 바로 얼음에 넣어 급랭시켰다. 이 용액 중 5 μ L를 6% denaturing polyacrylamide gel에 넣고 3시간 동안 50W로 전기영동하였다. 전기영동이 완료된 후 Silver sequencing kit(Promega, Madison, WI, USA)로 염색하였다.

표 7. AFLP 분석에 사용된 adaptor와 primer의 염기서열

Adapter/Primer	Sequence
<i>EcoR</i> I adapter	CTGTAGACTGCGTACC CTGACGCATGGTTAA
<i>EcoR</i> I + 1 primer	GACTGCGTACCAATTC + A
<i>EcoR</i> I + 3 primer	+AAG, +AAT, +ACA
<i>Mse</i> I adapter	GACGATGAGTCCTGAG TACTCAGGACTCAT
<i>Mse</i> I + 1 primer	GATGAGTCCTGAGTAA +C
<i>Mse</i> I + 3 primer	+CAA, +CAC, +CAG, +CAT, +CTA, +CTC, +CCC, +CCG, +CCT, +CGA, +CGC, +CGG, +CGT

4) 유연관계 분석

본 시험에 사용한 primer는 예비검정에서 선발된 primer 중에서 16 조합의 primer를 이용하였다. 증폭된 DNA 사진에서 특정밴드의 유무에 따라서 1과 0으로 coding하여 data matrix를 작성하였고, 통계프로그램 NTSYS(numerical taxonomy analysis system)를 이용하여 비가중평균결합(UPGMA; unweighted pair group mean arithmetic) 방법으로 집괴분석하였다.

자. 유연관계 분석을 이용한 조합의 특성 평가

유연관계 분석을 기초로 유전적 거리가 멀고 가까운 27계통을 이용하여 F₁ 32조합을 작성하였다. 양친 27점과 이를 이용하여 작성된 F₁ 32 조합은 소포자 유래 계통의 원예적 특성 평가에 준하여 포장에서 특성 평가하였다.

차. 바이러스병 저항성 남방계 배추 육성을 위한 조합 작성 및 선발

바이러스병 저항성 남방계 배추 품종 육성 : 1차 년도에 작성한 F₁ 조합을 2004. 1. 4.에 파종하여 무가온 비닐하우스에 2004. 2.14-15.에 정식하여 자연상태에서 춘화처리하였으며 4월초부터 자가수분에 의한 인공교배를 실시하여 채종하였다.

4. 자가불화합성 인자형 동정 기술 개발

가. 화분측 S-유전자(SP11/SCR)의 cloning 및 염기서열 결정

1) 공시재료

1차년도 연구결과, 동정된 class I 9개(S^a~Sⁱ)와 class II 4개(S^w~S^z)의 총 13개의 S-haplotype을 공시재료로 사용하였으며, 엽으로부터 genomic DNA 추출하였다.

2) 화분측 S-allele의 특이적 primer 탐색

B. rapa SP11-52, 8과 9(GenBank acc. no. AB035505, AB035504, AB022078)의 DNA 염기서열에 기초하여 class I S-haplotype의 SP11/SCR 유전자의 증폭을 위하여 첫 번째 exon과 종지코돈의 하류쪽에서 특이적 primer를 합성하였다(SPIF: ATG AAA TCN GNT NTT TAT GCT TTA TTA TGT TTC, SPIR: GAA AAA AGT AGA GTT GTT GT). 또한, class II S-haplotype에 대한 SP11/SCR의 genomic 구조를 결정하기 위해서는 *B. oleracea*의 S2-b, S5와 S15 haplotype의 DNA 염기에 기초하여 개시코돈부터 상

류 30bp와 중지코돈을 포함하여 합성하였다(SPIIF: GCG AAA ATC TTA TAT ACT CAT AAG, SPR: TTC GTT GAT CAA TTA TGA TT).

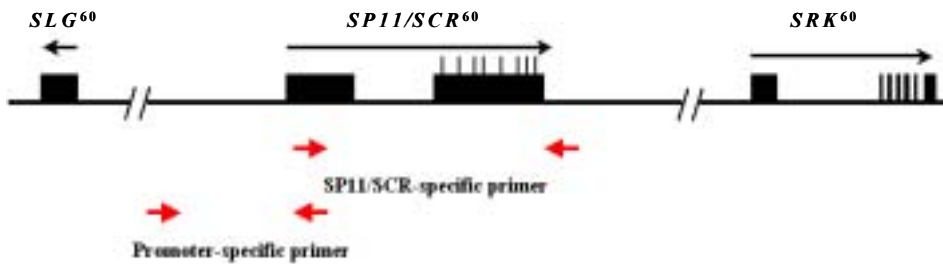


그림 2. 화분측 자가불화합성 유전자 및 promoter 영역의 증폭을 위한 primer를 합성한 위치. Box부분은 S⁶⁰-haplotype의 SLG, SP11/SCR과 SRK의 coding 영역

자가불화합성 유전자 SP11/SCR의 증폭 : PE-9700(Perkin-Elmer, CA, USA)을 이용하였으며, SP11/SCR의 증폭을 위해서 1분간 94℃에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94℃에서 1분, annealing은 55℃에서 2분, extension은 72℃에서 1분간 35회 반응시켰으며, promoter 영역의 증폭을 위해서는 57℃에서 2분간 반응시켰다. Post-extension은 72℃에서 5분간 수행하였다.

PCR 산물의 cloning 및 염기서열 결정 : 증폭된 PCR 산물은 pGEM-T Easy Vector (Promega USA)에 cloning하였고, cloning된 nucleotide sequence는 Auto sequencer (Applied Biosystems)에 의해 3회 실시하여 결정하였다.

나. 화분측 S-유전자(SP11/SCR)의 promoter 분석

최근에 동정된 SP11/SCR 유전자의 5'-flanking 영역들의 물리적 구조를 분석하기 위하여 *Brassica rapa*, *Brassica oleracea* (Cabbage, Broccoli), *Raphanus sativus*의 SP11/SCR 유전자의 5'-flanking 영역들을 동정하여 sequencing하였다. 22개의 inbred line들(*B. rapa*, 3 line; *B. oleracea*, 7 line; *R. sativus*, 12 line)들을 재료로 이용하였다. SP11/SCR 유전자의 5'-flanking 영역들을 증폭하기 위하여 S^g-SP11 (Shiba et al. 2001)의 5'-flanking 영역의 염기에 기초하여

SP11-PF (5'-AR(A/G) TTR(A/G) GAC CCG TTA W(A/T)TC TM(A/C)G-3') Forward primer를 합성하였고, *SP11*-PR2과 *SP11*-PR3 (5'-GAT GAA TAT GAA ACA TAA TAA TGC-3' 과 5'-GCA TAA ACA GCA GAT TTC AT-3')은 S^8 , S^9 , S^9 , S^{52} -*SP11* (Suzuki et al. 1999; Takayama et al. 2000) 염기들에 기초하여 Reverse primer를 합성하였다

다. 화분측 자가불화합성 S15 haplotype SP11 유전자의 계통구성과 전사체의 특징

1) 공시재료

Class-II S haplotype인 *B. oleracea* S15 homozygote는 inbred line #102 (NongWoo Seed Co., Seoul, Korea)와 inbred line TCS15(Takii Seed Co. Kyoto, Japan)를 이용하였다.

S15-SP11의 cloning 및 염기서열 분석 : SP11의 계통구조를 결정하기 위하여, class II SP11 특이적 primer들을 S60-SP11 coding 영역의 5-, 3-말단의 염기에 기초하여 합성하였다(5-GCG AAA ATC TTA TAT ACT CAT AAG-3 및 5-TTC GTT GAT CAA TTA TGA TT-3). SP11의 5-upstream 영역을 증폭하기 위하여 C2SP11pro-2F: 5-CGC AGG AAA AGA AGA ATT GGA T-3, C2SP11pro-2R: 5-CAG GGC ATT TCC AAG CTC CCA C-3를 이용하였다. SP11의 3-말단은 3-RACE(3-rapid amplification of the cDNA ends)법을 이용하여 결정하였다. RT-PCR primer들은 2번째 exon과 3-untranslated region (UTR)영역에서 합성된 S15-SP11F: 5- ACT AGA TGT GGG AGC TTG GAA ATG-3, S15-SP11R: 5- CTC GAG TTC GTT GAT CAA TTA TGA TT-3 이용하였다. 증폭된 PCR 단편들은 vector pGEM-T Easy (Promega, Madison, USA)에 cloning하였고, dideoxy-chain termination법에 의해 염기서열을 결정하였다. 염기서열 분석은 GENETYX(Software Development, Tokyo, Japan)와 DNASIS(Hitachi Software, Tokyo, Japan)를 이용하였다.

2) RNA gel blot 분석

S15-SP11a probe로 hybrid한 후, membrane은 0.1x SSPE, 0.1% SDS로 65°C 30분 세척한 후 X-ray film에 노출시켰다.

라. 주두측 S 유전자(SLG)를 이용한 S-haplotype 동정

1) 공시재료

소포자 유래 24 개체와 원예연구소 보유 97계통의 DNA를 Raz and Ecker 방법을 이용하여 앞에서 추출하였다

2) 주두측 SLG primer 탐색 및 합성

주두측 S-allele의 SLG 특이적 primer는 class I과 class II를 구분할 수 있는 primer를 SLG영역에서 합성하였다. Class I primer의 조합은 우성 S-haplotype에 속하는 S18, S22, S23, S46의 DNA 염기에 기초하여 합성하였다. 반면 class II primer는 열성 S-haplotype에 속하는 S2, S5, S15, S29, S60 SLG의 DNA 염기에 기초하여 합성하였고, Forward primer 및 reverse primer 공히 개시코돈이 포함되게 합성하였다.

SLG 산물의 증폭 : PE-9700(Perkin-Elmer, CA, USA)을 이용하였으며, SLG specific class I primer 사용시 2분간 94°C에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94°C에서 1분, annealing은 64°C에서 2분, extension은 72°C에서 1분간 35회 반응시켰으며, class II primer는 57°C에서 2분간 반응시켰다. Post-extension은 72°C에서 5분간 수행하였다.

3) PCR-RFLP 분석

SLG class I 및 class II 특이적 primer에 의해 증폭된 PCR 산물은 *Hinf* I으로 소화하였다. 반응조건으로 1.5 μ l의 10 \times buffer(750mM KCl, 150mM tris-HCl, pH 7.5, 92.5mM MgCl₂, 10mM dithiothreitol)를 첨가하고 PCR산물 7 μ l, restriction endonuclease 2.5units를 첨가한 다음 최종 volume을 15 μ l로 하였다. 반응액은 37°C에서 10시간 incubation시킨 후 3% Metaphor agarose(BMA, USA) gel과 5% QA-Agarose™ High Resolution에 전기영동으로 분리하여 UV trans-illuminator상에서 확인하였다.

라. PCR법에 의한 SP11의 cloning 및 염기서열분석

1) 농우에서 육성한 9개 계통의 *SP11* promoter 영역 분석

농우(NongWoo Seed Co., Seoul, Korea)에서 육성한 배추 9개 계통의 inbred line을 재료로 이용하였으며 엽에서 genomic DNA를 CTAB법에 의하여 추출하였다. 자가불화합성 유전자 *SP11/SCR*의 -192bp 부분에 위치한 promoter 영역을 분석하여 개시코돈 영역에서의 특이적 primer를 합성하기 위해 *SP11/SCR*을 PCR 증폭(PE-9700, Perkin-Elmer, CA, USA)하였다.

PCR 산물의 cloning 및 염기서열 결정 : 증폭된 PCR 산물은 pGEM-T Easy

Vector (Promega USA)에 cloning하였고, Macrogen사에 의뢰하여 sequencing 한 후 BLASTN 프로그램(NCBI)을 이용하여 분석하였다.

2) Class I *SP11*의 cloning 및 염기서열분석

9개 계통의 화퇴에서 약을 채취하여 mRNA를 추출(Invitrogen, Micro-FastTrack mRNA Isolation Kit)한 후 추출 산물에 *NotI*-dT₍₁₈₎을 붙여 cDNA(Amersham-Pharmacia, First-Strand cDNA Synthesis Kit)를 합성하여 이용하였다.

화분측 *SP11/SCR* primer 합성 : 화분측 S-allele의 class I용 *SP11/SCR* 특이적 forward primer를 7종 합성하였으며 reverse primer로는 *NotI*-dT₍₁₈₎를 이용하였다.

SP11 산물의 증폭 : PE-9700(Perkin-Elmer, CA, USA)을 이용하였으며, *SP11* class I specific forward primer와 *NotI*-d(T)₁₈ reverse primer를 사용하여 denaturation을 94°C에서 30초, annealing은 45°C에서 30초, extension은 72°C에서 2분간 42회 반응시켰으며, post-extension은 72°C에서 5분간 수행하였다.

*SP11*의 cloning 및 염기서열 분석 : *SP11* class I specific primer와 *NotI*-d(T)₁₈ primer에 의해 증폭된 PCR 산물은 pGEM-T Easy Vector (Promega USA)에 ligation 한 후 electroporation법(Bio-Rad사의 MicroPulser)에 *DH5α*에 형질전환하였고, Macrogen사에 의뢰하여 염기서열을 결정, Blast(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)로 염기서열 분석을 수행하였다.

3) Class II *SP11* cloning 및 염기서열분석

농우에서 육성한 배추 3계통을 공시하였으며 각 계통으로부터 CTAB법에 의해 genomic DNA를 추출하였다.

SP11 class II 특이적 primer(Fw: 5'-GCGAAAATCCTTATATACTCATAA-3', Rv: 5'-TTCGTTGATCAATTATGATT-3')를 이용하여 Perkin-elmer사의 PE-9700으로 PCR 증폭하였다. PCR 조건은 94°C에서 5분간 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94°C에서 30초, annealing은 50°C에서 30초, extension은 72°C에서 1분간 30회 반응시켰으며, post-extension은 72°C에서 10분간 수행하였다.

증폭된 PCR 산물은 PCR Purification Kit(DYNE)로 정제하여 pGEM-T Easy Vector (Promega USA)에 cloning하였고 Macrogen사에 의뢰하여 염기서열을 결정, Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)로 염기서열 분석을 수행하였다.

제 2 절 연구 개발 결과

1. 중국 지역별 작형별 품종 특성 탐색, 정보 및 유전자원 수집

가. 1차년도 중국 북부지역 출장 조사

1) 출장 결과 개요

1차년도 가을(2002. 10. 27-11. 3)에 연구팀 소속 3인(김한수, 이수성, 박현경)이 중국 북부지역(북경시, 요녕성 심양시, 산둥성 제남시)을 방문하여 가을배추 종자를 67점을 수집하여 농촌진흥청 원예연구소, 유전자원과의 19개 종자회사(분양신청회사)에게 종자 및 특성(종자봉투 사본)을 배부하였으며 중국 연구기관 및 종자회사(동아종묘육종연구소, 심양농업과학원, 중국농업과학원 채소화훼연구소, 북경농업과학원 채소연구소, 산둥성농업과학원 채소연구소, 청도국제종묘사) 6개소와 종자시장을 방문하여 육종현황, 육종방향 등의 정보를 수집하고 연구포장을 견학하는 등 전반적인 배추품종 육종현황을 파악하였다.

나. 중국 배추 현황

중국 채소재배면적 16백만ha중 배추류는 2백만ha, 결구배추는 67만ha 재배되고 있으며 양자강 이북은 결구배추를 10년 전에는 7하-8상순에 파종하여 10중 수확하여 곁잎을 말린 상태로 얼지 않을 곳에 보관하여 5개월 저장하는 작형으로 연 1회 재배하였으나 최근 작형이 분화되어 연 2-3작 재배하며 한국으로부터 만추대성 춘과품종을 도입하고 대만으로 부터 만춘 또는 조추 작형으로 대농1호 등 내서성 품종을 도입하고 있다. 동북 3성의 북방지역은 고온, 건조로 만춘, 조추 작형 재배는 곤란한 것으로 파악되었다. 양자강 이남은 팍초이류를 연 7-8작 재배하고 있다.

지역별 배추품종 기호도를 지역별로 분석하면 남부는 소구, 무모용(권심형?), 하남/산서는 3-4kg의 역삼각형, 산둥은 역삼각형과 한국형, 북경이북은 북경신3호 등 구의 크기 25×35cm, 구 무게 5-7kg의 긴원통형과 80일형으로 구분된다.

가을배추품종의 특성을 분류하면 북경 이북은 잎이 크고 농녹색이며, 중륵이 넓고 두터운 엽중형으로 구가 크고 직통형이며 구고 35cm, 구경 25cm, 구중 6-7kg 정도이다. 바이러스에 강하며 80일형 중만생 품종을 직파재배하고 있다. 한국 품종은 중국에서 바이러스에 약한 것으로 평가되고 있다. 산둥지방은 잎이 크고 녹(연녹)색이며, 중륵이 넓고 두터운 엽중형으로 구가 크고 역삼각형이다. 바이러스에 강하며 55-85일형 등 다양한 숙기의 품종을 직파재배하고 있다. 잎조직은 매우 연한 편이다.

다. 중국 배추 연구기관 육종현황 및 육종 방향

배추는 중국에서 연구기관 수가 가장 많은 채소로, 농업과학원, 대학, 개인기업체 등으로 구성되어 있으며 최근 개인육종회사가 급증하고 있다. 국가지정연구소는 흑룡강성, 북경, 산둥성 등 3개 성에 있으며 각 현의 농업과학원이 종자회사를 운영하고 있다. 배추육종 전문인력으로 중국과학원 5명, 북경연구원 7명, 산둥과학원 2명(보조 5명), 요령과학원 3명을 보유하고 있다.

각 기관별 주요육성품종의 경우 요령성농과원은 요백8호를 육성보급하고 있으나 최근 북경신3호로 급속히 대체 보급되고 있으며, 중국농과원은 중백1호 등 17품종을 보급하였으며, 북경 농과원은 북경신3호를 보급하고 있으며 4호, 5호 등을 육성중이며 북경이북 재배면적의 70-80%를 점유하고 있다. 산둥농과원은 다수성(산동1, 2, 3...호), 내병성(로백1, 2, 3...호), 내병 양질 다수성(천정1, 2, 3...호) 등으로 구분하여 보급하고 있으며 북경이남 재배면적의 60%에 보급하고 있다. 북경신3호는 바이러스에 강한 친과 약한 친을 교배하여 육성한 바이러스저항성 교배종으로 1997년부터 보급되고 있으며 바이러스와 연부병에 내병성이 있고, 넓은 토양적응성으로 인해 비옥도가 낮은 토양에서도 잘 자라며 수송성이 강한 원통형으로, 볶을 때 빨리 익고 맛이 좋은 장점이 있으나 바이러스에 점점 약해지는 것으로 추정되었다.

중국 배추연구기관의 육종목표를 분석하면 F1채종체계는 현재 모두 SI를 이용하고 있으나 요녕성, 북경, 중국농과원에서는 품종보호차원에서 MS이용을 활발하게 연구하고 있다. 요녕성은 GMS이용단계이며, 중국농과원은 MS연구와 분자표지인자 개발에 주력하고 있다. 북경농과원의 경우 폴리마MS는 온도에 민감하여 이용하지 않고 있으며 Ogura MS는 잡종강세가 생기지 않으나 프랑스에서 도입한 신재료를 이용하여 BC6세대를 진행중인 바 양호한 것으로 평가하고 있다. 산둥농과원은 여교잡에 의한 형질변이를 우려하여 MS이용은 고려하지 않고 SI를 이용하고 있다.

북경농과원은 2002년에 등황색 표지인자를 개발하여 SCAR marker를 개발중이며, 소포자배양으로 연간 30품종 정도 공시하여 반수성 2배체 1,000여개 계통을 육성하고 있으며 특히 바이러스 내병성을 가진 다양한 형태의 계통을 육성하고 있었다

개량대상형질을 분석하면 바이러스병, 연부병, 노균병 및 흑반병에 대한 복합내병성 육성은 모든 연구기관 공히 추진하고 있으나, 무사마귀병에 대해서는 중국 토양의 pH가 7.0이상으로 무사마귀병이 발병하지 않기 때문에 관심이 없다. 석회결핍증 내성 품종 육성을 추진중이며 한국 배추형을 선호하는 경향이므로 현재의 다양한 구형 추

세가 변화할 것으로 판단된다. 품질면에서는 저섬유질, 고당도, 고비타민으로, 볶을 때 빨리 익으면서 물러지지 않아야 하며, 탕의 국물에서 맛과 향이 있고, glucosinolate 함량이 낮아야 한다. Ca, Zn의 함량을 높이기 위한 중국농과원과 화란의 공동연구가 진행되고 있다(Zn에 발암유기물질 흡착 기능이 있다?) 만추대성, 내서성, 조숙성 등이 개량대상형질에 포함되며 산동성농과원에서는 4배체배추를 연구 중인데 생으로 먹을 때 조직이 아삭아삭한 장점이 있다고 한다.

라. 한국 배추품종에 대한 반응 및 개선방향

한국 배추품종에 대한 반응을 분석하면 춘하왕, 정상, 금봉 등 만추대성 품종이 중국 춘과작형을 석권하고 있으나 추과 품종은 바이러스(TuMV race C-4/북경, C-5/산동성), 무름병, 석회결핍증 등에 대한 내성이 약해 재배가 거의 없다. 중국품종은 대체로 외엽이 크고 포피형인데 한국품종은 포합형으로 외엽이 구를 덮지 않는 차이가 있으며 속노란 형질을 선호하고 있었다.

중국 수출용 배추품종 개발을 위해 TuMV race와 발병관계에 대한 중점 연구, TuMV내병성 재료 이용, 무름병 내병성 및 석회결핍증 연구를 강화하되 기타 형질은 현재 품종과 동일한 방향을 추구하며, 회사별로 특정지역을 공략하는 전략이 필요한 것으로 파악되었다.

2. 1차년도 중국 남부지역 출장 (보류)

1차년도 봄(2003. 5-6월)에 실시예정이었던 남부지역 봄배추에 대한 종자 및 정보 수집 출장은 중국내 SARS(중증급성호흡기증후군) 발병으로 인해 농림기술관리센터의 승인하에 보류하였다.(기평02101-10278 : 2003. 5. 20).

3. 2차년도 중국 북부지역 출장 조사

가. 출장 결과 개요

2차년도 가을(2003. 9. 25-10. 1)에 연구팀 소속 3인(서기호, 이수성, 박현경)이 중국 북부지역(흑룡강성 하얼빈시, 길림성 장춘시, 하남성 정주시)을 방문하여 가을배추 종자 94점을 수집하여 농촌진흥청 원예연구소, 유전자원과와 21개 종자회사(분양신청회사)에게 종자 및 특성(종자봉투 사본)을 배부하였으며 중국 연구기관 및 종자회사(하얼빈시 소재 동북농업대학, 중국 농과원 흑룡강성원예분원, 흑룡강성 종자관리국, 하얼빈시 종자관리처, 흑룡강성 종자공사, 아기종묘, 장춘시 소재 길림성 농과원 소재

화훼연구소, 정주시 소재 하남성 농과원 원예연구소) 9개소와 종자시장을 방문하여 육종현황, 육종방향 등의 정보를 수집하고 연구포장을 견학하는 등 전반적인 배추품종 육종현황을 파악하였다.

나. 흑룡강성, 길림성, 하남성 채소 및 배추 육종연구 현황

구분	흑룡강성	길림성	하남성
농과원 연구원 수	100	66명(총 132명)	-
연구포장 면적	200무(40,000평)	-	-
연구대상 작물	가지, 피망, 고추 오이, 수박, 참외, 배추	감자, 가지, 오이, 배추	양배추, 꽃양배추 녹색꽃양배추, 배추
배추육종 연구원	2명	2명	2명
배추육종 연구	1966년 시작	1964년 설립	1970년대 중반 시작
배추 재배면적	12만무(8,000ha)	7,000ha	30,000ha

다. 흑룡강성, 길림성, 하남성 배추 육종현황 및 육종 방향(계획)

성 별	연구업적	육종방향
흑룡강성	동백 2호 (동북농대)	동북농대: 복합내병, 황심, 저장계 육성
	601호 (농과원)	농과원: 복합내병, 조숙, 양질품종육성
	602호 (농과원)	생명공학기술 적용 연구
	융협백3호 (농과원)	
길림성	길연 1~6호 육성	가을배추 국한
	핵내 열성웅성불임성이용 F1채종	복합내병, 다수성, 장원통형 선호 저장용→양질
하남성	예신계열 14품종(소포자 배양)	내한, 내서, 내추대성의 표지인자개발
	예원 " 6 "	웅성불임성 이용 계획중
	예생 " 3 "	표피, 황심, 직통형
	예설 " 4 "	
	예청 " 2 "	

라. 한국 배추품종에 대한 견해

한국 배추 품종은 만추대성이 좋아 봄재배작형의 주요품종으로 이용되고 있으며, 순도가 균일하고, 엽수형의 황심계로서 포합형의 외관이 양호하고 중특이 백색인 특성이 있어 좋아하였다. 그러나 내병성이 약하여 가을재배에는 적합하지 않다고 하였다.

마. 배추 주요 보급 품종

흑룡강성지역에서는 586, 로백7호, 동백1호, 용백1호 등이 많이 보급되고 있으며, 북경신3호 품종이 인기를 얻기 시작하였다. 길림성지역에서는 10년전에는 길연2호가 인기품종이었으나, 2년전부터는 길연6호가 보급되고 있다. 하남성지역에서는 예신계열 품종이 많이 보급되고 있다.

바. 기타 참고사항

- 현재 품종등록제가 실시되고 있으며, 2년간 성능검정 후 등록하여 판매하고 있다.
- 배추 품질 검사시 끓인 맹물에 배추를 데쳐 육질상태를 살핀다.
- 북경농과원에서 무름병 연구를 시작하였다.
(연구 진척 상황 등 세부정보 수집이 필요함).
- 각 육종기관의 육종팀으로 중국 소채 양종 산업화 협회를 결성하여 중국 농업과학원 소채화훼연구소 내 개발처에서 주관하고 있음. 매년 말 정기총회를 개최하여 각 연구소의 연구결과를 소개하는 소식지를 발간하고 있었다.
- 흑룡강성 및 길림성의 배추 추작 면적이 감소하고 있는데 그 원인은 산동성의 겨울배추 공급 증대 때문이라고 하였다.
- 춘과품종 육성에 대한 관심이 대단히 높아 만추대성 계통선발요령 등에 대한 정보를 수집하기 위해 많은 노력을 하고 있었다.
- 농약 잔류독성 검사제도가 실시되어 무공해, 유기, 녹색, 일반 등 4개 상품으로 구분하였다.
- 각 농업과학원마다 생명공학기술이용 연구기구(과 수준)를 설립하여 집중 연구중이고 하남성은 배추육종을 생명공학기술연구소가 전담하여 소포자배양에 의한 육종을 진행중에 있었다.
- 산동성의 겨울배추 생산이 확대되어 동북 3성의 겨울과 봄 사이에 공급되므로 동북 3성의 가을 저장계 배추가 감소하고 있었다.

4. 2차년도 중국 남부지역 출장 조사

가. 출장 결과 개요

2차년도 봄(2004. 5. 31-6. 8)에 연구팀 소속 3인(서기호, 이수성, 박현경)이 중국 남부지역(운남성 곤명시, 광서성 계림시, 광둥성 연주시)을 방문하여 배추 종자 72점을 수집하여 농촌진흥청 원예연구소, 유전자원과의 22개 종자회사(분양신청회사)에게 종자 및 특성(종자봉투 사본)을 배부하였으며 중국 연구기관 및 종자회사(곤명시 소재 운남농업대 원예학원 부원장, 곤명시 종자회사, 곤명시 정공현 종자관계자, 계림시 소재 금리달종묘사, 종묘상, 농민, 광주시 소재 위홍리종자회사 관계자, 종묘상, 농민, 연주시 양산현 청련진 거주 농민) 등 10개소와 종자시장을 방문하여 육종현황, 육종방향 등의 정보를 수집하고 재배포장을 견학하는 등 전반적인 배추품종 육종현황을 파악하였다.

나. 운남성 배추재배현황

운남성의 주요재배작물은 담배 426만무(1무는 200평), 차 300만무, 채소 600만무, 사탕수수 350만무로서 담배면적은 줄고 채소면적이 크게 증가하고 있음. 운남성은 토마토, 피망, 양파, 오이 등의 주산지였다.

곤명 지역은 해발 1,830m에 위치하고 있으며, 해발 약 3,000m까지 경작함. 연평균 온도는 14℃, 겨울 최저온도는 -2~3℃(약 1주 정도), 여름 최고온도는 32℃(1주일 미만)로서 1년 내내 봄이라고 생각할 수 있는 기후조건임. 연간 강우량은 2,700mm, 우기는 5-6월부터 8-9월까지이며, 건기는 10월~4월이고 이 기간의 관개 문제가 심각하였다.

1) 곤명 지역의 채소 산업

- 춘하재배와 추동재배의 2기작 재배가 보편적임.
- 춘하재배 : 3-4월 파종, 8-9월 수확, 배추, 양배추, 녹색꽃양배추(broccoli), 상추 등 주로 엽채류를 재배함.
- 추동재배 : 7-8월 파종, 12-3월 수확, 주요 재배채소는 양파, 마늘, 토마토, 채두, 완두(순 이용 포함)임. 통마늘 생산이 특산품임.
- 통마늘 생산 : 사천성의 6쪽마늘 당년산을 6-7월에 도입하여 1개월간 특수처리(비밀)후 9월에 파종, 1-2월에 생산함. 통마늘 률은 50-80%, 통마늘의 지름은 5-6cm임. 품종, 특수처리, 기후조건이 3요인이 작용함.
- 배추 재배 현황 : 해발 2천~3천m 지대(널리 분포되어 있음)에서 재배하며, 재

배면적은 약 3,300ha(50,000무)임. 노춘백 1호(魯春白 1号)가 80% 이상 재배(북방계 배추)되고 있음. 이 품종은 산동성 농업과학원에서 육성된 내바이러스성 및 만추대성 품종임. 한국의 춘파재배용 품종이 앞으로 보급될 가능성이 있음. 추동재배(8~9월 과종)때 연작지에서 특히 곤명지역에서 뿌리혹병 발병이 심함(곤명 지역의 토양 산도는 6.2-6.8pH로서 5.0정도인 곳도 있음). 다른 성으로 판매하기 위해 재배하며, 광둥(1,000km 거리), 상해(3,000km 거리)까지도 수송되고 있었다.

- 정공(呈貢)지구의 배추재배농가 포장 답사 : 수확기가 얼마 남지 않은 곳과 불과 며칠 전에 정식한 포장 등이 있었음. 재배규모는 모두 작아 농가별 재배 면적이 200평(1무) 이내임(농지 배분 면적이 적다고 함).
- 재배품종 : 진록(津綠) 50%, 노춘백 1호(魯春白1号) 50% 정도라고 함. 모든 배추가 진한 녹색이고 조직이 억세 보였음. 노춘백 1호는 바이러스병 증상을 보이는 포기가 있고 두 품종 모두 노균병이 상당히 심하게 발병하고 있으며 뿌리혹병 감염주도 가끔 있었다.

다. 광서성 배추재배현황

정확한 배추재배면적 통계는 알 수 없었으나, 직접 면담한 종자판매상이 계림 지역에서 연간 약 5,000kg 정도의 배추종자를 판매하고 있음(다른 종묘상이 4-5개 있으며 그들도 상당량 판매함). 봄배추는 없고 대부분 여름배추와 가을배추였다.

1) 재배 품종에 대한 견해

- 여름 배추 : 포함 직통형의 만추대성, 조, 중, 만생 품종이 필요함. 직통형을 선호하는 이유는 밀식재배가 가능하고 다수확을 기대할 수 있기 때문임. 태원2청(太原二靑)품종이 직원통형의 대표인데 같은 형의 배추품종이 화북성, 산동성, 북경시 등에서 육성 보급되고 있음. 이 품종은 무름병에 강하고 바이러스에도 강한데 잎 뒷면에 모용이 있는 것과 없는 것이 있음. 진채(晉菜) 1,2,3호도 판매되고 있는데 특히 2호가 인기가 있음(태원2청형임). 복합내병성 때문에 진백4호(秦白四号)도 일부 보급되고 있었다.
- 가을배추 : 산동성 농업과학원의 노백(魯白) 및 천정(天正) 계열(산동5호, 산동6호, 춘백1호, 추백1호 등) 배추가 가을재배에 많이 이용되었다.
- 앞으로 작은 배추(200-400g)가 생육기간이 짧아 인기가 있을 것임. 배추 품종의 가장 중요한 요소는 복합내병성과 맛임. 맛의 경우 저작감이 좋고(질기지 않을 것) 단맛이 있어야 함. 태원2청이 이점에서는 특히 우수하였다.

- 앞으로 채심(꽃대를 먹는 배추류의 일종)이 많이 재배될 것이고 이 종자를 연간 약 5,000kg정도 판매하고 있었다.

- 팍초이(청경채, 백경채)가 많이 재배됨. 남경농대에서 많은 연구를 하고 있으며, ◊ 융성불임성을 이용한 F₁ 품종이 육성 보급되고 있음. ◊ 일본의 무사시노 종자 회사에서도 종자를 보급하고 있음.

2) 계림시 영천현(靈川縣) 배추 재배지 방문

- 재배품종은 조숙5호(절강성 농업과학원 육성 남방계 품종)였음. 잎이 아주 두텁고 연하게 보임. 내습성이 강하고 온도의 변화에 잘 견딤. 한국 농우바이오의 하보품종과 비교하면 조숙5호가 조숙, 대구인 것 같음. 하보는 무름병에 강한 것 같았다.

- 재배 상황 : 직파 40일째 재배한 상태임. 직파 50일경에 큰 것부터 조금씩 수확하며, 대단히 밀식하고 있음. 무름병이 발병된 것도 있으나 잎에만 증상이 있고 포기 전체가 쓰러지는 것은 거의 없음. 무름병에 상당히 강한 것 같았다.

- 무석(無錫) 배추 재배 : 우리나라 숙음배추와 비슷하게 파종후 약 30일경에 수확하는 어린 배추임. 기온이 30℃ 이상일때 재배함. 기온이 낮으면 생장이 불량하고 추대하기 쉬움. 일반 재래종 품종이라고 함. 재배법은 직파 및 육묘이식이 병행되고 있었다.

3) 계림시 하차전(下茶田) 배추 재배농가 방문

- 재배 품종은 4계왕(북방계 춘파용)이었음. 2월 5일에 파종하여 방문 당시 대부분 수확하고 일부만 남아 있었음. 충해(배추흰나비) 및 병해(무름병, 바이러스병)가 심하였다.

- 지역의 금년 봄 기상조건이 좋지 않아(온도 등의 변화 극심) 모든 배추가 죽었는데 이 4계왕만이 살아남았다고 함. 석회결핍증(tip burn)이 심하게 나타난다고 하였다.

4) 하차전 부락의 가을배추 재배

- 벼를 수확한 후 가을배추를 재배하는 가을배추의 대단위 산지임. 주로 산동19호(약간 역삼각형으로 생긴 배추)가 재배됨. 7월 20일경 100공 포트에 파종하여 육묘 재배하고 10월 5일경부터 수확하며 광둥, 호남, 호북 등지로 판매하고 있었다.

- 산동19호 외 진백2호(秦白二号), 산동4호(山東四号), 노백6호(魯白六号) 등도 약간씩 재배되고 있었다.

- 무름병, 바이러스병, 노균병 등의 피해가 심하고, 뿌리혹병도 최근에는 발생하고

있으며, 담배나방, 쯤나방, 달팽이의 피해도 심하였다.

라. 광동성 연주(連州)의 고랭지 배추 재배지 답사

지역명은 陽山현 江英전 企山村으로, 광주에서 차로 4시간 반 정도 거리 (300km 이상)에 위치하고 있다.

- 해발 1000m 이상의 대단위 고랭지대(관광지 비슷함)로서, 전체면적은 약 200~300ha임. 안개가 많고 습도가 높으며, 토양 산도는 pH가 높고 염도가 높음.
- 재배상황 : 고랭지이지만 위도가 낮아 북방계 품종은 재배가 안되고 남방계를 재배함. 4월부터 8월까지 파종하며 연 2-3회 재배가 가능함. 연작에 의한 병충해가 심하고 생육이 불량하여 구가 작아져 점점 다비재배화 하고 있음. 특히 수확기 무렵에 무름병과 근부병이 많이 발생함. 유기질 비료는 거의 없으며 인분뇨를 주로 쓰고 금비에 의존함. 최근 고랭지 배추의 시세가 좋지 않아 벼 재배로 전향하는 농가가 많아짐.

1) 농가별 현황

- A 농가 : 재배품종은 302호(세미니스/홍농 품종)이며, 10여년 전부터 이 품종을 재배하고 있음. 생육상황은 이식후 약 40일 정도되어 수확기에 가까운 상태임. 재식거리가 잘 지켜지고 있으며, 빈도는 낮으나 무름병과 뿌리혹병 이병주가 있음. 기상 이변으로 생육이 불량하다고 하였다.
- B 농가 : 재배품종은 606호(일본 다끼이 품종)로 황청하(黃淸河)라고도 함. 302호와 비교하면 생육기간은 동일하나 606호가 더 크고, 잘 팔리며, 잎이 두터움. 내습성도 강하고 많은 비가 온 후 손상이 적음. 48일형이라고도 함. 302호(한국 품종)와 경쟁하기 위하여 종자 값을 절반으로 낮추고 품종이름까지 '황청하'로 바꾸고 있음. 재배상황은 이미 수확기인데 A농가보다 생육상태가 양호하고, 균일하며 잎 색이 더 농녹색임. 추대한 포기는 제거하였다고 하였다.
- C 농가 : 재배품종은 606호로서 4월 2일 파종, 4월 25일 정식하였으며, 7-10일후 수확예정임. 작황은 양호하나 노균병(흑심병이라고 함)이 많이 보였다.

마. 출장결과 요약

운남성의 곤명지역은 고원지대로서 중국의 남부지역임에도 불구하고 일년내내 봄과 같은 기상조건임. 따라서 북방계 배추가 여름에 재배되는데, 봄재배용 만추대성으로서 바이러스병(TuMV), 노균병, 뿌리혹병, 무름병 등에 대한 복합내병성 품종이

필요하다고 생각됨. 최근 한국의 농우바이오에서 육성 발표하고 있는 고랭지 여름재배용 품종을 현지에 시험해 볼 필요가 있다고 생각되었다.

광서성 계림지구는 주로 여름배추와 가을배추가 생산되는데, 가을배추는 산동성의 산동19호가 주로 재배되고(북방계 조합형), 여름배추는 남방계의 조숙5호와 북방계의 4계왕이 재배됨. 장원통형(구고 60cm, 구폭 15cm 내외)의 복합내병성 품종이 요망된다고 하였다.

광동성의 연주지역 고랭지는 모두 남방계 품종이 재배되는데, 현재는 한국 세미니스(홍농)의 302호와 일본 다끼이의 606호가 서로 경쟁중임. 구가 더 크고 복합내병성인 품종이 요구되고 있었다.

종합적으로 볼 때 바이러스병, 무름병, 노균병, 뿌리혹병의 복합내병성이 최우선적으로 필요하며, 2차적으로 조직이 연하고 단맛이 강한 품종, 3차적으로 지역에 따라 구형과 결구 형태가 고려된 품종육종이 필요하다고 생각되었다.

바. 참고사항

호텔의 뷔페식당(아침식사)에서 북방계 배추와 남방계 배추를 각각 따로 중국식으로 조리(약간의 전분 용액에 넣고 익힌 것)하여 제공되었는데, 두가지 배추요리의 맛이 서로 전혀 달랐음. 남방계는 섬유질이 적어 훨씬 부드러우면서 고소하고 맛이 있었으며, 북방계는 다소 질기고 비린듯한 맛이 있어 좋지 않았다.

중국에는 중국농업과학원 주관으로 “배추과 식물 연구회”가 결성되어 있다고 하며, “중국채소”라는 잡지가 4곳에서 출판되고 있다고 하였다. 중국에서는 배추를 “紹菜”라고도 한다.



그림 3. 운남성 곤명시 정공(呈貢)지구 배추재배포장

※ 이미 수확한 포장, 10일-2주후 수확예정 포장, 며칠전 정식한 포장 등이 있음.
 품종은 북방계(우리나라와 동일)의 내병, 내서성인 진록(津綠)이라 함



그림 4. 계림시 영천현의 남방계 배추 재배 광경 및 개체 모양

- 이 지역에서 기온이 30℃이상일때 재배
- 기온이 낮으면 생장이 불량하고 추대하기 쉽다
- 품종은 일반 재래종이라 함
- 재배법은 직파 및 육묘이식이 병행되고 있음



그림 3. 무석(無錫)배추의 파종기별 생육상태와 모의 모양

- 좌측 사진 : 좌로부터 정식후 10일, 정식직후, 수확기(정식후 15일)
 - 우측 사진 : 정식직후 묘 상태(엽병이 길고 얇은 순가락 모양, 서울배추와 다소 비슷)
- ※ 무석(無錫)배추 : 우리나라 숙음배추와 비슷, 파종후 약 30일경에 수확하는 어린 배추



그림 4. 계림시 하차전 부락의 배추재배포장 (2월 5일 파종, 수확 말기)

- ※ 장미 포함형의 북방계 춘과 품종



그림 5. 광동성 연주 고랭지의 농가 배추밭

- 좌측 사진 : 세미니스(홍농)의 302호 (A농가)

- 우측 사진 : 다끼이의 606호 (B농가)



그림 6. 광동성 연주 고랭지의 B농가 배추밭

※ 품종 : 다끼이의 606호(남방계)



그림 7. 태원2청 품종의 구 모양

5. 1차년도 및 2차년도 중국 북부지역 관련 정보 전파 (조사결과 소개)

2차년도 가을(2003. 11. 6) 한국종자협회가 개최한 가을철 경영자간담회(수안보 상록호텔)에서 종자회사 경영자(28사 31인)를 대상으로 이수성 박사가 중국 1, 2차년도 북부지역 방문 조사 결과를 발표하고 세부정보를 제공하였다.

주요 내용은 중국 배추 재배 현황(채소 및 배추 재배면적, 1인당 채소 소비량, 재배작형), 지역별 배추품종 현황 및 기호도, 가을배추 품종의 특성, 배추 품종개량사업 현황, 주요육성품종, 북경신3호 배추의 장·단점, 중국의 배추 육종목표, 한국 배추품종에 대한 반응 및 기타 참고 자료 등을 발표하였다.

6. 중국 우량배추품종 정보 수집

1차년도 봄(2003. 3월)에 중국 국가가 인정한 우량배추품종 20품종에 대한 자료(중국 농작물 우량품종 ; 1990-2000년 국가인정품종, 孫世賢 編)를 수집, 번역 후 원예연구소 및 채소종자회사에 배부하여 수출용 품종육성 참고자료로 활용할 수 있도록 조치하였다.(별첨 참고)

2. 중국 지역별 작형별 수출용 품종개발

가. 기 보유계통(고정 및 분리계통) 및 수집한 재료의 계통성능검정 및 내병성검정

중국 수출용 품종개발을 위한 기 보유계통(고정 및 분리계통) 및 수집한 재료의 계통 성능검정은 3년 동안 표 8과 같이 각 작형별 4,957계통을 공시하여 4,178개체를 선발하였다. 선발된 우량개체는 시설내에 옮겨져 개화를 유도하고 인공뇌수분하여 후대의 자식 및 F₁조합 종자를 채종하였고, 합성조합 소재로 이용하였다. 이와 동시에 선발개체 및 미숙모본에서 얻은 계통으로 바이러스병 및 무사마귀병과 복합내병성(바이러스병+무사마귀병) 접종시험을 실시하여 표 9과 같이 바이러스 내병성 373개체, 무사마귀병 내병성 1,231개체, 복합내병성 1,266개체를 선발하였다. 또한 1차년도에서 중국 출장 중 수집한 67점 중 바이러스 내병성으로 표기된 51점의 바이러스 접종 시험 결과 39점이 내병성을 나타내었고, 2차년도에서도 중국 출장 중 수집한 166점 중 바이러스 내병성으로 표기된 31점의 바이러스 접종 시험 결과 24점이 내병성을 나타내었고 66개체를 선발하였다(표 11, 12). 3차년도 중국 육성계통을 이용한 바이러스 내병성 검정은 총 191계통을 시험하였다. 또한 바이러스 C5 strain검정을 14계통에 C4와 같이 시험한 결과 거의 유사한 결과를 나타내었다(표 13). 이 내병성 선발 개체는 저온 처리후 후대 분리를 위한 자식종자 채종을 하였으며 각 작형별 계통 성능검정을 거쳐 내병성이면서 형질이 우수한 계통을 선발하는 고정 작업을 계속하였다.

3차년도 북경근교 가을배추 바이러스 내병 현지 적응시험을 실시하였는데 본시험에서의 바이러스증상은 조합 및 품종에 따라 2가지 형태로 나타나 좀더 검토를 하여야겠지만 적어도 2가지 이상이 공존하는 것으로 판단되었으므로 금후 이와 같은 환경에서도 완전한 저항성을 나타내는 계통을 탐색하거나 육성이 되어야 할 것이다.

(그림 8, 9)



그림 8. 북경근교 현지 적응성시험 전경



그림 9. 현지 적응성시험포장 중에 나타난 2가지의 바이러스 증상

표 8. 계통 성능검정 공시계통수 및 선발 우량 개체 수 ('03-05, 3개년)

재배작형	공시계통수	선발개체수
봄 하우스	776	774
봄노지	967	-
여름배추	913	984
중국남방계	255	167
가을배추	1,509	1,648
중국북방계	87	96
월동	452	509
계	4,959	4,178

표 9. 기 보유계통 및 수집한 재료의 내병성검정 계통수('03-05, 3개년)

작 형	바이러스병	무사마귀병	복합내병성 ^Z
봄 내병성	228	669	618
가을 내병성	371	852	1,285
계	599	1,521	1,903

복합내병성^Z : 바이러스+무사마귀병

표 10. 내병성 검정 선발 개체 수 ('03-05, 3개년)

작 형	바이러스병	무사마귀병	복합내병성 ^Z
봄 내병성	209	406	256
가을 내병성	164	825	1,010
계	373	1,231	1,266

복합내병성^Z : 바이러스+무사마귀병

표 11. 바이러스 C4 strain 접종시험 결과 (1차년도, 51점)

B.N	품 종 명	TuMV-C4		
		접종 주수	이병 주수	이병율 (%)
1	新北京3号	24	0	0.0
2	83-24	22	6	27.3
3	山東5号	17	15	88.2
4	山東6号	16	13	81.3
5	山東19号	19	4	21.1
6	春白1号	21	2	9.5
7	秋白1号	19	2	10.5
8	秋白19号	24	0	0.0
9	超白2号	22	0	0.0
10	夏伏2号	23	2	8.7
11	夏白3号	21	0	0.0
12	夏伏5号	24	2	8.3
13	魯百1号	24	20	83.3
14	魯百2号	19	19	100.0
15	魯白6号	22	22	100.0
16	魯百8号	11	4	36.4
17	北京新1号	23	2	8.7
18	北京新3号	23	0	0.0
19	北京新4号	24	3	12.5
20	北京新5号	24	3	12.5
21	北京75号	17	0	0.0
22	北京80号	17	0	0.0
23	北京106号	13	0	0.0
24	北京桔紅心	23	2	8.7
25	北京大牛心	25	0	0.0
26	98-1	24	0	0.0
27	秋豐三号	25	1	4.0
28	鴻均168	20	0	0.0
29	中白2号	18	0	0.0
30	中白4号	19	0	0.0
31	北秋1号	25	0	0.0

B.N	품 종 명	TuMV-C4		
		접종 주수	이병 주수	이병율 (%)
32	秋珍白11号	21	0	0.0
33	秋綠 55	23	0	0.0
34	秋綠 60	25	1	4.0
35	津育 80	23	2	8.7
36	黃心鳥	14	0	0.0
37	遼白八号	25	0	0.0
38	青綠王	24	1	4.2
39	賽新五号	25	1	4.0
40	精品五号	23	0	0.0
41	綠星 67	24	0	0.0
42	綠星 70	25	1	4.0
43	秋冠	25	1	4.0
44	全勝	22	22	100.0
45	高抗二号	22	0	0.0
46	魚白 17号	22	6	27.3
47	秋菜王	20	0	0.0
48	新世紀1号	25	0	0.0
49	高抗酸 菜王	25	0	0.0
50	保收 3	23	0	0.0
51	新錦菜八	18	0	0.0

표 12. 바이러스 C4 strain 접종시험 결과 (2차년도, 31점)

B.N	품 종 명	TuMV-C4		
		접종 주수	이병 주수	이병율 (%)
1	天津青麻葉	25	7	28.0
2	鄭州新4号	25	0	0.0
3	新欣3号	25	0	0.0
4	晋綠3号	25	0	0.0
5	晋綠65号	25	0	0.0
6	晋綠70号	25	0	0.0
7	晋綠80号	25	0	0.0
8	秋抗王15号	25	0	0.0
9	津育60	25	0	0.0
10	津育75	25	0	0.0
11	津育80	24	0	0.0
12	鄭雜2号	25	1	4.0
13	豐抗80	25	22	88.0
14	晋菜3号	25	2	8.0
15	吉林大矧	24	8	33.3
16	豫新4号	25	10	40.0
17	東農902	25	0	0.0
18	東農902	25	1	4.0
19	東白1号	25	0	0.0
20	東白2号	25	0	0.0
21	濰春白2号	25	0	0.0
22	586新世紀	25	0	0.0
23	大昌秋王	25	4	16.0
24	大昌秋宝	25	0	0.0
25	佳白2号	25	6	24.0
26	大蓮91-12	25	0	0.0
27	龍白3号	25	0	0.0
28	龍協白3号	25	6	24.0
29	京綠60	25	0	0.0
30	津冠70	25	0	0.0
31	中白76	25	0	0.0

표 13. 바이러스 C4, C5 strain 접종시험 결과

NO	품종명	접종주수	이병율(%)		비고
			C4	C5	
5001	북경신2호 F ₃	25주	0	16	
5002	"	"	0	0	
5003	북경신3호 F ₂	"	0	0	
5004	" F ₃	"	0	0	
5005	"	"	0	0	
5006	"	"	32	48	
5007	"	"	0	0	
5008	" F ₁	"	0	0	
5011	87-114	"	0	0	
5012	"	"	48	64	
5013	강력분리계	"	0	0	
5014	북경신4호 F ₁	"	0	0	

나. 중국 지역별 기호도에 알맞은 병저항성 신계통 육성 및 F₁조합작성

기 보유중인 내병계와 수집된 품종을 이용하여 약배양, 소포자 배양용 모본 및 신계통 육성을 위하여 상호 합성조합 20개와 수집재료를 이용하여 약 70여개를 작성하였다. 기 합성된 합성조합을 협동연구기관인 원예연구소에 모본을 분양하여 약배양 및 소포자 배양에 이용하도록 하였고 주관기관인 농우바이오에서 약배양 및 소포자 배양 총 1,698개체의 식물을 얻었다. 얻어진 식물체는 내병성 검정 및 작형별 성능검정을 거쳐 우수하면서 내병성이 강한 32개의 신계통을 확보하였다. 한편 2년차에 원예연구소에서 개발한 소포자 유래계통의 성능검정 결과 우수하다고 판단되는 3개의 남방계 계통을 인수 받아 6개의 F₁조합을 작성하였으며 남방계 F₁성능검정을 수행중에 있다. 또한 자체적으로 육성하여온 고정계통과 약배양 및 소포자에서 얻은 계통을 이용하여 총 853개의 F₁조합을 작성하였다. 작성된 F₁조합은 각 작형별로 파종되어져

우량시 되는 조합이 선발되어졌다 (표 14).

다. 우량 F₁ 조합 성능검정 및 지역적응성 검정

앞에서 언급했다시피 연구기간 내에 품종화는 어렵지만 연구 종료 후에도 수집된 유전자원을 이용하여 중국 기호에 맞는 계통을 만들어 나가며 계속해서 F₁조합 성능검정을 한다면 수출용 품종화가 어렵지 않을 것으로 보인다.

각 작형별 F₁ 성능검정은 총 1,501조합을 공시하여 최종 우량시 되는 17조합을 선발하였으며(표 14) 이 선발조합은 시설내 격리된 곳에서 별 방사에 의한 F₁ 종자 채종시험을 거쳐 농가실증시험을 하였다. 선발된 조합의 특성은 표 15과 같다. 선발된 조합중 중국 수출용 품종으로 4조합을 선발하였다. 2차년도 광동성 2곳에서 행하여진 중국현지적응성 남방계 시험에서 02CC843조합과 00CC240조합이(그림 10) 우수한 성적을 나타내어 선발되었으며 추후 품종화 할 예정이다.

3차년도 중국 중북부 지역에서의 지역별 배추의 선호 형태 및 기호도에 대한 정보 수집 및 현지 적응성 시험 조사를 위해 2004년도 10월 심양, 대련 수사영종묘, 북경세농종묘, 화북성 당산 지역을 방문하였다. 이쪽 지역에서는 직통형 배추를 선호하여 04CC713조합과 04CC718조합을 선발하였다. 04CC713조합은 북경신3호처럼 구형이 직통형으로 응성불임을 이용한 조합이며 04CC718조합은 바이러스내병성 조합으로 채종 시험을 거쳐 중국 현지 적응 시험코자 한다(그림 11, 12).

표 14. 우량 F₁ 성능검정 공시조합수 및 선발 조합수 ('03-05, 3개년)

재배작형	공시조합수	선발조합수
봄 하우스	173	1
봄노지	187	2
만춘	143	1
고랭지 봄	96	1
고랭지 여름	180	1
여름배추	157	2
중국남방계	121	2
가을배추	240	3
중국북방계	73	2
월동	131	2
계	1,501	17

표 15. 선발조합의 특성 ('03-05, 3개년)

재배작형	선 발 조합번호	주요특성
봄 하우스	02CC897	CR, 노균병 내병, 황심, 만추대
봄노지	02CC227	CR내병, 황심, 만추대, 품질우수
	02CC282	CR, 노균병 내병, 황심, 포피, 만추대
만춘	04CC479	CR내병, 포함으로 입모우수
고랭지 봄	04CC743	CR내병, 황심, 엽질강
고랭지 여름	04CC469	CR내병, 황심, 엽질강, 입모우수
여름배추	04CC447	CR내병, 황심, 포함으로 입모우수
	04CC483	CR, 노균병 내병, 황심, 엽질강
중국남방계	02CC843	외엽 농록, 대비종 보다 숙기부, 대구
	00CC240	외엽 농록, 대비종 보다 숙기부
가을배추	03CC122	CR, 노균, 바이러스 내병, 황심
	04CC652	CR, 노균병 내병, 황심, 엽질강
	04CC664	CR, 노균, 바이러스 내병, 황심
중국북방계	03CC713	황심직통형, MS이용조합
	03CC718	바이러스내병 직통형
월동	02CC198	CR, 노균병 내병, 황심, 만추대, 중만생
	03CC621	CR, 노균병 내병, 황심, 만추대, 만생



그림 10. 남방계 F₁ 성능검정에서 선발되어진 00CC240, 02CC843



그림 11. 북방계 F₁ 성능검정에서 선발된 04CC713



그림 12. 북방계 F₁ 성능검정에서 선발된 04CC718

라. 응성불임 유전자원 탐색

제 1차 중국 현지출장 중 수집한 67점 중 응성불임으로 사료되는 靑綠王, 綠星67, 綠星70 3점을 저온처리 후 개화하여 개체별 화분검정 및 응성불임 개체의 비율을 조사한 결과 화분이 발생하여 세포질 응성불임이 아닌 것으로 판명되었다.

기 보유 AD CR SINKI 외 19계통에 계속 응성불임(오꾸라CMS)을 유기 중에 있으며 새로운 응성불임 소재로 早生綠塔외 2품종을 수집하여 조사해 본 결과 오꾸라CMS로 판명 되었다. 기 보유 CMS계통(MS 904)과 칠리게 계통을 이용하여 F₁ 조합을 작성하였고 F₁성능검정 결과 우수한 성적을 나타내어 04CC713조합을 선발하였다.

배추에 있어서 응성불임은(오꾸라CMS) F₁ 조합시 약세로 나타나 기존 품종에 이용하기가 어려운 실정이다. 하지만 앞으로 새로운 유전자원을 계속 탐색하고 유전공학을 이용한 새로운 CMS를 개발한다면 멀지 않아 배추에도 상용화할 수 있을 것이다.

마. 기보유계통 및 수집계통에 대한 원연관계 및 SI인자 분석

1년차 과제에서 RAPD 수행함에 앞서 400개의 10mer Primer와 서로 연관관계

가 먼 북방계와 남방계 배추를 이용한 RAPD 조건을 확립하였으며 이에 따라 확립된 조건을 이용하여 2년차에는 기 보유개통 30개체와 RAPD 조건 확립 시 사용되어진 남방계, 북방계 배추를 포함하여 32 개체의 RAPD 실험을 실행하였다. RAPD 분석결과를 살펴보면 Operon사 random primer OPA01부터 OPZ20까지의 520 종류를 이용하여 PCR한 결과 개체간 다형성을 나타내는 28종류의 primer를 선발하였으며 유연관계 분석을 실시한 결과 총 94개의 polymorphic band가 얻어졌다(Table 16). 이 94개의 polymorphic band를 이용하여 NTsys(v1.70)에 의한 line 간의 유전적 유사도를 분석한 결과 배추 32 line 의 유사도 계수는 0.351~0.978에 이르렀으며, primer 선발에 사용되어진 북방계와 남방계 배추간의 유사도 계수는 0.361로 두 계통간의 유사도 계수가 아주 낮게 나타났다. 이는 사용되어진 남방계와 북방계 배추가 실질적으로 먼 거리일 것이라고 추정된 것이 수치로도 표현되어졌다(자료생략). 그리고 가장 높은 유사도 계수는 1569와 1571과의 비교에서 0.978로 나타나 두 line은 유사성이 높은 것으로 분석되었다. 이상의 유사도 계수 matrix를 이용하여 UPGMA법에 의한 32개 배추 line을 구하였다(그림 14). 그 결과 32 개체는 유사도 계수 0.5를 기준으로 했을 경우 크게 2개의 group으로 분류할 수 있었으며, 이들 group은 RAPD 분석을 통하여 확연하게 북방계와 남방계 group으로 구분되어졌다. Group I의 경우 옆중형 형태로 잎의 잔털이 없고 잎맥이 적은 전형적인 남방계 특성을 보여 북방계의 group II 와는 눈으로 구별되어지는 group이다. Group I의 1354와 1356 line 이 가까운 원연관계를 보였으며 1350과는 상당한 거리를 두고 있음으로 나타났다. 1354와 1356 line 경우 한 조합에서 3세대까지 자식해 오다가 4세대부터 분리한 아계로서 가까운 원연관계를 지닐 것으로 추정되는 line이다. 1350경우 남방계 배추에 속하지만 다른 남방계 배추와 상당한 거리를 두고 있어 (유사도 계수 0.5) 남방계 group 내 교잡이 가능함을 나타내고 있다. Group II의 경우는 유사도 계수 0.6을 기준으로 하였을 경우 크게 2개의 group(Group II-1 & Group II-2)으로 구별되어졌다. 북방계 내에서 두 group으로 나뉘는 것은 Group II-1와 Group II-2내 line이 합성되어질 때 각각 동일한 한쪽 line을 이용하여 합성조합이 이루어졌고 이를 중심으로 북방계 내에서도 서로 다른 group으로 분류되어졌다. Group II-1의 경우 유사도 계수가 0.7이상으로 나타났으며 F2세대 이상 동일한 line은 보다 원연관계가 가까운 것으로 나타났고 F2부터 분리되어진 개체들은 보다 먼 원연관계를 지닌 것으로 분석되었다. Group II-2에서는 유사도 계수

가 0.9이상을 보이는 개체들이 분류되었고 이들의 경우 대부분은 3세대까지 동일한 것으로 나타났다. 그 중 1569와 1571 line가장 가까운 유연관계를 나타내었는데 이들은 5세대에서 분리되어진 것으로써 형태적 특성의 차이가 없는 동일한 개체로 구분된다. 이는 본 data에서 유사도 계수가 0.97이상으로 나옴으로써 2002년의 원예과학 기술지에 수록 논문에 따르면 'AFLP 유사도가 96% 이상 되면 유사품종 범위로 판단된다' 라는 문구와 일치하기도 한다. 따라서 본 실험결과 얻어진 원연관계 분석 데이터와 실제 모본과 비교하여 볼 때 본 연구에 사용되어진 primer와 94개의 polymorphic band 수는 원연관계 분석에 충분했다고 판단되어지며 이들 polymorphic band의 유무를 기초로 하여 개체 간 원연관계를 분석한 결과는 실질적으로 포장에서도 그 이용가치가 있다고 하겠다. 실제적으로 현재 F₁으로 시판 중인 것의 양친의 유사도 계수를 조사한 결과 약 0.5에 상응하는 값을 나타냈다. 또한 3년차 과제에서는 polymorphic bands를 나타내는 primer 가 너무 많아 그 수를 줄이고자 data 분석을 하였다. OPJ1 등과 같이 표에 변화 없이 사라지는 primer를 찾을 수가 있었으나 기 보유계통과 수집계통 간의 원연관계의 분석에 대한 효용성 문제가 제기되어 더 이상 실험을 진행치 않고 원연관계의 분석보다는 순천대 노일섭 교수가 진행하는 주두측 자가불화합성 유전자인 SLG와 SRK의 class I 및 class II specific primer를 이용한 PCR-RFLP 분석법을 이용에 보다 많이 치중하였다. 주두 측의 자가불화합성 결정 유전자로 보고된 S-locus glucoprotein(SLG) 영역에서 합성되어진 class I SLG specific primer와 S-locus receptor kinase(SRK) 유전자의 kinase domain 영역에서 합성되어진(순천대 노일섭) class II SRK specific primer를 사용하여 PCR 수행결과 Class I 에 속하는 개체는 1,050bp, Class II에 속하는 개체는 900bp에서 증폭 산물을 얻을 수 있었다. class I or II specific primer에서 증폭된 산물은 *Rsa* I 혹은 *Hinf* I 제한효소를 처리하였을 경우 각각 12개의 band pattern으로 분류되었다. 3년 동안 기 보유계통과 중국 수집종을 포함하여 약 5,500여개의 SI를 분석하였으며 이들 분석결과는 실제 육종 교배에 매우 유용하게 이용되어졌다. 중국 수집종 중 기 보유 계통에서 보이지 않는 새로운 SI-type pattern이 보였으나(그림 13) 이들이 기 보유계통과는 다른 SI-type인지는 교배시험을 통한 확인이 요구된다. 이들 중 기존 SI 분석에 사용하는 SLG 혹은 SRK specific primer을 이용한 PCR-RFLP 방법으로 분석함에 있어 다소 명확치 않은 정도 있어 이에 대한 분석 방법도 모색되어져야 할 것이다.

Table 16. The random primers used for RAPD analysis of Chinese cabbage.

Primer	Sequence	polymorphic bands	Primer	Sequence	polymorphic bands
OPA06	GGTCCCTGAC	2	OPU01	ACGGACGTCA	2
OPB18	CCACAGCAGT	5	OPU06	ACCTTTGCGG	2
OPG11	TGCCCGTCGT	5	OPV01	TGAGGCATGG	5
OPH09	TGTAGCTGGG	4	OPV04	CCCCTCACGA	2
OPJ09	TGAGCCTCAC	1	OPV18	TGGTGGCGTT	8
OPJ10	AAGCCCGAGG	3	OPW02	ACCCCGCCAA	5
OPJ11	ACTCCTGCCA	4	OPW04	CAGAAGCGGA	4
OPK08	GAACACTGGG	2	OPW08	GACTGCCTCT	3
OPM08	TCTGTTCCCC	4	OPW11	CTGATGCGTG	2
OPM09	GTCTTGCGGA	1	OPW15	ACACCGGAAC	2
OPM10	TCTGGCGCAC	6	OPX03	TGGGCAGTG	5
OPM18	CACCATCCGT	4	OPX09	GGTCTGGTTG	3
OPN17	CATTGGGGA	2	OPY10	CAAACGTGGG	4
OPP11	AACGCGTCGG	3	OPZ18	AGGGTCTGTG	3

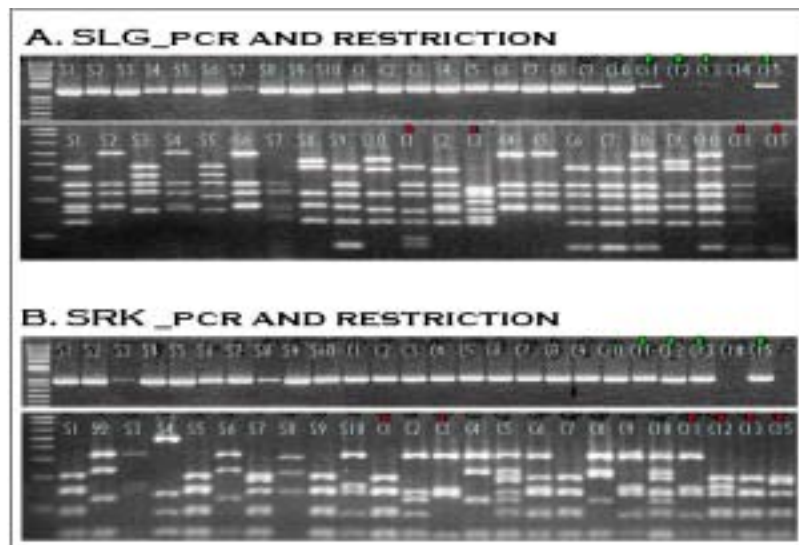
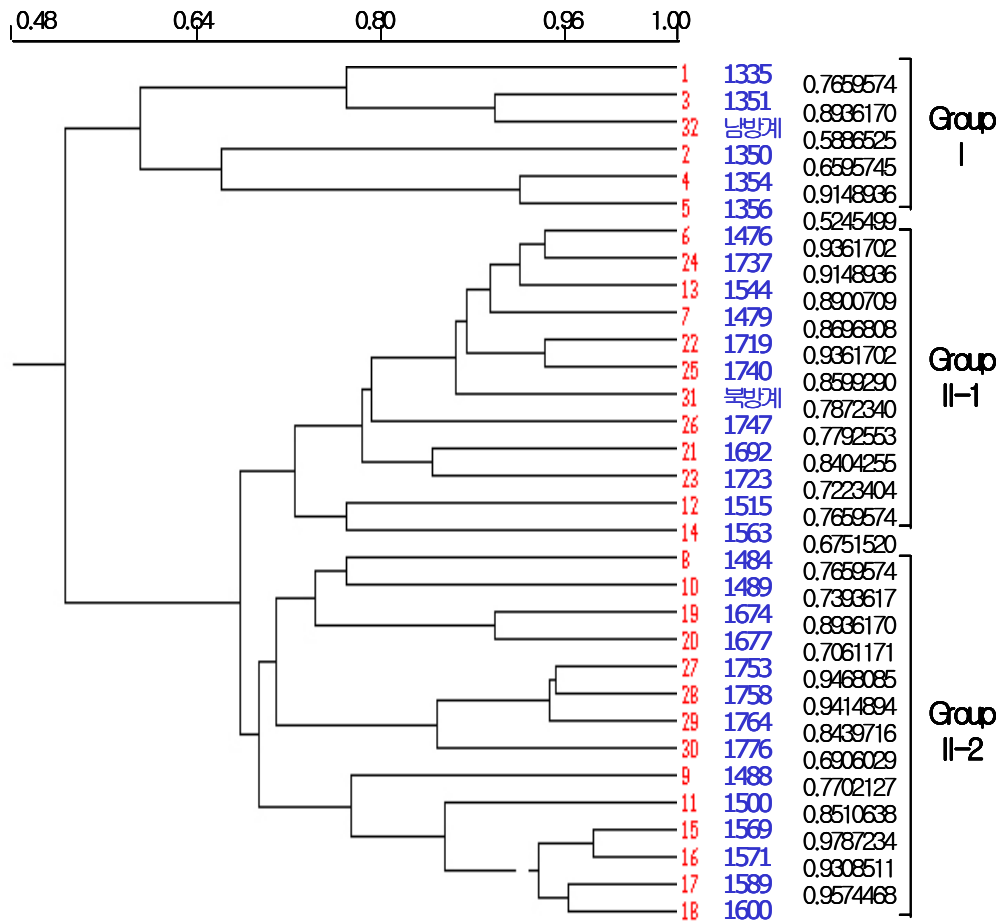


그림 13. Agarose gel electrophoresis of PCR using the class I specific primer (upper of A or B) and restriction pattern (bottom) with *Rsa* I (A) or *Hinf* I (B). S1~S10: breeding lines of chinese cabbage (Nongwoobio Ins.); C1~C15: commercial F₁ hybrids in China.

그림 14. UPGMA dendrogram of the 32 lines of Chinese cabbage based on 94 RAPD bands.



3. 우량 교잡종 단기 육종체계 확립 및 적용연구

가. 교배종 모본 육성 및 반수체 육종법 확립

소포자 배양용 모본을 작성하기 위해 중국형 배추는 주관기관인 농우바이오에서 10점을 종자 및 유묘로 분양받아 친으로 이용하였다. 다른 친으로는 바이러스병에 저항성이면서 품질이 좋은 원예20024호와 AVRDC에서 도입한 바이러스병 저항성 배추 BP079, 무사마귀병에 저항성으로 알려진 ECD04, 저항성 순무(IT033820), 무름병 저항성 집단 내에서 선발한 2계통을 이용하였다.

교배는 뇌수분을 이용하였으며, 무름병 저항성 집단과의 교배된 조합은 현재 조제 중에 있으며 다른 조합에 대한 교배내역 및 채종량은 표 17과 같다.

표 17. 중국 수출용 배추 소포자 배양용 교배내역 및 채종량 (단위 : 립)

♀ \ ♂	ECD02	ECD04	저항성 순무 (IT033820)	BP079	원예20024호
농우-8	265	376	378	269	491
농우-9	833	481	517	587	1,039
농우-10	509	788	628	839	874
농우-1	289	222	-	197	191
농우-3	386	366	487	1,202	700
농우-311	236	194	-	-	-
농우-320	593	455	245	660	-
농우-322	194	387	-	-	598
농우-325	337	482	82	-	-
농우-330	284	409	483	-	-

획득한 일대잡종 종자는 소포자 배양을 위해 6월말에 파종하여 춘화처리한 후 9월부터 소포자 배양 모본으로 이용하였다.

소포자 배양법 확립을 위해 농우종묘에서 분양받은 10점을 모본으로 소포자 배양한 결과 모본, 배지, 생장조절제 및 치상후 온도에 따라 배상체 발생율에 차이가 있었다.

배추과 작물의 소포자 배양에는 sucrose 농도가 10%인 NLN10 배지가 주로 이용되

고 있으며 특히 배추에서는 NLN배지의 다량요소를 절반으로 줄인 1/2NLN10배지에서 배상체 발생이 잘되는 것으로 보고되었다. 따라서 1/2NLN10과 NLN10 배지를 이용하여 소포자를 배양한 결과 1/2NLN10배지에서는 배상체가 전혀 발생하지 않은데 비해 NLN10 배지에서는 식물생장조절제를 처리하지 않은 배지에서 4개의 배상체가 발생하였으며 식물생장조절제를 처리한 배지에서 다량의 배상체를 획득하여 이 실험에 이용한 모본의 경우 기본배지로 1/2NLN10을 이용하는 것 보다 NLN10을 이용하는 것이 배상체 발생에 효과적이었다(표 18).

표 18. 배지 및 식물생장조절제 처리에 따른 배상체 발생수

모본 \ 배지	1/2NLN10	1/2NLNPGR	NLN10	NLN10PGR
농우-7	0	0	1	66
농우-8	0	0	2	49
농우-9	0	0	2	1
농우-1	0	0	0	201
농우-2	0	0	0	132

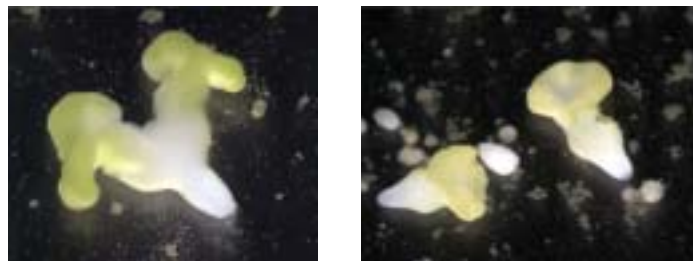


그림 15. 소포자 유래 배상체(좌: 어뢰형배, 우: 호른형배)

식물생장조절제 처리는 auxin류인 NAA를 0, 0.05, 0.25, 0.5mg/l 와 cytokinin류인 BAP를 0, 0.05, 0.25, 0.5mg/l 혼용 및 단용처리하였으며, 처리당 5개의 petridish를 치상하였다.

식물생장조절제 처리결과 모본에 따라 차이가 있었으나 NAA와 BA를 혼용처리한

것보다 0.05mg/ℓ의 낮은 농도의 BA를 단용처리한 것이 배상체 발생수가 많았으며 호르몬 농도가 높아질수록 기형배가 많이 발생하였다(표 19).

표 19. 식물생장조절제 처리별 배발생수(기본배지: NLN10)

모본 \ PGR	BA 0 mg/ℓ				BA 0.05 mg/ℓ				BA 0.25 mg/ℓ				BA 0.5 mg/ℓ				계
	NAA mg/ℓ				NAA mg/ℓ				NAA mg/ℓ				NAA mg/ℓ				
	0.0	0.25	0.5	1.0	0.0	0.25	0.5	1.0	0.0	0.25	0.5	1.0	0.0	0.25	0.5	1.0	
농우-7	0	0	0	1	18	13	5	10	1	4	1	2	4	2	3	3	67
농우-8	2	0	1	0	10	4	5	3	14	4	2	1	2	0	0	3	51
농우-9	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3
농우-1	0	0	0	0	132	69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	201
농우-3	0	0	0	0	17	19	15	8	24	12	11	7	12	7	0	0	132
합계	4	0	0	0	177	105	25	21	39	20	15	10	18	9	3	6	452

조직배양에서 유전형에 따른 배상체 발생율이나 재분화율의 차이에 대한 보고가 있는데 배추 소포자 배양에서도 모본에 따라 배상체 발생에도 차이가 있었다. 농우-7 등 5개의 모본에서는 배상체가 발생하였으나 나머지 5개의 모본에서는 배상체 발생이 전혀 없었으며 배상체가 발생한 5개의 모본 중에서 농우-1이 배상체 발생이 가장 많았고 농우-9가 가장 적었다(표 19). 소포자로부터 유래된 배상체중 정상배는 MS배지에, 기형이지만 배상체의 크기가 크고 활력이 좋아 보이는 배는 MS배지에 BA 1mg/ℓ와 NAA 0.021mg/ℓ를 첨가한 MSK배지에 이식하여 식물체로 분화시켰으며(표 20, 그림 16) 분화된 식물체는 순화 후 저온처리하여 종자 증식하였다.

표 20. 소포자 유래 배상체 재분화 배지 이식수

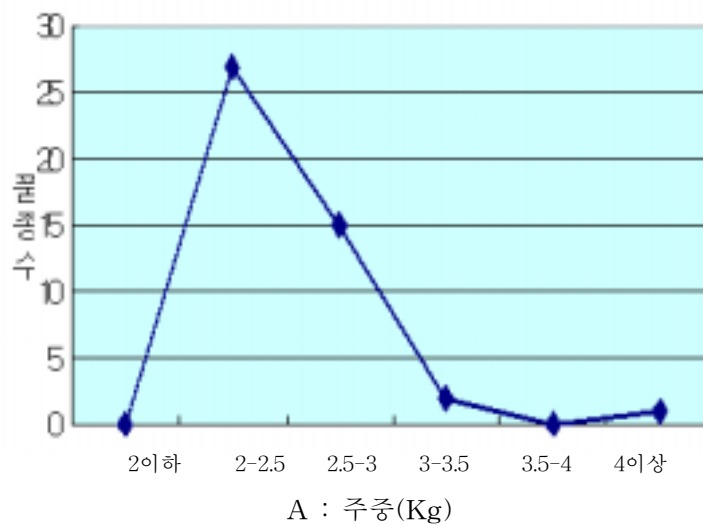
모 본	MS배지 이식 배상체수	MSK배지 이식 배상체수
농우-7	26	7
농우-8	25	10
농우-1	11	12
농우-3	34	-



그림 16. 식물체 재분화(좌) 및 뿌리 발근(우)

나. 중국수집 자원의 특성 평가

중국에 수집된 ‘북경신 3호’ 등 67점을 가을 작형으로 재배해 평가한 결과, 대표적인 수량 관련 특성인 주중은 580g~4,230g, 엽수는 31.3개~67개 사이에 분포하였으며, 숙기는 극조생~만생, 결구형은 반결구대두형, 결구장타원형, 결구역삼각형, 결구장원통형, 결구대두원통형, 결구구형, 결구원통형, 결구도란형 등 다양한 특성을 보였다(그림17. 표 21).



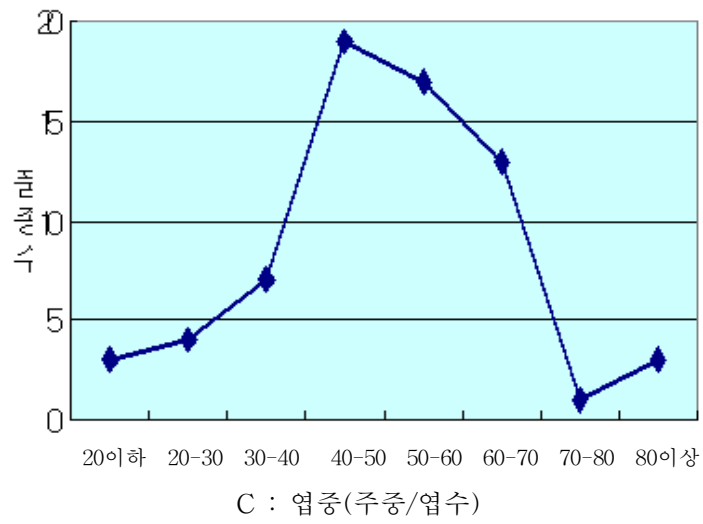
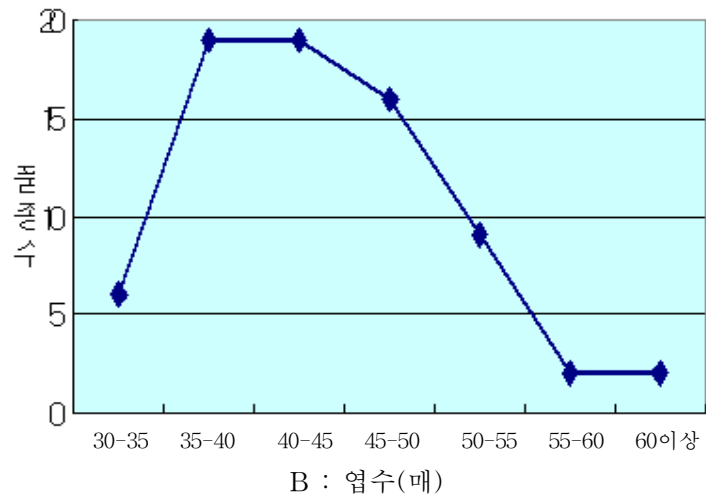


그림 17. 중국 배추 유전자원의 주중, 엽수, 엽중 특성(A:주중, B:엽수, C:엽중)

표 21. 중국배추의 원예적 특성

No.	숙기	결구형		엽색	속잎색	주중	엽장	엽수	생리장해
		8*	포함						
신북경3호	만생	8*	포함	8**	3***	2283.3	53.3	46.0	석회결핍 심
83-24대 백채	만생	11	반포피	5	2	2600.0	50.7	51.0	석회결핍 심
산동5호	중	5	포피	3	2	4233.3	55.3	50.3	
산동6호	중	5	포피	4	2	2933.3	50.7	44.3	
산총19호	조	5	포피	4	3	2466.7	41.0	39.3	
춘백1호	조	11	포피	5	3	2683.3	45.2	38.3	
천정추백1호	조	5	포피	6	2	2866.7	49.0	34.3	
추백19호	조	5	포피	3	3	2066.7	40.7	41.3	
천정초백2호	조	4	포함	4	3	2833.3	42.8	52.3	
하우2호	극조	5	포피	4	4	2100.0	40.5	40.0	
하우3호	극조	5	포피	5	3	1866.7	39.8	40.3	
하우5호	조	5	포피	5	3	2000.0	46.5	42.7	
노백1호	중조	11	포피	4	3	2783.3	51.7	42.3	
노백3호	조	10	반포피	5	2	2450.0	53.0	52.3	
노백6호	중조	11	포피	3	2	3033.3	52.0	43.3	
노백8호	중조	5	포피	4	2	2466.7	50.0	36.3	
북경소잡50호	극조	9	포피	5	1	1683.3	33.0	37.0	
북경소잡55호	중조	11	포함	3	3	2400.0	42.5	48.7	
북경소잡55호	중조		포피	4	3	1933.3	42.7	44.0	
북경소잡56호	중조	11	포함	2	4	2200.0	50.3	37.0	
북경소잡60호	조	5	포피	3	4	2100.0	35.5	41.0	
북경소잡60호	극조	5	포피	5	3	2900.0	46.2	47.3	
북경소잡61호	조	11	포피	4	3	2566.7	49.7	38.0	
소잡 55호	중	11	포피	3	3	2183.3	48.7	45.0	
소잡 56호	중	8	포함	2	3	1083.3	44.7	31.3	

No.	숙기	결구형		엽색	속잎색	주중	엽장	엽수	생리장해
북경신1호	조	6	포함	5	2	2133.3	59.3	37.3	
북경신1호	만	6	포피	5	3	2033.3	59.0	39.7	
북경신1호	만	6	포피	5	3	2033.3	59.0	39.7	
북경신3호	만	10	포함	5	4	2516.7	48.0	50.0	석회결핍
북경신4호	중만	10	포피	5	4	2733.3	54.0	51.0	
북경신5호	중만	6	포함	5	3	1883.3	52.3	47.3	석회결핍
북경75호	만	11	포피	5	2	2283.3	51.7	42.3	
북경80호	중	6	포함	5	3	2566.7	56.7	45.3	
북경80천	중만	6	포함	5	3	2650.0	58.7	45.0	
북경106	중만	6	포피	5	4	2333.3	60.7	34.3	
북경결홍심	중조	4	포피	4	5	2000.0	45.8	42.3	
북경대우심	조	4	포함	5	2	2683.3	40.0	50.0	
백채98-1	중조	10	포함	4	3	2500.0	56.0	40.7	
홍균168	중조	8	포함	5	3	2700.0	53.7	38.7	
추왕3호	중	10	포피	3	3	1566.7	48.0	43.7	
중백2호	중만	11	포피	3	3	2233.3	45.8	36.3	
중백4호	중만	11	포피	4	3	2500.0	48.0	39.0	
경추1호	중조	10	반포피	5	2	2316.7	48.7	46.3	
추진백11호	조	12	포피	3	3	2066.7	46.0	38.7	
추녹55	조	8	포함	3	2	1956.7	49.0	40.7	
추녹60	조	8	포함	3	2	2183.3	49.3	36.3	
진육80	중	6	포함	4	4	2950.0	64.7	37.7	
북경신3호	중만	8	포함	4	3	2400.0	47.7	46.7	
흑심오백채	중조	3	포함	5	3	1283.3	29.7	50.7	
특선황심오	중조	3	포함	5	2	633.3	32.7	37.0	석회결핍
흑오왕	중	3	포함	5	5	583.3	32.8	33.7	석회결핍
회남황심오	중	3	포함	5	3	683.3	31.0	34.3	
유백8호	중만	3or6	포함	5	3	1800.0	62.3	43.7	

No.	숙기	결구형		엽색	속잎색	주중	엽장	엽수	생리장해
청녹왕	만	2	포합	5	3	2083.3	60.3	40.0	
새신5호	만	10	포합	5	3	1800.0	51.3	47.7	
정품5호	중만	6	포합	3	3	2233.3	60.7	43.0	
녹성67	만	4	포합	3	2	1916.7	50.0	47.3	석회결핍
녹성70	중	8	포합	5	2	1483.3	48.3	37.3	
추관58	중	10	포합	4	2	2166.7	52.7	47.3	
전승백채	중	4	포피	5	3	1866.7	48.0	67.0	
교백4호	만	10	반포피	4	4	1383.3	40.7	52.0	석회결핍
고황2호	만	2	포피	5	2	2100.0	46.0	53.7	석회결핍
노백17호	중만	4	포합	4	2	1900.0	49.7	43.7	
항병3호추채왕	만	3	포피	3	4	1150.0	46.3	40.3	
신세기1호	만	12	포합	5	4	1983.3	51.0	52.3	
고황산채왕	만	2	포합	5	3	2000.0	50.5	46.3	
보수3호	중만	4	포합	5	3	1940.0	46.0	48.0	
신금채팔	중만	10	포합	5	3	2000.0	53.0	47.3	

*3: 반결구대두형, 4: 결구장타원형, 5: 결구역삼각형, 6: 결구장원통형, 8:결구대두원통형, 9: 결구구형, 10: 결구원통형, 11: 결구도 란형

**0: DIC361, 1; DIC362, 2; DIC246, 3; DIC369, 4;DIC2324, 5; DIC2336, 6; DIC2325, 7; DIC2356, 8; DIC2355

***0: DIC2087, 1; DIC2088, 2; DIC2089, 3; DIC2540, 4;DIC167, 5; DIC166, 6; DIC86, 7; DIC85, 8; DIC84

또한 중국에서 가장 문제되고 있는 바이러스병(TuMV-C4)에 대해서 유묘검정한 결과 67점중 18점만 이병성으로 나타나 바이러스병에 강한 품종이 많았다(표 22).

표 22. 중국에서 수집한 배추 유전자원의 바이러스병 유묘검정

원산지	품종	이병주/조사주	병징*
중 국	신북경3호	1/12	M
	83-24대백채	1/12	Mal
	산동5호	3/11	Mal, CS, M
	산동6호	2/12	Mal, CS, M
	산총19호	1/12	Mal
	춘백1호	2/12	Mal
	하우2호	12/12	MM
	하우3호	3/12	MM
	노백1호	8/12	SM
	노백3호	11/12	SM
	노백6호	10/12	M
	노백8호	6/12	M
	북경106	1/12	MM
	흑심오백채	1/12	M
	회남황심오	4/12	M
	전승백채	8/12	SM, CS, Mal
	교백4호	8/12	M, CS
신금채팔	1/12	M	
한 국(대비)	불암3호	6/6	SM

*MM: mild mosaic, SM: severe mosaic, CS: chlorotic spot , Mal: malformation, M: mosaic

다. 저항성 계통 육성을 위한 소포자 배양

2003년 2월부터 10월에 걸쳐 배양을 수행한 결과 치상시기에 따른 배 발생에 차이가 있어 3월~4월에 치상한 경우 배 발생이 많았으나, 그 외에는 배 발생이 거의 없어 치상 시기가 배 발생에 중요한 영향을 미치는 것으로 추정되었다(그림 18).

배추의 경우 3~4월은 증식을 위해 소포자가 발달하는 시기로 온도와 일장 등 주위 환경이 소포자 발달에 적합하게 작용하여 배 발생에 영향을 미친 것으로 추정되었다.

총 23점의 모본 중 'MT-3' 등 10개의 모본에서는 배가 발생하였으나 나머지 모본에서는 배 발생이 없었으며, 배가 발생한 10개의 모본 중에서 'NW-1'의 배 발생이 가장 많았고 'MT-5', 'NW-9'가 가장 적어 genotype에 따른 배 발생에 차이가 있었다.

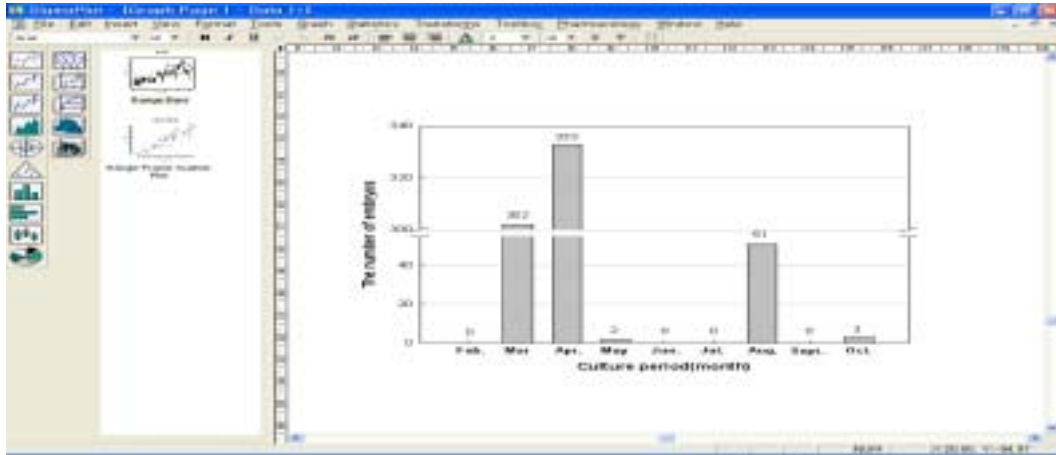


그림 18. 배추 재배시기가 소포자 배양시 배발생에 미치는 효과

배추과 작물의 소포자 배양에는 sucrose 농도가 10%인 NLN10 배지가 주로 이용되고 있으나, 이와 김(2000)이 배추 소포자 배양의 기본배지로 다량요소의 양을 절반으로 줄인 1/2NLN10배지를 이용하였다는 보고를 기초로 1/2NLN10과 NLN10 배지를 비교하여 소포자 배양하였다. 그 결과 1/2NLN10과 성장조절제를 처리한 1/2NLN10PGR배지 모두에서 배 발생이 전혀 없는데 비해 성장조절제를 처리하지 않은 NLN10배지에서 12개의 배가 발생하였으며 성장조절제를 처리한 NLN10PGR배지에서는 623개가 발생하여 기본배지로 1/2NLN10보다 NLN10을 이용하는 것이 배 발생에 효과적이었다(표 23).

소포자 배양에서 성장조절제에 대한 반응은 배추류 아종(subspecies)에 따라 다른 것으로 보고되어있다. Baillier 등(1992)과 Burnett 등(1992)은 유지용 배추에서 성장조절제가 없는 배지가 우수하다고 하였으나, Cao 등(1994)은 청경채에서, 김과 이(1997)는 순무에서 성장조절제가 첨가된 배지가 우수하다고 하였다. 그러나 결구배추에 대해서는 Sato 등(1989)은 성장조절제가 없는 배지가, 이와 김(2000)은 성장조절제를 처리한 배지가 배 발생에 좋다고 하였다. 따라서 배양 모본에 따라 성장조절제를 처리해 보는 것이 유리할 것으로 판단되었다. 배추류 소포자 배양에 가장 많이 이용되는 auxin인 NAA와 cytokinin인 BA를 처리한 결과 모본에 따라 차이가 있었으나 이와 김(2000)의 보고와 유사하게 성장조절제를 처리한 배지에서 배 발생이 많았다.

표 23. 배추의 유전형, 배지 및 성장조절 물질이 소포자 배양의 배발생에 미치는 효과

유전형	배지별 배발생 개체수 ^z			
	1/2NLN10	1/2NLNPGR	NLN10	NLN10PGR
MT-3 ^y	0	0	0	148
MT-5	0	0	3	0
MT-11	0	0	0	13
MT-12	0	0	3	10
MT-13	0	0	1	3
NW-1	0	0	0	201
NW-2	0	0	0	132
NW-7	0	0	1	66
NW-8	0	0	2	49
NW-9	0	0	2	1
계	0	0	12	623

^z1/2NLN10 : NLN (1/2macro)+sucrose 10%,

1/2NLN10PGR : NLN (1/2macro)+sucrose 10% + 성장조절 물질 (BA +NAA)

NLN : NLN+sucrose 10%,

NLN10PGR : NLN+sucrose 10% + 성장조절 물질 (BA+NAA).

^yMT 일본 및 한국의 무사마귀병 저항성 품종간의 교배 후대, NW 농우바이오(주) 품종

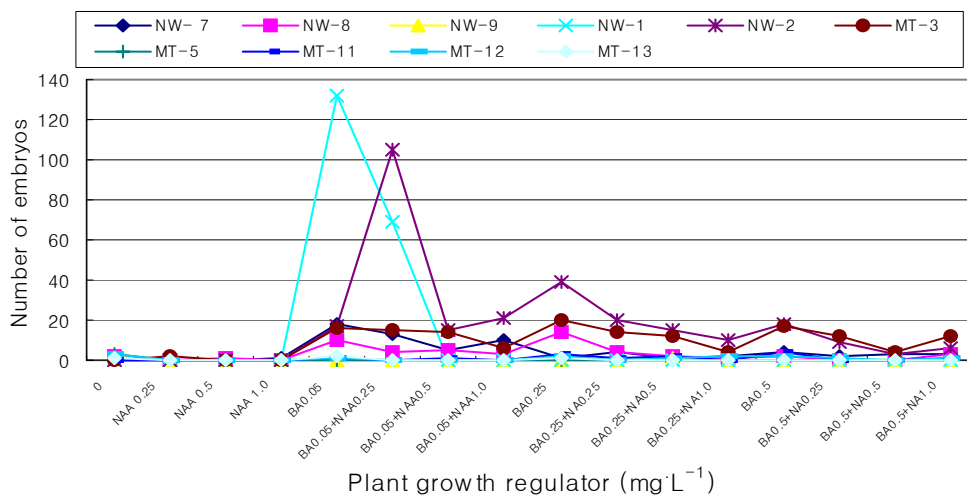


그림 19.. 육종 집단, NAA 및 BA가 소포자 배양의 배발생에 미치는 효과

배양 모본에 따라 식물생장조절제에 대한 다른 반응을 보였는데 ‘NW-2’ 경우는 BA 0.05mg·L⁻¹와 NAA 0.25mg·L⁻¹를 혼용처리한 배지에서 배 발생이 많았다. 그러나

다른 모본의 경우 BA와 NAA를 혼용처리한 배지보다 BA를 단용처리한 배지에서 배 발생이 많았다(그림 19). 이러한 결과는 BA $0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 와 NAA $0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 를 혼용처리한 배지에서 배 발생이 많았다는 이와 김(2000)의 보고와는 차이가 있었다. NAA를 단용처리한 배지에서는 배 발생이 없었으나 BA를 단용처리한 배지에서는 배 발생이 많았으며, 특히 BA를 낮은 농도로 처리하였을 때 배 발생에 가장 효과적인 것으로 나타났다. 따라서 cytokinin이 배추 소포자 배양에 중요한 역할을 하는 것으로 추정되어 다른 종류의 cytokinin처리 효과를 구명하고자 kinetin 0.05, 0.1, 0.5, $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, thidiazuron 0.001, 0.005, 0.01, $0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 를 'NW-7'과 'NW-8'에 각 10개의 페트리디쉬씩 처리한 결과 'NW-8'의 경우 kinetin, thidiazuron, BA 처리시 모두 배가 발생하였는데 kinetin과 thidiazuron에서는 가장 낮은 농도인 $0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 과 $0.001\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 처리에서만 배가 발생하였으나 BA의 경우 3처리 모두에서 배가 발생하여 cytokinin 종류에 따른 반응이 달랐다. 'NW-7'의 경우 kinetin $0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 에서만 배가 발생하여 배양 재료 따라 cytokinin에 대한 반응도 달랐다. 그러나 두개의 모본 모두에서 비교적 낮은 농도의 cytokinin이 배 발생에 효과적이었다는 결과는 유사하였다(그림 20).

조직배양에서 cytokinin은 세포 분열에 관련되어 유사분열을 연장시키며 유사 분열 중기에 방추사의 기능과 형성에 관련된 단백질 합성을 조절하는 것으로 알려져 있다(George와 Sherrington 1984). 그리고 소포자 배양 초기에 세포 분열이 진행되는 것으로 알려져 있는데 이 때 cytokinin의 작용으로 배 발생을 촉진하는 것으로 추정된다.

배 발생이 가장 좋았던 NLN10에 BA $0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 을 처리한 배지를 중국 수집 67 품종에 각 20~30 페트리디쉬씩 적용한 결과 37품종에서 배가 발생하였다. 그 중 'Lubai 3'의 경우 페트리디쉬당 0.2개의 배가 발생한 반면 'Baicai 98-1'에서는 페트리디쉬당 160개 이상의 배가 발생하여 품종에 따라 배 발생 차이가 있는 것으로 재 확인되었다(표 24, 그림 21).

소포자 배양에서 genotype에 따른 배 발생의 차이는 재료를 달리한 많은 논문에서 보고되고 있으며(김과 이, 1997; 이와 김, 2000; Borderies 등 2004; Rudolf 등, 1999), 배지나 성장조절제 등의 다른 요인에 비해 중요한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(George and Sherrington 1984).

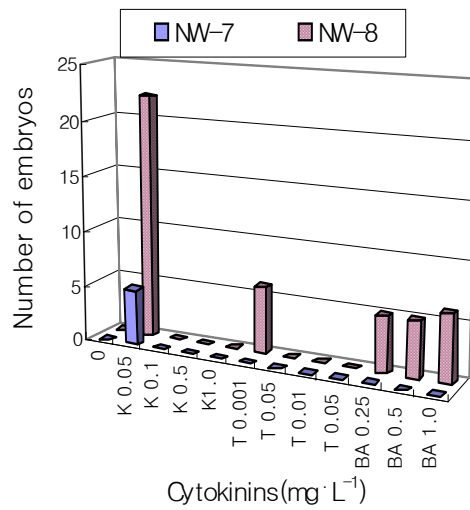


그림 20. 배추 배발생에 미치는 품종과 cytokinin의 종류가 효과 (K : 키네티ن, T : 티디아주론)

Goldberg 등(1989)은 모본에 따라 배 형성에 관여하는 유전자의 발현 유무가 결정되어 배 발생을 결정한다고 하였다. Borderies 등(2004)은 옥수수의 소포자 배양에서 배 발생에 arabinogalactan proteins(AGPs) 등 특이한 extracellular protein이 관여하고 있고, 이 것을 배 발생이 안 되는 모본에 적용하는 등 여러 방면에서 원인 구명에 대한 실험이 진행되고 있다.

Rudolf 등(1999)은 양배추의 소포자 배양에서 모본에 따른 배 발생의 차이를 극복하고자 배 발생이 잘되는 품종과 잘되지 않는 품종을 교배한 후대를 배양하였다. 그 결과 배 발생이 잘되는 경향을 보여 배 발생에 관여하는 유전자가 우성으로 유전하는 것으로 보고하였다. 이와 같은 방법을 같은 *Brassica*속 작물인 배추에 적용하면 배 발생률을 높일 수 있을 것으로 추정되었다.

표 24. 중국 유래 배추의 유전형과 생장조절 물질이 소포자 배양시 배발생에 미치는 효과

유전형 번호	품종명	유기된 배의 수/petri-dish		
		NLN	+BA0.05 (mg·L ⁻¹)	+BA0.05 +NAA0.5 (mg·L ⁻¹)
101	Shinbukyeong 3 (新北京3號)	4.2	25.5	79.9
105	Sandong 19 (山東19號)	3.9	50.8	70.6
107	Chaobai 1 (春白1號)	0.0	6.0	9.1
108	Qiubai 1 (秋白1)	0.5	2.8	2.2
110	Xiayou 3 (夏優3)	0.4	0.3	0.5
111	Xiayou 5 (夏優5)	0.6	3.5	4.7
114	Lubai 3 (魯白3號)	0.0	0.2	0.3
115	Lubai6 (魯白6號)	0.0	0.6	0.2
116	Lubai 8 (魯白8號)	0.0	17.1	0.0
118	Beijingxiaoza 55 (北京小雜55)	0.2	0.8	0.4
119	Beijingxiaoza 55 (北京小雜55)	0.6	3.4	4.2
120	Beijingxiaoza 56 (北京小雜56)	0.3	0.9	1.4
121	Beijingxiaoza 60 (北京小雜60)	0.1	1.4	0.7
122	Beijingxiaoza 60 (北京小雜60)	0.0	103.8	16.1
123	Beijingxiaoza 61 (北京小雜61)	5.0	31.8	17.5
124	Xiaozab 55 (小雜55號)	0.2	1.4	2.0
125	Xiaozab 56 (小雜56號)	1.9	6.3	5.0
126	Beijing xin 1 (北京新1)	1.6	22.8	20.9
128	Beijing xin 3 (北京新3)	0.9	9.3	11.0
135	Bukyeong- gyeolhongsim (北京桔紅心)	0.1	3.9	3.2
137	Baica 98-1 (白菜98-1)	105.6	168.6	176.6
138	Hongguin 168 (鴻均168)	0.4	5.3	5.8
139	Chupung 3 (秋豐3)	18.4	89.8	50.3
140	Jungbak 2 (中白2)	5.0	25.5	15.6
141	Jungbak 4 (中白4)	14.5	57.7	57.4
142	Kyeongchu 1 (京秋1號)	0.5	1.0	1.1
143	Chujinbak 11 (秋珍白11)	36.7	71.4	63.0
144	Chunok 55 (秋綠55)	0.5	0.6	0.3
145	Chunok 60 (秋綠60)	4.1	32.1	32.1
146	Jinuik 80 (津育80)	0.1	1.2	2.5
153	Chungnokwoang	1.5	29.5	31.2
154	Saeshin 5	19.6	39.0	51.6
158	Chugoan 58	0.0	0.2	0.4
159	Jeonsung (全勝)	0.1	3.3	2.8
164	Shinsegil (新世紀1號)	0.2	1.4	0.8
165	Gohoangsanchae-wang (高抗酸菜王)	0.0	9.1	7.3
167	Shinjumchae 8(新錦菜8)	0.2	2.5	2.2

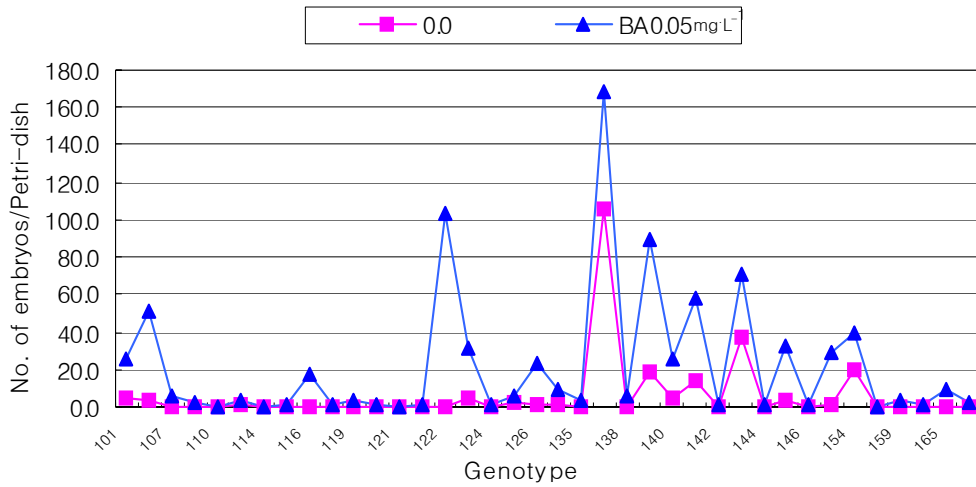


그림 21. 배추의 유전형과 성장조절 물질이 소포자 배양의 배발생에 미치는 효과

사용된 모든 품종에서 성장조절제의 처리가 배 발생에는 효과적이었으나 정상 배의 확보에 있어서는 재료에 따라 다른 경향을 보였다(표 25). 무처리 구에서 배 발생수가 많은 ‘Baicai 98-1’ 등의 경우 무처리구가 성장조절제 처리구에 비해 정상배 발생률이 높은 경향이 있어 무처리하여 배양하는 것이 유리하였다. 그러나 성장조절제 처리시 무처리에 비해 현저하게 배 발생수가 많아지는 ‘Beijing xin 3’ 등의 경우는 성장조절제를 처리하여 정상배를 확보하는 것이 계통 획득에 유리할 것으로 판단되었다

표 25. 배추 유전형에 따른 정상 소포자 배유래 개체 발생 비율

품종	정상배 개체수					
	NLN10 ^z			NLN10+BA0.05mg·L ⁻¹		
	Embryos (A)	Normal embryos(B)	B/A ×100	Embryos (A)	Normal embryos(B)	B/A ×100
Baicai 98-1	5,323 ^y	103	1.9	7,679	89	1.2
Beijing xin 3	17	6	35.3	186	49	26.4

^zNLN : NLN+sucrose 10%

^y20개의 페트리디쉬에서 발생한 정상배 개체수(10⁵microspores·mL⁻¹ /Petri-dish).

소포자 배양을 통한 계통 획득을 위해서는 정상적인 식물체 재분화를 반드시 거쳐야 하며 재분화율이 높아야 많은 계통을 확보할 수 있게 된다.

페트리디쉬당 너무 많은 배가 발생하면 미숙하거나 기형 배가 많이 발생하여 정상적으로 식물체로 재분화하는데 문제가 있었는데 페트리디쉬당 20개 이내의 배가 발생한 것이 정상적인 재분화에 효과적이었다. 또한 재분화율도 모본에 따라 차이가 있어 'Beijingxiaoza 61'에서 유래된 배의 재분화율이 38.8%로 가장 높았다(표 26).

표 26. 배추 소포자 배양 결과 획득한 식물체 개체수

유전형	배의 갯수		개체수		정상개체 빈도 (B/A×100)
	Induced/ Petri-dish	Transplanted (A)	Plants regenerated (B)	Hardened plants (C)	
Sandong 19	41.7	1,783	43	42	2.4
Beijingxiaoza 61	18.1	2,425	940	570	38.8
Beijing xin 3	7.0	197	2	2	1.0
Chupung 3	52.8	2,214	8	7	0.4
Jungbak 2	15.4	729	31	27	4.3
Chujinbak11	57.0	531	6	5	1.1
Chunok 55	0.4	822	10	7	1.2

'Baicai 98-1' 등과 같이 배 발생이 너무 많아 미숙배나 기형배 등 비정상적인 배가 많은 품종은 소포자 치상 농도를 조절하거나 cytokinin의 효과를 억제하는 호르몬인 ABA 등을 처리하면 정상배가 많아질 것으로 생각되었다. 그러나 소포자 배양에 관련된 대부분의 연구가 배 발생을 촉진하기 위한 것으로 배 발생 억제에 대한 실험이 거의 진행된 바 없어 실제로 실험을 수행해야 할 필요성이 있다.

라. 소포자 배양을 계통 획득

다양한 계통육성을 위하여 중국에서 수집한 67점과 원예연 보유 자원 5점을 이용하여 소포자 배양을 실시한 결과 중국 도입 배추 38점과 원예연 자원 3점 등 총 41점에서 71,600가량의 배상체가 발생하였다(표 27).

표 27. 모본에 따른 배지처리별 배발생수

모본번호	무처리(NLN)		+BA 0.05mg/ℓ		+BA0.05+NAA0.5 (mg/ℓ)		총배발생수
	치상페트리	배발생수	치상페트리	배발생수	치상페트	배발생수	
	디쉬수		디쉬수		리디쉬수		
101	20	84	20	510	20	1,598	2,192
105	40	154	40	2,030	20	1,412	3,596
107	35	0	35	210	35	318	528
108	25	12	25	70	25	56	138
110	20	7	20	6	20	9	22
111	15	9	15	53	15	70	132
114	20	0	20	4	20	6	10
115	15	0	15	9	15	3	12
116	15	0	15	256	15		256
118	20	3	20	16	20	7	26
119	20	11	20	68	20	84	163
120	20	5	20	17	20	27	49
121	20	0	20	2	20	1	3
121	20	1	20	27	20	14	42
122	25	1	20	2,075	30	483	2,559
123	40	198	35	1,114	35	614	1,926
124	30	5	30	42	30	60	107
125	45	85	45	282	45	224	591
126	50	80	45	1,027	45	939	2,046
128	20	17	20	186	20	219	422
135	15	1	15	59	15	48	108
137	60	6,335	60	10,118	60	10,594	27,047
138	40	14	45	240	45	263	517
139	20	367	15	1,347	15	754	2,468
140	105	529	105	2,682	135	2,105	5,316
141	35	508	35	2,021	35	2,009	4,538
142	35	19	15	15	15	17	51
143	55	2,018	55	3,928	55	3,464	9,410
144	20	9	20	12	20	5	26
145	20	81	20	641	20	641	1,363
146	20	1	20	23	20	50	74
153	40	61	40	1,180	40	1,248	2,489
154	20	392	20	779	20	1,032	2,203
158	10	0	10	2	10	4	6
159	20	1	20	65	20	56	122
164	20	3	20	27	20	15	45
165	20	0	20	182	20	146	328
167	20	4	24	60	24	53	117
A86	30	0	30	22	30	7	29
A94	20	3	25	52	25	21	76
A172	20	2	20	294	20	223	519
계	1,160	11,020	1,134	31,753	1,154	28,899	71,672

모본별 배상체 발생 정도를 보면 121번의 경우 3개의 배상체가 발생한데 비해 137번의 경우 27,000개 이상의 배상체가 발생하여 배상체가 발생한 모본 중에서도 배상체 발생 정도의 차이는 심했다. 또한 배지별 배상체 발생을 보면 1차 년도에 선발한 NLN+BA0.05mg/ℓ에서 가장 많았다. 그러나 발생한 배상체 발생이 많다고 식물체로 재분화되는 정상배가 많은 것은 아니다. 무처리 구에서도 배상체 발생수가 많은 137 등 모본의 경우 무처리구에서 성장조절제 처리구에 비해 정상배 발생율이 높은 경향이 있어 무처리하여 배양하는 것이 유리하다.

그러나 성장조절제 처리시 무처리에 비해 현저하게 배발생수가 많아지는 143 등의 모본의 경우는 정상배 발생율은 높으나 성장조절제를 처리하여 정상배를 확보하는 것이 계통 획득에 유리할 것으로 판단된다(표 28).

표 28. 모본에 따른 배상체 및 정상배 발생수

모본	무처리(NLN)			NLN+BA0.05mg/ℓ		
	배상체(A)	정상배(B)	B/A×100	배상체(A)	정상배(B)	B/A×100
137	5,323	103	1.9	7,679	89	1.2
143	11	6	54.5	157	49	31.2

모본 36점으로부터 획득한 18,304개의 배상체는 비교적 크고 정상인 배는 MS 배지에 비정상인 배는 MSK 배지(MS+BA 1mg/ℓ+NAA 0.02mg/ℓ)에 이식하여 식물체 재분화를 유도하였으며, 일부 재분화된 157개의 식물체는 종자 증식을 하였다(표 29).

표 29. 모본에 따른 식물체 재분화 및 순화개체수

모 본	이식 배상체수	순화개체수
101	23	-
105	1,780	1
107	4	-
108	108	-
110	15	-
111	105	-
114	10	-
115	9	-
116	162	-
118	7	-
119	89	-
120	35	-
121	15	-
123	2,425	141
125	189	-
126	197	2
127	10	-
128	4	-
135	94	-
137	987	-
139	2,214	1
140	729	2
141	18	-
142	1	-
143	531	6
144	822	4
145	22	-
146	7	-
153	434	-
158	5	-
159	89	-
164	1	-
165	1	-
A86	23	-
A172	1	-
A94	43	-

1차 년도에 소포자 배양을 통해 획득한 개체 중 종자 증식에 완료한 10계통에 대해서는 8월 중순에 파종하여 가을재배를 통해 원예적 특성을 평가하고, 병저항성은 9~

12월에 평가하였다

마. 소포자 유래 개체의 배수성 검정

정상적으로 순화된 소포자 유래 454개체에 대해 flow cytometry로 배수성을 검정한 결과 반수체가 60개체, 2배체 239개체, 4배체 46개체, 6배체 1개체로 다양한 배수성을 가진 식물체가 출현하였으며 mixoploid로 추정되는 개체가 99개체, 배수성 구분이 명확하지 않은 개체가 9개체가 있었다(표 30, 그림 22). 이론상으로 소포자 유래 개체는 반수체이어야 하나, 이와 김(1997)에 의하면 결구배추와 순무의 교배조합의 소포자 배양에서 2배체가 70%, 반수체가 14%, 4배체 이상이 8%, 기타가 7%였다고 하였으며, Rudolf(1999) 등은 양배추의 소포자 배양에서 자연적으로 이배체가 되는 비율이 21~67%, 1999년 Wang은 녹색꽃양배추를 약과 소포자 배양한 결과 반수체, 2배체, 4배체 및 다른 배수성을 가진 개체가 확인되었으며 이배체가 우세하게 발생된다고 하였다.

자연적인 염색체 배가는 배양 초기 소포자의 핵내 유사분열(endomitosis)과 복제(endoreduplication) 또는 핵 융합에 의한 것(Sunderland 등, 1974; Keller와 Armstrong, 1978)과 반감되지 않는 배우체(unreduced gametes)에 의한 것(Wenzel 등, 1977; Chen과 Beversdorf, 1992)으로 추정하고 있으며 최근에는 소포자 배양 중에 염색체 배가를 유도하기 위하여 trifluralin과 colchicine 등을 첨가하여 배양하는 방법도 시도되고 있다(Zhao와 Simmonds, 1995).

표 30. 소포자 배양 유래 식물체의 배수성

Ploidy level	No. of plants	% of ploidy
Haploid (x)	60	13.5
Diploid (2x)	239	53.7
Tetraploid (4x)	46	10.3
Hexaploid (6x)	1	0.2
Mixoploid (x+2x)	54	12.1
Mixoploid (2x+4x)	45	10.1

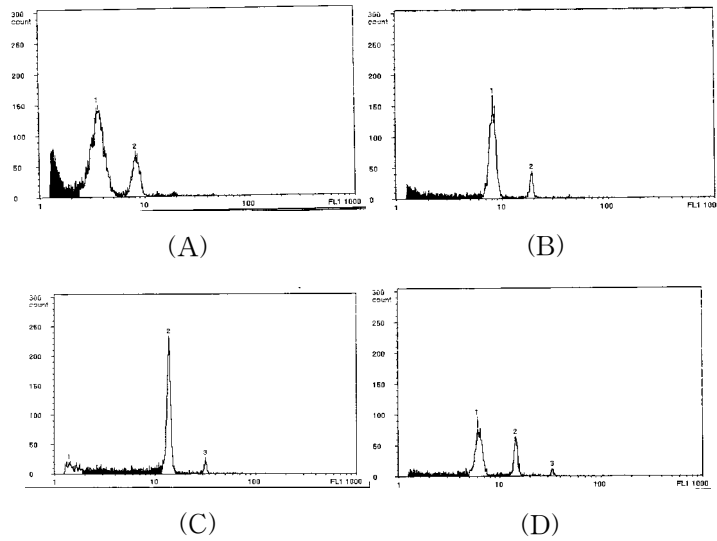


그림 22. DNA contents of haploid (A), diploid (B), tetraploid (C), mixoploid (x+2x, D) as measured by flow cytometry.

바. 소포자 유래 계통의 특성 검정

무사마귀병 재료를 이용한 소포자 유래 7계통에 대한 무사마귀병 저항성 검정 결과 저항성 재료로 'MSH-128'을 이용한 6계통 중 3계통에서 단포자 분리균주 race 4(SS179-2-1)에 저항성을 나타냈으며 '空海70'을 이용한 1계통은 감수성을 보였다(표 31). 소포자 유래 계통의 결구형은 장타원형, 도란형, 원통형이었으며 속기는 조~만생, 주중은 2~3.7kg, 엽수는 51.7~65.3개에 분포하고 있었으며 특히 'MT3-4' 계통은 속잎이 다른 계통에 비해 노란 특성을 보였다(표 32, 그림 23).

표 31. 일곱 개의 소포자 유래 계통의 무사마귀병 저항성 평가².

Line	개체수		저항성원
	감염개체/ 접종개체		
MT3-1	36 / 40		MSH-128
MT3-2	33 / 34		"
MT3-3	24 / 24		"
MT3-4	0 / 45		"
MT3-5	0 / 44		"
MT3-6	0 / 46		"
MT5-1	22 / 22		Kukai70

²병원균: 윌리엄스법에 의하여 구분된 single-spore isolate race 4 (SSI79-2-1) ($10^7 \sim 10^8$ spores·mL⁻¹), 접종 방법 : root dip method.

표 32. 일곱 개의 소포자 유래 배추 계통의 원예적 특성

Line	결구형	숙기	엽색		주중 (kg)	엽장 (cm)	엽수
			외엽	내엽			
MT3-1	계란형, 반포피	조생	5 ^z	2 ^y	2.9 abc ^x	33.5 bc	65.3 a
MT3-2	계란형, 반포합	조생	3	3	2.3 bc	34.0 bc	59.3 ab
MT3-3	계란형, 반포피	중간	5	2	2.0 c	31.5 c	57.7 ab
MT3-4	평평한 실린더형, 포피형	만음	3	4	3.4 ab	51.7 a	50.7 b
MT3-5	평평한 실린더형, 포피형	중만	3	3	3.7 a	51.3 a	57.7 ab
MT3-6	평평한 실린더형, 반포피	중만	4	3	3.7 a	51.7 a	51.7 b
MT5-1	뭉친 실린더형, 포합형	중간	5	2	3.1 abc	36.5 b	57.3 ab

^xMean separation within columns by DMRT at 5% level.

^z0: DIC(大日本インキ化学)361, 1: DIC362, 2: DIC246, 3: DIC369, 4: DIC2324,

5: DIC2336, 6: DIC2325, 7: DIC2356, 8: DIC2355.

^y0: DIC2087, 1: DIC2088, 2: DIC2089, 3: DIC2540, 4: DIC167, 5: DIC166,

6: DIC86, 7: DIC85, 8: DIC84.



A : 'MT3-2'



B : 'MT3-6'



C : 'MT5-1'

그림 23. 소포자 유래 DH 계통의 모습 (A: 'MT3-2', B: 'MT3-6' 및 C: 'MT5-1')

사. 자가불화합성 인자 분류 및 원연관계 분석

소포자 유래 24개체와 원예연구소 보유 97계통 등 121점에 대한 DNA를 추출하여 순천대에서 자가불화합 인자분류를 수행하였다. 그 결과 71점에 대한 자가불화합 인자를 분류한 결과 총 12개의 인자로 분류되었으며 Class I에 속하는 인자형이 8개, Class II에 속하는 인자형이 4개로 분류되었다.

배추의 최적 증폭조건을 찾기 위해서 고추, 마늘, 수박 등(Kang 등 1997)에서 적요한 RAPD 조건을 검토하였다. 배추의 RAPD 조건으로는 template DNA 10ng, primer 200nM, dNTP 100 μ M 및 *Taq* DNA polymerase 0.8 unit에서 가장 안정적이고 재현성

있는 결과를 얻을 수 있었다.

B. rapa 유전자원 96점을 대상으로 30개 임의 프라이머(random primer) 중 단편수가 적어도 선명한 단편을 나타내어 개체 간 구분이 가능한 프라이머를 포함한 28개의 임의 프라이머를 선발하였다. 이를 이용하여 RAPD한 결과 총 213개의 다형성 단편이 증폭되어 1개의 프라이머 당 평균 7.65개의 단편이 증폭되었으며, 단편크기는 0.3~3kb 정도였다(표 33, 그림 24, 그림 25, 그림 26).

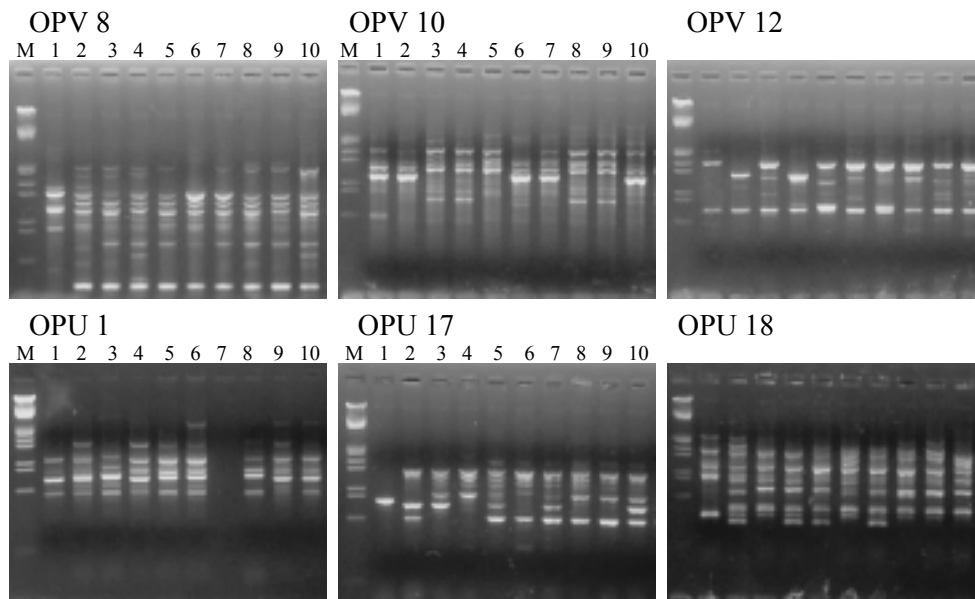


그림 24. 배추 유전자원을 6개의 오페론 프라이머로 RAPD 분석 결과

RAPD를 통한 유전자원의 유연관계 분석에서 1('ECD02')과 4('ECD04')는 유전적 거리가 먼 것으로 나타났으며, 나머지 유전자원들은 대략 유사도 0.65을 기준으로 같은 그룹에 위치하였다. 하지만 유사도 수준을 0.72로 나누었을 때 12개 그룹으로 구분되었다(그림 14).

유사도 0.72를 기준으로 나누어진 1, 2그룹은 아종인 순무 'ECD02', 'ECD04'가, 3그룹은 'ECD05', 'BP079', '서울배추', '송도신2호', 'YC30' 및 약유래 계통인 'An12', '89-45(1)-9-1-1' 등 18계통 등 총 24점, 4그룹은 '직예', '조생청방', '춘파야기' 등 원예연구소 육성 21계통, 5그룹은 '청방', '서울배추' '전구' 및 '농림1호' 등 11계통과 소포자 배양을 통해 육성된 무사마귀병 저항성 계통 'MT3-3' 등 11계통 및 남방계인

‘AVRDC’ 등 1계통 등 총 23점, 6그룹에는 원통형 배추인 ‘Chihili’와 남방계인 ‘T.F.F.L’ 계통이 포함되었다. 7그룹에는 ‘Chinese michihili’와 ‘T.F.F.L’ 계통, 8그룹에는 ‘원예20024호’, ‘저항성순무(IT033820)’와 우즈베키스탄에서 수집 계통, 9그룹에는 약배양 유래 ‘89-31(1)-1-4-1’ 등 3계통과 ‘An 6’, ‘내병60일’, ‘평종1호’, ‘대형가락’ 등 총 7계통이 포함되었다. 10, 11, 12그룹은 소포자 유래 계통이 속했는데 10그룹에는 소포자 유래 ‘3-2-3’과 ‘3-2-2’계통, 11그룹에는 남방계에서 유래된 ‘15-2-1’ 등 5계통과 무사마귀병 저항성 재료에서 유래된 ‘5-77-2-3-1’ 등 2계통, 12그룹에는 무사마귀병 저항성 재료에서 유래된 ‘5-77-5-2’ 등 3 계통이 포함되었다(그림 14).

한 그룹내에 원형의 남방계와 원통형이 북방계 배추가 포함되어 있었고, 순무인 ‘IT033820’이 배추인 ‘원예20024호’와 같은 그룹에 속해 그룹을 나누는 기준이 명확하지 않았다. 또한 소포자 배양에서 유래한 계통들은 다른 계통과 구분이 되어 크게 두 그룹으로 나누어지면서 약 80%의 밴드를 공유하고 있었는데 같은 그룹 내에 남방계와 국내 배추형의 소포자 유래 계통들이 혼재해 있어 그룹 내에서 구분은 명확하지 않았다.

배추과 작물에서의 RAPD를 이용한 유전적 다양성 분석은 *B. oleracea*, *B. juncea* 및 *B. napus* 등에서 수행된 바 있다. Rabbani 등(1998)은 파키스탄의 여러 지역에서 수집한 갓(*B. juncea*) 41점과 유채 6점 및 일본의 배추과 채소 5점에 대해 RAPD를 통한 유전적 다양성(genetic diversity) 분석 결과 다른 유전자원과 일본 채소와는 유사도가 낮아 명확하게 구분이 되었으나, 파키스탄에서 수집된 갓과 유채는 유전적인 유사도가 높아 자원 간 구분이 불가능했으며 수집지역에 따른 분류도 명확하지 않았다고 하였다. Lázari와 Aguinagalde(1998)와 Geraci 등(2001)이 *B. oleracea*와 같은 염색체수(n=9)를 가진 종(species)이 다른 *Brassica* 야생종을 RAPD로 분석한 결과, 대부분 종에 따라 그룹이 나누어지는 것을 확인하였으나 같은 종 내의 아종 간에는 지리적, 형태적 차이를 구분 할 수 없었다고 하였다. 종 내의 재료에 대한 RAPD 분석은 Yuan 등(2004)이 계통육종법(pedigree)과 순환선발법(recurrent selection)을 통해 육성된 *B. napus* 46점에 대해 분석한 결과 계통육종법으로 육성된 계통의 유사도가 순환선발법에 의해 육성된 계통에 비해 높아 순환선발법을 통한 계통의 유전적 변이가 넓은 것으로 보고하였다.

아종인 순무가 포함된 배추 유전자원의 유연관계 분석에서 그룹을 구분할 수 있는 표현형이나 지역적, 형태적 기준이 명확하지 않았으며, 이러한 결과는 Geraci 등(2001), Lázari와 Aguinagalde(1998), Rabbani 등(1998) 및 Ren 등(1995)이 보고한 아

종간의 차이나 형태적, 지리적인 차이를 명확하게 구분할 수 없었다는 보고와 유사하였다

표 33. RAPD 분석에 사용된 28개의 Operon 프라이머 정보 및 결과분석.

프라이머	염기서열	polymorphic band 개수	기타
U1	5'-ACGGACGTCA-3'	6	
U3	5'-CTATGCCGAC-3'	3	
U4	5'-ACCTTCGGAC-3'	4	
U6	5'-ACCTTTGCGG-3'	5	
U7	5'-CCTGCTCATC-3'	4	
U8	5'-GGCGAAGGTT-3'	7	
U9	5'-CCACATCGGT-3'	5	
U10	5'-ACCTCGGCAC-3'	9	
U11	5'-AGACCCAGAG-3'	9	
U12	5'-TCACCAGCCA-3'	6	
U13	5'-GGCTGGTTCC-3'	6	
U14	5'-TGGGTCCCTC-3'	9	
U15	5'-ACGGGCCAGT-3'	10	smear
U16	5'-CTGCGCTGGA-3'	8	
U17	5'-ACCTGGGGAG-3'	8	
U18	5'-GAGGTCCACA-3'	11	
U20	5'-ACAGCCCCCA-3'	7	
V1	5'-TCACGCATGG-3'	9	
V2	5'-AGTCACTCCC-3'	12	smear
V3	5'-CTCCCTGCAA-3'	8	
V4	5'-CCCCTCACGA-3'	9	
V5	5'-TCCGAGAGGG-3'	5	
V6	5'-ACGCCAGGT-3'	11	
V7	5'-GAAGCCAGCC-3'	8	
V8	5'-GGACGGCGTT-3'	11	
V9	5'-TGTACCCGTC-3'	6	
V10	5'-GGACCTGCTG-3'	10	
V12	5'-ACCCCCACT-3'	7	
total	28	7.6	

OPU3

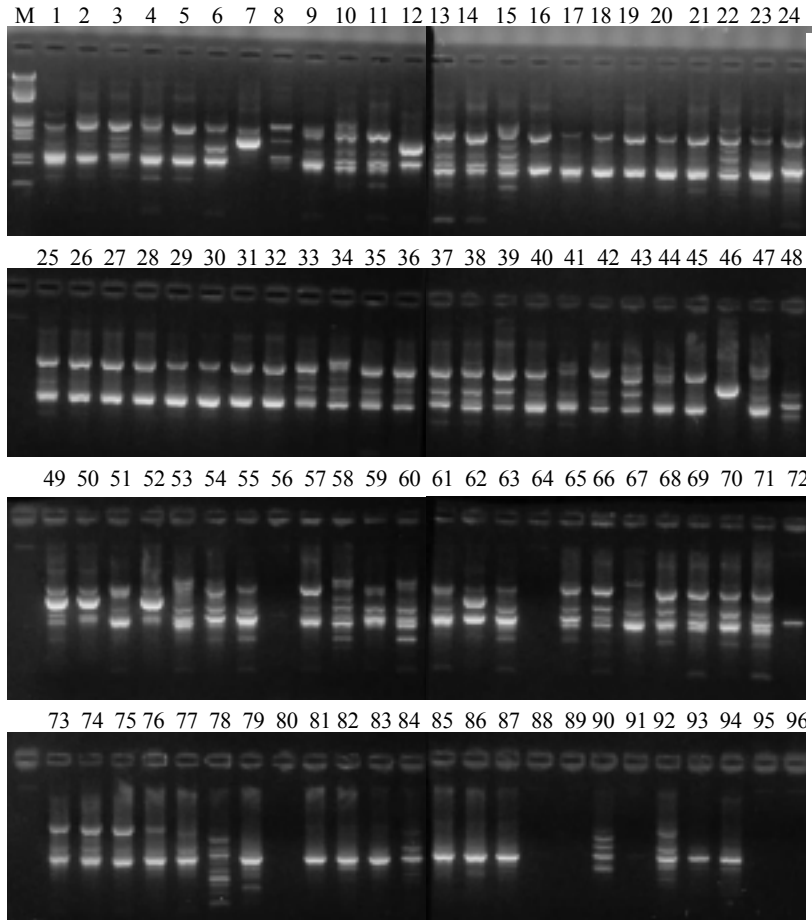


그림 25. RAPD analysis of 96 Chinese cabbages with primer OPU 03 and agrose-gel electrophoresis. M: DNA molecular weight marker
The number of each lane is matching with that listed in Appendix 2.

OPU17

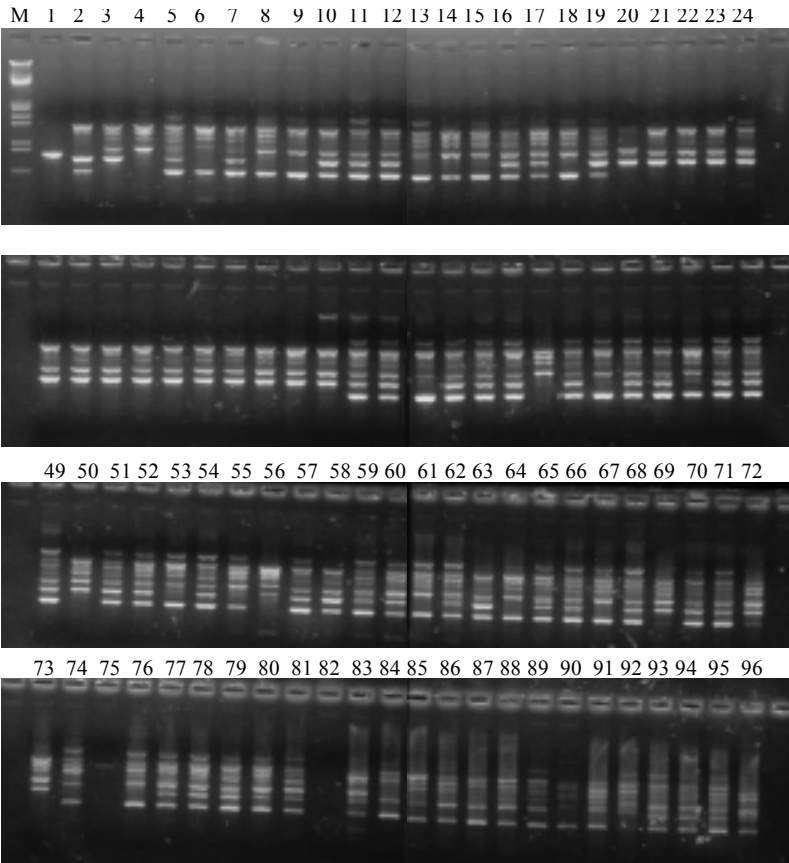


그림 26. OPU 17 프라이머를 이용한 96개 배추 유전자원의 RAPD 분석결과

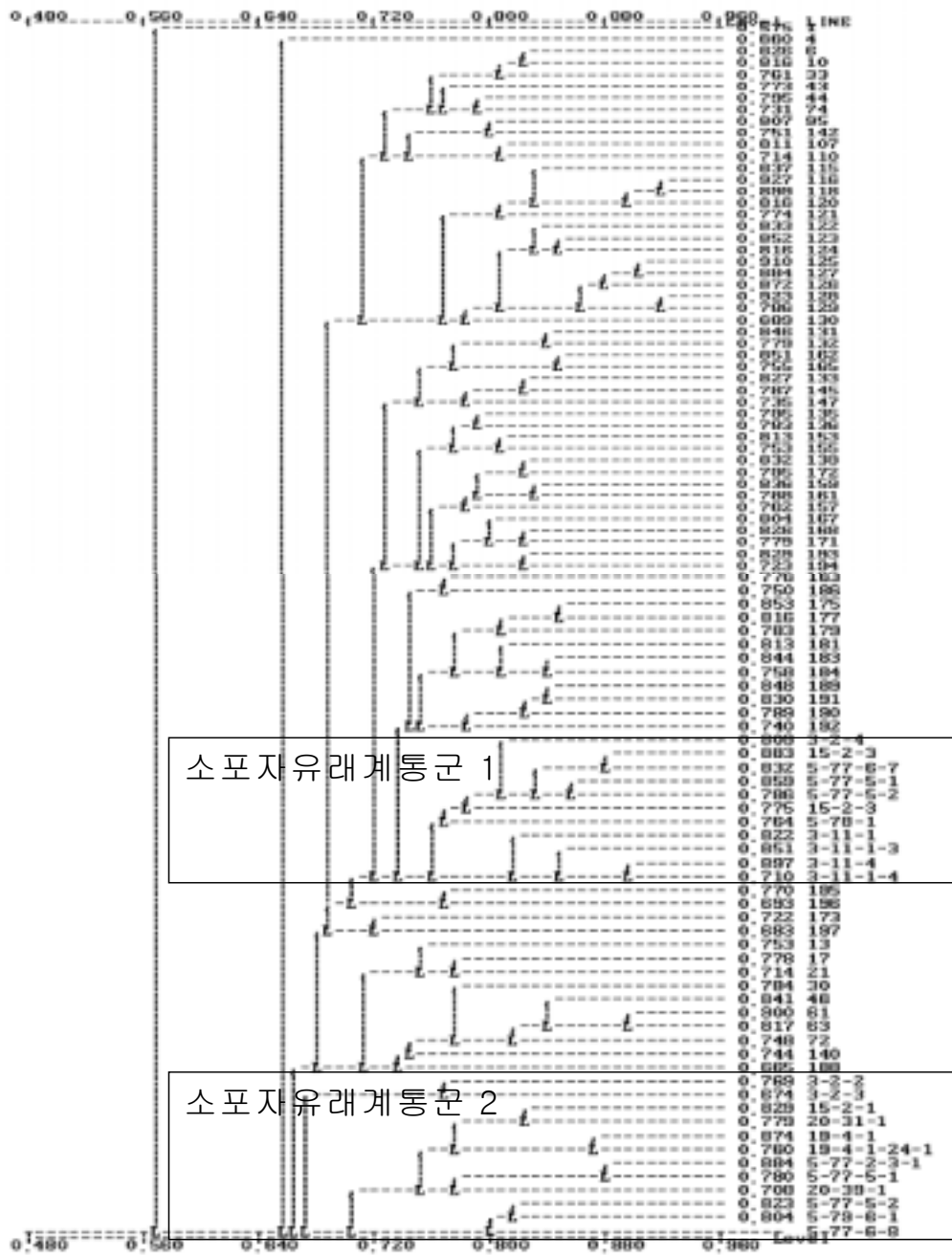


그림 27. 96개의 배추 유전자원과 소포자 유래 계통의 유전적 거리

아. 소포자 유래 계통의 유연관계 분석

EcoR I +ANN primer와 *Mse* I +CNN 16조합의 primer를 이용하여 소포자 유래 99 개체를 대상으로 AFLP 분석한 결과 총 216개의 다형성 밴드를 얻었다(표 20, 그림 28). 16개 조합에서 primer당 polymorphic band는 8(E+AAT/M+CAC 등)개에서 22(E+AAT/M+CCG)개까지로 평균 13.5개였다(표 34).

AFLP 분석에 의해 얻어진 216개의 다형 밴드들의 존재 부재를 0과 1로 코드화하여 data matrix를 작성하였고 이 data matrix를 가지고 SM(simple matching) 유사지수 (similarity coefficient)를 이용한 다변량 분석을 통해 소포자 유래 계통들간의 유사도를 측정하였다. 이 유사지수를 기초하여 비가중평균결합 방법으로 집괴분석하여 dendrogram을 작성하였다(그림 29).

표 34. AFLP 분석 결과.

프라이머 조합	polymorphism 개수	프라이머 조합	polymorphism 개수
E+AAG/M+CGA	15	E+AAT/M+CTC	11
E+AAG/M+CGG	13	E+AAT/M+CCC	20
E+AAG/M+CGT	9	E+AAT/M+CCG	22
E+AAT/M+CAA	19	E+AAT/M+CCT	15
E+AAT/M+CAC	8	E+AAT/M+CGC	8
E+AAT/M+CAG	12	E+ACA/M+CTA	9
E+AAT/M+CAT	16	E+ACA/M+CCT	8
E+AAT/M+CTA	13	E+ACA/M+CGA	18

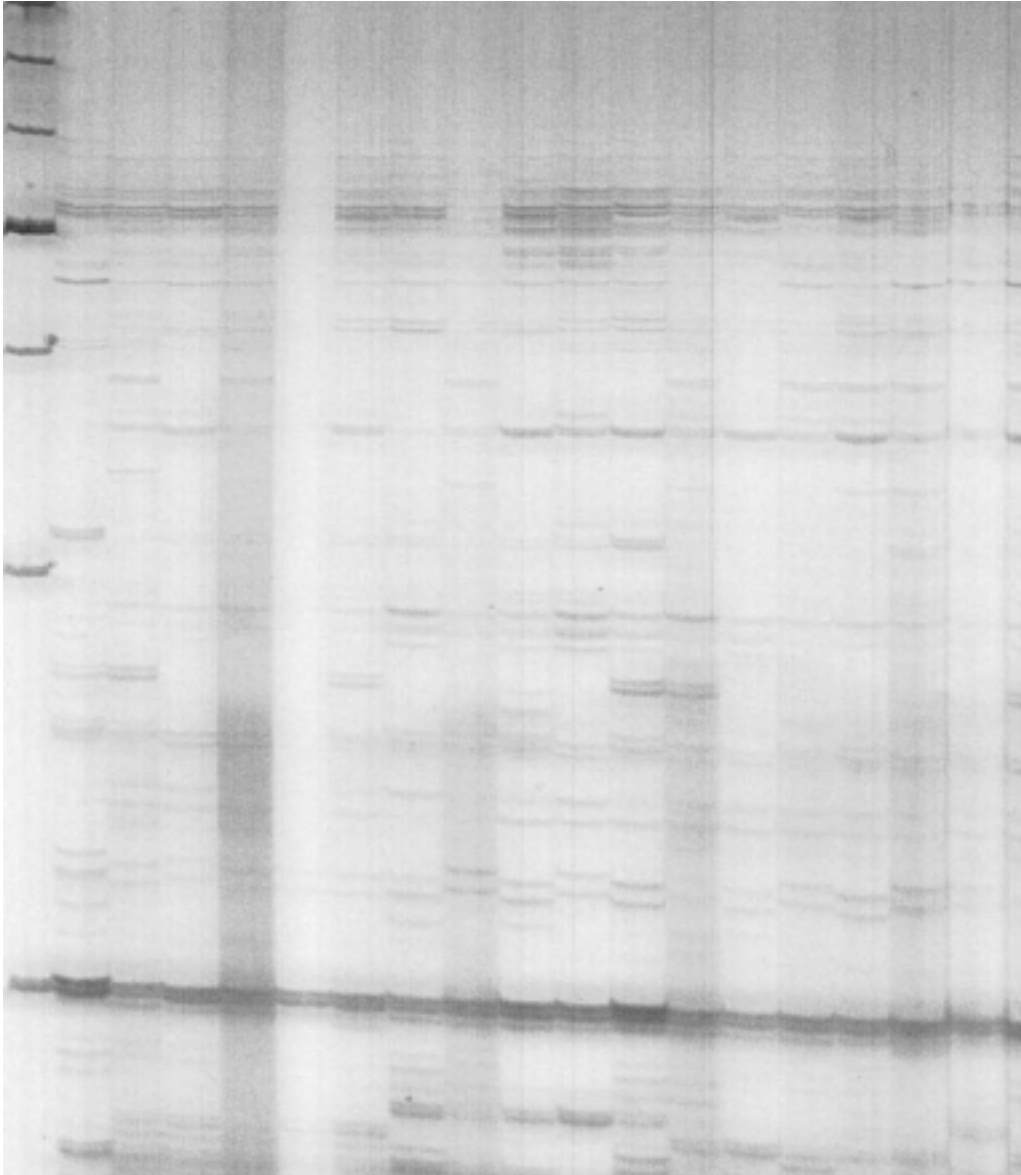


그림 28. *EcoR* I +AAT/*Mse* I +CTA 프라이머를 이용한 AFLP 분석 결과

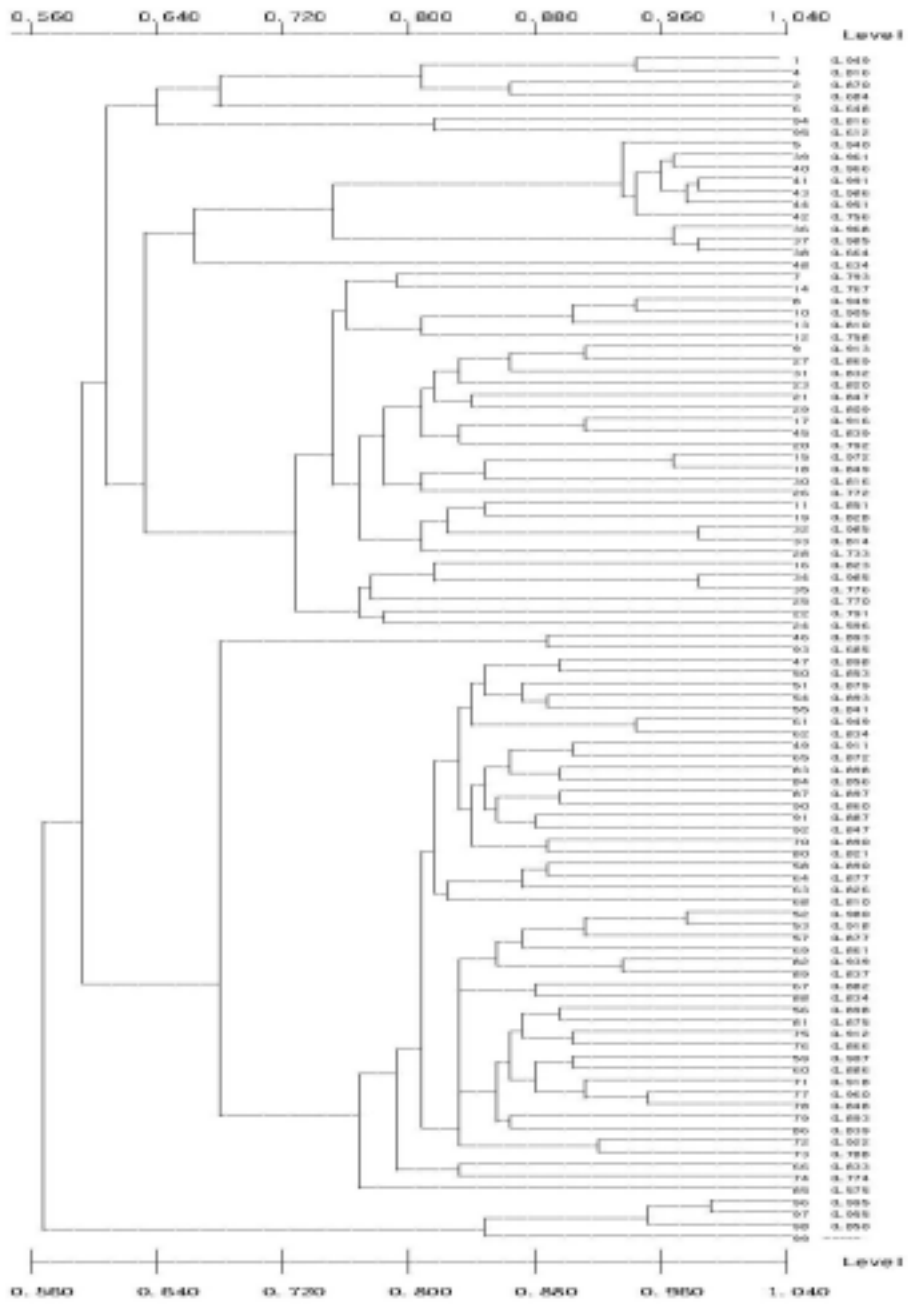


그림 29. 소포자 배양 결과 육성된 99 개체의 유전적 거리

자. 유연관계 분석을 이용한 조합의 특성 평가

RAPD 분석을 기초로 나누어진 12그룹을 이용하여 그룹 내 또는 그룹 간 교배를 통해 작성된 조합의 원예적 특성을 조사한 결과 그룹 내와 그룹 간의 뚜렷한 차이가 없었다(표 35).

그룹에 관계없이 계통에 따라 결구형은 포합과 포피를 교배한 경우 중간 형태인 반포합이나 반포피가 나오는 경우가 많았으며, 숙기도 양친에 비해 F_1 에서 빨라지지 않는 조합이 많았다. 수량 관련 형질인 주중의 경우 양친에 비해 일대잡종에서 많이 나가는 경향이 있었으나 엽수의 경우 일대잡종이 양친에 비해 증가하지 않아 엽수에서는 잡종강세 현상이 일어나지 않는 것으로 보여 김(1991)의 보고와 유사하였다. Sant 등(1999)은 indian chickpea 29점을 이용하여 잡종강세를 고려한 일대잡종 품종을 육성하고자 RAPD 분석을 토대로 5개의 그룹으로 나누었다. 그룹 간의 일대잡종을 작성하고 특성을 평가한 결과 종자수량 등 일부 특성에 있어서는 잡종강세를 보였으나 잡종강세와 유전적 거리 간에는 반드시 정의 상관을 나타내지는 않았다고 하였는데, 배추에서도 유전적 거리가 멀수록 잡종강세가 반드시 크게 일어나는 것은 아닌 것으로 추정되었다.

또한 대비로 이용된 시판 품종을 보면 결구형은 포합, 숙기는 조생~중조생, 주중은 4kg 내외, 엽수가 80장 이상으로 시판 품종과 같은 조합을 만들기 위해서는 결구형은 포합이나 반포합, 숙기는 조생~중조생, 주중은 3kg이내이며 엽수가 많은 양친을 이용해야 하므로, 배추의 일대잡종 품종 육성이 잡종강세가 큰 방향으로만 이루어졌다고 단정하기는 어려울 것이다.

표 35. RAPD로 분류된 계층에 속한 배추의 원예적 특성

Cross group ^z	Variety	Heading type	Maturation period	Color of inner leaves ^y	Weight (kg)	No. of leaves
3×3	43×74	Flat-topped cylindrical, wraed-over	mid-late	3	3.8 d-f ^x	57.7 c-f
3×3	107×115	Flat-topped cylindrical, wrapped-over	mid-late	1	3.9 d-f	41.7 hi
3×3	115×123	Fluffy-topped cylindrical, wrapped-over	mid	3	3.3 efg	36.3 ij
3×4	107×161	Flat-topped cylindrical, semi joint-up	mid	3	4.7 a-e	55.0 d-g
3×4	115×161	Cylindrical, semi wrapped-over	mid-late	3	5.5 abc	46.7 hg
3×6	107×195	Flat-topped cylindrical, semi wrapped-over	mid	2	5.8 ab	54.7 d-g
3×7	44×197	Flat-topped cylindrical, joint-up	mid-late	2	6.1 a	61.3 dc
3×9	130×140	Flat-topped cylindrical, wrapped-over	early-mid	2	5.2 a-d	51.0 efg
3×9	43×63	Flat-topped cylindrical, semi joint-up	mid-late	2	5.7 ab	65.7 c
3	43	Fluffy-topped,	late	2	3.6 efg	48.3 fgh
3	44	Ovate, semi joint-up	early-mid	-	4.8 a-e	88.0 b

Cross group ^z	Variety	Heading type	Maturation period	Color of inner leaves ^y	Weight (kg)	No. of leaves
3	74	Flat-topped cylindrical, semi joint-up	mid-late	2	3.1 fg	61.0 cd
3	107	Stout-cylindrical, joint-up	mid-late	3	2.6 hg	53.0 d-g
3	115	Stout-cylindrical, wrapped-over	mid-late	2	3.0 gf	31.0 j
3	123	Wrapped-over	late	3	1.4 h	29.0 j
4	161	Fluffy-topped ovate, joint-up	mid-late	2	4.2 c-f	52.0 d-g
6	195	Flat-topped cylindrical, wrapped-over	mid-late	1	4.3 b-f	54.0 d-g
7	197	Stout-cylindrical, semi wrapped-over	early-mid	2	4.8 a-e	61.3 cd
9	140	Flat-topped cylindrical, semi joint-up	mid	2	3.6 efg	59.3 cde
9	63	Cylindrical, joint-up	late	2	-	-
	'Manna'	Ovate, joint-up	early	2	4.3 c-e	99.3 a
Check	'Gaoeul-hang'	Ovate, joint-up	early-mid	4	3.9 d-g	83.3 b

^zNumber used in RAPD analysis.

^y0; DIC2087, 1; DIC2088, 2; DIC2089, 3; DIC2540, 4; DIC167, 5; DIC166, 6; DIC86, 7; DIC85, 8; DIC84.

^xMean separation within columns by DMRT at 5% level.

차. 바이러스병 저항성 납방계 배추 육성을 위한 조합 작성 및 선발

표 36. 중국 수집 배추의 바이러스병 검정

품 종 명	TuMV-C4		병징	TuMV-C5		병징
	이병주수	총주수		이병주수	총주수	
天津青麻葉	0	8		7	7	M
晉綠18	0	7		0	5	
鄭州新四	0	6		0	5	
北京小雜55	0	7		0	7	
新欣三	0	7		0	7	
晉綠3	0	7		0	7	
晉綠65	0	7		0	7	
晉綠70	0	7		0	7	
晉綠80	0	7		0	7	
麗青	0	7		0	7	
秋抗王15	5	5	MM	0	5	
抗病19	5	6	M	3	6	MM
熱抗王38天	6	6	M	6	6	M
熱抗王48天	6	6	MM	6	7	M
熱抗王50天	6	7	MM	7	7	M
熱抗王58天	0	7		1	7	M
熱抗王60天	1	7	MM	0	7	
津育55	0	7		0	5	
津育60	7	7		0	7	
津育75	0	7		0	7	
津育80	0	7		0	6	
新六	0	8		0	7	
小雜51	0	5		0	2	
豐抗70	2	7	MM	0	5	
北京小雜56	2	7	MM	0	7	
大春白菜	7	7	VN, SM	5	5	SM
鄭雜二	0	8		0	7	
四季小白菜	8	8	M	7	7	M
北京小雜56	0	6		0	6	
矮抗青	2	7	M	5	7	M
太原二青	0	6		4	6	M
山東六	7	7	VN, NS	7	7	SM, MR
豐抗70	6	7	SM, VN	3	5	M, MR
豐抗80	5	7	NS, VN	6	7	VS, M

품 종 명	TuMV-C4		병징	TuMV-C5		병징
	이병주수	총주수		이병주수	총주수	
大靑麻葉	0	4		0	1	
太原二靑	0	5		0	4	
晉菜三	3	7	M	0	7	
黑油白菜	5	8	MM, NS	0	7	
黃心菜	6	7	M	4	7	MM
優良七五八	0	6		1	4	MM
優良四平大	2	6	M	5	7	M
優良四平二	0	6		2	4	M
優良吉林大	0	6		0	4	
豫新一	0	7		0	7	
豫新二	0	5		0	6	
豫新三	0	7		0	7	
豫新四	4	7	VN, NS	0	7	
豫新五	0	7		0	7	
豫新六	0	7		0	7	
豫新48	8	9	M	2	7	MM
豫新60	0	7		0	7	
四平二	4	7	M	0	7	
東農902	2	7	MM	0	7	
東農905(秋寶)	0	6		0	7	
東白一	1	7	VS	0	7	
東白二	0	7		0	7	
春白二	0	7		0	6	
586新世紀	0	7		0	7	
慶半王	0	7		0	7	
A81	0	6		0	3	
豫園50	5	7	M	5	7	MM
改良758	0	7		0	7	
正宗橋頭	0	7		0	7	
正宗二混子	0	7		0	7	
牧丹江一	1	8	M	2	7	MM
牧丹江三	0	5		2	2	M
二牛心	0	7		0	7	
心	6	6	M	4	6	MM
牧丹江二	1	8		2	8	MM
大昌秋王	0	8		5	7	MM
大昌秋寶	1	7	MR	0	7	

품 종 명	TuMV-C4		병징	TuMV-C5		병징
	이병주수	총주수		이병주수	총주수	
昌王小根	0	7		0	7	
精選牧丹江一	0	7		2	5	NS
精選牧丹江二	0	7		0	7	
精選佳白二	0	7		0	7	
精選牧丹江三	1	7		3	7	MM
特選二牛心	0	7		4	7	MM
精選四菜	0	7		0	6	
佳白二	0	6		0	5	
大蓮91-12	0	7		0	7	
龍白三	0	6		0	2	
龍協白三	0	7		0	6	
傲龍江春	7	7	VS,NS,SM	6	6	NS, MR
春王	3	6	VS, MR	3	3	NS, MR
春秋						
抗熱早熟48	0	7		1	7	M
京綠60	0	7		0	7	
春萌冬春王	0	7		0	6	
保豐3	0	7		0	7	
進冠70	0	6		0	7	
北方唐老大	0	7		0	7	
祥夏寶	0	4				
早熟五	6	7	MM	0	7	
多抗78	1	7	M	0	7	
불암3호	5	5	M	5	5	M
춘추왕대백채	0	7		5	6	MM
태원이청	0	8		4	7	M
거용열항왕	0	7		1	7	MM
신추8호						
신추6호						
춘미인	5	9	VS, SM	7	7	NS,CS,SM
F1조숙5호	0	7		0	7	
춘하늬소채716	0	7		0	7	
덕고항심58	0	7		0	7	
전우춘항왕	7	7	VS	6	6	VS, CS
열항왕	0	6		0	6	
진홍156	0	6		0	6	

품 종 명	TuMV-C4		병징	TuMV-C5		병징
	이병주수	총주수		이병주수	총주수	
춘희고향황AC-3	0	6		0	7	
춘희일본하장군BC-1	3	8	MM	0	4	
춘희고향왕AC-1	0	7		0	6	
춘희고향왕AC-4	0	7		0	8	
춘희고향왕AC-2	5	6	NS, M	6	6	VS, CS, M
강춘2호	6	6	NS, VS	4	4	VS
금맹춘왕2호	7	7	M	5	7	M
금맹춘왕3호	4	7	M	0	7	
태국쾌채	7	7	M	7	7	M
항서1호	7	7	M	7	7	M
진능80	0	6		0	7	
황심조48	7	7		7	7	M
하침녹주60천소채	0	5		0	7	
초급금염침결구50천	0	7		0	7	
조숙항열45천침목주소채	0	7		0	7	
정의농하양백채조50	7	7		7	7	D, VS
추침녹주80천소채	0	6		0	3	
항열결구하양포심백50천	7	7		6	6	M
신경전4호	0	7		0	6	
녹청60	0	7		0	7	
덕고황심68	0	7		0	7	
항열왕	7	7	MM	1	4	M
덕양01	4	6	MM	1	7	M
덕고황심70	0	7		7	7	M
우조4호	7	7	M, CS	1	7	MR, VS
하왜대백채	7	7	M	4	5	SM
일본하장군BC-4	0	7		1	7	MM
홍전14호	7	7	SM, MR	5	7	M, VS
항병왕뮤	1	7	MM	0	7	
개량청잡3호	2	7	M	0	7	
포심갈채	7	7	SM	6	6	M
흑엽조시백채	6	6	SM	7	7	SM
청도83-1	6	7	VS, NS, M	3	6	SM
추록75	0	6		0	7	
금강탐1호	0	6		0	6	
금강탐2호(금황백)	7	7	M	1	7	M
금강탐3호(특향왕)	0	7		0	7	

품 종 명	TuMV-C4		병징	TuMV-C5		병징
	이병주수	총주수		이병주수	총주수	
홍전12호	7	7	VS, NS, M	7	7	VS
미가풍신8호						
특급항병왕	8	8	NS, M	5	5	SM, VS
신일본춘주65	0	7		0	7	
하열신선봉하양백채50천	6	7	SM	7	7	MR, SM
춘설	7	7	M	7	7	MM
녹관청채						
하지선50	0	7		0	6	
ALT조황보	0	6		0	6	
91-1	0	6		0	7	
전관춘주왕	2	6	M, NS	0	3	
전관특항왕	0	6		0	5	
조숙5호	0	7		1	7	MM
중백78	0	7		0	7	
정양춘주	7	7	MR,VS,SM	6	7	MR, CS
북진5호	7	7	VS, M	5	7	VS, CS, M
북진6호	0	7		0	6	
보랑춘천보	7	7	VS,SM,MR	7	8	CS, MR
흑엽조시백채	7	7	SM	5	5	SM
83-1대백채	3	3	SM, NS	1	5	SM
복산모주	8	8	M	2	4	M
금도소백채	5	6	M	4	4	SM
금도5호소백채	4	4	M	4	4	SM

표 37. 소포자 유래 계통의 조합능력 검정

조합명 (계통명)	결구형	숙기 (조-만)	겉잎색	속잎색	주중 (g)	구중 (g)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽 수	내엽 수
03-43 x03-74	포피	중만	3	3	3,766.7	2,900.0	51.3	40.8	36.0	18.7	6.3	51.3
03-107 x03-115	포피	중만	4	1	3,866.7	3,100.0	52.0	36.2	38.7	18.3	5.7	36.0
03-107 x03-161	반포합	중	3	3	4,700.0	3,900.0	50.0	32.7	38.0	18.3	7.3	47.7
03-107 x03-195	반포피	중	5	2	5,800.0	4,100.0	53.5	33.7	36.3	19.3	8.7	46.0
03-44 x03-197	포합	중만	3	2	6,133.3	5,100.0	50.7	37.0	40.7	19.0	6.7	54.7
03-43 x03-63	반포합	중만	2	2	5,733.3	4,600.0	52.7	35.0	40.0	18.7	8.3	57.3
03-115 x03-123	포피	중	4	3	3,333.3	2,666.7	55.3	31.7	40.0	17.0	5.3	31.0
03-115 x03-161	반포피	중만	3	3	5,500.0	4,466.7	59.0	37.8	45.0	18.7	7.0	39.7
03-120 x03-181	포피	만	5	1	3,566.7	2,800.0	51.5	32.7	39.3	18.3	6.0	36.3
03-129 x03-195	포피	조	3	2	5,966.7	4,600.0	61.0	39.3	38.3	19.3	6.0	41.7
03-130 x03-140	포피	중조	3	2	5,166.7	3,766.7	61.0	42.3	43.0	20.0	6.0	45.0
03-133 x03-142	포피	조	3	2	3,933.3	3,166.7	39.5	34.0	27.7	20.3	6.0	35.0
03-131 x03-130	포피	중	3	3	4,066.7	3,200.0	57.0	29.3	44.3	16.0	6.0	32.7
03-133 x03-139	포합	중	3	1	4,033.3	3,333.3	42.0	29.7	32.3	19.3	7.3	50.7
03-155 x03-181	포피	중조	3	2	4,400.0	3,600.0	48.0	34.0	35.0	18.3	6.3	40.0
03-193 x03-196	포피	극조	3	2	2,966.7	2,500.0	33.8	26.0	22.7	17.7	5.0	42.3
03-165 x03-173	반포피	만	5	3	3,733.3	0.0	48.3	31.2	0.0	0.0	6.7	40.7
03-167 x03-61	포합	중조	3	2	5,400.0	4,366.7	42.8	34.0	34.0	23.0	5.7	41.0
03-181 x03-115	포피	중조	3	2	5,766.7	4,300.0	60.3	40.2	40.0	20.3	8.7	37.3
03-191 x03-193	반포합	조	4	2	4,966.7	4,066.7	46.3	36.0	34.0	18.7	5.0	44.7
03-186 x03-192	포합	중조	5	3	4,566.7	3,700.0	47.2	32.7	35.7	18.3	5.3	47.7

조합명 (계통명)	결구형	숙기 (조-만)	겉잎색	속잎색	주중 (g)	구중 (g)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽 수	내엽 수
03-184 x03-197	포합	조	3	1	6,133.3	5,033.3	56.7	33.5	36.0	18.0	6.3	63.0
03-181 x03-188	포합	조	3	1	3,866.7	3,066.7	43.3	28.2	34.3	18.3	6.7	62.7
03-196 x03-192	반포피	조	3	1	5,300.0	4,433.3	43.3	35.3	32.7	21.0	5.3	50.0
03-63 x03-74	포합	중조	3	2	5,666.7	4,600.0	53.3	34.7	40.7	17.3	7.0	47.7
03-21 x03-139	반포합	만	5	3	3,933.3	3,100.0	57.5	33.2	38.3	18.0	5.7	46.3
03-188 x03-189	포합	조	3	2	4,766.7	3,966.7	42.8	27.5	31.3	19.7	7.7	73.3
03-188 x03-195	반포합	중	3	2	5,233.3	4,100.0	50.0	35.0	37.0	18.3	8.0	59.0
03-21		만	3	2	3,133.3	0.0	68.7	42.0	0.0	0.0	5.0	29.7
03-43		만	1	2	3,566.7	2,266.7	53.3	29.3	38.0	13.0	7.3	41.0
03-44	반포합	중조	3		4,800.0	4,000.0	39.0	25.0	32.0	23.0	10.0	78.0
03-61	포합	조	5		7,400.0	6,200.0	47.0	34.0	38.0	25.0	7.0	75.0
03-74	반포합	중조	3	2	3,200.0	2,500.0	38.0	24.5	31.0	17.0	5.5	54.0
03-107	포합	중만	5	3	2,566.7	1,850.0	42.3	27.2	32.0	14.3	8.7	44.3
03-115	포피	중만	4	2	3,050.0	1,900.0	58.0	41.0	38.5	12.5	5.5	25.5
03-123	포피	만	4	3	1,400.0	1,000.0	52.0	27.5	36.0	11.0	4.0	25.0
03-129	포피	중만	6	3	3,425.0	2,650.0	53.3	33.1	38.8	18.0	5.5	31.0
03-131	포합	만	3	2	3,700.0	2,166.7	56.3	29.7	39.0	12.0	7.3	32.0
03-133	포합	만	3	1	3,766.7	2,966.7	49.5	34.2	39.7	15.3	6.7	34.0
03-139	포합	중만	3	2	4,366.7	3,666.7	39.2	24.7	33.7	18.3	6.3	58.3
03-140	반포합	중	3	2	3,600.0	3,033.3	51.0	36.2	37.3	17.3	6.3	53.0
03-142	포피	극조	3	1	2,733.3	2,400.0	29.7	30.8	18.7	17.7	5.7	35.0
03-161	포합	중만	3	2	4166.7	3233.3	43.7	33.0	34.0	18.0		
03-165	포합	중조	5	2	4366.7	3033.3	42.0	28.3	33.7	18.7		
03-167	반포피	중만	3	3	4033.3	3166.7	48.5	34.0	35.7	19.3		
03-184	포합	만	3	2	3900.0	3166.7	56.7	31.0	37.7	16.3		

조합명 (계통명)	결구형	숙기 (조-만)	겉잎색	속잎색	주중 (g)	구중 (g)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽 수	내엽 수
03-186	반포합	만	1	2	2,866.7	1,900.0	50.3	30.2	36.0	12.0		
03-188	포합	중조	3	2	3,200.0	1,546.7	35.7	21.8	30.7	17.3		
03-189	반포합	조	5		7,000.0	5,700.0	47.0	35.0	36.0	23.0		
03-191	반포합	중조	4	3	3,166.7	2,633.3	50.0	23.3	37.0	13.7		
03-192	포합	조	3	2	4,066.7	3,400.0	40.0	32.2	31.0	19.0		
03-193	포피	극조	5	1	2,000.0	1,666.7	27.8	23.7	19.0	15.3		
03-195	포피	중만	2	1	4,333.3	3,466.7	48.2	31.0	38.0	17.7		
03-196	포피	극조	3	2	3,866.7	3,200.0	32.2	28.5	20.7	17.7	6.3	41.7
03-197	반포피	중조	3	2	4,766.7	3,666.7	51.5	27.8	36.7	17.7	8.3	53
03-198	포합	조	4	2	3,933.3	3,533.3	39.8	21.7	30.7	18.7	7.3	76
03-199	포합	중조	3	4	4,333.3	3,633.3	41.0	29.2	29.3	21.0	8.3	91

중국에서 수집한 배추 168품종에 대하여 바이러스(TuMV-C4, TuMV-C5) 검정 결과 2 strain에 모두 저항성인 것은 75품종이었으며(표 36), 이들 저항성 품종들은 바이러스 저항성 품종 육성을 위하여 집단채종하여 농촌진흥청 유전자 은행에 입고할 예정이다. 중국 남방계 바이러스병 저항성 품종 육성을 위하여 중국에서 바이러스병 저항성 품종을 수집하여 F₁ 조합을 작성하고 이들 조합을 이용하여 소포자배양을 하였다. 소포자 유래계통들 간의 조합을 작성하여 조합 능력 검정을 한 결과 결구형, 숙기 등 원예적 형질이 다양하였으며 바이러스병에 강한 조합도 선발할 수 있었다(표 37). 또한 중국 남방계의 특성인 모용이 없는 계통 및 조합 선발도 가능할 것으로 판단되어 중국 수출용 배추 품종 육성에 이용 가능할 것이다.

4. 자가불화합성 인자형 동정 기술 개발

가. 화분측 S-유전자(SP11/SCR)의 cloning 및 염기서열 결정

배추과 채소의 대부분은 자가불화합성 현상을 이용하여 F1 잡종 종자를 생산하기 때문에 S-haplotype의 동정은 배추과 채소의 육종에 절실히 요구된다.

Brassica류는 포자체형 자가불화합성 체계를 가지고 있으며, 이 체계는 단일 S 유전자 좌의 S 복대립 유전자에 의하여 설명되어진다. S-locus에는 주두측 자가불화합성 결정유전자로 SLG(S-locus glycoprotein)와 SRK(S-locus receptor kinase)가 보고 되었으며, 화분측 결정유전자는 SP11/SCR(S-locus cysteine rich)이 이미 보고 되어 있다. S-haplotype은 SLG 핵산 서열의 상동성으로 class I에 속하는 우성 S-haplotype과 class II에 속하는 열성 S-haplotype으로 분류되며, 현재까지 *B. campestris*에서 30, *B. oleracea*에서 50개 이상이 동정되었다.

1년차에는 주두측 자가불화합성 유전자인 SLG와 SRK 유전자의 kinase domain영역을 이용한 PCR-RFLP법에 의하여 국내에서 육성한 배추 S-homozygote의 S-genotype을 신속, 정확히 동정할 수 있는 분자적 방법을 개발하였다.

주두측의 자가불화합성 결정 유전자로 보고된 S-locus receptor kinase(SRK) 유전자의 kinase domain 영역에서 SRK specific primer를 합성하였으며, class I SRK specific primer(KD5 + KD8)를 사용하여 PCR한 결과 143개 inbred line 중 61개의 inbred line에서 약 1,050bp의 단일 단편 산물을 얻을 수 있었다. 또한 나머지 73개의 inbred line은 모두 class II SRK specific primer(KD4 and KD7)를 사용하여 PCR한 결과 약 900bp에서 증폭 산물을 얻을 수 있었다. class I SRK specific primer에서 증폭된 산물은 *Hinf* I과 *EcoR* II로 이중 소화하였을 때 61개의 inbred line들은 4개의 band pattern으로 분류되었으며, class II SRK specific primer pair로 증폭된 산물은 *Hinf* I으로 소화한 결과 73개의 inbred line들은 4개의 band pattern으로 분류되었다. 이상 SRK의 PCR-RFLP 분석결과 국내에 육성된 143 *Brassica rapa* inbred line은 class I과 class II SRK specific primer pairs를 이용한 PCR 증폭으로 신속하게 class I과 class II를 분류할 수 있었으며, 동정된 8 S-haplotype은 class I에 속한 4개 S-haplotype(S^{a-d})과 class II에 속한 4개 S-haplotype(S^{w-z})으로 구성되어 있었다(그림 30).

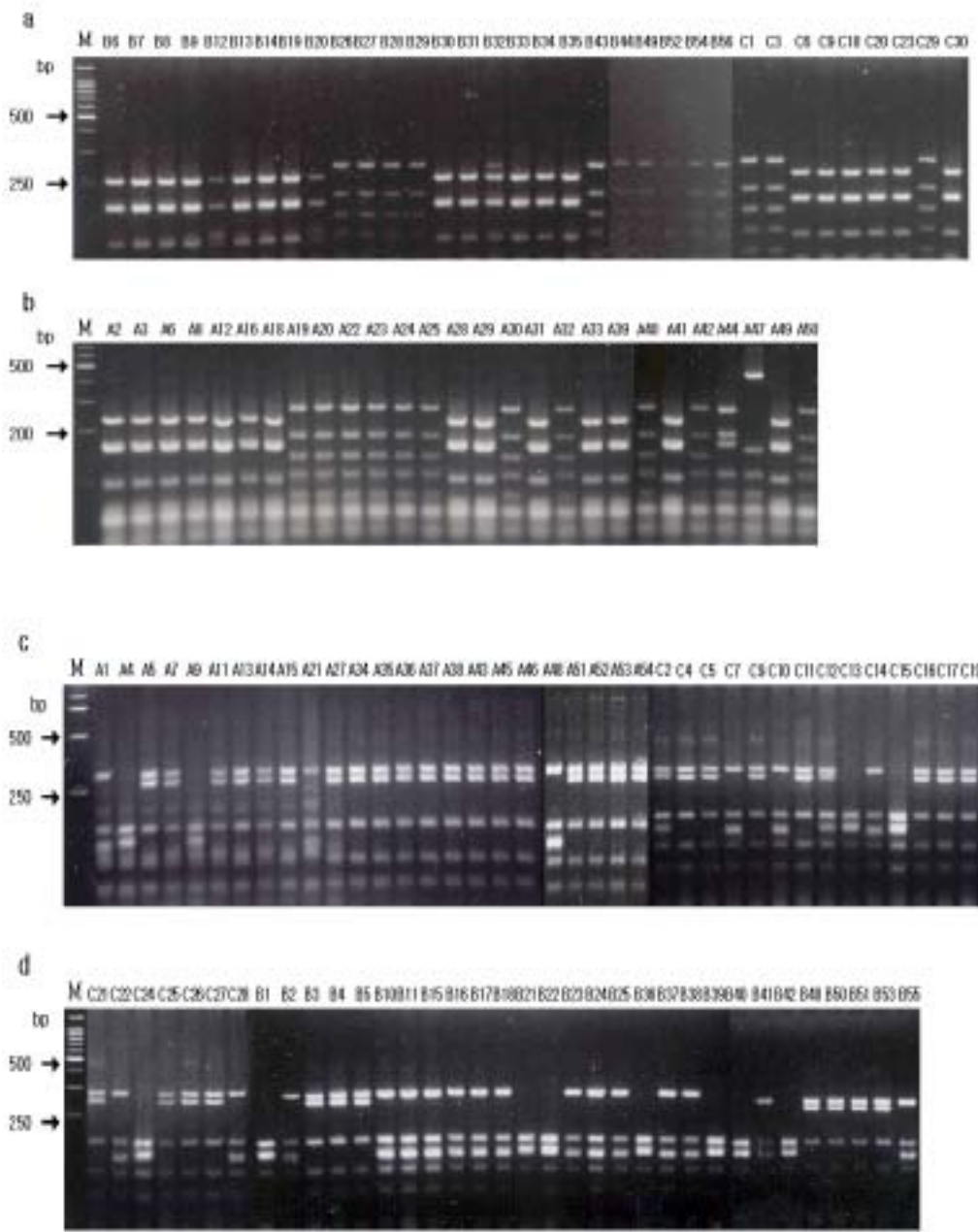


그림 30. SRK의 kinase domain에서 합성된 class I과 class II primer에 의한 PCR-RFLP 결과(a, b ; class I에서 증폭된 산물을 *EcoR* II + *Hinf* I 이 중소화한 결과. c, d ; class II의 증폭 산물을 *Hinf* I로 소화한 결과)

S-haplotype의 빈도는 class I에 비해 class II의 비율이 54.5%로 약간 많았으며, class I에서는 S^a(26.1%)와 S^b(18.0%), class II에서는 S^w(27.6%)와 S^x(16.4%)의 빈도가 높은 것으로 나타났다(표 38).

표 38. SRK 특이적 primer에 의한 143개 inbred line들의 PCR-RFLP 결과와 S-haplotype 분류 및 빈도

Class	S-haplotype	Frequency	Accession No. of <i>B. rapa</i> inbred line
class I	S ^a	35(26.1)	A2, A3, A6, A8, A12, A 16, A18, A28, A29, A31, A33, A39, A41, A49, B6, B7, B8, B9, B12, B13, B14, B19, B20, B30, B31, B32, B33, B34, B35, C6, C9, C18, C20, C23, C30
	S ^b	24(18.0)	A19, A20, A22, A23, A24, A25, A30, A32, A40, A42, A50, B26, B27, B28, B29, B43, B44, B49, B52, B54, B56, C1, C3, C29
	S ^c	1(0.7)	A44
	S ^d	1(0.7)	A47
class II	S ^w	37(27.6)	A5, A7, A11, A13, A14, A15, A27, A34, A35, A36, A37, A38, A43, A45, A46, A51, A52, A53, A54, B3, B4, B5, B48, B50, B51, B53, C4, C5, C9, C11, C16, C17, C19, C21, C25, C26, C27
	S ^x	22(16.4)	A1, A21, A48, B2, B10, B11, B15, B16, B17, B18, B23, B24, B25, B37, B38, B41, B55, C7, C10, C14, C22, C29
	S ^y	2(1.5)	A4, A9, B1, B21, B22, B36, B39, B40, B42, C13, C15, C24
	S ^z	2(1.5)	C2, C12
Total	8 S-haplotypes	143	

또한 8 S-haplotypes에서 증폭된 PCR 산물의 nucleotide sequence를 결정하여 분석한 결과, class I과 class II내에서는 각각 82~93%, 94~99%의 높은 상동성

을 보였으나, class I과 class II 간에는 66~71%의 상동성을 나타냈다(그림 31). 이러한 결과는 8 S-haplotypes이 nucleotide sequences의 상동성에 따라 class I과 class II로 분류 할 수 있었으며, 이는 PCR-RFLP의 결과와 동일하였다.



(A23) A A A T A T T C A T Y Y Y A A A C A T Y T T Y C C A A T T T T T T C C C A T T C C Y Y A C C A T A T T T Y C C A A C C C C A C T A C A C A C
(A47) A A A T A T T C A T Y Y Y A A A A A A T Y T T Y C C C A A T T T T T T C C C A T T C C Y Y A C C A T A T T T T C C A A C C C C A C T A C A C A C
(A44) A A A T A T T C A T Y Y Y A A A C A T Y T T Y C C A A T T T T T T C C C A T T C C Y Y A C C A T A T T T T C C A A C C C C A C T A C A C A C
(A6) A T A T A T C A T Y Y Y A A A C A T Y T T Y C C A A T T T T T T C C C A T T C C Y Y A C C A A T Y T T T T C C A A C C C C A C T A C A C A C
(r2) A C A T A T T C A T Y Y Y A A A A A T T T T Y A C A C A T T T Y C C A A T T C C Y A A C C C A T Y T T T T C C A C A A C A T T C A C A C A C
(r13) A C A T A T T C A T Y Y Y A A A A A T T T T Y A C A C A T T T Y C C A A T T C C Y A A C C C A T Y T T T T C C A C A A C A T T C A C A C A C
(r4) A C A T A T T C A T Y Y Y A A A A A T T T T Y A C A C A T T T Y C C A A T T C C Y A C C C A T Y T T T T C C A C A C C C A T T C A C A C A C
(C7) A C A T A T T C A T Y Y Y A A A A A T T T T Y A C A C A T T T T C C A A T T C C Y A C C C A T Y T T T T C C A C A C C C A T T C A C A C A C
* *

(A23) - T C A A C C T T A A C A C A A A T T C A A C C C T T C C T Y Y C C A A C T T A C T - A A C C A A T Y A A A A T A T Y A C Y A A C A
(A47) - T C A A C C T T A A C A C A A A T T C A A C C C T T C C T Y Y C C A A C T T A C T - A A C C A A A A A A A A T A T Y A A A A C A
(A44) - C C A A C C T T A A C A C A A A T T C A A C C C T T C C T Y Y C C A A C T T A C T - A A C T A A T Y A A A A T A T A A C Y A A A C A
(A6) - T Y A A C C T T A C C A C A C A A A T T C Y C C T Y Y C C A A C T T A C T - A A C C A A
(r2) - C C A A C C T T C A C A C A C C C A A C C C T T C C T Y Y C C A A C T T A C T - A A C C A A T T A A A
(r13) T C C A A C T T T C Y Y Y Y A C C C A A C C C C C C T Y Y C C A A C T T A C T - A A C C A A T T A A A
(r4) - C C A A C C T T C A C A C C C A A C C C T T C C T Y Y C C C A C Y T A A T T A A C C A A T T A A A
(C7) - G G A A G C T G A C A C A C C A A G G T T C C T T C C A A C T T A C T - A A C C A A T T A A A
* *

(A23) T Y A C T A T Y T T T C A T A T T A C A A A T A C A T A - T T T C T T T A A C Y Y A T A A C T Y T A C A A A A T T C T A T
(A47) T Y A C T A T Y T T T C A A A C T A C C A A A T A A A T A - T T T C T T T Y A A C Y Y A T A A C T Y T T C A A A A A T T Y A T
(A44) T Y A C T A T Y T T Y C A A A A T A C C A A A C A T A T A - T T T C T T T A A C T Y A T A A C T Y T A C A A A C T Y T A T
(A6) - C T Y T T T C A - A C A T A - T T - T T Y T T A C Y Y A T A A C T Y T A T A C A A C T Y A T
(r2) - - C A A T Y T T T C T A T T T T T C A A A C A A A C A C T T A C Y T T C C C T A C A C A A - T Y A A A A C Y Y C C A T
(r13) - - C A A T Y T T T C T A T T T T T C A A A C A A A C A C T T A C Y T T C C C T A C A C A A - T Y A A A A C Y Y C C A T
(r4) - - C A A T Y A T Y A T A T T T T T C A A A C A A A C A C T T A C Y T T C C C T A C A A A A - T A A A A C Y T T C A T
(C7) - - G C A T Y A T Y A T A T T T T T G A A A C A A A C A C T T A C T C C G T A C A A A A - T Y A A A A C Y T T G A T
* *

(A23) A T Y T T T A A C T T T A A T T T T T Y - C T T A C T Y A C A C C T T A C A T T C T Y Y Y Y C C A C C T A C Y C A A A T C A
(A47) A A C Y T T T A A C T T T A A T T T T T Y - C T T A C T Y A C A C C C T A C A T T C T Y Y Y Y C C A C C T A C Y C A A A T C A
(A44) A A C Y T T T A A C T T T A T T T T T Y T - T T T A C T Y A C A C C C A T A T A T C T Y Y Y Y C C A C C T A C Y C A A A T C A
(A6) C A C Y T T T A A C T T Y A A T T T T T T T C T T A C T Y A C A C C C T A C A T T C T Y T Y Y C C A C C T A C Y C A A A T C A
(r2) A C Y T T A T Y T A T T T A A T A T T T - C T T A T C A A C T T C C A A A C A T T C T Y Y Y A C A A T A T T C A A T T C A
A C Y T T T Y T A T T T A A T A T T T - C T T A T C A A C T T C C T A C A T T C T Y T Y Y A C A A T A T T C A A T T C A
(r13) A C Y T T T Y T A T T T A A T A T T T - C T T A T C A A C T T C C T A C A T T C T Y T Y Y A C A A T A T T C A A T T C A
(r4) A G G T T T T Y T A T T T A A T A T A T - C T T A T C A A C T T C C A A C A T T C T Y Y A C A A T A T T C A A T T C A
(C7) A G G T T T T Y T A T T T A A T A T A T - C T T A T C A A C T T C C A A C A T T C T Y Y A C A A T A T T C A A T T C A
* *

(A23) C T T C C A A T A T T Y T Y C C A A A A T Y A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C A C T Y A T A C T T Y T T C A A A A T T C
(A47) A T T C C A A T A T T Y T Y C C A A A A T Y A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C A C T T A T A C T T Y T T C A A A A T T C
(A44) A T T C C A A T A T T Y T Y C C A A A A T Y A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C A C T Y A T A C T T Y T T C A A A A T T C
(A6) A T T C C C T A A T Y T Y C C A A A A A C A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C A C T Y A T A C T T Y T T C A A A A T T C
(r2) A C Y C C A C A A T T Y T Y C A T C A A C T Y A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C C C T Y T T C T Y T T C A A A A T T A
(r13) A C Y C C A C A A T T Y T Y C A T C A A C T Y A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C C C T Y T T C T Y T T C A A A A T T A
(r4) A C Y C C A C A A T T Y T Y C A T C A A C T Y A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C C C T Y T T C T Y T T C A A A A T T A
(C7) A C C C T A C T T T T Y T Y C A T C A A C T C A C A T C T T T T Y A C T T T T T C C C C T Y T T C T Y T T C A A A A T T A
* *

(A23) T T A C T T C C A A A C A A C A A C A C A A C T Y T A C A A A T T T C A A C T T C C A A A A C A A T Y T T T T A A C T T
(A47) T T A C T T C C A A A C A A C A A C A C A C Y - - - - - T A C A A A T T T A A A C T A C A A A A A A A A T Y T T T T A A C T T
(A44) T T A C T T C C A A A A A C C A C C A C A A C A C A C T Y T A C A A C T T T C A A C Y A T T C A C A A C A A T Y T T T T A A C T T
(A6) T T A T T T C C A A A A A C C A A A T A C A C C A T T Y T A C Y A C C T T C A A C Y Y T T C A A A A C A A T Y T T T Y A A C T T
(r2) T A A C T T C C A A A C A C C C A A C A A A C C C T T Y T T C A C A C T Y C C A T A C T A A T Y T T A A T Y T T Y T Y C C A T
(r13) T A A C T T C C A A A C A C C C A A C A A A C C C T T Y T T C A C A C T Y C C A T A C T A A T Y T T A A T Y T T Y T Y C C A T
(r4) T A A C T T C C A A A C A C C C A A C A A A C C C T T Y T T C A C A C T Y C C A T A C T A C Y T T A A C Y T T Y T Y C C A T
(C7) T A A C T T C C A A A C A C C C A A C A A A G G C T T T C T A C A C T C G G A T A G T A C C C T T A A T Y T T Y T C G C A T
* *



그림 31. SRK의 PCR-RFLP에 의해 분류된 8 S-haplotype의 nucleotide sequences. A23, A47, S44, A6은 class I(KD5+KD8)이며, C2, C13, C4, C7은 class II(KD4+KD7)에 의해 증폭된 산물. Boxes은 kinase domain의 4th, 5th, 6th와 7th exon. Bold letters는 stop codon을 나타냄.

이상 SRK의 PCR-RFLP 결과는 class I과 class II의 분류 및 class II내의 S-haplotype에 대한 grouping은 명확한 것으로 판단되나 F1 품종의 교배조합 결과 class I의 S^a haplotype내에 2개의 S allele가 존재하는 것으로 나타났다. Class I S-haplotype의 정확한 분류를 위하여 SLG class I specific primer를 사용하여 S^a haplotype과 새로운 68개의 inbred line을 증폭한 결과 25개의 inbred line에서 약 1,000bp의 단일 단편이 증폭되었다. S^a haplotype의 SLG class I specific primer에 의해 증폭산물을 *Afa* I과 *Mbo* I으로 소화한 결과 2개의 S-haplotype으로 분류되었다(그림 32).

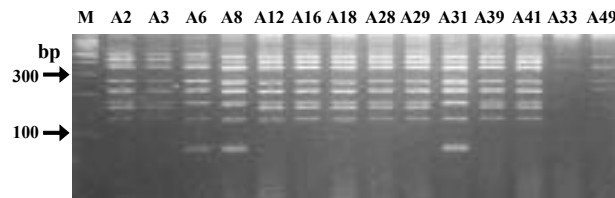


그림 32. SLG class I specific primer에 의한 PCR-RFLP 결과 S^a haplotype에 2개의 allele가 동정됨

또한 68개의 새로운 육성계통과 SRK에 의해 동정된 class I의 대표 타입을 SLG class I primer에 의해 증폭후 *Mbo* I과 *Afa* I으로 소화한 결과 모두 9개의 서로 다른 band타입이 검출 되었다. SLG class I primer에서 증폭되지 않은 40개의 inbred line의 분류는 SRK의 class II specific primer로 증폭한 결과 모두 900bp의 단일단편을 얻을 수 있었으며, 증폭산물을 *Hinf* I 소화결과 3개의 S-haplotype이 동정되었다(그림 33, 34).

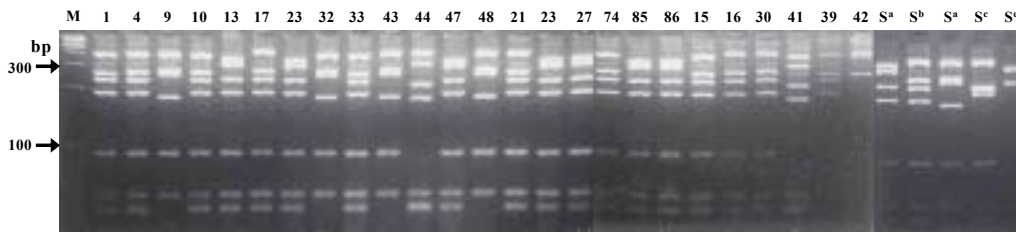


그림 33. SLG class I specific primer에 의해 증폭된 산물을 *Mbo* I으로 소화한 결과. 9개의 band타입이 검출 되었음.

68개의 국내 육성계통에 있어서 S-haplotype의 빈도는 SRK와 SLG에 의한 PCR-RFLP의 결과가 유사하며, class II가 class I보다 높은 빈도를 보였으며, 육성계통은 class I의 S^a와 class II의 S^w haplotype에 집중됨을 보였다(표 39).

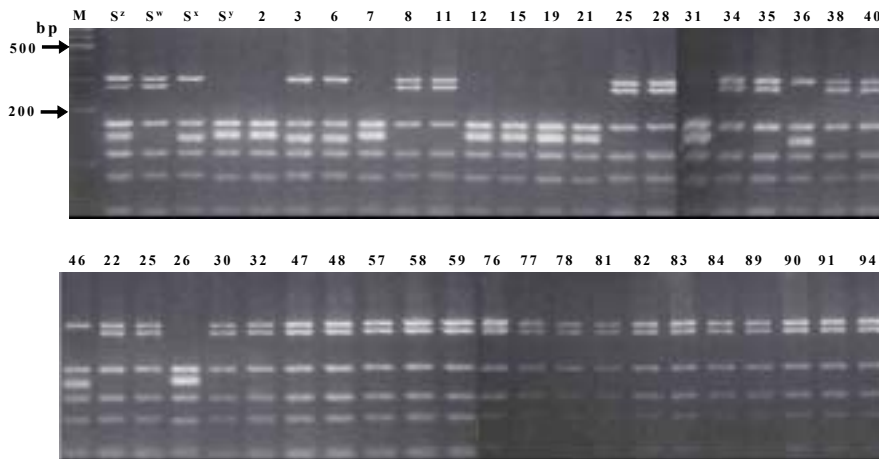


그림 34. SRK class II specific primer에 의해 68개 inbred line의 PCR-RFLP 결과. 증폭된 산물을 *Hinf* I으로 소화하였으며, 3개의 S-haplotype이 동정되었음.

표 39. SLG class I과 SRK class II specific primer에 의한 69개 inbred line들의 PCR-RFLP 결과와 S-haplotype 분류 및 빈도

Class	S-haplotype	Frequency	Accession No. of <i>B. rapa</i> inbred line
		(%)	
class I (SLG)	S ^a	10(14.9)	13, 23(신비얼같이A친), 47(아시아1호A친), BN23, BN27, BN28, BN29, BN62, BN85, BN86
	S ^b	7(10.4)	4(서호B친), 10(진보청청A친), 15(하루방월동B친), 16(하복A친), 33(노란A친), BN21, BN74
	S ^c	1(1.49)	BN95
	S ^d	1(1.49)	BN70
	S ^e	4(5.9)	9(농우60일B친), 31(오복A친), 43(92cc258A친), 48(다조은A친)
	S ^f	2(2.9)	41(95cc175A친), 44(92cc258B친)
	S ^g	1(1.49)	42(95cc175B친)
	S ^h	1(1.49)	1(농우1호A친)
	S ⁱ		17(철성A친)
	9	28(41.1)	
class II (SRK)	S ^w	27(40.2)	8(농우60일A친), 11(진보B친), 25(셋노랑A친), 28(설왕B친), 34(노란자B친), 35(강서여름A친), 38(CR으뜸B친), 40(94cc961A친), BN22, BN25, BN30, BN32, BN47, BN48, BN57, BN58, BN59, BN76, BN77, BN78, BN81, BN82, BN83, BN84, BN89, BN90, BN91, BN94
	S ^x	4(5.9)	3(서호진미A친), 6(장미A친), 36(강서여름B친), 46(아시아1호B친, 90cc278B친)
	S ^y	7(10.4)	2(농우1호B친), 7(장미B친), 12(청청B친), 15(하루방월동B), 19(매력A친), 21(새봄슈음A친), 31(오복A친), BN26
	S ^z	-	-
	4	40(58.8)	
Total	13 S-haplotypes	68	

이상 국내에서 육성된 배추의 F1 종자 생산에 이용되는 육성계통에 있어서 주두측 자가불화합성 유전자를 이용한 S-haplotype의 동정법 개발결과 class I과 class II의 분류는 SRK의 kinase domain에서 합성 primer를 사용하여 명확히 분류할 수 있었다. Class I내의 S-haplotype의 분류는 SRK보다 SLG를 이용하는 것이 정확하며, SLG class I specific primer를 이용하여 증폭된 PCR 산물을 *Mbo* I으로 소화 하였을 때 F1 교배조합과 일치하였다. Class II는 SLG을 이용할 경우 band pattern이 S-haplotype간에 차이가 없어 분류가 불가능하였으며, SRK class II specific primer로 증폭후 *Hinf* I으로 소화 하였을 때 정확한 분류가 가능하였다. 1년차 연구결과 class I 9개와 class II 4개의 총 13개의 S-haplotype을 동정하였으며, PCR-RFLP의 profile은 그림 35과 같다.

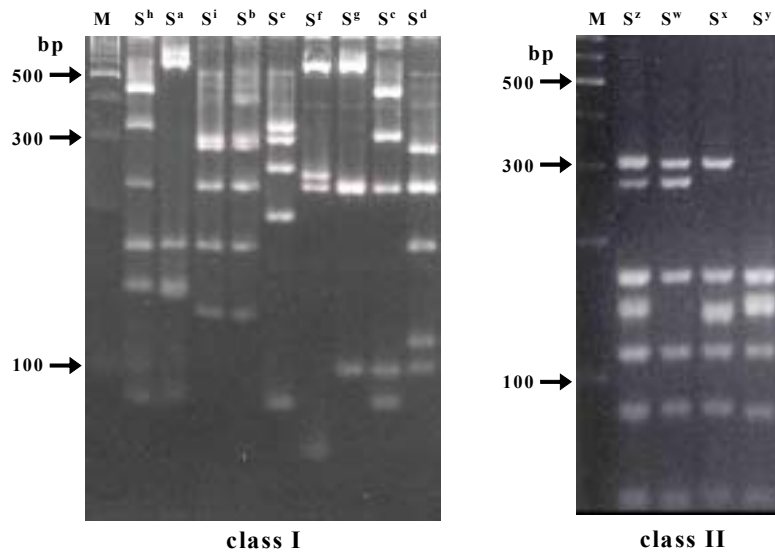


그림 35. SLG class I과 SRK class II specific primer에 의해 동정된 13개 S-haplotype의 profile.

주두측 자가불화합성 유전자인 SLG와 SRK의 class I 및 class II specific primer를 이용한 PCR-RFLP 분석법은 육종현장에서 요구되고 있는 S-haplotype을 신속, 정확히 동정할 수 있었으며, F1 종자의 순도검정과 S-호모접합체들 간의 화합 여부를 검정할 수 있는 방법으로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

2) 화분측 S-유전자(SP11/SCR)의 cloning 및 염기서열 결정

1년차에는 주두측 자가불화합성 유전자인 SLG와 SRK 유전자의 kinase domain영역을 이용한 PCR-RFLP법에 의하여 국내에서 육성된 배추의 F₁ 종자 생산에 이용되고 있는 육성계통에 있어서 S-haplotype의 동정하였으며, class I과 class II의 분류는 SRK의 kinase domain에서 합성 primer를 사용하여 명확히 분류할 수 있었다. Class I내의 S-haplotype의 분류는 SRK보다 SLG를 이용하는 것이 정확하며, SLG class I specific primer를 이용하여 증폭된 PCR 산물을 *Mbo* I으로 소화 하였을 때 F1 교배 조합과 일치하였다. Class II는 SLG를 이용할 경우 band pattern이 S-haplotype간에 차이가 없어 분류가 불가능하였으며, SRK class II specific primer로 증폭후 *Hinf* I으로 소화 하였을 때 정확한 분류가 가능하였다. 연구결과 class I 9개(S^a~Sⁱ)와 class II 4개(S^w~S^z)의 총 13개의 S-haplotype을 동정되었으며, 2년차에는 동정된 13 S-haplotype에 대한 화분측 자가불화합성 유전자인 SP11/SCR과 특이적 promoter 영역의 cloning법 확립과 염기서열 결정에 의한 S-allele 특이적 primer를 선별하였다. Class I의 SP11/SCR의 증폭을 위한 PCR 결과, 9개 haplotype은 SPIF와 SPIR의 primer에 의해 S^a와 S^b에서 약 500bp의 단일 단편이 증폭되었으나 S^e에서는 약 1,300bp의 단일 단편이 증폭되었다. 증폭된 산물은 cloning후 DNA 염기서열을 결정하였다(그림 36). Class I의 SP11/SCR은 지금까지의 보고와 같이 2개의 exon과 1개의 intron으로 구성되어있으며, signal peptide는 3개의 S-haplotype간 높은 상동성을 보였으나, intron의 크기는 큰 차이가 났고, 상동성 또한 낮았다(그림 37). 결정된 DNA 염기서열로부터 putative amino산 배열을 지금까지 보고된 *B. rapa*의 SP11/SCR과 비교한 결과, 모든 cysteine잔기가 보존되어 있으며, class II에 비해 S-haplotype간 낮은 상동성을 보였다(그림 38).

```

S1 ATGAAATCTGCTGTTTATGCTTTATTATGTTTTGTGTTTCAATTATTTCAAGTCATTTTCAA 60
S2 ATGAAATCTGCTGTTTATGCTTTATTATGTTTTGTGTTTCAATTATTTCAAGTCATTTTCAA 60
S3 ATGAAATCTGCTGTTTATGCTTTATTATGTTTCTATTTCATCGTTTCAGGTCATATTCAA 60
***** * ***** ***** ***** *****

S1 GAAGTGGAAACTAA-----GCAGTGTCTCCTGTAAACGGAAACATTT-CGAGGAAGATG 110
S2 GAAGTGGAAAGCAAATAAGAAGAAGCTGTGCATCTGTAAACGGAACTTTT-GAAGGAAGATG 119
S3 GAAGTGGAAAGCTAATCTGATGAAGCAGTGC AAC-ATTGGGTATCGTATGCCCTGGAAATTG 119
***** * **          ** ***** * * * * * * * ***** **

S1 TGTCGATCCCAAAAAAGCGTAC-TGCGCAGACTTATTTAAGGGAAATTATCAAGATAATA 169
S2 TGCCAATACCAGAGAGGGCGTTC-TGCGAAAACCTTATTTAAGAAAAATTTGCAAGAGAAGA 178
S3 TGCCGAGTT-----AGCCAGACATGCGAAAAATTTGTTCGCGGGTAAGGAAAAGAA-G 174
** * *          * * ***** * * * * * * *          * ** * **

S1 CCCGGTTTTAAATTGCGGATGCACAGATG--CACATNCACACCGTCAATTTGTACTTGCCA 227
S2 CC--GCTTTTAAATTGCGGCTGCACAAATT--CAAGTCCACAC-ATCCTTTGTACTTGTCA 233
S3 CC---TTCACATTGGAAATGTACAAATGTTCCAAAGAATACTTATTCTTGCAGATTGT-A 229
** ** ***** ** *** ** * * * * * ** ***** *** **

S1 AATAG----- 232
S2 CGTAG----- 238
S3 AATAGGGGCAGACCCAGAAGTTTATAA 256
***

```

그림 36. Class I 3 S-haplotype의 DNA 염기서열. Underline은 putative signal peptide 영역, Asterisk은 보존된 염기, Arrow는 intron, Boldface letters는 개시코돈과 종지코돈을 나타냄.

					C1	C2	C3		C4C5	C6C7	C8																																																																										
S ^a	M	S	A	V	A	L	L	C	F	V	F	I	-	S	S	H	-	G	E	V	E	-	A	N	K	K	L	-	C	I	C	N	G	T	F	E	G	R	C	A	N	T	R	E	A	F	-	D	E	N	L	F	K	N	L	G	E	K	T	A	F	N	G	G	E	N	S	P	H	I	L	-	C	T	C	H	V	R	P	A	L	L	R	E	T
S ^b	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	V	E	-	A	N	L	M	K	-	C	N	I	G	T	M	P	G	N	C	A	E	L	A	G	T	-	C	E	N	F	C	S	R	G	E	K	K	P	S	H	-	M	K	C	T	N	G	P	H	N	T	S	D	D	K											
S ^e	M	S	A	V	A	L	L	C	F	V	F	I	-	S	S	H	I	-	G	E	V	E	-	T	K	-	C	S	C	N	G	T	F	R	G	C	M	P	K	N	A	T	-	C	A	D	L	F	K	N	I	G	E	N	T	R	F	I	N	D	L	M	G	H	T	V	I	-	C	T	C	I	V	V	R	P	A	L	L	R	E	T			
S38	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	V	E	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K		
S41	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	L	E	A	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K			
S45	M	S	A	V	A	L	L	C	F	V	F	I	-	S	S	H	I	-	G	E	-	V	E	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K	
S46	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	V	E	A	N	L	M	K	-	C	N	I	G	T	M	P	G	N	C	A	E	L	A	G	T	-	C	E	N	F	C	S	R	G	E	K	K	P	S	H	-	M	K	C	T	N	G	P	H	N	T	S	D	D	K											
S47	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	V	E	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K		
S9	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	V	E	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K		
S8	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	L	E	A	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K			
S52	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	V	E	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K		
S12	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	L	E	A	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K			
SCR13	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K				
SCR 6	M	S	A	V	A	L	L	C	F	I	V	-	S	S	H	I	-	G	E	-	A	N	L	M	K	-	V	E	A	N	L	K	N	C	K	S	G	L	R	L	S	G	E	D	L	G	A	L	L	D	S	Y	G	A	T	W	G	T	R	P	A	K	-	C	V	C	S	N	G	R	T	G	-	C	I	C	F	S	-	D	K				

그림 38. 결정된 class I S-haplotype(S^a, S^b, S^e)의 amino산 다중배열. Arrow는 intron, Box는 보존된 cysteine잔기를 나타냄.

선발된 class II S-haplotype의 증폭을 위한 primer(SPF+SPR)에서 S^w, S^x, S^y와 S^z에서 약 400bp의 단일단편이 증폭되었다. DNA 염기서열을 결정한 결과, SP11/SCR은 2개의 exon과 1개의 intron으로 구성되어 있으며, SLG와 SRK에서와 같이 exon 영역에서는 haplotype간 높은 상동성을 보였으나 intron은 낮은 상동성을 보였다(그림 39). S-haplotype에 대한 특이적 primer는 intron에서의 합성이 용이할 것으로 판단된다.

```

GCGAAAATCTTATATACTTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATACATTTTTTAA 60
GCGAAAATCTTATATACTTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATACATTTTTTAA 60
GCGAAAATCTTATATACTTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTATATATATTTTTTTTTTAA 60
GCGAAAATCTTATATACTTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATAA|TTTTTTTTAA 60
*****

CAAATATACACTACTTATATGTTTCATATTTTTGATTTTGACATATGTTCAAGGetaaaactat 120
CAAATATACACTACTTATATGTTTCATATTTTTGATTTTGACATATGTTCAAGGetaaaactat 120
CAAAGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTTGACTTTGACATATGTTCAAGGetaaaactat 120
CAAAGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTTGACTTTGACATATGTTCAAGGetaaaactat 120
****

atcaataaactttcccccttttatccac----- 147
atcaataaactttcccccttttatccac----- 147
atcaataaactttcccccttttatccacatttaaacatttttttttttttataaaagccactt 180
atcaataaactttttcccccttttatccac-----ct- 148
*****

--cctttaaacattttttettaccctaattocaaattcataatttttttatttaatttaaacCACT 205
--cctttaaacattttttettaccctaattocaaattcataatttttttatttaatttaaacCACT 205
aacatttaaacattttttettaccctaattocaaattcataatttttttt--atttaaacCACT 238
---atttaaacattttttettaccctaattocaaattcataatttttttt--atttaaacCTCT 203
*****

AGATGTGGGAGCTTGGAAATGCCCTGAAGGCATGGTCTATCCGAGTCCCTATCTCAGGAAG 265
AGATGTGGGAGCTTGGAAATGCCCTGAAGGCATGGTCTATCCGAGTCCCTATCTCAGGAAG 265
AGATGTGGGAGCTTGGAAATGCCCTGAAGGCATGGTCTATCCGAGTCCCTATCTCAGGAAG 298
AGATGTGGGAGCTTGGAAATGCCCTGAAGGCATGGTCTATCCGAGTCCCTATCTCAGGAAG 263
*****

GTGCATTAATTCAGGAGCACAGAGTGTAAAAAACACTATGAAGTTGAGGACAGAAATGT 325
GTGCATTAATTCAGGAGCACAGAGTGTAAAAAACACTATGAAGTTGAGGACAGAAATGT 325
ATGCGTAAATTCAGTGAAGCAGACTGTCAAAGATTCTGTCG-----GACCGAATGT 349
ATGCTTAAACTCCAGGAGCAGACTGTAAAAACCCACTTCA-----GACAGAAATGT 314
*** * ** ** ***** ** *** ** *

TACTAATTGCCGTTGTGATACTTATAGCATGCCAAAATCCTGCGAGGATTACTTGTCTACTG 385
TACTAATTGCCGTTGTGATACTTATAGCATGCCAAAATCCTGCGAGGATTACTTGTCTACTG 385
TAATAATTGCCGTTGTGTTTAAAATTTAGCGAGCATAATCTGCGAGGATTACTTGTCTACTG 409
TACTAATTGCCGTTGTATTAAATTTAGCAACCATAATCTGCGAGGATTAAATTGTCTACTG 374
** ***** **** * * **** ** *****

TTGCAAAGTTAAATCATAAATTGATCAACGAA 416
TTGCAAAGTTAAATCATAAATTGATCAACGAA 416
TTGCAAAGTTAAATCATAAATTGATCAACGAA 440
TTGCAAAGTTAAATCATAAATTGATCAACGAA 405
*****

```

그림 39. Class II로 동정된 4 S-haplotype의 SP11/SCR 유전자의 nucleotide sequences. Boldface letters의 ATG는 개시코돈과 TAA는 종지코돈을 나타냄. Lowercase letters는 intron 영역임.

또는 pollen에서의 발현을 부여하는 일반적인 cis-acting element들에 접속하므로써 발현이 조절되어 진다(Xu et al. 1993). *B. rapa*(S^8 , S^9 , S^{12})와 oilseed rape(S^{910} , S^{A14})에 있어서도, 이 반복 배열과 pollen-specific 염기들은 SP11/SCR 유전자들의 5'-flanking 영역에서 발견되지 않았다(Shiba et al. 2001).

본 연구에서 동정한 *Brassica rapa*, *Brassica oleracea* (Cabbage, Broccoli), *Raphanus sativus*의 5'-flanking 영역에 대한 database 검색에서, 이들 반복 배열들과 추정되는 pollen-specific 염기들은 또한 5'-flanking 영역에서 발견되지 않았다. 또한 다른 일반적 반복 배열 또는 palindromic 염기들 역시 발견되지 않았다. 그러므로 여기에 제시된 data는 *Brassica*와 *Raphanus*에서의 포자체적 발현 양상은 SP11/SCR 유전자의 promoter가 tapetum 또는 pollen에서의 발현을 부여하는 일반적인 cis-acting element들과 상호작용하여 발현되어 진다는 것을 강하게 시사하였다.

→ 100

```

R r -22o -129  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R r -24 -100  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R r -27 -186  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (r)-9 -104  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (r)-8 -100  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (r)-18 -202  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (R)-6 -201  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (R)-10 -217  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (R)-10 -100  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R n (R)-55 -185  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -8 -105  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -17 -186  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -30 -101  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -38 -106  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -74 -215  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -222 -102  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -365 -180  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -516 -182  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -713 -183  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -828 -166  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -912 -154  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
R e -918 -210  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
S9-SP11 -197  AATTTCGAGYCYCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...ATYCACTT...
* ** ***** ** *

R r -22 -140  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R r -24 -154  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R r -27 -150  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (r)-2 -151  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (r)-8 -162  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (r)-18 -166  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (R)-6 -165  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (R)-10 -157  TATTTTCTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (R)-10 -162  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R n (R)-55 -140  ---T-TT-CTAAGTCTTAAATTCYCTTAAAGCTT...TATYTAATTTTACG---TTAT
R. s. -8 -159  ---TTTGTAGTTTT-ACCTAATTTAACTGAAA---AATCTACTTTTACC---TTCT

```

D e -17 -154 ---T-TTTCCTACCTYTTTAACTTATTT-----TATYTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -30 -155 ---T-TTTCCT-----CTTAACTYTTAATTTAAATTTCAAA-----AATYTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -38 -160 ---T-TTTCCTACCTYTTTAACTYTTAATTTTCATTTCAA-----AATYTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -74 -161 ---TAAATTTCAGCATYTTAATTTCTYCYCTYYAAAAAATAAATTCAGCATYTTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -322 -157 ---TYTTTCAGACCTYTTTAACTYTTAATTTTCAGCAAAARYC-----AATAATYTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -365 -154 ---TYTTTAAAACCTTTTTAACTYTTAATTTTCATTT-----CAA-----AATAATYTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -516 -157 ---CT-TTTCCTAATYTTCTAATTTAACTYTTAATTT-----AATYTAATTTTTARYC-----CTTYT
 D e -712 -157 ---TTTTCCTACCTAATTTAACTYTTAAGCTTTTTAACTYTTAA-----ACTYTTAATTTTTARYC-----TARYC
 D e -808 -130 ---TYTTTCAGACCTYTTTAACTYTTAATTTAA-----AATATATTTTTARYC-----TTYT
 D e -012 -118 ---TTTYTYCTYACCTYTTTAACTYTTAATTT-----AATYTAATTTTTARYC-----TTYT
 D e -018 -175 ---A-TT-CTACCTYTTTAACTYTTAATTTACTTTAA-----AATYTAATTTTTARYC-----TARYCTTYT
 S9-SP11 -161 ---T-TTTCCTACCTAATTTAACTYTTAATTTACTTTAA-----AATYTAATTTTTARYC-----TTCT
 * * ****

R e -22 -110 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTT--TTAAATAA--CAGAAAATYATTTCTATAT
 R e -44 -112 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTT--TCAAAATC--TCAAAATAAATCTATCTATA--
 R e -47 -110 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCTTAAATAA--CAGAAAATCAGCATATCTAT
 R n (C)-2 -112 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTT--TTAAATAA--CAGAAAATYATTTCTATATAT
 R n (C)-8 -114 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAAATAA--ACAAATAAATAATYTTCTAT
 R n (C)-18 -114 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAAATAA--CAGAAAATCAAAATCTAT
 R n (R)-6 -112 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TYAAATAA--CAGAAA--AATAAATCTAT
 R n (R)-10 -114 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAAAAATAAATAATCTAT
 R n (R)-10 -112 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAGAAAATAAATAATCTAT
 R n (R)-55 -108 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAAAAATAAATAATCTAT
 D e -8 -112 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAGAAAATAAATAA-----CTAT
 D e -17 -111 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--CTAATAAA--CAGAAAATAAATA-----CTAT
 D e -30 -110 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAGAAAATAAATAATCTCTAT
 D e -38 -114 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAGAAAATAAATAATCTCTAT
 D e -74 -107 TTCTCAAAAATTT-----TTTAACTTCATTTT--TTAAATAA--TCAATAATAA-----ATCTAT
 D e -322 -105 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--AATAATA-----AT
 D e -365 -106 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--ACAAATA-----CTTAT
 D e -516 -100 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAAAA--AAAATCTTYT
 D e -712 -07 CTTCAGCATATA-----TATTTATATCTTCATTTCT--TTAATAAA--CAAAAATAA-----
 D e -808 -88 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--ACAAATAA-----
 D e -012 -77 CTTCAG-----TATAATTT-----ATAA-----CTATA-----
 D e -018 -175 CTTCAGCATATATATATATATATATATATATATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CTATAAATAAATAATCTCT
 S9-SP11 -113 CTTCAGCATATA-----TTTATAATTCATTTCT--TTAATAAA--CAAAAATAA-----
 * * **** *

R e -44 -63 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATTTTTA--TYATTTTT
 R e -22 -65 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATTTTTAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R e -47 -63 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R n (C)-2 -65 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R n (C)-8 -66 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----CAATTTTTATYATTTTT
 R n (C)-18 -66 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R n (R)-6 -66 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R n (R)-10 -65 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R n (R)-10 -66 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 R n (R)-55 -60 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----CAATTTTTATYATTTTT
 D e -8 -68 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 D e -17 -66 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 D e -30 -64 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 D e -38 -66 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 D e -74 -63 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATAATTTTTATYATTTTT
 D e -322 -66 ACTTAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 D e -365 -64 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 D e -516 -62 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----CAATTTTTATYATTTTT
 D e -712 -54 -----ATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----T-TTTCCTYATTTTT
 D e -808 -50 -----ATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----TAAATTTAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----
 D e -012 -54 -----ACTTAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAA-----CTTTTTATYATTTTT
 D e -018 -67 TAAACAACATTAACATTAACAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA-----AATYTTTTATYATTTTT
 S9-SP11 -66 TACAAGAGTAAGATAAACAAGAACTTTTTTCAGCAATAAACAAGAG-----AATCTTTATYATTTTT
 * * * * *



그림 41. *Brassica* 및 *Raphanus*속에 있어서 SP11/SCR 5'-flanking의 염기서열 비교. Open box: TATA box. 동일 염기서열은 별표로 나타내었음. +1: 번역 개시 위치. Underline은 5'-flanking 영역 증폭에 사용한 primer 위치.

4) 화분측 자가불화합성 S15 haplotype SP11 유전자의 게놈구성파 전사체의 특징

가) S15 haplotype에 있어서 duplication SP11 유전자의 동정과 특징

S15-SP11을 포함하는 2종류의 게놈 단편들(0.4와 0.9 kb)은 class-II SP11 유전자들을 특이적으로 증폭시킬 수 있는 primer조합에 의해 *B. oleracea* S15 homozygote의 genomic DNA로부터 증폭되었으며, 증폭된 2개의 단편들을 cloning 및 염기서열을 결정된 결과, 하나의 SP11 유전자를 포함하고 있는 0.4-kb 단편(S15-SP11a)과 2개의 SP11 유전자들을 포함하고 있는 0.9-kb 단편(S15-SP11a, S15-SP11b)들이 동정되었다. 2개의 증폭된 단편들은 각각 동일한 S15-SP11a 염기들을 포함하고 있었으며, S15 haplotype의 S-locus 영역에서 2개의 SP11 유전자(S15-SP11a과 S15-SP11b)는 동일한 전사방향으로 배열되어 있었다(그림 42). S15-SP11a와 S15-SP11b의 DNA 염기를 비교한 결과, exon 1, intron 1, exon 2에 상응하는 염기 유사성들은 각각 65.2%, 100%, 98.5%이었다.

또한, S15-SP11a의 5-upstream 영역을 증폭하여 염기서열을 결정된 결과, 추정되는 TATA-box element와 class-II S60-SP11의 5-promoter 영역에 유사한 염기들이 동정되었다(그림 42, 그림 43). 이것은 S15-SP11a가 약에서 정상적으로 전사되어 진다는 것을 의미한다. S15-SP11a와 S15-SP11b를 분리하는 239-bp intergenic 영역은 S15-SP11a와 다른 class-II SP11 유전자들의 5-promoter 영역과 상동성이 없었다. 이것은 이 intergenic 영역이 S15-SP11b를 위한 promoter element를 포함하지 않는다는 것을 의미할 것이다.

나) S15 haplotype에 있어서 SP11의 발현

S15 haplotype의 duplication된 SP11 유전자들의 전사체를 분석하기 위하여, S15-SP11a probe를 이용하여 RNA gel blot를 수행하였다. 2 종류의 SP11 전사체(1.4 kb and 0.65 kb)들은 약 조직에서 특이적으로 발현하였고, 개화 3일에서 6일전에 점차적으로 강하게 발현되었고, 0.65-kb 전사체의 양이 1.4-kb 전사체의 양보다 훨씬 많았다(그림 44).

또한, RT-PCR과 5-RACE 산물들의 염기서열 분석에 의해 SP11 전사체들을 특징지었다. 증폭된 SP11 전사체들은 산물들의 길이에 기초하여 2개의 group으로 분류되었다. 첫 번째 group의 ~0.65-kb 전사체는 S15-SP11a 영역만이 전사되었고 intron 1은 splicing되었다(그림 45). 3-untranslated region(UTR) 염기의 길이는 cDNA clone들 간에 다양하였고, 흥미로운 점은 signal peptide를 만드는 S15-SP11의 exon-1이 어떤 경우에는 S15-SP11a와 동시에 전사되어졌다는 것이다(그림 45). 이들 ~0.65-kb 전사체가 RNA gel blot 분석(그림 44)에서 나타낸 것과 같이 대부분 전사되어질 것이라 생각되며, 실제적으로 S15-SP11a에 동일한 BoSP11-15 cDNA 염기가 보고되어져 있다. 두 번째 group의 1.4-kb 전사체에 있어서, S15-SP11a와 S15-SP11b의 전장(full-length)이 동시에 전사되어졌고, 각각의 S15-SP11a와 S15-SP11b의 intron-1은 splicing되었다(그림 45). 1.4-kb 전사체는 S15-SP11b의 182-bp downstream에 S15-SP11a, S15-SP11b의 exon-1 영역에 상응하는 S15-SP11b' 영역을 포함하고 있었다(그림 45, 그림 42). 1.4-kb 전사체에서 관찰되어지는 S15-SP11b'의 exon 1과 부분적 intron-1은 S15-SP11b의 exon 1과 intron-1의 일부분에 완전한 염기 상동성

을 나타내었다. 이것은 duplication event가 S15-SP11b와 S15-SP11b' 을 초래했다는 것을 나타낸다.

S15-SP11b만을 포함하는 전사체는 RT-PCR과 5-RACE분석에서 검출되지 않았다. 이것은 S15-SP11a와 S15-SP11b간의 intergenic 영역에 promoter element들이 결여되었기 때문일 것이며, S15-SP11b는 S15-SP11a를 포함하여 1.4-kb mRNA를 전사만 하는 pseudogene일 것이다. 또한, S15-SP11b' 도 S15-SP11b와 S15-SP11b' 간의 intergenic 영역에 promoter element들이 없기 때문에 pseudogene일 것이다. 따라서, S15 haplotype의 자가불화합성 인식은 SRK15와 S15-SP11a에 의해 조절되어진다는 결론을 내렸다.

다) S15-locus 영역에서 일어나는 duplication 및 conversion

S15-SP11 영역내의 염기 유사성을 Harr plot에 의해 분석하였다(그림 46). Plot은 S15-SP11 영역내에서 유사한 염기들이 길게 늘어선 것을 나타내었으며, 이것은 S15 haplotype에서 유전자 duplication event가 일어났다는 것을 암시한다. S15-SP11의 duplication은 SLG의 duplication이 자가불화합성 S15 계통에서 관찰되었기에 매우 흥미롭다. S15-SP11a의 exon-1에서 S15-SP11b의 intron-1사이의 611-bp 영역과 S15-SP11b의 exon-1에서 S15-SP11b'의 intron-1사이의 554-bp 영역의 염기들은 611-bp 영역의 AACATC 반복 염기를 포함하는 57-bp를 제외하고 단지 3개의 염기만이 차이를 나타내었다(그림 42).

S15 haplotype에 있어서 502-bp 영역의 100% 염기 동일성은 SRK15와 SLGA15에서 나타나며(Cabrillac et al. 1999), 이것은 2개의 유전자가 유전자 conversion event를 일으켰다는 것을 암시한다. 또한 SP11 영역에서 관찰되어지는 약 600-bp의 매우 높은 염기 유사성은 Suzuki et al. (1997)와 Cabrillac et al. (1999)가 보고한 것과 같이 SP11 유전자의 duplication 또는 duplication된 SP11 유전자의 유전자 conversion에 의해 초래되었을 것이다. 이와 같은 증거들은 duplication 그리고/또는 conversion event들이 S15 haplotype에서 빈번하게 일어난다는 것을 나타낸다. S15 haplotype에서 duplication된 SP11 유전자는 전장의 S15-SP11a, S15-SP11b, 부분적 S15-SP11b' 를 포함하는 1.4-kb 전사체를 생산한다는 것을 보였다. 이 1.4-kb 전사체

가 비록 SP11 단백질을 생산할 가능성이 있다 할지라도, 이 보기 드문 형태의 전사체는 비 기능적일 것이다.



그림 42. S15 haplotype SP11의 염기 및 아미노산 배열. Uppercase letters: 코딩영역. 5-RACE실험에 의해 결정된 염기서열은 전사개시 위치로부터 번호가 부여되었음. Pputative TATA box는 underlined boldface letter로 나타내었음. Direct AACATC 반복배열은 underlined italic letter로 나타내었음. S15-SP11은 EMBL 및 DDBJ database에 등록되었음(accession no. AB176545).

```

S15-SP11a(B.o.) CGCAGGAAAAAGCAAGAAATTGGATGAGGAAGGTACACACACGAATAAGGTGTGACCCGA -81
S60-SP11 (B.r.) CGCAGG-AAAAG-AAG-AATTGGATGAGGAAGTACACACACGAATAAGGTGTGACCCGA -86

S15-SP11a(B.o.) ATTGTTTACGTGTAAAATAGGCAATTATGTGCTAGATGCG----AAGAAAACATATAT -26
S60-SP11 (B.r.) ATTGTTTACGTGTAAAATAGGCAATTAAGTGCAAGATGTGAAGGAAAAAAATTATAT -26

S15-SP11a(B.o.) ATAGTAATACAACAATAACATTCT -1
S60-SP11 (B.r.) ATAGTAATCCAAGCAATACCATTCT -1

```

그림 43. S15-SP11a의 5-promoter 영역. 배추 Class-II S60-SP11과 유사함을 알 수 있음. Putative TATA box, CAAT motif의 sequence homologs 및 LAT52/56 box를 underlined boldface letter로 나타내었음. B.o., *Brassica oleracea*; B.r., *Brassica rapa*.

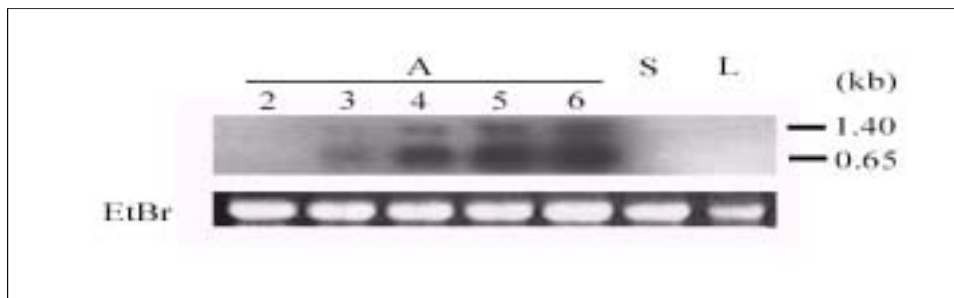


그림 44. S15-SP11의 RNA gel blot 분석. S15 haplotype에서 2종의 SP11 전사물이 검출되었음. A: anther, S: stigma, L: leaf. Anther의 발육단계는 stage 2, 개화전 6-7일; stage 3, 개화전 5-6; stage 4, 개화전 4-5일; stage 5, 개화전 3-4일; stage 6, 개화전 3일을 나타냄.

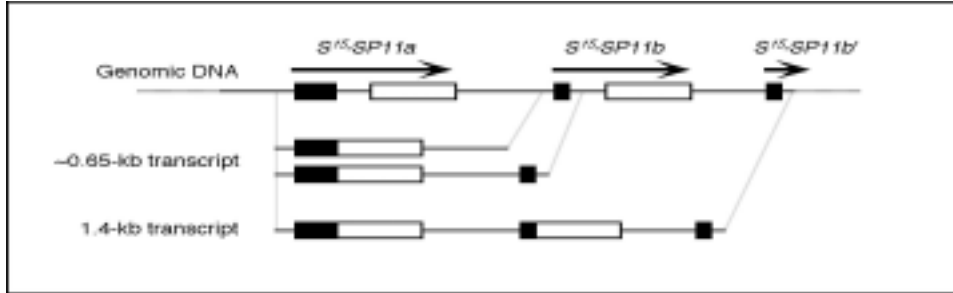


그림 45. RT-PCR 및 5-RACE products 의 염기서열 분석에 의해 관찰된 S15-SP11 전사물의 구조. Filled 및 open box는 exon-1(without 5-UTR) 및 exon-2(without 3-UTR) 영역을 나타냄. 화살표는 SP11 유전자의 전사방향을 나타냄.

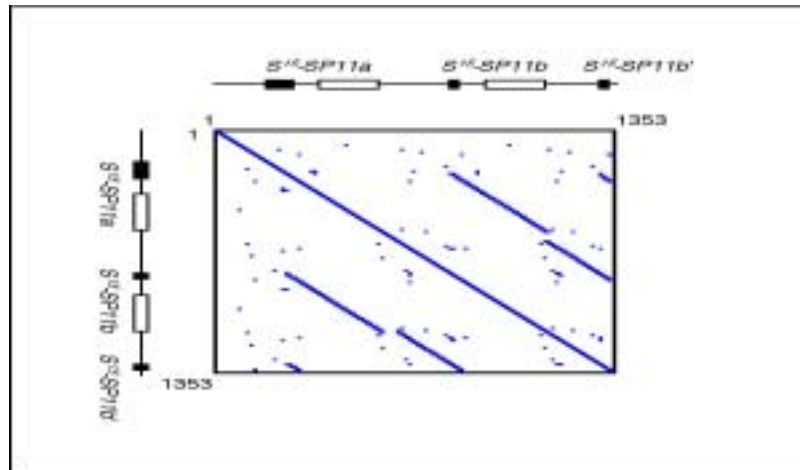


그림 46. S15-SP11의 duplication. S15-SP11영역내의 염기유사성은 DNASIS V3.7 software로 만든 Harr plot에 의하여 나타내었음. Plot내에서 각각의 dot는 10염기의 한개 window내에서 90% 이상 match함을 나타냄.

5) 주두측 S 유전자(SLG)를 이용한 S-haplotype 동정법 개발

주두측의 자가불화합성에 관여하는 SLG 유전자 영역에서 SLG class I, II-specific primer를 합성하였다. 공시된 재료를 우성과 열성으로 분류하기 위하여

class I SLG specific primer(PS5 + PS15)와 class II SLG specific primer(PS3 + PS4)를 이용하여 PCR를 수행하였다. 그 결과, 공시된 inbred line중 class I specific primer로 41개의 inbred line이 1,300 bp에서 단일 밴드로 증폭되었고, class II specific primer로 30개의 inbred line이 1,300 bp에서 단일 밴드로 증폭되어 PCR 단계에서 우성과 열성을 분류할 수 있었다.

각각의 specific primer로 증폭된 PCR 산물들은 S-haplotype를 분류하기 위하여 사용되었다. Class I SLG specific primer에서 증폭된 산물을 *Hinf* I로 소화하였을 때 41개의 inbred line들은 8개의 band pattern으로 분류되었다(그림 47-a). 또한, class II SLG specific primer로 증폭된 산물을 *Hinf* I으로 소화하였을 때 30개의 inbred line들은 4개의 band pattern으로 분류되었다(그림 47-b).

S-haplotype의 빈도에 있어서는 class I이 class II에 비해 57.75%로 약간 많았으며, class I에서는 S^f(12.67%)와 S^b(9.86%), S^c(9.86%), class II에서는 Sⁱ(30.98%)의 빈도가 높은 것으로 나타났다(표 40).

이상 국내에서 육성되고 있는 71개의 배추 육성계통에 있어서, 주두측 자가불화합성에 관여하는 SLG 유전자를 이용한 S-haplotype의 동정은 class I, II SLG specific primer에 의해 PCR 단계에서 class I과 class II를 분류할 수 있었으며, class I, II SLG specific primer로 증폭된 PCR 산물을 *Hinf* I으로 소화하였을 때 12 S-haplotype을 동정할 수 있었다. 동정된 12 S-haplotype은 class I 그룹이 8개의 S-haplotype(S^{a-h})으로 class II 그룹이 4개 S-haplotype(Sⁱ⁻¹)으로 구성되어 있었다(그림 19, 표 3). Class II 그룹에 있어서, 지금까지 *Brassica rapa*에서 class II 그룹은 4개(S24, S40, S44, S60)의 S-haplotype이 보고되어 있다. 그러므로, class II SLG specific primer로 증폭된 30개의 inbred line들의 PCR-RFLP 결과는 각각 S24, S40, S44, S60의 haplotype으로 구성되었을 것으로 추정되었다.

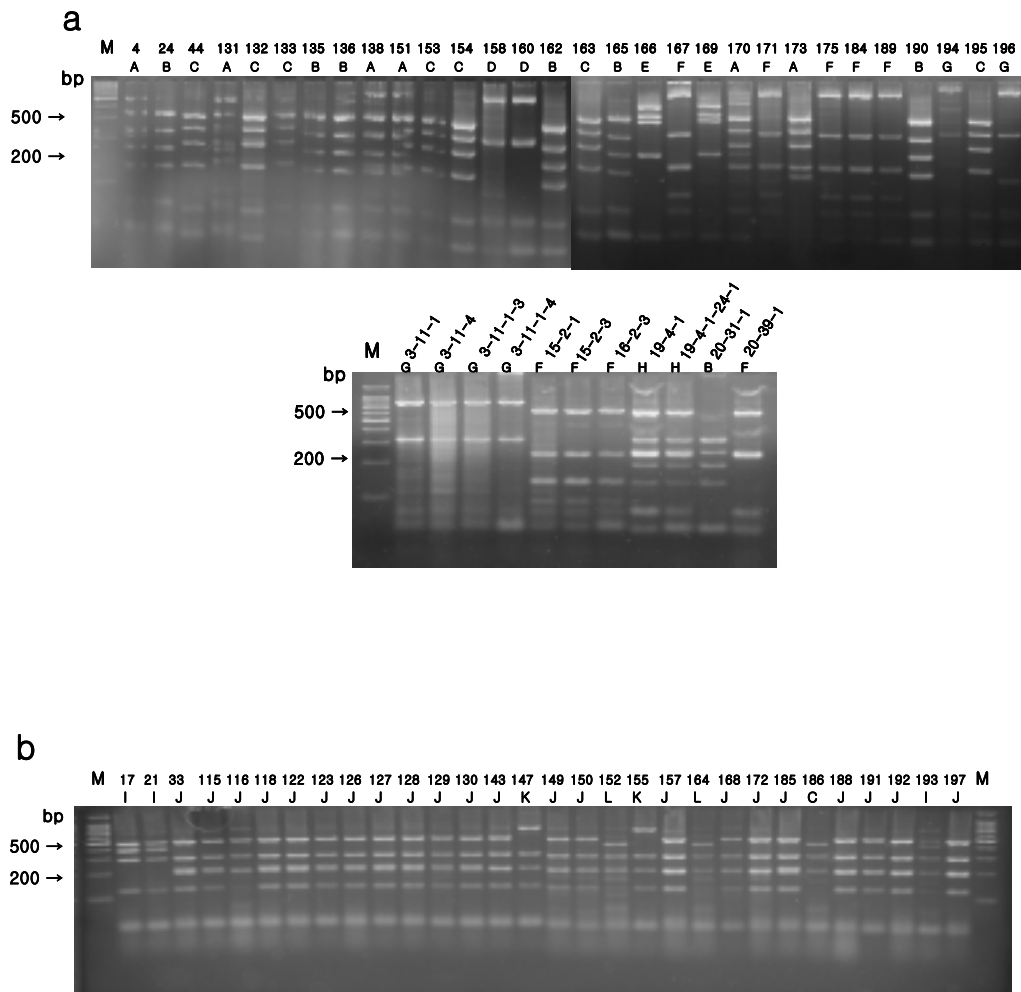


그림 47. SLG영역에서 합성된 class I과 class II specific primer에 의한 PCR-RFLP 결과(a ; class I에서 증폭된 산물을 *Hinf* I 소화한 결과. b ; class II의 증폭 산물을 *Hinf* I로 소화한 결과)

표 40. SLG 특이적 primer에 의한 71개 inbred line들의 PCR-RFLP 결과와 S-haplotype 분류 및 빈도

Class	S-haplotype	Frequency	Accession No. of <i>B. rapa</i> inbred line
class I	S ^a	6(8.45)	4, 131, 138, 151, 170, 173
	S ^b	7(9.86)	24, 135, 136, 162, 165, 190, 20-31-1
	S ^c	7(9.86)	44, 132, 133, 153, 154, 163, 195
	S ^d	2(2.82)	158, 160
	S ^e	2(2.82)	166, 169
	S ^f	9(12.67)	167, 171, 175, 184, 189, 15-2-1, 12-2-3, 16-2-3, 20-39-1
	S ^g	6(8.45)	194, 196, 3-11-1, 3-11-4, 3-11-1-3, 3-11-1-4
	S ^h	2(2.82)	19-4-1, 19-4-1-24-1
class II	S ⁱ	3(4.23)	17, 21, 193
	S ^j	22(30.98)	33, 115, 116, 118, 122, 123, 126, 127,128, 129, 130, 143, 149, 150, 157, 168, 172, 185, 188, 191, 192, 197
	S ^k	2(2.82)	147, 155
	S ^l	3(4.22)	152, 164, 186
Total	S-haplotype	71(100)	
	s		

6) *SP11*의 cloning 및 염기서열 분석

가) Promoter 영역 분석

농우(NongWoo Seed Co., Seoul, Korea)에서 육성한 *SP11/SCR* 유전자의 promoter 영역을 분석하여 개시코돈 영역에서 S-haplotype 동정용 primer를 합성하기 위하여 *SP11* class I 특이적 primer로 PCR 증폭을 실시하였다. 그 결과 9개의 육성 계통에서 200~300bp의 단일 단편이 증폭되었다 증폭된 PCR 산물은 pGEM-T Easy Vector를 사용하여 클로닝 하였으며, DNA 염기서열을 결정하였다(그림 48). 9개 계통의 S haplotype간 78~99%의 상동성을 나타내었다. 결정된 염기서열을 바탕으로 개시코돈을 포함하여 7종의 forward primer를 합성하였다(표 41).

```

SP11-1 GACCCGTTATTCTCGTTGACTCGC-CCTCAAATCTTGTAGTCTTACCTAAATT----- 53
SP11-2 GACCCGTTATTCTAGTTAAGT-----ATCCAGTTTTGTAGTCTTAACTAAATTT----- 50
SP11-3 GACCCGTTATTCTCGTTGACTCGC-CCTCAAATCTTGTAGTCTTACCTAAATT----- 53
SP11-4 GACCCGTTATTCTAGTTGAGTCCG-ACCCAAATTTTTGTAGTCTTGACCTAAATTT----- 54
SP11-5 GACCCGTTATTCTCGTTGACTCGC-CYCCAAATCTTGAAG-TTTTACCTAAATTTTT-TG 57
SP11-6 GACCCGTTATTCTCGTTAAGT-----ATCCAGTTTTGTAGTCTTAACTAAATTT----- 50
SP11-7 GACCCGTTATTCTAGTTGACTCGC-CYCCAAATCTTGAAGCTTTTACCTAACTTT----- 55
SP11-8 GACCCGTTATTCTAGTTGACTTGC-TYCCAAATTTTTGTAGTATTTACCTAAATTTTTAACT 59
SP11-9 GTCCCGTTATTCTAGTTGACTCGC-CYCCAAATCTTGAAGCTTTTACCTAACTTT----- 55
* ***** ** * * * * * * * * * *

SP11-1 --AAAATATATTTTTACCTTCTGTGTGATATAT--TTATA----- 89
SP11-2 --A--TCTATTTTTAGGTTATGTTGGATATAT--TTATA----- 83
SP11-3 --AAAATATATTTTTACCTTCTGTGTGATATAT--TTATA----- 89
SP11-4 --A--TCTATTTTTACGTTCTGTGTGGATA--T--TTATA----- 85
SP11-5 AAAAAATCTATTTTTACCTTCTATTTGGATATAT--ATATATATATATATATATATATA 115
SP11-6 --A--TCTATTTTTAGGTTATGTTGGATATAT--TTATA----- 83
SP11-7 GAAAAATCTATTTTTACCTTCTGTGTGGATATAT--TTATA----- 93
SP11-8 GAAAGGTCATTTTTAGCTTCGGTTGGATATATATTTTTA----- 99
SP11-9 GAAAAATCTATTTTTACCTTCTGTGTGGATATAT--TTATA----- 93
* ***** ** * **** * * **

SP11-1 -----ATGATT-TGAACAGTGACATAACAGTATGTAT-ACAAGAATA 130
SP11-2 -----ATGATT-TTAATAAGGAAACATCATTGTATATTACAAGAGTA 124
SP11-3 -----ATGATT-TGAACAGTGACATAACAGTATGTAT-ACAAGAATA 130
SP11-4 -----ATGATTGTTAACAAAGGAACAGCAGTATGTATTATGAGAGTA 128
SP11-5 TATATATATATATATATATATGATCA-TTAACAAACACATAACAGTATTTATTACAA-AGTA 173
SP11-6 -----ATGATT-TTAATAAGGAAACATCATTGTATATTACAAGAGTA 124
SP11-7 -----GTGATTG-TTAAGATAGGCATAGCAGTAGT-ATTACAAGAGTA 134
SP11-8 -----GTAATTG-TTAACAAGAAAACAACAATA-TGTTACAAGAGTA 139
SP11-9 -----GTGATTG-TTAAGATAGGCATAGCAGTAGT-ATTACAAGAGTA 134
* ** * * * * * * * * * *

SP11-1 AGATAAACAAGAACTTCTGCAA----GTAAAAGAGAAA-----TTTTATCACTTT 177
SP11-2 AGATAAACAAGAACTTCTGCAA----GTAAAATAGAATC-----TTTTATCACTTT 172
SP11-3 AGATAAACAAGAACTTCTGCAA----GTAAAAGAGAAA-----TTTTATCACTTT 177
SP11-4 AGATAAACAAGAACTTCTCTAA----GTAAAAGATTATC-----TTTTACCCTTT 176
SP11-5 AGATAA-CCAAACTTCTGCAA----GTAAAAGAGAAAAATTCAAAATTTTATCACTCT 228
SP11-6 AGATAAACAAGAACTTCTGCAA----GTAAAATAGAATC-----TTTTATCACTTT 172
SP11-7 AGAGAAACCAGAACCTTCTGCAC----GTAAAAGAGAGA--TT-----TTTTAACCTTT 183
SP11-8 ACATAAACAAGAACTTCTGCAAATATATAAAAGATAACC-----TTTTATCACTTT 191
SP11-9 AGAGAAACCAGAACCTTCTGCAC----GTAAAAGAGAGA--TT-----TTTTAACCTTT 183
* * ** * * * * * * * * * *

+1
SP11-1 TTTAAATGATGAAATCTGCATTTATGCTTTATTGTGTTTCATCTTCATCATTTCAAGTC 237
SP11-2 TCTGAATGATGAAAGCTGCTACTTATGCTTTATTATGTTTCATATTTATCGTTTCAAGTC 232
SP11-3 TTTAAATGATGAAATCTGCATTTATGCTTTATTGTGTTTCATCTTCATCATTTCAAGTC 237
SP11-4 TTTGAATGATGAAAGCTGCTATTTATGCTGTATTATGTTTCATATTCATCGTTTCAAGTC 236
SP11-5 TCTAAATCATGAAATCTGCATTTATGCTCTACTATGTTTCATATTCATTTTCAAGTC 288
SP11-6 TCTGAATGATGAAAGCTGCTACTTATGCTTTATTATGTTTCATATTTATCGTTTCAAGTC 232
SP11-7 TCCAAATCATGAAATCTGCATTTATGTTCTATTATCTTTTGGTTTCCATTATTTCAAGTC 243
SP11-8 TCTGAATCATGAAATCTTATGTTTGTGCTTTATTATGTTTCCATATTCATCATTTCAAGTC 251
SP11-9 TCCAAATCATGAAATCTGCATTTACGTTCTATTATCTTTTGGTTTTCATTATTTCAAGTC 243
*** ***** ** * * * * * * * * * *

```

```

SP11-1  ATGTTCAAGAAAGTGGG-- 253
SP11-2  ATGTTCAAGAAAGTGGG-- 248
SP11-3  ATGN-CNAGAAAGTGGG-- 252
SP11-4  ATTGTCAAGAAAGTGGG-- 252
SP11-5  ATGTTCAAGAAAGTGGG-- 304
SP11-6  ATGTTCAAGAAAGTGGG-- 248
SP11-7  ATTTTCA-GANGNNGGAAT 260
SP11-8  ATGTTCAAGAAAGTGGG-- 267
SP11-9  ATGGTCAAGAAAGTGGG-- 259
** * ** * ***

```

그림 48. 9개의 육성계통의 promoter(-192bp) 영역에서 cloning된 9개의 *SP11* 유전자의 염기 서열 비교. Underline은 개시코돈을 나타냄.

표 41. *SP11*의 개시코돈을 포함한 S haplotype 동정용 forward primer 7종

Primers	염기서열(5'-3')	Length(mer)	GC content(%)
S(uni-N)	ATGAAANCTGCMANITANGNINTATTNINITTC	33	18.1
S(uni)	ATGAAAKCTGCDAYTTAVGYTBTATTRTSTTTC	33	18.1
S13	ATGAAATCTGCGATTTATGCTTTATTGTGTTTC	33	30.3
S246	ATGAAAGCTGCTAYTTATGCTKTATTATGTTTC	33	27.2
S5	ATGAAATCTGCAATTTATGCTCTACTATGTTTC	33	30.3
S79	ATGAAATCTGCAATTTAVGTTCTATTATCTTTC	33	24.2
S8	ATGAAATCTTATGTTTGTGCTTTATTATGTTCC	33	27.2

나) Class I *SP11*의 cloning 및 염기서열분석

농우에서 육성한 9개 inbred line의 S-haplotype을 동정하기 Ex taq polymerase를 사용하여 PCR 증폭(그림49)한 후 pGEM-T Easy Vector (Promega USA)에 cloning하여 4계통(*SP11-2*, *SP11-4*, *SP11-5*, *SP11-8*)의 DNA 염기서열을 결정하였다(그림50, 51, 52, 53). 그 결과 *SP11-N2*는 *SP11-14*(*Brassica oleracea*, AB054740)와 97%의 상동성을 보였고, *SP11-N4*는 *Brassica napus*(AJ245480)와 100% 상동성을 나타내었으며, *SP11-N5*는 *SP11-26*(*Brassica rapa*, AB039755)과 86~92%의 상동성을 나타냈다. *SP11-N8*은 *Brassica rapa SP11-52*(AB035505)와 *Brassica rapa SP11-12*(AB035503)에서 각각 91%와 93%로 높은 상동성을 나타내었다.

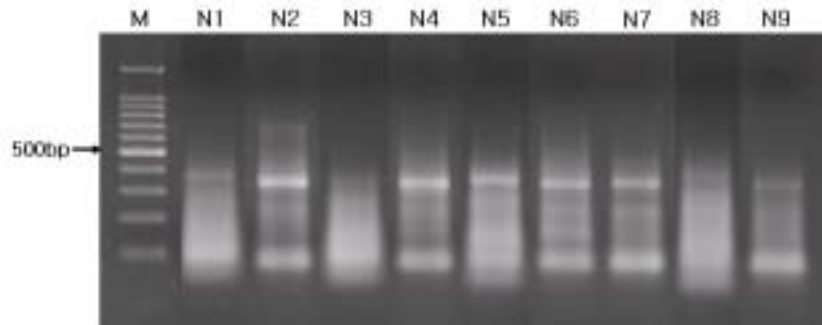


그림 49. 9개 계통의 PCR 증폭 산물. *SP11* 특이적 forward primer 7개와 *NotI*-d(T)₁₈ reverse primer를 이용하여 300~400bp의 증폭산물을 획득.

1	ATG AAA GCT GCT ACT TAT GCT GTA TTA TGT TTC ATA TTT ATC GTT	45
1	M K A A T Y A V L C F I F I V	15
46	TCA AGT CAT GGT CAA GAA GTG GAA GCT AAT TTT ATG AAG AAG TGT	90
16	S S H G Q E V E A N F M K K C	30
91	GCC TCT AGT TTC CCT TTG AGT GGA CCA TGT CCG GAA AAA GGA GTG	135
31	A S S F P L S G P C R E K G V	45
136	AAA AAC TGC GAA AGG ATA TAT AAT AAG AAG CCT TCT AAA TGC ACA	180
46	K N C E R I Y N K K P S K C T	60
181	TGT GAA GAT TTT TTT GCA GAC AAC AAT GGA CGA TGT TGT TGT GTA	225
61	C E D F F A D N N G R C C C V	75
226	TAG TGT GAA ATA AAT CCT AAC TAG GCT ACT ACA GCT TTA AAA ACG	270
76	*	
271	CGG AAT ATA TTT TTT CAA TCA AAA AAA AAA AAA AAA AAA AAA TTC	315
316	CTG CCG CCG CGA ATT CTT CCA GTT	339

그림 50. *SP11*-N2의 cloning 후 염기서열 분석 및 아미노산 코돈(*는 중지코돈을 나타냄).

1	ATG AAA GCT GCT ATT TAT GCT GTA TTA TGT TTC ATA TTC ATC GTT	45
1	M K A A I Y A V L C F I F I V	15
46	GCA AGT CAT GGT CAA GAA GTG AAA GTT AAT ATG AGG AAG AAC TGT	90
16	A S H G Q E V K V N M R K N C	30
91	CCT GAT GGC TTC ACG TTG GGT GGA GTA TGT GGC ATA TCA GGA AAG	135
31	P D G F T L G G V C G I S G K	45

136	AGC GCT TGC ATA AGT TCA TAT AAG AAC AAG AAG AAA TCT GAT TGC	180
46	S A C I S S Y K N K K K S D C	60
181	TCA TGT GGA GAT GTT GAT GGC ATT GGA ACA TGT TGT TGT TGA GAT	225
61	S C G D V D G I G T C C C *	75
226	GCA TAG AGA GCA TTT GAG AAA ATA TTC TAA ATA TTT GAT TAT CTA	270
271	TTA TTA TTT ATT ATT AAG ATA AAT AAT TTT ATT ATT CAA CTG ATA	315
316	TCT AGA ATT TTT TAG TTA CTA AGA ATA AGA TTT TAG GCT TAA TAT	360
361	TGT ATT GAA TTT AAA ATA TTG ATT AAT AAA AAT AAA AGG TTT CAG	405
406	TTT AAA AAA	414

그림 51. *SP11-N4*의 cloning 후 염기서열 분석 및 아미노산 코돈(*는 종지코돈을 나타냄).

1	ATG AAA TCT GCA ATT TAT GCT CTA CTA TGT TTC ATA TTC ATT ATT	45
1	M K S A I Y A L L C F I F I I	15
46	TCA AGT CAA TTT CAA GAG ATG GAA GCT TGC TTC ATT TTT TCC GAA	90
16	S S Q F Q E M E A C F I F S E	30
91	AAA AAA ACA AAA AAT TGC TTC ATT AAC GGA ACT TTT GAA GGA GCA	135
31	K K T K N C F I N G T F E G A	45
136	TGT GCC AAT CCC AGA AAA GAG CAC TGC GCA GAA TTA GTT AAG ACA	180
46	C A N P R K E H C A E L V K T	60
181	CGT TGC AAT GAG ACG ACA GCT TTT AAC TGC AAT TGT GGC GGT TCA	225
61	R C N E T T A F N C N C G G S	75
226	CGC ACT CGC TCA CAT TGT ATT TGT CAA CTA AGA CGA AAA TGC TAA	270
76	R T R S H C I C Q L R R K C *	90
271	GTT CTT TTC TCG CTT TAT TAT GGC AAC AAC TCT ACT TTT TCC GCT	315
316	TCA TTT TAA ATG ATG GTT TAA CCA AAA AAA AAA AAA AAA	354

그림 52. *SP11-N5*의 cloning 후 염기서열 분석 및 아미노산 코돈(*는 종지코돈을 나타냄).

1	ATG AAA TCT TAT GTT TGT GCT TTA TTA TGT TCC ATA TTC ATC ATT	45
1	M K S Y V C A L L C S I F I I	15
46	TCA AGT CAT TCT CAA GAG GTC GAA GCT AAG AAC CAG GTG AAG GAG	90
16	S S H S Q E V E A K N Q V K E	30
91	TGC AAA GCT CTT CCC ATT ATT TCG CGT GGG AAA AGA TGT GGC GAC	135


```

31   C K A L P I I S R G K R C G D   45
136  TTT GGA GAA CAG GAA TGC AAA AAC GTG TAT GCG CAG AAT ACG AAG   180
46   F G E Q E C K N V Y A Q N T K   60
181  AAG ACG GCT GAG CGT TGC ACA TGT AAA GAA CCT TAT GGT AGT CAA   225
61   K T A E R C T C K E P Y G S Q   75
226  GTT TGT CGT TGC GTA ACT AAA TGC TAA GTT ATA TTT TTT TCG TAT   270
76   V C R C V T K C *
271  CAT TCC AAA GGA TGA TAT AGT CGA AAG ACA AAT TCT GCT TAA GTC   315
316  AAT TTT TAA TGC AAA AGG TAT CAA TTG TTC TTT TCC ATT AGG ATG   360
361  ATT TGA AAA TAA TCT ATT AGT AGT TTT AAA AAA AAA AAA AAA AAA   405
406  AAA AAA AAA AAA AAA AAA TTC CTG CGG CCG CGA ATT CTT CCA GTT   450

```

그림 53. *SP11-N4*의 cloning 후 염기서열 분석 및 아미노산 코돈(*는 종지코돈을 나타냄).

다) Class II *SP11* cloning 및 염기서열분석

공시한 3개의 육성계통에서 약 300~400bp의 단일 단편이 증폭되었으며, 증폭된 PCR 산물은 pGEM-T Easy 벡터를 사용하여 클로닝 한 후 DNA 염기서열을 결정하였다(그림54). 그 결과 *Brassica rapa SP11-29*(AB067449)와 *SP11-40*(AB067450), *SP11-44*(AB067451), *SP11-60*(AB067446)과 blast 분석을 한 결과 class II S haplotype이 전체적으로 82~99%라는 높은 상동성을 보였고, S21-3은 SP11-40과 98%의 상동성 보였으며, S22-1과 S23-3은 각각 SP11-44와 SP11-60에 98%와 99%의 상동성을 보였다(표 42).

```

Br_SP11-44  ---AAAAAGCGACAATCTTATATATTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATAA 57
S22-1      -----GCGAAAATCTTATATACTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATAA 52
Br_SP11-60  ATAAAAAAGCGAAAATCTTATATACTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATAC 60
S23-3      -----GCGAAAATCTTATATACTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATATAC 52
Br_SP11-40  ---AAAAAGCGACAATCTTCTATATTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTATATATATTT 57
S21-3      -----GCGAAAATCTTATATACTCATAAGTCATGAGATATGCTACTTATATATATTT 52
Br_SP11-29  -ACAGAAAGCGACGATCTTATATATTCAGAAGTCATGAGATATGCTACTTCTATATTTTT 59
          **** *  **** *  **** *  **** *  **** *  **** *  **** *  **** *
          **** *  **** *  **** *  **** *  **** *  **** *  **** *  **** *

SP11-44     TTTTTTAACAAAGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTGGACTTTGACATATGTTCAAGC 117
S22-1      TTTTTTAACAACGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTGGACTTTGACATATGTTCAAGC 112
SP11-60     ATTTTTAACAAATATACACTACTTATGTTTCATATTTTGGATTTGACATATGTTCAAGC 120
S23-3      ATTTTTAACAAATATACACTACTTATGTTTCATATTTTGGATTTGACATATGTTCAAGC 112
SP11-40     TTTTTTAACAAAGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTGGACTTTGACATATGTTCAAGC 117
S21-3      TTTTTTAACAAAGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTGGACTTTGACATATGTTCAAGC 112
SP11-29     TTTTTTAACAAAGATACACTACTTGTGTTTCATATTTTGGACTTTGACATCTGTTCAAGC 119
          ***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****

```

Br_SP11-44 TCTAGATGTGGGACCTTTGGAAATGCCCTAAAGGCGTCGCCGAATCGGGTCTATCAGAGG 177
 S22-1 TCTAGATGTGGGACCTTTGGAAATGCCCTAAAGGCGTCGCCGAATCGGGTCTATCAGAGG 172
 Br_SP11-60 ACTAGATGTGGGAGCTTTGGAATGCCCTGAAGGCATCGTCTATCCGAGTCTATCTCAGG 180
 S23-3 ACTAGATGTGGGAGCTTTGGAATGCCCTGAAGGCATCGTCTATCCGAGTCTATCTCAGG 172
 Br_SP11-40 ACTAGATGTGGGAGCTTTGGAATGCCCTGGAGCCGTCGCCAAAGCGGATAATATCACAGG 177
 S21-3 ACGAGATGTGGGAGCTTTGGAATGCCCTGGAGCCGTCGCCAAAGCGGATAATATCACAGG 172
 Br_SP11-29 ACTAGATGTGGGAGCTAGGAACTGCCCTGAAGGCATCGCCAANATCGAATGATGTCATAGG 179
 * * * * *

Br_SP11-44 ATCATGCTTAAACTCCACGAGCGCAGCCTGTAAAACCCACTTCA-----GACAGAA 228
 S22-1 ATCATGCTTAAACTCCACGAGCGCAGCCTGTAAAACCCACTTCA-----GACAGAA 223
 Br_SP11-60 AAGGTGCATTAATTTCCAGGAGCACAGAGTGTAAAAAACACTATGAAGTTGAGGGACAGAA 240
 S23-3 AAGGTGCATTAATTTCCAGGAGCACAGAGTGTAAAAAACACTATGAAGTTGAGGGACAGAA 232
 Br_SP11-40 AACATGCGTAAATTCAGTGAGCGAAGACTGTCAAAGATTCGTCG-----GACCGAA 228
 S21-3 AACATGCGTAAATTCAGTGAGCGAAGACTGTCAAAGATTCGTCG-----GACCGAA 223
 SP11-29 AACATGCTTAAATACCAAGAGCAGAGACTGTCAA AACACTTCG-----GACCGAA 230
 * * * * *

Br_SP11-44 TGTTACTAANTGCTTTTGTATTAATTTTAGCAACCATAATCGTGGGAGGATTAATTGCTA 288
 S22-1 TGTTACTAANTGCTTTTGTATTAATTTTAGCAACCATAATCGTGGGAGGATTAATTGCTA 283
 Br_SP11-60 TGTTACTAANTGCCGTTGTGATACTTATAGCATGCAAAAATCCTGCGAGGATTACTTGCTA 300
 S23-3 TGTTACTAANTGCCGTTGTGATACTTATAGCATGCAAAAATCCTGCGAGGATTACTTGCTA 292
 Br_SP11-40 TGTTAATAANTGCTTTTGTAAAATTTAGCGAGCATAAATCGTGGGAGGATTAATTGCTA 288
 S21-3 TGTTAATAANTGCTTTTGTAAAATTTAGCGAGCATAAATCGTGGGAGGATTACTTGCTA 283
 Br_SP11-29 TGTTACTAANTGCTTTTGTATCCTTTTAGCACGCATAATCGTGTGAGGATTACTTGCTA 290
 * * * * *

Br_SP11-44 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGTCTACGAAACATCCAGATACGTTACTCTATGCA 348
 S22-1 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGTCTACGAAACATCCAGATACGTTACTCTATGCA 343
 Br_SP11-60 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGATCAACGAAACATCCAGAGACGTTACTCTATGCA 360
 S23-3 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGATCAACGAAACATCCAGAGACGTTACTCTATGCA 352
 Br_SP11-40 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGATCAACGAAACATCCAGATACGTTACTCTATGCA 348
 S21-3 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGATCAACGAAACATCCAGATACGTTACTCTAT-CA 342
 Br_SP11-29 CTGTTGCAAAAGTTAAATCATAAATGGATCAACGAAACATCCAGATACGTTACTCTATGCA 350
 * * * * *

Br_SP11-44 ATATACGBCGBCAGTGGATCT-TTATTTTGAACATCTACTAAAAAGTCATTATAAATAG 407
 S22-1 GTATACGBCGBCATT----- 358
 Br_SP11-60 ATATACGACGBCATTGGATCT-TTATATTGAACATCTACTAGAAAATCATGATATTTAG 419
 S23-3 GTATACGACGBCATT----- 367
 Br_SP11-40 GTATACGATGGCATTTTACTATTAAAAGGAAACAT-TCTGAAAAATCTATTTATGCAA 407
 S21-3 GTATACGACGBCATT----- 357
 Br_SP11-29 ATATACGACGBCATTGGATCT-TTATTTTGAACATCTACTAGAAAATCATTATATTTAG 409
 * * * * *

Br_SP11-44 TTGCCTTCCTATTTATTCTCATATTAATATCACACTAGATTTAATCCGCACTTTCAAAAT 467
 S22-1 ----- 467
 Br_SP11-60 CAGTCCCTCCCTTTTATTTCATATTAATATCACATTAATTAAGTTCCAACAAATAGTAAT 479
 S23-3 ----- 467
 Br_SP11-40 GGTTATTGCACCTTTTTCATTAGACTTAATTTTTIATGGTCTTAT-CTTATATATTTGTAA 466
 S21-3 ----- 466
 Br_SP11-29 TTGTCCCTCCCATTTATTATTATA-TTAATATTTAGTTGTATCATACTCATGTGTTTT--- 465

Br_SP11-44 ACGGGAATGATTTTCATCTTAATATTCTACTAAATATTT----- 505
 S22-1 ----- 505
 Br_SP11-60 GGATCAACTAAATTAACCTCAAAGACTAGTTAATAAGACCCAGTACATCTTTTCTAAAAA 539
 S23-3 ----- 539
 Br_SP11-40 CAATAGGCTAATCAATACCACATATTTACCCG----- 498
 S21-3 ----- 498
 Br_SP11-29 ----- 498

```

Br_SP11-44 -----
S22-1 -----
Br_SP11-60 AAAAAAAAAAAAAAAAAA 554
S23-3 -----
Br_SP11-40 -----
S21-3 -----
Br_SP11-29 -----

```

그림 54. *B. rapa* 3개의 육성계통에서 cloning 된 *SP11* 유전자의 blast 분석 결과

표 42. 육성한 3계통의 *SP11* Class II의 S haplotype의 상동성 비교

Subject	Query	상동성(%)
S21-3	AB067449_Br_SP11-29	88
	AB067450_Br_SP11-40	98
	AB067451_Br_SP11-44	86
	AB067446_Br_SP11-60	85
	AB067449_Br_SP11-29	86
S22-1	AB067450_Br_SP11-40	86
	AB067451_Br_SP11-44	98
	AB067446_Br_SP11-60	86
	AB067449_Br_SP11-29	84
S23-3	AB067450_Br_SP11-40	82
	AB067451_Br_SP11-44	83
	AB067446_Br_SP11-60	99

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구 개발 목표

본 연구는 배추종자 수출확대와 이를 달성하기위한 품종 및 기술개발이 목표이다. 이를 위해 첫째로 2년 동안 중국 현지 출장으로 중국 지역별 작형별 품종의 특성을 탐색을 하였고 정보 및 유전자원을 수집하였다. 둘째로 중국 지역별 작형별 수출용 품종개발을 위한 계통의 순화 작업과 내병성검정, 수집한 재료의 성능검정, 병저항성 신계통육성, 응성불임 자원탐색, 우량 F₁조합 작성 및 성능검정을 수행하여 중국 기호도에 알맞은 품종개발에 역점을 두었다. 셋째로 조기 품종개발을 위하여 단기 육종 체계를 확립하고 이에 대한 적용연구로 소포자배양 및 원연관계를 분석하였으며 수집한 재료의 특성 조사를 수행하였다. 넷째로 자가불화합성을 유묘기에 검정함으로써 F₁조합 작성의 기간을 단축할 수 있는 기술개발에 역점을 두었다.

이러한 일련의 과정을 거쳐 중국용 배추품종을 개발하는 것이 최종 목표이며 우리나라 민간기업에서 수출용 배추 품종 육성에 기여하고자 하였다.

제 2 절 연구개발 목표에 대한 달성도

일련의 연구결과 중국 지역 재배 주요 품종 및 지방 재래종 총 233점을 수집하여 민간기업 및 농진청 유전자원과, 원예연구소에 분양하였으며 중국에서의 배추 재배, 품종 및 기호도에 대한 정보를 2차년도 가을철 경영자간담회(2003. 11. 6)에서 세미나를 통해 발표하여 세부정보를 제공하였다. 또한 2003년 3월 중국 국가 인정 우량배추 품종(1990-2000년 중국 국가인정 우량품종) 20점에 대한 자료를 수집, 번역 후 원예연구소 및 채소종자회사에 배부하여 수출용품종육성 참고자료로 활용할 수 있도록 조치하였다.

중국 지역별 작형별 수출용 품종 개발을 위해 기 보유계통 및 수집한 재료로 4,959계통의 성능검정을 실시하였으며 4,023계통의 내병성 검정을 실시하여 바이러스 병 373개체, 무사마귀병 1,231개체, 복합내병성 1,266개체를 선발하였다. 3년동안 우량 F₁ 성능검정 1,501조합을 실시하여 최종 17조합을 선발하였으며 이중 중국 수출용 품종으로 4조합을 선발하였다. 남방계 조합으로는 Tropic Emperor를 대비로 02CC843조합과 00CC240조합이 선발되어 젓고 생산·판매 계획에 들어갈 것이다. 북방계 조합으로는 북경신3호처럼 구형이 직통형인 04CC713과 04CC718조합을 선발하였다. 04CC713조합은 웅성불임을 이용한 조합이며 04CC718조합은 바이러스 내병성 조합으로 채종시험을 거쳐 중국 현지 적응 시험코자 한다.

우량 교잡종 단기 육종체계확립 및 적용연구에서 교배종 모본 육성 및 반수체 육종법을 확립하였으며 중국수집 자원의 특성을 평가하여 중국 지역별 작형별 특성을 파악할 수 있었다. 저항성 계통 육성을 위한 소포자 배양을 통하여 획득한 계통의 특성을 조사하여 주관기관에서 육종소재로 이용토록 하였다. 이와 더불어 소포자 유래 계통의 유연관계를 분석하였으며 유연관계 분석을 이용한 조합의 특성 평가가 이루어졌다.

자가불화합성 인자형 동정 기술 개발은 배추의 *SLG/SRK/SP11* 자가불화합성 유전자 해석을 통하여, 자가불화합성에 대한 분자적 정보를 확보하고, 확보된 정보를 기초로 하여 육성계통에서 S haplotype 동정을 위한 PCR-RFLP 방법을 개발하였다.

제 3 절 관련분야의 기술발전예의 기여도

중국 지역 재배 주요 품종 및 지방 재래종 총 233점을 수집하여 민간기업 및 농진청 유전자원과, 원예연구소에 분양한 것은 앞으로 수출용 품종육성에서 유전자원으로 활용될 것이다. 또한 중국에서의 배추 재배, 품종 및 기호도에 대한 정보는 품종개발형질의 방향을 잡을 수 있는 정보로 활용될 것이다.

내병성 검정을 실시하여 선발되어진 4,023의 계통은 계통 고정작업 및 성능검정을 거쳐야 하지만 중국 수출용 내병성품종의 양친으로 이용되어질 것이다. 소포자배양 및 약배양에서 얻어진 계통과 기 보유계통과의 합성조합등은 앞으로도 계속 진행되어져 중국 수출용 품종육성에 활용되어질 것이다. 또한 우량 F₁ 성능검정은 앞으로도 계속 진행되어질 것이며 중국현지 적응시험 및 시교사업을 통해 수출용 품종이 계속해서 늘어날 것이다. 과제 수행중 선발되어진 02CC843, 00CC240은 중국현지에서 상품화하여 판매되어질 것이다.

조기 품종개발을 위하여 단기 육종 체계를 확립하고 이에 대한 적용연구로 교배종 모본 육성 및 반수체 육종법 확립하였다. 이로 인해 소포자 배양법을 이용한 배추 육종 연한 단축에 적용할 수 있었으며 이것은 타 작물에도 적용 가능하다.

중국수집 자원의 특성 평가를 통해 중국 수출용 배추 품종육성 및 바이러스병 등 내병성 배추 품종 육성에 활용할 수 있었다. 또한 저항성 계통 육성을 위한 소포자 배양을 통해 내병성 품종 육성에 적용하였다.

소포자 배양시 소포자 유래 개체의 유묘기 때 배수성 검정을 하여 육종 효율증진을 도모하였다.

배추과에서 자가불화합성 인자 분류 및 원연관계 분석을 통한 조합 작성이 가능할 경우 타 작물에 활용 가능 하다고 생각된다.

단기 육종체계 확립의 하나인 자가불화합성 인자 분석은 첫째 화분측 S-유전자(SP11/SCR)의 cloning 및 염기서열 결정으로 유전자는 형질전환 실험의 donor gene으로써 활용되어 육종소재를 창출할 수 있으며 염기서열 정보는 F₁ 순도검정용 primer 설계에 이용될 수 있다. 둘째, 화분측 S-유전자(SP11/SCR)의 promoter 분석을 통해 Promoter의 염기서열은 S 유전자형을 결정하기 위한 정보로 활용될 수 있으며 Promoter의 염기서열을 활용하여 Class I 에 속하는 SP11/SCR의 아미노말단의 염기 정보 해석이 가능해졌다. 또한 이 아미노말단의 염기정보를 활용하여 RT-PCR에 의

한 SP11/SCR의 cloning이 가능해졌다. 셋째 화분측 자가불화합성 S15 haplotype SP11 유전자의 게놈구성과 전사체의 특징 분석으로 자가화합성이 높은 계통의 특징은 SP11/SCR의 변이에 기인할 수 있다는 실마리를 잡는 계기가 되었다. 넷째, 주두측 S 유전자(SLG)를 이용한 S-haplotype 동정법 개발로 SLG를 이용한 PCR-RFLP분석에 의하여 90%의 이상의 S-genotype을 동정할 수 있게 되었다. 그러나 자가불화합성 유전자와 관계없는 산물이 증폭되어 모든 S 호모 접합체에 적용할 수 없는 단점이 있었다. 또한 SLG를 보유하고 있지 않은 S 호모 접합체도 발견되어 활용에 문제가 있다고 생각된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구는 3년이라는 짧은 기간 동안 수행된 것으로 중국 수출용 품종 개발을 아직 완결하지 못한 아쉬움이 있다. 하지만 중국 현지 출장으로 수집하여 온 유전자원 233점은 민간종자회사에서 중국용 품종육성 소재로 활용 될 것이다. 이것은 우리나라에서는 전혀 가지고 있는 않은 형질을 도입했다는 것에 의의가 있다. 또한 지역별 작형별 주요 재배품종의 조사와 기호도 등의 정보는 중국용 품종육성의 목표를 정할 수 있는 기반이 될 것이다.

주관기관인 농우바이오에서 수행한 중국 수출용 품종으로 선발된 남방계 우량 2 조합은 생산·판매에 들어갈 계획이다. 또한 수집된 유전자원 및 육성계통은 주관 연구기관에서 연구 종료 후 지속적으로 중국 시장용 품종 육성에 주력하겠고 나아가 우수한 품종이 개발된 후에도 중국에서의 품종 등록 및 시장 개발이 따라야 상업화 할 수 있기 때문에 연구 종료 후 시장 개발에 주력할 것이다.

품종 육성 연한을 고려할 때 3년동안 품종을 개발한다는 것은 불가능한 일이다. 따라서 단기육종체계를 확립하는 것이 무엇보다도 중요했다. 성숙된 개체를 보지 않고도 조합을 작성할 수 있다면 육성 기간이 매우 단축될 수 있는 획기적인 방법이다. 소포자 및 약배양을 통한 조기 순계를 얻고 자가불화합성 인자를 분류하고 원연관계를 분석하여 거리가 먼 계통간의 조합을 작성하여 F_1 종자를 만들 수 있다는 것이 가능하리라는 것을 알 수 있었다. 이러한 일련의 연구가 확립되면 분자생물학적인 품종 육성도 어느정도 가능 하리라 생각된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

배추과 작물에 있어서 F₁채종의 가장 큰 문제점은 자식종자의 혼재이다. 그리하여 작물에 따라 자식종자의 혼재율을 어느 정도 국제종자시장에서 인정하고 있는 셈이다. 예를 들면 배추의 경우 2-3%, 무는 5-8%, 양배추류는 10-15% 이하의 자식종자의 혼재가 있다. 어떻게 하면 혼재가 없는 순도 100%의 F₁종자를 채종할 수 있는가에 초점이 맞추어져 다양한 연구내용이 발표되어 왔다. 그러나 현재도 혼재문제를 해결할 수 있는 결과가 없다. 본 연구내용에도 자가화합성이 높은 계통의 웅성측 자가불화합성 유전자의 분자적 특성을 규명하여 정상계통과의 차이를 밝혔으나 근본적인 문제 해결책은 되지 않는다.

최근 일본의 나라 선단대학원대학 바이오사이언스학과의 이소가이 교수 연구실에서는 자가불화합성의 정도를 나타내는 척도는 주두측과 화분측의 S 유전자만의 관계는 아니라는 연구결과를 발표하였다. 즉 주두측 S 유전자 SRK와 상호작용하는 MOD 유전자가 존재하며, 이 유전자에 변이가 일어나면 SRK유전자의 인산화에 영향하여 자식율이 높아질 것이라고 고찰하고 있다. 금후 MOD유전자의 정체가 분명해지고 육종현장에 적용할 수 있는 기술이 확립되면 순도 100%의 F₁채종이 가능해질 것이다.

제 7 장 참고문헌

1. Ashizawa, M., H. Yoshikawa and K. Hida. 1976. Studies on the breeding of clubroot resistance in crucifer crops. (In Japanese). Annu. Rep. Plant Breed. Section Veg. Ornamental Crops Res. Stn. 3:79-87
2. Ashizawa, M., H. Yoshikawa, K. Hida, T. Kamenno and T. Takatuka. 1978. Studies on the breeding of clubroot resistance in cole crops. I Screening of cole crops for clubroot-resistance. (In Japanese with English summary). Bull. Veg. Ornamental Crops Res. Stn. Ser. A 4:1-25
3. AVRDC, 1984a. progress report 1982, Chinese cabbage pathology, -turnip mosaic virus strain detection-. p 75-85, AVRDC. Taiwan, Roc.
4. AVRDC, 1984b. Progrss report summaries 1983. p. 16. AVRDC. Taiwan. Roc.
5. AVRDC. 1985, Chinese cabbage. in AVRDC progress report summaries 1985. pp 2-9. AVRDC. Taiwan, Roc.
6. Bateman. A. J. 1952. Self-incompatibility system in angiosperms. I. Theory. Heredity 6: 285-310
7. Bateman. A. J. 1954. Self-incompatibility system in angiosperms. II. *Iberis amara*. Heredity 8: 305-332
8. Bateman. A. J. 1955. Self-incompatibility system in angiosperms. III. *Cruciferae*. Heredity 9: 52-68
9. Boyes, D. C., Chen, C.-H., Tantikanjana, T., Esch, J. J. and Nasrallah, J. B. (1991) Isolation of a second *S*-locus related cDNA from *Brassica oleracea*: genetic relationships between the *S* locus and two related loci. *Genetics* 127, 221-228.
10. Boyes, D.C. and Nasrallah, J.B (1995) An anther-specific gene encoded by an *S* locus haplotype of Brassica produces complementary and differentially regulated transcripts. *Plant cell* 7, 1283-1294.
11. Burnett, L., S. Yarrow and B. Huang. 1992. Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica rapa* L. ssp. *oleifera*. *Plant Cell Rep.* 11:215-218.
12. Cabrillac D, Cock JM, Dumas C, and Gaude T. (2001) The *S*-locus receptor kinase is inhibited by thioredoxins and activated by pollen coat proteins. *Nature* 410(6825): 220-3.
13. Cao, M. Q., Y. Li, F. Liu and C. Dore. 1994. Embryogenesis and plant

- regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) via *in vitro* isolated microspore culture. *Plant Cell Rep.* 13:447-450.
14. Charlesworth D. (2002) Self-incompatibility: how to stay incompatible. *Curr Biol.* 12(12): R424-6.
 15. Charlesworth D, Bartolome C, Schierup MH, and Mable BK. (2003) Haplotype structure of the stigmatic self-incompatibility gene in natural populations of *Arabidopsis lyrata*. *Mol Biol Evol.* 20(11): 1741-53.
 16. Chen, J. L and W. D. Beversdorf. 1992. Production of spontaneous diploid lines from isolated microspores following cryopreservation in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Breeding* 108:324-327.
 17. Chiang, M. S., B. Y. Chiang, W. F. Grant and R. Crete, 1981. Transfer of resistance to race 2 of *Plasmodiophora brassicae* from *Brassica napus* to common cabbage. in Chinese cabbage, Proc. 1st, Int'l. Symp. 415-421. eds. N.S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC. Taiwan. Roc.
 18. Chookajorn T, Kachroo A, Ripoll DR, Clark AG, and Nasrallah JB. (2004) Specificity determinants and diversification of the Brassica self-incompatibility pollen ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(4): 911-7.
 19. Cock, J M., Stanchv, B., Delorme, V., Croy, R. R > C. and Dumas, C. (1995) *SLR3*: a modified receptor kinase gene that has been adapted to encode a putative secreted glycoprotein similar to the *S* locus glycoprotein. *Mol Gen Genet* 248, 151-161.
 20. Conventry, J., L. Kott and W. D. Beversdorf. 1988. Manual for microspore culture technique for *Brassica napus*. *Univ. of Guelph.* 1-35
 21. Delorme, V., Giraanton, J.-L., Hatzfeld, Y., Friry, A., Heizmann, p., Ariza, M. J., Dumas, D., Gaude, t. and Cock, J. M. (1995) Characterization of the *S* locus genes, *SLG* and *SRK*, of the *Brassica S³* haplotype: identification of a membrane - localized protein encoded by the *S* locus receptor kinase. *Plant J.* 7, 429-440.
 22. Dickinson HG. (1995) Dry stigmas, water and self-incompatibility. *Sex Plant Reprod* 8, 1-10.
 23. Dixit R, Rizzo C, Nasrallah M, and Nasrallah J. (2001) The brassica MIP-MOD gene encodes a functional water channel that is expressed in the stigma epidermis. *Plant Mol Biol.* 45(1): 51-62.
 24. Doughty, J., Dixson, S., Hiscock, S.J., Willis, A.C., Parkin, I.A.P and Dickinson, H.G. (1998) PCR-A1, a defensin-like Brassica pollen coat protein

- that binds the S locus glycoproteins, is the product of gametophytic gene expression. *Plant Cell* 10, 1333–1347.
25. Dwyer, K. G., Chao, A., Cheng, B., Chen, C.-H. and Nasrallah, J. B. (1989) The *Brassica* self-incompatibility multigene family. *Genome* 1: 969–972.
 26. Dwyer, K. G., Balent, M. A., Nasrallah, J. B., and Nasrallah, M. E. (1991) DNA sequences of self-incompatibility genes from *Brassica campestris* and *Brassica oleracea*: polymorphism predating speciation. *Plant Mol Biol* 16: 481–486
 27. Dwyer, K. G., Kandasamy, M. K., Mahosky, D. I., Acciai, J., Kudish, B. I., Miller, J. E., Nastallah, M. E. and Nasrallah, J. B. (1994) A superfamily of S locus-related sequences in *Arabidopsis*: diverse structures and expression pattern. *Plant Cell* 6: 1829–1843.
 28. Ekuere UU, Parkin IA, Bowman C, Marshall D, and Lydiate DJ. (2004) Latent S alleles are widespread in cultivated self-compatible *Brassica napus*. *Genome* 47(2): 257–65.
 29. Fobis-Loisy I, Miege C, and Gaude T. (2004) Molecular evolution of the S locus controlling mating in the Brassicaceae. *Plant Biol.* 6(2): 109–18.
 30. Farnham, M. W. 1996. Genetic variation among and within United States collard cultivars and landraces as determined by randomly amplified polymorphic DNA markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121(3):374–379.
 31. Franklin, T. M., Oldknow, J. and Trick, M. (1996) *SLR1* function is dispensable pollination processes in *Brassica*. *Sex Plant Reprod* 9: 203–208.
 32. Franklin-Tong NV. (2002) Receptor–ligand interaction demonstrated in *Brassica* self-incompatibility. *Trends Genet* 18(3): 113–5.
 33. Fujimoto R, and Nishio T. (2003) Identification of S haplotypes in *Brassica* by dot-blot analysis of SP11 alleles. *Theor Appl Genet* 106(8): 1433–7.
 34. Fukai, E., Fujimoto, R. and Nishio, T. (2003) Genomic organization of the S core region and the S flanking regions of a class-II S haplotype in *Brassica rapa*. *Molecular Genetics and Genomics* 10: 1007–1022.
 35. Fukai E, Nishio T, and Nasrallah ME. (2001) Molecular genetic analysis of the candidate gene for MOD, a locus required for self-incompatibility in *Brassica rapa*. *Mol Genet Genomics* 265(3): 519–25.
 36. Gaude T, and Cabrillac D. (2001) Self-incompatibility in flowering plants: the *Brassica* model. *C R Acad Sci III* 324(6): 537–42.
 37. Glavin, T, L., Goring, D. R., Schafer, U. and Tothstein, S, J. (1994) Features

- of the extracellular domain of the *S*-locus receptor kinase from *Brassica*. *Mol Gen Genet* 244: 630–637
38. George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture, Handbook and directory of commercial laboratories. *Easton press*. Great Britain. 296–306.
 39. Glemin S, Gaude T, Guillemin ML, Lourmas M, Olivieri I, and Mignot A. (2005) Balancing selection in the wild: testing population genetics theory of self-incompatibility in the rare species *Brassica insularis*. *Genetics* 2005 Jun 8; [Epub ahead of print]
 40. Goring, D. R. and Rothstein, S. J. (1992) The *S*-locus receptor kinase gene in a self-incompatible *Brassica napus* line encodes a functional serine/threonine kinase. *Plant Cell* 4: 1273–1281.
 41. Green, S. K. and T. C. Deng. 1985. Turnip mosaic virus strains in cruciferous host in Taiwan. *Plant Dis.* 69 : 28–31.
 42. Hatakeyama, K., Watanabe, M., Takasaki, T., Ojima, K. and Hinata, K. (1998a) Dominance relationships between *S*-alleles in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Heredity* 79: 421 – 427.
 43. Hatakeyama, K., Takasaki, T., Watanabe, M. and Hinata, K. (1998b) Molecular characterization of *S* locus genes, *SLG* and *SRK*, in a pollen-recessive self-incompatibility haplotype of *Brassica rapa* L. *Genetics* 149: 1587 – 1597.
 44. Hatakeyama, K., Takasaki, T., Watanabe, M. and Hinata, K. (1998c) High sequence similarity between *SLG* and the receptor domain of *SRK* is not necessarily involved in higher dominance relationships in stigma in self-incompatible *Brassica rapa* L. *Sex Plant Reprod* 11: 292 – 294.
 45. Hatakeyama K, Takasaki T, Suzuki G, Nishio T, Watanabe M, Isogai A, and Hinata K. (2001) The *S* receptor kinase gene determines dominance relationships in stigma expression of self-incompatibility in *Brassica*. *Plant J.* 26(1): 69–76.
 46. Heslop-Harrison J. (1975) Incompatibility and the pollen stigma interaction. *Annu Rev Plant Phys* 26, 403–425
 47. Hinata, K. and Nishio, T. (1978) *S*-allele specificity of stigma proteins in *Brassica oleracea* and *Brassica campestris*. *Heredity* 41: 93 –100
 48. Hinata, K. and Nishio, T. (1980) Self-incompatibility in Crucifers. In: Tsunoda S, Hinata K, Gomez-Campo C (eds) *Brassica crops and wild allies*. *Hapan Sci Soc Press Tokyo* pp 223–234.

49. Hinata, K. and Nishio, T. (1981) Con A-Peroxidase method: an improved procedure for staining S-glycoproteins in celluloseacetate electrofocusing in crucifers. *Theor Appl Genet* 60: 281-283.
50. Hinata, K., Watanabe, M., Yamakawa, S., Satta, Y., and Isogai, A. (1995) Evolutionary aspects of the S-related genes of the *Brassica* self-incompatibility system: synonymous and nonsynonymous base substitutions. *Genetics* 140: 1099-1104.
51. Hiscock SJ. (2002) Pollen recognition during the self-incompatibility response in plants. *Genome Biol.* 3(2): REVIEWS1004.
52. Hiscock SJ, and McInnis SM. (2003) Pollen recognition and rejection during the sporophytic self-incompatibility response: Brassica and beyond. *Trends Plant Sci.* 8(12): 606-13.
53. Hiscock SJ, and Tabah DA. (2003) The different mechanisms of sporophytic self-incompatibility. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 358(1434): 1037-45.
54. Horisaki, A., Tanaka, N. and Niikura, S. (2003) The effectiveness of insect-pollination test to evaluate the level of self-incompatibility and their genetic analysis in radish(*Raphanus sativus* L.) *Theor Appl Genet* 107: 1009-1013
55. Ikegami, H., T. Ito, Y, Imaro and T. Naiki 1981. Growth of Plasmodiophora brassicae in the root and callus of Chinese cabbage. in Chinese cabbage. Proc. 1st. Int'l. Symp : 81-90. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC. Taiwan Roc.
56. Isogai, A., Tkayama, S., Shioawa, H., Tsukamoto, C., Kanbara, T., Hinata, K., Okazaki, K. and Suzuki, A. (1988) Existence of a common glycoprotein homologous to S- glycoproteins in two self-incompatible homozygotes of *Brassica campestris*. *Plant Cell Physiol* 29 : 1331-1336.
57. Isogai A, and Takayama S. (2002) [Molecular mechanism of self-incompatibility in Brassica] *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 47(6): 700-7.
58. Iwano M, Shiba H, Funato M, Shimosato H, Takayama S, and Isogai A. (2003) Immunohistochemical studies on translocation of pollen S-haplotype determinant in self-incompatibility of Brassica rapa. *Plant Cell Physiol* 44(4): 428-36.
59. Isogai, A., Yamakawa, S., Shiozawa, H., Takayama, S., Tanaka, H., Kono, T., Watanabe, M., Hinata, K. and Suzuki, A. (1991) The cDNA sequence of NS¹ glycoprotein of *Brassica campestris* and its homology to S-locus-related

- glycoproteins of *B. oleracea*. *Plant Mol Biol* 16: 269-271.
60. James, R. V. and P. H. Williams, 1980. Clubroot resistance and linkage in *Brassica campestris*. *Phytopathology* 70 : 776-779.
 61. June B. Nasrallah (2002) Recognition and Rejection of Self in Plant Reproduction. *Science* 296: 305-308.
 62. Jun, Won. 1998. Establishment of methods in evaluating the susceptibility of Chinese cabbage(*Brassica campestris* ssp.) to soft rot disease. Thesis paper of MS. Chung-ang Univ. pp. 1-66
 63. 정혜옥, 이수성. 1997. 녹색꽃양배추의 소포자 배양시 배발생 및 식물체 생육에 미치는 영향. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 28(4):379-383.
 64. Kikunmoto, T. 1981. Studies on soft rot disease of Chinese cabbage in Japan. in Chinese cabbage. Proc. 1st. Int'l. Symp : 113-127. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC. Taiwan Roc.
 65. Kachroo A, Schopfer CR, Nasrallah ME, and Nasrallah JB. (2001) Allele-specific receptor-ligand interactions in Brassica self-incompatibility. *Science* 293(5536) :1824-6.
 66. Kai N, Suzuki G, Watanabe M, Isogai A, and Hinata K. (2001) Sequence comparisons among dispersed members of the Brassica S multigene family in an S9 genome. *Mol Genet Genomics*. 265(3): 526-34.
 67. Kakizaki T, Takada Y, Ito A, Suzuki G, Shiba H, Takayama S, Isogai A, and Watanabe M. (2003) Linear dominance relationship among four class-II S haplotypes in pollen is determined by the expression of SP11 in Brassica self-incompatibility. *Plant Cell Physiol* 44(1): 70-5.
 68. Kameya, T. and K. Hinata. 1970. Introduction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. *Jpn. J. Breeding* 20:82-87.
 69. Kaminski, P., M. Staniaszak and E. U. Kozik. 2003. Evaluation of genetic diversity and uniformity of head cabbage DH lines by the use of RAPD markers. *J. Appl. Genet.(Poland)* 44(2):157-163.
 70. Kandasamy, M.K. etal. (1989) The S-locus glycoprotive of Brassica accumulate in the cell wall of developing stigma papillae. *Dev Biol* 134, 462-472.
 71. Keller, W. A. and K. C. Armstrong. 1978. High frequency production of microspore-derived plants from *Brassica napus* anther culture. *Z. Pflanzenzücht* 80:100-108.
 72. Keller, W. A. and K. C. Armstrong. 1979. Simulation of embryogenesis and

- haploid production in *Brassica campestris* anther culture by elevated temperature treatments. *Theor. Appl. Genet.* 55:65-67.
73. Keller, W. A., K. C. Armstrong and A. I. de la Roche. 1983. Production and utilization microspore-derived haploids in *Brassica* crops. 163-183, In: S. K. Sen and K. L. Giles(eds.). *Plant cell culture in Crop improvement*. Plenum Publ. Corpn. New York.
74. Kikunmoto, T. 1981. Studies on soft rot disease of Chinese cabbage in Japan. in Chinese cabbage. Proc. 1st. Int'l. Symp : 113-127. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC. Taiwan Roc.
75. Kimura R, Sato K, Fujimoto R, and Nishio T. (2002) Recognition specificity of self-incompatibility maintained after the divergence of *Brassica oleracea* and *Brassica rapa*. *Plant J.* 29(2): 215-23.
76. Kishi-Nishizawa, N., Isogai, A., Watanabe, M., Hinata, K., Yamakawa, S., Shojima, S. and Suzuki, A. (1990) Ultrastructure of papilla cells in *Brassica campestris* revealed by liquid helium rapid-freezing and substitution-fization method. *Plant Cell Physiol* 31: 1207-1219.
77. Kohji Murase, Hiroshi Shiba, Megumi Iwano, Fang-Sik Che, Masao Watanabe, Akira Isogai, and Seiji Takayama (2004) A Membrane-Anchored Protein Kinase Involved in Brassica Self-Incompatibility Signaling. *Science* 303: 1516-1519.
78. Kumar, V. and Trick, M. (1993) Sequence complexity of the S receptor kinase gene family in *Brassica*. *Mol Gen Genet* 241: 440 -446.
79. Kusaba M, Dwyer K, Hendershot J, Vrebalov J, Nasrallah JB, and Nasrallah ME. (2001) Self-incompatibility in the genus *Arabidopsis*: characterization of the S locus in the outcrossing *A. lyrata* and its autogamous relative *A. thaliana*. *Plant Cell* 13(3): 627-43.
80. 김연희, 이수성. 1997. 결구배추와 한국순무의 소포자 배양. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 8(4):368-371.
81. 김해동. 1991. 황색계 양질 배추 품종육성을 위한 기초 연구. 영남대학교 박사학위 논문. 17-44.
82. Lázaro, A. and I. Aguinagalde. 1998. Genetic diversity of *Brassica oleracea* L.(Cruciferae) and wild relatives(2n=18) using RAPD markers. *Ann. Bot.* 82:829-833.
83. 이수성, 김아진. 2000. 배추 소포자 배양에 있어서 배양용기. 식물생장조절제. 광조사 및 회전 진탕이 배의 발생과 생장에 미치는 영향. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.*

- 41(1): 16-20.
84. 이수성, 김종기, 전원(1999). 배추 무름병 저항성 순계 육성. 원예학회 발표요지. 원과지 17(5):653
 85. 이수성, 서호범, 최우진(1999). 배추 순무 모자이크 바이러스 및 무사마귀병 복합 저항성 집단의 순환선발에 의한 개량. 원예학회 발표요지. 원과지 17(5):653
 86. 이수성. 1982. 십자화과 채소의 자가불화합성과 그의 육종적 이용. 농시연보. 24집 부록. 농시연 총설. p460-471
 87. 이수성, 표현구, 윤진영. 1981. 배추 자가불화합성의 분류, 상호작용 및 활력에 관한 연구. 한육지. 22(4): 265-280
 88. 이정명(1988). 생장조절제를 이용한 원예작물의 채종기술 향상에 관한 연구. 농시 논문집. 31: 89-97.
 89. Leung, H. and P. H. Williams. 1983. Cytoplasmic male sterile *Brassica campestris* breeding lines with resistance to clubroot, turnip mosaic, and downy mildew, Hort. Science. 18(5) : 774-775.
 90. Lalonde, B. A., Nasrallah, M. E., Dwyer, K. G., Chen, C.-H., Barlow, B. and Nasrallah, J. B. (1989) A highly conserved *Brassica* gene with homology to the S-locus-specific glycoprotein structural gene. *Plant Cell* 1: 249-258.
 91. Lichter, R. 1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Z. Pflanzen-physiol.* 105:427-434.
 92. Leung, H. and P. H. Williams. 1983. Cytoplasmic male sterile *Brassica campestris* breeding lines with resistance to clubroot, turnip mosaic, and downy mildew, Hort. Science. 18(5) : 774-775.
 93. Lim, S.-H., Cho, H.-J., Lee, S.-J., Cho, Y.-H. and Kim, B.-D. (2002) Identification and classification of S haplotype in *Raphanus sativus* by PCR-RFLP of the S locus glycoprotein(SLG) gene and the S locus receptor kinase(SRK) gene. *Theor Appl Genet* 104: 1253-1262.
 94. Liu D, Zhu LQ, and Wang XJ. (2004) Progress of molecular mechanism of self-incompatibility in Brassica *Yi Chuan* 25(2): 241-4.
 95. Luu, D.-T., Heizmann, P., Dumas, C., Trich, M. and Cappadocia, M. (1997) Involvement of *SLRI* genes in pollen adhesion to the stigmatic surface in Brassicaceae. *Sex Plant Reprod* 100: 227-235.
 96. Luu DT, Hugues S, Passelegue E, and Heizmann P. (2001) Evidence for orthologous S-locus-related I genes in several genera of Brassicaceae. *Mol Gen Genet* 264(6): 735-45.
 97. Mable BK, Schierup MH, and Charlesworth D. (2003) Estimating the number,

- frequency, and dominance of S-alleles in a natural population of *Arabidopsis lyrata*(Brassicaceae) with sporophytic control of self-incompatibility. *Heredity*. 90(6): 422-31.
98. Martine Pastuglia, Ranjan Swarup, Anne Rocher, Patrick Saindrenan, Dominique Roby, Christian Dumas and J. Mark Cock (2002) Comparison of the expression patterns of two small gene families of S gene family receptor kinase genes during the defence response in *Brassica oleracea* and *Arabidopsis thaliana*. *Gene* 282: 215-225.
 99. Matsushita Y, Suzuki T, Kubota R, Mori M, Shimosato H, Watanabe M, Kayano T, Nishio T, and Nyunoya H. (2002) Isolation of a cDNA for a nucleoside diphosphate kinase capable of phosphorylating the kinase domain of the self-incompatibility factor SRK of *Brassica campestris*. *J. Exp Bot.* 53(369): 765-7.
 100. McCubbin A. G. and Kao T.-H. (2000) Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 333-364.
 101. Miege C, Ruffio-Chable V, Schierup MH, Cabrillac D, Dumas C, Gaude T, and Cock JM. (2001) Intrahaplotype polymorphism at the *Brassica* S locus. *Genetics* 159(2): 811-22.
 102. Mikhail E. Nasrallah, Pei Liu, and June B. Nasrallah (2002) Generation of Self-Incompatible *Arabidopsis thaliana* by Transfer of Two S Locus Genes from *A. lyrata*. *Science* 297: 247-249.
 103. Mishima M, Takayama S, Sasaki K, Jee JG, Kojima C, Isogai A, and Shirakawa M. (2003) Structure of the male determinant factor for *Brassica* self-incompatibility. *J. Biol Chem.* 278(38): 36389-95.
 104. Moore HM, and Nasrallah JB. (2002) A *Brassica* Self-Incompatibility Gene Is Expressed in the Stylar Transmitting Tissue of Transgenic Tobacco. *Plant Cell* 2(1): 29-38.
 105. Murase K, Shiba H, Iwano M, Che FS, Watanabe M, Isogai A, and Takayama S. (2004) A membrane-anchored protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *Science*. 303(5663): 1516-9.
 106. Monteiro,A., W.H. Gabelman and P.H> Williams. 1988. Use of sodium chloride to overcome self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Hort. Sci* 23(5): 876-877.
 107. Naiki, T., K. Kageyama, K. Tanahashi, and H. Ikegami, 1981. The relationship between root hair infection and club formation in Chinese cabbage.

- in Chinese cabbage. Proc. 1st. Int'l. Symp : 91-104. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC. Taiwan Roc.
108. Nasrallah M. E., Wallace D. H. (1967) Immunogenetics of self-incompatibility in *Brassica oleracea* L. by isoelectric focusing. *Heredity* 38: 391-396.
 109. Nasrallah, J. B., Kao, T.-H., Goldberg, M. L. and Nasrallah, M. E. (1985) A cDNA clone encoding an S-locus-specific glycoprotein from *Brassica oleracea*. *Nature* 318: 263-267.
 110. Nasrallah, J. B., Kao, T.-H., Chen, C.-H., Goldberg, M. L. and Nasrallah, M. E. (1987) Amino-acid sequence of glycoproteins encoded by three alleles of the S-locus of *Brassica oleracea*. *Nature* 326: 617-619.
 111. Nasrallah, J. B., Yu, S.-M. and Nasrallah, M. E. (1988) Self-incompatibility genes of *Brassica oleracea* : expression, isolation and structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 5551-5555.
 112. Nasrallah, J. B. (1997) Evolution of the *Brassica* self-incompatibility locus - a look into S-locus gene polymorphisms. *Proc. Natl Acad Sci USA* 94: 9516-9519.
 113. Nasrallah J. B. (2002) Recognition and rejection of self in plant reproduction. *Science*. 296(5566): 305-8.
 114. Nettancourt, de, D. (1997) Incompatibility in angiosperms. *Sex Plant Reprod* 10: 185-199.
 115. Nikura, S. and Mastuura, S. (2001) Genetic variation of the self-incompatibility alleles (S-alleles) in the cultivated Radish(*Raphanus sativus* L.) by the PCR-RFLP. *Acta Hort* 546: 359-365.
 116. Nishio, T. and Hinata, K. (1977) Analysis of S-specific proteins in stigmas of *Brassica oleracea* L. by isoelectric focusing. *Heredity* 38: 391-396.
 117. Nishio, T. and Hinata, K. (1980) Rapid detection of S-glycoproteins of self-incompatible crucifers using Con-A-reaction. *Euphytica* 29: 217-221.
 118. Nishio, T., K. Sakamoto, and J. Yamaguchi. (1994) PCR-RFLP of S locus for identification of breeding lines in cruciferous vegetables. *Plant Cell Rep* 13, 546-550.
 119. Nou, I. S., Watanabe, M., Isogai, A., Shiozawa, H., Suzuki, A. and Hinata, K. (1991) Variation of S-alleles and S-glycoproteins in a naturalized population of self-incompatible *Brassica campestris* L. *Japan J Genet* 66: 227-239.
 120. Nou, I. S., Watanabe, M., Isuzugawa, K., Isogai, A. and Hinata, K. (1993a) Isolation of S-alleles from a wild population of *Brassica campestris* L. at

- Balccsme, Turkey and their characterization by S-glycoproteins. *Sex Plant Reprod* 6: 71-78.
121. Nou, I. S., Watanabe, M., Isogai, A. and Hinata, K. (1993b) Comparison of S-alleles and S-glycoproteins between two wild populations of *Brassica campestris* in Turkey and Japan. *Sex Plant Reprod* 6: 79-86.
122. Niu, X., H. Heung and P. H. Williams, 1983. Sources and nature of resistance to downy mildew and turnip mosaic virus in Chinese cabbage. *J. Amer. Soc. Hort. Science*. 108 : 775-778
123. Okamoto, S., Sato, Y., Sakamoto, K. and Nishio, T. (2003) Distribution of similar self-incompatibility (S) haplotypes in different genera, *Raphanus* and *Brassica*. *Sex Plant Reprod* 17: 33-39.
124. Okazaki, K. and Hinata, K. (1984) Analysis of S-alleles and S-glycoproteins in F₁-hybrid varieties of Japanese radish(*Raphanus sativus* L.). *Japan J Breed* 34: 237-245.
125. Otani, F., S. Maruyama, E. Matsumoto, Y, Nagase, and M, Serizawa. 1981. Studies on the breeding of clubrot resistance in Chinese cabbage and Chinese mustard. (I) Inheritance on the resistance and Characters of resistant sources for clubroot-resistance. *Bull. Nagano Veg. & Ornam Crops Exp. Sta, Japan*. 1 : 2-8 (in Japanese with English summary)
126. Otani, F., S. Maruyama, M, Tsukada, and Y, Nagase, 1982. Studies on the breeding of clubrot resistance in Chinese cabbage and Chinese mustard.(II) Process of breeding the clubroot resistant line of Nozauana, a variety of Chinese mustard, and its characteristics. *Bull. Nagano Veg. & Ornam. Crops Exp. Sta, Japan*. 1 : 2-8 (in Japanese with English summary)
127. Park, H. K. and Y. J. Hyun. 1981. A simple breeding system for developing Chinese cabbage hybrid cultivars. Chinese cabbage. *AVRDC publication*. 359-364.
128. Provvidenti, R. 1980. Evaluation of Chinese cabbage cultivars from Japan and the people's Republic of China for resistance to turnip mosaic virus and cauliflower mosaic virus. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*. 105(4) : 571-573.
129. Provvidenti, R. 1981. Sources of resistance to turnip mosaic virus in Chinese cabbage. in Chinese cabbage, Proc, 1st, Int'l. Symp. 423-429, eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC, Taiwan, ROC.
130. Rabbani, M. A., A. Iwabuchi, Y. Murakami, R. Suzyki and K. Takayanagi. 1998. Genetic diversity in mustard(*Brassica juncea* L.) germplasm from Pakistan

- as determined by RAPDs. *Euphytica* 103:235-242.
131. Ren, J. P., J. R. McFerson, R. Li, S. Kresovich and W. F. Lamboy. 1995. Identities and relationships among Chinese vegetable brassicas as determined by random amplified polymorphic DNA markers. *J. Amer. Soc. Horti. Sci.* 120(3):548-555.
 132. Roberts IN, Stead AD, Dckendon DJ, Dickinson HG. (1979) A glycoprotein associated with the acquisition of the self-incompatibility system by maturing stigmas of *Brassica oleracea* L. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 8816-8820.
 133. Roger W. and R. Gemmill. 1997. Purifying and analyzing genomic DNA. In: Birren, B., E.D. Green, S. Klapholz, R.M. Myers, and J. Rsokams(eds.). Genome analysis. Vol. 1. CSH Press, Cold Spring Harber, New York. pp.24-25.
 134. Rudolf, K., B. Bohanec and M. Hansen. 1999. Microspore culture of white cabbage, *Brassica oleracea* var. *capitata* L.: Genetic improvement of non-responsive cultivars and effect of genome doubling agents. *Plant Breeding* 118:237-241.
 135. Sakamoto, K., Kusaba, M. and Nishio, T. (1998) Polymorphism of the *S*-locus glycoprotein gene(*SLG*) and the *S*-locus related gene(*SLR*) in *Raphanus sativus* L. and self-incompatible ornamental plants in the Brassicaceae. *Mol. Gen. Genet.* 258: 397-403.
 136. Sakamoto, K. and Nishio T. (2001) Distribution of *S* haplotypes in commercial cultivars of *Brassica rapa*. *Plant Breeding* 120, 155-161.
 137. Sako, N. 1981. Virus disease of Chinese cabbage in Japan. in Chinese cabbage. Proc. 1st. Int'l. Symp. 192-141. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC, Taiwan. Roc.
 138. Sato K, Nishio T, Kimura R, Kusaba M, Suzuki T, Hatakeyama K, Ockendon DJ, and Satta Y. (2002) Coevolution of the *S*-locus genes *SRK*, *SLG* and *SP11/SCR* in *Brassica oleracea* and *B. rapa*. *Genetics* 162(2): 931-40.
 139. Sato Y, Okamoto S, and Nishio T. (2004) Diversification and alteration of recognition specificity of the pollen ligand *SP11/SCR* in self-incompatibility of *Brassica* and *Raphanus*. *Plant Cell* 16(12): 3230-41.
 140. Schierup MH, Mable BK, Awadalla P, and Charlesworth D. (2001) Identification and characterization of a polymorphic receptor kinase gene linked to the self-incompatibility locus of *Arabidopsis lyrata*. *Genetics* 158(1):387-99.
 141. Schopfer CR, Nasrallah ME, Nasrallah JB. (1999) The male determinant of self-incompatibility in *Brassica*. *Science*. 26:286(5445):1697-700.

142. Shiba H, Takayama S, Iwano M, Shimosato H, Funato M, Nakagawa T, Che FS, Suzuki G, Watanabe M, Hinata K, and Isogai A. (2001) A pollen coat protein, SP11/SCR, determines the pollen S-specificity in the self-incompatibility of Brassica species. *Plant Physiol* 125(4): 2095-103.
143. Shiba H, Iwano M, Entani T, Ishimoto K, Shimosato H, Che FS, Satta Y, Ito A, Takada Y, Watanabe M, Isogai A, and Takayama S. (2002) The dominance of alleles controlling self-incompatibility in Brassica pollen is regulated at the RNA level. *Plant Cell*. 14(2): 491-504.
144. Shiba H, Kenmochi M, Sugihara M, Iwano M, Kawasaki S, Suzuki G, Watanabe M, Isogai A, and Takayama S. (2003) Genomic organization of the S-locus region of Brassica. *Biosci Biotechnol Biochem* 67(3): 622-6.
145. Shiba H, Park JI, Suzuki G, Matsushita M, Nou IS, Isogai A, Takayama S, and Watanabe M. (2004) Duplicated SP11 genes produce alternative transcripts in the S15 haplotype of Brassica oleracea. *Genes Genet Syst* 79(2): 87-93.
146. Silva NF, Stone SL, Christie LN, Sulaman W, Nazarian KA, Burnett LA, Arnoldo MA, Rothstein SJ, and Goring DR. (2001) Expression of the S receptor kinase in self-compatible Brassica napus cv. Westar leads to the allele-specific rejection of self-incompatible Brassica napus pollen. *Mol Genet Genomics* 265(3): 552-9.
147. Stein, J. C., Howlett, B., Boyes, D. C., Nasrallah, M. E. and Nasrallah, J. B. (1991) Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea*. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 8816-8820.
148. Stein, J. C., Nasrallah, J. B. (1993) A Plant receptor-like gene, the S-locus receptor kinase of *Brassica oleracea* L., encodes a functional serine/threonine kinase. *Plant Physiol* 101: 1103-1106.
149. Stein, J. C., Dixit, R., Nasrallah, M. E. and Nasrallah, J. B. (1996) SRK, the stigma-specific S locus receptor kinase of *Brassica*, is targeted to the plasma membrane in transgenic tobacco. *Plant Cell* 8: 429-445
150. Stephenson, A.G., Doughty, J., Dixon, S., Elleman, C., Hiscock, S and Dickinson, H.G. (1997) The male determinant of self-incompatibility in *Brassica oleracea* is located in the pollen coating. *Plant J* 12, 1351-1359
151. Suh, S. K., S. K. Green and H. G. Park. 1995. Genetics of resistance to five strains of turnip mosaic virus in Chinese cabbage. *Euphytica* 81 : 71-77
152. Suzuki, G., Watanabe, M., Toriyama, K., Isogai, A. and Hinata, K. (1995)

- Molecular cloning of members of the *S*-multigene family in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Plant Cell Physiol* 36: 1273–1280.
153. Suzuki, G., Kai, N., Hirose, T., Fukui, K., Nishio, T., Takayama, S., Isogai, A., Watanabe, M. and Hinata, K. (1999) Genomic organization of the *S* locus: identification and characterization of genes in *SLG. SRK* region of the *S*⁹ haplotype of *Brassica campestris* (syn. *rapa*). *Genetics* 153, 391–400
 154. Suzuki, G., Watanabe, M., Kai, N., Matsuda, N., Takayama, S., Isogai, A. and Hinata, K. (1997b) Three repeated members of the *S*-multigene family are linked to the *S*-locus in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Mol Gen Genet* 26: 257–265
 155. Suzuki G, Kakizaki T, Takada Y, Shiba H, Takayama S, Isogai A, and Watanabe M. (2003) The *S* haplotypes lacking *SLG* in the genome of *Brassica rapa*. *Plant Cell Rep.* 21(9): 911–5.
 156. Takada Y, Ito A, Ninomiya C, Kakizaki T, Takahata Y, Suzuki G, Hatakeyama K, Hinata K, Shiba H, Takayama S, Isogai A, and Watanabe M. (2001) Characterization of expressed genes in the *SLL2* region of self-compatible *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res.* 8(5): 215–9.
 157. Takasaki T, Hatakeyama K, Suzuki G, Watanabe M, Isogai A, Hinata K. (2000) The *S* receptor kinase determines self-incompatibility in *Brassica stigma*. *Nature.* 24;403(6772):913–6.
 158. Takayama S, Shiba H, Iwano M, Shimosato H, Che FS, Kai N, Watanabe M, Suzuki G, Hinata K, Isogai A. (2000) The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97(4):1920–5.
 159. Takayama S, Shimosato H, Shiba H, Funato M, Che FS, Watanabe M, and Iwano M, Isogai A. (2001) Direct ligand–receptor complex interaction controls *Brassica* self-incompatibility. *Nature* 13(6855): 534–8.
 160. Takayama, S., Isogai, A., Tsukamoto, C., Ueda, Y., Hinata, K., Okazaki, K. and Suzuki, A. (1987) Sequences of *S*-glycoproteins, products of the *Brassica campestris* self-incompatibility locus. *Nature* 326: 102–104.
 161. Takayama S, and Isogai A. (2003) Molecular mechanism of self-recognition in *Brassica* self-incompatibility. *J. Exp Bot.* 54(380): 149–56.
 162. Takebayashi N, Brewer PB, Newbigin E, and Uyenoyama MK. (2003) Patterns of variation within self-incompatibility loci. *Mol Biol Evol.* 20(11): 1778–94.

163. Tantikanjana, T., Nasrallah, M. E., Stein, J. C., Chen, C.-H. and Nasrallah, J. B. (1993) An alternative transcript of the *S*-locus glycoprotein gene in a class II pollen-recessive self-incompatibility haplotype of *Brassica oleracea* encodes a membrane-anchored protein. *Plant Cell* 5: 657-666.
164. Tantikanjana, T., Nasrallah, M. E. and Nasrallah, J. B. (1996) The *Brassica S* gene family molecular characterization of the *SLR2* gene. *Sex Plant Reprod* 9: 107-116.
165. Thierry Gaude and Didier Cabrillac (2001) Self-incompatibility in flowering plants: The Brassica model. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 324: 537-542.
166. Thompson, K. F. and Taylor, J. P. (1996) Non-linear dominant relationship between *S* alleles. *Heredity* 21: 345-362.
167. Trich, M. and Flavell, R. B. (1989) A homologous *S* genotype of *Brassica oleracea* expresses two *S*-like genes. *Mol Gen Genet* 218: 112-117.
168. Uyenoyama, M. K. (1995) A general least-squares estimate for the origin of sporophytic self-incompatibility. *Genetics* 139: 975-992.
169. Vanoosthuyse V, Miege C, Dumas C, and Cock JM (2001) Two large Arabidopsis thaliana gene families are homologous to the Brassica gene superfamily that encodes pollen coat proteins and the male component of the self-incompatibility response. *Plant Mol Biol.* 46(1): 17-34.
170. Vanoosthuyse V, Tichtinsky G, Dumas C, Gaude T, and Cock JM. (2003) Interaction of calmodulin, a sorting nexin and kinase-associated protein phosphatase with the Brassica oleracea *S* locus receptor kinase. *Plant Physiol* 133(2): 919-29.
171. Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijmans, T. Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP, a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
172. Walker, J. C. and Zhang, R. (1990) Relationship of a putative receptor protein kinase from maize to the *S*-locus glycoproteins of *Brassica*. *Nature* 345: 743-746
173. Wang, M., M. W. Farnham and J. S. P. Nannes. 1999. Ploidy of broccoli regenerated from microspore culture versus anther culture. *Plant Breeding* 118:249-252.
174. Watanabe, M., Nou, I. S., Takayama, S., Yamakawa, S., Isogai, A., Suzuki, A., Takeuchi, T. and Hinata, K. (1992) Variations in and inheritance of

- NS-glycoprotein in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Plant Cell Physiol* 33: 343-351.
175. Watanabe, M., Takasaki, T., Toriyama, K., Yamakawa, S., Isogai, A., Suzuki, A. and Hinata, K. (1994) A high degree of homology exists between the protein encoded by *SLG* and the *S* receptor domain encoded by *SRK* in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Plant Cell Physiol* 35: 1221-1229.
176. Watanabe, M., Suzuki, G., Shiba, H., Takayama, S., Isogai, A. and Hinata, K. (1998) Sequence comparison of four *SLR1* alleles in *Brassica campestris*(syn. *B. rapa*). *Sex Plant Reprod* 11: 295-296.
177. Watanabe M, Hatakeyama K, Takada Y, and Hinata K. (2001) Molecular aspects of self-incompatibility in Brassica species. *Plant Cell Physiol* 42(6): 560-5.
178. Wenzel, G., F. Hoffmann and E. Thomas. 1977. Anther culture as a breeding tool in rape: I. Ploidy level and phenotype of androgenic plants. *Z. Pflanzenzücht* 78:149-155.
179. Williams, P. H. and H. Leung, 1981. Methods of breeding for multiple resistance Chinese cabbage. in Chinese cabbage, Proc, 1st, Int'l. Symp. 393-403. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC, Taiwan. Roc.
180. Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
181. Yamakawa, S., Watanabe, M., Isogai, A., Takayama, S., Satoh, S., Hinata, K. and Suzuki, A. (1993) The cDNA sequence of NS³-glycoprotein from *Brassica campestris* and its homology to related proteins. *Cell Physiol* 34: 173-175.
182. Yoon, J. Y. et al. 1988. Salt spray and CO₂ treatment for temporary breakdown of self-incompatibility. AVRDC Progress Rep.(Chinese cabbage).
183. Yoon, J. Y., S. K. Green and R. T. Opena. 1993. Inheritance of resistance to turnip mosaic virus in Chinese cabbage. *Euphytica* 69 : 103-108.
184. 윤무경, 김정수, 한중술, 강화정, 윤진영, 1987b. 순무모자이크 바이러스(TuMV)에 저항성인 배추계통 "원예 20028~20032". *한육지* 29(4) : 508.
185. 윤무경, 김정수, 한중술, 강화정, 1995. 배추 내병·내서 품종 육성, 시험연구보고서. 110-135, 원예연구소, 농촌진흥청.
186. 윤무경, 우종규, 윤진영, 김정수, 강화정, 한중술, 1996. 배추순무모자이크 바이러스병 (TuMV) 저항성 계통 육성, *한육지* 28(4) : 485.
187. 윤무경, 강화정, 김정수, 우종규, 한중술, 윤진영, 1997a. 순무모자이크 바이러스

- (TuMV)에 저항성인 배추계통 “원예 20020~20027”. 한육지 29(4) : 508.
188. Yoshikawa, H., M. Ashizawa and K. Hida. 1980. Studies on the breeding of clubroot resistance in crucifer crops. (In Japanese). Annu. Rep. Plant Breed. Section, Veg. Ornamental Crop. Res. Stn. 7:115-138
189. Yoshikawa, H. 1981. Breeding for clubroot resistance in Chinese cabbage. in Chinese cabbage, Proc, 1st, Int'l. Symp. 405-413. eds. N. S. Talekar and T. D. Griggs. AVRDC, Taiwan, ROC.
190. Yuan, M., Y. Zhou and D. Liu. 2004. Genetic diversity among populations and breeding lines from recurrent selection in *Brassica napus* as revealed by RAPD markers. *Plant Breeding* 123:9-12.
191. Zhao, J. and D. H. Simmonds. 1995. Application of trifluralin to embryogenic microspore cultures to generate doubled haploid plants in *Brassica napus*. *Physiol. Plant.* 95:304-309.

별 침

별첨 1. 중국 농작물 우량품종중 배추품종에 관한 정보

① 예백채6호 : 원래명칭 정백4호(豫白菜6號, 원명 : 鄭白4號)

- 육성기관 : 하남성정주시채소연구소(河南省鄭州市菜蔬研究所)
- 1995년 하남성농작물품종심의위원회(河南省農作物品種審定委員會) 심사,
1996년 허북성(河北省)농작물품종심의위원회 인정,
1999년 전국농작물품종심의위원회 심사
- 품종심사결정번호 : 국심채(國審菜)990001
- 품종육성 기원 : 안15-8(자가불화합성친)×석4-3(安15-8(自家不和合性親)×石4-3)
- 품종 특성
 - 단구이며 포피형인 중생종의 결구배추 1대교잡종
 - 식물체 초장 42cm정도, 식물체 폭 84cm정도, 외엽은 담녹색, 엽면에 털은 적음
 - 결구형태는 포피형, 결구정단부는 평편하고
 - 엽구는 황백색, 엽구높이 28cm정도, 구경 26cm정도, 구형지수 1.1로 거의 원형임
 - 구 평균 중량은 4.7-5.6kg, 정채율(淨菜率: 순수 채소율) 76.17%
 - 총당함량은 2.5%, 비타민C 13.4mg/100g, 단백질 1.27%, 섬유질 0.57%
 - 종자색은 갈색과 황색이 반반이며, 원형, 천립중 2.15g,
 - 바이러스, 노균병, 무름병에 저항성, 내한성에 약함
 - 1992년 하남성(河南省) 지역시험 성적에 따르면 1묘당(1묘='1무'=6.67a, 200평) 생산량은 8392kg, 대조품종 예백채1호(豫白菜1號, CK1)에 비해 21% 증산, 풍항70(豐抗, CK2)에 비해 15.2% 증산 등 현저한 생산량 증가를 보임
 - 1993년 하남성지역시험 성적에 따르면 1묘당(6.67a) 생산량은 8640kg, 대조품종 예백채1호(豫白菜1號, CK1)에 비해 15% 증산, 풍항70(豐抗, CK2)에 비해 11.87% 증산 등 현저한 생산량 증가를 보임
 - 1993년 하남성생산시험 성적에 따르면 1묘당(6.67a) 생산량은 9210kg, 대조품종 예백채1호(豫白菜1號, CK1)에 비해 18.79% 증산됨
 - 1994년 하남성생산시험 성적에 따르면 1묘당(6.67a) 생산량은 7176kg, 대조품종 예백채1호(豫白菜1號, CK1)에 비해 11.35% 증산됨
- 재배경과 요약
 - 파종전 양질의 농가퇴비 2000kg 살포, 이랑에 복합비료 25kg 시비, 높은 이랑에 직파, 묘당(6.67a) 소요 종자량은 100g

- 3엽기때 묘를 솟아주고, 5엽기때 정식으로 재배할 식물체를 선정, 생육중기 지면은 다소 건조하게, 생육후기 즉 결구초기 지면은 다소 습윤하게 관리함
- 전, 중, 후기 세 번에 나누어 관수시 묘당(6.67a) 요소 10-20kg 또는 인분뇨 500-1000kg을 준비함
- 병충해 방지에 유의할 것
- 개화기에 1-2% 농도의 소금물을 분무하고 하우스 1동당 2상자 정도의 벌을 방사할 경우 결실율이 증가함
- 교잡종은 작은 식물체를 월동시키거나 다음해 춘파재배하여 종자를 얻으며, 양친 비율을 1:1로 하여 종자를 혼합 수확함
- 재배적용지역 : 하남(河南), 하북(河北) 및 이에 상응하는 재배지역에서 가을재배함

② 진백3호 (秦白3號)

- 육성기관 : 섬서성(陝西省)채소화훼연구소
- 1995년 섬서성농작물품종심의위원회 심사, 1998년 전국농작물품종심의위원회심사
- 품종등록(등재)번호 : 국심채(國審菜)980003
- 품종육성 기원 : 88-209×88-143
- 품종 특성
 - 식물체 초장은 63cm 정도, 식물체 폭은 54cm 정도의 긴원통형
 - 외엽색은 짙은 녹색, 구의 엽색은 황녹색이며 중륵은 백색.
 - 식물체 평균 중량은 5-7kg, 정채율(淨菜率) 80%정도, 묘당(6.67a) 생산량은 8000-9000kg
 - 만생중에 속하며 생육일수는 90일 정도
 - 비교적 바이러스병, 노균병에 강하고, 동시에 흑반병, 갈반병, 흑경병(줄기나 뿌리가 갈색이나 검게 변하는 병)에 강하며 저장과 수송성이 용이함
- 재배경과 요약
 - 섬서 관동 동부지역 파종기는 8월 8일-12일 사이, 서부는 8월 5일-10일 사이, 상림(橡林)지역은 7월 20일, 연안(延安)지역은 7월 25일 정도임
 - 일반적으로 높은 이랑에 1열 직파재배를 하며, 이랑높이는 20cm 정도, 폭은 30cm정도, 이랑간 거리는 60cm 정도, 근교지역에서는 평지에 2열 재배를 하기도 함
 - 일반적으로 발아후 15일정도에 이식하는데 이때 묘에 원래의 흙을 붙여 정식함

- 재배적응지역
 - 전국 배추재배지역에는 어디든 재배가 가능함
 - 묘(6.67a)당 파종량은 150g, 점파의 경우는 100g 정도가 소요됨
 - 비옥도가 높은 밭은 묘당 2000-2200주 정도 재식함
 - 비료와 수분 요구도가 비교적 높아 기비를 충분히 시비하고, 유묘기, 결구초기, 결구기에 추비를 줌과 동시에 병해충 방제를 실시함

③ 중백1호 (中白1號)

- 육종단위 : 중국농업과학원채소화훼연구소
- 1993년 북경시 농작물품종심의위원회 심사, 1996년 青海省농작물품종심의위원회 심사, 1998년 전국농작물품종심의위원회 심사
- 품종등록(등재)번호 : 국심채(國審菜)980004
- 품종육성 기원 : 8201001×8202911
- 품종 특성
 - 식물체 초장은 38cm 정도, 폭은 65cm-60cm
 - 엽구는 포피형이고, 외엽은 짙은녹색, 엽병은 담녹색, 짧은 원통형으로 구형지수는 1.45, 평균 구 중량은 4.0kg이상, 정채율(淨菜率)은 87%임
 - 생장세가 왕성하며, 전기생육속도가 빠르고, 결구가 빠르며, 품질이 좋고 식미가 좋은 풍산성임
 - 중만생종 배추에 속하는 품종으로 생육일수는 75일 정도임
 - 바이러스병에 비교적 강하고, 저장성이 좋음
- 재배경과 요약
 - 북경지역은 8월 10일정도에 파종하고, 중생종재배의 경우는 적어도 8월 1일전에는 파종해야 함
 - 재식밀도는 일반적으로 2200주/묘(6.67a) 정도, 행간거리는 60cm, 주간거리 50cm
 - 입동전에 수확
 - 기비를 증시하고, 추비를 앞당겨 시비함
 - 채종할 경우 모본과 부본을 같은 시기에 파종하고 정식함
- 재배적응지역: 북경, 하북, 산서(山西), 섬서(陝西) 등의 화북(華北) 및 서북(西北) 지역

④ 중백4호 (中白4號)

- 육성기관 : 중국농업과학원 채소화훼연구소
- 1991년 북경농작물품종심의위원회심사, 1994년 하북성농작물품종심의위원회인정, 1995년 전국농작물품종심의위원회 심사
- 품종등록(등재)번호 : GS09001-1994
- 품종육성 기원 : 8201013×8214019
- 품종 특성
 - 식물체 생장세가 강하고, 균일성이 있음
 - 식물체 초장은 48cm 정도, 폭은 70cm 정도
 - 엽구는 포피형으로 엽구 밀도가 긴밀하며 전체 모양은 원형임
 - 구 높이는 40cm 정도, 직경은 28cm 정도, 구형지수는 1.4
 - 외엽은 짙은 녹색, 엽병은 녹색
 - 정채율(淨菜率) 84% 정도, 엽구 함유율은 93% 정도
 - 가용성당함량은 3.18%, 섬유질은 0.72%, 비타민C 함량은 23.2mg/100g(생체중)
 - 중만생종 품종에 속하며, 수량성이 높고, 품질이 좋으며 내병성이 비교적 강함
 - 1989-1991년 북경시 품종시험결과 3년 평균 묘(6.67a)당 생산량은 각각 8603, 7788, 6320kg이고, 모두 대조품종 북경106에 비해 각각 21.2%, 3.6%, 1.4%가 증산됨
- 재배경과 요약
 - 입추에 파종, 주간×行间거리는 50×60cm, 입동전 수확함
 - 기비와 조기 추비 살포에 주의함
- 재배적응지역 : 북경, 하북(河北) 및 그와 유사한 환경의 재배지역

⑤ 북경75 (北京75)

- 육성기관 : 북경시 농림과학원 채소연구센터
- 1991년 북경시농작물품종심의위원회 심사, 1995년 전국농작물품종심의위원회 심사
- 품종등록(등재)번호 : GS09002-1994
- 품종육성 기원 : 782181×하2(夏2)
- 품종 특성
 - 식물체 초장은 50cm 정도, 엽 개장시 폭은 75-80cm 정도, 외엽은 10개 정도
 - 엽구는 중간길이의 원통형에 속하는 포피형

- 중만생종, 생육일수는 86일 정도
- 품질이 비교적 양호, 수량성이 높으며, 바이러스병에 저항성임
- 1990-1991년 전국배추지역시험 결과 묘(6.67a)당 평균 생산량은 5542kg으로 대조 품종에 비해 14.4% 증산됨
- 재배경과 요약 : 주간×행간 거리는 40cm×60cm, 파종기는 너무 빠르지 않는 것이 좋음
- 재배적응지역 : 북경, 제남(濟南), 서안(西安) 및 그와 유사한 환경의 재배지역

⑥ 북경80 (北京80)

- 육성기관 : 북경시농림과학원 채소연구센터
- 심사결정 현황
 - 1991년 북경시농작물품종심의위원회 심사, 1995년 전국농작물품종심의위원회심사
- 품종등록(등재)번호 : GS09003-1994
- 품종육성 기원 : 782182×옥청(玉靑)
- 품종 특성
 - 식물체는 직립형, 초장 62.7cm, 엽전개시 폭 70.3cm, 엽구밀도가 긴밀한 포피형
 - 엽색은 진하고, 외엽은 11개 정도임
 - 중생종으로 수량성이 많고 품질이 비교적 양호하며 병해충에 강함
 - 저장 물량의 시장 제공전 대체품종 또는 만파(晩播) 저장품종으로 이용 가능함
 - 1990-1991년 전국 배추 중만생종 지역시험 결과에 의하면 묘(6.67a)당 평균 생산량은 7340.6kg으로 대조품종에 비해 6.3% 증산됨
- 재배경과 요약 : 주간×행간 거리는 43cm×56cm, 토양 비옥도 요구정도가 높음
- 재배적응지역 : 북경, 석가장(石家莊), 포두(包頭) 및 이와 유사한 환경의 재배지역

⑦ 진백2호 (秦白2號)

- 육성기관 : 섬서성(陝西省)채소연구소
- 1990년 섬서성농작물품종심의위원회 심사, 1994년 전국농작물품종심의위원회심사
- 품종등록(등재)번호 : GS09003-1993
- 품종육성 기원 : 88-53×86-4
- 품종 특성
 - 식물체가 치밀하고, 초장은 45cm, 폭은 55cm, 엽구는 포피형, 결구가 긴밀함

- 외엽은 밝은 녹색, 아랫부분의 엽은 녹색, 엽구는 백색
- 결속이 빠르고, 구 형성율이 높으며, 엽구는 거꿀달걀형으로 구형지수는 1.2, 엽구의 엽수는 평균 38.5개, 구당 평균 중량은 2.5-3.5kg, 정채율(淨菜率)은 75% 정도
- 섬유질이 적어 요리시 쉽게 물러지므로 생식용으로 적합함
- 동계 저장이 가능하며 저장기간동안 배추 겉대가 떨어지지 않아 품질이 양호함
- 생육일수는 70일 정도, 일반적으로 묘(6.67a)당 생산량은 7000kg 정도
- 바이러스병, 노균병, 흑부병(黑腐病)에 강함
- 1990-1991년 전국 배추지역시험대회 결과에 의하면 2년간 평균 묘(6.67a)당 생산량이 최고이며, 대조품종 소잡65호(小雜65號)에 비해 7.6% 증산됨
- 재배경과 요약
 - 조기 파종시 생식용으로, 만파시에는 동계저장용
 - 일반적으로 높은 이랑 한줄 직파재배 또는 두줄재배를 함
 - 조파시 묘(6.67a)당 파종량은 150g, 점파시는 100g
 - 비료와 관수조건이 좋은 토지에서는 2200주/묘(6.67a)를 남기고, 비옥도가 다소 적은 곳은 2500주/묘(6.67a)를 남김
- 재배적용지역 : 섬서(陝西), 광서(廣西), 호북(湖北) 등 포피형 배추품종 재배지역

⑧ 로백8호 (魯白8號)

- 육성기관 : 산둥성래주시서유종자회사(山東省萊州市西由種子公司)
- 1989년 산둥성 농작물품종심의위원회심사, 1992년 전국농작물품종심의위원회심사
- 품종등록(등재)번호 : GS09004-1991
- 품종육성 기원 : 관291×석특79-3-10-1-3-10-2 (冠291×石特79-3-10-1-3-10-2)
- 품종 특성
 - 초장 40-45cm, 개장시 폭은 65cm 정도, 포피형으로 엽구는 거꿀원추형, 구 중심은 단혀있고, 구 중량은 6-9kg
 - 외엽은 비교적 작고, 엽색은 황록색, 엽면은 요철이 있고, 엽병은 백색, 겉대는 작고 얇음
 - 생육일수는 70-75일 정도의 중생종
 - 바이러스병에 강하고, 연부병과 노균병에도 다소 강함
 - 수량성이 좋고, 묘(6.67a)당 평균 생산량은 5000-6000kg, 고산지대는 6000kg이상임

- 1987-1988년 산둥성 배추지역시험결과 묘(6.67a)당 생산량은 5540.49kg으로 대조품종 청잡중풍(靑雜中豐)에 비해 25.16% 증산됨
- 재배경과 요약
 - 화북지역은 7월말에서 8월초 파종하여 국경절(중국국가 창설일, 10월 1일)을 전후하여 시장에 나감
 - 8월 10일-20일 파종의 경우 소설(小雪)전에 수확하여 저장함
 - 평균 2000-2200주/묘(6.67a) 재식
 - 묘(6.67a)당 퇴비는 5000kg, 복합비료 20kg을 파종전 한번 시비, 이후 2회 정도에 나누어 요소 30-50kg을 추비
 - 생육후기에는 관수하여 배추 속의 결속을 촉진시킴
- 재배적응지역: 산둥, 하남(河南), 섬서(陝西), 절강(浙江) 등 이와 유사한 환경의 재배지역

⑨ 북경신1호 (北京新1號)

- 육성기관 : 북경시농림과학원 채소연구센터
- 1998년 북경시농작물품종심의위원회 심사, 1991년 전국농작물품종심의위원회심사
- 품종등록(등재)번호 : GS09006-1990
- 품종육성 기원 : 2039-5×782181
- 품종 특성
 - 포피형으로 초장은 40-50cm, 개장시 폭은 60cm 정도
 - 엽색은 짙은 녹색, 결구가 단단하고 치밀하며 구형지수는 2.1
 - 만생종인 교잡종으로 생육일수는 85-90일
 - 수량성이 좋고, 병충해에 강하며, 적응성이 양호함
- 재배경과 요약
 - 북경지역은 입추 전후에 파종, 10월하순-11월상순에 수확
 - 주간×행간거리는 47cm×57cm
- 재배적응지역 : 북경, 하북(河北), 신장(新疆) 등

⑩ 북경소잡56 (北京小雜56)

- 육성기관 : 북경시농림과학원 채소연구센터
- 1998년 북경시, 산둥성 농작물품종심의위원회 심사, 산둥성 농작물품종심의위원회

인정, 1991년 전국농작물품종심의위원회 심사

- 품종등록(등재)번호 : 09007-1990
- 품종육성 기원: 유쌍1(쌍소)와 269(대백구) [由双1(双小)와 269(大白口)]의 정반(正反)교배
- 품종 특성
 - 북경에서 봄, 가을 2계절 재배가 가능
 - 봄파종은 3월중순에 육묘하여 4월중순 하우스내 재배, 5월하순 수확, 3월말-4월 초 비닐터널에 직파하여 성숙시 수확도 가능함
 - 가을파종의 경우 7월하순-8월초순 파종하여 9월 하순 수확, 주간×행간거리는 50cm× 40cm가 적당함
 - 생장이 빠르며, 특히 병충해 방제에 유의함
 - 십자화과채소 연작 또는 근처에 이들 종류가 재식된곳은 피함
- 재배적응지역 : 북경, 천진, 요령, 하북, 산둥, 운남, 복건 등 조생품종 재배지역

⑪ 왜잡1호 (矮雜1號)

- 육성기관 : 남경농업대학
- 품종육성 기원 : 왜각황×단백경 (矮脚黃×短白梗)
- 소백채(小白菜 : 박초이) 품종에 속함
- 품질우수, 생장이 빠르며, 병해 저항성이 강하고 20세기 80년대(1980년대) 사천, 섬서, 호북 등 20여개 성, 시에서 재식
- 1994년 강소성(江蘇省)농작물품종심사결정위원회 인정
1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09011-1989

⑫ 하두조 (河頭早)

- 육성기관 : 요령성농업과학원 원예연구소
- 자연교잡종 하두천(河頭천)중에서 선발육성
- 품질이 비교적 좋고 적응성이 높아 척박한 토양의 적응성이 우수함
- 1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09011-1984

⑬ 성청2호 (城靑2號)

- 육성기관 : 절강성농업과학원 원예연구소
- 품종육성 기원 : 성양청×소청구 (城陽靑×小靑口)
- 품질우수, 수량성이 좋고, 지역 적응성이 우수한 만생종이며 병해에 비교적 강함
- 1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09002-1984

⑭ 산동4호 (山東4號)

- 육성기관 : 산동성농업과학원 채소연구소
- 품종육성 기원 : 관291×위75-66 (冠291×衛75-66)
- 수량성이 높고, 품질 우수, 지역적응성이 좋아 20세기 80년대(1980년대) 전국 20여개 성과 시에서 재배함
- 1982년 산동성농작물품종심의위원회 인정, 1984년 섬서성농작물품종심의위원회 인정, 1990년 전국농작물품종심의 위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09003-1984

⑮ 산동5호 (山東5號)

- 육성기관 : 산동성농업과학원 채소연구소
- 품종육성 기원 : 복75-137×제소76-313 (福75-137×濟小76-313)
- 수량성이 높고, 만생종이며, 병해 저항성은 다소 약함
- 1982년 산동성농작물품종심의위원회 인정, 1990년 전국농작물품종심의위원회인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09004-1984

⑯ 로백1호 (魯白1號)

- 육성기관 : 산동성농업과학원 채소연구소
- 품종육성 기원 : 관294×위77-214 (冠294×衛77-214)
- 수량성이 높고, 품질 우수, 병해 저항성은 다소 강함
- 1983년 산동성농작물품종심의위원회 심사, 1990년 전국농작물품종심의위원회인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09005-1984

⑰ 로백2호 (魯白2號)

- 육성기관 : 산동성농업과학원 채소연구소
- 품종육성 기원 : 복77-105×B77-206 (福77-105×B77-206)
- 수량성이 높고, 내서성이 있고, 병해 저항성은 다소 강함
- 1983년 산동성농작물품종심의위원회 심사, 1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09006-1984

⑱ 청잡13호 (靑雜3號)

- 육성기관 : 산동성농업과학원 채소연구소
- 품종육성 기원 : 성양청×흑룡강5호 (城陽靑×黑龍江5號)
- 수량성이 높고, 내병성, 만생종임
- 1982년 산동성농작물품종심의위원회 인정, 1984년 강소성농작물품종심의위원회 인정, 1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09007-1984

⑲ 청잡중풍 (靑雜中豐)

- 육성기관 : 산동성청도시농업과학원 채소연구소
- 품종육성 기원 : 성양청71-51-6×복산포두 (城陽靑71-51-6×福山包頭)
- 수량성이 높고, 내병성이 강한 중만생종
- 1982년 산동성농작물품종심의위원회 인정, 강소성농작물품종심의위원회 심사, 1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09008-1984

⑳ 옥청 (玉靑)

- 육성기관 : 하북농업대학 원예학과
- 품종육성 기원 : 옥전포단×천진청마엽 (玉田包尖×天津靑麻葉)
- 수량성이 높고, 생산성이 안정적이며, 품질이 비교적 양호하고 내병성이 강하며 저장성이 좋음
- 1984년 하북성농작물품종심의위원회 인정, 1990년 전국농작물품종심의위원회 인정
- 품종등록(등재)번호 : GS09009-1984

별첨 2. 배추 유전자원 수집목록

가. 1차년도 중국북부 배추종자 도입내역 (2002. 11월)

번호	품 종 명	도 입 처	도입량 (g)	비 고
1	新北京 三号	산동성농과원 소채연구소	15	F1
2	83-24 大白菜	산동성농과원 소채연구소	20	F1
3	山東 五号	"	20	F1
4	山東 六号	"	20	F1
5	山東 19号	"	15	F1
6	春白 一号	"	15	F1
7	秋白 一号	"	15	F1
8	秋白 19号	"	15	F1
9	超白 二号	"	30	F1
10	夏优 二号	"	15	F1
11	夏优 三号 大白菜	"	15	F1
12	夏优 五号	"	10	F1
13	魯白 一号	"	20	F1
14	魯白 三号	"	20	F1
15	魯白 六号	"	20	F1
16	魯白 八号	"	20	F1
17	北京小雜 50号	HONGJUN SEED	15	F1
18	北京小雜 55号	북경소채연구중심	20	F1
19	北京小雜 55号	SIHAI SEED	15	F1
20	北京小雜 56号	SIHAI SEED	15	F1
21	北京小雜 60号	북경소채연구중심	25	F1
22	北京小雜 60号	海星	25	F1
23	北京小雜 61号	북경소채연구중심	25	F1
24	小雜 55号	HONGJUN SEED	25	F1
25	小雜 56号	HONGJUN SEED	25	F1
26	北京新 一号	HONGJUN SEED	15	F1
27	北京新 一号	SIHAI SEED	15	F1
28	北京新 三号	북경소채연구중심	25	F1
29	北京新 四号	북경소채연구중심	25	F1
30	北京新 五号	북경소채연구중심	25	F1
31	北京 75号	북경소채연구중심	50	F1
32	北京 80号	북경소채연구중심	25	F1
33	北京 80天	HONGJUN SEED	25	F1
34	北京 106号	북경소채연구중심	25	F1
35	北京桔紅心(97-8)	북경소채연구중심	10	F1

번호	품 종 명	도 입 처	도입량 (g)	비 고
36	北京大牛心(99-2)	북경소채연구중심	25	F1
37	白菜 98-1	SIHAI SEED	25	F1
38	鴻均 168	HONGJUN SEED	25	F1
39	秋豐 3号	SIHAI SEED	20	F1
40	中白 2호	중국농과원 채소화훼연구소	25	F1
41	中白 4호	중국농과원 채소화훼연구소	25	F1
42	京秋 一号	북경소채연구중심	15	F1
43	秋珍白 11号	國潤	15	
44	秋綠 55	天津市蔬菜研究所	15	F1
45	秋綠 60	天津市蔬菜研究所	40	F1
46	津育 80 白菜	SHENNONG SEED	40	F1
47	北京新 三号	昌邑市蔬菜研究所	60	F1
48	黑心鳥 白菜	成信 SEED	20	
49	特选黃心鳥	成信 SEED	20	
50	黑鳥王	成信 SEED	25	
51	進南黃心鳥	成信 SEED	20	
52	遼白 八号	Liaoningyuanyi Seed	50	F1
53	青綠王	Liaoningyuanyi Seed	50	F1, MS
54	塞新五号	雙翼	300	
55	精品 5号	錦州	50	F1
56	綠星 67	福田	20	F1, MS
57	綠星 70	福田	200	F1, MS
58	秋冠	富友	125	
59	全胜	ALUX SEED	10	F1, 한국형
60	膠白四号	膠白	10	F1, 한국형
61	高抗二号	膠白	100	
62	魯白 17号	世珍	100	한국형
63	抗病三号秋菜王	白塔	25	
64	新世紀 一号	白塔	25	한국형
65	高抗酸菜王	東民	25	
66	保收 3	青園	50	F1
67	新錦菜八	海馬	25	F1

나. 2차년도 중국북부 배추종자 도입내역 (2003. 9월)

번호	품 종 명	도 입 처	도입량 (g)	결구형	비고
1	天津青麻葉	天津市津南區種子公司	50	6	
2	晋綠18	山西省農業科學院種苗公司	80	6	F1
3	鄭州新四号	鄭州豫豐種苗有限公司	20	5	F1
4	北京小雜55	河北省高碑店市蔬菜研究中心	30	8	F1
5	新欣三号	"	30	10	F1
6	晋綠3号	山西省農業科學院種苗公司	40	10	F1
7	晋綠65	"	40	6	F1
8	晋綠70	"	40	11	F1
9	晋綠80	"	40	6	F1
10	麗青	"	40	8	F1
11	秋抗王15号	青島市經濟技術開發區澤農種苗研究所	20	9	F1
12	抗病19号	"	20	9	
13	熱抗王38天	"	20	9	
14	熱抗王48天	"	20	9	
15	熱抗王50天	"	20	11	
16	熱抗王58天	"	20	11	
17	熱抗王60天	"	20	10	
18	津育55	天津市津南區種子公司	50	6	F1
19	津育60	"	50	6	F1
20	津育75	"	50	6	F1
21	津育80	"	50	6	F1
22	新六号	遼寧省錦州孫氏種業有限公司	100	8	F1
23	小雜51	山東省種子總公司	30	8	F1
24	豐抗70	"	30	5	F1
25	北京小雜56	河北省邢台市大力種苗公司	20	2	F1
26	大春白菜	Advanced Seeds Australia Pty Ltd	20	10	F1
27	鄭雜二号	鄭州豫豐種苗有限公司	20	9	
28	四季小白菜	"	40	2	
29	北京小雜56	"	30	3	
30	矮抗青	上海市閔行區益秋種子店	80	청경채	
31	太原二青	河北邢台申仕種業有限公司	20	6	F1
32	山東六号	山東省萊州市金豐種子有限公司	20	9	F1
33	豐抗70	"	20	9	F1
34	豐抗80	"	20	10	F1
35	大青麻葉	"	20	6	F1

번호	품종명	도입처	도입량 (g)	결구형	비고
36	太原二青	山東省萊州市金豐種子有限公司	20	6	F1
37	晋菜三号	河北省邢台市大力種苗公司	20	6	F1
38	黑油白菜	湖北省老河口市鄂光種業有限公司	20	불결구	
39	黃心菜	界首市農豐農業有限公司	40	?	
40	優良七五八	吉林省公主嶺宏宇種業	50	8	
41	優良四平大姪	"	50	8	
42	優良四平二姪	"	25	8	
43	優良吉林大姪	"	25	8	
44	豫新一号	河南省農科院生物技術研究所	30	5	F1
45	豫新二号	"	30	9	F1
46	豫新三号	"	20	11	F1
47	豫新四号	"	30	10	F1
48	豫新五号	"	20	10	F1
49	豫新六号	"	30	5	F1
50	豫新48	"	20	9	F1
51	豫新60	"	20	9	F1
52	四平二姪	吉林省公主嶺市嶺豐種苗研究所	50	8	
53	東農902	東北農業大學大白菜育種研究室	50	12	F1
54	東農905(秋寶)	"	50	7	F1
55	東白一号	"	50	12	F1
56	東白二号	"	50	10	F1
57	濰春白二号	"	50	12	F1
58	586新世紀	하얼빈·北方瑞峰蔬菜研究所	100	10	F1
59	慶半王	遼寧省錦州孫氏種業有限公司	100	8	F1
60	A81	"	110	6	F1
61	豫園50	河南省農科院園藝研究所	20	10	
62	改良758	吉林長春蔬菜良種場	40	7	
63	正宗橋頭	綠豐蔬菜種子	40	7	
64	正宗二混子	"	40	7	
65	牧丹江一号	하얼빈市道外區種子公司	50	10	
66	牧丹江三号	"	100	10	
67	二牛心	"	80	10	
68	翻心	"	80	3	
69	牧丹江二号	"	80	10	
70	大昌秋王	"	40	10	F1

번호	품종명	도입처	도입량 (g)	결구형	비고
71	大昌秋寶	하얼빈市道外區種子公司	100	10	F1
72	昌王小根	"	80	10	
73	精選牧丹江一號	하얼빈市種子公司	80	10	
74	精選牧丹江二號	"	80	10	
75	精選佳白二號	"	80	10	
76	精選牧丹江三號	"	80	10	
77	特選二牛心	"	80	10	
78	精選四號煙菜	"	80	7	고정종?
79	佳白二號	하얼빈市陸峰種子商行	50	10	
80	大蓮91-12	大蓮市金州區蔬菜種苗研究中心	50	10	F1
81	龍白三號	黑龍江省農業科學院園藝分院	25	10	F1
82	龍協白三號	"	25	10	F1
83	傲龍江春	黑龍江傲龍農業有限公司	10	10	F1
84	春王	北京東升鴻鈞種苗園藝所	13	10	F1
85	春秋	"	5	10	F1
86	抗熱早熟48	"	15	9	F1
87	京綠60	"	15	6	F1
88	春萌冬春王	貴陽慶豐農業種子有限公司	25	7	F1
89	保豐3號	黑龍江省依安包園種業有限公司	50	10	F1
90	進冠70	天進市進北蔬菜研究所	20	10	F1
91	北方唐老大	撫順市北方農業科學研究所	10	7	F1
92	巫祥夏寶	瑞巫祥科技發展有限公司	15	9	F1
93	早熟五號	杭州市種子公司	50	9	F1
94	多抗78	濟南富豐種苗科技有限公司	25	10	F1

다. 2차년도 중국남부 배추종자 도입내역 (2004. 6월)

번호	품종명	도입처	도입량 (g)	결구형	비고
1	춘추왕대백채	계림시 天明종자유한공사	48	10	
2	태원이청	계림시 明 종자유한공사	75	6	
3	거용열항왕	제남시 거룡종묘유한공사	20	5	
4	신추8호	영남명우소채연구소	60	11	F1
5	신추6호	영남명우소채연구소	60	9	F1
6	춘미인	심강시 하산구 신묘종자행	60	10	F1
7	F1조숙5호	온주수지소채종업유한공사	84	5	F1
8	춘하녹소채716	유근기업유한공사 / 홍콩	60	6	F1
9	덕고황심58	덕고소채종묘연구소	60	8	F1
10	전우춘항왕	운남성 곤명경전종업유한공사	80	10	
11	열항왕	부농	105	9	
12	진홍156	곤명춘희종묘	60	10	
13	춘희고항왕AC-3	곤명춘희종묘	90	10	
14	춘희일본하장군BC-1	곤명춘희종묘	60	9	
15	춘희고항왕AC-1	곤명춘희종묘	105	8	
16	춘희고항왕AC-4	곤명춘희종묘	90	10	F1
17	춘희고항왕AC-2	곤명춘희종묘	165	10	
18	강춘2호	광둥성 양종	10	10	F1
19	금맹춘왕2호	청도국제종묘유한공사/중일합자	25	11	F1
20	금맹춘왕3호	청도국제종묘유한공사/중일합자	25	9	F1
21	대국쾌채	중강종업유한공사	25	3	
22	항서1호	남통오봉종업유한공사	30	9	
23	진능80	태원진무소채종자유한공사	60	6	F1
24	황심조48	광둥성 양종	60	10	F1
25	하침녹주60천소채	황씨삼대채종행	30	6	
26	초급금엽침결구50천	황씨삼대채종행	42	11	F1
27	조숙항열45천침목주소채	황씨삼대채종행	30	6	
28	정익농하양백채조50	제흥리국제유한공사 / 홍콩	84	10	F1
29	추침녹주80천소채	황씨삼대채종행	30	6	
30	항열결구하양포심백50천	제흥리국제유한공사 / 홍콩	84	11	F1
31	신경전4호	운남성 곤명시 경풍자종경영부	120	9	
32	녹청60	청도국제종묘유한공사/중일합자	75	8	F1
33	덕고황심68	덕고소채종묘연구소	60	8	F1
34	항열왕	산둥성 뇌박시농업과학연구소	60	11	F1
35	덕양01	덕고소채종묘연구소	112	11	F1

번호	품종명	도입처	도입량 (g)	결구형	비고
36	덕고황십70	덕고소채종묘연구소	60	8	F1
37	우조4호	부농	105	10	F1
38	하왜대백채	고화종자유한공사 / 홍콩	60	11	F1
39	일본하장군BC-4	곤명춘희종묘	90	11	
40	홍진14호	운홍소채화훼종묘	90	10	F1
41	항병왕AB	운남성 곤명경전종업유한공사	80	10	
42	개량청잡3호	청도교남시종자공사	60	10	F1
43	포심갈채	우성권종자유한공사	80	2	
44	흑엽조시백채	계림시 금리 종자공사	60	백경채	
45	청도83-1	농원종묘	50	10	
46	추록75	천진시소채번육기지	40	6	
47	금강탑1호	운남성 곤명시 관도구 농업기술	60	10	F1
48	금강탑2호(금황백)	운남성 곤명시 관도구 농업기술	60	10	F1
49	금강탑3호(특항왕)	운남성 곤명시 관도구 농업기술	60	10	F1
50	홍진12호	운홍소채화훼종묘	90	10	F1
51	미가풍신8호	북경미가풍종묘연구소	75	11	F1
52	특급항병왕	운남성 곤명경전종업유한공사	120	10	
53	신일본춘추65	운남성 곤명경전종업유한공사	80	10	
54	항열신선봉하양백채50천	유근기업유한공사 / 홍콩	60	11	F1
55	춘설	유근기업유한공사 / 홍콩	60	10	F1
56	녹관청채	계림시 금리 종자공사	40	청경채	
57	하지선50	곤명애록특종업유한공사	60	9	
58	ALT조황보	곤명애록특종업유한공사	84	10	
59	91-1	청도시종자유한공사	75	10	
60	전관춘추왕	홍화소채양종복무중심	20	10	F1
61	전관특항왕	홍화소채양종복무중심	60	10	F1
62	조속5호	계림시 금리 종자공사	150	11	F1
63	중백78	중국농업과학원 소채화훼연구소	100	10	F1
64	정양춘추	태풍종자무역상행	30	10	F1
65	북진5호	청도북방종업유한공사	60	10	F1
66	북진6호	청도북방종업유한공사	60	10	F1
67	보량춘천보	북경보량종자유한공사	50	10	
68	흑엽조시백채	계림시 금리 종자공사	120	백경채	
69	83-1대백채	산동성 산왕종자유한공사	80	10	F1
70	복산모주	호남성 부화시 상패종묘	90	10	
71	금도소백채	계림시 금리 종자공사	120	백경채	
72	금도5호소백채	계림시 금리 종자공사	120	백경채	

※ 결구형 : 농촌진흥청 발간 “농사시험연구조사기준”의 배추 결구형(1-12)

- | | | |
|-----------|------------|-------------|
| 1: 불결구형 | 2: 반결구형 | 3: 반결구대두형 |
| 4: 결구장타원형 | 5: 결구역삼각형 | 6: 결구장원통형 |
| 7: 결구타원형 | 8: 결구대두원통형 | 9: 결구구형 |
| 10: 결구원통형 | 11: 결구도란형 | 12: 결구침두타원형 |

별첨 4. The list of *Brassica rapa*. accessions used in the study for RAPD analysis

RAPD analysis number	Line number	Lines	Remarks
1	1	ECD02	CR(clubroot resistant) turnip
2	4	ECD04	CR turnip
3	6	ECD05	Chinse cabbage, CS(clubroot susceptible)
4	10	BP079	CS, TuMV resistant line, flat-topped cylindrical and joint-up HT (heading type)
5	13	Wonye20024	CS, TuMV resistant line, ovate and semi wrapped-over HT
6	17	IT033820	CR turnip
7	21	Unknown	Uzbekistan collection
8	30	An6	DHA(doubled haploid line from anther culture), joint-up HT
9	33	An12	DHA, Semi wrapped-over HT
10	43	Seoul baechu	Local variety, semi HT
11	44	Songdosin2	Ovate and semi joint-up HT
12	74	89-34(1)-2-1-1	DHA, Flat-topped cylindrical and semi wrapped-over HT
13	46	Nebyoung60	Ovate and joint-up HT
14	61	89-31(1)-1-1-1-1	DHA, early bolting type
15	63	89-31(1)-1-4-1	DHA, cylindrical and joint-up HT
16	72	89-33(8)-3-1-1	DHA
17	95	89-37(5)-8-1-1	DHA
	107	89-43(5)-6-2-1	DHA, stout-cylindrical and joint-up HT
18			DHA
19	110	89-43(16)-1-1-1-1	DHA, stout-cylindrical and wrapped-over
20	115	89-45(1)-9-1-1	HT DHA
21	116	89-45(1)-10-1-1	DHA
22	118	89-45(2)-4-2-1	DHA
23	120	89-45(2)-7-4-1	DHA
24	121	89-45(3)-7-2-1	DHA
25	122	89-45(3)-10-1-1	DHA, flat-topped ovate and
26	123	89-45(5)-1-2-1	wrapped-over HT

RAPD analysis number	Line number	Lines	Remarks
27	124	89-45(5)-2-1-1	DHA
28	125	89-45(6)-1-14-1-1	DHA
29	126	89-45(6)-1-21-1	DHA
30	127	89-45(6)-2-7-1	DHA
31	128	89-45(6)-14-1-1	DHA
32	129	89-45(1)-7-3-1	DHA, flat-topped cylindrical and wrapped-over HT
33	130	89-45(0)-1-7-3	DHA
34	131	Jickye	Semi and joint-up HT
35	132	50days	
36	133	Uiseungchungbang	Virus resistant line
37	135	Nebyoungjackleok	
38	136	Joseangkyoungdo3	
39	139	Chungbang	Stout-cylindrical and joint-up HT
40	140	Pyeongchong1	Flat-topped cylindrical and semi joint-up HT
41	143	Y.C.30	Tropical type, flat-topped ovate and wrapped-over HT
42	145	Haekbaechu	
43	147	Kyoungdo3	
44	153	Yagi2	Semi joint-up HT
45	155	Haekbaechu	
46	157	AVRDC	Tropical type
47	159	Haekbaechu	Stout-cylindrical and joint-up HT
48	161	Haekbaechu	
49	162	Josaengchungbang	
50	163	Chihli	Cylindrical type
51	165	Pyenggangsin1	Ovate and joint-up HT
52	167	AVRDCACC	Tropical type
53	168	Miho1	Ovate and joint-up HT
54	171	Pyenggangsin1	Ovate and joint-up HT
55	172	Chunpayagi	
56	173	Chinese michihili	Cylindrical type
57	175	Jeungu	
58	177	AVRDC	Tropical type
59	179	Deahyenggarack	Stout-cylindrical and joint-up HT
60	181	Palwolje	
61	183	Chungbang	Stout-cylindrical and joint-up HT

RAPD analysis number	Line number	Lines	Remarks
62	184	Kyoungdo2	Fluffy-topped cylindrical and join-up type
63	186	Seoulbaechu	Local variety, semi HT
64	188	Deahyounggarack	Stout-cylindrical and joint-up HT
65	189	Nonglim1	Ovate HT
66	190	Josaengkyoungdo3	Ovate and join-up HT
67	191	Hasanchunse	Fluffy-topped cylindrical and semi joint up HT
68	192	60days	Stout-cylindrical and joint-up HT
69	193	AVRDC	Tropical type, stout-cylindrical and wrapped-over HT
70	194	Haekbaechu	
71	195	Chihili	Cylindrical type
72	196	T.F.F.L	Tropical type
73	197	Michihili	Cylindrical type
74	3-2-2	MT3-1	DHM(doubled haploid from microspore culture), ovate and semi wrapped-over HT, CS
75	3-2-3	MT3-2	DHM, ovate and semi joint-up HT, CS
76	3-2-4	MT3-3	DHM, ovate and semi wrapped-over HT, CS
77	3-11-1	MT3-4	DHM, CR, flat-topped cylindrical and wrapped-over HT
78	3-11-1-3	MT3-5	DHM, CR, flat-topped Cylindrical, wrapped-over HT
79	3-11-4	MT3-11-4	DHM
80	3-11-1-4	MT3-11-1-4	DHM
81	15-2-1	MT15-2-1	DHM, CS, tropical type
82	15-2-3	MT15-2-3	DHM, CS, tropical type
83	15-2-3	MT15-2-3	DHM, CS, tropical type
84	5-77-6-7	MT5-77-6-7	DHM
85	5-77-5-1	MT5-77-5-1	DHM
86	5-77-6-9	MT5-77-6-9	DHM
87	5-77-2-3-1	MT5-77-2-3-1	DHM
88	5-77-6-13	MT5-77-6-13	DHM
89	5-77-5-2	MT5-1	DHM, CS, stout-cylindrical and joint-up HT
90	5-79-6-1	MT5-79-6-1	DHM
91	5-77-6-8	MT5-77-6-8	DHM
92	5-78-1	MT5-78-1	DHM
93	19-4-1	MT19-4-1	DHM, CS, tropical type
94	19-4-1-24-1	MT19-4-1-24-1	DHM, CS, tropical type
95	20-31-1	MT20-31-1	DHM, CS, tropical type
96	20-39-1	MT20-39-1	DHM, CS, tropical type

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.