

발간등록번호

11-1541000-001470-01

배추분자마커연구사업단 최종보고서

(Chinese Cabbage Molecular Marker Research Center)

충남대학교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “배추분자마커연구사업단” 과제의 보고서로 제출합니다.

2012년 7월 29일

주관연구기관명 : 충남대학교
주관연구책임자 : 임 용 표
제1핵심연구기관명 : 충남대학교
제1핵심연구책임자 : 임 용 표
세부연구책임자 : 임 용 표
연구 원 : 방 재 옥
연구 원 : 박 종 태
연구 원 : 최 수 련
연구 원 : 김 호 일
연구 원 : 니 라 라
연구 원 : 비 키

연구 원 : 임 수 빈
연구 원 : 이 소 남
연구 원 : 김 정 아
연구 원 : 이 동 향
연구 원 : 차 유 진
연구 원 : 김 미 연
연구 원 : 오 일 남
연구 원 : 고 재 민
연구 원 : 맹 상 봉
연구 원 : 김 연 미
연구 원 : 고 낙 현
연구 원 : 윤 선 영
위탁연구책임자 : 홍 승 지
연구 원 : 김 용 규
위탁연구책임자 : 노 일 섭
연구 원 : 박 종 인
연구 원 : 나잘 우딘 아메드
연구 원 : 산티쿠말 타밀라산
연구 원 : 정 희 정
연구 원 : 김 수 현
위탁연구책임자 : 현 병 환
연구 원 : 김 영 철
연구 원 : 김 수 길
연구 원 : 오 민 정
연구 원 : 조 성 도
연구 원 : 감 주 식
세부연구책임자 : 박 종 태
연구 원 : 오 일 남
연구 원 : 고 재 민
연구 원 : 다바잘갈
연구 원 : 간 치 맥
연구 원 : 맹 상 봉
연구 원 : 조 지 은

세부연구책임자 : 이 은 모
연구 원 : 조 만 현
연구 원 : 함 인 기
연구 원 : 김 태 일
연구 원 : 이 미 애
연구 원 : 박 상 규
연구 원 : 원 미 경

제2핵심연구기관명 : 전남대학교

제2핵심연구책임자 : 한 태 호

세부연구책임자 : 한 태 호
연구 원 : 김 성 길
연구 원 : 김 기 준
연구 원 : 이 자 현
연구 원 : 정 예 선
연구 원 : 이 지 연
연구 원 : 송 영 하
연구 원 : 정 연 화
연구 원 : 광 명 신
연구 원 : 전 지 영
연구 원 : 허 지 화

세부연구책임자 : 장 창 순
연구 원 : 이 완 행
연구 원 : 민 춘 연
연구 원 : 김 수 진
연구 원 : 장 시 영
연구 원 : 계 은 정
연구 원 : 전 선 희
연구 원 : 최 유 미

세부연구책임자 : 김 홍 기
연구 원 : 양 슬 기
연구 원 : 장 찬 용
연구 원 : 이 지 현
연구 원 : 김 영 국

연구 원 : 서 문 원
세부연구책임자 : 양 만 성
연구 원 : 김 용 권
연구 원 : 서 정 팔
연구 원 : 이 강 조
연구 원 : 권 세 승
연구 원 : 성 은 성
연구 원 : 유 영 섭
연구 원 : 김 치 호
연구 원 : 이 현 숙
연구 원 : 주 명 자
연구 원 : 최 현 정
연구 원 : 박 숙 자

세부연구책임자 : 정 상 민
연구 원 : 양 은 미
연구 원 : 알리 아스자드
연구 원 : 방 선 응
세부연구책임자 : 조 윤 섭
연구 원 : 강 일 수
연구 원 : 손 길 우
연구 원 : 박 민 우
연구 원 : 김 덕 현

세부연구책임자 : 정 상 민
연구 원 : 양 은 미
연구 원 : 알리 아스자드
연구 원 : 방 선 응
세부연구책임자 : 조 윤 섭
연구 원 : 강 일 수
연구 원 : 손 길 우
연구 원 : 박 민 우
연구 원 : 김 덕 현

제3핵심연구기관명 : 충남대학교

제3핵심연구책임자 : 허 윤 강

세부연구책임자 : 허 윤 강
연구 원 : 이 상 숙
연구 원 : 이 영
연구 원 : 동 상 수
연구 원 : 스와라즈
연구 원 : 이 정 여
연구 원 : 문 명 일
연구 원 : 장 윤 선
연구 원 : 이 홍 규

연구원 : 윤종란
연구원 : 안제환
연구원 : 강민정
연구원 : 이현주
연구원 : 장일자
연구원 : 윤지향
세부연구책임자 : 김완규
연구원 : 임종훈
연구원 : 강금주
연구원 : 안승현
세부연구책임자 : 노일섭
연구원 : 우서
연구원 : 박종인
연구원 : 김희택
연구원 : 이인호
세부연구책임자 : 이수성
연구원 : 최우진
연구원 : 함태호
연구원 : 김태윤
연구원 : 이선애
연구원 : 양정민
연구원 : 설은아

요 약 문

I. 제 목

배추분자마커연구사업단

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 최종목표

- 배추 유전체 정보를 이용한 분자마커이용 육종시스템 및 인프라 구축
- 농업 형질과 관련된 분자마커의 개발과 이용으로 품종 개발 및 산업화
 - 뿌리혹병, 노균병, 추대성, 응성불임 등의 4가지 필수 목표 형질 포함 5개 형질에 대해 상용화 가능한 분자마커 개발
 - 전통육종법에 분자마커 이용 기술의 접목에 의한 우수 품종 육성 (수출용 2품종 이상)
 - 5년 후에 5점 이상의 고부가가치 신품종 상용화 (국내외용)

2. 연차별 과제별 목표

- 배추의 유전체 정보를 이용한 인프라 구축을 목적으로 하는 제 1핵심과제의 경우 1-2년차에서는 유전체 정보의 확보와 분자마커의 개발과 성분분석 시스템 구축에 초점을 두었으며, 3차년도 이후 이를 이용한 분자마커 및 성분분석 시스템의 활용과 서비스에 초점을 두었고 4차년도 이후에는 배추분자마커사업단이 종료된 후의 실용화 방안에 대한 정책연구도 동시에 수행하였다.
- 내병 및 내서성관련 마커 개발을 주도한 제 2핵심연구에서는 1-2년차에는 기반구축 및 유전집단 양성에 초점을 두어 수행하였으며, 3차년도 이후 분자마커의 개발 및 실용화에 초점을 두어 노균병, 내서성, 뿌리혹병관련 마커 개발을 수행하면서 관련 품종의 개발을 수행하였다.
- 개화 및 종자채종과 관련된 마커 개발을 주도한 제 3핵심연구에서는 1-3년차까지 실질적인 마커개발을 실시하여 응성불임마커를 개발하는 등 업적을 이루었으며, 4차년도 이후에는 개화 및 추대에 관련된 마커 개발에 목표를 두어 진행하였다.

- **대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)** : 한국 고유 식품인 김치의 주재료로서 이용되고 있는 배추는 우리나라 4대 채소작물 중의 하나로 고추, 무, 양파에 이어 네 번째로 큰 종자시장을 이루고 있으며, 십자화과 작물인 배추, 양배추, 무는 전체 종자 수출량의 약 46%를 차지하는 등 농업적, 경제적으로 매우 중요한 작물이다. 세계 채소종자산업 현황을 보면 네덜란드, 미국, 프랑스 등의 주도하에 있으며 세계 다국적 종자기업이 M&A를 통한 대형화 및 집중화로 10대 기업의 세계시장 점유율이 67%를 차지하고 있다. 빠르게 발전하는 유전체 연구 및 첨단 생명공학과의 융합을 통해 GM작물 개발, 분자유종이 대두되고 있다.

최근 배추과 작물의 경제적, 학문적 중요성으로 인해 국제 배추 유전체 염기서열 분석 프로젝트가 진행되어 배추 유전체 초안이 발표되었다. 이러한 유전체 정보들은 대량의 분자 마커를 개발하기 위한 매우 중요한 기반이 되어 유전체 육종이 가속화되고 있다. 한국의 채소육종 기술은 세계적으로 매우 훌륭하나 IMF 이후 외국계회사로 통합되어 국내의 종묘회사는 개인육종가 위주의 소규모의 회사가 대부분이며 육종에 있어 분자마커, 종자기술, 병리연구가 가능한 업체는 극히 소수이다. 본 과제에서는 배추과 유전체 정보를 이용한 대량의 분자마커 개발을 위한 시스템을 확보하여 대량의 분자마커를 개발하고 고밀도 유전자 지도를 작성하여 농업적 주요 형질(육종 목표 형질)에 관련된 분자마커를 개발함으로써 품종 개발에 효율성을 제고하여 분자유종을 위한 기반 조성을 하고자 하였다.

(1) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제) :

농산물 시장 개방의 가속화로 가격경쟁력 차원에서 열위에 놓인 국내 배추산업의 위축이 불가피한 상황에서 국산 배추의 신품종 개발과 고급화가 추진되고 있다. 배추 신품종이 생산능가들에게 적극적으로 보급되고 활용되기 위해서는 생산자들의 신종자에 대한 인식과 수용정도에 영향을 미치는 요인을 파악하고 이를 토대로 효율적인 종자개발 및 보급 방안이 모색될 필요가 있다. 이를 위해 생산자들이 신종자에 대한 갖고 있는 인식과 이용현황, 경제적 가치 등을 도출함으로써 종자 개발 방향과 효과적인 확산 방안을 도출하고자 하였다.

(2) 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제) :

최근 full length cDNA를 이용한 종합적 유전자 기능 해석 방법이 개발되어 여러 식물들에서 활용되어 지고 있다. 이 방법은 연구하고자 하는 목적 식물로부터 mRNA를 추출하여 full length cDNA Agrobacterium library를 제작한 후 모든 DNA의 염기서열이 밝혀진 애기 장대에 형질전환 시킨 후 다양한 변이체를 해석함으로써 목적 식물로부터 동정된 유전자의 기능을 대량으로 확인할 수 있다. 따라서 배추의 신품종 개발 등 육종에 활용하기 위한 유용유전자의 대량 발굴을 위하여 full length cDNA를 이용한 종합적 유전자 기능 해석 방법을 이용할 필요가 있다.

(3) 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제) :

종자산업이 국가 중점사업으로 육성되기 위한 다양한 정책이 수립되어 종자산업에 대한 새로운 패러다임이 형성되고 있다. 특히, 2011년 수립된 'Golden Seed 프로젝트'에서 배추 분야가 수출을 지향하는 글로벌 시장개척 분야로 선정되어, 배추분자마커사업단 종료시점에 있어서 사업단의 우수성과를 연계하여 배추종자의 활용 측면에서의 국제경쟁력을 확보하기 위한 발전방안 마련이 필요한 시점이다. 그동안 배추분자마커연구사업단은 배추유전체 정보 이용 육종체계 및 인프라구축 등의 사업을 추진하였으며, 이러한 환경변화를 감안하여 배추분자마커사업단의 우수성과가 'Golden Seed 프로젝트'와 연계되어 사업단의 미래지향적 발전방향을 도출할 필요가 있어 기획연구를 수행하게 되었다.

○ **식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제) :** 식품은 과거 에너지원으로서 그 기본 기능에 충실하였으나 앞으로는 항산화, 항비만, 항암 등 건강기능성에 초점을 맞춘 식품들이 현재 소비자들에게 선택받고 있으며 날이 갈수록 더욱 시장에서 강세를 보일 것으로 예측된다. 배추와 같은 작물도 예외는 아니어서 특정 건강기능성을 나타내는 기능성성분을 고함유한 품종을 개발하기 위한 노력이 전 세계적으로 경주되고 있다.

본 연구 과제를 통해 배추과 식물의 일반성분 및 기능성성분 정량 서비스를 저렴한 비용으로 수행할 예정이며, 다량 샘플 분석의뢰에 대비하여 각 성분의 대량분석 방법을 확립하고자 한다. 또한, 배추 육종에 필요로 하는 주성분 및 특정 기능성성분을 분석하여, 작물 육종의 기본 초석을 마련하고자 한다.

○ **주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제) :** 현재 국내 배추 육종 기술 수준은 세계 정상급으로 평가되고 있으나 주로 전통 육종방식에 의존하고 있어 육종의 효율화를 도모하고 단기간에 우수 품종 창출에 매우 유용한 수단인 될 수 있는 분자마커 기술의 접목이 시급한 실정이다. 따라서 본 연구는 배추 유전자원의 특성검정 및 유용 유전자원 선발, 배추 특정형질에 관한 분자마커 개발을 위한 유전집단 양성을 통하여 분자 육종을 위한 기초 인프라를 구축하고자 수행하였다.

○ **노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제) :** 배추는 우리나라 김치의 주원료로 연간 1조원에 이르는 시장을 가지는 국제적 경쟁력을 가지는 원예작물이다. 배추 생산에 있어 뿌리혹병, 노균병, 바이러스병 등이 주요 병해로 알려져 있으나 최근 기후변화로 인하여 노균병 발병이 잦아 노균병 저항성 품종이 요구 되고 있다. 노균병은 활물기생 병원균으로 아직까지 배추 특이 노균병원균은 분리동정이 어렵고 계획성 있는 노균병 진단이 어려운 실정이다. 각 배추육종회사에서는 자체적으로 노균병 발병정도를 조사하여 저항성 계통을 선발하고 있다. 하지만 노균병 발병이 용이하지 않아 대량 스크린은 경험에 의존하고 있다. 본 연구에서는 노균병 저항성 스크린을 용이하게 할 수 있도록 하기 위하여 포장실험이나 기내스크린 실험을 넘어선 배추 노균병 저항성 분자마커 개발의 필요성이 여러 육종회사에서 요구되어 수행하게 되었다.

○ **노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제) :** 노균병 저항성의 유전양식을 구명하고 병 저항성분자표지(마커) 개발을 위해 노균병 저항성 유전분석 집단 양성을 목표로 하였으며, 병 저항성 마커를 이용하여 효율적으로 내병성 계통을 선발하고, 이를 이용하여 병 저항성 가을배추 품종을 육성하였다.

○ **뿌리혹병원균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제) :** *Plasmidiophora brassicae*에 의해 발생하는 뿌리혹병은 국내에서 배추를 비롯한 다양한 십자화과 작물에 큰 피해를 주는 병이다. 하지만 휴면포자가 너무 작고 절대 기생체라는 균의 특성상 병원균에 대한 많은 연구가 이루어지지 않았다. 따라서 뿌리혹병저항성 품종육성을 위한 기초연구로서 뿌리혹병원균의 유전자 분석 및 저항성 마커를 개발하고자 하였다.

○ **배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제) :** 1990년 중반부터 배추 뿌리혹병 저항성 품종이 개발되어 재배면적이 늘어나고 있으나 연작 등으로 인하여 저항성 품종들이 새로운 race에 의하여 저항성이 무너지고 있다. 균주에 대한 race 정립, 저항성 유전자 도입 및 선발, 유전양식 구명, 새로운 저항성 품종육성이 요구되고 있어 신품종 개발을 목표로 수행하였다.

○ **배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제) :** 배추작물은 호냉성 식물로 고온 조건에서 생육이 불량해지며 결구력이 떨어져 상품성이 감소한다. 특히 기후 변화 특히 온난화가 진행되는 지역 배추 재배에서 내서성 피해가 예상된다. 따라서 본 연구는 고온 저항성을 가지는 배추 품종을 육성하기 위해 배추 내서성 연관 분자마커 개발을 목표로 연구 수행하였다.

○ **내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제) :** 최근 식생활의 변화에 따라 채소작물의 연중생산이 요구되면서 재배면적이 늘어나고 있다. 그 중에서도 배추 서늘한 기후를 좋아하는 호냉성(好冷性) 채소로서 생육초기에는 고온에 의하여 생장이 어느 정도 촉진되지만 후기 저온 상태에서 결구가 되는 작물로서 고온기에 재배되는 고랭지배추의 생육시기인 7, 8월에 이상고온으로 생육이 극히 불량해져 물량확보에 어려움을 겪고 있는 실정이다. 따라서 본 연구 과제는 내서성 마커개발용 집단양성 및 준고랭지, 고랭지재배에서의 내서성에 강하고 원예형질이 우수한 여름배추 품종을 개발하고자 수행하였다.

○ **배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제) :** 배추와 같은 엽채류 작물의 개화시기의 조절은 생산성 및 품질에 중요한 영향을 미치고, 재배시기의 선택에도 중요하다. 배추의 개화 또는 추대시기와 관련된 QTL 및 CAPS 마커가 보고된 바 있으나, 효율적인 마커는 없는 실정이다. 본 연구에서는 배추 육종에 필수적인 개화 및 추대관련 시기를 판별할 수 있는 분자마커를 개발함을 목적으로 우리나라에서 개발한 배추 유전자 칩과 다양한 배추를 소재로 표적 유전자를 선발하고, 그 유전자의 염기서열 분석을 통하여 InDel과 SNP 마커를 찾아 저렴하고 신속한 PCR용 마커를 개발하고자 하였다.

- **개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)** : 배추는 한국, 중국 및 일본 등 국가에서 중요한 채소 중의 하나다. 봄배추는 타 작형에 비해 추대, 저온 약 광선하의 생육, 석회결핍증 등 요구조건이 많다. 중국의 연간 봄배추 종자 소요량은 업계 추정 약 60,000kg으로, 종자가격은 평균 45\$/kg 정도이며, 한국에서 중국으로 수출되고 있는 배추종자는 대부분 봄배추 품종으로 90년대 초부터 중반까지는 국내용으로 개발된 품종이 주를 이루었고, 이후 중국수출 전용 품종이 개발되어 90년대 후반부터 현재에 이르고 있으나, 만추대성, 내병성(뿌리혹병 등), 내생리장해(석회결핍증 등), 황심계 등의 특성을 갖춘 새로운 품종이 요구되며, 이러한 품종이 개발되면 종자가격이 200\$/kg까지 올라갈 것으로 예상된다. 중국 내에서도 배추품종 개발에 많은 투자와 노력을 하고 있는 시점에서, 한국 품종이 계속 우위를 점하고, 종자수출을 증대시키기 위해 본 연구의 필요성이 있다.
- **배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)** : 세포질응성불임성(CMS) 식물은 정상적인 화분을 생산할 수 없기 때문에 많은 경제적으로 중요한 작물들에 있어서 F₁ 종자생산에 활용되어왔다. 배추과 작물에서 세포질 응성불임성을 가지는 계통으로는 배추 속에는 Ogura CMS, Napus CMS, Polima CMS, Anand CMS, Sakata CMS 등이 알려져 있고, 무의 CMS 계통들은 Ogura CMS, Kosenia CMS, NWB-CMS, DCGMS 가 보고되고 있다. 배추과 작물의 CMS는 일본의 Ogura가 일본 무에서 세포질 응성불임성을 발견하여 발표한 후 무 CMS의 세포질을 이용한 세포질 응성불임성 유채를 육성하였다. 그리고 이 유채에 배추 핵을 치환하여 배추의 세포질 응성불임성 육성한 바 있다. 본 연구는 현재 종묘회사들에서 사용되고 있는 CMS 계통들은 대부분 정확한 CMS 유형을 알지 못하고 관행적으로 사용되고 있고 우량계통에 응성불임성 인자를 도입하기 위해서는 BC6F₁ 정도까지 진행시켜야 하므로 육종에 있어서 많은 시간과 노동력 및 비용이 소요된다. 따라서 응성불임성 분자마커를 개발하여 국내에서 보유 중인 CMS 계통의 정확한 CMS형을 구분하고 많은 시간이 소요되는 육종 연한 단축 및 육종비용 절감이 필요하다. 따라서 CMS 구분 분자마커를 개발하고 국내 대학, 연구소, 종묘회사로부터 배추과 CMS 품종 또는 계통을 수집하여 CMS 유형을 정확하게 구분하고자 하였다.
- **응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)** : 배추 종자의 중국 수출을 위한 바이러스병, 뿌리혹병 등 복합내병성의 우량 품종을 응성불임성을 이용한 1대 잡종으로 육성하였다. 응성불임성을 이용하면 품종의 복제가 불가능하고 복합 내병성이면 시장 규모가 큰 가을재배용으로 종자를 수출할 수 있기 때문이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

- 배추의 유전체정보를 이용한 대량의 분자표지 개발 및 분자유종시스템 구축하는 것을 목표로 대용량의 *In Silico* 분자마커 개발 시스템 구축하여 유전체 전반에 분포하는 SSR 마커, 유전자에서 유래하는 EST-SSR 마커 및 SNP 마커를 개발하였으며, 이를 이용하여 고밀도 유전자지도 작성을 하였다. 유전자 지도를 기반으로 하여 뿌리혹병, 개화, 결구, 종자성분, 응성불임과 같은 형질연구를 하였으며 배추 소포자 배양기술 이용 내환경 배추 계통 확보 및 그 특성을 연구하였다. 분자마커 및 성분분석 서비스 센터를 설립하여 개인육종가에게 분자마커를 이용하여 형질진단을 위한 분석 서비스 및 기능성 성분 함량 분석 서비스를 하였다.

가. 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

- 문헌조사와 설문조사를 통해 우리나라의 배추산업과 배추 종자산업의 현황, 문제점, 배추 생산자들의 종자에 대한 가치평가, 생산자의 신종자 수용에 영향을 미치는 요인 등을 분석하고 분석결과를 토대로 배추 신종자의 효과적인 확산 방안 도출을 주요 연구 내용 및 범위로 하였다.

나. 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)

- Agrobacterium library 제작을 위해 FL-cDNA를 Agrobacterium에 도입하였으며, 이를 Colony-PCR법을 이용하여 도입유전자의 insert를 확인하였다.
- 배추 기능유전자 해석을 위해 제작된 binary vector를 이용한 애기장대로의 형질전환 및 도입 유전자의 insert 확인을 시도하였으며, 형질전환체의 표현형 분석 및 도입 유전자의 분석을 수행하였다.

다. 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제)

- 본 과제는 배추분자마커사업단의 사업현황을 분석하고, 도출된 우수 기초연구를 토대로 2단계 사업단의 미래전략 도출을 위한 활용·확산 방안을 마련하고자 하였다. 특히, 채소 및 배추 관련 국내외 산업 동향 분석을 통하여 사업단의 우수 기초연구의 활용 방안을 제시하고 이에 따라 미래 발전방안의 전략을 도출하였다

2. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 식물 육종 타깃 유용성분 분석 및 정량 메뉴얼을 구축하였다. 배추과 작물의 엽록소, 섬유소, 단백질, 질산염, 당함량, 펙틴, mineral, vitamin C, vitamin E, 유리 아미노산 등 일반 성분 분석정량 방법 및 분석 메뉴얼화를 완성하였고, Carotenoids, glucosinolates, phenolic acids, anthocyanidins, flavonols 등 향산화, 항암 활성을 지닌 기능성성분을 고속 기기분석방법을 확립하고 분석 메뉴얼화 하였다. 연구기간 동안 매년 새로운 성분 분석

시스템을 구축하여 다양한 기능성 성분분석 서비스를 제공할 수 있게 되었으며 대량분석을 위해서 분석 과정을 축소, 분석 시간의 최적화를 위해 매년 분석 방법을 개량하였다.

- 구축된 성분 분석 매뉴얼을 이용하여 배추과 작물의 대량 시료의 유용성분 분석 서비스를 진행하였다. 식물분자마커 및 식품성분분석 센터를 설립하여 연관된 과제의 시료 분석 및 다양한 업체에서 분석 시료를 의뢰 받아 분석 서비스를 제공하였다.

3. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- 배추계농소재은행에서 보유하고 있는 유전자원을 연차적으로 분양받아 재배하고, 특성조사 및 현장평가와 성분분석 결과 등을 통하여 유용형질을 탐색하고 유용유전자원을 선별한 다음, 이들의 소포자 배양을 통하여 다양한 DH라인을 육성하여 특정형질관련 마커개발용 유전집단을 양성하였다. 또한 육성한 DH라인의 특성평가와 성분분석을 통하여 특정형질에 관련된 유용한 DH라인을 선별하고자 하였다.

4. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

- 배추 노균병 저항성 분자마커를 개발을 목적으로 배추 노균병 저항성 라인과 이병성 라인을 한국종묘로부터 분양받아 마커 개발에 필요한 다양한 유전집단을 개발하였다. 또한 배추 노균병 스크린을 균일하게 검증할 수 있도록 노균병 실내 및 기내 검증 방법 개발을 수행하였다. 마커 개발을 위하여서는 해마다 발생하는 포장에서 검증하여 계통들의 저항성 수준을 조사하였다. 마커는 BSA방법을 통하여 발견하고, 발견된 DNA 마커는 사용이 간단한 PCR 마커로 전환하였다. 또한 배추 reference map과 애기장대 유전체 정보를 이용하여 개발된 PCR 마커의 배추 유전체 상에서의 위치를 파악하고 추가로 노균병 저항성 유전자에 근접한 마커를 개발하였다.

5. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- 유전자원의 수집 및 특성 검증
유전자원은 1차년도부터 5차년도에 걸쳐 총 174점 수집, 년 평균 약 35점을 수집 조사 평가하였고, 연차별 도입된 유전자원은 특성조사 후 필요에 따라 교잡 분리하거나, 충남대학교와 충남농업기술원에 소포자 배양을 의뢰하여 육성소재로 이용하고 있으며, 2~3차년도에 소포자 배양된 계통은 조합작성에도 이용하고 있다.
- 노균병 내병성 유전분석 집단양성
본 연구사업이 시작되기 전부터 시작된 유전분석 집단의 양성은 F7세대 300계통을 목표로 처음 500계통으로 시작하였으나, 전남대와 긴밀히 협조하여 1년에 2세대씩을 진전시키기로 하였다. 그러나 양친 모두 만추대성으로서 하반기에 저온처리하여 세대 진전시키는 중 불추대성의 계통이나 너무 늦게 추대가 되는 계통은 소실되어 최종적으로 F7세대 113계통을 획득하였으며, 이 중 F2의 종자는 400립, PI 1690립의 종자 유전분석에 사용되었다

- 노균병 내병성 계통의 육성
 - 유전분석 집단 F7세대 130계통의 마커 검정 결과 저항성인 계통 66점은 포장 검정과 특성검정이 끝난 후 조합작성에 이용하고 있다.
 - 현재 보유 중인 고정계통과 분리계통 265점의 노균병 저항성마커 검색 결과 저항성 계통 9점과 저항성으로 추정되는 계통 2점이 선발되었다. 그러나 현재 마커로는 저항성으로 검색이 안 되는 또 다른 저항성계통이 있어, 또 다른 마커의 개발이 요구되고 있으며, 노균병이 발병되더라도 매우 적게 발병되는 것에 대한 분석이 필요할 것으로 사료된다.
 - 만추대성 재료, 무사마귀병 저항성 재료 및 기타 다양한 재료들과 노균병 저항성 계통과의 교잡. 분리 중인 계통들을 노균병 저항성 마커검정과 추대성 검정, 무사마귀병 검정 등을 통하여 복합 저항성인 재료를 육성하고 있다.
- 무사마귀병 내병성 계통 육성
 - 마커검정 : 기존의 보유 계통과 분리 계통들을 추남대에 배추 무사마귀병 마커검정을 의뢰하여 1차년도부터 총 103점을 의뢰하여 31계통이 저항성인 것으로 결과가 나와 이를 이용하여 조합작성에 이용하고 있다. 이는 대부분 일본 다끼이사의 CR新黃와 CR優黃 유래 계통인데, 이 전의 점종시험에서 저항성으로 판명된 다른 유래의 계통들은 마커로 검정되지 않아 이와 다른 저항성 유전자에 대한 마커의 개발이 더 필요할 것으로 사료된다.
 - 점종시험 : 한국종묘 육종연구소에서의 점종시험 : CR 01 등 33점을 경북 의성 군주로 점종시험한 결과 CR 02 등 8계통이 저항성으로 판명되었으며, 기존의 CR품종들이나 계통들은 국내 일부 군주를 사용하여 점종시험하면 마커 검정 상 저항성계통이라 하더라도 전부 발병이 되기 때문에 선발이 불가능하다. 그래서 최근 일본에서 발표된 수퍼 CR품종 및 시교 9점을 구입하여 바이오브리딩 및 능형종묘에 분양하여 점종시험을 실시한바 국내 군주 중 일부 품종은 병원성이 강한 배방군주 및 방림군주에도 발병되지 않아 군주에 따라 저항성의 차이를 보여서 일본 수퍼CR 품종 분리계를 특성 위주로 9점을 선발하였으며, 이들은 국내 배추 기호성과는 차이가 있어 기존의 보유 계통들 중 내병성 재료 및 품질계 재료와 교잡하여 계통을 유기시킴과 동시에 국내의 다른 군주에 점종하며 내병성 계통을 선발해 나가고 있다.
- 가을배추 품종육성
 - 사강 배추 : 만추대성이며 뿌리혹병 및 노균병에 내병성인 조합 CC506의 국내 하우스 및 고랭지 적응성시험과 중국 산지(하북성 장가구 고랭지)에서의 적응성시험 결과 성능이 비교적 우수하여 품종보호출원(사강배추)을 신청하였다.
 - 한설노랑 배추 : 가을~월동 재배용 배추로서 2010년 및 2011년에 능가실증시험 및 지역연락시험을 실시한 결과 속기가 빠르고 또한 내한성도 비교적 강하였으며, 무사마귀병에도 군주에 따라 저항성을 보였다. 구 크기는 구고가 약 34cm 정도로 타 품종에 비해 2~3cm 정도 길고 구경이 좁은 편이다
 - 와외쌈 배추 : 중소구 조생계 배추로서 만추대성이며 중특이 얇고 엽수가 많아 품질이 우수하다. 또한 입성. 원통형으로 외관이 좋고, 외엽색은 농록 내엽색은 농황색이다.
 - CR황옥 엇가리 배추 : 키가 작고 입성이며 외엽색은 농록 내엽색은 농황색이고, 엽수분화가 빨라 수확기를 앞당길 수 있다. 노균병과 무사마귀병에 저항성이어서 재

배의 안정성도 좋은 편이다.

- 설화월동 배추 : 만생의 월동배추로서 외엽색이 매우 진한 녹색이며 내엽색이 노랗고 무사마귀병에도 균주에 따라 저항성을 보였으며 내한성도 강한 포피형의 특성을 갖고 있다

6. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

- *P.brassicae*에 대한 균학적, 병원학적, 분자생물학적 특징의 기초적인 연구를 시행하였다. 주요 피해지역의 race확인 및 race의 특징 분석을 하였다. 또한 race의 변이 특성을 분석하여 최초로 새로운 race의 생성 여부를 확인 하였다. 그리고 종 특이적 프라이머를 개발하여 기주와 토양에서 병의 여부를 빠르게 확인 할 수 있었다. 저항성 마커를 분석하기 위해 농협종묘에서 분양받은 종자로 기존의 분자마커와 비교하여 새로운 저항성 분자마커의 개발을 도모하였다. 또한 최초로 *P.brassicae*의 race4의 sequence분석을 하였다.

7. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

- 병 저항성 유전자원 수집 : 저항성 유전자원의 국내의 수집과 기 보유계통 및 수집 유전자원의 뿌리혹병 저항성 등의 원예적 형질 평가
- 저항성 마커를 활용한 계통선발 : 기 보유 계통 및 새로운 육성계통의 마커를 활용한 저항성 계통선발
- 병 저항성 교배조합 작성 : 기 보유, 육성계통 및 수집 유전자원을 활용한 뿌리혹병 저항성 모본 및 F1 조합 작성
- 약배양을 이용한 순계육성 : 기 작성된 모본과 수집 및 육성한 저항성 재료 등을 이용하여 작성된 모본을 활용한 약배양 순계 육성
- 지역적응성 및 생산력 검증시험 : 수집된 유전자원과 육성된 계통 및 작성된 F1 조합의 산지에서 지역적응성 및 생산력 검증시험과 육성된 유망 조합의 현지 채종시험
- 배추 뿌리혹병 저항성 마커개발용 유전집단 양성 : 다양한 저항성 계통을 활용한 마커 개발용 집단을 양성하여 관련 마커개발에 기여

8. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

- 본 과제는 내서성 연관 분자 마커를 개발하기 위해서 우선 저온 고온 등의 환경스트레스에 반응하거나 관련된 유전자들을 대상으로 연관 분자마커 개발을 수행하였다. Trehalose, AOX, 고온 저온 스트레스에 반응하는 EST를 대상으로 염기서열을 분석하고 배추 계통에서 다형성을 보이는 지역을 대상으로 dCAPS 및 SNP 마커를 개발하였다.
- 2-6과제(현대종묘 연구팀)에서 배추 내서성 품종 육성에 이용하고 있는 '92'와 '93'계통을 대상으로 다형성 분자 마커를 개발하고 유전자 지도를 작성하였으며 이를 기반으로 내서성 연관 QTL 분자 마커, Ht-1, Ht-2, Ht-3를 개발 연구를 수행하였다.

9. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

- 본 과제는 내서성 고랭지 여름배추 품종 육성에 필요한 유전자원 수집 및 평가, 육성 불임성(MS) 계통육성, 조합작성 및 능력검정, 지역적응성시험과 품종보호출원 등으로 나누어 수행되었다. 유전자원 수집 및 평가는 국내 여름배추 품종 및 기타재료를 2007년과 2008년 2년간 총 47점을 수집하여 2007년 수집한 32점은 내서성검정을 위하여 일사가 강하고 일조시수가 길며 온도가 높은 시기를 택하여 육종연구소 비닐하우스에 2회 재배시험을 하였고, 2008년 수집한 15점은 비닐하우스와 고랭지에서 재배하여 원예적인 특성을 파악하였다. 계통육성은 전통육종방법으로 인공교배를 실시하여 하우스, 준 고랭지, 고랭지, 노지재배시험을 통하여 육성목표에 부합되는 우량계통을 선발하였고, 또한 동국대학교와 협동으로 내서성 연관 마커개발을 위하여 현대종묘 기술연구소에서 내서성에 강한 조합의 계통과 내서성집단을 양성하여 시료로 공급하였으며, 전통육종법과 마커를 활용한 육종을 병행하여 계통육성 및 선발을 실시하였으며, 육성불임성(MS)을 유기하기 위하여 backcross를 실시하였다. 조합작성 및 능력검정은 1단계 내서성 준 고랭지 품종 개발과 2단계 내서성 고랭지 품종개발을 위한 조합 작성을 하였으며 내서성 준 고랭지 품종은 파종시기가 5월이므로 추대가 안정적이면서 생육후반기에 고온에 강한 계통을 활용한 조합을 작성하였고, 고랭지 품종은 생육전반기에 고온에 강하면서 후기 결구력이 우수한 내서성 계통 및 품질이 우수한 계통을 활용한 조합작성, 내재해성이 우수한 계통을 이용한 재료간의 교잡 등을 실시하였으며, 능력검정시험은 하우스, 준 고랭지(해발 450m), 고랭지(해발 700m) 및 노지재배시험을 수행하였다. 지역적응성시험은 준 고랭지와 고랭지로 나누어 선발된 우수 조합의 성능검정을 실시하였으며 원예적인 형질이 우수한 조합을 선발 할 수 있었고 선발된 조합들은 지역적응성 시험과 채종시험을 거쳐 종자생산성이 우수한 조합은 품종보호출원을 신청하고 일부 시판하였다.
- 기타 연구는 여름 배추 주산지인 강원도 지역에서는 2005년 재배면적의 9%에 해당하는 692ha 면적에서 배추 뿌리혹병(*plasmodiophora brassicae*)이 발생하였으며 매년 증가 추세이다. 일반적으로 뿌리혹병에 감염된 배추의 지상부는 건전한 배추에 비해 생육이 부진하며, 특히 생육초기에 감염될 경우 수확을 할 수 없고 후기에 감염될 경우 수확 가능하나 수량성이 매우 부진하여 여름배추 물량 수급에 어려움이 있다. 이런 점을 보완하기 위하여 충남대학교 분석팀에 의뢰하여 계통 및 작성된 조합의 뿌리혹병 마커검정을 실시하였다.
- 배추에 Ca 함유량이 높은 품종의 개발로 저장성을 높일 수 있어 여름배추의 안정적 인 공급이 가능할 것으로 예상하여 Ca 분석을 하였고, 황산화물질인 베타카로틴 분석으로 기능성 배추품종 개발을 위해 분석을 통하여 계통을 선발하였으며 이를 기반으로 하여 조합작성에 활용하였다.

10. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- 기존의 알려진 개화관련 유전자와 배추의 DNA chip을 활용한 분석을 통하여 분자표지 마커 개발을 위한 표적 유전자를 선발하고, 그 표적 유전자를 개화시기가 다른 DH line 또는 내흔계로부터 클로닝하여 염기서열 분석을 함.
- 염기서열 분석을 토대로 마커개발을 위한 프라이머를 제작하고 다양한 배추 유래 DNA를 활용하여 검증실험을 수행한 후 마커개발 여부를 판단함.

11. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

- 수출용 봄 배추 품종육성을 위한 유전자원 수집 및 특성검정으로 유용 유전자원을 탐색한다. 기존 육성계통 중 만추대성, 내 생리장해성(석회결핍) 및 내병성(뿌리혹병) 계통을 선발순화 하여, F1조합을 작성하고 조합능력 검증 및 조합선발을 한다. 선발조합은 현지적용 시험을 실시하여 최종 선발조합으로 결정하고, 생산력검정 및 재증시험을 실시한다. 품종등록 후 종자를 생산하여 수출을 한다. 개화관련 유전집단을 양성하여 관련 마커개발에 기여한다.

12. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

- CMS 배추류의 미토콘드리아 게놈 해석을 위해 CMS 종류별 배추류를 수집하고 기존의 분자마커(primer)를 이용해 CMS의 종류를 구분하였고 CMS 관련 유전자들의 염기서열 분석을 수행하였다.
- CMS 배추류의 엽록체 게놈 해석을 위해 PCR 및 염기서열분석에 의한 각 CMS 특이적 분자마커 탐색하였으며, matK 유전자를 이용해 각 CMS 유형별 게놈 해석을 하였다.
- CMS 배추류의 엽록체 유전자 근방영역 해석을 위해 PCR 및 염기서열분석을 통해 rbcL 및 accD 유전자 근방영역을 해석하였다.
- CMS 종류별 특이적 분자 마커를 개발하였다.

13. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- 본 과제는 배추에 이용될 수 있는 응성불임성의 집단을 양성하여 그 분자마커를 개발토록 지원하는 것과 궁극적으로 중국에 수출할 수 있는 배추의 1대잡종(F1) 품종을 응성불임성을 이용하여 육성하는 것이다. 이러한 목표를 달성하기 위하여 응성불임성 계통의 증식, 소포자 배양에 의한 DH계통 다량 육성, 소포자 배양 기술 개선, 바이러스병과 뿌리혹병 복합내병성 계통 육성을 위한 계통 검증, 바이러스병 검정을 위한 마커 개선, 응성불임성 계통의 형질 고정을 위한 세대진전, 그리고 1대잡종 작성과 생산력 검증 등의 시험을 수행하였다.

IV. 연구개발결과

1. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

- 1) 배추 유전체 정보를 이용한 대량의 분자마커 개발 시스템 구축
대량의 배추 유전체 염기서열 정보를 수집하여 sequence editing, SSR 탐색 및 분석을 통해 SSR-Primer 생성하였다. 대용량의 *In Silico* 분자마커 개발 시스템 소프트웨어인 'SSR-Primer Generator'를 개발하여 프로그램 등록하였다. Primer 및 기능 특이적 유전자 마커 개발을 위한 데이터베이스와 배추 Gene Ontology 분석 시스템을 구축하였다.
- 2) 대량의 유전자 연관 분자 마커 개발
배추 EST 및 BAC 클론 염기서열, Re-sequencing을 통해 얻어진 유전체 정보로부터 분자 마커 개발을 수행하였다. SNP 마커의 분석(high-throughput genotyping)을 위한 조건을 확립하였다.
- 3) 분자마커와 표준유전집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성
배추의 분자 마커 개발을 위한 유전집단 개발과 Recombinant Inbred Lines (CKRI 집단), CKDH 집단을 이용한 유전자 지도 작성을 하였으며, 개발된 배추 분자 마커의 타 작물 이용 가능 여부 및 유전자 연관 EST-SSR 마커를 이용한 배추과 유전자원에서 allelic diversity 검정을 수행하였다.
- 4) 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유용 형질관련 유전자좌들의 효율적 탐색도모
Rapid Cycle Brassica와 지부의 유전집단을 양성하고, 다형성 검증, 유전자 지도 작성, 형질조사, 개화 특성 연구를 통해 통합 유전자 지도 작성, QTL 분석을 수행하였다. 지부 (Chiifu)의 유전자적 응성불임 마커를 개발하였다. 또한 결구크기에 대한 유전자 분석, 종자의 기름성분 형질에 연관된 QTL 탐색 및 배추 유전자원을 이용한 glucosinolate diversity 연구, microRNA의 분석을 수행하였다. 소포자배양 기술을 확립하여 내흔계 대량생산의 방법을 수립하였다. 배추 뿌리혹병 연관 SNP 마커 및 개화 연관 SNP 마커의 개발을 진행하였다.
- 5) 분자 마커 서비스
개발된 분자 마커를 검증해 서비스 하는 시스템 구축하였고, 이를 이용한 분자마커 분석 서비스를 시작하여 제공하고 있다.
- 6) 타 세부과제와 연구 협력 내용
연구 및 개발 내용을 타 세부과제와 공동으로 이용하여 연구의 효율성을 도모하였다.

개발된 마커의 정보 및 검증서비스를 제공하고, 종자 분양 등 유전 집단 및 유전자원을 공급하였다. 연구를 통해 얻은 유전체 정보를 분석하여 유전자 정보 및 마커를 제공하였다.

가. 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

- 1) 배추 생산자들의 신종자에 대한 추가적인 지불의사액은 기존 종자에 비해 25~34% 높으며, 신종자의 선택 시 가격 수준보다는 신종자가 갖고 있는 재포력, 내병성, 수송성 등을 더 중요하게 고려하기 때문에 고품질의 신종자 개발이 바람직한 개발 방향이 될 것으로 판단된다.
- 2) 배추 신종자의 적극적 수용 및 지속적 사용에는 개인의 혁신성, 종자회사의 홍보, 인지된 용이성과 유용성, 신종자의 성과 등이 유의한 영향을 미치는 것으로 분석되었다. 이들 요인들 중 통제 가능한 요인은 종자회사의 홍보로 종자회사는 시험재배를 통해 생산자들의 신뢰도를 제고할 수 있는 방안을 모색하는 것이 중요한 과제로 대두되고 있다.

나. 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)

배추 full length cDNA library를 이용한 EST 해석으로부터 1,074개의 스트레스 관련 EST를 확보하였다. 이들 스트레스 관련 EST로부터 18개 EST의 전 염기를 결정한 후 다양한 스트레스 하에서 반응 실험을 수행한 결과 이들 유전자들이 다양한 스트레스 하에서 반응을 나타내어 확보된 1,074개 EST의 신뢰성을 높였다. 또한 배추 full length cDNA library를 이용하여 배추 유전자의 기능을 대량으로 확인하기 위하여 배추 FL-cDNA Agrobacteria library를 제작한 후 이를 이용하여 애기장대에 형질전환 시켜 표현형을 관찰하였다. 그 결과 뿌리의 성장 발달이 비정상적인 12 line을 확보하였다. 이들 결과들로부터 확보된 1,074개의 EST 정보는 생명공학적인 방법을 이용한 스트레스 저항성 작물육종에 활용할 수 있을 것으로 기대되며 형질전환체 12 line은 변이를 일으키는 배추 유전자를 단리 및 변이체 해석을 통하여 배추의 뿌리 발달 연구에 활용할 것이다.

다. 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제)

배추분자마커사업단의 우수성과를 기반으로 미래 고부가가치, 수출형 배추종자 개발 및 수출기반을 확보하기 위한 방안 제시를 통한 배추종자 활성화 방안을 마련하였다. 세계시장, 특히 중국 및 동남아 시장 진출을 위한 글로벌 맞춤형 수출 종자 개발 강화 방안 및 수출전략 사업 방안과 특히 'Golden Seed 프로젝트'의 추진에 맞추어 배추종자의 추진 방향을 제시하여, 배추종자가 새로운 고부가가치 창출 및 종자산업 전반의 기술 발전 도모 및 관련 분야 인력양성 방안에 활용되기를 기대한다.

2. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 1) 분석 방법의 매뉴얼화
수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, 클로로필, 셀룰로오스, 비타민 C, 비타민 E 등 일반 성분 분석 매뉴얼화 하였다. 카로티노이드, 글루코시놀레이트, 플라보놀, 안토시아닌, 페놀릭에시드 등 기능성 성분 분석 매뉴얼화 하였다.
- 2) 대량 분석방법 확립
Spectrophotometer를 이용하여 한 번에 하나의 시료를 측정하던 기존의 방법에서 ELISA나 HPLC를 이용한 분석법으로 개량함으로써 대량의 샘플을 빠른 시간에 분석이 가능하게 분석법을 개선하는데 성공하였다.
- 3) 정량 서비스
매뉴얼화 한 분석법을 통하여 600품종 이상 4000항목 이상을 분석 하였고, 육종기업, 식품기업, 농기원 등 분석의뢰를 받아 분석 서비스를 제공하였다.

3. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- 1) 도입 유전자원의 특성조사
총 375종의 도입 유전자원 및 DH라인 등의 특성을 조사하여 데이터화하고 현장평가 등을 통하여 유용유전자원 26종을 선발하였다. 도입 유전자원 중 도입번호 27273은 조기 개화성을 보였으며, 26113 등 20품종(계통)은 노지에서 월동 후 재종이 가능한 정도의 내한성을 보였고, 27264 및 27147은 생리장애에 강한 특성을 보였다. 마커에 의한 병 저항성 검정결과, 25081 등 7종이 뿌리혹병에 저항성이었으며, 27140 및 27144의 경우에는 TuMV에 저항성을 보였으며, 노균병에 저항성을 갖는 품종(계통)은 없었다.
- 2) 유용 유전집단 양성
유용 유전집단을 양성하기 위하여 DH라인 육성을 위한 소포자 배양 결과, 선발된 품종(계통) 26종과 교배계통 14종, 대조품종 4종을 재료로 하여 소포자배양을 통하여 총 660종의 DH라인을 육성하고, 이들을 자식시켜 총 125,669립의 종자를 채종하였다. 육성한 DH라인 중 154계통을 재배하여 유용성분을 조사한 결과, 27294-50이 reducing sugar 높았으며, 27295-24는 vitamin C의 함량이 높았다. 27137-2계통의 경우에는 mineral(Ca, Mg, Mn, Zn, Fe)의 함량이 높게 나타났으며, carotenoid 중 β -carotene과 Lutein의 성분함량도 27137-2가 높았다. Flavonol은 27294-67, 27263-74, 27294-67이 성분함량이 많았으며, glucosinolate 중 gluconasturtiin의 함량은 27259-4, 27263-141, 27259-6에서 높게 나타났다.

4. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

배추 노균병에 저항성 이병성인 계통을 이용하여 F₂, RIL 및 BC 집단을 생성하여 마커개발에 이용하였다. 50개 RAPD마커를 이용하여 부모본 순계의 순도를 확인하고, 100개 RAPD마커와 320개 SSR마커와 89개의 IBPA마커를 이용하여 45% 이상의 다형성을 각기 확인하였다. 실내의 노균병 발병 조건을 조사하였으며, 기내 노균병 증식에 관한 연구를 진행하였다. 다양한 유전집단에서 각기 3:1 또는 1:0 분리를 확인하여 단일 유전자가 저항성에 관여하고 있음을 확인하였다. 900개 이상의 RAPD마커를 스크린한 결과 1개의 마커를 선발하여 염기정보를 추출하였다. 추출된 염기정보는 배추유전체정보를 이용하여 SCAR마커로 전환하였다. 총 300여개의 SSR마커와 IBPA마커는 다형성이 발견되지 않았다. F₄집단에 대하여 노균병을 스크린하여 유전자지도를 작성하고 6개의 추가 마커를 개발하였다. 2012년에는 2.2cM 거리의 N18 마커보다 초근접한 위치를 탐색하여 9개의 마커를 추가 개발하였으며, 노균병 저항성 유전자(*BrRHP1*)이 94kbp 이내로 초근접하였다. 앞으로 추가연구를 계속한다면 노균병 저항성 유전자 클로닝이 가능할 것으로 사료된다.

5. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

1) 노균병 저항성 유전분석 집단 양성

노균병 저항성 유전은 단일자 우성으로 유전됨을 밝혔으며, 유전분석집단은 RI-line F7세대까지 114 점을 고정시켰다.

2) 가을배추 품종육성

사강배추, 한설대랑 배추, 외와쌈 배추, CR 황옥엇가리 배추 및 설화월동 배추 등 총 5점을 품종보호 출원하였다.

6. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

1) 본 연구에서 고안된 Cellulose nitrate filter와 syringe filter를 이용한 filter법은 휴면 포자 분리과정에서 토양 부산물 및 식물잔체가 보다 효과적으로 제거되어 이전의 분리법 보다 더 순수하게 휴면포자를 획득할 수 있었다.

2) 휴면포자의 대량증식방법 개발을 위해 옥신, 에틸렌, 질소를 처리한 결과, 옥신 10⁻⁷, 10⁻⁸ 희석처리에서 흑의 비대효과가 가장 좋았으며 분리되는 휴면포자수 또한 8×10⁷ spore/ml로 크게 증가되었음을 확인할 수 있었다

3) 최적의 뿌리혹 저장 조건으로는 -70℃에서 뿌리혹을 그대로 저장하거나 흑을 균질화한 후 8겹의 거즈에 걸러 저장하는 것이 가장 효과적이었다.

4) 배추 뿌리혹병균 *P. brassicae* race 4의 염기서열이 상당부분 분석되어, 추후 이 균의 유전체 연구에도 기본 자료로 활용될 수 있을 것이다.

5) 본 연구에서는 국내 주요 배추 재배지역인 경북 의령, 강원도 방림, 충남 배방 지역에서 수집한 뿌리혹으로부터 단포자 접종에 의해 race 1, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16을 발견하였다. 그 중 3, 10, 13, 14, 16은 국내 최초로 존재가 밝혀진 race들이다.

6) Race의 혼합접종시 병원성의 변화를 확인한 결과 병원성이 변화하였다. Race 8과 16의 혼합접종에 의해 새로운 race가 생성됨이 밝혀져 race간의 상호작용에 의해 새로운 race가 생성된다는 점을 밝혔다.

7) 새로 개발한 primer ITS1-1, 1-2는 conventional PCR을 이용한 특이성 검증에서 다른 토양병원균 및 배추뿌리로부터 추출한 DNA에서는 증폭이 이루어지지 않았고 *P. brassicae*에서만 129 bp 크기의 증폭산물이 형성되어 특이성이 확인되었다. Primer ITS1-1, 1-2로 Conventional PCR을 이용한 민감도 검증 결과, 병원균 포자 10개정도인 100fg까지 검출이 가능함으로서, 이는 1차 PCR만으로도 이전 연구에서의 nested PCR 결과와 같은 정도의 높은 민감도를 보였다. Real-time PCR 검증에서도 ITS1-1, ITS1-2의 종 특이성을 확인할 수 있었으며 민감도도 conventional PCR에서보다 100배정도 높았다. Real-time PCR은 증폭되는 DNA의 양을 정량할 수 있으며 DNA의 순수도를 확인할 수 있어서 DNA의 순수분리 및 분리효율 비교에 유용할 것으로 생각된다.

8) 배추 뿌리혹병균 *P. brassicae* race 4의 염기서열이 상당부분 분석되어, 추후 이 균의 유전체 연구에도 기본자료로 활용될 수 있을 것이다.

7. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

배추 뿌리혹병의 다양한 race중 3개 race에 대한 유전분석 및 저항성 마커개발용 유전 집단을 양성하였으며, 배추 뿌리혹병 저항성 월동배추 등 4개 품종을 육성하여 농가에 보급하고 있다.

8. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

1) 발견될 수 있는 모든 종류의 SNP를 12 종류의 제한효소(HinfI, Hpy166II, Sau96I, CviAII, DdeI, ScrFI, BstUI, MseI, Hpy188I, Tsp509I, HpyCH4III, AluI) 안에서 선택하여 dCAPS 마커로 개발할 수 있는 기술을 개발하였다.

2) 환경스트레스에 반응하는 Trehalose와 AOX 합성 유전자를 대상으로 배추 계통 '지부'와 '권심' 사이에서 다형성을 보이는 Trehalose 13개, AOX 3개의 다형성 분자 마커를 개발하였다.

3) 배추 계통 ‘지부’와 ‘권심’ 교배 RIL 집단을 대상으로 내서성 QTL 분석을 통해서 1, 3, 5번 연관그룹에서 내서성 연관 마커를 개발하였다.

4) 배추 계통 ‘92’와 ‘93’ 교배 F2 집단을 대상으로 내서성 QTL 분석을 통해 내서성 연관 마커 Ht-1, Ht-2, Ht-3 마커를 각각 2, 3, 13 연관 그룹에서 개발하였다.

9. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

국내 F1 종자 및 해외 내서성에 강한 계통을 2회(2007년 5-6월, 2008년 4월)에 나누어서 47점을 수집하였다. 1차 수집된 유전자원은 현대종묘 연구소(경기도 여주군 가남면)에서 2007년 6월 23일(1차), 7월 23일(2차)에 각각 파종을 하였고 9월 3일과 9월 28일 수확하여 연구 목적에 부합되는 7점을 선발 할 수 있었다. 2008년 수집된 유전자원 15점을 평가 하기위해 2008년 5월 23일 본 연구소 포장에 파종하여 7월 8일 수확조사를 실시하였고, 6월 30일에 내서성 검정을 위하여 고랭지(강원도 평창군 소재)에 파종하여 8월 19일 수확하여 원예적인 특성을 조사하였다.

계통육성은 내서성 준 고랭지, 고랭지 여름배추 품종육성을 위해 기 보유 계통 및 수집재료를 2007년 75계통, 2008년 50계통, 2009년 90계통, 2010년 250계통과 2011년 120계통 등 총 340계통 공시하여 육성목표인 준 고랭지, 고랭지 내서성 품종육성에 부합되는 176계통을 선발하였으며, 내서성 저항성계통 분자마커개발을 위하여 동국대학교와 협동 연구를 진행하였으며, 분자마커개발을 위해 내서성 감수성, 저항성계통 및 F2종자를 시료로 제공하였고 또한 동국대학교에서 재배시험을 200점 의뢰하여 고온기인 6월 비닐하우스에 재배시험하여 생존율이 높은 계통, 구의 크기가 큰 계통, 생육기간이 짧은 계통 등의 구별을 통해 내서성에 강한 생육 특성 및 외관상 표현형을 검사하였다. 차후 동국대학교에서 개발된 분자마커를 활용하여 내서성 계통선발 및 조합작성에 활용 함으로서 내서성 배추 품종육성기간 단축과 포장검정에 따르는 비용과 인력의 절감이 예상된다.

조합작성은 우선 준 고랭지와 고랭지로 내서성에 강하면서 품질이 우수한 교배조합 위주로 2008년 79조합, 2009년 125조합, 2010년 200조합, 2011년 200조합 및 2012년에는 200조합 을 작성하였으며 작성된 교배조합은 강원도 준 고랭지 및 고랭지에서 조합능력 검정 실시하였으며, 선발된 조합들은 이듬해 6월초에 파종하여 25일 육묘 후 해발 450m(준 고랭지), 700m(고랭지)에 지역적응성검정을 실시한 결과 내서성이 강해 고온 결구력이 좋고 반포피형으로 재배가 안정적이며 뿌리혹병과 바이러스에 내병성이 강한 고랭지 여름재배 2품종과 내서성에 강하면서 추대가 안정적인 준 고랭지 1품종을 국립종자원에 품종보호출원 신청하였다. 그리고 고랭지 전 작기에 재배가 가능하면서 수확 시기가 빠른 소형배추 1품종과 가을배추형 추석배추로 포장 저장성이 우수한 품질계 1품종을 국립종자원에 생산 판매 신고를 하여 농가에 보급하여 농가 소득 증대와 여름배추의 안정적인 생산에 기여할 계획이다.

뿌리혹병 저항성 검정을 위하여 3년간 계통 및 조합 591점을 충남대학에 의뢰한 결과 계통 54점 조합 69점에서 뿌리혹병 저항성으로 판별되었고, 저항성인 계통을 이용하여 “위풍당당”, “범상”등 뿌리혹병 저항성 품종을 육성할 수 있었다. 베타카로틴 분석 결과 분석의뢰 한 15점의 평균 함량은 231.37 μ g/g이고 HB207번은 베타카로틴이 431.19 μ g/g 다른 계통들 보다 월등히 높게 나와 기능성 여름배추 품종육성도 가능할 것으로 생각되었다.

10. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- 1) 배추 DNA chip을 활용한 개화시기 및 광주기성관련 유전자를 탐색하고 분석하였다.
- 2) 표적유전자를 선발하고, 다양한 배추 재료로부터 유전자를 클로닝하고 염기서열분석을 완료하였다.
- 3) 염기서열 분석결과를 토대로 PCR 프라이머를 작성하고 마커로의 활용여부를 테스트한 결과 두 유전자로부터 개화마커로의 활용이 가능한 프라이머 세트를 찾아내었다.

11. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

배추 유전자원 66점을 수집하여 특성검정하였으며, 석회결핍증에 강하고 추대가 늦은 K756, 과 추대가 안정되고 수량성이 좋은 K758은 품종보호 등록완료, 뿌리혹병 내병계 품종인 K925는 품종보호 출원 중이다.

12. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

본 연구를 통하여 세포질응성불임성(CMS) 계통과 응성 가임(MF) 계통을 특이적으로 구분할 수 있는 BramsA, BramsB1, BramsB2 마커, Polima형 CMS 특이적 마커 BramsE, BramsF, BramsH2, Ogura형 CMS 특이적 마커 BramsC, Sakata CMS 특이적 마커 BramsH1, Kosena CMS 특이적 마커 BramsK를 개발하였다. 이들 개발된 마커를 이용하여 국내 대학, 연구소, 종묘회사로부터 수집된 총 80종에 대하여 CMS형을 구분하였다. 그 결과 국내의 대부분의 배추과 CMS가 Ogura형 CMS로 편중되어 있었다. 또한 UDP-glucose pyrophosphorylase (UGPase)은 glucose 1-phosphate와 UDP-glucose간의 가역반응을 촉매 하는 효소이며 UGPase 반응에 의해 생성된 UDP-glucose는 glycolipid, glycoprotein합성의 전구체이고 callose, pectin, cellulose의 전구체로서도 매우 중요하다. 애기장대의 UGPase 유전자의 기능분석으로부터 이 유전자는 화분발달 단계인 사분자 시기의 셀룰로오스막 형성에 비정상임을 나타내었다. 그 결과 화분의 발달에 영향을 미쳐 비정상적인 화분 즉 핵유전자 응성불임성(genic male sterility)을 나타내었다.

13. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- 배추의 응성불임성 계통 이용에 필요한 마커를 개발할 수 있도록 세포질 응성불임 계통 3종과 핵유전 응성불임성 1종을 증식하여 응성불임성 마커개발팀(순천대학교 노일섭 교수)에 양도하였다.
- 우량 품종 및 우량 계통 간 F1 조합 28점을 소포자 배양에 공시하여 4년차까지 973계통을 육성하였다(5년차 분 계대배양 중). 그 중 3년차까지의 502계통은 특성조사가 완료되었으며 400 계통 이상이 바이러스병과 뿌리혹병에 대한 내병성 및 포장에서의 우수한 특성 때문에 선발되었다. 이들은 F1품종 육성에 이용되고 있다.
- 소포자 배양에서 유래된 배를 정상식물체로 양성하는 기존 배지가 효율이 낮아 그 배지를 개선하여 이용하고 있다. 소포자 유래의 배는 1차로 MS4N2배지로 옮겨 식물체를 유도하고 여기서 기형으로 자라는 개체는 MSK 재배로 계대배양 한다. 그러나 MSK 배지에서는 대부분 지상부만 정상으로 분화되고 뿌리는 잘 발달하지 않는 것으로 나타났다. 따라서 지상부가 정상인 개체는 HY2라는 하이포넥스 배지에 옮겨 뿌리를 유도하고 있다.
- 보존 중이거나 새롭게 육성된 계통을 육종재료로 이용하기 위하여 특성과 내병성을 검증하였다. 전체 2,958점을 검증하여 1차로 989 계통이 선발되었다. 이들은 바이러스 병 또는 바이러스 병과 뿌리혹병에 복합내병성을 가지는 유용한 재료이다. 그리고 그 중 만추대성 검정으로 선발된 것이 21 계통이었다. 이들은 4계성 품종 육성의 재료로 이용될 것이다.
- 내병성 계통을 편리하게 검증할 수 있는 3.3cM의 바이러스병 내병성 연관 마커가 본 과제의 한 집단에서 거의 7.0cM 정도로 나타나기도 하였다. 따라서 농촌진흥청과 공동으로 2.2cM짜리 SSR 마커를 3개의 DH 집단 340 계통에 적용하여 개선하고 공동의 특허를 출원하였다.
- 과제가 시작될 무렵 수집된 CMS를 이용하여 보존 중이거나 새롭게 육성되는 계통을 CMS로 핵치환 하였다. 현재 BC3세대까지 진전된 계통이 6개이며 BC2까지 진전된 것이 5계통이다. BC3까지의 계통을 이용한 F1조합을 금년 중에 품종 등록토록 할 계획이다(F1 조합 육성 항 참조).
- 우수 1대 잡종을 육성코자 5개년 동안 494개의 F1 조합을 가을에 검증하여 우수하다고 생각되는 32개의 조합을 선발하였다. 그리고 그들 중 봄에 120개, 여름에 175개의 F1 조합을 검증하여 각각 12개와 19개의 우수한 조합이 선발되었다. 그 중 한 조합이 3년차부터, 그리고 봄, 여름, 가을 등 거의 4계절에 걸쳐 재배가 가능한 것으로 나타났고 그 모계가 세포질 응성불임성 계통으로 육성되어 세포질 응성불임성을 이용한 조합으로 품종 등록이 가능하게 되었다. 그 외 3-5개의 F1조합이 유망시 되며 모계를 세포질 응성불임성으로 육성 중이다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 연차별 연구성과 목표 및 달성

(단위 : 건수)

구분		특허		신품종			유전자원 등록	논문		기타
		출원	등록	품종 명칭등록	품종 생산 수입판매 신고	품종보호 출원		등록	SCI	
1차년도	목표	0	0	1	1	1	0	1	1	300건 분석 특성검정70
	달성	0	0	1	1	1	0	0	0	1118건 분석 특성검정70 단기연수 6건
2차년도	목표	1	0	1	1	1	0	5	7	500건 분석 특성검정50
	달성	2	1	5	1	4	0	3	5	2000건 분석 특성검정50 단기연수 5건
3차년도	목표	2	0	2	1	2	0	6	5	500건 분석 특성검정50 DH타인10
	달성	7	1	1	1	1	1	8	10	982건 분석 특성검정82
4차년도	목표	3	1	2	1	2	0	6	4	500건 분석 특성검정50 DH타인10
	달성	2	3	7	0	7	0	35	4	960건 분석 특성검정72 DH타인채종79
5차년도	목표	2	0	6	2	10	0	9	3	500건 분석 특성검정50
	달성	9	6	4	1	3	4	11	5	660건 분석 특성검정173 DH타인채종81
계	목표	8	1	12	6	16	0	27	20	
	달성	20	11	18	4	16	5	27	24	

* 한 개 논문으로 저자가 중복된 경우 1개 논문으로 적용하였음

* 5차년도 현재 특허 1건과 SCI 논문 8편이 인쇄 및 심사중으로 대부분 곧 발표될 예정임

(이하 세부 성과 목록에는 기재하였으나 성과 합계에는 포함시키지 않았음)

* 4차년도의 유전자원 등록의 경우 뿌리혹병균주의 등록을 의미하는데, 교육과학기술부 국가지정 배추과소재은행에 기탁 등록하였음

나. 논문게제 성과

○ 논문게제 51건 [SCI(E) 27건, 비SCI 24건, (예정 8건)]

순 번	발간 연도	논문명	저자	학술지명	Vol (No.)	구분
1	2009	Genetics of Clubroot Resistance in <i>Brassica</i> Species	Zhong Yun Piao, Nirala Ramchiery, Yong Pyo Lim	Journal of Plant Growth Regulation	28(3)	SCI
2	2009	SSR and SCAR mapping of a multiple-allele male-sterile gene in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa L.</i>)	Hui Feng, Peng Wei, Zhong-Yun Piao, Zhi-Yong Liu, Cheng-Yu Li, Yu-Gang Wang, Rui-Qin Ji, Shu-Juan Ji, Ting Zou, Su-Ryun Choi, Yong-Pyo Lim	Theoretical and Applied Genetics	119(2)	SCI
3	2009	Comparative Analysis between Homoeologous Genome Segments of <i>Brassica napus</i> and Its Progenitor Species Reveals Extensive Sequence-Level Divergence	Foo Cheung, Martin Trick, Nizar Drou, Paul Wilkinson, Yong Pyo Lim, Jee-Young Park, Soo Jin Kwon, Rod Scott, Chris Town, and Ian Bancroft	Plant Cell	21(7)	SCI
4	2009	Enhancement of tolerance to soft rot disease in the transgenic Chinese cabbage (<i>Brassica rapa L. ssp pekinensis</i>) inbred line, Kenshin	Enkhchimeg Vanjildorj, Seo Young Song, Zhi Hong Yang, Jae Bul Choi, Yoo Sun Noh, Suhyoung Park, Woo Jin Lim, Kye Man Cho, Han Dae Yun and Yong Pyo Lim	Plant Cell Reports	28(10)	SCI
5	2009	Sequenced BAC Anchored Reference Genetic Map that Reconciles the Ten Individual Chromosomes of <i>Brassica rapa</i>	HyeRan Kim, Su Ryun Choi, Jina Bae, Chang Pyo Hong, Seo Yeon Lee, Md. Jamil Hossain, Dan Van Nguyen, Mina Jin, Beomseok Park, Jeawook Bang, Ian Bancroft, Yong Pyo Lim	BMC Genomics	10:432	SCI
6	2009	Complexity of genome evolution by segmental rearrangement in <i>Brassica rapa</i> revealed by sequence-level analysis	Martin Trick, Soo-Jin Kwon, Su Ryun Choi, Fiona Fraser, Eleni Soumpourou, Nizar Drou, Zhi Wang, Seo Yeon Lee, Tae-Jin Yang, Jeong-Hwan Mun, Andrew H Paterson, Christopher D Town, J Chris Pires, Yong Pyo Lim, Beom-Seok Park and Ian Bancroft	BMC Genomics	10:539	SCI

7	2010	Genetics of Clubroot Resistance in Brassica Species	Zhong Yun Piao, Nirala Ramchiery, Yong Pyo Lim	Journal of Plant Growth Regulation	28(3)	SCI
8	2010	UDP-Glucose Pyrophosphorylase is Rate Limiting in Vegetative and Reproductive Phases in <i>Arabidopsis thaliana</i>	Jong-In Park, Takeshi Ishimizu, Keita Suwabe, Keisuke Sudo, Hiromi Masuko, Hirokazu Hakozaiki, Ill-Sup Nou, Go Suzuki and Masao Watanabe	Plant & Cell Physiology	51(6)	SCI
9	2010	Expression characteristics of heat shock protein genes in two comparable inbred lines of Chinese cabbage, Chiifu and Kenshin	Jeongyeo Lee, Hayoung Song, Ching-Tack Han, Yong Pyo Lim, Sang-Min Chung, Yoonkang Hur	Genes & Genomics	32(3)	SCI
10	2010	Composition Analysis between Kohlrabi(<i>Brassica oleracea</i> var. gongyloides) and Radish(<i>Raphanus sativus</i>)	Seung-Hyun Choi, Dong-Kul Ryu, Suhyoung Park, Kyoung-Gu Ahn, Yong-Pyo Lim and Gilhwan An	원예과학기술지	28(3)	SCI
11	2010	Effects of Soil pH on Nutritional and Functional Components of Chinese Cabbage(<i>Brassica rapa ssp. campestris</i>)	Jo-Eun Lee, Pingjuan Wang, Gyungyun Kim, Sunghan Kim, Suhyoung Park, ... Yong-Soo Hwang, Yong-Pyo Lim, Eun Mo Lee, InKi Ham, Man Hyun Jo, Gilhwan An	원예과학기술지	28(3)	SCI
12	2010	Development of a High Density Integrated Reference Genetic Linkage Map for the Multinational <i>Brassica rapa</i> Genome Sequencing Project.	Xiaonan Li, Nirala Ramchiery, Su Ryun Choi, Dan Van Nguyen, Md. Jamil Hossain, Hyeon Kook Yang, Yong Pyo Lim	Genome	53(11)	SCI
13	2011	A method for selection of restriction enzymes for sdCAPS marker construction.	YeSol Jeong, SunYoung Lee, InHye Choi, Yong Pyo Lim, YoonKang Hur, Jack E. Staub, SangMin Chung	Plant Breeding	130(3)	SCI
14	2011	An efficient protocol for genetic transformation of watercress (<i>Nasturtium officinale</i>) using <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	Nam Il Park, Jae Kwang Kim, Woo Tae Park, Jin Woong Cho, Yong Pyo Lim, Sang Un Park	Molecular Biology Reports	38(8)	SCI
15	2011	Gene encoding PnFL-2 with TIFY and CCT motifs may control floral induction in <i>Pharbitis nil</i> .	Kang Chang Kim, Jeong-A. Han, Jeongyeo Lee, Jueson Maeng and Yoonkang Hur	Genes & Genomics	33(3)	SCI

16	2011	Genic Microsatellite Markers in <i>Brassica rapa</i> : Development, Characterization, Mapping, and Their Utility in Other Cultivated and Wild Brassica Relatives.	Nirala Ramchiary, Van Dan Nguyen, Xiaonan Li, Chang Pyo Hong, Vignesh Dhandapani, Su Ryun Choi, Ge Yu, Zhong Yun Piao, Yong Pyo Lim	DNA Research	18(5)	SCI
17	2011	Identification of potential microRNAs and their targets in <i>Brassica rapa L.</i>	Vignesh Dhandapani, Nirala Ramchiary, Parameswari Paul, Joonki Kim, Sun Hee Choi, Jeongyeo Lee, Yoonkang Hur, Yong Pyo Lim	Molecules and Cells	32(1)	SCI
18	2011	Rapid divergence of repetitive DNAs in Brassica relatives.	Dal-Hoe Koo, Chang-Pyo Hong, Jacqueline Batley, Yong Suk Chung, David Edwards, Jae-Wook Bang, Yoonkang Hur, Yong Pyo Lim	Genomics	97(3)	SCI
19	2011	De novo genetic variation associated with retrotransposon activation, genomic rearrangements and trait variation in a RIL population of <i>Brassica napus</i> derived from interspecific hybridization with <i>B. rapa</i>	Jun Zou, Donghui Fu, Huihui Gong, Wei Qian, Wei Xia, J. Chris Pires, Ji Feng, Yan Long, Tae-Jin Yang, Yong Pyo Lim, Beom Seok Park, Jinling Meng	Plant Journal	68(2)	SCI
20	2011	Transcriptionally and Phylogenetically Analyzing the P Protein Gene of Glycine decarboxylase for understanding the evolution of C3 -C4 species in Brassicaceae.	Chunyu Zhang, In-ae Park, Fangsen Xu, Maoteng Li, Yong Pyo Lim and Jinling Meng	Horticulture, Environment, and Biotechnology	52(4)	SCI
21	2011	Mapping quantitative trait loci for leaf and heading-related traits in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa L. ssp. pekinensis</i>)	Yu Ge, Nirala Ramchiary, Tao Wang, Cui Liang, Na Wang, Zhe Wang, Su Ryun Choi, Yong Pyo Lim and Zhong Yun Piao	Horticulture, Environment, and Biotechnology	52(5)	SCI
22	2011	Structural and functional comparative mapping between the Brassica A genomes in allotetraploid Brassica napus and diploid <i>Brassica rapa</i>	Congcong Jiang, Nirala Ramchiary, Yongbiao Ma, Mina Jin, Ji Feng, Ruiyuan Li, Hao Wang, Yan Long, Su Ryun Choi and Chunyu Zhang, et al.	Theoretical and Applied Genetics	123(6)	SCI
23	2011	Identification of the BrRHP1 locus that confers resistance to downy mildew in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>) and development of linked molecular markers.	Sunggil Kim, Young Ha Song, Ji-Yeon Lee, Su Ryun Choi, Vignesh Dhandapani, Chang Soon Jang, Yong Pyo Lim, Taeho Han	Theoretical & Applied Genetics	123(7)	SCI

24	2011	The genome of the mesopolyploid crop species <i>Brassica rapa</i> .	The <i>Brassica rapa</i> Genome Sequencing Project Consortium	Nature Genetics	43(10)	SCI
25	2012	Quality and safety of a new rapeseed 'Kangyu' cultivated at different regions in Korea	Jong-Tae Park, Pingjuan Wang, Seung-Hyun Choi, Yong-Pyo Lim, Dong-Jun Lee and Gilhwan An	Food Science and Biotechnology	21(1)	SCI
26	2012	Cloning of a <i>Zoysia</i> ZjLsL and its overexpression to induce axillary meristem initiation and tiller formation in <i>Arabidopsis</i> and bentgrass	D.-H. Yang, H.-J. Sun, C.-H. Goh, P.-S. Song, T.-W. Bae, I.-J. Song, Y.-P. Lim, P.-O. Lim, H.-Y. Lee	Plant Biology	14(3)	SCI
27	2012	Determining the geographical origin of Chinese cabbages using multielement composition and strontium isotope ratio analyses	Yeon-Sik Bong, Woo-Jin Shin, Mukesh Gautam, Youn-Joong Jeong, A-Reum Lee, Chang-Soon Jang, Yong-Pyo Lim, Gong-Soo Chung, Kwang-Sik Lee	Food Chemistry	135(4)	SCI
28	2008	Astaxanthin과 Capxanthin의 급여가 난황의 착색에 미치는 효과	손민정, 김성환, 이봉덕, 임용표, 안길환	한국가금학회지	35(3)	비SCI
29	2009	Identification of SSR Markers Linked to a Genic Multiple-Allele Male Sterile Gene in Chinese Cabbage	Feng Hui, Wei Peng, Li Cheng-yu, Choi Su Ryun, Lim Yong Pyo, and Piao Zhong-yun	Acta Horticulturae Sinica	36(1)	비SCI
30	2009	Weight Gain Limitation and Liver Protection by Long-Term Feeding of Astaxanthin in Murines	Sung-Han Kim, Dong-Il Jean, Yong-Pyo Lim, Chanyong Lee, and Gilhwan An	한국응용생명화학회지	52(2)	비SCI
31	2009	배추 trehalose 합성 유전자와 연관된 DNA 마커 개발 (Development of DNA Markers for Trehalose Synthesis Genes in <i>Brassica rapa L.</i>)	Yesol Jeong Yong, Yong Pyo Lim, Yoonkang Hur, Sang-Min Chung	생명과학회지	19(5)	비SCI
32	2009	Factors for high frequency plant regeneration in tissue cultures of Indian mustard (<i>Brassica juncea L.</i>)	Mohammed Shafi Ullah Bhuiyan, Sung Ran Min, Kwan Sam Choi, Yong Pyo Lim, Jang Ryol Liu	한국식물생명공학회지	36(2)	비SCI
33	2009	Chinese Cabbage Clubroot Pathogen, <i>Plasmodiophora brassicae</i> , Is Genetically Stable	Seung-Hwan Heo, Se-jung Jang, Jin-Soo Choi, Chang-Soon Jang, Jeong-young Song, Hong-gi Kim	Mycobiology	37(3)	비SCI
34	2009	자가화합성 양배추의 주두측 자가불화합성 유전자 해석	노일섭, 박종인, 이인호, 정건호	생명과학회지	19(11)	비SCI
35	2009	Isolation and medium development of the actinomycetes, <i>Streptomyces griseofuscus</i> CNU-A91231, inhibiting phytopathogenic fungi	최승현, 손민정, 김성환, 최석열, 이윤희, 최재을, 안길환	Kor. J. Microbiol. Biotechnol	37(4)	비SCI

36	2009	Optimization of Indoor Screen Method of Chinese Cabbage(<i>Brassica rapa</i>) Germplasm against Downy Mildew Optimization of Indoor Screen Method of.	Ji-Yeon Lee, Young-Ha Song, Chang-Soon Jang, Yong-Pyo Lim, and Tae-Ho Han	농업 과학기술	44:11-15	비SCI
37	2009	Outdoor Screening of Chinese Cabbage Germplasm against Downy Mildew	Ji-Yeon Lee, Young-Ha Song, Chang-Soon Jang, Yong-Pyo Lim, and Tae-Ho Han	농업 과학기술	44:17-21	비SCI
38	2010	Discrimination of Astaxanthin Fed Laying Hens and Their Peroxidated Carcasses by Electronic Nose	Young-An Kwon, Chanyong Lee, Bong-Duk Lee, Seung-Hyun Choi and Gilhwan An	한국가금학회지	37(3)	비SCI
39	2010	RAPD 분석에 의한 여수 들산갯의 유연관계 분석	이인호, 박종인, 정운섭, 정효진, 노일섭	생명과학회지	20(1)	비SCI
40	2010	Development of Molecular Markers for Alternative Oxidase Synthesis Genes in <i>Brassica rapa</i> L.	Ye Sol Jeong, Sang-Min Chung	Journal of Life Scicne	20	비SCI
41	2010	Components in Chinese Cabbage(<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>campestris</i>) as Affected by Soil pH: 6.9 vs. 7.6	Man Hyun Jo, In Ki Ham, Eun Mo Lee, Jo-Eun Lee, Nan Jiang, Yong Pyo Lim, Gilhwan An	농업 과학연구	37(1)	비SCI
42	2010	Construction of Full-length cDNA Library and Investigation of Potential Genes in <i>Brassica rapa</i> .	박종인, Thamilarasan Senthil Kumar, Nasar Uddin Ahmed, 노일섭	자연 자원연구	10(2)	비SCI
43	2010	인삼의 적변을 유발하는 세균에 대하여 항균활성을 가지는 방선균 선발 및 동정	한성희, 류동길, 최승현, 최계을, 안길환	농업 과학연구	37(2)	비SCI
44	2010	Control of E. coli in cabbage during producing coleslaw by vinegar for haccp.	류동길, 고계민, 박수형, 안길환	농업 과학연구	37(3)	비SCI
45	2011	계절, 부분, 색의 영양에 의한 양배추의 유리 아미노산 함량 변화 (Effect of season, tissue position and color on content of amino acids in cabbage(<i>Brassica oleracea</i>))	Il-Nam Oh, Seung-Hyun Choi, Suh-Young Park, Yong-Pyo Lim, Gil-Hwan An	농업 과학연구	38(1)	비SCI
46	2011	MIRPI: Portable software to identify highly conserved microRNAs, their targets and to calculate precursor statistics.	Dhandapani Vignesh, Paul Parameswari, Su Bin Im, Hae Jin Kim and Yong Pyo Lim	Genomics & Informatics	9(1)	비SCI
47	2011	배추 생산자들의 신종자 이용 행태에 관한 연구	홍승지, 김용규	농업 과학연구	38(3)	비SCI
48	2011	배추 신종자의 경제적 가치 평가	홍승지	농업경영정책 연구	38(4)	비SCI
49	2011	교배육종 및 소포자 배양에 의한 뿌리혹병 race4 저항성 배추 계통 육성	박수형, 윤무경, 임용표	농업 과학연구	38(4)	비SCI
50	2011	SSR-Primer Generator: A Tool for Finding Simple Sequence Repeats and Designing SSR-Primers	Chang Pyo Hong, Su Ryun Choi and Yong Pyo Lim	Genomics & Informatics	9(4)	비SCI

51	2012	Induction of somatic embryogenesis and plant regeneration in the reed grass (<i>Phragmites communis</i> Trin.)	Jeong-Eun Lee, Sang-Gyu Seo, Bong-kyu Kim, Seong-Min Woo, Bon-Cheol Koo, Tae-Ho Park, Yong Pyo Lim and Sun-Hyung Kim	African Journal of Biotechnology	11(8)	비SCI
52	2012	중국도입 배추 소포자배양에 의한 배가만수체의 종자생산능력	조만현 외	원예과학기술지	출판중	SCIE
53	2012	Gene ontology based characterization of expressed sequence tags (ESTs) of <i>Brassica rapa</i>	T. S. Kumar 외	Mol. Biol. Rep.	심사중	SCI
54	2012	Identification of QTLs Related to Heat stress in Chinese cabbage	알리 아스자드 외	Biotechnology Letters	심사중	SCI
55	2012	Development of EST database and transcriptome analysis in the leaves of <i>Brassica rapa</i> using a newly developed pipeline	Vignesh Dhandapani, Su Ryun Choi, Parameswari Paul, Yong-Kwon Kim, Nirala Ramchiary, Yoonkang Hur, Yong Pyo Lim	Genes & Genomics	In Press	SCI
56	2012	Quantitative trait loci mapping in <i>Brassica rapa</i> revealed the structural and functional conservation of genetic loci governing morphological and yield component traits in the A, B, and C sub-genomes of Brassica species	Xiaonan Li, Nirala Ramchiary, Vignesh Dhandapani, Su Ryun Choi, Yoonkang Hur, Il Sup Nou, Moo Kyoung Yoon, Yong Pyo Lim	DNA Research	accepted	SCI
57	2012	Novel Bulk-Propagation Method for single spores of <i>Plasmodiophora brassicae</i> and Characteristics of Pathotypes in Korea	장세정, 장창순, 김홍기	SSI 심사중	심사중	
58	2012	Red Phenotype by Anthocyanidin with Increase of Phenolics in New Chinese Cabbage Cultivar	Nan Jiang, Sunok Chung, Jo Eun Lee, Dongkul Ryu, Yongpyo Lim, Suhyoung Park, Chanho Lee, Junho Song, Kijun Kim, Jong-Tae Park, and Gilhwan An	Horticulture, Environment, and Biotechnology	투고중	
59	2012	Effect of Season, Color, and Tissue Position on Metabolite Profiles of Glucosinolates in Cabbage (<i>Brassica oleracea</i>)	Seung-Hyun Choi, Suhyoung Park, Yongpyo Lim, Mariadhas Valan Arasu, Sun-Ju Kim, Jong-Tae Park, Gilhwan An	Phytochemistry	투고중	

다. 특허 성과

○ 특허실적 31건 (특허출원 20건, 특허등록(프로그램 포함) 11건, (예정 1건)),
 품종실적 23건 (품종보호출원 16건, 품종명칭출원 18건, 품종생신수입판매신고 4건 품종등록 5건)

순번	구분	출원여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
1	특허	출원	2009	무름병 내성이 증진된 배추의 형질전환체 및 그 제조방법	충남대학교 산학협력단	임용표, 윤한대, 앵키치맥	10-2009-0058795
2	특허	출원	2009	배추 BAC 클론 유래 SSR 마커 및 이를 이용해 작성된 브라시카라과의 표준 유전자지도	충남대학교 산학협력단	임용표, 김혜란, 최수련, 홍창표, 방재욱, 진민아, 박범석	10-2009-0090588
3	특허	출원	2009	PCR과 제한효소를 이용한 SNPs 분석 방법.	동국대학교 산학협력단	정상민, 정예술	10-2009-0090775
4	특허	출원	2009	배추의 유전자적 다중대립인자 응성불임 유전자 Ms의 마커 및 이의 용도	충남대학교 산학협력단	임용표, 황휘	10-2009-0035772
5	특허	출원	2009	배추과 작물의 세포질 응성불임성 유전자형 판별 프라이머 세트 및 이를 이용한 세포질 응성 불임성 유전자형 판별 방법	순천대학교 산학협력단	노일섭, 박종인, 이인호	10-2009-0133575
6	특허	출원	2010	뿌리혹병 균 포자에 특이적으로 결합하는 프라이머 및 이를 이용한 십자화과 작물의 뿌리혹병 진단방법	충남대학교 산학협력단	김홍기, 최진수, 송정영	10-2010-0038505
7	특허	출원	2010	뿌리혹병균의 휴면포자 분리방법 및 이를 이용한 대량증식방법	충남대학교 산학협력단	김홍기, 최진수, 송정영	10-2010-0038498
8	특허	출원	2010	배추과 작물의 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2010-0062249
9	특허	출원	2010	배추 바이러스(TuMV-C4) 내병성 인자 연관 SSR 마커 및 프라이머	대한민국(농촌진흥청장), ㈜바이오브리딩연구소	이수성, 진민아, 박범석	10-2010-0109427
10	특허	출원	2011	배추 노균병에 대한 성체식물 저항성을 부여하는 유전자좌, 및 이와 연관된 분자표지	전남대학교 산학협력단	김성길, 한태호, 임용표, 장창순	10-2011-0055925
11	특허	출원	2011	HRM 분석을 이용한 단일염기다형성 핵산서열 분석 방법	동국대학교 산학협력단	정상민	10-2011-0146001
12	특허	출원	2012	배추과 작물의 추대시기 판별용 마커	충남대학교 산학협력단	허윤강, 이현주, 임용표	10-2012-0028170

순번	구분	출원여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
13	특허	출원	2012	배추속 작물의 개화시기 판별용 조성물	충남대학교 산학협력단	허윤강, 이현주, 임용표	10-2012-0061704
14	특허	출원	2012	배추과 작물의 세포질응성불임성 및 가임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039145
15	특허	출원	2012	배추과 작물의 사코 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039146
16	특허	출원	2012	배추과 작물의 폴리마 유형 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039148
17	특허	출원	2012	배추과 작물의 유사 오그라 유형 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039147
18	특허	출원	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 램치어리, 니랄라, 김준기	10-2012-0085854
19	특허	출원	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 램치어리, 니랄라, 김준기	10-2012-0085859
20	국제특허	출원	2009	Transgenic Chinese cabbage with enhanced tolerance to soft rot disease and production method there of.	충남대학교 산학협력단, 충청남도	임용표, 윤한대, 앵키치맥	PCT/KR2009/4440
21	특허	등록	2010	PCR과 제한효소를 이용한 SNPs 분석 방법.	동국대학교 산학협력단	정상민, 정예술	10-0971153
22	특허	등록	2012	무름병 내성이 증진된 배추의 형질전환체 및 그 제조방법	충남대학교 산학협력단	임용표, 윤한대, 앵키치맥	10-1108971
23	특허	등록	2012	배추 BAC 클론 유래 SSR 마커 및 이를 이용해 작성된 브라시카라과의 표준 유전자지도	충남대학교 산학협력단	임용표, 김혜란, 최수련, 홍창표, 방재욱, 진민아, 박범석	10-1111563

순번	구분	출원 여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
24	특허	등록	2012	배추의 유전자적 다중대립인자 웅성불임 유전자 Ms의 마커 및 이의 용도	충남대학교 산학협력단	임용표, 황휘	10-1151239
25	특허	등록	2012	배추과 작물의 세포질 웅성불임성 유전자형 판별 프라이머 세트 및 이를 이용한 세포질 웅성 불임성 유전자형 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 산학협력단	10-1165586
26	국제 특허	등록	2011	Transgenic Chinese cabbage with enhanced tolerance to soft rot disease and production method there of.	충남대학교 산학협력단, 충청남도	임용표, 윤한대, 앵키치백	WO 2011/002126
27	특허	등록	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 라피치아리, 니랄라, 김준기	10-1180653
28	특허	등록	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 라피치아리, 니랄라, 김준기	10-1180654
29	프로 그램	등록	2009	SSR-Primer Generator	충남대학교 산학협력단		2009-01-129-000881
30	프로 그램	등록	2011	SeqCalc	충남대학교 산학협력단		2011-01-129-000634
31	프로 그램	등록	2011	miPRI	충남대학교 산학협력단		2011-01-129-003235
32	품종	출원	2008	참설(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2008-229
33	품종	출원	2009	눈나라(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2009-264
34	품종	출원	2009	사강(배추)	이레종묘		품종보호 2009-216
35	품종	출원	2009	K756(배추)	우리종묘		품종보호 2009-268
36	품종	출원	2009	k758(배추)	우리종묘		품종보호 2009-269
37	품종	출원	2009	으뜸쌈(배추)	현대종묘		품종명칭 2009-337
38	품종	출원	2010	케이티엑스(배추)	현대종묘㈜		품종보호 2010-188
39	품종	출원	2010	아라리(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2010-436
40	품종	출원	2010	위풍당당(배추)	현대종묘㈜		품종보호 2010-569

순번	구분	출원 여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
41	품종	출원	2011	외와삼(배추)	한국종묘		품종보호 2011-172
42	품종	출원	2011	한설노랑(배추)	한국종묘		품종보호 2011-173
43	품종	출원	2011	케이925(배추)	우리종묘		품종보호 2011-318
44	품종	출원	2011	충대1호(유채)	충남대학교 산학협력단		품종보호 2011-390
45	품종	출원	2011	월동대왕(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2011-468
46	품종	출원	2012	범상(배추)	현대종묘㈜		품종보호 2012-314
47	품종	출원	2012	신통플러스(배추)	현대종묘㈜		품종명칭 2012-522
48	품종	출원	2011	씨알황옥엇갈이(배추)	한국종묘		품종보호 2011-342
49	품종	출원	2012	설화월동(배추)	한국종묘		품종보호 2012-361
50	품종	등록	2010	참설(배추)	농업협동조 합중앙회		제3179호
51	품종	등록	2011	눈나라(배추)	농업협동조 합중앙회		제3777호
52	품종	등록	2012	K756(배추)	우리종묘		제3971호
53	품종	등록	2012	k758(배추)	우리종묘		제3972호
54	품종	등록	2012	케이티엑스(배추)	현대종묘㈜		제4045호
55	특허	출원 예정	2012	배추 내서성 연관 분자 마커	동국대학교 산학협력단	정상민, 알리 아스자드	출원예정

라. 사업화 현황

(1) 사업화

사업화 년도	사업화명	사업화내용	사업화 업체 개요				기매출액	개발제품 (기술) 매출액
			업체명	대표자	종업원수	사업화 형태		
2011	분자마커 및 식품성분분 성센터 설립	육종을 위해 필요한 분자마커서비스 및 식품성분분석을 위한 시스템 구축을 통해 저렴한 비용에 육종소재의 분자마커 서비스 및 농산물 및 가공식품의 원산지 분석, 영양성분 분석 서비스 제공을 목표로 함.	CNU 분자마커 및 식품성분분 성센터	충남대 학교 산학협 력단				
2008~	품종육성	참살배추 종자판매	농협종묘 센터	강호성	40	임업,농업 도소매업	-	2320만원
2009~	품종육성	눈나라배추 종자판매	농협종묘 센터	강호성	40	임업,농업 도소매업	-	250만원
2011~	품종육성	아라리배추 종자판매	농협종묘 센터	강호성	40	임업,농업 도소매업	-	1370만원
2010	K756종자 수출	중국에 "K756" 종자수출	우리종묘	김완규	4	수출	12,500 천원	53,000 천원
2010	K758종자 수출	중국에 "K758" 종자수출	우리종묘	김완규	4	수출	12,500 천원	53,000 천원

(2) 기술 거래

○ 기술이전 2건

기술거래 일자	기술 내용	대상 기관
2010.12.30	배추품종 K756, K758 품종실시	우리종묘

마. 인력활용/양성 성과

(1) 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
94	15	38	22	17	41	53	19	47	28

(2) 산업기술인력 양성 성과

일 자	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
2007.09.17	배추재배 기술교육	배추의 일반 특성 및 재배환경 지도 (1-3, 충남농업기술원)	충남농업기술원	1	2	20
2008.04.14	배추 품종의 분화와 종류 교육	배추의 특성, 분화, 품종육성 (1-3, 충남농업기술원)	충남농업기술원	1	2	20
2009.02.13	품평회 및 재배지도	참살, 눈나라배추의 품종설명 및 평가, 홍보. 겨울배추 재배지도 (2-4, 농협종묘센터)	해남군 산이면	1	1.5	80
2010.04.01	배추 재배지도 기술교육	여름 배추 재배지도 - 품종설명, 재배지도 등으로 재배안정화 (2-4, 농협종묘센터)	강원도 정선, 태백	2	1.5	100

마. 홍보 실적

○ 보도 내역 28건

순번	홍보일자	언론매체명	내 용
1	2009.12.09	대전일보	배추종자 수출
2	2012.04.03	조선일보	배추종자 수출
3	2011.08.29	뉴스토마토	배추 유전자 해독 완료..배추과동 해소전망
4	2011.08.29	메디컬투데이	국내연구진, 세계 최초로 배추 전체유전체 해독
5	2011.08.29	아시아투데이	배추 전체 유전자 세계 최초 완전 해독
6	2011.08.29	뉴시스	농진청, 세계 최초 '배추 염색체' 완전 해독
7	2011.08.29	서울경제	농진청, 배추 유전체 완전 해독
8	2011.08.29	노컷뉴스	배추 '게놈' 세계 최초 완전 해독... '기능성 배추' 쏟아진다
9	2011.08.29	충청일보	세계 첫 배추 유전자 해독 성공
10	2011.08.30	헤럴드경제	한국연구진 '배추 유전체 완전 해독'... '네이처 제네틱스'에 실려
11	2011.08.30	공감코리아 대한민국 정책포털(인터넷)	농촌진흥청, 배추 유전체 완전 해독 - 연구논문 세계적 학술지 「네이처 제네틱스」에 실려 -
12	2011.08.31	농민신문	농진청, '배추 유전체' 완전 해독...세계 최초 성공
13	2011.09.01	경향신문	[충남대] 임용표 교수, 배추 유전자의 신비를 벗기다
14	2009. 8. 12	뉴스데스크(대전MBC)	배추무름병 억제기술 국제특허 출원
15	2009. 8. 12	CNI new(인터넷)	무름병 내성 증진된 품종육성 기대
16	2009. 8. 12	뉴시스(인터넷)	무름병에 강한 배추형질전환 기술 개발
17	2009. 8. 12	농촌진흥일보(인터넷)	배추무름병, 저항성유전자로 품종육성에 박차
18	2009. 8. 13	대전일보	배추무름병 '걱정 끝'
19	2009. 8. 13	충청투데이	배추무름병 억제기술 국제특허 출원
20	2009. 8. 13	충도일보	충남도 배추 무름병 정복기술 개발
21	2009. 8. 13	충청타임즈	여름배추 생산 길 열렸다
22	2009. 8. 13	충남일보	배추무름병 발병 억제기술 국제특허
23	2009. 8. 14	동양일보	무름병 끄떡없는 '튼튼배추' 나온다
24	2009. 8. 17	전업농신문	배추무름병 발병 억제기술 개발
25	2009. 8. 17	농축유통신문	배추무름병 저항성 유전자 국제특허 출원
26	2009. 8. 17	한국농어민신문	배추무름병 저항성 유전자 특허 출원
27	2009. 9.	새농민(09. 9월호)	배추무름병, 저항성 유전자로 품종육성에 박차
28	2009. 9.	월간원예(09. 9월호)	배추무름병, 저항성 유전자로 품종육성에 박차

2. 성과활용계획

가. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

논문게재 30건(SCI(E) 20건, 비SCI 10건), 특허실적 8건 (특허출원 8건, 특허등록 3건, 품종출원 1건), 프로그램 등록 3건에 달하는 실적을 얻었다.

개발된 정보들은 연구자 및 육종가들에게 데이터베이스를 통해 서비스됨으로서 국내의 배추 분자유종체계가 활성화될 수 있도록 지원할 것이다. 아울러 개발된 분자마커들, 특히 형질 관련 분자마커들을 이용하여 분자유종 기술이 부족한 종자회사에게 품종 분석 서비스를 제공하여, 배추 육종 기술의 효율성을 높여줄 수 있을 것으로 기대한다.

(1) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

○ 배추 생산자들의 설문조사자료 분석을 통해 도출된 신종자 이용 행태와 수용에 미치는 요인들은 향후 종자개발업체들의 효과적인 종자 개발 전략 수립에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다. 특히, 신종자 수용에 미치는 요인 분석에서 나타난 신종자 홍보의 중요성은 국가차원의 종자산업 발전전략 모색에 의미 있는 시사점을 줄 것으로 예상되며, 결과적으로 배추 생산자들의 신종자 이용 확대는 우리나라 배추 산업의 경쟁력 제고에도 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

(2) 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)

○ 배추 EST 해석으로부터 1,074개의 스트레스 관련 EST를 확보하였다. 이들 스트레스 관련 EST로부터 18개 EST의 전 염기를 결정한 후 다양한 스트레스 하에서 반응 실험을 수행한 결과 이들 유전자들이 다양한 스트레스 하에서 반응을 나타내어 확보된 1,074개 EST의 신뢰성을 높였다. 따라서 확보된 1,074개의 EST 정보를 이용하여 생명공학작 방법을 이용한 스트레스 저항성 작물육종에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

○ 배추 유전자의 기능을 대량으로 확인하기 위하여 제작된 배추 FL-cDNA Agrobacteria library를 제작한 후 이를 이용하여 애기장대에 형질전환 시켜 표현형을 관찰하였다. 그 결과 뿌리의 생장 발달이 비정상적인 12 line을 확보하였다. 이들 12 line을 이용하여 번이를 일으키는 배추 유전자를 단리 및 번이체 해석을 통하여 국제 저명학술지에 발표할 것이다.

○ 본 연구 수행을 통해 연구원 및 대학원생들이 향후 식물학의 여러 분야를 연구하는데 필요한 유전학적, 분자생물학적 접근 방법들을 배우고 익힘으로써 인적 자원 양성 효과도 기대할 수 있다.

(3) 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제)

○ 사업단 우수성과 연계 및 활용 방안 : 사업단은 유전자지도, 분자마커개발, 유전체정보 분석 등의 기초/응용 연구에서 신제품개발 등 산업화 연구에서도 다양한 연구성과를 도출

■ 배주시업단 우수성과의 연계 및 활용

사업단 대표 우수성과

1. 배주 표준유전자지도 작성 : 1, 2세대 표준유전자 및 통합 지도 작성(고밀도 유전자 지도)
2. 배주 분자마커 개발 및 분석 : 개화 및 추대관련, 응성불임, 노균병 저항성, 내서성 연관 등
3. 배주 유전체 정보 분석 : 배주 전체게놈 염기서열 해독 완료(2011, 농진청과 공동수행)
4. 다양한 배주 신종종 개발 : 케이트엑스, 으뜸쌈, 눈나라, 잠실, K756 & K758, 사강 등
5. 기타 : 단포자 분리/분석을 통한 뿌리혹병원균 확보 및 감별법 개발 등

성과 활용 실용화/산업화 추진

1. 맞춤형 수출 품종 개발 : 수출국별 지형 및 선호도 조사를 통한 현지재배(수출국별 차별화)
2. 기능성 신종종 개발 : 칼슘 함량 증대 배주(골다공증 예방), 속노란 배주(베타카로틴 및 비타민 함량의 증대) 등
3. 기술지원 인프라 구축 : 맞춤형 분자마커 개발 및 MAS 기술, 병충해 검정 및 육종기술 등
4. 다양한 배주 종자 개발을 통한 김치 산업 발전에 기여

나. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 기능성성분의 종류에 따른 시료 전처리 방법 구축 및 웹사이트를 통한 공유
- 성분별(영양성분, 맛성분, 기능성성분 등) 분석 매뉴얼 작성 및 정보 공유
- 대량분석 방법확립을 통한 저렴한 비용을 요구하는 분석방법을 이용하여 분석서비스 제공
- 기업체를 통한 관련 방법의 전파 및 분석서비스의 산업화

다. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- 배주 품종육성 촉진을 위하여 육종가에게 유전자원 특성 조사 데이터 제공
- 유용 유전집단은 특정형질 분자마커 개발 및 기능성 품종 육성 재료로 이용

라. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

2011년에는 개발된 노균병 연관 마커를 이용하여 한국종묘의 다양한 유전자원을 스크린하여 저항성을 확인하였다. 또한 이러한 과정 중 새로운 저항성 유전자가 존재할 수 있다는 가능성이 도출되었다. 2012년에는 충남농업기술원에서 의뢰한 156개의 계통을 대상으로 마커를 이용하여 노균병 검증을 서비스하였다. 개발된 노균병 저항성 마커는 특히 출원된 상태이며 분자마커사업단에 귀속되면 국내배추육종회사 공공에 서비스가 가능할 것으로 기대된다. 추후 노균병 유전자가 클로닝된다면 노균병 저항성 유전자를 다른 작물에 삽입하여 새로운 노균병 저항성 배추계통이나 새로운 작물에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

마. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- 육성된 품종들은 국내 종자 판매 실시
- 만추대성 배추인 사강 배추와 미니 배추인 외와쌈 배추는 해외에 종자 수출
- 본 연구를 위해 육성된 노균병 저항성 유전분석 집단은 필요로 하는 연구기관에 분양
- 노균병 저항성 계통은 추후 복합내병성 계통 육성에 이용

바. 뿌리혹병원 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

본 연구 과제를 통해 개발된 배추 뿌리혹병의 휴면포자 분리법과 포자의 대량 배양법은 식물병리학적 연구에 도움이 될 것이며, race의 연구는 배추 뿌리혹병의 품종에 따른 병원성의 변화로 인한 여러 가지 문제를 해결하는 데 도움이 될 것으로 예상된다. 종 특이적 프라이머의 개발을 통한 빠르고 확실한 병의 확인이 현재 심각한 병의 피해를 줄일 수 있을 것이라 확신한다. 또한 분자마커의 개발을 통해 다양한 저항성 마커를 통한 유전자와 병원균의 상관관계를 파악할 수 있으며 내병성 육종학 연구에 도움이 될 것으로 생각된다.

사. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

1) 신종종 보급계획

- “참살”배추는 숙기가 다소 늦은 품종으로 구가 크고 뿌리의 활력이 강하여 2월 중순 수확기까지 포장에서 버티는 능력이 좋은 품종이다. 2008년부터 농가에 보급하기 시작하였으며 홍보를 강화하고 적극적으로 보급하면 보급량이 점진적으로 늘어날 것으로 기대한다.
- “눈나라”배추는 엽육이 두텁고 광택이 강해 내한성이 아주 강한 품종이다. 2009년부터 보급하기 시작하였으며 겨울배추 주산지의 월동기간의 한파가 근래와 같이 계속된다면 보급량이 늘어날 것으로 기대되며, 내한성이 아주 강하면서 품질도 향상된 쪽으로 품종개량을 계속해 나아갈 것이다.
- “월동대왕”배추는 참살배추의 숙기의 늦음을 다소 보완한 품종으로 참살보다 숙기가 다소 빠르고 외엽의 진함이 더 진하고 구의 크기가 다소 작은 품종이다. 2011년 품종 등록하였으며 2012년부터 농가에 보급할 것이다.
- “아라리”배추는 내서성이 좋은 여름배추로 뿌리혹병 내병계 품종이다. 2011년부터 농가에 보급하였으며 2012년 현재 첫해보다 더 많이 보급된 상태로 적극적인 홍보로 보급량이 점진적으로 늘어날 것으로 기대된다.

2) 고도 저항성 품종육성

본 연구에서는 국내에서 배추 뿌리혹병의 발병성이 가장 강하다는 아산 배방군주에 강한 재료 등을 이용하여 저항성 계통을 육성하고 있다. 국내 배추와 교잡 후 약배양 및 소포자배양을 통해 다수의 식물체를 확보하였으며 보다 저항성이 강한 고도 저항성 품종을 육성하고자 한다.

아. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

- 1) SNP를 대상으로 쉽고 경제적으로 제한효소를 선발하여 dCAP 마커를 개발할 수 있는 기술 개발
- 2) 환경스트레스에 관여하는 유전자를 대상으로 다형성 마커를 개발함으로써 추 후 배추 작물에서 환경 스트레스 관련 분자 마커 개발에 이용 가능함.
- 3) 내서성에 연관된 분자 마커를 개발함으로써 육종회사 또는 육종가의 배추 육종시 작물의 성장을 기다려 내서성 표현형을 검사하지 않고 유전자형을 조사함으로써 육성 생육 기간 단축을 통해 품종 육성에 있어 국제적 경쟁력을 갖출 것으로 생각됨.

자. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

고랭지 내서성 배추로 육성된 5개 품종 중에서 “으뜸쌈”, “KTX”품종은 요구하는 지역에 시험판매 중에 있으며 나머지 3품종은 종자 생산성 검증 및 지역 확대 시교를 실시하여 농민들에게 공급 할 예정이고 추후 동국대학교에서 개발된 분자마커를 활용하여 다양한 품종개발을 실시 하고자 한다.

차. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- 1) DNA chip 분석내용과 결과는, 개화관련 유전자, 광주기 관련 유전자 및 배추과를 이해하는데 도움이 되는 유전자를 찾아낼 수 있어, 논문 발표 후 국내 연구진에게 공개하여 필요시 활용이 가능하도록 할 것이다.
- 2) 개발한 분자마커는 ‘배추과 작물의 추대시기 판별용 마커’와 ‘배추속 작물의 개화시기 판별용 조성물’란 제목으로 특허를 출원하고 기술이전을 추진하고 있으며, 배추 분자마커 사업단을 통해 국내 종자회사 및 연구진에게 서비스 제공이 가능하도록 할 것이다.

카. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

육성된 K756과 K758 품종은 종자수출을 위해 생산 진행 중이며, K925는 2012년 현지 시험을 마치고 2013년에 수출할 예정이다.

타. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

이 연구를 통하여 개발된 CMS와 응성가임의 구분 특이적인 마커 및 CMS 유형별 특이적인 마커를 이용하여 이미 보급되고 있는 CMS 1대잡종 및 국내·외에서 수집한 CMS 유전자원의 CMS 유형을 정확히 판별하여 종묘회사에 정보를 제공함으로써 품종 개발에 이용될 수 있게 할 계획이다. 또한 우량계통에 응성불임성 인자를 도입하기 위해서는 BC6F1경도까지 진행시켜야 하므로 육종에 있어서 많은 시간과 노동력 및 비용이 소요되므로 개발된 분자마커를 활용함으로써 육종 연한의 단축, 노동력 및 육종비용을 절감에 할 수 있을 것이다. 그리고 핵유전자 응성불임성(GMS-genic male sterility)을 나타내는 애기장대의 UGPase 유전자의 정보로부터 배추의 UGPase 유전자를 동정 및 이용하여 배추 GMS 계통을 개발하는데 활용할 것이다.

파. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원동 품종 육성(제3-4세부과제)

연구 성과	활용 계획	비고
배추 바이러스병(TuMV) 내병성 연관 마커 개발 : SSR-239, 2.2cM	- 자체 품종 개량에 활용 - 배추 마커 사업단에 이관	특허 심의 중
배추 소포자 배양 기술 개선	- 보완 후 학회 논문 발표 - 자체 순계 육성에 활용	
배추 소포자 유래 973계통 보유	- 자체 품종 육성용으로 활용	
배추 세포질 응성불임성 계통: 11계통	- 자체 품종 육성용으로 활용	
배추 세포질 응성불임성을 이용한 1대 잡종 : 1점	- 2012년 품종 등록 신청 - 종자 생산 후 시판	

SUMMARY

I. Title

Chinese Cabbage Molecular Marker Research Center

- Development of High-throughput Molecular Markers Using Genomic Information of Chinese Cabbage and Construction of Molecular Breeding System
- Development of Molecular Marker and Cultivars for Stress Resistance
- Development of Molecular Markers for F1 Seed Production and High Quality Cultivars for Domestic/Foreign Markets

II. Objectives and Necessity

1-1. Development of High-throughput Molecular Markers

Chinese cabbage is one of the four major vegetable crops in Korea and it is the main material for Korean traditional food 'Kimchi'. Chinese cabbage, the subspecies of *Brassica rapa* is economically and genetically important crop. The Chinese cabbage market and Cabbage seeds occupy about 67% of total seeds exports. Major countries of Vegetable seed industries are Holland, USA, France. And their largest 10 companies occupy 67% of the whole seed industry. Necessity of Research and Development (R&D) of genome study, biotechnology, integration studies and the importance of GM crops and molecular breeding is coming to the light.

The recent study of the "International Chinese Cabbage Genome Sequencing Project" developed large amount of genome sequence information and the first version of their whole genome sequence. This genome sequence information accelerates the molecular marker development and molecular breeding. After economical crisis IMF, many domestic breeding companies were affiliated with foreign companies nevertheless their high-level breeding techniques. Through this projects, we will establish a basic infrastructure for a Chinese cabbage molecular breeding and help Companies and Personal-Breeders who have no molecular analysis techniques and equipments.

1-1_1. Study on the Chinese cabbage producers' using patterns, economic evaluation of a new variety of seed

Chinese cabbage is a staple food to Korean, which has the high degree of self-sufficiency and worldwide breeding technique in the aspect of seed. However, the producers' competitiveness has been decreasing after the agricultural product market was open. In order to cope with this problem, the government introduced some policies for promoting seed industry in 2007 to reflect producer's needs for high quality seeds of Chinese cabbage. These policies will be a good opportunity for producers to secure and promote the producers' competitiveness against low-price importing Chinese cabbage. In this aspect it is very important to know how well these policies are established and what Chinese cabbage farmers want in regard to a new variety of Chinese cabbage seed. This study was carried out to look over the Chinese cabbage producers' using pattern about a new variety of seed, estimate the economic value and show some directions for efficient way of diffusion of a new variety of seed to producers using a survey research.

1-1_2. Analysis of functional genes by using FL-cDNA Agrobacterium library of *Brassica rapa*

Full-length cDNA Over-expressor gene-hunting system (FOX-hunting system) uses ecotopic overexpression of a single or limited numbers of FL-cDNA(s) in individual transgenic plants and generates large numbers of dominant mutations, enabling the comprehensive characterization of novel and important traits and identification of the causal genes. This technology is not only applicable to *Arabidopsis* but also to any other plants in which transformation technology aided by *Agrobacterium* is available and we used this technology in *B. rapa* to identify potential genes of interest.

1-1_3. A study of the future development planning for CMRC based on the analysis of trends for Chinese cabbage seed

Importance of the seed market is growing rapidly according to food security, climate change etc., In particular, the cabbage seed is associated with the food and its importance has increased. Chinese Cabbage sector selected in export oriented sectors of 'Golden Seed Project'(2011) as global export seed sector. Given these environmental changes, future development plan need in conjunction with the excellent performances of CMRC and "Golden Seed Project".

1-2. Quantification of Valid Components for Plant Breeding

Basically, food is energy source for human body, but consumers are interested in new type of foods that claim bio-abilities such as anti-oxidative, anti-cancer, anti-obesity effects. In the near future, functional foods could be leading trends of food industry in whole world. Fresh vegetables, such as cabbage, Chinese cabbage, lettuce, are staple foods in many countries including Korea. Industries are invest in developing functional foods or food sources, and there is no exception in seed companies breeding Chinese cabbages.

This research project will develop cheap, faster, accurate analyses methods to provides general and functional compounds analysis services for consumers and breeders. The analyses systems will be installed for massive samples of Chinese cabbages and other Brassica family.

1-3. Establishment of Genetic Resources for Search of Useful Genetic Character

The domestic Chinese cabbage breeding techniques being evaluated as a world-class level, but mostly breeding programs are relied on tradition methods. Molecular marker techniques to increase breeding efficiency, in a short period to develop superior varieties is a very useful method, the application of these technologies is urgent. Therefore, this study was carried out to construct the basis for the breeding program with selection of useful genetic resources after evaluates the characteristics of genetic resources, develops of genetic population for molecular markers related to specific traits.

2-1. DNA marker development for downy mildew resistant line

Chinese cabbage is a main material for Kim-Chi reaching 1 trillion won market share and is known to be internationally competitive. Main diseases for Chinese cabbage have been clubroot, downy mildew and virus. Especially, the occurrence of downy mildew has been frequent due to the global climate change and warrants the development of resistant cultivar. Due to parasitic nature of downy mildew, it is recalcitrant to separate and culture the spore and to screen in a control condition. Cabbage breeding companies are self-testing for downy mildew mainly depending on breeder's experiences and are selecting resistant lines. Even breeder's experience need big deal of luck occurring downy mildew in proper time and strength. Artificial culture and screen method for downy mildew had been investigated to develop DNA marker against downy mildew for Chinese cabbage breeding companies.

2-2. Development of Genetic Mapping Population Related to the Downy Mildew Disease Resistance and Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage

- 1) Development of Genetic Mapping Population Related to the Downy Mildew Disease Resistance : To study the inheritance of downy mildew resistance in Chinese cabbage and To Develop Molecular Marker for Downy mildew Resistant Line
- 2) Development of Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage : selecting the Downy Mildew Disease Resistance lines effectively, and using these Disease Resistance lines to Develop Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage

2-3. Gene research ana Development of Molecular Marker Associated with Resistance on Chinese Cabbage Clubroot Disease

Clubroot ,caused by *Plasmodiophora brassicae*, is one of the most serious disease of cruciferous crops including chinese cabbage in Korea. Unfortunately there are not sufficient research for the *P.brassicae* because of the difficulty in research due to its obligate parasitical and small resting spore characteristics. We tried to gene research and develop of molecular marker associated with resistance of chinese cabbage clubroot disease.

2-4. Development of Genetic Mapping Population Related to the Clubroot Disease Resistance and Winter Type Cultivar of Chinese Cabbage

From the middle of 1990, the resistant cultivars against *Plasmodiophora brassicae* of chinese cabbage (*Brassica campestris*) have been developed and the cultivation area of those have been increased. The resistance to clubroot, however, have been broken down by several factors such as, succession planting and appearance of new race of the pathogen. Thus, identification of infectious race, screening of resistant sources, genetic analysis of the resistant gene and breeding of new resistant cultivar are required.

2-5. Development of molecular markers linked to heat stress tolerance in Chinese cabbage

- Heat stress could be a major issue when Chinese cabbage is cultivated in the regions where average temperature has been gradually increased.
- Molecular markers may improve development of cultivar with reduced time and labor.
- Objective was developing molecular markers linked to heat stress tolerance in cabbage that can help the breeders to develop heat stress tolerant cabbage.

2-6. Development of Genetic Mapping Population Related to the High Temperature Tolerance and Highland Type Cultivars of Chinese cabbage

Consumption of Chinese cabbage (*Brassica campestris* spp. *pekinensis*) is increasing every year, and seed market is also on a growing trend year by year. The Chinese cabbage is major material of Kim-chi and they require to cold temperature and high land area for growth. However, high temperature condition is not suitable for to cultivate Chinese cabbage. It raises the problem of yield which is bolting, abnormal growth on July, August. And also, injury by successive cropping brings serious problem for to cultivate Chinese cabbage. The abnormal climate, high temperature in the middle of growth season, injury by successive cropping and so on, its invade stability of yield and effect low yield of summer Chinese cabbage on high land.

Thus, this study has been conducted to contribute to the growers and the consumers by development of genetic mapping population related to the high temperature tolerance and highland type cultivars of Chinese cabbage.

3-1. Development of Flowering- and Bolting-related Molecular Markers

The control or regulation of flowering time in leafy crops like Chinese cabbage will be very important factor for crop productivity as well as quality. QTL and CAPS markers associated with flowering time have been reported in Chinese cabbage, but no convenient and efficient PCR marker has been developed yet. Using microarray and diverse sources of Chinese cabbage, we will try to develop flowering time- and bolting-related molecular markers required for Brassica breeding. To achieve the purpose, we identify target genes, clone the genes and analyze sequence, design PCR markers and confirm them using various Chinese cabbage lines.

3-2. Development of Genetic Mapping Populations Related to the Flowering and Breeding of new Chinese cabbage cultivars for foreign spring market

Chinese cabbage is one of the most important vegetables in Korea, China and Japan. Comparing with other seasons, growing spring type Chinese cabbage requires more tolerance to abiotic stresses such as bolting, growing under cooler temperature, weaker sunshine conditions and calcium deficiencies.

We assume that spring type Chinese cabbage market in China is about 60 tons a year and the average price is about 45\$/kg. In the initial stage, most varieties exported to China were varieties for Korean spring market developed in early 1990s.

Since late 1990s we have released new varieties focusing on China market specially, which should have late-bolting habits, strong to clubroot, yellow internal color and stress tolerances. If we develop more improved varieties, average price can be 200\$/kg or more. Recently Chinese government and local companies invest a lot of money and efforts for developing Chinese cabbage varieties. This study is conducted to keep our leading position, continuing releasing new varieties for this high potential market of our varieties and developing new varieties for increasing export to China.

3-3. Development of Molecular Markers Related to Male Sterility in Chinese Cabbage

Cytoplasmic male-sterility(CMS) plants are unable to produce viable pollen grains, and thus they have been exploited in F₁ hybrid seed production in many economically important crops. Several CMS systems have been characterized in the Cruciferae family: Polima, Napus, Ogura, and Anand CMS are well-characterized CMS systems belonging to the Brassica genus and Ogura and Kosena CMS are well-characterized CMS systems belonging to the Raphanus genus. Ogura CMS has been introduced into Brassica species through protoplast fusion to establish a stable F₁ hybrid breeding system. Different seed companies are using many CMS lines but these lines are not well characterized. Transferring of this trait to any elite line using conventional breeding methods need to wait upto BC₆F₁ to get fixed character. Characterization of commercial CMS lines would be possible using CMS marker. This technique will lessen time, labour and money for transferring this trait to other any elite lines. Therefore, development the CMS marker is an vital issue for hybrid breeding.

3-4. Improvement of cytoplasmic male sterile population and development of cylindrical and friendly environmental F₁ cultivars for outside markets of Chinese cabbage

The objective of this study is developing F₁ hybrids using a male sterile system and multi-resistant lines to turnip mosaic virus(TuMV) and clubroot diseases. The F₁ hybrid using MS system could not be copied and the multi-resistance to the most serious diseases could make the cultivar a wide adaptation in the world.

III. Methods of studies

1-1. Development of High-throughput Molecular Markers

The Goal of [1-1 study] this project is to develop large amount of gene, trait specific molecular markers and producing a system for molecular breeding by utilizing generated genome information of Chinese cabbage. We objected a method to construct a high throughput in-silico molecular markers, Large amount of molecular marker accumulations, High density genetic map construction, Targeted quantitative trait loci analysis manual building, Functional component examination, Nurturing the genetics or molecular marker development of special trait containing population, Standardizing the microspore culture technique to develop and characterize the doubled haploid Chinese cabbage varieties, Convergence of Chinese cabbage molecular markers and Securing a genes which is related to important functional elements of Chinese cabbage. Establishment of service center for Molecular marker and Component analysis, and offer to small companies and Personal-Breeder.

1-1_1. Study on the Chinese cabbage producers' using patterns, economic evaluation of a new variety of seed

In order to look over the Chinese cabbage producers' using pattern about a new variety of seed, and estimate the economic value and show some directions for efficient way of diffusion of a new variety of seed, this study used a survey research and statistical analysis methods such as the contingent valuation and the partial least square method.

1-1_2. Analysis of functional genes by using FL-cDNA Agrobacterium library of *Brassica rapa*

- 1) FL-cDNA Agrobacterium library construction
 - Induction of FL-cDNA in Agrobacterium
 - Colony-PCR for insert check
- 2) Functional gene analysis of *B. rapa*
 - Binary vector construction, transformation into *Arabidopsis* and insert checking
 - Phenotype analysis of transgenic plants for mutant selection and induced gene analysis in the mutants.

1-1_3. A study of the future development planning for CMRC based on the analysis of trends for Chinese cabbage seed

- Analysis of domestic & foreign chinese cabbage status by professional database
- Analysis of CMRC status
- Analysis of SWOT and presentation of implications

1-2. Quantification of Valid Components for Plant Breeding

Analyses methods for general and functional compounds in *Brassica rapa* were developed. General compounds analyzed in this project included crude protein, crude lipid, fiber, reducing sugars, and minerals. Functional compounds that were analyzed and important in Chinese cabbage are carotenoids, glucosinolates, phenolic acids, anthocyanidins, flavonols, and vitamin C and E. Sample pretreatment methods for different functional compounds in *Brassica* were developed. Protocols for instrumental analyses using high performance liquid chromatography(HPLC), inductively coupled plasma atomic spectroscopy (ICP-AES) were established for rapid, cheap and accurate analyses of massive amount of samples.

1-3. Establishment of Genetic Resources for Search of Useful Genetic Character

Introduced genetic resources were discriminated as chinese cabbage, cabbage, pakchoi, mustard and they were tested depending on characteristics survey method of Korean seed and variety services. Based on the characteristics survey result, the evaluation in field cultivation, and useful component assay, useful varieties were selected. For the develops of genetic population, microspore culture were applied and DH line were bred, and finally after useful component survey functional lines were selected.

2-1. DNA marker development for downy mildew resistant line

Various genetic population has been developed by using resistant and susceptible lines provided from Han-Kook Breeding company in order to develop DNA markers against downy mildew in Chinese cabbage. In order to facilitate the screening against downy mildew in a controlled format, we endeavored artificial culture and screening both outdoor and indoor for downy mildew in Chinese cabbage. To accomplish the precise confirmation of the resistance level of downy mildew, the official trial field of Han-Kook breeding company continuously used allowing the set up of scoring system. A single DNA marker related to downy mildew resistant gene has been developed through Bulk Segregation Method (BSA) from RAPD marker system. This marker has been converted into simple PCR marker. Moreover, cabbage reference map and *Arabidopsis* genome information enabled to find more DNA markers. Based on *Brassica* genome information, more closely placed loci is being under investigation by detecting recombinant in F₂ and F₃ population.

2-2. Development of Genetic Mapping Population Related to the Downy Mildew Disease Resistance and Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage

- 1) Collecting of Germplasm and investigating the characteristics
- 2) Development of Genetic Mapping Population Related to the Downy Mildew Disease Resistance
- 3) Development of the Downy Mildew Disease Resistance lines
- 4) Development of the Clubroot Disease Resistance lines
- 5) Development of Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage

2-3. Gene research and Development of Molecular Marker Associated with Resistance on Chinese Cabbage Clubroot Disease

We tried to research for the basic information for the mycological, pathological and molecular biological characteristics of *P.brassicae*.

2-4. Development of Genetic Mapping Population Related to the Clubroot Disease Resistance and Winter Type Cultivar of Chinese Cabbage

Genetic analysis for 3 kinds of races, causing clubroot to existing resistant Chinese cabbage, among diverse races of the pathogen (*P. brassicae*), preparation of mapping population for marker development and breeding and supplying to Chinese cabbage grower of 4 resistant cultivars to clubroot were performed.

2-5. Development of molecular markers linked to heat stress tolerance in Chinese cabbage

From NCBI database, nucleotide sequences of trehalose and AOX synthesis genes in *Arabidopsis* were obtained. Forward and reverse primers were developed according to the sequences and total DNA of Chinese cabbage lines, 'Chiifu' and 'Kenshin' was used for PCR amplification. Sequencing analyses showed polymorphic regions between 'Chiifu' and 'Kenshin'. The targeted insert/deletion or SNPs were then used to develop final primers using sC-CAPS method developed in this project.

For development of markers related to heat stress, F₂ population of *Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis* from a cross between 92 and 93 parents was used to see the effect of heat stress both phenotypically and for identification of molecular markers. These parents were provided by the Hyundai seed company of Korea.

Seeds were germinated in pots and grown using walk-in growth chamber of Dongguk University, Seoul. Temperature was kept at 22 °C with 16 hr day and 8 hr night during growth period up to 20 days. On 21st day temperature was raised to 43 °C with 80% humidity up to 7 days of heat treatment followed by 3 days recovery under normal controlled conditions

JoinMap 4.0 (Van Ooijen, 2006) was used to construct a linkage map with identified RAPD and SSR markers. QTL analysis was performed by using the multiple QTL model (MQM) mapping of MAPQTL5.0 (Van Ooijen, 2004).

2-6. Development of Genetic Mapping Population Related to the High Temperature Tolerance and Highland Type Cultivars of Chinese cabbage

This study is carried out in order to study on the development of genetic mapping related to the high temperature tolerance and highland type cultivars of Chinese cabbage.

There are collected Chinese cabbage's materials what is summer type domestic cultivar and other material over a period of two years, 2007 and 2008. 32 materials in 2007, it tested twice a year in vinyl greenhouse for high temperature tolerance. 15 materials in 2008, they tested and evaluated on vinyl greenhouse and highland.

Breeding of line is used by classical method; artificial crossing then selects elite line through cultivation experiment on vinyl greenhouse, semi alpine area, and highland. And there was attended backcrossing method for male sterile line. Hyundai Seeds Co., Ltd. Cooperated with Dongguk University for development of genetic mapping population related to the high temperature tolerance and give the material to Dongguk University that the material is lines and population of high temperature tolerance.

There make combination for semi alpine area and highland with high temperature tolerance character. The combination for semi alpine area, it has late flowering and high temperature tolerance character in the late period of growth. Another combination, adapted for highland, has high temperature tolerance character in the former period of growth and excellent head formation ability on the late period of growth. And also, there make stress tolerance combinations between elite lines.

Combination abilities are tested on vinyl greenhouse, semi alpine area (altitude of 450 meters), and highland (altitude of 700 meters). Regional adaptation is tested on semi alpine area and highland by elite combinations. The elite combination was selected by these tests and they went through the regional adaptation test and seed growing test for come to the market. The elite combination was applied for a plant variety protection.

And also, some combinations and lines have clubroot disease (*plasmodiophora brassicae*) resistance, enhanced calcium and beta carotene content.

3-1. Development of Flowering- and Bolting-related Molecular Markers

- 1) Target genes necessary for molecular marker development will be selected by the combination of previous studies and results of *B. rapa* oligomeric chip microarray. The selected 31 genes will be cloned from various sources of Chinese cabbage and analyzed their sequences.
- 2) Primers will be designed on the basis of sequence analyses and applied to DNA samples from various sources.

3-2. Development of Genetic Mapping Populations Related to the Flowering and Breeding of new Chinese cabbage cultivars for foreign spring market

We searched for new genetic resources for developing new varieties by germplasm collections and evaluation screenings. In the existing segregating lines we have selected and fixed lines for late bolting, calcium deficiency tolerance and clubroot resistance. We made new F₁ combinations with these materials. We executed evaluations trials and selected several temporarily selected combinations. After the regional trials in China, we selected final new F₁ candidates. For the next step, seed production tests were conducted. After registration of the seed, We produce and export them to China. We have to develop a group of genetic of flowering. Finally we can contribute to developing Marker.

3-3. Development of Molecular Markers Related to Male Sterility in Chinese Cabbage

- 1) Mitochondrial genomic analysis of CMS Brassica
 - Collection of various CMS type and classification using reported molecular makers
 - Sequence analysis of CMS related genes
- 2) Chloroplast genomic analysis of CMS Brassica
 - Investigation of specific molecular makers for PCR and sequence analysis
 - Sequence analysis of matK gene of various CMS Brassica
- 3) Vicinity region analysis of chloroplast genes related to CMS in Brassica
 - Vicinity region analysis of rbcL and accD genes according to PCR and sequence analysis
- 4) Development of various CMS types specific molecular makers

3-4. Improvement of cytoplasmic male sterile population and development of cylindrical and friendly environmental F₁ cultivars for outside markets of Chinese cabbage

The following studies and trials were carried out for achievement of the objectives. Developing doubled haploid(DH) lines using microspore culture of cultivars resistant to TuMV and clubroot and F₁ crosses created by ourselves with resistant DH lines to the diseases. Improving microspore culture media to obtain plants in high frequency and to save time to acquire normal plants. Breeding multi-resistant lines to the two diseases by testing the DH lines with the TuMV marker and inoculation of clubroot pathogene. Creating a new marker related to TuMV resistance for reliable results in selection procedure. Substitution of the nuclear of elite lines to cytoplasmic male sterile line to develop male sterile inbreds. Test of F₁ crosses made between selected inbreds in the fall, summer, and spring cropping.

IV. Results and conclusion of the research

1-1. Development of High-throughput Molecular Markers

- 1) Construction of high-throughput molecular marker development system using *Brassica rapa* genome sequence

We developed in-silico molecular marker algorithm to establish a high-throughput molecular marker system development. Molecular marker developed through the analysis scheme from the large amount of Chinese cabbage genome sequences. By standardizing the protocol of SSR primers, we developed and introduced the software called 'SSR-Primer Generator', which was utilized to execute the standard analysis methods. Also this program was copyrighted in the Korea. Also gene ontology and primers were utilized to construct a database for developed gene specific markers.

- 2) High-throughput gene related molecular marker development

Expressed gene sequences (ESTs), BAC clone sequences, and Re-sequencing data were exploited to develop the markers, and several analyses and methods were carried out for SNP marker development.

- 3) High density genetic map construction using molecular markers and standard genetic populations

Following populations were used to construct a high density genetic map: Recombinant Inbred Lines CKRI population, DH population which generated by microspore culture (CKDH), Cross combination of F2 population of wild type rapid cycle *B. rapa* with Chiffu (CRF2), Cross combination of F2 and F3 population of clubroot disease resistance and susceptible lines. Developed markers were tested with other Brassica family crops to find their existence, and carried out an allelic diversity validation for the Chinese cabbage genetic resources using functional gene related EST-SSR markers.

- 4) Functional screening of QTLs by high-density genetic maps for breeding

Polymorphism validation by molecular markers, Construction of new high density genetic map, and QTL analysis were carried out for the important characteristics and flowering related traits in the generated cross combination F2 population of wild type rapid cycle *B. rapa* and Chiffu (CRF2). Genetic male-sterile markers were developed. Glucosinolate diversity, heading type and seed oil contents related genes were mapped in the genome of Chinese cabbage by QTL analysis. Also, the EST-wide microRNAs were identified and categorized by their target genes to

find their importance in regulation. For production of large DH lines of Chinese cabbage, we developed and established method in a microspore culture technique. SNPs markers were designed for targeting the clubroot resistance and flowering related traits in the Chinese cabbage.

- 5) Molecular marker service

We are offering developed molecular markers information and genotyping service to many research laboratories in Korea as well as other countries.

- 6) Contents of Collaboration with other research group

For efficiency of research and project development, Retrieved research results and annotated data were shared with collaborations. Molecular marker data sets and genotyping services are offering to other research groups as their need. Large collection of seeds and genetic populations also supplied to many research laboratories in world-wide. Generated genome sequence information, annotated variations and other analyzed data sets are providing to collaborated research groups.

- 7) Utilization of results to support human resources

Large amount of data sets were developed and standardized, it will be most useful material to support researchers and breeders of domestic Chinese cabbage molecular breeding. Besides, developed molecular markers especially related with specific genes, traits and their analysis would be a pave for the seed companies which molecular breeding technique is not established yet. Through this project many number of workers and students were trained and expertise on molecular breeding, now all are well placed at several seed companies, different research organizations, and Universities.

1-1_1. Study on the Chinese cabbage producers' using patterns, economic evaluation of a new variety of seed

The main results of this study are as follows. The producers thought the characteristics of a new variety of seed most important factor compared to other factors such as the seed price, and easiness of sales when they choose a seed. Also, the 65% of respondents were willing to accept a new variety of seed and thought the government support for an exhibition field and diffusing public information about a new variety of Chinese cabbage seed. Respondents overall accepted the contingent market and were willing to pay for a significant amount(5,050 to 5,500 won), on truncated average, per pack of 2,000 seeds. This willingness varies according to individual characteristics such as the plan of adopting

a new variety of seed, educational level, planted area, and bidding price. Also, the main factor of producers' willingness to use a new variety of seed is the promotion of the new seed. Therefore, it is important for firms to provide a diverse information about the seed to producers in order to increase and enhance the competitiveness of producers.

1-1.2. Analysis of functional genes by using FL-cDNA Agrobacterium library of *Brassica rapa*

In this study, 3,429 Express Sequence Tag (EST) sequences were generated from the full length cDNA library of *B. rapa* cv. Osome and functionally annotated based on gene ontology (GO) hierarchy. This dataset contained 1,017 ESTs which were functionally annotated to stress responses and expression of randomly selected stress responsive genes (SRGs) was analyzed against abiotic stresses, such as cold, salt, drought, ABA, water and PEG. Responsible gene expression was observed and this indicates well clustering of ESTs. Thus, this EST dataset would be useful resource for discovering the potential genes related to stress resistance for Chinese cabbage and other Brassica plants as well. In addition, we transferred the FL-cDNA Agrobacterium library into *Arabidopsis* and obtained 12 mutants showing retarded root growth. Then the induced genes were analyzed in the mutants and expected to use in further research related to root growth in *B. rapa*.

1-1.3. A study of the future development planning for CMRC based on the analysis of trends for Chinese cabbage seed

- 1) Suggest future high value-added, export-oriented Chinese cabbage development and export-based seed based on CMRC's excellence results
- 2) Strengthen the customized seed development for the global export for World markets, particularly China and Southeast Asia market
- 3) In particular, Chinese cabbage seeds in conjunction with 'Golden Seed Project' generate new value-added industries and, further contributing to the creation of technology development and manpower

1-2. Quantification of Valid Components for Plant Breeding

Methods for analyzing general and functional compounds in plant were developed to assist breeding of Chinese cabbage. Analysis manuals of general components such as chlorophyll, fiber, protein, nitrate, reducing sugars, pectin, mineral, vitamin C and E, and free amino acids were established. Functional compounds in Chinese cabbage, carotenoids, glucosinolates, phenolic acids, anthocyanidins, and flavonoles that have bio-availability such as anti-carcinogenic and anti-oxidative effects were

instrumentally identified and analyzed. Manuals for functional compounds analyses were developed. Analysis methods for new compounds were developed and improved to set up convenient, quick, cheap analyzing systems for mass-samples.

Analysis services were provided for quantitative analysis of functional compounds in *Brassicaceae*. Center for Plant Molecular Marker and Analysis of Food Composition were established and has provided the analysis services to collaborating groups and outer clients.

1-3. Establishment of Genetic Resources for Search of Useful Genetic Character

1) Characteristics of introduced genetic resources

Total of 375 species, including the introduction of genetic resources and DH lines were tested and surveyed, 26 varieties(lines) after the field test and useful component assay was selected for useful genetic resources. Among introduced genetic resources, accession No. 27273 were flowered early, 20 varieties(lines) including accession No. 26113 were overwintered and seeded after passing the winter. Accession No. 27264 and 27147 were characteristic to be strong against the physiological disorder. In the result of disease resistant test by molecular marker, 7 varieties(lines) including accession No. 25081 were resistance to the clubroot. Accession No. 27140 and 27144 it was resistant to the TuMV, but there was no varieties(lines) in the resistant to the downy mildew.

2) Selection of useful genetic resource group.

Selected 26 varieties(lines), crossed 14 varieties(lines) and 4 check varieties were microspore culture. As a result, total 660 DH lines were developed and by selfing them total 125,669 seeds were gathered. One hundred fifty-four lines were cultivated and their useful components were surveyed. In that result, 27294-50 line compared with check varieties was higher in reducing sugar content, higher content of vitamin C is 27295-24. In the line of 27137-2 mineral (Ca, Mg, Mn, Zn, Fe), β -carotene, and Lutein content was higher than that of check varieties. Flavonol content of 27294-67, 27263-74, 27294-67 lines were higher than the check varieties, gluconasturtiin content of the 27259-4, 27263-141, 27259-6 lines were higher.

2-1. DNA marker development for downy mildew resistant line

Two breeding Chinese cabbage lines were kindly offered from Han-Kook breeding company. Each line showed opposite trait in downy mildew, resistant and susceptible. These lines were used as parental lines and produced F₂, RIL and BC_n population for genetic study. Genetic purity of parental lines were confirmed by using fifty RAPD markers. More than 45% polymorphism was estimated using 100 RAPD, 320 SSR and 89 IBPA markers. Natural occurrence condition of downy mildew for indoor and outdoor was studied and in vitro culture system of downy mildew spore was investigated. Various genetic population showed in 3:1 and 1:0 ratio according to Mendel's segregation law. Consequently confirmed that a single gene has been greatly in charge of the resistant mechanism against downy mildew. More than 900 RAPD marker screen proposed one candidate RAPD marker. Near genome information was obtained by using BAC information of Chinese cabbage genome center. This selected RAPD marker was converted into a simple SCAR marker. Meanwhile, more than 300 SSR and IBPA marker showed no polymorphism. Genetic linkage map related to downy mildew resistant gene was constructed by using F₄ genetic population and six markers in total were developed. In 2012, extremely closely related loci has been investigated between M05 and N18 markers using genome information allowing very few recombinant that represent error rates. In 2012, extremely closely related loci has been investigated and nine markers were additionally developed between M05 and N18 markers using genome information allowing very few recombinant that represent error rates. The *BrRHPI* locus was delimited within a 94 kbp interval. In further study, gene cloning of this work and even discovering another loci seem feasible.

2-2. Development of Genetic Mapping Population Related to the Downy Mildew Disease Resistance and Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage

- 1) Development of Genetic Mapping Population Related to the Downy Mildew Disease Resistance
 - One single dominant gene controls the resistance to Downy Mildew Disease
 - Recombinant Inbred F7 generation 114 lines were made for Developing Molecular Marker for Downy mildew Resistant Line
- 2) Development of Autumn Type Cultivars of Chinese Cabbage
 - 5 Chinese cabbage cultivars were developed
 - Sagang, Hanseolnorang, Wawassam, CR Hwangokeotgari and Seolhwaweoldong

2-3. Gene research and Development of Molecular Marker Associated with Resistance on Chinese Cabbage Clubroot Disease

- 1) Filtration method using both cellulose nitrate filter and syringe filter was able to remove soil and plant residues effectively from spore suspension of *P. brassicae*, and it collected much more pure resting spores than the methods used in previous studies.
- 2) In developing the mass propagation method for resting spores of *P. brassicae* the auxin treatment presented the best efficacy in formation of bigger galls and propagation of many resting spores therefore we can get large amount of the fungal DNA propagation,
- 3) Through single spore inoculation, race 1, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 13, 14, and 16 were identified from the club-roots of infected Chinese cabbages, which were collected from Gyeongbuk Uiryeong, Gangwon Bangrim, and Chungnam Baebang. Among them, race 3, 10, 13, 14, and 16 were reported as first case in Korea.
- 4) The co-existence of various races in a single clubroot were observed in our research and based on these results, we could see the drawback of the prior method of race distinction using the club-root containing the spores derived from various races.
- 5) The results from co-inoculation of spores produced by various races showed a change of pathogenicity. In our research, the co-inoculation of race 8 and 16 resulted in the emergence of a new race, which means new races can be emergent by the interaction of several races. This is the first reported mechanism of new race emergence.
- 6) A PCR product(129 bp) was amplified by a species-specific primer set ITS1-1/ITS1-2 on genomic DNA of *P. brassicae* only, but not on those from 12 other soilborne pathogens and Chinese cabbage plant. In conventional PCR test, the sensitivity limit of the primer set was 100fg/ μ l of genomic DNA of *P. brassicae*, approximately. It showed the same sensitivity as the result of nested PCR assessed by existing a PbITS primer set. In real-time PCR test, the sensitivity limit of the primer set was 1fg/ μ l of *P. brassicae* genomic DNA, it showed 100 times more sensitive detection limit than that in conventional PCR.
- 7) Most of the genome nucleotide sequence in *P. brassicae* race 4 was analyzed, and this information will be useful for later clubroot genome researches.

2-4. Development of Genetic Mapping Population Related to the Clubroot Disease Resistance and Winter Type Cultivar of Chinese Cabbage

Genetic analysis for 3 kinds of races, causing clubroot to existing resistant chinese cabbage, among diverse races of the pathogen(*P. brassicae*), preparation of mapping population for marker development and breeding and supplying to chinese cabbage grower of 4 resistant cultivars to clubroot were performed.

2-5. Development of molecular markers linked to heat stress tolerance in Chinese cabbage

Trehalose and AOX genes related to environmental stress were targeted for developing polymorphic molecular markers(13 Trehalose markers and 3 AOX markers) between 'Chiifu' which is susceptible and 'Kenshin' which is tolerant to heat stress.

Selection strategy for restriction enzyme to develop dCAPS marker was also developed and employed in this research project. Using this method, only 12 REs (HinfI, Hpy166II, Sau96I, CviAII, DdeI, ScrFI, BstUI, MseI, Hpy188I, Tsp509I, HpyCH4III, AluI) are required for the detection of any SNP motif, the method described in this study is relatively inexpensive and technically simple.

Three molecular markers showed strong relationship with heat stress response from F₂ progenies produced by crossing '92' and '93' Chinese cabbage lines provided by 2-6 research group (Hyundai seeds). Three markers were named Ht-1, Ht-2, and Ht-3, where Ht is for heat tolerance. They were disseminated into three linkage groups. The highest logarithm of odds (LOD) value exhibited by Ht-1 located in linkage group 2. This QTL explained variance 18.5% of the phenotypic variation. Other two QTLs identified in groups 3 and 13. All three found QTLs bestowed positive additive effects showing their positive involvement for heat stress tolerance.

Therefore, with the molecular markers developed in this project, breeders can select the individuals of cabbage plants that possess heat stress tolerant genetic factors by genotyping of the molecular markers, especially Ht-1, Ht-2, and Ht-3 linked to heat stress tolerance instead of waiting for growing and screening of phenotype for heat tolerance.

2-6. Development of Genetic Mapping Population Related to the High Temperature Tolerance and Highland Type Cultivars of Chinese cabbage

There are collected 47 materials for twice what is domestic and overseas countries varieties with high temperature tolerance character at May-June in 2007 and April in 2008.

Each of 2007's 47 materials was sown at 23th June, 23th July, and harvested 3th, 28th September then selected 7 elite materials. 15 materials of 2008 were evaluated on field and they sowed 23th May 2008 and harvested 8th July respectively. 176 elite materials were selected from total 340 lines which is 75 material in 2007, 50 material in 2008, 90 material in 2009, 250 material in 2010, 120 material in 2011. The study was cooperated with Dongguk University for development of genetic mapping population related to the high temperature tolerance. Hyundai Seed Co., Ltd. provided Dongguk University with materials which were susceptible or resistance lines under high temperature condition, F₂ progenies. Dongguk University request 200 material of cultivate test at Hyundai Seed Co., Ltd. To evaluated phenotype with high temperature tolerance character of Chinese cabbage through the cultivate test of the material was distinguished survival ratio, head size, growth duration, and so on in vinyl greenhouse, June. There is can predicted save the money, time, laboratory for breeding Chinese cabbage with high temperature tolerance by marker test who developed from Dongguk University.

Combination was focused on excellent F₁ hybrids with high temperature tolerance character on semi alpine area and highland that crossed total 804 combinations which are 79 combinations in 2008, 125 combinations in 2009, 200 combinations in 2010, 200 combinations in 2011, and 200 combinations in 2012. They are evaluated and selected from combination ability test on semi alpine area and highland. The elite combinations sown early June, seedling date was 25 days then to set plant on semi alpine area and highland for regional adaption test. There selected 3 combinations and applied plant variety protection which were 2 combinations of all appeared resistance with virus and clubroot disease, stability for cultivation, excellent head formation, and semi wrapped-over type, another 1 combination showed late bolting.

And also, 2 additional combinations applied plant variety protection which was 1 combination was small size cabbage that was able to cultivate whole cropping season on highland, another is autumn Chinese cabbage that showed excellent storability in filed

69 of 591 materials showed resistant to clubroot disease that was tested by Chungnam National University. "Beomsang" and "Wipungdangdang", new varieties were developed by 69 clubroot disease resistance material. 15 material's average beta-carotene contents showed 231.37ug/g but HB207 showed 431.19 ug/g.

3-1. Development of Flowering- and Bolting-related Molecular Markers

- 1) We identified flowering- and photoperiod-related genes of Chinese cabbage using microarray analyses.
- 2) The selected 31 genes were cloned from various DH lines and inbred lines of *B. rapa*, and their sequences were analyzed in order to find out SNPs and InDels.
- 3) Primers sets to test putative molecular markers were designed and used to PCR reactions using various DNA sources from early flowering to late flowering traits. As results of test experiments, two flowering markers were developed.
- 4) We are going to use microarray D/B to Korean research community and trying to transfer the patents to companies. We will use the molecular markers for Korean research community and breeding companies.

3-2. Development of Genetic Mapping Populations Related to the Flowering and Breeding of new Chinese cabbage cultivars for foreign spring market

We collected and evaluated 66 kinds of germplasm. We developed two types of seeds. One, K756 is strong calcium deficiency and coming up late-bolting and the other, K758 is also coming up late-bolting, good yield. Both are registered already.

One more type of seed, K925 is under registering now, which are strong to clubroot and other diseases tolerance.

We are producing K756 and K758 now to export to China. After regional test in China, we are going to start selling K925 until 2013.

3-3. Development of Molecular Markers Related to Male Sterility in Chinese Cabbage

In this study, we developed makers to distinguish cytoplasmic male sterile (CMS) and male fertile (MF) lines and to specify different categories of CMS. For instance, BramsA, BramsB1, BramsB2 can be used to distinguish CMS and MF while, BramsE, BramsF, BramsH2 identify Polima type CMS line. Additionally, BramsC, BramsH1 and BramsK can be used to distinguish Ogura, Sakata and Kosena type CMS lines respectively. Subsequently, we collected 80 lines from different universities, institutes and seed companies and characterized using these CMS markers. Almost these 80 lines were Ogura CMS. Also, UDP-glucose pyrophosphorylase (UGPase) is a key enzyme for carbohydrate metabolism, catalyzing the reversible production of UDP-glucose and pyrophosphate from glucose 1-phosphate and UTP. UDP-glucose, a substrate/product of UGPase, is a direct precursor for cellulose and callose synthesis at the plasmalemma. In addition, UDP-glucose is involved in synthesis of the carbohydrate moiety of glycolipids, glycoproteins and proteoglycans, among other

functions. From function analysis of mutant UGPase in *Arabidopsis thaliana*, we found abnormal cellulose formation in the tetrads resulting in the formation male sterile phenotype referred to genetic male sterility (GMS).

Based on our knowledge and information obtained from our research, these CMS markers would be beneficial for characterizing CMS lines and for hybrid breeding with less time, labour and cost as well. In addition, GMS lines can be developed for *B. rapa* utilizing mutant UGPase information for hybrid breeding program.

3-4. Improvement of cytoplasmic male sterile population and development of cylindrical and friendly environmental F₁ cultivars for outside markets of Chinese cabbage

- 1) Three cytoplasmic and one genic male sterile lines were delivered to the team at Sunchun university for the marker development related to male sterile genes.
- 2) A total of 28 F₁ cultivars or crosses created at BioBreeding Institute(BBI) were applied to microspore culture and 973 doubled haploid(DH) lines were developed until the 4th year(plants derived from the fifth year culture(2011) are undertaken the subculture now).
- 3) On the other hand, the MS4N2 medium which was reduced the nitrogen contents of the MS medium was developed to enhance the plant regeneration rate in the subculture of microspore-derived embryos. The Hy2 medium which was added 2% sucrose to Hyponex medium was also created for root development of plants without roots on the MSK medium. The BBI lab is now operating a system that embryos derived from microspore culture are transferred to the MS4N2 medium first, subcultured on the MSK medium of abnormal plants on the MS4N2 and finally normal plants but without the root are subcultured on the Hy2 medium.
- 4) A total of two thousand nine hundred fifty eight DH lines, which have been kept or developed newly in the BBI lab were tested and 989 lines were selected first for the resistance to virus and clubroot diseases and good characteristics on the field. Some of them are utilized for F₁ hybrid breeding. Particularly 21 lines selected due to the late bolting in the spring season would be utilized for F₁ hybrid breeding for the whole year-round cropping.
- 5) The SSR-233 marker for TuMV which was selected in the BBI lab out of 238 SSR primers developed in Rural Development Administration(RDA) was 3.3cM apart from the resistant gene. But it presented about 7.0cM in one case of

screening resistant lines in this project. Accordingly another SSR primers were designed newly around the SSR-233 region at RDA and SSR_239 primer out of them was confirmed to be apart 2.2cM from the resistant gene. It was applied for patent in 2009.

- 6) The nuclear substitution to cytoplasmic male sterile(CMS) lines discovered in a hybrid cultivar were conducted with 11 DH lines from 2007. Six lines were advanced to the BC3 and 5 were the BC2 generation.

- 7) A total of 494 F1 crosses made in our lab with DH lines developed microspore culture were tested for the resistance to virus and clubroot diseases and horticultural characteristics on the field in the fall for 5 years and 32 hybrids were selected. One hundred twenty and 175 crosses including the selected 32 crosses were tested and 12 and 19 hybrids were selected in the spring and summer tests, respectively. Some CMS lines at BC3 were crossed as the maternal parent with some elite male lines of F1 hybrids. Since two hybrids out of them were excellent in the field test in the summer and the fall cropping, one would be registered for variety protection in this year and the other would be the next year after multiplication of the seed. Another 2-3 crosses exhibited excellent performance would be prepared for variety registration in the near future.

목 차

제 출 문	I
요 약 문	VII
SUMMARY	XLV
목 차	LXIX
CONTENTS	LXXI

제 1 장 연구개발과제의 개요	1
제1절 연구개발의 목적	1
제2절 연구개발의 배경 및 필요성	5
제3절 배추분자마커연구사업단의 개요	22

제 2 장 국내외 기술개발 현황	28
제1절 국내·외의 연구 현황	28
제2절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치	40

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	46
제1-1절 대량 유전자 분자표지 발굴	46
제1-1-1절 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1)	159
제1-1-2절 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2)	196
제1-1-3절 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3)	221
제1-2절 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스	288
제1-3절 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성	335
제2-1절 노균병 저항성 분자 마커 개발	476
제2-2절 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성	518
제2-3절 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발	535
제2-4절 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성	559
제2-5절 내서성 연관 마커 개발	589

제2-6절 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성	640
제3-1절 배추 개화 및 후대관련 마커 개발	680
제3-2절 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성	822
제3-3절 배추 응성불입성 마커 개발	846
제3-4절 응성불입관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성	899

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	942
제1절 목표달성도	942
제2절 관련분야에의 기여도	965

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	971
제1절 연구개발 성과	971
제2절 성과활용계획	988

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	996
------------------------------------	------------

제 7 장 참고문헌	1004
-------------------	-------------

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

1. 최종목적

- 배추 유전체 정보를 이용한 분자마커이용 육종시스템 및 인프라 구축
- 농업 형질과 관련된 분자마커의 개발과 이용으로 품종 개발 및 산업화
 - 뿌리혹병, 노균병, 추대성, 응성불입 등의 4가지 필수 목표 형질 포함 5개 형질에 대해 상용화 가능한 분자마커 개발
 - 전통육종법에 분자마커 이용 기술의 접목에 의한 우수 품종 육성 (수출용 2품종 이상)
 - 5년 후에 5점 이상의 고부가가치 신품종 상용화 (국내외용)

2. 세부과제별 연구 목적

가. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

- (1) 배추의 유전체정보를 이용한 대량의 분자표지 개발 및 분자유종시스템 구축
 - 대용량의 *In Silico* 분자마커 개발 시스템 구축
 - 대량의 배추 분자마커 개발
 - 배추 고밀도 유전자지도 작성
 - 배추에서 목표 유용성분 정량 분석 매뉴얼 구축
 - 배추 유전자원 특성조사 및 유용 유전형질 탐색 (중국수집 계통 이용)
 - 배추 유전분석 집단 양성 (지부와 rapid cycle Brassica 이용)
 - 배추 유용 기능성 성분 대량 분석 서비스
 - 특정 형질 혹은 성분 관련 분자마커 개발용 유전분석 집단 양성
 - 배추 소포자 배양기술 이용 내환경 배추 계통 확보 및 그 특성 연구
 - 배추 분자마커의 통합
 - 배추 유용 기능성 성분 관련 유전자 확보를 최종 목표로 한다.

(2) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

우리나라 배추종자산업과 배추산업의 현황과 문제점을 분석하고, 신종자의 경제적 가치 평가와 보급현황에 대한 분석을 통해 효율적인 종자개발 방향을 제시하는 것을 주요 목적으로 한다. 구체적으로는 기존 종자와의 비교를 통한 신종자의 경제적 가치 도출, 생산자들이 중요시 하는 신종자의 특성 구명, 배추 신종자의 수용에 미치는 요인 분석, 신종자의 효과적인 보급 방안 도출 등을 포함한다.

- (3) 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)
 - FL-cDNA를 이용한 Agrobacterium library 제작
 - 예기장대 형질전환체 육성 및 이를 이용한 도입유전자의 기능 해석
 - 기능 유전자의 배추 활용성 검토

- (4) 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제)
국내외 배추종자의 산업 동향 분석 및 사업단의 우수성과를 활용하여 배추분자마커사업단의 미래 발전방안 전략을 도출하여 배추 종자의 글로벌경쟁력 및 수출 강화 전략 수립 등을 목표로 추진하였다

나. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

작물의 성분 특히 기능성 성분의 함량은 신품종의 선발에 매우 중요한 요소이다. 유효성분의 정확하고 저렴한 측정은 식품과학자 뿐 아니라 육종가에게 신품종 선발에 도움을 준다. 식품의 일반 성분에 대한 정량화는 이미 대부분 연구되어 일반적으로 정량화 하고 있다. 그러나 전문화된 기관에서 수행하기에는 시간과 비용이 많이 들어 주변의 대학 등에 용역으로 측정하고 있다. 이런 사정으로 성분의 정확도가 측정기관마다 상당한 오차가 발생하고 있다. 또한 더 큰 문제는 기능성 성분의 분석에 있어 분석할 시료의 개수가 적어 셋업에 필요한 기자재 등이 고가이기에 비용이 막대하게 들어 갈 뿐 아니라 정확도도 신뢰하기 힘들다. 따라서 본 연구 과제를 통해 배추과 식물의 일반성분 정량 서비스를 저렴한 비용으로 수행할 예정이며, 다량 샘플 분석의뢰에 대비하여 각 성분의 대량분석 방법을 확립하고자 한다. 또한, 배추 육종에 필요로 하는 주성분을 위주로 분석하여, 작물 육종의 기본 초석을 마련하고자 한다.

다. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

중국 및 일본 등지에서 수집한 유전자원을 배추계놈소재은행으로부터 분양받아 재배시험을 통하여 생리 형태적인 특성을 조사하여 데이터화하고, 재배 현장평가와 주요 성분 분석 결과 등을 통하여 유용 유전자원 선별하여 품종육성에 이용할 수 있도록 한다. 아울러 선별된 유전자원의 소포자를 배양하여 DH라인을 육성함으로써 품종육성뿐만 아니라 특정형질의 분자마커 개발에 이용될 수 있는 유전집단 양성을 통하여 분자 육종을 위한 기초 인프라를 구축하고자 수행하였다.

라. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

- (1) 노균병 저항성 마커 개발용 유전집단 개발 및 노균병 screen 환경 구축
- (2) 노균병 저항성 집단 유전자 지도 작성 및 유전집단 노균병 테스트
- (3) 노균병 저항성 marker 개발 및 실용화 검증을 최종 목표로 한다.

마. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- (1) 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 : 노균병 저항성의 유전양식을 구명하고 병 저항성 분자표지(마커) 개발을 위함이다.
- (2) 가을배추 품종육성 : 병 저항성 마커를 이용하여 효율적으로 내병성 계통을 선발하고, 이를 이용하여 병 저항성 배추 품종을 육성하고자 한다.

바. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

배추뿌리혹병 SSI 균주의 대량 확보, race분석 5개 이상 분리, 종 특이적 프라이머의 개발을 통한 병원균의 동정, 저항성 관련유전자의 선발, F2맵핑을 통한 저항성 유전자 분석을 최종 목표로 한다.

사. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

배추 뿌리혹병 저항성 유전자원 국내외에서 50계통 이상 수집, 배추 뿌리혹병 저항성 마커개발용 집단 양성(연계), 약배양을 이용하여 순계 250계통 이상 육성, 배추 뿌리혹병 저항성 3품종 이상의 개발을 최종 목표로 한다.

아. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

배추작물은 호냉성 식물로 고온 조건에서 생육이 불량해지며 결구력이 떨어져 상품성이 감소한다. 특히 기후 변화 특히 온난화가 진행되는 지역 배추 재배에서 내서성 피해가 예상된다. 따라서 본 연구는 고온 저항성을 가지는 배추 품종을 육성하기 위해 배추 내서성 연관 분자마커 개발을 목표로 연구 수행하였다.

자. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

본 연구에서는 우리나라 여름배추 재배지역인 강원도 준 고행지, 고행지에서 재배가 안정적이면서 내서성이 강하고 결구력이 우수하면서 추대성이 안정된 품종육성을 위해 실시하였다. 그리고 내서성 연관 분자마커를 활용하여 계통 및 조합의 내서성 정도를 미리 파악하여 육종연안 단축이 목적이다.

차. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- 개화 및 추대관련 분자마커 2개 개발을 최종 목표로 하고 다음과 같은 세부목표를 설정하였다.
- (1) 개화 또는 추대 및 광주기관련 유전자 탐색을 위한 microarray 실험과 분석
- (2) 개화 및 추대관련 유전자 선발과 클로닝을 위한 프라이머 제작
- (3) 다양한 배추소재로부터 유전자 클로닝과 염기서열 분석
- (4) 마커 개발을 위한 프라이머 작성 및 검증

카. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

만추대성 고품질 품종, 생리장애에 강한 고품질 품종, 뿌리혹병에 강한 고품질 품종 등을 3품종이상 개발하여 종자수출 증대에 기여하는 것을 최종 목표로 한다.

타. 배추 응성불입성 마커 개발(제3-3세부과제)

- (1) 배추류에서 나타나고 있는 다양한 응성불입성의 미토콘드리아 구조 및 유전기작을 해석
- (2) 세포질 응성불입성의 엽록체 구조 및 게놈 유전자 근방영역을 해석 및 마커위치 탐색
- (3) 1대 잡종 채종에 효율적으로 이용할 수 있는 미토콘드리아 및 엽록체 분자마커 개발
- (4) 개발된 마커의 이용방법 및 효율을 검증

파. 응성불입관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- (1) 응성불입성 집단 양성 분양
- (2) 배추 종자의 중국 수출을 위한 바이러스병, 뿌리혹병 등 복합내병성의 직원통형 우량 품종 육성
- (3) 응성불입성을 이용한 1대잡종 육성

제2절 연구개발의 배경 및 필요성

1. 연구개발의 종합적 배경 및 필요성

가. 종자 산업의 중요성

- WTO/TRIPs 규정, UPOV 협약, FTA협정 등에 의한 종자산업의 개방화 및 세계화가 현실화되면서 세계의 다국적 기업들은 M&A를 통하여 세계 종자시장에 대한 지배력을 강화해 가고 있다. 이 과정에서 육종 선진국들은 수입국의 식량자급/공급률 및 국가 경제에 상당한 영향을 끼치고 있다. 이러한 이유 때문에 세계 각국은 식량 및 종자 보호정책을 수립하고 농업유전자원 수집/탐색 및 육종 기술의 진보에 국가적 지원을 쏟고 있다.
- 한국의 경우 대다수의 종자 회사가 다국적 기업들에 의해 인수된 상황이지만, 고추, 배추, 무 등의 채소류에서는 높은 시장성과 세계 최고 수준의 육종 기술력을 보유하고 있어 국가적 산업 육성 및 보호가 이루어지고 있다.

나. 배추 육종 현황 및 발전 방향

- 경제적 측면에서 배추(*Brassica rapa ssp. pekinensis*)는 우리나라 4대 채소작물 중의 하나이며, 한국 고유 식품인 김치의 주재료로서 이용되고 있다. 현재 배추의 국내 재배면적은 2011년 기준 약 3만 6천 ha(전체 채소 재배면적 중 17%를 차지함)에 달하며, 생산량은 약 230만톤으로 추정되고 있다. 시장 규모 또한 약 7000억원에 달하는 것으로 추정되고 있다.
- 현재 국내의 배추 육종 기술 체계는 교배와 선발(즉, 자가불화합성 이용 기술, 음성불입성 이용 기술, 순계의 조기 고정, 조합 능력 검증, 변이 창출 기술 등에 의한 육종법)에 의존되어 왔다. 비록 육종되어온 품종의 품질은 우수할 지라도 하나의 품종을 개발하기 위해 많은 노동력과 시간이 소요되고 있다. 1990년 이후 종자산업의 육성 및 국가 경쟁력 향상을 위해 국내 육종 기술 체계의 패러다임이 요구되었고, 이에 따라 고전육종법에 생명공학 기술(형질전환 기술 및 분자마커 개발 기술)의 접목이 이루어져 육종의 효율화와 고품질 품종 개발을 도모하고 있다. 특히, 작물 육종시 분자마커의 개발은 우수 형질을 가진 육종 재료들의 효율적인 선발을 가능케 하고, 순도 향상, 육종 연한 및 노동력 감소라는 큰 효과를 주고 있다. 뿐만 아니라 선발 이후에 고전 육종법(교배)이 수행되므로 분자마커 개발 기술의 접목은 친환경적 농업 전략에도 매우 부합되는 것으로 평가받고 있다. 영국, 프랑스, 캐나다, 미국 등 선진국에서는 이미 10년 전부터 배추에서 많은 농업적 형질 관련-분자 마커들을 개발 해왔고, 이를 이용하여 선발 및 교배의 효율화, 유용 형질 탐색 및 집적, 잠종장세 조기 예측, 순도 검증, 그리고 품종 개발을 수행해왔다.

- 2003년 이후, 국제 배추 유전체 염기서열 분석 프로젝트(MBrGSP)가 수행되어 2011년 배추의 전체염기서열분석이 완료되면서 유전체 분석에 이용되었던 재료(유전분석 집단, 유전자지도 작성용 분자마커, 유전자지도, BAC/cDNA library, 물리지도, 기능 유전체학을 위한 돌연변이주, microarray 등) 및 대량의 유전체 염기서열 정보가 생성되었다. 이렇게 생성된 유전체 정보들은 배추분자마커 개발(농업적 형질 관련 마커 포함) 및 배추 분자유종 체계 구축에 매우 중요한 기초자료로 활용될 수 있고, 유전체 연구 사업 이후 실제 산업에의 응용이 실현케 될 것이다.
- 이러한 상황 속에서 국내에 배추 분자유종 기술 체계가 확립된다면 우수 품종 육성의 확대가 가능해져 세계 종자시장으로 진출을 확대시킬 수 있게 될 것이다(국가 경쟁력 향상에 있어 매우 중요한 부분임). 뿐만 아니라 육종의 과학화를 통해 국내 종자 산업 보호에 큰 힘이 될 것이다.
- 따라서 본 연구사업단에서는 배추 분자유종 기반 구축을 위해 (1) 기초 인프라 구축 사업과 이를 토대로 한 (2) 특정형질(스트레스 저항성(노균병, 뿌리혹병, 복합내병성, 내서성 등) 및 개화 관련 형질들) 관련 분자마커 및 품종 개발을 목표로 하고 있다. 기초 인프라 구축을 위해 유용 육종 소재들의 탐색 및 집단으로의 양성, 대량의 배추 분자마커 개발 시스템 구축, 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용한 품종에서의 형질 진단 서비스, 그리고 육종 관련 유용 성분 정량법 구축 등의 연구가 필요하다. 또한 특정형질 관련 분자마커를 발굴함으로써 단기간 내 형질을 보유한 계통들을 탐색하고 이를 토대로 품종을 개발할 수 있는 육종 시스템을 개발하는 것이 필요하다.

다. 육종을 통한 종자산업의 중요성

- 미래학자들은 21세기 국부의 척도를 유전자원의 양과 질에 의하여 결정될 것으로 전망하고 있는바, 상품가치(market value)가 있는 유전자원의 수집 및 활용을 통한 신작물과 신품종의 개발 없이는 선진농업 진입에 한계가 있을 것이다.
- 국제적으로는 생물다양성협약이 발효되고, 식물유전자원 국제규약 개정안을 마련중이나, 자원보유국(주로 개도국)과 자원이용국(주로 선진국)간 이해가 상충되고, 이에 따라 국제적인 갈등을 겪기도 하고 있다. 최근 WTO/TRIPs 규정, UPOV 협약 등이 이루어지면서 육종선진국들은 신품종보호 등록 후 로열티를 요구하며, 한국에서도 이러한 문제가 심각한 이슈가 되고 있다.
- 이러한 상황 가운데, 고추, 배추, 무 등의 채소 작물을 대상으로 한 한국의 육종 기술 수준은 세계 최고로 평가받아 왔다. 그러나 최근의 국제현황을 살펴보면 분자유종(분자마커를 이용한 품종 개발 및 형질전환체 개발)에 의한 고품질 신품종의 출현이 등장하면서 국내 종자 및 채소 시장에 상당한 영향을 미치기 시작했고 이에 대한 국가 차원의 경쟁력을 위해 국내 육종 기술 체계의 패러다임이 매우 절실한 상황에 이르렀다. 따라서 한국이 지속적으로 종자강국을 유지하기 위해서는 전통육종방식에 분자유종체계를 접목시키고 이를 발전시키는 것이 필요하다.

2. 세부과제별 연구개발의 배경 및 필요성

가. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

(1) 육종을 통한 종자산업의 중요성

- 미래학자들은 21세기 국부의 척도를 유전자원의 양과 질에 의하여 결정될 것으로 전망하고 있는바, 상품가치(market value)가 있는 유전자원의 수집 및 활용을 통한 신작물과 신품종의 개발 없이는 선진농업 진입에 한계가 있을 것이다.
- 국제적으로는 생물다양성협약이 발효되고, 식물유전자원 국제규약 개정안을 마련 중이나, 자원보유국(주로 개도국)과 자원이용국(주로 선진국)간 이해가 상충되고, 이에 따라 국제적인 갈등을 겪기도 하고 있다. 최근 WTO/TRIPs 규정, UPOV 협약 등이 이루어지면서 육종선진국들은 신품종보호 등록 후 로열티를 요구하며, 한국에서도 이러한 문제가 심각한 이슈가 되고 있다.
- 이러한 상황 가운데, 고추, 배추, 무 등의 채소 작물을 대상으로 한 한국의 육종 기술 수준은 세계 최고로 평가받아 왔다. 그러나 최근의 국제현황을 살펴보면 분자유종(분자마커를 이용한 품종 개발 및 형질전환체 개발)에 의한 고품질 신품종의 출현이 등장하면서 국내 종자 및 채소 시장에 상당한 영향을 미치기 시작했고 이에 대한 국가 차원의 경쟁력을 위해 국내 육종 기술 체계의 패러다임이 매우 절실한 상황에 이르렀다. 따라서 한국이 지속적으로 종자강국을 유지하기 위해서는 전통육종방식에 분자유종체계를 접목시키고 이를 발전시키는 것이 필요하다.

(2) 배추 유전체 연구의 중요성

- 배추는 *Brassica rapa*의 아종으로, 경제적으로, 식물 유전학적으로 매우 중요한 가치를 지니고 있다. 배추는 애기장대라는 식물체(모양과 크기가 꽃다지와 유사)와 약 1700만년 전에 분화되었으며, 약 1500만년 전에 한 세포내에 동일한 염색체를 3쌍이나 갖는 6배체 식물이 되었다. 배추와 같은 조상에서 분화된 애기장대는 아직도 꽃다지와 비슷한 야생의 작은 잡초로 머문 반면, 배추 유전체는 6배체가 된 후 1500만년 동안 안정적인 이배체 구조로 변화하였고 애기장대와 비교할 수 없을 정도로 큰 식물체로 진화하여 우리의 식단에서 빼 놓을 수 없는 중요한 채소가 되었다. 따라서 두 식물체에서의 유전자와 발현 조절 변화 연구는 배추뿐 아니라 다른 작물의 진화기작에 대한 새로운 이해는 물론 생명공학을 통한 우수한 농작물 개발에도 크게 활용될 것으로 기대된다.
- 이러한 배추의 체능연구는 이러한 여러 가지 장점을 인정받아 2003년 1월 미국 San Diego에서 개최된 Multinational *Brassica rapa* Genome Sequencing Project(MBrGSP) Consortium에서 한국의 배추를 우선 배추과 식물 중 최초로 전 염기서열을 분석하기로 결정하였다.

(3) 연구의 필요성

- 경제적 측면에서 배추는 우리나라 4대 채소작물 중의 하나이며, 한국 고유 식품인 김치의 주재료로서 이용되고 있다. 현재 배추의 국내 재배면적은 2011년 기준 약 3만 6천 ha(전체 채소 재배면적 중 17%를 차지함)에 달하며, 생산량은 약 230만톤으로 추정되고 있다. 시장 규모 또한 약 7000억원에 달하는 것으로 추정되고 있다.
- 현재 국내 배추 육종 기술 수준은 세계 정상급으로 평가되고 있다. 그러나 국내 육종 기술은 주로 전통육종 방식(선발과 교배)에 기초된 것이기 때문에 배추의 시장성 향상을 위해서는 전통 육종 기술에 분자 마커 응용 기술을 접목시키는 것이 절실하다. 분자 마커 응용 기술은 육종의 효율화(목표 형질 관련 유전자 및 교배친들의 효율적 탐색, 잡종강세 조기 예측, 선발의 과학화, 순도 검증, 우수형질 집적 및 불량형질 제거 등)를 도모하고 단 기간 내에 우수 품종을 창출하는데 있어 매우 유용한 수단이 될 수 있다. 영국, 프랑스, 캐나다 등 선진국에서는 이미 *Brassica oleracea*와 유채를 중심으로 분자 육종 기술 체계 및 인프라가 구축되어 왔다.
- 국내에서 배추 육종 기술 체계의 패러다임을 위해서는 기본적으로 표준 유전집단(순계화된 집단) 및 대량의 분자 마커 개발, 그리고 고밀도 유전자 지도 작성이 이루어져야 한다. 세 가지 항목은 배추 분자 육종 시스템 및 기초 인프라 구축, 그리고 상업화 응용 전략에 있어 중요한 기반이 된다.
- 최근 국제 배추 유전체 염기서열 분석 프로젝트(Multinational *Brassica rapa* Genome Sequencing Project)를 통해 전체 염기서열분석이 수행되어오면서 약 650,000 ESTs, 약 200,000 BAC-end sequences, 배추전체 염기서열정보 등의 대량의 유전체 염기서열 정보가 확보되어 왔다. 이 유전체 정보들은 대량의 분자 마커를 개발하기 위한 매우 중요한 기반이 된다. 무엇보다 분자 마커 개발 시 유전체 염기서열 정보로부터 집단 또는 농업적 형질 간에 높은 다형성(polymorphism)을 보이는 부위를 얼마나 정확하게 예측하고 분자 마커로 활용 가능하도록 형식의 변환이 매우 중요하다. 분자 마커 개발 분석 시스템의 구축은 배추 육종 기술 기반의 규모를 결정짓는 요인이 될 수 있다.
- 지금까지 배추를 대상으로 작성된 유전자지도는 국내에서 3건(Lee 등, 2002; Kim 등, 2006; Choi 등, unpublished), 국외에서 12건(McGrath and Quiros, 1991; Song 등, 1991; Chyi 등, 1992; Teutonico and Osborn, 1994; Novakova 등, 1996; Nozaki 등, 1997; Kole 등, 2002; Schranz 등, 2002; Formanová 등, 2006; Saito 등, 2006; Soengas 등, 2006; Suwabe 등, 2006) 보고되었다. 그러나 보고된 배추 유전자 지도들은 분자 육종에 활용되기에는 분자 마커의 밀도가 너무 낮고 유전자 지도 내에 포함된 분자 마커들의 정보 또한 이용하기 어렵다는 제약을 갖고 있다. 따라서 국내 육종 기술 기반 확립이라는 목표에 맞는 고밀도 유전자지도가 절실히 필요하고 분자마커 정보 또한 연구자들이 공개적으로 사용될 수 있는 데이터베이스 시스템을 구축할 필요가 있다.
- 작성된 배추 고밀도 유전자 지도는 목표 형질 관련 유전자좌(양적형질 관련 유전자좌 포함)의 탐색·선발 및 클로닝(map-based cloning), 유전자집적(gene pyramiding), 그

리고 형질전환의 기본 재료 제공에 매우 중요한 역할을 담당한다. 배추 육종에서 고 밀도 유전자 지도는 궁극적으로 맞춤형 품종 개발 가능성을 열어주게 되는 중요한 기반이 될 것이다.

- 따라서 본 연구 과제를 통해 배추 분자유종을 위한 기초 인프라를 구축하고 데이터 축적을 통한 장기적 개발을 위한 체계의 확립에 있다.

(4) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

배추는 우리나라의 대표 음식인 김치의 주재료로 우리 농업에 있어서 주요 농산물로 인식되어 왔으며, 종자 자급률도 100%로 일찍부터 종자 육종에서 세계 최고수준의 기술을 가지고 있는 분야이다. 그러나 우루과이라운드와 WTO체제 출범 이후 농산물 시장 개방이 가속화되면서 중국산 김치의 수입량이 해마다 증가하는 등 가격경쟁력 차원에서 열위에 놓인 국내 배추산업의 위축이 불가피한 상황이다. 이와 같은 상황을 타개할 수 있는 방안으로 배추의 품질향상과 친환경재배의 확산 등이 논의되고 있으며, 이를 위한 국산 배추의 신품종 개발과 고급화 방안 등이 논의되고 있다.

최근 정부에서는 우리나라 농업이 기술집약적 고부가가치 성장산업으로 발전해 나가는 데 있어서 종자산업이 갖는 중요성을 인식하여 종자산업 육성 종합대책을 마련·추진 중에 있다. 배추의 경우도 첨단 육종기술인 분자마커기술 및 관련 분야에 대한 기술개발, 신품종 보급을 위한 전시포 운영 등 R&D 차원에서 정부차원의 정책적 육성 및 지원이 활발히 진행되고 있다(MIFAFF, 2009). 이처럼 종자산업에 대한 관심이 높아지고 관련 분야의 투자가 증가하고 있는 상황이나, 국내 종자시장의 70% 이상을 차지하는 외국계 종묘회사의 R&D 투자액과 비교하면 여전히 부족한 상황이다. 따라서 한정된 예산범위 내에서 종자산업의 경쟁력을 높이기 위해서는 고부가 품종에 대한 집중적인 육성과 실수요자들의 요구를 반영한 신종자의 개발, 그리고 개발된 신종자의 활발한 보급방안 등 치밀한 전략이 필요하다고 할 수 있다.

(5) 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)

유전자의 기능을 해석하여 분리해 내는 방법으로서 점 돌연변이 유도, EST를 이용한 micro-array법, 유전자 Tagging법 등이 이용되고 있다. 이들은 모두 서로 다른 장점과 단점을 가지고 있다. 유전자의 점 돌연변이 유도법은 변이의 유도가 간단한 반면 게놈 DNA를 구성하는 수억개의 염기 배열 중에서 돌연변이를 나타내게 한 하나의 염기 치환을 검색해 내야 하므로 많은 시간과 기술이 요구되는 단점이 있다. DNA칩을 이용하는 micro-array법은 cDNA를 이용하기 때문에 기능유전자를 가져내는 좋은 방법으로 이용되고 있다. 그러나 칩에 내장된 cDNA가 유전자의 Full length가 아닌 일부 단편만인 것이 많기 때문에 기능이 있는 유전자를 검색하는 데에 한계가 있다는 결점이 있다. 유전자 Tagging법은 Tag로서 T-DNA 또는 transposon을 무작위로 게놈 중에 삽입시키는데 이러한 Tag가 삽입된 유전자는 그 기능이 파괴되기 때문에 어떤 기능의 유전자가 Tagging되었는지 알 수가 있다. 그러나 이 방법은 Tag element가 삽입된 유전자가 over expression 되거나, 여러 가지 많은 유전자에 한꺼번에 삽입되어 형질 발현 유전자 또는

기능이 파괴된 유전자와 Tag element가 삽입된 유전자와의 관계가 모호한 경우가 많다는 것이다. 이러한 문제점을 해결하고 유용유전자를 다량으로 확실하게 얻을 수 있는 한 방법이 최근에 개발되고 있다. 식물의 각 기관으로부터 mRNA를 추출하고 이를 바탕으로 새로이 개발된 기술을 이용하여 full length cDNA를 다량으로 작성한 후 모든 DNA의 염기서열이 밝혀진 애기 장대에 형질전환 시킨다. 그리고 애기 장대에서 나타난 변이체를 이용하여 그 관련 유전자를 분리해낸 후 다시 본래의 식물에 형질전환하여 그 유전자의 기능을 확인하는 방법인데 이를 “Full length cDNA를 이용한 종합적 유전자 기능해석의 식물 시스템”이라고 한다. 이 방법은 (1) 발현조절배열을 포함하는 완전장 cDNA의 library를 작성하여 이를 식물에 도입하고, (2) cDNA가 도입된 식물집단에서 목적의 선발조건에 적합한 식물체를 선발하고, (3) 선발된 식물체로부터 cDNA를 단리하고, (4) 단리된 cDNA를 도입된 식물체와 동종의 식물체에 재도입하여 선발조건에 따른 표현형을 재확인하는 것이다. 완전장 cDNA library는 유전자가 기능할 때 필요한 전아미노산 정보를 포함하기 때문에 도입하는 유전자가 본래 갖고 있는 전기능을 발휘할 수가 있다. 따라서 통상의 cDNA library와 비교하면 기능발현의 효율이 훨씬 높고, 또한 모든 cDNA 단편이 본래의 개시코돈 및 정지코돈 정보를 갖추고 있기 때문에 발현을 위한 단백질 융합화 등의 필요가 없이 단백질 발현효율이 높다. 이 system은 sense mRNA를 발현시키거나(단백질 과잉 또는 감소 발현) antisense mRNA를 발현시켜(통상 단백질의 발현량 감소) 특정 형질의 표현형이 나타날 경우 모두 우성 또는 반우성의 표현형질로서 나타나게 된다. Cloning된 생식 관련 기능유전자는 형질전환용 donor gene으로 활용하여 신기능성 작물의 창출에 이용된다. Full-length cDNA는 promoter 분석, 발현 및 기능해석과 식물단백질의 구조분석을 위하여 필요하다.

따라서 본 연구에서는 이 system을 도입하여 배추에서 발현하는 유전자(full-length cDNA)의 기능을 확인하고 유용유전자를 다량으로 확보할 수 있을 것이다.

(6) 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제)

- 종자산업이 국가 중점사업으로 육성되기 위한 다양한 정책이 수립되어 종자산업에 대한 새로운 패러다임이 형성되고 있으며 정부(농식품부)는 2009년 ‘2020 종자산업 육성 대책’을 마련하여 2020년까지 종자수출 2억 달러 달성을 목표로 추진하고 있다. 특히 대표적인 채소과 작물인 배추는 종자 R&D 투자 확대 및 효율화를 위하여 고추, 무 등과 수출전략품목으로 선정되어 배추는 정부차원(농식품부 주관)에서 전략적 지원이 이루어질 예정이다.
- 특히, 2011년 마련된 ‘Golden Seed 프로젝트’에서 배추 분야가 수출을 지향하는 글로벌 시장개척 분야로 선정되었으며, 배추 분야는 투자 아이템 선정 시 수출의 강점, 기술성이 높고, 사회경제적 파급성이 큰 품목으로 구분되었다
- 배추분자마커연구사업단은 2012년 종료를 앞둔 시점에서 배추유전체 정보 이용 육종 체계 및 인프라구축 사업을 추진하였다.
- 이에 사업단 종료시점에 있어서 배추분자마커사업단의 우수성과를 연계하여 배추종자의 활용측면에서의 국제적인 경쟁력을 확보하기 위한 발전방안 마련이 필요한 시점이다.

나. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 식물 육종 후 표현형의 측정은 선발을 위한 필수적 요소이다. 그 중 작물에 있어서는 사람에게 의해 소비되므로 영양성분 및 기능성 성분의 함량은 소비자들이 식품 선택 시 중요한 판단요소 중 하나이다.
- 보통의 분석은 허가기관에서 필요한 식품공전에 기초한 분석을 기준으로(미국 AOAC) 하고 있으나 품종간의 성분차이를 구분할 수 있는 방법을 개발하여 저렴한 가격으로 성분분석을 제공할 필요가 있다.
- 식품의 일반 성분에 대한 정량화는 이미 대부분 연구되어 현재 국내의 몇몇 기관에서 서비스를 제공하고 있다. 그러나 특정 기능성 성분의 경우 비전문화 된 기관에서 수행하기에는 시간과 비용이 많이 들어 주변의 대학 등에 용역으로 측정하고 있으나 성분의 정확도가 측정기관마다 상당한 오차가 발생하고 있다. 또한 더 큰 문제는 기능성 성분의 분석에 있어 분석할 시료의 개수가 적어 셋업에 필요한 기자재 등이 고가이어서 비용이 막대하게 들어 갈뿐 아니라 정확도도 신뢰하기 힘들다.
- 이러한 문제를 극복하기 위하여 배추과 식물의 유효성분 측정을 고도로 매뉴얼화 하여 측정기관간 시험자간의 오차를 줄여 정량의 정확도를 증대시킬 필요가 있다. 기능성 소량성분 분석법을 매뉴얼화하고 기자재 셋팅을 통하여 측정가격과 시간을 대폭 줄여 대량의 시료를 짧은 시간에 분석할 수 있는 방법의 개발이 필요하다.
- 유용 기능성 성분의 함량을 비교적 정확하고도 빠르게 분석할 수 있다면 배추과 작물은 물론 다양한 농작물의 고부가가치 품종 개발을 위한 육종에 큰 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

다. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- 배추과는 A, B, C genome으로 대표되는 *B. rapa*, *B. nigra*, *B. oleracea*의 diploid species 와 amphidiploid species 인 *B. carinata*(BC), *B. juncea*(AB), *B. napus*(AC)로 구성되어 있으며 배추과내에는 약 3350여종이상의 다양한 종으로 분포하고 있다. 배추과 식물은 식물유전체 연구의 모델인 *Arabidopsis*와 매우 밀접한 관계를 가지고 있어 이미 전체 게놈분석이 완료된 *Arabidopsis*의 유전정보를 이용하는데 매우 큰 장점을 가지고 이와 더불어 진화의 연구에도 좋은 결과를 가져올 수 있는 작물이다.
- 농업적으로 중요하게 이용되고 있는 *Brassica rapa*(syn. *campestris*)에는 5개의 subspecies들이 있는데, 한국의 배추는 그 중에서도 *pekinensis*에 속한다. Genome 크기는 약 550Mb로 *Arabidopsis*와는 약 4배의 크기로 타 작물에 비하여 상대적으로 작아 비교적 경제적으로 연구가 가능할 뿐 만 아니라, 다양한 유용한 작물이 같은 십자화과에 속함으로써 이를 통한 비교연구 효과도 기대할 수 있다.
- 분자마커의 개발을 위해서는 유전자 지도 작성을 필수적이다. 이를 위해 표현형 뿐만

아니라 염기서열의 다양성을 가지고 있는 양친을 선택하여 약 배양, 여교잡, 자가수분을 통하여 DHL(doubled haploid line)와 NIL(near isogenic line), RIL(recombinant inbred line) 등 mapping 집단을 작성하여야 한다. 이러한 집단은 유전자의 재조합을 통하여 집단내 각 계통은 표현형과 유전자원이 다양하여 유전자 집단 작성이 용이해지며, 이러한 집단을 이용하여 양적형질도 mapping할 수 있다.

- 다양한 종의 종자의 확보를 통하여 다양한 형질들을 보유한 line들을 통해서 새로운 작물을 육성하는데 도움이 될 것이며, mapping 집단의 작성은 유전자 지도를 작성하는데 있어서 가장 필수적이다. 또 기존의 분자생물학적인 방법을 이와 연계하여 보다 빠르고 정확한 새로운 형질의 작물을 만드는데 사용될 것이다.
- 현재 국내 배추 육종 기술 수준은 세계 정상급으로 평가되고 있다. 그러나 국내 육종 기술은 주로 전통육종 방식(선발과 교배)에 기초된 것이기 때문에 배추의 시장성 향상을 위해서는 전통 육종 기술에 분자 마커 응용 기술을 접목시키는 것이 절실하다. 분자 마커 응용 기술은 육종의 효율화(목표 형질 관련 유전자 및 교배친들의 효율적 탐색, 잠중강제 조기 예측, 선발의 과학화, 순도 검증, 우수형질 집적 및 불량형질 제거 등)를 도모하고 단 기간 내에 우수 품종을 창출하는데 있어 매우 유용한 수단일 수 있다.
- 국내에서 배추 육종 기술 체계의 새로운 패러다임을 위해서는 기본적으로 표준 유전 집단(순계화된 집단) 및 대량의 분자 마커 개발, 그리고 고밀도 유전자 지도 작성이 이루어져야 한다. 세 가지 항목은 배추 분자 육종 시스템 및 기초 인프라 구축, 그리고 상업화 응용 전략에 있어 중요한 기반이 된다.
- 그러나 보고된 배추 유전자 지도 외에도 특정 마커를 개발하기 위한 특수 유전집단의 양성 및 이의 증식은 대단히 중요한 작업이다.
- 따라서 본 연구 과제를 통해 배추 분자육종을 위한 기초 인프라 및 실용화에 필요한 유전자원을 대량으로 증식 관리하고 그 특성을 연구하며 분자마커 개발을 위해 필요한 유전집단을 작성하여 분자마커 개발을 위한 기초 자료를 작성하는 것이 필요하다.

라. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

- 배추는 연간 250만 톤 생산으로 약 6000억-1조 원의 시장을 가지는 주요 경제 작물이다.
- 현재 국내 주요 배추 생산지역의 연작으로 인한 병해충의 피해가 급증으로 대책이 요구된다.
- 그 중 뿌리혹병, 노균병, 바이러스병, 비생물체에 의한 스트레스는 배추 생산의 가장 큰 제한요인으로 작용할 수 있다.
- 배추 뿌리혹병은 1928년 수원지역에서 처음 보고된 이후 1990년대 중반부터 전국적인 집중호우와 홍수, 이상 고온으로 인하여 발생 면적이 급격히 증가하고 있으며 배추 주요 재배단지에서 커다란 문제로 대두되고 있다. 그뿐만 아니라 무, 양배추, 순무, 케일, 갓, 브로콜리 외에도 *arabidopsis*와 잡초인 냉이에도 발병한다.
- 노균병은 흐린 날이 지속되어 상대습도가 높거나 밤낮의 기온차가 심한 환경기에 대

발생한다. 특히 따뜻한 남부 지방에서 그 피해가 심하다. 2007년 11월 15일 해남 월동 배추 병해 발생 조사한 결과에 의하면 조사지역 4곳 중 2곳이 노균병 발생을 하였다. 또한 비닐하우스 재배가 확산됨에 따라 연중 발생하여 큰 피해를 주고 있으며, 특히 유포기에 발생하게 되면 고사하게 되고 전염성 병해이므로 배추에 합병증을 일으켜서 농민들에게 큰 피해를 주고 있다.

- 또한 바이러스병은 봄 노지 재배에서부터 가을 노지재배에까지 거의 예외 없이 발병하여 농민에게 큰 피해를 주고 있으며, 배추에 감염되는 바이러스는 대체로 TuMV(turnip mosaic virus)이며 피해 또한 심각하다. 그리고 여러 비생물체에 의한 스트레스는 예를 들어 생육 적정 온도보다 낮은 온도에 의한 피해, 반대로 높은 온도에 의한 피해, 수분부족에서 오는 피해, 토양의 과다 염류로 인한 피해 등은 예측이 어려운 재해이므로 이러한 여러 abiotic 스트레스 저항력이 높은 품종 개발은 반드시 필요하다.
- 그리고 지구의 온난화로 인해 농업 생산량에 큰 영향을 미치는데 국내 고랭지 여름배추 시장은 기상변화와 고랭지 특성상 토양유실이 심하고 장기간 연작재배에 의한 토양환경의 변화로 고랭지 지역 여름배추 재배 안정성이 심각히 저하되고 있으므로 고온에도 강하면서 내병성이 강한 품종개발이 시급한 과제로 인식되고 있다
- 그러므로 재현성과 야외 실험이 어려운 형질관련 내병성 마커 개발에 대한 요구가 증대되고 국내 배추 육종의 효율성 증대를 위한 다양한 기술의 접목에 대한 경제적 필요성이 대두되고 있다. 또한 웰빙 시대에 맞춰 저 농약 배추 생산 위하여 내병성 품종개발이 필요하며 대량 재배되는 중국시장을 겨냥한 고품질 국산 배추 품종 개발이 필요하다.
- 그러나 현재 우리나라는 전통육종 방법을 사용하여 새로운 품종을 개발할 때 원하는 형질을 표현형 검정과정으로 선발 하고 있다. 또한 선발과정에서 원치 않은 형질도 같이 도입 될 수 있다. 그러므로 이러한 부분에서 분자 마커 개발은 표현형 검정단계를 마커 확인으로 대신할 수 있다.
- 따라서 분자마커개발이 품종개발 기술에 필수적인 것이다. 또한 배추 신품종 개발에 있어서 저항성 유전자에 대한 분자 표지를 개발하고 이를 MAS로 이용한다면 저항성 개체 선발이 용이하고 이로써 해당 유전자의 도입 여부를 신속하게 확인할 수 있어 육종의 기한을 수 년 앞당길 수 있을 것이다. 특히 개발된 마커를 활용하여 전통 육종에 접목시키면 육종 효율성을 높이고 노동력 절감, 농가의 소득이 향상될 수 있을 것이다.
- 따라서 본 연구 과제는 스트레스 저항성 분자 마커 개발 및 국내외용 우수품종을 육성하는 체계의 확립에 있다.
- 노균병(downy mildew; *Peronospora parasitica*)은 기온이 서늘하고 습도가 높을 경우 작물의 지상부에서 생기는 병으로 어리고 연약한 잎, 가지, 그리고 열매 조직에 발생하는 병해이다. 박과작물에서는 유전 및 육종에 관련하여 많은 연구가 진행되고 있으나 배추에서는 아직 충분히 이루어지지 않고 있다. 또한 현재 국내의 노균병 육종 체계는 전통 육종 방법에 의존되어있다. 비록 육종되어온 품종의 품질은 우수할 지라도 하나의 노균병 품종을 개발하기위해 많은 노동력과 시간이 소요되었다 따라서 노균병 분자 마커 개발이 시급한 과제로 인식되고 있다.

- 노균병 품종 육종 기술의 과학화를 위해서는 무엇보다 전통 육종 기술에 노균병 저항성 분자 마커 개발이 필요하다. 이러한 분자 마커개발은 노균병 국내 노균병 육종 기술이 체계적으로 확립될 수 있고 육종연한 단축 및 재배 생산량을 효율적으로 높일 수 있다.
- 아직 국내에서는 시도되지 않은 노균병 저항성 분자 육종기술을 과학적, 체계적으로 확립시켜야 하므로 노균병 저항성 분자 마커가 시급히 개발되어야 할 것이다. 또한 개발된 분자마커를 육종가 또는 연구자들에게 지원하면 국내 노균병 저항성 품종 육종 체계를 한층 더 선진화시킬 수 있을 것이다.
- 따라서 본 과제는 노균병 저항성 배추 분자마커를 개발하여 기초 인프라를 구축하고 데이터 축적을 통한 장기적 개발을 위한 체계의 확립에 있다.

마. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- 국내 배추 재배 면적은 36,000ha(2011년)로서 중국의 배추 및 김치의 수입으로 점차 감소하는 추세이다
- 중국의 배추재배 면적은 약 270만ha(2003년)로서 중국 전체 채소 재배면적의 13.3%를 차지하는 첫 번째 채소 작물로서, 종자 시장의 크기는 매우 방대하다.
- 우리나라의 배추 육종 기술은 세계적 수준이라고 하지만, 배추의 여러 가지 특성이나 특히 병에 대한 유전분석 등 기초 연구가 미미한 편이다.
- 배추의 병에 있어서는 뿌리혹병, 바이러스, 연부병 및 노균병이 가장 크게 문제되는 병들이지만 특히, 이 중 노균병에 대한 연구가 가장 적은 편이다.
- 그 이유는 다른 병에 비해 수량을 감소시키는 비율이 적은 것도 큰 원인 중의 하나라고 생각된다.
- 그러나, 노균병은 수량성을 크게 감소시키지는 않으나 품질을 저하시켜 농가의 소득에도 영향을 미치게 된다.
- 노균병은 외엽에 발병되어 제거하면 큰 영향은 없는 것 같으나, 시장가격의 상황에 따라 가격이 좋지 않을 땐 포장에 오래 두는 경향이 있는데, 이 때 병 발생이 심하게 되고 중록에도 노균병이 발생하게 되어 품질을 크게 저하시키게 된다.
- 최근엔 국내에서도 노균병 저항성 품종이 시판되고 있으며, 일본에서도 중록 노균병에 강한 품종들이 발표되고 있다.
- 따라서, 본 연구 과제를 통해 노균병의 유전적인 분석을 밝히고 나아가 마커를 개발하여 육종기술의 효율성을 높여 준다면 배추 품종 육성에 큰 도움이 될 것이다.
- 품종 개발 기술이 유사한 무. 양배추. 브로콜리 등 세계적으로 시장이 큰 다른 작물의 기술 적용도 용이할 것으로 사료된다.

마. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

배추는 경제적 측면에서 우리나라 4대 채소작물 중의 하나로 국내 재배면적은 21%에 해당하는 약 36,000ha에서 생산되는데 이는 전체 채소 재배면적 중 약 11.3 %를 차지하고 있다(통계청, 2011). 생산량은 약 230만톤으로 시장 규모 또한 약 7000억원에 달하는 것으로 추정되고 있다.

*P. brassicae*는 1877년 최초로 보고되었고(Woronin, 1877), 한국에서는 1928년에 처음 보고되었다(권업모법장, 1928). 뿌리혹병은 십자화과 작물에 감염되어 뿌리에 이상 생장을 초래하고 병 발생 후 17년까지 휴면포자가 토양 내에 생존한다고 보고되었다(Wallenhämmer, 1996). 이 병은 배추를 비롯하여 무, 순무, 브로콜리, 양배추, 케일, 갓, 비트, 애기장대, 냉이 뿐 아니라 한련화, 파과야 등에서도 발생된다(Ludwig-Müller, 1999).

*P. brassicae*는 휴면포자가 발아하여 유주자 형태로 뿌리털을 감염하는 첫 번째 단계와 감염된 뿌리로부터 나출된 2차 유주자에 의해 배추과 뿌리 조직 세포를 감염하는 두 번째 단계로 구성된 생활환을 가지고 있다(Ingram and Tommerup, 1972; Braselton, 1995; Ludwig-Müller, 1999). 이 병원균은 기주 세포내에서 다핵성 변형체를 형성하고 이후 주변세포로 이동하며 증식하여, 기주 조직의 이상비대를 초래, 뿌리로부터 흑을 형성하게 된다(Fähling *et al.*, 2004). 조직 내에 증식된 다핵성 변형체로 인해 뿌리의 유관속부가 정상적으로 분화하지 못하고 양분과 수분 흡수가 저해되어, 감염된 식물체의 지상부는 생육이 부진하고 병이 진전됨에 따라서 점점 시드는 증상이 심화, 결국에는 감염 식물의 고사를 초래한다(Voorrips, 1995).

배추 뿌리혹병의 방제방법으로는 토양의 pH 조절, 윤작, 저항성 품종재배와 같은 재배적 방제, 미생물을 이용한 생물학적 방제(Cheah and Page, 1995; Cheah *et al.*, 2000), 그리고 fluazinam, flusulfamide 및 cyazofamid 등의 살균제를 이용하는 화학적 방제가 있다. 그러나 재배적 방제만으로는 병을 확실히 방제하기 어렵고 일반적으로 가장 선호되는 저항성 품종의 경우 연관하게 되면 새로운 병원균 race의 출현으로 인해 이 품종이 갖는 저항성이 감수성으로 변하여 방제력을 잃게 된다(Crute and Pink, 1989). 또한 미생물제제는 다양한 환경적 요인에 의해 영향을 받아 확실한 효과를 보기 어렵고 화학적 방제는 화학농약으로 인한 다양한 환경오염이 문제시 되고 있다.

사. 배추 뿌리혹병 저항성 유전자 분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

- 배추 뿌리혹병원균은 1877년 Woronin에 의해 처음 보고 되었고 배추, 무, 양배추, 브로콜리, 순무, 갓 등 배추과 채소에 발생하여 세계적으로 커다란 피해를 주고 있다.
- 우리나라는 1928년 수원지역에서 처음 보고된 이후 1990년대 중반부터 전국적인 집중호우와 홍수, 이상고온으로 인하여 발생면적이 급격히 증가하고 있으며 배추 주요 재배단지에서 커다란 문제로 대두되고 있다.

- 현재 뿌리혹병은 생리적 race가 다양하고 race에 따라 병원성도 다르게 나타나는 경우가 많기 때문에 모든 race에 저항성을 나타내는 품종을 육성하기가 어려운 실정이며, 우리나라에는 Williams 판별법으로 분류한 전체 16 race 중에서 race 10과 race 13을 제외한 모든 race가 존재하는 것으로 보고되어 있다.
- 병원균의 유전적 다양성으로 인하여 저항성 품종이 이병화 되고, 한 포장에도 다양한 race가 존재하는 경우도 있고 저항성 유전자원으로 도입한 순무의 유전자가 복잡하여 저항성 개체 및 계통 선발에 어려움이 있어 마커를 이용하여 저항성 loci를 찾고자 하는 노력이 계속되고 있다.
- 저항성 품종육성에 있어서 저항성 유전자에 대한 분자마커를 개발함으로써 환경적 영향이나 병원균의 사용 없이 저항성 개체 및 계통을 선발할 수 있어 육종의 기한을 앞당길 수 있다.
- 배추과 채소 작물의 뿌리혹병 저항성 육종은 1978년 일본의 채소화훼 작물연구소에서 양배추를 대상으로 처음으로 시작하였고, 배추는 1976년 접종방법 개발시험을 시작으로 다양한 저항성 품종이 상용화되었다.
- 국내에서도 1990년 중반부터 채소 종자회사를 중심으로 일본에서 도입한 저항성 유전자를 이용하여 우수한 형질을 지닌 품종이 개발되어 상용화 되었으며, 저항성 품종의 재배면적이 늘어나고 있으나 연관으로 인하여 저항성 품종들이 새로운 race에 의하여 저항성이 무너지고 있어서 근주에 대한 race정립, 저항성 유전자 도입 및 선발, 유전양식 구명, 새로운 저항성 품종육성이 요구되고 있다.

아. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

- 여러 비 생물체에 의한 스트레스(abiotic stress)는 배추작물의 생산력에 가장 큰 제한 요인으로 작용할 수 있다. 예를 들어 생육 적정온도보다 낮은 온도에 의한 피해, 반대로 높은 온도에 의한 피해, 수분부족에서 오는 피해, 토양의 과다 염류로 인한 피해 등은 예측이 어려운 재해이므로 이러한 여러 abiotic 스트레스 저항력이 높은 품종의 개발은 반드시 필요하다.
- 전통육종 방법을 사용하여 새로운 품종을 개발할 때 원하는 형질을 표현형 검정과정으로 선발하게 된다. 하지만 표현형 검정이 어렵거나 긴 시간을 요구하기도 한다. 또한 선발과정에서 원치 않는 형질도 같이 도입될 수 있다. 그러므로 육종과정에서 선발과 제거는 여러 형질에서 동시에 이루어 지야 하지만 많은 표현형의 동시검정은 어려운 과제이다. 이러한 부분에서 분자마커의 개발은 표현형 검정 단계를 마커 확인으로 대신할 수 있다. 따라서 표현형 검정의 단계를 쉽고 빠르게 진행할 수 있는 분자마커의 개발이 품종개발 기술 확립에 필수적이다.
- 고온 저항성을 가지는 유전자에 위치하거나 또는 가까이 인접한 분자마커의 개발은 전통육종 기술에 분자마커 활용 기술을 접목하여 세계적으로 최고의 경쟁력을 갖출 수 있는 품종육종 기술과 빠른 시간에 품종을 개발할 수 있는 장점을 가지므로 반드시 개발되어야 할 분야이다.

자. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

현재 지구온난화로 농작물 수확량은 일시적 증가는 있지만 지구가 계속 더워지면 농업 생산성에 큰 영향을 미치는데 일반적으로 적은 기후변화에 대한 농작물의 생산성은 중위도 및 고위도에서는 증가하는 경향이 있으나 온도상승이 2~3°C 이상이면 중위도에서 생산성이 감소하게 된다. 그렇지만 열대 및 아열대 지역은 건조지역 및 관개되지 않은 지역이 절대 다수인 관계로 적은 온도상승에도 농업생산량이 감소할 것으로 예상된다. 특히 세계의 최고 빈곤층이 사는 열대와 아열대의 21세기 기후변화로 총 농업생산량의 30%까지 감소될 수 있는 것으로 평가되어 식량 부족의 위협이 크게 증대될 수 있는 것으로 예상된다. 현재 전 세계적으로 약 8억명의 인구가 영양실조 상태에 있으며 세계의 인구증가가 지속되고 국가들의 수입이 상승함에 따라 식량소비는 30~40년 후에 현재의 2배가 될 것으로 예상된다.

국내 고랭지 여름배추 시장은 기상변화와 고랭지 특성상 토양유실이 심하고 장기간 연작재배에 의한 토양환경의 변화로 고랭지 지역 여름배추 재배 안정성이 심각히 저하되고 있어 고온에도 강하면서 내병성이 강한 품종개발이 시급한 과제로 인식되고 있다. 이러한 인식의 실제적 해결은 고온기를 이겨낼 수 있는 완벽한 품종을 개발하여 종묘회사와 재배농가의 분쟁이 해결되면 종묘회사는 안정적으로 종자를 공급할 수 있게 될 것이다. 현재 고랭지 여름배추 시장은 약 25억으로 추정되고 있기에 고랭지 여름배추시장 활성화를 위해서는 준고랭지(해발 450m), 고랭지(해발 700) 재배에 적합한 품종개발로 재배 농가의 소득증대(생산물기준 약1,700억원/년)에 기여할 수 있다.

고랭지 여름 재배용으로 만추대성이고 내서성인 고랭지 여름배추가 1976년에 발표되어 최근까지 고랭지의 주품종으로 재배되고 있으며 원예연구소에서는 남방용 품종을 이용하여 평지 여름재배가 가능한 만하, 탐복의 두 품종을 1982년에 육성하였으나 고온 다습 조건에서 품질이 고랭지 생산 품종과 경쟁이 되지 못하여 육성재료로 이용될 뿐 실제 재배는 거의 이루어지지 않아 앞으로 적극적인 연구가 필요하다. 고온다습 조건으로 인해 재배가 어렵다고 생각되는 시기에 다양한 유전자원과 다수의 자가 불화합성활력이 높은 계통 및 CMS친의 확보로 내서성에 강한 품종육성을 기대한다.

최근 전통 육종 기술에 분자 마커 응용 기술을 접목시켜 안정적으로 재배가 가능한 내서성 여름배추의 개발이 시급하다. 내서성 여름배추개발은 국내 보급은 물론 중국, 인도, 동서남아시아의 수출까지도 가능하다. 내서성 품종육성에 배추분자마커사업단의 마커를 이용하여 품종육성에 효율성을 높여 줄 수 있으며 본 연구 과제를 통하여 품질이 우수한 여름배추 품종이 국내 보급은 물론 중국, 인도, 동서남아시아의 수출까지도 가능할 것이다. 중국이 배추 염기서열재시퀀싱이 추진되는 상황에서 국제적인 경쟁력을 갖추기 위해 최신 염기서열분석방법을 이용하여 재분석을 수행할 필요성이 있다고 판단된다.

차. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

개화(flowering)는 식물이 영양생장단계에서 생식생장단계로 전환되는 것을 의미하며 배추와 같은 식물의 경우는 추대형성으로 대변되기도 한다. 개화는 광주기, 온도(춘화처리), 호르몬 및 자율적 회로(autonomous pathway) 등에 의해 조절되는데 주로 광주기와 온도가 주 환경요인이 된다(Srikanth and Schmid, 2011; Jarillo and Pineiro, 2011). 개화 관련 회로에 관여하는 많은 유전자들과 miRNA들이 애기장대 등에서 잘 밝혀져 왔다. 개화시기(flowring time)는 곡류작물의 생산성과 직결되고, 배추와 같은 채소작물 생산성 및 수확시기에 영향을 준다(Jung and Müller, 2009). 특히 배추의 경우 조기추대는 생산성감소 및 상품의 질을 떨어뜨리기 때문에 재배시점에 따른 개화 및 추대형성 문제가 심각하기 때문에 조기추대와 만기추대를 구별하는 마커의 개발이 시급한 실정이다.

많은 종류의 MADS box 유전자가 애기장대의 개화와 연관이 있는데, 그 중에 MADS 전사유전자 중 하나인 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* 유전자는 개화억제자로 자율적 회로와 춘화처리 회로의 통합단계에서 핵심요소로 작용한다(Michaels and Amasino, 1999; Sheldon et al., 1999, 2008; Alexandre and Hennig, 2008; de Lucia et al., 2008; Kim and Sung, 2012). 개화에 춘화처리가 필요한 식물은 *FLC* 유전자의 발현을 억제함으로써 개화를 촉진할 수 있으며, 춘화처리는 복잡한 과정을 통해 이 유전자의 발현을 억제한다(Lee and Amasino, 1995; Sheldon et al., 2000; Sung and Amasino, 2006; Schmitz and Amasino, 2007; Heo and Sung, 2011a and 2011b). 배추(*B. rapa*), 유채(*B. napus*), 양배추(*B. oleracea*)와 같은 배추과 작물은 개화를 위해 춘화처리가 필요한 전형적인 식물이다. 이들 배추과 식물에는 여러 카피의 *FLC* 대립인자가 존재한다; 배추에는 *BrFLC1*, *BrFLC2*, *BrFLC3* 및 *BrFLC5* 등 4개(Yang et al., 2006), 유채에는 5개(*BnFLC1-5*)(Tadegé et al., 2001), 그리고 양배추에도 4개(Schranz et al., 2002; Lin et al., 2005; Okazaki et al., 2007). 배추의 4개 유전자 중에서 *BrFLC1-3*를 애기장대에 과발현시켰을 경우 개화를 억제하였다는 보고가 있었으나(Hong et al., 2011), *BrFLC2*가 개화시기 QTL(quantitative trait loci)과 일치하여(Lou et al., 2007; Li et al., 2009; Zhao et al., 2010) 배추의 핵심 개화억제자로 간주되어 왔다. 한 개의 *FLC* 유전자를 가지고 있는 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)의 경우 선택적 이어맞추기(alternative splicing)가 일어나는 돌연변이가 자연집단에 존재하며 그 결과 개화가 늦어지거나 빨라진다는 보고가 있다(Lempe et al., 2005; Werner et al., 2005). 배추의 경우, *BrFLC1*과 *BrFLC2*에 존재하는 몇 개의 SNPs가 개화 QTL과 연관이 있었으며(Li et al., 2009), *BrFLC1* 유전자의 6번째 인트론의 5'-스플라이싱 부위(AG/GTAAG)의 G→A 돌연변이는 3개의 선택적 이어맞추기를 유도하고 개화시기를 단축한다는 보고가 있었다(Yuan et al., 2009).

체내시계(circadian clock)도 광주기회로와 연관하여 개화를 조절한다(Jung and Müller, 2009; Imaizumi, 2010). CCA1 (Circadian Clock Associated 1)(Wang et al., 1997; Wang and Tobin, 1998)은 LHY (Late Elongated Hypocotyl)과 함께 체내시계의 핵심요소로 개화조절과 관계가 있다(Fujiwara et al., 2008; Li et al., 2011; Lu et al., 2011). CCA1 유전자의 발현양상이 냉이(*Capsella bursa-pastories*)의 개화생태형(flowering ecotype)에

따른 다른 발현양상을 보여 개화시기와의 연관성을 제시하였다(Slotte et al., 2007). 또한 여러 내흔계 계통의 배추를 가지고 QTL지도를 작성한 결과 체내시계와 개화시기 QTL이 같은 장소에 표시되어 체내시계와 개화시기의 연관성을 제시하였다(Lou et al., 2011). 배추의 CCAI 유전자는 본 연구실에서 수행한 배추 DNA chip을 활용하여 수행한 microarray 실험결과 조기추대인 rapid cycling *Brassica rapa* (RCBr)과 만기추대인 내흔계 지부에서 발현정도를 비교하였을 때 RCBr에서 2.2배정도 발현이 증가하였고, RCBr를 장일조건(16시간 광조건)에서 키웠을 경우 단일조건(8시간 광조건)에서 키운 것에 비해 26-60배 정도의 발현양이 증가하여 개화시기와의 연관성을 시사하였다.

배추(*Brassica rapa*)에는 여러 아종(ssp. = subspecies)이 존재한다. *Pekinensis*는 결구형으로 배추를 대표하며, *chinesis*는 비결구형으로 청경채가 그 예이다. *Parachinensis*는 Caixin이라 하며 flowering cabbage를 말한다. 그 외에도 *broccoletto*, *narinosa*, *nipposinica*, *tricoloris*, *oleifera* 및 *rapa*가 있다. *B. rapa* ssp. *pekinensis*에는 생활사가 애기장대보다 짧은 rapid cycling *Brassica rapa* (RCBr)(Williams and Hill, 1986), 남방계 배추인 권심(Kenshin)계와 북방계배추인 지부(Chiifu)계가 있다. 권심계는 개화에 필요한 춘화처리(vernalization) 기간이 짧거나 필요치 않으나 지부계는 6주 이상의 춘화처리와 장일조건이 필요하기 때문에 개화 및 추대형성과 관련된 마커 개발에 중요하다.

배추의 개화 또는 추대형성과 관련된 마커 개발은 비결구형의 DH line을 이용하여 만기추대와 연관된 RAPD 마커가 알려진 후(Ajisaka et al., 2001), 염기서열과 mapping을 연관해서 연구되었다. EST(expressed sequence tag) 등 염기서열 정보를 이용한 SNP 중에서 *BrFLC1* (*B. rapa* Flowering Locus *Cl*)과 *BrFLC2*가 추대시기와 관계가 있음을 보고하였으며(Li et al., 2009), QTL 분석을 통하여 *BrFLC2*가 춘화처리와 관계가 있음을 밝혀(Zhao et al., 2010) 개화시기의 마커로의 가능성을 굳혔다. 최근에는 추대시기와 연관된 QTL이 *FLC*와 *FT*(Flowering Time) 유전자와 관련이 있음을 추가적으로 보고하였다(Kakizaki et al., 2011).

분자유종(molecular breeding)은 SSR(simple sequence repeat), RAPD(random amplified polymorphic DNAs), RFLP(restriction fragment length polymorphism), SNPs(single nucleotide polymorphisms), AFLP(amplified fragment length polymorphism) 등 분자마커의 활용을 통한 육종을 의미한다. SNPs는 여러 분자마커 중 가장 풍부하게 존재하는 마커이며, 식물의 유전육종에 널리 활용될 수 있으며(Agarwal et al., 2008), 많은 수의 SNPs가 유전체 서열 또는 ESTs로부터 얻어질 수 있다(Marth et al., 1999). 그러나 SNP 분석은 고가의 장비와 시약을 필요로 하기 때문에 식물분야에 적용에 어렵다(Ardahir et al., 2009; Aurélie et al., 2009). 이를 극복하고자 제한효소절단과 PCR 방법을 동시에 적용하는 CAPS(cleaved amplified polymorphic sequence) 마커를 개발하여 왔다(Rafalski, 2002; Kota et al., 2008; Shu et al., 2011). 그러나, 활용가능한 마커로는 배추의 *FLC1* 유전자의 splicing site SNP를 CAPS마커로 개발한 것(Yuan et al., 2009)이 유일하다 하겠고, 그 마커의 활용도는 미지수인데 남아 있어 배추로부터 편리하게 사용할 수 있는 개화 및 추대관련 마커 특히 PCR 마커의 개발이 절실히 요구되고 있다.

카. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

배추는 한국, 중국 등 국가에서 중요한 채소 중의 하나이고, 최근에는 미국이나 유럽에서도 재배가 늘어나는 추세이다. 특히 봄배추는 타 작형에 비해 추대, 저온, 약광 하의 생육, 석회결핍증 등 요구조건이 많은 품종 그룹이다. 우리나라에서 90년도 중반부터 발생면적이 급격히 증가한 뿌리혹병은 최근 중국, 미국 등지에서도 큰 문제로 대두되고 있다. 중국의 연간 봄배추 종자 소요량은 업계 추정 약 60,000kg으로, 종자가격은 평균 45\$/kg 정도이며, 한국에서 중국으로 수출되고 있는 배추종자는 대부분이 봄배추 품종으로 90년대 초부터 중반까지는 국내용으로 개발된 품종이 주를 이루었고, 이후 중국수출 전용 품종이 개발되어 90년대 후반부터 현재에 이르고 있으나, 만추대성, 내병성(뿌리혹병 등), 내생리장해(석회결핍증 등), 황심계 및 다수성 등의 특성을 갖춘 새로운 품종이 요구되며, 이러한 품종이 개발되면 종자가격이 200\$/kg까지 올라갈 것으로 예상되며, 이는 한국 내 전체 배추시장 규모와 비슷한 수준이다. 중국 내에서도 배추품종 개발에 많은 투자와 노력을 경주하고 있는 시점에서, 한국 품종이 계속해서 우위를 점하고, 종자수출을 증대시키기 위해 본 연구의 필요성이 있다

타. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

우리나라를 위시하여 전 세계적으로 배추는 자가불화합성을 이용한 1대잡종(F1) 품종이 1960년대부터 널리 보급되어왔다. 우리나라의 배추 1대잡종 채종 비용이 중국이나 동남아의 저 개발국가에 비해 3배 이상 비싸므로 많은 회사들이 배추의 1대잡종 채종을 중국 또는 동남아의 다른 나라에서 하고 있다. 1대잡종 채종을 위하여 양친 원종을 채종 대행업체 또는 농민에게 양도하였을 때 그 원종의 일부를 업체 또는 농민이 부당하게 가져다 증식하여 마치 자기가 육성한 품종인양 종자를 판매하는, 소위 품종 복사현상이 심하게 나타나서 종자회사들의 피해가 심각한 실정이다.

만일 1대잡종의 채종체계를 자가불화합성 대신 응성불임성으로 바꾸게 되면 응성불임성 계통(모계: A 계통이라 함)과 조합친 계통(부계: C 계통이라 함)으로 1대잡종 종자를 채종하게 되는데 이 경우 양친을 가져가더라도 모계 계통(A 계통)을 유지하고 증식하는 계통(유지 계통: B 계통이라 함)이 없으므로 품종 복사가 불가능하게 된다. 즉 품종을 자체적으로 보호할 수 있게 된다.

세포질 응성불임(CMS)은 활력 있는 화분생성을 못하며, 모성유전의 특징을 갖고 있으며 많은 고등식물에서 유용하며, 잡종강세를 이용하는 이상적인 유전적 시스템이다. CMS는 미토콘드리아 유전자의 재배열을 일으키는 키메라적 *orf*와 긴밀한 관계가 있으며 더욱이 호흡관련 미토콘드리아의 기능상실이 CMS와 관련이 있다고 보고되고 있다.

배추과 작물의 CMS는 일본의 Ogura가 1968년에 일본 무에서 세포질 응성불임성을 발견하여 발표 후 Bannerot 등(1974)이 이의 세포질을 이용한 세포질 응성불임성 유채를 육성하였다. 그리고 이 유채에 배추 핵을 치환하여 배추의 세포질 응성불임성을 미국의 Williams가 육성한 바 있다. 이것을 원예연구소가 분양받아 몇 년 동안 우리 배추를

CMS로 만들고자 하였으나 근본적으로 풀샘 기능이 약하고 저온일 때 속익이 황화현상을 나타내어 생장이 더디고 불충분하여 연구를 중단하였다. 또한 미국 코넬 대학의 Earle 박사 팀은 이러한 무 유래의 정상적인 세포질 융성불임을 갖는 꽃양배추를 육성한 후, 다시 이것과 제조제 아트라진에 저항성인 배추의 원형질체를 융합하여 융성불임성이면서 제조제 저항성인, 그리고 모든 기능이 아주 정상인 세포질 융성불임성 유체를 만들었다(1989). 그리고 이 유체의 융성불임성을 배추에 옮겨서 세포질 융성불임성 배추를 만들었다. 이러한 계통들을 품종이 육성되었을 때 협상하여 로얄티 등을 결정하기로 하고 일단 원하는 종자회사에 분양하였었다. 우리나라에도 정확하지는 않으나 몇몇 회사가 이 세포질 융성불임성을 몇몇 경로로 도입하여 1대 잡종을 육성하고 있는 것 같다.

본 연구는 현재 종묘회사들에서 사용되고 있는 CMS 계통들은 대부분 정확한 CMS type을 알지 못하고 관행적으로 사용되고 있고 우량계통에 융성불임성 인자를 도입하기 위해서는 BC6F1정도까지 진행시켜야 하므로 육종에 있어서 많은 시간과 노동력 및 비용이 소요된다. 따라서 융성불임성 분자마커를 개발하여 국내에서 보유중인 CMS 계통의 정확한 CMS형을 구분하고 많은 시간이 소요되는 육종 연한을 단축시켜 육종비용을 절감할 수 있도록 한다.

파. 융성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

배추에 이용될 수 있는 융성불임성의 집단을 양성하여 그 분자마커를 개발토록 지원 하는 것과 궁극적으로 융성불임성을 이용하여 중국에 수출할 수 있는 배추의 복합 내병성 1대 잡종(F1) 품종을 육성하는 것이다. 이러한 목표를 달성하기 위하여 융성불임성 계통의 증식, 소포자 배양에 의한 DH계통 다량 육성, 소포자 배양 기술 개선, 바이러스병과 뿌리혹병 복합내병성 계통 육성, 바이러스병 내병성 검정을 위한 마커 개선, 융성불임성 계통의 형질 고정, 그리고 1대잡종 작성과 생산력 검정 등의 시험을 수행하였다.

(주)바이오브리딩연구소가 보유하고 있는 또는 수집된 세포질 융성불임 계통 3종과 핵 유전 융성불임 계통 1종을 증식하여 마커개발용으로 분양하였다.

DH계통 육성은 우량 품종 및 우량 계통 간에 작성된 F1을 소포자 배양에 공시하고 기존의 방법에 따라 배양하였다. 그러나 소포자 배양에서 유래된 배를 정상식물체로 양성하는 배지(MS2)가 부적합한 것으로 나타나 이를 개선하였다.

기존의 소포자 배양으로 육성하여 보존 중이거나 새롭게 육성된 계통 특성과 내병성을 검정하였다. 특성은 주로 봄과 가을에 조사하였으며 내병성은 바이러스의 경우 마커를 이용하고 뿌리혹 병은 인공접종 또는 자연 발병에 의존하였다.

융성불임성 계통 육성은 수집된 CMS가 OguraCMS로 판정되었지만 속익이 저온에서 황화하지 않고 풀샘도 정상이며 생장양상도 정상이었다. 따라서 이 CMS를 이용토록 세대를 진전시켰으며 BC3세대까지 진전된 계통을 이용하여 1대잡종 조합을 검정하였다.

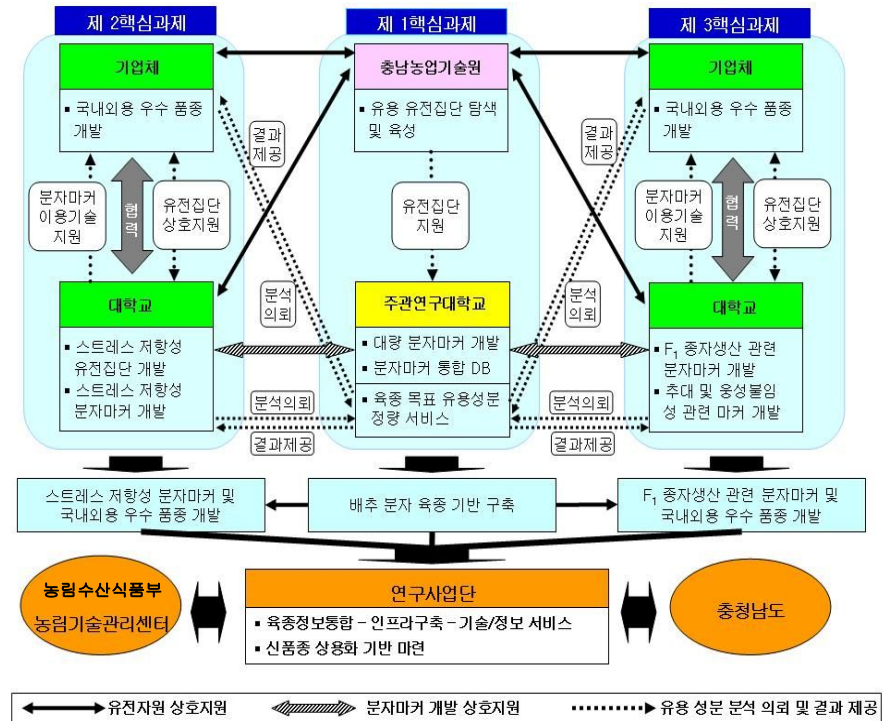
우수 1대잡종을 육성코자 봄에 작성된 조합으로 가을재배에서 검정하였다. 그러나 가능하면 온도가 높은 여름과 수확 전 추대위험이 있는 봄에도 재배 가능한지를 알고자 매년 봄과 여름에도 생산력 검정시험을 수행하였다.

제3절 배추분자마커연구사업단의 개요

1. 연구사업단의 목표와 배경

가. 연구사업단 설립 목표

- 배추 유전체 정보를 이용한 분자마커이용 육종 체계 및 인프라 구축.
- 분자육종 기술에 의한 우수 품종 육성.
- 농업 형질과 관련된 분자마커의 개발과 이용으로 품종 개발 및 산업화



나. 연구개발의 단계별 목표

구분	과제명	단계별 목표		
		1단계 (2007. 7. 30 - 2009. 7. 29)	2단계 (2009. 7. 30 - 2011. 7. 29)	3단계 (2011. 7. 30 - 2012. 7. 29)
1핵심 과제	○ 배추의 유전체 정보를 이용한 대량의 분자표지 개발 및 분자육종시스템 구축	- 대량의 분자마커 개발 시스템 구축 및 표준 유전자 지도 작성 - 분자마커 분석서비스 시스템 구축(목표 형질 중심) - 유용성분 정량 분석 대뉴얼 구축 - 유용 형질 탐색 및 유전분석용 집단 양성	- 대량의 분자마커 개발/생성과 고밀도 유전자 지도 작성 - 분자마커 분석서비스 - 유용성분 대량 분석 서비스 - 유용 형질 탐색 및 유전 분석용 집단 양성(내흔계 확보)	- 분자마커/유전자 지도 정보의 통합 및 서비스 - 유용성분 관련 유전자 확보 - 유용 형질 탐색 및 유전 분석용 집단 양성(내흔계 확보) - 분자육종 인프라 구축
2핵심 과제	○ 스트레스 저항성 분자마커 개발 및 국내 외용 우수 품종 육성	- 스트레스 검정법 개발 (병원균 종류 분석 포함) - 병저항성 유전자원 수집 및 유전집단 개발 - 스트레스저항성 유전자 연관 분자마커 탐색	- 스트레스저항성 유전자 연관 분자마커 탐색 - 형질관련 유전자좌 부근의 고밀도 유전자 지도 작성 - 조합작성/선발 및 지역적 응성 시험	- 스트레스저항성 마커 개발 및 실용화 검증 - 복합내병성 및 내서성 품종개발 및 등록
3핵심 과제	○ F ₁ 종자생산 관련 분자마커 개발 및 국내 외용 우수 품종개발	- 개화 및 추대 관련 유전자 후보군 탐색 - 응성불임성 배추류의 핵외 계놈의 구조 분석 - 육종소재의 육성, 순화, 조합 작성 및 생리검정	- 개화 및 추대 관련 후보 유전자 검증 - 응성불임성 관련 분자마커 탐색 및 개발 - 조합작성/선발 및 지역적 응성 시험	- 개화 및 추대 관련 분자마커의 산업화 추진 및 진단용 칩의 작성 추진 - 응성불임성 관련 분자마커의 효율성 검증 - 우수 F ₁ 품종 등록 및 산업화
총괄		- 대량분자마커 개발 시스템구축 및 서비스 - 성분분석시스템 구축 - 병 및 환경저항성 마커 탐색 - 응성불임성 자원 탐색 - 육종소재의 육성, 순화, 조합 작성 및 생리검정	- 대량분자마커 개발 시스템구축 및 서비스 - 성분분석 서비스 - 노균병저항성 마커 등 스트레스관련 분자마커개발 - 응성불임마커 개발 - 우수 품종 등록 및 산업화	- 분자마커/유전자 지도 정보의 통합 및 서비스 - 유용성분분석 서비스 및 관련 내흔계 확보 - 분자육종 인프라 구축 - 내서성 등 스트레스관련 분자마커 개발 - 개화 및 추대관련 마커 개발 - 우수 품종 등록 및 산업화

다. 연구사업단 설립 배경

- 배추는 김치의 주재료로서 높은 시장성을 가짐(시장규모: 약 7000억원).
- 세계적으로 김치 수요가 늘어나면서 배추는 산업 전략작물로 자리 잡음.
- 국내 배추가 식품 및 종자시장에서 지금보다 더 높은 국제경쟁력을 갖기 위해서는 다양하고 우수한 형질을 가진 품종들이 지속적으로 개발되어야 함.
- 이를 위해서는 전통육종방식에 분자마커를 이용한 분자육종 기술체계 확립과 인프라 구축이 반드시 요구됨(기술의 패러다임과 육종의 과학화)
- 최근 국제 배추 유전체 염기서열 분석 프로젝트(MBrGSP)가 한국 주도로 이루어지면서 배추 분자육종 체계 및 인프라 구축이 국내에서 형성되기 매우 좋은 여건을 가짐.

2. 연구사업단의 역할 및 향후 성과활용 계획

- 본 연구사업단의 주요 임무는 배추 분자육종기술 기반 및 인프라를 구축하여 국내 배추 육종의 과학화를 도모하고, 이를 이용하여 중요 목표 형질에 대한 분자마커 개발 및 신품종을 육성하는 것이다. 기술 기반 확립을 위해서 유전체 정보를 이용하여 대량의 분자마커 개발, 유용 집단의 탐색 및 육성, 유전자원 및 소재의 원활한 지원 및 공급 체계 구축, 육종 관련 유용성분 정량화 서비스 등을 수행한다.
- 산·학·관·연 컨소시엄으로 배추 육종에 있어서 분야별 국내 최고 기관들로 구성: 충남대학교(주관연구대학), 전남대학교(참여대학), 순천대학교(참여대학), 한국생명공학연구원(참여기관), 동국대학교(참여대학), 충청남도농업기술원(참여기관), 농협NH종묘센터(참여기업), (주)바이오브리딩(참여기업), 한국종묘(참여기업), 우리종묘(참여기업), 현대종묘(주)(참여기업).
- 협력체계: 주관연구대학과 참여기관은 대량의 분자마커 개발, 표준 유전자 지도 작성, 유용 유전 집단 개발, 그리고 유용 물질의 정량 분석 등 배추 분자육종을 위한 인프라 구축에 관련된 연구를 수행한다. 또한 제2핵심과제와 제3핵심과제 연구에서 필요로 할 수 있는 유전자원(종자 및 DNA stock)을 지속적으로 공급해주고, 분자마커 개발 및 유용 성분 분석을 대행해 줌으로써 다 연구팀들의 원활한 연구수행을 돕는데 주요 목표를 두고 있다. 한편, 참여대학과 기업들은 공동연구를 통해 목표 형질에 관련된 유전자원 육성, 분자마커 개발, 그리고 신품종을 육성한다.

3. 연구사업단 연구 내용

- 배추의 유전체정보를 이용한 대량의 분자표지 개발 및 분자유종시스템 구축
 - 대량의 분자마커 발굴과 표준 고밀도 유전자 지도 작성
 - 통합형 분자마커 및 유전자지도 데이터베이스 구축
 - 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용한 품종에서의 형질 진단 서비스
 - 유용 유전집단 탐색과 육성
 - 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스
- 스트레스 저항성 분자마커 개발 및 국내외용 우수 품종 육성
 - 노균병 저항성 분자 마커 개발
 - 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성
 - 배추 뿌리혹병 저항성 마커 개발
 - 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성
 - 내서성 분자마커 개발
 - 내서성 유전분석 집단양성 및 고랭지 여름배추 품종 개발
- F1 종자생산 관련 분자마커 개발 및 국내외용 우수품종 개발
 - 배추 개화 및 추대관련 마커 개발
 - 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성
 - 배추 융성불임성 마커 개발
 - 융성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종육성

가. 연구개발에 따른 기대성과

- (1) 기술적 측면
 - 육종 기술(선발 및 검정)의 과학화 도모
 - 배추 분자유종 기술 체계 확립을 위한 기초 인프라 구축(육종 소재 및 정보의 체계적 축적과 서비스) 및 확장 기반 마련
 - 대량의 분자마커 개발 및 표준 고밀도 유전자지도 작성을 통한 목표 형질 관련 유전자좌들의 효율적 탐색 도모
 - 유용 집단 탐색 및 확보를 통한 육종 변이 창성
 - 분자마커를 이용한 맞춤형 우수 품종 개발의 현실화
 - 내병성 품종의 개발로 인한 저농약·친환경 농업에 기여
 - 타작물에서 분자마커이용 육종기술 기반 구축을 위한 모델 시스템으로 활용

(2) 경제적 측면

- 첨단 육종 기술을 통한 우수 품종육성 확대 및 세계 종자시장 진출 확대(국제 경쟁력 확보)
- 복합내병성 품종 생산으로 농가 소득 향상
- 종자생산의 효율의 증대와 안정적인 종자 수출의 달성
- 선도 육종기술 개발로 타 작물에도 긍정적 파급효과
- 전문 육종인력 양성
- 특허출원 및 등록을 통한 국내 육종 기술 및 품종 보호, 국제경쟁력 강화

나. 성과활용방안

(1) 산업·경제적인 측면

- 배추 분자 육종 기술 체계 확립을 위한 기초 인프라 구축(육종 소재 및 정보의 체계적 축적과 서비스)
- 분자마커 및 유전자원의 공동 활용을 통한 육종가 지원
- 확보된 기술 및 육종소재의 적극적 산업체 이전 및 개발 품종의 상품화 지원
- 기능성성분 분석센터를 통한 기능성 맞춤형종 개발 지원
- 고부가가치 신품종의 상용화(국내외용)
- 첨단 육종 기술을 통한 우수 품종육성 확대 및 세계 종자시장 진출 확대(국제 경쟁력 확보)
 - 종자생산 효율의 증대와 안정적인 종자 수출 실현
- 특허출원 및 등록 및 기술이전을 통한 국내 육종 기술 및 품종 보호, 국제경쟁력 강화
- 타 작물에서 분자마커이용 육종기술 기반 구축을 위한 모델 시스템으로 활용

(2) 과학·기술적인 측면

- 배추 유전체 연구에 기여
 - 국제 배추 게놈 염기서열 분석을 위한 기초 자료 제공
- SNP 개발을 통한 분자유종연구 및 분자생물학적 연구 기여

4. 배추분자마커연구사업단 연구과제 목록

(단위 : 천원)

과제구분	연구과제명	연구책임자 성명	연구기간 (년)	정부 출연금	기관 지원금	지자체 지원금	기업 부담금	총액
		소속						
제1핵심	배추의 유전체 정보를 이용한 대량의 분자표지 개발 및 분자유종시스템 구축	임용표		1,335,000	750,000	1,000,000		3,085,000
		충남대학교						
1-1 세부	대량 유전자 분자표지 발굴 (위탁연구비 포함)	임용표 충남대학교	5	1,135,000	515,000	500,000		2,150,000
1-2 세부 (중단)	식물육종을 위한 유용성분 정량 서비스	안길환(박종태) 충남대학교	4	200,000	235,000			435,000
1-3 세부	주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성	이은모 충청남도기술원	5			500,000		500,000
제2핵심	스트레스 저항성 분자마커 개발 및 국내외용 우수 품종 육성	한태호		2,305,000			375,000	2,680,000
		전남대학교						
2-1 세부	노균병 저항성 분자마커 개발	한태호 전남대학교	5	400,000				400,000
2-2 세부	노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성	장창순 농업회사법인 한국종묘주식회사	5	385,000			125,000	510,000
2-3 세부	뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발	김홍기 충남대학교	5	480,000				480,000
2-4 세부	배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성	양만성 농협NH종묘센터	5	375,000			125,000	500,000
2-5 세부	내서성 연관 마커 개발	정상민 동국대학교	5	290,000				290,000
2-6 세부	내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성	조운섭 현대종묘(주)	5	375,000			125,000	500,000
제3핵심	F1 종자생산 관련 분자마커 개발 및 국내외용 우수품종 개발	허윤강		1,360,000			250,000	1,610,000
		충남대학교						
3-1 세부	배추 개화 및 추대관련 마커 개발	허윤강 충남대학교	5	480,000				480,000
3-2 세부	개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성	김완규 우리종묘	5	375,000			125,000	500,000
3-3 세부 (중단)	배추 응성불임성 마커 개발	노일섭 순천대학교	3	130,000				130,000
3-4 세부	응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성	이수성 (주)바이오브리딩 연구소	5	375,000			125,000	500,000

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내·외의 연구 현황

1. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

가. 국내 수준

분자 표지란 전통적인 표현형을 대신하는 분자생물학적인 선발 수단이다. 하지만 현재 대부분의 분자마커가 연관 마커 이므로 표현형을 완전히 대체하기에는 많은 선발 오류를 가지고 있다. 따라서 선발 오류를 줄이기 위해서는 연관 마커가 아니라 형질을 유도하는 유전자 자체에 기반한 분자마커, 즉 기능성 분자마커(functional molecular marker)를 개발하는 것이 필요하다. 기능성 마커 개발은 연관 분자마커 개발보다 훨씬 많은 비용과 시간이 필요하다. 이러한 분자표지 개발은 유전체 연구가 우선되어야 하며, 유전체 연구를 병행하여 보다 적극적인 분자표지 개발이 필요하다. 국내의 대학 및 민간 육종연구소에서 몇몇 실용화된 내병성 및 형질관련 분자마커를 활용한 분자유종법이 도입되고 있다.

나. 세계적 수준

- (1) 영국, 프랑스, 캐나다, 미국 등 선진국에서는 이미 10여 년 전부터 분자 마커 개발을 해왔고, 이를 이용하여 선발 및 교배의 효율화, 유용 형질 탐색 및 집적, 잡종강세 조기 예측, 순도 검증, 그리고 품종 개발을 수행해왔다. 더욱이, 최근에는 국제 배추 유전체 염기서열 분석 프로젝트 MBrGSP의 노력으로 인해 생성된 대량의 유전체 염기서열 정보(약 650,000개의 ESTs(expressed sequence tag), 약 200,000개의 BAC-end sequences, 약 630개의 BAC sequences)를 이용하여 대량의 분자마커 개발 시스템을 구축하고 있다.
- (2) 선진국의 연구팀들, 즉 영국의 BBSRC와 HRI, 프랑스의 INRA Versailles, 캐나다의 AAFC 콘소시엄, 미국의 Tom Osborn의 실험실에서는 대량의 유전체 염기서열 정보를 이용하여 SSR(simple sequence repeat), SNP(single nucleotide polymorphism)과 STS(sequence tagged site) 마커를 대량으로 개발하고 있다. 특히, 유전체 염기서열 기반의 분자마커들을 발굴하기 위해 생물정보학적 기법(bioinformatics)과 high-throughput genotyping 기법을 도입 및 발전시키고 있다. 뿐만 아니라 그들은 분자마커 데이터베이스를 구축하여 정보의 체계적 관리를 수행하고 있다.
- (3) 선진국의 분자마커 개발 전략은 농업적 목표 형질 탐색과 집적, 그리고 목표 형질을 가진 품종의 개발 이외에 대량의 분자 마커 개발과 고밀도의 표준 유전자 지도 작성

을 통한 육종 체계의 효율화를 꾀하는데 있다. 고밀도 유전자 지도는 농업적 목표 형질 관련 유전자들(QTL 포함)을 보다 더 빨리 찾을 수 있도록 좋은 참고 자료가 된다. 고밀도 유전자 지도 내 위치한 분자마커들을 이용하여 근연관계에 있는 종들 사이의 계통 구조 및 유전 관계를 분석함('비교유전체학적 접근')으로서 육종의 효율성(특히, 유용 형질 유전자 클로닝 접근을 용이하게 해줌)을 확장시켜 나아가고 있다.

(4) 그러나 현재 유럽과 아메리카 지역의 선진국들의 배추 분자 육종 기술은 경제성 때문에 *Brassica oleracea*, *Brassica juncea*, *Brassica napus*를 대상으로 한 기술보다 상대적으로 매우 낮게 평가되고 있다.

다. 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁과제)

농산물에 있어서 신종자 개발방향 및 효과적인 보급방안과 관련된 선행연구로는 박기환 외(2010), 박현태·고관달(2009), 김봉구·여준호(2002), 박현태·이두순(2002), 현병환 외(1996), 주용신(1980)의 연구가 있다. 박기환 외(2010)는 종자산업의 현황을 진단하여 문제점을 파악하고, 선진 종자기업이나 종자강국인 일본, 그리고 주요 수출 대상국인 중국의 종자산업을 검토하여 종자산업과 종자기업의 발전을 위한 대응 방안을 제시하였다. 박현태·고관달(2009)은 우리나라에서 연간 발생하는 주요 원예종자들의 로열티 수준을 추정하고, 생산농가들의 로열티 비용 완화를 위해 현재의 품종개발 여건을 검토한 후 향후 품종개발 방향을 제시하고자 하였으며, 박현태·이두순(2002)은 채소종자의 시장동향을 분석하고 채소종자의 수출 활성화를 위한 방안을 모색하고자 하였다. 주용신(1980)은 수도신품종 재배의 경제성 분석을 통해 정부의 신품종 보급방향에 대한 시사점을 제시하고자 하였다. 이들 연구들은 종자의 실수요자인 생산자들의 입장보다는 종자를 개발하고 생산하는 기업이나 관련 정책들에 초점을 두고 있어, 생산자들을 위한 효과적인 종자 보급방안에 대해서는 한계점을 안고 있다.

한편, 김봉구·여준호(2002)와 현병환 외(1996)는 감자생산 농가들을 대상으로 씨감자의 공급체계 현황 분석 및 문제점 등을 도출하고 이의 해결방안으로 제시한 인공씨감자라는 신종자의 경제적 효과를 분석하고자 하였다. 이들 연구는 종자의 실수요자인 생산자들의 종자 보급체계에 대한 문제점을 파악하고 개선방안을 도출하고자 한 점에서 의의가 있으나, 신종자에 대한 보급 방안보다는 기존의 종자 보급과 관련된 내용들에 국한되었다는 점에서 한계점을 안고 있다.

농업인의 신종자 및 신기술 수용과 관련된 선행연구로는 정구현 외(2010), 박우성 외(2009), 정미리 외(2007)의 연구가 있다. 정구현 외(2010)의 “농업인의 혁신기술 수용 및 지속적 사용 변수간의 관계”는 ‘가축분뇨처리 신기술’을 통해 농업인의 혁신기술 수용 및 기술의 지속적 사용에 미치는 주요한 선행요인을 밝히고자 하였다. 연구모형은 혁신확산이론(DOI: Diffusion of Innovation Theory)과 기술수용이론(TAM: Technology Acceptance Model)을 기반으로 도출되었으며, 이 연구의 결과에 의하면 농업인에 대한 신기술 적용의 핵심경로가 “교육지원품질->인지된 유용성->사용자만족->지속적 사용의

도”임을 밝혀내었다. 또한 신기술 도입 및 지속적 이용에 가장 큰 영향을 주는 선행요인은 지도기관의 교육품질로 도출되었다.

박우성 외(2009)의 “농가유형별 혁신기술 수용의 영향요인 분석”에서는 기술수용모형(TAM)에 외생변수를 추가한 확장기술수용모형(ETAM)을 적용하였다. 또한 기술수용 의도에 영향을 미치는 요인들의 관계를 검증하기 위해 구조방정식모형(SEM: Structural Equation Model)으로 분석하였으며, 기술수용모형(TAM)의 핵심변수 및 외부변수는 용이성을 제외한 가설에서 유의한 것으로 나타났다. 농가 유형별 기술수용 의도에서 유형 I(적용·정착단계)은 기술적 특성 및 기술보급기관이, 유형 II(정착·발전단계)에서는 개인적 특성, 유형 III(파도기단계)에서는 수용대상의 기술적 특성이 상대적으로 중요한 것으로 나타났다.

정미리 외(2007)에서는 이력추적 시스템의 생산자의 지속적인 시스템 이용의도를 기대확신이론(ECT: Expectation Confirmation Theory)에 기술수용모형(TAM: Technology Acceptance Model)을 추가하여 확장된 기대확신이론(Extended ECT)에 적용하였고, 변수들 간의 복잡한 관계를 설명하는데 적합하고 조절효과의 존재를 수용할 수 있는 편최소제곱법(PLS: Partial Least Square)을 분석도구로 이용하였다. 이 연구에서는 확신이 인지된 유용성 및 수익성, 인지된 용이성에 긍정적인 영향을 미치고, 세 요인은 시스템에 대한 만족도에 긍정적인 영향을 미쳤음. 또한 만족도는 지속적 사용의도에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

2. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

(1) 세계적 수준

개념정립 단계		기업화 단계		기술 안정화 단계	○
---------	--	--------	--	-----------	---

(2) 국내수준

- 본 과제에서 추구하는 정확한 정량보다는 품종 간 비교를 저렴한 비용으로 수행하려는 시도는 본 총괄과제처럼 대형 연구사업단 규모에서 추구한 바가 국내외에서 진행되지 않았다.
- 본 과제에서 추구하는 정확한 비교를 통한 저렴한 육종용 분석은 세계적인 수준이 될 것이다.

(3) 국내·외의 연구현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
미국 코넬대학	배추과 식물의 carotenoid 분석	식물의 신품종 육성
독일 막스프랑크 연구소	<i>Arabidopsis</i> 의 glucosinolate 분석	기능성 성분 다량함유 품종 육성

3. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

다양한 유전자원을 체계적으로 특성 평가하고 재배시험이나 성분분석 등을 통하여 유용유전자원을 선별하거나, 선별된 유전자원을 이용하여 수많은 DH라인을 육성하고 채종하여 분자유종을 위한 기초 자료가 작성된 연구결과는 찾아보기 어렵다. 다만 DH라인을 육성하기 위한 배추과 작물의 소포자 배양기술은 많은 연구가 이루어 졌는데, 1988년 유채의 소포자배양 매뉴얼(Conventry et al., 1988)이 완성되었고, *B. campestris* (Sato et al., 1989; Baillie et al., 1992), *B. oleracea* var. *Italica* (Takahata and Keller, 1991), *B. rapa* (Burnett et al., 1992), *B. campestris* ssp. *chinensis* (Cao et al., 1994) 등에서도 소포자배양이 성공하였다. 또한 국내에서도 배추와 무의 속간교잡종인 배추무(*×Brassicoraphanus*) (Hong and Lee, 1995)와 배추 및 순무, 그리고 이들간의 F₁조합에서(Kim and Lee, 1997) 식물체가 생성되었고, 배추 무름병 내병성 순계 육성(Lee et al., 2001)이나 '배무채'라 명명된 신채소의 육성(Lee et al., 2002)에도 소포자배양이 이용되었다. 그러나 소포자 배양의 효율은 극히 낮으며 그 성공 여부도 품종에 따라 크게 달라(Ferrie et al., 1995; Ferrie and Keller, 1995) 작물과 품종에 알맞은 배양법의 개발도 필요한 실정이다.

4. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

가. 국내 수준

우리나라는 새로운 품종을 개발할 때 전통육종 방법뿐만 아니라 분자마커를 개발하여 육종기술에 사용하여 육종효율을 높이도록 노력하고 있다. 배추에 있어서 노균병 저항성 마커 개발은 본 연구를 통하여 시도하고 있으며 유전자 지도 작성용 집단 육성, 노균병 저항성 유전자 연관 분자표지 개발을 수행하고 있다. 최근에 본 연구를 통하여 Kim 등(2011)은 배추(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)에서 노균병 저항성 유전자(BrRHP1)와 연관된 분자마커를 개발하였으며 BrRHP1이 1번 염색체에 위치하는 것을 추정하였다.

나. 세계적 수준

국외에서 보고된 배추과 작물에서 노균병 저항성에 대한 육종 연구 보고는 주로 *Brassica oleracea*를 대상으로 이루어져있다. Carlsson 등(2004)은 *B. oleracea* 의 노균병 저항성 스크린을 하였고 F1과 BC1F1의 노균병 저항성에 대한 선별과 평가가 이루어져 열성 유전됨이 보고하였다. 그러나 최근에 Vicente 등(2012)은 *B. oleracea*에서 노균병 저항성이 단일 우성 유전자에 의하여 조절된다고 보고하였다.

Farinhó 등(2004)은 broccoli(*B. oleracea* convar. *italica*)에 대한 보고에서 Pp523 유전자가 성숙한 식물체에 노균병 저항성이 나타나게 하는 것을 발견하였다. 해당 유전자좌에

대한 유전자 지도가 작성되었고, 301개의 AFLP마커와 55개의 RAPD마커, 46개의 ISSR, 3개의 SSR, 4개의 다른 PCR 마커가 개발되어, 4개의 연관군으로 나누어짐이 보고하였으며, 또한 *B. oleracea*에서 진균성 병원균과 기타 peronospora 종류를 명확하게 구분할 수 있는 internal transcribed spacer(ITS) 마커를 개발하였다. Chen 등(2008)은 non-heading Chinese cabbage의 노균병 감염에 의해 분리된 antifungal proteins 의 분자학적 특징을 밝혀냈다. Li 등(2011)은 저항성, 이병성, DH 집단을 사용하여 6개의 노균병 저항성 연관마커를 개발하였다.

5. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

가. 노균병 저항성 유전분석

노균병은 박과작물에서는 유전 및 육종에 관련하여 많은 연구가 진행되고 있으나 배추에서는 아직 충분히 이루어지지 않고 있다. 국외에서 보고된 배추과 작물에서 노균병 저항성에 대한 육종 연구 보고는 주로 *Brassica oleracea*를 대상으로 이루어져 있다. 또한 유묘기(seedling) 때의 노균병 저항성과 성체에서의 노균병 저항성 및 유전양상은 유전자 source에 따라 다르다는 연구보고가 있다. 단인자우성(Natti et al., 1967; Niu et al., 1988; Jensen et al., 1999; Farnham et al., 2001), 두 개의 독립유전자(Carvalho & Monteiro, 1996), 두 개 또는 세 개의 우성유전자(Moss et al., 1988) 및 세 개 내지 네 개의 보족유전자(Hoser-Krauze et al., 1995)가 관여한다는 논문이 발표되었으며, 브로콜리(Natti & Atkin, 1960; Barnes, 1968; Coeho & Monteiro, 2003b), 양배추(Barnes, 1968) 및 콜리플라워(Mahajan et al., 1995)의 성체(adult-plant)에서의 유전은 단인자 우성으로 유전한다고 발표하였다. 그러나 Mahajan et al.(1995)은 콜리플라워에서 단인자 열성으로 유전된다고 발표하였다.

나. 노균병 저항성 계통

최근 남 등(2006)은 배추의 노균병 저항성 품종과 감수성 품종 교배 후의 F2 평가에서 3 : 1의 분리비를 나타내어 단일 우성 유전자임을 밝혔다. BSA(bulked segregant analysis)와 fingerprint 기술을 결합하여 노균병 저항성 유전자 좌에 연결된 3개의 마커를 개발하였다. 이를 이용하기 유용한 RAPD, SCAR 마커로 전환시켰다. 배추에서 노균병 저항성 유전자 탐색과 관련된 연구는 현재 매우 미비한 상태이며, 주로 경종적 방제법(최 등, 2004; 장 등, 2000) 및 화학적 방제(연 등, 2001)를 통해 병을 예방하고 있을 뿐이다.

6. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

뿌리혹병균의 검출은 형광현미경을 이용한 형태 관찰법이 사용되어지고 있으나 검출에 시간이 많이 소요되고 고가의 장비가 필요하다. 때문에 최근 식물병원균 검출에 많이 이용되고 있는 신속하고 감도가 높은 분자생물학적 검출법이 필요한 상황이다. 뿌리혹병균의 검출을 위해 Ito 등(2001)에 의해 특이적 프라이머가 제작되었으나 감도가 떨어지고 토양에 적용된 바가 없었다.

한편 뿌리혹병균은 순환물 기생체로서 인공 배양이 불가능하며, 포자의 크기가 매우 작고(3.8 μ m), 토양 및 식물체 내에서 존재하기 때문에 다른 균들과 달리 이 균의 순수분리는 매우 어렵다. 그리고 순수분리 시 얻어지는 포자의 양이 적기 때문에 이로부터 얻어지는 DNA량 또한 매우 적어 분자생물학적 연구에 어려움이 있어 왔다.

국내에서도 허 등(2004)에 의해 약 1~2%의 단포자 접종 성공률을 보인 바 있다. 이와 같이 접종 성공률이 낮은 이유는 단포자 접종 과정이 매우 까다롭고, 아주 작은 크기의 단포자로 방어벽이 매우 발달된 뿌리조직에 감염 성립 또한 어려우며, 단포자이다 보니 접종 균주의 증식량 또한 적어 병 발생 및 증식 여부를 육안으로 확인하기가 쉽지 않기 때문이다. 이 병원균에 대한 분류 및 유전적 다양성 연구를 위한 많은 시도들이 있었으나 이러한 단포자 균주(SSIs) 획득의 어려움 때문에 아직까지도 진일보한 연구가 진척되지 못하고 있는 실정이다(Möller and Harling, 1996; 허 등, 2004).

배추 뿌리혹병균은 race의 확인을 위해서 ECD(European Clubroot Differential set)와 WCD(Williams' Clubroot Differential set)를 주로 이용하는데 본 논문에서는 국내에서 주로 사용하는 WCD체계를 이용하여 race를 판별하였다. WCD방법은 Williams체계의 판별품종인 Cabbage(양배추)계통의 Badger Shipper, Jersey Queen과 Rutabaga(순무)계통인 Laurentian, Wilhelmsburger를 이용하여, 이 네 가지의 품종에 대한 발병 유무에 기초하여 race를 판정한다.

한편 race의 동정은 판별품종에 따라 다른 병원성을 확인하고 병원균 분화 연구와 추후 저항성 품종개발 연구에 중요한 역할을 하지만 *P. brassicae*의 특성상 단포자에 의한 접종성공확률이 매우 낮으며 대량의 휴면포자 획득이 어렵고 다른 실험에 비해 실험 속도가 매우 느려 그 연구가 활발히 진행되고 있지 않다. 그러나 과거 국내 race의 동정이 이루어졌으나 주로 단포자 접종을 통한 race의 확인이 아닌 포장에서 채취한 혹은 그대로 갈아 현탁액접종을 하여 race를 확인하였기 때문에 제대로 된 race의 확인이 어려웠다(Cho et al., 2003; 조 등 2011). Race는 품종간의 병원성 차이를 의미하는 것으로 여러 race가 섞여 있다면 race간의 상호작용에 의해 정확한 race를 확인하기 어려우며(장, 2006) 하나의 혹은 내에 둘 이상의 race가 존재할 것으로 추정되는 상황에서 혹은 그대로 갈아서 현탁액접종을 통해 race를 조사하는 것은 race가 정확하지가 않기 때문에 판별에 커다란 문제점이 있다(허, 2004).

*P. brassicae*는 순환물 기생체로 배지에서 인공배양이 되지 않아 그 연구가 매우 어렵기 때문에 다른 식물병원균의 경우 균의 번이기작이나 병원성의 차이 등에 대한 연구가 상당히 진행되던 반해 *P. brassicae*의 race 연구는 부족한 실정이다. 하나의 뿌리혹 내에 다양한 race가 존재할 것이라고 추측만 할 뿐 정확한 Data는 없고, 다양한 race의 혼합 감염이 기주의 병원성이나 병징의 발현에 얼마나 많은 영향을 주는지도 아직 알 수 없다. 그러나 만약 이 부분이 명확하게 밝혀진다면 race와 기주와의 상호작용을 이해하는데 큰 도움이 될 것이다.

또한 병에 걸린 뿌리혹의 저장방법은 Woronin이 1877년 논문에 발표한 그대로 -20℃에서 뿌리혹 상태로 저장하는 것이 일반적인 방법이다. 그러나 이 조건으로 오랜 시간 뿌리혹을 저장하면 병원균의 특성이나 병원성의 변화 등으로 인해 뿌리혹병균의 특성 연구를 정확히 수행할 수 없고 병원균을 다른 기주에 재접종할 때 기주, 환경 등 다양한 요인에 의해 그 병원성이 변화될 위험도 무시할 수 없다. 이처럼 오래전부터 해왔던 방식이라고 해도 약 140년 전에 사용했던 방법을 검증과정 없이 그대로 따라 하는 것 역시 문제가 있다.

균의 순수분리부터 어려운 상황에서 순수한 DNA를 모으는 것은 더욱 더 어려워 분자생물학적 방법이라고 해도 토양이나 뿌리혹 내에서 병원균을 검출하거나(Faggian, 2006; Wallenhammar, 2011) 일부분의 DNA를 해독하여 그 DNA단편의 역할이나 특징 등을 밝힌 논문이 최근에는야 보고되기 시작했고(Siemens, 2006; Feng et al., 2010) 뿌리혹병균의 Full sequence는 아직까지 밝혀지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 주요 발병지역의 병원균을 단포자 접종, race를 확인하여 주요 재배지역의 우점 race를 분석하고 하나의 뿌리혹에 얼마나 많은 race가 혼재하는지 밝히며 나아가 race의 혼합접종을 통한 race간의 상호작용과 새로운 race의 생성여부를 확인하여 병원성과 직접적으로 연관이 있는 race의 특성을 분석하고자 하였다. 또한 뿌리혹을 저장하는 가장 효과적인 방법의 개발을 통하여 최적의 실험을 할 수 있는 기본 환경을 도모하였으며 DNA의 sequence를 분석하여 추후 병원성과 연관된 유전체 연구에 기초자료를 제공하고자 하였다.

이러한 뿌리혹병 연구에 큰 걸림돌이 되어왔던 여러가지 문제점들을 해결하기 위해 본 연구에서는 종 특이적 프라이머를 개발하여 보다 손쉽고 빠르며, 감도가 높은 균 검출 및 동정방법을 연구하였고, 토양 및 식물체 잔여물이 혼재되어 있는 환경에서 순수한 휴면포자를 수거할 수 있는 방법을 연구하였다. 또한 단포자 접종 균주의 증식량이 적은 고질적 문제점 해결 방법을 개발하여 접종 균주의 대량 증식을 통해 이로부터 대량의 휴면포자를 분리할 수 있는 방법을 개발, *P. brassicae*의 진일보한 분자생물학적 연구에 기여할 수 있는 방법을 연구하였다.

7. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

배추뿌리혹병(*Plasmodiophora brassicae*)은 1877년 Woronin에 의해 처음 보고 되었고, 일본의 경우 1928년 배추에서 발생 보고가 있으며, 우리나라는 1928년 수원지역에서 처음 보고된 이후 1990년대 중반부터 전국적인 집중호우와 흉수, 이상고온으로 인하여 발생면적이 급격히 증가하고 있으며 배추 주요 재배단지에서 커다란 문제로 대두되고 있다. 뿌리혹병은 분류학상 조균류 고생균강 근류병균목에 해당하는 하등균류에 속하는 토양서식 점균류의 일종인데 순환물기생체로 이병식물체의 조직이나 토양 내에서 토양 내에서 7-8년 이상 생존이 가능하다.

일반적으로 뿌리혹병에 감염된 배추의 지상부는 건전한 배추에 비해 생육이 부진하며, 특히 생육초기에 감염될 경우 수확을 할 수 없고 후기에 감염될 경우 수확은 가능하나, 수량성이 매우 부진하다. 배추 뿌리혹병 방제는 윤작이나, 토양 pH 조절 및 화학적 방법에 의존하고 있지만, 방제율이 낮고 농약의 과도한 사용으로 인한 환경오염에 직접적인 영향을 미칠 수 있어 저항성 품종 육성이 매우 중요하다.

1990년 중반부터 채소 종자회사를 중심으로 일본에서 도입한 저항성 유전자를 이용하여 우수한 형질을 지닌 품종이 개발되어 상용화 되었으며, 저항성 품종의 재배면적이 늘어나고 있으나 연작으로 인하여 저항성 품종들이 새로운 race에 의하여 저항성이 무너지고 있어서 균주에 대한 race정립, 저항성 유전자 도입 및 선발, 유전양식 구명, 저항성이 이병성화 되지 않을 보다 강한 새로운 저항성 품종육성이 요구되고 있다.

8. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

- 분자마커 기술은 국외 및 국내 여러 작물에서 개발되어 유전자원 관리 및 육종에 활용도가 점차 높아지고 있다.
- 국내 배추 작물의 분자 마커 개발은 충남대학교 임용표 교수님 연구팀(1-1세부과제)에서 주도 하고 있다.
- 국내에서 재배되는 배추 작물의 내서성 관련 분자 마커 개발 연구는 국내에 전무한 실정이다.
- 국외에서는 중국에서 배추 내서성 관련 분자 마커 개발에 관한 논문이 보고 된 적이 있다. (Zheng et al. 2002).

9. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

가. 국내 수준

원예연구소에서는 남방용 품종을 이용하여 평지 여름재배가 가능한 만하, 탐복의 두 품종을 1982년에 육성하였으나 고온 다습 조건에서 품질이 고랭지 생산 품종과 경쟁이 되지 못하여 육성재료로 이용될 뿐 실제 재배는 거의 이루어지지 않고, 민간 육종회사에서의 고랭지 품종의 육성이 이루어져 재배되고 있으나 매년 반복되는 기상재해로 만족할 만한 품종의 개발 보급이 미흡한 실정이다.

(1) 고랭지배추 산지 정보

강원도 고랭지는 전체 고랭지 재배 면적의 79%를 차지하며, 연평균 기온이 낮고 습도가 높은 고랭지 특유의 기후적인 조건으로 엽채류, 근채류, 또는 양채류 등의 작물이 주로 재배되고 있다. 특히 배추는 1990년대 초부터 재배면적과 생산량이 매년 증가하는 추세이며, 주요 소득원으로서 감자와 함께 고랭지 농업을 대표하고 있다(고랭지농업시험장, 2002). 고랭지 배추 재배는 1990년대 초에는 평창지역이 우점을 하였으나 2000년대부터는 정선지역의 재배면적이 증가 되고 있는 실정이다. 동일 작물의 연속 재배로 인하여 다양한 병충해 및 이상고온 현상의 발생 등의 기상이변으로 2007년부터 생산량의 감소를 보여 주고 있다(표 1).

표 1. 년도 별 고랭지배추 생산량

(단위 : ha, kg, 톤)

년도	면적	단수	생산량
2001	10,234	3,900	399,151
2002	8,018	3,771	302,337
2003	8,796	3,806	334,784
2004	7,935	3,941	312,722
2005	6,502	3,908	254,087
2006	7,051	3,991	281,384
2007	6,311	4,016	253,448
2008	6,401	3,860	247,103
2009	5,553	3,802	211,103
2010	4,929	2,769	136,504
2011	6,088	3,884	237,218

* 채소생산실적(농림부)

2010년에는 7, 8월에 50일간의 강우로 인하여 고랭지 배추 생산량이 급격히 감소하는 현상이 발생되기도 하였다. 이른 통계에서 보듯이 농민들이 선호하는 품종들은 단순한 내서성에 강하고 추대 및 뿌리혹병 저항성 품종에서 앞으로는 내재해성 품종의 개발이 필요 할 것으로 예상된다.

10. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

가. 국내 수준

- 국내 여러 연구실에서 애기장대를 대상으로 개화관련 유전자의 조절 메카니즘을 밝히고 있고, 벼와 배추과 작물의 개화관련 유전자에 대해서도 연구를 진행하고 있으나 분자마커와 관련된 연구는 미약한 실정이다.
- 최근 배추 염기서열의 분석이 완료됨에 따라 유전체 정보를 활용한 여러 분자표지 마커가 개발되고 있으나 (Ramchiary et al., 2011), 개화관련 마커는 보고된 바 없다.
- 본 연구실을 중심으로 배추의 EST 서열을 이용한 DNA칩 두 종류(24K microarray, 300K microarray)가 개발되어 배추로부터 유용한 유전 유전자 발굴에 활용되어 왔으며, 개화관련 유전자 발굴에도 효율적으로 활용이 가능할 것이다.

나. 세계적 수준

- 배추를 비롯한 배추과 작물의 분자마커의 개발은 유전체 정보의 축적과 더불어 급속히 발전하고 있으나, 직접 형질과 관련된 마커로는 병저항성 마커 등이 개발되고 있으나 미약한 실정이다.
- 개화관련 마커의 개발 현황도 배추의 *FLCI* 유전자의 splicing site SNP를 CAPS마커로 개발한 것(Yuan et al., 2009)이 유일한 것이다.
- 유전체 정보의 축적과 더불어 분자표지 마커의 개발이 활발히 진행되고 있다.

11. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

중국의 봄배추 시장은 초기 일본과 한국품종이 주류를 이루다 이후 한국 품종이 우위를 점하였다. 국내품종으로는 춘하왕, 양춘, 강세분, 등이 초창기 주류를 이루고, 이어 금봉, 왕춘, CR산지왕 등 세미니스회사의 품종에서 지금은 사카타회사의 춘천, 춘명, 춘정 등 품종이 가세하여 시장을 주도하고 있으나, 점차 뿌리혹병의 발생지역이 확대되면서 내병성 품종의 요구도가 증가되고 있는 상황으로 각 회사들은 뿌리혹병 내병계 품종육성에 전력을 다하고 있는 실정이다. 중국현지 품종인 “덕고117”은 뿌리혹병에는 강하나 추대가 빠른 단점이 있고, 배추의 크기에 있어서도 중형배추와 소형배추의 품종이 많이 발표되고 있다.

뿌리혹병 고도 저항성 품종이 출시되고 있으며 일부 지역에서는 많은 호응을 얻고 있다.

12. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

현재 중국에서는 배추의 응성불임성에 관한 연구가 상당히 많이 진행되고 있다. 특히 심양농업대학에서 2인자가 관여하는 유전자응성불임성을 이용한 품종이 시판되고 있다. 또한, 황저우농업대학에서 갓으로 부터 새로운 세포질응성불임성 구분 마커를 개발하였다(Mol Biol Rep, 2008). 이 분자 마커는 미토콘드리아 영역 중 *atpA* 유전자 근방의 새로운 *orf220* type를 찾아서 보고하였다. 또한 미토콘드리아 영역 중 *nad2* 유전자 근방의 새로운 CMS의 구분 마커인 *orfB*를 찾아서 보고하였다.

한편 (주)농우종묘에서는 최근 세포질응성불임성 무 계통을 육성하였으며, 이를 이용하여 대형 몸무의 1대잡종을 생산, 시판하고 있다. 또한 이 응성불임성 인자는 지금까지 밝혀진 인자와는 상이하다는 것을 TAG(2005)에 보고하였다.

일본의 Hirata(동경농공대)는 배추류의 소송체에 양배추의 루비볼을 기내에서 접목하고 키메라 식물을 얻었는데 이 식물에 소송체를 교잡한 후대에서 세포질응성불임성을 발견하였다. 이 응성불임성세포질은 양배추인 루비볼의 것과 동일하였다. 현재 3-3 순천대에서는 소송체(배추류)의 CMS 계통을 도입하여 배추에 여교잡을 실시하고 있다. Ogura CMS와 비슷하게 저온기에 황화현상이 심하게 나타나는 계통을 제거하면서 backcross하고 있다.

세포질 인자에 의한 응성 불임성은 ‘세포질 응성 불임성(cytoplasmic male sterility, 이하 ‘CMS’라 함)’ 이라고 하는데, 이는 세포질 요인에 의해 미토콘드리아가 정상적인 기능을 수행하지 못해 비정상적인 화분을 생성함으로써 자가수정 능력을 갖지 못하는 현상을 말한다. CMS는 모계유전(maternal inheritance)으로, 어느 가임계를 교배해도 100% 불임주가 나오기 때문에, 응성 불임계의 유지가 매우 쉽고, 잎, 줄기 등 영양기관을 이용하는 작물에 적용하기가 매우 편리하다.

이러한 이유로, 잡종 종자 생산에 CMS를 이용하려는 시도가 계속 되고 있으며, 이를 위해 많은 식물체의 CMS에 대한 분자 수준의 연구가 진행되어 왔다. 그 결과, CMS를 일으키는 세포질 요인이 많이 밝혀졌다. 현재 십자화과(Cruciferae family) 작물에서 CMS를 가지는 계통으로 배추속(*Brassica* sp.)에서는 폴리마(Polima), 오구라(Ogura), 나푸스(Napus), 아난드(Anand), SNU-3, Saco 등이 알려져 있고, 무 속(*Raphanus* sp.)에서는 오구라(Ogura), 코세나(Kosena) 등이 알려져 있다. 1차종인 배추의 경우 1979년 Williams가 무의 Ogura CMS 를 여러 경로를 통해 배추에 옮겨온 Ogura CMS 를 발표한 바 있다(윤 등 1981). Ohkawa(1984, 1985)가 뉴질랜드의 야생순무(*B. campestris* ssp. *rapifera*)와 일본배추(*B. campestris*)를 교잡한 후대에서 배추의 세포질 응성불임성을 획득하였다. 미국 코넬대학의 Earl 등은 세포융합으로 저온에서도 황화현상이 나타나지 않는 브로콜리의 Ogura CMS 계통을 육성하고(1997), 이를 배추와 다시 세포융합하여 저온에서도 역시 황화현상이 나타나지 않는 배추의 Ogura CMS 계통을 육성하였다(1998). Vetmy(2000)은 유채의 polima CMS에 배추의 5개 품종을 여교잡하여 배추의 polima CMS 계통(품종)을 육성하였다. 일본의 Hirata(2001)은 배추류의 소송체에 양배추의 루비볼을 기내에서 접목하고 키메라 식물을 얻었는데 이 식물에 소송체를 교잡한 후대에서 세포질 응성불임성을 발견하였다.

13. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

가. 국외 동향

○ 국외 품종 개발

배추는 동양 3국, 즉 한국, 중국, 일본에서 김치, 저림, 조리용 등으로 주로 이용되는 주요 채소이다. 따라서 많은 품종이 각 나라마다 개발되어 이용되고 있다. 일본에서는 1970년대부터, 한국에서는 1980년대부터 연중생산 체계가 갖추어졌으며 따라서 각 계절마다 알맞은 적 품종이 육성되어 보급되고 있다. 그러나 중국에서는 가을 재배와 그에 알맞은 품종은 주로 내병성 위주로 잘 발달하였으나 경제적 수준의 저위로 봄 재배가 발달하지 못하였으며(주로 저장 배추 이용) 따라서 봄 재배용 만추대성 품종이 없다. 그런데 최근 급격한 경제수준의 향상에 힘입어 신선한 봄 재배 배추의 수요가 크게 늘어나고 있는데 반하여 품종개발이 그에 미치지 못하고 있다. 따라서 일본과 한국에서 봄 재배용 종자를 다량으로 수입하여 이용하고 있는 실정이다.

나. 국내 동향

○ 품종 개발

우리나라 배추는 김치의 주재료로서 어느 다른 채소보다 중요시 되어왔고 경제 수준의 향상과 더불어 1960년대 후반부터 연중공급체계 확립이 연구되어 왔다. 그 결과 1980년대 후반에는 완전한 4계절 생산이 이루어 졌으며 봄 재배와 고냉지 여름재배에 알맞은 품종도 개발되어 품종(종자)자급도 이루어졌다. 그런데 2000년대에 들어 결구된 배추의 속잎 색이 완전히 노란 소위 황심 배추가 보급되기 시작하여 지금은 모든 보급 품종이 황심 배추로 바꾸었다.

육종기술의 향상과 더불어 1980년대 후반부터 우리가 육성한 우량품종이 일본등지로 수출되기 시작하여 매년 약 200만 불어치 정도의 종자가 수출되어왔다. 그런데 중국과 국교가 정상화된 후 1990년대 후반부터 우리가 육성한 봄배추 종자가 중국에 또한 수출되기 시작하였으며 역시 매년 2-300만 불어치 정도가 수출되고 있다. 지금은 그 수출 주력 품종이 다국적 종자회사인 씨미니스의 것으로서 우리의 수출실적에 포함되지 않고 있는 실정이다. 그런데 현재 수출되고 있는 품종은 우리의 김치재료로 적합한 품종으로서 중국인들의 조리용으로는 저작감, 맛, 향 등에서 다소 적합하지 못한 점이 있다. 그러므로 중국인들의 기호에 알맞은 품종이 개발되어야 지속적인 종자 수출이 유지될 것이다.

제2절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

1. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

- 배추의 전통 육종 수준은 세계 선진 수준으로 배추의 연중 생산 및 공급이 가능하며, 종자를 수출할 정도에 도달하였다. 하지만 아직 부족한 배추의 분자 육종 기술을 더욱 개발하여, 육종의 효율화를 도모하고 단 기간 내에 우수 품종을 육성하여야 한다.
- 이 연구를 통해 배추 육종 기술 체계의 확립을 위한 표준 유전집단 및 대량의 분자 마커 개발, 그리고 고밀도 유전자 지도 작성이 수행되어, 배추 분자 육종 시스템의 기반을 마련하였다.
- 개발된 고밀도 유전자 지도는 농업적 목표 형질 관련 유전자들(QTL 포함)을 찾는 데 좋은 참고 자료로 이용될 것이다. 진행되고 있는 유전체 연구로 근연관계에 있는 배추과 종들 사이의 유전체 구조 및 관계를 분석함으로써 육종의 효율성을 확장하고, 유용 유전자를 도입하는데도 도움이 된다.
- 이러한 유전체 연구의 결과와 유용 기능성 성분 대량 분석 서비스, 대량의 배추 분자 마커의 이용 가능성은 궁극적으로 맞춤형 품종 개발 가능성을 열어주게 되는 중요한 기반이 될 것이다.
- 특정 형질 혹은 성분 관련 분자마커 개발은 한걸음 나아간 분자 육종의 영역으로 진출할 수 있도록 하며, 확립된 소포자 배양기술을 이용한 내환경 배추 계통 확보 및 그 특성 연구로 국제적인 선제권과 종자시장을 지속적으로 선점해 나갈 수 있을 것이다.
- 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석
*Arabidopsis*로부터 155,144개의 full-length cDNA가 일본 이화학연구소의 연구그룹에 의하여 단리되었다. 155,144 cDNA의 3'말단 ESTs가 14,668개의 중복이 없는 cDNA 그룹으로 분리되었고, 그 중 60%가 유전자이었다. 또한, 14,034 cDNA 그룹으로부터 5'ESTs를 획득하였고 promoter database를 구축하여 발표하였다. 또한 Fox-hunting system에 의하여 *Arabidopsis*로부터 획득한 cDNA clone의 염기서열을 분석한 결과 80%이상이 에너지 생산, 단백질 합성, 이온 항상성에 관련된 유전자이었으며, 대사, 단백질 수송, 세포전달, 세포전달 기구 및 세포조직과 관련된 유전자도 포함되어 있었다. 그리고 저온 처리된 *Arabidopsis*의 엽육 및 줄기조직, rosette, 화아기관등으로부터 추출한 mRNA를 이용하여 full-length cDNA library를 구축하여 저온 스트레스를 받은 각 기관별 특이적 기능 신규 유전자의 동정 및 기능 연구등을 수행하고 있으며,

또한 각 종 스트레스 처리(건조, 열처리, UV조사, ABA 등의 호르몬 처리, 압축 생장)를 수행한 후 full-length cDNA library를 구축하여 각 종 스트레스를 받은 애기장대의 신규 기능 유전자들을 대량으로 획득하여 연구를 수행하고 있다(Seki M. et al., Science 2002, Riechmann J.L. et al., Science 2000) 국내에서는 배추의 화아기관 및 엽육 조직을 이용하여 수천 개의 EST clone을 확보하고 있으나, 발현양상, 기능 및 식물 단백질 구조의 분석을 위한 유용한 소재인 full-length cDNA library를 제작하여 연구를 수행하고 있는 곳은 순천대학교의 노일섭 교수팀이 유일하다.

2. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 식물의 일반 성분 분석 등 일반성분의 분석에 대한 기술은 세계적 수준임.
- 유효성분 (기능성) 분석은 특수성분만을 분석 한다면 대부분 6개월 안에 분석기술 확보가 가능한 수준임.

3. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

중국이나 일본 등에서 수집한 유전자원을 재배하여 배추과 작물의 작물별 조사요령에 따라 특성을 조사하여 데이터화하고, 현장평가와 성분분석을 통하여 유용유전자원을 선별하였다. 또한 선별된 유용 유전자원을 소포자 배양을 통하여 다양한 DH라인으로 육성하여 유전집단을 양성하였다. 이와 같은 유전자원의 특성조사 및 성분분석 결과는 품종 육성에 기초 자료로 활용될 수 있으며, 선별된 유용계통의 다양한 DH라인들은 품종육성이나 분자마커 개발에 그 활용도가 매우 높을 것으로 판단된다.

4. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

본 연구에서 배추의 노균병 저항성 분자 마커 개발을 처음으로 시도하여 현재까지 노균병 저항성 마커가 단일 우성 유전자에 의해 조절된다고 추정하였으며, 노균병 저항성 유전자가 염색체 1번에 위치한 것을 확인하였다. 또한 다양한 노균병저항성 연관 마커를 개발하여 배추의 노균병 저항성에 관하여 국내뿐만 아니라 전 세계적으로도 우수한 기술력을 확보하고 있는 것으로 생각된다.

5. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

본 연구 과제를 통해 노균병의 유전적인 분석을 밝히고 나아가 마커를 개발하여 육종기술의 효율성을 높여 준다면 배추 품종 육성에 큰 도움이 될 것이다. 품종 개발 기술이 유사한 무. 양배추. 브로콜리 등 세계적으로 시장이 큰 다른 작물에도 기술 적용도 용이할 것으로 사료된다.

6. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

현재 국내에서 가장 높은 수준의 SSI균주 분리가 가능하며, SSI 균주를 이용한 race의 동정을 가장 많이 하였고, 새로운 race의 생성 기작을 밝혀낸 것은 최초이다. 병원균의 균학적인 특징에 맞춤형된 포자 분리 및 대량 배양 시스템을 가지고 있으며 토양에서도 사용이 가능한 종 특이적 프라이머를 개발하였다. 배추 뿌리혹병의 부분적인 시퀀스와 그에 대한 단백질의 역할들이 최근에는 조금씩 밝혀지기 시작하는데 반해 race 4의 full sequence를 세계 최초로 분석하였다. 물론 추후 시퀀스에 대한 분석이 진행 되어야 하기는 하지만 병원균의 기본적인 생태를 이해하지 못했다면 어려운 일이었다. 또한 임용표 교수님 연구팀(1-1세부과제)과 농협종묘(2-4세부과제)와의 협력을 통해 다양한 race를 밝혀내고 뿌리혹병과 연관된 분자마커를 새로이 개발하고 있어 저항성 배추 품종 육성에 활용될 수 있다.

7. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

배추 뿌리혹병 저항성 품종은 1990년 중반부터 채소 종자회사를 중심으로 일본에서 도입한 저항성 유전자를 이용하여 우수한 형질을 지닌 품종이 개발되어 상용화 되었으며, 저항성 품종의 재배면적이 늘어나고 있으나 연작으로 인하여 저항성 품종들이 새로운 race에 의하여 저항성이 무너지고 있다. 최근 일본 및 국내에서도 보다 저항성이 강한 슈퍼 CR계 저항성 품종이 육성되어 보급되고 있으나 일부 연작 포장에서는 저항성이 무너지고 있어 보다 완벽한 고도 저항성 품종이 요구되고 있다. 본 연구에서는 국내에서 배추 뿌리혹병의 발병성이 가장 강하다는 아산 배방균주에 강한 재료(IT033820)등을 이용하여 저항성 계통을 육성하고 있으며 국내 배추와 교잡하여 약배양 및 소포자배양을 통해 보다 저항성이 강한 고도 저항성 품종육성을 기대하고 있다.

8. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

국내 배추 작물 분자 마커 개발 연구 분야 선두 그룹인 임용표 교수님 연구팀(1-1세부과제), 현대종묘(2-6세부과제)와 본 연구팀(2-5세부과제)의 협력을 통해서 개발된 내서성 연관 분자 마커는 국내 에서 처음으로 개발된 배추 내서성 연관 분자마커로써 배추 품종 육성에 내서성 표현형 선발에 표지로서 활용이 가능하다고 평가됨. 특히 국내 육종회사에서 이용 중인 배추 육성 계통을 대상으로 개발된 분자 마커로 유전적으로 연관된 국내 배추 품종 육성에 선발 마커로 활용 가능성이 더 높다고 평가된다.

9. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

신젠타	베타카로틴 함량이 많고 재배폭이 넓은 기능성 봄배추, 뿌리혹병 저항성인 고행지배추가 개발되었음.	신젠타는 한여름, CR안심, CR농심등 여름배추시장을 선점한 회사이었기에 여름배추는 지속적으로 판매되고 있음.
몬산토	고온 결구력이 뛰어나고 무더위에 강한 CR계 고품질 여름배추, 내한성 강하고 맛 좋은 겨울배추 개발	대리점의 영향력으로 어느정도는 거래가 되고 있음.
농우	뿌리혹병, 노균병, 바이러스등 내병성이 강해 재배가 용이하고 상품성이 우수한 여름배추, 내한성 포장저장성이 우수하고 뿌리혹병에 내병성인 만생계 월동배추 개발	토종기업으로 적극 홍보되어 농민, 중간상인, 소비자의 거부감이 없고, 육성인력이 충분히 확보되어 우수한 품종으로 육성으로 시장점유율이 계속 증가되는 추세임
사카타	맛, 품질, 저장성 및 재배안정성이 우수한 봄배추, 뿌리혹병, 바이러스, 노균병, 연부병에 강한 여름배추, 내한성이 강하고 후기까지 청기를 유지하는 만생계 겨울배추 개발	품종의 우수성이 인정되어 전 작형의 배추가 무난히 판매되고 있으며, 특히 재배가 어려운 봄, 여름, 월동배추의 판매량이 늘어가고 있음.
현대종묘	맛과 내병성이 뛰어난 다수성 봄배추, 고온결구력, 뿌리혹병, 연부병 바이러스 등 생리장애에 강하며 상품성이 우수한 여름배추, 속잎이 곱고 맛과 모양이 좋은 김장용으로 최적인 가을배추, 내한성, 포장저장성이 우수하고, 엽색이 짙어 포전매매에 유리한 속노란 내병계 겨울배추 개발	일부 지역에서는 품종의 우수성이 인정되어 판매가 왕성하게 이루어지고 있으나, 회사의 인지도 및 홍보의 부족으로 전국적으로의 확산은 어느 정도 시간이 걸릴 것으로 추정되어 지며 그 가능성이 매우 높음.

10. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- 개화시기 판별은 모든 작물의 육종에 필요한 사항이나, 다양한 요소에 의해 조절되는 개화시기를 쉽게 구별할 수는 없기 때문에 국내외를 막론하고 분자마커의 개발이 미진한 실정이다.
- 모델식물인 애기장대와 진화적으로 다양성을 나타내는 냉이(Huang et al., 2012)의 경우 개화억제 유전자인 FLC의 SNP가 개화시기와 관련이 있다는 보고는 있으나 작물을 대상으로 알려진 마커는 없는 실정이다.
- 개화시기 판별용 분자표지 마커의 개발은 소포자 배양체로부터 PCR을 통한 개화시기를 판별하여 육종의 효율성과 기간을 단축시킬 수 있어 과장이 크다고 할 수 있다.
- 배추에서 개발한 분자표지 마커는 다른 배추과 작물에 적용하여 확대 확용이 가능하다.

11. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

중국 봄배추시장은 몬산토(홍농종묘)에서 점차 사카타로 주도권이 옮겨가고 있고, 사카타의 신품종의 시장점유율은 확대되고 있다. 그 외 경쟁 업체들의 신품종이 출시되고 있으나 아직까지는 시장에서 큰 호응을 얻지 못하고 있다.

K756, K758 및 K925는 수량성이나 내병성 추대성 등 특성이 있는 품종이다. 특히 K925는 뿌리혹병 내병계로서, 중국내에서 뿌리혹병 발생이 급격히 확산되고 있는 현 시점에 적합한 품종으로 평가된다.

12. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

- 세포질 응성불임성(CMS) 계통은 육성소재로 활용도가 높고, 동일한 유전기작의 응성불임성은 한 개체만 있어도 다양한 응성불임성 계통을 육성할 수 있으므로 유전기작이 다양한 응성불임성 획득 및 판별이 필요하다. 따라서 이 연구를 통하여 개발된 CMS와 응성가임의 구분 특이적인 마커 및 CMS 유형별 특이적인 마커를 이용하여 정확한 CMS 유형을 알지 못하고 관행적으로 사용되고 있는 종묘회사 보유의 CMS 계통 유형을 정확히 판별하여 종묘회사에 정보를 제공하여 품종 개발에 이용할 수 있을 것이다.
- 이미 보급되고 있는 CMS 1대잡종 및 국내·외에서 수집한 CMS 유전자원의 CMS 유형을 정확히 판별하여 종묘회사에 정보를 제공함으로써 품종 개발에 이용될 수 있게 되었다.
- 우량계통에 응성불임성 인자를 도입하기 위해서는 BC6F1정도까지 진행시켜야 하므로 육종에 있어서 많은 시간과 노동력 및 비용이 소요되므로 본 연구에서 개발된 분자마커의 활용은 육종 연한의 단축, 노동력 및 육종비용을 절감에 할 수 있을 것이다.
- 애기장대의 UGPase 유전자의 기능분석으로부터 이 유전자는 화분발달 단계인 사분자시기의 셀룰로오스막 형성에 비정상임을 나타내었다. 그 결과 화분의 발달에 영향을 미쳐 비정상적인 활분 즉 핵유전자 응성불임성(GMS-genic male sterility)을 나타내었다. 따라서 배추의 UGPase 유전자를 동정 및 이용하여 배추 GMS 계통을 만드는 데 이터로 활용될 것이다.

13. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- 일본과 중국에서는 이미 세포질 응성불임성을 이용하고 있으나 한국에서는 아직 정확한 세포질 응성불임성의 재료도 없는 실정임(농우 종묘에서 일부 품종에 이용하고 있다는 풍문이 있으나 확인되지 않음)
- 본 과제를 통하여 세포질 응성불임성을 이용한 1대잡종이 품종등록 출원됨으로서 이제 우리나라도 세포질응성불임성을 이용한 1대잡종 육성이 보편화 될 것으로 기대됨
- 배추에 치명적인 바이러스 병과 뿌리혹병의 강 병원성균주에 대한 복합내병성 DH계통이 다수 육성되어 1대잡종의 품종 개발에 이용될 수 있게 된 것은 해외 수출 품종 육성의 좋은 재료가 될 것으로 기대됨.
- 배추 바이러스 병의 내병성 관련 2.2cM의 분자 마커 개발은 아직 해외서 보고된바 없는 가장 가깝게 연관된 마커로 생각됨.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1-1절 대량 유전자 분자표지 발굴

1. 배추 유전체 정보를 이용한 대량의 분자마커 개발

가. 시스템 구축

(1) 대용량의 In Silico 분자마커 개발 시스템 구축

1차년도~2차년도에 본 연구 과제에서 개발한 ‘대용량의 In Silico 분자마커 개발 시스템’은 작물 유전체 내에 풍부하게 존재하고 변이율이 높은 simple sequence repeats(SSRs)을 근거로 하여 구축되었다. 본 시스템은 ㉠ Sequence clustering 및 contig assembly, ㉡ SSR finding, ㉢ 배추 유전체 내 duplicated/conserved SSR loci 확인, ㉣ Primer design, ㉤ 추가적 primer specificity와 stability 증가 프로세스 등으로 구성되어 있다(그림 1). 또한 본 시스템 구축을 위해 크게 고려된 사항들은 자동화에 의한 SSR-primer 디자인, primer들의 specificity와 stability 유지, 배추 종간의 polymorphism 증가 등이다.

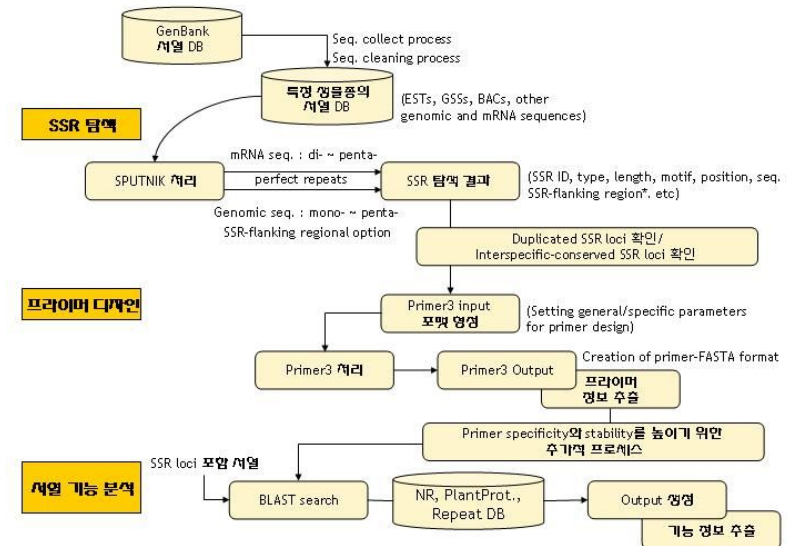


그림 1. 배추에서 대량의 염기서열 이용 SSR-Primer 디자인 및 선발.

(나) 시스템 개발 내용

① 대량의 배추 유전체 염기서열 정보 수집 및 sequence editing(그림 2)

- 파이썬에 의해 작성된 특정 종 및 염기 서열 형태 수집 모듈을 이용하여 GenBank의 nucleotide database(HTG, GSS, EST, PLN database 등)로부터 521 BACs, 200,017 BAC-end sequences, 148,653 ESTs 등의 배추 유전체 염기서열 정보들을 수집하였다.
- 수집된 염기 서열들의 quality 및 중복성 확인: 수집된 염기 서열들의 low-quality regions (N-rich regions) (SeqClean 이용) 및 vector sequence fraction들 (UniVec_core 라이브러리와 Cross_match 이용)이 제거되었다. 그러한 후에 100 bp 이상의 서열들이 선발되었고 이를 이용하여 sequence clustering(TGICL, BLASTcluster 이용)이 수행되었다. 이 과정을 통하여, 177,823 BAC-end sequences, 521 BACs, 36,619 ESTs(16,104 contigs과 20,515 singlets)이 재생성 되었다.

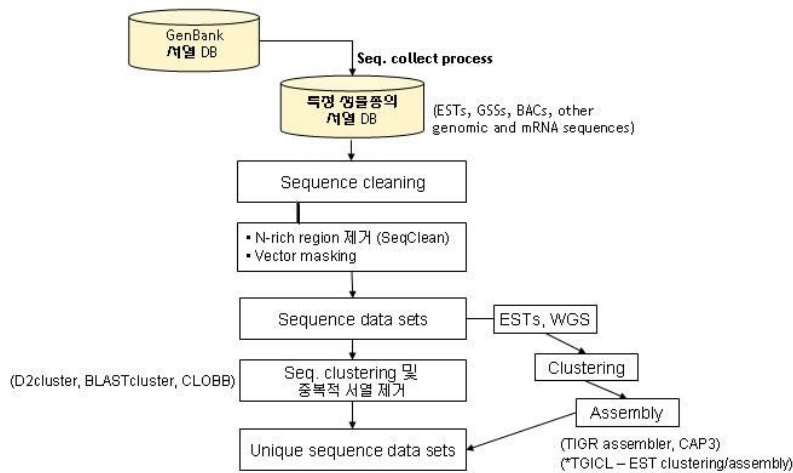


그림 2. 대량의 배추 유전체 염기서열 정보 수집 및 sequence editing.

② SSR 탐색 및 분석 과정

- SSR 탐색은 SPUTNIK 소프트웨어에 의해 수행되었다.
- 분석을 위한 조건은 다음과 같다.
 - Mononucleotide SSR들로부터 pentanucleotide SSR들이 탐색됨.
 - Repeat length: mononucleotide SSR ≥ 12 bp, dinucleotide SSR ≥ 12 bp, trinucleotide SSR ≥ 12 , tetranucleotide SSR ≥ 16 , pentanucleotide SSR ≥ 20
 - SSR들내 mutation은 허용하지 않음 (perfect repeat들만 탐색함)

○ 분석 내용 (그림 3) :

- Repeat type - (예) mono-, di-, tri-, tetra, penta-, hexa-nucleotide 등
- Repeat motif - (예) A, AG, ATG, AAAT, AAAAT . . .
- Repeat number와 length - (예) (C)₁₂, (AG)₁₀, (CGC)₁₅ . . .
- Repeat position - (예) 101 bp (begin) -124 bp (end)
- SSR 서열 - (예) AGAGAGAGAGAGAGAG...
- Repeat score - perfect/imperfect repeat 구별

○ 본 과정을 통해 BACs, BAC-end sequences, ESTs로부터 확인된 SSR들의 개수는 표 1과 표 2에 정리되었다. 세 dataset들로부터의 결과를 보면, trinucleotide SSR들이 배추 유전체 안에서 가장 풍부함을 알 수 있었다. 반면, 상대적으로 tetranucleotide 및 pentanucleotide SSR들은 매우 낮은 비율을 차지하였다. 개개의 모티프별 분포를 살펴보면, motif A 또는 T가 월등히 높은 분포를 보였다. 배추 유전체에서 SSR들의 분포는 실제 SSR-targeted primer 생성 후 primer 분포에도 그대로 반영되었다. 또한 SSR들의 길이의 분포(크게 Class I(20 bp 이상)과 Class II(12-19 bp)로 나눔)를 보면, Class II, 특히 12-14 bp에서 월등히 높았다. 특히적으로, Class I에서는 dinucleotide SSR들이 길이의 신장에서 우세적으로 분포함을 보였다.

1	A	B	C	D	E	F	G	수식 입력틀	J
SSR ID	Source Seq.	Source Seq. Length (bp)	Repeat Type	SSR Begin	SSR End	Repeat Length	Score	Real_Repeat Motif	SSR
277	ABM00525	CW981404	724	trinucleotide	707	718	12	100 TGA	TGATGATGATGA
278	ABM00526	CW981405	594	pentanucleotide	150	169	20	100 AATAC	TACAATACAATACAATACAA
279	ABM00527	CW981407	862	dinucleotide	665	678	14	100 TG	TGTGTGTGTGTGTGTG
280	ABM00528	CW981412	770	trinucleotide	514	528	15	100 GAA	GAAGAAGAAGAAGA
281	ABM00530	CW981435	780	dinucleotide	583	610	28	100 AT	ATATATATATATATATATATAT
282	ABM00531	CW981442	806	mononucleotide	321	335	15	100 A	AAAAAAAAAAAAAAAA
283	ABM00533	CW981468	502	dinucleotide	46	59	14	100 AG	AGAGAGAGAGAGAG
284	ABM00534	CW981468	502	mononucleotide	409	423	15	100 A	AAAAAAAAAAAAAAAA
285	ABM00535	CW981468	502	trinucleotide	440	451	12	100 AAT	AATAATATAAT
286	ABM00536	CW981527	750	dinucleotide	60	81	22	100 TA	TATATATATATATATATATA
287	ABM00540	CW981533	417	trinucleotide	387	398	12	100 CCA	CCACCACCACA
288	ABM00541	CW981535	650	trinucleotide	387	398	12	100 TAT	TATTATTATTAT
289	ABM00542	CW981539	837	dinucleotide	339	368	30	100 AT	ATATATATATATATATATATAT
290	ABM00553	CW981619	823	dinucleotide	553	566	14	100 AC	ACACACACACACAC
291	ABM00557	CW981666	825	trinucleotide	242	253	12	100 GCG	GCGGCGGCGGCG
292	ABM00558	CW981666	825	trinucleotide	582	593	12	100 GAA	GAAGAAGAAGA
293	ABM00561	CW981697	612	dinucleotide	216	247	32	100 AT	ATATATATATATATATATATAT
294	ABM00566	CW981741	759	dinucleotide	303	314	12	100 CT	CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
295	ABM00567	CW981741	759	trinucleotide	724	735	12	100 AGA	AGAAGAAGAAGA
296	ABM00568	CW981742	773	dinucleotide	296	309	14	100 GA	GAGAGAGAGAGAGA
297	ABM00569	CW981742	773	dinucleotide	357	372	16	100 TC	TCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
298	ABM00570	CW981750	623	mononucleotide	96	112	17	100 A	AAAAAAAAAAAAAAAA
299	ABM00573	CW981798	605	dinucleotide	65	86	22	100 TC	TCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
300	ABM00574	CW981798	605	trinucleotide	320	331	12	100 GCA	GCAGAGACAGA
301	ABM00575	CW981799	761	trinucleotide	9	23	15	100 CTT	CTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
302	ABM00583	CW981864	608	dinucleotide	125	142	18	100 AT	ATATATATATATATATATATAT
303	ABM00584	CW981871	807	trinucleotide	286	297	12	100 GTG	GTGGTGGTGGTGTG
304	ABM00586	CW981892	560	trinucleotide	11	25	15	100 GAT	GATGATGATGATGAT
305	ABM00589	CW981901	692	dinucleotide	9	22	14	100 AG	AGAGAGAGAGAGAG
306	ABM00590	CW981901	692	dinucleotide	138	167	30	100 CT	CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
307	ABM00591	CW981911	766	mononucleotide	524	535	12	100 T	TTTTTTTTTTTTTT
308	ABM00592	CW981911	766	mononucleotide	550	561	12	100 T	TTTTTTTTTTTTTT
309	ABM00593	CW981915	773	mononucleotide	488	502	15	100 T	TTTTTTTTTTTTTTTT
310	ABM00594	CW981915	773	trinucleotide	744	758	15	100 CAA	CAACAACAACAACAA
311	ABM00595	CW981931	679	trinucleotide	309	323	15	100 CTT	CTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
312	ABM00596	CW981932	576	trinucleotide	183	194	12	100 TCT	TCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT

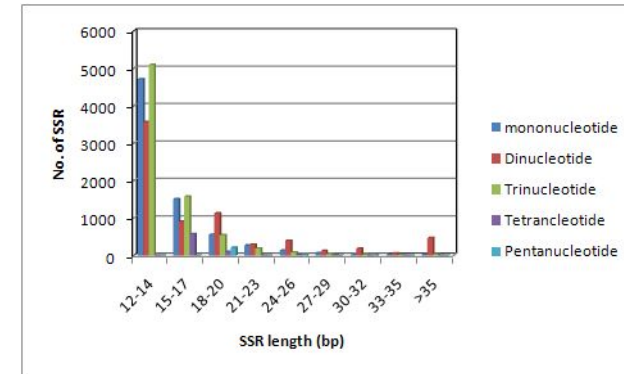
그림 3. SPUTNIK을 이용한 배추 유전체 염기 서열 정보로부터 확인된 SSR 정보.

표 1. 배추 BACs, BAC-end sequences, ESTs로부터 확인된 SSR들의 개수.

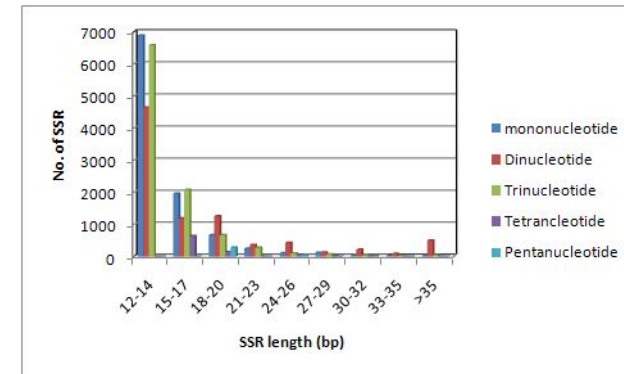
Repeat types	BACs	BAC-end sequences	ESTs
Mononucleotide	7,339	10,088	-
Dinucleotide	7,157	8,833	1,940
Trinucleotide	7,602	9,888	6,128
Tetranucleotide	726	859	206
Pentanucleotide	250	340	53
확인된 SSR들의 개수	23,074	30,008	8,327

표 2. 배추 BACs, BAC-end sequences, ESTs로부터 확인된 SSR들의 주요 motifs.

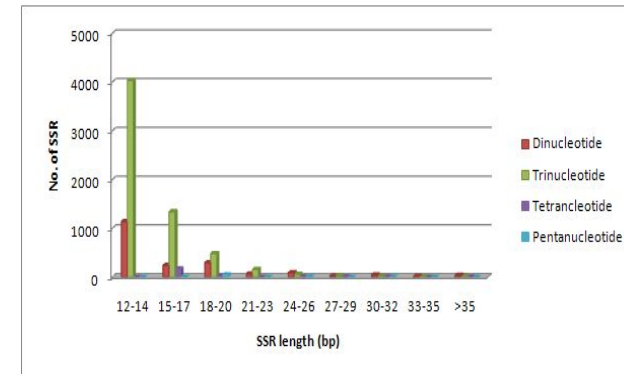
Repeat types	Motifs	Percentage (%)		
		BACs	BAC-end sequences	ESTs
Mononucleotide	A	30.35	31.89	-
	C	1.46	1.73	-
	Sub-total	31.81	33.62	-
Dinucleotide	AT	17.21	13.89	3.22
	AG	11.14	12.85	17.93
	AC	2.65	2.66	2.17
	others	0.01	0.04	0.01
	Sub-total	31.01	29.44	23.33
	AAG	9.85	10.82	22.04
	AAT	5.56	4.18	2.32
Trinucleotide	ATC	4.70	4.48	9.53
	AAC	3.51	4.01	6.71
	AGG	3.36	3.48	13.11
	ACC	2.42	2.10	7.52
	AGC	1.37	1.40	5.82
	ACG	0.80	0.85	2.12
	ACT	0.71	0.59	1.26
	CCG	0.68	1.05	3.32
	Sub-total	32.96	32.96	73.75
	AAAT	1.14	0.79	0.25
Tetranucleotide	AAAG	0.46	0.37	0.50
	AAAC	0.45	0.33	0.53
	others	1.11	2.26	1.01
	Sub-total	3.16	3.75	2.29
	AAAAT	0.24	0.16	0.04
Pentanucleotide	AAAAC	0.12	0.33	0.08
	others(39)	0.70	0.97	0.51
	Sub-total	1.06	1.46	0.63



(a) BACs



(b) BAC-end sequences



(c) ESTs

그림 4. 배추 (a) BACs, (b) BAC-end sequences, (c) ESTs로부터 확인된 SSR들의 length 분포.

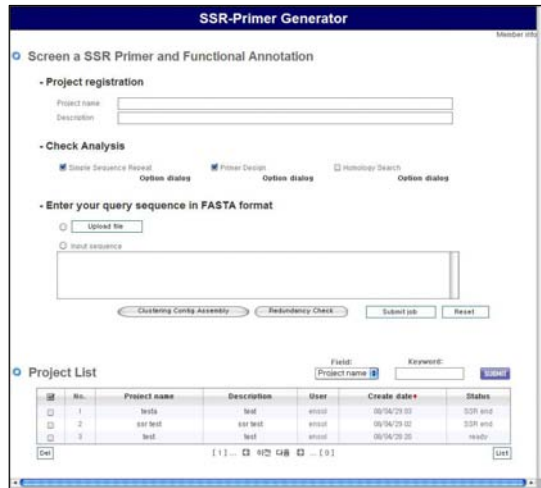


그림 6. SSR-Primer Generator 메인 화면. 프로젝트명, 분석단계 구분, FASTA 파일 입력 부분으로 구성됨.

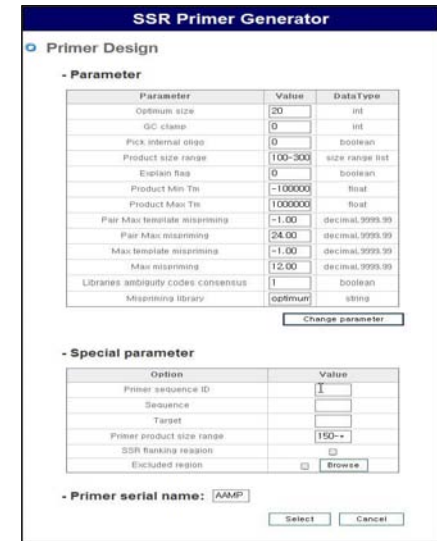


그림 8. Primer3를 이용하여 SSR-Primer를 디자인하기 위한 옵션 설정 페이지. Primer3 input 파일 작성 시 파라미터들을 선택적으로 사용할 수 있다.

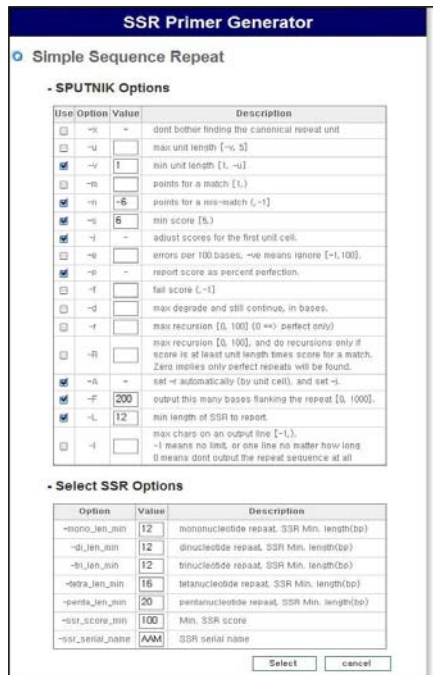


그림 7. SSR finding을 위한 옵션 설정 페이지.

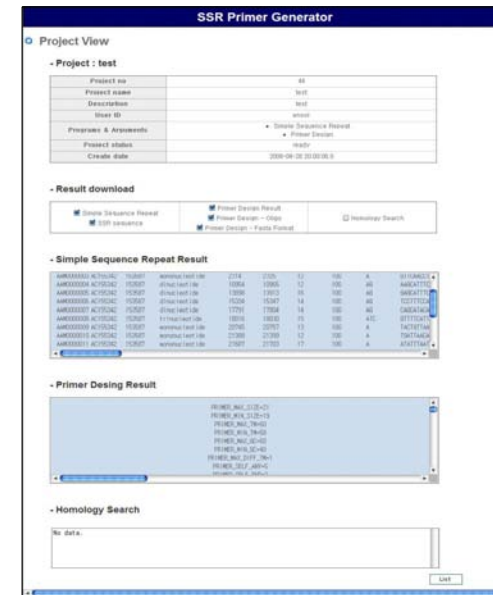


그림 9. SSR 탐색 및 SSR-Primer 디자인 결과 화면.

(2) Primer 데이터베이스 구축

(가) 데이터베이스 구조 (필드별 정리: 그림 10, 그림 11)

- ID : SSR ID, Primer ID
- Sequence : GenBank Accession Number, Sequence length, FASTA
- SSR annotation : Repeat type, SSR position, SSR class, Motif type, SSR-flanking region, Interspecific-conservation
- Edited sequence information (SSR과 flanking regions의 조합으로 재구성된 FASTA에서 SSR의 위치 정보 변경) : Edited SSR ID, Edited SSR position
- Primer : Primer sequence, Tm, GC%, PCR product size

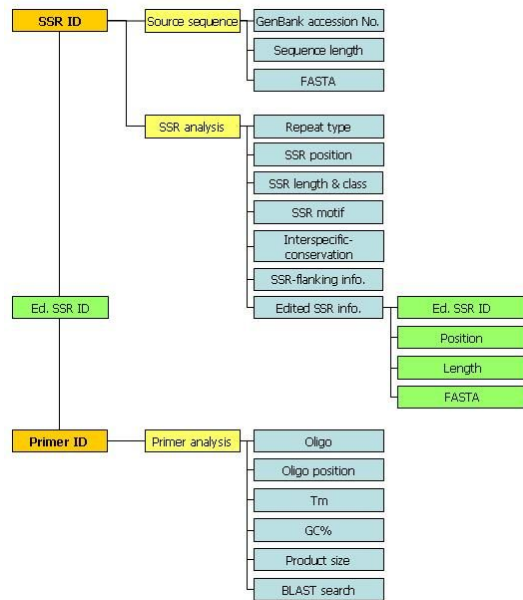


그림 10. SSR-Primer 데이터베이스 구조.

(나) 배추 BACs, BAC-end sequences, ESTs로부터 디자인된 SSR-Primer들의 구성

- 생성된 SSR-Primer set의 개수: BACs, BAC-end sequences, ESTs로부터 3,323 개, 2,988개, 2,121개의 SSR-target primer들이 생성되었다. 대체적으로 생성된 SR-primer들의 개수 분포는 초기 단계에서 탐색된 SSR 개수 분포와 비슷한 양상을 보인다(표 4). 또한 SSR의 length와 연관시켰을 때도 마찬가지로, ClassII(SSR length가 12-19 bp 까지 범위)에 해당하는 SSR들을 target으로 하는 primer들이 Class I(SSR length가 20 bp 이상)에 해당하는 것들에 비하여 월등히 높은 구성을 차지하였다(표 5). 한편, primer 디자인 면에서는 서열 dataset 자체

내 SSR-flanking region의 확보, 반복염기서열들(특히, 전이인자들, rDNAs, 100-bp 이상의 tandem repeat sequences)구성 차이, 그리고 중복적 서열의 존재로 인하여 BAC들이 BAC-end sequence들보다 더 높은 효율을 보였다(BACs에서 1.3 배 더 많음). 그러나 대부분의 BACs 유래 primer들은 하나의 BAC 안에서 수 내지 수십개가 디자인되었기 때문에, 배추 유전체 전체에 골고루 퍼져 있는 SSR 마커를 개발하기 위해서는 BAC-end sequences 유래 primer들의 사용이 필수적일 것으로 판단된다.

표 4. SSR motif 종류에 근거한 SSR-Primer 개수.

Repeat type	Motif	SSR-Primer 개수			
		BACs	BAC-end sequences	ESTs	
Mononucleotide	A/T	1,055	942	-	
	G/C	47	57	-	
	Sub-total	1102	999	-	
Dinucleotide	AG	421	390	204	
	AT	340	268	63	
	AC	105	76	46	
	Others	1	5	0	
	Sub-total	867	739	313	
	AAG	384	366	490	
Trinucleotide	AGG	124	130	287	
	ATC	196	166	253	
	ACC	89	70	163	
	AAC	142	135	169	
	AGC	53	59	167	
	CCG	25	47	90	
	AAT	154	107	56	
	ACG	23	25	50	
	ACT	27	22	34	
	Sub-total	1,217	1,127	1,759	
	Tetranucleotide	AAAC	15	14	11
		AAAG	18	16	8
AAAT		27	19	4	
Others		40	46	20	
Sub-total		100	95	43	
AAACC		6	4	0	
Pentanucleotide	AAAAT	5	4	0	
	Others	26	20	8	
	Sub-total	37	28	8	
총계		3,323	2,988	2,121	

표 5. SSR length에 따른 SSR-Primer들의 개수.

Class	SSR length	SSR-Primer들의 개수		
		BACs	BAC-end sequences	ESTs
Class II	12-15	2,316	2,201	1,751
	16-19	555	458	233
	Sub-total	2,871	2,659	1,984
Class I	20-25	318	233	97
	26-29	57	43	20
	≥30	77	53	22
	Subtotal	452	329	139

○ 표 3의 조건하에 생성된 primer length의 분포를 살펴보면, 20-mer의 primer들이 전체에서 82%를 차지하였다(21-mer primers: 12%, 19-mer primers: 6%). Primer Tm 값의 경우, 59°C를 가진 primer들이 전체에서 79%를 차지하였고, 그 뒤를 이어 58°C가 12%, 60°C가 8%를 차지하였다. 또한 GC content의 경우, 45-54%가 약 73%를 차지하였다. 예상되는 PCR product size는 201-300 bp 사이에서 비교적 높은 분포(약 60%를 차지함)를 보였다.

(다) 배추 물리지도(physical map) 상의 BAC clone들과 BAC-end sequence들로부터 유래된 SSR-Primer들의 링크

○ 농업생명공학원의 배추 게놈팀 으로부터 작성된 배추 물리지도의 데이터(Fingerprinted contig(FPC) 데이터임)를 분석 후, 파이썬 스크립트를 이용하여 BAC-end sequence들로부터 유래된 SSR-Primer들(배추 BAC ID 포함)을 배추 물리지도 내 콘티그(contig)에 속하는 BAC 클론들과 링크를 시켰다. 두 관계의 링크 시, BAC-end sequence들로부터 유래된 SSR-Primer들 중에서 mononucleotide SSRs은 모두 제외되었다. 두 관계의 링크 결과는 표 6과 같다.

표 6. 배추 물리지도(physical map) 상의 BAC clone들과 BAC-end sequence들로부터 유래된 SSR-Primer들의 링크.

BAC contig들에 링크된 SSR-primer 개수	633
Singleton들에 링크된 SSR-primer 개수	352
물리지도 작성에 참여되지 않은 BACs에 링크된 SSR-primer 개수	233

(3) 배추 Gene Ontology 분석 시스템 개발과 기능 특이적 유전자 마커 개발을 위한 데이터베이스 구축

(가) 구현 방식:

엄격한 파라미터 값들의 설정 하에 BLASTX를 이용하여 배추 unique ESTs을 *Arabidopsis thaliana* Gene Ontology(AtGO) annotation 결과가 부착된 protein sequences에 비교함으로써 배추 Gene Ontology 분석 시스템을 구축하였다.

○ BLASTX 검색을 위한 AtGO annotation database 만들기:

- TAIR(<http://www.arabidopsis.org>)로부터 gene locus 번호 및 기능해석이 첨부된 *Arabidopsis thaliana* protein FASTA(그림 11)를 다운로드 받은 후, 파이썬 스크립트를 이용하여 FASTA에 AtGO annotation 결과를 결부시킨다(그림 12).

```
>AT1G51370.2 | Symbols: | F-box family protein | chr1:19049283-19050416 FORWARD
MVGKKKTKICKVSHEDRISQLPEPLISEILFHLSTKDSVRTSALSTKRWYLNQSVGLDLDLPYASS.....

>AT1G50920.1 | Symbols: | GTP-binding protein-related | chr1:18874223-18876238
FORWARD
MVQYFNKRIIVVPGKGFVDIILSRQRTPTVVHKGYKINRLRQFYMRKVKYQTINFAKLSAIIIDEF.....

>AT1G36960.1 | Symbols: | similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana]
(TAIR:AT1G48095.1) | chr1:14017237-14017949 FORWARD
MTRLPLPYKGGDFLGPDLFTFDLCVQVRGIPLPYLSLTVSFIAGTLGPILEMEFNQDSTVYVAFIRVK.....

>AT1G44020.1 | Symbols: | DC1 domain-containing protein | chr1:16719132-16721096
REVERSE
MDSESEKLSLISFISQLVSRNNTDSENISCMIQTISLVSSMDLKSQPKPKSLMSLVQTISLFSNMDLS.....

>AT1G15970.1 | Symbols: | methyladenine glycosylase family protein |
chr1:5486538-5488488 REVERSE
MSVPPFRFSVNSDERFRSVLGPFTGNLQKRPFGMKLEKPMMEKTIIDSDEKAKKPTTASPRTTLKQ.....

>AT1G73440.1 | Symbols: | calmodulin-related | chr1:27615079-27615843 FORWARD
MARGESEGESGSERESSSSSSSGNESEPTKGTISKYEQRLSRIAENKARLDALGSKAAKALLSPSPV.....
```

그림 11. gene locus 번호 및 기능해석이 첨부된 *Arabidopsis thaliana* protein FASTA.

○ FASTA의 정의행에 AtGO annotation 결과를 결부시킬 때 형식 (그림 12)

- *Arabidopsis thaliana* genome에서 gene locus 번호 - At1g72970.1
- Gene locus 번호와 GO annotation 결과와의 구분자 표시 - “:”
- Molecular function, Biological process, Cellular component 간의 구분자 - “[]”
- Molecular function, Biological process, Cellular component 약어 표시 - <F>, <P>, <C>
- GO Term/GO Slim Term/GO ID의 순서적 표기
- GO Term/GO Slim Term/GO ID 사이의 구분자 - “;”
- 동일한 카테고리(Molecular function, Biological process, Cellular component) 내에서 서로 다른 GO 결과(Term 및 ID)들 사이의 구분자 - “%”

```
>Atlg72970.1: [<F>*mandelonitrilelyaseactivity;otherenzymeactivity;GO:0046593*FADbinding;otherbinding;GO:0050660*FADbinding;nucleotidebinding;GO:0050660] [<P>*cell-cell signaling;othercellularprocesses;GO:0007267*fattyacidomega-oxidation;othercellularprocesses;GO:0010430*fattyacidomega-oxidation;othermetabolicprocesses;GO:0010430] [<C>*extracellularregion;extracellular;GO:0005576]
(서열부분) MALKLFLFALLLCLPTSLSTASKGKEKSKFNFYRYTFIDKASTFSSSSSSSSSSSQDSSYDYIVIGGGT...
```

그림 12. FASTA의 정의행에 AtGO annotation 결과를 결부시킬 때 형식.

- Formatdb 프로그램을 통한 BLASTX 검색을 위한 AtGO annotation database 형성.
- 높은 수준의 cutoff value(1e-20)의 조정과 함께 BLASTX를 통한 배추 ESTs과 AtGO annotation database의 비교 검색 실시.
- BLASTX 검색 후 데이터 파싱 수행

※ 형식

Code	BL2 ; GO1, GO2, GO3 ...	Query_Begin	Query에서 alignment가 시작된 지점
Query ID	배추 EST ID	Query_end	Query에서 alignment가 끝나는 지점
Sequence Length (bp)	Query sequence length (bp)	Subject_Begin	Subject에서 alignment가 시작된 지점
Description	ATGene Genomic Locus	Subject_end	Subject에서 alignment가 끝나는 지점
Subject Length	DB(또는 Subject)에서 비교된 sequence의 length (aa)	GO Category	Molecular function(F), Biological process(P), Cellular component(C) 구분
E-value	Score를 근거로 계산된 것으로 서열 간의 유사성 정도를 나타낸 값	GO Term	Term
Alignment (query/subject)	query와 subject 간에 aligned nucleotide들의 개수	GO Slim Term	Term
Alignment% (query/subject)	Percentage	GO ID	GO:번호 형식

- 배추 GO 분석표: 36,619개의 배추 ESTs 중에서 15,324개의 ESTs이 *Arabidopsis* GO-annotated proteins에 hit되었다. Molecular function과 관련된 protein-coding regions은 4.1%를 차지하였고, Biological process와 관련해서는 47.8%를, Cellular component와 관련해서는 48.1%를 차지하였다. 본 분석표는 위에서 제시된 필드명들과 함께 아래 그림과 같이 정리되었다. 이 분석표는 SSR 포함 유전자들의 기능적 특징을 조사함으로써 기능성 SSR 마커들을 개발하는데 기초자료로 활용될 예정이다. 또한 배추 내에서 (비)환경적 스트레스 관련 유전자들에 대한 분자 마커를 개발하기 위한 서열 선발 자료로도 활용될 예정이다.

Code	Sequence ID	Sequence Length (bp)	ATG Locus No.	Subject Length (aa)	E-value	Alignment	Alignment%	Query_Beg	Query_End	Subject_Beg	Subject_End
BL1	BpTC00001	998	AT3G29840.1	809	1.00E-137	250/287	87%	37	897	523	809
G01	BpTC00001										
G02	BpTC00001										
G03	BpTC00001										
G04	BpTC00001										
G05	BpTC00001										
G06	BpTC00001										
BL1	BpTC00002	719	AT5G59880.1	139	6.00E-68	122/139	87%	85	501	1	139
G01	BpTC00002										
G02	BpTC00002										
G03	BpTC00002										
G04	BpTC00002										
BL1	BpTC00003	842	AT3G27830.1	191	4.00E-51	113/147	76%	186	626	26	170
G01	BpTC00003										
G02	BpTC00003										
G03	BpTC00003										
G04	BpTC00003										
G05	BpTC00003										
G06	BpTC00003										
G07	BpTC00003										
G08	BpTC00003										
G09	BpTC00003										
G10	BpTC00003										
G11	BpTC00003										
G12	BpTC00003										
G13	BpTC00003										
G14	BpTC00003										
G15	BpTC00003										
G16	BpTC00003										
BL1	BpTC00005	475	AT3G52930.1	358	1.00E-63	109/110	99%	425	96	3	112
G01	BpTC00005										
G02	BpTC00005										
G03	BpTC00005										
G04	BpTC00005										
G05	BpTC00005										
G06	BpTC00005										
G07	BpTC00005										
BL1	BpTC00006	1567	AT4G27960.2	178	7.00E-85	146/150	97%	93	542	29	178
G01	BpTC00006										
G02	BpTC00006										
G03	BpTC00006										

GO Category	GO Term	GO Slim Term	GO ID
F	ATPase activity	hydrolase activity	GO:0016887
F	identical protein binding	protein binding	GO:0042802
P	phosphorylation	other cellular processes	GO:0016310
P	phosphorylation	other metabolic processes	GO:0016310
C	cytoplasm	other cytoplasmic components	GO:0005737
C	nucleus	nucleus]	GO:0005634
F	actin binding	protein binding	GO:0003779
P	response to oxidative stress	response to stress	GO:0006979
C	intracellular	other intracellular components	GO:0005622
C	mitochondrion	mitochondria]	GO:0005739
F	structural constituent of ribosome	structural molecule activity	GO:0003735
P	translation	protein metabolism	GO:0006412
P	translation	other cellular processes	GO:0006412
P	translation	other metabolic processes	GO:0006412
C	large ribosomal subunit	ribosome	GO:0015934
C	large ribosomal subunit	other cytoplasmic components	GO:0015934
C	large ribosomal subunit	other intracellular components	GO:0015934
C	chloroplast thylakoid membrane	plastid	GO:0009535
C	chloroplast thylakoid membrane	chloroplast	GO:0009535
C	chloroplast thylakoid membrane	other membranes	GO:0009535
C	chloroplast thylakoid membrane	other cytoplasmic components	GO:0009535
C	chloroplast thylakoid membrane	other intracellular components	GO:0009535
C	plastid large ribosomal subunit	plastid	GO:0000311
C	plastid large ribosomal subunit	ribosome	GO:0000311
C	plastid large ribosomal subunit	other cytoplasmic components	GO:0000311
C	plastid large ribosomal subunit	other intracellular components]	GO:0000311
F	fructose-bisphosphate aldolase activity	other enzyme activity	GO:0004332
P	pentose-phosphate shunt	other cellular processes	GO:0006098
P	pentose-phosphate shunt	other metabolic processes	GO:0006098
C	mitochondrial envelope	mitochondria	GO:0005740
C	mitochondrial envelope	other cytoplasmic components	GO:0005740
C	mitochondrial envelope	other intracellular components	GO:0005740
C	mitochondrion	mitochondria]	GO:0005739
F	ubiquitin-protein ligase activity	other enzyme activity	GO:0004842
P	ubiquitin-dependent protein catabolic process	protein metabolism	GO:0006511
P	ubiquitin-dependent protein catabolic process	other cellular processes	GO:0006511

(4) SSR-Primer Generator 개발 및 프로그램 등록

○ 대량의 DNA sequence dataset 으로부터 SSR-Primer들을 자동으로 디자인하기 위한 어플리케이션으로 SSR-Primer Generator(그림 13)를 개발하였으며 이를 2008.11. 18. 자로 창작작으로 컴퓨터프로그램보호위원회에 접수하고 2008.11.24자로 접수 공표일로 인정받았으며 2009.2.23.자로 SSR-Primer Generator의 명칭으로 대한민국 프로그램 번호 2009-01-129-000881으로 등록되었다. SSR-Primer Generator를 이용하여 분석된 내용은 그림 14와 같다.



그림 13. SSR-Primer Generator의 초기 화면

SSR Finding Result

No.	SSR ID	Ed. Seq. ID	Length (bp)	Repeat Type	SSR Begin	SSR End	SSR Length	SSR Score	SSR Motif	Ed. SSR Length (bp)	Ed. SSR Begin	Ed. SSR End
1	AAM0000001	SSRPGC000002	783	dinucleotide	636	673	38	100	AG	348	201	238
2	AAM0000002	SSRPGC000003	1406	mononucleotide	443	459	17	100	A	417	201	217
3	AAM0000003	SSRPGC000004	2461	mononucleotide	406	423	18	100	A	418	201	218
4	AAM0000004	SSRPGC000004	2461	mononucleotide	430	445	16	100	A	416	201	216
5	AAM0000005	SSRPGC000004	2461	dinucleotide	2060	2089	30	100	AG	430	201	230
6	AAM0000006	SSRPGC000005	1090	dinucleotide	528	557	30	100	AG	430	201	230

Primer Design Result

No.	SSR ID	Product Size (bp)	Primer ID (Left/Right)	Primer Sequence	Primer Begin	Primer Length	Primer Tm	GC Content
1	AAM0000001	162	AAMP00001_L	TGCAGCTCGATGTAATCTCC	145	20	58.979	50
			AAMP00001_R	ATCTTCTCCACCGTGAAC	306	20	58.992	50
2	AAM0000002	208	AAMP00002_L	CCGACCGCTTCAGATTTAAC	77	20	59.708	50
			AAMP00002_R	TTCTTGACGCCTTTCACAAC	284	20	58.9	45
3	AAM0000005	242	AAMP00003_L	TTTCCCAAGAAAGGTGTAGC	58	20	59.312	50
			AAMP00003_R	ATCTTCTCCACCGTGAAC	239	20	58.992	50
			AAMP00005_L	AGTGGAGAAGGAGACGAAGG	50	20	58.466	55

그림 14. SSR-Primer Generator의 결과 화면

나. 대량의 유전자 연관 분자 마커 개발

(1) 배추 BAC 클론 염기서열에서 디자인 한 SSR 마커 개발

(가) BAC-end sequences로부터 디자인된 SSR 마커 개발

① BAC-end sequences로부터 디자인된 SSR-Primer

앞의 '대용량의 *In Silico* 분자마커 개발 시스템 구축' 을 통하여, Genebank에 있는 BAC-end 염기서열로부터 마커 개발의 효율성을 높이고, 특정 부위의 유전자 탐색이 더 쉽게 하기위한 전략으로 염기서열내에 존재하는 총 30008개의 SSR을 대상으로 디자인한 2206개의 SSR 프라이머 중 에서 1218개의 프라이머를 선별한 바 있다.

② PCR 조건

PCR amplicon은 3% Agarose gel 및 6% PAGE에 영동하여 PCR 증폭여부와 다형성을 찾았다.

③ 결과

1차년도에는 motif를 우선순위로 하여(pentanucleotide, tetranucleotide, 일부inucleotide) 200개, 2차년도 800쌍, 3차년도 618쌍의 프라이머를 합성하여 다형성 검정을 하였다.

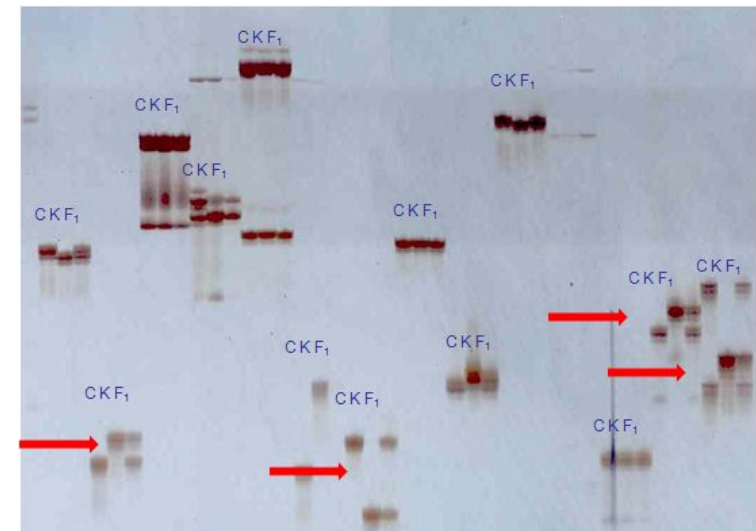


그림 15. 배추 BAC-end sequences로부터 디자인된 SSR-Primer의 PCR 증폭 후 6% PAGE gel에서 다형성 검정의 예시.

C, 지부; K, 권심; F₁, 지부와 권심간의 교배로 생성된 자식1세대를 나타내며, 화살표는 양친(지부와 권심)간의 밴드의 증폭 양상에서 차이가 있는 것을 나타낸다.

(나) 전체 염기서열 분석이 완료된 BAC 클론으로부터 디자인 한 SSR 마커 개발

① 전체 염기서열 분석이 완료된 BAC 클론으로부터 디자인 한 SSR-Primer

전체 염기서열 분석이 완료된 BAC 클론 염기서열을 마커개발에 사용하였다. 총 749 쌍의 프라이머를 합성하여 양친간에 다형성 검정을 수행 하였다.

② PCR 조건

PCR 조건은 위와 같다. PCR amplicon은 6% PAGE에 영동하여 PCR 증폭여부의 다형성을 찾았다.

③ 결과

총 325쌍의 프라이머가 6%의 PAGE 영동에서 다형성을 나타냈다.

(다) 배추 Indel 마커 개발

○ 지부계, 권심계 배추의 genomic sequence 자료를 비교하여 염기서열간에 차이를 기반으로 프라이머를 디자인하여 다형성을 나타내는 148개의 Indel 마커를 개발하였다.

(라) BAC 클론에서 개발된 SSR 마커의 응용(결구형질 분석위한 유전자 지도 작성)

○ 본 실험실에서 기 확보하고 있는 SSR 마커의 응용가능성을 검정하였다. 지부로 만든 BAC library의 BAC 클론들에서 개발된 286개의 SSR 마커를(2. 분자마커와 표준유전집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성 참고) 본 실험실에서 개발한 타 집단에 대해 마커 응용 가능성을 검정하였다(표 7).

표 7. SSR 마커의 타 집단에 응용가능성 검정 결과

프라이머	배추의 결구 크기		결구 형태			
	큰 결구 & 작은 결구	지부 & 작은 결구	지부 & 직통형 배추	지부 & RCBr	지부 & 청경채	지부 & 조기개화형 청경채
PCR 수행	268	268	268	190	268	268
다형성	179	139	183	97	190	204
다형성 (%)	67	52	68	51	71	76

○ 지부와 권심간에 다형성을 나타내었던 마커 세트를 이용하여 응용가능성 검정 결과 적게는 51%에서 많게는 76%까지 다형성을 나타내었다.

(2) 배추 ESTs로부터 디자인된 SSR마커 개발

(가) ESTs로부터 디자인된 SSR-Primer

- 앞의 '대용량의 In Silico 분자마커 개발 시스템 구축' 을 통하여, Genebank에 있는 EST 염기서열로부터 마커 개발의 효율성을 높이고, 특정 부위의 유전자 탐색이 더 쉽게 하기위한 전략으로 총 2,121개의 EST-SSR primer를 확보 하였다.
- 총 707개의 primer를 합성하여 지부, 권심, RCBr에서 PCR 증폭 여부와 다형성 검정을 하였다.

(나) PCR 반응조성과 다형성 검정

- PCR 반응 조성은 총 반응 양을 10 μ l로 하고, primer 농도는 0.4 μ M, dNTP 농도 250 μ M, Taq polymerase 0.1 unit 와 주형DNA를 10 ng을 이용하였다. 증폭을 위한 profile은 Cycle을 시작하기전 시료를 94 $^{\circ}$ C 에서 5분간 predenaturation하였고, 94 $^{\circ}$ C에서 45sec, 프라이머별 적정 anelling 온도에서 45sec, 72 $^{\circ}$ C에서 1min 간 합성을 1 cycle로 하여 35 cycle을 수행하였다. 35 cycle증폭 후에는 완전한 DNA extension을 위해 72 $^{\circ}$ C에서 7분간 final elongation을 수행하였다.
- 증폭단편의 예상되는 size가 150-300 bp이므로 nuceive 3:1 agarose gel 또는 PAGE을 이용하여 분석하였다. Agarose gel의 조건은 1.5-3% 농도에서 gel에 60V로 3-7시간 전기영동 후 Ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator 상에서 증폭단편을 관찰하고 Chiifu, Kenshim 간에 polymorphic marker를 찾았다. PAGE 조건은 6% PAGE gel에 90W로 2시간-2시간 20분 영동하여 분석하였다.

(다) 결과

- PCR 증폭단편의 다형성은 PAGE을 이용하여 분석하였다. 총 707 프라이머 중에서 Chiifu, Kenshim 간에 691개의 프라이머가 증폭되었고 이 중에서 166개(24%)가 다형성을 나타내 마커로 선발되었다(표 9). 같은 프라이머 세트를 이용하여 Chiifu, RCBr 간에 다형성을 조사한 결과 증폭되는 프라이머의 수는 682개로 다소 적었지만, 다형성을 나타내는 프라이머는 292개(42%)로 나타났다. 높은 다형성 비율은 지부와 권심이 육종의 소재로 사용하는 내혼계임을 볼때, 이들과는 유전적 근연관계가 먼 내혼계인 RCBr에서 예상되는 결과이며, 이들의 정보를 통해 지부와 권심의 교배로 만들어진 CKRI 유전자 지도와 지부와 RCBr의 교배로 만들어진 CRF2 집으로 작성한 유전자 지도간에 통합유전자 지도를 작성하였다(2. 분자마커와 표준유전집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성 참조). 지부와 권심간에 다형성을 나타내는 프라이머는 166개였다(그림 17).

표 8. SSR 마커 개발을 위하여 배추 ESTs로부터 디자인된 SSR-Primer의 1차 프라이머 합성 및 다형성 효율 검증

프라이머 수	지부 & 권심	지부 & RcBr
합성 및 다형성 검증	124	124
PCR 증폭	118	118
다형성	51 (41%)	77 (62%)

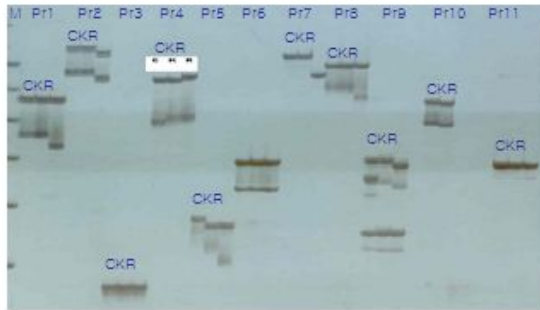


그림 16. EST-SSR 마커를 이용하여 3종의 내흔계(지부, C; 권심, K; RcBr, R) 간에 다형성 검증의 예시. M, size 마커; Pr1~Pr11은 각기 다른 프라이머를 나타낸다.

표 9. EST-SSR 마커를 이용하여 3종의 내흔계(지부, C; 권심, K; RcBr, R) 간에 다형성 검증 결과 요약

프라이머 수	지부 & RcBr	지부 & 권심
합성 및 다형성 검증	707	707
PCR 증폭	682	191
다형성	292(42%)	166(24%)

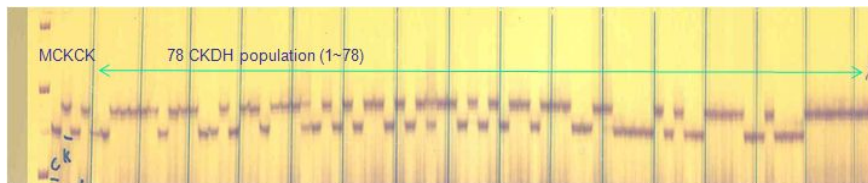


그림 17. EST-SSR 마커 ID, ACMP00385를 이용하여 78계통의 CKDH 집단에서 다형성의 분리양상 결과. M, size 마커; C, 지부; K, 권심

(3) 개발된 배추 분자 마커의 타 작물 적용 가능 여부(응용)

(가) 양배추에 적용

○ 배추로부터 개발된 SSR 마커가 양배추, 유채 등 기타 배추과 작물에 응용이 가능한지를 검토하기 위하여 기존에 개발된 SSR 마커를 이용하여 양배추의 경우는 배추 좁나방 저항성 분석을 위하여 본 연구실에서 확보하고 있는 유전집단의 모본과 부분 계통을 이용하여 검토한 결과 표 10에서와 같이 총 680개 SSR 마커 중 607개가 PCR 증폭이 되었으며, 이중 171개가 다형성을 보여 약 25%의 SSR 마커가 이용될 수 있었다.

(나) 유채에 적용

○ 유채의 경우 국제적으로 표준 유전자집단으로 사용되고 있는 TN 집단 (Tapedo 와 NingYu)의 모본 및 부분을 이용하여 314개의 SSR 마커를 적용해본 결과 111개 마커에서 다형성을 보여 양배추보다 높은 35%의 다형성을 보여주었다. 이러한 결과는 이미 본인과 중국의 Jinling Meng 박사에 의해 발표된 논문으로 증명한 바 있다. (Long et al. 2007. Flowering time QTL analysis of oilseed *Brassica* in multiple environments and genome-wide alignment with *Arabidopsis*. *Genetics* 177: 2433-2444)

○ 이러한 결과는 앞으로 개발되는 모든 배추 SSR 마커는 양배추, 유채, 무, 등 기타 배추과 채소에 전체적으로 이용될 수 있음을 보여주어 배추 SSR 마커의 응용가능성이 대단히 큼을 보여주고 있다.

표10.. SSR 마커를 타 종 (*B. oleracea*, *B. napus*) 에 응용가능성 검증 결과

SSR markers 개수	<i>B. oleracea</i> (배추좁나방저항성집단)	<i>B. napus</i> * (TN 집단)
다형성 검증 분석에 사용	680	314
PCR 증폭	607 (89%)	268 (85%)
다형성	171 (25%)	111 (35%)

* 유채의 분석은 본 과제 시작 전에 일부 진행된 바 있음

(다) 배추의 EST-SSR 마커를 이용하여 배추과 유전자원에서 allelic diversity 검증

○ 유전자 지도에 표기 하기 위해 238개의 unigene 유래 SSR 마커(UGMS)를 이용하여 48 점의 다른 *B. rapa* 아종에서 allelism test를 수행하였다(그림 19). 평균 유전자좌는 2~8개 이었고, 평균은 2.9개 였다. 본 과제에서 작성한 고밀도 유전자지도에 사용한 분자마커는 높은 transferable 마커로 QTL부위에서의 지도의 해상도를 높여줄 수 있고, marker-assisted selection 과 *B. rapa*에서 타종과의 비교 유전체가 가능할 것으로 기대한다.

표 11. 마커 transferability 검정위해 사용한 48점의 식물재료

Serial number	Code name	Accession number	Genus	Species
1	RcBr	RCBr	<i>Brassica</i>	<i>rapa</i>
2	Chiifu	Chiifu	<i>Brassica</i>	<i>rapa</i>
3	Kenshim	Kenshim	<i>Brassica</i>	<i>rapa</i>
4	YSPB-24	YSPB	<i>Brassica</i>	<i>rapa</i>
5	Pusa Valyani	Pusa Valyani	<i>Brassica</i>	<i>rapa</i>
6	DS	DS/ cnu 28003	<i>Brassica</i>	<i>oleraceae</i>
7	CT	CT/cnu 28004	<i>Brassica</i>	<i>oleraceae</i>
8	Sangnam	Sangam	<i>Brassica</i>	<i>nigra</i>
9	94029	94029	<i>Brassica</i>	<i>nigra</i>
10	Car-6	Car-6	<i>Brassica</i>	<i>carinata</i>
11	HC-17	HC-17	<i>Brassica</i>	<i>carinata</i>
12	T47	Tapidor	<i>Brassica</i>	<i>napus</i>
13	N48	Ning you 7	<i>Brassica</i>	<i>napus</i>
14	V	Varuna	<i>Brassica</i>	<i>juncea</i>
15	H	Heera	<i>Brassica</i>	<i>juncea</i>
16	Don-VI	Donskaja-IV	<i>Brassica</i>	<i>juncea</i>
17	Tm4	TM4	<i>Brassica</i>	<i>juncea</i>
18	Lensby	Lensby	<i>Arabidopsis</i>	<i>thaliana</i>
19	Etr	Etr	<i>Arabidopsis</i>	<i>thaliana</i>
20	Btour	Btour	<i>Brassica</i>	<i>tourneforti</i>
21	G3	BRA 2850	<i>Brassica</i>	<i>balearica</i>
22	G4	BRA 1877	<i>Brassica</i>	<i>barrelieri</i>
23	G6	BRA 2922	<i>Brassica</i>	<i>bivoniana</i>
24	G7	K 9825	<i>Brassica</i>	<i>bourgeaui</i>
25	G11	K 6631	<i>Brassica</i>	<i>cretica</i>
26	G12	BRA 2919	<i>Brassica</i>	<i>desnottesii</i>
27	G14	K 9402	<i>Brassica</i>	<i>drepanensis</i>
28	G19	BRA 1039	<i>Brassica</i>	<i>fruticulosa</i>
29	G20	BRA 1810	<i>Brassica</i>	<i>fruticulosa</i>
30	G21	BRA 1169	<i>Brassica</i>	<i>gravinae</i>
31	G23	BRA 2856	<i>Brassica</i>	<i>incana</i>
32	G24	K 5997	<i>Brassica</i>	<i>insularis</i>
33	G25	K 7635	<i>Brassica</i>	<i>macrocarpa</i>
34	G27	K9242	<i>Brassica</i>	<i>mourorum</i>
35	G31	BRA 1645	<i>Brassica</i>	<i>repanda</i>
36	G32	K 6877	<i>Brassica</i>	<i>rupestris</i>
37	G35	K 8823	<i>Brassica</i>	<i>spinescens</i>
38	G36	DEU-BRA 1896	<i>Brassica</i>	<i>villosa</i>
39	28697	28697	<i>Camelina</i>	<i>sativa</i>
40	26165	26165	<i>Herba</i>	<i>cichori</i>
41	26059	26059	<i>Diplotaxis</i>	<i>muralis</i>
42	28614	28614	<i>Eruca</i>	<i>Sativa</i> Mill
43	28699	28699	<i>Hesperis</i>	<i>matronalis</i>
44	26056	26056	<i>Moricandia</i>	<i>avensis</i> DC
45	28672	28672	<i>Sinapis</i>	<i>alba</i> L
46	28597	28597	<i>Raphanus</i>	<i>sativus</i> L
47	26080	26080	<i>Sisymbrium</i>	<i>leteum</i>
48	26093	26093	<i>Lepidium</i>	<i>apetalum</i>

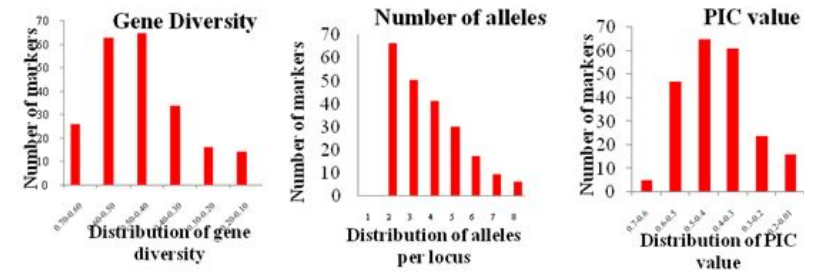


그림 18. 48점에서 UPGM 마커의 gene diversity, allelism, PIC value의 분포

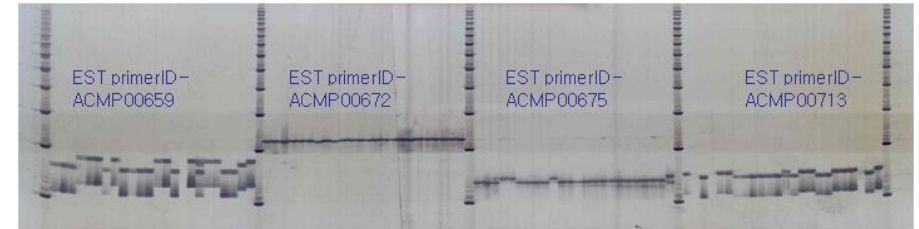


그림 19. EST-SSR 마커 이용하여 *Brassica rapa* 24 subspecies 간에 marker transferability 를 검정.

(3) SNP 마커의 개발

(가) 배추 Re-sequencing을 통하여 유전체 염기서열 확보

- 권심, RcBr, 내서성, 내병성(노균병, 뿌리혹병) 형질의 내흔계 9점을 Re-sequencing 을 수행하여 유전체 염기서열을 확보하였다. 권심은 reference genome인 지부의 유전자 지도 작성을 위해 사용한 parent line으로 reference genome의 유전자 지도에서 SNP 마커 개발에 유용할 것으로 기대한다.
- RcBr은 야생형 Brassica로 reference genome이 intraspecific으로 genome 간의 다형성이 적은 점을 보완가능하며, 야생형으로 생육시기, 개화 조건에서 기존의 작물과 야생형간의 차이점을 연구하는데 있어 중요한 재료로 이용 될 것이다.
- 노균병 저항성 계통과 뿌리혹병 저항성 계통의 유전체 정보는 배추에서 중요 병인 뿌리혹병과 노균병 저항성 형질에 연관하여 마커개발 및 유전자 탐색에 있어 좋은 재료로 이용 될 것이다.
- 총 9점을 대상으로 하여 Solexa사의 Illumina 1.3로 re-sequencing 하였으며, 생산된 유전체의 short read는 30X(2종)에서 18X(7종)으로 읽었다.

(나) 배추 Re-sequencing 의 데이터 분석

- 서로 다른 9개종을 각각 resequencing 한 염기서열을 Brassica rapa genome을 reference로 하여, SNP(Single Nucleotide Polymorphism)를 예측하였다. Reference genome 데이터는 scaffold서열로 구성되어 있으며, BGI에서 다운로드 받았다.
- NGS(Next Generation Sequencing) 기술로 얻은 short read 데이터는 각각의 서열과 base calling quality정보를 포함하고 있는 FASTQ 포맷으로 제공 된다. 121nt, 78nt 길이로 읽은 이들 데이터에는 퀄리티가 낮은 base가 많이 내포되어 있어 alignment에 나쁜 결과를 초래할 수 있으므로 분석에 앞서 데이터 퀄리티를 체크하여 불량 base는 제거하는 작업을 하였다.
- 표 12는 input 파일의 read 개수, base 개수 그리고 trimming 후 분석에 이용된 read와 base 개수를 나타내고 있고 퀄리티 체크 후 전체 지놈 사이즈의 coverage와 데이터 실손량을 보여준다. 그림20은 SolexaQA 패키지에서 제공하는 좋은 예와 나쁜 예 이다.

표 12. Raw data와 trimmed data의 서열정보

No	Sample	Short-read file	Raw data		Trimmed data		
			Read #	Bases(bp)	Read #	Bases(bp)	Avg. read
1	271002KS: 30X	271002KS_s1_1	34,462,352	(*78bp=) 2,688,063,456	34,462,352	2,460,093,800	71
		271002KS_s1_2	34,462,352	(*78bp=) 2,688,063,456	34,462,352	2,441,581,113	70
		271002KS_s2_1	34,575,607	(*78bp=) 2,696,897,346	34,575,607	2,491,370,439	72
		271002KS_s2_2	34,575,607	(*78bp=) 2,696,897,346	34,575,607	2,427,000,817	70
		271002KS_s3_1	34,598,588	(*78bp=) 2,698,689,864	34,598,588	2,488,082,947	71
2	RcBr: 30X	271002KS_s3_2	34,598,588	(*78bp=) 2,698,689,864	34,598,588	2,428,591,835	70
		530M (≒ ≒30.5X)	207,273,094	16,167,301,332	207,273,094	14,736,720,951(-8.9%, 27.8X)	
		RcBr_s4_1	33,318,730	(*78bp=) 2,598,860,940	33,318,730	2,401,560,123	72
3	Hcl-cul: 18X	RcBr_s4_2	33,318,730	(*78bp=) 2,598,860,940	33,318,730	2,360,521,168	70
		RcBr_s5_1	32,875,363	(*78bp=) 2,564,278,314	32,875,363	2,385,535,599	72
		RcBr_s5_2	32,875,363	(*78bp=) 2,564,278,314	32,875,363	2,335,840,424	71
		RcBr_s6_1	33,008,459	(*78bp=) 2,574,659,802	33,008,459	2,398,655,503	72
		RcBr_s6_2	33,008,459	(*78bp=) 2,574,659,802	33,008,459	2,350,765,043	71
4	10ML: 18X	530M (≒ ≒29.2X)	198,405,104	15,475,598,112	198,405,104	14,232,877,860(-8.0%, 26.9X)	
		Hc-cul_1	39,686,703	(*121bp=) 4,802,091,063	39,686,703	3,258,193,960	82
		Hc-cul_2	39,686,703	(*121bp=) 4,802,091,063	39,686,703	2,638,791,336	66
5	CNV: 18X	530M (≒ ≒18.1X)	79,373,406	9,604,182,126	79,373,406	5,896,985,296(-38.5%, 11.1X)	
		10ML_1	39,353,088	(*121bp=) 4,761,723,648	39,353,088	3,162,995,667	80
		10ML_2	39,353,088	(*121bp=) 4,761,723,648	39,353,088	2,619,112,761	66
6	CR: 18X	530M (≒ ≒17.9X)	78,706,176	9,523,447,296	78,706,176	5,782,108,428(-39.3%, 10.9X)	
		CNV_1	38,793,020	(*121bp=) 4,693,955,420	38,793,020	3,237,125,092	83
		CNV_2	38,793,020	(*121bp=) 4,693,955,420	38,793,020	2,610,421,326	67
		530M (≒ ≒17.7X)	77,586,040	9,387,910,840	77,586,040	5,847,546,418(-37.7%, 11.0X)	
		CR_1	39,887,853	(*121bp=) 4,826,430,213	39,887,853	3,321,238,225	83
7	DMR: 18X	CR_2	39,887,853	(*121bp=) 4,826,430,213	39,887,853	2,746,795,842	68
		530M (≒ ≒18.2X)	79,775,706	9,652,860,426	79,775,706	6,068,034,067(-37.1%, 11.4X)	
		DMR_1	39,522,624	(*121bp=) 4,782,237,504	39,522,624	3,245,231,859	82
8	M7: 18X	DMR_2	39,522,624	(*121bp=) 4,782,237,504	39,522,624	2,632,961,065	66
		530M (≒ ≒18.0X)	79,045,248	9,564,475,008	79,045,248	5,878,192,924(-38.5%, 11.1X)	
		M7_1	39,533,066	(*121bp=) 4,783,500,986	39,533,066	3,183,206,040	80
		M7_2	39,533,066	(*121bp=) 4,783,500,986	39,533,066	2,578,479,589	65
		530M (≒ ≒18.1X)	79,066,132	9,567,001,972	79,066,132	5,761,685,629(-39.8%, 10.9x)	
9	DMS: 18X	DMS_1	35387325	4,281,866,325	33,477,408	3,029,291,247	90
		DMS_2	35387325	4,281,866,325	31,951,513	2,701,787,220	84
		530M (≒ ≒16.1X)	70774650	8,563,732,650	65,428,921	5,731,078,467(-33.1%, 10.8X)	

9점의 re-sequencing 염기서열을 reference map 에 위치한 scaffold에 근거하여 10개의 linkage group으로 분류하였다. 각 linkage group으로 분류 후 남은 scaffold는 Brassica_rapa_UN으로 표기하였다.

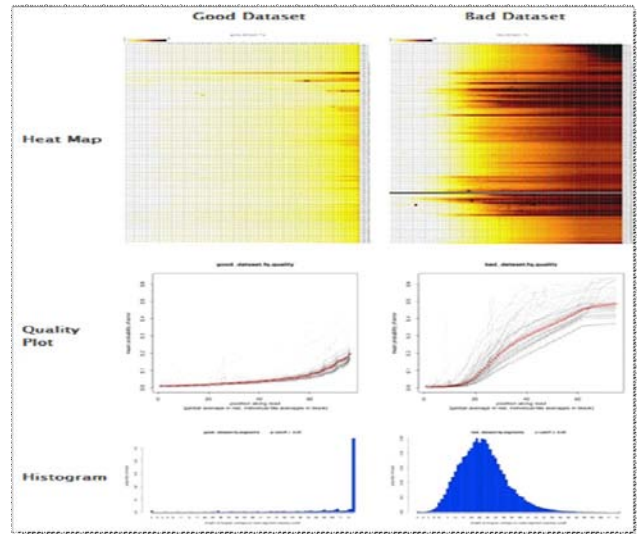


그림 20. Good quality vs. bad quality (SolexaQA 제공)

표 15. Linkage Group별로 분할된 scaffold의 수와 예측된 유전자의 수

Linkage group	Scaffold의 수	예측된 gene의 수
chr.01	12	4017
chr.02	3	954
chr.03	9	6690
chr.04	7	2042
chr.05	8	2960
chr.06	8	3827
chr.07	7	4217
chr.08	5	2377
chr.09	14	3869
chr.10	4	3693
chr.NA	40476	51571

9점 re-sequencing 데이터에서 SNP 예측 후 gene prediction 데이터정보를 이용하여 genic, intergenic SNP로 annotation하였다. 표 13부터 표 22에 각 종별 annotation결과를 정리하였다. 각 시료에서 예측한 SNP 결과를 비교한 결과는 다음과 같다.

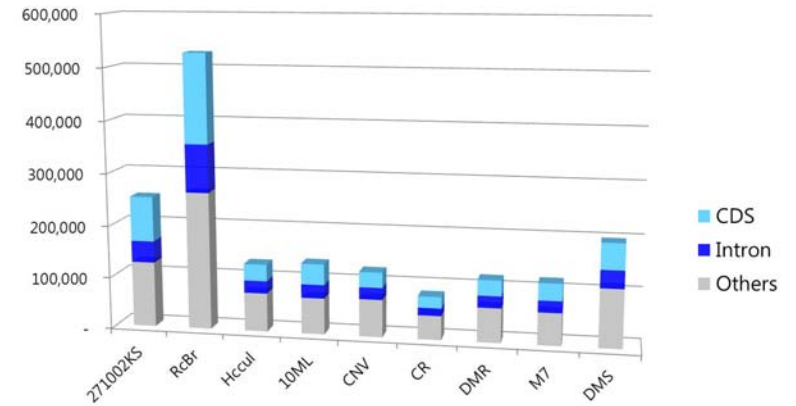


그림 21. 9개종의 genic & intergenic SNP 분포도

reference genome을 대상으로 하여 권심에서는 253389개, RcBr에서는 5208056개, Hcl-cul에서는 130582개, 10ML에서는 135599개, CNV에서는 124452개, CR에서는 82642개, DMR에서는 119002개, M7에서는 118152개, DMS에서는 197634개가 예측되었다.

표 13 . 271002KS의 Linkage group별genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
271002KS	chr.01	6419	3093	10084	19596
	chr.02	2372	1348	3512	7232
	chr.03	14915	6942	21409	43266
	chr.04	3515	1532	5636	10683
	chr.05	7863	3502	11128	22493
	chr.06	10023	4526	14623	29172
	chr.07	10411	4720	15572	30703
	chr.08	4413	1867	5771	12051
	chr.09	9840	4858	14517	29215
	chr.10	9161	4196	12065	25422
	chr.UN	7425	4772	11359	23556
	Total	86357	41356	125676	253389

표 14. RcBr의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
RcBr	chr.01	14349	6677	22620	43646
	chr.02	3258	1585	4525	9368
	chr.03	22746	10723	31533	65002
	chr.04	7466	3315	12028	22809
	chr.05	11001	5029	16663	32693
	chr.06	14538	7002	21817	43357
	chr.07	14876	7193	24245	46314
	chr.08	8904	3990	11564	24458
	chr.09	13278	6393	20098	39769
	chr.10	13211	6185	17782	37178
	chr.UN	48374	33270	81818	163462
Total		172001	91362	264693	528056

표 15. Hcl-cul의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
Hcl-cul	chr.01	2556	1672	5960	10188
	chr.02	421	331	1036	1788
	chr.03	4017	2630	8707	15354
	chr.04	1236	767	3149	5152
	chr.05	1804	1246	4097	7147
	chr.06	2453	1521	5443	9417
	chr.07	2340	1567	6079	9986
	chr.08	1283	866	2619	4768
	chr.09	2187	1485	5176	8848
	chr.10	2053	1431	4278	7762
	chr.UN	11917	10397	27858	50172
Total		32267	23913	74402	130582

표 16. 10ML의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
10ML	chr.01	3147	1812	5576	10535
	chr.02	531	347	970	1848
	chr.03	4909	2802	8300	16011
	chr.04	1537	870	2950	5357
	chr.05	2253	1343	3901	7497
	chr.06	3046	1708	5143	9897
	chr.07	2908	1768	5654	10330
	chr.08	1591	941	2498	5030
	chr.09	2709	1516	4649	8874
	chr.10	2683	1527	4105	8315
	chr.UN	14451	11518	25936	51905
Total		39765	26152	69682	135599

표 17. CNV의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
CNV	chr.01	1831	1290	4799	7920
	chr.02	663	528	1459	2650
	chr.03	3091	2028	6780	11899
	chr.04	1259	761	3544	5564
	chr.05	1586	1077	4229	6892
	chr.06	2261	1517	5293	9071
	chr.07	1895	1304	5346	8545
	chr.08	1270	897	2960	5127
	chr.09	1652	1137	4269	7058
	chr.10	2062	1417	4341	7820
	chr.UN	11805	10932	29169	51906
Total		29375	22888	72189	124452

표 18. CR의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
CR	chr.01	1554	880	3186	5620
	chr.02	335	240	731	1306
	chr.03	2246	1313	4367	7926
	chr.04	903	492	2192	3587
	chr.05	1147	704	2874	4725
	chr.06	1774	1011	3654	6439
	chr.07	1119	593	2721	4433
	chr.08	578	360	1051	1989
	chr.09	1488	838	3090	5416
	chr.10	1122	674	1966	3762
	chr.UN	9469	7474	20496	37439
Total		21735	14579	46328	82642

표 19. DMR의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
DMR	chr.01	2303	1633	5583	9519
	chr.02	418	356	940	1714
	chr.03	3649	2494	7692	13835
	chr.04	965	543	2472	3980
	chr.05	1382	992	3086	5460
	chr.06	2475	1512	5240	9227
	chr.07	1985	1402	4846	8233
	chr.08	1169	827	2474	4470
	chr.09	2079	1403	4524	8006
	chr.10	1859	1283	3554	6696
	chr.UN	11598	10319	25945	47862
Total		29882	22764	66356	119002

표 20. M7의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
M7	chr.01	2438	1423	4546	8407
	chr.02	450	310	896	1656
	chr.03	4585	2744	8018	15347
	chr.04	1171	618	2472	4261
	chr.05	1601	1029	3230	5860
	chr.06	2616	1380	4487	8483
	chr.07	2355	1550	5046	8951
	chr.08	1676	1143	3169	5988
	chr.09	1975	1276	3632	6883
	chr.10	1968	1059	3234	6261
	chr.UN	12286	10047	23722	46055
Total		33121	22579	62452	118152

표 21. DMS의 Linkage group별 genic & intergenic SNP

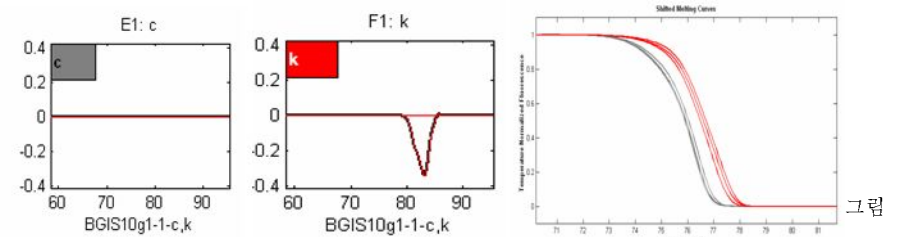
Sample	Linkage group	CDS	Intron	Others	Total
DMS	chr.01	2574	1471	5487	9532
	chr.02	578	354	1035	1967
	chr.03	6799	3950	14082	24831
	chr.04	1497	824	3748	6069
	chr.05	3469	2038	8400	13907
	chr.06	4580	2894	10666	18140
	chr.07	3866	2228	8756	14850
	chr.08	2280	1379	4644	8303
	chr.09	3567	2230	8462	14259
	chr.10	3299	1927	6018	11244
	chr.UN	17829	15117	41586	74532
Total		50338	34412	112884	197634

표 22. 유전자의 SNP의 예측에 대한 최종 결과의 간단한 예

linkage group	Gene id	Gene Start	Gene End	Type	SNP Position	Reference Nucleotide	Consensus Nucleotide
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	intron	671	G	T
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	intron	678	T	A
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	intron	748	A	T
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	intron	760	T	G
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	exon	1186	A	G
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	exon	1188	A	G
A04	BGIScaffold000016.g1	1	1899	exon	1469	T	Y
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	exon	6384	C	T
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	intron	6526	A	G
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	intron	6709	C	M
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	exon	6810	T	A
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	exon	6956	A	T
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	exon	7083	C	Y
A04	BGIScaffold000016.g2	5899	7101	exon	7096	A	G
A04	BGIScaffold000016.g3	9386	13381	exon	9735	G	A
A04	BGIScaffold000016.g3	9386	13381	intron	12768	T	C
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15390	G	A
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15407	T	A
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15408	C	A
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15409	T	A
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15495	G	A
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15507	C	T
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15574	T	Y
A04	BGIScaffold000016.g5	15376	19191	exon	15581	T	G

(다) SNP 마커의 분석(high-throughput genotyping)을 위한 조건 검증

High-throughput genotyping을 위해 HRM인 LightScan을 이용하여 SNP를 개발하고자 하였다. 유전자를 기반으로 하여 예측한 SNP를 이용하여 마커개발에 사용하기 위하여 HTM 조건을 검증하였다. test version으로 20개를 상용하였고, PCR로 증폭하여 HRM으로 분석하기 전 아가로스 젤로 영동하여 PCR 증폭여부 및 밴드의 갯수를 확인하였다. 단일밴드로 증폭되면서 증폭되었을 경우 예상되는 크기와 일치하는 PCR 산물을 이용하여 HRM으로 분석하였다. 그림 22는 HRM에서 다형성을 나타내는 SNP 마커의 예시이다.



22. HRM에서 다형성을 나타내는 SNP 프라이머의 분석 결과

(라) SNP 마커 개발

① *Brassica rapa*에서 형태적 형질과 연관된 옥신 유전자들을 이용한 SNP 마커 개발

식물이 씨에서 발아하여 성장하는 데에는 여러 가지 조절물질이 필요하다. 이 중에서 옥신은 식물에서 연구가 가장 오래 된 호르몬으로 천연으로 가장 널리 분포하는 3-인돌릴 아세트산 및 이것과 똑같은 작용을 보이는 물질을 옥신이라 총칭한다. 합성옥신에도 여러 가지 종류의 것이 있는데, 2,4-디클로로포콕시아세트산(2, 4-D라 약칭)은 대표적인 것이다.

옥신은 (IAA)가 보여주는 가장 현저한 생리작용은 어린 식물의 세포신장효과인데 이 생리작용을 이용한 귀리 신장 테스트, 귀리 굴곡 테스트 등이 생물이시험법으로 고안되었다. 또 식물이 나타내는 굴성(예를 들면 굴광성·굴지성)이나 세포막의 투과성을 높이고, 세포분열, 부정근형성, 화아형성 등을 촉진하고, 측아 성장을 억제한다. 제조, 휴면·저장의 조절 등에 합성 옥신이 쓰이고 있다. 그밖에 IAA는 절제한 줄기·잎에서 부정근의 발생을 촉진하는 작용이 있다. 식물의 잎이나 과실이 줄기에서 탈락하는 현상을 탈리 현상이라 하는데 식물이 나타내는 중요한 생리현상이다. 이 현상은 IAA를 비롯하여 다른 식물호르몬, 아브시스산이나 에틸렌에 의해 교묘히 제어되고 있는데 IAA는 이탈을 지연시키는 역할을 한다. 식물의 암꽃술 하부에 있는 씨방은 수분 후 수정하면 비대해져 과실을 형성한다. 수정한 씨방 중의 IAA의 양이 증대하는 것으로 미루어 결실에 IAA가 중요한 역할을 하고 있다고 보고되어 있다. 이러한 옥신은유전체에 multigene family로 존재하며 Auxin/Indole-3-Acetic Acid (*Aux/IAA*) transcription factors는 식물의 옥신 반응에 주요 조절인자이다. 따라서 식물의 다양한 생리반응 및 잎발달을 비롯한 형태에 관여되고 있는 옥신 관련 유전자에 대해 배추유전체에서 찾아보고 이들을 마커로 개발하고자 하였다.

애기장대에서 기 보고된 옥신유전자에 대하여 애기장대와 지부계 배추(*Brassica rapa*)와 비교유전체 분석을 통해 배추 유전체에 있는 옥신 관련 유전자를 탐색하였다. Pfam *Aux/IAA* domain (PF02309)을 이용하여 HMMER으로 분석하여 유전체에서의 위치, duplication, orthologs를 탐색하여 총 81개의 *Aux/IAA* 유전자를 찾았다. 확보한 *B. rapa Aux/IAA* 유전자를 대상으로 하여 50K microarray data에서 발견되는 양상을 비교한 결과 63개의 유전자가 발견 되고 있는 것을 확인 하였고 이들의 발현 양상이 식물의 조직별로 차이가 있음을 확인하였다. 따라서 선발한 유전자에 대하여 지부계 배추와 RcBr사이에서 염기서열상의 차이를 확인하였다. 선발한 *Aux/IAA* 유전자들 중에서 51개의 유전자에서 단일염기서열차이(Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs)를 확인할 수 있었는데 엑손영역에 157 SNP, 인트론 영역에 73개가 존재하여 총 230개 였다(표 23). 이들을 이용하여 프라이머를 디자인하고 발현정도를 확인하고 있는 중이다(표 24). 지부계의 RcBr은 모두 *Brassica rapa*이나 지부계는 배추과 작물 육성에 사용되는 우수계통이며 RcBr은 세대교변이 매우 빠르며 잡종성에 가깝다. 이들은 사용 용도면에서 뿐만 아니라 배추라는 작물의 주요 특성인 결구형성 및 잎의 형태적인 면에서 매우 다르다. 이렇게 현저하게 다른 표현형적 차이에 식물생장 호르몬 중에 하나인 옥신이 관여할 것으로 생각되고 있다. 따라서 두 식물이 가지고 있는 옥신 관련 유전자들에서 공통적으로 존재하는 보존적인 유전자와 다양성을 조사하고 이들간의 SNP 분석 및 발현 양상을 살펴봄으로써 식물의 성장과 형태에 있어 *B. rapa*에서 *Aux/IAA* 유전자들의 상관성 연구를 위한 기초를 제공 하였다.

표 23. 염색체별로 옥신관련 유전자 및 해당 유전자에서 단일염기서열변이(SNP) 개수 요약

Chr	No. of SNPs	No of genes
A01	36	6
A02	9	2
A03	17	4
A04	14	3
A05	21	7
A06	34	8
A07	22	3
A08	36	5
A09	23	7
A10	16	5
Unknown	2	1
Total	230	51

표 24. 배추에서 옥신관련 유전자들의 위치 및 SNP (예시)

GeneID	Gene Feature	ref bp	sub bp	Chr	Block	At ortholog ID	At symbol	At description	Pfam ID
candidate1	Exon	A	T	A09	X	AT5G65670.1	IAA9	indole-3-acetic acid inducible 9	PF02309.11
candidate2	Intron	A	G	A09	X	AT5G65670.1	IAA9	indole-3-acetic acid inducible 9	PF02309.11
candidate3	Intron	T	A	A09	X	AT5G65670.1	IAA9	indole-3-acetic acid inducible 9	PF02309.11
candidate4	Intron	A	G	A09	X	AT5G65670.1	IAA9	indole-3-acetic acid inducible 9	PF02309.11
candidate5	Intron	A	G	A05	F	AT3G23050.1	IAA7, AXR2	indole-3-acetic acid 7	PF02309.11
candidate6	Intron	A	G	A05	F	AT3G23050.1	IAA7, AXR2	indole-3-acetic acid 7	PF02309.11
candidate7	Exon	T	C	A05	F	AT3G23050.1	IAA7, AXR2	indole-3-acetic acid 7	PF02309.11
candidate8	Exon	G	C	A05	F	AT3G23050.1	IAA7, AXR2	indole-3-acetic acid 7	PF02309.11
candidate9	Intron	C	A	A01	F	AT3G04730.1	IAA16	indoleacetic acid-induced protein 16	PF02309.11
candidate12	Exon	T	A	A04	I	AT2G22670.4	IAA8	indoleacetic acid-induced protein 8	PF02309.11
candidate13	Exon	A	C	A04	I	AT2G22670.4	IAA8	indoleacetic acid-induced protein 8	PF02309.11
candidate14	Exon	G	C	A04	I	AT2G22670.4	IAA8	indoleacetic acid-induced protein 8	PF02309.11

- ② 개화 연관 SNP 마커 개발(3. 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유전형질관련 유전자좌들의 효율적 탐색도도 참조)
- 육종에 필요한 특정 유전자 연관 SNP 마커들을 개발하기 위하여 부모계통으로부터 후보 유전자 염기서열들을 분석하였다. 잎, 추대, 개화, 꼬투리 길이와 너비, 꼬투리 당 종자 수, 종자 무게 특성에 대한 분석으로 16개의 후보유전자를 선별하여 이들간의 SNP를 조사한 결과 총 51개의 SNP를 확인하였다(그림 23).

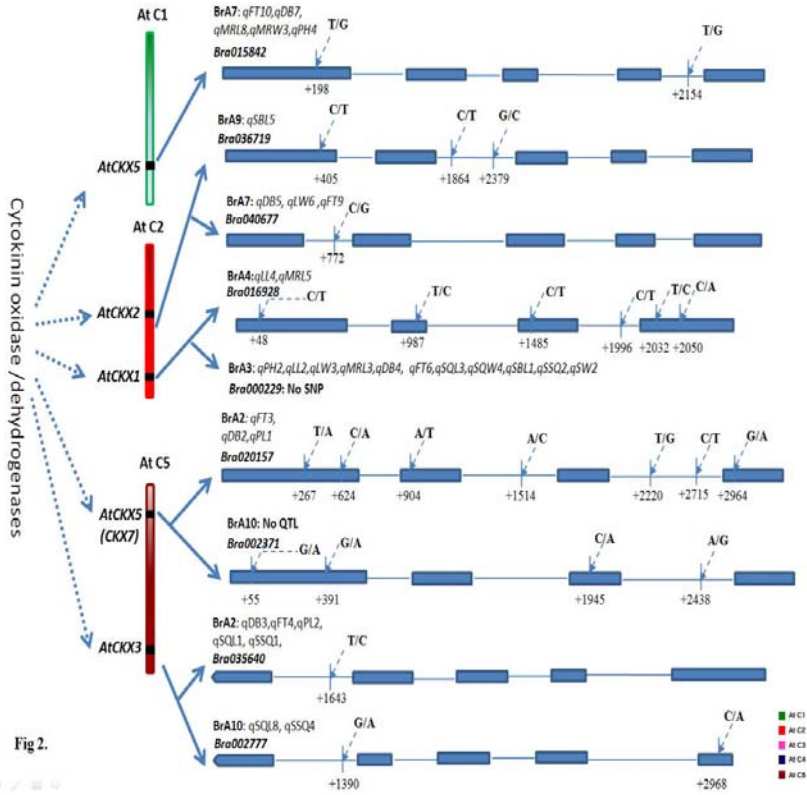


그림 23. 애기장대의 cytokinin oxydases/ dehydrogenases (CKX) 유전자에 해당하는 paralogs 과 이들이 Chiifu와 RCBr 사이에서 나타내는 SNP 위치 및 정보 요약.

- 형질 관련 후보유전자 16개를 선별하여 51개의 SNP유전자좌를 탐색하여 마커로 개발하였다. 개화, 꼬투리, 종자 발달에 관련이 있다고 보고된 GASA gene 등 형질과 연관된 13개의 SNP 마커를 개발하였다(그림24).

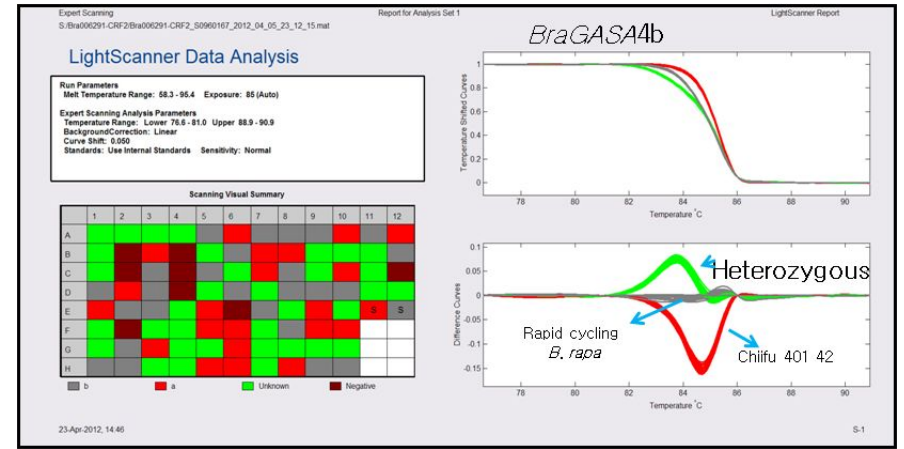


그림 24. 후보유전자 중 A3에 위치하는 BraGASA4b 유전자좌의 HRM을 이용한 분석

- ③ Glucosinolate 생합성 유전자들의 SNP 마커 개발
 - 향암성분 중 하나로 보고된 Glucosinolate 생합성 과정에 관여 51개의 유전자좌를 배추 유전체에서 확인 및 선별하였다. 이들을 대상으로 227개의 SNP 유전자좌를 탐색하여 프라이머를 합성, 다형성 검정 하였다.
- ④ 뿌리혹병(CR) 저항성 형질 연관 SNP 마커 개발
 - 배추 품종에 대한 ReSequencing 결과 및 개발된 유전자 지도를 이용하여 CR 연관 마커를 개발하였다. 지부, CR신기, 권심의 유전체 염기서열 중, 애기장대의 병 저항성 연관 유전자와 homolog를 가진 유전자 부위를 선별하여 SNP 마커 개발에 이용하였다. 예측된 후보 유전자의 Exon부위를 이용하여 RT-PCR primer를 제작하여, 각 후보 유전자의 발현양을 Semi-Quantitative 방법으로 확인하였다.
 - 각각의 품종의 유전체 염기서열에서 후보 유전자를 선별하고, 해당 유전자 및 5', 3' flanking region을 포함하여 염기서열을 추출한다. 염기서열을 Eukaryotic GeneMark.hmm(<http://exon.biology.gatech.edu/eukhmm.cgi>)으로 Exon/Intron 부위를 예측한다. 예측된 유전자의 염기서열을 DNASTAR사의 LagerGene® MegAlign 프로그램을 이용하여 정렬하고, SNP 부위를 포함하여 마커를 개발하였다. 총 43개의 SNP 마커 set을 제작하였고, 개발된 마커는 CRx94SK F2집단에서 Idaho사의 LightScanner® 기기를 이용하여 HRM 방법으로 검정하였다.

표 25. 개발된 SNP 포함 유전자 부위(일부)

>CSP_01	
Majority	-----C-----C-----
Chiffu	-----C-----C-----
CR	-----C-----Y-----
SK	-----A-----C-----
>CSP_02	
Majority	-----T-----
Chiffu	-----T-----
CR	-----K-----
SK	-----T-----
>CSP_03	
Majority	-----A-----
Chiffu	-----A-----
CR	-----R-----
SK	-----A-----

(*SNP 부위의 염기서열만 표기)

○ RT-PCR 방법

배추 뿌리혹병 균주 Race 04번을 저항성/이병성 품종에 접종하기 전후로 RNA를 Trizol(Life Technologies, USA)을 이용해 추출한다. 추출한 total RNA는 전기영동 및 NanoDrop™ 2000(Thermo Fisher Scientific, USA)으로 농도 및 품질을 확인한다. total RNA 시료는 Reverse Transcription System(Promega, USA)을 이용해 cDNA로 합성한다. 후보 유전자의 염기서열의 Exon 부위를 예측한다. 예측된 유전자의 염기서열을 DNASTAR사의 LagerGene® MegAlign 프로그램을 이용하여 정렬하고, 각 품종에서 동일하게 부위가 증폭 될 수 있도록 RT-PCR용 Primer를 Primer3(Board Institute, USA)프로그램을 이용하여 제작한다. 각 후보 유전자의 발현양을 Semi-Quantitative 방법으로 확인한다.

⑤ 잎의 엽록소 관련 SNP 마커 개발

○ 식물은 엽록체와 햇빛을 이용하여 광합성을 통해 성장하는데 체내에 빛을 흡수하는 기능을 지닌 색소가 엽록소이다. 이는 여러 가지의 종류가 있으나 클로로필 a와 b가 가장 대표적인데 식물 잎의 녹색에 관여하는 주요 색소이기도 하다. 모델식물인 애기장대에서 엽록소에 관하여 93개 유전자좌에 대하여 알려져 있다. 배추 CKDH, CKRI 집단에서 잎의 색의 변이 정도를 조사하여 QTL을 분석하였다. CKDH 집단에서 9개의 QTL이 5개의 연관그룹에 위치하였으며, CKRI 집단에서 4개의 QTL이 3개의 연관그룹에 위치하였다. 각각의 QTL은 비교적 낮은 표현형적 변이율(18.3%

에서 19.8%)을 가지고 여러 연관그룹에 분포하였으나 CKDH, CKRI 두 집단의 조사 결과에서 연관그룹 A3과 A7에 공통되는 QTL이 있음을 확인하였다. 이들 QTL에서 형질에 작용하는 주요 후보 유전자를 찾았자 애기장대에 보고된 유전자와 유사한 유전자를 배추 유전체에서 조사하였다. 총 11개의 QTL 중에서 8개의 QTL에 33개의 애기장대 엽록체 관련 유전자(후보유전자)가 위치함을 확인할 수 있었고, 애기장대 1개의 유전자에 대해서 배추에서는 1개에서 5개까지의 ortholog를 확인하였다. QTL에 위치하는 애기장대 후보유전자를 대상으로 배추에서 ortholog를 찾아서 SNP 마커를 개발하고자 하였다(표 26). 후보유전자의 염기서열을 DNASTAR사의 LagerGene® MegAlign 프로그램을 이용하여 정렬하고, SNP 부위를 포함하여 마커를 개발하였다. 총 19개의 SNP 마커 set을 제작하였고, 개발된 마커는 CKDH집단에서 Idaho사의 LightScanner® 기기를 이용하여 HRM 방법으로 검정하였다. 애기장대와 배추의 비교유전체를 통해 배추에서 각각의 QTL에 주로 관여하고 있는 것으로 예측하고 있는 후보 유전자에서 개발한 SNP 마커가 QTL에 위치하는 것을 확인할 수 있었다.

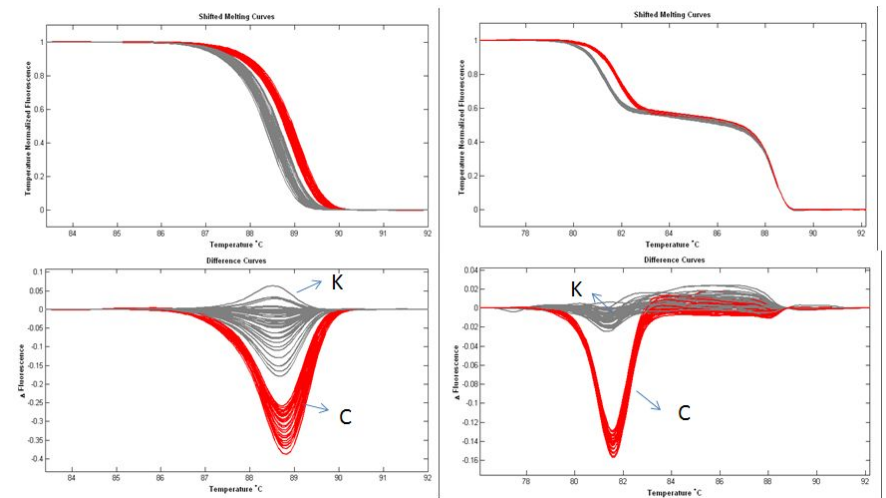


그림 25. 잎 색 형질에 관한 후보유전자(Bra010807, Bra013248-1)에서 SNP 마커 검정(일부 예시)

표 26. 잎 색 형질에 관한 QTL과 후보유전자

At gene ID	Candidate genes (Br. Ortholog)	QTL /common	QTL/DH	QTL located	SNP on Map
AT3G19570	Bra038218(A1)		<i>qCL1/02</i>	A1	mapped in A1
AT3G13080	Bra001488(A3), Bra034706(A5), Bra039368(scaffolds)	<i>qCL1</i>	<i>qCL2/00</i>	A3	ungrouped
AT3G15840	Bra001608(A3), Bra027204(A5)	<i>qCL1</i>	<i>qCL2/00</i>	A3	Not assay
AT3G24650	Bra013248(A3)	<i>qCL1</i>	<i>qCL2/00</i>	A3	mapped in A3
AT3G14110	Bra001535(A3), Bra027372(A5)	<i>qCL1</i>	<i>qCL3/99, qCLA/02</i>	A3	mapped in A3
AT2G34420	Bra022976(A3), Bra021909 (A4)		<i>qCL3/99, qCLA/02</i>	A3	Not assay
AT4G17600	Bra012656(A3)		<i>qCL5/01</i>	A3	ungrouped
AT4G18480	Bra012595(A3), Bra013314(A1)		<i>qCL5/01</i>	A3	
AT4G25080	Bra019192(A3)		<i>qCL5/01</i>	A3	
AT4G27440	Bra019049(A3), Bra26349(A1)		<i>qCL5/01</i>	A3	
AT4G31560	Bra023997(A3)		<i>qCL5/01</i>	A3	mapped in A3
AT1G69740	Bra016270(A7)	<i>qCL2</i>	<i>qCL7/00, qCL8/01</i>	A7	mapped in A7
AT1G74470	Bra015908(A7), Bra008152(A2)	<i>qCL2</i>	<i>qCL7/00, qCL8/01</i>	A7	mapped in A7
AT1G29910	Bra010807(A8), Bra030182(A7), Bra032345(A9)		<i>qCL9/00Bra010807(A8), Bra030182(A7), Bra032345(A9)</i>	A8	mapped in A8
AT1G44575	Bra014024(A8), Bra36950(scaffolds)		<i>qCL9/00</i>	A8	

2. 분자마커와 표준유전집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성

가. 배추의 Recombinant Inbred Lines을 이용한 유전자 지도 작성

(1) 분자마커개발을 위한 유전집단 개발

- 본 실험실에서는 아래와 같은 7가지의 유전집단을 개발하였다. ‘지부&권심’ 간의 교배로 만든 RIL 이외에, 배추의 결구 크기 및 형태에 관련 유전자를 탐색하기 위한 6개의 집단 ‘큰 결구 & 작은 결구’, ‘지부 & 작은 결구’, ‘지부 & 직통형 배추’, ‘지부 & 직통형 배추’, ‘지부 & RCB’, ‘지부 & 청경채’, ‘지부 & 조기개화형 청경채’ 이 있으며 각 집단의 타입, 크기 및 세대수는 다음과 같다.
- 지부 x 권심 (*B. rapa* ssp *pekinensis* Chiifu와 Kenshin) : RI 집단 F₈ 세대, 201 계통확보
- 지부 x RCB : F₂ 집단 198 확보, F₃ 세대 채종 : BC₃ : BC₁F₂, BC₂F₂, BC₃F₂
- 지부 x 내혼계 직통형 : BC₁ 집단, 150 계통확보
- 내혼계 큰 결구(구중 1 kg) x 내혼계 작은 결구(구중 300g) : F₂ 집단 500 확보
- 지부 x 작은 결구 : BC₁ 집단
- 지부 x 청경채 내혼계 (*B. rapa* ssp. *chinensis* Caixin) : BC₁ 집단
- 지부 x 조기개화형 청경채 DH 계통 (*B. rapa* ssp. *chinensis* 上海) : BC₁ 집단

(2) CKRI

(가) CKRI Version. 1

- 선행연구로 본 실험실에서 지부와 권심을 교배로 만들어진 F₁ 배추를 약배양 하여 만든 DH 집단을 이용하여 유전자 지도를 작성한 바 있다. 유전자 지도 작성을 위해 지부와 권심을 교배하여 만든 F₁ 배추를 Single Seed Descendant (SSD) 방법으로 F₈ 세대까지 자가수분을 통하여 만든 190 계통의 RIL을 유전집단으로 이용하였다.
- 분리 집단에서 안정적으로 유전되는지, 멘델의 분리비율에 적합한지 여부를 확인하였다. 연관 검정 및 연관군 지도 작성을 위하여 190 RIL 집단과 양친을 동시에 분석한 후 전기영동 하여 각 개체의 유전형을 scoring하여 data matrix를 만들었다. Data matrix를 기본으로 하여 연관지도 작성을 위해서 JoinMap program을 사용하였으며 map distance는 Kosambi's mapping function을 이용하여 계산하였다.
- 유전자 지도 작성에 이용한 마커 중에 BAC 클론 염기서열을 이용하여 개발된 마커를 기반으로 하여 물리지도와 연결하였다. BAC 마커가 개발된 BAC 클론 ID를 물리지도에 사용된 BAC 클론 ID와 비교 하였다. 유전자지도에서 마커 개발에 사용된 BAC 클론 중 총 148개의 BAC 클론이 물리지도에 사용되었다. 148개의 BAC 클론 중 101개는 contig를 형성하였고 47개는 singleton으로 형성되어 있었다.

- 총 176 개의 분자마커가 10 개의 큰 연관그룹으로 나타났으며 연관그룹은 map 크기를 기준으로 하여 큰 그룹부터 1부터 10번까지 순차적으로 번호 매김을 하였다. 배추의 염색체수 (n = 10)가 10개인 것으로 보아 각각의 연관그룹은 10개의 각기 다른 염색체라고 사료된다. 전체 유전자 연관지도의 길이는 756.8 cM으로 31.4 cM 부터 125.6 까지 다양하였으며 평균 마커간의 거리는 4.3 cM이었다(그림26).

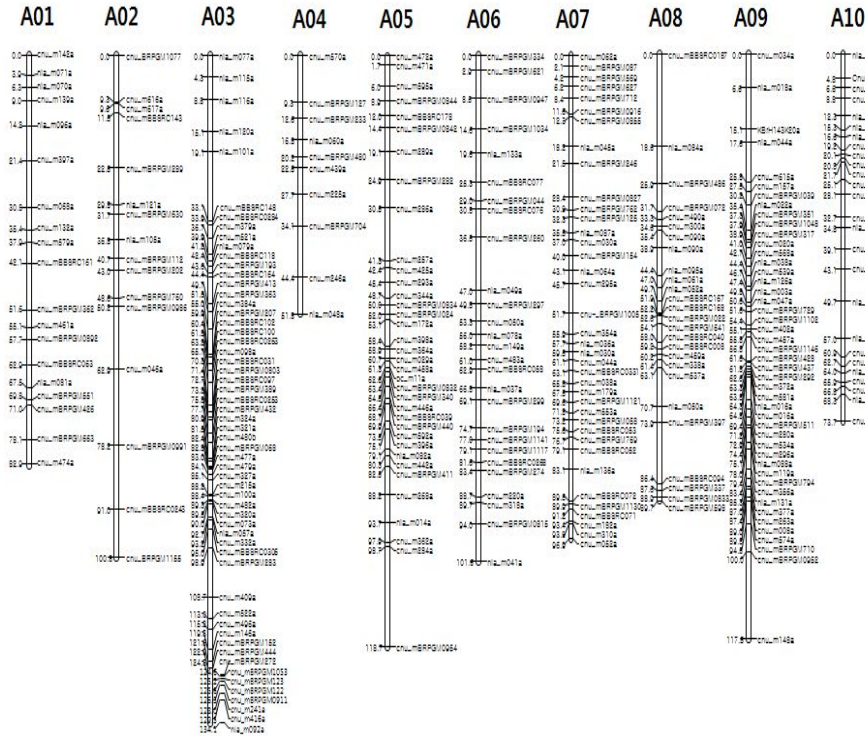


그림 26. 지부와 권심의 교배로 생성된 F₈ 세대 RIL 집단을 이용한 *B. rapa* L. ssp. *pekinensis*의 유전자 연관지도.

연관지도 작성은 JoinMap v. 4.0으로 분석 하였으며 연관 그룹의 왼 편에는 유전자 지도의 거리, 오른 편에는 유전자좌의 이름을 표기했다. 10개의 연관 그룹으로 구성된 연관지도는 301 개의 분자 마커를 포함하고 있으며 총 길이는 967.6 cM 이었다.

(나) CKRI Version. 2

- 유전자 지도 작성을 위해 지부와 권심을 교배하여 만든 F₁ 배추를 Single Seed Descendant (SSD) 방법으로 F₈ 세대까지 자가수분을 통하여 만든 190 계통의 RIL 을 유전자집단으로 기본으로 이용하였다. Data matrix를 기본으로 하여 연관지도 작성을 위해서 JoinMap program을 사용하였으며 map distance는 Kosambi's mapping function을 이용하여 계산하였다.
- 목표 유용형질들을 탐색하기위한 보조로서 표준유전자집단을 이용한 고밀도 유전자 지도를 작성하고자, NCBI에 집적되어 있는 BAC-end 염기서열을 기반으로 개발한 마커를 추가하여 190 RIL 집단을 이용하여 총 359개 마커로 집단에 대한 유전자형 data matrix를 이용하였다. 이 중 296개의 마커를 유전자 지도에 지도화 하였다 (그림 26). 총 301개의 BAC 클론 연결된 분자마커가 10개의 연관그룹에 분포하였으며, 전체 유전자 지도 길이는 967.6 cM 이었다(표 27).

표 27. 유전자 연관 지도에 대한 요약.

연관 그룹	마커 수	연관 그룹 길이(cM)
A01	19	82.9
A02	16	100.8
A03	57	134.1
A04	10	51.8
A05	36	118.7
A06	27	101.6
A07	38	96.9
A08	26	89.7
A09	46	117.5
A10	26	73.7
합계	301	967.6

- 유전자 지도 작성에 이용한 마커 중에 BAC 클론 염기서열을 이용하여 개발된 마커를 기본으로 하여 물리지도와 연결하였다. BAC 마커가 개발된 BAC 클론 ID를 물리지도에 사용된 BAC 클론 ID와 비교 하였다. 유전자지도에서 199개의 마커가 개발된 BAC 클론이 물리지도에 사용되었다. 총 155개의 contig와 연결 가능 하였었고 이는 29,733개의 BAC 클론을 포함하고 있었다. 44개는 singleton으로 형성 되어 있었다(표 28).

표 28. 유전자 지도와 물리지도의 연결

Linkage group	No. of markers	No. of aligned		
		contigs in LG	BACs in contigs	singletons
A01	19	9	482	2
A02	16	9	545	0
A03	57	30	2,571	9
A04	10	5	207	2
A05	36	20	5501	6
A06	27	13	1308	5
A07	38	18	6322	7
A08	26	11	737	6
A09	46	26	6,249	2
A10	26	14	5,811	5
Total	301	155	29,733	44

○ 국제공동연구로 진행중인 MBrGSP에서 제공한 Illumina GA sequencing 을 이용한 지부계 배추 genomic 염기서열 자료를 권심계 배추 염기서열과 비교하여 148개의 Indel 마커를 확보하였다. 이를 이용하여 CKRI 중 94 RIL 집단의 유전형질을 분석하여 유전자 지도를 작성한 결과 130개의 Indel 마커를 유전자 지도에 추가로 지도화하였다(표 29).

표 29. 유전자 연관 지도에 대한 요약.

연관 그룹	추가된 Indel 마커 수
A01	12
A02	5
A03	16
A04	15
A05	18
A06	17
A07	18
A08	9
A09	15
A10	5
합계	130

(2) CKDH 집단을 이용한 유전자 지도 작성

○ 78 계통의 CKDH 집단을 이용하여 *B. juncea*에서 보고된 Intron polymorphism marker(IP 마커)를 이용하여 다형성 검정을 하였다. 총 272개 중 99개가 다형성을 나타냈으며 이들 중 에서 95개 IP 마커를 추가로 지도화 하였다(그림 27). *B. juncea* 의 유전자 지도에서 위치하고 있는 마커를 사용함으로써 같은 십자화과 내에 있는 다른 유전체를 이용하여 개발된 형질관련 정보를 비교 및 이용할 수 있는 계기를 마련하였다.

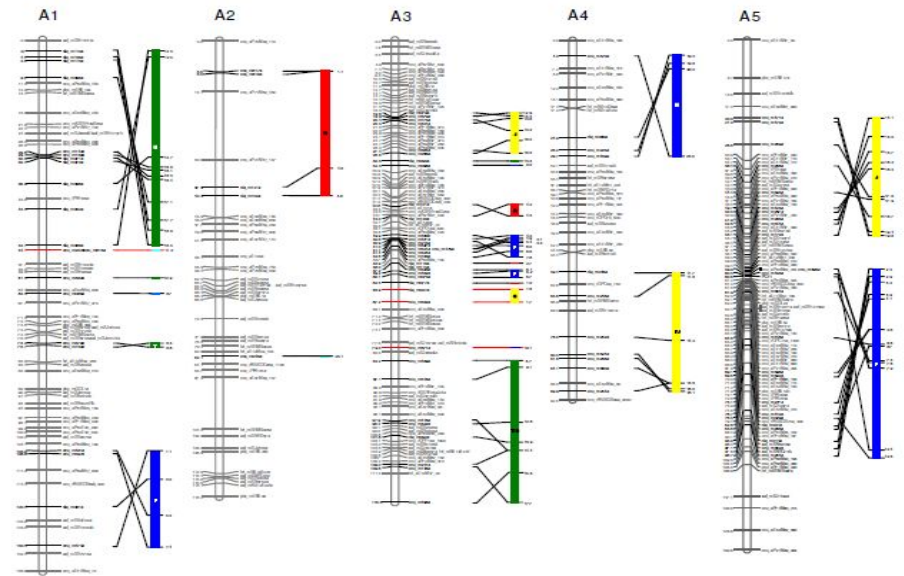


그림 27. CKDH 유전자 지도

(3) 통합유전자 지도작성

(가) 통합지도 Version. 1

① CRF2 집단 양성

○ RcBr-IBM-218-DH1 (Rapid Cycling of *Brassica rapa*)은 *Brassica rapa* 에 속하며 과종 후 약 2주면 특별한 춘화처리 과정 없이 개화하며 약 40일 정도면 종자를 수확할 수 있는 조숙종 이다. 비록 식용 배추는 아니나 RCBBr의 이러한 특징은 배추과 작물에서 개화 시기, 결구 형성, 잎에 모양에 관련한 형질을 탐색해 볼 수 있는 좋은 재료로 사료된다. 지부에 RCBBr을 교배하여 양성한 유전집단 CRF2를 이용하여 개화관련 형질을 조사하고 QTL 을 분석을 위해 유전자 지도를 작성 하였다.

② 분자마커 검정

- 지부와 권심 사이에서 다형성 검정을 위해 사용되었던 BAC-end 염기서열 유래 SSR 마커 중 528개의 *Brassica juncea*에서 보고된 Intron polymorphic (IP) 272 개를 이용하여 지부와 RCBrs 사이에서 다형성 검정을 하였다.
- 다형성 검정을 위해 DNA 증폭은 1 unit *Taq* 중합효소, 0.5 μM 프라이머, 200 μM dNTPs, 1.5-2.0 mM MgCl₂, 1×PCR 버퍼 및 40 ng 게놈 DNA 주형을 함유하는 20 μl 용액에서 수행되었다. PCR은 95 °C에서 5분에 이어, 94 °C에서 DNA 변성 30 초, 적절한 어닐링 온도에서 45 초 및 72 °C에서 연장 60 초를 30회 순환시킨 후 72 °C에서 7 분간 최종 연장하였다. PCR은 BIO-RAD iCycler PCR로 수행되었으며, PCR 산물은 1.5-2% 아가로스 겔 및 6% 폴리 아크릴 아마이드겔 상에서 분리되었다.

③ Rapid Cycle Brassica와 지부의 교배로 생성한 CRF2 집단을 이용한 유전자 지도 작성

- 지부 (*Chiifu*, *Brassica rapa*)와 RCBrs (*Rapid Cycling of Brassica rapa*) 를 교배하여 만든 F₁ 을 자가수분하여 190 계통의 F₂ 집단을 유전집단으로 사용하였다.
- 분리 집단에서 안정적으로 유전되는지, 멘델의 분리비에 적합한지 여부를 확인하였다. 연관 검정 및 연관군 지도 작성을 위하여 190 계통의 F₂ 유전집단과 양친을 동시에 분석한 후 전기영동 하여 각 개체의 유전형을 scoring하여 data matrix를 만들었다. Data matrix를 기본으로 하여 연관지도 작성을 위해서 JoinMap program v. 4.0 을 사용하였으며 map distance는 Kosambi's mapping function을 이용하여 계산하였다.
- CKDH 표준유전자지도 작성에 사용한 프라이머 719개를 이용하여 다형성 검정을 통해 502개의 프라이머가 다형성을 나타냈다. 추가로 528개의 BAC-end 염기서열 유래 SSR 프라이머를 이용하여 다형성 검정을 수행하였고 이 중에서 71개가 다형성을 나타냈다. 이 중에서 밴드양상이 분명하고 재현성이 있는 280개의 마커를 유전자 지도 작성을 위해 사용하였다. 292개의 IP 프라이머를 이용한 다형성 검정에서 62개의 마커가 77 유전자좌에서 다형성을 나타냈다. 6개의 IP 마커는 2개, 1개의 IP 마커가 3개 loci를 나타냈다.
- 총 318개(250개의 BAC 클론 유래 SSR 마커, 68개 IP마커)의 분자마커가 10개의 연관그룹으로 나타났다. 연관그룹의 번호는 지부, 권심을 이용하여 만든 CKDH map에서 마커들이 형성한 연관그룹의 이름을 기준으로 하여 번호 매김을 하였다 (표 30, 그림28).

④ Version.1 통합 유전자 지도 작성

- 두 개의 유전자 지도, CKDH 유전자 지도와 CRF₂ 유전자 지도의 공통마커를 이용하여 *B. rapa* (A지놈)에서 종내 통합유전자지도를 작성하였다. Version.1 통합 유전자 지도는 1017개의 마커로 구성되었고 유전자 지도 길이는 1262 cM이었으며 1.24cM 당 한 개의 마커가 분포하였다. CKDH 지도는 190개의 BAC 클론 연

결된 마커와 95개의 IP 마커로 구성되었으나 CRF₂ 지도의 정보 250개의 BAC 클론 연결된 마커와 68개의 IP 마커정보와 통합함으로써, 343개의 BAC 클론 연결된 마커와 146 개의 IP 마커로 구성된 통합 유전자 지도를 작성하였다. 통합유전자 지도는 CKDH 지도를 바탕으로 하여 총 102개의 BAC 클론과 연결된 155개의 SSR 마커와 146개의 IP 마커가 추가되었다. 통합유전자 지도를 작성함으로써 기존의 지도 및 각각의 지도에서 위치를 찾기 어려웠던 마커들을 지도화 하였고, 유전자 마커 수 및 마커의 밀도와 전체 지도길이 등 유전자지도의 정보량을 높일 수 있었다.

표 30. CKDH 및 CRF₂ 유전자지도 및 이를 이용한 통합유전자지도에 대한 요약.

Linkage group	No. total markers			No.BAC derived SSR markers				New BACs	No. IP markers				Total length (cM)		
	CK DH	CR F ₂	Integ	CK DH	CR F ₂	Com mon	Integ		CK DH	CR F ₂	Com mon	Integ	CK DH	CRF ₂	Integ
A01	73	35	96	21	28	10	39	12	6	7	2	11	140.0	110.8	129.1
A02	50	24	68	5	14	2	17	11	8	10	4	14	121.2	88.1	122.5
A03	119	38	145	34	26	12	48	12	16	12	0	28	123.3	140.9	149.8
A04	43	23	61	11	18	5	24	9	5	5	0	10	93.1	100.7	109.7
A05	103	35	122	25	28	14	39	11	6	7	2	11	135.3	136.5	138.7
A06	94	14	100	13	11	7	17	3	8	3	1	10	155.2	76.1	158.5
A07	110	42	135	24	39	15	48	13	12	3	2	13	98.3	111.7	106.9
A08	53	27	75	11	21	4	28	11	6	6	1	11	91.9	91.8	99.3
A09	112	64	151	37	55	21	69	15	21	9	2	28	123.2	162.7	154.9
A10	56	16	64	9	10	5	14	5	7	6	3	10	93.6	85.7	92.6
Total	813	318	1017	190	250	95	343	102	95	68	17	146	1175.1	1105.0	1262.0

- CKDH 및 CRF₂에 지도화한 98개의 IP 마커는 *B. rapa*(AA) 지놈과 *B. juncea* (AABB) 지놈의 유전자지도에 공통으로 이용되었다. 이를 이용하여 *B. rapa*(AA) 지놈과 *B. juncea* (AABB) 지놈 사이의 공통으로 존재하는 A 지놈(종간 통합유전자 지도)에 대하여 유전자지도를 기반으로 비교하여 보았다. 98개의 공통 IP 마커 중에 inversion/translocation 을 나타내는 마커도 있었으나, 전반적으로 10개의 A 지놈 연관그룹에서 높은 co-linearity 를 나타냈다. 이는 배추속에 속하는 타종에서 개발 및 보고되는 정보는 배추 뿐만 아니라 배추가 속한 배추속에 해당하는 타종인 *B. juncea* 육종에도 유용할 것으로 예상된다. 또한 역으로 애기장대 유전체를 세분화한 지놈블록을 기준으로하여 십자화과에 해당하는 유전체간의 1차적으로 비교가 가능하고, 타종인 *B. juncea*에서 연구 및 보고된 유전정보 (유용형질 QTL)가 *B. rapa*로 분류되는 작물개선에도 간접적으로 도움을 줄 수 있을 것으로 예상된다.

표 31. 유전자 지도 요약

Population ID	Population type	No. of population	No. total markers	No. BAC derived SSR markers (common markers)	No. IP markers (common markers)	Indels
CKDH	DH	78	813	190	95	-
CRF2	F2	190	318	250	68	-
Integ.	-	-	1017	343(95)	146(17)	-
CKRI	RI	296	296	296	-	-
CKRL_indels	RI	94	321	190	-	131

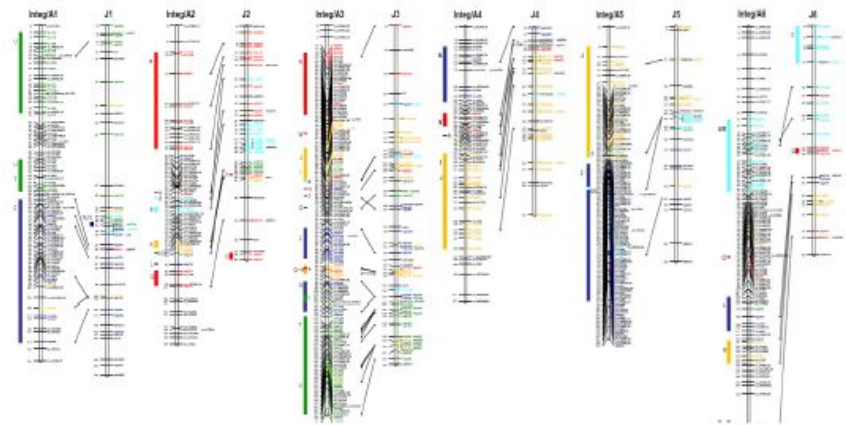


그림 28. *B. rapa*의 유전자지도(Integ/A1-IntegA10)와 *B. juncea*의 유전자지도(J1-J10)를 이용한 A 지놈 비교 유전자 지도.

*L. ssp. pekinensis*의 유전자 연관지도. 연관지도 작성은 JoinMap v. 4.0으로 분석하였으며 연관 그룹의 왼 편에는 유전자 지도의 거리, 오른 편에는 유전자좌의 이름을 표기했다. 유전자 지도의 왼편에는 애기장대 유전체의 염색체별 색깔과 지놈 블록을 기반으로 표기하였다.

(나) 통합지도 Version. 2

- ① 배추의 EST 염기서열로 기 개발한 유전자 연관 EST-SSR 마커를 이용하여 유전자 지도 작성
- NCBI DB에서 *B. rapa* EST 염기서열 194,003 개를 다운로드하여 마커개발에 사용하였다. 이들 중에서 중복되지 않는 염기서열을 이용하여 34,553 개의 unigenes 을 선발하여 EST-SSR 프라이머를 작성하였다.

- 유전자 지도 작성을 위해 지부와 권심을 교배하여 만든 F₁ 배추를 약배양하여 생성한 CKDH 유전집단 78계통을 기본 유전집단으로 이용하여 EST-SSR 마커를 유전자 지도에 지도화 하였다. Data matrix를 기본으로 하여 연관지도 작성을 위해서 JoinMap program을 사용하였으며 map distance는 Kosambi's mapping function을 이용하여 계산하였다.
- microsatellite 마커는 유전체에 존재하는 개체수가 많고 존재 부위에서 변이가 다양하게 일어나 마커로 자주 사용된다. 이 중에서 genic microsatellite 는 개체에서 유전 정보가 전사되는 유전자에서 위치하여 변이를 나타내므로 사용자면에서 있어 유전체 염기서열에서 무작위적인 변이를 이용하는 마커보다 더 선호한다.
- 지금까지 *Brassica rapa*에서 여러 가지 분자 마커와 유전자 지도가 작성되어 보고되었으나 unigene microsatellite과 intron polymorphic marker와 같이 유전자를 기반으로 하여 개발한 고밀도의 통합유전자 지도는 없었다. 따라서 *B. rapa*에서 4 종류의 유전자 지도를 이용하여 고밀도의 통합유전자지도를 작성하였다. 이 유전자지도는 총 1426개의 마커로 구성되었으며 306개의 unigene 유래 SSR 마커, 153개의 intron polymorphic markers, 395개의 BAC 클론에서 유래한 SSR 마커, public SSR 마커와 기타 형태의 마커 573개를 포함하고 있다. 총 지도 길이는 1245.9 cM 이었고, 연관 그룹당 평균 지도 길이는 142.6 cM 이었으며 마커와 마커간의 인접 거리는 0.87 cM 이었다(그림 29).

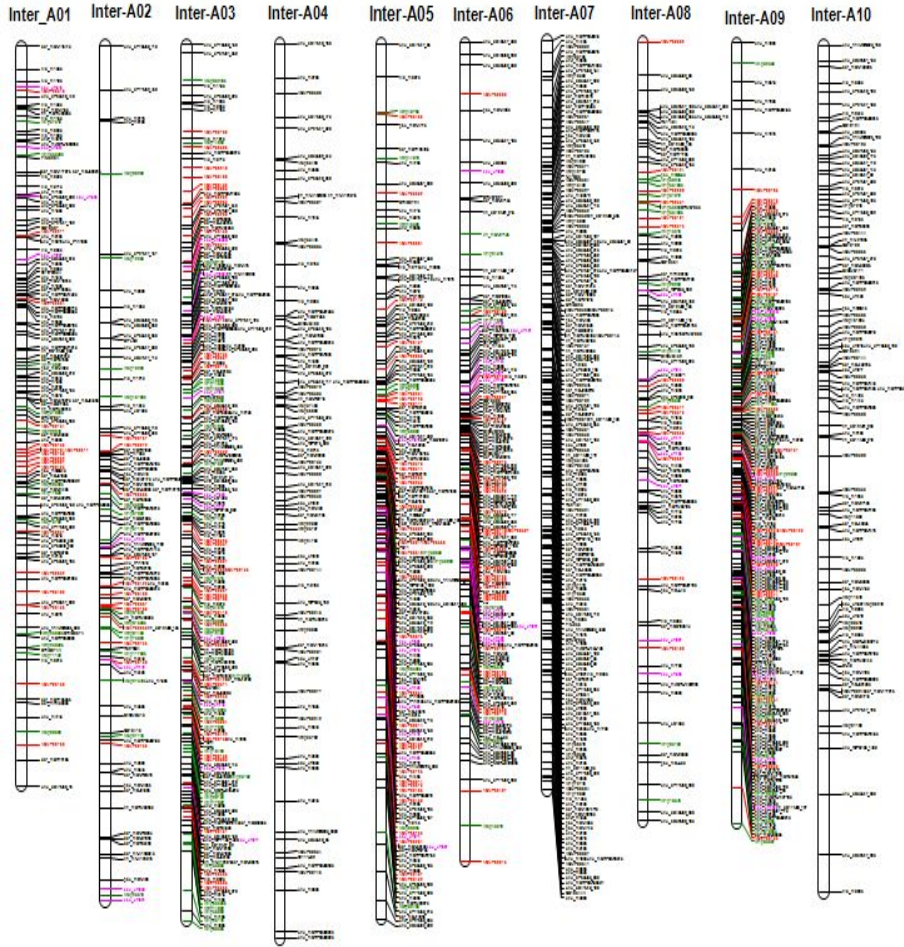


그림 29. 4개의 유전자 지도를 통합한 *B. rapa* L. 의 통합유전자지도.

연관지도 작성은 JoinMap v. 4.0으로 분석 하였으며 연관 그룹의 오른쪽에는 유전자 지도의 거리, 유전자좌의 이름을 표기했다. 10개의 연관 그룹으로 구성된 연관지도는 1426 개의 분자 마커를 포함하고 있으며 총 길이는 1245.9 cM 이었다.

3. 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유용 형질관련 유전자좌들의 효율적 탐색도모

가. 개화형질 탐색

(1) CRF2 집단이용 형질조사 및 QTL 분석

- 양적유전자좌 분석을 위하여는 유전자 지도와 형질조사 자료를 함께 분석하여야 한다. 따라서 유전자지도 작성과 더불어 지도 작성에 사용한 집단을 이용하여 표현형에 기인한 형질조사를 병행하였다. 개화관련 형질로써 과종 후부터 개화일수, 과종일로부터 화퇴의 출현시기를 측정하여 추대일수, 첫 꽃이 개화한 식물의 키에 해당하는 3가지 형질을 집단에서 조사하였다(표 32). 형질은 집단에서 변이를 나타냈다(그림 30). 이 자료는 앞의 유전자 지도 작성을 기반으로 조사한 형질에 관여하는 유전자 군이 유전자 지도 상의 어느 부위에 위치하는지를 분석하기 위해 사용 되었다.
- RCB-IBM-218-DHI (Rapid Cycling of *Brassica rapa*)은 *Brassica rapa* 에 속하며 과종 후 약 2주면 특별한 춘화처리 과정 없이 개화하며 약 40일 정도면 종자를 수확 할 수 있는 조속종 이다. 비록 식용 배추는 아니나 RCB의 이러한 특징은 배추 과 작물에서 개화 시기, 결구 형성, 잎에 모양에 관련한 형질을 탐색해 볼 수 있는 좋은 재료로 사료된다. 지부에 RCB를 교배하여 양성한 유전집단 CRF2를 이용하여 개화관련 형질을 조사하고 QTL 을 분석을 위해 유전자 지도를 작성한 바 있다. 이에 확보한 분자마커를 추가하여 유전자지도를 작성하여 보다 세밀한 QTL 분석에 이용하였다.
- 양적유전자좌 분석을 위하여는 유전자 지도와 형질조사 자료를 함께 분석하여야 한다. 따라서 유전자지도 작성과 더불어 지도 작성에 사용한 집단을 이용하여 표현형에 기인한 형질조사를 병행하였다.
- 개화관련 형질로써 과종 후부터 개화일수, 과종일로부터 화퇴의 출현시기를 측정하여 추대일수, 첫 꽃이 개화한 식물의 키 등 해당하는 13가지 형질을 집단에서 조사하였다. 앞의 유전자 지도 작성을 기반으로 조사한 형질에 관여하는 유전자 군이 유전자 지도 상의 어느 부위에 위치하는지를 분석하기 위해 사용되었다.
- QTL은 F2 집단을 이용한 형질 자료를 이용하였으나, 이에 추가로 F3 집단을 이용하여 2년간 반복 실험 및 조사한 표현형 자료를 이용하여 보다 정확하고 재현성 있는 QTL부위를 찾고자 하였다.
- 지부/Rapid Cycling of *Brassica rapa* (RCBr) 교배한 F3 집단에서 탐색한 79(27)개의 QTL 결과를 요약하였다.

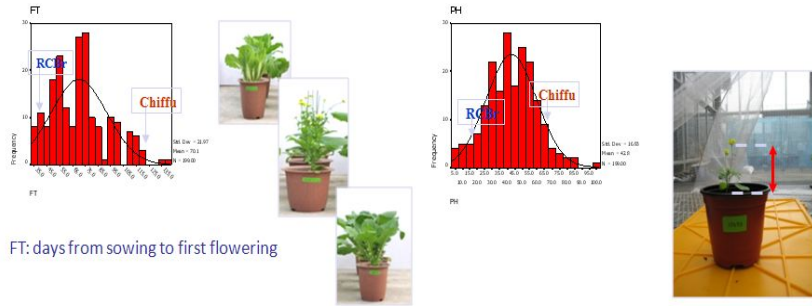


그림 30. 조사한 형질에 대하여 집단 내에서 나타내는 변이의 정도

표 32. 유전자 집단에서 조사한 개화시기와 연관된 형질.

Trait name	ABS	Trait description	Scale	Year
Flowering time	FT	Days from sowing to opening of the first flower	Days	2008/09/10
Bolting time	DB	Days from sowing to the emergence of bud	Days	2009/10
Flowering time after vernalization	FT*	Days from sowing to opening of the first flower after vernalization for one month	Days	2009/10
Plant height	PH	Height from ground to the stem top when first flower open	cm	2008/09/10
Leaf length	LL	From base of petiole to the tip of leaf	cm	2008/09
Leaf width	LW	Leaf width at the widest point	cm	2008/09
Midrib length	MRL	Length from bottom to the apex of midrib	cm	2008/09
Midrib width	MRW	Width of the bottom of midrib	cm	2008/09
Petiole length	PL	From base of petiole to bottom of lamina	cm	2009
Silique length	SQL	Length from pedicel of silique to top of seed beak	cm	2008/09/10
Silique width	SQW	Width at the lengthwise midpoint of each silique	cm	2008/09/10
Silique beak length	SBL	Length from the top of silique to the top of beak	cm	2009/10
Seeds per silique	SSQ	Number of seed per silique		2009/10
Seed weight	SW	Seed weight of 100 seeds each line	mg	2009/10

표 33. 유전자 집단에서 조사한 개화시기와 연관된 QTL 결과.

Traits	Mean trait value of parent Chiifu			Mean trait value of parent RcBr			Range in F2/3 population			Mean value in F2/3population		
	2008	2009	2010	2008	2009	2010	2008	2009	2010	2008	2009	2010
Flowering time	140.0a	140.0a	140.0a	39.0		45.0	33.0-139.0	30.0-59.0	45.2-64.0	70.6	41.9	53.4
Bolting time	-	90.0	95.0	-	29.0	29.0	-	11.0-44.7	34.0-65.0	-	26.5	42.3
Flowering time after vernalization	-	135.0	145.0	-		30.0	-	54.2-68.8	66.0-83.5	-	57.9	73.0
Plant height	65.0	100.0	98.0	17.0	20.0	18.5	5.0-98.0	3.6-34.5	4.0-24.8	43.0	13.6	13.1
Leaf length	28.0	20.0	-	9.0	6.5	-	14.0-49.0	2.8-8.0	-	30.2	5.0	-
Leaf width	14.0	16.0	-	3.8	3.0	-	4.5-19.0	2.2-5.8	-	11.2	3.5	-
Midrib length	14.0	7.7	-	7.4	4.5	-	9.0-36.0	3.3-10.0	-	20.8	5.8	-
Midrib width	3.0	2.5	-	0.5	0.3	-	0.5-3.5	0.3-1.5	-	1.7	0.6	-
Petiole length	-	0.0	-	-	6.5	-	-	0.0-6.3	-	-	3.3	-
Silique length	3.0	3.8	3.5	2.8	3.2	3.0	1.5-6.2	2.0-6.8	2.2-6.7	3.7	4.2	4.1
Silique width	0.5	0.5	0.6	0.2	0.3	0.2	0.2-0.7	0.3-0.8	0.2-0.8	0.5	0.5	0.4
Silique beak length	-	1.0	1.0	-	0.7	0.5	-	0.3-1.6	0.2-1.5	-	0.8	0.7
Seeds per silique	-	20.0	25.0	-	11.0	15.0	-	4.1-27.1	2.0-24.9	-	14.3	12.6
Seed weight	-	320.0	345.0	-	105.0	120.0	-	115.0-337.0	30.0-257.0	-	211.0	141.4

a, "Chiifu" has no flowering until populations harvest time, 140days was given.

"-", Not measured in the corresponding year.

표 34. 지부/Rapid Cycling of *Brassica rapa* (RCBr) 교배한 F3 집단에서 탐색한 79(27)개의 QTL 결과

Traits	QTL	LG	Confidence interval(cM)	Year	LOD	R ² value (%)	Additive value	Dominant value	Block	
Plant height	<i>qPH1</i>	A02	0.5-15.2	2009	5.06	13.0	-3.02	2.21	R	
	<i>qPH2</i>	A03	40.8-44.4	2008	3.36	5.0	-3.06	-1.28	J	
				2010	10.41	19.0	-2.60	0.30	J	
				2008	6.57	11.0	4.06	6.16	J	
				2009	3.20	6.00	1.12	0.88	E	
	<i>qPH3</i>	A05	67.3-86.5	2008	6.57	11.0	4.06	6.16	J	
	<i>qPH4</i>	A07	92.6-104.0	2009	3.20	6.00	1.12	0.88	E	
	Leaf length	<i>qPH5</i>	A09	138.2-139.6	2009	3.43	6.0	1.30	1.67	H
		<i>qPH6</i>	A10	11.9-26.0	2009	3.97	12.0	2.73	-1.04	A
		<i>qLL1</i>	A02	0.0-8.7	2008	7.25	18.0	4.34	-1.08	R
<i>qLL2</i>		A03	39.0-61.9	2009	5.02	20.0	0.47	-0.34	J	
				2008	9.76	7.0	3.31	3.00	J	
				2008	9.35	30.0	4.41	3.19	T	
				2008	5.23	14.0	-1.03	-3.81	J	
<i>qLL3</i>		A03	92.7-111.5	2008	9.35	30.0	4.41	3.19	T	
<i>qLL4</i>		A04	86.6-90.9	2008	5.23	14.0	-1.03	-3.81	J	
<i>qLL5</i>		A10	53.0-71.8	2009	10.95	49.0	0.75	-0.40	R	
<i>qLW1</i>	A01	36.7-46.2	2008	4.03	8.0	0.79	0.02	U		
Leaf width	<i>qLW2</i>	A02	0.0-8.4	2009	3.20	11.0	0.20	0.70	R	
	<i>qLW3</i>	A03	42.6-58.4	2008	8.59	21.0	1.82	-0.34	R	
				2009	4.31	16.0	0.21	-0.19	J	
				2008	8.71	10.0	1.36	0.49	J	
				2009	4.20	5.0	0.38	0.08	T	
	<i>qLW4</i>	A03	95.8-111.7	2008	6.53	19.0	-1.40	0.68	T	
	<i>qLW5</i>	A06	25.0-42.0	2009	5.16	15.0	0.27	0.16	X-Q	
	<i>qLW6</i>	A07	0.0-1.9	2008	3.46	5.0	0.98	0.13	H	
	<i>qLW7</i>	A07	42.4-56.7	2009	3.92	8.0	0.27	0.01	N	
	<i>qLW8</i>	A08	47.2-53.8	2008	3.45	5.0	0.90	0.26	B	
Midrib length	<i>qLW9</i>	A09	98.9-101.3	2009	3.60	4.0	0.11	-0.17	B	
	<i>qLW10</i>	A09	128.2-140.3	2008	3.29	6.0	0.84	0.49	H	
	<i>qMRL1</i>	A01	0.5-3.1	2009	5.70	9.0	-0.49	0.90	U	
	<i>qMRL2</i>	A02	0.0-11.4	2008	3.53	8.0	2.50	0.14	R	
	<i>qMRL3</i>	A03	39.3-61.0	2008	5.94	4.0	1.83	2.15	J	
	<i>qMRL4</i>	A03	86.9-111.6	2008	8.29	26.0	-3.76	2.22	T	
	<i>qMRL5</i>	A04	81.0-91.0	2008	3.00	6.0	2.04	-1.81	J	
	<i>qMRL6</i>	A06	4.3-25.6	2009	5.22	4.0	0.39	0.27	A	
	<i>qMRL7</i>	A06	36.0-42.6	2008	3.29	8.0	1.91	-0.57	Q	
	<i>qMRL8</i>	A07	82.0-93.0	2009	3.33	7.0	0.48	0.25	E	
Midrib width	<i>qMRL9</i>	A08	12.9-40.8	2008	3.48	8.0	1.86	-0.29	T-U	
	<i>qMRL10</i>	A10	57.7-64.1	2009	4.98	19.0	0.57	-0.38	R	
	<i>qMRW1</i>	A01	0.5-3.1	2009	3.33	4.0	-0.04	0.09	U	
	<i>qMRW2</i>	A02	0.0-6.7	2009	4.10	13.0	0.06	-0.07	R	
	<i>qMRW3</i>	A07	94.7-103.0	2008	3.37	9.0	1.67	-1.94	E	
	<i>qMRW4</i>	A10	54.7-77.5	2009	5.62	19.0	0.07	-0.06	R	
				2009	4.06	11.0	0.07	-0.01	R	
				2009	5.28	10.0	-0.57	-0.08	R	
				2009	3.00	6.0	-0.45	0.00	W	
	<i>qPL1</i>	A02	19.0-37.0	2009	5.28	10.0	-0.57	-0.08	R	
<i>qPL2</i>	A02	39.5-42.2	2009	3.00	6.0	-0.45	0.00	W		
<i>qPL3</i>	A06	1.9-20.1	2009	11.80	5.0	0.22	0.48	A		
<i>qPL4</i>	A10	70.0-87.0	2009	4.48	13.0	-0.69	0.16	R		
Bolting time	<i>qDB1</i>	A02	0.0-10.7	2010	4.80	12.0	3.22	-0.50	R	
	<i>qDB2</i>	A02	19.0-38.4	2009	6.89	14.0	3.31	-0.32	R	
Flowering Time	<i>qDB3</i>	A02	38.6-42.4	2010	7.51	13.0	3.22	-0.36	W	
	<i>qDB4</i>	A03	40.3-55.0	2009	4.55	6.0	2.42	0.80	J	
	<i>qDB5</i>	A06	21.0-25.2	2009	5.27	9.0	2.55	-1.14	J	
				2010	3.05	5.0	1.37	-0.17	X	
				2009	3.48	5.0	1.96	2.06	H	
				2010	4.30	8.0	-2.25	0.89	E	
	<i>qDB6</i>	A07	10.0-33.4	2010	4.30	8.0	-2.25	0.89	H	
	<i>qDB7</i>	A07	84.0-103.5	2009	7.04	14.0	2.84	-0.73	E	
	<i>qDB8</i>	A08	80.6-91.5	2010	15.20	29.0	3.64	-1.98	A	
				2009	4.88	11.0	2.20	-1.78	N	
				2010	3.10	4.0	1.45	-0.67	R	
				2010	5.11	7.0	2.38	-0.38	R	
	<i>qDB9</i>	A09	103.9-113.7	2010	5.11	7.0	2.38	-0.38	N	
<i>qDB10</i>	A10	56.0-84.4	2009	7.48	16.0	3.62	-0.71	R		
<i>qFT1</i>	A01	21.6-23.4	2010	3.44	9.0	2.89	-0.83	U		
			2009*	3.23	5.0	-1.03	2.66	R		
			2008	4.15	7.0	7.53	-1.20	R		
			2009	11.50	33.0	8.11	-1.48	R		
	<i>qFT2</i>	A02	0.0-16.0	2009*	3.57	11.0	2.91	-0.70	R	
				2010	3.14	10.0	2.55	-0.85	R	
				2010*	3.57	9.0	2.78	-0.68	R	
				2008	16.00	30.0	15.10	-0.63	R	
	<i>qFT3</i>	A02	17.0-38.5	2008	16.00	30.0	15.10	-0.63	R	
	<i>qFT4</i>	A02	38.6-42.4	2009	5.14	7.0	2.84	-0.89	R	
2010				14.20	30.0	3.29	-0.32	R		
2010				13.00	25.0	2.78	0.68	W		
2008				12.70	16.0	11.84	1.81	W		
<i>qFT5</i>	A03	5.0-24.1	2008	6.02	9.0	8.42	0.83	R		
<i>qFT6</i>	A03	47.1-54.2	2009	4.38	8.0	2.55	0.44	R		
			2010*	3.29	5.0	1.23	0.14	J		
			2010	4.76	6.0	1.03	-0.59	J		
			2008	7.22	9.0	-1.17	-3.66	J		
<i>qFT7</i>	A05	66.0-82.0	2008	7.22	9.0	-1.17	-3.66	J		
<i>qFT8</i>	A06	35.5-46.0	2010*	3.55	4.0	-1.31	-0.57	Q		
			2008	3.53	4.0	2.34	-1.37	Q		
			2009	3.10	5.0	1.69	-1.42	H		
			2010	4.17	8.0	-1.31	0.14	H		
<i>qFT9</i>	A07	4.8-25.4	2010	4.17	8.0	-1.31	0.14	H		
<i>qFT10</i>	A07	83.6-103.3	2008	16.00	30.0	10.60	-7.66	E		
<i>qFT11</i>	A09	95.0-109.0	2009	10.20	21.0	4.01	-2.08	E		
			2010	13.63	24.0	2.51	-1.21	B		
			2010*	10.86	25.0	2.30	-1.25	B		
			2009	5.19	11.0	2.39	-0.42	N		
<i>qFT12</i>	A09	102.0-125.0	2008	5.27	10.0	4.35	-5.50	N		
<i>qFT13</i>	A10	9.7-15.9	2010	3.91	6.0	1.48	-0.27	A		
			2010*	5.30	12.0	1.47	-1.19	A		
<i>qFT13</i>	A10	9.7-15.9	2009	3.05	4.0	1.73	0.69	A		

Traits	QTL	LG	Confidence interval(cM)	Year	LOD	R ² value (%)	Additive value	Dominant value	Block
Siliques length	<i>qFT14</i>	A10	54.3-77.5	2009*	5.67	23.0	-2.45	3.80	R
				2008	7.50	16.0	3.76	-0.66	
				2009	8.16	14.0	3.67	-0.27	
				2010	6.10	15.0	1.91	-1.07	
				2010*	6.33	17.0	2.06	-0.35	
	<i>qSQL1</i>	A02	35.8-45.3	2009	3.71	2.0	0.15	0.22	R-W
	<i>qSQL2</i>	A02	52.4-68.0	2009	3.88	6.0	0.20	0.27	E
	<i>qSQL3</i>	A03	31.1-58.4	2009	9.00	15.0	0.42	0.18	J
	<i>qSQL4</i>	A03	121.0-133.7	2009	4.88	15.0	-0.64	0.32	T-U
	2010	3.24	12.0	-0.61	0.11				
<i>qSQL5</i>	A07	67.4-86.5	2008	5.27	7.0	-4.63	1.61	E	
2009	5.00	13.0	-0.28	0.30					
2010	4.52	19.0	-0.36	0.21					
<i>qSQL6</i>	A08	58.6-71.7	2009	4.60	6.0	-0.18	-0.16	B	
<i>qSQL7</i>	A09	84.1-86.2	2010	3.09	4.0	0.13	-0.40	B	
<i>qSQL8</i>	A10	25.0-45.0	2008	5.52	15.0	-4.69	2.66	W	
Siliques width	<i>qSQW1</i>	A01	67.0-83.3	2008	5.97	16.0	5.11	-0.96	F
				2009	3.21	6.0	0.03	-0.01	
	<i>qSQW2</i>	A02	65.1-74.3	2009	3.51	5.0	0.02	0.03	K
	<i>qSQW3</i>	A03	1.7-25.0	2009	4.75	13.0	0.05	-0.02	R
				2010	4.39	14.0	0.05	0.00	
				2010	4.39	14.0	0.05	0.00	
	<i>qSQW4</i>	A03	43.5-54.0	2008	3.45	6.0	2.44	2.01	J
	<i>qSQW5</i>	A03	95.4-109.7	2009	4.73	16.0	0.07	0.03	T-U
	2010	3.24	3.0	0.01	-0.04				
	<i>qSQW6</i>	A08	6.5-22.1	2009	4.62	9.0	-0.04	0.06	C
<i>qSQW6</i>	A09	116.2-121.0	2009	3.09	8.0	-0.05	0.01	N	
<i>qSBL1</i>	A03	39.1-61.4	2009	10.54	24.0	0.15	0.02	J	
Siliques beak length	<i>qSBL2</i>	A04	15.7-29.2	2009	3.30	4.0	0.04	0.09	N
				2010	3.09	6.0	-0.10	0.03	
	<i>qSBL3</i>	A05	83.7-86.3	2009	3.20	7.0	-0.09	0.05	C
	2010	3.09	6.0	-0.10	0.03				
	<i>qSBL4</i>	A07	66.8-76.0	2009	4.55	9.0	-0.06	0.09	E
Seeds per siliques	<i>qSBL5</i>	A09	36.0-50.0	2010	3.00	10.0	0.16	-0.15	H
	<i>qSSQ1</i>	A02	37.8-48.0	2009	6.42	16.0	2.02	0.91	R-W
	<i>qSSQ2</i>	A03	44.6-56.0	2009	6.12	9.0	2.05	0.35	J
				2009	7.58	25.0	-2.11	2.42	
	<i>qSSQ3</i>	A03	94.7-111.1	2009	5.91	17.0	-2.54	-0.26	W
	2010	3.12	7.0	-1.30	-0.64				
	<i>qSW1</i>	A02	0.0-19.0	2009	3.15	6.0	-14.10	21.80	R
	2010	6.05	16.0	-22.29	-17.00				
Seed weight	<i>qSW2</i>	A03	39.1-61.4	2009	4.80	17.0	15.80	10.02	J
	<i>qSW3</i>	A06	28.3-36.8	2010	3.83	12.0	26.80	23.10	Q
	<i>qSW4</i>	A10	78.1-82.0	2010	3.10	7.1	2.80	24.97	R

○ 유전자 지도를 기반으로 하여 개화에 관련하여 조사한 형질자료를 이용하여 QTL 분석을 수행하였다(그림 31). 개화일수(DTF), 추대시기(DTB), 식물의 키(PH)에 해당하는 QTL 부위를 유전자 지도에 표기하였다.

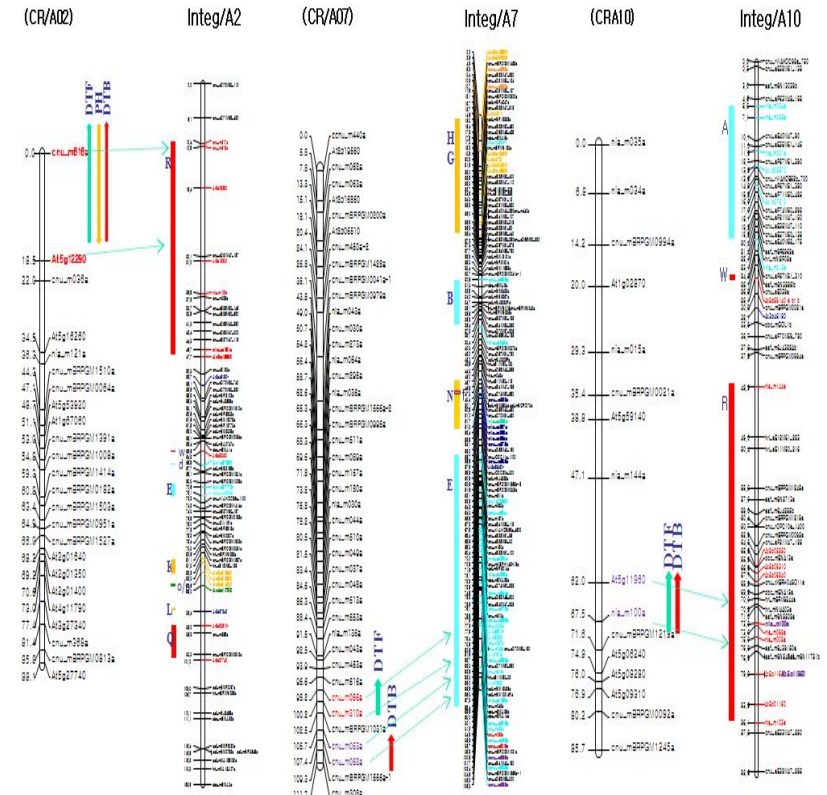


그림 31. QTL 분석을 통한 개화 형질 관련 유전자좌 탐색 결과의 예

○ 3가지 형질(DTF, DTB, PH)이 A02에 위치하여 나타났고, 2가지 형질(DTF, DTB)이 A2, A7, A10 연관그룹에 공통으로 위치하였다. 유전자 지도상에 나타난 QTL 부위에 대하여 표 33에 요약하였다.

(2) 개화 연관 SNP 마커 개발

(가) 부모본 및 CRF3 집단 표현형 변이

지부와 Wisconsin fast plant로도 알려진 RCBr 및 CRF3 집단을 이용하여 연구를 수행하였다. 두 부모본은 개화, 잎, 꼬투리, 종자의 특성에 있어 큰 차이를 보인다. 지부는 이들 특성에 대하여 높은 표현형 값을 보였으며, 개화 및 결구는 온도 및 광주기에 영향을 받기 때문에 본에 측정하였다.

- 잎의 특성 : 잎의 특성 중 4가지(엽장, 엽폭, 중륵장, 중륵폭)에 대한 QTL 분석을 수행하였다. 개화기 및 추대기와 각 4가지 특성사이에 상관관계가 있는지 연구하였다. CRF3 맵핑 집단의 QTL 맵핑 결과 13가지 특성에 대한 79개의 QTL을 확인하였다.
- 초장 : 총 6개의 QTL을 발견하였고, A2, A3, A5, A7, A8, A9 그룹에 존재하였다. QTL에 있는 A5와 A2 및 A5 그룹에 있는 QTL이 높은 LOD 값을 나타내었다. 이 초장에 대한 QTL은 표현형 변이의 53%를 나타내었다.
- 추대 및 개화특성 : 총 10개의 QTL이 추대기에 발견되었고, A2, A7, A10에 주된 QTL loci가 존재하였고, 각각의 4~29%의 표현형 변이를 나타내었다. 저온처리를 하지 않은 식물체들의 개화기에 대한 QTL은 8개의 연관 그룹 중 13개가 존재하였다.
- 꼬투리 특성 : 꼬투리 길이에 대한 8개의 QTL 및 꼬투리 정단 길이에 대한 5개의 QTL이 확인되었다.
- 종자 특성 : 꼬투리당 종자수와 종자무게는 종자 산출량을 증가시키기 위한 중요한 특성이다. 각각의 QTL은 7~25%의 표현형 변이를 나타내었다. 종자 무게에 대한 QTL의 표현형 변화는 6~17%를 나타내었다. *B.rapa*와 *A. thaliana*의 synteny 관계가 있음이 이전 연구(Ramchiary et al. 2011)에 의해 밝혀졌고, *Brassicagenome*에 있어 orthologue 유전자들을 찾아 *A. thaliana*로부터 특성유전자들을 선택할 수 있었다. 가장 유력한 후보의 유전자들은 R block의 A2, A3, A10에 존재하였고, 이들은 gibberellic acid oxidase 3 (*AtGA2OX3*), cytokinin oxidase/dehydrogenase gene 5 (*AtCKX5*), agamous-like gene family (*AtAGL*), flowering locus C gene family (*FLC*), gibberellic acid-stimulated *Arabidopsis* gene family (*GASA4*), 그리고 constans-like (*COL*) gene family였다. *FLC*, *COL*과 agamous-like gene들은 개화와 관련 있는 것으로 알려져 있고, *GASA* gene들은 개화, 꼬투리, 그리고 종자 발달에 관련이 있다고 보고된 바 있다(Roxard et al., 2007). *AtGA2OX3*은 hypocotyl과 절간 신장을 증진시키고, 영양생장에서 개화 단계로, 수술대와 꼬투리의 길이, 꼬투리 당 종자의 수를 증가와 관련이 있다. Rice와 *A. thaliana*에서 CKX gene들의 돌연변이 또는 발현량 감소들은 Cytokinin이 축적되는 결과를 보이고, 또한 생식기관, 씨방형태, 종자 개수, 종자 크기 발달에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Ashikary et al., 2005; Bartrina et al. 2011).

(나) SNP들의 유효성 식별

육종에 필요한 특정 유전자 연관 SNP 마커들을 개발하기 위하여 부모계통으로부터 후보 유전자 염기서열들을 분석하였다. 잎, 추대, 개화, 꼬투리 길이와 너비, 꼬투리 당 종자 수, 종자 무게 특성에 대한 분석으로 16개의 후보유전자를 선발하여 이들간의 SNP를 조사한 결과 총 51개의 SNP를 확인하였다. 모든 loci에 대해 프라이머를 합성하고 다형성을 조사하여 F₃맵핑 집단에서 위치를 표기하고, 표현형과 상관관계를 확인하였으며 QTL 위치에 co-localization 됨을 확인하였다. 이 형질에 가장 연관된 최종 SNP 마커 13개를 선발할 수 있었다(그림 32).

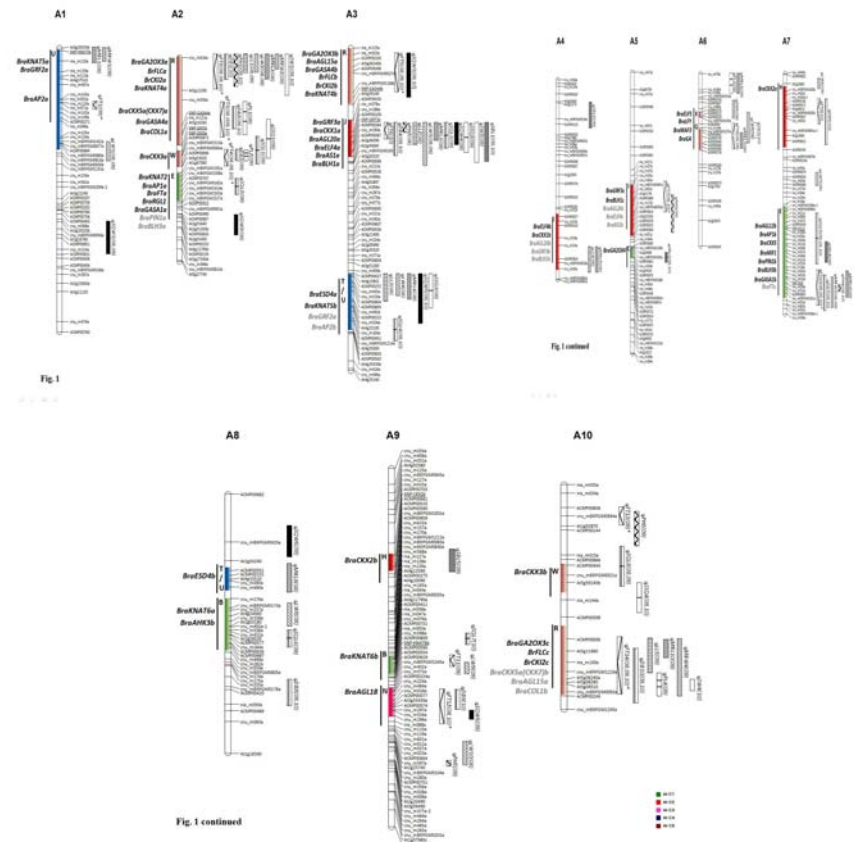


그림 32. 개화, 잎의 특성, 종자 꼬투리 형질에 관여하는 후보유전자들의 SNP 마커를 유전자 지도에 표기

(다) 배추과 작물의 QTL 구조 및 기능 연구

이 연구의 결과로 얻은 *B. rapa*의 QTL 지도와 *B. juncea* (Ramchiary et al. 2007) 및 *B. napus*의 QTL 지도(Quijada et al. 2006; Udall et al. 2006)를 배열하여, 각 QTL Block의 구조적 및 기능적 보존, 표현형 및 양적형질의 특성을 알아보았다. 이 3가지 종 사이의 QTL 지도들의 comparative alignment를 통하여 총 4가지의 homologous group으로 나뉘는 것을 확인하였다. 1) 첫 번째 그룹은 R block으로 A^{r2}, A^{j2}, Aⁿ², Cⁿ², B^{j2} (*r*:*B.rapa*(AA), *j*:*B.juncea*(AABB), *n*:*B.napus*(AACC))에 주요한 QTL들이 A sub-genome 내에서 발견되었지만, 초장, 개화기, 종자수율에 대한 QTL은 *B. rapa*와 *B. juncea*는 A sub-genome에서, *B. napus*는 C sub-genome의 같은 block의 보존지역에서 발견되었다. *B. juncea*의 A^{j2}, B^{j2}에서는 다른 QTL이 존재하지 않았다. 2) 두 번째 그룹은 R, J, F block이다. R block에는 종자 무게, 수율, 단위 중량, 개화기 관련 QTL을 포함한 일반적인 QTL이 *B. rapa*의 A sub-genome과 *B. napus*의 A와 C sub-genomes 사이에 존재하였다. J block에는 많은 QTL이 A^{r3}에 존재하였으나, Aⁿ³, A^{j3}, B^{j3}에는 적은 수 존재하였다. 주요 QTL로 단위중량과 개화기 관련 QTL이 있으며, 꼬투리 관련 QTL (꼬투리 길이, 밀도, 수)과, 초장 등의 특성에 대한 QTL도 존재하였다. F block의 공통 QTL로 A^{r3}와 Cⁿ³사이에서 단위 중량 및 초장에 대한 QTL이 보존되어 있었다. 3) 세 번째는 가장 중요한 공통 block인 E block이다. 초장, 단위 중량, 개화기, 꼬투리 수 및 밀도, 꼬투리 당 종자 수에 대한 QTL이 A^{r7}, A^{j7}, Cⁿ⁷, B^{j7}에 존재하였다. 또한 A^{r7}에는 잎과 관련한 특성의 QTL도 확인되었다. 4) 마지막 그룹은 W, R block으로, W block에는 A^{r10}, Aⁿ¹⁰과 A^{j10}사이에서 꼬투리 길이, 꼬투리 당 종자 수, 단위 중량에 대한 QTL이 존재하였다. 개화기, 초장, 잎에 대한 특성에 연관된 QTL이 A^{r10}과 Aⁿ¹⁰사이에서 발견되었다. R Block에는 초장, 가지 수, 개화기, 꼬투리 관련 특성, 단위 중량에 대한 QTL이 A^{r10}, A^{j10}, Aⁿ¹⁰, B^{j10}, Cⁿ¹⁰에 존재하였다(그림 33).

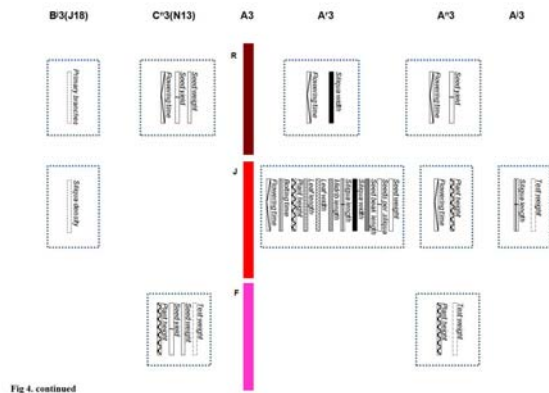


그림 33. 배추과(*Brassica rapa*, *B. juncea* and *B. napus*)에서 형태 및 수량 관련 형질에 대하여 유전체를 비교함으로써 공통적으로 가지고 있는 QTL을 확인. A, B, C는 연관그룹을 나타내며 “r”, “n”, “j” 은 각각 서로 다른 유전체인 *B. rapa*, *B. napus*, *B. juncea*임을 나타낸다.

나. 유전자적 응성불임 마커의 개발

○ 배추(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)는 많은 경제적으로 중요한 채소 식물을 포함하는 *Brassica* 속에 속하며, 분명한 잡종 강세를 지닌 양성화를 지닌 전형적인 allogamous 식물의 예이다. 잡종 종자 생산의 양식은 잡종 강세의 이용을 위하여 매우 중요하다. 지금까지 F1 잡종종자의 생산은 주로 자가불화합성을 이용하여 이루어져 왔다. 그러나 자가불화합성의 이용은 양친유지비용이 과다하고, 자식세대 진전에 따른 내혼약세현상, 잡종종자의 낮은 순도 등으로 문제점을 가지고 있다. 응성불임 계통의 이용은 자가불화합성에 비교하여 배추의 교잡육종을 위해 매우 경제적이며 안정된 방법이다. 이상적인 응성불임 계통의 응성불임 식물의 비율은 100%이어야 하며, 주요 경제적 형질의 조합능력 또한 높아야 한다. 그런 고품질의 응성불임계통을 얻기 위하여, 응성불임의 근원을 찾고 유전법칙을 밝히는 것이 결정적인 과정이다.

○ 지금까지는, 배추의 응성불임 재료는 유전자 응성불임(GMS) 및 세포질 응성불임(CMS)으로 나눌 수 있었다. CMS에 비하여, GMS는 수술의 완전한 퇴화, 안정된 불임 및 기대하지 않은 형질을 동반하지 않는 것과 같은 보다 분명한 장점이 있다. 그러나, 배추에서 이전에 발견되었던 유전자 응성불임은 대개 하나의 열성 유전자 또는 우성 유전자에 의하여 조절되는 것으로 여겨졌다. 응성불임성의 유지선 선발에 검정교잡이 적용되면, 이들 계통에서 응성불임 식물은 오직 50%에 달할 수 있게 된다. Feng 등(1995, *Acta Hort* 402:133-140)은 AB 계통 간에 응성불임 식물 및 응성가임 식물의 교배로 배추에서 100% 응성불임인 네 개의 안정된 유전 계통을 얻었다. 다음해에, 이들 응성불임 재료의 유전원리를 밝히기 위하여 특별한 유전적 분석이 고안 및 수행되어, “배추의 유전자적 다중대립인자 응성불임 유전자의 유전적 가설”이 최종적으로 제안되었으며, 이는 본 발명의 대부분을 만족스럽게 설명한다. 지금까지, 배추의 다른 생태형들 간, 꽃배추, 밀크배추 및 청경채에 유전자 전달되었으며, 특정 고품질의 응성불임 계통이 그림 9의 모델에 따라 성공적으로 개발되었다. 당 모델은 한 개의 유전자좌에 세 개의 대립인자 즉, 응성불임에 대한 “Ms” 대립인자, 응성가임에 대한 “ms”인자, 및 임신회복에 대한 “Ms^{fr}”로 구성되어 있다. 이들 대립인자의 우성-열성 관계는 Ms^f>Ms>ms 이었다. 100% 응성불임을 지닌 응성불임 계통을 얻기 위한 유전적 모델은 그림 33과 같다.

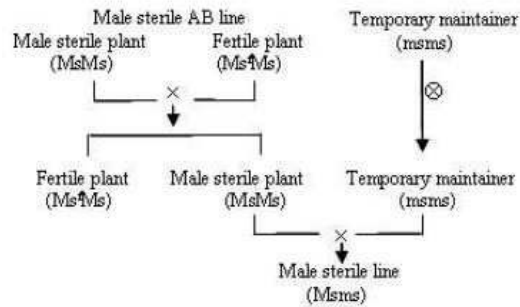


그림 33. 웅성불임계통의 육성도

- 배추 웅성불임의 “다중대립인자 모델”의 개발은 식물의 유전자 웅성불임 재료의 이용을 위한 새로운 방식을 창출하였다. 그러나, 그런 웅성불임 재료의 특수한 유전적 기작 때문에, 중간 세대 식물의 유전자형은 웅성불임 계통의 전달 중에 검정교잡으로 동정되어야 한다. 선발된 식물의 목표 유전자와 상의 유전자형은 전달 과정의 지연으로 자손의 개화까지 알 수 없다. 이러한 문제의 해결을 위해서는 유전자 표식에 의한 선발(marker-assisted selection; MAS) 방법이 최선의 방법이다.
- 배추과 작물에서 다른 웅성불임 자원에 관하여 특정 분자생물학적 연구가 보고된 바 있다. Miao 등(2000, *Euphytica* **132**:227-223)은 여교잡 집단에 근거하여 BSA를 조합한 AFLP 기법으로 유전자 열성 웅성불임 유전자에 밀접하게 연관된 네 개의 STS 마커를 개발하였다. Zhang 등(2008, *Sci. Agri. Sinica* **41**(8):2379-2385)은 배추에서 우성 웅성불임 유전자에 밀접하게 연관된 RAPD 마커를 동정하여 2.61 cM 거리의 SCAR 마커로 전환하였다. Ke 등(2005, *Plant Breed.* **124**:367-370), Hong 등(2006, *Euphytica*, **151**:401-409), Liu 등(2007, *Chinese J Oil Crop Sci* **29**:14-19), Lu 등(2004, *Acta Agron Sina* **30**:104-107), Wang 등(2006, *J Pl Physiol Mol Biol* **32**:513-518), 및 Wang 등(2000, *Acta Genet Sin* **27**:1012-1017)은 유채에서 웅성불임 유전자에 연관된 분자적 마커 그룹을 동정하였다. Wang 등 (2000a, *Acta Hort, Sin.* **27**:143-144; 2000b, *Euphytica* **112**:267-273; 2005, *Acta Hort Sin* **32**:628-631)은 양배추(*Brassica oleracea*)에서 우성 웅성불임 유전자 *Ms-cdl*에 밀접하게 연관된 12 개의 AFLP 마커를 동정하여, 양배추 염색체 3번에 해당하는 연관군 9에 이 유전자를 지도화 하였다.
- 재료 및 방법
 - 식물체 : 배추의 유전자 웅성불임 재료 “AB01”(MsMs); 다국적 브라시카 게놈프로그래밍 (MBGP)의 모델 재료인 배추 내혼계 계통 “지부 (Chiifu)”의 유전자형은 검정교잡에 근거하여 msms로 결정되었다.
 - 지부 (Chiifu)의 유전자형 결정 : 웅성친으로서 지부 (Chiifu)가 유전자 웅성불임

계통 “MS-11”(Msms)과 검정교잡 되고, F₁세대에서 가임 및 불임의 분리비에 따라 유전자 다중 대립인자 웅성불임좌 상의 지부 (Chiifu)의 유전자형 결정을 위하여, 계통 “Ms-05”(msms), AB 계통의 불임 식물 “AB02-1”(MsMs) 및 가임 식물 “AB02-2”(Ms^fMs)를 유지하였다.

- DNA 분리 및 BSA : 게놈 DNA는 Guillemaut 및 Marechal-Drouard (1992, *Pl Mol Biol Rep* **10**:60-65)의 방법을 약간 변형시킨 방법으로 양친 및 BC₁ 식물체의 신선한 잎에서 분리되었다. 10 개의 가임 및 10 개의 불임 개체로부터 동량의 DNA를 합하여 가임 및 불임 bulks가 준비되었다. 양친 및 2 개 bulks의 DNA가 SSR 및 AFLP 기법과 조합된 BSA 에 사용되었다.
- SSR 분석 : 본 연구실에 의해 이미 개발된 268 개의 SSR 프라이머 쌍이 다형성에 대하여 스크리닝 되었다. DNA 증폭은 1 unit *Taq* 증합효소, 0.5 μM 프라이머, 200 μM dNTPs, 1.5-2.0 mM MgCl₂, 1×PCR 버퍼 및 40 ng 게놈 DNA 주형을 함유하는 20 μl 용액에서 수행되었다. PCR은 95 °C에서 5분에 이어, 94 °C에서 DNA 변성 30 초, 적절한 어닐링 온도에서 45 초 및 72 °C에서 연장 60 초를 30-35회 순환시킨 후 72 °C에서 7 분간 최종 연장하였다. PCR은 BIO-RAD iCycler PCR로 수행되었으며, PCR 산물은 6% 폴리아크릴 아마이드겔 상에서 분리되었다.
- 또한, 본 발명에서 SSR 지도 정보에 근거하여, 근접한 거리의 유전자에 연관된 SSR 마커를 동정하기 위하여 Primer 3 소프트웨어를 사용하여 특정 BAC 클론 상에 SSR을 플랭킹하는 10 개의 SSR 프라이머 쌍을 디자인하였다. 프라이머 디자인의 기준은 하기와 같다: 증폭된 DNA 단편의 크기가 100-400bp의 범위일 것, 쌍인 두 개의 프라이머 간의 Tm의 차이는 3 °C 미만일 것, 프라이머의 Tm은 55 °C 내지 63 °C 범위 내에 있을 것, 및 GC 함량은 35%를 초과하도록 하였다.
- AFLP 분석: Ms 좌위에 근접하기 위하여, AFLP 분석이 수행되었다. AFLP 기법은 Vos 등 을 약간 변형한 방법에 따랐다. 게놈 DNA (500 ng)를 총 25μl 용액에 37 °C에서 밤새 *Pst*I 및 *Mse*I으로 잘랐다. 75 °C에서 제한효소를 불활성시킨 후, 총 50 μl 용액에 37 °C에서 3시간 동안 배양하여 어댑터를 라이게이션하였다. 상기 반응물을 10 배 희석하여, 5 μl를 2.5 mM dNTP, 1×PCR 버퍼 (15 mM MgCl₂), *Pst*I+G/*Mse*I+C 각각 27 ng, 및 1 U *Taq* DNA 증합효소가 함유된 예비증폭 반응을 위한 DNA 주형으로 사용하였다. 상기 증폭물을 50 배 희석하여 선택적 PCR을 위한 DNA 주형으로 사용하였다. 16 개의 *Pst*I+GNN 및 16 개의 *Mse*I+CNN 프라이머로 조합된 256 프라이머 쌍이 마커 동정에 사용되었다. 선택적 PCR은 1×PCR 버퍼 (15 mM MgCl₂), 2.5mM dNTP, 30 ng *Mse*I+CNN, 15 ng *Pst*I+GNN, 및 0.4 U *Taq* DNA 증합효소로 수행되었다. 모든 증폭은 Vos 등 (1995, *Nucleic Acids Res* **21**:44070-4414)에 기재된 PCR 조건으로 BIO-RAD iCycler로 수행되었다. PCR 산물은 동량의 로딩 염료 (98% 포름아마이드, 10 mM EDTA, 자이렌 사이아놀 및 브로모페놀 블루 각각 0.001%)와 혼합되었다. 시료는 94 °C에서 5 분 변성되어 85 W에서 Long Ranger gel (FMC) 상에서 분리되었다. 전기영동 후, 겔은 silver staining kit (Bioneer)로 발색되었다.

- AFLP 마커의 SCAR 마커로의 전환 : AFLP 마커를 함유하는 겔 조각을 100 μ l 무균수에 넣어 5 분간 끓였다. 원심분리 후, 상등액 5 μ l를 해당 선택적 프라이머 조합을 사용하여 동일한 PCR 조건으로 증폭하였다. 증폭물을 1.0% agarose gel에서 분리하여, 겔 추출 키트 (Tiangen)을 사용하여 추출하였다. 추출된 AFLP 단편을 pGEM-T Easy Vector system I (Promega)으로 클로닝하였다. AFLP 클론을 ABI PRISM 377 자동 시퀀서를 사용하여 양쪽 말단에서 서열 결정 하였다. SCAR 마커 개발을 위한 프라이머 쌍은 Primer 3 program을 사용하여 2 개의 말단 서열에 근거하여 디자인되었다. 연0 μ l BC₁식물의 게놈 DNA를 증폭하기 위하여 예비증폭 조건을 사용하였다. 증폭 산물은 2% agarose gel 상에서 분리되었다.
- 연관 분석 : 개발된 SSR 및 SCAR 마커가 122 BC₁식물을 조사하는데 사용되었다. 분자 마커 및 유전자적 다중대립인자 응성불임 유전자 Ms에 대한 연관분석은 JoinMap 3.0 으로 수행되었다. 유전자지도는 최소 LOD 스코어 3 및 최대 재조합 비율 0.4에 근거하여 작성되었다. 유전자지도 거리는 코삼비 함수를 사용하여 계산되었다.

○ 맵핑 집단 구축 : 자성친으로서 AB01 (MsMs) 및 반복친 (msms) 으로서 지부 (Chiifu) 간에 122 개체를 포함하는 BC₁ 맵핑 집단을 작성하였다. 식물체는 응성 불임 또는 가임에 대하여 개화 시에 직접적인 관찰로 조사되었다. 모든 122 식물체 중에서 65 개체는 가임, 57 개체는 응성 불임으로 분리비 1:1 ($X^2_{0.05(1)}=0.401$) 과 일치하였다.

○ 지부 (Chiifu)의 유전자형 결정 : 지부 (Chiifu)의 유전자형은 각 검정교잡 조합의 자손 분리비(표 35)에 따라 동형접합 "msms"로 결정되었다.

표 35. 유전자적 다중대립인자 응성불임좌 상에 유전자형의 검정교잡 기록

검정 계통	검정교잡 계통	F ₁ 세대에서 가임 식물의 수	F ₁ 세대에서 불임 식물의 수	분리비	X ^{2*}
지부 (Chiifu)	AB02-1 (MsMs)	0	55	모두 불임	
	AB02-1 (Ms ^f Ms)	32	25	1:1	0.632
	ms-05 (msms)	52	0	모두 가임	
	MS-11 (Msms)	31	25	1:1	0.446

* 0.05 확률 수준에서 유의

○ Ms 유전자에 연관된 SSR 마커의 동정 : Ms 유전자의 유전자지도 상의 위치를 알기 위하여, 배추 전체 게놈에 미치는 268 개의 SSR 프라이머가 양친, AB01 및 지부 (Chiifu) 간에 다형성을 동정하기 위하여 사용되었다. 182 개의 SSR 프라이머가 다형성을 보였으며, 염색체 R07 상에 하나의 SSR 마커, cnu_m273가 BC₁ 집단에서 Ms 유전자에 밀접하게 연관된 것으로 동정되었다. 연관 정보에 근거하여, R07의 연관지도 상에 모두 23 개의 SSR 프라이머가 스크리닝되었다. cnu_m030, cnu_m295, nia_m064 및 nia_m065를 포함하는 다른 네 개의 SSR 마커도 또한 Ms 유전자에 밀접하게 연관된 것으로 동정되었다.

○ Ms 유전자에 보다 밀접하게 연관된 SSR 마커를 동정하기 위하여, <http://www.brassica-rapa.org>에 공개된 BAC 클론의 서열 정보에 따라 특정 BAC 클론 상의 SSR을 플랭킹하게 10 개의 SSR 프라이머가 디자인되었다. 하나의 프라이머, syau_m13만이 Ms 유전자에 연관된 것으로 보여졌다. 연관 분석에 근거하여, 상기 모든 마커는 Ms 유전자의 같은 쪽에 위치하였다. 상기 모든 SSR 마커의 분리비는 1:1에 맞았다. Ms에 연관된 마커만이 제시되었다.

○ AFLP 마커의 동정 및 SCAR 마커로의 전환 : BSA는 256 (16 개의 PstI+GNN×16 개의 MseI+CNN) 쌍의 AFLP 프라이머 조합으로 수행되었다. 임의의 16 개의 MseI+CNN 프라이머 중 임의의 것 과 조합된 PstI+GTA 및 PstI+GGG 프라이머로는 증폭산물이 생성되지 않았다. 나머지 224 쌍의 프라이머 조합 각각으로는 평균 42 개의 증폭산물이 생성되었다. 두 양친 간에 다형성의 빈도는 약 15%이었으며, 2-28%의 범위에 있었다.

○ 두 양친 간에 김출된 2,288 개의 다형 좌위 중, 18 개는 두 bulks에 대하여 다형성을 보였다. 두 bulks에서 유래된 BC₁ 개체에서 상기 후보 마커의 확인에서 2개는 122 개의 BC₁ 식물체의 평가에 최종적으로 사용된(표 36) 유전자에 밀접하게 연관된 것으로 보였다. 유전자지도 작성집단 내에서, 이들 모든 마커는 Ms 유전자에 연관되었다.

○ 모든 경우에, 2개의 프라이머 쌍은 Primer3 software를 사용하여 디자인되었다(표 36). PCR 조건은 두 양친 각각 및 2 개의 bulks로부터의 사전증폭 산물을 사용하여 최적화되었으며, 두 bulks의 BC₁개체의 게놈 DNA로 추가적으로 확증되었다. 상기 분석의 결과는 이들 AFLP 마커 중 2 개는 성공적으로 SCAR 마커로 전환되었음을 나타낸다. syau_scr01은 P01로부터 전환된 우성 SCAR 마커였으며, syau_scr04는 P04로부터 전환된 공우성 이었다.

표 36. *Ms* 유전자에 연관된 AFLP 마커 및 전환된 SCAR 마커

AFLP 마커	AFLP 프라이머	SCAR 마커		마커 유형	크기	PCR 조건 ^b
		명칭	프라이머 서열 (5'>3') ^a			
P01	Pggc/Mctt	syau_scr01	GCAAATTTGTCAAACCTTCACC (서열번호 1) 및 TCCACCACATTACTTCCCAA (서열번호 2)	우성	378bp	58 °C, 45 s 72 °C, 60 s
P04	Pgca/Mcac	syau_scr04	AGGATATATCTTGGCTCACGAG (서열번호 3) 및 CATCAATAGTGGCGTATGTCTG(서열번호 4)	공우성	207bp	58 °C, 45 s 72 °C, 60 s

^a 정방향 및 역방향 프라이머 순

^b 모든 프라이머에 대한 PCR 조건은 94 °C에서 5 분, 94 °C에서 30 초의 35 회 사이클

- SSR 및 SCAR 마커를 이용한 *Ms* 유전자의 맵핑 : 총 122 개의 BC₁ 식물체가 SSR로 스크리닝 되어 SCAR 마커로 전환되었다. 우성불임-특이 마커는 대부분의 우성 불임 식물에 존재하며, 가임 식물에는 없는 것으로 밝혀졌다. 특히, 두 개의 SSR 마커, nia_m064 및 nia_m065 간에 재조합은 검출되지 않았다. 4, 6, 7, 10, 12, 12, 2, 3 식물은 각각 *Ms* 유전자와 syau_m13, cnu_m273, cnu_m030, cnu_m295, nia_m064, nia_m065, syau_scr01 및 syau_scr04 간에 재조합을 나타낸다. 상기 마커는 또한 유전자지도 작성집단 내에서는 정상적으로 분리되었다(표 37). 상기 마커에 대한 분리 자료의 JoinMap 3.0을 사용한 연관 분석은 상기 마커들이 모두 최소 LOD에서 같은 연관 그룹에 속하는 것으로 나타났다.
- 우성 마커 syau_scr01, 및 공우성 마커 syau_scr04는 각각, 1.61 cM 및 2.24 cM의 거리에서 *Ms* 유전자를 밀접하게 플래킹하는 것으로 보였다. syau_m13, cnu_m273, cnu_m030, cnu_m295, nia_m064, 및 nia_m065를 포함하여 모든 다른마커는, syau_scr04와 같은 쪽에서 발견되었다.

표 37. BC₁ 집단에서 *Ms* 좌위, 6 SSR 마커 및 2 SCAR 마커의 분리

형질 또는 마커	마커 지닌 BC ₁ 식물의 수 ^a		기대비	X ^{2*}
	aa	Aa		
<i>Ms</i>	130	114	1:1	0.922
cnu_m273	130	114	1:1	0.922
cnu_m030	128	116	1:1	0.496
cnu_m295	130	114	1:1	0.922
syau_m13	134	110	1:1	2.168
syau_scr01	130	114	1:1	0.922
syau_scr04	136	108	1:1	2.988

a 동형접합 및 이형접합 밴드를 보이는 BC₁ 식물의 수: aa 가임 동형접합, Aa 우성불임 이형접합.

* 0.05 확률 수준에서 유의

다. 결구크기에 대한 유전자 분석

(1) 유전자 분석 Version. 1

- 배추의 주요 특성인 결구 크기에 대하여 유전적 분석을 수행하였다. 본 연구에서 사용된 배추 계통은 구중이 매우 큰 계통과 매우 작은 계통 2가지를 이용하여 F1을 만든 후 이를 이용하여 총 96개의 F2 계통을 만들어 이용하였다.
- 식물 재료 및 DNA 분리 : 내혼계 배추 계통인 501 (큰결구형성)과 601(작은결구형성) 두 계통을 이용하여 교배를 통하여 F2 집단을 양성하였다. F2 집단에서 총 96계통을 임의로 선정하여 mapping population으로 사용하였다. 양친과 F1, 그리고 F2 집단을 이용하여 성숙된 잎으로부터 DNA를 추출하여 사용하였다.
- SSR 마커의 PCR 증폭 : 본연구실에 의해 이미 개발된 SSR 프라이머 쌍이 다형성에 대하여 스크리닝 되었고 다형성이 보이는 마커에 대하여 유전자지도를 작성하였다. DNA 증폭은 0.5 unit *Taq* 중합효소, 0.5 μM 프라이머, 80 μM dNTPs, 10× PCR 버퍼 및 15 ng 게놈 DNA 주형을 함유하는 10 μl 용액에서 수행되었다. PCR 은 95 °C에서 5분에 이어, 94 °C에서 DNA 변성 30 초, 적절한 어닐링 온도에서 45 초 및 72 °C에서 연장 30 초를 30-35회 순환시킨 후 72 °C에서 5 분간 최종 연장 하였다. PCR은 BIO-RAD iCycler PCR로 수행되었으며, PCR 산물은 4% 폴리 아크릴 아미드겔 상에서 분리되었다.
- 연관분석 및 유전자지도 작성 : 개발된 SSR마커를 이용하여 분석하였는데 연관분석은 JoinMap 3.0 으로 수행되었다. 유전자지도는 최소 LOD 스코어 3.3 및 최대 재조합 비율 0.4에 근거하여 작성되었다. 유전자지도 거리는 코삼비 함수를 사용하여 계산되었다.

○ 연관군 지도의 작성

총 85 개의 분자마커가 10 개의 큰 연관그룹으로 나타났으며 연관그룹은 map 크기를 기준으로 하여 큰 그룹부터 1부터 10번까지 순차적으로 번호 매김을 하였다 (그림 33). 배추의 염색체수(n = 10)가 10개인 것으로 보아 각각의 연관 그룹은 10 개의 각기 다른 염색체라고 사료된다. 전체 유전자 연관지도의 길이는638.6 cM으로 R10의 46.8 cM부터 R6의 90.1 CM 까지 다양하였으며 평균 마커간의 거리는 7.51 cM이었다 (표 38).

표 38. 85개의 SSR marker를 이용하여 구축된 배추의 10개 연관군의 특성

No. of R	Length(cM)	No. of markers	Av. interval size(cM)
1	75.3	9	8.37
2	59.1	8	7.39
3	71.9	9	7.99
4	52.4	7	7.49
5	50.9	6	8.48
6	90.1	8	11.26
7	73.9	8	9.24
8	58.3	9	6.48
9	59.9	8	7.49
10	46.8	6	5.85

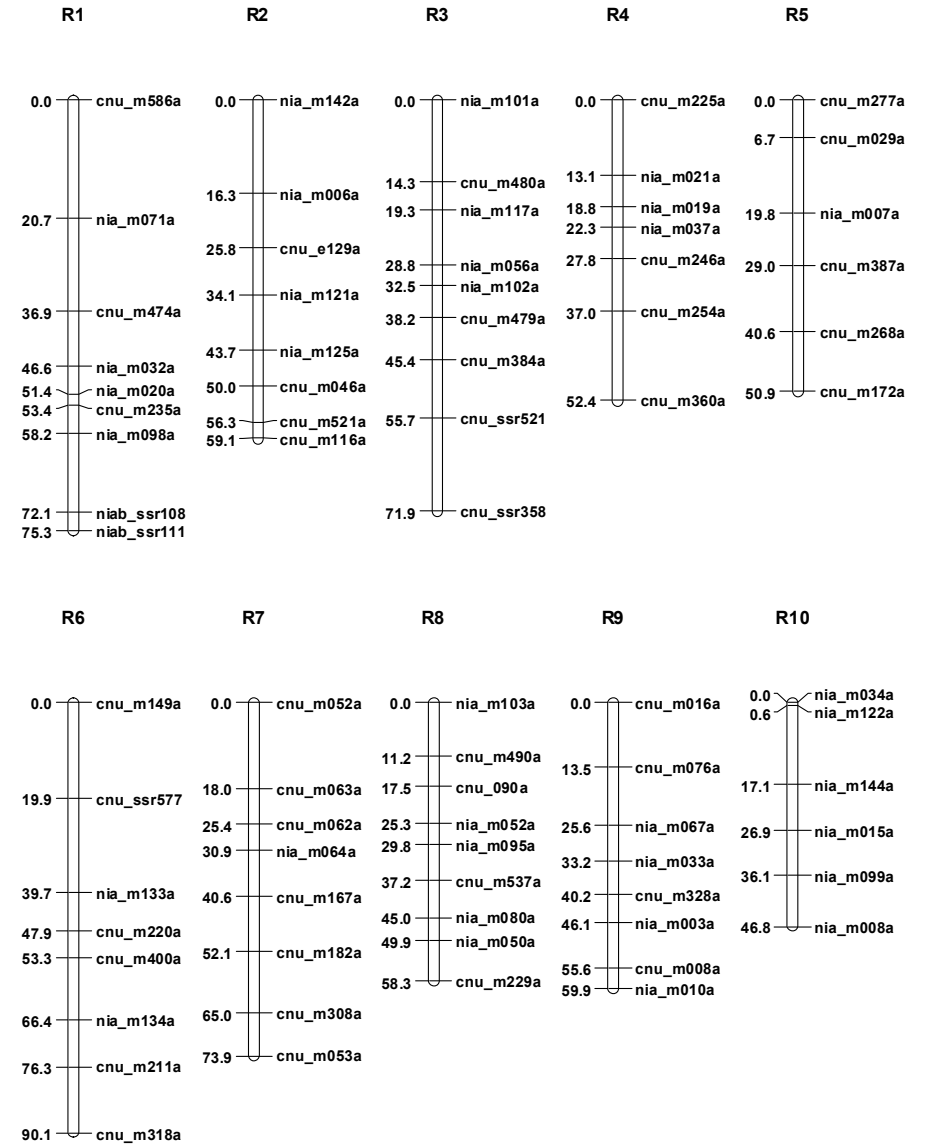


그림 33. SSR 마커를 이용한 배추의 결구관련 mapping 집단의 연관군지도.

○ 결구형성관련 상관분석

- “501”과 “601”의 교배로 부터 나온 F₃ 집단이 배추의 결구성과 연관되는 형질을 측정 하는데 사용되었다. 형질들 사이의 상관관계수는 SAS software를 사용하여 분석되었다(표 39).

표 39. 중심 결구 농업형질의 상관관계수

상관계수	총중량	비결구 엽수	구중	구장	구폭	결구엽수	Bolting 길이
비 결구엽수	0.1676						
구중	0.8657**	-0.0637					
구장	0.4081*	-0.032	0.4454*				
구폭	0.5627**	0.0174	0.5669**	0.2376			
결구엽수	0.6259**	0.1714	0.667**	0.7055**	0.481*		
Bolting 길이	0.4478*	-0.0578	0.5276**	0.148	0.2932	0.3362	
Bolting폭	0.5869**	0.1204	0.5203*	0.147	0.4454*	0.5146*	0.2763

Note : * 의 의미 : P<0.05); ** 의 의미 P<0.01.

- 다른 농업형질과 총중량과의 상관분석 : 결과에서 총중량은 구중과 분명하게 양의 상관관계를 보여준다. 이는 구중이 총중량에 가장 크게 기여하고 있음을 나타낸다. 총중량은 또한 결구 폭, 결구엽수, bolting폭과도 분명한 양의 상관관계를 갖는다. 상관관계수는 각각 0.5627, 0.6259, 0.5869이다. 그것은 결구 폭, 결구엽수, bolting폭이 총중량에 가장 직접적인 지표라고 생각할 수 있다. 결구길이와 Bolting의 길이는 총중량과 명백한 양의 상관관계를 보여주었다.
- 다른 농업형질과 결구중량과의 상관분석 : 구중은 결구형질을 직접적으로 알려줄 뿐 아니라 또한 결구형질의 궁극적인 결과이다. 구중은 결구폭, 결구엽수, bolting 길이와도 상당한 양의 상관관계를 보여준다. 이들 중에서도, 결구 잎의수와 결구 중량의 상관관계수가 “0.667”로 가장 높다. 결구중량은 또한 결구길이와 bolting폭 사이에서도 분명한 양의 상관관계를 보여준다.
- 다른 농업형질과 결구길이와의 상관분석 : 결구길이는 결구잎의 수와 상당한 양의 상관관계를 보여준다.
- 다른 농업형질과 결구 폭과의 상관분석 : 결구잎의 수, bolting 폭과 결구 폭 사이의 상관관계수는 각각 0.481, 0.4454이다. 이는 결구폭이 결구엽수, bolting폭과 상당한 양의 상관관계를 갖는다는 것을 보여준다.
- 다른 농업형질과 결구잎의 수와의 상관분석 : 결구엽수는 bolting 폭과 분명하게 양의 상관관계를 보인다. 그것은 좋은 품질과 산출량에서도 핵심요소일 뿐 아니라, bolting폭의 description을 표시해준다.

○ Mapping 집단에서 정량적형질의 표현형 차이

- 우리는 Excel 과 SPSS를 이용하여 양친과 분리집단사이의 결구형질과 연관된 표현형의 편차 분포도수를 평가했다.
- 총중량 : 양친 “501”과“601”의 총중량은 각각 3560.67g, 859.11g이다. F₂ mapping population의 총중량은 800-3900g로 분포하고 이 Data는 분명한 비대칭분포임을 보여준다.(그림 34)
- 결구중량 : 양친 “501”와“601”의 결구중량은 각각 2100g, 586g이다. F₂ mapping population의 결구중량은 400-2250g로 분포하고, 분명한 비대칭분포를 이룬다. (그림 34)
- 결구길이 : 양친 “501”과“601”의 결구길이는 31cm, 13.7cm이다. F₂ mapping population의 결구길이는 2-33cm 으로 분포한다.(그림 34)
- 결구 폭 : 양친“501”와“601”의 결구폭은 22.8cm, 11.2cm이다. F₂ mapping population의 결구폭은 10-24cm에 분포한다.(그림 34)
- 결구잎의 수 : 양친 “501”와“601”의 결구잎의 수는 36, 24이다. F₂ mapping population의 결구잎의 수는 10-24cm에 분포하고 혼합정규분포를 나타낸다.(그림 35).

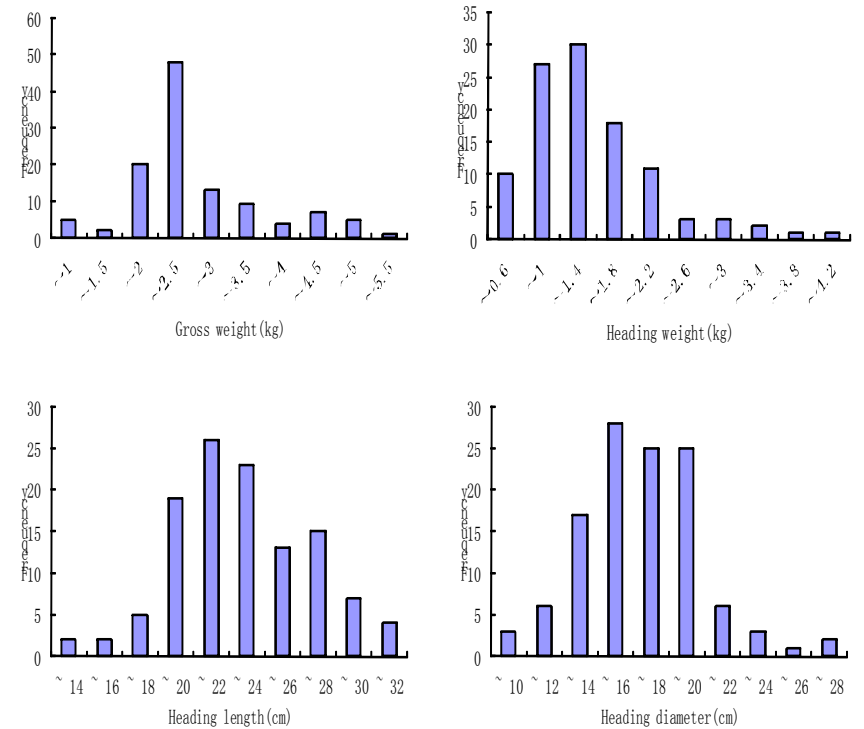


그림 34. F₂ 집단의 표현형 분포도

- 비결구잎의 수 : 양친 “501”과“601”의 비결구잎의 수는 11.6, 8.3이다. F₂ mapping population의 비결구잎의 수는 7.5-20.5 안에 분포하고 분명한 비대칭이다.(그림 35)
- Bolting 길이 : 양친 “501”과 “601”의 Bolting길이는 각각 3.9cm, 5.4cm이다. F₂ mapping population의 Bolting 길이는 2.5-8cm 안에 분포하고 혼합정규분포를 나타낸다.(그림 35).
- Bolting 폭 : 양친 “501”과“601”의 Bolting폭은 각각 2.1cm, 2.9cm이다. F₂ mapping population의 Bolting폭은 2-5cm 안에 분포하고 혼합정규분포를 보여준다.(그림 35).

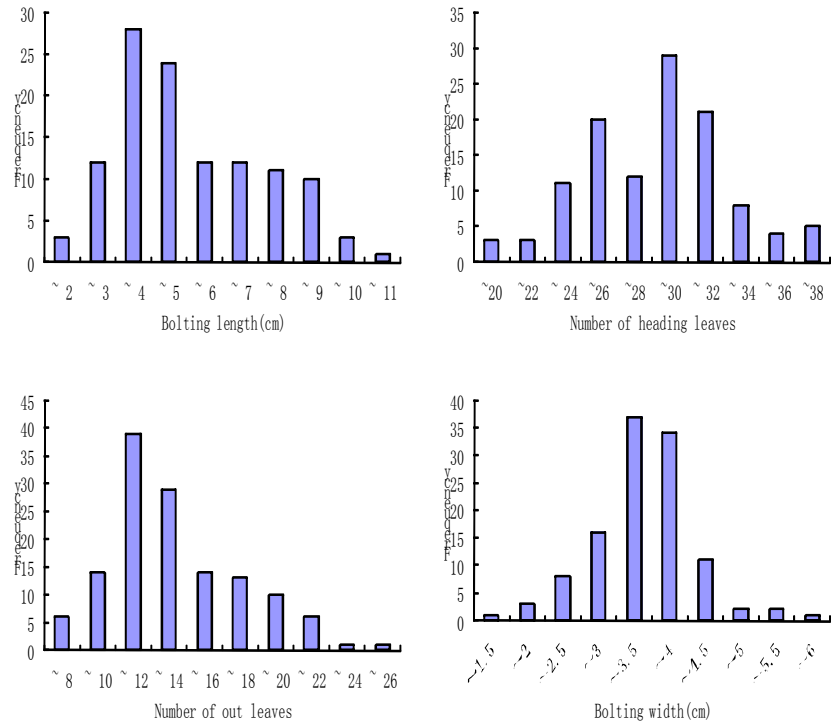


그림 35. F₂ 집단의 표현형 분포도

(2) 유전자 분석 Version2

- 배추의 주요 특성인 결구 크기에 대하여 유전적 분석을 수행하였다. 약배양으로 만든 배추 계통인 501 (구중 5,000 g, 수확일 110일)과 내흔계인 601(구중 250g, 수확일 45일) 두 계통을 이용하여 F₁을 만든 후 이를 이용하여 총 157개의 F₂ 계통을 유전집단으로 이용하였다. 양친과 F₁, 그리고 F₂ 집단을 이용하여 성숙된 잎으로부터 DNA를 추출하여 사용하였다.
- *B. rapa* 에서 보고된 각기 다른 발달 단계별, 조직별, 스트레스 처리조건에서 발현되는 182,703 개의 EST 염기서열을 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에서 수집하여 microsatellite 마커 탐색에 이용하였다. 이 중에서 염기서열간의 중복성을 제거하고 SSR을 가지고 있는 염기서열 450개의 unigene-based microsatellite markers (UGMS markers) sequences 를 확보하였다.
- 유전자지도 작성을 위해 선행연구로 보고한 651개의 SSR 프라이머와 UGMS 프라이머를 이용하여 다형성 검정을 수행하였다.
- SSR 마커의 PCR 증폭 : 본연구실에 의해 이미 개발된 SSR 프라이머 쌍이 다형성에 대하여 스크리닝 되었고 다형성이 보이는 마커에 대하여 유전자지도를 작성하였다. DNA 증폭은 0.5 unit *Taq* 중합효소, 0.5 μM 프라이머, 80μM dNTPs, 10× PCR 버퍼 및 15 ng 게놈 DNA 주형을 함유하는 10 μl 용액에서 수행되었다. PCR은 95 °C에서 5분에 이어, 94 °C에서 DNA 변성 30 초, 적절한 어닐링 온도에서 45 초 및 72 °C에서 연장 30 초를 30-35회 순환시킨 후 72 °C에서 5 분간 최종 연장하였다. PCR은 BIO-RAD iCycler PCR로 수행되었으며, PCR 산물은 4% 폴리 아크릴 아마이드겔 상에서 분리되었다.
- 651개 프라이머 중에서 158개(24.3%)가 다형성을 나타냈고, 450개의 UGMS 중에서 428 (95.1%)개가 하나 이상의 밴드를 증폭시켰으며 70개(15.6%)가 다형성을 나타내 UGMS 마커로 선별되었다.
- 총 227개의 loci가 10개의 연관그룹에 분포하였고 지도길이는 906.9 cM 이었다(표 40).

표 40. 결구형질에 관한 QTL 분석위해 사용한 유전자 지도 요약

LG ^a	Size (cM)	Number of loci	Average marker interval (cM)
A1	94.6	22	4.3
A2	86.5	19	4.6
A3	87.9	28	3.1
A4	67.2	9	7.5
A5	106.6	27	3.9
A6	89.8	29	3.1
A7	85.0	22	3.9
A8	77.0	16	4.8
A9	121.0	38	3.2
A10	91.3	17	5.4
Total	906.9	227	4.0

- 결구 형질에 대한 표현형 조사는 7가지를 이용하였다. 식물체 무게(GW), 외엽수 NNWL), 구중(HW), 구고(HL), 구폭(HWI), 구폭에 대한 구고의 비율(HLHWR), 내엽수(NNFL)로 표기하였다(표 41). 조사한 표현형 자료간에 상관성 분석 결과는 표 41과 같다.

표 41. 표현형 조사 형질 약어 및 설명

Trait	Trait description
GW	Gross weight
NNWL	Number of non-wrapper leaves
HW	Head weight
HL	Head length
HWI	Head width
HLHWR	Head length/Head width ratio
NNFL	Number of head-forming leaves

표 42. 결구 특성에 관련하여 조사한 7가지 형질간에 상관관계 분석

Trait	NNWL	HW	HL	HWI	HLHWR	NNFL
GW	0.1393	0.9011**	0.6454**	0.761**	-0.2361**	0.6401**
NNWL		-0.1493	0.0516	-0.2465**	0.3049**	0.0523
HW			0.5583**	0.8396**	-0.3841**	0.7168**
HL				0.4418**	0.3893**	0.2947**
HWI					-0.6413**	0.618**
HLHWR						-0.3787**

* Indicates significant at level of P<0.05

** Indicates significant at level of P<0.01

- 결구형질에 관한 QTL 지도화를 위해 QTL Cartographer version 2.5 프로그램을 이용하였으며 composite interval mapping (CIM) 방법으로 분석하였다. CIM 분석 시에 기준 LOD thresholds ($P=0.05$) 값은 2.5를 이용하였으며, permutations 1,000 반복을 실시하여 잠정적인 QTL 부위를 탐색하였다.
- 결구형질에 관한 QTL 분석 결과는 표 43과 그림 36에 요약하였다. 총 44 QTL이 10개의 연관그룹에 분포하였는데, 이는 유전체에서 20군데에 해당하였다.

표 43. *B. rapa*에서 조사한 표현형에 대한 QTL 분석에 대한 요약

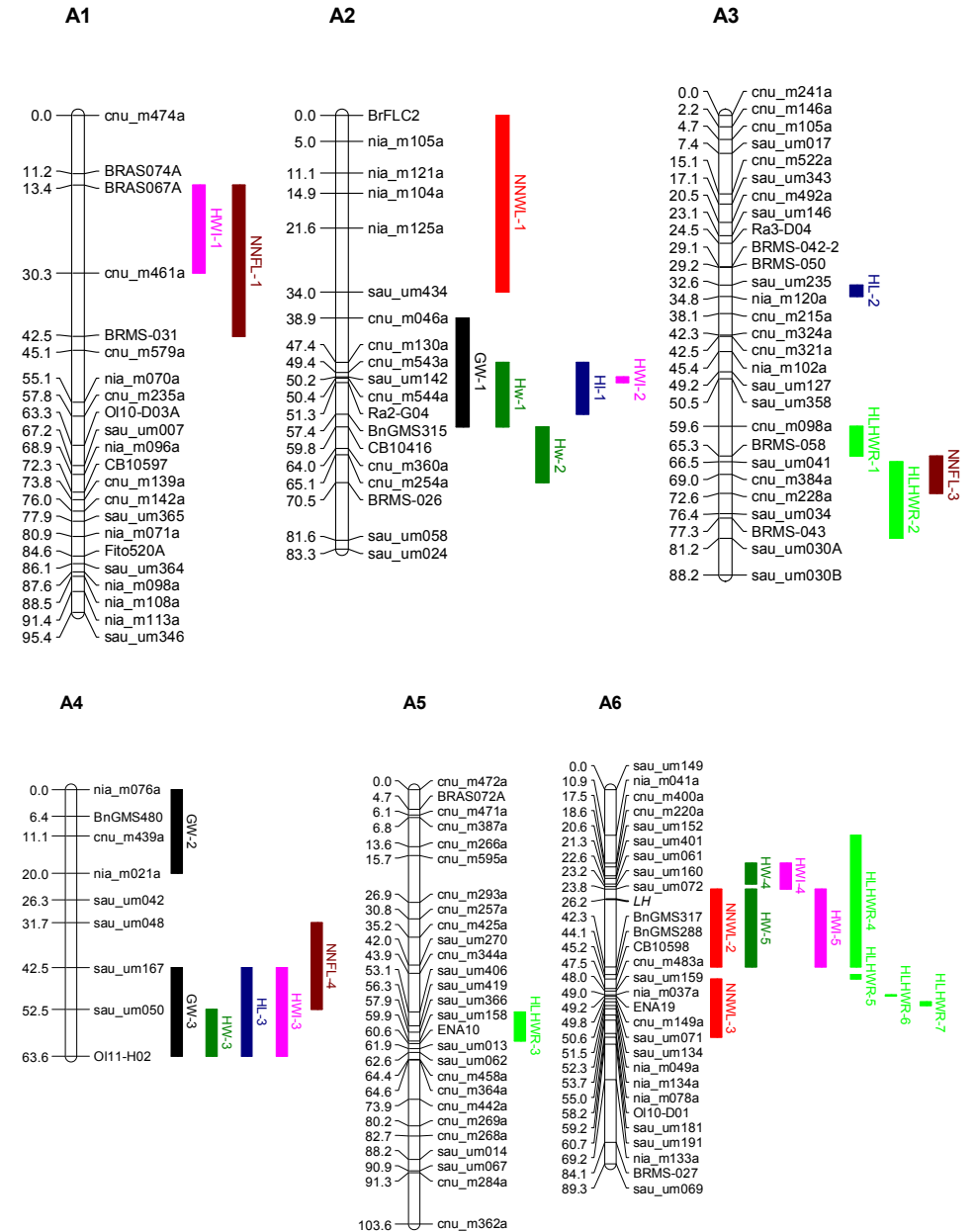
QTL	Marker interval	Linkage group	LOD ^a	R ² (%) ^b	A ₀ ^c	D ₀ ^d
GW-1	cnu_m046a - CB10416	A2	7.19	20	0.28	0.09
GW-2	nia_m076a - nia_m021a	A4	2.93	2	0.09	-0.07
GW-3	sau_um167 - OI11-H02	A4	10.09	8	-0.18	0.20
GW-4	cnu_m090a - BRMS088	A8	4.87	14	0.33	0.18
NNML-1	BrFLC2 - sau_um434	A2	7.04	19	1.18	0.48
NNWL-2	sau_um072 - BnGMS317	A6	6.40	30	1.63	0.35
NNWL-3	CB10598 - sau_um181	A6	4.91	13	1.01	0.09
NNWL-4	nia_m088a - cnu_m114a	A9	7.78	16	-1.02	0.02
NNWL-5	nia_m009a - ENA8	A10	3.15	12	0.96	0.66
HW-1	cnu_m130a - CB10416	A2	4.60	15	0.16	0.09
HW-2	CB10416 - BRMS026	A2	3.51	10	0.13	0.05
HW-3	sau_um049 - OI11-H02	A4	6.52	9	-0.10	0.09
HW-4	cnu_m400a - sau_um061	A6	3.54	4	-0.07	0.07
HW-5	sau_um072 - BnGMS317	A6	3.38	7	-0.10	0.05
HW-6	Ra-A04 - BRMS033	A8	2.92	9	0.14	0.14
HW-7	cun_m090a - nia_m061a	A8	6.70	19	0.20	0.20
HL-1	cnu_m130a - BnGMS315	A2	3.05	5	0.78	-0.10
HL-2	sau_um235 - nia_m120a	A3	3.72	8	0.90	0.15
HLHWR-8	cnu_m034a - nia_m022a	A9	4.28	12	0.10	0.14
HLHWR-9	cnu_m539a - nia_m046a	A9	3.64	8	0.09	0.08
HLHWR-10	nia_m088a - sau_um099	A9	2.67	10	-0.08	-0.04
HLHWR-11	sau_um307 - cnu_m210a	A10	2.72	7	0.07	0.01
NNFL-1	BRAS067A - BRMS031	A1	3.05	7	1.33	-0.14
NNFL-2	cnu_m130a - BRMS026	A2	5.67	16	2.24	1.37
NNFL-3	BRMS058 - cnu_m228a	A3	6.24	19	-2.14	-1.44
NNFL-4	sau_um048 - sau_um049	A4	6.55	6	-1.41	1.65

a LOD score calculated by WinQTLCart 2.5

bPercentage of the phenotypic variance explained by each QTL

c Additive effect; positive additivity indicates that the QTL allele originated from the parental line 601 increases the value of the trait; negative additivity means that the QTL allele originated from the parental line 501 increases the value of the trait.

d Dominance



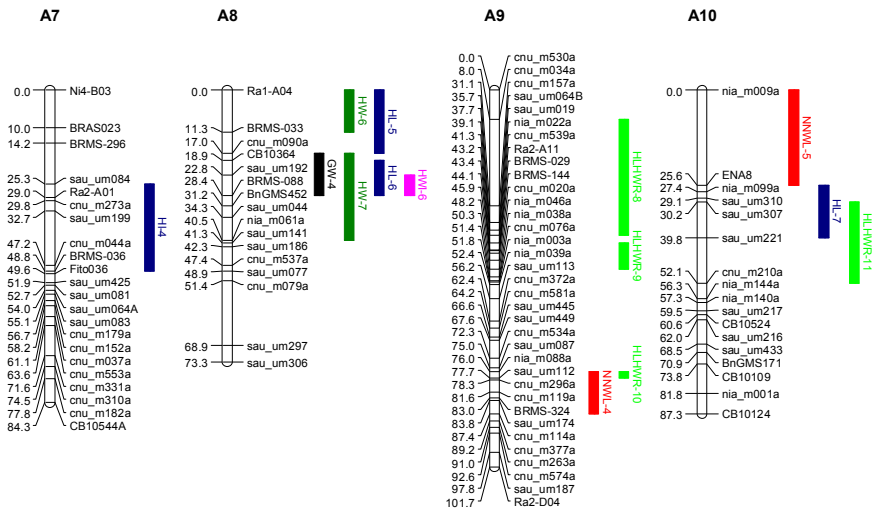


그림 36. *B. rapa* 유전자 지도에서 결구형성에 관련한 7개의 농업형질 QTL의 분포.

유전자 지도는 85개의 마커가 10개의 연관그룹으로 나뉘어 분포한다 (R1 - R10). 마커는 bar diagram의 오른쪽에, 마커의 재조합 거리는 유전자 지도의 왼쪽에 누적으로 표기 되었다. 각 형질에 관한 QTL은 관련형질의 약어를 사용하여 표기하였다.

라. 종자의 기름성분 형질에 연관된 QTL 탐색

- *Brassica napus* (AACC genome)는 이배체인 *Brassica rapa* (AA)와 *Brassica oleracea* (CC)의 융합에 의해 형성된 중요한 oilseed 작물이다. *Brassica* A 유전체에 관한 서열 정보는 '*Brassica rapa* 유전체 시퀀싱 프로젝트'로부터 곧 이용할 수 있을 것이고, 그리고 사배체 *Brassica* 종들의 비교 유전자 지도 연구에 가치 있는 재료로 사용될 것이다.
- 이 연구에서 *Brassica rapa*의 염기서열 정보를 이용하여 많은 분자마커를 개발하였고, 이를 *Brassica rapa* 및 *Brassica napus*의 유전자 지도 위에 표시하였다. 이 유전자 지도를 통해 현대의 A genome 작물인 *Brassica rapa*와 *Brassica napus* 사이에서 inversions, insertions/deletions, translocation과 같은 유전적 재배열 사건들 및 유전체 단편의 보존 등을 관찰할 수 있었다.
- 종자 특성 형질에 대한 비교 지도 작성을 위한 연구에서 *Brassica napus*에서 oyploidization 및 후속 선발 과정이 있었음에도 불구하고, 두 종의 A genome 사이에서 기능상 보존되어 있는 12개의 상응하는 영역을 동정하였다. 동시에, 두 종

사이의 일부 특정 양적형질 유전자좌에서, 분기되는 구조로 genomic 영역에 존재함 및 기능 발현에 있어서 계통의 구조적 변화의 영향을 밝혀냈다.

- LONG et al (2007)이 개발한 *Brassica napus*의 TN 유전 연관 지도는 이번 연구의 188개의 Tapidor 및 Ningyou7 DH라인 교배 집단을 이용하여 새로이 작성되었다. 농촌진흥청의 *Brassica rapa* BAC 염기서열로부터 299개의 새로운 마커가 개발되어 이 TN 유전 연관 지도 갱신에 이용되었다. JoinMap4.0 software (VAN OOIJEN 2006)를 이용하여, Kosambi mapping 및 LOD 값 8~19 범위로 새로운 유전자 지도 작성을 수행하였다.
- *Brassica napus* 비교 지도 작성을 위해 BAC anchored markers (KIM et al. 2009)을 기반으로 하여 새로운 버전의 *Brassica rapa* CK genetic map이 작성되었다. CK DH집단은 배추 순계 Chiifu-401와 Kenshin을 교배하여 얻은 78개의 DH line으로 이루어져 있다.
- SCHRANZ et al (2006)에 의해 제안된 Brassicaceae 기초단위는 CK 및 TN 유전자 지도 모두에서 확인되었다. 이 연구에서 Tapidor와 Ningyou7의 교배 집단에서 제작된 188 DH 라인을 이용하여, 이전의 LONG et al (2007)에 의한 유전자 지도를 갱신하였다. 생물 정보학 기법을 이용하여, 연관 그룹 및 유전자 지도, 마커들의 관계를 밝혔다.

표 44. *B. rapa*와 *B. napus*의 A genome간의 비교 유전자 지도 작성을 위해 사용된 마커들.

Sequence resources	Marker resources	<i>B. rapa</i> CK map		<i>B. napus</i> TN map	
		Mapped	Informative ^a	Mapped	Informative
"KBr" BAC	SSR from CNU	133	133	53	53
	SSR from NIAB	66	66	101	100
	Others	1	1	56	51
	Sub-total	200	200	210	204
"At" BAC	Public RFLP probe	5	5	34	32
	SNP from BBSRC	-	-	56	54
	SSR from BBSRC	36	28	63	47
	SSR from AAFC	145	96	23	5
	Others	42	35	9	9
	Sub-total	228	164	185	147
Total		428	364 (2.9cM) ^b	395	351 (3.2cM)

a 몇몇의 마커는 특정 BAC에 확실히 할당되지 않음.

b 괄호 안의 값은 A genome 위에 분배된 마커간의 평균 거리를 나타냄.

○ 두 유전자 지도 사이에서 마커는 같은 BAC에서 유래된 공통 마커로 나타났다. 다른 BAC들로부터 유래된 마커들도 있으나, 물리적으로 매우 가까운 위치에 있는 이차 공통 마커임을 나타내었다. Map Chart (<http://www.biometris.wur.nl/uk/Software/MapChart/>) 프로그램을 이용하여 *B.napus*와 *B. rapa*의 유사 연관 그룹의 공통 및 이차 공통 마커와 유전자 지도를 연결하여 작성하였다.

○ 포장 검정 및 종자 품질 형질 평가를 위하여 Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS)을 이용하였고, TN DH 집단을 중국 내 다른 지역 및 다른 연도에 파종하여 실험을 실시하였다. 각 실험에서 종자를 수확하여, 종자 내 총 glucosinolate content ($\mu\text{mol/g}$), erucic acid content (% in total fatty acid), oil content (% in seed dry weight)를 측정하였다.

표 45. *B. rapa*와 *B. napus* 맵핑 집단의 종자 품질 형질표현형의 다양성. 자료는 반복 실험의 평균 값(\pm standard deviation)을 취함.

Trait (contentinseeds)	Phenotypic value in <i>B. rapa</i> population				
	Chiifu-401	Kenshin	Min	Max	Mean
Erucic acid (%intotaloil)	43.9 \pm 3.4	46.2 \pm 2.1	38.8 \pm 0.6	52.7 \pm 1.5	46.0 \pm 1.0
Glucosinolate ($\mu\text{mol/g}$)	101.1 \pm 27.6	94.5 \pm 15.6	35.6 \pm 20.3	159.3 \pm 24.2	104.3 \pm 14.3
Oil (%)	39.3 \pm 5.2	39.8 \pm 2.7	33.5 \pm 1.8	45.1 \pm 2.2	40.3 \pm 2.1
Protein (%)	23.6 \pm 1.2	24.0 \pm 2.6	19.7 \pm 1.1	27.1 \pm 1.9	23.6 \pm 1.4

Trait (contentinseeds)	Phenotypic value in <i>B. napus</i> population				
	Tapidor	Ningyou7	Min	Max	Mean
Erucic acid (%intotaloil)	4.2 \pm 0.5	53.1 \pm 1.2	0.2 \pm 0.2	51.1 \pm 1.7	24.4 \pm 1.9
Glucosinolate ($\mu\text{mol/g}$)	39.7 \pm 16.4	110.9 \pm 37.1	20.2 \pm 10.4	127.8 \pm 14.0	76.5 \pm 17.0
Oil (%)	43.6 \pm 1.2	42.7 \pm 1.7	37.0 \pm 2.3	48.6 \pm 1.6	43.3 \pm 1.2
Protein (%)	23.5 \pm 0.3	21.7 \pm 0.3	19.4 \pm 1.2	25.2 \pm 0.3	22.5 \pm 0.6

○ 양적형질 유전자 지도 작성에서 *B.napus*와 *B.rapa*의 syntenic 영역의 같은 형질을 조절하는 QTL은 conserved QTL로 정의하였고, 어느 한 종에서만 발견되어 syntenic 영역의 대응이 되지 않는 것은 특이 QTL로 정의하였다.

표 46. *B. rapa*와 *B. napus*의 유전체 연관 그룹의 종자 품질 형질에 관련하여 발견된 QTL의 수.

Linkage group	Number of QTL identified in <i>B.rapa/B.napus</i>				Number of conserved QTL	Number of specific QTL	
	Erucic acid	Glucosinolate	Oil	Protein		In <i>B.rapa</i> <i>/B.napus</i>	Rearrangements related ^b
A1	2 / 1	3 / 1	1 / 2	1 / 3	2 (Glu,Oil) ^a	5 / 5	4 / 1
A2	1 / 1	- / -	1 / 1	2 / 3	1 (Oil,Pro)	2 / 3	- / 2
A3	3 / 2	- / -	1 / 3	- / 1	1 (Oil)	3 / 5	1 / 3
A4	- / 1	1 / -	- / 1	1 / 2	1 (Pro)	1 / 3	- / -
A5	- / -	3 / -	2 / -	3 / 1	1 (Pro)	7 / -	- / -
A6	1 / -	- / -	4 / 3	3 / 1	3 (Oil,Pro)	4 / -	1 / -
A7	2 / -	1 / 1	4 / 3	3 / 2	1 (Oil)	9 / 5	5 / 2
A8	- / 1	1 / 3	- / 5	- / -	-	1 / 9	1 / 4
A9	2 / -	3 / 2	1 / -	- / 1	1 (Glu)	5 / 2	3 / 2
A10	- / -	- / -	2 / 1	1 / 1	1 (Oil)	2 / 1	1 / -
Sum	11 / 6	12 / 7	16 / 19	14 / 15	12	40 / 33	16 / 14

a 괄호 안은 보존된 QTL에 의해 조절되는 형질임.

b 염색체 위의 위치는 재정렬 사건과 특이 QTL 사이에 비교됨.

○ 2종의 A genome linkage groups 에서 같은 기능에 관여하고 있는 공통된 QTL 확 인하여 통합 유전자 지도(Integrated map)를 작성하였다.

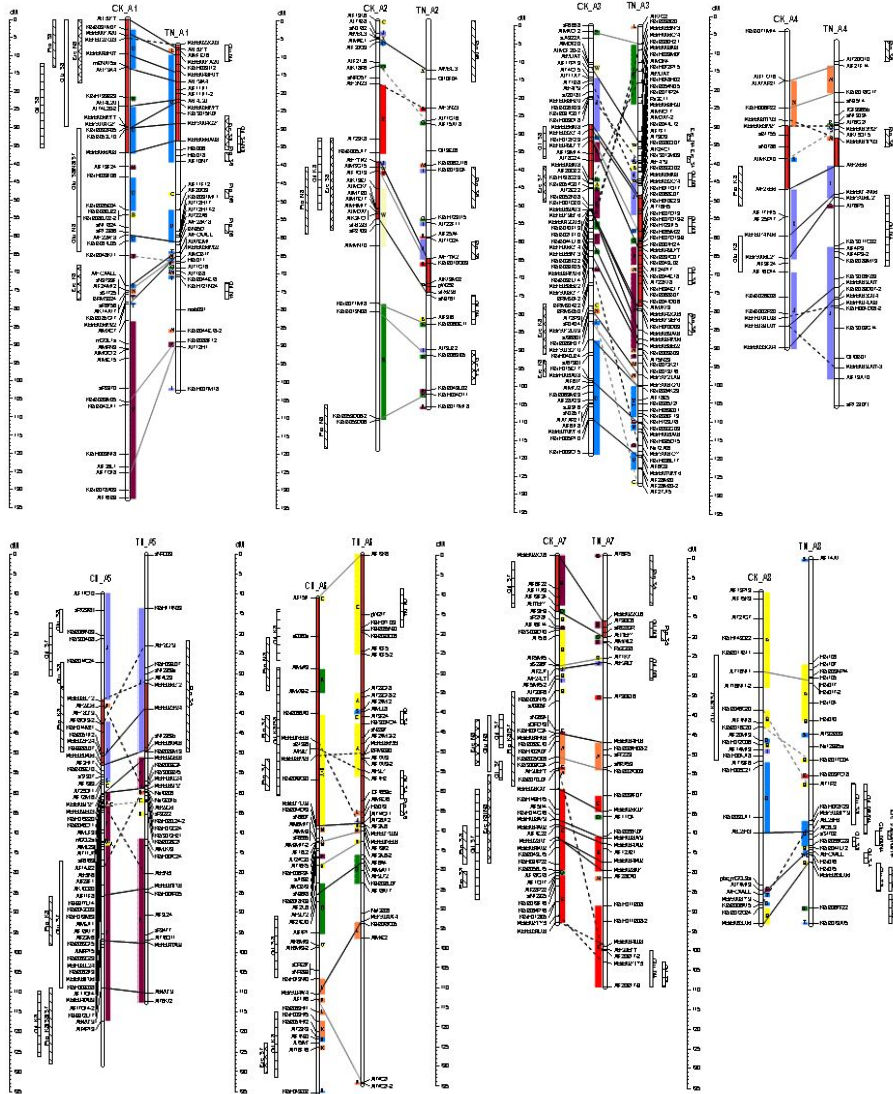


그림 37. 작성된 통합 유전자 지도(Integrated map)

마. 배추의 microRNA의 분리와 표적 유전자의 분석

- 마이크로알엘에이(microRNA: 이하 "miRNA"라 칭함)는 최근에 밝혀진 단백질을 암호화하지 않는 작은 크기의 RNA로서 표적유전자 (target gene)의 발현을 음성적으로 조절한다. 최근까지 많은 식물에서 새로운 miRNA가 발견되고 그 기능이 분석되어져 왔지만 식용 및 사료로 널리 사용되어지는 중요한 작물인 배추 (*Brassica rapa*, AA, 2n=20)에서는 많은 연구가 이루어지지 않고 있다.
- 일반적으로 생물체에서 대부분의 유전자 발현은 전사수준 (transcriptional level)과 전사 후 (post-transcriptional level) 수준에서 조절되어진다. miRNA는 전사 후 수준에서 유전자의 발현을 조절하는 하나의 요소로서 최근에 밝혀졌으며 단백질을 암호화하지 않는 작은 조각의 RNA로 구성되어져있다. 성숙 miRNA는 통상적으로 18 ~ 24 nt의 길이로 구성되어져있으며 식물과 동물에 걸쳐 광범위한 분포를 갖고 있는 것으로 밝혀졌다. 성숙 miRNA는 이후 ARGONAUT 단백질을 포함하는 RNA-induced silencing complex (RISC)와 결합하고 이들 복합체는 표적유전자의 상보적인 부위에 결합하여 표적유전자의 mRNA의 전사나 번역과정을 억제한다.
- 본 연구에서는 기존에 구조가 알려진 성숙 miRNA의 서열을 기반으로 컴퓨터를 이용하여 유전체의 서열을 비교하여 잠재적인 miRNA를 찾아내는 방법을 사용하였다. 이를 위해 NCBI에서 이용할 수 있는 배추의 genome survey sequences (GSS), expressed sequence tags (EST), messenger RNAs (mRNA), complementary DNA (cDNA)와 같은 유전체 정보를 사용하였다.

(1) 배추의 microRNA의 분석

- 상동성을 바탕으로 한 배추 miRNA의 분리를 위한 reference set 설정을 위해 *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Populus trichocarpa*, *Triticum aestivum*, *Vitis vinifera*, *Zea mays*에서 밝혀진 1280개의 알려진 miRNA서열은 miRBase에서 얻었다. 이들 1280개의 miRNA중 658개의 반복된 정보는 Perl script (<http://www.perl.org/>)를 이용하여 제거하였다. 남은 622개의 miRNA는 최종 reference set으로 사용되어졌다. 배추의 전체 397,600개의 GSS, EST, mRNA 서열은 NCBI (<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/>)의 GenBank database에서 확보하였고 12,098개의 cDNA서열은 본 연구실과 배추Genome Sequencing Project Site (www.brassica-rapa.org, www.brassica.info)에서 확보하였다.
- 배추의 염기서열 (GSS, EST, mRNA, cDNA)에서 기존에 보고된 miRNA 서열과 유사한 서열을 탐색하기 위하여 BLAST-2.2.20을 이용하였고, RNA의 안정성과 이차구조를 예측하기 위하여 Mfold-3.1.2를 사용하였다. 그리고 찾아낸 miRNA의 표

적 유전자의 추정에는 miRU를 사용하였고 각각의 성숙 miRNA의 반복구조는 Perl scripts를 사용하여 제거하였다.

- 배추의 유전체 서열에서 miRNA를 찾기 위해 최근에 개발되어진 컴퓨터 기반 탐색 기법을 사용하였다. 비 중복성 성숙 miRNA 서열은 배추의 유전체 염기서열에서 homolog를 찾기 위한 기본서열로 사용되었으며 이는 NCBI의 BLASTN 프로그램을 사용하여 수행하였다. 이전에 보고되어진 식물의 miRNA와 비교하여 4개 이하의 불일치서열을 갖고 있는 배추의 잠재적인 miRNA를 사용하여 BLASTX를 수행하였고 결과적으로 단백질을 암호화하고 있는 서열을 제거하였다. 이를 통해 얻어진 비 단백질 암호성 배추 miRNA는 Mfold program (Zuker 1998)을 이용하여 헤어핀 구조 (hairpin structure)를 예측하였다. miRNA의 선별은 다음의 기준에 따라 수행하였다. a) 기준에 보고되어진 식물 miRNA와 비교하였을 때 4개 이하의 불일치를 보일 것 b) 1차 전구체 miRNA는 stem-loop hairpin 이차구조를 형성할 것 c) 성숙 miRNA는 헤어핀 2차 구조의 stem 부분에 위치할 것 d) 성숙 miRNA는 헤어핀 구조에서 상보적인 부분과 6개 이하의 불일치를 보일 것 e) 추정되어진 전구체 miRNA의 2차 구조는 high negative MFE (Minimal Folding free Energy)와 higher MFEIs (Minimal Folding free Energy Indexes) 값을 가질 것. 또한 miRNA의 중복성을 피하고 표적유전자의 서로 다른 family member를 확인하기 위하여, 찾아낸 전체 전구체 miRNA 서열을 배추의 unigene과 *Arabidopsis thaliana*의 유전자 database(<http://www.arabidopsis.org>)에서 비교 검색하였다.
- miRNA의 표적유전자 예측을 위해 NCBI에서 확보한 배추의 염기서열과 본 연구를 통해 찾아낸 성숙 miRNA의 서열을 이용하여 표적유전자 검색을 시도하였다. miRNA와 표적유전자의 설정은 빈 간격 (gap)이 없이 표적유전자 서열과 4개 이하의 불일치를 보일 경우만 허용하였다. *Arabidopsis thaliana*에서 표적유전자를 확인하기 위하여 miRU (<http://bioinfosnjt.oble.org/psRNATarsnjfg>)와 TAIRBLAST (<http://www.arabidopsis.org/Blast/index.jsp>) 소프트웨어를 사용하였다. 표적유전자의 정확성을 확인하기 위하여 *Arabidopsis thaliana* 유전자의 전체 표적유전자와 miRNA 서열을 비교하였고 *Arabidopsis thaliana*에서 표적유전자를 동정하였다.
- miRNA의 발현 분석은 해당 miRNA가 포함된 EST가 발현되어진 조직에서 Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)방법을 사용하여 수행되었다. 전체 RNA는 TriZol을 이용하여 추출하였고 이후 DNase I을 처리하여 염색체 DNA를 제거하였다. 추출한 전체 RNA는 Total RNA Purification Kit (Macherey-Nagel, Germany)를 사용하여 정제하였다. cDNA는 iScript Select cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad)를 사용하여 합성하였고, qRT-PCR은 SYBR Green RT-PCR kit (IQ Sybr Green Super Mix, BR170-8880)으로 MiniOption detection system (Bio-Rad)을 이용하여 수행하였다. 실험결과는 Bio-Rad software (GeneXpression Macro Chromo4)를 이용하여 분석하였다.

(2) 배추의 microRNA의 분리

- 기준에 구조를 알고 있는 622개의 식물 miRNA와 배추의 염기서열 (GSS, EST, mRNA)을 BLASTN으로 분석해 miRNA를 포함하는 387개의 서열을 골라내었다. 이후 반복구조나 단백질 암호화 서열을 제거하여 234개의 서열을 선별하였다. 선별된 서열들은 Mfold program을 사용하여 stem loop 구조를 형성하는지 확인하여 최종적으로 121개의 성숙 miRNA를 선별하였다. 121개의 배추 miRNA는 48개의 family로 구성되어있으며 추가로 13개의 family에 속하는 27개의 miRNA를 배추 EST에서 분리하였다.
- 48개의 family에 다양한 수의 miRNA들이 검색되었으며 이는 표 1 과 그림 1에 나타내었다. BrMiRNA 172 family에서 최대 12개의 miRNA가 검색되었고, BrMiR156에서 9개, BrMiR171에서 7개, BrMiR159, BrMiR162, BrMiR169, BrMiR1435에서 6개, BrMiR415에서 5개, BrMiR160, BrMiR166, BrMiR167, BrMiR390, BrMiR400에서 3개, BrMiR164, BrMiR319, BrMiR395, BrMiR398, BrMiR408, BrMiR414, BrMiR472, BrMiR845, BrMiR854, BrMiR1132, BrMiR1514, BrMiR1520, BrMiR1521, BrMiR159, BrMiR 1522에서 2개의 순으로 관찰되었다. 남은 21개의 family에서는 1개씩의 miRNA가 확인되었다.

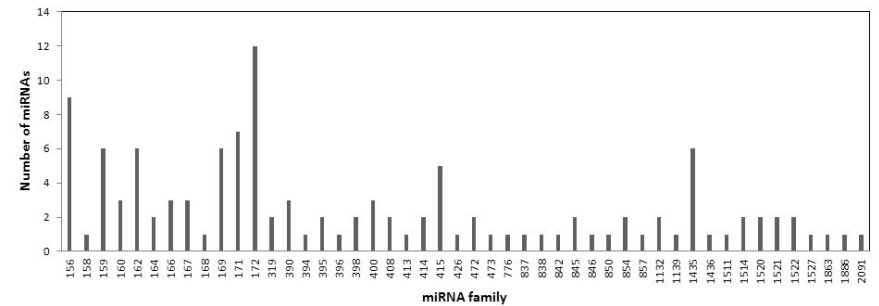


그림 38. 배추에서 분리된 microRNA의 종류와 각 서열별 반복 빈도

표 48. 배추에서 분리한 microRNA의 명칭과 서열

miRNA family	Br-GSS/EST	Br-Unigene	At-gene	Mature miRNA
BrMiR 156a	ED524353		AT5G55835.1	UUGACAGAAGAAAGAGAGCAC
BrMiR 156b	AJ858639		AT4G30972.1	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC
BrMiR 156c	DU829396		AT4G30972.1	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC
BrMiR 156d	DU831758		AT4G30972.1	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC
BrMiR 156e	DU121870		AT5G10945.1	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC
BrMiR 156f	CT021695			UGACAGAAGAUAGAGAG
BrMiR 156g	AJ859176			GACAGAACAGAGUGAGCAC
BrMiR 156h	ED529145			GACAGAAUAGAGUGAGCAC
BrMiR 156i	DX011343			UGACAGAAGAGAGAGAGC
BrMiR 158	CT015463		AT3G10745.1	CCAAAUGUAGACAAAGCA
BrMiR 159a	ED518706	BRU09966	AT1G73687.1	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA
BrMiR 159b	EX050542.1		AT1G73687.1	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA
BrMiR 159c	EX048967.1		AT1G73687.1	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA
BrMiR 159d	EX047628.1		AT1G73687.1	UUUGGAUUGAAGGGAGCUCUA
BrMiR 159e	ED525625	BRU10298	AT1G18075.1	UUGGAUUGAAGGGAGCUC
BrMiR 159f	CT016164		AT5G61730.1	UUGCAUGCCCCAGGAGCU
BrMiR 160a	DX045892	BRU18246	AT2G39175.1	UGCCUGGCUCUCCUGUAUGCCA
BrMiR 160b	EX044968.1		AT2G39175.1	UGCCUGGCUCUCCUGUAUGCCA
BrMiR 160c	DX016569	BRU25317	AT1G77850.1	UGCCUGGCUCUCCUGUAUGCCA
BrMiR 162a	ED527680	BRU12250	AT5G08185.3	UCGAUAAAACUGUGCAUCCAG
BrMiR 162b	EX133401.1		AT5G08185.3	UCGAUAAAACUGUGCAUCCAG
BrMiR 162c	EX071919.1		AT5G08185.3	UCGAUAAAACUGUGCAUCCAG
BrMiR 162d	EX071254.1		AT5G08185.3	UCGAUAAAACUGUGCAUCCAG
BrMiR 162e	EX069816.1		AT5G08185.3	UCGAUAAAACUGUGCAUCCAG
BrMiR 162f	AC189332.2		AT5G08185.3	UCGAUAAAACUGUGCAUCCAG
BrMiR 164a	CW984396		AT2G47585.1	UGGAGAAGCAGGGCACGUGCA
BrMiR 164b	DX051151		AT2G47585.1	UGGAGAAGCAGGGCACGUGCA
BrMiR 166a	DX911364	BRU25274	AT3G61897.1	UCGGACCAGGCUUCAUUCUCC
BrMiR 166b	EX063968.1		AT2G46685.1	UCGGACCAGGCUUCAUUCUCC
BrMiR 166c	EX063242.1		AT2G46685.1	UCGGACCAGGCUUCAUUCUCC
BrMiR 167a	CT022223		AT3G22886.1	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA
BrMiR 167b	DX028242		AT3G22886.1	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA
BrMiR 167c	DX025819 EX041799.1	BRU17848	AT1G31173.1	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCU
BrMiR 168	DU984956		AT5G45307.1	UCGCUUGGUGCAGGUCGGGAA
BrMiR 169a	DX901870		AT3G13405.1	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA
BrMiR 169b	DU982154		AT1G53687.1	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA
BrMiR 169c	DU988169		AT3G13405.1	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA
BrMiR 169d	ED535040		AT3G26818.1	AGCCAAGGAUGACUUGCC
BrMiR 169e	KFRT-048E03	BRU22876	AT5G12840.3	AGCCAAGAAUGAUUUGCCGG
BrMiR 169f	ED527257		AT3G26812.1	UAGCCAAGGAGACUGCCUA

miRNA family	Br-GSS/EST	Br-Unigene	At-gene	Mature miRNA
BrMiR 171a	DX044654		AT1G11735.1	UUGAGCCGUGCCAAUAUCACG
BrMiR 171b	ED531830		AT1G62035.1	UUGAGCCGUGCCAAUAUCACG
BrMiR 171c	ED514994	BRU20500	AT1G11720.1	UUGAGCCGUGCCAAUAUCACG
BrMiR 171d	ED515731		AT1G11735.1	UUGAGCCGUGCCAAUAUCACG
BrMiR 171e	DU980843		AT1G62035.1	UUGAGCCGUGCCAAUAUCACG
BrMiR 171f	DU827625		AT3G51375.1	UGAUUGAGCCGCGCCAAUAUC
BrMiR 171g	DY013547.1		AT1G11735.1	UUGAGCCGUGCCAAUAUCACG
BrMiR 172a	AJ860723	BRU00675	AT2G39730.3	GAAUCUUGAUGAUGUUACA
BrMiR 172b	DX011558		AT5G59505.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172c	DX034851		AT2G28056.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172d	DX078594		AT5G59505.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172e	ED520082		AT5G59505.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172f	ED525000		AT5G59505.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172g	ED516998		AT2G28056.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172h	ED526567		AT5G59505.1	GAAUCUUGAUGAUGCUGCAU
BrMiR 172i	EX060396.1		AT2G39730.3	GAAUCUUGAUGAUGUUACA
BrMiR 172j	EX059018.1		AT2G39730.3	GAAUCUUGAUGAUGUUACA
BrMiR 172k	EX057674.1		AT2G39730.3	GAAUCUUGAUGAUGUUACA
BrMiR 172l	EX019450.1		AT2G39730.3	GAAUCUUGAUGAUGUUACA
BrMiR 319a	DX903478		AT4G23713.1	UUGGACUGAAGGGAACUCCCU
BrMiR 319b	AJ856769		AT2G40805.1	UUGGACUGAAGGGAAGCUC
BrMiR 390a	DU830650		AT5G58465.1	AAGCUCAGGAGGGGAUAGCGCC
BrMiR 390b	DX059137		AT2G38325.1	AAGCUCAGGAGGGGAUAGCGCC
BrMiR 390c	DX890076		AT5G58465.1	AAGCUCAGGAGGGGAUAGCGCC
BrMiR 394	DU120003		AT1G20375.1	UUGGCAUUCUGUCCACCUCC
BrMiR 395a	DX020424		AT1G26973.1	CUGAAGUUGUUGGGGGAACUC
BrMiR 395b	DU832403		AT1G26973.1	CUGAAGUUGUUGGGGGACUC
BrMiR 396	DX897816	BRU23296	AT3G52910.1	UCCACAGGCUUUCUUGAAC
BrMiR 398a	AJ861920	BRU10255	AT5G14565.1	UGUGUUCUCAGGUCACCCCU
BrMiR 398b	KBFS-048E02, EX049578.1		AT5G14545.1	UGUGUUCUCAGGUCACCCCU
BrMiR 400a	ED535204		AT1G32582.1	UAUGAGAGUAUUUAAGUCAC
BrMiR 400b	DX912125		AT1G64580.1	UAUGAGAGUAUUUAACGUCAC
BrMiR 400c	DU827877		AT1G62680.1	AUGAGAGUAUUUAACUCAC
BrMiR 408a	DX037057		AT2G47015.1	AUGCACUGCCUCUCCUUGGC
BrMiR 408b	KHLW-07G09, EX141550.1	BRU15514	AT2G02850.1	AUGCACUGCCUCUCCCU
BrMiR 413	AJ857954	BRU20698	AT3G26165.1	CUAGUUUCACUUGCUCUG
BrMiR 414a	DX027619			UCAUCCUCAUCAUCAUCG
BrMiR 414b	KBCD-095H09	BRU16587	AT5G55310.1	UCAUCUUCUCAUCAUCGUC
BrMiR 415a	DX905021		AT1G18740.1	AACAGAGCAGAAACAGAACA
BrMiR 415b	KHRT-21D11, EX132487.1	BRU06315	AT1G17180.1	AACAGAGCAGAAACAAAACAU
BrMiR 415c	CT021545			AACAGAGCAGAAACAGAACA

miRNA family	Br-GSS/EST	Br-Unigene	At-gene	Mature miRNA
BrMiR 415d	EX134130.1		AT1G17180.1	AACAGAGCAGAAACAAAACAU
BrMiR 415e	EX133017.1		AT1G17180.1	AACAGAGCAGAAACAAAACAU
BrMiR 426	CT016376	BRU03234	AT3G17940.1	UUUUGGAGAUUUGUCCUAC
BrMiR 472a	ED514754		AT1G14850.1	UCCCUACUCCACUCAUCC
BrMiR 472b	CX271339.1		AT1G14850.1	UCCCUACUCCACUCAUCC
BrMiR 473	DUI120348			UCUCCCUCAAGGUUCCA
BrMiR 776	DX019504	BRU25582		UCUAAGUCUUCUUUGAU
BrMiR 837	DX902366		AT4G16143.2	AUCAGUUUCUUGUUCUUUC
BrMiR 838	DUI127124	BRU11698	AT1G65590.1	UUUUCUUUAUCUUCUUGCA
BrMiR 842	DX012634	BRU25451	AT2G14370.1	AUGGUCAGAUCGGUCAUC
BrMiR 845a	CT021891	BRU26308	AT5G04290.1	GGCUCUGAUACCAAUUGA
BrMiR 845b	DX897026		AT4G31200.1	UGGCUCUGAUACCAACUGAUG
BrMiR 846	ED536287		AT1G52110.1	UUGAACUGAAGUGCUUGAAU
BrMiR 850	DUS32285		AT1G32990.1	GAUCCGGACUAAAACAAG
BrMiR 854a	DX017286		AT2G44710.1	UGAGGAGAGGGAGGAGGAG
BrMiR 854b	DX899834		AT5G58490.1	GAGGAGAGGGAGGAGGAG
BrMiR 857	DX077868		AT1G30400.2	UUUUGCAUGUUGAAGGUGU
BrMiR 1132a	DX047066			CAUUAAGGAACGGAAGGAG
BrMiR 1132b	DX910272		AT3G28570.2	AUUAUGAAACGGAAGGAG
BrMiR 1139	AJ855061			AGAGUAAAAUACACUAGUA
BrMiR 1435a	KFYP-092B01	BRU04476	AT5G65310.1	UUCUUAAGUCAAAACUUU
BrMiR 1435b	EX140988.1	BRU04476	AT5G65310.1	UUCUUAAGUCAAAACUUU
BrMiR 1435c	EX112582.1	BRU04476	AT5G65310.1	UUCUUAAGUCAAAACUUU
BrMiR 1435d	EX075806.1, EX074152.1, EX073405.1, EX072646.1	BRU04476	AT5G65310.1	UUCUUAAGUCAAAACUUU
BrMiR 1435e	EX029736.1	BRU04476	AT5G65310.1	UUCUUAAGUCAAAACUUU
BrMiR 1435f	CV432766.1	BRU04476	AT5G65310.1	UUCUUAAGUCAAAACUUU
BrMiR 1436	DX082315		AT5G49680.2	UUAUGGGACGGAAGGAGU
BrMiR 1511	DX048995		AT5G25045.1	CAGGCUCUGAUACCAUG
BrMiR 1514a	AJ856072			UUCAUUUUUAAAAUAGA
BrMiR 1514b	DX899429		AT2G45560.1	UUCAUUUUUAAAAUAGACAUU
BrMiR 1520a	DX016618			AGAACUUGACACGUGACAA
BrMiR 1520b	ED528582			AGAACUUGACACGUGACAA
BrMiR 1521a	CW982899		AT1G79580.3	CUGUUAUUGGAAAAAGUUG
BrMiR 1521b	CT022839		AT5G39862.1	CUGUUGAUGGAAAAUGUU
BrMiR 1522a	DX016213			AUUGCUUAAAAUGAAA
BrMiR 1522b	AJ858836		ATMG00110.1	UUUAUUUCUAAAAUGAAA
BrMiR 1527	DX023754			AACUCAACCUUACAAAAC
BrMiR 1863	DX895479		AT2G36990.1	AGCUCUGAUACCAUGUUAGAUU
BrMiR 1886	KBFL-140B03	BRU02032	AT5G53120.1	UGAGAGAAGUGAGAAGAAA
BrMiR 2091	DX017320		AT5G65683.1	AACCGAGCCGAGAGGAG

- 성숙 miRNA의 길이는 17~21 nt의 범위 내에 있었으며 20 nt가 21.48%, 19 nt가 18.18%, 18 nt가 15.70%, 17 nt가 8.26% 그리고 22 nt가 1.65% 순으로 나타났다 (그림 39). 성숙 miRNA에서 사용되어진 뉴클레오타이드의 비율은 A가 29.26%, U가 26.05%, G가 23.61% 그리고 C가 21.16% 순으로 나타났다.

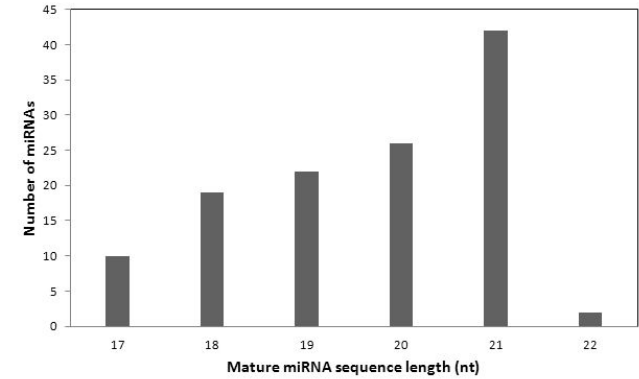


그림 39. 성숙 microRNA의 전체 길이 빈도

- 121개의 miRNA는 다양한 크기의 전구체 서열을 갖고 있었다. 각각의 서열은 70에서 387 nt의 길이를 보였으며 전체 전구체 평균길이는 141.25± 64.21 nt 이었다. 이중 전체 77%의 전구체가 81-202 nt 범위 내에 위치하고 있었다. 전구체 서열 내에서 A는 29.68%, U는 29.95% G는 20.48% 그리고 C는 19.1%의 빈도로 사용되었다. 또한 전구체 내의 GC 비율은 18.33%에서 63.36%의 범위 내에 있었고 평균은 40.81%였다(그림 40).

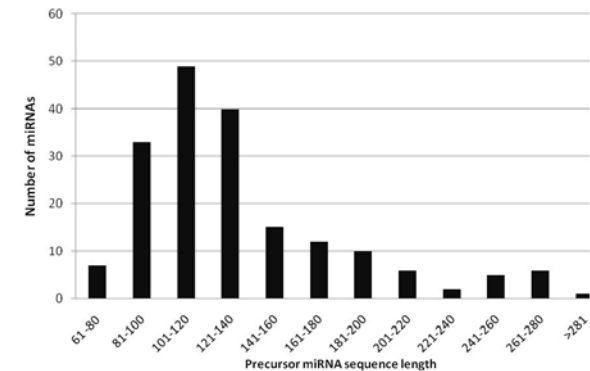


그림 40. 배추에서 분리된 전구체 microRNA의 전체 길이에 따른 분포

(3) 분리된 배추 micorRNA의 발현분석

○ 배추 miRNA의 발현은 qRT-PCR 방법을 사용하여 확인하였다. qRT-PCR은 shoot apex, stem, old leaf, young leaf, midribs, root의 6개 조직을 사용하여 각 조직별 12개의 miRNA에 대한 상대적 발현을 real time PCR방법을 사용하여 검증하였다 (그림 41).

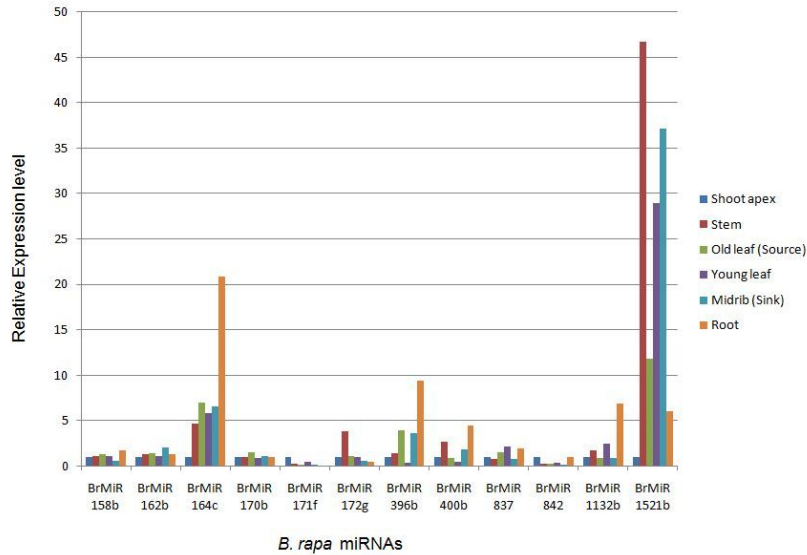


그림 41. Real time qRT-PCR을 이용한 microRNA의 상대적 발현양 비교

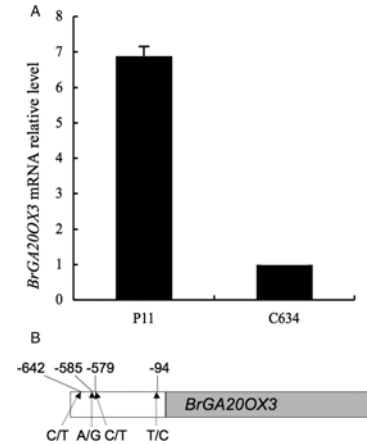
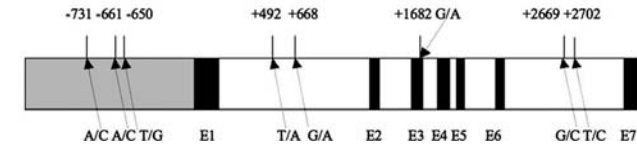
사. 배추에서 기 보고된 유전자의 적용

[자료출처: DNA RESEARCH 16, 311-323, (2009)]

○ BrFLC2

Late flowering(P11)과 early flowering(C634)에서 전체 8개의 SNP가 관찰되었다. 이들 중 4개는 첫 번째와 6번째 intron에서 관찰되었으며, 나머지 하나는 첫 번째 exon에서 관찰되어졌다. 남은 3개의 SNP는 promoter region(-800)부위에서 관찰되었다. 선행연구(Li et al., 2009; Zhao et al., 2010, Journal of experimental botany, 61(6) 1817-1825)에서 모두 early flowering을 보이는 개체에서 BrFLC2의 expression이 매우 낮거나 확인이 안되는 것으로 보아 아마도 promoter region의 mutation으로 BrFLC의 transcriptional activity 영향이 있는 것으로 생각된다.

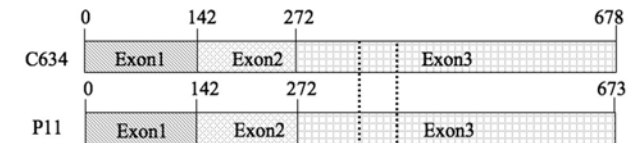
Nucleotide polymorphisms of BrFLC2 between P11 and C634.



○ BrGA20OX3

Lobed leaf의 candidate gene으로 BrGA20OX3를 언급하였다. 잎의 형태에 따라 BrGA20OX3의 transcript level이 차이를 보였다. BrGA20OX3내에서 두 종간의 SNP는 4개가 발견되어졌으며 모두 promoter region에서 발견되었다. Promoter내의 mutation으로 transcriptional activity에 영향을 주었을 가능성과 단순히 leaf morphology에 영향을 주는 pathway의 downstream gene일 가능성이 모두 존재한다고 보인다.

○ GL1Trichome이 없는 P11에서 exon3에서 5bp deletion이 관찰되었다. Frame shift를 유도하였다.



```

C634 301 GGAAGGACAGATAACCAAGTCAAGAATCACTGGAACACTCATCTCAGCAAAAAATCGTC 360
P11 301 GGAAGGACAGATAACCAAGTCAAGAATCAC-----CACTCATCTCAGCAAAAAATCGTC 355
*****
    
```

아. 소포자배양 기술 확립 및 내흔계 대량생산(응용)

본 사업단에 확보되어 있는 수많은 외국 및 국내 F1 품종 및 야생종 및 사업단 내 과제를 수행중인 종묘회사들이 가지고 있는 육종계통에 대하여 내흔계를 신속하게 만들어 각 종묘회사에서 육종에 이용할 수 있도록 소포자 배양기술을 확립하기 위하여 본 실험을 실시하였다.

(1) 재료 및 방법

- ① 모식물의 생육조건 : 우선적으로 배추 소포자배양법을 확립하기 위하여 2차년도에 소포자 배양이 비교적 잘되는 것으로 알려진 중국의 북경 신3호 품종(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* cv. Beijing xin 3 hao)을 확보하여 본 실험을 실시하였다. 이후 배추 뿌리혹병 저항성 유전자가 포함된 계통(T-86-LII, T-6-I, W7114), 충남농업기술원에서 받은 내병성, 저장성 등이 높은 재배적으로 유용한 형질과 특정 미량원소의 양이 풍부하거나 적게 함유된 계통도 배양의 소재로 이용하였다. 모식물의 준비는 종자를 토양에 심고 잎이 6-7개 나왔을 때 5℃에서 4주간 춘화처리를 위하여 저온처리 실시한 후 온실에 재배하여 개화를 유도하였다.



북경신 3호 F₁ (Chiifu×RcBr) RI-1(301×201)
그림 42. 종자로부터 유도된 과종 후 한 달이 지난 식물체의 모습

- ② 소포자의 추출과 식물체 재분화유도 : 각 계통의 종자를 토양에 심고, 한 달이 지나 잎이 6-7개 나왔을 때 5℃에서 4주간 저온처리를 실시한 후 배양에 필요한 꽃봉오리를 준비하였다. 소포자 늦은 1경핵 단계인 꽃봉오리를 선별하여, 소포자를 추출해내고, 1/2NLN (sucrose 10%, microelement stock 5ml/L) 배지에서 암상태로 초기배양 온도 32.5도에서 24시간 배양한 다음 25℃에서 14일간 배양하여 배의 발생을 유도하였다. 발생된 배는 약 7일간 명상태의 85rpm으로 진탕배양하고, 크고 튼튼한 배를 골라 MS고체배지(Phytoagar 0.6%)에 치상하여 식물체 재분화를 유도하였다.

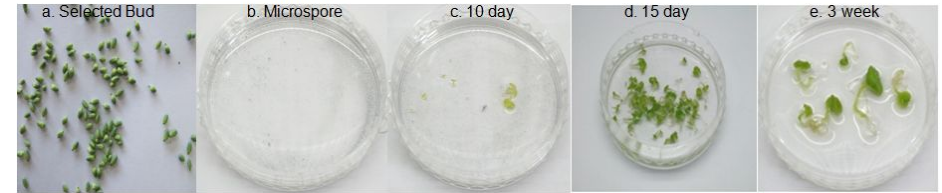


그림 43. 소포자의 추출과 배 발달과정

- ③ 배수성의 분석 : 소포자배양으로부터 유도된 식물체들 중 일부를 농촌진흥청의 flow-cytometer(FCM) 기기를 이용하여 배수성을 분석하였다.

(2) 실험결과

- 다양한 계통으로부터 소포자배양을 실시한 결과, 모든 계통에서 배의 발생을 유도할 수 있었고, 뿌리와 정상 shoot를 형성한 재분화 개체를 생산할 수 있었다. 배의 발생률은 계통별로 개체수의 차이가 크게 나타났다.



그림 44. 토양에서부터 4주 이상 적응한 식물체

- 소포자배양으로부터 유도된 식물체들 중 배수성을 분석한 결과, 두 계통 모두에서 각각 50% 이상이 이배체임을 확인 할 수 있었다. 그리고 30% 이상 4배체가 생산되었다.

표 49. 북경신 3호 와 RI-1(201X301)의 배수성분석결과

No.	Haploid(%)	Diploid (%)	Tetraploid (%)
Beijing xin 3 hao	4.35	60.87	34.78
RI-1(201X301)	10.53	52.63	36.84

- 뿌리혹병 저항성계통 T-86-LII, T-6-I, W7114에서도 개체수의 차이는 있으나 모든 계통에서 배의 발생을 유도 할 수 있었으며, 각각 1주, 3주, 5주의 토양에 적응한 재분화 식물체를 생산할 수 있었다.

표 50 . 소포자로부터 유래된 배, Shoot와 뿌리형성 개체, 정상 생육의 식물체의 수

Plant material	Embryo(No.)	Shoot and Root		Normal Plant	
		No.	%	No.	%
Beijing xin 3 hao	93	50	53.76	24	48
K-117	261	51	19.54	30	58.82
K-120	624	112	17.95	25	22.32
RI-1	487	51	10.47	23	45.1
F ₁ (Chiifu×RcBr)	181	21	11.60	10	47.62
T-86-I.II (29005)	35	3	8.5	2	66.67
T-6-I (29006)	33	9	27.27	2	22.22
W7114 (29007)	83	17	20.48	7	41.18
26110	2427	353	14.54	285	80.74
26164	89	41	46.07	27	65.85
27163	1267	258	20.36	129	50

4. 분자 마커 서비스

가. 시스템 구축

(1) 분석시스템

- 기존의 식물체로부터 DNA를 kit를 이용하여 분리하던 것을 간이 방법으로 성공적으로 분리할 수 있게 되어 상당한 액수의 경비를 절감할 수 있었으며, PCR 반응 및 기타 분석과정에서 경비를 절감하여 재료비 기준 기존의 1점당 4,547원 소요되던 경비를 248.4원으로 절감할 수 있었다. 실제 분석에 있어 약 20% 정도의 오류가 있다고 가정할 때 1점당 5,683원 정도 드는 것을 310원 정도로 절감할 수 있다고 추산할 수 있었다.
- 인건비의 경우 기업 혹은 연구소와 다르게 대학의 경우 저렴한 인건비를 고려할 때 일당50,000원으로 가정한다면 하루 DNA 추출의 경우 96점, 마커분석의 경우 96점 정도를 할 수 있다고 계산이 되어, 1점당 약 1000원 정도의 순수 인건비가 요구되어진다.
- 따라서 감가상각비 등 기타 제 요인을 제거하고 실제로 분자마커 분석 서비스를 할 경우 사업단내 기업에 대한 서비스의 경우 순수 인건비 및 재료비로 계산된 비용만 고려한다면 최소로 줄여 약 1,300원 정도에 할 수 있을 것으로 판단되며, 외부 기업의 경우는 이윤 및 로열티 등 추가 경비를 포함하여 적어도 5,000원 이상을 요구하여야 할 것으로 판단되었다.
- 본 사업단은 하루 최소 600점 정도를 분석할 수 있는 능력이 있어 연간 최소 150,000점이상 최대 300,000점 이상을 분석할 수 있는 대용량 분석 시스템을 구축하게 되었다.

(2) 분석 방법

(가) 재료

각 종묘회사에서 의뢰한 배추 샘플을 이용하여 DNA 를 추출 후 배추 저항성 분자마커(뿌리혹병 저항성 분자마커 3종(TCR 01, TCR 05, TCR 09), 노균병마커 2종(M05, N18), TuMV2종(SSR 239, SSR 233)을 사용하여 분석하였다.

(나) 검정 방법

① 집단 DNA의 추출

0.5M NaOH 50ul를 넣고 핀셋으로 즙을 낸 것을 80mM Tris-HCL과 1mM EDTA 용액 200ul에 5ul 넣는다. 이런 간단하고 경제적인 방법으로 샘플의 DNA를 추출하여 PCR에 이용하였다.

② 검정 샘플 집단의 PCR

위에서 추출한 DNA 5ul와 기존에 개발된 배추 뿌리혹병 저항성 분자마커인 TCR 01, TCR 05, TCR 09 프라이머를 이용하여 PCR을 수행한다. 증폭을 위한 시약의 조성은 dNTP와 Taq-polimerase의 농도는 각각 200mM과 0.1unit으로 하였다. PCR 증폭은 9

4℃에서 5분간, 그후의 변성은 94℃에서 30초, annealing은 TCR 01과 TCR 05는 62℃ TCR 09는 53℃로 하였고, DNA합성은 72℃에서 1분간으로 총 35 cycle을 실행하여, 최종 DNA합성은 72℃에서 5분간한다. 최종 PCR생성물은 6% Poly Acrylamid에서 전기영동하여 Silver staining Piao et al.(2004)의 방법을 사용하여band를 확인하였다.

③ 샘플 검정 결과 해석 및 통보

위의 결과를 각 프라이머 별로 저항성 판별한 후 세 개의 프라이머에서 모두 저항성으로 판별된 것만을 저항성으로 보고 그 결과를 Excel에서 표를 작성하여 검정의뢰 종묘회사에 이메일로 통보하였다.

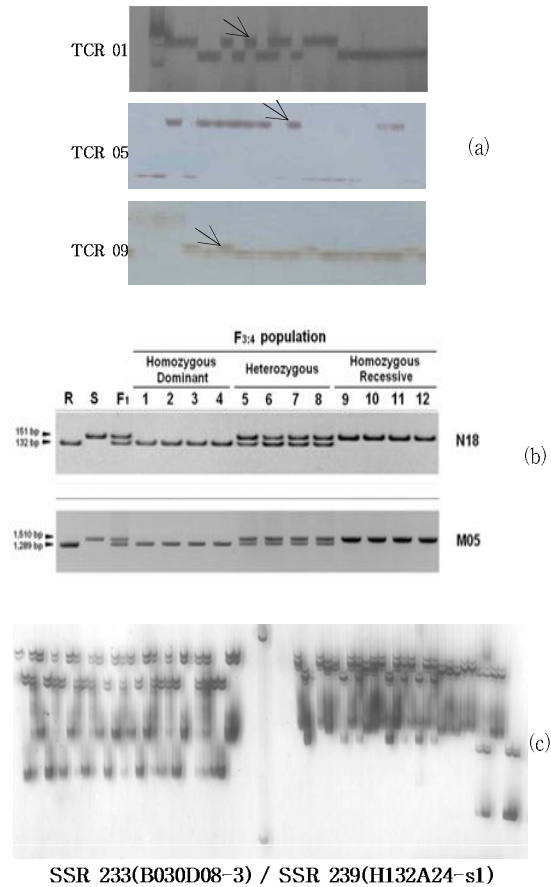


그림 45. 의뢰샘플 집단을 PCR한 후, 6% 아크릴 아마이드 겔에 영동한 사진.

(a)뿌리혹병 저항성 분자마커 3종: TCR 01, TCR 05, TCR 09

(b)노균병마커 2종: M05, N18, (c)TuMV 2종: SSR 239, SSR 233

나. 분자마커 서비스

(1) 분자 마커 서비스 의뢰

○ 배추 저항성 분자마커(뿌리혹병 저항성 분자마커 3종: TCR 01, TCR 05, TCR 09, 노균병마커 2종: M05, N18, TuMV 2종: SSR 239, SSR 233)을 사용하여 각 기관에서 의뢰받아 분자마커 서비스를 수행하였다.

○ 기관 : 분자마커 서비스를 의뢰받은 종묘회사와 기관은 총 8개 이며, 종묘회사와 기관에서의 분석의뢰는 한국종묘 376개, 우리종묘 242개, NH종묘 171개, 원예연구소 380개, 동원농산 45개, 현대종묘 556개, 충남농업기술원 156개, 누뎀종묘 2340개로 총 4266개의 샘플을 의뢰 받아 분석을 진행하였다.

표 51. 총 의뢰검정내역

분석의뢰일	분석의뢰회사	분석 샘플 수량(점)	검정항목
2008.03	NH종묘	40	뿌리혹병
2008.04	이레종묘	44	뿌리혹병
2008.04	우리종묘	50	뿌리혹병
2008.11	우리종묘	192	뿌리혹병
2008.11	이레종묘	65	뿌리혹병
2009.03	NH종묘	14	뿌리혹병
2009.04	NH종묘	40	뿌리혹병
2009.11	원예연구소	380	뿌리혹병
2010.01	동원농산	45	뿌리혹병
2010.02	현대종묘	200	뿌리혹병
2011.04	농협종묘	45	뿌리혹병
2012.02	한국종묘	267	TuMV
2012.05	현대종묘	200	뿌리혹병
2012.05	NH종묘	32	뿌리혹병
2012.05	충남농업기술원	156	뿌리혹병, TuMV, 노균병
2012.05	현대종묘	156	노균병
2012.06	누뎀종묘	2340	마커검정
합 계		4,266	

5. 성분분석서비스

가. 성분분석법 개량

(1) Antocyanidin 분석법 개량

(가) 추출법

동결 건조시료 0.1 g을 GL-screw cap tube에 담고 4 ml의 2 M HCl(50% aqueous methanol)을 첨가 한 후 20분 sonication한다. 100°C water bath에서 한 시간 가수분해 한다. 가수 분해가 끝난 샘플을 ice에서 15분 식힌 뒤 12,000 rpm, 4°C, 15분 centrifuge한 후 상등액을 취하여 syringe filter(PTFE, 0.2 μm)를 이용하여 여과한다. HPLC를 이용하여 분석한다.

(나) HPLC 조건

Mobil phase 는 0.5% trifluoroacetic acid(Eluent A)와 acetonitrile (Eluent B)를 이용하였으며 gradient 방법을 이용하였다. 초기에는 A 용액 80%, B 용액 20%에서 A 용액 70%, B 용액 30%로 12분까지 gradient조건으로, 12분부터 A 용액 70%, B 용액 30%에서 A 용액 65%, B 용액 35%로 25분까지 gradient조건으로, 25.01분에 B 용액 100%로 변화 후 30분까지 흘린다. 30.01분에 A 용액 75%, B 용액 25%로 바꾼 후 40분까지 흘려준다. Column은 waters Xterra C18(3.9 X 150 mm, 5μm)를 이용하였고 온도는 30°C flow는 0.4 ml/min으로 하였다. 흡광도는 530 nm에서 측정하였다.

Time(min)	A(%)	B(%)	Flow(ml/min)
0	80	20	0.8
12	70	30	0.8
25	65	35	0.8
25.01	0	100	0.8
30	0	100	0.8
30.01	75	25	0.8
40	75	25	0.8

(2) Vitamin C 분석법 개량

(가) 추출법

동결 건조 시료 0.5 g에 5 ml의 TCA(3%) 를 첨가한 후 vortex한다. 5% 메타인산용액을 0.1 ml 첨가한 후 3,000 rpm, 4°C, 15분 centrifuge한다. 상등액을 취한 후 filter(13 mm, 2.0 μm)를 이용하여 여과한다. HPLC를 이용하여 분석한다. 기존의 vitamin C 추출법은 그 추출부터 측정까지 2시간 이상 소비 되었고 측정 또한 spectrophotometer를 이용하였기 때문에 측정시간 또한 오랜 시간이 소비 되었다. 하지만 추출법의 간소화와 HPLC를 이용한 측정법으로 개량하여 더 많은 샘플을 보다 짧은 시간에 분석할 수 있게 되었다.

(나) HPLC 조건

Mobil phase로는 0.05 M 제일인산칼륨(Eluent A)와 acetonitrile (Eluent B)를 사용하였으며 gradient 방법을 이용하였다. 초기에는 A 용액 80%, B 용액 20%으로 5분까지 흘려주고, 5.01분에 A 용액 20%, B 용액 80%로 바꾼 후에 10분까지 흘려 준다. 10.01분에 다시 A 용액 80%, B 용액 20%으로 바꾼후 20분 까지 흘려준다. Column은 waters Xterra C18 (3.9 X 150 mm, 5μm)를 이용하였고 온도는 25°C flow는 0.8 ml/min으로 하였다. 흡광도는 530 nm에서 측정하였다.

Time(min)	A(%)	B(%)	flow(ml/min)
0	80	20	0.8
5	80	20	0.8
5.01	20	80	0.8
10	20	80	0.8
10.01	80	20	0.8
20	80	20	0.8

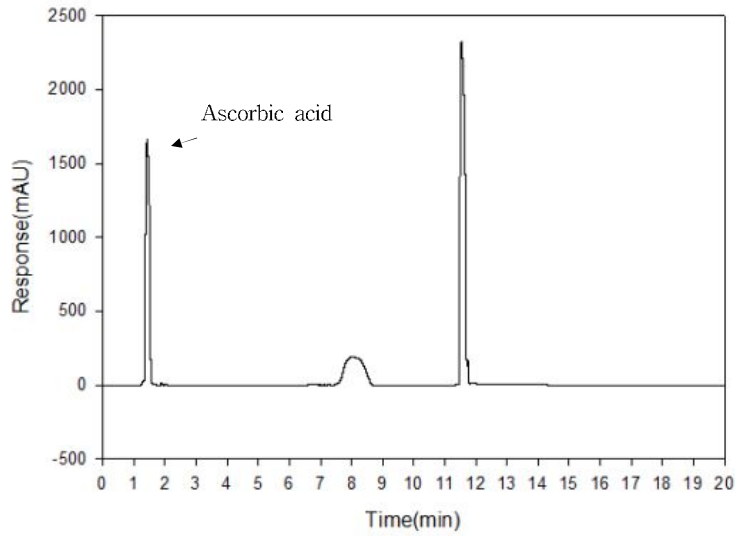
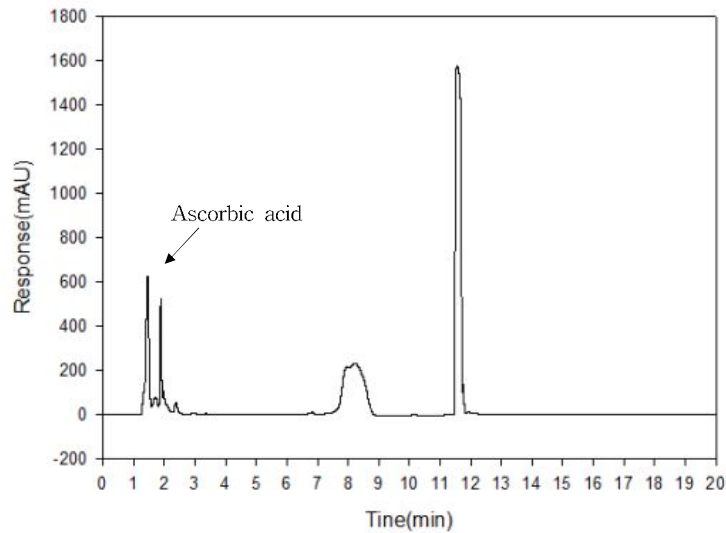


그림 46. Vitamin C standard와 샘플 HPLC graph.



(3) glucosinolate 성분 분석

○ 십자화과 작물 중에 다량으로 함유된 것으로 알려진 기능성 성분 중에 glucosinolate 성분 함량 성분 분석법에 대해 조건을 확립하기 위해 *Brassica germplasm species*을 사용하여 분석하였다. 총 20종에서 전체 glucosinolate 함량을 조사하고, 성분 함량의 변화와 유전적 관계를 찾고자 하였다. 그림 49는 다양한 유전자원에서 glucosinolate 함량 분석 결과를 나타낸다. 다양한 germplasm 내에서 이 성분 합성에 주요 유전자의 염기서열 변이성 조사를 하고자 진행 중이다. 현재 *B. rapa* 에서만 염기서열에서 변이를 조사하여 결과를 확보하였다. 추후 식물 재료를 확장하여 다른 야생종에서도 수행한다면 *B. rapa*에서 기능성 성분 함량이 우수한 자원 선발에 이용할 수 있으리라 생각한다.



그림 47. HPLC 분석 장비

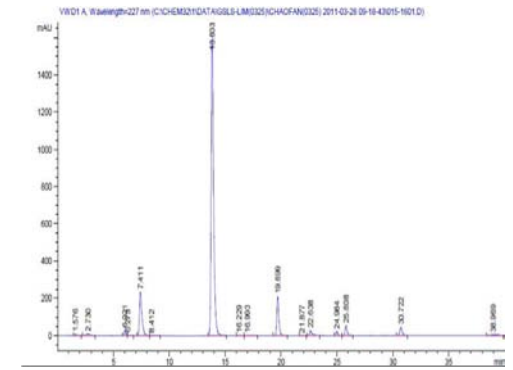


그림 48. HPLC 분석으로 glucosinolate 성분 분석

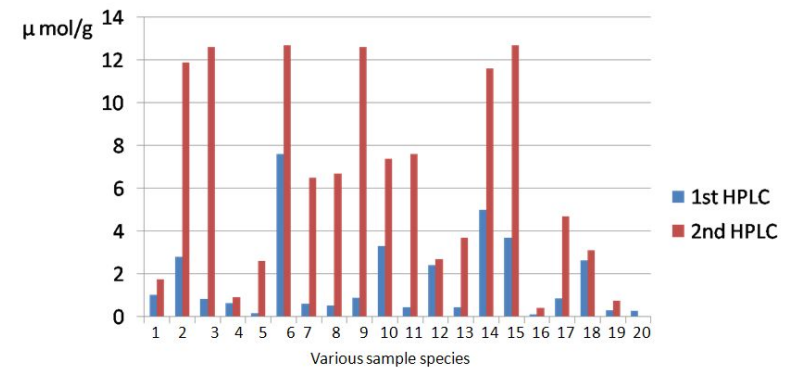


그림 49. 다양한 유전자원에서 glucosinolate 함량 분석 결과

나. 분석센터 성분 의뢰

Carotenoid, flavonol, glucosinolate, mineral, reducing sugar, vitamin C, antocyanidin 등 성분 분석.

(1) 과제협력기관 성분 분석의뢰 (의뢰 내용 중 그 일부만을 제시하였다.)

(가) Carotenoid

표 52. Carotenoid (µg/g D.W.)

		Access No.	Average
		11639	33.34
β-carotene	Chinese cabbage	11640	19.92
		11707	41.88
		Average	
		11639	25.53
Lutein	Chinese cabbage	11640	14.56
		11707	34.75
		Average	

(나) Flavonol

표 53. Flavonol (mg/g D.W.)

		Access No.	Average
		11639	0.19
Quercetin	Chinese cabbage	11640	0.18
		11643	0.15
		Average	
		11639	0.07
Kaempferol	Chinese cabbage	11640	0.07
		11643	0.06
		Average	
		11639	0.26
Total	Chinese cabbage	11640	0.25
		11643	0.20
		Average	

(다) Vitamin C

표 54. Vitamin C (mg/100g D.W.)

		Access No.	Average
		11636	13491.86
Chinese cabbage		11637	12558.48
		11644	61251.05
		Average	

(라) Glucosinolate

표 55. Glucosinolate (µmol/g D.W.)

		Access No.	Average
		11495	0.67
Methoxy glucobrassicin	Chinese cabbage	11496	1.32
		11497	0.76
		Average	
		11491	1.63
Neoglucobrassicin	Chinese cabbage	11492	1.17
		11493	0.44
		Average	
		11488	2.14
Progoitrin	Chinese cabbage	11490	1.15
		11491	1.63
		Average	
		11495	0.67
Glucoraphanin	Chinese cabbage	11496	1.32
		11497	0.76
		Average	
		11499	2.13
Gluconasturtiin	Chinese cabbage	11500	1.73
		11501	1.69
		Average	
		11503	2.73
Gluconapoleiferin	Chinese cabbage	11504	0.45
		11505	1.25
		Average	

(µmol/g D.W.)

		Access No.	Average
		11710	1.41
Gluconapin	Chinese cabbage	11711	0.61
		11712	1.17
		Average	
		11685	0.11
Glucocohlearin	Chinese cabbage	11686	0.45
		11687	0.06
		Average	
		11712	1.17
Glucobrassicin	Chinese cabbage	11713	0.79
		11714	0.45
		Average	
		11488	2.14
Glucobrassicinapin	Chinese cabbage	11490	1.15
		11491	1.63
		Average	
		11483	1.21
Glucoalyssin	Chinese cabbage	11484	0.82
		11485	0.85
		Average	

(마) Reducing sugar

표 56. Reducing sugar (mg/g D.W.)

		Access No.	Average
		11695	242.1
Reducing sugar	Chinese cabbage	11696	336.6
		11697	281.7

(바) Mineral

표 57. Mineral (ppm D.W.)

		Access No.	Average
		11602	14660
Ca	Chinese cabbage	11603	18370
		11604	13170
		11605	29680
Mg	Chinese cabbage	11606	15490
		11608	25410
		11609	20.4
Mn	Chinese cabbage	11610	8.6
		11635	14.4
		11672	56.45
Zn	Chinese cabbage	11673	55.15
		11677	123.4
		11673	73.15
Fe	Chinese cabbage	11677	67.1
		11678	70.2

(2) 권농종묘 의뢰 (의뢰 내용 중 그 일부만을 제시하였다.)

(가) Anthocyanidin

표 58. Anthocyanidin (mg/g D.W.)

Access No.	Cyanidin	Pelargonidin	Peonidin	Pelphinidin	Petunidin	Palvin
일반배추	NA	NA	ND	ND	ND	ND
자색배추	0.014	NA	ND	ND	ND	ND
일반무	NA	NA	ND	ND	ND	ND
자색무	0.007	NA	ND	ND	ND	ND

(나) Carotenoid

표 59. Carotenoid (µg/g)

Access No.	Lutein	β-carotenoid	Total
일반배추	10.3	6.33	16.7
자색배추	6.15	3.70	9.85
일반무	0.01	NA	0.01
자색무	NA	NA	ND

(다) Flavonol

표 60. Flavonol (µg/g)

Access No.	Quercetin	Kaempferol	Total
일반배추	0.33	0.65	0.98
자색배추	0.36	NA	0.36
일반무	0.17	NA	0.17
자색무	NA	NA	ND

(라) Glucosinolate

표 61. Glucosinolate

(μmol/g D.W.)

Access No.	Glucosinolate	Average
일반배추	Progoitrin	37.15
	Glucolyssin	11.76
	Gluconapin	86.98
	Glucocohlearin	9.03
	Glucobrassicinapin	43.57
	Glucobrassicin	46.07
	Gluconasturtiin	61.01
	Methoxy glucobrassicin	248.34
	Neoglucobrassicin	24.92
	Progoitrin	0.35
자색배추	Gluconapoleiferin	0.06
	Glucolyssin	0.03
	Gluconapin	0.53
	Glucocohlearin	0.06
	Glucobrassicinapin	1.15
	Glucobrassicin	0.24
	Gluconasturtiin	0.38
	Methoxy glucobrassicin	0.49
	Neoglucobrassicin	0.04
	Sinigrin	0.59
일반무	Glucobrassicinapin	1.43
	Dehydroerucin	11.78
	Glucobrassicin	0.03
	Methoxy glucobrassicin	0.06
자색무	Sinigrin	0.791823
	Glucobrassicinapin	1.124279
	Dehydroerucin	9.722746
	Glucobrassicin	0.118946
	Methoxy glucobrassicin	0.099796

(마) Phenolic acid

표 62. Phenolic acid

(mg/g D.W.)

Access No.	Caffeic acid	Coumaric acid	Ferulic acid	Sinapic acid	Total
일반배추	ND	0.206	0.634	0.623	1.463
자색배추	0.218	0.465	2.87	1.84	5.393
일반무	ND	ND	ND	ND	ND
자색무	0.190	0.167	0.715	ND	1.072

(3) 농진청 분석 의뢰(의뢰 내용 중 그 일부만을 제시하였다.)

(가) Carotenoid

표 63. Carotenoid

(μg/g D.W.)

Access No.	Lutein	β-carotenoid	Total
11-ff-43	25.34	17.43	16.7
11-ff-45	18.08	11.74	9.85
11-ff-50	40.09	22.89	0.01

(나) Glucosinolate

표 64. Glucosinolate

(μmol/g D.W.)

Access No.	Glucosinolate	Average
11-FF-102	Progoitrin	0.12
	Neoglucobrassicin	0.05
	Methoxy glucobrassicin	0.35
	Glucoraphenin	0.27
	Glucoraphanin	0.04
	Gluconasturtiin	0.11
	Gluconapoleiferin	0.12
	Gluconapin	0.04
	Glucorucin	0.03
	Glucocohlearin	0.28
	Glucobrassicin	0.16
	Glucobrassicinapin	0.12
	Glucolyssin	0.00
	Progoitrin	0.21
	Neoglucobrassicin	0.08
11-FF-104	Methoxy glucobrassicin	0.49
	Glucoraphenin	0.09
	Glucoraphanin	0.05
	Gluconasturtiin	0.13
	Gluconapoleiferin	0.10
	Gluconapin	1.16
	Glucorucin	0.00
	Glucocohlearin	0.08
	Glucobrassicin	0.23
	Glucobrassicinapin	1.41
	Glucolyssin	0.00
	Progoitrin	0.26
	Neoglucobrassicin	0.05
	Methoxy glucobrassicin	0.40
	Glucoraphenin	0.20
Glucoraphanin	0.04	
11-FF-271	Gluconasturtiin	0.09
	Gluconapoleiferin	0.00
	Gluconapin	0.17
	Glucorucin	0.02
	Glucocohlearin	0.18
	Glucobrassicin	0.21
	Glucobrassicinapin	0.49
	Glucolyssin	0.21

(4) 현대 종묘 분석 의뢰(의뢰 내용 중 그 일부만을 제시하였다.)

(가) Mineral

표 65. Mineral		(ppm D.W.)	
		Access No.	Average
Ca	Chinese cabbage	HC-101	397.6
		HC-102	249.2
		HC-103	254
		HC-101	77.5
Mg	Chinese cabbage	HC-102	43.2
		HC-103	58.36
		HC-105	0.51
B	Chinese cabbage	HC-106	0.59
		HC-107	0.58
		HC-108	0.52
Zn	Chinese cabbage	HC-109	2.23
		HC-110	1.37
		HC-110	3.59
Fe	Chinese cabbage	HC-111	1.71
		HC-112	1.49

(나) Carotenoid

표 66. Carotenoid		(µg/g D.W.)	
Access No.	Lutein	β-carotenoid	
HB-204	69.9535	268.5172	
HB-205	75.5191	289.056	
HB-206	97.5822	367.6821	

(5) 농기원 분석 의뢰(의뢰 내용 중 그 일부만을 제시하였다.)

(가) Reducing sugar

표 67. Reducing sugar		(mg/g D.W.)	
		Access No.	Average
		27294-50	523.5
Chinese cabbage	고함유	27294-119	496.5
		27294-121	487.8

(나) Vitamin C

표 68. Vitamin C		(mg/g D.W.)	
		Access No.	Average
		27295-24	6.89
Chinese cabbage	고함유	27138-7	6.46
		27295-29	6.25

(다) Mineral

표 69. Mineral		(ppm D.W.)	
		Access No.	Average
Ca	Chinese cabbage	26137-2	361.27
		26138-3	250.09
		26137-1	190.36
		26137-2	69.68
Mg	Chinese cabbage	26164-35	52.86
		26138-3	47.78
		26137-2	0.77
Mn	Chinese cabbage	27143-17	0.66
		26148-17	0.57
		26137-2	0.92
Zn	Chinese cabbage	26148-17	0.75
		27143-40	0.70
		26137-2	2.85
Fe	Chinese cabbage	27143-45	2.49
		27143-11	2.32

(라) Carotenoid

표 70. Carotenoid (µg/g D.W.)

		Access No.	Average
β-carotene	Control	휘파람	19.01
		황성골드	32.09
		e노랑	7.40
		CR맛	88.27
		불암3호	44.57
		불암플러스	142.92
		kori	89.14
	Chinese cabbage	27137-2	158.76
		27137-1	47.57
		27259-4	47.14
Lutein	Control	휘파람	12.65
		황성골드	17.63
		e노랑	5.30
		CR맛	45.06
		불암3호	33.58
		불암플러스	118.93
		kori	63.64
	Chinese cabbage	27137-2	186.93
		27259-4	63.53
		27137-1	60.96

(마) Flavonol

표 71. Flavonol (mg/g D.W.)

		Access No.	Average
Quercetin	Control	CR맛	0.24
		불암3호	0.25
		불암플러스	0.21
		이노랑	0.24
		코리	0.19
		황성골드	0.23
		휘파람	0.25
	Chinese cabbage 고탕유	27294-67	0.28
		10074	0.27
		10146	0.27
Kaempferol	Control	CR맛	0.12
		불암3호	0.13
		불암플러스	0.11
		이노랑	0.13
		코리	0.18
		황성골드	0.13
		휘파람	0.13
	Chinese cabbage 고탕유	27263-74	0.22
		27263-141	0.18
		27294-67	0.15
Total	Control	CR맛	0.36
		불암3호	0.38
		불암플러스	0.33
		이노랑	0.37
		코리	0.37
		황성골드	0.36
		휘파람	0.39
	Chinese cabbage 고탕유	27294-67	0.43
		27139-5	0.41
		10146	0.41

(바) Glucosino

표 72. Glucosinolate

		(μmol/g D.W.)	
		Access No.	Average
Gluconasturtiin	Control	CR맛	0.33
		불암3호	0.40
		불암플러스	0.23
		이노랑	0.33
		코리	0.47
		황성골드	N.D.
		휘파람	0.35
		27259-4	1.87
	Chinese cabbage 고탍유	27263-141	1.73
		27259-6	1.60
Glucoraphanin	Control	CR맛	N.D.
		불암3호	N.D.
		불암플러스	N.D.
		이노랑	N.D.
		코리	N.D.
		황성골드	N.D.
		휘파람	0.02
		27156-13	0.14
	Chinese cabbage 고탍유	27156-14	0.14
		27156-11	0.11
Progoitrin	Control	CR맛	0.23
		불암3호	0.16
		불암플러스	0.43
		이노랑	0.12
		코리	1.05
		황성골드	0.20
		휘파람	0.51
		27263-116	2.80
	Chinese cabbage 고탍유	26110-234	2.56
		27259-4	2.48

		(μmol/g D.W.)	
		Access No.	Average
Methoxy glucobrassicin	Control	CR맛	0.55
		불암3호	0.38
		불암플러스	0.44
		이노랑	0.29
		코리	0.13
		황성골드	0.28
		휘파람	0.35
		27156-13	0.94
	Chinese cabbage 고탍유	27156-8	0.75
		10136	0.72
Neoglucobrassicin	Control	CR맛	0.05
		불암3호	0.06
		불암플러스	0.04
		이노랑	0.03
		코리	0.18
		황성골드	0.02
		휘파람	0.01
		27263-74	1.57
	Chinese cabbage 고탍유	27263-116	1.33
		10155	0.32
Glucobrassicin	Control	CR맛	0.25
		불암3호	0.20
		불암플러스	0.11
		이노랑	0.13
		코리	0.16
		황성골드	0.13
		휘파람	0.10
		27263-116	1.31
	Chinese cabbage 고탍유	27263-74	1.26
		27156-10	0.91
		(μmol/g D.W.)	
		Access No.	Average
Control	Chinese cabbage 고탍유	CR맛	3.02
		불암3호	3.91
		불암플러스	3.16
		이노랑	2.66
		코리	4.56
		황성골드	2.93
		휘파람	2.26
		27263-116	13.12
	Chinese cabbage 고탍유	27263-74	10.14
		26110-106	10.01

제1-1-1절 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁)

1. 배추 생산자들의 신종자 이용 행태

가. 배추 종자 확보 및 선택

배추 생산자들이 배추 종자를 어떻게 확보하고 어떤 기준에 의해 선택하는 지를 파악하는 것은 향후 배추 신종자의 효과적인 보급 방안 모색에 있어서 고려해야 하는 중요한 요인 중의 하나이다. 왜냐하면 생산자들이 종자를 어떤 경로를 통해 확보하는가에 따라 신종자의 주요 판매 경로가 결정되어야 하기 때문이다.

배추 종자를 어떻게 확보하는가에 대한 질문에 응답자 155명 중 지역의 '종묘 농약상으로부터 구입'이 119명(76.8%)으로 대다수를 차지하였으며, 다음으로는 '농협·김치공장 등 계약재배업자가 제공'은 15명(9.7%), 기타는 18명(11.6%) 순이었다. 기타의 경우는 육묘장 구입이 13명(직접구입 4명, 품질 및 품종 언급 2명)이었으며, 농협에서 구입이 3명, 자가 생산 1명 등이었다(표 1).

배추 종자 선택방법으로는 '자신이 직접 선택'이 응답자 156명 중 127명(81.4%)으로 가장 많았으며, 다음으로는 '산지유통인의 요구'가 15명(9.6%), '농협, 김치공장 등 계약재배업자의 요구'가 7명(4.5%), 기타가 7명(4.5%) 이었다(표 2). 배추 종자의 확보 경로와 종자 선택 기준에 대한 조사 결과를 볼 때 대부분의 배추 생산자들은 개인의 판단에 근거하여 종자를 선택하고 있음을 알 수 있다.

표 1. 배추 종자의 구입 경로

항목	명	%
지역의 종묘 농약상으로부터 구입	119	76.8
농협, 김치공장 등 계약재배업자가 제공	15	9.7
산지유통인이 제공	3	1.9
기타	18	11.6
합계	155	100

표 2. 배추 종자 선택 주체

항목	명	%
자신이 직접	127	81.4
농협, 김치공장 등 계약재배업자의 요구	7	4.5
산지유통인(상인)의 요구	15	9.6
기타	7	4.5
합계	156	100

나. 배추 신종자 정보 획득 경로 및 선택 요인

새로운 배추 종자에 대한 정보 획득 경로 1순위로는 '종묘회사 시범포 방문이나 종묘회사가 발행하는 홍보물'이 응답자 154명 중 73명(47.4%)으로 가장 많았으며, 다음으로는 '주위의 배추 생산자' 42명(27.3%), '산지유통인' 25명(16.2%) 순으로 나타났다. 정보 획득 경로에 대한 2순위 응답으로는 응답자 27명중 11명이 '산지유통인', 7명 '주위의 배추생산자', 7명은 '종묘회사'로부터 얻고 있는 것으로 나타났다(표 3). 따라서 생산자들은 종묘회사가 제공하는 정보에 의존하는 경향이 높음을 알 수 있다. 이 결과는 앞에서 논의된 종자 확보와 관련된 설문 결과와 일맥상통한다고 할 수 있는데, 왜냐하면 종묘회사가 발행하는 홍보물은 생산능가가 지역의 종묘 농약상에서 가장 손쉽게 구할 수 있는 신종자에 대한 정보이기 때문이다. 또한 주위의 배추 생산자들의 의견도 신종자 정보 획득의 중요한 경로로 나타나고 있는데, 이는 배추 생산자들이 신종자에 대해 검증이 이루어진 이후의 정보를 신뢰하고 있음을 의미한다고 볼 수 있다.

배추 종자 선택 시 가장 중요하게 생각하는 요인으로는 1순위로 응답자 156명 중 84명(53.8%)이 '재포력, 내병성, 수송성 등 종자의 특징'이라 응답하였으며, 다음으로는 '생산된 배추의 판로확보의 용이성'이 22명(14.1%), '배추 종자에 대한 주위 생산자의 평판'은 13명(8.3%) 순으로 응답하였다. 한편 기타는 33명(21.2%)이 응답하였는데, 이에는 상인 및 소비자 선호가 가장 중요한 요인으로 나타났다. 반면 '종자의 가격'은 단지 2명(1.3%) 만이 응답하여, 생산농가들이 배추 종자의 선택 시 종자의 가격은 크게 고려하지 않는 것으로 나타났다. 배추 종자 선택 시 중요하다고 생각하는 요인에 대한 2순위 응답은 응답자 40명 중 12명이 '주위 생산자의 평판', 10명이 '종자의 특징'을 중요시 하는 것으로 나타났으며, 1순위와 마찬가지로 가격 요인은 배추 생산자들이 중요하게 고려하는 요인이 아닌 것으로 나타났다(표 4).

표 3. 배추 신종자에 대한 정보 획득 경로

항목	1순위(명)	1순위(%)	2순위(명)	2순위(%)
산지유통인	25	16.2	11	40.7
종묘회사 시범포 방문 및 홍보물	73	47.4	7	25.9
지역농협 또는 농업기술센터	8	5.2	2	7.4
주위의 배추 생산자	42	27.3	7	25.9
기타	6	3.9	0	0
합계	154	100	27	99.9

표 4. 배추 종자 선택에 있어서 가장 중요한 요인

항목	1순위(명)	1순위(%)	2순위(명)	2순위(%)
재포력, 내병성, 수송성 등 종자의 특징	84	53.8	10	25.0
생산된 배추의 판로확보의 용이성	22	14.1	5	12.5
종자의 가격	2	1.3	1	2.5
배추 종자에 대한 주위 생산자의 평판	13	8.3	12	30.0
배추 종자 회사의 평판이나 신뢰성	2	1.3	3	7.5
기타	33	21.2	9	22.5
합계	156	100	40	100

다. 배추 신종자 이용 여부

배추 신종자에 대한 수용정도를 파악하기 위하여 제시한 최근 새롭게 개발·보급된 신종자를 이용해본 경험이 있는가의 여부에 대한 설문에는 응답자 156명 중 83명(53.2%)은 이용하지 않았다고 대답하였으며, 이용한 경험에 있는 응답자는 73명(46.8%)으로 신종자의 수용정도가 절반에 미치지 못한 것으로 나타났다.

배추 신종자를 이용한 이유로는 응답자 73명 중 27명(37.0%)이 '시험포 방문이나 홍보자료 등을 보고 새로운 종자가 기존 종자보다 좋다고 판단해서'를 선택하였으며, 20명(27.4%)은 '산지유통인, 계약업체 등 주로 거래하는 상인들이 요구해서', 14명(19.2%)은 '새로운 배추 종자를 이용한 주위의 능가들을 보거나 권유'를 선택하였다. 반면, '시장에서 새로운 품종의 배추에 대한 평판이나 시장가격이 좋을 것으로 판단'은 7명(9.6%)만이 응답하여 다른 요인에 비해 상대적으로 덜 중요한 것으로 나타났는데, 이는 신종자를 이용한 배추에 대해 아직까지는 시장에서 평판이나 구분이 명확하게 이루어지지 않은 데에 기인한다고 할 수 있다.

배추 신종자를 이용하지 않은 이유로는 응답자 83명 중 55명(66.3%)이 '새로운 종자를 이용할 때 수량, 상품성 등 배추의 불확실성'을 선택하였으며, 다음으로는 '기존 종자에 비해 좋을 것이 없다고 판단해서'가 16명(19.8%), '새로운 종자에 대한 전시포 미운영 등 정보의 부재' 4명(4.6%), '신종자의 가격이 고가'는 2명(2.3%) 순이었다. 따라서 새로운 종자가 생산자들에게 원활하게 보급되기 위해서는 신종자의 수량이나 상품성 등에 대한 신뢰성 제고 방안의 모색이 중요함을 알 수 있다.

표 5. 배추 신종자 이용 이유

항목	명	%
산지유통인, 계약업체 등 주로 거래하는 상인들의 요구	20	27.4
새로운 배추 종자를 이용한 주위의 능가들을 보거나 권유	14	19.2
새로운 종자가 기존 종자보다 좋다고 판단	27	37.0
시장에서 새로운 품종의 배추에 대한 평판이나 시장가격이 좋을 것으로 판단	7	9.6
기타	5	6.8
합계	73	100

표 6. 배추 신종자를 이용하지 않은 이유

항목	명	%
신종자의 가격이 고가	2	2.3
기존 종자에 비해 좋을 것이 없다고 판단	16	19.8
새로운 종자를 이용할 때 수량, 상품성 등 배추의 불확실성	55	66.3
새로운 종자에 대한 전시포 미운영 등 정보의 부재	4	4.6
기타	6	7.0
합계	83	100

라. 배추 신종자 만족도 및 이유

배추 신종자를 이용한 생산자들의 경우 어느 정도 만족하는가에 대한 질문에 '매우 만족한다'가 6명(8.2%), '만족한다'는 30명(41.1%)인 반면, '불만족한다'가 18명(24.7%), '매우 불만족한다'는 2명(2.7%)로 나타나 신종자에 대한 만족도가 비교적 높은 것으로 나타났다.

신종자의 만족 이유로는 응답자 35명 중 12명(34.3%)이 '품질과 맛이 기존종자보다 우수'라고 응답하였으며, '판로확보 용이'와 '상품성 향상에 따른 시장수취가격 상승'라고 응답한 경우는 각각 10명(28.6%), '기대한 것에 비해 신종자의 가격이 적정'이라고 응답한 경우는 3명(8.6%)로 나타났다. 반면, 불만족 이유로는 '신종자가 재포력, 내병성, 수확성 등에서 기대에 미치지 못함'이 14명(71.4%)으로 가장 많았다. 따라서 신종자의 만족도에 신종자의 가격보다는 신종자 자체의 특성이나 상품성 등이 큰 영향을 미침을 알 수 있다.

표 7. 배추 신종자 이용의 만족 정도

항목	명	%
매우 만족한다	6	8.2
만족한다	30	41.1
보통이다	17	23.3
불만족한다	18	24.7
매우 불만족한다	2	2.7
합계	73	100

마. 배추 신종자 이용 계획 및 보급 방향

향후 신종자를 이용하겠는가에 대한 질문에는 응답자 152명 중 99명(65.1%)이 '있다'라고 답하였으며, '없다'는 53명(34.9%)이 응답하여 신종자의 이용 경험에 관한 설문 결과보다는 생산자들의 향후 이용 의향이 높음을 알 수 있다.

신품종이 능가에 원활하게 보급되기 위해 필요한 요소는 무엇인가에 대한 질문에는 응답자 152명 중 63명(41.4%)이 '새로운 종자에 대한 전시포 운영 등 능가 홍보 활성화'로 응답하였다. 다음으로는 '새로운 종자의 재배능가 보급시스템 구축과 같은 인프라에 대한 정부 지원확대'가 28명(18.4%), '신품종을 이용한 재배계약 확대'가 26명(17.1%) 순이었다. 기타 요소로는 '시험재배를 통한 안정성 확보'와 '상인들에게 신품종의 우수성 홍보' 등으로 나타났다. 따라서 새로운 종자가 생산자들에게 원활하게 보급되기 위해서는 생산자들이 직접 신종자의 특성을 파악할 수 있도록 종묘생산 기업들의 전시포 운영에 대한 정부의 지원과 정부 차원의 신종자 보급 시스템 지원이 중요함을 알 수 있다.

마. 요약 및 결론

배추는 우리나라의 대표 음식인 김치의 주재료라는 점에서 국민경제에 중요한 위치를 점하고 있으며, 종자 자급률과 육종 기술 차원에서 세계 최고수준의 기술을 갖고 있는 농산물이다. 그러나 배추 시장의 개방이 확대되는 상황에서 배추 생산자들의 경쟁력 제고뿐만 아니라 우리나라 배추 산업의 지속적인 성장을 담보하기 위해서는 소비자들이 원하는 고품질의 배추를 생산하고 공급할 수 있는 기반이 확립되어야 한다. 이런 측면에서 새로운 배추 품종의 개발과 보급은 중요한 의미를 갖는다고 하겠다. 이에 본 연구에서는 배추 생산자들의 종자 이용 행태와 신종자에 대한 인식을 설문조사를 통해 알아보고 향후 배추 신종자의 개발 및 보급과 관련하여 몇 가지 시사점을 제시하고자 하였다.

배추 종자 선택 시 가장 중요하게 생각하는 요인으로는 응답자 중 53.8%가 ‘재포력, 내병성, 수송성 등 종자의 특징’을 선택하였으며, 다음으로는 ‘생산된 배추의 판로확보의 용이성’이 14.1%, ‘상인 및 소비자 선호’나 ‘주위 생산자의 평판’ 등이 약 10% 정도로 나타나, ‘종자의 가격’이나 ‘종자 회사의 평판이나 신뢰성’ 등은 종자 선택 시 생산자에게 큰 영향을 미치지 못함을 알 수 있다. 배추 신종자를 이용해 본 경험이 있는 응답자는 전체 응답자의 46.3%였으며, 이용 이유로는 ‘시험포 방문이나 홍보자료를 통해 신종자가 기존 종자보다 좋다고 판단’이 38.6%로 가장 높았다. 신종자를 이용하지 않은 생산자들은 전체 응답자의 53.7%로 신종자를 이용하지 않은 이유로는 ‘새로운 종자를 이용할 때 수량, 상품성 등의 불확실성’이 66.3%로 가장 높은 반면, ‘신종자의 가격이 높음’은 2%로 나타났다. 따라서 생산자들은 배추 종자 선택 시 고려요인의 설문 결과와 마찬가지로 가격이 배추 종자 선택에 큰 영향을 미치지 못하고 있으며, 신종자의 특징이나 품질 측면이 중요하게 작용함을 알 수 있다.

배추신종자의 이용 계획에서는 응답자의 65.1%가 ‘있다’라고 응답하여 신종자에 대한 수용 의사가 그렇지 않은 경우보다 높게 나타나 신종자에 대한 생산자들의 기대가 높은 것을 알 수 있다. 신종자의 원활한 농가 보급 방안에서는 ‘새로운 종자에 대한 전시포 운영 등 농가 홍보 활성화’가 41.4%, 다음으로는 ‘새로운 종자의 재배농가 보급시스템 구축과 같은 인프라에 대한 정부 지원확대’가 18.4%, ‘신품종을 이용한 재배계약 확대’가 17.1% 순이었다. 결론적으로 생산자들이 신종자 선택 여부를 결정할 때 가격 수준보다는 신종자가 갖고 있는 여러 가지 특징, 예를 들어 재포력, 내병성, 수송성 등을 더 중요하게 고려하기 때문에 어느 정도의 비용이 수반된다고 하더라도 품질이 뛰어난 고급품종의 개발이 효과적인 종자 개발 방향이 될 것이라고 사료된다.

2. 배추 신종자의 경제적 가치 평가

가. 분석 모형

배추 신종자는 현재 개발이 완료되지 않고 진행 중에 있어 시장분석 및 소비자 행태분석이 어렵다는 측면에서 신종자의 가치평가를 위해 비시장적 가치평가방법인 조건부가치측정법을 이용하여야 한다. 본 절에서는 조건부가치측정법에서 양분선택형 질문을 통해 수집된 결과를 통해 지불의사금액(WTP)의 대표값을 분석할 수 있는 모형으로 Hanemann(1984)이 제안한 효용격차모형(utility difference model)과 Cameron and James(1987)가 제안한 WTP함수모형을 알아보고자 한다.

(1) 효용격차모형

응답자가 자신의 효용함수를 정확하게 알고 있다는 가정 하에 주어진 화폐소득(m)과 개인의 특성벡터(S)에 근거하여 평가대상 재화의 상태(i)에 대해 느끼는 효용은 다음과 같은 간접효용함수 u 로 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (1)} \quad u = u(i, m; S), i = 0, 1$$

식 (1)에서 i 는 신종자의 이용여부를 나타내는 지시변수로, $i=0$ 은 이용하지 않는 경우, 그리고 $i=1$ 은 이용하고자 하는 경우를 의미한다. 식 (1)에서 나타난 응답자의 효용은 응답자들에게는 확실한 값이지만 이를 관측하는 연구자에게는 응답자가 평가대상 재화의 이용 또는 이용거부에 있어 관측이 불가능한 부분이 존재하게 된다. 따라서 간접효용함수는 식 (2)와 같이 관측 가능한 확정적인 부분 $v(i, m; S)$ 과 관측 불가능한 확률적 부분 ϵ_i 로 구분될 수 있다.

$$\text{식 (2)} \quad u(i, m; S) = v(i, m; S) + \epsilon_i$$

위 식에서 ϵ_i 는 평균이 0이고 i 에 상관없이 독립적이면서 동일한 분포를 갖는 확률변수이다. 만약 신종자의 가격이 p 원일 때 개별응답자가 p 원을 지불하고 신종자를 이용한다면 그 효용수준은 $v(1, m-p; S) + \epsilon_1$ 이 된다. 즉, 응답자에게 제시된 금액에 대해 신종자를 이용한다고 답한 응답자는 지불한 비용보다 신종자의 이용에 따른 효용수준이 더 크거나 같은 것을 의미하므로 식 (3)나 식 (4)가 성립하게 된다.

$$\text{식 (3)} \quad v(1, m-p; S) + \epsilon_1 \geq v(0, m; S) + \epsilon_0$$

$$\text{식 (4)} \quad v(1, m-p; S) - v(0, m; S) \geq \epsilon_0 - \epsilon_1$$

식 (3)이나 식 (4)에서 효용의 격차와 오차항의 격차를 식 (5)와 식 (6)으로 정의하면 응답자가 제시된 금액을 지불할 용의가 있는지에 대한 질문에 ‘예’라고 응답할 확률은 식 (7)과 같이

나타낼 수 있다.

$$\text{식 (5)} \quad \Delta v(p) \equiv v(1, m-p; S) - v(0, m; S)$$

$$\text{식 (6)} \quad \eta \equiv \epsilon_0 - \epsilon_1$$

$$\text{식 (7)} \quad \Pr\{\Delta v(p) \geq \eta\} \equiv F_\eta[\Delta v(p)]$$

식 (7)에서 $\Pr\{\cdot\}$ 는 확률함수를, $F_\eta(\cdot)$ 는 η 의 누적분포함수(cumulative distribution function: cdf)를 의미한다.

확률변수 C 는 $i=0$ 인 상태에서 $i=1$ 의 상태로 변화하기 위한 응답자의 지불의사금액(WTP)을, 그리고 C 의 누적분포함수(cdf)를 $G_C(p)$ 로 정의하면 식 (7)은 식 (8)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (8)} \quad \Pr\{C \geq p\} \equiv 1 - G_C(p)$$

식 (7)과 식 (8)을 비교하면 식 (9)를 도출할 수 있으며, 이산반응모형인 식 (7)을 적합시키는 것은 결국 지불의사금액인 WTP의 누적분포함수인 $G_C(\cdot)$ 의 모수를 추정하는 것으로 해석될 수 있음을 의미한다(Hanemann, 1984).

$$\text{식 (9)} \quad 1 - G_C(p) \equiv F_\eta[\Delta v(p)]$$

식 (9)와 같은 확률모형의 추정은 누적정규분포(cumulative normal distribution)를 가정하는 프로빗모형(probit model) 또는 로지스틱 누적분포함수(logistic cumulative distribution)를 가정하는 로짓모형(logit model)을 이용하는 데, 통상적으로 $F_\eta(\cdot)$ 를 로지스틱 누적분포함수로 정형화 하며 식 (10)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (10)} \quad F_\eta[\Delta v] = \frac{1}{1 + e^{-\Delta v}}$$

위 식에서 간접효용함수의 차이인 Δv 의 함수형태를 응답자의 소득 및 특성변수의 선형함수로 가정하면 선형로지트모형, 로그함수로 가정하면 로그로지트모형이 된다. 일반적으로 Δv 는 선형함수로 가정하며, 이 경우 $\Delta v = a - bp$ 로 나타낼 수 있다. 따라서 식 (10)은 다음과 같은 선형로지트모형으로 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (11)} \quad F_\eta[\Delta v] = \frac{1}{1 + e^{[-(a-bp)]}}$$

결과적으로 식 (11)은 식 (12)와 같은 식으로 정리할 수 있으며, WTP의 누적분포함수는 식 (13)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (12)} \quad 1 - G_C(p) \equiv F_\eta[\Delta v(p)] = \frac{1}{1 + e^{[-(a-bp)]}}$$

$$\text{식 (13)} \quad G_C(p) = \frac{1}{1 + e^{(a-bp)}}$$

식 (11) 또는 식 (12)에 포함된 계수 a 와 b 가 추정될 계수들이며, 이들 계수들은 이산응답을 모형화한 후 최우추정법(maximum likelihood method)을 통해 추정하게 된다. 최우추정법에서 이용하게 되는 로그우도함수(log likelihood function)는 설문유형에 따라 상이하게 되며, 일점오양분선택형 로그우도함수는 다음과 같다.

일점오양분선택형에서 i 번째 응답자가 응답하는 상황은 6개의 변수를 도입하여 묘사될 수 있으며, 처음 3개의 경우는 첫 번째 질문에서 하한가격인 p_i^L 이 제시된 경우에 해당하고, 나머지 3개의 경우는 첫 번째 질문에서 상한가격인 p_i^U 가 제시된 경우에 해당된다.

$$\begin{aligned} I_i^{YY} &= 1(i\text{번째 응답자의 응답이 '예-예'}), I_i^{YN} = 1(i\text{번째 응답자의 응답이 '예-아니오'}), \\ I_i^N &= 1(i\text{번째 응답자의 응답이 '아니오'}) \\ I_i^Y &= 1(i\text{번째 응답자의 응답이 '예'}), I_i^{NY} = 1(i\text{번째 응답자의 응답이 '아니오-예'}), \\ I_i^{NN} &= 1(i\text{번째 응답자의 응답이 '아니오-아니오'}) \end{aligned}$$

일점오양분선택형에서 효용극대화를 추구하는 N 명의 표본을 가정할 경우 i 번째 응답자의 응답결과를 6개로 구분하여 다음과 같은 형태의 로그우도함수를 설정할 수 있다.

$$\text{식 (14)} \quad \ln L = \sum_{i=1}^N \left\{ \begin{aligned} &I_i^{YY} \ln [1 - G_C(p_i^U)] + I_i^{YN} \ln [G_C(p_i^U) - G_C(p_i^L)] \\ &+ I_i^N \ln G_C(p_i^L) + I_i^Y \ln [1 - G_C(p_i^U)] \\ &+ I_i^{NY} \ln [G_C(p_i^U) - G_C(p_i^L)] + I_i^{NN} \ln G_C(p_i^L) \end{aligned} \right\}$$

식 (14)는 식 (15)와 같이 간단하게 정리될 수 있으므로 실제 추정시에는 식 (15)를 이용하게 된다.

$$\text{식 (15)} \quad \ln L = \sum_{i=1}^N \left\{ \begin{aligned} &(I_i^{YY} + I_i^Y) \ln [1 - G_C(p_i^U)] \\ &+ (I_i^{YN} + I_i^{NY}) \ln [G_C(p_i^U) - G_C(p_i^L)] \\ &+ (I_i^N + I_i^{NN}) \ln G_C(p_i^L) \end{aligned} \right\}$$

후생척도로서 지불의사는 단일값이 존재하지 않기 때문에 여러 가지 대푯값을 고려할 수 있으며, 일반적으로 Hanemann(1989)이 제안한 평균값(WTP_{mean}), 중앙값(WTP_{median}), 그리고 절단된 평균값($WTP_{truncated}$)을 사용한다.

응답자의 WTP가 음의 값을 가질 수 있는 경우에는 WTP의 평균(WTP_{mean})은 식 (16)의 방식으로 계산되며, 만약 WTP가 0보다 크거나 같아야 할 경우에는 식 (17)과 같이 계산된다.

$$\text{식 (16)} \quad WTP_{mean} = E(C) = \int_0^{\infty} [1 - G_C(p)] dp - \int_{-\infty}^0 G_C(p) dp$$

$$\text{식 (17)} \quad WTP_{mean} = E(C) = \int_0^{\infty} [1 - G_C(p)] dp = \int_0^{Max.p} F_n[\Delta v(p)] dp \\ = \int_0^{\infty} \frac{1}{1 + e^{[-(a-bp)]}} dp$$

한편, 중앙값 $WTP(WTP_{median})$ 는 식 (20)의 방정식을 C 에 대해 풀어주면 계산될 수 있다.¹⁾

$$\text{식 (18)} \quad G_C(C) = 0.5$$

절단된 평균값은 WTP의 평균(WTP_{mean})의 분포가 오른쪽으로 무제한적으로 편향되게 됨으로써 평균값이 발산할 수 있기 때문에, 무작위로 제시되는 금액 p 원을 극소값 0원으로부터 최대 제시금액 $Max.p$ 까지의 범위를 고려하여 계산하게 된다. 최대 제시금액에서 절단시키고 그 이상의 면적을 제외하고 측정하는 방법으로 식 (19)와 같이 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (19)} \quad WTP_{truncated} = E(C) = \int_0^{Max.p} [1 - G_C(p)] dp = \int_0^{Max.p} F_n[\Delta v(p)] dp \\ = \int_0^{Max.p} \frac{1}{1 + e^{[-(a-bp)]}} dp$$

(2) 공변량과 WTP함수모형

응답자 또는 응답자 가구의 특성을 반영하는 변수들을 공변량이라고 하는데, 이와 같은 특성을 반영하기 위해 앞에서 제시한 추정모형에 공변량을 포함하여 모형을 추정하는 것이 필요하다. 공변량이 WTP에 미치는 영향을 살펴보는 것은 내적 일관성(internal consistency)이나 이론적 타당성(theoretical validity)을 검증할 수 있는 유용한 방법이다.

공변량을 추정모형에 포함하는 방법은 효용격차모형에서 상수항에 해당하는 a 를 $\alpha + x_i'\beta$ 로 대체하는 것으로, 이때 x_i 는 관심대상 공변량 벡터이고 β 는 이에 대응하는 계수벡터로 공변량이 제시금액에 '예'라고 응답할 확률에 미치는 영향으로 해석될 수 있다.

1) 중앙값은 중위부표자 정리에 따른 문제점을 갖고 있기 때문에 대부분의 연구에서 이용하지 않고 있음.

WTP에 대한 공변량의 직접적인 영향은 효용격차모형에서 분석하기 어렵기 때문에 WTP함수모형을 적용해야 하며, WTP함수는 다음과 같이 표현될 수 있다.

$$\text{식 (20)} \quad C_i = x_i'\beta + u_i$$

위 식에서 u_i 는 교란항이며 통상적으로 평균이 0이고 표준편차가 σ 인 정규분포를 따른다고 가정한다. 따라서 β 는 공변량 x_i 의 한계효과를 나타내는 계수벡터라고 할 수 있으며, $\Phi(\cdot)$ 를 표준정규 누적분포함수라고 하면 식 (20)은 다음의 식 (21)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\text{식 (21)} \quad \ln L = \sum_{i=1}^N \left\{ (I_i^{YY} + I_i^Y) \ln \left[1 - \Phi \left(\frac{p_i^U - \alpha - x_i'\beta}{\sigma} \right) \right] \right. \\ \left. + (I_i^{YN} + I_i^{NY}) \ln \left[\Phi \left(\frac{p_i^U - \alpha - x_i'\beta}{\sigma} \right) \right] - \Phi \left(\frac{p_i^L - \alpha - x_i'\beta}{\sigma} \right) \right\} \\ + (I_i^N + I_i^{NN}) \ln \Phi \left(\frac{p_i^L - \alpha - x_i'\beta}{\sigma} \right)$$

나. 분석 자료

신종자의 경제적 가치 도출에 필요한 자료를 수집하기 위해 전국의 배추 생산자를 모집단으로 하는 설문조사를 실시하였다. 설문조사의 진행은 배추농사에 2년 이상 종사한 생산농가 209호를 대상으로 전화조사를 통해 이루어졌으며, 전국의 배추 작형별 재배면적을 기준으로 비례적으로 표본을 할당하였다. 조사는 2011년 5월 2일부터 5월 13일까지 12일에 걸쳐 진행되었으며, 경제적 가치 분석에는 전체 농가 209호 중 유효하지 않은 응답 농가 53호를 제외한 156호가 사용되었다.

설문에 앞서 일점오양분선택형 설문에 필요한 제시가격대의 범주를 결정하기 위해 23명을 대상으로 개방형 질문방식의 지불의사 예비조사를 실시하였다. 본 설문에서 이용된 추가 지불의사의 제시금액은 지불의사 예비조사 평균 및 분포에 따라 1,000~2,000원, 2,000~3,000원, 3,000~5,000원, 5,000~7,000원으로 설정하였으며, 표본의 제시금액별 응답자 분포는 표 8과 같다.

표 8. 일점오양분선택형 설문지 제시금액별 응답자 분포

(단위 : 원, 명, %)

설문지 유형		빈도(비율)	
제시금액 구간	최초제시금액		
1,000~2,000	1,000	21(13.5)	42(26.9)
	2,000	21(13.5)	
2,000~3,000	2,000	18(11.5)	39(25.0)
	3,000	21(13.5)	
3,000~5,000	3,000	18(11.5)	36(23.1)
	5,000	18(11.5)	
5,000~7,000	5,000	20(12.8)	39(25.0)
	7,000	19(12.2)	
합계		156(100.0)	

배추신종자의 경제적 가치추정을 위한 설문문항은 신종자의 인지도, 신종자에 대한 지불의사, 그리고 응답자의 사회경제적 배경 등 세 부분으로 구성하였다. 구체적으로 신종자의 이용 경험과 이유, 향후 신종자 이용 계획, 생산자의 지불의향 도출을 위한 질문과 지불거부사유 등이 포함되어 있다. 응답자의 사회경제적 특성과 관련된 항목으로는 연령, 교육수준, 종사연수, 주작목 여부, 재배면적, 가족수 등이다.

다. 분석결과

배추 신종자의 경제적 가치를 도출하기 위해 배추 생산자들을 대상으로 신종자에 대한 지불의사금액을 추정하였다. 분석모형으로는 종속변수가 제시된 금액에 대해 지불의사를 '0(아니오)' 또는 '1(예)'로 나타나는 이항변수의 특성을 갖고 있기 때문에 일반 회귀모형이 아닌 로지스틱모형을 이용하였으며, 추정에는 STATA 10.0 통계프로그램을 사용하였다.

(1) 지불의사금액 분포

본 연구에서는 전체 156명의 응답자를 비슷한 숫자의 4개 그룹으로 구분한 다음 각 제시금액 범위를 배정하고, 각 그룹 안에서는 대략 절반씩 나누어 하한금액(Bidlow)과 상한금액(Bidup)을 제시하였다. 표 9는 일점오양분선택형 질문에 대한 응답자들의 분포를 나타낸다.

표 9에 나타난 바와 같이 제시금액이 커질수록 지불의사를 나타내는 응답자의 비율이 대체적으로 감소하는 경향을 보이고 있다. 하한가격(Bidlow)를 제시한 경우 제시금액이 높을수록 지불할 의사가 있는 응답자의 수가 16명에서 3명으로 감소한 반면, 지불할 의사가 없다고 응답한 경우는 1명에서 10명으로 증가하였다. 상한가격(Bidup)의 경우에도 제시금액이 높을수록 지불할 의사가 있다고 응답한 경우는 13명에서 2명으로 감소한 반면, 지불할 의사가 없다고 응답한 경우는 4명에서 10명으로 증가한 것으로 나타났다.

배추 신종자에 대한 추가적인 지불의사가 없다고 답한 응답자 43명이 제시한 이유로는 '수량 및 상품성의 불확실성'이 72.3%로 가장 많았으며, 다음으로는 '추가적인 금액을 지불하고 이용할 만큼 새로운 종자가 효과적이라고 생각하지 않는다'가 19.1%, 기타가 8.5% 순이었다.

표 9. 일점오양분선택형 질문에 대한 응답의 분포

제시금액(원)		응답자수 (명)	첫번째 질문에서 Bidlow를 제시한 경우			첫번째 질문에서 Bidup을 제시한 경우		
Bidlow	Bidup		예-예	예-아니오	아니오	예	아니오-예	아니오-아니오
1,000	2,000	42	16	3	2	13	4	4
2,000	3,000	39	13	1	4	16	0	5
3,000	5,000	36	5	7	6	11	5	2
5,000	7,000	39	3	7	10	2	7	10
계		156	37	18	22	42	16	21

(2) 지불의사금액 분석결과

최우추정법(Maximum Likelihood Estimation: MLE)을 이용한 Hanemann 모형의 지불의사금액 분석결과를 표 10부터 표 11과 같다.

(가) 공변량이 없는 지불의사금액 추정결과

공변량이 포함되지 않은 모형의 추정결과 모든 추정계수는 유의수준 1%에서 통계적으로 유의한 것으로 나타났다. 지불의사금액(Bid) 계수의 추정값은 -0.0003164로 제시금액이 커질수록 제시금액에 대해 '예'라고 응답할 확률이 낮아짐을 의미하므로 합리적으로 추정되었음을 알 수 있다. 추정된 모형의 통계적 유의성을 나타내는 Wald-통계량의 p-값이 0.0031로 나타나 '모든 추정계수는 0이다'라는 귀무가설을 유의수준 1%에서 기각할 수 있어 추정 모형이 통계적으로 유의함을 알 수 있다.

추정결과로부터 계산된 추가적 지불의사금액의 평균값은 표 11에 제시된 바와 같이 2,000원 당 약 5,800원으로 추정되었다. 평균 지불의사금액 추정에 반영된 불확실성을 반영한 신뢰구간의 계산은 Krinsky and Robb(1986)이 제안한 모수적 부트스트랩(parametric bootstrap) 기법인 몬테칼로 시뮬레이션 기법을 적용하였다. 무작위 반복표본추출의 회수는 5,000번으로 하였으며, 95% 신뢰구간의 계산결과는 표 11과 같다.

표 10. 공변량이 없는 일점오양분선택형 모형의 추정결과

구분	추정계수	t-값
상수항	2.151188	4.64
Bid(제시금액)	-0.0003164	-2.91
로그우도함수	-87.4792	
Wald-통계값(p-값)	8.74(0.0031)	
표본의 크기	156	

표 11. 공변량이 포함되지 않은 평균값 지불의사금액의 추정결과

구분	추정값
평균 지불의사금액	5,799.74
95% 신뢰구간	[4,296.84 ~ 12,144.29]
ASL	0.0024

주 : Achieved Significance Level for testing H0: WTP≤0 vs. H1: WTP>0

표 11에서 제시된 지불의사금액의 추정 평균값은 평균 지불의사금액의 분포가 오른쪽으로 무제한적으로 편향될 경우 과도하게 추정될 수 있는 문제점을 갖게 된다. 따라서 무작위로 제시되는 금액을 극소값 0원에서 극대값 7,000원까지의 범위를 고려하여 절단된 평균값을 계산할 필요가 있으며, 식 (22)를 이용하여 추정된 공변량을 포함하지 않은 추가적 지불의사금액의 절단된 평균값은 5,055원으로 나타났다²⁾.

식 (22)

$$WTP_{truncated} = \int_0^{7000} \frac{1}{1 + e^{[-(-0.0003164p + 2.151188)]}} dp$$

(나) 공변량이 포함된 지불의사금액 추정결과

공변량을 포함하지 않은 추정결과와는 응답자의 인구사회적 또는 경제적 특성이 반영되지 않은 것으로 응답자의 특성이 지불의사에 어떤 영향을 주는지 파악할 수 없는 단점이 있다. 따라서 주요 공변량이 지불의사에 어떤 영향을 미치는 지를 파악하기 위해 공변량이 포함된 모형을 추정하였으며, 모형에 포함된 변수로는 신종자의 이용경험 유무, 향후 신종자 사용의사, 연령, 교육수준, 영농경력, 주작목여부, 재배면적 등이다.

표 12. 공변량으로 사용된 변수의 정의

변수	정의
expnseed	배추 신종자의 사용경험 유무(0=없다, 1=있다)
fuse	향후 신종자의 사용 계획(0=없다, 1=있다)
age	응답자의 연령(연)
edu	응답자의 교육수준(1=초등학교 졸업, 2=중학교 졸업, 3=고등학교 졸업, 4=전문대학교 졸업, 5=대학교 졸업, 6=대학원 이상)
yfarming	영농경력(연)
maincrop	배추의 주작목 여부(0=아니다, 1=그렇다)
parea	재배면적(ha)

공변량이 포함된 모형의 추정결과 Wald 통계량이 유의수준 1%에서 유의한 것으로 나타나 추정된 모형은 통계적으로 유의한 것으로 나타났다. 주요변수의 추정계수 부호를 살펴보면 과거 신종자의 이용 경험이 있고, 향후 신종자를 이용할 계획이 있는 경우, 교육수준이 높을수록, 그리고 영농경력이 길수록 지불의사금액에 '예'라고 응답할 확률이 커지는 것으로 나타났다. 반면, 연령이 높고, 배추가 주작목이며, 재배면적이 클수록 지불의사금액에 '예'라고 응답할 확률은 적어지는 것으로 나타났다(표 13 참조).

공변량을 포함하여 Krinsky and Robb의 95% 신뢰구간에 따라 배추신종자에 대한 응답자의 추가적인 평균지불의사금액은 표 14에 제시된 바와 같이 2,000립 당 약 6,200원으로 추정되었으며, 1% 유의수준에서 통계적으로 유의한 것으로 나타났다.

2) Duffield and Patterson(1991)에 따르면 평균값, 중앙값, 절단된 평균값 중에서 이론적 제약과의 일치성, 통계적 효율성, 그리고 총계가 농성의 조건을 만족하는 기준은 절단된 평균값으로, 배추신종자에 대한 평균 지불의사금액으로 절단된 평균값을 이용하는 것이 바람직한 것으로 판단됨.

표 13. 공변량이 포함된 일점오양분선택형 모형의 추정결과

구분	추정계수	p-값
상수항	-0.209756	0.933
Bid(제시금액)	-0.0006462	0.000*
expnseed(신종자 이용 경험)	0.0564238	0.926
fuse(향후 신종자 이용 계획)	3.829	0.000*
age(연령)	-0.0035571	0.926
edu(교육수준)	0.9018427	0.009*
yfarming(영농경력)	0.027916	0.297
maincrop(주작목 여부)	-0.8158951	0.128
parea(재배면적)	-0.0000773	0.044**
로그우도함수	-54.3827	
Wald-통계값(p-값)	74.94(0.000)	
표본의 크기	156	

주 : *는 1% 유의수준에서, **는 5% 유의수준에서 통계적으로 유의함을 나타냄.

표 14. 공변량이 포함된 평균값 지불의사금액의 추정결과

구분	추정값
평균 지불의사금액	6,201.08
95% 신뢰구간	[5,231.77~8,534.62]
ASL	0.000

주 : Achieved Significance Level for testing H0: WTP<=0 vs. H1: WTP>0

제시금액 외의 통계적 유의성이 없는 변수를 제외하고 배추신종자의 절단된 평균 지불의사금액을 도출하기 위한 추정식은 식 (23)과 같으며, 해당 변수의 평균값을 대입하여 추정된 배추 신종자의 추가적 지불의사금액의 절단된 평균값은 약 5,500원이었다.

$$WTP_{truncated} = \int_0^{7000} \frac{1}{1 + e^{[-(-0.0006462p + 3.829fuse + 0.9018427edu - 0.0000773parea)]}} dp$$

라. 배추 신종자 이용여부 및 만족도

배추 신종자에 대한 이용여부에 대해서는 응답자 156명 중 83명(53.2%)은 이용한 경험이 없다고 응답하였으며, 73명(46.8%)은 이용 경험이 있다고 응답하였다. 배추 신종자를 이용한 이유로는 응답자 73명 중 27명(37.0%)이 '시험포 방문이나 홍보자료 등을 보고 새로운 종자가 기존 종자보다 좋다고 판단해서'를 선택하였으며, 20명(27.4%)은 '산지유통인, 계약업체 등 주로 거래하는 상인들이 요구해서', 14명(19.2%)은 '새로운 배추 종자를 이용한 주위의 농가들을 보

거나 권유'를 선택하였다. 반면, '시장에서 새로운 품종의 배추에 대한 평판이나 시장가격이 좋을 것으로 판단'은 7명(9.6%)만이 응답하여 다른 요인에 비해 상대적으로 덜 중요한 것으로 나타났다. 이는 신종자를 이용한 배추에 대해 아직까지는 시장에서의 평판이나 구분이 명확하게 이루어지지 않은 데에 기인한다고 할 수 있다.

배추 신종자를 이용하지 않은 이유로는 응답자 83명 중 55명(66.3%)이 '새로운 종자를 이용할 때 수량, 상품성 등 배추의 불확실성'을 선택하였으며, 다음으로는 '기존 종자에 비해 좋을 것이 없다고 판단해서'가 16명(19.8%), '새로운 종자에 대한 전시포 미운영 등 정보의 부재' 4명(4.6%), '신종자의 가격이 고가'는 2명(2.3%) 순이었다. 따라서 새로운 종자가 생산자들에게 원활하게 보급되기 위해서는 신종자의 수량이나 상품성 등에 대한 신뢰성 제고 방안의 모색이 중요함을 알 수 있다.

한편, 향후 신종자를 이용하겠다는가에 대한 질문에는 응답자 152명 중 99명(65.1%)이 '있다'라고 답하였으며, '없다'는 53명(34.9%)이 응답하여 신종자의 이용 경험에 관한 설문 결과보다는 생산자들의 향후 이용 의향이 높음을 알 수 있다.

마. 요약 및 결론

본 절은 배추산업의 경쟁력 강화에 중요한 위치를 차지하고 있는 종자산업, 특히 신종자에 대한 배추 생산자들의 추가적인 지불의사금액을 추정해 봄으로써 신종자에 대한 이용자의 선호 정도를 알아보기 위해 실시되었다. 여기서 추정된 지불의사금액은 신종자를 이용하려는 생산자가 생각하는 신종자의 적정한 가격을 의미하므로, 실제로 생산자의 구매가 발생하는 시점에서의 신종자의 적정한 가격수준을 결정하는 데에 유의한 정보를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

배추 생산자들의 신종자에 대한 지불의사를 파악하기 위해 배추농사에 2년 이상 종사한 생산농가 209호를 대상으로 일점오양분선택형 질문법을 이용하여 자료를 수집하였다. 자료 수집은 2011년 5월 2일부터 5월 13일까지 총 12일에 걸쳐서 이루어졌으며, 조사방법은 전화조사를 이용하였고, 그 결과 총 156호의 유효한 응답자료를 토대로 지불의사를 추정하였다.

분석결과 배추신종자 2,000립 당 응답자의 추가적인 지불의사금액의 절단된 평균값은 공변량을 포함하지 않은 경우 5,050원, 공변량을 포함한 경우에는 5,500원으로 추정되어 기존 종자에 비해 25~28% 정도 추가지불의사가 있는 것으로 나타났다. 지불의사에 영향을 미치는 변수로는 향후 신종자 이용 계획, 교육수준, 재배면적, 제시금액 등이 지불의사에 통계적으로 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났는데, 향후 신종자의 이용 계획이 있을수록, 교육수준이 높을수록 신종자에 대한 추가지불의사가 높은 반면, 재배면적이 클수록, 그리고 설문지에서 제시한 금액이 높을수록 추가지불의사가 낮은 것으로 나타났다.

연구결과에서 알 수 있듯이 배추 생산자들은 신종자에 대한 추가적인 지불의사가 기존 종자에 비해 25~28% 높다는 것은 신종자 개발에 필요한 R&D 비용충당이나 신종자 개발에 대한 적절한 보상이 이루어질 수 있는 가능성이 높음을 나타낸다고 할 수 있다. 또한, 생산자들이 신종자 선택 여부를 결정할 때 가격 수준보다는 신종자가 갖고 있는 여러 가지 특징, 예를 들어 수량이나 상품성 등을 더 중요하게 고려하기 때문에 어느 정도의 비용이 수반된다고 하더라도 품질이 뛰어난 고급품종의 개발이 효과적인 종자 개발 방향이 될 것이라고 사료된다.

3. 배추 신종자의 수용에 미치는 요인 분석

가. 이론적 배경

(1) 배추 신종자 수용의도 관련 이론

시장 개방화가 가속화되는 환경 속에서 경쟁력을 갖추기 위한 신종자의 개발과 수용은 필수 불가결한 요인이다. 최근 신종자의 개발이 활발히 진행되고 있으나, 수용에 대한 연구는 미비하기에 신종자의 수용정도에 영향을 미치는 요인들과 신종자의 지속적 사용 및 확산에 미치는 요인을 파악할 수 있는 모형들을 알아보고 적용하고자 한다.

기술의 수용과 이용과정을 설명할 수 있는 주요 이론들로는 합리적 행동이론(TRA: Theory of Reasoned Action)과 계획된 행동이론(TPB: Theory of Planned Behavior)이 확장된 기술수용모형(TAM: Technology Acceptance Model), 혁신확산이론(IDT: Innovation Diffusion Theory)(박우성 2009) 및 기대확신이론(ECT: Expectation Confirmation Theory) 등이 있다. 이러한 모형들은 현재까지 상황에 맞게 확장되어 적용되고 있다.

Fishbein과 Ajzen(1975)의 합리적 행동이론(TRA) 모형은 개인의 행동은 행동 의도에 의해 결정되며, 행동의도는 개인의 태도와 주관적 규범에 의해서 결정된다고 한다. 합리적 행동이론의 장점은 적은 수의 구성개념으로 행동을 예측하고 설명할 수 있고 폭넓게 적용가능하다는 것이며, 단점은 태도와 주관적 규범의 두 요소만으로 행동에 영향을 미치는 원인을 설명하기 불가능하다는 점 등이다. 이를 해결하기 위해 계획된 통제이론(TPB)이 제시되었다.

계획된 통제이론(TPB)은 합리적 행동이론(TRA)에 인지적 행동 통제라는 새로운 요인을 결합한 확장이론이며, 인지적 행동 통제는 개인이 특정행동을 실행하는 것이 어느 정도 쉽고 어려운가에 관한 개인의 인지로 정의된다. 계획된 통제이론은 행동예측을 위해 행동의도 뿐만 아니라 개인의 통제 능력인식과 관련된 행동통제력이라는 요인을 도입하였다는 점에서 행동 예측을 위한 다중차원적 접근법이라고 할 수 있다.

기술수용모형(TAM)은 합리적 행동이론(TRA)의 요인들 중에서 주관적 규범 모형에서 제외된 형태인데, 개인의 정보기술 수용에 영향을 미치는 요인으로 신념인 변수인 인지된 유용성과 인지된 용이성을 제시하여 태도 및 수용의도와와의 관계를 설명하고 있다. 이는 간단하고 명료한 모형으로 제안할 수 있으며, 두 가지 신념변수의 일관된 적용이 가능하기에 모형을 확장하여 사용할 수 있는 유연성을 지닌다. 반면, 지속적인 의도를 설명하지 못하는 한계점이 있다.

혁신확산이론(IDT)은 새로운 정보기술이 수용되고 이용되는 현상을 설명하는데 있어서 유용한 관점을 제공하고, 혁신기술의 영향을 미치는 변수들 간의 인과관계를 설명하는데 목적이 있다. 장점은 혁신수용 시점을 기준으로 수용자의 유형을 5가지로 구분하고 있는데 이는 수용시점에 따라 유형을 구분함으로써 시간의 흐름에 따른 표적 고객집단을 파악할 수 있는 점이다. 단점은 수용자의 태도가 수용 혹은 거부로 발전하는 연계성을 설명하지 못한다는 점이다.

기대확신이론(ECT)은 신기술 이용 전 행동(기대)과 이용 후 행동(인지된 성과)의 검증을 사용하여 이용자들의 기대와 인지된 성과, 확산, 만족, 재이용의도에 근거를 두고(Oliver 1980; Tse 1988; Dabholkar 2000) 구매 후 행동과 고객만족 그리고 재사용의도에 폭넓게 사용되고 있다. 기술사용 후의 직각을 밝혀내지만, 이용경험이 있는 사용자에게만 적용 가능하다.

표 15. 통합관점의 기존이론 연구개념의 비교

IDT (혁신확산이론)	TRA (합리적 행위이론)	TAM (기술수용모형)	UTAUT (통합모형)
Rogers (2003)	Fishbein & Ajzen (1975)	Davis (1989)	Venkatech et al. (2003)
상대적이점	-	인지된 유용성	성과기대
복잡성	-	인지된 사용용이성	노력기대
적합성	-	-	촉진조건
-	행동에 대한 태도	-	행동에 대한 태도
-	주관적 규범	-	사회적 영향
시험가능성	-	-	×
관찰가능성	-	-	×

자료 : Venkatesh, Viswanathe, Michael G. Morris, F. D. Davis(2003), "User Acceptance of Information Technology: Toward a Unified View", MIS Quarterly, Vol. 27(3), p. 447.

혁신확산이론(IDT)과 기술수용모형(TAM)을 비교하면 다른 학문적 근원에서 출발했음에도 불구하고 상당히 닮았다는 점을 알 수 있다. 혁신확산이론의 상대적 이점은 기술수용모형의 유용성과 등가 개념으로 볼 수 있으며, 복잡성 개념은 사용 용이성의 대칭 개념으로 고찰할 수 있다. 혁신확산모형과 기술수용모형 모두 다양하고 광범위한 기술수용을 설명하고 예측하는 모델이라는 점과 여러 연구에서 상호 보완관계에 있는 이론이라는 점을 알 수 있다(Chen 2000 p.40, 68).

기술수용모형(TAM)과 기대확산이론(ECT)도 구체적 내용은 상이하나 상호 보완관계에 있다. 기술수용모형은 신기술의 초기 사용에 초점을 두어 행동을 예측하고 설명하여 성공적인 수용에 대해 알아보는 반면, 기대확산이론은 신기술의 지속적사용에 초점을 두어 사용자의 만족이 지속적인 사용의도에 영향을 미친다고 가정하여 설명하고자 한다.

각각의 이론적 모형들마다 장점과 한계점이 존재하지만, 본 연구는 신종자의 수용요인과 지속적 사용 및 확산에 대한 요인을 파악하는데 목적을 두고 있기 때문에 인지된 속성과 수용의도에 초점을 맞춘 연구라 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 기술수용모형(TAM)의 수용요인인 인지된 유용성, 인지된 용이성을 기초로 하며, 선행연구를 통하여 중요한 요인으로 파악된 혁신성과 종자교육, 종자홍보를 선행변수로 추가한 확장된 모형을 사용하고자 한다.

(2) 혁신확산이론(IDT: Innovation Diffusion Theory)

혁신확산이론(IDT)은 옥수수 전파에 대한 연구로부터 시작되었다. 혁신확산이란 어떤 혁신이 사회나 조직의 구성원들 사이의 특정한 의사소통 경로를 통하여 시간이 지남에 따라 수용되어 그 수용자의 수가 확대되어 나가는 과정으로 정의된다(Rogers 1995).

혁신확산이론(IDT)에 따르면 혁신을 채택하는데 걸리는 시간이 지남에 따라 S자형 곡선과 유사해진다. 이를 다섯 단계로 구분하였는데, 혁신 초기에는 혁신자들에 의해서 느리게 채택되다가 초기수용자들에 의해 급속한 성장이 이루어지고, 초기다수자, 후기다수자의 점점 많은 수용으로 도약단계를 형성하고 이후 수용자가 줄어드는 지각수용자 단계를 거치며 혁신수용이 멈추게 된다(그림 1 참조).

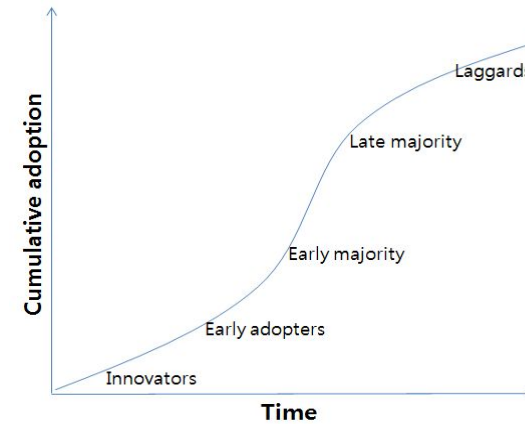


그림 1. 혁신확산과정의 S곡선(Rogers 1995)

Rogers(2003)는 혁신확산이론에서 혁신이 가지고 있는 속성이 수용률에 중요한 영향을 미치는 혁신의 특성과 관련하여 상대적 이점(Relative Advantage), 복잡성(Complexity), 적합성(Compatibility), 시험가능성(Trialability), 관찰가능성(Observability) 5가지를 제시하였다.

위에 언급한 5가지 요인을 설명하면 상대적 이점은 새로운 상품이 기존보다 더 좋다고 인지되는 정도이고, 복잡성은 새로운 상품의 사용이 얼마나 어려운지에 대해 인지하는 정도이며, 적합성은 수용자의 경험과 욕구, 소유가치가 새로운 상품과 일치하는 정도이다. 시험가능성은 새로운 상품이 실제로 적용되기 전에 한정된 기반 하에서 시험될 수 있는 정도이며, 관찰가능성은 다른 수용자에 의해 새로운 상품의 결과를 관찰할 수 있는 정도를 의미한다. 혁신의 속성과 수용간 관계에 관한 기존 실증연구들을 메타분석을 통하여 여러 가지의 혁신의 특성 중에서도 상대적 이점, 복잡성, 적합성의 3가지 선행요인이 일관되게 혁신수용에 영향을 미친다는 것이 밝혀졌다(Lee et al. 2003; Moore & Benbasat 1991; Tornatzky & Klein 1982).

혁신결정과정은 혁신을 최초로 인지하고 그에 대한 태도를 형성하며 궁극적으로 혁신을 채택 혹은 거부할 것이라고 결정하고 이행하는 것, 그리고 자신이 결정에 대해 확인하게 되는 전체적인 과정이다(Rogers 2003). 이 과정은 지식, 설득, 결정, 실행, 확인의 5단계로 이루어진다. 한편, 혁신확산이론(IDT)은 혁신에 대한 호의적인 혹은 비호의적인 태도형성을 설명하지만 어떻게 이 태도가 실제 혁신기술의 수용 혹은 거부로 발전하는가에 대해서는 설명하지 못하고 있다. 또한 혁신확산이론이 직접적인 관계와 주 영향에 대해서만 초점을 맞추고 있다는 비판이 있다(Gatignon & Robertson 1985, p864).

(3) 기술수용모형(TAM: Technology Acceptance Model)

기술수용모형(TAM)은 합리적 행위이론(TRA)과 계획된 행위이론(TPB)을 바탕으로 기술수용에 대한 개인의 행동을 설명하고 예측하기 위해 개발되었으며, 기술수용에 대한 대다수의 연구들이 이 세 가지 이론에 근거하고 있다.

기술수용모형은 인지된 유용성(Perceived Usefulness)과 인지된 용이성(Perceive Ease Of Use)의 두 가지 신념만을 사용한 간결한 모델로서 기술정보를 사용하는 다양한 상황에 적용이 쉬울 뿐만 아니라 실제적이기 때문에 많은 연구에서 다루어지고 있다(Taylor and Todd 1995).

Davis(1989)는 기대이론, 행동의사 결정이론, 자기 효능이론, 혁신 확산이론 등을 통해 기술수용모형에서 인지된 유용성과 인지된 용이성이 사용자들의 기술에 대한 태도에 영향을 미치고, 그렇게 형성된 태도가 이용의도에 영향을 미친다고 주장 하였다.

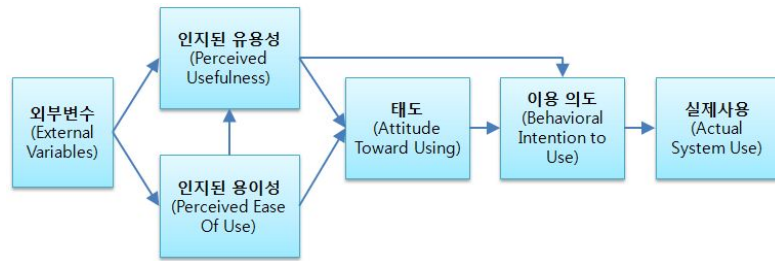


그림 2. 초기의 기술수용모형(Davis 1989)

위에 언급한 두 변수를 설명하자면 인지된 유용성은 잠재 이용자가 조직에서 기술을 이용하는 것이 성과를 향상시킬 것이라고 생각하는 정도를 나타내고, 인지된 용이성은 잠재적 이용자가 기술을 적은 노력을 들여 이용할 수 있을 것으로 기대되는 정도를 의미한다(Davis 1989).

기술수용모형은 현재까지 국내외 많은 연구자에 의해 수정 및 확장되고 있다. Venkatesh & Davis(2000)는 합리적 행위이론의 주관적 규범과 자발성이라는 개념을 추가하고 인지된 유용성에 선행하는 요인으로서 이미지, 결과 확인성 등을 포함하여 기술수용모형2(TAM2)라는 이론적 확장 모델을 개발하였다. 기술수용모형2는 사회적 영향, 프로세스(주관적 규범, 자발성, 이미지)와 인지적 도구 프로세스(직무관련성, 결과품질, 결과 실연성, 인지된 용이성)가 인지된 유용성에 의미 있는 영향을 미침으로써 사용자 의도에 영향을 준다는 것을 검증하고자 한다.

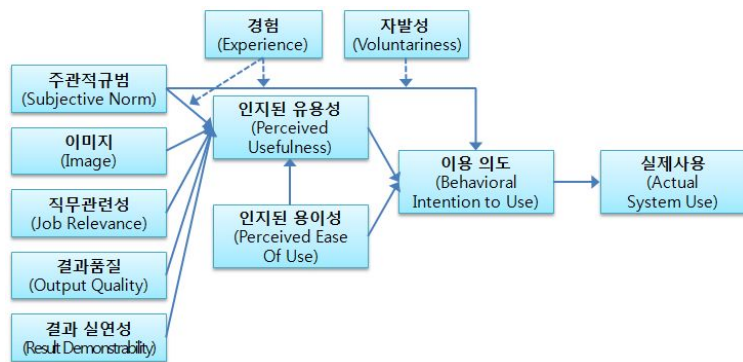


그림 3. 기술수용모형2 (Venkatesh & Davis 2000)

기술수용모형을 이용한 많은 연구들은 지속적 사용행동을 수용행동의 연장선상에서 고찰함으로써 정보시스템 수용과 사용 지속성을 모두 설명하려고 시도하였음에도 불구하고 사용자들이 초기에 정보시스템 수용에 대한 의사결정을 내린 후 정보시스템 사용을 중단하는 이유에 대한 답을 제시하지 못하여왔다(Bhattacharjee 2001).

(4) 기대확신이론(ECT: Expectation Confirmation Theory)

기대확신이론은 마케팅 분야에서 많이 사용되고 있는 이론으로서 기대이론으로부터 유래되었다. 이 이론은 사용자들의 재구매 의도를 설명하기 위해 제안되었으며, 신기술에 대한 사전 기대와 기술 도입후의 비교를 통하여 성과가 재구매 의도에 영향을 미치는가를 입증하고자 하였다.

Oliver(1980)에 의하면 소비자들은 5단계를 거쳐 재구매 의도에 도달하게 된다. 첫 번째 단계에서 소비자들은 구매하기 전에 제품 및 서비스에 대한 초기 기대를 형성한다. 두 번째 단계에서는 제품이나 서비스를 수용하고 사용하게 되며, 초기 소비기간 동안 성과에 대해 지각하게 된다. 세 번째 단계에서는 최초 기대와 지각된 성과를 비교하게 되며 기대가 일치된 정도를 판단하고, 네 번째 단계에서 기대일치 수준에 근거하여 만족을 형성한다. 마지막 단계에서는 만족한 고객들은 재구매 의도를 형성하게 되며, 불만족한 고객들은 사용을 중단하게 된다.

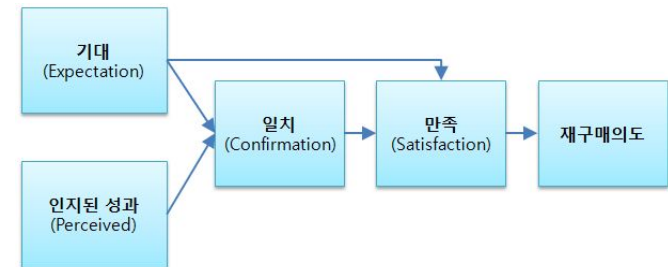


그림 4. 기술확신이론 (Oliver, 1980)

기술확신이론은 소비자행동 연구의 영역에서 주로 이용되어 왔기 때문에 새로운 제품의 영역에 폭넓게 적용되는 못하고 있지만 이러한 연구들이 단지 소비재 상품에만 국한되지 않고 서비스 상품이나 기술 관련 제품 등 다양한 분야에 적용될 수 있는 보편적인 구매 후 행동을 설명한다는 점에서 이론적 가치가 크다고 할 수 있다(김종후 등, 2004).

기술확신이론을 수정한 후기 기술수용 이론은 인지된 정도에 따라서 지속사용의도가 직접 형성되기도 하고 간접적으로 만족을 매개로 하여 형성된다고 한다. 이 이론은 기존 기술확신이론에서 문제점으로 지적되던 '기대'라는 개념에서 사전기대와 사후기대를 분리하여 사후기대에 초점을 맞추어 진행되었으며, 종속변수인 재구매 의도를 지속사용의도의 개념을 수정하여 개발한 모델이다.

나. 연구설계

(1) 연구모형 설정

본 절에서는 이론적 배경에서 제시한 확장된 기술수용모형에 기초하여 연구모형 및 가설을 제시하고자 하였다. 앞서 언급한 기술수용모형의 핵심요인인 인지된 유용성, 인지된 용이성을 기초로 하며, 선행연구를 통하여 중요한 요인으로 파악된 혁신성과 종자교육, 종자홍보를 선행 변수로 추가한 확장된 모형을 사용하였고, 연구모형은 다음과 같다(그림 5 참조).

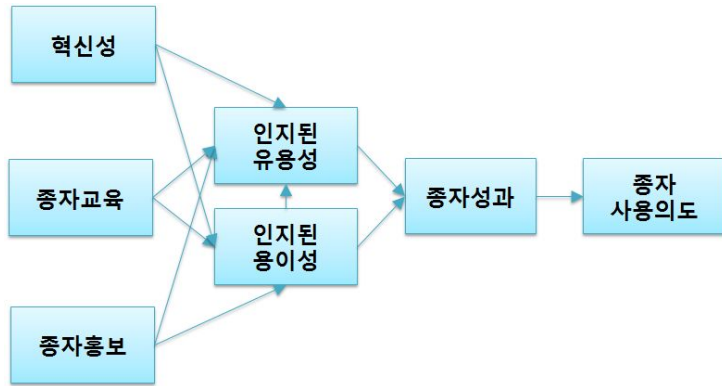


그림 5. 연구모형

본 연구는 변수를 측정하기 위하여 선행연구 분석에서 신뢰성과 타당성이 검증된 측정항목들을 검토하여 사용하였으며, 선행연구의 지표들을 토대로 본 연구에 적합하게 질문을 수정 보완하여 측정지표를 구성하였다. 변수의 측정에 사용된 모든 항목들은 7점 Likert 척도로 측정하였다(표 15 참조).

표 15. 기술수용태도 측정을 위한 지표구성

연구개념	설문항목	조작적 정의
혁신성	정보 탐색의 적극성 정도 조기수용 정도 위험감수 정도 주위 농가 대비 기술수준 정도	신종자의 정보를 찾아보고 먼저 사용해 보려는 자발적이고 적극적인 정도
종자교육	교육시기 적절성 충분한 정보제공 여부 교육의 실질적 도움 여부 교육기관에 대한 신뢰도	신종자 활용에 필요한 종자교육을 받은 정도
종자홍보	홍보와 종자수용의 관계 충분한 정보제공 여부 홍보의 실질적 도움 여부 종자회사에 대한 신뢰도	신종자 수용에 홍보가 미치는 정도
인지된 용이성	정보입수 용이성 종자구매 용이성 재배 용이성 판로확보 용이성	신종자 활용이 쉽고 많은 노력이 필요하지 않으며 용이하게 수행한 인식의 정도
인지된 유용성	산업발전기여도 재배기술 능력향상 수용전 성과에 대한 확신 기존종자대비 개선정도	신종자 수용 목적에 부합하는 인식의 정도
종자성과	품질 만족도 생산량 만족도 소득증대 만족도 목표성과 달성도	신종자 활용으로 인한 목표성과 달성과 기술수용 정도
종자 사용의도	품질 만족도 전반적인 만족도 지속적 사용의도 종자확대 수용 종자확산 가능성	신종자의 지속적 활용과 확대 수용태도

(2) 연구가설 설정

(가) 인지된 유용성과 용이성에 영향을 미치는 독립변수

기술수용모형에서 해당되는 기술의 특성 및 분석기준에 따라 각기 다른 외부변수들이 존재할 수 있으며 이러한 외부변수들이 인지된 유용성과 용이성, 새로운 기술의 수용과정에 어떤 영향을 미치는지 분석하는 것이 중요하다(Venkatesh & Davis 2000).

개인의 혁신성은 같은 사회체계 속에서 다른 구성원보다 먼저 새로운 정보를 찾아보고 사용해 보려는 자발적이고 적극적인 정도를 의미한다. 혁신성이 높은 이용자는 새로운 것에 대한 두려움이 적고 개방적인 태도를 보이는 경향이 있다(박우성 2009). 이러한 사실은 혁신성이 높은 배추 생산자가 신종자에 대해 유용하고 사용에 어려움이 없을 것이라 볼 수 있으며, 따라서 혁신성이 인지된 유용성과 용이성에 미치는 영향에 대한 가설을 다음과 같이 설정하였다.

<H1a> 신종자에 대한 농가의 혁신성은 유용성에 긍정적인 영향을 미침

<H1b> 신종자에 대한 농가의 혁신성은 용이성에 긍정적인 영향을 미침

종자교육은 생산자들이 신종자 활용에 필요한 종자교육을 받은 정도를 의미한다. 종자교육은 종자 사용과 작물재배에 있어 생산자의 능력을 향상 시켜 성공적인 영농으로 가게 하는 중요한 요인으로 고려되고 있다. 이강현(2000)에 따르면 종자교육을 받은 경험이 있는 농업인의 대다수가 '교육이 종자 제품의 올바른 사용에 도움을 주었음' 라고 응답하여 교육효과가 높다고 평가한 바 있다. 따라서 종자교육이 인지된 유용성과 용이성에 미치는 영향에 대한 가설을 설정하였다.

<H2a> 신종자에 대한 종자교육은 유용성에 긍정적인 영향을 미침.

<H2b> 신종자에 대한 종자교육은 용이성에 긍정적인 영향을 미침.

종자홍보는 종자회사의 홍보가 생산자에게 미치는 정도를 의미한다. 신품종이 농가에 원활하게 보급되기 위해 필요한 요소로 '전시포 운영 등의 농가홍보 활성화'가 가장 큰 비중으로 나타난바 있으며(홍승지 2011), 생산자들에게 원활한 보급을 위해서는 생산자들이 직접 신종자의 특성을 파악할 수 있어야 함을 의미한다. 따라서 종자홍보가 인지된 유용성과 용이성에 미치는 영향에 대한 가설을 설정하였다.

<H3a> 신종자에 대한 종자홍보는 유용성에 긍정적인 영향을 미침.

<H3b> 신종자에 대한 종자홍보는 용이성에 긍정적인 영향을 미침.

(나) 종자성과와 인지된 유용성 및 용이성의 관계

초기 기술수용모델에서 인지된 유용성은 개인의 특정 시스템 이용이 업무향상에 도움을 주는 정도라고 정의되었다(Davis 1989). 이는 배추 생산자가 배추산업 및 재배기술과 관련하여 신종자를 도입하여 유용하게 사용하는 것이 농사에 도움이 될 것이라는 것을 의미한다. 성과기대가 기술수용의도에 긍정적인 영향을 미친다는 것이 설명되었기에(Venkatesh et al. 2003), 따라서 인지된 유용성이 종자성과에 미치는 영향에 대한 가설을 설정하였다.

<H5> 신종자에 대한 인지된 유용성은 종자성과에 긍정적인 영향을 미침.

초기 기술수용모델에서 인지된 용이성은 개인의 특정 시스템 이용이 어렵지 않다고 믿는 정도라고 정의되었으며(Davis 1989). 이는 배추 생산자가 신종자를 도입함에 있어 사용하는데 필요한 개인의 물리적, 정신적 노력이 적게 들어 어렵지 않다는 것을 의미한다. 기술수용에 대한 여러 연구에서 인지된 용이성을 향상시키면 유용성에 대한 지각 정도와 기술에 대한 태도에 효과를 보임을 설명하고 있다(Venkatesh & Davis 2000). 따라서 인지된 용이성이 종자성과와 인지된 유용성에 미치는 영향에 대한 가설을 설정하였다.

<H4a> 신종자에 대한 인지된 용이성은 유용성에 긍정적인 영향을 미침.

<H4b> 신종자에 대한 인지된 용이성은 종자성과에 긍정적인 영향을 미침.

(다) 종자 사용의도에 영향을 미치는 요인

종자 사용의도는 신종자의 지속적 활용과 확대 수용태도를 의미하며, 사용자의 만족이 지속적 이용의도와 직접적인 인과관계를 형성하고 있음이 밝혀진 바 있다(Bhattacharjee 2001). 따라서 종자성과가 종자 사용의도에 미치는 영향에 대한 가설을 설정하였다.

<H6> 신종자에 대한 종자성과는 종자 사용의도에 긍정적인 영향을 미침.

표 16. 연구가설 설정

가 설	종속변수	경로	영향
H1a H2a H3a H4a	유용성	혁신성 → 인지된 유용성 종자교육 → 인지된 유용성 종자홍보 → 인지된 유용성 용이성 → 인지된 유용성	정(+) 정(+) 정(+) 정(+)
H1b H2b H3b	용이성	혁신성 → 인지된 용이성 종자교육 → 인지된 용이성 종자홍보 → 인지된 용이성	정(+) 정(+) 정(+)
H4b H5	종자성과	인지된 용이성 → 종자성과 인지된 유용성 → 종자성과	정(+) 정(+)
H6	종자 사용의도	종자성과 → 종자 사용의도	정(+)

다. 분석방법

(1) 구조방정식모형(SEM: Structural Equation Model)³⁾

사회과학에서 존재하는 대부분의 현상은 인과관계의 성격을 띠고 있으며, 이러한 현상을 규명할 수 있는 방법 중 하나가 구조방정식모형이다. 이는 어떤 현상에 대한 체계적인 이론을 분석하기 위한 다변량 분석기법으로 가설검정에 주로 사용되는 통계적인 분석방법이라고 할 수 있다.

구조방정식모형의 주요한 특징은 첫째, 매개변수를 통해 간접적 측정이 가능하고 모형 내에서 관측변수에 의해 추정되는 잠재변수를 포함한다는 것이며, 둘째, 모형에 포함된 관측변수의 측정오차를 고려하고, 셋째, 잠재변수의 직접효과와 간접효과를 파악할 수 있다는 것이다.⁴⁾

구조방정식모형은 측정모형(Measurement Model)과 구조모형(Structural Model)을 통해서 모형 간의 인과관계를 파악하는 방정식 모형을 의미하며, 구성 개념 간의 이론적 인과관계와 측정지표를 통한 경험적 인과관계를 분석할 수 있도록 개발된 통계방법이다. 구조방정식모형은 측정변수⁵⁾와 잠재변수⁶⁾ 두 개의 부분으로 나뉘지는 데, 측정변수와 잠재변수간의 관계를 나타

3) 구조방정식모형의 다른 명칭으로는 공변량구조방정식, 잠재변수분석, LISREL분석 또는 인과관계분석 등으로 다양하게 사용되고 있음.

4) 회귀분석의 경우 종속변수에 대해 독립변수가 직접적인 영향을 주는 것에 한정되며, 모형에 포함된 모든 관측변수의 잠재적인 측정오차는 무시되고 모형 전체의 오차만 고려하기 때문에 모형의 추정치를 잘못 추론할 수 있음.

5) 측정변수는 관찰변수, 명시변수 또는 예측변수 등으로 불림.

6) 잠재변수는 요인변수 또는 이론변수 나아가 잠재개념 등으로 불림.

내는 것이 측정모형, 잠재변수가 다른 잠재변수에 직간접적인 영향을 주는가를 설정한 것이 구조모형이다.

x 에 관한 측정모형을 수식으로 나타내면 식 (24)이며 외생 개념(Exogenous Constructs)이라고 하고, y 에 관한 측정모형을 수식으로 나타내면 식 (25)와 같이 내생 개념(Endogenous Constructs)이라고 한다.

$$\text{식 (24)} \quad x = A_x \xi + \delta$$

$q \times 1 \quad q \times n \quad n \times 1 \quad q \times 1$

식 (24)에서 A_x 는 경로계수, ξ 는 외생개념, δ 는 잔차를 의미한다.

$$\text{식 (25)} \quad y = A_y \eta + \epsilon$$

$p \times 1 \quad p \times m \quad m \times 1 \quad p \times 1$

식 (25)에서 A_y 는 경로계수, η 는 외생개념, ϵ 는 잔차를 의미한다.

- 위 식에서 각 구성요인의 표현은 행렬의 경우 그리스문자로 표시하고 관 측정값은 로마자로 표시함.
- 잔차(residual)란 이론모형 내의 지정변수에 의해서 설명되지 않는 부분으로 일반적 오차(error)라고도 함.
- 측정모형은 외생변수 x 와 내생변수 y 에 의해 설정되며, 2개의 행렬과 2개의 벡터에 의해 정의됨.
- 측정모형이 성립되기 위한 통계적 가정조건으로 첫째, 잠재변수 및 측정오차의 평균은 0임. 둘째, ϵ 은 η , ξ , δ 와 상관관계가 없으며 또한 δ 는 ϵ , η , ξ 와 상관관계가 없음.

구조모형은 식 (26)과 같이 나타냄.

$$\text{식 (26)} \quad \eta = B \eta + \Gamma \xi + \zeta$$

$m \times 1 \quad m \times m \quad m \times 1 \quad m \times n \quad n \times 1 \quad m \times 1$

- 구조모형은 2개의 행렬과 3개의 벡터에 의해 정의됨.
- 구조모형이 성립되기 위한 가정조건으로 첫째, 잠재변수 및 잔차의 평균은 0이고 ζ 는 ξ 와 상관관계가 없음. 둘째, 행렬 B 는 대각원소가 0의 값을 가지며 $I - B$ 는 정칙행렬(non-singular matrix)이고 따라서 역행렬이 존재함.

그림 7은 구조방정식모형의 연구 절차를 나타낸 것이다. 문제 인식은 연구자가 관심을 갖고 연구하고자 하는 문제를 파악하는 단계이고, 연구모형과 연구가설 개발은 연구자가 설문지를 통한 설문조사를 하기에 앞서 연구모형을 구축하는 단계이다. 경로도형 구축은 자료파일을 불러온 상태에서 구조방정식모형 분석 패키지를 이용하여 분석을 하기 위한 시작단계이며, 입력

유형의 선택은 구조방정식 모형의 분석에 앞서 자료를 입력하는 단계이다.

모형의 분석 및 모형의 인정평가는 모형이 가지 있는 모형으로 받아들여질지 여부를 평가하는 단계이고, 모형의 해석은 모형의 적합도 지수에 의해서 모형의 적합도가 만족하는 모형을 선정한 후 연구자는 각 추정치에 대한 해석을 하고 논리적으로 결론을 도출한다. 마지막단계인 최종모형 선택은 앞서 실시한 제 1단계에서부터 제 6단계까지를 거쳐 최종모형을 선택하는 절차를 따르게 된다.



자료 : 김계수 2010. 구조방정식모형 분석. p390

그림 7. 구조방정식모형의 연구 절차

(2) 편최소제곱법(PLS: Partial Least Square)

편최소제곱법은 변수들 간의 복잡한 관계를 설명하고 조절효과의 존재를 수용할 수 있는 분석 도구이다. 편최소제곱법은 반응변수와 예측변수를 설명하는 요인을 찾고 균형을 비교 평가하는 것으로 다변량 반응변수가 주어진 예측에 있어 변량을 설명하기 위해 추가적인 목적을 가지고 있다.

편최소제곱법은 주요인 분석법을 사용하여 기존의 구조방정식 방법의 큰 제약인 수집된 자

료의 정규분포 및 샘플 크기에 대한 엄격한 가정으로부터 자유로운 장점이 있다⁷⁾. 즉, 수집된 자료의 첨도와 왜도가 존재할 때 기존의 공분산 분석 모형에 비해 일관성 있는 결론을 이끌어 낼 수 있게 된다(Barclay 1995).

구조방정식같은 경우는 측정된 공분산이 이론적으로 계산된 가설공분산과 얼마나 일치하고 있는지를 적합도지수(GFI: Goodness of Fit Index 또는 \hat{r}), 표준적합지수(NFI: Normed Fit Index), 비표준적합지수(NNFI: Non-Normed Fit Index) 등의 모형의 적합도를 통해 보임으로 모형의 적합성을 추정하는 것에 반해 편최소제곱법은 잠재 변수들 간의 예측 오차를 최소화하는 방법을 이용하여 모형의 적합성이 최대화되도록 추정한다. 따라서 편최소제곱법의 최종결과로 나오는 지수값들은 독립변수들이 종속변수를 얼마나 잘 예측해주는지를 나타내는 결정계수(R-square)값으로 적합성을 판단하게 된다(Chin & Todd 1995).

편최소제곱법의 목적은 X변수의 수보다도 더 적은 성분을 사용하여 회귀문제의 차원을 줄이면서 X변수 안의 정보의 대부분을 설명하고, 또 Y_1, Y_2, \dots, Y_k 을 예측함에 있어서 유용하게 하고자함에 있다. 단점으로는 최적의 해를 제공할 수 있는 잘 정의된 모델링문제가 없다는 것이지만, 회귀분석의 일반적인 가정들이 만족되면서, 예측식을 만들 때 다른 방법들보다 더 우수하다고 알려져 있다(김소영 2005).

본 연구에서는 배추 신종자의 지속적인 사용의도에 미치는 요인들의 관계를 추정하고자 하고, 표본수가 많지 않으므로 구조방정식 분석기법에 비해 상대적으로 적은 수의 표본을 통해서 구현이 가능한(Fornell 1981; Barclay 1995) 편최소제곱법을 이용하는 것이 적절하다고 판단된다.

(3) 자료의 처리 및 통계 분석 방법

자료의 처리방법으로 수집된 자료를 코딩 시 무응답은 목록삭제(Listwise Deletion)방법을 사용하였다. 목록삭제는 지정된 변수 중에 하나의 결측치만 있어도 그 관찰치를 모든 계산에서 제거하는 방법으로 연구 분석시 가장 명확한 결과를 얻어낼 수 있으나, 이는 무응답치가 많은 경우 표본의 수가 대폭 줄어들 가능성이 있다.

편최소제곱(PLS)이 Lisrel이나 Amos와 같은 소프트웨어를 적용하는 구조방정식(SEM)에 비해 적은 표본수가 필요하다는 이유로 경로분석이 필요한 연구에 적용이 확산되었다. 그러나 편최소제곱 분석에 필요한 표본수가 충족되지 못하였을 때는 검증력에 문제가 있을 수 있기에, 이에 대한 대안으로 통계력 검증력 분석(Statistical Power Analysis)을 통해 최소 필요 표본수를 결정하여야 한다(Goodhue, Lewis & Thompson 2006; Marcoulides & Saunders 2006). GPower 3.1 프로그램을 사용하여 본 연구에 필요한 최소 표본수를 측정해본 결과, 최소 85개의 표본수가 필요한 것으로 나타났다.

수집된 자료의 코딩은 MS-Excel 2010 프로그램을 이용하였으며, SPSS 19에서 통계분석을 수행하였다. 또한 측정모형에 대한 신뢰성과 타당성 및 이론모형에 경로 유의성 여부를 파악하기 위해 SmartPLS 프로그램을 활용하였다.

라. 실증분석

(1) 조사방법 및 표본특성

본 연구는 배추신종자의 수용의도 및 지속적 사용의도에 영향을 미치는 요인을 알아보기 위해 전국에 있는 배추 생산자의 태도 및 인식에 초점을 맞추었다. 조사방법은 전국의 배추신종자 생산능가를 모집단으로 하여 전화조사를 통해 총 103부의 자료를 수집하였으며, 조사기간은 2012년 5월 21일부터 6월 1일까지 12일에 걸쳐 진행되었다.

표본은 전국의 배추 작형별 재배면적을 기준으로 비례적으로 할당하였으며, 분석에는 전체 설문 103부 중 유효하지 못한 10부를 제외한 93부를 사용하였다⁸⁾. 설문 조사는 사전조사를 통해 수정·보완하였으며 분석에 이용된 응답자들의 사회경제적 특성은 표 17, 측정지표의 결과는 표 18과 같다.

사회경제적 특성은 먼저 연령별로는 50대(38명, 41.3%)가 가장 높고, 다음이 60대(33명, 35.9%)로 전반적으로 50, 60대에 배추 생산자들이 편중되어 있다. 반면에 40대 이하와 40대는 더해도 10.9%밖에 되지 않아 배추 생산자의 고령화를 알 수 있다.

교육수준은 고등학교 졸업(43명, 46.2%)이 가장 높은 비중을 차지하였고, 초등학교 졸업(22명, 23.7%)과 중학교 졸업(21명, 22.63%) 순이었다. 배추 종자연수는 21년 이상~30년 미만(31명, 33.3%)이 가장 높았으며, 다음으로 31년 이상~40년 미만(29명, 31.2%)이 뒤를 이어 대부분 20년 이상의 생산경력이 있는 것을 알 수 있다. 재배면적은 2,000평 미만(38명, 40.9%)이 가장 많았고, 다음으로 8,000평 이상(26명, 28.0%)으로 재배면적이 양분화 되어있는 것을 알 수 있다.

1년 평균 종자교육 빈도는 교육을 받아본 생산자가 40.9%였으며, 교육을 받아본 회수로는 1~2회(45명, 48.4%)가 대부분을 차지하였다. 종자회사의 종사홍보를 받아본 적 있는지 여부는 '예'(46명, 49.5%)와 '아니오'(47명, 50.5%)가 비슷한 비중을 보이고 있다.

7) 공분산 분석은 최소 100~150의 표본이 적당함(Gefen, Straub, & Boudreau, 2000). 잠재 변수와 측정항목의 관계 분석시 모수추정법을 사용하기 때문에 다변량 정규분포 가정이 필요함.

8) 전체 조사농가 103호의 작형별 할당은 최근 3개년의 작형별 재배면적에 근거하였음. 전체 배추면적에 대한 작형별 재배면적 비율은 가을배추 40%, 봄배추 29%, 고랭지배추 16%, 겨울배추 14%이며, 이에 따라 가을배추 54호, 봄배추 40호, 고랭지배추 21호, 겨울배추 19호를 할당하였음. 103호 중 유효한 응답을 한 93호 중에서 41호는 고랭지배추와 봄배추, 고랭지배추와 가을배추, 또는 봄배추와 가을배추 등 두 작형의 배추를 재배하는 농가들이었음.

표 17. 조사 대상자의 사회경제적 특성

변수	구분	빈도 (%)	비고
연령	40대 이하	3 (3.3)	무응답 1
	40대	7 (7.6)	
	50대	38 (41.3)	
	60대	33 (35.9)	
	70대 이상	11 (12.0)	
교육수준	초등학교 졸업	22 (23.7)	
	중학교 졸업	21 (22.6)	
	고등학교 졸업	43 (46.2)	
	대학교 졸업	7 (7.5)	
종사연수	10년 이하	5 (5.4)	
	11년 이상 ~ 20년 미만	15 (16.1)	
	21년 이상 ~ 30년 미만	31 (33.3)	
	31년 이상 ~ 40년 미만	29 (31.2)	
	40년 이상	13 (14.0)	
재배면적	2000평 미만	38 (40.9)	
	2000평 이상 ~ 4000평 미만	13 (14.0)	
	4000평 이상 ~ 6000평 미만	11 (11.8)	
	6000평 이상 ~ 8000평 미만	5 (5.4)	
	8000평 이상	26 (28.0)	
연간소득	1천만원 미만	8 (8.6)	
	1천만원 이상 ~ 3천만원 미만	29 (31.2)	
	3천만원 이상 ~ 5천만원 미만	27 (29.0)	
	5천만원 이상 ~ 1억원 미만	19 (20.4)	
	1억원 이상	10 (10.8)	
종자교육 빈도	없음	38 (40.9)	
	1~2회	45 (48.4)	
	3~4회	7 (7.5)	
	5~6회	2 (2.2)	
	7회 이상	1 (1.1)	
종자홍보 여부	예	46 (49.5)	
	아니오	47 (50.5)	
작형	봄	40 (29.9)	중복응답 41명
	고랭지	21 (15.7)	
	가을	54 (40.3)	
	겨울	19 (14.2)	
합계		93 (100)	

(2) 측정지표 설문 평가

본 연구에서 설정한 변수들의 측정지표에 대한 정보는 모형 연구에서는 파악하기 힘들 수 있으므로, 각각의 변수들에 대한 기술통계를 표 18에 기술하였으며, 이 결과를 토대로 각 개념들이 가지는 의미를 생각해볼 필요가 있다.

개인의 혁신성은 3가지 항목의 평균이 4.6~4.9점에 속해있음으로 자신의 혁신성이 ‘보통이다’와 ‘약간 그렇다’ 사이에 있으며, ‘약간 그렇다’에 좀 더 가까이 있다고 평가하는 것으로 나타나고 있다. 특히 주위 능가 대비 기술수준의 경우 5.3점으로 자신의 배우 생산능력을 다른 생산자보다 높이 평가하는 것으로 나타났다.

종자교육에서는 모든 항목이 5점과 근접한 평균값을 나타냈고, 교육의 실질적 도움은 5.12점으로 교육이 생산자들에게 직접적으로 도움이 되는 것으로 추정된다. 또한 종자교육을 하는 기관에 대한 신뢰도도 있는 것으로 판단되며, 교육시기도 적절한 것으로 여겨짐. 충분한 정보제공이 가장 낮은 4.79점인데, 다양한 방법으로 정보제공을 할 필요가 있다.

종자홍보는 모든 항목이 5점을 넘지 못하였고, 홍보의 실질적 도움여부가 4.91점으로 일부 도움이 되는 것으로 파악되었다. 그러나 종자홍보의 충분한 정보제공과 실질적 도움여부가 종자교육보다 낮은 점수를 보이고 있어 홍보의 질적 문제를 생각 볼 필요가 있다. 특히 종자회사에 대한 신뢰도가 다른 항목들보다도 낮은 4.37점으로 종자회사의 신뢰도에 문제가 있다고 여겨진다.

인지된 용이성에서 종자구매의 용이성이 5.67점으로 모든 항목 중 가장 높게 나타났다. 이는 신종자를 쉽게 구매할 수 있다는 것을 의미하며, 재배 용이성도 5.05점으로 재배에 있어서 기존종자와 다른 특별한 어려움을 느끼지 않는 것을 의미한다고 볼 수 있다. 용이성에서 가장 낮은 부분은 판로확보 용이성이 4.74점으로 판로확보를 가장 어렵게 느끼는 것으로 나타났다.

표 18. 측정지표 설문응답 결과

연구개념	설문항목	평균	표준편차
혁신성	정보 탐색의 적극성 정도	4.83	1.230
	조기수용 정도	4.77	1.105
	위험감수 정도	4.69	1.063
	주위 농가 대비 기술수준 정도	5.30	1.019
종자교육	교육시기 적절성	4.83	1.057
	충분한 정보제공 여부	4.79	1.138
	교육의 실질적 도움 여부	5.12	0.942
	교육기관에 대한 신뢰도	4.98	1.093
종자홍보	홍보와 종자수용의 관계	4.83	1.141
	충분한 정보제공 여부	4.54	1.149
	홍보의 실질적 도움 여부	4.91	1.007
	종자회사에 대한 신뢰도	4.37	1.306
인지된 용이성	정보입수 용이성	4.91	1.129
	종자구매 용이성	5.67	1.228
	재배 용이성	5.05	1.057
	판로확보 용이성	4.74	1.367
인지된 유용성	산업발전기여도	5.63	1.061
	재배기술 능력향상	4.99	1.016
	수용전 성과에 대한 확신	4.61	0.897
	기존종자대비 개선정도	5.02	1.032
종자성과	품질 만족도	5.06	1.101
	생산량 만족도	4.68	1.095
	소득증대 만족도	4.38	1.010
	목표성과 달성도	4.35	1.110
종자 사용의도	품질 만족도	4.90	1.012
	전반적인 만족도	4.58	1.025
	지속적 사용의도	4.96	1.179
	종자확대 수용	3.83	1.332
	종자확산 가능성	4.54	1.256

인지된 유용성은 산업발전기여도가 5.63점으로 신종자가 앞으로 배추산업에 미칠 영향이 크다고 응답하였다. 신종자가 기존종자와 비교해 개선했다고 여기는 점수가 5.02점, 신종자를 수용하여 재배기술 능력향상이 4.99점으로 ‘약간 그렇다’의 응답을 보였다. 신종자를 수용전에 확신을 가지고 도입하는 지는 4.61점으로 다른 응답보다 다소 낮게 응답하였다.

종자성과는 품질 만족도가 5.06점으로 ‘약간 만족’하는 것으로 평가되었으며, 생산량 만족도는 품질 만족도보다 낮은 4.68점으로 생산량 부분은 조금 덜 만족하는 것으로 나타났다. 소득증대 만족도와 목표성과 달성도는 4.3점대로 소득과 목표에서 생산자들의 만족도가 높지 않음을 알 수 있다.

종자 사용의도는 모든 응답이 5점을 넘지 못하였으나, 지속적 사용의도가 4.96점으로 신종자를 계속 사용하고자 하는 의도를 보이고 있다. 신종자에 대한 전반적인 만족도와 종자확산 가능성은 각각 4.58점과 4.54점으로 ‘보통이다’와 ‘약간 그렇다’의 중앙에 있어 신종자의 성과가 아직 미비한 것으로 보인다. 특히 종자확대 수용의 점수는 모든 응답 중에 가장 낮은 3.83점인데 이는 재배면적을 넓힐 수 없는 농가와 이미 신종자로 모든 재배를 하는 농가가 많은 것으로 추측된다.

(3) 신뢰도 및 타당성 검증

(가) 연구 모형의 구성개념 신뢰성 분석

연구분석에 앞서 모형을 검증하기 위해 측정지표의 내적일관성, 즉 신뢰성을 검증할 필요가 있다. 신뢰도란 동일한 검사를 반복 시행했을 때 얼마나 비슷한 결과를 얻을 수 있는가에 대한 일관성을 나타낸다. 신뢰도는 타당도를 위한 기본적인 전제조건이며, 신뢰도를 측정하는 방법에는 재검사법, 반분법, 크롬바흐 알파, 문항분석, 동등척도법 등으로 분류된다.

이같이 신뢰도 분석에는 다양한 방법이 있으나, 본 연구에서는 합성신뢰도(Composite Reliability)와 크론바흐 알파계수(Cronbach's alpha)를 이용하였다. 본 연구의 설문문항이 리커트 척도로 구성되었으며, 여러 개의 항목을 이용하여 동일한 개념을 측정하고자 할 때 신뢰도를 저해하는 요인을 제거한 후 신뢰도를 향상시키는 방법이기 때문이다.

합성신뢰도는 추상적 개념과 측정 지표간의 일치된 정도를 알아보는 것으로서 일반적으로 0.7 이상의 값을 가지면 내적 일관성이 유지된다고 평가된다. 크론바흐 알파도 일관성을 나타내는 계수로 0~1까지의 값을 가지며, 0.7 이상이면 바람직하다고 판단할 수 있다. 크론바흐 알파의 수식은 다음과 같다.

$$\alpha = \frac{k}{k-1} \left(1 - \frac{\sum \sigma_i^2}{\sigma_t^2} \right)$$

식 (27)에서 k 는 측정항목의 수, σ_i^2 은 개별항목의 분산, σ_t^2 은 전체항목의 총분산을 의미한다.

표 19. PLS 경로모형의 신뢰도 및 적합도 분석

구분	AVE = Communality	Composite Reliability	R Square	Cronbach 's Alpha	Redundancy
혁신성	0.6296	0.8714		0.8030	
종자교육	0.9476	0.9864		0.9823	
종자홍보	0.9494	0.9869		0.9824	
인지된 유용성	0.5422	0.8210	0.2530	0.7095	0.0847
인지된 용이성	0.5256	0.8150	0.2967	0.7043	0.0058
종자성과	0.7508	0.9233	0.4548	0.8893	0.0159
종자 사용의도	0.6566	0.9050	0.4761	0.8693	0.3064

신뢰도 분석 결과를 보면 합성신뢰도가 모두 0.8을 상회하고 있으므로 기준값인 0.7을 충족하고 있다. 또한 구성개념의 크론바흐 알파값이 기준치인 0.7 이상을 나타내고 있으므로 구성개념의 일관성이 유지되었고, 측정 도구의 신뢰도가 적절한 것으로 검증되었다(표 19 참조).

(나) 연구모형의 구성개념 간 타당성 분석

타당성은 측정도구 자체가 측정하고자 하는 개념이나 속성을 어느 정도 정확히 측정하였는가를 나타낸다. 본 연구에서는 확인적 요인분석(CFA: Confirmatory Factor Analysis)을 이용하여 집중타당성(Convergent Validity)과 판별타당성(Discriminant Validity)을 검증하였다. 집중타당성은 동일한 개념을 측정하기 위해 가급적 다른 척도들을 사용하여 측정값들 간의 상관관계의 정도에 관련된 것이고, 판별타당성은 서로 다른 개념에 대한 동일 또는 다른 측정방법에 의한 측정값의 차별화 정도와 관련된 것이다.

집중타당성을 평가하기 위하여 요인의 적재량을 확인해본 결과, 모든 *t*-Value가 1.96이상이므로 집중타당성이 있는 것으로 나타났다. 또 다른 방법인 평균분산추출(AVE: Average Variance Extracted)법은 구성개념에 대해 지표가 설명할 수 있는 분산의 크기를 나타낸 것으로, 일반적으로 0.5 이상이면 측정도구의 집중타당성이 존재하는 것으로 볼 수 있다(Gefen, 2000). 표 19에서 평균분산추출값이 모두 0.5 이상이므로 적합한 수준으로 판단된다.

표 20. 잠재변수 간 판별타당성 분석 결과

	혁신성	종자교육	종자홍보	인지된 유용성	인지된 용이성	종자성과	종자 사용의도
혁신성	0.7935*						
종자교육	-0.0603	0.9735*					
종자홍보	0.0506	0.0982	0.9744*				
인지된 유용성	0.4176	0.1132	0.1420	0.7363*			
인지된 용이성	0.5076	0.0879	0.1948	0.4288	0.7250*		
종자성과	0.2764	-0.0807	0.1179	0.6737	0.3175	0.8665*	
종자 사용의도	0.3119	0.0030	0.0515	0.6120	0.3064	0.6900	0.8103*
평균분산추출값	0.6296	0.9476	0.9494	0.5422	0.5256	0.7508	0.6566

주) * 대각선 요소는 평균분산추출(AVE: Average Variance Extracted)의 제공된 값을 의미하고, 대각선 외 요소는 개념간 상관관계임.

판별타당성은 2가지 절차에 의해 평가된다. 첫 번째로 각 요인의 적재량을 볼 때 대부분 0.7 이상의 적재량을 가지고 있기에 판별타당성이 있음을 알 수 있다. 두 번째로는 잠재변수로 표현된 연구 개념들의 내적상관관계값을 평균분산추출 제공된 값과 비교하여 상관계수 값보다 크면 판별타당성이 확보된다(Fornell & Larcker 1981). 이는 개념 간 동일성 점정이나 카이제곱의 차이를 검증하는 방법에 비해 간편하고 엄밀한 결과를 나타낸다는 장점이 있다(Anderson & Gerbing 1988; Bagozzi & Yi 1988; Fornell & Larcker 1981). 표 20에서 각각의 평균분산추출 제공된 값이 다른 개념간의 상관계수들보다 크므로 판별타당성이 있다고 할 수 있다.

(4) 구조모형의 분석결과

(가) PLS 전체 적합성 검증

본 연구에서 수립한 연구모형에 대한 검증결과는 PLS 구조모형(Structural or Inner Model)의 경로계수를 통해 분석되었으며, 경로계수를 추정하기 위한 방법으로는 부트스트랩(Bootstrap)기법을 사용하였다. 부트스트랩기법은 실제 조사한 결과를 바탕으로 가상의 샘플링을 수행하고, 수행된 결과를 기반으로 결과의 정확성을 평가하거나 분포를 추정하는 방법으로 PLS경로모형에서 주로 경로계수의 유의성을 평가하기 위해 일반적으로 사용하는 방법이다(Tenenhau et al. 2005; Temme et al. 2006).

PLS의 전체 적합도는 3가지 방법으로 확인할 수 있다. 첫째, PLS구조모형 전체의 적합도 지표인 Stone-Geisser Q^2 test 통계량인 교차검증된 Redundancy 지표가 있다. 이 지표는 구조모형의 통계추정량으로서 구조모형의 적합성(Quality)를 나타내며, 그 값이 양수이어야 한다(Chin 1998; Tenenhau et al. 2005). 표 19에서 Redundancy지표가 모두 양의 값을 가지는 것으로 나타났다기에 구조모형의 예측적합성이 존재한다고 할 수 있다.

둘째, PLS 경로모형의 구조모형에 대한 평균적인 적합도 평가는 각 내생변수별 경로모형에 대한 평가로서 해당 내생변수의 R^2 의 값으로 평가한다. PLS 경로모형의 R^2 값의 효과정도는 상(0.26이상), 중(0.13~0.26), 하(0.02~0.13)로 구분된다(Cohen, 1988). 표 19에서 인지된 용이성만 중의 효과정도를 가지고 인지된 유용성, 종자성과, 종자 사용의도는 상을 나타내고 있어 구조모형의 적합성이 존재하는 것으로 나타났다.

셋째, PLS 경로모형의 전체적인 적합도는 모든 내생변수의 R^2 의 평균값과 Communality 평균값을 곱한 후, 이를 다시 제공된 한 값으로 나누어서 이 크기가 최소 0.10이상이어야 하며 그 크기에 따라서 상(0.36이상), 중(0.25~0.36), 하(0.10~0.25)로 나누어진다(Tenenhau et al., 2005). 표 19를 바탕으로 본연구의 PLS 경로모형의 전체 적합도를 구해본 결과, 0.5143으로 상에 해당하여 모델의 적합도가 높은 것으로 나타났다.

(나) 가설검정

본 연구모형의 신뢰성과 타당성, 적합도를 검증한 결과, 모두 기준값을 충족시키고 있으므로 신중자 사용의도를 설명하는 모형으로 적합한 것으로 판단된다. 표 16에서 제시하였던 연구가설의 결과는 표 21과 같다. 가설검정 결과, 설정한 가설 총 10개중 6개의 가설이 유의수준 10%에서 채택되었으며, 4개는 유의수준 10%에서 통계적으로 유의하지 않아 채택되지 못하였다.

인지된 유용성에 유의미한 영향을 주는 선행변수는 혁신성이 0.228($t=4.9770$), 인지된 용이성이 0.261($t=2.1154$)로 나타났다. 이는 개인의 혁신성이 높을수록 유용성에 긍정적인 영향을 준다는 선행연구와 일치하는 결과이다(박우성 2009). 혁신성이 높은 생산자일수록 종자에 대한 정보를 많이 찾아보게 되고, 신중자 도입시 위험도 적극적으로 감수함으로써 신중자가 주는 다양한 편익을 적극적으로 수용하려는 것을 의미한다고 볼 수 있다. 또한 인지된 용이성이 향상될수록 유용성에 대한 지각 정도와 기술에 대한 태도에 효과를 보인다는 Venkatesh & Davis의 연구와 일치하고 있다.

표 21. 연구가설 검증 결과

가 설	경로	경로계수	T-Value	P-Value ⁹⁾	검정결과
H1a	혁신성 → 인지된 유용성	0.288	4.9770	0.0000	채택
H2a	종자교육 → 인지된 유용성	0.101	1.2682	0.2106	기각
H3a	종자홍보 → 인지된 유용성	0.067	1.0850	0.2831	기각
H4a	인지된 용이성 → 인지된 유용성	0.261	2.1154	0.0394	채택
H1b	혁신성 → 인지된 용이성	0.506	6.4418	0.0000	채택
H2b	종자교육 → 인지된 용이성	0.103	1.0282	0.3088	기각
H3b	종자홍보 → 인지된 용이성	0.159	1.9262	0.0598	채택
H4b	인지된 용이성 → 종자성과	0.035	1.5942	0.1172	기각
H5	인지된 유용성 → 종자성과	0.659	10.5983	0.0000	채택
H6	종자성과 → 종자사용의도	0.690	11.5855	0.0000	채택

인지된 용이성에 유의미한 영향을 주는 선행변수는 혁신성이 0.506(t=6.4418), 종자홍보 0.159(1.9262)로 계속되었다. 이는 개인의 혁신성이 높을수록 용이성에 긍정적이 영향을 준다는 선행연구와 일치하는 결과이다(Agarwal & Karahanna 2000). 또한 종자홍보를 통하여 실질적으로 도움이 되는 정보를 얻는 것이 신종자를 도입함에 있어서 어려움 없이 사용할 수 있다는 것을 의미한다.

종자 사용의도의 매개변수인 종자성과에 영향을 미치는 선행변수는 인지된 유용성이 0.659(t=10.983)로 아주 높은 영향을 주는 것으로 나타났다. 이는 배추생산자가 신종자를 수용할 때 이에 관련된 지식이나 노력이 적어야 쉽게 사용가능하고 성과가 좋다는 인과관계를 나타낸다. 따라서 인지된 유용성이 높은 생산자는 실질적으로 신종자를 도입하여 만족을 하는 것으로 설명된다.

본 연구의 최종 종속변수인 종자 사용의도에 종자성과가 0.690(t=11.5855)로 아주 높은 인과관계를 나타내고 있다. 이는 기술수용모형(TAM)의 선행연구들과 일치하는 결과로 신종자에 대한 성과가 지속적 사용의도와 신종자 확대 수용태도에 영향을 미치는 것을 의미한다.

(다) 시사점

개인의 혁신성은 [개인의 혁신성→인지된 유용성→종자성과→종자사용의도]의 관계가 파악되었으며, [개인의 혁신성→인지된 용이성→인지된 유용성→종자성과→종자사용의도]의 일련관계도 보이고 있다. 혁신성은 인지된 유용성과 용이성에 모두 유의한 영향을 미치는 선행변수로서 종자 사용의도에 큰 부분을 차지하는 것을 보인다. 그러나 혁신성은 개인적인 측면이 강하고, 배추 생산자의 대부분이 개인의 판단에 근거하여 종자를 선택(홍승지 외, 2010)하기 때문에 신종자를 수용시키기 위하여 물리적으로 할 수 있는 일이 적게 된다.

종자교육은 인지된 유용성과 인지된 용이성에 모두 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

신종자에 대한 교육을 받았고 실질적으로 도움이 되었다고 응답하였으나, 교육을 통해 용이성과 유용성에 영향을 미칠 수 있는 특별한 점이 없다는 것으로 추측된다. 신종자의 정보 수집과 구입, 재배방법 등이 기존종자와 큰 차이점이 없고, 교육을 통해서 재배기술이나 성과에 영향을 미치지 못한 것으로 보인다.

종자 회사의 종자홍보는 인지된 용이성에는 유의한 영향을 미치나, 인지된 용이성에는 비유의적으로 나타났다. 종자홍보의 경로는 [종자회사의 종자홍보→인지된 용이성→인지된 유용성→종자성과→종자 사용의도]를 나타낸다. 종자회사는 생산자들에게 정확하고 객관적인 정보로 신뢰성을 높이고, 실질적인 도움을 바탕으로 수용에 긍정적인 영향을 줄 수 있다. 종자홍보 부분에서 종자회사에 대한 신뢰도가 문제점으로 부각되었는데, 종자분류와 같은 문제점을 실질적으로 해결할 수 있는 방안과 회사자체의 시험재배 등을 통해 생산자들에게 신뢰도를 심어주는 것이 가장 우선이 되어야 할 것이다. 또한 충분한 정보제공도 미비하다고 응답하였는데, 농가의 수요를 적극적으로 수용하여 필요한 부분에 있어서 정보를 제공해주어야 할 것으로 판단된다.

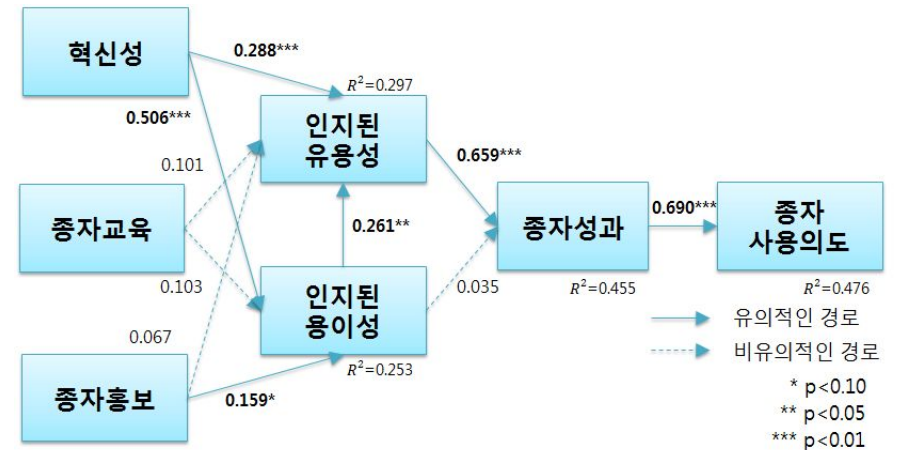


그림 8. 연구모델의 PLS 분석결과

마. 요약 및 결론

본 연구에서는 배추 신종자를 적극적으로 수용하도록 유도하고 지속적으로 사용하도록 하는 요인들을 찾아내어 배추산업에 필요한 기초 자료를 제공하고자 하는 것이다. 이를 위해 인지된 유용성과 인지된 용이성의 두 가지 신념만을 사용한 간결한 기술수용모형(TAM)을 연구 모델로 설정하고 배추 생산자 93명의 데이터를 사용하였다. 분석방법은 변수들 간의 복잡한 관계를 설명하고 상대적으로 적은 수의 표본을 통해서 구현이 가능한 편최소제곱법(PLS)을 이용하였고, 분석프로그램으로는 SPSS 19.0과 SMART PLS를 사용하였다.

9) Smart PLS 프로그램에서는 P-Value가 주어지지 않으므로 T-Value에 근거하여 구함.

본 연구의 주요 결론은 다음과 같다. 첫째, 신종자의 기술수용의도에 선행변수로 사용한 혁신성 및 종자홍보가 신종자 수용의도에 영향을 미친다. 둘째, 개인적 혁신성이 높은 생산자일수록 기술수용의도가 높으나, 혁신성은 개인적인 측면이 강하기 때문에 신종자를 수용시키는데 어려움이 있다. 개인의 혁신성을 높이는 것이 어려울뿐더러, 자발적으로 배추 종자를 수용하기 때문에 수용을 위해 물리적으로 할 수 있는 일이 적은 요인이다.

종자회사의 종자홍보를 통해 기술수용의도를 높이기 위해서는 생산자들에게 정확하고 객관적인 정보로 신뢰성을 높이고, 실질적인 도움을 줄 필요가 있다고 판단된다. 생산자들은 특히 종자회사에 대한 신뢰도를 문제점으로 생각하는데, 종자분규와 같은 문제점을 실질적으로 해결할 수 있는 방안과 회사자체에서 시험재배를 통해 생산자들에게 신뢰도를 심어주는 것이 가장 우선이 되어야 할 것이다.

또한 인지된 유용성과 종자성과, 종자성과와 종자 수용의도는 강한 양의 영향을 미치고 있는데 인지된 유용성이 높은 생산자는 실질적으로 신종자를 도입하여 만족을 하고 이를 앞으로도 지속적으로 사용할 의사가 있으며, 재배면적을 넓히거나 다른 농가에 확대 보급할 생각이 있다고 나타났다.

결과적으로 배추 생산자가 배추 신종자를 수용하는 경로는 [개인의 혁신성, 종자회사의 종자홍보⇒ 인지된 용이성 ⇒ 인지된 유용성 ⇒ 종자성과 ⇒ 종자 수용의도]로 이어지는 인과사슬임이 확인되었다. 선행연구에 없었던 변수인 종자홍보가 영향을 미치는 것을 확인하였고, 반면 선행연구에서 영향을 미치던 교육지원을 종자교육으로 대체하니 영향이 없는 것으로 나타났다. 신종자를 사용함에 있어 받은 교육이 기존의 종자와 큰 차이가 없다는 것을 의미한다고 생각할 수 있다.

제1-1-2절 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁)

배추는 우리나라 4대 채소작물 중의 하나이며 한국 고유 식품인 김치의 주원료로서 국민의 식생활에 없어서는 안 되는 주요 채소이다. 우리나라의 배추 재배면적은 약 5만 ha에 이르며, 연간 약 25만 톤을 생산하고 있다. 또한 국내 시장의 생산액은 약 6000억원에 달하고 있는 주요 경제작물이다. 최근에는 김치산업의 발달에 힘입어 1억불 이상의 대외 수출을 하고 있으며 나날이 수출액이 급속한 속도로 증가하고 있는 추세에 있다.

현재 배추의 육종은 주로 관행적인 방법에 의해서 개량이 이루어지고 있으나 시간과 노동, 비용이 많이 소요될 뿐 만 아니라, 육종목표를 달성하는데 한계점이 노출되고 있다. 따라서 분자유종기술을 이용하여 단기간에 새로운 특성을 가진 다양한 품종을 육성할 수 있는 기술개발이 요구되며 유용형질을 지닌 품종 개발에 이르기 위해서는 생명공학 기술을 이용한 유용유전자의 확보가 우선이다. 생명공학 발전에 있어 중요 연구 분야인 유전체 연구가 전 세계적으로 활발히 이루어지고 있으며, 현재까지 인간을 비롯한 마우스, 벼, 옥수수, 각종 산업미생물 등의 전 염기서열 및 유전자 기능을 결정하는 게놈 프로젝트가 몇몇 선진국과 다국적 거대기업 등에서 앞을 다투어 수행하고 있다. 그 후 전체 게놈이 만들어 내는 단백질의 기능을 밝히려는 proteomics 및 전체 단백질의 3차 구조를 결정하려는 프로젝트가 빠른 속도로 진행되고 있는 실정이다. 우리나라에서는 2003년부터 문화적으로나 유전학적 및 육종학적으로 유용한 배추를 대상으로 유전체 연구를 진행하고 있다(Yu et al. 2010).

모델식물을 대상으로 T-DNA, *Tos17* retrotransposon 및 *Ds* transposon 삽입법에 의해 유전자 기능이 소실된 돌연변이체를 이용하여, 기능 및 발현 제어 등 유전자 기능에 관한 연구가 많이 진행되었다(An et al. 2003, Hiochika et al. 2004, Chen et al. 2003, Ryu et al. 2004, Miyao et al. 2007, Park et al. 2007, Ichikawa et al. 2003). 이들 유전자 tagging법은 tag로서 T-DNA 또는 transposon을 무작위로 게놈 중에 삽입시키는 것인데 이러한 tag가 삽입된 유전자는 그 기능이 파괴되기 때문에 어떤 기능의 유전자가 tagging되었는지 알 수가 있다. 그러나 이 방법은 tag element가 삽입된 유전자가 over expression 되거나, 여러 가지 많은 유전자에 한꺼번에 삽입되어 형질 발현 유전자 또는 기능이 파괴된 유전자와 tag element가 삽입된 유전자와의 관계가 모호한 경우가 많으며, 삽입된 근방의 유전자들에 영향을 미칠 수 있다(Weigel, 2000, Ichikawa et al. 2006).

이러한 문제점을 해결하고 유용유전자를 다량으로 확실하게 얻을 수 있는 한 방법이 최근에 개발되고 있다. 이 방법은 식물의 각 기관으로부터 mRNA를 추출하고 이를 바탕으로 새로이 개발된 기술을 이용하여 완전장 FL-cDNA (Full-length cDNA)를 다량으로 작성한 후 모든 DNA의 염기서열이 밝혀진 애기장대에 형질전환 시킨 다음 후대에서 나타난 변이체를 이용하여 삽입된 유전자를 분리해낸 후 다시 본래의 식물에 형질전환하여 그 유전자의 기능을 확인하는 방법이다. 이를 “완전장 cDNA를 이용한 종합적 유전자 기능 해석의 식물 시스템”이라고 한다. 최근 애기장대 및 벼 등에서 완전장 cDNA library를 작성하여, 이들 완전장 cDNA를 이용한 기능획득 방법의 일환으로 FOX-hunting system (Full-length cDNA Over-eXpressor Gene Hunting System)이 개발되었다(Seki et al. 2004, Ichikawa et al. 2006, Nakamura et al.

2007, Kondou et al. 2009).

본 연구에서는 배추("Osome")의 균질화된 완전장 cDNA(FL-cDNA) library의 EST 해석을 수행하였으며 FL-cDNA agrobacterium library를 제작하여 배추 유전자들의 기능을 해석하고자 하였다.

1. FL-cDNA library를 이용한 EST 해석

구축된 FL-cDNA library로부터 무작위로 선별된 3,429 clone의 EST 염기서열을 분석하였다. Online상의 EGassembler 프로그램을 사용하여 전체 3,429개의 EST 중 contig는 333개와 단독서열 2,446개를 확인하였다. 그리고 전체 단일 조합 유전자서열과 발표된 배추 유전체 유전자 모델을 BLASTN 비교한 결과 3,429의 EST 중 554개의 EST가 유전자 모델과 일치하지 않아 현재까지 해독 완료된 유전체 이외의 영역에 존재하는 유전자를 반영하는 것으로 추정된다. 또한 1,197개의 EST는 EC 데이터베이스에 따라 효소 단위 단백질 번호를 부여할 수 있었다(표 1).

3,284 clone에 대한 Gene Ontology(GO)는 Blast2GO 프로그램의 mapping 기능을 사용하여 molecular function, biological process, cellular component로 분류하여 그림 1에 나타내었다. 이 중 biological process로 분류된 2,042 EST 중 오직 functionally annotated stress responsible 1,074 EST들의 염기를 이용하여 Blast2GO 분석을 수행한 결과 stress responsible (SR), biotic stimulus (BS), abiotic stimulus (ABS)로 분류가 되었다(그림 2).

Table 1. General characteristics of *B. rapa* EST sequences.

Descriptive category	EST sequence	Sources
Total cDNA's sequenced	3,429	-
Number of cluster sequence	3,284	
Number of contigs	333	EGassembler http://egassembler.hgc.jp/
Number of singletons	2,446	
No blast hits	553	
Number of sequence with EC	1,197	Blast2go V.2.5.0
Number of pathway maps	124	www.blast2go.com
Number of Interpro annotation	17,266	

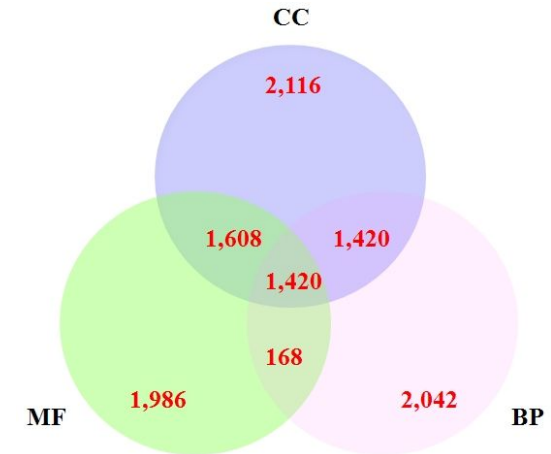


Figure 1. Venn diagram of 3,284 ESTs sequence dataset showing numbers annotated to a combination of two and all three GO vocabularies (MF: molecular function, CC: cellular component, BP: biological process).

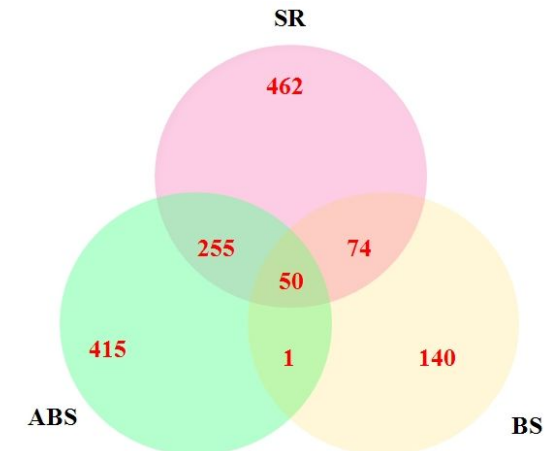


Figure 2. Venn diagram of 1,017 ESTs stress related sequence dataset showing numbers of annotated, response to stress (SR), response to abiotic stimulus (ABS), and response to biotic stimulus (BS).

CCACAACAGCTCTGCAICGGGACCTCGTCCCTTTCCTACTAACAACTCTACCCGGAGAC 360
 P Q Q L C I G D L V P F T N K L Y T G D
 CTCAGAAGACGCGTGGGATCACCAGGGGACTCGCGTTTGTATCCAGCACGTTCCTGAG 420
 L K K R V G I T A G L C V L I Q H V P E
 AAGAAAGCGAAGCCTTCGAAGCTTCATACAGCTTCTACTTCGGCGAATACGGTCACATT 480
 K K G E R F E A S Y S F Y F G E Y G H I
 TCCGTTACAGGGACCTTACCTGACTTACGAGGACAGCTTCTCGCCATCACCAGTGGCTCC 540
 S V Q G P Y L T Y E D T L L A I T G G S
 GCGTCTTCGAAGGAGCTTACGGACAGTCAAGCTTCGTCAGCTTGTGTATCCGACCAAG 600
 G V F E G A Y G Q V K L R Q L V Y P T K
 CTGTTACTACTTTTTACTTGAAGGTGTGTCTCTGATTTGCCITGIGGAGCTCACC660
 L F Y T F Y L K G V V S D L P V E L T G
 AAACATGTTGAGCCGTCGAAGGATGTGAAGCCGGCGCGGAGCTCAGCTCAGCCCGG 720
 K H V E P S K D V K P A A E L S C S A R
 GGCCTATCATAAACTTACC GAATAATAATCATGTGTCGTTGCGCTTTCCTCTCTCT 780
 G H Y H K L Y R I I I I V S L R F L F S
 TTCTCTGATCTT 792
 F S D L

Figure 3. Nucleotide and deduced amino acid sequences of stress related genes in *B. rapa*.

Table 2. Top matched gene of *Arabidopsis thaliana* for stress related genes in *B. rapa*.

Gene	Top matched gene to <i>A. thaliana</i>	Identity %	Seq. description of <i>A.thaliana</i>
<i>SRG-3</i>	at3g03270	90	universal stress protein family protein
<i>SRG-9</i>	at3g09870	83	auxin-responsive family protein
<i>SRG-11</i>	at5g53820	90	unknown protein
<i>SRG-14</i>	at1g76160	86	copper ion binding
<i>SRG-15</i>	at1g05180	90	auxin resistant 1
<i>SRG-19</i>	at1g13450	87	DNA binding protein GT-1
<i>SRG-24</i>	at5g15970	83	KIN2, COR6
<i>SRG-27</i>	at1g30360	82	early-responsive to dehydration 4
<i>SRG-28</i>	at2g47710	88	universal stress protein (USP) family protein
<i>SRG-42</i>	at1g55570	80	copper ion binding/oxidoreductase
<i>SRG-44</i>	at1g06040	88	salt tolerance
<i>SRG-47</i>	at5g12020	86	HSP17.6II class II (heat shock protein)
<i>SRG-52</i>	at1g78240	87	TSD2 (tumorous shot development 2)
<i>SRG-53</i>	at5g39730	84	avirulence-responsive protein-related
<i>SRG-58</i>	at1g29420	85	response to auxin stimulus
<i>SRG-65</i>	at3g30775	87	proline dehydrogenase
<i>SRG-71</i>	at1g30360	82	early-responsive to dehydration 4
<i>SRG-75</i>	at1g13280	85	allene oxide cyclase 4

Table 3. Stress related gene (*SRG*) primer sequences used for RT-PCR

Gene ID	Forward primer	Reverse Primer	Product size(bp)
<i>SRG-3</i>	TGTGGGAATGGACTACTC	GGCTTTAAACAACCGTGAC	433
<i>SRG-9</i>	AAATCGGCCATCACGAAC	CAAAGACTATCCCTTCCTAC	437
<i>SRG-11</i>	CCATCACGACAAGTTTCC	TAAGAGTCAACAACCCTTGG	425
<i>SRG-14</i>	AAATCGGCCATCACGATG	GCTGAGATCGTTACAAACTG	300
<i>SRG-15</i>	TCTTGAACGAAGGTGATGG	ACCAAAGCGACACATCTC	500
<i>SRG-19</i>	GATTCTCTTAGGCGAAAGC	CAAGAGGATGACCATCATG	499
<i>SRG-24</i>	CACGGCCAATCAAAAACAC	GATGTTTCAATTAAGGGGAAC	426
<i>SRG-27</i>	AGTAACCGCCAATGAAC	CCGATGAAGACATTCAACAC	600
<i>SRG-28</i>	GTTGAGAGTCATGGCTAC	TTTGGCTGTTGGGTGATC	500
<i>SRG-42</i>	ATAGAGGGAAAGAAGCTCAG	GTTTGGCTGGAAGCTGTAC	500
<i>SRG-44</i>	ACATCTGCCAAGAGAAGG	CCTCATCATCAACTCTGATC	499
<i>SRG-47</i>	GATAGTCTCAATCCTCGAAG	CGCATCATCACACATTCC	500
<i>SRG-52</i>	GTCCAGTTTCAACTCGTAC	CCAACAAGTCTGACACAAG	500
<i>SRG-53</i>	ACGTACTCCGAAATCATC	ACATGATCTCCACAGTACC	500
<i>SRG-58</i>	GAACCCAAAGAAGCTCATG	CAAAGCCCTTTCTGTATCTC	317
<i>SRG-65</i>	CCAAGAATCCAACGTACC	GCTCTCTTTAAACCGAAGG	500
<i>SRG-71</i>	TGCTCAGTCACTACTACTG	GAGACTAGTAGCCAAACG	499
<i>SRG-75</i>	TATCCGCACGATCAAGATC	TCCACAGGCAAATCAGAG	499
<i>BrActin</i>	ATGGTTGGGATGGGTCAAAAA	TCTTTAATGTACGGACGATT	320

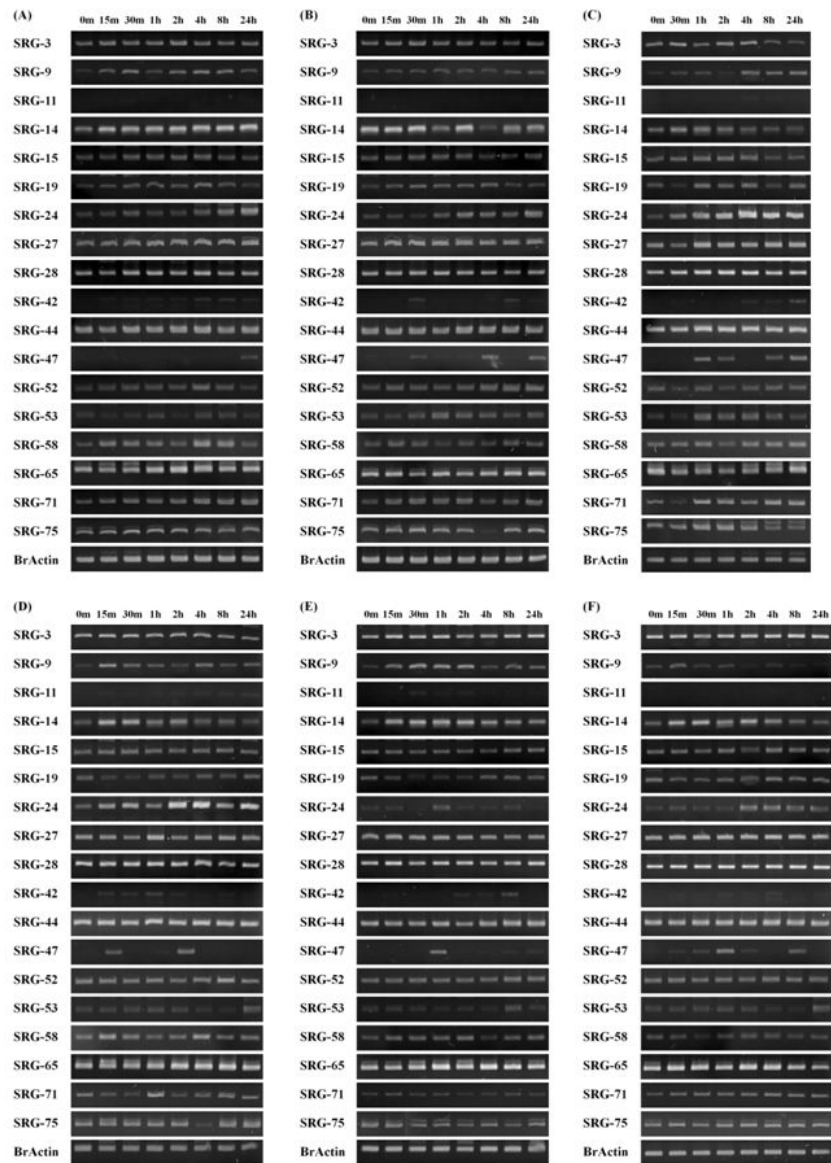


Figure 4. RT-PCR analysis of stress related genes (*SRG*), 0m as WT (wild type). (A) cold, (B) salt, (C) drought, (D) ABA, (E) water and (F) PEG for different time courses with 0m to 24hours.

3. FL-cDNA Agrobacterium library 제작

cDNA insert를 혼합물체로 강발현 대장균 plasmid vector로 옮겨 필요량의 대장균을 수집, plasmid 추출 후, Agrobacterium에 도입하여 Agrobacterium library를 제작하였다. 완전장 cDNA의 번역개시 ATG codon이 promoter뒤에 반드시 결합되도록 완전장 cDNA를 강발현 vector와 함께 디자인하였다. 그래서 우선 강발현형 binary vector에의 삽입 공정을 위하여 완전장 cDNA를 특정 제한효소로 절단하여 insert cDNA를 회수하며 동일한 제한효소로 절단한 강발현 vector에 도입하였다(그림 5). 이와 같이 구축된 vector를 대장균에 cloning하였다. 제작한 Agrobacterium library로부터 bacteria를 단리, 회수한 plasmid를 대장균에 형질 전환하여 vector 특이적 primer 1(ATT ACA TTT TAC ATT CTA CAA CTA CAT CT) 및 primer 2(CAA ATG TTT GAA CGA TCG GGG AAT)를 이용하여 colony-PCR법으로 확인하였다.

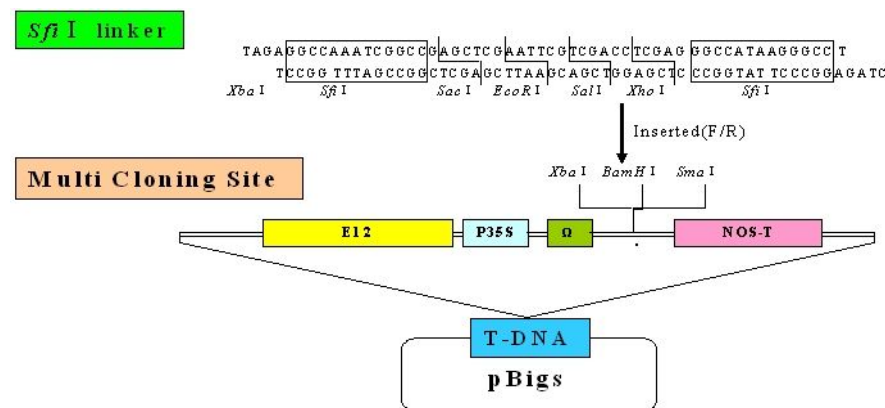


Figure 5. Schematic diagram of pBigS vector for transformation

4. Binary vector에 삽입된 유전자의 품질 확인

400 clone을 대한 colony-PCR을 수행하여 삽입된 유전자들의 확인 및 크기를 확인하였다. 그 결과 colony-PCR로 증폭되지 않은 clone은 11개 었다. 또한 2개의 band로 증폭된 clone은 39개 었고, 3개의 band로 증폭된 clone은 8개, 4개의 band로 증폭된 clone은 1개 었다. 또한 삽입 유전자의 크기는 100 bp이하가 3개의 clone이었고, 100~500 bp는 48 clone, 500~1,000 bp는 113 clone, 1,000~1,500 bp는 88 clone, 1,500~2,500 bp는 72 clone, 2,500 bp 이상은 11개의 clone이였다(그림 6, 7).

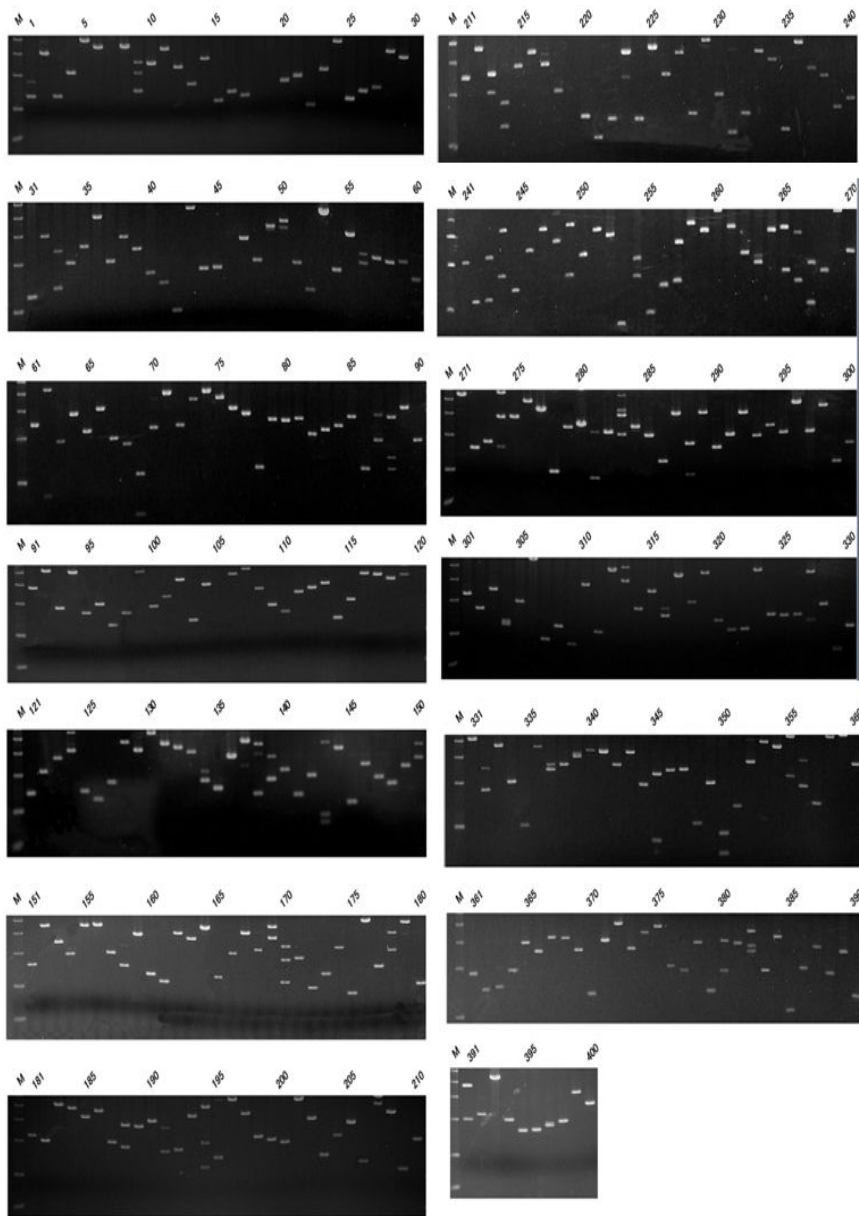


Figure 6. Insert check of Agrobacterium library clones by using colony-PCR

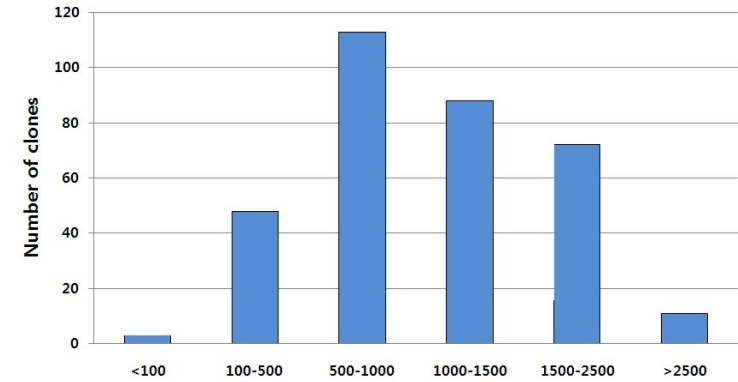


Figure 7. Size distribution of Agrobacterium library clone

5. *Arabidopsis*에 FL-cDNA Agrobacteria library의 형질전환 및 종자(T0) 획득

배추 유전자의 기능을 대량으로 확인하기 위하여 제작된 배추 FL-cDNA Agrobacteria library를 이용하여 Floral dipping법에 의해 애기장대에 형질전환 시켰다(그림 8). Binary vector가 삽입된 Agrobacteria를 28°C에 O/N하여 집균하였다. 집균한 균은 OD₆₀₀=0.8이 되도록 5% sucrose solution에 희석하여 Silwet L-77(200 μ l/l)을 첨가하였다. 애기장대를 Agrobacterium solution에 1분 30초간 침적하였다. 침적시킨 식물체를 투명한 비닐로 씌워 3일간 직광을 피해 재배하였다. 3일 경과 후 봉지를 벗겨 일장 16/8 hr으로 종자가 성숙 할 때까지 재배한 후 종자(T0)를 수확하였다. 수확한 T0 종자는 항생제(Hygromycin)가 첨가된 MS배지에 과중하여 배지에서 생존한 식물체 77 line을 선발하였다. 이들 선발된 77 line은 앞에서 사용된 vector 특이적 프라이머 1과 2를 이용하여 도입 유전자를 확인하였다. 그 결과 10, 17, 24, 27, 28, 31, 38, 40, 53, 59, 65, 70번 line은 2개의 유전자가 삽입되어 있는 것을 확인하였다. 그리고 47번 line은 삽입 유전자가 증폭되지 않았다(그림 9). 삽입 유전자가 증폭되지 않은 47번 line을 제외한 76개의 line으로부터 T1 종자를 수확한 후 항생제(Hygromycin)가 첨가된 MS배지에 과중하여 배지하여 각 line별로 10개체의 식물체들을 선발 배지에서 선발한 다음 이들 식물체로부터 각각 T2 종자를 수확하였다. 이들 각각의 T2 종자를 이용하여 다시한번 항생제(Hygromycin)가 첨가된 선발배지를 이용하여 전부 살아남는 homo line을 선발하였다. 선발된 homo line들과 삽입 유전자가 증폭되지 않은 47번 line을 이용하여 표현형을 관찰하였지만 지상부에서의 표현형은 야생형(WT)과 차이를 관찰할 수 없었다. 그러나 지하부 즉 뿌리의 생장에 있어서 12개의 형질전환체 homo line(2, 3, 4, 5, 6, 11, 20, 32, 35, 42, 43, 53번 line)에서 생장이 야생형(WT)과 비교하여 현저히 비정상적임을 확인하였다(그림 10). 뿌리 생장에 있어서 변이를 나타내는 이들 line들은 야생형과 교배후 분리비를 관찰한 후 한 개의 유전자가 삽입된 line을 이용하여 뿌리 세포의 신장, 모근의 발달등 더욱더 세밀하게 관찰하고, 도입된 배추 유전자를 단리하여 이 유전자에 분석을 수행할 계획이다.

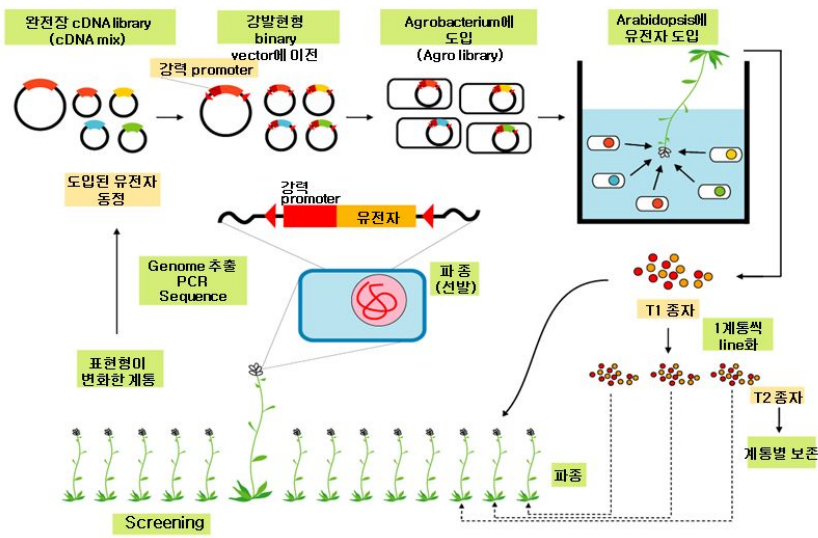


Figure 8. Schematic presentation of FOX-Agrobacterium library transformed into *Arabidopsis*.

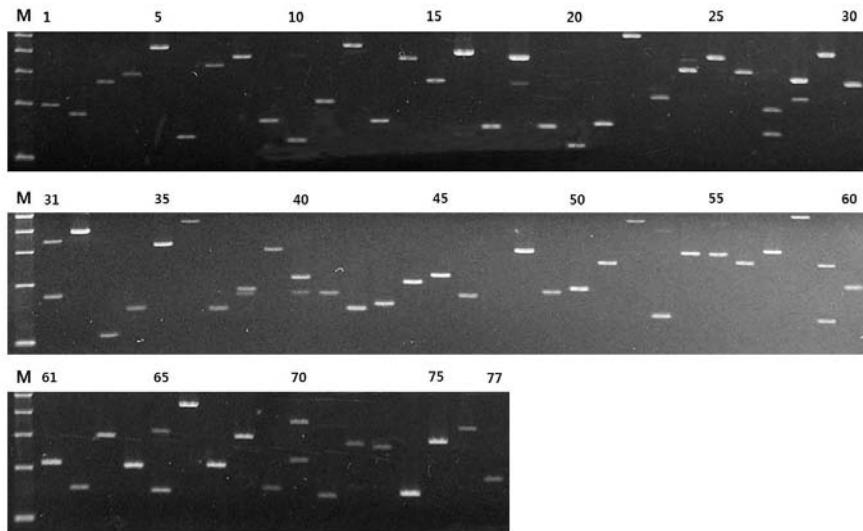
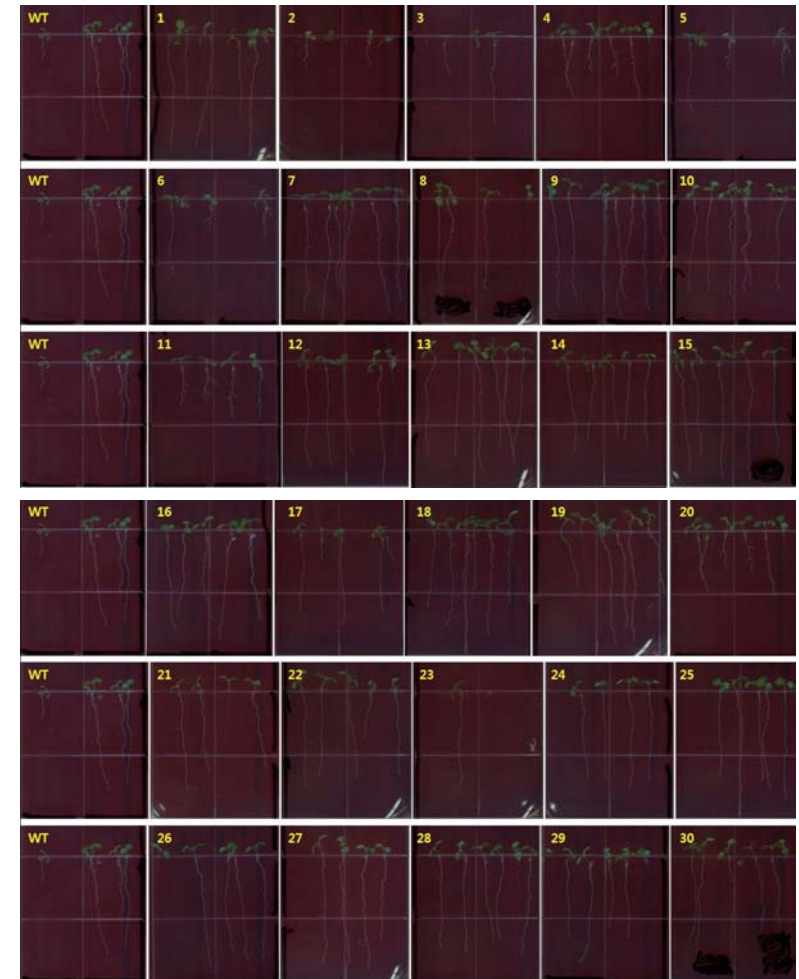


Figure 9. Confirmed amplicon by using transgenic plants.



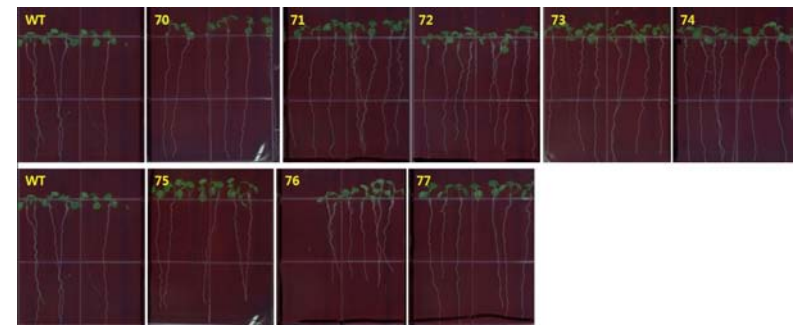
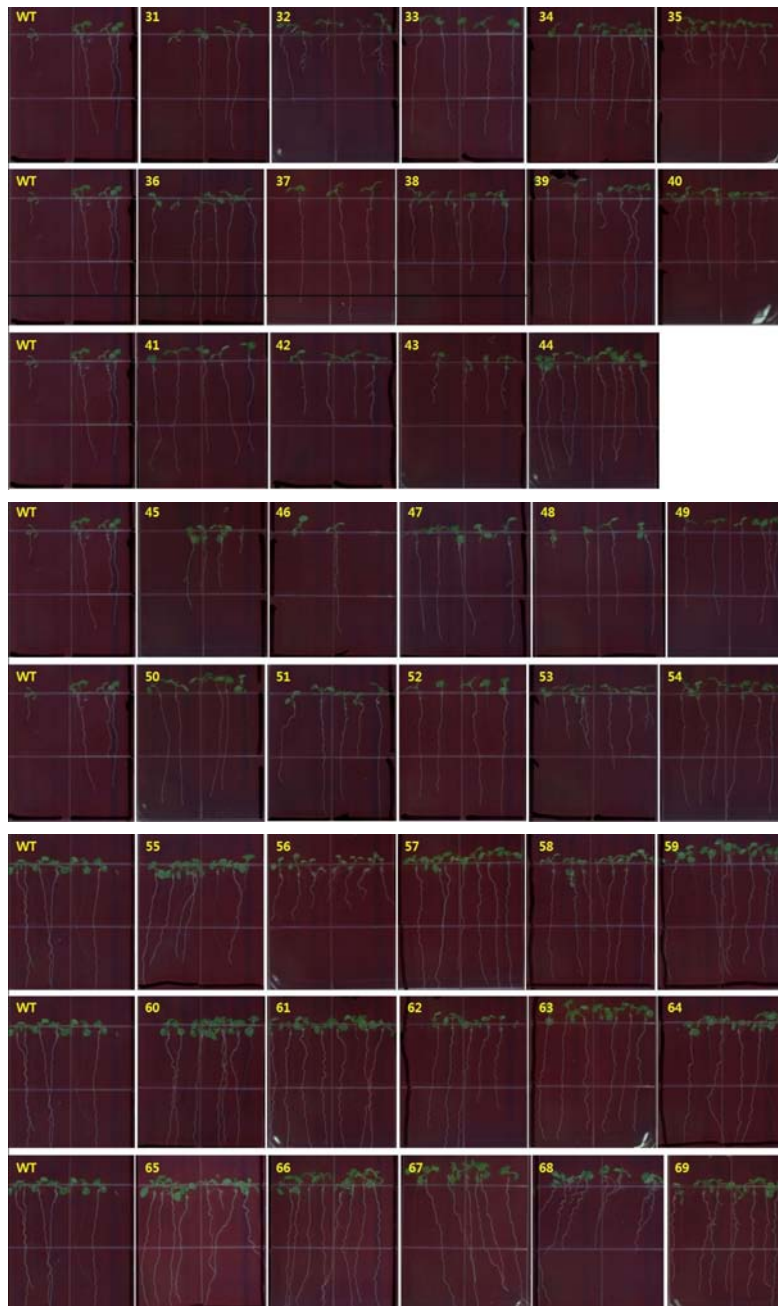


Figure 10. Mutant analysis of abnormal root growth in chinese cabbage FOX *Arabidopsis* lines.

제1-1-3절 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3)

1. 연구개발과제의 개요

가. 추진 배경

- ✓ 종자산업이 국가 중점사업으로 육성되기 위한 다양한 정책이 수립되어 종자산업에 대한 새로운 패러다임이 형성
- ✓ 배추분자마커연구사업단은 2012년 종료를 앞둔 시점에서 배추유전체 정보 이용 육종체계 및 인프라구축 사업 추진
- ✓ 사업단 종료시점에 있어서 배추분자마커사업단의 우수성과를 연계하여 배추종자의 활용 측면에서의 국제경쟁력을 확보하기 위한 발전방안 마련이 필요

□ 종자산업의 정의 및 특징

- (정의) 농수축산물 생산을 위하여 **신품종을 육성하고, 육성된 품종을 증식, 생산, 조제, 양도, 대어, 수출, 수입 또는 전시하는 등의 종자와 관련된 산업**을 의미
- (특징) 종자산업은 **최종적으로 생산된 농수축산물의 특징을 결정짓는 핵심요소**, 즉 종자산업은 농어업 자체 산업은 물론 가공 및 유통산업을 지배하는 농수축산분야 생산의 기반

- 정부(농림수산식품부)는 2009년 '2020 종자산업 육성대책'을 마련하여 2020년까지 종자수출 2억 달러 달성을 목표로 추진
- 농림수산식품부는 최근 종자강국 도약을 위한 '종자산업 육성 방안'에 대한 내용을 발표(2011. 12, '제7차 위기관리대책회의'에 보고)
 - 목 표 : 2020년에 종자수출 2억불(현 0.3억불), 2030년에 30억불 달성, 기후변화에 대응 안정적인 식량생산 구축
 - 추진내용 : 종자 육종연구 기반조성, R&D투자 확대 및 효율화, 종자기업 육성 지원 등 3대 전략 및 10개 중점 과제
 - 배추 종자분야는 **종자 R&D투자 확대 및 효율화를 위하여 전략품목*으로 선정**
 - 대표적인 채소과 작물인 배추는 고추, 무 등과 수출전략품목으로 정부차원(농식품부 주관)에서 전략적 지원
 - * 전략품목 : 벼, 고추, **배추**, 수박, 무, 토마토, 양파, 넉치, 전복, 돼지, 닭
 - 정부(농식품부)는 2009년 '2020 종자산업 육성대책'을 마련하여 2020년까지 종자수출 2억 달러 달성을 목표로 추진

- 채소종자의 경우, 민간주도형으로 종자 기업이 상당 부분의 역할을 담당, 정부의 종자산업 육성대책도 민간부문에 초점
- 특히, 2011년 마련된 'Golden Seed 프로젝트'에서 배추 분야가 수출을 지향하는 글로벌 시장개척 분야로 선정
 - 글로벌 시장개척형 종자 : 보유 강점기술을 기반으로 수출시장 개척용 종자 개발
 - * 글로벌 시장 개척형 종자 : (식량) 벼, 감자, 옥수수, (원예 및 특작) **배추**, 고추, 수박, 무, (수산) 넉치, 바리파, 전복
- 배추 분야는 투자 아이템 선정 시 수출의 강점, 기술성이 높고, 사회경제적 파급성이 큰 품목으로 구분
 - 우수 육종기술과 유전자원을 바탕으로 세계시장에서의 점유율 향상을 통해 1,000만 달러 이상을 글로벌 수출 가능한 품목으로 선정
 - * 수출 대상 지역 : 중국, 동남아, 북중미
- ▷ 이러한 환경변화를 감안하여 배추분자마커사업단의 우수성과가 'Golden Seed 프로젝트'와 연계되어 사업단의 미래지향적 발전방향을 도출

<참고 1> 종자산업 육성 방안 주요 내용

주요 내용

- 목표 : 2020년에 종자수출 2억불(현 0.3억불), 2030년에 30억불 달성
기후변화에 대응 안정적인 식량생산 구축
- 추진내용 : 종자 육종연구 기반조성, R&D투자 확대 및 효율화, 종자기업 육성 지원 등
3대 전략 및 10개 중점 과제

<3대 추진 전략>

1) 종자 육종연구 기반 조성을 위하여

- (육종연구 인프라 구축) '15년까지 연구시설·시험포장 등을 갖춘 민간육종연구단지(전북 김제시, 57ha)를 조성하여 종자업체(20개소)육종 연구 인프라를 지원하고, 다양한 돌연 변이품종 선발을 위한 방사선육종연구센터(전북 정읍)를 '13년에 준공
- (전문인력 양성) 10년간('10~'19) 석·박사급 육종전문인력을 대학과 종자업체의 연구와 실습 병행을 통해 270명 양성
- (유전자원 통합정보시스템 구축) 각 분야별로 분산 관리중인 농업·산림·수산 유전자원의 정보를 통합하여 정보검색 및 분양 등 포털 서비스를 제공, 민간 육종가가 쉽게 이용하도록 함

2) 종자 R&D투자 확대 및 효율화를 위하여

- (Golden Seed 프로젝트) 수출시장 개척 및 수입대체 전략 품목 20개 개발을 위해 향후 10년간('12~'21) 4,911억원 투자
* 전략품목 : 벼, 고추, 배추, 수박, 무, 토마토, 양파, 납치, 전복, 돼지, 닭 등
- (GM작물 종자개발) 세계 농작물 종자시장의 30%를 차지하는 GM작물 종자시장에 진출하기 위해 농촌진흥청에 「GM작물실용화사업단」을 설립·운영('11~'21)하여 수출용 벼, 옥수수, 콩 등 개발
- (기후변화 적응 품종개발) 지구온난화로 기온이 2~4℃ 상승시에도 현 수준 생산이 가능한 벼, 채소, 어류 품종 등 개발
* 2℃상승 시 쌀 생산량은 4.5%, 사과 재배면적은 66%, 고령지배추재배면적은 70% 감소 예상
- (로열티 대응 사업단) 로열티 지급이 많은 딸기, 국화, 장미, 참다래, 버섯 등 6개 작물에 대한 품종 개발·보급(연간 60억원 지원)

3) 글로벌 종자기업 육성을 위하여

- (사업의 규모화) Golden Seed 및 기후변화 대응 R&D 등 대형 프로젝트에 민간 종자업체를 중심으로 참여토록 하고, 농식품 펀드를 활용하여 종자업체에 대한 민간투자 촉진 및 규모화 유도
* 농식품 모태펀드 조성 : ('11) 2,300억원 → ('12) 3,300
- (수출시장 개척 등) 아시아국가 등을 대상으로 종자시장 조사 및 수출 품종 전시회 설치를 확대 지원하고, 유전자원 유출방지 등을 위해 해외에서 채종하는 종자를 국내로 전환하는 사업을 지원('12년도 : 25억원)

<참고 2> Golden Seed 프로젝트 주요 내용

□ (정의) 글로벌 종자 강국 도약을 위한 수출전략 종자 개발 및 산업기반 구축을 위한 R&D 프로젝트

- Golden Seed는 금값 이상의 가치를 가진 고부가가치 종자를 의미
* 흑색 방울토마토 종자 1g(250립): 7만 5천원('11년 11월 기준 금값 6만 8천원)

□ (목적) 미래 농업환경 변화에 따라 새롭게 전개되고 있는 세계 종자 시장 선점을 통한 글로벌 종자강국 실현

- 글로벌 수출 전략형 종자 20개* 이상 개발을 통해 '30년 종자수출 30억 달러 달성에 기여
* 벼, 감자, 옥수수, 배추, 고추, 수박, 무, 양배추, 토마토, 양파, 감귤, 백합, 김, 버섯, 돼지, 닭, 납치, 바리과, 전복 등

□ (추진전략) 수출시장 성장모형에 따라 글로벌 시장개척, 품종보호제도 대응 전략종자 개발

- 글로벌 시장개척 종자: 보유 강점기술 기반 수출시장 개척용 종자 개발(벼, 감자, 옥수수 등)
- 품종보호 전략종자: 품종보호 기반 및 장기적 수출시장 진입용 종자 개발(돼지, 닭, 감귤 등)

□ (규모 및 기간) 총 4,911억원/10년(정부 3,985억원 + 민간 926억원)

- Golden Seed 프로젝트는 2단계(5+5)로 추진('12년~'21년)
* '12년 예산 25억원 반영(농식품부 23억원, 농진청 1억원, 산림청 1억원)

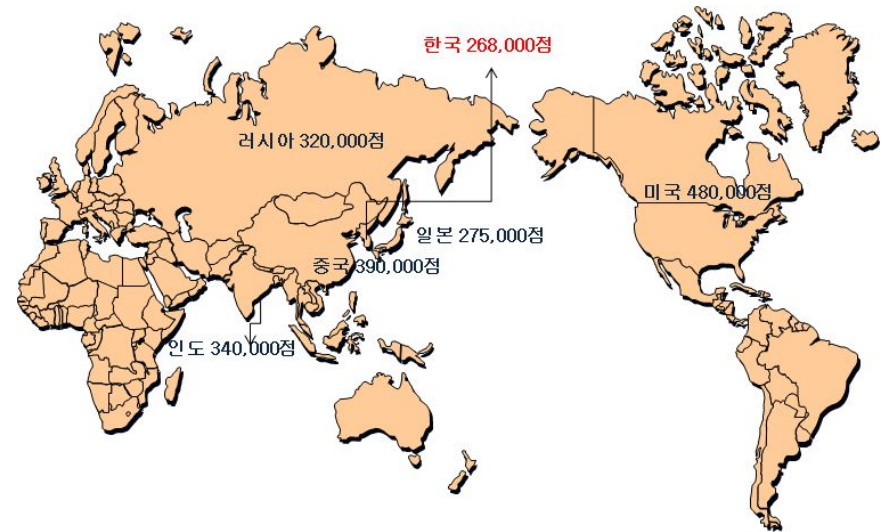
나. 필요성

- 종자산업은 미래 성장동력 산업으로 발전가능성이 매우 높은 분야
 - 종자는 안전한 식량 수급과 생명산업의 요체로서 식품산업, 바이오에너지, 제약 산업 등 미래의 녹색성장의 기반
 - 종자는 제2녹색혁명의 키워드로서 전 세계적인 인구 증가에 따른 식량위기, 생활수준 향상에 따른 수요 급증과 저탄소녹색성장의 근간
 - 기술·자본 집약적 고부가가치 산업으로 우수한 인적자원과 풍부한 기술력을 보유한 우리나라에 적합
 - * 토마토 종자 1g(270립)의 가격 : 12만 6천원~13만 5천원 (현재 금값의 3.2배)
 - * 파프리카 종자 1g의 가격 : 9만 1천원 (현재 금값의 2.2배)
 - 생명공학기술 등 첨단기술을 활용한 지속적인 R&D 노력으로 선진국과의 기술력 차이 극복 가능



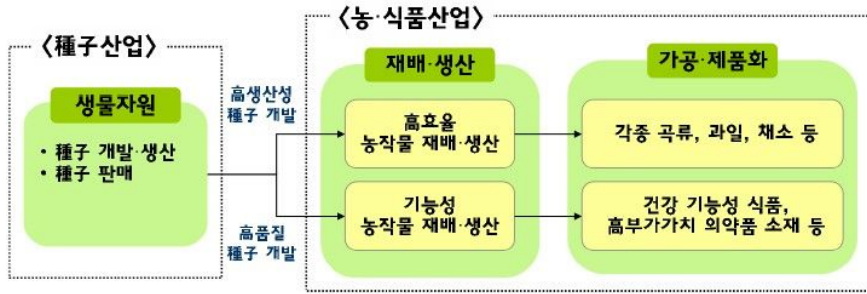
- 세계 각국은 유전자원 확보경쟁과 품종보호권 확대를 통해 종자주권 강화 중
 - 생물다양성협약 등 유전자원에 대한 규제와 유전자원 수집을 위한 국가 간 경쟁이 심화되고 있으며, 국제식물신품종보호연맹(UPOV) 가입으로 로열티지급의무가 발생한 품종 급증
 - * 품종보호 대상작물 : 전 품목으로 확대
 - 유전자원을 수집하기 위한 국가 간 경쟁이 치열해 지고 있으며, 유전자원 선점을 통하여 종자주권 강화
 - FTA 타결 확대, DDA 진전 등에 따라 경쟁이 심화되고 각국은 우수하고 고유한 유전자원을 경쟁의 주요 수단으로 활용
 - 민간 글로벌 종자회사를 중심으로 유전자원을 활용하여 종자 개발·생산·유통·수출입 등을 주도

- 우리나라는 세계 6위의 농업유전자원을 보유하고 있어, 선점한 유전자원에 대한 품종별 특성 분석을 통한 유용자원의 발굴용이



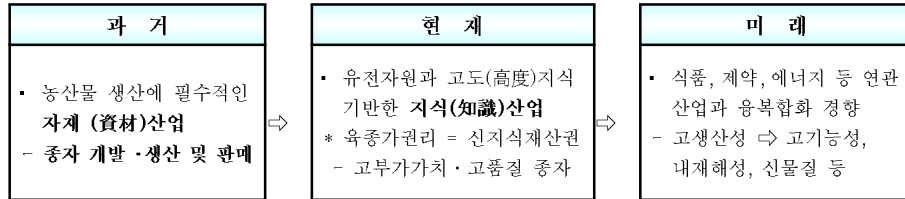
<그림 1> 세계 농업유전자원 분포도

- 세계 종자산업 시장 규모는 약 700억불로 추정되며 현재 첨단생명공학기법 접목으로 지속 성장
 - 품목별로는 농산이 365억불로 전체의 53%를 점유하고 있으며, 축산(25%)과 수산(22%)이 나머지를 차지
 - 세계 10개 다국적 종자기업이 영세·중소 종묘사들을 합병·인수하여 시장 지배력을 강화시키며, 현재 전체 시장의 70% 정도의 점유율을 확보한 것으로 보고 (출처 : ETC group, Action Group on Erosion, Technology and Concentration, '08)
 - 세계적으로 민간 산업이 활성화 되고 있는 추세
 - 식량안보 및 산업경쟁력 제고를 위해 유전자원 수집·평가·이용 등 유전자원에 대한 주권을 강화하고, 유전자원을 활용하여 종자 개발·생산·유통·수출입 등을 주도
- 종자산업은 농식품 분야 전반에 핵심적인 역할 담당
 - 고생산성 종자개발로 농업부문의 생산성을 획기적으로 향상시키고 기능성 농작물용 고품질 종자 개발을 통해 고부가가치 창출
 - 유전자원을 활용하여 기능성 식품, 식물유래 치료제 등 제품 응용범위의 확대로 종자산업이 식품, 제약산업 등과 융복합화 추세
 - * 신종플루 치료제인 타미플루 : 중국 자생식물인 '스타아니스(팔각나무)' 종자에서 성분을 추출한 신약



<그림 2> 종자산업의 역할(출처: 미래농업의 견인차, 종자산업, SERI, 2009)

- IMF이후 다국적기업이 국내종자회사 M&A를 통해 국내시장에 진출하여 점유율을 높여 가며, 국내기반 민간육종은 중소형의 첨단육종을 시도하지 못하고 있는 실정
- 농업의 가치이동(Value Shift)과 시장이동(Market shift)에서 종자의 역할이 중요하게 부각
 - 과거의 종자산업은 씨앗과 같은 종자를 개발·생산해 재배농가에 파는 형태의 산업
 - 기능성 식품, 식물유래 치료제 등 종자를 활용한 제품 응용범위가 확대되면서 식품산업, 제약산업 등과 융·복합화하는 농·식품 전반에 핵심역할을 담당하는 산업으로 부각



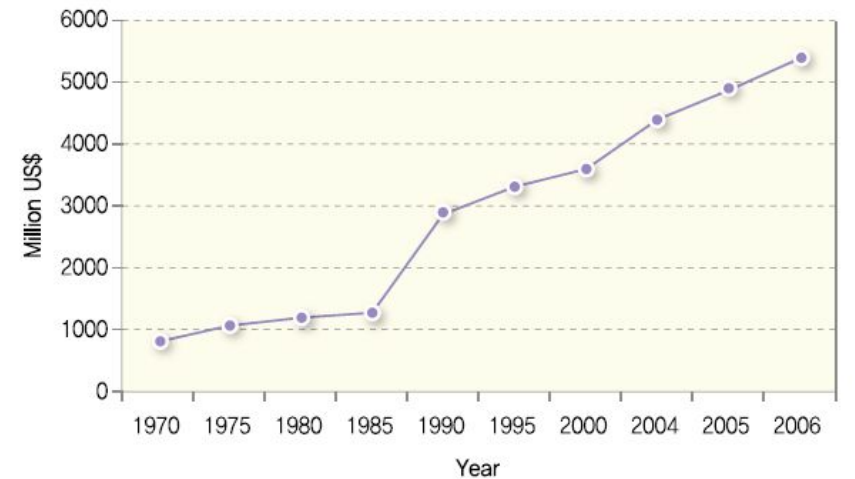
- 종자에서 최종 농산물이 소비자에게 전달되기까지 단계별 중점사항에 대한 소비자 중심의 의견을 반영하여 소비자의 만족도를 제고 하는 방향으로 진행
 - 특히 시장성 가치가 있는 종자에 대한 선택과 소비자의 선호도를 맞출 수 있는 시장 중심의 가치이동이 필요



<그림 3> 종자산업의 가치사슬

□ 종자산업의 국제적인 시장 확대로 고품질 종자 교역량 급증

- 세계 종자 시장은 연평균 5.2%로 매우 빠르게 성장하며, 세계 상업용 종자의 교역량은 1990년대 이후 매년 급격하게 성장



<그림 4> 세계 종자 교역량 변화

* 출처 : ISF Seed statistics, 2008

- 세계 시장 규모는 693억불 내외로 향후 지속 성장할 것으로 기대되나, 현재 우리나라 종자 시장 규모는 2010년 기준으로 약 5,810억원(약 1.1%)에 불과한 수준임
 - ※ 대표적 기업인 몬산토의 경우 연 8천억원을 종자 R&D에 투자
- 또한, 전 세계 종자 교역량은 종자시장보다 빠르게 신장
 - * 농산물 교역량은 '07년 대비 10.4% 성장한 71억\$('08년)으로 더욱 빠르게 성장
- 우리나라는 2002년에 국제식물신품보호동맹(UPOV)에 가입함에 따라 2012년부터는 신품 종 보호 대상작물이 전작물로 확대되어 무한경쟁 시작
 - ※ 품종보호 대상작물: ('98)27건 → ('03)113 → ('08)223 → ('12) 전작물

□ 결론적으로, 세계시장 진출을 위해서는 글로벌 전략수출 종자 개발의 체계적인 강화방안 마련이 필요

- 시장잠재력과 수출가능성이 높은 전략품목의 집중 육성을 위한 전략적 지원 필요
- 협소한 내수시장의 한계를 극복하기 위해 수출시장 확대를 통한 종자산업의 규모화 필요
- 또한, 글로벌 종자회사의 대형화 및 규모화에 따른 국내 종자산업의 경쟁력 강화를 위한 국가 차원의 육성전략 필요
 - ↳ 이러한 측면에서, 최근 세계적으로 김치에 대한 관심이 증가하면서 주재료인 배추에 대한 국제적 경쟁력 강화 방안 마련이 절실하게 필요한 시점
 - ↳ 본 연구에서는 배추분자마커사업단의 현황을 분석하고, 국내·외 종자산업 및 배추 종자산업에 대한 현황 분석을 통한 향후 사업단 발전방안을 제시하고자 함

2. 국내의 현황 분석 및 시사점

가. 종자산업의 국내·외 동향

(1) 종자산업의 국외 동향

□ 자원 선점을 위한 국제적 경쟁 양상

- 자원보유국과 자원가치 발굴국 간의 이익 공유에 대한 대립이 첨예화
 - 선진국의 생명자원에 대한 광범위한 채취 및 특허·독점권 행사행위와 이에 반발한 개도국의 자국 생명자원 보호의 대립이 첨예함
 - 국제기구를 통한 생명자원의 공동 활용 방안 모색과 소유 및 권리에 대한 국제 기준 마련을 위한 논의가 활발히 진행

□ 세계 각국은 식량안보 및 산업경쟁력 제고를 위해 유전자원 수집·평가·이용 등 유전자원에 대한 주권을 강화하고 있는 추세

- 종자의 중요성을 인식하기 시작한 세계 각국은 '유전자원' 선점을 통한 종자주권을 강화하려는 추세
 - 유전자원을 수집하기 위한 국가 간 경쟁이 심화되고 있으며 수집된 유전자원을 활용한 신종자개발이 치열하게 전개
 - ※ 미국 : 지난 100여 년간 한반도에서 수집한 4,000종 이상의 콩 종자를 수집해 품종 개량하여 현재 콩 수출 세계 1위 국가 도약(출처: 미래농업의 견인차, 종자산업, SERI, 2009)
 - 그러나 한국은 종자산업의 중요성을 깨닫지 못하고 토종종자가 국외로 유출된 후 오히려 한국에 역수출되고 있음
 - 1904년부터 자생수목 260여종이 미국 등으로 반출되어 최근에 조경수로 역수입되는 등 자원관리의 허점
 - ※ 특히 미국 라일락시장의 30%를 차지하고 있는 '미스김 라일락'은 1950년대 미국 식물 채집가가 북한산 정향나무 종자를 미국으로 유출한 후 품종개발을 통해 탄생
 - 유용 자원 선점을 위한 국제적 경쟁 양상
 - 자원보유국과 자원가치 발굴국 간의 이익 공유에 대한 대립이 첨예화
 - 선진국의 유용자원에 대한 광범위한 채취 및 특허·독점권 행사행위와 이에 반발한 개도국의 자국 유용자원 보호의 대립이 첨예
 - 민간은 유전자원을 활용하여 종자 개발·생산·유통·수출입 등을 주도
 - ※ 유전자원 보유현황 : 미국 512천점, 중국 390, 인도 340, 러시아 320, 한국 268

□ 이러한 유전자원 확보 및 종자산업에 대한 국제적 경쟁이 가속화 되면서 세계 종자산업의 메가트렌드는 변화

- 세계시장의 50% 이상을 점유하고 있는 글로벌 종자기업은 인수합병을 통한 외연확대 등 지속적인 집중화와 대형화 추세
 - 2000년대에 들어서 몬산토, 신젠타 등 글로벌 종자회사를 중심으로 인수합병이 활발하게

진행되면서 이를 통해 세계 종자산업 시장 지배력 확대 도모

- 2004년부터 종자회사의 인수합병이 증가하여 2008년 기준 상업용종자의 약 57%를 상위 10개 회사가 공급 주도

※ 예시) Monsanto = Monsanto + Seminis(채소) + DuRuitier(시설채소) + Delta & Pine Land(면화)

- 또한 인수합병을 통한 위험요소 회피를 위한 유전자원 및 시장의 다변화, 중복투자방지를 위한 R&D 비용의 효율성 제고, 세계시장 확대를 위한 다양한 기후대의 생산적지 확보 등의 의도도 포함

- GM 작물재배 면적의 급속한 증가 추세로 2015년까지 재배 면적 2배 증가 전망
 - 경작지 감소, 노동력 부족 및 농약과 비료 등의 투입비용 증가 현상과 개발도상 국가들의 경제성장애 따라 식량 및 사료로서의 수요가 증가

□ 세계시장 규모는 693억불 내외로 추정(2008년 기준)되며 분자마커, GM 기술을 넘어 유전체기반육종 등 첨단생명공학기법 접목으로 지속 성장 전망

- 품목별로는 농산이 365억불로 전체의 53%를 점유하고 있으며, 축산(25%)과 수산(22%)이 나머지를 차지

<표 4> 세계 종자시장 규모

(단위 : 억불)

분야	계	농산	축산	수산
세계	693	365	171	157
한국	10.3(1.5%)	4	4.76	1.58

※ 출처 : International Seed Federation (농산), FAO (축산, 수산)

- 몬산토, 듀폰, 신젠타 등 기술과 자본이 풍부한 세계 다국적 종자기업이 M&A를 통해 시장지배력을 강화

- 10대 다국적기업의 시장점유율은 2007년 기준 67%에 이르고 상위 4개 기업이 전 세계 유통 종자의 50% 이상을 공급

<표 5> 국제 종자시장에서의 주요기업

(단위 : 백만\$)

업체명	몬산토	듀폰	신젠타	리마	랜드오레이크	KWS	바이엘	사카타	DLF-Tri folium	다끼이
매출규모	4,964	3,330	2,018	1,226	917	702	524	396	391	347
국가	미국	미국	스위스	프랑스	미국	독일	독일	일본	네덜란드	일본

※ 출처 : ETC group, Action Group on Erosion, Technology and Concentration, '08

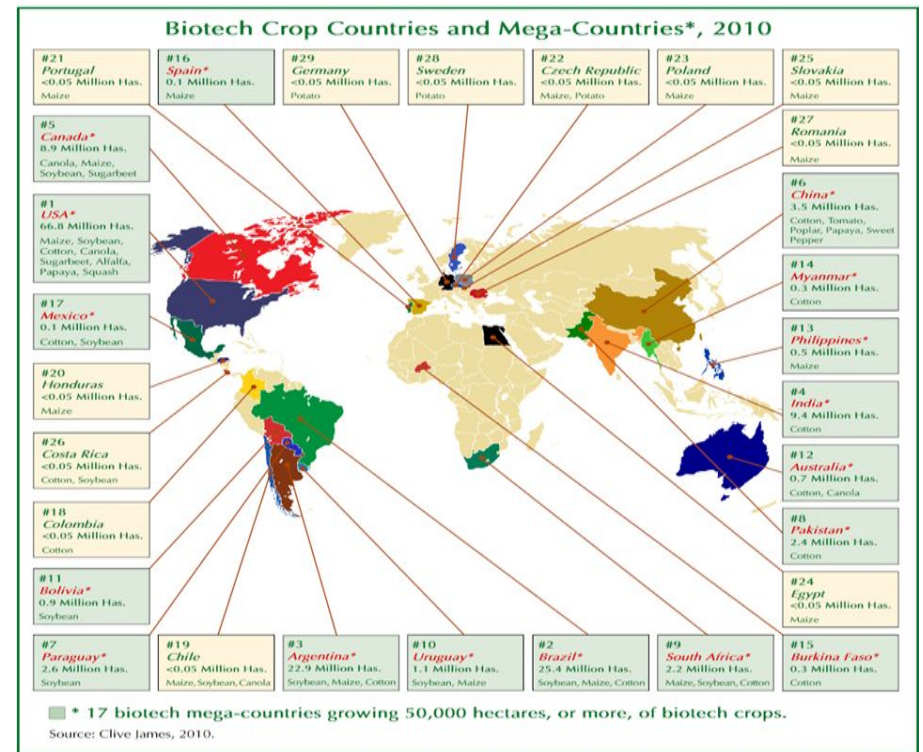
- 전체적인 시장 규모에서 우리나라는 세계시장 규모의 약 1.5% 수준인 10.3억불에 불과
 - 농산분야는 1% 수준인 4억불, 축산은 2.8% 수준인 4.76억불, 수산은 전 세계 시장의 1%(1.58억불) 수준

- 농업생명공학기술을 적극 활용하여 문제 해결의 새로운 가능성을 제시할 수 있는 GM 작물의 개발 박차

- 2007년 세계시장에서 차지하는 GM 종자의 비중은 약 20%에 불과하였으나, 2015년 이후에는 50% 이상을 차지할 것으로 전망

- 과거의 GM작물은 하나의 유전자를 도입하여 형질을 변형시키는 것으로 체세포에 내성을 지닌다거나 해충에 저항성을 갖는 정도에 불과

- 현재 또는 미래에는 수확량 증대나 단순한 형질의 변형뿐만 각종 생물적 및 무생물적 환경 스트레스에 강한 작물과 다양한 산업 즉, 기능성 식품 산업, 의료산업, 화장품 및 환경정화 등에 이용 가능



<그림 8> GM 종자 재배면적의 확대 (2010)

* 출처 : Clive James, 2010

□ 주요 국가별 종자산업 동향(요약)

<표 6> 주요 국가별 종자산업 동향

국가	주요 동향
미 국	<ul style="list-style-type: none"> ○ 글로벌 종자기업 중심으로 자국 내 시장을 탈피하여 세계 시장개척 주력 ○ 농업인들의 고품질 종자에 대한 인식 증대로 고품질 종자생산촉진 ○ 기후적·지리적 다양성을 이용한 생산기반 확충으로 세계종자시장 공략 ○ GMO 종자산업의 활성화 및 소비자 인식 변화가 미국 기업이 세계 종자산업의 선두주자로 부각하는데 기여
일 본	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자업체 규모별로 차별화된 전략 구사 <ul style="list-style-type: none"> - 대규모 회사 : 다품목 위주의 생산체제로 글로벌 시장 공략 - 소규모 회사 : 품목별로 전문화·특성화하여 국내시장 공략 ○ 농가고령화, 농가고령화, 경영규모 확대에 따른 고품질·저비용 종자의 안정적 공급에 주력 <ul style="list-style-type: none"> - 육종분야에 대한 정부 지원 확대, 유전정보 활용한 품종개발과 육종기간 단축 ○ 업체는 소비자 지향적인 품종개발 방식 도입, “기능성 강화” 품종 육성 주력 ○ 대외 경쟁력이 높은 고품질 종자를 높은 가격에 수출하는 전략 구사
네덜란드	<ul style="list-style-type: none"> ○ 곡물보다는 시설원에 분야에 대한 선택과 집중으로 세계시장 주도 ○ 수요자 중심의 연구개발 및 컨설팅 서비스 제공 ○ 품질의 고급화 정책으로 다른 국가와의 차별화 추진 ○ 종자생산 후 유럽지역 내에서 신속한 유통체계 구축 ○ 종자, 재배방법, 친환경농법, 시설 등을 하나로 하는 패키지수출로 시장 확대
중 국	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대규모 집약화된 생산기지가 지속적으로 형성 ○ 특히, 채소산업은 뚜렷한 성장세 나타냄
인도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 채소분야에 있어서 일부 분야는 세계 최대 생산국으로 채소 재배면적은 중국 다음으로 넓음

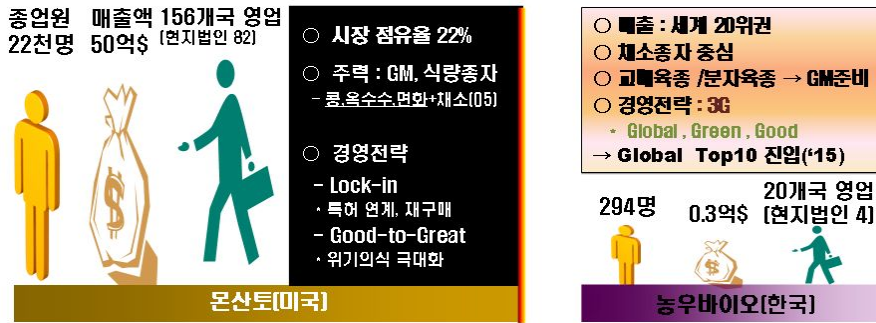
□ 주요 수출국의 종자산업 육성 대책

- (미국) 글로벌 종자 기업을 중심으로 자국 내 시장을 탈피하여 세계 시장개척에 주력하며, 신기술 개발 및 고품질 종자생산
 - 농업인들의 고품질 종자에 대한 인식 증대로 고품질 종자 생산 촉진 및 기후적·지리적 다양성을 이용한 생산기반 확충으로 세계 종자시장 공략
 - 종자산업을 포함한 수·해양 생명공학을 4대 중점연구과제 중 하나로 선정 및 지원
 - 종자주권 강화를 위한 최첨단 품종 보호 자료 마련에 주력
- (일본) 종자업체 규모별로 차별화된 전략 구사
 - (대규모 회사) 다품목 중심의 생산체제로 국제시장을 공략, (소규모 회사) 품목별로 전문화·특성화를 통해 자국 내 시장을 개척
 - 농가들의 고령화와 경영 규모 확대에 따른 고품질·저비용 종자의 안정적 공급에 주력하면서 육종분야에 대한 정부 지원을 확대
 - 종자업체들은 소비자 지향적인 품종 개발 방식을 도입해 기능성이 강화된 품종 육성에 주력
 - 일본은 종자 수입량은 수출량의 47배에 달하지만, 수입금액으로는 1.3배 수준에 불과
 - ⇒ 대외경쟁력이 높은 고품질 종자를 높은 가격에 수출하는 전략을 구사
- (네덜란드) 곡물보다는 시설원에 분야에 대한 선택과 집중으로 세계시장 주도
 - 수요자 중심의 연구개발과 컨설팅 서비스를 제공하면서 품질의 고급화 정책으로 다른 국가와 차별화를 추진 중
 - 신속한 유통체계를 구축해 유럽 내에서는 1~2일 안에 종자의 검정·유통·수송·판매까지 완료되는 시스템을 구축
 - 종자·재배방법·시설 등을 하나로 묶어 수출하면서 시장을 확대
- (중국)
 - 최근 대규모 집약화된 생산기지가 지속적으로 형성되면서 품종의 다양화, 총생산량, 1인당 소비량 등 전 분야에 있어서 뚜렷한 성장세를 보이고 있음
 - 특히 채소산업은 현재 세계 최대 생산국으로서 WTO 가입 이후 뚜렷한 증가세
 - 1983년부터 약용자원을 탐사한 후 ‘중약재자원보호법’을 공포하여 무분별한 채취로부터 약생자원을 보호하고 약용임산자원의 재배작물화 연구도 활발히 추진
- (인도)
 - 농업이 국민 총생산량의 절반 정도를 차지하고 있어 전 국민 80%가 이에 종사
 - 특히 채소분야에 있어서 일부 분야는 세계 최대 생산국으로 채소 재배면적은 중국 다음으로 넓음
 - ※ 특히 콜리플라워는 세계 1위, 양파 세계 2위, 배추는 세계 3위 생산국

□ 이에 반해, 국내 유수의 종자업체가 외국기업에 인수됨으로써 국내 종자산업은 60% 이상이 다국적 기업의 경영 하에 놓이게 됨

- IMF이후 다국적기업이 국내종자회사 M&A를 통해 국내시장 진출했으며, 5대 회사(농우바이오, 몬산토, 신젠타, 다끼이, 동부하이텍)가 시장의 80% 점유
 - ‘농진종묘’와 ‘서울종묘’가 노바티스에 인수 ⇒ 한국노바티스종묘 ⇒ 한국신젠타 종묘로 변경(1998년)
 - ‘중앙종묘’와 ‘홍농종묘’는 세미니스사에 인수합병

- 현재는 '농우바이오'가 규모가 큰 국내 종자회사로 발전하면서 국내로 진출한 다국적 기업보다 높은 시장 점유율 나타냄



<그림 9> 세계1위 '몬산토'와 국내1위 '농우바이오' 비교

* 우리나라 최대 종자기업인 '농우바이오' 매출액은 30백만원('08)으로 세계 20위권 수준

○ 외환위기 이후 대기업에서 퇴사한 개인육종가에 의해 창업된 소규모 회사간 경쟁이 심화되고, 자체 생산·품질관리 시스템을 갖추고 있지 않아 육성된 품종의 상업화 및 프리미엄 시장 진입에 어려움이 있음

□ **GMO 종자 확대 및 신규 참여 가속화**

- 농산물 시장은 콩, 밀, 옥수수 등 대량으로 생산되는 품종으로 구성된 시장과 다품종 소량으로 생산되는 채소 및 과일 등 Niche 시장으로 구분
- 대량 생산 작물용 종자는 주로 신젠타, 바이엘, 몬산토, 듀폰, 바스프 등 대형 기업들이 공급
- 최근 이들 기업들은 유전자 변형 기술 개발에 집중하면서 점차 유전자 변형 작물(GMO) 종자의 생산량 증대 추세
- 이러한 추세는 기술 발전 및 유전자 변형 작물에 대한 거부감 감소 등의 영향으로 더욱 확대될 전망
- 과거 종자 개발은 시간도 많이 걸리고 성공 확률도 높지 않은 육종 기술에만 의존해 왔던 반면 최근에는 유전자 조작 기술이 발전하면서 보다 쉽게 다양한 종자를 개발할 수 있는 여건이 마련되었으며, 특히, 대형 기업들을 중심으로 대형화 및 집중화 되고 있는 추세

<표 7> 대형 다국적기업의 합병 현황

Company	Sales (Million \$)	M&A , Partnership
Monsanto	4,964 (23%)	. Mondsanto(Corn, Cotton, Soy bean, Canola) + Seminis(Vegetables) + Delta&Pineland(Cotton) * Partnership with BASF (Climate ready gene)
Dupont	3,300 (15%)	. Dupont + Pioneer(corn) + GreenLeaf Genetics(Joint venture) * Partnership with Syngenta(Climaready gene)
Syngenta	2,018 (9%)	. Astrazeneca(Seed) + Novatis(Seed) + Zeraim Geder(Vegetables) * Partnership with Dupont/Pioneer
Limagrain	1,226 (6%)	. Nickerson(Fiels crops) + Advanta Europe(Sun flower, Grass) + Vilmorin & Cie(Fiels crop & Vegetables) * Partnership with Yuan Longping(Hybrid Rice)

○ 한국종자협회가 집계한 국내 종자업체들의 매출액 순위는 2008년 기준 농우바이오가 357억원으로 최고의 매출액을 보임
- 이어서 몬산토코리아(355억원), 신젠타종묘(170억원), 코레콘(155억원), 동부한농(115억원), 사카타코리아(104억원), 아시아종묘(84억원), 해성종묘(77억원), NH종묘센터(71억원) 순

(2) 종자산업의 국내 동향

□ **종자산업 육성을 위한 국가적 차원의 기반 마련**

- 글로벌 수출종자 개발 및 민간육종 인프라 확충 등 종자산업을 고부가가치 성장산업으로 육성(2012년 농식품부 업무 보고)
- 글로벌 수출종자 및 수입대체 품종 개발을 위한 R&D 투자 확대
· 'Golden Seed Project' 추진 계획 마련 중으로 20개 전략품목의 글로벌 수출종자 개발 (농산 : 벼, 감자, 배추, 무, 토마토/축산 : 돼지, 닭/ 수산 : 넙치 등)
* '12~'21년 총 4,911억원 투자, '12년 25억원 투자
· 수입 종자 대체를 위한 '로열티 대응사업단 운영'('12 : 63억원) 및 해외 적용성 시험 확대
* 대상 품목 : 쌀, 국화, 참다래, 버섯, 장미, 난/ 6개 작물

<참고> 국내 종자산업 정책기조의 변화

1. 일제 강점기(1922~) : 식량증산을 위한 국가 관리 체계
2. 이원화 시대(1962~1997) : 농작물 종자법(식량작물 종자 국가 생산 및 공급), 종묘관리법(정부 민간 원예 작물 종자 관리 및 감독)
3. 종자산업법 시대(1998~2009) : 종자산업 육성 및 민간 육종 참여확대, 품종보호제도 도입
4. 2020 종자산업 육성대책(2010~) : 종자생명산업과 신설 등 종자산업육성 본격화

□ 농림수산식품 산업의 지속적인 성장을 위한 종자산업 육성을 위한 대형 사업의 확보로 민간 R&D 활성화 기반 마련

- ‘농림수산식품·농산어촌 비전 2020’에서 농림수산분야 신성장동력 산업 창출을 위해 종자산업 육성 계획 제시(2010년)
 - 인도, 중국 등 신흥시장을 겨냥한 채소 및 화훼류 품종 개발 등을 통해 2020년까지 2억불을 수출하는 업종으로 종자산업 육성 계획

<표 8> 종자관련 농식품부 중장기계획 사업내용

	계획명	주요 내용	근거법령
상위계획	농림수산식품 과학기술육성종합계획 (2010-2014)	동북아 농업유전자원 허브 구축 및 유전자원 부국 실현	농림수산과학기술육성법
	종자산업 육성 중장기계획 (2010-2019)	2020 종자산업 육성대책(안)을 근간으로 금년에 수립 예정	종자산업법
농식품부	농업유전자원기본계획 (2009-2015)	종자강국 실현을 위한 우수 종자·종묘 생산 체계화 실현	농업유전자원 수집·활용법
	수산연구중장기계획 (2006-2015)	양식품종의 생산표준화 및 계획적인 대량 생산체제 구축	해양수산발전 기본법
	수의과학기술개발 연구사업 중장기계획(2006-2014)	첨단 신기술 이용 질병 방제 기술 개발 및 생물유전자원(동물 관련한 미생물 등) 확보 및 보존 관리 강화	가축전염병 예방법
	식물검역기술개발 종합계획 (2010-2015)	농산물 수출 확대 및 신 성장 검역지원 확대	식물방역법
	친환경농업육성계획 (2006-2010)	병해충 정밀예찰과 복합 내재해성 품종 선발연구	친환경농업 육성법
	제2차 농업생명공학육성계획 (2007-2016)	육성소재 활용으로 세계 5위권 종자산업 강국 도약	생명공학 육성법
농진청	제5차 농업과학기술중장기 연구개발계획(2009-2017)	유전자원확보 및 증식/특성 평가, 자원과 육종 프로그램 연계	농촌진흥법
	제5차산림기본계획 (2008-2017)	지속 가능한 녹색복지국가 실현으로 세계 10위의 산림관리 선진국 도약	산림기본법
산림청	산림과학기술개발기본계획 (2008-2017)	임업경쟁력 제고를 위한 생산기반기술 개발, 환경적 기능증진 기술개발, BT기술을 이용한 임산물 고도화 및 산림지식정보의 체계화 등	산림자원의 조성 및 관리에 관한 법률

<참고 : 종자 분야의 해외 주요 기업의 사업 및 R&D 현황>

(1) 몬산토(Monsanto company)

○ 세계 종자시장의 최강자 몬산토

- 세계 3대 종자기업(몬산토, 듀폰, 신젠타) 중 하나인 몬산토는 세계 최대 종자업체로 전체 시장의 약 20%를 차지

※ 국내 상업 종자시장 규모(국내 기업 채소종자 판매 기준)는 2008년 기준 1,849억원으로 농우바이오가 1위(357억원), 몬산토코리아가 2위(355억원), 신젠타종묘가 3위(10억원), 코레콘이 4위(155억원), 동부하이텍이 5위(115억원) 규모

○ 인수합병과 GM 기술 도입 통해 다국적 종자 기업으로 변모

- 1982년 식물세포 유전자 조작으로 GM 작물을 도입하여 생명공학 제품들의 판매가 시작되었고, 1996년 라운드업 레디 대두가 도입되어 라운드업 제조제 저장성 종자를 판매함
- 이후 수많은 종자 기업들을 인수하면서 규모를 확대해 세계1위 종자 기업으로 성장함
- 2009년 매출액이 117억달러이며 순이익이 21억 9백만 달러이며 최근 이익마진은 18%에 이르고 그 중 종자 판매와 제조제 판매로 얻는 마진이 상당히 큼
- 주력 제품은 크게 종자 사업과 제조제 사업이며 종자 사업 중 매출의 35.1%를 차지하는 옥수수사업이 가장 큰 비중을 차지하고, 라운드업 및 글라이포세이트 제조제가 30.1%를 차지함

○ 특허기술독점을 통한 GM 작물의 확대

- 몬산토는 R&D 투자는 2009년 약 11억 달러로 이는 최근 5년간 국내 종자 R&D 투자액(3,224억원)의 4배가 넘는 액수이며, 5년간 농림수산식품 전체 R&D 투자액(1조 4,883억원)과 맞먹는 큰 액수임
- 생명공학기술을 적용한 GM 작물의 종자개발을 위주로 연구개발을 진행하고 있으며 유전체 스크리닝과 분자유종기술을 이용해 유전자를 발견한 후 총 3단계에 걸쳐 사용 승인된 제품을 시장에 출시함

(2) 신젠타(Syngenta AG)

○ 인수합병을 통한 농약 및 종자회사 신젠타의 탄생

- 노바티스의 작물보호 사업과 아스트라제네카의 농약사업이 합병되어 상장회사로 등록되었으며, 스위스 바젤에 본사를 두고 있음
- 대표적인 제품으로 제조제, 살충제, 살균제, 작물 및 원예 종자가 있음
- 작물 보호 사업에서는 세계 1위, 종묘 사업에서는 세계 3위의 시장 위치를 차지하고 있으며, 국내에서는 2001년 신젠타 코리아(주)와 신젠타 종묘(주)로 사업을 시작하였음

○ 인수합병을 통한 사업 확장

- 2007년 피서를 인수해 유럽 화훼시장의 강자가 되는 한편 중국 최고의 옥수수 종자회사 산베이스드의 지분 49%를 취득함
- 2009년 전체 회사 매출이 110억 달러이며 순이익은 13억 7천만 달러로 이익마진이 12.5%에 이르며 이는 국내 농림수산식품 전체 R&D 투자액의 5배가 넘는 큰 액수임
- 작물보호 분야가 전체 매출의 약 77.2%를 차지하며 제조제, 살균제, 살충제, 종자처리 제품 등이 핵심제품임

○ 통합 R&D 파이프라인

- 2008년 R&D 투자액이 969백만 달러이며 이중 종자연구에 35%이상을 투자하고 있어 향후 사업 확대가 예상됨
- 신젠타는 미래수요를 예측해 연구를 계획하며 기본 화학에서부터 유전체 연구에 이르기까지 잘 확립된 8개 핵심기반기술을 통해 환경에 위해가 없고 수확량이 많고 병충해에 강한 종자 개발로 통합 농경법을 개발하고 있음
- 약 4,000명의 연구원들이 5개 R&D센터에서 근무하고 있으며 전략적 제휴를 통해 세계 400여개 연구기관과 기술협력을 맺고 있음

(3) 듀폰(E.I du pont de Nemours and Company)

○ 파이오니아 Hi-bred 인수로 화학회사에서 농업회사로 변신

- 미국에 기반을 두고 전 세계 90여 개국에 광범위한 산업분야에 혁신적인 제품과 서비스를 공급하고 있는 과학기술회사이며 델라웨어워싱턴에 본사를 두고 6만여 명의 직원이 근무 중임
- 1990년대에 들어서 21세기에는 화학에 생물학을 접목시켜 바이오산업, 소재산업 등 지식기반의 식량산업이 새로운 성장 동력이 될 것이라 판단 하에 회사 구조조정을 통해 섬유부문 매각 후 종자회사 파이오니아Hi-Bred를 인수함
- 2009년 매출은 261억달러로 농업영양 사업을 지속적으로 확대하여 83억 달러의 매출액을 보이고 있으며, 이 중 종자산업은 매출액의 50%를 차지하는 주력 제품임

○ R&D에 기반을 둔 지속가능한 듀폰의 성장 전략

- 전 세계 곡물수요를 맞추고 농업인들의 생산성 향상을 위한 작물유전학연구개발부에서 분자유종기술 등 생명공학기술을 집중적으로 개발하고 있고 다양한 기술을 도입하고 광범위한 데이터베이스를 이용하고 있음

(4) 바스프(BASF SE)

○ 혁신을 통한 R&D 성공 전략

- 작물보호사업부는 농업생산성과 영양을 증진시켜 삶의 질 향상시키는 세계의 선도적인 혁신기업을 비전으로 작물보호제품 R&D에 2억 유로 이상의 매우 높은 개발비용과 대규모 인력, 평균 10년의 시간을 투자
- 최근 R&D 투자를 크게 늘리고 있으며 2009년 작물보호분야에 355백만 유로를 투자하여 2010년 22억 유로 판매를 목표로 제품을 생산하고 있으며 매년 약 10% R&D 재투자를 하고 있음

○ 차세대 성장동력 식물생명공학 - 종자회사 및 연구소들과의 연구협력 협정을 통해 연구개발을 강화하고 있으며 산업용 GM 작물 생산을 진행하고 있음

(5) 바이엘 크롭사이언스(Bayer Cropscience AG)

○ 인수합병으로 농약 및 종자 회사로 탄생

- 바이엘은 150개 국 이상에서 350여 개의 자회사 및 계열사를 가지고 있으며, 300억 유로가 넘는 매출을 올리고 있는 다국적 기업으로 직원은 108,400명으로 매년 25억 유로 이상을 R&D에 투자하고 있음

- 바이엘 크롭사이언스는 64억 유로의 매출을 올리고 있는 글로벌 농약 및 종자회사로 신진 타에 이어 세계에서 두 번째로 큰 회사로서 작물보호제품이 전체 회사 매출의 83.4%를 차지하고 있음
- 2009년 R&D 투자액은 653백만 유로이며 이는 바이엘 전체 R&D 투자의 23.8%에 해당되며 바이엘 크롭사이언스의 매출액의 10%에 해당될 정도로 많은 투자를 하고 있음

(6) 다우 애그로사이언시스(Dow AgroSciences LLC)

- 2009년 매출액은 466억 달러로 농업과학 부문에서 45억 달러로 농약 및 종자분야의 다국적 기업으로 살충제 분야에서 세계 1위의 기업
- 2009년 R&D에 매출액 대비 3.2%를 투자하였으며 농업과학 부문이 기능성 플라스틱 다음으로 가장 많은 특허를 보유함

(7) 사카타(Sakata, 日) : 아시아 최대의 종자기업

- 1913년 설립된 아시아 최대 종자기업으로 2010년 465억 엔의 매출과 10억 엔의 순이익을 달성한 세계 8위의 다국적 기업임
 - 채소와 화훼종자에 특화하여 그 비중이 70%에 육박하고 있으며, 우리나라를 비롯하여 급속도로 성장하고 있는 인도, 중국에서의 점유율 확대가 기대되어 향후 수익성 증대가 예상되고 있음
- 미국 및 유럽 등 다국적 기업의 시장지배력 확대로 수익성 약화에 대한 우려감도 있으나 2009년 매출의 8.1%인 36.6억 엔을 R&D에 지출하는 등 채소 및 화훼종자 시장에서의 경쟁력 강화를 위한 지속적인 투자가 이루어지고 있음

<참고> 농우바이오(韓) : 국내 채소종자 1위 업체

- 1981년 농우종묘사를 시작으로 종자산업에 진출하여 현재 중국, 인도네시아, 미국, 인도 등에 현지법인을 설립하여 국내 최대의 채소종자 기업으로 성장하였음 (2009년 기준 460억원 매출, 순익 80억 규모, 이중 R&D 투자 규모는 67억원)
 - 국내 채소종자 시장의 22%를 차지하고 있으며, 전체 매출 중 채소종자부분이 89.2%로 높은 비중을 차지하고 있음. 특히 고추(24.6%), 무우(18.5%), 수박(17.3%), 참외(8.4%) 등의 매출 비중이 높게 나타남
- 국내 환경에 적합한 품종 개발과 기술적 노하우 및 지속적인 R&D로 내수 시장에서 다국적 기업과 경쟁하고 있으나, 과당경쟁으로 인한 낮은 수익성으로 R&D에 대한 비용 부담이 증가하고 있음

나. 채소종자의 국내·외 동향

(1) 채소종자의 국외 동향

□ 전 세계 채소 종자 시장은 3조8천억 원(2008년 기준)이며 한국은 1,753억 원 규모이고 이중 한국의 배추과 종자시장은 465억 원 규모

- 특히, 향후 수출 주 대상국인 중국의 채소 종자시장은 2010년 기준 약 3억6000만 달러 수준
 - 중국 종자시장은 약 45억 달러 수준이며, 채소는 약 8% 비중
 - 특히 고추의 비율이 14.8%, 토마토 12.4%, 오이 12.3%, 양배추 10.2%를 보이고 있으며 그 뒤를 수박, 배추, 무 등이 이어감
 - 그러나, 아직 중국의 채소 종자시장은 저렴한 일반종 시장이 주를 이루고 있을 뿐 상대적으로 교배종 시장이 작음
 - 중국은 종자 시장이 4가지 형태로 구성 : 1)수입 F1 hybrid 시장(27%), 2)가공수출 시장(13%), 3)지방 F1 hybrid 시장, 4) OP(일반종)종자시장(51%) 그리고 국내 일반종 시장(9%)으로 구분
 - 수입 F1 종자시장은 외국 회사 간 경쟁이 심화되고 있으며 F1 hybrid의 종자비율은 약 85% 수준.
 - 수입 F1 hybrid시장은 고부가가치 시장이나 유사 품종으로 인해 가격이 하락하고 있는 추세이지만 단독 품종에 한해서는 고가에 형성
 - 특히 지방 F1 hybrid시장 및 OP종자시장은 지방 회사 간 경쟁이 치열하다보니 저가시장이 형성되고 있으며, 이 시장은 잠재력이 매우 크기 때문에 외국회사가 M&A, 매입 등을 통해 시장 진입 방안을 모색하고 있는 특징을 지니고 있음
- 중국 종자시장 일반 현황과 향후 전망
 - 중국의 종자시장은 농업인구 감소에 따라 지속적으로 좁아질 것으로 전망되며 재배안정성과 수량성, 우수한 품질의 요구가 강하게 조성
 - 이에 따라 당근을 비롯해 고추 등의 종자 시장은 교배종으로의 옮겨지고 있는 추세로 교배종 전환으로 인해 중국 현지 품종보다 외국 품종의 선호도가 높아지고 있음
 - 그러나 이러한 중국도 재배의 안정성, 수량성, 품질의 우수성 등을 고려한 교배종 시장으로 점차 종자시장이 변화되고 있어 향후 중국의 종자시장은 3~10배까지 증가할 것이란 전망 예측
 - 8000개의 중국 종자 회사 중 현지 회사의 총 매출은 2억 6000달러에 이르며 외국계 회사의 매출액은 약 1억 달러 수준
- 중국 정부의 종자에 대한 변화
 - 중국 고품질 종자에 대한 강한 요구
 - 중국은 지적재산권 보호에 대해 미온적인 태도를 보이고 있어 복제 품종이 늘어남에 따라 시장 경쟁력이 약화되고 있음
 - 이에 따라 외국 종자 회사들은 양질의 달러를 확보하기 위한 과당 경쟁으로 종자 공급 가격의 하락을 초래하고 있으나 상대적으로 고품질의 종자에 대한 요구도 강해지고 있음

- 중국의 종자 유통은 외국기업이 연구, 생산, 유통 조직을 갖춘 현지 메이저 업체와 생산, 유통 조직만을 갖춘 현지 중소 업체에 공급하며 이들은 다시 군소업체와 소매장 등을 통해 농가에 전달되고 있음
 - 이처럼 외국 기업들은 유통 조직이 취약함에 따라 현지의 메이저 및 중소 업체를 위주로 한 판매망을 활용하고 있음
 - ※ 출처 : 농수축산 신문 기획기사, 중국 종자시장 현황과 과제
- 2011년 발표된 2009년 기준 FAOStat 통계자료에 따르면 전 세계 배추과 작물의 재배 면적은 3,125,270 ha
 - 중국이 전체의 58% (1,819,377 ha)로 가장 넓은 재배 면적을 보유
 - 그 다음으로 인도 3.6% (266,000 ha), 러시아 1.4% (114,530 ha)로 나타났으며, 한국은 재배면적이 43,144ha로 총 재배 면적의 1.3%로 7위를 기록
- 또한 배추생산량은 전체 약 69,682천 톤 중 중국이 30,215천 톤으로 전체 생산량의 53.2%를 차지
 - 다음으로 인도 6,869천톤 (8.4%), 러시아 3,312천톤 (4.5%), 한국 3,100천톤 (4.1%)의 순으로 나타남 (FAO Stat, 2011)

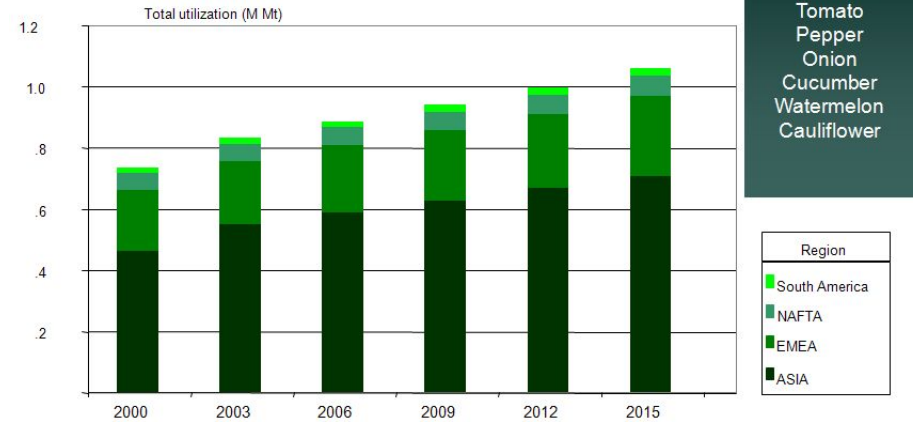
<표 9> 전 세계 주요 국가 배추 생산량

(단위 : 천톤)

주요생산국	년도					
	2004년	2005년	2006년	2007년	2008년	2009년
China	33,598	32,552	31,625	30,529	30,917	30,215
India	5,594	6,113	5,637	5,584	5,910	6,869
Russian Federation	4,067	4,051	4,073	2,661	3,169	3,312
Republic of Korea	3,139	2,602	3,068	2,537	2,901	3,100
Ukraine	1,544	1,475	1,490	1,309	1,677	1,509
Japan	2,166	2,288	2,314	1,359	1,389	1,300
Indonesia	1,432	1,292	1,267	1,288	1,323	1,335
Poland	1,432	1,381	1,249	1,389	1,256	1,337
Romania	924	1,011	1,112	899	967	1,004

- 세계 채소 소비량에서도 아시아가 주도하는 형태
 - 2009년 기준, 아시아권이 차지하는 비중은 약 67% 수준으로 아시아권에서 채소류의 소비가 가장 큰 것으로 파악

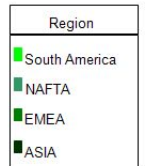
Consumption by region



<그림 10> 전 세계 채소 소비량 추세

Leading growth products

- Tomato
- Pepper
- Onion
- Cucumber
- Watermelon
- Cauliflower



(2) 채소종자의 국내 동향

- 국내 종자시장 규모는 약 5,810억 원으로 추정되며 전 세계 종자시장의 약 1.1%에 해당
- 규모면에서는 채소종자의 규모가 가장 크며, 다음으로 화훼 종자, 벼 등의 순서인 것으로 추정
- 국내 채소 종자시장은 '10년 기준 1,753억 원 정도이며, 단일 작물로는 고추(292억원), 무 (271억원), 양파(213억원), 배추(149억원) 순

2010년 국내 채소종자 매출액



(전체 : 1,753억원)

2010년 국내 채소종자 수출액



전체 : 266억원

2010년 국내 채소종자 순수입액



전체 : 110억원

<그림 11> 국내 채소종자 시장 현황

* 출처 : 한국종자협회

- 그러나, 영세한 군소 회사들이 많아 종자 생산기반이 취약함
- 몇 개의 상위 업체를 제외하고는 자본, 인력, 매출액 등이 소규모로 국제 경쟁력이 매우 취약함
- IMF 관리체제 이후 외국 종자기업의 국내 진출이 본격화되어 종자 산업이 선진화 되는 등 여건이 크게 변화됨

- 채소품종 개발수준은 미국, 일본, 네덜란드 등 종자개발 선진국에 비해 다소 떨어지지만 중국, 동남아, 남미보다는 앞서는 수준

<표 10> 주요 선진국과의 기술수준 비교

구분		기술수준	
		국내	미국, 일본
육종기반기술	병충해 저항성 조기검정기술	○	◎
	종간교접기술	◎	◎
	약배양 및 배양 기술	◎	○
	식물체 재분화 기술	◎	◎
	조기선발 Molecular Marker 탐색	△	◎
	유전자원 평가, 보존 및 정보관리	○	◎
육종기술	내병성 육종	○	◎
	원형질체 융합기술	◎	◎
	품질육종	○	○
	돌연변이 육종	○	○
	분자유전, 육종	○	◎
채종 종자처리 종자관리기술	자가불화성 검정 및 활용기술	◎	○
	응성불임성 검정 및 활용기술	◎	○
	종자처리 및 가공기술	△/○	◎
	종자 전염병, 해충 검정 및 방제기술	○	◎
	종자유전 순도검정 및 종자세 검사기술	○	◎
	품목별 채소 저장 기술	◎	◎

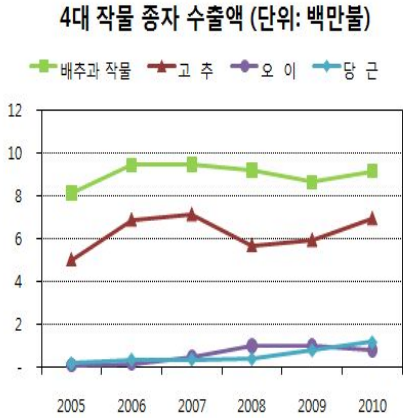
* △: 중하위, ○: 중상위, ◎: 상위

* 출처 : 종자산업의 동향과 국내 종자기업 육성 방안, 2010, 농촌경제연구원

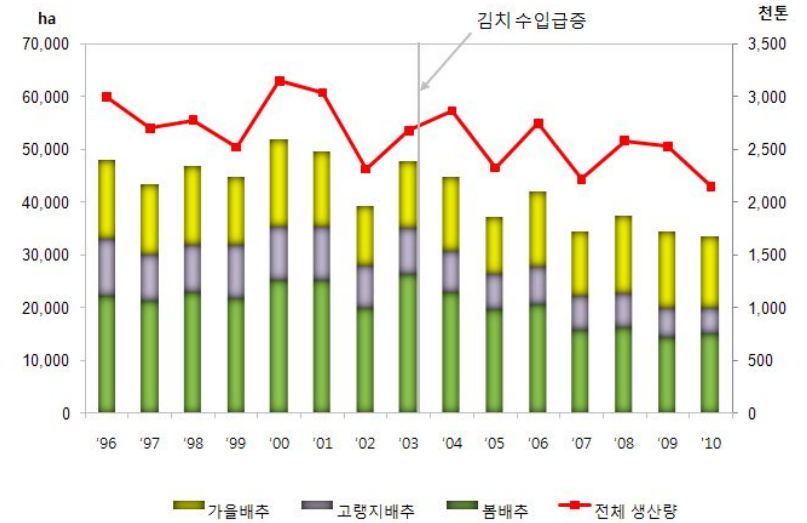
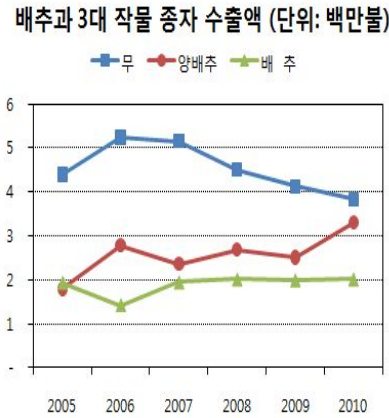
- 국내 재배면적이 많은 배추, 무, 고추 등은 분자마커개발 등의 기술에서 세계적 경쟁력을 확보
- 내병성, 조기선발용 분자마커 탐색 기술은 세계적 수준에 도달
- 또한, 배추, 무, 고추 등 일부 품목은 육종기술 측면에서 세계적 경쟁력을 확보하고 있으나, 생명공학기술을 접목한 다국적 종자회사들과의 경쟁에서는 열세에 있음
- ☞ 배추, 고추, 무 등 우리나라가 강점을 갖고 있는 채소작물의 신품종 개발 및 종자 산업을 육성하여 차세대 새로운 성장 동력 확보 필요

□ 배추과 채소작물(무, 배추, 양배추)는 벼, 고추와 함께 우리나라 3대 주요 작물

- 채소 중 연간 생산량 1위, 생산액은 9천 3백억으로 전체 채소 생산액의 12%에 해당 (2010 농림수산물통계연보)
- 특히 배추과 작물은 4대 작물 가운데 종자 수출액 1위 작목으로 2010년 384만 달러의 수출 실적을 달성



<그림 12> 배추과 종자 수출 현황



<그림 13> 배추 재배면적과 생산량 동향

* 출처 : 배추 수급동향 및 전망과 과제, 신유통포커스, 11-12호, 2011

□ 채소재배면적, 생산량 및 생산액 변화

- 국내 채소 재배면적은 '95년을 정점으로 점차 감소하고 있지만, 생산성 증대로 생산량, 생산액은 일정수준으로 유지되고 있으나 국내시장의 확대를 기대하기는 어려운 실정임
- 재배면적 : ('95) 403천ha ⇨ ('00) 386 ⇨ ('08) 275 ⇨ ('09) 280
- 생산량 : ('02) 9,796천톤 ⇨ ('05) 9,584 ⇨ ('07) 9,394 ⇨ ('09) 10,336
- 생산액 : ('02) 677백억원 ⇨ ('04) 767 ⇨ ('08) 721

□ 채소종자 생산량

- 우리나라 주요 채소종자 총생산량은 2010년 기준 총 1,238톤이고, 작물별로는 무 589톤, 시금치 177톤, 배추 90톤, 파 79톤 순
- 채소종자 생산량에서 가장 큰 비중을 차지하는 작목은 무이며, 다음으로 배추와 시금치 순임
- 2000년 이후 채소종자 생산량은 감소추세*인데 이는 종자 생산량이 가장 많은 배추와 무의 재배면적이 감소**하기 때문
- * 배추/무 생산량 : (1990년)110톤/460톤 ⇨ (2000년) 292톤/1,080톤 ⇨ (2009년) 134톤/540톤
- ** 배추/무 재배면적 : (2000년)51,801ha/40,238ha ⇨ (2005년) 37,203ha/ 27,103ha ⇨ (2009년) 34,321ha/23,780ha
- 특히, 배추는 2003년 이후 중국산 김치 수입이 급증하면서 재배면적 및 감소율이 증가하는 추세임

- 총 생산량 중 해외채종은 1,022톤이며 작물별로는 무 468톤, 시금치 166톤, 파 77톤, 양배추 63톤, 당근 39톤 순임
- 해외 채종비율이 해마다 지속적으로 증가 : 국내지가 및 노임상승에 따른 생산비 증가로 채종여건의 악화 및 기후조건 등 품목특성에 따라 국내 채종의 어려움이 수반
- * 국내 인건비 상승으로 상대적으로 임금이 싼 중국, 태국 등 채종비용 부담이 적은 국가에 종자생산기지 확보 추세이며, 채소의 특성상 6,7월 우기에 채종하게 되어 동 기간 중 이탈리아, 뉴질랜드, 미국 등 건기에 속하는 국가에서 채종하게 되는 경우가 많아짐
- 해외채종비율은 82.6%이며, 배추, 무, 양파, 참외, 상추를 제외하면 90% 이상을 해외에서 채종하고 있음
- 특히, 배추인 경우에는 외국에 비해 채종조건이 불리하지 않아 타 작목보다 해외채종 비중이 가장 낮은 것으로 나타남(33.7%)
- > 배추는 타 채소에 비해 채종 시기가 장마철 이전이므로 국내 채종이 불리하지 않아 해외채종비율이 높지 않은 편임
- * 2010년 기준 해외채종 비중이 배추는 33.7%로 가장 낮은 비율을 나타내고 같은 엽채류인 양배추는 92.9%, 시금치는 94.3%에 이룸(출처 : 한국종자협회)

<표 11> 2010년 작물별 해외채종 비율

(단위 : kg, %)

작 물	총생산량	국내생산	해외채종	해외채종율
고 추	35,907	1,502	34,405	95.8
당 근	39,672	325	39,347	99.2
무	589,105	120,690	468,416	79.5
배 추	89,734	59,467	30,268	33.7
상 추	36,501	4,648	31,853	87.3
수 박	13,123	426	12,698	96.8
시금치	176,622	10,097	166,525	94.3
양배추	68,018	4,811	63,207	92.9
양 파	40,508	9,183	31,325	77.3
오 이	15,517	796	14,721	94.9
참 외	780	220	560	71.8
토마토	1,219	92	1,126	92.4
파	79,350	2,567	76,783	96.8
호 박	16,956	451	16,505	97.3
계	1,238,173	215,714	1,022,459	82.6

* 출처 : 한국종자협회 정회원사 제출자료에 근거

○ 채소종자의 자급률에서 배추를 포함한 7개 품목이 거의 100% 수준에 육박

- 특히 총생산량 대비 자급률을 비교하면 배추가 최대 생산량을 나타내었으며, 수출량에 비해 수입량은 거의 없는 것으로 파악
- 배추는 중국, 일본, 태국 등이 주요 수출국으로 나타났으며 이는 향후 배추사업단 글로벌 수출전략에서 배추종자의 해외 수출화 진출 방향에 대한 근거

* 2009년 기준 배추 주요 수출국 비중 : 중국(46.5%), 일본(17.4%), 태국(12.7%) 순임

<표 12> 채소종자 자급률(2010)

(단위 : kg, %)

작 물	총생산량(A)	수출량(B)	A-B	순수입량(C)	자급률 C/(A-B)
고 추	48,853	16,615	32,238	0	100.0
당 근	39,591	32,379	7,212	3,727	48.3
무	543,233	277,563	265,670	108,975	59.0
배 추	134,281	38,489	95,792	43	99.6
상 추	46,714	555	46,159	128	99.7
수 박	17,808	1,323	16,485	56	99.7
시금치	129,084	3,745	125,339	35,964	71.3
양배추	78,807	25,494	53,313	84	99.8
양 파	39,568	3,311	36,257	5,219	85.9
오 이	23,317	13,370	9,947	18	99.8
참 외	1,704	89	1,615	0	100.0
토마토	1,688	1,163	525	227	56.8
파	77,585	1,356	76,229	9,295	87.8
호 박	23,707	6,094	17,613	1,192	93.2

□ **채소 품종보호 출원 및 등록 현황**

- 채소 작물별 품종보호 출원현황은 38작목에 921품종임(등록 507품종, '10)
 - 고추 200, 배추 128, 무 116, 수박 93, 상추 69, 오이 65 품종 등
- 최근에는 종속간 교잡종도 품종 출원 및 등록이 이루어지고 있음('08~'10)
 - 배추 x 파초이(청경채, 백경채, 백채), 파초이 x 경수채, 케일 x 꽃양배추, 녹색꽃양배추 x 꽃양배추 등

□ **국내 채소종자의 수출입 현황**

1) '10년도 수출 현황 분석

- 전체 수출 물량은 348톤으로 전년대비 23.6% 감소한 반면, 금액은 23백만불로 약 18% 증가하였음
 - 작목별로 살펴보면 고추 700백만불, 무 380, 양배추 330, 배추 200만불로 4개 작목이 전체의 70%를 차지하고 있음

2) '10년도 수입 현황 분석

- 전체 수입물량은 1,349톤으로 전년대비 18% 증가하였으나, 금액은 39백만불로 4% 증가하였음

3) **채소종자 수출입 현황과 문제점**

- 채소는 전체 국내 종자시장에서 가장 많은 수출입 현황을 보이고 있어 채소시장의 흐름은 국내 전체 종자시장의 변화를 파악하는 중요한 지표임
 - 수출 주력 종자로서 세계적 작물의 종자는 미흡
- 채소종자의 수출은 1990년부터 10년간 3배 증가하는 등 연평균 11.4%의 증가율을 보였으나 2000년도 이후에는 답보상태임
 - 610('90) ⇨ 1,734('99) ⇨ 1,800('00) ⇨ 1,905('08) ⇨ 2,302만불('10)
- 1990년대 초반까지만 해도 채소종자 수출액의 72%이상이 무(59.1%), 배추(13%)에 한정되었으나, 최근 고추 및 양배추, 당근, 오이로 다변화되면서 수출이 증가됨

□ **국내 채소종자기업의 현황 및 동향**

- 채소종자업체가 우리나라 종자교역을 주도하여 왔으나 업계의 여러 여건을 감안할 때 향후 수출증대가 어려운 구조임
 - 흥농, 중앙 등 주요 종자회사가 다국적기업에 매각되고, 다국적 기업의 현지화 전략으로 현지개발(해외 채종)하여 현지에서 판매함으로써 수출실적으로 보기 어려움
 - 국내 종자업체도 과거에는 해외채종 후 국내에 들여와 가공 후 재수출 하였으나, 현재는 중국, 인도에 종자가공 시설을 설치하고 현지에서 생산·판매하고 있음
 - 농업의 글로벌 트렌드는 노지재배에서 시설재배로 빠르게 이동하여 고가 종자생산에 주력하고 있는데 우리나라는 “저가 종자 수출 ⇨ 고가 종자 수입” 구조로 집중적 투자가 없으면 종자산업의 수입역조 현상이 심해질 것임
- * 특히 고가 수입종자는 환율상승 등의 외적요인에 의해 종자가격이 상승함

〈참고〉

채소종자 자급률(2010)

(단위 : kg, %)

작 물	총생산량 (A)	수출량 (B)	A-B	순수입량 (C)	자급률 C/(A-B)
고 추	48,853	16,615	32,238	0	100.0
당 근	39,591	32,379	7,212	3,727	48.3
무	543,233	277,563	265,670	108,975	59.0
배 추	134,281	38,489	95,792	43	99.6
상 추	46,714	555	46,159	128	99.7
수 박	17,808	1,323	16,485	56	99.7
시금치	129,084	3,745	125,339	35,964	71.3
양배추	78,807	25,494	53,313	84	99.8
양 파	39,568	3,311	36,257	5,219	85.9
오 이	23,317	13,370	9,947	18	99.8
참 외	1,704	89	1,615	0	100.0
토마토	1,688	1,163	525	227	56.8
파	77,585	1,356	76,229	9,295	87.8
호 박	23,707	6,094	17,613	1,192	93.2

〈참고〉 채소 품종보호 출원 및 등록현황(2010. 12. 31)

작 물	연도별 출원 실적(건수)						
	합계	2006까지	2007	2008	2009	2010	등록실적
소계(38)	921	492	117	101	93	118	507
무	116	66	13	11	12	14	68
배 추	128	81	15	7	8	17	80
양배추	18	2	11	1	0	4	12
고 추	200	99	21	28	22	30	104
토마토	55	29	6	7	7	6	26
오 이	65	43	9	5	5	3	44
참 외	35	15	5	10	5	0	16
수 박	93	60	10	2	10	11	46
호 박	32	24	1	7	0	0	25
과	4	2	0	0	1	1	1
양 과	32	8	4	8	3	9	12
당 근	12	2	0	1	4	5	1
상 추	69	40	11	8	4	6	47
시금치	2	2	0	0	0	0	1
녹색꽃양배추	2	0	2	0	0	0	2
부 추	1	0	1	0	0	0	0
팍초이	4	2	2	0	0	0	4
근 대	2	0	0	1	1	0	0
신선초	1	0	0	0	1	0	0
갓	9	1	3	2	1	2	4
대목용 박	3	2	1	0	0	0	2
케 일	2	0	1	0	1	0	1
마 늘	2	0	0	0	1	1	0
순 무	3	1	0	0	2	0	0
순무양배추	2	0	0	0	0	2	0
생 강	1	0	0	0	0	1	0
멜 론	16	10	1	1	1	3	10
미나리	1	0	0	0	1	0	0
배추X양배추	1	1	0	0	0	0	0
배추X순무	1	1	0	0	0	0	0
배무채	1	1	0	0	0	0	1
호박(폐포계)	1	0	0	0	1	0	0
호박(동양계)	1	0	0	0	0	1	0
호박(서양계)	1	0	0	0	0	1	0
배추x팍초이	1	0	0	1	0	0	0
팍초이x경수채	1	0	0	1	0	0	0
케일x꽃양배추	2	0	0	0	2	0	0
녹색꽃양배추x꽃양배추	1	0	0	0	0	1	0

〈참고〉 2010년 채소종자 생산량

(단위 : kg, %)

작 물	총생산량	국내생산	해외채종	해외채종율
고 추	35,907	1,502	34,405	95.8
당 근	39,672	325	39,347	99.2
무	589,105	120,690	468,416	79.5
배 추	89,734	59,467	30,268	33.7
상 추	36,501	4,648	31,853	87.3
수 박	13,123	426	12,698	96.8
시금치	176,622	10,097	166,525	94.3
양배추	68,018	4,811	63,207	92.9
양 과	40,508	9,183	31,325	77.3
오 이	15,517	796	14,721	94.9
참 외	780	220	560	71.8
토마토	1,219	92	1,126	92.4
과	79,350	2,567	76,783	96.8
호 박	16,956	451	16,505	97.3
대목용 고 추	116	116	0	0.0
대목용 수 박	0	0	0	0.0
대목용 오 이	0	0	0	0.0
대목용 참 외	40	40	0	0.0
대목용 토마토	52	40	12	22.7
대목용 호 박	34,952	245	34,707	99.3
계	1,238,173	215,714	1,022,459	82.6

※ 산출근거

가. 해외채종

1. 해외채종은 수입요건확인 신청내역을 근거로 함
2. 재수출용, 비판매용은 해외채종에 포함 함
3. 단고추는 고추에 포함 함

나. 국내생산량 : 한국종자협회 정회원사 제출자료에 근거 함

〈참고〉 작물별 채소종자 수출 대비표 (2010/2009년)

(단위: kg, US\$)

작 물	2010년		2009년		전년 대비 증감		전년대비율(%)	
	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액
고 추	12,058	6,953,718	16,615	5,949,789	-4,557	1,003,929	72.6	116.9
당 근	42,503	1,198,022	32,379	820,802	10,124	377,220	131.3	146.0
무	166,982	3,835,682	277,563	4,127,350	-110,631	-291,668	60.1	92.9
배 추	33,258	2,018,667	38,489	1,998,860	-5,231	19,807	86.4	101.0
상 추	1,028	37,941	555	23,589	473	14,352	185.2	160.8
수 박	1,841	151,103	1,323	73,788	518	77,315	139.2	204.8
시금치	1,334	11,768	3,745	52,460	-2,411	-40,692	35.6	22.4
양배추	31,927	3,300,122	25,494	2,515,059	6,433	785,063	125.2	131.2
양 과	1,918	346,850	3,311	270,092	-1,394	76,758	57.9	128.4
오 이	10,987	816,532	13,370	1,032,979	-2,383	-216,447	82.20	79.0
참 외	80	18,500	89	28,243	-9	-9,653	89.7	65.8
토마토	906	918,252	1,163	676,208	-257.2	242,045	77.9	135.8
과	7,967	301,629	1,356	50,989	6,611	250,640	587.6	591.6
호 박	8,800	587,656	6,094	405,071	2,707	182,585	144.4	145.1
기 타	26,656	2,520,442	34,250	1,537,864	-7,594	982,578	77.8	163.9
계	348,195	23,016,974	455,796	19,563,141	-107,601	3,453,833	76.4	117.7

〈참고〉 주요 채소종자 총수입 대비표 (2010/2009년 대비)

(단위 : kg, US\$)

작 물	2010년			2009년		전년동기 대비 증감		
	수량	금액	금액비 (%)	수량	금액	수량	금액	금액비 (%)
고추(일반용)	34,221	2,488,007	6	47,055	2,955,446	-12,834	-467,439	84
고추(대목용)	0	0	0	182	24,586	-182	-24,586	-
고추 계	34,221	2,488,007	6	47,237	2,980,032	-13,015	-492,025	83
단고추(일반용)	280	2,137,899	6	252	1,859,861	28	278,038	115
단고추(대목용)	0	0	0	0	0	0	0	0
단고추 계	280	2,137,899	6	252	1,859,861	28	278,038	115
당 근	43,089	1,940,820	5	42,972	1,540,775	117	400,045	126
무	646,504	3,880,821	10	494,306	4,065,734	152,198	-184,913	95
배 추	30,367	342,439	1	53,853	301,760	-23,486	40,679	113
상 추	32,139	449,335	1	45,928	1,055,036	-13,789	-605,701	43
수박(일반용)	12,792	1,045,519	3	16,975	1,450,089	-4,183	-404,569	72
수박(대목용)	0	0	0	592	11,364	-592	-11,364	-
수박 계	12,792	1,045,519	3	17,567	1,461,453	-4,775	-415,933	72
시금치	285,463	2,249,254	6	161,019	1,282,699	124,445	966,554	175
양배추	63,371	2,536,807	7	75,041	2,450,749	-11,670	86,058	104
양 과	37,997	11,545,527	30	37,314	8,755,323	683	2,790,204	132
오이(일반용)	14,721	675,635	2	22,472	1,067,601	-7,751	-391,966	63
오이(대목용)	0	0	0	0	0	0	0	0
오이 계	14,721	675,635	2	22,472	1,067,601	-7,751	-391,966	63
참 외	560	69,555	0	1,462	129,265	-902	-59,710	54
토마토(일반용)	1,214	3,838,428	10	1,807	4,668,486	-593	-830,058	82
토마토(대목용)	12	99,875	0	149	1,310,909	-138	-1,211,035	8
토마토 계	1,226	3,938,302	10	1,956	5,979,395	-730	-2,041,093	66
과	90,324	2,514,381	6	82,096	1,697,703	8,227	816,678	148
호박(일반용)	17,364	1,771,937	5	23,178	1,234,775	-5,814	537,162	144
호박(대목용)	38,458	1,188,625	3	37,310	1,350,880	1,148	-162,255	88
호박 계	55,822	2,960,562	8	60,488	2,585,655	-4,666	374,907	114
계(일반용)	1,310,406	37,486,365	97	1,105,729	34,515,303	204,678	2,971,062	109
계(대목용)	38,470	1,288,499	3	38,233	2,697,739	237	-1,409,240	48
총 계	1,348,876	38,774,864	100	1,143,962	37,213,042	204,914	1,561,822	104

〈참고〉 2010년 주요 채소종자 국가별 수입

(단위 : kg, US\$)

국 가	총수입		순수입		해외채종		계수출용		비판매용	
	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액
파테말라	46	391,010	0	0	46	391,010	0	0	0	0
남아공	29,479	622,743	0	0	29,479	622,743	0	0	0	0
네덜란드	24,022	3,533,283	10,808	3,235,806	12,033	282,662	819	11,306	362	23,509
뉴질랜드	116,151	85,053	21	3	115,815	883,933	315	8,058	0	0
대 만	127	47,350	0	0	127	47,350	0	0	0	0
덴마크	81,186	440,928	42,494	234,032	38,692	206,836	0	0	0	0
독 일	8,238	133,236	8,233	131,766	0	0	30	1,500	0	0
멕시코	30	404,029	0	0	30	404,029	0	0	0	0
미 국	287,837	2,084,253	90,027	717,974	197,801	1,366,601	0	0	9	1,677
미얀마	1,584	63,039	0	0	93	23,037	622	34,002	0	0
베트남	230	33,830	0	0	29	3,879	201	23,981	0	0
벨기에	55	8,330	55	8,330	0	0	0	0	0	0
슬로베니아	30,329	205,334	30,329	205,334	0	0	0	0	0	0
아르헨티나	680	35,334	0	0	680	35,334	0	0	0	0
영 국	2,902	41,291	0	0	2,902	41,291	0	0	0	0
우즈베키스탄	25	2,550	0	0	25	2,550	0	0	0	0
이스라엘	31	332,030	0	0	31	332,030	0	0	0	0
이태리	226,215	2,131,882	68,326	223,668	147,902	1,704,757	9,977	203,458	0	0
인 도	584	63,139	0	0	579	62,039	6	1,100	0	0
인도네시아	7,346	490,794	0	0	3,185	227,608	4,160	263,185	0	0
일 본	143,233	16,653,844	40,074	4,500,450	103,187	12,033,394	0	0	2	0
중 국	289,133	6,936,972	18,085	57,338	258,271	6,058,531	12,714	715,780	63	135,323
칠 레	71,992	1,954,224	15,731	218,675	55,561	1,702,271	700	33,089	0	189
태 국	8,238	674,836	0	0	5,419	501,288	2,843	172,855	32	73
프랑스			19	7,837	4	44,105	0	0	0	0
한 국	6,037	165,519	0	0	6,037	165,519	0	0	0	0
헝가리	2,100	12,992	2,100	12,992	0	0	0	0	0	0
호 주	10,633	384,018	85	114,332	10,548	239,637	0	0	0	0
계(28개국)	1,348,876	38,774,864	326,417	9,729,496	989,606	27,409,603	32,386	1,474,324	463	161,441

〈참고〉 2010년 주요 채소종자 작물별 수입

(단위 : kg, US\$)

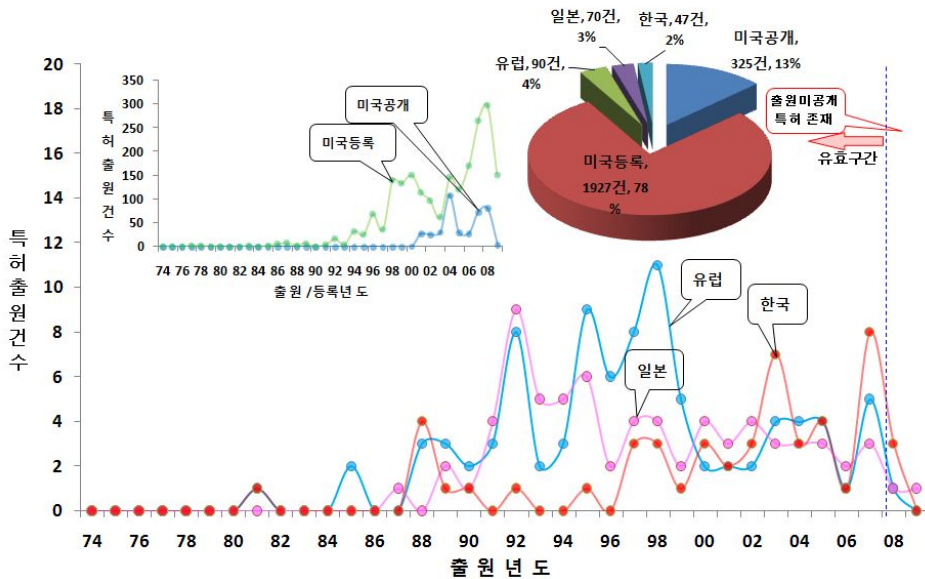
작 물	총수입		순수입		해외채종		계수출용		비판매용	
	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액	수량	금액
고추(일반용)	34,221	2,488,007	1	1,506	25,123	1,799,077	9,066	683,504	31	3,830
고추(대목용)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
고추 계	34,221	2,488,007	1	1,506	25,123	1,799,077	9,066	683,504	31	3,830
단고추(일반용)	280	2,137,899	95	1,970,884	78	114,114	107	52,895	0	6
단고추(대목용)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
단고추 계	280	2,137,899	95	1,970,884	78	114,114	107	52,895	0	6
당 근	43,089	1,940,820	3,742	643,477	34,881	1,184,912	4,462	111,436	4	95
무	646,504	3,880,821	178,088	757,819	461,845	2,925,532	6,538	65,771	32	131,699
배 추	30,337	342,439	100	92,242	30,076	245,505	190	3,800	1	891
상 추	32,139	449,335	286	54,176	31,851	395,153	0	0	3	7
수박(일반용)	12,732	1,045,519	94	134,222	10,073	783,963	2,624	127,244	0	90
수박(대목용)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
수박 계	12,732	1,045,519	94	134,222	10,073	783,963	2,624	127,244	0	90
시금치	285,463	2,249,254	118,938	1,041,760	165,366	1,196,127	819	11,306	340	60
양배추	63,371	2,536,807	164	77,302	59,997	2,330,657	3,210	128,778	0	70
양 파	37,937	11,545,527	6,672	2,371,658	31,284	9,171,441	30	1,500	11	928
오이(일반용)	14,721	675,635	0	0	10,703	531,001	4,018	144,366	1	288
오이(대목용)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
오이 계	14,721	675,635	0	0	10,703	531,001	4,018	144,366	1	288
참 외	560	69,555	0	0	560	69,555	0	0	0	0
토마토(일반용)	1,214	3,938,428	88	1,693,010	472	2,006,405	662	116,475	2	22,538
토마토(대목용)	12	99,875	0	0	12	99,875	0	0	0	0
토마토 계	1,226	3,938,302	88	1,693,010	484	2,106,280	662	116,475	2	22,538
파	90,324	2,514,381	13,540	637,998	76,783	1,876,383	0	0	1	0
호박(일반용)	17,364	1,771,937	868	182,469	15,794	1,562,160	671	27,249	41	59
호박(대목용)	38,458	1,188,625	3,751	70,881	34,707	1,117,744	0	0	0	0
호박 계	55,822	2,960,562	4,609	253,349	50,501	2,679,905	671	27,249	41	59
계	1,348,876	38,774,864	326,417	9,729,496	989,606	27,409,603	32,386	1,474,324	463	161,441

다. 특허 분석

(1) 전반적인 종자기술 특허 동향

○ 전체 종자기술 분야의 연도별 특허출원동향

- (한국) 1990년 후반부터 현재까지 점진적으로 증가되는 경향
 - 1981년도에 1건의 출원이 있었으나, 그 이후로는 출원이 없다가 1980년 후반부터 다시 출원되기 시작
- (미국) 1990년 후반부터 현재까지 꾸준히 특허출원이 증가하는 경향
 - 1974년에 처음 출원을 시작하여 점진적으로 출원건수가 증가하였으며, 1990년 이후로는 급속도로 출원이 증가하는 경향
- (일본) 1990년 중반부터 현재까지 출원이 증가함이 없이 대체적으로 일정한 출원을 유지하는 경향
 - 1980년 후반부터 출원되기 시작, 1990년 초반 출원건수 급격히 증가
- (유럽) 2000년에 급속히 감소하면서 현재까지 낮은 출원을 보임
 - 1980년 중반부터 출원되기 시작하였으며, 1980년 중반부터 1990년 후반까지 점진적으로 증가하는 경향
- 국가별 점유율은 미국등록 및 공개특허가 약 91%로 압도적으로 많았으며, 그 다음은 유럽(4%), 일본(3%), 한국(2%) 순으로 나타남



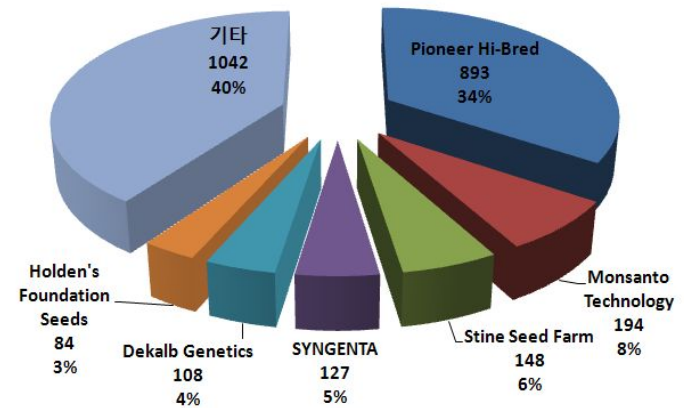
<그림 14> 종자산업 해외 특허 동향

* 분석구간 : 한국,일본,유럽 및 미국공개특허 ~2007.12(출원년도), 미국등록특허 ~2008.12(등록년도)

- 종자기술 분야에서 국가별 점유에서 미국이 압도적으로 많은 출원을 보이는 것은, 각국의 특허법에서 식물의 종자에 대한 특허로서 보호하는 법제상의 차이로 기인한 것으로 보임
- 즉 한국의 경우 2006년 10월 1일 개정법 시행 전에는 무성생식을 통한 식물의 경우에만 특허를 받을 수 있다는 법조항에 따라 유성생식을 통한 식물의 경우 특허를 받을 수 없는 것인가에 대한 논의가 있었으며, 이로 인하여 유성생식을 통한 식물관련 발명이 제대로 보호되지 못하였음
- 유럽과 일본의 경우도 유성생식을 통한 식물관련 발명이 특허법 상으로 제대로 보호되지 못하고 있는 실정임
- 이에 비해, 미국은 크게 일반 특허(utility patent), 식물특허(plant patent) 및 식물 품종보호법으로 식물관련 발명을 보호
 - 식물특허(plant patent)는 무성생식식물의 신품종을 보호하고, 식물품종보호법은 유성생식식물의 신품종을 보호하며, 일반특허는 거의 모든 식물관련 발명을 보호하고 있음
- 따라서 미국의 경우 식물관련 발명은 무성생식을 통한 식물뿐 아니라 유성생식을 통한 식물 또한 특허법 상에서 보호가 가능하였기 때문에, 특허법 상에 제약이 없이 많은 식물관련 발명이 출원된 것이라 판단됨

○ 전체 종자기술 분야의 주요출원인별 특허분포

- Pioneer Hi-Bred International Inc.가 893건을 출원하여 전체 대비 34.4%의 특허점유율을 보여 가장 많은 특허출원을 나타냄
- Monsanto Technology LLC가 194건의 출원을 하여 7.5%의 특허점유율로 2위를 차지하였으며, 그 뒤로는 Stine Seed Farm Inc. 및 SYNGENTA가 각각 148건(5.7%) 및 127건(4.9%)으로 3, 4위를 차지하였음



<그림 15> 전체 종자기술 분야의 주요 출원인별 특허분포

○ 전체 종자기술 분야의 주요출원인의 국적으로는 4위를 차지한 SYNGENTA(스위스)를 제외하고는 모두 미국이었으며, 이를 통해 미국계 회사가 종자기술 분야에서 선도적인 역할을 하고 있는 것을 알 수 있음

<표 13> 종자기술의 선도 연구기관

순위	출원인(국적)	특허점유율(건수)
1	Pioneer Hi-Bred International Inc.(미국)	34.4%(893)
2	Monsanto Technology LLC(미국)	7.5%(194)
3	Stine Seed Farm Inc.(미국)	5.7%(148)
4	SYNGENTA(스위스)	4.9%(127)
5	Dekalb Genetics Corp.(미국)	4.2%(108)
6	Holden's Foundation Seeds(미국)	3.2%(84)
7	Mertec LLC(미국)	2.1%(54)
8	D&PL Technology Holding Company, LLC(미국)	1.5%(40)
9	Seminis Vegetable Seeds Inc.(미국)	1.3%(35)
10	Agrigenetics(미국)	1.3%(35)

* 분석구간 : 한국, 일본, 유럽 및 미국특허: ~2007(출원년도)

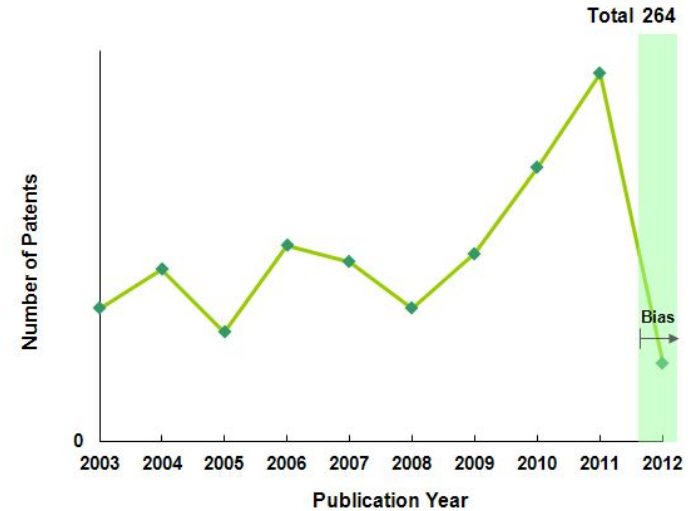
(2) 채소작물 종자기술 특허 현황

○ 배추과 종자기술 분야의 연도별 특허출원동향

☞ 특허 분석 조건

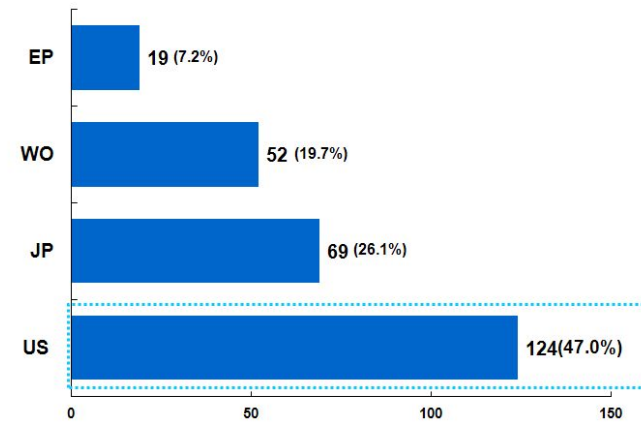
1. 특허 DB/검색기간 : AUREKA/ 2001. 1.~ 2012. 2.
2. 검색키워드 : “brassica rapa” or “chinese cabbage” or “korean cabbage”

- (특허출원 및 등록건수) 2001년부터 현재까지 총 264건의 특허출원 및 등록건수를 나타냄. 13년 동안 총 건수가 260여건으로 배추과 분야의 연구는 그렇게 활발하게 진행되지는 못하는 것으로 파악됨



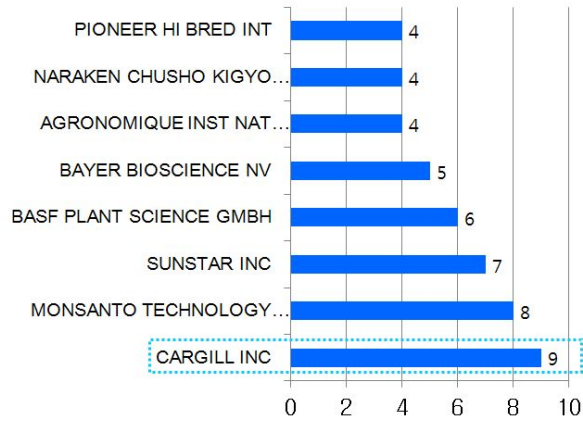
<그림 16> 배추과 분야 연도별 특허출원 및 등록건수

- (국가별 출원 및 등록 건수) 최다 특허출원 및 등록건수를 나타내는 국가는 미국으로 나타났으며, 다음으로 일본, PCT, 유럽의 순으로 나타남
- 특히 미국에 출원 및 등록된 비율이 47%로서 미국에 대한 특허 출원 및 등록을 우선시하는 추세



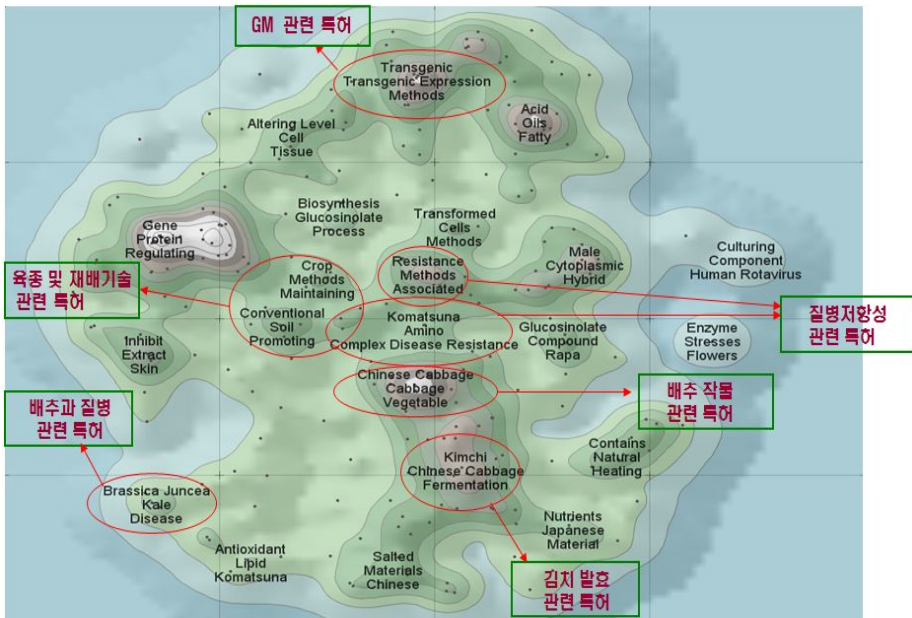
<그림 17> 배추과 분야 국가별 특허출원 및 등록건수

- (주요 출원기관별 동향) 기관별로는 대표적 다국적기업인 Cargill이 출원건수로는 최상위이며, 종자관련 글로벌기업인 PIONEER HI BRED INT, 몬산토 등도 포함됨



<그림 18> 배추과 분야 주요 출원기관별 동향

- (특허등고선 분석) 육종, 재배기술 및 질병저항성, GM 등 다양한 분야에 연구를 수행하고 있음



<그림 19> 배추과 분야 특허등고선 동향

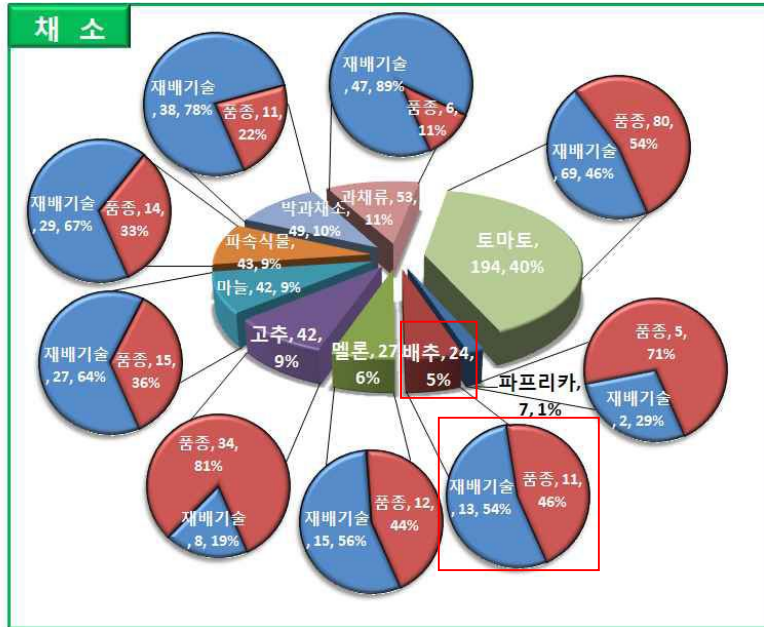
- 채소작물 분야 특허에서, 토마토 분야 관련특허의 수가 가장 많음
- 지속적으로 특허 출원이 활발하고 관련기술들이 매우 발전한 상태
- 토마토 이외의 분류들은 특허 점유율은 매우 비슷하고 박과채소, 파속식물, 과채류, 고추, 마늘 분류는 특허 증가율이 크게 나타나, 최근 특허수가 크게 증가하는 분류도 분석되었음
- 특히, 배추 분야에 해당하는 특허는 특허 출원 증가율은 낮은 것으로 나타나, 초창기(도입기)에 해당하는 기술로 판단됨



<그림 20> 채소분야 연도별 특허출원 경향

○ 채소작물 분야 특허의 세부 기술별 특허 분포

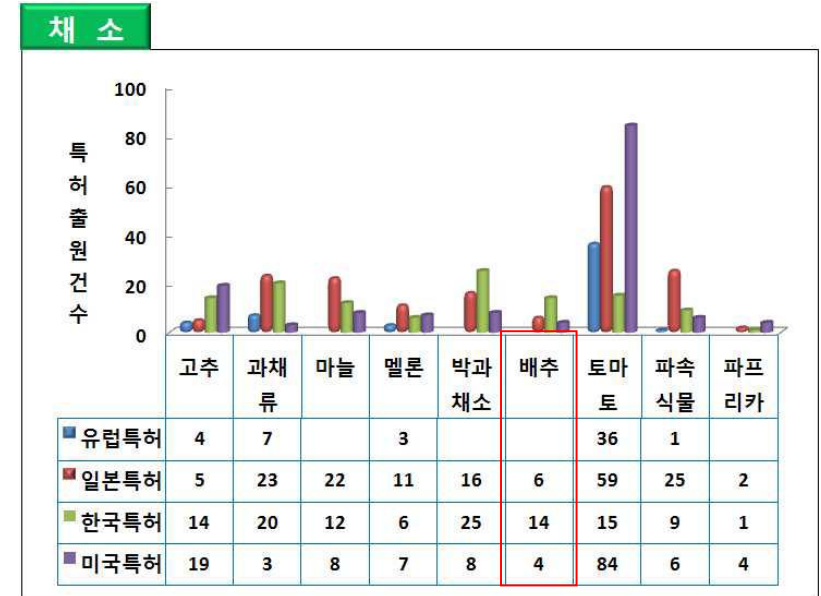
- 토마토 분류의 특허가 194건으로 40%를 차지하고, 그 뒤로 과채류, 박과채소, 파속식물 순으로 많은 특허가 출원
- 배추의 경우에는 24건으로 전체의 5% 정도를 차지하고 있으며, 재배기술이 품종 기술보다 조금 더 우위에 있는 것으로 분석(재배기술 54% > 품종기술 46%)



<그림 21> 세부기술별 특허비율(채소)

○ 채소작물 분야 특허의 국가별 특허 분포

- 가장 많은 특허수를 나타내는 토마토는 전체 194건 중 미국특허가 84건으로 약 43%를 차지하고 있는데 반해, 고추, 마늘, 배추, 파속식물 등은 한국 및 일본에 많은 특허가 출원
- 배추의 경우에는 전체 24건 중 한국이 차지하는 비중이 약 58%로 대부분을 차지하는 특징을 나타냄. 이는 배추 관련 특허가 국내 중심으로 기술개발이 전개되고 있다는 사실을 나타내는 것으로 분석



<그림 22> 세부기술 국가별 특허분포(채소)

라. 전문가 인터뷰(발전방향 제언)

1. 목적

- 사업단 종료시점에 있어서 배추분자마커사업단의 우수성과를 연계하여 배추의 활용측면에서의 국제경쟁력을 확보하기 위한 발전방안 마련이 필요
- 이에 배추사업단 과제에 참가하고 계신 전문가의 의견을 수렴하여 발전 방안 기획보고서에 활용
- * 전문가 : NH종묘, (주)바이오브리딩, (주)현대종묘

2. 질문 내용

- 1) 해외 수출 전략
- 2) 국내 시장 현황
- 3) 발전방향
- 4) 제언 사항

▶ 배추종자 발전방향에 대한 의견을 수렴하고자 현장을 방문하여, 인터뷰 형태로 진행

□ 회의 주요 내용

○ (해외 수출 전략)

- 배추는 세계적으로 먹는 지역이 한정, 이에 수출 지향하기에 현재로서는 어려움이 있음. 우선 세계적으로 배추를 섭취하고 있는 지역의 특성을 조사해야 함(특히 국가별 식성도 고려)
- 현재 FTA가 진행 중으로 배추 산물 수출은 어려움. 이에 배추 관련 우수 종자 수출이 적합
- 현재 농식품부가 추진하고 있는 골든 시드 프로젝트와 연계 하여 진행하는 것이 바람직함
- 특히, 봄에서 겨울까지 복합내병성을 가진 육종기술개발이 필요하며, GM 종자개발도 병행하여 수행하여야 함

○ (해외 수출, 중국 시장)

- 중국은 이미 각 성마다 배추관련 연구가 활발하게 진행 중으로 한국 종자는 병충해에 약하다는 인식을 가지고 있음
- 중국은 연중 생산에 대하여 개념이 매우 낮음, 이유는 넓은 지역에서 재배하다보니 굳이 한 지역에서 연중 생산을 할 필요성을 갖지 못함
- 중국시장 개척을 위해서는 제대로 된 육종에서부터 시작하여 병충해에 강한 종자를 개발하는 것이 시급
- 현재 수출은 농우바이오, 흥농종묘 등 기업을 중심으로 발전하고 있으며 중국시장에 잘 빠르게 진출
- 중국은 이미 각 성마다 배추관련 연구가 활발하게 진행 중으로 한국 종자에 대해서는 일부 기업들의 참가로 진행 중
- 실제로 한국배추 수출을 활성화하기 위해서는 우수 종자 개발이 시급

- 현재 우리나라는 우수한 기술력을 바탕으로 봄, 여름, 가을, 겨울용 특성에 맞는 배추종자를 개발하여 내수 및 수출을 강화
- 우리나라가 종자 분야에서 살아남을 수 있는 방안은 종자 개발 외에는 없음. 특히 배추의 경우에도 그 재배면적이 점점 줄어들고 있는 상황에서 우리의 선택은 종자개발 하나밖에 없음
- 수출지향을 위해서는 1)중국을 주시장으로, 2) 해외 교민 대상, 3) 기타 동남아나 유럽시장으로 진출가능
- 우선 현지시장 조사 및 소개 수집에 주력 > 국가별 특성 조사 > 마커개발(개통도 개발)
- 그러나, 중소기업은 우수종자가 있어도 현지 법인이나 agency가 있어야 진출 가능 > 향후 사업단에서 개척단 출범 필요
- 중국시장 진출의 2가지 방법(소비 차별화 전략) : 1) 우량 소형배추 개발(1kg 이내) : 단위 면적당 종자량이 늘어서 기업 이익 창출이 가능 > 일반인 대상, 2) 기능성 배추(중국 상류층 대상)
- 또한, 재배기간 단축 방법 마련 필요(40 ~ 60일 이내)
- 중국 전담팀 필요 : 중국 내 선호도 조사
- 현재 국내에서 신젠타, 몬산토 등 거대 다국적기업에 맞서서 제대로 연구 및 대응하고 있는 회사는 농우바이오 정도임

○ (국내 시장의 변화)

- 특히 육종이 중요. 육종의 변천사로 초기에는 가을배추가 대부분으로 보존이 우선이었으나, 현재는 봄/여름/가을/겨울 사계절 모두 배추가 생산되면서 연중 생산이 가능
- 배추종자는 이전 일본에서 수입하여 재배되었으나 현재는 대부분이 국내용으로 대체됨
- 국내 대응체계도 김치용과 식당에 보급되는 형태(샤브샤브나 찌개용, 김절이용 등)를 조사하여 차별화 하는 전략 필요

○ (발전 방향)

- 앞서 언급하였듯이 배추는 세계적으로 섭취하는 지역이 한정되어 있으나, 중국 시장에 체계적으로 진출한다면 가능성이 있음
- 그러나 접근 방식에 있어서 배추 특성을 추구할 것인지, 지역을 추구할 것인지 고민이 필요
- 국가적으로는 향후 기업이 진출 할 수 있는 교두보 역할을 하기 위해 다양한 지역의 특성을 조사해야 하며, 기업은 배추 특성별로 진출해서 중국시장 개척이 필요
- 중국은 워낙 방대한 지역이므로 중국 썬을 기준으로 하거나 혹은 북부/남부로 나누어 공략하는 방법이 필요
- 동남아 지역은 내서성, 내병성 관련 종자 개발이 필요
- 북중미 지역은 우선 어떤 형태를 선호하는지 조사가 우선 필요
- 현재 배추분자마커 사업단을 통해 개발된 기술들의 영속성을 위하여 국가 대형과제가 지속적으로 진행 할 필요
- 민간(개인)육종가의 지원이 절실하게 필요(국내에서는 약 5~6 명의 민간 전문가가 있음)
- 소형배추 개발 및 우수종자 보급 필요 ; 기업은 영리를 추구하는 목표가 있어 소형배추 개발 시에는 종자의 절대적 수량이 늘어남으로 이익을 남길 수 있음. 이에 소형배추 개발

- 도 병행해서 개발 필요
- 사계절 용 배추 개발은 아주 이상적이나 현재로서는 계절별 특성에 맞는 최적 제품 개발이 쉽지는 않음
 - * 봄(추대), 여름(내서성), 가을(맛), 겨울(내한성)
- **사계절용이 개발된다면 현재 김치공장에 이상적인 제품 납품 가능**
 - : 김치공장에서는 사계절 동일한 규격의 제품이 납품되기를 원함
- 현재 배추분자마커 사업단을 통해 다양한 기술들이 개발, 특히 향후 종자개발에 모델템을 제공할 마커개발이 이루어짐
- 그러나 현재 개발된 마커들은 저항성 인자인 병원성이 낮아 문제임
- 국가적으로는 향후 기업이 진출 할 수 있는 교두보 역할을 하기 위해 지원하여야 하나, **시장조사는 기업이 하는 것이 원칙** : 이에 민간(개인)육종가의 지원이 절실하게 필요(국내에서는 약 5-6명의 민간 전문가가 있음). 이에 대해 구체적인 방법으로서 민간에게 기술지원을 통한 협력체 구성이 필요(민간육종협의회 구성 필요)
- (제안 사항)
 - 토양병인 뿌리혹병 연구는 단위과제 형태보다 향후 대과제 혹은 사업단 형태로 진행이 되어 발전하였으면 함
 - **사업단이 이번에도 종료되지만 종자산업 육성을 위해서는 지속적인 사업지원이 필요**
 - 중국시장 진출을 위해서는 지역별 특성에 맞는 ‘배추 종자’ 개발이 필요
 - 육종기술 관련하여서 국가 아젠다로서 육성 필요. 특히 배추 같은 품종은 소포자 배양을 통하여 기술 보급 필요
 - 중국시장 진출을 위해서는 ‘사계절용 배추 종자’개발이 필요하며, 또한, 중국인의 식성에 맞는 배추 개발 필요(샤브샤브용 등)
 - 분자생물학 기술의 100% 활용이 필요 : 분자마커 개발 ⇨ SNP의 실용화(SNP marker)

마. 문제점

- **신품종 증식 및 보급의 문제점**
 - 개발된 신품종을 소비자 및 재배농가에 보급할 수 있는 시스템이 없어 초기 **상품화 및 시장진입이 어려움**
 - 신품종의 보급체계는 기본식물 ⇨ 원원종 ⇨ 원종 ⇨ 보급종의 4단계를 거쳐 대량 증식시키고, 각 단계별로 품질을 보증할 수 있는 체계를 구축함이 바람직
 - ⇨ 벼, 보리, 콩, 옥수수, 감자 및 6대 과종을 제외하고는 증식 및 보급체계 구축이 미흡(예 딸기, 마늘 등)
 - 종자 산업체의 배추과 신품종 육성 목표는 재배하기 쉬운 품종, 생산성이 높은 품종, 고품질(맛, 근피, 내병성 등), 그리고 재배 폭이 넓은 품종 등의 육성을 지향
 - 신품종 육성은 유용한 육성 소재의 수집과 수집된 소재의 선발 및 계통 순화, 우량 형질 집적 등을 통한 전통적인 방식으로 진행되고 있으나, 육종 기간과 비용을 획기적으로 줄이기 위하여 분자표지를 활용한 분자유종의 필요성 또한 크게 증가

- 따라서, 분자유종을 통해 종자수출 첨병인 신품종을 개발하기 위해서는 **유전체의 해독과 정보 개발이 필수적으로 필요**하며, 이를 통해 종자 강국 실현의 기반을 구축할 수 있음
- **무와 배추, 양배추, 유채 등 배추속 작물과의 유연관계에 관한 염색체 연구가 절실히 필요한 실정**
- **유전체 정보를 활용한 종자개발 기술 강화 필요**
 - 전통적인 육종의 역사는 이미 오래되었고 근간에 들어와서 풍부한 염기서열 분석 정보로 말미암아 분자유종의 시대 도래
 - **유전체연구와 분자유종 연구 사이에는 기초연구 정보의 활용 및 실용화 측면에서 여전히 괴리감이 존재**
 - 이는 성격상 복잡한 유전체 정보로부터 분자유종에 유용한 정보를 육종 수요자들이 용이하게 추출하기가 힘들고 실용화에 연계하기가 어려웠던 때문으로 해석
 - **따라서 유전체 정보는 보다 수요자 중심으로 정리 및 체계화가 이루어져야 할 필요성 제기**
 - 유전체 연구자가 직접 정보를 정리하고 분석하여 육종가가 직접 사용할 수 있는 형태의 정보 (예시 : 형질관련 유전자, 분자마커 등)를 제공할 수 있는 생물정보 관리 및 분석시스템을 구축할 필요
 - **다국적기업을 중심으로 전통 육종기술과 더불어 형질전환이나 분자마커를 이용한 육종(Marker assistance breeding, MAB) 기술을 적극적으로 도입하여 신품종을 개발**
 - 연구수준에서는 분자마커를 이용한 육종기술이 단순형질 관련 분자마커에서 점차로 복잡형질 (QTL)을 선발할 수 있는 분자마커 개발을 시도
 - **작물/원에 관련 형질뿐 아니라 기능성 물질 향상도 육종을 통한 작물 육성의 중요한 목표**

<표 14> 채소의 주요 육종대상 기능성 물질

	작물	성분	기능성
기능성	토마토	Lycopene, β-carotene, Rutin	항암, 소화 촉진, 고혈압 예방
	고추	Capsaicin, capsiate	비만예방, 혈액순환 촉진, 신경통 치료
	배추과	Flavonoids, glucosinolates, sulforaphane, carotene	항암, 항산화작용
	브로콜리	glucosinolate	독특한 맛과 향, 항암
	가지	nasunin	고혈압 및 동맥경화 예방
	상추	lactucin	취면, 진통, 수면제 효과
	수박	citrulline	고혈압치료, 발기부전 치료

- **분자마커개발을 통한 종자개발 기술 강화 필요**
 - 분자유종을 위하여 필수적인 마커 개발 및 분자유종 기술은 작물의 종류에 따라 그 편차가 매우 큰 경향을 보이고 있음

- 벼, 고추, 배추, 무는 세계적인 수준이라 할 수 있으나 두과작물을 비롯한 그 외의 작물과는 큰 격차가 있는 것으로 보임
 - 작물군 별로 육종기술의 수준이나 성과가 크게 차이나는 이유는 우리나라에서 해당 작물의 경제적 가치 때문으로 판단되며, 기술적 경제적 취약 작물에 보다 많은 연구역량을 투입할 필요
- 분자마커 개발 및 이를 이용한 품종 육성에서 국내의 연구는 외국에 비해 무척 미흡한 형편
 - 소수의 집단으로부터 RFLP, RAPD, SSR, AFLP 마커로 구성된 분자유전자 지도가 작성되었지만 집단의 크기, 종류, 마커의 종류 및 숫자에서 외국과 비교할 때 아직도 큰 격차가 있는 것으로 판단
 - 특히, 환경계해내성, 병해충 저항성, 성분 등 모든 형질에 연관된 분자표지를 개발하고 있는 외국에 비해 국내에서는 소수의 형질 관련 마커가 개발되어 있는 실정

□ 종자 유통의 문제점

- 복제 의심 품종에 대한 침해조사 또는 감정을 해주는 절차 등이 없어 육종가의 권리보호가 미흡
 - ⇒ 제도상 품종보호권을 인정받을 수 있으나, 현실적으로는 복제품종이 만연하는 문제점 발생
- 육묘산업에 대한 체계적인 관리 미흡
 - ⇒ 육묘업도 종자산업법에서는 종자업의 범위에 포함되나, 대부분의 업체가 종자업 등록을 하지 않고 있음

□ 종자 수출상의 문제점

- 종자의 수출확대를 위한 정부차원의 체계적인 접근이나 지원 정책이 미흡
 - 종자 수출확대를 위한 수출시장 수요조사, 수출 전용 품종 개발, 현지화 전략 지원 등 체계적인 지원 시스템 미비
 - 영세한 자본과 부족한 인적 인프라로 해외시장 개척에 어려움을 겪고 있는 민간 종자회사에 대한 정부의 지원이 미흡
- 수출품목 및 수출지역 다변화 미흡
 - 고추, 무, 양배추, 배추 종자가 수출의 80% 차지

바. 시사점 및 SWOT 분석

- 종자산업은 기술·자본 집약산업으로서 우수한 인적자원과 기술력을 보유한 우리나라에 적합
 - 세계 각국의 유전자원 확보경쟁과 품종보호권 확대에 대응한 종자산업 육성이 필요
 - 종자는 농어업 생산성과 생산비를 결정하는 중요한 요소로 신품종 개발에 장기간 투자소요로 초기시장 형성을 위한 정부지원 불가피
 - 약 700억불의 세계종자시장에서 종자 관련 점유율 증대를 통한 수출 진흥에 기여함으로써 국가 산업경쟁력 제고
 - 세계 종자시장 대비 우리나라는 약 10.5억불 규모로서(세계시장 대비 1.5% 수준) 종자강

- 국으로 거듭나기 위해서는 우수 종자(Golden Seed)에 대한 연구개발이 시급
 - 국가차원의 우수 종자 개발을 통해 세계 다국적 종자기업(몬산토, 듀폰, 신젠타 등)에 경쟁할 수 있는 국내 종자업체의 성장 기반 마련도 가능

□ 협소한 내수시장의 한계를 극복하기 위해 수출시장 확대를 통한 종자산업의 규모화 필요

- 국내 종자 산업 중 수출 및 산업화가 단기적으로 가능한 품목인 배추와 같은 작물을 우선적으로 선정하고 지원하는 정책 수반
 - 글로벌 기업과 동등한 조건에서 경쟁하기에는 무리이므로 우리나라의 육종기술이 세계적으로 우수한 작물에 대해 집중하는 것이 무엇보다 필요
- 기존 R&D를 통해서 개발된 성과 중 단기적으로 글로벌 시장에 진출이 가능한 성과를 활용 및 연계(배추분자마커사업단 연계)
 - 배추 종자와 관련된 모든 성과에 대해서는 수출 가능성 및 시장 진입 측면에서 평가를 수행하여 발굴함
 - 또한, 발굴된 성과에 대해서는 이후 신품종으로 개발할 때 육종소재로 활용이 가능
 - 목표로 삼은 시장의 진입을 위해서 현지 포장 실험을 통하여 현장 적응성 연구를 실시
 - 현지에서 직접 포장 실험이 가능하도록 시험포장 임대 등 제반 사항은 지원
 - 필요시 품종개발 초기단계부터 해외에서 실험하여 전략 품종의 육성 단계 단축
- 또한, 글로벌 종자회사의 대형화 및 규모화에 따른 국내 종자산업의 경쟁력 강화를 위한 국가 차원의 육성전략 필요
 - 글로벌 종자회사는 대형화와 집중화를 통해 많은 자본과 시간이 소요되는 종자 개발의 위험요인을 제거하면서 시장지배력 강화 시도
 - 시장 상황에 선제적으로 대응을 위해 R&D에 집중 투자
 - * 세계 종자시장의 상위 10대 기업의 집중도는 67%로 의약시장(55%) 및 식음료가공업(26%)에 비해 높음('96년 종자산업 10대 기업 점유율 37%)
 - * 몬산토의 R&D 투자(9.8억 달러, '08년) : 국내 정부지원 R&D의 20.2배, 국내 종자산업 규모의 2.5배 수준
 - 고부가가치 품종 육성을 위한 세계 각국의 치열한 경쟁에서 생존하기 위해 민간과 정부의 역량을 결집한 R&D 집중 투자 필요

□ 결론적으로, 세계시장 진출을 위해서는 글로벌 전략수출 종자 개발의 체계적인 강화방안 마련이 필요

- 시장잠재력과 수출가능성이 높은 전략품목의 집중 육성을 위한 전략적 지원 필요

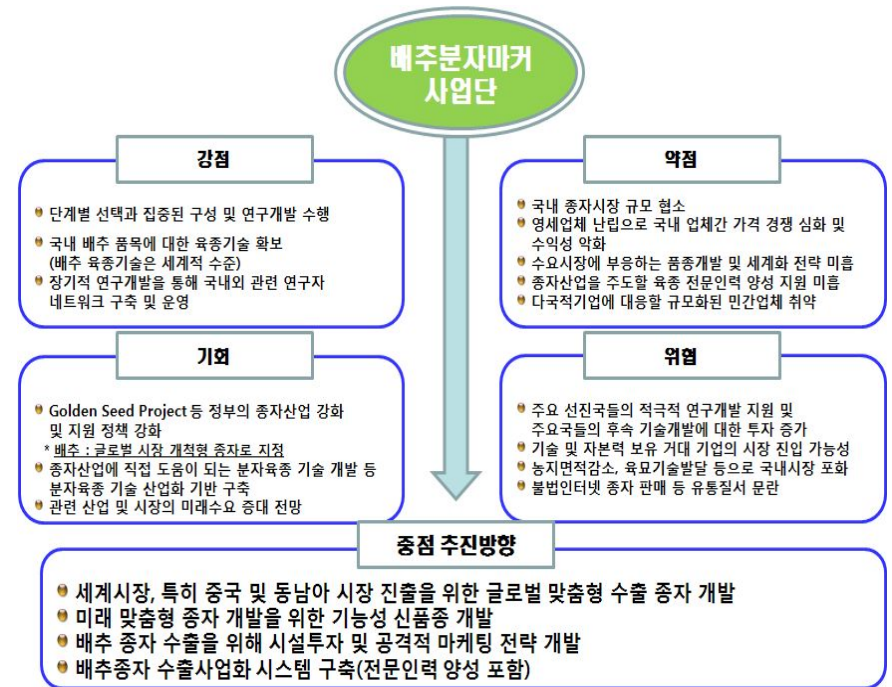


<그림 24> 우리나라의 종자 산업 활성화 필요성

⇒ 이에 배추종자 분야는 그동안 배추분자마커사업단의 다양한 사업성과를 기반으로 글로벌 수출종자 전략의 첨병으로서 역할 기대

□ SWOT 분석을 통한 중점 추진 방향 도출

○ 현황분석 및 전문가 자문을 통해 수립된 의견을 토대로 작성

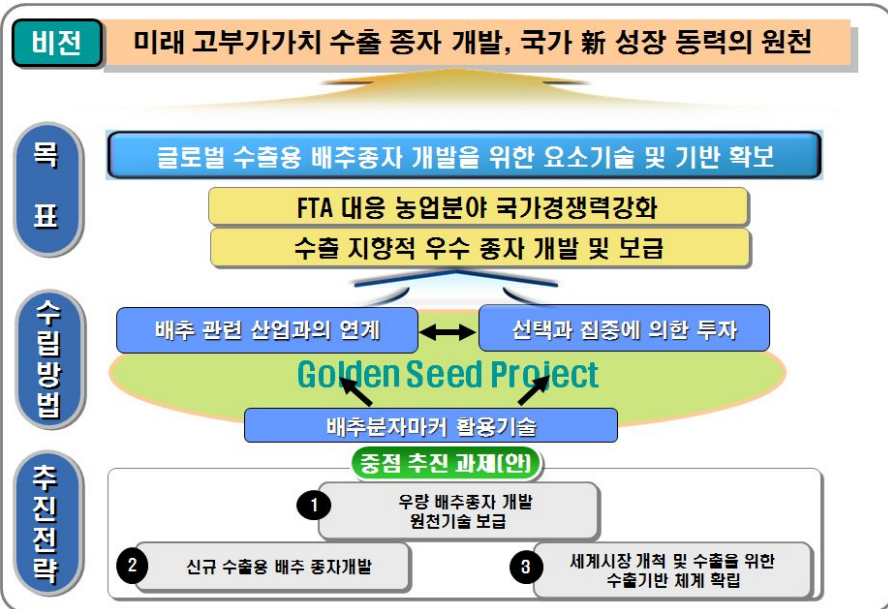


3. 비전 및 추진 전략

가. 비전 및 목표

배추분자마커사업단의 우수성과를 기반으로

- 1) 우량 배추종자의 개발을 위한 원천기술을 보급하며,
- 2) 수출 지향형 배추종자의 개발을 통하여,
- 3) 세계시장 개척 및 수출을 위한 마케팅 등 수출기반 체계를 확립하여
미래 고부가가치, 수출형 배추종자 개발 및 수출기반을 확보함



나. 추진 방향 및 방법

(1) 추진 방향

- 세계시장, 특히 중국 및 동남아 시장 진출을 위한 글로벌 맞춤형 수출 종자 개발 강화
 - 국내 주요 배추품종은 우리나라 환경과 한국인 고유의 입맛에 맞게 개발된 품종
 - 현지재배를 통한 맞춤형 품종개발 등의 전략 구사
 - 현지에 연구소 및 법인체를 설치하여 국가별 맞춤형 품종개발
 - ※ 현재 중국에 농우바이오(북경세농종묘)등이 채소 분야 관련 진출
 - 분자유종기술 등 BT 기술 등의 접목을 통한 종자개발 가속화

- 해외시장조사 등을 통한 수출전용품종개발 및 현지 업체와의 협력 등을 통한 종자수출 확대 추진
 - 최근 아시아지역 종자시장이 중국, 인도의 급속한 경제성장으로 빠르게 증가하고 있음을 적극 활용 할 필요가 있음
 - ※ 아시아 종자시장 전망 : ('01) 60 ⇨ ('07) 81 ⇨ ('15) 125억\$
 - 중국, 동남아 등에 수출확대를 위하여 현지 시장정보 조사·분석 등 해외시장 개척을 위한 마케팅 지원 중요
 - 중국, 동남아 등 배추수요가 높은 시장을 겨냥하여 현지 맞춤형 품종개발
 - 특히 중국지역에 배추 수출확대를 위한 맞춤형 품종 육성 연구의 필요성이 대두
 - 중국 배추종자는 일반종이 차지하는 비율이 높았으나 중국 경제수준의 발달로 인하여 F1 시장 증가가 급속도로 늘어날 것으로 보임
 - 중국은 배추 품종육성에 절대적으로 필요한 자가불화합성, 만추대, 내병성, 내서성, 고 품질 등의 품종 육성 능력이 국내육성 능력에 미치지 못하고 있음
 - 배추 계통 및 품종육성에 있어서 분자생물학적인 방법을 통한 자가불화합성, 내병성 및 내재해성 관련 DNA 마커를 이용한 품종육성기술 개발로 보다 효율적인 육성기술의 도입이 필요함
 - 최근 중국 전역에 걸쳐 뿌리혹병이 급속도로 퍼지고 있어 앞으로 뿌리혹병 저항성 품종의 요구도가 증가할 것으로 보이므로 육종소재 탐색 및 관련 DNA 마커의 개발이 필요
 - ⇨ 중국은 우리나라 배추종자의 주요 수출국으로서 더 많은 수출량 증대를 위해서는 우수한 국내 배추 품종 육성능력을 발휘하여 지역별, 작형별 기호도에 알맞은 맞춤형 우수 품종 개발에 활용할 필요성이 있음
- 글로벌 종자회사의 대형화 및 규모화에 따른 국내 종자산업의 경쟁력 강화를 위한 국가 차원의 육성전략 필요
 - 글로벌 종자회사는 대형화와 집중화를 통해 많은 자본과 시간이 소요되는 종자개발의 위험요인을 제거하면서 시장지배력의 강화를 시도하고 있으며 시장 상황에 선제적으로 대응을 위해 R&D에 집중 투자
 - ※ 몬산토의 R&D 투자(9.8억 달러, '08년) : 국내 정부지원 R&D의 20.2배, 국내 농산물 종자산업 규모의 2.5배 수준
 - 고부가가치 품종 육성을 위한 세계 각국의 치열한 경쟁에서 살아남기 위해 민간과 정부의 역량을 결집한 R&D 집중 투자 필요

- 종자 수출 및 수입대체를 위해 시설투자 및 공격적 마케팅 전략 개발 등 R&D사업과 동시 추진 전략 필요
 - 세계적으로 글로벌 종자회사를 중심으로 종자산업의 중요성을 인식
 - 수출 우량 품종 개발 및 BT 기술과의 접목을 통해 향후 수요가 늘 것으로 예상되는 GM 작물에 대한 재배면적을 증대하고, 현지 업체와의 협력을 통한 공격적 마케팅 전략을 수립
 - 이에 반해 국내에서는 고령화, 농산물 수입증가 및 생산비 증가로 인해 재배경각자가 점차 감소하고 있으며 수출품목에 대한 현지 정보가 미흡한 실정
 - ⇨ 국가 차원의 전략적 수출 및 수입대체 품종에 대한 시설재배를 확충하는 한편 수출대상국가에 대한 현지 기후, 및 선호도 조사 등 수출 진흥에 대한 정밀 조사를 병행하여 추진 필요

(2) 추진 방법

* 추진 방법은 전문가 인터뷰 및 자문을 통해 얻은 결과를 기초로 작성

(가) 사업단 우수성과 활용

□ 배추 분자마커 활용 실용화

- 현재 진행된 배추 관련 마커에 대하여 실용화 할 수 있는 마커개발로 전환
 - 즉, 기초연구에서 실용화 연구로 전환이 필요한 시점
 - * 복합적인 내병성 관련 마커 개발, 사계절용 생산 가능한 분자마커 개발(유전자적 응성 불임성 관련 분자마커)

<예시> 사업단 내 우수성과 활용 : 배추 분자마커 개발 및 우수 품종 개발

○ 추진 배경 및 필요성

- 우리나라의 배추품종 육종은 우장춘 박사의 “윈에 1호와 2호” 육종을 시작으로 지금까지 이어져 왔고, 그 기술력은 세계 최고 수준으로 평가
- 그러나 국내에서 수행되어 왔던 육종기술 방식은 대부분 전통육종방식(교배와 선발)에 의존
- 앞으로 소비자의 입맛을 다양하게 충족시키고 나아가 식품 및 종자시장에서 현재의 세계최고 국제경쟁력을 유지하기 위해서는 첨단 생명공학의 핵심으로 한 기술개발이 필요한 시점
- 이에 배추분자마커사업단에서 중국 심양농대와 공동연구로 배추의 유전자적 응성불임성과 관련된 분자마커를 개발

○ 주요 성과

- 이를 통해, 식물의 잡종 종자를 만들기 위해서는 인위적으로 수술을 제거하고 꽃가루를 수분해야 하지만, 응성불임성을 이용하게 되면 모본에서 수술을 제거할 필요가 없어 자연 상태에 심어진 상태에서 벌이나 나비를 이용한 수분이 가능해 경제적인 이점 발생
- 배추의 스트레스 저항성 분자마커와 우수품종도 개발
 - * 이데종묘 : 노균병저항성, 만추대성, 및 뿌리혹병저항성인 사강배추
 - * NH종묘 : 눈나라 및 참설
 - * 현대종묘의 으뜸쌈배추 및 KTX 배추
 - * 우리종묘의 K756 배추 및 K758배추 등 7개 품종은 품종보호출원을 완료하고, 실용화가 진행 중
- 형질전환을 통한 우수 품종도 개발
 - * 연부병(무름병) 저항 성 유전자를 개발하여 배추에 형질 전환해 연부병저항성 배추가 탄생 (국내 및 국제특허를 제출) ⇨ 이를 통해 여름배추 생산이 전무한 지역에서도 여름배추 생산 가능할 것으로 기대

(나) 기능성 성분 관련 육종의 실용화(맞춤품종 개발)

□ 최근 농업은 단순 생산에서 벗어나 인간의 건강과 직결된 생명산업으로 발전해 나가고 있는 추세

● 농식품산업 패러다임



- 식물의 유전체 정보와 인간의 유전체 정보를 연계하여 각 개인의 건강증진은 물론 질병의 예방 및 치료에 초점을 둔 개별 맞춤형종 및 정밀농업기술을 이용한 재배법에 대한 새로운 관심과 투자가 필요한 시점
- 특히, 종자 산업은 주로 생산성증대, 생력화 등 농업인의 요구에 맞는 품종육성을 진행해 오다가 최근에는 이러한 사회적 문화적 요구에 따라 기능성 작물의 육종 등 인간의 건강 및 삶의 질과 관련된 품종 육성으로 빠르게 전환
 - 배추의 경우 여러 가지 유전자원 혹은 재배법에 따라 다양한 기능성 성분들이 많게는 수십 배 이상 차이가 있다는 연구가 보고됨
 - * 칼슘 함량 증대 배추(골다공증 예방), 속노란 배추(메타카로틴 및 비타민 함량의 증대) 등
 - 이러한 특정 기능성 성분의 함량 증대 혹은 감소 현상과 각 개인의 특성을 연계한 작물의 개발 및 이용을 위해서는 고기능성 계통/품종 선발을 위한 첨단육종기술 개발과 정밀농업을 통한 특정 성분 대량생산 재배법 확립과 같은 첨단 분야의 연구가 상호 연계되어 연구되어야 할 필요
 - 또한, 특정질환의 치료용으로 분자 농업과 같이 특정유전자의 조작을 통한 단일 다량물질의 대량생산을 위한 품종 개발이 필요
- ⇨ 첨단 기법을 통하여 사람 개개인에게 맞는 맞춤형 고기능성 품종을 제공함으로써 삶의 질을 향상시키고 인간의 건강 증진 및 질병 예방에 크게 이바지
- ⇨ 선진국 기술 활용 : 세계적인 종자생산국이자 수출국인 일본의 우수 육종기술을 습득하고 또한 한국에 진출해 있는 다끼이 종묘회사를 통해 일본 수출 시장 확대도 병행

(다) 배추 종자 수출 품종의 개발

□ 해외 맞춤형 종자 개발 필요성 대두

- 우리나라 채소 육종 기술의 경쟁력은 무, 배추, 고추 등 특정 작물의 경우 세계 최고 수준으로 국제경쟁력을 가지고 있음
- 무, 배추, 고추 등 일부 채소종자의 경우에는 우리나라는 전 세계 채소 재배 면적의 68%를 차지하고 있는 아시아권 채소시장의 중심적 위치에 있기 때문에 지속적인 품종 개발의 진행이 필요

□ 수출용 우수종자 개발 전략(수출국별 차별화 전략)

- 중국
 - * 중국의 종자시장 규모가 현재보다 2배 이상 증가할 것으로 전망되어 국내 종자기업의 현지진출을 통한 수출시장 개척이 필요
 - 배추 대상
 - CMS이용 박리다매품종개발
 - 봄 재배/고랭지재배 북방생산지역(산동, 요령, 흑룡강, 길림, 화북) : 중조생, 황심대구, 복합내병성, Ca 생리장해강
 - 가을재배(북방지역) : 박리다매용 품종개발, 복합내병성 및 가을조생품종, 가을품종의 경우 박리다매용 품종개발
 - 소형계 와와채 : 복합내병성, 석회결핍증, 만추대 조생 포피원통형배추
 - 유색계 배추 : 자색, 황금색, 청색, 백색 배추
- 일본
 - 뿌리혹병 저항성 배추
 - 기능성 품종 : 유색계 배추
- 유럽 및 미주
 - 싹 및 샐러드용 품종 : 무모형질 함유 부드러운 잎형질 개발, 유색배추
 - 기능성 함유 배추 개발 : 베타카로틴 등
- 동남아
 - 내서성 및 내병충 품종 개발

□ 품종 특성에 따른 다겟 시장별 공략

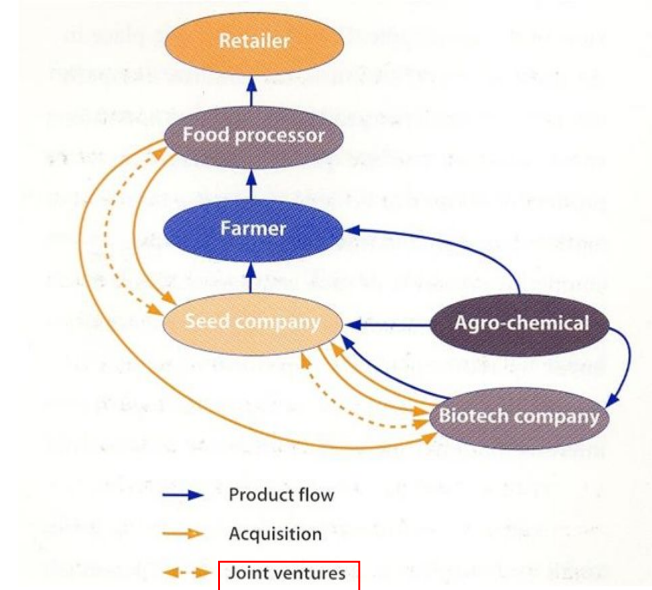
- 중국, 동남아 : 환경내성 품종 개발
- 중국, 일본 : 내병성 품종 개발
- 중국, 미국, 유럽 : 고기능성 품종 개발

□ 다양한 종자개발 기술 및 지원

- 분자마커 개발 및 MAS 기술
- 유전자원 판별기술
- 기능성 성분 분석기술
- 병충해 검정기술 및 육종기술
- 종자코팅(전처리) 및 프라이밍기술
- 종자 packaging 기술

(라) 산업간 협력 및 수직계열화

- 수직 계열 : 종자회사에서 소매상까지 체계적인 협력체계 마련 필요
- 산업간 협력 : 바이오텍 회사 및 종자회사 간, 종자회사와 food processor간 joint venture를 통한 협력체계 구축



(마) 미래지향 농업대응 우수종자 개발 전략

- 김치공장용(배추 최대 소비) 사계절 재배 가능 종자개발 : 개화 및 추대 문제 해결이 우선
- 기후변화 대응 종자개발 : 내습/내서성 여름배추, 내한성 월동배추 등
- 미래 고부가가치 농업용 종자개발 : 기능성(항암, Ca, 루테인 배추 등) 함유 고부가가치 배추

다. 추진 전략 및 체계

(1) 추진 전략

- 개요
 - 1, 2단계에서는 (1) '배추분자마커 활용 기술개발 사업단'과 (2) '배추종자 수출 전략화 사업단'이라는 2개의 사업단이 운영
 - 3단계에서는 '수출지향형 배추종자 상용화 사업단'으로 통합하여 운영
 - ※ 총괄 운영 및 관리는 농식품부 및 골든시드 프로젝트 수출종자개발사업단에서 관장

- 1, 2 단계에서는 2년, 3단계에서는 3년의 사업기간을 두며 각 단계별로 중간 평가 실시
 - ※ 사업 기간 : 2013~2019(총 7년)
 - 1 단계 : 2013~2014(2년), 2 단계 : 2015~2016(2년), 3 단계 : 2017~2019(3년)
 - ※ 1단계 후 평가를 거쳐 2단계 진입 결정(하위 20~30% 강제 탈락 가능)



(2) 추진 체계

- 산·학·연 협력체계
 - ‘배추분자마커 활용 기술개발 사업단’은 학·연 중심으로 구성
 - ‘배추종자 수출 전략화 사업단’은 산·학·연·민(농가) 협력체제로 구성
 - ‘수출지향형 배추종자 상용화 사업단’은 산·학·연 협력체제로 구성
- 주요 기능 및 역할
 - 산업체(예 : 벤처)는 종자 및 작물 생산기술을 농가에 보급하는 역할을 담당하여 실질적인 산업화의 중심 역할을 수행함
 - 학·연은 배추종자 사업에 필요한 유전자 확보 및 개발, 분자마커 개발, 형질전환 기술 개발 및 개선, 전처리 기술 등 기초/응용 연구의 중심 역할 수행

4. 파급효과

가. 사회·문화적 파급효과

◆ 사업단 우수성과를 활용하여 선진 농업기술의 보급 및 유용배추종자의 활용을 통해 배추 종자산업의 새로운 가치창출이 기대

- 우량 배추종자 개발을 통한 한국 농업의 지지기반 확보
 - 성능이 우수한 품종과 품질이 양호한 배추종자가 건전한 농업을 영위하기 위한 전제 조건
 - 김치 등 배추의 다양한 활용을 하는 배추 종자기술이 정립되면, 육종 및 재배기술을 포함한 선진농업의 발전에 기여를 통한 농업 경쟁력도 높일 수 있을 것으로 기대
 - 종자회사나 재배 농가의 입장에서는 종자로 인해 발생 할 수 있는 위험요인에 대한 우려가 감소
- 웰빙, LOHAS 등 새로운 경향을 충족하기 위하여 건강을 고려한 기능성 품종개발이 확대
 - 만성질환인 비만과 성인병 예방을 위한 영양학적 가치의 강화 품종, 현대인 life-style 고려(해가축화, 시간부족)한 다양한 품종 등이 개발되어 건강한 삶 지향 기대

나. 과학·기술적 파급효과

◆ 배추분자마커사업단의 우수기술력을 바탕으로 배추 유전자원 특성분석, 다양한 품종개발, 종자 가공기술 발전 등 종자분야 기술혁신을 통한 농업전반에 대한 기술의 발전을 도모

- 배추유전자원 활용에서 가공에 이르기까지 기술혁신을 통한 종자강국 실현에 이바지
 - 기후변화 등에 대비한 안정생산, 생산비 절감을 위한 규모화 기술, 맞춤형 기능성 품종개발 등과 함께 수출대상국별 맞춤형 품종개발을 통한 수출 진흥 기대
 - 기후변화 대응 내재해 신품종 육성 등 고부가가치 신품종개발로 종자관련 로열티를 주는 나라에서 받는 나라로의 전환 및 고부가가치 기능성 품종개발로 농가소득 향상 기대
 - 신학연 협력을 통한 관련 기술의 공유 및 활용으로 세계적인 종자 브랜드 개발을 통한 국가 경쟁력 강화
 - 유전자원의 산업적 활용증진을 위해, 기능물질 프로파일 이용성 정보 산업화, 이용성 평가 정보 활용 시스템을 구축하여 유용유전자원 신속 발굴 가능
 - 유전자원을 활용한 특정 유전자의 신속 개발을 통하여 실용화 기반 구축 등 향후 기능성 신소재 산업으로 발전 기대
 - 종자의 생산, 품질검사, 가공 및 처리 기술이 같이 활용되어 육종과 식물분야의 생명공학 연구의 효과를 상승하는 데에 기여

다. 경제적 파급효과

◆ 우량 배추종자의 집중육성과 수출전략 배추 품종개발을 통해 수출 확대에 기여하는 동시에 관련 분야 신규 일자리 창출 및 인력고용 효과를 기대

□ 다양한 분야의 국내 종자 산업 향상 기대

- 채종의 효율화 및 수입의존 종자의 자급률 향상
 - 우리 품종의 종자를 생산할 적지를 찾지 못하여 외국 품종 종자의 수입에 대한 의존도가 높은 종자는 국산 품종의 종자로 대체할 길이 열릴 것
 - 채종 재배 방법이 확립되지 않아서 생산성이 낮았던 작물이나 품종의 경우는 채종의 비용을 낮추고 생산성을 안정시킴으로써 채종사업은 나아가서 종자업 전체의 효율을 증가
- 종자 품질의 향상 및 종자의 부가가치 향상
 - 종자의 검사와 선별을 위한 새로운 방법이 개발 적용되면 종자의 품질 향상을 기할 수 있게 되며, 이와 함께 종자의 가공과 처리의 신기술을 적용하여 종자의 부가가치를 높일 수 있음
 - 특히, 배추과작물은 정부 주도의 품종개발·보급으로 인해 시장이 저평가 되어 있으며, 민간기업 참여 확대 시 종자가격 현실화 및 다양한 기능성 품종 출시 등으로 시장규모가 확대될 전망
- 종자산업의 고부가가치 수출산업화 기반의 조성
 - 정부가 목표를 정하고 업계가 지향하는, 종자산업의 고부가가치 수출산업화는 우수한 품종을 육성함과 동시에 종자 기술의 수준을 향상시켜야 비로소 그 기반이 마련 될 전망
 - 이렇게 되면 종자 회사들의 경쟁력이 커져 자연스럽게 수출은 증가할 것이며, 소규모 업체 또는 개인 육종가들도 육종 이후의 문제를 전문화된 종자기술 서비스센터의 도움을 받아 해결해 나갈 수 있게 될 것임
 - 이렇게 종자기술의 산업화를 체계적으로 구축한다면 우리나라가 향후 아시아 종자산업 herb로서 역할을 기대

□ 기초·원천연구에서 산업화 연구를 지향함으로써 관련 산업분야 일자리 창출 기대

- 종자산업은 기술·자본 집약산업으로서 우수한 인적자원과 기술력을 보유한 우리나라에 적합
- 배추종자산업의 활성화를 통한 다양한 분야의 일거리 및 관련 산업인력 창출
 - 유전자원 특성 분석 등의 기초연구자 육성에서 재배, 육종 등의 기술자 및 수출 진흥을 위해 마케팅 전문가 양성 등 종자 산업 전반에 걸쳐 신시장 창출로 새로운 산업화 기회 개발 기대

<참고> 종자산업 관련 사업 현황

사업명	농림기술개발	수산기술개발사업	수산시험연구	산림과학기술개발 (임업시험연구)
시행주체	농림수산식품부		국립수산과학원	산림청
중점내용	<ul style="list-style-type: none"> • 농림수산식품 산업화 위주의 기술개발 지원 • 농림산물의 부가가치를 높이고, 기술력을 성장 동력원으로 하는 농림생명산업 육성 	<ul style="list-style-type: none"> • 영어현장에서 제기되는 현장으로 기술을 개발, 보급 • 수산업 생산성 향상과 고부가가치 창출을 위한 독자적인 신기술 개발 보급 등 	<ul style="list-style-type: none"> • 첨단양식기술개발 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 주요 양식대상 어종 종묘생산 기술개발 • 수산생명공학 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 수산생물 유전자원 분석, 보존 및 활용 연구 • 수산자원 활용 연구 • 수산환경 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 어장환경 및 해양 분석 연구 	<ul style="list-style-type: none"> • 생명공학 관련 기술 개발을 통한 산림자원 활용도 제고 및 임업의 첨단 산업화
주요관련내용	<ul style="list-style-type: none"> • 식물 자원·생산 분야 <ul style="list-style-type: none"> - 식물 육종·번식, 토양·비료·농약, 식물 재배·생산, 수확후 관리 • 동물 자원·생산 분야 <ul style="list-style-type: none"> - 동물 육종·번식, 동물 건강·약품·위생, 동물 사료·사육 • 생산 시스템 분야 • 식품산업 분야 • 융복합 분야 • 농식품 수출 증대 	<ul style="list-style-type: none"> • 어장환경 • 어업자원기술 • 수산증양식 <ul style="list-style-type: none"> - 종묘 생산 및 사육관리 - 사료 및 먹이 생물, 병리방역 및 자원 조성 - 양식자재 및 기계화 • 수산가공유통 	<ul style="list-style-type: none"> • 수산생물 유전체 연구 및 생명공학적인 응용기술 개발 • 분자 표지를 활용한 수산생물 분자유종 기반 기술 확립 • 해양·수산용 LMO 수산생물의 환경 위해성 심사업무 • 건강, 우량 종묘 대량생산 기법 연구 • 다양한 경제 형질 (성장, 질병내성 등) 이 개선된 우량 양식 품종 개발 • 수·해양생물 유전자원의 수집 및 보존 확대 • 육종 품종의 브랜드화 	<ul style="list-style-type: none"> • 임목 분자유종 기술 개발 • 신기능 유용물질 탐색 및 자원화 • 세포공학을 이용한 고부가가치 창출 • 유용유전자 분리 구명

사업명	농업유전자원연구	농업생명공학 실용화 기술개발 (바이오그린 21)
시행 주체	농촌진흥청	
사업 목적	<ul style="list-style-type: none"> 국내외 유용 농업유전자원다양성 확보를 통한 세계 5대 종자 강국 실현 기반 구축 농업유전자원 국가종합관리 체계 구축을 위한 기본계획 수립 농업유전자원 종합 정보관리 농업유전자원 관리기관 지정·운영 	<ul style="list-style-type: none"> 농업생물자원 다양성 확보 농업생물자원의 유전체 분석 농업생명공학 기반기술 개발 농업생명공학 실용화 촉진 농업생명공학 산물의 평가기술
주요 관련 내용	<ul style="list-style-type: none"> 국내외 유용 식물유전자원의 다양성 확보 종자 유전자원 보존 관리 유전자원의 증식 및 특성평가 영양체 및 난저장 종자자원의 초저온 보존 기술 개발 및 실용화 토착 미생물자원의 효율적 보존 및 이용을 위한 관리 체계 확립 동북아 종자 유전자원 허브뱅크 역할 수행 국제농업유전자원 협력훈련 수행 	<ul style="list-style-type: none"> 농업생물자원의 국가관리체계 구축 국내외 농업생물자원 탐색·수집·보존 생체 유전정보 이용체계 구축 농업생명공학 실용화 기법 개발 형질전환 작물개발 및 실용화 연구 고부가성 형질전환 가축개발 분자표지를 활용한 작물, 가축 분자유종체계의 확립 GMO 검정기술 체계 확립 GMO 환경위해성 평가기술 개발 GMO 안전성 확보기술 개발

사업명	농업생물자원다양성확보 및 고부가가치 농축산물 개발	국제 곡물부족 대비 식량안정생산 기술 개발	FTA대응 농축산물 경쟁력 제고 및 수출시장 확대
시행 주체	농촌진흥청		
사업 목적	<ul style="list-style-type: none"> 산업화 가능한 종자 개발로 농업경쟁력 향상 농업유전자원의 다양성 확보 및 동북아 허브 구축 농산물 유전정보이용 유용유전자 대량 발굴 및 기능분석 GM작물 개발 및 안전성확보로 농업생산성 향상 실현 	<ul style="list-style-type: none"> 식량작물의 자급률 향상 세계 수준(G7) 작물의 생산 및 부가가치 증진기술 확보 해외식량기지구축을 위한 국가별 농업생산 환경 및 동향 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 세계 수준(G7)의 우수 농축산물 생산기술 확보 소비자 지향의 환경친화적 안전 농축산물 생산기반 구축 국산 농축산물을 고부가가치 수출 명품으로 육성
주요 관련 내용	<ul style="list-style-type: none"> 산업화 가능한 품종개발 및 활용성 다양화 신 육종기술도입으로 식량 및 채소의 신품종 조기육성 FAO 인증 세계종자안전중부 보존기관 역할 확대 유전체 및 생물정보학 연구를 통한 유용유전자 발굴 고유 유전자 개발 및 부가가치 향상 GM 작물 개발 GM작물 형질평가 및 feedback 체계 구축 GM작물 환경위해성 및 식품안전성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> 식량작물의 고품질·다수확 품종육성·보급 가공 및 기능성 품종개발 및 산업화 지원 식량작물의 생산비 절감 및 제해경감 생산기술 개발 식량자급률 향상을 위한 경지이용률 증진 기술개발 농가 실용화를 위한 On-farm 연구 및 보급 체계 구축 및 해외농업 기술개발 	<ul style="list-style-type: none"> 고품질 원예작물 품종 육성·보급 및 제배기술 개발 인삼, 약용작물의 품질 차별화 및 기능성 소재화 기술 개발 국제경쟁력을 갖춘 고품질 안전 축산물 생산 기술 개발 친환경농업 및 안정생산을 위한 동·식물 병해충 안전관리기술 개발 농축산물 수출 확대를 위한 기술 개발 및 지원 체계 구축 농가 실용화를 위한 on-farm 연구 및 보급 체계 구축

사업명	사료비 절감을 위한 조사료 생산기술 개발	로열티 경감을 위한 신제품 개발 보급	친환경 에너지 절감기술 및 바이오대체에너지 개발
시행주체	농촌진흥청		
사업목적	<ul style="list-style-type: none"> 고품질 다수성 품종개발 및 종자생산 강화 양질 조사료 최대 생산 기술 개발 및 시범단지 확대 조성 사일리지 품질개선 및 유통 활성화 기술개발 개발 기술의 현장실용화 위한 「특성화사업」 강화 	<ul style="list-style-type: none"> 농산물 대외 로열티 경감과 종자산업 육성 해외시장 개척을 위한 전략품목으로 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 보온력 향상 및 최소난방 농기계 에너지 효율 향상 신·재생 에너지 생산기술 개발 LED 이용 농업기술 개발 바이오에너지 작물 생산 시스템 농림부산물 에너지 자원화 기술 개발
주요 관련 내용	<ul style="list-style-type: none"> 사료가치 증진, 내계해 다수성 조사료 품종 지속 개발 지역특성 및 생산기반을 고려한 작부체계 개발·보급 조사료 생산성, 품질 및 재배안정성 증진 및 조사료 생산비절감 기술개발 특성화지역 연계 『On-Farm Research』를 통한 연구성과 확산 	<ul style="list-style-type: none"> 국제경쟁력이 있는 우량 신제품 개발 우량 유전자원 확보 및 육종기술 개발 국산품종의 홍보 및 보급 확대 	<ul style="list-style-type: none"> 농업시설의 에너지 진단 및 컨설팅 시스템 개발 태양열, 지열 등 자연에너지 이용기술 확립 미생물 연료전지를 이용한 전기생산 기술 개발 LED광을 이용한 생육조절기술 개발 바이오에너지 신 자원 개발 및 품종 육성 바이오에너지 원료작물 최대생산 시스템 개발 BT응용 바이오에너지 원료작물 수익성 제고 에너지 및 CO2 저감을 위한 농업기계 효율 향상 기술 개발

제1-2절 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스

1. 1차년도 연구개발 수행내용 및 결과

가. 엽록소 분석 메뉴얼 구축

- 총량 단순분석 - 시료1 g에 glass beads 5 ml를 넣고, vortex를 15분 한다. Acetone, hexane, 0.1% NaCl을 각각 넣어준 후 다시 vortex를 5분한다. 1,200 rpm, 15분 centrifuge를 한다. Tube에 상등액을 취한다. Spectrophotometer로 300-700 nm wavelength scan을 한다.
- TLC를 통한 성분분석 - Acetone, hexane, 0.1% NaCl 용액을 이용하여 carotenoid를 추출하고, TLC를 통해 표준물질과 비교하여 각각의 물질을 비교 판단한다.

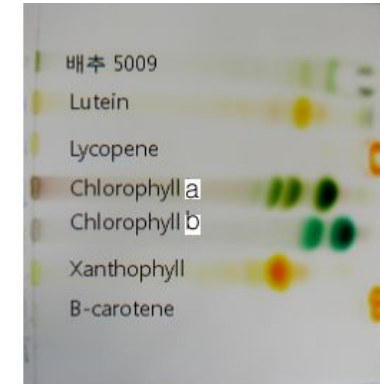


그림 1. 엽록소 및 카로테노이드의 TLC.

나. 수분, 회분, 무기질 메뉴얼 구축

도가니의 항량을 측정하고, 샘플을 도가니에 첨가하여 105℃ dry oven에서 항량에 도달 할 때까지 측정하여 수분함량 측정한다. 수분 함량 측정이 끝난 샘플을 사용하여 550℃ 회화로에서 수 시간 가열하여 항량에 도달 할 때까지 측정하여 회분함량을 측정한다. 회분 함량 측정이 끝난 샘플을 사용하여 50% HCl 용액으로 용해하여 무기질 샘플 준비한다. 일반성분의 3가지 요소를 한 스텝에 포함시켜 세트화 함으로써 시간과 샘플의 절약이 가능하다.



그림 2. Dry oven에서 수분, 회화로에서 회분, 50% HCl 용액으로 무기질 샘플 준비.

다. ELISA를 활용한 대량 샘플의 신속, 정확 환원당 분석법 개발

- 구 방법 : Spectrophotometer를 이용한 환원당 함량을 측정한다. 상등액 1 ml을 채취한 후, 15,000 rpm, 3분 centrifuge를 한다. DNS법으로 환원당을 측정한다. Cuvet에 한 샘플씩 분주, 측정, 세척 3반복한다. 546 nm에서 측정한다.
- 신 방법 : ELISA를 이용한 환원당 함량을 측정한다. 상등액 1ml을 채취한 후, 15,000 rpm, 3분 centrifuge를 한다. DNS법으로 환원당을 측정한다. 96well에 3반복, 200 μ l씩 분주한 후, ELISA로 측정한다. 540 nm에서 측정한다.
- 증명 : 이전의 spectrophotometer를 이용해 546, 540 nm에서 측정한 값과 ELISA를 이용해 540 nm에서 측정한 값을 비교하여 증가감소유형의 유사성을 확인하였다.

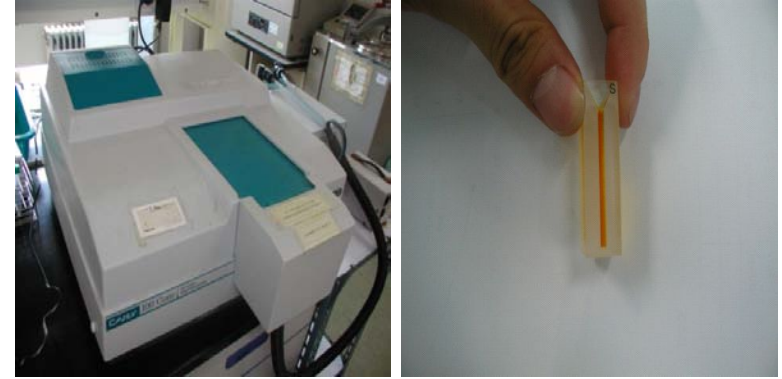


그림 3. 기존의 사용되던 spectrometer와 cuvet

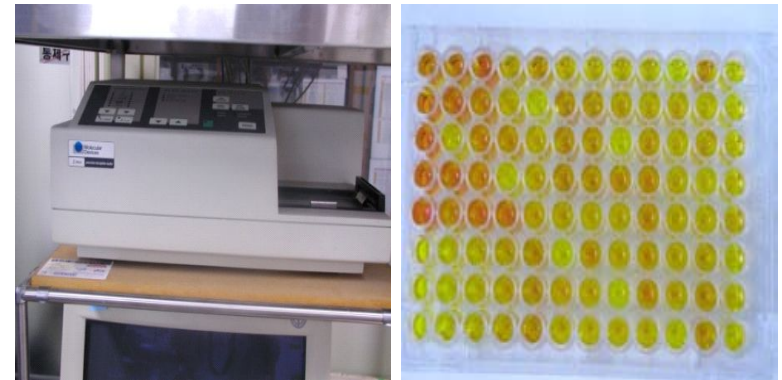


그림 4. 대량분석을 위한 ELISA reader와 96well plate

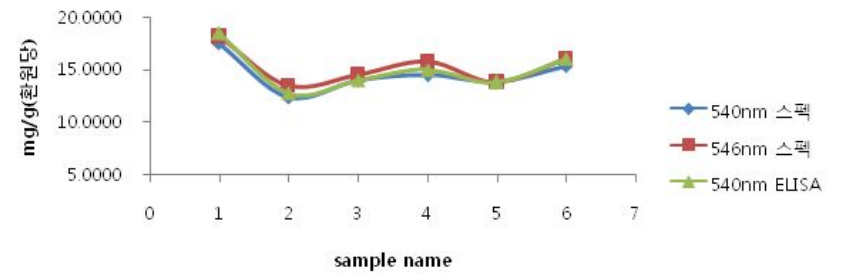


그림 5. Spectrophotometer 이용법과 ELISA이용법 비교

라. 수질분석기를 활용한 질산염(Nitrate)의 분석 메뉴얼 구축

믹서기를 이용하여 증액을 채취하고, 5,000 rpm, 10분 centrifuge를 한 후, 상등액을 whatman No.2로 여과하여, 여액의 질산염 함량을 AL250 수질분석기를 사용하여 측정한다. 샘플 10 ml를 cell에 분주하여 blank test를 한다. 그리고 시료측정을 위해 nitrate tube에 sample 20 ml + nitrate powder 1 스푼을 넣고 1분 강하게 혼돈다. 다시 nitrate test-tablet을 1정 넣고 1분 강하게 혼돈 후, 안정시킨 뒤, 다시 3~5회 혼돈 후 2분 안정시킨다. Cell에 앞의 용액을 10 ml 채운 뒤 Nitrite LR tablet과 혼합, 10분 측정한다.



그림 6. AL250 수질분석기

마. 펙틴(수용성) 함량 측정 메뉴얼 구축

펙틴질은 EtOH에 불용성이므로 A.O.A.C. 와 Manabe 의 방법에 준하여 EtOH 불용성 물질을 추출한다. 추출시 당이 존재하면 pectin 함량 측정에 영향을 주기 때문에 증류수로 마쇄한 샘플을 vortex, centrifuge하여 상등액을 제거하고, 95% EtOH로 여러 번 세척 후 더 이상 지용성색소가 추출되지 않을 때 acetone으로 마무리 세척한다. 48시간 건조하여 AIS(Alcohol Insoluble Solid)로 사용한다. 증류수 1 ml을 첨가하여 한 시간 가열, 냉각한 후 centrifuge, 상등액을 수용성 펙틴용액으로 한다. 수용성 펙틴용액 1 ml을 ice water bath에서 5분 냉각한 뒤, 농축된 황산에 녹인 0.0125 M sodium tetraborate 6 ml 첨가한 후, vortex를 하고, 100°C water bath에서 5분 끓인다. Ice-water bath에 5 min 방치하여 식힌 후, 0.15%(w/v) NaOH 0.1 ml를 첨가하고, vortex를 하여 완전히 섞고 20분 방치한다. 그리고 분광광도계를 이용하여 520 nm에서 흡광도 측정, 3반복하여 그 평균값을 값으로 하며, 표준편차를 구해 나타낸다. 표준 곡선은 pectin (from citrus)를 10 mg/ml 사용하여 0.05~0.8 mg/ml로 구한다.

바. Cellulose 함량 측정 메뉴얼 구축

Cellulose 함량은 -70°C 초저온고에서 보관중인 샘플 1 g을 증류수로 세척한 후 centrifuge하여 상등액을 제거하고, cellulase 150 units 가해, buffer로 5 ml로 맞추어 shaking water bath에서 37°C, 150 rpm, 20시간 반응시킨다. 17,000, rpm 5분, centrifuge하여 상등액을 취한 뒤, 상등액 0.1 ml에 증류수 0.9 ml, DNS 1 ml을 가하여 끓는 물에서 15분 반응시키고, 20°C water bath에서 15분 식힌 뒤, 증류수 3 ml을 가해 희석해준다. Spectrophotometer를 이용하여 546 nm에서 측정한다.

사. Vitamin C 함량 측정 메뉴얼 구축

VitaminC의 함량은 -70°C 초저온고에서 보관중인 샘플 1 g을 5% 메타인산용액 10 ml과 함께 막대사발에 넣고 갈아준다. 충분히 갈아준 후 5% 메타인산용액으로 25 ml 정량한 뒤, 빛에 의한 vitamin C의 파괴를 막기 위해 은박지로 falcon tube를 감싸고 거름종이로 걸러준다. Dehydroascorbic acid용과 공시검용 2 ml을 각각 시험관에 나누어 넣어주고, 두 시험관에 DCP 1ml, Thiourea 2 ml을 넣어준다. Dehydroascorbic acid용에만 DNP 1 ml을 넣고 50°C, 70분 water bath에 방치한다. 85% 황산 5 ml을 두 시험관에 각각 넣어준 후, 공시검용에만 DNP 1 ml을 넣는다. 그리고 ice water bath에 30분 방치 후, 520 nm 흡광도를 측정한다.

아. 조단백질 함량 측정 메뉴얼 구축

조단백질의 정량은 4°C 저온고에서 보관중인 샘플을 액체질소에 넣고 갈아준 후, micro tube에 0.2 g 넣어주고, tris buffer (0.05 M, pH 7.5) 1 ml을 첨가한다. Vortex 후, ice에서 10분 방치한다. 샘플을 4°C, 1,700 rpm, 5분 centrifuge 후 상등액을 채취하여 bioradford 시약 5 ml을 넣어 반응시킨 후, 5~15분 사이에 595 nm에서 흡광도를 측정한다.

자. Carotenoids 함량 측정 메뉴얼 구축

-70°C 초저온고에서 보관중인 샘플 1 g에 acetone 5 ml, hexane 5 ml, 0.1% NaCl 5 ml을 각각 넣어준 후 vortex를 5분 시켜주고, 1,200 rpm, 15분 centrifuge한다. 다른 시험관에 상등액을 추출하여 spectrophotometer로 300-700 nm wavelength scan을 측정한다.

차. 조지방 함량 측정 메뉴얼 구축

-70°C 초저온고에서 보관중인 샘플 1 g에 acetone 5 ml, hexane 7 ml, 0.1% NaCl 5 ml을 각각 넣어준 후 vortex를 5분 시키고 1,200 rpm, 15분 centrifuge한다. 70°C dry oven에서 향량 건조시킨 시험관에 상등액을 추출하여 hood에서 건조시킨다. 건조시킨 시험관을 70°C dry

oven에서 항량에 도달 할 때까지 건조 시켜 그 무게의 변화를 칭량하여 계산한다.

카. Vitamin E 함량 측정 메뉴얼 구축

Vitamin E의 함량은 α, α' -Dipiridyl에 의한 비색 정량법으로 측정한다. 즉, α -토코페롤 20 mg에 absolute EtOH에 녹여 100 ml로 정량하여 표준용액으로 한다. 시험용액은 시험관에 시료 2 g을 취하고 absolute EtOH 3 ml, 10% 피로갈롤에탄올 용액 3.1 ml, 90% KOH 0.1 ml을 가한 뒤, 65°C water bath에서 30분 비누화 한다. 비누화 후 신속하게 냉각하고 증류수 1 ml과 hexane 3 ml을 가하고 vortex후 2,500 rpm, 3분 centrifuge한다. Hexane층을 분리하여 새 시험관에 옮기고, 증류수층에 반복 실험하여 hexane층을 튜브에 옮긴다. Hexane층을 모두 합한 뒤 증류수로 씻어서 중성으로 한다. 중성확인용 페놀프탈레인 시약을 넣어서 확인한다. Hexane층에 무수황산나트륨을 가하여 탈수 한 후 2,500 rpm, 5분 centrifuge하고 상등액을 분리하여 새 시험관에 옮긴다. Hexane 추출액을 모두 합하여 75°C water bath에서 증발 시키고, 잔류물은 absolute EtOH에 녹여 2.5 ml로 맞춰서 시험용액으로 사용한다. 시험용액 0.5 ml와 vitamin E 표준용액 1 ml을 25 ml의 플라스크에 각각 취하여, 염화제이철용액 0.1 ml와 0.5% α, α' -Dipiridyl용액 0.1 ml을 가하고 absolute EtOH를 가하여 2.5 ml로 정량하고, 520 nm에서 흡광도를 측정한다.

타. Glucosinolate 함량 측정 메뉴얼 구축

Glucosinolate의 함량은 GC-FPD를 사용하여 측정한다. 샘플 2 g을 5 ml phosphate citrate buffer (pH 7)에 넣고, vortex한다. 3 mg의 myrosinase를 첨가하고, 0.05 $\mu\text{mol/ml}$ butyl isothiocyanate 2 ml 첨가한 뒤 30°C, 2시간 shake한다. 3,000 rpm, 10분 centrifuge한 뒤, 바늘을 이용하여 하층액 (DCM층)을 따로 분리한다. Sodium sulfate 0.5 g을 첨가하여 잔존하는 수분을 모두 제거하고, 0.45 μm membrane filter를 통과시켜 나온 여액을 GC-FPD에 injection하여 피크를 통해 측정한다.

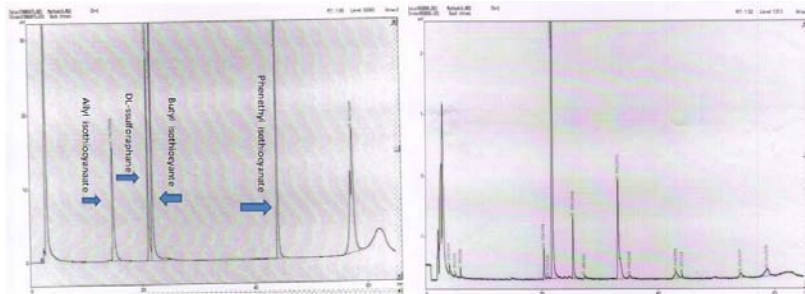


그림 7. Glucosinolate standard peak와 sample peak.

파. 제2-6세부과제 분석 수행 결과 (2품종 28성분, 분석 항목 수: 56)

§ 수분, 조단백, 조지방, 회분, cellulose, 환원당, glucosinolate, isothiocyanate, mineral

	Control	Sample #29
Moisture (%)	89.8 ± 0.0258	88.9 ± 0.009
Protein (mg/g)	29.2	30.2
Fat (%)	2.2	1.5
Ash (%)	0.93 ± 0.043	1.27 ± 0.032
Cellulose (%)	7.5 ± 0.002	5.6 ± 0.003
Vitamin C (mg/100g)	440	434
Glucose (%)	1.9	1.5
Glucosinolate ($\mu\text{mol/g}$)	2	4.8
Isothiocyanate ($\mu\text{mol/g}$)	5.8	6.4
Mineral (ppm)		
P	995	885
S	2375	1965
Na	670	473.5
Al	5.75	6.35
K	4795	4225
Cr	3.4	6.5
Mn	5.05	2.05
Fe	38.8	58
Co	ND	ND
Cu	1.6	2.15
Zn	8.05	12.8
Mg	423.5	258
Ca	1165	585
Cd	ND	ND
Ni	0.9	3.35
As	ND	ND
Se	ND	ND
Mo	ND	ND
Pb	ND	ND

하. 제3-1세부과제 분석 수행 결과 (13품종 24성분, 분석 항목 수 : 312)

§ 환원당, vit C, 조단백, carotenoid, chlorophyll

Sample	Glucose (mg/g)	Vit C (mg/g)	Protein (mg/g)	Carotenoid (lutein으로) (ug/g sample)	Chlorophyll (chlorophyll a 로) (ug/g sample)
#3-1	17.96 ± 0.03	20.17 ± 0.73	1.170 ± 0.024	9.90	0.257
#3-2	17.47 ± 0.08	17.40 ± 0.98	1.122 ± 0.005	24.00	1.800
#4-1	17.88 ± 0.01	33.89 ± 1.38	1.685 ± 0.031	30.00	0.000
#4-2	17.91 ± 0.02	23.96 ± 0.51	1.514 ± 0.019	23.10	1.157
#5-1	18.04 ± 0.00	30.75 ± 0.25	1.361 ± 0.032	20.70	0.129
#5-2	17.99 ± 0.03	20.92 ± 0.31	1.527 ± 0.006	17.10	0.193
#6-1	17.66 ± 0.04	34.98 ± 0.29	1.797 ± 0.046	38.70	0.450
#6-2	17.62 ± 0.11	22.00 ± 0.72	1.526 ± 0.017	26.40	0.707
#7-1	18.21 ± 0.05	30.61 ± 1.11	1.752 ± 0.018	20.70	0.064
#7-2	17.93 ± 0.06	24.01 ± 0.34	1.339 ± 0.018	15.90	0.193
#8-1	18.06 ± 0.06	44.37 ± 1.84	1.478 ± 0.022	26.10	0.514
#8-2	18.12 ± 0.04	27.17 ± 1.12	1.610 ± 0.013	22.50	0.900
#9-1	18.11 ± 0.01	41.83 ± 0.87	2.146 ± 0.054	34.50	0.643

§ Amino acids

	Amino acid (mg/g)																			Total
	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	NH3	His	Trp	Arg	Pro	
#3-1	0.02	0.00	0.00	0.00	1.26	1.32	0.21	1.02	0.29	0.74	1.38	0.33	0.93	1.24	5.32	0.44	0.00	0.72	1.03	16.25
#3-2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.29	0.05	0.29	0.02	0.21	0.40	0.17	0.25	0.38	0.17	0.13	0.00	0.33	0.00	2.93
#4-1	0.00	0.40	0.22	0.35	0.00	0.00	0.05	0.28	0.02	0.21	0.39	0.15	0.24	0.40	0.25	0.13	0.00	0.31	0.87	4.24
#4-2	0.00	0.34	0.19	0.29	0.00	0.00	0.03	0.25	0.01	0.18	0.34	0.09	0.21	0.34	0.19	0.11	0.00	0.26	0.58	3.41
#5-1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.32	0.03	0.29	0.00	0.21	0.39	0.12	0.25	0.41	0.41	0.14	0.00	0.30	0.00	3.12
#5-2	0.00	0.42	0.24	0.37	0.00	0.00	0.04	0.32	0.01	0.24	0.44	0.14	0.27	0.44	0.21	0.15	0.00	0.33	0.62	4.25
#6-1	0.00	0.69	0.38	0.57	0.00	0.00	0.06	0.51	0.01	0.40	0.72	0.17	0.43	0.71	0.33	0.24	0.00	0.56	1.10	6.87
#6-2	0.00	0.65	0.37	0.58	0.00	0.00	0.06	0.47	0.01	0.36	0.69	0.22	0.41	0.67	0.31	0.22	0.00	0.53	1.02	6.59
#7-1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.35	0.42	0.04	0.40	0.02	0.30	0.56	0.23	0.33	0.59	0.24	0.17	0.00	0.45	0.00	4.10
#7-2	0.00	0.47	0.28	0.00	0.00	0.00	0.06	0.35	0.03	0.26	0.49	0.20	0.29	0.49	0.18	0.15	0.00	0.37	0.00	3.61
#8-1	0.00	0.58	0.33	0.00	0.38	0.00	0.06	0.42	0.05	0.32	0.60	0.24	0.35	0.61	0.23	0.18	0.00	0.47	0.00	4.81
#8-2	0.00	0.61	0.32	0.00	0.44	0.50	0.07	0.41	0.11	0.30	0.56	0.21	0.35	0.52	1.24	0.18	0.00	0.41	0.00	6.24
#9-1	0.03	0.00	0.31	0.00	0.38	0.45	0.06	0.40	0.13	0.30	0.56	0.22	0.37	0.56	1.21	0.19	0.00	0.45	0.00	5.61

거. 제1-1세부과제 분석 수행 결과 (30품종 25성분, 분석 항목 수: 750)

§ Sample name

Sample	소재명
#5001	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage shanghai siyueman
#5002	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage jingyou yihao
#5003	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage jinguanwang
#5004	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage suzhouqing
#5005	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage qiouyuyihaoF1
#5006	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage aoxing70
#5007	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage beijing qingchengmeimaoxiaobaicai
#5008	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage beijing xinyihao91-12
#5009	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage aoxing75
#5010	<i>Brassica juncea</i> leaf mustard baoxinjiecai
#5011	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage beijing xinsanhaoF1
#5012	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage M-988 F1
#5013	<i>Brassica oleracea</i> cabbage 8398
#5014	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage shenyang kuaicai
#5015	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage sijixiaobaicaiF1
#5016	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage fuxing80
#5017	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage jinguan80 (2dai)
#5018	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage liaobaishihao
#5019	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage lxxing70
#5020	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage tianjinlv qingmaye
#5021	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage shanghai aikangqing
#5022	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage jincaisanhao
#5023	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage xingchengmaye
#5024	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage tianxiawushuang
#5025	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage dongbao
#5026	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage qioufuyidajiaopei
#5027	<i>B. rapa</i> ssp <i>chinensis</i> cabbage beijingqingchengxiaobaicai
#5028	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage fengying
#5029	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage yishitianfabaicai
#5030	<i>B. rapa</i> ssp <i>campestris</i> cabbage fubaierhao

§ 수분, 회분, 환원당, 펙틴

Sample	Moisture (%)		Ash (mg/g)		Glucose (mg/g)		Pectin (mg/g)	
#5001	84.74	± 1.35	13.61	± 0.56	26.76	± 0.27	4.61	± 0.12
#5002	88.55	± 0.83	13.45	± 1.30	22.51	± 0.34	5.49	± 0.04
#5003	88.13	± 1.09	19.10	± 0.82	13.94	± 0.08	2.46	± 0.08
#5004	86.47	± 1.38	15.64	± 0.77	22.19	± 0.12	4.86	± 0.12
#5005	89.48	± 2.02	19.65	± 5.39	11.67	± 0.37	5.06	± 0.31
#5006	85.77	± 1.57	15.76	± 3.80	25.07	± 0.41	5.36	± 0.08
#5007	84.93	± 0.41	18.48	± 3.62	25.34	± 0.20	7.01	± 0.15
#5008	87.09	± 0.91	13.85	± 1.44	23.95	± 0.12	4.48	± 0.15
#5009	86.06	± 0.61	21.88	± 2.60	20.26	± 0.47	7.62	± 0.05
#5010	89.18	± 1.03	13.76	± 5.67	24.52	± 0.19	8.64	± 0.25
#5011	84.97	± 1.99	25.52	± 2.77	20.35	± 0.17	9.40	± 0.07
#5012	85.86	± 1.19	25.27	± 2.10	9.79	± 0.11	3.91	± 0.06
#5013	86.89	± 0.61	23.16	± 2.85	16.44	± 0.42	3.61	± 0.08
#5014	88.33	± 0.44	16.15	± 1.93	24.37	± 0.24	8.75	± 0.66
#5015	87.86	± 0.63	13.77	± 1.64	22.83	± 0.41	8.72	± 0.04
#5016	88.10	± 1.92	14.52	± 2.15	23.18	± 0.25	10.95	± 0.61
#5017	87.48	± 0.44	20.42	± 1.30	21.86	± 0.13	7.15	± 0.39
#5018	84.21	± 1.13	23.64	± 2.74	21.76	± 0.52	9.62	± 0.25
#5019	86.92	± 0.27	16.73	± 1.12	24.96	± 0.14	13.73	± 0.19
#5020	88.74	± 0.97	19.66	± 2.65	16.07	± 0.31	8.00	± 0.15
#5021	85.98	± 0.66	18.48	± 2.14	21.54	± 0.09	7.15	± 0.10
#5022	84.87	± 0.81	21.43	± 3.24	23.91	± 0.25	9.34	± 0.01
#5023	87.60	± 0.71	18.57	± 2.45	18.48	± 0.42	9.85	± 0.15
#5024	87.35	± 1.03	18.01	± 2.13	20.01	± 0.14	7.91	± 0.25
#5025	86.85	± 0.18	18.75	± 2.53	22.25	± 0.35	9.19	± 0.04
#5026	87.29	± 1.03	16.70	± 2.22	23.06	± 0.33	7.88	± 0.04
#5027	88.56	± 0.91	17.11	± 6.22	22.43	± 0.19	10.11	± 0.12
#5028	89.13	± 1.15	17.85	± 3.67	20.00	± 0.33	8.24	± 0.05
#5029	89.33	± 0.79	18.70	± 1.92	19.41	± 0.34	6.20	± 0.13
#5030	88.61	± 0.52	16.88	± 0.96	14.07	± 0.28	5.00	± 0.12

§ Cellulose, vitamin C, 조단백, 조지방, vitamin E

Sample	Cellulose (mg/g)		Vitamin C (mg/g)		Protein (mg/g)		Fat (mg/g)		Vitamin E (mg/g)	
#5001	19.19	± 0.43	51.61	± 2.11	3.26	± 0.17	22	± 3	0.044	± 0.007
#5002	12.83	± 1.35	66.34	± 3.54	1.33	± 0.12	17	± 1	0.043	± 0.006
#5003	13.63	± 0.50	54.61	± 1.02	3.16	± 0.28	17	± 1	0.042	± 0.014
#5004	19.71	± 2.49	64.21	± 1.74	2.10	± 0.22	22	± 2	0.050	± 0.011
#5005	12.11	± 0.63	98.84	± 9.37	1.43	± 0.15	28	± 12	0.096	± 0.009
#5006	15.43	± 0.93	63.38	± 0.31	3.01	± 0.39	30	± 8	0.085	± 0.018
#5007	16.99	± 2.05	67.78	± 1.16	2.32	± 0.13	25	± 8	0.059	± 0.006
#5008	12.39	± 1.22	38.57	± 0.84	1.96	± 0.19	37	± 8	0.129	± 0.014
#5009	13.59	± 0.37	63.80	± 4.43	1.58	± 0.07	25	± 8	0.059	± 0.006
#5010	20.66	± 0.18	63.68	± 5.41	2.31	± 0.32	34	± 12	0.046	± 0.013
#5011	18.99	± 1.28	62.32	± 5.96	3.04	± 0.07	25	± 10	0.102	± 0.020
#5012	13.15	± 0.84	70.55	± 3.06	2.58	± 0.09	27	± 3	0.147	± 0.008
#5013	13.75	± 0.70	71.90	± 10.88	1.98	± 0.09	22	± 5	0.120	± 0.013
#5014	16.31	± 1.10	67.18	± 2.76	1.72	± 0.03	17	± 9	0.102	± 0.005
#5015	13.19	± 1.27	66.44	± 2.89	2.74	± 0.07	26	± 5	0.103	± 0.013
#5016	13.35	± 0.92	119.60	± 8.95	2.36	± 0.23	28	± 4	0.123	± 0.013
#5017	17.43	± 1.05	92.60	± 16.48	2.20	± 0.20	24	± 7	0.116	± 0.002
#5018	14.43	± 0.18	122.56	± 7.55	2.05	± 0.19	28	± 4	0.089	± 0.019
#5019	19.23	± 2.22	121.75	± 5.82	1.50	± 0.15	23	± 6	0.059	± 0.005
#5020	14.83	± 1.05	151.68	± 2.91	2.10	± 0.23	24	± 2	0.092	± 0.014
#5021	18.31	± 0.30	115.80	± 2.92	2.45	± 0.27	9	± 3	0.072	± 0.001
#5022	23.82	± 0.07	98.46	± 6.84	2.14	± 0.22	6	± 1	0.148	± 0.008
#5023	16.59	± 0.57	135.67	± 30.03	1.49	± 0.18	15	± 3	0.185	± 0.001
#5024	13.11	± 1.63	82.12	± 2.03	2.28	± 0.07	19	± 4	0.122	± 0.001
#5025	16.79	± 1.77	118.68	± 4.37	2.72	± 0.04	19	± 3	0.152	± 0.007
#5026	20.98	± 0.21	87.17	± 3.14	2.05	± 0.31	48	± 7	0.093	± 0.001
#5027	16.67	± 1.77	128.77	± 12.11	1.58	± 0.27	25	± 10	0.122	± 0.010
#5028	18.79	± 0.18	79.55	± 0.57	2.30	± 0.13	24	± 12	0.126	± 0.006
#5029	32.69	± 0.45	61.21	± 0.81	1.60	± 0.11	35	± 9	0.122	± 0.007
#5030	29.74	± 0.24	60.82	± 3.93	2.27	± 0.02	47	± 8	0.083	± 0.011

§ Mineral

Sample	Mineral (mg/g)														
	Al	Ca	K	Cd	Co	Cr	Fe	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Zn	P	S
#5001	0.05	3.58	2.43	nd	nd	0.01	0.07	0.47	0.01	0.58	0.01	nd	0.01	0.46	0.90
#5002	0.04	2.54	2.22	nd	nd	0.01	0.07	0.32	0.00	0.35	0.01	nd	0.01	0.45	0.78
#5003	0.08	4.95	4.22	nd	nd	0.01	0.05	0.42	0.01	0.36	0.01	nd	0.01	0.43	1.13
#5004	0.08	2.80	3.69	nd	nd	0.01	0.06	0.27	0.04	0.27	0.01	nd	0.01	0.51	1.02
#5005	0.08	3.48	3.69	nd	nd	0.01	0.05	0.36	0.01	0.37	0.00	nd	0.01	0.47	1.19
#5006	0.08	2.80	3.62	nd	nd	0.01	0.06	0.25	0.02	0.34	0.01	nd	0.01	0.46	0.93
#5007	0.10	1.56	2.39	nd	nd	0.01	0.06	0.20	0.02	0.42	0.01	nd	0.01	0.54	1.01
#5008	0.08	2.24	3.23	nd	nd	0.00	0.04	0.29	0.01	0.54	0.00	nd	0.01	0.52	0.92
#5009	0.12	4.40	2.98	nd	nd	0.01	0.07	0.52	0.02	0.37	0.01	nd	0.01	0.43	1.14
#5010	0.05	2.98	3.50	nd	nd	0.00	0.04	0.42	0.00	0.23	0.00	nd	0.00	0.32	0.56
#5011	0.12	4.78	3.81	nd	nd	0.01	0.07	0.49	0.01	0.47	0.01	nd	0.01	0.31	1.17
#5012	0.08	3.67	3.89	nd	nd	0.01	0.05	0.40	0.01	0.30	0.00	nd	0.01	0.44	1.08
#5013	0.07	7.58	2.44	nd	nd	0.00	0.04	1.04	0.06	0.29	0.00	nd	0.01	0.40	2.72
#5014	0.09	2.87	3.80	nd	nd	0.01	0.05	0.33	0.02	0.39	0.01	nd	0.01	0.35	0.89
#5015	0.09	1.35	2.42	nd	nd	0.04	0.20	0.21	0.03	0.25	0.03	nd	0.01	0.41	8.72
#5016	0.08	3.10	3.48	nd	nd	0.04	0.17	0.41	0.11	0.33	0.02	nd	0.01	0.42	9.22
#5017	0.07	7.00	3.89	nd	nd	0.03	0.14	0.78	0.01	0.41	0.01	nd	0.01	0.34	6.48
#5018	0.07	5.16	5.08	nd	nd	0.03	0.17	0.79	0.01	0.72	0.02	nd	0.01	0.46	7.97
#5019	0.08	2.48	4.52	nd	nd	0.04	0.17	0.38	0.00	0.39	0.02	nd	0.01	0.53	8.14
#5020	0.08	2.82	3.32	nd	nd	0.04	0.17	0.33	0.00	0.60	0.02	nd	0.01	0.29	8.29
#5021	0.10	4.34	4.46	nd	nd	0.04	0.18	0.40	0.04	0.28	0.02	nd	0.01	0.56	9.00
#5022	0.07	4.90	6.94	nd	nd	0.03	0.13	0.53	0.05	0.29	0.02	nd	0.03	0.49	6.94
#5023	0.07	6.50	5.47	nd	nd	0.04	0.20	0.58	0.07	0.30	0.02	nd	0.01	0.49	10.09
#5024	0.07	6.03	5.51	nd	nd	0.04	0.20	0.57	0.06	0.54	0.02	nd	0.01	0.39	10.60
#5025	0.09	5.47	2.46	nd	nd	0.05	0.23	0.51	0.03	0.46	0.03	nd	0.02	0.37	11.36
#5026	0.12	5.24	3.57	nd	nd	0.05	0.25	0.46	0.01	0.28	0.03	nd	0.01	0.54	12.13
#5027	0.08	2.77	3.40	nd	nd	0.04	0.20	0.31	0.01	0.46	0.02	nd	0.01	0.52	9.52
#5028	0.09	5.04	3.00	nd	nd	0.05	0.21	0.51	0.01	0.42	0.03	nd	0.01	0.37	10.59
#5029	0.07	4.65	3.13	nd	nd	0.03	0.15	0.47	0.02	0.43	0.02	nd	0.01	0.47	7.62
#5030	0.07	4.55	3.37	nd	nd	0.03	0.12	0.45	0.02	0.48	0.02	nd	0.01	0.41	5.92

§ Glucosinolate

Sample	Total content of glucosinolate (nmol/g)
#5001	616.0
#5002	158.0
#5003	19.0
#5004	211.0
#5005	31.0
#5006	17.1
#5007	54.0
#5008	10.2
#5009	0.4
#5010	3966.0
#5011	3.4
#5012	2.9
#5013	57.0
#5014	2.3
#5015	6.0
#5016	0.7
#5017	188.0
#5018	2.9
#5019	14.0
#5020	230.0
#5021	366.0
#5022	446.0
#5023	767.0
#5024	28.0
#5025	26.0
#5026	17.0
#5027	37.0
#5028	27.0
#5029	10.2
#5030	2.0

2. 2차년도 연구개발 수행내용 및 결과

가. 제2-2세부과제와의 협동연구(Ca 민감 품종의 원인조사)

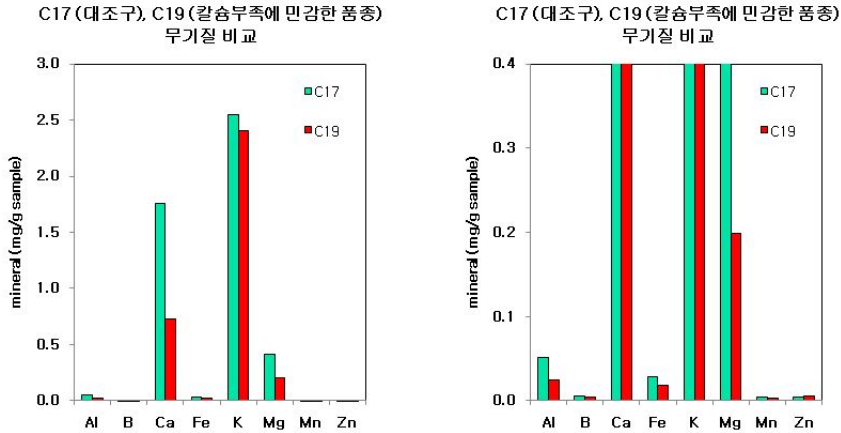


그림 8. 무기질 비교

결론: Ca 부족 민감 품종과 보통 품종의 Ca 함량을 비교하여 민감 품종의 Ca 함량이 약 50% 이내인 것을 발견하였고 또한 Mg의 함량도 적었다.

나. 제1-1세부과제 및 제1-3세부과제와의 협동연구 (토양산성화에 대한 배추성분의 비교 및 품종간의 비교)

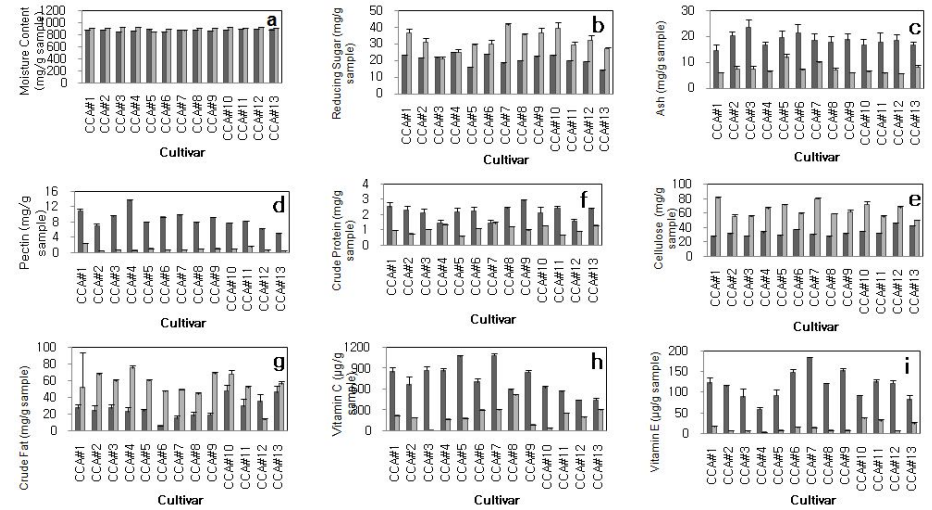


그림 9. 배추 성분 비교

결론: 토양의 산성화로 펙틴, 회분, 펙틴, 단백질, vitamin C와 E의 함량이 높아졌다. 이와 반대로 산성화로 cellulose, 환원당, 그루코시놀레이트의 함량이 높아졌다.

다. Carotenoid (예비실험 결과)

샘플을 균질화 한 후 EtOH을 이용하여 추출한 후 hexane과 20% NaCl용액을 첨가하여 vertex시켜 준다. Centrifuge를 하여 상등액인 hexane층을 분리시킨 후 이를 spectrophotometer와 HPLC를 이용하여 분석한다. 이를 HPLC를 이용하여 한 번에 수행한 결과 배추에는 크게 β-carotene과 lutein 2가지가 존재하는 것으로 측정되었다.

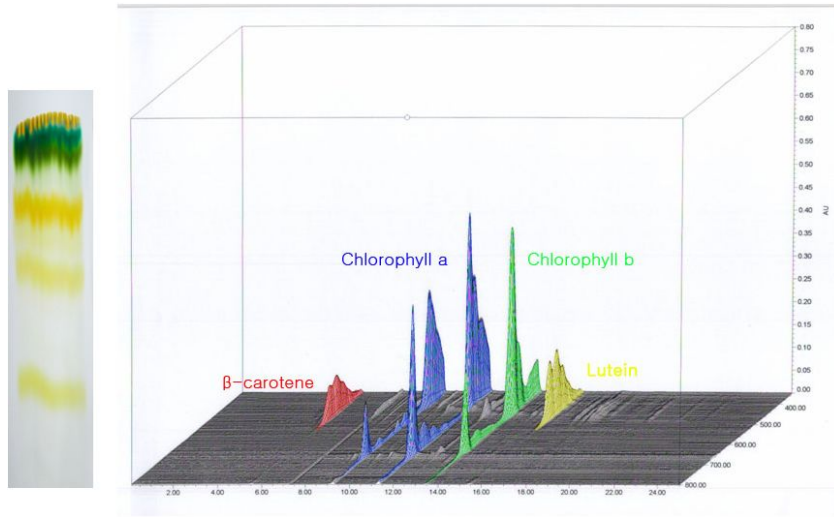


그림 10. TLC와 HPLC를 이용한 carotenoid의 정량

라. Glucosinolate (예비실험)

(1) 추출방법

동결 건조한 샘플을 갈아서 고운 입자의 분말로 만든다. 이 샘플을 0.1 mg으로 재서 튜브에 넣은 후 70% MeOH을 1 ml 첨가한다. 70°C water bath에서 10분 동안 추출을 한 후 5분 centrifuge한다. 상등액을 분리하여 보관한다. 분리하고 남은 고형물에 다시 70% 메탄올을 1 ml 첨가한 후 앞의 과정과 같이 추출을 한다. 이와 같은 과정을 한번 더 하여 총 3번의 과정을 통해서 추출을 한다. 추출된 용액을 혼합한 후 0.5 M barium acetate, 0.5 M lead acetate, water를 1:1:8 비율로 혼합한 용액을 1 ml 첨가한다. 원심분리를 한 후 침전물을 제외한 상등액을 ionexchange column에 통과시킨다. Ion exchange column은 DEAE sephadex A25를 formic acid로 활성화시킨 것으로 column 당 300 µl의 충진제를 넣는다. 추출된 용액을 모두 ionexchange column을 통과시킨 후 1 ml의 물로 세척을 한다. Sulfatase를 각 column에 250 µl를 처리한 후 밀봉시킨다. 16시간, 20°C 배양실에서 반응을 시킨다. 반응이 종료되면 column에 물 1 ml를 첨가하여 통과되어 나오는 추출물을 받는다. 이를 PVDF filter를 이용하여 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석한다.

(2) HPLC 분석 방법

Mobile phase로 water (A solution)과 acetonitrile (B solution)을 이용하였으며 gradient 방법을 이용한다. 초기에는 A 용액 98%, B 용액 2%로 5분간 흘려준 후 5분 이후부터 20분까지 gradient 조건으로 98% A용액, 2% B 용액에서 75% A 용액, B용액 25%까지 흘려준다. Column은 C18 column을 이용한다.

(3) LC-MS 분석 방법

Column은 HPLC와 같은 column을 이용하며, mobile phase는 5 mM ammonium acetate 수용액(A solution)과 acetonitrile(B solution)을 이용한다. 0분부터 5분까지 A용액 98%, B 용액 2%로 흘려준 후 5분부터 45분까지 gradient 조건으로 98% A 용액, 2% B 용액에서 75% A 용액, B용액 25%까지 흘려준다.

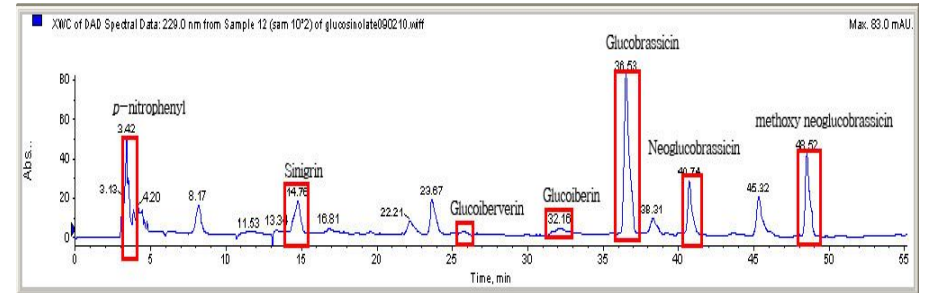


그림 11. 표준품을 이용한 LC-MS data.

마. 제1-3세부과제와의 협동연구 (배추 74 품종의 분석)

74 품종 배추의 녹색잎 부위와 흰색 중륜 부위에서의 성분분석 완료.(예로 일부 품종만 제시)

§ 분석 샘플에 대한 정보

샘플명	The varieties and strains
26099	B. rapa sspchinensis 上海四月蔓(Shanghai siyueman)
26100	B. juncea 九頭鳥雪里蕪(jiotioniashuelrihong)
26101	Cichorium intybus 綠菊苣(ryujijui)
26102	B. rapa sspchinensis 京油一號(jingyouyihao)
26103	B. rapa sspchinensis 早生華京(jersinghwazing)
26104	B. rapa sspcampestris 秋寶 (多抗新三號) {chubo(dorcongsinshenghao)}

(1) 수분함량(%)

샘플명	일부분 수분(%)	줄기부분 수분(%)	샘플명	일부분 수분(%)	줄기부분 수분(%)
26099	85.99	93.86	26138	90.90	92.43
26100	86.56	89.12	26139	91.17	92.41
26101	85.26	87.50	26140	88.59	90.59

(2) 회분 함량(mg/g)

샘플명	일부분의 회분(%)	줄기부분의 회분(%)	샘플명	일부분의 회분(%)	줄기부분의 회분(%)
26099	11.68	8.11	26138	6.45	6.06
26100	13.05	14.12	26139	6.05	5.95
26101	22.30	11.39	26140	9.35	7.00

(3) 일 부분의 mineral 함량(mg/g)

원소 샘플명	B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Pb	Zn
26099	0.016	3.192	0.003	0.025	1.704	0.570	0.015	0.168	ND	0.007
26100	0.013	0.473	0.003	0.022	5.328	0.206	0.003	0.062	ND	0.007
26101	0.021	4.110	0.002	0.034	11.250	0.774	0.034	0.121	ND	0.007

* ND : Not Detected

(4) 환원당 함량(mg/g)

샘플명	일부분 환원당 (mg/g)	줄기부분 환원당 (mg/g)	샘플명	일부분 환원당 (mg/g)	줄기부분 환원당 (mg/g)
26099	30.36	29.84	26138	38.80	35.43
26100	28.53	28.82	26139	36.84	32.66
26101	24.85	35.71	26140	36.35	35.12

(5) pectin 함량(mg/g)

샘플명	일부분 pectin (mg/g)	줄기부분 pectin (mg/g)	샘플명	일부분 pectin (mg/g)	줄기부분 pectin (mg/g)
26099	3.01	0.57	26138	2.59	1.40
26100	4.86	4.16	26139	2.46	2.58
26101	2.60	3.51	26140	2.42	2.60

(6) Vitamin E 함량(mg/g)

샘플명	일부분 Vit E (mg/g)	줄기부분 Vit E (mg/g)	샘플명	일부분 Vit E (mg/g)	줄기부분 Vit E (mg/g)
26099	27.97	4.76	26138	24.25	14.48
26100	47.31	7.30	26139	17.57	15.59
26101	24.45	8.74	26140	10.80	7.06

(7) cellulose 함량(mg/g)

샘플명	일부분 cellulose (mg/g)	줄기부분 cellulose (mg/g)	샘플명	일부분 cellulose (mg/g)	줄기부분 cellulose (mg/g)
26099	69.31	36.21	26138	80.94	65.17
26100	65.41	58.81	26139	81.12	72.66
26101	53.00	67.57	26140	77.16	75.06

(8) Vitamin C 함량(µg/g)

샘플명	일부분 Vit C (µg/g)	줄기부분 Vit C (µg/g)	샘플명	일부분 Vit C (µg/g)	줄기부분 Vit C (µg/g)
26099	105.93	3.41	26138	248.97	334.58
26100	347.27	206.32	26139	220.52	132.30
26101	232.79	172.28	26140	171.08	238.06

(9) 조지방 함량(mg/g)

샘플명	일부분 조지방 (mg/g)	줄기부분 조지방 (mg/g)	샘플명	일부분 조지방 (mg/g)	줄기부분 조지방 (mg/g)
26099	67.67	53.00	26138	41.67	38.33
26100	46.33	40.00	26139	52.33	52.00
26101	50.33	54.33	26140	9.00	60.00

(10) 조단백 함량(mg/g)

샘플명	일부분 조단백 (mg/g)	줄기부분 조단백 (mg/g)	샘플명	일부분 조단백 (mg/g)	줄기부분 조단백 (mg/g)
26099	1.66	0.02	26138	1.08	0.74
26100	1.57	0.51	26139	0.99	0.82
26101	0.92	0.69	26140	1.40	0.44

(11) 불용성 섬유소 함량(mg/g)

샘플명	일부분 섬유소 (mg/g)	줄기부분 섬유소 (mg/g)	샘플명	일부분 섬유소 (mg/g)	줄기부분 섬유소 (mg/g)
26099	176.33	92.67	26138	138.00	143.33
26100	152.87	166.00	26139	137.67	140.00
26101	172.67	152.67	26140	135.33	135.67

마. Microplate reader를 활용한 대량 샘플 분석법 개발 (예, 환원당)

- ELISA reader를 이용한 환원당 함량 측정 96wells로 3반복, 상층 액 1 ml을 채취, 15,000 rpm, 3분 centrifuge하여 DNS법 수행, 96well에 3반복씩 200 μ l씩 분주, ELISA reader로 540 nm에서 측정한다.
- 대량방법의 확장: 펙틴과 셀룰로즈 또한 최종적으로 환원당의 수준을 측정하는 것이므로 DNS 방법을 이용한 대량분석에 적합하여 이들로 확장시켜 연구를 진행하고 있다.

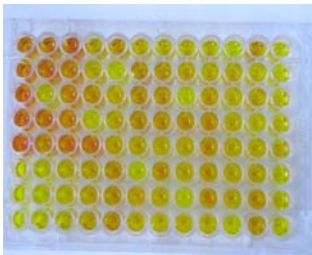


그림 12. 96 well plate 를 이용한 방법 확립.

3. 3차년도 연구개발 수행내용 및 결과

가. 기능성 성분 분석 메뉴얼

(1) Glucosinolate

(가) 추출 방법

동결건조 샘플을 곱게 막자사발 또는 blender로 곱게 갈아서 준비한다. 샘플 0.1 g에 70℃로 예열한 70% 메탄올 1 ml을 첨가하여 70℃의 water bath에서 10분 반응시킨 후 바로 냉각시킨다. 28,500 x g에서 5분 centrifuge하여 상등액을 분리한다. 남은 잔사에 70℃ 메탄올을 가한 후 centrifuge과정을 2회 반복한다. 모든 상등액을 합한 후 2,090 x g에서 10분 centrifuge한다. 상등액을 분리하여 sephadex DEAE-A25가 충전되어 있는 ionexchange column에 모두 통과시킨다. 모두 통과 되면 증류수 1 ml을 column에 통과시켜 세척한 후 sulfatase 250 μ l를 첨가하여 밀봉한 후 16시간 반응 시킨다. 반응이 끝난 후 deionized 증류수 1 ml을 통과시켜 통과된 추출물을 포집한다. 추출물을 28,500 x g에서 5분 centrifuge한 후 상등액 1 ml을 syringe filter(PVDF, 0.22 μ m)를 이용하여 여과한다. HPLC를 이용하여 분석한다.

(나) HPLC 분석 방법

Mobile phase로 water(Eluent A)과 acetonitrile(Eluent B)을 이용하였으며 gradient 방법을 이용한다. 초기에는 A 용액 98% B 용액 2%로 5분간 흘러준 후 5분 이후부터 20분까지 gradient 조건으로 98% A용액, 2% B 용액에서 75% A용액, B용액 25%까지 흘러준다. column은 C₁₈ column을 이용한다. Detector는 229 nm에서 흡광도를 측정하며 flow rate는 1 ml/min이다.

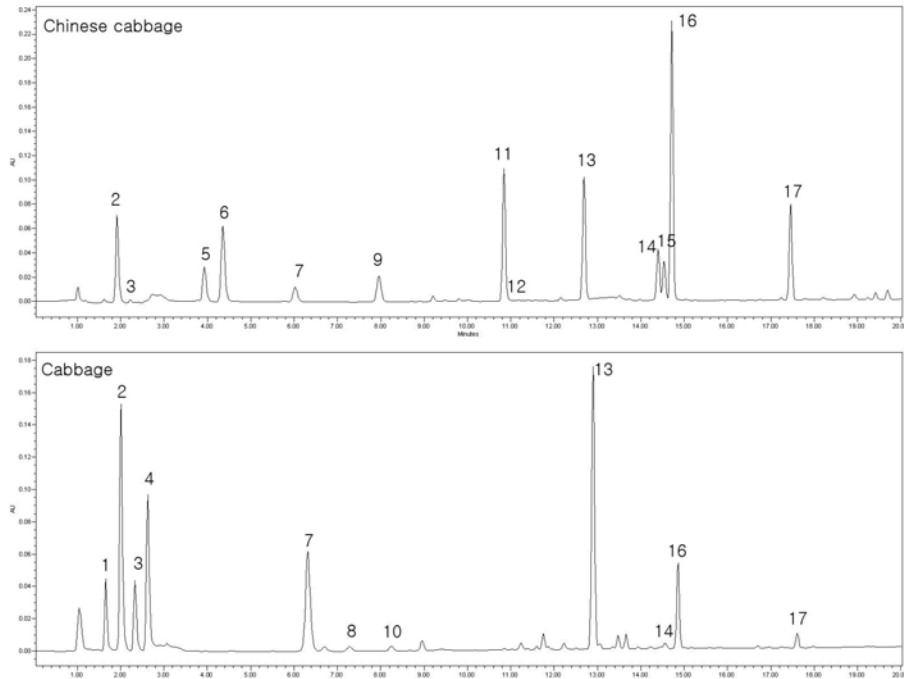


그림 13. 배추와 양배추를 분석한 HPLC graph.

§ 각 피크별 glucosinolate 성분 이름

Peak No.	Glucosinolate	Peak No.	Glucosinolate
1	Glucoiberin	10	Glucoiberverin
2	Progoitrin	11	Glucobrassicinapin
3	Glucoraphanin	12	Glucoerucin
4	Sinigrin	13	Glucobrassicin
5	Gluconapoleiferin	14	Gluconasturtiin
6	Glucoalyssin	15	Glucoraphenin
7	Gluconapin	16	Methoxy glucobrassicin
8	4-Hydroxy glucobrassicin	17	Neoglucobrassicin
9	Glucocochlearin		

(2) Carotenoid

(가) 추출 방법

동결건조 샘플을 막자사발이나 blender로 곱게 갈아서 준비한다. 샘플 0.2 g에 10 ml methanol solution(MeOH : n-Hexane = 3 : 2)을 가한 후 30초 vortex한다. 암실에서 30분 shake한다. N-hexane 5 ml을 첨가한 후 2분 vortex한다. NaCl 수용액(20%, w/v) 10 ml을 첨가한 후 2,100 x g에서 10분 centrifuge한 후 상등액을 취한다. 샘플의 색이 모두 빠질 때까지 n-hexane을 첨가하여 추출한 후 centrifuge하여 상등액을 모은다. 합한 상등액의 n-hexane을 증발 시킨 후 MeOH 1 ml에 녹인다. 농축한 추출액을 syringe filter(PTFE, 0.2 μm)로 여과하여 HPLC를 이용하여 분석한다.

(나) HPLC 분석 방법

Mobile phase로 75% aqueous methanol(Eluent A)와 ethyl acetate(Eluent B)를 이용한다. 초기 A 100%로 시작하여 10분에 30% A, 14분에 0% A로 변하는 gradient 조건으로 분석한다. flow rate는 1 ml/min이고 detector는 450 nm와 660 nm를 사용한다. 450 nm에서는 lutein, β-carotene, cryptoxanthin, violaxanthin, neoxanthin 분석에 이용하고 660 nm는 chlorophyll a, chlorophyll b 분석에 사용한다.

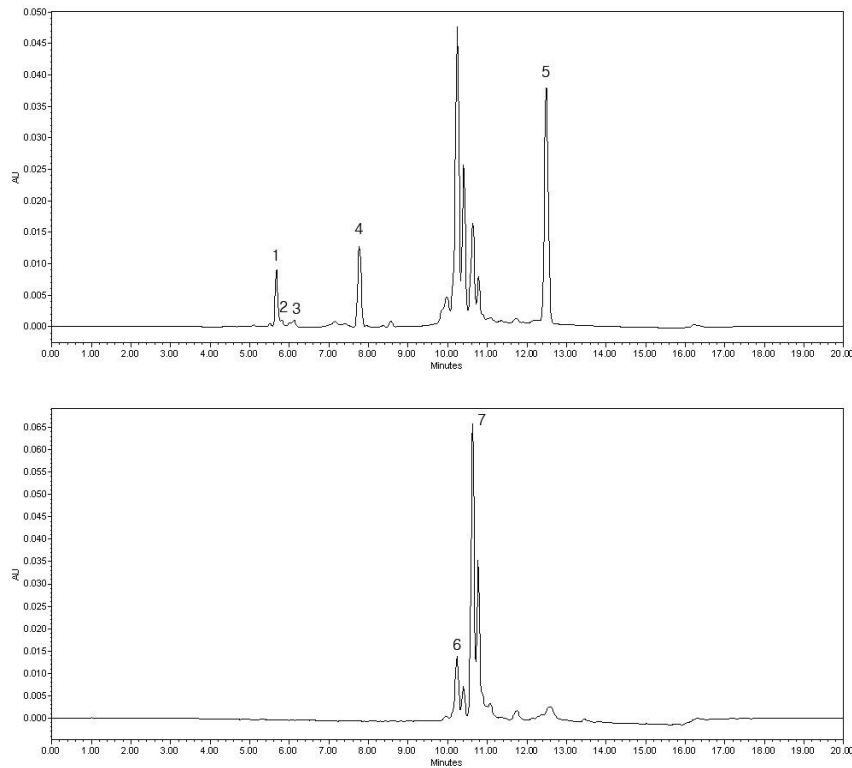


그림 14. Carotenoid를 분석한 HPLC graph.

§ 각 피크별 carotenoid 성분 이름

Peak No.	Carotenoid	Peak No.	Carotenoid
1	Neoxanthin	5	β -carotene
2	Violaxanthin	6	Chlorophyll b
3	Cryptoxanthin	7	Chlorophyll a
4	Lutein		

(3) Amino acids

동결건조 샘플을 막자사발이나 blender로 곱게 갈아서 준비한다. 시료 0.1 g에 1 ml의 증류수를 첨가한 후 vortex 한다. 균질화된 용액 0.1 ml에 0.4 ml의 5% TCA(trichloroacetic acid)를 첨가한 후 4℃에서 9,800 x g으로 15분 centrifuge한다. 상등액을 채취하여 2 ml 0.02 N HCl을 첨가한다. 준비된 시료를 필터 (PVDF, 0.2 μ m)로 거른 후 아미노산 분석기를 이용하여 분석한다.

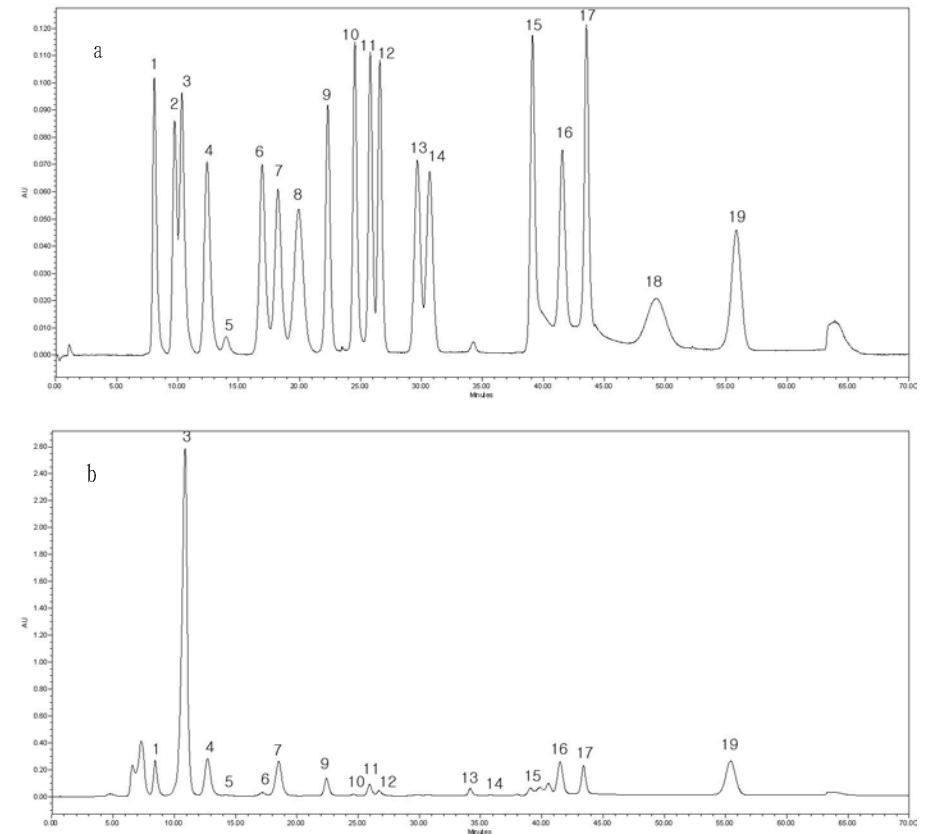


그림 15. Amino acids를 분석한 HPLC graph (a: Standard graph, b: Sample graph).

§ 각 피크별 amino acid 성분 이름

Peak No.	Amino acid	Peak No.	Amino acid
1	Aspartic acid	11	Isoleucine
2	Threonine	12	Leucine
3	Serine	13	Tyrosine
4	Glutamic acid	14	phenylalanine
5	Proline	15	Lysine
6	Glycine	16	Ammonia
7	Alanine	17	Histidine
8	Cystine	18	Tryptophan
9	Valine	19	Arginine
10	Methionine		

§ 갓 (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27147 녹색	207.30	6.92	357.30	11.30
27147 적색	200.56	11.15	370.73	16.46

(나) Pectin

§ Chinese cabbage (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27136	3.21	0.00	0.62	0.12
27137	1.57	0.01	1.40	0.09
27138	0.80	0.01	1.22	0.04

§ Pak choi (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27135	2.06	0.34	2.37	0.16
27253	2.30	0.24	2.46	0.26
27258	2.92	0.01	2.82	0.07

§ 갓 (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27147 녹색	2.98	0.32	2.72	0.06
27147 적색	2.98	0.17	2.70	0.07

(다) Reducing sugar

§ Chinese cabbage (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27136	2.05	0.10	1.65	0.08
27137	4.54	0.33	19.69	0.55
27138	31.52	0.31	25.37	0.05

나. 세부과제와의 연구 협력 내용

(1) 제1-3세부과제와의 연구 협력 내용

54종의 배추과 샘플의 cellulose, pectin, reducing sugar, Vitamin C, Vitamin E, glucosinolate, carotenoid, flavonol(에시로써 분석 결과의 일부만 제시하였다.)

(가) Cellulose

§ Chinese cabbage (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27136	131.49	1.38	130.75	1.57
27137	126.06	9.86	121.38	0.43
27138	134.92	2.92	131.95	1.36

§ Pak choi (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27135	199.57	6.63	352.99	8.52
27253	189.35	13.19	353.87	5.99
27258	193.76	2.83	337.88	13.47

§ Pak choi (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27135	3.88	0.17	7.17	0.26
27253	19.27	0.50	16.30	0.44
27258	12.35	0.30	8.45	0.33

§ 갓 (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27147 녹색	14.90	1.88	15.59	1.21
27147 적색	15.74	1.13	6.86	0.32

(라) Vitamin C

§ Chinese cabbage (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27136	0.053	0.008	0.087	0.010
27137	0.130	0.005	0.134	0.015
27138	0.158	0.005	0.155	0.026

§ Pak choi (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27135	0.095	0.019	0.120	0.038
27253	0.113	0.014	0.075	0.027
27258	0.058	0.012	0.076	0.015

§ 갓 (mg/g fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27147 녹색	0.068	0.025	0.075	0.013
27147 적색	0.081	0.005	0.088	0.018

(마) Vitamin E

§ Chinese cabbage ($\mu\text{g/g}$ fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27136	36.55	2.77	21.30	2.54
27137	75.78	11.91	28.80	1.94
27138	38.02	3.09	21.21	0.93

§ Pak choi ($\mu\text{g/g}$ fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27135	34.71	2.21	23.44	1.95
27253	36.71	2.06	42.39	2.37
27258	51.90	1.50	45.88	1.73

§ 갓 ($\mu\text{g/g}$ fresh weight)

sample No.	잎		중륵	
	average	SD	average	SD
27147 녹색	49.30	1.98	25.38	1.43
27147 적색	62.36	0.37	23.67	1.08

(바) Mineral

§ Chinese cabbage (mg/g fresh weight)

sample No.	Al		B		Ca		Fe	
	잎	중륵	잎	중륵	잎	중륵	잎	중륵
27136	0.0234	0.0096	0.0066	0.0054	0.856	0.436	0.017	0.002
27137	0.0350	0.0090	0.0048	0.0012	0.761	1.811	0.022	0.003
27138	0.0123	0.0108	0.0036	0.0024	0.238	1.735	0.014	0.002

§ Pak choi (mg/g fresh weight)

sample No.	Al		B		Ca		Fe	
	잎	중륵	잎	중륵	잎	중륵	잎	중륵
27135	0.0184	0.0359	0.0055	0.0049	1.368	2.690	0.018	0.028
27253	0.0375	0.0139	0.0056	0.0040	2.186	1.956	0.025	0.009
27258	0.0180	0.0155	0.0052	0.0033	1.295	1.197	0.018	0.010

§ 갓 (mg/g fresh weight)

sample No.	Al		B		Ca		Fe	
	있	중률	있	중률	있	중률	있	중률
27147 녹색	0.3581	0.0764	0.0052	0.0037	6.533	4.189	0.155	0.038
27147 적색	0.0475	0.0346	0.0047	0.0036	3.828	3.973	0.040	0.024

§ Chinese cabbage (mg/g fresh weight)

sample No.	K		Mg		Mn		Zn	
	있	중률	있	중률	있	중률	있	중률
27136	2.087	2.477	0.187	0.107	0.0030	0.0006	0.0012	0.0012
27137	3.571	2.826	0.221	0.248	0.0018		0.0030	
27138	3.722	2.238	0.155	0.286	0.0012		0.0036	0.0006

§ Pak choi (mg/g fresh weight)

sample No.	K		Mg		Mn		Zn	
	있	중률	있	중률	있	중률	있	중률
27135	3.449	3.020	0.288	0.341	0.0055	0.0040	0.0057	0.0047
27253	3.585	3.426	0.353	0.271	0.0062	0.0025	0.0036	0.0026
27258	3.356	2.781	0.276	0.249	0.0055	0.0022	0.0060	0.0037

§ 갓 (mg/g fresh weight)

sample No.	K		Mg		Mn		Zn	
	있	중률	있	중률	있	중률	있	중률
27147 녹색	4.356	3.355	1.000	0.465	0.0167	0.0043	0.0055	0.0032
27147 적색	5.282	5.294	0.473	0.413	0.0131	0.0047	0.0063	0.0037

(사) Carotenoid

§ Chinese cabbage ($\mu\text{g/g}$ dry weight)

sample No.	β -carotene		lutein		chlorophyll b		chlorophyll a	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27136	144.78	5.78	39.60	5.02	49.55	3.09	1105.67	56.70
27137	523.00	3.77	121.54	7.38	285.10	2.74	5006.48	83.27
27138	312.41	92.54	91.55	7.13	184.29	9.88	3191.67	215.65

§ Pak choi ($\mu\text{g/g}$ dry weight)

sample No.	β -carotene		lutein		chlorophyll b		chlorophyll a	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27135	359.35	5.66	135.26	6.83	340.64	85.75	5388.51	367.87
27253	542.12	12.38	190.55	11.20	513.55	28.35	6681.47	422.61
27258	698.34	11.71	161.82	9.95	578.18	12.18	7381.37	128.51

§ 갓 ($\mu\text{g/g}$ dry weight)

sample No.	β -carotene		lutein		chlorophyll b		chlorophyll a	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27147 녹색	152.13	1.86	32.94	1.96	687.46	222.94	2035.62	12.02
27147 적색	682.22	31.04	233.80	10.46	509.86	74.97	3132.38	4237.54

(아) Flavonol

§ Chinese cabbage ($\mu\text{g/g}$ dry weight)

sample No.	Quercetin				Keampferol			
	있		중률		있		중률	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27136	115.838	2.269	164.095	2.720	177.342	2.983	71.188	0.231
27137	434.245	11.502	168.697	4.120	3858.665	43.141	125.094	11.389
27138	197.537	2.784	198.506	5.672	2027.758	30.568	219.379	31.867

§ Pak choi ($\mu\text{g/g}$ dry weight)

sample No.	Quercetin				Keampferol			
	있		중률		있		중률	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27135	246.400	2.959			2797.675	39.328		
27253	202.454	2.407	241.340	4.526	3863.066	24.698	82.659	4.657
27258	237.116	2.824			2330.572	39.735		

§ 갓 (μg/g dry weight)

sample No.	Quercetin				Keampferol			
	있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27147 녹색	115.389	1.706			122.611	6.992		
27147 적색	254.984	12.947	89.702	0.799	6040.061	59.506	297.521	13.053

(자) Glucosinolate

§ Chinse cabbage (μmol/g dry weight)

sample No.	glucoalyssin				glucobrassicinapin				glucobrassicin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27136	0.051	0.027			1.207	0.065	0.235	0.043	0.130	0.031	0.056	0.019
27137	0.087	0.003	0.097	0.027	0.453	0.111	1.594	0.101	0.256	0.016	0.199	0.018
27138	0.017	0.001	0.269	0.015	0.676	0.024	1.266	0.034	0.511	0.009	0.122	0.005

§ Pak choi (μmol/g dry weight)

sample No.	glucoalyssin				glucobrassicinapin				glucobrassicin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27135	0.261	0.022							0.160	0.009		
27253	0.013	0.007	0.038	0.003	1.795	0.178	1.349	0.016	0.144	0.022	0.130	0.007
27258	0.071	0.005	0.598	0.143	1.231	0.034	2.911	0.467	0.114	0.004	0.050	0.006

§ 갓 (μmol/g dry weight)

sample No.	glucoalyssin				glucobrassicinapin				glucobrassicin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27147 녹색					2.744	0.239			0.018	0.000	0.016	0.003
27147 적색									0.154	0.009	0.123	0.006

§ Chinese cabbage (μmol/g dry weight)

sample No.	glucocochlearin				glucoerucin				gluconapin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27136	0.084	0.044							0.162	0.047	0.222	0.080
27137	0.048	0.028							0.889	0.032	2.876	0.167
27138	0.034	0.004	0.060	0.007					1.706	0.077	1.733	0.044

§ Pak choi (μmol/g dry weight)

sample No.	glucocochlearin				glucoerucin				gluconapin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27135					0.055	0.012			7.837	0.415		
27253			0.258	0.012					22.365	1.589	8.678	0.111
27258			0.102	0.062					2.531	0.121	3.731	0.575

§ 갓 (μmol/g dry weight)

sample No.	glucocochlearin				glucoerucin				gluconapin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27147 녹색	0.147	0.004	0.056	0.010					0.120	0.008	0.028	0.003
27147 적색	0.017	0.005	0.115	0.011					0.216	0.005	0.303	0.013

§ Chinese cabbage (μmol/g dry weight)

sample No.	gluconapoleiferin				gluconasturtiin				glucoraphanin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27136	0.273	0.068	0.011	0.013	0.400	0.053	0.120	0.020				
27137	0.012	0.003	0.033	0.009	0.178	0.006	0.558	0.042				
27138	0.141	0.007			0.238	0.180	0.323	0.011				

§ Pak choi (μmol/g dry weight)

sample No.	gluconapoleiferin				gluconasturtiin				glucoraphenin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27135	0.004	0.008			0.191	0.029						
27253					0.401	0.067	0.372	0.006				
27258	0.706	0.043	0.033	0.018	0.074	0.013	0.233	0.053				

§ 갓 (μmol/g dry weight)

sample No.	gluconapoleiferin				gluconasturtiin				glucoraphenin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27147 녹색					0.106	0.007	0.261	0.008				
27147 적색					0.219	0.003	0.080	0.040				

§ Chinese cabbage (μmol/g dry weight)

sample No.	glucoraphenin		4-hydroxy glucobrassicin				methoxy glucobrassicin			
	있	중략	있	중략	있	중략	있	중략		
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD		
27136							0.914	0.210		
27137			0.026	0.005			0.190	0.009	0.086	0.010
27138							0.615	0.021	0.293	0.011

§ Pak choi (μmol/g dry weight)

sample No.	glucoraphenin		4-hydroxy glucobrassicin				methoxy glucobrassicin			
	있	중략	있	중략	있	중략	있	중략		
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD		
27135							0.184	0.010		
27253							0.422	0.050	0.699	0.021
27258							0.137	0.014	0.375	0.049

§ 갓 (μmol/g dry weight)

sample No.	glucoraphenin		4-hydroxy glucobrassicin				methoxy glucobrassicin			
	있	중략	있	중략	있	중략	있	중략		
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD		
27147 녹색					0.015	0.002	0.007	0.000	0.010	0.001
27147 적색							0.027	0.002	0.006	0.005

§ Chinese cabbage (μmol/g dry weight)

sample No.	neoglucobrassicin				progoitrin				sinigrin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27136	0.097	0.027	0.039	0.012	1.663	0.325	0.557	0.058				
27137	0.040	0.003	0.080	0.007	0.562	0.015	0.948	0.085				
27138	0.063	0.003	0.058	0.000	0.791	0.029	0.410	0.020				

§ Pak choi (μmol/g dry weight)

sample No.	neoglucobrassicin				progoitrin				sinigrin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27135	2.027	0.106			1.067	0.044						
27253	0.624	0.069	1.675	0.039	1.091	0.079	0.854	0.046				
27258	0.649	0.024	0.777	0.105	1.221	0.069	0.762	0.123				

§ 갓 (μmol/g dry weight)

sample No.	neoglucobrassicin				progoitrin				sinigrin			
	있		중략		있		중략		있		중략	
	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD	average	SD
27147 녹색	0.006	0.001	0.061	0.009	0.065	0.026	10.419	0.276	20.616	0.717	9.559	0.253
27147 적색	0.003	0.010	0.040	0.002	0.080	0.021	0.312	0.019	29.746	0.181	33.561	0.950

Total glucosinolate

§ Chinese cabbage (µmol/g dry weight)

sample No.	잎	중륵
27136	4.980	1.239
27137	2.666	6.496
27138	4.794	4.534

§ Pak choi (µmol/g dry weight)

sample No.	잎	중륵
27135	11.786	0.000
27253	26.855	14.052
27258	6.734	9.571

§ 갓 (µmol/g dry weight)

sample No.	잎	중륵
27147green	23.830	20.425
27147red	30.462	34.539

(2) 제2-2세부과제와의 연구 협력 내용 (일부 결과만 제시)

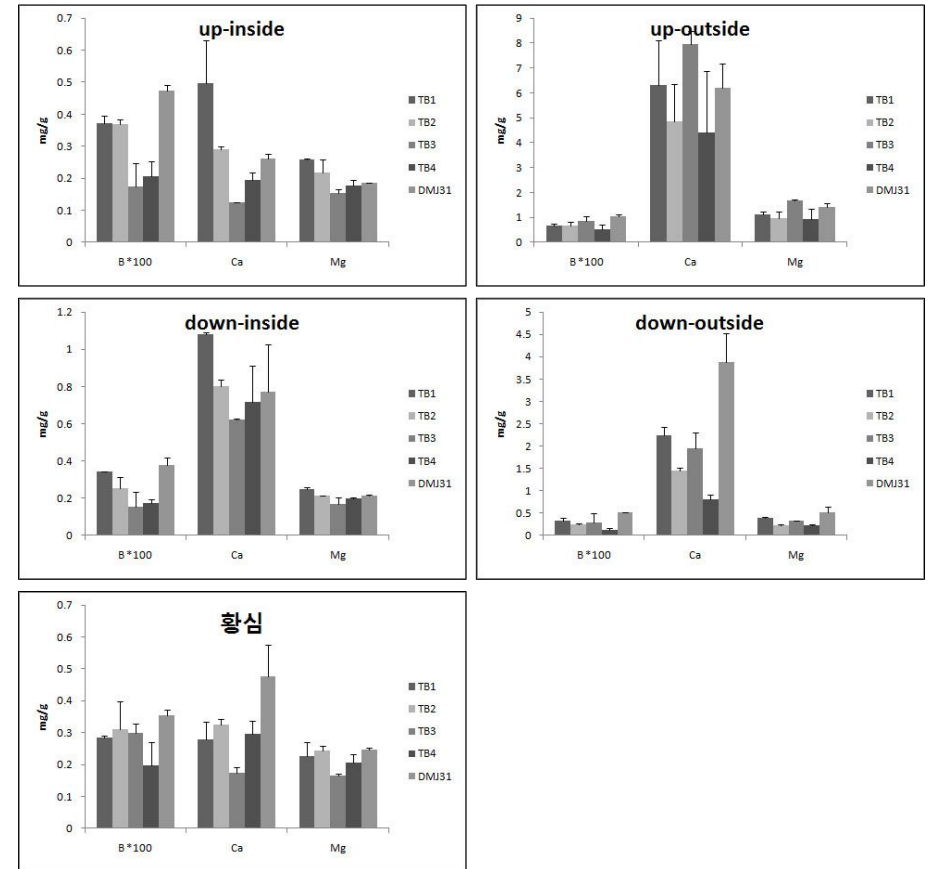


그림 16. 칼슘 민감성 품종 분석 결과

- 결론 : 칼슘 민감성 품종과 그렇지 않은 품종간의 Ca 함량이 차이를 보였으며, 배추의 부위 별로 Ca 함량이 차이 나는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 Ca 부족으로 인해 썩음 증상이 보이는 안쪽에서 Ca의 함량이 낮은 것을 확인 할 수 있었다.

(3) 제2-6세부과제와의 연구 협력 내용(일부 결과만 제시)

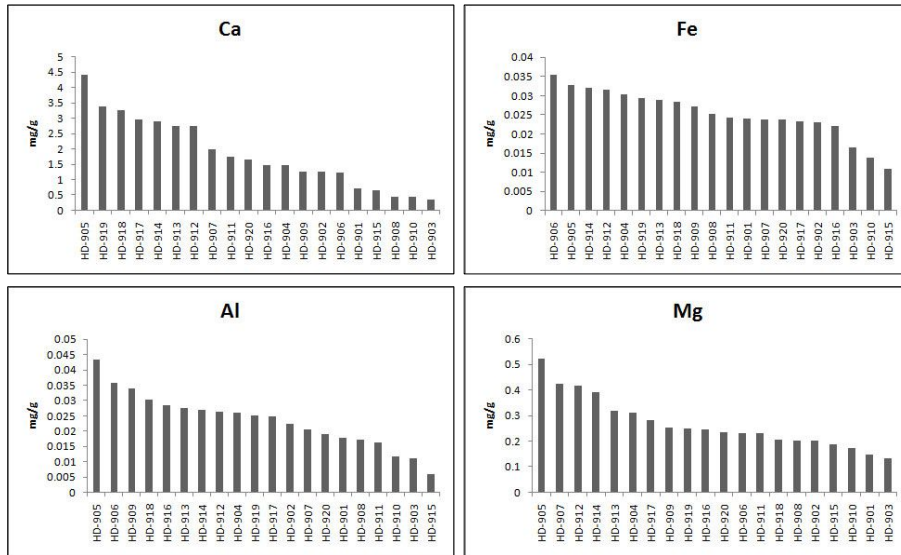


그림 17. 칼슘 민감성 품종 분석 결과.

(4) 제3-1세부과제와의 연구 협력 내용

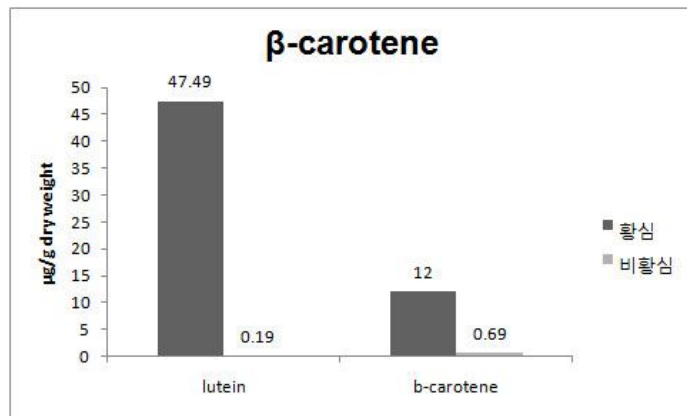


그림 18. 배추의 황심과 비황심에 함유된 carotenoid 함량 비교.

다. 4차년도 예비 분석 결과

(1) Flavonol

동결건조 샘플을 곱게 갈아서 준비한다. 1 g 동결건조 샘플에 62.5% aqueous methanol (2 g/l의 tert-butylhydroquinone 첨가) 40 ml를 첨가하여 20분 sonication한다. GL-screwcap tube 에 옮긴 뒤 8 M HCl 10 ml를 첨가하고 vortex하여 90℃ water bath에서 3.5시간 반응 시킨다. 반응이 끝나면 얼음에서 식힌 후 5분 sonication한다. 상등액을 분리시켜 syringe filter (PTFE, 0.45 μm)로 여과한다. HPLC를 이용하여 분석한다.

(2) Antocyanidin

곱게 갈아서 준비한 동결건조 샘플 1 g에 2 M HCl (50% aqueous methanol) 40 ml를 첨가 하여 20분 동안 sonication한다. 추출물을 GL-screw cap tube에 옮겨 담은 후 water bath를 이용하여 100℃에서 한 시간 동안 가수분해 한다. 가수분해가 끝난 샘플을 얼음에서 식힌 후 syringe filter (PTFE, 0.45 μm)를 이용하여 여과한다. HPLC를 이용하여 분석한다.

4. 4차년도 연구개발 수행내용 및 결과

가. 기능성 성분 분석 메뉴얼

(1) Phenolic acid

(가) 추출 방법

샘플은 배추의 가식부위에서 녹색잎을 잘라내어 동결 건조하였고, 믹서를 이용하여 곱게 간다. 전처리 샘플 0.1 g을 취한 후, 2.6 M NaOH(Samchun pure chemical co. ltd., Korea) 53% aqueous methanol 6 ml을 첨가한다. Shaking machine(Jeio tech, SK-760B, Korea)을 이용하여 상온에서 20시간 혼합하여 준다. Centrifuge(Hanil science industrial, MF 600, Korea)를 이용하여 2,092 x g, 5분 centrifuge한 후 상등액 2 ml을 취한다. 여기에 HCl(Duksan, Korea)을 첨가하여 샘플을 pH 1~ pH 2 로 맞춘다. 추출은 각 시료 당 독립적으로 3회 반복 하여 3개의 샘플을 준비한다.

(나) HPLC를 이용한 분석 방법

0.2 μ m Filter(Advantec, Japan)를 이용하여 여과한다. HPLC(Waters 2695, Waters, Milford, M.A.)를 이용하여 phenolic acid를 분석한다. Column(XTerra C18 μ m, 3.9x150 mm, Waters, Ireland)을 이용하여 phenolic acid를 분리 한다. Column의 온도는 30 $^{\circ}$ C로 맞춘다. Detector (Waters 2487, waters, milford, M.A.)를 이용하여 330 nm로 측정한다. 이동상으로는 0.1% formic acid water(Sigma aldrich chemie.)와 순수 MeOH (J.T.Baker, USA)을 이용한다. 처음 formic acid 85 %, methanol 15 %로 안정화, 안정화 후 시작하여 25분까지 formic acid 75 %, methanol 25 %로 gradient. 35분까지 formic acid 67 %, methanol 33 %로 gradient. 40분까지 formic acid 50 %, methanol 50 %로 gradient. 42분까지 formic acid 30 %, methanol 70 %로 gradient. 10분간 처음상태로 유지한다. Flow는 0.4 ml/min 으로 한다.

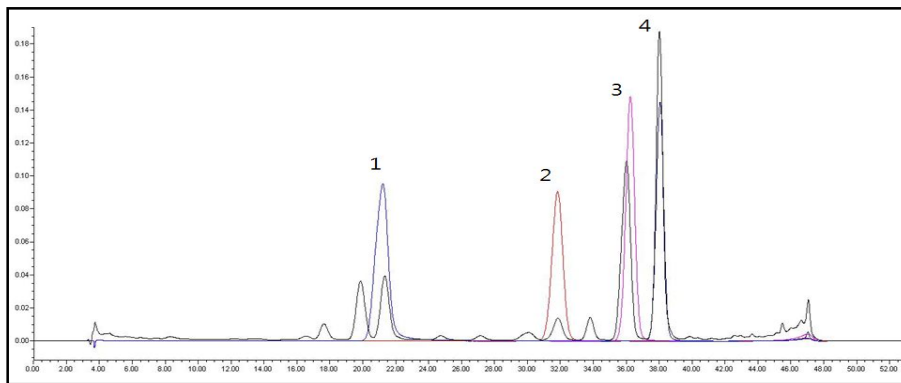


그림 19. Phenolic acids를 분석한 HPLC 그래프.

§ 각 피크별 Phenolic acid 성분 이름

Peak No.	Phenolic acid	Peak No.	Phenolic acid
1	Caffeic acid	3	Ferulic acid
2	p-coumaric acid	4	Sinaioc acid

(2) Flavonol

(가) 추출 방법

전처리(동결건조)된 샘플 0.1 g을 screw cap tube에 취한 후 62.5 % aqueous methanol (2 g/L의 Tert-butylhydroquinone 첨가)을 4 ml씩 첨가하여 20분 sonication한다. 여기에 8 M HCl을 1 ml씩 넣고 vortex하여 shaking water bath로 90 $^{\circ}$ C, 150 rpm에서 3.5시간 반응시킨다. 반응이 끝나면 얼음에서 식힌 후 vortex한 후 2 ml test tube에 1.5 ~ 2 ml를 옮겨 4 $^{\circ}$ C에서 1,700 rpm, 4분 centrifuge한다. 상등액을 1 ml 이상 분리하고, syringe filter로 여과해 screw cap vial에 넣고 HPLC 분석한다.

(나) HPLC를 이용한 분석

컬럼 온도는 30 $^{\circ}$ C로 하였다. HPLC flow는 0.4 ml/min이었고, 분석량은 20 μ l, UV detector는 360 nm를 사용했다. 이동상은 0.1 % Formic acid와 Methanol을 사용하였다.

§ Gradient method

Time (min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	70	30
50	35	65
52	5	95
54	5	95
56	70	30
66	70	30

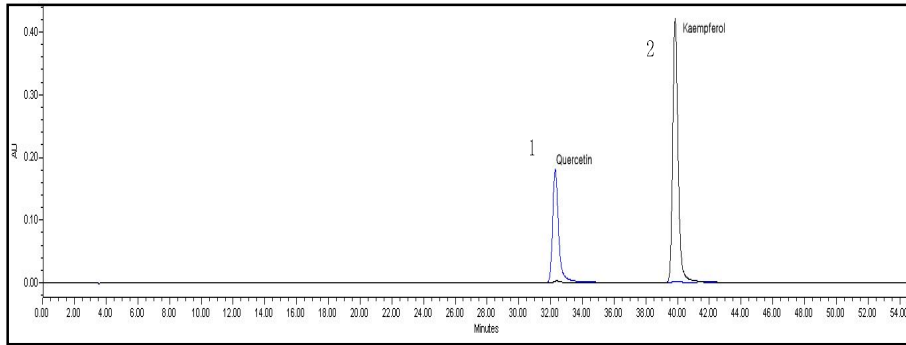


그림 20. Flavonol을 분석한 HPLC graph

§ 각 피크별 Flavonol 성분 이름

Peak No.	Flavonol	Peak No.	Flavonol
1	Qurcentin	2	Kaempferol

(3) Antocyanidin

(가) 추출 방법

1 g 동결건조 샘플에 2 M HCl in 50% aqueous methanol 40 ml을 첨가하여 20 min sonication한다. 추출물을 GL-screw cap tube에 옮겨 담은 후 water bath를 이용하여 100℃에서 한 시간 동안 가수분해 한다. 가수분해가 끝난 샘플을 얼음에서 식힌 후 syringe filter (PTFE, 0.45 μm)를 이용하여 여과한다. HPLC를 이용하여 분석한다.

(나) HPLC를 이용한 분석 방법

Column 온도는 30℃로 하였다. HPLC 유속은 0.4 ml/min이었고, 분석량은 20 μl, UV detector는 530 nm을 사용했다. 이동상은 0.1 % Formic acid와 Methanol을 사용하였다.

§ Gradient method

Time (min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	75	25
5	65	35
30	52	48
32	30	70
35	30	70
37	75	25

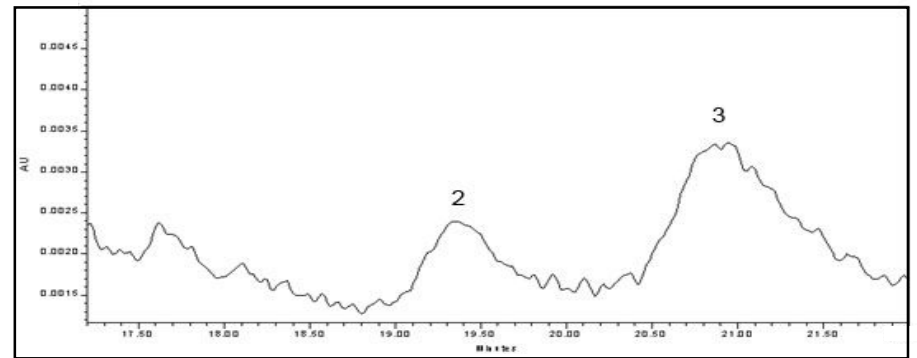
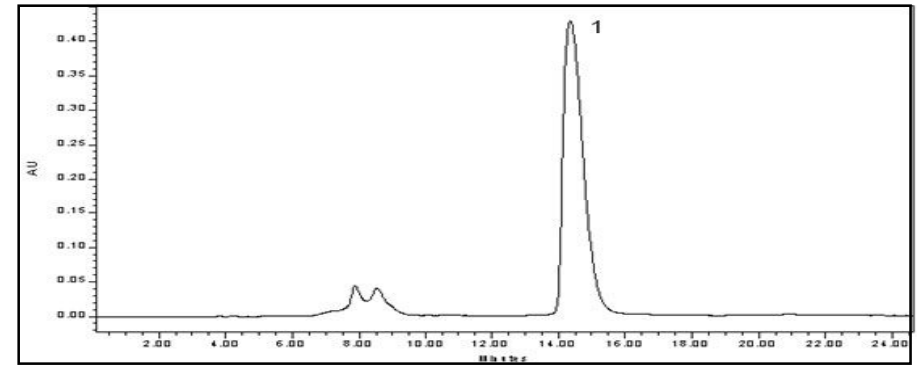


그림 21. Antocyanidin을 분석한 HPLC graph.

§ 각 피크별 antocyanidin 성분 이름

Peak No.	Antocyanidin	Peak No.	Antocyanidin
1	cyandin	3	peonidin
2	pelargonidin		

나. 세부과제와의 연구 협력 내용

(1) 제1-3세부과제 연구 협력 내용

60종의 배추과 샘플의 Vitamin E, Vitamin C, Pectin, Glucosinolate, Phenolic acids, Flavonol, Carotenoids 분석을 수행하였다. (그 결과 중 일부만 아래 제시하였다.)

(가) Carotenoids

§ Carotenoids 함량, chinese cabbage (µg/g dry weight)

Sample No.	Lutein				β-Carotene			
	잎		황심		잎		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD	Average	SD
28381	1373.29	246.30	0.00	0.00	5716.52	545.28	0.00	0.00
26120X25081	1194.15	69.29	19.24	8.00	4146.74	132.25	85.42	0.042
26105X25081	898.07	88.64	6.05	1.00	3913.19	165.53	143.08	0.011

* Standard deviation

(나) Glucosinolates

§ Glucoalyssin 함량, chinese cabbage (µmol/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.3037	0.0147	0.0287	0.0030	0.2794	0.0771
26105X26153	0.4189	0.0976	0.0338	0.0045	0.3540	0.0769
26120X26153	0.3391	0.0369	0.1016	0.0059	0.1528	0.0192

§ Glucobrassicinapin 함량, chinese cabbage (µmol/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.2564	0.0060	0.1229	0.0041	0.1845	0.0214
26105X26153	0.7977	0.0210	0.5434	0.0058	0.5623	0.0653
26120X26153	0.6080	0.0153	0.4426	0.0268	0.8696	0.0508

§ Glucobrassicin 함량, Chinese cabbage (µmol/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.0263	0.0009	0.0512	0.0011	0.2819	0.0190
26105X26153	0.0018	0.0001	0.0641	0.0005	0.1337	0.0213
26120X26153	0.0198	0.0017	0.0475	0.0011	0.2302	0.0216

§ Glucocochlearin 함량, Chinese cabbage (µmol/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	average	SD*	average	SD	average	SD
26105X26128	0.0022	0.0013	0.0238	0.0016	0.0041	0.0005
26105X26153	0.0212	0.0017	0.0236	0.0006	0.2404	0.0110
26120X26153	0.0393	0.0030	0.1218	0.0086	0.0012	0.0006

§ Glucoerucin 함량, Chinese cabbage (µmol/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.0043	0.0037	0.0008	0.0001	0.0015	0.0009
26105X26153	0.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0077	0.0039
26120X26153	0.0011	0.0000	0.0016	0.0004	0.0105	0.0019

§ Glucoiberin 함량, Chinese cabbage(µmol/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.0366	0.0034	0.0106	0.0049	0.0176	0.0046
26105X26153	0.0272	0.0028	0.0494	0.0117	0.0312	0.0103
26120X26153	0.0282	0.0009	0.0047	0.0012	0.0256	0.0039

§ Glucoiberberin 함량, Chinese cabbage($\mu\text{mol/g}$ dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.0050	0.0009	0.0000	0.0000	0.0025	0.0017
26105X26153	0.0202	0.0057	0.0000	0.0000	0.0094	0.0027
26120X26153	0.0020	0.0005	0.0014	0.0009	0.0141	0.0018

§ Gluconapin 함량, Chinese cabbage($\mu\text{mol/g}$ dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.1802	0.0042	0.1458	0.0041	0.0621	0.0099
26105X26153	0.1568	0.0056	0.0898	0.0011	0.0960	0.0094
26120X26153	0.3320	0.0062	0.0893	0.0052	0.2553	0.0128

§ Gluconapoleiferin 함량, Chinese cabbage($\mu\text{mol/g}$ dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X26128	0.0983	0.0029	0.0324	0.0019	0.0910	0.0197
26105X26153	0.3448	0.0264	0.2070	0.0088	0.1718	0.0253
26120X26153	0.1171	0.0034	0.1227	0.0110	0.2008	0.0155

(다) Flavonol

§ Flavonol 함량, Chinese cabbage (mg/g dry weight)

sample No.	Quercetin				Kaempferol			
	잎		중륵		잎		중륵	
	average	SD*	average	SD	average	SD	average	SD
28373	0.314	0.005	0.238	0.006	1.307	0.026	0.255	0.000
28395	0.308	0.007	0.198	0.017	0.888	0.022	0.173	0.016
28397	0.289	0.002	0.133	0.003	2.095	0.003	0.141	0.040

(라) Phenolic acid

§ Phenolic acid 함량, Chinese cabbage(mg/g dry weight)

sample No.	Caffeic acid		Coumaric acid		Ferulic acid		Sinapic acid	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD	Average	SD
26130X25081	1.57	0.01	0.34	0.00	1.13	0.01	1.01	0.02
28381	1.23	0.19	0.18	0.00	1.33	0.01	1.78	0.01
26120X26148	1.09	0.02	0.28	0.01	1.70	0.06	1.99	0.05

(마) Pectin

§ Pectin 함량, Chinese cabbage(mg/g dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26130X26148	0.227	0.006	0.445	0.019	0.286	0.023
26105X26122	0.606	0.024	0.192	0.015	0.376	0.037
26120X26140	0.408	0.015	0.145	0.007	0.210	0.003

(바) Vitamin C

§ Vitamin C 함량, Chinese cabbage($\mu\text{g/g}$ dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26130X26128	653.27	46.25	104.16	22.74	195.05	15.64
26120X26122	636.56	23.71	131.24	15.79	19.26	11.42
26120X26148	629.51	23.21	241.17	9.84	118.40	76.86

(사) Vitamin E

§ Vitamin E 함량, Chinese cabbage($\mu\text{g/g}$ dry weight)

Sample No.	잎		중륵		황심	
	Average	SD*	Average	SD	Average	SD
26105X25081	1.217	0.197	0.298	0.005	0.389	0.042
26120X26140	1.599	0.360	0.362	0.037	0.536	0.041
26105X26115	1.150	0.129	0.340	0.060	0.316	0.042

제1-3절 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성

1. 유전자원 특성검정

가. 시험재료

시험에 사용된 모든 유전자원은 한국배추계농소재은행에서 분양받았으며, 2007년도(1차년도)에는 중국도입종 70계통(배추 41계통, 양배추 9계통, 깎초이 12계통, 갓 3계통, 기타 5계통)을, 2008년도(2차년도)에는 중국도입종 50계통(배추 36계통, 깎초이 13계통, 갓 1계통)을, 2009년도(3차년도)에는 중국 및 유럽도입종 32계통(배추 28계통, 깎초이 2계통, 갓 2계통)을, 2010년도(4차년도)에는 일본도입종 50계통과, 교배친 9종, 교배조합 13종을, 일본도입종 31계통(계집정용)과 DH라인 및 시판품종 142종 공시하였으며, 각년도 공히 불암3호, 불암플러스, 황성골드, 휘파람 등4품종을 대조품종으로 사용하였다(표 1, 2 참조).

표 1. 특성검정에 이용한 유전자원

도입번호	일반명	수집국	학 명	품종(계통)명	특성검정연도
10074	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	미니하쿠사이(舞の海)	2010(2011)
10075	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	타케노코하쿠사이(ブチヒリ)	2010(2011)
10077	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	황昧小町(ミニ白菜)	2010
10078	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	타케의코白菜(チヒリ70)	2010(2011)
10079	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	하쿠사이 晩輝	2010(2011)
10080	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	松島新二号	2010(2011)
10081	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	花心白菜	2010
10082	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	めんこい	2010
10085	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	黃月90	2010(2011)
10086	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	黃月70	2010(2011)
10087	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	榮黃	2010
10088	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	坂東白菜	2010(2011)
10090	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	かすみ白菜	2010
10093	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	愛姫(Megohime)	2010(2011)
10099	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	華黃 はなき	2010(2011)
10100	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	レタサイ	2010(2011)
10101	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	味榮 みばえ	2010
10103	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	野崎123ひふみ	2010
10106	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	力 ちから	2010(2011)
10108	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	黃およろこび白菜	2010
10120	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	耐病のぞみ60日	2010
10121	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	のぞみ60日白菜	2010(2011)
10123	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	白榮白菜	2010
10124	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	鮮黃	2010
10125	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	彩黃	2010
10132	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	冬冴 Fuyusae	2010(2011)
10134	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	王將	2010(2011)
10136	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	干勝	2010(2011)
10137	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	金將	2010(2011)

표 1. 특성검정에 이용한 유전자원(계속)

도입번호	일반명	수집국	학 명	품종(계통)명	특성검정연도
10143	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	サラダ	2010(2011)
10145	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	大福206	2010(2011)
10146	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	大福	2010(2011)
10147	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	大福75	2010(2011)
10148	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	晩抽大福	2010
10149	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	新世黃	2010
10150	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	ちゃぼ白菜	2010(2011)
10154	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	めだか	2010
10155	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	耐性アポロ60	2010(2011)
10156	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	黃久嬢65	2010(2011)
10158	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	黃久嬢80	2010(2011)
10159	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	寒みどり	2010(2011)
10163	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	金閣65白菜	2010(2011)
10164	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	金閣75白菜	2010(2011)
10168	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	春陽	2010
10169	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	泰黃60	2010
10172	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	黃心さやか	2010
10173	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	南山	2010(2011)
10174	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	聖徳	2010(2011)
10175	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	春秋	2010
10177	배추	일본	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	隆徳	2010(2011)
25081	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	暑涼F1	2009
26099	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	上海四月蔓	2007
26100	갓	중국	<i>B. juncea</i>	九頭烏雪里蕪	2007
26101	갓	중국	<i>B. juncea</i>	綠菊苣	2007
26102	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	京油一号	2007
26103	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	早生華京	2007
26104	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	秋宝(多抗新三号)	2007(2009)
26105	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	綠陽58	2007(2009)
26107	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	津冠王	2007(2009)
26108	갓	중국	<i>B. juncea</i>	美松菜	2007
26109	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	蘇州青	2007
26110	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	秋玉一号F1	2007(2009)
26111	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	酸菜王	2007
26112	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	慶丰甘蘭	2007
26113	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	奧星70	2007
26114	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	京益三号	2007
26115	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	金秋	2007(2009)
26116	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	91-12	2007(2009)
26117	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	北京青梗沒毛小白菜	2007
26118	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	清白75	2007(2009)
26119	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	北京油叶青	2007
26120	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	秋抗3号	2007(2009)
26121	깎초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	北京新一号91-12	2007
26122	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	多抗十号	2007(2009)
26123	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	綠陽70	2007(2009)
26124	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	8398甘蘭	2007

표 1. 특성검정에 이용한 유전자원(계속)

도입번호	일반명	수집국	학 명	품종(계통)명	특성검정연도
26125	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	奥星75	2007
26126	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	京丰一号	2007
26127	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	中甘十一	2007
26128	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	津冠75	2007(2009)
26129	갓	중국	<i>B. juncea</i>	包心芥菜	2007
26130	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	義和秋 (-)	2007(2009)
26131	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	北京新三号F1	2007
26132	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	好地紫羅蘭油菜	2007
26133	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	M-988 F1	2007(2009)
26135	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	沈陽快菜	2007
26136	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	四季小白菜F1	2007
26137	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	蘇州青油菜	2007(2009)
26138	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	金玉百財	2007(2009)
26139	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	福星80	2007
26140	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	青綠王	2007(2009)
26141	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	綠星80	2007
26142	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	津冠80	2007
26143	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	水師營9号	2007
26144	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	綠園甘蘭	2007
26145	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	遼白十号	2007
26146	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	綠星70	2007
26147	갓	중국	<i>B. juncea</i>	黑心烏	2007
26148	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	天津綠青麻叶	2007(2009)
26149	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	中甘十五	2007
26150	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	上海矮抗青	2007
26151	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	晋菜三号	2007(2009)
26152	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	興城麻叶	2007
26153	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	天下无双	2007(2009)
26154	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	金田91-12	2007
26155	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	小黑北早甘蘭	2007
26156	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	冬宝	2007
26157	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	上海青	2007
26158	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	義和六号	2007
26159	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	谷雨娃娃菜	2007
26160	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	京春娃娃菜	2007
26161	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	秋福一代交配	2007
26162	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	北京青梗小白菜	2007
26163	갓	중국	<i>B. narinosa</i> Bailey	精選烏塌菜	2007
26164	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	丰盈	2007(2009)
26165	갓	중국	<i>B. juncea</i>	紅菊苣	2007
26166	갓	중국	<i>B. juncea</i> (L.) Czernet Coss	中花尖叶芥蘭种	2007
26167	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	傲春	2007
26168	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	七十天發百財	2007
26169	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	卓白二号	2007

표 1. 특성검정에 이용한 유전자원(계속)

도입번호	일반명	수집국	학 명	품종(계통)명	특성검정연도
26170	양배추	중국	<i>B. oleracea</i>	中甘十一号	2007
27135	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	矮脚大頭青	2008
27136	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	大獅子頭	2008
27137	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	中獅子頭	2008
27138	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	小獅子頭	2008(2009)
27139	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	大白幫S9	2008
27140	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	綠抗S5	2008
27141	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	103-S3	2008
27142	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	玉青S8	2008(2009)
27143	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	錦424-S8	2008(2009)
27144	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	華白2号-S10	2008
27145	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	遼白五号	2008
27146	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	青幫核頭紋白菜	2008(2009)
27147	갓	중국	<i>B. juncea</i>	光頭芥菜	2008
27156	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	攻關1号	2008
27157	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	高抗1号	2008
27158	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	大青稍S9	2008
27159	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	回歸1号-S6	2008
27160	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	9738A	2008
27161	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	1遼百四号S9	2008
27253	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	中蔬五月慢	2008
27254	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	中白66(F1)	2008
27256	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	小雜55号(F1)	2008
27257	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	小雜56号(F1)	2008
27258	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	京油一号(F1)	2008
27259	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	京綠60 (F1)	2008
27260	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	鴻均78 (F1)	2008
27261	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	北京80天(F1)	2008
27262	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	新三号(F1)	2008
27263	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	鴻均168(F1)	2008(2009)
27264	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	抗熱早熟48(F1)	2008
27265	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	鴻均70(F1)	2008
27266	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	北京75天天(F1)	2008
27267	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	小雜60号(F1)	2008
27268	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	小雜65号(F1)	2008
27269	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	脆脆小白菜(F1)	2008
27270	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	青口小白菜(F1)	2008
27273	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	四九菜心	2008
27276	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	百惠青梗白菜(F1)	2008
27277	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	美惠青梗白菜(F1)	2008
27285	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	精冠王	2008
27293	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	京油605(F1)	2008
27294	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	京秋呂(80-3)特選大白菜	2008

표 1. 특성검정에 이용한 유전자원(계속)

도입번호	일반명	수집국	학 명	품종(계통)명	특성검정연도
27295	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	秋綠60	2008
27301	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	秋綠55	2008
27302	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	寒綠油菜	2008
27303	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	五月蔓(F1)	2008
27305	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	碧玉青梗菜	2008
27306	배추	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	京研快菜(F1)	2008
27307	파초이	중국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	上海海青雞毛菜	2008
28373	파초이	유럽	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	Advanced/improved cultivar	2009
28381	배추	유럽	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	Traditional cultivar/landrace	2009
28393	배추	유럽	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	Traditional cultivar/landrace	2009
28395	배추	유럽	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	Advanced/improved cultivar	2009
28397	갓	유럽	<i>B. juncea</i>	Advanced/improved cultivar	2009
28659	갓	중국	<i>B. juncea</i>		2009
		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	CR-mat	2011
		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	e-Norang	2011
		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	Kori	2011
대조		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	불암3호	
"		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	불암플러스	
"		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	황성골드	
"		한국	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>	휘파람	

표 2. 특성검정에 이용한 교배조합 및 DH라인

조합(계통)명	특성검정연도	조합(계통)명	특성검정연도	조합(계통)명	특성검정연도
26110/26105	2010	26110-282	2011	27136-25	2011
26110/26120	2010	26110-283	2011	27136-31	2011
26110/26130	2010	26110-284	2011	27137-1	2011
26115/26105	2010	26110-285	2011	27137-2	2011
26115/26120	2010	26120-11	2011	27138-11	2011
26118/26105	2010	26120-16	2011	27138-3	2011
26118/26120	2010	26120-19	2011	27138-7	2011
26118/26130	2010	26120-24	2011	27139-11	2011
26122/26105	2010	26130-2	2011	27139-5	2011
26122/26130	2010	26148-1	2011	27140-1	2011
26130/26118	2010	26148-17	2011	27140-100	2011
26130/26128	2010	26153-28	2011	27140-102	2011
26130/26140	2010	26153-43	2011	27140-108	2011
26110-106	2011	26153-61	2011	27140-11	2011
26110-108	2011	26164-30	2011	27140-113	2011
26110-130	2011	26164-31	2011	27140-134	2011
26110-166	2011	26164-33	2011	27140-135	2011
26110-173	2011	26164-35	2011	27140-14	2011
26110-179	2011	26164-37	2011	27140-142	2011
26110-234	2011	26164-38	2011	27140-150	2011
26110-237	2011	27136-2	2011	27140-17	2011
26110-281	2011	27136-24	2011	27140-18	2011

표 2. 특성검정에 이용한 교배조합 및 DH라인(계속)

조합(계통)명	특성검정연도	조합(계통)명	특성검정연도	조합(계통)명	특성검정연도
27140-2	2011	27143-32	2011	27294-119	2011
27140-21	2011	27143-38	2011	27294-121	2011
27140-22	2011	27143-40	2011	27294-21	2011
27140-25	2011	27143-43	2011	27294-45	2011
27140-26	2011	27143-45	2011	27294-50	2011
27140-27	2011	27143-49	2011	27294-60	2011
27140-28	2011	27143-55	2011	27294-65	2011
27140-33	2011	27143-9	2011	27294-67	2011
27140-34	2011	27156-10	2011	27294-7	2011
27140-35	2011	27156-11	2011	27294-82	2011
27140-38	2011	27156-13	2011	27294-86	2011
27140-4	2011	27156-14	2011	27294-99	2011
27140-40	2011	27156-20	2011	27295-1	2011
27140-41	2011	27156-21	2011	27295-10	2011
27140-44	2011	27156-3	2011	27295-12	2011
27140-48	2011	27156-8	2011	27295-13	2011
27140-53	2011	27156-9	2011	27295-14	2011
27140-55	2011	27160-16	2011	27295-16	2011
27140-59	2011	27160-23	2011	27295-17	2011
27140-6	2011	27160-3	2011	27295-18	2011
27140-68	2011	27160-4	2011	27295-2	2011
27140-75	2011	27259-2	2011	27295-22	2011
27140-97	2011	27259-4	2011	27295-23	2011
27143-11	2011	27259-5	2011	27295-24	2011
27143-13	2011	27259-6	2011	27295-29	2011
27143-17	2011	27259-8	2011	27295-30	2011
27143-20	2011	27263-116	2011	27295-6	2011
27143-22	2011	27263-141	2011	27295-8	2011
27143-26	2011	27263-74	2011		

나. 육묘 및 재배

공시재료를 원예용 인공 혼합상토를 사용하여 72공 플러그트레이에 파종한 후, 계속된 강우로 정식이 지연된 2010년도를 제외하고는 약 2주간 육묘한(그림 1.) 다음에 노지포장에 정식(표 3. 참조)하여 재배하였다(그림 2.). 시비는 농진청 표준지침서를 기준으로 하여 밑거름으로는 요소 30, 염화가리 23, 용성인비 100kg/10a를 주고, 추비는 요소 35, 염화가리 22kg/10a를 정식 후 15일 간격으로 2회로 나누어 시비하였다.



그림 1. 육묘전경

표 3. 배추 유전자원 재배법

과종 및 정식	재식거리(cm)	시비량(kg/10a)			토양	비고
		요소	염화가리	용성인비		
8월 중순 ~ 9월 상순 ^Z	95×40	65	45	100	사양토	고휴재배

* Z 재배년도 별로 다름(1년차 : 2007. 8. 20. 파종 9. 7. 정식, 2년차 : 2008. 8. 13. 파종 8. 29. 정식, 3년차 : 2009. 8. 17. 파종 9. 3. 정식, 4년차 : 2010. 8. 20. 파종 10. 1. 정식, 2011. 3. 22. 파종, 4. 28. 정식, 5년차 : 2011. 8. 16. 파종, 9. 7. 정식)



그림 2. 재배 전경.

다. 특성평가

(1) 특성조사

일반적인 특성조사는 수확시기에 농림부 국립종자원의 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사 요령에 준하여 실시하였다. 배추는 바깥잎 자세와 결구형태 등 33가지 항목을, 양배추는 바깥잎 요철 및 구 세로로 자른면의 모양 등 36항목을, 팍초이는 바깥잎 모양 및 바깥잎 안토시아닌 착색 등 25항목을, 갓은 식물체 자세 및 잎모양 등 33가지 항목을 조사하였으며, 내한성을 관찰하기 위하여 노지상태로 익년 4~5월 까지 유지하였다.

(2) 병저항성 및 생리장애 조사

2008년도 특성평가한 유전자원을 대상으로 균주 침지에 의한 뿌리혹병 저항성 여부를 조사하였는데, 비닐하우스 내에서(그림 3) 2008년 9월25일 50공 트레이에 파종하여 10월 8일 본엽 2매 전개시 각각 5주씩 주당 접종액(뿌리혹병 배방균주 감염 뿌리 30 g을 마쇄하여 총 6 L로 정량한 후 사용) 20 ml씩 관주하고 11월 17일~20일까지 감염 여부를 조사하였다.



그림 3. 뿌리혹병균(배방균주) 접종에 의한 저항성 검정

생리장애 민감성 여부를 조사(그림 4 참조)하기 위하여 2008년도 특성평가한 유전자원을 대상으로 2008년 9월 4일 10호 pot정식하고, 10월 24일부터 단수한 다음 11월 3일부터 1주일간 요소를 관주하고, 다시 11월 24일부터 단수시킨 후 12월2일부터 4일까지 봉소결핍증, 칼슘결핍증 그리고 질소과잉증(깨씨무늬병)의 생리장애 여부를 조사하였다.



그림 4. 생리장해 검정 포장

(3) 마커에 의한 병 저항성 검정

총 156종의 도입 유전자원을 대상으로 수행하였는데(표 4.) 마커검정을 위한 DNA시료는 72공 인공배합상토가 들어있는 플러그트레이에 파종하고 본엽이 2~3매 전개되었을 때 잎을 채취하여 DNA추출키트(iNtRoN cat. No. 17371)로 추출하였다. 뿌리혹병 저항성과 TuMV 저항성 검정은 전남대학교에 의뢰하여 뿌리혹병의 경우에는 Piao 등(2004)의 방법에 따라 TCR01, TCR05, TCR09 밴드의 유무로 저항성 여부를 판정하였고, TuMV 저항성(KS TuMV-3 기준)은 SSR 233의 저항성 혹은 이병성 밴드로 판정하였다. 노균병 저항성 여부는 전남대학교에 의뢰하여 저항성 밴드나 이병성 밴드 유무로 판정하였다(그림 5.).

표 4. 마커검정에 의한 병 저항성 검정에 이용된 유전자원

도입번호	품종(계통)명	도입번호	품종(계통)명
10074	미니hak사이(舞の海)	10143	サラダ
10075	타케노코hak사이(プチヒリ)	10145	大福206
10078	타케의고白菜(チヒリ70)	10146	大福
10079	hak사이 晩輝	10147	大福75
10080	松島新二号	10150	ちゃぼ白菜
10085	黄月90	10155	耐性アボロ60
10086	黄月70	10156	黄久娘65
10088	坂東白菜	10158	黄久娘80
10099	華黄 はなき	10159	寒みどり
10100	レタサイ	10163	金閣65白菜
10106	力 ちから	10164	金閣75白菜
10121	의ぞ미60日白菜	10173	南山
10132	冬牙 Fuyusae	10174	聖德
10134	王將	10177	隆德
10136	千勝	25081	暑渌F1
10137	金將	26099	上海四月蔓

표 4. 마커검정에 의한 병 저항성 검정 및 유연관계분석에 이용된 유전자원(계속)

도입번호	품종(계통)명	도입번호	품종(계통)명
26100	九頭烏雪里蕪	26149	中甘十五
26101	綠菊苣	26150	上海矮抗青
26102	京油一号	26151	普菜三号
26103	早生華京	26152	興城麻叶
26104	秋宝(多抗新三号)	26153	天下无双
26105	綠陽58	26154	金田91-12
26107	津冠王	26155	小黑北早甘蘭
26108	美松菜	26156	冬宝
26109	蘇州青	26157	上海青
26110	秋玉一号F1	26158	義和六号
26111	酸菜王	26159	谷雨娃娃菜
26112	慶丰甘蘭	26160	京春娃娃菜
26113	奧星70	26161	秋福一代交配
26114	京益三号	26162	北京青梗小白菜
26115	金秋	26163	精選烏塌菜
26116	91-12	26164	丰盈
26117	北京青梗沒毛小白菜	26165	紅菊苣
26118	清白75	26166	中花尖叶芥蘭种
26119	北京油叶青	26167	傲春
26120	秋抗3号	26168	七十天發百財
26121	北京新一号91-12	26169	阜白二号
26122	多抗十号	26170	中甘十一号
26123	綠陽70	27135	矮脚大頭青
26124	8398甘蘭	27136	大獅子頭
26125	奧星75	27137	中獅子頭
26126	京丰一号	27138	小獅子頭
26127	中甘十一	27139	大白幫S9
26128	津冠75	27140	綠抗S5
26129	包心芥菜	27141	103-S3
26130	義和秋 (-)	27142	玉青S8
26131	北京新三号F1	27143	錦424-S8
26132	好地紫羅蘭油菜	27144	華白2号-S10
26133	M-988 F1	27145	遼白五号
26135	沈陽快菜	27146	青幫核頭紋白菜
26136	四季小白菜F1	27147	光頭芥菜
26137	蘇州青油菜	27156	攻關1号
26138	金玉百財	27157	高抗1号
26139	福星80	27158	大青棉S9
26140	青綠王	27159	回歸1号-S6
26141	綠星80	27160	9738A
26142	津冠80	27161	遼百四号S9
26143	水師營9号	27253	中蔬五月慢
26144	綠園甘蘭	27254	中白66(F1)
26145	遼白十号	27256	小雜55号(F1)
26146	綠星70	27257	小雜56号(F1)
26147	黑心烏	27258	京油一号(F1)
26148	天津綠青麻叶	27259	京綠60 (F1)

표 4. 마커검정에 의한 병 저항성 검정 및 유연관계분석에 이용된 유전자원(계속)

도입번호	품종(계통)명	도입번호	품종(계통)명
27260	鴻均78 (F1)	27293	京油605(F1)
27261	北京80天(F1)	27294	京秋呂(80-3)特選大白菜
27262	新三号(F1)	27295	秋綠60
27263	鴻均168(F1)	27301	秋綠55
27264	抗熱早熟48(F1)	27302	寒綠油菜
27265	鴻均70(F1)	27303	五月蔓(F1)
27266	北京75天天(F1)	27305	碧玉青梗菜
27267	小雞60号(F1)	27306	京研快菜(F1)
27268	小雞65号(F1)	27307	上海海青鷄毛菜
27269	脆脆小白菜(F1)	28373	Advanced/improved cultivar
27270	青口小白菜(F1)	28381	Traditional cultivar/landrace
27273	四九菜心	28393	Traditional cultivar/landrace
27276	百惠青梗白菜(F1)	28395	Advanced/improved cultivar
27277	美惠青梗白菜(F1)	28397	Advanced/improved cultivar
27285	精冠王	28659	-

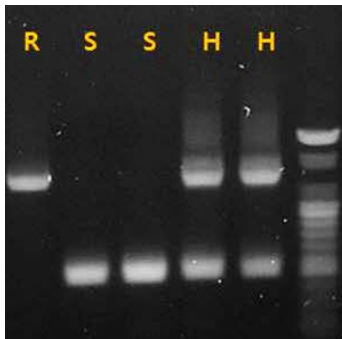


그림 5. 마커를 이용한 노균병 저항성 검정(R : 저항성, S : 이병성, H : hetero)

라. 도입 유전자원의 특성조사 결과

(1) 작물별 특성조사 요령에 따른 도입 유전자원의 특성

(가) 2007년도 유전자원 특성조사

- 배추 41품종(계통)과 대조품종 4종의 특성조사는 식물체 키, 바깥 잎의 특성 20항목, 구의 특성 11항목과 수확성숙기 등 33항목을 조사한 결과(부표 1, 2 참조), 바깥 잎의 자세는 주로 약간 선 자세이었고, 바깥 잎의 광택은 대부분 중간정도이고, 털은 모두 없거나 약하였다. 가장자리의 결각은 중간, 중륵의 색은 흰색, 연녹색, 녹색으로 다양하였다. 결구형태는 열림, 반열림, 닫힘 중에 대부분이 열림 형태이었다. 구의 속색깔은 대부분 노랑색이었고, 단단한 정도는 대부분 약하였다.

- 양배추 9계통의 식물체의 특성 3항목, 바깥잎의 특성 14항목, 구의 특성 17항목과 수확기 등 35항목을 조사한 결과(부표 3, 4 참조), 양배추의 식물체 바깥잎 자세는 전 계통이 약간 선 자세이었고, 바깥잎의 잎몸의 모양은 누운 넓은 타원형이고, 색은 녹색이고, 구의 속색은 모두 황색계통이었다.
- 깻초이 12계통의 식물체 키, 바깥잎의 특성 21항목, 생리적 성숙기와 뿌리혹병 저항성 등 25항목을 조사한 결과(부표 5 참조), 깻초이의 식물체 키는 대부분 작았으며, 바깥잎의 모양은 넓은 달걀형이고 끝부분의 모양은 모두 둥글었다. 색깔은 주로 녹색이었으며, 색깔의 강도는 열거나 중간이었고, 광택은 약하거나 중간이었다. 중륵의 색깔은 모두 연두색이었다.
- 갯 3계통의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성, 잎의 특성 14항목, 중륵의 특성 3항목, 중륵 및 엽병의 혹, 엽병의 특성 5항목, 뿌리 비대성, 추대성, 결구성 등 30항목을 조사한 결과(부표 6, 7 참조), 갯 식물체 자세는 퍼짐과 곧추서는 것이 있고, 잎 엽수는 중간 정도였으며, 잎의 안토시아닌은 모두 있었지만 엽병의 안토시아닌 색소는 계통에 따라 없는 것도 있었다. 결구성은 주로 없었지만 반결구성의 계통도 있었다.
- 그 외 다사이 2 계통과 무명 3계통은 특성조사요령이 없어서 갯의 특성조사요령에 의하여 조사하였는데, 다사이 2계통의 엽수는 많아 52 및 161매에 달하였으며, 무명 3계통은 갯과 유사한 경향이였다.
- 중국도입종 70계통의 내한성을 조사한 결과, 내한성을 가진 배추 9계통(도입번호 26113, 26114, 26115, 26116, 26131, 26139, 26140, 26143, 26153)과 양배추 6계통(도입번호 26112, 26126, 26144, 26149, 26155, 26170), 그리고 도입번호 26108에서 개화하고 정상적인 결실을 하였는데, 식물체 자세는 식용으로 이용하기가 곤란하지만 채종용으로는 이용 가능한 정도였다(그림 6). 대조품종은 모두 내한성을 가지지만 '휘파람'이 다소 약한 듯 하였다.



도입번호 26116

도입번호 26139

그림 6. 월동 후 신초 형성 및 화아분화 양상

- 중국도입종 70품종(계통) 중 일부에서 이형개체들이 다소 존재하여 종자의 순도는 높지 않았고, 도입번호 26163(精選鳥場菜)의 경우에는 정상에 비해 광엽과 녹색변이 등의 변이가 나타나는 것을 관찰할 수 있었다(그림 7).



그림 7. 精選鳥場菜(도입번호 26163)의 이형개체.

(나) 2008년도 유전자원 특성조사

- 배추 36품종(계통)과 식물체 키, 바깥 잎의 특성 등 20항목, 구의 특성 11항목과 수확성숙기 등 33항목을 조사한 결과(부표 8, 9) 바깥 잎의 자세는 주로 약간 선 자세이었고, 안토시아닌 색소는 모두 다 존재하였다. 바깥 잎의 광택은 대부분 중간정도이고, 털은 모두 없거나 약하였고, 가장자리의 결각은 중간, 중륵의 색은 흰색, 연녹색, 녹색으로 다양하였다. 구의 키는 대부분 높고, 너비는 대부분 낮았고, 결구형태는 열림, 반열림, 닫힘 중에 대부분이 반열림과 닫힘 형태이었다. 구의 속색깔은 대부분 연한노랑색이었고, 단단한 정도는 대부분 약하였다.
- 깍초이 12계통(도입번호 27304는 발아가 안 되어 제외)의 식물체 키, 바깥잎의 특성 21항목, 생리적 성숙기 등을 조사 결과(부표 12). 깍초이의 식물체 키는 대부분 작았으며, 바깥잎의 모양은 달걀형이고, 끝부분의 모양은 모두 둥글었다. 색깔은 모두 녹색이었으며, 색깔의 강도는 열거나 중간이었고, 광택은 주로 약하였다. 중륵의 색깔은 모두 연두색이었으며, 도입번호 27273의 경우는 조기 개화성을 나타내었다(그림 8).



그림 8. 조기 개화성을 보이는 깍초이(도입번호 27273)

- 갓 1계통(도입번호 27147)의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성, 잎의 특성 14항목, 중륵의 특성 3항목, 중륵 및 엽병의 혹, 엽병의 특성 5항목, 뿌리 비대성, 추대성, 결구성 등 30항목을 조사한 결과(부표 10, 11), 갓의 식물체 자세는 중간 이었고, 잎 엽수는 중간정도 이었으며, 잎과 엽병의 안토시아닌은 없었고, 뿌리 비대성은 있었으나, 결구성은 없었다.

- 중국도입종 50계통의 내한성을 조사한 결과, 월동하면서 거의 대부분 동해로 인해 동결과 건조가 반복되면서 식물체가 물렁물렁하고 썩는 냄새가 나거나 바삭 말라 죽었으나, 그 중에서도 동해를 받아도 정부의 생장점은 정상적으로 화아분화로 이어지는 것들이 있었다(도입번호 27137, 27138, 27158, 27159, 27160, 27254, 27260, 27264, 27269, 27270, 그림 9). 또한 동해를 받아 정부의 생장점이 적갈색으로 피사하지만 측아에서 생장점이 왕성하게 자라 화아가 분화되고 화경이 형성되면서 개화하는 종류(도입번호 27138, 그림 10)도 있었으나, 본 실험 결과 내한성을 가진 품종은 배추 1계통(도입번호 27140)이고, 이도 약한 내한성을 보여, 식물체 자세는 식용으로서는 이용하기가 곤란하지만 채종용으로는 이용 가능한 정도였다.



그림 9. 노지 월동 후 생장점에서 화아 분화 예(도입번호 22160, 26260)



그림 10. 노지 월동 후 측아에서 화아분화(도입번호 27138)

- 배방균주를 접종하여 뿌리혹병 저항성을 검정한 결과 2008년도에 검정한 모든 계통에서 뿌리혹이 발생하여(그림 11.) 뿌리혹병에 대한 저항성이 없는 것으로 판단되었다.



그림 11. 뿌리혹병균 배방균주 접종에 의한 뿌리혹병 저항성 검정(좌; 무처리, 우; 접종)

- 중국도입종 50계통과 대조품종 4종을 생리장해 검정한 결과(표 5, 6, 7), 붕소결핍의 경우는 배추 36종, 깎초이 13종, 갓 1종 모두 강하였으며, 칼슘결핍에 있어서는 배추 2종(도입번호 27147, 27264)이 강하였고, 질소과다에 의하여 발생하는 깨씨무늬병에는 배추 32종, 깎초이 13종, 갓 1종이 강하였다. 세가지의 생리장해에 모두 강한 종은 배추 1종(도입번호 27264), 갓 1종(도입번호 27147)이었다(그림 12).

표 5. 2008년도 특성검정 배추의 생리장해 조사

관리번호	품종(계통)명	붕소결핍	칼슘결핍	질소과다
27136	大獅子頭	-	+++	-
27137	中獅子頭	-	++	-
27138	小獅子頭	-	+++	-
27139	大白幫S9	-	++	+
27140	綠抗S5	-	++	-
27141	103-S3	-	++	-
27142	玉靑S8	-	+	+
27143	錦424-S8	-	+++	-
27144	華白2号-S10	-	++	-
27145	遼白五号	-	++	-
27146	靑幫核頭紋白菜	-	++	-
27156	攻關1号	-	+++	+
27157	高抗1号	-	++	-
27158	大靑稍S9	-	++	-
27159	回歸1号-S6	-	+	-
27160	9738A	-	++	-
27161	遼百四号S9	-	+++	-
27254	中白66(F1)	-	++	-
27256	小雜55号(F1)	-	+++	-
27257	小雜56号(F1)	-	++	-
27259	京綠60 (F1)	-	+	++
27260	鴻均78 (F1)	-	++	-
27261	北京80天(F1)	-	+++	-
27262	新三号(F1)	-	+++	-
27263	鴻均168(F1)	-	+++	++
27264	抗熱早熟48(F1)	-	-	-
27265	鴻均70(F1)	-	++	-
27266	北京75天天(F1)	-	+++	-
27267	小雜60号(F1)	-	++	-
27268	小雜65号(F1)	-	+++	-
27269	脆脆小白菜(F1)	-	+++	-
27270	靑口小白菜(F1)	-	+++	-
27294	京秋呂(80-3)特選大白菜	-	+++	-
27295	秋綠60	-	++	-
27301	秋綠55	-	+	++
27306	京研快菜(F1)	-	+++	-
대조품종	불암3호	-	++	-
	불암플러스	-	++	-
	황성골드	-	+++	-
	위과람	-	+++	-

-, 없음; +: 약함, ++: 중간, +++: 심함

표 6. 2008년도 특성검정 갖의 생리장해 조사

관리번호	품종(계통)명	붕소결핍	칼슘결핍	질소과다
27147	光頭芥菜	-	-	-
27135	矮脚大頭青	-	++	-
27253	中蔬五月慢	-	+	-
27258	京油一号(F1)	-	+++	-
27273	四九菜心	-	+	-
27276	百惠青梗白菜(F1)	-	+++	-
27277	美惠青梗白菜(F1)	-	++	-
27285	精冠王	-	++	-
27293	京油605(F1)	-	+++	-
27302	寒緣油菜	-	+	-
27303	五月蔓(F1)	-	++	-
27305	碧玉青梗菜	-	+++	-
27306	京研快菜(F1)	-	+++	-
27307	上海海青鷄毛菜	-	+++	-

-, 없음; +: 약함, ++: 중간, +++: 심함



그림 12. 생리장해에 강한 품종(좌; 27264, 우; 27147)

(다) 2009년도 유전자원 특성조사

- 배추 식물체의 키는 40~50cm 범위에 분포하고 있으며, 바깥 잎의 자세는 약간 서거나 곧추 선 자세이었고, 바깥잎의 모양은 달걀형이거나 긴타원형을 나타냈다. 잎색은 황록색~회록색, 바깥 잎의 광택은 중간~약함, 털은 없음~약함의 범위였다. 가장자리의 결각은 없음~중간, 중륵의 색은 흰색~녹색으로 다양하였다. 중륵 가로자른면의 모양은 평평~볼록함의 범위였다(부표 13). 구의 키는 20~30cm범위였고, 결구형태는 열립~달집, 세로 자른면은 타원형~긴장타원형. 구의 속색깔은 대부분 노랑색이었고, 단단한 정도는 매우 약~강함, 고갱이 선단 모양은 돌기형과 둥근모양이 있었다. 대조품종은 달집의 결구형태와 중간 정도의 단단함, 구잎의 겹침 정도가 심하였다. 세로 자른면이 달걀형이었고, 고갱이 선단이 둥근 모양을 나타냈다(부표 14).

- 팍초이 2계통의 식물체 키, 바깥잎의 특성 22항목과 생리적 성숙기, 뿌리혹병 저항성 등을 조사한 결과(부표 15), 식물체 키는 38, 32cm 였으며, 곧추선 자세로 녹색을 띠고 있다. 바깥잎의 모양은 달걀형이고 끝부분의 모양은 둥글거나 뾰족하였다. 중륵의 색깔은 흰색과 연두색이었다. 생리적 성숙기는 빠르고 뿌리혹병 저항성은 없었다.
- 갓 2계통의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성, 잎의 특성 14항목, 중륵의 특성 3항목, 중륵 및 엽병의 흑, 엽병의 특성 5항목, 뿌리 비대성, 추대성, 결구성 등 30항목을 조사한 결과(부표 16, 17), 식물체 자세는 퍼짐이고, 측지가 발생하고, 엽수는 중간정도 이었고, 잎모양은 도란형, 중륵 횡단면은 반원형이고 엽병 안토시아닌 색소는 없으며 추대가 늦고 결구성이 없었다.
- 중국 및 유럽도입종 등 36계통의 내동성을 관찰한 결과, 도입번호 27263 배추에서만 2010년 3월 25일에 노지에서 생존한 2 개체를 선발하였는데 강건하고 화뢰도 형성되어(그림 13.) 화분에 이식하여 자식시킨 후 재종하였다.



그림 13. 노지 월동후 생존 배추(도입번호 27263)

- 유전집단양성용 재료를 선발하기 위하여 1차년도 형태적 특성평가와 기능성 성분분석을 토대로 선발하고, 노지 포장에 재배하여 2009년 11월 20일 현장평가를 통하여 4계통(도입번호 26110, 26115, 26122, 26133)을 선발하였다(표 8, 그림 14.)

표 8. 2009년도 현장평가에서 선발된 유전자원의 특성

도입번호	선발 기준	비 고
26110	맛과 향기 풍부	기능성(항암성분)
26115	형태, 내한성 순도양호	· 내한성 자원 활용, 하우스 볼배추에 적용 가능 · 결구력이 다소 약함, 액아 발생이 많음
26122	결구형태 양호	
26133	결구형태 양호	



26110(秋玉 1号 F1) 26115(金秋) 26122(多抗 10号) 26133(M-988 F1)

그림 14 . 2009년도 현장평가에서 선발된 배추 유전자원(4 계통)

(라) 2010년도 유전자원 특성조사

- 2010년도 노지 가을재배를 통한 형태적인 특성 조사시 정식기의 잦은 강우 및 저온 등 기상상태가 불량하여 비닐터널을 설치하고(그림 15.) 재배하였으나 정상적인 결구상태가 불충분하여 형태적인 특성조사 자료만을 제시하였다(부표 18, 19, 20, 21). 또한 노지 가을재배를 통하여 충분히 특성평가가 되지 못한 부분을 보완하기 위해 2011년도 봄에 다시 봄재배가 가능하다고 판단되는 일본 수집종과 교배계통을 대상으로 다시 재배하여(그림 16) 특성을 평가하였다(부표 22, 23).

- 내동성계통을 선발하기 위해 2011년 3월까지 노지포장에서 월동시킨 후 생존 계통을 선발할 계획이었으나 예년에 비해 겨울의 혹한이 장기간 지속된 결과로 내동성을 보이는 종은 없었다.



그림 15. 형태적 특성평가를 위한 노지 가을재배(2010년) 광경



그림 16. 형태적 특성평가를 위한 노지 봄재배(2011년) 광경

(마) 2011년도 유전자원 특성조사

- 재배환경 등의 문제로 정확한 특성조사가 이루어지지 못했던(2010년 가을재배 및 2011년 봄재배) 일본 수집종과 육성한 DH라인 중의 일부, 그리고 시판품종 중 씨알맛(CR-mat)과 이노랑(e-norang), 유전자원중 꼬리(kori)를 추가하여 특성을 조사하였다(부표 24, 25, 26, 27, 28)
- 170종을 대상으로 2011년 11월 28일 현장평가를 실시하여(그림 17) DH라인 21계통, 일본 수집종 4, 유전자원 1 계통을 선발하였다(표 9). 선발 계통들은 결구형태, 구 속색, 구형태, 추대양상 등 여러 가지 형태적 특성을 보였는데, 일본 수집종중 10159는 개화마커 검정용으로 이용할 수 있을 것으로 판단되며, 10080과 꼬리(kori)는 내동성이 강한 특성을 보였다.
- 육성한 DH라인 일부를 재배하여 선발된 계통들은 중국 수출용 품종육성에 유용한 형질을 갖고 있는 것들이 많아서 추후 중국 수출용 품종육성에 매우 유용한 육종소재가 될 것이다.



그림 17. 2011년도 가을재배 현장평가

표 9. 2011년도 특성평가 자원 중 현장평가에서 선발된 계통의 주요 특성

계통(품종)명	선 발 이 유	기 타
26110-108	직립, 직원통, 조생	중국수출용
26110-166	중국미니배추 구고, 구폭이 미니로 적당	미니배추용
26110-173	소형H형 소재로 활용가능	
26120- 16	중장원통, 완전포피, 중생	중국수출용
26136- 25	외형이 좋으며, 속노랑소재와 진노랑조합가능	
26164- 37	담녹, 대구, 포피, 만생, 세력강	중국수출용
27136- 31	결구가 좋으며, 속색이 진 노랑	
27139- 11	담록, 키가 키고 잎끝이 벌어짐	중국수출용
27140- 30	중국미니배추 구고 낮고, 결구적당하고 엽수 많음	
27140-142	구형, 포피, 추대난(가을품종)	중국수출용
27143- 55	키가 작고, 포피, 구형, 조생, 무모	중국수출용
27156- 13	장원통, 포피, 무모, 조생	중국수출용
27160- 3	추대만 국내가을계통과 유사, 속노랑배추tip-burn 없음	
27160- 4	반노랑, 추대만 국내용 스타일	
27160- 16	반노랑, 추대만 국내용 스타일	
27160- 23	반노랑, 추대만 국내용 스타일, tip-burn 없음	
27263- 74	순무 또는 무 형태, 생장점 착색	
27263-141	만추대	
27294- 86	중장원통, 축추, 포피	중국수출용
27295- 2	완전입생, 동록, 엽색이 진함	중국수출용
27295- 13	장원통, 포피→포함	중국수출용
10099	동해에 강함, 황심	
10159	추대중만, 속가지런 H장형, 외엽 진함	개화마커 검정용
10177	속잎이 가지런함, 황심	
10080	동해에 강함	
Kori	동해에 강함	

○ 소포자배양에서 나온 계통들 중 모본의 형태와 다른 형태를 갖는 계통들도 있었는데(그림 18), 도입번호 27137(배추)에서 나온 27137-2계통은 팍초이의 형태를 띠고 있었으며, 27263에서 유래된 27263-74는 갖에 가까워 형태적 특성조사시에도 이에 맞추어 조사하였다.



그림 18. 소포자 배양에서 나온 서로 다른 형태의 계통

(2) 마커를 이용한 병검정

(가) 뿌리혹병 저항성 검정

○ 마커를 이용한 뿌리혹병 저항성을 검정한 결과 TCR 01, 06, 09마커 모두 저항성 밴드가 나타난 25081, 26108, 26109, 26112, 26144, 28381, 28659 가 저항성을 보였으나(표 10), 이는 뿌리혹병 생리분화형 일부에만 국한되는 결과이므로 이점을 충분히 인식하고 이용하여야 할 것이다.

표 10. 마커를 이용한 뿌리혹병 저항성 검정

도입번호	TCR01	TCR06	TCR09	저항성여부	도입번호	TCR01	TCR06	TCR09	저항성여부
10074	0 ²	0	0		10155	0	0	1	
10075	0	0	1		10156	0	0	0	
10078	0	0	1		10158	x	x	1	
10079	0	0	1		10159	0	0	0	
10080	0	0	1		10163	0	x	1	
10085	0	0	1		10164	0	0	0	
10086	0	0	0		10173	x	x	1	
10088	0	0	1		10174	0	0	1	
10099	0	0	0		10177	0	0	1	
10100	0	1	1		25081	1	1	1	○
10106	0	0	1		26099	0	1	1	
10121	0	0	1		26100	x	x	x	
10132	0	0	1		26101	x	x	1	
10134	0	0	1		26102	0	1	1	
10136	0	0	1		26103	1	0	1	
10137	x	0	1		26104	0	0	1	
10143	x	x	x		26105	0	0	1	
10145	0	0	0		26107	0	1	1	
10146	x	0	1		26108	1	1	1	○
10147	0	0	1		26109	1	1	1	○
10150	0	1	1		26110	0	0	1	

Z 1 : 저항성밴드, 0 : 이병성밴드, x : PCR증폭 안됨

표 10. 마커를 이용한 뿌리혹병 저항성 검정(계속)

도입번호	TCR01	TCR06	TCR09	저항성여부	도입번호	TCR01	TCR06	TCR09	저항성여부
26111	0 ^z	0	x		26158	1	0	1	
26112	1	1	1	○	26159	0	0	1	
26113	0	0	1		26160	0	0	1	
26114	0	0	1		26161	0	0	1	
26115	0	0	1		26162	0	x	1	
26116	0	0	1		26163	1	0	1	
26117	0	0	x		26164	0	0	1	
26118	0	0	1		26165	1	0	1	
26119	0	0	1		26166	x	x	1	
26120	0	0	x		26167	x	x	x	
26121	0	0	1		26168	x	x	x	
26122	0	0	1		26169	0	0	1	
26123	1	0	x		26170	x	x	x	
26124	x	x	1		27135	0	1	1	
26125	0	0	1		27136	0	0	1	
26126	x	x	x		27137	0	0	0	
26127	x	x	x		27138	0	0	1	
26128	0	x	x		27139	0	0	1	
26129	1	x	1		27140	0	0	1	
26130	0	0	1		27141	0	0	1	
26131	0	0	1		27142	0	0	1	
26132	0	x	1		27143	0	0	1	
26133	0	0	1		27144	0	0	1	
26135	0	0	1		27145	0	0	1	
26136	0	0	1		27146	0	1	1	
26137	0	1	1		27147	x	x	x	
26138	0	x	x		27156	x	x	x	
26139	0	0	x		27157	0	0	1	
26140	0	0	1		27158	x	x	1	
26141	0	x	x		27159	x	x	1	
26142	0	0	1		27160	0	0	1	
26143	0	1	1		27161	0	0	1	
26144	1	1	1	○	27253	0	x	1	
26145	0	0	1		27254	0	0	1	
26146	0	0	1		27256	x	x	1	
26147	0	1	1		27257	0	0	1	
26148	0	x	0		27258	0	0	1	
26149	1	x	1		27259	0	0	1	
26150	0	x	1		27260	0	0	1	
26151	0	0	1		27261	0	0	1	
26152	0	x	1		27262	0	0	1	
26153	x	x	1		27263	0	0	1	
26154	0	0	1		27264	0	1	1	
26155	x	x	x		27265	0	0	1	
26156	0	0	1		27266	0	0	1	
26157	0	1	1		27267	0	0	1	

Z 1 : 저항성밴드, 0 : 이병성밴드, x : PCR증폭 안됨

표 10. 마커를 이용한 뿌리혹병 저항성 검정(계속)

도입번호	TCR01	TCR06	TCR09	저항성여부	도입번호	TCR01	TCR06	TCR09	저항성여부
27268	0 ^z	0	1		27302	0	0	1	
27269	0	0	1		27303	0	1	1	
27270	0	0	1		27305	0	1	1	
27273	1	0	1		27306	0	1	1	
27276	0	1	0		27307	0	1	1	
27277	0	1	0		28373	0	1	1	
27285	0	1	0		28381	1	1	1	○
27293	0	1	1		28393	0	x	1	
27294	0	0	1		28395	0	0	1	
27295	0	0	1		28397	1	1	0	
27301	0	0	1		28659	1	1	1	○

Z 1 : 저항성밴드, 0 : 이병성밴드, x : PCR증폭 안됨

(나) TuMV 저항성 검정

○ TuMV 저항성(KS TuMV-3 기준)은 SSR 233의 저항성 혹은 이병성 밴드로 판정한 결과, 도입번호 27140과 27144가 저항성 밴드만을 나타내어 저항성이 있는 것으로 판단되었다(표 11). 그러나 PCR 수행 결과 이병성 밴드와 저항성 밴드를 모두 갖는 계통도 다수이었는데 이들이 표현형상으로 저항성을 보이는데에 대하여는 접종실험 등을 통한 검토가 이루어져야 할 것이다.

표 11. 마커를 이용한 TuMV 저항성 검정 결과

도입번호	SSR 223	저항성여부	도입번호	SSR 223	저항성여부	도입번호	SSR 223	저항성여부	도입번호	SSR 223	저항성여부
10074	S ^z		10147	RS		26107	RS		26126	x	
10075	S		10150	RS		26108	RS		26127	x	
10078	S		10155	RS		26109	S		26128	S	
10079	S		10156	S		26110	RS		26129	RS	
10080	S		10158	RS		26111	S		26130	RS	
10085	S		10159	RS		26112	x		26131	RS	
10086	RS		10163	RS		26113	RS		26132	S	
10088	RS		10164	RS		26114	RS		26133	RS	
10099	S		10173	RS		26115	RS		26135	S	
10100	RS		10174	S		26116	RS		26136	S	
10106	RS		10177	RS		26117	S		26137	RS	
10121	RS		25081	RS		26118	S		26138	RS	
10132	RS		26099	RS		26119	S		26139	RS	
10134	RS		26100	x		26120	RS		26140	RS	
10136	RS		26101	x		26121	S		26141	RS	
10137	RS		26102	RS		26122	S		26142	RS	
10143	RS		26103	RS		26123	RS		26143	RS	
10145	RS		26104	RS		26124	x		26144	x	
10146	S		26105	S		26125	RS		26145	S	

Z R : 저항성밴드, S : 이병성밴드, RS : 저항성/이병성 공유, x : PCR증폭 안됨

표 11. 마커를 이용한 TuMV 저항성 검정 결과(계속)

도입 번호	SSR 223	저항성 여부	도입 번호	SSR 223	저항성 여부	도입 번호	SSR 223	저항성 여부	도입 번호	SSR 223	저항성 여부
26146	RS ^z		26166	x		27158	S		27270	S	
26147	RS		26167	x		27159	RS		27273	RS	
26148	S		26168	RS		27160	S		27276	S	
26149	RS		26169	S		27161	S		27277	RS	
26150	RS		26170	x		27253	S		27285	RS	
26151	S		27135	RS		27254	RS		27293	RS	
26152	RS		27136	RS		27256	RS		27294	RS	
26153	RS		27137	RS		27257	S		27295	S	
26154	RS		27138	RS		27258	S		27301	S	
26155	x		27139	x		27259	S		27302	S	
26156	RS		27140	R	○	27260	RS		27303	S	
26157	RS		27141	S		27261	S		27305	RS	
26158	RS		27142	S		27262	S		27306	S	
26159	S		27143	S		27263	S		27307	S	
26160	S		27144	R	○	27264	RS		28373	RS	
26161	RS		27145	S		27265	RS		28381	RS	
26162	S		27146	RS		27266	S		28393	S	
26163	RS		27147	RS		27267	RS		28395	S	
26164	RS		27156	S		27268	S		28397	RS	
26165	RS		27157	S		27269	S		28659	RS	

Z R : 저항성밴드, S : 이병성밴드, RS : 저항성/이병성 공유, x : PCR증폭 안됨

(다) 노균병 저항성 검정

- 노균병 저항성 여부를 알아 보기위하여 PCR을 수행한 결과, 모든 계통(품종)에서 이병성 밴드만이 나타나 노균병 저항성계통은 없었다.

2. 유전자원의 성분 분석

가. 시험재료

중국 및 유럽 도입종 유전자원의 특성검정 후 영양성분이 높은 계통을 선발하기 위하여 성분분석을 실시하였다. 분석은 매년 특성검정 후 충남대 분석센터에 의뢰 하였다. 1년차 74계통(대비구 4포함), 2년차 54계통, 3년차 72계통, 4년차는 일본 수집 50종을 포함하여 선발된 계통의 DH라인 등 192계통을 분석하였다.

나. 분석 종류 및 방법

년차 간에 분석 종류의 일부가 차이가 있으며, 1년차에는 crude fat, Crude protein 등의 분석도 이루어졌다. Cellulose, pectin, reducing sugar, vitamin C, vitamin E, mineral은 fresh sample을 사용하였으며, carotenoid, glucosinolate는 동결건조 한 계통을 이용하여 분석하였다.

(1) Reducing sugar (DNS method)

DNS method를 사용하여 측정하였다. 동결 건조 샘플 0.5 g과 증류수 10 ml을 균질화 한 시료를 준비한 후 12000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 상층액 100 µl에 900 µl의 DNS와 200 µl의 증류수를 첨가하여 교반하였다. 100℃에서 15분간 반응 시킨 후 열음에서 15분간 냉각시켰다. spectrophotometer를 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(2) Vitamin C

동결 건조 시료 0.5 g에 TCA (3%, w/v) 5 ml을 넣어 균질화 시켰다. Metaphosphoric acid (5%, v/v)를 100 µl를 첨가한 후 균질화를 하고 원심분리를 시켰다. 상층액을 취한 후 metaphosphoric acid (5%, v/v) 로 mass up 한 뒤 HPLC를 이용하여 측정하였다. HPLC 분석 조건은 다음과 같다. Mobile phase는 0.05 M potassium Phosphate(Eluent A)와 ACN (Eluent B)를 사용하였으며, column은 C18 column을 사용하였다. Flow rate는 0.8 ml/min, injection volume은 20 µl를 주입하였으며 254 nm에서 측정하였다. gradient 조건은 표 12와 같다.

표 12. Vitamin C gradient 분석 조건

Time(min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	80	20
5	80	20
5.01	20	80
10	20	80
10.01	80	20
20	80	20

(3) Vitamin E

Vitamin E의 함량은 Aaran과 Nikkari 방법을 변형한 α, α' -dipyridyl에 의한 비색 정량 방법으로 측정하였다. 즉, α -tocopherol 20mg(Sigma catalog no T3634)에 absolute EtOH를 가하여 녹여 100mL로 정량 하여 표준용액으로 하였다. 시험용액은 시험관에 시료 2g을 취하고 Absolute EtOH 3mL, 10% pyrogallol/ethanol 용액 3.1mL, 90% KOH 0.1mL을 가한 뒤, 65°C 항온수조에서 30분간 비누화 하였다. 비누화 후 신속하게 냉각하여 실온으로 하고, 증류수 4mL과 hexane 3mL을 가하고 vortex후 1,410×g으로 3분 동안 원심 분리하였다. 여기서 hexane층을 분리하여 새 시험관에 옮기고, 증류수층에 반복 실험하여 hexane층을 튜브에 옮겼다. Hexane층을 모두 합한 뒤 증류수로 씻어서 중성으로 하였다. 중성확인 은 phenolphthalein reagent(pH 8.2~12.0에서 분홍색이나 보라색을 나타내고, 그 외에선 무색을 나타낸다.)을 넣어서 확인하였다. Hexane층에 무수황산나트륨을 가하여 탈수 한 후 1,410×g으로 5분 동안 원심 분리하고 상층 액만 분리하여 새 시험관에 옮겼다. Hexane 추출물을 모두 합하여 75°C 항온수조에서 증발 시키고, 잔류물은 absolute EtOH로 녹여 2.5mL로 맞춰서 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 0.5mL와 비타민 E 표준용액 1mL을 25mL의 플라스크에 각각 취하여, FeCl3 에탄올 용액(FeCl3 2g을 무수에탄올 100mL에 용해하였다.) 0.1mL와 0.5% α, α' -dipyridyl(Alfa Aesar lot no : J7377B) 에탄올 용액 0.1mL을 가하고 무수에탄올을 가하여 2.5mL로 정량하고, 520nm에서 흡광도를 측정하였다.

(4) Mineral

동결건조 시료 0.5g을 도가니에 준비 한 후 105°C의 dry oven에서 예비 건조를 하였다. 550°C 회화로에서 5시간 동안 회화시킨 후 HCl solution (DW : HCl = 1 : 1, v/v) 5 ml을 회화시킨 시료에 넣고, 끓였다. 끓인 용액을 tube에 옮겨 담고 25 ml로 mass up 하여 ICP-AES를 이용하여 분석하였다.

(5) Carotenoid

동결건조 시료 1 g에 1 ml DMSO와 10 ml MeOH을 가한 후 30초간 균질화 하였다. 암실에서 30분간 shaker를 이용하여 교반한 후 hexane 5 ml을 첨가한 후 2분간 교반시켰다. NaCl 수용액 (20%, w/v) 10 ml을 첨가한 후 2,100 x g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 sodium sulfate를 0.5 g 첨가한 후 vortexing 하였다. 2,100 x g에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 filtration (PTFE, 0.45 μ m)하여 HPLC를 이용하여 분석한다. HPLC 분석 조건은 다음과 같다. Mobile phase는 ethyl acetate (Eluent A)와 30% acetone in MeOH (Eluent B)를 사용하였으며, column은 C18 column을 사용하였다. Flow rate는 1 ml/min, injection volume은 20 μ l 를 주입하였으며, 440 nm에서 측정하였다. Waters system을 사용하여 분석하였다. gradient 조건은 표 13과 같다.

표 13. Carotenoid HPLC gradient 조건

Time(min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	90	10
20	30	70
25	10	90
25.01	90	10
30	90	10

(6) Flavonol

동결건조 샘플 1 g에 62.5% aqueous methanol (2 g/l의 tert-butylhydroquinone 첨가) 40 ml을 첨가하여 20분간 sonication 하였다. GL-screwcap tube에 옮긴 뒤 8 M HCl 10 ml을 첨가하고 vortexing 하여 90°C water bath에서 3.5시간 반응 시켰다. 반응이 끝나면 얼음에서 식힌 후 5분간 sonication 하였다. 상층액을 분리시켜 syringe filter(PTFE, 0.45 μ m)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석한다.

HPLC 분석 조건은 다음과 같다. Flow rate는 0.4 ml/min 이고, mobile phase로 0.1% formic acid water (Eluent A)와 methanol(Eluent B)을 사용하였다. Column은 XTerra MS C18 (5 μ m, 3.9 X 150 mm)을 사용하였고 waters 2695 system을 사용하여 360 nm에서 측정하였다. Injection volume은 20 μ l이며 30°C에서 분석을 실시하였다. Gradient 조건은 표 14와 같다.

표 14. Flavonol HPLC gradient 분석 조건

Time(min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	70	30
50	35	65
52	5	95
54	5	95
56	70	30

(7) Glucosinolate

동결건조 샘플을 0.1 g을 튜브에 담았다. 튜브에 70°C로 예열한 70% MeOH 1 ml을 첨가하여 70°C의 water bath에서 10분간 반응시킨 후 바로 냉각시켰다. 28,500 x g에서 5분 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 남은 잔사에 70°C MeOH을 넣어 10분간 water bath에서 반응시키는 과정을 2회 반복하여 추출하였다. 모든 상층액을 합한 후 vortexing 하여 2,090 x g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 분리하여 sephadex DEAE-A25가 충전되어 있는 ion-exchange column에 모두 통과시켰다. 모두 통과 되면 증류수 1 ml을 column에 통과시켜 세척한 후 sulfatase 250 μ l를 첨가하여 밀봉한 후 16시간 동안 반응 시켰다. 반응이 끝난 후 deionized 증류수 1 ml을 통과시켜 통과된 추출물을 포집하였다. 추출물을 28,500 x g에서 5분간 원심분리 후 상층액 1 ml을 syringe filter (PVDF, 0.22 μ m)를 이용하여 여과하였다. HPLC를 이용하여 분석하였다.

HPLC 분석 조건은 다음과 같다. Mobile phase로 water (Eluent A)과 ACN (Eluent B)을 사용하였다. Column은 phenomenex kinetex reverse phase C18 column (3.9 × 100 mm, 3 μm)를 사용하였으며, flow rate는 1 ml/min, injection volume은 20 μl를 주입하여 waters 2695 system을 사용하여 분석하였다. Gradient 조건은 표 15와 같다.

표 15. Flavonol HPLC gradient 분석 조건

Time(min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
0	98	2
5	98	2
20	75	25
20.01	98	2
25	98	2

(8) Crude Fat

함량 측정은 -70℃ 초저온고에서 보관중인 시료 1g에 acetone 5ml, hexane 7ml, 0.1%NaCl 5ml을 각각 넣어준 후 vortex를 5분 시키고, 1200rpm, 15분 원심분리하였다. 70℃dry oven에서 함량 건조시킨 시험관에 상층액만 추출하여 hood에서 건조시켰다. 용매를 다 건조시킨 시험관을 70℃ 건조시켜서 함량에 도달 할 때까지 건조시켜 그 무게의 변화를 칭량하여 계산하였다.

(9) Crude Protein

조단백질의 정량은 4℃ 저온고에서 보관중인 시료를 액체 질소에 넣고 갈아 준 후 micro-tube에 0.2g 넣어주고, Tris buffer(0.05M, pH7.5) 1ml을 첨가하였다. Vortex 후 ice에서 10분 방치하였다. 그리고 샘플을 4℃, 1700rpm, 5분 원심분리 한 후 상등액을 채취하여 Biorad 시약 5ml을 넣어 반응시킨 후, 5-15분 사이에 595nm에서 흡광도를 측정하였다.

다. 분석 종류 및 방법 결과 및 고찰

(1) 74계통(1년차)

○ 11년차 도입 유전자원은 배추 41, 양배추 9, 깍초이 12, 갓 3, 기타 5 등으로 구분되었으며 2007년 9. 7일~12. 5일간 충남농업기술원 시험포장에서 재배되고 특성검정을 마친 시료를 가지고 분석한 결과는 다음과 같다.

○ 배추류의 맛과 질감을 알아보기 위하여 환원당, pectin, cellulose 의 함량을 측정하였다. 환원당의 경우 잎 부분에서 가장 높은 함량을 나타낸 것은 26123으로 57.60mg/g이고, 중륵에서는 26121으로 42.62mg/g이었다(표 16). 이것은 대비품종에 비해 1.5배 정도 높았고, 중륵보다 잎에서 더 높았다. 일반적으로 수용성 다당류인 수용성 펙틴은 혈액을 맑게 해 고혈압과 동맥경화를 예방하고 몸속에 쌓인 독성을 배출하는 효과가 있다. 배추의 수용성 펙틴을 분석한 결과(표 17), 잎 부분에서 가장 높은 함량을 갖는 품종은 26136으로 5.103mg/g으로 대비구 평균인 0.785mg/g에 비해 6.7배 높았으며, 중륵에서도 비슷한 경향을 보였다.

표 16. Reducing sugar의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중륵	
	계통	함량(mg/g fw)	계통	함량(mg/g fw)
대비품종	불암3호	32.18	불암3호	30.66
	불암플러스	33.59	불암플러스	30.38
	황성골드	31.66	황성골드	24.43
	휘파람	34.97	휘파람	34.05
	평균	33.1	평균	29.88
Chinese cabbage 고탍유	26123	57.60	26121	42.62
	26147	41.54	26113	39.83
	26152	41.40	26112	38.78

표 17. Pectin의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중륵	
	계통	함량(mg/g fw)	계통	함량(mg/g fw)
대비품종	불암3호	0.765	불암3호	0.573
	불암플러스	0.780	불암플러스	0.736
	황성골드	0.649	황성골드	0.366
	휘파람	0.945	휘파람	0.438
	평균	0.785	평균	0.528
Chinese cabbage 고탍유	26136	5.103	26100	4.161
	26119	5.077	26101	3.519
	26110	4.860	26129	3.153

○ Cellulose는식이섬유의 한 종류로 대장운동을 활발하게 해주며 혈중의 콜레스테롤을 억제하는 등 건강 기능성을 갖는 물질로 보고되고 있다. 배추의 cellulose 함량을 조사한 결과(표 18), 대비품종의 58.21mg/g에 비해 26132 종은 102.35mg/g로 약 2배 정도 높게 나타났고, 중록에서는 26152종이 93.17mg/g로 높았다.

표 18. Cellulose의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중록	
	계통	합량(mg/g)	계통	합량(mg/g)
대비품종	불암3호	56.77	불암3호	63.25
	불암플러스	60.49	불암플러스	53.54
	황성골드	58.45	황성골드	60.01
	휘파람	57.13	휘파람	68.05
	평균	58.21	평균	61.21
Chinese cabbage 고탍유	26132	102.35	26152	93.17
	26113	84.90	26131	85.38
	26139	81.12	26127	84.66

○ 비타민 E는 항산화 기능을 갖는 성분으로 26104, 26102는 각각 67.95 μ g/g, 66.70 μ g/g으로 대비구 28.04 μ g/g에 비해 2배 이상 높았다(표 19). 그러나 중록에서는 잎에서 보다 현저히 낮았으며 대비구와도 크게 차이를 보이지 않았다.

표 19. Vitamin E의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중록	
	계통	합량(μ g/g)	계통	합량(μ g/g)
대비품종	불암3호	14.27	불암3호	8.71
	불암플러스	22.80	불암플러스	12.39
	황성골드	22.69	황성골드	8.26
	휘파람	52.40	휘파람	14.44
	평균	28.04	평균	10.95
Chinese cabbage 고탍유	26104	67.95	26130	19.17
	26102	66.70	26114	18.82
	26163	57.94	26133	16.50

○ 비타민 C는 항산화제로 콜라겐 합성에 관여하는 것으로 알려져 있는데 잎에서 26108은 614.23 μ g/g으로 대비구 평균인 259.16 μ g/g보다 2.3배 높았다(표 20). 중록에서는 26155에서 582.28 μ g/g으로 대비구 평균인 183.68 μ g/g보다 3배이상 높게 나타났다. 이런 종들은 기능성 품종으로 이용이 가능할 것이다.

○ Crude fat는 잎에서는 관리번호 26114, 26109, 26110에서 높았고, 중록에서는 26153, 26142, 26124에서 높았다(표 21). 잎과 중록 모두 대비구에 비해 2배 정도 높은 값을 보였다.

○ Crude Protein도 잎에서는 26132가 3.08mg/g으로 대비구 평균 1.58mg/g보다 약 2배 높았으며, 중록에서도 26132에서 가장 높게 나타났다(표 22).

표 20. Vitamin C의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중록	
	계통	합량(μ g/g)	계통	합량(μ g/g)
대비품종	불암3호	357.34	불암3호	122.17
	불암플러스	214.83	불암플러스	225.01
	황성골드	246.10	황성골드	311.98
	휘파람	218.38	휘파람	75.55
	평균	259.16	평균	183.68
Chinese cabbage 고탍유	26108	614.23	26155	582.28
	26153	517.81	26114	427.61
	26132	448.70	26108	408.55

표 21. Crude fat의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중록	
	계통	합량(mg/g)	계통	합량(mg/g)
대비품종	불암3호	61.67	불암3호	61.33
	불암플러스	41.33	불암플러스	65.33
	황성골드	46.33	황성골드	57.67
	휘파람	6.33	휘파람	5.67
	평균	38.92	평균	47.5
Chinese cabbage 고탍유	26114	83.00	26153	75.67
	26109	73.67	26142	74.67
	26110	70.33	26124	73.67

표 22. Crude Protein의 대비품종과 고탍유 계통의 비교

구 분	잎		중록	
	계통	합량(mg/g)	계통	합량(mg/g)
대비품종	불암3호	1.61	불암3호	0.70
	불암플러스	1.12	불암플러스	0.81
	황성골드	2.26	황성골드	0.56
	휘파람	1.31	휘파람	0.17
	평균	1.58	평균	0.56
Chinese cabbage 고탍유	26132	3.08	26132	1.24
	26108	2.15	26120	0.97
	26128	1.90	26170	0.97

(2) 54계통(2년차)

2년차 도입유전자원으로 2008년 8월 13일 ~ 2008년 11월 24일 사이에 충남예산에 위치 한 충남농업기술원 노지포장에서 재배하고 형태적 특성검정을 마친 배추과 계통 54계통(대비구 4 계통 포함)을 이용하였다. 분석자료의 목록은 표 23과 같다.

(가) Cellulose

식이섬유의 한 종류로 대장운동을 활발하게 해주며, 혈중 콜레스테롤 억제하는 등의 건강 기능성을 갖는 물질로 보고되고 있다. 배추에서 가장 높은 함량을 나타낸 품종은 관리번호 27268(잎), 27144(중록)로 나타났으나 대비품종 평균과 큰 차이를 보이지는 않았다. 팍초이는 27273(잎), 27276(중록) 계통이 대비품종 평균 보다 약 1.25배, 2.5배 정도 높게 나타났다(표 24). cellulose의 함량은 배추와 팍초이 모두에서 크게 차이는 보이지 않았으나 팍초이의 중록 부분이 높게 나타나 배추 보다 딱딱할 것으로 사료된다.

표 23. 분석에 이용된 유전자원

순번	관리번호	영문명	순번	관리번호	영문명
1	27135	pak choi	28	27262	Chinese cabbage
2	27136	Chinese cabbage	29	27263	Chinese cabbage
3	27137	Chinese cabbage	30	27264	Chinese cabbage
4	27138	Chinese cabbage	31	27265	Chinese cabbage
5	27139	Chinese cabbage	32	27266	Chinese cabbage
6	27140	Chinese cabbage	33	27267	Chinese cabbage
7	27141	Chinese cabbage	34	27268	Chinese cabbage
8	27142	Chinese cabbage	35	27269	Chinese cabbage
9	27143	Chinese cabbage	36	27270	Chinese cabbage
10	27144	Chinese cabbage	37	27273	Pak choi
11	27145	Chinese cabbage	38	27276	Pak choi
12	27146	Chinese cabbage	39	27277	Pak choi
13	27147	Mustard	40	27285	Pak choi
14	27156	Chinese cabbage	41	27293	Pak choi
15	27157	Chinese cabbage	42	27294	Chinese cabbage
16	27158	Chinese cabbage	43	27295	Chinese cabbage
17	27159	Chinese cabbage	44	27301	Chinese cabbage
18	27160	Chinese cabbage	45	27302	Pak choi
19	27161	Chinese cabbage	46	27303	Chinese cabbage
20	27253	Pak choi	47	27304	Chinese cabbage
21	27254	Chinese cabbage	48	27305	Pak choi
22	27256	Chinese cabbage	49	27306	Chinese cabbage
23	27257	Chinese cabbage	50	27307	Pak choi
24	27258	Pak choi	51	불암3호	Chinese cabbage
25	27259	Chinese cabbage	52	불암 플러스	Chinese cabbage
26	27260	Chinese cabbage	53	황성골드	Chinese cabbage
27	27261	Chinese cabbage	54	휘파람	Chinese cabbage

표 24. Cellulose의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi, 갖의 고함유 및 저함유 품종

구 분	잎		중록	
	계통	함량(mg/g fw)	계통	함량(mg/g fw)
대비품종	불암3호	136.52	불암3호	131.32
	불암플러스	140.63	불암플러스	136.69
	황성골드	146.63	황성골드	134.18
	휘파람	144.35	휘파람	143.83
	평균	142.03	평균	136.50
Chinese cabbage 고함유	27160	154.12	27266	145.26
	27144	155.66	27159	146.86
	27268	156.12	27144	147.32
Chinese cabbage 저함유	27141	116.52	27140	115.20
	27263	119.32	27256	119.83
	27266	120.06	27137	121.38
Pak choi 고함유	27293	199.99	27305	364.87
	27285	206.63	27303	367.52
	27273	209.33	27276	370.11
Pak choi 저함유	27269	120.58	27269	129.38
	27270	160.01	27270	129.38
	27307	172.63	27273	330.83
Mustard	27147 red	200.56	27147 red	370.74
	27147 green	207.30	27147 green	357.30

(나) Pectin

27136 계통 일부분의 pectin 함량은 대비품종 평균 보다 약 2.5배 더 높은 것으로 나타났으며, 팍초이 계통인 27303(잎)도 대비품종 평균 보다 약 2.5배 정도 높게 나타났다. 중록 부분의 대비품종 평균은 1.99mg/g 이며 배추 계통 중 가장 높은 함량을 나타낸 품종은 27159로 2.63mg/g으로 약 1.5배 높았다. 팍초이 계통 중 중록에서 가장 높은 함량을 나타낸 계통은 27307로 3.17mg/g으로 대비품종 평균 보다 약 2배 정도 높게 나타났다(표 25). pectin은 아삭한 식감에 영향을 주는 인자이기 때문에 27136(잎), 27303(잎), 27159(중록), 27307(중록) 계통의 식감이 우수할 것으로 사료된다.

(다) Reducing sugar

Reducing sugar 고함유 배추 품종은 27158(잎) 32.34mg/g, 27263(중록) 30.55mg/g로 대비품종 평균 보다 각각 5배, 2.5배 정도 높았는데, 대비품종 중 가장 높은 함량을 나타낸 불암 3호와 비교하여도 잎은 2배 중록은 1.5배 정도 높게 나타났다. 팍초이 고함유 품종은 27269로 잎에서 23.16mg/g, 중록에서 33.99mg/g으로 대비품종과 비교하여 잎은 4.5배 중록은 3배 정도 높게 나타났다(표 26).

(라) Vitamin C

배추 계통 중 가장 높은 함량을 보인 계통은 27140(잎), 27295(중록)으로 대비품종 평균과 비교하여 각각 2.8배, 1.8배 정도 높은 것으로 나타났다. 깍초이 계통은 27270(잎), 27269(중록)으로 대비품종 평균과 비교하여 3배, 1.6배 정도 높은 것으로 나타났다(표 27). vitamin C는 항산화제로 알려져 있으며 콜라겐 합성에 영향을 주는 성분이다. 부족하면 피혈병이나 콜라겐 합성이상으로 결체조직의 이상, 뼈 통증이 올수 있다. 만약 vitamin C 고함유 배추를 한끼 100g씩 하루 3번을 섭취 한다 가정할 경우 하루 약 300g 정도를 섭취 하며 이는 성인의 vitamin c 영양권장량인 70mg/day를 섭취 할 수 있을 것으로 예상된다.

(마) Vitamin E

배추 및 깍초이의 일부는 대비품종과 비교하여 크게 차이나는 품종은 없었으나 중록에서는 대비품종과 비교하여 2~3배 정도 차이나는 품종을 확인 할 수 있었다. 배추계통인 27142(중록)은 32.88µg/g으로 대비품종과 비교하여 1.5배 높은 함량을 나타냈으며, 깍초이는 27273(중록) 계통이 67.86µg/g으로 대비품종 평균 보다 3배 높게 나타났다(표 28). Vitamin E는 항산화, 생식기능 및 근기능 유지에 관여하는 성분이다. 일일 권장량은 10mg으로 배추를 섭취하므로 권장량을 채우기는 힘들 것으로 사료된다.

표 25. Pectin의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi, 갯의 고함유 및 저함유 품종

구 분	잎		중록	
	계통	함량(mg/g fw)	계통	함량(mg/g fw)
대비품종	불암3호	1.34	불암3호	2.29
	불암플러스	1.63	불암플러스	2.36
	황성골드	0.68	황성골드	1.87
	휘파람	1.81	휘파람	1.45
	평균	1.37	평균	1.99
Chinese cabbage 고함유	27267	2.94	27158	2.42
	27256	3.02	27160	2.55
	27136	3.21	27159	2.63
Chinese cabbage 저함유	27294	0.69	27264	0.27
	27306	0.76	27295	0.48
	27266	0.77	27136	0.62
Pak choi 고함유	27273	2.93	27258	2.82
	27293	3.67	27305	3.11
	27303	3.75	27307	3.17
Pak choi 저함유	27269	1.79	27269	0.63
	27270	1.91	27270	1.97
	27135	2.06	27285	1.82
Mustard	27147 green	2.98	27147 green	2.72
	27147 red	2.98	27147 red	2.70

표 26. Reducing sugar의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종

구 분	잎		중록	
	계통	함량(mg/g fw)	계통	함량(mg/g fw)
대비품종	불암3호	17.31	불암3호	23.75
	불암플러스	4.57	불암플러스	6.33
	황성골드	5.91	황성골드	12.50
	휘파람	3.48	휘파람	7.64
	평균	7.82	평균	12.55
Chinese cabbage 고함유	27294	30.56	27301	30.09
	27138	31.53	27146	30.49
	27158	32.34	27263	30.66
Pak choi 고함유	27253	19.28	27253	16.30
	27273	21.801	27270	19.24
	27269	23.16	27269	33.99
Mustard	27147 green	14.90	27147 green	15.59
	27147 red	15.74	27147 red	6.86

표 27. Vitamin C의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종

구 분	잎		중록	
	계통	함량(mg/g fw)	계통	함량(mg/g fw)
대비품종	불암3호	0.150	불암3호	0.114
	불암플러스	0.099	불암플러스	0.107
	황성골드	0.115	황성골드	0.141
	휘파람	0.039	휘파람	0.054
	평균	0.101	평균	0.104
Chinese cabbage 고함유	27145	0.216	27138	0.155
	27146	0.227	27160	0.171
	27140	0.281	27295	0.184
Pak choi 고함유	27305	0.116	27302	0.108
	27269	0.145	27270	0.130
	27270	0.325	27269	0.166
Mustard	27147 green	0.068	27147 green	0.075
	27147 red	0.081	27147 red	0.088

표 28. Vitamin E의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak chои의 고탍유 품종

구 분	있		중록	
	계통	합량(μg/g fw)	계통	합량(μg/g fw)
대비품종	불암 플러스	28.527	불암 플러스	24.254
	불암 3호	73.429	불암 3호	21.686
	황성골드	55.513	황성골드	21.755
	휘파람	55.675	휘파람	21.902
	평균	53.286	평균	22.399
	Chinese cabbage 고탍유	27159	51.911	27137
27294		54.163	27157	29.622
27137		75.789	27142	32.884
27293		57.703	27307	43.466
Pak chои 고탍유	27305	61.929	27258	45.880
	27273	68.269	27273	67.860
	27147green	49.304	27147green	25.388
Mustard	27147red	62.361	27147red	23.675

(바) Mineral

- 각 mineral(대량원소)의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak chои의 고탍유 품종은 표 29와 같다.
- 배추에서 칼슘(Ca) 함량은 잎에서 0.211mg/g에서 3.469mg/g, 중록은 0.127mg/g에서 1.811mg/g으로 넓은 분포도를 나타냈다. 특히 27143(있)은 3.469mg/g으로 대비품종과 비교하여 4배 정도 높게 나타났으며, 27137(중록)은 1.811mg/g으로 대비품종에 비해 2배 이상 높았다. 파초이는 27273(있) 계통이 대비품종 평균 보다 약 9배 높았고, 27135(중록) 계통이 약 3배 높게 나타났다. 이 네 품종은 현재 시판 중인 배추 보다 칼슘 함량이 높기 때문에 이를 이용하여 칼슘 고탍유 품종으로 개발이 가능 할 것으로 사료된다.

표 29. 각 mineral(대량원소)의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak chои의 고탍유 품종

구 분	있		중록			
	계통	합량(mg/g fw)	계통	합량(mg/g fw)		
K	대비품종	불암플러스	1.923	불암플러스	1.488	
		불암3호	3.633	불암3호	1.459	
		황성골드	2.057	황성골드	1.750	
		휘파람	2.235	휘파람	1.252	
		평균	2.462	평균	1.487	
		27137	3.571	27261	3.600	
	Chinese cabbage 고탍유	27138	3.722	27259	3.735	
		27146	3.756	27257	4.512	
		27253	3.585	27273	3.780	
	Pak chои 고탍유	27293	3.933	27276	4.373	
		27273	4.941	27277	5.209	
		Mustard	27147green	4.356	27147green	3.355
	27147Red		5.282	27147Red	5.294	
	Ca	대비품종	불암플러스	0.961	불암플러스	0.675
			불암3호	0.688	불암3호	0.512
			황성골드	0.976	황성골드	0.535
			휘파람	0.596	휘파람	0.187
			평균	0.805	평균	0.805
Chinese cabbage 고탍유		27160	2.254	27257	1.394	
		27146	3.325	27138	1.735	
		27143	3.469	27137	1.811	
Pak chои 고탍유		27253	2.186	27307	2.158	
		27302	2.486	27276	2.505	
		27273	7.192	27135	2.690	
Mustard		27147green	6.533	27147green	4.189	
		27147Red	3.828	27147Red	3.973	
Mg		대비품종	불암플러스	0.242	불암플러스	0.103
			불암3호	0.231	불암3호	0.110
			황성골드	0.287	황성골드	0.101
			휘파람	0.214	휘파람	0.092
			평균	0.243	평균	0.101
	Chinese cabbage 고탍유	27146	0.387	27257	0.219	
		27160	0.409	27137	0.248	
		27143	0.439	27138	0.286	
	Pak chои 고탍유	27253	0.353	27273	0.385	
		27303	0.378	27276	0.391	
		27273	1.062	27277	0.409	
	Mustard	27147green	1.000	27147green	0.465	
		27147Red	0.473	27147Red	0.413	

표 29. 각 mineral(미량원소)의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종(계속)

구 분		잎		중록	
		계통	함량(ug/g fw)	계통	함량(ug/g fw)
Fe	대비품종	불암플러스	16	불암플러스	2
		불암3호	13	불암3호	2
		황성골드	16	황성골드	2
		휘파람	21	휘파람	4
		평균	16	평균	3
	Chinese cabbage 고함유	27143	20	27256	5
		27139	20	27146	7
		27137	22	27254	8
	Pak choi 고함유	27269	25	27277	14
		27253	25	27305	17
		27273	52	27135	28
	Mustard	27147green	155	27147green	38
		27147Red	40	27147Red	24
	Mn	대비품종	불암플러스	4	불암플러스
불암3			2	불암3	0
황성골드			2	황성골드	0
휘파람			2	휘파람	0
평균			3	평균	0
Chinese cabbage 고함유		27139	5	27159	1
		27146	10	27257	1
		27143	11	27146	1
Pak choi 고함유		27277	8	27276	4
		27302	9	27285	4
		27273	11	27277	4
Mustard		27147green	17	27147green	4
		27147Red	13	27147Red	5
B		대비품종	불암플러스	4	불암플러스
	불암3호		2	불암3호	1
	황성골드		3	황성골드	1
	휘파람		3	휘파람	1
	평균		3	평균	1
	Chinese cabbage 고함유	27146	8	27145	4
		27143	8	27136	5
		27139	11	27139	5
	Chinese cabbage 고함유	27253	6	27276	4
		27302	6	27305	5
		27305	6	27135	5
	Mustard	27147green	5	27147green	4
		27147Red	5	27147Red	4

표 29. 각 mineral(미량원소)의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종(계속)

구 분		잎		중록	
		계통	함량(ug/g fw)	계통	함량(ug/g fw)
Zn	대비품종	불암플러스	2	불암플러스	0
		불암3	4	불암3	0
		황성골드	2	황성골드	0
		휘파람	3	휘파람	1
		평균	3	평균	0
	Chinese cabbage 고함유	27138	4	27139	2
		27261	4	27159	2
		27143	7	27146	2
	Pak choi 고함유	27302	6	27277	5
		27258	6	27285	5
		27285	6	27305	6
	Mustard	27147green	6	27147green	3
		27147Red	6	27147Red	4
	Al	대비품종	불암플러스	23	불암플러스
불암3호			11	불암3호	1
황성골드			25	황성골드	10
휘파람			43	휘파람	7
평균			26	평균	5
Chinese cabbage 고함유		27139	27	27257	16
		27294	32	27256	16
		27137	35	27160	24
Chinese cabbage 고함유		27269	43	27273	23
		27273	69	27305	24
		27305	90	27135	36
Mustard		27147green	358	27147green	76
		27147Red	47	27147Red	35

- 배추의 철(Fe) 고함유 품종은 27137(잎), 27254(중록) 계통으로 대비품종과 비교하여서 큰 차이를 보이지 않았으며, 그 함량도 높지 않았다. 파초이의 Fe 고함유 품종은 27273(잎), 27135(중록) 계통으로 대비품종인 배추 보다 5배, 8배로 전체적으로 배추보다는 파초이가 철분의 함량이 높은 것으로 나타났다. 성인의 일일 철분 요구량이 4~5mg이기 때문에 영양학적으로 의미를 찾기는 힘들다.
- 아연(Zn)은 인체 내에서 세포를 구성하고 생리적인 기능을 조절하는 무기질 중 하나이다. 배추과 식물에서의 함량은 매우 적은 것으로 나타났다. 아연 고함유 품종은 27143(잎), 27146(중록) 계통으로 7ug/g, 2ug/g으로 대비품종 보다는 2배 정도 높게 나타났다.
- Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Zn 등의 무기성분을 분석한 결과 K의 함량이 다른 원소보다 많은 것으로 분석되었다. Ca은 인체 내에서 주로 인산과 결합하여 뼈나 이 같은 부분에 주로 함유되어 있는데, 노인이나 어린이의 뼈 강화와 성장에 도움이 되는 원소이다. 판리번호 27143이 3.46mg/g으로 칼슘함량이 잎 부분이 가장 많으며, 줄기부분에서는 27137이 1.81mg/g으로 높게 나타났다.

○ Fe는 헤모글로빈의 주요 성분으로 산소 운반에 관여하며 임신, 출산, 성장기에 수요가 높아져 많은 섭취를 필요로 한다. 관리번호 27269이 0.024mg/g으로 잎에서 가장 높은 함량을 나타냈으며, 27254이 0.0078mg/g으로 줄기에서 가장 높은 함량을 갖는 것으로 나타났다. 높은 Fe 함량을 갖는 품종을 김치로 매일 섭취할 경우 일상적인 식단에서 철분은 이전보다 더 많이 섭취할 수 있어 철분보장에 많은 효과있을 것으로 예상된다.

○ Mg는 칼슘과 함께 뼈에 함유되어 있으며, 근육의 액토타민에 관여하며, 단백질합성의 촉매로도 사용된다. 관리번호 27143이 0.439mg/g으로 잎 부분에서 가장 많고, 27138이 줄기에서 가장 높은 함량을 갖는 것으로 나타났다.

(사) Carotenoid

○ Carotenoid는 색소 성분이기 때문에 일부분만을 측정하였으며, chinese cabbage, pak choi의 carotenoid 고함유 품종은 표 30과 같다.

표 30. Carotenoid의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종

구 분		잎	
		계통	함량(µg/g dw)
β-carotene	대비품종	불암 플러스	293.31
		불암3호	240.06
		황성골드	436.23
		휘파람	193.49
		평균	290.77
	Chinese cabbage	27259	508.75
		27295	519.52
		27137	523.00
	Pak choi	27307	667.06
		27258	698.34
		27273	928.96
	Mustard	27147green	152.13
		27147red	682.22
	Lutein	대비품종	불암 플러스
불암3호			64.27
황성골드			121.25
휘파람			46.38
평균			73.48
Chinese cabbage		27259	119.05
		27137	121.54
		27295	128.64
Pak choi		27253	190.55
		27307	262.09
		27273	344.05
Mustard		27147green	32.94
		27147red	233.80

표 30. Carotenoid의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종(계속)

구 분		잎	
		계통	함량(µg/g dw)
Chlorophyll a	대비품종	불암 플러스	2488.79
		불암3호	3217.41
		황성골드	4377.00
		휘파람	2488.79
		평균	3142.99
	Chinese cabbage	27295	4998.42
		27137	5006.48
		27259	5314.76
	Pak choi	27258	7381.37
		27307	7569.64
		27273	9062.71
	Mustard	27147green	2035.62
		27147red	3132.38
	Chlorophyll b	대비품종	불암 플러스
불암3호			158.08
황성골드			269.09
휘파람			127.84
평균			192.52
Chinese cabbage		27295	300.80
		27259	332.19
		27146	486.28
Pak choi		27307	562.65
		27258	578.18
		27273	730.58
Mustard		27147green	687.46
		27147red	509.86

○ 27137 계통의 β-carotene 함량은 대비품종 평균 보다 2배 높은 523.0µg/g dw으로 나타났으며 lutein 고함유 품종인 27295 계통으로 128.64µg/g dw 함량을 갖고 있으며 대비품종 보다 약 2배 높게 나타났다. 파초이 계통에서는 27273 계통이 lutein, β-carotene, chlorophyll a, chlorophyll b 모두 높게 나타났으며, 대비품종 평균과 비교하여 3 ~ 5배 이상 높게 나타났다.

○ Lutein의 경우 기능성 식품으로 시판될 정도로 근래에 들어 관심이 많아진 성분이다. lutein은 눈의 노화를 막아주는 성분으로 알려져 있으며, 백내장과 같은 질병 예방에 도움이 된다고 알려져 있다. 27273 계통을 이용한 β-carotene, lutein 품종을 개발 할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 27137, 27295 계통을 이용하여 lutein과 β-carotene 함량이 높은 carotenoid 배추 개발이 가능 할 것으로 사료된다.

(아) Flavonol

Flavonol은 그 종류가 매우 많으나 배추와 깽초이에서는 quercetin과 kaempferol 두 종류의 flavonol이 함유되어 있었다. kaempferol이 주된 성분이었으며 이 kaempferol은 항산화 물질로 알려져 있다. 국내에서는 kaempferol을 따라 판매 하지 않지만 해외에서는 기능성 식품으로 kaempferol을 추출하여 판매되고 있다. kaempferol의 함량이 가장 높은 품종은 27137(일), 27294(중록) 으로 대비품종 평균보다 약 2배에서 3배 높은 것으로 나타났다. 깽초이는 27273(일), 27276(중록) 계통이 높은 함량을 보였다(표 31). 배추, 깽초이 모두 중록 보다는 일에서 높은 함량을 나타냈으며, 배추보다는 깽초이에서 그 함량이 더 높게 나타났다. kaempferol이 높은 품종을 이용하여 항산화능이 높은 배추의 개발이 용이할 것으로 사료된다.

표 31. Flavonol의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak chои의 고탐유 품종

구 분		일		중록	
		계통	함량(μg/g dw)	계통	함량(μg/g dw)
Quercetin	대비품종	불암플러스	175.11	불암플러스	133.27
		불암3호	153.14	불암3호	102.18
		황성골드	283.98	황성골드	185.25
		휘파람	101.49	휘파람	161.52
		평균	178.43	평균	145.56
	Chinese cabbage 고탐유	27146	374.871	27259	217.422
		27139	417.637	27263	220.472
		27137	434.245	27294	224.346
	Pak chои 고탐유	27305	281.263	27277	339.076
		27307	322.481	27285	402.926
		27273	396.273	27276	415.506
	Mustard	27147green	115.39	27147green	
27147Red		254.98	27147Red	89.70	
Kaempferol	대비품종	불암플러스	1320.70	불암플러스	119.08
		불암3호	865.67	불암3호	73.77
		황성골드	1840.44	황성골드	134.50
		휘파람	444.36	휘파람	119.22
		평균	1117.79	평균	111.64
	Chinese cabbage 고탐유	27139	2939.996	27140	234.490
		27158	3219.082	27295	259.996
		27137	3858.665	27294	260.187
	Pak chои 고탐유	27276	4122.269	27302	204.717
		27307	4243.125	27269	209.497
		27293	4299.954	27273	493.693
	Mustard	27147green	122.61	27147green	
		27147Red	6040.06	27147Red	297.52

(자) Glucosinolate

○ Glucosinolate 중 중요한 성분은 gluconasturtiin, glucoraphanin 이다. 이 두 성분은 현재 항암 가능성이 있다고 알려진 성분이다. 배추에서 gluconasturtiin이 가장 높은 함량을 갖은 계통은 27263(일), 27295(중록)이고, 깽초이는 27269(일), 27269(중록)이다. 깽초이보다는 배추에서 gluconasturtiin의 함량이 높게 나타났으며, 일과 중록에서 대비품종 평균보다 각각 5배, 4배 높게 나타났다(표 32). 27263과 27295를 이용하여 항암 배추품종으로 이용할 것이라 사료된다. glucoraphanin은 배추, 깽초이 모두에서 일에서만 함량이 확인이 되었으며, 그 함량이 매우 적었다. 주로 broccoli에 많이 함유된 glucoraphanin은 항암성이 있지만 함량이 적어 큰 의미를 부여하기는 힘들다.

○ Progoitrin은 매운맛을 내는 성분이면서 과다 섭취할 경우 전립선종을 유발시킨다고 보고된 성분이다. progoitrin 고탐유 배추 품종은 27301(일), 27146(중록), 깽초이 품종은 27269(일, 중록)로 나타났다. 27301(일) 계통의 경우 대비품종 평균보다 약 6배 높고, 27146(중록) 약 4배 높게 나타나 품종 개발 시 피해야 할 품종으로 사료되며, 깽초이 계통 27269(일, 중록)도 대비품종 평균 보다 각각 약 2.5배 높게 나타나 피해야 할 품종으로 사료된다.

○ Indole glucosinolate는 발암 성분으로 보고되어 있으며 이번 분석에서 발견된 indole glucosinolate는 methoxy glucobrassicin, neoglucobrassicin, neoglucobrassicin, 4-hydroxy glucobrassicin 4 종류이다. 이 중 함량이 높은 methoxy glucobrassicin, neoglucobrassicin, neoglucobrassicin의 함량을 보면, methoxy glucobrassicin이 배추 계통 중 27142(일, 중록)이 대비품종 평균 보다 3배 높게 나타났고 깽초이 계통 중 27269(일), 27302(중록)이 배추와 같이 대비품종 평균 보다 3배 높게 나타났다(표).

○ Neoglucobrassicin은 배추 계통 중 27158(일), 27268(중록)이 대비품종 평균 보다 각각 9배, 3배 높은 것으로 나타났다. 깽초이는 27135(일), 27303(중록)이 대비품종 평균 보다 약11배, 12배 높게 나타나 배추 보다는 깽초이에서 neoglucobrassicin의 함량이 높은 것으로 나타났다.

○ Glucobrassicin은 배추에서 27158(일), 27254(중록) 계통이 대비품종 평균 보다 약 15배, 8배 각각 높은 것으로 나타났고, 깽초이는 27269(일, 중록) 계통이 일과 중록에서 16배, 5배로 각각 높게 나타났다.

○ 대비품종의 indole glucosinolate의 함량이 적어서 고탐유 품종과 차이가 크게 났지만 이번에 분석된 indole glucosinolate의 함량은 다른 배추과 식물과 비교하여 적기 때문에 품종 개발에 고려해야 할 사항은 아니라고 생각된다.

○ Sinigrin은 배추와 깽초이에서는 발견되지 않았으나 갓(27147)에서만 발견되었다. 갓에 함유되어 있는 sinigrin의 함량은 녹색 갓의 일에서 20.616μmol/g, 중록에서 9.559μmol/g이며 적색 갓의 일에서는 29.746μmol/g, 중록에서 33.561μmol/g으로 녹색 갓 보다 적색 갓에서 높게 나타났다. sinigrin은 매운맛을 내는 성분으로 갓의 매운맛이 sinigrin에 의해 생성된 것으로 사료된다.

○ Total glucosinolate의 함량이 높은 품종은 배추에서 27301(일), 27295(중록)이고 콕초이에서는 27253(일), 27303(중록)으로 나타났다(표 19). glucosinolate는 잠재적인 기능성이 있기 때문에 total glucosinolate의 함량이 높은 품종을 선발하여 glucosinolate 고함유 황암성 배추로의 개발이 가능 할 것으로 사료된다.

표 32. Glucosinolate의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종

구 분		일		중록		
		계통	함량 (μmol/g dw)	계통	함량 (μmol/g dw)	
Gluconasturtiin	대비품종	불암플러스	0.583	불암플러스	0.739	
		불암3호	0.568	불암3호	0.604	
		황성골드	0.158	황성골드	0.281	
		휘파람	0.917	휘파람	0.326	
		평균	0.557	평균	0.488	
	Chinese cabbage 고함유	27156	1.611	27260	1.717	
		27259	2.340	27263	1.808	
		27263	2.859	27295	2.112	
	Pak choi 고함유	27293	0.287	27303	0.521	
		27253	0.401	27269	0.711	
		27269	0.823	27302	0.730	
	Glucoraphanin	대비품종	불암플러스	0.067	불암플러스	-
			불암3호	ND	불암3호	-
			황성골드	ND	황성골드	-
휘파람			0.038	휘파람	-	
평균			0.052	평균	-	
Chinese cabbage 고함유		27257	0.127			
		27295	0.158			
		27259	0.168			
Pak choi 고함유		27285	0.006			
		27277	0.017			
		27293	0.150			
Progoitrin		대비품종	불암플러스	1.953	불암플러스	1.457
			불암3호	0.465	불암3호	0.315
			황성골드	0.419	황성골드	0.388
	휘파람		2.443	휘파람	1.231	
	평균		1.320	평균	0.848	
	Chinese cabbage 고함유	27295	4.011	27301	2.785	
		27259	5.580	27295	2.795	
		27301	7.435	27146	3.316	
	Pak choi 고함유	27285	1.777	27270	1.277	
		27277	1.983	27303	2.020	
		27269	3.038	27269	2.089	

표 32. Glucosinolate의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종(계속)

구 분		일		중록	
		계통	함량 (μmol/g dw)	계통	함량 (μmol/g dw)
Methoxy-glucobrassicin	대비품종	불암플러스	0.427	불암플러스	0.773
		불암3호	0.349	불암3호	0.046
		황성골드	0.575	황성골드	0.135
		휘파람	0.848	휘파람	0.111
		평균	0.550	평균	0.266
	Chinese cabbage 고함유	27160	1.369	27158	0.675
		27262	1.478	27145	0.722
		27142	1.548	27142	0.766
	Pak choi 고함유	27293	0.438	27258	0.375
		27270	0.447	27253	0.699
		27269	1.547	27302	0.776
Neoglucobrassicin	대비품종	불암플러스	0.164	불암플러스	0.295
		불암3호	0.108	불암3호	0.234
		황성골드	0.215	황성골드	0.086
		휘파람	0.221	휘파람	0.187
		평균	0.177	평균	0.200
	Chinese cabbage 고함유	27146	0.534	27295	0.397
		27301	0.606	27160	0.487
		27158	1.225	27268	0.600
	Pak choi 고함유	27277	1.324	27302	1.455
		27269	1.971	27253	1.675
		27135	2.027	27303	2.449
Glucobrassicin	대비품종	불암플러스	0.175	불암플러스	0.200
		불암3호	0.058	불암3호	0.078
		황성골드	0.062	황성골드	0.054
		휘파람	0.027	휘파람	0.097
		평균	0.081	평균	0.107
	Chinese cabbage 고함유	27142	0.857	27158	0.677
		27160	1.028	27142	0.698
		27158	1.368	27254	0.840
	Pak choi 고함유	27293	0.271	27270	0.238
		27273	0.413	27302	0.247
		27269	1.487	27269	0.574

표 33. Total Glucosinolate의 대비품종과 Chinese cabbage, Pak choi의 고함유 품종

구 분	잎		중록	
	계통	함량(μmol/g dw)	계통	함량(μmol/g dw)
대비품종	불암플러스	5.15	불암플러스	9.15
	불암3호	6.47	불암3호	10.77
	황성골드	7.57	황성골드	8.47
	휘파람	10.11	휘파람	4.02
	평균	7.33	평균	8.10
Chinese cabbage 고함유	27295	16.215	27142	11.157
	27259	16.256	27259	11.678
	27301	18.220	27295	11.691
Pak choi 고함유	27285	21.634	27269	13.277
	27277	22.867	27253	14.052
	27253	26.855	27303	19.815
Mustard	27147green	23.83	27147green	20.42
	27147red	30.46	27147red	34.54

(3) 72계통(3년차)

3년차 도입유전자원으로 2009년11월26일에 충남예산에 위치한 충남농업기술원 노지포장에서 재배하고 형태적 특성검정을 마친 72종(대비구 4종 포함)을 이용하였다(표 34).

(가) Pectin

Pectin은 아삭한 식감을 주는 성분으로 함량이 높을수록 식감이 우수하다고 할 수 있다. 잎에서 pectin의 함량이 높은 품종(계통)은 28381(0.615mg/g), 26105/26122 (0.606mg/g), 26120/26140 (0.408mg/g)으로 대비구 평균(0.176mg/g)와 비교하였을 때 2~3배 정도 높은 것으로 나타났다. 중록에서 pectin 고함유 계통은 26130/26148(0.445mg/g), 26148/26122(0.378mg/g)으로 나타났으나 대비구 평균(0.33mg/g)과 비교하여 큰 차이를 확인 할 수 없었다. 황심에서도 26120/26122(0.376mg/g), 26105/26122 (0.376mg/g), 26105/26151(0.388mg/g)가 함량이 높았으나 대비구 평균(0.239mg/g)과 큰 차이는 나타나지 않았다(표 35).

(나) Cellulose

잎부분에서 Cellulose 고함유 계통은 26120/26151, 26130/26148, 26130/26115 로 대비구 평균보다 약 1.5배 높게 나타났으며, 중록에서는 25081, 26110/26128, 26164/26122 품종(계통)이 고함유 품종이었으나 대비구와 큰 차이를 보이지 않았다. 황심에서는 26120/26118, 26122/26164, 26120/26153 계통이 높은 함량은 보였는데, 대비구와 비교하여 약 2배 정도 높게 나타났다(표 36). 그러나 cellulose의 함량이 높을 경우 딱딱한 식감으로 인해 소비에는 좋지 않은 영향을 줄 것으로 생각된다.

(다) Mineral

- 칼슘의 함량은 황심보다 잎과 중록에서 높은 함량을 나타내었으며, 특히 신도입종의 칼슘 함량이 높게 나타났다(표 37). 잎 부분에서 28393, 28381, 28373 품종이 대비구 평균 보다 약 1.8~2.4배 높은 것으로 나타났다. 교배종의 경우에는 잎 부분의 칼슘함량이 26110/26128 (17.184mg/g), 26105/26128 (13.254mg/g) 계통이 높았는데, 대비구에 비하여 1.3~1.7배 높게 나타났다. 중록의 경우에서도 잎과 비슷한 결과를 보였는데, 표37과 같이 28393 품종(25.043mg/g)이 대비구와 비교하여 약 2배 정도 높게 나타났다. 황심의 칼슘 함량은 대비구와 큰 차이를 확인 할 수 없었으며, 함량 또한 적어 큰 의미를 부여하기는 어려울 것으로 생각된다.
- Fe, Al, B, K, Mg, Zn의 성분별 고함유 계통은 표 38, 39, 40, 41, 42, 42과 같다. Fe는 중록에서, Al은 황심부위에서, Zn은 중록에서 대비구보다 비교적 높았다.

표 34. 분석에 이용된 유전자원

순번	도입번호(교배조합)	영문명	순번	도입번호(교배조합)	영문명
1	26105	Chinese cabbage	37	26130/26110	Chinese cabbage
2	26110	Chinese cabbage	38	26130/26115	Chinese cabbage
3	26115	Chinese cabbage	39	26130/26128	Chinese cabbage
4	26118	Chinese cabbage	40	26130/26148	Chinese cabbage
5	26120	Chinese cabbage	41	26130/26151	Chinese cabbage
6	26122	Chinese cabbage	42	26130/26153	Chinese cabbage
7	26128	Chinese cabbage	43	26130/26164	Chinese cabbage
8	26130	Chinese cabbage	44	26130/25081	Chinese cabbage
9	26140	Chinese cabbage	45	26110/26128	Chinese cabbage
10	26148	Chinese cabbage	46	26128/26110	Chinese cabbage
11	26151	Chinese cabbage	47	26148/26122	Chinese cabbage
12	26153	Chinese cabbage	48	26122/26148	Chinese cabbage
13	26164	Chinese cabbage	49	26164/26122	Chinese cabbage
14	25081	Pak-Choi	50	26122/26164	Chinese cabbage
15	26105/26110	Chinese cabbage	51	26104	Chinese cabbage
16	26105/26115	Chinese cabbage	52	26107	Chinese cabbage
17	26105/26118	Chinese cabbage	53	26116	Chinese cabbage
18	26105/26122	Chinese cabbage	54	26123	Chinese cabbage
19	26105/26128	Chinese cabbage	55	26133	Chinese cabbage
20	26105/26140	Chinese cabbage	56	26137	Chinese cabbage
21	26105/26148	Chinese cabbage	57	26138	Chinese cabbage
22	26105/26151	Chinese cabbage	58	27138	Chinese cabbage
23	26105/26153	Chinese cabbage	59	27142	Chinese cabbage
24	26105/26164	Chinese cabbage	60	27143	Chinese cabbage
25	26105/25081	Chinese cabbage	61	27146	Chinese cabbage
26	26120/26110	Chinese cabbage	62	27263	Chinese cabbage
27	26120/26115	Chinese cabbage	63	28373	Chinese cabbage
28	26120/26118	Chinese cabbage	64	28381	Chinese cabbage
29	26120/26122	Chinese cabbage	65	28393	Chinese cabbage
30	26120/26128	Chinese cabbage	66	28395	Chinese cabbage
31	26120/26140	Chinese cabbage	67	28397	Chinese cabbage
32	26120/26148	Chinese cabbage	68	28659	Chinese cabbage
33	26120/26151	Chinese cabbage	69	불암3호	Chinese cabbage
34	26120/26153	Chinese cabbage	70	불암 플러스	Chinese cabbage
35	26120/26164	Chinese cabbage	71	황성골드	Chinese cabbage
36	26120/25081	Chinese cabbage	72	취파람	Chinese cabbage

표 35. 부위별 pectin 함량 비교(대비품종 및 고탐유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.176		0.330		0.239	
고합유 품종 (교배조합)	28381	0.615	26130/26148	0.445	26105/26151	0.388
	26105/26122	0.606	26148/26122	0.378	26120/26122	0.376
	26120/26140	0.408	26130/25081	0.372	26105/26122	0.376

표 36. 부위별 cellulose 함량 비교(대비품종 및 고탐유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	3.537		4.945		3.143	
고합유 품종 (교배조합)	26120/26151	6.005	25081	6.516	26120/26118	6.594
	26130/26148	5.595	26110/26128	6.232	26122/26164	6.071
	26130/26115	5.268	26164/26122	6.171	26120/26153	6.025

표 37. 부위별 Ca 함량 비교(대비품종 및 고탐유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	10.494		12.317		2.147	
고합유 품종 (교배조합)	28393	24.305	28393	25.043	26110/26128	3.120
	28381	19.709	26105/26151	20.192	26105/26118	3.047
	28373	18.129	28381	19.268	26130/26164	2.886

표 38. 부위별 Fe 함량 비교(대비품종 및 고탐유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.219		0.066		0.061	
고합유 품종 (교배조합)	26120/26115	0.315	26130/26110	0.208	26105/26118	0.143
	28397	0.301	26105/25081	0.180	26120/26188	0.132
	26105/26148	0.290	26122/26164	0.133	26130/25081	0.098

표 39. 부위별 Al 함량 비교(대비품종 및 고탐유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.396		0.135		0.027	
고합유 품종 (교배조합)	28373	0.731	26130/26115	0.542	26130/26164	0.127
	26120/26115	0.578	28373	0.303	26110/26128	0.100
	26105/26148	0.546	26105/26118	0.29	26105/26118	0.072

표 40. 부위별 B 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.039		0.025		0.019	
고탄유 품종 (교배조합)	26105/26115	0.057	26105/26118	0.043	26120/26115	0.031
	26105/26140	0.056	26105/26151	0.039	26105/26164	0.031
	26120/25081	0.056	26105/25081	0.035	26105/26128	0.030

표 41. 부위별 K 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	37.410		45.292		34.262	
고탄유 품종 (교배조합)	26120/26122	42.715	26105/26128	69.531	26110/26128	47.893
	26148/26122	42.529	26105/26151	67.704	26120/26128	43.937
	26128/26110	42.061	26105/26122	65.132	26120/26148	42.507

표 42. 부위별 Mg 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	3.904		2.789		1.927	
고탄유 품종 (교배조합)	28393	5.858	28393	5.027	26110/26128	2.512
	26110/26128	5.329	28373	4.482	26105/25081	2.490
	28397	4.900	26105/26151	4.335	28381	2.368

표 43. 부위별 Zn 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.033		0.017		0.037	
고탄유 품종 (교배조합)	28393	0.068	28373	0.062	28373	0.060
	26130/26151	0.054	26105/26164	0.037	26130/26151	0.059
	26110/26128	0.054	26120/26151	0.035	28381	0.058

(라) Vitamin C

분석된 품종(계통) 중 높은 함량은 보인 계통은 26130/26128(잎), 26105/26164(중륵), 26120/26164(황심)으로 대비구 평균보다 2~2.5배 높았다(표 44). Vitamin C는 항산화제로 알려져 있고 콜라겐 합성에 필요한 성분으로, 부족하면 괴혈병이나 콜라겐 합성 이상으로 결합조직의 이상이나 뼈에 통증이 올 수 있다. Vitamin C의 일일권장 섭취량은 70mg/day이어서 배추 섭취량으로만 환산하면 26130/26128 계통을 하루 100g 이상 먹어야만 일일권장 섭취량을 채울 수 있을 것으로 생각된다.

표 44. 부위별 vitamin C 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(µg/g)		중륵(µg/g)		황심(µg/g)	
대비구 평균	259.27		285.21		177.20	
고탄유 품종 (교배조합)	26130/26128	653.27	26105/26164	611.10	26120/26164	350.12
	26120/26122	636.56	28373	543.93	26164/26122	303.30
	26120/26148	629.51	26122/26164	352.69	26120/26118	293.57

(마) Vitamin E

분석된 품종(계통) 중 Vitamin E의 함량은 중륵과 황심에서 함량도 적고 대비구와 큰 차이를 확인 할 수 없었으나, 잎 부분에서는 대비구와 비교하여 2~2.5배 높은 함량을 나타내는 품종(계통)(28659, 26120/26140, 28381)을 확인 할 수 있었다(표 45). Vitamin E는 항산화 기능성을 갖는 성분으로 알려져 있는데, 이번에 확인된 고탄유 품종이나 계통을 이용하여 vitamin E 고탄유 품종도 개발이 가능 할 것으로 생각된다.

표 45. 부위별 vitamin E 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(mg/g)		중륵(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.746		0.351		0.594	
고탄유 품종 (교배조합)	28659	1.978	26105/26164	0.502	28395	0.945
	26120/26140	1.599	26120/26110	0.499	26122/26164	0.857
	28381	1.581	26105/26140	0.441	26130/26115	0.786

(바) Carotenoid and chlorophyll

Carotenoid 중 lutein과 β-carotene을 분석하였고, chlorophyll a와 chlorophyll b를 분석 하였다. Lutein은 백내장을 예방한다고 하며 시중에서는 lutein을 캡슐형태로 판매 될 정도로 건강 기능성 성분으로 알려져 있다. 또한 β-carotene은 항산화기능성 있는 성분으로 외국에서는 lutein과 같이 캡슐 형태로 판매가 되어지는 성분이다. 이와 같은 4가지 성분 모두 잎부분에서 대비구와 비교하여 높은 함량을 나타냈는데 lutein 함량은 6~9배 정도 높았으며, (표 46) β-carotene은 약 4배 정도 높게 나타났다(표 47). 그러나 황심 부분에서는 lutein과 β-carotene의 함량이 대비구와 큰 차이를 보이지 않았다. 잎 부분에서 chlorophyll 은 식물체에 있는 녹색을 띄는 성분으로 대비구와 비교하여 약 5배 정도 높은 것으로 나타났다(표 48).

표 46. 부위별 lutein 함량 비교(대비품종 및 고탄유 품종 · 교배조합)

구 분	잎(µg/g)		황심(µg/g)	
대비구 평균	34.83		8.95	
고탄유 품종 (교배조합)	28381	279.26	26120/26151	9.80
	26120/25081	243.43	28393	9.73
	26105/25081	184.21	28395	7.73

표 47. 부위별 β -carotene 함량 비교(대비품종 및 고태유 품종 · 교배조합)

구 분	잎($\mu\text{g/g}$)		황심($\mu\text{g/g}$)	
대비구 평균	1283.61		108.13	
고합유 품종 (교배조합)	28381	5716.52	26120/25081	143.08
	28659	5225.23	28393	137.24
	26120/25081	4146.74	26120/26151	131.10

표 48. 부위별 chlorophyll (일부분만 분석) 함량 비교(대비품종 및 고태유 품종 · 교배조합)

구 분	Chlorophyll a($\mu\text{g/g}$)		Chlorophyll b($\mu\text{g/g}$)	
대비구 평균	1199.74		571.82	
고합유 품종 (교배조합)	28659	5977.80	28659	2593.73
	28381	5801.35	28381	2355.87
	26120/25081	5584.81	26120/25081	2384.73

(사) Glucosinolate

- Glucosinolate는 많은 종류가 있으나 그중 항암 기능성을 갖는다고 보고되는 성분은 gluconasturtiin(phenylethyl isothiocyanate 의 전구체), glucoraphanin(sulforaphane의 전구체)이 있다. 이중에서 gluconasturtiin의 함량이 높게 나타났는데(표 49), 잎 부분에서 26130/26110, 26105/26153, 26105/26151 계통이 높은 함량을 보여 대비구와 비교할 경우 10~20배 정도 높게 나타났다. 중록에서는 26105/26110, 26130/26128, 26130/26164 계통이 대비구보다 4~6배 정도 높게 나타났고, 황심에서는 26105/26140, 26120/26164, 26130/26128 계통이 대비구 보다 3~4배 높아서, 이 계통들을 이용하면 항암 배추 품종으로도 육성이 가능할 것으로 생각된다.

표 49. 부위별 gluconasturtiin 함량 비교(대비품종 및 고태유 품종 · 교배조합)

구 분	잎($\mu\text{mol/g}$)		중록($\mu\text{mol/g}$)		황심($\mu\text{mol/g}$)	
대비구 평균	0.038		0.125		0.135	
고합유 품종 (교배조합)	26130/26110	0.644	26105/26110	0.671	26105/26140	0.414
	26105/26153	0.415	26130/26128	0.473	26120/26164	0.362
	26105/26151	0.398	26130/26164	0.472	26130/26128	0.334

- Glucoraphanin은 브로콜리에 많이 함유되어 있는 sulforaphane의 전구체로 항암성을 갖는 성분으로 대비구 보다는 높은 함량을 나타내었지만(표 50) 배추에서는 그 함량 자체가 적어 품종 육성 대상으로 이용하기는 어려울 것으로 생각된다.

- Progoitrin은 잎 부분에서 26130/26110, 26110/26128, 26105/26128 계통이 대비구보다 약 20배 높은 함량을 보였고, 중록에서는 26105/26140, 26105/26110, 26120/26128 계통이 대비구보다 6~7배 높았으며, 황심에서는 26105/26110, 26122/26148, 26105/26148 계통이 대비구보다 2~4배 정도 높게 나타났다. 그러나 progoitrin은 잠재적으로 전립선암을 유발할 수 있다고 알려진 성분으로 그 함량이 높을 경우 인체에 좋지 않은 영향을 줄 것으로 생각되므로 품종 육성시에는 고태유 계통은 제외되어야 할 것이다.

- 잎 부분에서의 glucobrassicin은 대비구와 비교하여 함량이 5~12배 정도 높고, 중록은 대비구와 비교하여 약 3배 정도 높게 나타났으며(표 51), 황심 부분은 2~3배 높았다. 그러나 glucobrassicin 또한 잠재적으로 암 유발 가능성이 있는 성분으로 보고되고는 있지만, 함량이 매우 적어 배추에서는 고려해야 할 성분으로는 생각되어지지 않는다.

- 그 밖에 gluconapin, glucoalyssin, glucobrassicinapin은 잠재적으로 유해 가능성이 있을 수는 있으나 보고된 자료가 없어 성분에 의미를 부여하기는 어려울 것으로 생각된다(표 52, 53, 54, 55 참조).

표 50. 부위별 glucoraphanin 함량 비교(대비품종 및 고태유 품종 · 교배조합)

구 분	잎($\mu\text{mol/g}$)		중록($\mu\text{mol/g}$)		황심($\mu\text{mol/g}$)	
대비구 평균	0		0.005		0.016	
고합유 품종 (교배조합)	26105/26128	0.076	28659	0.023	26105/26128	0.04
	26164/26122	0.069	26120/25081	0.01	26105/25081	0.036
	26110/26128	0.025	26105/26110	0.01	26105/26140	0.031

표 51. 부위별 glucobrassicin 함량 비교(대비품종 및 고태유 품종 · 교배조합)

구 분	잎($\mu\text{mol/g}$)		중록($\mu\text{mol/g}$)		황심($\mu\text{mol/g}$)	
대비구 평균	0.015		0.044		0.174	
고합유 품종 (교배조합)	26130/26110	0.183	26130/26110	0.155	26120/26122	0.544
	28395	0.085	26122/26164	0.154	26130/26148	0.531
	26130/26148	0.081	26122/26148	0.132	26130/26164	0.473

표 52. 부위별 glucoalyssin 함량 비교(대비품종 및 고태유 품종 · 교배조합)

구 분	잎($\mu\text{mol/g}$)		중록($\mu\text{mol/g}$)		황심($\mu\text{mol/g}$)	
대비구 평균	0.071		0.009		0.041	
고합유 품종 (교배조합)	26105/26153	0.419	26120/25081	0.159	26130/25081	0.417
	26120/26153	0.339	26105/26110	0.159	28395	0.401
	26105/26128	0.304	26130/26164	0.158	26105/25081	0.383

표 53. 부위별 glucobrassicinapin 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(μmol/g)		중륵(μmol/g)		황심(μmol/g)	
대비구 평균	0.286		0.518		0.456	
고합유 품종 (교배조합)	28659	1.792	26120/26151	1.159	26130/25081	1.115
	26120/26151	1.356	28659	1.061	26120/26151	1.065
	26130/26110	1.335	28397	1.051	26105/25081	0.988

표 54. 부위별 gluconapin 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(μmol/g)		중륵(μmol/g)		황심(μmol/g)	
대비구 평균	0.128		0.299		0.195	
고합유 품종 (교배조합)	28659	5.309	28659	4.602	26105/25081	1.105
	28397	2.793	28397	3.891	26130/25081	0.712
	28373	0.699	28373	1.004	26120/26153	0.255

표 55. 부위별 progoitrin 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(μmol/g)		중륵(μmol/g)		황심(μmol/g)	
대비구 평균	0.046		0.176		0.185	
고합유 품종 (교배조합)	26130/26110	0.952	26105/26140	0.807	26105/26110	0.974
	26110/26128	0.795	26105/26110	0.759	26122/26148	0.555
	26105/26128	0.765	26120/26128	0.677	26105/26148	0.485

(아) Phenolic acid

- Phenolic acid는 황산화제로 알려져 있는 성분으로 caffeic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid 등 총 4가지의 함량을 조사하였는데, 이 중에서 sinapic acid의 함량이 높은 것으로 나타났다.
- 일부분에서의 caffeic acid의 고탍유 계통은 26130/25081, 28659, 28381 로 3~4배 정도 높은 함량을 보였다(표 56). 반면, 황심에서는 대비구 보다 높은 품종을 확인할 수 없었다.
- p-coumaric acid의 함량은 4가지 성분 중 가장 적은 함량을 보였으며, 잎 부분에 26120/25081, 26105/25081, 28373 계통이 약 1.7배 정도 높게 나타났다(표 57). 황심 부위에서는 caffeic acid와 같이 대비구 보다 높은 함량을 나타내는 품종(계통)을 확인할 수 없었다.
- 잎 부분에서 ferulic acid 고탍유 계통은 26120/26148, 28381, 26130/25081 로, 대비구 평균 보다 2~2.5배 높게 나타났으며, 황심 부분에서도 26105/26118, 28393, 26105/26153 계통이 높은 함량을 보여 대비구 보다 약 1.5배 높게 나타났다(표 58).

- 마지막으로 가장 함량이 높은 sinapic acid는 잎 부분에서는 26105/26140, 26120/26148, 28373 계통이 대비구 보다 1.5~1.8배 높게 나타났다(표 59). 그러나 황심에서는 대비구 보다 높은 함량을 보이는 품종이 없었다.
- 28373, 26105/25081, 26120/25081 품종(계통)은 caffeic acid를 제외한 나머지 성분이 높아 이를 이용한다면 phenolic acid 함량이 높은 품종도 육성이 가능할 것으로 생각된다.

표 56. 부위별 caffeic acid 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.453		0.095	
고합유 품종 (교배조합)	26130/25081	1.577	28393	0.080
	28659	1.334	26130/26115	0.078
	28381	1.231	26120/26164	0.075

표 57. 부위별 p-coumaric acid 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.501		0.072	
고합유 품종 (교배조합)	26120/25081	0.901	26164/26122	0.052
	26105/25081	0.888	26120/26164	0.051
	28373	0.866	26130/26164	0.049

표 58. 부위별 ferulic acid 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	0.693		0.219	
고합유 품종 (교배조합)	26120/26148	1.700	26105/26118	0.327
	28381	1.330	28393	0.299
	26130/25081	1.127	26105/26153	0.260

표 59. 부위별 sinapic acid 함량 비교(대비품종 및 고탍유 품종·교배조합)

구 분	잎(mg/g)		황심(mg/g)	
대비구 평균	1.234		1.519	
고합유 품종 (교배조합)	260105/26140	2.035	26120/26164	1.197
	26120/26148	1.995	26120/26151	1.159
	28373	1.804	26105/26153	1.117

(4) 177계통(4년차)

3년차까지 유전자원의 특성검정과 성분분석을 통해 유용성분이 많이 함유된 자원을 소포자 배양을 통해 DH 라인을 육성하고, 그 중 기능성 계통을 육성하고자 재배시험을 통해 성분분석을 하였다(표 60 참조).

표 60. 분석된 샘플 리스트

번호	계통명 (도입번호)	번호	계통명 (도입번호)	번호	계통명 (도입번호)	번호	계통명 (도입번호)
1	26110-106	28	26164-37	55	27140-40	82	27143-43
2	26110-108	29	26164-38	56	27140-41	83	27143-45
3	26110-130	30	26137-1	57	27140-44	84	27143-49
4	26110-166	31	26137-2	58	27140-48	85	27143-55
5	26110-173	32	26138-3	59	27140-53	86	27156-3
6	26110-179	33	26138-7	60	27140-55	87	27156-8
7	26110-234	34	26138-11	61	27140-59	88	27156-9
8	26110-237	35	27139-5	62	27140-68	89	27156-10
9	26110-281	36	27139-11	63	27140-75	90	27156-11
10	26110-282	37	27140-1	64	27140-97	91	27156-13
11	26110-283	38	27140-2	65	27140-100	92	27156-14
12	26110-284	39	27140-4	66	27140-102	93	27160-3
13	26110-285	40	27140-6	67	27140-108	94	27160-4
14	26120-11	41	27140-11	68	27140-113	95	27160-16
15	26120-16	42	27140-14	69	27140-134	96	27160-20
16	26120-19	43	27140-17	70	27140-135	97	27160-21
17	26120-24	44	27140-18	71	27140-142	98	27160-23
18	26130-2	45	27140-21	72	27140-150	99	27259-2
19	26148-1	46	27140-22	73	27143-9	100	27259-4
20	26148-17	47	27140-25	74	27143-11	101	27259-5
21	26153-28	48	27140-26	75	27143-13	102	27259-6
22	26153-43	49	27140-27	76	27143-17	103	27259-8
23	26153-61	50	27140-28	77	27143-20	104	27263-74
24	26164-30	51	27140-33	78	27143-22	105	27263-116
25	26164-31	52	27140-34	79	27143-26	106	27263-141
26	26164-33	53	27140-35	80	27143-32	107	27294-7
27	26164-35	54	27140-38	81	27143-40	108	27294-21

표 60. 분석된 샘플 리스트(계속)

번호	계통명 (도입번호)	번호	계통명 (도입번호)	번호	계통명 (도입번호)	번호	계통명 (도입번호)
129	27294-45	145	27295-13	162	10074	178	10137
130	27294-50	146	27295-14	163	10075	179	10143
131	27294-60	147	27295-16	164	10078	180	10145
132	27294-65	148	27295-17	165	10079	181	10146
133	27294-67	149	27295-18	166	10080	182	10147
134	27294-82	150	27295-22	167	10085	183	10150
135	27294-86	151	27295-23	168	10086	184	10155
136	27294-99	152	27295-24	169	10088	185	10156
137	27294-119	153	27295-29	170	10098	186	10158
138	27294-121	154	27295-30	171	10099	187	10159
139	27295-1	155	황성골드	172	10100	188	10163
140	27295-2	156	불암 3호	173	10106	189	10164
141	27295-6	157	불암 플러스	174	10121	190	10173
142	27295-8	158	휘과람	175	10132	191	10174
143	27295-10	159	CR 맛	176	10134	192	10177
144	27295-12	160	e-Norang	177	10136		

(가) Reducing sugar

Reducing sugar 고함유 배추 품종은 27294-50, 27294-119, 27294-121. Reducing sugar 고함유 계통의 평균 함량 보다 1.5배 높은 것으로 나왔다(표 61). Reducing sugar는 단맛에 영향을 주기 때문에 다른 계통에 비해 단맛이 강할 것으로 예상된다.

표61. Reducing sugar 고함유 소포자유래 배추계통

계통명	평균함량(mg/g D.W.)
27294-50	523.5
27294-119	496.5
27294-121	487.8

(나) Vitamin C

○ 배추 샘플 중 가장 높은 함량을 보인 샘플은 27295-24, 27138-7, 27295-29으로 나타났다. 특히하게도 vitamin C 고함유 계통인 27140 라인 대부분은 그 함량이 낮게 나왔으며, carotenoid 고함유 계통과 reducing sugar 고함유 계통이 높게 나왔다.

표 62. Vitamin C 고함유 소포자유래 배추계통

계통명	평균함량(mg/g D.W.)
27295-24	6.89
27138-7	6.46
27295-29	6.25

○ Vitamin C는 항산화제로 알려져 있으며 콜라겐 합성에 영향을 주는 성분이다. 부족하면 피혈병이나 콜라겐 합성 이상으로 결합조직의 이상, 뼈 통증이 올수 있다. 만약 vitamin C 고함유 배추를 하루 100 g씩 섭취 한다 가정할 경우 성인의 vitamin C 영양권장량인 70mg/day를 섭취 할 수 있을 것으로 예상된다.

(다) Mineral(표 63 참조)

표 63 . 각 mineral의 소포자유래 배추계통 품종

Mineral	계통명	평균함량(ppm D.W.)
Ca	26137-2	361.27
	26138-3	250.09
	26137-1	190.36
Mg	26137-2	69.68
	26164-35	52.86
	26138-3	47.78
Mn	26137-2	0.77
	27143-17	0.66
	26148-17	0.57
Zn	26137-2	0.92
	26148-17	0.75
	27143-40	0.70
Fe	26137-2	2.85
	27143-45	2.49
	27143-11	2.32

(라) Carotenoid

○ Carotenoid 함량은 27137-2, 27259-4, 27137-1가 높았으며 특히 27137-2는 다른 두 품종보다 3배 높은 것으로 나타났다. β-carotene의 함량역시 위의 세 품종이 가장 높은 것으로 나타났다으며 마찬가지로 27137-2의 함량이 다른 두 품종보다 3배 높게 나타났다(표 64).

○ Lutein의 경우 기능성 식품으로 시판될 정도로 근래에 들어 관심이 많아진 성분이다. lutein은 눈의 노화를 막아주는 성분으로 알려져 있으며, 백내장과 같은 질병 예방에 도움이 된다고 알려져 있다. 27137-2는 특히 β-carotene과 lutein의 함량이 높게 나왔으며 이를 이용한 기능성 배추가 가능할 것으로 사료된다.

표 64. Carotenoid 고함유 소포자유래 배추계통과 대조품종의 carotenoid 함량비교

품종(계통)	β-carotene 평균함량(μg/g D.W.)	Lutein 평균함량(μg/g D.W.)	
대조품종	휘파람	19.01	12.65
	황성골드	32.09	17.63
	e노랑	7.40	5.30
	CR맛	88.27	45.06
	불암3호	44.57	33.58
	불암플러스	142.92	118.93
	kori	89.14	63.64
소포자유래 계통	27137-1	47.57	60.96
	27137-2	158.76	186.93
	27259-4	47.14	63.53

(마) Flavonol

Flavonol은 그 종류가 매우 많으나 배추에는 quercetin과 kaempferol 두 종류의 flavonol이 함유되어 있었다. Kaempferol은 항산화 물질로 알려져 있다. 국내에서는 kaempferol을 따로 판매 하지 않지만 해외에서는 기능성 식품으로 kaempferol을 추출하여 판매되고 있다. kaempferol의 함량이 가장 높은 품종은 27263-74, 27263-141 으로 control 평균보다 약 1.4배 높은 것으로 나타났다(표65). Quercetin 역시 항산화와 항염증에 관하여 많은 실험이 진행되고 있다. Quercetin의 함량이 가장 높은 품종은 27294-67, 10074, 10146으로 나타났다. Total flavonol의 함량이 가장 높은 품종은 27294-67, 27139-5, 10146으로 나타났다. Kaempferol이 높은 품종을 이용하여 항산화능이 높은 배추의 개발이 용이할 것으로 사료된다.

표 65. Flavonol 고함유 소포자유래 배추계통과 대조품종의 flavonol 함량비교

Flavonol	품종(계통)	평균함량(mg/g D.W.)	
Quercetin	대조품종	CR맛	0.24
		불암3호	0.25
		불암플러스	0.21
		이노랑	0.24
		코리	0.19
		황성골드	0.23
		휘파람	0.25
	소포자유래 계통 (유전자원)	27294-67	0.28
		10074	0.27
		10146	0.27
Kaempferol	대조품종	CR맛	0.12
		불암3호	0.13
		불암플러스	0.11
		이노랑	0.13
		코리	0.18
		황성골드	0.13
		휘파람	0.13
	소포자유래 계통	27263-74	0.22
		27263-141	0.18
		27294-67	0.15
Total	대조품종	CR맛	0.36
		불암3호	0.38
		불암플러스	0.33
		이노랑	0.37
		코리	0.37
		황성골드	0.36
		휘파람	0.39
	소포자유래 계통 (유전자원)	27294-67	0.43
		27139-5	0.41
		10146	0.41

(바) Glucosinolate

○ Glucosinolate 중 중요한 성분은 gluconasturtiin, glucoraphanin 이다. 이 두 성분은 현재 항암기능성이 있다고 알려진 성분이다. Gluconasturtiin이 가장 높은 함량을 갖은 샘플은 27259-4, 27263-141, 27259-6이다(표66). 대조품종 평균보다 각각 5.3배, 4.9배, 4.6배 높게 나타났다. 27259-4, 27263-141, 27259-6를 이용하여 항암 배추품종으로 이용할 것이라 사료된다. Glucoraphanin은 경우 control에서는 함량이 측정되지 않았지만 27156-13, 27156-14, 27156-11에서는 측정되었다.

- Progoitrin은 매운맛을 내는 성분이면서 과다 섭취할 경우 전립선종을 유발시킨다고 보고된 성분이다. Progoitrin 고함유 배추 품종은 27263-116, 26110-234, 27259-4로 나타났다. 27263-116 샘플의 경우 control 평균보다 약 7배 높고, 26110-234는 약 6.5배 높게 나타나 품종 개발시 피해야 할 품종으로 사료된다.
- Indole glucosinolate는 발암 성분으로 보고되어 있으며 이번 분석에서 발견된 indole glucosinolate는 methoxy glucobrassicin, neoglucobrassicin, neoglucobrassicin, 4-hydroxy glucobrassicin 4 종류이다. 이 중 함량이 높은 methoxy glucobrassicin, neoglucobrassicin, neoglucobrassicin의 함량을 보면, methoxy glucobrassicin은 27156-13 샘플이 대조품종 평균 보다 2.7배 높게 나타났다.
- Neoglucobrassicin은 배추 샘플 중 27263-74 샘플이 control 평균 보다 26배 높은 것으로 나타났으며, glucobrassicin은 27263-116, 27263-74 샘플이 대조품종 평균 보다 약 8.7배, 8.4배 각각 높은 것으로 나타났다.
- Total glucosinolate의 함량이 높은 품종은 배추에서 27263-116, 27263-74, 26110-106 으로 나타났다.

표66. Glucosinolate 고함유 소포자유래 배추계통과 대조품종의 함량비교

Glucosinolate	품종(계통)	평균함량(μmol/g D.W.)	
Gluconasturtiin	대조품종	CR맛	0.33
		불암3호	0.40
		불암플러스	0.23
		이노랑	0.33
		코리	0.47
		황성골드	N.D.
		휘파람	0.35
	소포자유래 계통	27259-4	1.87
		27263-141	1.73
		27259-6	1.60
Glucoraphanin	대조품종	CR맛	N.D.
		불암3호	N.D.
		불암플러스	N.D.
		이노랑	N.D.
		코리	N.D.
		황성골드	N.D.
		휘파람	0.02
	소포자유래 계통	27156-13	0.14
		27156-14	0.14
		27156-11	0.11

표66. Glucosinolate 고함유 소포자유래 배추계통과 대조품종의 함량비교(계속)

Glucosinolate	품종(계통)	평균함량(μmol/g D.W.)	
Progoitrin	대조품종	CR맛	0.23
		불암3호	0.16
		불암플러스	0.43
		이노랑	0.12
		코리	1.05
		황성골드	0.20
	소포자유래 계통	27263-116	2.80
		26110-234	2.56
Methoxy glucobrassicin	대조품종	CR맛	0.55
		불암3호	0.38
		불암플러스	0.44
		이노랑	0.29
		코리	0.13
		황성골드	0.28
	소포자유래 계통 (유전자원)	휘과람	0.35
		27156-13	0.94
		27156-8	0.75
		10136	0.72
Neoglucobrassicin	대조품종	CR맛	0.05
		불암3호	0.06
		불암플러스	0.04
		이노랑	0.03
		코리	0.18
		황성골드	0.02
	소포자유래 계통 (유전자원)	휘과람	0.01
		27263-74	1.57
Glucobrassicin	대조품종	27263-116	1.33
		10155	0.32
		CR맛	0.25
		불암3호	0.20
		불암플러스	0.11
		이노랑	0.13
	소포자유래 계통	코리	0.16
		황성골드	0.13
		휘과람	0.10
		27263-116	1.31
Total glucosinolate	대조품종	27263-74	1.26
		27156-10	0.91
		CR맛	3.02
		불암3호	3.91
		불암플러스	3.16
		이노랑	2.66
	소포자유래 계통	코리	4.56
		황성골드	2.93
		휘과람	2.26
		27263-116	13.12
	27263-74	10.14	
	26110-106	10.01	

3. 유전집단 양성

가. 재료 선정

유전집단 양성을 위한 DH라인 확보를 위하여 재배현장평가나 성분분석 등을 통하여 선발된 유전자원을 이용하여 소포자를 배양하였다. 1차년도 특성평가 결과와 2차년도 도입유전자원의 현장평가 결과를 이용하여 선정하고자 하였다. 1차년도 특성평가에서 선발된 10종과 복합내병성이 있는 서록(도입번호 25081), 그리고 지부 × RCBR (F1)(도입번호 245003), 지부 × RCBR (BC2F1)(도입번호 264014)를 이용하였다. 또한 3차 년도에 유전자원의 특성검정과 성분분석, 현장평가를 통해 선출된 14계통과, 4차 년도에 선발된 21계통 및 교배조합 11종을 공시하였다 (표 67).

표 67. 소포자배양에 이용된 품종 및 교배조합

도입번호	품종(계통)명	주요특성
26105	綠陽58	抗病, 品質好, 耐儲, 포피형
26110	秋玉一号F1	抗病性强, 品質好, Phenethyl 고
26118	淸白75	品質好, 抗病, Pectin
26120	秋抗3号	抗病, 高産, 優質, 포피형
26122	多抗十号	抗逆, 耐病, Vit. E
26128	津冠75	品質好, 抗病性强, Cellulose, Phenethyl 무
26130	義和秋(一)	抗病, 品質好, 丰産, 포피형
26148	天津綠 青麻叶	纖維少, 耐瘠薄土壤, Zn 고함유
26153	天下无双	整齊度高, 耐儲運, Vit. C
26164	丰盈	抗病, 高産
27136	大獅子頭	Pectin 고함유
27137	中獅子頭	Fe, Vit. E, Lutein, Kaempferol, Quercetin 고함유
27138	小獅子頭	Reducing sugar 고함유
27139	大白幫S9	Flavonol 고함유
27140	綠抗S5	Vit. C 고함유
27143	鐘424-S8	Ca, Mg, Mn, Zn 고함유
27145	遼白五号)	Vit. C 고함유
27146	青幫核頭紋白菜	K 고함유
27156	攻關1号	Glucoraphanin 고함유
27160	9738A	Cellulose 고함유
27263	鴻均168(F1)	Reducing sugar 고함유
27294	京秋呂(80-3)特選大白菜	Reducing sugar 고함유
27295	秋綠60	Glucoraphanin, β-carotene, chlorophyll a, b 고함유
27259	京綠60	Glucoraphanin 고함유
27267	小雜60号	Pectin 고함유
28393		Ca 고함유
	26105/26110	
	26105/26151	Gluconasturtiin 고함유
	26105/26164	
	26110/26128	
	26120/26110	
	26120/26115	Fe 고함유
	26120/26118	
	26120/26140	Pectin 고함유
	26120/26148	
	26120/26153	
	26120/26164	
	26122/26164	
	26128/26110	
	26148/26122	

나. 재료 육성

(1) 재료육성

선정된 재료는 50공 트레이에 파종하여 육묘한 다음, 본엽이 6매정도 나온 상태의 유묘를 5℃의 저온에 처리하여 pot 정식하였고, 개화가 되기 시작하면 꽃봉오리를 채취하여 꽃잎의 길이가 주두의 길이보다 짧은 꽃봉오리를 시험재료로 이용하였다(그림 19).



그림 19. 저온처리 광경(좌, 5℃, 저온참고) 및 소포자배양 재료(우)

(2) 소포자 배양 및 약배양 방법

(가) 소포자 배양

- 꽃봉오리는 sodium hypochlorite 1%용액에 15분간 침지하면서 멸균이 잘되도록 흔들어준 후 용액을 버리고, 멸균수로 3회 세정하여 멸균하였다. 멸균된 시료는 막자사발에 넣고 sucrose를 13% 첨가된 B5배지를 조금 넣어서 부드럽게 마쇄한 후 45µm체로 소포자를 여과하였다. 여과된 용액을 10ml씩 Falcon tube에 넣고 1,000rpm으로 3분간 원심분리하였다. 침전물은 남기고 상등액을 버린 후 다시 이 과정을 3회 반복하였다. 멸균한 소포자가 든 falcon tube에 1/2 NLN액체배지를 20 mL를 넣고 혼합 후, 10 mL씩 양분하고 거기에 각각 20 mL 씩 첨가하여 잘 혼합한다. 혼합액은 25mL 피펫으로 페트리디시(60×15 mm)에 3mL 씩 분주하고, 0.5% 아가로스활성탄용액을 페트리디시당 0.1 mL씩 분주하고, 파라필름으로 1회 밀봉한 후, 그 위에 3M테이프를 1회 밀봉하였다.
- 배양은 multi-room chamber(HB-302S-4H, Hanbaek Scientific Co.)를 32.5℃로 조정한 후 24시간 암배양한 다음, 25℃ 배양실로 옮겨 9일 동안 다시 암배양 하였다. 암배양을 마친 후 진탕기로 옮겨 80 rpm으로 10일 정도 배양하면서 배상체의 형성을 관찰하였다. 배상체는 생장조절제가 없는 0.25% gelrite MS배지가 든 배양병(120×80 mm)에 명확한 극성을 띤 배상체를 계대배양 하였다.
- Washing배지는 B5기본배지에 Sucrose 130g/L를 첨가하여 pH 5.8로 조절하였다. 배양배지는 NLN medium(Basal salt mixture, N0252, Duchefa)기본배지에 NLN vitamin mixture(N0253, Duchefa), Ca(NO3)2·4H2O 0.25g/L와 Sucrose 100g/L를 첨가하고 pH 6.0으로 조절하였다.

(나) 약배양

약배양용 배지는 B5기본배지에 Sucrose 100 g/L, CaCl₂·2H₂O 750 mg/L, FeEDTA 57 mg/L, Glutamine 800 mg/L, L-Serine 100 mg/L를 첨가한 배지에 생장조절제 NAA(0, 0.1 mg/L)과 2,4-D(0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/L)의 조합으로 pH 5.8로 Gelrite는 0.25%를 넣어 배지를 작성하였다. 약은 70% 에탄올에 1분간 침지한 후 멸균수로 헹구고 다시 2% NaClO 용액에 15분간 침지한 다음 멸균수로 3회 헹구어 배양 재료로 이용하였다.

다. 약 배양을 통한 식물체 재생

NAA 0.1 mg/L와 2,4-D 0.1 mg/L을 첨가한 배지에서 배양 2주 후 도입번호 25081, 26111, 26145, 26151, 26140에서 배상체가 많이 형성되었다(그림 20). 배상체가 형성된 약 10일 후 식물생장조절제가 첨가되지 않은 MS배지에 이식하였으며, 이식 1주일 내에 발근되어 식물체로 육성하였다(그림 21).

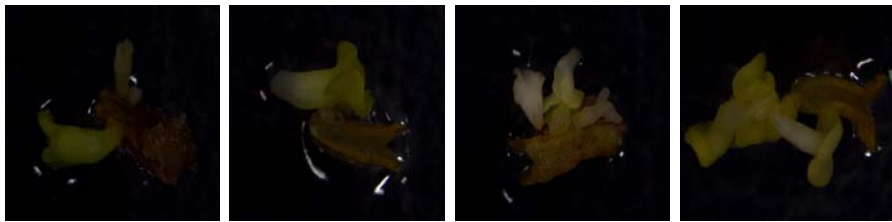


그림 20. 약배양으로 부터 유도된 배상체들



그림 21. 약배양으로 부터 유도된 기내유식물체

라. 소포자 배양에 의한 DH라인 육성 및 채종

DH라인 육성을 위하여 선발 품종(계통) 26종과 교배계통 14종, 대조품종 4종을 이용하여 소포자를 배양(그림 22)한 결과, 44종 모두에서 유식물체를 얻었다. 이렇게 얻어진 DH라인 660종은 저온 처리하여 selfing 후 총 125,669립의 종자를 획득하였다(그림 23, 표 68).



소포자배양

배상체 유도

식물체 배양



유식물체

순화

그림 22. 소포자배양으로 부터 식물체 육성



그림 23. Selfing에 의한 종자 채종

표 68. 소포자 배양에 의한 DH라인 육성 및 채종량

도입번호	품 종 명	육성 DH라인	채종량(립)
26105	綠陽58	3	21
26148	天津綠 青麻叶	8	272
26153	天下无双	24	609
26110	秋玉一号F ₁	132	23,323
26118	清白75	9	1,797
26120	秋抗3号	7	2,258
26122	多抗十号	1	32
26128	津冠75	10	6,615
26130	義和秋 (一)	1	175
27136	大獅子頭	10	485
27137	中獅子頭	3	579
27138	小獅子頭	10	487
27139	大白帮S9	6	292
27140	綠抗S5	69	7,084
27143	錦424-S8	24	3,330
27145	遼白五号	2	34
27146	青帮核頭紋白菜	3	44
27156	攻關1号	14	1,754
27160	9738A	9	616
27164	丰盈	21	3,928
27263	鴻均168(F ₁)	60	6,373
27294	京秋呂(80-3)特選大白菜	41	2,553
27295	秋綠60	23	3,619
27259	京綠60 (F ₁)	7	1,086
27267	小雜60号(F ₁)	3	25
28393		26	1,288
26105/26110		1	467
26105/26164		1	190
26110/26128		44	17,790
26120/26110		3	205
26120/26118		8	1,130
26120/26148		12	4,633
26120/26153		18	5,352
26120/26164		1	733
26122/26164		2	539
26148/26110		4	809
26148/26122		20	13,811
26105/26151		1	530
26120/26115		10	3,594
26120/26140		3	198
대조 품종	불암 3호	1	1
	불암플러스	3	6,881
	황성	1	4
	취과람	1	123
총계		660	125,669

4. 기능성품종육성

가. 재료 선정

1차년도 특성평가 및 성분분석 결과(glucosinolate phenethyl 계, Zn, Fe 등의 함량이 높은 계통)를 바탕으로 도입번호 26105, 26120, 26130, 26118, 26164, 26148, 26151, 26140, 26122, 26115, 25128, 26110, 26153, 25081을 교배에 이용하였다.

나. 육성방법

선발계통을 파종하여 유묘상태로 저온 처리한 다음 pot에 정식하여 개화를 유도한 후, 단교배 31조합과 정역교배 6조합을 포함하여 총 37조합의 교배를 실시하였고(표 69), 교배 계통은 DH라인 육성에도 이용하였다.

표 69. 교배 조합

계통번호	교배조합(우/상)	계통번호	교배조합(우/상)
BT-0901	26105 / 26110(도입번호)	BT- 0913	26120 / 26115
- 0902	" / 26115	- 0914	" / 26118
- 0903	" / 26118	- 0915	" / 26122
- 0904	" / 26122	- 0916	" / 26128
- 0905	" / 26128	- 0917	" / 26140
- 0906	" / 26140	- 0918	" / 26148
- 0907	" / 26148	- 0919	" / 26151
- 0908	" / 26151	- 0920	" / 26153
- 0909	" / 26153	- 0921	" / 26164
- 0910	" / 26164	- 0922	" / 25081
- 0911	" / 25081	- 0923	26130 / 26110
- 0912	26120 / 26110	- 0924	" / 26115
BT- 0925	26130 / 26118	BT- 0932	26110 / 26128
- 0926	" / 26128	- 0933	26128 / 26110
- 0927	" / 26148	- 0934	26148 / 26122
- 0928	" / 26151	- 0935	26122 / 26148
- 0929	" / 26153	- 0936	26164 / 26122
- 0930	" / 26164	- 0937	26122 / 26164
- 0931	" / 25081		

다. 교배계통의 특성평가

교배 육성한 37계통을 포장에 정식하여 배추 수확기인 2009년 11월 23일부터 4일간 농림수산식품부 국립종자원의 작물별 특성조사 요령(2005년)에 준하여 바깥잎과 구의 특성 평가하였고, 현장평가를 실시하였다.

라. 결과

(1) 교배계통의 형태적 특성 결과

교배계통의 바깥잎과 구의 특성은 교배본과 유사하였으며 모본이나 부분의 한쪽형질 발현 경향은 크게 나타나지 않았다. 정역교배조합에서 구의 결구 형태는 83% 모본의 형태를 따라가고, 구의 속의 색깔은 교배조합이 모본의 영향을 받기는 하는 것 같으나 절대적이지는 않았다. 단교배에서는 결구형태를 보면 부분형 25%, 중간형 40%, 모본형 20% 정도 영향을 받아 특별한 유진양식을 찾기는 어려웠다(부표20, 21 참조).

(2) 교배 계통의 현장평가 결과

교배 계통을 노지포장에 재배하여 2009년 11월 20일 현장평가를 실시한 결과 외관, 결구정도 및 식미 테스트를 통해 우량 4계통(관리번호: 26105(모본)/26122(부분), 26105/26115, 26122/26164, 26164/26122)을 선발하였다(표 70, 그림 24).

표 70. 현장평가를 통한 우수 육성계통 선발

교배조합	선발이유	비 고
26105/26115	결구형태 및 내동성	현장평가 선발
26105/26122	결구형태 우수	현장평가 선발
26122/26164	결구형태 양호	현장평가 선발
26164/26122	결구형태 양호	현장평가 선발



그림 24. 현장평가에서 선발된 교배 육성 계통

(3) 교배육성 계통의 증식(채종)

채종을 위하여 각 2009년 11월30일부터 교배조합별로 교배시킨 다음 2010년 1월 25일부터 3월 말까지 수확·채종하였다(표 71).

표 71. 교배조합별 채종량

교배조합	채종립	교배조합	채종립
26105 X 26128	666	26118 X 26130	630
26105 X 26140	864	26105 X 26110	1,613
26105 X 26148	814	26110 X 26105	1,458
26105 X 26151	1,533	26105 X 26115	660
26105 X 26153	1,748	26115 X 26105	201
26105 X 26164	1,301	26105 X 26122	2,185
26120 X 26122	239	26122 X 26105	499
26120 X 26128	299	26120 X 26110	775
26120 X 26140	1,936	26110 X 26120	1,163
26120 X 26148	573	26120 X 26115	472
26120 X 26151	387	26115 X 26120	351
26120 X 26153	823	26130 X 26110	173
26120 X 26164	346	26110 X 26130	2,876
26130 X 26128	321	26130 X 26115	0
26130 X 26140	828	26115 X 26130	89
26130 X 26148	155	26130 X 26122	27
26130 X 26151	714	26122 X 26130	1,268
26130 X 26153	237	26110 X 26128	3,420
26130 X 26164	330	26128 X 26110	1,995
26105 X 26118	2,415	26148 X 26122	2,287
26118 X 26105	1,080	26122 X 26148	1,473
26120 X 26118	579	26164 X 26122	4,567
26118 X 26120	736	26122 X 26164	1,282
26130 X 26118	700		

교배조합별 포장제배를 하여 기능성 성분분석 결과를 바탕으로 11조합을 선발하였고, 이에 대한 DH라인을 육성하여 재종하였으며, 이들을 품종육성에 이용할 예정이다.

표. 성분분석을 통한 교배조합 선발과 소포자 배양에 의한 DH라인 육성

교배조합	육성 DH라인	재종량(립)	비교(기능성)
26105/26110	1	467	glucosinolate
26105/26164	1	190	V-E
26110/26128	44	17,790	Mineral
26120/26110	3	205	V-E
26120/26118	8	1,130	Cellulose
26120/26148	12	4,633	Mineral
26120/26153	18	5,352	glucosinolate
26120/26164	1	733	phenolic acid
26122/26164	2	539	glucosinolate
26148/26110	4	809	Mineral
26148/26122	20	13,801	Mineral

부표 1. 2007년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바 깥 잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토 시아닌 색소	핑백	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
26104	秋宝 (多抗新三号)	54.2	약간 서다	51.3	30.3	거꾸로 세운 달 갈형	원두	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	51.3	10.3	녹색
26105	綠陽58	40.7	약간 서다	40.2	23.3	넓은 달갈형	원두	적다	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	40.2	10.5	녹색
26107	津冠王	38.5	약간 서다	35.7	31.7	넓은 달갈형	원두	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	평평 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	35.7	9.5	연녹색
26110	秋玉一号F1	46.3	약간 서다	45.3	26	좁은 달갈형	몽툭한 모양	많다	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	45.3	9.5	녹색
26111	酸菜王	60	약간 서다	56.5	33.7	넓은 달갈형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	56.5	13.7	녹색
26113	奧星70	42.7	약간 서다	42.7	24.5	거꾸로 세운 달 갈형	몽툭한 모양	적다	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	42.7	8	녹색
26114	京益三号	49	약간 서다	47.3	26	거꾸로 세운 달 갈형	원두	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	47.3	9.17	녹색
26115	金秋	53.7	약간 서다	48.3	25.8	좁은 달갈형	원두	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	중간	볼록하다	48.3	10.7	녹색
26116	91-12	45.1	약간 서다	42.5	25.3	거꾸로 세운 달 갈형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	42.5	9.17	녹색
26118	清白75	59.3	약간 서다	54	31.3	거꾸로 세운 달 갈형	몽툭한 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	중간	볼록하다	54	11.3	연녹색
26120	秋抗3号	52.5	곧추 서다	46.7	30.5	넓은 달갈형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	적다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	46.7	10.8	녹색
26122	多抗十号	35.2	약간 서다	36	25.8	넓은 달갈형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	얇다	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	32.2	10	흰색
26123	綠陽70	45.7	약간 서다	43.7	24.3	거꾸로 세운 달 갈형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	평평 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	43.7	9.1	연녹색
26125	奧星75	51	약간 서다	47.3	28.5	좁은 달갈형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	47.3	12.2	연녹색

부표 1. 2007년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	팽배	털의 다소	세로 자른면곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
26128	津冠75	56.3	곧추서다	55.2	28.5	좁은 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	55.2	9.67	녹색
26130	義和秋 (一)	46.7	약간서다	44.2	27.2	넓은 달걀형	원두	적다	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	44.2	9.83	연녹색
26131	北京新三号F1	46.3	약간서다	44	27	넓은 달걀형	원두	중간	작다	녹색	질다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	44	10.3	녹색
26132	好地紫羅蘭油菜	41	약간서다	43	22	거꾸로 세운 달걀형	원두	적다	작다			있다	강하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	43	6	녹색
26133	M-988 F1	47.8	약간서다	46.3	29	넓은 달걀형	원두	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	46.3	12.2	연녹색
26135	沈陽快菜	53	약간서다	49.5	29.7	거꾸로 세운 달걀형	원두	적다	작다	녹색	얼다	있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	볼록하다	49.5	9.17	흰색
26138	金玉百財	51	약간서다	45	25.8	넓은 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	얼다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	45	9.67	연녹색
26139	福星80	45	약간서다	43.3	29.2	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	얼다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	43.3	12.2	연녹색
26140	青綠王	53.2	약간서다	51.8	27.7	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	많다	중간	녹색	질다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	51.8	11.3	연녹색
26141	綠星80	49	약간서다	45.7	30.3	넓은 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	45.7	11.5	연녹색
26142	津冠80	45.7	약간서다	44.5	24.5	넓은 달걀형	몽투한 모양	적다	작다	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	44.5	8.67	녹색
26143	水師營9号	51.8	약간서다	50.7	28	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	50.7	9.33	녹색
26145	遼白十号	44.5	약간서다	44	24.7	좁은 달걀형	몽투한 모양	많다	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	44	11.8	연녹색
26146	綠星70	46	약간서다	43.7	26.7	넓은 달걀형	몽투한 모양	중간	중간	녹색	얼다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	43.7	7.83	연녹색

부표 1. 2007년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	팽배	털의 다소	세로 자른면곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
26148	天津綠青麻叶	55	약간서다	53.5	29.3	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	적다	작다	녹색	얼다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	53.5	11.7	녹색
26151	晋菜三号	55	약간서다	52.5	28.7	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	적다	작다	녹색	얼다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	중간	볼록하다	52.5	10.7	녹색
26152	興城麻叶	60.7	약간서다	57.3	26.3	좁은 달걀형	몽투한 모양	적다	작다	녹색	얼다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	57.3	9.83	녹색
26154	金田91-12	52.2	약간서다	53	27.2	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	53	9.83	녹색
26156	冬宝	49.7	약간서다	46.3	26	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	46.3	9.67	녹색
26158	義和六号	46.8	약간서다	43.8	32	넓은 달걀형	몽투한 모양	적다	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	43.8	9.83	흰색
26159	谷雨娃娃菜	33.3	약간서다	33	22.8	넓은 달걀형	몽투한 모양	많다	작다	녹색	얼다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	33	9.33	연녹색
26160	京春娃娃菜	37	약간서다	36.5	30	원형	몽투한 모양	적다	작다	녹색	얼다	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	36.5	10.2	흰색
26161	秋福一代文配	51.7	약간서다	50.5	31	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	50.5	9.33	연녹색
26164	丰盈	44.8	약간서다	42.8	24	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	얼다	있다	강하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	42.8	9.5	녹색
26168	七十天發百財	45.7	약간서다	44.8	25.2	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	중간	녹색	얼다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	44.8	9.5	연녹색
26169	阜白二号	57	곧추서다	52.7	27	거꾸로 세운 달걀형	몽투한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	52.7	9.33	연녹색

부표 1. 2007년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토 시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 툭니모양	중록 가로자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록색
대조품 종	불암3호	43	약간서 다	43.7	27.2	넓은 달걀형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	43.7	11	흰색
	불암플러스	41	약간서 다	39.7	26.8	넓은 달걀형	몽툭한 모양	적다	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록 하다	중간	중간	약하다	볼록하다	39.7	10.3	연녹색
	황성골드	41	약간서 다	40	25.5	거꾸로 세운 달걀형	몽툭한 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	40	10	흰색
	휘파람	39	약간서 다	37	25	거꾸로 세운 달걀형	몽툭한 모양	적다	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	볼록 하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	37	10.5	연녹색

부표 2. 2007년도 특성평가 배추의 구 특성 및 수확성숙기

도입 번호	품종(계통)명	구												수확 성숙기
		키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 결 정 도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양		
26104	秋宝(多抗新三号)	33.5	14.7	장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	약하다	노랑색	약하다	들기형	늦다	
26105	綠陽58	24.3	13.8	타원형	단합	중간	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	들기형	중간	
26107	津冠王	26.3	13.9	타원형	단합	중간	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	강하다	들기형	늦다	
26110	秋玉一号F1	25.3	12.7	장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	들기형	늦다	
26111	酸菜王	41.3	12.3	긴 장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근 모양	늦다	
26113	奧星70	24.7	10.7	타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	진한 노랑색	약하다	평평한 모양	늦다	
26114	京益三号	28.3	13.3	장타원형	반열립	중간	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	둥근 모양	늦다	
26115	金秋	30.7	13.8	장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	둥근 모양	늦다	
26116	91-12	27.8	13.7	거꾸로세운 달걀형	단합	중간	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양	늦다	
26118	青白75	45.7	12.7	긴 장타원형	반열립	약하다	노랑	-	중간	연한 노랑색	약하다	둥근 모양	늦다	
26120	秋抗3号	35	12.8	장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	중간	연한 노랑색	매우 약하다	들기형	늦다	
26122	多抗十号	18	15.7	타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	중간	둥근모양	늦다	
26123	綠陽70	28	13.2	장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다	
26125	奧星75	32.2	12.8	장타원형	단합	중간	연두	얼다	중간	연한 노랑색	중간	둥근모양	늦다	
26128	津冠75	37	10	긴 장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양	늦다	
26130	義和秋 (-)	27	13.7	장타원형	단합	중간	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	들기형	늦다	
26131	北京新三号F1	28.7	13.7	거꾸로세운 달걀형	단합	심하다	연두	얼다	중간	연한 노랑색	강하다	둥근모양	늦다	
26132	好地紫羅蘭油菜	24	7	장타원형	열립	약하다	노랑	-	약하다	노랑색	중간	들기형	늦다	

부표 2. 2007년도 특성평가 배추의 구 특성 및 수확성숙기(계속)

도입 번호	품종(계통)명	구											수확 성숙기
		키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양	
26133	M-988 F1	23.5	14.2	타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양	늦다
26135	沈陽快菜	28.3	11.1	장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	돌기형	늦다
26138	金玉百財	32.7	12.5	장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	돌기형	늦다
26139	福星80	26.7	14	타원형	단합	중간	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양	늦다
26140	靑綠王	31	11	장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	평평한 모양	늦다
26141	綠星80	30.7	13.5	장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26142	津冠80	23.7	13.8	타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26143	水師營9号	25	12.3	거꾸로세운 달걀형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양	늦다
26145	遼白十号	29	11.8	장타원형	반열립	중간	연두	얼다	중간	연한 노랑색	약하다	돌기형	늦다
26146	綠星70	27.3	13	달걀형	열립	약하다	연두	얼다	중간	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26148	天津靑靑麻叶	40	12.7	거꾸로세운 달걀형	열립	약하다	연두	중간	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26151	晉菜三号	36.3	11.2	거꾸로세운 달걀형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	평평한 모양	늦다
26152	興城麻叶	37.3	13	장타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26153	天下无双	22	12.3	타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26154	金田91-12	23.8	13	거꾸로세운 달걀형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26156	冬宝	28	14.2	장타원형	단합	중간	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	중간	돌기형	늦다
26158	義和六号	26.3	16.7	거꾸로세운 달걀형	단합	중간	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	돌기형	늦다

부표 2. 2007년도 특성평가 배추의 구 특성 및 수확성숙기(계속)

도입 번호	품종(계통)명	구											수확 성숙기
		키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양	
26159	谷雨娃娃菜	22.3	13.3	달걀형	단합	중간	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	중간	평평한 모양	늦다
26160	京春娃娃菜	25.5	15.5	거꾸로세운 달걀형	단합	심하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	강하다	둥근모양	늦다
26161	秋福一代交配	27.3	13.3	달걀형	반열립	중간	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양	늦다
26164	丰盈	22	10.9	타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
26168	七十天發百財	27.7	12	장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양	늦다
26169	阜白二号	39.3	12.5	긴장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
대조품종	불입3	23.7	20	타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	돌기형	늦다
	불입플러스	25.3	16.2	타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
	황성골드	23.3	16.7	타원형	반열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다
	휘파람	23	16.5	타원형	열립	약하다	연두	얼다	없거나 약하다	노랑색	매우 약하다	둥근모양	늦다

부표 3. 2007년도 특성평가 양배추의 식물체 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체			바깥잎													
		키 (cm)	너비 (cm)	아래쪽 줄기 길이	자세	크기 (cm)	잎몸 모양	잎자루 길이	잎면 윗면 염모습	요철	요철 크기	주름	색	색 강도	납질	가장자리 물결 모양	가장 자리 결각	가장 자리 말림
5350	慶丰甘蘭	35.5	36.2	짧다	약간 서다	35	누운넓은 타원형	짧다	오목	없거나 매우 약함	작다	약함	녹색	열다	약함	약함	있다	있다
5362	8398甘蘭	25.1	26.5	짧다	약간 서다	24	누운넓은 타원형	짧다	평평	약함	작다	약함	녹색	열다	약함	없거나 매우 약함	있다	있다
5364	京丰一号	38.7	38.5	중간	약간 서다	40	누운넓은 타원형	짧다	평평	없거나 매우 약함	작다	약함	녹색	중간	약함	없거나 매우 약함	있다	있다
5365	中甘十一	27.7	27.0	짧다	약간 서다	25	누운넓은 타원형	짧다	평평	약함	작다	약함	녹색	중간	약함	없거나 매우 약함	있다	있다
5382	綠園甘蘭	34.2	32.8	중간	약간 서다	34	누운넓은 타원형	짧다	오목	약함	중간	약함	녹색	중간	약함	없거나 매우 약함	있다	있다
5387	中甘十五	30.7	30.0	짧다	약간 서다	33	원형	짧다	오목	없거나 매우 약함	작다	약함	녹색	중간	없거나 매우 약함	약함	있다	있다
5393	小黒北早甘蘭	32.7	34.3	짧다	약간 서다	33	누운넓은 타원형	짧다	평평	약함	중간	약함	녹색	중간	중간	약함	있다	있다
5405	傲春	23.2	25.2	짧다	약간 서다	23	누운넓은 타원형	짧다	오목	약함	작다	약함	녹색	중간	약함	없거나 매우 약함	있다	있다
5408	中甘十一号	28.5	29.8	중간	약간 서다	28	누운넓은 타원형	짧다	평평	없거나 매우 약함	작다	약함	녹색	절다	없거나 매우 약함	없거나 매우 약함	있다	있다

부표 4. 2007년도 특성평가 양배추의 구 특성 및 수확기

도입 번호	품종(계통)명	구																	수확기
		세로 자른면 모양	세로자른면 밑부분 모양	키 (cm)	너비 (cm)	구형 지수	가장큰 너비 위치	짜여 있다	결구엽 요철	결구엽 가장자리 말림	결구엽 색	결구엽 색 강도	결구엽 안토시아닌 착색	속색	단단 한 정도	속 구조	고갱이 길이 (cm)	무게 (kg)	
5350	慶丰甘蘭	넓은 거 꼴 달걀형	볼록	15.2	14.3	1.1	중간	약간 짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	약함	중간	9.2	0.8	늦다
5362	8398甘蘭	원형	볼록	14.8	15.3	1.0	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	중간	치밀 하다	9.3	0.9	늦다
5364	京丰一号	누운 타 원형	평평	14.0	16.8	0.8	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	매우 약함	성기다	10.2	0.9	늦다
5365	中甘十一	원형	볼록	13.3	13.8	1.0	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	단단 하다	치밀 하다	9.2	0.9	늦다
5382	綠園甘蘭	원형	볼록	12.5	13.8	0.9	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	중간	치밀 하다	14.0	0.9	늦다
5387	中甘十五	원형	볼록	14.7	15.2	1.0	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	단단 하다	치밀 하다	11.9	1.0	늦다
5393	小黒北早甘蘭	원형	볼록	13.1	15.8	0.8	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	없다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	단단 하다	치밀 하다	9.2	1.0	늦다
5405	傲春	원형	볼록	11.7	14.1	0.8	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	단단 하다	치밀 하다	8.0	1.0	늦다
5408	中甘十一号	원형	볼록	12.8	15.5	0.8	중간	짜여 있다	없거나 매우 약함	있다	연두색	열다	없거나 매우 약함	황색 계통	단단 하다	치밀 하다	9.5	1.2	늦다

부표 5. 2007년도 특성평가 품종의 식물체 키, 생리적 주기 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																	생리적 성숙기				
			자세	길이 (cm)	넓이 (cm)	모양	플부분 모양	요철	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 착색 ²	광택	밑부분 털난 정도	세로로 자른면 모양	가장자리 물결 모양	가장자리 톱니 모양	가장자리 톱니 모양	잎 바탕색 엽맥색 차이		중록 가로 자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록 색깔
5337	上海四月蔓	43.3	수평	42.8	25.3	넓은 달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	3.7	중간	없거나 약함	볼록	약함	약함	약함	중간	오목	42.9	11.1	연두	빠름
5340	京油一号	35.2	수평	34.3	20.7	넓은 달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	얕다	1.9	약함	없거나 약함	볼록	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	34.2	10.1	연두	빠름
5341	早生華京	34.6	수평	30.8	17.2	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	얕다	1.0	약함	없거나 약함	볼록	약함	없거나 약함	없거나 약함	약함	오목	30.8	10.8	연두	빠름
5347	蘇州青	34.6	수평	31.9	21.1	원형	둥글다	약함	작다	녹색	질다	1.0	중간	없거나 약함	볼록	약함	없거나 약함	없거나 약함	약함	오목	31.9	8.7	연두	빠름
5355	北京青梗沒毛小白菜	49.3	수평	44.6	26.6	넓은 달걀형	둥글다	중간	중간	녹색	중간	4.6	중간	없거나 약함	볼록	중간	약함	중간	심함	오목	44.6	7.8	연두	빠름
5357	北京油叶青	59.8	수평	56.2	28.7	달걀형	둥글다	중간	중간	녹색	중간	4.6	중간	없거나 약함	볼록	중간	중간	중간	중간	오목	55.9	9.2	연두	빠름
5359	北京新一号 91-12	52.7	수평	48.2	27.2	넓은 달걀형	둥글다	중간	중간	녹색	중간	7.2	중간	없거나 약함	볼록	중간	중간	중간	중간	오목	48.2	8.6	연두	빠름
5374	四季小白菜 F1	54.2	수평	49.8	28.7	넓은 달걀형	둥글다	중간	중간	녹색	중간	8.1	중간	없거나 약함	볼록	중간	중간	중간	중간	오목	49.8	8.8	연두	빠름
5375	蘇州青油菜	33.9	수평	33.1	22.4	원형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	4.6	중간	없거나 약함	볼록	약함	약함	없거나 약함	중간	오목	33.1	8.4	연두	빠름
5388	上海矮抗青	36.8	수평	35.0	23.4	넓은 달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	얕다	1.0	약함	없거나 약함	볼록	약함	없거나 약함	없거나 약함	약함	오목	35.0	10.7	연두	빠름
5395	上海青	36.2	수평	33.8	22.0	원형	둥글다	약함	작다	황록	얕다	1.0	약함	없거나 약함	볼록	약함	약함	없거나 약함	약함	오목	33.8	9.4	연두	빠름
5400	北京青梗小白菜	55.1	수평	48.7	29.7	넓은 달걀형	둥글다	중간	중간	녹색	중간	5.4	중간	없거나 약함	볼록	중간	중간	중간	중간	오목	48.7	9.1	연두	빠름

² 1: 없다 ~ 9: 있다

부표 6. 2007년도 특성평가 갖의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성 및 잎의 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 자세	측지	줄기 비대성	잎														
					엽수 (매)	모양	길이 (cm)	가장자리 열편	결각의 정도	결각의 크기	거치의 정도	녹색의 정도	안토시아닌 발현강도	광택	털의수	표면의 물결모양	가장자리 물결모양	열편의 수	
5338	九頭烏雪里蕻	피짐	없다	없다	30.0	넓은 타원	18.3	lobed	약함	작다	약함	연함	매우 강함	약함	적다	중간	약함	없다	
5367	包心芥菜	피짐	없다	없다	28.0	원형	51.1	lobed	약함	작다	약함	연함	약함	약함	없거나 매우적다	강함	중간	없다	
5404	中花尖叶芥蘭种	곧추서다	있다	있다	10.4	장타원	28.7	lobed	약함	작다	약함	중간	약함	중간	없거나 매우적다	중간	약함	없다	
5385	黑心烏	중간	없다	없다	51.9	넓은 타원	26.1	entire	약함	작다	약함	중간	약함	약함	없거나 매우적다	중간	약함	없다	
5401	精選烏塌菜	피짐	없다	없다	161.2	넓은 타원	23.1	lobed	약함	작다	약함	중간	없다	중간	없거나 매우적다	중간	약함	없다	
5339	綠菊苣	중간	없다	없다	46.0	장타원	30.0	entire	없음	작다	없거나 약함	연함	없다	약함	없거나 매우적다	중간	약함	없다	
5346	美松菜	중간	있다	없다	19.6	장타원	61.2	lobed	약함	작다	약함	중간	없다	중간	없거나 매우적다	약함	약함	없다	
5403	紅菊苣	피짐	있다	없다	43.4	주걱형	46.7	sect	매우 강함	크다	강함	중간	약함	중간	없거나 매우적다	약함	중간	없다	

부표 7. 2007년도 특성평가 갖의 증류과 엽병 특성 및 뿌리비대성, 추대성, 결구성

도입 번호	품종(계통)명	증 류			증류 및 엽병 혹	엽 병						뿌리 비대성	추대성	결구성
		횡단면의 모양	폭	두께		꼬임	엽초	녹색의 강도	안토시아닌 색소	길이	폭			
5338	九頭烏雪里蕻	중간	좁다	얇다	없다	없거나 매우약함	있다	중간	있다	짧다	좁다	있다	낮다	없다
5367	包心芥菜	중간	매우 넓다	얇다	있다	없거나 매우약함	없다	중간	없다	짧다	중간	없다	낮다	반결구
5404	中花尖叶芥蘭种	강함	매우 좁다	얇다	있다	없거나 매우약함	없다	중간	없다	길다	좁다	없다	이르다	없다
5385	黑心烏	중간	좁다	얇다	있다	없거나 매우약함	없다	열다	없다	중간	중간	있다	낮다	반결구
5401	精選烏塌菜	중간	매우 좁다	얇다	있다	없거나 매우약함	없다	중간	없다	길다	좁다	있다	낮다	없다
5339	綠菊苣	중간	매우 좁다	얇다	없다	없거나 매우약함	없다	열다	없다	중간	넓다	업다	낮다	반결구
5346	美松菜	강함	매우 좁다	얇다	있다	없거나 매우약함	없다	중간	없다	길다	좁다	있다	낮다	없다
5403	紅菊苣	강함	매우 좁다	얇다	있다	없거나 매우약함	없다	중간	없다	중간	좁다	없다	낮다	없다

부표 8. 2008년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바 깥 잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토 시아닌 색소	평택	틸의 다소	새로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	증류 가로큰면 모양	증류 길이 (cm)	증류 너비 (cm)	증류색
27136	大獅子頭	43.3	약간 서다	37.5	21	긴 타원형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	37.5	8	연녹색
27137	中獅子頭	51.7	약간 서다	45.6	29.3	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	45.7	10	흰색
27138	小獅子頭	51.7	약간 서다	45.9	22.7	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	약하다	중간	중간	블록하다	45.9	7.4	연녹색
27139	大白幫S9	64.2	곧추 서다	49	24.2	긴 타원형	둥근 모양	중간	작다	녹색	얇다	있다	약하다	없거나 약하다	오목 하다	심하다	약하다	중간	블록하다	49	8.1	연녹색
27140	綠抗S5	48.5	약간 서다	36.6	20.1	좁은 달걀형	둥근 모양	중간	작다	녹색	질다	있다	강하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	36.7	8.3	연녹색
27141	103-S3	47.8	약간 서다	45.6	22.6	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	약하다	블록하다	45.7	7.8	연녹색
27142	玉青S8	52.9	약간 서다	44.9	21	긴 타원형	둥근 모양	중간	작다	녹색	질다	있다	강하다	없거나 약하다	오목 하다	약하다	중간	중간	블록하다	45	7.8	연녹색
27143	錦424-S8	58.2	곧추 서다	51.3	27.3	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	작다	녹색	질다	있다	강하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	약하다	블록하다	51.3	9.4	연녹색
27144	華白2号-S10	54.2	곧추 서다	52.6	36.5	넓은 달걀형	둥근 모양	많다	중간	녹색	질다	있다	강하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	약하다	블록하다	52.7	8.8	녹색
27145	遼白5号	47.2	약간 서다	40.6	21.3	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	작다	녹색	얇다	있다	약하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	40.7	7.7	녹색
27146	青帮核頭紋 白菜	55.3	곧추 서다	48.6	22.3	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	작다	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	48.7	8.1	녹색
27156	攻關1号	50	곧추 서다	46	33.9	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	중간	심하다	중간	블록하다	46	9.5	녹색
27157	高抗1号	41.7	곧추 서다	37.3	23	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	약하다	블록하다	37.3	8	녹색
27158	大青稍S9	56	곧추 서다	52	21.8	긴 타원형	둥근 모양	적다	작다	녹색	질다	있다	강하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	52	9.5	녹색
27159	回歸1号-S6	41.3	약간 서다	37	22.5	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	작다	녹색	질다	있다	강하다	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	37	8	녹색
27160	9738A	40.3	약간 서다	37.3	24.3	원형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	심하다	중간	중간	블록하다	37.3	7	흰색
27161	遼百4号S9	50	곧추 서다	47.3	28	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목 하다	중간	중간	중간	블록하다	50.3	8	연녹색

부표 8. 2008년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결과	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27254	中白66(F1)	37	약간서다	348	23.8	넓은 달걀형	둥근모양	많다	중간	녹색	짙다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	34.8	7.1	연녹색
27256	小雜55号(F1)	38.3	약간서다	35.3	23	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	35.3	7	연녹색
27257	小雜56号(F1)	47.7	곧추서다	45.8	26	넓은 달걀형	둥근모양	많다	크다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	45.8	9	연녹색
27259	京縹60 (F1)	52	약간서다	49.1	23.8	기원형	둥근모양	많다	작다	녹색	짙다	있다	강하다	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	49.2	8	연녹색
27260	鴻均78 (F1)	51.3	약간서다	44.6	23.3	넓은 달걀형	둥근모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	44.7	7.5	연녹색
27261	北京80天 (F1)	52	곧추서다	48	19.3	기원형	둥근모양	중간	작다	녹색	짙다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	중간	불록하다	48	8.5	연녹색
27262	新三号(F1)	47	약간서다	45	22.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	짙다	있다	강하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	45	7.3	연녹색
27263	鴻均168(F1)	56.3	곧추서다	49.8	23.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	짙다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	49.8	7.6	연녹색
27264	抗熱早熟48 (F1)	32.5	약간서다	31	24.3	넓은 달걀형	둥근모양	많다	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	31	6.8	연녹색
27265	鴻均70(F1)	44.7	약간서다	42.1	23.5	넓은 달걀형	둥근모양	적다	중간	녹색	짙다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	42.2	6.6	연녹색
27266	北京75天天 (F1)	52.7	약간서다	50	30.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	크다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	50	10.3	연녹색
27267	小雜60号 (F1)	42	약간서다	39.6	25.3	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	39.7	7.8	연녹색
27268	小雜65号 (F1)	42.3	약간서다	40.3	25.3	넓은 달걀형	둥근모양	적다	중간	녹색	얇다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	40.3	8	연녹색
27269	甯脆小白菜 (F1)	45.3	약간서다	43	22.2	넓은 달걀형	둥근모양	많다	작다	녹색	짙다	있다	강하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	43	7.5	연녹색
27270	青口小白菜 (F1)	48.7	약간서다	45.6	22	넓은 달걀형	둥근모양	많다	작다	녹색	짙다	있다	강하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	45.7	7.8	연녹색
27294	京秋呂(80-3)特選大白菜	50	약간서다	38.6	21.8	좁은 달걀형	둥근모양	많다	작다	녹색	짙다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	40	7.1	연녹색
27295	秋綠60	51.3	곧추서다	49.3	22.2	좁은 달걀형	둥근모양	많다	작다	녹색	짙다	있다	강하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	49.3	8.1	연녹색

부표 8. 2008년도 특성평가 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결과	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27301	秋綠55	49	곧추서다	43.6	23.5	넓은 달걀형	둥근모양	많다	중간	녹색	짙다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	40.3	8.1	연녹색
27306	京研快菜 (F1)	34	약간서다	31.5	21.8	원형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	31.5	8.1	연녹색
대조 품종	불암3호	40.7	약간서다	39	24.8	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	39	7	연녹색
	불암플러스	44	약간서다	39.7	23.3	넓은 달걀형	둥근모양	중간	작다	녹색	짙다	있다	중간	적다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	39.7	6.3	연녹색
	황성골드	39.7	약간서다	37.3	24.2	넓은 달걀형	둥근모양	많다	중간	녹색	짙다	있다	중간	적다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	37.3	7.1	연녹색
	휘파람	41.7	약간서다	38	24	넓은 달걀형	둥근모양	중간	작다	녹색	중간	있다	중간	적다	불록하다	심하다	중간	약하다	불록하다	38	7.1	연녹색

부표 9. 2008년도 특성평가 배추의 구 특성

도입번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입점 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고경이 선단 모양
27136	大獅子頭	33.3	12	달걀형	반열립	중간	노랑	얼다	중간	노랑색	약하다	돌기형
27137	中獅子頭	28.7	12.7	장타원형	반열립	중간	노랑	얼다	중간	노랑색	약하다	돌기형
27138	小獅子頭	33.6	10.7	긴 장타원형	반열립	중간	연두	얼다	심하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
27139	大白帮S9	48.7	12.3	긴 장타원형	반열립	중간	연두	얼다	중간	연한 노랑색	약하다	둥근 모양
27140	綠抗S5	34.3	12.7	장타원형	반열립	심하다	연두	얼다	심하다	노랑색	강하다	돌기형
27141	103-S3	36.3	14.7	장타원형	단합	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	강하다	둥근 모양
27142	玉靑S8	47.3	12.2	긴 장타원형	반열립	약하다	연두	얼다	중간	연한 노랑색	약하다	둥근 모양
27143	錦424-S8	49	11.3	긴 장타원형	열립	약하다	연두	얼다	중간	연한 노랑색	약하다	돌기형
27144	華白2号-S10	40.3	10	긴 장타원형	반열립	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27145	蘆白五号	40.3	11	장타원형	반열립	중간	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
27146	靑帮核頭紋白菜	46.5	12.7	긴 장타원형	열립	중간	연두	얼다	중간	연한 노랑색	약하다	돌기형
27156	攻關1号	37	12.2	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	강하다	돌기형
27157	高抗1号	33.3	13	달걀형	반열립	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	강하다	돌기형
27158	大靑稍S9	41.3	9.6	장타원형	열립	약하다	녹색	중간	중간	연한 노랑색	약하다	돌기형
27159	回歸1号-S6	35.3	12	달걀형	단합	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
27160	9738A	29.3	14.7	타원형	단합	중간	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27161	1遼百四号S9	48.7	12.3	긴 장타원형	단합	중간	연두	얼다	중간	연한 노랑색	중간	돌기형
27254	中白66(F1)	30.7	14	타원형	단합	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	강하다	돌기형
27256	小雜55号(F1)	30.3	12.7	달걀형	단합	심하다	연두	얼다	중간	연한 노랑색	강하다	돌기형

부표 9. 2008년도 특성평가 배추의 구 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입점 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고경이 선단 모양
27257	小雜56号(F1)	40.3	12.3	장타원형	반열립	심하다	노랑	얼다	심하다	노랑색	중간	돌기형
27259	京綠60 (F1)	42.7	10.7	긴 장타원형	반열립	중간	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
27260	鴻均78 (F1)	33.7	13.3	달걀형	단합	심하다	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	강하다	둥근모양
27261	北京80天(F1)	43	10.3	긴 장타원형	열립	약하다	노랑	얼다	중간	연한 노랑색	매우 약하다	둥근 모양
27262	新三号(F1)	38	13.2	달걀형	단합	중간	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
27263	鴻均168(F1)	43.7	12.7	긴 장타원형	반열립	심하다	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
27264	抗熱早熟48(F1)	23.7	18	원형	단합	중간	흰색	얼다	약하다	연한 노랑색	매우 강하다	돌기형
27265	鴻均70(F1)	35.7	14.7	장타원형	단합	중간	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	매우 강하다	돌기형
27266	北京75天天(F1)	36.3	13.2	장타원형	단합	심하다	노랑	얼다	중간	연한 노랑색	매우 강하다	돌기형
27267	小雜60号(F1)	28.3	15	달걀형	단합	중간	노랑	얼다	중간	연한 노랑색	매우 강하다	둥근모양
27268	小雜65号(F1)	33.3	12.3	장타원형	단합	중간	노랑	얼다	중간	연한 노랑색	강하다	돌기형
27269	脆脆小白菜(F1)	31.7	10.3	타원형	열립	약하다	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근 모양
27270	靑口小白菜(F1)	31.3	10.7	타원형	반열립	중간	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근 모양
27294	京秋呂(80-3)特選 大白菜	36.3	15	달걀형	반열립	중간	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	강하다	둥근모양
27295	秋綠60	40.7	10.3	긴 장타원형	반열립	심하다	연두	얼다	심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27301	秋綠55	39.7	11	긴 장타원형	단합	중간	노랑	얼다	심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
27306	京研快菜(F1)	28.7	13.7	타원형	단합	심하다	흰색	얼다	없거나 약하다	연한 노랑색	매우 강하다	돌기형

부표 9. 2008년도 특성평가 배추의 구 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 잎 집 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고경이 선단 모양
대조품종	불입3호	26.3	14.3	달걀형	반열립	약하다	노랑	얇다	심하다	노랑색	중간	둥근모양
	불입플러스	28.3	14.7	달걀형	반열립	약하다	노랑	얇다	심하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
	황성	28.7	13.3	달걀형	단합	심하다	노랑	얇다	심하다	노랑색	중간	둥근모양
	휘파람	35	14.3	달걀형	단합	약하다	노랑	얇다	심하다	노랑색	중간	둥근모양

부표 10. 2008년도 특성평가 갯의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성 및 잎의 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 자세	측지	줄기 비대성	잎													
					엽수 (매)	모양	길이 (cm)	가장자리 열편	결각의 정도	결각의 크기	거치의 정도	녹색의 정도	안토시아닌 발현강도	평택	털의수	표면의 물결모양	가장자리 물결모양	열편의 수
27147	光頭芥菜	중간	있다	있다	14.0	넓은 원	48.3	lobed	약함	중간	중간	진함	없다	중간	없거나 매우 적다	약함	중간	중간

부표 11. 2008년도 특성평가 갯의 중륵과 엽병 특성 및 뿌리 비대성, 추대성, 결구성

도입 번호	품종(계통)명	중 륵			중륵 및 엽병 특	엽 병						뿌리 비대성	추대성	결구성
		횡단면의 모양	폭	두께		꼬임	엽초	녹색의 강도	안토시아닌 색소	길이 (cm)	폭 (cm)			
27147	光頭芥菜	평평	중간	중간	없다	없거나 매우 약함	없다	얇다	없다	43	3.0	있다	늦다	없다

부표 12. 2008년도 특성평가 깎초이의 식물체 키, 생리적 주기 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바 깎 잎																	생리적 성숙기				
			자세	길이 (cm)	넓이 (cm)	모양	끝부분 모양	요철	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 착색 ²	평택	밑부분 털 난 정도	세로로 자른면 모양	가장자리 물결 모양	가장자리 결각	가장자리 톱니 모양	잎 바탕색 엽맥색 차이		중륵 가로 자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색깔
27135	矮蔓大頭青	26.9	곧추 서다	19.9	11.2	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	19.9	6	연두	빠름
27253	中蔓五月慢	43.4	곧추 서다	37.2	16.1	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	질다	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	심함	오목	37.2	8.5	연두	빠름
27258	京油一号 (F1)	35.7	약간 서다	28.9	12.8	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	28.9	7.3	연두	빠름
27273	四九菜心	87.3	곧추 서다	21.8	11.9	달걀형	둥글다	약함	중간	녹색	얇다	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	없거나 약함	오목	21.8	2.1	연두	매우 빠름
27276	百惠青梗白菜 (F1)	31	약간 서다	17.8	9.8	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	17.8	6.5	연두	빠름
27277	美惠青梗白菜 (F1)	31.5	약간 서다	18.5	11.2	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	18.5	8	연두	빠름
27285	精冠王	32.8	약간 서다	24.7	11.6	달걀형	둥글다	중간	중간	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	24.7	8.7	연두	빠름
27293	京油605(F1)	33	약간 서다	23.9	13.1	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	심함	오목	23.9	7.9	연두	빠름
27302	寒綠油菜	46.1	곧추 서다	41.9	15.7	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	질다	없다	중간	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	심함	오목	41.9	8.2	연두	빠름
27303	五月蔓(F1)	35.3	약간 서다	34.8	13.8	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	질다	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	심함	오목	34.8	8.7	연두	빠름
27305	碧玉青梗菜	35	약간 서다	30.6	15	넓은 달걀형	둥글다	약함	중간	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	30.6	10.1	연두	빠름
27307	上海海青鷄毛菜	41.5	약간 서다	26.8	11.9	달걀형	둥글다	약함	작다	녹색	얇다	없다	약함	없거나 약함	오목	약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	오목	26.8	7.5	연두	빠름

부표 13. 2009년도 특성평가 배추 유전자원의 식물체 키 및 바깥잎 형태적 특성

노일번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	판백	틸로다소	세로자른면폭	가장자리 돌결모양	가장자리 절각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
26106	綠陽58	41.3	약간 서다	39.3	30.3	넓은 달걀형	원두	중간	크다	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	31.7	8.3	연녹색
26110	秋玉一号F1	43.3	약간 서다	40.7	24.3	긴타원형	원두	많다	중간	녹색	절다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	없다	약하다	평평하다	23.3	6.7	녹색
26115	金秋	48.7	약간 서다	42.3	25.7	긴타원형	원두	적다	작다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	블록하다	25.3	7.7	연녹색
26118	清白75	52.3	곧추 서다	49	28.7	긴타원형	원두	적다	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	없다	약하다	블록하다	31.7	7.3	흰색
26120	秋抗3号	52.7	약간 서다	46.7	32.3	좁은 달걀형	원두	적다	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	26	8	녹색
26122	多抗十号	35.3	약간 서다	34.3	24.7	넓은 달걀형	원두	중간	작다	회록색		없다	약하다	적다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	34.3	7	흰색
26128	津冠75	42	곧추 서다	43	21.7	긴타원형	평두	적다	작다	녹색	절다	없다	강하다	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	약하다	평평하다	43	6.7	연녹색
26130	義和秋 (一)	36.7	약간 서다	37.7	25.3	넓은 달걀형	원두	중간	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	37.7	7	흰색
26140	靑綠王	44.7	곧추 서다	45	22	긴타원형	원두	중간	작다	녹색	절다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	없다	중간	평평하다	45	7.3	연녹색
26148	天津綠青麻叶	46.7	곧추 서다	46.7	26	긴타원형	원두	적다	작다	녹색	절다	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	평평하다	46.7	8.7	연녹색
26151	晋菜三号	44.7	곧추 서다	41.3	22.7	긴타원형	원두	적다	중간	녹색	절다	없다	강하다	없거나 약하다	평평하다	중간	심하다	심하다	블록하다	44.7	7	연녹색
26153	天下无双	43.3	곧추 서다	43.3	29.7	넓은 달걀형	원두	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	블록하다	43.8	8.3	연녹색
26164	丰盈	47	곧추 서다	42.7	24	넓은 달걀형	원두	적다	작다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	블록하다	42.7	7	연녹색
26104	秋宝 (多抗新三号)	49.7	곧추 서다	46.3	30	좁은 달걀형	풍독한 모양	중간	중간	황록색		있다	강하다	적다	평평하다	중간	중간	심하다	블록하다	49.7	8	연녹색
26107	津冠王	34	약간 서다	33	26.3	원형	원두	중간	중간	녹색	절다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	중간	블록하다	33	6.7	흰색
26116	91-12	44.7	약간 서다	42	26.7	긴타원형	풍독한 모양	중간	중간	녹색	중간	있다	강하다	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	중간	블록하다	42	7	연녹색
26123	綠陽70	47	곧추 서다	39.7	27.7	거꾸로 세운 달걀형	원두	중간	중간	녹색	절다	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	심하다	심하다	블록하다	39.7	6.7	연녹색

부표 13. 2009년도 특성평가 배추 유전자원의 식물체 키 및 바깥잎 형태적 특성(계속)

노일번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	판백	틸로다소	세로자른면폭	가장자리 돌결모양	가장자리 절각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
26133	M-988 F1	43.3	약간 서다	38.7	26.3	거꾸로 세운 달걀형	원두	적다	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	블록하다	38.7	7.3	흰색
26137	蘇州青油菜	47.3	약간 서다	44.3	26	긴타원형	풍독한 모양	적다	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	평평하다	44.3	6.7	흰색
26138	金玉百財	52.3	약간 서다	44.3	23	긴타원형	풍독한 모양	많다	중간	녹색	절다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	중간	블록하다	44.3	6.7	연녹색
27138	小獅子頭	48	약간 서다	45.7	26.7	긴타원형	원두	적다	작다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	약하다	블록하다	45.7	7.3	흰색
27143	錦424-S8	53	곧추 서다	46	25	긴타원형	풍독한 모양	중간	작다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	심하다	블록하다	46	7.3	연녹색
27146	青帮核頭紋白菜	56.3	곧추 서다	46.3	20	긴타원형	풍독한 모양	중간	작다	녹색	절다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	심하다	블록하다	43.7	6.3	연녹색
27263	渤海168(F1)	56	곧추 서다	47.7	27	긴타원형	원두	많다	작다	녹색	절다	있다	중간	적다	평평하다	심하다	중간	심하다	블록하다	47.7	8	연녹색
28381	traditional cultivar/landrace	47.7	곧추 서다	41.7	27	넓은 달걀형	원두	적다	작다	녹색	절다	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	중간	블록하다	41.7	6	흰색
28383	traditional cultivar/landrace	39.3	곧추 서다	37.3	25	넓은 달걀형	원두	많다	크다	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	심하다	중간	중간	블록하다	37.3	6.7	흰색
28386	Advanced/improved cultivar	47.7	약간 서다	42.7	25.7	긴타원형	원두	많다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	블록하다	42.7	5.7	흰색
대조종	불암3호	42.7	약간 서다	39.3	26.3	좁은 달걀형	원두	중간	중간	황록색		없다	중간	중간	평평하다	약하다	중간	약하다	블록하다	39.3	6	연녹색
	불암플러스	40.7	약간 서다	35.3	24	넓은 달걀형	원두	중간	중간	녹색	절다	없다	중간	중간	평평하다	약하다	중간	중간	블록하다	35.3	6.3	연녹색
	황성골드	37	약간 서다	33.7	24.3	넓은 달걀형	원두	적다	작다	황록색		없다	중간	중간	평평하다	약하다	중간	약하다	블록하다	33.7	5.7	연녹색
	휘파람	41.7	약간 서다	38.3	28.6	넓은 달걀형	원두	많다	크다	녹색	절다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	없다	약하다	블록하다	38.3	7.3	연녹색

부표 14. 2009년도 특성평가 배추 유전자원 구의 특성

도입번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 침 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고경이 선단 모양
26105	綠陽58	29	18.7	장타원형	단협	심하다	연두		중간	연한 노랑색	강하다	들기형
26110	秋玉一号F1	30.7	15.7	긴장타원형	단협	중간	연두		심하다	노랑색	강하다	들기형
26115	金秋	25.7	15.3	긴장타원형	열립	약하다	녹색	중간	없거나 약하다	연녹색	매우 약하다	들기형
26118	清白75	40	14.3	긴장타원형	열립	중간	노랑		약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양
26120	秋抗3号	30.7	16.3	장타원형	단협	심하다	연두		약하다	노랑색	중간	들기형
26122	多抗十号	22	15.3	타원형	단협	중간	흰색		약하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
26128	津冠75	32	10.7	긴장타원형	열립	약하다	연두		약하다	노랑색	약하다	평평한모양
26130	義和秋 (-)	22.3	14.3	타원형	열립	약하다	노랑		없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	들기형
26140	靑綠王	30.3	13	긴장타원형	열립	심하다	연두		약하다	노랑색	매우 약하다	둥근모양
26148	天津靑麻叶	35.3	12.7	긴장타원형	열립	약하다	연두		없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	둥근모양
26151	晋菜三号	33.3	12.3	긴장타원형	열립	약하다	연두		심하다	연한 노랑색	매우 약하다	둥근모양
26153	天下无双	31.7	14.3	타원형	반열립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
26164	丰盈	26	14.7	달갈형	단협	중간	연두		중간	노랑색	중간	둥근모양
26104	秋宝 (多抗新三号)	27.3	18	거꾸로 세운 달갈형	단협	심하다	연두		약하다	노랑색	강하다	들기형
26107	津冠王	20.3	15.7	타원형	단협	중간	연두		심하다	노랑색	강하다	들기형
26116	91-12	24.3	16	타원형	단협	심하다	연두		매우 심하다	노랑색	매우 강하다	들기형
26123	綠陽70	30.3	14.6	거꾸로 세운 달갈형	단협	중간	노랑		심하다	연한 노랑색	중간	둥근모양
26133	M-988 F1	25	14.7	타원형	단협	중간	연두		중간	노랑색	약하다	들기형
26137	蘇州靑油菜	20.3	16	거꾸로 세운 달갈형	열립	약하다	노랑		중간	진한 노랑색	약하다	들기형
26138	金玉百財	30.7	13.7	장타원형	열립	중간	연두		심하다	연한 노랑색	약하다	들기형

부표 14. 2009년도 특성평가 배추 유전자원 구의 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 침 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고경이 선단 모양
27138	小獅子頭	25.3	12	거꾸로 세운 달갈형	열립	약하다	녹색	중간	중간	진한 노랑색	매우 약하다	둥근모양
27142	玉靑S8	34.3	13.3	장타원형	반열립	약하다	연두		없거나 약하다	진한 노랑색	매우 약하다	둥근모양
27143	錦424-S8	32.3	12.7	긴장타원형	열립	약하다	연두		없거나 약하다	노랑색	매우 약하다	들기형
27146	靑帮核頭紋白菜	34.7	12.7	긴장타원형	열립	약하다	연두		없거나 약하다	진한 노랑색	매우 약하다	들기형
27263	鴻均168(F1)	36.3	15.3	긴장타원형	반열립	심하다	연두		심하다	노랑색	강하다	들기형
28381	traditional cultivar/landrace	11	12.3	거꾸로 세운 달갈형	열립	약하다	녹색	진하다	없거나 약하다	연녹색	매우 약하다	둥근모양
28393	traditional cultivar/landrace	22.3	14.7	거꾸로 세운 달갈형	반열립	중간	노랑		중간	연한 노랑색	중간	둥근모양
28395	Advanced/improved cultivar	26	13.7	거꾸로 세운 달갈형	열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	매우 약하다	들기형
대조품종	불암3	24	18	달갈형	단협	심하다	연두		중간	진한 노랑색	중간	들기형
	불암플러스	22.3	17	달갈형	단협	심하다	녹색	진하다	중간	진한 노랑색	중간	둥근모양
	황성골드	21.7	14.3	달갈형	단협	심하다	녹색	진하다	없거나 약하다	진한 노랑색	중간	둥근모양
	휘파람	22	17.3	달갈형	단협	심하다	녹색	진하다	중간	진한 노랑색	중간	둥근모양

부표 15. 2009년도 특성평가 꺾초이의 식물체 키, 생리적 주기, 뿌리혹병 저항성 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																	생리적 성숙기	뿌리혹병 저항성				
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	끝부분 모양	요철	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 착색	평택	밑부분 탈락 정도	세로로 자른면 모양	가장자리 물결 모양	가장자리 결각	가장자리 톱니 모양	잎 바탕색 엽맥색 차이			중륵 가로 자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색깔
25081	譽諒F1	38.3	곧추서다	30	21.7	넓은 달갈형	등글다	약함	작다	녹색	질다	없다	약함	없거나 약함	평평	없거나 약함	없거나 약함	없거나 약함	매우 심함	오목	30	7.3	흰색	빠름	없다
28373	Advanced/improved cultivar	31.7	곧추서다	27.3	16	좁은 달갈형	뾰족하다	약함	작다	녹색	중간	없다	약함	없거나 약함	평평	없거나 약함	없거나 약함	없거나 약함	중간	평평	27.3	8.3	연두	빠름	없다

부표 16. 2009년도 특성평가 갖의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성 및 잎의 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 자세	측지	줄기 비대성	잎											가장자리 물결모양	열편의 수	
					엽수 (매)	모양	길이 (cm)	가장자리 열편	결각의 정도	결각의 크기	거치의 정도	녹색의 정도	안토시아닌 발현강도	평택	털의 수			표면의 물결모양
28397	Advanced/improved cultivar	펴짐	있다	있다	중간	도란형	75.7	전연	없다	작다	없거나 매우 약하다	연하다	없다	약함	없거나 매우 적다	약함	없다	약함
28659		펴짐	있다	있다	중간	도란형	71	전연	없다	작다	없거나 매우 약하다	진하다	없다	중간	없거나 매우 적다	약함	약함	약함

부표 17. 2009년도 특성평가 갖의 중륵과 엽병 특성 및 뿌리비대성, 추대성, 결구성

도입 번호	품종(계통)명	중륵			중륵 및 엽병 후	엽병						뿌리 비대성	추대성	결구성
		횡단면의 모양	폭	두께		꼬임	엽초	녹색의 강도	안토시아닌 색소	길이	폭			
28397	Advanced/improved cultivar	반원형	좁다	얇다		없거나 매우 약함	있다	열다	없다	16	5.7	있다	늦다	없다
28659		반원형	좁다	얇다		없거나 매우 약함	없다	중간	없다	23.3	3.7	있다	늦다	없다

부표 18. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																	중륵	중륵 너비 (cm)	중륵색
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 착색	평택	털의 다소	세로로 자른면 모양	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로 자른면 모양			
10074	舞の海	24.7	수평이다	25.8	15.2	좁은 달갈형	몽특한 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	적다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	25.2	4.7	흰색
10075	ブチヒリ	40.7	곧추서다	36.7	21.3	거꾸로 세운 달갈형	둥근모양	적다	중간	녹색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	평평하다	36.7	6.7	흰색
10077	黄味小町	30.0	수평이다	29.0	21.2	넓은 달갈형	둥근모양	중간	중간	회록색		있다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	29.0	6.3	연녹색
10078	チヒリ70	36.7	곧추서다	32.7	16.3	긴 타원형	둥근모양	적다	작다	황록색		있다	약하다	중간	오목하다	중간	중간	심하다	볼록하다	32.7	4.3	연녹색
10079	晩鐘(バンキ)	38.0	수평이다	34.2	20.0	좁은 달갈형	둥근모양	많다	작다	황록색		없다	약하다	중간	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	34.2	7.2	연녹색
10080	松島新2号	37.0	약간 서다	33.7	19.3	긴 타원형	둥근모양	중간	크다	녹색	열다	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	평평하다	33.7	6.2	흰색
10081	花心白菜	39.0	곧추서다	35.2	23.3	거꾸로 세운 달갈형	둥근모양	적다	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	약하다	평평하다	35.2	6.0	연녹색
10082	めんこい	34.3	약간 서다	29.7	18.5	거꾸로 세운 달갈형	몽특한 모양	많다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	29.7	4.7	흰색
10085	黄月90	32.0	곧추서다	30.2	18.3	긴 타원형	둥근모양	적다	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	30.2	4.7	연녹색
10086	黄月70	26.3	수평이다	25.0	18.8	긴 타원형	평평한 모양	적다	작다	회록색		있다	약하다	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	25.7	4.3	연녹색
10087	榮黄	35.3	약간 서다	35.3	26.3	거꾸로 세운 달갈형	둥근모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	중간	평평하다	34.3	7.2	연녹색
10088	坂東白菜	32.8	수평이다	31.8	17.2	넓은 달갈형	둥근모양	중간	중간	회록색		있다	중간	중간	오목하다	중간	없다	약하다	평평하다	31.8	6.7	연녹색
10090	かすみ白菜	35.0	약간 서다	31.9	27.3	넓은 달갈형	몽특한 모양	적다	작다	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	평평하다	31.9	6.7	연녹색
10093	愛姫(Megohime)	29.8	수평이다	27.7	16.8	좁은 달갈형	몽특한 모양	많다	중간	황록색		없다	약하다	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	27.3	4.5	연녹색
10099	華黄はなき	37.3	약간 서다	37.0	21.8	긴 타원형	둥근모양	중간	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	37.0	6.3	연녹색

부표 18. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색깔강도	안토시아닌 색소	평택	털의 다소	세로 자른면 단곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중록 가로자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록 색
10100	レタサイ	27.3	수평이다	24.5	17.3	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	약하다	평평하다	24.5	5.0	흰색
10101	味榮 みばえ	34.0	약간 서다	35.1	29.5	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	없다	약하다	적다	평평하다	중간	중간	중간	평평하다	31.0	10.0	흰색
10103	野崎123ひふみ	31.0	곧추서다	32.0	26.1	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	불룩하다	32.0	8.3	흰색
10106	力 ちから	33.3	약간 서다	38.0	24.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	많다	크다	녹색	적다	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	실하다	중간	중간	평평하다	38.0	7.7	흰색
10108	黄おおよるこび白菜	32.0	약간 서다	31.9	17.7	긴 타원형	둥근모양	중간	중간	황록색		있다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	31.9	5.4	연녹색
10120	雨病のぞみ6日	38.0	약간 서다	36.9	25.4	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불룩하다	36.9	7.7	연녹색
10121	のぞみ6日白菜	30.0	수평이다	29.7	21.2	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		있다	중간	적다	평평하다	약하다	없다	중간	평평하다	29.7	7.3	연녹색
10123	白榮白菜	37.3	약간 서다	36.0	25.8	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	평평하다	36.0	7.7	흰색
10124	鮮黄	34.7	약간 서다	29.0	18.3	좁은 달걀형	둥근모양	중간	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	29.0	5.0	흰색
10125	彩黄	35.3	약간 서다	31.6	24.1	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	31.6	6.8	흰색
10132	冬苣 Fuyusae	36.0	약간 서다	34.8	22.5	넓은 달걀형	둥근모양	많다	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	34.8	6.5	흰색
10134	王將	42.3	약간 서다	40.7	29.2	넓은 달걀형	평평한 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	불룩하다	40.7	7.3	흰색
10136	千勝	33.7	수평이다	30.3	18.9	넓은 달걀형	평평한 모양	중간	중간	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	30.3	5.3	흰색
10137	金將	42.0	약간 서다	36.8	26.2	넓은 달걀형	평평한 모양	중간	작다	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	평평하다	36.8	8.8	흰색
10143	サラダ	29.3	수평이다	26.5	17.3	넓은 달걀형	평평한 모양	많다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	26.5	5.0	흰색

부표 18. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색깔강도	안토시아닌 색소	평택	털의 다소	세로 자른면 단곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중록 가로자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록 색
10145	大福206	42.0	약간 서다	35.2	22.6	좁은 달걀형	평평한 모양	적다	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	불룩하다	35.2	6.3	연녹색
10146	大福	31.7	약간 서다	31.3	19.8	거꾸로 세운 달걀형	평평한 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	31.3	6.0	연녹색
10147	大福75	34.3	약간 서다	32.0	22.3	거꾸로 세운 달걀형	평평한 모양	중간	크다	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	32.0	6.0	연녹색
10148	晩抽大福	33.3	수평이다	29.9	19.5	좁은 달걀형	평평한 모양	적다	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	29.9	6.2	흰색
10149	新世黄	33.7	약간 서다	33.0	21.3	좁은 달걀형	평평한 모양	중간	중간	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	중간	평평하다	33.0	7.0	흰색
10150	ちゃぼ白菜	30.3	약간 서다	27.7	19.7	넓은 달걀형	평평한 모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	27.7	5.3	흰색
10154	めだか	35.5	약간 서다	32.3	20.0	좁은 달걀형	둥근모양	중간	중간	회록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	32.3	6.2	흰색
10156	黄久娘65	38.0	약간 서다	31.8	19.3	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	31.8	7.0	흰색
10158	黄久娘80	34.0	약간 서다	32.0	19.7	거꾸로 세운 달걀형	평평한 모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	평평하다	32.0	7.0	흰색
10159	寒みどり	40.5	약간 서다	37.7	24.2	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	적다	있다	중간	중간	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	36.7	5.8	흰색
10163	金閣 65白菜	35.0	약간 서다	33.2	25.0	넓은 달걀형	평평한 모양	적다	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	32.0	5.0	연녹색
10164	金閣 75白菜	34.7	약간 서다	33.1	23.8	넓은 달걀형	평평한 모양	적다	크다	녹색	적다	없다	중간	적다	평평하다	중간	없다	약하다	평평하다	31.7	6.0	연녹색
10168	春陽	31.7	약간 서다	26.5	21.0	원형	둥근모양	많다	작다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	약하다	평평하다	26.2	6.7	흰색
10169	泰黄60	37.0	약간 서다	33.7	27.0	넓은 달걀형	평평한 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	32.0	6.3	흰색

부표 18. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안도 시아닌 색소	팽태	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
10172	黄芯さやか	28.3	부간서다	25.5	15.2	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	중간	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	25.0	5.5	흰색
10173	南山	31.7	부간서다	29.0	24.2	원형	둥근 모양	중간	크다	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	27.8	6.7	흰색
10174	聖徳	31.3	부간서다	32.8	22.5	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	31.5	4.5	연녹색
10175	春秋	35.0	부간서다	30.0	20.8	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	작다	녹색	있다	있다	중간	적다	오목하다	중간	없다	약하다	평평하다	29.5	7.0	흰색
10177	隆徳	38.2	부간서다	36.2	25.5	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	35.0	5.8	연녹색
대조 품종	불입3호	37.2	약간 서다	34.3	23.8	좁은 달걀형	둥근 모양	많다	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	32.7	6.7	흰색
	불입플러스	37.3	약간 서다	34.5	22.1	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	작다	녹색	있다	없다	중간	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	34.6	5.5	연녹색
	황성골드	34.3	평이다	32.8	23.7	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	작다	황록색		있다	약하다	적다	평평하다	약하다	심하다	약하다	평평하다	30.3	5.5	흰색
	휘파람	31.7	평이다	27.7	21.7	넓은 달걀형	평평한 모양	중간	크다	황록색		있다	중간	중간	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	29.3	5.3	흰색

부표 19. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 구 특성

도입 번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	절구 형태	구 잎 집짐 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	교경이 선단 모양
10074	舞の海	8.0	11.2	달걀형	열림		녹색	없다	중간	노랑색	약하다	평평한 모양
10075	アチヒリ	29.0	14.0	긴장타원형	반열림		노랑		약하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양
10077	黄味小町	15.0	8.3	달걀형	열림		노랑		없거나 약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10078	チヒリ70	16.3	11.7	달걀형	열림		연두		없거나 약하다	연한 노랑색	매우약하다	둥근 모양
10079	晩輝 (バンキ)	9.3	11.2	원형	열림		녹색	중간	심하다	연녹색	매우약하다	평평한 모양
10080	松島新2号	16.0	14.3	거꾸로 세운 달걀형	열림		흰색		중간	연한 노랑색	매우약하다	둥기형
10081	花心白菜	21.5	11.3	장타원형	열림		흰색		없거나 약하다	흰색	중간	둥기형
10082	めんこい	17.0	15.7	거꾸로 세운 달걀형	열림		흰색		심하다	연한 노랑색	약하다	둥근 모양
10085	黄月90	13.0	9.3	긴장타원형	열림		노랑		약하다	노랑색	매우약하다	둥기형
10086	黄月70	7.2	8.0	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		심하다	노랑색	매우약하다	둥기형
10087	榮黄	21.8	13.0	장타원형	반열림		연두		심하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양
10088	坂東白菜	11.7	12.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	연한 노랑색	매우약하다	둥근 모양
10090	かすみ白菜	20.5	13.3	달걀형	닫힘	중간	흰색		없거나 약하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양
10093	愛姫 (Meghime)	13.3	10.3	타원형	열림		연두		약하다	연한 노랑색	약하다	둥근 모양
10099	華黄 はなき	22.0	13.3	타원형	반열림		연두		중간	연한 노랑색	중간	둥기형
10100	レタサイ	12.0	10.8	원형	열림		연두		심하다	연녹색	매우약하다	둥기형
10101	味菜 みばえ	20.0	15.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		노랑		심하다	노랑색	중간	둥기형
10103	野崎123ひふみ	19.2	10.0	장타원형	반열림		노랑		없거나 약하다	연한 노랑색	강하다	둥기형
10106	力 ちから	20.5	14.0	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		중간	연한 노랑색	약하다	둥기형
10108	黄およろこひ白菜	16.8	11.8	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10120	耐病のぞみ60日	20.7	13.3	타원형	닫힘	중간	연두		약하다	연한 노랑색	강하다	둥기형

부표 19. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 구 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양
10121	のぞみ60日白菜	16.5	11.2	거꾸로 세운 달걀형	열립		흰색		약하다	연한 노랑색	매우약하다	둥근 모양
10123	白榮白菜	23.3	13.8	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	강하다	돌기형
10124	鮮黃	20.5	13.7	타원형	단립	중간	연두		중간	노랑색	중간	둥근 모양
10125	彩黃	23.7	14.3	장타원형	단립	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	평평한 모양
10132	冬苣 Fuyusae	21.0	11.5	거꾸로 세운 달걀형	열립		연두		심하다	연한 노랑색	약하다	둥근 모양
10134	王將	26.8	15.0	장타원형	열립		연두		약하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양
10136	干勝	18.5	14.7	장타원형	열립		연두		약하다	연한 노랑색	매우약하다	둥근 모양
10137	金將	27.9	13.5	장타원형	열립		흰색		없거나 약하다	연한 노랑색	매우약하다	둥근 모양
10143	サラダ	17.0	11.7	거꾸로 세운 달걀형	열립		연두		심하다	흰색	매우약하다	돌기형
10145	大福206	24.0	13.0	장타원형	열립		노랑		약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10146	大福	16.8	15.0	거꾸로 세운 달걀형	열립		녹색	중간	약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10147	大福75	21.7	14.3	거꾸로 세운 달걀형	열립		연두		약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10148	晩抽大福	13.2	13.3	원형	열립		녹색	얼다	약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10149	新世黃	23.3	14.3	장타원형	열립		연두		없거나 약하다	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10150	ちゃぼ白菜	20.0	13.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립		연두		중간	연한 노랑색	약하다	돌기형
10154	めだか	21.1	12.3	장타원형	단립	중간	흰색		약하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양
10155	耐性アボロ60	17.8	13.7	거꾸로 세운 달걀형	열립		연두		중간	연한 노랑색	약하다	둥근 모양
10156	黃久娘65	23.0	12.8	거꾸로 세운 달걀형	열립		노랑		중간	노랑색	약하다	둥근 모양
10158	黃久娘80	14.7	11.0	타원형	열립		연두		중간	노랑색	매우약하다	둥근 모양
10159	寒みどり	16.7	14.2	타원형	열립		녹색	중간	매우심하다	진한 노랑색	매우약하다	평평한 모양

부표 19. 2010년도 특성평가 일본 수집종 배추의 구 특성(계속)

도입 번호	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양
10163	金閣65白菜	15.8	11.3	타원형	단립	중간	연두		매우심하다	진한 노랑색	강하다	평평한 모양
10164	金閣75白菜	17.0	14.3	타원형	단립	약하다	연두		심하다	진한 노랑색	약하다	돌기형
10168	春陽	16.8	11.2	원형	열립		흰색		심하다	흰색	매우약하다	평평한 모양
10169	泰黃60	19.7	13.5	타원형	단립	심하다	연두		심하다	노랑색	강하다	평평한 모양
10172	黃芯さやか	12.0	11.8	원형	열립		녹색	중간	심하다	연녹색	매우약하다	평평한 모양
10173	南山	14.7	11.7	타원형	단립	심하다	연두		없거나 약하다	노랑색	중간	돌기형
10174	聖德	12.8	11.3	원형	단립	중간	연두		심하다	연한 노랑색	중간	평평한 모양
10175	春秋	16.5	10.5	타원형	반열립		연두		심하다	노랑색	매우약하다	평평한 모양
10177	隆德	17.0	12.2	타원형	반열립		연두		심하다	진한 노랑색	약하다	평평한 모양
대조품종	불암3	19.5	12.2	달걀형	단립	심하다	연두		심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
	불암플러스	18.2	13.2	원형	열립		녹색	얼다	심하다	진한 노랑색	약하다	평평한 모양
	황성골드	10.0	10.8	원형	열립		녹색	진하다	심하다	진한 노랑색	매우약하다	평평한 모양
	휘파람	8.3	17.3	원형	열립		녹색	진하다	매우심하다	연녹색	매우약하다	평평한 모양

부표 20. 2010년도 특성평가 중국 수집종 선발 배추 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성

도입번호	품종(계통)명 또는 교배조합	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로 자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
26105	綠陽58	35.7	약간 서다	31.5	25.3	넓은 달걀형	등특한 모양	많다	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	30.2	6.7	연녹색
26110	秋玉一号F1	35.3	곧추 서다	34.8	18.6	긴 타원형	평평한 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	적다	평평하다	약하다	중간	약하다	평평하다	34.3	6.5	녹색
26115	金秋	40.5	곧추 서다	37.0	23.7	긴 타원형	등근 모양	적다	작다	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	34.7	5.5	연녹색
26118	清白75	41.5	곧추 서다	38.0	22.8	거꾸로 세운 달걀형	등근 모양	중간	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	33.3	6.0	연녹색
26120	秋抗3号	41.0	곧추 서다	37.2	27.0	넓은 달걀형	등근 모양	적다	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	36.0	6.3	연녹색
26122	多抗十号	38.0	약간 서다	33.5	24.2	원형	등근 모양	많다	중간	회록색		있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	약하다	평평하다	33.5	7.7	연녹색
26128	津冠75	46.2	곧추 서다	44.5	24.7	긴 타원형	등근 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	평평하다	심하다	중간	중간	평평하다	42.7	6.2	연녹색
26130	義和秋 (一)	38.0	곧추 서다	31.5	22.3	넓은 달걀형	등근 모양	적다	작다	회록색		있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	볼록하다	31.2	5.2	연녹색
26140	青綠王	46.0	곧추 서다	43.3	26.2	긴 타원형	등특한 모양	많다	크다	녹색	얕다	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	42.3	7.3	흰색

부표 20. 2010년도 특성평가 중국 수집종 선발 배추 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입번호	품종(계통)명 또는 교배조합 (우/중)	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로 자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
	26110/26105	36.0	곧추 서다	34.2	25.0	원형	등근 모양	적다	크다	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	32.7	5.0	녹색
	26110/26120	37.8	곧추 서다	35.3	25.3	거꾸로 세운 달걀형	등근 모양	많다	크다	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	중간	평평하다	34.3	6.0	연녹색
	26110/26130	34.7	곧추 서다	32.5	20.8	넓은 달걀형	등근 모양	많다	작다	녹색	얕다	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	심하다	중간	중간	평평하다	31.0	6.2	연녹색
	26115/26105	40.2	약간 서다	36.4	24.5	긴 타원형	등근 모양	적다	크다	녹색	얕다	있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	35.7	6.4	녹색
	26115/26120	42.7	약간 서다	39.3	27.0	원형	등근 모양	적다	크다	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	37.3	5.7	녹색
	26118/26105	49.3	곧추 서다	43.2	28.5	거꾸로 세운 달걀형	등근 모양	중간	크다	녹색	질다	없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	약하다	볼록하다	36.0	5.4	연녹색
	26118/26120	43.0	곧추 서다	39.1	24.7	긴 타원형	등근 모양	많다	크다	녹색	질다	없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	심하다	중간	약하다	볼록하다	33.0	6.5	흰색
	26118/26130	45.2	곧추 서다	39.7	30.5	좁은 달걀형	등근 모양	적다	크다	녹색	얕다	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	평평하다	39.0	6.8	연녹색
	26122/26105	36.0	곧추 서다	32.8	23.8	거꾸로 세운 달걀형	등근 모양	적다	작다	녹색	질다	없다	약하다	적다	평평하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	29.7	6.3	흰색

부표 20. 2010년도 특성평가 중국 수집종 선발 배추 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

도입번호	품종(계통명 또는 교배조합)	식물체 키 (cm)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 폭	가장자리 결각	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중록 가로자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록 색
	26122/26130	38.0	약간 서다	34.3	26.2	원형	둥근모양	많다	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	심하다	약하다	평평하다	33.8	6.7	흰색
	26130/26118	43.7	곧추 서다	42.3	24.5	긴 타원형	둥근모양	많다	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	심하다	심하다	심하다	평평하다	42.0	7.2	흰색
	26130/26128	40.7	곧추 서다	37.2	19.5	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	많다	작다	회록색		있다	약하다	많다	오목하다	심하다	심하다	중간	평평하다	36.5	6.8	녹색
	26130/26140	46.0	곧추 서다	40.3	25.8	긴 타원형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	평평하다	39.7	7.0	연녹색
대조품종	불암3호	37.2	약간 서다	34.3	23.8	좁은 달걀형	둥근모양	많다	작다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	32.7	6.7	흰색
	불암플러스	37.3	약간 서다	34.5	22.1	넓은 달걀형	둥근모양	적다	작다	녹색	적다	없다	중간	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	평평하다	34.6	5.5	연녹색
	황성골드	34.3	수평이다	32.8	23.7	좁은 달걀형	둥근모양	적다	작다	황록색		있다	약하다	적다	평평하다	약하다	심하다	약하다	평평하다	30.3	5.5	흰색
	회파람	31.7	수평이다	27.7	21.7	넓은 달걀형	평평한모양	중간	크다	황록색		있다	중간	중간	평평하다	약하다	없다	약하다	평평하다	29.3	5.3	흰색

부표 21. 2010년도 특성평가 중국 수집종 선발 배추 및 교배조합의 구 특성

도입번호 또는 교배조합 (우/상)	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 잎 결장도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고개가 선단 모양
26105	綠陽58	20.3	13.2	장타원형	단함	심하다	연두		매우심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
26110	秋玉一号F ₁	17.2	9.4	장타원형	열림		연두		심하다	노랑색	매우약하다	평평한 모양
26115	金秋	16.0	11.3	장타원형	열림		녹색	진하다	심하다	연한 노랑색	약하다	평평한 모양
26118	清白75	30.0	9.2	장타원형	반열림		연두		약하다	노랑색	매우약하다	평평한 모양
26120	秋抗3号	28.7	12.5	달걀형	반열림		연두		심하다	연한 노랑색	약하다	평평한 모양
26122	多抗十号	18.3	11.8	원형	열림		연두		매우심하다	노랑색	약하다	평평한 모양
26128	津冠75	27.3	8.8	긴장타원형	열림		연두		심하다	흰색	약하다	평평한 모양
26130	義和秋 (-)	21.3	10.2	장타원형	단함	중간	연두		없거나 약하다	연한 노랑색	매우약하다	돌기형
26140	青綠王	23.7	10.3	긴장타원형	열림		연두		심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
26110/26105		18.0	11.7	달걀형	단함	심하다	연두		심하다	노랑색	강하다	평평한 모양
26110/26120		18.3	11.2	장타원형	열림		연두		심하다	연한 노랑색	약하다	평평한 모양
26110/26130		18.5	11.0	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		심하다	노랑색	중간	평평한 모양
26115/26105		19.2	11.2	달걀형	열림		녹색	진하다	심하다	진한 노랑색	약하다	돌기형
26115/26120		23.2	12.0	장타원형	열림		연두		심하다	진한 노랑색	약하다	평평한 모양
26118/26105		27.2	13.2	장타원형	단함	심하다	연두		중간	노랑색	강하다	돌기형
26118/26120		24.0	10.0	긴장타원형	열림		연두		심하다	노랑색	매우약하다	평평한 모양

부표 21. 2010년도 특성평가 중국 수집종 선발 배추 및 교배조합의 구 특성(계속)

도입번호 또는 교배조합 (우/상)	품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 잎철 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고개가 선단 모양
26118/26130		26.8	9.8	장타원형	열림		연두		심하다	연한 노랑색	매우약하다	평평한 모양
26122/26105		20.5	12.7	달걀형	닫힘	심하다	연두		중간	노랑색	약하다	평평한 모양
26122/26130		20.6	14.7	원형	닫힘	심하다	연두		심하다	연한 노랑색	강하다	평평한 모양
26130/26118		27.7	9.2	긴장타원형	열림		연두		심하다	노랑색	약하다	평평한 모양
26130/26128		24.7	9.4	긴장타원형	열림		연두		매우심하다	흰색	중간	평평한 모양
26130/26140		27.7	11.2	긴장타원형	열림		연두		없거나 약하다	노랑색	매우약하다	평평한 모양
대조품종	불암3호	19.5	12.2	달걀형	닫힘	심하다	연두		심하다	연한노랑색	약하다	돌기형
	불암플러스	18.2	13.2	원형	열림		녹색	열다	심하다	진한노랑색	약하다	평평한 모양
	황성골드	10.0	10.8	원형	열림		녹색	진하다	심하다	진한노랑색	매우약하다	평평한 모양
	휘파람	8.3	17.3	원형	열림		녹색	진하다	매우심하다	연녹색	매우약하다	평평한 모양

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색갈 강도	안토시아닌 색소	광택	틸의 다소	세로 자른면 단면	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 틀니모양	중록 가로자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록색
26110-46	38.0	0.98	약간서다	32.0	17.0	긴 타원형	등근 모양	중간	작다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	약하다	블록하다	32.0	4.2	연녹색
26110-103	38.7	1.55	곧추서다	40.7	23.3	넓은 달걀형	등근 모양	많다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	블록하다	40.7	4.7	연녹색
26110-106	37.0	1.52	약간서다	36.7	20.3	좁은 달걀형	등근 모양	중간	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	중간	블록하다	36.7	5.3	연녹색
26110-108	37.7	1.31	곧추서다	37.3	17.7	긴 타원형	등근 모양	많다	중간	녹색	질다	없다	강하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	블록하다	37.3	4.7	연녹색
26110-110	35.0	1.77	곧추서다	35.3	19.0	좁은 달걀형	등근 모양	많다	크다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	약하다	블록하다	35.3	5.3	연녹색
26110-106	30.3	1.17	약간서다	30.0	14.3	긴 타원형	등근 모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	블록하다	30.0	9.3	연녹색
26110-119	36.3	1.30	약간서다	32.3	15.5	긴 타원형	등근 모양	적다	작다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	중간	블록하다	32.3	5.2	연녹색
26110-124	41.7	1.74	곧추서다	39.7	18.0	긴 타원형	등근 모양	많다	작다	황록색		있다	중간	적다	오목하다	중간	중간	약하다	블록하다	39.7	4.0	흰색
26110-130	28.7	1.39	약간서다	28.3	14.7	좁은 달걀형	등근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	블록하다	28.3	4.3	연녹색
26110-132	41.3	2.27	곧추서다	38.7	19.3	좁은 달걀형	등근 모양	많다	크다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	블록하다	38.7	5.3	연녹색
26110-139	28.0	0.81	약간서다	26.3	15.3	긴 타원형	등근 모양	중간	중간	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	심하다	블록하다	26.3	4.2	연녹색
26110-142	34.0	1.29	약간서다	29.7	19.0	긴 타원형	등근 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	중간	블록하다	29.7	4.8	연녹색
26110-151	30.0	0.66	약간서다	27.3	13.7	긴 타원형	평평한 모양	적다	작다	황록색		없다	약하다	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	블록하다	27.3	4.3	연녹색
26110-161	38.0	1.24	약간서다	35.7	18.3	긴 타원형	등근 모양	많다	크다	황록색		없다	강하다	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	약하다	블록하다	35.7	4.5	연녹색

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 색소	평택	털의 다소	세로 자른면의 곡률	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
26110-166	34.3	1.51	약간 서다	31.7	19.7	거꾸로 세운 달걀형	평평한 모양	적다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	중간	불록하다	31.7	4.3	연녹색
26110-170	44.3	1.70	약간 서다	38.3	21.7	긴 타원형	둥근 모양	중간	크다	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	38.3	5.7	연녹색
26110-173	46.0	1.89	약간 서다	41.3	22.0	긴 타원형	둥근 모양	많다	크다	황록색		있다	약하다	적다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	41.3	5.7	연녹색
26110-179	35.7	2.33	곧추서다	31.0	16.8	긴 타원형	둥근 모양	많다	적다	녹색	적다	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	심하다	없다	약하다	불록하다	31.0	5.8	연녹색
26110-181	35.7	1.43	약간 서다	32.3	22.3	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	중간	불록하다	32.3	5.0	연녹색
26110-184	44.7	2.61	곧추서다	39.3	23.7	긴 타원형	둥근 모양	많다	크다	녹색	적다	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	39.3	6.7	연녹색
26110-190	38.0	1.26	약간 서다	38.0	25.0	좁은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	38.0	4.3	연녹색
26110-191	37.0	0.90	약간 서다	35.7	20.0	좁은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	적다	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	중간	불록하다	35.7	4.3	연녹색
26110-219	37.7	1.07	약간 서다	35.0	20.3	좁은 달걀형	평평한 모양	적다	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	중간	불록하다	35.0	5.3	연녹색
26110-234	43.0	1.38	약간 서다	40.7	26.3	긴 타원형	몽퉁한 모양	많다	크다	황록색		있다	강하다	적다	오목하다	심하다	심하다	약하다	불록하다	40.7	6.7	연녹색
26110-237	33.7	0.97	곧추서다	32.7	13.3	긴 타원형	둥근 모양	많다	적다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	약하다	불록하다	32.7	4.0	연녹색
26110-242	33.3	1.44	약간 서다	31.3	19.3	긴 타원형	둥근 모양	중간	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	31.3	5.5	연녹색
26110-246	38.3	1.35	약간 서다	34.0	18.3	좁은 달걀형	평평한 모양	적다	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	약하다	불록하다	34.0	5.3	연녹색
26110-257	40.3	1.54	약간 서다	37.3	21.5	긴 타원형	몽퉁한 모양	적다	중간	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	평평하다	중간	심하다	약하다	평평하다	37.3	4.7	연녹색

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈 강도	안토시아닌 색소	평택	털의 다소	세로 자른면의 곡률	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
26110-269	32.3	1.33	곧추서다	30.3	16.7	좁은 달걀형	몽퉁한 모양	많다	적다	황록색		없다	강하다	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	약하다	불록하다	30.3	5.3	연녹색
26110-272	33.3	1.25	수평이다	32.0	21.0	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	22.0	4.3	연녹색
26110-275	36.7	1.30	약간 서다	36.0	21.3	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	36.0	5.0	연녹색
26110-280	43.3	1.33	곧추서다	44.3	25.3	긴 타원형	평평한 모양	많다	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	심하다	불록하다	44.3	5.7	연녹색
26110-281	38.3	1.66	약간 서다	38.7	22.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	약하다	불록하다	38.7	6.3	연녹색
27263-38	46.0	1.68	곧추서다	44.7	20.8	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	44.7	18.8	연녹색
27263-57	29.7	0.85	수평이다	25.7	16.0	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	25.7	3.2	연녹색
27263-74	32.0	0.75	수평이다	31.0	12.3	긴 타원형	둥근 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	31.3	2.3	연녹색
27263-78	46.7	1.76	수평이다	40.0	21.7	넓은 달걀형	몽퉁한 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	적다	오목하다	중간	없다	약하다	불록하다	40.0	2.2	연녹색
27263-95	41.0	1.20	약간 서다	32.2	17.3	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	심하다	불록하다	32.2	2.2	연녹색
27263-112	33.3	0.58	약간 서다	33.0	18.0	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	32.7	4.0	연녹색
27263-114	43.3	1.31	약간 서다	38.2	16.7	긴 타원형	몽퉁한 모양	적다	크다	황록색		있다	강하다	없거나 약하다	오목하다	중간	없다	약하다	불록하다	38.2	3.0	연녹색
27263-116	37.0	0.63	수평이다	34.7	16.7	긴 타원형	평평한 모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	34.7	2.7	연녹색
26164-16	47.0	2.33	수평이다	46.7	26.3	긴 타원형	몽퉁한 모양	적다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	46.7	6.5	연녹색

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎														중특 가로자본면 모양	중특 길이 (cm)	중특 너비 (cm)	중특색		
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자본면 안곡	가장자리 물결모양					가장자리 결각	가장자리 톱니모양
26164-17	49.0	2.82	곧추서다	46.3	32.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	49.0	7.0	연녹색
26164-24	37.7	1.48	수평이다	34.3	21.0	좁은 달걀형	둥근모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	심하다	약하다	불록하다	34.3	5.0	연녹색
26164-26	33.7	2.01	약간서다	37.0	24.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	약하다	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	37.0	6.7	녹색
26128-4	48.7	2.08	곧추서다	54.7	30.3	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	49.7	7.0	연녹색
10077	37.7	1.96	곧추서다	35.3	23.0	좁은 달걀형	둥근모양	많다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	약하다	불록하다	35.3	6.2	연녹색
10081	49.7	2.55	곧추서다	46.8	28.5	긴 타원형	둥근모양	적다	크다	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	중간	불록하다	46.8	6.5	흰색
10082	40.3	3.46	곧추서다	42.3	28.0	좁은 달걀형	둥근모양	많다	크다	녹색	얇다	있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	42.3	8.7	흰색
10087	29.3	1.86	곧추서다	28.0	19.3	넓은 달걀형	둥근모양	많다	작다	녹색	질다	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	28.0	5.7	흰색
10090	40.0	3.54	곧추서다	38.5	28.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		있다	중간	적다	오목하다	심하다	심하다	약하다	불록하다	38.5	7.7	흰색
10101	42.3	3.32	곧추서다	38.0	26.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	작다	황록색		있다	중간	적다	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	38.0	8.0	흰색
10103	41.3	3.26	곧추서다	39.3	29.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	크다	황록색		있다	중간	적다	오목하다	약하다	중간	약하다	불록하다	39.3	8.2	흰색
10108	41.3	3.12	곧추서다	39.3	27.0	좁은 달걀형	둥근모양	적다	중간	황록색		있다	중간	중간	오목하다	약하다	없다	중간	불록하다	39.3	7.0	연녹색
10120	44.7	3.65	곧추서다	42.3	28.7	좁은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	심하다	심하다	불록하다	42.3	8.0	연녹색

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎														중특 가로자본면 모양	중특 길이 (cm)	중특 너비 (cm)	중특색		
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자본면 안곡	가장자리 물결모양					가장자리 결각	가장자리 톱니모양
10123	39.3	2.96	곧추서다	38.7	26.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.7	7.7	흰색
10124	41.3	2.65	곧추서다	41.0	27.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	41.0	6.7	연녹색
10125	39.3	3.54	곧추서다	37.0	28.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	많다	중간	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	심하다	불록하다	37.3	7.8	흰색
10148	46.7	3.31	곧추서다	43.7	29.0	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	43.7	8.0	연녹색
10149	45.3	3.22	곧추서다	39.3	25.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	많다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	39.3	5.8	연녹색
10154	37.0	3.18	곧추서다	34.0	25.3	좁은 달걀형	둥근모양	많다	중간	황록색		있다	중간	중간	오목하다	중간	중간	중간	불록하다	34.0	7.7	흰색
10168	42.3	3.39	곧추서다	39.0	29.3	좁은 달걀형	둥근모양	많다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	39.0	8.2	흰색
10169	39.3	2.14	곧추서다	36.3	26.0	좁은 달걀형	둥근모양	많다	중간	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	불록하다	36.3	7.0	연녹색
10172	40.3	3.79	곧추서다	38.0	23.0	긴 타원형	둥근모양	많다	중간	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	38.0	7.3	흰색
10175	42.7	3.43	곧추서다	36.3	28.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	불록하다	35.3	7.2	흰색
27136/27267	40.3	2.52	약간서다	36.0	24.7	넓은 달걀형	둥근모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	적다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	36.0	6.7	흰색
27137/27136	41.0	2.77	곧추서다	43.0	30.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	불록하다	43.0	7.0	흰색
27137/27138	52.3	2.45	곧추서다	46.7	29.3	긴 타원형	둥근모양	중간	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	평평하다	심하다	심하다	중간	불록하다	46.7	7.8	흰색

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로자른면곡	가장자리 불결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27137/27139	51.0	203	약간 서다	47.7	26.3	긴 타원형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	중간	블록하다	47.7	7.3	흰색
27137/27140	46.0	297	곧추서다	42.7	24.8	좁은 달걀형	동근모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	심하다	심하다	블록하다	35.8	6.3	흰색
27137/27143	54.0	315	약간 서다	48.7	31.0	긴 타원형	동근모양	적다	크다	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	블록하다	48.7	7.3	흰색
27137/27145	52.0	287	곧추서다	48.0	27.7	긴 타원형	동근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	약하다	블록하다	48.0	7.7	연녹색
27137/27156	42.7	319	곧추서다	43.0	27.0	긴 타원형	동근모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	심하다	중간	중간	블록하다	43.0	7.2	흰색
27137/27160	49.3	286	곧추서다	44.3	34.0	넓은 달걀형	몽투함모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	심하다	중간	블록하다	44.3	7.0	흰색
27137/27294	50.7	301	곧추서다	51.0	32.7	거꾸로 세운 달걀형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	블록하다	51.0	8.0	연녹색
27138/27294	55.3	332	곧추서다	54.7	30.3	거꾸로 세운 달걀형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	블록하다	54.7	6.0	연녹색
27140/27145	53.7	289	곧추서다	51.0	33.0	거꾸로 세운 달걀형	몽투함모양	적다	크다	황록색		없다	중간	적다	오목하다	약하다	중간	약하다	블록하다	51.0	7.5	연녹색
27143/27156	47.7	283	곧추서다	47.3	31.3	긴 타원형	몽투함모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	심하다	중간	블록하다	47.3	8.3	흰색
27145/27140	54.3	296	곧추서다	51.7	32.3	넓은 달걀형	동근모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	블록하다	51.7	7.3	연녹색
27156/27143	50.0	376	곧추서다	50.0	33.7	거꾸로 세운 달걀형	동근모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	없다	중간	블록하다	50.0	9.0	흰색
27294/27138	50.7	309	곧추서다	53.3	25.7	긴 타원형	동근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	적다	없거나 약하다	평평하다	중간	중간	중간	블록하다	53.3	8.7	연녹색

부표 22. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로자른면곡	가장자리 불결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
불암플러스	49.3	316	곧추서다	46.2	27.7	긴 타원형	동근모양	적다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	중간	블록하다	46.2	7.7	연녹색
황성골드	43.7	321	곧추서다	43.7	28.3	긴 타원형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	없다	약하다	블록하다	43.7	7.0	연녹색
휘파람	44.7	399	곧추서다	40.3	25.3	좁은 달걀형	동근모양	많다	중간	녹색	적다	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	약하다	블록하다	40.3	8.0	흰색
옥황새알	43.7	437	곧추서다	42.0	30.0	거꾸로 세운 달걀형	동근모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	블록하다	42.0	9.0	흰색
진청	41.3	344	곧추서다	34.7	26.0	거꾸로 세운 달걀형	동근모양	많다	중간	황록색		있다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	블록하다	34.7	8.8	흰색
대통	44.7	333	곧추서다	39.5	25.8	좁은 달걀형	동근모양	많다	중간	녹색	적다	없다	중간	없거나 약하다	오목하다	중간	중간	중간	블록하다	39.5	7.7	흰색
불암3호	45.3	373	곧추서다	41.8	27.2	좁은 달걀형	몽투함모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	오목하다	약하다	중간	약하다	블록하다	41.8	8.0	흰색

부표 23. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 구 특성

품종(계통)명	구										
	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 정도	윗부 분 색	녹 색 정 도	바 깎 잎 요 철	속 색 깔	단 단 한 정 도	고 갱 이 선 단 모 양
26110-46	14.3	5.3	거꾸로 세운 달걀형	열림		녹색	진하다	심하다	연녹색	약하다	돌기형
26110-103	28.5	8.0	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		중간	흰색	약하다	둥근 모양
26110-106	22.3	9.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		중간	노랑색	매우 약하다	돌기형
26110-108	23.7	8.7	긴장타원형	반열림		연두		심하다	진한 노랑 색	매우 약하다	돌기형
26110-110	24.0	10.0	장타원형	단협	중간	노랑		중간	연한 노랑 색	중간	돌기형
26110-116	19.7	9.3	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		약하다	진한 노랑 색	매우 약하다	돌기형
26110-119	15.7	4.7	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		약하다	연녹색	약하다	돌기형
26110-124	28.7	7.7	장타원형	반열림		연두		심하다	연녹색	약하다	돌기형
26110-130	24.0	11.0	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		중간	연한 노랑 색	약하다	돌기형
26110-132	26.7	10.3	장타원형	반열림		연두		중간	노랑색	약하다	돌기형
26110-139	16.3	6.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	노랑색	약하다	둥근 모양
26110-151	16.5	5.5	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		중간	연한 노랑 색	약하다	둥근 모양
26110-161	19.3	7.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	노랑색	약하다	돌기형
26110-173	30.3	9.3	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	연한 노랑 색	약하다	돌기형
26110-179	24.7	7.0	장타원형	열림		녹색	진하다	중간	연한 노랑 색	매우 강하다	돌기형
26110-181	21.0	9.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		중간	흰색	매우 약하다	둥근 모양
26110-184	25.0	12.7	거꾸로 세운 달걀형	열림		녹색	중간	심하다	연한 노랑 색	중간	돌기형

부표 23. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 구 특성(계속)

품종(계통)명	구										
	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 정도	윗부 분 색	녹 색 정 도	바 깎 잎 요 철	속 색 깔	단 단 한 정 도	고 갱 이 선 단 모 양
26110-191	11.0	8.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		녹색	진하다	중간	연녹색	매우 약하다	돌기형
26110-219	12.7	7.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		녹색	진하다	심하다	연녹색	매우 약하다	둥근 모양
26110-234	11.0	4.5	거꾸로 세운 달걀형	열림		녹색	열다	심하다	노랑색	약하다	돌기형
26110-237	17.7	8.7	긴장타원형	열림		연두		심하다	연한 노랑 색	매우 약하다	돌기형
26110-246	14.0	11.7	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	연녹색	매우 약하다	돌기형
26110-269	26.0	10.8	달걀형	반열림		연두		심하다	연한 노랑 색	약하다	돌기형
26110-280	26.7	9.3	긴장타원형	반열림		연두		심하다	흰색	매우 약하다	둥근 모양
26110-281	15.0	10.7	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	연녹색	매우 약하다	돌기형
27263-38	20.0	7.7	장타원형	열림		연두		심하다	연녹색	매우 약하다	둥근 모양
26164-16	17.3	11.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		연두		심하다	연한 노랑 색	매우 약하다	돌기형
26164-17	25.7	10.3	장타원형	반열림		연두		약하다	연한 노랑 색	중간	돌기형
26164-26	17.3	17.0	거꾸로 세운 달걀형	열림		녹색	진하다	심하다	연녹색	매우 약하다	둥근 모양
26128-4	32.7	9.3	긴장타원형	반열림		연두		심하다	연한 노랑 색	약하다	둥근 모양
10077	26.3	14.3	달걀형	단협	중간	연두		심하다	노랑색	중간	둥근 모양
10081	35.0	15.7	긴장타원형	열림		녹색	열다	없거나 약하다	흰색	매우 약하다	돌기형
10082	28.3	16.7	타원형	단협	심하다	연두		심하다	노랑색	중간	돌기형
10087	23.7	13.0	거꾸로 세운 달걀형	반열림		연두		심하다	노랑색	강하다	둥근 모양

부표 23. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 구 특성(계속)

품종(계통)명	구										
	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양
10090	27.0	20.7	타원형	단협	중간	연두		심하다	연한 노랑 색	중간	둥근 모양
10101	26.0	15.7	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	연두		심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	돌기형
10103	25.0	15.3	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	연두		심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	돌기형
10108	26.7	17.3	타원형	반열립		녹색	중간	중간	노랑색	중간	돌기형
10120	20.7	18.0	거꾸로 세운 달걀형	단협	약하다	녹색	중간	심하다	연한 노랑 색	중간	돌기형
10123	25.3	16.0	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	노랑		심하다	연한 노랑 색	심하다	돌기형
10125	23.0	19.0	거꾸로 세운 달걀형	단협	중간	연두		심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	둥근 모양
10148	29.0	18.3	타원형	단협	약하다	녹색	중간	약하다	노랑색	중간	돌기형
10149	25.7	15.3	타원형	단협	심하다	연두		중간	노랑색	매우 강하 다	돌기형
10154	26.0	19.3	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	녹색	진하다	심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	돌기형
10168	25.3	17.0	타원형	단협	심하다	연두		중간	흰색	매우 강하 다	둥근 모양
10169	21.7	15.3	타원형	단협	중간	연두		심하다	노랑색	매우 강하 다	돌기형
10172	26.7	17.7	타원형	반열립		녹색	중간	약하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	둥근 모양
10175	26.3	18.0	타원형	단협	심하다	연두		심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	둥근 모양
27136/27267	24.0	14.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립		연두		중간	흰색	약하다	돌기형
27137/27136	32.7	21.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립		연두		중간	연한 노랑 색	약하다	돌기형
27137/27138	24.0	11.3	거꾸로 세운 달걀형	열립		연두		심하다	노랑색	약하다	둥근 모양

부표 23. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 구 특성(계속)

품종(계통)명	구										
	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구 형태	구 입 깊 정도	윗부분 색	녹색 정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양
27137/27139	23.7	15.3	장타원형	열립		녹색	심하다	약하다	연녹색	매우 약하 다	둥근 모양
27137/27140	28.0	14.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립		연두		심하다	노랑색	강하다	돌기형
27137/27143	33.0	13.7	거꾸로 세운 달걀형	열립		연두		중간	흰색	약하다	돌기형
27137/27145	37.3	16.3	장타원형	반열립		노랑		중간	연한 노랑 색	약하다	돌기형
27137/27156	35.0	15.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립		녹색	열다	심하다	연한 노랑 색	중간	돌기형
27137/27160	31.0	14.0	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	연두		심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	돌기형
27137/27294	25.3	12.3	거꾸로 세운 달걀형	단협	중간	연두		심하다	연한 노랑 색	중간	돌기형
27138/27294	27.5	10.0	장타원형	반열립		노랑		중간	노랑색	중간	돌기형
27140/27145	26.0	10.3	달걀형	열립		녹색	중간	중간	노랑색	약하다	돌기형
27143/27156	30.0	12.0	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	연두		중간	흰색	매우 강하 다	돌기형
27145/27140	25.7	10.3	장타원형	반열립		연두		중간	노랑색	중간	돌기형
27156/27143	34.3	14.7	긴장타원형	반열립		흰색		심하다	연한 노랑 색	중간	돌기형
27294/27138	28.7	14.7	긴장타원형	반열립		연두		심하다	연한 노랑 색	약하다	둥근 모양
불암플러스	27.3	16.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립		녹색	중간	중간	노랑색	중간	돌기형
황성골드	24.0	15.7	타원형	반열립		녹색	중간	심하다	노랑색	매우 강하 다	돌기형
휘과람	29.0	19.7	타원형	반열립		연두		심하다	노랑색	중간	둥근 모양
옥황씨알	30.7	19.0	거꾸로 세운 달걀형	단협	심하다	연두		중간	노랑색	매우 강하 다	둥근 모양
진청	27.7	17.7	타원형	단협	심하다	연두		심하다	연한 노랑 색	매우 강하 다	둥근 모양

부표 23. 2011년도 봄재배 DH라인, 일본종 및 교배조합의 구 특성(계속)

품종(계통)명	구										
	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결 구태	구 잎 침 정도	윗 부 분 색	녹 색 도	바 깎 잎 요 철	속 색 깔	단 단 한 정 도	고 갱 이 선 단 모 양
대통	28.7	17.0	타원형	단합	중간	연두		심하다	노랑색	강하다	둥근 모양
불암3호	28.0	18.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립		연두		중간	연한 노랑 색	강하다	돌기형

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색 강도	안토 시아닌 색소	평백	팅의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중록 가로자른면 모양	중록 길이 (cm)	중록 너비 (cm)	중록색
26110-106	36.7	1.66	곧추서다	34.3	18.0	긴 타원형	평평한 모양	많다	작다	녹색	겉다	있다	강하다	없거나 약하다	볼록하다	심하다	중간	심하다	볼록하다	34.3	5.7	연녹색
26110-108	36.3	1.83	곧추서다	31.8	16.3	긴 타원형	평평한 모양	많다	작다	녹색	겉다	있다	강하다	없거나 약하다	볼록하다	심하다	중간	중간	볼록하다	31.8	5.0	연녹색
26110-130	26.3	1.87	약간서다	25.0	12.3	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	25.0	4.2	흰색
26110-166	34.7	2.27	약간서다	30.3	16.7	좁은 달걀형	평평한 모양	많다	작다	황록색	겉다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	30.3	4.7	흰색
26110-173	40.3	1.68	약간서다	38.0	19.0	좁은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	38.0	5.2	연녹색
26110-179	30.3	1.27	곧추서다	27.0	15.3	좁은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	27.0	6.0	연녹색
26110-234	43.3	3.35	곧추서다	40.3	21.7	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	황록색	중간	없다	중간	중간	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	40.3	8.3	연녹색
26110-237	30.7	1.27	곧추서다	27.0	13.0	긴 타원형	둥근 모양	많다	작다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	심하다	중간	볼록하다	27.0	3.9	연녹색
26110-281	39.0	2.05	곧추서다	37.0	22.7	넓은 달걀형	둥근 모양	많다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	37.0	6.5	연녹색
26110-282	36.3	2.24	약간서다	33.7	18.0	긴 타원형	평평한 모양	적다	작다	황록색		있다	강하다	적다	볼록하다	심하다	중간	중간	볼록하다	33.7	5.5	흰색
26110-283	25.3	1.48	곧추서다	23.3	13.3	좁은 달걀형	둥근 모양	많다	작다	황록색	옆다	없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	심하다	약하다	볼록하다	23.3	4.3	연녹색
26110-284	36.3	1.64	약간서다	32.3	21.0	좁은 달걀형	평평한 모양	적다	중간	황록색	겉다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	32.3	5.8	연녹색
26110-285	42.7	2.31	곧추서다	38.3	23.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	중간	볼록하다	38.3	6.2	녹색
26120-11	35.3	1.99	약간서다	32.7	20.0	긴 타원형	평평한 모양	많다	작다	녹색	중간	있다	강하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	32.7	6.5	흰색
26120-16	40.3	2.63	곧추서다	39.0	25.7	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	중간	볼록하다	39.0	6.5	연녹색
26120-19	36.3	2.76	곧추서다	36.0	19.7	긴 타원형	평평한 모양	많다	중간	황록색	옆다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	36.0	7.2	연녹색
26120-24	41.3	2.86	곧추서다	39.7	23.3	긴 타원형	평평한 모양	많다	중간	황록색		있다	강하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	39.7	7.5	흰색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 단면	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로가른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
26130-2	28.0	2.39	곧추서다	25.3	18.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	작다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	중간	심하다	불록하다	25.3	4.7	연녹색
26148-1	45.0	2.67	약간서다	39.7	17.0	긴 타원형	풍뎉만한 모양	적다	작다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	39.7	6.5	연녹색
26148-17	48.0	3.10	곧추서다	44.7	24.3	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	44.7	8.3	연녹색
26153-28	37.7	2.19	곧추서다	35.3	19.0	긴 타원형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	35.3	6.5	흰색
26153-43	42.3	2.88	곧추서다	40.3	22.7	긴 타원형	풍뎉만한 모양	적다	중간	황록색	열다	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	약하다	불록하다	40.3	6.0	연녹색
26153-61	41.3	2.53	곧추서다	38.3	23.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		있다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.3	6.7	연녹색
26164-30	40.0	2.77	곧추서다	39.0	18.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	39.0	6.0	연녹색
26164-31	36.0	2.71	곧추서다	36.3	21.7	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	36.3	6.2	연녹색
26164-33	24.7	1.33	약간서다	24.7	12.5	긴 타원형	둥근모양	적다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	평평하다	약하다	중간	중간	평평하다	24.7	4.7	연녹색
26164-35	38.3	3.95	곧추서다	34.7	22.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	적다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	34.7	8.2	연녹색
26164-37	46.3	4.76	곧추서다	41.3	24.3	긴 타원형	풍뎉만한 모양	적다	중간	녹색	열다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	41.3	7.3	연녹색
26164-38	43.0	4.05	약간서다	37.3	17.3	긴 타원형	풍뎉만한 모양	중간	작다	황록색	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	중간	중간	평평하다	37.3	6.5	연녹색	
27136-2	27.7	2.06	곧추서다	27.3	15.7	좁은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	27.3	5.8	흰색
27136-24	32.7	1.84	곧추서다	30.7	18.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	중간	약하다	불록하다	30.7	6.3	흰색
27136-25	32.3	1.58	곧추서다	30.3	18.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	30.3	4.3	흰색
27136-31	29.7	2.00	약간서다	30.3	17.3	좁은 달걀형	풍뎉만한 모양	열다	작다	녹색	중간	있다	약하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	30.3	5.3	흰색
27137-1	39.3	1.95	약간서다	37.3	25.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	37.3	5.5	흰색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 단면	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로가른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
27138-3	41.7	1.54	곧추서다	40.0	18.7	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	40.0	5.2	흰색
27138-7	38.7	2.15	약간서다	38.0	20.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.0	4.8	흰색
27138-11	47.0	3.15	곧추서다	46.7	23.7	긴 타원형	둥근모양	적다	크다	녹색	열다	없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	심하다	불록하다	46.7	7.2	흰색
27139-5	54.3	3.89	곧추서다	49.3	23.7	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	49.3	5.7	흰색
27139-11	55.3	3.84	곧추서다	51.3	26.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	51.3	6.0	흰색
27140-1	38.3	3.44	곧추서다	35.3	24.3	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색		없다	강하다	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	중간	불록하다	35.3	7.7	녹색
27140-2	39.7	2.75	곧추서다	33.7	19.7	좁은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	열다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	33.7	7.0	연녹색
27140-4	41.0	2.88	곧추서다	36.0	21.3	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	열다	없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	36.0	6.5	녹색
27140-6	41.0	2.83	곧추서다	35.3	22.3	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	35.3	6.0	녹색
27140-11	37.7	3.36	약간서다	37.3	24.3	좁은 달걀형	풍뎉만한 모양	적다	중간	황록색	질다	없다	강하다	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	37.3	7.7	연녹색
27140-14	39.7	3.30	곧추서다	36.3	23.7	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	36.3	7.7	연녹색
27140-17	37.3	3.13	약간서다	34.0	22.3	긴 타원형	풍뎉만한 모양	적다	중간	황록색	중간	있다	강하다	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	34.0	6.7	연녹색
27140-18	36.7	2.32	약간서다	31.7	21.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	열다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	중간	불록하다	31.7	6.3	연녹색
27140-21	37.7	3.05	곧추서다	34.7	23.0	긴 타원형	풍뎉만한 모양	적다	중간	녹색	중간	있다	강하다	적다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	34.7	7.5	연녹색
27140-22	40.3	3.63	곧추서다	35.0	23.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	중간	중간	불록하다	35.0	6.8	연녹색
27140-25	41.7	3.40	곧추서다	37.0	22.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	37.0	7.0	녹색
27140-26	39.0	3.60	곧추서다	34.7	23.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	약하다	불록하다	34.7	8.8	연녹색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면	가장자리 끝모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로지른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
27140-27	38.0	3.58	약간서다	34.3	23.7	좁은 달걀형	공동한 모양	적다	크다	황록색	깊다	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	34.3	7.5	연녹색
27140-28	38.0	2.74	약간서다	34.3	20.3	긴 타원형	공동한 모양	적다	중간	황록색		있다	강하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	34.3	6.8	연녹색
27140-33	36.7	3.56	약간서다	35.0	22.7	좁은 달걀형	공동한 모양	적다	크다	황록색		있다	강하다	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	35.0	6.7	연녹색
27140-34	38.0	3.02	곧추서다	32.7	20.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	중간	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	중간	불록하다	32.7	6.8	연녹색
27140-35	38.7	3.26	곧추서다	37.0	22.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	37.0	7.5	녹색
27140-38	37.3	3.81	곧추서다	35.0	27.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	크다	황록색	얕다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	약하다	불록하다	35.0	6.2	연녹색
27140-40	36.7	2.81	약간서다	33.7	21.7	긴 타원형	공동한 모양	적다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	33.7	7.0	연녹색
27140-41	40.0	2.65	곧추서다	34.7	21.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	얕다	없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	34.7	6.8	연녹색
27140-44	38.3	2.96	곧추서다	36.0	25.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	36.0	7.2	녹색
27140-48	42.0	3.51	곧추서다	36.3	24.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색		없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	36.3	7.2	녹색
27140-53	39.7	2.54	곧추서다	34.3	21.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	34.3	7.0	연녹색
27140-55	38.7	2.93	곧추서다	34.0	22.7	좁은 달걀형	공동한 모양	적다	크다	녹색	얕다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	중간	불록하다	34.0	6.7	연녹색
27140-59	36.7	3.46	곧추서다	34.3	23.7	좁은 달걀형	공동한 모양	중간	중간	녹색	깊다	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	34.3	7.7	연녹색
27140-68	40.3	3.32	곧추서다	35.0	21.3	좁은 달걀형	공동한 모양	적다	크다	녹색	깊다	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	35.0	7.3	연녹색
27140-75	40.3	3.67	약간서다	34.3	24.0	넓은 달걀형	둥근모양	중간	중간	회록색	얕다	없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	34.3	7.8	연녹색
27140-97	40.7	3.67	곧추서다	35.3	25.3	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	약하다	불록하다	35.3	7.0	녹색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철 수	요철 크기	색갈	색갈도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면	가장자리 끝모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로지른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색
27140-100	39.7	2.55	곧추서다	34.7	21.7	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	중간	불록하다	34.7	7.0	녹색
27140-102	41.0	3.91	곧추서다	38.3	26.3	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.3	7.8	연녹색
27140-108	39.7	3.38	곧추서다	35.7	23.7	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	35.7	7.2	녹색
27140-113	36.3	3.57	곧추서다	36.7	21.7	긴 타원형	둥근모양	적다	중간	녹색	중간	있다	중간	적다	평평하다	심하다	중간	중간	불록하다	36.7	7.2	연녹색
27140-134	40.7	4.10	곧추서다	36.7	24.7	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색	중간	없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	36.7	7.0	연녹색
27140-135	37.7	3.62	약간서다	37.3	25.7	넓은 달걀형	공동한 모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	없다	중간	불록하다	37.3	7.3	연녹색
27140-142	38.7	3.38	곧추서다	35.7	20.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근모양	적다	크다	회록색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	35.7	6.3	녹색
27140-150	44.0	4.71	곧추서다	43.0	28.3	긴 타원형	공동한 모양	적다	중간	회록색		있다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	중간	불록하다	43.0	7.8	연녹색
27143-9	49.3	3.39	곧추서다	43.7	26.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	중간	중간	불록하다	약하다	없다	중간	불록하다	43.7	7.7	연녹색
27143-11	51.7	4.30	곧추서다	47.0	26.7	긴 타원형	둥근모양	적다	중간	녹색	얕다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	심하다	심하다	불록하다	47.0	7.8	흰색
27143-13	51.3	3.84	곧추서다	48.3	30.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	중간	적다	불록하다	중간	없다	약하다	불록하다	48.3	7.8	연녹색
27143-17	54.3	4.75	곧추서다	50.3	31.7	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	50.3	7.7	연녹색
27143-20	49.0	3.34	곧추서다	44.7	24.3	긴 타원형	둥근모양	적다	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	심하다	불록하다	44.7	7.5	흰색
27143-22	56.3	4.24	곧추서다	50.7	27.0	넓은 달걀형	둥근모양	적다	크다	황록색	얕다	없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	50.7	8.0	연녹색
27143-26	49.7	3.85	곧추서다	48.3	28.7	긴 타원형	둥근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	불록하다	중간	심하다	심하다	불록하다	48.3	7.8	흰색
27143-32	52.0	4.87	곧추서다	47.7	24.7	긴 타원형	공동한 모양	적다	작다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	47.7	7.7	연녹색
27143-38	54.0	3.89	곧추서다	51.7	31.7	긴 타원형	공동한 모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	중간	심하다	불록하다	51.7	6.8	연녹색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로자른면 단곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27143-40	54.0	4.22	곧추서다	50.0	28.3	긴 타원형	몽독한 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	불록하다	중간	중간	심하다	불록하다	50.0	8.0	흰색
27143-43	59.0	4.61	곧추서다	55.0	32.7	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	황록색		없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	55.0	8.3	연녹색
27143-45	52.0	4.26	곧추서다	47.7	28.7	긴 타원형	몽독한 모양	중간	크다	녹색	없다	없다	중간	적다	불록하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	47.7	7.7	연녹색
27143-49	47.3	3.71	곧추서다	45.0	26.7	긴 타원형	몽독한 모양	적다	중간	황록색		없다	강하다	적다	불록하다	심하다	중간	심하다	불록하다	45.0	7.3	연녹색
27143-55	32.0	3.45	곧추서다	31.0	26.0	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	황록색	짙다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	없다	중간	불록하다	31.0	8.3	흰색
27156-3	49.3	3.15	곧추서다	40.7	28.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	40.7	6.3	녹색
27156-8	37.3	3.75	곧추서다	34.3	26.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	중간	약하다	불록하다	34.3	8.7	흰색
27156-9	41.0	4.14	곧추서다	39.0	23.7	좁은 달걀형	몽독한 모양	적다	크다	녹색	없다	없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	39.0	9.3	흰색
27156-10	42.0	3.94	곧추서다	38.3	28.7	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.3	9.3	흰색
27156-11	29.3	2.68	곧추서다	29.3	23.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	29.3	7.7	연녹색
27156-13	36.0	2.94	곧추서다	35.7	26.7	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	35.7	8.2	흰색
27156-14	37.7	3.04	곧추서다	35.3	26.3	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	35.3	8.3	흰색
27156-20	35.3	2.44	곧추서다	34.0	21.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	34.0	7.7	흰색
27156-21	35.0	3.13	곧추서다	33.3	27.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	33.3	7.0	흰색
27160-3	44.3	3.19	약간서다	42.7	27.3	긴 타원형	몽독한 모양	적다	중간	녹색	없다	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	42.7	7.2	흰색
27160-4	39.3	2.66	약간서다	35.7	27.3	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	35.7	9.7	흰색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로자른면 단곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27160-16	36.7	2.48	곧추서다	33.7	25.3	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	33.7	7.3	흰색
27160-23	37.3	2.16	곧추서다	35.3	27.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	35.3	6.3	흰색
27259-2	39.0	3.17	곧추서다	37.0	21.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	37.0	7.3	연녹색
27259-4	46.3	2.74	곧추서다	43.3	23.3	긴 타원형	평평한 모양	중간	중간	황록색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	43.3	6.7	녹색
27259-5	43.3	3.17	곧추서다	41.0	23.7	긴 타원형	둥근 모양	넓다	중간	녹색	짙다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	중간	중간	불록하다	41.0	6.5	연녹색
27259-6	32.0	2.06	약간서다	30.0	14.7	긴 타원형	둥근 모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	30.0	6.5	연녹색
27259-8	45.7	3.16	곧추서다	43.3	20.7	긴 타원형	둥근 모양	넓다	크다	회록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	43.3	6.8	녹색
27263-116	32.3	0.94	수평이다	23.7	13.7	긴 타원형	몽독한 모양	적다	작다	황록색	짙다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	23.7	3.2	연녹색
27263-141	52.7	3.17	곧추서다	50.0	22.3	긴 타원형	몽독한 모양	중간	중간	회록색		없다	중간	중간	불록하다	중간	심하다	심하다	불록하다	50.0	7.2	연녹색
27294-7	38.3	2.73	약간서다	37.7	17.7	긴 타원형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	37.7	6.3	연녹색
27294-21	40.3	1.99	곧추서다	40.0	19.3	긴 타원형	둥근 모양	중간	작다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	평평하다	심하다	중간	약하다	불록하다	40.0	7.5	연녹색
27294-45	40.0	2.58	약간서다	33.7	20.0	좁은 달걀형	몽독한 모양	적다	작다	황록색		없다	강하다	없거나 약하다	불록하다	중간	심하다	중간	불록하다	33.7	6.7	흰색
27294-50	39.3	3.01	곧추서다	35.7	20.3	긴 타원형	몽독한 모양	적다	중간	녹색	짙다	있다	강하다	없거나 약하다	불록하다	심하다	심하다	심하다	불록하다	35.7	5.7	연녹색
27294-60	39.7	3.03	수평이다	35.7	15.0	긴 타원형	몽독한 모양	중간	중간	황록색		없다	강하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	35.7	6.8	연녹색
27294-65	44.3	2.93	곧추서다	39.3	18.3	긴 타원형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	39.3	6.8	연녹색
27294-67	39.3	3.53	곧추서다	36.3	20.7	좁은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	36.3	7.3	연녹색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색갈경도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 단곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27294-82	43.7	3.55	약간 서다	40.3	28.7	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	황록색	질다	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	심하다	약하다	중간	볼록하다	40.3	7.3	연녹색
27294-86	48.7	4.62	곧추서다	46.7	30.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	46.7	9.2	녹색
27294-99	39.0	3.42	곧추서다	37.7	23.7	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	열다	없다	중간	적다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	37.7	5.3	연녹색
27294-119	43.0	4.98	곧추서다	41.3	24.0	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	황록색	질다	없다	중간	없거나 약하다	우뚱하다	약하다	없다	중간	볼록하다	41.3	7.0	연녹색
27294-121	45.3	3.06	약간 서다	40.0	22.3	긴 타원형	둥근 모양	중간	중간	황록색	질다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	40.0	7.2	연녹색
불암 3호	44.3	5.52	곧추서다	42.7	29.0	좁은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색	중간	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	42.7	8.5	흰색
불암플러스	38.0	2.61	곧추서다	34.3	23.0	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	34.3	6.5	흰색
휘파람	40.7	4.57	곧추서다	40.7	29.7	좁은 달걀형	둥근 모양	많다	크다	황록색	질다	있다	장하다	적다	볼록하다	심하다	중간	중간	볼록하다	40.7	8.2	흰색
황성골드	41.0	4.71	곧추서다	40.3	30.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	중간	녹색	중간	있다	약하다	중간	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	40.3	6.7	연녹색
27295-1	42.0	3.08	곧추서다	38.7	21.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	많다	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	38.7	6.7	연녹색
27295-2	44.3	2.91	곧추서다	42.7	20.7	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	회록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	42.7	8.0	연녹색
27295-6	45.7	3.66	곧추서다	43.0	22.3	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	녹색	질다	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	심하다	중간	중간	볼록하다	43.0	6.7	연녹색
27295-8	48.7	2.72	곧추서다	42.3	20.3	긴 타원형	둥근 모양	많다	작다	황록색	질다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	중간	볼록하다	42.3	7.2	연녹색
27295-10	46.7	2.73	약간 서다	44.0	29.0	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	약하다	볼록하다	44.0	8.3	연녹색
27295-12	43.3	2.57	곧추서다	39.3	20.3	긴 타원형	둥근 모양	중간	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	39.3	7.5	연녹색
27295-13	43.7	3.25	곧추서다	41.0	22.7	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	녹색	질다	없다	약하다	적다	볼록하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	41.0	6.2	연녹색
27295-14	41.7	2.87	곧추서다	38.0	18.0	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	녹색	질다	없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	38.0	7.5	연녹색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통)명	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색갈경도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 단곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
27295-16	42.3	3.22	곧추서다	38.0	20.3	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	중간	없다	약하다	볼록하다	38.0	6.8	연녹색
27295-17	44.3	2.60	곧추서다	43.3	17.7	긴 타원형	둥근 모양	적다	크다	황록색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	43.3	5.7	연녹색
27295-18	40.0	2.74	곧추서다	37.3	18.3	긴 타원형	둥근 모양	많다	작다	황록색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	37.3	7.8	연녹색
27295-22	47.3	1.97	곧추서다	39.3	16.7	긴 타원형	둥근 모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	39.3	6.2	연녹색
27295-23	37.0	2.64	곧추서다	35.0	20.3	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	중간	중간	중간	볼록하다	35.0	8.5	연녹색
27295-24	37.3	2.04	곧추서다	33.0	17.3	긴 타원형	둥근 모양	많다	작다	녹색	질다	없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	심하다	심하다	심하다	볼록하다	33.0	7.0	연녹색
27295-29	38.0	1.91	곧추서다	35.0	19.7	긴 타원형	둥근 모양	많다	중간	녹색	질다	있다	중간	없거나 약하다	볼록하다	심하다	중간	중간	볼록하다	35.0	5.8	연녹색
27295-30	40.7	1.77	곧추서다	39.3	20.0	긴 타원형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	39.3	6.3	연녹색
10074	39.3	4.23	곧추서다	37.3	29.7	넓은 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	37.3	8.0	흰색
10075	45.0	4.94	곧추서다	47.7	31.7	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	적다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	47.7	9.3	흰색
10078	53.3	3.91	곧추서다	50.3	24.0	긴 타원형	둥근 모양	적다	작다	황록색		없다	중간	적다	볼록하다	약하다	중간	심하다	볼록하다	50.3	6.5	흰색
10079	48.3	3.55	약간 서다	49.7	35.7	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	중간	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	49.7	9.7	연녹색
10080	38.0	3.17	곧추서다	36.7	24.0	거꾸로 세운 달걀형	둥근 모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	볼록하다	약하다	없다	약하다	볼록하다	36.7	6.8	흰색
10085	42.3	2.87	곧추서다	39.3	30.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	중간	황록색		있다	약하다	적다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	39.3	8.0	흰색
10086	35.0	3.48	곧추서다	35.7	26.7	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	35.7	7.3	흰색
10088	52.3	3.95	곧추서다	47.0	30.0	넓은 달걀형	둥근 모양	적다	크다	황록색		없다	중간	많다	볼록하다	약하다	중간	약하다	볼록하다	47.0	8.3	흰색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통명)	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	평백	털의 다소	세로자른면곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
10098	33.3	3.55	곧추서다	33.0	29.3	넓은 달갈형	몽특한 모양	많다	크다	황록색	적다	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	33.0	8.3	흰색
10099	43.0	4.05	곧추서다	38.7	29.7	넓은 달갈형	몽특한 모양	중간	중간	황록색	중간	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	중간	약하다	불록하다	38.7	8.0	흰색
10100	30.0	2.14	곧추서다	24.3	20.0	넓은 달갈형	동근모양	중간	크다	녹색	얇다	없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	24.3	6.3	흰색
10106	34.3	1.90	곧추서다	31.3	18.0	거꾸로 세운 달갈형	동근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	31.3	6.0	흰색
10121	33.3	2.67	곧추서다	29.0	20.0	좁은 달갈형	동근모양	중간	중간	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	29.0	7.0	흰색
10132	40.0	4.39	곧추서다	39.7	27.3	거꾸로 세운 달갈형	몽특한 모양	많다	크다	녹색	적다	있다	강하다	중간	불록하다	약하다	중간	약하다	불록하다	39.7	7.5	흰색
10134	43.0	4.16	곧추서다	39.3	26.7	좁은 달갈형	몽특한 모양	중간	중간	녹색	중간	없다	중간	적다	불록하다	약하다	중간	약하다	불록하다	39.3	6.7	흰색
10136	40.3	4.85	곧추서다	41.7	31.0	넓은 달갈형	동근모양	적다	크다	황록색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	41.7	11.0	흰색
10137	36.3	3.11	곧추서다	35.3	24.0	거꾸로 세운 달갈형	동근모양	많다	작다	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	35.3	7.3	흰색
10143	25.3	1.36	약간서다	23.3	17.7	거꾸로 세운 달갈형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	심하다	불록하다	23.7	5.3	흰색
10145	42.3	3.71	곧추서다	38.8	27.7	넓은 달갈형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	중간	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.8	7.7	흰색
10146	43.0	4.70	곧추서다	41.3	30.3	넓은 달갈형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	41.3	9.0	흰색
10147	39.3	3.54	곧추서다	37.3	26.3	거꾸로 세운 달갈형	동근모양	적다	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	37.3	7.2	흰색
10150	33.0	3.10	곧추서다	31.3	24.3	넓은 달갈형	동근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	31.3	8.7	흰색

부표 24. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 식물체 키 및 바깥잎 특성(계속)

품종(계통명)	식물체 키 (cm)	식물체 무게 (kg)	바깥잎																			
			자세	길이 (cm)	너비 (cm)	모양	선단	요철수	요철크기	색깔	색강도	안토시아닌 색소	평백	털의 다소	세로자른면곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 톱니모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵색
10155	35.3	3.10	곧추서다	31.7	22.0	거꾸로 세운 달갈형	몽특한 모양	많다	중간	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	31.7	7.7	흰색
10156	33.7	2.11	약간서다	30.3	20.3	좁은 달갈형	동근모양	중간	중간	황록색		있다	중간	중간	불록하다	중간	중간	중간	평평하다	30.3	6.3	흰색
10158	40.3	3.65	곧추서다	37.3	29.0	넓은 달갈형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	37.3	7.8	연녹색
10159	50.0	4.79	곧추서다	49.0	33.0	좁은 달갈형	동근모양	중간	크다	녹색	적다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	49.0	8.0	흰색
10163	35.3	3.68	곧추서다	34.0	26.3	넓은 달갈형	동근모양	중간	중간	황록색		없다	중간	적다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	34.0	7.2	연녹색
10164	43.7	3.40	곧추서다	39.7	25.8	좁은 달갈형	동근모양	중간	크다	황록색	중간	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	39.7	6.7	흰색
10173	28.0	2.20	약간서다	25.3	20.3	넓은 달갈형	동근모양	많다	크다	녹색	얇다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	심하다	중간	중간	불록하다	25.3	7.0	흰색
10174	38.7	2.31	곧추서다	34.0	23.0	거꾸로 세운 달갈형	동근모양	많다	중간	황록색		있다	중간	중간	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	34.0	6.7	흰색
10177	43.7	2.53	곧추서다	38.3	30.7	넓은 달갈형	동근모양	적다	크다	황록색		없다	약하다	없거나 약하다	불록하다	약하다	없다	약하다	불록하다	38.3	6.7	연녹색
CR-mat	40.3	4.89	곧추서다	39.7	27.7	좁은 달갈형	몽특한 모양	중간	크다	녹색	중간	있다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	약하다	불록하다	39.7	7.8	흰색
e-Norang	40.7	3.39	곧추서다	39.7	28.3	좁은 달갈형	동근모양	중간	중간	녹색	적다	없다	중간	없거나 약하다	불록하다	중간	중간	중간	불록하다	39.7	7.7	흰색
Kori	49.7	1.87	곧추서다	46.3	16.5	넓은 달갈형	동근모양	적다	크다	녹색	중간	없다	중간	없거나 약하다	평하다	중간	없다	약하다	불록하다	46.3	4.0	연녹색

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고梗이 선단 모양
26110-106	32.0	15.0	장 타원형	반열립	약하다	연두		심하다	노랑색	매우 약하다	들기형
26110-108	33.3	12.3	달걀형	반열립	중간	연두		심하다	진한 노랑색	약하다	들기형
26110-130	11.7	7.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		없거나 약하다	연한노랑색	매우 약하다	추대
26110-166	29.7	15.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	중간	연두	중간	중간	노랑색	매우 약하다	들기형
26110-173	21.7	9.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	중간	약하다	노랑색	매우 약하다	추대
26110-179	18.7	11.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	약하다	흰색		중간	연한 노랑색	약하다	추대
26110-234	25.7	13.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
26110-237	23.7	9.7	긴 장타원형	달함	약하다	연두		심하다	연한 노랑색	약하다	추대
26110-281	21.7	10.7	장 타원형	반열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
26110-282	25.7	18.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	중간	중간	연녹색	매우 약하다	추대
26110-283	19.0	12.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	약하다	연두		심하다	연녹색	중간	추대
26110-284	20.3	14.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	진하다	약하다	연녹색	매우 약하다	들기형
26110-285	28.7	10.3	긴 장 타원형	달함	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	강하다	추대
26120-11	30.0	17.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두		중간	연녹색	매우 약하다	둥근 모양
26120-16	29.0	13.0	장 타원형	달함	심하다	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
26120-19	33.3	15.7	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	들기형
26120-24	31.3	20.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	심하다	연두		심하다	연한 노랑색	중간	둥근 모양
26130-2	24.3	17.3	타원형	달함	심하다	연두		약하다	연한 노랑색	강하다	추대
26148-1	29.3	18.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		약하다	연녹색	매우 약하다	추대
26148-17	30.7	13.0	긴 장 타원형	달함	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
26153-28	24.7	13.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고梗이 선단 모양
26153-43	27.0	17.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
26153-61	23.0	14.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		없거나 약하다	흰색	약하다	추대
26164-30	29.7	14.0	긴 장 타원형	반열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
26164-31	23.7	14.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
26164-33	18.3	10.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	중간	중간	연녹색	매우 약하다	추대
26164-35	23.0	16.7	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	연두		중간	흰색	강하다	추대
26164-37	35.0	19.7	달걀형	반열립	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	들기형
26164-38	33.3	21.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
27136-2	22.3	10.7	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	노랑		중간	진한 노랑색	중간	추대
27136-24	21.0	12.7	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
27136-25	21.7	12.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	노랑		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27136-31	21.0	15.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	노랑		심하다	진한 노랑색	중간	추대
27137-1	19.0	12.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두		없거나 약하다	흰색	매우 약하다	추대
27138-3	10.7	10.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두	열다	없거나 약하다	연녹색	매우 약하다	추대
27138-7	7.7	8.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	중간	없거나 약하다	연녹색	매우 약하다	들기형
27138-11	34.0	16.0	장 타원형	반열립	중간	연두	중간	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27139-5	30.0	13.0	긴 장 타원형	달함	중간	흰색		없거나 약하다	흰색	중간	들기형
27139-11	36.3	11.3	긴 장 타원형	달함	약하다	흰색		없거나 약하다	흰색	중간	들기형
27140-1	25.7	16.0	거꾸로 세운 달걀형	달함	중간	연두		없거나 약하다	연한 노랑색	중간	추대

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양
27140-2	22.7	14.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-4	23.7	14.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두	중간	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-6	24.0	14.0	거꾸로 세운 달걀형	단립	약하다	연두		중간	노랑색	중간	추대
27140-11	24.3	19.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
27140-14	22.3	15.0	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-17	24.7	20.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	연두	중간	약하다	연한 노랑색	강하다	추대
27140-18	21.0	13.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	녹색	열다	약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-21	28.7	19.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	연두	중간	중간	연한 노랑색	중간	추대
27140-22	20.7	14.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-25	22.3	14.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-26	23.7	15.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		중간	연녹색	중간	추대
27140-27	28.7	18.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	녹색	중간	약하다	연녹색	중간	추대
27140-28	28.0	20.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두	진하다	약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-33	25.3	21.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	연두	중간	중간	연한 노랑색	강하다	추대
27140-34	22.7	13.7	거꾸로 세운 달걀형	단립	약하다	연두	중간	중간	연한 노랑색	약하다	추대
27140-35	22.0	14.3	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-38	20.0	14.7	거꾸로 세운 달걀형	단립	심하다	흰색		중간	흰색	매우 강하다	추대
27140-40	25.0	20.3	거꾸로 세운 달걀형	단립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고갱이 선단 모양
27140-35	22.0	14.3	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-38	20.0	14.7	거꾸로 세운 달걀형	단립	심하다	흰색		중간	흰색	매우 강하다	추대
27140-40	25.0	20.3	거꾸로 세운 달걀형	단립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-41	22.0	12.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		약하다	노랑색	약하다	추대
27140-44	20.0	13.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	녹색	열다	약하다	연녹색	약하다	추대
27140-48	21.3	14.7	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두		약하다	노랑색	강하다	추대
27140-53	21.7	13.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	녹색	열다	없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-55	21.7	14.3	달걀형	반열립	약하다	연두		없거나 약하다	노랑색	중간	추대
27140-59	25.7	19.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	연두		약하다	노랑색	중간	추대
27140-68	26.3	19.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	연두		약하다	노랑색	중간	추대
27140-75	25.3	14.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두	열다	약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-97	23.0	16.7	거꾸로 세운 달걀형	단립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-100	20.3	12.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-102	21.0	16.3	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두	열다	약하다	노랑색	약하다	추대
27140-108	23.3	15.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		없거나 약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27140-113	25.5	14.8	달걀형	단립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
27140-134	27.0	15.3	거꾸로 세운 달걀형	단립	약하다	연두	중간	약하다	연한 노랑색	중간	추대
27140-135	23.0	15.7	거꾸로 세운 달걀형	단립	중간	연두	열다	중간	연녹색	중간	추대

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	새로 자른면 모양	결구형태	구 일 결침 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고개가 선단 모양
27140-142	19.3	14.3	거꾸로 세운 달걀형	단합	중간	연두	중간	약하다	연한 노랑색	강하다	추대
27140-150	27.7	19.3	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	연두		중간	연한 노랑색	매우 강하다	추대
27143-9	33.3	11.3	긴 장 타원형	단합	약하다	흰색		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27143-13	37.3	14.7	긴 장 타원형	단합	약하다	흰색		약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27143-17	33.0	14.3	긴 장 타원형	단합	중간	흰색		없거나 약하다	연한 노랑색	강하다	추대
27143-20	39.7	16.7	장 타원형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27143-22	35.3	14.0	긴 장 타원형	단합	약하다	흰색		약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27143-26	41.3	15.3	달걀형	반열립	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
27143-32	43.3	17.7	긴 장 타원형	열립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	들기형
27143-38	41.0	16.0	장 타원형	열립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27143-40	43.0	15.0	긴 장 타원형	반열립	중간	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27143-43	34.3	13.3	긴 장 타원형	단합	약하다	흰색		약하다	흰색	약하다	추대
27143-45	42.3	16.7	긴 장 타원형	반열립	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
27143-49	35.0	17.0	장 타원형	열립	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
27143-55	26.3	23.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	심하다	연두		중간	흰색	매우 강하다	추대
27156-3	30.3	12.7	긴 장 타원형	반열립	약하다	흰색		없거나 약하다	연한 노랑색	중간	추대
27156-8	30.0	19.3	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	연두		약하다	연한 노랑색	강하다	추대
27156-9	33.0	19.0	장 타원형	단합	심하다	흰색		약하다	흰색	강하다	추대
27156-10	27.3	16.3	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	흰색		없거나 약하다	흰색	중간	들기형
27156-11	23.3	15.7	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	흰색		없거나 약하다	흰색	강하다	추대
27156-13	31.7	14.0	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	흰색		없거나 약하다	연한 노랑색	강하다	추대
27156-14	30.0	13.0	긴 장 타원형	단합	심하다	흰색		약하다	흰색	강하다	추대
27156-20	26.0	13.7	거꾸로 세운 달걀형	단합	중간	연두		없거나 약하다	연한 노랑색	중간	추대
27156-21	24.3	16.7	거꾸로 세운 달걀형	단합	심하다	흰색		없거나 약하다	흰색	매우 강하다	추대

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	새로 자른면 모양	결구형태	구 일 결침 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고개가 선단 모양
27160-3	29.7	20.3	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	들기형
27160-4	21.7	17.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	흰색		약하다	연한 노랑색	약하다	등근 모양
27160-16	21.3	14.0	거꾸로 세운 달걀형	단합	중간	흰색		약하다	연한 노랑색	약하다	들기형
27160-23	18.3	12.7	달걀형	반열립	약하다	노랑		약하다	노랑색	약하다	등근 모양
27259-2	26.3	12.3	긴 장 타원형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27259-4	32.7	10.3	긴 장 타원형	단합	중간	연두		중간	흰색	중간	추대
27259-5	36.3	13.0	달걀형	열립	중간	녹색	진하다	중간	연한 노랑색	중간	들기형
27259-6	23.3	8.3	긴 장 타원형	단합	중간	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	들기형
27259-8	33.7	9.3	긴 장 타원형	단합	중간	연두		중간	연한 노랑색	강하다	추대
27263-116			거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	진하다	약하다	연녹색	매우 약하다	추대
27263-141	37.3	13.7	달걀형	반열립	중간	녹색	열다	중간	노랑색	약하다	추대
27294-7	24.3	12.3	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두	열다	약하다	연한 노랑색	약하다	추대
27294-21	34.0	13.3	긴 장 타원형	단합	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	들기형
27294-45	25.0	15.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	진하다	약하다	연녹색	약하다	추대
27294-50	29.7	17.7	달걀형	열립	중간	연두	중간	심하다	연한 노랑색	매우 약하다	들기형
27294-60	29.3	24.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	열다	중간	연녹색	약하다	추대
27294-65	31.7	12.7	긴 장 타원형	단합	심하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27294-67	26.3	17.7	거꾸로 세운 달걀형	단합	약하다	연두		중간	연한 노랑색	중간	추대
27294-82	26.0	18.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	녹색	중간	심하다	연녹색	약하다	추대
27294-86	37.0	17.0	긴 장 타원형	단합	심하다	흰색		중간	흰색	강하다	들기형
27294-99	21.3	14.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두	열다	중간	연한 노랑색	약하다	추대
27294-119	34.7	20.7	달걀형	단합	중간	연두		중간	연한 노랑색	강하다	들기형
27294-121	30.3	20.0	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
불암 3호	31.7	22.7	달걀형	단합	중간	연두		심하다	노랑색	중간	들기형

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고개가 선단 모양
불암플러스	21.7	15.0	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	노랑		약하다	진한 노랑색	약하다	둥근 모양
휘과람	28.0	19.7	달걀형	달걀	심하다	연두		심하다	진한 노랑색	매우 강하다	둥근 모양
황성골드	32.3	21.2	달걀형	달걀	중간	연두		심하다	진한 노랑색	중간	둥근 모양
27295-1	27.3	13.0	긴 장 타원형	달걀	약하다	연두		중간	연한 노랑색	중간	돌기형
27295-2	36.0	14.7	긴 장 타원형	반열립	중간	연두		심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
27295-6	39.0	12.3	긴 장 타원형	열립	약하다	녹색	열다	심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27295-8	41.0	12.3	긴 장 타원형	열립	약하다	녹색	중간	심하다	연한 노랑색	약하다	추대
2726-10	32.0	9.7	긴 장 타원형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27295-12	34.0	13.0	긴 장 타원형	달걀	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	돌기형
27295-13	37.3	12.7	장 타원형	열립	약하다	연두		심하다	흰색	중간	둥근 모양
27295-14	34.0	12.7	긴 장 타원형	열립	약하다	연두		매우심하다	노랑색	중간	돌기형
27295-16	29.0	9.3	긴 장 타원형	달걀	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27295-17	33.0	13.3	긴 장 타원형	달걀	중간	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
27295-18	29.7	12.7	긴 장 타원형	달걀	중간	연두		심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
27295-22	29.3	8.3	긴 장 타원형	반열립	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27295-23	29.0	12.7	긴 장 타원형	반열립	약하다	흰색		중간	흰색	약하다	돌기형
27295-24	32.3	11.7	장 타원형	열립	약하다	연두		심하다	연한 노랑색	약하다	돌기형
27295-29	32.7	12.7	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두		심하다	연한 노랑색	약하다	추대
27295-30	27.3	8.3	긴 장 타원형	달걀	약하다	연두		약하다	연한 노랑색	중간	추대
10074	25.7	17.0	거꾸로 세운 달걀형	달걀	심하다	노랑		중간	연한 노랑색	강하다	둥근 모양
10075	33.7	18.3	달걀형	달걀	심하다	흰색		약하다	흰색	강하다	돌기형
10078	41.7	14.7	달걀형	달걀	약하다	연두		중간	연한 노랑색	약하다	추대
10079	22.0	20.7	거꾸로 세운 달걀형	반열립	약하다	연두		약하다	진한 노랑색	약하다	둥근 모양
10080	26.3	19.3	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	흰색		중간	연한 노랑색	중간	돌기형
10085	27.0	19.7	타원형	달걀	중간	연두		중간	연한 노랑색	중간	둥근 모양
10086	22.3	24.3	달걀형	달걀	심하다	연두	중간	심하다	노랑색	강하다	돌기형
10088	30.7	20.0	거꾸로 세운 달걀형	달걀	심하다	흰색		중간	연한 노랑색	강하다	돌기형

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	윗부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고개가 선단 모양
10098	25.7	14.3	타원형	달걀	심하다	연두		심하다	노랑색	매우강하다	둥근 모양
10099	29.0	19.3	달걀형	달걀	중간	연두	열다	심하다	노랑색	중간	돌기형
10100	26.0	18.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	중간	흰색		중간	흰색	중간	추대
10106	20.7	12.0	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	흰색		중간	노랑색	약하다	돌기형
10121	25.3	20.7	타원형	반열립	약하다	흰색		중간	연한 노랑색	중간	돌기형
10132	29.7	19.0	타원형	달걀	심하다	연두		약하다	노랑색	매우강하다	돌기형
10134	28.0	19.0	달걀형	달걀	심하다	연두		심하다	연한 노랑색	매우강하다	돌기형
10136	29.7	20.3	달걀형	달걀	심하다	흰색		중간	흰색	강하다	돌기형
10137	29.7	17.3	달걀형	달걀	심하다	연두		심하다	연한 노랑색	강하다	둥근 모양
10143	20.7	14.0	거꾸로 세운 달걀형	열립	약하다	연두	열다	심하다	흰색	매우강하다	추대
10145	28.0	22.0	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	노랑		없거나 약하다	진한 노랑색	중간	둥근 모양
10146	29.0	22.0	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	노랑		중간	진한 노랑색	강하다	돌기형
10147	27.3	16.0	달걀형	달걀	심하다	연두		약하다	연한 노랑색	매우강하다	둥근 모양
10150	20.3	14.7	원형	달걀	심하다	흰색		중간	흰색	매우강하다	돌기형
10155	28.3	18.0	달걀형	달걀	중간	연두		심하다	연한 노랑색	중간	돌기형
10156	24.0	20.3	달걀형	반열립	약하다	연두	중간	중간	노랑색	약하다	둥근 모양
10158	26.0	16.3	달걀형	달걀	중간	노랑		없거나 약하다	진한 노랑색	중간	둥근 모양
10159	32.3	19.3	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	연두	열다	심하다	노랑색	중간	둥근 모양
10163	24.7	16.0	달걀형	달걀	심하다	노랑		중간	진한 노랑색	강하다	둥근 모양
10164	26.7	16.7	달걀형	달걀	심하다	연두		중간	노랑색	강하다	돌기형
10173	22.0	17.3	거꾸로 세운 달걀형	달걀	중간	연두		심하다	연한 노랑색	강하다	추대
10174	26.0	17.3	거꾸로 세운 달걀형	달걀	심하다	연두		심하다	노랑색	약하다	돌기형
10177	26.3	15.3	달걀형	달걀	중간	흰색		약하다	연한 노랑색	강하다	둥근 모양

부표 25. 2011년도 가을재배 특성평가 DH라인과 일본 수집종 등 배추의 구 특성(계속)

품종(계통)명	키 (cm)	너비 (cm)	세로 자른면 모양	결구형태	구 잎 결집 정도	잎부분 색	녹색정도	바깥잎 요철	속 색깔	단단한 정도	고경이 선단 모양
CR-mat	33.3	20.0	달걀형	달형	약하다	연두	중간	중간	노랑색	매우강하다	돌기형
e-Norang	28.7	19.0	달걀형	달형	심하다	녹색	진하다	심하다	노랑색	중간	돌기형

부표 26. 2011년도 가을재배 특성평가 콰초이 DH라인의 특성

품종(계통)명	식물체키 (cm)	바깥잎																				
		자세	길이 (cm)	너비	모양	선단	요철수	요철 크기	색깔	색깔 강도	안토시아닌 색소	광택	털의 다소	세로 자른면 만곡	가장자리 물결모양	가장자리 결각	가장자리 돌기모양	중륵 가로자른면 모양	중륵 길이 (cm)	중륵 너비 (cm)	중륵 색	
27137-2	23.67	곧추 서다	20.66	9.3	달걀형	둥근 모양	약하다	작다	녹색	중간	없다	약하다	없거나 약하다	평평하다	없거나 약하다	없거나 약하다	없거나 약하다	없거나 약하다	오목하다	13.5		흰색

부표 27. 2011년도 가을재배 특성평가 갓 DH라인의 식물체 자세, 측지, 줄기 비대성 및 잎의 특성

품종(계통)명	식물체 자세	측지	줄기 비대성	잎													
				엽수 (매)	모양	길이 (cm)	가장자리 열편	결각의 정도	결각의 크기	거치의 정도	녹색의 정도	안토시아닌 발현강도	광택	털의 수	표면의 물결모양	가장자리 물결모양	열편의 수
27263-74	중간	있다	없다	많다	난형	중간	sect	약함	작다	없거나 약하다	진함	약하다	중간	없거나 매우 적다	없다	약하다	중간

부표 28. 2011년도 가을재배 특성평가 갓 DH라인의 중륵과 엽병 특성 및 뿌리 비대성, 추대성, 결구성

품종(계통)명	중륵			중륵 및 엽병혹	엽병					뿌리 비대성	추대성	결구성	
	횡단면의 모양	폭	두께		꼬임	엽초	녹색의 강도	안토시아닌 색소	길이 (cm)				폭 (cm)
27263-74	반원형	좁다	중간	없다	없거나 매우 약함	있다	열다	없다	중간	중간	있다	늦다	없다

제2-1절 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구

1. 배추 유전자원의 수집 및 mapping 집단의 육성

가. 유전자원의 수집

이재종묘에서 저항성, 이병성, F₁ 각각 2개체의 분양받았으며, 이들을 기초로 RIL 및 BC 집단 생성을 위한 종자확보를 위한 뇌수분 수행하였다(그림 1과 2). Inbred line은 총 467개, backcross 집단은 각 조합별 이병성 x F₁ 10립, 저항성 x F₁ 200립, F₁ x 저항성 400립, F₁ x 이병성 200립을 생산하였다. 저항성과 이병성을 교배한 F₁ 13개체의 종자들을 생산하였으며 교배는 완료하였다(그림 3). 또한 mapping 집단으로 충남대의 한국배추계능소재은행에서 청경채의 노균병 저항성, 이병성, F₁ 개체를 분양받았으며, 왜각황종 Female of Shulu, 소수청 Male of Shulu, 서북 F₁, F₂를 추가하여 생육하였다.

나. 유전자원의 순도 검증

RADP marker 50개를 이용하여, 이재종묘로부터 분양받은 개체를 기초로 1차년도 상반기에 육성한 RIL 집단 F₁, 이병성, 저항성의 순도를 검증하였다(그림 4). 그 결과 F₁은 부모본의 genotype을 모두 가지고 있었으며, 각각의 inbred line 또한 100%의 순도를 보였다.

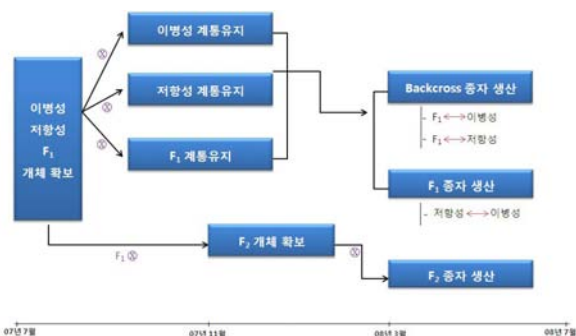
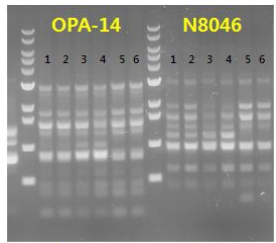


그림 1. 1차년도 집단 육성도



1:F1(1) 2:F1(2) 3:SHNRB(1)
4:SHNRB(2) 5:SI1(1) 6:SI1(2)

Primer	Sequence (5'-3')	중 밴드 수	다형 밴드 수	Primer	Sequence (5'-3')	중 밴드 수	다형 밴드 수
NR001	CAAGCCCTTC	8	2	NR011	AAAGCCGCAAC	8	2
NR004	TGCGCATAAG	8	2	NR016	GTGACGGAGC	8	2
NR005	GAAACGGGTG	4	2	NR018	GCATCTACAG	3	1
NR007	GTGACCTAAG	4	2	NR020	CACAGTBAAC	8	2
NR008	TGCGCTCTGG	8	2	NR021	TAAGCCCTTGT	8	2
NR016	TGCGCTCTGG	8	2	NR022	GTGACCTAAG	8	1
NR018	TAAGCCCTTGT	8	2	NR024	TAAGCCCTTGT	8	2
NR020	CACAGTBAAC	8	2	NR025	TGCGCTCTGG	8	2
NR021	TAAGCCCTTGT	8	2	NR026	TGCGCTCTGG	8	2
NR022	GTGACCTAAG	8	2	NR028	TAAGCCCTTGT	8	2
NR024	TAAGCCCTTGT	8	2	NR029	TAAGCCCTTGT	8	2
NR025	TGCGCTCTGG	8	2	NR030	TAAGCCCTTGT	8	2
NR026	TGCGCTCTGG	8	2	NR031	TAAGCCCTTGT	8	2
NR028	TAAGCCCTTGT	8	2	NR032	TAAGCCCTTGT	8	2
NR029	TAAGCCCTTGT	8	2	NR033	TAAGCCCTTGT	8	2
NR030	TAAGCCCTTGT	8	2	NR034	TAAGCCCTTGT	8	2
NR031	TAAGCCCTTGT	8	2	NR035	TAAGCCCTTGT	8	2
NR032	TAAGCCCTTGT	8	2	NR036	TAAGCCCTTGT	8	2
NR033	TAAGCCCTTGT	8	2	NR037	TAAGCCCTTGT	8	2
NR034	TAAGCCCTTGT	8	2	NR038	TAAGCCCTTGT	8	2
NR035	TAAGCCCTTGT	8	2	NR039	TAAGCCCTTGT	8	2
NR036	TAAGCCCTTGT	8	2	NR040	TAAGCCCTTGT	8	2
NR037	TAAGCCCTTGT	8	2				
NR038	TAAGCCCTTGT	8	2				
NR039	TAAGCCCTTGT	8	2				
NR040	TAAGCCCTTGT	8	2				

중 밴드 수 : 260 중 primer 수 : 100
다형 밴드 수 : 91 다형 primer 수 : 43
밴드 다형률 : 약 35% Primer 다형률 : 43%

그림 5. 이병성과 저항성 개체의 RAPD marker 다형성 test.

나. SSR marker

핵심 1-1과 상호 협조하여 SSR primer 320개 중 다형성이 보이는 158개의 marker를 선발하였고, 49.4%의 다형률을 보였다(표 2, 3과 그림 6). Band pattern을 분석하는데 있어서 기존의 polyacrylamide gel을 사용하지 않고, 기존 agarose gel의 20~50bp정도의 분해능을 최대 2~5bp까지 올릴 수 있는 고해상도를 가지며, sample의 농도를 최소 0.1ng/ul까지 감지 가능한 고감도 성능을 지닌 'Automatic Genetic Analyzer'를 이용하여 marker 선발의 효율을 높였다(그림 7과 8).

표 2. 선발된 SSR marker list (1)

No.	marker ID	SSR name	product size	다형밴드수
1	80C09-11	KS51151_MAF1	328	2
2	77A05-1	KS50774	221	2
3	99I08-130	KS50621	324	2
4	98A19-39	KS50522	338	4
5	BrSSR03	KS10051	449	2
6	S010I09-c4-1	KS10630	333	2
7	B017B11-S2-21	KS10250	383	2
8	B054O10-1	KS50170	336	4
9	B084F02-2	KS31020	300	2
10	H005J02-1	KS20520	381	1

표 3. 핵심 1-1에서 선발된 SSR marker list (2)

NO	마커 ID	Product Size	Tm	증폭	저항성, 이병성간다형성	비고
1	cnu_ssr002	244	55℃	0	0	
2	cnu_ssr006	146	55℃	0	0	
3	cnu_ssr008	182	55℃	0	0	
4	cnu_ssr016	169	55℃	0	0	
6	cnu_ssr029	200	55℃	0	0	
7	cnu_ssr030	199	55℃	0	0	
8	cnu_ssr034	186	55℃	0	0	
10	cnu_ssr038	193	55℃	0	0	
16	cnu_ssr062	204	57℃	0	0	
17	cnu_ssr063	238	57℃	0	0	
18	cnu_ssr068	122	57℃	0	0	
19	cnu_ssr073	295	57℃	0	0	
21	cnu_ssr076	211	57℃	0	0	
23	cnu_ssr098	198	59℃	0	0	
28	cnu_ssr119	220	59℃	0	0	
30	cnu_ssr126	196	59℃	0	0	
32	cnu_ssr139	176	59℃	0	0	
33	cnu_ssr142	199	59℃	0	0	
34	cnu_ssr146	184	59℃	0	0	
40	cnu_ssr167	276	59℃	0	0	
41	cnu_ssr172	174	59℃	0	0	
42	cnu_ssr173	372	59℃	0	0	
44	cnu_ssr182	271	59℃	0	0	
45	cnu_ssr206	255	59℃	0	0	
47	cnu_ssr211	237	59℃	0	0	
49	cnu_ssr219	241	59℃	0	0	
50	cnu_ssr220	230	59℃	0	0	
52	cnu_ssr229	200	58℃	0	0	
53	cnu_ssr235	195	58℃	0	0	
54	cnu_ssr241	167	58℃	0	0	밴드 약함
55	cnu_ssr246	237	59℃	0	0	
56	cnu_ssr251	269	59℃	0	0	
57	cnu_ssr252	253	59℃	0	0	
58	cnu_ssr253	294	59℃	0	0	
59	cnu_ssr254	291	59℃	0	0	
60	cnu_ssr255	268	59℃	0	0	
61	cnu_ssr256	300	59℃	0	0	
62	cnu_ssr257	244	59℃	0	0	
63	cnu_ssr259	292	59℃	0	0	
64	cnu_ssr263	230	59℃	0	0	
66	cnu_ssr268	283	59℃	0	0	
68	cnu_ssr271	279	59℃	0	0	
72	cnu_ssr280	240	59℃	0	0	
73	cnu_ssr284	218	58℃	0	0	dominant
75	cnu_ssr288	154	58℃	0	0	밴드 약함
76	cnu_ssr289	188	58℃	0	O_계 확인 필요	
77	cnu_ssr293	218	58℃	0	0	dominant
79	cnu_ssr296	198	58℃	0	0	
80	cnu_ssr300	262	58℃	0	0	

표 3. 핵심 1-1에서 선발된 SSR marker list (2) (계속)

NO	마커 ID	Product Size	Tm	증폭	저항성, 이병성간다형성	비고
81	cnu_ssr308	225	58°C	0	0	S밴드 약함
82	cnu_ssr310	250	58°C	0	0	
83	cnu_ssr316	217	58°C	0	0	
84	cnu_ssr318	195	58°C	0	0	
86	cnu_ssr321	262	58°C	0	0	
87	cnu_ssr324	226	58°C	0	0	
88	cnu_ssr327	205	58°C	0	?	
89	cnu_ssr328	200	59°C	0	0	dominant
91	cnu_ssr332	176	59°C	0	0	
95	cnu_ssr344	137	59°C	0	0	
96	cnu_ssr353	256	59°C	0	0	
98	cnu_ssr356	238	59°C	0	0	S밴드 약함
100	cnu_ssr362	293	59°C	0	0	
101	cnu_ssr364	249	59°C	0	0	밴드 흐림
102	cnu_ssr371	287	59°C	0	0	
106	cnu_ssr384	253	58°C	0	0	
107	cnu_ssr387	253	58°C	0	0	클림 많음
108	cnu_ssr396	337	58°C	0	0	R밴드 약함
114	cnu_ssr409	293	58°C	0	0	
116	cnu_ssr416	258	58°C	0	0	
118	cnu_ssr425	266	58°C	0	0	
119	cnu_ssr439	305	58°C	0	0	
127	cnu_ssr461	193	58°C	0	0	
129	cnu_ssr471	253	58°C	0	0	
130	cnu_ssr472	253	58°C	0	0	
131	cnu_ssr474	271	58°C	0	0	
132	cnu_ssr477	300	58°C	0	0	
133	cnu_ssr479	292	58°C	0	0	
134	cnu_ssr480	292	58°C	0	0	
136	cnu_ssr483	266	58°C	0	0	
137	cnu_ssr490	343	58°C	0	?	
138	cnu_ssr492	263	58°C	0	0	
140	cnu_ssr516		59°C	0	0	
141	cnu_ssr521		54°C	0	0	
142	cnu_ssr522		54°C	0	0	dominant
144	cnu_ssr530	286	53°C	0	0	
149	cnu_ssr539	269	55°C	0	0	
150	cnu_ssr540	282	55°C	0	0	
151	cnu_ssr553	299	55°C	0	0	
153	cnu_ssr568	292	57°C	0	0	
155	cnu_ssr574	241	53°C	0	0	
156	cnu_ssr579	254	55°C	0	0	
162	cnu_ssr601	279	55°C	0	0	
166	nia_ssr001	449	57	0	0	
167	nia_ssr002	283	60	0	0	
169	nia_ssr005	437	60	0	0	
175	nia_ssr011	298	60	0	0	
176	nia_ssr012	338	60	0	0	
177	nia_ssr013	322	60	0	0	

표 3. 핵심 1-1에서 선발된 SSR marker list (2) (계속)

NO	마커 ID	Product Size	Tm	증폭	저항성, 이병성간다형성	비고
178	nia_ssr014	333	60	0	0	
180	nia_ssr016	398	60	0	0	dominant
182	nia_ssr018	363	60	0	0	R밴드 약함
183	nia_ssr019	330	60	0	0	
185	nia_ssr021	338	60	0	0	
186	nia_ssr022	324	50	0	0	
188	nia_ssr024	341	60	0	0	S밴드 약함
191	nia_ssr029	282	60	0	0	
192	nia_ssr030	387	60	0	0	dominant, S밴드 약함
193	nia_ssr031	391	60	0	0	
195	nia_ssr033	355	60	0	0	
196	nia_ssr034	423	60	0	0	S밴드 약함
197	nia_ssr035	367	60	0	0	dominant
198	nia_ssr036	306	57	0	O_계확인 필요	
199	nia_ssr037	308	58	0	0	
200	nia_ssr038	333	57	0	0	
201	nia_ssr039	311	57	0	O_계확인 필요	
202	nia_ssr041	331	57	0	0	
203	nia_ssr044	310	60	0	0	
204	nia_ssr045	376	60	0	0	
205	nia_ssr046	376	60	0	0	R밴드 약함
206	nia_ssr047	311	60	0	0	
207	nia_ssr048	348	60	0	0	밴드 약함
208	nia_ssr049	324	60	0	0	
209	nia_ssr050	383	60	0	0	
212	nia_ssr055	308	57	0	0	S밴드 약함
214	nia_ssr057	434	58	0	0	밴드 약함. 조금 차이남
216	nia_ssr060	275	59	0	0	
217	nia_ssr061	324	58	0	0	
218	nia_ssr063	278	58	0	0	
219	nia_ssr064	329	58	0	0	
224	nia_ssr076	272	58	0	0	
225	nia_ssr077	314	58	0	0	
229	nia_ssr081	317	58	0	0	
231	nia_ssr084	296	58	0	0	dominant
234	nia_ssr088	286	58	0	0	S밴드 약함
235	nia_ssr089	293	58	0	0	
236	nia_ssr090	287	58	0	0	
237	nia_ssr092	263	58	0	0	
238	nia_ssr093	272	58	0	0	dominant
239	nia_ssr095	277	58	0	0	
240	nia_ssr096	254	58	0	0	
241	nia_ssr098	262	58	0	0	
250	nia_ssr114	294	58	X	0	
252	nia_ssr116	367	58	0	0	
253	nia_ssr117	324	58	0	0	
257	nia_ssr122	261	58	0	0	
259	nia_ssr126	304	57	0	0	
260	nia_ssr127	279	58	0	0	잡밴드가 많음. 2밴드일수도
261	nia_ssr129	329	58	0	0	
262	nia_ssr131	347	58	0	0	S밴드 약함
263	nia_ssr133	334	56	0	0	

NO	primer	Product Size	Tm	NO	primer	Product Size	Tm	NO	primer	Product Size	Tm	NO	primer	Product Size	Tm
1	enu_sar002	244 bp	58	enu_sar254	201 bp	59	enu_sar416	258 bp	enu_sar021	338 bp	57	nia_sar052	263 bp	58	
2	enu_sar006	146 bp	58	enu_sar056	200 bp	59	enu_sar426	258 bp	enu_sar022	324 bp	58	nia_sar053	272 bp	58	
3	enu_sar009	162 bp	58	enu_sar256	300 bp	59	enu_sar438	305 bp	enu_sar024	341 bp	58	nia_sar055	277 bp	58	
4	enu_sar016	169 bp	58	enu_sar257	244 bp	59	enu_sar461	193 bp	enu_sar028	252 bp	58	nia_sar056	254 bp	58	
5	enu_sar029	200 bp	58	enu_sar259	292 bp	58	enu_sar471	253 bp	enu_sar030	307 bp	58	nia_sar058	262 bp	58	
6	enu_sar030	199 bp	58	enu_sar260	280 bp	58	enu_sar478	292 bp	enu_sar036	307 bp	58	nia_sar062	263 bp	58	
7	enu_sar034	186 bp	58	enu_sar261	272 bp	58	enu_sar480	230 bp	enu_sar038	305 bp	58	nia_sar066	267 bp	58	
8	enu_sar038	193 bp	58	enu_sar262	272 bp	58	enu_sar481	230 bp	enu_sar044	423 bp	58	nia_sar067	324 bp	58	
9	enu_sar062	204 bp	58	enu_sar263	280 bp	58	enu_sar478	292 bp	enu_sar036	307 bp	58	nia_sar068	263 bp	58	
10	enu_sar063	230 bp	58	enu_sar264	310 bp	58	enu_sar480	230 bp	enu_sar040	306 bp	58	nia_sar070	304 bp	58	
11	enu_sar068	122 bp	58	enu_sar265	272 bp	58	enu_sar481	230 bp	enu_sar042	305 bp	58	nia_sar072	278 bp	58	
12	enu_sar072	206 bp	58	enu_sar266	272 bp	58	enu_sar482	283 bp	enu_sar046	283 bp	58	nia_sar074	309 bp	58	
13	enu_sar076	211 bp	58	enu_sar267	272 bp	58	enu_sar483	283 bp	enu_sar048	311 bp	58	nia_sar076	347 bp	58	
14	enu_sar099	190 bp	58	enu_sar268	180 bp	58	enu_sar484	283 bp	enu_sar050	331 bp	58	nia_sar078	334 bp	58	
15	enu_sar119	230 bp	58	enu_sar269	272 bp	58	enu_sar485	283 bp	enu_sar052	310 bp	58				
16	enu_sar126	196 bp	58	enu_sar270	272 bp	58	enu_sar486	283 bp	enu_sar054	376 bp	58				
17	enu_sar129	179 bp	58	enu_sar271	272 bp	58	enu_sar487	283 bp	enu_sar056	376 bp	58				
18	enu_sar142	198 bp	58	enu_sar272	272 bp	58	enu_sar488	283 bp	enu_sar058	381 bp	58				
19	enu_sar146	184 bp	58	enu_sar273	198 bp	58	enu_sar489	283 bp	enu_sar060	348 bp	58				
20	enu_sar167	278 bp	58	enu_sar274	282 bp	58	enu_sar490	283 bp	enu_sar062	334 bp	58				
21	enu_sar172	174 bp	58	enu_sar275	226 bp	58	enu_sar491	283 bp	enu_sar064	302 bp	58				
22	enu_sar173	302 bp	58	enu_sar276	209 bp	58	enu_sar492	241 bp	enu_sar066	308 bp	58				
23	enu_sar182	271 bp	58	enu_sar277	200 bp	58	enu_sar493	254 bp	enu_sar068	434 bp	58				
24	enu_sar206	255 bp	58	enu_sar278	176 bp	58	enu_sar494	279 bp	enu_sar070	275 bp	58				
25	enu_sar211	227 bp	58	enu_sar279	187 bp	58	enu_sar495	449 bp	enu_sar072	324 bp	58				
26	enu_sar219	241 bp	58	enu_sar280	258 bp	58	enu_sar496	283 bp	enu_sar074	278 bp	58				
27	enu_sar220	230 bp	58	enu_sar281	236 bp	58	enu_sar497	437 bp	enu_sar076	329 bp	58				
28	enu_sar229	200 bp	58	enu_sar282	293 bp	58	enu_sar498	288 bp	enu_sar078	270 bp	58				
29	enu_sar235	195 bp	58	enu_sar283	249 bp	58	enu_sar499	330 bp	enu_sar080	314 bp	58				
30	enu_sar241	167 bp	58	enu_sar284	287 bp	58	enu_sar500	302 bp	enu_sar082	317 bp	58				
31	enu_sar246	237 bp	58	enu_sar285	252 bp	58	enu_sar501	283 bp	enu_sar084	296 bp	58				
32	enu_sar251	200 bp	58	enu_sar286	253 bp	58	enu_sar502	308 bp	enu_sar086	298 bp	58				
33	enu_sar252	253 bp	58	enu_sar287	337 bp	58	enu_sar503	303 bp	enu_sar088	293 bp	58				
34	enu_sar253	284 bp	58	enu_sar288	280 bp	58	enu_sar504	330 bp	enu_sar090	287 bp	58				

중 primer 수 : 320
 다형 primer 수 : 158
 Primer 다형률 : 49.4%

그림 6. 이병성과 저항성 개체의 SSR marker 다형성 test.

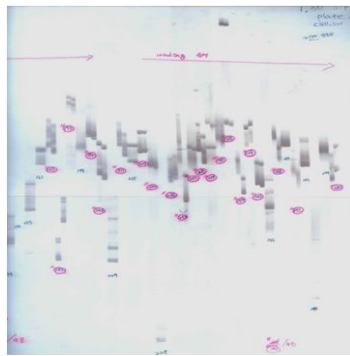


그림 7. polyacrylamide gel

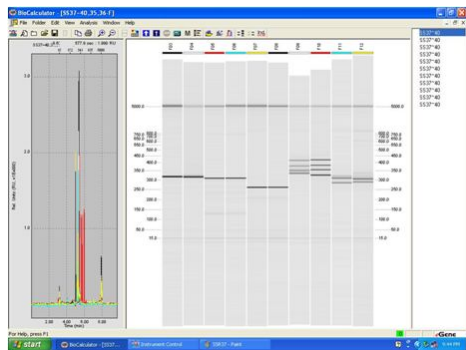


그림 8. HAD-GT12™ system 이용

다. IBPA marker

농촌진흥청 분양 받은 IBPA primer 89개 중 다형성이 보이는 34개의 marker를 선발하였다. Band pattern을 분석 할 때 그림 9의 IBPA 22번과 같이 확실히 분리가 된 band는 1차적으로 선발하였고, IBPA 30번과 같이 차이가 미세한 band는 HAD-GT12™ system을 이용하여 그 pattern을 분석하여 2차적으로 선발하였다(그림 8). 증폭된 band수는 157개, 다형 band 수는 74 개로 약 47%의 다형률을 보였다(그림 9와 표 4).

표 4. 선발된 IBPA marker list

No.	Name	Source	L Tm	R Tm	총 밴드수	다형 밴드수	PCR product
1	KA10330-1	S031_KBrB049E19 -1	60	60	3	3	921
2	KA40440-2	KC40440_KBrB085D18	60	61	2	2	841
3	KA40470-3	KC40470_KBrB069A15	60	59	2	2	708
4	KA40500-2	KC40500_S344_Contig8	60	60	4	2	583
5	KC10200-3	S018_KBrH001D09_Contig82-3	60	59	1	1	700
6	KC10230-3	S021_KBrB044J13_Contig44-3	61	60	2	2	702
7	KC10310-2	S029_KBrB034J13_Contig126-2	60	60	4	4	770
8	KC10380-2	S036_KBrB044C04-2	60	60	2	2	944
9	KC10470-3	S045_KBrB076B03_contig8-9	60	60	2	2	847
10	KC10990-1	S515_KBrS012H18_Contig9-1	60	60	2	2	963
11	KC11120-1	S527_KBrB070J11-1	60	59	2	2	871
12	KC30150-2	KC30150_KBrB042L19	60	60	2	2	849
13	KC30910-2	KC30910_KBrS001M03	60	60	2	2	864
14	KC40120-2	KC40120_S317_Contig12	60	60	2	2	598
15	KC40240-3	KC40240_KBrB085G1	60	60	4	4	562
16	KC40420-3	KC40420_KBrB021L13	60	59	2	2	796
17	KC40530-3	KC40530_KBrB085E04	60	60	2	2	740
18	KC40580	S352_Contig1	60	60	2	2	786
19	KR10390_1	S037_KBrS007I12	60	60	2	2	787
20	KR10540	S050_Contig12	60	60	4	2	613
21	KR10610_1	S056_KBrB052E19	60	61	2	2	964
22	KR10610_2	S056_KBrB052E19	60	60	3	1	795
23	KR11460_3	S109_KBrB006H21	58	59	1	1	615
24	KR11490_1	S112_KBrB061K11	60	60	2	2	1050
25	KR20080_1	S126_Contig5	60	60	2	2	638
26	KR30190_2	S215_Contig5	60	60	1	1	746
27	KR40630_1	S357_Contig7	60	60	3	2	663
28	KR40700_1	S364_Contig16_1	60	60	3	3	678
29	KR40830_3	S377_Contig8	60	60	4	4	914
30	KR40890_1	S383_KBrS015K01	60	60	2	2	899
31	KR50040_2	S398_Contig5_2	61	60	5	4	608
32	KR50290_2	S422_Contig12_2	59	59	1	1	623
33	KR50380_3	S431_Contig18	60	60	2	1	637
34	KR50440_1	S437_Contig41	60	60	2	2	723

3. 노균병 screen을 위한 환경 구축

가. 실내·외 발병 환경 탐색

실내에서는 growth chamber를 이용하여 day/night의 온·습도를 탐색하였다. 기주 식물로 사용될 노균병 약한 품종을 200립 과중하여 발아 후 유묘기까지는 정상적으로 생육할 수 있는 온·습도를 유지한 chamber를 사용하였다. 이후 본엽이 2~3장 나왔을 시비 교적 높은 상대습도를 필요로 하는 노균병 포자의 생육 특징에 맞춘 chamber를 이용하여, 점종실험을 수행하였다. 또한 사용하는 모든 도구들을 멸균하여 다른 병원균의 침입 및 오염을 방지하였다. 그리고 시설 자체의 습도를 80% 이상 유지시키는 것이 매우 어려움으로 chamber 내에 기주 식물 주변의 상대 습도만을 높이기 위해서 광 투과율이 좋은 투명한 재료로 시설을 구축하였다.

실외에서는 data log(온·습도 측정 기계)를 이용하여 실외 환경을 보다 정확하게 측정하여 노균병 발병 환경을 탐색하였다. 또한 노균병 약한 품종을 배추의 일반 재배법과 달리 재식거리는 10x10 정도로 밀식하였고, 결로현상을 유도하기 위해 하루 2차례 잎 뒷면에 관수하였다. 안성의 이례종묘와의 상호 협조로 노균병 발병 개체를 얻어 밀식된 개체 사이사이에 심어 포자의 전이를 유도하였다.

나. Screen에 사용될 유전자원 수집 및 유지

이례종묘에서 분양받은 노균병 약한 품종을 이용하여, 실내에서 노균병의 유지를 위한 기주 식물을 growth chamber에서 생육하였다(그림 10). 더불어 온도는 15-18℃, 60% 습도로 관리하고 있다. 또한 노균병에 대한 F₂의 노균병 분리비를 검증하기 위해서 안성 이례종묘의 토지를 확보하여, 하우스에 기주식물을 생육시켰다. 발병 후, 발병개체를 채집하여 실내에서 병 유지를 위한 재료로써 사용하며 또한 중간평가 코멘트에 따라 F₂ 집단을 이용하여 BSA(bulked segregation analysis)를 시도하였다(그림 11). 또 노균병 유전집단이 제한적인 문제를 해결하기 위하여 충남대의 한국배추계놈소재은행에서 청경채의 노균병 저항성, 이병성, F₁개체를 분양받았으며(왜각황홍 Female of Shulu, 소주청 Male of Shulu, 서록 F₁, F₂), 이를 이용하여 10cm pot에 육묘재배를 하였으며, 이후 screen 재료로 사용하였다.

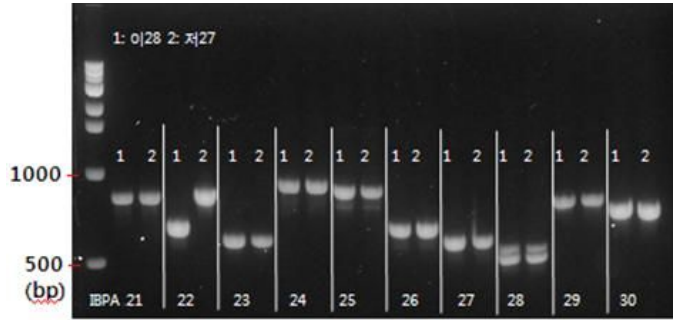


그림 8. IBPA PCR product.

No.	Name	Source	Left primer	L Tm	Right primer	R Tm	PCR product	종 번드수	다형 번드수
1	KA0391-1	S01_4.B6028.13-1	C1TTCCACACACCC175AA	49	GGTTGCTAAGTGAATAAGAC	49	211	2	1
2	KA0404-2	KC4040.3.B6050.18	S2CATCCCGAGAGATACAA	50	GGTTGCTCGGTTTCGATATG	51	581	2	2
3	KA0407-3	KC4040.3.B6050.15	TGGAACTCGCTATTG5AGG	50	GGGAGTCTGCTACCATTC2CA	50	700	2	2
4	KA0509-2	KC4050.2.S04_Centig8	CTCAC17CCAAACCCG5TA	49	GGCTAGGACGAGTGGGAATGA	50	560	4	2
5	KC10200-3	S015_4.B6010.15.B.Centig82	TTAAAGCCCTCGGTTTTCG	49	GGCTTGGTTAAAGAAAGG5CA	50	700	1	1
7	KC1020-3	S01_4.B6040.13.Centig44	GGCTTTTGTATTCAACAATSCCA	51	TGAACCCCTCCTCAGATTG	50	700	2	2
8	KC1030-2	S025_4.B6040.13.Centig125	CTCTGCGTGTGG5AAGAAC	50	GGCCAGAAGGCTGCTTAAAC	50	770	4	4
10	KC10300-2	S06_4.B6040.13-2	GGCCCTTCCAGACTTAAAG5	50	GGTAAAGAGGCTGATGGAGAG	50	584	2	2
11	KC10400-2	S06C_4.B6010.15.Centig9	TCTCGACCTCAATCA5CA	50	GGTTAGCAAGCCATATGGTAG5	50	687	2	2
14	KC10600-1	S015_4.B6010.15.Centig8-1	AAGCAT9CCCAATATCC	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
15	KC11200-1		TGAATGCTGCTCAATCA	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	571	2	2
19	KC20150-2		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
25	KC30000-2		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
27	KC40120-2	KC4010.3.S11_Centig12	ACGAAATGTTGCTAAGCGG	50	GGTAAATGCAAGCCAGATCC	50	580	2	2
28	KC40240-2		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
29	KC40250-2		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
30	KC40260-2		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
32	KC4850	S32_Centig1	TTGGAGCAGTCTGTGATGC	50	GGAACTCAACGAGCTATGCT	50	796	2	2
36	KC10330		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
38	KC10340		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
39	KC10350		GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	GGTTCGAATCTATCAGATC5C	50	584	2	2
40	KC10360	S06_4.B6050.13	ACGTTGCAAGCTTGTAGT	50	GGGAGCTCAGGTTCAATTT5C	50	755	3	1
51	KC11400-1	S10B_4.B6060.21	AATGCTGAGCTGTGTTACA	50	GGTGCACCTCCAGACTCTTCTC	50	515	1	1
52	KC11400-1	S11B_4.B6060.11	CAACTGTGCTCTGG55GAA	50	GGCTGCTTTGTTCTGAGCC	50	650	2	2
55	KC10390-1	S10C_Centig5	CTTTGAGAGCTTGGAGCC5	50	GGTCAAGCTTTGGAGAGCA	50	630	2	2
64	KC20130-2	S015_Centig5	TGCAAACGAGCTTBAAGAA	50	GGCTGATGTATGACGATGTC	50	740	1	1
74	KC40320-1	S07_Centig7	TGGTATG5CTGCACAGAAG	50	GGCTGAGCTGTGCACTGTA	50	663	3	2
75	KC40330-1	S04_Centig14-1	AGCCAG5AACTTBBGAGACT	50	GGTGAAGAGTCTACAGCA	50	670	2	2
79	KC40350-1	S07_Centig8	ATGGTACAGCCACAAATCTC	50	GGTTTGG5GTAATATGTC5C	50	614	4	4
80	KC40360-1	S08_4.B6010.15.D	GTATGTCGTGCTTGGTTGA	50	GGCTCGAATTAAGAGACACB	50	699	2	2
82	KC40400-2	S30C_Centig2	TATCC1CAKCCGCTCCGTA	51	GGCAACGTGACATCGAGAGA	50	680	5	4
85	KC40500-2	S42C_Centig12-2	TAGCTG55ATAAGCCAGT5	50	GGTATAGCCAGTCTGTCG5	50	623	1	1
86	KC40500-3	S43_Centig10	GGTATGCTTCTGTG5T5G	50	GGG5GTCCTTCTGAAAGATC	50	637	2	1
88	KC50440-1	S43T_Centig1	GGATGAGCAGCTCTCTG5	50	GGCCAGTCTCTGAACTT5C	50	723	2	2

총 밴드 수 : 157 총 primer 수 : 89
 다형 밴드 수 : 74 다형 primer 수 : 34
 밴드 다형률 : 약 47% Primer 다형률 : 약 38%

그림 9. 이병성과 저항성 개체의 IBPA marker 다형성 test.



그림 10. 실내 검정을 위한 기주식물 생육 환경 구축 및 유지.

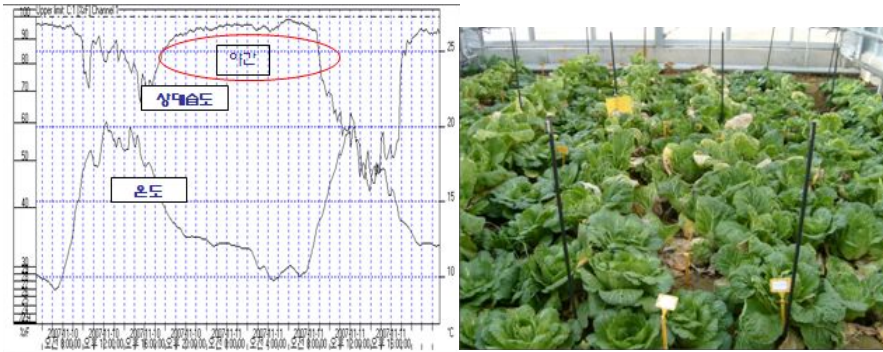


그림 11. 실의 검정을 위한 기주식물 생육 환경 구축 및 유지.

다. Screen에 사용될 병원균 채집 및 접종

노균병이 발생한 포장의 온·습도를 data log(Digital 온·습도 측정 기계)를 이용하여 측정하였다(그림 12). 이는 미세한 환경변화까지 측정하여 발병 환경을 조성할 때 그 효율성을 높이기 위함이다. 환경 측정 결과 일반적으로 알고 있는 노균병 발병 환경 조건과 다른 결과를 얻었다. 야간 온·습도는 각각 8°C, 98%에 이르고 낮에는 각각 25°C, 40%로 무조건 적인 저온다습의 조건이 아니라 주/야간의 온·습도 급격한 변화가 매우 중요함을 구명하였다. 곡성, 광주, 강진, 해남 등 발병 개체를 채집하여 실내 growth chamber의 온도 18°C, 습도 85%로 유지하였고, 채집한 발병 개체 잎을 기주식물(노균병 약한 품종)의 잎 뒷면에 부착시켜 투명 테이프로 고정시켰다. 또한 포자를 멸균수에 희석하여 분무기를 이용해 잎 뒷면에 분무접종 및 피펫 접종을 수행하였다. 접종은 15°C, 80% 광조건(기공침투)에서 수행하였고, 접종 후 24hr 동안 암배양(80% 이상 습도 유지)하여 감염을 유도하였다. 포자 발아는 접종 1주일 후 습실 처리로 발아를 유도하였다(그림 13과 14).

이러한 결과의 원인은 채집 당시 노균병과 백반병 등 각종 병원균의 혼재로 인해 노균병 포자만을 분리하는 것이 매우 어려웠고, 노균병 발생지가 극히 적어서 균 수집 또한 어려움이 컸다.

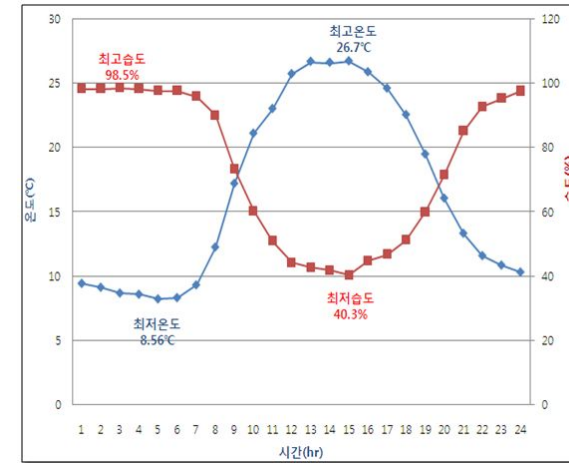


그림 12. 노균병 발생지 환경



그림 13. 채집된 발병 개체.



그림 14. 기주식물에 노균병 실내 접종.

라. 기주식물 및 병원균 유지

접종 후, 기주 식물체와 병원균을 대량 증식을 하기 위해 투명한 polyethylene box를 이용하였고, 투명 비닐로 그 입구를 밀봉하여 고습을 유도하였다. 또한 암면, 원예 상토, 지퍼포트 등의 여러 배지를 이용하여 균일한 육묘를 생산하였다. 노균병 발병 개체를 채집하였다.

마. 노균병 대량증식 및 유지 기술 연구

(1) 일정한 농도의 균 접종 방법 개발

실내 노균병 접종 방법을 개발하기 위해 붓 접종, Pipette 접종, 포자접촉 방법을 사용하였다. 세 가지 방법 모두 접종 성공하였으나 스크린을 위해 정확한 농도 측정이 가능한 Pipette접종을 선택하였다. 기주식물은 이병성 품종을 사용하였고 MS배지에 이병성 종자를 발아 시켰다. 접종방법은 포자가 있는 잎을 50ml tube에 넣어 shaking 하여 3000g로 5~10분 centrifuge하고, 포자 농도를 5x10⁴ conidia/ml- 측정 후 이병성 품종과 저항성 잎 위에 Pipette를 사용하여 20μl씩 투여하였다. 접종 후 Petri-dish를 sealing하였고 1일간 15℃ dark, 100% 습도 조건의 chamber로 옮긴 후 5일간 21~23℃ chamber에서 증식하여 12시간 광을 조사하였다. 6일째 다시 재 습실(15℃ dark, 100% 습도) 처리를 해주어서 7일째 되는 날 접종을 확인하였다. 실험 결과 이병성 품종과 저항성 품종의 차이가 보였다(그림 15).

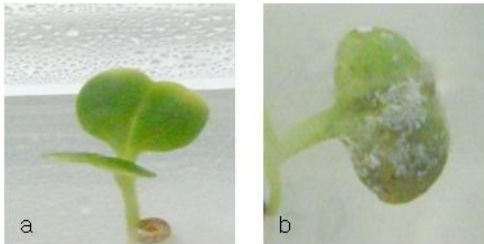


그림 15. Pipette 접종 결과 (a. 저항성 b. 이병성)

(2) 실내 대량 증식 연구

MS 배지에 이병성 종자를 밀식하여 치상하였고 7일간 발아를 시켰다. 밀식되어 있는 이병성 식물에 미리 접종된 잎의 포자를 stage(발아 후 7일, 20일)별로 접종하였다. 접종 방법은 포자가 발아된 것을 인한 후 포자를 기주식물 잎 위에 접촉시켰다. 접종 후 15℃ 100%습도를 주었고, 5일간 21~23℃ chamber에서 증식하여 12시간 광을 주었으며, 6일째 다시 재 습실(15℃ dark, 100% 습도) 처리를 해주어서 7일째 되는 날 접종을 확인하였다. 7일된 잎은 포자 발아를 확인 하여 3번 계대배양을 하였다. 계대 배양 방법은 포자 접촉 방법을 이용하여 포자가 발아된 즉시 수해하였다. 20일된 잎은 노균병의 증상만 보일 뿐 포자 발아를 확인하지 못하였다. 실험 결과를 통해 계대배양의 횟수가 증가함에 따라 포자의 활성이 떨어졌고 식물 간에 전염이 어려웠다.

(3) 실외 대량 증식 시스템 구축

실외 증식을 위해 먼저 노균병이 발병한 안성의 포장을 데이터 로그를 이용해서 조사하였다. 데이터 로그 결과 최고 100% 최저 8.56℃의 환경 조건에 노균병이 발병한 것을 알 수 있었다. 안성 조사 결과를 이용해서 유사한 환경을 구축하였다. 실외 증식을 위해 기주식물을 이병성 3 품종 600개를 면적 3m²에 재식 거리 10x10cm로 배지는 노균병이 발병된 토양의 흙을 직접 가져와서 밀식하였다. 밀식된 식물 사이에 접종된 배추를 밀식하여 비닐을 씌운 후 24:00pm~9:00am에 3시간 간격으로 스프링클러를 이용하여 미스트를 분사하였고 비닐은 9:00am open, 6:00pm close해 주었다(그림 16). Data-logger를 설치하여 온·습도를 측정하였다. 실내 증식 시스템 설치결과 안성에서 노균병이 발병된 결과와 유사한 결과가 나왔으며, 최고 100% 최저 6.62℃의 환경을 보아 노균병 발병 시스템을 구축한 것을 알 수 있었다(그림 17).



그림 16. 실외 대량 증식 시스템 구축

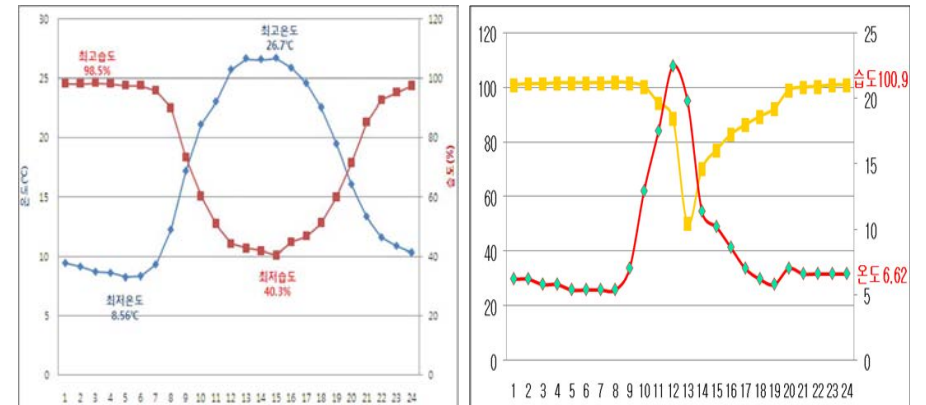


그림 17. 실외 대량 증식 시스템 Data log 결과(안성, 전남대)

(4) 실내 노균병 스크린 환경 구축

실내 스크린을 하기 위해 중국 50계통 국내 37품종을 선별하였다. 노균병 스크린의 표준을 개발하기 위해 이병성, 저항성 품종을 5x10⁴ conidia-ml- 접종하여 노균병 발병단계를 0~4로 정하였다. 0단계는 노균병이 전혀 발생하지 않은 단계이며 1은 노균병 증상이 약간 보이고 2는 노균병 증상이 더 심해지며 반점이 많이 보이고 3은 포자가 발아되어 잎의 반을 덮은 상태이며 4는 노균병 증상도 심하고 포자 발아가 많이 된 상태이다(그림 18).

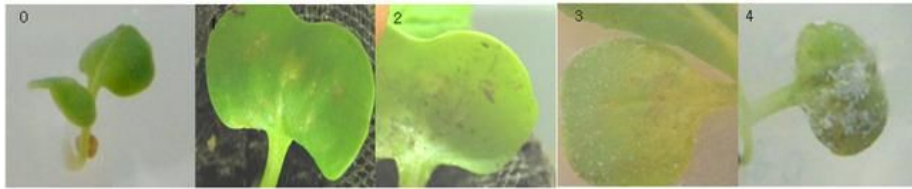


그림 18. 노균병 발병 단계 (0~4)

(5) 실외 노균병 스크린 환경 구축

실외 스크린을 위해 중국 50계통과 국내 37 품종을 안성에서 과종하였고 25일 후 이랑 길이 90m, 이랑 폭 1m 에 스크린 3반복을 위해 한 품종 당 30주를 심었다(표 5). 대조구는 저항성, 이병성으로 각 block마다 심었고 난피법(집구를 만들어 집구 내에 임의로 처리를 배치하는 시험구 배치법)을 이용하였다(그림 19).

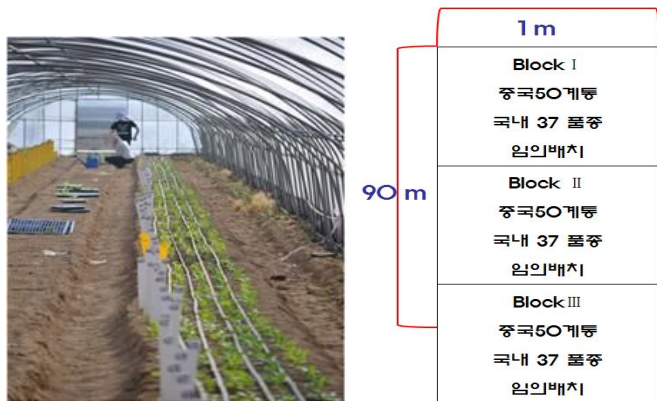


그림 19. 실외 노균병 스크린 (난피법 3반복 배치법)

표 5. 실외 노균병 스크린 재료

No	Scientific name	English name	No	Scientific name	English name
PI-01	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	PI-43	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage
PI-02	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-44	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage
PI-03	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-45	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi
PI-04	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-46	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi
PI-05	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-47	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi
PI-06	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-48	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi
PI-07	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-49	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage
PI-08	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	PI-50	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	Pak-choi
PI-09	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-01	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-10	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-02	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-11	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-03	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-12	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-04	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-13	<i>Brassica juncea</i>	mustard	CC-05	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-14	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-06	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-15	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-07	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-16	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-08	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-17	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-09	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-18	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-14	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-19	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-15	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-20	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	CC-16	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-21	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-17	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-22	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-18	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-23	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-19	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-24	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	CC-20	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-25	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-21	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-26	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-22	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-27	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-23	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-28	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-24	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-29	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-25	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-30	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-26	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-31	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-27	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-32	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-28	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-33	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-29	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-34	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-30	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-35	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-31	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-36	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage	CC-32	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-37	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	Flowering Chinese cabbage (Pak-choi)	CC-33	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-38	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	CC-34	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-39	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	CC-35	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-40	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	CC-36	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-41	<i>Brassica rapa ssp. chinensis</i>	pak-choi	CC-37	<i>Brassica rapa</i>	Chinese cabbage
PI-42	<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>	Chinese cabbage		중국 50계통, 국내 37 품종	

4. BSA 집단 분석

가. BSA 검증 재료 선발

이례종묘 포장에서 총 1,540 개체를 육성하여 실외 노균병 스크린을 수행하였다. 그 결과 각 집단별 3:1의 분리비를 형성하였으며 이는 노균병 저항성 유전자는 단일 유전자일 가능성이 있음을 알 수 있었다(표 6). 해당 집단들 중 F₂ 집단을 기준으로 노균병에 대해 저항성과 이병성의 표현형을 띄는 양 극단의 개체들을 각각 10개체를 선발하여 BSA 검증 재료로 사용하였다(그림 20).

표 6. 집단별 노균병 발생 빈도

	개체수	발병 개체수	기대빈도(저항:이병)	실측빈도(저항:이병)
이병성	40	40	0:40	0:40
저항성	35	0	35:0	35:0
F ₁	45	0	45:0	45:0
F ₂	483	114	362.25:120.75	369:114
F ₁ ×이병성(BC ₁ F ₁)	478	245	239:239	233:245
F ₁ ×저항성(BC ₁ F ₁)	459	1	459:0	459:1



그림 20. BSA 검증 재료 - 저항성 10개체(좌), 이병성 10개체(우)

나. BSA 수행을 위한 F₂ 집단의 노균병 포장 Screen

이례종묘와 상호 협조하여 토지를 확보 하여, 안성에 10 x 10cm로 밀식재배하였다. F₂ 개체의 발병 비율 확인 및 BSA 사용 개체 선발을 목적으로 하였다. 현재 노균병이 발병하여 1차적으로 집단의 발병 분리비를 X²검정을 하였다(표 7). 그 결과, 계산된 X²값은 0.0384로 df = 1에서 X²-분포표의 0.80~0.95사이 존재하며, 확률(P) = 0.80~0.95로 즉, 0.80 < P < 0.95이며, 실험 100회 반복당 80~95회 기대값과 관찰값이 일치함을 알 수 있다.

표 7. F₂ 집단의 노균병 발병 분리비 검정

	발병개체 (85개체)	미 발병개체 (145개체)	합계 (230개체)
관찰값(O)	0.37	0.63	1
기대값(E)	0.25	0.75	1
(O-E)	+0.12	-0.12	0
(O-E) ²	0.0144	0.0144	
(O-E) ² /E	0.0576	0.0192	
Σ(O-E) ² /E	0.0576-0.0192=0.0384		X ² = 0.0384

다. BSA 수행을 위한 다양한 집단의 노균병 저항성 평가

노균병에 강한 저항성을 보이는 inbred line SS₁과 노균병에 심한 감수성을 나타내는 inbred line RS₁를 교배하여 F₁집단을 만들었었으며, F₁집단을 자가수정하여 F₂집단을 만들었고 다시 F₁집단을 RS₁과 SS₁에 교배시켜서 각각 BC₁F₁ 집단을 생성하였다(그림 21).

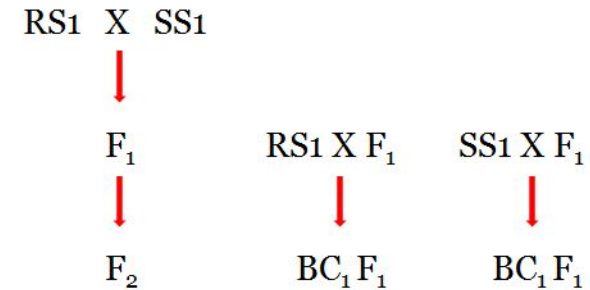


그림 21. 4차년도 집단 생성 방법

F₁, F₂, BC₁F₁ 집단들은 54 x 28 x 8cm의 128-cell plug trays에서 발아하였고, four to six-leaf seedling stage후에 2007년 9월 17일 안성시의 플라스틱 하우스에 10cm 간격으로 이식 하였다. 플라스틱 하우스는 어떠한 소독이나 살균을 하지 않아서 자연 상태의 노균병에 감염될 수 있는 환경으로 유지가 됐고 이식 된지 70일 후에 눈과 현미경으로 관찰해 저항성은 A~B, 감수성은 C~E를 기준으로 저항성을 평가하였고(그림 22), 저항성을 평가한 표 8은 다음과 같다.

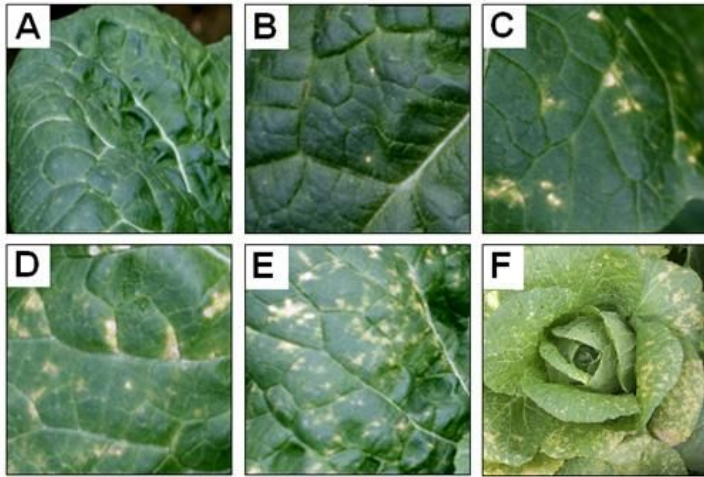


그림 22. 노균병 감염 정도에 따른 배추 단계 구분. 노균병 감염 정도는 배추잎에서의 노균병 감염 면적에 따라 결정. A. 무감염 (0), B. 잎 상단부에 1-3곳 정도 노균병 감염 (1), C. 잎상단부에 25%정도의 노균병 감염과 잎 하단부의 부분적 감염 (2), D. 잎상단부에 25-50% 정도의 노균병 감염과 증가된 하단부 감염 (3), E. 잎 상단부에 50% 이상의 노균병 감염과 잎 하단부 전체적으로 감염 (4), F. 잎 전체적으로 심각한 정도의 노균병 감염을 보이는 단계.

표 8. 노균병 저항성 순계 (RS₁)와 이병성 순계 (SS₁) 교배를 통한 다양한 분리집단에서의 노균병 감염정도에 따른 분리비.

Populations	Observed ratio (R : S) ^a	Expected ratio (R : S)	χ^2	P value
RS ₁	35 : 0	1 : 0	0	1
SS ₁	0 : 40	0 : 1	0	1
F ₁ (RS ₁ X SS ₁)	45 : 0	1 : 0	0	1
F ₂	369 : 114	3 : 1	0.50	0.48
BC ₁ F ₁ (F ₁ X RS ₁)	458 : 1	1 : 0	0.002	0.96
BC ₁ F ₁ (F ₁ X SS ₁)	233 : 245	1 : 1	0.30	0.58

a R: 저항성, S: 이병성

이 결과에서 노균병에 대한 저항성은 단일 유전자가 결정한다는 것을 알 수 있었고, 더 많은 식물 재료를 확보하고 신뢰성 있는 결과를 나타내기 위해서 single seed descent(SSD) method를 사용하여 95 line - 30 plant 집단을 만든 후 난괴법으로 저항성을 평가하였고 그 결과 표 8의 유전양상과 마찬가지로 노균병 저항성은 단일 유전자가 결정한다는 것을 확인하였다.

라. BSA 다형성 탐색 및 marker 개발

(1) 분자마커를 이용한 다형성 탐색

(가) RAPD 마커

총 913개의 마커를 사용하였으며, BSA의 양 극단간 1차 다형성 스크린 결과 형성된 총 밴드 수는 3132개, 다형밴드는 45개를 형성하였으며, 약 1.4%의 다형률을 보였다. 이를 바탕으로 저항성과 이병성 bulk간 다형성을 보이는 23개의 마커를 1차적으로 선발하였고, 선발된 마커를 이용하여 각 bulk내 개 체별로 2차 다형성 스크린을 수행하였다. 그 결과 최종적으로 1개의 마커를 선발하였다. 최종적으로 선발된 RAPD 마커는 bulk내 계통뿐만 아니라 기존 집단의 양친과 추가집단 및 노균병에 대해 감수성과 저항성을 보이는 일반 품종들을 대상으로 검증 과정을 거쳤다(그림 23). 해당 마커에서 생성된 여러 밴드 중 우리가 목표로 하는 밴드의 사이즈는 650~700bp 사이로 아래 보이는 결과와 같이 각 개체 간 확연히 구분이 되며, 현재는 해당 마커를 direct-sequencing 방법을 통하여 염기정보를 분석하였다.

분석한 정보를 통해 유사한 BAC-clone full-sequence를 찾았으며, 국립 농업과학원으로부터 2종의 BAC-clone을 분양받아 추가 실험을 진행하였다. 더불어 마커의 진위 여부를 판단하기 위해 RAPD 마커를 SCAR 마커로 전환하였다.

** 해당 마커의 정보는 특허출원과 관련하여 공개 불가함을 양해해주시기 바랍니다.

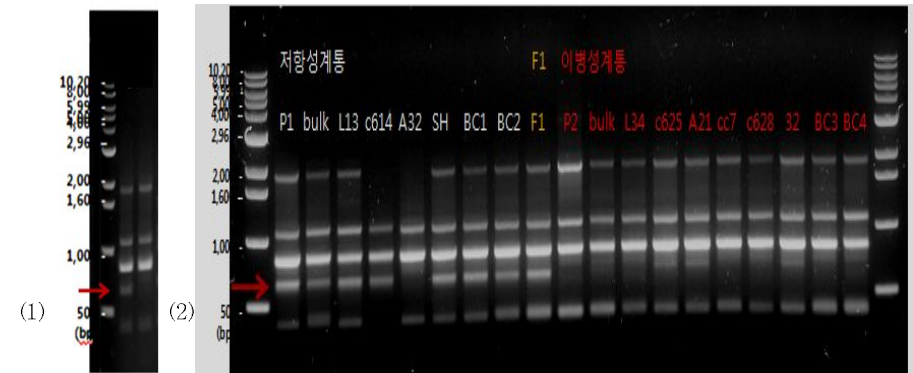


그림 23. 선발된 마커의 검증 결과

- (1) bulk간 다형도 검증결과,
- (2) 양친(P1, P2), bulk내 계통(L13, L34), 일반 품종(c614, A32, cc7, c628), 추가집단양친(SH, 32), Backcross집단(BC1-4), F1(P1xP2)

(나) IBPA와 SSR 마커

IBPA 마커는 총 89set를 사용하였으나, BSA의 양 극단간 다형도가 0%이다(그림 24).

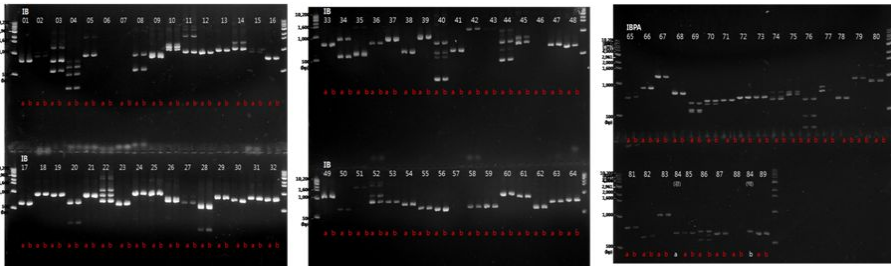


그림 24. IBPA 마커 검증 결과

노균병 저항성에 연관된 마커를 탐색하기 위하여 추가적으로 293set의 SSR 마커를 사용하였으며, 양 극단의 bulk간 1차 다형성 스크린 결과 총 299개의 밴드를 형성 하였으며, 그 중 이병성 bulk에서 특이적으로 1개의 밴드를 형성한 *cnu 07* primer를 1차 선발하였다. 그러나 그림 23과 같이 저항성 10계통과 이병성 10계통의 genomic DNA를 통한 다형도 검증 결과 저항성 2개체에서도 동일한 밴드가 증폭되었고, 이병성 line에서는 10개체 중 단 2개체에서만 밴드가 형성되어 해당 primer는 이병성 형질과 서로 독립적이거나 매우 낮은 연관성을 보였다(그림 24).

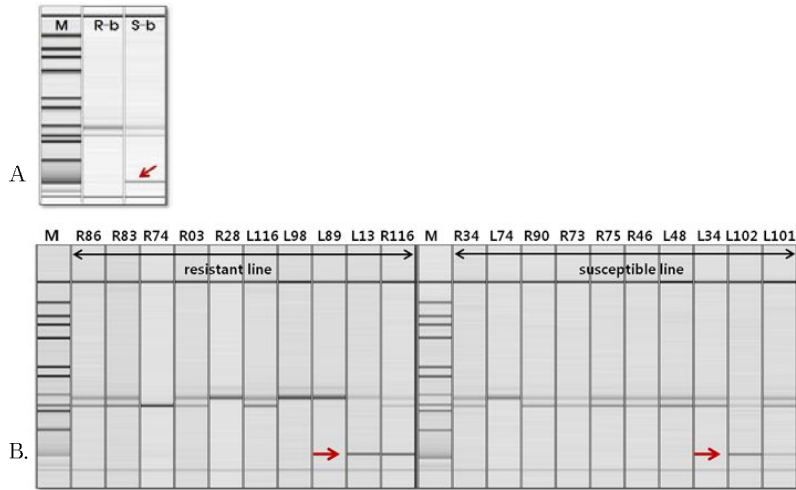


그림 24. 293set의 SSR marker 중 1차 선발된 *cnu 07*

R-b: 저항성 bulk, S-b: 이병성 bulk, resistant line: 극 저항성의 F₂ 10개체, susceptible line: 극 이병성의 F₂ 10개체

(다) 노균병 저항성 연관 마커로 선발된 RAPD primer 검증

2차년도에 최종 선발된 RAPD primer의 신뢰도를 검증하기 위하여 아래와 같은 과정을 통해 F₄ 집단 100계통에 따른 발병률과 각각의 genomic DNA와 해당 primer의 PCR 분석을 통해 증폭된 저항성 특이적 밴드간의 유의성을 분석하였다. 선발된 마커의 신뢰도를 검증하기 위해 F₄ 집단 100계통을 이용하여 실외 스크린을 수행하였고, 2009년 11월 13일(정식 후 50일 경과) 생육과정에서 고사한 개체를 제외한 총 2603개체를 그림 22과 같이 4단계를 기준으로 각 개체들의 발병 정도를 스코어링하였다. score된 자료를 바탕으로 각 계통별로 병반 및 포자가 전혀 형성되지 않거나(class 0) 병반면적률이 10% 이하로 매우 미미하게 발생된(class 1) 개체는 저항성으로, 병반면적률이 11% 이상으로 다량의 포자가 형성된(classes 2-4) 개체는 이병성으로 간주하여 두 그룹으로 분리하였고, 각 계통마다 분리된 이병성 개체를 counting하여 다음과 같은 수식을 통해 계통별 노균병 발병률을 조사하였다(그림 25).

$$*Infected\ plants\ of\ accessions\ (\%) = \frac{No.\ of\ susceptible\ plants}{Total\ no.\ of\ accession\ plants} \times 100$$

그 결과 100계통 중 F₄-006, 050, 053, 054, 069, 083, 092, 094, 180, 209, 229, 252, 255 그리고 267(총 14계통)은 3반복 모두 100% 저항성을 띠었고, 1~10%의 비교적 강한 저항성은 16계통, 11~30%이하의 약한 저항성은 24계통 그리고 나머지 46계통은 31% 이상의 발병률을 나타냈다(표 9).

실외 스크린 검증에 사용된 F₄ 100계통을 각 10계통씩 어린잎을 채취하였고, 동일한 질량으로 섞어 genomic DNA를 추출하여 해당 primer와 PCR을 수행 한 결과, 총 100계통 중 61계통에서 650~700bp 크기의 저항성 특이적 밴드가 형성되었다(그림 26). 계통들에서 저항성 특이적 밴드가 형성된 계통은 '1', 형성되지 않은 계통은 '0'으로 스코어링하였고, SPSS ver. 17.0 프로그램의 비모수 검정법인 일원배치 분산분석방법의 Kruskal-Wallis H 검정을 통해 노균병 발병률과 저항성 특이적 밴드 형성간의 유의성을 분석한 결과, 근사 유의확률이 한계유의수준($\alpha = 0.05$) 이하로 매우 낮은 수치를 나타내었다($P < 0.0001$). 따라서, 노균병 발병률에 따라 저항성 특이적 밴드 형성은 유의한 차이가 있는 것으로 검증되었다(표 10).

RAPD 분석을 위한 DNA는 F₂와 F₄ 집단의 식물에서 저항성이 가장 강한 식물 10개체와 감수성이 가장 강한 식물 10개체에서 추출되었다. 913개의 random decamers를 제작하여 단일 식물의 DNA와 혼합된 DNA에서 PCR한 결과 5'GTGACGTAGG3' primer에서 저항성과 감수성에 다형성을 나타내는 밴드가 관찰되었고(그림 27), 이 연구에서 사용된 primer는 표 11와 같다.

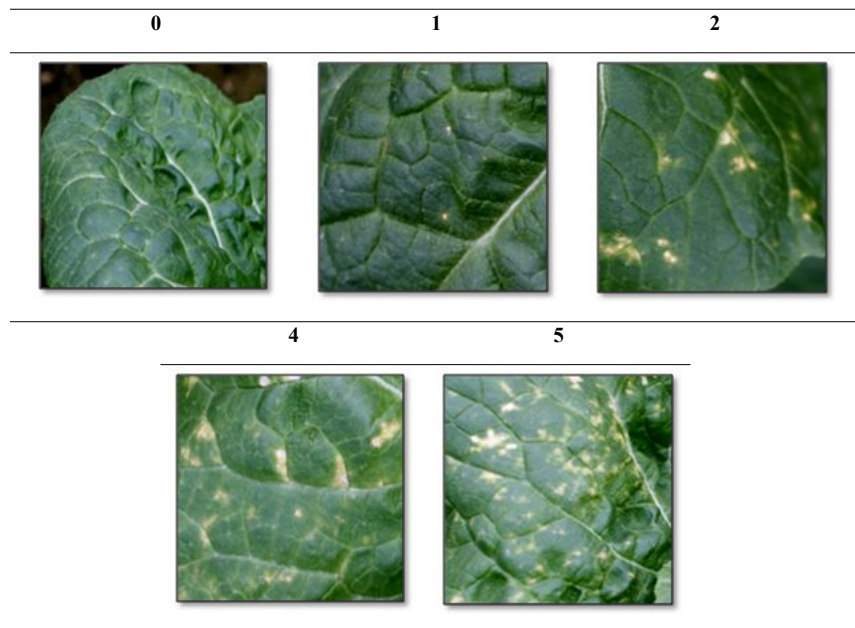


그림 25. 배추 노균병 발병 단계(classes 0-4): 실의 스크린 기준

(0: 무감염, 1: 잎 상단부에 1-3곳 정도 노균병 감염, 2: 잎상단부에 25%정도의 노균병 감염과 잎 하단부의 부분적 감염, 3: 잎상단부에 25-50% 정도의 노균병 감염과 증가된 하단부 감염, 4: 잎 상단부에 50% 이상의 노균병 감염과 잎 하단부 전체적으로 감염)

표 9. F4 유전집단의 실의 스크린 결과

Accession name	zNo. of susceptible plants	No. of tested plants	yInfected plants (%)	Accession name	zNo. of susceptible plants	No. of tested plants	yInfected plants (%)
F4-003	24	27	88.9	F4-097	24	27	88.9
F4-004	17	25	68.0	F4-099	1	27	3.7
F4-005	8	28	28.6	F4-100	18	27	66.7
F4-006	0	28	0.0	F4-102	4	27	14.8
F4-007	20	26	76.9	F4-103	21	27	77.8
F4-008	6	27	22.2	F4-108	12	27	44.4
F4-009	1	27	3.7	F4-113	14	27	51.9
F4-016	10	27	37.0	F4-118	16	27	59.3
F4-017	6	27	22.2	F4-119	20	27	74.1
F4-028	1	27	3.7	F4-120	5	27	18.5
F4-032	16	26	61.5	F4-122	9	26	34.6
F4-035	8	27	29.6	F4-123	9	26	34.6
F4-037	7	27	25.9	F4-125	5	26	19.2
F4-044	11	27	40.7	F4-126	5	26	19.2
F4-047	1	25	4.0	F4-128	2	26	7.7
F4-050	0	26	0.0	F4-129	4	27	14.8
F4-053	0	11	0.0	F4-137	1	27	3.7
F4-054	0	27	0.0	F4-140	2	27	7.4
F4-055	10	27	37.0	F4-152	4	27	14.8
F4-060	12	27	46.2	F4-155	3	21	14.3
F4-067	22	27	81.5	F4-164	7	27	25.9
F4-069	0	26	0.0	F4-167	1	27	3.7
F4-074	11	27	40.7	F4-170	4	27	14.8
F4-078	1	26	3.8	F4-178	14	27	51.9
F4-080	17	27	63.0	F4-180	0	26	0.0
F4-083	0	28	0.0	F4-193	2	27	7.4
F4-092	0	25	0.0	F4-195	2	23	8.7
F4-093	15	27	55.6	F4-205	13	20	65.0
F4-094	0	27	0.0	F4-207	1	26	3.8
F4-096	22	27	81.5	F4-209	0	27	0.0
F4-210	3	27	11.1	F4-302	8	26	30.8
F4-213	4	27	14.8	F4-303	1	27	3.7
F4-225	1	27	3.7	F4-306	22	27	81.5
F4-228	5	27	18.5	F4-307	5	27	18.5
F4-229	0	26	0.0	F4-310	10	25	40.0
F4-242	2	27	7.4	F4-313	22	26	84.6
F4-248	4	27	14.8	F4-317	3	14	21.4
F4-252	0	17	0.0	F4-320	24	25	96.0
F4-255	0	27	0.0	F4-321	13	27	48.1
F4-256	20	27	74.1	F4-325	10	27	35.7
F4-261	7	27	25.9	F4-332	22	27	78.6
F4-263	16	19	84.2	F4-333	25	28	89.3
F4-264	26	27	96.3	F4-340	3	27	11.1
F4-265	9	19	47.4	F4-341	20	27	74.1
F4-267	0	27	0.0	F4-353	2	25	8.0
F4-268	23	27	85.2	F4-356	22	27	81.5
F4-275	23	27	88.5	F4-358	22	27	81.5
F4-277	6	27	22.2	F4-360	23	26	88.5
F4-290	9	27	33.3	F4-362	9	26	34.6
F4-291	20	27	74.1	F4-370	21	27	77.8

(zNumber of plants included to classes ranging 2-4 by interaction-phenotype classes of downy mildew)

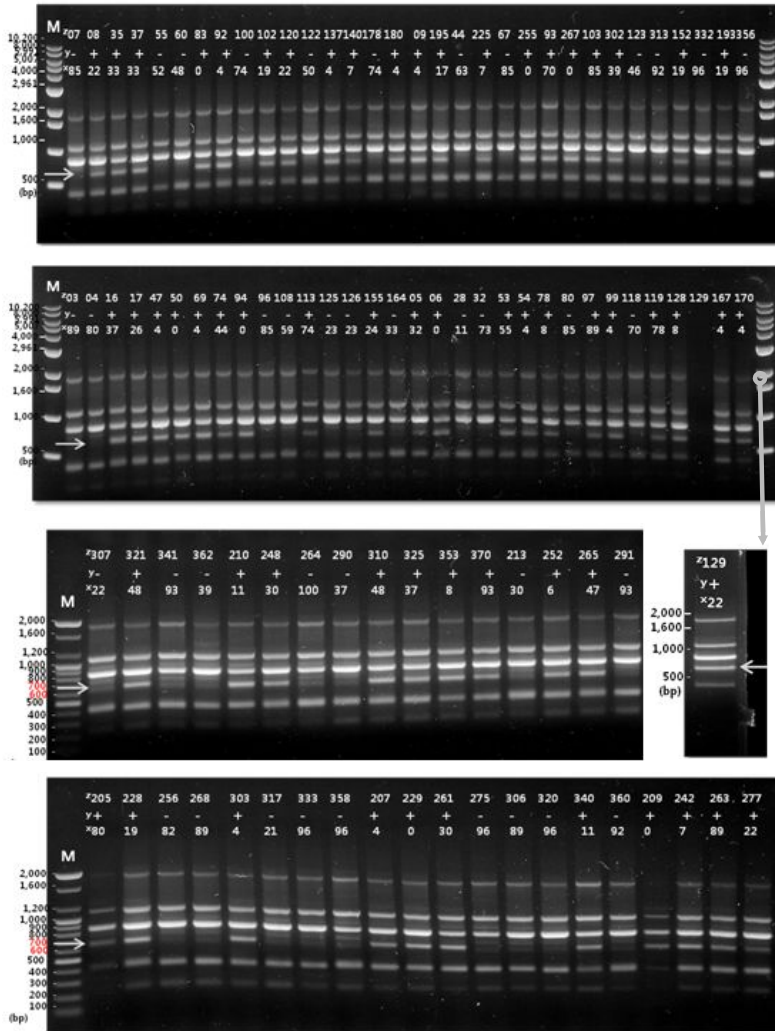


그림 26. F₄ 100계통에 대한 마커 검정

(^zThe accessions name of a screened F₄ population, yPlus and minus sign: amplification (+) or non-amplification (-) of resistant polymorphic band, xDisease severity of the F₄ accessions by downy mildew)

표 10. 저항성 특이적 밴드와 발병률 간의 상호 관계 분석

Ranks			
	Polymorphic band	N	Mean Rank
Disease severity	-	39	72.13
	+	61	36.67
Total		100	

Test ^{z,y} Statistics	
Disease severity	
Chi-Square	35.663
df	1
Asymp. Sig.	0.0000000023

(^zKruskal Wallis Test at P=0.05, yGrouping Variable: polymorphic band)

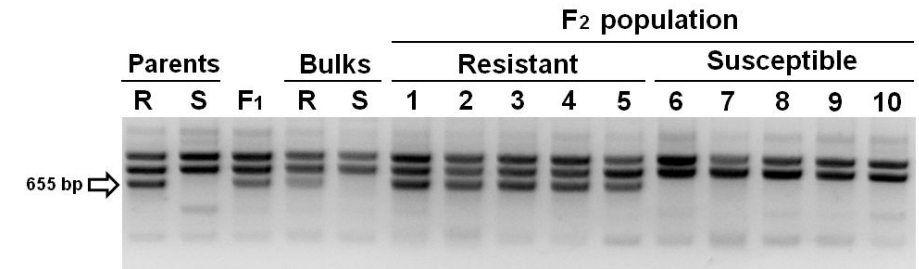


그림 27. 노균병 저항성 유전좌(*BrRHPI*)에 연관된 RAPD 마커. 연관 마커는 655bp 크기로 화살표로 표기됨. R: 저항성친, S: 이병성친, F₁: 저항성친과 이병성친간의 F₁ 교배종.

표 11. 노균병 연관 마커로 개발된 프라이머 염기정보

Primer names	Primer sequences (5' to 3')
OPA08	GTGACGTAGG
A-F1	CTGGTTTCTTCCTTGCATTGCCCGATA
B-F1	AGTTCATCGGTTTGAACCGGCTTGTG
Co-R1	GACGCCGGCTGTTGGTAAATCACAT
BN-F1	TCTGAGCTCCCGTCTAAGTTG
BN-R1	TGTCCAACATTCAGCAAAGC
G17-F	GCGGGTTGACCCCTAGTAAT
G17-R	TGCAAGTTGTGTCGGACAAT
M22-F	ATACAAAAGCAACGGCAAC
M22-R	TGGGGAAGAAGGTTTGTTTG
N18-F	GAGGCAAGAACCTTCTCCAG
N18-R	TTGCTCAACATCATCGGTCT
M05-F	ACAACATTAGCAACGCACCA
M05-R	CTTTTCTATCGCGCTGAAC
J11-F	TGTGGGAGAGATAGGGTTGG
J11-R	TTTGTCGGAGGGATCAAAAA
A03-F	AGGTTTCGACCACCATGACTC
A03-R	TGGGGTGTTTACACAAAGCTC

(라) RAPD 밴드의 시퀀싱과 genome walking에 의한 RAPD 밴드 flanking region 확인

R-bulk와 저항성 계통의 F₂-13 개체에서 형성된 저항성 특이적 밴드를 cloning하여 해당 염기서열을 분석하였다. 그 결과, R-bulk에서는 887 및 670bp, F₂-13 개체에서는 653 및 702bp 크기의 4가지 염기서열을 획득하였다. 해당 염기서열들은 서로 전혀 일치하지 않는 염기서열을 가지고 있었으며, 각각의 염기서열을 BLAST한 결과 gene bank 내에 일치하는 유전정보가 없었다. 따라서 아가로스 젤 상에서 다형성을 나타내는 밴드를 cut하여 정제시킨 후 pGEM-T easy vector에 서의 clone, Big Dye에서 시퀀싱, 최종적으로 ABI 3700 Genetic Analyzer에서 655bp의 시퀀스를 얻었다.

655bp시퀀스에 4쌍의 primer를 제작하여 PCR한 결과 저항성과 감수성에서 각각 1개의 밴드가 확인되었으므로 이들의 flanking region을 genome walking하여 확인한 결과 3' region이 애기장대의 PERK15와 유사했고 5' region은 저항성(BrPERK15A)과 저항성(BrPER15B), 저항성(BrPER15A)과 감수성(BrPER15B)에서 완전히 다른 region이 발견되었다(그림 28).

A



B

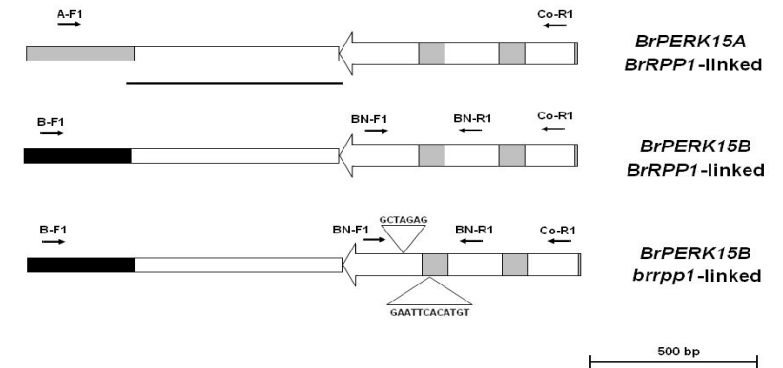


그림 28. 개발된 RAPD 마커의 SCAR 마커로의 전환.

A. 애기장대에서 proline-rich receptor-like protein kinase(PERK15) 유전자의 구성. 화살표 방향은 5'-to-3'. 진한박스과 빈박스는 각각 intron과 exon을 표기. B. 애기장대 PERK15 유전자와 상동성이 있는 *B. rapa* 유전자 부근 유전자의 염기 구성. 이 *Brassica rapa* 유전자는 *BrRHP1* 유전자와 연관됨. BrPERK15A에서 표기된 선은 선발된 RAPD마커가 증폭한 부위를 표기하였다. 그 외 5' 말단쪽 회색 및 검정 상자는 RAPD마커 증폭 외의 구간을 표기. 수평 화살표는 추가로 개발된 프라이머 결합 위치 표시. 빈삼각형으로 표기한 염기서열은 삽입 염기서열.

(마) RAPD 시퀀스와 확인된 flanking region시퀀스 정보를 이용한 SCAR marker의 개발

그림 28에서 A-F1과 Co-R1 primer를 사용한 PCR의 결과 저항성과 heterotype에서만 밴드가 나타나는 dominant marker로 확인할 수 있었으며(그림 29), 감수성에서 나타나는 insertion region을 이용한 PCR(BN-F1과 BN-R1 primer) 결과 co-dominant marker가 확인되었다.

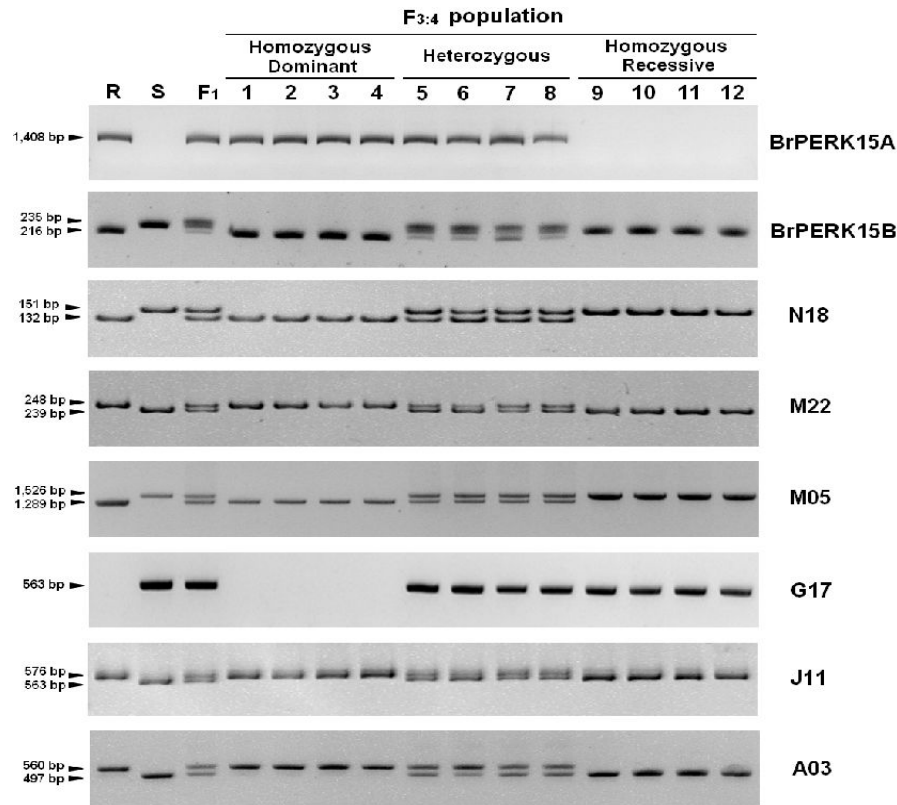


그림 29. 본 연구를 통하여 새롭게 개발된 분자마커들의 노균병 저항성, 이병성, F₁, F_{3:4}개체들에서의 PCR 사진. R: 저항성친, S: 이병성친, F₁: 저항성과 이병성친의 F₁ hybrid.

5. 기초 유전자 지도 작성

가. F₄ 유전집단을 이용한 기초 유전자 지도 작성

기초 유전자 지도 작성을 위하여 2차년도에 충남대와 전남대가 상호협력하여 양친간의 다형성 테스트를 수행하여 RAPD 43개, SSR 199, set IBPA 34개 중에서 235개의 다형성 marker를 선발하였다. 추가로 양친간의 다양성 마커를 확보하기 위하여 충남대에서 SSR marker 125 set를 분양받아 테스트 한 결과 41개 marker를 더 확보할 수 있었다. 634개의 maker 테스트를 통하여 총 279개의 양친간의 다형성 마커를 확보하였으며, 연관그룹 하나당 10개 이상의 marker를 올리기 위하여 100개의 marker를 선발하여 수행하였다.

선발된 100개의 marker를 통하여 기초 유전자 지도 작성을 위해 저항성F₁ x 이병성F₁을 교배하여 만든 노균병 유전집단 F₄ 100계통을 각 10계통씩 파종한 후 어린잎을 채취하여 동일한 질량으로 섞어 genomic DNA를 추출하였다.

양친과 F₄ 100계통의 genomic DNA를 RAPD 43개 마커를 수행한 결과 29개의 다형성 마커를 확보할 수 있었다. 다형성이 확인된 RAPD 29개 마커의 각 개체의 유전형을 scoring 하여 data matrix를 만들었으며, Data matrix를 기본으로 하여 기초 유전자 지도 작성을 위해 JoinMap 4.0 program을 사용한 결과 저항성 연관 마커로 선발된 RAPD 마커와 근접한 N8061, OPA17, N8045, N8073 마커를 확인할 수 있었다. 위 결과를 기반으로 SSR 89 set 테스트를 완료한 후 노균병 유전집단 F₅ 2차 실외 스크린 결과와 함께 JoinMap 4.0 program과 Map QTL 5를 이용하여 기초 유전자 지도를 작성하였다.

나. 선발된 마커의 연관 분석 및 지도 작성

F₄ 100계통에 대한 노균병 실외 스크린을 통해 확보된 양적 형질 특성의 발병률을 다음과 같이 두 가지 기준을 통해 데이터를 전환한 후 최종 선발된 RAPD 마커와의 상대적 위치 및 그 연관 정도를 분석하였다.

첫 번째는 0~30% 수준의 발병률을 보인 계통들은 비교적 강한 저항성(R₁)으로 31% 이상의 발병률을 나타낸 계통들은 모두 이병성(rr)으로 간주하였고, 두 번째는 저항성 계통 분리 기준을 0~25%의 발병률로 낮추어 해당 범위에 속하는 계통들은 저항성(R₁)으로, 26% 이상의 발병률을 나타낸 계통들은 모두 이병성(rr)으로 간주하여 JoinMap 4.0 software(Van Ooijen, 2006)의 데이터 명명법에 따라 각각 'a'와 'b'로 표시하였다. 첫 번째 정보는 'DM30'으로 두 번째 정보는 'DM25'로 명명하였다. 분자 마커는 사용 기술에 대한 특허 출원 상태로 해당 마커의 이름을 'RPM1'이라고 임시 명명하였고, 프로그램의 명명법에 따라 650~700bp크기의 저항성 특이적 밴드가 뚜렷하게 증폭된 계통(R₁)은 'a'로 증폭되지 않은 계통(rr)은 'b'로 분류하였으며, 생성된 3가지 종류의 데이터들은 Kosambi mapping 기능(Kosambi, 1994)을 이용하여 유전자 지도를 작성하였고, minimum logarithm(base 10) of odds(LOD) score은 3으로 설정하였다.

JoinMap 4.0 software를 통한 F₄ 100계통의 발병률을 두 가지 기준으로 저항성(R₁, a)과 이병성(rr, b) 계통으로 분리한 형태 마커와 분자 표지 마커간의 연관 분석 결과, 'RPM1' 마커는 저항성 계통을 노균병 발병률 0%부터 25% 이하의 수준으로 나누는 'DM25'와 0.164(약 16%)의 재조합 빈도를 가지며 6.45의 LOD 값을 나타내었고, 발병률 0%부터 30% 이하의 수준으로 저항성 계통을 나누는 'DM30'과는 0.1381(약 14%)의 재조합 빈도와 7.72의 LOD 값을 나타냄. 'RPM1' 마커와 두 가지 종류의 형태 마커 모두 3이상의 LOD값과 50% 미만의 재조합 빈도를 나타내는 것으로 보아 서로 연관되었음을 알 수 있었고, DM30 형태 마커와 'RPM1' 분자 마커는 약 14.7cM, DM25 형태 마커와는 16.3cM 떨어져 있었으며, 해당 마커는 DM20 보다 DM30의 형태 마커와 약 1.6cM 더 근접하게 위치하였다(표 12와 그림 30).

표 12. JoinMap 4.0 software를 이용한 연관 분석 결과

Locus1	Locus2	Recombination frequency	χ^2 LOD
^x DM25	^w DM30	0.0156	25.06
^v RPM1	^w DM30	0.1381	7.72
^v RPM1	^x DM25	0.1640	6.45

Locus	Group	^v Distance	Cumulative distance
^x DM25	1	0.000	0.000
^w DM30	1	1.609	1.609
^v RPM1	1	14.691	16.300

zMinimum LOD score of 3.

yKosambi mapping function of JoinMap 4.0 software (Van Ooijen, 2006).

xFormed locus genotype file by resistance standard in 0~25% of disease severity.

wFormed locus genotype file by resistance standard in 0~30% of disease severity.

vLocus genotype file of molecular marker related to downy mildew resistance.

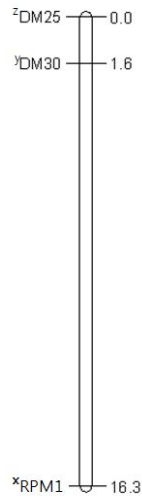


그림 30. RPM1과 두 가지 유형의 형태 마커의 연관 지도

6. *Brassica rapa*의 reference map을 이용한 노균병 저항성 유전자(BrRHP1)의 유전자 지도 작성을 통한 염색체 위치와 추가적인 SCAR marker의 개발

가. 기초유전지도와 reference지도를 이용한 위치 탐색

두 개의 분자마커(BrPERK15A, BrPERK15B)중 BrPERK15B가 저항성과 감수성 식물에서 다형성을 나타냈기 때문에 *B. rapa*의 reference map으로 integration되었다. Integration 결과 BrPERK15B는 *B. rapa*의 1번 염색체에 위치한 것으로 확인하였으며, 따라서 *BrRHP1*도 1번 염색체에 위치하는 것으로 추측할 수 있었다(그림 31).

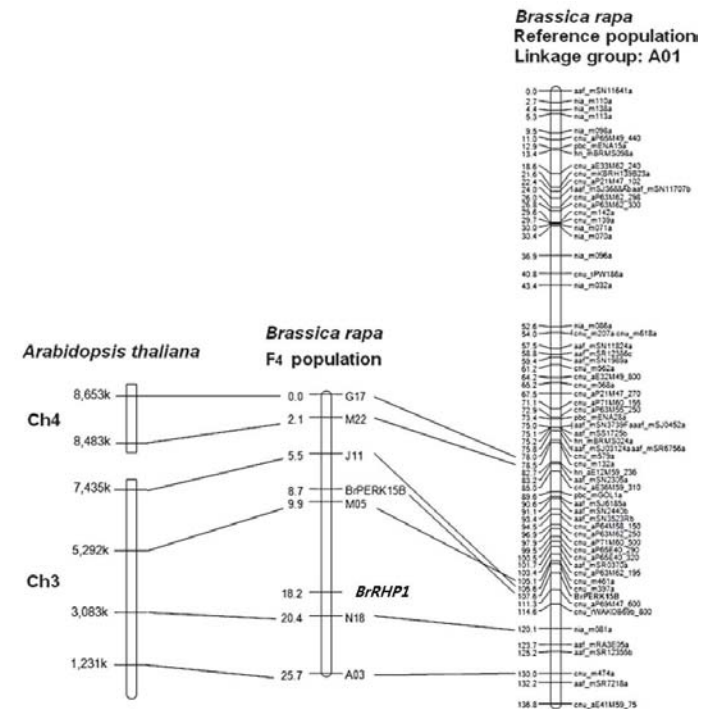


그림 31. *BrRHP1* 유전좌가 위치한 분자마커 연관 지도

왼쪽 연관 지도는 본 연구과정에서 F4 집단을 이용하여 개발함. 오른쪽 연관지도는 기존에 자세히 개발된 *B. rapa* (연관 지도를 대조 연관 지도로 사용(Choi et al. 2007; Kim et al. 2009). 연관지도거리는 cM 단위로 왼편에 표시하고 오른편에는 마커 이름을 표기. 왼편 지도의 마커를 오른편 대조 연관 지도에 표기된 BAC clone들로 스크린하여 연관된 clone들과 연결. 이들 BAC clone들의 염기서열을 이용하여 개발된 SSR 마커들은 오른쪽 해당 대조 연관 지도 위에 위치함(Kim et al. 2009).

reference map에서 BrPERK15B가 위치한 region 근처에 BAC clone 정보(KBrH003N18, KBrB036M22, KBrB042J11, KBrB078A03, KBrB085G17, KBrB089M05)를 활용하여 *BrRHP1*에 연관된 marker를 탐색한 결과 비교적 큰 indel(KBrB089M05-221bp, KBrB078A03-63bp, KBrH003N18-19bp, KBrB042J11-13bp, KBrB036M22-9bp)을 발견하였고, 간단한 PCR co-dominant marker를 개발하였다(그림 32). 노균병 저항성 유전자와 개발된 연관마커들의 관계는 JoimMap version 4.0으로 측정하였고, map distances(cM)는 Kosambi function으로 측정하였다.

나. *BrRHP1*의 1번 염색체 sequence를 이용한 노균병 저항성 유전자(*BrRHP1*)의 염색체 위치 및 SCAR marker 개발

노균병 저항성 유전자(*BrRHP1*)가 1번 염색체에 위치한 것을 확인하여 다른 계통의 Full sequence 중에서 염색체 1번의 sequence를 농촌진흥청에서 분양받았으며, *BrRHP1*이 위치한 부분인 M05 marker와 N18 marker 사이의 sequence를 바탕으로 임의의 primer set을 제작하였다(표 13).

M05 marker와 N18 marker 사이의 총 sequence 개수는 1606페이지(MS word) 분량이며, 임의의 primer set을 제작하여 PCR 확인 결과를 토대로 *BrRHP1*의 위치 범위를 점차 좁혀나갔으며, 총 65개의 primer set(forward 또는 reverse)을 제작하여 73조합으로 PCR하여 노균병 연관 마커를 개발에 활용하였다(그림 32). 저항성, 이병성, 헤테로로 정확한 개체를 사용하여 PCR한 결과 size 차이가 있어 구별이 가능한 것을 마커로 사용하였으며, size 차이가 없는 경우는 시퀀싱하여 차이가 있으면 enzyme처리 후 구별 가능 여부에 따라 마커로 개발하였다.

Primer 1220F1/R1과 1260F1/R1 set은 저항성과 이병성 개체의 차이가 확실하여 마커로 개발(그림 33)하였으며, 300F1/R2, 450F1/R2 set은 각각의 조합에서 선발하여 dominant marker로 개발하였다(그림 34). 또한 single band의 sequencing 후 enzyme 처리 후 저항성과 이병성 개체의 구별이 가능한 primer set을 선발하여 마커로 개발하였다(그림 35).

개발된 마커를 통해 노균병 저항성 유전자(*BrRHP1*)의 위치의 범위를 좁히기 위하여 F₃ recombinant 개체의 PCR test를 수행하였으며, 300F1/R2, 450F1/R2, 1220F1/R1, 1480F1/R1, 1510F1/R1, 1570F1/R1은 dominant marker로 개발하였으며, 1260F1/R1, 1441F1/R1, 1530F1/R1은 저항성, 이병성, 헤테로의 구별이 가능한 co-dominant marker로 개발되었다(그림 35, 36, 37).

F₃ recombinant 개체의 마커분석을 통하여 노균병 저항성 유전자(*BrRHP1*)가 존재하는 1번 염색체에서 시퀀스 개수가 1606페이지(MS word) 분량에 달하는 범위에서 40페이지 분량의 범위로 좁혔다(표 14). 노균병 저항성 유전자(*BrRHP1*)의 위치를 94kbp 이내로 초근접하였다. 이와 같은 분석을 계속 수행하여 노균병 저항성 유전자의 위치를 찾을 것이며, 더 나아가다면 클로닝까지 가능할 것으로 생각된다.

표 13. 노균병 연관 마커로 개발된 프라이머 염기정보.

이름	Sequence	이름	Sequence
150-F1	CGATCTCCAGAAAGCTGAC	1220-F1	CTGATCACGGAGTCTGTGAGA
150-R1	AAACCCCTTTCCAGCTTCAT	1220-R1	ACACAAAACGGCATACAGGA
300-F1	CTTGTGCTTTAGGCCACACA	1370-F1	ACCGCGATGGCTAATACAT
300-R1	TCATACAGGGGAAGGTGTC	1370-R1	AGATTCTGCCAAGGGGTCT
450-F1	AACCCGGCCTGAGTAGAAAT	1490-F1	ACGTACCGTTTTGTGATGA
450-R1	CCGGCTGTGTTATTTTTGT	1490-R1	ATGTAACGCTCGAAGCTCGT
600-F1	CGAGAGATCCGTCATGAAT	1510-F2	TTCCGTGTGAGATCAGTGA
600-R1	GGGAATGCCAAGATCTCAAA	1510-R2	GGGAGACCAATGCATAAAA
750-F1	AGAGAGCATCCCAAGTCGAA	1240-F1	TAGCGAGAGTCCGAGGAGAG
750-R1	ATCATCGTCCAAATGCATCA	1240-R1	GTAATGGAAGCCGAGCTGAG
900-F1	TCCCAATCACCCTGTCTGTA	1280-F1	ACGCACAACACAACGGATAA
900-R1	AACATGAGTGACACGGTGGGA	1280-R1	AGCGAGAATCAGCACCAAAAT
1050-F1	CGAACCCCGTTGAAATTTAGA	1280-F1	GTTAAACAGCAGCGGAGAGG
1050-R1	TATGGTCGATGCCAATGAAA	1280-R1	TGCACGTTTTCTGGAACAGAG
1200-F1	CTTCAGTGGGGAACTGGTA	1300-F1	TCGTGCGTTGATCTTACTCG
1200-R1	GGTCATGGCCGAGTATCTGT	1300-R1	CCACCACCCTGAACCTCCTT
1350-F1	TGTAAGTGGTCCGGTGTCAA	1320-F1	AAACCGTGTCTCCCTCCTT
1350-R1	GCAGACCTAGGTGAGCCTTG	1320-R1	AGACGGGATGTTCTATAGC
1500-F1	CGGAAGATCTTGACCTGCTC	1340-F1	GTGGTGACGGGAAAATCATC
1500-R1	CCGTTTTTTGACAGAGAAAGC	1340-R1	CCAACCAAGCTTCTCTCG
460-F1	CCGATTGGTTTCCGTGTGATT	1380-F1	CCGTCTTTGATTCCCAACAT
460-R1	CGGATCTGCGCATGACTAAT	1380-R1	CATGCGGTAGCAATAGCAA
610-F1	GGGTATGGATGGACAGTTG	1400-F1	CCTGAAGTCTGCACAGGTGA
610-R1	CTCGCCGATAAAGTCTTC	1400-R1	AACAGCACCGTCAAGAAGT
760-F1	ATCCGAACAACGGTCAAAAAC	1420-F1	TCTGAATCATCCCAAGAGG
760-R1	GCTTCCAAGGAAAGACCAAG	1420-R1	GTGGATTGTAAGGGAGCA
909-F1	GGTGGGTATCGACAGATGCT	1441-F1	AAGAAAACCAACGGCGAAC
909-R1	GTGGAGCGTGGAAATGATCT	1441-R1	AGGGATGGACATGGACTA
1060-F1	CTTAGGTGTACGGCTGGAG	1460-F1	GACCGAAGCTGTAACGGAAG
1060-R1	GCTTTCTGCTGTTTACTTCTC	1460-R1	AGCTGACTGTCCGCTGCT
1210-F1	TCCTCGCCCTAAGCAGATA	1480-F1	TCTCCAGCGTGTGAGAGAGA
1210-R1	TCTAAGGAGCCGACCTTGAA	1480-R1	GGGAAGCTCGAAGTGAAGCTG
1360-F1	TAGCTTTCTGGGCTTTTCA	1480-F2	AAACCCACGATCCAATTTCA
1360-R1	CGTGCTGGTCACTGTGATGAT	1480-R2	AAGCTGGTACGGTTTTGAA
1510-F1	TGACATGGTCCAGGAGTCAA	1515-R1	TCCGACCTGATGGAGTTACC
1510-R1	CGAACCAAGGCAAAAATCAT	1515-R1	AGTGCTAATGGTGGGGTGA
300-F2	GCGAGCTCGTGGTGGCGAC	1520-F1	AACAGGACCTGAACCCATG
300-R2	TATGGTTGTTTTAGGTTGA	1520-R1	AACAGGACCTGAACCCATG
300-F3	TTTTGAATTTATGTTCCAAT	1530-F1	GAGCATTTGCTAGTGGTGGT
300-R3	CTTTAGGTCAGAAAATAAATA	1530-R1	CTCTGCGTTGTTGCTTTTAC
450-F2	TTGTTTTCCCATAAACGACAA	1540-F1	TCTCTAACCAGGAGCTGAA
450-R2	GCAAAAGGCATAGTAATCATGG	1540-R1	TGGAGGCAGAGCTGGTTACT
450-F3	ATCACTGTTTTGGCACAAG	1550-F1	GTATCATCCGTTCCGCTCCAT
450-R3	TCCTTCAATTTCTCCAGTGTCA	1550-R1	CATCTATTGCTGCCAGCTCA
450-R4	CGACTGGAGCAAGACACAAA	1558-F1	TATCTGGCATCCATCAACGA
450-R5	ATAGCTTCGCCATGGTTGTC	1558-R1	CCTCTGCAGCATGGACACTA
470-F1	TCAAACCTCTGGCCTCTGAT	1570-F1	AGGTTTTGGTTCAAGAAGCA
470-R1	TGAGTGCCCTGTGCTGATTTT	1570-R1	GGCTGGTGTGGGATTAGAGA
620-F1	AAGACGGGAAAAGCCTAGC	1580-F1	CTACCGTGTGGTTTTTACA
620-R1	CCTGCAGAGTGAGCATGAAA	1580-F1	CTATGCCACGTGTGATGCAAT
770-F1	AGGAGGACCACCAATCTG	1590-R1	TGTGTTGGTGTTCAAAAGAA
770-R1	TATCGTCCACACTTTTCA	1590-F1	CTGAGCAGGAAGGTGTAGCG
920-F1	GAGTTTTGGTGGGACTCGTA	1600-F1	CCAAACGCTACTGTTGTGTA
920-R1	AAACGTGCGACCCCTAGCTTA	1600-F1	CATCTCAAGATGCACCACAA
1069-F1	GGTGGCAGCAGATAGATTT		
1069-R1	GACAAAATGAAACAGGCTTGA		

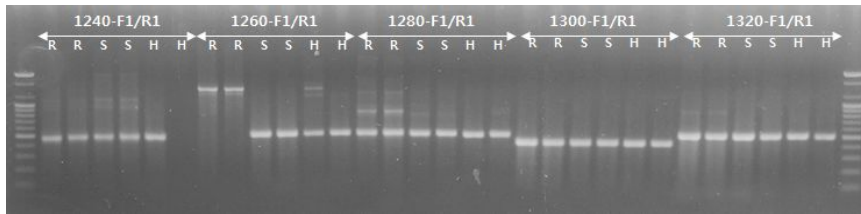


그림 32. 분자마커 개발 및 노균병 저항성 유전자(*BrRHPI*)의 염색체 위치를 탐색을 위한 primer set 테스트(R: 저항성, S: 이병성, H: 헤테로).

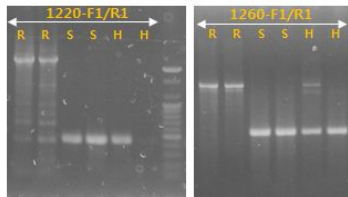


그림 33. 저항성과 이병성 개체를 구별할 수 있는 마커 개발(R: 저항성, S: 이병성, H: 헤테로).

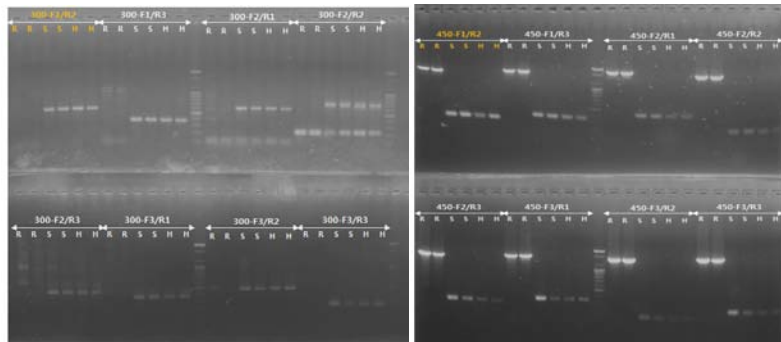


그림 34. 프라이머 조합에서 선별한 300F1/R2와 450F1/R2 마커(R: 저항성, S: 이병성, H: 헤테로)

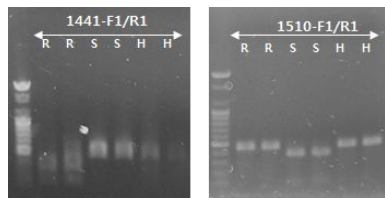


그림 35. Single band의 sequencing 후 enzyme 처리를 통하여 저항성과 이병성 개체를 구별할 수 있는 마커 개발(R: 저항성, S: 이병성, H: 헤테로).

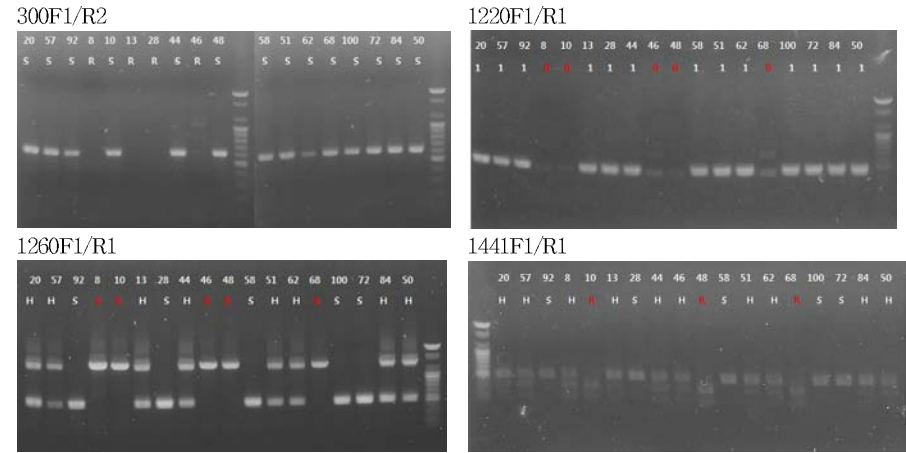


그림 36. 노균병 저항성 유전자(*BrRHPI*)의 염색체 위치탐색을 위해 개발된 분자마커들의 F₃ recombinant test(R: 저항성, S: 이병성, H: 헤테로).

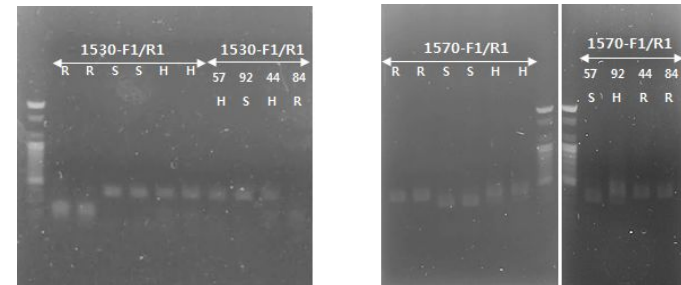


그림 37. 노균병저항성유전좌(*BrRHPI*)와 좀더 가까운 연관마커 개발.
(R: 저항성, S: 이병성, H: 헤테로, 57, 92, 44, 84: F₃ recombinant)

표 14. F₃ recombinant의 마커분석에 따른 노균병 저항성 유전자(*BrRHPI*)의 위치탐색.

N0.	N18-F3/R6	1570	BrR-HP1	1530	1510	1441	1260	1220	CCB	CCA	300	M05-F1R1
57	S	S	H	H	H	H	H	1	H	1	1	H
92	H	H	S	S	S	S	S	1	S	0	1	S
44	R	R	R	R	H	H	H	1	S	0	1	S
84	R	R	R	H	H	H	H	1	S	0	1	S
20	H	H	H	H	H	H	H	1	S	0	1	S
8	H	H	H	H	H	H	R	0	R	1	0	R
46	H	H	H	H	H	H	R	0	R	1	0	R
58	S	S	S	S	S	S	S	1	H	1	1	H
51	H	H	H	H	H	H	H	1	S	0	1	S
62	H	H	H	H	H	H	H	1	S	0	1	S
100	S	S	S	S	S	S	S	1	H	1	1	H
72	S	S	S	S	S	S	S	1	H	1	1	H
10	R	R	R	R	R	R	R	0	S	0	1	S
13	H	H	H	H	H	H	H	1	R	1	0	R
28	S	S	S	S	S	S	S	1	R	1	0	R
48	R	R	R	R	R	R	R	0	H	1	1	H
68	R	R	R	R	R	R	R	0	H	1	1	H
50	H	H	H	H	H	H	H	1	H	1	1	R

다. F₂ 집단의 마커분석과 노균병 저항성 평가

(1) 식물 재료 및 F₂ 집단의 마커분석

노균병에 강한 저항성을 보이는 inbred line SS₁과 노균병에 심한 감수성을 나타내는 inbred line RS₂를 교배하여 만들어진 F₁집단을 자가수정하여 F₂집단을 생성하였다(그림 38). 54 x 28 x 8cm의 128-cell plug trays에서 3000립의 F₂ 개체들이 발아하였으며, 이 모든 개체는 Genra Puregene Cell Kit for Plant(Qiagen Inc., USA)를 사용하여 DNA를 추출한 후 M05와 A03 마커 분석을 수행하였다(그림 39). 이 개체들 중에 550개체가 recombinant로 판단하였다(표 15).

RS₁ X SS₁



F₁



F₂

그림 38. F₂ 집단 생성 방법.

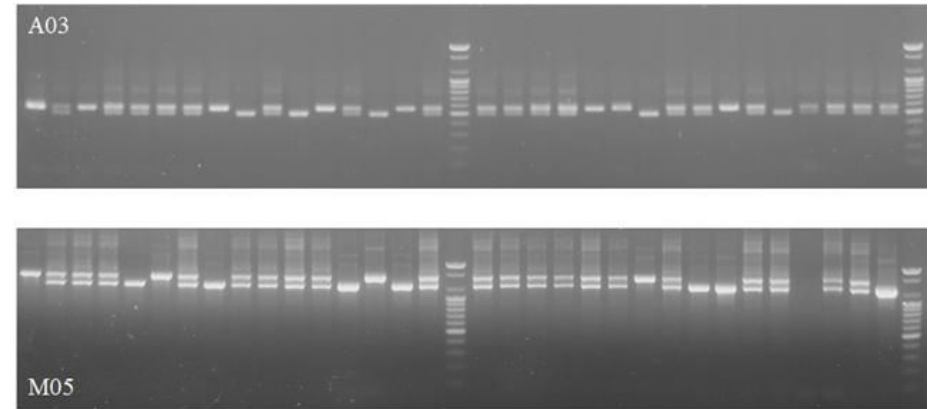


그림 39. A03과 M05 마커를 사용한 F₂ 개체들의 PCR 분석.

(2) 노균병 저항성 평가

마커 분석을 수행한 결과 recombinant로 판단된 550개체를 본엽이 나온 후에 2011년 10월 14일 안성시 장창순육종가님의 플라스틱 하우스에 10cm 간격으로 이식하였다. 단, 저항성과 이병성 개체를 대조구로 25개씩 함께 이식하여 관찰하였다.

자연 상태에서 노균병에 감염될 수 있는 환경으로 유지하여 이식된 지 6주 후에 육안으로 관찰하였고 저항성, 이병성 개체의 대조구를 포함한 recombinant 개체의 저항성을 평가하였다(그림 22와 표 15). 이 결과는 앞에서 개발된 노균병저항성 연관 마커로 분석을 수행하여 정확한 유전자 위치를 찾는데 이용할 것이다.

표 15. M05와 A03 마커분석을 통한 recombinant들의 노균병 저항성 평가.

개체 번호	M05	A03	노균병	개체 번호	M05	A03	노균병	개체 번호	M05	A03	노균병	개체 번호	M05	A03	노균병
1	S	H	A	631	S	H	B	1150	H	S	A	1692	S	R	B
13	H	S	B	636	S	R	D	1154	S	H	A	1696	H	S	C
16	S	H	B	639	H	S	C	1158	S	H	B	1707	H	S	B
22	R	S	B	661	H	S	C	1160	S	H	B	1716	H	S	A
33	H	S	B	677	H	S	B	1163	R	R	A	1728	H	S	C
38	R	S	B	680	R	S	B	1166	S	S	S	1736	S	H	C
42	H	S	A	681	H	S	A	1167	R	R	A	1737	H	S	E
50	R	S	B	682	H	S	A	1168	S	H	B	1742	S	H	D
88	R	S	B	685	S	H	D	1169	S	H	E	1748	S	H	B
91	H	S	A	688	H	S	D	1170	S	R	C	1781	H	S	B
94	S	H	B	691	R	S	C	1181	S	H	D	1786	H	S	B
104	R	R	A	692	H	S	C	1182	S	S	S	1787	H	S	B
118	H	S	E	693	H	S	B	1183	H	S	A	1807	S	H	A
123	R	R	A	694	H	S	B	1192	S	H	A	1817	S	H	A
125	S	R	A	701	H	S	B	1194	H	S	A	1826	H	S	A
128	R	R	A	702	S	H	E	1195	H	S	C	1838	H	S	C
130	R	R	A	704	R	S	A	1206	R	S	E	1840	H	S	B
131	H	S	B	713	H	S	C	1216	H	S	E	1841	S	H	C
132	H	S	B	720	H	S	A	1217	R	S	A	1848	S	H	E
133	R	R	A	721	H	S	A	1231	R	S	A	1852	S	R	B
146	R	R	A	723	H	S	A	1233	S	R	A	1862	H	S	E
154	S	H	A	724	H	S	A	1235	H	S	B	1866	H	S	B
173	R	S	B	733	H	S	C	1242	S	H	E	1873	H	S	E
190	S	H	C	739	H	S	B	1251	H	S	B	1902	H	S	E
200	R	R	A	750	S	H	B	1252	R	S	B	1904	H	S	D
206	S	H	A	752	H	S	A	1255	S	S	S	1907	H	S	C
208	H	S	A	759	S	H	C	1256	S	H	E	1908	S	H	B
211	H	S	A	766	S	H	A	1261	H	S	C	1912	S	H	B
217	S	H	B	767	S	H	C	1264	S	R	A	1922	H	S	B
220	R	R	A	783	S	H	B	1267	S	H	D	1924	H	S	B
224	R	R	A	789	S	H	C	1271	H	S	B	1937	S	H	B
225	R	R	A	790	S	H	D	1274	S	H	E	1939	S	H	D
229	H	S	D	791	S	H	A	1278	R	S	B	1945	H	S	A
230	H	S	B	792	S	H	C	1286	H	S	D	1948	H	S	B
231	S	H	C	793	H	S	E	1296	R	S	B	1953	S	R	A
233	R	S	A	796	H	S	A	1302	S	R	C	1966	S	R	B
237	S	H	C	799	H	S	B	1304	S	S	S	1972	H	S	B
239	H	S	C	804	S	R	A	1307	R	R	A	1975	S	H	C
243	S	H	B	805	S	R	A	1309	S	S	S	1988	S	H	B
244	H	S	B	816	H	S	D	1314	S	S	S	1990	H	S	A
245	R	S	A	818	S	H	A	1316	H	S	B	1991	R	S	B
247	H	S	A	820	S	H	B	1318	S	H	B	1999	H	S	B
252	S	H	B	821	R	S	B	1321	R	R	A	2004	S	R	D
255	S	H	C	825	S	S	S	1323	S	H	F	2015	H	S	C
258	H	S	D	829	H	S	A	1328	R	R	A	2016	H	S	E
259	R	R	A	831	H	S	B	1337	H	S	C	2017	S	H	E
260	S	R	A	832	H	S	D	1342	H	S	E	2018	S	H	D
265	H	S	B	833	H	S	A	1351	S	H	E	2020	H	S	A
280	H	S	B	834	S	H	A	1354	R	S	A	2021	S	H	D
285	R	R	A	854	S	R	E	1358	H	S	B	2025	H	S	E
289	S	R	A	855	S	H	C	1368	S	H	B	2032	H	S	B
290	S	H	B	860	S	H	B	1375	S	H	C	2034	S	H	B
296	H	S	A	869	S	R	A	1380	S	R	E	2043	H	S	E
301	H	S	D	897	S	H	A	1385	H	S	D	2045	S	H	A
310	H	S	C	900	R	S	B	1396	H	S	E	2055	H	S	D
315	S	R	B	903	S	H	B	1397	S	H	D	2060	R	S	B
320	H	S	A	916	S	S	S	1401	S	H	C	2067	H	S	B
324	R	S	B	919	H	S	E	1403	H	S	B	2073	H	S	B
326	R	S	C	923	S	S	S	1404	S	H	F	2079	S	R	C
339	H	S	A	924	R	S	A	1412	S	H	C	2080	S	H	E
346	S	H	A	942	S	R	A	1415	S	H	B	2085	S	H	C
349	S	S	S	943	H	S	A	1434	H	S	D	2087	S	H	D
351	S	S	S	951	S	H	B	1436	S	H	B	2092	S	H	A
356	S	H	A	955	S	H	B	1437	H	S	B	2096	R	S	E
359	H	S	A	956	R	S	A	1449	H	S	B	2098	S	H	B

표 15. M05와 A03 마커분석을 통한 recombinant들의 노균병 저항성 평가(계속)

개체 번호	M05	A03	노균병	개체 번호	M05	A03	노균병	개체 번호	M05	A03	노균병	개체 번호	M05	A03	노균병
361	S	H	A	962	R	S	B	1455	H	S	C	2105	S	H	B
362	H	S	A	968	S	H	D	1463	S	H	C	2112	S	H	C
389	S	H	C	974	H	S	C	1466	S	H	A	2115	H	S	A
398	H	S	A	979	H	S	A	1472	S	H	D	2123	S	R	A
399	R	S	B	992	H	S	E	1473	S	H	B	2133	H	S	A
406	S	H	A	999	S	H	D	1475	H	S	B	2142	S	H	B
418	H	S	E	1001	H	S	E	1482	S	H	E	2146	H	S	D
421	S	H	B	1003	S	R	E	1496	H	S	B	2163	S	R	A
425	H	S	A	1005	S	H	D	1499	S	R	A	2164	S	H	A
443	S	S	S	1016	S	H	D	1500	R	S	C	2168	H	S	A
444	S	S	S	1026	H	S	A	1505	S	R	B	2173	S	H	E
450	S	H	D	1027	S	H	A	1509	H	S	C	2176	R	S	D
453	S	R	B	1030	S	R	B	1510	H	S	C	2177	H	S	E
457	S	H	A	1032	H	S	B	1515	S	H	C	2187	H	S	E
460	S	H	A	1038	H	S	B	1538	H	S	D	2198	S	H	B
472	S	H	D	1039	S	R	B	1539	R	S	A	2201	H	S	B
477	S	H	E	1041	R	S	B	1541	S	H	D	2206	S	R	B
483	S	H	E	1051	R	A	1548	S	H	E	2207	H	S	C	
486	S	H	A	1052	S	R	D	1549	H	S	B	2208	S	H	D
492	H	S	C	1053	S	H	B	1554	S	H	E	2211	H	S	C
494	S	H	B	1056	S	S	S	1561	S	H	E	2216	R	S	C
496	H	S	B	1058	H	S	B	1562	R	S	E	2221	R	S	C
497	S	H	A	1060	S	R	D	1576	S	H	B	2222	S	H	C
501	H	S	E	1063	S	R	A	1580	S	H	C	2223	S	R	A
507	S	S	S	1064	S	S	S	1592	S	H	E	2224	S	H	B
513	S	H	C	1066	H	S	A	1588	S	H	C	2228	S	R	B
516	S	H	B	1069	S	S	S	1602	S	H	E	2230	S	H	D
517	S	S	S	1072	R	R	A	1606	H	S	E	2244	H	S	D
521	S	H	A	1075	S	H	C	1607	H	S	E	2245	S	R	B
523	S	S	S	1078	H	S	E	1609	H	S	C	2252	S	H	A
528	S	H	B	1079	H	S	C	1614	S	H	B	2253	H	S	C
529	S	R	C	1081	R	R	A	1617	S	H	E	2255	S	H	A
536	S	S	S	1083	S	S	A	1619	H	S	E	2263	H	S	C
540	S	H	A	1084	S	S	S	1628	S	H	E	2264	S	H	B
542	R	S	D	1087	H	S	B	1632	S	H	C	2266	H	S	D
543	H	S	A	1088	H	S	E	1633	H	S	E	2278	H	S	B
544	H	S	A	1089	S	S	S	1639	S	H	B	2287	H	S	D
550	H	S	E	1091	R	R	A	1642	S	H	C	2288	S	R	A
559	S	H	B	1095	R	R	A	1643	H	S	D	2289	H	S	A
563	H	S	A	1097	R	S	D	1644	S	R	B	2314	H	S	A
564	H	S	C	1098	S	H	C	1645	R	S	E	2318	S	R	A
565	H	S	A	1100	H	S	C	1648	H	S	B	2321	S	H	B
567	S	H	A	1104	S	H	B	1653	H	S	D	2323	S	H	C
574	H	S	B	1109	R	R	A	1657	R	S	B	2325	H	S	C
585	S	H	C	1113	S	S	S	1663	R	S	B	2334	S	H	B
586	S	H	A	1114	R	S	E	1676	S	H	A	2344	H	S	A
590	S	H	D	1115	R	R	A	1677	H	S	C	2347	H	S	B
595	S	H	A	1121	H	S	E	1680	H	S	E	2349	H	S	A
599	S	H	C	1124	S	S	S	1682	S	H	B	2360	S	H	A
614	H	S	A	1126	R	R	A	1684	H	S	B	2361	S	H	B
627	S	H	B	1137	S	R	B	1687	S	R	C	2364	S	H	A
629	R	S	A	1141	R	R	A	1688	S	H	A	2369	H	S	B

라. 새로운 노균병 저항성 유전자 locus 탐색

새로운 노균병 저항성 유전자의 locus를 탐색하기 위하여 이례종묘에서 보유하고 있는 265개의 배추육종계통을 분량받아 N18과 M05 분자마커를 사용하여 수행하였다(표 16). 또한 이례종묘에서 노균병저항성 정도를 스크린하였다(자료미제시). 이 두 결과를 비교한 결과 173번 계통에서 마커분석 결과 M05에서는 저항성, N18에서는 이병성으로 다르게 나타났으나 표현형은 저항성으로 나타났다. 이러한 결과로 보아 새로운 노균병 저항성 유전자 locus가 존재하는 것으로 추정된다.

표 16. N18와 M05 분자 마커를 이용한 256개의 배추계통의 노균병 저항성 평가

계통번호	N18	M05	계통번호	N18	M05	계통번호	N18	M05	계통번호	N18	M05	계통번호	N18	M05
1	S	R	55	S	R	108	S	R	161	S	H	215	S	R
2	S	S	56	S	S	109	S	R	162	S	H	216	S	R
3	S	R	57	S	R	110	S	S	163	S	S	217	S	R
4	S	S	58	S	R	111	S	R	164	S	R	218	S	R
5	S	S	59	S	R	112	S	S	165	H	S	219	S	R
6	S	R	60	S	R	113	S	S	166	S	S	220	S	R
7	R	R	61	S	S	114	H	H	167	S	R	221	S	R
8	S	R	62	S	R	115	S	S	168	S	R	222	S	R
9	S	R	63	S	R	116	S	R	169	R	R	223	S	R
10	S	R	64	S	R	117	S	R	170	S	R	224	S	R
11	S	R	65	S	R	118	S	R	171	S	R	225	S	R
12	S	R	66	S	R	119	M	S	172	S	R	226	S	S
13	S	R	67	S	R	120	S	S	173	S	R	227	S	S
14	S	S	68	S	R	121	S	S	174	S	R	228	S	S
16	S	S	69	S	R	122	S	S	175	S	R	229	S	R
17	S	R	70	S	R	123	H	R	176	S	R	230	S	R
18	S	S	71	S	R	124	S	R	177	M	S	231	S	R
19	S	S	72	S	R	125	S	R	178	S	S	232	S	R
20	S	R	73	S	R	126	M	S	179	R	R	233	H	H
21	S	S	74	S	S	127	M	S	180	S	R	234	H	H
22	S	S	75	S	R	128	M	S	181	S	R	235	H	H
23	H	R	76	S	R	129	S	?	182	H	H	236	H	S
24	R	R	77	S	R	130	S	R	183	S	S	237	H	H
25	H	R	78	S	R	131	S	R	184	S	S	238	H	H
26	S	R	79	S	R	132	R	S	185	S	S	239	H	H
27	S	R	80	S	R	133	S	R	186	M	S	240	H	R
28	S	R	81	S	R	134	M	S	187	M	S	241	S	R
29	S	R	82	S	R	135	M	S	188	H	R	242	H	R
30	S	R	83	S	R	136	S	R	189	M	S	243	H	R
31	S	R	84	S	R	137	S	R	190	S	R	244	H	R
32	S	R	85	S	R	138	M	S	191	S	R	245	H	H
33	S	R	86	S	R	139	M	S	192	M	S	246	H	R
34	S	S	87	S	R	140	S	R	193	M	S	247	H	R
35	S	R	88	S	S	141	M	R	194	M	R	248	S	H
36	S	R	89	S	R	142	H	S	195	M	S	249	S	H
37	S	R	90	S	S	143	M	S	196	S	R	250	S	H
38	S	R	91	S	S	144	S	S	197	M	S	251	S	R
39	S	R	92	S	S	145	R	R	198	M	S	252	S	R
40	S	R	93	R	R	146	S	R	199	M	S	253	S	S
41	S	R	94	R	R	147	M	S	200	M	S	254	S	R
42	S	R	95	R	R	148	R	S	201	M	S	255	S	H
43	S	R	96	S	S	149	S	R	202	M	R	256	S	R
44	S	R	97	S	R	150	H	R	204	S	S	257	S	R
45	S	R	98	S	S	151	S	R	205	R	R	258	H	H
46	S	R	99	S	S	152	M	H	206	S	R	261	S	H
47	S	R	100	S	R	153	M	S	207	S	S	262	S	H
48	S	R	101	S	R	154	M	S	208	S	?	263	S	H
49	S	S	102	S	R	155	M	S	209	M	S	264	S	R
50	S	S	103	S	R	156	S	R	210	S	S	265	S	H
51	S	S	104	S	S	157	S	S	211	S	R	266	S	S
52	S	R	105	S	R	158	S	S	212	S	R	267	S	H
53	S	S	106	S	S	159	S	S	213	S	S	268	S	H
54	S	H	107	S	R	160	S	S	214	S	R	269	S	H

제2-2절 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성

1. 유전자원의 수집, 특성 검정 및 육성재료로 이용

유전자원은 1차년도부터 5차년도에 걸쳐 총 174점 수집, 년 평균 약 35점을 수집 조사 평가하였고, 연차별 도입된 유전자원은 특성조사 후 필요에 따라 교잡 분리하거나, 충남대학교와 충남농업기술원에 소포자 배양을 의뢰하여 육성소재로 이용하고 있으며, 2~3차년도에 소포자 배양된 계통은 조합작성에도 이용하고 있음.

[표 1] 각 연차별 도입유전자원의 수

연차별	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
도입유전자원	65	25	18	46	20	174

*** 연차별 몇몇 품종은 중복되는 경우도 있음.



[사진 1] 유전자원 특성조사-1

[사진 2] 유전자원 특성조사-1



[사진 3] 유전자원 특성조사-3



[사진 4] 유전자원 특성조사-4

[표 2] 배추 유전자원 특성 검정

작형별	파종No	품종명	회사명	주요특성
가을	G-001	불암플러스	세미니스	CR계, 노균병강, 외엽농록, 내엽농황, 중륙얇음, 단생
	G-002	불암3호	세미니스	외엽농록, 내엽농황, 중륙얇음, 중단생
	G-003	휘파람	사카다	엽수다, 결구긴도강, 내엽농황, 중대구
	G-004	CR맛쟁	동부	CR계, 중구, 중생, 긴도강, 내엽색증황
	G-005	추풍	사카다	CR계, 농황, 반포함
	G-006	山地王2號	중앙종묘	CR계, 포피, 원통, 외엽농록, 내엽황, 결구긴도강
	G-007	추광	사카다	외엽농록, 내엽농황, 풀질우수
	DD-01	新1號	Lingfeng	북경신3호형, 직통형, 포피,
	DD-02	紅心娃娃菜	HUINONG	오렌지핀내엽색, 조생미니배추, Ca결핍약
	DD-03	北京75天	HONGJUN	직통형, 구두부분 넓음, 입성
	DD-04	京城春娃娃菜	京城	포함형 미니배추, 입성, 조생
	DD-05	小義和秋	靑島膠州	중생, 중원통형
	DD-06	秋收3號	綠種金	단생종, 직통형, 농록, 입성
	DD-07	CR 장군	사카다	CR계, 노균병강, 엽뒷면회록색, 단생, 포피
	DD-08	金帝	동부하이텍	단생, 외엽농록, 내엽색황
	DD-09	旺慶春	華耐	원통, 포피, 중대구
	DD-10	京秋56	북경농과원	무모계, 중원통, 결구긴도강
	DD-11	香脆金娃娃菜	濰坊	조생계, 원통형, 미니배추
	DD-12	惠研58	濰坊	포함, 단록, 내엽색연노랑, 구두부분연노랑
	DD-13	精選黃心鳥	靑縣	엽면요철심, 불결구, 엽수적음, 외엽색농록, 내엽색황
	DD-14	黃心鳥	北京聚源	엽면요철심, 불결구, 엽수적음, 외엽색농록
	DD-15	精選鳥昂菜	靑萊縣	엽면요철심, 불결구, 엽수적음, 외엽색농록
	DD-16	四季快菜1号	북경농과원	반결구형, 입성, 생육빠름
	DD-17	北京青幫小白菜	北京聚源	불결구형, 입성, 생육빠름, 잎자루가늘
	DD-18	紫羅蘭	好地	엽색자색 청경채, 생육느림
	DD-19	紅莖白2号		청경채, 순도불량
	DD-20	黃心菜		내엽색오렌지핀색, 미니배추
	DD-21	万喜(春泉)		대구, 단생종, 중원통형
	DD-22	金將55	삼성종묘	외엽색농록, 내엽색농황, 포피, 결구긴도강
	DD-23	京春黃	북경농과원	중구, 반포피, 내엽색황
	DD-24	京春娃2號	북경농과원	미니배추, 조생, 입성, 소구
	DD-25	大豐1號	북진농과	단생종
	DD-26	CR金將軍	사카다	중구, 반포피,
	DD-27	CR金鳴	北京天諾泰隆	CR계, 외엽색농록
	G-178	太原2青		외엽색농록, 입성, 직통형, 단생
	G-179	幸福	吉林省公主岭	직통형, 단생, 포피, 북경신3호 유사
G-194	快樂	Lingfeng	직통형, 입성, 단생, 포피	
G-200	箭筒形長腰	다카이	치릴리형, 구끝뾰족, 입성, 농록	
월동	W-01	CR동풍	몬산토	CR계, 내한성강, 단생, 포피, 외엽색농록
	W-02	겨울진명	사카다	CR계, 포피, 내한성강, 구경이 좁고 구고가 높은형
	W-03	월동대첩	농우	내한성강, 포피, 단생
	W-04	동풍UP	몬산토	동풍과 유사, 포피, 원통, 내한성 중
	W-05	월동친하	농우	내한성강, 단생동, 결구긴도약, 내엽색 중
	W-84	남도장군	사카다	중구, 중생, 내한성 중, 내엽색 농황, 풀질우수
	W-85	설중록	다카이	단생, 내한성강, 결구긴도중, 내엽색농황
	W-86	월동장군	농우	단생, 내한성중, 내엽색 중황

2. 노균병 내병성 유전분석 집단 양성

(1) 노균병 내병성 유전분석 집단 양성

본 연구 사업이 시작되기 전부터 시작된 유전분석 집단의 양성은 F7세대 300계통을 목표로 처음 500계통으로 시작하였으나, 전남대와 긴밀히 협조하여 1년에 2세대씩을 진전시키기로 하였다. 그러나 양친 모두 만추대성으로서 하반기에 저온처리하여 세대진전시키는 중 불추대성의 계통이나 너무 늦게 추대가 되는 계통은 소실되어 최종적으로 F7세대 113계통을 획득하였으며, 이 중 F2의 종자는 4004립, P1 1690립의 종자 유전분석에 사용되었다.



[사진 5] 노균병 저항성 계통



[사진 6] 노균병 이병성 계통



[사진 7] 노균병 유전분석집단양성



[사진 8] 노균병 유전분석집단양성

(2) 노균병 내병성 유전분석

노균병저항성 유전분석을 위하여 모계(이병성) 50주, 부계(저항성) 50주, F1 50주, F2 505주, P1(F1x이병성) 500주 및 또 다른 P1(F1x저항성계통) 500주를 공시하였다. 장소는 이례종묘 하우스내에서 시험하였으며, 2008년 9월 2일 파종하여, 9월 16일 이식하였다. 별다른 접종은 하지 않았으나 조사시기에는 자연적으로 발병하여 조사가 가능하였다. 모계(이병성계통)는 40계통 모두(10주는 자연 고사) 발병하였으며, 부계(저항성계통) 및 F1은 전혀 발병하지 않았다. F2는

총 483주를 조사하였는데 그 중 114주가 발병하여 정상주:이병주=369:114≒3:1이었으며, PI(F1x이병성계통)의 분리비는 정상주:이병주=233:245≒1:1이어서 노균병 저항성 유전은 단일 자 우성으로 판단된다. 그러나, 노균병저항성 정도에 있어서는 병징이 약하게 발생하는 것부터 아주 심하게 발병되는 경우도 있으므로 이러한 경우에는 어떻게 해석해야 하는지에 대해서는 논의가 있어야 할 것으로 판단된다. 아마도 미동 유전자가 관여하지 않을까 생각된다.

[표 3] 노균병 저항성 유전분석

No	내용	과종립수	이식주수	조사주수	정상주수	이병주수	비고
GA-1	S-line	50	50	40	0	40	
GA-2	R-line	50	50	35	35	0	
GA-3	F1(SxR)	50	50	45	45	0	
GA-4	F2	505	500	483	369	114	약 3:1
GA-5	PI(F1xS)	500	500	478	233	245	약 1:1
GA-6	PI(F1xR)	500	500	459	458	1	

***S:suceptable R:resistant



[사진 9] 노균병 유전분석시험전경-1



[사진 10] 노균병 유전분석시험전경-2



[사진 11] 노균병 유전분석시험전경-3



[사진 12] 노균병 유전분석시험전경-4

(3) F7 세대 130점은 전남대에서 개발된 마커로 노균병 검정을 한 결과 저항성 계통 49점, 저항성으로 추정되는 계통 17점 총 66점으로 약 50%가 저항성이었으며, 포장검정과 일치성을 검정하기 위하여 2011 하반기에 포장 검정을 실시하였다. 현재 전남대에서는 개발된 마커보다 훨씬 정확한 마커를 개발하기 위해 1번 염색체 상의 유전인자를 확인해가는 중에 있다.



[사진 13, 14] F7 계통별 노균병 포장검정

3. 노균병 내병성 계통의 육성

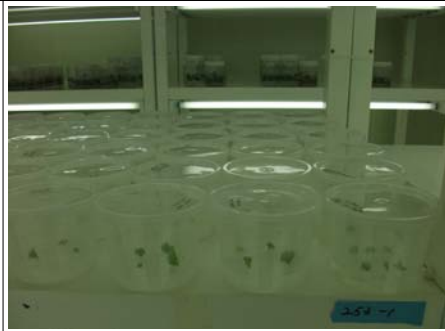
(1) 유전분석 집단 F7세대 130계통의 마커 검정 결과 저항성인 계통 66점은 포장 검정과 특성 검정이 끝난 후 조합작성에 이용하고 있다.

(2) 현재 보유 중인 고정계통과 분리계통 265점의 노균병 저항성마커 검색 결과 저항성 계통 9점과 저항성으로 추정되는 계통 2점이 선발되었다. 그러나 현재 마커로는 저항성으로 검색이 안 되는 또 다른 저항성계통이 있어, 또 다른 마커의 개발이 요구되고 있으며, 노균병이 발병되더라도 매우 적게 발병되는 것에 대한 분석이 필요할 것으로 사료된다.

(3) 만추대성 재료, 무사마귀병 저항성 재료 및 기타 다양한 재료들과 노균병 저항성 계통과의 교잡 분리 중인 계통들을 노균병 저항성 마커검정과 추대성 검정, 무사마귀병 검정 등을 통하여 복합 저항성인 재료를 육성하고 있다. 그 중 K-186, K-187, K-189, K-190(사진속 No, 686, 687, 689, 690) 등은 노균병, 무사마귀병 등에 저항성으로서 중국형 직통형 배추, 엇가리 배추, 와와채 배추 품종 육성에 유용할 것으로 판단된다.



[사진 15] 복합저항성(노균병, 무사마귀병) 계통 선발



[사진 16] 소포자배양-충남농업기술원



[사진 17, 18, 19, 20] 소포자배양 계통들

[표 4] Downy mildew 유전분석집단 F7 line (130계통) 분자표지 분석 결과

D No	N18	M05	R/S	D No	N18	M05	R/S	D No	N18	M05	R/S
1	S	S		105	R	H	G	278	S	S	
2	S	S		108	S	S		287	R	R	R
3	S	S		126	R	S	G	288	R	R	R
6	R	R	R	128	R	R	R	289	S	R	
8	R	S	G	129	S	S		290	S	S	
9	S	R		135	R	H	G	293	R	S	G
10	S	R		146	R	H	G	294	R	R	R
13	S	S		155	R	R	R	295	S	R	
14	R	R	R	158	R	S	G	299	S	R	
15	S	S		165	S	S		302	R	S	G
18	S	S		168	R	R	R	303	R	H	G
20	S	R		170	R	R	R	304	R	R	R
23	H	R		173	R	S	G	310	R	R	R
24	S	R		178	R	R	R	311	S	R	
26	R	S	G	180	R	R	R	312	R	R	R
28	R	S	G	183	R	R	R	313	S	S	
31	S	R		189	R	R	R	315	R	R	R
35	S	S		191	R	R	R	320	S	S	
38	S	S		194	S	R		321	S	S	
41	R	R	R	205	S	S		325	S	R	
44	S	S		209	R	R	R	329	R	R	R
46	S	S		210	H	S		330	R	R	R
47	H	S		215	R	R	R	334	S	R	
48	R	R	R	221	R	S	G	335	S	S	
49	S	S		223	R	R	R	339	R	R	R
50	R	R	R	225	R	R	R	341	S	S	
51	S	R		226	R	R	R	342	R	R	R
54	R	H	G	229	R	R	R	344	S	S	
55	S	S		230	S	R		346	R	R	R
57	R	R	R	231	R	S	G	348	S	R	
61	S	S		242	R	R	R	349	S	S	
63	S	S		245	S	R		351	S	S	
66	S	S		246	R	R	R	353	H	R	
71	R	R	R	249	S	S		354	S	R	
74	R	R	R	251	R	R	R	358	S	S	
75	R	R	R	257	R	R	R	359	H	R	
78	R	R	R	258	S	S		363	S	R	
79	R	R	R	262	H	H		364	R	R	R
81	R	R	R	266	H	H		366	R	R	R
85	R	R	R	267	R	R	R	369	H	S	
91	R	R	R	269	S	S		370	R	H	G
95	R	R	R	270	R	S	G	371	H	H	
96	S	S		275	S	S					
98	S	S		277	S	S					

***R: resistance, S: susceptible, G: R-guess, M: H: hetero

[표 5] 배추계통 (265 계통) 노균병 저항성 분자표지 검정 결과

No	N 18	M 05	R/S	No	N 18	M 05	R/S	No	N 18	M 05	R/S	No	N 18	M 05	R/S	No	N 18	M 05	R/S	No	N 18	M 05	R/S
1	S	R		47	S	R		92	S	S		137	S	R		182	H	H		228	S	S	
2	S	S		48	S	R		93	R	R	R	138	M	S		183	S	S		229	S	R	
3	S	R		49	S	S		94	R	R	R	139	M	S		184	S	S		230	S	R	
4	S	S		50	S	S		95	R	R	R	140	S	R		185	S	S		231	S	R	
5	S	S		51	S	S		96	S	S		141	M	R		186	M	S		232	S	R	
6	S	R		52	S	R		97	S	R		142	H	S		187	M	S		233	H	H	
7	R	R	R	53	S	S		98	S	S		143	M	S		188	H	R		234	H	H	
8	S	R		54	S	H		99	S	S		144	S	S		189	M	S		235	H	H	
9	S	R		55	S	R		100	S	R		145	R	R	R	190	S	R		236	H	S	
10	S	R		56	S	S		101	S	R		146	S	R		191	S	R		237	H	H	
11	S	R		57	S	R		102	S	R		147	M	S		192	M	S		238	H	H	
12	S	R		58	S	R		103	S	R		148	R	S	G	193	M	S		239	H	H	
13	S	R		59	S	R		104	S	S		149	S	R		194	M	R		240	H	R	
14	S	S		60	S	R		105	S	R		150	H	R		195	M	S		241	S	R	
16	S	S		61	S	S		106	S	S		151	S	R		196	S	R		242	H	R	
17	S	R		62	S	R		107	S	R		152	M	H		197	M	S		243	H	R	
18	S	S		63	S	R		108	S	R		153	M	S		198	M	S		244	H	R	
19	S	S		64	S	R		109	S	R		154	M	S		199	M	R		245	H	H	
20	S	R		65	S	R		110	S	S		155	M	S		200	M	S		246	H	R	
21	S	S		66	S	R		111	S	R		156	S	R		201	M	S		247	H	R	
22	S	S		67	S	R		112	S	S		157	S	S		202	M	R		248	S	H	
23	H	R		68	S	R		113	S	S		158	S	S		204	S	S		249	S	H	
24	R	R	R	69	S	R		114	H	H		159	S	S		205	R	R	R	250	S	H	
25	H	R		70	S	R		115	S	S		160	S	S		206	S	R		251	S	R	
26	S	R		71	S	R		116	S	R		161	S	H		207	S	S		252	S	R	
27	S	R		72	S	R		117	S	R		162	S	H		208	S	?		253	S	S	
28	S	R		73	S	R		118	S	R		163	S	S		209	M	S		254	S	R	
29	S	R		74	S	S		119	M	S		164	S	R		210	S	S		255	S	H	
30	S	R		75	S	R		120	S	S		165	H	S		211	S	R		256	S	R	
31	S	R		76	S	R		121	S	S		166	S	S		212	S	R		257	S	R	
32	S	R		77	S	R		122	S	S		167	S	R		213	S	S		258	H	H	
33	S	R		78	S	R		123	H	R		168	S	R		214	S	R		261	S	H	
34	S	S		79	S	R		124	S	R		169	R	R	R	215	S	R		262	S	H	
35	S	R		80	S	R		125	S	R		170	S	R		216	S	R		263	S	H	
36	S	R		81	S	R		126	M	S		171	S	R		217	S	R		264	S	R	
37	S	R		82	S	R		127	M	S		172	S	R		218	S	R		265	S	H	
38	S	R		83	S	R		128	M	S		173	S	R		219	S	R		266	S	S	
39	S	R		84	S	R		129	S	?		174	S	R		220	S	R		267	S	H	
40	S	R		85	S	R		130	S	R		175	S	R		221	S	R		268	S	H	
41	S	R		86	S	R		131	S	R		176	S	R		222	S	R		269	S	H	
42	S	R		87	S	R		132	R	S	G	177	M	S		223	S	R					
43	S	R		88	S	S		133	S	R		178	S	S		224	S	R					
44	S	R		89	S	R		134	M	S		179	R	R	R	225	S	R					
45	S	R		90	S	S		135	M	S		180	S	R		226	S	S					
46	S	R		91	S	S		136	S	R		181	S	R		227	S	S					

***R: resistance, S: susceptible, G: R-guess, M: H: hetero

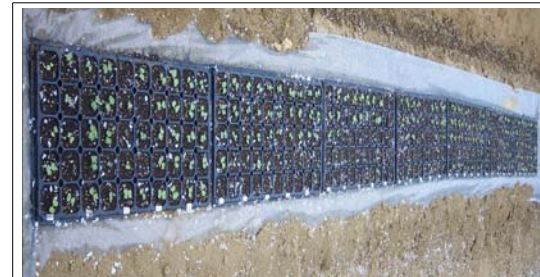
4. 무사마귀병 내병성 계통 육성

(1) 마커검정 : 기존의 보유 계통과 분리 계통들을 충남대에 배추 무사마귀병 마커검정을 의뢰하여 1차년도부터 총 103점을 의뢰하여 31계통이 저항성인 것으로 결과가 나와 이를 이용하여 조합작성에 이용하고 있다. 이는 대부분 일본 다끼이사의 CR新黃와 CR優黃 유래 계통인데, 이 전의 접종 시험에서 저항성으로 판명된 다른 유래의 계통들은 마커로 검정되지 않아 이와 다른 저항성 유전자에 대한 마커의 개발이 더 필요할 것으로 사료된다.

[표 6] 배추 무사마귀병 저항성 분자표지 검정 결과

시료번호	Marker				
	TCR05	KBrH083J12	CRW6_297	CRG18_831	CRUI2-SspI
CI 01	0	a	0	0	b
CI 02	0	a	0	0	a
CI 03	0	a	0	0	b
CI 04	0	a	0	0	a
CI 06	0	a	0	0	b
CI 08	1	a	0	0	b
CI 09	0	a	0	0	h
CI 17	0	b	0	0	b
CI 22	0	a	0	0	h
CI 25	0	b	0	0	b
CI 33	0	b	0	0	a
CI 34	1	b	0	0	b
CI 36	0	a	0	0	b
CI 37	0	a	0	0	a
CI 40	0	a	0	0	a
CI 41	0	a	0	0	b
CI 42	1	a	0	0	b
CI 43	0	a	1	0	b
CI 44	1	a	0	0	b
CI 45	0	a	0	0	b
CI 46	1	a	0	0	b
CI 47	0	b	0	0	a
CI 59-1	1	a	0	0	b
CI 59-2	1	a	0	0	b
CI 67	1	a	1	0	b
CI 70	1	a	0	0	b
CI 77	0	a	0	0	b
CI 87	1	a	0	0	b
CI 91	0	a	0	0	b
CI 92	0	a	0	0	b
CI 96	1	b	0	1	b
K 80	0	a	0	0	b
K 84	0	a	0	0	b
K 85	1	a	0	0	b
K 86	0	a	0	0	b
K 92	0	a	1	0	b
K 93	0	a	1	0	b
K 94	0	a	1	0	b
K 105	1	a	0	0	b
K 106	0	a	1	0	a
K 107	0	a	0	0	a
K 108	0	b	0	0	b
K 112	0	a	0	0	b
K 113	0	b	0	0	a
K 120	0	b	0	0	b
K 121	0	a	0	0	a
K 122	0	b	0	0	b
K 123	0	b	0	0	b
K 124	1	a	0	0	b
K 125	0	b	0	0	b
K 126	0	a	0	0	b
K 127	0	a	0	0	b
K 128	0	a	1	0	b
K 140	0	b	0	0	a
K 143	1	a	1	0	b
K 144	1	a	0	0	b
K 146	1	a	0	0	b
K 152	0	a	0	0	b
K 166	1	a	0	0	b

* TCR05 1: 마커 존재, 0: 마커 존재하지 않음
 * KBrH083J12 a: 마커 존재, b: 마커 존재하지 않음
 * CRUI2-SspI b: 마커 존재, a: 마커 존재하지 않음



[사진 21] 무사마귀병 접종상태



[사진 22] 무사마귀병 조사



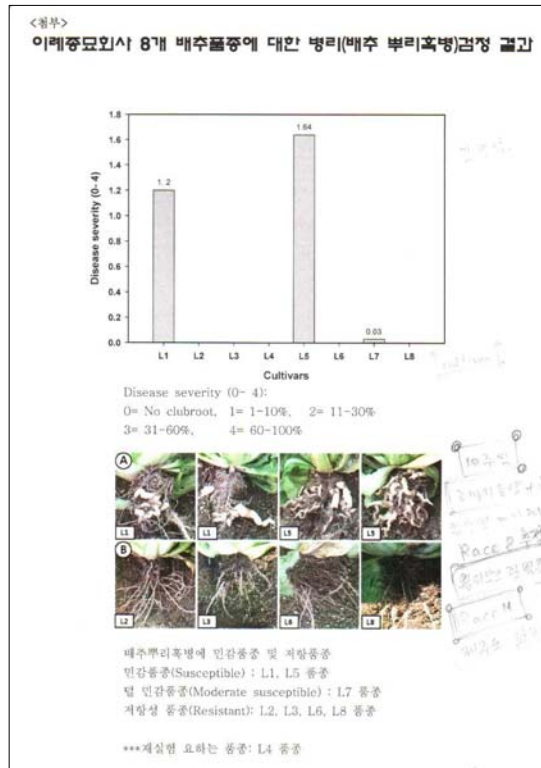
[사진 23] 국내 재료x일본수퍼씨알품종
분리계-1



[사진 24] 국내 재료x일본수퍼씨알품종
분리계-2

(3) 배추 무사마귀병 접종 검정(포장검정) 의뢰

채소 병리검정 사업단에 2차년도부터 배추 무사마귀병 포장검정을 총 148점(계통+조합)을 의뢰하여 그 결과를 이용하여 조합작성을 해오고 있다. 채소 병리검정사업단의 배추 무사마귀병 포장검정은 강원도 강릉시 왕산면 대기리에서 수행하고 있는데 검정포장의 race가 많이 혼합되지 않았는지 아니면 균분포가 균일하지 않은지 모르지만 다른 isolates로 접종시험한 것보다는 비교적 많은 조합이나 계통이 저항성으로 검정되었다.



[사진 25] 채소 병리검정 사업단 무사마귀병 포장검정결과

(4) 무사마귀 병 저항성 계통을 단기간에 작성하기 위해 CR F1 품종 및 CR F1 조합을 충남 농업기술원에 소포자배양을 의뢰하여 진행 중에 있다.

5. 가을배추 품종 육성-품종보호출원 5 품종

(1) 사강 배추

만추대성이며 뿌리혹병 및 노균병에 내병성인 조합 CC506의 국내 하우스 및 고랭지 적응성시험과 중국 산지(하북성 장가구 고랭지)에서의 적응성시험 결과 성능이 비교적 우수하여 품종보호출원(사강배추)을 신청하였다.

(2) 한설노랑 배추

가을~월동 재배용 배추로써 2010년 및 2011년에 농가실증시험 및 지역연락시험을 실시한 결과 숙기가 빠르고 또한 내한성도 비교적 강하였으며, 무사마귀 병에도 군주에 따라 저항성을 보였다. 구 크기는 구고가 약 34cm 정도로 타품종에 비해 2~3cm 정도 길고 구경이 좁은 편이다

(3) 와와쌈 배추

중소구 조생계 배추로서 만추대성이며 중륙이 얇고 엽수가 많아 품질이 우수하다. 또한 입성. 원통형으로 외관이 좋고, 외엽색은 농록 내엽색은 농황색이다.

(4) CR황옥 엇가리 배추

키가 작고 입성이며 외엽색은 농록 내엽색은 농황색이고, 엽수분화가 빨라 수확기를 앞당길 수 있다. 노균병과 무사마귀병에 저항성이어서 재배의 안정성도 좋은 편이다.

(5) 설화월동 배추

만생의 월동배추로서 외엽색이 매우 진한 녹색이며 내엽색이 노랑고 무사마귀 병에도 군주에 따라 저항성을 보였 으며 내한성도 강한 포피형의 특성을 갖고 있다.

6. TuMV 마커분석 의뢰

당사의 보유 계통들에 대해 서울대학교와 충남대학교에 각 대학이 보유하고 있는 TuMV 마커 분석을 의뢰하였다. 그 결과는 [표 7] 및 [표 8]과 같다. 충남대학교에서는 총 265계통 중 26점이 저항성으로 검정되었으며, 서울대학교에서는 총 343계통 중 SB18-29계통 및 SB20-147 계통이 저항성 유전자를 보유하고 있는 것으로 검정되었다.

[표 7] 충남대학교 TuMV 마커검정

한국종묘 DNA번호	SSR239, (1.8cM)	SSR233, (3.5cM)	한국종묘 DNA번호	SSR239, (1.8cM)	SSR233, (3.5cM)	한국종묘 DNA번호	SSR239, (1.8cM)	SSR233, (3.5cM)
1	S	H	31	S	H	60	S	H
2	S	H	32	S	-	61	S	H
3	S	H	33	S	S	62	S	S
4	S	H	34	S	H	63	R	H
5	S	S	35	S	H	64	S	H
6	S	H	36	S	H	65	S	H
7	S	H	37	S	H	66	S	H
8	S	H	38	S	H	67	R	H
9	S	H	39	S	H	68	S	H
10	S	H	40	S	H	69	S	H
11	S	H	41	S	H	70	S	H
12	S	H	42	S	H	71	H	H
13	S	H	43	S	H	72	S	H
14	S	H	44	S	H	73	R	H
16	S	H	45	S	H	74	H	H
17	S	H	46	S	H	75	S	H
18	S	H	47	S	H	76	S	H
19	S	H	48	S	H	77	S	H
20	S	H	49	S	H	78	S	H
21	S	H	50	S	H	79	S	H
22	S	H	51	H	H	80	S	H
23	S	H	52	S	H	81	S	H
24	S	S	53	S	H	82	S	H
25	S	H	54	-	H	83	-	H
26	S	H	55	S	H	84	S	H
27	S	S	56	S	H	85	S	H
28	S	H	57	S	H	86	S	H
29	S	H	58	S	H	87	S	H
30	S	H	59	S	H	88	S	H

한국종묘 _DNA번호	SSR239, (1.8cM)	SSR233, (3.5cM)
89	H	H
90	R	H
91	R	H
92	S	H
93	S	H
94	S	H
95	S	H
96	R	H
97	S	H
98	S	S
99	R	R
100	H	H
101	S	S
102	S	S
103	H	H
104	H	H
105	H	H
106	R	R
107	R	R
108	S	S
109	H	H
110	S	S
111	H	H
112	H	H
113	R	R
114	S	S
115	H	H
116	H	H
117	S	S

176	H	H
177	S	S
178	H	H
179	H	H
180	H	H
181	S	S
182	H	H
183	H	H
184	H	H
185	H	H
186	R	R
187	R	R
188	H	H
189	H	H
190	H	H
191	H	H
192	H	H
193	H	H
194	R	S
195	S	H
196	S	H
197	S	H
198	S	H
199	S	H
200	-	H
201	S	H
202	-	H
204	-	H
205	S	H
206	-	H

*R-분자마커로 저항성 밴드 표기

한국종묘 _DNA번호	SSR239, (1.8cM)	SSR233, (3.5cM)
118	H	H
119	S	S
120	S	S
121	H	H
122	H	H
123	S	S
124	S	S
125	H	H
126	R	R
127	S	S
128	H	H
129	S	S
130	S	S
131	H	H
132	R	R
133	R	R
134	H	H
135	H	H
136	H	S
137	H	H
138	S	S
139	H	H
140	S	S
141	H	H
142	S	S
143	S	S
144	S	S
145	S	S
146	S	S

207	S	H
208	S	H
209	-	H
210	S	H
211	S	H
212	S	H
213	S	H
214	-	R
215	S	H
216	-	H+
217	S	H
218	-	H
219	S	H
220	S	H
221	S	H
222	S	S+
223	S	H
224	-	S
225	S	H
226	S	H
227	R	H
228	-	S
229	-	H
230	-	S
231	S	H
232	-	H
233	-	H
234	R	H
235	S	H
236	-	R

한국종묘 _DNA번호	SSR239, (1.8cM)	SSR233, (3.5cM)
147	H	H
148	H	H
149	H	H
150	H	H
151	S	S
152	H	H
153	H	H
154	H	H
155	H	H
156	S	H
157	R	R
158	H	H
159	H	H
160	H	H
161	R	R
162	H	H
163	H	H
164	H	H
165	H	H
166	S	S
167	S	S
168	H	S
169	H	H
170	H	H
171	H	H
172	H	H
173	H	H
174	R	R
175	R	R

237	-	H
238	-	H
239	S	H
240	-	-
241	H	H
242	R	H
243	S	H
244	-	S+
245	S	H
246	H	H
247	S	H
248	H	H
249	S	S
250	S	H
251	R	H
252	S	H
253	-	H
254	S	H
255	H	H
256	S	H
257	S	H
258	S	H
261	S	H
262	H	H
263	-	H+
264	S	H
265	-	H+
266	S	H+
267	S	H
268	S	H+
269	S	H

[표 8] 서울대학교 TuMV 마커검정

계통번호	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
genotype	SB20	A	B	A	A	A	A	SB20	SB20	A	A	B
계통번호	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
genotype	A	SB20	A	A	A	SB20	A	B	SB20	A	A	SB20
계통번호	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
genotype	SB20	SB20	A	SB20	SB20	SB20	A	B	A	A	A	A
계통번호	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92
genotype	A	SB20	A	A	A	SB20	A	SB20	A	B	SB18	SB18
계통번호	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	
genotype	A	SB20	SB20	SB20	A	B	B	SB20	SB20	A	A	
계통번호	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86	
genotype	A	A	A	A	SB20	SB20	A	SB20	A	A	A	
계통번호	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87	
genotype	A	A	SB20	A	SB20	SB20	A	B	SB20	A	A	
계통번호	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	
genotype	SB20	SB20	A	SB20	SB20	SB20	A	SB20	A	A	A	
계통번호	93	101	109	117	125	133	141	149	157	165	173	181
genotype	SB18	SB20	SB20	E	A	SB20	A	-	A	A	B	B
계통번호	94	102	110	118	126	134	142	150	158	166	174	182
genotype	SB20	SB18	SB20	A	A	이상	SB20	SB20	A	A	A	A
계통번호	95	103	111	119	127	135	143	151	159	167	175	183
genotype	A	SB20	A	A	A	A	SB20	A	A	B	A	SB18
계통번호	96	104	112	120	128	136	144	152	160	168	176	184
genotype	-	SB18	A	A	A	SB20	A	A	SB18	A	B	SB20
계통번호	97	105	113	121	129	137	145	153	161	169	177	
genotype	SB20	SB20	A	SB20	SB20	SB20	A	A	A	SB18	B	
계통번호	98	106	114	122	130	138	146	154	162	170	178	
genotype	SB18	SB20	SB18	SB20	A	SB20	B	B	A	B	A	
계통번호	99	107	115	123	131	139	147	155	163	171	179	
genotype	A	SB20	E	SB20	A	SB20	B	SB20	A	A	B	
계통번호	100	108	116	124	132	140	148	156	164	172	180	
genotype	SB20	SB20	SB20	B	SB18	A	SB20	SB20	A	A	B	
계통번호	185	193	201	209	217	225	233	241	249	257	265	
genotype	SB18	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	A	SB18	SB20	A	SB20	
계통번호	186	194	202	210	218	226	234	242	250	258		
genotype	SB20	SB20	F	SB20	SB20	SB18	SB20	A	A	SB20		
계통번호	187	195	203	211	219	227	235	243	251	259		
genotype	D	SB20	SB20	SB20	SB20	E	SB20	A	SB18	SB20		
계통번호	188	196	204	212	220	228	236	244	252	260		
genotype	SB20	SB18	SB18	SB20	SB20	SB18	SB20	A	SB18	SB20		
계통번호	189	197	205	213	221	229	237	245	253	261		
genotype	SB18	SB18	SB20	A	B	E	SB20	A	SB18	A		
계통번호	190	198	206	214	222	230	238	246	254	262		
genotype	SB18	F	D	SB20	SB18	A	SB20	SB20	SB20	SB20		
계통번호	191	199	207	215	223	231	239	247	255	263		
genotype	SB18	G	SB20	A	E	A	SB20	SB20	SB20	A		
계통번호	192	200	208	216	224	232	240	248	256	264		
genotype	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	F	SB20	SB20	A		
계통번호	266	274	282	290	298	306	314	322	330	338		
genotype	B	SB20	SB20	-	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	-		
계통번호	267	275	283	291	299	307	315	323	331	339		
genotype	SB20	A	SB20	SB20	C	SB20	SB20	SB20	H	-		
계통번호	268	276	284	292	300	308	316	324	332	340		
genotype	SB20	SB18	-	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	D	-		
계통번호	269	277	285	293	301	309	317	325	333	341		

genotype	SB20	SB18	B	SB20	SB20	H	SB20	SB20	C	-
계통번호	270	278	286	294	302	310	318	326	334	342
genotype	SB20	A	E	SB20	A	D	SB20	SB20	H	-
계통번호	271	279	287	295	303	311	319	327	335	343
genotype	A	A	B	SB20	C	C	SB20	D	H	-
계통번호	272	280	288	296	304	312	320	328	336	virus1
genotype	SB18	SB20	SB20	C	SB20	SB20	SB20	D	SB20	-
계통번호	273	281	289	297	305	313	321	329	337	virus2
genotype	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	SB20	D	SB18	-

*** SB18, SB20: 저항성/이병성 타입

*** A~H: 그 외 다른 유전형

*** -: gDNA 손상으로 인해 PCR 증폭 안됨

7. 배추 자가불화합성 인자분석 의뢰

국립원예특작과학원에 당사의 보유 계통들 중 100 계통에 대하여 SI 인자분석을 의뢰한 결과 50계통은 판별하였으나 50계통은 현재의 마커로 판별이 불가능하였다. 그 중 SI type 54, 25 및 46이 72%를 점유하고 있었다. 이를 바탕으로 조합을 작성하는데 있어서 같은 SI type끼리의 조합은 작성하지 않아도 되기 때문에 효율을 높일 수 있었다.

[표 9] 배추 계통의 SI 인자분석 결과

SI type	2010 BN	계통수
22	50	1
25	5. 6. 18. 19. 20. 21. 28. 34. 49. 53. 75. 90	12
46	7. 16. 31. 63. 64. 71. 85. 86	8
54	3. 9. 11. 22. 26. 37. 38. 42. 45. 46. 65. 66. 70. 81. 82. 88	16
99	89. 85	2
BrSG1/3	55	1
BrSG5	54. 58. 59	3
BrSG6	87	1
55	79. 80	2
mix	48. 52. 84. 100	4
계		50

*노란색표시는 다른 종묘회사에 없는 특이한 SI 유전자를 가진 것으로 생각됨

*그외 국내 존재하는 type이면서 판별가능한 것 : 30, 35, 61, BrSG2, BrSG4

8. 소포자배양 의뢰

충청남도 농업기술원과 충남대학교에 도입된 유전자원과 소포자배양을 위해 작성한 F1들을 소포자배양을 의뢰하여 1차 및 2차에서 작성된 소포자계통들은 이미 조합에 이용하였으며 3차는 현재 소포자배양 중에 있다. 소포자계통을 이용하여 작성된 조합 중 몇 점은 선발되어 재시험 중에 있다.



제23절 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구

1. 뿌리혹병균의 기초 수행 연구

가. *P.brassicae*의 휴면포자의 순수 분리

뿌리혹병균 *Plasmodiophora brassicae*에 대한 연구는 대량의 순수포자 획득이 어려워 균학적, 분자생물학적 연구에 한계가 있었다. 때문에 이러한 문제점을 해결하고자 순수한 휴면포자 다량획득 방법을 개발하기 위해 8겹의 Gauze와 Cellulose nitrate filter를 이용한 2단계 Filtration 방법을 수행한 결과, 현미경 상에서 토양 잔여물 및 식물체 조직이 대부분 제거된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 기존 연구에서 사용된 Gauze와 50% Sucrose를 이용한 방법(Castlebyry et al., 1994)과 비교 시 이물질들이 많이 제거된 순수한 포자를 수거할 수 있었다(Fig. 2). 또한 sucrose법 사용 시 sucrose를 제거하는 과정을 거쳐야 하기 때문에 보다 단순하고 시간이 적게 걸리는 Filtration법이 유용할 것으로 판단된다.

DNA분리 후 16S rDNA universal primer와 ITS1, ITS4를 이용한 PCR 검정에서 세균과 식물체, 뿌리혹병균의 DNA를 증폭한 결과, 세균 및 식물체의 DNA량 또한 적어 Filtration법이 다른 방법들보다 순수하게 휴면포자를 획득할 수 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

분리되는 포자수를 측정할 결과 filtration법에서는 1×10^7 spores/ml로 다른 방법들 보다 적었으나 DNA 분리에 충분한 많은 양의 포자를 수거할 수 있었다(Table 1).

Filtration법은 순수분리의 문제점을 크게 개선함으로써 추후 뿌리혹병균의 분자생물학 연구에 매우 유용할 수 있음을 보여주었다.

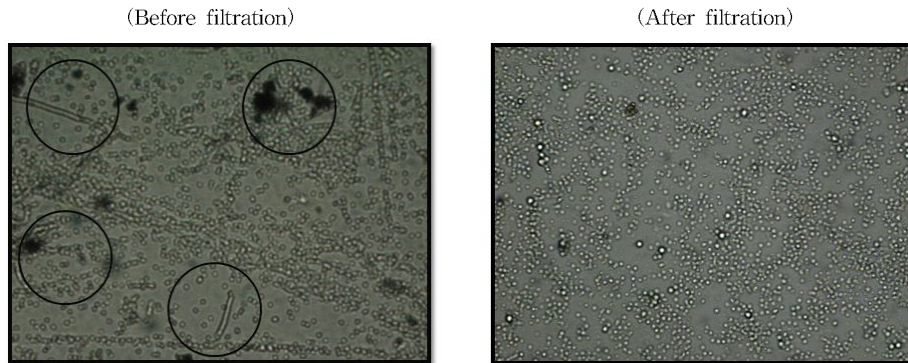


Fig. 1. Purity of spore suspension before and after filtration with cellulose nitrate filter.

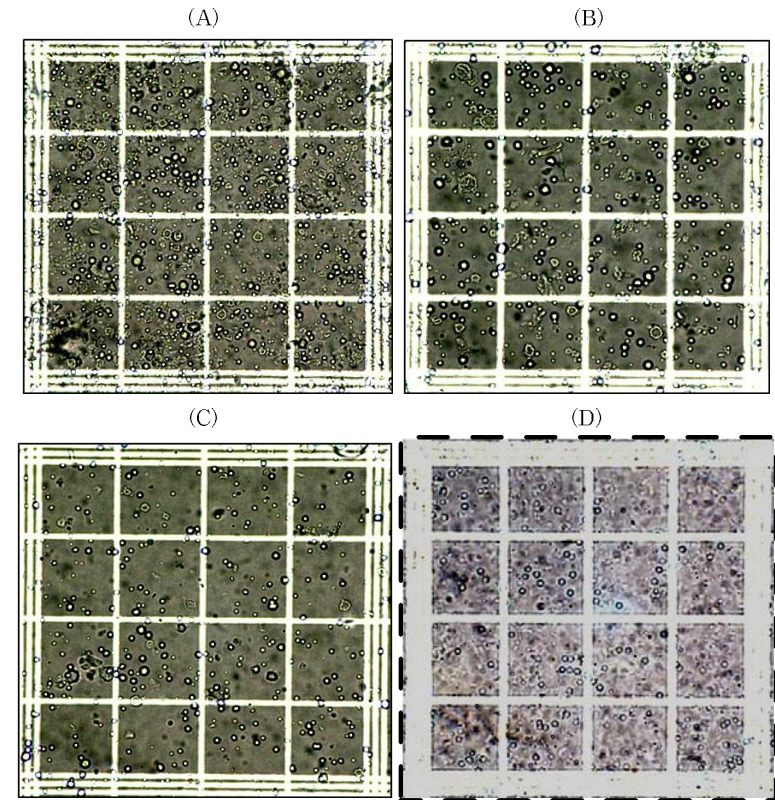


Fig. 2. Comparison of spore suspension purity between four extraction methods by microscopic observation. Gauze filtration (A), sucrose method (B), gauze + sucrose method (C), gauze + cellulose nitrate filter (D).

Table 1. The amount of resting spores of *P. brassicae* recovered by four methods

Method	Number of resting spore (spore / ml)
Gauze	5×10^7
Sucrose	3×10^7
Gauze + sucrose	2×10^7
Gauze + cellulose nitrate filter	1×10^7

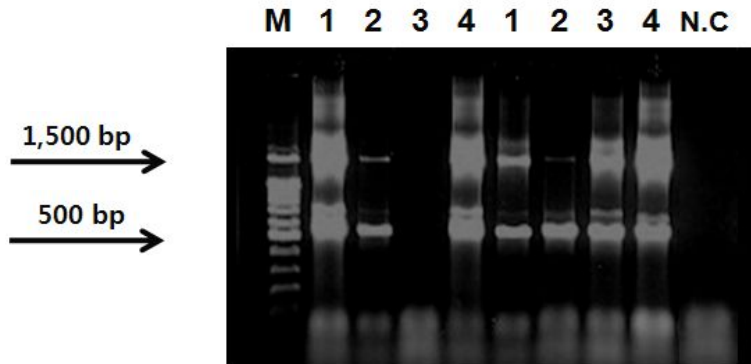


Fig. 3. PCR amplification of resting spores using 16S rDNA universal primer set for prokaryote(approximately 1,500 bp) and ITS1/ITS4 primer set for eukaryote(approximately 500 bp) after the resting spores were purified by tested four methods. M; marker (100 bp), 1; sucrose method, 2; gauze + cellulose nitrate filter, 3; gauze + sucrose, 4; gauze, N.C; negative control.

나. *P.brassicae*의 휴면포자의 대량 배양

앞선 연구에서 Möller 와 Harling(1996)은 단 3개의 SSI, Föhling 등(2003)은 4개의 SSI 균주만으로 각각 감염양상을 관찰하였는데, 이처럼 적은 수의 SSI가 사용된 이유는 단포자 접종성 공율이 낮기 때문 뿐 아니라, 단포자 균주를 확보하더라도 증식이 원활하지 못하여 연구에 사용할 수 있을 정도로 충분한 양의 휴면포자를 얻기 어렵기 때문이다. 장 등(2006)은 2단계 접종을 실시하여 소정의 효과를 얻었으나, 증식이 느리고 제한된 SSI의 특성상 근본적인 해결책은 될 수 없었다.

따라서 본 연구에서는 식물생장조절물질 처리에 의한 휴면포자의 대량 증식법을 개발하였다. 질소, 에틸렌, 옥신을 각각 처리한 결과, 질소처리구간에서는 잎이 짙은 녹색을 띄었으며 뿌리 표면이 연해지고 부드러워진 것을 확인할 수 있었다. 대조구와 비교 시 형성된 혹의 크기에 차이는 보이지 않았으나 상토:모래 = 1:1 구간에서는 혹이 크게 형성된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 식물에 병 저항성을 감소시킨다고 알려진 에틸렌 처리 시, 에틸렌의 독성에 의해 잎이 황화되고 줄기의 생장이 억제되어 잎이 시들면서 낙엽이 발생하였으나 뿌리의 신장 또한 억제되어 대조구와 큰 차이가 없었다(Fig. 5). 옥신 처리구에서는 지상부 확인 시 큰 변화가 없었으나 뿌리를 확인했을 때 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} 희석 처리구에서 접종 대조구에 비해 상당히 큰 혹이 형성된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 6).

휴면포자수를 비교한 결과(Table 2), 질소와 에틸렌처리구간에서는 포자수가 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ spores/ml 정도로 접종 대조구에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나, 옥신 처리 구간에서는 10^{-7} , 10^{-8} 희석 처리구에서 포자수가 7×10^7 spores/ml로 크게 증가되어 휴면포자의 대량증식에 가장 효과적이었다.

옥신은 이미 알려진 바와 같이 식물의 뿌리 분화 및 비대생장에서 주도적이 역할을 하며, *P. brassicae*의 감염에 의해 기주 내에서 그 양이 크게 증가한다는 사실 또한 보고된 바 있다(Devos et al., 2004). 옥신의 처리에 의해, 단포자 균주 특유의 ‘낮은 증식’ 문제를 극복함으로써 그동안 시도조차 할 수 없었던 병원학적, 분자생물학적 사안들을 해결할 수 있는 가장 중요한 토대가 형성되었다고 판단된다.

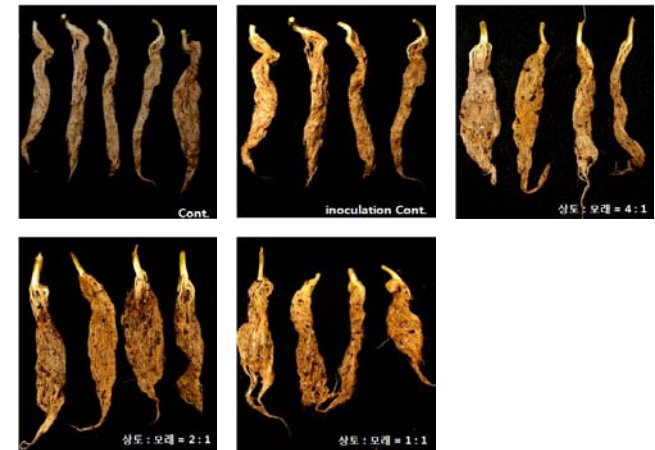


Fig. 4. The formation of clubroot by treating nitrogen on different soils consist of commercial soil and sand with different ratio.

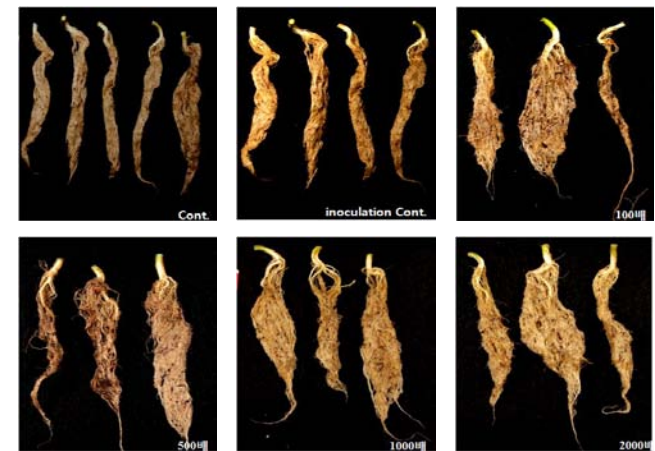


Fig. 5. The growth of clubroot by treating plant hormone, ethylene.

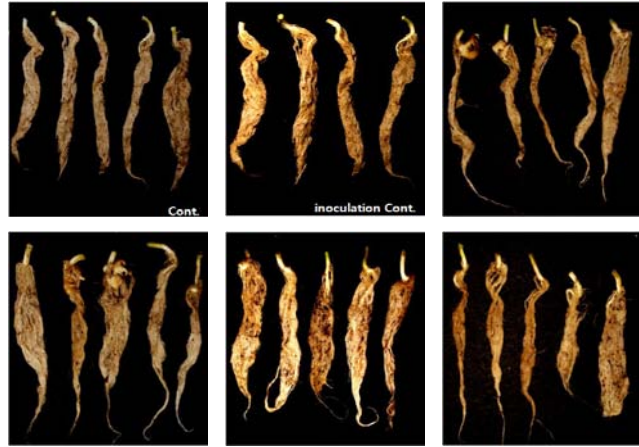


Fig. 6. Effect of treatment of auxin to get mass propagation of resting spores for clubroot formation

Table 2. Comparison of propagation promotion effect for *Plasmodiophora brassicae* between nitrogen, auxin and ethylene treatment

Treatment		Number of resting spore (spore / ml)
Non treated plants		3×10^6
Nitrogen (상토:모래)	1 : 1	1×10^7
	1 : 2	8×10^6
	1 : 4	1×10^6
Auxin	dillution 10^{-7}	8×10^7
	dillution 10^{-8}	7×10^7
	dillution 10^{-9}	8×10^6
	dillution 10^{-10}	3×10^6
Ethylene	dillution 10^{-2}	4×10^6
	dillution 5×10^{-2}	3×10^6
	dillution 10^{-3}	4×10^6
	dillution 2×10^{-3}	3×10^6

◎ 접종시기 별 휴면포자수 정량

접종 시기별 기주 식물 내 휴면 포자 증가량을 확인하기 위해 단포자 접종 및 현탁액 접종을 실시한 후 접종 2주차부터 주차별로 뿌리를 수거하여 휴면포자를 나출시키고 포자수를 측정하였다(Table 3).

접종 시기별 포자수를 확인한 결과 점진적으로 포자수가 증가되는 것을 확인할 수 있었으며, 단포자 접종에서는 8주차는 2주차에 비해 포자수가 100배 정도 증가되었고 현탁액 접종에서는 200배 정도 증가되었으며 포자수가 증가됨에 따라 형성되는 혹 또한 커지는 것을 확인할 수 있었다. 단포자 접종 기주는 육안상으로는 뚜렷한 병징이 확인되지 않았으나 기주 식물 내에서는 휴면포자가 계속적으로 증가되고 있는 것을 확인할 수 있었다. 위 결과 내병성품종 육성 시 접종균주의 기주 내 휴면포자의 증식 여부를 확인함으로써 저항성 품종 육성에 도움이 될 것으로 판단된다.

Table 3. Comparison of resting spore propagation between single spore and field isolate suspension inoculation with the time

Weeks after inoculation	Single spore inoculation	spore suspension inoculation (1×10^3 spore / ml)
2 weeks	3×10^4	5×10^5
3 weeks	9×10^4	2×10^6
4 weeks	2×10^5	3×10^6
5 weeks	6×10^5	1×10^7
6 weeks	1×10^6	2×10^7
8 weeks	3×10^6	1×10^8

다. *P.brassicae*의 휴면포자의 저장 방법 연구

현재 뿌리혹병 연구자들이 흔히 사용하는 뿌리혹 저장방법은 약 140년 전에 Woronin이 고안했던 방법이다. 이 방법은 뿌리혹을 그대로 -20°C 에 저장하는 것으로 오래전부터 사용되어오는 이유만으로 검증과정 없이 사용되어왔다.

6가지의 저장 조건과 4가지의 온도 조건으로 총 24개의 조건하에서 뿌리혹을 저장하였고, 3개월마다 저장 온도, 조건별로 106-107spore/ml의 포자현탁액을 감수성 품종에 접종하고 품종에서의 발병 여부로 병원성을 검증하였다.

그 결과 -70°C 에서 저장한 뿌리혹이 가장 오래 병원성을 유지하는 것을 확인하였다(Fig. 7, 9). Woronin이 사용했던 -20°C 에서 저장하는 것 역시 상대적으로 좋은 효과를 보았으나 -70°C 와 비교하였을 때 저장 후 병원성이 감소하였고 특히 12개월이 지나서는 발병률이 50%에 그쳤다.

-70℃에서 저장한 6가지 저장법 중에서는 뿌리혹을 그대로 저장하는 것과 뿌리혹을 갈아 균질화한 후 8겹의 거즈로 거른 것이 가장 오래 병원성을 유지하였다(Fig. 8). -20℃저장에서는 뿌리혹을 균질화하여 8겹의 거즈에 거른 것이 효과적이었다.

Dovos et al. (2005)은 병원균이 2차 감염 과정을 거치지 않으면 뿌리혹병 특유의 병징을 확인할 수 없다고 하였고, Feng et al. (2011)의 연구에서는 배추 삼출물이 존재할 때 삼출물이 없을 때보다 뿌리혹병균의 휴면포자가 유주자로 발아가 많이 이루어진다고 보고하였다. 이는 2차 감염과 밀접한 관계가 있는 유주자의 발아에 배추의 삼출물이 영향을 미친다고 유추할 수 있다.

혹을 갈아서 저장한 것보다 배추뿌리혹을 그대로 저장한 것이 병원성 오래 지속되는 이유는 2차 감염을 하는 유주자의 발아에 영향을 주는 배추 삼출물이 혹을 균질화하면서 배추 세포내에 있던 휴면포자가 밖으로 나출되면서 배추 삼출물역시 병원균과 함께 존재하고 그 영향으로 휴면포자가 많이 발아하게 되고, 발아한 유주자는 굉장히 약한 상태로 외부자극에 의해 생리, 성장 기능 등에 영향을 받아 죽거나 병원성에 영향을 줄 것이다.

뿌리혹을 균질화한 후 거즈에 거른 것에 다시 건진 배추를 갈아 넣어 저장한 결과 역시 다른 조건보다는 병원성이 감소하였는데, 이 역시 배추 삼출물의 영향에 의한 것으로 생각된다.

김 (2000)의 연구에 의하면 배추 뿌리혹의 부패에 미치는 요인 중 다른 환경요인보다 온도가 가장 중요한 환경요인으로 생각되며 온도가 낮을수록 다른 환경요인의 효과가 상대적으로 커진다고 보고하였다. 이 논문과 유사하게 4℃와 25℃에서 저장하였을 때, 조건에 따른 병원성의 차이는 심하게 두드러지지 않은데 반해 -70℃에 저장하였을 때는 저장한 조건간의 차이가 확연히 다른 것을 알 수 있었다.

이 결과를 통해 같은 병원균이나 뿌리혹이라도 -70℃에서 배추의 삼출물의 영향이 최소화된 상태로 저장하면 좀 더 병원균의 특징이나 상태의 변화가 최소화된 상태에서 보다 정밀하고 정확한 연구를 오래 지속할 수 있을 것이라고 기대한다.

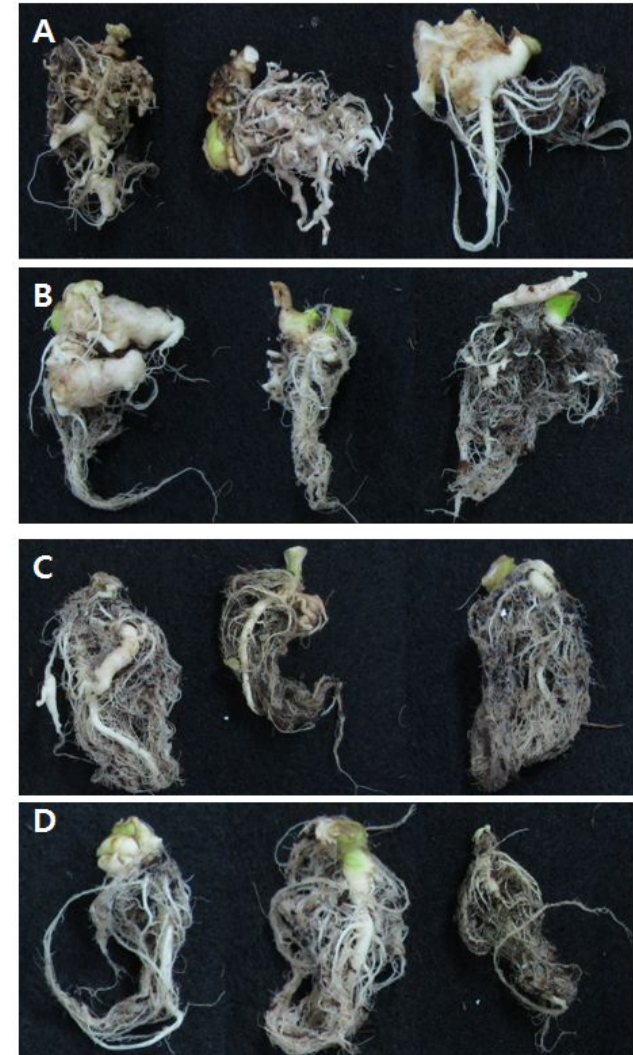


Fig. 7. Test for effectiveness of storage conditions invented in this research. The spore suspension filtered from homogenized clubroot gall was used as a material for the test. The suspension was stored under specified temperature for certain period. The suspensions stored under designed conditions were used as inoculum to test its pathogenicity maintenance.

(A : Stored at -70℃, storage after 3 months, B : Stored at -70℃, after 21 months, C : Stored at -20℃, after 3 months, D : Stored at -20℃, after 21 months)

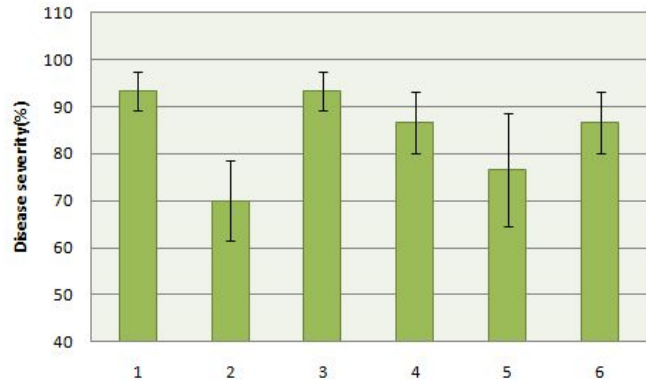


Fig. 8. Difference in disease severity depending on storage condition when the clubroot stored at -70°C (1. whole gall, 2. homogenizing 3. homogenizing and filtration with 8 layers of gauze, 4. Condition 3 + adding 20% glycerol 5. Condition 3 + adding disease free Chinese cabbage, 6. Condition 3 + adding 20% glycerol + disease free Chinese cabbage)

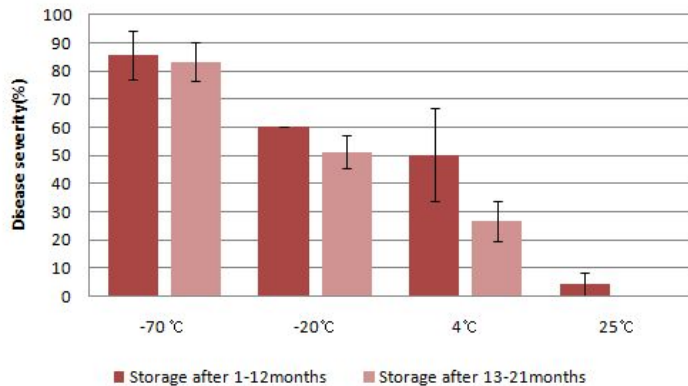


Fig. 9. Comparison of disease severity difference of the clubroot gall depending on storage temperature conditions.

2. 뿌리혹병균의 생태학적 특징 연구

가. 국내 주요 지역의 race의 확인

배방에서 채취한 하나의 뿌리혹을 단포자 접종하여 race를 확인한 결과 race 4가 3균주, race 11이 4균주, race 14가 7균주, race 16이 1균주 확인되었다(Table 4). 이로써 단일혹 내에서도 동시에 여러개의 race가 존재하는 것이 확인되어 추후 race 검정 시에는 반드시 단포자 접종을 해야할 필요가 있음이 증명되었다.

이전 허 (2004)의 논문에서 단일 뿌리혹에 여러 race가 존재할 것이라는 추정은 하였으나 아직까지 실험 결과는 없어서 이번 실험을 통해 단일 뿌리혹 내에 여러 race가 혼재한다는 사실이 처음으로 증명되었다. 그러나 이 race들이 토양 내에 존재하는 여러 race가 동시에 감염된 것인지 한 두 개의 race가 기주 내에서 다양한 race로 분화하였는지는 아직 정확히 알 수 없다.

또한 race가 기주의 품종에 대한 병원성에 기초하고 있는데, 배추 뿌리혹병균의 경우 병원성의 변이가 매우 신속하여서 저항성 품종도 경우에 따라 2년 이상 연작하면 그 저항성이 감수성으로 변한다(박, 2009). 주요재배 품종의 변화에 따라 우점하는 race의 변화로 이어진 것일 수도 있으나 환경 또는 품종이나 다른 race와의 상호작용 등 다른 요인들에 의해 병원균의 race가 변했을 것이라고 추정된다.

이 실험결과를 바탕으로 race의 혼합접종 시 기주에 대한 병원성의 증가나 약화 등 race의 혼합에 따른 병원성의 변화를 확인하는 실험을 계획하였다.

Table 4. Many races of *P. brassicae* identified from identical gall collected in the field of Baebang area

		Baebang area															
Area \ race	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Total
Beabang				3							4			7		1	15

나. 혼합 접종을 통한 병원성의 변화 관찰

Race의 혼합접종 시 병원성의 변화를 확인하기 위해서 단일 race와 무처리구간의 병원성을 비교하였다. 예상대로 WCD 판별품종 모두에 병을 내는 race 4가 가장 큰 혹을 형성하였고 race 11과 14의 조합에서 이병지수(DS)가 각각 77.78%와 82.2%로 병원성이 강했던데 반해 race 8과 16은 DS가 각각 55.56%와 33.33%로 상대적으로 약하게 나타났다(Fig. 10).

가장 큰 뿌리혹을 형성하였던 race 4의 단독접종 시 DS가 93.32%로 가장 높았으나 다른 race와의 혼합접종을 하였을 때 race에 따라 차이가 있었으나 전반적으로 DS가 낮아지는 경향을 보였다(Fig. 11).

병원성이 강한 race 11과 14를 혼합접종한 결과 race 4와의 혼합접종때와 동일하게 DS가 73.3%로 나타나 다소 병원성이 감소됨을 알 수 있었다. 그러나 반대로 병원성이 약했던 race 8과 16의 혼합접종에서는 병원성이 증가하는 것을 확인하였다.

이전 연구에서 단포자 균주만을 접종한 것보다 단포자 접종균주와 현탁액 접종균주를 혼합하여 접종한 것이 더 심한 병징을 나타낸다는 보고가 있었다(Vorrips, 1996). 그러나 DH-line에 접종하여 실험하였던 Vorrips (1996)의 경우 사용된 DH-line이 어떤 race에 감수성, 저항성의 특징을 갖는지 표기하지 않았으며, 현탁액 접종시에 현탁액 속에 섞여있을 여러 race에 대한 고려를 하지 않았다. 또한 장 (2006)은 race 4와 9를 혼합하였을 때 기주에 따라 병원성이 감소한 경우도 있다고 보고하였으나 기주를 정확한 품종이 아닌 배추와 순무로 기재하여 신뢰 있는 결과로서 판단내리기가 어렵다.

그러나 본 연구에서는 공시품종 중 감수성 품종인 '춘정'에 race 4와 11, race 9와 11을 혼합 접종하여 증가된 병원성과 그 외의 혼합접종에서는 감소하는 양상의 병원성을 확인함으로써 race가 혼합감염되었을 때 병원성이 변화한다는 점을 재차 증명하였다.

한편 '춘정' 품종이 어떤 race에 감수성인지 저항성인지 아직은 알 수 없다. 따라서 이 문제 점을 해결하기 위해서는 '춘정'을 비롯한 공시 품종에 대한 병원성과 관련된 자세한 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

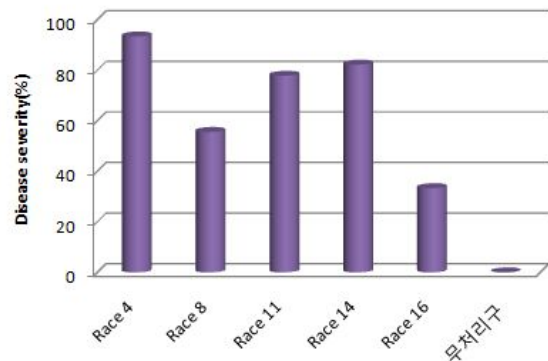


Fig. 10. Disease severity by each race inoculation of *P. brassicae* on cv. Chunjeong cultivated in greenhouse (25±5°C) for 8 weeks.

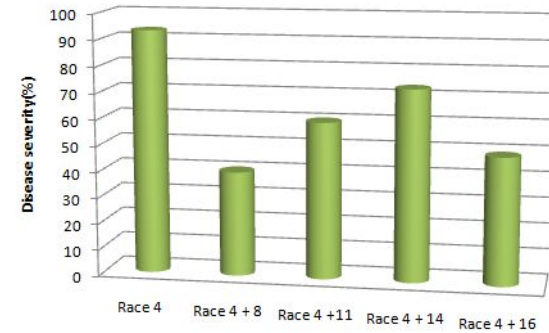


Fig. 11. Disease severity by each *P. brassicae* race co-inoculation with race 4 on cv. Chunjeong cultivated in greenhouse (25±5°C) for 8 weeks.

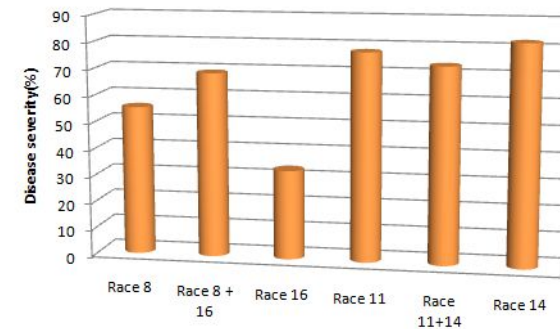


Fig. 12. Disease severity by co-inoculated *P. brassicae* races depending on pathogenicity observed on cv. Chunjeong.

다. 새로운 race의 발생기작

두 가지 이상의 race가 하나의 기주에 존재하였을 때 새로운 race의 생성여부를 알아보고자 실험을 수행하였다. 앞서 병원성의 증가를 보였던 race 8과 16을 혼합접종하여 관찰한 결과, 혼합접종한 기주로부터 cabbage 계통에서만 병이 발생하는 race 8과 16이 아닌 race 1이 2균주 확인되었다. Race 1은 Cabbage 계통인 Jersey Queen과 Rutabaga에서 모두 발병하는 특징을 보인다(Table 5, Fig. 13).

Race의 연구가 비교적 활발한 벼 도열병균의 경우에도 race가 해에 따라 또는 지역에 따라 그 분포가 다르다는 것 외에는 밝혀진 부분이 많지 않다. 특히 race의 변화에 관한 부분에서도 기주와의 상호관계나 한 품종의 오랜 재배로 인하여 그 품종에 강한 병원성을 보이는 race가 높은 밀도로 나타났다는 사실만 확인되었을 뿐이다(강, 1995).

Kole (1954)은 배추 뿌리혹병균과 분류학적이나 형태학적으로 유사한 *Spongospora*속의 유주자가 융합하는 것은 확인하였으나 핵융합은 관찰할 수 없다고 한 반면, 그 후 Buczacki & Moxham (1980)는 배추 뿌리혹병균을 광학현미경과 전자현미경으로 관찰한 결과 가까이 있는 두 균의 핵융합을 관찰할 수 있었다.

앞의 연구와 같이 우리도 *Plasmodiophora*가 워낙 하등 미생물이기 때문에 세포벽의 발달이 미미하여 고등 균류에 비해 서로 융합이 잘될 수도 있을 것으로 추정하였다. 따라서 한 기주에 감염되어 혼재된 유주자나 휴면포자간의 직접적인 융합이나 핵융합이 유전적 변이를 일으켜 새로운 race의 탄생에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다.

Jones (1982) 등은 판별기주에 의한 균의 분류가 어려운 것은 병원균 집단의 유전적 heterogeneity가 한 원인일 것이라고 주장하였고, 釘貫 (2001) 등은 WCD와 ECD에 의한 정확한 race의 진단이 어려운 것은 품종의 heterogeneity가 변이의 가장 큰 요인일 것이라고 생각하였다. 품종의 heterogeneity에 관한 내용은 이번 연구를 통해 증명되지 않았으나 균의 핵융합으로 인해 다양한 유전적 heterogeneity가 더 다양해져 병원성에 영향을 미치고 그것이 직접적으로 race를 변화시키는데 작용하였을 것이라고 여겨진다.

이번 연구는 기주와의 상호관계도 race의 변화에 영향을 미치겠지만 직접적으로 균의 혼합에 의해 새로운 race가 생성되는 현상을 증명하였다. 추후 새로운 race의 생성이 정말 핵융합이나 유주자의 융합에 의한 것인지에 대한 증명이 필요할 것으로 보인다.

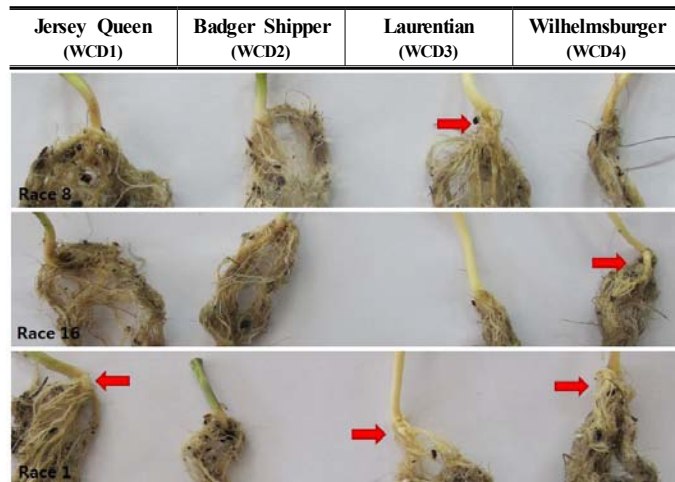


Fig. 13. The results from co-inoculation of race 8 and 16. New race(race 1) formation was observed by co-inoculation using race 8 and 16.

Table 5. Identification of *P. brassicae* race produced by co-inoculation with race 8 and 16

race	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Total
Beabang	2							4	4							3	13

3. 뿌리혹병균의 분자생물학적 연구

가. 종특이적 primer의 개발

(1) 새로 디자인된 프라이머를 이용한 병원균 검출

*P. brassicae*의 ITS 영역으로부터 새롭게 디자인된 프라이머 ITS1-1, ITS1-2와 ITS2-1, ITS2-2, PLF, PLR, PqF, PqR를 이용하여 3개의 이병배추 뿌리혹으로부터 분리한 휴면포자의 DNA를 PCR 증폭한 결과, 4개의 primer set 모두 *P. brassicae*의 DNA를 증폭할 수 있었다 (Fig. 13). 이후 실험에서는 증폭산물의 크기가 129 bp로 real-time PCR 사용에 적합한 ITS1-1, ITS1-2를 이용하여 분석을 수행하였다.

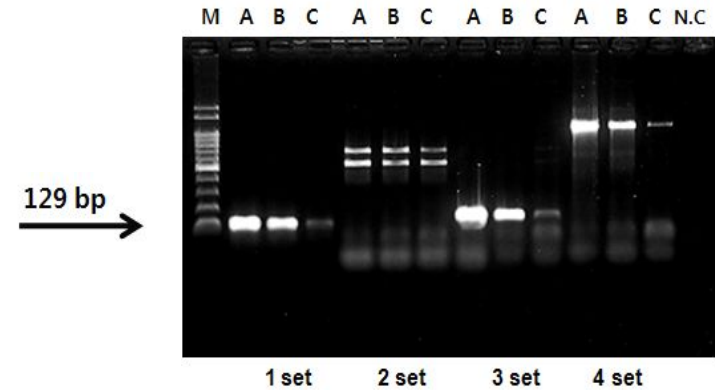


Fig. 13. PCR amplification of newly designed primer sets ITS1-1/ ITS1-2 (1 set), ITS2-1/2-2 (2 set), PLR/PLF (3 set), PqR/PqF (4 set). Lanes A, B and C : 3 genomic DNA of *Plasmodiophora brassicae* extracted from diseased plants.

(2) 프라이머의 특이성 및 민감도 검증

특이적 프라이머로 선발된 ITS1-1/1-2의 특이성 및 민감도 검정을 실시하였다. 특이성 검정을 위해 토양 내에 존재하는 주요 병원균인 *Alternaria sojiae*, *Fusarium oxysporum*, *Didymella bryoniae*, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum*, *Colletotrichum acutatum*, *Botrytis cinerea*, *Cylindrocarpon destructans*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* 등과 뿌리혹병균의 DNA, 배추로부터 추출한 DNA를 위의 ITS1-1, ITS1-2 프라이머 set으로 PCR 증폭을 수행한 결과 다른 병원균 및 식물체의 DNA는 증폭이 이루어지지 않고 뿌리혹병균의 DNA만 특이적으로 증폭된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 14).

민감도 검정을 위해 휴면포자를 혈구측정기를 이용하여 104 spore/ μ l로 조정된 후 10배씩 희석한 다음 DNA를 분리하였다. 분리한 DNA를 앞서 개발한 ITS1-1, ITS1-2를 이용하여 1차 PCR 증폭을 수행한 결과 포자수 10개까지 검출이 가능하였다(Fig. 15).

이전 연구에서 사용되었던 Faggian 등(1999)에 의해 개발된 특이적 primer PbITS set는 검출 민감도가 first round PCR에서는 포자수 100개까지, nested PCR에서는 10개의 포자까지 증폭이 가능하여 ITS1-1/1-2의 민감도와 같지만 nested PCR은 극히 민감한 PCR로 오판의 가능성이 있기 때문에 실제적으로는 first Round PCR만을 수행하는 경우가 많기 때문에 ITS1-1/1-2의 사용이 병원균 검출에 보다 유용하였다.

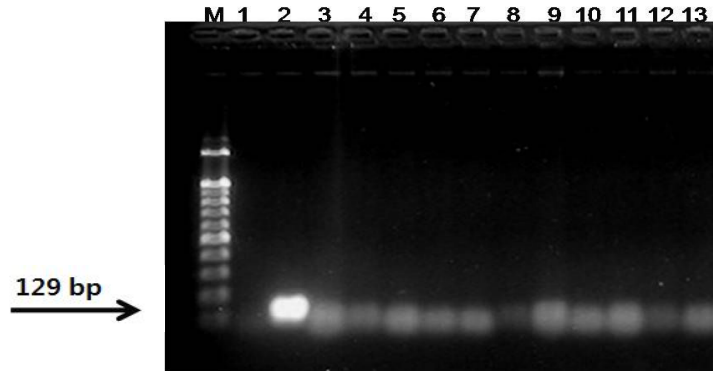


Fig. 14. Specificity of primer set, ITS1-1/ITS1-2 to *Plasmodiophora brassicae* on conventional PCR. M, 100bp marker, lane 1: negative control (not containing DNA), lane 2: *P. brassicae* DNA. lanes 3-12: other soilborne fungi DNA, *Alternaria sojiae*(3), *Fusarium oxysporum*(4), *Didymella bryoniae*(5), *Phytophthora infestans*(6), *Pythium ultimum*(7), *Colletotrichum acutatum*(8), *Botrytis cinerea*(9), *Cylindrocarpon destructans*(10), *Rhizoctonia solani*(11), *Verticillium dahliae*(12), lane 13: Chisnes cabbage DNA.

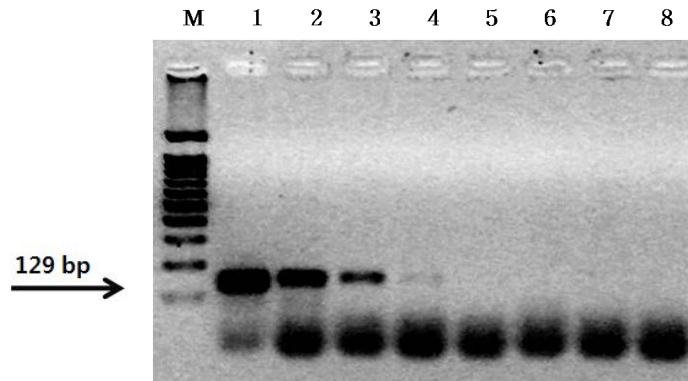


Fig. 15. PCR Sensitivity of primer set ITS1-1/ITS1-2 to *Plasmodiophora brassicae* DNAs with different concentrations. M, 100bp marker, lanes 1-8, serially diluted genomic DNA (from 104 spores/ul) and negative control (not containing DNA).

(3) Real-time PCR을 이용한 특이성 및 민감도 검증

보다 정확한 특이성 및 민감도 검정을 위해 conventional PCR보다 감도가 높은 것으로 알려진 Real-time PCR을 이용하여 실험을 수행하였다. 특이성 검정을 위해 6개의 다른 토양병원균 DNA와 9개의 뿌리혹병원균 DNA를 종특이적 프라이머 ITS1-1/ITS1-2를 이용하여 실험을 수행한 결과 6개의 다른 토양전염성 병원균은 PCR 증폭곡선이 나타나지 않았지만 *P. brassicae*의 DNA만이 증폭되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 16). 또한 *P. brassicae*의 균주들에게서만 모두 동일한 84정도의 melt peak 값이 나타나 PCR 증폭이 안정적으로 이루어져 프라이머의 특이성을 확인할 수 있었다.

민감도 검정을 위해 포자 현탁액을 103 spores/ μ l로 조정한 후 DNA를 분리한 것을 10배씩 희석하고 ITS1-1/ITS1-2 프라이머를 이용하여 Real-time PCR을 수행했을 때 10^{-1} 까지 검출이 가능하여(Fig. 17, (a)), Conventional PCR 보다 100배 정도 높은 민감도를 보였으며, 희석된 DNA의 cycle threshold 값에 의해 작성된 Standard curve값(Fig. 17, (b))을 통해 여러 샘플 간의 DNA 농도에 대한 상대적인 정량이 가능해 졌으며, 보다 직관적으로 DNA의 농도를 확인할 수 있게 되었다.

Real-time PCR 검정은 민감도가 높고 실시간으로 DNA의 증폭여부를 확인할 수 있어 프라이머의 특이성 검정에 유용하였으며, 전기영동 시 Gel상에서 확인되지 않았던 적은 양의 증폭 부분까지 확인이 가능하기 때문에 민감도 검정에도 유용할 것으로 생각된다. 또한 melt peak 값을 이용, 분리된 DNA의 순도 또한 확인이 가능하여 *P. brassicae*의 순수한 DNA 분리연구에도 유용할 것으로 사료된다.

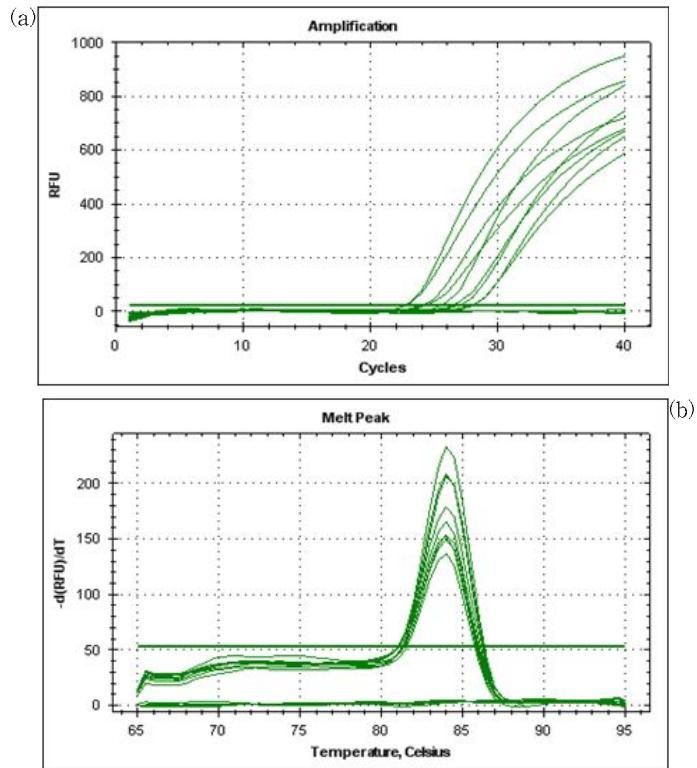


Fig. 16. Specificity of primer set,ITS1-1/ITS1-2 with nine DNAs from clubroot and six other fungi(*Alternaria sojae*, *Fusarium oxysporum*, *Didymella bryoniae*, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum*, *Colletotrichum acutatum*). on real-time PCR using SYBR Green I. Clubroot have amplification curve (a) and all the melting curve are not different (b).

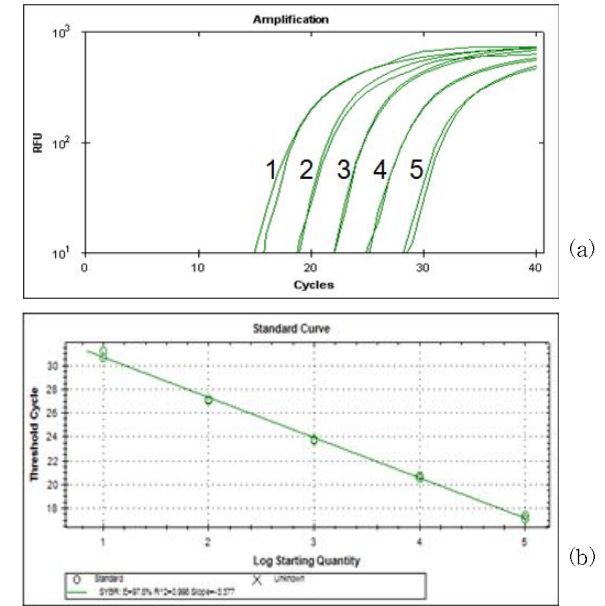


Fig. 17. Sensitivity of primer set ITS1-1/ITS1-2, with 10 fold serial dilutions from 10³ spores DNA(μ l) of *Plasmidiophora brassicae* on real-time PCR using SYBR Green I. (a) Real-time amplification curve of different concentration of DNAs. lines 1-5; 10-fold dilution of *P. brassicae* DNA. (b) Standard curve showing that the DNAs were diluted regularly.

나. 병 저항성계통을 이용하여 저항성 연관 마커 개발

(1) M6 집단 (농협 종묘에서 분양)

M6 집단을 이용하여 M1 계통(저항성 표현형)의 뿌리혹병 저항성 형질에 연관된 마커 4종을 전년도에 보고하였으며 저항성 유전자좌는 A08 번에 위치하는 것으로 보고한 바 있다.

현재까지 배추에서 뿌리혹병 저항성 유전자좌는 8개가 보고되었다(fig. 18). 8개의 유전자좌에 위치와 연관되었다고 기 보고되었던 분자마커 28종을 이용하여 M6 집단으로 작성한 유전자 지도에 표기하여 본 집단이 가지고 있는 저항성 형질 유전자좌와 연계성을 찾고자 하였다.

Crr1 유전자좌에 연관된 마커를 집단에 적용하였을 때 전년도에 보고하였던 4종의 연관 마커와 같은 연관그룹, 가까운 거리에 표기되는 것을 볼 수 있었다. 그러므로 전년도에 보고한 것과 마찬가지로 M6 집단의 저항성 형질은 A08에 위치하는 Crr1 일 가능성이 높은 것으로 나타났다. 따라서 현재 배추분자마커사업단에서 보유하고 있는 유전자지도들의 정보를 이용하여 Crr1 유전자좌가 위치하고 있는 A8 연관그룹에 표기된 연관마커의 위치를 확인 및 비교하여 기타 마커정보 확보하고자 하였다(fig. 19).

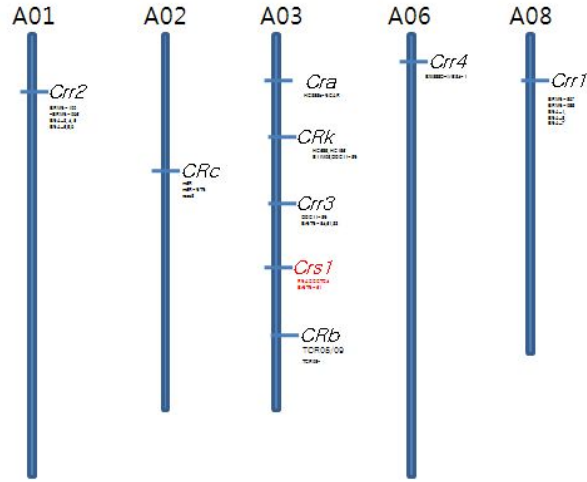


fig. 18. 배추에서 기 보고된 뿌리혹병 저항성 형질 연관 유전자좌의 종류 및 위치. 붉은색으로 표기한 Crs1은 무에서 보고된 유전자좌.

각 집단은 다르나 형질과 연관된 마커 사이에 위치하는 마커들에 대해서는 노란색으로 표기하였다. 형질 연관마커의 가까이 위치하는 분자마커를 최소 1개에서 최대 3개까지를 집단 별로 확인할 수 있었다. 이들 추가 마커 정보를 이용하여 뿌리혹병 저항성 집단 M6의 부모본을 이용하여 다형성 검정을 수행하고 유전자 지도에 표기하였다. 총 3개의 마커가 다형성을 나타내 유전자 지도에 표기 되었으며 이들을 공통마커로 하여 유전체 정보를 검색하여 인근에 위치하는 마커 9개를 추가로 개발하였다. 기존에 Crr1 유전자좌에 연관된 마커로 보고된 'BRNS_088'과 'Crr1-BSA7' 마커의 위치와 본 과제에서 개발된 11개 마커의 위치를 표기하였다.



fig. 20. 뿌리혹병 증상 및 M6 집단에서 뿌리혹병 표현형 검증을 위해 접종 후 재배 전경

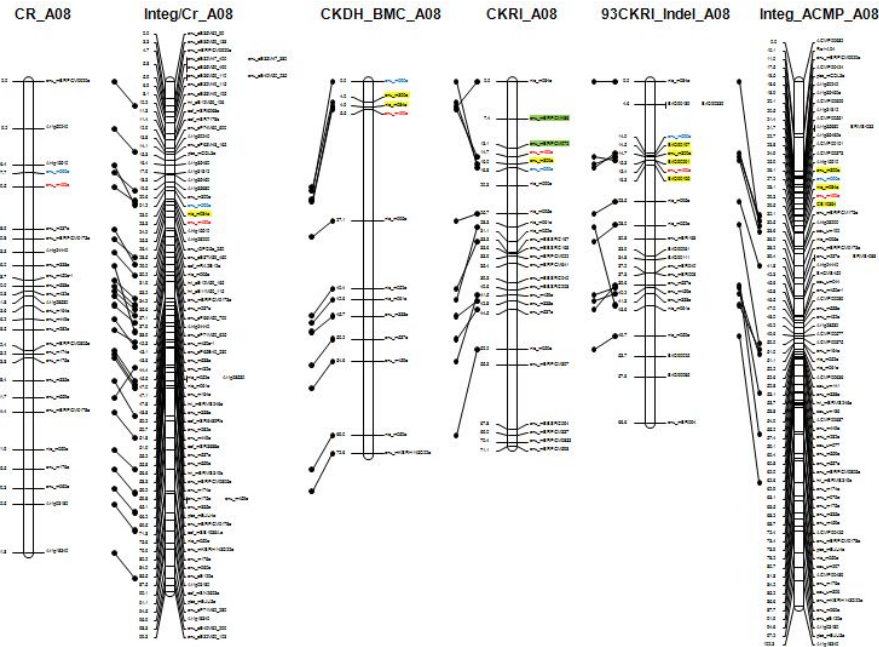


fig. 19. 전년도에 보고한 저항성 형질 연관마커(붉은색 및 파란색 글씨)의 위치 표기 및 기타 보유하고 있는 배추 유전자지도와 위치 비교

뿌리혹병 형질의 표현형을 측정하기 위하여 M6 집단에 접종하여 6주간 재배 후에 나타나는 표현형의 정도를 계급으로 환산하였다(그림 3). 새로 개발한 연관 마커들과 저항성 표현형값과의 상관관계성을 통계적으로 분석하였다(표 2). M6집단에서 나타내는 표현형값이 기존에 Crr1 유전자와 연관된 마커로 보고된 두 마커와의 상관관계만큼 추가로 개발된 마커에서도 높음을 나타냈다(표3). 따라서 본 연구를 통해 개발된 마커는 뿌리혹병 저항성 유전자좌 중에 Crr1 유전자에 연관된 마커로 생각되며 기존에 보고된 마커보다 더 인접한 마커 정보를 제공할 수 있으리라 기대한다.

추가 개발된 마커와 저항성 형질 유전자좌간의 위치 추정을 QTL로 분석하였다(그림 4). QTL 분석 결과, 기 보고된 'Crr1-BSA7'과 매우 인접한 마커(Cnu_4, Cnu-5)를 개발하였으며, 이들과 'Cnu-7' 마커 사이에 추가로 마커를 개발한다면 Crr1 유전자좌에 더 가까이 위치하는 마커를 개발 할 수 있을 것으로 보인다.

Table 6. Crr1 유전자와 연관되었다고 기 보고된 마커와 본 과제에서 추가 개발된 마커와 표현형과의 상관관계 분석

	Chrom.	Marker	b0	b1	-2ln(L0/L1)	F(1,n-2)	pr(F)
Cnu_1	1	1	69.264	23.857	31.947	37.365	0.000 ****
BRMS_088	1	2	69.238	22.812	27.737	31.668	0.000 ****
Cnu_2	1	3	55.911	44.487	85.154	137.101	0.000 ****
Crr1-BSA7	1	4	60.913	47.019	134.173	296.918	0.000 ****
Cnu_3	1	5	59.937	47.868	147.984	359.586	0.000 ****
Cnu_4	1	6	60.497	48.474	148.315	361.208	0.000 ****
Cnu_5	1	7	60.497	48.474	148.315	361.208	0.000 ****
Cnu_6	1	8	58.917	48.494	128.901	275.367	0.000 ****
Cnu_7	1	9	58.275	47.970	117.783	233.778	0.000 ****
Cnu_8	1	10	58.375	47.823	116.063	227.782	0.000 ****
Cnu_9	1	11	58.375	47.823	116.063	227.782	0.000 ****
Cnu_10	1	12	58.867	46.940	112.662	216.250	0.000 ****
Cnu_11	1	13	58.901	48.012	112.102	214.391	0.000 ****
Atg1-32	1	14	57.853	47.553	108.455	202.560	0.000 ****

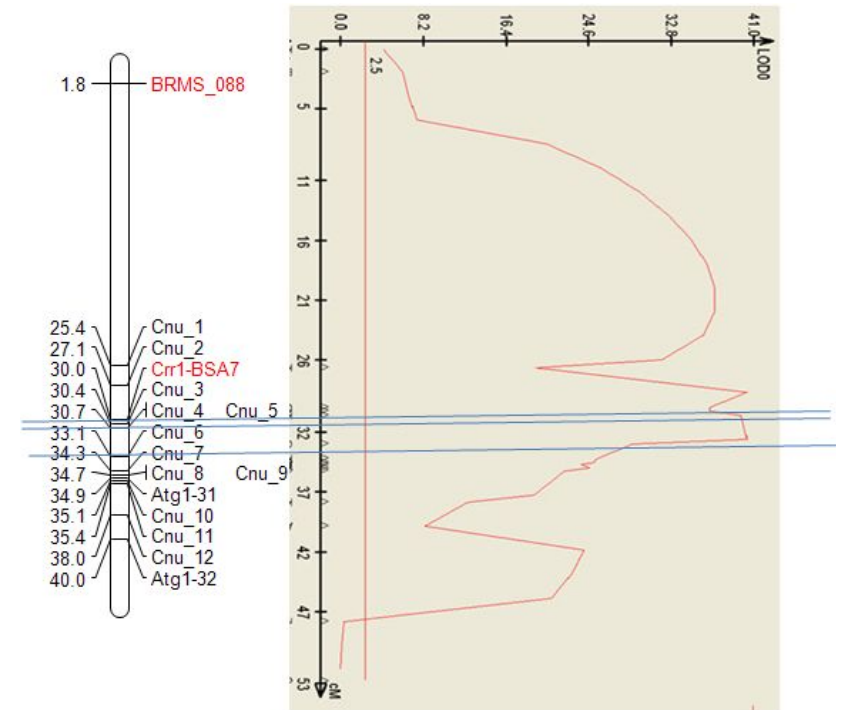


fig. 21. 뿌리혹병 저항성 형질에 대한 QTL 분석 결과

다. Race 4의 full sequence 분석

Significance at the 5%, 1%, 0.1% and 0.01% levels are indicated by *, **, *** and ****, respectively.

*P. brassicae*의 DNA 특성에 관한 연구는 최근 들어 부분적으로 이루어지고 있는데 일부분의 염기서열을 분석하여 단백질의 역할을 밝혀내거나(Siemens, 2006; Feng et al., 2010), 토양과 식물체로부터 primer를 통해서 *P. brassicae*의 검출을 시도한 것이 전부이며 다른 식물병원균들의 연구과 비교해볼 때 매우 미미한 실정이다(Faggian, 2006; Wallenhamma, 2011). 배추의 게놈은 모두 밝혀진(Wang, 2011) 반면 배추에 발병하여 직접적인 피해를 입히는 뿌리혹병균에 관한 연구가 진전이 느린 이유에는 단포자접종이나 휴면포자의 순수 대량분리 및 DNA 분리의 어려움 등이 있다. 본 연구에서는 단포자 접종 후 휴면포자의 대량 배양을 위해 auxin을 처리하고 순수한 휴면 포자의 분리를 위해 filter법(최, 2010)을 사용하여 보다 순수하게 DNA를 획득하였으며 shout gun 방법을 통하여 약 200만 bp의 염기서열을 분석하였다.

Jones (1982)과 釘貫 (2001)는 병원균과 관별기주의 heterogeneity에 의해 정확하게 race를 판별하기 어렵고, 병원성에 연계하는 유전자가 많아 정확하게 정확히 어떤 유전자가 병원성과 관계가 있는지를 가늠하기 어렵다고 보고하였다. 이는 기주와 병원균의 다양한 유전자가 상호작용 한다는 의미도 된다.

현재 배추의 계통은 모두 밝혀졌다(Wang, 2011). 그러나 정작 병을 직접적으로 일으키는 뿌리혹병균의 연구가 상대적으로 진전이 느리다. 그 이유로는 다양한 이유가 있겠지만 그 중 휴면포자와 DNA의 대량 순수분리의 어려움이 큰 작용을 했다. 이를 극복하기 위해 본 연구에서는 단포자 접종 후 휴면포자의 대량 배양을 위해 auxin을 처리하고 순수한 휴면포자의 분리를 위해 filter법(최, 2010)을 사용하여 보다 순수하게 DNA를 획득해 shot gun 방법을 통하여 현재 약 200만 bp의 염기서열을 해석하였다.

Shot gun 방법은 하나의 유전자를 잘게 나누어 유전자 서열이 반복되는 부분을 붙이는 방법으로 하나의 균에 비슷하게 반복되는 부분이 있을 경우 나누어진 DNA조각을 하나로 연결하는 방식이다. 다만 이 방법의 문제점은 균에 비슷하게 반복되는 부분이 많다면 원래는 이어져 있지 않았지만 재조합 과정에서 하나로 연결이 되어 처음 염기서열과는 완전히 다른 균의 염기서열로 바뀔 수 있다는 단점이 있어 본 결과도 다시 한 번 염기서열 분석을 통해 정확한 염기서열을 확인해야 할 것이다(Table 7).

본 염기서열의 분석 결과는 병원균과 기주와의 관계를 분자생물학적으로 규명하고 배추에 존재하는 저항성 유전자와의 연계성 연구 그리고 뿌리혹병균의 유전체 연구에도 기본 자료로 이용될 것으로 기대한다.

Table 7. Part of *P. brassicae* sequence. These results is expected to determine interaction pathogenicity and resistance capacity

Query				Subject				Score		Identities		Gaps		Strand	
Name	Length	Start	End	Description	Length	Start	End	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)	Match/Total	Pct.(%)	Query	Subject
contig00004	3422	1	3422	Enterobacter sp. 638, complete genome	4518712	4360324	4356913	5124	0	3221/3429	93	24/3429	0	Plus	Minus
contig00005	21,194	9950	21194	Enterobacter sp. 638, complete genome	4518712	4347405	4336162	1.80E+04	0	10717/11258	95	27/11258	0	Plus	Minus
contig00006	60,162	9689	33685	Enterobacter sp. 638, complete genome	4518712	4325386	4301383	3.91E+04	0	22959/24026	95	51/24026	0	Plus	Minus
contig00008	984	1	981	AF134704 Pseudomonas fluorescens ribosomal RNA operon rrmB, complete sequence	5679	3056	4037	1929	0	980/982	99	1/982	0	Plus	Plus
contig00013	19,168	1	6347	Pseudomonas fluorescens Pf-5, complete genome	7074893	6014671	6021015	6736	0	5665/6402	88	112/6402	1	Plus	Plus
contig00014	23,951	522	6620	Pseudomonas fluorescens Pf-5, complete genome	7074893	6035242	6041331	6442	0	5432/6143	88	97/6143	1	Plus	Plus
contig00015	3630	1	2137	Pseudomonas fluorescens Pf-5, complete genome	7074893	6059885	6082024	1154	0	1798/2187	82	97/2187	4	Plus	Plus
contig00016	20,886	12646	20753	Pseudomonas fluorescens Pf-5, complete genome	7074893	6083798	6091897	9182	0	7294/8162	89	116/8162	1	Plus	Plus
contig00017	1769	1	1573	Pseudomonas fluorescens Pf0-1, complete genome	6438405	5477743	5478329	1649	0	1412/1599	88	38/1599	2	Plus	Plus
contig00018	38,099	8227	13368	Pseudomonas fluorescens SBW25 complete genome	6722539	5844220	5849352	4395	0	4473/5203	85	131/5203	2	Plus	Plus
contig00019	21,972	11109	16212	Pseudomonas fluorescens Pf-5, complete genome	7074893	6144973	6150090	4288	0	4451/5188	85	154/5188	2	Plus	Plus
contig00020	1870	1	1010	Pseudomonas fluorescens Pf-5, complete genome	7074893	6155683	6156692	1201	0	918/1019	90	18/1019	1	Plus	Plus

제24절 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성

1. 유전자원의 수집

뿌리혹병 저항성 유전자원 등 1차년도 20점, 2차년도 21점, 3차년도 33점, 4차년도 35점, 5차년도 26점 등 총135점의 유전자원을 수집하였다. 국외 및 국내의 주산지에서 재배되고 있는 CR동품, 과워춘광 등을 수집하여 육성 소재 및 대비종 등으로 활용하였다. 포장재배 특성조사를 실시하였으며 활용성이 높은 것은 개체선발, 계통분리, 약배양 모본 등으로 계통육성에 활용하고 있다.

표 1-1. 1차년도(2007~2008년) 유전자원 수집 내역

도입번호	종 류	계통명	수집처	수집량	저항성
B0701	순무	siloga	농업생명공학연구원	100립	CR
B0702	순무	-	원예연구소	7립	-
B0703	봄배추	HJC	국내	2000립	CR
B0704	봄배추	HCT	국내	2000립	CR
B0705	여름배추	HCP	국내	2000립	CR
B0706	가을배추	HBP	국내	2000립	CR
B0707	가을배추	NCM	국내	2000립	CR
B0708	가을배추	NMC	국내	2000립	CR, TuMV
B0709	가을배추	NDH	국내	2000립	CR, TuMV
B0710	봄배추	SKCM	국내	2000립	CR
B0711	여름배추	SCN	국내	2000립	CR
B0712	가을배추	DC65	일본	5ml	CR
B0713	가을, 겨울배추	DC85	일본	5ml	CR
B0714	봄배추	NDT	국내	2000립	CR
B0715	봄배추	MSG	국내	2000립	CR
B0716	봄배추	NSI	국내	2000립	CR
B0717	봄배추	SKCS	국내	1L	CR
B0718	여름배추	NSU	국내	2000립	CR, TuMV
B0719	봄배추	NKB	국내	2000립	CR, TuMV
B0720	여름배추	NYR	국내	1L	CR, TuMV

표 1-2. 2차년도(2008~2009년) 유전자원 수집 내역

도입번호	분 류	품종명	수집처	수집량	저항성
B0801	여름용	YK-S	국내	2000립	CR
B0802	여름용	SJG-S	국내	2000립	CR
B0803	여름용	CO-W	국내	2000립	CR
B0804	여름용	IPYR-K	국내	2000립	CR
B0805	여름용	BAP-H	국내	2000립	CR
B0806	가을용	CRCR-H	국내	2000립	CR
B0807	여름용	BH-H	국내	2000립	CR
B0808	여름용	WR-N	국내	2000립	CR,
B0809	가을용	CW-N	국내	2000립	CR,
B0810	겨울용	WDDC-N	국내	2000립	CR
B0811	겨울용	CRDP-H	국내	2000립	CR
B0812	가을용	SP-CRHI	일본	35립	SP CR
B0813	가을 및 겨울용	SP-CRKI85	일본	35립	SP CR
B0814	가을용	SP-CRSI	일본	15립	SP CR
B0815	가을용	CRKI77	일본	35립	CR
B0816	가을용	CH60	일본	5ml	CR
B0817	가을 및 겨울용	KIRA85	일본	5ml	CR2
B0818	가을용	KE6566	일본	5ml	CR2
B0819	가을용	KE6567	일본	5ml	CR
B0820	가을용	KE7568	일본	5ml	CR
B0821	순무	IT00	국내	2주	race4

표 1-3. 3차년도(2009~2010년) 유전자원 수집 내역

도입번호	분 류	품종명	수집처	수집량	저항성
B0901	봄여름	DT	국내	2000립	CR
B0902	가을조기	NRCS	국내	2000립	-
B0903	가을	CR-JS	국내	2000립	CR
B0904	여름	CR-청록	국내	2000립	CR
B0905	여름	BH	국내	2000립	CR
B0906	가을	BAP	국내	2000립	CR
B0907	여름	SUR	국내	2000립	CR
B0908	가을	CW	국내	2000립	CR
B0909	겨울	GUM	국내	2000립	CR
B0910	겨울	WDDC	국내	2000립	CR
B0911	가을	CR-AC	국내	2000립	CR
B0912	가을	CR-MJ	국내	2000립	CR
B0913	여름	CR-DJB	국내	2000립	CR
B0914	가을	CG	국내	2000립	-
B0915	여름가을	CR-MP	국내	2000립	CR
B0916	가을	HGA	국내	2000립	CR
B0917	가을	GEM	국내	2000립	-
B0918	봄여름	CR-SSRE	국내	2000립	CR
B0919	여름	GH	국내	2000립	-
B0920	겨울	SSJG	국내	2000립	CR
B0921	겨울	WDCH	국내	2000립	CR
B0922	겨울	WDHJ	국내	2000립	CR
B0923	가을	체	국내	2000립	CR
B0924	가을	CGS	국내	2000립	-
B0925	봄	CH	국내	2000립	-
B0926	가을	ARC	국내	2000립	-
B0927	가을	G도	국내	2000립	-
B0928	겨울	GUJM	국내	2000립	CR
B0929	겨울	NDJG	국내	2000립	CR
B0930	봄	GB3H	중국	50립	-
B0931	봄	CP	중국	50립	-
B0932	봄	PG76	중국	50립	-
B0933	봄	SCBC	중국	50립	-

표 1-4. 4차년도(2010~2011년) 유전자원 수집 내역

도입번호	분 류	품종명	수집처	수집량	저항성
B1001	가을	CG	국내	2000립	-
B1002	가을	HPR	국내	2000립	-
B1003	여름	CPO	국내	2000립	CR
B1004	여름	SWL	국내	2000립	CR
B1005	여름	NRGD	국내	2000립	-
B1006	가을조기	NRCS	국내	2000립	-
B1007	봄	CRAJBG	국내	2000립	CR
B1008	봄	MJSS	국내	2000립	-
B1009	여름	YG	국내	2000립	CR
B1010	봄	OHCR	국내	2000립	CR
B1011	가을	BAP	국내	2000립	CR
B1012	가을	HS GD	국내	2000립	-
B1013	겨울	GWYY	국내	2000립	CR
B1014	겨울	CRDP	국내	2000립	CR
B1015	겨울	HJP	국내	2000립	CR
B1016	겨울	SSJG	국내	2000립	CR
B1017	겨울	GWYY	국내	2000립	CR
B1018	겨울	GWMP	국내	2000립	CR
B1019	가을	CW	국내	2000립	-
B1020	가능	CP	국내	2000립	CR
B1021	가을	CRMP	국내	2000립	CR
B1022	가을	CG	국내	2000립	-
B1023	겨울	GWJM	국내	2000립	CR
B1024	겨울	NDJG	국내	2000립	CR
B1025	겨울	YWMJR	국내	2000립	CR
B1026	가을	HPRG	국내	2000립	-
B1027	가을	HPR	국내	2000립	-
B1028	가을	NX157	국내	2000립	CR
B1029	봄	CG	국내	2000립	-
B1030	봄	PCG	국내	2000립	CR
B1031	봄	DT	국내	2000립	CR
B1032	봄	CRCY	국내	2000립	CR
B1033	봄	CJ	국내	2000립	-
B1034	봄	GCYG	국내	1dl	-
B1035	봄	SRYG	국내	1dl	-

표 1-5. 5차년도(2011~2012년) 유전자원 수집 내역

도입번호	분 류	품종명	수집처	수집량	저항성
BI101	가을	SLEGR	국내	2000립	-
BI102	여름	CO	국내	2000립	CR
BI103	가을	NRCS	국내	2000립	-
BI104	가을	CP	국내	2000립	CR
BI105	가을	CGW	국내	2000립	-
BI106	여름	TS2179	국외	100립	CR
BI107	가을	HCJR	국외	100립	-
BI109	가을	KP	국내	2000립	CR
BI110	가을	BA	국내	2000립	-
BI111	가을	HPR	국내	2000립	-
BI112	가을	CN	국내	2000립	CR
BI113	겨울	DP	국내	2000립	-
BI114	겨울	GWNG	국내	2000립	CR
BI115	겨울	SY	국내	2000립	CR
BI116	겨울	SJR	국내	2000립	CR
BI117	겨울	SSJG	국내	2000립	CR
BI118	겨울	YWMJR	국내	2000립	CR
BI119	겨울	WDJG	국내	2000립	CR
BI120	겨울	GWJM	국내	2000립	CR
BI121	겨울	CP	국내	2000립	-
BI122	겨울	NDJG	국내	2000립	-
BI123	겨울	WDHJ	국내	2000립	CR
BI124	겨울	HJP	국내	2000립	CR
BI125	가을	TKMJ	국내	2000립	CR
BI126	봄	JC	국내	2000립	CR
BI127	봄	CRCY	국내	2000립	CR

2. 유전자원의 평가 및 뿌리혹병 저항성 계통육성

기 육성계통 및 수집재료 등을 이용하여 육성 중인 계통으로 고정 및 분리계통을 1차년도 부터 육성하여 5차년도에 최종 552점을 농협종묘센터 포장에 재배하여 원예적 특성조사를 실시 하였다. 특성이 우수하고 품종육성에 필요한 296점을 성숙모본으로 선발하여 교배를 마무리 하였고, 미숙모본은 교배 중으로 7월중 종자를 조제하여 8월중에 파종할 예정이다. 향후 변화가 는 재배환경에 부응하는 품종을 육성하기 위해 계속하여 적응성 계통을 육성해 나아갈 것이다. 수집재료 및 작성조합 등에서 뿌리혹병에 강하고 특성이 우수한 40개체와 미숙모본 29조합을 이용하여 순계육성을 위한 약배양 모본으로 활용하여 약배양을 실시하고 있다.



그림 1. 성숙모본 예취 후 관리



그림 2. 미숙모본 교배 후 관리



그림 3. 유전자원 원예적 형질평가 선발계통

표 2. 유전자원 원예적 형질평가 선발계통

BN	개체수	추대	CR	교배번호	조제번호	FS임성	BS임성	비고
104	2		04	H-52	1589	2.56	10.00	기타
105	2		05	H-53	1595	-	10.17	기타
109	2		50	028-51	1651	3.50	9.64	기타
110	2		22	038-51	1653	4.57	7.15	기타
111	2		05	53-51	1660	2.31	6.05	기타
112	2		14	55-51	1662	2.73	11.76	기타
113	2		23	55-52	1664	5.00	14.14	기타
115	2		05	55-55	1671	1.89	7.08	기타
117	1		05	57-51	1675	4.40	6.95	기타
119	2		05	58-52	1679	1.35	9.62	기타
120	2		05	59-51	1681	0.44	1.44	기타
121	2		05	59-52	1683	0.29	1.72	기타
122	2		05	60-51	1685	1.09	7.74	기타
123	2		05	61-51	1687	1.88	4.69	기타
126	4		05	63-51	1693	2.10	10.01	기타
127	2		50	64-51	1695	3.50	2.88	기타
129	1		50	64-53	1699	7.00	2.87	기타
130	1		50	64-54	1701	0.43	9.09	기타
131	2		05	65-51	1703	8.75	2.86	기타
134	2		05	65-54	1709	3.48	4.99	기타
138	2		50	66-54	1717	0.83	0.78	기타
139	2		05	67-51	1719	1.09	4.23	기타
140	1		14	67-52	1721	3.13	8.24	기타
143	2		50	68-52	1727	1.92	9.42	기타
145	2		05	69-51	1731	10.87	17.39	기타
147	2		12	69-53	1735	11.22	9.70	기타
152	1		32	73-52	1748	0.61	3.87	기타
153	1		05	73-53	1750	0.40	10.47	기타
203	3		50	126-1	2062	0.00	2.24	가을
204	2		50	126-2	2064	0.27	9.59	가을
205	3		50	127-51	76	2.50	4.65	가을
206	2		50	128-51	78	0.50	3.65	가을
209	2		05	136-51	92	13.00	5.15	가을
211	2		05	137-51	96	3.70	3.74	가을
214	2		50	138-52	102	0.47	9.39	가을
218	4		50	146-52	120	0.53	7.65	가을
220	2		40	150-52	124	2.19	5.55	가을
221	2		05	153-51	126	5.88	4.43	가을
225	2		5	201-52	176	2.94	10.54	가을
226	2		0	202-52	184	0.18	4.92	가을
227	2		50	204-52	190	2.68	3.13	가을
228	2		5	207-52	198	0.30	7.16	가을
230	2		50	211-51	206	2.37	7.08	가을
231	2		40	212-51	210	0.73	9.64	가을
233	2		50	216-52	219	3.94	7.41	가을
234	2		R2-05	220-51	221	0.43	5.07	가을

236	2		R2-50	223-51	225	0.00	8.69	가을
239	2		R2-05	224-52	237	0.00	10.13	가을
240	2		R2-50	231-51	239	0.30	9.28	가을
247	2		0	239-2	2246	0.05	2.98	가을
248	2		05	241-51	260	7.06	7.88	가을
250	2		50	242-52	266	10.10	13.04	가을
251	2		0	244-52	272	2.23	6.90	가을
252	2		0	246-2	2265	1.58	6.65	가을
253	2		0	249-51	278	0.94	4.41	가을
254	2		5	252-51	287	1.00	2.33	가을
254-1	2		5	251-52	10-531			가을
255	2		5	253-51	293	0.00	6.86	가을
256	2		0	255-1	2289	0.00	5.25	가을
257	2		5	256-52	308	2.50	4.96	가을
258	2		5	257-52	318	5.94	10.55	가을
260	2		5	259-52	331	2.40	3.52	가을
261	2		5	261-51	334	0.95	3.21	가을
263	2		0	264-51	354	0.00	5.97	가을
264	2		5	267-51	362	0.00	5.06	가을
265	2		5	268-51	370	2.33	12.21	가을
266	2		50	272-51	377	1.06	5.52	가을
270	2		05	274-51	385	2.00	4.25	가을
273	2		14	277-51	395	0.85	3.48	가을
274	2		05	277-52	397	1.50	3.46	가을
276	2		05	280-52	404	5.18	6.97	가을
278	2		14	282-52	412	4.40	8.00	가을
281	2		05	283-54	422	3.80	5.15	가을
283	2		23	285-51	431	2.33	5.17	가을
287	2		05	295-1	2413	6.67	10.48	가을
290	2		05	297-51	469	2.14	2.95	가을
291	2		05	299-51	473	1.41	3.00	가을
294	2		05	301-51	486	1.57	1.53	가을
295	2		5	306-1	2439	0.79	10.54	가을
296	4		5	306-2	2441	0.10	2.19	가을
297	2		5	307-51	494	0.29	9.09	가을
298	2		5	308-51	502	0.33	6.39	가을
300	2		05	310-51	511	2.13	4.56	가을
301	2		05	310-1	2458	0.00	3.89	가을
302	2		41	315-52	517	1.40	7.57	가을
303	2		05	315-1	2462	0.00	4.48	가을
304	2		05	316-51	519	1.67	6.04	가을
305	2		05	316-52	521	0.00	3.47	가을
306	2		30	318-52	525	1.00	1.80	가을
308	2		04	319-51	527	0.25	1.89	가을
310	2		05	320-51	531	1.20	3.23	가을
312	2		04	321-51	535	0.22	5.63	가을
313	2		05	323-52	542	2.25	8.34	가을
314	2		05	323-1	2486	1.81	11.12	가을
316	2		05	325-52	546	3.70	6.19	가을
317	2		R2-50	333-51	548	2.35	7.69	가을

319	1		R2-50	339-52	552	1.40	4.95	가을
320	2		R2-14	341-51	554	0.22	4.61	가을
321	2		R2-50	341-52	556	0.96	7.51	가을
322	2		05	342-51	558	2.23	3.36	가을
325	2		32	343-52	564	2.22	4.56	가을
326	3		R2-05	344-51	566	0.60	4.65	가을
327	3		R2-03	344-52	568	4.80	1.06	가을
328	2		04	346-51	570	0.94	3.34	가을
329	2		05	346-52	572	0.00	3.41	가을
330	2		50	347-51	574	6.50	9.04	가을
334	2		05	350-51	582	5.00	3.92	가을
335	2		05	350-52	584	2.07	5.72	가을
503	2		05	156-51	130	2.61	10.82	겨울
506	4		22	157-52	136	4.33	10.29	겨울
507	2		14	157-1	2130	3.92	11.19	겨울
508	2		05	159-1	2134	3.27	7.50	겨울
509	2		05	159-2	2136	0.69	10.32	겨울
511	2		02	160-52	144	0.29	4.46	겨울
514	2		40	167-51	160	0.07	2.38	겨울
519	2		05	501-51	590	0.58	1.43	겨울
520	2		05	501-52	592	1.40	1.68	겨울
521	2		04	502-2	2548	0.00	0.23	겨울
522	2		0	504-52	603	1.30	3.76	겨울
525	2		0	506-51	615	0.90	4.67	겨울
528	2		0	508-52	633	0.75	1.57	겨울
529	2		05	514-51	636	0.00	6.94	겨울
531	2		05	520-52	655	0.00	0.73	겨울
532	2		0	524-51	658	0.50	2.54	겨울
534	2		5	529-51	672	0.94	3.96	겨울
536	2		0	531-52	684	0.00	1.80	겨울
537	2		5	532-52	692	0.86	4.24	겨울
538	2		5	534-51	694	1.69	5.85	겨울
539	2		5	535-52	707	0.00	2.32	겨울
541	2		5	538-52	716	2.13	3.95	겨울
542	2		5	539-52	723	0.54	3.00	겨울
543	2		5	540-51	730	0.00	6.11	겨울
544	2		0	542-52	739	0.87	1.03	겨울
554	2		14	559-51	773	1.73	2.54	겨울
556	2		05	560-51	779	0.00	10.00	겨울
557	2		40	560-52	781	0.23	5.03	겨울
558	2		31	561-51	783	0.44	2.17	겨울
560	2		41	563-51	787	0.15	4.23	겨울
561	2		50	563-1	2710	0.00	4.68	겨울
564	2		04	565-51	795	0.46	0.79	겨울
566	2		05	566-51	799	0.27	1.69	겨울
567	2		23	566-52	804	0.40	7.69	겨울
570	2		23	568-52	813	0.73	5.88	겨울
574	2		05	571-51	823	1.13	2.88	겨울
575	3		05	571-52	825	0.09	2.54	겨울
579	2		31	577-2	2758	0.10	3.37	겨울

601	2			40	102-51	6	0.00	2.14	봄
602	4			05	102-52	8	0.20	5.60	봄
603	2			23	102-53	10	0.07	1.32	봄
604	4			13	102-54	12	7.15	4.92	봄
605	2			31	109-51	26	0.00	4.58	봄
606	2			22	109-52	28	4.00	5.00	봄
608	2	1		5	606-52	857	0.53	4.39	봄
610	2	1		5	612-51	864	1.00	8.03	봄
611	2	2		31	617-52	874	0.14	1.64	봄
613	2	15		30	619-51	876	0.07	2.32	봄
614	2	15		05	619-52	881	0.62	2.57	봄
615	2	15		05	620-51	883	1.25	2.29	봄
616	4	15		05	620-52	886	0.00	3.79	봄
617	2	3		40	622-51	888	-	1.92	봄
619	2	3		05	623-51	893	0.45	4.61	봄
620	2	3		05	623-52	895	0.15	2.10	봄
621	2	3		5	625-51	906	0.17	6.28	봄
622	2	25		5	630-52	913	0.00	3.77	봄
623	2	38		0	632-51	915	0.17	2.58	봄
625	2	12		5	635-52	927	0.54	4.86	봄
626	2	15		5	637-51	932	0.27	2.80	봄
627	2	1		5	640-51	936	0.54	7.08	봄
628	2	23		0	642-51	944	0.15	6.36	봄
629	4	1		05	654-51	954	-	3.64	봄
630	2	1		04	654-52	957	16.00	5.31	봄
631	2	1		05	655-51	959	3.70	5.38	봄
632	3	1		05	655-52	962	7.86	7.14	봄
633	2	1		05	659-51	964	4.45	3.72	봄
634	2	1		05	659-52	967	2.55	7.76	봄
635	2	1		30	662-51	977	1.35	8.00	봄
636	2	1		14	662-52	981	3.14	7.08	봄
637	4	1		05	665-52	985	7.59	4.76	봄
638	2	1		05	655-2	2896	6.67	7.19	봄
642	2	35		05	670-52	997	5.29	7.78	봄
643	2	2		5	671-51	999	0.00	4.86	봄
644	2	2		5	672-51	1005	1.30	9.32	봄
645	2	27		5	673-51	1010	0.56	5.55	봄
646	2	25		5	674-52	1020	6.18	7.91	봄
647	2	23		0	675-51	1022	0.23	1.01	봄
648	2	1		0	676-51	1030	4.18	2.02	봄
649	2	15		0	677-51	1035	1.00	6.54	봄
650	2	12		5	678-52	1046	0.09	2.94	봄
651	2	1		5	679-51	1050	0.47	0.81	봄
652	2	15		5	680-51	1055	0.47	2.40	봄
653	2	12		0	681-51	1059	2.35	10.21	봄
655	2	1		5	691-52	1078	3.91	5.84	봄
670	2			05	698-52	1127	2.25	3.74	봄
671	2			05	699-51	1130	1.58	4.06	봄
672	2			04	699-52	1132	6.16	6.15	봄
678	2	17		05	703-52	1147	0.00	1.76	봄

684	2		05	707-2	3112	-	3.80	봄
685	2		05	709-51	1163	2.07	5.56	봄
688	2	1	50	721-51	1178	0.00	6.00	봄
689	3	22	14	725-51	1182	2.70	4.42	봄
690	2	22	04	725-1	3128	0.33	12.78	봄
691	2	22	05	726-51	1186	2.46	12.10	봄
692	2	22	04	726-1	3132	0.17	14.44	봄
693	2		05	730-51	1194	1.45	6.50	봄
694	2	3	5	733-51	1202	2.43	6.49	봄
695	2	12	5	735-51	1206	0.86	6.06	봄
696	2	12	5	736-51	1210	0.53	3.45	봄
697	2	25	5	738-51	1220	0.58	6.98	봄
698	2	25	5	739-51	1224	0.92	8.06	봄
701	2		05	107-51	14	0.00	3.63	여름
702	2		14	107-52	16	0.08	5.04	여름
703	2		14	107-53	18	0.90	5.48	여름
704	2		05	107-54	20	0.00	1.64	여름
706	2		05	108-52	24	0.00	3.59	여름
707	2		23	110-51	30	0.92	4.79	여름
712	2		40	111-52	40	2.27	6.54	여름
713	2		50	111-53	42	3.75	10.17	여름
714	2		05	111-54	44	4.75	4.76	여름
715	4		05	112-51	46	1.00	5.52	여름
718	2		03	114-52	52	0.19	3.46	여름
720	3		14	116-52	56	0.36	5.56	여름
722	2		05	118-2	2048	11.11	7.96	여름
723	2		05	120-51	62	0.00	3.18	여름
725	2		14	121-51	66	5.20	3.09	여름
726	2		05	121-52	68	0.30	1.54	여름
728	3		23	122-52	72	0.00	1.73	여름
729	2		23	132-51	84	0.17	7.14	여름
730	2		50	132-52	86	0.00	1.60	여름
731	2		14	133-51	88	1.82	8.30	여름
732	2		23	133-52	90	0.90	4.05	여름
735	2		41	143-2	2104	5.50	2.63	여름
736	2		0	801-51	1228	0.50	1.95	여름
737	2	25	40	804-51	1237	0.45	3.64	여름
738	2	3	05	806-51	1247	0.38	6.53	여름
741	2	3	05	806-54	1260	0.10	8.04	여름
742	2	3	05	807-51	1262	1.47	8.03	여름
745	2	15	05	808-51	1273	2.13	3.74	여름
748	2	23	05	812-51	1293	0.25	4.43	여름
749	2	23	05	813-52	1306	0.75	3.16	여름
750	2	23	05	813-53	1308	0.56	3.16	여름
751	2	23	05	815-51	1310	0.46	4.09	여름
754	2	35	0	818-51	1320	0.15	0.72	여름
755	2	32	0	819-52	1331	0.04	5.22	여름
756	2		0	821-52	1339	1.72	2.35	여름
759	2	'03	03	826-51	1350	0.10	2.70	여름
760	2		0	830-51	1354	1.67	2.46	여름

761	2	6	5	832-51	1364	2.92	2.59	여름
762	2	6	5	833-2	3320	0.00	1.41	여름
763	2	7	5	834-52	1376	0.00	3.97	여름
764	2		5	834-1-1	3330	0.00	13.41	여름
765	2	6	0	835-51	1378	2.60	2.33	여름
766	2		5	836-2	3349	2.57	3.60	여름
767	2	4	50	838-51	1384	1.17	3.67	여름
768	2	3	05	842-51	1391	1.76	5.06	여름
769	2	3	14	842-52	1393	0.93	2.91	여름
772	2	4	14	844-51	1399	10.59	4.22	여름
776	2	6	14	847-51	1407	4.39	8.36	여름
777	2	6	04	847-52	1409	3.81	8.48	여름
778	2	35	0	849-51	1411	1.60	9.66	여름
779	2		05	850-51	1421	10.87	6.31	여름
781	2		50	852-51	1425	7.70	7.79	여름
784	3		05	853-52	1432	4.75	7.14	여름
785	2		04	854-52	1436	0.28	5.90	여름
788	2		05	857-51	1442	9.00	9.71	여름
789	2		05	857-52	1444	4.44	3.51	여름
792	2		05	860-51	1450	0.00	3.62	여름
793	3		05	861-51	1458	1.63	2.48	여름
794	2		50	861-52	1460	0.24	3.19	여름
796	2		41	861-54	1464	5.36	3.06	여름
797	3		05	863-51	1466	2.93	2.79	여름
798	2		03	863-52	1468	5.53	3.74	여름
803	2		05	867-52	1483	0.62	4.83	여름
805	2		05	868-52	1487	5.58	12.93	여름
811	2		05	873-51	1508	0.10	9.52	여름
814	2		03	874-52	1517	0.22	2.81	여름
815	2		04	876-51	1522	5.46	1.06	여름
816	3		20	876-52	1524	14.00	6.10	여름
817	2		32	877-51	1526	1.04	12.16	여름
818	2		05	877-52	1528	2.75	5.35	여름
821	2		41	878-51	1534	1.13	4.53	여름
823	2		05	879-51	1538	-	2.03	여름
824	2		04	879-52	1541	9.52	2.88	여름
826	2		04	879-54	1545	3.57	3.80	여름
901	2			907-51	1547	0.53	2.73	기능
902	2			907-52	1549	0.00	1.60	기능
903	2			910-51	1551	-	7.65	기능
904	2			910-52	1553	-	4.49	기능
905	2			911-51	1555	9.62	9.86	기능
906	4			911-52	1557	4.44	4.41	기능
908	2			913-52	1561	4.05	14.13	기능
909	2			914-51	1563	2.91	4.59	기능
911	2			915-51	1567	0.32	7.83	기능
914	2		05	916-52	1573	3.70	4.62	CR
915	2		05	919-51	1575	0.86	3.29	CR
918	2		05	920-52	1581	3.67	2.40	CR

가. 뿌리혹병 고도 저항성 계통육성

㈜바이오브리딩에서 분양받은 순무분리계통(IT033820)을 이용하여 국내에서 뿌리혹병 발병력이 가장 강한 것으로 알려진 배방균주를 접종하여 뿌리혹병 저항성을 재확인하는 시험을 실시하였다. 뿌리혹병 검정은 윌리엄스 판별품종을 사용하여 테이스를 검정하였고, 검정 방법은 병든 조직 50g에 증류수 2.5ℓ를 첨가하여 분쇄기로 갈아 양파당 2겹으로 거른 용액으로 상토 관주법을 사용하였다. 50구 트레이에 시판상토를 채우고 파종하여 10일 후 주사기로 한 셀 당 현탁액 농도 1×10^6 spores/ml로 5ml씩 관주하였다. 접종 후 40일에 발병여부를 조사하여 흑이 형성되지 않은 것을 저항성이 있는 것으로 판정하였다. 검정결과 윌리엄스 판별품종은 모두가 발병되었으나 순무분리계통 IT033820은 모두가 발병되지 않아 배방균주에 저항성이 있음을 재확인하였다. 저항성을 확인한 IT033820의 식물체를 타 연구과제에서도 육성 소재로 활용할 수 있도록 일부 개체를 분양하여 활용하고 있다. 저항성이 확인된 개체를 이용하여 뿌리혹병 고도 저항성 계통을 육성하기 위해 다양한 기 육성계통과 교배 조합을 작성하였다. 보다 조기에 더 우리(국내)배추에 가까운 계통을 육성하기 위해 작성한 교배조합(F₁)에 기 육성계통을 한 번 더 여교잡하여 작성한 모본을 가지고 분리 및 약배양을 실시하고 있다. 작성된 조합은 저온처리를 실시하여 4조합은 후세대 종자를 채종하여 세대진전을 하고 있으며, 동시에 18조합을 같은 방법으로 더 작성하여 후세대를 위한 교배작업 및 저항성 순계 육성을 위한 약배양을 실시하고 있다.

나. 뿌리혹병 기존 저항성 계통육성

(1) SP CR계통 육성

일본 도입종으로 SP CR계인 SP CRKimi85 등을 소재로 의령균주(race 2추정)와 해남균주(race 10추정) 횡성균주(race ?), 강릉균주(race 9추정)를 접종시험 결과 횡성균주가 발병력이 가장 강하였으며 해남균주, 의령균주, 강릉균주 순서로 발병력이 약하였다. 저항성으로 선발된 계통과 이에 교배하여 육성한 계통을 이용하여 일반 CR계에 비해 보다 강한 저항성(SP CR)을 갖는 품종 등을 육성하고자 계통분리 및 약배양을 통하여 SP CR계통을 육성하고 있다. 작성한 조합을 분리를 통하여 거의 고정된 저항성 계통을 선발하였고 우수계통과 조합을 작성하여 조합의 성능검정을 실시할 것이다.

(2) 일반 CR계통 육성

기 육성한 계통 중 저항성이 불확실하거나 분리계통을 소재로 발병력이 덜한 강릉균주(race 9추정)를 접종하여 저항성 계통을 선발하였다. 5차년도 포장재배시험에 공시한 552계통 중 저항성 여부가 불확실한 392계통을 접종하여 저항성을 갖는 207계통을 선발하였으며 선발한 계통과 육성된 우수 계통을 이용하여 일반 저항성(CR)을 갖는 품종 등을 육성하고 있다.

3. 분자마커를 이용한 뿌리혹병 내병성 검정

충남대에서 개발한 Crb마커를 이용하여 CR신황계 유래계통 등 원예적 형질이 우수하지만 저항성이 불확실한 계통을 검정하였다. 1차년도 35점, 2차년도 52점, 3차년도 27점, 4차년도 59점, 5차년도 32점 등 205점을 검정하여 55점의 저항성 계통을 선발하였다.

표 3-1 1차년도 뿌리혹병 분자마커(충남대 Crb) 검정결과

sample명	'08미숙모본 파종번호	tcr01	tcr05	tcr09
1	215	1	1	1
2	217	1	1	1
3	221	1	1	1
4	241	0	0	0
5	242	0	0	0
6	247	1	1	1
7	403	0	0	0
8	404	1	1	1
9	405	0	0	1
10	406	error	1	1
11	421	1	1	1
12	424	0	0	0
13	429	1	0	1
14	437	1	1	1
15	438	1	1	1
16	504	0	0	1
17	505	0	0	0
18	515	0	0	0
19	521	1	1	1
20	531	0	0	0
21	532	0	0	0
22	534	1	1	1
23	535	1	1	1
24	536	0	0	0
25	604	0	0	0
26	609	0	0	0
27	610	0	0	0
28	622	0	0	error
29	627	0	0	0
30	633	0	0	error
31	636	0	0	0
32	709	1	1	1
33	813	1	1	1
34	816	0	0	0
35	817	0	0	0
36	926	0	0	error
37	203-1	0	0	1
38	207-1	0	0	1
39	513-1	0	0	0
40	514-1	0	0	0

* 1 : positive 0 : negative

표 3-2 2차년도 뿌리혹병 분자마커(총남대 Crb) 검정결과

sample명	'09미숙모본 과중번호	TCR01	TCR05	TCR09
1	230	0	0	0
2	232	0	0	0
3	234	0	0	0
4	237	0	0	0
5	238	0	0	0
6	239	0	0	0
7	241	0	0	0
8	243	0	0	0
9	244	0	0	0
10	257	1	1	1
11	258	0	0	0
12	259	1	1	1
13	260	0	0	0
14	261	0	0	0
15	264	0	0	0
16	265	0	0	0
17	266	1	1	1
18	267	0	0	0
19	268	0	0	0
20	269	0	0	0
21	270	0	0	0
22	271	0	0	0
23	272	1	1	1
24	274	0	0	0
25	276	1	1	1
26	277	1	1	1
27	278	1	1	1
28	279	1	1	1
29	281	1	1	1
30	282	0	0	0
31	283	1	1	1
32	285	0	0	0
33	286	0	0	0
34	287	0	0	0
35	288	0	0	0
36	289	0	0	0
37	291	1	1	1
38	294	1	1	1
39	298	0	0	0
40	300	0	0	0

* 1 : positive 0 : negative

표 3-3 3차년도 뿌리혹병 분자마커(총남대 Crb) 검정결과

sample명	'10미숙모본 과중번호	TCR01	TCR05	TCR09
1	103	1	1	1
2	110	0	0	1
3	112	1	1	1
4	128	1	1	1
5	137	0	0	0
6	139	0	0	0
7	155	1	1	1
8	157	0	0	1
9	211	1	1	1
10	224	1	1	1
11	225	0	0	0
12	288	0	0	0
13	501	0	0	0
14	518	1	1	1
15	550	0	0	0
16	627	0	0	0
17	632	0	0	0
18	637	1	1	1
19	661	1	1	1
20	595	0	0	0
21	597	0	0	0
22	633	0	0	0
23	243	0	0	0
24	365	0	0	0
25	585	0	0	0
26	659	0	0	0
27	355	0	0	0

* 1 : positive 0 : negative

표 3-4 4차년도 뿌리혹병 분자마커(충남대 Crb) 검정결과

sample명	'11미숙모본 과종번호	TCR01	TCR05	TCR09
1	272-1	0	x	0
2	272-2	0	0	0
3	273-1	0	0	1
4	273-2	1	1	1
5	274-1	1	1	1
6	274-2	1	1	0
7	275-1	x	x	0
8	275-2	0	0	0
9	277-1	0	0	1
10	277-2	1	1	1
11	280-1	1	1	1
12	280-2	1	1	1
13	282-1	1	1	1
14	282-2	1	1	1
15	283-1	1	1	1
16	283-2	0	1	1
17	283-3	1	1	1
18	283-4	1	1	1
19	284-1	0	1	1
20	284-2	0	1	1
21	285-1	0	1	1
22	285-2	0	1	1
23	501-1	1	1	1
24	502-1	1	1	0
25	617-1	0	0	0
26	617-2	0	0	0
27	693-1	0	0	0
28	693-2	0	1	0
29	694-2	0	1	0
30	695-1	0	1	0
31	695-2	0	0	0
32	696-1	0	0	0
33	696-2	0	0	0
34	697-1	0	0	0
35	697-2	0	0	0
36	698-1	0	0	0
37	698-2	0	0	0
38	698-3	0	0	0
39	698-4	0	0	0
40	699-1	0	0	0

41	700-1	0	0	0
42	700-2	0	0	0
43	702-1	0	1	0
44	703-1	0	?	0
45	703-2	0	1	0
46	703-3	0	0	0
47	703-4	0	0	0
48	705-1	0	1	0
49	705-2	0	0	0
50	706-1	0	1	0
51	706-2	0	0	0
52	707-1	0	0	0
53	707-2	0	0	0
54	A807-1	0	1	0
55	A807-2	0	0	0
56	A807-3	0	0	0
57	A808-1	0	1	0
58	A808-2	0	0	0
59	A808-3	0	0	0

* 1 : positive 0 : negative

표 3-5. 5차년도 뿌리혹병 분자마커(충남대 Crb) 검정결과

sample명	12미숙모본 과종번호	TCR01	TCR05	TCR09
1	1	0	0	x
2	2	1	1	x
3	3	0	0	1
4	4	1	1	1
5	5	1	1	x
6	6	0	0	0
7	7	0	0	1
8	8	1	1	x
9	9	1	1	1
10	10	0	0	1
11	61	1	1	1
12	62	1	1	1
13	63	1	1	1
14	64	1	1	x
15	105	1	x	x
16	107	1	1	x
17	115	1	1	1
18	121	1	1	1
19	122	1	1	1
20	123	0	0	1
21	134	0	0	1
22	522	0	0	1
23	525	0	0	1
24	526	1	1	1
25	528	0	0	1
26	914	1	0	1
27	915	1	0	x
28	918	1	0	x
29	966	1	1	0
30	968	0	0	1
31	969	0	0	1
32	970	0	0	1

* 1 : positive 0 : negative

4. 뿌리혹병 저항성 유전분석 및 유전집단 양성

가. 마커개발 예정계통 유전분석

뿌리혹병 저항성 유전집단의 양성은 race별로 저항성 인자가 다를 것 이라는 가설 하에 다양한 저항성계통에 다양한 균주를 접종하여 다양한 race별 저항성 유전집단을 양성하는데 목표를 두었다. 접종시험 등을 통하여 육성된 저항성 계통 중 저항성 race가 다르거나 다를 것으로 추정되는 12계통을 소재로 이용하였다. 이들 계통의 저항성 race분류를 목적으로 4차의 접종시험과 1차의 마커검정을 실시하였다. 1차 접종(배방균주, race4 추정)결과 12계통 모두가 발병되어 저항성 계통이 없음을 확인하였고, 2차 접종(의령균주, race2 추정)결과 3계통, 3차 접종(해남균주, race10 추정)결과 2계통, 4차 접종(강릉균주, race9 추정)결과 12계통 전체에서 저항성을 보였으며, 마커검정(충남대 Crb) 결과 3개의 밴드에 일치된 저항성 1계통과 2개의 밴드에 일치된 1계통으로 분류되었다(표 4).

표 4. 뿌리혹병 저항성 계통의 race분류 결과

번호	계통명	강릉균주 (race9 추정)	의령균주 (race2 추정)	해남균주 (race10 추정)	마커검정 (충남대 Crb)	분 류
5	CRSH	R	S	S	R(3밴드일치)	A형
6	OHCR	R	S	S	S	B형
7	CRPW	R	S	S	S	B형
8	CRSRN	R	R	R	S	C형
9	SCR702	R	R	S	S	D형
10	HGKR75	R	S	S	S	B형
11	GWNR	R	S	S	S	B형
12	TP	R	S	S	S	B형
13	032A	R	S	S	S	B형
14	CRDB*DP	R	S	S	S	B형
15	HNWD	R	S	S	S	B형
16	SILOGA	R	R	R	R?(2밴드일치)	E형

* R : resistant S : susceptible

분류 결과 A-E형의 5가지 부류로 분류 되었으며, A형은 충남대 Crb 마커로 검정이 가능한 CR신황 유래 계통이며, 나머지 4부류는 마커의 개발이 요구되는 부류이다. 이것 중 의령균주 (race2 추정)와 해남균주(race10 추정) 접종시험에서 확연히 구분되는 C형과 D형을 소재로 이용하여 의령균주와 해남균주를 접종하여 유전분석을 실시한 결과 표 5와 같은 결과를 얻었다. D형인 SCR702의 저항성 유전분석을 위해 저항성 계통인 SCR702와 이병성 계통인 MAT 를 양친으로 하여 F1, F2, BC1P1, BC1P2 집단을 양성하여 유전분석을 실시하였다.

SCR702×MAT의 F1에서는 저항성을 나타내어 저항성이 우성으로 작용하였으며 F2에서는 저항성과 이병성이 3:1의 비율로 분리되어 저항성은 한 개의 우성유전자에 의해 지배되는 것으로 추정되었다. BC1P1, BC1P2 집단에서는 각각 1:0과 1:1로 분리되어 저항성이 단인자 우성 유전자에 의해 지배됨을 알 수 있었다.

C형인 CRSRN의 저항성 유전분석을 위해 저항성 계통인 CRSRN과 이병성 계통인 YRH를 양친으로 하여 F1, F2, BC1P1, BC1P2 집단을 양성하여 유전분석을 실시하였다. CRSRN×YRH의 F1에서는 이병성을 나타내어 저항성이 열성으로 작용하였으며 F2에서는 저항성과 이병성이 1:3의 비율로 분리되어 저항성은 한 개의 열성유전자에 의해 지배되는 것으로 추정되었다. BC1P1, BC1P2 집단에서는 각각 1:1과 0:1로 분리되어 저항성이 단인자 열성유전자에 의해 지배됨을 알 수 있었다.

추가로 강릉균주(race9 추정) 접종시험에서 저항성을 보인 B형 중 CRPW를 소재로 유전분석을 실시한 결과 표 6과 같은 결과를 얻었다.

B형 중 CRPW의 저항성 유전분석을 위해 저항성 계통인 CRPW와 이병성 계통인 NSS를 양친으로 하여 F1, F2, BC1P1, BC1P2 집단을 양성하여 유전분석을 실시하였다. CRPW×NSS의 F1에서는 저항성을 나타내어 저항성이 우성으로 작용하였으며 F2에서는 저항성과 이병성이 3:1의 비율로 분리되어 저항성은 한 개의 우성유전자에 의해 지배되는 것으로 추정되었다. BC1P1, BC1P2 집단에서는 각각 1:0과 1:1로 분리되어 저항성이 단인자 우성 유전자에 의해 지배됨을 알 수 있었다.



그림 4. 뿌리혹병 저항성 유전집단 접종 후 관리

표 5. 뿌리혹병 저항성 유전집단 양성용 유전분석 결과(2007~2009년)

소재	SCR702			CRSRN		
균주	의령균주(race2추정)			해남균주(race10추정)		
결과	단인자 우성			단인자 열성		
P1	SCR702	1:0	25:0	CRSRN	1:0	25:0
P2	MAT	0:1	0:25	YRH	0:1	0:24
F1	SCR702×MAT	1:0	22:0	CRSRN×YRH	0:1	0:25
F2	SCR702×MAT	3:1	111:36	CRSRN×YRH	1:3	35:112
BC1P1	(SCR702×MAT)×CR702	1:0	48:0	(CRSRN×YRH)×CRSRN	1:1	21:22
BC1P2	(SCR702×MAT)×MAT	1:1	24:29	(CRSRN×YRH)×YRH	0:1	0:49

표 6. 뿌리혹병 저항성 유전집단 양성용 유전분석 결과(2007 ~ 2010년)

소재	CRPW		
균주	강릉균주(race9추정)		
결과	단인자 우성		
P1	CRPW	1:0	30:0
P2	NSS	0:1	0:29
F1	CRPW × NSS	1:0	28:0
F2	CRPW × NSS	3:1	109:35
BC1P1	(CRPW × NSS) × CRPW	1:0	44:0
BC1P2	(CRPW × NSS) × NSS	1:1	64:71

나. 뿌리혹병 마커개발용 유전집단 양성

유전분석이 마무리된 SCR702, CRSRN을 소재로 뿌리혹병 마커개발용 유전집단을 작성하였다. 저항성인 SCR702와 이병성인 MAT, 저항성인 CRSRN과 이병성인 YRH 2조합을 작성하였으며 양친과 F1의 시료를 채취하여 마커개발 과제에 제공하였다. 또한 F1에서 채종한 F2 종자를 각각 150개체씩 과종하여 유포기에 저온처리 후 정식하였으며 생육과정에서 개화직전에 각각 150개체의 시료를 채취하여 마커개발 과제에 제공하였고 개화 후 교배하여 F3 종자를 채종하였다. 채종한 F3의 뿌리혹병 저항성의 분리비를 검증하기 위해 종자수가 충분히 채종된 100개체를 각각 선택하여 개체당 12립씩을 72구 트레이에 과종하였다. 과종 9일 후 SCR702조합에는 의령균주(race2 추정)를 CRSRN조합에는 해남균주(race10 추정)를 접종하여 관리하였

으며 접종 33일 후 검정을 실시하였다. 접종시험 결과를 마커개발 과제에 제공하였고 상호 연
 계하여 마커를 개발하고 있다.(2007 ~ 2010년)

추가로 유전분석을 실시한 CRPW에 대해서도 뿌리혹병 마커개발용 유전집단을 작성하였다.
 저항성인 CRPW와 이병성인 NSS의 조합을 작성하였으며 양친과 F1의 시료를 채취하여 마커
 개발 과제에 제공하였다. 또한 F1에서 채종한 F2 종자 160개체를 파종하여 유묘기에 저온처리
 후 정식하였으며 생육과정에서 개화직전에 각각 150개체의 시료를 채취하여 마커개발 과제에
 제공하였고, 개화 후 교배하여 F3 종자를 채종하였다. 채종한 F3의 뿌리혹병 저항성의 분리비
 를 검정하기 위해 150개체를 개체당 12립씩을 72구 트레이에 파종하였다. 파종 10일 후 강릉군
 주(race10 추정)를 접종하여 관리하였으며 접종 35일 후 검정을 실시하였다. 접종시험결과와
 검정한 시료를 함께 마커개발 과제에 제공하였고 작성된 집단의 채종 종자를 차후 접종시험을
 위해 제공하였다.(2007 ~ 2012년)

5. 약배양을 이용한 순계육성

기 육성 및 새로운 육성 뿌리혹병 저항성 계통 등으로 작성한 조합을 모본으로 약배양을 통
 해 획득한 식물체를 이식하여 저온처리 및 월동관리를 통하여 화기를 유도한 후 교배 및 채종
 을 실시하였다. 채종된 종자는 가을 및 봄 하우스 등의 포장에 재배를 통한 원예적 형질 평가
 를 실시함과 동시에 뿌리혹병 접종검정 및 마커검정을 실시하여 저항성 여부를 평가하였다.
 1~5차년도 까지 총 459점을 육성 채종하여 성능 검정을 실시하였으며 활용 가치가 높은 27점
 은 기 육성된 유망 계통들과 F1 조합을 작성하였으며, 가을 재배포장에서 성능검정 후 조합을
 선발할 것이다. 11년에 작성한 성숙모본 40개체와 미숙모본 29조합을 모본으로 약배양을 계속
 하고 있다.

표 7. 선발 약배양 순계

BN	추대	CR	교배번호	조계번호	FS임성	BS임성	비고
228		5	207-52	198	0.30	7.16	가을
519		05	501-51	590	0.58	1.43	겨울
520		05	501-52	592	1.40	1.68	겨울
520(1)		05	501-1	2536	0.89	-	겨울
521		04	502-2	2548	0.00	0.23	겨울
521(1)		04	502-1	2543	0.24	-	겨울
522		0	504-52	603	1.30	3.76	겨울
525		0	506-51	615	0.90	4.67	가을
526		5	507-52	624	5.70	1.07	겨울
528		0	508-52	633	0.75	1.57	겨울
529		05	514-51	636	0.00	6.94	겨울
531		05	520-52	635	0.00	0.73	겨울
532		0	524-51	638	0.50	2.54	겨울
608	1	5	606-52	857	0.53	4.39	여름
622	25	5	630-52	913	0.00	3.77	여름
623	38	0	632-51	915	0.17	2.58	여름
625	12	5	635-52	927	0.54	4.86	여름
626	15	5	637-51	932	0.27	2.80	여름
627	1	5	640-51	936	0.54	7.08	여름
628	23	0	642-51	944	0.15	6.36	여름
754	35	0	818-51	1320	0.15	0.72	여름
755	32	0	819-52	1331	0.04	5.22	여름
756		0	821-52	1339	1.72	2.35	여름
966			1AB06-68	68	-	-	봄
968			1AB06-70	70	-	-	봄
969			1AB06-71	71	-	-	봄
970			1AB06-72	72	-	-	봄



그림 5. 약배양 순계 육성계통 포장 특성조사

6. 월동배추 품종육성 및 등록품종 특성

월동배추 계통육성은 농협종묘센터 포장 및 전남 해남의 현지 포장을 임대하여 내한성과 석회결핍증 등의 원예적 형질을 평가하였으며 형질이 우수하거나 월동배추 품종육성에 활용성이 있는 계통들을 선발 육성하였다.

내한성이 강한 육성 계통을 이용하여 뿌리혹병 저항성이면서 내한성이 강한 월동배추용 조합을 작성하였으며 1차로 농협종묘센터의 포장에 가을배추 재배시기와 같은 시기에 공시하여 선발하였다. 최종 선발은 전남 해남 현지의 임대포장에 공시하여 11월 하순 결속하기 전 1차 선발조사에서 예비선발 하였고 2월 중순 최종 수확조사 결과 육성 목적에 부합한 조합을 선발하였다. 선발된 조합은 망실에서 1차 채종시험을 실시하여 채종량과 순도 등을 조사하였으며, 채종된 종자를 이용해 주산지에 시교로 공급하였다. 시교의 작황 확인 및 품종평가회를 실시하여 재배가능 및 참관 농가의 선호도 등을 참고하여 공급에 적합한 조합은 채종지에 위탁 채종을 실시하여 공급종자를 확보하고 품종등록을 실시하여 등록된 품종은 농가 공급을 실시하였다. 월동배추 품종등록 내역은 표. 8과 같이 품종보호 출원 및 품종보호 등록하였다.



그림 6. 월동배추 선발조합 및 시교 작황조사



그림 7. 선발조합 망실 채종시험

표. 8. 월동배추 품종등록 내역

년도	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도
품종등록 내용	참설 품종보호출원	눈나라 품종보호출원	참설 품종보호등록	눈나라 품종보호등록	월동대왕 품종보호출원

가. 참설배추 품종특성

- 내한성이 강하고 추대가 비교적 안정된 포피원통형의 대구종 겨울배추이다.
- 뿌리혹병 및 뿌리와 초세가 비교적 강하고 토양적응성이 넓어 재배가 용이하다.
- 중만생종으로 청이 오래가며 내엽색이 노란색으로 맛이 진하고 고소하다.



그림 8. 품종보호 등록증 및 출원번호 통지서



그림 9. [3] 참설



그림 10. [1] 동풍 [3] 참설

“참설” 배추는 숙기가 다소 늦은 품종으로 구가 크고 뿌리의 활력이 강하여 2월 중순 수확기까지 포장에서 버티는 능력이 좋은 품종이다. 겨울배추 재배 주산지인 해남지역의 정식시기가 기존에는 9월 20일 전후로 이루어지던 것이 갈수록 당겨져 9월 상순부터 이루어짐으로써 기존의 중만생종들은 월동하는 동안 숙기가 지나 노후화된 상태로 월동이 이루어져 월동하는 동안에 내한성이 약화되고 노균병 등의 피해가 심해지고 있다. 결구가 늦고 뿌리의 활력이 강하면서 수량성이 좋은 참설배추는 이러한 조기 정식재배의 문제점을 해결할 수 있는 품종으로 기대된다.

나. 눈나라배추 품종특성

- 외엽이 농록으로 진하고 두터우며 광택이 좋아 내한성이 강하고 황화현상이 적다.
- 뿌리와 초세가 강한 중만생종의 대구종이다.
- 뿌리혹병에 비교적 강하며 내엽색이 노랗고 수분함량이 적어 맛이 좋은 편이다.



그림 11. [25] 눈나라배추



그림 12. [5] 청풍, [25] 눈나라

“눈나라” 배추는 엽육이 두텁고 광택이 강해 내한성이 아주 강한 품종이다. 최근 이상기후로 인해 겨울배추 주산지인 남해안에서도 월동기간 동안 환과가 계속되어 월동하는 배추의 동해가 심해지고 있는데 이에 대응할 수 있는 품종으로 기대된다.

다. 월동대왕배추 품종특성

- 통이 크고 결구가 다소 늦은 포피원통형의 겨울배추이다.
- 뿌리와 초세가 강하고 토양적응성이 넓어 재배가 용이한 중만생종 품종이다.
- 무사마귀병에 비교적 강하며 엽수가 많고 내엽색이 노란배추이다.



그림 13. [044] 월동대왕배추



그림 14. [040] 동풍, [044] 월동대왕

“월동대왕” 배추는 참설배추의 숙기의 늦음을 다소 보완한 품종으로 참설보다 숙기가 다소 빠르고 외엽의 진함이 더 진하고 구의 크기가 다소 작은 품종으로 뿌리의 활력이 강하면서 수량성이 좋은 배추로 겨울배추의 조기 정식재배의 문제점을 해결할 수 있는 품종으로 기대된다.

7. 뿌리혹병 저항성 품종육성 및 등록품종 특성

뿌리혹병에 저항성이면서 내서성이 강한 여름배추 품종을 육성하기 위해 계통육성은 농협종묘센터 포장 및 강원도 정선의 현지 포장을 임대하여 내서성과 석회결핍증, 무름병 등의 원예적 형질을 평가하였으며, 형질이 우수하거나 고랭지 여름배추 품종육성에 활용성이 있는 계통들을 선발 육성하였다.

내서성이 강한 육성 계통을 이용하여 뿌리혹병 저항성이면서 내서성이 강한 고랭지용 여름배추 조합을 작성하였으며, 1차로 농협종묘센터의 포장에 가을배추 재배시기와 같은 시기에 공시하여 선발하였으며, 2차로 봄 노지재배 포장에 공시하여 추대성 등을 검증하였고, 최종 선발은 강원도 정선의 고랭지 임대포장에 공시하여 8월 상중순에 수확조사를 실시하여 조합을 선발하였다.

'08년부터 고랭지 현지의 연락시험을 통해 선발한 1조합은 뿌리혹병 저항성이면서 내서성이 강하고 맛이 좋은 조합으로 '09년 재공시 시험에서도 성적이 우수하였다. 채종시험을 실시하여 주산지에 시교 종자를 공급하여 평이 좋았고, 성적이 양호하여 4년차인 '10년 “아라리”배추로 품종보호 출원하였으며 '11년 5월부터 농가에 공급하고 있다.

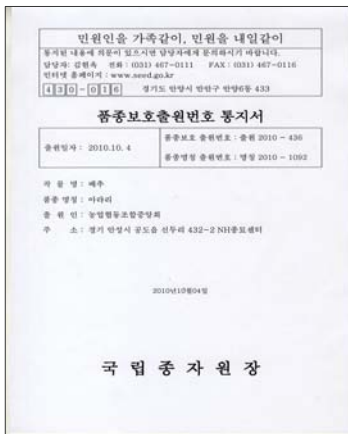


그림 15. 아라리배추 품종보호 출원번호 통지서

가. 아라리배추 품종특성

- 뿌리혹병에 강하며 외엽이 단정한 포합형으로 입모 상태가 매우 우수하다.
- 내엽색이 노랑고 증투이 얇고 엽수가 많으며 맛이 아주 좋다.
- 밑둥이 넓고 결구력이 강한 편으로 시장성이 좋다.



그림16. [13] 아라리배추

그림17. [11] 일품여름, [13] 아라리

“아라리” 배추는 내서성이 좋은 여름배추로 뿌리혹병 내병계 품종이다. 배추의 소비 비중이 날로 늘어나고 있는 김치 가공공장을 겨냥한 품종으로 외엽이 적고 절임성이 좋으며 맛이 좋아 김치 가공공장을 겨냥한 홍보가 이루어진다면 공급량이 많아질 것으로 기대되는 품종이다.

2년차 봄배추 F1조합 선발시험에서 선발한 뿌리혹병 저항성이면서 추대가 안정적이고 속이 노랑으로 맛이 좋은 1조합은 4년차에 채종시험을 실시하여 시교종자를 공급하였으며 작황확인 후 봄 및 여름배추로 품종등록하여 농가에 공급할 예정이다.

'09년 선발한 만추대성 소형배추 2조합은 시교종자 생산을 위해 농가에 위탁하여 채종시험을 실시하였으며 수출용으로 활용하고자 중국에 시교종자를 공급하였으며 작황확인 후 품종등록하여 수출하고자 한다.

'12년 봄 하우스 F1조합 선발시험은 9품종 70조합을 공시하여 뿌리혹병이 강하고 추대가 안정적이며 특성이 양호한 5조합을 선발하였다. 차후 재공시 특성파악 및 채종시험 등을 통하여 농가 공급여부를 결정할 것이다.



그림 18. 만추계 봄배추 및 소형배추 하우스 F1 조합선발 시험

제2-5절 배추 내서성 연관 분자 마커 개발

1. 모든 종류의 SNP 검사를 위한 제한효소 선정 및 프라이머 제작 방법

가. 서론

일반적으로 SNP를 발견하기 위해서는 염기서열 분석이 수행된다. 하지만 발견된 SNP를 분자마커로 이용하기 위해서 다시 염기서열 분석하여 확인한다면 이는 많은 비용과 시간을 요구하게 된다. 따라서 염기서열 분석을 하지 않고 SNP를 분석하는 여러 가지 방법이 제안되었다. 그 예로 PCR을 이용하여 프라이머의 마지막 염기의 일치와 불일치로 PCR 증폭 결과로 간단히 SNP를 확인해 볼 수 있다. 하지만 이 방법은 마지막 염기의 불일치에도 불구하고 PCR 증폭이 되는 경우가 많아 이용에 어려움이 있다. CAPS(Konieczny and Ausubel 1993)라 불리는 또 다른 방법으로 만약 제한효소가 인식할 수 있는 염기서열에 SNP가 포함되었을 경우이다. 이 방법은 PCR 증폭 후 제한효소 처리로 SNP 지역에서 절단 유 무 에 따라 SNP를 검사하게 된다. 하지만 발견된 SNP가 제한효소 인식 염기서열에 해당되지 않으면 이용할 수 없다.

최근에는 Realtime PCR을 사용해서 melting curve 분석을 통해 SNP 지역에서 염기결합과 mismatch 염기결합의 차이를 형광 다이를 이용해서 분석하는 방법이 개발되어 사용되고 있다. 또한 유전자 칩을 이용하여 SNP를 검사하는 방법도 사용이 된다. 하지만 이들 방법은 정확성과 대량의 샘플을 빠른 시간에 분석할 수 있는 장점을 가지지만 형광 프라이머 제작 및 고가 장비구입에 큰 비용이 요구되므로 작은 규모의 육종 회사 또는 연구소에서는 이용하기 어려운 기술이다.

비용적 문제를 고려하면 PCR 제한효소 방법이 SNP detection에는 좋은 대안이 될 수 있는데 앞에서 언급한 대로 SNP를 포함하는 제한효소 인식 염기서열이 모든 SNP에 존재하지는 않는다. 따라서 이를 보완한 방법으로 derived cleaved amplified polymorphic sequences 방법이 있다(Neff et al. 1998). 이는 인위적으로 프라이머 염기서열에 제한효소 인식 염기서열을 도입함으로써 PCR 증폭 후 제한효소로 다형성을 검사할 수 있다. 하지만 알려진 제한효소의 인식 염기서열과 SNP를 포함하는 주변염기서열을 직접 눈으로 비교하여 가능한 제한효소를 찾아내는 것은 매우 어려운 작업이다. 따라서 bioinformatics 기술의 도움으로 여러 소프트웨어(예: dCAPS finder)(Neff et al. 1998; Neff et al. 2002; Lang et al. 2009)가 개발되어 사용자들에게 이용 가능한 제한효소 염기서열을 포함하는 프라이머 염기서열을 제공한다.

하지만 사용자의 입장에서 소프트웨어의 사용은 때론 어려움을 제공하기도 한다. 웹버전의 소프트웨어는 서버 관리의 부실로 이용에 어려움이 있을 수 있고 독립적인 소프트웨어는 우선 비용이 필요할 수 있고 또한 소프트웨어의 사용방법을 익히는데도 어려움이 따를 수 있다. 또한 소프트웨어는 많은 종류의 제한효소를 제시함으로써 사용 빈도가 낮아 높은 가격을 형성하

고 있는 제한효소를 제시할 수 있다.

따라서 본 연구는 SNP를 검사하기 위해 최소화한 제한효소의 수를 이용하며, 모든 종류의 SNP를 검사할 수 있는 방법을 제공하기 위해 12개의 특정 제한효소를 제시함으로써 제한효소의 가격 하락을 유도할 수 있고 또한 컴퓨터 소프트웨어의 도움 없이 사용자가 직접 프라이머 제작하여 쉽고 저렴한 비용으로 SNP를 분석할 수 있는 방법을 제시하고자 한다.

나. 방법

(1) SNP 경우에 따른 제한효소의 선정 방법

우선 SNP 는 제한효소의 마지막 인식 염기서열에 위치해야 두 개체를 비교할 때 한 유전자형은 제한효소에 의해 절단이 되고 다른 유전자 형은 절단이 되지 않게 된다. 제작되는 프라이머의 경우는 SNP 염기서열은 포함하지 않고 하나 직전의 염기서열까지 포함하게 된다. 즉 SNP의 직전 염기는 프라이머의 3' 위치 마지막 염기가 되므로 이는 성공적인 PCR 증폭을 위해 반드시 타겟 DNA와 일치해야 한다. 이를 바탕으로 가능한 SNP 경우를 정리해 보면 우선 SNP 자리에는 4 종류의 염기가 올 수 있고 그 전 염기도 4 종류가 올 수 있으므로 가능한 조합은 총 16가지의 두 염기 조합이 올 수 있다(표 1). 하지만 GC의 경우 GT,GA,GG 중 하나로 대체 될 수 있으므로 GC, TA, CA, AT의 경우는 제외될 수 있고 따라서 총 12 종류의 제한효소만 필요하다.

표 1. 가능한 16가지 SNP경우와 SNP 검사를 위해 제시된 12개의 제한효소

nucleotide exists before SNP	Polymorphic site (SNP site)	Restriction enzyme	Restriction enzyme Sequence	Forward primer 5' to 3'
T	C	HinfI	GANTC	XXXXXXXXXXXXXXXXGANT
A	C	Hpy166II	GTNNAC	XXXXXXXXXXXXXXXXGTNNA
G	C	Fnu4HI	GCNGC	XXXXXXXXXXXXXXXXGCNG
C	C	Sau96I	GGNCC	XXXXXXXXXXXXXXXXGGNC
T	G	CviAII	CATG	XXXXXXXXXXXXXXXXCAT
A	G	DdeI	CTNAG	XXXXXXXXXXXXXXXXCTNA
G	G	ScrFI	CCNGG	XXXXXXXXXXXXXXXXCCNG
C	G	BstUI	CGCG	XXXXXXXXXXXXXXXXCGC
T	A	SnaBI	TACGTA	XXXXXXXXXXXXXXXXTACGT
A	A	MseI	TTAA	XXXXXXXXXXXXXXXXTTA
G	A	Hpy188I	TCNGA	XXXXXXXXXXXXXXXXTCNG
C	A	HpyCH4V	TGCA	XXXXXXXXXXXXXXXXTGCA
T	T	Tsp509I	AATT	XXXXXXXXXXXXXXXXAAT
A	T	AseI	ATTAAT	XXXXXXXXXXXXXXXXATTA
G	T	HpyCH4III	ACNGT	XXXXXXXXXXXXXXXXACNG
C	T	AluI	AGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXAGC

이러한 가능한 16가지의 SNP 경우마다 마지막 두 염기서열을 포함하는 제한효소를 NEB webcutter를 이용하여 검색하였다. 프라이머에 사용될 고려된 두 염기서열 직전 염기서열은 다겟과 일치될 수 있도록 5 염기를 인식염기로 가지는 제한효소중 중간에 N 즉 모든 염기를 인식하는 제한효소를 우선적으로 선정하였고 또한 6 염기를 인식하는 제한효소중 중간에 NN을 인식하는 경우를 선정하였다 (표 1). 앞의 기준으로 5 염기 6 염기 인식 제한효소 선정이 어려운 경우 4 염기를 인식하는 제한효소를 선정하였는데 SNP 위치와 그 직전 염기를 제외하면 2 염기 서열이 남고 이 모두가 다겟과 불일치 할 경우 최대 2염기 불일치를 이룰 수 있다. 다시 말해서 5염기 인식 제한효소는 중간에 N 염기를 포함하고 6염기 인식 제한효소는 중간에 NN 염기를 포함하므로 모든 선발된 제한효소 염기서열을 포함하는 프라이머는 1개 또는 최대 2개의 염기 불일치를 가질 수 있다.

프라이머 디자인은 특정 SNP 검사를 위한 특성상 염기서열 지역 선택의 여지가 없으므로 SNP 주변 염기를 일정한 Tm 값을 가질 때까지 순서대로 포함하였다.

다. 결과

(1) 개발된 방법을 이용한 SNP 검사 결과

위의 방법을 증명하기 위하여 지부와 권심 사이에서 SNP를 보이는 IH1, 5, 14, 25를 이용하였다(그림 1). 이들을 타겟으로 하는 프라이머는 표 1에 의해 제작되었는데 예를 들어 IH14의 경우 SNP 포함 염기서열은 'Chiifu'의 경우 ACCAG 이다. 하지만 'Kenshin'의 경우 ACCAC를 가지고 있어 G와 C SNP가 나타났다(그림 1). 이 경우에는 SNP바로 앞에 존재하는 nucleotide가 A이며 SNP는 G이기 때문에 사용 가능한 제한효소는 인식염기서열 CTNAG를 가지는 DdeI을 이용하면 된다. 이 경우 프라이머와 불일치는 1개의 염기를 가진다. 이렇게 제작한 인위적인 프라이머는 특정 DNA만 제한효소 인식 서열을 가지게 하여 제작한 프라이머로 PCR 증폭 DNA 절편을 DdeI 제한효소로 절단 하였을 때, 지부만 절단되기 때문에 2% 아가로스 젤 상에서 권심과의 크기 차이를 확인 할 수 있다(그림 2).

IH5의 경우는 SNP가 T-C 차이를 보인다. SNP 염기 바로 앞에 존재하는 염기는 A이다. 이 경우에는 AT, 또는 AC를 이용하여 AseI 또는 Hpy166I를 사용할 수 있다(표 1). 프라이머와 타겟 DNA 사이에서 불일치되는 부분이 더 작은 RsaI의 인식염기서열을 이용하여 프라이머를 제작하였다(표 1). 그 결과로 제한효소 인식염기서열을 가지는 'Chiifu'만이 제한효소에 의해 절단되어 'Kenshin'과의 비교에서 크기 차이를 확인 할 수 있다(그림 2).

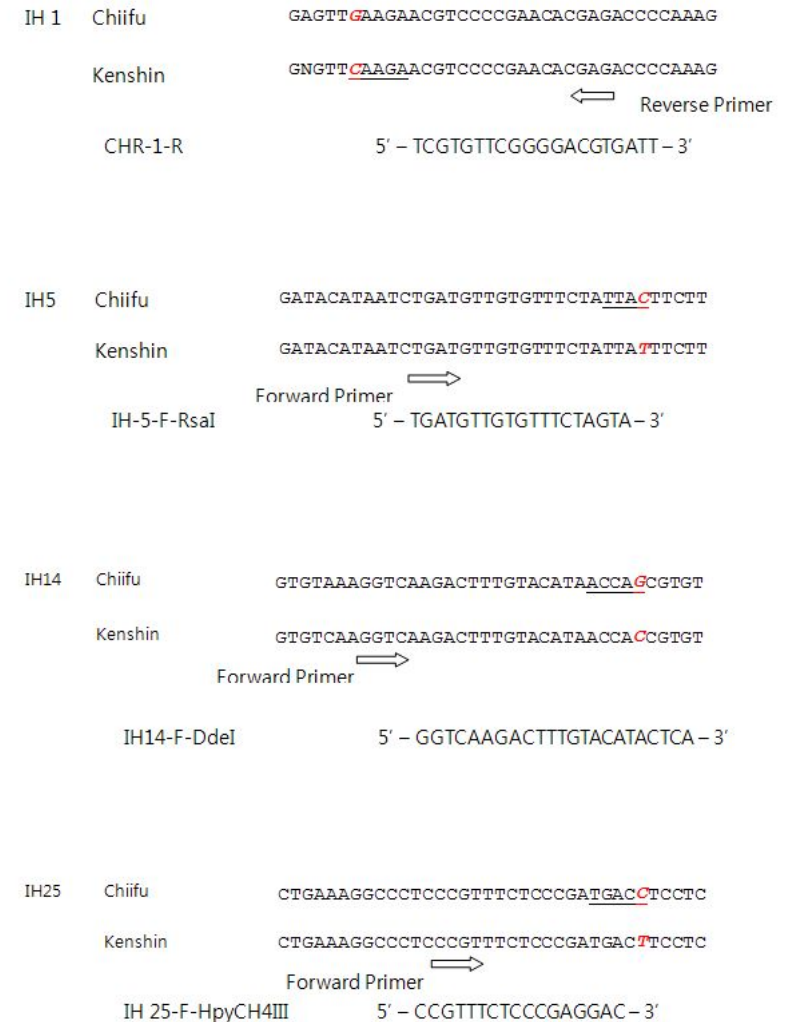


그림 1. 지부와 권심 사이에서 발견된 4가지 SNP의 부분적인 염기서열. 포워드 프라이머와 리버스 프라이머의 염기서열은 화살표에서부터 시작되는 것을 보여주며, 굵은 글씨의 이탤릭체로 표기된 것은 SNP를 나타낸다. 밑줄 친 염기서열은 제한효소의 사이트 부분을 나타낸 것.

표 2. 4 종류의 SNP에 맞게 제작된 SNP 검증 프라이머 및 제한효소 정보

PRIMER NAME	PRIMER SEQUENCE	Restriction Enzyme	Restriction enzyme sequence	Tm(°C)
IH1-F	GTAAAGCTCTCTTAGTCTCT	HinfI	GANTC	49
CHR-1-R	TCGTGTTCTCGGGACGTGATT			54
IH5-F-RsaI	TGATGTTGTGTTTCTAGTA	RsaI	GTAC	42
IH5-R	AATATTTAAATTTTCATATTCATATA CATGTTT			49
IH14-F-DdeI	GGTCAAGACTTTGTACATACTCA	DdeI	CTNAG	52
IH14-R	GATTATAAAATTTTCTATTATTGT TCATTTT			50
IH25-F-HpyCH4III	CCGTTTCTCCCGAGGAC	Sau96I	GGNCC	52
IH25-R	CGCTATGGATCAAAGAAGCTT			50

각 프라이머 페어에 의해 증폭된 DNA 절편의 일부를 각각의 제한효소로 처리 후 전기영동으로 다형성을 확인하였다(그림 2).

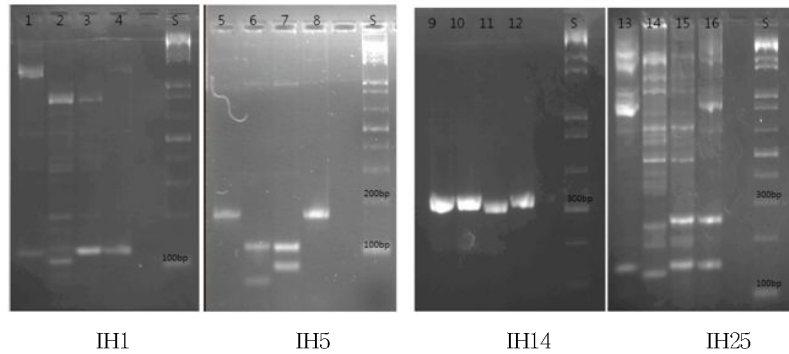


그림 2. 4개의 SNP를 대상으로 제작된 프라이머로 증폭된 DNA 절편과 제한효소 처리로 생성된 다형성 결과. 1,5,9,13: 지부 PCR, 2,6,10,14: 지부 PCR+제한효소, 3,7,11,15: 권심 PCR+제한효소, 4,8,12,16: 권심 PCR, S: 사이즈 마커.

각 지부와 권심의 PCR DNA 절편 비교에서는 크기의 차이를 관찰할 수 없었으나 제한효소 처리 후 프라이머에 삽입된 인위적인 제한효소 인식 부위에 의해 절단이 일어나고 이를 통해서 지부와 권심 사이에서 크기 차이의 다형성을 쉽게 분석할 수 있는 마커 개발이 가능했다.

따라서 모든 종류의 SNP를 대상으로 단 12종류의 제한효소의 선택으로 dCAPS 마커를 개발할 수 있는 sdCAPS 기술은 소규모의 연구실 또는 소규모의 육종회사에서 SNP를 염기서열 분석을 통하지 않고 쉽고 경제적으로 유전자형을 검사할 수 있는 기술로 평가된다.

2. Trehalose 합성 유전자 연관 분자 마커 개발

가. 서론

김치의 주재료인 배추, *Brassica rapa* L.(n=10)는 국내뿐 아니라 세계 시장에서도 식품영양학적 우수성을 인정받아 그 수요가 증가하고 있다(Lagercrantz and Lydiat 1996). 배추는 서늘한 기후를 좋아하는 호냉성 채소로 생육적온인 20℃ 이상이 되면 생육이 약해지는데 고온 스트레스는 결구에 영향을 주어 생산량 및 품질 저하를 유발할 수 있다(Mahmud et al. 1999; Kim et al. 2008; Kim et al. 2005). 또한 재배 적온보다 기온이 낮아지면 동해를 입게 되고 심하면 얼어 죽기 쉽다. 따라서 온도는 배추의 수확량에 영향을 미치는 주요 요인 중 하나로, 농업 종사자들은 고온 또는 저온 현상 때문에 경제적 손실을 입을 수 있다(Agarwal et al. 2008; Thomashow 1998).

병 또는 환경 저항성 품종을 육성하기 위해 품종간의 유전적 차이를 알아보기에 가장 확실한 방법은 전체 DNA 염기서열을 비교하는 것이다. 하지만 이는 많은 시간과 비용이 필요하므로 상대적으로 비용이 적게 들고 쉬운 방법으로 고안된 것이 바로 DNA marker 분석이다. DNA marker에는 DNA 제한효소에 의해 절단된 단편의 다형성을 보는 RFLP(restriction fragment length polymorphism), PCR(polymerase chain reaction)을 통한 증폭 길이의 다형성을 보는 AFLP(amplified fragment length polymorphism), RAPD(random amplified polymorphic DNA), SSR(simple sequence repeat) 등이 있다(Agarwal et al. 2008; Rauwolf et al. 2008; Slate et al. 2008). 최근에는 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 마커가 많이 사용되고 있다.

Trehalose(α -D-glucopyranosyl-[1,1]- α -Dglucopyranose)는 두 개의 포도당의 결합으로 이루어진 이당류이다. 세균, 효모, 곰팡이, 곤충, 식물 등 생물체에 저장탄수화물의 형태로 자연계에 널리 존재한다(Chen and Haddad 2004). 효모와 식물체에서 trehalose는 성장에 영향을 주는 대사 경로를 조절하거나 신호분자로도 존재한다. 또한 저온, 고온, 건조, 산화작용과 같은 다양한 스트레스 환경에 단백질과 세포막이 불활성 및 변성되는 것을 보호한다고 알려져 있다(Gancedo and Flores 2004). 최근에는 trehalose 유전자를 이용하여 환경 저항성 품종을 육성하려는 노력이 수행되고 있다(Lee et al. 2003).

많은 연구진들이 작물 생산성을 증가시키고 작물의 재배 가능 지역을 확장 시키고자 스트레스를 유발하는 환경인 저온 또는 고온에서의 작물의 저항성을 개선시킨 새로운 품종 개발에 노력하고 있다. 이러한 경향에 맞춰 본 연구는 육종에 적용이 가능한 스트레스 저항성에 관련 분자마커개발을 위해 배추에서 trehalose 유전자 군의 다형성 마커를 개발하였다. 이를 이용하여 장기적으로 고온 저항성 직접적으로 연관된 DNA마커를 개발하여 내서성 배추품종 육성에 기초연구자료로 활용될 수 있다고 생각된다.

나. 방법

(1) 애기장대 식물의 trehalose 유전자 검색

모델 식물인 애기장대(*Arabidopsis*)의 trehalose 합성 관련 유전자를 NCBI 데이터베이스에서 검색하여 찾았고 유전자 리스트는 다음과 같다.

표 3. 애기장대의 trehalose 합성 관련 유전자 목록.

AT1G22210	ATTPS1
AT1G35910	ATTPS2
AT2G22190	ATTPS3
AT4G12430	ATTPS4
AT4G22590	ATTPS5
AT4G39770	ATTPS6
AT5G10100	ATTPS7
AT5G65140	ATTPS8
ATTTPA	ATTPS9
ATTTPB	ATTPS10
	ATTPS11

(2) 배추 trehalose 합성 관련 유전자 검색 (EST 검색, Genomic DNA 검색)

각각의 애기장대 Trehalose 염기서열을 이용하여 EST 데이터베이스를 검색하였다. *Brassica rapa*로 제한을 두고 검색을 한 결과 발견된 EST를 수집하였고 sequence를 서로 비교를 하였고, 유사성이 높은 EST는 제거한 후 고유 번호를 부여하였다. Trehalose 관련 유전자 분자 마커 개발을 위한 최종 배추 EST 목록은 다음과 같다.

표 4. 배추에서 발견된 trehalose 합성 관련 ESTs 목록.

EST 번호 (GenBank 번호)	Trehalose 마커 번호	EST 번호 (GenBank 번호)	Trehalose 마커 번호
EX067175	TH 1	EX018639	TH 15
EX103397	TH 2	EX056466	TH 16
EX111722	TH 3	CO750595	TH 17
EX132205	TH 4	EX027487	TH 18
EX131767	TH 5	EX061429	TH 19
EX074742	TH 6	EX136003	TH 20
EX133558	TH 7	EX136883	TH 21
EX041807	TH 8	EX065344	TH 22
EX126298	TH 9	EX128047	TH 23
EX125957	TH 10	EX095575	TH 24
EX120603	TH 11	CO750596	TH 25
EX042495	TH 12	DN962862	TH 26
EX066738	TH 13	EE522666	TH 27
EX121390	TH 14	EX041632	TH 28

애기장대의 trehalose 관련 유전자 염기서열을 이용하여 배추 genomic DNA 데이터베이스를 검색. 각각의 trehalose 염기서열을 BLAST를 이용하여 조사를 하였고 그것을 바탕으로 BAC 라이브러리 클론 4개를 찾았다.

표 5. Trehalose 관련 유전자 염기서열을 포함하는 배추 BAC 라이브러리 클론

Trehalose 번호	BAC 라이브러리 클론
TH29	KBrB061K11
TH30	KBrB021M22
TH31	KBrH080A08
TH32	KBrB014O06

지부와 권심의 염기서열을 비교하기 위해 각 EST에 그 양 끝 염기서열을 타겟으로 하여 Forward 프라이머와 Reverse 프라이머를 각각 제작했다(프라이머 염기서열 생략).

디자인한 프라이머를 이용하여 지부와 권심 DNA를 각각 PCR 증폭을 하였고, 쏘젠티(주)에 염기서열분석을 의뢰했다. 염기서열 비교를 통해 SNP와 In/del을 찾아 이를 토대로 다시 새로운 프라이머를 제작했다. 제작 방법은 아래와 같이 세 가지 다른 접근으로 시도 되었다.

지부와 권심의 염기서열 데이터를 비교 분석하는 중에 두 염기서열 간에 Single nucleotide polymorphisms (SNP) 차이가 있음을 발견하고, 이 SNP를 타겟으로 한 프라이머의 마지막 염기서열 위치에 (3') SNP가 위치하도록 프라이머를 제작하였다. 이와같이 TH 5 후보 마커 SNP를 타겟으로 새로운 프라이머를 제작했다.

다. 결과

SNP와 In/del을 이용해 새로 제작한 프라이머를 이용해 새로 제작한 프라이머를 이용하여 다시 PCR을 했다. 그림 3의 결과로 새로 제작한 TH 5 primer가 지부와 권심 중 권심 DNA만 증폭하는 것을 알 수 있다.

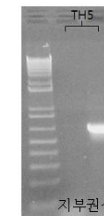


그림 3. TH 5 프라이머 사용 PCR 후 전기영동 결과.

In/del을 발견한 TH 7 후보 마커의 경우 in/del이 지부와 권심사이에서 발견되었다. 발견된 in/del의 가까운 지역에 위치하며 in/del을 포함하여 증폭할 수 있는 primer를 제작했다.

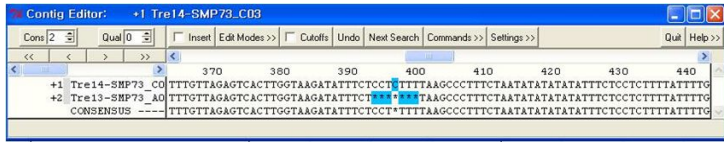


그림 4. TH 7의 in/del포함 염기서열 비교.

SNP를 타겟으로 새로운 불일치 프라이머를 제작했는데 지부와 권심을 둘 다 증폭한 경우 마커로써 사용하기 어려움이 있어 다시 SNP자리를 포함하는 제한효소 이용방법을 이용하여 마커개발을 시도하였다. 염기서열 중 제한효소 사이트를 찾아 PCR 증폭 후 제한효소 처리로 다형성을 확인할 수 있었다.

TH 3의 SNP site에 있는 TaqI site (TCGA) 이용해 PCR 마커를 제작했다. 따라서 PCR 증폭된 DNA는 권심의 DNA 만이 증폭되었다. 같은 방법으로 TH6, TH15 EST 역시 PCR 증폭 후 각각 RsaI (GTAC)과 PstI (CTGCAG)와 지부와 권심 간 차이를 찾을 수 있었다.

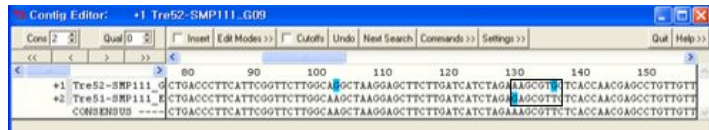


그림 5. 지부와 권심의 TH26 염기서열 비교.

TH 26에서 SNP를 가지는 site에 임의로 HindIII 인식 염기서열을 포함하는 프라이머를 제작했다. 같은 방법으로 TH 2의 경우는 PstI 염기서열을 인식하는 프라이머를 제작했다.

본래 염기서열은 AAGCGTG 와 GAGCGTT 인데 (그림 5) HindIII 인식 서열은 AAGCTT 이므로 HindIII는 위 그림의 박스에 해당하는 지부와 권심의 염기서열을 인식하지 못한다. 따라서 프라이머 제작시 TCGAA 염기서열을 인위적으로 넣어주어 권심 DNA를 증폭한 프라이머는 HindIII 인식 서열을 가지게 된다 (그림 6).

권심: AAGCGTG 지부: GAGCGTT 권심: AAGCGTG
TTCGCAC CTCGCAA 프라이머: TCGAAAM

그림 6. 인위적으로 변형된 HindIII 인식 프라이머 염기서열.

(1) Trehalose 유전자에 연관된 SSR 마커 개발

발견된 BAC 클론 염기서열을 TROLL software website(<http://wsmartins.net/webtroll/troll.html>)를 사용하여 SSR 모티브를 조사하였다. 프로그램에서 제시된 총 4개의 SSR 프라이머 페어를 제작하였고, 그 염기서열은 다음과 같다. 지부와 권심 DNA를 각각 PCR 하였고 전기영동 결과 TH 29, 30, 32에서 다형성을 확인할 수 있었다.

표 6. SSR 모티브 와 프라이머 조합.

프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	SSR 모티브	지부와 권심 사이 다형성 유무 확인
TH29-F	CCACCTTTTCTTAAACACGTTC	(CT)21	길이 다형성
TH29-R	TACAGAGGACCATCAGCAT		
TH30-F	CTAACTGAACCTGGAAAGTG	(AT)25	길이 다형성
TH30-R	ATCACCACAAAAGATCATCG		
TH31-F	TAGTAGCTGGAGTGCTCTT	(CT)29	다형성 확인실패
TH31-R	CTGCAACTCTTCCCACAC		
TH32-F	GGGAACTAGGAAAAGACCC	(GA)27	길이 다형성
TH32-R	GGATTACCGTGAAACTGGA		

표 7 은 지부와 권심 사이에서 다형성을 보이는 최종 13개의 Trehalose 관련 분자 마커 목록이다.

표 7. 지부와 권심 사이에 다형성을 보이는 최종 Trehalose 합성 관련 마커 프라이머 목록.

Trehalose 마커 번호	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	다형성 패턴
TH 2	TH2-F	ATCTTCTCTGTTTCAATCTTATTTTC	PCR 증폭후 <i>pst</i> I로 digestion, 길이 차이
	TH2-R-PstI	CTCCGTCGTCTCCTGC	
TH 3	TH3-F	ACACAAGTCCTCATCTTCATC	<i>Taq</i> I으로 digestion, 길이 차이
	TH3-R	TTTTGCTGGACCTTTAATGTC	
TH 4	TH4 F'	TGTCATCTAARCTTTATTTAAGTCC	길이 차이
	TH4 R'	CGACACTGAAGCGACAG	
TH 5	TH5-F	GCAAAACAACCAATCACTTATTC	dominant (권심만 증폭)
	TH5-R'	CATCTGTGAAACATACAGAATAG	
TH 6	TH6-F	AAAATCGATTAGATTTTGAATATATTG	<i>Rsa</i> I으로 digestion, 길이 차이
	TH6-R	CGAAAATAAATGGAGTGACTTG	
TH 7	TH7 F'	ATGTAAGGGGAATTTATTTTTGGA	길이 차이
	TH7-R'	AGAAATATATATATATTAGAAAGGGC	
TH 9	TH9-F	GTAATAGTCAATAATTTTATTTTTGGTTA	dominant (지부만 증폭)
	TH9-R	ATGTTTTAAGCCTTCATGTGATC	
TH 15	TH15-F	GAGAGTTCCAAGAGTAGCAA	<i>Pst</i> I으로 digestion, 길이 차이
	TH15-R	CAAGAGAGGAAGTGCTAG	
TH 16	TH16-F	GCAGCCGGGGTCCAT	길이 차이
	TH16-R	CCCTGTGGTTTAACTTCAAC	
TH 26	TH26-F	ACTACCACCGATTTAGGC	<i>Hind</i> III로 digestion, 길이 차이
	TH26-R-HindIII	CTCGTTGGTGAGMAAGCT	
TH 29	TH29-F	CCACCTTTTCTTAAACACGTTT	길이 차이
	TH29-R	TACAGAGGACCATCAGCA T	
TH 30	TH30-F	TAGTAGCTGGAGTGCTCTT	길이 차이
	TH30-R	CTGCAACTCTTCCCACAC	
TH 32	TH32-F	GGGAACTAGGAAAGACCC	길이 차이
	TH32-R	GGATTACCGTAAAAGTGA	

(2) Mapping 집단 다형성 분석

Mapping 집단은 1-1 세부과제에서 제공되었고 지부와 권심을 교배하여 만들어진 DH 집단과 RIL 집단을 이용하여 유전자 지도를 작성하였다.

TH 26 마커는(표 7) 솔젠트 e-taq을 이용해 PCR을 증폭 한 후 *Hind*III로 digestion을 해 그 size 차이를 알 수 있었다. 그림 위쪽의 번호는 RIL mapping 집단 배추 개체의 식물번호이며, C는 지부, K는 권심, s.m은 size marker를 말한다. 아래 그림은 TH26 마커 스크리닝 결과로 각각의 증폭된 DNA의 길이 차이를 알 수 있다(그림 7).

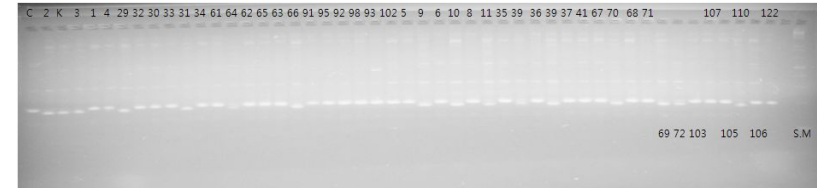


그림 7. TH 26 마커의 PCR 후 *Hind*III digestion 전기영동결과.

TH 29의 gel 전기영동의 경우 e-taq을 이용해 PCR을 한 것으로 SSR 모티브를(표 6) 증폭하여 지부와 권심 사이에서 증폭된 길이의 차이를 전기영동결과로 확인할 수 있다. 그림 위쪽의 번호는 배추개체의 식물번호이며, C는 지부, K는 권심, s.m은 size marker를 말한다. 결과로 각각의 밴드 차이를 알 수 있다(그림 8).

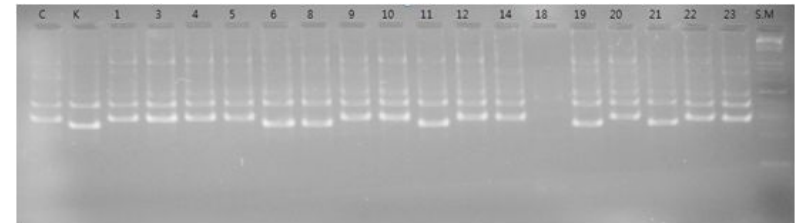


그림 8. TH 29 마커의 gel 전기영동 결과.

(3) Trehalose 연관 관련 유전자 마커 포함한 유전자 지도 작성

다형성 데이터 분석을 통해 1-1. 세부과제에서 제공하는 분자마커를 포함해 연관지도를 Joinmap 프로그램(ver.4)을 사용해 작성했다. RIL 집단이 준비되기 전까지는 DH 집단을 이용해서 유전자 지도를 작성해 보았다. 아래 유전자 지도는 TH16, 29, 30 마커가 각 각 세 연관 그룹에 소속되는 것을 보여준다.

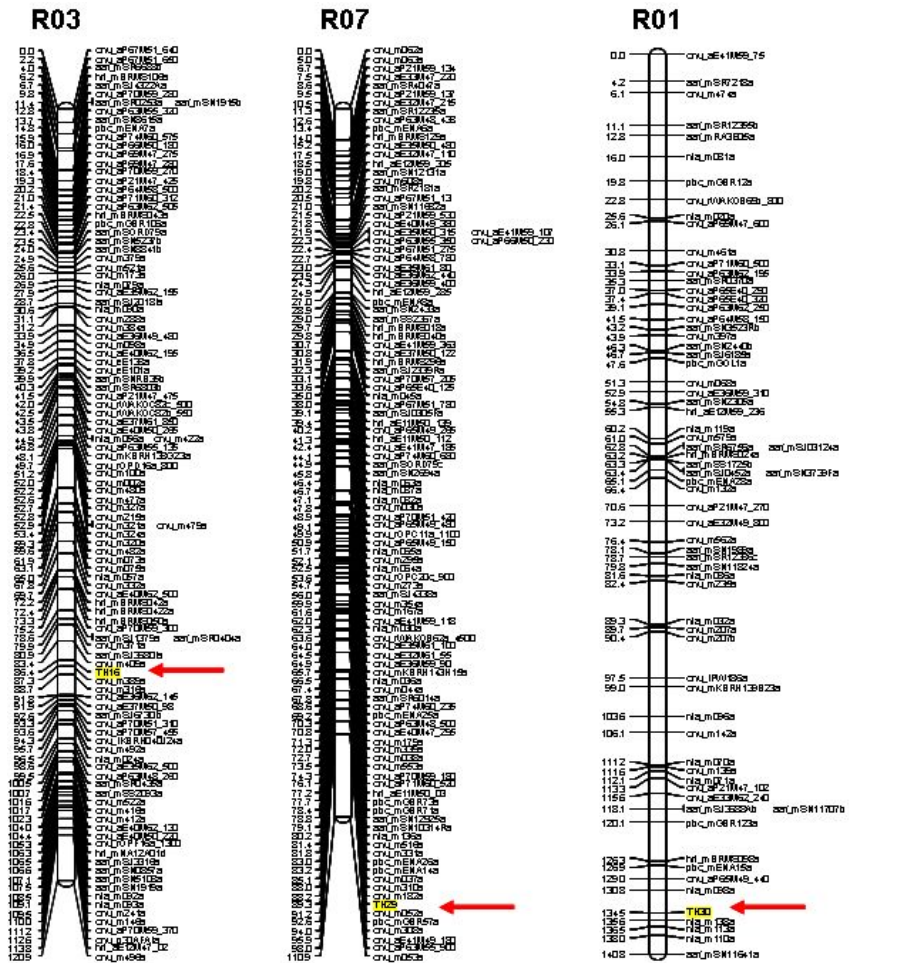


그림 9. DH 집단을 이용한 Trehalose 관련 유전자 (TH16, TH29, TH30) 마커 연관지도

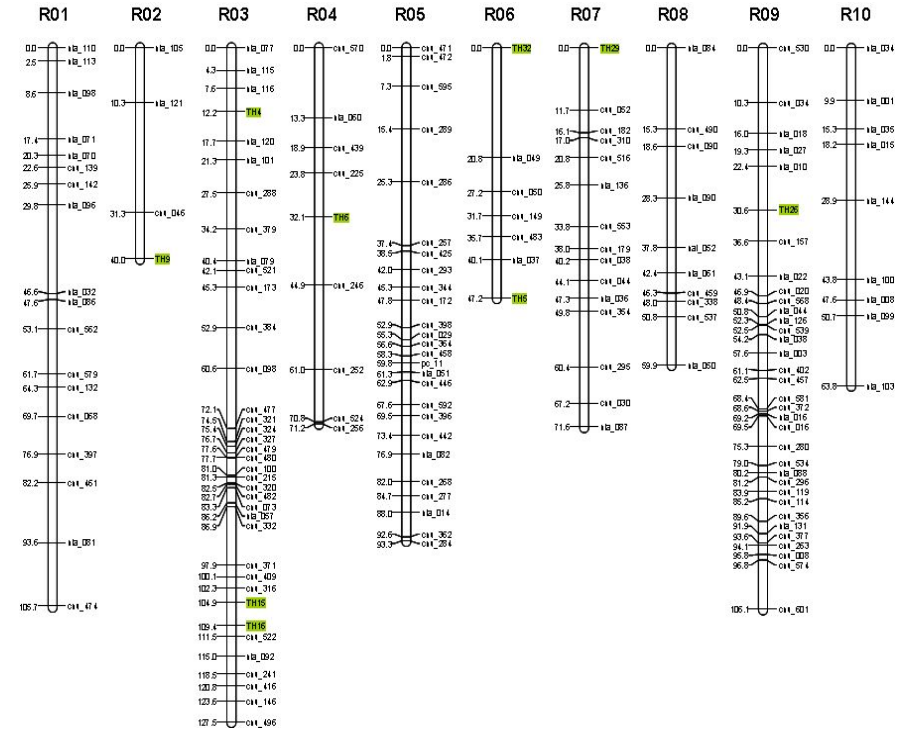


그림 10. RIL 집단을 이용한 Trehalose 마커 (TH4, TH5, TH6, TH9, TH15, TH16, TH26, TH29, TH32) 를 포함하는 유전자 지도.

RIL 집단을 이용한 유전자 지도에는 13개의 다형성 마커 중 9개의 마커가 유전자 지도에 위치되었다. 앞서 DH 집단에서 포함된 TH16과 TH29 마커는 동일한 연관그룹 R03과 R07에서 각각 발견되었다. 13개 마커중 위치가 확인되지 않은 4개의 TH 마커는 추 후 좀 더 많은 마커와 같이 분석할 경우 유전자 지도에 포함할 수 있을 거라 기대된다.

3. AOX 합성 유전자 연관 분자 마커 개발

가. 서론

고온 또는 저온 스트레스가 작용하는 환경에서 활성산소종의 과다한 축적을 방지해 식물체의 활동을 개선하는 것으로 추측되는 기능성 유전자인 AOX (Alternative oxidase gene)는 식물에 있는 전자전달계의 일부분을 형성하는 효소이다(McDonald and Vanlerberghe 2004; Umbach et al. 2005). AOX 유전자의 발현은 저온스트레스, 활성산소종, 그리고 병원체의 침입 등에 영향을 주는 것으로 알려져 있는데 아마도 산화 스트레스의 감소를 통해 환경 스트레스에 대한 내성 향상을 강화할 것으로 추측된다 (Maxwell et al. 1999; Vanlerberghe and McIntoch 1997). Alternative oxidase는 미토콘드리아내막에 붙어있는 필수 막단백질로 추위와 같은 스트레스가 작용하는 환경 속에서 활성 산소종의 과다한 축적을 방지함으로써 식물체의 활동을 개선할 것으로 추측된다 (Berhold and Stenmark 2003). 고베대학의 Shigeo Takumi의 연구논문에서 의하면 AOX는 스트레스를 유발하는 환경에서 모든 조직 내의 과다한 활성산소종의 형성을 방지하며 대사 작용에도 영향을 미칠 수 있는 것으로 발표하였다(Sugie et al. 2006).

많은 연구진들이 작물 생산성을 증가시키고 작물의 재배 가능 지역을 확장 시키고자 스트레스를 유발하는 저온 또는 고온 환경에서 작물의 저항성을 개선시킨 새로운 품종 개발에 노력하고 있다. 스트레스 저항성 형질을 감수성 품종에 도입하기 위해서 많은 시간과 비용이 필요하므로 이를 극복하기 위해 고안된 것이 바로 DNA marker를 이용한 선발이다. 이러한 마커에는 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 마커가 많이 사용되고 있다 (Aye 2008; Prasad et al. 2000).

이러한 경향에 맞춰 본 연구는 배추 내서성 육종에 적용이 가능한 스트레스 저항성 관련 분자마커개발을 위해 AOX 유전자와 관련된 다형성 분자 마커를 개발하였다. 이를 이용하여 장기적으로 저온 저항성에 직접적으로 연관된 DNA 마커개발을 하여 환경 스트레스 저항성 배추품종개발에 기초연구자료로 활용될 수 있다고 생각된다.

나. 방법

AOX 유전자를 모델 식물인 애기장대에서 확인하였고 AOX1a, AOX1b, AOX1c, AOX1d, AOX2a의 염기서열을 NCBI 데이터베이스에서 확보하였다. 확보된 애기장대의 AOX 유전자 염기서열을 이용하여 EST 데이터 베이스를 NCBI 웹사이트를 이용하여 배추 EST를 검색하였다. 검색은 *Brassica rapa*로 제한을 두고 수행하였다.

표 8. 애기장대의 AOX 유전자와 유사성이 높은 배추 EST 검색 결과

EST 번호(gene bank번호)	EST 번호(gene bank번호)
EX101395.1	CV523224.1
EX035208.1	BG543820.1
EX134256.1	EX073952.1
EX018448.1	DN963778.1
EX028319.1	DN961392.1
EX098853.1	DN963418.1
ES930525.1	DN960791.1
EX017473.1	DN966218.1
EX029835.1	EX138389.1
EX037227.1	EX095561.1
EX068198.1	EX094755.1
EX028875.1	EX064270.1
CX269727.1	BQ791311.1
BG543987.1	EX037292.1
EX066241.1	EX069990.1
EX096908.1	EX032531.1
EX071911.1	EX025740.1
EX044370.1	EX033258.1

확보된 EST 중 염기서열이 완전 일치하거나 유사성이 매우 높은 EST를 제거하고 최종적으로 6개의 EST를 선발하였다. 선발된 EST 염기서열을 이용하여 PCR 증폭을 위한 프라이머를 제작하였다(표 9).

표 9. 선발된 배추 AOX 관련 EST 번호와 PCR 증폭을 위한 프라이머

EST 번호	AOX 마커번호	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')
ES930525.1	AOX10	SM P-34	GAC AAC ACA AAC GTT AAC GG
		SM P-35	TCA AAG CGC CTG AGA GAT
EX132727.1	AOX08	SM P-30	ACC TGC TCC GGC TAT C
		SM P-31	ACA AGT GAA AGG AGA GGC
EX138389.1	AOX18	SM P-50	TTG GAC ATA ACC AAT CTG AAG
		SM P-51	GCC TCT TCG AGC AAG G
EX037292.1	AOX11	SM P-36	AGC AAA TTA TAA CAT TCA AGG AC
		SM P-37	TCA TGA CGT TCA TGG AAG TC
EX032531.1	AOX14	SM P-42	ATT ANC CTG AGA ATA TAA TGA TAA A
		SM P-43	CGG CGG TGC CAG GAA
EX033258.1	AOX20	SM P-275	AGA TTT GTC CGA ACA CTC TAC
		SM P-276	TCG GCT CAA CNC CCC AA

다. 결과

(1) 지부와 권심 사이에 AOX 유전자 다형성 분석

표 9에서 제시된 프라이머를 사용하여 지부와 권심 Total DNA를 이용하여 PCR 증폭하고 전기영동을 통해서 DNA 밴드 분석을 수행하였다. 임시 AOX 번호 10의 경우 증폭된 DNA의 밴드 크기가 지부와 권심간에 크게 차이를 보여 아마도 유전자 내부에 매우 큰 insertion 또는 deletion이 일어난 것으로 예상되고 이는 직접적으로 공동우성 마커로 이용이 가능하다(그림 11).

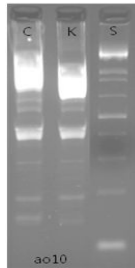


그림 11. AOX10 프라이머를 사용하여 지부와 권심을 PCR 증폭한 결과.
C: 지부, K: 권심, S: 사이즈 마커.

AOX11 프라이머 경우 지부와 권심을 같은 DNA 절편 크기로 증폭하여 직접적인 다형성을 보이지 않았다. 따라서 증폭된 DNA 절편을 추출 분리하여 염기서열 분석을 솔젠트(주)에 의뢰하였다. 염기서열 분석 결과는 지부와 권심간의 염기서열 차이를 보여주었으며 (그림 12) 이를 바탕으로 insertion/deletion 위치를 찾아 지부와 권심 간의 다형성을 확인하였다.



그림 12. AOX11 마커를 이용한 지부, 권심 사이의 다형성 분석 결과.

발견된 insertion/deletion 위치를 가까이 포함하면서 아가로스 젤에서 크기 차이를 보일 수 있도록 비교적 작은 크기로 DNA 절편을 얻을 수 있도록 새로운 프라이머를 제작하여 공동우성 마커를 개발 하였다(표 10).

AOX08 프라이머의 경우 역시 염기서열 분석 결과에 의해 insertion/deletion 이 발견되어 (그림 13) 이를 타겟으로 새로운 Reverse 프라이머를 제작하여 DNA 절편 크기 차이를 보이는 다형성 공동우성 마커를 개발하였다 (표 10).

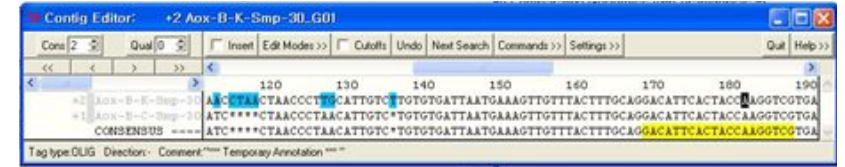


그림 13. AOX08 공동우성 마커 개발 결과

표 10. 지부와 권심 사이에서 다형성을 보이는 AOX 연관 분자 마커

EST 번호	AOX 마커번호	프라이머 이름	염기서열 (5' --> 3')	다형성 패턴
ES930525.1	AO10	SM P-34	GAC AAC ACA AAC GTT AAC GG	길이차이
		SM P-35	TCA AAG CGC CTG AGA GAT	
EX132727.1	AO8	SM P-30	ACC TGC TCC GGC TAT C	길이차이
		SM P-289	CGA CCT TGG TAG TGA ATG T	
EX037292.1	AO11	SM P-290	GCT GGA GT TCC TTT AG	길이차이
		SM P-291	CCA TTT TGC ATC TGT AAG TG	

(2) AOX 유전자 마커 포함 배추 유전자 지도 작성

1-1 세부 과제에서 제공받은 RIL 집단 (지부 x 권심 교배)을 이용하여 AOX 유전자 마커가 포함된 유전자 지도를 작성하였다. AOX10 마커는 솔젠트(주) E-taq을 이용하여 PCR 증폭을 하였으며 전기영동으로 절편 크기 차이를 구별하였다. 그림 14 아래 번호는 RIL 집단 개체의 번호이며 C는 지부, K는 권심, s.m. 은 size marker 를 의미한다.

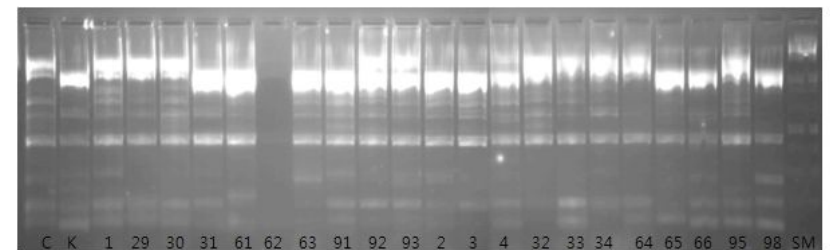


그림 14. RIL 집단을 이용한 AOX10 마커 다형성 결과.

AOX08 마커의 경우역시 PCR 증폭 DNA 절편의 크기 차이로 다형성을 보였고 이를 이용해서 RIL 집단의 다형성 분석을 수행하였다. AOX11 마커의 경우 역시 insertion/deletion 지역을 타겟으로 개발된 마커로 공동우성 마커이다. RIL 집단 DNA를 적용하여 다형성 분석을 수행하였다.

(3) AOX 유전자 연관 마커를 포함한 유전자 지도 작성

1-1 세부과제에서 제공받은 RIL 집단을 AOX 다형성 마커로 유전형을 조사하였고 이 데이터를 포함하여 1-1 세부과제에서 분석된 마커들과 연관관계 분석을 수행하였다. JoinMap 4.0 버전의 소프트웨어를 사용하여 작성되었다. 아래 유전자 지도는 AOX08, AOX10, AOX11 마커가 연관그룹 5번에 위치하는 결과를 보여준다(그림 15).

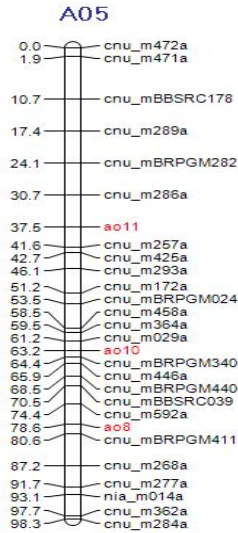


그림 15. AOX 유전자 연관 마커 AOX08, AOX10, AOX11 를 포함하는 연관지도군.

본 연구에서 개발한 *Brassica rapa*의 AOX 마커의 경우, 각기 다른 AOX 유전자이지만 유사한 EST들이 많아 이를 마커로 개발하는데 어려움이 있었다. 다른 AOX ESTs에서 하나의 프라이머 페어를 사용해서 여러 개의 DNA 밴드가 증폭되는 경우는 추 후 클로닝을 통한 염기서열 분석을 수행하여 추가로 다형성을 확인하고 분자마커를 개발해야 할 필요성이 있는 것으로 생각된다.

앞서 연구된 벼에서의 AOX 관련 유전자에 대한 논문에 따르면, OsAOX1a가 적은 내서성에 관련되며, QTL에 매우 조밀하게 존재해 서로 연관되어 있는 것을 밝혀냈다 (Abe et al. 2002). 따라서 본 연구에서는 배추작물에서 내냉성, 내서성 및 환경 스트레스 저항성 품종 육성에 사용할 수 있는 마커개발을 위해 배추의 AOX 합성 관련 EST를 대상으로 '지부'와 '권심' 사이에서 다형성을 보이는 4개의 분자 마커를 개발하였는데 이러한 마커들은 연구자가 손쉽게 이용이 가능한 PCR 증폭 분자 마커이다. 이는 앞으로 배추작물의 AOX 유전자가 스트레스를 유발하는 환경 하에서 어떤 세포기작을 이끌어 내는 지에 대한 연구와 환경 내성 형질과 어떤 연관관계를 가지는지를 조사하는데 중요한 자료로 활용될 수 있으며 또한 환경 스트레스 저항성 배추 품종을 개발하는데 있어서 중요한 육종 도구로써 사용될 수 있다고 생각된다.

4. 배추 작물에서 이용 가능한 COS 마커 개발

가. 서론

COS(conserved ortholog set) 마커는 토마토 EST와 애기장대의 단일 조각 일치열을 찾아서 고안된 것이다. 토마토와 애기장대는 둘 다 쌍자엽식물이지만 1억-1억 5천년 전 초기 진화하여 각각 *Solanaceae* 와 *Brassicaceae* 에 속한다. 마지막 공통조상으로부터 분지해 진화가 일어났음에도 sequence와 copy number에서 비교적 안정적으로 남아있는 유전자들을 이용해 종간의 비교연구에 쓰일 수 있도록 마커로 개발한 것이다 (Fulton et al. 2002). 이처럼 COS 마커는 다른 과에 속해 상대적으로 유전적 거리가 먼 두 식물종의 공통된 gene을 이용해 마커를 만들었기 때문에 분류체계 안에서 가까운 종끼리의 비교연구보다는 거리가 먼 종끼리의 비교연구에 적합하다.

처음 COS 마커가 개발된 이후에 상추(*Lactucasativa*L.),해바라기(*Helianthusannuus*L.)의 EST를 애기장대와 비교해 192개의 프라이머가 개발되었는데 생태학상의 중요한 여러 종을 포함하는 *Asteraceae* 의 비교 연구와 계통분석에 이용하기 위해 상추와 치커리 등 8종에서 테스트되었다(Chapman et al. 2007).

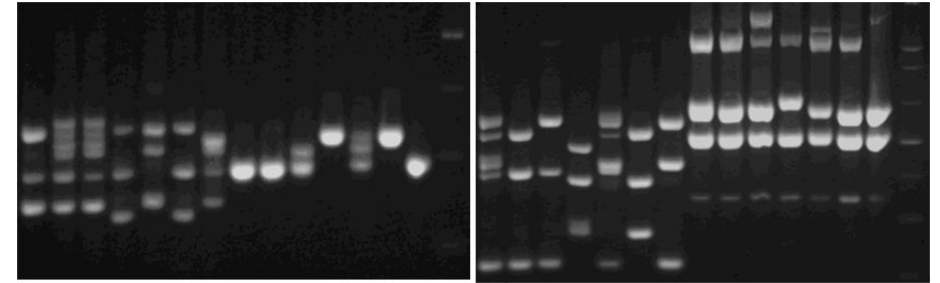
본 연구에서는 배추 작물에서 COS 마커 이용가능성을 알아보기 위하여 상추 및 치커리에서 사용된 범용 마커 중에서 보존력이 높은 10개의 마커를 선택하여 PCR 증폭하여 배추와 관련 종의 관계를 분석하였다. 이를 통해 배추 작물에서의 새로운 품종의 개발과 생물자원의 보존과 같은 연구에 매우 중요한 바탕이 될 수 있을 것으로 기대된다.

나. 방법

배추를 포함하는 십자화과 작물간의 유전체 비교 연구에 도움이 될 수 있는 COS 마커를 배추 작물에서 개발함으로써 다양한 마커 타입의 적용 및 유전적 다양성 연구에 도움이 될 수 있다. 본 연구에서 이용된 COS 마커는 Cahpman (2007) 연구팀이 이용한 유니버설 마커 중 10개를 선정해서 이용하였다. 10개 프라이머 페어는 Cahpman 연구팀이 사용한 8가지 genera, *Carthamus*, *Centaurea*, *Lactuca*, *Cichorium*, *Senecio*, *Artemisia*, *Helianthus*, 그리고 *Liatris* 에서 PCR 증폭이 가능한 프라이머 페어 중 선택되었다(표 11).

표 11. 배추 작물에서 이용 가능한 COS 프라이머 페어.

NO.	Sequences	At locus	At size	Lettuce size
A02-F	AGAATGCCMACYAAGGTTCTT	At3g47370	302	300
A02-R	TCAACACCRGGYTCAATGGTG			
A04-F	TCAGCYGGTGTTTAYCTKAAATCYGA	At1g09340	290	250
A04-R	TGGAAAAACCATTCTTCSACRGGGTTG			
A14-F	CATGGTCARATYTACATACCSGAGAT	At2g40540	362	300
A14-R	GARGCCGAGAAGTAGAG			
A19-F	CTAGAGAACACSGARGCTAACCG	At2g21330	288	400
A19-R	TGGCGAAAACGRGCACCYTGTGG			
A25-F	TTGCATGSTCTTATCAGTCC	At2g45740	311	400
A25-R	GAAGABCCCATCCARCAGAAGAG			
A31-F	GTTATTGGWGGTYTGGAGAAGAAAAC	At1g07510	296	200
A31-R	ACAATWGTCACYTTWAGCAACGGTTC			
A33-F	CATACTGGMGATGCTATTTYYCCRAATAC	At2g24765	306	250
A33-R	ATSAGAACMACMGCACCTTTCAAYTC			
A39-F	ACTAGTTGGCATTYTRATGGTAACA	At2g28315	311	550
A39-R	GCCRACAAAATTGAGCTGAAGATC			
A40-F	ATGCAAGGGAARCCSGAGTTTAC	At3g10340	320	500
A40-R	CTGAAGCTCVGARCARTAAGAAGCC			
A41-F	ACAGTGTGKAGCTYTATGCTG	At2g31610	333	350
A41-R	TGACCAGATGAHCCATGTAHCCATCCTTG			



A02 A04 A33 A40

그림 16. PCR 증폭되어 전기영동에서 다형성을 보이는 COS 마커

표 13. COS 마커를 이용하여 계산된 작물사이의 유전적 거리

Accession code	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>Brassica rapa</i> ssp <i>chinensis</i>	1.000						
2 <i>Brassica rapa</i> ssp <i>campestris</i>	0.488	1.000					
3 <i>Brassica narinosa</i> Bailey	0.400	0.422	1.000				
4 <i>Brassica oleracea</i>	0.184	0.135	0.173	1.000			
5 <i>Cichorium intybus</i>	0.353	0.273	0.220	0.117	1.000		
6 <i>Brassica juncea</i>	0.244	0.188	0.157	0.500	0.121	1.000	
7 <i>Brassica rapa</i> ssp <i>pekinensis</i>	0.405	0.463	0.590	0.188	0.333	0.146	1.000

다. 결과

1-1 세부 과제로부터 도입된 배추 및 여러 작물을 대상으로 COS 마커의 이용 가능성을 조사하기 위해 PCR 분석을 수행하였다(표 12, 그림 16).

표 12. COS 마커 분석을 위해 이용된 배추 및 여러 작물 종류.

Accession code	Accession number	Species	Name
1	26117	<i>Brassica rapa</i> ssp <i>chinensis</i>	Beijingchinggungmeymashaobaiche
2	26133	<i>Brassica rapa</i> ssp <i>campestris</i>	M-988
3	26147	<i>Brassica narinosa</i> Bailey	Heyxingniyao
4	26149	<i>Brassica oleracea</i>	Jongganshiwoo
5	26165	<i>Cichorium intybus</i>	Honggigi
6	26166	<i>Brassica juncea</i>	Junghwajienyiyeajieranjong
7	289001	<i>Brassica rapa</i> ssp <i>pekinensis</i>	Chiifu

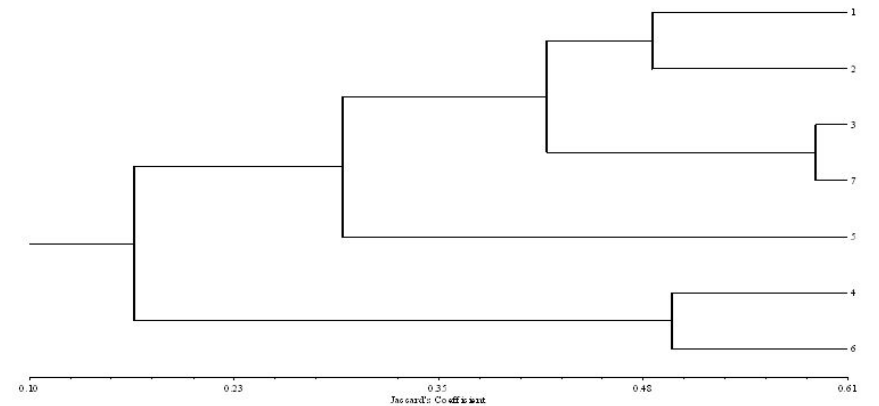


그림 17. 유전적 거리에 의한 UPGMA 그룹 분석

사용된 10개의 유니버설 마커는 애기장대의 COS EST를 이용하여 여러 식물 사이에서 보존된 exon 지역을 타겟으로 하고 또한 intron 지역을 포함하여 증폭하는 목적을 가지고 개발되었다. 이는 본 실험에 사용된 유니버설 마커는 애기장대의 단일 유전자를 대상으로 만들어진 것을 의미한다. 하지만 적용된 10개의 마커대부분이 배추과 종을 대상으로 3개 이상의 증폭 밴드 패턴을 보이는데 이는 애기장대와 배추과 작물이 분리된 후 배추의 게놈이 3배수로 증가되었다는 주장(Yang et al 2006)을 지지하는 결과로 생각된다.

증폭된 DNA 밴드를 대상으로 밴드의 유 무 에 따라 1, 0의 코드로 변환한 후 7 종의 유전적 관계를 조사해 보았다. 우선 Jaccard coefficient를 구하고(표 13) 이를 이용하여 UPGMA clustering을 수행하였다(그림 17). Brassica와 다른 genus인 Cichorium을 본 실험에 포함시킨 이유는 Cahpman 연구팀이 Cichorium을 이용하여 유니버설 마커를 분석하였으므로 Brassica에 유니버설 마커를 적용하면서 비교 종으로 포함하였다. 본 실험에 사용된 7종의 유전적 관계를 Jaccard coefficient를 통해서 보면 일반적인 예상대로 *Brassica rapa ssp chinensis*와 *ssp campestris* 그리고 *ssp pekinensis*가 가장 유전적으로 가깝게 나타났으며(표 13) 가까운 그룹에 그룹핑을 이루었다(그림 17). 이 rapa 그룹에 근접하게 그룹핑이 된 것은 *Brassica narinosa*였고 *Brassica oleracea*와 *Brassica juncea*에는 rapa 그룹과는 다른 그룹을 형성하였다(그림 14).

그룹핑과 유전적 거리 분석에서의 흥미있는 결과는 Cichorium에서 볼 수 있는데 다른 genus인 Cichorium이 그룹핑에서 *brassica oleracea*보다 rapa 그룹과 가까운 것으로 나타났고 Jaccard coefficient 역시 *B. rapa ssp chinensis*와 상당히 가까운 (0.465)로 나타났다 (표 13). 이는 *B. rapa ssp chinensis* 와 *ssp pekinensis* 와의 유전적 거리 (0.460) 보다도 더 가까운 거리로써 *Cichorium*와 *Brassica rapa*와의 유전적 관계를 좀 더 자세히 조사해 볼 필요성을 보여 주는 결과로 생각된다.

본 연구에 적용된 10개의 마커는 총 8개의 genera, Carthamus, Centaurea, Lactuca, Cichorium, Senecio, Artemisia, Helianthus, Liatris 을 모두 증폭한 마커 기준으로 선발되었으므로 (Cahpman et al 2007) 상당히 보존적인 염기서열을 타겟으로 primer 가 제작된 마커들로써 모두 Brassica 종에 적용이 될 수 있음을 확인할 수 있었다. 10개의 마커 이외에도 Cahpman 연구팀이 개발한 총 192개의 유니버설 마커중에서 Cichorium을 증폭하는 마커를 포함하여 더 선발한다면 더 많은 COS 마커를 Brassica 종의 유전관계 분석에 이용 가능하다고 전망된다.

5. 고온 저온 스트레스에 반응하는 배추 EST 마커 개발

가. 서론

경제적 가치가 높은 채소류 중에서도 배추는 온도에 대한 적응범위가 좁아 생육에 있어 재배온도가 많은 영향을 끼친다. 온도에 따른 스트레스가 배추의 생육에 영향을 미치기 때문에 온도가 배추의 수확량과 품질을 결정하는 중요한 요인이라 할 수 있다. 특히 지구온난화로 인한 대기온도의 상승은 호냉성인 배추의 결구력을 약화시키고 병충해 등으로 배추의 상품성을 떨어뜨릴 수 있다. 따라서 고온 스트레스가 배추 사업에 경제적 손실을 야기하는 중요원인이라 생각될 수 있다.

이러한 환경스트레스에 저항성을 가지는 품종을 개발하기 위해 배추 품종간의 유전적 차이를 분석할 필요가 있다. DNA 염기서열 분석 외에도 DNA 분자마커분석을 통해 비교적 쉽게 유전적 차이를 탐지할 수 있다. DNA 마커분석은 PCR을 기반으로 하여 RFLP, AFLP, RAPD, SSR 등이 있는데 특히 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)은 미세한 유전자 차이까지도 판별할 수 있어 유용하게 사용된다.

최근에는 작물의 생산성과 상품성을 증대시키기 위해 환경스트레스에 저항성을 가지는 우수작물개발과 육종시스템 구축에 초점을 두고 있다. 본 연구는 고온에 강한 배추품종 육성을 위해 고온 스트레스 저항성에 관련이 있는 유전자 관련 다형성 마커를 개발하였다. 여러 환경요인 중에서도 고온 스트레스에 반응을 보이는 분자마커를 개발한다면 고온에 강한 배추품종 개발을 위한 연구 자료로 활용될 수 있을 것이다. 이를 위하여 배추 유전자 칩을 이용한 고온 및 저온에 크게 반응하는 EST를 대상으로 다형성 마커를 개발하였다.

나. 방법

총 두 번에 걸쳐 30개 그리고 50개의 고온 및 저온 스트레스에 반응하는 배추 EST를 선발하였다. 30개의 EST는 배추 유전자 칩을 사용하여 지부와 권심에서 공통으로 저온과 고온에 반응하는 EST를 대상으로 하였다. 또한 EST를 애기장대 유전자와 비교하여 온도 스트레스나 oxidative 스트레스에 관여하는 배추 EST를 선정하였다 (표 14).

표 14. 고온 및 저온에 반응하는 배추 EST 선정 목록.

IH1	BRAS0001S00000575	권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH2	BRAS0001S00000648	권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH3	BRAS0001S00001774	LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH4	BRAS0001S00002096	oxidative stress반응 등의 stress 관련.
IH5	BRAS0001S00004500	cold와 salt stress에 response.
IH6	BRAS0001S00007487	기능이 모두 같은 7487, 10318, 7406, 11236, 10203, 8200, 8303의 multiple sequence alignment 결과, sequence가 거의 동일. Sequence의 길이가 7487과 11236이 가장 길이가 길었고, 그 중 LC과 HS에 증가하는 수치가 가장 높은 7487을 선택.
IH7	BRAS0001S00011162	권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH8	BRAS0001S00011873	권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH9	BRAS0001S00011983	기능이 모두 같은 6608, 11979, 11983, 12288, 12417, 12507의 multiple sequence alignment 결과, sequence가 거의 동일. 그 중 12288이 권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가. 공통된 여섯개 중에 11983이 가장 길어 11983을 선택.
IH10	BRAS0001S00013859	권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH11	BRAS0001S00013860	LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH12	BRAS0001S00014584	zinc finger transcription factor, 연구가치 있음.
IH13	BRAS0001S00019318	Heat shock protein binding/Heat shock 관련
IH14	BRAS0001S00019490	권심,지부 공통. LC과 HS에 공통으로 20배 이상 증가.
IH15	BRAS0001S00019907	Low temp. and salt response protein과 연관.
IH16	BRAS0001S00000375	LC에 20배 이상 증가.
IH17	BRAS0001S00001722	LC과 HS에 공통으로 8배 이상 증가. Cold regulated 78, Cold 관련 유전자.
IH18	BRAS0001S00001887	LC과 HS에 공통으로 9배 이상 증가.
IH19	BRAS0001S00004092	LC과 HS에 공통으로 9배 이상 증가.
IH20	BRAS0001S00010294	LC과 HS에 공통으로 8배 이상 증가.
IH21	BRAS0001S00011119	권심, 지부 공통.
IH22	BRAS0001S00011276	LC과 HS에 공통으로 9배 이상 증가.
IH23	BRAS0001S00011715	LC에 20배 이상 증가.
IH24	BRAS0001S00012083	LC에 20배 이상 증가.
IH25	BRAS0001S00014650	LC과 HS에 공통으로 9배 이상 증가.
IH26	BRAS0001S00014786	권심, 지부 공통.
IH27	BRAS0001S00016615	LC에 20배 이상 증가. LC과 HS에 공통으로 9배 이상 증가.
IH28	BRAS0001S00019266	핵산 binding, transcription factor, zinc ion binding 관련 유전자.
IH29	BRAS0001S00019458	LC과 HS에 공통으로 9배 이상 증가.
IH30	BRAS0001S00021461	HS에 20배 이상 증가.

각 EST 염기서열을 양 끝 부분을 이용하여 프라이머를 제작하고 PCR로 증폭하여 전기영동으로 확인하였다. IH3, IH8, IH11의 경우는 지부 DNA는 증폭을 하고 권심 DNA는 증폭하지 못하는 결과를 보여주어 우성 마커로 활용이 가능함을 확인하였다(그림 18).

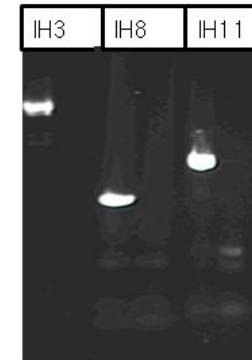


그림 18. IH3, IH8, 그리고 IH11 EST 프라이머 PCR 증폭 결과.

지부DNA와 권심 DNA에서 공통으로 증폭된 PCR 산물은 염기서열 분석을 하였고 in/del 또는 SNP가 발견된 EST의 경우는 dCAPS 방법을 활용하여 공동 우성 마커로 개발하였다(그림 19).

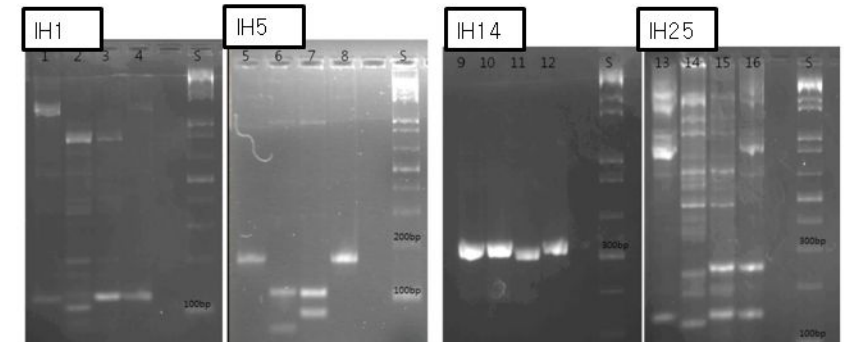


그림 19. IH1, IH5, IH14, 그리고 IH25 EST 다형성 염기서열을 이용한 공동우성 마커 개발

추가적으로 고온과 저온에 반응하는 50개의 배추 EST를 선정하였는데 선정 기준은 증가수치 15배 이상으로 선정하였다. 앞의 방법과 동일하게 EST 양쪽 끝의 염기서열을 이용하여 프라이머를 제작하였고 다형성 마커를 검사하였다. 우선적으로 아가로스 젤에서 다형성을 보인 마커는 HC7, HC14, HC24, HC29, HC42, HC43, HC40, HC44, HC48 이다(그림 20).

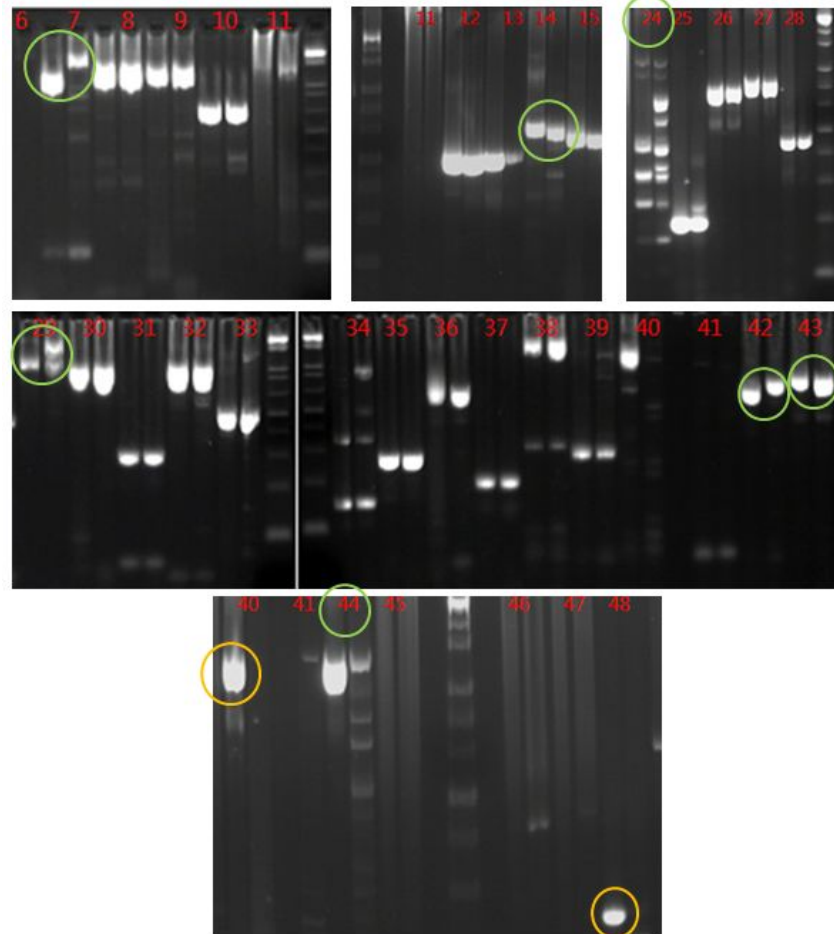


그림 20. 추가적으로 선택된 50 EST에서 다형성 분석 결과.

다형성을 보이지 않았지만 지부와 권심 DNA 모두 증폭한 PCR 증폭 DNA는 염기서열 분석을 통하여 in/del 또는 SNP 다형성을 확인하였다(그림 21).

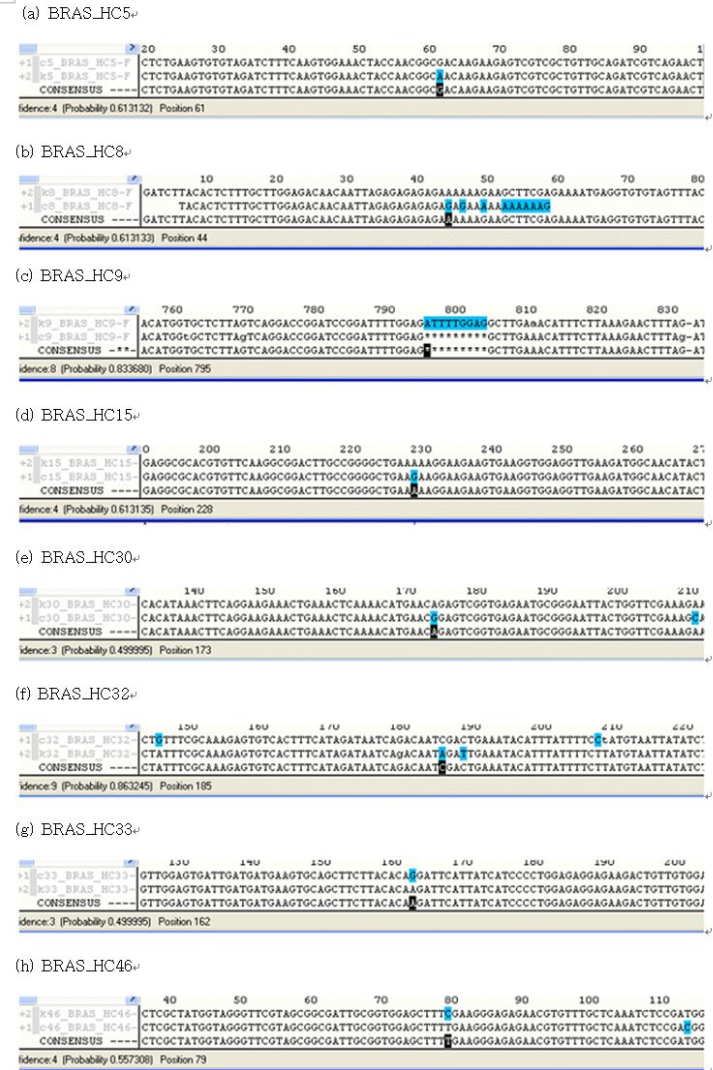
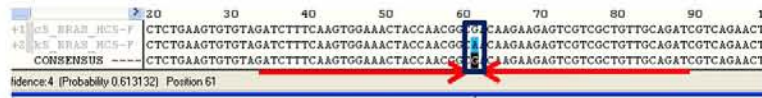


그림 21. 염기분석을 통한 EST 다형성 분석 결과.

in/del이 확인된 경우(예: HC8, HC9)는 in/del을 포함하는 주변 염기서열에서 프라이머를 제작하여 공동 우성 마커를 제작하였고 SNP를 보이는 경우에는(HC5, HC15, HC30, HC32, HC33, HC46)는 SNP 마커로 개발하였고 프라이머 제작 방법은 그림 22와 같다.

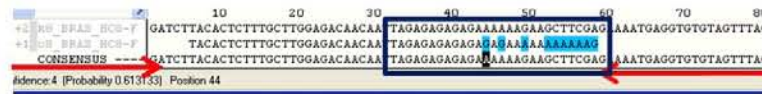
(a) In/del이 존재하지 않을 경우, SNP들 중 하나에서 바로 전후서열로 프라이머 제작.

예: BRAS_HC5



(b) In/del이 존재 할 때, 반복부위 전후서열로 프라이머 제작.

예: BRAS_HC8은 리버스 프라이머만 제작



예: BRAS_HC9



그림 22. in/del과 SNP 다형성에 대한 프라이머 제작 위치

HC8의 in/del을 타겟으로 제작된 프라이머를 사용해서 지부와 권심 DNA를 증폭한 결과는 그림 23과 같다.

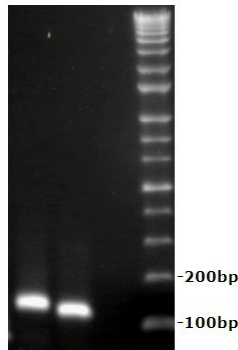


그림 23. HC8 공동우성 마커 분석 결과

SNP 다형성의 경우는 최신 분석 기술인 HRM 기술로 검사할 수 있도록 프라이머를 제작 하였다(표 15).

표 15. SNP와 In/del을 대상으로 다형성을 보여줄 수 있는 최종 프라이머 염기서열.

ID	Primer Sequence	Tm	bp
BRAS_EST_HC5-F	GAT CTT TCA AGT GGA AAC TAC CAA CGG C	60	28
BRAS_EST_HC5-R	GAT CTG CAA CAG CGA CGA CTC TTC TTG T	61	28
BRAS_HC8-F	GAT GTG TAT TCG TCA TCA TAA AG	50	23
BRAS_EST_HC8-R	GTA AAC TAC ACA CCT CAT TTT C	49	22
BRAS_EST_HC9-F	CGA TCA AGC GGT AAG AAA C	49	19
BRAS_EST_HC9-R	CTA AAG TTT AAG AAA TGT TTC AAG C	49	25
BRAS_EST_HC15-F	GGC GGA CTT GCC GGG GCT GAA	62	21
BRAS_EST_HC15-R	CTT CAA CCT CCA CCT TCA CTT CTT CCT T	60	28
BRAS_EST_HC30-F	CTT CAG GAA GAA ACT GAA ACT CAA AAC ATG AAC	59	33
BRAS_EST_HC30-R	CAG TAA TTC CCG CAT TCT CAC CGA CTC	61	27
BRAS_EST_HC32-F	GTC ACT TTC ATA GAT AAT CAG ACA AT	52	26
BRAS_EST_HC32-R	GAT ATA ATT ACA TAA GAA AAT AAA TGT ATT TCA	51	33
BRAS_EST_HC33-F	GTG ATT GAT GAT GAA GTG CAG CTT CTT ACA CA	61	32
BRAS_EST_HC33-R	CTC CTC TCC AGG GGA TGA TAA TGA ATC	60	27
BRAS_EST_HC46-F	GCG GCG ATT GCG GTG GAG CTT T	60	22
BRAS_EST_HC46-R	GAT TTG AGC AAA CAC GTT CTC TCC CTT C	60	28

고온과 저온 스트레스에서 반응하는 배추 80 (30+50) EST를 대상으로 다형성 마커를 개발 하였는데 이 중 24개의 EST에서 지부 권심간에 다형성을 찾았고 이를 대상으로 PCR로 검사 가능한 다형성 마커를 개발하였다. 이렇게 개발된 고온 저온 반응 EST 마커는 발현되는 유전자에 기초하고 있으므로 배추 작물의 환경 스트레스 저항성 연관 마커를 개발할 때 스트레스 저항성 표현형과 연관 관계를 분석함으로써 유전자 관련 마커로써 목표하는 환경 스트레스 저항성 유전자를 찾는 확률을 높여줄 수 있을 거라 기대된다.

6. HRM(SNP 분석 기술) 배추 작물에 적용

가. 서론

분자 마커는 최근 SNP 마커로 개발되는 추세이다. 이는 SNP 마커가 높은 다형성을 나타내기 때문이고 또한 최근 스크리닝 방법에서 high resolution melting curve analysis 기술을 사용하여 아가로스 젤 분석을 생략하고 PCR 증폭 DNA가 서로 가닥이 분리될 때 염기서열의 차이로 분리되는 온도차를 인식하는 형광분석 방법이 도입되고 있기 때문이라 할 수 있다. 본 연구는 기존에 개발된 SSR 마커의 HRM 분석 마커로 전환하고 또한 고온 저온에 크게 반응하는 EST 다형성 마커를 HRM 기술로 분석하여 쉽고 빠르게 맵핑 집단의 유전자형을 분석하는 연구이다.

본 연구에서는 두 가지 목표를 가지고 진행하였다. 첫 번째는 기존에 개발된 SSR 마커를 HRM 기반으로 스크리닝 가능 여부를 확인하는 것이고 지금까지 그리고 앞으로 개발될 SNP 기반 마커를 HRM 기술로 검사하는 것이다. 충남대학교에서 제공 받은 164개의 SSR 마커를 대상으로 현대종묘 계통 92, 93 간에 다형성을 아가로스젤과 HRM 기술로 비교 확인하였다 (그림 24와 25).

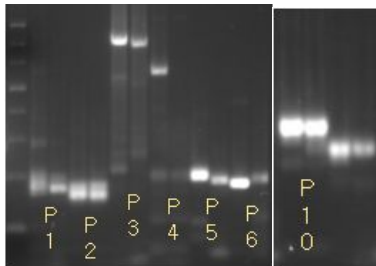


그림 24. 배추 SSR을 대상으로 아가로스 젤 전기영동 결과.

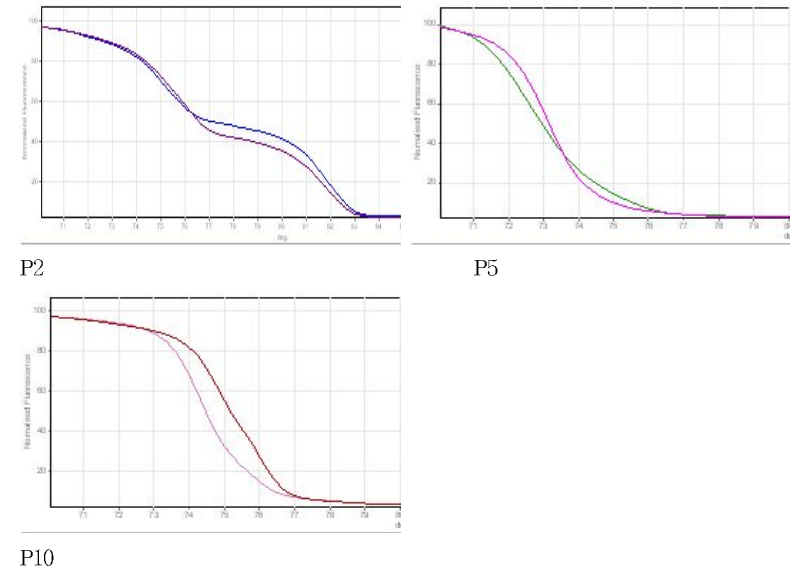


그림 25. P2, P5, P10 SSR 프라이머 페어에 대한 HRM 분석결과

아가로스 젤에서 크기 차이를 보이는 다형성 SSR 마커는 HRM 분석에서도 melting curve의 차이를 보여줌으로써 SSR 마커가 HRM 분석으로 스크리닝이 가능함을 확인할 수 있었다 (그림 24와 25: P5). 또한 아가로스 젤에서 크기 차이를 보이지 않는 SSR 마커 중에는 HRM 분석에서 melting curve의 차이를 보이는 결과를 확인할 수 있었다 (예: P2, P10). 따라서 아가로스 젤 분석을 생략하고 자동화된 HRM 분석 장비를 이용하여 배추 SSR 마커 분석이 가능하다고 판단되었다. 또한 아가로스 젤에서 분석이 불가능 했던 동일 크기의 PCR 증폭 조각이 HRM 기술로 분석이 가능하므로 더 많은 다형성 SSR 마커를 유전자 지도에 적용할 수 있다고 판단된다. 특이한 점은 아가로스 젤에서 다형성을 보인 SSR 마커가 HRM 분석에서는 다형성을 보이지 않는 경우가 많이 관찰 되었다. 이는 아마도 SSR 마커에 의해 증폭된 DNA 크기가 상대적으로 커서 몇 염기의 차이에 의한 melting curve의 차이를 HRM 분석 장비의 해상도로 구분이 안되는 것으로 판단된다. 따라서 이러한 현상을 보이는 SSR 마커를 HRM 분석 기술에 적용하려면 좀더 작은 크기로 PCR 증폭이 일어날 수 있도록 새로운 프라이머를 제작해야 할 것이라 판단된다.

고온 저온에 크게 반응하는 EST에서 확인한 SNP를 대상으로 HRM을 위한 프라이머를 제작하여(표 2) HRM 분석한 결과는 그림 26 과 같다.

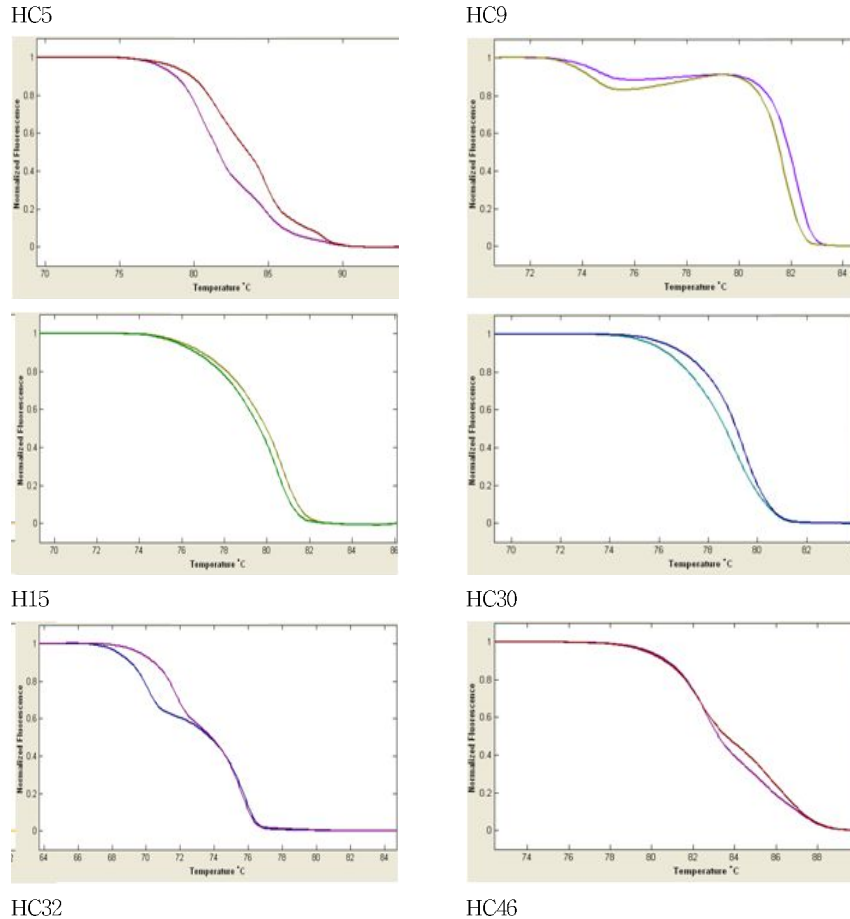


그림 26. 고온 저온에 반응하는 EST 중 SNP를 보이는 EST 대상 HRM 분석 결과

본 연구에서는 고온 관련 배추 EST를 대상으로 지부와 권심 사이에서 발견된 다형성을 보이는 SNP를 대상으로 HRM 적용 6개의 분자 마커(HC5, HC9, HC15, HC30, HC32, HC46)를 개발하였다. HC33의 경우는 melting curve 차이가 너무 작아서 마커로 활용하기에는 부족하였다. SNP를 대상으로 HRM 분석용 프라이머 제작은 PCR 증폭 크기를 100bp 정도로 제한함으로써 적은 수의 염기 차이에 의한 melting curve 차이도 구분이 가능함을 확인할 수 있었다. 앞으로 대량의 배추 SNP 마커 개발을 통해서 SSR 마커와 더불어 배추 유전체 연구를 진행해 나갈 계획이며 이렇게 개발된 분자 마커들은 앞으로 배추작물의 고온의 환경 스트레스 저항성 형질과 어떤 연관관계를 가지는지 연구하는데 중요한 자료로 활용될 수 있으며 나아가 환경 스트레스 저항성 요인 중 하나인 고온에 대해 저항성이 강한 배추품종을 개발하는데 있어서 중요한 육종 도구로써 사용될 수 있을 것이다.

7. 내서성 검증 시스템 구축

가. 서론

내서성 검증을 위한 장비를 동국대학교의 지원을 받아 구축하였다 (그림 27). 이 장비는 $-10^{\circ}\text{C}\sim 50^{\circ}\text{C}$ 영역에서 온도 조절이 가능하며, 크기는 $3.5\text{m}\times 2\text{m}$ 로 제작하였다. 추후 내한성 검증을 위한 성능까지 포함되었으며, mapping집단의 표현형 검증에 이용할 계획이다.



그림 27. 내서성 및 내한성 검증 장비.

나. 방법

내서성 검증을 위해 우선적인 예비실험을 지부와 권심을 이용하여 실시하였으며 내서성에 대한 저항성과 감수성을 아래 기준으로 표기하였다.

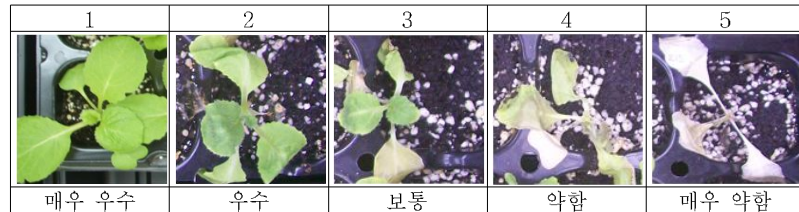


그림 28. 내서성 피해정도(1; 매우우수, 2; 우수, 3; 보통, 4; 약함, 5; 매우 약함)

발아한 지부와 권심은 sun shine mix4를 사용한 토양에서 성장하였으며 평균 조도는 9200LUX 였다. 25℃의 온실에서 생육된 후 내서성 검증을 위해 43℃온실로 옮겨 피해 정도를 측정하였다. 43℃온실에 옮긴 후에는 매일 아침 9시에 fan을 이용해 온실에 공기순환을 시켜주었다. 같은 조건에서의 지부와 권심이 내서성에 대한 stress 반응이 각각 달리 나타났는데, 그 피해 정도가 지부의 경우가 권심의 경우보다 더 빨리 심하게 나타났다.



그림 29 지부, 권심의 내서성 test 결과.

각 3월 11일, 3월 13일, 3월 22일에 과중한 지부와 권심을 사용해 3월 26일부터 실험을 시작했다. 과중 시기가 모두 다른 관개로 출엽수 또한 3 set 모두 달랐다. 각각 다른 생육시기 별로 test를 했지만 생육시기와 관계없이 그 결과는 지부가 권심에 비해 더 많은 피해를 입은 것으로 보였다. 이 결과로 보아 유포기에서 생육 시기 차이는 내서성 표현형에 크게 작용하지 않는다고 할 수 있다.

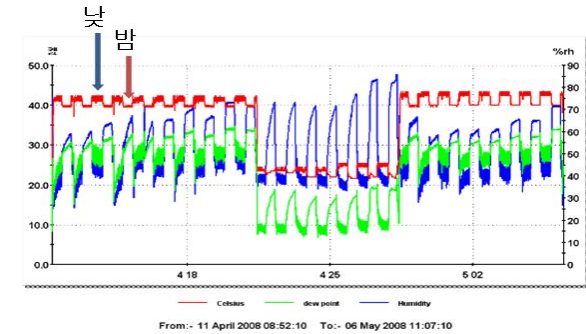


그림 30. 내서성 테스트 동안의 온도 및 습도 변화 그래프.

4월 11일부터 4월 21일까지의 43℃ test에서는 지부와 권심을 이용한 예비테스트와 현대종묘종자를 이용한 1차 테스트가 함께 실시되었고, 4월 29일 부터의 43℃는 현대종묘 종자를 이용한 2차 테스트의 온도와 습도 그래프를 나타낸다.

그림 30를 보면, 낮의 온도는 평균 43℃정도를 나타내었으며, 밤의 온도는 약 40℃ 가량으로 차이가 난다. 밤의 온도가 낮의 온도보다 약 3~4℃가량 낮게 측정되었다. 이유는 밤의 암주기(pm 20:00 - am 08:00) 동안 꺼지는 조명의 영향으로 약 3℃ 정도의 차이를 보이는 것으로 보인다.

다. 결과

최종적인 내서성 검사 조건은 다음과 같다. 재배조건: 발아 후 25℃에서 9200 LUX 조도 (8AM - 8PM). 토양 Sunshine mix4. 내서성 처리 조건: 7-9일간 평균 43℃, 2700 LUX (8AM - 8PM), 평균습도 47%.

지부와 권심을 이용한 우선적인 예비 실험을 하는 동안 현대종묘에서 제공받은 품종 또한 예비 검증을 하였다. 총 15종의 배추종자를 이용해 2번에 걸쳐 내서성 test를 하였다. 현대종묘 품종은 지부와 권심의 test와 마찬가지로 모두 25℃에서 생육되었으며, 암주기는 pm 20:00 - am 08:00 까지였으며, 조도는 평균 9200LUX 이다. 토양은 sunshine mix4를 사용하였다. 25℃

생육을 마친 후 45℃ 온실로 옮겼으며 내서성 test를 한 온실의 경우 온도는 43℃, 습도는 평균 47.5%, 압축기는 pm 20:00 - am 08:00이며, 조도는 평균 2700 LUX이다.

- 검사 1

- * 4월 3일에 파종을 해 25℃ 온실에서 생육기를 거친 후 4월 11일 오전 9시에 43℃ 로 내서성 검사를 시작했다.
- * 그림 13은 시간이 지남에 따라 배추의 변화를 보여준다. 두 번째 사진은 4월 20일 최종 사진이며, 그 결과로 내서성 표현형 정도를 스코어링을 하였다.



그림 31. 현대종묘 내서성 예비 test 1의 결과.

- * 43℃ 처리를 시작한 지 약 6일 후 부터 내서성 피해가 눈에 띄게 나타났으며 4월 20일 에서는 저항성을 나타내는 것과 감수성을 나타내는 것들 사이에 차이가 확연히 나타났다.

- 검사 2

- * 검사 1을 종료한 후 동일한 조건으로 반복하여 검사 2를 실시하였다. 현대종묘 종자를 이용한 두 번째 set는 4월 22일 파종을 했으며, set1과 동일한 조건의 25℃ 온실에서 생육을 거친 후 4월 29일 43℃ 온실로 옮겨 그 변화양상을 관찰했다. 그림 32는 5월 2일 과 6일에 관찰한 결과를 보여준다.



그림 32. 현대종묘 내서성 검사 2 의 결과.

* 현대종묘에서 분양 받은 종자를 이용한 내서성 검사의 결과를 정리한 표는 다음과 같다.

표 16. 현대종묘 품종 내서성 검사 결과.

기호	식물 번호	현대종묘번호	내서성°	검사 ¹		검사 ²	
A-1	a-206	HS-5-G7	강	2	강	2	강
A-2	a-207	HS-6-2	강	3	중	5	약
A-F1	a-208	F1	강	1	강	2	강
B-1	a-209	HJ-1-0	강	5	약	5	약
B-2	a-210	HJ-2-A0	강	2	강	2	강
B-F1	a-211	F1	강	1	강	1	강
C-1	a-212	CG-A0-1	약	4	약	4	약
C-2	a-213	CG-0-0	강				
C-F1	a-214	F1	중강	4	약	2	강
D-1	a-215	CJ-0	약	5	약	5	약
D-2	a-216	CJ-G4	약	3	중	3	중
D-F1	a-217	F1	약	3	중	2	강
E-1	a-218	ST-1-0	약	5	약	4	약
E-2	a-219	ST-10-0	약	4	약	4	약
E-F1	a-220	F1	약	2	강	2	강

표 6의 내서성°은 2-6 과제 현대종묘에서 자체적으로 조사한 내서성 표현형 결과이며, 검사 1과 검사 2의 결과가 각각 본 과제에서 수행한 내서성 실험 결과를 나타낸다. 식물번호 A-213은 발아하지 않음.

검사¹과 검사²의 내서성을 표현하는 숫자는 내서성 검증을 위해 앞에서 언급한 내서성 표현형 스케일을 사용하였다 (그림 28). 표기한 것을 토대로 내서성에 대한 표현형을 강, 중, 약으로 표현하였다.

검사¹과 검사²의 결과 중 현대종묘의 내서성 검증 결과와 유사성을 보이는 것이 많았고 또 전혀 다른 결과를 보인 품종도 있다 (예: 식물번호 A-209). 하지만 너무 적은 수의 개체를 이용한 예비 테스트 이므로 앞으로 정확한 내서성 검증을 위해서는 좀 더 많은 수의 개체 및 반복 검사가 필요하다. 지금까지 시험한 결과를 토대로 유전자 지도와 내서성 연관 마커 개발을 위해서 제안되는 교배는 A206 x A215 와 A210 x A209로 생각된다.

(1) 포장에서 내서성 검사

내서성 연관 마커를 개발하기 위하여 지부와 권심, 그리고 현대종묘 내서성 연관 계통인 92와 93을 대상으로 맵핑 집단을 만들고 맵핑 집단을 대상으로 내서성 표현형을 검사하여 추 후 유전자 지도에 포함된 분자 마커와 연관검증을 통하여 내서성 관련 형질의 위치를 유전자 지도에 표시하는데 목적이 있다. 최종적으로는 내서성 형질에서 가장 가까이 위치하는 분자 마커를 찾고 육종에 이용 가능한 내서성 연관 분자 마커를 개발하는 것이 목표이다.

현대종묘 온실에서 지부와 권심, 92와 93의 내서성 표현형 결과 및 맵핑 집단 내서성 표현형 검사 계획: 맵핑 집단의 부모 계통인 지부와 권심, 92와 93의 내서성 표현형 정도는 그림 8과 같다. 92x93교배로부터 얻어진 F2 집단의 내서성 표현형 검사는 6월부터 8월에 걸쳐 진행되었다.



지부

권심



92

93

그림 33. 지부와 권심, 현대종묘 내서성 연관 계통 92와 93의 내서성 표현형 검사 결과

8. 내서성 연관 마커 개발 (지부 x 권심 교배 RIL 집단)

가. 서론

본 연구는 본래 지부와 권심 배추 계통을 대상으로 내서성 연관 마커를 개발하기로 계획이 수립되고 진행되어왔다. 하지만 연구 3년차부터 2-6과제 현대 종묘에서 바로 이용이 가능한 마커를 개발하기 위해 현대종묘 계통을 이용한 내서성 마커를 추가 적으로 개발하기로 연구내용을 변경 후 지부 권심을 이용한 유전자 지도 외에 추가적인 연구를 계속 수행하였다. 하지만 제한된 시간과 연구인력 및 연구비용으로 두 가지 유전자 지도 집단에 대한 내서성 연구를 성공시키는 어려움이 있다고 판단되었다. 하지만 이미 진행되어온 연구 결과로 생산한 지부와 권심 교배 RIL 집단의 증자를 이용하여 내서성 표현형 검사를 수행하였다.

나. 방법

충분한 증자를 생산해 내지 못했지만 지부와 권심 교배로부터 RIL 49 계통별로 8개체를 파종하였다. 이 중 3개체 미만으로 발아된 계통은 생존율 측정에서 제외 되었다. 최종적으로 43 RIL 계통과 지부, 권심이 본 내서성 생존율 조사에 포함되었다. 생육 조건은 2011년 2월 28일에 파종하여 발아까지 섭씨 30도를 유지 하였다. 광 조건은 오전 8시에 40w 형광등 4개를 이용하여 평균 조도는 7700 lux 였다. 광 주기는 오전 8시부터 오후 8시까지로 하였다. 발아 후 온도는 25도 셋팅으로 생육상을 조절하였으나 빛이 있는 시간은 평균 섭씨 25.5도 였고 빛이 없는 저녁에는 22.5도가 유지 되었다.

습도는 낮 동안 64%, 밤 동안 67% 정도를 유지하였다. 배추 작물이 본엽을 3개 이상 가지는 시점에서 고온 처리를 시작하였다. 고온조건은 2011년 3월 21일에 시작하였고 온도는 섭씨 43도 셋팅으로 생육상을 조절하였으나 실제 온도는 낮에 41도와 밤에는 40.5도를 유지 하였다. 고온 처리 동안에 습도는 낮에 72% 그리고 밤에는 80%를 유지 하였다. 고온처리 직전의 배추 생육상태와 고온처리 5일 후 내서성 생존율을 측정하였다 (그림 34, 그림 35). 내서성 생존율은 아래 그림 조건과 비교하여 결과를 기록하였다. 생존은 1, 죽음은 0으로 표시하여 생존율을 계산하였다.



생존(1) 죽음(0)

그림 34. 고온 (41도)에서 5일간 처리 후 생존과 죽음으로 표시한 예.



고온처리 전



고온처리 5일 후

그림 35. 고온처리 전 배추 생육 상태와 고온처리 5일 후 배추 생육 상태.

표 17. 배추 지부와 권심 교배 RIL 집단의 41도 고온 처리 5일 후 생존율.

식물번호	생존율	식물번호	생존율	식물번호	생존율
SSD002	0.40	SSD090	0.33	SSD370	0.67
SSD009	0.83	SSD107	0.88	SSD372	0.43
SSD011	0.13	SSD108	0.88	SSD184	1.00
SSD045	0.29	SSD125	0.71	SSD214	0.88
SSD012	0.50	SSD080	0.50	SSD222	0.43
SSD043	0.71	SSD129	0.88	SSD266	0.71
SSD376	0.50	SSD138	0.25	SSD219	0.50
SSD267	0.75	SSD147	0.33	SSD175	0.29
SSD117	0.88	SSD150	0.25	SSD191	0.75
SSD148	0.25	SSD312	0.38	SSD295	0.50
SSD106	0.57	SSD353	0.25	SSD307	0.71
SSD111	0.33	SSD357	0.33	SSD321	0.38
SSD193	0.25	SSD030	0.00	지부	0.43
SSD073	1.00	SSD332	0.88	권심	0.71
SSD076	0.50	SSD360	0.63		

지부와 권심의 생존율은 각각 0.43과 0.71로 내서성이 상대적으로 약한 지부의 생존율이 권심에 비해 낮은 것으로 확인되었다 (표 17). 또한 RIL 집단의 중 SSD073, SSD184의 경우는 모든 개체가 생존하여 100% 생존율을 보였고 SSD011, SSD030의 경우는 0.13과 0.00의 생존율로 내서성에 가장 약한 표현형을 보여주었다. 이렇게 보인 생존율은 지부와 권심 RIL 집단을 대상으로 만들어진 유전자 지도에 QTL 분석을 통하여 가장 연관성을 보이는 마커를 찾는 데 이용이 가능하다.

(1) 내서성 연관 마커 개발

내서성 표현형과 분자 마커와의 연관성을 알아보기 위하여 내서성 표현형 검사에서 얻은 RIL 집단 내서성 생존율 데이터를 RIL 집단 유전자 지도에 연관성 분석을 수행하였다. QTL 연관성 분석은 WinQTL cartographer v2.5를 사용하였다. 분석 기능 선택으로는 LOD >2.5 으로 설정하고 CIM 분석을 수행하였다. 내서성과 연관된 QTL 분석 결과는 총 3개의 연관 그룹이 내서성과 연관성을 보였다.

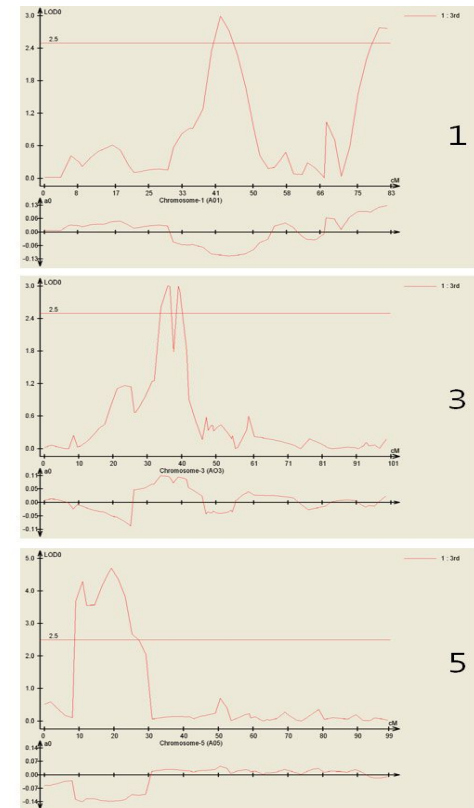


그림 36. 연관그룹 1, 3, 그리고 5에서 내서성과 연관된 QTL 분석

표 18. 내서성에 연관된 QTL 유전자 지도 분석

Linkage group	Marker	Position	LOD Score	Additive	Dominance	R ²
1	10	42.11	2.9911	-0.1104	0	0.1259
1	18	80.12	2.7816	0.1199	0	0.1482
3	15	35.94	3.0097	0.1028	0	0.1329
3	18	38.94	2.9969	0.0989	0	0.1235
5	4	10.92	4.2932	-0.1362	0	0.2242
5	7	19.19	4.7063	-0.1331	0	0.2298

총 6개의 분자 마커 위치에서 내서성과 연관된 QTL 위치가 얻어졌다. 연관 그룹 1번에서 마커 번호 10번 과 18번(마커 위치는 42와 80)에서 연관성이 검색되었으며 이 중 10번 마커는 음성 가역적 효과를 보였다. 10번과 18번 마커로 내서성 표현형에 대해 12.6%와 14.8%의 효과를 보인다는 결과를 얻을 수 있었다.

연관그룹 3번 역시 15번 과 18번 마커에서 내서성과 연관을 보였다. 두 마커 모두 양성 가역적 효과를 보였으며 두 마커의 내서성 표현형에 대한 효과는 13.3%와 12.3%로 설명될 수 있다. 마지막으로 연관그룹 5번의 경우 상대적으로 높은 LOD 값을 보이는 4번 과 7번 내서성 연관 마커를 보였는데 두 마커 모두 음성 가역적 효과를 보였고 내서성 표현형은 각각 22.4%와 23%를 설명할 수 있다고 분석되었다.

본 연구를 통하여 배추 작물에서 내서성에 연관된 분자 마커를 처음으로 확인하였다. 하지만 지부, 권심 교배 RIL 집단의 종자 확보에 어려움이 있어서 반복 내서성 표현형 검사를 수행하지 못하였다. 따라서 연구가 종료된 후에도 추가적으로 종자가 확보되어 있는 지부, 권심 교배 DH 집단을 이용한 mapping 집단 내서성 표현형 검사를 수행할 예정이다.

9. 내서성 연관 마커 개발 (92 x 93 교배 F2 집단)

가. 서론

분자 마커 종류 중 SSR 마커는 genome내에 존재하는 보통 13bp이하인 짧은 염기서열이 반복되는 특정 부위에 대하여 염기서열 분석하고 primer를 제작하여 유전자형에 따른 단순 염기서열의 차이를 분석하는 방법이다. 개체마다 반복되는 염기의 수가 다른 경우가 많아 그에 따른 다형성을 가지기 때문에 marker로 사용된다. 이 방법은 비용이 적게 들고, sequence 정보가 필요하지 않으며, 대립유전자의 수가 많이 검출되어 품종 및 개체간에 다형성을 보이는 빈도가 높고, 특히 marker가 co-dominant로 분리되기 때문에 품종 식별과 유전적 유연관계 분석, 유전자 지도 작성 등에 적합한 방법으로 알려지고 있다.

배추 작물 유전체 연구는 주로 SSR 마커를 기반으로 지부와 권심간의 교배에서 형성된 맵핑 집단을 대상으로 연구되어 왔다. 따라서 본 세부과제 역시 지부와 권심 교배로 만들어진 맵핑 집단을 대상으로 내서성 연관 마커 개발을 계획하고 추진해 왔다. 하지만 마커가 개발된 후 바로 육종회사에서 사용 가능한 마커로 개발을 추진하기 위해 3년차부터 현대종묘에서 내서성 품종 육성에 사용하고 있는 내서성 연관 품종인 92와 93 계통을 대상으로 내서성 연관 마커 개발 목표를 수정하였다.

따라서 2-6세부과제를 수행하는 현대종묘와 협조하여 92와 93 계통을 교배한 맵핑집단을 형성하고 본 과제에서는 92와 93 계통간의 다형성 마커를 개발하는데 주력하였다. 우선적으로 1-1세부과제에서 대량으로 개발하고 있는 SSR 마커를 위주로 92와 93 계통간의 다형성 마커를 개발하는데 목표를 두었다. 이는 추 후 배추의 유전자 지도의 기본이 되는 지부와 권심 교배 유전자 지도와 비교가 가능하도록 지부x권심 유전자 지도에 사용된 SSR 마커를 선별하여 진행하였다.

나. 방법

충남대학교 임용표 교수님 연구팀(1-1세부과제)에서 제공받은 164개의 SSR 마커를 현대종묘에서 제공 받은 92와 93 계통의 DNA와 PCR 반응 하였다. 자세한 PCR 방법은 다음과 같다. CTAB method를 이용하여 얻은 '92', '93' DNA를 각각 충남대에서 온 SSR maker의 primer를 이용하여 PCR 증폭을 하였다. PCR 증폭에 사용된 모든 시약은 솔젠트 회사의 e-taq kit를 사용하였다. 각각의 총 볼륨은 15μl로 10mM dNTP 0.3μl, 10x buffer 1.5μl, taq polymerase 0.4unit으로 0.1μl, Forward primer, Reverse primer는 각각 1μl, DNA는 5μl(9ng/μl)를 사용하였다. 증폭은 95℃에서 10분 후 93℃에서 30초, 50℃에서 60초, 72℃에서 60초 과정을 50회 반복하고, 72℃에서 7분 후 종료 또는 5℃에서 보관되었다. 2% 아가로스 젤에서 220볼트로 3시간 전기영동 후 증폭된 DNA 크기 차이를 비교하였다.

내서성 연관 마커 개발을 위해 RAPD 마커와 SSR 마커를 이용하여 유전자 지도를 작성하였다 (그림 xx). 152개의 RAPD (A01~Z20) 프라이머와 24종류의 SSR 마커(1-1세부 제공)를 이용하여 F2 집단의 유전자형을 조사하였다. PCR 증폭은 총 15μl에 30ng의 DNA와 0.05μM 프라이머 2μl (SSR의 경우 각각 1μl 프라이머), 1.5μl의 PCR버퍼, 10mM의 0.3μl dNTP, 1 유닛의 Taq 증폭효소를 사용하여 수행되었다. RAPD 경우: 93도에서 15초, 36도에서 1분30초, 72도에서 2분의 주기로 50회 반복 증폭하였다. SSR의 경우 93도에서 30초, 50도에서 1분, 72도에서 1분의 주기로 40회 반복 증폭하였다.

유전자 지도는 JoinMap4.0에서 Haldane mapping function을 이용하여 작성하고 QTL분석은 MAPQTL5.0을 이용하여 Multiple QTL model방법으로 분석하였다. 2-6세부과제 연구팀 현대종묘에서 이용이 가능한 내서성 연관 마커를 개발하기 위해 3년차부터 배추 계통 중 내서성 계통 '92'와 감수성 계통 '93' 교배하여 F2 집단을 현대종묘와 협동으로 양성하였다. 내서성 표현형 검사를 위해 종자를 과종하여 성장상 안에서 22도, 8시간 조명조건에서 약 16일 간 성장시키고 본엽을 3개 이상 가질 때 43도에서 약 7일간 고온 스트레스를 주었다. 스트레스 후 22도 조건에서 약 3일 동안 회복 기간을 가진 후 고온 피해 정도를 측정하였다.

다. 결과

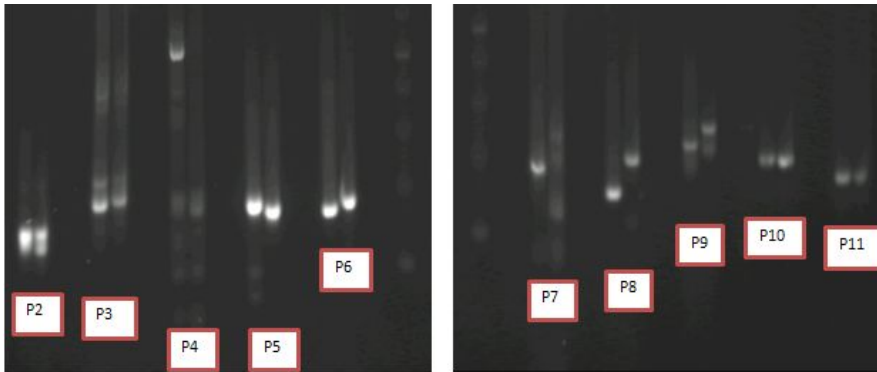


그림 37. 2% 아가로스 젤에서 다형성을 보이는 SSR 마커

표 19. 충남대에서 제공받은 SSR marker의 Primer의 목록과 서열.

Primer number	Primer	
	Forward	Reverse
cnu_m008a	P1 GTTGCTGGGCTTGCACTTAT	GAGCGTACCAGCAACCTCTC
cnu_m016a	P2 GGTGAATGGAATCTTGCTTGA	CCCAACAATCCCAGAAACAC
cnu_m020a	P3* GGCTCTCCTCATCGTCAAAA	AATTCGGATTGCGCAAAAAC
cnu_m029a	P4 TACCATTGGTGTCTCCAG	TCGTTCTCGAATGTGAATTGTC
cnu_m030a	P5 GAAACAATATTTAAAAATCAGACCA	TGGAACAATCCGTA AAAACTATGC
cnu_m034a	P6 TCACCGCATAATTTGATCC	CCCTCTCAACAAGGTATGC AA
cnu_m037a	P7 CCTAGTTCTTGCACATCATGC	TTGTCTTTCAGATTGAAAACCTCG
cnu_m038a	P8 GGCATGTGTC AATGAGTTGG	CTCCCACTCCTCCATTCAAC
cnu_m044a	P9 TGTTTTGATCTTTACTGTTTTGGA	AATGTTTTATATCACTATTGCCAAAT
cnu_m046a	P10 GCTAAAGGTTTAGTCCAATAGGATTC	GCAAAATGATGCCCATAAA
cnu_m050a	P11 AGCCCAAGCTCGTATTCCTT	AAAATCGGGACAACCACCTA
cnu_m052a	P12 GGAATCCTACGGAAGAGCAA	AAGGTACCGTGGCAGTGAG
cnu_m062a	P13 ATCGGCGCTGTTATGTCA	CTAGGCTGCCCTTCCGATT
cnu_m068a	P14 CCATATGACTAATTGACACTTTTGAA	TTCCCGAAAAGTCTTCTTGG
cnu_m098a	P17 TGGCAGCCAAAGTAGGTGAAAC	TGTCTCTCGTCAATCATCCAA
cnu_m100a	P18 AAAGTTCACACAAATGATTTGATATT	TTTTCTAGGAATGGTCCAAACTT
cnu_m114a	P19 AGTCGGAGGAAACGCGAAATTA	CGAAATAAGACAGACAGAGACATCCA
cnu_m119a	P20 ACACCTACTGTTTCCATCCAAAT	CGGGTATTTGCGTGTGTTTCC
cnu_m132a	P21 CCATGGCCTCTCGATTGCT	CCAACGGAGTGTCCCAATC
cnu_m139a	P22 TCAAGCGCAACAACATTGG	TGGTGTAGGGTTTAAAGTTGTGG
cnu_m142a	P23 GACCTTCGGTTCAGGGTATGG	CTGAACGGTCAATTTGTTTGG
cnu_m148a	P24 CACAAAGCATTCTACCATAGCAAAGTC	TGCACATATGGCATGTTGTTTG
cnu_m157a	P26 CCGCAGTTGATCCATTAGCC	ACGCTGCATCCACATGAAAC
cnu_m172a	P27 GGAATGGAACACCGGATTAGC	TCGGATCTGATTTGTCGGATTT
cnu_m173a	P28 TGTAATCCATTATTTCCGACTAACCT	CCGCATTTTAAAAACGTGAGAAA
cnu_m179a	P29 TGGTTACACCTAGTTCCTTGCACTC	GGCCTTTGCCCGTTTATGTTTTA
cnu_m182a	P30 TTCATCACCGTCTTATGTTGTGC	GGCAGGTGGAATATGTGGAAT
cnu_m207a	P31 GGACCCGGAATACCTCAAAGA	CATCAATAGCTCCGACACAATCC
cnu_m211a	P32 TGTAAGTTGTGCAAGGATTGTG	TGGGTTTGTGAAAATAGGTGAAA
cnu_m215a	P33 CCAACCATTTCTGTTAGTCAACC	TTACGCATGTACCTGCATAAAA
cnu_m220a	P34 ATCAGAACCGAATCCGACCA	CAATGGTTGCAATGTTATTGGA
cnu_m225a	P35 TTGCGTTTTCTCGTCTCAA	CCCCGAGATAAATGGCACAC
cnu_m241a	P36 AATGCTGTGCCATGACCAA	CGGGCATCCACCTAATTTGT
cnu_m246a	P37 AAAGCCATCCATCCATCAAGC	GATGCAACATTTGACTGTGTTAGAGC
cnu_m252a	P38 TGAAAATCAACACGAACACACAGA	CTCGTGGGGGAATGAGTGAG
cnu_m254a	P39 AAGCTTGAGCTTCCAGCCTTC	ATCAGTGCCGGCCTTGAATA
cnu_m263a	P41 GAGGAAGTACGGCAAGAAACCA	AGGACACATGTCCACATGAAAA
cnu_m268a	P42 TCATTGGTGAAGAACCACAAA	GCGACCATAAAAAGAGAGTGAGAA
cnu_m273a	P43 ATAAGGGCATCGCCTCAACA	TGCACGCATCCACATAAACA
cnu_m277a	P44 GCCATGAGCATTGCGTTAGG	TGAACCTCGTGGTGGATTGACGA
cnu_m280a	P45 TGTTACCACAGGAACCGTTCAA	CTTGGGCACACCATCATCTC
cnu_m286a	P47 AGTTGCCCTTATCATGCAC	AATGCGTTTATGTTGGGATA
cnu_m288a	P48 GCGTTTTGCTCCTCTCTCAC	TTACCCACTTGGCTTCTATC
cnu_m289a	P49 CCCTGGACTCCGTTTATCT	GATCTACGACGATCGGATGC
cnu_m293a	P50 AAAAAGAAATGGATATTGTGTGAAA	CCTGGATCAAGCACCGAAG
cnu_m295a	P51 GCTGCCTAATAGGGTGTCTG	AGAGCGCATTCAAGTCTGTT
cnu_m296a	P52 TCTCGTCTCTGAATTGTG	TTGTGAAATCAAGCAAAAAGG
cnu_m308a	P54 GTTTGGGCCATCATGAAAA	TGGTTGCAAAATGTCACAGAA
cnu_m310a	P55 GGCAGGTGGAATATGTGAA	GCACATCATCATCAAAACAGAAC
cnu_m318a	P56 TTATCAACATATTTCAATCATTCCA	GCTTTGGACTATGCTTCAAAGTACG
cnu_m320a	P57 TTTTTCTTTGGCTTAAACTGA	GCCAAGGCCACAAGATAACAT
cnu_m321a	P58 TTGAATAATGACCCCAAATATCA	TCAATAGGTATTAACCAATTCTACCG
cnu_m324a	P59 TTTTCAACTCCACATGCAC	TGGGATGTGCCAAATGTTT

cnu_m327a	P60	<u>TTCTTGACCAAAAGAATCATGG</u>	<u>CTAACACGGGGAAAAGCAGA</u>	nia_m015a	P123	<u>GCTGGTTCAGCTAATGGTTAC</u>	<u>TGAATTTATGAGATTGCGATTGG</u>
cnu_m332a	P61	<u>TCGAACCGAAGTAAATACGGACT</u>	<u>TTTCGCCCACTGACGCTATT</u>	nia_m018a	P125	<u>ACAATTGTTCTAGGCGTTCAAAA</u>	<u>ATCAGTATCCTGGTCTGGTTCA</u>
cnu_m338a	P62	<u>GCAACGATGAATCCCTAAACGA</u>	<u>AAATCCTCCCACTGTTCCGAT</u>	nia_m022a	P126	<u>CTCTGCTCCTCGGAGGATCTAAA</u>	<u>GTGAGATGGTGTGCTGAGTGAG</u>
cnu_m354a	P64	<u>AAAGAAAACAAAGTGTCTATTGCTCA</u>	<u>TCTACCGTGAACAGAGTTTTT</u>	nia_m027a	P127	<u>TTCTGATACTGTAAGTAATTTTTGG</u>	<u>GAACCAAGGTGAACCGATCC</u>
cnu_m356a	P65	<u>CGCATTTTTCGCCGTCATTA</u>	<u>ACATCAGGCCGTCCCACTAA</u>	nia_m030a	P128	<u>GATCATAAAGCCGAAAAAGGTTG</u>	<u>TGCTCTCCTCAAGTGAATCAAA</u>
cnu_m360a	P66	<u>ATCAGTGCCGGCCTTGAATA</u>	<u>AAGCTTGAGCTCCAGCCTTC</u>	nia_m032a	P129	<u>TTCTCCCCATCCTCTCATGTTA</u>	<u>ACCCACAACCAACAAAATCTTC</u>
cnu_m362a	P67	<u>CCTCTGCTGAAGGAGGCAAA</u>	<u>AGGTGGCTCTAGCGGAAGT</u>	nia_m034a	P130	<u>GTGCAAGTCAGTGCCAAAAGA</u>	<u>CTCGGTGGTGTAGTGAAGGT</u>
cnu_m364a	P68	<u>ACCTGCCACCCTGTCAAAAC</u>	<u>GCACTAACCCCTCTCCCTC</u>	nia_m035a	P131	<u>TGCATTAACGTAGCCACAAA</u>	<u>GCAGTCCCATCCCTTAATGA</u>
cnu_m371a	P69	<u>TTTTTGGGTTTTCTCTCAAAATGC</u>	<u>ACTCCAGCGAATTTGGCTTT</u>	nia_m036a	P132	<u>CTGGCGTCAGTCACTACAA</u>	<u>AGTCTACCCAAATGCGGACA</u>
cnu_m372a	P70	<u>CCAGTGCCAAATCAGAAACC</u>	<u>TGATGGAGAGTGGTGTGTC</u>	nia_m037a	P133	<u>GCGGTTAATAGGTTCCGGTT</u>	<u>CCAATTCATCGATCTGTCA</u>
cnu_m377a	P71	<u>TCAGTTGTCCGATCGTCTATG</u>	<u>CACATTATCTTCTTTGAAGTTGTTG</u>	nia_m038a	P134	<u>GGGCCAAGTTACATGGAAAA</u>	<u>GAAGGAGGATGAGAGCCGTT</u>
cnu_m379a	P72	<u>ACACCATAAAACATTGCCATA</u>	<u>ACCGAAGGAGACTGCAAAAGA</u>	nia_m041a	P135	<u>TCTCTACCGGATTGGACTC</u>	<u>GTTTGGTCCGGTATCCAT</u>
cnu_m396a	P74	<u>TCATCATAAAATGAGTTAAAATTCG</u>	<u>TTTTGGTGATCTTTCTAAATTTTTC</u>	nia_m044a	P136	<u>TGCCAATCTCAGATCTTTTTCA</u>	<u>TCTCTCCTATAGCCGCCATC</u>
cnu_m397a	P75	<u>TCITCAAAGTCAAAATCTCATTCA</u>	<u>AAACGACAAATACATATGACAGTTTTA</u>	nia_m045a	P137	<u>GAAGGGTGGCATTGAGAAA</u>	<u>TGGGAAAATCTTCAAACGCA</u>
cnu_m400a	P77	<u>CGAGTTTTTGTGTGACGTATAGTAAT</u>	<u>CCAAAGTCGTAAGGAAGG</u>	nia_m046a	P138	<u>AACCTTGATCACAAAATTTTCAA</u>	<u>CGGTGGGCTTTTATCTTGTA</u>
cnu_m416a	P80	<u>TGGTGGGTCGTAACAGATGA</u>	<u>GCTCGCTCCCAATATGAA</u>	nia_m047a	P139	<u>TTTTTCTGACGGCCTTAAA</u>	<u>TCGAACCCAACGTAAAGTCC</u>
cnu_m425a	P81	<u>TCGTTTGACCAACCGTACAA</u>	<u>CTTGCCAGCGTTGATACAGA</u>	nia_m048a	P140	<u>AAAGCCATCCATCCATCAAG</u>	<u>TGGGGTGTATGGTAAATTTCC</u>
cnu_m439a	P82	<u>CCCTACGGACGGATGAGTAA</u>	<u>TCTGAGTGGCACCAGCATT</u>	nia_m049a	P141	<u>GAGGAATTAACGGCGTCTTG</u>	<u>CAGTCGCCACTACCTGGTTT</u>
cnu_m442a	P83	<u>CGATTTGGACAATGACTAGTGG</u>	<u>AACGCCATGGAAACAGAAAAC</u>	nia_m050a	P142	<u>GCCATGTGGCCTTCTAAAAA</u>	<u>CGATTGCTGGCATTGAGT</u>
cnu_m446a	P84	<u>CACGTACGCTCTGGATGAATAAA</u>	<u>ATCTCACGTGGAGCACCATT</u>	nia_m051a	P143	<u>AAATCCCGCATTTTTACACG</u>	<u>CACAGCTGAACCGATTGATG</u>
cnu_m457a	P85	<u>CTGCTCCTTACGTTTTTATCA</u>	<u>ACGGACAGCAACAACAACAAGA</u>	nia_m057a	P145	<u>GCGGAAGCTGGTTACTG</u>	<u>TGGGTGGTGGTAAATGC</u>
cnu_m458a	P86	<u>GGGTGAATCTTGGATGAGG</u>	<u>CTGACGGATTCCCAACGAAT</u>	nia_m060a	P146	<u>CCATGCAAGAGCCTGAAGAA</u>	<u>TCAGGCTGCTATTGGGGTAA</u>
cnu_m459a	P87	<u>CAAAAGCCGATTTCTTTTAGCA</u>	<u>TTTAAAAGTATCTAACAAATCCGTTG</u>	nia_m061a	P147	<u>CGCCCTAAAGTCCGGTATGAT</u>	<u>CAAAAGCCGTAAGAGGGA</u>
cnu_m461a	P88	<u>GCCGAAACCCGACCTCAACTA</u>	<u>CAGTTTGAGTTTCGGAATGCAC</u>	nia_m063a	P148	<u>GAAGAAACTCGGTGGGAGT</u>	<u>AAAGAGTCCGAAAATGGGC</u>
cnu_m471a	P89	<u>GGAACGACTTCTCCCGTAT</u>	<u>ACTCGAACCTTCTGGCAAA</u>	nia_m064a	P149	<u>GGAGGTCTGGATTTGCGCTT</u>	<u>TCAGCAAGGTACAATGTGAAA</u>
cnu_m472a	P90	<u>TTTAGCCAACTTGCAAGTGA</u>	<u>AAACAATGGCTTCGTCAG</u>	nia_m070a	P150	<u>CCATCCACCACTCATCCT</u>	<u>TGTTCTGGTGTGCCCTTGA</u>
cnu_m474a	P91	<u>CGTCCGTACGAGGTAGGTTT</u>	<u>TAACTTTTTTCGCTGGCAAGT</u>	nia_m071a	P151	<u>GTCACAACCTCCGCGATAG</u>	<u>AGATCACTCACCTTCCCGGT</u>
cnu_m477a	P92	<u>TTTGACATCGTCAATGCTA</u>	<u>TTGGGCTGCTCCTGAAGATA</u>	nia_m077a	P152	<u>GTTGCTTTTATGCTGCCGAC</u>	<u>GGATTTGCAAACGCGGAGAC</u>
cnu_m479a	P93	<u>GAGAAGAATTTCCCACTATGC</u>	<u>GAITTTATTGACAATGTATATTGCTG</u>	nia_m078a	P153	<u>ACTTGGAGCTCTTGGTATCG</u>	<u>AAACCTTAAACCTCGTCC</u>
cnu_m480b	P94	<u>AGTATTGATCCCATGCTTCG</u>	<u>CAAAATGATGGGTGGCTGTG</u>	nia_m079a	P154	<u>TCTTTTTGAGAGAAGCAAGCA</u>	<u>CTTGACAGCCATATACCG</u>
cnu_m482a	P95	<u>TCAGAGATCCTTGACAAAACCA</u>	<u>AGATGAAGCCAAAGCCACAA</u>	nia_m081a	P155	<u>CATCAACGTGGCATAAGTCTG</u>	<u>CAAATTTCTGTGTTGGTGG</u>
cnu_m483a	P96	<u>CTTCTTGAATTTAGAAATCTTTTTG</u>	<u>CCGTAGCCACTCTCAAGGAA</u>	nia_m082a	P156	<u>CATTTCCCGTGACTATCTG</u>	<u>CGTCTTCACTCAATCTCCG</u>
cnu_m490a	P97	<u>CCAACAACACCATGGTGAA</u>	<u>CAAACCTGGAGCAAGCATCA</u>	nia_m084a	P157	<u>CGGAGAGAAAACCTGCACAC</u>	<u>CCGAGAAATGGATACCACAA</u>
cnu_m496a	P98	<u>CAACCCAATATGGAATATCTCTTT</u>	<u>GGACTTGTCTCGTGTGTGTC</u>	nia_m086a	P158	<u>AGCTTCTTCTCCACCTTGT</u>	<u>TGCTTGGGTCAATCTCTCA</u>
cnu_m516a	P99	<u>ACTTGCCCTTACCCAGCAGCG</u>	<u>AAGATTTTGTGTGGTCTGGTGA</u>	nia_m087a	P159	<u>ACCAAGAACCAACCGGTAT</u>	<u>GCTCGGTATTTCGGGTAGT</u>
cnu_m521a	P100	<u>ATCTCCCGCCATTAGTTTGA</u>	<u>TTGGGACGACAAGTATGGAAC</u>	nia_m090a	P161	<u>GCTGATTTCTCCGCTATCAC</u>	<u>AAGACACCGTTTGTGAATTT</u>
cnu_m522a	P101	<u>TTTCTCAACCAAGCACTATCCA</u>	<u>CACAGTTTGGCCACACAGAA</u>	nia_m092a	P162	<u>GAACGAGCCACCTTATAAT</u>	<u>TGGGAGAGCTCTTGTCT</u>
cnu_m537a	P104	<u>TACGCATTCGGATGTTTAC</u>	<u>GCATCGTTCAAACACAGTT</u>	nia_m095a	P163	<u>TGGGTAACAATGGAGGTG</u>	<u>CTCATCTTCCCTCCAAAC</u>
cnu_m553a	P105	<u>CTGCCAATCAGTCCCATCTT</u>	<u>TTTGGGCAGTCAATAATGC</u>	nia_m096a	P164	<u>GAAAAGAGCGTTTACTCCA</u>	<u>GATGACAGCTCTGAAGACGCA</u>
cnu_m562a	P106	<u>CGTGCCTTTCTAAGACCAA</u>	<u>CAGATTTACGCTCTGCATGG</u>	nia_m098a	P165	<u>GAGTGCAGTCAACAGAAGCA</u>	<u>TCTCCACTTCAACAGCCAA</u>
cnu_m570a	P107	<u>TCTTCAGAGAGTGTGCGGTG</u>	<u>GAACAATAATGGCGCTTTA</u>	nia_m099a	P166	<u>TTGGAGAACATGAAGAAGCA</u>	<u>GGGACTTTTATGACAAAACCG</u>
cnu_m574a	P108	<u>GCATTGTTCTAGTGTTTACTTGGTG</u>	<u>TTGTGGCTACTAGGGCAAGG</u>	nia_m100a	P167	<u>CACGTCGGGTTAAATCTTG</u>	<u>TGTTTGGGGCTCCTCATTT</u>
cnu_m579a	P109	<u>AAAGCACCAATATCGCAAC</u>	<u>GTCTCAAGTCAACAGTAAAAAC</u>	nia_m101a	P168	<u>ATCATGGCAACTAGCTCGAC</u>	<u>AGGGTGTATTCTAACCGGAG</u>
cnu_m581a	P110	<u>CAATACAAAACCCGGCAAG</u>	<u>GATGGAGAGTGGGTTGTGCT</u>	nia_m105a	P170	<u>GACGAAGGAGCGTATGAATA</u>	<u>AATGCATCTCAACAGAGT</u>
cnu_m592a	P111	<u>CAAACCAACCAACGCTCTTT</u>	<u>TGCTGATTGACTCCAACCA</u>	nia_m110a	P171	<u>GACAGTGGTTGAAAAGCCA</u>	<u>CATTGAGTGGTTCACCA</u>
cnu_m595a	P112	<u>AATTTGGCGTTTGAATCCAC</u>	<u>CCCGACAGCCAATTACTTCA</u>	nia_m113a	P172	<u>CAAAAAGTGGCGTCAATCT</u>	<u>CCTCCAAAGCTCAATCACTG</u>
cnu_m608a	P113	<u>TCCGTTTCCACTTTTCGTTT</u>	<u>GTTTCCATATCAACAGCGCG</u>	nia_m116a	P173	<u>CTGAACCGAATTGGCTAAA</u>	<u>TAAACAGGGGAAGTGGCTG</u>
cnu_m615a	P114	<u>TTCCAGGTTGGAACCACTTC</u>	<u>CTGCATCCACATGAACCCAC</u>	nia_m120a	P174	<u>AAGAAAACCTTATTTGATGGTACG</u>	<u>CTAAATCCAAACAGAAATTA</u>
cnu_m616a	P115	<u>TCGGTACGAAACTCAATGTTT</u>	<u>GCGTCACTGCTGAACAAAACG</u>	nia_m121a	P175	<u>GGATCTCCCATAGCTCG</u>	<u>CAGTCTGGTGGGATAGA</u>
cnu_m617a	P116	<u>GGAATGCTGCTGGAAGAATC</u>	<u>TTCAAATTTGCTCCCTGCAATC</u>	nia_m126a	P176	<u>TCAAACCTCTTAAACCACACA</u>	<u>ATCCGCAAGGGTGTCTT</u>
cnu_m618a	P117	<u>TCGTTGTGCGCTTCTTAAAC</u>	<u>TCAAACAGCGTGCCTTAAAC</u>	nia_m131a	P177	<u>ACCAACCAACCCCAAAC</u>	<u>TGTCTTCAAGTCTCTCGGA</u>
nia_m001a	P118	<u>AACAGTTTCTACGCATCGTGT</u>	<u>GCGTTTTCGATTTAAATTTG</u>	nia_m133a	P178	<u>TTGAAATGCGACTTTATATGAC</u>	<u>CCGGTCAAATAATGACACA</u>
nia_m003a	P119	<u>TGTTGCGCTCGTCTACGCTCT</u>	<u>ACCATCGACTTCGTGGAAC</u>	nia_m136a	P180	<u>CGAACGACAGAAACAGC</u>	<u>AACGAGGCAAGGCTAAA</u>
nia_m008a	P120	<u>AAAGCGGTGGAGAAGACTGA</u>	<u>ATTGCTTTAAAGTGGCGGTTT</u>	nia_m144a	P182	<u>TTACACAAAGGTTTGTGCC</u>	<u>CGTAAAGGATCAAGGAAAA</u>
nia_m010a	P121	<u>GGTTGACGTCTCATTGTGTTCTT</u>	<u>TAGCTTTCCTCACTTTTCACTCC</u>	PC11	P183	<u>ACCACAATCGCCCTTCTCT</u>	<u>GGCAAGACTTACCCCTCAA</u>
nia_m014a	P122	<u>CATGATACTTCCAAAACCAAA</u>	<u>TCTTCCACAGTCGACTTCTCTTC</u>				

* 92와 93 계통간 다형성을 보이는 마커는 밑줄로 표시, 굵은 글씨 표시는 HRM 분석시 다형성을 보이는 마커임.

총 164개의 SSR 마커 중 2% 아가로스 겔에서 증폭된 DNA 크기 차이를 보이는 마커(그림 27)를 표 19에 밑줄로 표시하였다. 현대종묘 92와 93 사이에서 다형성을 보이는 총 68개의 다형성 SSR 마커를 확인할 수 있었다.

이렇게 개발된 SSR 마커는 92x93 교배를 통해 형성된 맵핑 집단의 유전자 지도 작성에 사용될 것이고 이 들 마커는 이미 지부x권심 유전자 지도에 포함된 것이므로 추 후 92x93과 지부x권심 유전자 지도를 비교하여 내서성 연관 마커를 개발하는데 중요한 참고 자료로 사용될 수 있다.

152개 RAPD 프라이머와 SSR 마커 중 166개의 다형성 band를 확인하였고 이중 101개의 마커가 유전자 지도에 포함되었다. 총 유전자 지도의 길이는 963.7cM이었다. 평균 두 마커의 거리는 9.5cM으로 총 14개의 연관 그룹으로 나타났다. 가장 많은 마커를 가지는 연관그룹은 1 번으로 31개의 마커를 가졌다. 1번 그룹의 경우는 181.5cM을 보였다. 101개의 마커 중 21개의 마커는 멘델의 분리 비에서 벗어남을 보였다.

현대종묘 연구팀(2-6세부과제)와 협력으로 동일한 맵핑 집단인 F3 집단에 대한 내서성 표현형을 현대종묘 포장에서 두 해에 걸쳐서 실시하고 얻은 내서성 결과를 QTL 분석해본 결과 긍정적인 내서성 QTL 연관 분자 마커 개발에 실패하였다. 이는 아마도 2010년과 2011년 조사 시기에 급격한 환경 변화 등 내서성에 있어서 유전적인 영향보다 환경적인 영향을 더 많이 받아 분자 마커와 내서성 표현형간의 연관 관계가 확실하게 나타나지 않은 것으로 판단된다.

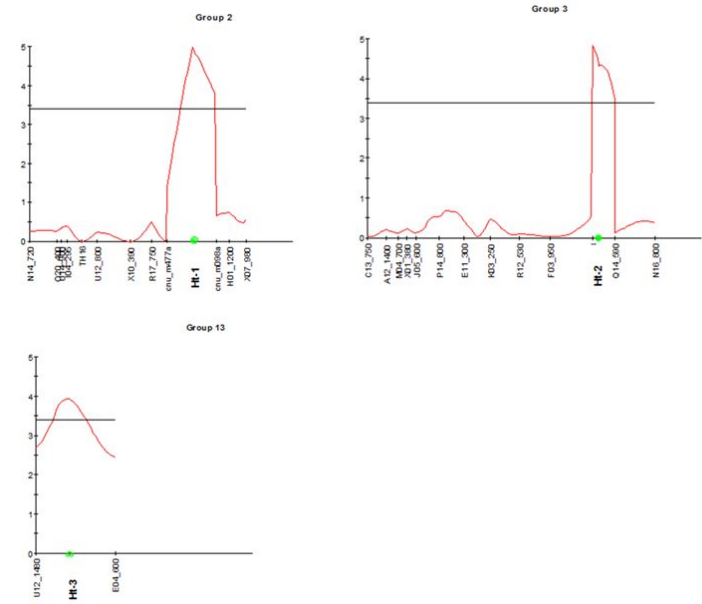


그림 39. 배추 '92'와 '93' 교배 F2 집단을 이용한 내서성 QTL 분석 결과

현대종묘 연구팀(2-6세부과제) 포장에서 검사한 내서성 표현형 결과와 달리 동국대학교 성장상에서 온도와 조도의 조절이 가능한 실내에서의 내서성 표현형 검사 결과를 이용한 QTL 분석은 총 3개의 QTL 이 내서성에 관여하는 것으로 분석되었다(그림 39). Ht-1, Ht-2, Ht-3가 각각 연관그룹 2, 3, 13번에서 발견되었다. Ht-1의 경우 약 18.5%, Ht-2는 41.1%, Ht-3는 17.6%의 변이를 설명하는 것으로 이것은 Ht-1, Ht-2, Ht-3 마커가 총 77.2%의 내서성 유전적 변이를 설명하고 있는 것으로 나타났다.

Zheng(et al. 2002)에 따르면 다른 배추 계통을 이용한 내서성 연관 분자 마커는 총 9개로 보고된 바 있다. 이 중 5개의 마커가 한 연관 그룹에 위치하고 나머지 4개는 다른 연관그룹에 위치한 것으로 보고 되었는데 이들 마커는 총 46.7%의 내서성 유전적 변이를 설명해 준다고 한다. 본 연구에서 개발된 3개의 내서성 연관 마커는 이보다 높은 77.2%의 내서성 유전적 영향을 설명해 주고 있으므로 마커를 이용한 선발시 좀 더 높은 마커와 내서성 표현형 간의 연관성을 기대할 수 있다고 평가된다.

분자 마커의 계통 선발에 이용은 마커가 개발된 계통에서 우선적으로 이용이 가능하다. 다른 계통의 경우는 개발된 마커가 다른 계통에서도 내서성과 연관성을 가지는지 확인하는 절차가 필요하다. 따라서 본 연구에서 발견된 내서성 연관 QTL 마커는 배추 계통 '92'와 '93' 교배

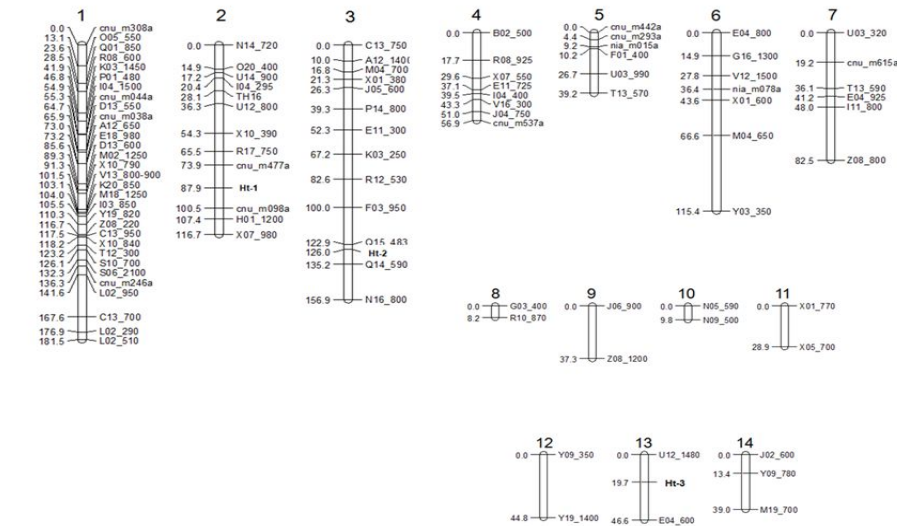


그림 38. 배추 '92'와 '93' 교배 F2 집단을 대상으로 만들어진 유전자 지도

를 이용한 내서성 품종 육성에 있어서 내서성 표현형을 대신하여 선발 기준으로 사용될 수 있다고 평가된다.

연구과제 종료 후에도 현대종묘 연구팀(2-6세부과제)와 계속 협력관계를 유지하여 본 연구과제에서 개발된 내서성 QTL 연관 분자 마커를 이용하여 종묘회사에서 필요한 유전자형 분석 등 내서성 품종 육성에 필요한 기술과 마커 분석을 제공하여 배추 내서성 품종 육성에 국제적인 종묘회사와 비교하여 경제적 및 시간적인 경쟁력을 확보하는데 도움을 제공할 계획이다.

제2-6절 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성

1. 내서성 조건 확립

내서성과 관련하여 주요 환경요인인 온도와 조도를 재배 환경별로 규명하고자 하우스, 노지, 고랭지의 온도, 조도 측정을 매일 2회(10 : 00, 14 : 30)조사하였다. 조사 시기는 여름 배추 재배시기인 일사가 강하고 일조시수가 길며 온도가 높은 6월 중순 부터 8월 하순까지 실시하였다. 그 결과 온도가 높았던 7월 상순, 8월 상순에는 하우스와 고랭지의 온도 차이가 각각 7.2도, 12.1도 차이를 나타내었다. 고랭지 여름배추의 주 재배시기인 7월 상순 - 8월 초순의 고랭지 최고온도는 평지의 온도보다 2~3도 낮았는데 생육 최성기에는 떨어지는 경향을 보였다. 이는 배추가 서늘한 기후를 좋아하는 호냉성 채소로서 생육초기인 7월 중순~8월 초순에는 고온에 의하여 생장이 어느 정도 촉진되지만 후기 저온 상태에서 결구가 되는 작물인 것으로 일반 노지에서서보다 고랭지에서 재배가 가능하다고 판단되었다.

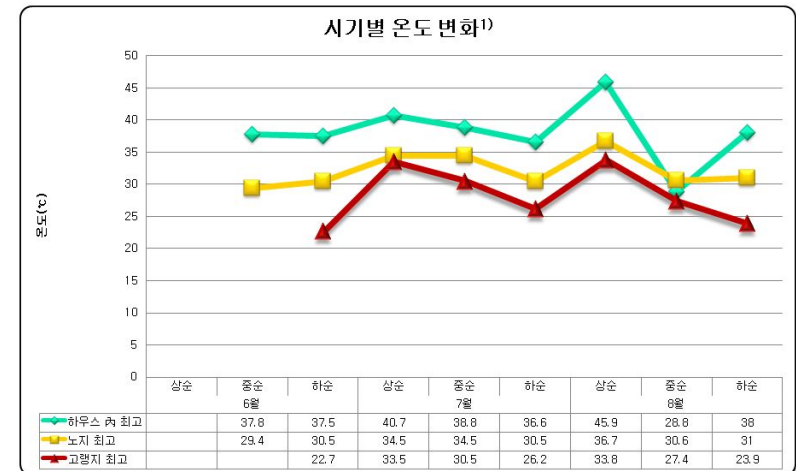


그림 1. 2007년 6월 - 8월 온도조사(일 평균온도)

내서성 검정 기술에 대한 명확한 체계가 구축되어 있지 않아 수행중인 과제에서는 결구기의 온도가 25℃ 이상이 지속되는 시점인 6월 상순부터의 8월 하순까지 재배가 가능하며 수확 시엽수는 60매 이상인 품종이 내서성이 강하다고 가정하고 이를 품종육성에 기초로 활용하였다.

조도는 6월에 노지가 하우스나 고랭지에 비해서 15.2 Klux 높았고 고랭지의 조도는 7월부터 노지보다 높아지기 시작하여 8월에는 노지보다 14.0 Klux, 하우스보다 26.2 Klux 높았다.

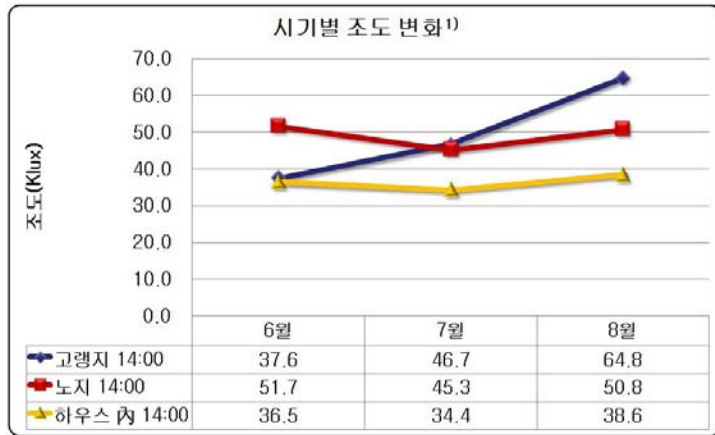


그림 2. 2007년 6월 - 8월 하루 중 14 : 00 조도조사

위 실험을 바탕으로 내서성 검정을 위해 육종연구소(여주군 가남면 소재)에서는 6월 중순~7월 중순에 파종한 후 25일 육묘 후 정식 할 경우 내서력을 정확하게 검정 할 수 있다는 조건을 확립하였다.

2. 유전자원 수집 및 평가

가. 유전자원 수집

2007, 2008년 국내 및 중국, 일본에서 배추 유전자원 계통 및 F1을 47점을 수집하였다. 국내에서는 여름에 주산지에서 재배품종 중 내서성에 강한 35점(계통, F1), 뿌리혹병 및 복합저항성 2계통을 수집 하였으며, 중국 및 일본 현지에서 내서성에 강한 10점을 수집하였다. 유전자원은 품종육성을 위한 재료로 사용되었으며 새로이 육성된 조합들의 경쟁력을 비교 조사하기 위한 대비품종으로도 사용되었다.

나. 유전자원 평가

(1) 재료 및 방법

수집한 소재 47점을 공시하여 품종의 특성, 원예적 형질 등 유전자원을 평가하고 분류하는 기초 자료로 사용 하였다.

1차로 수집된 35점을 2007년 내서성검정을 위한 유전자원 평가는 일사가 강하고 일조지수가 길며 온도가 높은 시기를 택하여 하우스에서 2회에 걸쳐 시험을 수행하였다. 특성조사를 위해 공시품종을 2007년 6월 23일(1차), 7월 23일(2차)에 파종을 하였다. 육묘는 105공 플러그 트레이를 사용하여 25일 육묘(4-6엽전개시)후 현대종묘(주) 육종연구소(경기도 여주군 소재)의 비닐 하우스에서 정식하였고 시험구 배치는 20주씩 2반복으로 재배방법은 현대종묘(주)의 관행 재배 방법으로 실시하였다.

2008년 2차년에 수집된 15점의 경우 1차년에서의 동일한 파종시기에 파종을 하여 육종연구소의 비닐하우스에서 2회 재배실험을 실시하였고, 2007년 조사에서 과연 현지(고랭지)에서의 내서력의 차이를 보고자 고랭지(강원도 정선소재)에 2008년 7월 6일 정식하여 9월 11일 수확하였다. 또한 내서력 검정의 기준은 현대종묘(주)에서 판매되고 있는 여름배추 CR황상을 대비종으로 사용하여 유전자원을 평가하였다.

조사항목은 수량조사(구중, 구고, 구폭, 엽수, 엽장), 특성조사(내서성, 숙기, 엽색, 결구력, 석회 결핍, 추대)등으로 하였고 파종 70일 후에 수확 조사하였으며, 상품성은 육안조사 하였다.

(2) 결과 및 고찰

1차년에 수집한 유전자원 35점을 온도가 높은 시기에 하우스에서 2회 공시하여 원예적인 특성을 조사한 결과 내서력이 강하면서 생존율이 90%이상이면서 2회 공히 연구목적에 부합되는 7점을 선발 할 수 있었다. 선발된 유전자원들은 정식 후 15일 정도까지는 생육속도가 늦은 편이었고 엽 면적 또한 다른 유전자원들 보다 작았다(그림 3). 이는 앞에서 서술한 고온일 때 생육

이 일시적으로 왕성하다는 이야기와는 상반된 점을 관찰 할 수 있었으나 야간 온도가 내려 갈 수록 생육이 왕성해지는 것을 알 수 있었다.

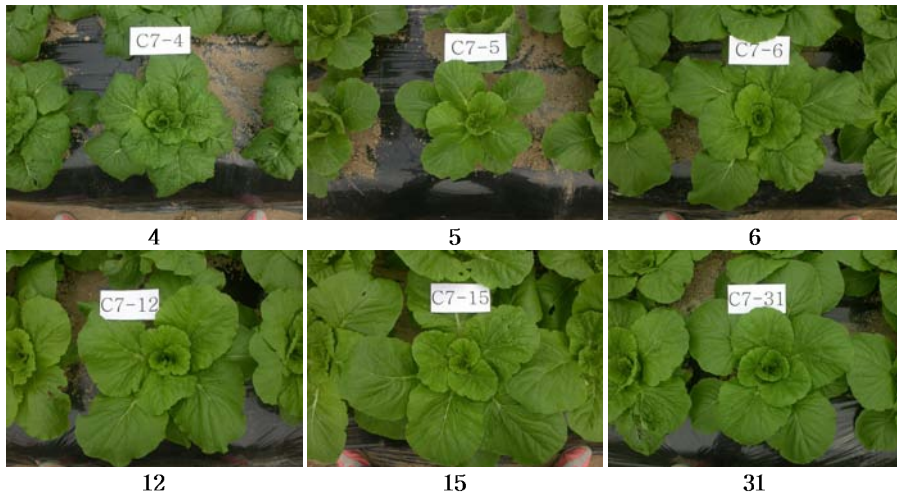


그림 3. 2007년 도입유전자원 정식 후 15일

2007년 9월 3일 1차 수량조사에서는 선발된 7점의 전체 평균 무게가 1.56kg으로 조사되었으나 2차 수량 조사에서는 1.68kg으로 0.18kg증가되었고 구고, 엽수 또한 1차 수량조사에서 보다 2차 수량조사에서 더 높은 수치를 기록하였으나, 구폭의 경우에는 6월 23일 파종한 1차 수량조사에서 평균 15.33cm이었으나 7월 23일 파종한 2차 조사에서는 13.88cm로 1.45cm정도 구폭이 증가되었다. 엽장 역시 조금의 증가를 보였다. 이는 온도가 높은 시기에 노지에서 배추를 재배 할 경우 결구력이 떨어 질 수 있다는 것이다(표 1, 2, 3, 4).

표 1. 1차 하우스 시험 수량조사

번호	전 중 (kg)	구			외 엽			
		구 중 (kg)	구 고 (cm)	구 폭 (cm)	엽 수 (매)	최대엽중(mg)	엽 장 (cm)	엽 폭 (cm)
4	1.2	0.6	19.5	14.0	16.7	47.2	45.3	26.4
5	1.4	0.8	18.0	18.2	18.0	34.4	36.5	21.0
6	1.6	0.7	22.1	17.0	17.2	51.7	44.9	28.5
12	1.7	0.6	23.6	14.5	15.3	45.8	45.5	26.7
15	2.2	1.0	26.0	17.5	20.5	54.1	48.0	31.2
16	0.9	0.5	17.0	12.7	15.6	33.1	33.5	20.0
31	1.9	0.8	24.5	13.4	21.6	53.1	48.3	29.2

표 2. 1차 하우스 시험 특성조사

번호	특 성					
	숙 기	엽 색	결구방법	결구력	Ca결핍	내병성 (연부병)
4	중조	녹+	반포피	중	중	강
5	조	녹	포피	강	강	중강
6	중조	녹+	반포피	강	강	강
12	중	녹	포피	강	강	중강
15	중	녹+	포피	중강	강	중강
16	중조	녹+	포피	강	강	강
31	중	녹	포피	중	중강	중

2007년 2회 유전자원평가에서 숙기는 조생, 중생들이 30점 이었고 수집 유전자원 대부분이 반포피형으로 결구하였으며, 외국에서 도입한 유전자원들은 내서력이 떨어지고 Ca결핍증에 아주 약한 것으로 조사 되었다(그림 4).



그림 4. 2007년 외국도입 유전자원 정식 후 40일 생육

표 3. 2차 하우스 시험 수량조사

번호	전 중 (kg)	구			외 엽			
		구 중 (kg)	구 고 (cm)	구 폭 (cm)	엽 수 (매)	최대엽중(mg)	엽 장 (cm)	엽 폭 (cm)
4	1.0	0.8	20.0	12.6	14.3	44.6	38.3	24.3
5	0.9	0.6	18.3	10.6	12.8	34.1	37.5	22.5
6	1.4	0.9	22.3	14.3	18.0	47.8	44.6	27.8
12	2.1	1.2	26.3	18.3	12.6	50.6	51.3	30.2
15	2.3	1.3	28.0	15.8	17.3	52.3	54.3	35.1
16	1.3	0.8	21.4	11.7	23.0	32.7	36.5	32.7
31	2.7	1.3	29.0	13.8	32.5	45.7	43.8	31.8

표 4. 2차 하우스 시험 특성조사

번호	특성					
	숙기	엽색	결구방법	결구력	Ca결핍	내병성 (연부병)
4	중조	녹+	포피	중강	중	중강
5	조	녹	포피	중강	중강	강
6	중조	녹+	반포피	중강	중강	강
12	중	녹	포피	강	중	중
15	중	녹+	포피	중강	중	중강
16	중조	녹+	포피	중강	중	중
31	중	녹	포피	중+	중	중강

2008년 수집 유전자원 15점을 2회(6월 23일, 7월 23일)파종하여 육종연구소 하우스에 정식하여 일반관행재배를 실시한 결과 내서력이 강하면서 연구목적에 부합되는 3점을 선발 할 수 있었다. 2007년에 비해 정식 후 평균온도가 조금 낮아 생존율이 높게 나왔으나 결구력 및 Ca결핍증을 보이는 유전자원들도 있었다(그림 5).



그림 5. 2008년 2차 수집유전자원 (하우스)

고랭지 재배에서는 대비품종인 CR황상보다 내서성 및 결구력이 우수하면서 뿌리혹병에 강한 3점을 선발하였다. 선발된 4, 13번은 하우스와 고랭지에서 동일하게 선발이 이루어진 것으로 미루어 보아 1차년에 선발된 7점의 유전자원의 경우에도 내서력이 강할 것으로 예상되었다.

그러나 재배시기, 관리방법 및 온도의 차이가 있으나 전중, 엽수, 엽중 등의 수량조사에서 월등한 차이를 보여주었다. 전중, 엽중 및 엽수에서는 2배 이상의 차이를 보였으며 엽장에서의 차이는 미비하였다(그림 5, 그림 6).



그림 6. 2008년 2차 유전자원 선발 (고랭지)

하우스재배에서의 마찬가지로 고랭지 유전자원 평가에서도 내서력이 떨어져 결구하지 못하고 외엽의 크기만 성장하는 유전자원들의 경우 생존율이 50% 미만으로 조사되었고, 전중은 정상 생육한 4, 13, 15번의 경우 2.5kg~3kg이었으나 내서력이 떨어지는 5, 9, 12번의 경우에는 1kg 미만이었다(그림 7).



그림 7. 2008년 2차 유전자원 도태 (고랭지)

결론적으로 수집한 47점의 특성검정 및 분류 작업을 실시하여 연구목적에 부합되는 자원으로 활용가능 하고 1차적으로 선발된 10점의 경우 내서성이 강하고, 결구력 및 품질이 우수한 형질을 모두 갖춘 자원은 3점으로 조사되었으며, 이들 자원은 우수한 내서성 품종육성에 유용한 소재로 활용 가능성이 매우 높았다.

그리고 나머지 유전자원들 또한 기 보유계통들과 인공교배를 실시하여 내서성 유전분석 및 고랭지 여름배추 품종개발 목적에 맞는 유전자원으로 활용 가능할 것으로 예상되어진다.

3. 우수품종육성

가. 계통육성

현대종묘에서 기 보유 계통 및 수집재료를 2007년 75계통, 2008년 50계통, 2009년 90계통, 2010년 250계통, 2011년 120계통을 현대종묘 육종연구소(경기 여주군 가남면 소재)에서 2007년 6월23일(하우스)과 노지 포장시험은 8월 17일, 2008년도 6월 23일(하우스)과 8월 23일(노지포장), 2009년 6월 25일(하우스)과 8월 17일(노지포장), 2010년 6월 23일(하우스)과 8월 20일(노지포장), 2011년 6월 23일(하우스)과 8월 14일(노지포장)에 파종하였다. 그리고 내서성 계통의 지역 적응성 재배시험을 위하여 강원도 정선군 포장을 임대하여 6월 10경 파종 하여 7월 1 - 5 일경 정식하였으며 정식은 준 고랭지(해발 450m), 고랭지(해발 700m)로 나누어 실시하였으며 내서성 및 원예적인 특성을 파악하였고, 하우스 계통재배에서 내서성, 바이러스 및 칼슘결핍 등을 조사하여 이 두 번의 계통 재배시험의 결과를 바탕으로 8월 노지포장에서 수량조사 및 특성조사를 하여 연구목적에 부합되는 계통을 선발하였으며 선발된 계통은 육성 목적에 부합되는 순도가 고정된 모본들을 개체 선발하여 성숙모본으로 포트에 정식하여 난방하우스에서 겨울동안 저온처리를 한 후 매년 2월부터 5월초까지 인공교잡을 하여 6월에 종자가 성숙되면 예취를 하여 7월 종자를 조제하였다. 이를 활용하여 교배조합작성 및 계통육성을 하였다.(그림 8)

조사항목은 수량조사(구중, 구고, 구폭, 엽수, 엽장), 특성조사(내서성, 숙기, 엽색, 결구력, 석회결핍, 추대)등으로 하였고 파종 70일 후에 수확 조사하였다.



하우스 포장

고랭지 포장

노지 포장

그림 8. 재배포장

선발 계통 중에서 추대가 안정적이고 반포피형으로서 내서성이 우수한 계통과 초기 생육이 왕성하고 중조생종이면서 내서성이 우수한 계통으로 분류하여 계통을 선발 하였다.

분류의 목적은 준 고랭지 계통과 고랭지 계통에서의 조금의 차이가 있다는 점을 생각 할 수 있다. ① 준 고랭지의 경우 우선 추대의 안정성이 우선 되어야 하면서 내서성에도 강한 계통이어야 한다. 여기에서 추대문제는 준 고랭지 품종의 경우 5월초 파종을 하면 육묘기가 저온에 해당하지는 않지만 일반적으로 13℃이하의 저온이 배추 추대에 중요하게 작용하는 것으로 알려져 있고(Yamasaki, 1985), 화아분아가 저온에 의해 유발되며 이후의 고온장일 환경 조건하에

서 화경신장과 개화가 촉진된다.(Eguchi 등, 1963; Yamasaki, 1956).는 연구자료 등에서도 준고랭지 계통은 추대에 안정적이고 결구력이 우수하면서 내서성에도 강한 계통. ② 고랭지 계통은 가장 더운 시기에 재배되는 품종으로서 초기 내서성이 강하여 생육이 잘되면서 엽수가 많아 후기 결구력이 좋은 계통으로 분류하였다.

(1) 하우스 계통 재배시험

(가) 재료 및 방법

기 보유 육성계통의 내서성 정도를 평가하기 위하여 2년간 고온기 하우스에서 재배시험을 실시하였다. 1차년도 2차(1차 파종 08. 05. 25, 2차 파종 08. 06. 25)에 걸쳐 내서성계통 79 계통과 9점의 대비종을 파종하여 내서성검정을 하였고, 2차년에는 1차년도 내서력 검정에서 강한계통(9계통), 중간계통(57계통) 및 1차년에 검정하지 못한 기 보유 계통 등 120계통을 다시 파종하여 내서력 재 검정을 실시하였다. 육묘는 105공 플러그트레이를 사용하여 25일 육묘(4-6엽진개시)후 현대종묘(주) 육종연구소(경기도 여주군 소재)의 비닐하우스 정식하였고 시험구배치는 20주씩 2반복으로 재배방법은 일반관행 재배방법으로 실시하였다.

(나) 결과 및 고찰

내서성계통 79 계통과 9점의 대비종 중에서 내서력이 강한 것, 중간, 약한 것으로 조사 한 결과 강한 9계통, 중간 57계통과 13개의 약한 계통으로 분류 할 수 있었다(표5, 그림 9).

표5. 내서성 검정 결과

내서력	계통명	비고
강한 계통	B7IC-75-61, 1130YMJ-1, 1241HDJ-2, 1513YHJ-1	외 5계통
중간 계통	BPCRCM-520-21, B7ID-76-21, 1231YRM-1	외 54계통
약한 계통	B4U-22-63, B7IC-61-31, 7092CHS-102	외 10계통



내서성 강한 계통

내서성 중간 계통

내서성 약한 계통

그림 9. 내서성 정도

석회결핍증에 둔감한 계통이 12, 결구력이 강한 계통이 10, 생존주율이 높은 계통이 55, 상품주율이 높은 계통이 8계통이었다. 위의 결과를 종합하여 내서력이 강한 9계통을 선발하였으며 이 중 4계통은 원예적형질이 극히 우수하여 계통육성 및 조합작성에 활용하고 있다(표 6, 그림 10).

표 6. 내서력이 강한 계통의 주요 특성

계통명	파종 시기	초세	엽색	숙기	결구 방법	결구력	결구 긴도	구 내부색	Ca결핍증 (%)	연부병 이병율 (%)	생존주율 (%)	상품주율 (%)
B7IC-75-61	1차	중강	녹+	중	반포피	강	중	중	6	0	90	90
	2차	중강	녹+	중	반포피	중강	-	-	12	0	100	70
1130YMJ-1	1차	중	녹+	조	반포피	강	중	중상	10	0	90	70
	2차	중강	녹+	중조	반포피	강	-	-	0	0	90	70
1241HDJ-2	1차	약	녹+	조	반포합	강	강	상	15	0	95	75
	2차	중약	녹+	조	반포합	강	-	-	20	0	100	70
1513YHJ-1	1차	강	녹+	중조	반포합	중강	중	중상	0	0	100	90
	2차	중강	녹+	중조	반포합	중	-	-	0	0	100	90

* 2차 재배시험에서는 성숙모본으로 선발하였기에 결구긴도 및 구내부색의 조사는 하지못하였음.



준 고랭지 계통

고랭지 계통

그림 10. 내서성이 우수한 계통 선발

2년차 120계통 중에서 내서력이 강한 12계통, 중간 40계통 및 약한 68계통으로 분류 할 수 있었다. 1년차 내서성 검정에서 보다 온도가 높아 정식 후 대부분의 계통들이 활착에 어려움이 있었고 결구기인 정식 후 40일 때 이상 고온현상으로 급성 위조현상이 발생하여 생존율이 90% 이상이 12계통이었고, 생존율이 60% 이상이 40계통을 선발 할 수 있었다. 그리고 석회결핍증에 둔감한 계통이 16계통, 결구력이 강한 계통이 10계통 이었다(그림 11).



내서성 강한 계통



내서성 약한 계통

그림 11. 내서성 계통육성

(2) 고랭지 계통 재배시험

(가) 재료 및 방법

매년 선발된 계통들의 고랭지검정을 위해 6월 10일경 파종하여 매년 7월 6일경 정식하여 고온기 결구력 및 내병성 등의 원예적 특성을 파악코자 강원도 정선군 준 고랭지(해발 450m), 고랭지(해발 700m) 포장을 임대하여 위탁재배시험을 실시하였다. 2007년 85계통, 2008년 70계통, 2009년 50계통, 2010년 40계통 및 2011년 60계통평가 하였으며 연구목적에 부합되는 내서성 재료를 확인하였다. 육묘는 105공 플러그 트레이를 사용하여 25일 육묘(5-6엽전개시)후 정식하였고 시험구배치는 20주씩 2반복으로 재배방법은 일반관행 재배법으로 실시하였다. 조사항목은 수량조사(구중, 구고, 구폭, 엽수, 엽장), 특성조사(내서성, 숙기, 엽색, 결구력, 석회결핍, 추대)등으로 하였고 파종 70일 후에 수확 조사하였다.

(나) 결과 및 고찰

재배지역에서 계통들을 원예적인 특성을 검정 해본 결과 하우스 계통 재배에서의 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 하우스 계통 재배에서 보다 전중에서는 500g~1kg 더 무거웠고 엽장도 5 - 6배 더 많은 것으로 조사되었다. 준 고랭지 및 고랭지재배 실험의 목적은 계통선발

을 위한 실험이 아니고 계통들이 재배지역에서의 원예적인 형질이 어떻게 발현하는지를 조사하기 위해서 이루어 졌으며 앞에서 계통들을 준 고랭지 계통과 고랭지 계통으로 분류작업을 하였으나 두 지역 모두에서 원예적 형질이 우수한 17계통과 준 고랭지 지역에서 연구목표에 부합 될 수 있는 20계통, 고랭지 지역에서 우수한 형질이 발현되는 36계통을 확인하였으며 준 고랭지 계통들 일부에서 추대가 발생하여 고랭지 계통으로 활용하였다(표 7, 8).

매년 실시한 지역 재배시험 결과 두 지역(준 고랭지, 고랭지)에서 모두 우수한 형질을 가진 17계통과 준 고랭지에서 우수한 20계통, 고랭지에서 우수한 36계통을 확인 하였으며 이를 바탕으로 가을 노지 계통 재배시험에서 계통선발을 실시하였다(그림 12).

표 7. 준 고랭지, 고랭지 원예적 형질이 우수한 계통 수량조사(BN.는 표기하지 않음)

전 중 (kg)	구			외 엽			
	구 중 (kg)	구 고 (cm)	구 폭 (cm)	엽 수 (매)	최대엽중(mg)	엽 장 (cm)	엽 폭 (cm)
2.6	1.7	27.0	16.5	20.0	65.1	34.5	22.8
2.4	1.5	28.7	16.0	19.4	44.0	36.2	21.2
2.6	1.6	28.5	16.8	26.3	40.8	33.6	22.1
1.9	1.4	25.3	14.0	20.8	39.3	33.3	20.1
2.6	3.0	28.5	16.5	18.5	59.0	31.8	24.5
2.5	1.3	28.3	13.8	30.3	49.5	38.0	21.8
2.5	1.6	33.3	16.3	21.5	56.5	38.8	22.3
2.8	1.6	29.0	19.0	25.0	59.0	42.5	24.6
3.1	1.8	32.5	16.0	21.0	62.0	42.8	24.6
3.6	1.9	32.5	19.3	23.8	69.5	42.6	25.9
2.5	1.7	28.5	17.0	20.5	49.3	36.7	22.4
2.7	2.0	33.8	14.8	14.0	66.5	38.0	25.9
2.1	2.9	25.0	14.5	16.3	53.8	34.4	23.1
2.4	1.6	25.0	16.0	19.3	44.5	34.8	22.5
2.6	1.6	29.5	16.0	26.3	45.5	38.3	21.8
2.1	1.5	26.0	15.0	18.0	44.0	35.3	21.3
2.7	1.9	29.0	14.3	17.0	47.1	38.4	21.9

표 8. 준 고랭지, 고랭지 원예적 형질이 우수한 계통 특성조사

특 성					
숙 기	엽 색	결구방법	결구력	뿌리마름병	추대성
중조	녹	포피	강	강	둔
조	녹	포피	강	중강	둔
중조	녹	포피	강	강	둔
조	녹	포피	강	강	중둔
중	녹	반포피	강	강	둔
조	녹	포피	중강	강	둔
중조	녹+	포피	강	강	둔
중	녹	반포피	강	강	둔
중	녹+	포피	중강	강	중둔
중	녹	포피	강	강	둔
중조	녹+	포피	강	중강	둔
중조	녹	반포피	중강	강	둔
조	녹	반포피	강	강	중둔
조	녹+	반포피	강	중강	둔
중조	녹+	반포피	강	강	둔
중	녹	포피	중강	강	둔
중조	녹+	포피	강	강	둔



내서성 우수 계통



내서성 중간 계통



내서성 약한 계통

그림 12. 계통 재배시험 (준 고랭지)

동일한 계통을 준 고랭지, 고랭지에 재배시험 한 결과 생존율은 고랭지가 많았으며 결구력 또한 고랭지가 우수하였다. 준 고랭지 시험에서는 구폭의 수치가 높았으나 구중, 구고, 엽수 및 엽장 등은 낮은 것으로 보아 해발의 차이가 배추 생육에 많은 영향을 끼치는 것으로 판단되고 준 고랭지와 고랭지 품종으로 왜 나누어지는지를 계통 재배시험을 통하여 알 수 있었다.



내서성 우수 계통



내서성 중간 계통



내서성 약한 계통

그림 13. 계통 재배시험 (고랭지)

(3) 노지포장 계통육성

(가) 재료 및 방법

현대종묘에서 기 보유 계통 및 수집재료를 2007년 75계통, 2008년 50계통, 2009년 90계통, 2010년 250계통, 2011년 120계통을 현대종묘 육종연구소(경기 여주군 가남면 소재)에서 매년 8월 15일 전후 파종하였다.

하우스 계통 재배시험과 고랭지 계통 재배시험의 성적을 바탕으로 노지포장에서 수량조사 및 특성조사를 하여 연구목적에 부합되는 계통을 선발하였다. 선발된 계통은 개체 선발하여 성숙모본으로 포트에 정식하여 난방하우스에서 겨울동안 저온처리를 한 후 매년 2월부터 5월까지 인공교잡을 하여 6월에 종자가 성숙되면 예취를 하여 7월 종자를 조제하였다.

조사항목은 수량조사(구중, 구고, 구폭, 엽수, 엽장), 특성조사(내서성, 숙기, 엽색, 결구력, 석회결핍, 추대)등으로 하였고 파종 70일 후에 수확 조사하였다.

(나) 결과 및 고찰

2007년부터 2011년까지 매년 반복적으로 개체선발 및 계통선발을 통해 특성검정과 순도조사를 통해 계통 특성이 본 연구 목표인 내서성 준 고랭지 및 고랭지 여름배추 품종 개발에 사용할 육성재료로 2007년 30계통, 2008년 30계통, 2009년 45계통, 2010년 100계통, 2011년 63계통을 선발하였다.

표 9. 내서성 우수 계통 특성조사(BN은 표기하지 않음)

특 성									
초세	엽색	숙기	엽색	결구방법	결구력	결구긴도	구크기	칼슘 결핍증(%)	연부병 이병율(%)
중강	녹	중조	녹	포피	강	강	중	0	중
강	녹	조	녹	포피	강	강	중소	0	중소
강	녹	중조	녹	포피	강	강	중	0	중
중강	녹	조	녹	포피	강	강	중	0	중
강	녹	중	녹	반포피	중	강	중+	0	중+
중	녹	조	녹	포피	중	중강	중소	0	중소
강	녹+	중조	녹+	포피	강	강	중	10	중
강	녹	중조	녹	포합	강	강	중	0	중
강	녹+	중조	녹+	반포피	강	중강	중	0	중
중강	녹	중조	녹	반포피	강	강	중소	0	중소
중강	녹+	조	녹+	반포피	강	강	중소	0	중소
중강	녹+	조	녹+	포피	강	중	중	10	중
중강	녹	조	녹	반포피	강	중강	중소	0	중소
중강	녹	조	녹	반포피	강	강	중소	0	중소
강	녹+	조	녹+	반포피	중	강	소	0	소
강	녹+	중조	녹+	반포피	중	강	중소	0	중소
강	녹	중	녹	포피	강	중강	중대	20	중대
중강	녹	조	녹	포피	강	강	소	0	소
중강	농	조	농	포피	강	강	소	0	소
강	녹+	중조	녹+	포피	강	강	중	10	중
강	녹+	중조	녹+	포피	강	강	중소	10	중소
강	녹+	조	녹+	반포피	강	강	중소	0	중소
강	녹	중조	녹	반포피	강	강	소	0	소
강	녹	조	녹	포합	강	강	중소	0	중소
중강	녹	중조	녹	반포피	강	중강	중소	0	중소
중강	녹	중조	녹	포피	강	중강	중소	0	중소
중강	녹	중조	녹	포피	강	중	중소	0	중소
강	녹+	중조	녹+	반포피	강	중강	소	0	소
강	녹	중조	녹	포피	중	중강	중	10	중
강	녹	조	녹	포피	강	강	중소	10	중소

나. 교배조합작성

십자화와 육종에 있어서 무엇보다 중요한 것은 우량한 교배친을 선정하고, 육성목표 형질에 대한 유전적인 정보를 바탕으로 적절한 육종규모와 선발계획을 수립하여, 육종체계를 효율적으로 운영하는 것이다.

익년 교배조합 작성은 가을 노지 계통재배시험에서 특성을 조사한 뒤 육성목적에 부합되는 개체들을 선발하여 포트에 이식한 후 하우스에서 야간 난방을 실시하여 월동 하였다. 이들 개체들을 이용하여 2007년 79조합, 2008년 125조합, 2009년 200조합, 2010년 200조합, 2011년 200조합을 작성하여 2월 중순부터 5월 초순까지 추대개화 하는 개체들을 하우스 내에서 준 고랭지, 고랭지 조합으로 인공교배하여 조합성능검정시험에 필요한 종자를 획득하였다. 종자 조제 시 새로이 작성된 조합들의 경우 임성을 조사하였고 또한 조합작성에 사용된 계통들에 대해 개화수분 및 뇌수분, 형매교잡 등을 통하여 계통육성 및 자가불화합 정도를 파악하였으며 기 보유 육성불임계통에 여교잡하여 육성불임계통을 육성하였다.



그림 14. 교배하우스 전경

다. 교배조합성능 검정시험

(1) 재료 및 방법

조합성능검정을 위하여 2007년, 2008년, 2009년(강원도 정성군 소재), 2010년, 2011년(강원도 평창군 소재) 준 고랭지, 고랭지 포장을 임대하여 매년 작성된 교배조합검정 재배시험을 실시하였고 2012년은 강원도 평창군에 재배시험 중이다.

2007년 79조합, 2008년 125조합, 2009년 200조합, 2010년 200조합, 2011년 200조합과 유전자원으로 수집된 35점을 정식하여 연구목적인 내서성에 강하여 고온기 결구력이 우수하고 생존율 및 상품율이 높은 조합을 선발하기 위해 수행하였다. 파종은 매년 6월 5일경에 실시하여 육묘는 105공 플러그트레이를 사용하여 20~25일 육묘(5-6엽전개시)후 6월 23일 - 6월 30일경 정식하였고 시험구배치는 20주씩 2반복으로 재배방법은 일반관행 재배법으로 실시하였다. 조사항목은 수량조사(구중, 구고, 구폭, 엽수, 엽장), 특성조사(내서성, 숙기, 엽색, 결구력, 석회결핍, 추대)등으로 하였고 정식 후 30일 1차 육안조사를 실시하였고 70일 후에 수확 조사하였다.

(2) 결과 및 고찰

2007년 작성된 75조합을 교배조합검정시험을 한 결과 내서성은 강하나 대비품종인 CR황상보다 상품율이 떨어지는 경향을 보였다. 준 고랭지 조합은 추대는 안전하였으나 후기 결구력이 떨어지고 생존율은 높았으나 상품율이 낮아 선발하지 않았고, 고랭지 조합들은 대비종에 비하여 초기 생육은 좋았으나 후기 비덤성이 약해 상품율이 떨어졌다. 1차년 조합능력검정 결과를 바탕으로 다음해인 2008년 교배조합 125점과 대비종 및 도입종 35점을 평가한 결과 고온기 결구력이 우수하고 생존율이 높으며 상품성이 우수한 고랭지 5조합을 선발 할 수 있었다.(표 10, 그림 15)

선발된 조합들은 생존주율이 94%이상이고 상품주율, 결구력 및 구내부색이 높았으며 Ca결핍증은 발생하지 않았다. 선발된 조합은 차년도 지역적응성 검정 및 종자 생산성 검정을 실시하였다.

표 10. 고랭지 선발조합의 주요 특성

조합명	초세	엽색	숙기	결구방법	결구력	결구진도	구내부색	Ca 결핍증 (%)	연부병이병율 (%)	생존주율 (%)	상품주율 (%)
B3Y-55-61-1-1 X HS B-201	중강	녹+	중조	반포피	강	중하	상	0	5.6	94	89.0
CEKL-20-15-7 X KKIS-10-10-5	중강	녹+	조	포합	강	중상	상	0	0	98	94.4
B7IC-75-61-2-1 X NS B-1	강	녹+	중조	반포피	강-	중하	상-	0	5.6	94	94.4
B7IC-75-11-1-2 X NS A-1	중	녹+	조	포합	강	중상	중상	0	0	100	94.4
B8ID-198-61-1-2-1 X B7IT-61-1-3-1	중	녹	중조	반포피	강-	상	상	0	0	100	94.4
CR 황상(현대)	중	녹	조	포피	강	중	중	0	0	100	94.4



그림 15. 선발조합

3차년에는 350조합을 준 고랭지 및 고랭지에 정식하여 9월 초순 수확 조사하여 준 고랭지 3조합, 고랭지 5조합을 선발하였다.

선발된 준고랭지 3조합은 대비 품종인 CR황상에 비하여 상품율, 외엽수 및 구고는 높았고, 결구력 및 결구진도는 조금 떨어졌으나 초세, 엽색, 숙기는 유사하게 조사되었다(표 11, 그림16).

표 11. 준고랭지 선발조합의 주요 특성

번호	초세	엽색	숙기	결구방법	결구력	결구진도	구내부색	생존율 (%)	상품주율 (%)	연부병 (%)	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽/내엽 (매)
5	2.5	3.5	2	장미포합	3	3	3	22/24	20/24	3	1.5	28	15	26/44
10	3.5	3.5	3	반포합	2	3	2	24/24	23/24	3	1.8	28	16	28/56
85	3.5	4.0	2	반포합	3	4	4	24/24	22/24	4	1.2	29	12	22/34
92 CR황상	3.5	3.5	3	반포합	4	5	3	23/24	19/24	4	1.8	26	15	16/48

*초세 : 약1-강5, 엽색 : 연1-진5, 숙기 : 만1-조5, 결구력 : 약1-강5, 결구진도 : 약1-강5, 구내부색 : 백1-진황5



그림 16. 준고랭지 선발조합

고랭지에서 선발한 5조합은 초세는 중상이면서 숙기는 중조생, 조생계를 선발하였으며 상품율이 높은 것을 우선 선발하였다. 생존율 및 상품율이 높은 조합이 내서성에도 강하다고 할 수 있다(표 12, 그림 17).

표 12. 고랭지 선발조합의 주요 특성

번호	초세	엽색	숙기	결구 방법	결구력	결구 긴도	구내 부색	생존율 (%)	상품 주율 (%)	연부병 (%)	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽/내엽 (매)
256	3.0	4.0	4	반포합	4	5	3	23/24	22/24	2	1.6	28	16	15/37
305	3.5	3.0	3	반포합	2	4	4	24/24	24/24	2	1.3	26	15	22/40
323	3.0	4.0	3	반포합	4	4	4	24/24	23/24	4	1.2	27	14	19/39
330	3.5	3.5	4	반포합	3	4	3	24/24	24/24	3	1.7	25	16	18/51
332	3.5	4.0	5	반포합	4	5	2	23/24	24/24	3	2.0	24	17	24/59
347 CR황상	3.0	4.0	4	반포합	4	5	3	24/24	23/24	3	1.8	26	15	16/48

*초세 : 약1-강5, 엽색 : 연1-진5, 숙기 : 만1-조5, 결구력 : 약1-강5, 결구긴도 : 약1-강5, 구내부색 : 백1-진황5



그림 17. 고랭지 선발조합

4년차에는 정식 후 수확조사까지 기상청 자료에 의하면 총 38일간 비가 내렸고 특히 결구가 시작하는 8월에는 22일간 강우를 기록하였다. 이로 인하여 정상적인 조합검정시험을 수행하지 못하였으며 수확물 역시 품질이 좋지 않았다. 내서성에 강하면서 품질이 우수한 조합 선발을 목표로 조합검정시험을 수행 한 결과 준 고랭지 2조합, 고랭지 2조합을 선발하였다. 선발된 조합들은 내서성이 강하면서 내습성까지 강할 것으로 생각되어진다.

표 13. 준고랭지 선발조합의 주요 특성

번호	초세	엽색	숙기	결구 방법	결구력	결구 긴도	구내 부색	생존율 (%)	상품 주율 (%)	연부병 (%)	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽/내엽 (매)
239	4	녹++	4	반합	4	강	황	94	75	6.0	1.03	21.5	12	13.5/46.5
304	3	녹++	4	반합	3	중강	황	100	88	0	1.40	25.0	14	23.0/62.0
대비종	2	녹+	4	반합	4	강	연황	89	80	12.0	0.50	16.5	9.0	16.5/41.0

*초세 : 약1-강5, 엽색 : 연1-진5, 숙기 : 만1-조5, 결구력 : 약1-강5, 결구긴도 : 약1-강5, 구내부색 : 백1-진황5



그림 18. 준 고랭지 선발조합

대비품종인 CR황상배추는 준 고랭지 및 이른 고랭지용 여름배추로서 재배되고 있는 품종이다. 지금까지 조합성능검정시험에서 대비종과 구중이 유사하였으나 4년차 성능검정시험에서는 상당히 우수한 조합을 선발 할 수 있었다. 304번 조합은 생존율이 100%이고 상품율 또한 88%로 높게 나왔으며 구고와 구폭의 수치가 높았으며 구중에서는 대비종보다 약 3배 더 나갔으며 연부병 발생도 없는 것으로 조사되었다(표 14. 그림 18).

고랭지에서 선발된 2조합들은 결구력 및 결구긴도는 대비종에 비해 떨어졌으나 생존율과 상품율은 높게 나왔으며 전체 무게가 대비품종이 1.3kg인데 반해 선발된 조합은 1.43kg, 1.8kg 더 높게 나왔으며 구 내부색은 연황색으로 주로 재배되고 있는 여름배추들과 동일하였다(표 14, 그림 19).

표 14. 고랭지 선발조합의 주요 특성

조합명	초세	엽색	숙기	결구 방법	결구 력	결구 긴도	구내 부색	생존율 (%)	상품 주율 (%)	연부병 (%)	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	외엽 /내엽 (매)
517	2	녹+	3	반합	2	중	연황	93	86	0	1.43	31.5	13.0	17.5/40
535	3	녹+++	4	반합	4	중강	연황	79	95	0	1.80	27.0	15.5	16.5/44.5
대비종	3	녹+	4	반합	5	강	연황	71	85	5	1.30	26.0	13.5	12/47.5

*초세 : 약1-강5, 엽색 : 연1-진5, 숙기 : 만1-조5, 결구력 : 약1-강5, 결구긴도 : 약1-강5, 구내부색 : 백1-진황5



그림 19. 고랭지 선발조합

5년차인 2011년 작성된 200조합은 재배시험 중에 있으며 9월 초 수확하여 조사를 실시 할 예정이다.

라. 지역적응성 검정시험 및 종자생산성 검정

(1) 재료 및 방법

교배조합성능검정에서 선발된 준 고랭지 5조합, 고랭지 12조합을 중심으로 또한 예비 선발된 조합들은 선발된 다음해에 종자를 연구소에서 생산하여 지역적응성 검정시험을 하였다. 종자를 생산하기 위해 12월 파종하여 미숙모본을 월동시켜 3월 tapping 하우스에 모본을 90cm*40cm 간격으로 2줄 정식하여 벌을 이용하여 시험재종을 실시하여 6월 하순에 예취하여 종자생산력 검정하여 실시하였다(그림 20). 적응성 검정시험은 여름배추 주산지인 정선군과 평창군에 농가를 선정하여 지역적응성 검정시험을 수행하였다. 준 고랭지는 5월 초에 파종하여 6월에 정식하였고, 고랭지 조합은 6월 초에 파종하여 6월 20일경 정식하여 원예적인 형질을 검사하였다.



그림 20. 생산성 검정 시험

(2) 결과 및 고찰

지역적응성 검정 결과 선발된 CEKL X KKIS의 조합이 고랭지(해발 700m)에서 내서성이 강하면서 숙기가 빠르며 섬유질이 적당하여 육질이 부드러워 찜배추용으로 우수하다는 평가를 받았고, 또 다른 B3Y X HS의 교배조합은 고랭지에서 결구력이 우수하여 생존율이 높으며 뿌리혹병에 강하고 구 내부색이 진한 노랑색이며 수분함량이 적당하여 식미가 우수하고 구가 H형으로 포장작업이 용이한 풍산성인 조합 이었으며, 2010년 준 고랭지에서 선발된 '304'번을 지역적응성 검정 결과 내서성에 강하면서 내습성에 아주 강하여 수확시기에 비가 많은 경우 다른 조합들은 버티지 못 하였으나 이 조합은 내습성이 강해 상품성이 높았으며 또한 뿌리혹병과 바이러스에 내병성이고 추해도 안정적이었다. '535'번은 내서성이 강해 결구력이 뛰어나고 포장 버팀성이 좋아 수확기 이후에도 품질이 우수하여 김치공장 납품용이 가능하다는 평가를 받았으며 마지막으로 김장배추형태로 고랭지 후기작(6월말 - 7월초 파종하는 작기)으로 재배하여 추석부터 10월 김장철까지 수확이 가능한 조합으로 확인되었다.

지역적응성 검정 결과 준 고랭지 1조합과 고랭지 3조합 및 준 고랭지와 고랭지에서 재배가 다 가능한 찜배추용으로 1조합을 선발하였다.

마. 우수 품종육성

(1) 재료 및 방법

본 연구과제의 목표인 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종을 육성하기 위해 2007년부터 그동안 국내외에 수집종과 현대종묘에서 기 육성한 약 550계통을 특성검정을 통해 선발된 268계통을 사용하여 인공교배로 작성된 804조합을 강원도 여름배추 재배지역인 정선군과 평창군의 준 고랭지 및 고랭지에서 조합능력검정시험을 실시하여 12조합을 선발하였으며 여기에서 선발된 조합은 지역적응성 검정을 위해 현대종묘 연구소 tapping 하우스에서 종자 생산 및 생산력 검정을 실시하였고, 생산된 종자는 정선군과 평창군 2지역에서 지역적응성 검정한 결과 우수한 특성을 가진 5조합을 최종 선발 품종으로 확정하여 채종시험 및 능가 확대시교를 위한 종자를 채종하였으며 국립종자원에 품종보호출원 및 종자 생산판매 신고를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 속노란 여름용 찜 배추 '으뜸쌈' 육성

① 육성경위

현대종묘 육종연구소에서 내서성 고품질 찜 및 곱절이용 품종을 육성하기 위하여 기 육성계통 중에서 내재해성이 강하며 엽색이 짙고 속이노란 품질계통인 'CEKL'을 모본으로 하고 내서성이 강하며 결구 속도가 빠르면서 추대가 안정되고 뿌리가 강한 내병성의 기 육성 'kkis'계통을 부분으로 하여 2004년~2006년 인공교배로 교잡하여 F1종자를 획득하여 조합능력검정시험을 하여 "CEKL 10-8-3-2-0 X KKIS 10-5-3-2-0"의 조합이 선발되었다(표 15).

선발된 조합은 2007년~2008년 2년간 생산력 검정시험 및 강원도 준 고랭지, 고랭지에서 능가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 "으뜸쌈" 배추로 명명하였다. 개발된 "으뜸쌈" 배추는 국립종자원에 2009년 3월 생산판매신고를 실시하였다(그림 21).

표 15. 으뜸쌈 배추 육성계통도

년 도	계 통		비 고
	모계(CEKL)	부계(KKIS)	
2001	20	10	재료수집
2002	15	10	계통순화및계통선발
2003	7	5	"
2004	5	X 3	조합작성
2005	1	X 1	조합선발 및 조합작성
2006	0	X 0	"
2007	0	X 0	채종시험 및 생산력검정시험 및 능가실증시험
2008	으뜸쌈 배 추		능가실증시험

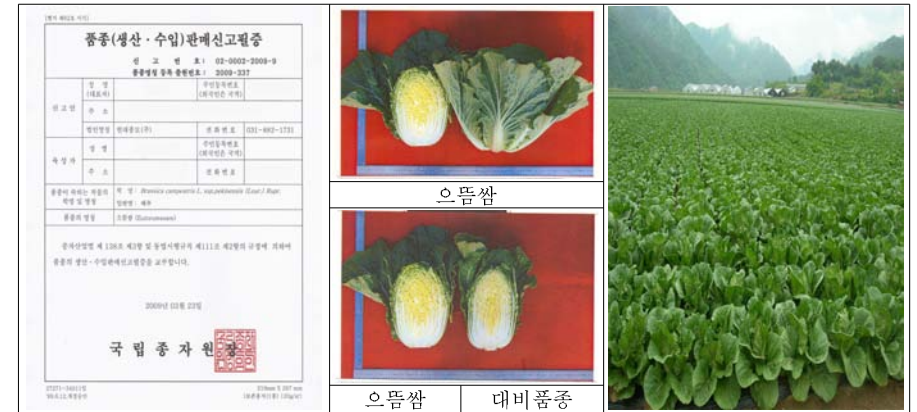


그림 21. 으뜸쌈 배추

② 주요특성

고랭지 내서성 여름배추의 신품종으로 개발된 "으뜸쌈" 배추의 주요 특성은 4월 초~7월 초까지 여름 준 고랭지, 고랭지 전 작기에 재배가 가능한 품종으로서 초세가 강하고 초장은 중간 정도이고 외엽의 모양은 넓은 달걀형으로 가장자리의 물결모양은 다소 약한 편이고 요철은 약하며 색깔은 녹색 이고 중륵은 편평하고 구의 세로로 자른면은 타원형이고 배추 속 색깔은 진한 노란색이며 추대는 안정적이었다. 결구형태는 반포함형으로 내외엽이 동시에 생육하므로 찜배추 및 곱절이 배추로 적합하였다.

쌈 배추는 고소한 맛이 있는 것을 소비자가 선호하는데, "으뜸쌈"은 단맛과 아삭함이 가미된 품종이고, 여름 상추의 가격이 높아 쌈 전용 식당에서 고층을 먹고 있고 상추의 쓴맛 보다는 고소한 배추가 젊은층에게도 선호될 것으로 예상되는 품종이다.

(나) 결구력이 뛰어나고 외관이 수려한 속노란 고품격 여름배추 "케이티엑스" 육성

① 육성경위

현대종묘 육종연구소에서 내서성 및 뿌리혹병(CR)에 강하고, 다수성이며 내엽색이 노랗고 추대가 안정된 품종을 육성하기 위하여 기 육성계통 중에서 내엽색이 노랗고 추대가 안정된 반포함형의 "CYS"계통을 모본으로 사용하였고, 내서성이 강하고 뿌리혹병에 내병성인 "CCH"계통을 부분으로 사용하여 2004년~2007년 인공교배로 교잡하여 F1종자를 획득하여 조합능력검정시험을 하여 "CYS-32-12-9-5-1-0-0 X CCH-25-7-5-3-1-0-0"의 조합이 육성목표에 일치하였다(표 16).

선발된 조합은 2008년~2009년 2년간 생산력 검정시험 및 강원도 준 고랭지, 고랭지에서 능가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 "케이티엑스" 배추로 명명하였다. 개발된 "케이티엑스" 배추는 국립종자원에 2010년 3월 품종보호출원신고 및 생산판매신고를 실시하였고 2012년 품종보호등록이 되었다(그림 22).

표 16. 케이티엑스 육성계통도

년 도	계 통		비 고
	모계(CYS)	부계(CCH)	
00~02	32	25	재료수집
2003	12	7	계통순화및계통선발
2004	9	5	"
2005	5	X 3	조합작성
2006	1	X 1	조합선발 및 조합작성
2007	0	X 0	"
2008	0	X 0	채종시험 및 생산력검정시험 및 농가실증시험
2009	케이티엑스 배 추		농가실증시험

(다) 준 고랭지 여름 재배에서 결구력과 상품성이 최고인 CR 배추 “위풍당당” 육성

① 육성경위

추대 안정성이 요구되면서 내서성에 강한 준 고랭지(해발 450m)품종 육성을 목표로 2004년~2006년 계통육성을 시작하여 기 육성계통 중에서 대구형이며 내엽색이 노랗고 추대가 안정된 반포함형의 “HTJ”계통을 모본으로 사용하였고, 내서성이 강하고 무사마귀병에 내병성인 “ACW”계통을 부분으로 사용하여 2006년~2008년 인공교배로 교잡하여 F1종자를 획득하여 조합능력검정시험을 하여 “HTJ-331-2-8-5-1-0-0 X ACW-103-11-19-3-2-0-0”의 조합이 육성 목표에 일치하였다(표 17).

선발된 조합은 2009년~2010년 2년간 생산력 검정시험 및 강원도 준 고랭지, 고랭지에서 농가 실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “위풍당당” 배추로 명명하였다. 개발된 “위풍당당” 배추는 국립종자원에 2010년 11월 품종보호출원신고를 실시하였다(그림 23).

표 17. 위풍당당 육성계통도

년 도	계 통		비 고
	모계(HTJ)	부계(ACW)	
2004	331	103	재료수집
2005	2	11	계통순화 및 계통선발
2006	8	19	"
2007	5	X 3	조합작성 및 조합능력검정
2008	1	X 2	조합능력검정 및 선발
2009	0	X 0	채종시험, 생산력검정시험 및 농가실증시험
2010	0	X 0	농가실증시험



그림 22. 케이티엑스 배추

② 주요특성

고랭지 내서성 여름배추의 신품종으로 개발된 “케이티엑스” 배추의 주요 특성은 고온기 결구력이 우수하고 뿌리혹병 저항성 품종으로 생존주율 및 상품성이 높아 농가 소득의 증대에 크게 기여할 것으로 판단되며, 식물체의 초장은 크고 외엽 모양은 넓은 달걀형으로 길고 넓고 요철은 중간 정도이고 중륵은 편평하고 배추를 세로로 자른면은 타원형이며 구 결구형태는 반포함형으로서 구의 크기가 크다. 내부색이 진한 노란색이며 추대는 비교적 안정적이고 수분 함량이 적당하여 식미가 우수하고 구가 H형으로 포장작업이 용이하고 다수성이다. 케이티엑스는 포장에서의 입모상태가 균일하고 포장 저장성이 우수하여 상업 재배에 유리하다는 평가를 받았다.



그림 23. 위풍당당 배추

② 주요특성

준 고랭지용으로 개발된 '위풍당당' 배추는 내서성이 강해 고온 결구력이 좋고 식물체의 키는 크고 외엽의 모양은 넓은 달갈형으로 길고 넓으며, 요철은 적으며 색깔은 녹색이다. 중륵은 편편하고 배추를 세로로 자르면 편편하였으며 외엽의 안토시아닌 색소는 없으나 광택은 강하였다. 반포함형으로 전체 중량이 3kg 정도로 상품율이 높아 재배가 안정적이며 내부는 단단하여 저장성 및 수송성이 우수하였으며 여름배추의 고품질 안정생산에 문제점으로 발생되는 뿌리혹병과 바이러스에 내병성이 강하였다. 또 2010년 지역적응성 검정시험에서 잦은 강우로 인해 모든 여름 고랭지 배추들의 생존율이 감소하였으나 "위풍당당"은 내습성에 강해 생존율 및 상품율이 아주 높았으며 전체 중량도 다른 품종들 보다 500g 더 높게 나왔다. 구 내부색이 노랑색이며 추대가 비교적 안정적이고 수분함량이 적당하여 식미가 우수하고 구가 H형으로 포장작업이 용이한 풍산성품종으로 준고랭지 작형에서 이상 기후시 발생하기 쉬운 추대에 안정되어 시장성이 좋을 것으로 예상된다.

(라) 결구가 빠르고 통이 큰 여름 CR 배추 "범상" 육성

① 육성경위

핵가족화 진행에 따른 음식문화가 변화되어 가고 있다. 여름배추의 소비형태가 5년 전에는 일반 소비자들이 70%, 김치공장용 30%를 차지하였으나 요즘은 김치공장용 70%, 소비자용 30%로 변화했다. 이는 김치를 담아먹지 않고 구입하여 먹는 가구의 확산으로 김치공장에서 요구하는 여름배추는 균일한 크기에 배추 절입성이 좋고 통이 크면서 포장에서 버팀성이 우수한 품종을 원하고 있어 이 기준을 적합한 품종을 육성하기 위해 기 보유계통들 중에서 대구형이며 내엽색이 노랑고 추대가 안정된 반포함형의 품질계 계통인 '1119ACW'을 모본으로 하였고 내서성 및 내습성이 강하고 무사마귀병에 내병성인 기 육성 '1241HDJ'계통을 부분으로 하여 2007년~2009년 인공교배로 교잡하여 F1종자를 획득하여 조합능력검정시험을 하여 "1119ACW-10-3-2-5-6-0-0 X 1241HDJ-1-2-9-1-1-0-0"의 조합이 선발되었다(표 18).

선발된 조합은 2010년~2011년 2년간 생산력 검정시험 및 강원도 준 고랭지, 고랭지에서 농가 실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 "범상" 배추로 명명하였다. 개발된 "범상" 배추는 국립종자원에 2012년 4월 품종보호 출원 신고를 실시하였다(그림 24).

표 18. 범상 육성계통도

년 도	계 통		비 고
	모계(1119ACW)	부계(1241HDJ)	
2005	10	1	재료수집
2006	3	2	계통순화 및 계통선발
2007	2	9	"
2008	5	X 1	조합작성 및 조합능력검정
2009	6	X 1	조합능력검정 및 선발
2010	0	X 0	채종시험, 생산력검정시험 및 농가실증시험
2011	0	X 0	농가실증시험

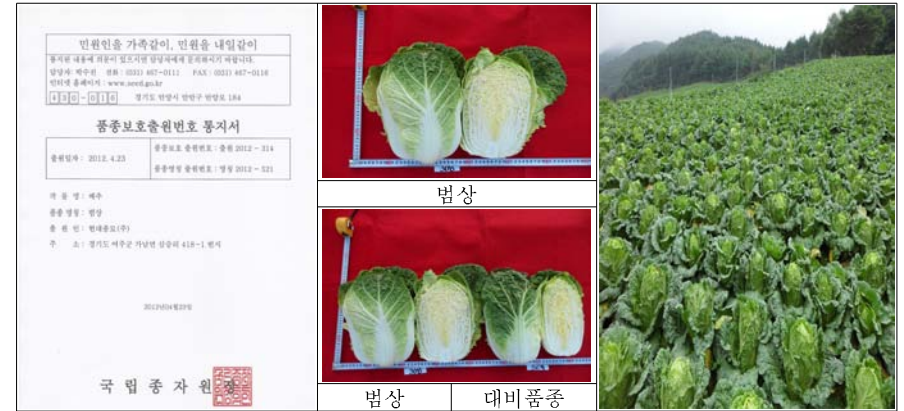


그림 24. 범상 배추

② 주요특성

고랭지 재배에 적합하면서 김치공장 납품용으로 개발된 "범상" 배추는 내서성이 강해 고온 결구력이 아주 우수하였으며 식물체의 키는 크고 외엽의 모양은 넓은 달갈형으로 길고 넓으며, 요철은 중간정도로 크기도 중간이었고 색깔은 녹색이다. 중륵은 편편하고 배추를 세로로 자르면 편편하였으며 외엽의 안토시아닌 색소는 없으나 광택은 강하였다. 반포피형으로 전체중이 3kg 정도로 수량성이 높아 풍산성이고 재배가 안정적이며 여름배추의 문제점인 내재해성에 강하고 뿌리혹병과 바이러스에 내병성이 강하였다. 또 2010년, 2011년 지역적응성 검정시험에서 불량환경에서도 "범상"은 생존율 및 상품율이 아주 높았으며 전체 수량도 높게 나왔다. 구 내부색이 노랑색이며 수분함량이 적당하여 식미가 우수하고 구가 H형으로 포장작업이 용이한 풍산성품종으로 식물체의 수분함량이 적당하여 수확작업시의 감모율이 낮고 아삭한 맛이 우수하여 김치공장용으로 적합할 것으로 좋을 것으로 예상된다.

(마) 추석부터 김장철까지 재배가능 한 고랭지 후기작형용 "신통플러스" 육성

① 육성경위

고랭지 후작 수확기인 추석에서 김장용으로 수확할 수 있는 맛 좋고 다수성 배추품종을 육성하기 위해 기 육성계통 중에서 대구형이며 내엽색이 노란 반포피형이면서 맛이 좋은 "CMS"계통을 모본으로 사용하였고, 품질이 우수하면서 복합 내병성인 "CNS"계통을 부분으로 사용하여 2007년~2009년 인공교배로 교잡하여 F1종자를 획득하여 조합능력검정시험을 하여 "CMS-11-2-9-1-2-0-0 X CNS-2-4-6-1-1-0-0"의 조합이 육성목표에 일치하였다(표 19).

선발된 조합은 2010년~2011년 2년간 생산력 검정시험 및 강원도 준 고랭지, 고랭지에서 농가 실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 "신통플러스" 배추로 명명하였다. 개발된 "신통플러스" 배추는 국립종자원에 2012년 5월 생산판매신고를 실시하였다(그림 25).

표 19. 신통플러스 육성계통도

년 도	계 통		비 고	
	모계(CMS)	부계(CNS)		
2005	11	2	재료수집	
2006	2	4	계통순화 및 계통선발	
2007	9	6	"	
2008	1	X	1	조합작성 및 조합능력검정
2009	2	X	1	조합능력검정 및 선발
2010	0	X	0	채종시험, 생산력검정시험 및 농가실증시험
2011	0	X	0	농가실증시험



그림 25. 신통플러스 배추

② 주요특성

고랭지 후작으로 적합하면서 추석배추와 김장 절임용배추로 개발된 “신통플러스” 배추는 내서성은 물론 후기 내한성에도 강해 생육초기는 고온신장력이 생육후기는 내한성이 우수하였다. 식물체의 키는 크고 바깥잎의 모양은 넓은 달걀형으로 선단은 둥근모양이며, 안토시아닌 색소는 없으며 색깔은 녹색이다. 구의 키가 크고 너비는 중간이며, 구 속색깔은 노랑색이며 단단한 정도는 중간으로 수확 성숙기가 빠르며, 또 2010년, 2011년 지역적응성 검정시험에서 불량 환경에서도 “신통플러스”의 작황은 아주 우수하였다. 구 내부색이 노랑색이 진하며, 식미가 가을배추의 맛으로 우수하고 추석출하용 및 고랭지 김장 절임용 배추로 적합할 것으로 예상된다.

4. 내서성 마커개발용 집단양성

배추와 같은 채소류의 품종육성시 육종 목표의 설정에서부터 시작하여 교배조합의 작성 및 교배, 고정세대의 진전을 거쳐 우량계통을 선발하는 기존 육종법은 여러 단계의 어려운 과정을 거쳐서 이루어지게 되는데 그 중에서도 특히 선발은 정확성 및 통찰력이 요구되는 중요한 과정으로 육종의 성패가 좌우된다고 할 수도 있다.

많은 농작물들의 형질은 환경의 영향에 의해 표현형이 변하여 유전형의 식별이 어렵거나 불가능하게 된다. 그러므로 우량대립유전자(allele)가 최대한 집적된 개체를 환경의 영향이나 다른 유전자 작용을 배제하고 선발하는 것은 가장 절실하면서도 어려운 과정이다. 그리고 여러 개의 다른 유전자가 한 가지 형질에 대해 관여할 때, 다른 염색체 부위에 존재하는 유용 allele을 한 계통으로 집적시키는 것(gene pyramiding)은 극히 가능성이 희박한 것으로 알려져 있다. 또한 특정형질의 경우 성숙된 후에야 발현되기 때문에 유전형 평가에 장기간이 소요된다.(Melchinger, 1990).

따라서 작물 육종 과정에서 환경의 영향이나 다른 유전자의 상위효과(epistasis)를 배제하고 선발의 정확성 및 효율성을 제고하기 위한 방법이 연구되었다. 그 중의 하나는 형태적인 마커와 isozyme 마커를 이용하는 것인데 이러한 마커들은 그 수가 제한되어 있고 대부분이 열악한 표현형을 나타내기 때문에 선발과정에 효율적으로 이용되지 못하였다.

최근에는 분자수준의 마커인 RFLP(Young et al. 1989a, 1989b; Gu et al. 1994)와 RAPD (Kesseli et al. 1994)가 실용화되고 이것이 유용 유전자의 간접선발 지표로 활용될 수 있으면서 그 유용성에 대한 연구가 많이 진행되었다.

분자마커는 환경이나 다른 유전형에 의해 영향받지 않고 특정 유전 형질의 존재 여부를 판정할 수 있을 뿐 아니라 특정 형질이 환경이나 다른 유전자에 의한 상위효과에 의해 영향을 받을 경우에도 마커를 이용하여 육묘 상태에 조기선발이 가능하다. 또한 특정 형질에 연관된 DNA 표지인자를 이용하여 다수의 유전자원에서 특정 형질을 가진 계통을 조사하여 육종에 사용할 재료선발에 이용 할 수 있으며(Haley et al. 1993), 여러 분자마커를 한 번의 반응에서 확인할 수 있기 때문에 선발에 소요되는 시간과 비용을 절감함으로써 효율적인 선발을 할 수 있는 장점이 있고, 선발과정에서 소실될 수 있는 유용 개체의 유전형을 직접 평가하여 선발함으로써 선발의 정확성을 제고시킬 수 있고 다품종 간 차이를 식별 할 수 있다.(Thormann et al. 1994; Torres 1993).

가. 내서성 연관 마커 개발용 시료

고랭지 여름배추 품종육성을 목적으로 전통육종법과 육종연안을 단축시킬 수 있는 분자마커 육종법을 병행하여 수행하였다. 우선 내서성 연관 마커 개발은 공동연구기관인 동국대학교 경상민 교수님 연구팀에서 진행하였다.

내서성 연관 마커 개발을 위해 현대종묘에서 내서성이 우수하다고 판단되는 F1품종 및 F1조합의 양친 및 F1 15점을 제공하였으며, 이는 내서성 여름배추육성에 유용하게 이용될 수 있는

내서성 연관 마커 개발이 절실히 필요하였다(표 20).

동국대학에 제공된 15점은 모, 부계 중에서 한쪽은 내서성이 강하고 다른 한쪽은 내서성에 약하지만 모, 부계를 인공교배하여 나온 F1은 내서성에 강한 품종 및 조합들을 선택하였으며, 동국대학에서는 다양한 프라이머를 이용하여 내서성에 강한 계통과 약한 계통의 내서성 연관 마커 연구가 이루어 졌다.

표 20. 내서성 연관 마커 개발용 시료 특성

기호	계통번호	내서성	비고
A-1	HS-5-G7	강	모본
A-2	HS-6-2	강	부본
A-F1	F1	강	F1
B-1	HJ-1-0	강	모본
B-2	HJ-2-A0	강	부본
B-F1	F1	강	F1
C-1	CG-A0-1	약	모본
C-2	CG-0-0	강	부본
C-F1	F1	중강	F1
D-1	CJ-0	약	모본
D-2	CJ-G4	약	부본
D-F1	F1	약	F1
E-1	ST-1-0	약	모본
E-2	ST-10-0	약	부본
E-F1	F1	약	F1

그리고 현대종묘 육종연구소 하우스에 6월 중순~7월 중순 동국대학교에 제공한 15점을 파종하여 내서성에 대한 표현형 정도를 조사하여 개발 중인 내서성 연관 마커와 표현형 검사를 하였다.

나. 내서성 연관 마커 개발용 집단양성

(1) 마커 개발용 시료 집단양성

내서성 연관 마커 개발용 F3 집단을 양성하고자 2008년 8월 23일 동국대학에 제공한 5품종과 내서성 우수한 1품종 포함 F1 6품종을 150점씩 900점 파종하였다. 정식은 연구소 노지포장에 재배하여 그해 12월 특성조사를 실시하여 동국대학교 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)과 공동으로 2품종 260점을 선발하였다.

선발된 260점은 성숙모본으로 포트에 정식하여 난방하우스에서 겨울동안 저온처리를 한 후 익년 2월부터 3월초까지 인공교배 하여 6월에 종자가 성숙되면 예취를 하여 7월 종자 조제 후 2009년 6월 5일 파종하여 6월 22일 저온처리를 위해 협동연구기관인 충남대학에 의뢰하여 45일간 저온처리를 실시하였고 저온처리 후 정식하여 10월 인공교배하여 F2 종자를 12월에 채종하였다. 채종된 F2종자들을 12월 초 파종하여 정식하였고 2010년 3월 4일과 5월 14일 2회에 걸쳐 내서성 연관 마커 개발용 시료로 150점을 동국대학교에 제공하였다(그림 26).



그림 26. 마커개발용 집단양성

(2) 내서성 표현형 검사

동국대학교 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)에 제공한 내서성 마커 개발용으로 현대종묘에서 집단 양성한 F2와 집단 양성이 완료되어 시료로 제공한 150개체 중에서 내서성 연관 마커 연구에서 나온 맵핑 집단들을 토대로 내서성 표현형을 검사하여 분자 마커와 연관검증을 통하여 내서성 관련 형질의 위치를 파악코자 현대종묘 하우스에서 실험을 진행하였다.

(가) F2, F3 집단의 내서성 표현형 검사

F2 종자의 표현형 검사를 위해 2008년 8월 23일 집단양성을 위해 파종하여 12월 특성조사를 실시하여 F1 2품종 260개체를 선발하였다. 선발된 개체들은 다음해 3월 인공교배하여 6월 초 F2 종자를 받을 수 있었다. 이렇게 얻어진 F2 종자를 6월 25일 파종하여 7월 15일경 하우스에 정식하였다.

그리고 내서성 연관 마커개발을 위해 현대종묘에서 집단양성 한 F3 집단을 2010년 3월 4일과 5월 14일 2회에 걸쳐 동국대학교에 제공한 시료 150점들 중에서 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)이 진행중인 내서성 연관마커를 이용하여 나온 맵핑 집단을 대상으로 내서성 표현형을 검사를 하였다. 맵핑된 집단들을 동국대학에서 종자로 받아 정확한 연구 진행을 위해 맵핑된 집단을 2회(2010년 6월 18일, 7월 23일) 파종하였다. 육묘는 105공 플러그트레이에 파종하여 20~25일 육묘(4-6엽전개시)후 2반복 20주씩 정식하여 일반관행으로 재배하였다.

조사는 동국대학교 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)과 같이 정식 후 15일, 40일, 수확조사로 3회 조사하였고 1차, 2차는 내서성 정도를 육안조사 하였으며 수확조사에서 내서성이 우수한 개체들은 샘플을 채취하여 동국대학교에서 내서성 연관 마커 개발에 활용하였다(그림 27).



그림 27. F3 집단 내서성 표현형 검사

(나) 맵핑 집단 표현형 검사(실내검정)

실내에서 온도 및 조도가 조절 가능한 조건에서 내서성 검사를 동국대학교 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)과 공동으로 진행함. '92'와 '93' 계통을 교배하여 만들어진 F3 집단을 동국대에 제공하고 내서성 표현형 검사를 수행함. 포장에서 내서성 검사와 동국대에서 내서성 검사의 결과를 비교하여 내서성 연관 마커 개발을 시도하였다.

다. 개발된 내서성 마커 활용

본 연구팀에서 현대종묘 포장에서 동국대와 공동으로 내서성 표현형을 조사한 결과는 내서성 QTL 연관 분석에서 연관 분자 마커 개발에 실패함 (2-5세부과제 결과). 내서성 표현형과 분자 마커와 긍정적인 연관 관계 결과를 얻지 못함.

하지만 같은 F3 집단을 동국대 정상민 교수님 연구팀에서 공동으로 조사한 실내 내서성 표현형 결과에서는 QTL 분석한 결과 3개의 내서성 QTL 연관 마커가 발견됨 (Ht-1, Ht-2, Ht-3). 2-5세부과제의 마커 개발이 예상보다 늦어진 이유로 내서성 연관 분자 마커를 이용한 품종 육성은 진행되지 못하였지만 이러한 2-5세부과제와 본 현대종묘 연구팀(2-6세부과제)과의 협동으로 개발된 내서성 QTL 연관 마커는 본 연구팀에서 내서성 품종 육성에 사용하고 있는 계통

('92'와 '93')을 이용한 결과이므로 직접적으로 내서성 품종 육성에 마커 선발 기술을 활용할 수 있다고 기대 됨.

따라서 동국대학교 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)에서 개발한 내서성 연관 마커를 활용하여 기 보유 계통간의 내서성 지수에 따른 그룹화가 가능할 것으로 예상되어지며 그룹화 된 계통들의 원예적인 특성을 파악하면 교배조합작성에 있어 내서성 정도를 미리 알 수 있을 것으로 판단되어진다.

앞으로도 필요한 계통들의 내서성 관련 유전자형을 분석하기 위해 동국대학교 정상민 교수님 연구팀(2-5세부과제)와 협력하여 마커 분석을 의뢰하고 내서성 품종 육성을 진행할 계획임.

우선 2011년 작성된 F1 교배조합들의 내서성 정도를 파악하기 위해 동국대학교와 협의 중에 있으며 2012년 6월 20일 강원도 준 고랭지 및 고랭지포장에 정식해 조합성능검정 중에 있는 여름배추조합의 내서성 정도가 파악되면 조합선발을 더욱 쉽게 할 수 있을 것으로 판단된다. 그리고 내서성 품종들의 순도검정에 활용하여 포장검정에 따르는 비용, 시간 및 인력의 절감에 결정적인 기여를 하게 될 것으로 전망되며, 내서성 배추 뿐만 아니라 십자화과인 무 품종육성에도 적용된다면 산업적인 측면에서 육성연안 단축으로 경제적인 이익이 상승 될 수 있을 것으로 예상되어 진다.

5. 기타 연구내용

가. 뿌리혹병 저항성검정

여름 배추 주산지인 강원도 지역에서는 2005년 재배면적의 9%에 해당하는 692ha 면적에서 배추 뿌리혹병(*plasmidiophora brassicae*)이 발생하였으며 매년 증가 추세이다. 현재 이러한 뿌리혹병의 발생생태, 품종저항성 검정, 방제체계에 관한 일련의 보고(Chang 등, 2000; KIm 등, 2000a; Oh 등 1997)가 있으나 아직 시급히 해결해야 할 문제점이 많이 남아있는 실정이다. 배추 뿌리혹병 방제연구는 경종적 측면에서 진행되고 있다(Cheah 등, 2000). CR계통 내병성 품종은 뿌리혹병에 대한 저항성은 높지만 당도가 낮고 조직이 너무 단단하여 김치 맛이 떨어져 소비자들이 기피하는 현상이 나타나고 있다(Jang 등, 2001; Kim과 Oh, 1997). 일반적으로 뿌리혹병에 감염된 배추의 지상부는 건전한 배추에 비해 생육이 부진하며, 특히 생육초기에 감염될 경우 수확을 할 수 없고 후기에 감염될 경우 수확 가능하나 수량성이 매우 부진하여 여름배추 물량 수급에 어려움이 있다. 이런 점을 보완하기 위하여 충남대학교에 의뢰하여 계통 및 작성된 조합의 뿌리혹병 마커검정을 실시하였다.

(1) 재료 및 방법

뿌리혹병 마커검정은 충남대학교에 의뢰하여 3차년 실시하였다. 3차년에는 계통 150점과 조합 50점, 4차년 계통 150점 조합 50점, 5차년도인 2011년에는 계통 50점과 조합 141점을 순차적으로 200점씩 의뢰 하여 뿌리혹병 저항성 품종육성을 위한 자료로 사용하였다.

가을 노지포장에서 계통육성을 위해 선발된 계통과 내서성 배추육성을 위해 육성중인 선발계통 개체들의 뿌리혹병 저항성 유무를 판별하기 위해서 성숙모본으로 선발된 식물체와 교배조합능력검정 시험에서 선발된 우수조합의 종자생산성 검정을 위해 파종한 미숙모본 양친의 계통을 샘플로 하였고 조합은 우수 F1조합 및 2년간 뿌리혹병 검정에서 저항성으로 판별된 계통을 활용한 교배조합의 뿌리혹병 저항성 판별을 위해 샘플을 채취하였다. 샘플은 잎을 5*5cm크기로 채취하여 밀폐용기에 담아 충남대학교 분석팀에 의뢰하였다.

(2) 결과 및 고찰

3차년(2010년)에 의뢰한 계통 150점과 조합 50점의 뿌리혹병 마커검정 결과 샘플 200점 중에서 계통 16점과 교배조합 1점이 뿌리혹병 저항성으로 판별 되었고, 4차년에 실시한 검정에서는 계통 12점, 조합 7점등 19점이 뿌리혹병 저항성으로 판별되었고 나머지 181점은 감수성으로 나왔다(표 21, 표 22). 3차년은 2년간의 검사 결과를 참고하여 뿌리혹병 저항성 계통 간 교배조합 작성으로 조합에서도 다수가 저항성으로 판별되었으며 본 연구과제의 목표인 내서성에 강한 품종을 육성함에 있어 내서성에도 강하면서 뿌리혹병 저항성 품종을 개발함으로써 여름 고랭지 배추의 안정적인 수급이 가능할 것으로 판단하여 5차년(2012년)에는 내서성이 우수하면서 뿌리혹병 저항성 품종육성을 목표로 다양한 조합을 작성하였다. 그 결과 50계통 중에서 26계통이 뿌리혹병 저항성으로 판별되었으며 뿌리혹병 저항성 계통을 활용한 교배조합 200조합 중에서 임의 선정한 141조합을 검사하여 61조합에서 뿌리혹병 저항성으로 판별되었고 나머지 80조합은 감수성으로 검사 결과가 나왔다(표 23).

표 21. 2010년 뿌리혹병 마커검정 결과

번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09
1	0	0	0	41	0	0	0	81	0	0	0	121	0	0	0	161	0	0	0
2	0	0	0	42	0	0	0	82	0	0	0	122	0	0	0	162	0	0	0
3	0	0	0	43	0	0	0	83	0	0	0	123	0	0	0	163	0	0	0
4	0	0	0	44	0	0	0	84	0	0	0	124	0	0	0	164	0	0	0
5	0	0	0	45	0	0	0	85	0	0	0	125	0	0	0	165	0	0	0
6	0	0	0	46	0	0	0	86	0	0	0	126	1	1	1	166	0	1	0
7	0	0	0	47	0	0	0	87	0	0	0	127	0	0	0	167	0	1	0
8	0	0	0	48	0	0	0	88	1	1	1	128	0	0	0	168	0	0	0
9	H	1	1	49	1	1	1	89	1	1	1	129	1	1	1	169	0	0	0
10	0	0	0	50	1	1	1	90	H	1	1	130	0	0	0	170	0	0	0
11	H	1	1	51	0	0	0	91	0	0	0	131	0	0	0	171	0	0	0
12	1	1	1	52	0	0	0	92	0	0	0	132	0	0	0	172	0	0	0
13	1	1	1	53	0	0	0	93	1	0	0	133	0	0	0	173	0	0	0
14	1	0	1	54	1	1	1	94	0	0	0	134	0	0	0	174	0	0	0
15	0	0	1	55	0	0	0	95	1	1	1	135	0	0	0	175	0	0	0
16	1	1	1	56	0	0	0	96	0	0	0	136	0	0	0	176	0	0	0
17	0	0	0	57	0	0	0	97	0	0	0	137	0	0	0	177	0	0	0
18	0	0	0	58	0	0	0	98	0	0	0	138	0	0	0	178	0	0	0
19	0	0	0	59	0	0	0	99	0	0	0	139	0	0	0	179	0	0	0
20	0	0	0	60	0	0	0	100	0	0	0	140	1	1	1	180	0	0	0
21	0	0	0	61	0	0	0	101	0	0	0	141	0	0	0	181	0	0	0
22	0	0	0	62	0	0	0	102	0	0	0	142	0	0	0	182	0	0	0
23	0	0	1	63	0	0	0	103	0	0	0	143	0	1	0	183	0	0	0
24	0	0	0	64	0	0	0	104	0	0	0	144	0	0	0	184	0	0	0
25	0	0	0	65	0	0	0	105	0	0	0	145	1	1	1	185	0	0	0
26	0	0	0	66	1	1	1	106	0	0	0	146	0	0	0	186	0	0	0
27	0	0	0	67	1	0	1	107	0	0	0	147	0	0	0	187	0	0	0
28	0	0	0	68	0	0	0	108	0	0	1	148	0	0	1	188	0	0	0
29	0	0	0	69	0	0	0	109	0	0	0	149	0	0	0	189	0	0	0
30	1	1	1	70	1	0	1	110	0	0	0	150	0	0	0	190	0	0	1
31	0	0	0	71	1	1	1	111	0	0	0	151	0	0	0	191	0	0	0
32	0	0	0	72	0	1	1	112	0	0	0	152	0	0	0	192	0	0	0
33	0	0	0	73	0	0	0	113	0	0	0	153	0	0	0	193	0	0	0
34	1	0	0	74	0	0	0	114	0	0	0	154	0	0	0	194	0	0	0
35	0	0	0	75	0	0	0	115	0	0	0	155	0	0	0	195	0	0	0
36	0	0	0	76	0	0	0	116	0	1	0	156	0	0	0	196	0	0	0
37	0	0	0	77	0	0	0	117	0	0	0	157	0	0	0	197	0	0	0
38	0	0	0	78	0	0	0	118	0	0	0	158	0	0	0	198	0	0	0
39	0	1	1	79	0	0	0	119	0	0	0	159	0	0	1	199	1	1	1
40	0	0	0	80	0	0	0	120	0	0	0	160	0	0	0	200	0	0	0

표 22. 2011년 뿌리혹병 마커검정 결과

시료 번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	시료 번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	시료 번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	시료 번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09	시료 번호	TCR 01	TCR 05	TCR 09
HD-1	0	0	0	HD-41	0	1	1	HD-81	0	1	0	HD-121	x	x	x	HD-161	0	1	1
HD-2	0	0	1	HD-42	0	x	1	HD-82	x	x	x	HD-122	0	x	1	HD-162	1	x	x
HD-3	0	0	1	HD-43	0	1	H	HD-83	0	0	1	HD-123	0	x	1	HD-163	x	x	x
HD-4	0	0	1	HD-44	0	1	1	HD-84	1	x	1	HD-124	0	x	1	HD-164	x	x	x
HD-5	0	0	0	HD-45	x	x	1	HD-85	x	x	x	HD-125	x	x	x	HD-165	1	x	1
HD-6	0	0	0	HD-46	0	1	1	HD-86	0	1	1	HD-126	0	x	1	HD-166	1	1	1
HD-7	0	0	1	HD-47	0	x	x	HD-87	0	1	1	HD-127	0	0	1	HD-167	1	x	1
HD-8	0	0	1	HD-48	0	x	x	HD-88	0	x	1	HD-128	x	x	x	HD-168	x	x	x
HD-9	1	1	1	HD-49	0	0	0	HD-89	0	1	1	HD-129	0	x	1	HD-169	1	1	1
HD-10	0	0	1	HD-50	0	0	0	HD-90	0	1	1	HD-130	x	x	x	HD-170	1	1	0
HD-11	0	1	1	HD-51	0	x	1	HD-91	0	0	0	HD-131	0	x	1	HD-171	1	1	x
HD-12	0	1	1	HD-52	0	0	1	HD-92	0	1	1	HD-132	0	x	1	HD-172	1	1	x
HD-13	0	1	1	HD-53	0	0	1	HD-93	0	0	0	HD-133	x	x	x	HD-173	x	x	x
HD-14	0	1	1	HD-54	0	0	1	HD-94	0	0	0	HD-134	0	x	x	HD-174	1	x	1
HD-15	0	x	1	HD-55	1	1	1	HD-95	0	0	1	HD-135	0	1	1	HD-175	1	x	1
HD-16	0	1	1	HD-56	1	1	x	HD-96	0	0	0	HD-136	0	x	1	HD-176	1	x	1
HD-17	0	1	1	HD-57	0	x	1	HD-97	0	0	0	HD-137	0	1	1	HD-177	1	x	1
HD-18	1	1	1	HD-58	0	0	1	HD-98	0	0	1	HD-138	0	x	1	HD-178	1	1	1
HD-19	1	1	1	HD-59	x	x	x	HD-99	0	0	1	HD-139	0	1	1	HD-179	1	1	1
HD-20	1	1	1	HD-60	0	x	x	HD-100	0	0	0	HD-140	0	0	1	HD-180	1	x	1
HD-21	1	1	1	HD-61	0	0	1	HD-101	0	0	1	HD-141	0	x	1	HD-181	1	x	1
HD-22	1	1	1	HD-62	0	0	1	HD-102	0	0	1	HD-142	0	x	1	HD-182	x	x	x
HD-23	0	1	1	HD-63	0	0	1	HD-103	0	1	1	HD-143	0	x	1	HD-183	0	0	1
HD-24	1	x	1	HD-64	0	1	1	HD-104	0	0	1	HD-144	0	x	1	HD-184	0	0	1
HD-25	1	1	1	HD-65	0	0	x	HD-105	0	0	1	HD-145	0	x	1	HD-185	0	x	x
HD-26	0	x	1	HD-66	0	0	1	HD-106	0	0	1	HD-146	1	1	1	HD-186	0	0	1
HD-27	0	x	1	HD-67	0	x	x	HD-107	0	0	1	HD-147	x	x	x	HD-187	0	0	1
HD-28	1	1	1	HD-68	0	1	1	HD-108	0	0	1	HD-148	0	x	1	HD-188	1	1	1
HD-29	0	1	0	HD-69	0	0	0	HD-109	0	0	1	HD-149	0	0	1	HD-189	0	0	1
HD-30	0	1	1	HD-70	0	0	1	HD-110	0	x	1	HD-150	0	1	1	HD-190	1	x	x
HD-31	0	1	1	HD-71	1	0	1	HD-111	0	x	1	HD-151	0	1	1	HD-191	0	x	x
HD-32	0	1	1	HD-72	0	0	1	HD-112	0	0	1	HD-152	0	1	1	HD-192	x	x	x
HD-33	0	x	1	HD-73	0	0	1	HD-113	0	0	1	HD-153	0	x	1	HD-193	0	x	x
HD-34	0	x	x	HD-74	0	x	1	HD-114	0	x	1	HD-154	0	1	1	HD-194	0	0	0
HD-35	0	1	1	HD-75	0	1	0	HD-115	0	x	x	HD-155	0	1	1	HD-195	0	x	x
HD-36	0	x	1	HD-76	1	x	1	HD-116	0	x	1	HD-156	0	1	0	HD-196	x	x	x
HD-37	0	1	0	HD-77	x	x	x	HD-117	0	x	1	HD-157	0	0	1	HD-197	0	x	x
HD-38	0	1	1	HD-78	0	1	1	HD-118	0	0	1	HD-158	0						

표 23. 2012년 뿌리혹병 마커검정 결과

시료 ID	TCR O1	TCR O5	TCR O9	시료 ID	TCR O1	TCR O5	TCR O9	시료 ID	TCR O1	TCR O5	TCR O9	시료 ID	TCR O1	TCR O5	TCR O9	시료 ID	TCR O1	TCR O5	TCR O9
HD-1	1	1	1	HD-41	1	1	1	HD-81	1	1	1	HD-121	0	0	1	HD-161	1	1	1
HD-2	1	1	1	HD-42	0	0	1	HD-82	1	1	0	HD-122	0	0	0	HD-162	1	1	1
HD-3	1	1	1	HD-43	0	0	1	HD-83	1	1	0	HD-123	0	0	1	HD-163	1	1	1
HD-4	1	1	0	HD-44	0	0	1	HD-84	1	1	1	HD-124	0	0	1	HD-164	1	1	1
HD-5	1	1	1	HD-45	1	1	1	HD-85	1	1	1	HD-125	1	1	1	HD-165	1	1	1
HD-6	0	0	1	HD-46	1	1	0	HD-86	1	1	1	HD-126	0	0	1	HD-166	1	1	1
HD-7	1	1	1	HD-47	1	1	0	HD-87	1	1	1	HD-127	1	1	0	HD-167	1	1	1
HD-8	1	1	1	HD-48	0	0	1	HD-88	1	1	x	HD-128	1	1	1	HD-168	0	0	0
HD-9	1	1	0	HD-49	1	1	1	HD-89	1	1	0	HD-129	1	1	1	HD-169	1	1	0
HD-10	1	1	1	HD-50	1	1	1	HD-90	1	1	1	HD-130	1	x	0	HD-170	1	1	0
HD-11	1	1	1	HD-51	1	1	1	HD-91	1	1	x	HD-131	1	1	1	HD-171	0	1	1
HD-12	1	1	1	HD-52	1	1	0	HD-92	1	0	1	HD-132	1	1	0	HD-172	1	0	x
HD-13	0	0	1	HD-53	1	1	x	HD-93	1	x	0	HD-133	1	1	1	HD-173	1	1	1
HD-14	1	1	0	HD-54	1	1	0	HD-94	1	1	1	HD-134	1	1	1	HD-174	1	1	1
HD-15	1	1	0	HD-55	1	1	1	HD-95	1	0	0	HD-135	1	1	1	HD-175	1	1	1
HD-16	1	1	0	HD-56	1	1	x	HD-96	1	1	x	HD-136	1	1	1	HD-176	0	1	1
HD-17	1	1	0	HD-57	1	1	1	HD-97	1	1	1	HD-137	1	1	1	HD-177	0	0	1
HD-18	1	1	1	HD-58	1	1	0	HD-98	1	1	x	HD-138	1	1	0	HD-178	1	0	x
HD-19	1	1	1	HD-59	1	1	0	HD-99	1	1	1	HD-139	1	1	0	HD-179	1	1	1
HD-20	1	1	0	HD-60	1	1	0	HD-100	1	1	1	HD-140	1	1	1	HD-180	0	1	1
HD-21	0	0	1	HD-61	1	1	0	HD-101	1	1	1	HD-141	1	1	x	HD-181	1	0	1
HD-22	0	0	1	HD-62	1	1	1	HD-102	1	1	x	HD-142	1	1	x	HD-182	1	1	0
HD-23	1	1	0	HD-63	1	1	1	HD-103	1	1	x	HD-143	0	0	x	HD-183	0	1	1
HD-24	1	1	1	HD-64	1	1	0	HD-104	1	1	0	HD-144	1	1	1	HD-184	0	0	1
HD-25	1	1	x	HD-65	1	1	0	HD-105	1	1	0	HD-145	1	1	1	HD-185	1	0	0
HD-26	1	1	1	HD-66	1	1	0	HD-106	1	1	x	HD-146	1	1	1	HD-186	1	1	0
HD-27	1	1	1	HD-67	1	1	0	HD-107	1	1	x	HD-147	1	1	x	HD-187	1	1	0
HD-28	1	1	1	HD-68	1	1	0	HD-108	1	1	1	HD-148	1	x	0	HD-188	0	1	1
HD-29	1	1	1	HD-69	1	1	0	HD-109	1	1	1	HD-149	1	1	0	HD-189	0	1	1
HD-30	1	1	1	HD-70	1	1	x	HD-110	1	1	1	HD-150	1	1	0	HD-190	1	1	0
HD-31	1	1	1	HD-71	1	1	x	HD-111	1	1	1	HD-151	0	0	1	HD-191	1	1	0
HD-32	1	1	1	HD-72	1	1	1	HD-112	1	1	1	HD-152	1	1	0				
HD-33	0	1	1	HD-73	1	1	0	HD-113	1	1	1	HD-153	1	1	1				
HD-34	1	1	1	HD-74	1	1	x	HD-114	0	0	1	HD-154	0	0	1				
HD-35	1	1	1	HD-75	1	1	1	HD-115	1	1	1	HD-155	1	0	1				
HD-36	1	1	x	HD-76	1	1	0	HD-116	1	1	1	HD-156	1	1	1				
HD-37	0	0	1	HD-77	1	1	0	HD-117	1	1	1	HD-157	1	1	1				
HD-38	1	1	0	HD-78	1	1	1	HD-118	1	1	1	HD-158	1	1	0				
HD-39	1	1	1	HD-79	1	1	1	HD-119	1	1	1	HD-159	1	1	x				
HD-40	1	1	0	HD-80	1	1	1	HD-120	0	0	1	HD-160	1	1	1				

본 연구에서 뿌리혹병 마커 검정을 통해 저항성으로 판별된 계통을 이용하여 육성된 “위풍당당”, “범상” 등은 내서성에 강하고 품질이 우수하며 뿌리혹병 저항성 품종으로 상품율이 높았다.

나. 배추 성분분석

(1) 칼슘 및 무기질분석

본 연구과제를 수행하면서 여름배추의 안정적인 수급을 위해 품종을 육성하였으나 운송과 저장에 관해서는 아무런 연구가 이루어지지 않았다. 저장성을 확보하는 것으로는 다른 작물에서도 마찬가지로, 칼슘 함량이 높은 품종개발이 필요하며, 칼슘이 지나치게 높으면 질겨지고 맛이 없어지지만 외엽 형성시기에만 칼슘흡수가 많고 그 이후에는 칼슘흡수가 적당한 품종 특성이라면 포장중이나 운송중에 물리적 손상에 의한 부패가 줄어들게 분명하며, 또한 칼슘에 의한 tip burn이 무던 품종을 개발하여야 속무름도 방지할 수 있을 것이라 생각하여 Ca 및 무기질 분석을 충남대에 의뢰하여 2년간 실시하였다. 내서성 계통 중에서 원예적 특성이 우수한 계통을 선발하여 2010년 12월 17계통, 2011년 12월 15계통을 분석 의뢰하여 ICP-AES 분석으로 Ca, B, Mg, Fe, Zn 등 5가지 무기질에 관한 분석을 하였다.

배추는 칼슘 38.0mg/100g, 철분 0.04mg/100g, 아연 0.15mg/100g 함유되어 있다. 실험 결과에서는 수분을 함유한 생체중의 함유량이 아닌 수분을 제거한 건물중 함유량으로 나와 배추의 영

양화적인 함유량과는 차이를 보여 분석 의뢰한 계통간의 Ca량을 3.0mg/g이상(상), 3.0mg/g~2.0mg/g(중), 2.0mg/g이하(하)로 구분하였을 경우 상대적으로 4계통은 Ca를 많이 함유하였고 6계통은 상대적으로 적었다(그림 28). 2차로 실시한 무기질 분석에서는 11계통이 2.0mg/g이하로 1차 조사에서 보다 Ca함량이 적은 계통이 많았다(표 24).

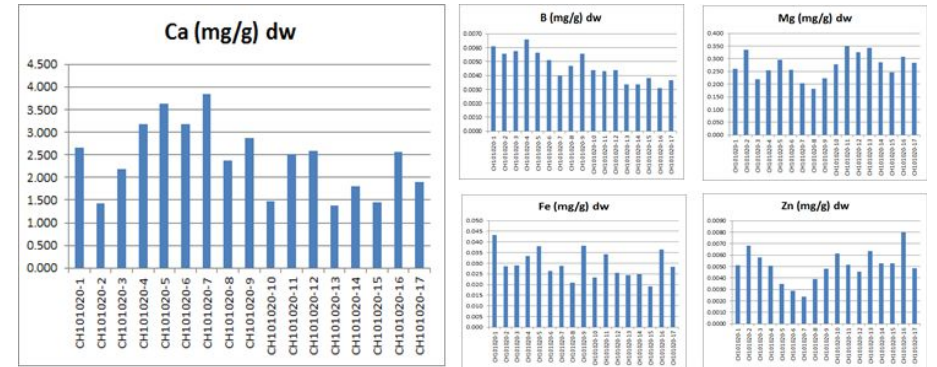


그림. 28 2010년 배추 Ca분석 결과

표 24. 2011년 배추 Ca분석 결과

sample name	측정농도 (PPM) dry weight				
	Ca	Mg	B	Zn	Fe
HC101	19880	3875	32.95	43.6	100
HC102	12460	2160	32.1	42.85	99.65
HC103	12700	2918	26.65	58.65	81.85
HC104	17640	2644	30.55	37.5	79.7
HC105	27120	4236	25.4	49.4	85.45
HC106	20320	3610	29.55	37.65	97.6
HC107	29840	4827	28.75	34.05	115.4
HC108	37090	5307	26.9	26.05	44.05
HC109	13480	2682	26.15	111.6	158.65
HC110	11070	1986	30.95	68.3	179.35
HC111	15440	2311	28.5	40.1	85.6
HC112	18170	3138	22.7	40.45	74.45
HC113	13510	2386	21.35	32.7	69.15
HC114	17990	2795	36.15	107.85	245.8
HC115	17110	3032	24.85	53	116.3

Ca 함유량이 높은 계통들은 포장에서 텃밭 발생 및 속무름 현상이 적었으나 식용부위가 질기고 맛은 조금 떨어지는 것으로 조사되었다. 그러나 Ca 함량이 높은 배추를 수확하여 상온 저장 하였을 경우 일반 배추들 보다 일주일 더 버티는 것을 알 수 있었다.

(2) beta-carotene 분석

최근 건강에 대한 관심이 높아 녹황색 채소에 함유된 항산화성분인 베타카로틴에 연구가 활발히 진행 중이다. 베타카로틴은 채소류의 고유한 붉은색을 내는 물질로서 암 예방에 효과적으로 알려져 있으며 당근, 호박 등에 많이 함유되어 있다. 본 연구과제 수행 중 수집한 계통들 중에서 내엽의 색이 아주 진한 계통을 발견할 수 있었다. 기 보유 육성계통과 수집계통 중에서 내엽의 색이 진황색인 계통을 선별하여 베타카로틴 함량을 알아보기 위해 충남대학에 15점을 분석의뢰 하였다.

베타카로틴 분석 결과 분석의뢰 한 15점의 평균 함량은 231.37µg/g이고 7점은 평균이상의 함량을 기록하였다. 배추 베타카로틴의 생체중 함량은 37.00µg/100으로서 수분을 제외한 건물중 함량과는 차이를 보였으며 HB207번은 베타카로틴이 다른 계통들 보다 월등히 높게 나왔다(표 25, 그림 29).

표25. 베타카로틴 분석결과

2.Carotenoid			
sample name	측정농도 (µg/g)		
	Lutein	beta-carotene	
HB201	296.77	296.77	268.79
HB202	220.06	220.06	199.21
HB203	98.24	98.24	114.09
HB204	52.47	52.47	201.39
HB205	56.64	56.64	216.79
HB206	73.19	73.19	275.76
HB207	381.50	381.50	431.19
HB208	377.53	377.53	298.76
HB209	95.95	95.95	137.94
HB210	190.11	190.11	227.06
HB211	135.26	135.26	193.36
HB212	22.48	22.48	145.81
HB213	198.30	198.30	250.32
HB214	220.89	220.89	268.93
HB215	186.48	186.48	240.03



일반배추 HB207 HB210 HB203

그림. 29 베타카로틴 함량 비교

제3-1절 배추 개화 및 추대관련 마커 개발

연구결과는 다음과 같이 분류하여 기술하고자 한다.

1. Microarray를 통한 유전자 탐색과 발현분석
 - 1) RCB과 지부를 이용한 microarray
 - 2) 추대형성 유전자 선발을 위한 microarray
 - 3) 광주기관련 유전자 탐색을 위한 애기장대와 RCB를 이용한 microarray
 - 4) 장단일 민감 배추를 이용한 microarray
2. 유전자 선발과 genomic DNA 클로닝 및 염기서열 분석
3. PCR용 프라이머 작성과 마커 개발
4. 마커의 검정과 특허출원

본 연구결과 기술에 앞서, 연구에 사용된 배추재료를 소개하고자 한다. 표적유전자를 클로닝하고 염기서열분석을 위해서는 제1세부과제가 운영하고 있는 배추종자은행에서 분양받은 Rapid cycling *Brassica rapa*(RCBr) DH line, Kenshin DH line, Chiifu DH line 및 우리종묘(주)에서 분양받은 조기초대 내훈계 (WSEF)와 만기추대 내훈계(WSLF)를 이용하였다. 추가적인 염기서열 분석 및 RT-PCR 검정을 위해서는 사업단에 소속된 3개의 회사로부터 분양받은 내훈계 배추를 이용하였다(표 1).

표1. List of Chinese cabbage samples for PCR-assisted marker development.

Seed Company	ID	Description	No
Woori Seed	W-1020	Early flowering	1
	W-1052	Early flowering	2
	W-1061	Early flowering	3
	W-1118	Early flowering	4
	W-1120	Early flowering	5
	W-1121	Early flowering	6
	W-1070	Intermediate	7
	W-1094	Intermediate	8
	W-1098	Intermediate	9
	W-1067	Late flowering	10
	W-1071	Late flowering	11
Nonghyup Seed	BN-669	7.0 (Earliest flowering)	12
	BN-615	6.0	13
	BN-665	6.0	14
	BN-533	3.5	15
	BN-681	3.6	16
	BN-511	2.5	17
	BN-516	2.5	18
BN-585	2.5	19	

	BN-535	2.3	20
	BN-548	2.2	21
	BN-512	2.0	22
	BN-560	2.0	23
	BN-562	2.0	24
	BN-522	1.5	25
	BN-546	1.5	26
	BN-570	1.5	27
	BN-573	1.2	28
	BN-524	1.2	29
	BN-547	1.2	30
	BN-515	1.0	31
	BN-569	1.0 (Latest flowering)	32
Hankook Seed	CI-79	조조기추대	33
	CI-26	조기추대	34
	CI-27		35
	CI-32		36
	CI-33		37
	CI-50		39
	CI-53		39
	CI-54		40
	CI-58		41
	CI-74		42
	CI-12		중기추대
	CI-15	44	
	CI-17	45	
	CI-34	46	
	CI-37	47	
	CI-38	48	
	CI-60	49	
	CI-1	만기추대	
	CI-2		51
	CI-3		52
	CI-4		53
	CI-9		54
	CI-18		55
	CI-59		56
	CI-61		57
	CI-63		58
	CI-8	만만기추대	59

그 외 실험에 사용한 배추시료는 충남농촌진흥원 포장에서 분양받거나, 종자를 시중에서 구입하여 배양하여 사용하였다.

1. Microarray를 통한 유전자 탐색과 발현 분석

가. RCB과 지부를 이용한 microarray

조기 추대와 만기 추대를 구분할 수 있는 분자마커를 개발하기 위해서 microarray 실험을 수행하였으며, 이때 사용한 재료는 rapid cycle *Brassica rapa* inbred line과 지부 내혼계였다. Rapid cycle *Brassica rapa* inbred line은 파종 후 15일 전후로 추대가 일어나기 때문에 개화억제 유전자가 발현되지 않거나 개화촉진 유전자가 항상 발현될 것으로 예측된다. 반면, 지부는 6주 이상의 춘화처리 후 장일조건에서 키웠을 경우에 개화가 유도되므로 개화촉진 유전자가 억제된 배추로 예측된다. 따라서 rapid cycle *Brassica rapa* inbred line에서 발현되는 유전자와 지부에서 발현되는 유전자를 배추 DNA 칩을 이용하여 종합적으로 분석하면, rapid cycle *Brassica rapa* inbred line 특이적으로 발현되는 유전자, 즉 개화촉진과 관련된 유전자와 지부 특이적 발현 유전자, 개화 억제유전자를 구분할 수 있다. 이렇게 구분된 유전자는 추대관련 분자마커 개발을 위한 후보 유전자로 간주될 수 있다.

본 연구에서는 자엽시기와 본엽이 다섯 장 정도 나온 rapid cycle *Brassica rapa* inbred line와 지부 내혼계 식물로부터 total RNA를 분리하여 KBGP-50K DNA chip (배추 유전자 5만개가 집적된 칩)을 이용하여 microarray 실험을 수행하였다. 그 결과, rapid cycle *Brassica rapa* inbred line에서 2배 이상 발현이 증가된 유전자는 4,114개였으며, 이 중에 1,135개 유전자가 아직 타 식물에서 알려지지 않은 유전자였다. 그리고 2배 이상 감소하는 유전자는 4,206개였으며, 이 중에 1,213개가 역시 타 식물에서 알려지지 않은 유전자였다. 너무 많은 유전자의 발현이 지부 내혼계와 달랐기 때문에 4배 이상 변화를 보인 유전자를 살펴본 바, 991개 유전자의 발현이 증가하였으며, 1,894개 유전자의 발현이 감소하였다. 이 중에 374개와 771개는 역시 타 식물에서 알려지지 않은 유전자였다.

지부를 대조군으로 하였을 경우, rapid cycle *Brassica rapa*에서의 발현양상에 따른 클러스터링을 하면 그림 1과 같이 9개로 구분이 된다.

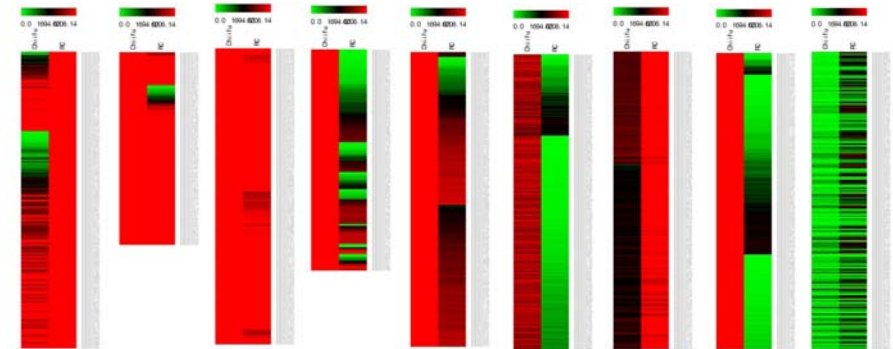


그림 1. Hierarchical clustering analysis of 5,249 selected genes which show more than 2 fold change using Cluster and Treeview.

이들 유전자 중에서 4 배이상 발현의 변화를 보이는 유전자는 2,885개 있으나, 애기장대에 존재하지 않는 유전자를 제외하면, 617개는 증가하는 유전자이고, 1,123개는 감소하는 유전자였다. Rapid cycle *Brassica rapa*에서 발현이 4배이상 증가하는 617개 유전자를 여러 가능별로 분류하면 그림 2-4와 같다.

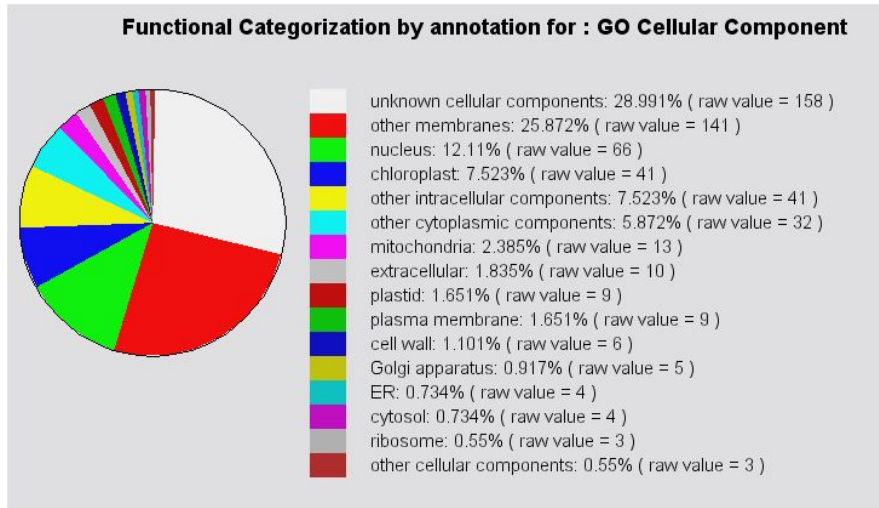


그림 2. Functional categorization by annotation for GO cellular component.

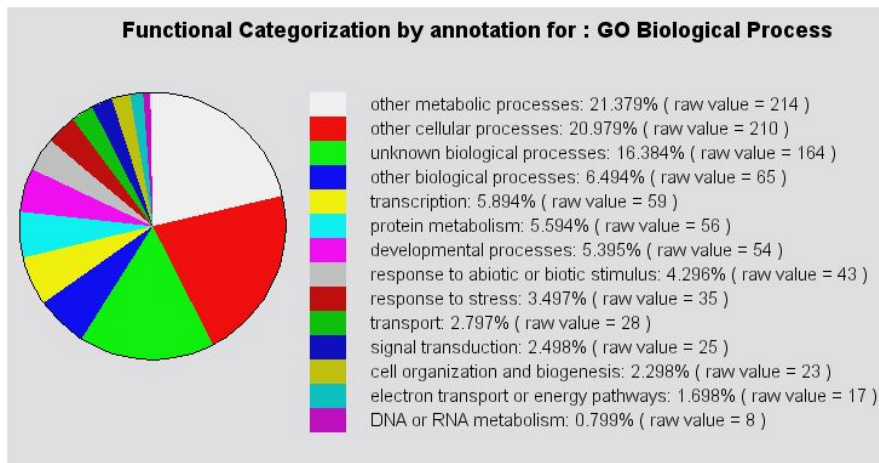


그림 3. Functional categorization by annotation for GO biological process.

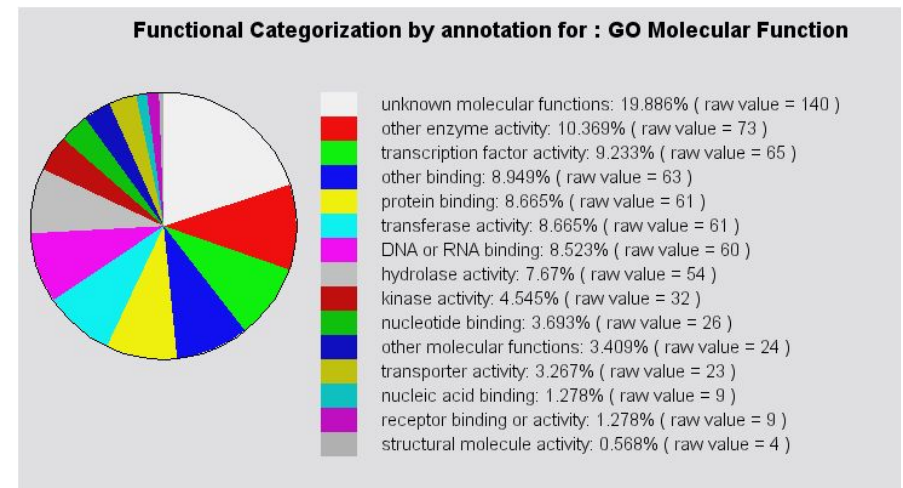


그림 4. Functional categorization by annotation for GO molecular process.

Rapid cycle *Brassica rapa*에서 발현이 4배이상 감소하는 1,123개 유전자를 여러 가능별로 분류하면 Fig. 5-7과 같다.

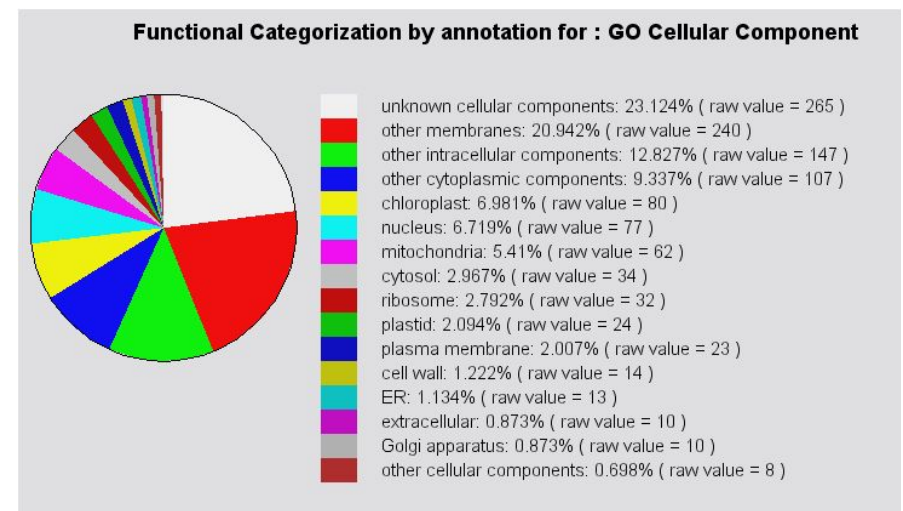


그림 5. Functional categorization by annotation for GO cellular component.

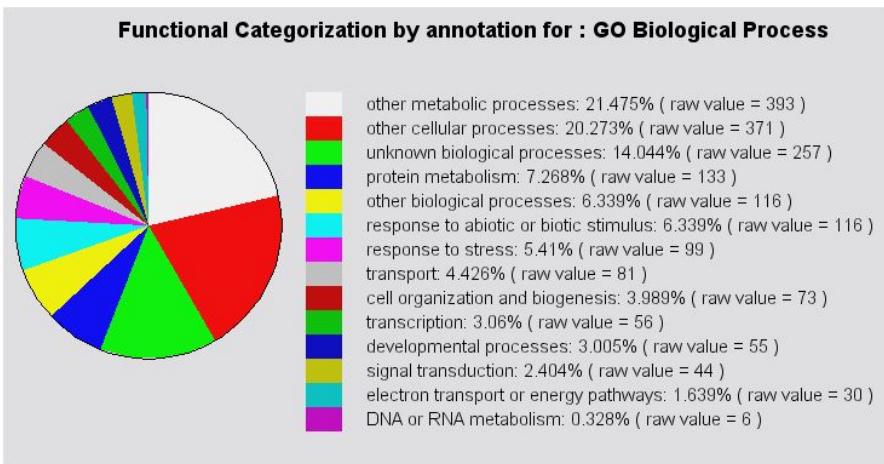


그림 6. Functional categorization by annotation for GO biological process.

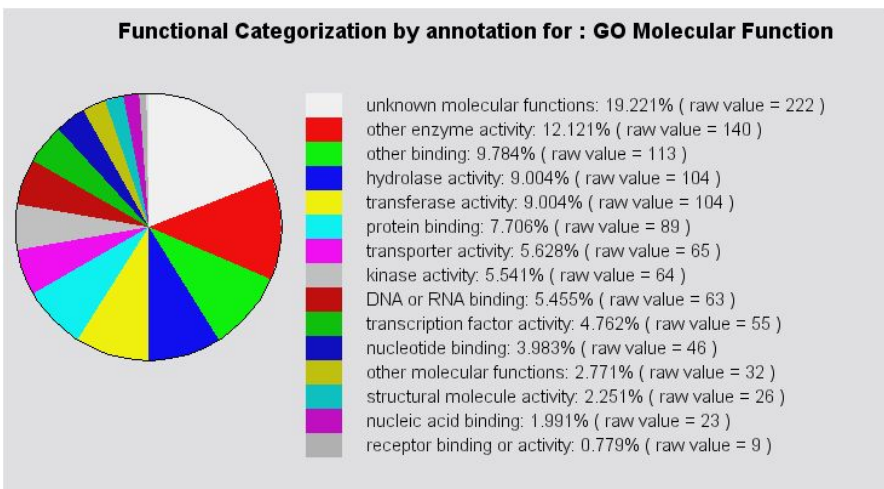


그림 7. Functional categorization by annotation for GO molecular process.

위 결과로 표로 정리하면 표2-4와 같다.

표 2. Rapid cycle *Brassica rapa*에서 4배 이상 발현이 변하는 유전자의 대사관련 분류.

No	GO Biological Process	Up-regulated (%)	Down-regulated (%)
1	Other metabolic processes	21.4	21.5
2	Other cellular processes	21.0	20.3
3	Unknown biological processes	16.4	14.0
4	Other biological processes	6.5	6.3
5	Transcription	5.9	3.1
6	Protein metabolism	5.6	7.3
7	Developmental processes	5.4	3.0
8	Response to abiotic or biotic stimulus	4.3	6.3
9	Response to stress	3.5	5.4
10	Transport	2.8	4.4
11	Signal transduction	2.5	2.4
12	Cell organization and biogenesis	2.3	4.0
13	Electron transport or energy pathway	1.7	1.6
14	DNA or RNA metabolism	0.8	0.3

표 3. Rapid cycle *Brassica rapa*에서 4배 이상 발현이 변하는 유전자의 분자생물학적 기능에 의한 분류.

No	GO Molecular Function	Up-regulated (%)	Down-regulated (%)
1	Unknown metabolic function	19.2	19.2
2	Other enzyme activity	10.4	12.1
3	Transcription factor activity	9.2	4.8
4	Other binding	8.9	9.8
5	Protein binding	8.7	7.7
6	Transferase activity	8.6	9.0
7	DNA or RNA binding	8.5	5.5
8	Hydrolase activity	7.7	9.0
9	Kinase activity	4.5	5.5
10	Nucleotide binding	3.7	4.0
11	Other molecular functions	3.4	2.8
12	Transporter activity	3.3	5.6
13	Nucleic acid binding	1.3	2.0
14	Receptor binding or activity	1.3	0.8
15	Structural molecule activity	0.6	2.3

표 4. Rapid cycle *Brassica rapa*에서 4배 이상 발현이 변하는 유전자의 세포내분포에 의한 분류.

No	GO Cellular Component	Up-regulated (%)	Down-regulated (%)
1	Unknown cellular component	29.0	23.1
2	Other membranes	25.6	20.9
3	Nucleus	12.1	6.78
4	Chloroplast	7.5	7.0
5	Other intracellular components	7.5	7.7
6	Other cytoplasmic components	5.9	9.3
7	Mitochondria	2.4	5.4
8	Extracellular	1.8	0.9
9	Plastid	1.7	2.1
10	Plasma membrane	1.7	2.0
11	Cell wall	1.1	1.2
12	Golgi apparatus	0.9	0.8
13	ER	0.7	1.1
14	Cytosol	0.7	3.0
15	Ribosome	0.6	2.8
16	Other cellular components	0.6	0.7

특이한 점은 GA 생합성관련 유전자와 phenylpropanoid 생합성관련 유전자의 발현이 증가하였으며, 억제된 유전자는 cytokinin 생합성 관련 유전자, GA 불활성화관련 유전자 및 glycolysis와 gluconeogenesis관련 유전자들이다.

그러나, 너무 많은 유전자의 발현이 변하고 있었기 때문에 가장 크게 증가하는 유전자 10개와 가장 크게 감소하는 유전자 10개 및 개화관련 유전자만을 별도로 분석하였다. 가장 많이 변하는 유전자 10개에는 배추 고유유전자가 대부분이었으며 (표5), 4배 이상 변하는 개화관련 유전자는 발현이 촉진되는 수가 억제되는 것보다 그 수가 훨씬 많았다 (표 6, 표 7). 다행스럽게도, 촉진되는 유전자와 억제되는 유전자의 목록에는 기존의 개화관련 연구와 일치하는 유전자가 같은 양상으로 변하고 있어, 분자마커 개발을 위한 후보 유전자로 쉽게 선별할 수 있었다.

표 5. Rapid cycle *Brassica rapa*에서 가장 많이 발현되는 10개의 유전자 목록.

No	SEQ_ID	TAIR7_cds ID	Description, blastN	RC	ChiFu	RC/ChiFu
1	Brapa_ESTC019795	AT1G09500.3	Symbols: cinnamyl-alcohol dehydrogenase chr1:3068813-3068246 FORWARD BlastN: Br BAC BlastX: copia-like retrotransposable element [Arabidopsis thaliana](BAB09923)	19557.5	23.9	654.10
2	Brapa_ESTC045273	no_hits_found	BlastX: RNA-directed DNA polymerase-like protein [Arabidopsis thaliana](CAB39638)	9550.24	14.62	653.23
3	Brapa_ESTC032343	AT1G5750.1	Symbols: cytochrome P450, putative chr1:21387851-21389344 REVERSE	11872.2	32.07	370.20
4	Brapa_ESTC046555	no_hits_found	BlastN: Br BAC BlastX: RNA-directed DNA polymerase-like protein [Arabidopsis thaliana](CAB39638)	7080.26	19.83	357.05
5	Brapa_ESTC008670	AT1G5750.1	Symbols: cytochrome P450, putative chr1:21387851-21389344 REVERSE	4395.06	13.8	318.48
6	Brapa_ESTC039111	no_hits_found	BlastN: Br BAC BlastX: glycoamidase [Candida albicans](AA195695)	27621.8	91.72	301.15
7	Brapa_ESTC032362	AT1G5750.1	Symbols: cytochrome P450, putative chr1:21387851-21389344 REVERSE	19443.5	66.87	290.86
8	Brapa_ESTC039728	no_hits_found	BlastN: Br BAC BlastX: copia-like retroelement pol polyprotein [Arabidopsis thaliana](AAD17414)	2705.95	14.56	185.85
9	Brapa_ESTC034449	AT1G76520.2	Symbols: auxin efflux carrier family protein chr1:28720278-28722183 FORWARD	6683.11	38.39	174.08
10	Brapa_ESTC037638	AT5G11910.1	Symbols: esterase/lipase/thioesterase family protein chr5:3836561-3838183 REVERSE	12922	74.73	172.92

표 6. Rapid cycle *Brassica rapa*에서 4배 이상 발현이 증가하는 개화관련 유전자 목록.

No	SEQ_ID	TAIR7_cds ID	Description, blastN	RC	ChiFu	RC/ChiFu
1	Brapa_ESTC028266	AT5G02040.1	Symbols: PI PI (PISTILLATA): DNA binding / transcription factor chr5:629205-6831210 FORWARD Symbols: AGL2, SEP1 SEP1 (SEPALATA1): DNA binding / transcription factor chr5:5151597-5153770 REVERSE	4122.94	43.42	94.95
2	Brapa_ESTC029088	AT5G19900.1	Symbols: AGL2, SEP1 SEP1 (SEPALATA1): DNA binding / transcription factor chr5:5151597-5153770 REVERSE	1628.82	32.22	50.55
3	Brapa_ESTC040402	AT1G69120.1	Symbols: AP1 AP1 (APETALA1): DNA binding / transcription factor chr1:2598239-2598916 REVERSE Symbols: GA20OX3, ATGA20OX3 YAP169 (Gibberellin 20 oxidase 3): gibberellin 20-oxidase chr5:2243836-2245158 REVERSE	9411.73	256.91	31.52
4	Brapa_ESTC029045	AT5G07200.1	Symbols: AGL4, SEP2 SEP2 (SEPALATA2): DNA binding / transcription factor chr2:464561-466594 REVERSE	4760.57	182.52	26.08
5	Brapa_ESTC007822	AT5G08840.1	Symbols: gibberellin-regulated family protein chr5:24128649-24129034 FORWARD	506.74	19.57	25.89
6	Brapa_ESTC008039	AT3G02310.1	Symbols: AGL2, SEP1 SEP1 (SEPALATA1): DNA binding / transcription factor chr2:464561-466594 REVERSE	5011.29	200.35	25.05
7	Brapa_ESTC008190	AT5G19900.1	Symbols: AGL2, SEP1 SEP1 (SEPALATA1): DNA binding / transcription factor chr5:5151597-5153770 REVERSE	2267.16	93.91	24.25
8	Brapa_ESTC005806	AT3G02310.1	Symbols: AGL2, SEP1 SEP1 (SEPALATA1): DNA binding / transcription factor chr5:5151597-5153770 REVERSE	1653.53	68.81	24.03
9	Brapa_ESTC010495	AT3G04340.1	Symbols: AP3 AP3 (APETALA 3): DNA binding / transcription factor chr2:20139406-20132065 REVERSE	2902.42	137.96	21.04
10	Brapa_ESTC008190	AT4G18600.1	Symbols: AG AG (AGAMOUS): transcription factor chr4:10383929-10388293 FORWARD	1926.96	93.35	20.64
11	Brapa_ESTC017264	AT1G69120.1	Symbols: AP1 AP1 (APETALA1): DNA binding / transcription factor chr1:2598239-2598916 REVERSE	4988	241.74	20.63
12	Brapa_ESTC010543	AT1G69120.1	Symbols: AP1 AP1 (APETALA1): DNA binding / transcription factor chr1:2598239-2598916 REVERSE	526.54	26.04	20.22
13	Brapa_ESTC045715	AT5G19900.1	Symbols: AGL2, SEP1 SEP1 (SEPALATA1): DNA binding / transcription factor chr5:5151597-5153770 REVERSE	7991.52	401.96	19.73
14	Brapa_ESTC031079	AT3G02310.1	Symbols: AGL4, SEP2 SEP2 (SEPALATA2): DNA binding / transcription factor chr2:464561-466594 REVERSE	4813.11	253.75	18.97
15	Brapa_ESTC008051	AT1G69120.1	Symbols: AP1 AP1 (APETALA1): DNA binding / transcription factor chr1:2598239-2598916 REVERSE	5950.6	312.62	18.72
16	Brapa_ESTC008132	AT5G02040.1	Symbols: PI PI (PISTILLATA): DNA binding / transcription factor chr5:629205-6831210 FORWARD	6435.76	364.57	17.65
17	Brapa_ESTC010831	AT1G24260.2	Symbols: AGL3, SEP3 SEP3 (SEPALATA3): transcription factor chr1:8593779-8595651 REVERSE	6994.3	614.88	14.53
18	Brapa_ESTC029795	AT5G02105.3	Symbols: AGL42 AGL42 (AGAMOUS LIKE 42): transcription factor chr2:24982301-24995633 FORWARD	395.07	27.68	12.82
19	Brapa_ESTC049046	AT3G02310.1	Symbols: AGL4, SEP2 SEP2 (SEPALATA2): DNA binding / transcription factor chr2:464561-466594 REVERSE	151.85	14.37	10.57
20	Brapa_ESTC010942	AT2G49950.1	Symbols: AGL5 AGL5 (AGAMOUS LIKE-5): DNA binding / transcription factor chr2:18811527-18813365 FORWARD	1086.23	112.45	9.66
21	Brapa_ESTC019275	AT5G02040.1	Symbols: PI PI (PISTILLATA): DNA binding / transcription factor chr5:629205-6831210 FORWARD	3990.01	399.41	9.43
22	Brapa_ESTC003925	AT1G24260.2	Symbols: AGL3, SEP3 SEP3 (SEPALATA3): transcription factor chr1:8593779-8595651 REVERSE	264.34	28.1	9.41
23	Brapa_ESTC018123	AT4G18600.1	Symbols: AG AG (AGAMOUS): transcription factor chr4:10383929-10388293 FORWARD	2370.96	253.07	9.37
24	Brapa_ESTC017036	AT1G28310.1	Symbols: CAL1, AGL10, CAL CAL (CAULIFLOWER): DNA binding / transcription factor chr1:9100317-9100497 REVERSE	2570.35	286.79	8.96
25	Brapa_ESTC045377	AT5G07200.1	Symbols: GA20OX3, ATGA20OX3 YAP169 (Gibberellin 20 oxidase 3): gibberellin 20-oxidase chr5:2243836-2245158 REVERSE	1296.42	155.11	8.36
26	Brapa_ESTC044174	AT4G18600.1	Symbols: AG AG (AGAMOUS): transcription factor chr4:10383929-10388293 FORWARD	2797.24	365.25	7.55
27	Brapa_ESTC034579	AT1G65480.1	Symbols: FT FT (FLOWERING LOCUS T) chr1:24335173-24337352 FORWARD	1985.25	278.4	7.13
28	Brapa_ESTC034510	AT5G18490.1	Symbols: AP2 domain-containing transcription factor, putative chr5:6116099-6117822 REVERSE	448.68	63.89	7.03
29	Brapa_ESTC049045	AT3G02310.1	Symbols: AGL4, SEP2 SEP2 (SEPALATA2): DNA binding / transcription factor chr2:464561-466594 REVERSE	1242.04	196.04	6.31
30	Brapa_ESTC043408	AT5G02040.1	Symbols: PI PI (PISTILLATA): DNA binding / transcription factor chr5:629205-6831210 FORWARD	4074.74	798.74	6.10
31	Brapa_ESTC048371	AT5G02040.1	Symbols: PI PI (PISTILLATA): DNA binding / transcription factor chr5:629205-6831210 FORWARD	872.06	163.44	5.34
32	Brapa_ESTC019053	AT1G28310.1	Symbols: ERF11, ATERF11 ATERF11/ERF11 (ERF domain protein 11): DNA binding / transcription factor / transcriptional repressor chr1:9956337-9956837 REVERSE	16428.6	3090.52	5.32
33	Brapa_ESTC019941	AT1G65480.1	Symbols: FT FT (FLOWERING LOCUS T) chr1:24335173-24337352 FORWARD	2432.47	462.31	5.26
34	Brapa_ESTC017484	AT5G02040.1	Symbols: PI PI (PISTILLATA): DNA binding / transcription factor chr5:629205-6831210 FORWARD	6184.36	1541.49	4.01
35	Brapa_ESTC012543	AT5G02780.1	Symbols: protein phosphatase 2C family protein / PP2C family protein chr5:629375-6298115 FORWARD	9508.51	2327.96	4.08

4배 이상 증가하는 991골문 중 35개

표 7. Rapid cycle *Brassica rapa* 내흔계에서 발현이 크게 감소하는 상위 10개 유전자 목록과 4배이상 발현이 감소하는 개화관련 유전자 목록.

No	SEQ_ID	TAIR7_cds ID	Description, blastN	RC	Chifu	RC/Chifu
1	Brapa_ESTC051261	no_hits_found	BlastN: Brassica napus gene for putative corticosteroid binding protein	20.45	19156.4	-936.74
2	Brapa_ESTC001875	AT2G36880.1	Symbols: MAT3 MAT3 (METHIONINE ADENOSYLTRANSFERASE 3); methionine adenosyltransferase chr2:15486800-15487972 REVERSE	29.02	24617.6	-848.30
3	Brapa_ESTC004730	AT4G22220.1	Symbols: ATISU1, ISU1 ISU1 (Iron-sulfur cluster assembly complex protein) chr4:11759456-11761893 REVERSE	24.06	16960.5	-704.93
4	Brapa_ESTC042517	no_hits_found	BlastN: BrBAC BlastX: hypothetical protein WD0462 [Wolbachia endosymbiont of Drosophila melanogaster] (NP_966249)	42.04	29182.8	-694.17
5	Brapa_ESTC005922	AT3G47540.1	Symbols: chitinase, putative chr3:17532029-17532982 FORWARD	19.27	12637.5	-655.81
6	Brapa_ESTC048857	no_hits_found	BlastN: Brassica napus gene for putative corticosteroid binding protein	20.63	12062.2	-584.63
7	Brapa_ESTC012256	AT5G06600.2	Symbols: UBPI2 UBPI2 (UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE 12); ubiquitin-specific protease chr5:2019546-2027835 REVERSE	23.57	13577	-576.03
8	Brapa_ESTC051779	no_hits_found	BlastN: BrBAC BlastX: hypothetical protein TVAG_470320 [Trichomonas vaginalis G3] (XP_001301005)	41.43	23755.5	-573.39
9	Brapa_ESTC002410	AT2G25450.1	Symbols: 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, putative chr2:10897364-10898641 REVERSE	33.67	19094.9	-567.12
10	Brapa_ESTC050047	no_hits_found	BlastN: BrBAC BlastX: unnamed protein product [Arabidopsis thaliana] (BAB02913)	26.64	14461.5	-542.85
1	Brapa_ESTC028145	AT3G22231.1	Symbols: PCC1 PCC1 (PATHOGEN AND CIRCADIAN CONTROLLED 1) chr3:7845087-7846570 REVERSE	73.18	35110.5	-479.78
2	Brapa_ESTC050444	AT1G20960.1	Symbols: EMB1507 EMB1507 (EMBRYO DEFECTIVE 1507); ATP-dependent helicase chr1:7392580-7393903 REVERSE	18.53	1956.8	-89.41
3	Brapa_ESTC013139	AT5G51190.1	Symbols: AP2 domain-containing transcription factor, putative chr5:2081734-20818599 REVERSE	145.24	12448.4	-85.72
4	Brapa_ESTC004573	AT2G2430.1	Symbols: ATHB6 ATHB6 (ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX PROTEIN 6); transcription factor chr2:9533550-9534632 REVERSE	322.78	19847.5	-42.90
5	Brapa_ESTC016533	AT5G10140.1	Symbols: FLF, AGL25, FLC FLC (FLOWERING LOCUS C); transcription factor chr5:3173725-3179340 REVERSE	53.19	1503.77	-28.27
6	Brapa_ESTC013135	AT5G65070.1	Symbols: FCL4, MAF4 MAF4 (MADS AFFECTING FLOWERING 4); transcription factor chr5:2609536-26013156 FORWARD	393.46	8499.45	-21.60
7	Brapa_ESTC040293	AT1G31140.1	Symbols: AGL63 AGL63 (AGAMOUS-LIKE 63); DNA binding / transcription factor chr1:11118012-11119654 FORWARD	206.25	2363.1	-11.46
8	Brapa_ESTC051903	AT3G28920.1	Symbols: ATHB34 ATHB34 (ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX PROTEIN 34); DNA binding / transcription factor chr3:10941835-10942773 REVERSE	418.02	3716.12	-8.89
9	Brapa_ESTC000935	AT5G18820.1	Symbols: EMB3007 EMB3007 (EMBRYO DEFECTIVE 3007); ATP binding / protein binding / unfolded protein binding chr5:6271551-6274155 FORWARD	201.99	1370.65	-6.79
10	Brapa_ESTC046597	AT5G65070.1	Symbols: FCL4, MAF4 MAF4 (MADS AFFECTING FLOWERING 4); transcription factor chr5:2609536-26013156 FORWARD	386.26	4411	-4.47
11	Brapa_ESTC007734	AT4G28140.1	Symbols: AP2 domain-containing transcription factor, putative chr4:13974911-13975789 REVERSE	134.88	593.96	-4.45
12	Brapa_ESTC020902	AT5G04240.1	Symbols: ELF6 ELF6 (EARLY FLOWERING 6); transcription factor chr5:1163945-1174639 FORWARD	367.92	1516.83	-4.12

4배 이상 감소하는 1894클론 중 12 클론

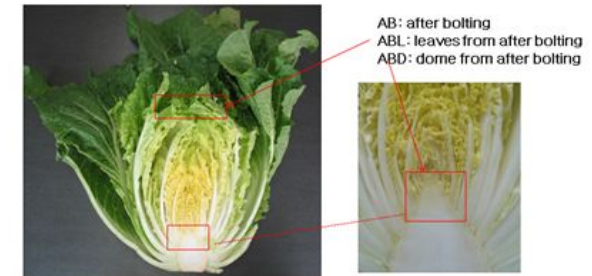
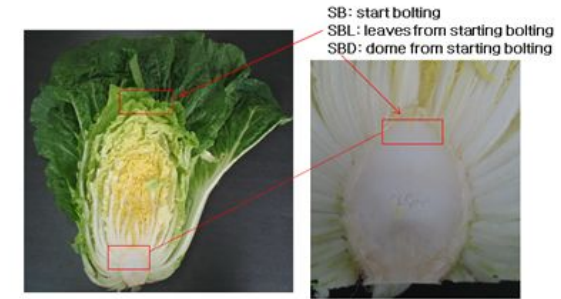
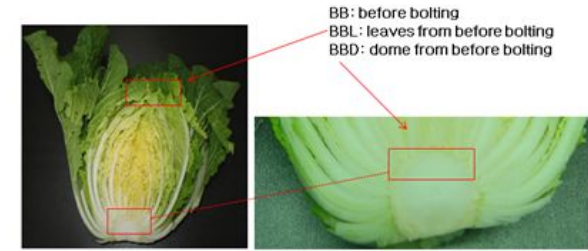


그림 8. Plant materials for bolting process study. BB, before bolting; SB, start to bolt; AB, after bolting; L, leaf; D, dome or apex.

나. 추대형성 유전자 선발을 위한 microarray

추대형성과 관련된 유전자를 탐색하기 위하여 봄에 배추를 재배하면서, 추대형성 전, 추대형성시기 및 추대형성 후의 단계로 나누어 배추의 잎과 정단부분(apex 또는 dome)을 채취(그림 8)하여 microarray 실험과 RT-PCR을 수행하였다. 실험전 가설은 '추대관련 유전자는 추대형성 이전단계에 있거나 돔에서 발현이 유도될 것이며, 만약 잎에서 발현이 된다면 그 신호가 돔으로 전달되어 추대를 유도할 것' 이라는 것이다. 그리고 꽃기관 형성과정에 관련된 유전자는 추대형성 후에 돔에서 발현될 것으로 예측하였다.

Microarray는 50K 배추칩을 이용하여 수행하였다. 47,553 유전자 중에서 40,076 유전자 (84%)가 PM값이 1,000 이상을 보였고, 약 10%(4,826)만이 모든 경우에 500 이하의 PM값을 보여 발현이 안되는 유전자로 밝혀졌다. 2,336개 전사인자 중에 2,030(87%)개가 발현을 하였으며 잎에서는 139개의 전사인자가 68개 유전자는 돔에서 특이하게 발현하였다(표 8, 9). 표 10에서 보는 바와 같이 잎에서 2배 이상 발현이 유도된 유전자는 2,758개였으며, 212개가 추대형성 전에 발현이 유도되었다. 반면에 돔에서 발현이 2배 이상 유도된 것은 477개였다(표 11, 12).

Microarray 결과를 토대로 50개의 유전자를 선택하여 RT-PCR을 통해서 발현의 변화를 확인하고 추대형성과정 마커개발을 위한 연구 표적 유전자로 선발하고자 하였다 (표 13 and 그림 9-10).

표 12. Genes highly expressed in dome tissues.

TAIR7_id	Description, blastN	1 O	2 O	3 O	1 I	2 I	3 I
AT1G01010	Symbols: GDLH, acyl-lysine hydrolase family protein	57	606	80			
AT1G01040	Symbols: polygalacturonase, putative	273	234	113			
AT1G01050	Symbols: PLS, PLS, PLS, PATICHOSEIN, DGL-ATD, DGL	252	237	123			
AT1G01060	Symbols: DSN1, DSN1, DARK INDUCIBLE 11, oxidoreductase	62	83	146			
AT1G01080	Symbols: SCLT3L3, SCLT3L3, DELTA TRANSPARENT	490	612	179			
AT1G01090	Symbols: NPA3, NPA3, NPA3, NPA3, NPA3, NPA3, NPA3, NPA3	488	498	200			
AT1G01100	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01150	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01160	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01180	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01190	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01200	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01210	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01220	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01230	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01240	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01250	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01260	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01270	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01280	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01290	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01300	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01310	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01320	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01330	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01340	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01350	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01360	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01370	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01380	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01390	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01400	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01410	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01420	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01430	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01440	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01450	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01460	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01470	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01480	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01490	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01500	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01510	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01520	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01530	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01540	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01550	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01560	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01570	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01580	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01590	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01600	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01610	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01620	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01630	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01640	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01650	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01660	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01670	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01680	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01690	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01700	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01710	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01720	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01730	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01740	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01750	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01760	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01770	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01780	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01790	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01800	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01810	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01820	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01830	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01840	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01850	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01860	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01870	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01880	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01890	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01900	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01910	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01920	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01930	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01940	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01950	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01960	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01970	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01980	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G01990	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			
AT1G02000	Symbols: WRKY family transcription factor, chb12042	316	317	142			

표 13. List of genes selected from microarray analysis. Numbers in box indicate PM value.

분류	TAIR7_cd	Description, blastN	SEQ_ID	1 O	2 O	3 O	1 I	2 I	3 I
TF (Leaf-induction)	AT1G69490.1	NAP (NAC-LIKE, ACTIVATED BY AP3/P1)	Brapa_ESTC00117	4,411	5,709	915	306	561	615
	AT2G31070.1	TC10 (TCP domain protein 10)	Brapa_ESTC00844	2,346	4,726	504	297	323	733
	AT2G20570.1	GRP11 (GOLDEN2-LIKE 1)	Brapa_ESTC01403	6,267	6,833	2,107	896	678	873
TF (Dome-induction)	AT2G33720.1	Transcription factor	Brapa_ESTC03284	518	686	6,916	239	751	738
	AT4G18960.1	AG (AGAMOUS)	Brapa_ESTC00855	299	1,053	3,201	362	302	920
	AT1G10480.1	ZFP5 (ZINC FINGER PROTEIN 5)	Brapa_ESTC03872	46	61	218	2,523	2,010	154
Leaf-1	AT2G44745.1	WRKY family transcription factor	Brapa_ESTC02623	720	505	735	10,328	9,070	6,933
	AT4G08150.1	KNAT1 (BRVPEPIDICELLUS 1)	Brapa_ESTC00171	40	65	87	5,482	5,161	2,189
	AT4G92800.1	AP2 domain-containing transcription factor TINY, putative	Brapa_ESTC00114	685	832	89	4,874	4,388	3,589
Leaf-2	AT4G95570.1	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC02553	189	475	169	14,731	14,849	7,314
	AT3G48740.1	Nodulin/MGN3 family protein	Brapa_ESTC00293	6,245	6,175	274	67	94	61
	AT3G22240	Unknown protein	Brapa_ESTC00359	6,666	3,990	30	47	43	27
Leaf-3	AT1G79700.2	Ovule development protein, putative	Brapa_ESTC00140	3,400	4,829	328	320	377	341
	AT3G22210.1	PCO1 (PATHOGEN AND CIRCADIAN CONTROLLED 1)	Brapa_ESTC02814	4,811	4,304	17	86	110	23
	AT2G43820.1	GT/UGT74F2 (UDP-GLUCOSYLTRANSFERASE 74F2)	Brapa_ESTC00181	3,904	2,997	413	496	306	182
Dome-1	AT1G22570.1	Proton-dependent oligopeptide transport (POT) family protein	Brapa_ESTC00923	3,876	2,002	355	121	169	245
	AT3G08130.1	BTM1 (BES1-interacting Myc-like protein 1)	Brapa_ESTC02584	3,466	1,020	471	177	206	120
	AT1G72610.1	GLP1 (GERMIN-LIKE PROTEIN 1)	Brapa_ESTC00293	17,021	12,360	16,157	333	238	606
Dome-2	AT4G28040.1	Nodulin/MGN2 family protein	Brapa_ESTC03721	1,392	4,204	304	213	241	411
	AT3G48720.1	Transferrin family protein	Brapa_ESTC01854	1,701	4,786	234	135	101	80
	AT4G13840.1	Transferrin family protein	Brapa_ESTC03268	3,505	695	234	430	284	264
Dome-3	AT2G15890.1	MEE14 (maternal effect embryo arrest 14)	Brapa_ESTC04908	8,799	16,587	338	636	818	796
	AT2G05540.1	Glycine-rich protein	Brapa_ESTC01819	19,089	19,726	591	252	478	315
	AT2G19800.1	MOX2 (MYO-INOSITOL OXYGENASE 2)	Brapa_ESTC00173	1,702	16,943	6,021	315	459	315
Dome-1	AT1G72610.1	GLP1 (GERMIN-LIKE PROTEIN 1)	Brapa_ESTC00293	17,491	22,998	13,809	426	520	775
	AT5G47560.1	ATSDAT ATTD2 (TONOPLAST DICARBOXYLATE TRANSPORTER 2)	Brapa_ESTC02722	18,150	18,236	3,035	685	729	993
	ABW10051	40% identity to tn7 reverse transcriptase	Brapa_ESTC04491	27	175	3,132	26	147	106
Dome-2	AT5G38170.1	Glycerophosphoryl diester phosphodiesterase family protein	Brapa_ESTC01782	134	211	8,838	20	566	392
	AAD30632	At hypothetical protein	Brapa_ESTC03977	236	512	14,101	183	511	461
	AT2G23180.1	CYP96A1 (cytochrome P450, family 96, subfamily A, polypeptide 1)	Brapa_ESTC04453	254	455	11,838	104	664	472
Dome-3	AT2G29230	Similar to mutator transposase	Brapa_ESTC04688	372	503	14,434	322	541	442
	AT3G38345.1	ABC transporter family protein	Brapa_ESTC03710	152	157	4,817	380	290	178
	AAK62793	47% identity to At polypeptide	Brapa_ESTC03738	544	633	14,146	300	829	574
Dome-1	AT1G54010	ESP (EPITHIOSPECIFIER PROTEIN)	Brapa_ESTC00544	37	606	66	23,845	15,832	17,163
	AT4G30140.1	GDSL-motif lipase/hydrolase family protein	Brapa_ESTC01603	52	73	118	30,371	18,654	15,086
	AT2G01520.1	MELP3 (major latex protein-related / MELP-related)	Brapa_ESTC00904	38	149	173	7,655	6,724	64
Dome-2	AT2G39310.1	Jacalin lectin family protein	Brapa_ESTC00534						

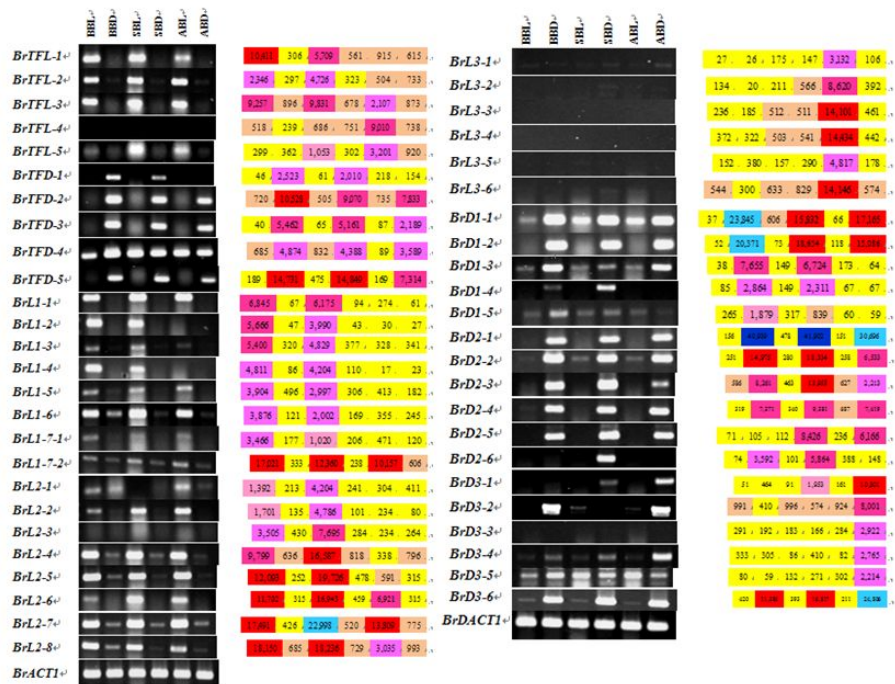


그림 9. RT-PCR results of selected genes (표 9). Numbers on right indicate PM value in microarray experiment.

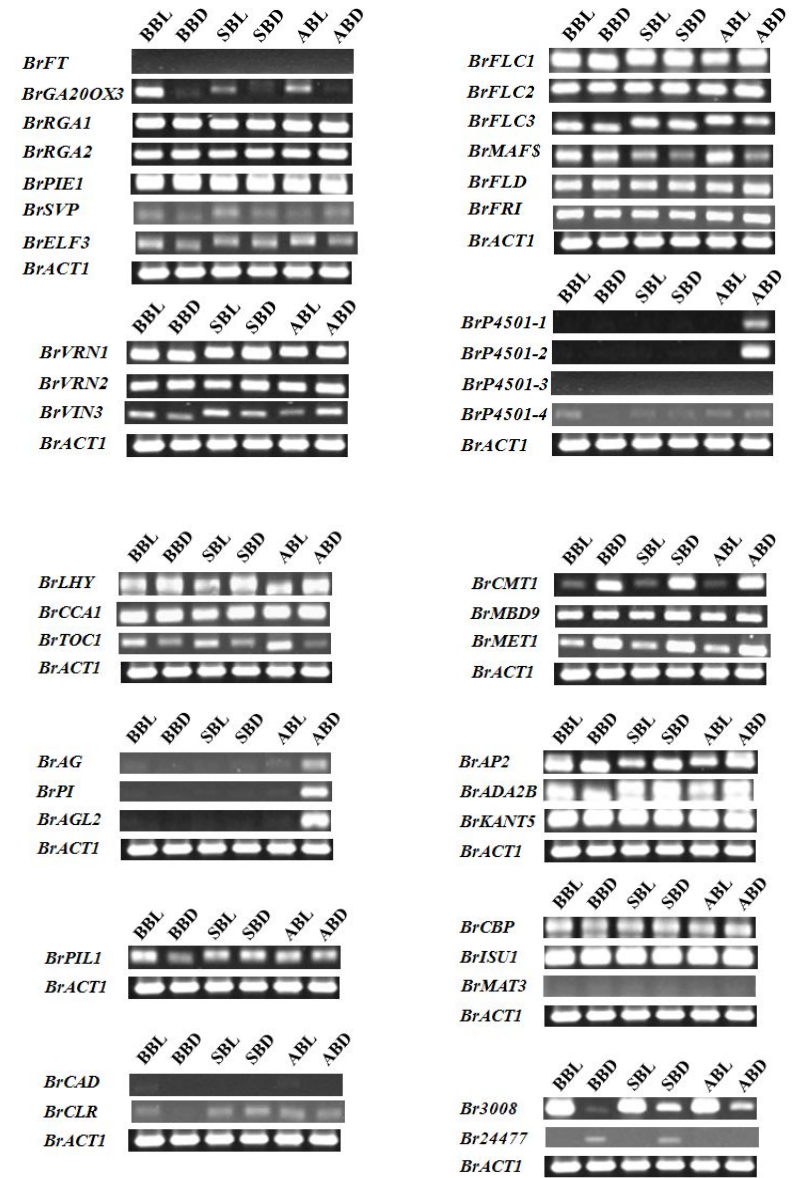


그림 10. RT-PCR analysis of expression of genes related to flowering.

다. 광주기 관련 유전자 탐색을 위한 애기장대와 RCBr을 이용한 microarray

배추의 개화는 저온과 광주기에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다. 따라서 광주기를 조절하거나 광주기에 의해 발현이 변하여 개화에 영향을 주는 유전자를 찾아서 마커로 개발함도 중요한 연구가 될 것이다. 광주기 관련 유전자를 탐색하기 위하여 광주기에 민감한 애기장대와 개화조절에 광주기가 무관한 RCBr를 식물재료로 선택하였다. 이 두 식물을 장일과 단일조건에서 기르면서, RCBr은 4, 8, 12, 16, 20, 24 day, *Arabidopsis* Col-0는 1, 2, 3, 4 week에 shoot부분을 채취하여 microarray 실험을 수행하였다(그림 11과 12).

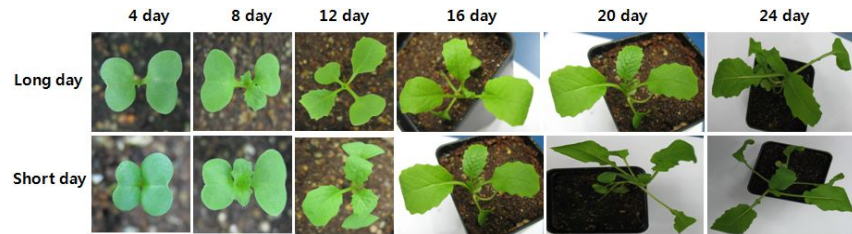


그림 11. RCBr photographs grown in either long day (16h light/8h dark) or short day (11h light/13h dark).

RCBr은 두 조건에서 생장의 차이를 보이지 않았으며, 모두 약 20일이 지나면서 bolting이 되기 시작하였다. 반면에 *Arabidopsis*는 장일식물로 22°C 장일조건에서 4주째 로켓잎이 11장으로 bolting이 시작되었고, 단일조건에서는 4주가 지나도 bolting이 되지 않았으며 로켓잎이 8장으로 영양생장단계가 계속 되었다. 1주부터 4주까지 단일조건보다 장일조건에서 *Arabidopsis*의 생장이 빠름을 볼 수 있다.

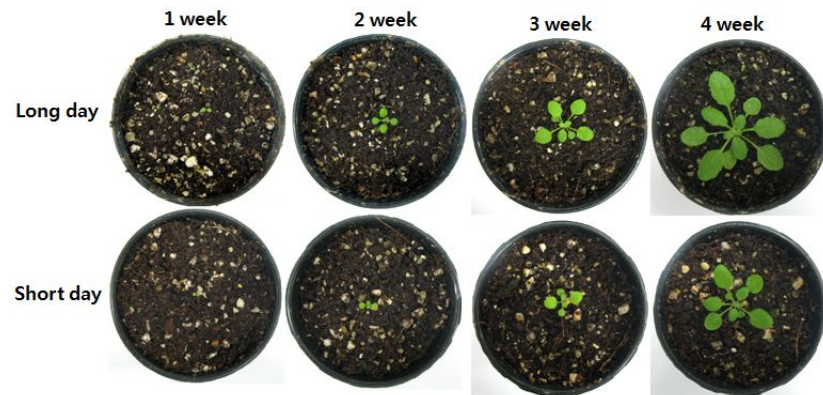


그림 12. *Arabidopsis* plants grown in either long day(16h light/8h dark) or short day(11h light/13h dark) for 4 weeks.

모든 샘플로부터 total RNA를 추출하여, 각 샘플의 total RNA 섞어 50 μ g을 준비한 후 (표 14) cDNA 합성하였다. KBGP-50K chip과 ATH1 chip에 hybridization 후 장일과 단일 PM value 값을 얻어 결과를 분석하였다.

표 14. RCBr과 *Arabidopsis*의 광주기에 대한 microarray 실험을 위한 total RNA 준비.

샘플 이름		Total RNA 준비
RCBr	Long day	4 + 8 + 12 + 16 + 20 + 24 day = 50 μ g
	Short day	4 + 8 + 12 + 16 + 20 + 24 day = 50 μ g
<i>Arabidopsis</i>	Long day	1 + 2 + 3 + 4 week = 50 μ g
	Short day	1 + 2 + 3 + 4 week = 50 μ g

RCBr의 microarray 결과 장일조건에서 유전자 발현이 2배 이상 증가하는 클론이 1,731개 (3.6%), 2배 이상 감소하는 클론 1,359개(2.8%), 장일과 단일조건에서 발현이 일정한 클론은 16,136개(33.9%)이다. 전체 유전자 47,554개 중 no_hit_found는 4,400개였고, 이 중 7개는 장일조건에서 2배 이상 증가, 23개는 2배 이상 감소하였다. ATH chip을 이용한 Col-0의 microarray 결과는 장일조건에서 유전자 발현이 2배 이상 증가하는 클론 3,722개(12.2%), 2배 이상 감소하는 클론 2,839개(9.3%), 발현이 일정한 유전자 9,459개(31.1%)이다. RCBr과 Col-0의 발현이 변한 유전자의 수를 비교해보면 장일조건에서 증가한 유전자가 감소한 유전자보다 많았고, RCBr보다 Col-0에서 더 많은 수의 유전자가 발현의 변화를 보였다.

RCBr에서 2배 이상 증가한 유전자 1,731개의 GO annotation 결과는 Figure 13과 같다. 세포 내 구성성분으로 chloroplast component(22.8%), plasma membrane protein(15.2%) 및 plastid protein(10.3%)이 많고, 생물학적 프로세스로는 development process(10.6%)와 metabolic process(51.2%) 관련 유전자가 주로 증가하였다. Molecular function으로 구분하면 hydrolase activity(15.1%), other enzyme activity(24.9%), protein binding(13.0%) 및 transferase activity(15.7%)를 갖는 유전자가 많았다.

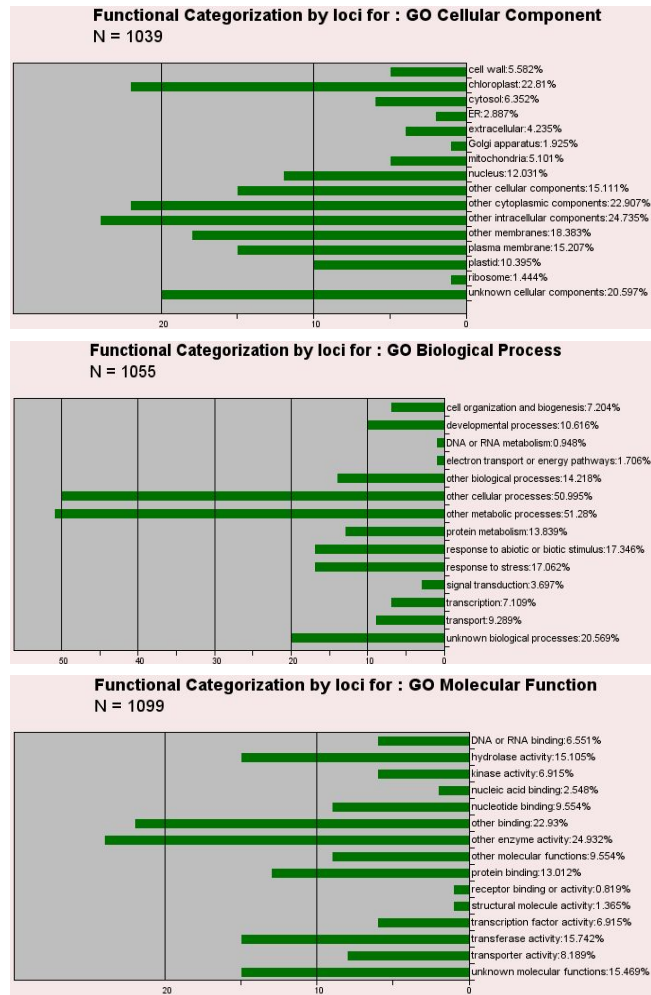


그림 13. Charts for functional categorization of genes up-regulated over 2-fold in RCB.

RCBr에서 2배 이상 감소한 유전자 1,359개의 GO annotation 결과는 그림 14와 같다. 세포내 구성성분으로 chloroplast component (13.7%), nucleus (16.9%) 및 plasma membrane protein (11.5%)이 많고, 생물학적 프로세스로는 protein metabolic process (12.8%), transcription process (10.4%) 관련 유전자가 주로 증가하였다. Molecular function으로 구분하면 DNA or RNA or protein binding activity (23.8%), transcription factor activity (10.4%) 및 transferase activity (9.9%)를 갖는 유전자가 많았다.

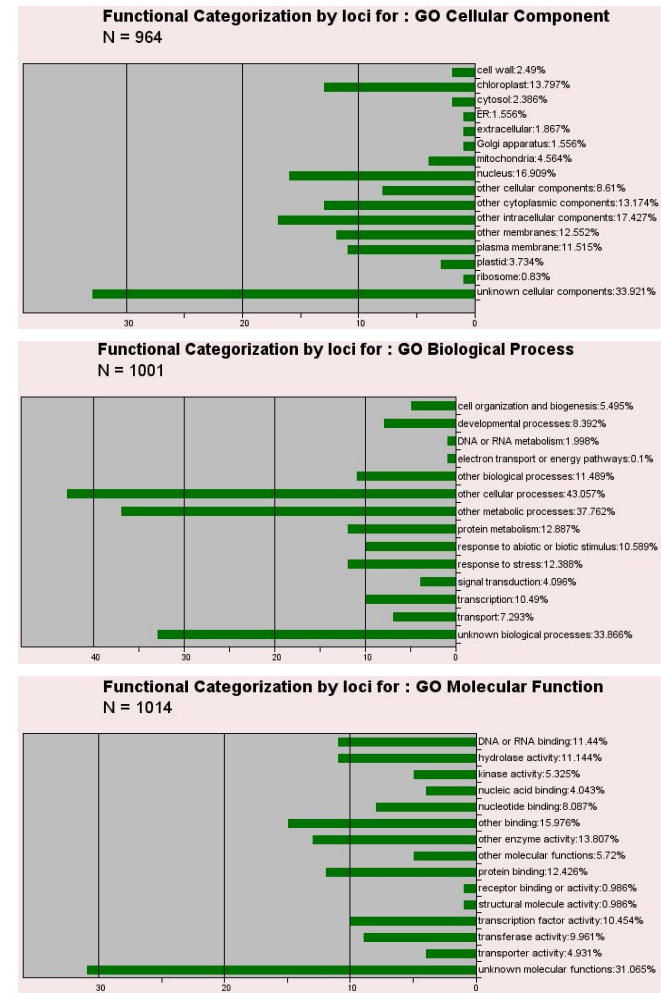


그림 14. Charts for functional categorization of genes down-regulated over 2-fold in RCB.

Arabidopsis Col-0에서 2배 이상 증가한 유전자 3,722개의 GO annotation 결과는 Figure 15와 같다. 세포내 구성성분으로 chloroplast component (13.7%), nucleus (14.2%) 및 plasma membrane protein (8.9%)이 많고, 생물학적 프로세스로는 developmental process (8.5%), protein metabolic process (12.2%), transcription process (8.2%) 및 transport activity (7.6%) 관련 유전자가 주로 증가하였다. Molecular function으로 구분하면, other enzyme activity (13.7%), transferase activity (10.8%), and nucleotide binding function (15.7%)을 하는 유전자가 많았다.

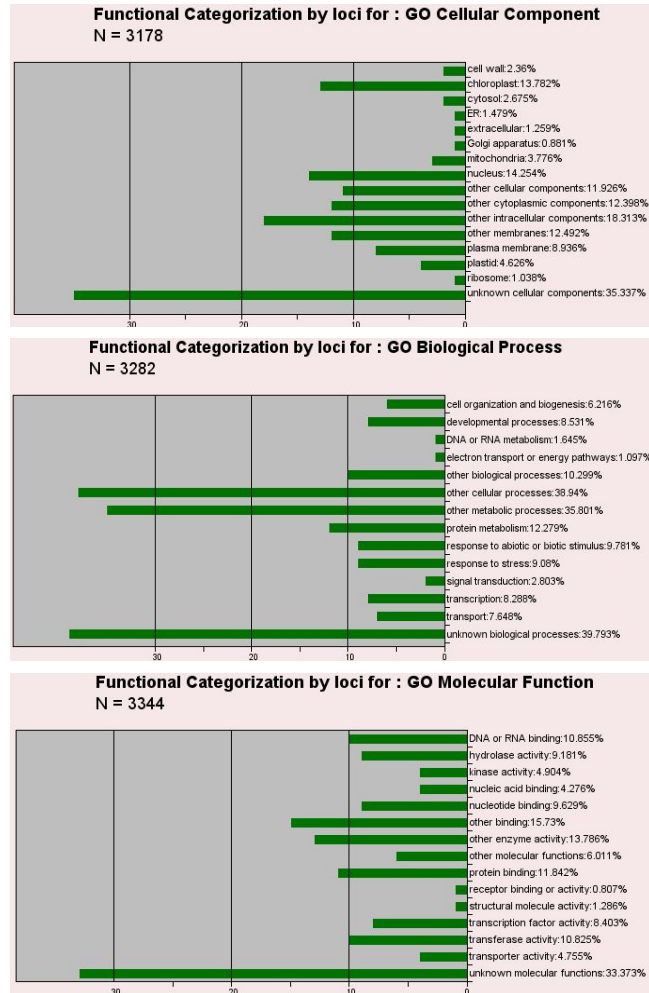


그림 15. Charts for functional categorization of genes up-regulated over 2-fold in Col-0.

Arabidopsis Col-0에서 2배 이상 감소한 유전자 2,839개의 GO annotation 결과는 Figure 16과 같다. 세포내 구성성분으로 other cellular component (19.6%)과 other membrane protein(8.2%)이 많고, 생물학적 프로세스로는 metabolic process (21.7%), protein metabolic process (7.1%), transcription process (6.0%) 및 transport activity (5.3%) 관련 유전자가 주로 증가하였다. Molecular function으로 구분하면 other enzyme activity (8.8%), transcription factor activity (6.3%) 및 hydrolase activity (7.5%)를 갖는 유전자가 많았다.

RCBr의 microarray 결과 KBGP-50K chip의 전체 1,984 transcription factor 중 장일조건의 PM값이 500이하고 단일조건의 PM값은 1,000이상 또는 장일조건의 PM값이 1,000이상이며 단일조건의 PM값은 500이하인 유전자 중 3배 이상 발현의 변화를 보이는 49개의 transcription factor는 표 15와 같다. Phytochrome과 관련된 *BrEPRI*, *BrPIF4* 및 *BrPIF5*와 circadian clock과 관련된 *BrCCA1*의 발현이 장일조건에서 induction하였고, *BrPCLI*과 *BrPRHA*는 repression하였다. RCBr에서 induction한 4개의 유전자와 상동성을 갖는 *AtEPRI*, *AtPIF4*, *APIF5*, and *AtCCA1*은 장일조건의 Col-0에서 발현이 증가하였지만, RCBr에서 repression한 2개 유전자의 상동성을 갖는 *AtPCLI*과 *AtPRHA*는 Col-0에서 발현이 변하지 않았다. 따라서 *BrPCLI*과 *BrPRHA*는 RCBr 특이적으로 장일조건에서 발현이 감소하는 유전자로 생각된다. 이 밖의 flowering 관련하여 *BrCOL1*과 *BrCOL2*의 발현도 장일조건에서 증가하였다.

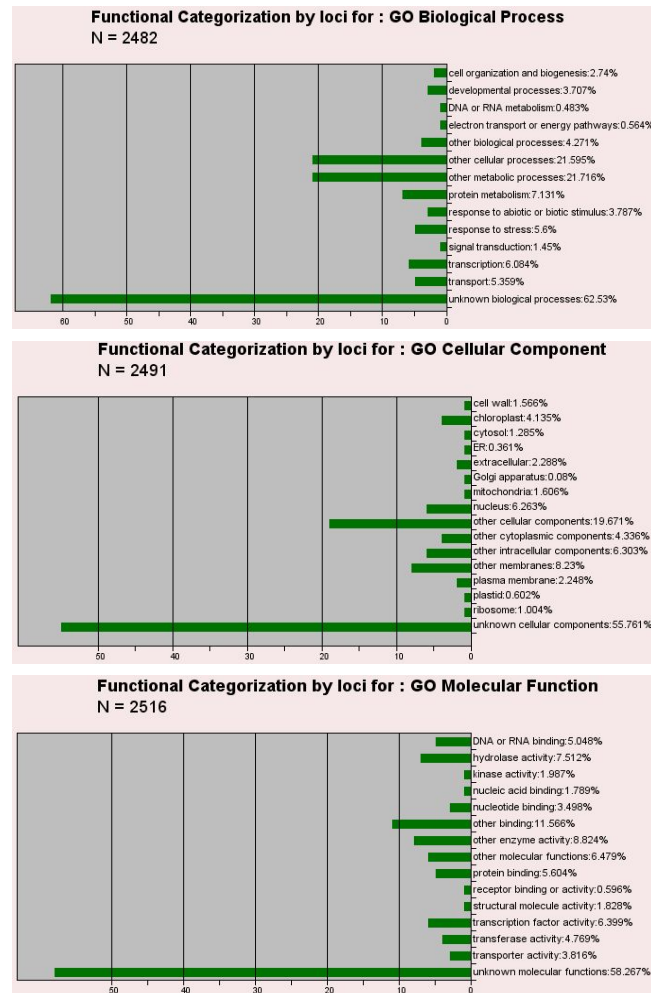


그림 16. Charts for functional categorization of genes down-regulated over 2-fold in Col-0.

표 15. List of transcription factors changing over 3-fold in RCB under a long day condition. Shaded genes represents photoperiod or circadian clock-related one.

At ID	Description, blastN	Br ID	PM value		LD/SD fold change
			RCBr LD	RCBr SD	
AT2G34720	CCAAT-binding transcription factor	Brapa_ESTC013158	11,236	2,596	4.3
AT1G18330	EPR1 (EARLY-PHYTOCHROME-RESPONSIVE1)	Brapa_ESTC023357	6,038	1,359	4.4
AT3G09600	DNA binding / transcription factor	Brapa_ESTC018647	3,024	330	9.2
AT2G43010	PIF4 transcription factor	Brapa_ESTC012017	2,169	334	6.5
AT5G44190	GLK2, GPRI2, GLK2 (GOLDEN2-LIKE 2)	Brapa_ESTC013059	6,902	1,049	6.6
		Brapa_ESTC009439	6,459	1,561	4.1
		Brapa_ESTC006725	5,099	1,232	4.1
		Brapa_ESTC016562	5,012	1,290	3.9
AT1G06040	STO (SALT TOLERANCE)	Brapa_ESTC006659	32,536	10,319	3.2
		Brapa_ESTC014619	15,675	3,097	5.1
		Brapa_ESTC028815	10,377	2,228	4.7
AT3G59060	PIF5, PIL6 transcription factor	Brapa_ESTC019071	10,118	1,647	6.1
		Brapa_ESTC011690	8,760	930	9.4
AT2G31380	STH (salt tolerance homologue)	Brapa_ESTC002594	7,516	335	22.5
		Brapa_ESTC014969	15,208	529	28.7
		Brapa_ESTC022641	5,314	822	6.5
		Brapa_ESTC041383	4,092	541	7.6
AT1G64860	SIG1	Brapa_ESTC007693	12,459	2,288	5.4
AT5G24120	SIG5	Brapa_ESTC006517	3,216	327	9.8
		Brapa_ESTC018690	3,148	455	6.9
		Brapa_ESTC023968	9,697	762	12.7
AT5G62430	CDF1 (CYCLING DOF FACTOR 1)	Brapa_ESTC009730	1,967	179	11.0
		Brapa_ESTC017709	3,071	227	13.5
		Brapa_ESTC046607	843	53	16.0
AT5G39660	CDF2 (CYCLING DOF FACTOR 2)	Brapa_ESTC021905	1,807	333	4.8
AT3G47500	CDF3 (CYCLING DOF FACTOR 3)	Brapa_ESTC000727	15,452	1,140	13.6
AT2G46830	CCA1 (CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1)	Brapa_ESTC006966	1,847	31	59.7
		Brapa_ESTC008890	2,855	108	26.4
AT5G15850	COL1 (CONSTANS-LIKE 1)	Brapa_ESTC013309	9,520	1,913	5.0
		Brapa_ESTC020072	8,203	1,120	7.3
AT3G02380	COL2 (CONSTANS-LIKE 2)	Brapa_ESTC018414	3,795	386	9.8
		Brapa_ESTC042458	1,201	169	7.1
AT5G17300	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC021797	5,992	311	19.2
AT3G10113	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC027628	8,146	1,843	4.4
AT3G09600	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC022020	1,803	107	16.8
AT3G51910	HSFA7A	Brapa_ESTC023257	1,567	7,875	-5.0
		Brapa_ESTC043552	2,028	7,880	-3.9
AT3G46640	PCL1 (PHYTOCLOCK 1); DNA binding	Brapa_ESTC011589	1,535	10,058	-6.6
		Brapa_ESTC011986	1,837	13,121	-7.1
		Brapa_ESTC016293	1,240	3,848	-3.1
AT5G62020	HSFB2A	Brapa_ESTC021269	970	3,129	-3.2
AT1G58110	DNA binding / transcription factor	Brapa_ESTC023250	739	2,882	-3.9
AT1G55110	IDD7 transcription factor	Brapa_ESTC007892	1,133	3,487	-3.1
AT1G80840	WRKY40 (WRKY DNA-binding protein 40)	Brapa_ESTC005989	803	2,524	-3.1
AT4G29940	PRHA transcription factor	Brapa_ESTC036582	450	1,133	-2.5
AT2G40340	AP2 domain-containing transcription factor	Brapa_ESTC011647	439	1,797	-4.1
		Brapa_ESTC024425	762	4,721	-6.2
AT3G20810	Transcription factor jumonji (jmiC)	Brapa_ESTC012136	138	1,418	-10.3
		Brapa_ESTC027911	60	2,213	-36.6

RCBr의 microarray 결과 *BrFLC*와 *BrEMF1*의 발현은 장일조건과 단일조건에서 큰 차이를 보이지 않았고, *BrFT*는 장일조건에서 약 2배 증가하여 RCBr의 개화는 빛 주기와 큰 관련이 없는 것으로 생각되었다. 광주기와 관련된 *BrPIEL*, *BrGR-RBP8*, *Brcircadian clock coupling factor*의 발현은 장일과 단일조건에서 비슷하였지만 *BrLHY*, *BrCCA*은 장일조건에서 약 26배 더 많이 증가하였다. Phytochrome관련된 유전자 *BrPIF3*, *BrPIF4*, *BrEPRI*, *BrPIL6*는 단일조건보다 장일조건에서 많이 발현하였고, *BrPCCI*은 발현양이 적었다. 장일조건에서 크게 induction된 유전자에는 *Anther 7*, *Dynein light chain*, *BrCSLA1*, *BrHIK*, *BrSQP1*이 있고, repression된 유전자는 *BrPDF1.2*, *BrCOL9*, *zinc finger protein*이 있다(표 16과 17).

표 16. List of genes up-regulated over 10-fold in RCBr under a long day condition.

At ID	Br ID	Description, blastN	PM value		LD/SD fold change
			RCBr LD	RCBr SD	
AT4G28395	Brapa_ESTC011088	ATA7 (<i>Arabidopsis thaliana</i> anther 7)	2,046	19	108.91
AT3G12320	Brapa_ESTC008311	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	6,325	70	90.32
AT3G56290	Brapa_ESTC022580	Unknownprotein[Oryzasativa]	2,224	33	66.76
AT2G46830	Brapa_ESTC006966	CCA1 (Circadian clock associated 1)	1,847	31	59.71
AT1G01060	Brapa_ESTC027456	LHY (LATE ELONGATED HYPOCOTYL)	1,580	29	54.09
AT4G27360	Brapa_ESTC010078	Dynein light chain	3,936	81	48.57
AT3G12320	Brapa_ESTC015806	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	2,015	51	39.30
AT1G01060	Brapa_ESTC029140	LHY (LATE ELONGATED HYPOCOTYL)	6,129	175	35.04
AT2G15020	Brapa_ESTC006608	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	4,398	149	29.56
AT5G06980	Brapa_ESTC014122	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	13,017	441	29.52
AT4G16590	Brapa_ESTC044061	CSLA01(Cellulose synthase-like A1)	8,558	297	28.84
AT2G31380	Brapa_ESTC014969	STH (salt tolerance homologue)	15,208	529	28.73
AT2G46830	Brapa_ESTC008890	CCA1 (Circadian clock associated 1)	2,855	108	26.40
AT4G28395	Brapa_ESTC044558	ATA7(<i>Arabidopsisthaliana</i> anther7)	3,036	116	26.07
AT3G12320	Brapa_ESTC006665	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	1,646	73	22.66
AT2G31380	Brapa_ESTC002594	STH (salt tolerance homologue)	7,516	335	22.46
AT5G17300	Brapa_ESTC021797	Myb family transcription factor	5,992	311	19.24
AT1G02820	Brapa_ESTC013621	LEA3 family protein	8,932	513	17.40
AT3G09600	Brapa_ESTC022020	Myb family transcription factor	1,803	107	16.78
AT2G15020	Brapa_ESTC042368	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	5,837	349	16.72
AT1G18370	Brapa_ESTC048467	HIK (HINKEL); microtubule motor	7,156	429	16.68
AT5G54470	Brapa_ESTC015633	Zinc finger (B-box type) family protein	8,001	486	16.47
AT1G01060	Brapa_ESTC008780	LHY (LATE ELONGATED HYPOCOTYL)	7,668	476	16.09
AT5G62430	Brapa_ESTC046607	CDF1 (CYCLING DOF FACTOR 1)	843	53	16.01
AT5G35970	Brapa_ESTC006829	DNA-binding protein	8,291	555	14.93
AT4G27310	Brapa_ESTC022424	Zinc finger (B-box type) family protein	8,950	605	14.80
AT5G24150	Brapa_ESTC027243	SQP1 (Squalene monooxygenase 1)	6,873	466	14.76
AT5G15890	Brapa_ESTC018928	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	3,671	249	14.73
AT3G51590	Brapa_ESTC001668	LTP12 (LIPID TRANSFER PROTEIN 12)	857	63	13.70
AT3G47500	Brapa_ESTC000727	CDF3 (CYCLING DOF FACTOR 3)	15,452	1,140	13.56
AT5G62430	Brapa_ESTC017709	CDF1 (CYCLING DOF FACTOR 1)	3,071	227	13.52
AT5G66740	Brapa_ESTC015752	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	6,130	460	13.34
AT5G24120	Brapa_ESTC023968	SIGE (RNA polymerase sigma subunit E)	9,697	762	12.73
AT2G32530	Brapa_ESTC017107	CSLB03 (Cellulose synthase-like B3)	3,723	303	12.30
AT5G35970	Brapa_ESTC019032	DNA-binding protein	10,626	881	12.06
AT2G32530	Brapa_ESTC035485	CSLB03 (Cellulose synthase-like B3)	3,336	278	11.99
AT4G03400	Brapa_ESTC009393	GH3-10, DFL2 (DWARF IN LIGHT 2)	2,587	216	11.96
AT5G24150	Brapa_ESTC050379	SQP1 (Squalene monooxygenase 1)	2,665	225	11.86
AT3G22840	Brapa_ESTC002873	ELIP1 (Early light-inducable protein)	2,682	227	11.83
AT1G01060	Brapa_ESTC028906	LHY (LATE ELONGATED HYPOCOTYL)	7,329	633	11.58
AT1G04380	Brapa_ESTC004678	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase	3,323	289	11.48
AT2G46790	Brapa_ESTC008899	PRR9 (Pseudo-response regulator 9)	1,318	116	11.41
AT5G62430	Brapa_ESTC009730	CDF1 (CYCLING DOF FACTOR 1)	1,967	179	10.99
AT3G51590	Brapa_ESTC000931	LTP12 (LIPID TRANSFER PROTEIN 12)	450	41	10.99
AT2G22240	Brapa_ESTC009830	Inositol-3-phosphate synthase isozyme 2	9,209	855	10.77
AT5G59480	Brapa_ESTC047830	Haloacid dehalogenase-like protein	1,532	147	10.43
AT5G24105	Brapa_ESTC048513	AGP41	904	87	10.43

표 17. List of genes down-regulated over 10-fold in RCB under a long day condition.

At ID	Br ID	Description, blastN	PM value		LD/SD fold change
			RCBr LD	RCBr SD	
AT5G44430	Brapa_ESTC000056	PDF1.2c (plant defensin 1.2c)	31	15,169	-493.27
AT5G44420	Brapa_ESTC009437	PDF1.2a,	147	12,286	-83.44
no_hits_f	Brapa_ESTC000676		14	1,147	-79.08
no_hits_f	Brapa_ESTC028538		63	2,383	-37.69
AT3G20810	Brapa_ESTC027911	Transcription factor jumonji (jmiC)	60	2,213	-36.59
AT3G07650	Brapa_ESTC027877	COL9 (CONSTANS-LIKE 9)	53	1,705	-31.94
AT4G10300	Brapa_ESTC000201	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	205	6,078	-29.58
AT1G80850	Brapa_ESTC050130	Methyladenine glycosylase family protein	9	243	-27.20
AT5G42900	Brapa_ESTC002789	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	219	5,809	-26.48
AT4G10300	Brapa_ESTC015589	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	179	4,550	-25.46
AT5G56360	Brapa_ESTC025138	Calmodulin-binding protein	33	760	-22.75
no_hits_f	Brapa_ESTC035728		16	358	-22.27
AT5G16330	Brapa_ESTC045719	NC domain-containing protein	99	1,998	-20.18
no_hits_f	Brapa_ESTC049042		250	4,511	-18.04
no_hits_f	Brapa_ESTC050133		15	271	-17.51
AT1G75380	Brapa_ESTC001656	Wound-responsive protein-related	39	639	-16.46
AT4G32480	Brapa_ESTC002045	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	126	1,897	-15.02
AT4G10300	Brapa_ESTC033067	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	176	2,561	-14.52
AT5G41080	Brapa_ESTC012747	Glycerophosphoryl diester phosphodiesterase	116	1,604	-13.81
AT5G42900	Brapa_ESTC026077	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	265	3,387	-12.78
no_hits_f	Brapa_ESTC047755		228	2,529	-11.10
AT5G42900	Brapa_ESTC028966	Unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	214	2,327	-10.86
AT5G63160	Brapa_ESTC007918	BT1 (BTB and TAZ domain protein 1)	1,912	20,641	-10.80
AT3G20810	Brapa_ESTC012136	Transcription factor	138	1,418	-10.28

Arabidopsis Col-0의 microarray 결과 ATH1 chip의 전체 1,622 transcription factor 중 장일조건의 PM값이 500이하고 단일조건의 PM값은 1,000이상 또는 장일조건의 PM값이 1,000이상이며 단일조건의 PM값은 500이하인 유전자 중 3배 이상 발현의 변화를 보이는 67개의 transcription factor는 표 18과 같다. Phytochrome과 관련된 *AtEPRI*, *AtPIL6*, *AtPIF4*, and *AtPAP1*의 발현이 장일조건에서 induction하였다. 이 유전자들과 상동성을 갖는 *BrEPRI*, *BrPIL6*, and *BrPIF4*은 RCB에서도 발현이 증가하였지만, *BrPAP1*은 발현의 변화가 없었다. 따라서 *AtPAP1*은 Col-0 특이적으로 장일조건에서 induction하는 유전자로 생각된다.

표 18. List of transcription factors changing over 3-fold in *Arabidopsis* under the long day condition. Shaded genes represents photoperiod or circadian clock-related one.

SEQ_ID	Description, blastN	PM value		LD/SD fold change
		Col-0 LD	Col-0 SD	
AT1G18330	EPR1 (EARLY-PHYTOCHROME-RESPONSIVE1)	2,445	92	23.5
AT3G10113	DNA binding / transcription factor	4,045	155	23.1
AT4G27310	Transcription factor/ zinc ion binding	1,265	51	24.6
AT3G46090	Nucleic acid binding / transcription factor/ zinc ion binding	1,404	61	23.2
AT2G21320	Transcription factor/ zinc ion binding	2,538	159	15.9
AT1G73870	Transcription factor/ zinc ion binding	1,739	110	15.8
AT3G02380	COL2 (CONSTANS-LIKE 2)	1,768	119	14.9
AT3G50060	DNA binding / transcription factor	2,109	148	14.3
AT4G25470	CBF2; DNA binding / transcription factor/ transcriptional activator	1,762	137	12.8
AT3G24500	DNA binding / transcription coactivator/ transcription factor	16,930	1,524	11.1
AT5G62430	CDF1 (CYCLING DOF FACTOR 1)	1,206	138	8.7
AT5G24120	SIG5/SIGMA FACTOR	2,510	325	7.7
AT2G33810	SPL3 (SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 3)	14,507	1,884	7.7
AT2G45660	AGL20 (AGAMOUS-LIKE 20)	1,878	258	7.3
AT1G71030	ATMYBL2	10,721	1,638	6.5
AT5G47230	ATERF5 transcription factor	1,239	191	6.5
AT2G31380	STH; transcription factor/ zinc ion binding	3,432	537	6.4
AT3G50330	DNA binding / transcription factor	2,305	361	6.4
AT1G33240	Transcription factor	2,857	462	6.2
AT3G47500	DNA binding / transcription factor	4,730	766	6.2
AT2G44940	DNA binding / transcription factor	1,738	290	6.0
AT5G25190	DNA binding / transcription factor	3,666	640	5.7
AT1G56650	PAP1 (PRODUCTION OF ANTHOCYANIN PIGMENT 1)	2,202	409	5.4
AT5G51190	MWD22_13'; DNA binding / transcription factor	38,862	7,378	5.3
AT1G06040	STO (SALT TOLERANCE)	5,085	983	5.2
AT3G59060	PIL6 (PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 5)	2,025	392	5.2
AT4G17490	ATERF6 transcription factor	2,338	454	5.2
AT5G60890	ATRI (ALTERED TRYPTOPHAN REGULATION)	1,054	210	5.0
AT2G42200	Transcription factor	1,256	251	5.0
AT2G43010	PIF4 (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4)	3,018	618	4.9
AT1G64860	SIGA (SIGMA FACTOR A)	7,491	1,657	4.5
AT5G67300	DNA binding / transcription factor	2,097	472	4.4
AT5G62020	AT-HSFB2A	1,796	425	4.2
AT3G23030	IAA2	2,907	697	4.2
AT4G21430	Transcription factor	1,072	258	4.2
AT2G25900	ATCTH; PUTATIVE CYS3HIS ZINC FINGER PROTEIN	6,832	1,662	4.1
AT1G63690	Transcription factor	1,104	270	4.1
AT4G37260	MYB73	1,827	455	4.0

AT5G44190	GLK2 (GOLDEN2-LIKE 2)	7,522	1,939	3.9
AT4G24540	AGL24	1,790	469	3.8
AT2G23570	GPR11 (GOLDEN2-LIKE 1)	12,332	3,473	3.6
AT1G27730	ZAT10	2,939	833	3.5
AT1G32640	ATMYC2 (JASMONATE INSENSITIVE 1)	2,568	740	3.5
AT3G24860	Transcription factor	4,368	1,284	3.4
AT3G16500	PAP1 (PHYTOCHROME-ASSOCIATED PROTEIN 1)	1,103	325	3.4
AT5G61600	DNA binding / transcription factor	4,728	1,413	3.3
AT4G01250	WRKY22	1,020	317	3.2
AT1G25440	Transcription factor/ zinc ion binding	4,437	1,380	3.2
AT3G55980	Transcription factor	5,173	1,624	3.2
AT2G31370	DNA binding / transcription factor	4,035	1,282	3.1
AT1G07980	Transcription factor	1,241	395	3.1
AT4G36540	AP22_3'; DNA binding / transcription factor	8,261	2,647	3.1
AT1G76110	Transcription factor	1,325	426	3.1
AT2G47270	Transcription factor/ transcription regulator	2,663	885	3.0
AT1G44830	DNA binding / transcription factor	357	1,075	-3.0
AT3G54990	SMZ (SCHLAFMUTZE)	330	1,010	-3.1
AT1G60300	Transcription factor	1,288	4,263	-3.3
AT1G13300	DNA binding / transcription factor	1,633	5,580	-3.4
AT5G26330	DNA binding / transcription factor	775	2,866	-3.7
AT4G35900	FD (FD); DNA binding / transcription factor	844	3,558	-4.2
AT5G06250	Transcription factor	308	1,341	-4.4
AT5G14010	Nucleic acid binding / transcription factor/ zinc ion binding	702	3,468	-4.9
AT2G45120	Nucleic acid binding / transcription factor/ zinc ion binding	261	1,457	-5.6
AT3G20810	Transcription factor	599	3,622	-6.0
AT5G60480	Transcription factor	369	2,747	-7.5
AT5G37260	DNA binding / transcription factor	235	1,812	-7.7
AT2G41240	DNA binding / transcription factor	423	4,785	-11.3

Arabidopsis Col-0의 microarray 실험 결과 RCB의 결과와 비슷하게 *AtSTH*, *AtMYB* transcription factor의 발현은 장일조건에서 증가하였다. Phytochrome 관련 유전자 역시 RCB에서 보인 경향과 비슷하게 *AtPIF3*, *AtPIF4*, *AtPIL6*, *AtEPR1*은 장일조건에서 모두 증가하였지만, *AtPCC1*은 크게 감소하였다. 개화관련 유전자 *AtFT*, *AtFLC*, *AtMAF4*는 거의 발현하지 않았고, *AtEMF1*은 장일조건에서, *AtELF4*는 단일조건에서 많이 발현하였다. 광주기와 관련된 *AtCCA1*, *AtPIE1*, *AtLHY*는 장일조건에서 증가하였다(표 19과 20).

표 19. List of genes up-regulated over 10-fold in *Arabidopsis* under a long day condition.

At ID	Description, blastN	PM value		LD/SD fold change
		Col-0 LD	Col-0 SD	
AT2G20870	Unknown protein	11,564	67	173.61
AT3G55240	Unknown protein	9,531	203	46.85
AT4G08870	Agmatinase/ catalytic	9,027	233	38.71
AT2G05070	Chlorophyll binding	1,626	43	37.47
AT4G25200	Small heat shock protein 23.6	2,776	87	31.83
AT5G64840	AtGCN5	6,785	243	27.97
AT3G54500	Unknown protein	1,889	69	27.46
AT1G18330	EPR1 (EARLY-PHYTOCHROME-RESPONSIVE1)	2,445	92	26.54
AT3G10113	Transcription factor	4,045	155	26.07
AT5G45820	CIPK20 (CBL-INTERACTING PROTEIN KINASE 20)	1,171	47	24.80
AT4G27310	Transcription factor/ zinc ion binding	1,265	51	24.64
AT2G33380	RD20 (RESPONSIVE TO DESSICATION 20)	6,245	258	24.21
AT5G48570	Calmodulin binding / peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	1,409	59	24.05
AT3G46090	Transcription factor/ zinc ion binding	1,404	61	23.19
AT3G42628	Unknown protein	6,861	301	22.76
AT4G16590	Transferase, transferring glycosyl groups	825	37	22.53
AT5G24780	VSP1 (VEGETATIVE STORAGE PROTEIN 1)	43,031	1,988	21.65
AT5G44540	Unknown protein	2,111	100	21.17
AT1G46048	Pseudogene, hypothetical protein	1,685	82	20.45
AT1G52410	Unknown protein	1,869	96	19.42
AT1G13650	Unknown protein	2,158	114	18.96
AT5G54470	Transcription factor/ zinc ion binding	871	51	17.23
AT4G19170	NCED4 (NINE-CIS-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE 4)	4,111	239	17.22
AT2G39330	Unknown protein	3,188	190	16.81
AT4G15210	AtBETA-AMY (BETA-AMYLASE); beta-amylase	3,111	189	16.46
AT1G58430	Carboxylic ester hydrolase/ hydrolase, acting on ester bonds	499	31	16.19
AT2G21320	Transcription factor/ zinc ion binding	2,538	159	15.92
AT1G73870	Transcription factor/ zinc ion binding	1,739	110	15.77
AT4G12980	Dopamine beta-monoxygenase	5,910	384	15.39
AT2G46670	Unknown protein	1,228	81	15.14
AT3G02380	COL2 (CONSTANS-LIKE 2); transcription facto	1,768	119	14.90
AT5G64170	Unknown protein	3,308	224	14.79
AT1G32900	Transferase, transferring glycosyl groups	1,127	77	14.68
AT1G68875	Unknown protein	986	68	14.44
AT5G47740	Unknown protein	1,031	72	14.28
AT3G50060	DNA binding / transcription factor	2,109	148	14.28
ATMG01080	Subunit 9 of mitochondrial F0-ATPase	4,340	312	13.92
AT4G12400	Unknown protein	5,145	375	13.72

AT3G27690	LHCB2-4; chlorophyll binding	15,158	1,116	13.59
AT3G28220	Unknown protein	6,588	496	13.28
AT1G52690	Unknown protein	1,387	108	12.84
AT4G25470	CBF2 transcription factor	1,762	137	12.83
AT5G39860	MYH19_1 transcription factor	694	55	12.68
AT5G06980	Unknown protein	2,730	219	12.49
AT5G12020	Unknown protein	737	61	12.02
AT1G52030	MBP2 (MYROSINASE-BINDING PROTEIN 2)	5,601	474	11.83
AT1G57750	Heme binding / iron ion binding / monooxygenase	969	82	11.78
AT1G54020	Carboxylic ester hydrolase	1,068	92	11.64
AT2G46830	CCA1 (CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1)	860	75	11.50
AT2G07677	auxin-responsivefactor(ARF)	4,751	426	11.16
AT5G01820	SRI (SERINE/THREONINE PROTEIN KINASE 1)	7,386	664	11.12
AT3G24500	DNA binding/transcription factor	16,930	1,524	11.11
AT4G18440	Adenylosuccinate lyase/ catalytic	5,342	481	11.09
AT2G30500	Unknown protein	1,278	117	10.95
AT2G07701	Unknown protein	2,062	191	10.78
AT2G47180	Transferase, transferring hexosyl groups	7,516	704	10.68
AT1G20070	Unknown protein	986	94	10.48
AT2G23000	SCPL10; catalytic/ serine carboxypeptidase	1,535	147	10.42
AT3G57150	AtNAP57	1,120	109	10.27
AT5G15780	Unknown protein	6,204	608	10.21
AT5G13170	Unknown protein	547	54	10.09
ATMG01220	Unknown protein	1,192	119	10.01

Table 20. List of genes down-regulated over 10-fold in *Arabidopsis* under a long day condition,

At ID	Description, blastN	PM value		LD/SD fold change
		Col-0 LD	Col-0 SD	
AT4G09775	Unknown protein	81	4,929	-61.06
AT5G32475	Athila retroelement ORF2 -related	244	7,222	-29.58
AT2G12320	Unknown protein	107	3,127	-29.25
AT1G41855	Unknown protein	93	2,275	-24.53
AT5G49090	Unknown protein	39	935	-24.21
AT2G14580	AtPRB1	57	1,356	-23.70
AT4G07528	Gypsy-like retrotransposon family	117	2,594	-22.17
AT5G40595	Unknown protein	70	1,489	-21.18
AT5G30341	Unknown protein	84	1,750	-20.93
AT4G08103	Gypsy-like retrotransposon family (Athila)	691	12,822	-18.56
AT2G28020	Unknown protein	1,095	19,755	-18.04
AT4G27150	Lipid binding / nutrient reservoir	206	3,658	-17.74
AT4G07590	Gypsy-like retrotransposon family	39	661	-16.85
AT4G08013	Unknown protein	79	1,300	-16.48
AT4G06486	Pseudogene, hypothetical protein	385	6,105	-15.86
AT4G33720	Unknown protein	125	1,949	-15.56
AT5G38393	F-box protein family	76	1,173	-15.38
AT5G48010	Catalytic	71	1,080	-15.22
AT4G27170	Lipid binding / nutrient reservoir	77	1,154	-14.97
AT4G29460	Phospholipase A2	65	951	-14.67
AT1G29540	Unknown protein	67	982	-14.61
AT4G27140	Lipid binding / nutrient reservoir	82	1,170	-14.35
AT4G08800	ATP binding / protein kinase	147	2,091	-14.22
AT5G62330	Unknown protein	147	2,088	-14.17
AT3G43571	CACTA-like transposase family (CACTA-element)	593	8,387	-14.15
AT1G23935	Unknown protein	175	2,401	-13.73
AT1G35614	Unknown protein	280	3,780	-13.51
AT5G55400	Calcium ion binding	480	6,453	-13.44
AT4G03865	Unknown protein	138	1,765	-12.76
AT1G75870	Unknown protein	178	2,265	-12.73
AT1G36400	Unknown protein	262	3,289	-12.55
AT4G33465	SCRL22	62	740	-12.03
AT3G53450	Unknown protein	320	3,823	-11.94
AT3G42070	Unknown protein	661	7,881	-11.91
AT4G22210	Low-molecular-weight cysteine-rich 85 (LCR85)	125	1,487	-11.91
AT3G16930	Unknown protein	203	2,394	-11.77
AT5G55980	Unknown protein	188	2,205	-11.72
AT3G03400	Calcium ion binding	905	10,583	-11.70
AT1G73000	Unknown protein	323	3,739	-11.58
AT2G41240	DNA binding / transcription factor	423	4,785	-11.31
AT3G44796	Gypsy-like retrotransposon family (Gypsy_Ty3-element)	246	2,754	-11.18
AT5G29210	Unknown protein	39	430	-11.03
AT2G34700	Unknown protein	113	1,233	-10.90
AT1G05680	UDP-glycosyltransferase	224	2,333	-10.69
AT2G05340	Gypsy-like retrotransposon family (Athila)	60	640	-10.65
AT2G27010	Heme binding / iron ion binding / monooxygenase	280	2,962	-10.59
AT3G27590	Unknown protein	52	542	-10.49
AT2G06885	Gypsy-like retrotransposon family (Athila)	74	765	-10.36
AT5G52740	Metal ion binding	218	2,226	-10.21

표 21은 RCB_r과 Col-0 chip 결과 중 개화와 circadian clock 관련 유전자 발현 비교한 것으로, *LHY* (Brapa_ESTC008780), *CCA1* (Brapa_ESTC008890), *PIF3* (Brapa_ESTC023158), and MYB transcription factor (Brapa_ESTC021797, Brapa_ESTC022020)의 발현은 장일조건의 RCB_r에서 유도되었고, *PCL1* (Brapa_ESTC011986), *PRHA* (Brapa_ESTC036582), *AP2* transcription factor (Brapa_ESTC024425)의 발현은 단일조건의 RCB_r에서 유도된다. *FLC* (Brapa_ESTC021830), *PIE* (Brapa_ESTC042862), and circadian clock coupling factor (Brapa_ESTC013415)는 *Arabidopsis* Col-0에서는 발현하지 않고 RCB_r 특이적으로 발현하며, RCB_r에서 장일과 단일조건 사이의 발현 차이는 없다. *PCC1* (At3g22231)과 *GR-RBP8* (At4g39260)은 RCB_r에서 발현정도가 낮아 *Arabidopsis* Col-0 특이적으로 높이 발현하며, *EMF1* (At5g11530)은 Col-0의 장일조건에서 발현이 높았다.

표 21. Lists of TF and genes associated with flowering or circadian clock.

Classification	At ID	Proposed function	Chip ID	RCB _r		Col-0	
				LD	SD	LD	SD
TF	AT2G31380	STH (salt tolerance homologue)	Brapa_ESTC014969	15,208	529	3,432	537
	AT5G17300	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC021797	5,992	311	331	125
	AT3G09600	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC022020	1,803	107	373	103
	AT3G10113	Myb family transcription factor	Brapa_ESTC027628	8,146	1,843	4,045	155
	AT5G08130	BIM1 (BES1-interacting Myc-like protein 1)	Brapa_ESTC025847	465	1,078	1,427	506
	AT4G29940	PRHA	Brapa_ESTC036582	450	1,133	274	141
	AT2G40340	AP2 domain-containing transcription factor	Brapa_ESTC024425	762	4,721	595	207
	AT3G20810	Transcriptionfactorjumonji(jmjC)	Brapa_ESTC027911	60	2,213	599	3,622
	AT5G11530	EMF1 (EMBRYONIC FLOWER 1)	Brapa_ESTC030407	359	564	1,110	424
	AT5G10140	FLF, AGL25, FLC (FLOWERING LOCUS C)	Brapa_ESTC021830	4,236	4,554	115	127
Flowering	AT2G40080	ELF4 (EARLY FLOWERING 4)	Brapa_ESTC038745	332	2,366	885	2,750
	AT2G29950	Similar to ELF4 (EARLYFLOWERING4)	Brapa_ESTC051752	7,741	4,575	276	785
	AT1G65480	FT (FLOWERING LOCUS T)	Brapa_ESTC034579	802	439	195	183
			Brapa_ESTC019941	787	349	195	183
Phytochrome	AT1G09530	PIF3, POC1	Brapa_ESTC023158	1,323	555	307	227
	AT1G18330	EPR1	Brapa_ESTC023357	6,038	1,359	2,445	92
	AT2G43010	SRL2, PIF4	Brapa_ESTC012017	2,169	334	3,018	618
	AT3G22231	PCC1	Brapa_ESTC028145	229	165	4,184	31,673
Circadian, photoperiod, clock	AT3G59060	PI16	Brapa_ESTC011690	8,760	930	2,025	392
	AT3G12810	PIE1/ DNA binding / helicase	Brapa_ESTC042862	10,800	15,659	593	382
	AT3G46640	PCL1 (PHYTOCLOCK 1)	Brapa_ESTC011986	1,837	13,121	1,358	1,246
	AT3G63060	Circadian clock coupling factor	Brapa_ESTC013415	1,110	1,106	180	205
	AT4G39260	GR-RBP8, CCR1	Brapa_ESTC050907	180	134	5,976	3,287
	AT1G01060	LHY	Brapa_ESTC008780	7,668	476	974	228
	AT2G46830	CCA1	Brapa_ESTC008890	2,855	108	860	75

이 중 개화관련 유전자에 대한 발현을 좀더 자세히 알아보기 위하여 primer로 제작하여 RCB_r을 재료로 RT-PCR을 수행하였다(그림 17). *BrCCA1*과 *BrLHY*가 장일조건 특이적으로 발현하기 때문에 이들을 광주기관련 마커로 개발하기 위하여 클로닝을 수행하고 있다. 위 microarray 결과는 SCI 잡지에 투고하기 위하여 원고를 작성하고 있다.

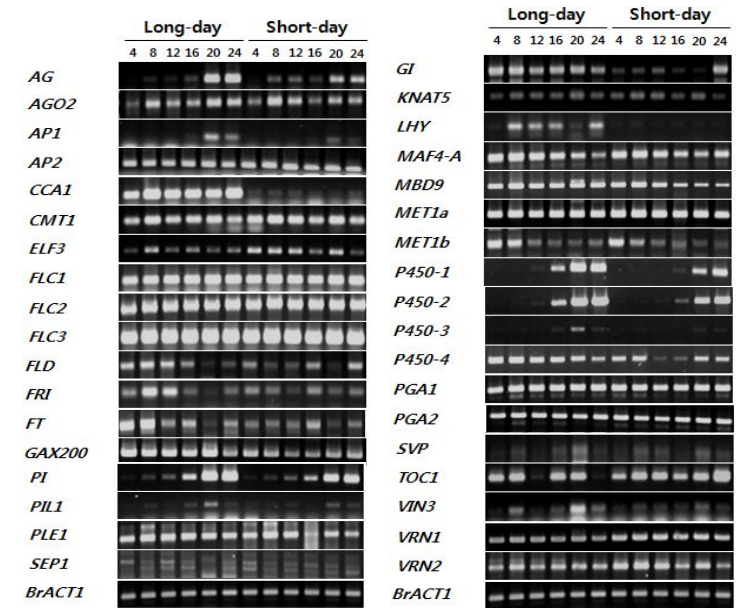


그림 17. RT-PCR results of selected gene in RCB_r under either a long day or a short day condition for 24 days.

개화유도 유전자를 찾기 위하여 조기개화인 RCBr (no vernalization required) 만기개화인 지부(vernalization required)를 대상으로 microarray를 수행하고 RCBr의 생활사를 근거로 sampling하여 선발한 유전자의 RT-PCR을 수행하였음(그림 18). 특이한 결과는 5개의 floral repressor 유전자의 발현과 하나의 생체시계관련 유전자 (*BrMBD9*) 및 기능이 밝혀지지 않은 전사인자(*BrKNAT5*)의 발현이 RCBr에서는 시간이 지남에 따라 감소하는 반면에 지부에서는 증가하는 경향을 보인다는 것이었음.

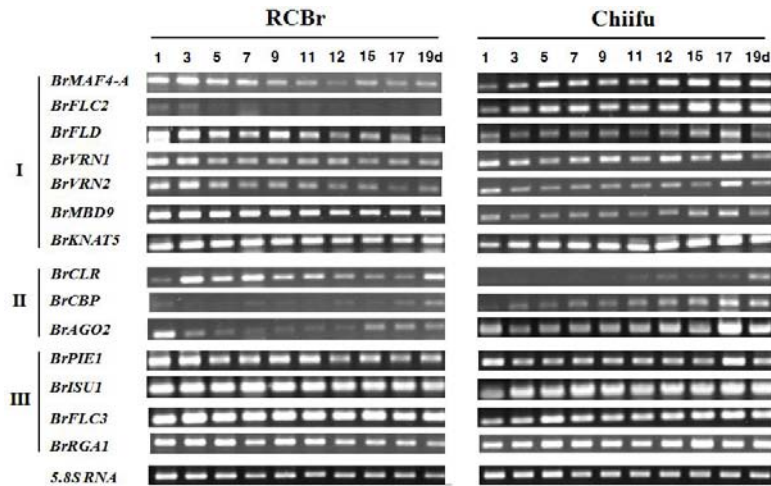


그림 18. Expression of floral repressor, circadian rhythm and a transcription factor gene

RCBr and Chiifu plants grown in LD for 19 days. I, Genes that showed decreased expression in RCBr, but increased expression in Chiifu. II, Genes showing differential expression between RCBr and Chiifu. III, Genes showing no difference in its expression between RCBr and Chiifu.

광주기와 관련해서 애기장대, 지부 및 권심은 장일조건을 필요로 하나, RCBr은 일장조건이 문제가 되지 않음. 이를 근거로 RCBr을 장일과 단일조건에서 기른 시료와 애기장대의 장일조건과 단일조건에서 기른 시료를 이용하여 RCBr은 배추집을 활용하고, 애기장대는 애기장대 chip을 활용하여 microarray 실험을 수행하고 몇 개의 유전자를 선발하여 장일조건과 단일조건에서 그 발현양을 분석하였음(그림 19). Microarray에서는 차이가 있었으나 RT-PCR 결과는 비슷한 패턴을 보였다. 단, 생체시계와 관련되어 *CCA1*과 *LHY*는 암기에 보다 발현양이 높은 것 같았다.

광주기와 관련된 유전자에 대한 연구를 개화나 생체시계가 아닌 다른 유전자들을 중심으로 그 발현 양상을 연구하였다(Fig. 20-22). 장일조건과 단일조건에서 기른 네 개의 식물체 (RCBr, 애기장대, 지부 및 권심)을 대상으로 실험을 수행하고 결과를 정리하였다. Figure 20은 애기장대에서 장일 특이적으로 발현한 유전자를 대상으로 했으나 완전히 장일특이적이지는 않

았다. 그림 21은 애기장대 칩에는 존재하나 배추 칩에는 없는 유전자로 일부는 모든 식물에서 발현이 탐지도고, 일부는 단일조건에서만 탐지가 되었다. 그림 22는 장일조건에서 발현이 증가한 유전자로 비슷한 증가양상은 보이나 뚜렷한 구별은 어려웠다.

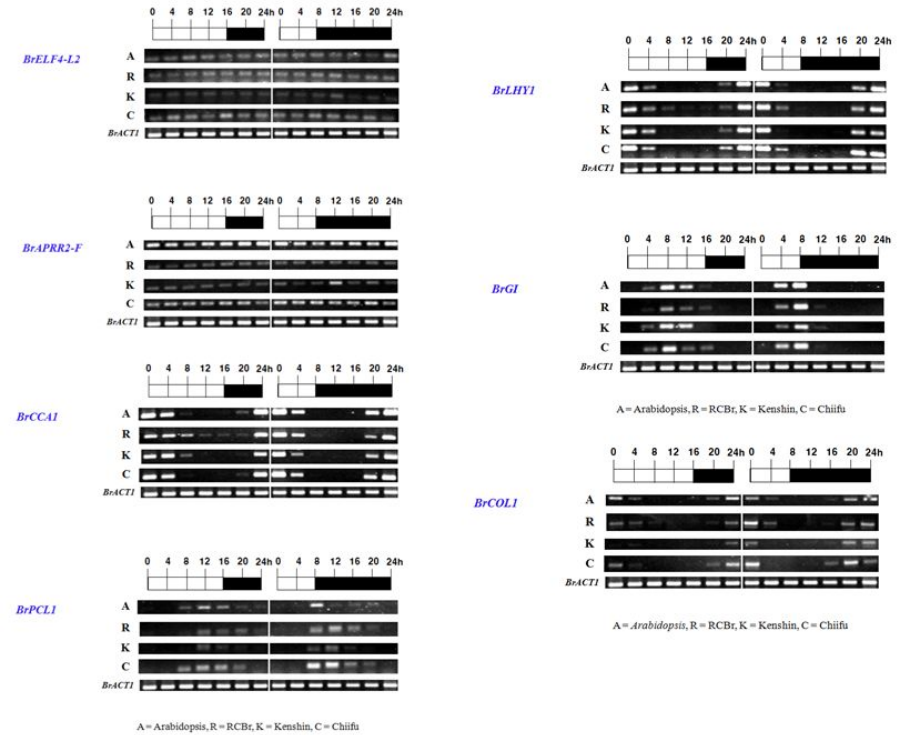


그림 19. Expression of photoperiod-related genes in RCBr, Chiifu, Kenshin and Arabidopsis plants.

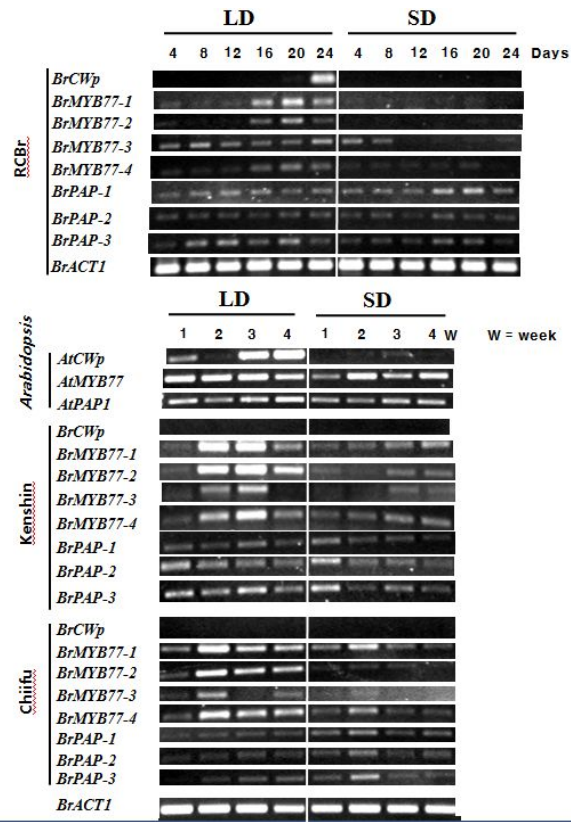


그림 20. LD-specifically expressed gene in *Arabidopsis*.

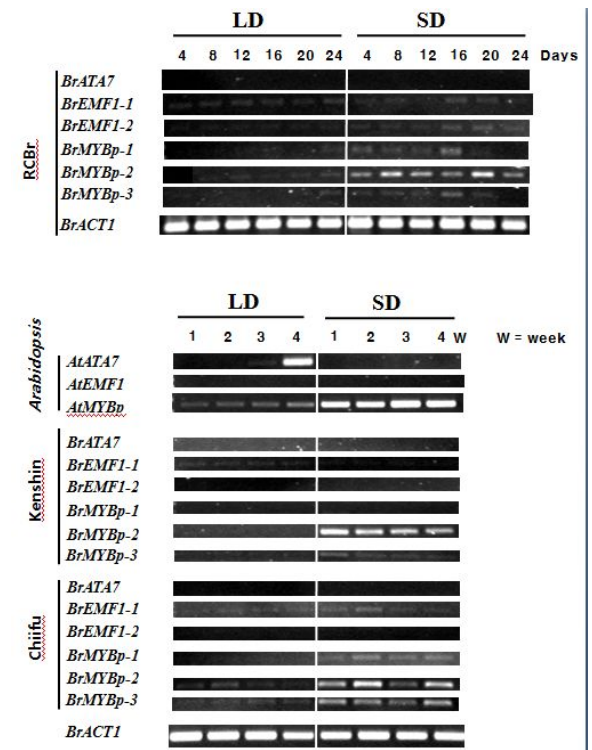


그림 21. Genes not present in Br300K microarray.

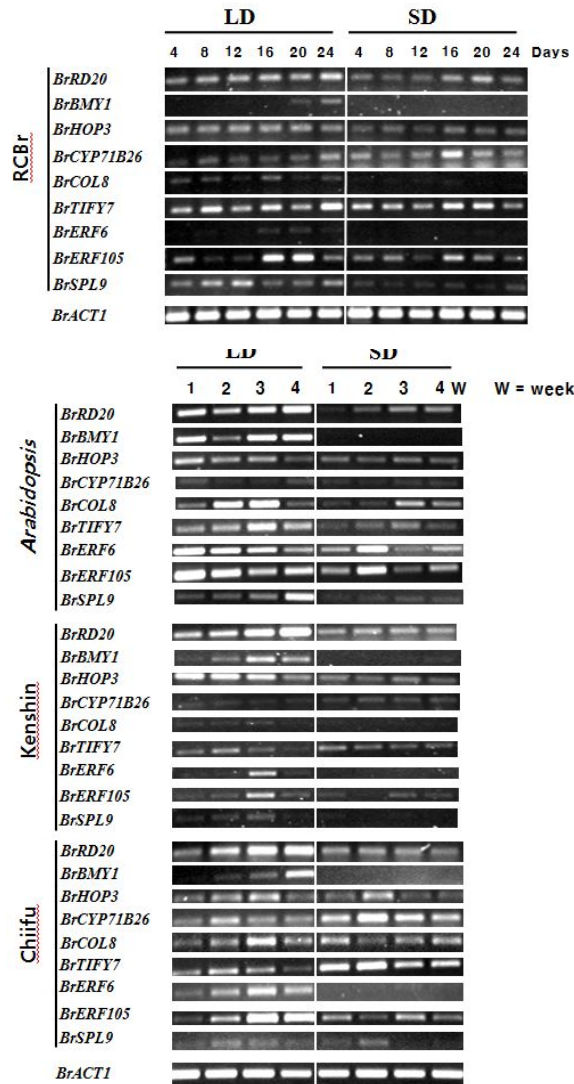


그림 22. Genes up-regulated under LD conditions.

이상의 결과 이외에도 개화에 춘화처리가 중요한 요인이기 때문에 개화관련 유전자 마커 개발의 일환으로 vernalization 관련 유전자도 탐색하고 있다. 배추재료는 우리종묘에서 분양받은 조기추대 내훈계와 만기추대 내훈계 및 지부를 사용하였으며 종자발아 후 4℃에서 7주간 유지하면서 1주에 한 번씩 sampling을 하였다. Total RNA를 추출하여 RT-PCR(Fig. 23)을 수행한 후 microarray sample을 결정하기로 하였다.

■ Vernalization of seedling: Microarray and RT-PCR

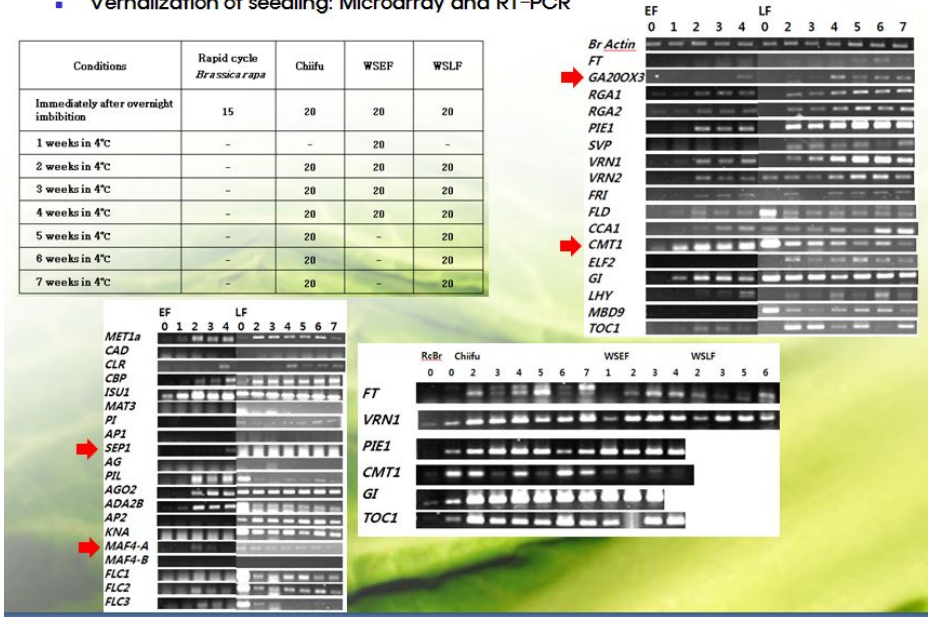


그림 23. Sampling schedul and RT-PCR result using Chiifu.

라. 장단일 민감 배추를 이용한 microarray

네덜란드의 보네마 실험실의 도움으로 개화관련 유전자 탐색에 활용한 배추 시료 중에서 장일과 단일조건에 민감하게 반응하는 계통을 받아 microarray 실험을 수행하였다. 배추를 단일과 장일 조건에서 7주간 기른 후 연속광을 주면서 9시간과 21시간 후에 시료를 채취하였다. 많은 분석 중에서 전사유전자에 대한 결과만 설명하면, 장일조건에서만 2배 이상 발현이 증가하는 전사유전자는 모두 16개였으며(표 16), 단일조건에서 발현이 증가한 유전자는 모두 10개였다(표 17).

표 21. Up-regulated genes by LD condition among 7 weeks-LD exposed plants.

haliana_homo	A thaliana_homologue Description	Longday1E	Longday04	Shortday1E	Shortday04	D/F	E/G	F/D	G/E
AT1G21910	AP2 domain-containing transcription factor family protein	579	2,058	281	108	2.1	29.0	0.5	0.1
AT5G04340	CZF2, ZAT6, CZH2C2H2 (ZINC FINGER OF ARABIDOPSIS THALIANA 6)	1,663	367	639	32	2.6	11.4	0.4	0.1
AT5G04340	CZF2, ZAT6, CZH2C2H2 (ZINC FINGER OF ARABIDOPSIS THALIANA 6)	3,680	910	1,332	109	2.8	8.4	0.4	0.1
AT3G61630	CRF6 (CYTOKININ RESPONSE FACTOR 6)	1,907	1,558	522	204	3.7	7.7	0.3	0.1
AT5G61590	AP2 domain-containing transcription factor family protein	6,763	2,620	1,646	699	4.1	3.7	0.2	0.3
AT3G29035	ANAC099	5,073	1,257	1,687	362	3.0	3.5	0.3	0.3
AT1G21910	AP2 domain-containing transcription factor family protein	3,238	5,977	1,430	1,816	2.3	3.9	0.4	0.3
AT5G60850	OBP4 (OB BINDING PROTEIN 4)	1,659	3,114	835	1,044	2.0	3.0	0.5	0.3
AT1G19510	Myb family transcription factor	2,686	6,885	853	2,618	3.1	2.6	0.3	0.4
AT2G42380	bZIP transcription factor family protein	31,275	31,092	2,273	1,688	6.9	2.3	0.1	0.4
AT3G01470	ATHB-1 (Homeobox-leucine zipper protein HATS)	906	1,180	401	482	2.3	2.4	0.4	0.4
AT5G61590	AP2 domain-containing transcription factor family protein	12,075	8,090	3,405	3,440	3.5	2.4	0.3	0.4
AT3G61630	CRF6 (CYTOKININ RESPONSE FACTOR 6)	1,105	546	505	253	2.2	2.2	0.5	0.5
AT1G73830	BEE3 (BR ENHANCED EXPRESSION 3)	378	2,474	187	1,170	2.0	2.1	0.5	0.5
AT5G39610	ANAC092	3,041	816	1,060	402	2.9	2.0	0.3	0.5
AT3G19580	AZF2 (ARABIDOPSIS ZINC-FINGER PROTEIN 2)	725	1,229	357	627	2.0	2.0	0.5	0.5

표 22. Up-regulated genes by SD condition among 7 weeks-SD exposed plants.

haliana_homo	A thaliana_homologue Description	Longday1E	Longday04	Shortday1E	Shortday04	D/F	E/G	F/D	G/E
AT4G37180	Myb family transcription factor	5,151	527	14,130	4,538	0.4	0.1	2.8	8.6
AT4G37180	Myb family transcription factor	3,047	419	10,305	2,937	0.3	0.1	3.4	7.0
AT5G07690	ATMYB29	1,872	1,850	6,277	12,880	0.3	0.1	3.4	7.0
AT4G37180	Myb family transcription factor	2,840	469	10,811	2,969	0.3	0.2	3.7	6.3
AT5G07690	ATMYB29	880	1,105	3,568	6,320	0.2	0.2	4.1	5.7
AT5G07690	ATMYB29	3,941	4,738	10,546	21,512	0.4	0.2	2.7	4.5
AT5G07690	ATMYB29	3,334	3,300	8,827	13,402	0.4	0.2	2.6	4.1
AT5G52600	ATMYB82	278	488	744	1,691	0.4	0.3	2.7	3.5
AT5G53200	TRY (TRIPTYCHON); DNA binding / transcription factor	758	724	2,020	2,149	0.4	0.3	2.7	3.0
AT2G40970	Myb family transcription factor	411	151	1,458	419	0.3	0.4	3.5	2.8

그러나 장일특이적 발현을 보이는 유전자와 단일특이적 발현을 보이는 유전자는 각각 9개와 4개 뿐이었다(표 18). 이들은 epigenetically 기억된 것으로 보아야 할 것이다. 그러나 애기장대 애기장대 microarray 결과와 비교한 결과 AT5G05440은 장,단일 모두에서 높게 발현되고, 나머지 유전자는 발현이 거의 되지 않는 것으로 분석되었다. 또는 RCBBr microarray도 분석한 결과 AT5G05440은 장,단일 모두에서 높게 발현되며 오히려 단일조건에서 발현양이 높았다. 나머지 유전자는 발현이 매우 미비하였다. 이러한 결과는 배추의 재료에 따라서 장일 단일 조건에서 특이하게 발현되는 유전자가 다름을 암시한다고 하겠다.

표 23. Genes showing either LD- or SD-specific expression.

구분	SEQ ID	haliana_homo	A thaliana_homologue Description	Longday1E	Longday04	Shortday1E	Shortday04	D/F	E/G	F/D	G/E
장일특이 적 발현	Brapa_ESTC011925	AT5G05440	Unknown protein	2,399	4,480	385	299	6.2	15.0	0.2	0.1
	Brapa_ESTC007287	AT5G52120	ATPP2-A14 (Phloem protein 2-A14); carbohydrate binding	1,814	2,410	493	306	3.7	6.2	0.3	0.2
	Brapa_ESTC033434	AT3G09240	Kinase-related	1,455	1,501	267	474	5.5	3.2	0.2	0.3
	Brapa_ESTC045924	AT5G40380	Protein kinase family protein	1,331	1,762	354	308	3.8	5.7	0.3	0.2
	Brapa_ESTC034401	AT5G52940	Unknown protein	1,294	3,507	492	297	2.6	11.8	0.4	0.1
	Brapa_ESTC002332	AT1G70840	MUP31 (MUP-LIKE PROTEIN 31)	1,098	1,643	217	219	5.0	7.5	0.2	0.1
	Brapa_ESTC031327	NA	NA	1,079	1,069	419	222	2.6	4.8	0.4	0.2
	Brapa_ESTC021095	AT1G80960	F-box protein-related	1,018	2,434	284	401	3.6	6.1	0.3	0.2
	Brapa_ESTC024125	AT3G09020	Alpha 1,4-glycosyltransferase family protein	1,010	1,591	379	80	2.7	19.8	0.4	0.1
	Brapa_ESTC045379	AT5G07010	Sulfotransferase family protein	404	99	18,096	5,529	0.0	0.0	33.1	55.6
단일특이 적 발현	Brapa_ESTC037330	AT1G58260	CYP79C2 (cytochrome P450, family 79, subfamily C, polypeptide 2)	289	139	4,409	1,038	0.1	0.1	15.5	7.4
	Brapa_ESTC008532	AT2G38110	GPA16 (GLYCEROL-3-PHOSPHATE ACYLTRANSFERASE 6)	340	206	1,945	1,561	0.2	0.1	5.7	7.6
	Brapa_ESTC014115	AT3G11800	Unknown protein	176	378	1,002	1,076	0.2	0.4	5.7	2.8

2. 유전자 선발과 genomic DNA 클로닝 및 염기서열 분

유전자 선발과 클로닝 실험은 년도별로 기술하고 최종적으로 결론을 내리기로 한다.

가. 1차년도

Microarray 실험과 신규 확보한 유전자를 분석하여 개화관련 분자마커 개발을 위한 후보 유전자를 20개 선발하였다. 이 선발한 유전자의 염기서열과 NCBI 홈페이지에서 찾아 볼 수 있는 배추 BAC 클론, 유채 클론 및 애기장대 DNA를 비교 분석하여 genome organization을 결정하고 PCR를 위한 프라이머를 디자인하였다. 그 결과 18개 유전자로부터, 74개 프라이머 세트를 디자인하였다. 이 프라이머를 이용하여 rapid cycle *Brassica rapa*, 조기추대와 만기추대 내혼계 및 권심내혼계 (Kenshin)배추의 DNA 서열을 증폭하여 염기서열을 분석하고, 그 분석결과 InDel 및 SNP 등을 찾아내어 마커를 개발 수행하고자 하였다. 다음은 현재까지의 실험 결과를 그림으로 나타낸 것이다.

① Gene 1:

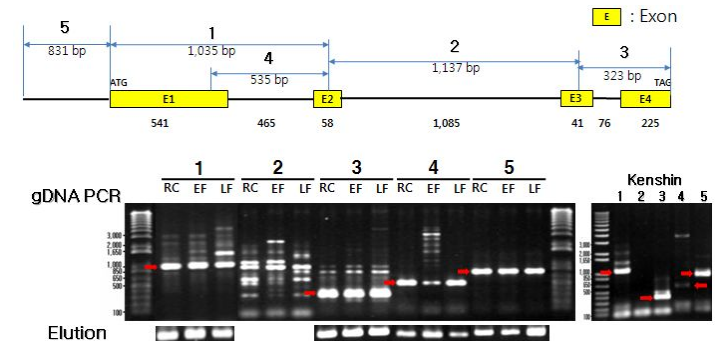


그림 24. Cloning process of gene 1. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 1, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

② Gene 2:

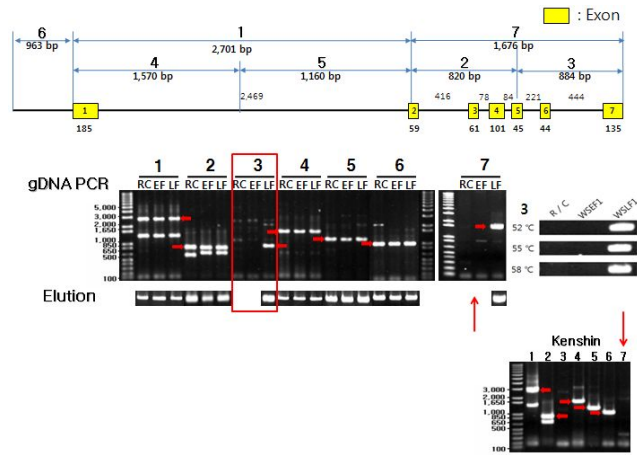


그림 25. Cloning process of gene 2. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 2, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

2번 유전자의 경우 프라이머 세트 3번의 경우 만기추대에서만 특이하게 증폭되므로 마커로 개발이 가능할 것이 판단되어 여러 종자회사로부터 받은 배추시료를 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다(Fig. 26). 그러나 종자회사에서 봄에 조기추대로 간주하는 배추에서도 밴드가 증폭되어 염기서열 분석을 분석한 후 보다 자세한 프라이머 디자인이 요구된다.

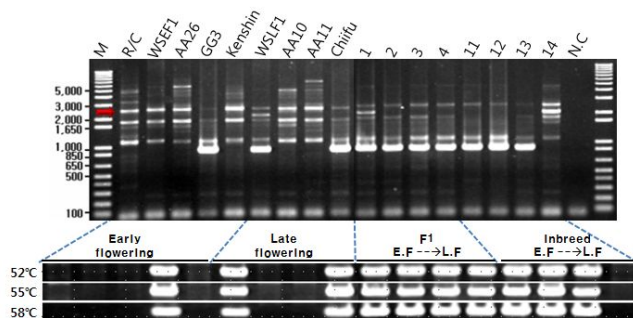


그림 26. PCR of genomic DNAs from various source of Chinese cabbage using primer set 3 of gene 2. R/C, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; 1, 2, 11, 12, early flowering lines; 3, 4, 13, 14, late flowering lines; Kenshin, Kenshin inbred line.

③ Gene 3:

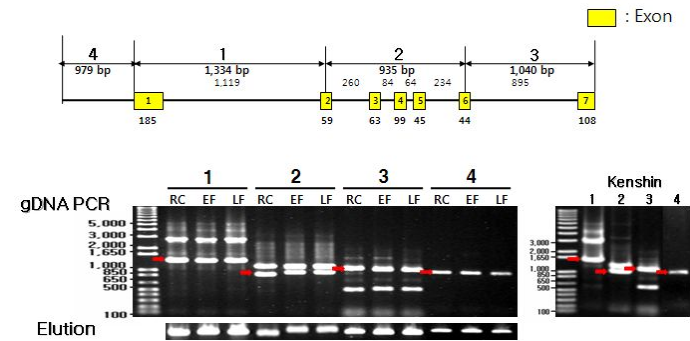


그림 27. Cloning process of gene 3. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 3, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

④ Gene 4:

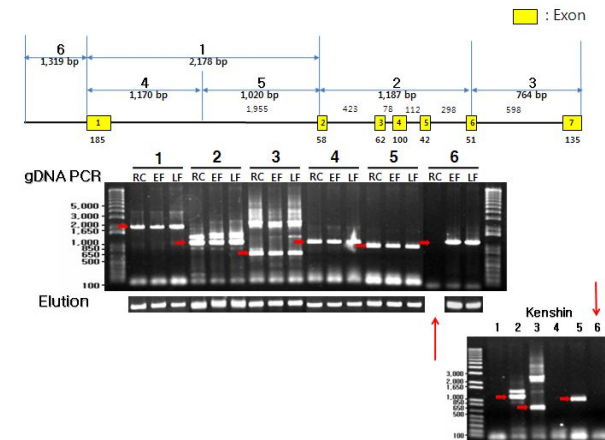


그림 28. Cloning process of gene 4. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 4, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑤ Gene 5:

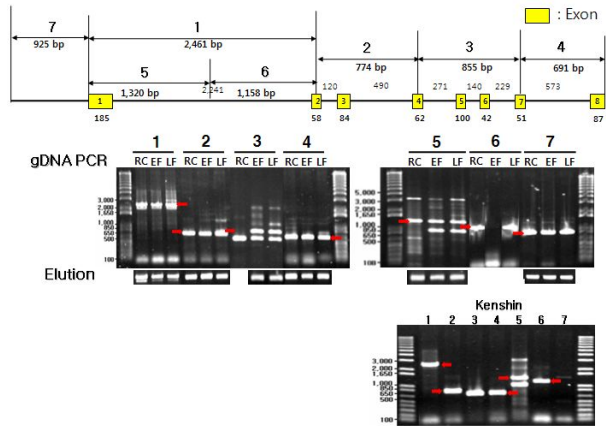
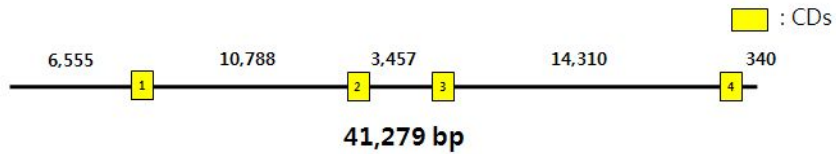


그림 29. Cloning process of gene 5. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 5, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

다음의 유전자 6-9는 4개의 유전자가 같은 염색체상에 다음과 같이 배열되어 있다.



⑥ Gene 6:

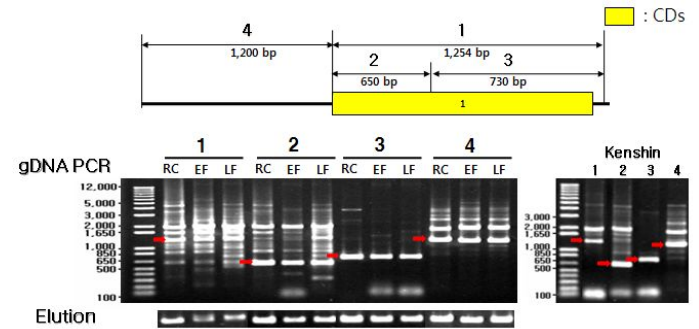


그림 30. Cloning process of gene 6. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 6, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑦ Gene 7:

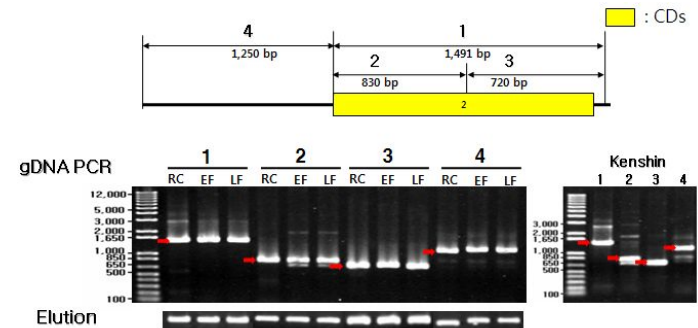


그림 31. Cloning process of gene 7. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 7, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑧ Gene 8:

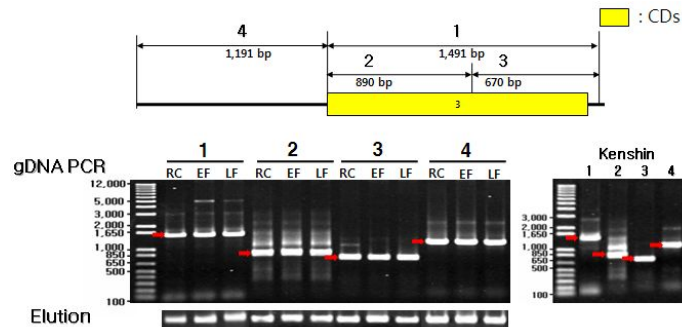


그림 32. Cloning process of gene 8. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 8, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑨ Gene 9:

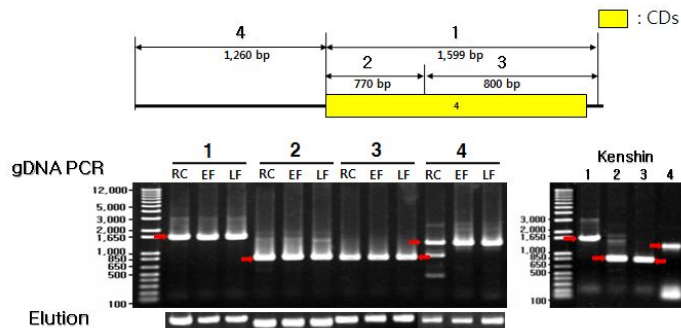


그림 33. Cloning process of gene 9. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 9, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑩ Gene 10:

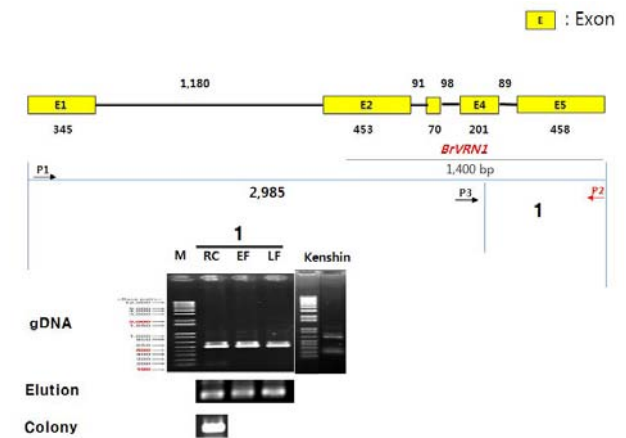


그림 34. Cloning process of gene 10. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 10, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑪ Gene 11:

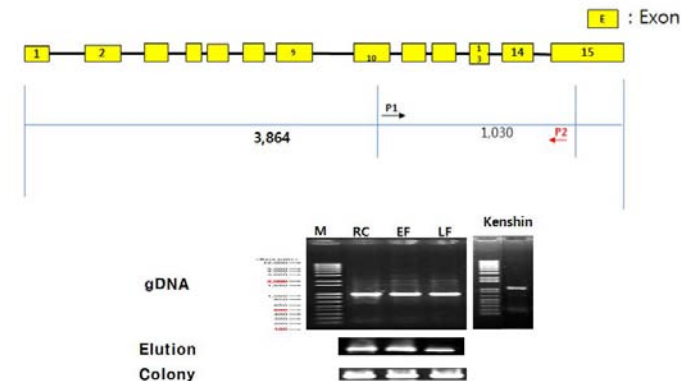


그림 35. Cloning process of gene 11. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 11, results of genomic PCR and elution products, respectively.

RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑫ Gene 12:

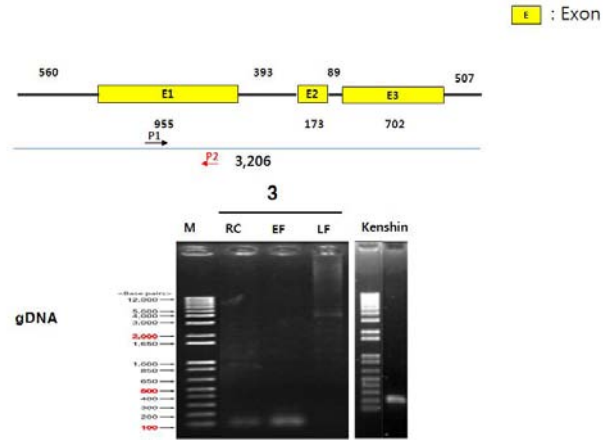


그림 36. Cloning process of gene 12. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 12, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑬ Gene 13:

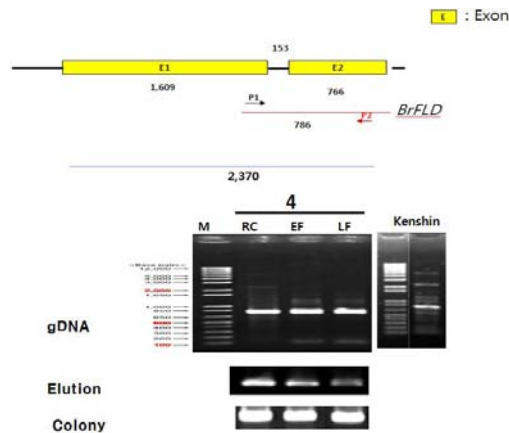


그림 37. Cloning process of gene 13. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 13, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑭ Gene 14:

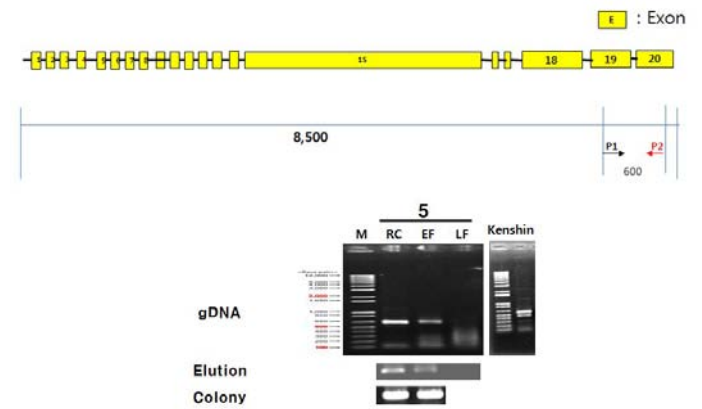


그림 38. Cloning process of gene 14. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 14, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑮ Gene 15: 마커로 개발이 가능한 프라이머

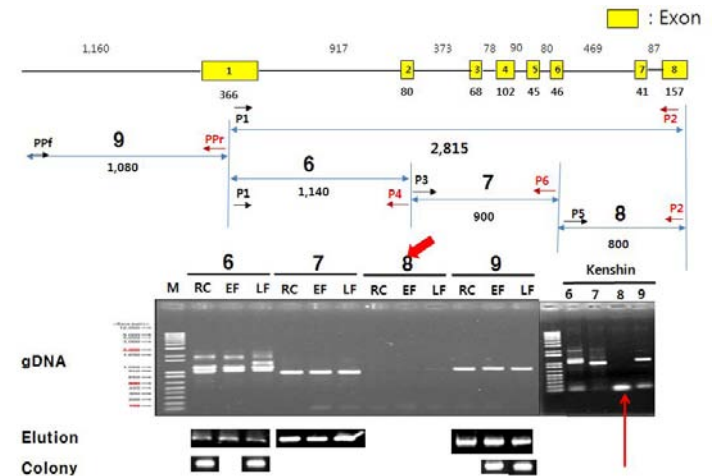


그림 39. Cloning process of gene 15. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 15, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑫ Gene 16:

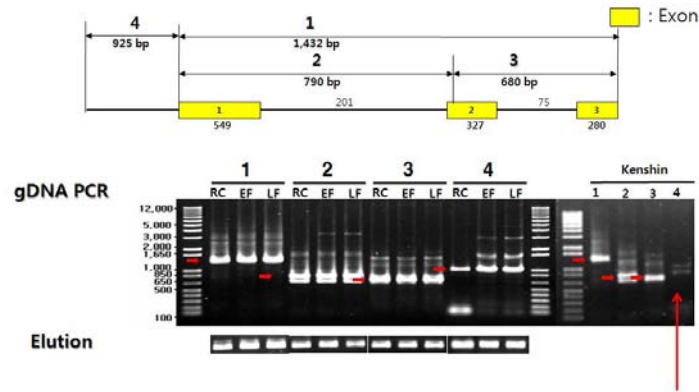


그림 40. Cloning process of gene 16. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 16, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑬ Gene 17:

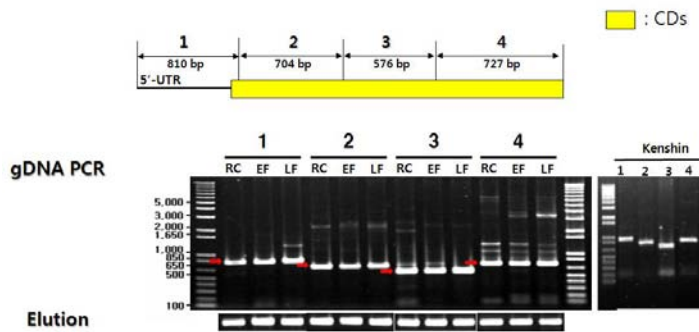


그림 41. Cloning process of gene 17. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 17, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

⑭ Gene 18:

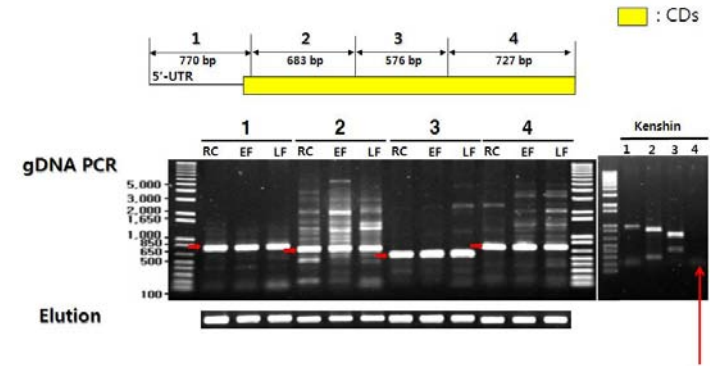


그림 42. Cloning process of gene 18. Top, middle and bottom panel show genomic organization of gene 18, results of genomic PCR and elution products, respectively. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage; Kenshin, Kenshin inbred line.

대부분의 PCR 산물이 pGem-T-Easy 벡터에 클로닝되어 염기서열을 분석하고 있는 중이다. 그 중에 한 예로 유전자 16번의 경우 RCB (RC), 조기추대 (EF) 및 만기추대 (LF)의 염기서열을 분석한 결과를 설명하기로 한다. 세 계통의 경우 염기서열의 다형화와 InDel이 존재하였다(그림 43). 그러나 EF와 LF사이에는 SNP만 존재한 반면에(그림 44), RCB에는 SNP이외에 두 곳에 insertion이 존재하였다(그림 45). EF와 LF 사이의 다양성보다 RCB의 차이점이 매우 두드러짐을 알 수 있었으며, 이러한 결과는 권심 내혼계로부터의 DNA 증폭도 필요할 것이라는 것을 시사하고 있다. 따라서, 권심의 DNA 서열도 증폭하여 분석하고 있다.

```

BF TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 120
LF TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 120
RC TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 119
*****

BF CAATCTCCATTAA-----GCTTGGTTTAAATTTCA-----CATTTAGGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGACCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATC 231
LF CAATCTCCATTAA-----GCTTGGTTTAAATTTCA-----CATTTAGGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGACCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATC 231
RC AAGGTGATGCTAACGTATGCCACACTTTACATCTCTGATCCATTTACAGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGATCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATC 239
*****

BF CATTCAGCTTGGATCTTACTCAAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCCACCAAGGA 351
LF CATTCAGCTTGGATCTTACTCAAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCCACCAAGGA 351
RC CATTCAGCTTGGATCTTACTCAAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCCACCAAGGA 359
*****

BF GGTATCCTGCAACCATGCAATGAGCTTTCGTTACCGGTCTGAGAGAAGCTGCTAACATGGCTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACC 471
LF GGTATCCTGCAACCATGCAATGAGCTTTCGTTACCGGTCTGAGAGAAGCTGCTAACATGGCTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACC 471
RC GGTATCCTGCAACCATGCAATGAGCTTTCGTTACCGGTCTGAGAGAAGCTGCTAACATGGCTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACC 479
*****

BF CTCACGCTTGGCTACCCCTTCTTGCAGATTTGTTCCAGAGACCTGATCTGGAGTTTGGAGTTTCTCTCATAACTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 591
LF CTCACGCTTGGCTACCCCTTCTTGCAGATTTGTTCCAGAGACCTGATCTGGAGTTTGGAGTTTCTCTCATAACTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 591
RC CTCACGCTTGGCTACCCCTTCTTGCAGATTTGTTCCAGAGACCTGATCTGGAGTTTGGAGTTTCTCTCATAACTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 599
*****

BF TAAAGCTGAGGAGGCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 711
LF TAAAGCTGAGGAGGCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 711
RC TAAAGCTGAGGAGGCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 719
*****

```

그림 43. Comparison of nucleotide sequences of gene 16 among three lines. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage.

```

BF TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 120
LF TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 120
*****

BF CAATCTCCATTAAAGCTTGTAAATTTGACATTTGAGGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGACCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATCATTGAGGCT 240
LF CAATCTCCATTAAAGCTTGTAAATTTGACATTTGAGGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGACCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATCATTGAGGCT 240
*****

BF TGGGATCTTACTCAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCCACCAAGGAATGATCTG 360
LF TGGGATCTTACTCAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCTGCAACAGGTGGGAGGTATC 360
*****

BF CAGCCATGCAATGAGCTTGTTCAGGCTGAGAGAGGCTGCAATGAGTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACCCTTCAAGAAACC 490
LF CAGCCATGCAATGAGCTTGTTCAGGCTGAGAGAGGCTGCAATGAGTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACCCTTCAAGAAACC 490
*****

BF GCGCTACCTCTTTCGAGATTTGTTCCAGAGACCTGCTGAGGATTTGAGGATTTCTGCAATGCTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGGTAAAGGTA 600
LF GCGCTACCTCTTTCGAGATTTGTTCCAGAGACCTGCTGAGGATTTGAGGATTTCTGCAATGCTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGGTAAAGGTA 600
*****

BF GCGAGCCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 712
LF GCGAGCCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 712
*****

```

그림 44. Comparison of nucleotide sequences of gene 16 between EF and LF lines. EF, early flowering Chinese cabbage; LF, late flowering Chinese cabbage.

```

RC TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 119
BF TGGGGAGAAAGTCCTCATAGTTTGGAGCAATGCGCCGCCACTGATGCAATGAGCTGCTGTCTTCAGATTCTTAGGGTAATAAGATTTCCTATACTCAGATTATCATTTTGGAGAGAC 120
*****

RC AAGGTGATGCTAACGTATGCCACACTTTACATCTCTGATCCATTTACAGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGATCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATC 239
BF CAATCTCCATTAA-----GCTTGGTTTAAATTTCA-----CATTTAGGTATGATGAGCCACAAAGGAAATAAATGTTCTGACCCAAATCAACGGTCTGCAACAGGTGGGAGGTATC 231
*****

RC CATTCAGCTTGGATCTTACTCAAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCCACCAAGGA 359
BF CATTCAGCTTGGATCTTACTCAAGCTTGCAGTGGGAGCTTCAGGTAATGATACGACATATAGCAGAAGTGTGGAGCCGGAGGCTTTCTTTCGCGGTGAAGCCACCAAGGA 351
*****

RC GGTATCCTGCAACCATGCAATGAGCTTTCGTTACCGGTCTGAGAGAAGCTGCTAACATGGCTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACC 479
BF GGTATCCTGCAACCATGCAATGAGCTTTCGTTACCGGTCTGAGAGAAGCTGCTAACATGGCTCAATCCGCAAAATCCGAGGCAATGAGAAAGATCGATAGGAAACCCTTCAAGAAACC 471
*****

RC CTCACGCTTGGCTACCCCTTCTTGCAGATTTGTTCCAGAGACCTGATCTGGAGTTTGGAGTTTCTCTCATAACTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 599
BF CTCACGCTTGGCTACCCCTTCTTGCAGATTTGTTCCAGAGACCTGATCTGGAGTTTGGAGTTTCTCTCATAACTTTAGTCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 591
*****

RC TAAAGCTGAGGAGGCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 719
BF TAAAGCTGAGGAGGCTTGTAAAGAGAACGAAGATCAGTACGCTGAGTACGCTGAGCAAGATCTGTTTACGAGCTTCACTCATATTCAATCCGAGAAATCCAGACCCAAAGTCTCTGCGAATTTGAGGG 711
*****

```

그림 45. Comparison of nucleotide sequences of gene 16 between RC and EF lines. RC, rapid cycle *Brassica rapa*; EF, early flowering Chinese cabbage.

염기서열을 분석한 결과 일부 유전자는 배추 계통에 한 종류가 존재하고 있는 것으로 나타났으나, 나머지 유전자는 여러 종류(즉, multicopy)가 존재하며 특히 intron 지역의 염기서열 변이가 매우 크게 나타났다. 이러한 점을 고려하여 마커개발을 위한 프라이머 제작에 신중을 기해야 될 것으로 판단된다.

또한 가능한 마커가 선발되었을 경우 이를 검증하기 위하여 많은 종류의 배추 시료가 필요하다. 협동연구팀인 우리종묘(주)로부터 8 종류의 배추 시료를 채취하였으며, 이례종묘로부터 조기추대와 만기추대 각 2개의 시료를 받아 DNA를 추출하였고, (주)바이오브리딩으로부터 조기추대와 만기추대 시료를 분양받아 실험할 예정이다.

나. 2차년도

2차년도에도 1차년도에 이어, 조기추대와 만기추대를 구분하는 분자마커 개발의 첫 단계로 후보유전자를 선발하고, 그 유전자의 계통 DNA 서열 분석을 통하여 InDel 및 SNP 등을 찾고자 하였다. 연구 시작단계에서는 17개의 유전자를 대상으로 하였으나, 개화관련 마커 탐색의 어려움을 예상하여 중간에 14개의 유전자를 추가하였다. 따라서 염기서열 분석이 상당히 지연되고 있으나 목표했던 정도의 서열분석은 이미 초과하였다고 보아도 된다. 다음 표는 4월 말 현재 염기서열 분석의 진행 상태를 나타낸다 (표 24). 총 311개 유전자에 106개의 DNA 절편을 증폭하여, 96,970 bp 정도를 분석해야 된다. 이는 한 식물체에 대한 것이고 실험에서는 RcBr, 권심(Kenshin), 지부(Chiifu), 조기추대내훈계(WSEF)와 만기추대내훈계(WSLF)의 5식물체의 DNA를 분석하기 때문에 484,850 bp 내외의 서열분석을 수행해야 한다. 현재 이들 유전자 서열비교를 통하여 29개의 InDel과 64개의 SNP를 확보한 상태이다. 또한 RcBr과 InDel 및 SNP도 확보하였다. 분석한 염기서열 정보 및 프라이머 등은 1-1과제에 주어 배추 유전자지도 작성을 진행하도록 하고 있다. 이 표에 나타난 결과는 여러 배추시료의 서열을 비교하여 얻은 것이나, 문제는 내훈계 권심과 내훈계 지부가 일반적으로 조기개화와 만기개화의 범주에 속하나, 그 라인을 선발할 때 개화를 주요 형질로 한 것이 아니기 때문에 개화와 관련하여 서열을 비교했을 때 문제점을 야기하는 경우가 있었다. 여기서는 조기추대와 만기추대 내훈계로부터의 서열만을 가지고 분석한 데이터를 첨가하였다.

표 24. Summary of sequence analyses for selected genes.

Gene	# of fragment	Total length (bp)	InDel		SNP		Status	
			FL	RcBr	FL	RcBr		
FT	FLOWERING TIME - old	4	3,000	4	3	17	42	50%
FT	FLOWERING TIME - new	4	2,800					진행 중
GA200X3	GIBBERELLIN 20 OXIDASE 3	4	3,300	1	1	0	0	100%
RGA1	DELLAR PROTEIN	4	2,800	1	1	11	0	100%
RGA2	DELLAR PROTEIN	4	2,800	0	0	0	3	80%
SVP	SHORT VEGETATIVE PHASE PROTEIN	4	3,900		7	10	34	60%
FLC1	FLOWERING LOCUS C1	6	5,000		1			83%
FLC2	FLOWERING LOCUS C2	4	4,200	21	19	15	65	95%
FLC3	FLOWERING LOCUS C3	4	4,300					진행 중
FLC5	FLOWERING LOCUS C5	4	4,200					진행 중
FLD	FLOWERING LOCUS D	1	800			3	8	Chiifu
FRI	FRIGIDA	1	1,250					20%
MAF4-A	MADS AFFECTING FLOWERING 4-A	4	4,100	1	5			70%
MAF4-B	MADS AFFECTING FLOWERING 4-B	4	4,700	1	1			35%
VRN1	VERNALIZATION 1	1	1,400			1		100%
VRN1	VERNALIZATION 1	4	3,130		1			40%
VRN2	VERNALIZATION 2	1	1,050	0	3	7	11	Chiifu
P450-1	CYP96A3-1	4	3,800					20%
P450-2	CYP96A3-2	4	4,300			1	2	70%
P450-3	CYP96A3-3	4	4,200				10	70%
P450-4	CYP96A3-4	4	4,400					90%
VIN3	VERNALIZATION INSENSITIVE 3	4	2,480					진행 중
ELF3	EARLY FLOWERING 3	3	3,300					진행 중
GI	GIGANTEA	2	2,250					진행 중
LHY	LATE ELONGATED HYCOCOTYL	3	3,100					진행 중
PIE1	PHOTOPERIOD-INDEPENDENT EARLY FLOWERING 1	1	580	0	0	0	1	100%
PIE1	PHOTOPERIOD-INDEPENDENT EARLY FLOWERING 1	3	3,100					진행 중
TOC1	TIMING OF CAB EXPRESSION 1	2	1,400					진행 중
CCA1	CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1	4	3,860					진행 중
CMT1	CHROMOMETHYLASE 1	1	370					진행 중
MBD9	METHYL-CPG-BINDING DOMAIN 9	1	930					진행 중
MET1	METHYLTRANSFERASE	3	2,210					진행 중
DME1	DNA GLYCOSYLASE DEMETHYLASE	5	3,960					진행 중
		106	96,970	29	42	64	177	
RcBr, Kenshin, WSEF, WSLF, Chiifu		484,850 bp						

분석한 서열을 유전자별로 기술하기로 한다.

① FT 유전자

- Exon1과 2 및 그 사이의 intron 서열의 경우 intron 부분에 개화관련 SNP(red color)가 다수 존재하였음.

<p>RcBr ATGTCCTTTAAGTAAATAGAGATCCCTCTGTGGTAGGGGAGTGTAGGGGAGCTTCTGAA 60. WSEF ATGTCCTTTAAGTAAATAGAGATCCCTCTGTGGTAGGGGAGTGTAGGGGAGCTTCTGAA 60. WSLF ATGTCCTTTAAGTAAATAGAGATCCCTCTGTGGTAGGGGAGTGTAGGGGAGCTTCTGAA 60. </p> <p>RcBr OGGTTCACAAAGTCAATCGATCTAAGGGTTCATACGCAAAAGAGAGGACACAAATGGG 120. WSEF TGTTCACAAAGTCAATCGATCTAAGGGTTCATACGCAAAAGAGAGGACACAAATGGG 120. WSLF OGGTTCACAAAGTCAATCGATCTAAGGGTTCATACGCAAAAGAGAGGACACAAATGGG 120. </p> <p>RcBr TTGGATATAGGCTTCTCAAAATTCACAGCCCAAGAGTGGAGATGGGCGAAGAC 180. WSEF TTGGATATAGGCTTCTCAAAATTCACAGCCCAAGAGTGGAGATGGGCGAAGAC 180. WSLF TTGGATATAGGCTTCTCAAAATTCACAGCCCAAGAGTGGAGATGGGCGAAGAC 177. </p> <p>RcBr CTAGAAAGCTTCTATACTTGGTCTACATTAAGACTCTGTGTCTCTATCTCT 239. WSEF CTAGAAAGCTTCTATACTTGGTCTACATTAAGACTCTGTGTCTCTATCTCT 240. WSLF CTAGAAAGCTTCTATACTTGGTCTACATTAAGACTCTGTGTCTCTATCTCT 234. </p> <p>RcBr CATTCGCTCAATCACTTCTCTCTGATGCAATTTATCTGGCCAGCTGACCCACAAG 299. WSEF CATTCGCTCAATCACTTCTCTCTGATGCAATTTATCTGGCCAGCTGACCCACAAG 293. WSLF CATTCGCTCAATCACTTCTCTCTGATGCAATTTATCTGGCCAGCTGACCCACAAG 294. </p> <p>RcBr AAGCCTTTAGTAAATCTTCTCTGTCTCTCTACGATTTATGGTTAACTTOS 359. WSEF AAGCCTTTAGTAAATCTTCTCTGTCTCTCTACGATTTATGGTTAACTTOS 352. WSLF AAGCCTTTAGTAAATCTTCTCTGTCTCTCTACGATTTATGGTTAACTTOS 354. </p> <p>RcBr AGATATACCATAGCAGTAAATGTTTTTTTTTATCTTTTACAAATGAAGA--TGA 416. WSEF AGATATACCATAGCAGTAAATGTTTTTTTTTATCTTTTACAAATGAAGA--TGA 406. WSLF AGATATACCATAGCAGTAAATGTTTTTTTTTATCTTTTACAAATGAAGA--TGA 412. </p> <p>RcBr CCATGAG--CATTTCACCAAAATCCCAAGAAATGTAAACAGTTTTATATCTCT--ACCAGA 474. WSEF CCATGAGCATTTCATCAAAATCCCAAGAAATGTAAACAGTTTTATATCTCTTATAGA 466. WSLF CCATGAG--CATTTCACCAAAATCCCAAGAAATGTAAACAGTTTTATATCTCT--ACCAGA 470. </p> <p>RcBr ATTCTCTTCTTCTGTCTCTTCTTCTAAGTCTAGATGTTTTCTTTCAGAAATTTTT 534. WSEF ACAACAAATTTATA--TCTTCTTCAATTTA--TTATGAAAGAAACCAAGAT 518. WSLF ATTCTCTTCTTCTGTCTCTTCTTCTAAGTCTAGATGTTTTCTTTCAGAAATTTTT 530. </p> <p>RcBr TTGCCAAAGGTTTTCATTTTTTCCCAAAAGTTTTGCAAACTCATGTTTTATTGGG 594. WSEF T--CCTAATCCAGAGTGTTTTTCTTGAAGACTTTGCAAACTCATGTTTTATTGGG 576. WSLF TTGCCAAAGGTTTTCATTTTTTCCCAAAAGTTTTGCAAACTCATGTTTTATTGGG 590. </p> <p>RcBr TAAGAACTTGGTTTTTTTTCTGTGCTCCAAAATTTAGATGATGTTTTGTTTTTT 654. WSEF TAAGAACTTGGTTTTTTTTCTGTGCTCCAAAATTTAGATGATGTTTTGTTTTTT 636. WSLF TAAGAACTTGGTTTTTTTTCTGTGCTCCAAAATTTAGATGATGTTTTGTTTTTT 650. </p> <p>RcBr TAAATCTTGGATGTTTTAAAAAGGCAAAAAAATATCTGGGTCGAATATGCAAAAT 714. WSEF TAAATCTTGGATGTTTTAAAAAGGCAAAAAAATATCTGGGTCGAATATGCAAAAT 696. WSLF TAAATCTTGGATGTTTTAAAAAGGCAAAAAAATATCTGGGTCGAATATGCAAAAT 710. </p> <p>RcBr AATAATAAAGAAACTCAATGGCTATTCACAGAAATATAATGTTCAATTTATATC 774. WSEF AATAATAAAGAAACTCAATGGCTATTCACAGAAATATAATGTTCAATTTATATC 756. WSLF AATAATAAAGAAACTCAATGGCTATTCACAGAAATATAATGTTCAATTTATATC 770. </p>	<p>RcBr TCTATGATGAGCTTTTGAATGGTATATTCAGTCACTCTGTAAATACCTCTGATA 834. WSEF TCTATGATGAGCTTTTGAATGGTATATTCAGTCACTCTGTAAATACCTCTGATA 816. WSLF TCTATGATGAGCTTTTGAATGGTATATTCAGTCACTCTGTAAATACCTCTGATA 830. </p> <p>RcBr CAAGACATAGTATAGGACTACCTTTTCTATTATCTTCTCTCTCTCTTTTGT 894. WSEF CAAGACATAGTATAGGACTACCTTTTCTATTATCTTCTCTCTCTCTTTTGT 876. WSLF CAAGACATAGTATAGGACTACCTTTTCTATTATCTTCTCTCTCTTTTGT 890. </p> <p>RcBr GTTATCTGTTTCTCAAACTTCAAAAAGTAACTTCTGTTCTGATAGTTGGAAGT 954. WSEF GTTATCTGTTTCTCAAACTTCAAAAAGTAACTTCTGTTCTGATAGTTGGAAGT 936. WSLF GTTATCTGTTTCTCAAACTTCAAAAAGTAACTTCTGTTCTGATAGTTGGAAGT 950. </p> <p>RcBr ATAATCTTATTTTATCTCTCTGCTGTTATTGTAAGGATTTTATGTTCAATGGT 1014. WSEF ATAATCTTATTTTATCTCTCTGCTGTTATTGTAAGGATTTTATGTTCAATGGT 996. WSLF ATAATCTTATTTTATCTCTCTGCTGTTATTGTAAGGATTTTATGTTCAATGGT 1010. </p> <p>RcBr TTAATGAGTTATGGGATCCAGATGTTCCAGTCTAGCAATCTCACTCCGAG 1074. WSEF TTAATGAGTTATGGGATCCAGATGTTCCAGTCTAGCAATCTCACTCCGAG 1054. WSLF TTAATGAGTTATGGGATCCAGATGTTCCAGTCTAGCAATCTCACTCCGAG 1068. </p> <p>RcBr AATATC 1060. WSEF AATATC 1060. WSLF AATATC 1074. </p>
--	--

FT: exon 1 + intron + exon 2

Green: InDel or SNP between RcBr and others
Red: InDel or SNP for flowering time.

FLC2 P1 x P4:

WSFP-1 ATGGGAGGAAATAGAGATCAAGGAAATGAGAAACAAAGTACGCGAAGTCCCTCTCCAGAGCGAGCGCTCATTGGAAAGCTCGTCAAGTTCTGTCTCCBAGT 120
WSFP-1 ATGGGAGGAAATAGAGATCAAGGAAATGAGAAACAAAGTACGCGAAGTCCCTCTCCAGAGCGAGCGCTCATTGGAAAGCTCGTCAAGTTCTGTCTCCBAGT 120
WSFP-1 GCATCCGCGCGCTCTCGTCTCTCCGCGAGCTCAGAGCTCTCCGCGCGGATAAGTAAAGCTCTCCGCTCTCGTCTCTCTTAAGCCCTTAAGCTCTGTTTA 240
WSFP-1 GCATCCGCGCGCTCTCGTCTCTCCGCGAGCTCAGAGCTCTCCGCGCGGATAAGTAAAGCTCTCCGCTCTCGTCTCTCTTAAGCCCTTAAGCTCTGTTTA 240
WSFP-1 CTTTCTGATAAATA 360
WSFP-1 CTTTCTGATAAATA 360
WSFP-1 TGCCATGAGAGATCATGAGATCAACCAATCGAGGAGAGCAATGTCGCGATGAGCTAAACCTCTACTTCTCATTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 480
WSFP-1 TGCCATGAGAGATCATGAGATCAACCAATCGAGGAGAGCAATGTCGCGATGAGCTAAACCTCTACTTCTCATTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 480
WSFP-1 TGGATTTATTTATTTGATTAATGTCATGCTCGTCAAGCTCTCTGAAAGCTGTGATGCACTGATGTTTGTAGTAAAGTTCAAGCTCTCTGATGTTAAGTCTACAG 600
WSFP-1 TGGATTTATTTATTTGATTAATGTCATGCTCGTCAAGCTCTCTGAAAGCTGTGATGCACTGATGTTTGTAGTAAAGTTCAAGCTCTCTGATGTTAAGTCTACAG 600
WSFP-1 TTATAGTTAATTTAGAGGTTCTTTGAGAGATTTGATTAAGTAAATTTTCTAGTGGTAACTGATTAATCTCTGTTTGTAGTAAAGTTCAAGCTCTCTGATGTT 720
WSFP-1 TTATAGTTAATTTAGAGGTTCTTTGAGAGATTTGATTAAGTAAATTTTCTAGTGGTAACTGATTAATCTCTGTTTGTAGTAAAGTTCAAGCTCTCTGATGTT 720
WSFP-1 TTTTATGATGCAATGCT 838
WSFP-1 TTTTATGATGCAATGCT 838
WSFP-1 GATATCAATA 956
WSFP-1 GATATCAATA 956
WSFP-1 GGTGATCTAGAACCTCGCGCT 1076
WSFP-1 GGTGATCTAGAACCTCGCGCT 1076
WSFP-1 GATTCTCATGATAAATCTTGAAGAGCAATGAGCGTCTGCT 1196
WSFP-1 GATTCTCATGATAAATCTTGAAGAGCAATGAGCGTCTGCT 1196
WSFP-1 CTTAGTGGTCCGAAATTAAGCTCTGCT 1316
WSFP-1 CTTAGTGGTCCGAAATTAAGCTCTGCT 1316
WSFP-1 AGCTAGTCCAGAACTCTGCT 1351
WSFP-1 AGCTAGTCCAGAACTCTGCT 1356

FLC2 P3 x P6:

WSFP-2 TCCCTAAT-GGTATGAGAAACACCATTGATGATTTAAAGTCTTAAAGTAAAT-ACAAATTTTGAAT-AGTCTGTCAGCTTTAAGAGT-AATTAGTCCG-TAGAGGC-TCC 114
WSFP-3 TCTTGATGATGATGAGAAACACCATTGATGATTTAAAGTCTTAAAGTAAAT-ACAAATTTTGAAT-AGTCTGTCAGCTTTAAGAGT-AATTAGTCCG-TAGAGGC-TCC 114
WSFP-1 TCTTGATGATGATGAGAAACACCATTGATGATTTAAAGTCTTAAAGTAAAT-ACAAATTTTGAAT-AGTCTGTCAGCTTTAAGAGT-AATTAGTCCG-TAGAGGC-TCC 114
WSFP-1 TCCCTAAT-GGTATGAGAAACACCATTGATGATTTAAAGTCTTAAAGTAAAT-ACAAATTTTGAAT-AGTCTGTCAGCTTTAAGAGT-AATTAGTCCG-TAGAGGC-TCC 114
WSFP-2 ATACATACTGTCGAGGCAACACATGTTAGAGCTTCAAACCTGTGAGAGTCTAGATTAAGTATTGCATATTGATCCACTCATGAGCCATTAGTCTGCAAAAGTCTGCTATGTA 234
WSFP-3 ATACATACTGTCGAGGCAACACATGTTAGAGCTTCAAACCTGTGAGAGTCTAGATTAAGTATTGCATATTGATCCACTCATGAGCCATTAGTCTGCAAAAGTCTGCTATGTA 234
WSFP-1 ATACATACTGTCGAGGCAACACATGTTAGAGCTTCAAACCTGTGAGAGTCTAGATTAAGTATTGCATATTGATCCACTCATGAGCCATTAGTCTGCAAAAGTCTGCTATGTA 234
WSFP-1 ATACATACTGTCGAGGCAACACATGTTAGAGCTTCAAACCTGTGAGAGTCTAGATTAAGTATTGCATATTGATCCACTCATGAGCCATTAGTCTGCAAAAGTCTGCTATGTA 234
WSFP-2 GGTCTGAGATTCGCAATGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 354
WSFP-3 GGTCTGAGATTCGCAATGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 354
WSFP-1 GGTCTGAGATTCGCAATGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 354
WSFP-1 GGTCTGAGATTCGCAATGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 353
WSFP-2 CTACTAGAGCTGTGAAAGGTTAGTATTGCTAAGCTTTTTTCTGCT 474
WSFP-3 CTACTAGAGCTGTGAAAGGTTAGTATTGCTAAGCTTTTTTCTGCT 480
WSFP-1 CTACTAGAGCTGTGAAAGGTTAGTATTGCTAAGCTTTTTTCTGCT 474
WSFP-1 CTACTAGAGCTGTGAAAGGTTAGTATTGCTAAGCTTTTTTCTGCT 473
WSFP-2 CAAATTCGATTAAGCTGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 594
WSFP-3 CAAATTCGATTAAGCTGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 600
WSFP-1 CAAATTCGATTAAGCTGCAATCCCGTCTTCAAACCTGTTAAATGCTATTCTATCCCTCTCCGCTGAGCAGGATCTTCAAGTCCGAGGATGAGTATGTTGCAACATGAG 593
WSFP-2 TCAGAGGCTTATATTATCCGTTGAGGCAAGCAATGTTGAGGCTTTGTTAGAGCTGCAAGGAAAGGTTAGATATCTTATTATAGCACTAATAGATATCTTCACTGCTGCT 714
WSFP-3 TCAGAGGCTTATATTATCCGTTGAGGCAAGCAATGTTGAGGCTTTGTTAGAGCTGCAAGGAAAGGTTAGATATCTTATTATAGCACTAATAGATATCTTCACTGCTGCT 720
WSFP-1 TCAGAGGCTTATATTATCCGTTGAGGCAAGCAATGTTGAGGCTTTGTTAGAGCTGCAAGGAAAGGTTAGATATCTTATTATAGCACTAATAGATATCTTCACTGCTGCT 711
WSFP-1 TCAGAGGCTTATATTATCCGTTGAGGCAAGCAATGTTGAGGCTTTGTTAGAGCTGCAAGGAAAGGTTAGATATCTTATTATAGCACTAATAGATATCTTCACTGCTGCT 713
WSFP-2 GAGAGGCTCAAACTTTGCTGATTTGATTTAGTTCCTCAAGTGTCTTATGAGCTGCAAACTGATTAATCTTCAAGTTCATGATGCTTTTGG99-ATGATGCAA-TGA 838
WSFP-3 GAGAGGCTCAAACTTTGCTGATTTGATTTAGTTCCTCAAGTGTCTTATGAGCTGCAAACTGATTAATCTTCAAGTTCATGATGCTTTTGG99-ATGATGCAA-TGA 832
WSFP-1 GAGAGGCTCAAACTTTGCTGATTTGATTTAGTTCCTCAAGTGTCTTATGAGCTGCAAACTGATTAATCTTCAAGTTCATGATGCTTTTGG99-ATGATGCAA-TGA 829
WSFP-1 GAGAGGCTCAAACTTTGCTGATTTGATTTAGTTCCTCAAGTGTCTTATGAGCTGCAAACTGATTAATCTTCAAGTTCATGATGCTTTTGG99-ATGATGCAA-TGA 833
WSFP-2 TTGG99TTGCAATCTGAAAT-AGSTTGAAGATTTGTAAGTATAATCTTTGCTGCTTTAAACAGAGGAAATTTGCTTAAAAAATAAATGCAAGGCTTTGG99 941
WSFP-3 TTGG99TTGCAATCTGAAAT-AGSTTGAAGATTTGTAAGTATAATCTTTGCTGCTTTAAACAGAGGAAATTTGCTTAAAAAATAAATGCAAGGCTTTGG99 941
WSFP-1 TTGG99TTGCAATCTGAAAT-AGSTTGAAGATTTGTAAGTATAATCTTTGCTGCTTTAAACAGAGGAAATTTGCTTAAAAAATAAATGCAAGGCTTTGG99 933
WSFP-1 TTGG99TTGCAATCTGAAAT-AGSTTGAAGATTTGTAAGTATAATCTTTGCTGCTTTAAACAGAGGAAATTTGCTTAAAAAATAAATGCAAGGCTTTGG99 942

FLC2 P5 x P2:

WSFP -----ACCATTAATAAATTTAACAATCTGGTCTTCAATAATGCTAGCTTTTAGGGTTTTCATCAAGCTTATAAGAAATTTGCAAT 84
WSFP TCCCTTAATACCACAAGAAATTTTTTCCCGCCCACTGCAAAATATATAGCAATCTGGTCTTCAATAATGCTAGCTTTTAGGGTTTTCATCAAGCTTATAAGAAATTTGCAAT 238
WSFP CCGAGTATATATATATTTTTTCTGCTGTAACCTGACAGTAAACTGAAAATCTAGACTCTGAAACTACAGTACAGCTGCAAGCTTACAGTAAAGATCATTCAG 208
WSFP TCAAGTATATATGATTTTTTCTGCTGTAACCTGACAGTAAACTGAAAATCTAGACTCTGAAACTACAGTACAGCTGCAAGCTTACAGTAAAGATCATTCAG 352
WSFP TTTCATAAACTCTTAAGCAAATTAACCAAGAGATGATGCAACCACTGAAAAGAAATTTTGACTTTACCAAAAGATGATGAGATTTAGTCTTCTCTCTTTGGT 322
WSFP TTTCATAAACTCTTAAGCAAATTAACCAAGAGATGATGCAACCACTGAAAAGAAATTTTGACTTTACCAAAAGATGATGAGATTTAGTCTTCTCTCTTTGGT 477
WSFP TAGAATTTGTTAGTATGCTGAAATATAAATGATGCAAACTGAGTCTTCTGAGTACAGTACAGCTTCACTGAGTATGATATATAGTAAACTGCAAGAACTTAAAGTTA 442
WSFP TAGAATTTGTTAGTATGCTGAAATATAAATGATGCAAACTGAGTCTTCTGAGTACAGTACAGCTTCACTGAGTATGATATATAGTAAACTGCAAGAACTTAAAGTTA 597
WSFP AGGAATGCTCATCTCAACTCAAGAACTATCTACTTTTAGAATTAGGGTTAAGACTTTTGTAGAGTAAAGTTATGACAGAGTTAGTCTTACTTACTTACTTACTTACTT 562
WSFP AGGAATGCTCATCTCAACTCAAGAACTATCTACTTTTAGAATTAGGGTTAAGACTTTTGTAGAGTAAAGTTATGACAGAGTTAGTCTTACTTACTTACTTACTTACTT 717
WSFP TTTTAACTGTTTACTAATTTATAATAATCCAAATGAGCAACCAAAATTTCCCAACCAATGAGCAACTTCTTTGGTTTCTACAGTAACTCTCTCAAAATTAAGA 682
WSFP TTTTAACTGTTTACTAATTTATAATAATCCAAATGAGCAACCAAAATTTCCCAACCAATGAGCAACTTCTTTGGTTTCTACAGTAACTCTCTCAAAATTAAGA 837
WSFP TAAACAAAATGCTTCTGACATATCTTCTATATACCTTAAAGTATAATCTTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT 791
WSFP TAAACAAAATGCTTCTGACATATCTTCTATATACCTTAAAGTATAATCTTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT 957
WSFP AGCTTTTCTGAAATGAAAGAAATTTGCT 907
WSFP TAACTTTTCTGAAATGAAAGAAATTTGCT 1038

FLD:

WSFP GGGGAGAGCTGCTCAATGTTGAGCAATGCCAACCCTGATGCACTGCT 120
WSFP GGGGAGAGCTGCTCAATGTTGAGCAATGCCAACCCTGATGCACTGCT 120
WSFP AAATCTCCATTAAGTGGTTTAAATTCACATTTAGATATGATGAGCCCAAGAAATTAATGCTGCAACCAATGCAAGGCTTGCACAGGTTGGAGAGTGTCCATTCAGCTT 240
WSFP AAATCTCCATTAAGTGGTTTAAATTCACATTTAGATATGATGAGCCCAAGAAATTAATGCTGCAACCAATGCAAGGCTTGCACAGGTTGGAGAGTGTCCATTCAGCTT 240
WSFP GGGTCTTACTCCAACTGCAAGTGGAGTCTGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGAT 360
WSFP GGGTCTTACTCCAACTGCAAGTGGAGTCTGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGATGATGAGCAGAT 360
WSFP AACCATCATGAGCTTTCTTACCTGCTGAGAGAGCTCTTCACTGCT 480
WSFP AACCATCATGAGCTTTCTTACCTGCTGAGAGAGCTCTTCACTGCT 480
WSFP CCTTACCCTCTGCT 600
WSFP CCTTACCCTCTGCT 600
WSFP CGAGCTGTTAGAGGAAAGCACTGCT 710
WSFP CGAGCTGTTAGAGGAAAGCACTGCT 710

InDel과 SNP가 집중되어 있는 부분을 이용하여 PCR 프라이머를 제작하여 마커로 활용이 가능한 지 여부를 알아보고 있다.

다. 3차년도

2차년도에 이어 유전자 클로닝과 염기서열 분석을 계속 수행하여, 상당한 진전을 이루었다. 2년 남짓에 걸친 실험결과 모든 서열의 증폭은 불가능하다는 결론을 내리고, 현재까지 얻은 서열을 근거로 분석을 완료하고 마커를 개발하기로 하였다. 그 결과는 표 25에서 보는 바와 같이 개화관련 SNP가 18 (41)개, InDel이 18(26)개가 발견되었다. 그리고 RCB_r과 다른 배추를 구분할 수 있는 InDel이 60개 존재하였다. 각 유전자에 대한 분석은 다음과 같다.

표 25. Summary of results of cloning and sequence analysis for flowering-related genes.

Classification	Gene name	Length analyzed (bp)	Flowering			1=RCB _r , 2=Kenshin, 3=WSEF, 4=WSLF, 5=Chiifu	
			SNPs	InDel	RCB _r InDel		
Activators	<i>BrFT</i>	2,400	0	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrSVPI</i>	2,000	(7)	0	6	1,2,3,4,5	
	<i>BrRGA1</i>	2,496	.	(5)	2	1,2,3,4,5	
	<i>BrRGA2</i>	2,400	0	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrGA20OX3</i>	2,300	0	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrPIE1</i>	2,860	0	0	7	1,2,3,4,5	
	<i>BrELF3</i>	1,760	0	0	18	1,2,3,4	
	<i>BrP450-1</i>	1,300	0	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrP450-2</i>	1,490	0	0	0	1,3,4,5	
	<i>BrP450-3</i>	1,500	0	0	0	1,2,3,4,5	
Repressors	<i>BrFLC1</i>	5,200	?	4	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrFLC2</i>	3,265	?	?	2	1,2,3,4,5	
	<i>BrFLD</i>	786	(10)	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrMAF4A</i>	2,000	0	1	2	1,2,3,4	
	<i>BrMAF4B</i>	780				1,2,3,4	
	<i>BrFRI</i>	1,180	0	0	1	1,2,3,4,5	
	<i>BrVRN1</i>	500	0	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrVRN2</i>	1,030	(6)	(3)	3	1,2,3,4,5	
	Circadian rhythm	<i>BrGIGANTEA</i>	2,070	0	2	0	1,2,3,5
		<i>BrTOC1</i>	1,507	0	2	0	1,2,3,4,5
<i>BrCCA1</i>		850	14	9	1	1,2,3,4,5	
Chromatin remodeling	<i>BrLHY</i>	3,100	0	0	10	1,2,3	
	<i>BrCMT1</i>	361	0	0	5	1,2,3,4,5	
	<i>BrDME1</i>	1,900	0	0	0	1,2,3,4,5	
	<i>BrMBD9</i>	900	0	0	0	1,2,3,4	
	<i>BrMET1A</i>	2,100	0	0	6	1,2,3,4	
	<i>BrMET1B</i>	2,500	4	0	1	1,2,3,4,5	
	<i>BrVIN3</i>	1,700	0	0	0	1,2,3,4,5	

3차년도에는 2차년도에 비해 크게 달라지거나 새롭게 밝힌 유전자 서열만 공개하고 기술하고자 한다.

BrCMT1 (CHROMOMETHYLASE 1) gene: *Arabidopsis CMT1* 유전자의 18th exon과 20th exon사이 약 360 bp를 증폭하였다. 개화관련 SNP나 InDel은 없었으며, RCB_r과 다른 배추와의 InDel은 존재하였다 (RCB_r에 extra-sequence가 존재함).

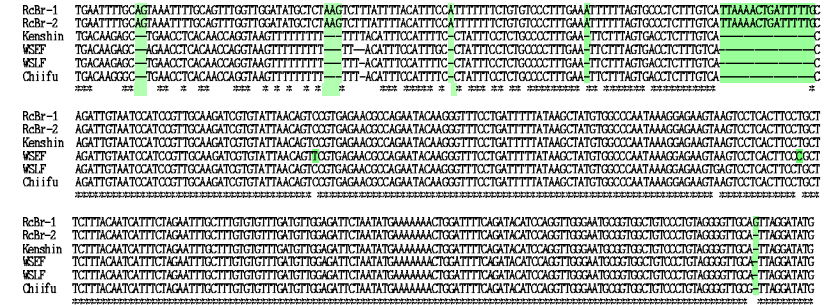


그림 46. Alignment of *BrCMT1* sequences. Green color indicates InDel region between RCB_r and other Chinese cabbage.

BrLHY (LATE ELONGATED HYPOCOTYL)(AT1G01060) 유전자

Arabidopsis 유전자는 8개의 exon으로 구성되어 있으나 배추의 genomic clone을 알 수 없던 애기장대의 배추 EST 서열을 근거로 시작코돈을 포함한 exon 3과 마지막 exon사이를 증폭하는 3세트의 프라이머를 제작하여 실험을 수행하였으나, 첫 프라이머 세트에서는 *RCBr*, *EF* 및 *Kenshin*에서만 서열을 얻었고, 두 번째 프라이머 세트에서는 *EF*에서만, 그리고 세 번째는 *RCBr*과 *Chiifu*에서만 서열을 얻었기 때문에 비교 시 바람직한 결과를 얻을 수 없었다. 다만 첫 프라이머 세트에서는 *Arabidopsis*가 가장 길고, 그 다음이 *RCBr*이었고 배추가 가장 짧았으나, 세 번째 프라이머 세트에서는 그 결과가 반대였다. 따라서 특별한 정보를 얻을 수 없었다.

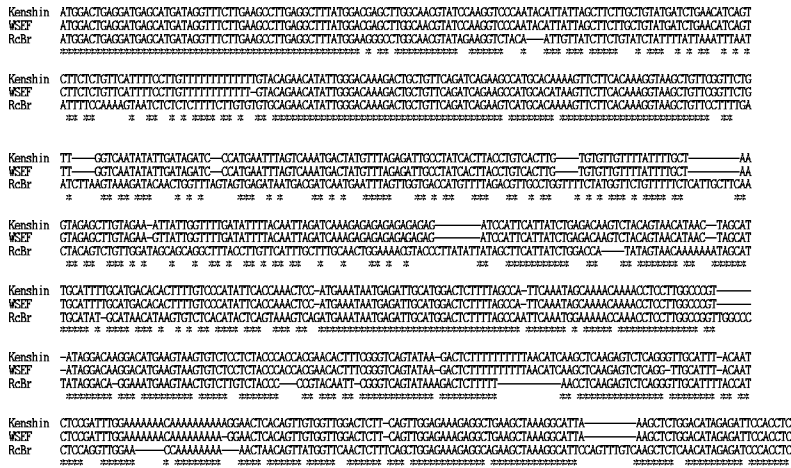


그림 47. Alignment of *BrLHY* sequences.

BrTOC1 (TIMING OF CAB EXPRESSION 1)(AT5G61380) 유전자: *Arabidopsis* 6 *TOC1* 유전자는 6개의 exon으로 구성되어 있으며, 배추에서는 첫 번째 exon과 6번째 exon의 앞부분을 포함하도록 프라이머를 작성하고 클로닝하여 염기서열을 분석하였다. 그 결과 두 개의 putative flowering InDel을 발견하였다.

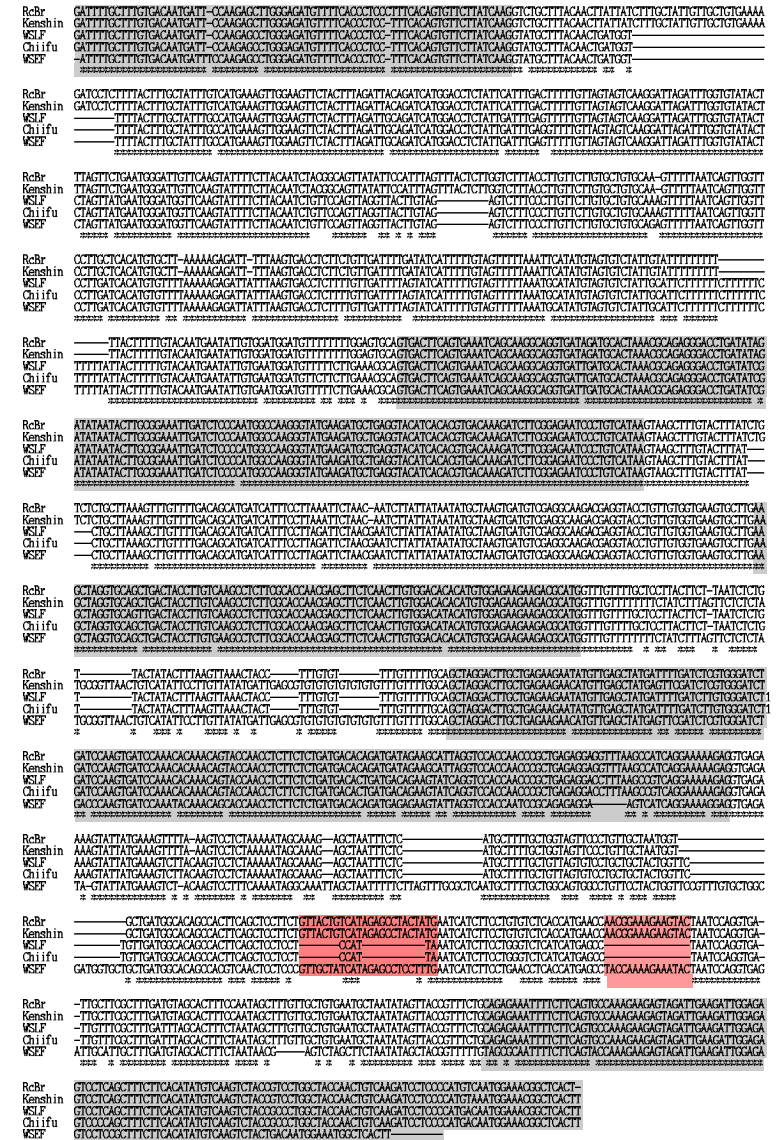


그림 48. Alignment of *BrTOC1* sequences. Red color indicates InDel region for putative flowering time, and shade region represents exon.

BrGIGANTEA: 5개의 exon으로 구성되어 있으며, 2 프라이머 세트를 이용하여 2,070 bp를 증폭하여 분석한 결과 두 개의 가능한 개화관련 InDel이 발견되었다. 그러나 WSLF서열이 없어서 위험 부담이 크다.

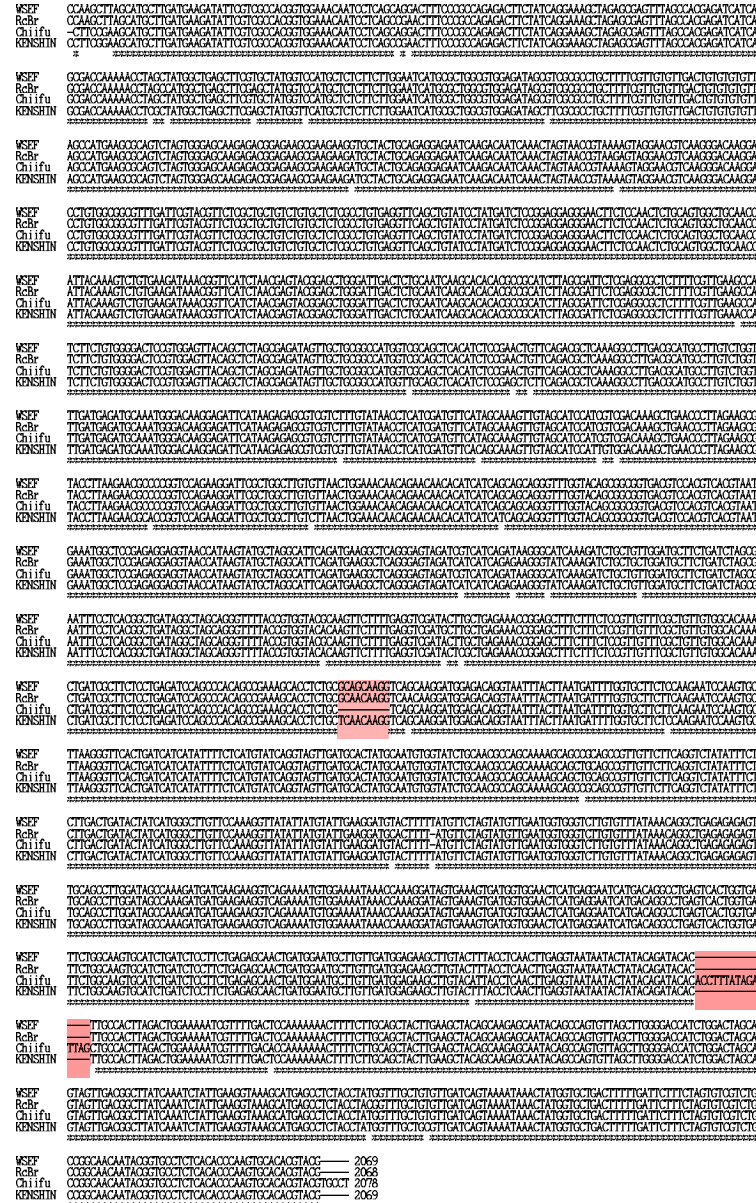


그림 51. Alignment of *BrGI* sequences. Red color represents InDel region for putative flowering time.

BrVIN3: Vernalization insensitive 3, 5개의 exon으로 구성되어 있으며 exon2와 exon 5를 4개의 프라이머 세트로 분석하였으며, *RcBr*, *WSLF*는 모든 결과를 다 얻었고, *Kenshin*, *Chiifu*는 exon 3-exon 5서열을 얻었고, *WSEF*는 exon 3-4 및 exon 5의 5'서열만을 얻었다. 활용이 가능한 polymorphism은 관찰되지 않았고, 오직 지부의 권심을 구분하는 InDel이 다수 존재하였다.

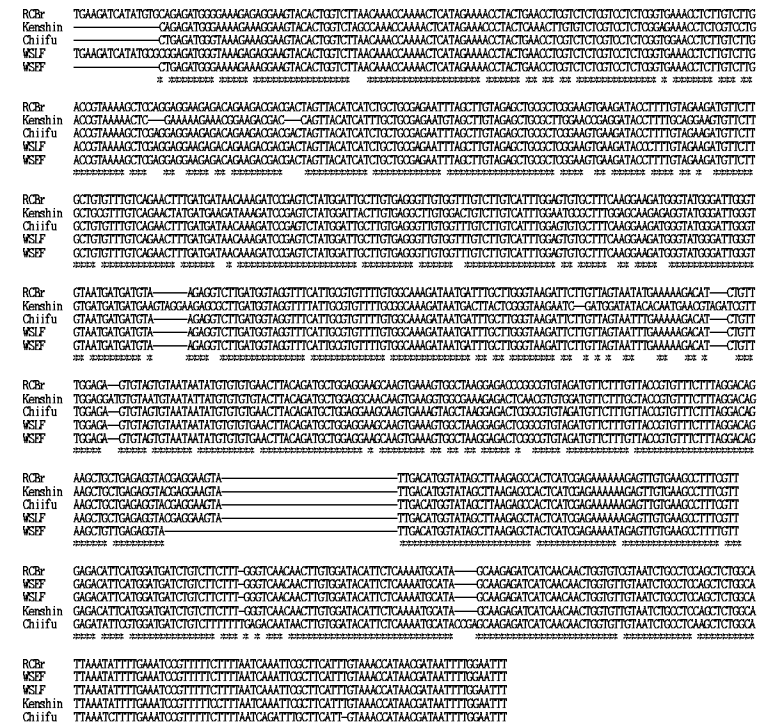


그림 52. Alignment of *BrVIN3* sequences.

BrP450-4: 염기서열 분석이 불완전하여 데이터를 도출할 수 없었다. 서열정보도 제거하였음.

BrVRN1 (veranalization 1): 5개의 exon으로 구성되었고 4개의 프라이머 세트를 이용하여 실험을 수행하였으나, 1/3정도만 완료되었고 비교가 어려웠다. 따라서 exon4-5를 증폭한 결과만을 가지고 비교하였다. 그 결과, 개화관련 polymorphism은 찾을 수 없었으나, 지부와 권심을 구분하는 InDel과 SNP는 다수 있었다.

BrFRI: 3개의 exon으로 구성되었으며 약 3.3 kbp 정도의 유전자이나, 본 연구에서는 exon1의 3'과 exon3의 5'를 포함하는 부분서열 (1,180 bp)을 증폭하여 분석하였다. 그 결과 *RCBr*과 배추를 구분하는 InDel이 1개 존재하나, 개화관련 정보는 찾을 수 없었다. 지부와 권심을 구분하는 InDel은 다수 존재하였다.

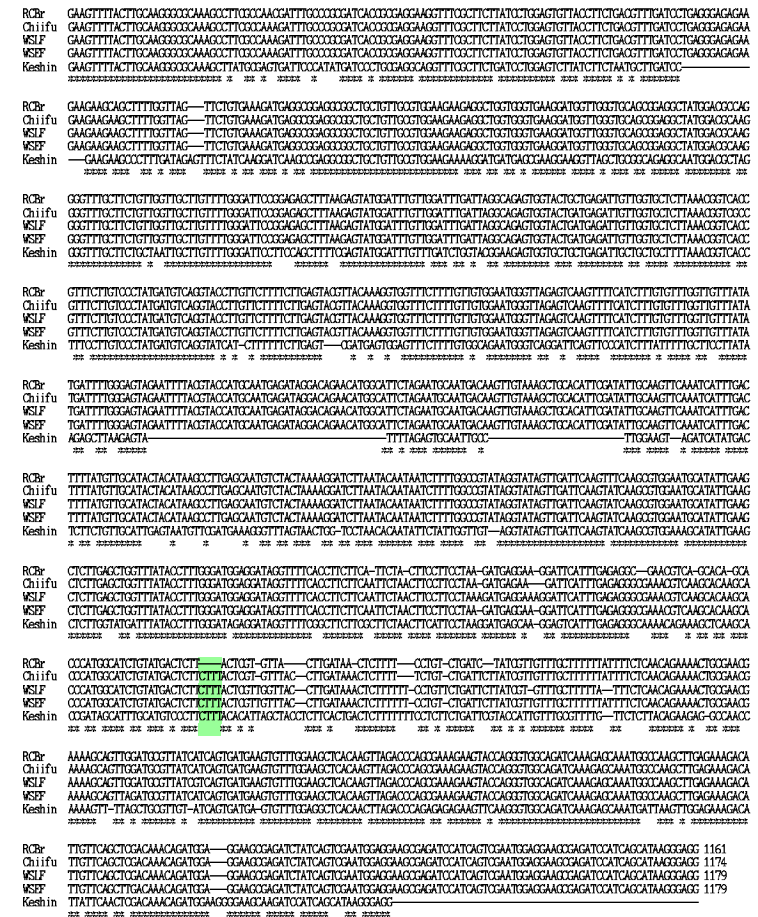


그림 55. Alignment of *BrFRI* sequences. Green color indicates InDel region between *RCBr* and other Chinese cabbage.

BrMBD9 (Methyl-CPG-binding domain 9): 애기장대의 유전자는 10개의 exon으로 구성되어 있고, 약 7 kbp의 유전자이나 다른 *Brassica* 유전자에 대한 정보가 제한 적이기 때문에 exon9와 exon10의 일부와 intron만(900 bp)을 클로닝하여 분석하였다. 개화관련 polymorphism은 발견 되지 않았으나, 권심이 다른 배추와 구분되는 SNP와 InDel은 존재하였다.

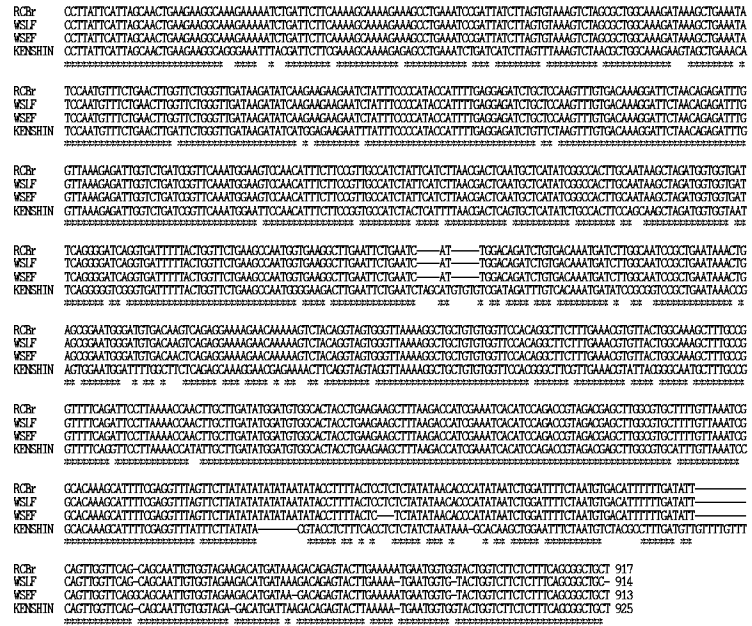


그림 57. Alignment of *BrMBD9* sequences.

BrELF3 (Early flowering 3): 애기장대 유전자의 경우 4개의 exon으로 구성되어 있고, 전체 크기가 약 4 kbp이다. 3개의 프라이머 세트를 제작하여 실험을 수행하였으나, 첫 번째 프라이머 세트와 3번째 프라이머 세트에서만 클로닝이 이루어지고, exon2와 exon3 및 긴 intron (1,178 bp)을 포함하는 두 번째 프라이머 세트에서는 클로닝이 되지 않았다. 따라서 두 세트로 구분하여 분석을 수행하였다. 첫 번째 fragment에서 개화관련 polymorphism은 발견되지 않았으나, RCB와 배추를 구분하는 InDel은 18개가 존재하였다.

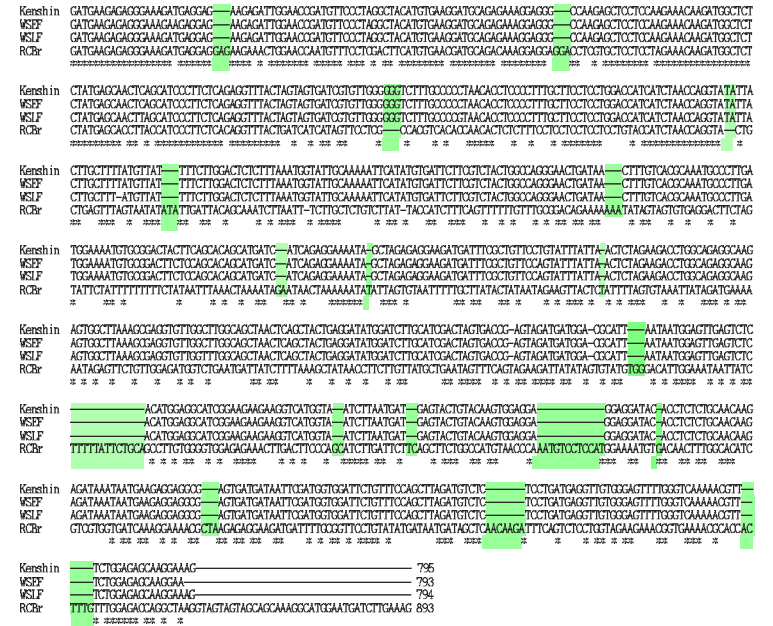


그림 58. Alignment of partial *BrELF3* genes containing exon 1 and exon 2. Green color indicates InDel region between RCB and other Chinese cabbage.

BrMET1a (Methyltransferase, Decreased methylation 2DNA): 에기장대의 경우 10개의 exon 으로 구성되어 있으며, 긴 exon 1의 중간 이후부터 exon 10까지를 증폭하기 위하여 3세트의 프라이머를 제작하였다. Chiifu를 제외하고는 모두가 증폭되어 2,100 bp 정도의 DNA를 분석하였으며 그 결과는 다음과 같다. 개화관련 polymorphism은 발견되지 않았으나, *RCBr*과 배추를 구분하는 InDel은 6개가 존재하였다.



그림 59. Alignment of partial *BrELF3* genes containing exon 3 and exon 4. Green color indicates InDel region between *RCBr* and other Chinese cabbage.



Exon10-15은 970bp로 개화관련 polymorphism은 존재하지 않았고, 다만 *RCBr*과 배추를 구분하는 InDel 2개만 존재하였다.

```

WSLF  CAGCTTCGAGAAAGCTGAGGAGGCCAAGTGTGTGTCTCTGTAAGTGTATGTCTTTTAAATCCAGTATCTGCTT-GCAATCAAAATGTGGCTCAAAATGATATATATGCT
Chiifu  CAGCTTCGAGAAAGCTGAGGAGGCCAAGTGTGTGTCTCTGTAAGTGTATGTCTTTTAAATCCAGTATCTGCTTTCGAAATCAAAATGTGGCTCAAAATGATATATATGCT
KNSHIN  CAGCTTCGAGAAAGCTGAGGAGGCCAAGTGTGTGTCTCTGTAAGTGTATGTCTTTTAAATCCAGTATCTGCTTTCGAAATCAAAATGTGGCTCAAAATGATATATATGCT
WSEF  CAGCTTCGAGAAAGCTGAGGAGGCCAAGTGTGTGTCTCTGTAAGTGTATGTCTTTTAAATCCAGTATCTGCTTTCGAAATCAAAATGTGGCTCAAAATGATATATATGCT
RCBr  CAGCTTCGAGAAAGCTGAGGAGGCCAAGTGTGTGTCTCTGTAAGTGTATGTCTTTTAAATCCAGTATCTGCTTTCGAAATCAAAATGTGGCTCAAAATGATATATATGCT
*****

WSLF  TTATTTGTAGATGATAGCTTGTGATCTTAGAGCATGTCGAGCCGATACAGCTGATCGAAGCCAGGCCAAAAGCTGCTCTGTGAGTGTGGAAAGGAGATCGAGCTATGATTT
Chiifu  TTATTTGTAGATGATAGCTTGTGATCTTAGAGCATGTCGAGCCGATACAGCTGATCGAAGCCAGGCCAAAAGCTGCTCTGTGAGTGTGGAAAGGAGATCGAGCTATGATTT
KNSHIN  TTATTTGTAGATGATAGCTTGTGATCTTAGAGCATGTCGAGCCGATACAGCTGATCGAAGCCAGGCCAAAAGCTGCTCTGTGAGTGTGGAAAGGAGATCGAGCTATGATTT
WSEF  TTATTTGTAGATGATAGCTTGTGATCTTAGAGCATGTCGAGCCGATACAGCTGATCGAAGCCAGGCCAAAAGCTGCTCTGTGAGTGTGGAAAGGAGATCGAGCTATGATTT
RCBr  TTATTTGTAGATGATAGCTTGTGATCTTAGAGCATGTCGAGCCGATACAGCTGATCGAAGCCAGGCCAAAAGCTGCTCTGTGAGTGTGGAAAGGAGATCGAGCTATGATTT
*****

WSLF  CAAGCATGAACAGCTAACTGATCTGATTTGCTTGTGATGCTCTTCTCATGAGCTCTGATTTCTGATCGAAMAAATGCTGATTTCTGTTCTCTGTTATTTGGCATATGTCGAGC
Chiifu  CAAGCATGAACAGCTAACTGATCTGATTTGCTTGTGATGCTCTTCTCATGAGCTCTGATTTCTGATCGAAMAAATGCTGATTTCTGTTCTCTGTTATTTGGCATATGTCGAGC
KNSHIN  CAAGCATGAACAGCTAACTGATCTGATTTGCTTGTGATGCTCTTCTCATGAGCTCTGATTTCTGATCGAAMAAATGCTGATTTCTGTTCTCTGTTATTTGGCATATGTCGAGC
WSEF  CAAGCATGAACAGCTAACTGATCTGATTTGCTTGTGATGCTCTTCTCATGAGCTCTGATTTCTGATCGAAMAAATGCTGATTTCTGTTCTCTGTTATTTGGCATATGTCGAGC
RCBr  CAAGCATGAACAGCTAACTGATCTGATTTGCTTGTGATGCTCTTCTCATGAGCTCTGATTTCTGATCGAAMAAATGCTGATTTCTGTTCTCTGTTATTTGGCATATGTCGAGC
*****

WSLF  AGCATGTGATTTGTGTGCTGCCACTGTCAGGAAAGGTCAGTCTTTATCGAGATGCCGAGACTGATTTTGGGACTTTAGCTTTGAACTTTATTTTCTTAGCTGTGTGAGGTTTT
Chiifu  AGCATGTGATTTGTGTGCTGCCACTGTCAGGAAAGGTCAGTCTTTATCGAGATGCCGAGACTGATTTTGGGACTTTAGCTTTGAACTTTATTTTCTTAGCTGTGTGAGGTTTT
KNSHIN  AGCATGTGATTTGTGTGCTGCCACTGTCAGGAAAGGTCAGTCTTTATCGAGATGCCGAGACTGATTTTGGGACTTTAGCTTTGAACTTTATTTTCTTAGCTGTGTGAGGTTTT
WSEF  AGCATGTGATTTGTGTGCTGCCACTGTCAGGAAAGGTCAGTCTTTATCGAGATGCCGAGACTGATTTTGGGACTTTAGCTTTGAACTTTATTTTCTTAGCTGTGTGAGGTTTT
RCBr  AGCATGTGATTTGTGTGCTGCCACTGTCAGGAAAGGTCAGTCTTTATCGAGATGCCGAGACTGATTTTGGGACTTTAGCTTTGAACTTTATTTTCTTAGCTGTGTGAGGTTTT
*****

WSLF  TTTTTT-GAAGCAGCATATGCTTTGAGAACTCAAAATGTATTTTCTCTGTGTGTCAGATGATGAGCAGCAGCTGCTGGTGAAGAGAACTGGCAAAAGCAGATGTGTGAGCTG
Chiifu  TTTTTTGAAGCAGCATATGCTTTGAGAACTCAAAATGTATTTTCTCTGTGTGTCAGATGATGAGCAGCAGCTGCTGGTGAAGAGAACTGGCAAAAGCAGATGTGTGAGCTG
KNSHIN  TTTTTT-GAAGCAGCATATGCTTTGAGAACTCAAAATGTATTTTCTCTGTGTGTCAGATGATGAGCAGCAGCTGCTGGTGAAGAGAACTGGCAAAAGCAGATGTGTGAGCTG
WSEF  TTTTTTGAAGCAGCATATGCTTTGAGAACTCAAAATGTATTTTCTCTGTGTGTCAGATGATGAGCAGCAGCTGCTGGTGAAGAGAACTGGCAAAAGCAGATGTGTGAGCTG
RCBr  TTTTTT-GAAGCAGCATATGCTTTGAGAACTCAAAATGTATTTTCTCTGTGTGTCAGATGATGAGCAGCAGCTGCTGGTGAAGAGAACTGGCAAAAGCAGATGTGTGAGCTG
*****

WSLF  AGGAGAGGTAAAGCAGATATATGATTTGATTTCTGTTTCTGTAATAGAAAAGTGTGTAAGCTGGAGTTTCAAAACAGAACTTGTCTTACTGACATGATGCTCTGCTGACAGAG
Chiifu  AGGAGAGGTAAAGCAGATATATGATTTGATTTCTGTTTCTGTAATAGAAAAGTGTGTAAGCTGGAGTTTCAAAACAGAACTTGTCTTACTGACATGATGCTCTGCTGACAGAG
KNSHIN  AGGAGAGGTAAAGCAGATATATGATTTGATTTCTGTTTCTGTAATAGAAAAGTGTGTAAGCTGGAGTTTCAAAACAGAACTTGTCTTACTGACATGATGCTCTGCTGACAGAG
WSEF  AGGAGAGGTAAAGCAGATATATGATTTGATTTCTGTTTCTGTAATAGAAAAGTGTGTAAGCTGGAGTTTCAAAACAGAACTTGTCTTACTGACATGATGCTCTGCTGACAGAG
RCBr  AGGAGAGGTAAAGCAGATATATGATTTGATTTCTGTTTCTGTAATAGAAAAGTGTGTAAGCTGGAGTTTCAAAACAGAACTTGTCTTACTGACATGATGCTCTGCTGACAGAG
*****

WSLF  GAGAGTGAATCTCTATTGAGAAATGCTTGCAGGTATAGAGAGTATGCTATTAGCTCTGCTGTGCTCTGCTTTCAGGCGCTTTTGTGTGTTTTCTGTAAGTCAATTTGCTG
Chiifu  GAGAGTGAATCTCTATTGAGAAATGCTTGCAGGTATAGAGAGTATGCTATTAGCTCTGCTGTGCTCTGCTTTCAGGCGCTTTTGTGTGTTTTCTGTAAGTCAATTTGCTG
KNSHIN  GAGAGTGAATCTCTATTGAGAAATGCTTGCAGGTATAGAGAGTATGCTATTAGCTCTGCTGTGCTCTGCTTTCAGGCGCTTTTGTGTGTTTTCTGTAAGTCAATTTGCTG
WSEF  GAGAGTGAATCTCTATTGAGAAATGCTTGCAGGTATAGAGAGTATGCTATTAGCTCTGCTGTGCTCTGCTTTCAGGCGCTTTTGTGTGTTTTCTGTAAGTCAATTTGCTG
RCBr  GAGAGTGAATCTCTATTGAGAAATGCTTGCAGGTATAGAGAGTATGCTATTAGCTCTGCTGTGCTCTGCTTTCAGGCGCTTTTGTGTGTTTTCTGTAAGTCAATTTGCTG
*****

WSLF  TATAGGATTTGCTGCGAGGATTTATCTGAGATGATGCTCAGATACAGGCGAAGCTGATTCAGATGACGAAAATGTGAAATCAGGCGAATGAGCGAGCTTTACAGGCTTCT
Chiifu  TATAGGATTTGCTGCGAGGATTTATCTGAGATGATGCTCAGATACAGGCGAAGCTGATTCAGATGACGAAAATGTGAAATCAGGCGAATGAGCGAGCTTTACAGGCTTCT
KNSHIN  TATAGGATTTGCTGCGAGGATTTATCTGAGATGATGCTCAGATACAGGCGAAGCTGATTCAGATGACGAAAATGTGAAATCAGGCGAATGAGCGAGCTTTACAGGCTTCT
WSEF  TATAGGATTTGCTGCGAGGATTTATCTGAGATGATGCTCAGATACAGGCGAAGCTGATTCAGATGACGAAAATGTGAAATCAGGCGAATGAGCGAGCTTTACAGGCTTCT
RCBr  TAAAGGATTTGCTGCGAGGATTTATCTGAGAAATGTTNCTGATACAGGCGAAGCTGATTCAGATGACGAAAATGTGAAATCAGGCGAATGAGCGAGCTTTACAGGCTTCT
*****

WSLF  CAGAAAAGCTTGAAG 972
Chiifu  CAGAAAAGCTTGAAG 973
KNSHIN  CAGAAAAGCTTGAAG 972
WSEF  CAGAAAAGCTTGAAG 973
RCBr  CAGAAAAGCTTGA- 967
*****

```

그림 63. Alignment of *BrPUE1* genes containing exon 10 to 15. Red color represents InDel region for putative flowering time. Green color indicates InDel region between *RCBr* and other Chinese cabbage.

Exon15-18은 540 bp로 개화관련 polymorphism은 존재하지 않았고, 다만 *RCBr*과 배추를 구분하는 InDel 1개만 존재하였다.

```

RCBr  ATGATGGGGAAGGCTCTGTGTTATGAGCATAGTATATTTTTCTTATTGTCATGCAATCAATTAACCTCTATTGCTATATCTGTAATGTGTAATACATAGGCGATCTTATA
KNSHIN  ATGATGGGGAAGGCTCTGTGTTATGAGCATAGTATATTTTTCTTATTGTCATGCAATCAATTAACCTCTATTGCTATATCTGTAATGTGTAATACATAGGCGATCTTATA
WSEF  ATGATGGGGAAGGCTCTGTGTTATGAGCATAGTATATTTTTCTTATTGTCATGCAATCAATTAACCTCTATTGCTATATCTGTAATGTGTAATACATAGGCGATCTTATA
Chiifu  ATGATGGGGAAGGCTCTGTGTTATGAGCATAGTATATTTTTCTTATTGTCATGCAATCAATTAACCTCTATTGCTATATCTGTAATGTGTAATACATAGGCGATCTTATA
*****

RCBr  TCACATGTGATGTTAATGCTATTTTCAGAAATGGAGCTGATTTTCGAAAGGCGATACAGGCGAGAGTGAAGTTT-AGCTCAGCAGCGATAAAGATTAACATATGTCGATGTC
KNSHIN  TCACATGTGATGTTAATGCTATTTTCAGAAATGGAGCTGATTTTCGAAAGGCGATACAGGCGAGAGTGAAGTTT-AGCTCAGCAGCGATAAAGATTAACATATGTCGATGTC
WSEF  TCACATGTGATGTTAATGCTATTTTCAGAAATGGAGCTGATTTTCGAAAGGCGATACAGGCGAGAGTGAAGTTT-AGCTCAGCAGCGATAAAGATTAACATATGTCGATGTC
Chiifu  TCACATGTGATGTTAATGCTATTTTCAGAAATGGAGCTGATTTTCGAAAGGCGATACAGGCGAGAGTGAAGTTT-AGCTCAGCAGCGATAAAGATTAACATATGTCGATGTC
*****

RCBr  GGTGTGCTATTTCAGCTTGTCTGAGTGTGTGCTATTTGCTGATGTCGATGAGATCTGAGAAATGCTCAGCAGCGCTGCTGCAAGCGCTGCAAGCGCTTTGGCAGCTGAA
KNSHIN  GGTGTGCTATTTCAGCTTGTCTGAGTGTGTGCTATTTGCTGATGTCGATGAGATCTGAGAAATGCTCAGCAGCGCTGCTGCAAGCGCTGCAAGCGCTTTGGCAGCTGAA
WSEF  GGTGTGCTATTTCAGCTTGTCTGAGTGTGTGCTATTTGCTGATGTCGATGAGATCTGAGAAATGCTCAGCAGCGCTGCTGCAAGCGCTGCAAGCGCTTTGGCAGCTGAA
Chiifu  GGTGTGCTATTTCAGCTTGTCTGAGTGTGTGCTATTTGCTGATGTCGATGAGATCTGAGAAATGCTCAGCAGCGCTGCTGCAAGCGCTGCAAGCGCTTTGGCAGCTGAA
*****

RCBr  GACACTTTGAAACAGCAGTTTATGTCATATGCTTATGAGCAATATTTGGAAATATATGTCAGCAATATAGCAGAGACTTAAATGAGTATTTGGTCAAAACATTTTT
KNSHIN  GACACTTTGAAACAGCAGTTTATGTCATATGCTTATGAGCAATATTTGGAAATATATGTCAGCAATATAGCAGAGACTTAAATGAGTATTTGGTCAAAACATTTTT
WSEF  GACACTTTGAAACAGCAGTTTATGTCATATGCTTATGAGCAATATTTGGAAATATATGTCAGCAATATAGCAGAGACTTAAATGAGTATTTGGTCAAAACATTTTT
Chiifu  GACACTTTGAAACAGCAGTTTATGTCATATGCTTATGAGCAATATTTGGAAATATATGTCAGCAATATAGCAGAGACTTAAATGAGTATTTGGTCAAAACATTTTT
*****

RCBr  T-CCTCAGGAAGCAAGTGGCTTACTTAAAGCTTAGAAGAAAGAAAAGGCGAAGAA
KNSHIN  T-CCTCAGGAAGCAAGTGGCTTACTTAAAGCTTAGAAGAAAGAAAAGGCGAAGAA
WSEF  TTTCTCAGGAAGCAAGTGGCTTACTTAAAGCTTAGAAGAAAGAAAAGGCGAAGAA
RCBr  T-CCTCAGGAAGCAAGTGGCTTACTTAAAGCTTAGAAGAAAGAAAAGGCGAAGAA
Chiifu  T-CCTCAGGAAGCAAGTGGCTTACTTAAAGCTTAGAAGAAAGAAAAGGCGAAGAA
*****

```

그림 64. Alignment of *BrPIE1* gene containing exon 15 to 18. Red color represents InDel region for putative flowering time. Green color indicates InDel region between *RCBr* and other Chinese cabbage.

BN515-1 AAATCCTAGTGCACCCCTCTCAAAGAAGCCGCTGATGGTAGCTGCAATTCCTGTGGTTCATTCAGCCCAATCTCTGCGTATATGATTCATTTGAAATTAATAACCATCTC 639
 BN569 AAATCCTAGTGCACCCCTCTCAAAGAAGCCGCTGATGGTAGCTGCAATTCCTGTGGTTCATTCAGCCCAATCTCTGCGTATATGATTCATTTGAAATTAATAACCATCTC 639
 BN515-2 AAATCCTAGTGCACCCCTCTCAAAGAAGCCGCTGATGGTAGCTGCAATTCCTGTGGTTCATTCAGCCCAATCTCTGCGTATATGATTCATTTGAAATTAATAACCATCTC 759
 B-TFL1-2 AAATCCTAGTGCACCCCTCTCAAAGAAGCCGCTGATGGTAGCTGCAATTCCTGTGGTTCATTCAGCCCAATCTCTGCGTATATGATTCATTTGAAATTAATAACCATCTC 718
 C179 AAATCCTAGTGCACCCCTCTCAAAGAAGCCGCTGATGGTAGCTGCAATTCCTGTGGTTCATTCAGCCCAATCTCTGCGTATATGATTCATTTGAAATTAATAACCATCTC 639
 B-TFL1-1 AAATCCTAGTGCACCCCTCTCAAAGAAGCCGCTGATGGTAGCTGCAATTCCTGTGGTTCATTCAGCCCAATCTCTGCGTATATGATTCATTTGAAATTAATAACCATCTC 718

BN515-1 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 699
 BN515-2 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 C18 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 BN569 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 BN515-1 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 BN569 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 BN515-2 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 B-TFL1-2 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 C179 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759
 B-TFL1-1 TACATATTTTTTAAACTGAGTGGTGGTGGTCAATGCTCCATCAGCAGCAATAAATAGTCCATGTAATATTCAGCAGGCTGCTCAAGCAATCCCGGCAACACAGATGCTA 759

BN515-1 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 819
 BN515-2 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 819
 C18 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 879
 BN569 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 879
 BN515-1 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 879
 BN515-2 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 879
 B-TFL1-2 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 958
 C179 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 958
 B-TFL1-1 CATTTGGTATGGCTGCTCATGAATTTTGGTGTAAAAATTCACATAAAGATATATCCAAATAGTATTA AAAAATATTAAGTCAATGAAATTTAGGAAAGAGAGGAGTGGAGCTATGA 958

BN515-1 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 939
 BN515-2 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 1001
 C18 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 999
 BN569 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 999
 BN515-1 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 999
 BN515-2 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 999
 B-TFL1-2 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 1076
 C179 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 999
 B-TFL1-1 GTCGCCAAGCCAAACATAGGATACACAGAGTGGTGGTGGTGTTCGTCAGCAGGAGCAAGAGAGTGGTAAAGTCCCAAGCAGATATTTTGGAGGATACAGTCCAGACTCCCGAGAT 1076

BN515-1 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1041
 BN515-2 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1103
 C18 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1101
 BN569 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1101
 BN515-1 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1101
 BN515-2 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1101
 B-TFL1-2 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1101
 C179 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1101
 B-TFL1-1 TGGATGAGATGATCTGGTCTCCCTGTCGCGGCTGCTCTTTAAAGCTCAGAGAAACCCGACTCCGACAGCTTAAATAGCTATATGTCATCAAA----- 1136

BN515-1 -----
 BN515-2 -----
 C18 -----
 BN569 -----
 BN515-1 -----
 BN515-2 -----
 B-TFL1-2 ATGTTAATCTCTGTTCTAAATATCCAGTGTAAATCTCTGTTCTAAATCCCGGATTTTTTAAATAAATATGTTTTGTTGATATATATTAATCTCAATATAGAGAGTAAATCCCGGAT 1316
 C179 -----
 B-TFL1-1 ATGTTAATCTCTGTTCTAAATATCCAGTGTAAATCTCTGTTCTAAATCCCGGATTTTTTAAATAAATATGTTTTGTTGATATATATTAATCTCAATATAGAGAGTAAATCCCGGAT 1316

BN515-1 -----
 BN515-2 -----
 C18 -----
 BN569 -----
 BN515-1 -----
 BN515-2 -----
 B-TFL1-2 TTATTTCTGTCTAAACCCCTATATATGCTCGATAGGTCACATGAGTAAATC 1372
 C179 -----
 B-TFL1-1 TTATTTCTGTCTAAACCCCTATATATGCTCGATAGGTCACATGAGTAAATC 1372

그림 66. Sequence alignment of *TFL1* genes.

(나) *MAF4*: *MAF4*도 *FLC*와 마찬가지로 개화억제 유전자이다. 염기서열 비교결과 (그림 67), 조기추대의 만기추대 배후사이에 SNP나 InDel이 발견되지 않았다.

MAF4-569 ATGGAGAGGAGAAAGTGGAGATCAAAAGATTTGAGAGCAAGATTTGAGCAAGTCACTTTGTAAGAGCCGCAATGCTCTAGAGAAAGCTGCTCAAGCTCTCAGTCTTTGTGGA 120
 MAF4-569 ATGGAGAGGAGAAAGTGGAGATCAAAAGATTTGAGAGCAAGATTTGAGCAAGTCACTTTGTAAGAGCCGCAATGCTCTAGAGAAAGCTGCTCAAGCTCTCAGTCTTTGTGGA 120
 MAF4-515 ATGGAGAGGAGAAAGTGGAGATCAAAAGATTTGAGAGCAAGATTTGAGCAAGTCACTTTGTAAGAGCCGCAATGCTCTAGAGAAAGCTGCTCAAGCTCTCAGTCTTTGTGGA 120
 MAF-615 ATGGAGAGGAGAAAGTGGAGATCAAAAGATTTGAGAGCAAGATTTGAGCAAGTCACTTTGTAAGAGCCGCAATGCTCTAGAGAAAGCTGCTCAAGCTCTCAGTCTTTGTGGA 120
 MAF4-C179 ATGGAGAGGAGAAAGTGGAGATCAAAAGATTTGAGAGCAAGATTTGAGCAAGTCACTTTGTAAGAGCCGCAATGCTCTAGAGAAAGCTGCTCAAGCTCTCAGTCTTTGTGGA 120

MAF4-569 TCCCTAGTGGCCATCTCTAATGGTTTCTCCACCGGGAACCTATACTCCCTCCATGAGGATAGTAACTAATATCTCCCTCTTCCTGTTGATATCTTTGTTAGATCTCTTAGG 240
 MAF4-C18 TCCCTAGTGGCCATCTCTAATGGTTTCTCCACCGGGAACCTATACTCCCTCCATGAGGATAGTAACTAATATCTCCCTCTTCCTGTTGATATCTTTGTTAGATCTCTTAGG 240
 MAF4-515 TCCCTAGTGGCCATCTCTAATGGTTTCTCCACCGGGAACCTATACTCCCTCCATGAGGATAGTAACTAATATCTCCCTCTTCCTGTTGATATCTTTGTTAGATCTCTTAGG 240
 MAF-615 TCCCTAGTGGCCATCTCTAATGGTTTCTCCACCGGGAACCTATACTCCCTCCATGAGGATAGTAACTAATATCTCCCTCTTCCTGTTGATATCTTTGTTAGATCTCTTAGG 240
 MAF4-C179 TCCCTAGTGGCCATCTCTAATGGTTTCTCCACCGGGAACCTATACTCCCTCCATGAGGATAGTAACTAATATCTCCCTCTTCCTGTTGATATCTTTGTTAGATCTCTTAGG 240

MAF4-569 AAAAAATGAAACTTAACTAGGTTTTCATTTACCCCTTTGAACTCTACACCTGATCTCTGTTAATCTATATGATAATTTGTTGATAGTCAACCAAAATTTAGATATAAC 360
 MAF4-C18 AAAAAATGAAACTTAACTAGGTTTTCATTTACCCCTTTGAACTCTACACCTGATCTCTGTTAATCTATATGATAATTTGTTGATAGTCAACCAAAATTTAGATATAAC 360
 MAF4-515 AAAAAATGAAACTTAACTAGGTTTTCATTTACCCCTTTGAACTCTACACCTGATCTCTGTTAATCTATATGATAATTTGTTGATAGTCAACCAAAATTTAGATATAAC 360
 MAF-615 AAAAAATGAAACTTAACTAGGTTTTCATTTACCCCTTTGAACTCTACACCTGATCTCTGTTAATCTATATGATAATTTGTTGATAGTCAACCAAAATTTAGATATAAC 360
 MAF4-C179 AAAAAATGAAACTTAACTAGGTTTTCATTTACCCCTTTGAACTCTACACCTGATCTCTGTTAATCTATATGATAATTTGTTGATAGTCAACCAAAATTTAGATATAAC 360

MAF4-569 ATGTGGTGGCCAAATATGTTTTGGTGGCTGTTTTGGTGGTGGT-TCCATTTTTAATGTTTTAGTTTGGTGGCAAGATCTTGCTTTCTATTTTTGGCTGGAGAAATATTTGCA 479
 MAF4-C18 ATGTGGTGGCCAAATATGTTTTGGTGGCTGTTTTGGTGGTGGT-TCCATTTTTAATGTTTTAGTTTGGTGGCAAGATCTTGCTTTCTATTTTTGGCTGGAGAAATATTTGCA 479
 MAF4-515 ATGTGGTGGCCAAATATG-TTTTGGTGGCTGTTTTGGTGGTGGT-TCCATTTTTAATGTTTTAGTTTGGTGGCAAGATCTTGCTTTCTATTTTTGGCTGGAGAAATATTTGCA 478
 MAF-615 ATGTGGTGGCCAAATATGTTTTGGTGGCTGTTTTGGTGGTGGT-TCCATTTTTAATGTTTTAGTTTGGTGGCAAGATCTTGCTTTCTATTTTTGGCTGGAGAAATATTTGCA 479
 MAF4-C179 ATGTGGTGGCCAAATATGTTTTGGTGGCTGTTTTGGTGGTGGT-TCCATTTTTAATGTTTTAGTTTGGTGGCAAGATCTTGCTTTCTATTTTTGGCTGGAGAAATATTTGCA 480

MAF4-569 TGTGCTTGGAGTTTTATCTACAGTGGTAAATCCAGCCTCATGTTGCTCAATGGGATTTCAAGTCACTTAAATTTGGTGGCTAAG-----ACCAATGAGGTTTTAATTTG 592
 MAF4-C18 TGTGCTTGGAGTTTTATCTACAGTGGTAAATCCAGCCTCATGTTGCTCAATGGGATTTCAAGTCACTTAAATTTGGTGGCTAAG-----ACCAATGAGGTTTTAATTTG 592
 MAF4-515 TGTGCTTGGAGTTTTATCTACAGTGGTAAATCCAGCCTCATGTTGCTCAATGGGATTTCAAGTCACTTAAATTTGGTGGCTAAG-----ACCAATGAGGTTTTAATTTG 591
 MAF-615 TGTGCTTGGAGTTTTATCTACAGTGGTAAATCCAGCCTCATGTTGCTCAATGGGATTTCAAGTCACTTAAATTTGGTGGCTAAG-----ACCAATGAGGTTTTAATTTG 592
 MAF4-C179 TGTGCTTGGAGTTTTATCTACAGTGGTAAATCCAGCCTCATGTTGCTCAATGGGATTTCAAGTCACTTAAATTTGGTGGCTAAG-----ACCAATGAGGTTTTAATTTG 600

MAF4-569 AAAAAATTAAGTCACTTAAATCCCTTTTCAATTAATGATGATATCTCCCGGAGAGTGGTGGAGAAATGGTGGGGGATTAATGCTATGATGAGAAATTTAGATGAGAGGCTG 712
 MAF4-C18 AAAAAATTAAGTCACTTAAATCCCTTTTCAATTAATGATGATATCTCCCGGAGAGTGGTGGAGAAATGGTGGGGGATTAATGCTATGATGAGAAATTTAGATGAGAGGCTG 712
 MAF4-515 AAAAAATTAAGTCACTTAAATCCCTTTTCAATTAATGATGATATCTCCCGGAGAGTGGTGGAGAAATGGTGGGGGATTAATGCTATGATGAGAAATTTAGATGAGAGGCTG 711
 MAF-615 AAAAAATTAAGTCACTTAAATCCCTTTTCAATTAATGATGATATCTCCCGGAGAGTGGTGGAGAAATGGTGGGGGATTAATGCTATGATGAGAAATTTAGATGAGAGGCTG 711
 MAF4-C179 AAAAAATTAAGTCACTTAAATCCCTTTTCAATTAATGATGATATCTCCCGGAGAGTGGTGGAGAAATGGTGGGGGATTAATGCTATGATGAGAAATTTAGATGAGAGGCTG 720

MAF4-569 CCATCTCTCTATGCAATTTTTGGTAACTACAGTGTATGTAGATGATTTCTAATTTTTAATTTTTAATTTTTGGTGGTGGAGTAAAGGTTCTAGTGTCTGTGGTCAAAAT 832
 MAF4-C18 CCATCTCTCTATGCAATTTTTGGTAACTACAGTGTATGTAGATGATTTCTAATTTTTAATTTTTAATTTTTGGTGGTGGAGTAAAGGTTCTAGTGTCTGTGGTCAAAAT 832
 MAF4-515 CCATCTCTCTATGCAATTTTTGGTAACTACAGTGTATGTAGATGATTTCTAATTTTTAATTTTTAATTTTTGGTGGTGGAGTAAAGGTTCTAGTGTCTGTGGTCAAAAT 831
 MAF-615 CCATCTCTCTATGCAATTTTTGGTAACTACAGTGTATGTAGATGATTTCTAATTTTTAATTTTTAATTTTTGGTGGTGGAGTAAAGGTTCTAGTGTCTGTGGTCAAAAT 832
 MAF4-C179 CCATCTCTCTATGCAATTTTTGGTAACTACAGTGTATGTAGATGATTTCTAATTTTTAATTTTTAATTTTTGGTGGTGGAGTAAAGGTTCTAGTGTCTGTGGTCAAAAT 840

MAF4-569 TAGTGTCTGGATATGATATGACATGTGGTAAATAGCTAGGCTCAACACCCCATATGATGATGCTTCCATGATGATTTTTGGTGGCCATATAATGCTGAAAAGTGCATGT 952
 MAF4-C18 TAGTGTCTGGATATGATATGACATGTGGTAAATAGCTAGGCTCAACACCCCATATGATGATGCTTCCATGATGATTTTTGGTGGCCATATAATGCTGAAAAGTGCATGT 952
 MAF4-515 TAGTGTCTGGATATGATATGACATGTGGTAAATAGCTAGGCTCAACACCCCATATGATGATGCTTCCATGATGATTTTTGGTGGCCATATAATGCTGAAAAGTGCATGT 951
 MAF-615 TAGTGTCTGGATATGATATGACATGTGGTAAATAGCTAGGCTCAACACCCCATATGATGATGCTTCCATGATGATTTTTGGTGGCCATATAATGCTGAAAAGTGCATGT 952
 MAF4-C179 TAGTGTCTGGATATGATATGACATGTGGTAAATAGCTAGGCTCAACACCCCATATGATGATGCTTCCATGATGATTTTTGGTGGCCATATAATGCTGAAAAGTGCATGT 960

MAF4-569 GTACACTGTGACTACAGTACAGTACAGTCTTTTTTATCTGTGGATAGGTTCCCTCTGTTATCAATGATTTTTTTT-AAAATGGTATGAGATCTAGGCGAGAGTCACTG 1071
 MAF4-C18 GTACACTGTGACTACAGTACAGTACAGTCTTTTTTATCTGTGGATAGGTTCCCTCTGTTATCAATGATTTTTTTT-AAAATGGTATGAGATCTAGGCGAGAGTCACTG 1070
 MAF4-515 GTACACTGTGACTACAGTACAGTACAGTCTTTTTTATCTGTGGATAGGTTCCCTCTGTTATCAATGATTTTTTTT-AAAATGGTATGAGATCTAGGCGAGAGTCACTG 1071
 MAF-615 GTACACTGTGACTACAGTACAGTACAGTCTTTTTTATCTGTGGATAGGTTCCCTCTGTTATCAATGATTTTTTTT-AAAATGGTATGAGATCTAGGCGAGAGTCACTG 1071
 MAF4-C179 GTACACTGTGACTACAGTACAGTACAGTCTTTTTTATCTGTGGATAGGTTCCCTCTGTTATCAATGATTTTTTTT-AAAATGGTATGAGATCTAGGCGAGAGTCACTG 1079

MAF4-569 AGCGCCAAACATGACCGGAGGACTATAGCTCTTACGATGCTTGGATACACAAAGTCTGCTGAGGATATATTTGAAATTTGGGTAATGTTGTCGCAATTTACTTGATCTTT 1191
 MAF4-C18 AGCGCCAAACATGACCGGAGGACTATAGCTCTTACGATGCTTGGATACACAAAGTCTGCTGAGGATATATTTGAAATTTGGGTAATGTTGTCGCAATTTACTTGATCTTT 1190
 MAF4-515 AGCGCCAAACATGACCGGAGGACTATAGCTCTTACGATGCTTGGATACACAAAGTCTGCTGAGGATATATTTGAAATTTGGGTAATGTTGTCGCAATTTACTTGATCTTT 1191
 MAF-615 AGCGCCAAACATGACCGGAGGACTATAGCTCTTACGATGCTTGGATACACAAAGTCTGCTGAGGATATATTTGAAATTTGGGTAATGTTGTCGCAATTTACTTGATCTTT 1191
 MAF4-C179 AGCGCCAAACATGACCGGAGGACTATAGCTCTTACGATGCTTGGATACACAAAGTCTGCTGAGGATATATTTGAAATTTGGGTAATGTTGTCGCAATTTACTTGATCTTT 1199

MAF4-569 TTTCTTTATGCAATCTTATTTGGTCAAAAGTGTGTGATAGTGTGAT 1311
 MAF4-C18 TTTCTTTATGCAATCTTATTTGGTCAAAAGTGTGTGATAGTGTGAT 1310
 MAF4-515 TTTCTTTATGCAATCTTATTTGGTCAAAAGTGTGTGATAGTGTGAT 1311
 MAF-615 TTTCTTTATGCAATCTTATTTGGTCAAAAGTGTGTGATAGTGTGAT 1311
 MAF4-C179 TTTCTTTATGCAATCTTATTTGGTCAAAAGTGTGTGATAGTGTGAT 1319

MAF4-569 ACAT-GATAAGTATGCTGTTAATAAGTATATTCACACAAAGTCTTCCCTGTTAGTAACTTTGGGCTCAGCCCGGCTCAATCATATTAATGTTGAAATTTGCTAAATG 1550
 MAF4-C18 ACATGATAAGTATGCTGTTAATAAGTATATTCACACAAAGTCTTCCCTGTTAGTAACTTTGGGCTCAGCCCGGCTCAATCATATTAATGTTGAAATTTGCTAAATG 1550
 MAF4-515 ACATGATAAGTATGCTGTTAATAAGTATATTCACACAAAGTCTTCCCTGTTAGTAACTTTGGGCTCAGCCCGGCTCAATCATATTAATGTTGAAATTTGCTAAATG 1530
 MAF-615 ACATGATAAGTATGCTGTTAATAAGTATATTCACACAAAGTCTTCCCTGTTAGTAACTTTGGGCTCAGCCCGGCTCAATCATATTAATGTTGAAATTTGCTAAATG 1550
 MAF4-C179 ACATGATAAGTATGCTGTTAATAAGTATATTCACACAAAGTCTTCCCTGTTAGTAACTTTGGGCTCAGCCCGGCTCAATCATATTAATGTTGAAATTTGCTAAATG 1559

MAF4-569 CTAACCTTTGCAACTTATCTACCTCAATTTTTCTCTGTGG 1669
 MAF4-C18 CTAACCTTTGCAACTTATCTACCTCAATTTTTCTCTGTGG 1669
 MAF4-515 CTAACCTTTGCAACTTATCTACCTCAATTTTTCTCTGTGG 1669

그림 73와 같이 대부분의 조기추대는 500 bp 정도의 밴드를 그리고 만기추대는 300 bp 정도의 밴드가 증폭되었으나 extra band도 증폭이 되는 경향을 보여 조기추대 특이적으로 증폭되는 프라이머를 작성하여 PCR를 시도하였다(그림 75 and 76). CCA1F x CCA1-2R 조합은 비교적 잘 맞게끔 PCR 증폭이 일어났으나 일부 만기추대의 경우 CCA1이 증폭되는 경향을 보였다(그림 76). 그러나 이렇게 증폭되는 것은 아주 만기 추대가 아님을 반영하는 것이었다. 그러나 CCA1F x CCA1-3R 조합에는 만기와 조기추대를 완벽하게 구분하고 있었다(그림 76). 이상과 같은 두 가지 프라이머 조합으로 조기와 만기 그리고 중간형질을 구분할 수 있을 것으로 예측된다.

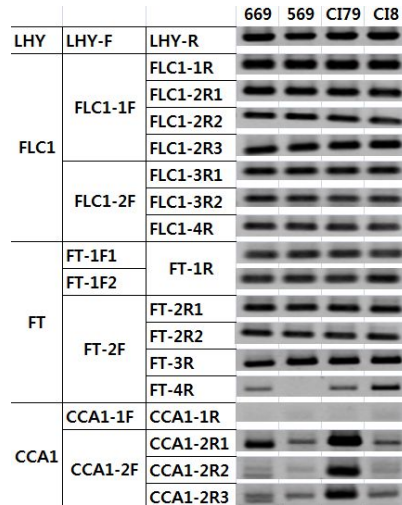


그림 72. PCR results of four different DNA samples

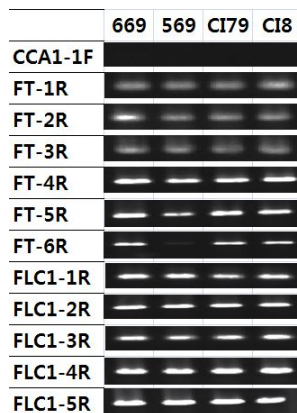


그림 73. PCR results of four different DNA samples using newly designed primers.

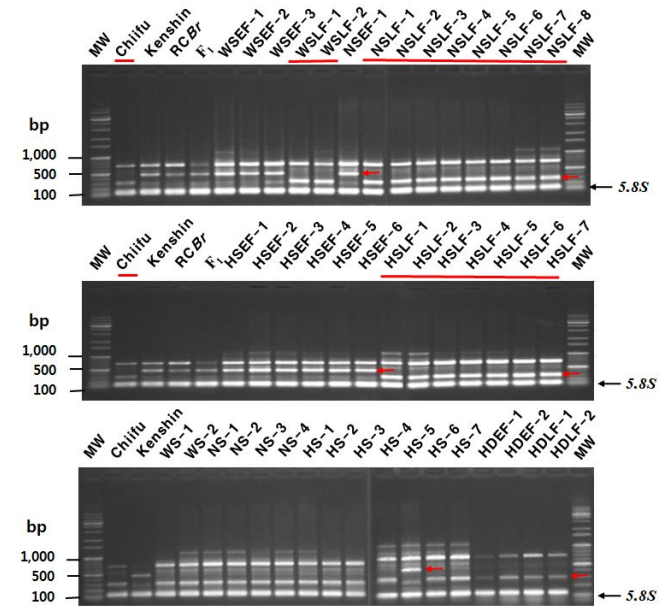


그림 74. PCR results of CCA1F x CCA1-1R primer set. WS, NS, HS, and HD represent Woori Seed Co., Nonghyup Seed Co., Hankook Seed Co., and Hyundae Seed Co., respectively. EF and LF represent early flowering and late flowering, respectively. RCBR for rapid cycle *Brassica rapa*, F1 for Kenshin x RCBr. Red arrows indicate specific band amplified. Red underline indicates absolute late flowering lines.

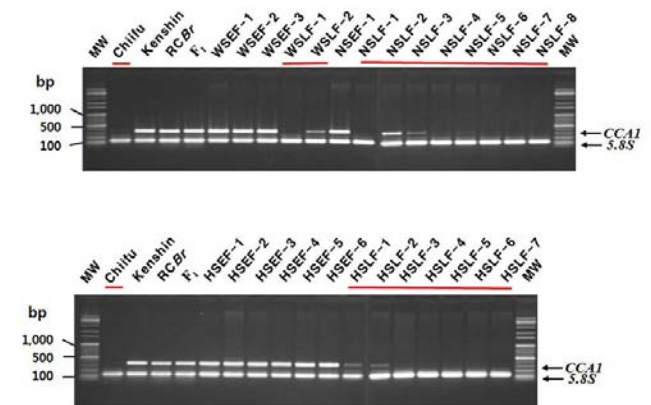


그림 75. PCR results of CCA1F x CCA1-2R primer set. Rest legend is same as described in 그림 73.

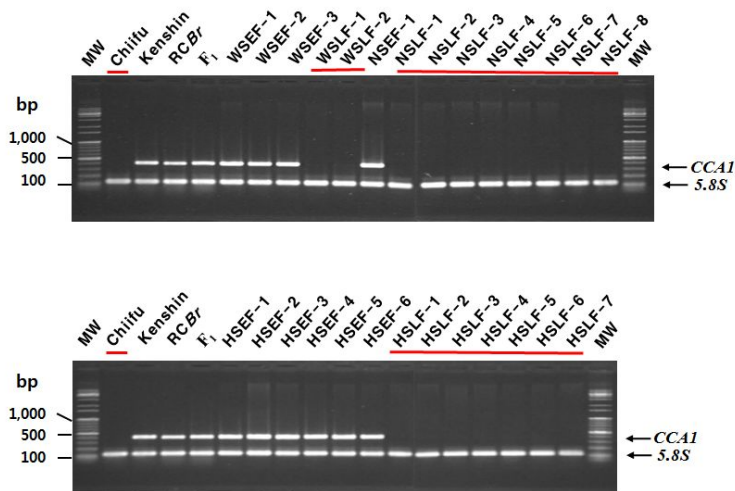


그림 76. PCR results of CCA1F x CCA1-3R primer set.
Rest legend is same as described in 그림 14.

5차년도에 CCA1서열을 이용한 마커 검정과 특허 출원을 수행하였으며, FLC1 유전자의 염기서열에 존재하는 SNP를 이용한 마커 개발과 특허출원도 5차년도에 수행하였으나, 그 결과는 특허출원부분에서 기술하고자 한다.

또한 CCA1 유전자와 FLC1 유전자의 염기서열 내용은 지면 관계상 상략하고자 하며, 논문으로 투고하였을 경우 NCBI에 등록할 예정이다. 특허 출원 관계로 논문을 작성할 수가 없었다.

4. 마커의 검정과 특허출원

특허내용의 경우 요약과 결과 및 논의만 소개하기로 한다.

가. 배추과 작물의 추대시기 판별용 마커 (출원번호: 10-2012-0028170, 출원일: 2012. 03. 20)

요약: 배추와 같은 엽채류 작물의 개화시기의 조절은 생산성 및 품질에 중요한 영향을 미치고, 재배시기의 선택에도 중요하다. 배추의 개화 또는 추대시기와 관련된 QTL 및 CAPS 마커가 보고된 바 있으나, 효율적인 마커는 없는 실정이다. 본 연구에서는 체내시계관련 유전자인 여러 내흔계 배추의 *BrCCA1*의 염기서열 분석을 통하여 PCR 마커를 개발함을 목표로 하였다. 염기서열 분석결과 조기추대 계통의 지놈 DNA 크기가 만기추대보다 140 bp정도 길었으며, 이는 3번 인트론(intron)의 크기에 따른 것이었다. 이를 근거로 최적의 PCR용 프라이머를 작성하고, 최적 PCR 조건을 확립하였다. 3번 인트론을 포함한 3번 엑손(exon)과 4번 엑손을 표적으로 3 세트의 PCR 프라이머를 작성하여 검정한 결과 3번과 4번 엑손에 보존된 서열(CCA1F x CCA1-R1)을 이용한 PCR 결과 지부와 권심 또는 만기추대계통과 조기추대계통 사이에 크기가 다른 DNA를 증폭할 수 있었으며, 조기추대에서만 존재하는 인트론 서열을 근거로 작성한 프라이머 세트(CCA1F x CCA1-R2, CCA1F x CCA1-R3)는 권심계열 즉 조기추대에서만 DNA를 증폭할 수 있었다. 특히 CCA1F x CCA1-R3 프라이머 조합을 이용하였을 경우 조기추대와 만기추대를 정확히 구분할 수 있었다. DNA 존재를 입증하는 5.8S 프라이머를 함께 넣고 PCR을 수행하였을 경우 한 번의 실험으로 조기추대와 만기추대를 구분할 수 있어 매우 효율적이었다. 이러한 결과는 여러 종묘회사에서 활용하고 있는 내흔계 배추를 이용하여 검증하였다. 그러나 F₁ hybrid인 시판종에 대한 평가는 사용한 모본의 실체를 알 수 없기 때문에 결론을 내리기가 어려웠다.

결과 및 논의

① 염기서열분석과 PCR 프라이머 작성

배추의 *CCA1* 게놈 DNA 분석은 RCB과 조기추대인 권심 내흔계와 만기추대인 지부 내흔계를 대상으로 우선 수행하였다. 단백질 합성 개시 코돈인 ATG부터 종료 코돈인 TGA까지 분석한 결과 RCB은 2,510 bp, 권심은 2,516 bp 그리고 지부는 2,367 bp로 조기추대보다 만기추대는 약 140 bp정도 짧았다(그림 77). 조기추대와 만기추대의 차이점은 3번째 인트론(intron)의 길이 때문이었으며(data not shown), 이는 추대시기와 연관이 있을 것이라는 것을 시사한다. 이를 좀더 증명하기 위하여 1번째 엑손(exon)과 4번째 엑손사이의 DNA를 여러 내흔계 배추로부터 클로닝하여 염기서열을 분석하였다(data not shown). 이 염기서열을 근거로 유연관계를 ClustalW2-Multiple Sequence Alignment 프로그램으로 분석한 결과 애기장대 *CCA1*을 중심으로 조기추대와 만기추대가 별도의 그룹으로 나타났다(그림 76). 이는 *CCA1* 유전자의 부분을 이용하여 추대관련 마커의 개발이 가능하며, 특히 3번째 인트론 그 표적이 될 것이라는 것을 시사한다. 흥미롭게도 RCB, 권심, CI79, Bn616 및 WSEF의 세 번째 인트론에 3개의 putative miRNA 표적서열이 존재하여(data not shown) *CCA1* 발현을 조절할 수도 있을 것이라는 것을 암시한다.

표 27. Summary of genomic sequences of *CCA1* from three reference inbred lines.

<i>CCA1</i>	E1	I1	E2	I2	E3	I3	E4	I4	E5	I5	E6	I6	E7	I7	E8	Total
<i>RCBr</i>	39	129	112	118	47	379	195	82	114	77	807	84	45	57	225	2,510
<i>Kenshin</i>	39	128	112	118	47	380	195	82	114	77	810	81	45	63	225	2,516
<i>Chiifu</i>	39	130	112	117	47	229	195	86	114	77	810	84	45	57	225	2,367

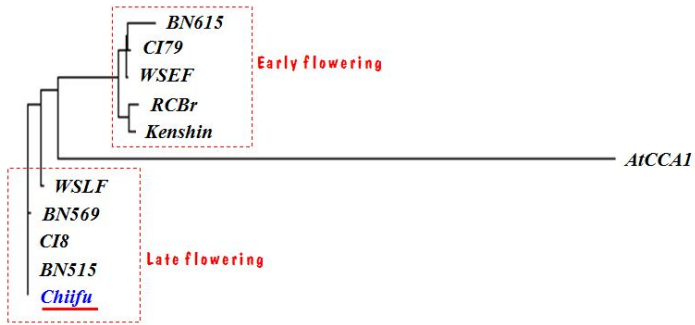


그림 77. Phylogenetic relationship of several inbred lines of Chinese cabbage. Map was drawn based on the sequences of exon 1-4 of *CCA1*. Descriptions for samples are identical to those of Table 1. AtCCA1 indicates *Arabidopsis thaliana* *CCA1* sequence obtained from NCBI D/B.

개화 및 추대마커를 개발하기 위해서 3번째 엑손(exon)과 3번째 인트론 및 4번째 엑손서열을 비교하여 PCR용 프라이머를 제작하였다(표 28, 그림 78 and 79). 프라이머의 TM 값은 59도로 맞추고, CCA1F x CCA1-R1은 조기추대와 만기추대 모두를 증폭하되 조기추대의 크기가 길게 만들었으며, CCA1F x CCA1-R2와 CCA1F x CCA1-R3는 조기추대의 DNA만 증폭하도록 만들었다. 따라서 만기추대의 경우 DNA가 존재하지 않은 것인지 존재하는데 증폭되지 않은 것인지를 구분하기 위하여 5.8S 프라이머 세트를 동시에 활용할 수 있도록 제작하였다.

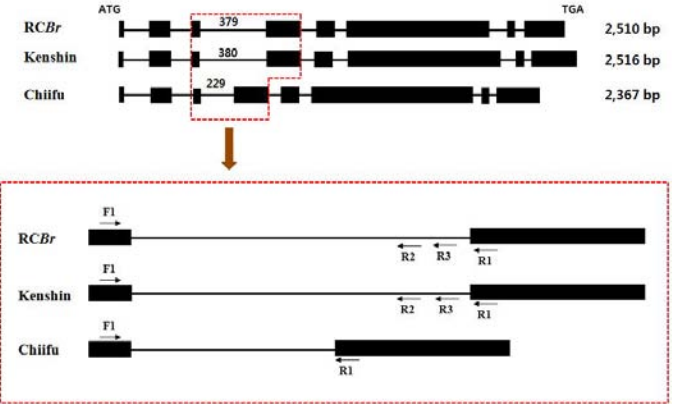


그림 78. Organization of genomic DNA of *CCA1* genes from three reference plants(upper panel) and primer positions(bottom panel). Black boxes and lines indicate exons and intron respectively.

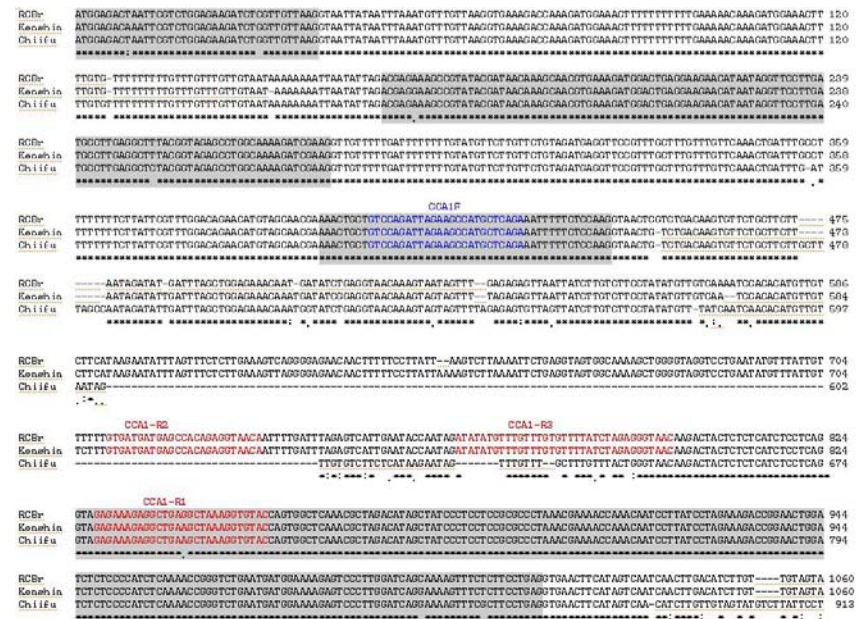


그림 79. Nucleotide sequences of *CCA1* genes from exon 1 to exon 4. Shade regions indicate exons and primers are marked.

표 28. Primer name and sequences used in this study.

Primer Name	Sequences (5'→3')	Remarks
CCA1F	GTCCAGATTAGAAGCCATGCTCAGA	Forward primer
CCA1-R1	GTACACCTTTAGCTTCAGCCTCTTTCTC	Reverse primer
CCA1-R2	TGTTACCTCTGTGGCTCATCATCAC	Reverse primer
CCA1-R3	GTTACCTCTAGATAAAACACAAACAACATATAT	Reverse primer
5.8S-f	ACGACTCTCGGCAACGG	Forward primer
5.8S-r	GGGCGCAACTTGCGTTCAAA	Reverse primer

② PCR에 의한 검증

마커 개발을 위한 부위의 증폭여부를 알아보기 위하여 대표적인 내흔계 DNA (지부, 권심 및 RCB)와 CCA1F x CCA1-R1 프라이머 세트를 이용하여 PCR을 수행하였다(그림 80). 그림과 같이 조기추대(권심과 RCB)에서는 440 bp 정도의 밴드가 증폭되는데 반해 만기추대(지부)에서는 300 bp 정도의 밴드가 증폭되었다.

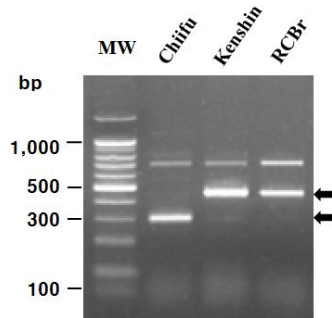


그림 80. PCR results using CCA1F x CCA1-R1 primer set. Arrows indicate expected bands of amplified CCA1 DNA.

수많은 시행착오를 거듭한 끝에 재료 및 방법에 언급한 PCR 조건을 확립하고, 대표적인 배추 내흔계와 국내 몇 종묘회사에서 사용하고 있는 내흔계 배추(표 27)을 이용하여 세 종류의 프라이머 세트에 PCR을 수행하였다. 이때 DNA 존재를 확인하기 위해서 5.8S 프라이머 세트도 동시에 넣고 PCR을 수행하였다. 그 결과 CCA1F x CCA1-R1 프라이머 조합에서는 조기추대(권심계)와 만기추대(지부계) DNA가 다른 크기로 증폭되었다. 물론 위쪽에 비 특이적 밴드가 증폭은 되었지만 결과해석에는 지장을 초래하지 않았다(그림 81). CCA1F x CCA1-R2 프라이머 조합을 이용한 경우 조기추대는 모두 증폭이 되었고, 만기추대는 대부분 증폭이 되지 않았으나 일부에서 증폭이 일어나 활용이 어렵다는 결론을 내릴 수 있었다(그림 82). 그러나

CCA1F x CCA1-R3 프라이머 조합에서는 조기추대와 만기추대를 정확히 구분할 수 있었다(그림 83). 즉 조기추대에는 증폭이 되고, 만기추대에서는 되지 않았다. 그러나, 조기추대와 만기추대의 DNA가 혼합된 경우에는 조기추대로만 해석될 위험성이 존재하여, CCA1F x CCA1-R1 프라이머 조합의 결과를 참고해야 될 것으로 사료된다. 이상과 같이 CCA1F x CCA1-R3 프라이머 조합을 이용하여 내흔계 배추의 조기추대와 만기추대를 명확히 구분할 수 있었다.

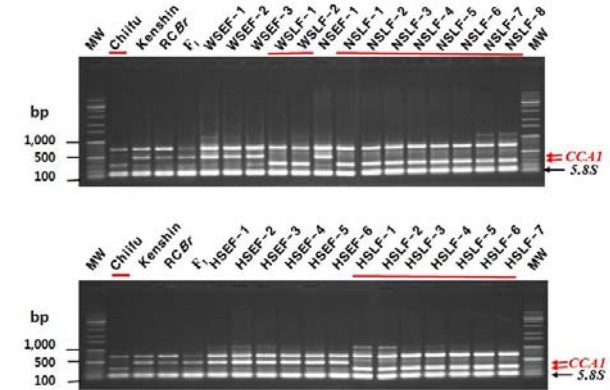


그림 81. PCR results of CCA1F x CCA1-R1 primer set. Samples are same as described in 표 1. Red lines indicate late flowering lines. F1 represents hybrid between Kenshin and RCB.

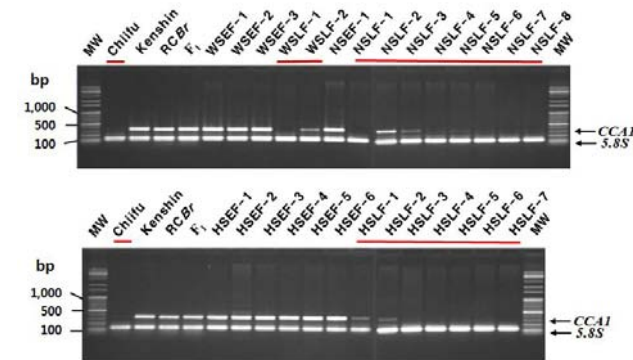


그림 82. PCR results of CCA1F x CCA1-R2 primer set. Samples are same as described in 표 1. Red lines indicate late flowering lines. F1 represents hybrid between Kenshin and RCB.

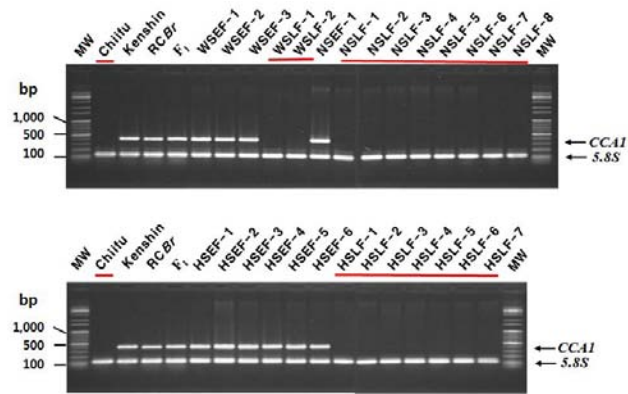


그림 83. PCR results of CCA1F x CCA1-R3 primer set. Samples are same as described in 표 1. Red lines indicate late flowering lines. F₁ represents hybrid between Kenshin and RCB.

내훈계 배추의 개화시기와 PCR 마커가 100% 일치하기 때문에 시판하는 F₁ 품종에 대한 연구를 수행하였다. 우선, 2000년대 초에 재배되던 품종과 일부 최근 품종(표 28)을 가지고 수행한 결과, 고랭지여름(Goranggiyurm)를 제외하고는 모두 만기추대를 대변하는 DNA 밴드가 존재하였고, 조기추대를 나타내는 밴드는 중국녹색배추(*Br. ssp. chinesis*)와 여름재배용 평창하보와 고랭지여름 및 2000년 이전에 육성한 흑진주와 흑장미 품종에서 나타났다(그림 84).

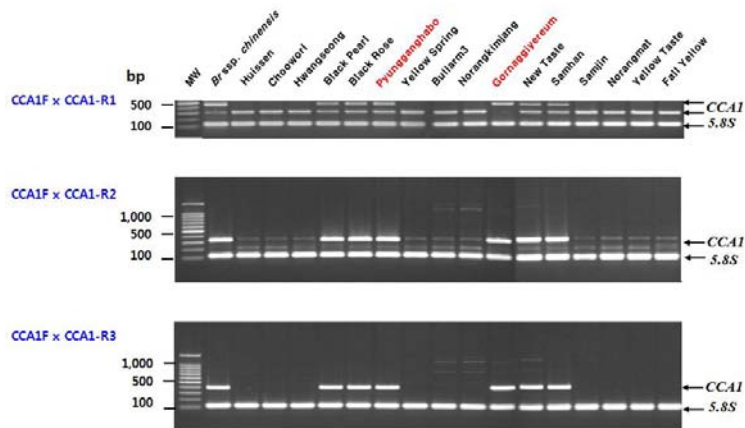


그림 84. PCR results of F₁ cultivar-1 using CCA1F x CCA1-R1-3 primer sets. Samples are same as described in 표 28.

계절에 따른 재배 품종은 추대시기가 중요한 경우가 있다. 즉, 월동배추는 재배기간이 길어서 만기추대가 선호되고, 봄배추는 장일조건이기 때문에 만기추대가 역시 선호된다. 계절에 따라 널리 재배되고 있는 시판 품종 중에서 5가지씩을 선택하여 추대의 경향을 분석하였다(그림 85). 가을재배 품종에서는 조기추대 DNA가 없었으나, 봄, 여름, 월동재배 품종에는 조기추대와 만기추대 DNA가 섞여 있었다. 특히하게 월동배추는 모두 조기추대를 대변하는 DNA를 가지고 있었다.

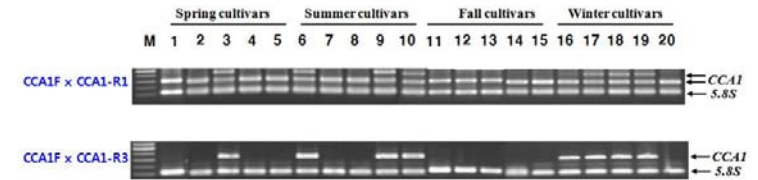


그림 85. PCR results of F₁ cultivar-II using CCA1F x CCA1-R1 and R3 primer sets. Samples are same as described in 표 27.

이상의 결과는 대부분이 결구배추를 가지고 실험한 것이다. 반결구형(semiheading Chinese cabbage)의 경우를 알아보기 위하여 시판되고 있는 엇같이배추를 가지고 실험을 수행하였다(그림 86). 청정체와 모든 엇같이배추에서 조기추대 밴드가 증폭되었으며 일부는 만기추대 DNA도 동시에 가지고 있었으나 두 품종에서는 만기추대 밴드가 나타나지 않았다.

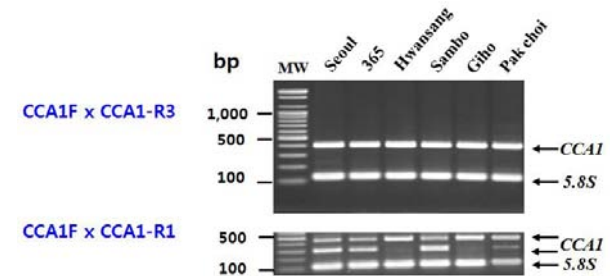


그림 86. PCR results of Eotgari Baechu and Pakchoi using CCA1F x CCA1-R1 and R3 primer sets. Samples are same as described in 표 28.

결론적으로 CCA1F x CCA1-R3 프라이머 조합은 조기추대와 만기추대를 구별하는 마커가 될 수 있으며, CCA1F x CCA1-R1 프라이머 조합은 조기추대계통이 만기추대를 대변하는 DNA도 동시에 가지고 있는지를 판단할 수 있도록 하였다. 그러나 이러한 결과는 내훈계에서는 문제가 없으나, F₁ 시판종의 추대를 판정하는 데는 어려움이 존재한다.

나. 배추속 작물의 개화시기 관별용 조성물 (출원번호: 10-2012-0061704, 출원일: 2012. 06. 08)

요약: 배추와 같은 엽채류 작물의 개화시기의 조절은 생산성 및 품질에 중요한 영향을 미치고, 재배시기의 선택에도 중요하다. 배추의 개화 또는 추대시기와 관련된 QTL 및 CAPS 마커가 보고된 바 있으나, 아직까지 실용적인 마커는 없다. 본 연구에서는 반수체배가계통(DH line)인 만기추대 지부(Chiifu)와 조기추대 권심(Kenshin) 및 내혼계 조기추대배추 (RCBr: rapid cycling *Brassica rapa*) 그리고 여러 종자회사와 유전자 은행으로부터 분양받은 배추를 소재로, 개화억제유전자로 알려진 *FLC1*(*FLOWERING LOCUS C 1*)의 유전자를 클로닝하고 염기서열 분석을 통하여 개화시기와 연관된 SNP(single nucleotide polymorphism)를 찾아내고 이를 이용하여 PCR용 프라이머를 제작하고 SNP를 탐지할 수 있는 조건을 확립하였다. 그 결과 exon 6와 intron 6가 분리되는 스플라이싱 부위를 탐지할 수 있는 프라이머 7세트 (3개의 조기추대 SNP 탐지 프라이머[EF-F1, EF-F2, EF-F3]와 4개의 만기추대 SNP탐지 프라이머 [LF-F1, LF-F2, LF-F3, LF-F4])를 개발하였으며, 두 개의 SNP를 근거로 제작한 조기추대 프라이머 (KFLC1F x KFLC1R)와 만기추대 프라이머(CFLC1F x CFLC1R)를 개발하였다. 이들 프라이머 세트와 제시한 PCR 조건을 활용하여 개화시기와 연관된 SNP를 편리하게 구분할 수 있어 개화마커로 널리 활용될 것이다.

재료 및 방법

① 식물재료

FLC1 유전자의 해독시작서열(ATG)부터 종료서열(TAG)까지의 증폭을 위한 배추(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)의 재료는 반수체배가계통(DH line) 지부(Chiifu)와 권심(Kenshin) 및 내혼계 rapid cycle *Brassica rapa* (RCBr)를 이용하였다 (표 29). *FLC1* 유전자의 게놈 DNA크기가 길기 때문에 그림 87과 같이 여러 절편으로 나누어 증폭하였다. 개화와 관련된 SNP를 집중적으로 탐색하기 위하여 사용한 18개의 배추 시료는 표 29와 같으며, 사용한 프라이머의 위치는 그림 88과 같다.

표 29. List of *B. rapa* accessions used in this study

Symbol	Type	Source	Flowering SNPs
Chiifu	DH line	BRB	L
Kenshin	DH line	BRB	E
RCBr	Inbred line	BRB (from Wisconsin Stock)	E
CN-1	DH line	CARES (from China)	E
CN-3	DH line	CARES (from China)	E
CN-5	DH line	CARES (from China)	E
CN-8	DH line	CARES (from China)	E
JP-1	F ₁ cultivar	BRB (from Japan)	L
JP-2	F ₁ cultivar	BRB (from Japan)	L
JP-5	F ₁ cultivar	BRB (from Japan)	E +L
KOR-1	Inbred line	Woori Seed Co.	L
KOR-3	Inbred line	..	
KOR-4	Inbred line	..	
KOR-5	Inbred line	..	E
KOR-8	Inbred line	..	
KOR-9	Inbred line	..	
KOR-10	Inbred line	..	L
KOR-12	Inbred line	Nonghyup Seed Co.	E
KOR-13	Inbred line	..	L
KOR-14	Inbred line	..	
KOR-15	Inbred line	..	
KOR-30	Inbred line	..	
KOR-31	Inbred line	..	L
KOR-32	Inbred line	..	
KOR-34	Inbred line	Hankook Seed Co.	E
KOR-37	Inbred line	..	
KOR-38	Inbred line	..	
KOR-56	Inbred line	..	
KOR-57	Inbred line	..	
KOR-58	Inbred line	..	L
KOR-59	Inbred line	..	
Caixin	Inbred line	<i>B. rapa</i> ssp. <i>parachinensis</i> (BRB)	E
Pak choi	F ₁ cultivar	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i> (Asia Seed Co.)	E

* CARES: Chungcheongnam-do Agricultural Research & Extension Services

* BRB = Brassica Resource Bank, Chungnam National University

* Flowering SNPs: E = early flowering, L = late flowering

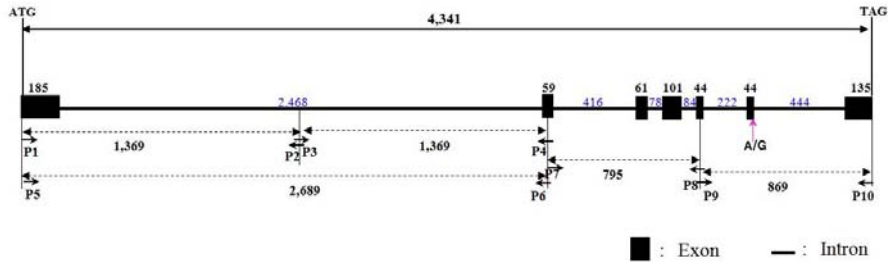


그림 87. Genomic organization of *B. rapa* *FLC1* and primers position for cloning. Numbers represent nucleotide sequence as bp. Primer sequences are follows: P1 = P5: ATGGGRAGRAARAAACTWGARATCAAGC, P2: CTCCATGAAGAAAGGTTTGGTGA, P3: CCACCTCACAAAACCTTTCTTC, P4 = P6: GATCATCATCATGTTGCTTCCATATC, P7: CCTTGATCGATATGAAAAGCAACA, P8: GGTTCGACAAGCTTCAACATTAG, P9: GAAC TAATGTTGAAGCTTGTGCGAGAAC, P10: CTATAAAAATTCCACTCCCCTAACCC.

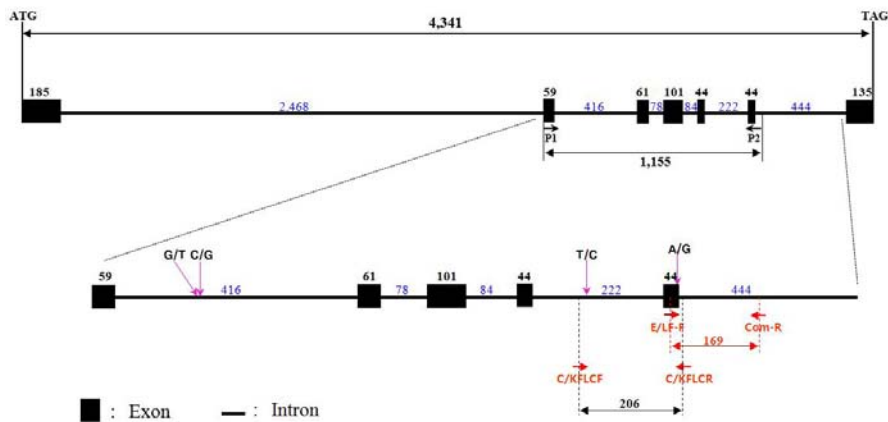


그림 88. Schematic illustration of cloning strategy between exon 2 and intron 6, and SNP primer positions. Red arrows indicate primer position and direction. Numbers represent nucleotide sequences as bp. Primer names were written under the primer symbol. Four SNPs on the pink arrows were represented early flowering/late flowering nucleotides. P1 = 5'-CCTGGTCAAGATCCTTGATCGATATGG, P2 = 5'-CCAATCGGATCGAAACTTAAACCGTAAC

② DNA 추출과 유전자 클로닝

식물로부터 DNA는 추출은 액체질소와 막자사발을 이용하여 곱게 간 분말과 DNeasy®Plant Mini kit(QIAGEN Inc.)를 이용하여 수행하였다. 이용한 프라이머 서열은 그림 1과 2dml 설명과 같으며, PCR은 에러를 방지하기 위하여 Exi Taq 중합효소(Takara Inc.)를 이용하여 수행하였다. PCR은 혼합물을 94℃에서 5분 변성을 시킨 후 94℃ 30초 - 52℃ 30초 - 72℃ 3분을 30 사이클 돌린 후 72℃에서 7분간 반응시켰다. PCR 산물은 1% 아가로스젤로 전개하고, 긴 파장의 UV하에서 밴드(band)를 절단하였다. 아가로스젤로부터 DNA 용출(elution)은 MEGA-Spin (iNTRON Biotech., Inc.) kit를 이용하여 수행하였고, 분리한 DNA는 T&A Cloning Kit(RBC Inc.)를 이용하여 TA-벡터에 삽입하고 대장균에 형질전환하였다. 형질전환된 대장균으로부터 플라스미드 DNA는 DNA-Spin™ Plasmid DNA Purification Kit (iNTRON Biotech., Inc.)를 이용하여 순수분리하였다.

③ 염기서열분석

FLC1 유전자의 염기서열 분석하기 위하여 계통마다 적어도 5-10개의 클론에 해당되는 플라스미드 DNA를 마크로젠에 보내어 염기서열을 양방향에서 읽었다. 서열을 비교 한 후 대표적인 서열을 찾아 사용하였으며, 유전자간의 상관관계는 ClustalW2-Multiple Sequence Alignment 프로그램을 이용하여 분석하였다.

④ SNP 마커 개발을 위한 프라이머 작성, PCR 조건 및 전기영동

프라이머는 두 부분으로 나누어 제작하였다. 하나는 6번째 exon과 6번째 intron의 splicing site의 SNP(A/G)를 이용한 것이고, 다른 하나는 5번째 intron에 있는 SNP (T/C)와 위 splicing site를 동시에 이용하는 것이었다.

1) Splicing site를 이용한 primer의 작성은 지부, 권심 및 RCB의 서열을 이용하여 reverse primer (5'-AGGCTCCCCAGATAATATGT)는 공통으로 이용하였으며, forward primer는 5'-ATGTTTTGGCTAGCCAGR서열을 근거로 random primer를 지부특이 및 권심 특이가 되도록 10 세트씩 작성하였다 (그림 89). 최적의 PCR 조건을 확립하기 위하여 annealing 온도를 40℃에서 65℃까지 다양하게 변화시켰으며, 반응 횟수 (또는 사이클)도 15에서 35까지 시도하여 다음과 같은 최적 조건을 찾았다. PCR조건은 94℃에서 5분, 94℃ 30초 - (40℃-60℃) 30초 - 72℃ 30초를 15-35사이클 돌린 후 72℃에서 7분간 반응시켰다.

2) 두 개의 SNP를 이용한 경우는 그림 90과 같이 두 세트로 작성하였으며 (KFLC1F: 5'-AGGTCGCAAGCCTATCTCT, KFLC1R: 5'-CCGTAACAAAAAACTTTAGTTAT, CFLC1F: 5'-AGGTCGCAAGCCTATCTCC, CFLC1R: 5'-CCGTAACAAAAAACTTTAGTTAC). 권심특이 프라이머는 조기추대를 지부특이 프라이머는 만기추대를 증폭하는 프라이머이다. 최적의 PCR 조건을 확립하기 위하여 annealing 온도를 40℃에서 65℃까지 다양하게 변화시켰으며, 반응 횟수 (또는 사이클)도 15에서 35까지 시도하여 다음과 같은 최적 조건을 찾았다. PCR조건은 94℃에서 5분, 94℃ 30초 - (40℃-60℃) 30초 - 72℃ 30초를 15-35 사이클 돌린 후 72℃에서 7분간 반응시켰다.

결과 및 논의

① 전체 염기서열분석과 SNP 탐지 PCR 프라이머 작성

8개의 프라이머를 이용하여 ATG 개시코돈과 TAG 정지코돈을 포함하는 4,341(지부와 RCB) bp와 4346(권심) bp의 서열을 증폭하였다(그림 90). 기존에 개화시기의 연관이 있는 SNP로 알려진 곳이 4군데(검은색 바탕에 흰색글자)가 존재하였으며, 개화시기가 늦은 지부와 개화시기가 빠른 RCB 및 권심과 다름을 알 수 있었다. RCB과 권심은 동일한 개화 SNP를 나타내었다. 특히 6번째 exon과 6번째 intron이 스플라이싱 되는 부분의 서열이 지부는 G로 되어 있어 정상적인 스플라이싱이 일어날 것이며, RCB과 권심은 A로 되어있어 스플라이싱이 되지 않을 것으로 예측된다. 이 부분을 탐지하는 PCR 프라이머를 작성하였다. 정방향 프라이머는 이 exon-intron 스플라이싱 부분을 포함한 exon6서열을 기본으로 서열을 무작위 N(A, T, G, C)으로 바꾸었으며 역방향 프라이머는 intron 6의 서열을 이용하여(그림 91) 169 bp가 조기추대 SNP특이 또는 만기추대 SNP특이적으로 증폭되도록 고안하였다(그림 88 and 91). 조기추대와 만기추대에 대해서 각각 10 개의 정방향 프라이머를 작성하여 PCR로 테스트하였다(data not shown).



그림 89. Primer sequence and position using the splicing site SNP.

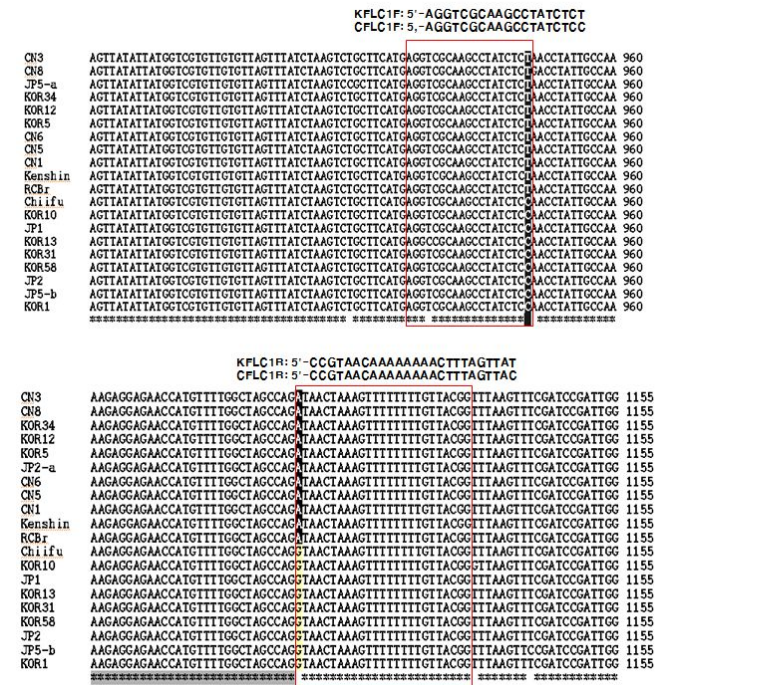
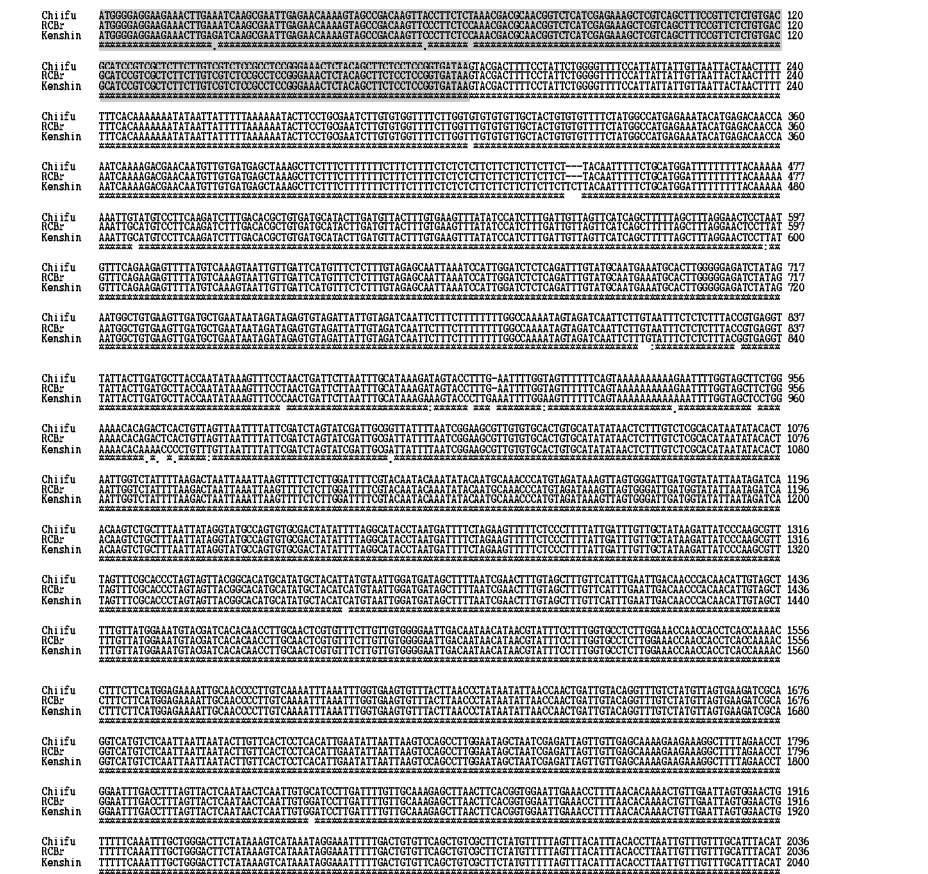


그림 90. Primer sequences and positions for two SNPs. KFLC1F = Kenshin-specific FLC1 forward primer, CFLC1R = Kenshin-specific FLC1 reverse primer, CFLC1F = Chiifu-specific FLC1 forward primer, CFLC1R = Chiifu-specific FLC1 reverse primer.



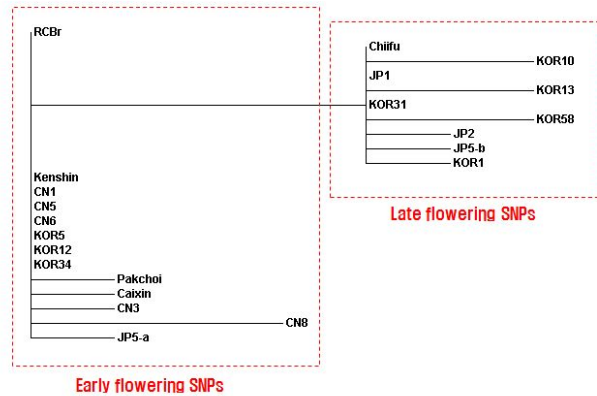


그림 93. Neighbor-joining tree representing phylogenetic relationship among *FLC1* from various sources of Chinese cabbage. The alignment of amino acid sequences was performed using CLUSTAL W(1.82) multiple sequence alignment program.

③ SNP 탐지를 위한 PCR 결과

PCR 실험은 스플라이싱 부위 SNP를 이용한 경우는 어느 프라이머 세트가 어느 조건에서 작용하는가에 초점을 맞추었고, 두 개의 개화 SNP를 이용한 경우는 PCR 조건을 확립하는데 초점을 맞추었다.

1) 스플라이싱 부위(splicing site)에 존재하는 SNP를 이용한 경우, 조기개화 SNP와 만기개화 SNP를 탐지할 수 있는 전방향 임의 프라이머(forward random primer)를 각각 10씩을 작성하여 40°C에서 60°C사이에서, 20-35 cycle 사이에서 다양한 조합으로 PCR를 수행한 결과 표 31과 같은 프라이머에서 결과가 도출되었다(그림 94 and 95). PCR 프라이머와 조건은 조기개화 SNP를 정확히 증폭하는 3개의 프라이머(EF-F1, -F2, F-3라 명함)만 PCR 결과를 내었으며, annealing 온도는 45-47°C, 23-30 cycle이 최적이었다(표 2). 이러한 조건에서 SNP를 정확히 판단할 수 있었다(그림 93 and 94). 만기추대 SNP를 탐지하는 실험에서는 10개의 프라이머 중에서 4개의 프라이머(LF-F1-4)에서 결과가 도출되었으며 역시 annealing 온도는 45-47°C, 25-30 cycle이 최적이었으며(표 31), 이 조건에서 만기추대 SNP를 정확히 탐지할 수 있었다(그림 93 and 94).

2) 두 개의 개화 SNP (Intron 5에 있는 개화시기관련 SNP와 6번째 exon과 6번째 intron이 스플라이싱 되는 부분의 SNP)를 이용하여 조기추대 SNP와 만기추대 SNP를 구분하는 PCR 프라이머를 작성하여 PCR 수행한 결과 PCR 조건은 표 31과 같으며, 결과는 그림 93 및 94와 같다. 비교적 높은 annealing 온도(56°C 또는 58°C)를 이용하여 조기추대 SNP(KFLC1F x KFLC1R)는 단일밴드로 증폭이 되었으나, 만기추대 SNP(CFLC1F x CFLC1R)는 희미한 밴드가 약간 위에 나타났으나 SNP 밴드 판별에는 무리가 없었다(그림 95).

표 31. PCR results using the splicing site SNP. EF-F: earl flowering forward primer, LF-F: late flowering forward primer, Com-R: common reverse primer.

Forward Primers		Reverse Primer		PCR condition	
Name	Sequence	Name	Sequence	Annealing temperature	Cycles
EF-F1	5'-ATGTTTTNNNTAGCCAGA	Com-R	5'-AGGCTCCCCAGATAATATGT	47°C	23
EF-F2	5'-ATGNTNNNTAGCCAGA			45°C	30
EF-F3	5'-ATGTTTTNNNNGCCAGA			47°C	30
LF-F1	5'-ATGNTNNNTAGCCAGG			47°C	32
LF-F3	5'-ATGNTNNNTAGCCAGG			47°C	32
LF-F4	5'-ATGTTNNNTAGCCNGG			45°C	30
LF-F5	5'-ATGTTTTNNNNGCCAGG			47°C	25

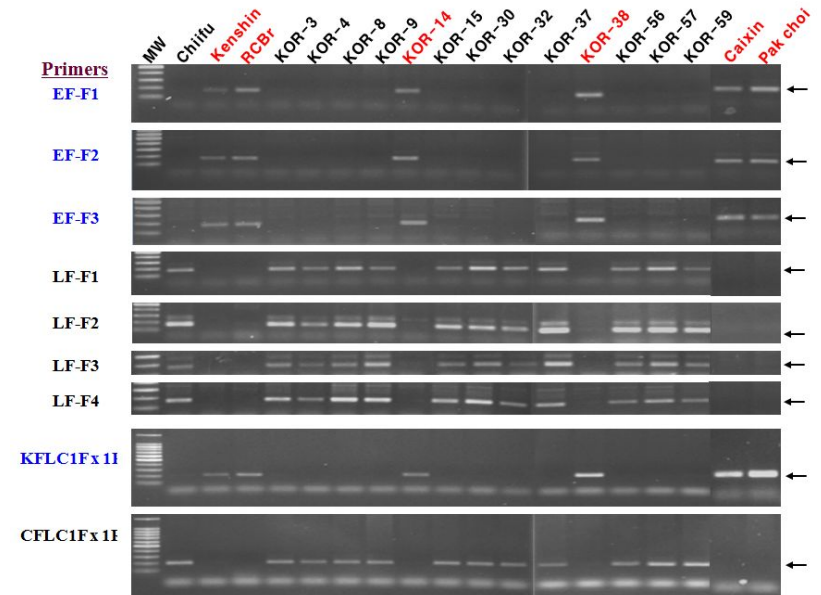


그림 94. PCR results using splicing site SNP and two SNP-derived primers sets. PCR conditions were described in Table 2 and 3. Electrophoresis was carried out using 1.5 % agarose gel. Arrows indicate the expected bands.

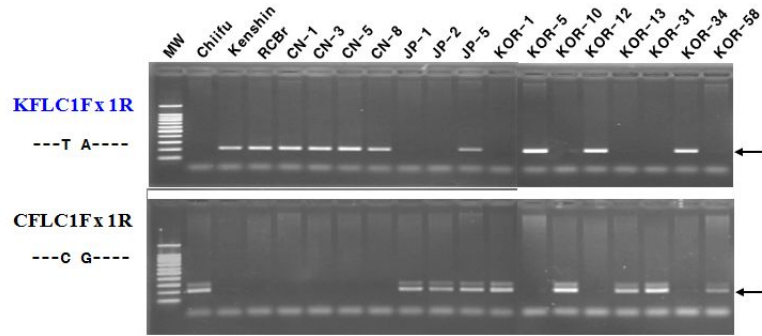


그림 95. PCR results of two SNP-derived primers sets. PCR conditions were described in 표 3. Electrophoresis was carried out using 1.5 % agarose gel. Arrows indicate the expected band. c

이상과 같은 프라이머와 PCR 조건을 이용하면, 개화시기와 관련있는 SNP를 간단하고 저렴하게 탐지하여 육종에 크게 도움이 될 것으로 판단한다.

제32절 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구

1. 유전자원의 수집 및 특성검정

1차년도 17점, 2차년도 27점, 3차년도 22점 등 총66점의 유전자원을 수집 및 특성검정을 실시하였으며 이중 우수한 형질을 보유한 품종은 육성소재로 이용하였다.

표 1. 1차년도(2007-2008) 유전자원 수집 및 특성검정 내역

No	BN	품종명	엽색 ①	노균병 ②	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	석회 결핍증 ③	붕소 결핍증 ④	중록 두께 ⑤	내엽색 ⑥
1	08-2	춘팡	5	5	28.0	17.5	6.2	4	5	2	5
2	08-3	춘황	4	4	28.5	17.5	6.0	5	5	2	5
3	08-4	진청	4	4	27.5	18.0	6.0	4	3	2	5
4	08-8	CR농심	3	5	29.5	17.5	20.0	3	5	3	5
5	08-34	CR장군	4	5	30.0	19.0	15.0	4	5	3	4
6	08-35	CR강타	4	4	28.0	18.5	20.0	4	3	3	5
7	08-37	노랑관동	4	4	27.0	18.0	10.0	4	4	3	4
8	08-40	야기백채	2	3	33.0	16.0	30.0	2	2	2	1
9	08-41	야기2호	2	3	35.0	18.0	26.0	3	2	2	1
10	08-42	미니백채	3	4	25.0	17.0	15.0	5	5	3	4
11	08-43	경도3호	3	4	28.0	18.0	19.5	3	5	2	2
12	08-44	kikokuru65	5	5	30.0	18.0	30.0	5	5	2	5
13	08-46	금봉	4	4	29.5	19.0	6.0	3	3	3	5
14	08-48	경춘	3.5	5	28.5	18.0	9.0	5	5	3	5
15	08-50	춘정	4	5	30.0	18.0	9.5	4	3	3	3
16	08-52	춘천	4	5	30.0	18.0	10.0	5	5	3	5
17	08-53	춘명	4	5	29.5	18.0	5.0	5	5	3	5

표 2. 2차년도(2008-2009) 유전자원수집 및 특성검정 내역

No	BN	품종명	엽색 ①	노균병 ②	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	석회 결핍증 ③	붕소 결핍증 ④	중독 두께 ⑤	내엽색 ⑥
1	09-252	CR강산	4	4	27.0	17.0	3.5	4	4	3	2
2	09-253	청록	3	4	29.0	17.0	3.5	4	2	1	2
3	09-255	J001	3	3	30.0	15.0	2.5	4	1	1	3
4	09-256	DT20	3	4	29.0	17.0	3.0	3	5	1	5
5	09-257	CR요시마사	3	4	28.0	18.0	3.3	3	5	2	5
6	09-258	골든벨	4.5	4	28.0	17.0	3.0	4	5	1	5
7	09-259	그린골드	3	3	30.0	17.0	3.0	4	5	3	5
8	09-260	CR노랭이봄	4	3	30.0	18.0	3.0	4	5	3	5
9	09-261	맛집삼	4	4	25.0	16.0	3.0	2	5	2	5
10	09-262	국금	2	2	30.0	18.0	4.0	3	2	3	1
11	09-264	CR농심	4	4	30.0	17.0	3.0	3	4	2	5
12	09-265	새론삼	4	5	26.0	16.0	4.0	4	4	2	5
13	09-266	겨울명품	4	5	35.0	19.5	3.0	4	4	4	5
14	09-267	추광	5	4.5	29.0	18.0	3.0	5	4	1	5
15	09-268	황황85	4	5	35.0	18.0	4.0	4	4	4	5
16	09-269	황황80	4	5	33.0	20.0	3.5	4	5	5	5
17	09-270	황황75	4	3	29.0	17.0	3.0	4	5	2	5
18	09-272	CR천승80	4	4	33.0	18.0	5.0	3	5	2	5
19	09-273	CR금선	4	4	34.0	17.0	3.5	4	5	1	5
20	09-274	야기백채65	2	3	30.0	17.0	4.0	3	5	5	1
21	09-275	우마이	2	3	30.0	17.0	3.0	3	5	5	1
22	09-284	CR산촌	3	3	27.0	15.0	2.5	4	3	1	5
23	09-285	금춘	2	3	30.0	18.0	2.5	4	5	2	5
24	09-286	수춘	3	3	31.0	16.0	2.5	4	3	1	5
25	09-287	금봉2호	3	3	31.0	16.5	3.5	4	5	1	5
26	09-288	영광	4	4	27.0	15.0	3.0	5	5	1	5
27	09-289	대통	5	5	24.0	15.0	3.0	4	5	1	5

표 3. 3차년도(200-2010) 유전자원수집 및 특성검정 내역

No	BN	품종명	엽색 ①	노균병 ②	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	석회 결핍증 ③	붕소 결핍증 ④	중독 두께 ⑤	내엽색 ⑥
1	10-245	여름3호	3	3	29.0	17.0	5.5	4	4	4	1
2	10-246	여름4호	2	3	28.0	17.0	6.5	3	2	3	2
3	10-247	55호	5	4	31.0	16.0	6.0	5	2	2	3
4	10-248	남연6호	3	3	25.0	16.0	5.0	3	5	2	2
5	10-249	여름통1호	2	3	26.0	16.0	9.5	3	3	3	3
6	10-250	춘북황	4	4	28.0	17.0	3.0	4	5	3	5
7	10-251	TI-147	4	4	29.0	18.0	4.0	4	5	5	5
8	10-252	山地王2號	4	5	30.0	18.0	5.0	4	5	3	5
9	10-253	BK167	5	4	30.0	15.0	5.0	2	5	2	3
10	10-254	BK166	4	3	28.0	18.0	5.5	3	2	3	5
11	10-255	BK165	4	4	28.0	14.0	4.5	3	4	4	3
12	10-256	BK164	5	5	45.0	16.0	3.0	4	4	3	2
13	10-257	BK163	5	5	35.0	16.5	6.0	4	4	3	3
14	10-39	金峰3호	4	4	28.0	17.5	7.8	4	5	2	5
15	10-40	KC-2	5	4	28.0	18.3	7.5	4	3	3	5
16	10-41	SC-2	3	5	27.0	17.3	11.5	3	5	3	5
17	10-42	品冠76	5	5	28.0	17.0	7.1	5	5	4	5
18	10-43	乾BH1	5	5	26.0	17.5	7.1	3	2	1	5
19	10-44	春-	5	5	25.0	16.5	6.5	3	2	1	5
20	10-45	건리58	3	3	30.0	18.5	14.0	2	2	4	2
21	10-46	춘신	4	4	27.5	17.5	14.5	2	2	3	5
22	10-47	춘양	5	3	23.5	16.5	6.7	5	5	4	5

①엽색; 1(연록)~5(농록), ②노균병; 1(약)~5(강), ③석회결핍증; 1(약)~5(강), ④붕소결핍증; 1(약)~5(강), ⑤중독두께; 1(얇음)~5(두꺼움), ⑥내엽색; 1(백색)~5(노랑)

2. 계통육성 및 뿌리혹병 검정

가. 계통육성

(1) 소개육성용 내흔계 작성

2007년 가을 새로운 계통육성을 위한 만추대성, 내병리장해성 고품질계통과 뿌리혹병 내병 계통을 교배한 (SG5107 x AS2)의 8조합을 작성하여 교배분리 하였다.

(2) 기존 육성계통의 특성검정 및 선발순화

소개 육성용 내흔계 조합 분리계통을 포함하여 기존 육성 계통을 1차년도 부터 5차년도 까지 봄 하우스 차검에서 총858점을 1월 중순에 파종하여 약30일간 육묘 후 2월 중순에 비닐하우스에 40×40cm 간격으로 정식 후 비닐터널을 설치하였다. 정식 후 초기에는 정상적인 관리를 하고 생육중반 이후로는 관수량 제한 등으로 불량환경을 조성하여 추대 및 생리장해를 발생시켜 5월 초에 추대, 생리장해 및 기타 특성을 조사하여 이 중에서 원예적 형질이 우수한 321개체를 선발하여 교배하였고, 가을 차검은 총662점을 8월 상순 파종하여 약25일 육묘 후 9월초에 40×40cm 간격으로 노지정식하고 원예적 형질이 우수한 420개체를 선발하여 교배하였다.



그림 1. 계통 차검



그림 2. 우량 개체 선발



그림 3. 선발개체 후대종자 생산

나. 뿌리혹병 내병성계통 육성

(1) 분자마커를 이용한 뿌리혹병 내병성검정

2008년 TF34의 191점을 뿌리혹병 관련 분자마커(충남대 Crb)로 검정결과(표 4) 22점이 내병성으로 확인되고, 그중 원예적 형질이 우수한 11개체를 선발하여 후대종자 생산하였고, 2009년 봄 계통차검에서 CAS의 191점을 분자마커 검정하여 10개체가 내병성으로 나타나 이중 5개체를 선발하여 후대 종자생산하였다.

표 4. 뿌리혹병 분자마커 검정(2009년)

번호	TCR01	TCR05	TCR09	번호	TCR01	TCR05	TCR09
1	0*	0	0	49	0	0	1
2	0	0	1	50	0	0	0
3	0	0	0	51	0	0	0
4	0	0	1	52	0	0	1
5	0	0	1	53	0	0	0
6	0	0	1	54	1	1	1
7	0	0	1	55	1	1	1
8	0	0	0	56	0	0	0
9	0	0	1	57	0	0	0
10	0	0	0	58	0	0	0
11	0	0	0	59	0	0	0
12	0	0	1	60	0	0	0
13	0	0	1	61	0	0	0
14	0	0	0	62	0	0	0
15	0	0	0	63	0	0	0
16	0	0	0	64	0	0	0
17	0	0	0	65	0	0	0
18	0	0	0	66	0	0	0
19	0	0	0	67	0	0	0
20	1	1	1	68	0	0	1
21	0	0	1	69	0	0	1
22	0	0	1	70	0	0	0
23	0	0	1	71	0	0	1
24	0	0	0	72	0	0	0
25	0	0	1	73	0	0	1
26	0	0	1	74	0	0	1
27	0	0	1	75	0	0	1
28	1	1	1	76	0	0	1
29	0	0	1	77	0	0	1
30	0	0	1	78	0	0	0
31	1	1	1	79	0	0	0
32	0	0	1	80	0	0	1
33	1	1	1	81	0	0	0
34	0	0	0	82	0	0	0
35	0	0	0	83	0	0	0
36	0	0	0	84	0	0	1
37	0	0	0	85	0	0	0
38	0	0	0	86	0	0	0
39	0	0	1	87	1	1	1
40	0	0	1	88	0	0	0
41	0	0	0	89	0	0	0
42	0	0	1	90	0	0	0

43	0	0	1	91	0	0	1
44	0	0	0	92	0	0	1
45	0	0	0	93	0	0	1
46	0	0	0	94	0	0	1
47	0	0	0	95	1	1	1
48	0	0	1	96	1	1	1
97	1	1	1	145	0	1	0
98	1	1	1	146	0	1	0
99	1	1	1	147	0	1	0
100	1	1	1	148	0	1	0
101	1	1	1	149	0	1	0
102	0	1	0	150	0	0	0
103	0	0	0	151	0	0	0
104	0	0	0	152	0	0	0
105	0	0	0	153	0	0	0
106	0	0	0	154	0	0	0
107	0	0	0	155	0	0	0
108	0	0	0	156	0	0	0
109	0	0	0	157	0	0	0
110	0	0	0	158	0	0	0
111	0	0	0	159	0	0	0
112	0	0	0	160	0	0	0
113	0	0	0	161	0	0	0
114	0	0	0	162	0	0	0
115	0	0	0	163	0	0	0
116	0	0	0	164	0	0	0
117	0	0	0	165	1	1	1
118	0	0	0	166	0	0	0
119	0	0	0	167	0	0	0
120	0	0	0	168	0	0	0
121	0	0	0	169	0	0	1
122	0	0	0	170	0	0	0
123	0	0	0	171	1	1	1
124	0	0	0	172	1	1	1
125	0	0	0	173	0	0	0
126	0	0	0	174	0	0	0
127	0	0	0	175	0	0	0
128	0	0	0	176	0	0	0
129	0	0	0	177	1	1	1
130	0	0	0	178	0	0	0
131	0	0	0	179	0	0	0
132	0	0	0	180	0	0	0
133	0	1	0	181	1	1	1
134	0	0	0	182	1	1	1
135	0	1	0	183	0	0	0
136	0	1	0	184	0	0	0
137	0	0	0	185	1	1	1
138	0	0	0	186	0	0	0
139	0	0	0	187	1	1	1
140	0	0	0	188	0	0	0
141	0	0	0	189	0	0	0
142	0	0	0	190	0	0	0
143	0	1	0	191	0	0	0
144	0	0	0	192	0	0	0

* ; 1 : positive, 0 : negative

(2) 뿌리혹병 접종시험 병리검정

(가) 기존 저항성 계통육성

검정시료를 40구 트레이에 번호 당 20립씩 과중하였으며 온실에서 8~10일 동안 육묘 후 포트 당 4.5x10⁸개의 병원균(강릉균주,race9)을 관주접종 하였다. 접종 후 35일 후에 발병 정도를 조사하였다.

- ① 2010년 봄 시험에서는 대조군 5품종과 99계통을 시험하여 37계통이 내병성(표 5), (그림 4)으로 나타났고 나머지 분리계통 중 내병성 개체 60주를 선발하였다.
- ② 2010년 가을에는 CRHM85-1의 160계통을 시험한 결과 28계통이 내병성, 70계통은 이병성으로 나타났고 나머지 72개의 분리 계통 중 내병성 개체 40주를 선발하였다.
- ③ 2011년 봄 시험은 CY51의 75계통을 시험한 결과(표 6) 37계통이 내병성으로 나타났고 나머지 분리계통 중 46주를 선발하였다.
- ④ 2011년 가을에는 CRKT-1의 64계통을 접종시험 한 결과 24계통이 내병성으로 확인되었고 분리 계통 중22개체를 선발하였고,
- ⑤ 2012년 봄에는 CRSG44 의 132계통을 번호 당 10립씩 접종시험 한 결과(표 7), (그림 5) 98계통이 내병성으로 확인되었고 분리 중인 25계통에서 50개체를 선발하였다.



그림 4. 이병성(47)과 저항성(44) 비교

표5. 뿌리혹병 내병성 병리검정 결과(2010. 5)

No.	계통명	반복																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	SG55	4	4	4	4	0	0	0	1	4	2	2	2	0	1	0	0	0	1	3	-
2	CRNS5	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	3	4	0	0	0	0	4	3	3	2
3	CRAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	(S5HO)x(CR75)-51-41	4	3	1	3	3	2	4	1	3	3	4	2	2	2	1	3	1	2	3	0
5	(S5HO)x(CR75)-51-42	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
6	(S5HO)x(CR75)-51-43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	청옥(R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	시교A.(R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
9	(S5HO)x(CR75)-52-42	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
10	(S53158)x(CR75)-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2	-	-
11	(S53158)x(CR75)-42	0	0	0	0	3	2	2	0	0	0	3	0	0	0	0	2	4	-	-	-
12	(S5x107)x(AS2)-52-41	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	(S5x107)x(AS2)-52-42	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	-
14	(S5x107)x(CR75)-51-41	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
15	(S5x107)x(CR75)-51-42	4	0	0	0	0	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
16	(S5x107)x(CR75)-52-41	0	0	2	4	0	0	0	4	0	0	0	0	3	0	-	-	-	-	-	-
17	(S5x107)x(CR75)-52-42	1	2	0	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	(S5xA3)x(CR75)-41	0	0	0	3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	3	4	0	-	-	-	-
19	(S5xA3)x(CR75)-42	3	0	1	0	4	4	0	0	2	0	2	0	0	3	2	0	0	0	0	-
20	(S5xA3)x(AS2)-52-41	0	0	3	4	2	4	2	0	2	1	3	1	1	0	3	4	0	1	0	1
21	(S5xA3)x(AS2)-52-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
22	(S5xA3)x(AS2)-52-43	3	4	3	3	3	2	4	3	2	4	2	3	1	3	4	4	4	3	2	-
23	(SG48x75SG)-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	(SG48x75SG)-1-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
25	(S48x75SG)-35-2-4-51-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	(S48x75SG)-51-73-3-1-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
27	(S48x75SG)-52-73-3-1-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	(S48x75SG)-52-74-52-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	(S48x75SG)-53-74-52-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
30	(S48x75SG)-51-74-52-51-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
31	(S48x75SG)-2-51-74-52-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
32	(S48x75SG)-2-52-74-52-51	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
33	(S48x75SG)-2-52-78-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	시교B.(R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	S5	1	1	4	4	1	3	3	3	3	1	4	3	1	1	4	2	4	2	-	-
36	(SG31xSCR75G)-2-51-4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	-	-	-
37	(S510xCR15)D.V)-52-41	0	0	1	3	0	0	0	0	0	4	0	3	0	0	2	0	0	4	0	0
38	(S510xCR15)D.V)-52-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
39	(S5107)x(AS2)-52-41	0	0	0	1	4	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	(S5107)x(AS2)-52-42	4	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
41	T69SB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	T69SBx F-4	2	1	4	4	4	4	2	3	0	0	0	1	4	0	0	1	0	0	4	0
43	T69SBx F-4	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	1	0	3	2	-
44	(24CHx892)-51-53-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	(24CHx892)-51-53-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
46	(24CH x F892)-52-41	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3
47	춘경(S)	4	4	3	3	3	4	3	4	3	3	3	2	3	2	4	3	2	3	3	3
48	(F892xW903)-52-51-42	0	0	3	3	3	2	3	2	0	3	3	3	2	0	0	-	-	-	-	-
49	(W903xF92)-51-52-41	1	1	0	1	0	1	1	2	4	1	2	0	0	0	4	2	2	1	1	-
50	(W903xF92)-51-54-41	0	4	4	0	2	0	0	4	0	4	3	3	2	3	2	2	2	2	2	2
51	(W903xF92)-51-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	-	-	-	-

52	(W903xF92)-52-41	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
53	(W903xF92)-52-41	0	0	0	0	2	0	0	0	4	3	0	2	2	0	0	0	4	0	0	-
54	(W903xF92)-52-42	4	0	4	4	4	0	0	1	2	0	0	3	2	4	2	0	0	0	0	1
55	(F92xW906)-51-51-41	0	2	1	1	2	3	3	2	4	0	0	0	3	0	2	0	0	0	0	0
56	(TS6xF4)-2-56-41	0	0	0	0	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	(TS6xF892)-51-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	(TS6xF892)-51-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
59	(TS6xF892)-51-43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
60	TS-06x313)-52-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	(TS6xF4)-1-51-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
62	(TS6xF4)-1-52-41	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
63	(TS6xF4)-1-52-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
64	(F-54xCR46)-2-52-51	2	4	3	3	4	4	3	2	4	4	2	3	2	2	1	-	-	-	-	-
65	(T3xP54)-1-51-2-1-61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
66	(F-4xTr3)x(F4)-41	0	1	2	0	0	1	0	0	1	0	0	2	4	0	0	0	0	1	0	0
67	(F-4xTr3)x(F4)-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	0	1
68	(F600)x(F4xTr3)-6-41	1	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
69	(F600)x(F4xTr3)-6-42	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	1	0	0	2	0	3	0	0	0	-
70	(F600)xTR3-52-41	4	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	3	1	0	-
71	(F600)xTR3-52-42	0	1	1	0	4	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	2	0	-
72	(F600xTS-06)-51-51-41	4	4	4	4	3	1	3	2	3	2	1	4	0	0	4	0	1	0	-	-
73	(F600xTS-06)-51-51-42	1	0	2	0	4	2	2	2	1	0	0	0	3	2	4	0	0	0	0	0
74	(F600xTS-06)-51-51-43	4	4	4	4	4	4	3	4	3	2	1	0	2	4	2	1	1	2	2	-
75	(F600xTS-06)-51-51-43	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	2	1	3	0
76	(F600xTS-06)-51-52-41	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	3	0	0
77	(F600xTS-06)-52-52-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1
78	(F600xTS-06)-53-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
79	(F892xTR3)-51-41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	-
80	(F892xTR3)-51-42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
81	(F892xTR3)-52-42	2	0	0	4	0	1	3	1	0	0	0	4								

표 6. 뿌리혹병 내병성 병리검정 결과(2011. 4)

No.	계통명	반복																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	S5	4	4	4	4	3	3	4	4	4	3	2	4	3	4	4	4	-	-	-
2	CY-51	3	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3
3	CY-52	4	3	3	3	3	3	3	2	4	4	4	4	3	4	4	3	4	4	3
5	(S5HO)x(CR75)-51-42-PL2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	(S5HO)x(CR75)-51-42-51	0	0	0	4	0	0	0	0	3	0	4	2	0	0	0	3	0	3	3
7	(S5HO)x(CR75)-51-42-53	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3
8	(S5HO)x(CR75)-51-42-54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
9	(S5HO)x(CR75)-51-43-55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
10	(S5HO)x(CR75)-51-43-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
11	(S5HO)x(CR75)-51-43-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
12	(S5HO)x(CR75)-51-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
13	(S53158)x(CR75)-41-PL1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	(S53158)x(CR75)-41-PL2	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	3	3	3	0	0	0
15	(S53158)x(CR75)-41-51	3	3	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0
16	(S5107)x(AS2)-52-42-PL2	3	3	3	0	0	0	4	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	-
17	(S5x107)x(CR75)-51-42-PL1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	(S5x107)x(CR75)-51-41-PL1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
20	(S5x107)x(CR75)-51-41-PL2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	(S5x107)x(CR75)-51-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
22	(S5xA3)x(CR75)-41-PL2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	(S5xA3)x(CR75)-41-51	3	3	0	0	0	0	0	4	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
24	(S5xA3)x(CR75)-42-51	3	3	3	3	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
25	(S5xA3)x(AS2)-52-41-51	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	-	-	-	-
26	(S5xA3)x(CR75)-52-42-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
27	S5	4	4	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
28	(S48x75SG)-52-74-52-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
29	(S48x75SG)-53-74-52-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
30	(S48x75SG)-51-74-52-51-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	(S48x75SG)-2-51-74-52-51	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
32	(S48x75SG)-2-52-74-52-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	(S48x75SG)-2-52-78-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	(S48x75SG)-2-52-78-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
35	(S510xCR15D.V)-52-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	0	0	4	3	3	3	-	-
36	(S510xCR15D.V)-52-41-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
37	(S5107)x(AS2)-52-41-PL1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	(S5107)x(AS2)-52-41-PL2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	T69SB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-

40	(T69SBx F-4)-41-PL1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	(T69SBx F-4)-41-PL3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	(T69SBx F-4)-41-51	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	4	4	0	3	3	0	0	0	0
43	(T69SBx F-4)-41-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	4	4	3	3
44	(T69SBx F-4)-41-53	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	3
45	(T69SBx F-4)-41-54	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	4	3	3	3	3	2	3	3	-
46	(T69SBx F-4)-42-PL3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	(T69SBx F-4)-42-52	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-	-
48	(24CHxF892)-53-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	(24CHxF892)-53-41-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
50	(24CHxF892)-53-42-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
51	(W903xF92)-51-41-51	3	3	3	3	3	3	2	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
53	(TS6x313)-51-43-51	3	3	3	4	0	0	0	2	2	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0
54	(TS6x313)-52-41-51	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
55	(TS6x313)-52-41-52	4	3	0	0	0	0	3	0	0	4	2	0	0	0	3	3	3	0	0
56	(F-4xTr3)-7-1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
57	(F4xTr3xF4)-41-PL2	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	(F4xTr3xF4)-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
59	(F-4xTr3)-7-5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	(F4xTr3xF4)-41-52	2	3	3	3	0	0	0	0	4	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
61	(F4xTr3xF4)-41-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	4	3
62	(F4xTr3xF4)-42-51	0	0	0	0	3	3	3	0	0	0	4	4	2	0	0	0	0	0	-
64	(F600)x(F4xTr3)-6-41-pl2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65	(F600)x(F4xTr3)-6-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66	(F600)x(F4xTr3)-6-41-52	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
67	(F600)x(F4xTr3)-6-41-53	0	0	0	3	0	0	0	4	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
68	(F600)x(F4xTr3)-6-41-54	0	3	3	3	4	4	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
69	(F600)x(F4xTr3)-6-42-51	4	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
70	(F600)x(F4xTr3)-6-42-52	2	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3
71	(F600xTS-06)-53-41-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
72	F892-1-1	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	-
73	F892xTr3-51-41-52	3	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	3	3	4	4	4	3	3	3
74	F892xTr3-52-442-51	4	4	4	4	4	4	2	3	3	4	4	3	3	3	3	4	3	3	-
75	T3F4xT69-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
76	T3F4xT69-1-52	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
77	(S20C-44xS5315)-2	3	3	3	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
78	(S20C-44xS48C75)-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
79	(S20C-44xS48C75)-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	청옥(R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
81	삼복(S)	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4

표 7. 뿌리혹병 내병성 병리검정 결과(2012. 4)

No.	계통명	반복									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	(SG48xCR75SG)-1-1CR-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-42-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-42-54-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-42-54-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-42-55-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-43-51-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-43-51-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-51-43-52-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-52-41-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-52-41-51-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-52-41-51-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-52-41-51-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	(SG-55xHO)x(SG-48xCR75SG)-52-41-51-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	(SG55x3158)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
16	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-1-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-1-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-1-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
21	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-2-1	0	0	0	2	0	3	4	0	0	0
22	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-2-51	3	2	3	3	3	3	4	2	3	2
23	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-2-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	(SG55x3158)x(SG-48xCR75SG)-41-51-2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	(SG-55x107) King S.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
26	(SG-55*107xAS2-51)-52-42-2-1	0	0	0	0	2	0	3	2	0	0
27	(SG-55*107xAS2-51)-52-42-2-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	(SG55x3158)x(SG-48xCR75SG)-41-51-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-51-42-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-51-42-1-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-51-42-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-51-42-2-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-51-42-2-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-52-41-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-52-41-1-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-52-41-2-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-52-41-2-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	(SG-55*107xSG-48*CR75SG)-52-41-2-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	(SG-55xAn3)x(SG-48xCR75SG)-41-51-2	2	0	2	3	0	0	0	0	0	0
40	(SG-55xAn3)x(SG-48xCR75SG)-41-51-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	(SG-55xAn3)x(SG-48xCR75SG)-42-51-1	0	0	3	0	2	0	2	0	0	0
42	(SG-55xAn3)x(SG-48xCR75SG)-42-51-2	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0
43	(SG-55xAn3)x(SG-48xCR75SG)-42-51-51	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
44	(SG-55xAn3)xAS2-51)-52-42-51CR-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	(SG-55xAn3)xAS2-51)-52-42-51CR-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	(SG-55xAn3)xAS2-51)-52-42-51CR-61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	(SG50x31)-51	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
48	(SG-55x107)x(CR75SGxSG85)-52-41-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	(SG-55x107)x(CR75SGxSG85)-52-41-51-2	0	0	3	3	0	0	0	0	0	-
50	(SG-55x107)x(CR75SGxSG85)-52-41-51CR-51	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-

51	(SG-55x107)x(CR75SGxSG85)-52-41-52CR-51	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
52	(SG-55*107)xAS2-51)-52-42-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	(SG-55*107)xAS2-51)-52-42-1-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	(SG-55*107xAS2-51)-52-42-2-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
55	(SG-55*107xAS2-51)-52-42-2-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	(SG-55*107xAS2-51)-52-42-2-61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
57	CRSG244-G3-1-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	(CRSG244xSG55*3158)-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	(CRSG244xSG55*3158)-2-1	0	0	3	4	0	3	0	0	0	0
60	(CRSG244xSG55*3158)-2-2	4	0	3	0	0	0	0	0	0	0
61	(CRSG244xSG55*3158)-2-52	0	0	0	0	0	4	3	0	0	0
62	(CRSG244xSG55*3158)-2-53	0	0	3	4	0	3	0	0	0	0
63	(CRSG244xSG55*3158)-2-54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
64	(CRSG244xSG48*CR75SG)-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
65	(CRSG244xSG48*CR75SG)-2-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66	(CRSG244xSG48*CR75SG)-2-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	(SG2540xCRSG244)-1-52	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
69	(SG2540xCRSG244)-1-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
70	(SG2540xCRSG244)-2-51	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
71	(SG2540xCRSG244)-2-52	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
72	(SG2540xCRSG246)-1-51	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
73	(SG2540xCRSG246)-1-52	0	0	0	2	0	0	0	-	-	-
74	(SG2540xCRSG246)-1-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	(SG2540xCRSG246)-2-51	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
76	(SG2540xCRSG246)-2-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
77	(SG2540xCRSG246)-2-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
78	(SG2540xCRSG246)-2-54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
79	(SG2540xCRSG273C)-1-51	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
80	(SG2540xCRSG273C)-1-52	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
81	(SG2540xCRSG273C)-2-51	3	0	0	0	0	0	0	0	-	-
82	(SG2540xCRSG273C)-2-52	4	4	3	4	0	0	0	0	-	-
83	(SG2540xCRSG273C)-2-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
84	F-4-41-1-1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
85	(T-6930 x F4)-41-3-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
86	(T-6930 x F4)-41-3-2	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
87	(T-6930 x F4)-41-3-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
88	(T-6930 x F4)-41-3-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
89	(T-6930 x F4)-41-3-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
90	T-6930 x F-4-41-51-1	3	3	0	0	0	0	0	-	-	-
91	T-6930 x F-4-41-51-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
92	T-6930 x F-4-41-51-51	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
93	T-6930 x F-4-41-51-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
94	T-6930 x F-4-41-51-53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
95	T-6930 x F-4-41-52-51	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4
96	(T-6930 x F4)-42-3-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
97	(240CH x F8920)-51)-53-41-51CR-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
98	(240CH x F8920)-51)-53-42-51CR-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
99	(TS6xSF892)-51-43-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	(TS6xSF892)-51-43-51-2	4	3	4	0	0	0	0	0	0	0
101	TS-06x313)-52-41-51CR-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
102	TS-06x313)-52-41-51CR-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
103	TS-06x313)-52-41-51CR-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

104	(F-4xTr3)Sa-6-7-1CR-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	(F4*Tr3xF4)-41-2-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	(F4*Tr3xF4)-41-2-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	(F4*Tr3xF4)-41-2-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	(F4*Tr3xF4)-41-2-61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
109	(F-4xTr3)xF-4-41-51-51	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
110	(F-4xTr3)xF-4-41-51-52	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
111	(F-4xTr3)xF-4)-41-52-1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
112	(F-4xTr3)xF-4)-41-52-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
113	(F-4xTr3)xF-4)-41-52-51	4	4	3	4	0	0	0	0	0	-
114	(F-4xTr3)xF-4)-41-53-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
115	(F-4xTr3)xF-4)-41-53-2	4	3	4	3	3	0	0	0	0	0
116	(F-4xTr3)xF-4)-41-53-51	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4
117	(F-4xTr3)xF-4)-41-53-52	3	3	4	4	4	4	-	-	-	-
118	(F-4xTr3)xF-4)-42-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
119	(F-4xTr3)xF-4)-42-51-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
120	(F-8x600) King S.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
121	(F8*600 xF4*Tr3)-41-2-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
122	(F8*600 xF4*Tr3)-41-2-52	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
123	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-41-51-51	3	4	4	3	0	0	0	0	0	-
124	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-41-51-52	3	3	4	0	0	0	0	0	0	-
125	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-41-52-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
126	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-41-54-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
127	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-41-54-2	4	4	4	0	0	0	0	0	0	-
128	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-42-51-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
129	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-42-51-2	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0
130	(F-8x600) x(F-4xTr3)Sa-6-42-52-51	3	3	3	4	4	3	3	3	3	3
131	(T3*F4 x T69*F4)-1-51-52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
132	(T3*F4 x T69*F4)-1-55-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
133	(T3*F4 x T69*F4)-1-67-51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
134	(SG55*3158xSG-48*CR75SG)-41-2-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
135	(T6930xF-4)-41-52-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
136	(T6930xF-4)-41-52-2	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0

(나) 뿌리혹병 고 저항성 계통육성

- ① 뿌리혹병 저항성 육성계통 11점과 농협종묘로부터 분양 받은 뿌리혹병 고 저항성 순무계통(IT033820)과 배추 보유계통을 교배하여 얻은 2점을 2010년 10월 1일 과종하여 10월 11일에 연천군주(race 2)를 포트 당 4.5x10⁸개를 관주 접종하고 11월 2일 조사한 결과(그림6) No.106, 107, 108 3계통과 No.113, 114가 내병성을 보였다. No.113, 114는 F2 종자를 확보하였다.
- ② 연천군주(race 2)에 저항성인 계통과 품질이 우수한 계통의 F₂ 분리세대 종자와 우수형질을 보완하기 위해 내병성계통 간에 교배한 것을 F₂ 종자를 받아 2011년 2월 25일에 번호 당 20립씩 과종 후 3월 7일에 연천군주(race 2)를 사용하여 포트 당 4.5x10⁸개를 관주 접종하고 4월 13일 병 발생 여부를 조사(표 8), (그림 7)한 결과 대조품종 CR하계, CR황록, 노랑김장은 모두 발병하였고, 내병성 계통간의 분리세대에서는 모두 저항성을 나타내었고, 내병성x이병성의 분리세대에서 내병성 개체를 선발 하였다.
- ③ 2011년 가을 도입종 CRHM8, CRHM7 분리세대와 뿌리혹병 고저항성인 순무 x 기존 계통의 F₂ 분리세대를 연천군주에 접종 시험한 결과(표 9) 내병성 개체 32주를 선발하였다.
- ④ 2012년 봄 NCRSG246 외 98계통을 연천군주에 시험한 결과(표 10) 18계통이 내병성을 나타냈고, 분리계통 중 120개체를 선발하였다.



그림 5. 내병성(No. 132) 내병성(No. 131) 이병성(No. 130) 분리세대(No.129)

표 8. 뿌리혹병 내병성 병리검정 결과(연천군주, 2011. 4)

No.	계통명	반복																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
80	(S82-46xS72-44)-1	0	0	0	0	4	4	0	3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
82	(S82-46xS53158)-1	4	0	0	4	0	0	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
83	(S82-46xS5318)-2	0	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
84	(S82-46xS48CR75)-1	0	2	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
85	(S82-46xS48CR75)-2	0	2	3	3	0	0	0	4	4	0	0	4	0	4	0	0	0	0	0	-
86	(S82-46-CxS72-44)-1	2	2	3	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
87	(S82-46-CxS72-44)-2	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
88	(S82-46-CxS82-46)-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
89	(S82-46-CxS82-46)-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
90	(S82-46-CxS52-73-C2)-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
91	(S82-46-CxS52-73-C2)-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
92	(S52-73-C2xS53158)-1	3	0	3	0	0	3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
93	(S52-73-C2xS53158)-2	3	3	4	0	0	3	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
94	(S52-73-C2xS72-44)-1	0	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
95	(S52-73-C2xS72-44)-2	3	0	0	4	4	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
96	(S52-73-C2xS82-46)-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
97	(S52-73-C2xS82-46)-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	(S42-5-40xS82-46)-1	3	0	4	0	0	3	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
101	(S42-5-40xS82-46)-2	4	0	4	4	0	0	4	0	4	0	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0
102	(S42-5-40xS52-73-C2)-1	3	3	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
103	(S42-5-40xS52-73-C2)-2	3	3	4	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	(S-A-50xS82-46)-1	4	3	4	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	(S-A-50xS82-46)-2	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
108	(S-A-50xS52-73-C2)-1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	0	4	4	4	4	4	4	4	-
109	(S-A-50xS52-73-C2)-2	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
112	(S62-2-14xS82-46)-1	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
113	(S62-2-14xS82-46)-2	3	3	3	3	0	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
114	(S62-2-14xS52-73-C2)-1	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
115	(S62-2-14xS52-73-C2)-2	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	노랑김장	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-
	CR하계	4	3	4	4	4	4	3	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	CR하륙	4	3	4	4	4	4	4	3	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4



그림 6. 2010년 가을 연천군주 접종시험



그림 7. 2011년 봄 연천군주 접종시험

표 9. 뿌리혹병 내병성 병리검정 결과(연천군주, 2011. 10)

No.	계통명	반복																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
3	CRHM7(Super CR)-1-1	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	CRHM7(Super CR)-1-2	0	3	0	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
5	CRHM7(Super CR)-2-1	3	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
6	CRHM7(Super CR)-2-2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
7	CRHM7(Super CR)-3-1	3	3	4	4	3	3	3	3	4	3	2	3	4	0	0	0	0	0	0	0
8	CRHM7(Super CR)-3-2	3	3	4	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
9	CRHM7(Super CR)-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	CRHM8(super CR)-1-1	3	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	CRHM8(super CR)-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	CRHM8(super CR)-3-1	3	4	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--
13	CRHM8(super CR)-3-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
40	(F4xT3)Sa-SL-Bol.-1	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-
41	(F4xT3)Sa-SL-Bol.-2	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
42	F892	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
44	(Supe CRNH*SG55x3158)-2	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	(Supe CRNH*SG55x3158)-2	3	3	4	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	(Supe CRNH*SG55x3158)-51	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	(Supe CRNH*SG55x3158)-52	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	(Super CRNH*F8920)-2	2	3	3	3	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	(Super CRNH*F8920)-2	3	4	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	(Super CRNH*F8920)-51	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	(Super CRNH*F8920)-52	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-

3. F₁ 품종육성

가. F₁조합 선발시험

선행 연구로 실시한 4조합 외 1년차에서 5년차 까지 총 158조합을 작성하여 F₁조합 선발시험을 하였다. 비닐하우스시험(그림8)은 1월 중순 파종하여 30-35일 육묘 후 2월 중순에 정식을 하고 4월 말에 수확하였다. 노지시험(그림9)은 3월 상순 파종하여 4월초 정식을 하고 6월초 수확하였다. 선발조합은 BN56을 포함해 14조합(표 11)을 선발하였다.

표 11. F₁ 선발조합

BN	년도	계통명	교배번호	특성	상품화 여부/원인
55	2007	T693*(SG5x107)	304-1x320-1	CR계, 황심, 만추대	X/종자 생산성 낮음
56	2007	F86*(YH3Y7)	305-1x327-1	만추대, 다수성, 황심	○/수출중
57	2007	Y50x31*(F54xTr3)	318-1x322-1	CR계, 만추대, 황심	X/현시험 성적 저조
58	2007	(SG5A3)*F860	321-3x327-1	다수성, 내생리장해, 만추대	○/수출중
64	2008	(SG48xHO)*F860	308-2x323-1	황심, 다수성, 내서성	X/현지시험 성적 저조
69	2008	CH24*(SG50x31)	331-2x315-1	CR계, 다수성, 황심	X/현지시험 성적 저조
13	2009	(SG48xCR7SG)*(F-4xTr3)	310-1x324-1	내생리장해, CR계, 다수성	X/종자 생산성 낮음
25	2009	(F-4xTr3)*CRSSF	324-3x334-1	CR계, 다수성, 황심, 만추대	○/수출용 종자생산중
52	2009	(SG55x3158)*F860	314-3x325-1	만추대, 화심, 다수성	X/종자 생산성 낮음
31	2010	(SG48xCR7SG)*T693SB	410-1x404-1	만추대, CR계, 황심	X/종자 생산성 낮음
32	2010	(SG50x31)*T693SB	413-3x404-1	만추대, CR계, 다수성	X/현지시험 성적 저조
57	2011	CRSSF*T6930	311-1x316-1	CR계, 만추대, 내생리장해	△/체중 시험중
37	2012	CRSG244*CRTR34	328-1x329-1	만추대, CR계, 내생리장해	△/체중시험 예정
48	2012	(S507S48CR7S)*(F-4xTr3)	309-1x325-1	CR계, 황심, 만추대	△/체중시험 예정



그림8. 하우스 차검



그림9. 노지차검



그림10. 선발조합 BN37(2012)



그림11. 선발조합BN48(2012)

나. 체중시험

선발조합의 양친을 11월 중순 파종해 냉상육묘하여 이듬해 3월 중순 망실에 정식하였다. 그림 12) 6월 중순에 종자를 수확하여 종자 생산성과 순도검정한 결과 2007년의 BN55, 2009년의 BN13, BN52, 2010년의 BN31조합이 종자생산성 및 순도가 떨어졌다.

다. 현지 적응시험

중국 북경, 허북성 장가구, 산둥성에서 현지 적응시험(표12), (그림12) 거쳐 2007년 BN56, BN58과 2009년 BN25를 최종선발 조합으로 선정하였다.

표 12. 중국 현지시험 결과

품종명 (회사명)	숙기 (일)	엽색	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구중 (kg)	시험지
BN56 (Woori seed)	72	녹	30.0	18.5	4.0	2.3	河北省 長家口市
BN58 (Woori seed)	73	녹	31.0	19.0	4.5	2.4	"
金峰 (Monsanto)	75	연록	31.0	18.5	5.0	2.3	"
BN25 (Woori seed)	72	농록	29.0	20.0	7.5	4.0(주중)	山東省 萊西市
旺春 (Monsanto)	73	연록	28.0	20.0	9.0	3.9(주중)	"



그림 12. 채종시험



그림 13. 현지적응시험

라. 품종등록 및 종자수출

(1) 품종등록

BN56을 "K756", BN58을 "K758"로 명명하여 품종보호권등록 완료(그림15)하였으며, BN25를 "K925" 명명하여 품종보호출원(그림16) 중이다.



그림 15. K756, K758 품종보호권등록증

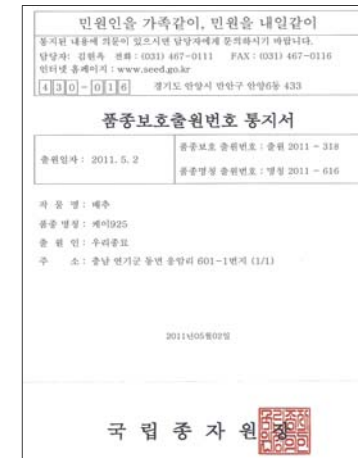


그림 16. K925 품종보호출원

(2) 종자수출

K756과 K758 각 500kg을 주문 받아 생산 진행 중이다. K925는 2013년 수출 예정이다.



그림 14. 수출용 종자생산

4. 유전자원 분양

가. 개화관련 마커개발용 유전자원 분양

3-1세부과제에 개화관련 마커개발용 유전자원으로 조기 추대성 권심계통 Tro-Jb와 만기추대성 지부계통 T69의 종자를 분양하였고, 마커개발용 배추시료를 100점을 제공하였다.

나. 배추분자마커 사업단 종자분양

Re-sequencing용 및 연구용으로 내훈계 10계통을 분양하였다.

No.	계통명	종자량	특 성
1	S538-C	50	봄용, 내엽황색
2	CHW-1	50	봄용, 내엽백색
3	S55	50	봄용, 내엽황색
4	S50-A	50	가을용, 내엽황색
5	NSBR	50	가을용, 내엽백색
6	CRSK-A	50	가을용, CR계, 내엽황색
7	Ud-W	50	만생계, 대구, 월동용
8	Tro-St-A	50	남방계, 조기추대, 내서성장, 속기조
9	Tro-Jb	50	남방계, 조기추대, 내서성장, 속기조
10	TR-3	50	CR계, 봄용

제3-3절 배추 응성불임성 마커 개발

1. 배추류의 CMS 계통 수집 및 CMS형 판별

가. 연구내용

(1) 배추류의 CMS 계통 수집

CMS의 구분분자 마커를 개발하기 위하여 배추과 CMS 품종 또는 계통을 국내 대학, 연구소, 종묘회사로부터 수집하였으며, 특히 연구사업단에 같이 참여하고 있는 종묘회사의 도움을 받아 수집하였다.

총 수집된 배추류 CMS 모본 및 B line(MF)으로는 배추 44종, 갓 3종, 무 12종, 배무채 5종, 양배추 16종으로 총 80종을 수집하였으며, 이 중에는 CMS 모본 62종, B line(MF) 11종, GMS 2종, MS(CMS or GMS)는 5종으로 구성되어 있었다(표 1).

표 1. CMS 구분 마커 개발을 위해 수집된 배추과 식물.

Acc. No.	Symbol	Plant name	Sauce	Acc. No.	Symbol	Plant name	Sauce
1	CC-1	Chinese cabbage	NH	41	CC-41	Chinese cabbage	WR
2	CC-2	Chinese cabbage	NH	42	CC-42	Chinese cabbage	WR
3	CC-3	Chinese cabbage	HN	43	CC-43	Chinese cabbage	WR
4	CC-4	Chinese cabbage	NH	44	CC-44	Chinese cabbage	WR
5	CC-5	Chinese cabbage	NH	45	LM-1	Leaf Mustard	TK
6	CC-6	Chinese cabbage	BIO	46	LM-2	Leaf Mustard	SNU
7	CC-7	Chinese cabbage	BIO	47	LM-3	Leaf Mustard	SNU
8	CC-8	Chinese cabbage	BIO	48	R-1	Radish	BIO
9	CC-9	Chinese cabbage	BIO	49	R-2	Radish	BIO
10	CC-10	Chinese cabbage	BIO	50	R-3	Radish	BWN
11	CC-11	Chinese cabbage	SUN	51	R-4	Radish	BWN
12	CC-12	Chinese cabbage	HD	52	R-5	Radish	NH
13	CC-13	Chinese cabbage	HD	53	R-6	Radish	NH
14	CC-14	Chinese cabbage	HD	54	R-7	Radish	NH
15	CC-15	Chinese cabbage	HD	55	R-8	Radish	NH
16	CC-16	Chinese cabbage	HD	56	R-9	Radish	NH
17	CC-17	Chinese cabbage	HD	57	R-10	Radish	NH
18	CC-18	Chinese cabbage	HD	58	R-11	Radish	NH
19	CC-19	Chinese cabbage	HD	59	R-12	Radish	NH
20	CC-20	Chinese cabbage	HD	60	BM-1	Baemoochae	BIO
21	CC-21	Chinese cabbage	HD	61	BM-2	Baemoochae	BIO
22	CC-22	Chinese cabbage	HD	62	BM-3	Baemoochae	BIO
23	CC-23	Chinese cabbage	HD	63	BM-4	Baemoochae	BIO
24	CC-24	Chinese cabbage	HD	64	BM-5	Baemoochae	BIO
25	CC-25	Chinese cabbage	HD	65	C-1	Cabbage	HD
26	CC-26	Chinese cabbage	HD	66	C-2	Cabbage	HD
27	CC-27	Chinese cabbage	WR	67	C-3	Cabbage	HD
28	CC-28	Chinese cabbage	WR	68	C-4	Cabbage	HD
29	CC-29	Chinese cabbage	WR	69	C-5	Cabbage	HD
30	CC-30	Chinese cabbage	WR	70	C-6	Cabbage	HD
31	CC-31	Chinese cabbage	WR	71	C-7	Cabbage	HD
32	CC-32	Chinese cabbage	WR	72	C-8	Cabbage	HD
33	CC-33	Chinese cabbage	WR	73	C-9	Cabbage	HD
34	CC-34	Chinese cabbage	WR	74	C-10	Cabbage	CNU
35	CC-35	Chinese cabbage	WR	75	C-11	Cabbage	CNU
36	CC-36	Chinese cabbage	WR	76	C-12	Cabbage	CNU
37	CC-37	Chinese cabbage	WR	77	C-13	Cabbage	CNU
38	CC-38	Chinese cabbage	WR	78	C-14	Cabbage	CNU
39	CC-39	Chinese cabbage	WR	79	C-15	Cabbage	CNU
40	CC-40	Chinese cabbage	WR	80	C-16	Cabbage	CNU

(2) 기존의 분자마커를 이용한 CMS 종류 구분

수집된 실험 재료의 엽조직으로부터 CTAB법에 의하여 total DNA를 추출하였으며, CMS 종류 구분 분자마커 개발을 위해 기 발표 된 논문 및 연구를 참조하여 미토콘드리아 특이적 primer는 *orf220*, *orf222*, *orf224* 및 *atpA* 등의 유전자로부터 40종의 primer를 합성하였다(표 2). PCR 증폭은 Perkin-elmer사의 PE-9700을 이용하였고, 2분간 94℃에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94℃에서 1분, annealing은 50℃에서 1분, extension은 72℃에서 2분간 35회 반복시켰다. Post-extension은 72℃에서 2분간 수행하였다. PCR 증폭 반응용액은 10 x reaction buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl, PH 8.3, 15mM MgCl₂) 2.5μl, 2.5mM dNTP 2 μl, Genomic DNA 50ng, 100pM Primer 0.1μl, 0.5unit *Taq* polymerase 0.25μl(TaKaRa, Japan) 및 멸균수를 이용하여 Total Vol. 25μl로 조성하였다. 증폭 산물은 1.0% agarose gel 전기영동으로 분리 후 UV transilluminator상에서 확인하였다.

표 2. PCR 분석을 위한 미토콘드리아 영역에서 합성한 primer와 예상 크기.

Gene	Gene product	PCR primer sequence(5' → 3')		Size(bp)
<i>atp1</i>	ATP synthase subunit alpha	F: gaaagcatctgttccatt	R: agagctcgggaactaacgaa	1,479
<i>atp6</i>	ATP synthase subunit 6	F: actaaaaggaggaggaaa	R: atctcattcatacatagcatagt	485
<i>atp9</i>	ATP synthase subunit 9	F: ccgagatgttagaagggtgcaa	R: atcaaaaaggccatcattgg	214
<i>atpA</i>	ATPase alpha subunit	F: gctgcttacaggagttagcc	R: gtccaatcctcatatagaca	
<i>cox1</i>	Cytochrome c oxidase sub 1	F: ttctgtctctgatagctgga	R: atctggttcgatggctgttc	1,561
<i>cox2</i>	Cytochrome c oxidase sub 2	F: cgtaaaggcatgattagtcca	R: tcacaattctccttctgtgatgc	674
<i>cox3</i>	Cytochrome c oxidase sub 3	F: caagtccatggcctatttccg	R: tcatatacctcccaccaat	758
<i>ccb203</i>	Cytochrome c biogenesis orf203	F: gagccgagtgacgtagatgc	R: cgtgtcgtctgtaatggaaa	547
<i>ccb206</i>	Cytochrome c biogenesis orf206	F: tgatcttctcctccaccca	R: cgagaccgaaatggaaaaa	569
<i>ccb256</i>	Cytochrome c biogenesis orf256	F: gttgggcgctttaaccatt	R: agctacgcgcaaaattctcat	719
<i>ccb382</i>	Cytochrome c biogenesis orf382	F: ctgcccagaacgaagagaag	R: ttctgttattccgggtcttt	1,149
<i>ccb452</i>	Cytochrome c biogenesis orf452	F: cgacagaagaacaccaaca	R: ttttatggctgtgctctgtg	745
<i>cob</i>	Apocytochrome B	F: aaggaaccaacgattctcttc	R: tgtgatcagctctcaccgtgt	1,169
<i>nad1</i>	NADH dehydrogenase sub 1	F: ccgacccctatafaaattcc	R: tgttccagctgaanaacttggga	367
<i>nad2</i>	NADH dehydrogenase sub 2	F: ccgaaaccaagggaatacta	R: ggaaagttgccacgaataaag	1,626
<i>nad3</i>	NADH dehydrogenase sub 3	F: gcaccccttttccattcata	R: gatgtcagaatttgcaccaa	342
<i>nad4</i>	NADH dehydrogenase sub 4	F: acagggaaatggaggtagca	R: tgccatttgaatcggagaat	380
<i>nad4L</i>	NADH dehydrogenase sub 4L	F: tacctcggactcggaaagt	R: ttccgggaatcctccttaat	213
<i>nad5</i>	NADH dehydrogenase sub 5	F: caatcgtcggaaatgtgtacg	R: ccaatftttgggccaattc	359
<i>nad6</i>	NADH dehydrogenase sub 6	F: gtgagtggtcagtcgtctct	R: cctgctttggtctctgtttt	584
<i>nad7</i>	NADH dehydrogenase sub 7	F: tctatgatggccaagaaca	R: acaccactgaatcccacatc	446
<i>nad9</i>	NADH dehydrogenase sub 9	F: ttatccgtcgtcactgctgt	R: cccaagaaatgggtcaaaaa	531
<i>matR</i>	Maturase	F: gcttccaagctctatgctgt	R: actgcttcccactacgc	751
<i>orfB</i>	ATP synthase subunit 8	F: tgcctcaactggataaattcac	R: ttcttggccatgatacaaca	465
<i>orf138</i>	ATPase alpha subunit	F: cgaaacgggaagtgacaata	R: cgtcactcactcgttaggta	304
<i>orf224</i>	Unknown protein	F: gaaccaactgctttcacacc	R: ctggctctctgcaatctc	514
<i>orf240</i>	Unknown protein	F: cttctgacctcccagtcag	R: tgaggggaagggttggtcata	570
<i>orf220</i>	Membrane associated protein	F: atgcoctcaactggataaattc	R: tcatcgaatagatcaggat	660
<i>orf222</i>	Cytoplasmic male sterility protein	F: atgcoctcaactggataaatt	R: tcatcgaatagatcragkatytcg	666
<i>rp12</i>	Ribosomal protein L2	F: tgctcgaagaattgatctg	R: acattgcttaggaccaacgg	827
<i>rp15</i>	Ribosomal protein L5	F: atgtttccactcaattttca	R: ctgagtttcccctcaictt	558
<i>rp116</i>	Ribosomal protein L16	F: tgacataagattctcggccc	R: gggagacgtctatataccga	486
<i>rps3</i>	Ribosomal protein S3	F: tcggatatagcacgtctccc	R: tacgcactcacctctcgct	1,583
<i>rps4</i>	Ribosomal protein S4	F: ccgaagagggaaggtttggat	R: ccgaagattgaggaacagga	934
<i>rps7</i>	Ribosomal protein S7	F: ttaccacatctgaaatgcg	R: atgggggcttggatggtgag	447
<i>rps12</i>	Ribosomal protein S12	F: atgcoctacgttataatcaatt	R: tcatatcgatttgggtttttc	378
<i>rrn5</i>	5S ribosomal RNA protein	F: ttatttctcaccggcctg	R: gagacgtgaaacaccgat	108
<i>rrn18</i>	18S ribosomal RNA protein	F: gatcaatccagccacaggt	R: catgcaagtcgaactgtgt	1,795
<i>rrn26</i>	26S ribosomal RNA protein	F: tctccctttaacaccaacgg	R: atgacttgtgctagggtgtg	1,890

미토콘드리아 영역에서 제작한 primer를 활용하여 수집된 80종의 배추류를 PCR한 결과 다수의 primer에서 동일한 size의 PCR 산물이 증폭되었다.

그러나 *atpA*, *orf220*, *orf222*, *orf224* 및 *orf138* primer는 CMS 구분 마커로 활용 가능하였다. *atpA* primer는 CMS(갯의 Jasai, 갯의 Donshaja, 배추의 Komatsuna) 계통에서 1,500 bp의 크기로 증폭되었으며 normal 계통에서 1,100 bp 크기로 증폭되어 CMS와 CMS가 아닌 계통의 구분 마커로서 활용 가능하다고 판단된다. 또한 Ogura CMS의 특이적 마커인 *orf138*에 의해 배추의 Komatsuna CMS에서 오직 PCR 산물(300 bp)이 증폭되었으며, Polima CMS 특이적 마커인 *orf224* 에 의하여 갯의 Jasai, Donshaja CMS에서 오직 500 bp의 PCR 산물이 증폭되었다(그림 1, 2, 3, 4). 이들 마커들을 이용하여 수집된 80종의 재료들에 대한 CMS형 구분은 표 3에 나타내었다.

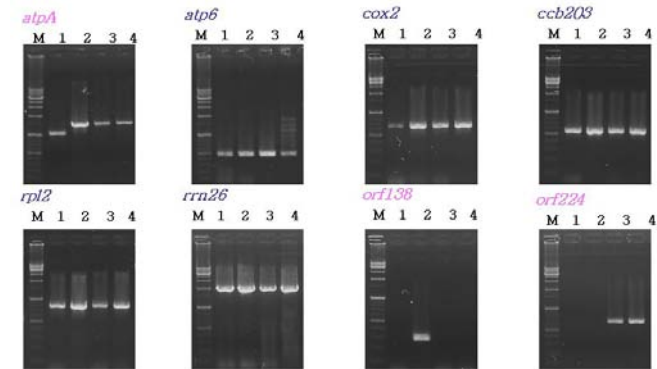


그림 1. CMS 마커를 이용한 PCR 분석 (M: 100 bp Ladder, 1: normal, 2: Komatsuna CMS, 3: Jasai CMS, 4: Donshaja CMS)

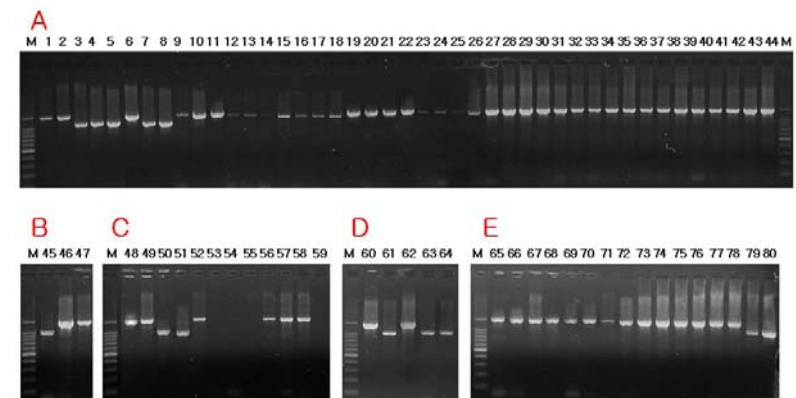


그림 2. *atpA* 프라이머를 이용한 수집된 80종의 재료에 대한 CMS형 구분 (A: 배추, B: 갯, C: 무, D: 배무채, E: 양배추)

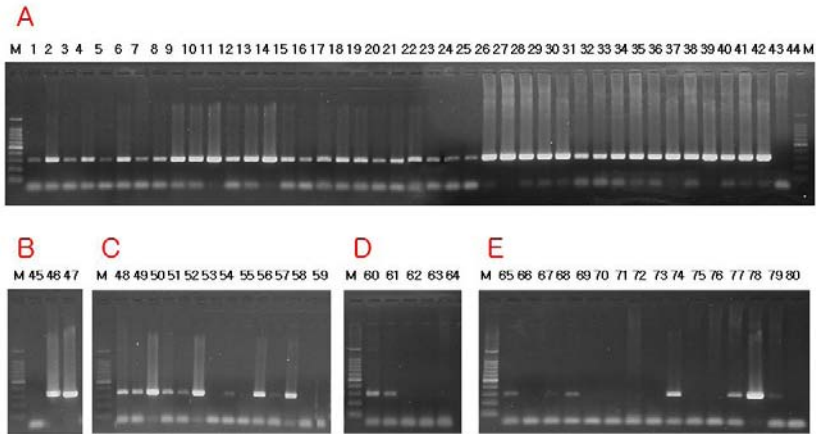


그림 3. *orf138* 프라이머를 이용한 수집된 80종의 재료에 대한 CMS형 구분
(A: 배추, B: 갓, C: 무, D: 배무채, E: 양배추)

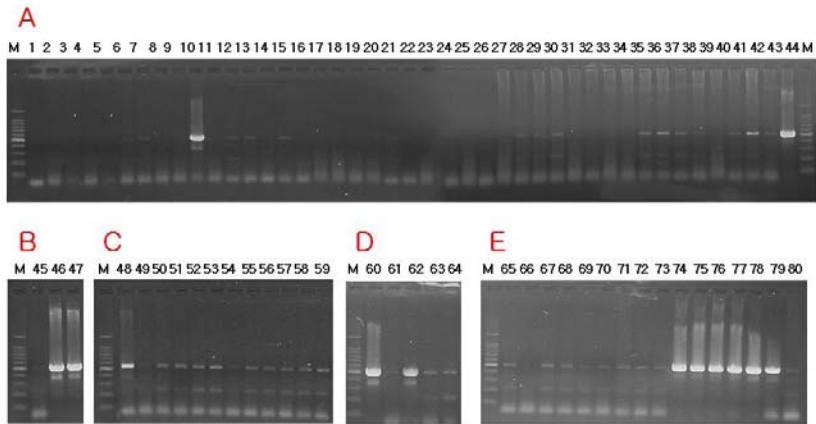


그림 4. *orf224* 프라이머를 이용한 수집된 80종의 재료에 대한 CMS형 구분
(A: 배추, B: 갓, C: 무, D: 배무채, E: 양배추)

표 3. 수집된 재료의 CMS type 구분

Acc. No.	Symbol	Plant name	Sauce	Remark	Acc. No.	Symbol	Plant name	Sauce	Remark
1	CC-1	Chinese cabbage	NH	CMS	41	CC-41	Chinese cabbage	WR	CMS
2	CC-2	Chinese cabbage	NH	CMS	42	CC-42	Chinese cabbage	WR	CMS
3	CC-3	Chinese cabbage	HN	MF	43	CC-43	Chinese cabbage	WR	CMS
4	CC-4	Chinese cabbage	NH	MF	44	CC-44	Chinese cabbage	WR	CMS
5	CC-5	Chinese cabbage	NH	MF	45	LM-1	Leaf Mustard	TK	MF
6	CC-6	Chinese cabbage	BIO	O-CMS	46	LM-2	Leaf Mustard	SNU	J-CMS
7	CC-7	Chinese cabbage	BIO	GMS	47	LM-3	Leaf Mustard	SNU	D-CMS
8	CC-8	Chinese cabbage	BIO	GMS	48	R-1	Radish	BIO	P-CMS
9	CC-9	Chinese cabbage	BIO	O-CMS	49	R-2	Radish	BIO	O-CMS
10	CC-10	Chinese cabbage	BIO	O-CMS	50	R-3	Radish	BWN	B-CMS
11	CC-11	Chinese cabbage	SUN	K-CMS	51	R-4	Radish	BWN	B-CMS
12	CC-12	Chinese cabbage	HD	CMS	52	R-5	Radish	NH	CMS
13	CC-13	Chinese cabbage	HD	CMS	53	R-6	Radish	NH	MF
14	CC-14	Chinese cabbage	HD	CMS	54	R-7	Radish	NH	CMS
15	CC-15	Chinese cabbage	HD	CMS	55	R-8	Radish	NH	MF
16	CC-16	Chinese cabbage	HD	CMS	56	R-9	Radish	NH	CMS
17	CC-17	Chinese cabbage	HD	CMS	57	R-10	Radish	NH	MF
18	CC-18	Chinese cabbage	HD	CMS	58	R-11	Radish	NH	CMS
19	CC-19	Chinese cabbage	HD	CMS	59	R-12	Radish	NH	MF
20	CC-20	Chinese cabbage	HD	CMS	60	BM-1	Baemoochae	BIO	MF
21	CC-21	Chinese cabbage	HD	CMS	61	BM-2	Baemoochae	BIO	MF
22	CC-22	Chinese cabbage	HD	CMS	62	BM-3	Baemoochae	BIO	D-CMS
23	CC-23	Chinese cabbage	HD	CMS	63	BM-4	Baemoochae	BIO	D-CMS
24	CC-24	Chinese cabbage	HD	CMS	64	BM-5	Baemoochae	BIO	D-CMS
25	CC-25	Chinese cabbage	HD	CMS	65	C-1	Cabbage	HD	CMS
26	CC-26	Chinese cabbage	HD	CMS	66	C-2	Cabbage	HD	CMS
27	CC-27	Chinese cabbage	WR	S-CMS	67	C-3	Cabbage	HD	CMS
28	CC-28	Chinese cabbage	WR	CMS	68	C-4	Cabbage	HD	CMS
29	CC-29	Chinese cabbage	WR	CMS	69	C-5	Cabbage	HD	CMS
30	CC-30	Chinese cabbage	WR	CMS	70	C-6	Cabbage	HD	CMS
31	CC-31	Chinese cabbage	WR	CMS	71	C-7	Cabbage	HD	CMS
32	CC-32	Chinese cabbage	WR	CMS	72	C-8	Cabbage	HD	CMS
33	CC-33	Chinese cabbage	WR	CMS	73	C-9	Cabbage	HD	CMS
34	CC-34	Chinese cabbage	WR	CMS	74	C-10	Cabbage	CNU	MS
35	CC-35	Chinese cabbage	WR	CMS	75	C-11	Cabbage	CNU	MF
36	CC-36	Chinese cabbage	WR	CMS	76	C-12	Cabbage	CNU	MS
37	CC-37	Chinese cabbage	WR	CMS	77	C-13	Cabbage	CNU	CMS
38	CC-38	Chinese cabbage	WR	CMS	78	C-14	Cabbage	CNU	MS
39	CC-39	Chinese cabbage	WR	CMS	79	C-15	Cabbage	CNU	MS
40	CC-40	Chinese cabbage	WR	CMS	80	C-16	Cabbage	CNU	MS

(3) PCR-RFLP에 의한 mtDNA의 분석

Normal과 Jasai CMS 및 Donshaja CMS 간의 세포질 유전자의 차이를 분석하고자 32종의 primer를 이용하여 PCR-RFLP분석을 하였다.

미토콘드리아 영역에서 합성한 primer를 이용하여 normal 2종(갯)과 Jasai CMS, Donshaja CMS의 DNA를 template로 이용하여 PCR한 후 증폭된 PCR 산물을 제한효소인 6염기 인식의 *HinfI*과 4염기 인식의 *HaeIII*, *HapII*, *AfaI*로 소화하였다. 그 반응조건으로 2 μ l의 10 \times buffer (750mM KCl, 150mM tris-HCl, pH 7.5, 92.5mM MgCl₂, 10mM dithiothreitol)를 첨가하고 PCR산물 4 μ l, restriction endonuclease 8units을 더한 다음 최종 volume을 20 μ l로 하였다. 반응액은 37 $^{\circ}$ C에서 10시간 incubation시킨 후 1X TBE buffer를 함유하고 있는 1.5% agarose gel에서 100V로 30분간 전기영동한 후 UV transilluminator상에서 확인하였으며 사용된 제한효소는 6염기 인식의 *HinfI*과 4염기 인식의 *HaeIII*, *HapII*, *AfaI* 이었다. 그 결과 normal, Jasai CMS, Donshaja CMS간의 상이성을 확인할 수 없었다.

(4) CMS 관련 미토콘드리아 영역의 염기서열 분석

PCR-RFLP에 의해 normal, Jasai CMS, Donshaja CMS간의 차이를 확인할 수 없었으므로 normal, Jasai CMS, Donshaja CMS간의 PCR-CAPS 마커를 개발하기 위하여 미토콘드리아 유전자 *atp6*, *coxII*, *ccb203*, *rpl2*, *ofr 138*, *orf224*의 PCR 산물을 정제한 후, pGEM-T Easy 벡터(Promega, USA)를 사용하여 ligation시켰다. Ligation 산물 *E. coli* DH5a에 형질전환시켰으며, IPTG와 X-gal을 포함한 LB agar 배지에 배양하였다. Plasmid 추출은 Plamid Miniprep Kit(TaKaRa, Japan)를 사용하였으며, 염기서열 결정은 PRISM™ 377(Perkin- Elmer, USA)을 사용하여 수행하였다. PCR 산물의 염기서열은 MacDNAsis (Hitachi software, Calif, USA)와 BLASTN 프로그램(NCBI)을 이용하여 결정 및 분석하였다. 그 결과 Jasai, Donshaja, Komatsuna CMS에 대한 *atp6*, *coxII*, *ccb203*, *rpl2*, *ofr 138*, *orf224* 유전자의 염기 상이성을 확인할 수 없었다(그림 5, 6, 7, 8, 9, 10).

```

atp6. normal      TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTACTAAAAGGGAGGAGGAAACTTAGTCCCAAAATGCTTG 60
atp6. K-CMS      TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTACTAAAAGGGAGGAGGAAACTTAGTCCCAAAATGCTTG 60
atp6. D-CMS      TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTACTAAAAGGGAGGAGGAAACTTAGTCCCAAAATGCTTG 60
atp6. J-CMS      TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTACTAAAAGGGAGGAGGAAACTTAGTCCCAAAATGCTTG 60
*****
atp6. normal      GCAATCCTTGGTAGAGCTTCTTTATGATTTTCGTGCTGAACCTGGTAAAGGAACAATAGG 120
atp6. K-CMS      GCAATCCTTGGTAGAGCTTCTTTATGATTTTCGTGCTGAACCTGGTAAAGGAACAATAGG 120
atp6. D-CMS      GCAATCCTTGGTAGAGCTTCTTTATGATTTTCGTGCTGAACCTGGTAAAGGAACAATAGG 120
atp6. J-CMS      GCAATCCTTGGTAGAGCTTCTTTATGATTTTCGTGCTGAACCTGGTAAAGGAACAATAGG 120
*****
atp6. normal      TGGTCTTCCGGAAATGTGAACAATAATGTTTTCCCTTGCATCTTGGTCACTTTTCTTTT 180
atp6. K-CMS      TGGTCTTCCGGAAATGTGAACAATAATGTTTTCCCTTGCATCTTGGTCACTTTTCTTTT 180
atp6. D-CMS      TGGTCTTCCGGAAATGTGAACAATAATGTTTTCCCTTGCATCTTGGTCACTTTTCTTTT 180
atp6. J-CMS      TGGTCTTCCGGAAATGTGAACAATAATGTTTTCCCTTGCATCTTGGTCACTTTTCTTTT 180
*****
atp6. normal      TTTGTTATTTTGTAAATCTTCAGGGTATGATACCTTATAGCTTCACAGTGACAAGTCATTT 240
atp6. K-CMS      TTTGTTATTTTGTAAATCTTCAGGGTATGATACCTTATAGCTTCACAGTGACAAGTCATTT 240
atp6. D-CMS      TTTGTTATTTTGTAAATCTTCAGGGTATGATACCTTATAGCTTCACAGTGACAAGTCATTT 240
atp6. J-CMS      TTTGTTATTTTGTAAATCTTCAGGGTATGATACCTTATAGCTTCACAGTGACAAGTCATTT 240
*****
atp6. normal      TCTCATTACTTTGGCTCTCTCATTTCATTTTTTATGGCATTACTATAGTGGGATTTCA 300
atp6. K-CMS      TCTCATTACTTTGGCTCTCTCATTTCATTTTTTATGGCATTACTATAGTGGGATTTCA 300
atp6. D-CMS      TCTCATTACTTTGGCTCTCTCATTTCATTTTTTATGGCATTACTATAGTGGGATTTCA 300
atp6. J-CMS      TCTCATTACTTTGGCTCTCTCATTTCATTTTTTATGGCATTACTATAGTGGGATTTCA 300
*****
atp6. normal      AAGACATGGGCTTCATTTTTTCAGCTTTTTTATACCCGAGGAGTCCCCTGCCGTTAGC 360
atp6. K-CMS      AAGACATGGGCTTCATTTTTTCAGCTTTTTTATACCCGAGGAGTCCCCTGCCGTTAGC 360
atp6. D-CMS      AAGACATGGGCTTCATTTTTTCAGCTTTTTTATACCCGAGGAGTCCCCTGCCGTTAGC 360
atp6. J-CMS      AAGACATGGGCTTCATTTTTTCAGCTTTTTTATACCCGAGGAGTCCCCTGCCGTTAGC 360
*****
atp6. normal      ACCTTTTTTAGTACTCCTTGAGCTAATTTCTTATTGTTTTTCGCGCATTAAAGCTTAGGAAT 420
atp6. K-CMS      ACCTTTTTTAGTACTCCTTGAGCTAATTTCTTATTGTTTTTCGCGCATTAAAGCTTAGGAAT 420
atp6. D-CMS      ACCTTTTTTAGTACTCCTTGAGCTAATTTCTTATTGTTTTTCGCGCATTAAAGCTTAGGAAT 420
atp6. J-CMS      ACCTTTTTTAGTACTCCTTGAGCTAATTTCTTATTGTTTTTCGCGCATTAAAGCTTAGGAAT 420
*****
atp6. normal      ACGTTTATTGCTAATATGATGGCCGGTCAATAGTTTATGTAAGATTTTAAAGTGGGTTGCG 480
atp6. K-CMS      ACGTTTATTGCTAATATGATGGCCGGTCAATAGTTTATGTAAGATTTTAAAGTGGGTTGCG 480
atp6. D-CMS      ACGTTTATTGCTAATATGATGGCCGGTCAATAGTTTATGTAAGATTTTAAAGTGGGTTGCG 480
atp6. J-CMS      ACGTTTATTGCTAATATGATGGCCGGTCAATAGTTTATGTAAGATTTTAAAGTGGGTTGCG 480
*****
atp6. normal      TTGGACTATGCTATGTATGAATGAGATAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 533
atp6. K-CMS      TTGGACTATGCTATGTATGAATGAGATAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 533
atp6. D-CMS      TTGGACTATGCTATGTATGAATGAGATAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 533
atp6. J-CMS      TTGGACTATGCTATGTATGAATGAGATAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 533
*****

```

그림 5. Jasai, Donshaja, Komatsuna CMS에 대한 *atp6*의 염기서열 분석.

COX2, normal TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTCCACAATTTCTCCTTGTGATGCAGCGGAACCATGGCAA 60
COX2, K-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTCCACAATTTCTCCTTGTGATGCAGCGGAACCATGGCAA 60
COX2, J-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTCCACAATTTCTCCTTGTGATGCAGCGGAACCATGGCAA 60
COX2, D-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTCCACAATTTCTCCTTGTGATGCAGCGGAACCATGGCAA 60

COX2, normal TTAGGATCTCAAGAGCGAGCTACACCTATAATGCAAGGAATAATAGACTTACATCAGCAT 120
COX2, K-CMS TTAGGATCTCAAGAGCGAGCTACACCTATAATGCAAGGAATAATAGACTTACATCAGCAT 120
COX2, J-CMS TTAGGATCTCAAGAGCGAGCTACACCTATAATGCAAGGAATAATAGACTTACATCAGCAT 120
COX2, D-CMS TTAGGATCTCAAGAGCGAGCTACACCTATAATGCAAGGAATAATAGACTTACATCAGCAT 120

COX2, normal ATCTTTTTCTCCTCACTTCTGATTTGGTTTTGCGTATTAATGATCTTGGTTTCGCGCTTTA 180
COX2, K-CMS ATCTTTTTCTCCTCACTTCTGATTTGGTTTTGCGTATTAATGATCTTGGTTTCGCGCTTTA 180
COX2, J-CMS ATCTTTTTCTCCTCACTTCTGATTTGGTTTTGCGTATTAATGATCTTGGTTTCGCGCTTTA 180
COX2, D-CMS ATCTTTTTCTCCTCACTTCTGATTTGGTTTTGCGTATTAATGATCTTGGTTTCGCGCTTTA 180

COX2, normal TGGCATTCCACTATAAAGAAAATGCAATCCCGCAAAGGATTTGTTCAATGGAACACTATC 240
COX2, K-CMS TGGCATTCCACTATAAAGAAAATGCAATCCCGCAAAGGATTTGTTCAATGGAACACTATC 240
COX2, J-CMS TGGCATTCCACTATAAAGAAAATGCAATCCCGCAAAGGATTTGTTCAATGGAACACTATC 240
COX2, D-CMS TGGCATTCCACTATAAAGAAAATGCAATCCCGCAAAGGATTTGTTCAATGGAACACTATC 240

COX2, normal GAGATTTCTCGGACCATCTTTCTAGTCTCATCTCGATGTTTCAATGCTATACCATCAATT 300
COX2, K-CMS GAGATTTCTCGGACCATCTTTCTAGTCTCATCTCGATGTTTCAATGCTATACCATCAATT 300
COX2, J-CMS GAGATTTCTCGGACCATCTTTCTAGTCTCATCTCGATGTTTCAATGCTATACCATCAATT 300
COX2, D-CMS GAGATTTCTCGGACCATCTTTCTAGTCTCATCTCGATGTTTCAATGCTATACCATCAATT 300

COX2, normal GCTCTCTTAACTCAATGGACGAGGTAGTAGTAGATCCAGCCATTACTATCAAAGCTATT 360
COX2, K-CMS GCTCTCTTAACTCAATGGACGAGGTAGTAGTAGATCCAGCCATTACTATCAAAGCTATT 360
COX2, J-CMS GCTCTCTTAACTCAATGGACGAGGTAGTAGTAGATCCAGCCATTACTATCAAAGCTATT 360
COX2, D-CMS GCTCTCTTAACTCAATGGACGAGGTAGTAGTAGATCCAGCCATTACTATCAAAGCTATT 360

COX2, normal GGACATCAATGGTATTTGGACTTATGAGTATTTGACTATAACAGTCCCGATGAGCAGTCA 420
COX2, K-CMS GGACATCAATGGTATTTGGACTTATGAGTATTTGACTATAACAGTCCCGATGAGCAGTCA 420
COX2, J-CMS GGACATCAATGGTATTTGGACTTATGAGTATTTGACTATAACAGTCCCGATGAGCAGTCA 420
COX2, D-CMS GGACATCAATGGTATTTGGACTTATGAGTATTTGACTATAACAGTCCCGATGAGCAGTCA 420

COX2, normal CTCACTTTTGACAGTTATATGATTTCCAGAAGAAGATCTAGAATTTGGGTCAATCAGTTTA 480
COX2, K-CMS CTCACTTTTGACAGTTATATGATTTCCAGAAGAAGATCTAGAATTTGGGTCAATCAGTTTA 480
COX2, J-CMS CTCACTTTTGACAGTTATATGATTTCCAGAAGAAGATCTAGAATTTGGGTCAATCAGTTTA 480
COX2, D-CMS CTCACTTTTGACAGTTATATGATTTCCAGAAGAAGATCTAGAATTTGGGTCAATCAGTTTA 480

COX2, normal TTAGAAGTGGACAATAGAGTGGTTGTACCAGCCAAAACCTCATCTACGTATTATTGTAACA 540
COX2, K-CMS TTAGAAGTGGACAATAGAGTGGTTGTACCAGCCAAAACCTCATCTACGTATTATTGTAACA 540
COX2, J-CMS TTAGAAGTGGACAATAGAGTGGTTGTACCAGCCAAAACCTCATCTACGTATTATTGTAACA 540
COX2, D-CMS TTAGAAGTGGACAATAGAGTGGTTGTACCAGCCAAAACCTCATCTACGTATTATTGTAACA 540

COX2, normal TCTGCTGATGTACCTCATAGTTGGGCTGTACCTTCTCAGGTGTCAAATGTGATGCTGTA 600
COX2, K-CMS TCTGCTGATGTACCTCATAGTTGGGCTGTACCTTCTCAGGTGTCAAATGTGATGCTGTA 600
COX2, J-CMS TCTGCTGATGTACCTCATAGTTGGGCTGTACCTTCTCAGGTGTCAAATGTGATGCTGTA 600
COX2, D-CMS TCTGCTGATGTACCTCATAGTTGGGCTGTACCTTCTCAGGTGTCAAATGTGATGCTGTA 600

COX2, normal CCTGGTCGTTTTAAATCAAATCTCTATTTTGGTACAACGAGAGGAGTTTACTATGGTCAG 660
COX2, K-CMS CCTGGTCGTTTTAAATCAAATCTCTATTTTGGTACAACGAGAGGAGTTTACTATGGTCAG 660
COX2, J-CMS CCTGGTCGTTTTAAATCAAATCTCTATTTTGGTACAACGAGAGGAGTTTACTATGGTCAG 660
COX2, D-CMS CCTGGTCGTTTTAAATCAAATCTCTATTTTGGTACAACGAGAGGAGTTTACTATGGTCAG 660

COX2, normal TGCAGTGGAGATTTGGGAACATAATCATGCCTTTACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGC 720
COX2, K-CMS TGCAGTGGAGATTTGGGAACATAATCATGCCTTTACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGC 720
COX2, J-CMS TGCAGTGGAGATTTGGGAACATAATCATGCCTTTACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGC 720
COX2, D-CMS TGCAGTGGAGATTTGGGAACATAATCATGCCTTTACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGC 720

COX2, normal CT 722
COX2, K-CMS CT 722
COX2, J-CMS CT 722
COX2, D-CMS CT 722
**

그림 6. Jasai, Donshaja, Komatsuna CMS에 대한 coxII의 염기서열 분석.

ccb203, J-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGAGCCGAGTGACGTAGATGCACAAGAGTACTTCCGCGCC 60
ccb203, D-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGAGCCGAGTGACGTAGATGCACAAGAGTACTTCCGCGCC 60
ccb203, normal TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGAGCCGAGTGACGTAGATGCACAAGAGTACTTCCGCGCC 60
ccb203, K-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGAGCCGAGTGACGTAGATGCACAAGAGTACTTCCGCGCC 60

ccb203, J-CMS ACAACCATTTCTTTTTTATACGTTCTACGGACCGATGCCTGCTGCTTCACTGGTAGAAA 120
ccb203, D-CMS ACAACCATTTCTTTTTTATACGTTCTACGGACCGATGCCTGCTGCTTCACTGGTAGAAA 120
ccb203, normal ACAACCATTTCTTTTTTATACGTTCTACGGACCGATGCCTGCTGCTTCACTGGTAGAAA 120
ccb203, K-CMS ACAACCATTTCTTTTTTATACGTTCTACGGACCGATGCCTGCTGCTTCACTGGTAGAAA 120

ccb203, J-CMS AGAATCATAGATATGCGCGTCAATAGAAGGAAGAACCCACATAAAAAGATTCTCTGTTGA 180
ccb203, D-CMS AGAATCATAGATATGCGCGTCAATAGAAGGAAGAACCCACATAAAAAGATTCTCTGTTGA 180
ccb203, normal AGAATCATAGATATGCGCGTCAATAGAAGGAAGAACCCACATAAAAAGATTCTCTGTTGA 180
ccb203, K-CMS AGAATCATAGATATGCGCGTCAATAGAAGGAAGAACCCACATAAAAAGATTCTCTGTTGA 180

ccb203, J-CMS TCATCTGTAGCAAACCTATGAACGGGAGCTAGCAATCCGGACCGTATTGAAAAGGTTCC 240
ccb203, D-CMS TCATCTGTAGCAAACCTATGAACGGGAGCTAGCAATCCGGACCGTATTGAAAAGGTTCC 240
ccb203, normal TCATCTGTAGCAAACCTATGAACGGGAGCTAGCAATCCGGACCGTATTGAAAAGGTTCC 240
ccb203, K-CMS TCATCTGTAGCAAACCTATGAACGGGAGCTAGCAATCCGGACCGTATTGAAAAGGTTCC 240

ccb203, J-CMS GAGACACAGCATGGAAAAGTCAAAATATTAGAAGAACGAGGTCCAAGAATGAAGAAGGGGT 300
ccb203, D-CMS GAGACACAGCATGGAAAAGTCAAAATATTAGAAGAACGAGGTCCAAGAATGAAGAAGGGGT 300
ccb203, normal GAGACACAGCATGGAAAAGTCAAAATATTAGAAGAACGAGGTCCAAGAATGAAGAAGGGGT 300
ccb203, K-CMS GAGACACAGCATGGAAAAGTCAAAATATTAGAAGAACGAGGTCCAAGAATGAAGAAGGGGT 300

ccb203, J-CMS AAAATTACAGAATGAATACGAGCTGTGGCTAATACCCGAGGCATAAAAAGAGCATTTTCT 360
ccb203, D-CMS AAAATTACAGAATGAATACGAGCTGTGGCTAATACCCGAGGCATAAAAAGAGCATTTTCT 360
ccb203, normal AAAATTACAGAATGAATACGAGCTGTGGCTAATACCCGAGGCATAAAAAGAGCATTTTCT 360
ccb203, K-CMS AAAATTACAGAATGAATACGAGCTGTGGCTAATACCCGAGGCATAAAAAGAGCATTTTCT 360

ccb203, J-CMS ACGGGATCCCGAAACCACAGCCACCCCGACCTAATTCATGATAAGCCACCAACTTCT 420
ccb203, D-CMS ACGGGATCCCGAAACCACAGCCACCCCGACCTAATTCATGATAAGCCACCAACTTCT 420
ccb203, normal ACGGGATCCCGAAACCACAGCCACCCCGACCTAATTCATGATAAGCCACCAACTTCT 420
ccb203, K-CMS ACGGGATCCCGAAACCACAGCCACCCCGACCTAATTCATGATAAGCCACCAACTTCT 420

ccb203, J-CMS GGCAAGATGCTCAGGTTAAAAACCACCAACATGTCAAGATCCAAATTCGAAATTGGTTCC 480
ccb203, D-CMS GGCAAGATGCTCAGGTTAAAAACCACCAACATGTCAAGATCCAAATTCGAAATTGGTTCC 480
ccb203, normal GGCAAGATGCTCAGGTTAAAAACCACCAACATGTCAAGATCCAAATTCGAAATTGGTTCC 480
ccb203, K-CMS GGCAAGATGCTCAGGTTAAAAACCACCAACATGTCAAGATCCAAATTCGAAATTGGTTCC 480

ccb203, J-CMS TGGTCTGATCAGAAAACCTGTGTTTCGCGCCGGCAGTCCAACAAGAGGCGAAGTAGTG 540
ccb203, D-CMS TGGTCTGATCAGAAAACCTGTGTTTCGCGCCGGCAGTCCAACAAGAGGCGAAGTAGTG 540
ccb203, normal TGGTCTGATCAGAAAACCTGTGTTTCGCGCCGGCAGTCCAACAAGAGGCGAAGTAGTG 540
ccb203, K-CMS TGGTCTGATCAGAAAACCTGTGTTTCGCGCCGGCAGTCCAACAAGAGGCGAAGTAGTG 540

ccb203, J-CMS GTCTCTTTCTTTCCATTACGAACGACACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCT 595
ccb203, D-CMS GTCTCTTTCTTTCCATTACGAACGACACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCT 595
ccb203, normal GTCTCTTTCTTTCCATTACGAACGACACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCT 595
ccb203, K-CMS GTCTCTTTCTTTCCATTACGAACGACACGAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCT 595

그림 7. Jasai, Donshaja, Komatsuna CMS에 대한 ccb203의 염기서열 분석.

rp12, J-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGCTGCGAAGAATTGATCTGAAACGAAGCACTTCCTCT 60
rp12, D-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGCTGCGAAGAATTGATCTGAAACGAAGCACTTCCTCT 60
rp12, normal TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGCTGCGAAGAATTGATCTGAAACGAAGCACTTCCTCT 60
rp12, K-CMS TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTTGCTGCGAAGAATTGATCTGAAACGAAGCACTTCCTCT 60

rp12, J-CMS ATGGGCATTGTAGAGAGTATAGAATATGACCCTAATCGTTCCTCTCAGATCGCTCCAGTA 120
rp12, D-CMS ATGGGCATTGTAGAGAGTATAGAATATGACCCTAATCGTTCCTCTCAGATCGCTCCAGTA 120
rp12, normal ATGGGCATTGTAGAGAGTATAGAATATGACCCTAATCGTTCCTCTCAGATCGCTCCAGTA 120
rp12, K-CMS ATGGGCATTGTAGAGAGTATAGAATATGACCCTAATCGTTCCTCTCAGATCGCTCCAGTA 120

rp12, J-CMS CGATGGATCAAGGGGGGCTGCCAGAAACAAATGAACACGATCGAGGAGTTAGCTCCGCCG 180
rp12, D-CMS CGATGGATCAAGGGGGGCTGCCAGAAACAAATGAACACGATCGAGGAGTTAGCTCCGCCG 180
rp12, normal CGATGGATCAAGGGGGGCTGCCAGAAACAAATGAACACGATCGAGGAGTTAGCTCCGCCG 180
rp12, K-CMS CGATGGATCAAGGGGGGCTGCCAGAAACAAATGAACACGATCGAGGAGTTAGCTCCGCCG 180

rp12, J-CMS CGCAAGATCCTCGAACCTACCACGAACACCATCAGCGGCTCTTTTCGTCTCTTTCCCTG 240
rp12, D-CMS CGCAAGATCCTCGAACCTACCACGAACACCATCAGCGGCTCTTTTCGTCTCTTTCCCTG 240
rp12, normal CGCAAGATCCTCGAACCTACCACGAACACCATCAGCGGCTCTTTTCGTCTCTTTCCCTG 240
rp12, K-CMS CGCAAGATCCTCGAACCTACCACGAACACCATCAGCGGCTCTTTTCGTCTCTTTCCCTG 240

rp12, J-CMS CCCGGGAAGGTGGATCAAAGAAAGGTAGCTTCTCTCCTGGACTGATGGCCGCTTAT 300
rp12, D-CMS CCCGGGAAGGTGGATCAAAGAAAGGTAGCTTCTCTCCTGGACTGATGGCCGCTTAT 300
rp12, normal CCCGGGAAGGTGGATCAAAGAAAGGTAGCTTCTCTCCTGGACTGATGGCCGCTTAT 300
rp12, K-CMS CCCGGGAAGGTGGATCAAAGAAAGGTAGCTTCTCTCCTGGACTGATGGCCGCTTAT 300

rp12, J-CMS GTAGTGGTCGGCCTTCCTACCAGAAATGCCTCCTTTGTCTTCGTATAAGAGCGCCTTTGCT 360
rp12, D-CMS GTAGTGGTCGGCCTTCCTACCAGAAATGCCTCCTTTGTCTTCGTATAAGAGCGCCTTTGCT 360
rp12, normal GTAGTGGTCGGCCTTCCTACCAGAAATGCCTCCTTTGTCTTCGTATAAGAGCGCCTTTGCT 360
rp12, K-CMS GTAGTGGTCGGCCTTCCTACCAGAAATGCCTCCTTTGTCTTCGTATAAGAGCGCCTTTGCT 360

rp12, J-CMS AGTAAGGGCGCAGGAAGCACAAAACTTTAGTGAAGGACGCTTCTTCTCTGCCTTCTCC 420
rp12, D-CMS AGTAAGGGCGCAGGAAGCACAAAACTTTAGTGAAGGACGCTTCTTCTCTGCCTTCTCC 420
rp12, normal AGTAAGGGCGCAGGAAGCACAAAACTTTAGTGAAGGACGCTTCTTCTCTGCCTTCTCC 420
rp12, K-CMS AGTAAGGGCGCAGGAAGCACAAAACTTTAGTGAAGGACGCTTCTTCTCTGCCTTCTCC 420

rp12, J-CMS TCTCCAAGGCCAAGAGAGAGACTGCATCCCTTGCCTTCGCTAGCTCTTTGGTTTCCCA 480
rp12, D-CMS TCTCCAAGGCCAAGAGAGAGACTGCATCCCTTGCCTTCGCTAGCTCTTTGGTTTCCCA 480
rp12, normal TCTCCAAGGCCAAGAGAGAGACTGCATCCCTTGCCTTCGCTAGCTCTTTGGTTTCCCA 480
rp12, K-CMS TCTCCAAGGCCAAGAGAGAGACTGCATCCCTTGCCTTCGCTAGCTCTTTGGTTTCCCA 480

rp12, J-CMS AGGATAGCGGTAGCTGGGGTTCCCTACCCTTTCTTCGCTCCGCGAATGAGACAGAAAGTG 540
rp12, D-CMS AGGATAGCGGTAGCTGGGGTTCCCTACCCTTTCTTCGCTCCGCGAATGAGACAGAAAGTG 540
rp12, normal AGGATAGCGGTAGCTGGGGTTCCCTACCCTTTCTTCGCTCCGCGAATGAGACAGAAAGTG 540
rp12, K-CMS AGGATAGCGGTAGCTGGGGTTCCCTACCCTTTCTTCGCTCCGCGAATGAGACAGAAAGTG 540

rp12, J-CMS AGAGGAAAAAGCACGCTTCTCTTTGCGAGGTCCGAAAGTGGAGAACGCATAGCATTCTC 600
rp12, D-CMS AGAGGAAAAAGCACGCTTCTCTTTGCGAGGTCCGAAAGTGGAGAACGCATAGCATTCTC 600

rp12, normal AGAGGAAAAAGCACGCTTCTCTTTGCGAGGTCCGAAAGTGGAGAACGCATAGCATTCTC 600
rp12, K-CMS AGAGGAAAAAGCACGCTTCTCTTTGCGAGGTCCGAAAGTGGAGAACGCATAGCATTCTC 600

rp12, J-CMS TGGGCACATAGGATCAAAGGTAAAGCAGGGCTTTCTTGGCAGAGTTTTAGGCGGCAAGAT 660
rp12, D-CMS TGGGCACATAGGATCAAAGGTAAAGCAGGGCTTTCTTGGCAGAGTTTTAGGCGGCAAGAT 660
rp12, normal TGGGCACATAGGATCAAAGGTAAAGCAGGGCTTTCTTGGCAGAGTTTTAGGCGGCAAGAT 660
rp12, K-CMS TGGGCACATAGGATCAAAGGTAAAGCAGGGCTTTCTTGGCAGAGTTTTAGGCGGCAAGAT 660

rp12, J-CMS ACTTTAGGGCTTGTGGAGCTGCTGGGCATAACAAATCGAAGCCGAAAGACGGATCAAGGT 720
rp12, D-CMS ACTTTAGGGCTTGTGGAGCTGCTGGGCATAACAAATCGAAGCCGAAAGACGGATCAAGGT 720
rp12, normal ACTTTAGGGCTTGTGGAGCTGCTGGGCATAACAAATCGAAGCCGAAAGACGGATCAAGGT 720
rp12, K-CMS ACTTTAGGGCTTGTGGAGCTGCTGGGCATAACAAATCGAAGCCGAAAGACGGATCAAGGT 720

rp12, J-CMS AGCTTGCTGCCAAGCCGATAGGCGAAAGGGCGAAGCAACTCAAAGCTCTCCGGGTTTG 780
rp12, D-CMS AGCTTGCTGCCAAGCCGATAGGCGAAAGGGCGAAGCAACTCAAAGCTCTCCGGGTTTG 780
rp12, normal AGCTTGCTGCCAAGCCGATAGGCGAAAGGGCGAAGCAACTCAAAGCTCTCCGGGTTTG 780
rp12, K-CMS AGCTTGCTGCCAAGCCGATAGGCGAAAGGGCGAAGCAACTCAAAGCTCTCCGGGTTTG 780

rp12, J-CMS AGGGCGAAGGATGGAGCGTGCAAAAGTCGATCGTGACCTGTCTGTGTGACCCGTTGGTCT 840
rp12, D-CMS AGGGCGAAGGATGGAGCGTGCAAAAGTCGATCGTGACCTGTCTGTGTGACCCGTTGGTCT 840
rp12, normal AGGGCGAAGGATGGAGCGTGCAAAAGTCGATCGTGACCTGTCTGTGTGACCCGTTGGTCT 840
rp12, K-CMS AGGGCGAAGGATGGAGCGTGCAAAAGTCGATCGTGACCTGTCTGTGTGACCCGTTGGTCT 840

rp12, J-CMS AAGCAATGTAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 875
rp12, D-CMS AAGCAATGTAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 875
rp12, normal AAGCAATGTAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 875
rp12, K-CMS AAGCAATGTAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCT 875

그림 8. Jasai, Donshaja, Komatsuna CMS에 대한 *rp12*의 염기서열 분석.

>*orf138*, K-CMS
 TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTCGCTCACTTCATCGTTAGGTACATTTGATTTTATTGTAATTTTGACACCTAGCCACCATACTGAA
 ATTCATATGGAATTTTTAACTTCTCTAGATGTCATAGTTTCGTAACAATGTTGGTTGTTAGAAAACCACTTAGCCAAAATATGGG
 CCATTAGTAAAAAGCTAAAAGAAAGAACTTATTACTACTTTTACATTCAGTAGGAGTGAGATTATGACAAAAGTGGACAATT
 TTTGAAAAAGGTAATCATTGCATTTATATGCTGAAGAAAAGCGGATTTGCTCACTTCCCGTTTCCGAACTAGTGAATTCGCGGCC
 GCCT

그림 9. Komatsuna CMS에 대한 *orf138*의 염기서열.

```

orf224, J-CMS      TGGCGGCGCGGGGAATTCGATTGAACCTACTGCTTTCACACCGGGGGAAGACCATCCATA 57
orf224, D-CMS      TGGCGGCGCGGGGAATTCGATTGAACCAACTGCTTTCACACCGGGGGAAGACCATCCATA 60
*****
orf224, J-CMS      GTAAGGTCAGAAAAAATCGTATTTTCAGATTCAGTCGGTTGGAGGTCTTGGCGTTCGCTA 117
orf224, D-CMS      GTAAGGTCAGAAAAAATCGTATTTTCAGATTCAGTCGGTTGGAGGTCTTGGCGTTCGCTA 120
*****
orf224, J-CMS      TTAATTAATTCCTCTTTTTTCGTGATTCCAAGATTATGGCCATATATATATATTGGATACG 177
orf224, D-CMS      TTAATTAATTCCTCTTTTTTCGTGATTCCAAGATTATGGCCATATATATATATTGGATACG 180
*****
orf224, J-CMS      GTTTGAAATTTTTGTTAGGGTTGAAATATGGAATATCCAAAATGAAATCTTGACTTTAG 237
orf224, D-CMS      GTTTGAAATTTTTGTTAGGGTTGAAATATGGAATATCCAAAATGAAATCTTGACTTTAG 240
*****
orf224, J-CMS      GGGTCGGACAGATGGCGTCGCGCCCTGGATATAAACGAACGGCGCCGCTGCATCTCT 297
orf224, D-CMS      GGGTCGGACAGATGGCGTCGCGCCCTGGATATAAACGAACGGCGCCGCTGCATCTCT 300
*****
orf224, J-CMS      TGTACGCGGATGTTGAGAGTTCGGACTCTCAACAAGCTCGAAATATGTGATGCTAGCGC 357
orf224, D-CMS      TGTACGCGGATGTTGAGAGTTCGGACTCTCAACAAGCTCGAAATATGTGATGCTAGCGC 360
*****
orf224, J-CMS      ACCTTAATCGCATAGAATATATAACCCATGACCTAGAGGGTGAGCGTGATATCGTGCGGC 417
orf224, D-CMS      ACCTTAATCGCATAGAATATATAACCCATGACCTAGAGGGTGAGCGTGATATCGTGCGGC 420
*****
orf224, J-CMS      GTC AAGCCTTAATCGATATCATGAAGTGGGAGATTCGAATCTACAGCGCACTTTCGGG 477
orf224, D-CMS      GTC AAGCCTTAATCGATATCATGAAGTGGGAGATTCGAATCTACAGCGCACTTTCGGG 480
*****
orf224, J-CMS      TCTTTCGGCACCTAGACCGTGTGCGAGATTCGCAGAGAGCCAAAGAACTACTAGTGAATTC 537
orf224, D-CMS      TCTTTCGGCACCTAGACCGTGTGCGAGATTCGCAGAGAGCCAAAGAACTACTAGTGAATTC 540
*****
orf224, J-CMS      GCGGCCGCCT 547
orf224, D-CMS      GCGGCCGCCT 550
*****

```

그림 10. Jasai, Donshaja CMS에 대한 *orf224*의 염기서열 분석.

2. CMS 종류별 특이적 분자마커 선발

가. 연구내용

(1) CMS 종류별 특이적 분자마커 선발

(가) CMS와 MF의 구분 특이적 마커 선발

배추과 작물의 CMS 유형에는 *nap*, *ogu*, *mur*, *oxy*, *tour* 등이 있다. 지금까지 알려진 CMS 라인의 세포질 background는 1) *B. tournefortii*, 2) *B. oxyrrhina*, 3) *D. sifolia*, 4) *Raphanus sativus*, 5) *Trachystoma ballii* 등이 있다. 이러한 CMS의 구분 분자마커를 개발하기 위하여 배추과 작물에서 CMS를 국내 대학, 연구소, 종묘회사에서 수집하였으며, 특히 연구사업단에 같이 참여하고 있는 종묘회사의 도움을 받아 수집하였다.

수집된 재료의 염조직으로부터 CTAB법에 의하여 total DNA를 추출하였으며, CMS 종류 구분 분자마커 개발을 위해 기 발표된 논문 및 연구를 참조하여, 미토콘드리아 특이적 primer로 *orf220*, *orf222*, *orf224* 및 *atpA* 등의 유전자로부터 51종의 primer를 합성하였다. PCR 증폭은 Perkin-elmer사의 PE-9700을 이용하였고, 2분간 94°C에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94°C에서 1분, annealing은 50°C에서 1분, extension은 72°C에서 2분간 35회 반응시켰다. Post-extension은 72°C에서 2분간 수행하였다. PCR 증폭 반응용액은 10x reaction buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl, PH 8.3, 15mM MgCl₂) 2.5μl, 2.5mM dNTP 2μl, Genomic DNA 50ng, 100pM Primer 0.1μl, 0.5unit *Taq* polymerase 0.25μl(TaKaRa, Japan) 및 멸균수를 이용하여 Total Vol. 25μl로 조성되었다. 반응액은 1.0% agarose gel 전기영동으로 분리 후 UV transilluminator상에서 확인하였다.

미토콘드리아 영역에서 제작한 primer를 활용하여 96종의 배추류를 PCR한 결과 대다수의 primer에서 동일한 크기의 PCR 산물이 증폭되어 배추과 작물인 배추, 양배추, 갓, 무, 배무채는 미토콘드리아 영역의 유전자의 상동성이 매우 높다는 것을 알 수 있었다.

그러나 CMS와 MF의 구분용 마커로 *atpA*, *orf324/orf305* primer를 선발하였다. *atpA* primer로 PCR을 할 경우 갓 MF와 배추 MF는 1,000bp 크기의 산물이 증폭되며, CMS(Jasai, Donshaja, Komatsuna, Saco)는 1,300bp 크기의 산물이 증폭되었다. *atpA*에 의한 PCR 산물을 cloning하여 염기서열을 분석 한 후, MF와 CMS간의 아미노산을 비교하였다. 그 결과 *orf*영역은 차이가 없었으나, 5'-UTR영역에서는 차이가 있었다. *orf324/orf305* primers는 CMS가 MF보다 큰 size로 증폭되었다(그림 11). 이 프라이머는 CMS와 MF 구별 마커로 활용 가능할 것으로 판단된다.

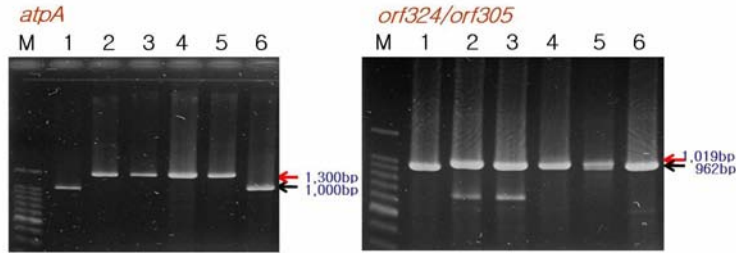


그림 11. *atpA*, *orf324/orf305*를 이용한 CMS와 MF의 구분 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: 갯 MF, 2: J-CMS, 3: D-CMS, 4: K-CMS, 5: O-CMS, 6: 배추 MF)

(나) Ogura type CMS 특이적 마커 선발

PCR 증폭은 Perkin-elmer사의 PE-9700을 이용하였고, 2분간 94℃에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94℃에서 1분, annealing은 50℃에서 1분, extension은 72℃에서 2분간 35회 반응시켰다. Post-extension은 72℃에서 2분간 수행하였다. PCR 증폭 반응용액은 10x reaction buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl, PH 8.3, 15mM MgCl₂) 2.5μl, 2.5mM dNTP 2 μl, Genomic DNA 50ng, 100pM Primer 0.1μl, 0.5unit Taq polymerase 0.25μl(TaKaRa, Japan) 및 멸균수를 이용하여 Total Vol. 25μl로 조성되었다. 반응액은 1.0% agarose gel 전기영동으로 분리 후 UV transilluminator상에서 확인하였다. Ogura type CMS의 특이적 마커인 *orf138*에 의해 배추의 komatsuna 및 Saco CMS에서 PCR산물(350bp)이 증폭되었으며, *trnFM/atpA1*, *trnFM/orfB2*도 komatsuna 및 sakata CMS에서 증폭되었다(그림 12). 이 프라이머는 Ogura type CMS 구별 마커로 활용 가능할 것으로 판단된다.

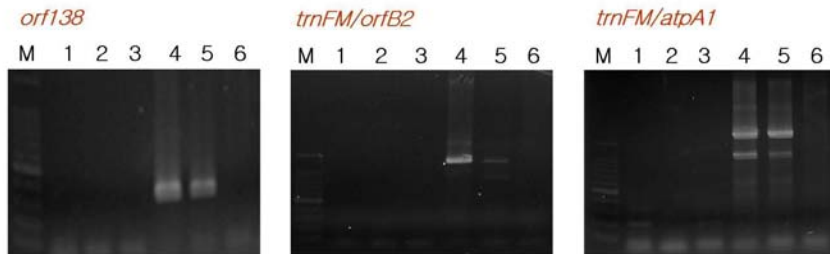


그림 12. *orf138*, *trnFM/orfB*, *trnFM/atpA1*를 이용한 Ogura type CMS 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: 갯 MF, 2: J-CMS, 3: D-CMS, 4: K-CMS, 5: O-CMS, 6: 배추 MF)

(다) Polima type CMS 특이적 마커 선발

PCR 증폭은 Perkin-elmer사의 PE-9700을 이용하였고, 2분간 94℃에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94℃에서 1분, annealing은 50℃에서 1분, extension은 72℃에서 2분간 35회 반응시켰다. Post-extension은 72℃에서 2분간 수행하였다. PCR 증폭 반응용액은 10x reaction buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl, PH 8.3, 15mM MgCl₂) 2.5μl, 2.5mM dNTP 2 μl, Genomic DNA 50ng, 100pM Primer 0.1μl, 0.5unit Taq polymerase 0.25μl(TaKaRa, Japan) 및 멸균수를 이용하여 Total Vol. 25μl로 조성되었다. 반응액은 1.0% agarose gel 전기영동으로 분리 후 UV transilluminator상에서 확인하였다. Polima type CMS 특이적 마커인 *orf220*, *orf222*, *orf224*, *orf220/orf222*, *orf240*에 의하여 갯의 Jasai, 갯의 Donshaja CMS에서 PCR산물이 증폭되었다. 특히 *orf256*는 Polima CMS(850 bp)에서 뚜렷하게 증폭 되었다(그림 13). 이 프라이머는 Polima type CMS 구별 마커로 활용 가능할 것으로 판단된다.

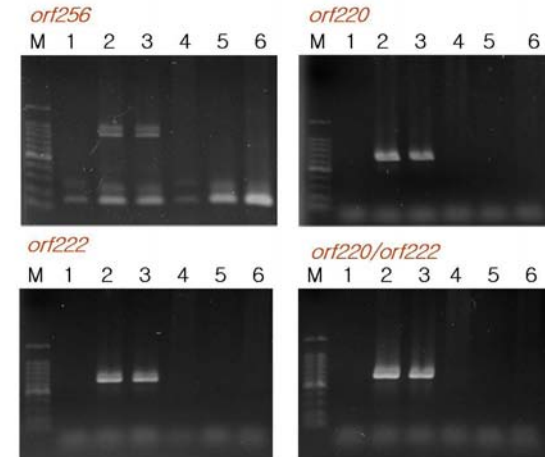


그림 13. *orf256*, *orf220*, *orf222*, *orf220/orf222*를 이용한 Polima type CMS 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: 갯 MF, 2: J-CMS, 3: D-CMS, 4: K-CMS, 5: O-CMS, 6: 배추 MF)

(라) Komatsuna type CMS 특이적 마커 선발

PCR 증폭은 Perkin-elmer사의 PE-9700을 이용하였고, 2분간 94℃에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94℃에서 1분, annealing은 50℃에서 1분, extension은 72℃에서 2분간 35회 반응시켰다. Post-extension은 72℃에서 2분간 수행하였다. PCR 증폭 반응용액은 10x reaction buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl, PH 8.3, 15mM MgCl₂) 2.5μl, 2.5mM dNTP 2 μl, Genomic DNA 50ng, 100pM Primer 0.1μl, 0.5unit Taq polymerase 0.25μl(TaKaRa, Japan) 및 멸균수를 이용하여 Total Vol. 25μl로 조성되었다. 반응액은 1.0% agarose gel 전기영동으로 분리 후 UV transilluminator상에서 확인하였다. Komatsuna type 특이적 마커인 *trnFM/del*, *trnFM/atpA2*에 의하여 Komatsuna type CMS를 구분 할 수 있었다(그림 14). 이 프라이머는 Komatsuna type CMS 구별 마커로 활용 가능할 것으로 판단된다.

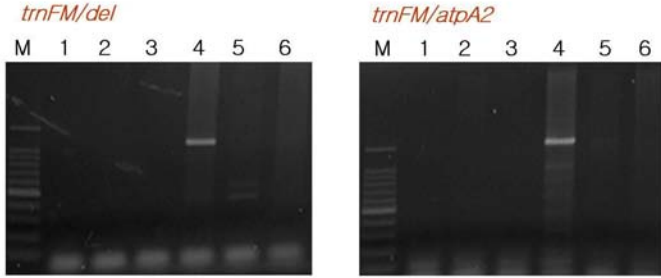


그림 14. *trnFM/del*, *trnFM/atrA2*를 이용한 *Komatsuna* type CMS 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: 갓 MF, 2: J-CMS, 3: D-CMS, 4: K-CMS, 5: O-CMS, 6: 배추 MF)

(2) CMS계통의 염록체 게놈 유전자 근방영역 해석

(가) *matK*, *rbcL* 및 *accD* 유전자의 염기서열 분석

염록체 DNA 염기 서열(1-1세부과제에서 분양 받음)을 활용(DQ231548, *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* chloroplast sequence, 153,482bp)하여 *matK*, *rbcL* 및 *accD* 유전자를 염기서열 및 아미노산 분석을 하였으며 이들 유전자의 특이적 부분을 이용하여 프라이머를 디자인 하였다 (그림 15, 16, 17, 18). 디자인된 프라이머들을 이용하여 PCR을 수행한 결과 *matK* 유전자를 이용한 프라이머는 *Komatsuna* CMS에서만 특이적으로 밴드를 증폭시켰다(그림 19). 이 *matK* 유전자를 이용한 프라이머는 *Komatsuna* CMS 구별 마커로 활용 가능할 것으로 판단된다.

>*Brassica rapa* subsp. chloroplast maturase K(*matK*) gene

```
GCTTCCATTCGTAATTTGAAAAATACCAGATCAATTAAGTGTAAAAATAGATTAGTACCTAATACGGGTATGGGAAGGAATTTT
TTCTTCGCGTATTATTATCAATTTTTTCGTGAGTCTAATTAATTTTTCCCTAGTCCGTTTGGGTTAGGTTGTAGATGGATGTGTAA
AAGAAGCAGTATATTGTAATAAAAAAATATATATATATATATATTTTTCCAAAATCAAAGAGCGATTAGGTTAAAAAATAAAGGATTC
TAATCATCTGTTTTGTTATTTATAATATAACGAACAGAAACCTATTAAGATAGAGAAATCCAGTTAGCAGTCTACCTGTTTTATGA
GGTATTTAGTGCTTCGTAATCTAATACCTTATTTGACTGTATCGCACTATGTGTCAATTTTCAGAACTCAAGAAAAATAAGACTTTA
CTTTTAGTTCAAATCGAATTTAATCCAATGGAGAAATTTCAAGGATATTTAGAGTTCGATGGGGCTCGTCAACAGAGTTTTCAT
ATCCACTTTTTTCGGGACTATATTTAGTACTTGTATGATCACGGTTTTAAATAGATTAAATAGAAACCGCCCTATTTTCCTGG
AAAATGCGGATATGACAAAAAATATAGTTCCTAATTTGTGAAACGCTTAATTTTGGCAATGTACGAACAGAATCGTTTGATTATTC
CCACTAAGGATTTGACAAAAATCTGGGGCATACCAATAATTTCTATTATCAAATGATATCTGTTTTATTGTCAGTATTGTAGAAA
TTCCATTTTTCCCTAAGGTTGGGATCTCTATCGAAGGAAAAAATGTAATAAATCTTACAATTTACAATCACTTCAATCAATTTTC
CCTTTTAGAAGACAACTCTCACATTTAATTAATGTATTAGATGTAATAACCTTACCCCATCCATCTAGAAAATCTTGGTTCAAA
CCCTACGTTTACGGGTAAAAGATGCCTCTTCTTTCGATTTTTTCGGTTCGTCTATACGAGTATTGCAATGGAAAGATTTTGATA
GTAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
TACGCAAGCAGTCTTCATTTACGATCGACATCTTATGACGTCTTTTTGAGCGAATTTTATCTATGAAAAATACAACTTTTT
TAAAGTCTTTGTTAATAAATTTTCGGCGCTTTAGGGTTGCTCAAGGATCCTTTTCCATATTTGATATGTTTTCGATCATGGAAAA
TACTGCGCAAAAGGATACGCCACTTCTGATGAATAAATGGAAATATATTTGTTAATTTATGGCAATGTATTTTTCCGATAGGT
TTCAAATCGCAAAAGGTTAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
TAGTGGTACGTAGTCAAAATGCTGAAAACCTTTTTCTAATAGATAATGTAGAAATAAATAAATGGATAGCAACATTCCAATTTCTCTA
TTATTTGGGTCGTTGGCTAAGATATAATTTGTAATGATATTAGGCAATCCGATTAGTAAGCGAAGCTGGAGCGATTCATCAGATTCG
ATATTCTCAACCGATTTGTGCGTATATGCAGAAATTTTTCGATTTACAGCGGATCTTCAAACAAAAAAGAAATTTGATCGAATA
AATATACTTCTGCTTTTGTGTTAAAATTTGGCTCGTAAACAAAAAGTACTGTACGCGCTTTTTTAAAAGGTTGGGCTCGG
GTTTATAGAAAGATTTCTTACGGGGGAGACCAAGTTCTTTTAACTTCCCAAGAAAGTATTAGCTTCTAAAAGATTTATATC
GAGTGGCGGTTTTGTTATTTGGATATCTTTATCTTAATGATTTAGTCAATCATGAATAAATGGGGTCTGAGGCTCCATAAATAAAT
CAAAATTTATCAGAACGTAACCGAATGCGGAGATAACAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
AAATGTTATACAGTAAGACTAAGATGAAATTTACTGAGATTGAATTCGACGCTCTATTTATAAGGAAACAAAAAATCGATTT
CTATGTATACATAGAGAAAGCTGTGTGCAA
```

```
atgtgtcatttcagaactcaagaaaaaaagactttacttttagttcaaatcgaatttta 60
MCHFRFTQENKDFTFSSNRIL
atccaaatggagaatttcaaggatatttagagttcgatggggctcgtcaacagagtttt 120
IQMEKFKQGYLEFDGARQQSF
ctatataccacttttttcgggactatattttagtactgtctatgatcagggttaaat 180
LYPLFFRDRDYIYVLA YDHLN
agattaaatagaaccgcccattttcttggaanaatgaggatattgacaaaaatagtr 240
RLNRRNRPIFLENADYDKKYSS
tcactaatgtgaaacgcttaattttggaatgtcgaacagaatcgttattgattccc 300
SLIVKRLILRLMYEQNRLIIP
actaaggatttgaaacaaactctggggcaccacaatttctattatcaaatgatatct 360
TKDLNLNGHTN NFYYQMISS
gttttattgacagtgtatgagaatccattttccctaaggttgggattctctatcgaa 420
VLFFAVIVEIPFSLRRLGSSIE
ggaaaaatgtaaaaatcttacaatttacaatcaactctcaatatttcccttttta 480
GKNVKKKSYNLSLHSHSIFPFL
gaagacaaactctacatttttaattgattagatgtactaataccctaccoccat 540
EDKLSHFNYVLDVLIPIPIH
ctagaactctgggtcaaacctcgttaaccgggtgaaagatgctcttcttgcatttt 600
LEILLVQTLRYRVRVKDASSLHF
tttctgggtctctatagcagattgcaatggagaatgtgatgataaaaaaatca 660
FRFCLECYCNWKNFDSKKS
attttgaaatcgaatgttttattgtctataatttctatgtatgtaatacgaatcc 720
ILNPRFLFLYLNSHVCEYES
atctttttttctacgcaagcagctcttctcaattcagatcgacatcttatgacgct 780
IFFFLLRKQSSSHLRSTSYDVFA
tttgagaaatlltattctggaanaatcaacatttttttaagctttgttaataat 840
FERIILFYGKIQHFFKVFVNN
ttttgggctcttagggtgctcaaggatcccttctactatgatttgcatacatgga 900
FSAALGLLKDPPFLHYVRYYS
aaatacatctggcacaaggaatcagcacttctgagataaataagaaatattttt 960
KAYILATKDDTPLLMLNKKWKYYTF
gtaatttatggcaatgttttttccgtatggtttcaatcgaaggggttaataaata 1020
VNLLWQCYFVWFQSSQKVINI
caattatcwaagataaatttgaatcttgggttatctcaagtttggcactaacct 1080
QLSKDNL EFLGLVLSLRLNP
ttagtgtagcagtagtcaaatgctagaaactcatttcaataagataatgttagaataa 1140
LVVRSQMLENSFLIDNVRIK
ttgtagtagcaaatccaatcttctattattgggtgctgggtaagataaatttgt 1200
LDSNIPISSSIIIGSLAKDKFC
aatgtattagggcatccgatttagtaagcagcctggagcagatcatcagatctgatatt 1260
NVLGHPI SKATWTDS SDSDI
ctcaacgatttggcttatatgcagaaatatttgcattattacagcagatcttcaaac 1320
LNRFRVRI CRNISHYYS GSSN
aaaaaagattgtagaataaaaataatacttctgcttcttgggtgtaaaacttggct 1380
KKNLYRIKYILRLCCVKTLA
cgtaaacacaaagatctgtacgcttttttaaaaggggtgggctgggtttattagaa 1440
RKHKSTVRAFLKRLGSLLE
gaattccctacgggggagaccaagtcttctttaaacttcccaagaagtattgact 1500
EFLTGEDQVLSLIFPRSDYA
tctaaaagattatagagtgccgggttggatttgggatattcttcttatctaatgatta 1560
SKRLYRVRVWYLDILYLDL
gtcaatcatgaa
VNHE
```

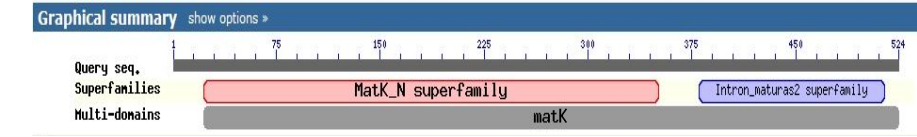


그림 15. 배추 염록체 maturase K(*matK*) 유전자의 염기서열 분석 및 아미노산 분석

>*Brassica rapa* subsp. chloroplast ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase(*rbcL*) gene

CGATCACAATTAGCTTTTTTTTTCATATTTTCATTTTTCATATCCGGTTATGCGTCCCACATCGATATCAACCCCCCTTGTTTTT
 CATTTCATGGATGAATTCGCGCATATTTGTCATATCTAGGATTTACATATACAACATATATTTACTGTCAAGAGTGATTTTATTTAT
 TTTAATATTAATATTTTCGATTTTAAAAAGTCAAAGATTCAAAACCTGGAAAACAAGTATTAGGTTGCGCTATACATATGAAAGAT
 ATGCAATATGATGTTTGGCGAATCAAATATCATGTTCTAAATAAAGAATCATCTGATAGTTGATAATTTTGTGAAAAGTCTC
 TGTGAAAAGGTTAATTAATCTATTCCTAATTTATGTCAGTAGACCTTGTGTTTGTTTTATTGCAAGAATTCATAATTCATGA
 CTTGTAGGAGGGACTTATGTCACCACAACAGAGACTAAAGCAAGTGTGGATTCAAAGCTGGTGTAAAGAGTATAAATTAAT
 ATTATCTCTGAAATGAAAACCAAGGATGATGATATCTTGGCAGCATTCGAGTAACTCCTCAACCCGGAGTCCACCTGAAAGAG
 CAGGGCTCGCGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGCTACATGGACAACCTGTTGGAGCAGTGGGCTTACCAGCCTTGACCCTTACAAG
 GACGATGCTACCACTCGAGCCCTTCCAGGAGAAGAACTCAATTTATTGCGTATGTTAGCTTACCATTAGACCTTTTTGGAAGAG
 GGTCTGTACTAACATGTTTACCTCAAATTTGGGTAAACGTAATTTGGGTTCAAAGCCCTGGCTGCTTACGTCCTAGAGGATCTGCGAA
 TCCCTCCGGCTTATACTAAAACCTTCCAGGGACCACTCATGGTATCCAAGTTGAAAGAGATAAATGAAACAAGATGGAGCTCCCC
 TATTAGGATGACTATTAACCTAAGTTGGGGTTATCCGCGAAGAAGTATGGTAGAGCAAGTTTAAAGTCTACGTTGGTGGACTTG
 ATTTTACCAAGATGATGAGAATGTGAACCTCTCAACCAATTTATGCGTTGGAGAGCCGTTTCTTATTTTGTGCCGAAGCTATTTATA
 AATCAGAGCTGAAACAGGTGAAATCAAAGGACATTTATTTGAATGCTACTGCGGGTACATGCGAAGAAATGATGAAAGAGCTATAT
 TTGCCAGAGAATTTGGGATTCCTA K T A L R L E D L R I
 GAGATAATGGCCTACTTCTTCCATCCACCCTGCAATGCACGCTGTTATGATAGACAGAAGAATCATGATGATGCACTTCCGTGCTAC
 TAGCTAAAGCTTTACGTCTTCTCGGGTGGAGATCATGTTCCAGCGGGTACAGTATGATGATGAACTTGAAGGAGACAGGGAGTCAACT
 TGGGCTTTGTGATTTACTGCGCGATGATTTATGTTGAAAAGACCCGAAGTCTGGTATCTTTTCACTCAAGATTGGGCTCACTAC
 CAGGTTCTACCTGTGGCTTCAGGGGTTATTCACGTTTGGCATATGCCGCTTTGACCGAGATCTTTGGAGATGATCCGTACTAC
 AATTTGGTGGCGGAATTTAGGCCACCCTTTGGGAAATGACCCGGGTCGCTAGCTTACCAGTAGCTCTAGAACATGTTGTACAAG
 CTCGTAATGAGGGAGCTGATCTTCGAGTTCGAGGTAAGAAAATTAATCCGTTGAGGCTTGCAAATGGAGTCACTAGCTAGCTGCTG
 TGAAGTATGGAAGGAGATCACATTTAACTTCCCAACCATCGATAAATTAGATGGCCAAGACTAGAAATAGATAGTAAATCACGTC
 CGTTTTATAGTTAATTTGCAATTAACCTCGGCTCACTTTTTTTTACTAAAAGGATGAGCCGAGTTTATCTAGTGTATATCTG
 TTTTGTAGATACATACTTAATCTAGATATACAAAATCTG

atgtcaccacaacagagactaaagcaagtggtggattcaagctgggtgtaagagat 60
 M S P Q T E T K A S V G F K A G V K E Y
 aaataaattattactcctgaatagaaccaggatctgatctttggcagcattc 120
 K L N Y Y T P E Y E T K D T D I L A A F
 cagtaactcctcaaccogaggtccacctgaagaagcaggggctgcggtagctgtgaa 180
 R V T P Q P G V P P E E A G A A V A A E
 tcttctactggtacatggacaactgtgtggaccgaatgggcttaccagcttaccgrytac 240
 S T T C T T W T T V W T D G L T S L D R Y
 aaaggacgatgctaccacatcgagccogttccaggagaagaactcaattatgctgat 300
 K G R C Y H I E P V P G E E T Q F I A Y
 gtacgttaccattagacccttttgaagaaggggtctgttactaacatggtttaccctcaatt 360
 V A Y P L D L F E E G S V T N M F T S I
 gtgggtaacgattttgggttcaaagccctggctgctctacgtctagagga tctcggaatc 420
 V G N V F G T W T L A L R L E D L R I
 cctccggcttatactaaactttccaggaccacctcaatggtatccaagtgaaagagat 480
 P A Y T K T F Q G P P H G I Q V E R D
 aaattgaacaagatagagctccctattaggatgtactatataacctaagttggggtta 540
 K L N K Y G R P L L G A G C T I K P K L G L
 tccgcaagaactatggtagagcagttta gaa g t c t a c g t g g t g a c t t g a t t a c c 600
 S A K N Y G R A V Y E C L R G G L D F T
 aaagatgtagaagtgtaactctcaaccattatgctgtggagagaccogttcttatttt 660
 K D D E N V N S Q P F M R W R D R F L F
 tgtccgaagctattta taa t c a c a g g c t g a a c a g g t g a a t c a a g g a c a t t a t t g 720
 C A E A I Y K S Q A E T G E I K G H Y L
 aatgtactcgggttacatgcyagaanaatgatgaaagagctatatttgcagagaattg 780
 N A T A G T C E E M M K R A I F A R E L
 ggagtctctatcgtatgca t g a c t a c t a a c a g g g g a t t c a c c g c a a a t a c t a g t t g 840
 G V P I V M H D Y L T G G F T A N T S L
 gctcattatggcagataaa t g g c t a c t t c t c a c a t c c a c o g t g c a a t g c a c g c t g t t 900
 A H Y C R D N G L L L H I H R A M H A V
 attgtagacagaagatac t g g t a t g c a c t c o g t g t a c t a g c t a a a g c t t a c g t c t a 960
 I D R Q K N H G M H F R V L A K A L R L
 tccgggtggagatac t g t t c a c g c g g g t a c a g t a g t a g g t a a a c t g a a g g a c a g g g a g 1020
 S G G D H V H A G T V V G K L E G D R E
 tcaacttggcctt g t g a t t a c t g c g c g a t g a t t a g t t g a a a a g a c c g a a g t c g t 1080
 S T L G F V D L L R D D Y V E K D R S R

ggatctttttcactcaagatgggtctcactaccaggtgttctacgttggtctcaggg 1140
 G I F F T Q D W V S L P G V L P V A S G
 ggattcactgttggcgtatgctgttggaccgagatcttggagatgattccgtagta 1200
 G I H V W H M P A L T E I F G D D S V L
 caatttgggtggcgaactttaggcacccttggggaagtgcaccgggtgcccgtagctaac 1260
 Q F G G G T L G H P W G N A P G A V A N
 cgagtgcctcagaagcatgtgtacaagctcgttaagggagcgtgatttgcagctgag 1320
 R V A L E A C V Q A R N E G R D L A V E
 gtaagaallatcogtggagctgcaaatggagtcctgaac 1362
 G K K L S V R L A N G V L N

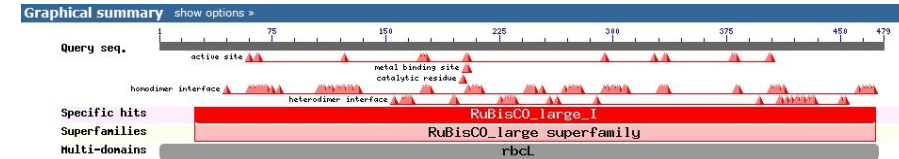


그림 16. 배추 엽록체 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase(*rbcL*)의 염기서열 분석 및 아미노산 분석

>*Brassica rapa* subsp. chloroplast carboxyltransferase beta(*accD*) gene

AAGCTTGCAAATGGAGTCCCTGAAGTAGCTGCTGCTGTTGTAAGTATGGAAAGAGATCACATTTAACTTCCCAACCATCGATAAATTAG
 ATGGCCAAAGTAGATGAATTAGATTTAGTAATTCACGTTTGTATTTAGTTTAAATGCACTCGGCTCAATCTTTTTTACTAAA
 AAGATGTAGCCGAGGTTATCTGTTGATATACTATTTTTTTTGTAGATACATCAATTTAAATAGATAAAAAAACCCTTCAAT
 AAAAAAAGAGAATTAACACAACTACAATTTTGTATTGTAGTGTGTGTCACCAAGAATTCCTATACGAAATCGGATTCCTTAAT
 TCTTAGGAGTGTATATTTCTTGTGTCAGGGCTTGAAACCAAGTATCCCGCTTCTCTCCCACTGACATGATGTTGCTCTTTCTT
 TTCATTCGGTATTGGAATAAAAAAGTTTTTTTTATATAGTATACGAGATTTTACTAAAAAAGTCTTAAATATCTTATATTCTAT
 AAGCAGAAGAACAATTTCTTTTTTTTTATGAGAATTTACACAATATAAGAAAATCCTTCTTTTTCATTAGAAATTAATGATGAT
 TCATTTCAATTACTTTACTTAATAATCTTAGCAATGTCATCGATATGTTTTCGCTTACTCTGAATAGAAAATGAACATTTCAAAAAA
 TTTTTCGATTTTTCAATTTTTTCATTTGATGACTATTTGATTTGTTATTTGATTTTCATTTAAATAGAGCCAGAAAGCTCTATGGA
 AAAATCGTGGTTCAATTTTATGTTTCTAAGGGAGAATTTGGAATACAGAGGTGAGCTAAGTAAAGCAATGGATGATTTTGTCTCTGG
 TGAAAAGACTACTAAGTCAAGCCGTTTTATATAGATATGGATAAAACTTTTATGGTTGGGATGAGCGTCTAGTTATTCTTC
 TAGTTATCCAATATGTTGATCTTTTATGTTAGCTCCAAGGACATTCGCAATTTCAATTCGGATGACACCTTTTTTGTAGGGATAG
 TAATAAGAATAGTTATCTATATTTTTTGAATAAAAAAATAATTTTTGAGATTTGACATGATTTTCTAGTACCTTAGAAAATTTTT
 TTATAGTTATTGTAGTTCTAGTTATCTAATAATAGATCTAAAGGTGACACAGTCTGCATATGATCTTACATTAAGGATACTAA
 ATATAATTGTACTAATCACATTAATAGTTGCAATGATTTCTATTTTCTGTTCTACATCTGTATGATAAATCTTTTTAATCGATAG
 TAATAATTTTTAATGAAAGTTACATTTAATAATTTCTATTTGTAGTGAAGCGGAAGATTCGTAAGTAAATTAACAAGATAAGAAC
 TAATAGGAATCGTAGTAATTTAATAAGTTCTAAGGATTTGATATAACTCAAACACTACAATCAATTTGTGATTTCAATGCGACAATG
 TTAGGATTAATGATATAAGAAAGTCAAAATGAAATTTGTTGAAACAATGTTGACATTTATGAAAATGAGTAGTTCCAGAAAAGAAATCGA
 GCCTTCGATGATCCGGTACTTGAAATCTTATGATGAAAGACATGGTCTCTCGGGATCCCATTAATTTCAATTCGAAAGGAAAC
 TTATAAAAACCGTATTGACTTGCAGAAAAAATACAGGATGACTGACGCTGTTCAAACAGGTACAGGTCAACTAAACGGTATTC
 GGTAGCCCTTGGGGTTATGGATTTTCGGTTTATGGGGGGTAGTATGGGATCCGATAGTGGGCAAAAATAACTCGTTGATCGAGTA
 TGCTAACTCAATGTTTACCTCTTATTTTATGTTGTTCTTCCGGAGGAGCAGCAATCAAGAAGGAAAGTAAAGTTGATGATGCAAT
 GGCTAAAATTTCTCGGTTTTATGTTATCAATCAAGTAAAAGTATTCTATATCAATTTCTACATCTCCTACTACCGGTGG
 AGTGACAGCTAGTTTTGGTATGTTGGGGGATATCAATTTGCGCAACCTTATGCTTATATTGCAATTTGCGGGTAAAAGAGTAATTGA
 ACAAATTAAGATATAAGACAAAAAGAAATAAATACTACAAGGGGATATGATATCTCTAGTTGATGATTTGAAAGTAAATGATGATG
 TAATCTTTTAAAGGTGTTCTGAGCGAGTTATTTACGCTCCATGCTTTTTTTCCTTTGAAACACAAAATTAATAAATAAGAACGGTTA
 GTTTATCAGAATTAACGAAAACCCAGAAAATGCAATTTTCTTCAAATCAATTTTTTTTTATCGATATTTCTGTTTACTACTCAGT
 AACCTCTATCAACAAGCTAAAAAGTGAATTTTTTGGGGGGGAAGTTCAAAATAGACTAGACAAAACAAAAAAGTTCTTTTTCTC
 CCCTTGCTTGCATATGATATAGATAAATCAAAATATAGATAGATGAGATCTATAGAGAGTCTTCCATCTTTTGCATTTCCCGAAAAT
 TCCCTGTGTTAGATCAGATTTCTAATTTCTAATCAATTTGTAAGAAATTTGTAATGGAAGAAAATTTTCTTTTATTAATGACTATT
 AACTATTATAAGATATAAGACAAAAAGAAATAAATACTACAAGGGGATATGATATCTCTAGTTGATGATTTGAAAGTAAATGATG
 AATAAGTCCATTTATTTAGTTTGGCTTTTTTGTACCTATTTTTTATCTATTTCTATTTCTATTCCGTTCTATTCTATATATTTCT
 TATTAGTTGATTAATTAATTAGATATATTTACTTAAAGATCTAGTATAATTAATAATAGATAATAAGAAAATAAATAAAAA
 TACAAGATATTTCTAAGATCTTTTAGAATTTAGAAATAACAATAACAGGTACAATATTAAATTTAGGTACC

```

atggaaaaatcgtggttcaatctttatggttttctaagggagaattggaatacagaggtgag 60
M E K S W F N F M F S K G E L E Y R G E
ctaagtaaagcaatggatgtagtttgcctcctggtgaaaagactactaagtcagaccgt 120
L S K A M D S F A P G E K T T I S Q D R
tttatatatgatatggataaaaaactttatggttgggatgagcgttctagttattctct 180
F I Y D M D K N F Y G W D E R S S Y S S
agttattccaataatgttgatcttttagttagctccaaggacattcgcaattcatatcg 240
S Y S N N V D L L V S S K D I R N F I S
gatgacacctttttgttagggatagtaataagaatagttattctatatttttgataaaa 300
D D T F F V R D S N K N S Y S I F F D K
aaaaaaaaattttgagattgcaaatgatttagtgacctgagaaaaatttttatagtt 360
K K K I F E I D N D F S D L E K F F Y S
tattgtagttctagttatctaaataatagatctaaaggtgacaacgatctgcaactatgat 420
Y C S S S Y L N N R S K G D N D L H Y D
ccttacattaaggactaaataatgttactaatcacattaatagttgcatgattct 480
P Y I K D T K Y N C T N H I N S C I D S
tattttcgttctacatctgtattgataaacttttaatcgatagataaatttttaatt 540
Y F R S Y I C I D N N F L I D S N N F N
gaaagttacattataatcttcatgttagtgaaagcggaaagatcgtgaaagtaaaat 600
E S Y I Y N F I C S E S G K I R E S K N
tacaagataagaactaataaggaatcgtagtaatttaataagttctaaggatttcgata 660
Y K I R T N R N R S N L I S S K D F D I
actcaaaactacaatcaattgtgattcgaatgcaatggttatggatttaagtataag 720
T Q N Y N Q L W I Q C D N C Y G L M Y K
aaagtcaaaatgaatgttggtaacaatgtggacattttgaaaatgagtagttcagaa 780
K V K M N V C E Q C G H Y L K M S S S E
agaatcgagctttcgattgacccgggtacttggaaatcctatggaatgaagacatggtctct 840
R I E L S I D P G T W N P M D E D M V S
gcggaatccattaaatttcaatcgaaggaggaaccttaaaaaacgatttgactctgag 900
A D P I K F H S K E E P Y K N R I D S A
caaaaaactacaggattgactgacgctgttcaaacaggtagcaggtcaactaaacgatt 960
Q K T T G L T D A V Q T G T G Q L N G I
ccggtagcccttggggttatggattttcggtttatgggggtagtatgggatccgtagta 1020
P V A L G V M D F R F M G G S M G S V V
ggcgaaaaataactcgtttgatcgagtagctaccaatcaatggttacctcttatttta 1080
G E K I T R L I E Y A T N Q C L P L I L
gtgtgttcttccggaggagcagcaatgcaagaaggaagtttaagtttgatgcaaatggct 1140
V C S S G G A R M Q E G S L S L M Q M A
aaaattcttcgggtttatgtgattatcaatcaagtaaaaagttattctatatcaatt 1200
K I S S V L C D Y Q S S K K L F Y I S I
cttacatctctactaccggtgagtgacagctagttttggtagttgggggatacatt 1260
L T S P T T G G V T A S F G M L G D I I
attgccgaaccctatgacctatgtcatttgcgggtaaaagagtaattgaacaaacattg 1320
I A E P Y A Y I A F A G K R V I E Q T L
aaaaaagcgtgocgaaggttcacaagcggctgaatctttattacgtaagggcttattg 1380
K K A V P E G S Q A A E S L L R K G L L
gatgcaattgtaccprnatcttttaaaaggtttctgagcaggttatttcagctccat 1440
D A I V T P C C R N L L K G V L S E L F Q L H
gcttttttcttgaacacacaaat 1464
A F F P L N T N

```

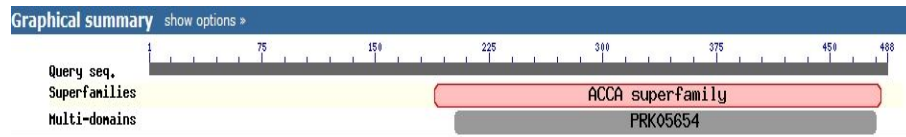


그림 17. 배추 엽록체 carboxyltransferase beta(*accD*)의 염기서열 분석 및 아미노산 분석

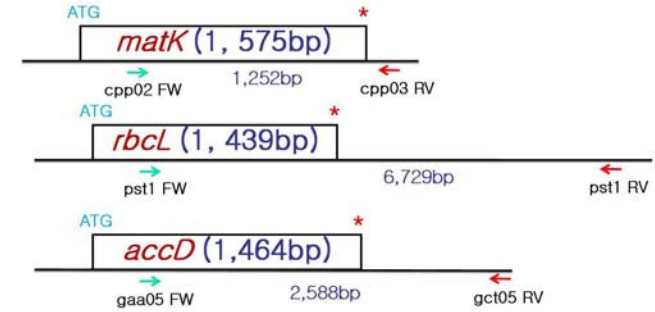


그림 18. 엽록체에서 합성된 *matK*, *rbcL*, *accD* 유전자 PCR용 primer 디자인.

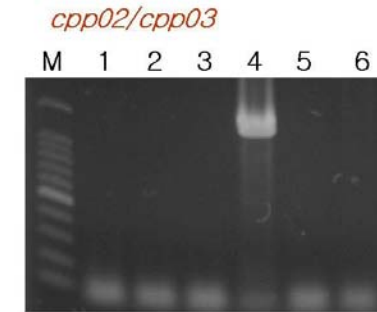


그림 19. *matK*(*cpp02/cpp03*)를 이용한 Komatsuna type CMS 특이적 밴드.
(M: 100bp DNA ladder, 1: J-CMS, 2: D-CMS, 3: K-CMS, 4: O-CMS, 5: 배추 MF)

(나) CMS 분자마커 검정 및 음성불임 개체의 스크리닝

CMS와 MF의 구분 특이적 마커(*atpA*, *orf32A/orf305*), ogura type CMS 특이적 마커(*orf138*, *trnFM/orfB2*), polima type CMS 특이적 마커(*orf256*, *orf220*, *orf220/orf222*, *orf240*), komatsuna CMS 특이적 마커(*trnFM/atpA2*, *matK*)를 이용하여 국내의 수집종을 대상으로 개발된 마커를 검정하였으며, 스크리닝한 결과 국내의 대부분의 배추과의 CMS가 Ogura type CMS(Ogura CMS, Polima CMS)로 편중되어 있었다(표 4).

표 4. CMS 분자마커 검증 및 음성불일 개체의 스크리닝

Acc. No.	Species	Source	Primer										
			<i>atpA</i> (bp)	<i>orf324/orf305</i> (bp)	<i>orf138</i>	<i>trnFM/orfB</i>	<i>orf256</i>	<i>orf220</i>	<i>orf220/orf222</i>	<i>orf224</i>	<i>orf240</i>	<i>trnFM/atpA2</i>	<i>matK</i>
1	Chinese cabbage	NH	1000	962	x	x	-	x	x	x	x	x	x
2	Chinese cabbage	SNU	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	○
3	Chinese cabbage	BIO	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	○
4	Chinese cabbage	BIO	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
5	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
6	Chinese cabbage	HD	-	1019	○	○	-	x	x	x	○	x	x
7	Chinese cabbage	HD	-	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
8	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
9	Chinese cabbage	HD	-	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
10	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
11	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
12	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	○	○	x
13	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
14	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
15	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
16	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
17	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	x
18	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	○	○	x
19	Chinese cabbage	HD	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
20	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
21	Chinese cabbage	NH	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
22	Chinese cabbage	NH	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
23	Chinese cabbage	NH	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	x
24	Chinese cabbage	NH	1300	1019	○	○	-	x	x	x	○	x	x
25	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	○
26	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	○
27	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	○
28	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	x	○
29	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	○
30	Chinese cabbage	WR	1300	1019	x	○	-	x	x	x	x	x	x
31	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	○
32	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	○
33	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
34	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
35	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
36	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
37	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
38	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
39	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	x	x	x	x	○	○	○
40	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	○	x	x	x	x	x	○
41	Chinese cabbage	WR	1300	1019	○	○	○	x	x	x	x	x	x
42	Chinese cabbage	SNU	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	x
43	Chinese cabbage	SNU	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	x
44	Chinese cabbage	SNU	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	x
45	Chinese cabbage	SNU	1300	1019	○	○	-	x	x	x	x	○	○
46	Chinese cabbage	SNU	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○

47	Chinese cabbage	SNU	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
48	Chinese cabbage	SNU	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	x
49	Leaf Mustard	SNU	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	x
50	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	○	○	○	○	○	○
51	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	○	○	○	○	○	○
52	Leaf Mustard	SNU	1000	962	x	x	-	x	x	x	x	x	x
53	Leaf Mustard	SNU	1000	962	x	x	-	x	x	x	x	x	x
54	Leaf Mustard	SNU	1000	962	x	x	-	x	x	x	x	x	x
55	Leaf Mustard	SNU	1000	962	x	x	-	x	x	x	x	x	x
56	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	x
57	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	x
58	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	x
59	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	x
60	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	○
61	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	x
62	Leaf Mustard	SNU	1300	1019	x	x	○	x	○	x	x	x	x
63	Baemoochae	BIO	1300	1019	x	x	x	x	○	x	x	x	x
64	Baemoochae	BIO	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	○	○
65	Baemoochae	BIO	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
66	Baemoochae	BIO	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	○
67	Baemoochae	BIO	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	x	○
68	Radish	BIO	1000	-	x	x	x	x	x	x	x	x	○
69	Radish	BIO	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
70	Radish	NOO	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
71	Radish	NOO	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
72	Radish	NH	1300	1019	x	○	x	x	x	x	x	x	○
73	Radish	NH	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
74	Radish	NH	1000	962	○	x	x	x	x	x	x	x	○
75	Radish	NH	1300	1019	x	○	x	x	x	x	x	x	○
76	Radish	NH	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	○
77	Radish	NH	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	○
78	Radish	NH	1000	962	x	x	x	x	x	x	x	x	○
79	Radish	NH	1300	1019	○	○	x	x	x	x	x	x	x
80	Cabbage	HD	1000	962	○	x	x	x	x	x	x	x	○
81	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	○	x
82	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	○	x
83	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	○	x
84	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	○	x
85	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	○	x
86	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	○	x
87	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	x	x
88	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	x	x
89	Cabbage	HD	1300	-	○	○	x	x	x	x	x	x	x
90	Cabbage	CNU	1300	-	x	-	○	○	x	x	x	x	x
91	Cabbage	CNU	1300	-	x	-	○	○	x	x	x	x	x
92	Cabbage	CNU	1300	-	x	-	○	○	x	x	x	x	x
93	Cabbage	CNU	1300	-	x	-	○	○	x	x	x	x	x
94	Cabbage	CNU	1300	-	x	-	○	○	x	x	x	x	x
95	Cabbage	CNU	1000	-	○	-	-	x	x	x	x	x	x
96	Cabbage	CNU	1000	-	○	-	-	x	x	x	x	x	x

○: PCR산물 검출, x: PCR산물 불검출.

(3) 배추 우량 CMS 계통 (BC₄F₁) 육성

A친 7계통과 B친 4계통을 과종하여 4℃의 저온 생육상에서 춘화처리 하여 저온에 의한 황화현상이 심한 계통은 제거한 후 우량 계통만을 선발하여 BC₄F₁을 육성하였으며 향후 BC₇F₁까지 육성하여 우량형질을 고정 시킬 계획이다(표 5).

표 5. 배추 CMS 모본 육성 BC₃F₁ 과종

교배조합	
female	male
J28 × NH199× NH199× NH199	
J28 × NH129× NH129× NH129	
J28/1201 × NH129× NH129× NH129	
J28/1213 × NH129× NH129× NH129	
J28/1215 × NH129× NH129× NH129	
J28/1217 × NH129× NH129× NH129	
J28/1251 × NH129× NH129× NH129	
J28/1255 × NH129× NH129× NH129	
J28/1201 × NH191× NH191× NH191	
J28/1213 × NH191× NH191× NH191	
J28/1215 × NH191× NH191× NH191	
J28/1217 × NH191× NH191× NH191	
J28/1251 × NH191× NH191× NH191	
J28/1255 × NH191× NH191× NH191	
J28 × NH199× JA99× JA99× JA99	
J28 × NH129× JA96× JA96× JA96	
J28/1201 × NH129× JA99× JA99× JA99	
J28/1213 × NH129× JA99× JA99× JA99	
J28/1215 × NH129× JA99× JA99× JA99	
J28/1217 × NH129× JA99× JA99× JA99	
J28/1251 × NH129× JA99× JA99× JA99	
J28/1255 × NH129× JA99× JA99× JA99	
J28/1201 × NH191× JA96× JA96× JA96	
J28/1213 × NH191× JA96× JA96× JA96	
J28/1215 × NH191× JA96× JA96× JA96	
J28/1217 × NH191× JA96× JA96× JA96	
J28/1251 × NH191× JA96× JA96× JA96	
J28/1255 × NH191× JA96× JA96× JA96	

J 28
(*B. rapa* Komastsuma CMS)

3. 애기장대 GMS 유전자의 기능해석

가. 연구내용

UDP-glucose pyrophosphorylase(UGPase)은 모든 원핵생물과 진핵생물에 존재하며 탄소대사에 중요한 효소이고, glucose 1-phosphate와 UDP-glucose간의 가역반응을 촉매 하는 효소이다. 이 UGPase 반응은 각 조직의 대사상태에 의존하여, 광합성 조직에서는 sucrose phosphate와 협조하여 glucose 1-phosphate를 UDP-glucose로 전환시키고, 광합성에 의한 주요한 동화 산물인 sucrose 합성에 기여한다. 그리고 비광합성 조직에서는 sucrose 분해 경로에 관여하여, sucrose synthase(SuSy)에 의해 생산된 UDP-glucose를 glucose 1-phosphate로 변환시킨다. 곡류종자의 세포질에 있어서, UGPase는 ADP-glucose pyrophosphorylase와 협조하여 UDP-glucose를 ADP-glucose로 전환시켜 starch의 합성에 기여한다. 또한, UGPase 반응에 의해 생성된 UDP-glucose는 glycolipid, glycoprotein합성의 전구체이고 callose, pectin, cellulose의 전구체로써도 매우 중요하다(그림 20).

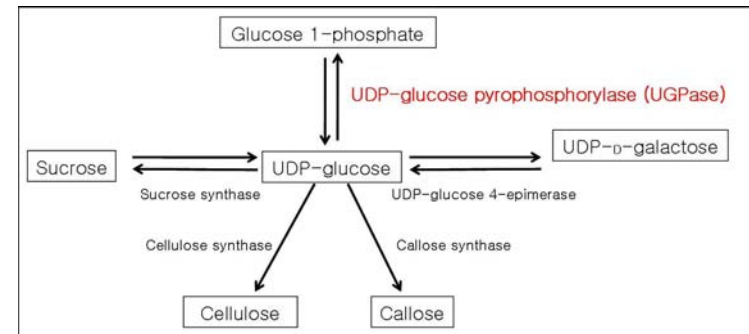


그림 20. UDP-glucose의 합성, 대사에 관여하는 효소군과 대사산물

(1) 재료 및 방법

(가) 재료

애기장대(*Arabidopsis thaliana*)을 야생형으로 이용하였다. 그리고 T-DNA가 삽입된 변이체를 *Arabidopsis* Biological Resource Center(ABRC)로부터 분양받아서 실험을 수행하였다. 이 식물체들은 growth chamber를 이용하여 21℃에서 16시간의 장일에서 생육시켰다.

(나) 무균과종

5% 치아염소산(200ul), 10% SDS(100ul), DDW(700ul)를 혼합한 용액에서 15분간 멸균한 후, 멸균수로 5회 세척하였다. 그 후, 0.1% agar를 더하여 MS배지(0.1 g/l myo-inositol, 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid 0.5 g/l, 10% sucrose, 0.8% agar, B5 vitamin)에 과종하였다.

(다) DNA 추출

과종 후 30일부터 40일 경과한 애기장대의 성숙한 잎을 sampling하여 DNA를 추출하였다. 액체질소에서 동결한 후 sample를 2ml tube에 넣은 다음 비즈와 200ul 멸균수를 더하여 QIAGEN Tissue Lyser를 이용하여 frequency 20/s, 2분 동안 sample를 분쇄하였다. 분쇄물에 200ul 추출 buffer (400 mM Tris-HCl (pH 7.5), 500 mM NaCl, 50 mM EDTA (pH 8.0), 1% SDS)를 더하여 현탁한 후, 페놀 추출, 클로로포름 추출을 행하고, 동량의 2-propanol를 더하여 DNA를 침전하였다. 그 후, 70% 에탄올로 세척하고 건조하여 50ul의 TE buffer(10mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM EDTA)로 용해하였다.

(라) mRNA 추출 및 cDNA 합성

과종 후 30일부터 40일이 경과한 애기장대의 rosette leaf, stem, silique, root, flower bud, open flower조직을 sampling하였다. root의 sample은 무균과종 후 10일에서 20일정도 경과한 식물체로부터 sampling하였다. Micro-Fast Track 2.0 kit(Invitrogen)을 이용하여 mRNA를 추출하고, First Strand cDNA Synthesis kit(Amersham Bioscience)를 이용하여 각각의 mRNA로부터 cDNA를 합성하였다.

(마) 염기분석

상동성 검색은 DNA Data Bank of Japan(DDBJ; <http://www.ddbj.nig.ac.jp>)의 BLASTX 프로그램을 이용하였다. 다중배열검색은 CLUSTAL W program을 이용하였다.

(바) RT-PCR에 의한 발현분석

150ng의 mRNA로부터 합성된 cDNA와 100ng의 게놈 DNA를 반응에 이용하였다. PCR은 Ex Taq DNA polymerase(Takara)를 이용하였고 94°C 30초, 55°C 30초, 72°C 30초를 30 cycle 반응시켰다.

(사) promoter::GUS 해석

AtUGP1 및 *AtUGP2* 유전자의 promoter영역은 pIG121-Hm 벡터에 도입한 후 *A. tumefaciens* (EHA105)에 형질전환시켰다. 아그로박테리움은 50mg/l의 Kanamycin을 포함한 YEP 배지 (5 g/l yeast extract, 5 g/l bactopectone, 5 g/l sucrose, pH 7.2)에서 28°C, 12시간 진탕 배양한 것을 3,000×g에서 균을 수집한 후 floral-dip법을 이용하여 애기장대에 형질전환하였다. 얻어진 종자는 25mg/l의 kanamycin를 포함한 배지에 무균과종하고 kanamycin 내성 개체를 선발하였다. 이렇게 해서 얻어진 형질전환 개체를 GUS 염색액(50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0), 10 mM EDTA, 0.5 mM potassium ferrocyanide, 0.5 mM potassium ferricyanide, 0.1% Triton X-100 and 0.5 mg/ml 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide)을 이용하여 37°C에서 12시간 반응시켰다. 염색된 조직은 Nikon ECLIPSE E800 & SMZ 1500 microscope를 이용하여 조직을 관찰하였다.

(아) Technovit 7100에 의한 조직관찰

FAA(50% ethanol, 150mM acetic acid, 3.7% formaldehyde)로 12시간, 4°C에서 조직을 고정하였다. 고정된 조직의 탈수 처리는 50% ethanol에 20분, 60% ethanol에 20분, 70% ethanol에

20분, 80% ethanol에 20분, 90% ethanol에 20분, 95% ethanol에 20분, 100% ethanol에 20분의 순서로 탈수를 수행하였다. 탈수를 수행한 조직을 100% ethanol : Technovit 7100가 1:1의 용액에 2시간 침적한 후 Hardener I (0.1 mg/l)를 포함한 Technovit 7100용액에 12시간, 4°C에서 침적하였다. 침적된 조직은 다시 응고액(Hardener I (0.1 mg/l)을 포함한 Technovit 7100과 Hardener II가 15:1로 혼합된 용액)에 침적하고 틀을 이용하여 응고시켰다. 틀에서 응고된 sample은 미트로롬을 이용하여 절편을 작제한 후, 0.1% toluidine blue O로 염색하여 SMZ 1500 microscope을 이용하여 조직을 관찰하였다.

(2) 연구 결과

(가) *AtUGP1* 및 *AtUGP2*의 아미노산 배열 비교

*AtUGP1*은 469 아미노산으로 구성되어 있고, 추정되는 분자량은 51.7KD, 등전점은 5.98이었다. *AtUGP2*은 470 아미노산으로 구성되어 있고, 추정되는 분자량은 51.9KD, 등전점은 5.80이었다. *AtUGP1* 및 *AtUGP2*는 아미노산 수준에서 92%의 높은 상동성을 나타내었다. Pfam 22.0을 이용하여 도메인 검색을 수행한 결과, *AtUGP1*의 25번부터 437번까지의 아미노산에 UDPG 도메인(e-value: 4.8e-270)이 존재하였다. 또한 *AtUGP2*의 26번부터 438번까지의 아미노산에 UDPG 도메인(e-value: 6.7e-274)이 존재하였다(그림 21).

<i>AtUGP1</i>	1	MAAT-TENLPQLKSAVDGLTENSESEKSGFISLVSRYLSGAEQHIWESKIQTPTDEIVV	59
<i>AtUGP2</i>	1	MAATATEKLPQLKSAVDGLTENSENEKSGFINLVSRYLSGAEQHIWESKIQTPTDEIVVP	60

<i>AtUGP1</i>	60	YERMTFVSQDVAETRNLLKLVVLKLNGLGTTMGCTGPKSVIEVRDGLTFLDLIVIQIE	119
<i>AtUGP2</i>	61	YDKMANVSEDASETKYLLEKLVVLKLNGLGTTMGCTGPKSVIEVRDGLTFLDLIVIQIE	120
		::* *:*:*	
<i>AtUGP1</i>	120	NLNNKYGCKVFLVLMNSFNTHDDTHKIVEKYTNSNVDIHTFNQSKYFRVVADEFVWFSK	179
<i>AtUGP2</i>	121	NLNNKYNCVFLVLMNSFNTHDDTQKIVEKYTKSNVDIHTFNQSKYFRVVADEFVWFSK	180

<i>AtUGP1</i>	180	GKTDKEGWYPPGHGDVFPALMNSGKLDTFLSQKQYVVFVANSNDLGAIVDLTKLKHLIQN	239
<i>AtUGP2</i>	181	GKTDKDGWYPPGHGDVFPALMNSGKLDLAFLSQKQYVVFVANSNDLGAIVDLTKLKHLIQN	240

<i>AtUGP1</i>	240	KNEYCMEVTPKTLADVKGSTLISYEGKVQLLEIAQVPDEHVNEPKSIEKFKIFNTNNLWV	299
<i>AtUGP2</i>	241	KNEYCMEVTPKTLADVKGSTLISYEGKVQLLEIAQVPDEHVNEPKSIEKFKIFNTNNLWV	300

<i>AtUGP1</i>	300	NLKAIKKLVADALKMEIIPNPKVEVGVKVLQLETAAGAAIRFFDNGAIGVNVPRSRFLPV	359
<i>AtUGP2</i>	301	NLKAIKKLVADALKMEIIPNPKVEVGVKVLQLETAAGAAIRFFDNGAIGVNVPRSRFLPV	360

<i>AtUGP1</i>	360	KASSDLLLVQSDLYTLVDGFVTRNKARTNPSNPSIELGPEFKKVAFLSRFKSIPISIVEI	419
<i>AtUGP2</i>	361	KATSDLLLVQSDLYTLVDGFVTRNKARTNPTNPALELGPFKKVASFLSRFKSIPISIVEI	420
		::*:*****	
<i>AtUGP1</i>	420	DSLKVGSDVWFGSSIVLKGKVTVAASKGVKLEIPDRAVVENKKNINGPEDL 469	
<i>AtUGP2</i>	421	DSLKVGSDVWFGSGVVLKGKVTVKANAGTKLEIPDNAVLENKDNINGPEDL 470	

그림 21. *AtUGP1*과 *AtUGP2*의 아미노산 염기 분석

(나) AtUGP1 및 AtUGP2의 발현해석

AtUGP1 및 AtUGP2의 발현 패턴을 RT-PCR법으로 확인하였다. RT-PCR 해석에는 rosette leaf, stem, silique, root, flower bud, open flower를 이용하였다. 그 결과, AtUGP1 및 AtUGP2 유전자는 조사한 전 조직에서 발현하였다. 특히, AtUGP1 유전자는 silique 및 open flower에서 강하게 발현하는 것을 나타내었고, AtUGP2 유전자는 silique에서 비교적 강하게 발현하였다.

또한, 시간적·공간적 발현 패턴을 조사하기 위하여 promoter::GUS 해석을 수행하였다. 각각의 promoter 영역은 전사 개시점으로부터 약 2,000 bp의 상류영역을 이용하였으며, 각각의 promoter 영역에 레포터 유전자 β-glucuronidase (GUS)를 연결하여 아그로박테리움법을 이용하여 애기장대에 형질전환 하였다. 형질전환체는 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-glucuronic acid (X-gluc)를 이용하여 GUS 염색을 수행한 후 관찰하였다. 그 결과 AtUGP1 및 AtUGP2 유전자는 거의 동일한 발현 패턴을 나타내었다. 이들 유전자들은 화기관 발달 중에 강하게 발현하였고, 발현 시점은 AtUGP1 및 AtUGP2 유전자가 동일한 시점인 4분자시기에 처음으로 GUS 유전자가 발현하였다. 그러나, AtUGP1 유전자는 성숙화분 및 화분관에서 GUS 발현을 관찰할 수 있었지만 AtUGP2 유전자는 화분관에서의 GUS 발현을 관찰할 수 없었다(그림 22).

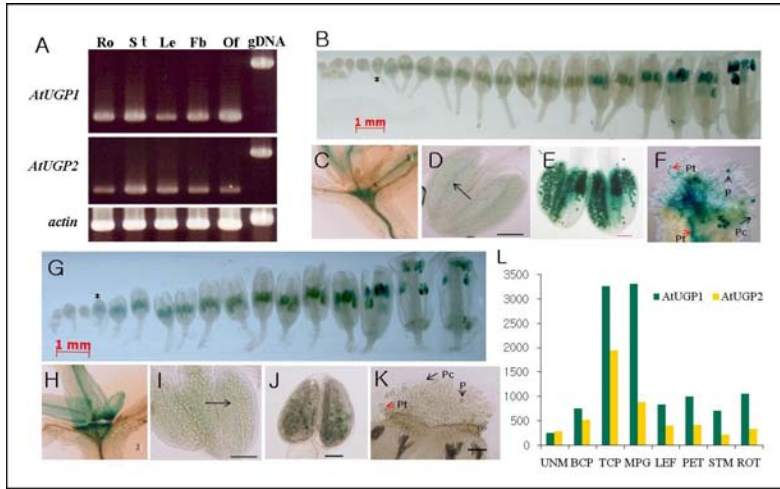


그림 22. AtUGP1 및 AtUGP2 유전자의 발현해석

(다) AtUGP1 및 AtUGP2 유전자의 T-DNA 변이체 해석

T-DNA가 삽입된 변이체는 Arabidopsis Biological Resource Center(ABRC)로부터 종자를 분양받아 실험을 수행하였다. AtUGP1 및 AtUGP2 유전자는 각각 15번 Exon 영역 및 16번째 Intron 영역에 T-DNA가 삽입되어 있었다. 이들 single 변이체는 genomic PCR을 이용하여 각각의 호모 변이체를 선발하였고, 선발된 호모 변이체를 이용하여 AtUGP1 및 AtUGP2 유전자의 발현을 검토한 결과, AtUGP1 및 AtUGP2 유전자는 T-DNA의 삽입으로 인하여 발현을 하지 않았고 유전자의 기능을 상실하였음을 나타내었다(그림 23).

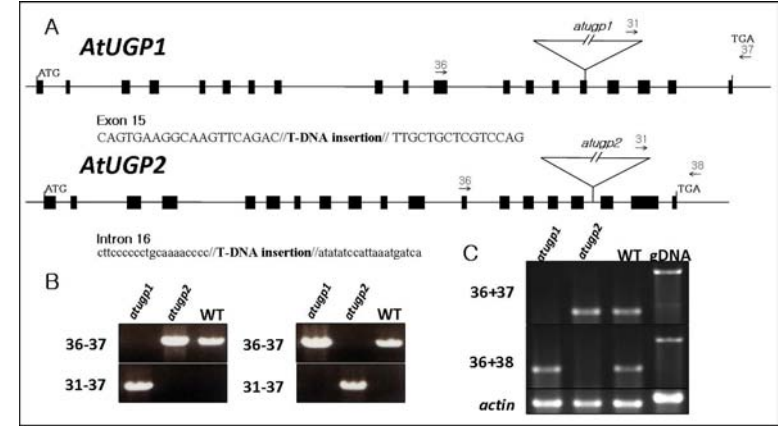


그림 23. AtUGP1 및 AtUGP2 유전자 구조, T-DNA 삽입부위 및 single mutant의 발현해석

(라) AtUGP1 및 AtUGP2 유전자의 이중변이체의 작출 및 표현형 해석

AtUGP1 및 AtUGP2 유전자의 기능을 완전히 상실한 single 변이체에서의 표현형은 야생형과 비교하였을 때 아무런 변이를 발견할 수 없었다. 이것은 이들 2개의 유전자가 그림 21에서 보여지는 것과 같이 높은 상동성을 가지고 있으므로 상호 보완적인 기능을 수행한다고 추측되어 AtUGP1 및 AtUGP2 유전자의 이중변이체를 작출하여 해석하였다. 우선 genomic PCR을 이용하여 호모 이중변이체를 선발하고 각각의 유전자의 발현을 검토한 결과, 선발된 호모 이중변이체에서 AtUGP1 및 AtUGP2 유전자가 완전히 기능을 상실하였음을 나타내었다. 이중변이체의 표현형으로는 야생형과 비교하였을 때 식물체가 현저히 왜소하였고 불임을 나타내었다. 응성(약 및 화분) 및 자성(주두) 중 어느 쪽에 불임의 원인이 있는가를 확인하기 위하여 야생형과 이중변이체를 이면교배한 후 확인한 결과 이중변이체의 주두측은 정상적인 기능을 가지고 있었으나 화분측에 이상이 있었음을 나타내었다. 더욱이, Alexander염색으로 약(anther)를 염색하여 관찰하였다. 그 결과 야생형의 성숙된 약은 많은 성숙된 화분을 가지고 있었다. 그러나 이중변이체의 약에서는 화분이 거의 생성되지 않았고 소수의 관찰된 화분은 야생형과 비교하여 비정상적인 화분이었다(그림 24).

화분측의 원인을 더욱 자세히 관찰하기 위하여 Technovit 7100를 이용하여 약의 조직을 고정시킨 후 절편을 작제하여 약 및 화분의 발달과정을 관찰하였다. 그 결과 화분모세포 시기는 야생형과 동일하게 정상적으로 분화하였다. 또한, 표피세포, 내피, 중간층, 용단세포등도 야생형과 동일하게 형성되었다. 그러나, 이중변이체에서 감수분열 후의 4분자기 시기에 callos막의 형성이 관찰되지 않았다. 또한 4분자기의 약에서 세포가 분화되지 않고 밀착된 것과 같은 비정상적인 구조물이 관찰되었다. 이 비정상적인 구조물은 약이 발달하는 단계에서 점점 감소하였다(그림 25). 4분자시기의 callose막을 더욱 자세히 관찰하기 위하여 Toluidine blue염색을 이용하여 4분자시기의 callose막을 염색하여 관찰한 결과 이중변이체에서는 callose막이 전혀 형성되지 않았다(그림 26). 이러한 결과들로부터 AtUGP1 및 AtUGP2 유전자는 약의 4분자시기에 callos막 형성 및 식물 생장에 중요한 기능을 가지고 있다고 생각되어진다.

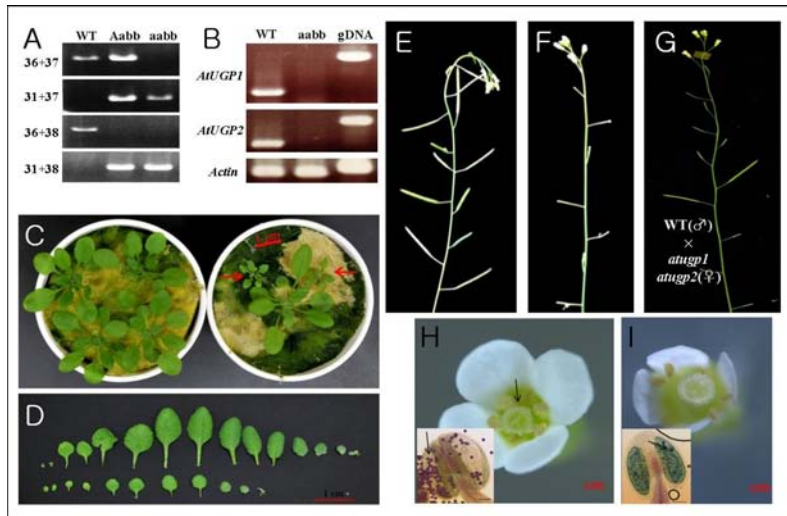


그림 24. *AtUGP1* 및 *AtUGP2* 유전자의 이중변이체의 표현형 해석

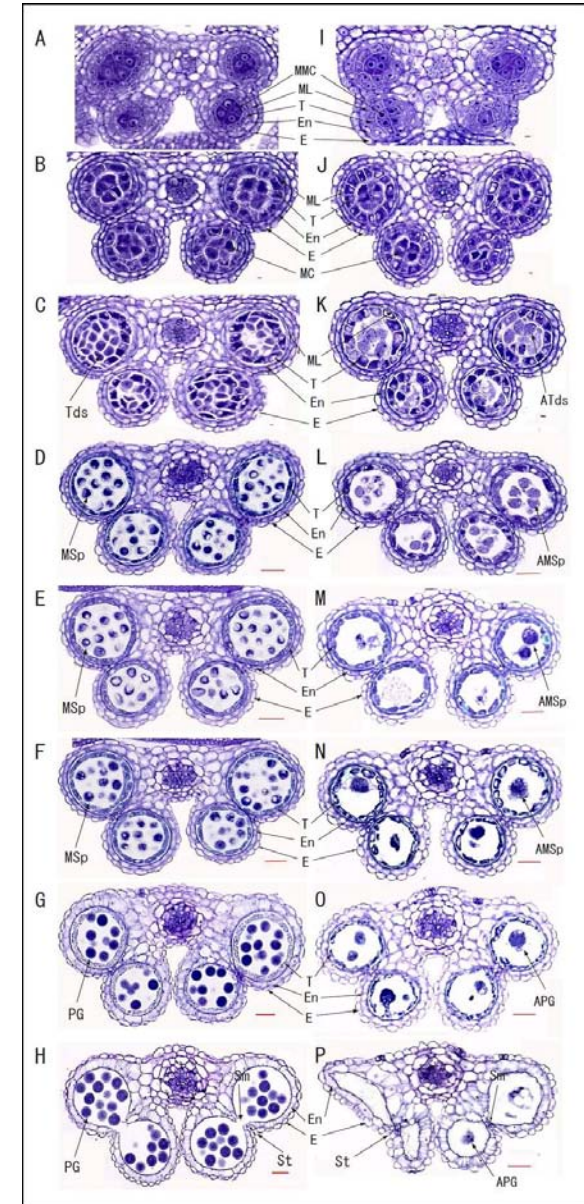


그림 25. *AtUGP1* 및 *AtUGP2* 유전자의 이중변이체 약(anther)의 표현형 관찰 (A-H, 야생형; I-P, 이중변이체)

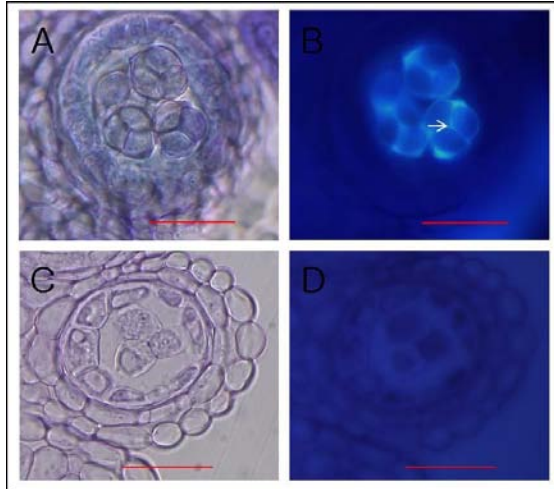


그림 26. *AtUGP1* 및 *AtUGP2* 유전자의 이중변이체의 4분자 시기의 callose막 관찰

4. CMS 종류별 특이적 분자마커 개발 및 우량 배추 CMS 계통 육성

가. 연구내용

(1) CMS 종류별 특이적 분자마커 개발

(가) 재료 및 방법

① 재료

배추과 작물의 CMS 유형에는 *nap*, *ogu*, *mur*, *oxy*, *tour* 등이 있다. 지금까지 알려진 CMS 라인의 세포질 background는 1) *B. tournefortii*, 2) *B. oxyrrhina*, 3) *D. siifolia*, 4) *Raphanus sativus*, 5) *Trachystoma ballii* 등이 있다. 이러한 CMS의 구분분자 마커를 개발하기 위하여 배추에서 CMS를 국내 대학, 연구소, 종묘회사에서 수집하였으며, 특히 연구사업단에 같이 참여하고 있는 종묘회사의 도움을 받아 54종을 수집하였다.

② DNA 추출

DNA 추출은 QIAGEN(USA)사의 DNeasy Plant Mini Kit를 이용하여 다음과 같이 수행하였다. 수집된 재료의 엽조직으로부터 0.1g정도로 계량하여 2ml 튜브에 넣고, 액체질소에 반쯤 담근 후 막대를 이용하여 가루가 될 때 까지 분쇄한다. 분쇄된 식물의 잎이 들어 있는 2ml 튜브에 Buffer AP1을 400 μ l 넣고 RNaseA를 4 μ l 넣는다. 5번 정도 vortex하고 water bath에서 65 $^{\circ}$ C에서 10분간 방치하는데 이 때 3분 간격으로 invert를 해준다. 그런 다음 Buffer AP2를 130 μ l 넣고 섞어준 후 5분간 얼음에 둔다. 5분간 14,000rpm으로 원심분리를 한 후 하층의 물순물을 버리고 상청액만을 QIAshredder Mini spin column의 2ml 튜브에 넣고 2분간 14,000rpm에서 원심분리를 한다. 원심분리 후 QIAshredder Mini spin column은 버리고, 컬럼을 통과한 상청액만을 새로운 2ml 튜브에 넣고 Buffer AP3/E를 1.5배 넣는다. 그리고 부드럽게 Pipetting 한다. 그 다음 DNeasy Mini spin column에 650 μ l를 넣고 1분간 8,000rpm으로 원심분리 한다. 원심분리 후 상청액은 버리고 나머지 액체를 다시 DNeasy Mini spin column에 넣고, 또 1분간 8,000rpm에서 원심분리 한다. 원심 분리 후 다시 컬럼을 통과한 상청액은 버리고 새로운 2ml collection tube에 끼워 넣은 후 Buffer AW를 500 μ l 넣고 1분간 8,000rpm에서 원심분리 한다. 분리 후 컬럼을 통과한 상청액을 버린 후 다시 Buffer AW를 500 μ l 넣고 2분간 14,000rpm에서 원심분리 한다. 상청액을 새로운 1.5ml 튜브에 넣고 Buffer AE를 100 μ l 넣고 실온에 5분간 방치한 후 1분간 8,000rpm으로 원심분리 한다. 원심분리 후 다시 Buffer AE를 100 μ l 넣고 6분간 실온에 방치 후 8,000rpm에서 1분간 원심 분리한다. 원심분리가 끝나면 컬럼을 버리고 추출한 DNA는 냉장고에 보관한다.

③ PCR 조건

PCR 증폭은 Perkin-elmer사의 PE-9700을 이용하였고, 2분간 94 $^{\circ}$ C에서 pre-denaturation 시킨 후, denaturation을 94 $^{\circ}$ C에서 1분, annealing은 50 $^{\circ}$ C에서 1분, extension은 72 $^{\circ}$ C에서 2분간 35회 반응시켰다. Post-extension은 72 $^{\circ}$ C에서 2분간 수행하였다. PCR 증폭 반응용액은 10x reaction buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl, PH 8.3, 15mM MgCl₂) 2.5 μ l, 2.5mM dNTP 2

μ l, Genomic DNA 50ng, 100pM Primer 0.1 μ l, 0.5unit *Taq* polymerase 0.25 μ l(TaKaRa, Japan) 및 멸균수를 이용하여 Total Vol. 25 μ l로 조성하였다. 반응액은 1.3% agarose gel 전기영동으로 분리 후 UV transilluminator상에서 확인하였다.

④ 염기서열 분석

PCR 및 PCR-RFLP에 의해 선별된 각 유전자의 PCR 산물은 정제한 후, pGEM-T Easy 벡터(Promega, USA)를 사용하여 ligation시켰다. Ligation 산물은 *E. coli* DH5 α 에 형질전환시켰으며, IPTG와 X-gal을 포함한 LB agar 배지에 배양하였다. Plasmid 추출은 Plamid Miniprep Kit(TaKaRa, Japan)를 사용하였으며, 염기서열 결정은 PRISM™ 377(Perkin-Elmer, USA)을 사용하여 수행하였다. PCR 산물의 염기서열은 MacDNAsis (Hitachi software, Calif, USA)와 BLASTN 프로그램(NCBI)을 이용하여 결정 및 분석하였다.

(나) 연구 결과

① CMS와 MF의 구분 특이적 마커 개발 (BramsA, BramsB1, BramsB2)

MS와 MF의 구분용 마커로 BramsA, BramsB1 및 BramsB2를 개발하였다(BramsA1 FW: 5'-GAA GAA GAT TCT CAT TCC AGC T-3', BramsA1 RV: 5'-GAA TTC AGA GGC AAG GAG GA-3'; BramsB1 FW: 5'-GGG GGA GCA CTT CCT TCT AC-3', BramsB1 RV: 5'-ATC AAG GCC AGC CAT TAC CT-3'; BramsB2 FW: 5'-AGG AAG CGC TAT TCT GAC CA-3', BramsB2 RV: 5'-GCC TCG AGA CTA CCT CGA TTT-3'). BramsA는 MF1과 MF2에서 343bp 크기의 산물이 증폭되며, CMS(SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, Saco CMS)는 704bp 크기의 산물이 증폭된다. BramsB1은 CMS가 MF보다 57bp 더 큰 size로 증폭되었다. BramsB2는 CMS인 SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, Saco CMS에서 각각 402bp로 증폭되었다(그림 28). CMS와 MF의 구분용 마커로 BramsA, BramsB1 및 BramsB2에 의한 PCR 산물을 cloning하여 염기서열을 분석 한 결과는 아래와 같다(그림 29, 30, 31).

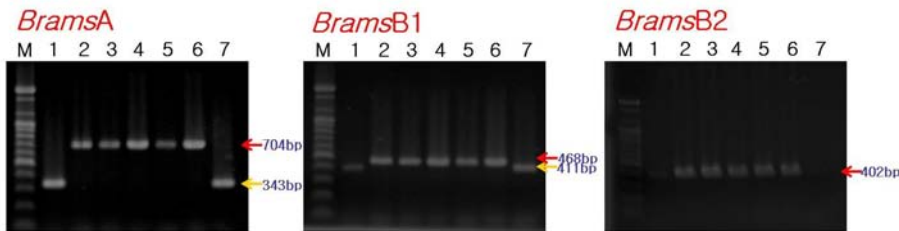


그림 28. 미토콘드리아 영역에서 합성한 *BramsA*, *BramsB1* 및 *BramsB2*를 이용하여 CMS와 MF의 구분 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: MF1, 2: SNU2 CMS, 3: SNU1 CMS, 4: SNU3 CMS, 5: Ogura CMS, 6: Saco CMS, 7: MF.)

```
>MF1, MF2
GAAGAAGATTCTCATTCCAGCTcagcaaggtagttgtaggaatctcttttggaaagtggaaattcctactctcatctcttttactaaa
tataaggaacaacacccttatgatgacattccgtcttaacgggtaaaaataacctaagttgaaatctttttttttattattgt
tgatactctcgcagagaatctcttaggagcgaacgcgatctatttagacctgatctacagggcacaaaagtgcgctactttgccca
agctctggaggttagtgccttctgctcagttcctaagggtgacttttttttctaaagcggtatTCCTCCTTGCCTCTGAATTC
```

```
>SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, Saco CMS
GAAGAAGATTCTCATTCCAGCTtaaaatagtaagacttgactcttggttcacttggtttctcgtctctgctggcgaagaagcgcc
atatcaaaaaataagaaagaagcaaaaatctcaatttgaataataagagatctctatgccccctgttcttggtttctcccatg
cttttggttggtaacaaccaaccacaacttctatagttcttcaactactcctagaggcttgacggagtgaagctgtctggaggaat
tgttgaatcaatatactaatctgtaaacccgcaaaaatcaacttctacttatgaaactatcaaatcaacttcccaagacatcgaag
agttaaaaaaaatggaaaatctctcgatgctccgatcagttgtaatacaaacgcgctgttagcgtaactgaagcactgaccggga
cggttcaacgccttttacagaccataatgttctttggccgaaaaatggaccacgcacaaaatgtacaagataacttggagatg
atatgaccttgggaaaatgttgcctctgatatgagcaacatcactcagttgggactcgcaagtgacgagttcatcaaatcttcaata
ttatcaatttaacgggcgggggggttagttaagttactatataccgaagttacttttttctaaagcggtatTCCTCCTTGCCT
CTGAATTC
```

SeqA Name	Len(nt)	SeqB Name	Len(nt)	Score
1 MF	343	2 CMS	704	14

MF	GAAGAAGATTCTCATTCCAGCTTAAATAAGTAAGACTTGACTCTTTGTTCACTTTGTTTT	60
CMS	GAAGAAGATTCTCATTCCAGCTTAAATAAGTAAGACTTGACTCTTTGTTCACTTTGTTTT	60
MF	CTCGCTCCTTGCTGGCGAAGAAGCGGCATATCAAAAATAAAGAAAGAAGCAAATCTCAT	120
CMS	CTCGCTCCTTGCTGGCGAAGAAGCGGCATATCAAAAATAAAGAAAGAAGCAAATCTCAT	120
MF	TCAATTTGAAATATAAGAGATCTCTATGCCCCCTGTTCTTGTTTTCTCCATGCTTTTG	180
CMS	TCAATTTGAAATATAAGAGATCTCTATGCCCCCTGTTCTTGTTTTCTCCATGCTTTTG	180
MF	TTGGTCAACAACCAACCACAACCTTCTATAGTTCTTCACTACTCCTAGAGGCTTGACGGA	240
CMS	TTGGTCAACAACCAACCACAACCTTCTATAGTTCTTCACTACTCCTAGAGGCTTGACGGA	240
MF	GTGAAGCTGCTGGAGGGGAATGTTGAAATCAATTAATCTAATCGTGAACCCGAAATC	300
CMS	GTGAAGCTGCTGGAGGGGAATGTTGAAATCAATTAATCTAATCGTGAACCCGAAATC	300
MF	AACTTCTACTTATGAATACTATCAAAATCACITTTCCCAAGACATCGAAGAGTTAAAAAAA	360
CMS	AACTTCTACTTATGAATACTATCAAAATCACITTTCCCAAGACATCGAAGAGTTAAAAAAA	360
MF	AAGATTCTCATTCCAGCTCAGCAAGGTAGTTGTAGGA-ATCTCTTTTGGAAAGTGGAAATC	63
CMS	ATGGAAATCTCTCGATGTCCTCCGATCAGTTGTATAACAACGCGCTTGTAGCGTAACG	420
MF	CTACTCT-----CATCTCTTTTACTAAAT-ATAAGGAACAACACCCCTTATG	109
CMS	AAGCACTGACCGGGACGGTCCAACGCTTTTACAGCACCATAATGTTCTTTTGCCCGAAA	480
MF	ATGACATTCGCTCTCTAACGGGTATAAATATACCTAAAGTTTGAATCTTTTTTTTATT	169
CMS	ATTGGACCCACGACAAAATAGTACAGATACTTGGAGAT-GATATGACCTTGGGAAAT	539
MF	ATTGTTGATACCTCTGAGAGAAATCTCTTAGGAGCGAACCGCATCTATTTAGACCTGATC	229
CMS	GTTGCTTCTG-TATTGAGCAACATCCTCAGTTG-GGACTCG-CAAGT-GACGAGTTT	593
MF	TATCAGGGCACAATAGTCGCTACTTTGCCAAGCTCTGGAGTTAGTGTCTTCGTTCACT	289
CMS	CATCAAAATCTCAATATTATCAATTTAA-CGGGCGGGGGGTTTA-GTTAAGGTACTAT	650
MF	TCATAAGTTGACTTTTTTTTTTCTAAAGCGGTATTCCTCCTTGCCTCTGAATTC	343
CMS	ATCCGAAGGTATACTTTTTTTTTTCTAAAGCGGTATTCCTCCTTGCCTCTGAATTC	704

그림 29. *BramsA*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

>MF1, MF2
 GGGGGAGCACTTCCTTCTACggggccctaacggggcggagagctcatccacgtggaaggaggatccggttgaacttcgagttctcgag
 gaatcatctccggactccccccggcaggggagctccagacggaagagagtgaaacctcggtaaatcggggggtcccagggaagct
 gggcctgcgctccagctaaatccagtccttccgggggggacgaagctgggcatctgtccctataccctacagaaggatgaaatg
 attgggggggtagcgtggagggcagatagaacgccccttctggctcaatttgctatccctcaacagaggacatccaatagcccac
 atcaagccgaagacctctcgaggtcaaggtagagatgtgaAGGTAATGGCTGGCCTTGAT

>SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, Saco CMS
 GGGGGAGCACTTCCTTCTACggggccctaacggggcggagagctcatccacgtggaaggaggatccggttgaacttcgagttctcgag
 gaatcatctccggactccccccggcaggggagctccagacggaagagagtgaaacctcggtaaatcgaggtagtctcgaggcccc
 caaacggaagaggggtgaacctcggtaaatcggggggtcccagggaagctggcctgcgctccagctaaatccagctccctccggg
 ggggacgaagctgggcaatctgtccctataccctacagaaggatgaaatgaaatgggggggtagcgtggagggcagatagaacgccc
 ttctggctcaagctcaatgtgctatccctatacagaggacatccaatagcccgaattcaagccgaagacctctcgaggtcaag
 gtaaagattgtgaAGGTAATGGCTGGCCTTGAT

SeqA Name	Len(nt)	SeqB Name	Len(nt)	Score
1 MF	411	2 CMS	468	97

MF CMS	GGGGGAGCACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAG GGGGGAGCACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAG *****	60 60
MF CMS	GATCCGTTTGAACCTCGAGTTCTCGAGGAATCATTCCGGACTCCCCCGGCGAGGGAG GATCCGTTTGAACCTCGAGTTCTCGAGGAATCATTCCGGACTCCCCCGGCGAGGGAA *****	120 120
MF CMS	TCCCAGACGGAAGAGAGTGAACCCTCGGTAAATCG----- GTCCAGACGGAAGAGAGTGAACCCTCGGTAAATCGAGGTAGTCTCGAGGCACCCAAACG *****	155 180
MF CMS	-----GCGGGTCCCAGGAAGCTGGCCTGCGCTTCCA GAAGAGGTTGAACCCTCGGTAAATCGGCGGGTCCCAGGAAGCTGGCCTGCGCTTCCA *****	189 240
MF CMS	GCTAATCCAGTCCCTCCGGGGGGACGAAGCTGGGCCATCTGTCCCCTATCCCTACAGA GCTAATCCAGTCCCTCCGGGGGGACGAAGCTGGGCCATCTGTCCCCTATCCCTACAGA *****	249 300
MF CMS	AGGGATGAAATGATTGGGGGGATAGCGTGGAGCGATAGAACGCCGCTTCTGGCTCAA AGGGATGAAATGATTGGGGGGATAGCGTGGAGCGATAGAACGCCGCTTCTGGCTCAA *****	309 360
MF CMS	-----TTTGTATTCCCTACACGAGGACATCCAATTAGCCACATTCAAGCCGAAGAC GCTCAATGTGCTTATCCCTTATACGAGGACATCCAATTAGCCCGCATTCAAGCCGAAGAC *****	363 420
MF CMS	CTCTTCGAGGTCAAGGTAGAGATTGTGAAGGTAATGGCTGGCCTTGAT CTCTTCGAGGTCAAGGTAAAGATTGTGAAGGTAATGGCTGGCCTTGAT *****	411 468

그림 30. *BramsB1*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

>SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, Saco CMS
 AGGAAGCGCTATTCTGACCACACGTCGCTTTCATTCTTCGCACTGGTGGGCTTCCTATT 60
 gaaaggacctgagggggatctcaatctctcgctggcttttcaatcgccgtggtaactctcttccctccggaacaaagtcagcca
 cctactgggtggtcaggctttgcccctgttggagcccaattatattggctgcagtaggagggggagaccttccctctacgggcccata
 cggggcggagagctcaaccagtggaaggaggatccggttgaacttggagttctcgaggaatcattccccgactccccccggcagg
 ggaagtcacagcgaagagagtgaaacctcggtAAATCGAGGTAGTCTCGAGGC (402bp)

SNU-2	AGGAAGCGCTATTCTGACCACACGTCGCTTTCATTCTTCGCACTGGTGGGCTTCCTATT	60
SNU-1	AGGAAGCGCTATTCTGACCACACGTCGCTTTCATTCTTCGCACTGGTGGGCTTCCTATT	60
SNU-3	AGGAAGCGCTATTCTGACCACACGTCGCTTTCATTCTTCGCACTGGTGGGCTTCCTATT	60
Saco	AGGAAGCGCTATTCTGACCACACGTCGCTTTCATTCTTCGCACTGGTGGGCTTCCTATT	60
Ogura	AGGAAGCGCTATTCTGACCACACGTCGCTTTCATTCTTCGCACTGGTGGGCTTCCTATT	60

SNU-2	TGTAATTCGCATTATTACTTGCCTTTGAAAGGACCACCTGAGGGGATTCTCAATCTCTT	120
SNU-1	TGTAATTCGCATTATTACTTGCCTTTGAAAGGACCACCTGAGGGGATTCTCAATCTCTT	120
SNU-3	TGTAATTCGCATTATTACTTGCCTTTGAAAGGACCACCTGAGGGGATTCTCAATCTCTT	120
Saco	TGTAATTCGCATTATTACTTGCCTTTGAAAGGACCACCTGAGGGGATTCTCAATCTCTT	120
Ogura	TGTAATTCGCATTATTACTTGCCTTTGAAAGGACCACCTGAGGGGATTCTCAATCTCTT	120

SNU-2	CGTGGTCTTTTTTCATCGCCGTGGTAATCTCTTCTCCGATCAAAGTCAGCCACCTACT	180
SNU-1	CGTGGTCTTTTTTCATCGCCGTGGTAATCTCTTCTCCGATCAAAGTCAGCCACCTACT	180
SNU-3	CGTGGTCTTTTTTCATCGCCGTGGTAATCTCTTCTCCGATCAAAGTCAGCCACCTACT	180
Saco	CGTGGTCTTTTTTCATCGCCGTGGTAATCTCTTCTCCGATCAAAGTCAGCCACCTACT	180
Ogura	CGTGGTCTTTTTTCATCGCCGTGGTAATCTCTTCTCCGATCAAAGTCAGCCACCTACT	180

SNU-2	GGTGGTCAGGCTTTGCCCTGTGGAGCCCAATATATTGGCTGCAGTAGGAGGGGAGC	240
SNU-1	GGTGGTCAGGCTTTGCCCTGTGGAGCCCAATATATTGGCTGCAGTAGGAGGGGAGC	240
SNU-3	GGTGGTCAGGCTTTGCCCTGTGGAGCCCAATATATTGGCTGCAGTAGGAGGGGAGC	240
Saco	GGTGGTCAGGCTTTGCCCTGTGGAGCCCAATATATTGGCTGCAGTAGGAGGGGAGC	240
Ogura	GGTGGTCAGGCTTTGCCCTGTGGAGCCCAATATATTGGCTGCAGTAGGAGGGGAGC	240

SNU-2	ACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAGGATCCGTT	300
SNU-1	ACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAGGATCCGTT	300
SNU-3	ACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAGGATCCGTT	300
Saco	ACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAGGATCCGTT	300
Ogura	ACTTCCTTCTACGGGCCCTAACGGGGCGGAGAGCTCATCCACGTGGAAGGAGGATCCGTT	300

SNU-2	TGAACTTGGAGTTCTCGAGGAATCAITCCCAGACTCCCCCGGCGAGGGGAAGTCCAGAC	360
SNU-1	TGAACTTGGAGTTCTCGAGGAATCAITCCCAGACTCCCCCGGCGAGGGGAAGTCCAGAC	360
SNU-3	TGAACTTGGAGTTCTCGAGGAATCAITCCCAGACTCCCCCGGCGAGGGGAAGTCCAGAC	360
Saco	TGAACTTGGAGTTCTCGAGGAATCAITCCCAGACTCCCCCGGCGAGGGGAAGTCCAGAC	360
Ogura	TGAACTTGGAGTTCTCGAGGAATCAITCCCAGACTCCCCCGGCGAGGGGAAGTCCAGAC	360

SNU-2	GGAAAGAGAGTGAACCCCTCGGTAATCGAGGTAGTCTCGAGGC	402
SNU-1	GGAAAGAGAGTGAACCCCTCGGTAATCGAGGTAGTCTCGAGGC	402
SNU-3	GGAAAGAGAGTGAACCCCTCGGTAATCGAGGTAGTCTCGAGGC	402
Saco	GGAAAGAGAGTGAACCCCTCGGTAATCGAGGTAGTCTCGAGGC	402
Ogura	GGAAAGAGAGTGAACCCCTCGGTAATCGAGGTAGTCTCGAGGC	402

그림 31. *BramsB2*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

② Polima 유형 CMS 특이적 마커 개발 (BramsE, BramsF, BramsH2)

Polima 유형 CMS 마커로 *BramsE*, *BramsF* 및 *BramsH2*를 개발하였다(*BramsE* FW: 5'-TGG AGT ACT TGG GAT CAG CA-3', *BramsE* RV: 5'-AGG CTT CGA ATC TCC CAC TT-3'; *BramsF* FW: 5'-TGC CTC AAC TGG ATA AAT TCA C-3', *BramsF* RV: 5'-TTC GTT CAC CTT GGC TCT CT-3'; *BramsH2* FW: 5'-AAT ACG CCT ATG CCC CCT AC-3', *BramsH2* RV: 5'-GCT TAG TGC TCA CAA CGG GTA-3'). polima 유형 CMS 특이적 마커인 *BramsE*, *BramsF* 및 *BramsH2*에 의하여 polima CMS인 SNU-2, SNU-1 CMS에서 각각 PCR산물이 증폭되었다. *BramsE*는 SNU-2, SNU-1 CMS에서 478bp 크기의 산물이 증폭되며, *BramsF* 및 *BramsH2*는 각각 646bp, 455bp로 증폭되었다(그림 32). Polima 유형 CMS 마커인 *BramsE*, *BramsF* 및 *BramsH2*의 PCR 산물을 cloning하여 염기서열을 분석 한 결과 SNU-2, SNU-1 CMS를 분석한 결과 100%의 상동성을 가졌다.(그림 33, 34, 35).

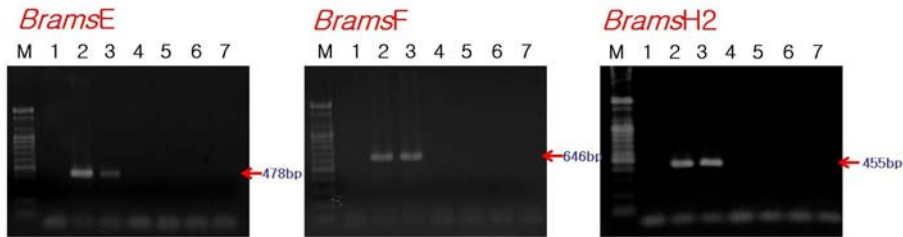


그림 32. 미토콘드리아 영역에서 합성한 *BramsE*, *BramsF* 및 *BramsH2*를 이용하여 Polima type CMS 구분 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: MF1, 2: SNU2 CMS, 3: SNU1 CMS, 4: SNU3 CMS, 5: Ogura CMS, 6: Saco CMS, 7: MF2)

>SNU-2, SNU-1 CMS

```
TGGAGTACTTGGGATCAGCAgaattctaaactacgaaccaactgctttcacaccgggggaagaccatccagagcaaggtcagaaa
aaatcgtagttcagattcaagtcggttggaggctctggcgttcgctattaatatttccctcttttctgattccaagattatggcc
atatataatattggaacggtttgaaattttgttagggttgaaatattggaatattccaataatgaaatctgacttaggggtcgg
accagatggcgtcgcccccggaataaaacgaacggcgccgctgcattctgttacgggagttgtagagttccgactctcaaca
agctcgaataatgcatgctagcgcaccttaatcgcatagaatataaccatgacctagaggggtgagcgtgatactgtgcccgg
tcaagccttaatcgatatcatgAAGTGGGAGATTGCAAGCCT (478bp)
```

SNU-2	TGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATTCTAAAACACGAAACCAACTGCTTTCACACCCGGGG	60
SNU-1	TGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATTCTAAAACACGAAACCAACTGCTTTCACACCCGGGG	60

SNU-2	GAAACCATCCAGACCAAGGTCAGAAAAAATCGTAGTTCAGATTCAAGTCGGTTGGAGGT	120
SNU-1	GAAACCATCCAGACCAAGGTCAGAAAAAATCGTAGTTCAGATTCAAGTCGGTTGGAGGT	120

SNU-2	CTTGGCGTTCGCTAATAATTAATTTCCCTCTTTTTCGTGATTCCAAGATTATGGCCATATAI	180
SNU-1	CTTGGCGTTCGCTAATAATTAATTTCCCTCTTTTTCGTGATTCCAAGATTATGGCCATATAI	180

SNU-2	ATATAATTGGATACGGTTTGAAATTTTTGTTAGGGTTGAAATATGGAATATCCAAAATGA	240
SNU-1	ATATAATTGGATACGGTTTGAAATTTTTGTTAGGGTTGAAATATGGAATATCCAAAATGA	240

SNU-2	AATCTTGACTTTAGGGGTCGGACAGATGGCGTCGCGCCCCCGGATATAAACGAACGGGC	300
SNU-1	AATCTTGACTTTAGGGGTCGGACAGATGGCGTCGCGCCCCCGGATATAAACGAACGGGC	300

SNU-2	GCCGCTGCAICTCTTTGTACCGGATGTTGAGAGTTCGACTCTCAACAAGCTCGAAATAA	360
SNU-1	GCCGCTGCAICTCTTTGTACCGGATGTTGAGAGTTCGACTCTCAACAAGCTCGAAATAA	360

SNU-2	TGCGATGCTAGCGCACCTTAATCGCATAGAATATAAACCATGACCTAGAGGGTGAGCG	420
SNU-1	TGCGATGCTAGCGCACCTTAATCGCATAGAATATAAACCATGACCTAGAGGGTGAGCG	420

SNU-2	TGATAICGTGCGGCGTCAAGCCTTAATCGATATCATGAAGTGGGAGATTGCAAGCCT	477
SNU-1	TGATAICGTGCGGCGTCAAGCCTTAATCGATATCATGAAGTGGGAGATTGCAAGCCT	477

그림 33. *BramsE*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

>SNU-2, SNU-1 CMS
 TGCCTCAACTGGATAAAATTCACttatttttcacaattcttctggttatgcttttcttcttactttctatattttcatatgcaatg
 atggagatggagtacttgggatcagcagaattctaaactacggaaccaactgcttcacactgggtaagaccatccagagcaagc
 taaagcttgggtgaaaagaatcgtacaagtaagtccgggtcttagcgttcgccacgcgctatttcoctcagtctcgttcccaaaa
 tgcggctagctatatactaatataggttgaattttattttgggatataatgggggtgcttaggaaatagatatttcagttcg
 gctcggaccagatggcgtcgcgccccagctctagatctcaacgagcgcgccactgcatcttttgtacggcagatgttgagagt
 ccgactctcaacaagcgggaatgctgatactagcgcataattagccgagtgcaagagataaacccgtgacctagaggggtgacatg
 atatcgcgcgctcaagccctcgtcgcatactgaagtgggaggtcaggagcttgatcaccactcccgggtcttctcgtacctag
 accgtctcgcagatcgaAGAGAGCCAAGGTGAACGAA (646bp)

SNU-2	TGCCTCAACTGGATAAAATTCACttatttttcacaattcttctggttatgcttttcttcttactttctatattttcatatgcaatg	60
SNU-1	TGCCTCAACTGGATAAAATTCACttatttttcacaattcttctggttatgcttttcttcttactttctatattttcatatgcaatg	60

SNU-2	TTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTTGGGATCAGCAGAATTC	120
SNU-1	TTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTTGGGATCAGCAGAATTC	120

SNU-2	TAAACTACGGAAACCAACTGCTTTCACACTGGGGTAAGACCATCCAGAGCAAGCTAAAGC	180
SNU-1	TAAACTACGGAAACCAACTGCTTTCACACTGGGGTAAGACCATCCAGAGCAAGCTAAAGC	180

SNU-2	TTGGTGGAAAAGATCGTACAAGTAAGTTCGGGGTCTTAGCGTTCGCCACGCGCTATTTC	240
SNU-1	TTGGTGGAAAAGATCGTACAAGTAAGTTCGGGGTCTTAGCGTTCGCCACGCGCTATTTC	240

SNU-2	TCATGTTCCGTGGTCCCAAAAATCGCGCTAGCTATATATCTAATATATGGTTTGAATTTTA	300
SNU-1	TCATGTTCCGTGGTCCCAAAAATCGCGCTAGCTATATATCTAATATATGGTTTGAATTTTA	300

SNU-2	TTTTTGGGATTAATGGGGTTCCTAGGAAATGAGATAITTCAGTTCGGCGTCGGACCAG	360
SNU-1	TTTTTGGGATTAATGGGGTTCCTAGGAAATGAGATAITTCAGTTCGGCGTCGGACCAG	360

SNU-2	ATGGCGTCGCGCCCCAGCTCTAGATCTCAACGAGCGCCCCGCACTGCATCTTTTGTACG	420
SNU-1	ATGGCGTCGCGCCCCAGCTCTAGATCTCAACGAGCGCCCCGCACTGCATCTTTTGTACG	420

SNU-2	CGGATGTTGAGAGTCCGACTCTCAACAAGCGCGAAATGCTGATATGCTAGCGCATATTA	480
SNU-1	CGGATGTTGAGAGTCCGACTCTCAACAAGCGCGAAATGCTGATATGCTAGCGCATATTA	480

SNU-2	GCCGAGTCAAGAGATAACCCGTGACCTAGAGGGTGAGCATGATAITCGCGCGCGTCAAG	540
SNU-1	GCCGAGTCAAGAGATAACCCGTGACCTAGAGGGTGAGCATGATAITCGCGCGCGTCAAG	540

SNU-2	CCCTCGTCGATATCATGAAGTGGGAGGTCAGGAGCTTGGATCACCCTCCGGGTCITTC	600
SNU-1	CCCTCGTCGATATCATGAAGTGGGAGGTCAGGAGCTTGGATCACCCTCCGGGTCITTC	600

SNU-2	GGTACCTAGACCGTCTGCGAGATTGGAAGAGAGCCAAGGTGAACGAA	647
SNU-1	GGTACCTAGACCGTCTGCGAGATTGGAAGAGAGCCAAGGTGAACGAA	647

그림 34. *BramsF*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

>SNU-2, SNU-1 CMS
 AATACGCCTATGCCCCCTAcaaccattggacgtttttat tagcagcaggtttgataatgagcgtctaacgatcagcggaggggt
 tcaccttctggtcggaaagtggccttacttgaacctcgaatgtagaagatcaaaacaagatcccatcagaggcaagtagaagca
 gagagtttctggtcgcgaccaaatcaacaacaaatcgtgcaagaactcatgctata t t a c t a a a t a a a g g a t a c a c a g t t a c a g a t
 aaaactgataaacgcgcaatataagatgtagctatggttcacgaggaaatccgtgataatgatcatcgaaaagaagattctactac
 ct t t a c t c t g c t t a g g a a a g a g a a a c t c c a t t c t g g c g g g a g a t t c t a a a t a c t t t a t g a t t a t a a c a t c a c t c t t c g a t
 ACCCGTTGTGAGCACTAAGC (455bp)

SNU-2	AATACGCCTATGCCCCCTAcaaccattggacgtttttat tagcagcaggtttgataatgagcgtctaacgatcagcggaggggt	60
SNU-1	AATACGCCTATGCCCCCTAcaaccattggacgtttttat tagcagcaggtttgataatgagcgtctaacgatcagcggaggggt	60

SNU-2	GAGCGCTTAACGATCAGCGAGGGGTTCACTTCCTGGTTCGGAAAGTGGCCCTTTACTTG	120
SNU-1	GAGCGCTTAACGATCAGCGAGGGGTTCACTTCCTGGTTCGGAAAGTGGCCCTTTACTTG	120

SNU-2	AACCTCGATGTAGAAGATCAAAACAAGATCCCATCGAGGAGCAAGTAGAAGCAGAGAGT	180
SNU-1	AACCTCGATGTAGAAGATCAAAACAAGATCCCATCGAGGAGCAAGTAGAAGCAGAGAGT	180

SNU-2	TTTCGTTGCGACCAAAATCAACAAAAAATCGTGCAAAAGAACTCATGCTATATTACTAAAT	240
SNU-1	TTTCGTTGCGACCAAAATCAACAAAAAATCGTGCAAAAGAACTCATGCTATATTACTAAAT	240

SNU-2	AAAGGATACACAGTTACAGATAAAAATGATATAACGCGAATTATAGATGTAGCTATGTTT	300
SNU-1	AAAGGATACACAGTTACAGATAAAAATGATATAACGCGAATTATAGATGTAGCTATGTTT	300

SNU-2	CACGAGGAATCCGTTGATATTGATCATCGCAAAAAGAGATTCTACTACCTTTACTCCTGC	360
SNU-1	CACGAGGAATCCGTTGATATTGATCATCGCAAAAAGAGATTCTACTACCTTTACTCCTGC	360

SNU-2	TTAGGAAAAGAGGAAACTCCATTCTGGCGGGAGATTCTTAAATTACTTTATGATTATAAC	420
SNU-1	TTAGGAAAAGAGGAAACTCCATTCTGGCGGGAGATTCTTAAATTACTTTATGATTATAAC	420

SNU-2	ATCACTCTCTTCGATACCCGTTGTGAGCACTAAGC	455
SNU-1	ATCACTCTCTTCGATACCCGTTGTGAGCACTAAGC	455

그림 35. *BramsH2*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

③ Ogura-like type CMS 특이적 마커 개발 (BramsC)

Ogura-like 유형 CMS 마커로 *BramsC*를 개발하였다(BramsC FW: 5'-CCG CTT TTC TTC AGC ATA TAA A-3', BramsC RV: 5'-TTT CTC GGT CCA TTT TCC AC-3'). Ogura-like type CMS 특이적 마커인 *BramsC*에 의하여 Ogura-like type인 SNU-3, Ogura CMS 및 Saco CMS에서 각각 PCR산물이 439bp 크기로 증폭되었다(그림 36). *BramsC*의 한 PCR 산물을 cloning하여 염기서열을 분석 한 결과 SNU-3, Ogura CMS 및 Saco CMS를 분석한 결과 100%의 상동성을 가졌다.(그림 37).

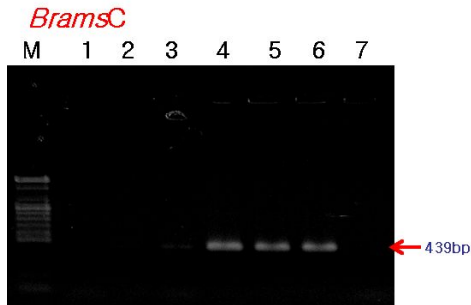


그림 36. 미토콘드리아 영역에서 합성한 *BramsC*를 이용하여 Ogura 유형 구분용 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: MF1, 2: SNU2 CMS, 3: SNU1 CMS, 4: SNU3 CMS, 5: Ogura CMS, 6: Saco CMS, 7: MF2)

>SNU3 CMS, Ogura CMS, Saco CMS

```

ccgcttttcttcagcataataatgcaatgattacctttttcgaaaaattgtccactttttgtcataatctcactcctactgaatgta
aagttagtgtaataagtttcttcttttagcttttttactaatggcccaattttggctaaagctggtttctcaacaacacacattggt
tacgaacctagagacatctagagaagttaaaaattccatgaaatttcagtaagggtggctaggtgtcaaaattacaataaaatcaa
atgtaccacgaagaagtgcacaaaagctcacctatcatataaaggggaaatagaggggaaaggggaaaaaaagaggggaaag
gggaaatagaggggaaaggggaaaaaaagaggggaaaggggaaatagaggggaaaggggaaaaaaagaggtGGGAAAATGGACCGA
GAAA (439bp)
    
```

SNU3	CCGCTTTTCTTCAGCATATAAAATGCAATGATTACCTTTTTCGAAAAATGTCCACTTTTT	60
Saco	CCGCTTTTCTTCAGCATATAAAATGCAATGATTACCTTTTTCGAAAAATGTCCACTTTTT	60
Ogura	CCGCTTTTCTTCAGCATATAAAATGCAATGATTACCTTTTTCGAAAAATGTCCACTTTTT	60

SNU3	GTCATAAATCTCACTCCTACTGAATGTAAGTTAGTGTAAATAGTTTCTTTCTTTTAGCTT	120
Saco	GTCATAAATCTCACTCCTACTGAATGTAAGTTAGTGTAAATAGTTTCTTTCTTTTAGCTT	120
Ogura	GTCATAAATCTCACTCCTACTGAATGTAAGTTAGTGTAAATAGTTTCTTTCTTTTAGCTT	120

SNU3	TTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACACCAACCAATTGTTTACGAA	180
Saco	TTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACACCAACCAATTGTTTACGAA	180
Ogura	TTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACACCAACCAATTGTTTACGAA	180

SNU3	CCATGAGACATCTAGAGAAGTTAAAAATCCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTAGGTG	240
Saco	CCATGAGACATCTAGAGAAGTTAAAAATCCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTAGGTG	240
Ogura	CCATGAGACATCTAGAGAAGTTAAAAATCCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTAGGTG	240

SNU3	TCAAAATTACAATAAAATCAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTA	300
Saco	TCAAAATTACAATAAAATCAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTA	300
Ogura	TCAAAATTACAATAAAATCAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTA	300

SNU3	TCATTAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGG	360
Saco	TCATTAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGG	360
Ogura	TCATTAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGG	360

SNU3	GGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGG	420
Saco	GGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGG	420
Ogura	GGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGG	420

SNU3	TGGAAAATGGACCGAGAAA	439
Saco	TGGAAAATGGACCGAGAAA	439
Ogura	TGGAAAATGGACCGAGAAA	439

그림 37. *BramsB1*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

④ Saco CMS 특이적 마커 개발 (BramsH1)

Saco CMS 특이적 마커로 *BramsH1*를 개발하였다. *BramsH1*에 의하여 MF1, SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, MF2에서 각각 PCR산물이 448bp 크기로 증폭되었지만 Saco CMS에서는 증폭되지 않았다(그림 38). *BramsH1*의 한 PCR 산물을 cloning하여 MF1, SNU2 CMS, SNU1 CMS, SNU3 CMS, Ogura CMS, MF2의 염기서열을 분석 한 결과 100%의 상동성을 가졌다.(그림 39).

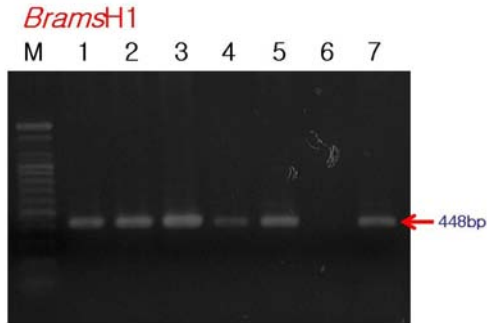


그림 38. 미토콘드리아 영역에서 합성한 *BramsH1*를 이용하여 Saco CMS의 구분용 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: MF1, 2: SNU2 CMS, 3: SNU1 CMS, 4: SNU3 CMS, 5: Ogura CMS, 6: Saco CMS, 7: MF2)

```

MF1      AAGGACGACGTACCCATGATACTTTCTGTGTTTTCGAGCCCTGCTTTGGTCTCTGGTTTG  60
SNU2    AAGGACGACGTACCCATGATACTTTCTGTGTTTTCGAGCCCTGCTTTGGTCTCTGGTTTG  60
SNU1    AAGGACGACGTACCCATGATACTTTCTGTGTTTTCGAGCCCTGCTTTGGTCTCTGGTTTG  60
SNU3    AAGGACGACGTACCCATGATACTTTCTGTGTTTTCGAGCCCTGCTTTGGTCTCTGGTTTG  60
MF2     AAGGACGACGTACCCATGATACTTTCTGTGTTTTCGAGCCCTGCTTTGGTCTCTGGTTTG  60
Ogura#  AAGGACGACGTACCCATGATACTTTCTGTGTTTTCGAGCCCTGCTTTGGTCTCTGGTTTG  60
*****

MF1      ATGGTTGCACGTCTAAAAATCCGGTACATTCGGTTTGTGTTTCCCATCCAGTCTTTTCGC  120
SNU2    ATGGTTGCACGTCTAAAAATCCGGTACATTCGGTTTGTGTTTCCCATCCAGTCTTTTCGC  120
SNU1    ATGGTTGCACGTCTAAAAATCCGGTACATTCGGTTTGTGTTTCCCATCCAGTCTTTTCGC  120
SNU3    ATGGTTGCACGTCTAAAAATCCGGTACATTCGGTTTGTGTTTCCCATCCAGTCTTTTCGC  120
MF2     ATGGTTGCACGTCTAAAAATCCGGTACATTCGGTTTGTGTTTCCCATCCAGTCTTTTCGC  120
Ogura#  ATGGTTGCACGTCTAAAAATCCGGTACATTCGGTTTGTGTTTCCCATCCAGTCTTTTCGC  120
*****

MF1      GACATAGAAACCGTTTTCACTTACTTTTCGTGATTTCCATATTATAAGGAAATTTTCAATG  180
SNU2    GACATAGAAACCGTTTTCACTTACTTTTCGTGATTTCCATATTATAAGGAAATTTTCAATG  180
SNU1    GACATAGAAACCGTTTTCACTTACTTTTCGTGATTTCCATATTATAAGGAAATTTTCAATG  180
SNU3    GACATAGAAACCGTTTTCACTTACTTTTCGTGATTTCCATATTATAAGGAAATTTTCAATG  180
MF2     GACATAGAAACCGTTTTCACTTACTTTTCGTGATTTCCATATTATAAGGAAATTTTCAATG  180
Ogura#  GACATAGAAACCGTTTTCACTTACTTTTCGTGATTTCCATATTATAAGGAAATTTTCAATG  180
*****

MF1      AAATGGCGATTTCCTTTGGTTTTCTATTTTCAAAATTCATTTTGGCATATTATGGTAAAA  240
SNU2    AAATGGCGATTTCCTTTGGTTTTCTATTTTCAAAATTCATTTTGGCATATTATGGTAAAA  240
SNU1    AAATGGCGATTTCCTTTGGTTTTCTATTTTCAAAATTCATTTTGGCATATTATGGTAAAA  240
SNU3    AAATGGCGATTTCCTTTGGTTTTCTATTTTCAAAATTCATTTTGGCATATTATGGTAAAA  240
MF2     AAATGGCGATTTCCTTTGGTTTTCTATTTTCAAAATTCATTTTGGCATATTATGGTAAAA  240
Ogura#  AAATGGCGATTTCCTTTGGTTTTCTATTTTCAAAATTCATTTTGGCATATTATGGTAAAA  240
*****

MF1      TTTGTATTTTCCGTGGGTACTTGTGCTTCGACGATTTAACTCGTCCCATTTCTCAGTTC  300
SNU2    TTTGTATTTTCCGTGGGTACTTGTGCTTCGACGATTTAACTCGTCCCATTTCTCAGTTC  300
SNU1    TTTGTATTTTCCGTGGGTACTTGTGCTTCGACGATTTAACTCGTCCCATTTCTCAGTTC  300
SNU3    TTTGTATTTTCCGTGGGTACTTGTGCTTCGACGATTTAACTCGTCCCATTTCTCAGTTC  300
MF2     TTTGTATTTTCCGTGGGTACTTGTGCTTCGACGATTTAACTCGTCCCATTTCTCAGTTC  300
Ogura#  TTTGTATTTTCCGTGGGTACTTGTGCTTCGACGATTTAACTCGTCCCATTTCTCAGTTC  300
*****

MF1      TACCCGCGATATCAGGATTTCTGGGGGGGAAATACGGCTATGCCCCCTACAAACCCA  360
SNU2    TACCCGCGATATCAGGATTTCTGGGGGGGAAATACGGCTATGCCCCCTACAAACCCA  360
SNU1    TACCCGCGATATCAGGATTTCTGGGGGGGAAATACGGCTATGCCCCCTACAAACCCA  360
SNU3    TACCCGCGATATCAGGATTTCTGGGGGGGAAATACGGCTATGCCCCCTACAAACCCA  360
MF2     TACCCGCGATATCAGGATTTCTGGGGGGGAAATACGGCTATGCCCCCTACAAACCCA  360
Ogura#  TACCCGCGATATCAGGATTTCTGGGGGGGAAATACGGCTATGCCCCCTACAAACCCA  360
*****

MF1      TTGGACGTTTTTATTAGCAGCGAGTTTGATAAATGAGCGGCTTACCGATCAGCGGAGGGGT  420
SNU2    TTGGACGTTTTTATTAGCAGCGAGTTTGATAAATGAGCGGCTTACCGATCAGCGGAGGGGT  420
SNU1    TTGGACGTTTTTATTAGCAGCGAGTTTGATAAATGAGCGGCTTACCGATCAGCGGAGGGGT  420
SNU3    TTGGACGTTTTTATTAGCAGCGAGTTTGATAAATGAGCGGCTTACCGATCAGCGGAGGGGT  420
MF2     TTGGACGTTTTTATTAGCAGCGAGTTTGATAAATGAGCGGCTTACCGATCAGCGGAGGGGT  420
Ogura#  TTGGACGTTTTTATTAGCAGCGAGTTTGATAAATGAGCGGCTTACCGATCAGCGGAGGGGT  420
*****

MF1      TCACCTTCCGTGGTGGAAAGTGGCTTTT  448
SNU2    TCACCTTCCGTGGTGGAAAGTGGCTTTT  448
SNU1    TCACCTTCCGTGGTGGAAAGTGGCTTTT  448
SNU3    TCACCTTCCGTGGTGGAAAGTGGCTTTT  448
MF2     TCACCTTCCGTGGTGGAAAGTGGCTTTT  448
Ogura#  TCACCTTCCGTGGTGGAAAGTGGCTTTT  448
*****
    
```

그림 39. *BramsH1*의 염기서열 및 ClustalW2 프로그램을 이용한 alignment 분석

⑤ SNU3 CMS 특이적 마커 개발 (BramsK1, BramsK2)

○ SNU3 CMS 특이적 마커 (*BramsK1*)

SNU3 CMS 특이적 마커인 *BramsK1*에 의하여 SNU3 CMS를 구분 할 수 있었다(그림 40). Ogura-like type CMS 특이적 마커인 *BramsC*, Saco CMS 특이적 마커인 *BramsH1* 및 SNU3 CMS 특이적 마커를 이용하면 더욱 명확하게 Ogura-like 유형 CMS를 구분할 수 있다.

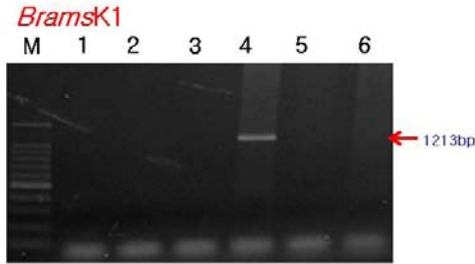


그림 40. 미토콘드리아 영역에서 합성한 *BramsK1*를 이용하여 SNU3 CMS 구분 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: MF1, 2: SNU2 CMS, 3: SNU1 CMS, 4: SNU3 CMS, 5: Ogura CMS, 6: Saco CMS)

○ SNU3 CMS 특이적 마커 (*BramsK2*)

배추 엽록체 *matK* 유전자를 이용한 SNU3 CMS 특이적 마커이다(BramsK2-F : 5'-CTC AGT AAT CTT AGT CTT ACT G-3', BramsK2-R: 5'-ATT TCC GGC GCT TTT AGG GTT GTT C-3'). SNU3 CMS의 특이적 마커인 *BramsK2*에 의해 배추의 SNU3 CMS에서 PCR산물(891bp)이 증폭되었다(그림 41). SNU3 CMS의 PCR 산물을 cloning하여 염기서열을 분석하였다(그림 42).

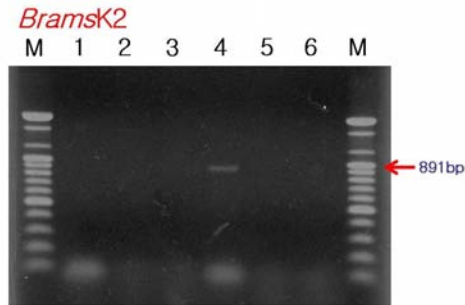


그림 41. 엽록체 영역에서 합성한 *BramsK2*를 이용하여 SNU3 CMS의 구분용 특이적 밴드. (M: 100bp DNA ladder, 1: MF1, 2: SNU2 CMS, 3: SNU1 CMS, 4: SNU3 CMS, 5: Ogura CMS, 6: Saco CMS, 7: MF2)

>SNU3 CMS

```
CTCAGTAATCTTAGTCTTACTGcttactgtatgaacatttaataatagaataaatgacttttgataatacaaaaataattttt
ttgttatctccgcattccggttacgttctgataaaatgtattatattatggagcctcagaaccccatattcatgattgacaaa
tcattagataaagaaatccaaaaccacccgactcgataatacttttagaagcataatcacttcttggaagattaaagaa
agaacttggcttccccgtaaggaattcttctaataaccggagcccaaccttttaaaaagcgcgtacagtactttgtgttta
cgagccaaagttaacacacaaagcaagtatataatattatcgatacaaatctttttgttgaagatcccgctgataaatgt
gaaatattctgggataacgcacaaatcggttgagaatatacagaatctgatgaatccggtccaggtcgcttactaatgggatgcct
aatacattacaaaatttatcttttagccaacgaccaataatagaaaaaattggaatgttgctatccaattttattctaacattatct
attagaatagattttctagcatttgactacgtaccactaaaggatttagtcgaaacttgagagataaccagaaattctaaatta
tctttagataattgatattaataacctttgcatgaaaccatcggaataaacattgccaataatacaaaaataaaatttc
catttatcactagaatggcgtatcctttgttgccagaatgattttccatgatatacaataatgtaggaaaggatccttGAAC
AACCCATAAAGCGCCGGAAT
```

그림 42. *BramsK2*의 염기서열

⑥ CMS 분자마커 검정 및 음성불임 개체의 스크리닝

CMS와 MF의 구분 특이적 마커(*BramsA*, *BramsB1*, *BramsB2*), Polima type CMS 특이적 마커(*BramsE*, *BramsF*, *BramsH2*), Ogura like type CMS 특이적 마커(*BramsC*), SNU-3 CMS 특이적 마커(*BramsK1*, *BramsK1*)를 이용하여 국내외 수집종을 대상으로 개발된 마커를 검정하였으며, 대조구로 MF를 2개 사용하였으며, 1개의 MF가 포함 되어있었다, SNU-2 CMS 가 15종, SNU-1 CMS가 14종, SNU-3 CMS가 6종, Ogura CMS 24종, Saco CMS가 2종 포함 되어 있었으며, 다수의 CMS가 Ogura type으로 편중되어 있었다(표 6).

표 6. CMS 분자마커 검정 및 음성불임 개체의 스크리닝

Acc. No.	Source	Primer(bp)									
		<i>BramsA1</i>	<i>BramsB1</i>	<i>BramsB2</i>	<i>BramsC</i>	<i>BramsE</i>	<i>BramsF</i>	<i>BramsH1</i>	<i>BramsH2</i>	<i>BramsK1</i>	<i>BramsK2</i>
1	NH	343	411	x	x	x	x	448	x	x	x
2	NH	343	411	x	x	x	x	448	x	x	x
3	BIO	704	468	402	439	x	x	448	x	x	x
4	SNU	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
5	SNU	704	468	402	439	x	x	448	x	x	x
6	SNU	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
7	BIO	704	468	402	439	x	x	448	x	x	x
8	SNU	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
9	BIO	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
10	BIO	704	468	402	439	478	646	448	455	x	x
11	BIO	704	468	402	439	x	x	448	x	1,213	891
12	NH	704	468	402	x	x	x	448	x	x	x
13	BIO	704	468	402	439	x	x	448	x	x	x
14	BIO	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
15	BIO	704	468	402	439	x	x	448	x	x	x
16	HD	704	468	402	439	x	x	448	x	1,213	891
17	BIO	704	468	402	439	x	x	448	x	x	x
18	BIO	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
19	BIO	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x
20	BIO	704	468	402	x	478	646	448	455	x	x

21	HD	704	468	402	439	×	×	448	×	1,213	891
22	HD	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
23	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
24	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
25	WR	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
26	SNU	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
27	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
28	WR	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
29	SNU	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
30	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
31	SNU	704	468	402	439	×	×	448	×	1,213	891
32	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
33	SNU	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
34	HD	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
35	HD	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
36	BIO	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
37	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
38	HD	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
39	BIO	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
40	WR	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
41	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
42	NH	343	411	×	×	×	×	448	×	×	×
43	WR	704	468	402	439	×	×	448	×	1,213	891
44	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
45	BIO	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
46	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
47	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
48	SNU	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
49	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
50	BIO	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
51	WR	704	468	402	439	×	×	×	×	×	×
52	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
53	WR	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
54	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
55	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
56	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
57	SUN	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
58	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
59	BIO	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
60	BIO	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
61	WR	704	468	402	439	×	×	×	×	×	×
62	SNU	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×
63	BIO	704	468	402	439	×	×	448	×	×	×
64	HD	704	468	402	×	478	646	448	455	×	×

×: PCR산물 불검출.

(2) 배추 우량 CMS 계통 (BC₄F₁) 육성

SNU-3 CMS를 이용한 속노랑 배추계통 육성(BC₄F₁)을 위해 반복친 4계통(SN129, SN191, JA99, JB96)을 과종하여 4℃의 저온생육상에서 춘화처리하여 저온에 의한 황화현상이 급격한 계통을 제거하였고(4조합), 우량계통만을 선발하여 배추 우량 CMS 24조합(BC₄F₁) 육성하였다 (표 7, 그림 43).

표 7. 배추 우량 CMS(SNU3) 계통 (BC₄F₁) 육성용 조합

CMS	Combinations	
	Recurrent parent	
SNU-3 CMS (<i>Brassica rapa</i>)	SNU-3 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129	
	SNU-3/1201 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129	
	SNU-3/1213 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129	
	SNU-3/1217 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129	
	SNU-3/1251 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129 × SN129	
	SNU-3 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191	
	SNU-3/1213 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191	
	SNU-3/1217 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191	
	SNU-3/1251 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191	
	SNU-3/1255 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191 × SN191	
	SNU-3 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3/1201 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3/1213 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3/1215 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3/1217 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3/1251 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3/1255 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99 × JA99	
	SNU-3 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	
	SNU-3/1201 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	
	SNU-3/1213 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	
	SNU-3/1215 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	
	SNU-3/1217 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	
	SNU-3/1251 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	
	SNU-3/1255 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96 × JB96	

그림 43. SNU-3 CMS를 이용한 속노랑 배추계통 육성 (BC₄F₁)을 위해 반복친 4계통의 교배 조합



SNU-3×NH129(BC4)



SNU-3/1201×NH129(BC4)



SNU-3/1213×NH129(BC4)



SNU-3/1217×NH129(BC4)



SNU-3/1251×NH129(BC4)



SNU-3×NH191(BC4)



SNU-3/1213×NH191(BC4)



SNU-3/1217×NH191(BC4)



SNU-3/1251×NH191(BC4)



SNU-3/1255×NH191(BC4)



SNU-3×JA99(BC4)



SNU-3/1201×JA99(BC4)



SNU-3/1213×JA99(BC4)



SNU-3/1215×JA99(BC4)



SUN-3/1217×JA99(BC4)



SUN-3/1251×JA99(BC4)



SUN-3/1255×JA99(BC4)



SUN-3×JB96(BC4)



SUN-3/1201×JB96(BC4)



SUN-3/1215×JB96(BC4)



SUN-3/1217×JB96(BC4)



SUN-3/1255×JB96(BC4)

제3-4절 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성

본 과제는 배추에 이용될 수 있는 응성불임성의 집단을 양성하여 그 분자마커를 개발토록 지원하고 궁극적으로 중국에 수출할 수 있는 직원통형 배추의 1대잡종(F1) 품종을 육성하는 것이다.

일대잡종을 육성하기 위하여 우선 다양한 순계(Inbred line)가 있어야 함으로 지속적으로 순계육성을 실행하였다. 과거에 그리고 현재에도 많은 품종 육성자들이 이용하는 계통육종법은 순계육성에 오랜 시간이 걸리고 비용이 과다하게 지출되는 문제점이 있으므로 우리 연구실에서 개발하여 이용하는 소포자 배양에 의한 육성법을 선택하였다. 그 구체적인 방법은 이미 많은 학술지에 발표되어 있으므로 여기서는 생략코자 하며 다만 일부 개선이 필요하였던 부분은 소포자 배양 항에서 설명토록 하겠다.

최근 우리나라는 물론 중국에도 배추 재배에 크게 영향을 주는 병으로서 바이러스병과 뿌리혹병, 그리고 무름병이 있다. 이 병은 배추의 3대병으로서 그 피해가 엄청나며 한 예로서 중국의 고랭지배추 주산지인 곤명일대가 뿌리혹병으로 배추재배를 포기하는 농가가 늘어나고 따라서 배추 생산면적이 1/3 이상 줄었다고 한다('07 현지답사 때 청취). 따라서 본 과제에서는 바이러스병과 뿌리혹병에 내병성인 재료를 이용하여 순계를 육성하는 한편 육성된 순계의 바이러스병과 뿌리혹병에 대한 내병성을 검증하여 복합내병성 계통을 선발하고 이들을 이용한 F1 조합을 육성토록 하였다. 그런데 배추 바이러스병과 뿌리혹병의 내병성 계통을 인공접종으로 선발하는 것은 작업량이 많을 뿐 아니라 접종의 오류에 의한 부정확성이 문제될 수 있다. 따라서 이들의 분자마커를 개발하여 이용토록 계획하였다.

배추의 1대잡종은 지금까지 모두 자가불화합성을 이용하여 채종하였다. 그런데 우리나라는 채종비용이 높아 중국 등 비용이 낮은 나라에서 채종하는 것이 1990년대부터 일반화 되었다. 그런데 1대잡종을 채종하기 위하여 양친을 모두 채종업자에게 양도하게 되는데 그 채종업자가 양친의 일부를 이용하여 자기가 육성한 신품종으로 판매하는 현상(품종의 복사품)이 비밀비재하게 되었다. 이러한 품종의 복사를 예방하는 방법으로 세포질 응성불임성을 이용한 1대잡종 채종체계가 제안되었다. 1대잡종의 모계를 세포질 응성불임성 계통으로 하면 그 계통의 자체증식이 불가능한 것이다. 이 계통의 증식은 이 계통과 모든 특성이 동일하면서 응성가임인 유사 계통(Iso-genic line)과 교잡하여야만 가능한데 이 유사 계통을 육성자가 보존하고 남에게 주지 않으면 1대잡종의 모계를 복사할 수가 없는 것이다. 이러한 취지에서 본과제가 시작될 무렵 입수된 배추의 세포질 응성불임성 계통을 이용하여 1대잡종을 육성코자 하였다.

이상으로 육성된 순계, 복합내병성 순계, 세포질 응성불임성 계통 등을 이용하여 1대잡종을 육성하였다. 1대잡종은 처음에 가을재배용 품종에 국한토록 하였으나 재배지역이 광범위하고 아직 품종의 생태적 특성에 대한 개념이 정립되지 않은 중국 농민을 대상으로 하기 때문에 보급품종의 사고(claim 또는 argue)가 걱정된다는 것이다. 따라서 가을재배에서 선발된 조합을 봄재배 및 늦은 여름재배에 공시하여 특성을 검증하였다. 일종의 4계성(四季性) 품종 육성과 같은 방식이었다.

1. 소포자 배양에 의한 순계(복합내병성 순계 포함) 다량 육성

과제가 시작된 후 소포자 배양에 공시하고 획득된 배를 식물체로 분화시켜 궁극적 목표인 특성조사까지 진행된 내용을 요약하면 아래 별표와 같다.

별표. 5개년 간 배추 소포자 배양 결과 요약

연차	배양조합 (품종) 수	획득 계통 수	특성검정 계통 수	비고
1	7	456	377	
2	6	108	57	
3	9	63	47	
소계	22	627	481	
4	5	346	346	유식물의 VR 검정. 종자 조제 중
5	1	120(기내식물체)	-	
계	28	973	817	

전체 28점을 배양하여 973계통을 육성하였다. 그 중 3년차까지의 배양으로 유래된 481계통은 특성조사가 완료되어 선발된 계통이 F1품종 육성에 이용되고 있다. 연차별 구체적인 결과는 다음과 같다.

가. 1차년도 소포자 배양의 결과(1, 2, 3차년도까지)

과제가 시작되기 전 선행연구로서 **심부중, 측아 생장** 등 여러 가지 생리장해가 생기지 않고 **바이러스병, 뿌리혹병** 등 주요 병해에 복합적으로 내병성이며 속잎색이 황색인 **황심** 등 품질이 우수한 계통을 육성코자 여러 가지 형질이 서로 다른 계통(표 1) 간 7개의 F1 조합을 만들었다(표 2). 1대잡종 조합의 친으로 이용된 계통들의 특성을 보면 표 1과 같은데 모든 계통이 소포자 배양에서 유래된 순계(DH: Doubled haploid)이다. 1op-13M-1과 3M-291는 뿌리혹병과 바이러스병 및 노균병에 강한 복합내병성 계통이고 2M-21, 경1M-31, 추1M-5는 중국 직원통 품종 유래의 양질 계통이다. 그리고 불1M-68은 황심배추이다. 공시된 7개 조합 중 5조합은 뿌리혹병의 병원성이 강한 균주로 알려진 방림 균주에 내병성을 가진 한 계통, 1op-13M-1와 기타 조합능력이 우수하다고 판단된 5개 계통간의 F1이다. 방림 균주에 내병성을 보인 1op-13M-1 계통은 중록이 너무 좁고 잎이 긴 타원형으로서 아직 배추라고 하기에는 무리가 있는 순무 형이다. 따라서 직접 F1 품종을 만들기 위한 친으로는 이용할 수 없고 그가 가진 내병성 인자를 다양한 배추형의 계통에 도입코자 한 것이다. 그리고 기타 2개 조합은 바이러스 병에 내병성이면서 육종목표에 부합할 수 있는 계통을 육성코자 한 것이다.

표 1. 1차년도 소포자 배양에 공시한 F1조합(표 8)의 양친 특성

양친 계통명	내병성					주요 특성				비고
	CR (방랍)	CR (도암)	VR	SR	DM	속잎색	결구성	잎형	구형	
1op-13M-1	R	R	R	?	R	?	불결구	순무형	?	
3M-291	S	R	MR	?	R	3.5	중생	배추	난원형	
태2M-21	S	S	S	R	R	3.5	만생	배추(억세대)	장직원통	
경1M-31	S	S	R	?	MR	3.5	중생	배추	단직원통	
불1M-68	S	S	S	?	R	4.5	만생	배추	난원형	
추1M-5	S	S	S	?	R	3.5	중생	배추	단직원통	

M: 소포자 배양 유래. CR: 뿌리혹병. 방랍: 방랍균주. 도암: 도암 균주. VR: 바이러스병. SR: 무름병. DM: 노균병. R: 내병성. S: 이병성

이 7개 F1조합의 소포자 배양 결과 대부분의 조합에서 배가 발생하여 전체 6,437개의 배를 얻을 수 있었다(표 2).

표 2. 1차년도 소포자 유래 개체의 계통화 결과

F1조합	획득 배수	2차년도('08) 순화개체 수	3차년도('09) 채종 개체 수	특성 조사 계통 수('09)	비고 (계통검정번호)
1op-13M-1x3M-291	314	71	44	107	SuCR291
x13M-72	95	80	66	40	SuCR72
x태2M-21	1,844	74	44	28	SuCR태21
x경1M-31	1,102	162	106	67	SuCR경31
x불1M-68	509	230	92	55	SuCR불68
3M-291x추1M-5	268	101	57	44	291추1M
태2M-21x경1M-31	2,305	76	47	36	태경1M
계	6,437	794	456	377	

주: 3차년도의 연차실적보고서를 참조할 수 있도록 계통검정 번호를 비고란에 기재함.

그 중 배가 적은 것은 모두, 그리고 많이 출현 한 것은 계통 당 300개씩 식물체 분화배지 M2로 이식하였다. 그러나 정상식물체로의 분화율이 극히 낮아 MSK배지로 계대배양하고 여기서도 정상이 아닌 것은 다시 계대배양 하였다(소포자 배양 기술 개선 항 참조). 정상식물체는 2차년도의 여름동안에 저온냉장고에 보관하였다가 늦은 여름에 순화하였다. 최종적으로 가

에 순화되어 겨울동안에 온실에 정식한 개체가 794개체였는데 그 중 반수체로서 꽃가루가 없는 개체, 생육이 극도로 불량하여 채종이 어려운 개체를 제외한 456개체(57%)에서 후대를 채종할 수 있었다. 이렇게 겨울과 봄 동안에 채종된 계통 중 특성검정에 필요한 12립 이상의 종자가 생산된 개체는 이 중 83%인 377계통이었다. 이 계통의 내병성 및 특성 검정은 계통 검정 항에서 자세히 기술될 것이다(표 22, 24, 25, 참조).

나. 2차년도 소포자 배양(2, 3, 4년도까지)

1차년도에 이어 2차년도에도 표 3에서 보는 바와 같이 전체 8개 F1조합 또는 품종을 소포자 배양에 공시하였다. 우리 연구소가 개발하여 보유중인 SSR마커를 이용하여 바이러스병에 대한 내병성 유무를 확인하여 내병성으로 나타난 품종만을 공시하였다. 그 내용을 보면 자체적으로 작성한 F1조합 1개, 중국에서 도입된 품종 4개, 국내서 육성된 품종 1개, 그리고 기타 2품종을 합한 8개 품종이다(공시 품종명은 표 4 참조).

표 3. 2차년도 소포자 배양에 공시한 계통 내역

재료	재료 수		비고
	공시재료	배 발생	
중국배추(F1)	4	4	바이러스 내병성
국내품종	1	0	“
자체양성 F1	1	1	“
기타 분리 계통	2	1	-
계	8	6	

배양 결과 국내 유통품종과 분리계통 중 한 계통 등 2점에서 배가 출현하지 않았으며 그 외 6개 품종 또는 재료에서 배가 출현하였다(표 4). 배가 출현된 춘하녹소채 등 중국의 3 품종은 중국형 직원통의 바이러스병 내병성 계통을 육성코자 한 것이며 태원2청은 과거의 경험에서 소포자 유래 계통이 대체로 만추대성이며 잎에 나타나는 병에 강한 것으로 알려져 있다. 따라서 이 품종 유래의 많은 계통을 획득하여 그 중 우량 계통을 선발할 목적이었다. 또한 우수 복합내병성 계통으로 알려진 3M-291의 한 후대 계통에서 이형주가 발견되어 소포자 배양에 공시하였다. 그리고 이 3M-291과 새롭게 도입된 조생이면서 만추대성인 C218계통간의 F1조합을 소포자 배양에 공시하여 만추대, 조생, 복합내병성 계통을 육성코자 하였다. 그런데 춘하녹소채와 3M-291xC218 조합은 배가 적게 출현하였다.

출현된 배는 1차년도의 식물체 분화배지 개선시험에서 선발된 MS4N2 배지(표 8참조)로 이식하는 등 노력한 결과 전체 203개 식물체를 순화 상에 옮길 수 있었으며 정상적으로 순화된 개체가 그 중 약78%인 159개체였다. 이들을 개화시키고 채종한 결과 108개체에서 후대 종자가 생산되었고 그 중 59개체가 12립 이상의 종자를 생산하여 4차년도에 특성을 검정할 수 있었다(특성검정항 표 23 참조).

표 4. 2차년도 소포자 유래 개체의 계통화 결과

품종	순화 식물 수 (3차년도)	생존주수	채종 계통 수 (4차년도)	검정 계통 수 (4차년도)	비고
태원2청	47	41	25	12	직원통 형
춘하늬소채	8	6	2	2	TuMV 내병성
하감늬주60천소채	54	35	24	16	“
진육	38	23	15	7	“
3M-291(이형주)	46	44	30	14	?
3M-291xC218	10	10	12	8	“
계 6품종	203	159	108	59	

다. 3차년도 소포자 배양

3차년도에는 주로 배추뿌리혹병의 내병성 순계육성에 목표를 두고 수행하였다. 배추 뿌리혹병의 방림균주 및 방림균주보다 더 병원성이 강한 것으로 알려진 배방균주에 내병성인 순무계통을 원예연구소에서 도입하여 우량 뿌리혹병 내병계를 육성코자 하였다. 내병계 순무를 도입하여 소포자 배양으로 순계화한 한 계통(ECD13M-1)에 보존중인 한 복합내병성 순계(3M-291)를 교잡한 조합(09CR-1466), 2006년도에 도입하여 순계화한 한 계통(06-33-1-1M-4)에 북경신 3호를 소포자 배양하여 순계화하고 포장 검정에서 우수성을 보인 한 계통(경5M-71)을 교잡한 조합(10MC-81)을 공시하였다. 그리고 원예연구소에서 내병성 순무(IT033820)를 1회 자식하여 증식한 계통(10모-37, 도입번호=08-33-130)과 동일 계통을 다시 도입하여(도입번호=08-33-132) 보유하고 있는 순계와 교잡한 3개의 F1등 5개 방림균주 내병계 F1 조합을 공시하였다. 그리고 기타 우량 계통 육성을 위한 4개 조합 등 9개 재료를 공시하였다(표 5).

최소 2회에서 8회까지 많은 배양을 수행하였으나 5개 조합에서는 거의 배가 출현하지 않았다. 계통에 따라 소포자 배양이 잘 안 되는 것(genotype)이 있다는 사실은 과거에 많이 경험하였지만 이번의 경우처럼 많은 계통에서 배가 출현하지 않은 예는 없었던 것 같다. 지난 2, 3, 4월의 기온변동이 심했기 때문으로 이해된다. 그 중 배추 황심(속잎 색)의 QTL마커 탐색용 한 조합(09F1-697)에서는 많은 배가 출현하여 충분한 계통을 확보할 수 있을 것 같다. 그리고 3개의 방림균주 내병계 육성을 위한 배양에서도 비교적 많은 배가 출현하였으나 식물로 분화된율이 극히 저조하였고 분화된 식물에서 순화된 식물을 얻는데도 어려움이 많았다. 순무의 특성이 일반 배추와 다르기 때문으로 이해된다.

순화된 식물의 채종도 많은 개체에서 실패하여 전체 63계통밖에 확보되지 않았으며 특성조사가 가능한 계통은 47개에 지나지 않았다. 이 중 황심마커 개발용을 제외하면 15계통밖에 안 된다. 이 15계통은 이 과정이 종료된 후에도 배추 품종육성이 지속될 것이므로 그 때 검정하여 이용토록 할 것이다.

표 5. 3년차 소포자 배양 결과

모본번호	품종(계통 명)	배양 회수	발생 배수	순화 식물수	획득 식물수	채종개체 수		비고
						전체	다량	
10모-37	08-33-130 (IT033820)	4	30	6	4	0	-	방림내병 계통
10모-40	08-33-132x 불1M-68	5	0	-	-	-	-	“
10MC-39	08-33-132x C218-5M-13	2	0	-	-	-	-	“
10MC-42	GH21M-196x 3M-302	2	0	-	-	-	-	자색배추육성용
10MC-43	07-33-54	4	0	-	-	-	-	우수계통 육성용
10MC-44	07-33-62	3	1	-	-	-	-	“
10MC-81	06-33-1-1M-4x 경5M-71	8	110	26	10	2	2	방림내병 계통
09F1-697	3M불-1M-258x 3M불-1M-528	-	-	370	359	44	34	황심 마커 용
09CR-1466	ECD13M-1x 3M-291	8	61	30	25	17	13	방림내병 계통
계		-	-	432	398	63	47	

라. 4차년도 소포자 배양

4차년도에는 자체적으로 양성한 F1조합을 공시하였다. 1차년도 소포자 배양에서 유래된 계통(표 2 참조) 중 바이러스병과 뿌리혹병의 방림균주에 내병성이면서 외형이 배추에 가까운 계통(표 22, 24 참조) 4개를 선정하였다. 그리고 1, 2, 3차년도의 시험결과 우수 F1조합의 친으로 나타난 계통 5개를 선정하여 그들 각각간의 F1조합을 작성하였다(표 6). 복합내병성이면서 조합능력이 우수한 친 계통을 육성코자 한 것이다.

한 조합 CR그린 x SuCR291M-89(모본번호=11MC-84)를 제외한 4개 조합 모두 많은 양의 배가 출현하였다. 배가 적은 것은 모두, 그리고 많은 것은 500개까지 식물분화배지 MS4N2(1차년도 선발 배지, 표 22, 24 참조)에 옮겨고 여기서 분화된 정상식물을 순화 상으로 옮겨다. 배수가 적은 조합은 비정상식물을 MSK배지로 계대배양하여 정상식물로 유도하였다.

그 결과 순화된 식물체가 전체 436개체로 비교적 많았는데 후대 생산을 위한 교배에 어려움이 있을 것으로 예상되었다. 그리고 이번 소포자 배양은 목적이 복합내병성 계통 육성임으로 우선 꽃가루가 안 나오는 불임성 개체를 제외한 가임성 개체 중 마커를 이용하여 바이러스 내병성 개체만 선발한 후 후대를 생산코자 하였다. 다행히 불임개체는 57개체로 조사 개체의 16.5%정도에 지나지 않았다. 전체 가임개체는 289개체였는데 이병성 개체가 107개체이고 내병성을 나타낸 개체가 182개였다. 이들에 대하여 교배가 끝나고 현재(12년 7월) 종자 조제 중인데 과정이 끝난 2013년도 봄에 재배하여 추대성을 먼저 검정할 것이다.

표 6. 4년차 소포자 배양과 유래 식물의 바이러스병 내병성 검정 결과

모본번호	교배조합	출현 배수	순화 개체수	획득 식물수	바이러스 검정			불임 개체
					조사 개체수	가임개체수		
						내병	이병	
11MC-81	불1MxSuCR경M-90	459	111	80	70	33	25	12
82	추7M-6xSuCR291M-89	512	156	150	121	44	47	30
83	C218M-13x SuCR291M-96	387	86	66	49	16	31	2
84	CR그린xSuCR291M-89	70	15	10	9	5	4	0
85	관1M-3xSuCR291M-56	6538	150	130	97	84	0	13
계		7,966	518	436	346	182	107	57

마. 5차년도(2012년) 소포자 배양 결과

5차년도에는 중국의 직원통형 계통의 복합내병성 계통을 육성교자 하였다. 2차년도에 배양하여 육성된 계통 중 바이러스병에 내병성이며 특성이 우수한 것으로 나타난 '하감녹주60천' 품종 유래의 순계와 뿌리혹병의 방랍균주에 내병성인 IT033820-1에 우수 조합친 C218M-13이 교잡된 F1을 교잡한 F1을 공시하였다. 소포자 배양 결과 배 발생이 비교적 양호하여 266배를 획득하였으며 식물 분화배지에서 분화된 120개체를 확보하여 현재 냉장보존 중이다(표 7). 가을에 순화하여 후대를 생산할 계획이다.

표 7. 5차년도 소포자 배양 결과

계통 번호	조합 명	획득배수	보존 식물수	비고
11추-638	하감M-50xIT218C-2	266	120주	계대 배양 및 냉장 중

2. 소포자 유래 배의 식물분화배지 개선 연구

소포자 유래의 배를 관행적으로 배 생장, 즉 식물체 분화배지 MS2에 이식하였다. 그런데 이 배지에서는 고사하는 배가 많고(51%) 살아있는 것 중에도 지상부 잎과 뿌리가 정상으로 자라는 배는 불과 17%(전체 배의 약 9%)에 지나지 않는다. 그리고 약 83%(전체 배의 약 40%)가 기형으로 자란다(표 8). 이 기형 식물은 그 일부를 절취하여 MSK라는 배지에 계대배양 하여 정상식물로 유도하여야 하였다. 이러한 계대배양은 배양 과정에 오염에 의한 배양 실패의 원인이 될 수 있고 배양기간을 길게 할뿐 아니라 식물의 순화시기를 조절하는데 어려움을 준다. 따라서 배의 1차배양에서 정상식물을 다량으로 얻어 계대배양하지 않도록 할 필요가 있다. 그리하여 몇 가지 배지시험을 수행하였는데 MS4N2라는 배지가 배의 고사율도 낮고(14%) 약 28%의 배가 정상식물로 유도되어 가장 우수한 것으로 나타났다(표 8).

표 8. 배 생장배지에서의 식물체 분화율

배지	이식배수	순화가능 식물		죽은 배	
		수	비율(%)	수	비율(%)
MS2	147	13	9	75	51
MS4	387	64	16	85	22
MS4N2	347	96	28	49	14
B5M2-II	363	67	19	89	25

그러나 아직도 만족할만한 수준에는 이르지 못하였으며 배추의 품종에 따라 이 배지가 우수하지 못한 경우도 있는 것 같다. 즉 배추의 유전자형에 따라 알맞은 배지가 각기 다를 수 있다(표 9). 공시된 두 조합의 MS2 배지에서의 고사율이 크게 달라 07Tb-643은 51%이고 07MS-908은 11%로 아주 낮는데 MS4N2에서는 고사율이 14%와 15%로 아주 비슷하다. 정상식물로의 분화율은 07Tb-643이 28%인데 07MS-908은 13%에 지나지 않는다. 이렇게 1차 배 생장배지 MS4N2에서 기형으로 나타난 식물을 07Tb-643조합은 MS2와 HY2배지에 그리고 07MS-908은 HY2와 MSK배지에 계대배양하였다. 그 결과(표 10) 07Tb-643조합은 두 배지 모두에서 80% 이상의 정상식물이 분화되었다. 그러나 07MS-908은 07Tb-643조합이 83%의 정상식물 분화율을 나타낸 HY2배지에서 0%(226주 중 1주)의 정상식물 분화율을 나타내었다. 이 결과를 보면 2차 계대배양에서 정상식물로 잘 분화되는 조합(07Tb-643)이 있는데 이 경우는 두 번의 배양으로 정상식물을 얻을 수 있으므로 비교적 용이하게 후대 식물을 얻을 수 있는 이점이 있다. 그러나 두 번째의 배양에서도 대부분의 식물이 뿌리 없이 지상부만 정상으로 자라는 조합(07MS-908)이 있다. 이러한 식물은 다시 한 번 HY2 배지에 세 번째 계대배양하여 정상식물로 유도할 수 있었다. 그러나 첫 번째 배를 옮긴 후 약 100-120일 정도 지나야 비로소 순화에 옮길 수 있는, 즉 장기간의 계대배양이 필요한 문제점을 안고 있는 것이다.

지금 우리 연구실에서는 배추의 소포자 유래 배를 모두 1차로 MS4N2배지로 옮겨 식물체를 유도하고 여기서 기형으로 자라는 개체는 MSK 재배로 계대배양 한다. 그러나 MSK 배지에서는 대부분 지상부만 정상으로 분화되고 뿌리는 잘 발달하지 않는 것으로 나타났다. 따라서 지상부가 정상인 개체는 HY2라는 하이포넥스 배지에 옮겨 뿌리를 유도하고 있다.

표 9. 배 생장배지별 식물체 분화율의 조합 간 차이

소포자 배양F1 조합	배지	이식배수	순화가능 식물		죽은 배		비고
			수	비율(%)	수	비율(%)	
07Tb-643	MS2	147	13	9	75	51	
	MS4N2	348	96	28	49	14	
07MS-908	MS2	210	3	1	22	11	
	MS4N2	224	29	13	33	15	

표 10. 품종 간 2차 계대배양의 알맞은 배지

F1 조합	배지	배양 식물수	고사 주	무근 주	전체 기형주	정상식물		비고
						수	율(%)	
07Tb-643	MS2	83	0	15	3	66	80	-
	HY2	98	6	9	1	80	83	-
07MS-908	HY2	226	23(10%)	166(73%)	36(16%)	1	-	2차 계대배양
	MSK	815	146(18%)	377(46%)	291(36%)	1	-	"

3. 계통 및 주요 재료의 내병성 등 특성 검정

과제의 수행 기간 중에 내병성과 기타 원예적 형질의 특성조사는 전체 2,958점이었다. 그 중 유전자식 구명용 중 선발의 필요가 없는 계통 112점을 제외한 2,846점을 대상으로 선발 조사를 하였다. 그 결과 1차적으로 989 계통이 선발되었는데 이들은 바이러스 병 또는 바이러스 병과 뿌리혹 병에 복합내병성을 가지는 유용한 재료이다. 그리고 그 중 만추대성 검정으로 선발된 것이 21 계통이었다. 이들은 4계성 품종 육성의 재료로 이용될 것이다.

별표 2. 계통 및 주요 재료의 특성 검정 결과 요약

검정 점수	1차선발 계통 수	2차 만추대성 계통 수	비고
2958	989	21	7점: 소포자 배양에 이용

선발시험의 주요 결과는 시험년차별로 기술하였다.

가. 1차년도 검정

(1) 바이러스병 내병성 검정

우량 1대잡종 육성에 이용될 내병성 계통을 찾는 한편 1대잡종의 소포자 배양으로 새로운 계통을 분리 육성하고자 보유 계통 및 품종 83에 대하여 바이러스(TuMV-C4)병 검정을 우선 실시하였다. 우리 연구소가 개발한 공우성의 SSR marker를 이용하여 검정하였다(표 11).

주요 계통 31점 중 아직도 바이러스병 내병성 유전자가 고정되지 않고 헤테로 상태인 것이 4계통 있었다. 국내 육성의 27품종은 대부분 바이러스병에 약한 것으로 나타났으며 3품종만이 한 쪽 친을 내병성 계통으로 이용하고 있는 것 같다. 중국에서 수집된 25품종 중에는 양친을 모두 내병성 친으로 이용한 것이 2품종 있었으며 한 쪽 친을 내병성 계통으로 이용한 것도 5 품종이었다. 즉 우리나라보다 바이러스병 내병성 품종 비율이 다소 높은 것으로 이해된다. 이들 내병성 유전자를 가진 품종은 소포자 배양에 공시하여 바이러스병 내병성 순계육성에 이용하였다(표 3 참조).

(2) 뿌리혹병 내병성 검정

우리나라에서 배추 뿌리혹병 내병성 계통을 과거에 다수 육성한 바 있다. 그러나 그 내병성의 근원이 일본 품종 CR신끼(新蕪)에서 유래된 것으로서 우리나라 일부 지역에서는 내병성을 보이지만 그 외 다른 지역에서는 이병성으로 나타나 내병성 품종이라고 할 수 없다는 것이다. 그런데 농촌진흥청 유전자원과가 보존하고 있는 유전자원을 원예연구소가 검정하여 모든 균주에 내병성을 나타내는 한 순무(*Brassica rapa* ssp. *rapifera*) 계통(IT033820)을 발견하였다. 이 식물과 배추를 교잡한 후 한 세대가 더 진행된 F2 식물을 분양받은 바 있다. 이를 소포자 배양

하여 내병성 인자가 고정된 순계를 먼저 알고자하였다. 그 결과 2계통을 확보할 수 있었는데 이들을 병원성이 가장 강한 것으로 알려진 방림(강원도 평창군)균주에 내병성인지를 검정하였다. 다행히 두 계통 모두 방림균주에 내병성을 보였다(표 12).

표 11. SSR marker를 이용한 배추 주요 재료의 TuMV-C4의 내병성 검정 결과

구분	검정계통 수	마커 밴드 별 계통 수			비고
		RR	RS	SS	
주요 계통	31	13	4	14	
국내 품종	27	0	3	24	
중국 품종	25	2	5	18	
계	83	15	12	56	

표 12. 뿌리혹병 내병성 순무 x 배추의 F2 개체 소포자 배양 유래 순계 검정 결과

계통 (과종번호)	방림균 주반응	보고된 마커별 ^Z 반응					
		BRMS088 Crr1	BRMS096 Crr2	BrSTS54 Crr3	OPC11-2S Crr3	TCR01 CRb	TCR05 CRb
07SuCR -471	R	-	-	-	-	-	-
-478	R	-	-	-	-	-	-

Z : Crr1, Crr2, Crr3 : 일본에서 개발된 마커. CRb : 충남대에서 개발된 마커
검정법 : 유묘기 토양 관주 접종법 및 보고된 분자마커 이용

한편 일본과 우리나라 충남대학에서 배추 뿌리혹병에 대한 분자 표지인자를 개발하여 발표한바 있다. 이들을 이 두 계통에 적용하여 보았다. 그런데 어느 표지인자도 이 두 계통에서 반응을 나타내지 않았다. 즉 이 두 계통이 가진 내병성의 검정에는 이들 표지인자가 이용될 수 없음을 시사한 것이다.

그런데 이 두 계통은 아직도 순무를 많이 닳아서 직접 배추의 1대잡종 육성에는 이용할 수가 없었다. 따라서 바이러스병 등 다른 병에 내병성이거나 속잎색이 황색인 황심 계통 등의 기존 우량 배추 계통들과 교잡한 후 소포자를 배양함으로써 1대잡종 육성에 이용 가능한 순계를 조기에 알고자 하였다. 그 목적으로 우선 우량 계통 6계통의 도암균주에 대한 내병성을 검정하는 한편 위와 같이 이미 알려진 분자표지인자를 검정하였다(표 13).

그 결과 과거의 성적과 동일하게 3M-291, 13M-33, 13M-72번 계통은 내병성을 나타내는 반면 새롭게 중국계 배추에서 육성된 2개의 순계(태2M-21, 경1M-31)와 국내의 이병성 품종에서 유래된 한 계통(불1M-68)은 예상한 바와 같이 이병성으로 나타났다.

표 13. 기 보존 및 중국배추 소포자 유래 순계의 도암 균주 및 발표된 마커의 반응

계통	평창균 주반응	보고된 마커별 반응 ^Y					
		BRMS088 Crr1	BRMS096 Crr2	BrSTS54 Crr3	OPC11-2S Crr3	TCR01 CRb	TCR05 CRb
3M-291	R				0	1(내병)	0
13M-33	R	0	0		0	1	0
13M-72	R	0	0		0	1	0
태2M-21 ^Z	S	0		0	0	2(이병)	
경1M-31 ^Z	S			0	0	2	
불1M-68	S	0	0		0?	2	

Z : 중국배추 유래 계통

Y : Crr1, Crr2, Crr3 : 일본에서 개발된 마커
CRb : 충남대에서 개발된 마커

그런데 발표된 분자표지인자를 검정한 결과 일본에서 보고된 Crr1, Crr2, Crr3 등은 어느 것이나 접종결과와 일치하지 않았다. 즉 이들 표지인자는 표 12에서 이미 예상할 수 있었던 것과 같이 이용할 수 없는 것으로 판명된 것이다. 반면에 충남대학에서 개발한 CRb의 TCR01과 TCR05는 도암균주에 대하여 내병성을 가려낼 수 있을 것으로 생각되었다. 즉 방림균주에 대한 내병성은 가려낼 수 없지만 도암균주에 대한 내병성은 가려낼 수 있을 것 같다.

뿌리혹병의 방림균주에 내병성인 2 계통(표 12)과 도암균주의 접종시험에 공시된 6계통(표 13)개간의 F1조합을 양성하였다. 그리고 그들에 대하여 우리나라 주요 뿌리혹병 발생지의 균주로 내병성을 검정하는 한편 이미 보고된 분자표지인자들의 반응을 조사하였다. 그 결과 믿을 수 있는 성적이 얻어지지 않았다. 가을에 병균을 접종하고 늦은 가을에 접종 후 35일 정도가 경과된 때에 1차로 조사하였는데 아직 발병이 덜된 조합이 있는 듯하였다. 그 후 계속 재배관리하여 접종 후 60여일이 경과될 때 2차 조사를 하고자 하였다. 그러나 불행히 대부분의 배추 뿌리가 썩으면서 죽고 있었으며 따라서 생장한 뿌리혹을 볼 수가 없었다. 부득이 '08년 봄에 재시험을 실시하였다.

이때는 본 과제에 참여하고 있거나 참여하지 않아도 배추의 뿌리혹병에 대하여 많이 연구하고 있는 종자회사들이 병원성이 강하다고 경험한 균주를 분양받아 전체 5개 균주를 접종하였다. 접종 후 35일 경에 1차 조사를 하였으나 역시 이병여부를 판단하기 어려운 경우가 있었다. 따라서 65일 쯤에 2차로 조사하였다. 그 결과(표 14) 내병성 친과 F1조합 모두 지금까지 병원성이 가장 강하다고 알고 있었던 방림균주 및 병원성이 약한 것으로 알려진 평창균주에 대하여는 모두 저항성을 나타내었다. 뿐만 아니라 역시 병원성이 강하다고 알려진 race-4의 단포자 유래 균에 대하여도 내병성을 나타내었다. 따라서 순무 유래 계통의 내병성이 우성으로 작용하고 있음을 알 수 있다. 그런데 중국배추 북경신3호의 소포자유래 계통, 경1M-31번 계통과의 F1조합은 방림균주에 대하여 이병성을 나타내었으며 R-4 균주에 대하여는 전체 9주중 이병주 2주가 발견되었다. 이 경1M-31번 계통에 대한 순무유래 계통의 방림균주에 대한 내병성이 열

성이라고 현재로서는 이해할 수밖에 없을 것 같다. 그리고 R-4에 대한 결과는 집중 잘못에 기인한 것으로 생각할 수밖에 없을 것 같다.

그런데 모든 공시재료가 배방균주에는 상당히 심한 이병성으로 나타났다. 그리고 배추 생장에 지장을 줄 정도는 아니라고 생각되었지만 연천균주에서도 아주 작은 뿌리혹이 과중 65일째에 생기고 있었다. 이러한 결과는 지금까지 방림균주가 가장 강한 병원성을 가진 것으로 알고 있었는데 이보다 더 병원성이 강한 균주가 있음을 나타낸 것이다. 그리고 방림균주와 평창균주에 공동으로 내병성인 계통에 다시 평창균주에 내병성인 계통을 교잡한 F1조합마저 이 배방과 연천균주에 감염된다는 것이다. 여기서 무엇보다 심각한 것은 이 배방과 연천균주에 내병성인 재료가 현재로서는 없는 것 같다는 것이다. 과연 우리나라 전역에 개발할 수 있는 뿌리혹병 저항성 품종이 만들어질 수 있을지, 그리고 그 표지인자를 개발할 수 있을지 걱정이 아닐 수 없다.

표 14. 배추 주요 F1조합의 뿌리혹병 균주별 및 분자마커 별 내병성 반응

조합	균주별 반응					분자마커별 반응			
	방림	평창	R-4	배방	연천	Crr1	Crr2	Crr3	CRb
ECD4-13M-7 [Ⓢ]	R	R	R	S	S				
x3M-291	R	R	R	S	S	0	0	0	0
x13M-33	R	R	R	S	S	0	0	0	0
x13M-72	R	R	R	S	S	0	0	0	0
x태2M-21	R	R	R	S	R5:S5	0	0	0	0
x경1M-31	S	R	R7:S2	S	S	0			
x불1M-68	R	R	R	S	S	0	0		

나. 2차년도 검정

(1) 주요 재료의 SSR 마커이용 바이러스병(TuMV-C4) 내병성 검정

1차년도에 국내 및 중국 유통 품종(F1)52 품종과 기 보유 31 계통을 SSR마커로 검정한 바 있다(표 11). 2차년도에는 1차년도에 증식된 소포자 배양 유래의 순계 267계통을 검정하였다(표 15). 그 중 약 64%인 172 계통이 이병성을 나타내었고 약 29%인 77계통이 내병성을 나타내었다. 이렇게 내병성 계통이 적은 것은 소포자 배양에 공시된 F1조합 또는 품종 중에 이병성 품종이 많았기 때문으로 이해된다.

여기서 공시된 모든 계통이 소포자 유래의 순계(doubled haploid)임으로 마커는 내병성과 이병성의 두 가지로만 분리하여야 한다. 그런데 내병성과 이병성 마커가 같이 나타나는 계통이 전체 15개로서 약 5.7% 였다. 그리고 F1품종이 이병성이었으므로 이병성만 나타나야할 집단에서 내병성으로 나타나는 계통이 3개 있었으며 F1 품종이 내병성 인자의 호모였기 때문에 내병

성만 나타나야할 집단에서 이병성 계통이 나타나는 경우도 있었다. 검정이 안 된 3계통을 제외한 264 계통의 검정결과 위와 같이 잘못 나타난 것이 전체 19계통인데 이는 약 7.2%에 해당한다. 만일 이것이 마커의 정확도가 낮아서 나타나는 것이라면 이용 상 다소 문제가 있을 수 있다. 즉 마커와 내병성 유전자와의 거리가 7.2cM이라면 잘못 판단되는 계통의 수가 너무 많은 문제점이 생기는 것이다. 마커가 개발 될 때는 BCPS 집단 180여 개체의 점종결과와 마커와의 일치성을 계산하여 불일치되는 개체 수로서 계산하였는데 그 결과가 3.3cM이었다. 그런데 DH 계통으로 계산하였을 경우 이보다 2배 이상이나 불일치 계통이 많은 것처럼 나타났다. 왜 이런 두 재료 간에 이렇게 큰 차이가 생기는 것인지 현재로서는 이해가 잘 안 된다. 좀 더 시험 연구가 필요할 것 같다.

표 15. 주요 계통의 바이러스병(TuMV-C4)에 대한 SSR-3마커 검정 결과

계통 명	검정 및 마커별 계통 수					비고
	검정	이병성(S)	내병성(R)	헤테로(RS)	비 증폭	
SR-6X불1M-68	22	21	1	-	-	
1op-6X3M-291	24	1	21	1	1	
SR-6X3M302	10	1	7	1	1	
추록55호(중국배추)	49	46	-	3	-	
VCS-3M	113	66	42	5	-	
3M-12X불1M-68	16	10	4	2	-	
C218	15	12	-	3	-	
관모채(중국배추)	9	8	1	-	-	
금도5호(중국배추)	9	7	1	-	1	
계	267	172	77	15	3	

(2) 주요 계통 검정

소포자배양으로 육성하여 보존하고 있던 기존의 보유 계통(08Ma: SR-5xVC-1 유래)과 본 과제가 시작되는 전년도에 소포자 배양으로 얻은 한 계통(08특: 1op-6x3M-291 유래)을 합하여 전체 8개 F1조합(품종) 유래의 563계통을 가을의 배추 재배 적기에 포장에 재배하였다. 이들 중 1대잡종 친으로 유망시 되는 계통을 선발하기 위한 것이었다. 모두가 소포자 유래의 순계임으로 계통당 8주씩을 단구체로 재배하였으며 수확기에 측아가 성장하지 않고 석회결핍증상이 없으며 외견상으로 병에 강하면서 결구된 속잎이 황심으로 노란색을 띄며, 기타 core의 모양, 내부 추대정도, 결주율 등등을 1차의 선발 기준으로 하였다. 여기서 선발된 계통에 한하여 2차적으로 바이러스병에 대한 내병성을 검정하였다. 우리 (주)BBI가 개발하여 특허가 출원 중인 SSR-3 마커를 이용하여 TuMV-C4에 대한 내병성 유무를 조사한 것이다. 그리고 계통에 따라 병원성이 상당히 강한 것으로 알려진 강원도 평창군의 방림지역에서 수집된 소위 방림균주로 뿌리혹병의 내병성도 인공검정으로 조사하였다.

그 결과 표 16과 같이 1차에서 563계통 중 82계통이 선발되었는데 그들 중에는 바이러스병과 뿌리혹병에 이병성을 나타내어 2차로 도태된 것이 55계통이었고 최종적으로 선발 된 것은 27계통이었다. 이들은 모두 바이러스 병에 내병성이다.

표 16. 소포자 유래 계통의 포장 특성검정 및 선발 내역

'08검정 번호	계통명	계통수			비고 (선발계통의 특징)
		검정	1차선발	2차선발	
08Tb	3M-12x불1M-68	166	38	8	평창균주CR
08특	SR6x불1M-68	47	10	5	평창균주CR
08특	Su1op-6x3M-291	20	2	2	방림균주CR
08특	북경신3호(중국F1)	42	12	4	
08특	SR6x3M-302	24	1	1	평창균주CR
08특	추록55호(중국 F1)	51	6	2	
08증	SR5xVC40	97	7	3	평창균주CR
08Ma	SR5xVC1	116	6	2	평창균주CR
계	8조합	563	82	27	

* VR : 바이러스 내병성. SR : 무름병 내병성. CR : 뿌리혹병 내병성
1차선발 기준: 무측지, 무석회결핍증, 외견상 무병, 속일황색, core 모양, 내부 추대정도, 결주율 등
2차선발 기준: TuMV 마커 SSR-3이용 내병성, 방림균주 접종 (Su1op-6x3M-291)

(3) VCS-13(F1)의 소포자 유래 계통 재검

배추 무름병내병성 계통 SR5(SR)와 바이러스병과 뿌리혹병의 도암균주에 복합내병성인 VC-1(VR, CR) 간의 F1 VCS-13을 소포자 배양하여 얻은 70계통이 있는데 이들의 내병성을 과거에 인공접종으로 검정하였었다. 그 결과와 그 후에 개발된 분자마커에 의한 선발 결과가 일치하는지를 알고자 하였다. 우리 회사가 보유하고 있는 SSR-3 마커로 바이러스병을 검정하고 충남대학교의 임용표 교수가 개발한 CR신끼 유래 뿌리혹병 내병성 연관 SCAR마커(CRb)로 뿌리혹병 내병성을 검정하였다. 그 결과(표 17) 복합내병성 계통이 21개, 바이러스병에는 내병성지만 뿌리혹병에는 이병성인 계통이 12개, 반대로 바이러스 병에는 이병성지만 뿌리혹병에는 내병성인 계통이 24개, 그리고 두 병에 모두 이병성인 계통이 13개로 구분되었다. 이 결과는 극히 일부를 제외한 대부분의 계통에서 인공접종 결과와 잘 일치하는 것으로 나타났다. 이 두 가지 마커는 품종 육성에 이용할 수 있을 것으로 판단되었다.

표 17. VCS-13(F1)의 소포자 유래 계통에 대한 TuMV-C4 의 SSR-3마커와 뿌리혹병 CRb마커(CR신끼 유래)의 검정

구분	SSR-3(R)	SSR-3(S)	계
CRb(R)	21	24	45
CRb(S)	12	13	25
계	33	37	70

(4) 뿌리혹병 방림균주에 대한 내병성 검정

최근에 중국에도 지역에 따라 뿌리혹병이 크게 만연하고 있는 것 같다. 예를 들어 운남성의 고랭지 배추 재배지대가 뿌리혹병 때문에 더 이상 배추를 재배하지 못하고 감자 또는 옥수수 등으로 대체되어가고 있다(2008년도 현지 답사). 그런데 우리나라에서 1990년대에 일본의 “CR신끼”라는 뿌리혹병 내병성 품종을 도입하여 육성한 내병성 품종이 몇몇 종자회사에서 보급하고 있는데 이들 대부분이 운남성에서는 이병성으로 나타난다는 것이다. 우리나라에서도 이들 품종이 강원도 평창군의 도암면 지역에서는 내병성이지만 방림지역이나 충청남도 온양 근처의 배방지역에서는 전혀 내병성이 없는 것으로 알려져 있다. 그런데 공식적인 시험 결과는 아니지만 방림균주에 내병성을 나타내는 계통을 운남성의 고랭지에 재배해 본 결과 내병성을 나타내었다는 것이다. 따라서 우리 (주)BBI 에서는 우선 방림균주에 내병성인 품종육성을 목표로 하여 시험을 진행 중이다. 방림균주에 내병성인 계통이나 품종은 “CR신끼” 유래의 내병성 품종이 나타내는 균주(강원도 평창군의 도암면 고랭지대)에 모두 내병성을 보였으므로 방림균주에의 내병성 품종은 그 적응범위가 넓을 것으로 생각할 수 있기 때문이다.

(가) 배추 뿌리혹병의 방림균주에 대한 내병성의 유전연구

방림균주에 내병성을 나타낸 DH계통(순계)과 도암균주에 내병성을 나타낸 기준 DH계통 간의 F1조합을 작성하고 그들에 대하여 1차년도(2007년 8-12월)와 후반기(2008년 1-7월, 표 14)에 각각 방림균주를 접종하였다. 그리고 그 결과를 보고하였는데 전반기의 결과가 접종 후 35일째에 한번 조사한 것으로서 완전히 신임하기에는 무리라고 생각되어 2차로 후반기에 재시험을 하였다. 그런데 두 시험의 결과가 서로 다르게 나타났음에도(핵심을 표 18에 나타냄) 그 점을 강조해서 논의하지 못하였었다. 즉 전반기의 여름에 접종하였을 때는 내병성이 열성인 것처럼 나타났었으며 겨울에 온실에서 접종하였을 때는 내병성이 우성인 것처럼 나타났었는데 이러한 현상을 강조하여 설명하지 못하였던 것이다.

그런데 그 중 한 조합(상반조합), 불1M-68 X 1op-13M-1의 양친, F1, F2, 그리고 BCPS 집단을 2008년 9월 1일에 과종하고 9월 12일에 방림균주를 접종하여 접종 후 40일째인 10월 22일에 조사하였다. 그 결과가 표 19이다. 양친은 내병성과 이병성이 분명하게 구분되었으며 F1은 전년도의 전반기 결과와 마찬가지로 이병성으로 나타나 내병성이 열성인 것처럼 나타났다. 그리고 F2는 97개체 중 내병성 개체가 14개체뿐이고 83개체가 이병성을 나타내어 내병성이 확실하게 열성인 것으로 나타났다. BCPS 집단은 105개체 중 내병성 개체가 4개이고 이병성 개체가 101주로 나타나 다소 이상 분리를 하고 있지만 내병성이 역시 열성인 것만은 확실한 것 같다.

표 18. 뿌리혹병 방립균주 내병성 계통과의 F1 조합에 대한 집중시기별 반응 차이

과종번호	F1조합	과종기별 방립균주에 대한 반응		
		07. 8. 16과종 9. 7집종	08. 1. 4과종 1. 19집종	비고
07SuCR-471	1op-13M-1 [⊗]	R	R	-
472	1op-13M-1x 3M-291	S	R	VR. 소포자 배양
473	x13M-33	S	-	-
474	x13M-72	S	R	VR. 소포자 배양
475	x태2M-21	S	R	소포자 배양
476	x경1M-31	S	S	소포자 배양
477	x불1M-68	S	R	유전연구 용

이상의 3회에 걸친 시험 결과를 종합하여 보면 첫째 방립균주에 대한 내병성이 집중하는 시기에 따라, 즉 기온이 높은 여름이나 늦여름에 집중하면 내병성이 열성으로 나타나고 온도가 낮은 겨울에 집중하면 우성으로 나타날 수 있다는 것이다. 그런데 배추의 재배작형을 보면 온도가 낮은 겨울재배일지라도 사실은 늦여름에 과종하여 월동하는 것이고 겨울에 수행한 시험과 같은 재배는 남부지방의 비닐하우스를 이용한 초봄재배(1월-4월)뿐이다. 이 초봄재배는 최근에 남부해안지방의 월동재배로 대체되어 지금은 거의 사라진 작형이다. 따라서 배추 뿌리혹병의 방립균주에 대한 내병성품종 육성은 내병성이 열성이라는 전제로 양친 계통이 모두 내병성인 계통을 이용하여야 할 것으로 판단된다.

둘째는 내병성이 열성인 것은 확실하지만 관여하는 유전자 수가 몇 개인지는 아직 불확실하다는 것이다. 만일 단인자라면 내병성과 이병성 개체가 1:3으로 분리하여야 하는데 1:6에 가깝게 분리하였으며 분석결과 $X^2=49.08$ 로서 도저히 1:3이라고는 할 수 없는 상태이다. 만일 유전자가 2개라면 그들 간의 상호작용에 따라 분리가 두 가지로 나타날 수 있는 경우가 7:9, 1:15, 3:13 중의 한 가지여야 하는데 7:9과 1:15의 분리는 전혀 아님을 알 수 있다. 즉 가장 가까운 것이 3:13의 분리비인데 이 경우는 $X^2=1.19(P=0.2-0.5)$ 로서 이론치에 잘 부합한다. 그리고 BCPs집단이 비록 내병성 개체가 105 개체 중 4개체가 있었지만 이것을 실험상의 착오로 인정하여 0:1이라고 할 수 있을지도 모른다. 즉 내병성이 열성이 아니고 우성인데 이 우성인자를 억제하는 어떤 인자가 있는 것처럼 해석될 수 있다. 그러나 F2 집단의 개체수가 100개 미만으로 비교적 적고 이 경우 검정교배라고 할 수 있는, 즉 1:1로 분리할 BCPR 집단이 검정되지 않았으므로 현재로서는 우성억제인자가 작용하는 유전현상이라고 단정하기가 어려울 것 같다. 앞으로 F1을 소포자 배양한 순계 집단과 BCPR 집단의 분리비 검정을 보완하여 결론을 내려야 할 것으로 생각된다.

표 19. 배추 뿌리혹병의 방립균주에 대한 내병성의 유전현상

세대	계통명	개체 수			비고
		공시	내병성	이병성	
P _R	1op-13M-1	14	14	0	
P _S	불1M-68	19	0	19	
F ₁	불1M-68 X 1op-13M-1	28	0	28	겨울검정에서는 우성
F ₂	(불1M-68 X 1op-13M-1)-1 [⊗]	97	14	83	내병성1 : 이병성6
BCPs	불1M-68 x (1op-13M-1 x 불1M-68)-1	105	4	101	

(나) 신 재료에 대한 내병성 검정

본 과제가 시작되기 전에 방립균주에 저항성을 보인 도입 순무유래의 한 계통(1op-6)과 우리 연구소가 보존하고 있던 도입균주 내병성의 한 DH계통(3M-291)간 F1을 작성하였다. 이 조합을 한 세대 자식한 후대가 있어서 그 중 2개체를 1차년도에 소포자 배양에 공시하고 각각 7개체와 13 개체를 얻었다. 그리고 동시에 원예연구소에서 분양받은 순무형의 내병성 개체를 역시 소포자 배양에 공시하여 한 계통을 얻었다. 이들에 대하여 방립균주에 대한 내병성을 검정하여 내병성이면서 배추형인 계통을 찾고자 하였다. 그 결과(표 20) 원예연구소에서 도입된 재료의 소포자 유래 한 계통과 우리 연구소 보존 조합의 소포자 유래 2 계통이 내병성을 나타내어 방립균주에 대한 내병성 순계 3계통을 최초로 육성하게 되었다.

표 20. 신 소포자 유래 계통의 방립균주 내병성 검정 결과

과종번호	계통번호	계통 수			
		공시	내병성	이병성	의심
08CR-844	05CS-25-R5-3M(신 재료)	1	1	0	0
845~851	(1op-6x3M-291)-2-1M	7	0	6	1
852~864	(1op-6x3M-291)-2-3M	13	2	7	4
계		21	3	13	5

(다) 신 도입재료의 방립 및 배방 균주에 대한 내병성 검정

1차년도까지의 검정에서 병원성이 강한 것으로 알려진 방립 균주에 대하여는 내병성 계통이 있었지만 새롭게 방립균주보다 병원성이 더 강한 배방과 연천 균주에 대하여는 내병성 계통을 찾을 수가 없었다. 따라서 방립균주에 대한 내병성 순계를 육성하는 한편 배방균주에 대한 내병성 재료를 찾고자 하였다.

원예연구소가 농촌진흥청 유전자원과가 보존하고 있는 유전자원을 분양받아 검정한 결과 **IT033820**이라는 배추종의 순무가 배추의 모든 뿌리혹병 균주에 대하여 내병성을 보였었다. 따라서 이 수집종과 배추 계통 중 바이러스병에 강한 BP079라는 계통을 교잡하고 이 F1을 순계 분리법으로 뿌리혹병과 바이러스병에 복합 내병성인 배추 계통을 육성코자 하고 있었다. 이들 재료, 즉 BP079, IT033820, 그리고 이 두 계통간의 F1조합을 분양받도록 요청하였다. 그런데 마침 IT033820은 두 계통을 보유하고 있는데 하나는 1-2세대가 원예연구소에서 자가수정된 것이고 다른 한 계통은 유전자원과에서 분양받은 그 계통, 즉 한 번도 자가수정되지 않은 것이었다. 이들을 모두 식물체로 1-2주씩 분양받았다. 그리고 우리 연구소에서 자가수정으로 증식하고 그 후대를 이용하여 방림과 배방 균주에 대한 내병성을 위 표 20의 실험과 같이 검정하였다. 그 결과가 표 21이다.

먼저 바이러스병에 내병성인 BP079-1과 뿌리혹병에 내병성인 IT033820-1-1-1을 우리연구소에서 교잡한 F1은 방림균주에 대하여 내병성이었지만 배방균주에는 이병성을 나타내었다. 다음 원예연구소가 이들 두 계통간에 작성한 F1 조합을 도입하여 자가수분(BP079xIT033820)-2(⊗)한 후대는 두 균주 모두 내병성과 이병성 개체가 분리하여 나타났다. 방림균주에 대한 내병성과 이병성은 1:1로 분리하고 배방균주에 대한 분리비는 1:2로 나타나서 각 균주별 유전양식이 다를 수 있음을 시사하고 있다. 그러나 두 집단 모두 개체수가 적고 F2세대뿐이므로 정확하게 유전자 몇 개가 관여하며 어떤 유전양식을 가지는지를 현재로서는 알 수가 없다. 다행히 배방균주에 대하여 내병성인 개체를 찾을 수 있었다는 것이 큰 수확이다. 그리고 전혀 자식 세대를 거치지 않은 도입종 **IT033820**의 자식 후대는 모두 방림과 배방균주에 대하여 내병성을 나타내었다. 이로써 병원성이 가장 강한 배방균주의 내병성 재료가 확실하게 확보된 것으로 판단된다.

표 21. **IT033820** 계통의 배추 뿌리혹병 방림 및 배방 균주에 대한 내병성 검정 결과

파종번호	계통번호	방림 균주			배방 균주		
		접종 주 수	내병성 주 수	이병성 주 수	접종 주 수	내병성 주 수	이병성 주 수
08CR-841	BP079-1x IT033820-1-1-1	16	16	0	10	0	10
842	(BP079xIT033820)-2(⊗)	25	13	12	44	15	29
843	IT033820-1(⊗)	9	9	0	9	9	0

다. 3차년도 검정

(1) 소포자 배양으로 육성된 DH 계통의 TuMV-C4 및 CR 내병성 검정

1차년도에 소포자 배양한 7개 조합과 이전에 소포자 배양으로 양성된 5개조합의 순계를 검정하였다. 신규로 기재된 '경추1호'는 중국에서 도입된 F1품종으로 바이러스병에 내병성 인자를 가진 것이며 '새로나'는 한국 품종인데 중국에서 뿌리혹병에 내병성인 것으로 알려진 것이었다. 그 외 3개의 자체적으로 작성한 F1조합은 바이러스병에 내병성인 DH계통과 양질의 DH

계통 간, 또는 뿌리혹병 방림균주에 내병성인 DH 계통과 바이러스병에 내병성인 DH계통 또는 양질의 DH계통 간 F1이었다.

전체 12조합에서 양성된 502 계통을 검정하였다(표 22). 바이러스병은 자체적으로 개발된 SSR마커로 검정하였으며 뿌리혹병은 SuCR291의 경우 자체적으로 보존하고 있는 방림균주를 절종하여 검정한 것이다. 기타 조합은 모두 가을재배 포장에서 자연발병된 것을 조사한 것인데 SuCR이 앞에 붙어있는 4개집단의 계통은 SuCR291과 같이 방림균주에 내병성인 DH계통과의 조합을 소포자 배양하여 얻은 계통들이므로(표 2 참조) 뿌리혹병에 내병성을 보인 계통은 모두 방림균주에 내병성일 가능성이 높다. 그 외 5개 집단의 계통은 도암균주에 내병성일 수는 있어도 방림균주에 내병성일 가능성은 거의 없다. 따라서 전체 116개의 복합내병성 계통 중 89 계통은 바이러스병과 방림균주의 뿌리혹병에 복합내병성으로 생각할 수 있으며 나머지 27 계통은 바이러스병과 도암균주의 뿌리혹병에 복합내병성으로 간주할 수 있을 것 같다. 그 외 239 계통은 뿌리혹병에는 감수성이지만 바이러스병에는 내병성이었으며 44계통은 바이러스 병에는 감수성이지만 뿌리혹병에는 내병성이었다. 전체적으로 약 21%인 103 계통이 두 병에 모두 약한 것으로 나타났다.

검정된 순계 집단 중 앞에 SuCR이 붙어있는 5개 집단의 복합내병성인 계통이 89개였다. 성숙기에 조사한 결과 그 계통들의 대부분이 속잎색이, 즉 황심 정도가 3.0 이하로 나타났다. 이러한 현상은 방림균주에 내병성인 DH 계통의 황심 정도가 낮았기 때문으로 생각된다. 1대잡종의 주요 특성 중 무엇보다 중요한 것이 속잎색이 황심이여야 한다는 것이다. 따라서 황심 정도가 3.0 이상인 계통을 선발하였는데 모두 7(약 8%) 계통뿐이었다. 즉 황심 계통이 극히 적었다.

표 22. 소포자 유래 DH계통의 TuMV-C4 및 뿌리혹병 방림균주 에 대한 반응

DH의 모 품종	계	내병성 계통 수			이병성 계통 수	비고
		CR+VR	VR	CR		
경추1호	9	-	7		2	CR자연발병
새로나	7	-			7	"
VCSIM	62	10	14	18	20	"
291추1M	44	6	20	6	12	"
태경1M	36	1	10	0	25	"
경불1M	14	0	7	0	7	"
72C218-1M	33	10	8	6	9	"
SuCR291	107	40	67	0	0	방림균주접종
SuCR불68	55	5	28	9	13	CR자연발병
SuCR72	40	0	40	0	0	"
SuCR태21	28	9	6	5	8	"
SuCR경31	67	35	32	0	0	"
계 12조합	502	116	239	44	103	

라. 4차년도 계통 검정

(1) 소포자 유래 계통의 검정

2년차에 바이러스병에 강한(태원2청 제외) 5개 F1 품종 또는 F1조합을 소포자 배양하여 159 개체를 순화하고 있다고 3차년도에 보고하였다(표 4 참조). 이들을 차질 없이 자가수분하여 자식계를 증식코자 하였으나 검정에 필요한 충분한 종자를 생산한 것은 59계통이었다. 이들을 가을에 포장에서 검정하여 동해가 적고 잎에 발생한 병이 적으며 황심 정도가 4.0 이상이고 가급적 조생인 계통 14개를 선발하였다(표 23).

(2) 복합 내병성 계통 선발

지난해(3차년도)에 12 F1조합 유래 502 DH계통의 바이러스 병에 대한 내병성을 마커로 검정하였다. 그리고 SuCR291 집단은 뿌리혹병 방립균주를 접종하여 내병성 계통을 선발하였다. 그 외 11개 집단은 재배포장에서 자연적으로 발병된 뿌리혹병과 뿌리마름썩음병 내병성 계통을 선발하였다. 그 결과 두 병에 복합 내병성 계통 116, 바이러스병 내병성 계통 239, 뿌리혹병 내병성 계통 44 계통이 선발되었다. 이 중 바이러스병 내병성 계통 239 계통은 뿌리혹병에는 약하고 바이러스병에만 강한 것이므로 제외하고 복합 내병성과 뿌리혹병 내병성으로 기록된 계통 160개와 신규로 54계통을 더하여 214계통의 뿌리혹병 방립균주에 대한 내병성을 4차년도에 인공접종으로 검정하였다.

표 23. 소포자 유래 식물의 순화 및 특성 검정 결과

품종	순화식물 수	생존주수	'10공시 계통 수		비고
			검정	선발	
태원2청	47	41	12	3	직원통 형
춘화녹소채	8	6	2	0	TuMV 내병성
하감녹주60친소채	54	35	16	5	“
진육	38	23	7	2	“
3M-291(이형주)	46	44	14	1	?
3M-291xC218	10	10	8	3	“
계 6품종	203	159	59	14	

그 결과(표 24) 발아가 안 된 계통 또는 조사 시기에 계통별로 공시된 3개체가 모두 사멸된 계통이 57계통으로 많았는데 사멸된 계통은 주로 과습에 의한 것이었다. 표의 상단에 있는 SuCR이 아닌 3계통은 CR신끼 유래의 내병성 인자를 가진 계통과 이병성 계통간의 F1을 소포자 배양한 것인데 모든 계통이 이병성으로 나타났다. CR신끼 유래의 내병성이 방립균주에는 내병성이 아님을 나타내는 것이다. SuCR이라는 계통명은 방립균주에 내병성이라는 뜻인데 이 F1조합 5개의 내병성 계통은 26계통으로 이병성 계통 77개와 1:3의 분리비를 나타내고 있다.

만일 이 균주에 대한 내병성 인자가 단인자라면 내병성과 이병성 계통이 1:1로 나타나야하는데 1:3으로 나타난 것은 방립균주에 대한 내병성인자가 단인자가 아니고 양성인자이며 열성에 의해 내병성이 나타나는 것으로 해석된다.

표 24. 육성된 DH 계통의 TuMV-C4 및 CR 방립균주 내병성 검정 결과

DH의 모 품종	계통 수				비고
	검정	내병성	이병성	불발아(사멸)	
VCS1M	27	0	27	0	
291추1M	12	0	12	0	
72C218-1M	16	0	15	1	
소계	55	0	54	1	
SuCR291	33	5	24	4	
SuCR불68	28	8	13	7	
SuCR72	50	8	27	15	
SuCR태21	13	1	6	6	
SuCR경31	35	4	7	24	
소계	159	26	77	56	
계 8 조합	214	26	131	57	

마. 5차년도 계통 검정

(1) 봄 검정 결과

4차년도부터는 봄에 만추대성 계통 선발에 중점을 두었다. 과거에는 가을에 검정하고 선발된 우수 계통에 대하여 봄에 추대성 등 특성을 조사하였는데 이 경우 만추대성 계통이 가을에 도태될 위험이 있었다. 따라서 4년차부터는 3월 15일에 파종하여 냉상에서 25일간 육묘한 후 노지 포장에 정식하여 만추대성 계통을 선발하고 여기서 선발된 계통을 이용하여 F1조합을 작성토록 육종 체계를 바꾸었다. 그런데 4차년도의 연차실적 계획서를 작성할 때까지(5월 27일) 봄 추대성검정이 끝나지 않아 보고서에 실지 못하고 5차년도 연차 실적 계획서에 수록하게 되었다.

전년도 뿌리혹병의 방립균주 내병성 검정에서 선발된 26계통(표 24 참조)의 추대성을 검정하였다. 그 결과(표 25) 대부분의 계통이 조기 추대하였으며 오직 2계통만이 만 추대성으로 선발할 수 있었다. 이들은 봄재배 용 만추대성 품종 육성재료로 이용될 수 있을 것이다.

3차년도 가을 검정에 공시되어 바이러스 병과 뿌리혹병 방립 균주에 대한 내병성을 검정하고(표 22 참조) 포장에서의 특성을 조사하였었는데 이들의 봄 추대성을 검정하였다. 그 결과(표 26) 가을에 내병성으로 선발된 121 계통 중 9계통만이 만추대성 계통으로 선발되었다. 대

부분의 재료가 가을재배용의 계통 간 F1에서 유래된 것임을 짐작케 한다.

또한 2차년도 소포자 배양에서 유래되고 3년차 가을검정에 공시된 계통(59 계통 : 표 23 참조) 중 종자량이 충분한 32계통의 추대성도 검정하였다. 그 결과 10계통이 만추대성으로 선발되었다(표 27).

표 25. '10년도 뿌리혹병 방립균주 내병성 계통의 봄 추대성 검정

DH의 모 품종	검정계통수	선발계통 수	비고
SuCR291	6	1	
SuCR불68	11	1	
SuCR72	4	0	
SuCR태21	1	0	
SuCR경31	4	0	
계	26	2	

표 26. 09년도 가을 선발 계통의 봄 검정에 의한 만추대계 선발

DH의 모 품종	공시 및 선발계통 수			비고
	공시 계통	가을선발	가을선발 중 봄 선발	
경추1호	9	8	0	
VCS1M	62	4	0	
291추1M	44	5	0	
태경1M	36	8	1	
경불1M	14	4	0	
72C218-1M	33	10	1	
SuCR291	107	32	1	
SuCR불68	55	10	2	
SuCR72	40	12	1	
SuCR태21	28	6	3	
SuCR경31	67	22	0	
계 11조합	495	121	9	

표 27. '10년도 가을 선발 계통의 봄 추대성 검정

품종	계통 수	
	검정계통	선발계통
태원2청	4	0
춘화녹소채	1	0
하감녹주60천소채	10	1
진육	5	1
3M-291xC218	7	3
휘과람	2	2
불68Xc218	3	3
계 6품종	32	10

(2) 가을 특성 검정

봄 검정에서 이미 육종 체계를 변경하였다고 기술하였다. 따라서 5년차 가을에는 계통 검정을 하지 않았으며 F1조합만 검정하였다.(F1조합 육성 항 참조)

4. 배추 TuMV-C4 연관 마커 개선

기존 마커 SSR-233(KS10960)의 교차율 3.3cM 보다 가까운 2.2cM의 마커 SSR-239를 개발하여 농촌진흥청과 공동으로 특허를 출원하고 이용 중이다.

가. 개발 배경

농촌진흥청의 배추 유전체 연구팀이 개발한 SSR 프라이머 중 배추 바이러스병과 연관된 프라이머 KS10960, KS10970, KS10980를 선발한바 있다. 그 중 바이러스 내병성 유전자와 가장 가깝게 연관된 것이 KS10960(SSR-3)으로서 염색체 상 거리가 3.3cM이었다. 이 정도의 정확성으로도 큰 지장 없이 내병성 육종을 위한 선발마커로 이용할 수 있다고 생각하였다. 그러나 지금까지의 계통 검증에서 이 마커로 비교적 정확하게 내병성 계통을 가려낼 수 있었지만 때로는 7.0cM이상의 교차율이 나타나는 경우도 있었다.

나. 개발 결과

따라서 좀 더 효과적인 마커가 필요하다고 생각되어 새롭게 SSR 프라이머 3개를 배추 유전체 연구팀이 설계하고 제작하였다(특허 신청서 참조). 이들을 먼저 VCS-3(F1)의 BCPs집단에 적용하여보았다. 그리고 보다 정밀한 검토가 필요하다고 생각되어 배추 3개 F1조합을 소포자 배양으로 얻은 3개 순계 집단에 적용하였다. 마커탐색에 많이 이용되는 F₂ 또는 BC₁P_s 집단은 각 개체마다 유전자 조성이 다르다. 따라서 동일 유전자 조성의 개체에 대한 바이러스 접종 시험은 사실상 한 번밖에 할 수가 없다. 그러므로 접종오류 또는 판독오류에 의한 오차가 있는지 없는지조차 알 수가 없다. 따라서 새롭게 개발된 SSR 프라이머의 정밀검정을 위하여 VCS-3M(VC1xSR5), VCS-13M(VC40xSR5), 그리고 Tb-1M(3M-12x블1M-68) 등 3개 F1 조합의 소포자 유래 순계를 각각 120, 80, 140여 계통씩 공시하여 이용하였다.

먼저 신규의 3개 프라이머를 VCS-3(F1)의 BCPs집단에 적용해 본 결과(표 28) 프라이머 H132A24-s1은 KS10960과 동일한 3.3cM으로 나타났으며 다른 2개도 정밀한 검토가 필요할 것으로 생각되었다.

표 28. 신규 개발 SSR 프라이머의 VCS-3 BCPs집단에 대한 검증결과

접종결과	마커 결과	KS10960	H132A24-s1	H131H16-s1	B032A15-s2
R	R	109	109	108	107
R	S	2	3	4	5
S	S	70	71	71	69
S	R	4	3	3	5
전체	-	185	186	186	186
차이나는 개체 수	-	6(3.3%)	6(3.3%)	7(3.9%)	10(5.7%)

따라서 새롭게 양성된 3개집단의 반수성2배체(doubled haploid) 340계통에 바이러스를 접종하고 선택된 프라이머로 검증하였다. 검증은 표 29와 같이 1차로 358 계통을 과종하여 받아한 340 계통에 대하여 실시하였는데 병징의 판독에 조금이라도 의심이 있는 것 227 계통은 2차로 다시 과종하여 검증하였다. 그리고 여기서도 병징에 대한 판독에 의심이 있는 55계통을 3차로 다시 과종하여 검증하고 병징을 판독하여 최종 결과를 얻었다. 바이러스 접종을 위한 재배는 50공 트레이에 계통별로 5립씩 과종하고 받아한 5립 중 2주는 무처리로 그대로 두고 과종 후 2주와 3주가 되었을 때 3주의 어린 잎 2장에 2회 접종하였다.

표 29. 3개 F1조합 유래 순계 355계통에 대한 접종 시험 내역

F1조합	과종번호	계통 수	접종 시험(접종일) 별 과종 계통 수		
			1차 시험 (09. 04. 16)	2차 시험 (09. 09. 22)	3차 시험 (09. 12. 22)
VCS13M	1~97	97	88	63	15
Tb계	101~240	140	140	65	15
VCS3M	241~258	118	113	99	25
계	1~258	355	341	227	55

표 30. 신규 SSR 프라이머의 반수성2배체 계통에 대한 바이러스 접종결과와 마커검정 결과의 불일치 계통 수 및 산출된 유전적 거리

집단	검정계통 수 및 단위	마커별 접종결과와 일치하지 않는 계통 수 및 유전적 거리			
		KS1096 (SSR-3)	H132A24-s1	H131H16-s1	B032A15-s2
VCS-13M	87	0	0	0	6
	cM	0	0	0	6.90
Tb-1M	139	4	2	106	127
	cM	2.88	1.44	76.3	91.4
VCS-3M	114	4	2	42	5
	cM	3.51	1.75	36.8	4.39
계	340	8	4	148	138
	cM	2.4	1.2	43.5	40.6

그 결과 표 30에서 기존의 선발된 프라이머 KS10960(SSR-3)은 검정집단에 따라 0.00~3.5cM으로 평균 2.4cM을 나타내었다. 여기서 3.5cM을 나타낸 VCS-3M 집단은 VCS-3의 BCPs집단의 3.3cM과 비슷한 것임을 알 수 있다. 그런데 신규로 설계된 프라이머 별로 3개 집단에 대한 결과를 보면 H132A24-s1은 0.00cM~1.75cM으로 집단에 따른 차이가 거의 없다. 그런데 H131H16-s1과 B032A15-s2는 각각 0.00~76.3cM과 4.39~91.4cM 으로 차이가 크다. 이러한 집단 간의 차이는 집단을 만든 양친 계통의 내병성 유전자와 마커간의 거리가 계통마다 다를 수 있기 때문으로 이해된다. 그러므로 실제유전자와 마커간의 거리가 가까울수록 이러한 집단 간의 차이가 적어져서 광범위한 집단의 마커로 이용될 수 있다고 생각된다. 따라서 본 과제에서 1차와 2차에 걸쳐 선발된 마커 KS10960와 H132A24-s1은 실제 유전자와 마커간의 거리가 가까워 비교적 넓은 범위의 집단에 적용 가능한 것으로 이해된다.

이처럼 여러 집단에 대한 검정으로 보다 활용가능성이 넓은 마커를 개발한 예는 아직 없는 것 같다. 여기서 BCPs 집단에 대한 결과와 DH 계통에 대한 결과가 다르게 나타나는 것은 앞에서 이야기한 바와 같이 BCPs 집단의 경우 200여 개체에 대한 집종과 병정의 판독에 있어서 한 두 포기만이라도 오류가 있었기 때문으로 생각된다.

이상의 결과는 농촌진흥청과 공동으로 특허를 신청하여 심의 중이다(출원번호: 특허-2010-0109427).

5. 세포질 융성불임성 계통 육성(3년차)

과제가 시작될 무렵 수집된 CMS를 이용하여 보존 중이거나 새롭게 육성되는 계통을 CMS로 핵치환하였다. 현재 BC3세대까지 진전된 계통이 6개이며 BC2까지 진행된 것이 5계통이다. F1조합 선발시험에서 우수성을 나타낸 한 조합의 모체가 BC3까지 진행된 계통임으로 이를 이용한 F1조합을 금년 중에 품종 등록 신청할 것이다. 자세한 연차별 시험 내용은 다음과 같다.

가. 계통 육성(3년차)

중국에서 도입된 자색팍초이 품종(F1)이 융성불임성을 나타내었고 Ogura CMS의 유전자 orf-138로 검정한 결과 뚜렷한 밴드가 나타나서 이 융성불임성은 Ogura CMS임이 확실하였다(미 발표). 그러나 팍초이에서 Ogura CMS의 결점인 속잎의 황화현상이 없고 생장정도도 정상적이었으므로 과거에 취급하였던 Ogura CMS와는 다를지도 모른다고 생각되었다. 따라서 당시에 주요 재료로 인정되었던 3개 DH 계통을 교잡하고 BC2세대까지 여교잡하였다. 이들이 현재 교배모본으로 재배중인데 전혀 Ogura CMS의 결점을 보이지 않고 있다. 따라서 BC3세대의 종자를 얻고자 여교잡 중이며 한편 유망한 계통들과 F1조합 생산을 위한 교잡이 이루어지고 있다(표 31).

표 31. 자색 팍초이 유래 의 배추에의 도입 현황

모본 과종번호	계통명	여교잡 세 대	균일성	교배 조합 수	비고('09 선발조합 포함)
10MS-56	RCMS 태2M-21	BC2	양	5	
59	RCMS 경1M-31	BC2	불양	5	09F1-624
60	RCMS13M-72	BC2	불양	8	09F1-626, 627, 730, 632
57	RCMSGH-21M-247	F1	-	-	여교잡(BC1 생산)
58	RCMSSSD230M-27	F1	-	-	여교잡(BC1 생산)

나. CMS계통의 세대진전(4년차)

과거에 수집하여 이용하려고 노력한 Ogura CMS가 잠종강세현상을 나타내지 않을 뿐 아니라 모본의 종자 생산성이 극도로 악화되어 이용할 수가 없었다. 그러나 이 계통을 KCMS로 구분하고 이후에 수집되는 계통의 대비로 이용코자 하였다.

본 과제가 시작된 후 일본에서 도입된 한 F1 품종이 세포질 응성불임성을 알게 되었다. 이 CMS를 GCMS로 구분하고 우리의 주요 계통을 이 GCMS에 여교잡하여 응성불임성을 이용한 F1육성을 시도하였다. 한편 거의 동일한 시기에 중국에서 도입된 자색계 청경채 자라란이라는 F1 품종이 세포질 응성불임성이었다. 이를 RCMS로 구분하고 역시 주요 계통을 여교잡하기 시작하였다. 이러한 3종의 CMS 계통에 대한 세대 진전과 BC2 계통을 이용한 F1 조합을 작성하고 그들의 성능을 가을 작형에서 검정하였다. 유일하게 유지해 온 KCMS는 여전히 이용할 수 없을 정도로 모본의 세력이 약했다. RCMS와 GCMS는 모두 Ogura CMS가 나타내는 속일의 황화 현상이 없고 모본의 세력도 유지되는 것으로 보였다.

먼저 세대 진전에 따른 균일성을 조사하였는데 BC3 세대에서도 균일성이 95% 이상이 안 되는 계통이 많았다(표 32). 그런데 BC2의 모본에 C(조합친)계통을 교잡한 F1은 모계보다 균일성이 다소 높은 것같이 보였는데 당연한 결과로 생각된다.

표 32. 배추 CMS 계통 및 F1조합의 균일성

계통명	CMS 종류	모본 파종 번호	세대	균일성(%)		비고
				모계	F1	
3M-291	RCMS	10MS-61	BC3	95	95	
	GCMS	62	BC3	80	-	
13M-65	KCMS	55	BC6	95	95	
	GCMS	65	BC2	95	95	
경1M-31	RCMS	59	BC3	70	80-95	
	GCMS	69	BC3	-	-	계통 잘못된 듯
13M-72	RCMS	60	BC3	-	90	1주
	GCMS	66	BC3	90	-	
불1M-68	GCMS	71	BC3	70	80-90	
3M 불1M-123	GCMS	72	BC3	80	-	
3M 불1M-126	GCMS	73	BC2	80	-	
SSD230M-27	RCMS	58	BC2	90	-	
태2M-21	RCMS	56	BC2	90	-	
관1M-3	GCMS	63	BC2	80	-	
C218-5M-13	GCMS	64	BC2	70	-	

다. CMS 계통의 잠종 강세 발현(4년차)

균일성이 이용 상 장점이 없을 정도로 양호한 F1에 대하여 잠종강세 정도를 알아보고자 주종과 구종을 조사하였다. KCMS는 여전히 속일에 황화현상이 나타나고 잠종강세현상이 나타나지 않았다. GCMS의 한 계통, 불1M-68이 BC2세대까지 진행되어 이 계통과의 F1조합이 작성되었다. 그리고 RCMS 몇몇 계통이 BC2까지 진행되어 F1조합 작성에 이용하였다. 이러한 F1조합의 잠종강세현상을 자가불화합성을 이용한 F1조합과 비교하였다(표 33).

먼저 Ogura CMS인 KCMS는 과거의 많은 시험과 같이 역시 잠종강세현상이 없었다. 그 외 GCMS와 RCMS의 경우 첫 번째 시험입으로 확실하다고 할 수는 없을지 모르지만 CMS의 종류(GCMS와 RCMS)에 관계없이 잠종강세가 자가불화합성을 이용한 조합보다 더 크게 나타나는 조합이 전체 5조합 중 3조합이었다. 따라서 앞으로는 이러한 응성불임성을 이용한 F1품종 육성이 가능할 것으로 생각되며 이미 앞에서 본 바와 같이 3계절 모두 우수성을 나타낸 조합에 대하여는 이 응성불임성을 이용한 조합으로 품종을 발표코자 하는 것이다. 그런데 조합에 따라 잠종강세 현상이 다르게 나타나는 것은 당연한 것이지만 100% 미만으로 나타나는 원인에 대하여는 KCMS의 경우와 같이 정확하게 알 수가 없다.

표 33. 주요 CMS 계통의 잠종강세 발현

모계	부계	파종번호	모계CMS 구분	주종	잠종강세 (%)	순도	비고
3M-291	08-33-133	10F1-163	RP	2.3	-		
		166	RCMS	1.9	65	양	
	SuCR 경1M-90	164	RP	1.8	-		
167		RCMS	1.4	78	양		
13M-65	SuCR 경1M-90	172	RP	2.4	-		
		173	KCMS	1.6	67	양	
경1M-31	불1M-68	177	RP	1.6	-		
		179	RCMS	1.7	106	중	
13M-72	C218-5M-13	186	RP	1.6	-		
		188	RCMS	2.8	175	중	
불1M-68	C218-5M-13	194	RP	1.8	-		'09. '10 선발
		198	GCMS	2.0	111	양	품종등록 예정

6. F1 품종 육성

기존 계통을 이용한 F1 조합 및 과제가 시작된 후 새롭게 육성된 순계(소포자 유래의 DH-line)를 이용하여 우수 F1 조합을 육성코자 하였다. 과제가 시작되던 시점에 우연히 도입된 세포질 응성불임성이 있어 가능하면 이를 이용한 F1조합을 육성코자 하였다. 가을 재배에 적합한 F1조합을 육성하면서 가능하면 봄과 여름에도 재배 가능한 품종이면 좋겠다는 생각을 하였다. 따라서 5개년 동안 494개의 F1 조합을 가을에 검정하여 우수하다고 생각되는 32개의 조합을 선발하였다. 그리고 그들 중 봄에 120개, 여름에 175개의 F1 조합을 검정하여 각각 12개와 19개의 우수한 조합이 선발되었다. 그 중 한 조합이 3년차부터, 그리고 봄, 여름, 가을 등 거의 4계절에 걸쳐 재배가 가능한 것으로 나타났고 그 모계가 세포질 응성불임성 계통으로 육성되어 세포질 응성불임성을 이용한 조합으로 품종 등록이 가능하게 되었다. 그 외 3-5개의 F1조합이 유망 시 되어 모계를 세포질 응성불임성으로 육성 중이다.

가. 1년차 생산력 검정

1차년도의 생산력 검정 재료는 선행 연구에서 확보된 F1조합과 그 F1의 친 계통을 이용하였다. 과제가 7월 29일부터 시작되었지만 7월 20일에 과종하여 여름재배 때의 특성을 조사하고 정상적인 가을재배 및 봄 재배의 특성을 조사코자 하였다(표 34).

표 34. 1차년도 생산력 검정의 재배시기 및 공시 재료 수

작기	과종기	공시 재료(점)		조사시기	비고
		계통	F1조합		
여름재배	'07. 7. 20	39	31	'07. 10. 09	
가을재배	'07. 8. 16	39	31	'07. 11. 15	
봄재배	'08. 3. 10	13	9 (+4 대비)	'08. 05. 20	

시험구 배치 : 난괴법 2반복

조사항목 : 병해 등 외형적으로 보이는 모든 형질

'07년도(1차년도) 여름과 가을에는 유난히도 비가 자주 많이 와서 여러 가지 병이 많이 발생하였다. 따라서 순도가 균일하면서 병해가 없고 심부중(Tipburn)이 없으며 측지가 자라지 않고 반결구 이상의 결구력을 보이면서 결구속입 색이 황색(지수 1(백)-5(황)에서 3.5 이상)인 조합만을 선발하여 조사하였다. 그 결과 공시된 31조합 중 여름재배에서는 7조합, 가을재배에서는 12조합이 조사가능 하였다. 그 중 여름재배와 가을재배 공히 우수성을 보인 3조합을 선발하였다(표 35). 그리고 선발 조합 중 2조합과 기타 한 조합(07F1-518)을 선정하여 내병 양질의 순계를 육성코자 소포자 배양에 공시하였다.

표 35. 1차년도 여름과 가을에 선발된 조합의 주요 특성

과종번호	계통 명	주요 특성					비고 ¹
		구고 (cm)	구중 (kg)	내엽색 (1-5)	구형	병해	
07F1-491	3M-291x추1M-5	45	2.5	3.5	직원통 (반결구)	병징 전무	선발. MC
-508	태2M-21x경1M-31	38	3.0	4.5	직원통	밑등씩 음병	선발. MC
-509	태2M-21x불1M-68	45	3.3	4.0	직원통	병징 전무	선발
518	경1M-31x불1M-68	-	-	4.5	직원통	가을 무병	MC

¹ MC : 소포자 배양에 공시

나. 2년차 F1 조합 검정

(1) 1차년도 선발 조합의 봄 검정 및 재 검정

1차년도 여름재배와 가을재배에서 선발된 3조합을 이듬해 봄(2008년)에 검정하여 그 중 추대가 가장 늦은 한 조합(07 F1-509)을 선발 할 수 있었다. 그리고 그들을 2차년도의 7월 20일과 8월 14일에 과종하여 여름과 가을에 재 검정 하였는데 2조합은 고온 다습 조건에서 고사하여 내서성이 약한 것으로 나타났다. 그리고 한 조합은 고사하지는 않았으나 구의 모양이 일그러지는 등 불량하여 보급품종으로서의 가치가 없는 것으로 판단되었다(표 36). 지난해에는 비교적 우수성을 나타내어 선발하였는데 금년에는 내서성이 약하고 구 모양이 일그러지는 등 열악형질이 나타난 것이다. 이처럼 년차 간 차이가 큰 것은 보급 품종으로서 클레임의 소지가 있으므로 폐기하는 것이 옳다고 생각되었다. 즉 기 보존 계통을 이용한 1대잡종 중에는 우량한 것이 없는 것으로 단정할 수밖에 없었다.

표 36. 1차년도 선발조합의 2차년도 재검정 결과

선발조합의 과종 번호	조합명	'07 가을			'08 봄	'08 여름, 가을
		내엽색 (1-5)	구형	병해	추대성	환경내성
07 F1 -491	3M-291x 추1M-5	3.5	직원통 (반 결구형)	극강 (병징전무)	개화만개	대부분 고사
-508	태2M-21x 경1M-31	4.5	직원통	강 (밑등씩음)	개화직전	상동
-509	태2M-21x 13M-71	4.0	직원통	극강 (병징전무)	내부약간 (선발)	구 불량

(2) 2차년도 신 F1 조합의 여름 및 가을 생산력 검정

기존 보유 계통으로 1차년도(2008년 봄)에 새롭게 작성한 35개의 F1조합과 그들의 양친 계통 21개를 대비품종 5개와 함께 1차년도와 같은 시기인 7월 20일과 8월 14일에 과중하여 생산력을 검정하였다.

그 결과 표 37에서 보는 바와 같이 5개 조합이 선발되었다. 선발된 조합의 양친 계통을 보면 전체 7계통인데 그 중 3M볼M-1, 추7M-4, 경1M-31번 계통이 2조합, 기타 4 계통은 각기 1조합의 친으로 이용되고 있다. 선발된 각 조합은 우연히도 한 쪽 친(청색 표시)이 바이러스병과 뿌리혹병의 도암 균주에 복합내병성 계통이고(추7M-4X경1M-31의 경1M-31은 바이러스 내병성) 다른 한 쪽 친은 노균병 등 잎에 나타나는 여러 가지 병에 강한 계통이었다. 이러한 양친 간의 조합임으로 2008년도와 같은 고온다습한 여름과 가을에도 그들이 잘 견딜 수 있었던 것으로 생각된다.

표 37. 2차년도(2008) 여름과 가을 생산력 검정 결과 선발된 조합의 주요 특성

과중번호	계통명	황심 (1-5)	주중 (kg)	구중 (kg)	구형태	비고
08F1-224	볼M-68x3M-192	3.0	4.1	3.5	난원형	302볼M-1:2조합 추7M-4 : 2조합 경M-31 : 2조합 3M-302 : 1조합 C218-2 : 1조합 3M-192 : 1조합 볼M-68 : 1조합
226	추7M-4x3M-302	3.0	2.7	1.8	직원통	
227	추7M-4X경M-31	3.5	2.0	1.3	직원통	
234	302볼M-1x경M-31	4.0	4.4	3.6	직원통	
238	302볼M-1xC218-2	4.0	4.0	2.8	원추형	
252	휘파람(대비)	4.5	3.5	2.6	난원형	
253	CR농심(대비)	3.5	3.0	2.5	난원형	

다. 3년차 검정

(1) 2년차 가을 선발 조합의 봄 특성 조사

가을에 선발된 조합 중 봄 재배에 적용할 수 있는 것이 있으면 종자 수출에 더욱 유리할 것이다. 따라서 지난해(2차년도, 2008년) 가을재배에서 선발된 조합에 대하여 봄재배에서 검정하였다.

가을에 우량 시 되었던 조합 7개와 신규로 봄 재배에 가능성이 있을 것으로 기대되는 조합 4개 등 11개 조합을 공시하였다. 3월 20일에 과중하여 25일간 육묘한 후 4월 15일경에 정식하였다. 그리고 6월 15일에 특성을 조사하였다. 그 결과 표 38에서 보는 바와 같이 3개 조합이 봄재배에 가능성을 나타내었다. 그 중에는 가을에 선발된 한 조합(09봄-442)이 포함되었으며 다른 두 조합은 조기추대하여 봄재배에서는 선발될 수 없었다. 그 대신 신규로 작성하여 공시되었던 두 조합이 선발되었는데 그 중 한 조합(C218-18-2x 볼M-68)이 이후 계속되는 검정에서 우수성을 나타내었다.

표 38. 봄 검정에서 선발된 조합의 주요 특성(09. 03, 20과중 : 6. 15 조사)

과중번호	계통명	특성					비고
		숙기	내병성	황심 (1-5)	주중 (kg)	구중 (kg)	
09봄-442	302볼M-1xC218-18-2	중생	중	4.5	-	-	가을 선발
372	13M-65xC218-18-2	중	강	4.0	4.2	2.2	
379	C218-18-2x 볼M-68	만	중	4.5	3.6	2.5	

한편 선발된 3조합 모두 C218-18-2라는 계통과의 F1조합이다. 이 계통은 과거에 도입되어 보존중인 것이었으며 만추대성이고 조합능력이 높으며 내엽색이 황심인 우수 계통으로 생각되었었는데 그 사실이 이 시험에서 그대로 밝혀진 것이다. 그러나 계통선발법으로 고정시키던 중의 계통임으로 균일성이 다소 낮은 문제점을 가지고 있었는데 다행히 소포자 배양으로 두 계통이 확보되어 현재 교배에 이용되고 있으므로 기대해볼 수 있을 것 같다.

(2) F1조합의 여름 특성 조사(3년차)

전 년도와 같이 가을에 검정할 F1 조합 중 고온 결구력이 어느 정도 있을 것으로 예상되는 조합을 7월 20일에 과중하여 특성을 검정하였다. 전체 25 조합을 공시하여 복합내병성을 나타내면서 속잎색이 황심(지수 4.0 이상)인 5조합이 선발되었다(3년차 보고서 참조). 그러나 이들 모두가 만생으로서 과중 후 90일 정도에 수확할 수 있었다. 좀 더 조기 수확이 가능한 조합이 없어 아쉬웠다. 불행히도 봄에 선발된 C218-18-2x볼M-68 조합이 내서성이 없을 것으로 예상하여 공시하지 않아 더욱 아쉬웠다. 봄에 선발된 다른 한 조합이 검정되었는데 여름재배에서는 내서성이 다소 약한 것으로 나타났다.

(3) F1조합의 가을 특성 조사(3년차)

가을에는 양친 47계통, F1 113조합(여름 검정 조합 포함), 대비 4품종 등 164점을 검정용으로 8월 17일에 과중하였다. 과중번호 09F1-601부터 631까지 중 F1조합 25개는 여름재배에도 공시되었던 것이다. 전체 8조합이 유망하여 선발하였는데 그 중에는 13M-72계통이 교잡된 조합이 4개나 선발되었다. 이 계통은 추대도 늦고 바이러스 병, 뿌리혹 병의 도암균주, 노균병 등 대부분의 병에 강한 복합내병성 계통이다. 그러나 속잎의 황심정도가 약하고 쓴맛이 비교적 강한데 그 특성이 거의 우성에 가깝게 유전되는 것 같아 아쉬웠지만 친으로 이용할 수 없을 것 같다.

그 외 4조합 중 여름 검정에서 선발된 한 조합, 09F1-624이 포함되었다. 이 조합은 구형이 단원통형(사진 1)으로 우량시되었는데 한쪽 친(경1M-31)이 바이러스 병에 내병성이고 다른 쪽 친(볼1M-68)이 노균병 등 잎에 나타나는 병에 강한 내병성을 나타냄으로 F1조합도 바이러스와 기타 잎 병에 내병성을 가질 것으로 기대된다. 다만 뿌리혹병에 대한 내병성이 없으므로 뿌리혹병이 심하게 발생하는 곳에는 보급하기 어려울 것으로 생각된다.

숙기가 대비종과 비슷하게 중생인 2조합(과종번호 09F1-659와 -706)이 선발되었는데 모두 대비종과 비슷하게 구형이 직원통이 아니고 끝부분이 좁은 포탄 형이었다. 그 중 09F1-659는 봄에 선발된 계통인데 가을에도 우수성을 나타내어 우수 조합의 가능성 큰 것으로 기대되었다. 다만 두 조합 모두 주요 병인 바이러스병과 뿌리혹병에는 약한 것으로 밝혀졌다. 따라서 곧바로 보급하기는 어려울 것으로 생각되며 필요할 경우 양친을 모두 바이러스병과 뿌리혹병 방립 근주에 내병성을 갖도록 개량하여야 할 것 같다.

표 39. 배추 가을검정에서 선발된 F1조합의 주요 특성(111조합 검정)

과종번호	계통번호	숙기	잎색	주주 (kg)	구중 (kg)	황심 (1-5)	비고
09F1-624	경M-31x불M-68	중만	농녹	2.9	1.6	4.5	불선발
626	13M-72xC218M-1	“	녹	3.5	2.1	4.0	
627	13M-72xSSD230M-72	“	“	3.1	1.4	“	
630	13M-72X추3M-11	“	농녹	2.4	1.5	“	
632	13M-72x3M불M-111	“	녹	2.7	1.5	“	
659	불M-68xC218-5M-13	중	“	3.4	2.2	5.0	불선발
706	SR불M-30xC218M-13	“	“	3.1	2.0	4.5	
707	SR불M-30x경5M-71	중만	농녹	3.6	2.2	“	
761	대비(휘파람, 대비)	중	녹	3.4	2.3	4.5	

과종번호 09F1-631까지는 여름에도 재배됨



사진 1. 3년차 가을 우수 2 조합(중양) 및 양친(09F1-624는 여름에도 우수 조합)

(4) 조합 친 선발을 위한 만추대성 계통 선발(2년차 가을 선발 계통)

지난년도(2008) 가을 검정에서 앞으로 F1조합 친으로 가능 시 되었던 57계통을 앞의 “1) 2년차 가을 선발 조합의 봄 특성 조사”구와 함께 과종하여 특성을 조사하였다. 봄 검정에서 가장 중요한 것이 만추대임으로 6월 15일까지 개화 또는 외부로 추대하지 않은 17계통을 우선 선발하고 그 중 잎에 병이 없고 측지가 없으며 심부증이 없는 것들을 2차로 선발하였다. 그 중 봄 재배용 F조합의 친으로 가능 시 되는 4계통을 최종적으로 선발하였다(표 40).

표 40. 2년차 봄검정에서 선발된 만추대 계통의 주요 특성(09. 03, 20과종)

과종번호	계통명	특성							비고
		숙기	추대	잎색	내병성	황심 (1-5)	구중 (kg)	구형	
09봄369	C218-18-2	만생	만	녹	-	4.0	2.2	위열림	
-397	C218-5M-13	중생	만	녹	강	4.0	2.3	직사각	강결구
-403	SSD230M-27	만생	중만	녹	-	4.5	1.1	직원통	
-411	추3M-11	중생	중	농녹	강	4.0	1.3	직원통	

그런데 2계통(09봄-369, -397)은 C218-18과 이 계통을 소포자 배양하여 얻은 계통으로 확실하게 추대가 늦으며 특히 09봄-397은 결구력이 강한 조생이다. 다른 두 계통은 내부에서 추대하고 있어 추대성이 아주 늦은 것은 아니지만 직원통형의 품종 육성에 이용될 수 있을 것으로 기대되었다.

라. 4년차 검정

(1) 3년차 가을 선발 조합의 봄 특성 조사

지난해(3차년도, 2010년) 가을재배에서 선발된 조합에 대하여 봄재배에서 검정하였다. 가을검정에서 우량 시 되었던 7조합과 신규로 봄 재배에 가능성이 있을 것으로 기대되는 4조합을 공시하였다. 다음에 보는 계통 25개와 함께 3월 20일에 과종하여 25일간 육묘한 후 4월 15일경에 정식하였다. 그리고 6월 15일에 특성을 조사하였다. 그 결과 표 41에서 보는 바와 같이 2개 조합이 가능성을 나타내었다. 그 중에는 지난해 3차년도 봄과 가을재배에서 선발된 한 조합 불 1M-68 x C218-5M-13이 포함되어 있다. 이 조합은 양친이 모두 특정 품종 또는 특정 계통의 소포자를 배양하여 얻은 DH(doubled haploid)계통이다. 특히 C218-5M-13은 지난해 봄 검정에서 우수하여 선발된 한 조합 C218-18-2x 불1M-68의 한 쪽 친 C218-18-2와 유사 계통으로서 그 선대의 소포자 배양으로 얻어진 것이다. 따라서 이 조합은 균일성이 최상이며 봄재배 용 품종으로 최종 선발되었다고 할 수 있다.

표 41. '10 봄 검정에서 선발 F1조합의 특성(공시재료: 11 F1조합, 25 계통)

과종번호	계통명	특성						비고
		숙기	추대	core	황심 (1-5)	주중 (kg)	구중 (kg)	
10봄F1-121	불1M-68x C218-5M-13	중	만	양	5	3.6	2.0	'09가을선발
126	SR불1M-30 xC218-5M-13	중	중	양	5	4.4	2.5	신규
148	대비 (춘광)	중조	중	속빔	5	2.9	1.9	

(2) 3년차 가을 선발 계통의 봄 특성(결과) 조사

가을 검정에서 앞으로 F1조합 친으로 가능 시 되었던 25계통을 위의 F1조합 11개와 함께 파종하여 특성을 조사하였다. 봄 검정에서 가장 중요한 것이 만추대임으로 6월 15일까지 개화 또는 추대하지 않은 7계통을 선발하였다(표 42). 선발 계통 중에는 선발 F1의 친 3개(청색표시)가 모두 포함되었다.

표 42. 봄 선발 계통의 특성 : 공시재료 : 25 계통 검정(파종: '10. 03. 19)

과종번호	계통명	특성							비고
		숙기	추대	잎색	내병성	황심	구중	구형	
10봄-120	불1M-68	극만생	중	농녹	강	5.0	0.8	원형	결구약
124	C218-5M-13	중생	만	녹	중	5.0	1.8	원형	강결구
125	SR불1M-30	극만생	중	농녹	중	4.5	0.4	-	불결구
128	SR불1M-68	중생	만	농녹	강	4.5	-	-	결구 중
144	C218-5M-1	만생	만	녹	약	-	-	-	불결구
145	추3M-43	중생	중만	농녹	?	4.0	1.3	직원통	충해심
147	C218-2-18-3	만생	만	녹	약	4.0	1.1	원형	

(3) F1조합의 여름 특성 조사(4년차)

전 년도와 동일하게 가을에 검정할 F1 조합 중 고온 결구력이 어느 정도 있을 것으로 예상되는 조합과 지난해(3년차) 여름재배에서 선발된 5조합을 합하여 전체 25조합을 7월 20일에 파종하여 특성을 검정하였다. 그 중에는 처음으로 CMS를 이용한 6개 조합이 포함되어 있는데 전년도에 선발된 조합 중 3M-72번 계통과 교잡된 3개 조합은 이 계통의 CMS핵치환 제3세대

(BC2F1)의 계통이 있었으므로 모두 이 CMS계통에 교잡된 조합으로 검정하였다. 그런데 금년 여름에는 지나친 고온과 지속적인 장마로 모든 배추가 정상적으로 자라지 못하였다. 따라서 파종 후 90일 쯤인 10월 19일에 조사하였다. 특이한 고온과 장마를 견디고 생육한 조합 중 최종적으로 5개 조합이 선발되었다(표 43).

먼저 지난해 여름재배에서 선발되었던 조합은 하나도 여기에 포함되지 않았다. 모두 만생으로 금년처럼 고온 다습조건에서는 생육이 크게 지연되었기 때문으로 이해된다.

선발된 조합 중에는 다행히 봄재배에서 선발된 2조합(과종번호 10F1-194와 248)이 포함되어 있다. 과종번호 10F1-194(불1M-68x C218-5M-13)은 전년도 가을과 금년 봄재배에서 선발되었던 것이다. 그리고 이 조합의 편친인 불1M-68은 CMS로 핵치환 중인데 BC2에서 F1조합 친으로 이용해본 결과(과종번호 10F1-198) 순도가 균일하고 잠종장세가 반복친 보다 오히려 더 크게 나타나는 경향을 보이고 있다. 따라서 이 조합은 응성불임성을 이용한 조합으로 전환하여 검토코자 한다. 그런데 봄재배에서는 속잎 색의 정도가 4-5로서 아주 노란색이었는데 여름재배에서는 3.5-4.0로서 다소 옅어진 것으로 나타나고 있다. 속잎의 황심정도도 환경, 아마도 결구기의 온도에 영향을 받는 것으로 이해해야할지 모르겠다.

표 43. 여름 선발 F1조합의 특성: 공시재료(27 조합 검정)

과종번호	계통명	순도	내엽수	황심	주중 (kg)	구중 (kg)	비고
10F1-194	불1M-68x C218-5M-13	양	55	3.5	2.5	1.7	봄선발
195	불1M-68xSuCR경1M-1M-90	양	44	3.5	3.5	2.5	
197	GCMS불1M-68x추7M-6	양	33	3.5	3.3	2.1	직원통
198	GCMS불1M-68xC218-5M-13	양	56	4.0	3.3	2.4	CMS
248	SR불1M-30xC218-5M-13	양	67	4.0	3.2	2.4	구뽕족
258	춘1M-27x추3M-11	양	33	3.5	2.5	1.8	직원통

(4) F1조합의 가을 특성 조사(4년차)

제2년차와 제3년차에 선발된 조합을 포함한 전체 155조합과 그들의 양친 55계통을 8월 16일에 파종하고 22일간 육묘한 후 2반복으로 정식하여 재배하였다. 여름재배에 공시된 25조합도 여름과 동일한 과종번호로 재배하였다. 지속적인 장마로 정식과 비배관리에 어려움이 있었으나 다행히 재배토양이 마사토로 큰비가 오더라도 하루만 지나면 작업이 가능하여 큰 불편 없이 재배할 수 있었다. 그러나 계속되는 장마와 고온으로 외엽에 흑부병과 백반병이 많이 발생하였고 11월 2일의 갑작스런 환파로 많은 조합이 동해를 입어 외엽 끝이 고사하는 현상이 나타났다. 이러한 영향으로 11월 15일까지 90일 동안 자랐음에도 생장량이 예년보다 많이 부족한 것으로 나타났다.

최종적으로 외염에 병징이 적고 동해가 적으며 결구건도가 높은 8조합이 선발되었다(표 44). 그 중에는 여름에 선발된 6조합이 모두 포함되어 있으며 봄과 여름에 선발된 2조합(10F1-194와 248)도 포함되어 있다. 파종번호 10F1-194(불1M-68xC218-5M-13)는 2차년도 봄부터 줄곧 선발된 우수 조합이다. 그리고 앞에서도 이야기한 바와 같이 한 편친(불M-68)이 CMS BC2 세대로서 균일성이 좋은 것으로 나타났으며 그 F1, 10F1-198도 균일성이 높고 잡종강세도 자가 불화합성을 이용한 조합보다 못하지 않았다. 따라서 이 CMS를 이용한 조합으로 충분한 종자를 생산하여 신품종으로 등록할 계획이다.

다른 한 조합, 파종번호 10F1-248(SR불1M-30xC218-5M-13)은 전년도(3차년도)의 봄부터 선발 조합에 포함되었던 우수 조합이다. 그리고 한 편친 SR불1M-30은 바이러스 병과 뿌리혹병의 도암 균주에 복합내병성 계통으로 알려져 있다. 그리고 한 편친 C218-5M-13가 CMS BC2 세대까지 진행되어 있으므로 2-3년 내에 신품종으로 등록할 수 있을 것으로 기대된다.

표 44(4). 가을 선발 F1조합의 특성(공시재료 : 155 조합)

파종번호	계통명	순도	내엽수	황심	주중 kg	구중 kg	비고
10F1-194	불1M-68xC218-5M-13	양	46	5.0	1.8	1.2	09가을,10봄, 여름선발
195	불1M-68xSuCR 경1M-1M-90	양	41	4.0	2.4	1.3	10여름 선발
197	GCMS불1M-68x추7M-6	양	32	4.0	2.6	1.6	“
198	GCMS 불1M-68xC218-5M-13	양	40	4.5	2.0	1.2	10봄,여름선발
248	SR불1M-30xC218-5M-13	양	46	4.0	2.4	1.3	10봄,여름선발
258	춘1M-27x추3M-11	양	31	3.5	1.9	1.3	10여름 선발
230	3M불M-123x1C218-5M-13	양	47	4.0	2.7	1.9	신규 선발
276	13M-244x춘1M-27	양	34	4.0	2.8	1.9	“
334	대비	양	62	4.0	2.0	1.5	

여름과 가을에 선발된 조합 중 파종번호 10F1-195(불1M-68x SuCR경1M-1M-90)는 한 편친인 불1M-68의 CMS계통이 있으니 곧바로 CMS 계통과의 조합을 작성하여 검정할 계획이다. 이 조합은 직원통형이며 다른 한쪽 친이 바이러스병 TuMV-C4와 뿌리혹병 방편균주에 내병성이므로 복합내병성일 가능성이 있다. 그러나 구가 다소 작고 만생인 문제점이 있으며 봄 추대성이 검정되지 않아 1년 더 검정할 필요가 있을 것 같다. 파종번호 10F1-197(GCMS불1M-68x추7M-6)은 구가 직원통이며 비교적 크고 CMS계통과의 F1임으로 곧바로 품종 화할 수 있을 것 같다. 다만 양친이 모두 저온에 다소 민감한 편임으로 봄재배 조합으로는 불가능하고 늦여름에서 가을까지의 재배품종으로 등록할 준비를 하고자 한다. 기타 3조합은 좀 더 면밀한 검정이 필요하다고 생각된다.

(5) 일대 잡종의 양친계통 검정

일대잡종 조합의 양친 및 주요 계통의 CMS 계통 등 52 계통을 F1과 함께 2반복으로 검정하였다. 그 중 선발 F1조합의 양친 9계통에 대한 특성을 표 45에서 볼 수 있다. 우수 조합(10F1-194)의 양친인 불1M-68과 C218-5M-13은 바이러스병과 뿌리혹병 두 가지 모두에 이병성이다. 따라서 불1M-68 계통을 바이러스 병에 강한 계통과 교잡하여 여교잡 중인데(BC1F1) 5년차에는 새롭게 육성된 내병성 계통과의 F1이 검정될 수 있을 것으로 기대된다.

표 45. 가을 선발 조합의 양친계통 주요 특성

파종번호	계통명	내병성		황심 (1-5)	CMS
		TuMV-C4	CR(도암)		
10F1-192	불1M-68	S	S	4.5	CMSBC2
206	추7M-6	S	S	3.5	
228	3M불-1M-123	R	R	4.0	CMSBC1
243	C218-5M-13	S	S	4.5	CMSBC1
247	SR불1M-30	R	S	4.0	
256	춘1M-27	S	S	4.5	CMSBC1
263	추1M-11	S	S	4.5	
275	13M-244	R	R	3.5	
316	SuCR경1M-1M-90	R	R ^{Y(방편)}	4.0	

마. 5년차 검정

(1) 4년차 가을 선발 조합 및 계통의 봄 특성 조사

전년도까지의 시험에서 우수한 것으로 나타난 23조합과 그들의 친 및 CMS 계통 등 28계통(전체 51점)을 2011년 3월 14일 파종하여 냉상 육묘후 4월 10일 정식하고 6월 7일 조사하였다. 속잎의 황색정도가 최소 4.0(5.0 만점)이상이고 6월 7일까지 외부에 추대하지 않는 12조합이 1차로 선발되었는데 구의 내부에서도 추대가 적은 3조합이 최종적으로 선발되었다(표 46).

표 46. '11봄 선발 조합의 특성('10 가을 선발 조합)

파종번호	교배 조합	주중 (kg)	구중 (kg)	추대 정도	내엽수	황심 1-5	비고
11봄-106	13M-72xC218M-13	3.4	2.2	내부	51	4.5	-
115	C218M-1x13M-71	1.9	1.4	무	51	4.5	맛 양
123	C218M-13xSuCR291M-96	2.2	1.3		70	4.5	맛 감미

(2) 만추대성 계통 선발

전년도 가을검정에서 선발된 뿌리혹병 방립균주 내병계 25계통, 09년도 가을검정 중 바이러스병 내병계 114계통, 10가을선발 44계통 등 전체183계통을 위의 F1조합과 같은 방법으로 재배하여 특성을 조사하고 만추대성 중심으로 선발한 결과 14계통이 선발되었다(표 47). 이 계통들은 앞으로 4계성 품종 육성의 재료로 이용코자 한다.

표 47. 11봄 선발 계통의 특성(만추대 중심)

라벨번호	계통 명	잎병	결구성	입색	비고
11봄-181	SuCR불M-139	노균심	결구시	농녹	중록 협소
215	태경M-46	강	"	농녹	측면
231	SuCR291M-12	중	"	녹	개장성. 외엽 대
285	SuCR68M-107	중	느슨	녹	직립직원통
290	CR태21-1M-23	강	"	농녹	중록 협소. 직립 잎수소
291	CR태21-1M-39	강	불결구	"	"
293	CR태21-1M-60	"	느슨	녹	직립, 잎수소. 키크다
346	진육1M-14	강	추록형	농녹	극조생,속잎황녹,약간추대
352	291C218-1M-2	강	느슨	녹	엽연등글다. tb약간
356	291C218-1M-9	강	느슨	녹	잎수다, 엽후.
369	휘M-1	중	결구	녹	만생
374	불M218CM-1	강	느슨	농녹	대구.중만.375,376과 비슷
375	불1M218C-2	강	느슨	농녹	대구 중만생
376	불1M218C-3	강	느슨	농녹	대구 중만생

(3) 여름재배 특성 조사

여름 재배는 전년도 가을 검정에서 우수하였던 59조합을 예년과 동일하게 재배하여 검정하였다. 결국 4조합이 선발되었는데(표 48) 두 조합은 '경M-31x불M-68'과 이 조합의 모계가 CMS인 조합이다. 이 조합은 3년차 가을부터 매년 선발되었던 우수 조합임으로 종자를 증식한 후 내년에 품종등록토록 할 계획이다. 다른 한 조합은 앞의 세포질 융성불임성 계통과 교잡된 조합인데 앞으로 여름과 가을에 한 번 더 검정하여 신품종으로 발표할 수 있을 것이다. 남은 한 조합 '추7M-4xSuCR291-1M-96'은 처음으로 검정되어 선발된 조합인데 편친 SuCR291-1M-96이 뿌리혹병의 방립균주와 바이러스병에 내병성인 조합으로 계속 검정토록 할 계획이다.

(4) 가을 재배 특성 조사

가을에는 주로 CMS를 이용한 조합을 검정하였다. BC2 또는 BC3세대에 교잡한 조합 50조합을 여름재배에 공시하였던 59조합, 그리고 봄재배에서 가능시 되었던 6조합 등 115조합을 양친으로 이용된 47계통과 함께 검정하였다. 많은 조합이 우수성을 나타내었는데 특히 CMS를 이용한 F1조합들 중 우수한 것이 있었다.

표 48. 5차년도(2011)여름 선발 조합의 특성

과종 번호	비고	주중 (kg)	구중 (kg)	엽수	황심 1-5	구고 (cm)	구폭 (cm)	구형
11하-384	경M-31x불M-68	3.0	1.8	39	4.5	41	18	단직원통
387	CMS경M-31x불M-68	4.2	2.7	40	4.0	39	18	"
388	CMS경M-31xSR불M-30	4.8	3.4	68	4.5	33	23	한국형
410	추7M-4xSuCR291-1M-96	2.8	1.6	34	4.0	37	14	직원통
430	대비:한여름	3.6	2.3	46	4.0	30	17	한국형
431	대비:불암플러스	3.4	2.3	58	4.5	27	20	한국형

먼저 CMC의 잠종강세현상에 대하여 조사하였는데(표 49) CMS경1M-31-3x불1M-68 조합은 자가불화합성 이용조합에 비하여 95%의 잠종강세현상을 나타내었다. 그리고 CMSSSD220M-27x추7M-6 조합은 75%의 강세현상을 나타내었다. 따라서 CMS경1M-31-3x불1M-68 조합은 충분히 품종등록 후 시판할 수 있을 것으로 생각된다. CMSSSD220M-27x추7M-6 조합은 좀 더 검정한 후 등록 여부를 결정코자 한다.

표 49. 가을 선발 조합(CMS 이용 조합의 능력 비교)

과종번호	비고	주중 (kg)	CMS의 비중	구중 (kg)	황심 1-5	구형
11추-506	경1M-31x불1M-68	4.2	-	3.0	3.0	단직원통
508	CMS경1M-31-1x불1M-68	3.1	-	2.2	3.0	
513	CMS경1M-31-2x불1M-68.	4.1	-	3.2	3.0	
514	CMS경1M-31-3x불1M-68	4.0	95	2.5	3.5	등록예정
554	SSD220M-27x추7M-6	3.6		2.4	4.2	직원통
557	CMSSSD220M-27x추7M-6	2.7	75	1.9	3.8	"
646	대비(불암플러스)	3.8		2.9	5.0	한국형

다음 금년에 품종 등록코자 종자를 증식한 CMS불1M-68xC218M-13 조합은 상반 교잡간의 잡종강세 정도가 다르게 나타나고 있다(표 50). CMS불1M-68xC218M-13 조합(11추-531)은 주중이 3.6Kg인데 상반교잡 중(11추-549)은 2.8Kg으로 훨씬 작다. 우선 CMS불1M-68xC218M-13 조합으로 품종을 등록하고 그 상반교잡은 왜 강세정도가 적은지 좀 더 검토한 후에 이용여부를 결정코자 한다.

표 50. 가을 선발 조합의 특성

과종번호	비교	주중(kg)	구중(kg)	구고(cm)	구폭(cm)	황심 1-5	구형
11추-531	CMS불1M-68xC218M-13	3.6	2.8			3.5	한국형
549	CMSC218M-13x불1M-68	2.8	2.1			4.5	"
559	CMSSSD220M-27x하감M-26	2.9	2.0	35	10	4.0	직원통형
617	SuCR291M-115x3M불M-1	2.7	1.7	23	13	4.6	"
619	SuCR291M-115x진육M-18	2.7	1.9	29	11	4.5	"
623	태2M-21x하감M-32	3.9	2.3	40	11	4.7	"
624	태2M-21x진육M-31	3.3	2.5	38	12	4.7	"
646	대비(불암 플러스)	3.8	2.9	24	16	5.0	한국형
647	대비(CR맛)	4.0	3.2	25	17	4.7	"

그 외 직원통형으로 5조합이 선발되었는데 1-2년간 더 검증해 본 후에 이용 가능성을 판단코자 한다.

(5) 12년도 봄 검증결과

과거에 선발 되었거나 우수예정 조합 66 및 그들의 친 또는 유사 계통 49계통 등 115 점을 1대잡종 성능 검증용으로 2반복으로 공시하였다. 그리고 지금까지 우수한 것으로 알려진 계통 95계통을 1반복으로 동일 포장에 공시하였다. 그런데 4월의 이상기온, 즉 지나친 고온과 지나친 저온의 반복으로 식물 생장이 좋지 않았으며 예년과 다르게 추대하기에 아주 좋은 조건으로 간주되었다. 그리고 5월에는 예년에 없는 지나친 가뭄으로 상당한 관수 시설을 갖춘 포장이었음에도 식물의 생장이 고르지 못하고 비정상적이었다. 따라서 추대성 외에는 믿을 수 있는 성적을 얻지 못하였다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 목표달성도

1. 연차별 연구 목표 및 내용

가. 1차년도

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
1차년도 (2007)	[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 유전체 정보를 이용한 대량의 분자마커 개발 시스템 구축 대량의 유전자 연관 분자마커 개발 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유용 형질 관련 유전자좌들의 효율적 탐색 도모 	<ul style="list-style-type: none"> 대용량의 <i>In Silico</i> 분자 마커 개발 시스템 구축 배추 gene ontology (GO) 시스템 개발과 기능 특이적 유전자 마커 개발을 위한 database 구축 분자마커 개발 (목표개수: 100개) - Genome-wide SSR 마커 분자마커와 표준 유전 집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성
	[1-2] 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 분석 방법의 매뉴얼화 대량 분석방법확립 정량 서비스 	<ul style="list-style-type: none"> 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 일반 성분 분석 매뉴얼화 Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocianidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 매뉴얼화 Spectrophotometer를 이용하던 방법에서 ELISA나 HPLC를 이용한 분석법으로 개량 함으로써 대량의 샘플을 빠른 시간에 분석 가능하게 만든다. 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 기타 일반 성분 분석 Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocianidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 300종 이상/2000항목 이상 분석
	[1-3] 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성 (충청남도 농업기술원)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원 70계통 특성검정 유전분석 집단 양성 시작 	<ul style="list-style-type: none"> 배추, 양배추, 팥초이, 갓, 다사이 등으로 구별하여 특성조사요령에 따라 조사 집단양성용 재료수집 및 파종, 재배

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[2-1] 노균병 저항성 분자 마커 개발 (전남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자지도 작성용 집단 육성 ○ 저항성과 이병성의 Marker 다형성 대량 테스트 ○ 노균병 screen 환경 구축 	<ul style="list-style-type: none"> ○ F₁, F₂, F₃ 육성 ○ BC₁ 집단 육성 ○ 다형성 마커 선발 RAPD - 100개 선발 ○ SSR - 158개 선발 ○ IBPA - 34개 선발 ○ 실내·외 발병 환경 탐색 ○ 실내 발병 온·습도를 유지하기 위한 시설 구축
	[2-2] 만추대 복합 내병성 품종 육성 (한국종묘)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 추대성 및 기타 특성 조사 ○ 기 보유 재료의 노균병 검정 ○ 기 보유 재료의 CR마커 이용 뿌리혹병 내병성검정 ○ 선발된 내병성 재료들의 조합작성 ○ 조합 성능검정 및 우수조합 선발 ○ 만추대성, 내병성 유전자원 수집 및 후대 분리 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 63계통에 대한 추대성 및 특성 조사 ○ 총 121 점 노균병 검정 ○ 총 44점 검정-12계통 저항성 ○ CR 및 노균병 강한 계통 8조합 작성 ○ 총319조합 조합검정 실시 ○ 총 65점 수집 및 분리
	[2-3] 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 뿌리혹병 균 수집 ○ 저항성 유전자 연관 분자표지 탐색 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 30점 이상 수집 ○ 저항성과 감수성 유전자 계통 분류
	[2-4] 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동 배추 품종육성 (농협종묘센터)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 수집평가 10점 이상 ○ 마커 활용 계통선발 10점 이상 ○ 교배조합 작성 8조합 이상 ○ 약배양 순계육성 100점 이상 ○ 지역적응성시험 2개 지역 ○ 마커개발용 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 20점 수집 ○ 35점 검정, 저항성 13점 선발 ○ 36점 작성 ○ 281점 육성 ○ 2개 지역 실시 ○ 저항성 계통 분류
	[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 환경 스트레스 반응 유전자 (Trehalose) 연관 마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 배추작물에서 환경 스트레스 연관 유전자인 trehalose 합성 유전자를 대상으로 다형성을 찾아 13개 분자 마커로 개발 및 유전자 지도 위치 확인
	[2-6] 내서성 유전 분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 수집(30점) ○ 유전자원 특성조사(30점) ○ 우량계통 선발(15점) ○ 기 보유 계통의 교배조합 작성 (30조합) ○ MS유기 및 인자분석(3계통) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 각사시판 F1 및 기타 재료 구입 ○ 고온기 하우스 2회, 고랭지 1회 ○ 노지 1회 ○ 기 보유 내서성 계통을 Tester로 하여 조합작성 ○ MS계 유기를 위한 교배작업 및 개화 후 인자분석

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 개화관련 유전자 확보와 microarray 실험을 통한 데이터 축적 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 2회의 microarray 수행 완료 ○ 후보 유전자 20개 선발 ○ 74 세트 프라이머를 이용한 PCR 증폭 완료
	[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성 (우리종묘)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 수집 및 특성검정 ○ 우량 계통육성 ○ 육성 소재용 내혼계 작성 ○ F₁ 조합작성 및 선발시험 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전 44점 수집 및 특성검정완료 ○ 180계통을 차검하여 147계통 선발 ○ 소재육성용 (SG5107xAS2)의 8조합을 작성하여 교배분리 ○ 24조합 작성 및 차검
	[3-3] 배추 응성불임성 마커 개발 (순천대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 배추류 CMS 30종 이상 수집 ○ 기존의 분자마커 (primer) 30종 이상 합성 및 CMS 종류 구분 ○ 합성한 primer를 이용하여 미토콘드리아 영역의 유전자 5종의 염기서열 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 충남대(1-1과제: 7종), NH 종묘2-4과제: 12종), 우리종묘3-3과제 18종), 바이오브리딩(3-4과제 12종, 현대종묘(3-5과제: 24종), 기타(7종)으로부터 총 80종의 유전집단 및 계통을 수집함 ○ 미토콘드리아영역에서 primer 40종 합성 후 수집된 배추류 CMS 종류 구분함 ○ 미토콘드리아 유전자 6종 염기서열 분석
	[3-4] 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종육성 (바이오브리딩연구소)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생산력 검정 ○ 바이러스병 내병성 검정 ○ 뿌리혹병 내병성 검정 ○ 소포자 배양 ○ 현지 답사, 유전 자원 수집 	<ul style="list-style-type: none"> ○ F1 31 조합 및 순계 39계통의 여름과 가을 검정, 조합 3개 조합 선발 ○ 순계 31계통, 중국도입 25품종, 국내 수집 27 품종의 SSR 마커이용 검정 ○ 모든 race에 내병성인 순수와 배추간 F1의 후대 F2를 소포자 배양하여 병원성이 가장 강한 것으로 알려진 방림균주에 내병성인 순계 2계통 및 이 계통과 교잡된 F1 10조합의 방림균주 등 5개 균주에 대한 내병성검정 ○ 주요 재료 7점에 대한 소포자 배양 ○ 중국의 2개지역 답사, 유전자원 32종 수집

나. 2차년도

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
2차 년도 (2008)	[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대량의 유전자 연관 분자 마커 개발 ○ 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유용 형질 관련 유전자좌들의 효율적 탐색 도모 ○ 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용한 품종에서의 형질 진단 서비스 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 분자마커 개발 (목표개수: 300개) <ul style="list-style-type: none"> - Genome-wide SSR 마커 - EST-SSR 마커 ○ 분자마커와 표준 유전 집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성 ○ 유전자 지도를 기반으로 유용 형질 관련 유전자좌들의 탐색 ○ 분석서비스 종류 <ul style="list-style-type: none"> - 무사마귀병 연관 마커 TCR01, TCR_05, TCR_09 이용하여 종묘 회사에서 의뢰하는 식물에서 무사마귀 저항성 인자가 있는지를 검정
	[1-2] 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 분석 방법의 매뉴얼화 ○ 대량 분석방법확립 ○ 정량 서비스 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 일반 성분 분석 매뉴얼화 ○ Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocianidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 매뉴얼화 ○ Spectrophotometer를 이용하던 방법에서 ELISA나 HPLC를 이용한 분석법으로 개량 함으로써 대량의 샘플을 빠른 시간에 분석 가능하게 만든다. ○ 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 기타 일반 성분 분석 ○ Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocianidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 ○ 300품종 이상/2000항목 이상 분석
	[1-3] 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성 (충청남도 농업기술원)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 50계통 특성검정 ○ 유전분석 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생리, 생태적, 병 저항성 특성 조사 ○ 집단양성 재료 자식, 13종 채종 ○ 선발 11종 이용 약배양, ○ 74종 성분분석

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[2-1] 노균병 저항성 분자 마커 개발 (전남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ BSA 다형성 탐색 및 marker 개발 ○ 노균병 대량증식 및 유지 기술 ○ 참여 기업 배추 계통 및 시판 품종의 노균병 저항성 스크린 ○ 유전자지도 작성용 집단 육성 (추가수행) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ RAPD, AFLP, SSR, IBPA 등 marker 대량 테스트 ○ 일정한 농도의 균 접종을 통한 스크린 방법 개발 ○ 병원균의 대량 증식 및 유지 기술 확립 ○ 실내 및 노균병 스크린 환경 조성 ○ 소포자배양을 통한 DH line형성 ○ RIL 집단개발을 위한 세대진전
	[2-2] 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성 (한국종묘)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 내병성 유전분석 ○ 노균병 내병성 계통 육성 ○ 뿌리혹병 내병성 계통 육성 ○ 기존계통 이용 가을배추 품종육성 ○ 도입 유전자원 가을배추 품종육성 	<ul style="list-style-type: none"> ○ FI: 675 립, F2: 4,004 립 PI: 1,690 립 확보(일부 유전분석에 사용) ○ F4 세대진전 중(F3 총 389계통) ○ 단인자 우성으로 분석됨 ○ UKXCRA, CRHG-R 등 15분리계통 선발 ○ 저항성계통 19점 마커이용 선발 ○ 일본 수퍼CR 품종X보유계통 16계통 분리 ○ 사강배추 품종보호출원 ○ 유전자원 25점 분리, 소포자배양 2품종
	[2-3] 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 뿌리혹병균 수집 ○ SSI 균주 대량 확보 ○ 국내 균주의 특성 분석 ○ 저항성 관련 유전자 탐색 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 강원도 및 충남 등지에서 50점 이상 수집 ○ 각 지역 중 피해가 심한 지역을 기점으로 SSI 균주 확보 ○ SSI균주를 이용한 race의 동정 ○ 기 보고된 저항성 마커와의 비교
	[2-4] 배추 뿌리혹 병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동 배추 품종육성 (농협종묘센터)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 수집평가 10점 이상 ○ 마커 활용 계통선발 10점 이상 ○ 교배조합 작성 10조합 이상 ○ 약배양 순계육성 50점 이상 ○ 지역적응성시험 2개 지역 ○ 마커개발용 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 21점 수집 ○ 52점 검정, 저항성 13점 선발 ○ 134점 작성 ○ 62점 육성 ○ 2개 지역 실시 ○ 집단양성용 12계통의 P1, P2, F1, F2, BC1P1, BC1P2 유전집단작성 및 저항성 검정을 통한 4부류 race분류
	[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 환경 스트레스 반응 유전자(AOX) 연관 마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 배추작물에서 환경 스트레스 연관 유전자인 AOX 합성 유전자를 대상으로 다형성을 찾아 3개 분자 마커로 개발 및 유전자 지도 위치 확인
	[2-6] 내서성 유전 분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수집 유전자원의 특성조사(15점) ○ 내서성 계통육성(25계통) ○ 조합작성(100조합) 및 선발 ○ 내서성 마커개발용 집단양성(600여개체) ○ 시험재종 및 지역적응성 시험(2지역) ○ 품종등록(1품종) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고온기 하우스 2회, 고행지 1회 특성 평가 ○ 세대진전 및 계통선발(25계통) ○ 기 보유 내서성 계통을 Tester로 하여 조합작성(125조합) 및 선발 ○ 집단양성(2품종, 300여개체) ○ 고행지 재배시험(150계통 및 조합) ○ 품종등록(등록1, 등록예정1)

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	○ 표적 유전자 선발과 클로닝	○ RCB(조기개화)와 Chiifu(만기개화)를 이용한 microarray 수행 ○ 후보 유전자 11개 추가 선발 ○ 유전자 클로닝과 염기서열 분석 일부 완료
	[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 품배추 품종 육성 (우리종묘)	○ 유전자원 수집 및 특성검정 ○ 우량 계통육성 ○ F ₁ 조합작성 및 선발시험 ○ 뿌리혹병 내병성 계통육성 ○ 개화관련 마커개발용 집단양성	○ 유전 22점 수집 및 특성검정완료 ○ 292계통을 차검하여 182개체선발 ○ 34조합 작성 및 차검 ○ Crb 마커로 192계통 검정 ○ 종자분양2점, 배추시료100점 제공
	[3-3] 배추 음성불임성 마커 개발 (순천대학교)	○ CMS 종류별 특이적 분자마커 개발 ○ CMS와 MF의 구분 마커 2종, ogura type CMS 특이적 마커 1종, polima type CMS 특이적 마커 2종, komatsuna CMS 특이적 마커 1종 이상 개발 ○ CMS계통의 염색체 게놈 유전자 근방영역의 유전자 3종 이상 해석 ○ 배추 우량 CMS 계통(BC ₄ F ₁) 육성 - A친 4계통, B친 2계통 이상 교배 ○ 애기장대 GMS 유전자(UGPase)의 단일변이체의 표현형 관찰, 이중변이체 작출 및 표현형 관찰 및 기능해석	○ CMS와 MF의 구분 특이적 마커 2종 선발 (<i>atpA</i> , <i>orf324/orf305</i>), Ogura type CMS 특이적 마커 3종 선발 (<i>orf138</i> , <i>trnFM/atpA1</i> , <i>trnFM/orfE2</i>), Polima type CMS 특이적 마커 5종 선발 (<i>orf256</i> , <i>orf220</i> , <i>orf222</i> , <i>orf220/orf222</i> , <i>orf240</i>) Komatsuna CMS 특이적, 마커 2종 선발 (<i>trnFM/del</i> , <i>trnFM/atpA2</i>) ○ <i>matK</i> , <i>rbcL</i> 및 <i>accD</i> 유전자 PCR용 primer 디자인(충남대 염색체 DNA 염기 분석 정보활용), Komatsuna CMS 특이적 마커 선발(<i>cpp02/cpp03</i>) ○ Komatsuna CMS를 이용한 속도랑 배추계통 육성을 위해 A친 6계통 B친 4계통을 저온 처리 후 교배(BC ₄ F ₁) ○ 애기장대 UGPase 1, 2 유전자의 T-DNA 삽입 변이체 해석 UGPase 1, 2 유전자의 이중변이체 제작 후 표현형 관찰, 발현 해석, 배추로 도입을 위한 강발현 벡터 및 RNAi 벡터 구축
	[3-4] 음성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성 (바이오브리딩연구소)	○ 계통 검정 ○ 계통 육성(소포자 배양) ○ 내병성 검정 ○ F ₁ 조합 검정	○ DH 563 계통의 포장검정 및 바이러스병 마커(SSR-3) 검정에 의한 바이러스병 양질 내병성 계통 선발 ○ 배추 뿌리혹병의 방림균주(병원성 극강) 내병성 등 8개 F ₁ 조합의 소포자 배양에 의한 순계육성 ○ 주요 재료 및 육성된 신 계통의 바이러스병 내병성 유무를 SSR-3 마커로 검정 ○ 병원성이 강한 배추 뿌리혹병의 방림균주에 대한 유전양식 구명 ○ 소포자 유래 계통 및 주요 신 도입재료의 방림균주에 대한 내병성 검정 ○ 여름(7월 20일 파종)과 가을계배(8월 15일파종)의 생산력을 검정. 선발 조합의 불 검정

다. 3차년도

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
3차년도 (2009)	[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	○ 배추 유전체 정보를 이용한 대량의 유전자 연관 분자 마커 개발 ○ 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유용 형질 관련 유전자좌들의 효율적 탐색 도모 ○ 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용한 품종에서의 형질 진단 서비스	○ 분자마커 개발 (목표개수: 350개) - Genome-wide SSR 프라이머 - EST-SSR 프라이머 - Genome-wide Indel 마커 ○ 분자마커와 표준 유전 집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성 ○ 유전자 지도를 기반으로 유용 형질 관련 유전자좌들의 탐색 ○ 소포자 배양 기술 확립 및 내혼계 생산 ○ 분석서비스 - 무사마커병 연관 마커 TCR01, TCR_05, TCR_09 이용하여 종묘 회사에서 의뢰하는 식물에서 무사마커 저항성 인자가 있는지를 검정
	[1-2] 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스 (충남대학교)	○ 분석 방법의 매뉴얼화 ○ 대량 분석방법확립 ○ 정량 서비스	○ 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 일반 성분 분석 매뉴얼화 ○ Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocyanidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 매뉴얼화 ○ Spectrophotometer를 이용하던 방법에서 ELISA나 HPLC를 이용한 분석법으로 개량 함으로써 대량의 샘플을 빠른 시간에 분석 가능하게 만든다. ○ 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 기타 일반 성분 분석 ○ Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocyanidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 ○ 300품종 이상/2000항목 이상 분석
	[1-3] 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성 (충청남도 농업기술원)	○ 유전자원 특성검정, 성분분석 ○ 유전분석 집단 양성	○ 36종 형태적 특성, 내동성 등 조사 ○ 소포자 배양 13종 ○ 성분분석 54종 ○ 37 교배조합 작성

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[2-1] 노균병 저항성 분자 마커 개발 (전남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> BSA 다형성 탐색 및 marker 개발 유전자 지도 작성 참여 기업 배추 계통 및 시판 품종의 노균병 저항성 스크린 유전자지도 작성용 집단 육성 (추가수행) 	<ul style="list-style-type: none"> SSR marker 탐색 저항성 특이적 밴드의 염기서열 분석 선발된 RAPD marker 검정 및 co-dominant한 marker로의 전환 양 극단의 bulk DNA 간 cDNA library 작성 및 ESTs 분석 F4 계통을 이용한 기초 유전자 지도 작성 실내 및 노균병 스크린 환경 조성 소포자배양을 통한 DH line형성 RIL 집단개발을 위한 세대진전
	[2-2] 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성 (한국종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원의 수집 및 특성 검정 노균병 내병성 유전분석 집단양성 노균병 내병성 계통의 육성 무사마귀병 내병성 계통 육성 기존계통 이용 가을배추 품종육성 도입 유전자원 이용 배추품종육성 	<ul style="list-style-type: none"> 菊籠 등 38점 특성 검정 F6-188계통 세대 진행시킴 75계통 중 13점 저항성 계통 확인 일본 수퍼CR 품종 분리계 26점 검정시험 2009년 가을: 100점 성검 2점 선발 09년 2품종 소포자배양-조합작성
	[2-3] 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 국내 뿌리혹병균의 race 변이 원인 분석 저항성 후보 유전자 선발 저항성, 감수성 집단 교배를 통한 F₂ 집단 확보 중 특이적 프라이머 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 대표지역의 race의 지속적 분석 M6, M12 집단을 이용한 유전자 지도 작성 F₂ 집단 확보 3 set의 프라이머 개발 후 최적의 프라이머 선발
	[2-4] 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동 배추 품종육성 (농협종묘센터)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원 수집평가 10점 이상 마커 활용 계통선발 10점 이상 교배조합 작성 10조합 이상 약배양 순계육성 50점 이상 지역적응성시험 2개 지역 마커개발용 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> 33점 수집 27점 검정, 저항성 9점 선발 592점 작성 64점 육성 2개 지역 실시 2계통 유전분석 및 집단양성
	[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 환경 스트레스에 반응하는 배추 EST를 대상으로 연관마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 배추작물에서 고온 및 저온 스트레스에 크게 반응하는 유전자를 발굴하고 대상 유전자에 연관된 다형성을 찾아 24개의 분자 마커로 개발
	[2-6] 내서성 유전 분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 내서성 계통육성 교배조합작성 마커개발용 집단양성 및 표현형 검정 지역적응성시험 원종증식 및 종자생산 품종등록 	<ul style="list-style-type: none"> 세대진전 및 계통선발(90계통) 성숙모본 및 미숙모본 100여계통 기 보유 내서성 계통을 Tester로 하여 조합작성(200조합) F3 집단양성(150개체) 감수성 계통과 저항성 계통의 인공교배 고행지시험(100조합) 준고행지시험(100조합) 하우스내 소형 망실 설치, 벌 이용, CO₂ 처리 품종보호출원(1)

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자클로닝과 염기서열 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 광주기관련 유전자를 선발하기 위하여 애기장대 집과 배추 집을 활용 유전자의 추가 선발과 염기서열 분석 PCR 프라이머 제작과 검정 일부 수행
	[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성 (우리종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 우량 계통육성 F1 조합작성 및 선발시험 뿌리혹병 내병성 계통육성 지역 적응시험 	<ul style="list-style-type: none"> 305계통 차검하여 188계통 선발 26조합 작성 및 차검 100계통 검정시험(강릉군주, race9) 4조합 중국 현지시험
	[3-3] 배추 응성불임성 마커 개발 (순천대학교)	<ul style="list-style-type: none"> CMS 종류별 특이적 분자마커 개발 CMS와 MF의 구분 특이적 마커 2종, Ogura like type CMS 특이적 마커 1종, Polima type CMS 특이적 마커 2종, Saco CMS 특이적 마커 1종, SNU3 CMS 특이적 마커 1종 이상 개발 CMS계통의 염록체 게놈 유전자 근방영역 후보 유전자 3종 이상 분석 및 염록체 게놈을 이용한 CMS 구분 마커 개발 배추 우량 CMS 계통 (BC4F₁) 육성을 위한 반복친 4계통 이상 교배 	<ul style="list-style-type: none"> CMS와 MF의 구분 특이적 마커 3종 개발 (<i>BramsA</i>, <i>BramsB1</i>, <i>BramsB2</i>), Polima type CMS 특이적 마커 3종 개발 (<i>BramsE</i>, <i>BramsF</i>, <i>BramsH2</i>), Ogura like type CMS 특이적 마커 1종 개발 (<i>BramsC</i>), Saco CMS 특이적 마커 1종 개발 (<i>BramsH1</i>), SNU-3 CMS 특이적 마커 1종 개발 (<i>BramsK1</i>) <i>matK</i>, <i>rbcl</i> 및 <i>accD</i> 유전자 primer 디자인 (충남대 염록체 DNA염기 분석 정보 활용), SNU-3 CMS 특이적 마커 1종 개발 (<i>BramsK2</i>) SNU-3 CMS를 이용한 속노랑 배추 계통 육성 (BC4F₁)을 위해 반복친 4계통(SN129, SN191, JA99, JB96) 이용
	[3-4] 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종육성 (바이오브리딩연구소)	<ul style="list-style-type: none"> F1 조합 검정 및 선발 복합내병성계통육성 (소포자 배양) TuMV연관마커 개선 응성불임성 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> 봄, 여름, 가을 검정 후 선발 DH계통 육성을 위한 소포자 배양 DH계통의 복합내병성 검정 및 우수 계통 선발(바이러스병 내병성SSR 마커 이용) 인공집종(방림군주) 및 자연발병(평창군주)에 의한 뿌리혹 내병성계통과 개체 선발 기존 마커 KS10960의 유전적 거리 3.3cM보다 더 가까운 마커 개발 BC2F1 세대 3계통을 BC3F1 세대로 진전 신규 우수 2계통의 BC1F1세대 진전 BC2F1 세대 3계통의 F1조합 작성

라. 4차년도

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
4차 년도 (2010)	[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 유전체 정보를 이용한 대량의 유전자 연관 분자 마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> 배추 유전체 염기서열 완성으로 추후 다양한 내흔계에 대한 re-sequencing을 통한 대량 분자마커 개발 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성 목표 유용 형질 관련 유전자좌들의 효율적 탐색 도모 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용한 품종에서의 형질 진단 서비스 배추 종자산업에 있어서 배추 신종자 개발과 보급의 경제적 효과 (위탁과제) 	<ul style="list-style-type: none"> 배추 내흔계 9점 re-sequencing re-sequencing으로 확보한 염기서열 정보를 이용하여 gene 및 SNP prediction SNP 마커를 high-throughput genotyping 하기 위한 조건 확립 배추 육종을 위한 표준 교밀도 지도 작성 필수 목표 형질 분자 마커들의 표준 유전자지도 안으로의 통합 소포자 배양 기술 확립 및 내흔계 생산 배추 유전체에서 miRNA 조사 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용하여 종자회사로부터 분석 의뢰 시 서비스 수행 <ul style="list-style-type: none"> 무사마귀병 연관 마커 TCR01, TCR05, TCR09 이용하여 종묘회사에서 의뢰하는 식물에서 무사마귀 저항성 인자가 있는지를 검정 배추 종자산업현황 검토 배추육성품종의 경제성 분석
	[1-1 위탁1] 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 신종자의 실수요자인 생산자들의 신종자에 대한 경제적 가치 측정 방법 및 분석모형 도출 배추생산자들을 대상으로 한 설문조사를 통해 신종자의 경제적 가치 도출 배추 신종자의 보급 및 이용과 관련된 생산자들의 인식 조사로 신종자의 보급 활성화 방안 모색 	<ul style="list-style-type: none"> 조건부가치측정법을 중심으로 다양한 설문조사유형에 대한 검토를 통해 적절한 유형 도출 설문조사결과를 토대로 생산자들의 배추 신종자에 대한 경제적 가치 도출 설문조사 결과를 바탕으로 효과적인 배추 종자 개발 방향과 보급 방향 제시
	[1-1 위탁2] 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석 (순천대학교)	<ul style="list-style-type: none"> FL-cDNA Agrobacterium 제작 	<ul style="list-style-type: none"> Agrobacteria library로부터 400 clone 배양 Vector 특이적 primer를 이용한 colony PCR에 의한 insert 확인 Binary vector에 삽입된 유전자 의 크기 분석

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[1-2] 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 분석 방법의 매뉴얼화 대량 분석방법확립 정량 서비스 	<ul style="list-style-type: none"> 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 일반 성분 분석 매뉴얼화 Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocyanidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 매뉴얼화 Spectrophotometer를 이용한 방법에서 ELISA나 HPLC를 이용한 분석법으로 개량 함으로써 대량의 샘플을 빠른 시간에 분석 가능하게 만든다. 수분, 회분, 섬유질, 조단백질, 당함량, 펙틴, 조지방, 유리 아미노산, 질산염, chlorophyll, cellulose, vitamin C, vitamin E 등 기타 일반 성분 분석 Carotenoid, glucosinolate, flavonol, antocyanidin, phenolic acid 등 기능성 성분 분석 300품종 이상/2000항목 이상 분석
	[1-3] 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전체단 양성 (충청남도 농업기술원)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원 특성검정 유전분석 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> 일본 도입 등 76종 특성조사 72종 성분분석 선발계통 17종, 교배계통 11종 등 소포자 배양
	[2-1] 노균병 저항성 유전자 연관 분자표지 개발 (전남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 노균병 저항성 유전자 연관 분자표지 개발 노균병 저항성 유전자 연관 유전자 지도 작성 	<ul style="list-style-type: none"> 노균병 저항성 연관 RAPD marker 탐색 연관 RAPD marker를 SCAR marker로 전환 배추의 Reference linkage map을 이용한 노균병 저항성 연관 분자표지 개발
	[2-2] 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성 (한국종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원의 수집 및 특성 검정 노균병 내병성 유전분석 집단양성 노균병 내병성 계통의 육성 	<ul style="list-style-type: none"> 紅心娃娃菜 등 총 46점 특성 검정 F7세대 130계통 세대 진행-마커개발 25점 포장검정 저항성 7점 선발 F7세대 130계통의 마커검정 -66계통 선발 고정, 분리계통 265 점 마커검정11계통선발

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
		<ul style="list-style-type: none"> 무사마귀병 내병성 계통 육성 가을배추 품종육성 	<ul style="list-style-type: none"> 복합 저항성(노균병+무사마귀병) : 4점 육성 의성군주로 33계통 집종시험 : 8계통 선발 채소병리검정사업단 40점 집종시험 의뢰 - 18점 선발 한설노랑, 외와쌈, CR 황옥엇가리 3품종 품종보호출원
	[2-3] 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구	<ul style="list-style-type: none"> Race 분석을 통한 국내 뿌리혹병균의 특성분석 저항성계통에서 저항성 관련 후보 유전자 선발 종 특이적 primer의 개발을 통한 병원균 동정용 분자마커 현장 적용 실험 	<ul style="list-style-type: none"> SSI군주를 이용한 정확한 race의 확인 및 새로운 race생성 기작 연구 BAC library screening 을 통한FPC 수행 RT PCR을 이용한 특이성 검정
	[2-4] 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동 배추 품종육성 (농협종묘센터)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원 수집평가 10점 이상 마커 활용 계통선발 10점 이상 교배조합 작성 10조합 이상 약배양 순계육성 50점 이상 지역적응성시험 2개 지역 마커개발용 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> 35점 수집 59점 검정, 저항성 11점 선발 511점 작성 52점 육성 2개 지역 실시 1계통 유전분석 및 집단양성
	[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 계통, '지부'와 '권심' 교배를 이용하여 내서성 연관 마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 배추 계통 연구에 사용되는 계통 '지부'와 내서성 계통으로 알려진 '권심'계통을 이용하여 내서성 QTL 연관 분자 마커를 개발 및 유전자 지도 작성 완료.
	[2-6] 내서성 유전 분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 내서성 계통육성 교배조합작성 마커를 활용한 계통 및 조합선발 염기서열 분석 지역적응성시험 품종등록 	<ul style="list-style-type: none"> 세대진전 및 우수 계통 선발(100 계통) 성숙모본 및 미숙모본 150계통 내서성 우수 계통을 Tester로 하여 조합작성(200조합) 유전양식을 활용한 20여 조합 작성 내서성계통 유전분석 P1, P2, F1 2-5과제에 시료 제공 F3개체의 표현형 검정 실시 염기서열 정보 확보 및 SNP 위치 prediction 고행지 재배시험(100조합) 준고행지 재배시험(100조합) 품종보호출원(1)

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자 염기서열분석과 마커개발을 위한 PCR수행 	<ul style="list-style-type: none"> 모든 유전자에 대한 염기서열 분석 완료 유전자 발현 분석 완료 마커 개발을 위한 프라이머 작성과 검정 수행
	[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성 (우리종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 우량 계통육성 F1 조합작성 및 선발시험 뿌리혹병 내병성 계통육성 지역 적응시험 채종시험 	<ul style="list-style-type: none"> 426계통을 차감하여 234개체 선발 32조합작성 및 차검 236계통 집종시험(강릉군주, race9) 42계통 집종시험(연천군주, race2) 4조합 현지 적응시험(2차시험) 5품종 채종시험
	[3-4] 응성불입관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종육성 (바이오브리딩연구소)	<ul style="list-style-type: none"> F1조합 검정 및 선발 응성불입성 집단 양성 복합내병성계통육성 (소포자 배양) 	<ul style="list-style-type: none"> 봄, 여름, 가을 검정 선발 CMS BC3F1의 특성조사 및 BC4F1 세대 진전 CMS BC3F1를 이용한 F1의 특성 조사 DH계통 육성을 위한 소포자 배양 DH계통의 복합내병성 검정 및 우수 내병성 계통 선발

마. 5차년도

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
5차 년도 (2011)	[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 유전체 정보를 이용한 대량의 유전자 연관 분자 마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> 배추 유전체 염기서열 완성으로 추후 다양한 내흔계에 대한 re-sequencing을 통한 대량 분자마커 개발 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성 목표 유용 형질 관련 유전자좌들의 효율적 탐색 도모 	<ul style="list-style-type: none"> 배추 내흔계 9집 re-sequencing re-sequencing으로 확보한 염기서열 정보를 이용하여 gene 및 SNP prediction SNP 마커를 high-throughput genotyping 하기 위한 조건 확립 배추 육종을 위한 표준 고밀도 지도 작성 <ul style="list-style-type: none"> 지부x권십 DH 유전집단 이용 * 배추의 EST 염기서열 기반하여 유전자 관련하여 기 개발한 SSR 마커를 이용하여 지도 작성 필수 목표 형질 분자 마커들의 표준 유전자지도 안으로의 통합 <ul style="list-style-type: none"> 지부xRCBr 교배로 만든 F2 집단을 이용하여 개화형질 관련 유전자좌 탐색 뿌리혹병 저항성 계통으로 만든 유전집단으로 지도 작성 소포자 배양 기술 확립 및 내흔계 생산 배추 유전체에서 miRNA 조사 목표형질과 관련하여 개발된 분자마커를 이용하여 종자회사로부터 분석 의뢰 시 서비스 수행 <ul style="list-style-type: none"> 무사마귀병 연관 마커 TCR01, TCR05, TCR09 이용하여 종묘회사에서 의뢰하는 식물에서 무사마귀 저항성 인자가 있는지를 검정 배추 종자산업에 있어서 배추 신종자 개발과 보급의 경제적 효과 (위탁과제)
	[1-1 위탁1] 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 신종자의 수용 및 지속적 사용에 관한 분석모형 도출 설문조사를 토대로 기술수용모형 분석을 통한 신종자 수용 및 지속적 사용에 영향을 미치는 요인 파악 분석결과를 토대로 배추 신종자의 효과적인 확산을 위한 방안 마련 	<ul style="list-style-type: none"> 기술수용모형(TAM) 등 선행 연구결과들을 토대로 적절한 분석모형 도출 배추 생산자 103명을 설문조사하여 신종자 수용 및 지속적 사용과 관련된 가설을 설정하고 검정함으로써 요인 규명 관련 가설검정 결과를 토대로 종자 홍보와 용이성 등을 중심으로 신종자의 수용 및 지속적 사용을 확산시키는 것이 효과적임을 규명

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[1-1 위탁2] 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석 (순천대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 애기장대로의 형질전환 	<ul style="list-style-type: none"> Flower dipping법에 의한 형질전환 Binary vector 특이적 primer를 이용한 형질전환체의 insert 확인 FL-cDNA를 이용하여 작제된 binary vector의 애기장대에 형질전환(계속) 도입유전자의 insert 확인 형질전환체의 homo화 형질전환체의 표현형 분석 표현형을 나타내는 변이체에 대한 원인 유전자의 분석
	[1-1 위탁3] 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사 업단 미래 발전 방안 기획연구 (한국생명공학연구원)	<ul style="list-style-type: none"> 1단계 5년간 사업에서 도출된 우수 기초연구를 토대로 2단계 사업단의 미래전략 도출 국내외 산업 동향 분석을 통한 사업단 기초연구의 미래 발전 방안 전략 도출 	<ul style="list-style-type: none"> 사업단의 현황 분석 전문 DB 분석을 통한 산업 동향 분석 'Golden Seed' 프로젝트와의 연계성 마련 * 본 기획의 범위 : 배추 종자 관련 기술 및 산업에 국한하여 진행
	[1-3] 주요 유전형 질 탐색을 위한 유 용 유전집단 양성 (충청남도 농업기술원)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원 특성검정 유전분석 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> DH 라인 등 177종 특성평가, 일본 도입종 DH라인 등의 성분분석 156종 마커이용 병저항성 검정 DH라인 660종 총 125,669립 채종
	[2-1] 노균병 저항 성 분자 마커 개발 (전남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 노균병 저항성 유전자연관 고밀도 지도 작성 육종계통 대상 신규 저항성 locus 기초자료 확립 	<ul style="list-style-type: none"> 배추 유전체 정보 및 <i>Arabidopsis</i>와의 synteny를 이용하여 노균병 저항성 연관 고밀도 지도 작성 육종계통 및 유전자원을 대상으로 신규 노균병 저항성 locus 탐색을 위한 기초자료 확립
	[2-2] 노균병 저항 성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성 (한국종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 노균병 내병성 유전분석 집단 양성 노균병 내병성 계통의 육성 무사마귀병 내병성 계통 육성 가을배추 품종 육성 	<ul style="list-style-type: none"> F7 세대 계통의 노균병 검정시험 : 마커검정 및 포장검정 선발된 계통의 고정 - 다양한 유전자원 수집, 평가 및 신계통 육성에 이용 선발된 계통의 고정 - 다양한 유전자원 수집, 평가 및 신계통 육성에 이용 설화월동배추 품종보호출원
	[2-3] 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저 항성 분자 마커 개 발에 관한 연구 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 종 특이적 프라이머의 현장 적용 실험 저항성 관련 분자표지 MAS의 실용화 국내 뿌리혹병균의 특징 조사 	<ul style="list-style-type: none"> Real time PCR에서의 민감도 측정 및 토양에서의 병원균 동정 새로운 저항성 분자마커의 개발 새로운 race의 생성 기작 및 병원성의 변화 조사

구분	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
	[2-4] 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동 배추 품종육성 (농협종묘센터)	<ul style="list-style-type: none"> 유전자원 수집평가 10점 이상 마커 활용 계통선발 10점 이상 교배조합 작성 10조합 이상 약태양 순계육성 50점 이상 지역적응성시험 3개 지역 마커개발용 집단 양성 	<ul style="list-style-type: none"> 26점 수집 32점 검정, 저항성 9점 선발 489점 작성 35점 육성 3개 지역 실시 집중시험 및 분석용 종자제공
	[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 배추 계통 '92'와 '93' 교배를 이용하여 내서성 연관 마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 현대 종묘에서 내서성 품종 육성에 이용하고 있는 배추 계통, '92'와 '93'을 이용하여 내서성 QTL 연관 분자 마커를 개발 및 유전자 지도 작성 완료.
	[2-6] 내서성 유전 분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 내서성 계통육성 교배조합작성 마커를 이용한 계통 선발 지역적응성시험 품종등록 	<ul style="list-style-type: none"> 세대진전 및 우수 계통 선발(120 계통) 성숙모본 및 미숙모본 150계통 내서성 우수 계통을 Tester로 하여 조합작성(200조합) 유전양식을 활용한 30여조합작성 내서성계통 유전분석 P1, P2, F1 2-5과제에 시료 제공 F3개체의 표현형 검정실시 고랭지 재배시험(100조합) 준고랭지 재배시험(100조합) 품종보호출원(1), 생산판매신고(1)
	[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> 개화관련 마커 개발과 특허 출원 	<ul style="list-style-type: none"> 분자마커 개발을 위한 프라이머 작성과 PCR 검정 완료 두 개의 유전자를 이용한 개화관련 및 추대관련 마커 개발 두 건의 특허출원 완료
	[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성 (우리종묘)	<ul style="list-style-type: none"> 우량 계통육성 F₁ 조합작성 및 선발시험 뿌리혹병 내병성 계통육성 지역 적응시험 채종시험 품종등록 	<ul style="list-style-type: none"> 317계통을 차검하여 181개체 선발 40조합작성 및 차검 234계통 집중시험(강릉군주, race9) 120계통 집중시험(연천군주, race2) 3조합 현지 적응시험 12조합 채종시험 완료 품종보호권등록 2품종, 보호출원 1품종
	[3-4] 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종육성 (바이오브리딩연구소)	<ul style="list-style-type: none"> F1조합 검정 및 선발 응성불임성 집단 양성 복합내병성계통육성 (소포자 배양) 품종등록용 종자 증식 	<ul style="list-style-type: none"> 봄, 여름, 가을 검정 선발 CMS BC3F1 및 BC4F1의 특성조사 및 세대 진전 CMS BC4F1을 이용한 F1의 특성 조사 DH계통 육성을 위한 소포자 배양 DH계통의 복합내병성 검정 및 우수 내병성 계통 선발 품종등록을 위한 2조합 F1 증식

2. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 평가

구분	평가의 착안점	평가
[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	<p>[1차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> 구축된 대용량의 In Silico 분자 마커 개발 시스템에서 분석 프로세스는 합리적인가 배추 gene ontology 시스템 개발을 접근법이 타당한가 목표 개수에 근거하여 분자 마커가 개발되었는가 개발된 분자 마커를 이용하여 지부 x원심의 RI 집단을 이용하여 유전자 지도가 작성되었는가 <p>[2차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> 목표 개수에 근거하여 분자 마커가 개발되었는가 개발된 분자 마커를 이용하여 지부 x원심의 RI 집단을 이용하여 유전자 지도가 작성되었는가 * 유전자 지도를 기반으로 유용 형질 관련 유전자좌들의 탐색 목표형질과 관련하여 분자마커를 이용하여 품종에서의 형질 진단 서비스가 효율적으로 진행되었는가 <p>[3차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> 목표 개수에 근거하여 분자 마커가 개발되었는가 개발된 분자 마커를 이용하여 지부 x원심의 RI 집단을 이용하여 유전자 지도가 작성되었는가 * 유전자 지도를 기반으로 유용 형질 관련 유전자좌들의 탐색 목표형질과 관련하여 분자마커를 이용하여 품종에서의 형질 진단 서비스가 효율적으로 진행되었는가 	<ul style="list-style-type: none"> key-points를 모두 포함하는, 대용량의 정보를 분석하기에 합리적인 경로로 분석이 진행되어 매우 우수함. 진화거리가 매우 가깝고 유전체 구조가 유사하며 유전체 연구가 상당히 진척된 예기 장대와의 비교 분석은 결과 도출에 유리함 총 100개의 마커 개발 계획으로 전체 190개의 마커를 개발하여 초과실적을 얻었음. 개발된 분자 마커를 이용하여 유전자 지도 작성을 수행하였음. 총 300개의 마커 개발 계획으로 전체 350개의 마커를 개발하였음. 개발된 분자 마커를 이용한 유전자 지도 작성으로 총 205 개의 분자마커가 10 개의 큰 연관그룹으로 확인되었다. 배추의 형태적 특성 분석을 위한 기반 조사, 유전자적 응성불임 마커의 개발, 결구 크기에 대한 유전자적 분석이 수행되었음. 뿌리혹병병 저항성을 마커를 분석하였으며 총 445건을 수주, 건당 5,000원에 수행하였음. 총 350개의 마커 개발 계획으로 전체 지부와 원심사이의 마커 440개, 지부와 RCB_r 사이의 마커 566개를 개발하여 초과실적을 얻었음. 개발된 분자마커는 유전자 지도 작성에 사용되었다. 개화시기 조절 유전자좌 및 종자의 기름성분에 관한 QTL을 분석하였고, 개화형질 관련 유전자좌 탐색 및 배추의 형태적 특성에 대한 Association mapping을 수행하였음. 뿌리혹병 저항성을 마커를 분석하였으며 총 의뢰샘플 625점 검정하였음.

구분	평가의 착안점	평 가
	<p>[4차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전체 기반으로 하여 분자 마커가 개발되었는가 ○ 개발된 분자 마커를 이용하여 고밀도 유전자 지도가 작성되었는가 ○ 형질 관련 유전자좌들의 탐색을 위한 이용 여부 ○ 목표형질과 관련하여 분자마커를 이용하여 품종에서의 형질 진단 서비스가 효율적으로 진행되었는가 <p>[5차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전체 기반으로 하여 분자 마커가 개발되었는가 ○ 형질 관련 유전자좌들의 탐색을 위한 이용 여부 ○ 개발된 분자 마커를 이용하여 고밀도 유전자 지도가 작성되었는가 ○ 목표형질과 관련하여 분자마커를 이용하여 품종에서의 형질 진단 서비스가 효율적으로 진행되었는가 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 배추 내흔계 9점 re-sequencing으로 확보한 엽기서열 정보를 이용하여 gene 및 SNP prediction, 확보된 유전체 정보를 기반으로 대량의 분자마커를 개발할 ○ 배추의 EST 엽기서열 기반으로 유전자 관련 SSR 마커를 이용하여 고밀도 유전자 지도 작성이 수행되었음. ○ 개화/Glucosinolate 형질 관련 유전자의 QTL 지도화 및 후보 유전자의 발현 분석이 수행되었음. ○ 뿌리혹병 저항성을 마커를 분석하였으며 총 의뢰 샘플 257점을 검정하였음. ○ Re-sequencing을 통하여 확보된 유전체 정보를 기반으로 대량의 분자마커를 개발할 <ul style="list-style-type: none"> - 옥신연관(Aux/IAA) 유전자들 유전체에서 탐색(81개) 및 50K microarray data로 발현정도 확인 (63개)된 유전자에서 SNP 검정 및 230개 마커 set - 개화, 추대, 꼬투리, 종자발달에 관련된 후보유전자 16개를 선발하여 51개 SNP 마커 set - Glucosinolate 생합성 관련 유전자들을 이용하여 227개의 SNP 마커 set - 뿌리혹병(CR) 저항성 형질 연관 하여 43개의 SNP 마커 set - 잎의 엽록소 관련 19개의 SNP 마커 set ○ 개발된 마커는 유전자 지도로 통합되어 고밀도 유전자 지도 작성이 이루어짐. ○ 개발된 마커는 해당 형질의 지표로 형질조사 과정을 단축하여 효율적인 진단 서비스를 제공하고 있음.

구분	평가의 착안점	평 가
	<p>[1-3] 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성 (충청남도 농업기술원)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 특성 검정 수행 여부 ○ 유전집단 양성을 위한 DH라인 육성 및 채종 여부 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 총 375종의 도입 유전자원 및 DH라인 등의 특성을 조사하여 데이터화하고, 현장평가와 성분분석 등을 통하여 유용 유전자원 26종을 선발함 ○ 소포자배양을 통하여 총 660종의 DH라인을 육성하고, 이들을 자식시켜 총 125,669립의 종자를 채종함
	<p>[2-1] 노균병 저항성 분자 마커 개발 (전남대학교)</p> <p>[1차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자지도 작성용 집단 육성 ○ Primer를 이용한 유전집단 순도검사 ○ 노균병 screen 환경 구축 <p>[2차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ BSA 다형성 탐색 및 marker 개발 ○ 노균병 대량 증식 및 유지 기술 확립 ○ 참여 기업 배추 계통 및 시판 품종 노균병 저항성 스크린 ○ 유전자지도 작성용 집단 육성(추가수행) <p>[3차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자 지도 작성 ○ BSA 다형성 탐색 및 marker 개발 ○ 참여 기업 배추 계통 및 시판 품종 노균병 저항성 스크린 ○ 유전자지도 작성용 집단 육성(추가수행) <p>[4차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 저항성 유전자 연관분자표지 개발 ○ 노균병 저항성 유전자 연관 유전자 지도 작성 <p>[5차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 저항성 유전자연관 고밀도 지도 작성 ○ 육종계통 대상 신규 저항성 locus 기초자료 확립 <p>[최종평가]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 저항성 DNA마커 개발 	<p>[1차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 마커 개발용으로 F2, RIL, BCn 등 다양한 유전집단을 개발하였다. ○ 노균병 마커 개발에 사용되는 부모계통의 유전적 순도를 검정하였다. ○ 노균병 검정의 기준을 개발하였다. <p>[2차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ BSA 방법으로 RAPD 마커 1개를 찾았다. ○ 노균병 증식 및 유지법을 개발하였다. ○ 시판 품종의 노균병 저항성 정도를 스크린 하였다. ○ 유전분석에 필요한 유전집단을 추가적으로 개발하였다. <p>[3차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 연관 유전 지도를 작성하였다. ○ 노균병 저항성 마커를 개발하였다. ○ 시판 품종의 노균병 저항성 정도를 스크린하였다. ○ 유전분석에 필요한 유전집단을 개발하였다. <p>[4차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 분자표지마커를 추가로 개발하였다. ○ 노균병 연관 유전자 지도를 작성하였다. <p>[5차년도]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 저항성 유전자와 근접한 위치를 탐색하였다. ○ 신규 저항성 locus 존재유무를 확인하였다. <p>[최종평가]</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 노균병 저항성 마커를 개발하고 특허를 출원하였다.

구분	평가의 착안점	평 가
[2-2] 단추대 복합내 병성 품종 육성 (한국종묘)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원의 수집 및 특성 검정 ○ 노균병 내병성 유전분석 집단 양성 ○ 노균병 내병성 계통의 육성 ○ 무사마귀병 내병성 계통 육성 ○ 기존 계통을 이용한 (가을)배추 품종 육성 ○ 도입 유전자원을 이용한 (가을)배추 품종육성 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1차년도부터 5차년도에 걸쳐 총 17회 수집, 년 평균 약 35점을 수집 조사 평가하였다. ○ 노균병 내병성 유전분석 집단을 최종적으로 F7세대 113계통을 획득하였다 ○ K-186, K-187, K-189, K-190 등 노균병 및 무사마귀병에 저항성인 계통을 육성 하였으며, 유전분석 집단 F7세대 중 저항성인 계통 66점을 육성하였다. ○ 무사마귀병 내병성 계통은 마커검정으로 31계통, 집종시험으로 8계통을 육성 하였다. ○ (가을)배추 품종 육성은 사강 한설노랑 와와삼, CR황우 옛가리 및 설화월동 배추 등 총 5점 품종보호출원하였다.
[2-3] 뿌리혹 병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구 (충남대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 균주의 수집 및 SSI 균주 확립 ○ 종 특이적 프라이머의 개발 ○ 저항성 분자마커의 개발 ○ 지역별 병원균의 근학적 특징 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전국 8개 시도 100여개 포장에서 브로컬리, 무, 배추 등의 뿌리혹병 균주 수집 및 500개 이상의 SSI균주 분리 ○ 총 3개의 프라이머 개발 후, Conventional PCR과 Real time PCR에서 민감도 테스트와 토양에서의 균주 동정 및 민감도 테스트 완료 ○ 농협 종묘에서 제공 받은 M6집단에서 총 3개의 마커가 다형성을 나타내 유전자 지도에 표기 되었고 이들을 공통마커로 하여 인근에 위치하는 마커 9개 추가로 개발 ○ 병원성이 심한 경북 의령, 강원도 방림, 충남 배방 지역에서 race를 확인하여 race1, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16을 발견하였고, 그 중 3, 10, 13, 14, 16은 국내 최초로 SSI를 통해 밝혀진 race이다. 또한 단일 포장 내에 여러 race가 혼재하고 race의 혼재로 인해 병원성이 변하고 새로운 race가 생성될 가능성이 있다는 것을 확인

구분	평가의 착안점	평 가
[2-4] 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성 (농협종묘센터)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수집 유전자원 점수, 육성계통 및 수집 자원의 저항성 검정 및 원예적 형질 평가 여부 ○ 유전집단의 유전분석 여부 ○ 병저항성 마커개발용 집단 양성 및 유전집단 시료제공, F3 집종시험 여부 ○ 약배양 순계 육성 점수 및 저항성 계통 선발 과 원예적 형질 평가 여부 ○ 육성계통의 DNA마커를 활용한 검정여부 및 선발계통 점수 ○ 저항성 재료를 이용한 약배양용 모본 및 월동 배추 및 저항성 F1 조합 작성 여부 및 점수 ○ 월동용 및 여름용 작형의 주산지 적응성 시험을 통한 원예적 형질 평가 및 조합선발, 시 교배 등 실시 여부 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 총 135점의 유전자원을 수집하여 포장특성조사 및 저항성 검정 등을 실시하였으며 활용성이 높은 것은 개체선발 및 계통분리, 약배양 모본 등으로 활용하였다. ○ 저항성의 race가 다른 3계통의 유전분석 및 마커개발용 집단을 양성하여 결과 및 시료 등을 제공하였다. ○ 총 459점을 약배양을 통해 육성하였으며 종자를 획득한 계통은 성능검정 및 저항성 검정 등을 실시하여 유망 계통은 품종 육성에 활용할 것이다. ○ 205점의 계통에 대한 마커검정을 의뢰하여 55점의 저항성 계통을 선발하였다 ○ 저항성 조합 등 총 1,286조합을 작성하여 재배시험으로 성능검정 및 조합선발을 실시하였으며, 우수한 조합은 선발하여 재배시험 등을 실시하여 품종등록을 실시하였다. 월동용 및 여름용은 남해안 및 강원도 고랭지에 재배포장을 임대하여 지역에 맞는 조합 등을 선발하였다.
[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 배추에서 환경 스트레스 관련 유전자에 대한 다형성 마커 개발 유무 ○ 배추 게놈 연구의 표준인 계통, 지부들 포함 하는 내서성 연관 마커 개발 유무 ○ 현대종묘 연구팀에서 내서성 육종에 이용하는 '92'와'93' 계통을 대상으로 내서성 연관 마커 개발 유무 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 환경 스트레스 관련 Trehalose와 AOX 유전자를 대상으로 다형성 마커를 개발하고 특히 고온 및 저온 스트레스에 크게 반응하는 배추 EST를 대상으로 다형성 마커를 개발함. ○ '지부'와 '원심' 교배로부터 RIL 집단을 형성하고 이를 이용하여 내서성 마커 개발함. 하지만 표현형 검사를 두 번 이상 하지 못하였으므로 개발된 마커의 이용가능성을 더 검사할 필요성이 있음. 따라서 '지부'와 '원심' 교배로 만들어진 DH 집단을 대상으로 내서성 연관 마커 개발을 추 후 시도할 필요성이 있음. ○ 종묘회사에서 내서성 배추 육종에 이용이 가능한 계통을 대상으로 내서성 QTL 연관 마커를 개발함. 개발된 내서성 마커가 현대종묘 내서성 품종 육성 프로그램에 바로 사용이 가능하다고 판단됨.

구분	평가의 착안점	평 가
[2-6] 내서성 유전분석 및 마커 개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	○ 수집 유전자원의 특성조사 평가 여부	○ 유전자원 수집(47점) - 소재 및 여름배추 F1품종 ○ 유전자원 특성조사 - 하우스 2회, 고랭지 1회
	○ 내서성 계통육성 여부	○ 340 계통을 전개하여 176내서성 계통선발 - 하우스 내서성검정 - 준 고랭지, 고랭지 현지 검정 - 가을 노지 원예적 특성검정 및 성숙모본 선발
	○ 내서성 조합작성 및 조합성능검정 여부	○ 내서성 804조합작성 - 내서성계통을 이용하여 조합작성 (준고랭지, 고랭지) ○ 804조합성능검정 결과 - 준 고랭지 5조합 선발 - 고랭지 12조합 선발
	○ 내서성 마커개발용 집단양성 여부	○ 내서성 마커개발용 집단양성 F2 260 - 2품종 260점 집단양성 ○ 내서성 마커개발용 집단양성 F3 200 - 1품종 200점 집단양성
	○ 집단양성 F2, F3 표현형 검정 여부	○ 내서성 마커개발용 집단양성 F2 표현형 검정 - F2집단 하우스 표현형 검정 ○ 내서성 마커개발용 집단양성 F3 표현형 검정 - F3집단 하우스 표현형 검정
	○ 시험체종 및 지역적응성 시험 여부(2지역)	○ 조합성능검정에서 선발된 조합 지역 적응성 검정 - 준 고랭지 5조합 지역적응성 검정 (평창군, 정선군) - 고랭지 12조합 지역적응성 검정 (평창군, 정선군)
	○ 뿌리혹병 저항성검정 여부	○ 충남대학에 의뢰하여 591점 뿌리혹병 저항성 검정 - 뿌리혹병 저항성 계통 54점 확인 - 뿌리혹병 저항성 조합 69점 확인
	○ Ca, 베타카로틴 성분분석 여부	○ Ca 분석 - 저장성이 좋은 품종 개발을 위한 검정 ○ 베타카로틴 분석 - 기능성 내서성 배추 품종 개발을 위한 검정
	○ 품종등록 여부	○ 품종보호출원 - 준 고랭지 1품종(위풍당당), 고랭지 2품종(케이티엑스, 범상) ○ 생산판매신고 - 으뜸쌈, 신통플러스

구분	평가의 착안점	평 가
[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	○ DNA 칩 분석을 통한 연구대상 유전자 선발 염기서열 분석 및 분자표지마커 개발	○ 3년에 걸친 DNA chip 분석을 완료하고 분자표지개발용 31개 유전자를 선발하고 염기서열 분석을 완료하였으며, 2개의 개화 및 추대관련 분자마커를 개발하였음
[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구 (우리종묘)	○ 만주대 고품질 품종육성 ○ 내생리장해성 고품질 품종육성 ○ 뿌리혹병 내병성 품종육성	○ "K756" 품종보호권등록 후 종자수출 ○ "K758" 품종보호권등록 후 종자수출 ○ "K925" 품종보호출원 중 2013년 수출예정
[3-4] 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종육성 (바이오브리딩연구소)	○ 계통 육성 ○ 계통 검정 ○ 마커 개발 ○ 응성불임성 계통 육성 이용 ○ 1대잡종 육성	○ 전체 28점을 배양하여 973 계통 육성 3년차까지 배양된 481계통의 특성조사 완료. 선발된 계통 F1품종 육성에 이용. 120% 달성 ○ 전체 2,958점을 검정하여 1차로 989 계통이 선발되었는데 이들은 바이러스 병 또는 바이러스 병과 뿌리혹 병에 복합 내병성을 가지는 유용한 재료이다. 그리고 만주대성 검정으로 21 계통이 선발됨. 이들은 4계성 품종 육성의 재료로 이용될 것이다. 120% 달성 ○ 기존 마커 SSR-3(KS10960)의 교차율 3.3cM 보다 가까운 2.2cM 마커 (SSR-9) 개발 이용. 단 뿌리혹병의 마커 개발 인력 부족으로 중단 : 70% ○ 일본에서 도입된 GCMS와 중국에서 도입된 RCMS가 모두 Ogura CMS이지만 황화 현상이 없었다. 우수 3계통이 BC4F1까지 진전되었으며 BC3F1으로 F1을 작성하여 검정하였다. 한 조합이 우수하여 품종등록코자 종자를 증식하였다. 120% 달성 ○ 5개년 간 494개의 F1 조합을 검정하여 최종적으로 3-5개의 가 선발되었다. 그중 CMS를 이용한 2개 조합을 금년과 내년에 품종등록코자 한다. 100% 달성

제2절 관련분야에의 기여도

1. 기술적 측면

가. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

- 권심, RcBr, 내서성, 내병성(노균병, 뿌리혹병) 형질의 내흔계 9점의 Re-sequencing을 통해 확보된 유전체 염기서열은 reference genome의 유전자 지도에서 SNP 마커 개발에 유용할 것으로 기대한다.
- 또한 RcBr은 야생형 Brassica로 reference genome이 intraspecific으로 genome 간의 다형성이 적은 점을 보완가능하며, 생육시기, 개화 조건에서 기존의 작물과 야생형간의 차이점을 연구하는데 있어 중요한 재료로 이용 될 것이다.
- SNP 마커의 분석을 위한 조건 확립을 통해 high-throughput genotyping이 가능하게 되었다.
- 소포자배양 기술 확립 및 내흔계 생산 기술로, 생산된 내흔계의 육종 소재 공급 및 형질 분석에 사용할 수 있게 되었다.
- 고밀도 유전자 지도 작성 및 데이터베이스 구축으로 육종을 위한 정보에 쉽게 접근 가능하게 되었다.

(1) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

- 배추생산자들의 신종자에 대한 지불용의액(willingness to pay) 정보의 제공으로 종자 개발업체에게는 종자가격 결정기준에 대한 기초자료를 제공하고, 아울러 작형별, 또는 농가특성별로 중요하게 생각하는 종자의 특성을 파악함으로써 향후 효과적인 개발방향을 제시할 수 있을 것으로 판단된다.
- 생산자들의 신종자 이용과 관련된 현황이나 인식, 신종자 수용과 지속적 이용에 영향을 미치는 요인들을 파악함으로써 효율적인 신종자 보급과 홍보 등에 관한 정책 방향 설정에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

(2) 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)

- 배추 유전자의 기능 분석을 효율적으로 수행하기 위해서는 유전체 서열뿐만 아니라 다양한 생물정보 및 실험 데이터들이 필요하다. 배추 유전체의 유전자 예측과 기능 연구를 위한 필수 연구 재료로서 발현유전자(Expressed sequence Tags, ESTs) 분석이 진행되어 왔다. 현재 미국의 국립생물정보센터(NCBI)에는 총 147,217개의 발현유전자가 등록 공개되어 있다. 한편, 해독 완료된 배추 유전체의 단백질 암호화 유전자와 발현유전자를 BLAST 분석할 경우 유전체 유전자 모델과 일치하지 않는 발현 유전자 서열이 존재한다. 1회 염기서열 결정에 따른 유전자 서열의 부정확성 또는 키메라 클론의 생성 등 발현유전자 분석 방법의 문제점에도 불구하고 유전체 유전자 모

델에서 예측되지 않는 발현유전자가 존재한다는 것은 발현유전자 분석이 지속적으로 필요하다는 점을 제시한다. 따라서 본 연구에서 수행된 배추 EST 해석은 배추 구조 및 기능 유전체 연구를 위한 기초 데이터로서 활용가치가 크다고 할 수 있다.

- 배추는 배추속 식물의 A genome 모델로서 배추과 식물 유전 및 유전체 연구의 중심 대상이 되어 왔으며 2011년 다국적 유전체 해독 컨소시엄에 의해 배추의 유전자 영역 약 284Mb에 대한 해독이 완료되었으며 전 염기에 대한 유전자 예측 결과 41,174개의 단백질을 암호화하는 염기서열이 발견되었다. 배추의 유전체 해독이 완료됨에 따라 유전자의 기능을 밝히고 유용유전자를 발굴하여 신품종 개발 등 육종에 활용하기 위한 기능 유전체 연구가 활발히 진행될 것으로 기대된다. 본 연구에서 수행된 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 배추 유전자의 기능해석 및 대량 유용유전자의 발굴은 생명공학적 방법을 이용한 신품종 개발 등에 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

나. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 농업적으로 중요한 기능성 성분 및 일반성분 목표 형질 관련 유전자들을 효율적이고 대량으로 탐색할 제공
- 일부 특정 기능성 성분 생산시스템의 분자마커 개발 지원 및 서비스가 가능
- 저렴하고 정확한 일반 및 기능성 유효성분 비교 정량측정
- 기능성 관련 육종마커 제공

다. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- 유전자원의 특성평가를 통한 육종 소재 및 정보의 체계적인 축적으로 활용도 제고
- 선별된 유용 유전자원의 다양한 DH라인 확보로 경쟁력 있는 품종육성에 기여
- 배추 분자유종 기술 체계 확립을 위한 기초 인프라 구축 및 확장 기반 마련

라. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

- 전통육종에 개발된 마커를 활용한 육종 효율성 제고
- 복합 환경 스트레스 저항성 유전자 다형성 데이터베이스를 확립
- 내병성 품종의 개발로 인한 저농약, 친환경 농업에 기여
- 지방대 중심의 전문 육종 인력 양성

마. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- 다양한 내병성 유전자원의 확보
- 마커들을 이용한 유전자원의 효율적 이용 기술 제고
- 개발된 유전자원들의 다른 작형 품종 개발에 이용
- 많은 다른 배추과 작물(양배추, 브로콜리, 청경채, 무 등)의 품종 개발에도 기여

마. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

- 뿌리혹병균의 대량 증식과 순수 분리 방법 개발을 통해 뿌리혹병의 연구에 박차를 가함
- 뿌리혹병균의 SSI를 이용한 race 분석을 통해 주요 피해 지역의 race를 파악
- 뿌리혹병의 새로운 저장 방법을 이용하여 하나의 뿌리혹으로 지속적인 연구 가능
- 현재 SSI를 이용한 race의 대량 증식이 진행되고 있어 뿌리혹병의 race의 분양이 가능해짐

사. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

- 다양한 배추 뿌리혹병 내병성 유전자원 육성
- 다른 배추과 작물의 뿌리혹병 저항성품종 개발에 기여
- 전통육종에 개발된 분자마커를 활용한 육종 효율성 제고
- 보다 강한 저항성 품종개발 기대

아. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

- 지금까지 배추 작물에 있어서 일반적인 분자 마커의 개발 및 계통 연구가 진행되어 왔다. 이번 연구를 통해 환경 스트레스 관련된 배추 유전자 및 고온 저온 스트레스에 반응하는 EST 등 여러 종류의 주변 환경 스트레스에 관련된 수 있는 배추 유전자 연관 마커를 40개 이상 개발하였으므로 이는 배추작물 및 관련 작물의 관련 유전체 연구에 중요한 기초 자료로 이용될 수 있다고 판단됨. 이 외에도 계획된 연구목표 외에 분자 마커 개발에 필요한 기술 개발(예: sdCAPS) 및 최신기술 도입(예: COS 마커 및 HRM 기술도입) 등으로 배추 분자마커 관련 분야 기술 개발에 역할을 수행하였다.
- 국내 배추 계통을 이용한 내서성 연관 마커의 개발은 내서성 배추 작물 육성 및 환경 스트레스에 연관된 연구에도 기초자료로 활용이 가능하다고 전망된다.

자. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

- 수집된 유전 자료의 특성검정한 자료는 향후 유전자원의 관리 및 육종에 효율적인 이용이 가능할 것이다.
- 내서성 검정방법의 확립은 향후 품종육성에 있어 효율적인 선발 및 육종기간을 단축을 위해 이용할 수 있다.

차. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- Microarray 분석기술은 유용유전자 탐색과 분자표지마커 개발에 공헌한다.
- 배추와 같이 계놈이 3배화된 엽기서열의 분석 기술은 대배체인 작물의 유전체 연구를 이해하는데 기여할 것이다.
- PCR 마커의 개발 기술은 분자표지진단 방법의 혁신을 가져올 것이다.

카. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

- 만추대, 내생리장애, 뿌리혹병 내병성의 계통육성으로 향후 품종육성에 활용할 수 있을 것이다.
- 뿌리혹병 고 저항성 계통육성으로 향후 F1 품종육성으로 배추 재배에 안정성을 기대할 수 있을 것이다.

다. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

배추과 작물의 1대잡종 채종체계를 자가불화합성 대신 응성불임성으로 바꾸게 되면 응성불임성 계통(모계 계통)과 조합친 계통(부계 계통)으로 1대잡종 종자를 채종하게 되는데 이 경우 양친이 노출되더라도 모계 계통을 유지하고 증식하는 계통(유지 계통)이 없으므로 품종 복사가 불가능하게 되므로 품종을 자체적으로 보호할 수 있다. 또한 세포질 응성불임성(CMS) 계통은 육성소재로 활용도가 높고, 동일한 유전기작의 응성불임성인 한 개체만 있어도 다양한 응성불임성 계통을 육성할 수 있으므로 유전기작이 다양한 응성불임성 획득 및 판별이 필요하다. 따라서 이 연구를 통하여 개발된 CMS와 응성가임의 구분 특이적인 마커 및 CMS 유형별 특이적인 마커를 이용하여 정확한 CMS 유형을 알지 못하고 관행적으로 사용되고 있는 종묘회사 보유의 CMS 계통 유형 판별, 이미 보급되고 있는 CMS 1대잡종 및 국내·외에서 수집한 CMS 유전자원의 CMS 유형을 정확히 판별하여 종묘회사에 정보를 제공함으로써 품종 개발에 이용될 수 있게 할 계획이다. 또한, 우량계통에 응성불임성 인자를 도입하기 위해서는 BC6F1정도까지 진행시켜야 하므로 육종에 있어서 많은 시간과 노동력 및 비용이 소요되므로 본 연구에서 개발된 분자마커의 활용은 육종 연한의 단축, 노동력 및 육종비용을 절감에 할 수 있을 것이다.

본 연구에서 개발된 CMS와 응성가임의 구분 특이적인 마커 및 CMS 유형별 특이적인 마커는 배추분자마커 사업단에 기탁되어 종묘회사 차원에서 배추분자마커사업단의 서비스를 활용할 수 있게 하였다.

라. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- 배추에서 개발된 SSR 프라이머를 이용하여 배추의 바이러스병 연관 우수 마커를 개발하였다. 이러한 SSR 프라이머는 앞으로 다른 형질의 마커 개발에도 이용될 수 있음을 나타내는 것으로 이해할 수 있다.
- 본 과제의 수행은 모든 육종재료를 소포자 배양으로 순계(DH line)화 하여 수행하였다. 따라서 육종 연한을 7-8년에서 3-4년으로 크게 단축할 수 있게 되었다. 그리고 지금까지 이론적으로는 가능하지만 실행 상 어려웠던 4계성 품종 육성의 한 방법을 제시할 수 있게 되었다. 앞으로 모든 배추 품종 육성은 소포자 배양 유래의 DH계통을 이용할 수 있도록 서비스 체계를 구축투족 건의하는 바이며 이러한 서비스는 골든씨드 프로그램으로 해외 종자 수출 품종 개발에 큰 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

2. 경제적·산업적 측면

가. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

노균병 저항성 계통과 뿌리혹병 저항성 계통의 유전체 정보는 배추에서 중요 병인 뿌리혹병과 노균병 저항성 형질에 연관하여 마커개발 및 유전자 탐색에 있어 좋은 재료로 이용될 것이다.

나. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- 식품 특성상 우수한 품질을 가진 품종 개발을 가능하게 함으로써 국내·외의 배추 시장성 향상
- 증대된 기능성 성분함유 육종을 통한 명품 배추과 작물 생산
- 저렴한 분석가격으로 육종농가에 도움

다. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- 기능성 물질 고품질 계통을 이용한 신품종 육성으로 새로운 수요 창출
- 첨단 육종 기술을 통한 우수 품종육성 및 세계 종자시장 진출 확대

라. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

- 내병성 품종 개발로 우수 품종육성 확대 및 국제 경쟁력 확보
- 복합내병성 품종 생산으로 농가의 소득 향상
- 국민들에게 보다 안전한 먹거리 제공

마. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- 고부가가치 품종의 개발로 농가 소득 증대에 기여
- 내병성 품종의 개발로 인한 저농약, 친환경 농업에 기여
- 국민들에게 보다 안전한 먹거리 제공
- 외국계 종자회사들과의 경쟁력 제고

바. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

- 종 특이적 프라이머를 이용하여 토양에서도 병원균의 동정이 가능하여 미리 토양에 존재하는 병원균의 존재를 파악하고 대응하여 그 피해를 줄일 수 있음
- 다양한 뿌리혹병 race의 분양을 통해 새로운 품종 개발에 기여할 것으로 예상

사. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

- 내병성 품종 개발로 우수 품종육성 확대 및 국제 경쟁력 확보
- 내병성 품종 개발로 재배면적 확대 및 시장 점유력 증대
- 복합내병성 품종 생산으로 농가 소득 향상
- 수입 농산물에 대한 경쟁력 제고

아. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

우선적으로 현대종묘에서 이용하고 있는 계통을 대상으로 내서성 마커를 개발했으므로 현대 종묘를 포함한 배추 육종 회사에서 품종 육성에 있어서 육성시간의 단축과 노동력의 절감으로 경제적 경쟁력을 확보할 수 있다고 판단됨. 이러한 경쟁력은 영세한 국내 종자회사의 산업을 육성하여 국제적 경쟁력을 다질 수 있다고 판단된다.

자. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

등록된 5품종의 여름배추(준 고랭지 2품종, 고랭지 3품종)는 주요 고랭지 지역의 농가에 공급하여 여름배추 재배에 안정적인 연중 생산체계를 달성하고 계절적 배추 가격의 등락폭을 안정화시키는 물론 고품질 여름배추의 공급으로 소비를 촉진시켜 농가소득의 증대에 기여할 수 있다.

차. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- 개화 및 추대관련 분자마커의 활용을 통하여 심자화과 육종의 기간을 단축하고, 종자 시장에서의 경쟁력을 확보할 수 있다.
- 개발한 분자마커의 기술이전을 통하여 마커의 산업화를 이룰 수 있다.

카. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

- 육성품종의 수출용 종자를 국내생산으로 농가의 소득증대에 기여.
- 육성된 품종의 종자 수출.

다. 옹성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- 세포질옹성불임성을 이용한 품종의 발표로 누구나 품종의 복제가 불가능한 품종을 개발할 수 있는 길이 열렸다.
- 현재 진행 중인 수출용 품종 육성(3-4 품종, 약 90% 진척) 사업은 앞으로 배추 종자의 대 중국수출에 크게 기여할 것이다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 연구개발 성과

1. 연도별 목표

가. 배추의 유전체정보를 이용한 대량의 분자표지개발 및 분자유종시스템 구축

과제명	개발 기술	목표(수준, 성능, 품절)				
		1차년도 (2007-2008)	2차년도 (2008-2009)	3차년도 (2009-2010)	4차년도 (2010-2011)	5차년도 (2011-2012)
[1-1] 대량 유전자 분자표지 발굴 (충남대학교)	분자마커 개발	100	300	350	350	300
	배추 유전자 지도 작성	1차	2차	3차	4차	5차
	분자마커 서비스	시스템 구축	300	500	600	700
	통합 데이터베이스					1
[1-2] 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스 (충남대학교)	일반분석기술 (선진국-미국 대비, %)	80	90	100	100	
	기능성성분분석 기술 (선진국-미국 대비, %) - Carotenoid	90	100	100	100	
	기능성성분분석 기술 (선진국-미국 대비, %) - Glucosinolate	60	80	100	100	
	대량 분석은 통한 분석비용 (기존 상업적 분석기관 대비 가격, %)	-	100	80	70	
	분석을 통한 신제품 정보제공 (건수)	-	1	2	2	
[1-3] 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성 (충청남도 농업기술원)	유전자원 특성검정(계통)	70	50	50	50	50
	유전집단 양성		2종 이상	세대진전	세대진전	세대진전
	DH라인(계통) 확보			10	10	
	품종육성					1

나. 스트레스 저항성 분자마커 개발 및 국내외용 우수 품종 육성

과제명	개발 기술	목표(수준, 성능, 품절)				
		1차년도 (2007-2008)	2차년도 (2008-2009)	3차년도 (2009-2010)	4차년도 (2010-2011)	5차년도 (2011-2012)
[2-1] 노균병 저항성 분자 마커 개발 (전남대학교)	노균병 마커를 이용한 육종연한 단축기술(노동시간 및 재료비)	0%	10%	30%	50%	100%
[2-2] 만추대 복합내병성 품종 육성 (한국종묘)	유전자원의 수집 및 특성 검정	10집	10집	10집	10집	10집
	노균병 내병성 유전분석 집단 양성	20%	40%	60%	80%	100%
	노균병 내병성 계통의 육성	10계통	10계통	10계통	10계통	10계통
	무사마리병 내병성 계통 육성	10계통	10계통	10계통	10계통	10계통
	기존 계통을 이용한 가을배추 품종 육성	50조합	50조합	50조합	50조합	50조합
	도입 유전자원을 이용한 가을배추 품종 육성			30조합	50조합	50조합
	품종 보호출원		1품종		2품종	1품종
[2-3] 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구 (충남대학교)	새로운 SSI의 분류	10점	50점	100여점	120점	150점
	Race의 동정	4점	-	20점	-	111점
	Race의 full sequence	-	-	-	1	-
	저항성 분자마커 개발					9
[2-4] 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성 (농협종묘센터)	수집유전자원 점수	20	21	33	35	26
	마커 활용 계통선발 점수	35	52	27	59	32
	작성 교배조합 점수	36	134	592	511	489
	약태양 순계육성 점수	281	62	64	52	35
	지역적응성시험 지역 수	2	2	2	2	3
	마커개발용 집단 양성			2	1	
[2-5] 내서성 연관 분자 마커 개발 (동국대학교)	품종보호 출원 품종 수	1	1	1		1
	배추 trehalose 합성 유전자 연관 마커 개발	13				
	배추 AOX 합성 유전자 연관마커 개발	3				
	SNP를 위한 제한효소 선정 및 프라이머 제작기술 개발		1			
	고온, 저온에 반응하는 배추 EST 연관 마커 개발			24		
[2-6] 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	배추 내서성 연관 마커 개발 (치부 'x'권심')				6	
	배추 내서성 연관 마커 개발 ('92'x'93')					3
[2-6] 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성 (현대종묘)	내서성 품종 개발			1	1	1

다. F1 종자생산 관련 분자마커 개발 및 국내외용 우수품종 개발

과제명	개발 기술	목표(수준, 성능, 품질)				
		1차년도 (2007-2008)	2차년도 (2008-2009)	3차년도 (2009-2010)	4차년도 (2010-2011)	5차년도 (2011-2012)
[3-1] 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (충남대학교)	배추 DNA 칩을 이용한 microarray 분석	1회	2회	2회		
	유전자 클로닝과 염기서열 분석 (유전자 수) 개화 및 추대관련 분자마커 개발 (특허출원)	17	20	31	11	
[3-2] 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구 (우리종묘)	만추대 고품질 품종육성	- 유전자원 수집 및 특성검정 (12점) - 기존 분리 계통 순화 육성소재용 내온계육성 (3점)	- 계통순화 (원예적형질 : 중록형질, 수량성, 내엽색 등) - 추대성 검정 (20점) - F1조합 작성 (15조합)	- F1조합능력 검정 및 조합 선발시험 : 비닐하우스 내 검정-추대성, 중록형질, 내엽색, 수량성 등 : 15조합 - F1조합 선발 시험 : 5조합	- 예비 선발 조합의 현지적용 연락시험 (2품종 이상) - 생산력 검정 - 선발조합의 확정 (1품종 이상) - 선발조합의 재종시험	- 현지 농가 시교 - 종자생산 - 품종등록(1품종 이상)
	생리장애에 강한 고품질 품종육성	- 유전자원 수집 및 특성검정 (15점) - 기존 분리 계통 순화 육성소재용 내온계육성 (3점)	- 계통순화 (원예적형질 : 중록형질, 수량성, 내엽색 등) - 추대성 검정 (20점) - F1조합 작성 (10조합)	- F1조합능력 검정 및 조합 선발시험 : 비닐하우스 내 검정-추대성, 중록형질, 내엽색, 수량성 등 : 10조합 - F1조합 선발 시험 : 5조합	- 예비 선발 조합의 현지적용 연락시험 (2품종 이상) - 생산력 검정 - 선발조합의 확정 (1품종 이상) - 선발조합의 재종시험	- 현지 농가 시교 - 종자생산 - 품종등록(1품종 이상)
	뿌리혹병에 강한 고품질 품종육성	- 유전자원 수집 및 특성검정 (8점) - 기존 분리 계통 순화 육성소재용 내온계육성 (3점)	- 계통순화 (원예적형질 : 중록형질, 수량성, 내엽색 등) - 추대성 검정 (20점) - F1조합 작성 (10조합)	- F1조합능력 검정 및 조합 선발시험 : 비닐하우스 내 검정-추대성, 중록형질, 내엽색, 수량성 등 : 10조합 - F1조합 선발 시험 : 5조합	- 예비 선발 조합의 현지적용 연락시험 (2품종 이상) - 생산력 검정 - 선발조합의 확정 (1품종 이상) - 선발조합의 재종시험	- 현지 농가 시교 - 종자생산 - 품종등록(1품종 이상)
[3-3] 배추 응성불임성 마커 개발 (순천대학교)	응성불임성 마커를 이용한 응성불임형 구분 마커 개발 (특허출원)	70	90	100		
[3-4] 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성 (바이오브리딩연구소)	계통 육성(소포자 배양) 계통 * () 내는 실제 검정 조합 수	150(456)	200(108)	150(63)	100(356)	100(120)
	유전자원등 계통 검정	30(257)	30(1,145)	30(502)	20(417)	0(637)
	마커 개발	0	0	0(1)	0	0
	응성불임성 계통 육성 (세대진전)	BC2	BC3	BC4	BC5	BC6 (BC4)=5
	1대잡종 육성검정 계통 수	35(62)	35(73)	35(149)	35(227)	30(169)
품종 육성	0	0	0	0	3	

2. 연차별 연구성과 목표 및 달성

(단위 : 건수)

구분		특허		신품종			유전자원 등록	논문		기타
		출원	등록	품종 명칭등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호 출원		등록	SCI	
1차년도	목표	0	0	1	1	1	0	1	1	300건 분석 특성검정70 1118건 분석 특성검정70 단기연수 6건
	달성	0	0	1	1	1	0	0	0	
2차년도	목표	1	0	1	1	1	0	5	7	500건 분석 특성검정50 2000건 분석 특성검정50 단기연수 5건
	달성	2	1	5	1	4	0	3	5	
3차년도	목표	2	0	2	1	2	0	6	5	500건 분석 특성검정50 DH타인10 982건 분석 특성검정82
	달성	7	1	1	1	1	1	8	10	
4차년도	목표	3	1	2	1	2	0	6	4	500건 분석 특성검정50 DH타인10 960건 분석 특성검정72 DH타인채종79
	달성	2	3	7	0	7	0	35	4	
5차년도	목표	2	0	6	2	10	0	9	3	500건 분석 특성검정50 650건분석 특성검정173 DH타인채종81
	달성	9	6	4	1	3	4	11	5	
계	목표	8	1	12	6	16	0	27	20	
	달성	20	11	18	4	16	5	27	24	

* 한 개 논문으로 저자가 중복된 경우 1개 논문으로 적용하였음

* 5차년도 현재 특허 1건과 SCI 논문 8편이 인쇄 및 심사중으로 대부분 곧 발표될 예정임

(이하 세부 성과 목록에는 기재하였으나 성과 집계에는 포함시키지 않았음)

* 4차년도의 유전자원 등록의 경우 뿌리혹병균주의 등록을 의미하는데, 교육과학기술부 국가지정 배추과소재은행에 기탁 등록하였음

3. 논문게재 성과

○ 논문게재 51건 [SCI(E) 27건, 비SCI 24건, (예정 8건)]

순번	발간연도	논문명	저자	학술지명	Vol (No.)	구분
1	2009	Genetics of Clubroot Resistance in <i>Brassica</i> Species	Zhong Yun Piao, Nirala Ramchiery, Yong Pyo Lim	Journal of Plant Growth Regulation	28(3)	SCI
2	2009	SSR and SCAR mapping of a multiple-allele male-sterile gene in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa L.</i>)	Hui Feng, Peng Wei, Zhong-Yun Piao, Zhi-Yong Liu, Cheng-Yu Li, Yu-Gang Wang, Rui-Qin Ji, Shu-Juan Ji, Ting Zou, Su-Ryun Choi, Yong-Pyo Lim	Theoretical and Applied Genetics	119(2)	SCI
3	2009	Comparative Analysis between Homoeologous Genome Segments of <i>Brassica napus</i> and Its Progenitor Species Reveals Extensive Sequence-Level Divergence	Foo Cheung, Martin Trick, Nizar Drou, Paul Wilkinson, Yong Pyo Lim, Jee-Young Park, Soo Jin Kwon, Rod Scott, Chris Town, and Ian Bancroft	Plant Cell	21(7)	SCI
4	2009	Enhancement of tolerance to soft rot disease in the transgenic Chinese cabbage (<i>Brassica rapa L. ssp pekinensis</i>) inbred line, Kenshin	Enkhchimeg Vanjildorj, Seo Young Song, Zhi Hong Yang, Jae Eul Choi, Yoo Sun Noh, Suhyoung Park, Woo Jin Lim, Kye Man Cho, Han Dae Yun and Yong Pyo Lim	Plant Cell Reports	28(10)	SCI
5	2009	Sequenced BAC Anchored Reference Genetic Map that Reconciles the Ten Individual Chromosomes of <i>Brassica rapa</i>	HyeRan Kim, Su Ryun Choi, Jina Bae, Chang Pyo Hong, Seo Yeon Lee, Md. Jamil Hossain, Dan Van Nguyen, Mina Jin, Beomseok Park, Jeawook Bang, Ian Bancroft, Yong Pyo Lim	BMC Genomics	10:432	SCI
6	2009	Complexity of genome evolution by segmental rearrangement in <i>Brassica rapa</i> revealed by sequence-level analysis	Martin Trick, Soo-Jin Kwon, Su Ryun Choi, Fiona Fraser, Eleni Soumpourou, Nizar Drou, Zhi Wang, Seo Yeon Lee, Tae-Jin Yang, Jeong-Hwan Mun, Andrew H Paterson, Christopher D Town, J Chris Pires, Yong Pyo Lim, Beom-Seok Park and Ian Bancroft	BMC Genomics	10:539	SCI

7	2010	Genetics of Clubroot Resistance in Brassica Species	Zhong Yun Piao, Nirala Ramchiery, Yong Pyo Lim	Journal of Plant Growth Regulation	28(3)	SCI
8	2010	UDP-Glucose Pyrophosphorylase is Rate Limiting in Vegetative and Reproductive Phases in <i>Arabidopsis thaliana</i>	Jong-In Park, Takeshi Ishimizu, Keita Suwabe, Keisuke Sudo, Hiromi Masuko, Hirokazu Hakoizaki, Ill-Sup Nou, Go Suzuki and Masao Watanabe	Plant & Cell Physiology	51(6)	SCI
9	2010	Expression characteristics of heat shock protein genes in two comparable inbred lines of Chinese cabbage, Chiifu and Kenshin	Jeongyeo Lee, Hayoung Song, Ching-Tack Han, Yong Pyo Lim, Sang-Min Chung, Yoonkang Hur	Genes & Genomics	32(3)	SCI
10	2010	Composition Analysis between Kohlrabi(<i>Brassica oleracea</i> var. gongyloides) and Radish(<i>Raphanus sativus</i>)	Seung-Hyun Choi, Dong-Kul Ryu, Suhyoung Park, Kyoung-Gu Ahn, Yong-Pyo Lim and Gilhwan An	원예과학기술지	28(3)	SCI
11	2010	Effects of Soil pH on Nutritional and Functional Components of Chinese Cabbage(<i>Brassica rapa ssp. campestris</i>)	Jo-Eun Lee, Pingjuan Wang, Gyungyun Kim, Sunghan Kim, Suhyoung Park, ... Yong-Soo Hwang, Yong-Pyo Lim, Eun Mo Lee, InKi Ham, Man Hyun Jo, Gilhwan An	원예과학기술지	28(3)	SCI
12	2010	Development of a High Density Integrated Reference Genetic Linkage Map for the Multinational <i>Brassica rapa</i> Genome Sequencing Project.	Xiaonan Li, Nirala Ramchiery, Su Ryun Choi, Dan Van Nguyen, Md. Jamil Hossain, Hyeon Kook Yang, Yong Pyo Lim	Genome	53(11)	SCI
13	2011	A method for selection of restriction enzymes for sdCAPS marker construction.	YeSol Jeong, SunYoung Lee, InHye Choi, Yong Pyo Lim, YoonKang Hur, Jack E. Staub, SangMin Chung	Plant Breeding	130(3)	SCI
14	2011	An efficient protocol for genetic transformation of watercress (<i>Nasturtium officinale</i>) using <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	Nam Il Park, Jae Kwang Kim, Woo Tae Park, Jin Woong Cho, Yong Pyo Lim, Sang Un Park	Molecular Biology Reports	38(8)	SCI
15	2011	Gene encoding PnFL-2 with TIFY and CCT motifs may control floral induction in <i>Pharbitis nil</i> .	Kang Chang Kim, Jeong-A. Han, Jeongyeo Lee, Jueson Maeng and Yoonkang Hur	Genes & Genomics	33(3)	SCI

16	2011	Genic Microsatellite Markers in <i>Brassica rapa</i> : Development, Characterization, Mapping, and Their Utility in Other Cultivated and Wild Brassica Relatives.	Nirala Ramchiary, Van Dan Nguyen, Xiaonan Li, Chang Pyo Hong, Vignesh Dhandapani, Su Ryun Choi, Ge Yu, Zhong Yun Piao, Yong Pyo Lim	DNA Research	18(5)	SCI
17	2011	Identification of potential microRNAs and their targets in <i>Brassica rapa L.</i>	Vignesh Dhandapani, Nirala Ramchiary, Parameswari Paul, Joonki Kim, Sun Hee Choi, Jeongyeo Lee, Yoonkang Hur, Yong Pyo Lim	Molecules and Cells	32(1)	SCI
18	2011	Rapid divergence of repetitive DNAs in Brassica relatives.	Dal-Hoe Koo, Chang-Pyo Hong, Jacqueline Batley, Yong Suk Chung, David Edwards, Jae-Wook Bang, Yoonkang Hur, Yong Pyo Lim	Genomics	97(3)	SCI
19	2011	De novo genetic variation associated with retrotransposon activation, genomic rearrangements and trait variation in a RIL population of <i>Brassica napus</i> derived from interspecific hybridization with <i>B. rapa</i>	Jun Zou, Donghui Fu, Huihui Gong, Wei Qian, Wei Xia, J. Chris Pires, Ji Feng, Yan Long, Tae-Jin Yang, Yong Pyo Lim, Beom Seok Park, Jinling Meng	Plant Journal	68(2)	SCI
20	2011	Transcriptionally and Phylogenetically Analyzing the P Protein Gene of Glycine decarboxylase for understanding the evolution of C3 -C4 species in Brassicaceae.	Chunyu Zhang, In-ae Park, Fangsen Xu, Maoteng Li, Yong Pyo Lim and Jinling Meng	Horticulture, Environment, and Biotechnology	52(4)	SCI
21	2011	Mapping quantitative trait loci for leaf and heading-related traits in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa L. ssp. pekinensis</i>)	Yu Ge, Nirala Ramchiary, Tao Wang, Cui Liang, Na Wang, Zhe Wang, Su Ryun Choi, Yong Pyo Lim and Zhong Yun Piao	Horticulture, Environment, and Biotechnology	52(5)	SCI
22	2011	Structural and functional comparative mapping between the Brassica A genomes in allotetraploid Brassica napus and diploid <i>Brassica rapa</i>	Congcong Jiang, Nirala Ramchiary, Yongbiao Ma, Mina Jin, Ji Feng, Ruiyuan Li, Hao Wang, Yan Long, Su Ryun Choi and Chunyu Zhang, et al.	Theoretical and Applied Genetics	123(6)	SCI
23	2011	Identification of the BrRHP1 locus that confers resistance to downy mildew in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa ssp. pekinensis</i>) and development of linked molecular markers.	Sunggil Kim, Young Ha Song, Ji-Yeon Lee, Su Ryun Choi, Vignesh Dhandapani, Chang Soon Jang, Yong Pyo Lim, Taeho Han	Theoretical & Applied Genetics	123(7)	SCI

24	2011	The genome of the mesopolyploid crop species <i>Brassica rapa</i> .	The <i>Brassica rapa</i> Genome Sequencing Project Consortium	Nature Genetics	43(10)	SCI
25	2012	Quality and safety of a new rapeseed 'Kangyu' cultivated at different regions in Korea	Jong-Tae Park, Pingjuan Wang, Seung-Hyun Choi, Yong-Pyo Lim, Dong-Jun Lee and Gilhwan An	Food Science and Biotechnology	21(1)	SCI
26	2012	Cloning of a <i>Zoysia</i> ZjLsL and its overexpression to induce axillary meristem initiation and tiller formation in <i>Arabidopsis</i> and bentgrass	D.-H. Yang, H.-J. Sun, C.-H. Goh, P.-S. Song, T.-W. Bae, I.-J. Song, Y.-P. Lim, P.-O. Lim, H.-Y. Lee	Plant Biology	14(3)	SCI
27	2012	Determining the geographical origin of Chinese cabbages using multielement composition and strontium isotope ratio analyses	Yeon-Sik Bong, Woo-Jin Shin, Mukesh Gautam, Youn-Joong Jeong, A-Reum Lee, Chang-Soon Jang, Yong-Pyo Lim, Gong-Soo Chung, Kwang-Sik Lee	Food Chemistry	135(4)	SCI
28	2008	Astaxanthin과 Capxanthin의 급여가 난황의 착색에 미치는 효과	손민정, 김성환, 이봉덕, 임용표, 안길환	한국가금학회지	35(3)	비SCI
29	2009	Identification of SSR Markers Linked to a Genic Multiple-Allele Male Sterile Gene in Chinese Cabbage	Feng Hui, Wei Peng, Li Cheng-yu, Choi Su Ryun, Lim Yong Pyo, and Piao Zhong-yun	Acta Horticulturae Sinica	36(1)	비SCI
30	2009	Weight Gain Limitation and Liver Protection by Long-Term Feeding of Astaxanthin in Murines	Sung-Han Kim, Dong-Il Jean, Yong-Pyo Lim, Chanyong Lee, and Gilhwan An	한국응용생명화학회지	52(2)	비SCI
31	2009	배추 trehalose 합성 유전자와 연관된 DNA 마커 개발 (Development of DNA Markers for Trehalose Synthesis Genes in <i>Brassica rapa L.</i>)	Yesol Jeong Yong, Yong Pyo Lim, Yoonkang Hur, Sang-Min Chung	생명과학회지	19(5)	비SCI
32	2009	Factors for high frequency plant regeneration in tissue cultures of Indian mustard (<i>Brassica juncea L.</i>)	Mohammed Shafi Ullah Bhuiyan, Sung Ran Min, Kwan Sam Choi, Yong Pyo Lim, Jang Ryol Liu	한국식물생명공학회지	36(2)	비SCI
33	2009	Chinese Cabbage Clubroot Pathogen, <i>Plasmodiophora brassicae</i> , Is Genetically Stable	Seung-Hwan Heo, Se-jung Jang, Jin-Soo Choi, Chang-Soon Jang, Jeong-young Song, Hong-gi Kim	Mycobiology	37(3)	비SCI
34	2009	자가화합성 양배추의 주두측 자가불화합성 유전자 해석	노일섭, 박종인, 이인호, 정건호	생명과학회지	19(11)	비SCI
35	2009	Isolation and medium development of the actinomycetes, <i>Streptomyces griseofuscus</i> CNU-A91231, inhibiting phytopathogenic fungi	최승현, 손민정, 김성환, 최석열, 이윤희, 최재을, 안길환	Kor. J. Microbiol. Biotechnol	37(4)	비SCI

36	2009	Optimization of Indoor Screen Method of Chinese Cabbage(<i>Brassica rapa</i>) Germplasm against Downy Mildew Optimization of Indoor Screen Method of.	Ji-Yeon Lee, Young-Ha Song, Chang-Soon Jang, Yong-Pyo Lim, and Tae-Ho Han	농업과학기술	44:11-15	비SCI
37	2009	Outdoor Screening of Chinese Cabbage Germplasm against Downy Mildew	Ji-Yeon Lee, Young-Ha Song, Chang-Soon Jang, Yong-Pyo Lim, and Tae-Ho Han	농업과학기술	44:17-21	비SCI
38	2010	Discrimination of Astaxanthin Fed Laying Hens and Their Peroxidated Carcasses by Electronic Nose	Young-An Kwon, Chanyong Lee, Bong-Duk Lee, Seung-Hyun Choi and Gilhwan An	한국가금학회지	37(3)	비SCI
39	2010	RAPD 분석에 의한 여수 들산갯의 유연관계 분석	이인호, 박종인, 정운섭, 정효진, 노일섭	생명과학회지	20(1)	비SCI
40	2010	Development of Molecular Markers for Alternative Oxidase Synthesis Genes in <i>Brassica rapa</i> L.	Ye Sol Jeong, Sang-Min Chung	Journal of Life Scicne	20	비SCI
41	2010	Components in Chinese Cabbage(<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>campestris</i>) as Affected by Soil pH: 6.9 vs. 7.6	Man Hyun Jo, In Ki Ham, Eun Mo Lee, Jo-Eun Lee, Nan Jiang, Yong Pyo Lim, Gilhwan An	농업과학연구	37(1)	비SCI
42	2010	Construction of Full-length cDNA Library and Investigation of Potential Genes in <i>Brassica rapa</i> .	박종인, Thamilarasan Senthil Kumar, Nasar Uddin Ahmed, 노일섭	자연자원연구	10(2)	비SCI
43	2010	인삼의 적변을 유발하는 세균에 대하여 항균활성을 가지는 방선균 선발 및 동정	한성희, 류동길, 최승현, 최계을, 안길환	농업과학연구	37(2)	비SCI
44	2010	Control of E. coli in cabbage during producing coleslaw by vinegar for haccp.	류동길, 고계민, 박수형, 안길환	농업과학연구	37(3)	비SCI
45	2011	계절, 부분, 색의 영양에 의한 양배추의 유리 아미노산 함량 변화 (Effect of season, tissue position and color on content of amino acids in cabbage(<i>Brassica oleracea</i>))	Il-Nam Oh, Seung-Hyun Choi, Suh-Young Park, Yong-Pyo Lim, Gil-Hwan An	농업과학연구	38(1)	비SCI
46	2011	MIRPI: Portable software to identify highly conserved microRNAs, their targets and to calculate precursor statistics.	Dhandapani Vignesh, Paul Parameswari, Su Bin Im, Hae Jin Kim and Yong Pyo Lim	Genomics & Informatics	9(1)	비SCI
47	2011	배추 생산자들의 신종자 이용 행태에 관한 연구	홍승지, 김용규	농업과학연구	38(3)	비SCI
48	2011	배추 신종자의 경제적 가치 평가	홍승지	농업경영정책연구	38(4)	비SCI
49	2011	교배육종 및 소포자 배양에 의한 뿌리혹병 race4 저항성 배추 계통 육성	박수형, 윤무경, 임용표	농업과학연구	38(4)	비SCI
50	2011	SSR-Primer Generator: A Tool for Finding Simple Sequence Repeats and Designing SSR-Primers	Chang Pyo Hong, Su Ryun Choi and Yong Pyo Lim	Genomics & Informatics	9(4)	비SCI

51	2012	Induction of somatic embryogenesis and plant regeneration in the reed grass (<i>Phragmites communis</i> Trin.)	Jeong-Eun Lee, Sang-Gyu Seo, Bong-kyu Kim, Seong-Min Woo, Bon-Cheol Koo, Tae-Ho Park, Yong Pyo Lim and Sun-Hyung Kim	African Journal of Biotechnology	11(8)	비SCI
52	2012	중국도입 배추 소포자배양에 의한 배가만수체의 종자생산능력	조만현 외	원예과학기술지	출판중	SCIE
53	2012	Gene ontology based characterization of expressed sequence tags (ESTs) of <i>Brassica rapa</i>	T. S. Kumar 외	Mol. Biol. Rep.	심사중	SCI
54	2012	Identification of QTLs Related to Heat stress in Chinese cabbage	알리 아스자드 외	Biotechnology Letters	심사중	SCI
55	2012	Development of EST database and transcriptome analysis in the leaves of <i>Brassica rapa</i> using a newly developed pipeline	Vignesh Dhandapani, Su Ryun Choi, Parameswari Paul, Yong-Kwon Kim, Nirala Ramchiary, Yoonkang Hur, Yong Pyo Lim	Genes & Genomics	In Press	SCI
56	2012	Quantitative trait loci mapping in <i>Brassica rapa</i> revealed the structural and functional conservation of genetic loci governing morphological and yield component traits in the A, B, and C sub-genomes of <i>Brassica</i> species	Xiaonan Li, Nirala Ramchiary, Vignesh Dhandapani, Su Ryun Choi, Yoonkang Hur, Il Sup Nou, Moo Kyoung Yoon, Yong Pyo Lim	DNA Research	accepted	SCI
57	2012	Novel Bulk-Propagation Method for single spores of <i>Plasmodiophora brassicae</i> and Characteristics of Pathotypes in Korea	장세정, 장창순, 김홍기	SSI 심사중	심사중	
58	2012	Red Phenotype by Anthocyanidin with Increase of Phenolics in New Chinese Cabbage Cultivar	Nan Jiang, Sunok Chung, Jo Eun Lee, Dongkul Ryu, Yongpyo Lim, Suhyoung Park, Chanho Lee, Junho Song, Kijun Kim, Jong-Tae Park, and Gilhwan An	Horticulture, Environment, and Biotechnology	투고중	
59	2012	Effect of Season, Color, and Tissue Position on Metabolite Profiles of Glucosinolates in Cabbage (<i>Brassica oleracea</i>)	Seung-Hyun Choi, Suhyoung Park, Yongpyo Lim, Mariadhas Valan Arasu, Sun-Ju Kim, Jong-Tae Park, Gilhwan An	Phytochemistry	투고중	

4. 특허 성과

- 특허실적 31건 (특허출원 20건, 특허등록(프로그램 포함) 11건, (예정 1건)),
 품종실적 23건 (품종보호출원 16건, 품종명칭출원 18건, 품종생신수입판매신고 4건 품종등록 5건)

순번	구분	출원여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
1	특허	출원	2009	무름병 내성이 증진된 배추의 형질전환체 및 그 제조방법	충남대학교 산학협력단	임용표, 윤한대, 앵키치맥	10-2009-0058795
2	특허	출원	2009	배추 BAC 클론 유래 SSR 마커 및 이를 이용해 작성된 브라시카라과의 표준 유전자지도	충남대학교 산학협력단	임용표, 김혜란, 최수련, 홍창표, 방재욱, 진민아, 박범석	10-2009-0090588
3	특허	출원	2009	PCR과 제한효소를 이용한 SNPs 분석 방법.	동국대학교 산학협력단	정상민, 정예술	10-2009-0090775
4	특허	출원	2009	배추의 유전자적 다중대립인자 응성불임 유전자 Ms의 마커 및 이의 용도	충남대학교 산학협력단	임용표, 황휘	10-2009-0035772
5	특허	출원	2009	배추과 작물의 세포질 응성불임성 유전자형 판별 프라이머 세트 및 이를 이용한 세포질 응성 불임성 유전자형 판별 방법	순천대학교 산학협력단	노일섭, 박종인, 이인호	10-2009-0133575
6	특허	출원	2010	뿌리혹병 균 포자에 특이적으로 결합하는 프라이머 및 이를 이용한 십자화과 작물의 뿌리혹병 진단방법	충남대학교 산학협력단	김홍기, 최진수, 송정영	10-2010-0038505
7	특허	출원	2010	뿌리혹병균의 휴면포자 분리방법 및 이를 이용한 대량증식방법	충남대학교 산학협력단	김홍기, 최진수, 송정영	10-2010-0038498
8	특허	출원	2010	배추과 작물의 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2010-0062249
9	특허	출원	2010	배추 바이러스(TuMV-C4) 내병성 인자 연관 SSR 마커 및 프라이머	대한민국(농촌진흥청장), (주)바이오브리딩연구소	이수성, 진민아, 박범석	10-2010-0109427
10	특허	출원	2011	배추 노균병에 대한 성체식물 저항성을 부여하는 유전자좌, 및 이와 연관된 분자표지	전남대학교 산학협력단	김성길, 한태호, 임용표, 장창순	10-2011-0055925
11	특허	출원	2011	HRM 분석을 이용한 단일염기다형성 핵산서열 분석 방법	동국대학교 산학협력단	정상민	10-2011-0146001
12	특허	출원	2012	배추과 작물의 추대시기 판별용 마커	충남대학교 산학협력단	허윤강, 이현주, 임용표	10-2012-0028170

순번	구분	출원여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
13	특허	출원	2012	배추속 작물의 개화시기 판별용 조성물	충남대학교 산학협력단	허윤강, 이현주, 임용표	10-2012-0061704
14	특허	출원	2012	배추과 작물의 세포질응성불임성 및 가임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039145
15	특허	출원	2012	배추과 작물의 사코 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039146
16	특허	출원	2012	배추과 작물의 폴리마 유형 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039148
17	특허	출원	2012	배추과 작물의 유사 오그라 유형 세포질응성불임성 판별용 마커 및 그를 이용한 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 박종인, 이인호	10-2012-0039147
18	특허	출원	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 램치어리, 니랄라, 김준기	10-2012-0085854
19	특허	출원	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 램치어리, 니랄라, 김준기	10-2012-0085859
20	국제특허	출원	2009	Transgenic Chinese cabbage with enhanced tolerance to soft rot disease and production method there of.	충남대학교 산학협력단, 충청남도	임용표, 윤한대, 앵키치맥	PCT/KR2009/4440
21	특허	등록	2010	PCR과 제한효소를 이용한 SNPs 분석 방법.	동국대학교 산학협력단	정상민, 정예술	10-0971153
22	특허	등록	2012	무름병 내성이 증진된 배추의 형질전환체 및 그 제조방법	충남대학교 산학협력단	임용표, 윤한대, 앵키치맥	10-1108971
23	특허	등록	2012	배추 BAC 클론 유래 SSR 마커 및 이를 이용해 작성된 브라시카라과의 표준 유전자지도	충남대학교 산학협력단	임용표, 김혜란, 최수련, 홍창표, 방재욱, 진민아, 박범석	10-1111563

순번	구분	출원 여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
24	특허	등록	2012	배추의 유전자적 다중대립인자 웅성불임 유전자 Ms의 마커 및 이의 용도	충남대학교 산학협력단	임용표, 황휘	10-1151239
25	특허	등록	2012	배추과 작물의 세포질 웅성불임성 유전자형 판별 프라이머 세트 및 이를 이용한 세포질 웅성 불임성 유전자형 판별 방법	순천대학교 산학협력단	신동영, 노일섭, 산학협력단 박종인, 이인호	10-1165586
26	국제 특허	등록	2011	Transgenic Chinese cabbage with enhanced tolerance to soft rot disease and production method there of.	충남대학교 산학협력단, 충청남도	임용표, 윤한대, 앵키치백	WO 2011/002126
27	특허	등록	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 비그네쉬, 단다파늘, 라피치아리, 니랄라, 김준기	10-1180653
28	특허	등록	2012	배추에서 분리된 신규 miRNA (Novel miRNA molecules isolated from Brassica rapa)	충남대학교 산학협력단	임용표, 허윤강, 단다파늘, 라피치아리, 니랄라, 김준기	10-1180654
29	프로 그램	등록	2009	SSR-Primer Generator	충남대학교 산학협력단		2009-01-129-000881
30	프로 그램	등록	2011	SeqCalc	충남대학교 산학협력단		2011-01-129-000634
31	프로 그램	등록	2011	miPRI	충남대학교 산학협력단		2011-01-129-003235
32	품종	출원	2008	참설(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2008-229
33	품종	출원	2009	눈나라(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2009-264
34	품종	출원	2009	사강(배추)	이레종묘		품종보호 2009-216
35	품종	출원	2009	K756(배추)	우리종묘		품종보호 2009-268
36	품종	출원	2009	k758(배추)	우리종묘		품종보호 2009-269
37	품종	출원	2009	으뜸쌈(배추)	현대종묘		품종명칭 2009-337
38	품종	출원	2010	케이티엑스(배추)	현대종묘㈜		품종보호 2010-188
39	품종	출원	2010	아라리(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2010-436
40	품종	출원	2010	위풍당당(배추)	현대종묘㈜		품종보호 2010-569

순번	구분	출원 여부	년도	특허명	출원인	발명인	출원(등록)번호
41	품종	출원	2011	외와삼(배추)	한국종묘		품종보호 2011-172
42	품종	출원	2011	한설노랑(배추)	한국종묘		품종보호 2011-173
43	품종	출원	2011	케이925(배추)	우리종묘		품종보호 2011-318
44	품종	출원	2011	충대1호(유채)	충남대학교 산학협력단		품종보호 2011-390
45	품종	출원	2011	월동대왕(배추)	농업협동조 합중앙회		품종보호 2011-468
46	품종	출원	2012	범상(배추)	현대종묘㈜		품종보호 2012-314
47	품종	출원	2012	신통플러스(배추)	현대종묘㈜		품종명칭 2012-522
48	품종	출원	2011	씨알황옥엇갈이(배추)	한국종묘		품종보호 2011-342
49	품종	출원	2012	설화월동(배추)	한국종묘		품종보호 2012-361
50	품종	등록	2010	참설(배추)	농업협동조 합중앙회		제3179호
51	품종	등록	2011	눈나라(배추)	농업협동조 합중앙회		제3777호
52	품종	등록	2012	K756(배추)	우리종묘		제3971호
53	품종	등록	2012	k758(배추)	우리종묘		제3972호
54	품종	등록	2012	케이티엑스(배추)	현대종묘㈜		제4045호
55	특허	출원 예정	2012	배추 내서성 연관 분자 마커	동국대학교 산학협력단	정상민, 알리 아스자드	출원예정

5. 사업화 현황

가. 사업화

사업화 년도	사업화명	사업화내용	사업화 업체 개요				기대출액	개발제품 (기술) 매출액
			업체명	대표자	종업원수	사업화 형태		
2011	분자마커 및 식품성분분 성센터 설립	육종을 위해 필요한 분자마커서비스 및 식품성분분석을 위한 시스템 구축을 통해 저렴한 비용에 육종소재의 분자마커 서비스 및 농산물 및 가공식품의 원산지 분석/영양성분 분석 서비스 제공을 목표로 함.	CNU 분자마커 및 식품성분분 성센터	충남대 학교 산학협 력단				
2008~	품종육성	참살배추 종자판매	농협종묘 센터	강호성	40	임업,농업 도소매업	-	2320만원
2009~	품종육성	눈나라배추 종자판매	농협종묘 센터	강호성	40	임업,농업 도소매업	-	250만원
2011~	품종육성	아라리배추 종자판매	농협종묘 센터	강호성	40	임업,농업 도소매업	-	1370만원
2010	K756종자 수출	중국에 "K756" 종자수출	우리종묘	김완규	4	수출	12,500 천원	53,000 천원
2010	K758종자 수출	중국에 "K758" 종자수출	우리종묘	김완규	4	수출	12,500 천원	53,000 천원

나. 기술 거래

○ 기술이전 2건

기술거래 일자	기술 내용	대상 기관
2010.12.30	배추품종 K756, K758 품종실시	우리종묘

6. 인력활용/양성 성과

가. 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
94	15	38	22	17	41	53	19	47	28

나. 산업기술인력 양성 성과

일 자	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
2007.09.17	배추재배 기술교육	배추의 일반 특성 및 재배환경 지도 (1-3, 충남농업기술원)	충남농업기술원	1	2	20
2008.04.14	배추 품종의 분화와 종류 교육	배추의 특성, 분화, 품종육성 (1-3, 충남농업기술원)	충남농업기술원	1	2	20
2009.02.13	품평회 및 재배지도	참살, 눈나라배추의 품종설명 및 평가, 홍보. 겨울배추 재배지도 (2-4, 농업종묘센터)	해남군 산이면	1	1.5	80
2010.04.01	배추 재배지도 기술교육	여름 배추 재배지도 - 품종설명, 재배지도 등으로 재배안정화 (2-4, 농업종묘센터)	강원도 정선, 태백	2	1.5	100

7. 홍보 실적

○ 보도 내역 28건

순번	홍보일자	언론매체명	내용
1	2009.12.09	대전일보	배추종자 수출
2	2012.04.03	조선일보	배추종자 수출
3	2011.08.29	뉴스토마토	배추 유전자 해독 완료..배추과동 해소전망
4	2011.08.29	메디컬투데이	국내연구진, 세계 최초로 배추 전체유전체 해독
5	2011.08.29	아시아투데이	배추 전체 유전자 세계 최초 완전 해독
6	2011.08.29	뉴시스	농진청, 세계 최초 '배추 염색체' 완전 해독
7	2011.08.29	서울경제	농진청, 배추 유전체 완전 해독
8	2011.08.29	노컷뉴스	배추 '게놈' 세계 최초 완전 해독... '기능성 배추' 쏟아진다
9	2011.08.29	충청일보	세계 첫 배추 유전자 해독 성공
10	2011.08.30	헤럴드경제	한국연구진 '배추 유전체 완전 해독' ... '네이처 제네틱스'에 실려
11	2011.08.30	공감코리아 대한민국 정책포털(인터넷)	농촌진흥청, 배추 유전체 완전 해독 - 연구논문 세계적 학술지 「네이처 제네틱스」에 실려 -
12	2011.08.31	농민신문	농진청, '배추 유전체' 완전 해독...세계 최초 성공
13	2011.09.01	경향신문	[충남대] 임용표 교수, 배추 유전자의 신비를 벗기다
14	2009. 8. 12	뉴스데스크(대전MBC)	배추무름병 억제기술 국제특허 출원
15	2009. 8. 12	CNI new(인터넷)	무름병 내성 증진된 품종육성 기대
16	2009. 8. 12	뉴시스(인터넷)	무름병에 강한 배추형질전환 기술 개발
17	2009. 8. 12	농촌진흥일보(인터넷)	배추무름병, 저항성유전자로 품종육성에 박차
18	2009. 8. 13	대전일보	배추무름병 '걱정 끝'
19	2009. 8. 13	충청투데이	배추무름병 억제기술 국제특허 출원
20	2009. 8. 13	중도일보	충남도 배추 무름병 정복기술 개발
21	2009. 8. 13	충청타임즈	여름배추 생산 길 열렸다
22	2009. 8. 13	충남일보	배추무름병 발병 억제기술 국제특허
23	2009. 8. 14	동양일보	무름병 끄떡없는 '튼튼배추' 나온다
24	2009. 8. 17	전업농신문	배추무름병 발병 억제기술 개발
25	2009. 8. 17	농축유통신문	배추무름병 저항성 유전자 국제특허 출원
26	2009. 8. 17	한국농어민신문	배추무름병 저항성 유전자 특허 출원
27	2009. 9.	새농민(09. 9월호)	배추무름병, 저항성 유전자로 품종육성에 박차
28	2009. 9.	월간원예(09. 9월호)	배추무름병, 저항성 유전자로 품종육성에 박차

제2절 성과활용계획

1. 세부과제별 성과활용계획

가. 대량 유전자 분자표지 발굴(제1-1세부과제)

(1) 대량의 분자마커 개발

1-2차년도에 걸쳐 대용량의 In Silico 분자마커 개발 시스템 구축하였다. 대용량의 In Silico 분자마커 개발 시스템 소프트웨어인 'SSR-Primer Generator'를 개발하여 프로그램 등록하였으며 이를 이용하여 SSR 프라이머를 생성 및 다형성 검정을 통해 마커를 개발, 유전자 염기서열 정보(배추 ESTs)로부터 SSR-Primer들을 디자인 및 다형성 검정하여 유전자와 연관된 SSR 마커를 개발한 결과 약 1400개의 분자마커를 개발 하였다. 이는 육종 기술(선발 및 검정)의 과학화 도모하였으며, 배추 분자유종 기술 체계 확립을 위한 기초 인프라 구축(육종 소재 및 정보의 체계적 축적과 서비스) 및 확장 기반 마련하는데 기여하였다.

(2) 분자마커와 표준유전집단을 이용한 고밀도 유전자 지도 작성

배추의 분자마커개발을 위한 유전집단 개발과 Recombinant Inbred Lines인 CKRI 집단, 약배양으로 만든 DH 집단 (CKDH 집단), 야생형이며 생육환이 짧은 rapid cycle *B. rapa*와 지부를 교배로 하여 만든 F2 집단(CRF2), 뿌리혹병 저항성 계통과 이병성 계통을 교배하여 만든 F2, F3 집단을 이용한 유전자지도 작성과 공통 마커를 이용하여 통합 유전자지도도를 작성하였다.

(3) 육종을 위한 고밀도 유전자 지도 작성을 통한 목표 유용 형질관련 유전자좌들의 효율적 탐색도모

Rapid Cycle *B. rapa*와 지부의 유전집단을 양성, 다형성 검정, 유전자지도 작성, 형질 조사를 진행하였으며 Rapid Cycle *B. rapa*와 지부의 교배로 생성한 CRF2 집단을 이용한 개화형질 탐색하기 위한 분자마커 검정, 통합 유전자지도 작성, 형질조사 및 QTL 분석을 수행하였다. 지부(Chiifu)의 응성불입 유전자형 결정, DNA 분리 및 BSA, SSR 분석, SSR 프라이머 디자인, AFLP 분석, AFLP 마커의 SCAR 마커로의 전환, 연관 분석, SSR 및 SCAR 마커를 이용한 Ms 유전자의 맵핑으로 유전자적 응성불입 마커를 개발하였다.

또한 결구크기 유전자, 종자의 기름성분 형질에 연관된 QTL, glucosinolate diversity, microRNA의 분석 및 분리, 발현을 조사하였다. 소포자배양 기술을 확립하여 내환경 대량생산의 방법을 수립하였다. 개발된 유전자 지도를 이용하여 형질연관 탐색을 수행하여, 배추 뿌리혹병 연관 SNP 마커를 개발하였고, 부모본 및 CRF3 집단의 표현형 변이의 조사 및 연구로 개화 연관 SNP 마커의 개발을 진행하였다.

개발된 정보들은 연구자 및 육종가들에게 데이터베이스를 통해 서비스됨으로서 국내의

배추 분자유종체계가 활성화될 수 있도록 지원할 것이다. 아울러 개발된 분자마커들, 특히 형질 관련 분자마커들을 이용하여 분자유종 기술이 부재한 종자회사에게 품종 분석 서비스를 제공하여, 배추 육종 기술의 효율성을 높여줄 수 있을 것으로 기대한다.

(4) 분자 마커 서비스

1-2 차년도에 걸쳐 분자 마커 서비스 시스템 구축하였고, 이를 이용한 분자마커 분석 서비스를 시작하여 제공하고 있으며, 원예연구소와 종묘회사(우리종묘·NH종묘·한국종묘·동원농산·현대종묘)의 의뢰를 받아 검정 서비스를 수행하여 약 2100개의 분자마커를 검정하였다. 향후 목표형질관련으로 개발된 분자 마커를 이용하여 품종에서 다양한 형질진단 서비스 시스템을 보완할 것이며 대량 샘플처리 방법의 구축과 산업화를 위한 전문분석기관 설립추진, 고품질 서비스 제공할 수 있도록 활용될 것이다.

(5) 성분분석 서비스

HPLC를 이용하여 Carotenoid, flavonol, glucosinolate, mineral, reducing sugar, vitamin C, antocyanidin 등 성분분석을 위한 HPLC 조건확립, 추출법을 간소화하였으며 이를 토대로 과제 협력기관과 종묘회사의 의뢰를 받아 성분분석 서비스를 수행 하였다. 향후 대량 샘플 처리 방법을 구축, 성분별(영양, 맛, 기능성분 등)분석 메뉴얼을 확립하여 기능성 맞춤형 품종을 개발을 지원할 것이다.

(6) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석(위탁1과제)

- 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 연구에서 도출된 ‘새로운 종자에 대한 전시포 운영 등 농가 홍보 활성화’, ‘새로운 종자의 재배농가 보급시스템 구축과 같은 인프라에 대한 정부 지원확대’ 등은 신종자의 원활한 농가 보급을 위해 종자기업과 관련 정부 기관에서 고려해야 할 사안들을 알림으로써 향후 관련 업체와 정부의 효과적인 신종자의 농가 이용도 향상에 필요한 전략 수립에 도움을 줄 것으로 기대된다.
- 신종자 수용에 미치는 요인 분석에서 나타난 신종자 홍보의 중요성은 국가차원의 종자산업 발전전략 모색에 의미 있는 시사점을 줄 것으로 예상되며, 결과적으로 배추 생산자들의 신종자 이용 확대는 우리나라 배추 산업의 경쟁력 제고에도 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

(7) 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석(위탁2과제)

- 배추 EST 해석으로부터 1,074개의 스트레스 관련 EST를 확보하였다. 이들 스트레스 관련 EST로부터 18개 EST의 전 염기를 결정한 후 다양한 스트레스 하에서 반응 실험을 수행한 결과 이들 유전자들이 다양한 스트레스 하에서 반응을 나타내어 확보된 1,074개 EST의 신뢰성을 높였다. 따라서 확보된 1,074개의 EST 정보를 이용하여 생명공학적인 방법을 이용한 스트레스 저항성 작물육종에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.
- 배추 유전자의 기능을 대량으로 확인하기 위하여 제작된 배추 FL-cDNA Agrobacteria library를 제작한 후 이를 이용하여 애기장대에 형질전환 시켜 표현형을 관찰하였다. 그 결과 뿌리의 생장 발달이 비정상적인 12 line을 확보하였다. 이들 12

line을 이용하여 번이를 일으키는 배추 유전자를 단리 및 번이체 해석을 통하여 국제 저명학술지에 발표할 것이다.

- 본 연구 수행을 통해 연구원 및 대학원생들이 향후 식물학의 여러 분야를 연구하는데 필요한 유전학적, 분자생물학적 접근 방법들을 배우고 익힘으로써 인적 자원 양성 효과도 기대할 수 있다.

(8) 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구(위탁3과제)

- 사업단 우수성과 연계 및 활용
 - 사업단은 기초/응용 연구에서 신품종개발 등 다양한 연구 성과를 도출
 - 기초/응용 연구 : 유전자지도, 분자마커개발, 유전체정보 분석
 - 산업화 연구 : 배추 신품종 개발

■ 배추사업단 우수성과의 연계 및 활용

사업단 대표 우수성과

1. 배추 표준유전자지도 작성 : 1, 2세대 표준유전자 및 통합 지도 작성(고밀도 유전자 지도)
2. 배추 분자마커 개발 및 분석 : 개화 및 주대관련, 응성불임, 노균성 저항성, 내서성 연관 등
3. 배추 유전체 정보 분석 : 배추 전체게놈 염기서열 해독 완료(2011, 농진청과 공동수행)
4. 다양한 배추 신품종 개발 : 케이티엑스, 으뜸쌈, 눈나라, 참살, K756 & K758, 사강 등
5. 기타 : 단포자 분리/증식을 통한 뿌리혹병원균 확보 및 감별법 개발 등

성과 활용 실용화/산업화 추진

1. 맞춤형 수출 품종 개발 : 수출국별 지형 및 선호도 조사를 통한 현지재배(수출국별 차별화)
2. 기능성 신품종 개발 : 칼슘 함량 증대 배추(골다공증 예방), 속노란 배추(베타카로틴 및 비타민 함량의 증대) 등
3. 기술지원 인프라 구축 : 맞춤형 분자마커 개발 및 MAS 기술, 병충해 검정 및 육종기술 등
4. 다양한 배추 종자 개발을 통한 김치 산업 발전에 기여

<배추분자마커사업단 우수성과 연계 및 활용 방안>

- (사회문화적 기대효과) 사업단 우수성과를 활용하여 선진 농업기술의 보급 및 유용배추종자의 활용을 통해 웰빙, LOHAS 등 새로운 경향을 충족하기 위하여 건강을 고려한 기능성 품종개발 등 배추 종자산업의 새로운 가치창출이 기대
- (과학기술적 기대효과) 배추분자마커사업단의 우수기술력을 바탕으로 배추 유전자원 특성분석, 다양한 품종개발, 종자 가공기술 발전 등 종자분야 기술혁신을 통한 농업전반에 대한 기술의 발전을 도모
- (경제적 기대효과) 우량 배추종자의 집중육성과 수출전략 배추 품종개발을 통해 수출확대에 기여하는 동시에 관련 분야 신규 일자리 창출 및 인력고용 효과를 기대

나. 식물 육종을 위한 유용성분 정량 서비스(제1-2세부과제)

- (1) 저렴한 분석가격으로 기능성성분의 분석서비스를 제공하여 육종기업 및 개인육종가의 품종 개량에 도움
- (2) 지속적인 작물의 기능성성분 분석을 통한 고기능성 명품작물의 품질관리 및 성분 보증 서비스 제공
- (3) 식품 특성에 알맞은 우수한 품질을 가진 품종 개발을 가능하게 함으로써 국내·외의 배추 시장성 향상에 기여
- (4) 원산지 분석 서비스와 연계하여 종합적인 고품질 농산물(고기능성, 유기농 등) 인증 서비스 개발

다. 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단양성(제1-3세부과제)

- (1) 중국 및 일본 등지에서 수집한 유전자원을 이용하여 재배시험 및 유용성분을 분석한 특성조사 자료는 육종가에게 육종소재의 기초 자료로 활용되어 품종육성 촉진시킬 수 있음
- (2) 선발된 유용 유전자원을 이용한 유전집단은 특정형질 분자마커 개발 및 기능성 품종육성 재료로 이용이 가능하여 경쟁력 있는 품종육성에 기여할 것임

라. 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-1세부과제)

- (1) 품종 육성 효율 증진
 - 전통적인 육종방법에 본 연구를 통해 개발한 노균병저항성 마커를 적용함으로써 육종 효율을 효과적으로 수행하여 우수한 품종을 육성할 수 있다.
 - 2012년 충남농업기술원에서 의뢰한 156개의 계통을 본 연구를 통해 개발한 노균병 저항성 연관마커를 이용하여 노균병 검정을 서비스한 것처럼 국내 배추 육종회사 등의 서비스가 가능할 것으로 기대되며, 이러한 노균병저항성 마커 등을 적용하여 우수한 품종을 육성하여 환경 스트레스에 저항성이 있는 내병성 품종을 개발하여 농가의 소득 향상뿐만 아니라 국제 경쟁력을 확보할 수 있다.
 - 추후 노균병 유전자가 클로닝된다면 노균병 저항성 유전자를 다른 작물에 삽입하여 새로운 노균병 저항성 배추계통이나 새로운 작물에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

마. 노균병 저항성 유전분석 집단 양성 및 가을배추 품종육성(제2-2세부과제)

- 육성된 품종들은 국내 종자 판매 실시
- 만주대성 배추인 사강 배추와 미니 배추인 와외쌈 배추는 해외에 종자 수출
- 본 연구를 위해 육성된 노균병 저항성 유전분석 집단은 필요로 하는 연구기관에 분양
- 노균병 저항성 계통은 추후 복합내병성 계통 육성에 이용

바. 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구(제2-3세부과제)

- (1) 지역 군주 보급계획
 - 지역에서 채취한 군주를 바로 보급하지 않고 전문화된 SSI를 통해 정확한 race판별 이후 배추뿌리혹병의 저항성에 대해 연구하고 있는 다양한 연구소와 종묘회사에 보급할 계획
- (2) 종 특이적 프라이머의 활용
 - 종 특이적 프라이머를 이용하여 병원균의 빠른 동정을 통해 병을 예방하여 피해의 최소화 목적
- (3) *P. brassicae* race4의 sequence분석
 - 추후 분자생물학적 연구에 기초자료로 사용될 것
- (4) 저항성 분자마커의 개발
 - 저항성 유전자를 확인하여 추후 저항성 품종 육종에 도움

사. 배추 뿌리혹병 저항성 유전분석 집단 양성 및 월동배추 품종육성(제2-4세부과제)

- (1) 신품종 보급계획
 - 참설
“참설” 배추는 숙기가 다소 늦은 품종으로 구가 크고 뿌리의 활력이 강하여 2월 중순 수확기까지 포장에서 버티는 능력이 좋은 품종이다. 겨울배추 재배 주산지인 해남지역의 정식시기가 기존에는 9월 20일 전후로 이루어지던 것이 갈수록 당겨져 9월 상순부터 이루어짐으로써 기존의 중만생종들은 월동하는 동안 숙기가 지나 노후화된 상태로 월동이 이루어져 월동하는 동안에 내한성이 약화되고 노균병 등의 피해가 심해지고 있다. 결구가 늦고 뿌리의 활력이 강하면서 수량성이 좋은 참설배추는 이러한 조기 정식재배의 문제점을 해결하는데 기대되는 품종으로 2008년부터 농가에 보급하기 시작하였으며 홍보를 강화하고 적극적으로 보급하면 보급량이 점진적으로 늘어날 것으로 기대한다.
 - 눈나라
“눈나라” 배추는 엽육이 두둑고 광택이 강해 내한성이 아주 강한 품종이다. 최근 이상 기후로 인해 겨울배추 주산지인 남해안에서도 월동기간 동안 환파가 계속되어 월동하는 배추의 동해가 심해지고 있는데 이에 대응할 수 있는 품종으로 2009년부터 보급하기 시작하였으며 겨울배추 주산지의 월동기간의 환파가 근래와 같이 계속된다면 보급량이 늘어날 것으로 기대되며, 내한성이 아주 강하면서 품질도 향상된 쪽으로 품종개량을 계속해 나아갈 것이다.
 - 월동대왕
“월동대왕” 배추는 참설배추의 숙기의 늦음을 다소 보완한 품종으로 참설보다 숙기가 다소 빠르고 외엽의 진함이 더 진하고 구의 크기가 다소 작은 품종으로 뿌리의 활력이 강하면서 수량성이 좋은 배추로 겨울배추의 조기 정식재배의 문제점을 해결할 수 있는 품종으로 2011년 등록하였으며 2012년부터 농가에 보급할 것이다.

○ 아라리

“아라리” 배추는 내서성이 좋은 여름배추로 뿌리혹병 내병계 품종이다. 배추의 소비 비중이 날로 늘어나고 있는 김치 가공공장을 겨냥한 품종으로 외엽이 적고 절임성이 좋으며 맛이 좋아 김치 가공공장을 겨냥한 홍보가 이루어진다면 보급량이 많아질 것으로 기대되는 품종이다.

2011년부터 농가에 보급하였으며 2012년 현재 첫해보다 더 많이 보급된 상태로 적극적인 홍보로 보급량이 점진적으로 늘어날 것으로 기대된다.

아. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발(제2-5세부과제)

- (1) 개발된 마커의 특허 출원 진행. Ht-1, Ht-2, Ht-3 마커의 염기서열 분석을 수행하고 내서성 QTL 연관 마커로 특허 출원 예정. 특허 출원 후 논문 제출 예정.
- (2) 배추 계통, ‘지부’와 ‘권심’ 교배 집단 중 DH 집단을 활용하여 내서성 QTL 연관 분석 수행 계획 중.
- (3) 여러 배추 계통에서 이용이 가능할 수 있도록 ‘92’x’93’교배 집단의 내서성 QTL 과 비교 분석하여 내서성 QTL 연관 공통 분자 마커 유무 확인 연구 계획 중.
- (4) 개발된 내서성 연관 분자 마커의 활용을 위해 현대종묘회사에 분자 마커 검사를 통한 유전자형 분석 서비스 제공 및 내서성 품종 육성 지원 계획 중.

자. 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고행지 여름배추 품종육성(제2-6세부과제)

고행지 내서성 배추로 육성된 5개 품종 중에서 “으뜸쌈”, “KTX”품종은 요구하는 지역에 시험판매 중에 있으며 나머지 3품종은 종자 생산성 검정 및 지역 확대 시교를 실시하여 농민들에게 공급 할 예정이고 동국대학교에서 개발된 분자마커를 활용하여 다양한 품종개발에 적극 활용 할 수 있을 것으로 기대함.

차. 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발(제3-1세부과제)

- (1) 개발한 분자마커의 기술이전을 추진하고 있음
- (2) 개발한 개화 및 추대관련 분자마커를 사업단에서 국내 종자회사에 서비스를 제공할 것임
- (3) 정부기관에서 서비스를 제공할 경우 마커를 활용할 수 있도록 사업단장과 협의 중

카. 개화관련 유전분석 집단양성 및 수출용 봄배추 품종육성에 관한 연구(제3-2세부과제)

- (1) 육성품종의 종자 수출 확대.
- (2) 뿌리혹병 고저항성 F1품종 육성하여 종자수출.
⇒ 본 연구에서 선발된 우량계통 세대진전 중임.

타. 배추 응성불임성 마커 개발(제3-3세부과제)

- (1) 세포질 응성불임성(CMS) 계통은 육성소재로 활용도가 높고, 동일한 유전기작의 응성불임성은 한 개체만 있어도 다양한 응성불임성 계통을 육성할 수 있으므로 유전기작이 다양한 응성불임성 획득 및 판별이 필요하다. 따라서 이 연구를 통하여 개발된 CMS와 응성가임의 구분 특이적인 마커 및 CMS 유형별 특이적인 마커를 이용하여 정확한 CMS 유형을 알지 못하고 관행적으로 사용되고 있는 종묘회사 보유의 CMS 계통 유형을 정확히 판별하여 종묘회사에 정보를 제공하여 품종 개발에 이용할 수 있게 할 계획이다.
- (2) 이미 보급되고 있는 CMS 1대잡종 및 국내·외에서 수집한 CMS 유전자원의 CMS 유형을 정확히 판별하여 종묘회사에 정보를 제공함으로써 품종 개발에 이용될 수 있게 할 계획이다.
- (3) 우량계통에 응성불임성 인자를 도입하기 위해서는 BC6F1정도까지 진행시켜야 하므로 육종에 있어서 많은 시간과 노동력 및 비용이 소요되므로 본 연구에서 개발된 분자마커의 활용은 육종 연한의 단축, 노동력 및 육종비용을 절감에 할 수 있을 것이다.
- (4) 본 연구에서 개발된 CMS와 응성가임의 구분 특이적인 마커 및 CMS 유형별 특이적인 마커는 배추분자마커 사업단에 기탁되어 있으므로 종묘회사 차원에서 배추분자마커사업단의 서비스를 활용할 수 있다.
- (5) 예기장대의 UGPase 유전자의 기능분석으로부터 이 유전자는 화분발달 단계인 사분자 시기의 셀룰로오스막 형성에 비정상임을 나타내었다. 그 결과 화분의 발달에 영향을 미쳐 비정상적인 환분 즉 핵유전자 응성불임성(GMS-genic male sterility)을 나타내었다. 따라서 배추의 UGPase 유전자를 동정 및 이용하여 배추 GMS 계통을 만드는 데 이터로 활용할 것이다.

파. 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성(제3-4세부과제)

- (1) 배추에서 세포질 응성불임성 이용 1대잡종 육성 체계확립 및 품종 개발.
국내 최초이며 품종의 복제가 불가능하여 종자 수출에 크게 기여할 것임.
- 논문화 예정(2013)
- 자체 품종 개발에 이용
- (2) 소포자 배양에 의한 식물체 획득 체계 확립
소포자 유래의 배를 최대한 많이 정상식물체로 분화시키는 체계 확립.
- 논문화 예정(2013)
- 자체 품종 개발에 이용
- (3) 바이러스병과 뿌리혹병의 방립균주에 복합내병성 계통 다수 육성 보유.
국내 및 해외 종자 수출용 복합 내병성 품종 육종 재료 확보.
- 지속적 품종개발사업에 이용
- 자체 품종 개발에 이용
- (4) TuMV 연관 마커 개발
- 배추 마커 사업단에 이양 서비스 중

- (5) 뿌리혹병 방렴균주에 대한 내병성의 유전양식 구명
 - 논문화 예정(2013)
 - 자체 품종 개발에 이용
- (6) 4계성 품종육성 체계 확립
 - 논문화 예정(2013)
 - 자체 품종 개발에 이용
- (7) 유전자 조기 집적 체계 확립
 - 논문화 예정(2013)
 - 자체 품종 개발에 이용

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 대량 유전자 분자표지 발굴

Simple Sequence Repeat (SSR)

유전체 전반에 걸쳐 반복 염기서열이 풍부하고 유전체 전반에 고루 분포하는 microsatellite는 이들과 인접한 염기서열이 매우 보존적이라는 점에 착안하여 마커로 개발되었다(Litt and Luty 1989; Morgante et al. 2002). 실험이 비교적 간단하고 적용이 쉬우며 재현성 또한 다른 마커에 비해 월등하여 식물의 유전학 및 분자유종 연구 등 현재까지 다방면에 적용되고 있다(Powell et al. 1996). 실제로 생성되는 allele 수가 많아 유전적 배경이 다양한 식물들의 품종 동정 (cultivar identification) 에 유리하며 공우성 특성이 있어 ‘잡종 (hybridity)’ 의 양친 기원 판별 및 야생형과 근연종 간의 연관관계 분석이 가능하다(Allender et al. 2007). 초기의 SSR 마커의 개발은 염기서열 정보를 확보하기 위하여 반복염기서열을 갖는 클론의 대량 확보가 선행되어야 했지만 최근에는 데이터베이스(GenBank, EMBL 등)에 공개되어 있는 유전체와 EST 정보를 이용하여 비교적 쉽게 개발할 수 있게 되었다. 특히 EST 를 기반으로 개발한 마커는 유전자의 위치정보를 알 수 있어 염색체의 유전자 밀집(gene rich) 부위에 마커의 밀도를 높일 수 있으며(Thiel et al. 2003; Morgante et al. 2002; Li et al. 2004) 농업적으로 중요한 형질과 연관된 후보 유전자군의 분석(Thornsberry et al. 2001), 마커도움선발(Zhang et al. 2011; Rafalski et al. 2002)에 적용할 수 있어 주목 받고 있다.

배추과의 초기 SSR 마커의 개발은 *B. napus* 에서 활발히 보고되었는데 Lowe(2002, 2004)는 *B. rapa*, *B. nigra*, *B. oleracea*, *B. napus* 에서 398개의 SSR 마커를 개발하여 (BBSRC programme) 유전자지도에서 그 위치를 확인하였으며 Plieske and Struss(2001), 그리고 Suwabe 등(2002)은 *B. rapa* 에서 그 이용을 보고하였다. 2005년 Piquemal(2005)은 서로 다른 *Brassica* F2집단(AC genome)의 공통된 SSR 마커(Celera AgGen Brassica Consortium)를 이용하여 consensus map을 작성하였는데 이 지도에서 A genome에 해당하는 10개의 연관그룹(N1-N10)에 해당되는 SSR 마커는 *B. rapa* 에서 적용이 가능하다.

Sequence-related amplified polymorphism (SRAP)

Li 와 Quiros(2001년)에 의해 처음 보고된 SRAP은 PCR 기반으로 하는 분자마커 중에 하나로 RAPD 보다는 재현성이 높고 만들어지는 단편 크기 및 다형성 밴드의 수에 있어는 AFLP 와 유사하지만 coding sequence를 반영하고 실험 방법이 더 간단하다는 장점이 있다. 이런 장점으로 유전적 유연관계분석, hybrids 와 양친간의 유전적 유사도 추정(Hale et al. 2007) 및 고밀도 유전자지도 작성(Sun et al. 2007)에 유용한 형태이며 유전자 클로닝에도 이용되었다(Zang et al. 2009). 최근에 Li(2011)는 차세대 염기서열 분석(NGS, Next Generation Sequencing) 장비 중 Illumina Solexa를 이용하여 확보한 대용

량 염기서열 정보를 *B. rapa* 유전자지도에 표기하여 10,000 개의 SRAP 유전자좌를 보고 하였다.

Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

SNP는 DNA 염기서열에서 단일염기의 다형성을 일컫는 말로 유전체에서 가장 많이 존재하는 다형성 형태이다. 이는 유전체 전반에 걸쳐 분포하며 그 수가 방대하여 특정 유전자에서 allelic variation 구분이 가능하여 각종 진단을 위해 사용되고 있고, 육종에서 형질 연관 마커로서 뿐 아니라 고밀도 유전자지도 작성용으로도 주목 받고 있다 (Rafalski 2002; Snowdon and Friedt 2004; Rahman et al. 2007). Soybean 유전체 연구에서 Hyten (2010) 은 고밀도 유전자지도 작성 및 Scaffold 를 연결하는데 SNP 마커를 이용하였고 *B. rapa* 에서는 Li (2009) 등이 EST 염기서열로부터 대량의 SNP를 발굴하여 유전자지도를 작성하였다. 식물유전체에서 SNP 의 빈도에 대한 보고는 각기 다양한데 *B. napus*의 경우 coding region에서 1SNP/2.1Kb, non-coding region에서 1SNP/1.2Kb 라고 보고하였고(Trick et al. 2009), *B. rapa*에서는 12.6SNP/Kb 라고 보고하였는데(Li et al. 2009) *B. napus* 와의 이러한 차이는 유전체 전반을 대변하는 데이터가 아니라 *B. rapa*와 *A. thaliana* 의 EST 정보를 이용하여 유전자 밀집영역만을 분석하였기 때문으로 해석하였다. Park(2010) 등은 8종의 *B. rapa* 를 대상으로 *B. rapa* genome 전반에 걸쳐 분포하는 SNP/InDel 을 분석한 결과 SNP의 빈도는 exon 영역에서 1SNP/103bp, intron 영역에서는 1SNP/54bp 였고 InDel 의 빈도는 exon 영역에서는 1Indel/2.2Kb, intron 영역에서는 1Indel/135bp 였다고 보고하였다.

한편, Brassica A genome의 pseudochromosome 을 만들기 위해서도 InDel 마커가 이용되었다(Wang et al. 2011). Wang 등은 InDel 마커로 작성된 유전자지도와(RCZ16_DH) 동시에 3종의 *B. rapa* 유전자지도(VCS_DH, JWF3P, CK_DH) 정보를 이용하여 scaffolds 의 위치를 확인하고 결정하였다. 모두 4종의 유전자지도에서 총 183개의 scaffolds 가 연결되어 전체 252Mb 길이의 물리지도를 보고하였다. 이러한 결과로 볼 때 배추과에서 SNP와 InDel 은 마커로 유용하게 이용될 수 있으며, 특히 coding region에서 고밀도의 SNP/InDel 마커 정보는 *B. rapa* 뿐 아니라 근연 Brassica 에서 농업적으로 중요한 형질들과 관련된 후보유전자의 탐색에도 유용하게 이용되리라 기대된다.

배추 유전체 정보로부터 분자마커의 개발

배추과 작물의 경제적, 학문적인 중요성이 인정되어 *B. rapa* 유전체 염기서열 해독을 목표로 다국적 유전체 프로젝트(Multinational Brassica rapa Genome Sequencing Project, MBrGSP) 가 결성되었고 배추과 작물을 위한 표준재료로 A genome 'Chiifu-401-43' 가 선정되었다. 10개의 배추 유전체 해독을 위한 시작점으로 유전자 영역(euchromatic region)에 해당하는 536 개의 종자 BAC 클론이 선정되어 염기서열이 분석되었고(Yang et al. 2005; Mun et al. 2009), BAC 클론의 양쪽 말단 염기서열, 염색체 A3와 A9의 염기서열 등 대량의 염기서열 정보가 축적되었다(표 2). 이들 염기서열 정보를 기반으로 대량의 SSR 마커와 IBP 마커가 개발되었으며 유전자지도와 물리 지도 작성에 이용되었다(Mun et al. 2008; Mun et al. 2010; <http://www.brassica.info>). Suwabe(2002)는 *B. rapa* 에서 SSR 마커를 처음으로 보고하였고 Brassica species 와 cultivars 에서 범용으로 사

용할 수 있음을 보고하였다. Choi(2007)는 MBrGSP에서 A genome 표준 재료로 사용하고 있는 'Chiifu-401-42' 와 'Kenshin' 을 교배해서 만든 DH (double haploid) 집단을 사용하여 *B. rapa* 의 유전자지도를 작성 하였는데 이 유전자지도 작성에 *B. rapa* 의 염기서열을 이용하여 개발한 SSR 마커를 사용하였고 이 SSR 마커는 *B. napus* 의 A genome 영역에서 그 적용성이 확인되었다. 특히, Kim 등 (2009)은 모두 188개의 *B. rapa* BAC 클론 염기서열 정보를 유전자지도에 표시함으로써 염기서열 해독사업에 중심적인 역할을 하였다. 최근 Yu 등(2011)은 공개된 배추 EST 로부터 SSR 마커를 개발하였고, Ramchiary 등(2011)은 167개 EST-SSR 마커를 Brassica 35종에 적용하여 중간 범용으로 이용할 수 있음(마커의 적용성)을 보여주었다.

고밀도 유전자지도 및 통합 유전자지도

작물에서 유전체 전반의 특징을 나타내는 고밀도 유전자지도는 유용형질을 육종에 이용하는 데 더 많은 정보를 제공해 줄 수 있을 것으로 기대되고 있다. 고밀도 유전자지도를 만드는 방법은 이미 보고된 다양한 유전자 지도의 정보를 통합하거나 고정된 계통으로 구성된 집단 (DH/RIL)을 이용하여 지속적으로 마커의 수를 집적하는 것이다. 유전자지도를 만들 때 주의할 점은 Brassica 유전체의 배수성이다. 유전체에서 중복되는 염색체 단편과 유전자의 중복 특징은 공통마커를 이용하여 서로 다른 유전자지도를 연결하는데 있어 오류를 범할 가능성을 높이기 때문이다. 이런 어려움에도 불구하고 여러 분리집단으로부터 만든 유전자지도 정보의 통합은 단일 분리집단을 이용하여 만든 것에 비해 마커의 수, 해상력, genome coverage 면에서 월등히 뛰어나며 마커와 마커간에 보다 정확한 거리를 예측할 수 있다는 장점이 있다. 초기의 유전자지도의 통합은 몇 개의 공통마커의 위치를 비교하여 해당 연관 그룹을 찾는 Composite map이 사용되었으나 최근에는 공통마커를 이용해 분리되는 마커 데이터를 통합하는 통합 유전자지도 (Integrated map) 가 선호되고 있다. RAPD 와 AFLP 마커는 마커와 연관된 염기서열 정보가 없다는 점에서 공통마커로 사용하기에는 어려움이 있고 이를 이용하기 위해서는 SCAR로 변환해야 한다는 불편함이 있다 (Piao et al. 2004). SSR 마커는 타 식물/작물에 이용이 쉬워 유전체의 특정 부위를 연결하는 연결자 (linker) 로 가능하여 유전자지도간 통합뿐 아니라 유전자지도와 물리지도의 통합에도 유용하다(Bell et al. 1994; Akkaya et al. 1995). 또한 농업적으로 중요한 표현형과 유전적 변이를 형질과 연관시켜 육종에 이용이 가능하다고 제안되고 있다(Yu et al. 1994). 특히, EST-SSR 은 유전자 정보인 EST 염기서열을 이용하여 개발한 것으로 non-coding 부위에서 개발한 SSR 마커에 비해 보존되었을 가능성이 높아 타 종에도 적용(transferability)이 용이하다(Varshney et al. 2005). Li (2010)는 'Chiifu-401-42' 와 'rapid cycling *B. rapa*' 를 교배하여 만든 CRF2집단과 CKDH 유전자지도(Choi et al. 2007; Kim et al. 2009)를 공통마커로 통합하여 Brassica rapa intra-specific 통합 유전자지도를 보고하였다. 또한, Ramchiary 등(2011)은 4종의 유전자지도를 통합하여 1,426 개의 마커를 포함한 통합유전자 지도를 작성하여 Brassica rapa 작물 유전체의 consensus frame을 제시하였다.

Table 1. Salient features of genetic linkage maps constructed in cultivated *Brassica rapa*

Population(s)	No. of lines	Markers	Linkage groups	No. of loci detected	Total map length (cM)	Linkage analysis software	Reference
<i>B. rapa</i>							
TBDH (Qiu et al. 2006) & F ₂ AG(Suwabe et al.2006)	188 TBDH, 94AG	SSR, RFLP SNP/indel AFLP RAPD common markers:44	10	147(TBDH) SSR:30,RFLP:18 SNP/indel:42 AFLP:57 262(AG) SSR:113,RFLP:87 RAPD:62		Mapmaker r/Exp 3.0	Suwabe et al. 2008
F ₂ of cross, <i>B. rapa</i> <i>Bathari</i> mandi and IC 331817 inbred line	48	SSR	9	53	354.6	Mapmaker r	Kapoor et al., 2009
CKDH (Choi et al., 2007)	78	AFLP RAPD SSR ESTP/CAP /STS	10	719 AFLP:267 RAPD:24 SSR:411(BAC clones derived SSRs:191) ESTP/CAP/STS:17	1123.3	Joinmap 4.0	Kim et al. 2009
DH of cross from a commercial hybrid non-heading Chinese cabbage "Hanxiao" (lines SW-13 x L-118)	127	SRAP SSR RAPD	10	512 SRAP:397 SSR:91 RAPD:126	973.38	Mapmaker r/Exp 3.0	Cheng et al., 2009
RIL(BraIRRi), cross of rapid cycling(IMB211) and yellow sarson <i>B. rapa</i> (R500).	160		10	225	1113.6	Joinmap 3.0	Iniguez-Luy et al. 2009
F ₂ cross of 'Yellow Sarson' CG34, an early-flowering Indian oilseed rape, and DH line P11 of <i>B. rapa</i> cv. 'Osome', a Japanese commercial variety of late flowering leafy vegetable.	132-134	SCAR, CAPS, SSR, SNP	10	241 SCAR:8,CAPS:70 SSR:12,SNP:151	1396	Antmap v. 1.2	Li F et al, 2009
F ₂ cross of Chiifu-401-42 × rapid cycling <i>B. rapa</i> (CRF2), DH cross of Chiifu-401-42 × Kenshin(CKDH)	78 CKDH, 190CRF2		10	1017 AFLP:267,RAPD: 24 SSR:563,IP:146 STS:8,ESTP:7 CAPS:2	1262	JoinMap v. 4	Li X et al. 2010
F ₂ cross of DH '501' and '601'	154	SSR	10	226 SSR:154 UGMS:72	933.9	JoinMap v. 4	Yu et al. 2011
4 population, CKDH(Choi et al. 2007), CRF2(Li et al. 2010), PF2 cross of CR Shinki and 94SK, CSKF2 cross of '501' and '601' (Yu et al. 2011)	78DH, 190F2, 94F2, 144F2	SSR, IP, AFLP,RAPD STS,CAP S	10	1426 IP:153 SSR:701 others:572	1245.9	JoinMap v. 4	Ranchiary et al. 2011
RIL(F ₂),cross of <i>B. rapa</i> 'Yellow Sarson' and DH line 'R116'	92	SRAP	10	10,960 SRAP:9177 Solexaseq:1790 SSR:46	1436.6	JoinMap 3.0	Li et al. 2011
DH (RCZ16_DH), cross of <i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i> DH line (Z16) and a rapid cycling inbred line (L144)	119	Indel	10	507 415Indel, 92SSR	1234.2	JoinMap 4.0	Wang et al. 2011
Yellow-BcDH64/White-BcDH76	183DH	SSR IBP AFLP SRAP	17	212 SSR: 151 AFLP: 44 SRAP:12 IBP:5	1703	JoinMap 4.0	Shaomin Guo et al. 2012
<i>B. napus</i>							
HZ309 ⊗ Y106	3662 individuals	SCAR, SSR, AFLP	2	AFLP: 13 SSR: 86 SCAR: 115	1236.2	Mapmaker r 3.0	Zhu Liu et al. 2012
HZ309 ⊗ Y106/152BC ₃ F ₂ (BC3F2 ⊗ BC4F1)	470	AFLP, SSR	2	AFLP:123 SSR: 21	1005	Mapmaker r/EXP 3.0	Liu Zhang et al. 2012
NIL(Ke et al. 2005; He et al. 2008).	9012A,9012B, 9012A/GOSA /9012F, 9012A ⊗DH1 96B, 16703/4054/	AFLP, SSR, SCAR, Indel	2	AFLP:3 SCAR:4 SSR:2 Indel:12			Ji Li et al. 2012
DH population, SASDH [Barossa (Rlm4)/BLN36-3//58410K/Shiralee (Rlm4)/Cobra]/ Ag-Spectrum (Eureka (Rlm4)/ZE6]	186	18SSR, 12SRAP, 1SCAR	24	SSR:229 SRAP:22	2672	Map manager QTX20b	Rosy Raman et al. 2012

2. 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석

- 1) 배추는 배추속 식물의 A genome 모델로서 배추과 식물 유전 및 유전체 연구의 중심 대상이 되어 왔으며 2011년 다국적 유전체 해독 컨소시엄에 의해 배추의 유전자 영역 약 284Mb에 대한 해독이 완료되었다(The *Brassica rapa* genome sequencing project consortium, 2011).
- 2) 배추 유전체는 Illumina의 GAI 차세대 염기서열 분석기기로 생산된 약 72X의 짧은 서열들을 컨디그(contig)로 연결한 후 약 20만개 BAC 말단 서열과 통합하여 scaffold로 조립되었다. 조립 서열에 대한 유전자 예측 결과 41,174개의 단백질을 암호화하는 염기서열이 발견되었다.
- 3) 영국은 Brassica 'A'와 'C' 유전체의 기본적인 물리지도를 만들기 위해 BAC 라이브러리의 DNA fingerprinting(지문화)분석을 하였다. 또한 유전자 probe를 선별하여 애기장대 유전체 염기서열과 앞서 언급한 물리지도를 통합하고자 하였다. Brassica와 애기장대에 관심 있는 사용자들에게 현재까지 출간된 자료, 애기장대 유전체 염기서열과 A, C 유전체간에 연결을 위해 사용된 probe와 BAC클론 등의 정보를 제공하기 위해 BBSRC Brassica IGF Project (<http://brassica.bbsrc.ac.uk/IGF/>)를 운영하고 있다.
- 4) 유럽공동체와 중국은 공동으로 IMSORB: oilseed rape programme(<http://brassica.bbsrc.ac.uk/IMSORB/>)를 운영하면서 다양한 환경 조건에서 경쟁력 있는 oilseed rape 자원 품종을 개발하고 지속적인 신종개발을 위한 지식을 축적하고 있다.
- 5) 미국은 애기장대 유전체의 annotation을 높이고, Brassica와 애기장대간에 염기서열 보존정도를 탐색하기 위해 *B. oleracea* GSS database(<http://www.tigr.org/tdb/e2k1/bog1/TIGR>)를 운영하고 있다.
- 6) 캐나다는 Brassica와 애기장대 유전체간 비교를 위하여 AAFC Comparative Genome Viewer (<http://brassica.agr.gc.ca/navigation/viewere.shtml>, SRC)를 운영하고 있다.
- 7) JIC(영국)에서는 BAC 라이브러리 screening과 배급을 위해(<http://jicgenomelab.co.uk/libraries.html>)을 운영하고 있다.
- 8) 호주에서는 Brassica ASTRA database(Love 등, 2004, 2005), SSR 및 SNP 개발, 유전체 지형도, 유전자 ontology 연구를 위해 PBC Bioinformatics (<http://hombill.cspp.latrobe.edu.au/>)를 운영하고 있다.

3. 배추 내서성 연관 분자 마커 개발

- 1) 작물 고온 저항성에 관한 미국 National science foundation 연구 지원
http://www.nsf.gov/discoveries/disc_summ.jsp?cntn_id=114642&org=NSF
 => 고온 저항성 작물에 대한 연구를 통해 기근을 방지하고 생물연료 보존에 관한 소개.



- 2) SNP 마커 개발을 위한 분석 기술 장비 (High resolution melting curve analysis)
<http://www.idahotech.com/LS32/index.html>
 => 염기서열 분석 없이 SNP를 검사하는 장비소개



4. 배추 응성불임성 마커 개발

- 1) 갯의 CMS 분자마커를 탐색한 논문에서는 atpA와 orf220이 CMS와 MF를 구분하는 마커로 개발하였으며, 최근에는 orf 256과 orf 305/orf324 유전자를 이용하여 마커를 개발하였다.
- 2) 배추과 작물의 mtDNA atp6/orf224지역은 Polima CMS와 관련된 유전자이며, orf222/nad5는 Napus CMS와의 관련성을 보고하였다.
- 3) 'Komasuna' (*Brassicarapa*)와 적색양배추인 'Ruby ball' (*Brassica oleracea*)을 교잡하고, 'Shigoin' (*Raphanus*)와 'Ruby ball'을 체세포 융합하여, 두개의 새로운 CMS line을 만들었다.
- 4) atp6와 orf 138 마커를 이용하여 이 둘의 CMS를 확인해본 결과 무의 Ogura CMS와 동일하였다. 또한, 두 새로운 CMS는 서로 다른 개체로부터 유래했음에도 불구하고 같은 미토콘드리아와 엽록체의 RFLP 패턴을 보였다.
- 5) 또한, 두 CMS line에서 황화현상이 나타났으며 이는 Brassica CMS에서 일반적으로 보이는 현상으로, 엽록체 유전자가 황화현상을 일으킨다. 그러나 CMS와 엽록체 DNA와의 관련성은 아직 완벽히 보고된 바 없으나, REFP 패턴이 Ogura CMS와 같은 것을 확인하고 Yuzo(2006)은 chDNA와 CMS 라인의 관련성을 알아보려고 matK와 RuBisCO 유전자를 분석하였다.
- 6) 엽록체의 matK 유전자는 trnK 유전자와 인트론을 포함하며, Hirata는 *Arabidopsis thaliana*의 matK를 이용하여 분자마커 cpp02와 radish sp를 개발하여 CMS와 normal 간의 차이를 밝혔다



Molecular characterization of a serine protease Pro1 from *Plasmodiophora brassicae* that stimulates resting spore germination

JIE FENG¹, RU HWANG², SHEAU-FANG HWANG^{1,*}, STEPHEN E. STRELKOV², BRUCE D. GOSSSEN³, QI-XING ZHOU¹ AND GARY PENG³

¹Crop Diversification Centre North, Alberta Agriculture and Rural Development, Edmonton, AB, T5Y 6H3, Canada
²Department of Agriculture, Food and Nutritional Science, University of Alberta, Edmonton, AB, T6G 2P5, Canada
³Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon, SK, S7N 0X2, Canada

최근 들어 *P. brassicae*에 대한 분자생물학적 연구가 진행 되고 있으며 특이 위의 논문은 휴면포자에 영향을 미치는 유전자인 것으로 밝혀져 병원성과의 연계가 주목되고 있다.

제1-1세부과제 : 대량 유전자 분자표지 발굴

- 1) Ågren J, Schemske DW (1992) Artificial selection on trichome number in *Brassica rapa*. Theor Appl Genet 83:673-678
- 2) Ahmed SU, Zuberi MI (1971) Inheritance of seed coat color in *Brassica campestris* L. variety Toria. Crop Sci 11:30
- 3) Akkaya MS, Shoemaker RC, Specht JE, Bhagwat AA, Cregan PB (1995) Integration of simple sequence repeat DNA markers into asoybean linkagemap. CropSci 35:1439-1445
- 4) Allender CJ, Allainguillaume J, Lynn J, King GJ (2007) Simple sequence repeats reveal uneven distribution of genetic diversity in chloroplast genomes of *Brassica oleracea* L. and (n = 9) wild relatives. Theor Appl Genet 114:609-618
- 5) Axelsson T, Bowman CM, Sharpe AG, Lydiate DJ, Lagercrantz U (2000) Amphiploid *Brassica juncea* contains conserved progenitor genomes. Genome 43:679-688
- 6) Bell CJ, Ecker JR (1994) Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of *Arabidopsis*. Genomics 19:137-144
- 7) Carlsson M, Bothmer RV, Merker A (2004) Screening and evaluation of resistance to downy mildew (*Peronospora parasitica*) and clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in genetic resources of *Brassica oleracea*. Hereditas 141:293-300
- 8) Castonguay Y, Cloutier J, Bertrand A, Michaud R, Laberge S (2010) SRAP polymorphisms associated with superior freezing tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* spp. sativa). Theor Appl Genet 120:1611-1619
- 9) Chen BY, Jørgensen RB, Cheng BF, Heneen WK (1997) Identification and chromosomal assignment of RAPD Markers linked with a gene for seed colour in a *Brassica campestris-alboglabra* addition line. Hereditas 126(2):133-138
- 10) Cheng Y, Geng J, Zhang J, Wang Q, Ban Q, Hou X (2009) The construction of a genetic linkage map of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino. J Genet Genomics 36(8):501-8
- 11) Choi SR, Teakle GR, Plaha P, Kim JH, Allender CJ, Beynon E, Piao ZY, Soengas P, Han TH, King GJ, Barker GC, Hand P, Lydiate DJ, Batley J, Edwards D, Koo DH, Bang JW, Park BS, Lim YP (2007) The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. Theor Appl Genet 115:777-792
- 12) Chyi YS, Hoenecke ME, Ssemyk JL (1992) A genetic linkage map of restriction fragment length polymorphism loci for *Brassica rapa* (syn. *campestris*). Genome 35:746-757
- 13) Coelho PS, Monteiro AA (2003) Expression of resistance to downy mildew at cotyledon and adult plant stages in *Brassica oleracea* L. Euphytica 133:279-284

- 14) Constantinescu O, Fatehi J (2002) Peronospora-like fungi (Chromista, Peronosporales) parasitic on Brassicaceae and related hosts. *Nova Hedwigia* 74:291-338
- 15) Crute IR, Gray AR, Crisp P, Buczacki ST (1980) Variation in Plasmodiophora brassicae and resistance to clubroot disease in brassicas and allied crops. *Plant Breed Abstr* 50:91-104
- 16) David GO, Herman PL, Sivakumaran S, Esch J, Marks MD (1991) A myb gene required for leaf trichome differentiation in *Arabidopsis* is expressed in stipules. *Cell* 67(3):483-493
- 17) Fahey JW, Talalay (1995) The role of crucifers in cancer chemoprotection. In: Gustin DL, Flores HE, (eds), *Phytochemicals and Health*, American Society of Plant Physiologists, pp 87-93.
- 18) Farrall M (2004) Quantitative genetic variation: a post-modern view. *Hum Mol Genet* 13:R1-R7
- 19) Ferreira ME, Williams PH, Osborn TC (1994) RFLP mapping of *Brassica napus* using doubled haploid lines. *Theor Appl Genet* 89:615-621
- 20) Fukui K, Nakayama S, Ohmido N, Yoshiaki H, Yamabe M (1998) Quantitative karyotyping of three diploid Brassica species by imaging methods and localization of 45S rDNA loci on the identified chromosomes. *Theor Appl Genet* 96:325-330
- 21) Glazier AM, Nadeau JH, Aitman TJ (2002) Finding genes that underlie complex traits. *Science* 298:2345-2349
- 22) Hale AL, Farnham MW, Nzaramba MN, Kimbeng CA (2007) Heterosis for horticultural traits in broccoli. *Theor Appl Genet* 115(3):351-360
- 23) Hay A, Kaur H, Phillips A, Hedden P, Hake S, Tsiantis M (2002) The gibberellin pathway mediates KNOTTED1-type homeobox function in plants with different body plans. *Current Biology* 12(18):1557-1565
- 24) Hayashida N, Takabatake Y, Nakazawa N, Aruga D, Nakanishi H, Taguchi G, Sakamoto K, Matsumoto E (2008) Construction of a practical SCAR marker linked to clubroot resistance in Chinese cabbage, with intensive analysis of HC352b genes. *J Jpn Soc Hortic Sci* 77:150-154
- 25) Hirai M (2006) Genetic analysis of clubroot resistance in Brassica crops. *Breed Sci* 56:223-229
- 26) Hirai M, Harada T, Kubo N, Tsukada M, Suwabe K, Matsumoto S (2004) A novel locus for clubroot resistance in *Brassica rapa* and its linkage markers. *Theor Appl Genet* 108:639-643
- 27) Howell EC, Baker GC, Jones GH, Kearsey MJ, King GJ, Kop EP, Ryder CD, Teakle GR, Vicente JG and Armstrong J (2002) Integration of cytogenetic and genetic linkage maps of *Brassica oleracea*. *Genetics* 161:1225-1234
- 28) Hyten DL, Cannon SB, Song Q, Weeks N, Fickus EW, Shoemaker RC, Specht JE, Farmer AD, May GD, Cregan PB (2010) High-throughput SNP discovery through deep resequencing of a reduced representation library to anchor and orient scaffolds in the soybean whole genome sequence. *BMC Genomics* 15:11-38
- 29) Iniguez-Luy FL, Voort AV, Osborn TC (2008) Development of a set of public SSR markers derived from genomic sequence of a rapid cycling *Brassica oleracea* L. genotype. *Theor Appl Genet* 117(6): 977-985
- 30) Iniguez-Luy FL, Lukens L, Farnham MW, Amasino RM, Osborn TC (2009) Development of public immortal mapping populations, molecular markers and linkage maps for rapid cycling *Brassica rapa* and *B. oleracea*. *Theor Appl Genet* 120(1):31-43
- 31) Johnson CS, Kolevski B, SmythDR(2002)TRANSPARENT TESTA GLABRA2, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor. *Plant Cell* 14:1359-1375
- 32) Kapoor R, Banga SS, Banga SK (2009) A microsatellite (SSR) based linkage map of *Brassica rapa*. *New Biotechnol.* 26(5):239-43
- 33) Kim H, Choi SR, Bae J, Hong CP, Lee SY, Hossain MJ, Van Nguyen D, Jin M, Park BS, Bang JW, Bancroft I, Lim YP (2009) Sequenced BAC anchored reference genetic map that reconciles the ten individual chromosomes of *Brassica rapa*. *BMC Genomics* 10:432.
- 34) Kim JS, Chung TY, King GJ, Jin M, Yang TJ, Jin YM, Kim HI, Park BS (2006) A sequence-tagged linkage map of *Brassica rapa*. *Genetics* 174(1):29-39
- 35) Kim S, Song YH, Lee JY, Choi SR, Dhandapani V, Jang CS, Lim YP, Han T (2011) Identification of the BrRHP1 locus that confers resistance to downy mildew in Chinese cabbage (*Brassica rapa ssp. pekinensis*) and development of linked molecular markers. *Theor Appl Genet* 123(7):1183-1192
- 36) Kole C, Kole P, Vogelzang R, Osborn TC (1997) Genetic linkage map of a *Brassica rapa* recombinant inbred population. 88(6):553-557
- 37) Koo DH, Plaha P, Lim YP, Hur Y, Bang JW (2004) A high-resolution karyotype of *Brassica rapa ssp. pekinensis* revealed by pachytene analysis and multicolor fluorescence in situ hybridization. *Theor Appl Genet* 109:1346-1352
- 38) Koornneff M, Vanderveen JH (1983) Trisomics of *Arabidopsis thaliana* and the location of linkage groups. *Genetica* 61:41-46
- 39) Kuginuki Y, Ajisaka H, Yui M, Yoshikawa H, Hida K, Hirai M (1997) RAPD markers linked to a clubroot-resistance locus in *Brassica rapa* L. *Euphytica* 98:149-154
- 40) Kunzel G, Korzun L, Meister A (2000) Cytologically integrated physical restriction fragment length polymorphism maps for the barley genome based on translocation breakpoints. *Genetics* 154:397-412
- 41) Lai KC, Hsu SC, Kuo CL, Ip SW, Yang JS, Hsu YM, Huang HY, Wu SH, Chung JG (2010) Phenethyl isothiocyanate inhibited tumor migration and Invasion via suppressing multiple signal transduction pathways in human colon cancer HT29 Cells. *J Agric Food Chem* 58(20):11148-11155
- 42) Larkin JC, Oppenheimer DG, Marks MD (1994) The GL1 gene and the trichome developmental pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Results Probl Cell Differ* 20:259-275

- 43) Li F, Kitashiba H, Inaba K, Nishio T (2009) A *Brassica rapa* linkage map of EST-based SNP markers for identification of candidate genes controlling flowering time and leaf morphological traits. *DNA Res* 16(6):311-323
- 44) Li G, Quiros CF (2002) Genetic analysis, expression and molecular characterization of BoGSL-ELONG, a major gene involved in the aliphatic glucosinolate pathway of Brassica species. *Genetics* 162(4):1937-1943
- 45) Li Gand, Quiros CF (2001) Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor Appl Genet* 103:455-461
- 46) Li W, Zhang J, Mou Y, Geng J, McVetty PB, Hu S, Li G (2011) Integration of Solexa sequences on an ultradense genetic map in *Brassica rapa* L. *BMC Genomics* 12:249
- 47) Li X, Ramchiary N, Choi SR, Van Nguyen D, Hossain MJ, Yang HK, Lim YP (2010) Development of a high density integrated reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* Genome Sequencing Project. *Genome* 53(11):939-947
- 48) Li YC, Korol AB, Fahima T, Nevo E (2004) Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Mol Biol Evol* 21:991-1007
- 49) Lim KB, de Jong H, Yang TJ, Park JY, Kwon SJ, Kim JS, Lim MH, Kim JA, Jin M, Jin YM, Kim SH, Lim YP, Bang JW, Kim HI, Park BS (2005) Characterization of rDNAs and tandem repeats in heterochromatin of *Brassica rapa*. *Mol Cell* 19:436-444
- 50) Litt M, Luty JA (1989) A hyper variable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet* 44:397-401
- 51) Lombard V, Delourme R (2001) A consensus linkage map for rapeseed (*Brassica napus* L.): Construction and integration of three individual maps from DH populations. *Theor Appl Genet* 103:491-507
- 52) Lowe AJ, Jones AE, Raybould AF, Trick M, Moule CL, Edwards KJ (2002) Transferability and genome specificity of a new set of microsatellite primers among Brassica species of the U triangle. *Molecular Ecology Notes* 2(1):7-11
- 53) Lowe AJ, Moule C, Trick M, Edwards KJ (2004) Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in Brassica crop species. *Theor Appl Genet* 108:1103-1112
- 54) Mackay TF (2001) The genetic architecture of quantitative traits. *Annu Rev Genet* 35:303-39
- 55) Mahajan V, Gill HS, More TA (1995) Inheritance of downy mildew resistance in Indian cauliflower (group III). *Euphytica* 86:1-3
- 56) Matsumoto E, Yasui C, Ohi M, Tsukada M (1998) Linkage analysis of RFLP markers for clubroot resistance and pigmentation in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Euphytica* 104(2):79-86
- 57) McGrath JM and Quiros CF (1991) Inheritance of isozyme and RFLP markers in *Brassica campestris* and comparison with *B. oleracea*. *Theor Appl Genet* 82:668-673
- 58) Monteiro AA, Coelho PS, Bahcevandziev K, Vale'rio L (2005) Inheritance of downy mildew resistance at cotyledon and adult plant stages in 'Couve Algarvia' (*Brassica oleracea* var. tronchuda). *Euphytica* 141:85-92
- 59) Morgante M, Hanafey M, Powell W. (2002) Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nat Genet* 30(2):194-200
- 60) Muangprom A, Osborn TC (2004) Characterization of a dwarf gene in *Brassica rapa*, including the identification of a candidate gene. *Theor Appl Genet* 108(7):1378-1384
- 61) Mun JH, Kwon SJ, Seol YJ, Kim JA, Jin M, Kim JS, Lim MH, Lee SI, Hong JK, Park TH, Lee SC, Kim BJ, Seo MS, Baek S, Lee MJ, Shin JY, Hahn JH, Hwang YJ, Lim KB, Park JY, Lee J, Yang TJ, Yu HJ, Choi IY, Choi BS, Choi SR, Ramchiary N, Lim YP, Fraser F, Drou N, Soumpourou E, Trick M, Bancroft I, Sharpe AG, Parkin IA, Batley J, Edwards D, Park BS (2010) Sequence and structure of *Brassica rapa* chromosome A3. *Genome Biol* 11(9):R94
- 62) Mun JH, Kwon SJ, Yang TJ, Kim HS, Choi BS, Baek S, Kim JS, Jin M, Kim JA, Lim MH, Lee SI, Kim HI, Kim H, Lim YP, Park BS (2008) The first generation of a BAC-based physical map of *Brassica rapa*. *BMC Genomics* 9:280
- 63) Mun JH, Kwon SJ, Yang TJ, Seol YJ, Jin M, Kim JA, Lim MH, Kim JS, Baek S, Choi BS, Yu HJ, Kim DS, Kim N, Lim KB, Lee SI, Hahn JH, Lim YP, Bancroft I, Park BS (2009) Genome-wide comparative analysis of the *Brassica rapa* gene space reveals genome shrinkage and differential loss of duplicated genes after whole genome triplication. *Genome Biol* 10:R111
- 64) Niu X, Leung H, Williams PH (1983) Sources and nature of resistance to downy mildew and turnip mosaic in Chinese cabbage. *J Amer Soc Hort Sci* 108:775-778
- 65) Niu X, Leung H, Williams PH (1983) Sources and nature of resistance to downy mildew and turnip mosaic in Chinese cabbage. *J Amer Soc Hort Sci* 108:775-778
- 66) Novakova B, Salava J, Lydiate D (1996) Construction of a genetic linkage map for *Brassica campestris* L. (syn. *Brassica rapa* L.). *Genetika Slechteni* 32:249-256
- 67) Nozaki T, Kumazaki A, Koba T, Ishikawa K, Ikehashi H (1997) Linkage analysis among loci for RAPDs, isozymes and some agronomic traits in *Brassica campestris* L. *Euphytica* 95:115-123
- 68) O'Brien SJ, Womack JE, Lyons LA, Moore KJ, Jenkins NA, Copeland NG (1993) Anchored reference loci for comparative genome mapping in mammals. *Nat Genet* 3:103-112
- 69) O'Neill CM, Bancroft I (2000) Comparative physical mapping of segments of the genome of *Brassica oleracea* var. alboglabra that are homoeologous to sequenced regions of chromosomes 4 and 5 of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 23:233-243
- 70) Panjabi P, Jagannath A, Bisht NC, Padmaja KL, Sharma S, Gupta V (2008) Comparative mapping of *Brassica juncea* and *Arabidopsis thaliana* using Intron Polymorphism (IP) markers: homoeologous relationships, diversification and evolution of the A, B and C Brassica genomes. *BMC Genomics* 9(1):113

- 71) Park S, Yu HJ, Mun JH, Lee SC (2010) Genome-wide discovery of DNA polymorphism in *Brassica rapa* Mol Genet Genomics 283:135-145
- 72) Parkin IA, Gulden SM, Sharpe AG, Lukens L, Trick M, Osborn TC, Lydiate DJ (2005) Segmental structure of the *Brassica napus* genome based on comparative analysis with *Arabidopsis thaliana*. Genetics 171(2):765-781
- 73) Piao ZY, Deng YQ, Choi SR, Park YJ, Lim YP (2004) SCAR and CAPS mapping of CRb, a gene conferring resistance to Plasmodiophora brassicae in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). Theor Appl Genet 108:1458-1465
- 74) Piao Z, Ramchiary N, Lim YP (2009) Genetics of clubroot resistance in Brassica species. Plant Growth Regul 28:252-264
- 75) Piao ZY, Deng YQ, Choi SR, Park YJ, Lim YP (2004) SCAR and CAPS mapping of CRb, a gene conferring resistance to Plasmodiophora brassicae in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). Theor Appl Genet 108:1458-1465
- 76) Piquemal J, Cinquin E, Couton F, Rondeau C, Seignoret E, Doucet I, Perret D, Villeger M-J, Vincourt P, Blanchard P. (2005) Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers 111(8):1514-1523
- 77) Plieske J, Struss D (2001) Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. I. development in *Brassica napus* and abundance in *Brassicaceae* species 102(5):689-694
- 78) Powell W, Gordon CM, Provan J (1996) Polymorphism revealed by simple sequence repeats. Trends in plant science 1(7): 215-222
- 79) Pradhan AK, Gupta V, Mukhopadhyay A, Arumugam N, Sodhi YS, Pental D (2003) A high-density linkage map in *Brassica juncea* (Indian mustard) using AFLP and RFLP markers. Theor Appl Genet 106:607-614
- 80) Rafalski A (2002) Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. Curr Opin Plant Biol 5:94-100
- 81) Rahman M, Peter B, Mcvetty E, Li G (2007) Development of SRAP, SNP and multiplexed SCAR molecular markers for the major seed coat color gene in *Brassica rapa* L. Theor Appl Genet 115:1101-1107
- 82) Ramchiary N, Nguyen VD, Li X, Hong CP, Dhandapani V, Choi SR, Yu G, Piao ZY, Lim YP (2011) Genic microsatellite markers in *Brassica rapa*: development, characterization, mapping, and their utility in other cultivated and wild Brassica relatives. DNA Res 18(5):305-320
- 83) Roberston DS (1985) A possible technique for isolating genic DNA for quantitative traits in plants. J Theor Biol 117:1-10
- 84) Saito M, Kubo N, Matsumoto S, Suwabe K, Tsukada M, Hirai M (2006) Fine mapping of the clubroot resistance gene, Crr3, in *Brassica rapa*. Theor Appl Genet 114:81-91
- 85) Sakamoto K, Saito A, Hayashida N, Taguchi G, Matsumoto E (2008) Mapping of isolate-specific QTL for clubroot resistance in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). Theor Appl Genet 117:759-767
- 86) Salentijn EMJ, Pereira A, Angenent GC, Linden CG, Lrens F, Smulders MJM (2007) Plant translational genomics: from model species to crops. Mol Breeding 20:1-13
- 87) Sandhu D, Champoux JA, Bondareva SN, Gill KS (2001) Identification and physical localization of useful genes and markers to a major gene-rich region on wheat group1 Schromosomes. Genetics 157:1735-1747
- 88) Sax K (1923) The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in PHASEOLUS VULGARIS. Genetics 8(6):552-560
- 89) Schranz ME, Lysak MA, Mitchell-Olds T (2006) The ABC's of comparative genomics in the Brassicaceae: building blocks of crucifer genomes. Trends in Plant Sci 11:535-542
- 90) Sebastian RL, Howell EC, King GJ, Marshall DF, Kearsey MJ (2000) An integrated AFLP and RFLP *Brassica oleracea* linkage map from two morphologically distinct doubled-haploid mapping populations. Theor Appl Genet 100: 75-81
- 91) Sharpe AG, Parkin IAP, Keith DJ, Lydiate DJ (1995) Frequent nonreciprocal translocations in the amphidiploids genome of oilseed rape (*Brassica napus*). Genome 38:1112-1121
- 92) Snowdon RJ, Friedt W (2004) Molecular markers in Brassica oilseed breeding: current status and future possibilities Plant Breeding 123(1):1-8
- 93) Snowdon RJ, Friedrich T, Fried T, Kohler W (2002) Identifying the chromosomes of the A- and C-genome diploid Brassica species *B. rapa* (syn. *campestris*) and *B. oleracea* in their amphidiploid *B. napus*. Theor Appl Genet 104:533-538
- 94) Soengas P, Vicente JG, Pole JM, Pink DAC (2007) Identification of quantitative trait loci for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica rapa*. Theor Appl Genet 114:637-645
- 95) Song KM, Osborn TC, Williams PH (1988) Brassica taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) I. Genome evolution of diploid and amphidiploid species. Theor Appl Genet 75:784-794
- 96) Song K, Osborn TC, Williams PH (1990) Brassica taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) 3. Genome relationships in Brassica and related genera and the origin of *B. oleracea* and *B. rapa* (syn. *campestris*). Theor Appl Genet 79:497-506
- 97) Song KM, Suzuki JY, Slocum MK, Williams PH, Osborn TC (1991) A linkage map of *Brassica rapa* (syn. *campestris*) based on restriction fragment length polymorphism loci. Theor Appl Genet 82:296-304
- 98) Stringam GR (1980) Inheritance in seed color in turnip rape. Can J Plant Sci 60:331-335
- 99) Sun Z, Wang Z, Tu J, Zhang J, Yu F, Mcvetty PB, Li G (2007) An ultradense genetic recombination map for *Brassica napus*, consisting of 13551 SRAP markers. Theor Appl Genet 114(8):1305-1317
- 100) Suwabe K, Iketani H, Nunome T, Kage T, Hirai M (2002) Isolation and characterization of microsatellites in *Brassica rapa* L. Theor Appl Genet 104:1092-1098

- 101) Suwabe K, Morgan C, Bancroft I. (2008) Integration of Brassica A genome genetic linkage map between *Brassica napus* and *B. rapa*. *Genome* 51(3):169-176
- 102) Suwabe K, Tsukazaki H, Iketani H, Hatakeyama K, Kondo M, Fujimura M, Nunome T, Fukuoka H, Hirai M, Matsumoto S (2006) Simple sequence repeat-based comparative genomics between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*: the genetic origin of clubroot resistance. *Genetics* 173:309-319
- 103) Suwabe K, Tsukazaki H, Iketani H, Hatakeyama K, Fujimura M, Nunome T, Fukuoka H, Matsumoto S, Hirai M (2003) Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmiodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L. *Theor Appl Genet* 107:997-1002
- 104) Tang ZL, Li JN, Zhang XK, Chen L, Wang R (1997) Genetic variation of yellow-seeded rapeseed lines *Brassica napus* L. from different genetic sources. *Plant Breed* 116:471-474
- 105) Tanksley SD, Ganai MW, Prince JP, de-Vicente MC, Bonierbale MW, Broun P, Fulton TM, Giovannoni JJ, Grandillo S, Martin GB, Messeguer R, Miller JC, Miller L, Paterson AH, Pineda O, Roder MS, Wing RA, Wu W, Young ND (1992) High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics* 132:1141-1160
- 106) Tanksley SD, Young ND, Paterson AH, Bonierbale MW (1989) RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tools for an Old Science *Nature Biotechnology* 7:257-264
- 107) Teutonico RA, Osborn TC (1994) Mapping of RFLP and qualitative trait loci in *Brassica rapa* and comparison to the linkage maps of *B. napus*, *B. oleracea*, and *Arabidopsis thaliana*. *Theor Appl Genet* 89:885-894
- 108) The *Brassica rapa* Genome Sequencing Project Consortium (2011) The genome of the mesohexaploid crop species *B. rapa*. *Nature Genetics* 43:1035-1039
- 109) Thiel T, Michalek W, Varshney RK, Graner A (2003) Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 106(3):411-22
- 110) Thornsberry JM, Goodman MM, Doebley J, Kresovich S, Nielsen D, Buckler ES (2001) Dwarf 8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nat Genet* 28:286-289
- 111) Tiffin P and Hahn MW (2002) Coding sequence divergence between two closely related plant species: *Arabidopsis thaliana* and *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*. *J Mol Evol* 54:746-753
- 112) Trick M, Long Y, Mern J, Bancroft I (2009) Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery in the polyploidy *Brassica napus* using solexa transcriptome sequencing. *Plant Biotechnol J* 7:334-346
- 113) U N (1935) Genome analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japanese Journal of Botany* 7:389-452
- 114) Varshney RK, Graner A, Sorrells ME (2005) Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnol* 23(1):48-55
- 115) Voorrips RE (1995) *Plasmiodiophora brassicae*: aspects of pathogenesis and resistance in Brassica oleracea. *Euphytica* 83:139-146
- 116) Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting *Nucl. Acids Res.* 23(21):4407-4414
- 117) Walker AR, Davison PA, Bolognesi-Winfield AC, James CM, Srinivasan N, Blundell TL, Esch JJ, Marks MD, Gray JC (1999) The TRANSPARENT TESTAGLABRA1 locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein. *Plant Cell* 11:1337-1350
- 118) Wallenhammar AC (1996) Prevalence of *Plasmiodiophora brassicae* in a spring oilseed rape growing area in central Sweden and factors influencing oil infection levels. *Plant Pathol* 45:710-719
- 119) Wang Y, Sun S, Liu B, Wang H, Deng J, Liao Y, Wang Q, Cheng F, Wang X, Wu J (2011) A sequence-based genetic linkage map as a reference for *Brassica rapa* pseudochromosome assembly. *BMC Genomics* 12:239
- 120) Williams J, Kubelik A, Livak K, Rafalski J, Tingey S (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res* 15:6531-6535
- 121) Xiong Z, Kim JS, Pires JC (2010) Integration of genetic, physical, and cytogenetic maps for *Brassica rapa* chromosome A7. *Cytogenet Genome Res* 129:190-198
- 122) Xu J, Qian X, Wang X, Li R, Cheng X, Yang Y, Fu J, Zhang S, King GJ, Wu J, Liu K (2010) Construction of an integrated genetic linkage map for the A genome of *Brassica napus* using SSR markers derived from sequenced BACs in *B. rapa*. *BMC Genomics* 11:594
- 123) Yang TJ, Kim JS, Lim KB, Kwon SJ, Kim JI, Jin M, Park JY, Lim MH, Kim HI, Kim SH, Lim YP, Park BS (2005) The Korea Brassica Genome Project: A glimpse of the Brassica genome based on comparative genome analysis with *Arabidopsis*. *Com Funct Genomics* 6:138-146
- 124) Yerkes DR, Shaw CG (1959) Taxonomy of the *Peronospora* species on Cruciferae and Chenopodiaceae. *Phytopathology* 49:499-507
- 125) Yu G, Ramchiary N, Wang T, Liang C, Wang N, Wang Z, Choi SR, Lim YP, Piao ZY (2011) Development and linkage mapping of unigene-derived microsatellite markers in *Brassica rapa* L. *Breeding Science* 61:160-167
- 126) Yu S, Zhang F, Yu R, Zou Y, Qi J, Zhao X, Yu Y, Zhang D, Li L (2009) Genetic mapping and localization of a major QTL for seedling resistance to downy mildew in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Mol Breeding* 23:573-590
- 127) Yu YG, Saghai MA, Biss GR, Maughan PJ, Tolin SA (1994) RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance. *Phytopathology* 84:60-64
- 128) Yuen JE (1991) Resistance to *Peronospora parasitica* in Chinese cabbage. *Plant Dis*

- 129) Zhang J, Lu Y, Yuan Y, Zhang X, Geng J, Chen Y, Cloutier S, McVetty PBE, Li G (2009) Map-based cloning and characterization of a gene controlling hairiness and seed coat color traits in *Brassica rapa*. *Plant Molecular Biology* 69(5):553-563
- 130) Zhang LG, Wang M, Chen H, Liu L (2000) Construction of RAPDs molecular genetic map of Chinese cabbage. *Acta Botanica Sinica* 42(5):485-489
- 131) Zhang XQ, Li C, Panozzo J, Westcott S, Zhang G, Tay A, Appels R, Jones M, Lance R (2011) Dissecting the telomeric region of barley chromosome 5HL using rice gene sequences as references: new markers for tracking a complex region in breeding. *Mol Breed* 27:1-9
- 132) Zhao J, Wang X, Lou BDP, Wu J, Sun R, Xu Z, Vromans J, Koornneef M, Bonnema G (2005) Genetic relationships within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints. 110(7):1301-1314

제1-1세부 위탁1과제 : 배추 생산자들의 신종자 이용 행태 및 수용에 미치는 요인 분석

- 133) 권오상, 2007, 「환경경제학」, 박영사.
- 134) 김계수, 2010, 「Amos 18.0 구조방정식모형 분석」, 한나래아카데미.
- 135) 사경환, 2011, 「사회조사분석사」, 서원각.
- 136) 최이규, 2006, 「구조방정식모형」, 무역경영사.
- 137) Barreiro, J., M. Sanchez, M. Viladrich-Grau, 2005, "How Much Are People Willing to Pay for Silence? A Contingent Valuation Study", *Applied Economics* 37(11): 1233-1246.
- 138) Bradford, W.D., J. Zoller, G.A. Silvestri, 2004, "Estimating the Effect of Individual Time Preferences on the Demand for Preventative Health Care", CHEPS Working Paper, No. 007-04.
- 139) Cameron, T.A., D. James, 1978, "Efficient Estimation Methods for Closed-Ended Contingent Valuation Surveys", *Review of Economics and Statistics* 69(2): 269-276.
- 140) Cameron, T.A. and J. Quiggin, 1994, "Estimation Using Contingent Valuation Data from a Dichotomous Choice with Follow-Up Questionnaire", *Journal of Environmental Economics and Management* 27(3): 218-234.
- 141) Choo YS, 1980. "An economic analysis of cultivating a new variety of rice seed", *Journal of Rural Development* 3(2): 18-27.[in Korean]
- 142) Chung M, Choe YC, Moon J, Lee CH, 2007, "Understanding Producers' Continuing Use of Food Traceability System", *Korean Journal of Agricultural Economics* 48(4): 133-160.[in Korean]
- 143) Cooper, J.C., W.M. Hanemann, 1994, "Referendum Contingent Valuation: How Many Bounds Are Enough?", Paper presented at 1994 American Agricultural Economic Association Convention in San Diego, CA, USA. Washington, D.C.: Economic Research Service, USDA.
- 144) Cooper, J. C., W.M. Hanemann, G. Signorello, 2002, "One-and-One-Half-Bound Dichotomous Choice Contingent Valuation", *The Review of Economics and Statistics*,

- 145) Gefen, D., D. Straub, 2005, "A practical guide to factorial validity using PLS-GRAPH: Tutorial and annotated example", *Communications of the Association for Information Systems* 16: 91-109.
- 146) Hyun BH, Choung H, Lim JH, 1996, "Economic impact analysis of potato microtubers' supply", *Korean Journal of Agricultural Management and Policy* 23(2): 199-212.[in Korean]
- 147) Jung GH, Choe YC, Park HD, Jang IH, 2010, "Study on the Relationship Between Factors of Farmers' Adoption and Continuous Use of Innovative Technology", *Journal of Agricultural Education and Human Resource Development* 42(3): 109-137.[in Korean]
- 148) Kim BK, Yeo JH, 2002, "An economic analysis of potato microtuber using contingent valuation method", *Life Science and Natural Resources Research* 10: 85-107.[in Korean]
- 149) Korean Seed Association, <http://www.kosaseed.or.kr>.
- 150) Lee AR, 2011, 「Study on the Satisfaction and Economic Results of Farm Household about Introduction of New Agricultural Technology -Case Study : Fine Water Sprayer for Fruit Trees」, Kangwon National University.[in Korean]
- 151) Lee KH, Heo JT, Park SJ, Lee CH, 2000, 「A Study on Consumer Damages and Efficient Redress Programs for Agricultural Producers」, Korea Consumer Agency.[in Korean]
- 152) Marcoulides, G.A., C. Saunders, 2006, "PLS: A silver bullet?", *MIS Quarterly*, 30(2), iii-ix.
- 153) MIFAFF (Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries), 2009, 「2020 government policy for promoting seed industry」.[in Korean]
- 154) Park KH, Park HT, Chung CG, 2010, 「Recent trends of the seed industry and a strategy to foster domestic seed companies」, Korea Rural Economic Institute P129.[in Korean]
- 155) Park HT, Ko KD, 2009, "Estimation of horticulture plants royalty and the direction of plant breeding", *Journal of Rural Development* 32(4): 17-33.[in Korean]
- 156) Park HT, Lee DS, 2002, "The situation of vegetable seed market and the scheme for enlarging vegetable seed export", *Journal of Rural Development* 25(2): 1-19.[in Korean]
- 157) Park WS, 2008, 「A Study on the Factors Affecting of Innovation Technology Acceptance by Crop of Korean Agricultural」, Chonbuk National University.[in Korean]
- 158) Park WS, Suh DK, Lee SY, 2009, "An Empirical Study on the Determinant Factors of New Technology Acceptance by Farmhouse Type", *Korean Journal of Agricultural Management and Policy* 36(3): 209-539.[in Korean]
- 159) Shin JS, 2010, 「Finding answers for a strong seed breeding country in world seed market」, Rural Development Administration, Suwon, Korea.[in Korean]
- 160) The Compilation Committee of the recent history of vegetable seed industry in Korea, 2008, 「The recent history of vegetable seed industry in Korea」. Seoul National

University Press, Seoul, Korea.[in Korean]

- 161) Yoo SH, 2007, "Using One and One-half Bounded Dichotomous Choice Model to Measure the Economic Benefits of Urban Noise Reduction", *Environmental and Resource Economics Review* 16(3): 451-483.[in Korean]
- 162) Yoo JC, Kim JE, 2008, "Using One and One-half Bounded Dichotomous Choice Contingent Valuation Methods to Estimate Non-market Value of Otters in Cheongju · Cheongwon Area", *Environmental and Resource Economics Review* 17(2): 349-379.[in Korean]

제1-1세부 위탁과제 : 배추 FL-cDNA Agrobacterium library를 이용한 기능유전자 해석

- 163) An S, Park S, Jeong DH, Lee DY, Kang HG, Yu JH, Hur J, Kim SR, Kim YH, Lee MO, Han SK, Kim SJ, Yang JW, Kim EJ, Wi SJ, Chung HS, Hong JP, Choe V, Lee HK, Choi JH, Nam JM, Kim SR, Park PB, Park KY, Kim WT, Choe SH, Lee CB, An GH (2003) Generation and analysis of end sequence database for T-DNA tagging lines in rice. *Plant Physiol* 133:2040-2047.
- 164) Chen S, Jin W, Wang M., Zhang F, Zhou J, Jia Q, Wu Y, Liu F, Wu P (2003) Distribution and characterization of over 1,000 T-DNA tags in rice genome. *Plant J* 36:105-113.
- 165) Fujita M, Saho M, Yasunari F, Takanari I, Miki N, Motoaki S, Minami M, Kazuko Y S, Kazuo S (2007) Identification of stress tolerance related transcription factor genes via mini scale full length cDNA over expressor (FOX) gene hunting system. *Bioche Biophy Res Communi* 364:250-257.
- 166) Futamura N, Totoki Y, Toyoda A, Igasaki T, Nanjo T, Seki M, Sakaki Y, Mari A, Shinozaki K, Shinohara K (2008) Characterization of expressed sequence tags from a full-length enriched cDNA library of *Cryptomeria japonica* male strobili. *BMC Genomics* 9:383.
- 167) Hirochika H, Guiderdoni E, An G, Hsing YI, Eun MY, Han C, Upadhyaya N, Ramachandran S, Zhang Q, Pereira A, Sundaresan V, Leung H (2004) Rice mutant resources for gene discovery. *Plant Mol Biol* 54:325-334.
- 168) Ichikawa T, Nakazawa M, Kawashima M, Muto S, Gohda K, Suzuki K, Ishikawa A, Kobayashi H, Yoshizumi T, Tsumoto Y, Tsumoto Y, Iizumi H, Goto Y, Matsui M (2003) Sequence database of 1,172 T-DNA insertion sites in *Arabidopsis* activation tagging lines that showed phenotypes in T1 generation. *Plant J* 36:421-429.
- 169) Ichikawa T, Nakazawa M, Kawashima M, Iizumi H, Kuroda H, Kondou Y, Tsumoto Y, Suzuki K, Ishikawa A, Seki M, Fujita M, Motohashi R, Nagata N, Takagi T, Shinozaki K, Matsui M (2006) The FOX hunting system: an alternative gain of function gene hunting technique. *Plant J* 48:974-985.
- 170) Kondou Y, Higuchi M, Takahashi S, Sakurai T, Ichikawa T, Kuroda H, Yoshizumi T, Tsumoto Y, Horii Y, Kawashima M, Hasegawa Y, Kuriyama T, Matsui K, Kusano M, Albinsky D, Takahashi H, Nakamura Y, Suzuki M, Sakakibara H, Kojima M, Akiyama

- K, Kurotani A, Seki M, Fujita M, Enju A, Yokotani N, Saitou T, Ashidate K, Fujimoto N, Ishikawa Y, Mori Y, Nanba R, Takata K, Uno K, Sugano S, Natsuki3, Joseph Gogo Dubouzet3, Satoru Maeda3, Miki Ohtake3, Masaki Mori3, Kenji Oda J, Takatsuji H, Hirochika H, Matsui M (2009) Systematic approaches to using the FOX hunting system to identify useful rice genes. *Plant J* 57:883-894.
- 171) Miyao A, Iwasaki Y, Kitano H, Itoh J, Maekawa M, Murata K, Yatou O, Nagato Y, Hirochika H (2007) A large scale collection of phenotypic data describing an insertional mutant population to facilitate functional analysis of rice genes. *Plant Mol. Biol.* 63:625-635.
- 172) Muthukrishnan S, Liang GH, Trick HN, Gill BS (2001) Pathogenesis-related proteins and their genes in cereals. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 64:93-114.
- 173) Nakamura H, Makoto H, Kou A, Akio M, Naoko T, Mariko K, Jinhuan P, Naokuni H, Shigeko A, Seiichi T, Miki F, Akiko E, Motoaki S, Miki N, Takanari I, Kazuo S, Minami M, Yoshiaki N, Hirohiko I (2007) A genome wide gain of function analysis of rice genes using the FOX hunting system. *Plant Mol Biol* 65:357-371.
- 174) Nanjo T, Sakurai T, Totoki Y, Toyoda A, Nishiguchi M, Kado T (2007) Functional annotation of 19,841 *Populus nigra* full length enriched cDNA clones. *BMC Genomics* 8:448 .
- 175) Park SH, Jun NS, Kim CM, Oh TY, Huang J, Xuan YH, Park SJ, Je BI, Piao HL, Park SH, Cha YS, Ahn BO, Ji HS, Lee MC, Suh SC, Nam MH, Eun MY, Yi GH, Yun DW, Han CD (2007) Analysis of gene trap Ds rice populations in Korea. *Plant Mol Biol* 65:373-384.
- 176) Ryu CH, You JH, Kang HG, Hur J, Kim YH, Han MJ, An K, Chung BC, Lee CH, An G (2004) Generation of T-DNA tagging lines using a bidirectional gene trap vector and the establishment of an insertion site database. *Plant Mol Biol* 54:489-502.
- 177) Seki M, Masakazu S, Tetsuya S, Kenji A, Kei I, Junko I, Maiko N, Akiko E, Mari N, Miki F, Youko O, Ayako K, Kazuko Y S, Kazuo S (2004) RIKEN *arabidopsis* full length (RAFL) cDNA and its applications for expression profiling under abiotic stress conditions. *J Experimental Botany* 55:213-223.
- 178) Taji T, Sakurai T, Mochida K, Ishiwata A, Kurotani A, Totoki Y (2008) Large-scale collection and annotation of full-length enriched cDNAs from a model halophyte, *Thellungiella halophila*. *BMC Plant Biol* 8:115.
- 179) Weigel D, Ahn JH, Blazquez MA, Borevitz JO, Christensen SK, Fankhauser C, Ferrandiz C, Kardailsky I, Malancharuvil EJ, Neff MM, Nguyen JT, Sato S, Wang ZY, Xia Y, Dixon RA, Harrison MJ, Lamb CJ, Yanofsky MF, Chory J (2000) Activation tagging in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 122: 1003-1013.
- 180) Umezawa T, Sakurai T, Totoki Y, Toyoda A, Seki M, Ishiwata A, Akiyama K, Kurotani A, Yoshida T, Mochida K, Kasuga M, Todaka D, Maruyama K, Nakashima K, Enju A, Mizukado S, Ahmed S, Yoshiwara K, Harada K, Tsubokura Y, Hayashi M, Sato S, Anai T, Ishimoto M, Funatsuki H, Teraishi M, Osaki M, Shinamo T,

Akashi R, Sakaki Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2008) Sequencing and analysis of approximately 40,000 soybean cDNA clones from a full-length-enriched cDNA library. DNA Res. 15:333-346.

181) Yu JG, Park JH, Park YD (2010) Current status of *Brassica rapa* functional genome research in Korea. J Plant Biotechnol 37:166-173.

제1-1세부 위탁과제 : 배추종자 현황분석을 통한 배추분자마커연구사업단 미래 발전 방안 기획연구

- 182) 농림수산물 과학기술 육성 종합계획 (농림수산물부, 2009)
- 183) 종자산업의 동향과 국내 종자기업 육성 방안 (한국농촌경제연구원, 2010)
- 184) 2020 종자산업 육성대책(안) (농림수산물부, 2009)
- 185) 민간육종 종자산업화 기술개발사업 기획연구 (농림기술관리센터, 2008)
- 186) 미래농업의 견인차, 종자산업 (삼성경제연구소, 2009)
- 187) 종자산업, 씨앗을 품다 (국민은행연구소, 2010)
- 188) 세계 종자산업 동향/현지방문 사례 중심 (한국농어촌공사, 2010)
- 189) 미국 종자산업의 기술발전 (한국농촌경제연구원, 2011)
- 190) 중국 종자산업의 발전현황과 전망 (한국농촌경제연구원, 2011)
- 191) 중국 채소산업의 현황과 전망/산동성을 중심으로 (농촌진흥청, 2011)
- 192) 중국 산동성 채소종자시장 조사보고서 (한국종자협회, 2009)
- 193) 배추수급 동향 및 전망과 과제 (신유통포커스, 2011)
- 194) 배추 생산자들의 신종자 이용 행태에 관한 연구 (CNU Journal of Agricultural Science, 2011)
- 195) Global Seeds Market Report (Koncept Analytics, 2011)
- 196) ISF(International Seed Federation) 홈페이지 자료 인용
- 197) 배추분자마커사업단 연차실적보고서

제1-3세부과제 : 주요 유전형질 탐색을 위한 유용 유전집단 양성

- 198) 장만형, 송수현, 양미희, 신현주. 2005. 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령(갯). 국립종자원
- 199) 장만형, 송수현, 양미희, 신현주. 2005. 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령(배추). 국립종자원
- 200) 박중서. 2000. 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령(양배추). 국립종자원
- 201) 이상덕, 김용본, 송수현, 최근진, 박대영, 최영원, 김진국. 2001. 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령(팍초이). 국립종자원
- 202) Piao, Z.Y., Y.Q. Deng, S.R. Choi, Y.J. Park, Y.P. Lim. 2004. SCAR and CAPS mapping of CRB, a gene conferring resistance to Plasmodiophora brassicae in Chinese cabbage(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). Theor. Appl. Genet. 18:1455-1465

제2-1세부과제 : 노균병 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구

- 203) Carlsson, M., R. Von Bothmer, and A. Merker. 2004. Screening and evaluation of resistance to downy mildew (*Peronospora parasitica*) and clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in genetic resources of *Brassica oleracea*. Hereditas. 141(3): 293-300.

204) Chen, X., X. Hou, J. Zhang, and J. Zheng. 2008. Molecular characterization of two important antifungal proteins isolated by downy mildew infection in non-heading Chinese cabbage. Mol. Bio. Rep. 35: 621-629.

205) Choi, S.R., G.R. Teakle, P. Plaha, J.H. Kim, C.J. Allender, E. Beynon, Z.Y.Piao, P. Soengas, T.H. Han, G.J. King, G.C. Barker, P. Hand, D.J. Lydiate, J. Batley, D. Edwards, D.H. Koo, J.W. Bang, B. Park, and Y.P. Lim. 2007. The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. Theor. Appl. Genet. 115: 777 - 792.

206) Farinhó, M., P. Coelho, J. Carlier, D. Svetleva, A. Monteiro, and J. Leitão. 2004. Mapping of a locus for adult plant resistance to downy mildew in broccoli (*Brassica oleracea* convar. *italica*). Theor. Appl. Gen. 109: 1392-1398.

207) Kim, H., S.R. Choi, J. Bae, C.P. Hong, S.Y. Lee, M.J. Hossain, D.V. Nguyen, M. Jin, B. Park, J. Bang, I. Bancroft, Y.P. Lim. 2009. Sequenced BAC anchored reference genetic map that reconciles the ten individual chromosomes of *Brassica rapa*. BMC Genomics 10: 432.

208) Kim, S., Y.H. Song, J.Y. Lee, S.R. Choi, V. Dhandapani, C.S. Jang, Y.P. Lim, and T.H. Han. 2011. Identification of the BrRHP1 locus that confers resistance to downy mildew in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) and development of linked molecular markers. Theor. Appl. Genet. 123(7): 1183-1192.

209) Van Ooijen, J.W. 2006. JoinMap® 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Wageningen, Netherlands.

210) Vicente, J.G., N.D. Gunn, L. Bailey, D.A.C. Pink, and E.B. Holub. 2012. Genetics of resistance to downy mildew in *Brassica oleracea* and breeding towards durable disease control for UK vegetable production. Plant Pathol. 61(3): 600-609.

제2-3세부과제 : 뿌리혹병균 유전자 분석 및 저항성 분자 마커 개발에 관한 연구

- 211) Asano, T., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. 1999. Surface disinfection of resting spore of Plasmodiophora brassicae used to infect hairy roots of Brassica spp. Phytopathology 89: 314-319
- 212) Ando, Sugihiro. 2005. Change in gene expression of putative isopentenyltransferase during clubroot development in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) Physiological and Molecular Plant Pathology 67: 59-67
- 213) Blaselton, J. P. and Short F. T. 1985. Karyotypic analysis of Plasmodiophora brassicae. Mycologia. 77(6): 940-945
- 214) Blaselton, J. P. 1995. Current Status of the Plasmodiophorids. Critical Reviews in Microbiology 21(4): 263-275
- 215) Brodmann, D., Schuller, A., Ludwig-Müller, J., aeschbacher, R. A., Wiemken, A., Boller, T. and Wingler, A. 2002. Infection of Trehalose in *Arabidopsis* plants infected with the trehalose-producing pathogen Plasmodiophora brassicae. MPMI 15(7): 693-700
- 216) Buczacki, S. T, Toxopeus, H., Mattush, P., Johnston, T. D., Dixon, G. R. and Hobolth,

- L. A. 1975. Studies of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae* : proposals for attempted rationalization through an international approach. *Transaction of the British Mycological Society* 65(2): 295-303
- 217) Buczacki, S. T. and Moxham, S. E. 1980. Karyogamy in *Plasmodiophora brassicae*. *The British Mycological Society* 75: 439-444.
- 218) Buhariwalla, H., Greaves, S., Magrath, R. and Mithen R. 1995. Development of specific PCR primers for the amplification of polymorphic DNA from the obligate root pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Physiological and Molecular Plant pathology* 47: 83-94
- 219) Buhariwalla, H., and Mithen, R. 1995. Cloning of a Brassica repetitive DNA element from resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *Physiological and Molecular Plant pathology* 47: 95-101
- 220) Castlebyry, L. A., and Glawe, D. A. 1993. A comparison of three techniques for inoculating Chinese cabbage with *Plasmodiophora brassicae*. *Mycologia*. 85 : 866-867
- 221) Castlebyry, L. A., Maddox, J. V. and Glawe, D. A. 1994. A technique for the extraction and purification of viable *Plasmodiophora brassicae* resting spores from host root tissue. *Mycologia*, 86(3) : 458-460
- 222) Cheah, L. H and Page, B. B. C. 1995. *Trichoderma* spp. for potential biocontrol of clubroot of vegetable Brassicas. *New Zealand Plant Protection* 150-153.
- 223) Cheah L. H, Veerakone S, Kent G. 2000. Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces* spp. *New Zealand Plant Protection* 53: 18-21.
- 224) Cho, W. D., Kim, W. G. and Takahashi, K. 2003. Occurrence of clubroot in cruciferous vegetable crops and races of the pathogen in Korea. *Plant Pathol. J.* 19(1): 64-68
- 225) Crute, I. R, and Pink, D. A. C. 1989. The characteristic and inheritance of resistance to clubroot in *Brassica oleracea*. *Aspects of Applied Biology* 23: 57-60.
- 226) Dekhuijzen, H. M. and Overeem, J. C. 1971. The role of cytokinins in clubroot formation. *Physiological Plant Pathology* 1: 151-1.
- 227) Devos, S., Vissenberg, K, Verbelen J-P. and Prinsen, E. 2005. Infection of Chinese cabbage by *Plasmodiophora brassicae* leads to a stimulation of plant growth: impacts on cell wall metabolism and hormonal balance. *New Phytologist* 166: 241-250.
- 228) Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13
- 229) Donald, E. C. Porter, I. J. 2008. Pathology of cortical invasion by *Plasmodiophora brassicae* in clubroot resistant and susceptible *Brassica oleracea* *Plant pathology* 57: 201-209
- 230) Devos, S., Vissenberg, K., Verbelen, J. P. and Prinsen, E. 2005. Infection of Chinese cabbage by *Plasmodiophora brassicae* leads to a stimulation of plant growth: impacts on cell wall metabolism and hormone balance. *New Phytologist* 166: 241-250
- 231) Faggian, R., Bulman, S. R., Lawrie, A. C. and Porter, I. J. 1999. Specific polymerase chain reaction primers for the detection of *Plasmodiophora brassicae* in soil and water. *Phytopathology* 89: 392-397
- 232) Faggian, R., Strelkov, S. E. 2006. Detection and Measurement of *Plasmodiophora brassicae*. *Journal of Plant Growth Regulation* 28: 282-288.
- 233) Feng, J., Hwang, R., Hwang S-F., Stephen, E. S., Bruce, D. G., Qi-Xing, Z., Peng, G. 2011. Molecular characterization of a serine protease Prol from *Plasmodiophora brassicae* that stimulates resting spore germination. *Molecular Plant Pathology* 11: 503-512.
- 234) Föhling, M., Graf, H. and Siemens, J. 2003. Pathotype separation of *Plasmodiophora brassicae* by the host plant. *J. Phytopathology* 151: 425-430
- 235) Föhling, M., Graf, H. and Siemens, J. 2004. Characterization of single-spore isolate population of *Plasmodiophora brassicae* resulting from a single club. *J. Phytopathology* 152: 438-444
- 236) Graf, F., Sokolowski, F., Klewer, A., Diederichsen, E., Luerben, H. and Siemens, J. 2001. Electrophoretic karyotype of the obligate biotrophic parasite *Plasmodiophora brassicae* Wor. *J. Phytopathology* 149: 313-318
- 237) Grsic-Rausch, S., Kobelt, P., Siemens, J., Bischoff, M. and Ludwig-Müller, J. 2000. Expression and localization of nitrilase during symptom development of the clubroot disease in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 122: 369-8.
- 238) Graf, F., Föhling, M. and Siemens, J. 2004. Chromosome polymorphism of the obligate biotrophic parasite *Plasmodiophora brassicae*. *J. Phytopathology* 152: 86-91
- 239) Hawang, S. F., Strelkov, S. E., Feng, J., Gossen, B. D. and Howard, R. J. 2011. *Plasmodiophora brassicae*: a review of an emerging pathogen of the Canadian canola (*Brassica napus*) crop. *Molecular Plant Pathology* 13: 105-113
- 240) Ingram, D. S. and Tommerup, I.C. 1972. The life history of *Plasmodiophora brassicae* Woron. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 180: 103-112
- 241) Ito, S., Maehara, T., Maruno, E., Tanaka, S., Kameya-iwaki, M. and Kishi, F. 1999. Development of a PCR-based Assay for the Detection of *Plasmodiophora brassicae* in Soil. *J. Phytopathology* 147: 83-88
- 242) Ito, S., Maehara, T., Tanaka, S. Kameya-iwaki, M., Yano, S. and Kishi, F. 1997. Cloning of a single-copy DNA sequence unique to *Plasmodiophora brassicae*. *Physiological and Molecular Plant pathology.* 50: 289-300
- 243) Ito, S., Nakamura, T., Matsumoto, T., Tanaka, S. and Kishi, F. 1998. Characterization of DNA sequence cloned from resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *J. Phytopathology* 147: 143-147
- 244) Ito, S., Ichinose, H., Yanagi, C., Tanaka, S. and Kameya-Iwaki, M. 2001. Identification of differentially expressed genes in susceptible and resistant responses of Chinese cabbage to *Plasmodiophora brassicae*. *J. Phytopathology.* 149: 227-231
- 245) Johnston, T. D. 1986. ClubRoot in Brassica, A standard inoculation technique and the specification of races. *Plant Pathology* 17: 184-187.
- 246) Jones, D. R. and Ingram, D. S. 1982. Characterization of isolates derived from single

- resting spores of *Plasmodiophora brassicae* and studies of their interaction. *Plant Pathology* 31: 239-246.
- 247) Kageyama, K., Kamimura, Y. and Hyakumachi, M. 1995. A simple inoculation method with a single resting spore of *Plasmodiophora brassicae*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 61: 415-418
- 248) Klewer, A., Luerben, H., Graf, H. and Simens, J. 2001. Restriction fragment length polymorphism markers to characterize *Plasmodiophora brassicae* single-spore isolates with different virulence patterns. *J. phytopathology* 149: 121-127
- 249) Kobert, P., Siemens, J. and Sacristán, M. D. 2000. Histological characterization of the incompatible interaction between *Arabidopsis thaliana* and the obligate biotrophic pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Mycol. Res.* 104(2): 220-225
- 250) Kole, A. P. 1954. A contribution to the knowledge of *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh., the cause of powdery scab of potatoes. *Tijdschrift over plantenziekten* 60: 1-65.
- 251) Kuginuki, Y., Yoshikawa, H. and Hirai, M. 1999. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot-resistance cultivar of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. spp. *perkinensis*). *European Journal of Plant Pathol.* 105: 327-332
- 252) Laurens, F. and Thomas, G. 1993. Inheritance of resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) in kale (*Brassica oleracea* ssp. *acephala*). *Hereditas.* 119: 253-262
- 253) Lee Woo Chung. 2005. Genetic analysis of *Plasmodiophora brassicae* resistance locus and Expression profile of genes induced by the pathogen in Chinese cabbage. Graduate School Chungnam National University, Degree of Master of Philosophy in Agricultural Science
- 254) Ludwig-Müller, J. 1999. *Plasmodiophora brassicae*, the causal agent of clubroot disease: a review on molecular and biochemical events in pathogenesis. *Journal of Plant Disease and Protection* 106(2): 109-127
- 255) Ludwig-Müller, J., Bennett, R. N., Kiddle, G., Ihmig, S., Ruppel, M. and Hilgenberg, W. 1999. The host range of *Plasmodiophora brassicae* and relationship to endogenous glucosinolate content. *New Phytol.* 141: 443-458
- 256) Manzanares-Dauleux, M. J., Barret P. and Thomas G. 2000. Development of a pathotype specific SCAR marker in *Plasmodiophora brassicae*. *European Journal of a Plant Pathology* 106: 781-787
- 257) Möller, M. and Harling, R. 1996. Randomly amplified polymorphic DNA(RAPD) profiling of *Plasmodiophora brassicae*. *Letters in Applied Microbiology* 22: 70-75
- 258) Murakami, H. 2000. Effects of growing leafy daikon (*Raphanus sativus*) on populations of *Plasmodiophora brassicae* (clubroot) *plant pathology* 49: 584-589
- 259) Osaki, K., Fujiyama, S., Nakayama, A., Shimizu, Y., Ito, S. and Tanaka, S. 2008. Relation between pathogenicity and genetic variation within *Plasmodiophora brassicae*. *The Journal of General Plant Pathology* 74: 281-288.
- 260) Rennie, D. C., Manolili, V. P., Cao, T., Hwang, S. F., Howard, R. J. and Strelkov, S. E. 2011. Direct evidence of surface infestation of seeds and tubers by *Plasmodiophora brassicae* and quantification of spore loads. *Molecular Plant Pathology* 60: 811-819.
- 261) Robert, C. G. and James, R. A. 1979. The ultrastructure of meiosis in *Plasmodiophora brassicae* (*Plasmodiophorales*). 1979. *Canadian Journal of Botany* 57: 2509-2518.
- 262) Scott, E. S. 1985. Production and Characterization of single spore isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Pathol.* 34(2): 287-292
- 263) Siemens, J., Nagel, M., Ludwig-Müller, J. and Sacristán M. D. 2002. The Interaction of *Plasmodiophora brassicae* and *Arabidopsis thaliana*: parameters for disease quantification and screening of mutant lines. *J. Phytopathology* 150: 592-605
- 264) Siemens, J., Keller, I., Sarx, J., Kunz, S., Schuller, A., Nagel, W., Schmülling, T., Parniske, M., and Ludwig-Müller, J. 2006. Transcriptome analysis of *Arabidopsis* clubroots indicate a key role for cytokinins in disease development. *The American Phytopathological Society* 19: 480-494.
- 265) Siemens, J., Graf, H., Bulman, S., In, O. and Ludwig-Müller, J. 2009. Monitoring expression of selected *Plasmodiophora brassicae* genes during clubroot development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Pathology* 58: 130-136.
- 266) Siemens, j. Glawischnig, E. Ludwig-Müller, J. 2009. Indole Glucosinolates and Camalexin do not Influence the Development of the Clubroot Disease in *Arabidopsis thaliana* *Journal of Phytopathology* 156: 332-337
- 267) Some, A., Manzanares, M. J., Laurens, F., Baron, F., Thomas, G. and Rouxel, F. 1996. Variation for virulence on *Brassica napus* L. amongst *Plasmodiophora brassicae* collections from France and derived single-spore isolates. *Plant Pathology* 45: 432-439
- 268) Tanaka, S., Sakamoto, Y., Kajima, K., Fujieda, K., Katsumoto, K. and Nishi, Y. 1991. Pathogenicity of three isolates of clubroot fungus attacking clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Yamaguchi University* 39: 113-122.
- 269) Tanaka, S., Shogo, T., Ito, S. and Iwaki, M. K. 1997. Pathogenicity of an isolate of *Plasmodiophora brassicae* from Fukuoka prefecture. *Proc. Assoc. Plant Protection of Kyushu* 43: 35-38.
- 270) Tinggal, S. H. and Webster, J. 1981. Technique for single spore infection by *Plasmodiophora brassicae*. *Transactions of the British Mycological Society.* 76(2): 187-190
- 271) Voorrips, R. E. 1995. *Plasmodiophora brassicae*: aspects of pathogenesis and resistance in *Brassica oleracea*. *Euphytica* 83: 139-146
- 272) Voorrips, R. E. 1996. Production, Characterization and interaction of single-spore isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *European Journal of Plant Pathology* 102: 377-383
- 273) Voorrips, R. E. and Kanne, H. J. 1997. Genetic analysis of resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in *Brassica oleracea*. I. Analysis of symptom grades.

- Euphytica 93: 31-39
- 274) Voorrips, R. E. and Kanne, H. J. 1997. Genetic analysis of resistance to clubroot (Plasmodiophora brassicae) in *Brassica oleracea*. II. Quantitative analysis of root symptom measurements. Euphytica 93: 41-48
- 275) Wallenhammar, A-C. 1996. Prevalance of Plasmodiophora brassicae in a spring oilseed rape growing area in central sweden and factors influencing soil infestation levels. Plant Pathology 45: 710-719.
- 276) Wallenhammar, A-C., Almquist1, C., Söderström, M. and Jonsson, A. 2011. In-field distribution of Plasmodiophora brassicae measured using quantitative real-time PCR. Plant Pathology DOI: 10.1111/j.1365-3059.2011.02477.X
- 277) Wang, X. et al. 2011. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. Nature Genetics 43: 1035-1039.
- 278) Williams, P. H. 1966. A system for the determination of race of Plasmodiophora brassicae that infect cabbage and rutabaga. Phytopathology 56: 624-626.
- 279) Woronin, M. 1877. Trudy St Petersburg Obshch Est Otd Bot 8: 169.
- 280) Wallenhammar, A. C. and Arwidsson, O. 2001. Detection of Plasmodiophora brassicae by PCR in naturally infested soils. European Journal of Plant Pathology 107: 313-321
- 281) Yano, S., Tanaka, S., Ito, S. and Kameya-iwaki, M. 1997. Variations of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) patterns among field populations of Plasmodiophora brassicae. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 63: 179-182
- 282) 강수웅, 권진혁, 김희규 1995. 경남지역 벼 도열병균 Race의 분포추이. The Plant Pathology Journal 6 : 101-196.
- 283) 강화정, 윤무경, 김대현, 김정수, 한중술, 엄영현. 2000. 배추과 채소에 발생하는 뿌리혹병의 계통분류 및 저항성 재료 선발. Kor. J. Hort. Sci. & Technol. 18(2): 187
- 284) 강화정, 윤무경, 오대근, 김현준, 서효덕. 2000. 배추에 발생하는 뿌리혹병의 단포자 분리주 획득. Kor. J. Hort. Sci. & Technol. 18(2): 187
- 285) 권업모범장 1928. 조선작물병해목록. 제3판. 436.
- 286) 김충희, 조원대, 양종문. 1999a. 배추 뿌리혹병의 뿌리혹 형성에 미치는 묘령, 접종원 농도 및 접종방법의 영향. 식물병과농업. 5(2): 90-94.
- 287) 김충희, 조원대, 양종문. 1999b. 배추 뿌리혹병의 뿌리혹 형성에 미치는 온도, 토양수분, 토양pH, 광의 영향. 식물병과농업. 5(2): 84-89.
- 288) 김충희, 조원대, 양종문. 1999c. 배추 뿌리혹병 발생실태와 뿌리혹의 생성생태. 식물병과농업. 5(2): 77-83.
- 289) 김충희, 조원대, 김홍모. 2000a. 배추 뿌리혹병균의 토양내 분포. 식물병연구 6(1):27-33.
- 290) 김충희, 조원대, 김홍모. 2000c. 배추 뿌리혹병균 휴면포자의 발아 및 생존에 미치는 몇가지 환경요인. 한국농약과학회지 4(4): 66-71.
- 291) 김충희, 조원대, 김홍모. 2000d. 봄 배추 뿌리혹병의 포장감염시기와 피해. 식물병연구. 6(1): 23-26.
- 292) 김충희, 조원대, 김홍모. 2000. 배추무사마귀병 뿌리혹의 부패에 미치는 몇가지 환경요인. 한국농약과학회지 4(4): 61-65
- 293) 김충희, 조원대, 이상범. 2003. 우리나라 배추 뿌리혹병 연구현황과 향후과제. 식물병연구 9(2) : 57-63
- 294) 농촌진흥청 2001. 십자화과 채소의 뿌리혹병 발생 생태 및 병제 대책 연구 대형 공동과제 완결보고서 111.
- 295) 박수형, 윤무경 2009. 뿌리혹병 race 4 저항성 배추 계통 육성. Korean Journal of Horticultural Science & Technology 27 : 67.
- 296) 양슬기 2010. 국내 배추뿌리혹병균의 지역별 race와 새로운 race의 생성 특성 및 균주의 최적저장조건연구. 충남대학교 대학원 농학석사 학위논문
- 297) 장세정. 2006. 배추 무사마귀병균의 2단계 접종을 통한 새로운 단포자 균주 분리법과 병원균의 감염 양상 분석. 충남대학교 대학원 농학석사학위논문
- 298) 조광수, 한영한, 이정태, 허은주, 양태진, 우종규. 2002. 고령지 지역 배추 무사마귀병원균의 생리형 분화와 저항성 품종 선발. Korean J. Breed. 34(3) : 168-173
- 299) 조수정, 장경수, 최용호, 김진철, 최경자 2011. 효율적인 무 뿌리혹병 저항성 검정법 확립. 식물병연구 17 : 161-168.
- 300) 최진수 2010 배추 뿌리혹병균 Plasmodiophora brassicae의 종특이적 Primer 개발과 휴면 포자의 순수분리 방법 개선 및 대량증식 체계 확립. 충남대학교 대학원 농학석사 학위 논문.
- 301) 통계청 2011. 국가 통계 포털 http://kosis.kr/abroad/abroad_01List.jsp.
- 302) 한성숙, 유계당, 라동수 1994. 한국의 벼도열병균 레이스의 지역 및 년차적(1986-1992) 분포변동. 한국식물병리학회 10: 25-28.
- 303) 한성숙 1995. 한국 벼도열병균 레이스의 변천과 판별품종과의 관계. 식물병과 농업 1: 9-17.
- 304) 허승환. 2004. 국내 배추무사마귀병균(Plasmodiophora brassicae)의 변이특성분석. 충남대학교 대학원 농학석사학위논문
- 305) 釘貫 晴久 2001. Brassica屬野菜の根こぶ病抵抗性育種. 野菜・茶業試験場研究報告 16: 19-67.

제2-5세부과제 : 배추 내서성 연관 분자 마커 개발

- 306) Abe, F., K. Saito, K. Miura and K. Toriyama. 2002. A single nucleotide polymorphism in the alternative oxidase gene among rice varieties differing in low temperature tolerance. FEBS Lett. 527, 181-185
- 307) Agarwal, M., N. Shrivastava and H. Padh. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. Plant Cell Rep. 27, 617-631.
- 308) Aye, K. O. 2008. Expressed sequence tags (ESTs) and single nucleotide polymorphism (SNPs): Emerging molecular marker tools for improving agronomic traits in plant biotechnology. Afr. J. Biotechnol. 7, 331-341
- 309) Berhold, D. A. and P. Stenmark. 2003. Membrane-bound diiron carboxylate proteins. Annu. Rev. Plant biology 54, 497-517
- 310) Chapman, M.A., J. Chang, D. Weisman, R.V. Kesseli, and J.M. Burke. 2007. Universal markers for comparative mapping and phylogenetic analysis in the

- Asteraceae(Compositae).TheorApplGenet.115:747-755.
- 311) Chen, Q. and G. G. Haddad. 2004. Role of trehalose phosphate synthase and trehalose during hypoxia: from flies to mammals. *J. Exp. Biol.* 207, 3125-3129.
- 312) Fulton, T.M., R. Van der Hoeven, N.T. Eannetta, and S.D. Tanksley. 2002. Identification, Analysis, and Utilization of Conserved Ortholog Set Markers for Comparative Genomics in Higher Plants. *Plant Cell* 14:1457-1467.
- 313) Gancedo, C., and C. L. Flores. 2004. The importance of a functional trehalose biosynthetic pathway for the life of yeasts and fungi. *FEMS Yeast Res.* 4, 351-359.
- 314) Kim, M. J and J. S. Chun. 2005. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int J. Food Microbiol.* 103, 91-96.
- 315) Kim, Y. S., Z. B. Zheng and D. H. Shin. 2008. Growth inhibitory effects of kimchi (Korean traditional fermented vegetable product) against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. *J. Food Prot.* 71(2), 325-332.
- 316) Konieczny, A. and F.M. Ausubel, 1993: A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific markers. *Plant J.* 4,403-410.
- 317) Lagercrantz, U. and D. Lydiate. 1996. Comparative genome mapping in brassica. *Genetics.* 144, 1903-1910.
- 318) Lang, Y., H. Kisaka, R. Sugiyama, K. Nomura, A. Morita, T. Watanabe, Y. Tanaka, S. Yazawa, and T. Miwa, 2009: Functional loss of pAMT results in biosynthesis of capsinoids, capsaicinoid analogs, in *Capsicum annuum* cv. CH-19 Sweet. *Plant J.* 59,953-961.
- 319) Lee S. B., H. B. Kwon, S. J. Kwon, S. C. Park, M. J. Jeong, S. Han SE, M. O. Byun, and H. Daniell. 2003. Accumulation of trehalose within transgenic chloroplasts confers drought tolerance. *Molecular Breeding.* 11, 1-13
- 320) Mahmud, T. M. M., J. G. Atherton, C. J. Wright, M. F. Ramlan and S. H. Ahmad. 1999. Pak Choi(*Brassica rapa* ssp *Chinensis* L)quality response to pre-harvest salinity and temperature. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1698-1702.
- 321) Maxwell, D. P., Y. Wang and L. McIntosh. 1999. The alternative oxidase lower mitochondrial reactive oxygen production in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 8271-8276
- 322) McDonald, A. E. and G. C. Vanlerberghe. 2004. Branched mitochondrial electron transport in the animalia: Presence of alternative oxidase in several animal phyla. *IUBMB Life* 56, 333-341.
- 323) Neff, M.M., J.D. Neff, J. Chory, and A.E.Pepper,1998: dCAPS, a simple technique for the genetic analysis of single nucleotide polymorphisms: experimental applications in *Arabidopsis thaliana* genetics. *Plant J.*14,387-392
- 324) Neff, M. M., E. Turk, and M. Kalishman, 2002: Web-based primer design for single nucleotide polymorphism analysis. *Trends in Genetics.* 18,613-614.
- 325) Prasad, M., R. K. Varshney, J. K. Roy, H. S. Balyan and P. K. Gupta. 2000. The use of microsatellite for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100, 584-592
- 326) Rauwolf, U., H. Golczyk, J. Meurer, R. G. Herrmann and S. Greiner. 2008. Molecular Marker Systems for Oenothera Genetics. *Genetics.* 180, 1289-1306
- 327) Slate, J., J. Gratten, D. Beraldi, J. Stapley, M. Hale and J. M. Pemberton. 2008. Gene mapping in the wild with SNPs: guidelines and future directions. *Genetica.* DOI 10.1007/s10709-008-9317-z
- 328) Sugie, A., N. Naydenov, N. Mizuno, C. Nakamura and S. Takumi. 2006. Overexpression of wheat alternative oxidase gene *Waox1a* alters respiration capacity and response to reactive oxygen species under low temperature in transgenic *Arabidopsis*. *Genes Genet. Syst.* 81, 349-354
- 329) Thomashow, M. F. 1998. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiol.* 118, 1-8.
- 330) Umbach, A. L., F. Fiorani and J. N. Siedow. 2005. Characterization of transformed *arabidopsis* with altered alternative oxidase levels and analysis of effects on reactive oxygen species in tissue. *Plant Physiol.* 139, 1806-1820.
- 331) Vanlerberghe, G. C. and L. McIntosh. 1997. Alternative oxidase: From gene to function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 703-734
- 332) Van Ooijen, 2004. MapQTL @ 5, Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.
- 333) Van Ooijen, 2006. JoinMap @ 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.
- 334) Zheng X Y, Wang Y J, Song S H, Li L, Yu S C. 2002. Identification of heat tolerance linked molecular markers of Chinese cabbage *Brassica campestris* ssp. *pekinensis*. *Agricultural Sciences in China.* 1, 309-313
- 제2-6세부과제 : 내서성 유전분석 및 마커개발용 집단양성과 고랭지 여름배추 품종육성**
- 335) Chang S.W., Hong, S.S., Kim, S.K., Kim, H.D. and Yi, E.S. 2000. Improvement of control effect by change of chemical application method don clubroot disease of Chinese cabbage caused by *Plasmodiophara brassicae* in field. *Plant Dis. Res.* 6: 39-42.
- 336) Haley S.D., Mikals P.N., Stavely J.R., Byrum J., Kelly J.D. 1993. Identification of RAPD markers linked to major rust resistance gene block in common bean. *Theor Appl genet* 86:505-512
- 337) Jang, C.S., Park, Y.J. and Lim, Y.P. 2001. Development of anther-derived lines resistant to clubroot diseases (*Plasmodiophara brassicae*) in Chinese cabbage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42: 689-694.
- 338) Kesseli R.V., Paran I, Michelmore R.W. 1994. Analysis of a detailed genetic linkage map of *Lactuca sativa* (lettuce) constructed from RFLP and RAPD marker. *Genetics* 136: 1435-1446.
- 339) Kim, C.H., Cho, W.D. and Kim, H.M. 2000a. Distribution of *Plasmodiophara brassicae*

- causing clubroot disease of Chinese cabbage in soil. *Plant Dis. Res.* 6: 27-33.
- 340) Kim, D.W. and Oh, J.H. 1997. Incidence, pathogenicity of clubroot fungus (*Plasmodiophara brassicae*) and varietal resistance in Chinese cabbage. *Korean J. Plant Pathol.* 13: 95-99.
- 341) Melchinger A.E. 1990. Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breeding* 104: 1-19.
- 342) Oh, J.H., Cho, J.H., Kim, B.G, Chae, J.C., Chung, G.U., Hwang, C.H. and Kim, D.W. 1997. Environmental factors favoring the disease development and chemical control of clubroot (*Plasmodiophara brassicae*) in Chinese cabbage. *Korea J. Plant Pathol.* 13: 244-247.
- 343) Thormann C.E., Ferreira M.E., Camarge L.E.A, Tivang J.G., Osborn T.C. 1994. Comparison of RAPD markers to estimating genetics relationships within and among Cruciferous species. *Theor Appl Genet* 88: 973-980.
- 344) Torres A.M. 1993. Identifying rose cultivars using random amplified polymorphic DNA markers. *Hort Sci.* 28: 333-334.
- 345) Young N.D., Tanksley S.D. 1989a. RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the Tm-2 locus of tomato during backcross breeding. *Theor Appl Genet* 77: 95-101.
- 346) Young N.D., Tanksley S.D. 1989b. Restriction Fragment Length Polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. *Theor Appl Genet* 77: 353-359.
- 제3-1세부과제 : 배추 개화 및 추대관련 분자마커 개발**
- 347) Ajisaka H, Kuginuki Y, Yui S, Enomoto S, Hirai M (2001) Identification and mapping of a quantitative trait locus controlling extreme late bolting in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* syn. *campestris* L.) using bulked segregant analysis. *Euphytica* 118: 75-81.
- 348) Ardashir KM, Daniel LEW, Russel FR, Robert JH (2009) A high-throughput assay for rapid and simultaneous analysis of perfect markers for important quality and agronomic traits in rice using multiplexed MALDI-TOF mass spectrometry. *Plant Biotechnol. J.* 7: 355-363.
- 349) Aurélie B, Marie Christine Le P, Mireille D, Florence E-V, Isabelle B, Alberto C, Annabelle H, Dominique B, Catherine R (2009) High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping in wheat (*Triticum* spp.). *Plant Biotechnol. J.* 7: 364-374.
- 350) Fujiwara S, Oda A, Yoshida R, Niinuma K, Miyata K, Tomozoe Y, Jajima T, Nakagawa M, Hayashi K, Coupland G, Mizoruchi T (2008) Circadian clock proteins LHY and CCA1 regulate SVP protein accumulation to control flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 20: 2960-2971.
- 351) Heo JB, Sung S (2011a) Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science* 331: 76-79.
- 352) Heo JB, Sung S (2011b) Encoding memory of winter by noncoding RNAs. *Epigenetics* 6: 544-547.
- 353) Huang HR, Yan PC, Lascoux M, Ge XJ (2012) Flowering time and transcriptome variation in *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae). *New Phytol.* 194: 676-689.
- 354) Imaizumi T (2010) *Arabidopsis* circadian clock and photoperiodism: time to think about location. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13: 83-89.
- 355) Jarillo JA, Pineiro M (2011) Timing is everything in plant development. The central role of floral repressors. *Plant Sci.* 181: 364-378.
- 356) Jung C, Müller AE (2009) Flowering time control and applications in plant breeding. *Trends Plant Sci.* 14: 563-573.
- 357) Kakizaki T, Kato T, Fukino N, Ishida M, Hatakeyama K, Matsumoto S (2011) Identification of quantitative trait locus controlling late bolting in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) parental line Nou 6 gou. *Breed. Sci.* 61: 151-159.
- 358) Kim SY, Park BS, Kwon SJ, et al. (2007) Delayed flowering time in *Arabidopsis* and *Brassica rapa* by the overexpression of FLOWERING LOCUS C (FLC) homologs isolated from Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) *Plant Cell Rep.* 26: 327 - 336.
- 359) Kole C, Quijada P, Michaels SD, Amasino RM, Osborn TC (2001) Evidence for homology of flowering-time genes VFR2 from *Brassica rapa* and FLC from *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genet.* 102: 425 - 430.
- 360) Li F, Kitashiba H, Inaba K, Nishio T (2009) A *Brassica rapa* linkage map of EST-based SNP markers for identification of candidate genes controlling flowering time and leaf morphological traits. *DNA Res.* 16: 311-323.
- 361) Li F, Kitashiba H, Inaba K, Nishio T (2009) A *Brassica rapa* linkage map of EST-based SNP markers for identification of candidate genes controlling flowering time and leaf morphological traits. *DNA Res.* 16: 311-323.
- 362) Li G, Siddiqui H, Teng Y, Lin R, Wan XY, Li J, Lau OS, Ouyang X, Dai M, Wan J, Devlin PF, Den XW, Wang H (2011) Coordinated transcriptional regulation underlying the circadian clock in *Arabidopsis*. *Nat. Cell. Biol.* 13: 616-622.
- 363) Lorkovic ZJ, Kirk DAW, Lambermon MHL, Filipowicz W (2000) Pre-mRNA splicing in higher plants. *Trends Plant Sci.* 5: 160 - 167.
- 364) Lou P, Xie Q, Xu X, Edwards CE, Brock MT, Weig c, McClung CR (2011) Genetic architecture of the circadian clock and flowering time in *Brassica rapa*. *Theor. Appl. Genet.* 123: 397-409.
- 365) Lou P, Zhao J, Kim JS, Shen S, Carpio DPD, Song X, Jin M, Vreugdenhil D, Wang X, Koornneef M, Bonnema G (2007) Quantitative trait loci for flowering time and morphological traits in multiple populations of *Brassica rapa*. *J. Exp. Bot.* 58: 4005-4016.
- 366) Lu SX, Webb CJ, Knowles SM, Kim SH, Wang ZY, Tobin EM (2012) CCA1 and ELF3 interact in the control of hypocotyl length and flowering time in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 158: 1079-1088.

- 367) McCullough AJ, Lou H, Schuler MA (1993) Factors affecting authentic 5' splice site selection in higher plants. *Trends Plant Sci.* 5: 160-167.
- 368) Ramchiary N, Nguyen VD, Li X, Hong CP, Dhandapani V, Choi SR, Yu G, Piao ZY, Lim YP (2011) Genic microsatellite markers in *Brassica rapa*: development, characterization, mapping, and their utility in other cultivated and wild Brassica relatives. *DNA Res.* 18: 305-320.
- 369) Sheldon CC, Hills MJ, Lister C, Dean C, Dennis ES, Peacock WJ (2008) Resetting of FLOWERING LOCUS C expression after epigenetic repression by vernalization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105: 2214-2219.
- 370) Simpson CG, McQuade C, Lyon J, Brown JWS (1998) Characterization of exon skipping mutants of the COP1 gene from *Arabidopsis*. *Plant J.* 15: 125-131.
- 371) Slotte T, Holm K, McIntyre LM, Lagercrantz U, Lascoux M (2007) Differential expression of genes important for adaptation in *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae). *Plant Physiol.* 145: 160-173.
- 372) Srikanth A, Schmid M (2011) Regulation of flowering time: all roads lead to Rome. *Cell. Mol. Life Sci.* 68: 2013-2037.
- 373) Tadege M, Sheldon CC, Helliwell CA, Stoutjesdijk P, Dennis ES, Peacock WJ (2001) Control of flowering time by FLC orthologues in *Brassica napus*. *Plant J.* 28: 545-553.
- 374) Wang ZY and Tobin EM (1998) Constitutive expression of the CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1) gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression. *Cell* 93: 1207-1217.
- 375) Wang ZY, Kenigsbuch D, Sun L, Harel E, Ong MS, Tobin EM (1997) A Myb-related transcription factor is involved in the phytochrome regulation of an *Arabidopsis* Lhcb gene. *Plant Cell* 9:491-507.
- 376) Williams PH, Hill CB (1986) Rapid-cycling populations of Brassica. *Science* 232: 2385-1389.
- 377) Yuan YX, Wu J, Sun RF, Zhang XW, Xu DH, Bonnema G, Wang XW (2009) A naturally occurring splicing site mutation in the *Brassica rapa* FLC1 gene is associated with variation in flowering time. *J. Exp. Bot.* 60: 1299-1308.
- 378) Zhao J, Kulkarni V, Liu N, Carpio DPD, Bucher J, Bonnema G (2010) BrFLC2 (FLOWERING LOCUS C) as a candidate gene for a vernalization response QTL in *Brassica rapa*. *J. Exp. Bot.* 61: 1817-1825.
- 379) Zhao J, Kulkarni V, Liu N, Carpio DPD, Bucher J, Bonnema G (2010) BrFLC2 (FLOWERING LOCUS C) as a candidate gene for a vernalization response QTL in *Brassica rapa*. *J. Exp. Bot.* 61: 1817-1825.
- 제3-3세부과제 : 배추 응성불임성 마커 개발**
- 380) Bo-mi Park, Sang-min Chung. 2009. Application of Universal Markers for Genetic Relationship Analysis of Brassica Species. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27: 139.
- 381) Brown, G.G., Domaj, M., DuPauw, M., Jean, M., Li, X.-Q. & Landry, B.S. 1998. Molecular analysis of Brassica CMS and its application to hybrid seed production. *Proceedings of the International Symposium on Brassicas*, v. 459, pp. 265-274.
- 382) Budar F., Pelletier G., 2001. Male sterility in plants: occurrence, determinism, significance and use. *C R Acad Sci III* 324: 543-55.
- 383) Dewey, R.E., Levings, C.S., III, and Timothy, D.H. 1986. Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm. *Cell* 44, 439 - 449.
- 384) Dewey, R.E., Timothy, D.H., and Levings, C.S. 1987. A mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T-cytoplasm of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 5374 - 5378 .
- 385) Hanson MR, Bentolila S., 2004. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *Plant Cell.* 2004;16 Suppl:S154-69.
- 386) Hee-Ju Yu1, Sin-Gi Park2, Mijin Oh2, Hyun-Ju Hwang2, Namshin Kim3, Hee Chung1, Seong-Han Sohn2, Beom-Seok Park2, and Jeong-Hwan Mun2*. 2011. The *Brassica rapa* Tissue-specific EST Database. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 29(6):633-640.
- 387) Hirata, Y., T. Motegi, Y. Takeda and K. Morikawa. 2000. Induction of cytoplasmic male sterility in the seed progeny derived from artificially-synthesized interspecific chimera in Brassica. *Euphytica* 117: 143 - 149.
- 388) Jing-Hua Yang, Ming-Fang Zhang, Jing-Quan Yu. 2009. Mitochondrial nad2 gene is co-transcribed with CMS-associated orfB gene in cytoplasmic male-sterile stem mustard (*Brassica juncea*). *Molecular Biology Reports* Volume: 36, Issue: 2, Pages: 345-351.
- 389) Kameya, Y., H. Kanzaki, S. Toki and T. Abe. 1989. Transfer of radish (*Raphanus sativus* L.) chloroplast into cabbage (*Brassica oleracea* L.) by protoplast fusion. *Jap. J. Genet.* 64: 27 - 34.
- 390) Kempken, F., and D. PRING, 1999 *Plant breeding: male sterility in higher plants – fundamentals and applications*, pp. 139 - 166 in *Progress in Botany*, edited by K. ESSER. Springer-Verlag, Berlin.
- 391) Kwon, S.J., Lim, K.B., Lim, M.H., Park, J.Y., Kim, J.A., Kim, J.S., Lee, S.S., Park, B.S., Jin, Y.M., 2007. *Molecular Genetics of Brassicaceae Based on AFLP Display*. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 25(2) p. 75-81.
- 392) Leino M, Landgren M, Glimelius K. 2005. Alloplasmic effects on mitochondrial transcriptional activity and RNA turnover result in accumulated transcripts of *Arabidopsis* orfs in cytoplasmic male-sterile *Brassica napus*. *Plant J.* 2005 May;42(4):469-80.
- 393) Lee YP, Kim S, Lim H, Ahn Y, Sung SK. 2008. Identification of mitochondrial genome rearrangements unique to novel cytoplasmic male sterility in radish (*Raphanus sativus* L.). *Theor Appl Genet.* 2009 Feb;118(4):719-28
- 394) Liere, K. and G. Link (1995) RNA-binding activity of the matK protein encoded by the chloroplast trnK intron mustard (*Sinapis alba* L.) *Nucleic Acids Res.* 23: 917 - 921.

- 395) Linke B, Börner T (2005) Mitochondrial effects on flower and pollen development. *Mitochondrion* 5: 389 - 402.
- 396) Makaroff, C.A., I. J. Apell, and J. D. Palmer, 1990. Characterization of radish mitochondrial atpA: influence of nuclear background on transcription of atpA-associated sequences and relationship with male sterility. *Plant Mol. Biol.* 15:735-746.
- 397) Makaroff, C.A., Apel, I.J., and Palmer, J.D. 1989. The atp6 coding region has been disrupted and a novel reading frame generated in the mitochondrial genome of cytoplasmic male-sterile radish. *J. Biol. Chem.* 264, 11706 - 11713.
- 398) Marienfeld, J.R., Unseld, M., Brandt, P., and Brennicke, A. 1997. Mosaic open reading frames in the *Arabidopsis thaliana* mitochondrial genome. *Biol. Chem.* 378, 859 - 862.
- 399) Motegi, T., I.S. Nou, J. Zhou, A. Kanno, T. Kameya and Y. Hirata. 2003. Obtaining an ogura-type CMS line from asymmetrical protoplast fusion between cabbage (fertile) and radish (fertile). *Euphytica* 129: 319 - 323.
- 400) Motegi, T. 1999. Stoichiometric shift of mitochondria and chloroplast genomes, and the possibility of genetic induction of the shift by artificial chimera synthesis. Tokyo University of Agriculture and Technology Master thesis. 128 p.
- 401) Nahm SH, Lee HJ, Lee SW, Joo GY, Harn CH, Yang SG, Min BW. 2005. Development of a molecular marker specific to a novel CMS line in radish (*Raphanus sativus* L.). *Theor Appl Genet.* 2005 Oct;111(6):1191-200.
- 402) Neuhaus, H. and G. Link (1987) The chloroplast tRNA^{lys} (UUU) gene from mustard (*Sinapis alba*) contains Class II intron potentially coding for a maturase-related polypeptide. *Curr. Genet.* 11: 251 - 257.
- 403) Noguchi, T., Y. Hirata and N. Yagishita (1992) Intervarietal and interspecific chimera formation by in vitro graft-culture method in Brassica. *Theor. Appl. Genet.* 83: 727 - 732.
- 404) Noguchi, T. and Y. Hirata. (1994) Vegetative and floral characteristics of interspecific Brassica chimeras produced by in vitro grafting. *Euphytica* 73: 273 - 280.
- 405) Ohkawa, Y. (1986) Comparison of *B. napus* to *B. campestris* and *B. oleracea* based on the cytoplasmic characters; cytoplasmic male sterility and chloroplast DNA. *JARQ.* 19: 244 - 257.
- 406) Ogura H., 1968. Studies on the new male-sterility in Japanese radish with special reference to the utilisation of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds, *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ.* 6 39 - 78.
- 407) Ostheimer, G.J., R. Williams-Carrier, S. Belcher, E. Osborne, J. Gierke and A. Barkman (2003) Group II intron splicing factors derived by diversification of an ancient RNA-binding domain. *EMBO. J.* 22: 3919 - 3929.
- 408) Pelletier G, Budar F. 2007. The molecular biology of cytoplasmically inherited male sterility and prospects for its engineering. *Curr Opin Biotechnol.* 2007 Apr;18(2):121-5.
- 409) Sakai, T. Imamura, J. 1992. Alteration of mitochondrial genomes containing atpA genes in the sexual progeny of cybrids between *Raphanus sativus* cms line and *Brassica napus* cv. Westar. *Theor. Appl. Genet.* Sept 1992. v. 84 (7/8)
- 410) Schinable, P. S. and R. P. WISE, 1998 The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends Plant Sci.* 3:175-180.
- 411) Schmitz-Linneweber, C., Williams-Carrier, R., and Barkan, A. (2005). RNA immunoprecipitation and microarray analysis show a chloroplast pentatricopeptide repeat protein to be associated with the 5' region of mRNAs whose translation it activates. *Plant Cell* 17, 2791 - 2804.
- 412) Singh, M. and G. G. Brown, 1991 Suppression of cytoplasmic male sterility by nuclear genes alters expression of a novel mitochondrial gene region. *Plant Cell* 3:1349-1362.
- 413) Shripad, Bhat; Pankaj, Kumar; Shyam, Prakash. 2008. An improved cytoplasmic male sterile (*Diplotaxis berthautii*) *Brassica juncea* : identification of restorer and molecular characterization. *Euphytica*, Volume 159:145-152.
- 414) Xiao-lin Yu, Qiu-bin Xiao, Jia-shu Cao, Zhu-jun Chen and Yutaka Hirata. 2009. Development of two new molecular markers specific to cytoplasmic male sterility in tuber mustard (*Brassica juncea* var. *tumida* Tsen et Lee). *Euphytica* Volume 166, Number 3, 367-378.
- 415) Yang JH, Huai Y, Zhang MF. 2009. Mitochondrial atpA gene is altered in a new orf220-type cytoplasmic male-sterile line of stem mustard (*Brassica juncea*). *Mol Biol Rep.* 2009 Feb;36(2):273-80.
- 416) Yuzo Ohta, Yutaka Hirata, Takeshi Motegi, Gen Hattori and Takashi Noguchi, 2006, Analysis of Chloroplast Genome of Two Cytoplasmic Male Sterile Lines Derived from Interspecific Chimera and Intergeneric Somatic Hybrid in Brassicaceae, *Breeding Science*, Vol. 56, No. 1 1-5.
- 417) Zhang MF, Chen LP, Wang BL, Yang JH, Chen ZJ, Yutaka H. 2003. Characterization of atpA and orf220 genes distinctively present in cytoplasmic male-sterile line of tuber mustard. *J Hort Sci Biotechnol.* 2003;78:837 - 841

제3-4세부과제 : 응성불임관련 유전집단 양성 및 수출용 직원통 품종 육성

- 418) Anderson, W. C. and J. B. Carstens. 1977. Tissue culture propagation of broccoli, *Brassica oleracea* (Italica group), for use in F1 hybrid seed production. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102:69-73
- 419) AVRDC, 1984. progress report 1982, Chinese cabbage pathology-turnip mosaic virus strain detection-. p 75-85, AVRDC. Taiwan, Roc.
- 420) Bannerot, H., L. Loulidard, and T. Tempe. 1974. Cytoplasmic male sterility transfer from *Raphanus sativus* to Brassica. in: *Eucarpia-Cruciferae Conference* pp. 52-54. Scottish Hort. Res. Inst., mylnfield, Dundee, Scotland.
- 421) Green, S. K. and T. C. Deng. 1985. Turnip mosaic virus strains in cruciferous host in Taiwan. *Plant Dis.* 69 : 28-31.
- 422) Hughes, S. L., S. K. Green, D. J. Lydiate, and J. A. Walsh. 2002. Resistance to turnip

- mosaic virus in *Brassica rapa* and *B. napus* and the analysis of genetic inheritance in selected line. *Plant Pathology*. 51:567-573
- 423) Hughes, S. L., P. J. Hunter, A. G. Sharpe, M. J. Kearsey, D. J. Lydiate, and J. A. Walsh. 2003. Genetic mapping of the novel Turnip mosaic virus resistance gene TuRBO3 in *Brassica napus*. *Theor. Appl. Genet.* 107:1169-1173
- 424) Kim, Y. H. and S. S. Lee. 1997. Microspore culture of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) and Korean turnip (*B. campestris* ssp. *rapa*). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38:368-371.
- 425) Nie XH, Leung H, Williams PH(1983). Sources and nature of resistance to downy mildew and turnip mosaic virus in Chinese cabbage. *J Am Soc Hort Sci* 108:775-778
- 426) 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.
- 427) Provvidenti, R. 1981. Sources of resistance to turnip mosaic virus in Chinese cabbage. p.423-429. In: N. S. Talekar and T. D. Griggs (eds.) Chinese cabbage. Proceedings of the 1st International Symposium. Tsukuba, Japan.
- 428) 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
- 429) Walsh JA, Aharpe AG, Jenner CE, Lydiate DJ(1999) Characterization of resistance to turnip mosaic virus in oilseed rape(*Brassica napus*) and genetic mapping of TuRB01. *Theor. Appl. Genet.* 99:1149-1154
- 430) Walsh JA, Rusholme RL, Hughes SL, Jenner CE, Bambridge JM, Lydiate DJ, Green SK(2002) Different classes of resistance to turnip mosaic virus in *Brassica rapa*. *Eur J Plant Pathol* 108:15-20
- 431) 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
- 432) Zhang FL, Wang M, Liu XC, Zhao XY, Yang JP(2007) Quantitative trait loci analysis for resistance against turnip mosaic virus based on a doubled-haploid population in Chinese cabbage. *Plant Breeding* 127:82-86

주 의

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