

GOVP1200608860

최 종
연구보고서

양배추로부터 배추좀나방 저항성
마커개발 및 MAS시스템을 이용한 국내 및
수출용 양배추 품종육성에 관한 연구

Development of Marker Linked to Diamondback
Moth Resistance Gene in Cabbage (*Brassica
oleracea* L.) and Breeding of Resistant Cabbage
Cultivars for Domestic and International Markets
Using MAS System

연구기관

씨텍스주식회사
충남대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “양배추로부터 배추좀나방 저항성 마커개발 및 MAS시스템을 이용한 국내 및 수출용 양배추 품종육성에 관한 연구” 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2005 년 11 월 14 일

주관연구기관명 : 씨텍스주식회사

총괄연구책임자 : 나 종 현

연 구 원 : 백 운 돈

연 구 원 : 송 동 윤

협동연구기관명 : 충남대학교

협동연구책임자 : 임 용 표

요 약 문

I. 제 목

양배추로부터 배추좁나방 저항성 마커개발 및 MAS 시스템을 이용한 국내 및 수출용 양배추 품종육성

II. 연구개발의 목적 및 필요성

현재 우리나라에서 재배되고 있는 대부분의 양배추는 일본산 종자에 의존하고 있는 실정으로 국내에서 육성된 품종으로의 대체가 시급히 요청되고 있으며, 아울러 이러한 수입종 품종들이 생식용으로는 다소 품질이 떨어지는 단점이 있으므로 웰빙시대에 발맞추어 고품질 품종의 육성이 절실한 실정이다. 또한 2004년도 채소종자 수출실적 3위에 있는 국내 양배추종자의 지속적인 수출증대를 위해서는 기본적으로 내충성과 내병성 그리고 고품질이 겸비된 품종의 육성이 요구되므로 본 연구에서는 배추좁나방 저항성에 관련된 유전관계를 분석하고 나아가 배추좁나방의 저항성 마커를 개발하여 내충성 내병성 고품질계 품종의 육성을 목적으로 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

배추좁나방에 관련된 유전인자 분석을 저항성계통(DS), 감수성계통(CT) 및 이들의 F₂집단 종자를 가지고 하우스와 노지에서 실시하였으며, 주관연구기관이 보유하고 있는 주요 계통의 내충성을 확인함과 동시에 300여개의 육성재료들을 활용, 총 190개의 신 조합을 작성하여 고품질계 셀러드용 품종 육성과 내충성 및 내병성이 뛰어난 양배추 품종 선발시험을 실시하였다. 배추좁나방 저항성에 관련된 AFLP 마커를 개발하기 위해 상기 저항성계통, 감수성계통 및 그들의 F₂ 집단을 이용, DNA분리, Bulk Segregant Analysis, AFLP analysis를 실시하였으며 나아가 유전자지도를 작성하였으며 배추좁나방 저항성유전자에 연관된 분자 마커를 개발하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

배추좁나방에 관련된 유전인자 분석결과 단인자우성임을 밝혔고, 나아가 고품질계 샐러드용 품종육성과 내충성 내병성 품종육성을 위해 2년간의 자체 포장 시험한 결과 26개 예비조합을 선발하였고, 이 조합들을 2년간의 국내외 현지 농가 시험한 결과 최종적으로 ‘샐러드’, ‘스위트캘리포니아’, 내충내병계 품종으로 ‘로얄스톤’, ‘SDX81’ 등 4개 품종을 선발 시제품 생산 하였으며, ‘샐러드’와 ‘로얄스톤’ 2개 품종을 국내 최초로 국립종자관리소에 2005년 10월 27일 품종보호 출원하였다. 배추좁나방 저항성에 관련된 SCAR 마커 Bo6-16을 개발하였고 이 마커를 이용하여 내충성 계통을 선발하는 MAS 시스템을 개발하였다. 이렇게 개발된 마커는 곧 특허 출원을 통하여 지식재산권을 확보할 예정이다.

SUMMARY

I. Subject

Development of Marker Linked to Diamondback Moth Resistance Gene in Cabbage (*B. oleracea* L. var. *capitata*) and Breeding of Resistant Cabbage Cultivars for Domestic and International Markets Using MAS System

II. Objectives and necessities of research

Most of the cultivars grown in Korea have been imported from Japan and thus it is required to breed its own cultivars to prevent the dominance of foreign ones on Korean market. And further it is needed to breed high quality cultivars for the recent 'well-being' trends since most of the imported cultivars have the disadvantages of low quality in view of salad usage. In 2004, the cabbage seed export was ranked as the third among all kinds of vegetables in Korea. It is necessary to breed cultivars which have good quality, and insect resistance as well as disease resistance for maintaining and extending the export to foreign countries. This research was carried out to understand the inheritance pattern of diamondback moth resistant gene, to develop molecular markers and MAS system on diamondback moth resistance and eventually to breed cultivars having good quality, insect resistance as well as disease resistance.

III. Research contents and extent

To identify the resistant gene on diamondback moth, resistant line(DS), susceptible line(CT) and their F₂ populations were constructed for genetic analysis using artificial and natural infestation experiments. Resistance to diamondback moth was also checked in some important breeding materials and 190 F₁ combinations from 300 kinds of inbred lines were made and evaluated to breed new cultivars. To develop AFLP markers linked to diamondback moth resistance gene, resistant line(DS), susceptible line(CT)

and their F₂ populations were used and DNA extraction, bulked segregant analysis, and AFLP analysis were carried out. And further, genetic map was framed out.

IV. Research results and proposals for utilizations

The gene responsible for the resistance to diamondback moth was revealed as single dominant gene. To breed cultivars which have good quality, insect resistance as well as disease resistance, 26 preliminary combinations were selected at SeedEx research station through 2 years experiments. Among these, finally 'Salad' and 'Sweet California' as for salad cabbages with high quality and 'Royal Stone' and 'SDX81' as for having insect resistance as well as disease resistance were selected, respectively, and their pre-commercial seeds were produced. On 27th October, 2005, two cultivars, 'Salad' and 'Royal Stone' were submitted to National Seed Management Office for the first time with the purpose of plant variety protection right. Genetic map was framed out. SCAR marker, Bo6-16, linked to diamondback moth resistance gene was developed and further we tested the possibility of MAS application of SCAR marker, Bo6-16.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction of the research project -----	9
Section 1. Purpose of the research -----	9
Section 2. Objective and content of the research -----	10
Section 3. The scope of the research project -----	12
Chapter 2. The current status of the research in domestic and overseas -----	20
Section 1. Significancy of the research and the current status of the research in domestic and overseas -----	20
Chapter 3. Results of the research project -----	28
Section 1. Genetic analysis of the Diamondback Moth resistance -	28
Section 2. Breeding of the high quality cultivars -----	35
Section 3. Construction of genetic map around the Diamondback Moth resistance gene (<i>DBMR</i>) and conversion of AFLP markers linked to <i>DBMR</i> into SCAR markers -	55
Chapter 4. Achievement of the research goals and their contribution -----	71
Chapter 5. The utilization plan of the results -----	72
Section 1. The utilization plan of the developed cultivars -----	72
Section 2. The utilization plan of the developed SCAR marker Bo6-16 -----	75
Chapter 6. The scientific information collected from overseas during research -----	77
Chapter 7. References -----	110

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	9
제 1 절 연구개발의 목적	9
제 2 절 기술개발의 목표 및 내용	10
1. 내충성 관련 유전분석	10
2. 내충성, 내병성 및 고품질 셀러드용 품종육성	11
3. 배추좀나방 저항성 마커의 개발	11
4. 유전자 지도 작성	11
제 3 절 기술개발의 범위	12
1. 내충성관련 유전분석	12
2. 내충성, 내병성 및 고품질 셀러드용 품종육성	13
3. 배추좀나방 저항성 마커의 개발	13
4. 유전자 지도 작성	15
5. 내충성 계통의 MAS를 이용한 선발시스템 구축	17
제 2 장 국내외 기술개발 현황	20
제 1 절 개발대상기술의 중요성 및 국내외 관련기술의 현황	20
1. 배추좀나방의 특성과 방제현황	20
2. 양배추 육종현황	20
3. AFLP를 이용한 마커개발 현황	23
제 3 장 연구수행결과	28
제 1 절 내충성관련 유전분석	28
1. 연구재료의 육성과 주 연구재료의 특성	28
2. 내충성계통의 선발및 유전관계분석	32
제 2 절 우수품종 육성	35
1. 자체 포장시험 결과	35
2. 국내 및 해외 연락시험결과	40
제 3 절 <i>DMBR</i> (Diamondback Moth Resistance)로 명명한 배추좀나방 내충성 유전자에 대한 유전자지도 작성 및 이에 연관된 AFLP 마커의 SCAR 마커로의 전환	55

1. 연구방법 및 이론-----	55
2. 결과 및 고찰-----	60
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도-----	71
제 5 장 연구개발결과의 활용계획-----	72
제 1 절 육성된 품종의 활용계획-----	72
1. 국내용 고품질계 샐러드용 양배추-----	72
2. 내충성 내병성 양배추-----	72
3. 기타 품종-----	73
제 2 절 배추좁나방 저항성 마커의 활용계획-----	75
1. 배추 좁나방 저항성 마커의 확보 및 육종에의 응용-----	75
2. 배추 좁나방 저항성 마커를 이용한 MAS 체계 구축 및 응용-----	75
3. 추가연구의 필요성-----	76
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	77
제 7 장 참고문헌-----	110

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

양배추(*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) 재배에 있어 배추좀나방(*Plutella xylostella*; diamondback moth)은 80년대 이후 우리나라를 비롯하여, 전 세계적으로 문제가 되고 있는 해충이다. 배추좀나방은 우리나라와 같이 겨울이 추운 지역에서도 현재와 같이 겨울철 하우스재배가 많이 이루어짐에 따라 월동이 가능하게 됨으로써 연중 발생되고 있으며, 또한 세대교번이 20-25일로 극히 빨라 연중 수회 발생함으로써 그 피해가 문제되고 있다. 겨울철 온도가 높은 동남아시아 지역을 비롯한 아열대지방에서는 고온에 의한 연부병, 흑부병 등의 병해와 함께 배추좀나방의 피해가 특히 심각하게 발생되고 있는 실정이다. 이러한 배추좀나방의 피해를 줄이는 방법으로 기본적으로 살충제에 의존하는 방법 이외에 성페로몬을 이용한다거나 천적의 이용, 인위적인 강우를 살포함으로써 성충의 부화를 억제하는 방법 등 여러 시험이 시도된 바 있으며 또한 현재까지도 많은 연구를 수행하고 있지만 완전한 구제방법은 아직까지 보고되고 있지 않다. 다행히도 최근에 개발된 BT계열의 살충제는 해충의 구제에 어느 정도 효과적이라 할 수 있으나 동일 약제 살포에 대한 내성의 문제, 약제구입에 대한 경제적인 문제, 과도한 약제 살포로 인한 잔류독성문제, 환경파괴 문제 등이 문제점으로 대두되고 있다. 그러나 아직까지 양배추에 대한 배추좀나방의 저항성 기작 및 관련 분자유전학적 연구는 미미한 실정으로 앞으로 본 연구를 통해서 양배추에 연구노력을 경주해야 할 이유로는 다음과 같은 점을 들 수 있다.

첫째: 배추가 아시아(한국, 중국, 일본 및 동남아)에 주로 한정 되어있는 채소인 데 비해 양배추는 전 세계적으로 식용되고 있는 작물로 시장규모가 배추에 비해 월등히 크다.

둘째: 최근 4년간의 수출증가추세에도 나타난 바와 같이 국내 양배추의 육성 수준이 전 세계적으로 경쟁력을 갖추고 있다.

셋째: 현재 국내 품종육성 수준은 기본적인 경쟁력을 갖추고 있으나 추가로

생명공학 등을 이용한 내병성 또는 내충성에 대한 연구가 체계적으로 시행되지 않는다면 현재까지 이루어 놓은 모든 기반자체가 일본 및 선진국에 또다시 위협받을 것이다.

넷째: 우수품종의 육성으로 국내에 수입되는 수입종자 (종자량: 약 1.4 ton, 수입금액: 약 34만 불)의 대체를 가져올 수 있다.

따라서 본 연구를 통하여 양배추의 내충성 기작과 관련된 유전패턴을 구명하고, 분자유전학적 기법을 이용하여 배추좀나방 저항성 마커를 개발할 수 있게 된다면, 양배추의 육종 및 세계적인 경쟁력을 지속적으로 확보할 수 있는 결정적인 계기를 마련할 수 있을 것이다.

제 2 절 기술개발의 목표 및 내용

양배추에 있어 배추좀나방 저항성 마커개발과 MAS를 이용한 국내 및 수출용 양배추 품종육성을 본 과제의 최종목표로 정하고 아래와 같은 기술개발을 하고자 하였다.

1. 내충성 관련 유전분석

현재까지 배추좀나방에 완전히 저항성인 품종은 발표되지 않고 있으며 국내에서 육성된 ‘그린챌린저’ 및 “세인트” 등을 비롯한 몇몇 품종들이 전 세계적으로 어느 정도 내충성을 가진 품종으로 확인되어 재배되고 있는 실정이다. 양배추 품종간 또는 계통간에 있어 잎의 색이나 납질 정도에 따라 또는 잎의 성분, 특히 글루코시놀레이트 함량의 차이가 배추좀나방의 내충성에 관여될 것이라는 추정 은 있지만 아직까지 확실한 내충성 기작에 관련된 보고는 발표되지 않고 있다. 따라서 내충성 인자의 분석이 시급하며 본 연구에서 개발된 배추좀나방 저항성 마커를 이용한 MAS 기법의 확립을 통해 단기간에 효율적으로 배추좀나방 저항성 품종을 육성하고자 한다.

2. 내충성, 내병성 및 고품질 셀러드용 품종 육성

우리나라에서 양배추는 주로 식당에서 요리 재료로 이용되어 왔는데 최근 들어 일부 외식업체에서 셀러드로 이용되거나 가정 소비용으로 이용되기도 한다. 현재까지도 주로 재배되고 있는 대부분의 품종은 대체로 일본에서 수입되고 있으며 중생계 및 만생계 품종이 대부분이다. 이러한 품종들은 공통적으로 엽수형으로 엽육이 두껍지 않고 수분함량이 많지 않아 육질이 딱딱하여 맛이 없는 결점이 있다. 따라서 속잎이 아주 부드럽고 어느 정도 수분함량이 있으면서 단맛과 고소한 맛이 강한 품종이 요망된다. 본 연구에서는 육성된 내충성 계통과 엽중형인 조생종이나 초극조생 계통을 교잡함으로써 고품질계 셀러드 양배추를 육성하고자 한다. 아울러 내충성, 내병성, 내서성 등이 우수한 신품종을 육성함으로써 수출확대를 도모하고자 한다.

3. 배추좁나방 저항성 마커의 개발

가. AFLP를 이용한 Bulk Segregant Analysis 법에 의한 내충성 유전자 마커 탐색

저항성 및 감수성 양친(부계 및 모계) 및 F_2 개체의 잎 조직으로부터 DNA를 추출하고, 배추좁나방 내성 유전자에 대한 마커의 기능을 할 수 있는 제한효소 절편을 찾기 위해 Bulk Segregant 분석을 수행하며, AFLP 분석을 통해 배추좁나방 내성 유전자와 가까이 연관된 마커를 찾는다.

나. SCAR마커 개발

배추좁나방 저항성유전자와 관련된 AFLP 마커가 선발되면 SCAR 마커를 개발한다.

4. 유전자지도 작성

내충성 유전자와 연관된 AFLP 마커를 여러 개 밝힌 후 이를 이용하여 내충성 검정이 끝난 양배추 F_2 집단에 대하여 AFLP를 수행하고 여기서 나온 여러 가지 다형 밴드를 이용하여 MAPMAKER/QTL 및 JoinMap program에 의해 내충성 유전자를 유전자 지도상의 위치를 밝히고 난 후, 가까이 연관된 마커의 염

기 서열 확인 후 MAS 체계에 이용하고자 한다.

제 3 절 기술개발의 범위

1. 내충성관련 유전분석

가. 재료의 육성

씨텍스에서 그동안 수집 육성된 “DS”계통은 전년도 포장시험결과에서도 배추좀나방에 대해 다른 계통이나 품종에 비해 강한 저항성을 나타내어 저항성계통으로 간주되었다. 또한 이 계통을 이용한 모든 F₁ 조합들은 어느 정도 강한 저항성을 나타냄으로써 내충성을 지배하는 유전자가 단일자우성 일 것이라고 추정되었으나, 이에 관하여 좀 더 구체적인 유전분석을 수행하여 확인하고자 한다. 또한 수집 육성된 계통의 하나인 “CT” 계통은 배추좀나방에 심한 피해를 받음으로써 감수성이라 간주되었는데, 이 두 계통을 이용 유전분석 및 그 후대를 이용한 Marker 탐색을 실시한다.

나. 유전분석

상기 2 계통 및 F₁ 종자를 8월 중순 육묘 상에 파종하고 9월 초순에 하우스에 가식, 하우스에서 육묘한 후 2003년 2월 하순에 인공교잡을 위해 포트에 정식한다. 4월 초순에 F₁ 종자를 개화수분에 의해 자식하여 F₂집단의 종자를 확보하고 또한 인자검정을 위하여 이 F₁과 감수성계통인 “CT” 계통과의 여교잡을 실시하여 얻어진 종자들을 가지고 재료로 이용한다.

다. 저항성검정

상기재료를 포함, 37개의 주요계통과 10개의 시판품종들을 가지고 여름 및 가을에 배추좀나방이 인공적으로 사육된 하우스에서 배추좀나방에 대한 저항성여부를 조사 한다. 조사방법은 먼저 배추좀나방을 소형 케이지에 사육한 후 배추좀나방 사육케이지에 미리 소형포트에 재배한 식물체를 넣어 산란을 유도한 후 산란한 포트를 목적인 장소(하우스)에 배치하여 저항성 및 감수성 여부를 조사한다.

2. 내충성, 내병성 및 고품질 샐러드용 품종 육성

가. 우수한 품종들을 작출 하기 위하여 주요계통들을 파종하여 2003년 내병성, 내서성 및 내한성, 맛, 열구성 등 양배추에서 주로 요구되는 형질이 우수한 계통 간에 인공교잡을 통하여 총 190개의 조합을 작성하고 포장검정을 통하여 우수품종을 예비 선발한다.

나. 전 세계적으로 현재 문제시되고 있는 사항은 본 연구에서 언급된 내충성을 포함해 내서성, 내병성, 포장저장성(내열구성) 및 맛 등이라 할 수 있으므로 본 연구에서 쓰여 졌거나 새로이 얻어진 내충성 계통과 내서성, 내병성, 포장 저장성, 맛 등이 뛰어난 계통 간에 교잡을 통하여 우수한 품종을 포장에서 선발한다. 품종 육성목표로는 태국이나 인도네시아를 비롯한 동남아품종 및 인도를 비롯한 서남아계 품종으로 내충성 및 내서성이 뛰어난 조생계 품종, 샐러드용으로서 국내 및 중국, 일본 미국등지에서 요구되는 육질이 뛰어나고 포장저장성이 뛰어난 조생계 내지는 극조생계 품종육성을 목표로 한다.

다. 선발된 품종의 국내외 현지적응성 검정을 실시하고 그 성적을 종합하여 시제품을 생산하며 나아가 **식물특허권이라 할 수 있는 품종보호출원**을 통해 본 연구를 통해 얻어진 우수한 품종들을 보호 받도록 한다.

3. 배추좀나방 저항성 마커의 개발

가. AFLP를 이용한 Bulk Segregant Analysis 법에 의한 내충성유전자 마커탐색

1) DNA 분리

AFLP 분석 및/또는 연쇄중합반응의 주형(template)으로 사용될 양배추 게놈 DNA (genomic DNA)는 저항성 및 감수성 양친(부계 및 모계) 및 F₂ 개체의 잎 조직으로 부터 추출하는데, 원칙적으로 J. Chen과 S. Dellaporta 법 (Freeling M. & V. Walbot (eds), 1994, The Maize Handbook, Chapter 85. Urea-based Plant DNA Miniprep, Springer-Verlag, N.Y.)에 따라 수행한다. 구체적으로는 잎 1g을 막자사발에 넣고 액체 질소를 첨가하면서 미세분말이 될 때까지 갈아 만든 분말 (powder)을 UEB 용액(168g urea, 300mM NaCl, 50mM Tris, 20ml EDTA, 1%

sarkosine)과 잘 섞은 다음 페놀/클로로포름 추출을 실행하고 이 이후의 DNA 정제과정은 상기 Chen과 Dellaporta의 방법에 따른다.

2) Bulk Segregant 분석

배추좁나방 내충성 유전자에 대한 마커의 기능을 할 수 있는 제한 효소 절편을 찾기 위해 본 분석을 수행한다(Michelmore 등. 1991). F₂ 집단 중 내충성 10 개체와 감수성 10 개체를 임의로 선정하여 각 개체별로 게놈 DNA를 추출한 후, 동량(同量)의 DNA를 섞어, 내성 10 개체에 대한 게놈 DNA 풀(pool)과 감수성 10 개체에 대한 게놈DNA 풀(pool)을 만든다. 이들 DNA 풀은 AFLP 분석을 위한 게놈 DNA 주형으로 사용한다. 상기 DNA 풀과 양친의 게놈 DNA를 동일 조건에서 여러 조합의 프라이머를 사용하여 AFLP 분석을 실시하고, 다형 현상을 보이는 DNA 절편 중 배추좁나방 내충성 또는 감수성에만 유전적 연관성이 있는 밴드를 탐색한다. 관련된 마커가 선발되면 내충성 검정이 완료된 F₂ 개체에 대하여 AFLP를 통하여 재검정하고 이를 통하여 확인된 마커를 최종 개발하게 된다.

3) AFLP 분석

가) DNA 시료의 절단(restriction enzyme digestion) 및 adaptor 연결(ligation)

PCR 주형(template)으로 사용될 절편은 *Pst*I 및 *Mse*I 두 가지 제한효소를 동시에 다음과 같이 처리한다. 0.5 μ g의 게놈 DNA에 대해 상기 제한효소를 처리한 다음, 각 제한효소 특이적 adaptor를 37°C에서 결합(ligate)시킨다. *Pst*I/*Mse*I adaptor는 *Pst*I 및 *Mse*I 절단 부위에 특이적으로 결합할 수 있는 adaptor 쌍이다. 이와 같이 제한효소 양 말단에 adaptor가 결합(ligate)된 제한 효소 절편을 “tagged restriction fragments”라 한다.

나) 연쇄증합반응(PCR증폭)

PCR반응은 pre-amplification과 선택적 증폭(selective amplification) 두 단계로 실시한다.

첫 번째 단계는 예비증폭(preamplification) 단계로서, 상기 실험의 아답터 부위에 결합(anneal)하는/상보적인 프라이머 서열의 3'-말단에 각각 하나의 "selective

base“를 추가한 프라이머 쌍을 사용한 경우이고, 두 번째 단계는 이 예비증폭 단계에서 사용한 프라이머의 3'-말단에 다시 2개의 "selective base" 추가하여 선택적 연쇄증합반응을 시킨 경우이다. 이 밖의 연쇄증합반응 조건은 Vos 등(1995)의 방법과 실질적으로 동일하다. 첫 번째 단계인 예비증폭 단계에서는, "tagged restriction fragments"의 *Pst*I 인식서열 및 아답터 부위에 상보적 결합하는 프라이머 (이하, "*Pst*I 프라이머"라 함)에는 "selective base"로 "G"를 추가하고, *Mse*I 인식서열 및 아답터 부위에 상보적 결합하는 프라이머 (이하, "*Mse*I 프라이머"라 함)에는 "selective base"로 "C"를 추가한다. 예비증폭단계에서의 PCR 반응 조건은, 각 프라이머 30 ng, 25 mM dNTPs , 15 mM MgCl₂를 포함하는 10 x PCR buffer, *Taq* DNA 중합효소 1 unit, 및 주형 DNA 절편 5ng를 포함하는 총 50 μ L의 용액에 대해, 94 °C에서 30 초, 56 °C에서 1 분, 72 °C에서 1 분간 29 회 반복한다.

두 번째 선택증폭(selective amplification) 단계에서는, 상기 예비증폭단계에서 증폭된 PCR 산물에 대해 추가적인 선택증폭을 하기 위한 것으로서, 전기영동했을 때 겔에서 밴드 수를 줄여 해상력을 높이기 위해 실시한다. 두 번째 증폭단계에서는, 상기의 예비 증폭산물을 50 배 희석시켜 선택증폭의 주형으로 사용하고, 여기의 PCR 증폭에 사용된 프라이머 쌍은, 각 예비증폭 프라이머의 3'-말단에 1-3 개의 "selective bases"를 추가적으로 더 붙인 것이다. 두 번째 증폭단계의 PCR 반응 조건은 *Pst*I 프라이머 15 ng, *Mse*I 프라이머 30 ng, 2.5 mM dNTPs , 10x PCR buffer 2 μ L, *Taq* DNA 중합효소 0.4 unit, 및 주형 DNA 5 μ L를 포함하는 총 20 μ L의 용액에 대하여, denaturation step은 94 °C에서 1 분간, annealing step은 첫 번째 cycle은 65 °C에서 1 분간, 두 번째부터 11 번째 cycle 까지는 매 cycle 1°C씩 낮춘 온도에서 1 분간씩, 나머지 총 33 cycle은 56 °C에서 1 분간 일정하게 유지했으며, extension step은 72 °C에서 1.5 분간 일정하게 유지했다. 이 조건에서 총 44 cycle의 연쇄증합반응을 수행한다.

다) 전기영동 및 염색(electrophoresis and silver staining)

상기 단계의 PCR 증폭 산물을 6% denaturing polyacrylamide gel 상에서 1,700 V 로 3시간 30분간 전기영동한 후 시판되는 은염색 키트(제조원, 한국 바이오니아사 제품)를 사용하여 DNA 밴드를 염색하고, 겔을 암실에서 light box 상에서 APC film을 13초 노출한 후에 필름 현상을 한다.

이상의 AFLP 분석을 통해 양친 및 두 F₂ DNA 풀(bulked or pooled DNA), 총 4 종의 계놈 DNA 시료에 대한 AFLP fingerprints를 얻을 수 있었고, 그 결과,

배추좁나방 대한 내성 유전자와 가까이 연관된 마커 밴드를 찾는다. 따라서 이들을 AFLP 마커로 활용될 수 있다.

나. SCAR마커 개발

배추좁나방 저항성유전자와 관련된 AFLP 마커가 선발되면 이것을 polyacrylamide gel에서 분리하여 PCR 증폭한다. 증폭된 AFLP fragment을 cloning vector에 cloning한다. Cloning된 recombinant DNA를 heat shock법을 이용하여 competent DH5 α cell에 형질전환하고, 형질전환 된 균을 LB 배지에서 키워 DNA를 추출한다. Insert를 확인하기 위해 *EcoRI* 효소 처리하여 확인한다. 이 marker를 ABI 3700 auto sequencer를 이용하여 염기서열 분석 후 database search 수행한다. large-scale PCR을 위해 이 서열을 기초로 Primer3 등 공지된 컴퓨터 프로그램을 이용하여 프라이머 설계를 하고, SCAR 마커를 개발한다.

4. 유전자지도 작성

내충성 유전자와 연관된 AFLP 마커를 여러 개 밝힌 후 이를 이용하여 내충성 검정이 끝난 양배추 F₂ 집단에 대하여 AFLP를 수행하고 여기서 나온 여러 가지 다형 밴드를 이용하여 MAPMAKER/QTL 및 JoinMap program에 의해 내충성 유전자를 유전자 지도상의 위치를 밝히고 난 후, 가까이 연관된 마커의 염기 서열 확인 후 MAS에 이용 하고자한다. 유전자지도 작성은 아래와 같은 방법으로 수행한다.

가. Marker scoring과 linkage 분석

AFLP의 실험을 통해 나타난 각각의 polymorphic marker를 선별하되 polymorphic band는 분명하고 명확히 구별되는 band만을 취한다. Marker는 분리되는 F₂ 집단 사이에서 두 번 독립적인 실험을 하여 band가 있고 없음에서 일치하는 band만을 선택한다. 연관분석에 의한 연관군 지도 작성을 위하여 다형성을 보이는 양친과 집단개체 모두를 동시에 AFLP 분석한 후 같이 전기영동하여 각 개체의 유전형을 A 또는 B로써 표시한다.

나. Data matrix

모든 marker는 chi-square test에 의해 $P=0.5$ level 에서 F_2 population의 예상되었던 분리가 3:1로 검정된 것을 사용한다. 연관분석과 유전지도 작성은 MAPMAKER (Lander et al. 1987)를 이용하여 수행한다. 적정 LOD 수치를 선정하여 DNA marker 들의 연관군을 결정하고 compare 명령어를 이용하여 가까이 연관된 marker들을 결정 한 후 적정 LOD 값을 만족하는 marker들의 배열 순서를 유전자지도 작성의 기본 축으로 결정한다. 각각의 연관그룹에서 marker의 배열을 검정하기 위해 Ripple command를 이용하고 새로운 마커를 첨가할 때는 'try'명령어를 이용하여 새로운 마커를 연관그룹 또는 염색체 상에 위치시킨다. Map-distance calculation (Kosambi, 1944)을 위해 kosambi 의 mapping계산 방법에 의해 추정할 것이며 centiMorgan 단위로 표시한다. Lincoln과 Lander (1992)이 언급했던 tying 오류 문제를 다루기 위해 data set는 First mapping 후에 marker의 순서에 따라 배열된 mapping data에 다른 parent의 상호적인 score에 의해 인접한 parental score인 singletons의 존재 여부를 조사한다(Sall and Nilsson, 1994). Frequent cross-over 수를 암시하는 singletons는 다시 조사되었고 필요에 따라 수정되었다. 최종 map construction은 반복된 data set로 만들어진다.

5. 내충성 계통의 MAS를 이용한 선발시스템 구축

양배추에서 문제가 많은 병충해 저항성, 각종 품질에 관여되는 형질에 대하여 선발효율을 증가시킬 수 있기 위하여 최근에 개발된 분자마커를 이용한 MAS 시스템(Knapp 등. 1999)을 구축하여 양배추의 육종효율을 높이고, 배추좀나방 저항성 품종을 육성하고자 한다. 이와 같이 MAS 선발시스템 구축하게 되면 노력과 시간을 많이 감소 할 수 있다. 이를 위해 상기에서 개발된 SCAR 마커를 이용하여 다음과 같이 실험할 예정이다.

가. SCAR 마커에 정확도를 확인하기 위해 F_2 집단 106 개체에 대해 배추좀나방을 접종하고 이에 대한 SCAR마커를 이용하여 상호 결과를 비교한다.

나. 주관연구기관이 보유하고 있는 양배추 배추좀나방 저항성 계통을 이용하여 SCAR 마커의 여부를 확인하고, 이를 육종에 이용할 수 있는지 그 가능성을 확인한다.

다. 양배추 유전자원에 대해 저항성 재료를 수집하고 이에 대하여 SCAR 마커를 이용하여 배추좀나방 저항성 검정을 실시하고, 동시에 포장검정을 통해 마커가 여러 가지 유전자원에 적용될 수 있는지를 검토한다.

라. 선발된 층 저항성 유전자가 연관된 집단은 종묘회사에서 보유하고 있는 계통과의 여교잡을 통해 병 저항성 유전자를 도입하는 내병성 육종 재료로서 이용한다. 이 과정에서 실제 선발 포장에서 SCAR 마커의 실용성을 또 검증한다.

마. 양배추에서 대부분의 F₁ 잡종강세 육종법을 이용하기 때문에 SCAR marker는 이러한 선발에 직접적으로 선발마커로 이용될 것이다.

바. 저항성 계통을 육종할 때 분리세대 및 약배양 개체 등에 SCAR marker를 이용하여 효율적으로 저항성 계통을 선발할 수 있는 시스템을 확보한다. 상기에 언급된 주요 연구개발내용의 범위를 표 1-1에 나타내었다.

표 1-1. 연도별 주요 개발 내용

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2002)	내충성관련 유전분석 저항성계통 및 품종 육성 내충성 분자마커 개발 및 MAS 시스템개발	- 내충성 유전분석 집단 양성 - 내충성 line의 선발 및 확인 - F ₁ 및 F ₂ 교배, 저항성품종예비선발 - 내충성 분자마커 개발기술확립 · AFLP기법이용primer조합을 이용한 BSA · Polymorphic band로부터 cloning · 염기서열분석 · SCAR 마커 디자인 및 개발
2차년도 (2003)	내충성관련 유전분석 저항성계통 및 내충성,내병 성 고품질셀러드용 품종육 성 내충성 분자마커 개발 및 MAS 시스템개발	-내충성유전분석 -배추줄나방을 이용한 내충성 유전분석 -저항성 품종의 선발 - 고품질 셀러드용 품종선발 -내충성 분자마커 탐색 · AFLP이용 유전자지도작성 · 내충성 분자마커의 확인 및 SCAR마커개발
3차년도 (2004)	내충성관련 유전분석 저항성계통 및 내충성,내병 성 고품질셀러드용 품종육 성 내충성 분자마커 개발 및 MAS 시스템개발	-내충성 계통 육성 -저항성 계통을 이용한 F ₁ 육종체계확립 -육성품종의 국내외 현지실증시험 -시제품생산및 품종보호 신청 -내충성 분자마커이용 MAS 시스템 개발 · F ₂ 집단 150여 개체에 대한 마커분석 · 기존품종 및 계통 이용 분자마커의 적용여부 탐색 · 유전자원 수집 및 분자마커 적용검토 · 총 저항성 유전자를 도입 내병성 육종재료에 대한 분자 마커의 실용성검증 · 저항성 분리세대 및 약배양 개체에 대한 MAS 시스템 확보

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 개발대상기술의 중요성 및 국내외 관련기술의 현황

1. 배추좀나방의 특성과 방제 현황

배추좀나방은 나비목[鱗翅目] 집나방과의 곤충으로서 전 세계에 분포하며, 주로 배추과작물에 서식하며 크기는 몸길이 약 6mm, 날개길이 12~16mm에 달한다. 성충은 몸길이 약 6mm이며 날개길이가 12~16mm인 작은 나방이고 앞날개는 회흑색 또는 회황색이다. 알은 타원형으로 납작하고 진주광택을 내며 그물 모양의 무늬가 있고 엷은 황록색이다. 유충은 원통형이고 앞뒤가 가늘며 몸은 대개 녹색이지만 담황색·황적색·회색 등 변이가 심하다.

1년에 여러 차례 발생하며 5~6월에 특히 발생이 많으나 여름에는 발생이 적고 가을에 다시 많아진다. 먹이풀의 앞뒷면에 1개씩 날개로 산란하며 유충은 잎맥을 따라 잎살만 먹는 데 자라면서 잎 뒷면에 기생하며 겹겹질만 남기고 갉아 먹는다. 피해가 심하면 작물 전체가 희게 보인다.

방제법(防除法)으로 유기인계 살충제를 살포하고 있다. 배추좀나방의 방제를 위해서는 현재 주로 BT 수화제를 사용하는데 박테리아인 고초균(*Bacillus thuringiensis*)이 분비하는 BT 독소(MacIntosh 등, 1991)를 들 수 있다. BT 독소는 배추좀나방(*Plutella xylostella*) 등의 표피에 묻어서는 소용이 없고, 반드시 곤충이 먹어야 하는 단점이 있으나 앞에서 말한 바와 같은 장점이 있기 때문에 실제로 응용되고 있다. 이 BT 독소는 미생물 내에서 파라스포라(paraspora)라는 결정체로 만들어져 곤충의 체내로 흡수되면 장내의 알칼리 pH와 단백질 분해효소의 작용에 의한 단량체로 분해되며, 이 단량체가 곤충을 죽이게 되는 것이다 (Schnepf 등, 1998).

2. 양배추 육종 현황

우리나라 양배추는 1960년대 중반까지는 특히 봄 및 초여름 재배가 상당히 많았다. 아직 고랭지의 배추 재배가 널리 보급되기 전인 이때는 여름철 김치를 주로 양배추로 담궜기 때문인데 봄과 가을의 조생종으로 “코펜하겐마켓트 (Copenhagen market)”와 여름과 늦은 봄 재배용으로 “엽심” 등의 고정종이 재배

되고 있었다. 우리나라에서 양배추 육성은 우장춘 박사가 귀국한 이래 1950년대 원예시험장에서 시작되어 배추와 함께 자가불화합성을 이용한 1대 잡종 품종 육성에 착수하여 1962년에 최초로 F₁ 1대 잡종인 ‘동춘양배추’가 육성되어 그 양친이 민간 종묘회사에 분양된 것으로부터 그 기원을 찾을 수 있다. 한편 국내에서의 시장규모 및 식생활패턴, 나아가 육성의 필요성 등이 배추에 비해 월등히 떨어져 80년대 말까지도 국내에서 재배된 양배추는 거의 전량 일본으로부터의 수입에 의존하게 되었다. 이는 우리나라의 종묘회사들이 양배추 육종에 관심을 갖지 못했던 한 이유가 되었으며 그 결과, 1960년 후반에서 1980년대까지 전체 종자의 소요량이 불과 400~1000리터 정도였던 국내 양배추시장은 일본 품종이 독차지하게 되었다. 즉 우리나라에서는 1962년의 “동춘양배추”이래 거의 30년 동안을 뚜렷한 자체 육성 품종이 없이 지나온 셈이다. 그러나 1990년대 들어 최초로 국내에서 육성된 양배추가 수출됨과 동시에 국내에서도 일부 수입종의 국내육성 품종으로의 대체가 양배추 주 재배단지인 강원도 및 제주도에서 시도되었지만 대체량은 그다지 많지 않아 현재까지도 대부분 지역에서 일본품종의 재배가 이루어지고 있다. 그 원인으로는 국내품종의 경쟁력이 다소 떨어진 것도 하나의 이유로 볼 수 있지만 무엇보다도 농민들의 무조건적인 일본품종에 대한 선호도가 강하고 또한 정부나 민간종묘업계 자체 내에서도 양배추 시장에 대한 관심이 상대적으로 적었음을 지적하지 않을 수 없다.

1980년대 이후 국내 양배추 종자시장도 아주 느리기는 하지만 차츰 커짐과 동시에 특히 양배추는 전 세계적으로 볼 때 주요한 작물 중 하나로 재배면적이 많고 종자소요량도 많음으로써 몇몇 종묘회사에서는 그 중요성을 인식하여 해외 수출용 품종 육성이 본격적으로 시작되었다. 그 결과 거의 수출 가능성이 없어 보였던 양배추 종자가 최근에는 배추좀나방에 저항성이면서 내서, 내습성이 강한 “그린챌린저”와 “세인트” 등의 품종이 육성되어(표 2-1) 인도를 중심으로 한 동남아 및 미주 지역에 상당량의 종자가 수출(표 2-2)되기에 이르렀다.

표 2-1. 국내에서 개발된 주요 양배추품종

년도	품종명	개선된 형질	의의
1962	동춘		자가불화합성 이용 최초 F ₁ 품종
1993	그린챌린저	내서성, 내습성, 흑부병, 내병성 배추좀나방 저항성	최초 양배추 종자 해외수출
1996	세인트	내추대성, 포장저장성, 내서성	최대수출품종

배추좀나방은 거의 모든 배추과 식물에 피해를 주는데 특히 양배추에 그 피해가 심하고 동남아 등 열대 및 아열대 지방에서는 이 해충의 피해가 다른 어느 요인보다도 큰 것이므로 저항성 품종은 당연히 인기를 끌 수 밖에 없었으며 이러한 품종의 개발은 정말로 획기적인 업적이라고 하지 않을 수 없다.

1990년대 들어 국내에서 육성된 품종이 그 전까지만 해도 거의 일본에 의해 지배되고 있었던 인도나 동남아시아에 수출될 수 있었던 가장 큰 이유로 국내에서 개발된 품종의 내충성 및 내서성을 내세울 수 있을 것이다.

국내에서 육성된 품종이 단일품종으로 매년 1톤 이상의 종자량으로 최초로 수출된 품종은 1993년도에 육성되어 인도에 수출된 “그린첼린저”를 들 수 있다.

오랫동안 자리 잡고 있었던 기존의 일본 품종들을 이기고, 그것도 인지도가 낮은 한국의 신품종이 새로이 들어가기 위해서는 내서성, 내병성 이외에 무엇인가 기존 품종들이 없는 새로운 형질이 요구되었던 바 “그린첼린저”는 배추좀나방에 대한 내충성이 강한 품종으로 시장에서 인정됨으로써 진출이 가능했던 것이다. 이러한 품종을 교두보로 그 후 꾸준한 품종개발이 있어 한국에서 개발된 품종들은 전 세계에 판매되고 있으며 현재 인도 내에서 한국산 양배추의 점유 비율은 총 교배종 시장의 30%에 육박하고 있고 현재도 계속 증가되는 추세이다. 또한 미국시장에 있어서도 국내종묘회사에서 육성된 ‘제니스’는 그 특성이 우수하여 1999년도 단일품목으로 US\$ 550,000 어치의 수출을 기록하였으며, 미국 현지 대학에서 발간하는 책자에도 추천품종으로 등재되어 있을 정도이다.

가. 양배추의 종자 수출현황

양배추의 새로운 품종에 의한 수출은 다른 배추과 작물과 함께 우리나라 종자시장의 앞날을 밝게 하는 것으로 생각한다. 최근 들어 각 종묘회사의 지속적인 품종개발로 이제는 배추과의 주요 3개 작물(배추, 무, 양배추) 모두 주요 수출 작목으로 발전하게 되었으며 표 2-3에서 보는 바와 같이 2004년 양배추 수출실적 (US\$ 2,260,855)은 배추(US\$1,509,331)를 앞지르고 있으며 전체 채소품목 중 종자 수출 면에서 고추, 무 다음으로 그 점유비율이 높음을 알 수 있다. 이러한 수출의 증대는 우리의 배추과 채소 육종기술이 세계를 제패해 가는 느낌이 들 정도로 크게 신장하고 있는 것을 명백히 반증해 주는 것이라 할 수 있다.

표 2-2. 세계 양배추 재배면적 및 종자소요량 (추정치)

지역 / 구분	면적(ha)	종자소요량(kg)
한국	5,000	1,400
미주	90,000	34,500
유럽	60,000	25,000
남아프리카	55,000	23,000
아시아	600,000	380,000
계	810,000	463,900

(자료: APSA 및 기타자료)

표 2-3. 연도별 채소종자 주요 수출 현황

작물명/년도	(단위 : US\$)			
	1998년도	2000년도	2002년도	2004년도
양배추	1,170,000	1,604,698	2,142,382	2,260,855
배추	1,632,000	2,980,517	1,854,923	1,509,331
무	4,324,000	6,388,539	6,075,433	4,513,866
고추	1,383,000	3,542,276	5,441,271	6,521,051
호박	205,000	216,516	172,283	479,265
당근	120,000	536,893	540,277	341,881

(자료: 한국종자협회 자료)

3. AFLP를 이용한 마커개발 현황

양배추의 육종방법은 거의 예외 없이 분리육종으로부터 시작되어 한 집단내의 변이중에 우수한 개체로부터 종자를 수확하고 다음해에 별도로 재배함으로써 종자 개량을 수행하여 왔다. 그러나 지금까지의 육종방법에서 풀리지 않는 과제는 각 작물이 갖고 있는 유전적 변이의 실체를 정확히 평가하고 선발하는 기술이 확실치 못하기 때문에 어떤 특성은 근본적으로 포장에서의 발현성에 근거하여 선발치 않으면 오랜 기간 동안 반복수행하지 않으면 안 된다. 따라서 생육 환경이나 재배조건에 따라 특성의 발현 양상이 다소간 변화되기 때문에 선발을 하여야 했고, 또 어떤 특성들은 검정하는 경비가 많이 들어 선발이 부진한 특성도 있었다.

특히 병해저항성이나 충해저항성 등은 정확히 평가하는 기술개발이 어렵고 특히 유전적 특성이 확연히 구분되지 않는 수가 종종 있을 뿐 아니라 병원균이나 해충 자체 내의 유전적 변이 때문에 이를 통한 검정방법의 오류가 발생하기 쉽다. 따라서 한 때에는 내병성인 품종이 새로운 병원균에 의하여 감수성화 되는

작물이 있는가 하면 해충들은 내충성 작물을 먹고 적응하는 것만 살아남기 때문에 선발 배지의 역할도 해왔다. 그러나 생명공학 기술의 발달로 DNA 단편 또는 PCR marker 등의 개발로 각 작물이 갖고 있는 독특한 형질이나 환경 변이가 심한 농업형질(QTL)도 선발이 가능하게 되었다. 그러므로 양배추에서 문제가 많은 병충해 저항성, 각종 품질에 관여되는 형질에 대하여 선발효율을 증가시킬 수 있는 연구 과제가 시급히 요청되고 있다.

MAS 선발시스템을 구축하면 노력과 시간을 많이 절약 할 수 있다. 지금까지 분자생물학의 발전을 통하여 개발된 분자 마커는 RFLP, RAPD, AFLP, SSR 마커 등이 여러 가지가 있다.

RFLP는 제한효소의 특성, 즉 DNA의 특정염기서열에 대한 인지부위를 인식하는 능력을 이용하여 DNA를 절단하고 전기영동 함으로써 DNA 단편을 크기에 따라 분리하는 방법으로 양친의 DNA간에 염기서열의 차이가 있다면 제한효소로 절단된 DNA 단편의 크기 차이로 잡종여부를 가릴 수 있다(Chang 과 Meyerowitz 1991). 그러므로 특정 DNA에 대한 특이적인 DNA 다형성을 유도하는데 이용될 수 있는 것이다. 그러나 최근에는 중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 이용하여 증폭된 DNA들의 길이 차이에 의해 DNA의 다형성을 검출하는 방법들이 편리하고 신속한 방법으로서 주목되고 있다. PCR을 이용한 DNA의 다형성 분석에는 RAPD, SSR, 및 AFLP 등 여러 가지 방법이 있다.

RAPD법은 genomic DNA를 template로 하여 9 - 12 bp의 작은 primer를 이용하여 DNA를 증폭한 다음 전기영동하여 DNA band pattern을 볼 수 있는데 합성 primer의 염기배열을 임의로 바꾸어 이용함으로써 매우 다양한 DNA band pattern의 변이를 얻을 수 있다.

SSR은 그 주변의 unique DNA sequence로부터 고안된 primer들을 이용하여 PCR에 의하여 증폭할 수 있으며 증폭된 산물들은 보통 높은 다형성을 보이는데, 이는 특정 SSR에서 tandem repeat unit수가 다르기 때문에 나타난다. 일반적으로 SSR 마커들은 개체간에 다형성을 보이면서 공우성을 나타낸다. 이 중에서도 Vos 등(1995)이 개발한 AFLP가 다른 종류보다 다형화 된 밴드가 많이 나타나 마커 탐색에 유리하여 많은 실험실에서 사용되고 있다. AFLP 기술은 식물체의 DNA를 제한효소로 처리하여 나타나는 다형성을 PCR을 통하여 검출하는 방법으로서, 제한효소 인지부위에 나타나는 염기서열상의 차이를 검출하는 점에서는 RFLP의 원리 와 같지만 다형성 밴드를 검출하는 방법으로 Southern hybridization을 이용하지 않고 일정한 길이를 가진 PCR primer를 이용한다는 점에서 RAPD와 유사하다. 또한 얻어진 DNA 밴드를 검출하는데 있어서도 방사

성 등위원소를 사용하는 방법과 은염색법을 모두 사용할 수 있어 방사성 등위원소를 사용할 수 없는 실험실에서도 쉽게 이용할 수 있다.

가. 외국의 AFLP연구

AFLP 연구가 Vos 등(1995)이 시작한 후, 이 방법을 이용하여 유전자 지도 작성과 내병성, 내충성 등 형질과 연관된 마커에 개발을 진행해왔다. Maughan 등(1995)은 콩(대두)의 재배종(*Glycine max*)과 야생종(*Glycine soja*)을 명확히 구분할 수 있고, 재배종이 야생종에 비해 유전적 다양성이 낮았으며, F₂ 분석에서 6개의 AFLP 단편 이 유전법칙에 따라 분리하였다고 보고하였다. Tomas 등(1995)은 토마토 (*Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii*) F₂ 세대를 대상으로 *Cladosporium fulvum*에 대한 저항성 유전자인Cf-9와 연관된 마커를 찾기 위해서 저항성과 이병 성의 두 개의 pool을 만들어서 42,000개의 AFLP loci를 얻었으며, 이 중 3개의 마커 가 Cf-9와 co-segregation 되었다고 보고하였다. Brigneti 등(1998)은 PVY (potato virus Y) 저항성 유전자인Ry sto와 연관된 AFLP 마커를 찾기 위해 360개의 분리개체를 분석한 결과 4개의 마커를 찾았으며, 이 중 2 개가 Ry sto와 co-segregation 되었다고 하였다. Wang 등(1999)은 AFLP기법을 이용하여 벼에 blast 저항성 유전자를 mapping 했다고 보고하였다. Marsan 등(2001)은 AFLP map을 이용하여 옥수수의 grain-related 형질에 대해 QTL분석을 한 바도 있다.Wang 등 (1997)은 AFLP 마커를 이용해 melon에 대한 유전자 지도를 작성했다는 보고도 있다. 양배추에 있어서는 Voorrips 등(1997)이 107 doubled haploid lines 이용하여 양배추 genome을 615 cM로 cover하고 12개 linkage group에 92개 RFLP 와 AFLP 마커 가 위치하는 유전자 지도를 작성하였다. 그 외 이 유전자 지도에 2개의 무사마귀병 저항성 유전자를 mapping 하였다고 보고했다. Sebastian 등(2000)은 AFLP 와 RFLP기법을 2개의 morphologically distinct doubled-haploid mapping 집단을 이용 하여 양배추에 대해 유전자 지도를 작성하였다. 이 지도에는 547개의 RFLP, AFLP 와 SSR 마커가 9개의 linkage groups에 위치하고, 전체 유전학적 거리는 893cM이고 평균 average locus interval of 2.6 cM. 보고에 의하면 이 유전자지도는 물리지도 작성에 framework라 한다.

나. 국내의 AFLP연구

국내의 보고서를 살펴보면 국내에서는 양배추의 AFLP 연구는 거의 이루어져

있지 않으며, 고추의 경우 Nam등(1997)은 *C. annuum* 12점을 포함한 15점을 AFLP 방법 에 의하여 유전적 변이를 분석한 바 있고 그 결과로 *C. annuum*의 TF58과 *C. chinense*의 Habanero간의 유전적인 거리가 멀고 교배친화성이 있어 유전자지도 작성의 양친으로 사용할 수 있다고 보고한바 있다. Kang(1999)은 *C. annuum* 과 *C. chinense*간의 F₂ 107개체를 이용하여 57개의 RFLP marker와 182개의 AFLP marker를 이용하여 총 2,586 cM길이의 13개 연관군으로 구성된 유전자지도를 만들었다. 양배추에 관해서는 전혀 그 예가 없으나 양배추와 같은 *Brassica*에 속하는 배추의 경우 충남대 등 일부 대학에서 유전자 지도 및 내병성 마커개발에 이용되고 있다. 충남대에서는 형태적 및 생리적 특성에 있어 다형성을 나타내는 권심과 지부계간의 cross로 만들어진 F₁을 약배양 하여 만든 89 doubled haploid (DH) lines으로 AFLP 기법을 이용하여 유전자 연관 지도를 작성한 바 있다. AFLP 분석으로 *EcoRI/MseI*을 이용하여 393개, *PstI*을 이용하여 67개, 총 460개의 polymorphic marker를 얻었다. 모본, 부분 clone 사이에서 polymorphic amplification product의 수는 gel에서 확인하였으며, AFLP primer 3 (E-AAC/M-CTC)부터 23조합에서 primer 조합당 평균 11.5 marker가 있었으며 RAPD primer 1에서 4 조합에서 평균 1.4 marker가 있었다.

다. MAS 연구현황

육종 기술의 적용으로 작물의 수량성 증가 등 많은 성과를 가져왔으나 최근 여러 작물에서 품종의 수량성 증대가 크게 둔화되었을 뿐만 아니라 작물과 공생하는 병해충의 분화가 크게 증가하는 등의 문제로 인해 작물의 유전적 개량에 많은 어려움이 있다. 최근 생물공학 기술의 발전과 더불어 배추과의 육종 기술도 변모하고 있다. 즉 DNA marker를 이용하여 전통적인 육종 방법으로 해결하기 힘든 여러 문제에 대해 해법을 제시해 줄 수 있다. 또 분자유전자지도를 작성하여 간접 선발함으로써 질적 및 양적 형질의 선발 효율을 높이하고자 노력하고 있으며, 특정 유전자를 클로닝 하여 형질 전환시킴으로써 육종의 한계가 사라지고 있다. 그 반면에 MAS를 이용하면 육종 시에 특히 내병성, 내충성 등 형질에 재고를 위해 육종할 때 보다 더 많은 시간과 노력 또는 정확도를 높일 수 있다. 따라서 분자마커를 이용한 선발 시스템, 즉 MAS에 대한 연구는 많은 작물에서 진행되고 있다. 특히 벼에서 MAS 대한 연구는 상당한 수준에 달하고 있다. Huang의 보고(1997)에 의하면 벼 4개의 bacterial blight 저항성 유전자를 MAS를 이용하여 breeding 계통에 도입했다고 한다. Chen 등(2000)은 임성회복친 Minghui63에 백엽고병 저항성 유전자를 MAS를 이용하여 도입해 저항성을 높였

다고 보고했다. Stuber과 Edwards (1986)는 옥수수에서 각각 약 1,900개체로 구성된 2개의 F₂ 집단을 이용하여 종실 수량에 대한 MAS의 효율성을 검토하였다. 그 결과는 genome의 30-40% 정도를 대표하는 15개의 동위효소에 의한 선발이 표현형 선발과 효율성에서 동일하다고 했다. Edwards과 Johnson(1994)은 옥수수 육종 집단에서 얻은 QTLs 정보를 이용하여 유망 내혼계 계통을 육성하였다. Knapp (1998)는 의장실험을 통해 MAS와 표현형 선발방법을 비용, 효율적인 관점에서 비교하였다. 육종가가 표현형 선발에 의존할 경우 MAS를 이용할 경우보다 소수 우량계통을 선발하기 위해 1배에서 16.7배 크기의 후대를 검정해야 한다고 보고하였다. Bohn 등(2001)은 옥수수를 MAS를 이용해 *Diatraea* spp에 대한 해충 저항성을 제고했다. 충남대학교에서는 그동안 배추에 대한 MAS연구를 수행해 왔는데 주로 내병성에 관련된 마커의 탐색에 초점이 되어왔다. Hittalmani 등(2000)은 3개의 벼 도열병 저항성유전자와 연관된 PCR 마커를 이용하여 도열병 저항성유전자가 집적된 계통을 육성하고 있는 데, 2개 이상의 유전자 조합을 가진 계통들이 하나의 유전자만 가진 계통보다 안정적인 저항성을 보인다고 보고하였다. 무사마귀병 내병성 계통은 일본의 내병성 F₁품종에서 내병성인자를 도입하여 우리 고유의 내병성 1대 잡종에서 무사마귀병에 대한 유전분석을 통하여 1개의 우성유전자가 관여함을 알아냈고, bulk segregation법을 이용한 AFLP 분석으로 마커를 선발해 냈다. 이렇게 선발된 마커의 염기서열을 밝히고, 이를 이용 SCAR 마커를 개발한 바 있다 (Piao 등 2004).

분자 마커를 이용하여 유전자원의 다양성을 평가 할 수 있을 뿐만 아니라 유용유전자를 탐색 할 수 있다. 벼의 경우 전체 유전변이의 약 75%를 보유하고 있는 야생 벼 유전자원은 지금까지 병해충 저항성 및 내재해성 source로써 주로 이용되어 왔는데 최근에는 DNA 마커를 이용하여 야생 벼로부터 재배 벼의 양적형질을 개선시키는 유전자를 탐색 하는 연구가 수행되고 있다. CIMMYT는 케냐 농업연구소와 공동으로 MAS를 이용하여 기생 잡초인 *Striga* spp.에 저항성인 *Teosinte tripsacum* 유전자원을 검정하고 저항성 유전자를 재배종에 이전시키려는 연구를 수행하고 있다. 그러나 현재까지 양배추에서 분자 마커는 분자유전자지도 작성, 주요 질적 혹은 양적 유전자(QTL; quantitative trait locus)와 연관된 marker를 이용한 선발방법의 개발 정도에 그치고 있다. 영국 HRI (Horticulture Research International)에서는 SSR marker 300여개를 개발하여 사용하고 있고, Agriculture Canada의 유채연구팀에서는 microsatellite 2,000개를 개발 양배추에 응용하고 있다고 최근에 알려져 있을 뿐이다.

제 3 장 연구수행결과

제 1 절 내충성관련 유전분석

1. 연구재료의 육성과 주 연구재료의 특성

배추 줌나방에 저항성인 DS계통과 감수성 CT 계통간의 (또 다른 감수성계통인 SF계통 포함) F₁종자를 개화수분에 의해 자식하여 F₂종자를 생산하였고 아울러 여교잡 종자를 개화수분에 의해 생산하였다. 생산방법은 상기 2 계통 및 F₁ 종자를 2002년 8월 16일 육묘상에 파종하고 9월 15일에 하우스에 가식, 가온 하우스에서 육묘한 후 2003년 3월 2일에 인공교잡을 위해 35cm x 29cm 포트에 정식하였다. 3월 15일에서 4월 15일에 F₁ 종자를 개화수분에 의해 자식하고 또한 인자검정을 위하여 이 F₁과 감수성계통인 CT 계통과의 여교잡을 실시하여 6월 20일에 종자를 조제하였으며 그 결과는 표 3-1과 같다.

표 3-1. 내충성관련 유전분석을 위한 집단종자 생산

교배번호	계통명	교배화수(A)	종자량(B)	임성(B/A)
4-51	(DSxCT)F ₂	56	1,812	32.4
4-51 x 547-51	(DSxCT)xCT	18	280	15.6
118-51	(DSxSF)F ₂	33	695	21.1
118-51 x 1-2	(DSxSF)xCT	26	203	7.8
3-1	DS	48	1,028	21.4
547-51	CT	36	715	19.9
1-2	SW	43	657	15.3

또한 배추줌나방에 대한 내충성이 뛰어나고 아울러 기타 형질이 우수한 품종을 선발하기 위해 2002년 7월 25일 보유하고 있는 250계통을 포장에 파종한 후, 우수한 조합 작출을 위한 모본을 선발하기 위해 10월 중순부터 11월 5일에 걸쳐 각 계통의 특성을 최종적으로 조사하였고, 11월 15일 300개의 성숙모본을 선발하여 가온하우스(야온 8°C 유지)에서 월동한 후 2003년 2월 하순부터 4월 하순에 걸쳐 교배조합 190개를 작성하여 그 종자를 생산하였다. 품종육성에 사용될 주요 성숙모본들의 내역과 그 특성은 표 3-2와 같다.

표 3-2. 2002년도 교배성숙모본 내역 및 주요특성

TN	계통명	엽색	초자	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	구중 (g)	구고 (cm)	구폭 (cm)	Core (cm)	긴도
501-51	SB	농록	개	37.5	35.0	980	14.5	15.5	6.4	중강
503-51	Gob	녹	좌	25.0	27.0	1200	13.0	14.0	7.0	강
504-51	SK	담록	개	45.7	43.0	1140	12.5	16.5	6.3	중
505-51	TA	녹	개좌	43.0	45.0	1190	13.5	15.3	6.3	중
506-51	SQ	농록	개	35.4	38.0	1300	13.0	13.0	6.5	강
508-51	TS	회록	립	30.0	28.5	1000	11.7	13.0	5.6	중
509-51	SP	농록	개립	38.0	37.8	1450	13.7	15.9	6.5	강
510-51	SP-1	녹	개	28.3	28.5	750	10.4	9.5	6.6	중약
512-51	HG	농록	립	50.1	43.2	580	7.6	8.4	3.3	중강
513-51	LB	담록	좌	35.5	30.8	960	12.0	11.7	5.6	중
514-51	RhO	담록	개립	30.8	32.0	650	8.5	12.2	4.0	강
516-51	RhO-1	녹	개	40.5	37.0	1200	13.0	18.0	6.9	약
518-51	RhO-2	녹	개	47.2	45.9	1270	11.7	15.0	6.3	중
520-51	Sco	담록	립	35.3	38.0	1340	14.4	15.2	7.0	중강
522-51	Sco-1	농록	개좌	28.0	28.0	830	9.3	8.2	4.5	강
526-51	J-1	녹	좌	33.8	33.4	750	10.6	10.5	6.5	중강
527-51	J-3	농록	개	30.0	30.5	1250	14.3	12.1	6.1	강
527-52	J-3	농록	개좌	33.6	29.5	1380	13.5	15.0	5.4	강
528-51	J-4	담록	개	29.0	29.5	760	13.6	11.4	6.3	중약
529-51	DB	회록	개	47.5	45.0	590	13.0	18.7	7.0	약
530-51	J-5	녹	립	34.5	34.0	1050	12.0	12.0	5.8	강
532-51	DM	회록	개	48.4	47.9	650	14.0	18.5	6.4	약
534-51	J-7	녹	개좌	30.0	30.8	800	10.5	10.3	6.3	강중
535-51	J-8	녹	개	28.0	27.5	970	10.6	11.5	5.0	약중
536-51	J-10	녹	개립	40.4	41.0	1400	15.0	15.5	8.0	강중
537-51	HQ	담록	립	50.5	40.0	450	11.1	13.0	3.9	약
538-51	ED	회록	개립	45.5	40.8	1180	13.5	14.0	6.0	강
541-51	FF	담록	좌	28.0	29.0	800	12.0	10.0	4.3	강
542-51	FL	녹	개립	41.0	41.5	1450	15.5	16.0	7.9	강중
543-51	FL	녹	개립	41.5	41.0	1500	15.7	16.5	7.8	강중

TN	계통명	엽색	초자	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	구중 (g)	구고 (cm)	구폭 (cm)	Core (cm)	긴도
545-51	FI	암회록	좌	25.0	26.4	600	11.5	10.2	3.5	중강
547-51	CT	담록	개	37.5	34.0	950	13.8	13.5	7.0	중
548-51	FC	암회록	개	35.0	35.5	1200	14.0	14.0	6.8	강
549-51	FT	암회록	개	40.8	38.9	1150	13.5	13.3	6.9	강중
551-51	FE	농록	개좌	43.5	40.5	1400	16.8	13.7	8.4	강중
552-51	FP	담록	개좌	35.6	34.0	1320	15.8	13.5	7.5	강
554-51	DS	회록	립	48.0	43.5	800	15.5	13.2	5.8	약중
556-51	LG	회록	립	48.5	48.0	1210	16.0	15.5	7.5	중
557-51	SN	회록	개좌	35.5	28.0	1200	15.0	14.0	6.5	중강
560-51	SC	암록	좌	30.6	30.0	730	11.5	12.0	4.7	중
563-51	SG	회록	개좌	31.7	23.5	590	12.6	10.3	3.8	강
565-51	SI	농록	개립	35.5	33.5	990	13.5	12.5	6.0	중강
567-51	SP	농록	개	38.0	37.0	830	12.5	12.5	6.5	중
568-51	SB	암록	개립	40.7	40.5	820	10.6	11.0	4.5	중약
570-51	SD	담회록	개	39.0	43.0	1000	13.5	17.4	7.0	중
572-51	SF	담회록	개	43.7	45.0	1150	14.0	14.0	7.5	강
574-51	TB	회록	립	48.0	45.8	800	15.0	14.5	7.8	중약
575-51	GF	담록	개립	45.0	43.5	1450	16.5	16.0	8.0	중강
577-51	GB	암회록	립	44.5	44.0	1400	14.5	14.8	7.0	중강
579-51	GL	녹	개	44.0	46.0	1350	15.5	15.5	8.2	중
581-51	GG	녹	개립	40.5	35.5	920	14.3	14.7	7.4	중
581-51	GC	녹	개	37.5	38.7	850	12.6	15.0	6.3	중
584-51	GR	담록	개좌	47.5	39.0	640	12.5	17.6	6.3	약
586-51	IP	담록	개립	43.0	45.5	1480	16.0	17.0	8.5	중강
587-51	CY	농록	개	40.9	43.5	750	13.5	16.0	6.8	중
590-51	NG	농록	개립	43.8	43.0	1200	13.0	15.6	6.9	강중
592-51	KB	암회록	개	39.0	42.1	1100	14.5	16.8	7.6	강
594-51	KK	담록	개좌	45.0	40.0	1360	14.5	15.6	7.0	중강
596-51	KC	녹	개립	43.0	45.0	1150	13.5	14.5	6.8	중
598-51	NF	담록	립	50.9	48.3	1200	13.7	14.2	5.8	중강
599-51	JC1	회록	좌	48.5	39.0	950	12.8	15.0	6.5	중
602-51	JC3	담록	개좌	45.0	46.3	830	12.5	16.5	6.0	약
603-51	TS	암회록	립	48.0	44.5	1050	15.9	16.5	5.7	약
605-51	HU	담록	개좌	50.5	42.7	870	13.0	15.5	5.2	중약
608-51	HJ	회록	개립	43.0	45.5	1200	14.5	16.4	7.4	중

TN	계통명	엽색	초자	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	구중 (g)	구고 (cm)	구폭 (cm)	Core (cm)	긴도
610-51	HM	담록	립	52.0	43.5	450	12.2	14.3	6.0	약중
611-51	HMc	녹	개립	49.9	50.5	480	13.0	14.7	6.7	중약
612-51	HY	녹	개	39.5	42.3	900	12.7	15.0	5.2	강중
615-51	AF	암적	개립	43.0	35.0	850	13.5	11.0	6.0	강중
616-52	AL	적	립	50.0	48.8	800	14.5	16.3	7.5	중약
617-51	ALM	적	립	50.4	48.0	850	14.3	16.0	7.5	중약
618-51	AC	암적	개	40.5	41.0	740	12.5	13.0	6.8	중
619-51	AT	적	개립	35.5	37.7	800	14.0	13.2	6.5	중약
621-51	GC	녹	개	38.5	39.5	900	12.5	15.2	6.2	중
628-51	Nng	농록	개립	40.5	42.0	1300	13.5	15.5	7.0	중강
629-51	Nns	회록	립	42.5	35.5	730	14.5	13.0	7.0	중
630-51	Nng-g	회록	개립	42.5	43.0	1160	13.2	15.7	6.5	강중
631-51	Nfr	녹	립	45.8	43.0	940	15.4	15.5	7.0	약
632-51	Nhg	농록	립	48.0	43.1	550	12.5	12.7	3.8	약중
633-51	Nsw	담록	개립	40.3	44.2	1280	13.0	16.5	7.0	강중
635-51	Nnsm	농록	개립	45.0	40.3	950	12.5	12.8	6.7	중
637-51	CJ-1	농록	개	43.5	38.0	920	14.5	14.8	7.0	중약
638-51	CS	회록	개립	38.6	40.5	1230	12.8	15.3	6.5	중강
640-51	CA	암회록	개좌	30.5	26.4	900	11.5	10.3	3.5	강
643-51	CG	회록	개	35.0	33.6	820	13.5	15.5	6.9	약
644-51	CJ-3	담록	개좌	40.8	43.6	850	14.4	16.5	7.0	약중
646-51	CN	회록	개립	40.0	41.5	1190	13.5	15.2	7.0	중강
647-51	Crh	담록	개	33.0	36.9	870	13.8	15.5	7.0	중강
648-51	CH	농록	개립	45.0	43.0	480	12.5	13.0	4.5	약중
649-51	CN-2	농록	개	39.0	39.5	1150	14.0	13.8	6.5	중강
651-51	CU	담록	개립	35.0	39.0	1030	13.0	16.9	6.3	중
653-51	Csd	회록	개	40.6	38.5	1170	13.8	15.3	6.4	중강
654-51	CN-3	농록	개립	40.3	42.8	1330	13.5	15.4	7.0	중강
657-51	CJ-2	담록	개	48.5	46.2	1240	14.5	16.3	7.0	약중
666-51	CS	암록	좌	35.0	36.0	940	13.5	13.8	6.5	중
669-51	CQ	담록	립	40.0	39.0	1080	15.0	15.5	7.0	중강
673-51	CF	회록	개립	35.3	39.7	900	12.5	13.5	5.9	강중

2. 내충성계통의 선발 및 유전관계분석

내충성계통의 선발 및 확인을 위하여 2003년 7월 16일 F₂ 종자(각 300립), 여교잡 종자 (4시험구 각 70립) 및 그 양친계통 (3시험구 각 70립), 기타 특성이 우수한 37계통(각 70립) 및 시판품종(10품종 각 70립)을 50구 트레이에 파종하여 본엽 5매 크기로 육묘하여 배추좁나방을 사육한 하우스에 옮긴 후 8월 29일 내충성 차이를 조사하였다(표 3-3).

표 3-3. 2003년도 배추좁나방 내충성 모본차검

TN	계통명	내충성	TN	계통명	내충성
1	DS	7	27	FP	3
2	SD	7	28	CY	6
3	FI	4	29	RHO	6
4	FL	4	30	FC	4
5	FT	6	31	FE	2
6	KB	3	32	MCIS	1
7	SI	4	33	AF	6
8	IP	2	34	AL	6
9	GG	4	35	SB	2
10	GB	4	36	HQ	2
11	GF	3	37	CT	1
12	GL	3			
13	ED	7			
14	NG	2			
15	SG	6	41	LG	2
16	GC	5	42	Green challenger	7
17	HU	4	43	Green Voyager	7
18	HJ	6	44	Saint	7
19	HG	4	45	Tara	3
20	CS	7	46	Fast Green	2
21	FF	2	47	Junggan No11	3
22	SN	7	48	Winner	4
23	NF	2	49	KY	4
24	DK	4	50	오끼나	4
25	SC	5	51	Savoy king	2
26	SF	1			

7: 내충성극강 6: 내충성장 5: 강중 4: 중강 3: 중 2:약중 1: 약

F₂ 집단과 여교잡 집단의 결과는 표 3-4와 같이 유묘검정의 결과는 기대치와 거의 일치하였으나 포장검사의 결과는 유묘검정의 결과와 일치 하지 않았는데 이는 2004년도 봄 재배시 고온에 의해 배추좁나방이 극히 만연하였고 또한 재배시에 포장 주변에 이미 좁나방이 만연된 배추가 위치하여 그에 따라 결과에 차이가 있는 것으로 사료되었다. 포장에서 실험 시 오차로 인한 것으로 생각되어 2005년도에 재실험을 실시하였다. 2005년도 4월4일 격리된 하우스에 (DSxCT)F₂ 200개체와 상기 집단의 모계, 부계를 다시 정식하여 6월 5일 재검정 하였다. 검정방법은 아래 그림에서와 같이 전혀 충해를 받지 않은 개체를 저항성개체로 조사하였고 식물체의 가해가 아래 사진과 같이 나타날 때 감수성으로 조사하였다. 그 결과 저항성과 감수성의 개체비율이 73:27로서 단인자우성인자의 기대치인 3:1과 일치하였다. 2005년 6월 30일 상기에서 나타난 저항성 개체와 감수성 개체의 샘플을 각 개체별로 채취하여 마커의 적용여부를 조사하였다. 이러한 결과로 보아 내충성 인자는 1개로 생각되나 기후와 같은 환경적 조건 및 좁나방의 밀도 등에 따라 약간의 오차가 나타나는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 2004년도에 실시한 (DSxSF)F₂ 집단의 분석에서 유묘 검정시 3:1로 정확하게 나타났으나, 포장검정에서는 기대되는 결과가 나타나지 않는 것으로 보아도 알 수 있다.

표 3-4. F₂집단과 여교잡집단의 배추좁나방 저항성 검정결과

교배번호	계통명	유묘검정 (저항성/감수성)	포장검정 (저항성/감수성)
4-51	(DSxCT)F ₂	189:61	2004: 68:32 2005: 79:27
4-51 x 547-51	(DSxCT)xCT	24:26	23:27
118-51	(DSxSF)F ₂	192:58	40:60
118-51 x 1-2	(DSxSF)xCT	26:24	27:23



내충성계통 (DS)



감수성계통 (CT)



F₂ 집단중 내충성개체



F₂ 집단중 감수성개체

제 2 절 우수품종 육성

1. 자체 포장시험 결과

가. 포장시험 내역

연구최종목표인 내충성이 강하면서 기타형질이 우수한 품종육성(샐러드용 포함)을 위한 예비조합 선발시험은 씨텍스(주) 육종연구소에서 2003년도 6월 13일에 조기 조제된 70조합, 시판품종 50품종을 포함 총 120 LOT를 1차 파종하여 7월 1일 Lot당 20주씩 2반복으로 난괴법에 의해 정식하였고 9월 10일에 1차 예비조합을 선발하였다. 본 연구의 목표인 내충성을 비롯하여 여름 차검에서 가장 중요시되는 내서성, 내병성, 내습성을 전 생육기를 통하여 조사하였으며 기타 구의 특성(구중, 구고, 구폭, 멩아고 등)을 숙기별로 10일 간격으로 조사하였다. 아울러 2003년도 7월 25일에 190개의 신조합과 시판품종 60개를 포함 총 250 LOT를 파종하여 11월 15일까지 여름차검과 같이 가을차검 결과를 조사하였으며, 또한 2004년도 2월 15일 파종, 2004년도 3월 30일 정식한 시험구를 5월 20일부터 6월 30일에 걸쳐 조사하였다. 2004년도 여름차검은 2004년 7월 7일 파종하여 7월 29일 정식하였고 2004년도 가을차검을 7월 28일 총 290 시험구를 파종하여 시험하였으며 2005년도에도 봄, 여름, 가을에 걸쳐 연구소에서 시험을 실시하였다.

나. 포장시험결과

상기의 시험 결과를 종합한 성적을 표 3-5에 정리하였다. 표 3-5에서 나타난 바와 같이 2004년도 가을까지 26개의 품종을 선발 하였는데, 이중 16개의 조합(SDX1, 6, 7, 8, 19, 28, 36, 43, 44, 59, 61, 62SP, 81, 107, 159, 212)이 가장 우수한 것으로 판단되었으며, 다음으로 10개의 조합이 우수한 것으로 나타났다. 상기 예비조합중 국내에 적용될 수 있는 품종으로 SDX8, SDX28, SDX81, SDX159 등이 적합하다고 판단되었는데, SDX8과 SDX28은 숙기가 빠르면서 단맛이 많고 고품질계 샐러드 양배추 품종으로 이용이 가능하였다. 또한 2005년도 9월과 같이 정식 직후 계속되는 강우 조건 하에서 다른 원형계 조생계 품종들이 비에 의해 뿌리썩음병이 많이 발생하였는데 비해 양 품종은 100% 생존율을 보여 내습성이 강한 것으로 나타났다. SDX81과 SDX159는 편형계 내지 편원형계 품종으로서 각각 국내에서 주로 많이 재배되는 일본산 품종인 '오끼나' 및 'YR호월'을 대체할 수 있을 것으로 예상되었다. 특히 SDX8은 중국현지에서 극조생계 원형계 품

중으로 주로 재배되어 지는 '중감11호(중국농과원육성)', '희망'(사까다종묘) 등을 대체할 수 있을 것으로 판단되었으며, SDX81은 잎색이 농회록이면서 입성으로 내서성과 흑부병 내병성이 우수하여 중국남방이나 동남아에서 오랜 기간 재배되어 온 일본 다끼이종묘의 'KK-Cross'와 대비가 가능하였다.

표 3-5. 양배추 예비선발조합의 주요특성

선발조합	엽색	숙기	구크기	구형	Core	내병성	내충성	종합평가
SDX1	회록	만	대	편원형	단	강중	강	+++++
SDX5	회록	중	중대	원형	중	강	강	++++
SDX6	담록	극조	중	고구형	극단	강	강	+++++
SDX7	녹	극조	중	편원형	극단	강	강	+++++
SDX8	녹	극조	중대	원형	중	강	강중	+++++
SDX19	농록	조	중	원형	중	강중	강중	++++
SDX28	녹	초극조	중	고구형	중	강중	중강	++++
SDX32	암회록	조	소	고구형	극단	강중	강중	++++
SDX36	회록	조	소	원형	중	강	강	+++++
SDX38	회록	조	극소	고구형	극단	강	강중	++++
SDX43	회록	조	중대	편형	중	강	강	+++++
SDX44	담회록	중조	중소	원형	중단	강	강	+++++
SDX59	회록	조	중대	원형	중단	강	강	+++++
SDX61	회록	조	중대	원형	중	강	강	+++++
SDX62SP	담회록	조	중대	원형	단	강	강	+++++
SDX68	농록	중조	중대	편원형	중	강	강중	++++
SDX81	농회록	조	대	편형	중	강	강	+++++
SDX107	자	조	중	원형	중	강중	강	+++++
SDX140	녹	조	중대	편형	중	강	강	++++
SDX142	농록	조	중	편형	중	강	강	++++
SDX148	회록	조	소	원형	단	강	강중	++++
SDX159	농록	조	대	편형	중	강중	강	+++++
SDX160	함회록	조	소	원형	극단	강	강	++++
SDX194SP	담회록	조	중	고구형	극단	강	강	++++*
SDX205	담회록	중조	중대	원형	단	강	강	+++++
SDX212	회록	중	중대	원형	극단	강	강	+++++

수출용으로 선발된 SDX6은 국내에서 인도현지에 가장 많이 수출되는 '세인트'에 비해 숙기가 1주일 정도 빠르면서 내충성, 내병성 및 내서성이 강하고 맛이 좋아 수출용 품종으로 가장 가능성이 높았다. SDX7 또한 편원형 내지 원형계 극조생계 품종으로 내서성, 내병성이 강하여 인도중부 또는 기온이 높은 인도네시아 등 아열대 지역에 적용될 수 있는 품종으로 판단되었다. SDX43은 엽색이 회록으로 진한 편원형 내지 편형계 양배추로서 역시 남미나 아프리카 등 아열대지역에 적합할 것으로 사료되었다. SDX1은 만생계 품종으로 남아프리카공화국 및 겨울철이 따뜻한 호주, 미국 동부지역에 적합할 것으로 판단되어, 기타 SDX140과 SDX142는 아열대지역에 적합한 편형계 품종으로 판단되어 각각 예비 선발되었다. 한편 SDX5, SDX19, SDX44, SDX59, SDX61, SDX62sp, SDX160, SDX194sp, SDX205, SDX212는 원형계 양배추로서 인도나 기타 미국, 유럽 등지에 적용이 가능할 것으로 판단하여 예비선발 하였다.

다. 선발품종들의 종자생산능력

2003년도 여름차검과 가을차검의 결과 우수한 것으로 나타난 조합에 대해 2003년 8월15일과 8월 23일 파종된 모본을 2004년도 26개의 망실하우스에서 65cm x 40cm 간격으로 정식한 후 양친의 개화기를 보면서 벌을 주입하였다. 6월 하순 및 7월 초순에 예취하여 10일정도 후숙한 후 그 F₁ 종자를 생산하여 채종능력을 검정하였다(표3-6). DS계통 또는 FL계통을 모계로 사용한 조합들의 주당 생산량이 30ml 전후로 높아 높은 채종능력을 보였으며 DS계통 또는 FL계통을 부계로 사용한 조합들, 즉 대부분의 정역교배에서는 채종량이 떨어지는 경향을 보였다. 한편 SC, AF, CY 및 HU계통을 모계로 사용한 예비선발조합들의 채종량은 상기계통들보다 상대적으로 적은 채종량을 보였다.

표 3-6. 양배추 예비 선발조합의 주당 채종능력

선발번호	채종량	주당 생산량	선발번호	채종량	주당 생산량
SDX1-1	1830 ml	30.5 ml	SDX1-2	1240 ml	20.7 ml
SDX5-1	1710 ml	28.5 ml	SDX5-2	1070 ml	17.8 ml
SDX6-1	3260 ml	27.2 ml	SDX6-2	2480 ml	20.7 ml
SDX7-1	2870 ml	23.9 ml	SDX7-2	2200 ml	18.3 ml
SDX8-1	4450 ml	37.4 ml	SDX8-2	2700 ml	22.5 ml
SDX19-1	3800 ml	31.7 ml	SDX19-2	2980 ml	24.8 ml
SDX28-1	4750 ml	39.6 ml	SDX28-2	4210 ml	35.1 ml
SDX32-1	800 ml	13.3 ml	SDX32-2	1550 ml	25.8 ml
SDX36-1	3240 ml	27.0 ml	SDX36-2	2820 ml	23.5 ml
SDX38-1	3360 ml	28.0 ml	SDX38-2	1850 ml	15.4 ml
SDX43-1	1820 ml	30.3 ml	SDX43-2	1770 ml	29.5 ml
SDX44-1	3800 ml	31.7 ml	SDX44-2	2940 ml	24.5 ml
SDX59-1	3480 ml	29.0 ml	SDX59-2	2800 ml	23.3 ml
SDX61-1	4070 ml	33.9 ml	SDX61-1	3900 ml	32.5 ml
SDX62SP	2530 ml	29.7 ml	SDX62-2	1980 ml	18.5 ml
SDX68-1	1500 ml	25.0 ml	SDX68-2	1630 ml	27.2 ml
SDX81-1	1770 ml	29.5 ml	SDX81-2	1860 ml	31.0 ml
SDX107-1	2100 ml	17.5 ml	SDX107-2	4600 ml	38.3 ml
SDX140-1	1200 ml	20.0 ml	SDX140-2	1340 ml	22.3 ml
SDX142-1	1120 ml	18.7 ml	SDX142-2	1430 ml	23.8 ml
SDX148-1	1530 ml	25.5 ml	SDX148-2	1840 ml	30.7 ml
SDX159-1	2380 ml	19.8 ml	SDX159-2	4080 ml	34.0 ml
SDX160-1	1400 ml	23.3 ml	SDX160-2	1080 ml	18.0 ml
SDX194SP	2800 ml	31.5 ml	SDX194SP-2	2050 ml	14.8 ml
SDX205-1	1770 ml	29.5 ml	SDX205-2	2050 ml	34.2 ml
SDX212-1	3400 ml	28.3 ml	SDX212-2	2770 ml	23.1 ml

라. 양친의 원종증식

차년도 대량의 시판종자를 생산하기 위한 우수품종들의 원종 증식을 위해 양친 개개의 채종능력을 인공교배와 CO₂가스 처리를 실시하여 확인 하였는데, CO₂ 가스 처리는 2004년도 4월 4일까지 각 하우스에 모두 벌을 주입시키고 난 후 4월 5일 부터 5월 10일에 걸쳐 매일 2시간씩 하우스내의 가스농도 3.0% 수준으로 실시하였다. 가스처리는 오후 4시경 보일러를 작동시켜 수온을 75℃로 올린 후 대개 6시경에 환기창을 내린 후 15분 정도 가스공급을 하여 망실내 농도를 탄산가스측정기로 측정하여 그 농도를 확인하였으며 오후 8시에 하우스를 환기시켰다. 한편 처리기간 중 DS계통은 초기에 착협은 되었지만 종자가 착생되지 않는다.

위임을 보여 4월 25일부터 가스농도를 4%이상으로 올려 주었다. 퇴수분(藪受粉)에 의해 얻어진 인공교배의 결과와 CO₂처리에 의해 얻어진 원종생산 능력은 대부분 계통에서 거의 일치하였으나(표 3-7), 자가불화합성이 극히 강한 DS, HU, FF등의 계통들은 인공교배와 그 차이가 크게 나타났는데, 이는 초기에 CO₂ 농도를 3%로 하여 처리하였을 경우 위협만이 착협하여 거의 종자가 없었기 때문이었고 후기에 이 계통들에 대해서 CO₂처리농도를 일반계통보다 높게 처리(4-4.5%)함에 따라 다소 종자형성이 가능하여 차기년도 부터는 초기부터 CO₂농도를 높여주는 것이 유효할 것으로 사료되었다. 한편 꽃가루양이 원래 적은 계통인 SC계통의 경우 CO₂농도를 높게 하여 주어도 종자생산이 거의 없어 CO₂처리 보다는 인공교배에 의해 원종생산을 해야 할 것으로 판단되었다.

표 3-7. 예비 우수품종들의 양친에 대한 주당 원종생산능력

TN	계통명	인공교배	CO ₂	TN	계통명	인공교배	CO ₂
1	DS	26.5 ml	4.0 ml	19	HG	28.1 ml	25.4 ml
2	SD	28.7 ml	16.7 ml	20	CS	25.5 ml	18.8 ml
3	FI	30.0 ml	26.3 ml	21	FF	20.5 ml	3.5 ml
4	FL	35.8 ml	34.6 ml	22	SN5	32.3 ml	34.5 ml
5	FT	28.5 ml	30.5 ml	23	NF	26.8 ml	18.9 ml
6	KB	27.3 ml	24.2 ml	24	GD	21.7 ml	24.2 ml
7	SI	25.0 ml	22.8 ml	25	SC	7.4 ml	0.1 ml
8	IP	35.3 ml	33.4 ml	26	SF	32.6 ml	23.4 ml
9	GG	40.4 ml	36.8 ml	27	FP	35.6 ml	37.7 ml
10	GB	33.5 ml	24.0 ml	28	CY	18.5 ml	19.2 ml
11	GF	29.6 ml	29.0 ml	29	RHO	24.5 ml	3.8 ml
12	GL	30.8 ml	23.9 ml	30	FC	32.2 ml	29.6 ml
13	ED	5.4 ml	2.6 ml	31	FE	33.3 ml	32.1 ml
14	NG	29.5 ml	32.5 ml	32	DM	13.6 ml	18.6 ml
15	SG	25.3 ml	28.3 ml	33	AF	15.5 ml	15.9 ml
16	GC	27.4 ml	30.0 ml	34	AL	40. ml	37.5 ml
17	HU	19.6 ml	1.0 ml	35	SB	22.1 ml	19.7 ml
18	HJ	30.5 ml	33.4 ml	36	HQ	35.7 ml	45.8 ml

2. 국내 및 해외 연락시험결과

가. 국내시험

씨텍스(주) 육종연구소 자체 포장시험 결과 국내용으로 우수하여 선발된 예비조합, SDX8과 SDX28(이상 고품질계 샐러드 양배추), SDX81 및 SDX159 등을 국내 주요 양배추 재배단지인 전남 해안지방 및 제주도, 충남서산 보령지역, 여름철 주 재배단지인 강원도 등지에 해당지역의 파종기에 맞춰 연락시험을 실시하였다.

1) SDX28

2003년 12월 제주도에에서 실시한 농가시험의 결과 (제주도 남제주군 모슬포, 재배농민: 이영수) 선발조합 SDX28은 숙기가 정식 후 45-50일 정도로 극히 빠르면서 포장저장성이 강하고 특히 맛이 좋아 국내에서 새롭게 시장이 형성되고 있는 샐러드 양배추로서 가능성을 나타내었다. 이 조합은 국내의 모 대형유통업체만 샐러드양배추를 납품하여 판매하고 있는 '한얼영농법인' 사장이 직접 참석하였는데 현지 결과가 우수하여 선발되었다. 이 조합은 2004년과 2005년도 전남 나주(재배자: 최경열), 강원도 원주, 횡성(재배자: 유충희) 등지에서 5월부터 6월중에, 강원도 횡계에서 8월중에, 제주지역에서는 11월-12월중에 수확되어 국내대형마트에 시판 되었고 현재에도 겨울철 기온이 온화한 전남 해안지방 및 제주지역에서 겨울철 수확용으로 재배 중에 있다. 한편 이 조합의 경우 봄 가을철 수확작형에서는 우수하였으나 여름철 고랭지 재배 시에는 다소 흑부병이 발생되었고, 저온에 장기간 저장되었을 시 일부 흑부병에 의한 구내부패를 보여 봄, 가을 및 겨울 수확용 품종으로 적합한 것으로 결론지었다. 이 조합은 2004년 12월 '스위트캘리포니아'로 명명, 국립종자관리소에 생산판매 신고를 신청하였다.



‘스위트캘리포니아’ 출하전경(강원도 횡계지역, 2005. 8.7)



‘스위트캘리포니아’ 박스 저온저장
(제주시 대정지역, 2004. 12.15)



‘스위트캘리포니아’ 인도현지결과
(인도 벵갈로르 2005.2.2)

2) SDX8



SDX8(‘샬러드’)의 입모사진
(충북괴산 2004.5.28)



SDX8(‘샬러드’)의 구내부사진
(강원도 방림 2005. 7.8)

2004년(강원도 평창군 방림면, 재배농민 천봉준)과 2005년도 (강원도 평창군 방림면, 재배농민 함중호) 2년간에 걸쳐 고랭지에서 시험한 결과 ‘스위트캘리포니아’에 비해 구 숙기는 2-3일 늦은 편이나 구 광택이 좋고 구 긴도가 강한 원형계 품종이며 맛이 좋고 포장저장성 및 흑부병 내병성이 우수하여 선발하였다. 현재 제주도에 9월말 정식되어 ‘스위트캘리포니아’와 함께 농가 시험되고 있는 중이며, 중국을 비롯한 미국, 인도등지의 해외에서도 시험 중에 있다.

3) SDX81



SDX81과 대비종의 구내부비교
(충남보령 304:SDX81)



SDX81의 구사진
(충남보령 2005.6.24)

2004년, 2005년 상기 나)의 강원도 지역 고랭지와 2005년도 6월 충남지역(충

남보령군 재배농민 김유공)에서 농가 시험한 결과 대비종인 ‘오끼나’에 비해 숙기가 봄재배시 약 10일정도 빨랐으며 엽색이 회록색이고 초자가 입성으로 우수하였으며 연구소의 결과와 마찬가지로 특히 흑부병저항성이 강하였다. 단 숙기가 정식 후 60일전후로 빠른 관계로 포장저장성이 다소 떨어지는 단점이 있었으며, 고랭지 10월 중순 수확시에는 6-8월 수확에 비해 다소 결구력이 떨어지는 경향을 보였다. 이 품종은 고온결구력 과 흑부병내병성을 가지고 있어 온도가 높은 여름재배시 더 좋은 특성을 보일 것으로 사료되어 금후 우리나라의 여름철 고랭지재배와 중국남부, 동남아 지역에 수출용으로 보급 될 수 있을 것으로 사료되었다.

4) SDX159

2004년 12월 17일 전남 진도군 의신면 (재배농민:이정관)에서 현재 주로 재배되어지는 품종인 사까다종묘의 ‘대공’과 다끼이종묘의 ‘YR호월’ 등과 함께 재배 시험한 결과 숙기가 상기 대비품종들보다 약 10일정도 빠르며 구 형태도 국내에서 선호하는 편형내지 편원형으로 구 긴도가 강하고 포장저장성등이 강하여 우수한 평가를 받았다.

한편 진도지방의 대공 재배작형인 12월 파종, 2월 하순 정식, 5월 초순 수확하는 작형에서는 초기 생육이 대공에 비해 월등히 빠른 이유로 2005년도 4월14일과 4월 18일에 영하로 떨어지는 이상저온에 의해 추대가 발생하였다. 그러나 제주도에서 6월 13일, 충남 보령에서 6월 24일 수확하는 작형 및 대관령의 7월-10월 수확하는 작형에서는 우수한 성적을 보여 이 조합은 저온의 위험이 거의 없는 2월 중순 이후의 파종 작형에 적합할 것으로 결론지어졌다.



SDX159재배농민(이정관 전남진도)



SDX159입모사진(전남진도 2004.12.17)



SDX159 구입모사진
(강원도평창방림 2005.10.10)



SDX159와 일본품종 '오기나'의
구내부비교 (충남보령 2005.6.24)

나. 해외 시험

1) 시험개요

해외 시험지역으로는 크게 인도, 중국, 미국, 스페인, 베트남 등지에서 주로 시험을 실시하였다. 우리나라의 현재 주 양배추 수출대상지역인 인도지역은 지역이 넓고 지역별로 기후조건이 달라 다양한 양배추가 수입되어 재배되고 있는 관계로 재배시험 지역을 4개 지역으로 크게 나누어 현지시험을 진행하였다. 우리나라와 가을철 기후조건이 거의 유사한 델리지역, 비가 많고 겨울철 기온이 따뜻한 캘커타지역, 년 중 기온이 높고 비가 많이 와 내서성 품종이 요구되는 중부지역인 나식지역, 겨울철 기온이 따뜻하고 비가 비교적 적은 고랭지 지역인 뱅갈로르 지역에서 인도현지 회사인 Rajendra Hybrid Semences Pvt. Ltd.를 통하여 실시하였다. 2003년도 9월 3일, 9월 23일, 11월 23일 숙기에 따라 3회 파종하였으며 그 결과를 2004년 1월 15일부터 1월 25일에 걸쳐 조사하였고, 아울러 2004년도 연구소에서 예비 선발된 모든 조합과 현지 재배되고 있는 대비종을 포함하여 10월 13일, 10월 29일 파종하였고, 2005년 1월 24일부터 2월 4일에 걸쳐 조사하였다. 중국의 경우 상해에서 2004년도 1월 2일에 파종한 시험구를 4월 23일, 5월 19일 2차에 걸쳐 그 시험결과를 조사하였고, 2005년도 7월 14일 하북성 창리현에 파종한 농가시험을 10월 30일 조사하였다. 베트남에서 10월 23일 파종한 시험은 2005년 1월 2일 현지 출장하여 그 결과를 조사하였다.

2) 시험결과

가) SDX6

인도, 베트남, 중국등지에 출장하여 조사한 결과 SDX6 조합은 숙기가 정식후 53-55일 정도로 극조생계에 속하였으며 따라서 인도 및 중국 등에서 재배되어지고 있는 ‘세인트’에 비해 1주일 이상 수확시기가 빨랐다. 아울러 세인트가 가지고 있는 포장저장성과 내추대성, 내충성, 내서성, 내병성 등을 골고루 가지고 있으면서 맛도 좋아 금후 수출품종으로 확고히 자리를 메김 할 수 있는 품종으로 판단되었다. 2005년도 이태리에서 시제품을 생산하였으며 2005년도 10월 ‘로얄스톤 (Royal Stone)’으로 품종보호를 출원하였다.



SDX6(‘로얄스톤’)의 입모사진
(중국상해 2004. 5.19)



SDX6(‘로얄스톤’)의 입모 및
구내부사진(강원평창방립 2005.7.8)



DX6(‘로얄스톤’)과 대비종과의
비교사진(중국하북성창리현 2005.10.30)



SDX6(‘로얄스톤’)의 구내부
(베트남 달라트 2005.1.2)

나) SDX8

국내시험에서도 우수한 것으로 나타난 SDX8은 인도, 중국, 베트남, 멕시코 등지에서도 우수한 성적을 보였다. 중국현지에서 2000년대 이후 빠르게 재배가 확산되고 있는 '희망(사까다종묘)'과 비교하여 숙기는 거의 비슷하였으며, 내한성이 더 강하고 구중이 무거우면서 구색이 우수하여 앞으로 확대가 늘어갈 전망이다. 현재 중국 하북성을 비롯, 산둥성 등지에서 시험중에 있으며 내년 봄 작형에도 중국의 대표적인 봄 재배품종인 '중감11호', '8398' 등과 현지 시험할 예정이다. 인도 동부지역에서 주로 많이 재배되어지는 사까다종묘의 'Green Express' 품종과 비교하여 볼 때 숙기가 거의 동일하게 빠르고 'Green Express' 보다 열구가 늦어 보급이 가능할 것으로 사료되었다. 이 조합은 2005년도 이태리에서 시제품을 생산하였으며 2005년 '샐러드(Salad)' 양배추로 품종보호 출원하였다.



SDX8('샐러드')의 구내부
(인도 켈커타 2005. 1.29)



SDX8('샐러드')의 대비종과의 비교
(중국하북성창리현 2005.10.30)

다) SDX36

정식후 60일-65일에 수확될 수 있는 조생계 원형 소구 조합으로서 유럽계 양배추의 특성인 포피형으로 열구가 매우 늦고 결구 긴도가 강하여 오랜기간 포장에 저장하고 수확할 수 있는 장점이 있는 조합이다. 또한 저온에서나 고온에서나 결구력이 강하고 또한 내충성이 강하여 인도에서 재배되어 지고 있는 'GC65(Golden seed)', '바즈랑'(bejo) 등을 대체할 수 있을 것으로 조사되었다.



SDX36의 대비종과의 내충성비교
(좌: 대비종 우:SDX36 인도벵갈로르)



SDX36의 재배전경
(인도텔리 소니팻 2005.1.30)

라) SDX44

숙기는 정식후 65-70일에 수확할 수 있는 중조생종으로 구 크기는 중소 내지 중구로서 초자는 입성으로 수려하며 내충성이 강하고 포장저장성이 강한 조합이다. 고온에 대한 내서성도 비교적 강하고 초관(Plant frame)이 크지 않아 밀식이 가능하고 구 내부건도가 우수하고 내부구조도 우수하여 인도, 유럽, 중국, 일본 등지에 폭넓게 적용이 가능한 조합으로 사료되었다.



SDX44의 재배전경
(인도캘커타, 2005.1.29)



SDX44의 대비종('GC65')과의 내충성
비교 (Monica:SDX44 2005. 2 .2 인도
벵갈로르)

마) SDX59

인도에서 주로 많이 재배되어지는 내충계 양배추 품종인 '그린챌린저(세미니스)'를 대체할 수 있는 조합으로서 '그린챌린저'에 비해 잎색이 진하고 입성이며

특히 숙기가 다소 빠름에도 불구하고 열구에 강한 장점과 구 꼬갱이(core) 신장이 늦어 비교적 추운 기온에서도 구내 추대가 늦어 재배 적응폭이 넓은 조합으로 판단되었다.



SDX59 의 인도재배전경 (인도캘커타 2005.1.29)

바) SDX81

국내 시험결과 와 동일하게 여름철에 좋은 성적을 나타내었는데 특히 전 세계적으로 40년이 넘게 재배되고 있는 일본 다끼이종묘의 ‘KK Cross’ 시장에 적용이 가능할 것으로 사료되었다. 일반적으로 고온에서 잘 생육되는 내서성양배추 품종들은 온도가 비교적 낮은 상태에서는 구형태가 편형에서 편원형으로 바뀌게 되는 데 본 조합은 비교적 낮은 온도조건에서도 구형태가 편형으로 일정하였다. 본 조합은 현재 중국남방 지역인 광조우 지역에서 농가 시험 중에 있어 그 결과를 추후 조사할 예정이며, 2005년 이태리 현지에서 시제품을 생산하였다.



SDX81구내부
(인도델리 05.1.30)



SDX81 재배전경
(인도캘커타 2005.1.29)

사) SDX19

정식 후 55일 정도에 수확할 수 있어 비교적 숙기가 빠르고 포장저장성이 강하면서 구 긴도가 강하여 무게가 많이 나가 중국, 인도, 미국캘리포니아 등 비교적 온도가 서늘한 지역에 적용이 가능한 품종으로 사료되었다.



SDX19 (강원평창방림2005.7.8)



SDX19 (중국상해 2004.5.19)

아) SDX107

국내에서 재배되고 있는 적색계양배추인 ‘레드선(Seminis)’ 또는 일본 사까다 종묘의 ‘Red Rookie’에 비해 흑부병 내병성이 더 강하고 내충성이 우수하며 균일도나 구내부색이 우수하여 선발되었다. 현재 국내 강원도 및 제주도를 비롯하여 적색계양배추가 많이 재배되는 미국등지에 시험 중에 있다.



SDX107 (인도 델리 2005.1.30)



SDX107 (강원평창방림 2005.10.10)

상기와 같이 현재까지 우수한 성적을 보인 조합들의 특성을 기술하였으며, 그 이외의 품종들에 대한 성적을 요약하면 표 3-8과 같다.

표 3-8. 인도 및 중국지역 현지연락시험 주요 특성표

선발조합	지역	주요특성	대체품종
SDX1	텔리	<ul style="list-style-type: none"> · 내충성강, 포장저장성강 · 중만생(조기구형성) · 아프리카시험중, 재시험 	Bravo(Takii) Conquistador(Sakata)
SDX5	국내, 텔리, 켈커타 미국	<ul style="list-style-type: none"> · 중생종 중대구 원형계 · 내습성, 내충성, 내병성강 · 포장저장성 중, 현지선발 · 재시험중 	Rareball(Kaneko) Blue vantage(Sakata)
SDX6	텔리, 켈커타 상해, 하북성, 베트남	<ul style="list-style-type: none"> · 우점종인 Saint보다 숙기조 · 멩아고 단, 결구력강, 내충성강 · 포장저장성 강, 현지선발 · 로얄스톤으로 품종보호 신청 	Saint(Seminis) GC50, GC60(Golden) Stone Head(Sakata)
SDX7	텔리, 나식, 베트남 상해, 산둥성	<ul style="list-style-type: none"> · 원형 극조생, 내서성강, · 내충성강, 포장저장성강, · 멩아고단 · 현지선발 	Kranti(Mahyco)
SDX8	국내, 텔리, 켈커타, 상해, 하북성, 베트남, 홍콩, 미국	<ul style="list-style-type: none"> · 원형극조생, 품질상, 수량성다 · 내충성강중, 미국 및 유럽에도 적용가, 현지선발 · 샬러드양배추로 품종보호신청 	GreenExpress(Sakata) Rareball(Kaneko) Charmant(Sakata)
SDX19	텔리, 켈커타, 나식, 상해	<ul style="list-style-type: none"> · 원형조생, 포장저장성강, · 품질상, 미국서부도 가능, · 현지선발 	GreenExpress(Sakata) Rareball(Kaneko) Farao(bejo)
SDX28	국내, 텔리, 켈커타, 상해, 베트남	<ul style="list-style-type: none"> · 고구형초극조생, 식미 상, · 포장저장성강, 벵글라데시 및 중국선발, 현지선발, 국내용 	8398, 중감11호(중국농과원) GreenExpress(Sakata)
SDX32	텔리, 나식, 상해	<ul style="list-style-type: none"> · 고구형 소구, 포장저장성극강 · 내충성강, 멩아고극단, · 현지선발, 남아프리카, 중국 운남성 적용가 	Kranti(Mahyco) Stone Head(Sakata)
SDX36	텔리, 나식, 켈커타, 상해	<ul style="list-style-type: none"> · 내충성극강, 포장저장성극강 · 긴도강 · 유럽용, 현지선발 	Castello(Nikerson) NS25(Namdari)
SDX38	텔리	<ul style="list-style-type: none"> · 고구형소구, 포장저장성극강 · 멩아고극단, · 남아프리카공화국중국운남성적 용가, 재시험 	Kranti(Mahyco) Stone Head(Sakata)

선발번호	지역	주요특성	대체품종
SDX43	텔리, 나식, 켈커타 상해	· 편형중대구, 내충성극강, 내서성강 · 회록, 인도네시아, 필리핀, 중국 남부, 아프리카 시험중 현지선발	Tropicana(Seminis) KK Cross(Takii) Rotan(Dhanfeldt)
SDX44	텔리, 벵갈로르 상해, 스페인	· 내충성강, 내서성강,, 원형중소구, · 현지선발, 스페인에서도 선발됨	Castello(Nikerson) Bajrang(bejo)
SDX59	텔리, 켈커타, 나식 상해	· 내충성강, 현지우점종인 Green · Challenger에 비해 포장저장성강 · 멥아고 단 · 현지선발, 아프리카시험중	Green Challenger(Seminis)
SDX61	텔리, 켈커타, 상해	· 내충성강, 내병성강, 원형중대구, · 남미, 현지선발, 북아프리카도 가능	Green Challenger(Seminis)
SDX68	텔리, 켈커타 상해	· 편원형중대구, 포장저장성강 · 내충성강중, 내서성강 · 동남아 및 중국월동재배시험중 · 재시험 국내용	Green coronet(Takii) Grand11(Chia Tai)
SDX81	국내, 텔리, 켈커타, 상해	· 편형대구, 내충성강, 내서성강 · 중국남방, 아프리카시험중 · 현지선발, 국내고냉지여름용	KK Cross(Takii) Tropicana(Seminis) 경풍1호(중국농과원)
SDX107	텔리 상해	· 내충성강, 적색계, 우점종인 Red · Rookie에 비해 균일도상, · 일본을 비롯 전세계수출용 · 현지선발, 국내용	Red Rookie(Sakata) Rubyball(Takii) Sombrello(bejo)
SDX160	텔리	· 내충성강, 우점종인 Saint에 비해 · 색이 우수하고 수량성 다 · 재시험	Saint(Seminis)
SDX212	텔리, 켈커타, 나식	· 내충성강, 내서성강, 멥아고극단, · 현지선발, 미국 및 아프리카 시험중	Blue Vantage(Sakata) BlueDynasty(Seminis)

자) 기타 예비선발조합들



편형계예비선발조합
SDX140 (인도캘커타)
동남아 등지의 아열대지역에 적합



편원형계예비선발조합
SDX142(인도벵갈로르)
동남아 등지의 아열대지역에 적합



편원형계예비선발조합
SDX1 (인도벵갈로르)
중만생계 대구



편원형계 중구 예비선발조합
SDX43 (인도델리)



SDX5: Rareball(Kaneko)을 대체가능 SDX32와 대비종 GC60(Golden seed)
Kranti (Mahyco)의 비교사진
(인도델리)

3) 시제품 생산

국내와 해외시험 에서 우수한 성적을 보인 몇 개의 예비조합 들에 대한 시제품을 생산하기 위해 각 조합에 대한 양친의 원종을 2004년 7월 20일 이태리 현지회사에 전달하였다. 2004년 7월 25일-2004년 8월 5일에 걸쳐 양친의 개화기를 고려하여 파종하였으며 8월 31일부터 9월 14일에 걸쳐 정식을 완료하였다. 2004년 11월 22일부터 11월 26일까지 현지 출장하여 양친들의 순도를 확인함과 동시에 이형주를 제거하였으며 양친에 대한 기초자료를 전달하였다. 2005년도 4월 10일 현지 출장하여 양친의 개화기를 조사함과 동시에 다시 한번 이형주 도태를 실시하였고 2005년 10월에 최종시제품을 생산하였다.

4) 품종보호권 신청

식물에 있어 특허라고도 할 수 있는 품종보호를 SDX8의 경우 '샐러드 (Salad)', SDX6의 경우 '로얄스톤(Royal Stone)'으로 명명하여 2005년 10월 27일 신청하였다. 이 두 가지 품종은 국내에서 처음으로 품종보호를 신청한 품종들로서 '샐러드'(품종보호 출원번호: 출원 2005-357, 품종명칭 출원번호: 명칭 2005-1067)의 경우 첫 번째 출원품종이며, '로얄스톤'(품종명칭 출원번호:출원 2005-358, 품종명칭 출원번호: 명칭 2005-1068)은 두 번째 품종보호 출원품종으로 기록되었다.

제 3 절 *DMBR* (Diamondback Moth Resistance)로 명명한 배추좀나방 내충성 유전자에 대한 유전자지도 작성 및 이에 연관된 AFLP 마커의 SCAR 마커로의 전환

1. 연구방법 및 이론

가. 재료

위 실험을 위하여 내충성 모계 DS와 감수성 부계 CT의 inbred line을 이용하였다. 이들은 배추좀나방에 대하여 내충성 및 감수성을 가진 개체로 F₁ 식물체를 구한 다음, 이 F₁ 식물체를 자가수정하여 얻은 F₂ 106 개체를 이용하여 유전 분석을 실시하였다. 유전자 mapping 집단으로 F₂ 집단 중 51개체를 이용하였다.

나. 배추 좀나방 내충성 형질의 유전분석을 위한 배추 좀나방의 저항성 검정방법

격리된 하우스에 DSxCT의 F₂ 200개체와 상기 집단의 내충성 모계(DS) 20개체, 감수성 부계(CT) 20개체를 검정 하였다. F₂ 집단의 내충성 검정방법은 충해를 받지 않은 개체를 저항성개체로 조사하였고 식물체의 가해면적이 10 mm² 이상인 개체를 감수성으로 조사하였다.

다. AFLP를 이용한 BSA(Bulk Segregant Analysis) 법에 의한 내충성 유전자 마커 탐색

1) DNA 분리

AFLP 분석 및 연쇄중합반응의 주형(template)으로 사용될 양배추 게놈 DNA

(genomic DNA)는 저항성모계(DS) 및 감수성 부계친(CT) 및 F₂ 개체의 잎 조직으로부터 추출하였다. 잎 0.4 g을 막자사발에 넣고 액체 질소를 첨가하면서 미세 분말이 될 때까지 갈아 만든 후, Guillemaut와 Marechal-Drouard (1992)법에 준하여 modify 한 방법을 사용하여 DNA를 추출하였다.

2) AFLP 방법을 이용한 Bulk Segregant Analysis(BSA)

배추좁나방 내충성 유전자와 연관된 분자마커를 쉽게 탐색할 수 있는 제한 효소 절편을 찾기 위해 본 분석을 수행하였다(Michelmore 등, 1991). F₂ 집단 중 내충성 35 개체와 감수성 16 개체를 임의적으로 선정하여 각 개체별로 게놈 DNA를 추출한 후, 동량의 DNA를 섞어, 내충성 5 개체와 감수성 5 개체에 대한 게놈 DNA 풀(pool)을 만들었다. 이들 DNA 풀은 BSA-AFLP 분석을 위한 게놈 DNA 주형으로 사용하였다. 상기 DNA 풀과 양친의 게놈 DNA를 제한효소 *Pst*I/*Mse*I을 이용하여 절단한 후, 총 256개의 *Pst*I+3/*Mse*I+3 primer 조합을 사용하여 BSA-AFLP 분석을 실시하였고, 다형 현상을 보이는 DNA 절편 중 배추좁나방 내충성 또는 감수성에만 유전적 연관성이 있는 밴드를 탐색하였다.

3) AFLP 분석

가) DNA 시료의 절단(restriction) 및 adaptor 연결(ligation)

PCR 주형(template)으로 사용될 절편은 *Pst*I 및 *Mse*I 두 가지 제한효소를 동시에 다음과 같이 처리하였다. 0.5 μ g의 게놈 DNA에 대해 상기 제한효소를 처리한 다음, 각 제한효소 특이적 adaptor를 T4 DNA Ligase을 이용하여 37°C에서 1시간 30분 동안 결합(ligate)시켰다. *Pst*I/*Mse*I adaptor는 *Pst*I 및 *Mse*I 절단 부위에 특이적으로 결합할 수 있는 adaptor 쌍이다. 이와 같이 제한효소 양 말단에 adaptor가 결합(ligate)된 제한 효소 절편을 “tagged restriction fragments”라 한다.

나) 연쇄증합반응(PCR 증폭)

PCR반응은 pre-amplification과 선택적 증폭(selective amplification) 두 단계로 실시한다. 첫 번째 단계는 예비증폭(preamplification) 단계로서, 상기 실험의 아답터 부위에 결합(anneal)하는/상보적인 primer 서열의 3'-말단에 각각 하나의

"selective base"를 추가한 primer 쌍을 사용한 경우이고, 두 번째 단계는 이 예비증폭단계에서 사용한 primer의 3'-말단에 다시 2개의 "selective base" 추가하여 선택적 연쇄증합반응을 시킨 경우이다. 이 밖의 연쇄증합반응 조건은 Vos 등 (1995)의 방법과 실질적으로 동일하였다.

첫 번째 단계인 예비증폭 단계에서는, "tagged restriction fragments"의 *Pst*I 인식서열 및 아답터 부위에 상보적 결합하는 primer (이하, "*Pst*I primer"라 함)에는 "selective base"로 "G"를 추가하고, *Mse*I 인식서열 및 아답터 부위에 상보적 결합하는 primer (이하, "*Mse*I primer"라 함)에는 "selective base"로 "C"를 추가하였다.

예비증폭단계에서의 PCR 반응 조건은, 각 primer 30 ng, dNTPs 25 mM, $MgCl_2$ 15 mM를 포함하는 10 x PCR buffer, *Taq* DNA 중합효소 1 unit, 및 주형 DNA질편 5ng를 포함하는 총 50 μ L의 용액에 대해, 94 °C에서 30 초, 56 °C에서 1 분, 72 °C에서 1 분간 29 회 반복하였다.

두 번째 선택증폭(selective amplification) 단계에서는, 상기 예비증폭단계에서 증폭된 PCR 산물에 대해 추가적인 선택증폭을 하기 위한 것으로서, 전기영동했을 때 겔에서 밴드 수를 줄여 해상력을 높이기 위해 실시하였다. 두 번째 증폭단계에서는, 상기의 예비증폭산물을 50 배 희석시켜 선택증폭의 주형으로 사용하고, 여기의 PCR 증폭에 사용된 primer 쌍은, 각 예비증폭 primer의 3'-말단에 1-3 개의 "selective bases"를 추가적으로 더 붙인 것이다. 두 번째 증폭단계의 PCR 반응조건은 *Pst*I primer 15 ng, *Mse*I primer 30 ng, dNTPs 2.5 mM, 10x PCR buffer 2 μ L, *Taq* DNA 중합효소 0.4 unit, 및 주형 DNA 5 μ L를 포함하는 총 20 μ L의 용액에 대하여, denaturation step은 94 °C에서 1 분간, annealing step은 첫 번째 cycle은 65 °C에서 1 분간, 두 번째부터 11 번째 cycle까지는 매 cycle 0.7 °C 씩 낮춘 온도에서 1 분간씩, 나머지 총 33 cycle은 56 °C에서 1 분간 일정하게 유지했으며, extension step은 72 °C에서 1.5 분간 일정하게 유지했다. 두 번째 선택증폭 총 44 cycle의 연쇄증합반응을 수행하였다.

다) 전기영동 및 염색 (electrophoresis and silver staining)

상기 단계의 PCR 증폭 산물을 6% denaturing polyacrylamide gel 상에서 1700 V로 3시간 30분간 전기영동한 후 시판되는 은염색 키트(한국 바이오니아사)를 사용하여 DNA 밴드를 염색하였다.

라. 유전자 지도 작성

내충성 유전자와 연관된 AFLP 마커를 여러 개 밝힌 후 이를 이용하여 내충성 검정이 끝난 양배추 F₂ 집단에 대하여 AFLP를 수행하여 양배추의 유전자 지도를 작성하였다.

1) 식물재료

분자연관지도 작성을 위해 두 가지의 내충성 모계(DS)와 감수성 부계(CT)의 inbred line을 이용하였다. 이들은 배추좁나방에 대하여 내충성 및 감수성을 가진 개체로 F₁ 식물체를 구한 다음 이 F₁ 식물체를 자가수정하여 얻은 F₂ 51개의 개체를 mapping 집단으로 이용하였다.

2) Genomic DNA 추출

양배추 모계 및 부계, 그리고 51개체로 구성된 F₂ mapping 집단의 잎을 이용하여 상기와 같이 Guillemaut and Marechal-Drouard (1992)법에 준하여 genomic DNA 를 추출하였다.

3) AFLP 분석

AFLP 분석은 이미 앞에서 언급된 바와 같이 수행하였다.

4) 유전자 연관지도 작성

여러 가지 분자 마커 분석을 수행하여 찾아진 밴드 중 AFLP분석을 통해 찾은 마커에 대하여 분리 집단에서 안정적으로 유전되는지, 멘델의 분리비에 적합할지의 여부를 확인하였고 또한, 연관 검정 및 연관군 지도 작성을 위하여 집단과 양친을 동시에 분석한 후 전기영동 하여 각 개체의 유전형을 scoring 하였다.

JoinMap version 3.0 program(Van Ooijen와 Voorrips 2001)에 scoring data matrix를 이용하여 유전자지도를 작성하였으며, map distance는 Kosambi's mapping function (Kosambi 1944)을 이용하여 각 표지 간에 유전거리를 산출하였다.

마. AFLP 표지를 SCAR 표지로 변형

1) AFLP 표지의 cloning

배추좁나방 저항성 유전자와 가까이 연관된 AFLP 표지를 PAGE gel에서 추출한 다음 상대적인 AFLP primer를 이용하여 AFLP 표지를 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물을 1%의 agarose gel에 전기영동 한 다음 gel extraction kit를 이용하여 DNA 절편을 회수하였다. 이를 pCRII-TOPO vector에 삽입한 다음 DH 5α에 형질전환 하였다.

2) AFLP 표지 삽입된 clone의 선발

10개 이상 clone에서 plasmid DNA를 추출한 다음 상대적인 AFLP primer를 이용하여 PCR 증폭한 후 6% PAGE gel에 전기영동을 수행하였다. 전기영동시 BSA-AFLP 표지를 대조로 하여 AFLP 표지와 같은 크기의 DNA 절편이 삽입된 clone만을 선발하여 sequencing하였다.

3) AFLP 표지를 SCAR 표지로 변형

각 AFLP 표지의 핵산 서열을 웹 software인 Primer3 program (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)을 이용하여 서열말단에 대해 primer를 설계하였다. 양친과 두 bulk를 구성한 20개 F₂ 식물체 DNA를 template로 설계된 primer의 최적의 PCR 반응조건을 규명하였다.

4) SCAR 표지를 이용한 DBMR 유전자 대한 지도 작성

51개 F₂ 식물체에 대해 개발된 SCAR 표지로 PAGE gel 상에서 genotyping

한 후 JoinMap 3을 이용하여 LOD 값 3에서 배추좁나방 저항성 유전자 *DBMR* 대해 유전자지도를 작성하였다.

5) SCAR 표지의 평가

개발된 SCAR 표지를 MAS (Marker-Assisted Selection)에서 응용가능성을 평가 하기위해 9개 양배추 line의 DNA를 이용하여 검정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 양배추의 배추좁나방 내충성 유전자의 유전분석

내충성과 감수성친 및 이들의 F₁ 개체, 그리고 F₂ 개체 106개에 대해 배추좁나방으로 검정한 결과 모든 저항성 DS line과 F₁ 식물체는 배추좁나방에 대해 내충성을 나타냈고 감수성 CT은 감수성을 보여주었다. 이 결과로 배추좁나방 저항성은 단일 우성 유전자로 조절되는 것을 알 수 있었다.

F₂ 집단 106개체를 배추좁나방에 노출시킨 결과(표 3-9)는 79개체는 저항성이었고 27개는 감수성으로 나타났다. 배추좁나방에 대한 저항성은 단일 유전자에 대한 멘델의 분리비 3:1로 유전되어지는 것을 X²-검증방법에 의해 통계적으로 증명되었다. 따라서 배추좁나방에 대한 내충성 유전자는 단일 우성 유전자로 조절되는 것을 알 수 있었다.

표 3-9. 배추좁나방 저항성 유전 분석

	HP	IP	X ² (0.05)	확률(P)	유의성	결과
F ₂ 집단	79 (79.5)**	27 (26.5)***	0.01	3.84	0.91	3:1

HP: 관찰된 저항성 개체 수; IP: 관찰된 이충성 개체 수;
 ** 저항성 개체의 기대치;*** 이충성 개체의 기대치.

배추 줄나방은 우리나라를 포함하여 배추, 양배추, 브로콜리 등 배추과 작물에서 심각한 피해를 주고 있다. 배추과 식물의 줄나방에 대한 십자화과 식물체의 저항성 연구는 지금까지 제한적으로 보고되고 있다 (Stoner 1990, Justus 등. 2000, Picoaga 등. 2003). 배추줄나방의 내충성 식물체의 저항성은 십자화과에서 대체적으로 세가지의 형태로서 보여주고 있다 (Eigenbrode 등. 1990, Dickson 등. 1990, Stoner 1992). 두개 방식은 보통 밀납성(waxy bloom) 양배추에서 저항성은 화학물적으로 배추줄나방의 larvae에 대하여 antibiosis나 nonpreference를 유도하는 것이다. 세 번째 방식은 광택(glossy) 잎 형질을 갖는 양배추에서 잎 표면의 밀납 상태에 대한 차이성이 저항성을 유도한다고 생각하고 있다. 저항성의 원인이 되는 glossiness에 대한 유전자는 열성 및 우성의 형질로서 유전된다고 보고되었다.

나. 배추줄나방 내충성 유전자와 연관된 BSA-AFLP 마커의 탐색

BSA-AFLP 마커를 탐색하기 위하여 *PstI/MseI* AFLP primer 조합을 256개 사용하였다. 사용된 256개의 primer 조합에서 배추줄나방 내충성 유전자 *DBMR* locus에 연관된 총 3개의 프라이머 조합을 얻어내었다(표 3-10). 아래의 AFLP mapping 의해 *PstI+gaa/MseI+cca_12* 표지가 *DBMR*에 가장 가깝게 연관되어 MAS 체계를 위한 SCAR 마커로 전환시키는 대상으로 정하였다. PAGE gel에서 확인된 *PstI+gaa/MseI+cca_12* 마커의 size는 약 197bp였다

표 3-10. AFLP-BSA 분석에 의해 확인된 *DBMR* 연관 마커의 AFLP 프라이머 조합

프라이머 조합	<i>DBMR</i> locus 연관 형태
<i>PstI+gaa/MseI+cca_12</i>	cis-linked
<i>PstI+ggt/MseI+ctc_8</i>	cis-linked
<i>PstI+ggt/MseI+ctc_10</i>	cis-linked

다. 유전자지도 작성

배추줄나방 저항성 유전자 *DBRM* locus와 이에 연관될 것이라고 예상되는 BSA-AFLP 방법에 의해 동정된 마커에 대하여 유전적 연관성을 검증하기 위해서 유전자지도 작성은 필수적이다. BSA-AFLP 방법에 의해 개발된 마커 중에 가장 많은 다형성을 보여주는 band를 갖는 8개의 *Pst*I+3/*Mse*I+3 primer 조합을 이용하여(표 3-11) 모, 부분, 그리고 51개의 F₂ population을 대상으로 분석하여 data matrix를 만들고 이를 이용하여 연관지도를 작성하였다(그림 3-1).

표 3-11. 양배추 유전자지도를 작성하기 위한 AFLP 마커들

프라이머	밴드 수	다형성 밴드 수	Scored marker 수		
			DS	CT	Total
<i>gca/cca</i>	47	8	2	3	5
<i>gct/cac</i>	104	17	7	6	13
<i>ggt/ctc</i>	52	17	6	8	14
<i>gaa/cca</i>	50	15	8	6	14
<i>gaa/caa</i>	57	20	6	11	17
<i>gag/cca</i>	70	17	5	8	13
<i>gag/cta</i>	85	14	5	4	9
<i>gag/ctg</i>	78	25	12	11	23
Total	543	133	51	57	108

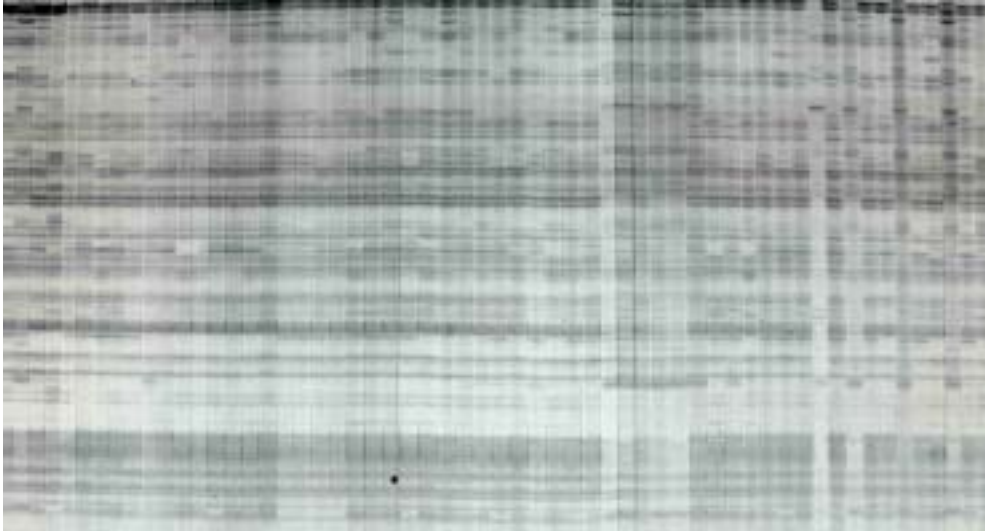


그림 3-1. F₂ 식물체에서 P+gaa/M+cca 프라이머 조합으로부터 발견된 AFLP 마커의 예

AFLP조합중 *Pst*I+gct/*Mse*I+cac 조합에서 104개로 가장 많은 밴드들을 보였으며, *Pst*I+gca/*Mse*I+cca에서 47개로 가장 적은 밴드를 나타냈고 조합당 평균 밴드수는 67개였다. 각 조합당 나타내는 다형성 밴드의 수를 비교해 보면, *Pst*I+gag/*Mse*I+ctg 조합이 25개로 가장 많았으며, *Pst*I+gca/*Mse*I+cca 조합이 8개로 가장 적었고 조합당 평균 16개의 다형성 밴드를 나타냈다. 유전자지도 작성을 위해 사용한 마커의 갯수는 *Pst*I+gag/*Mse*I+ctg 조합에서 23개로 가장 많이 나타났으며, *Pst*I+gca/*Mse*I+cca 조합에서 5개로 가장 적었고 조합당 평균 13개의 마커를 이용 할 수 있었다. 그 결과 연관그룹은 지도크기를 기준으로 하여 큰 그룹부터 1부터 9번까지 순차적으로 번호 매김을 하였다(그림 3-2). 전체 유전자 연관지도는 60개의 마커를 포함하고 있으며 전체 길이는 403 cM 이었고 평균 마커당 간격은 12.3cM이었다. 배추좀나방 저항성 유전자 DBMR은 연관그룹 LG 2에 위치하였고 LG2의 길이는 62cM이었다. DBMR에 연관된 총 AFLP 분자 마커는 20개였다. 그런데, 연관된 19개 AFLP 마커는 *DBMR* locus에 trans-linked되어서 다음단계의 scar 표지로 변환에 사용할 수 없었고, 단지 1개

의 cis-linked된 *PstI*+*gaa*/*MseI*+*cca*_12 표지만이 내충성 유전자 *DBMR*에 밀접하게 연관되어 다음 단계의 SCAR 마커로의 전환대상으로 정하였다.

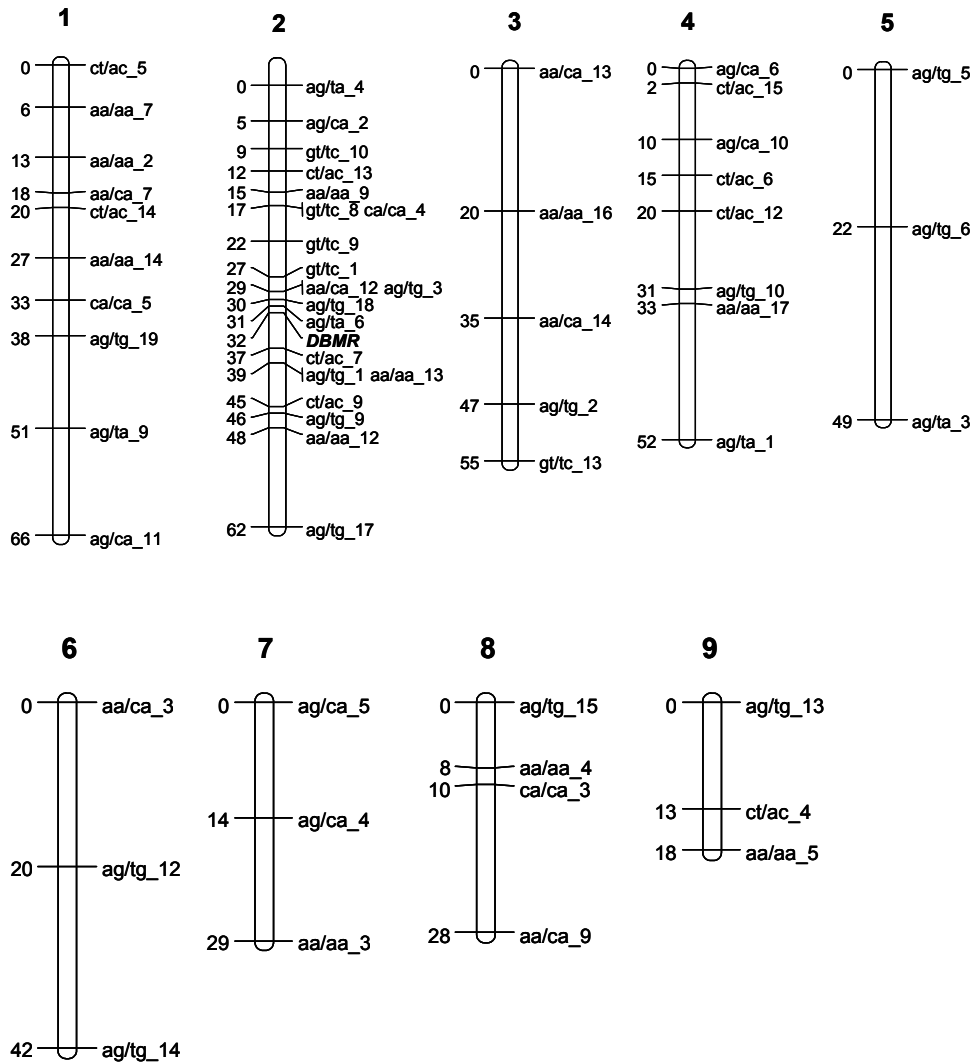


그림 3-2. 양배추 F₂ 집단에서 분리된 AFLP 마커를 이용한 유전자 연관군 지도. 유전적 거리(cM)는 Kosambi mapping function에 의해 계산되었다. *DBMR* 유전자는 LG2에 포함되어 있다.

108개 AFLP 마커중 60개 마커가 양배추 9개의 연관군 지도에 위치하였다. 나머지 마커는 분리비율 등 mapping function 이하여서 singleton으로 mapping 되지 않았다. 만들어진 지도는 403 cM 이다. 그중 가장 긴 그룹인 LG1은 66 cM였고, 가장 작은 그룹인 LG9는 18 cM이었다 (표 3-12). 각 연관군의 interval 수는 2-17개로 구분되었으며 평균 interval 크기는 3.8 cM부터 24.5 cM으로 나타났다.

표 3-12. 60개의 AFLP 마커를 이용하여 작성된 양배추의 연관 그룹 특성 조사

연관 그룹	마커 개수	Interval 수	Gap 수**	평균interval 크기 (cM)	Length (cM)
1	10	9	0	7.3	66
2	20	17	0	3.8	65
3	5	4	1	13.7	55
4	8	7	0	7.4	52
5	3	2	2	24.5	49
6	3	2	2	21.0	42
7	3	2	0	14.5	29
8	4	3	0	9.3	28
9	3	2	0	9.0	18
Total	60	102	5	12.3 (mean)	403

* LG: 연관 그룹

** 두 개의 마커 사이가 20 cM을 초과하는 Gap

라. AFLP 표지를 SCAR 표지로 변형

AFLP 표지는 실제 응용의 제한성을 가지고 있기 때문에 *DBMR* 유전자와 가장 가까이 연관된 한개의 resistant-cis AFLP 표지를 선택하여 SCAR 표지로 변형하였다. AFLP 표지 삽입된 clone를 정확히 선택하기위해 PAGE gel 전기영동분석을 실시하였다. 전기영동결과 AFLP 표지 외에 다른 절편도 삽입된 것을

관찰하였다 (그림 3-3). 이것은 AFLP 표지를 PAGE gel에서 추출할 때 그 근처에 존재하는 AFLP 절편을 동시 추출한 것으로 생각된다. AFLP 표지와 같은 크기의 insert를 갖고 있는 clone을 선택하여 sequencing한 후 그의 말단의 서열에 대해 primer를 설계하였다.



그림 3-3. AFLP 표지와 같은 크기의 insert DNA를 갖고 있는 클론들의 선발. *은 aa/ca_12와 같은 크기를 insert DNA를 갖고 있는 클론을 나타낸다.

양친 DNA에서 설계된 primer로 PCR 반응하여 PAGE gel 전기영동을 분석한 결과 AFLP *PstI*+*gaa/MseI*+*cca_12* 마커가 SCAR 표지로 변형되었음을 확인하였다. 이 SCAR primer pair는 앞으로 **특허출원**을 할 예정으로 있으며, 이 primer를 이용하여 양친인 DS와 CT 및 51개 F₂ 식물체(내충성 35개와 감수성 16개)의 genome DNA 대해 PCR 증폭하였다. PCR 산물을 6% PAGE gel의 전기영동 한 결과 그림 3-4와 같이 band의 다양성(polymorphism)을 보였다. 이 SCAR 표지는 codominant 표지였고 Bo6-16로 명명하였고 유전자지도에서 확인한 결과 LG2의 *PstI*+*gaa/MseI*+*cca_12* 마커위치와 동일함을 확인할 수 있었다 (그림 3-5). F₂ 저항성 21개체는 내충성 DS와 같은 band 양상을 나타냈고 10개체는 감수성 양상을 보여주었다. F₂ 감수성 2개체는 저항성친 DS와 같은 양상을 나타내었다 (그림 3-4).

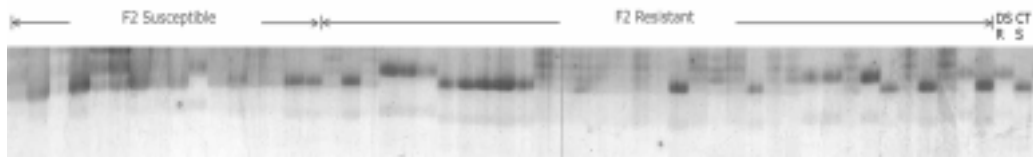


그림 3-4. 전기영동을 통한 F₂ 개체들에서 Bo6-16의 밴드 양상 확인

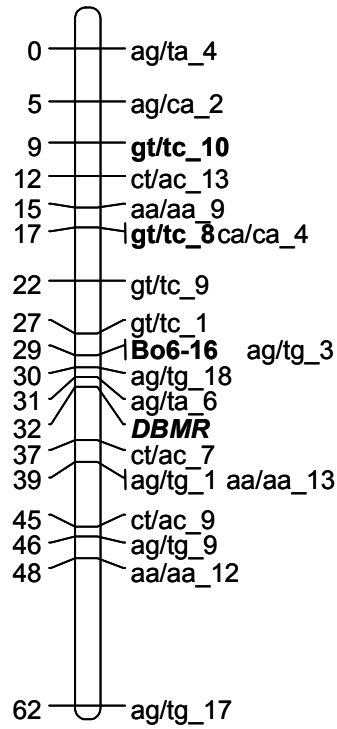


그림 3-5. F₂집단에서 분리하는 AFLP 마커들을 이용한 *DBMR* 유전자의 연관군 지도. 유전자 연관군 지도의 왼쪽에 표시된 유전적 거리는 Kosambi mapping function에 의해 계산되었다. *Pst*I+*gaa*/*Mse*I+*cca*_12 AFLP 마커로부터 유래된 Bo6-16 SCAR 마커는 4 cM 유전적 거리 안에서 *DBMR* 유전자에 연관되어있다. Bo6-16의 위치는 *Pst*I+*gaa*/*Mse*I+*cca*_12 locus AFLP 마커와 같은 locus로 보였다.

마. 배추좁나방 저항성 마커를 이용한 양배추계통에 대한 MAS 체계 구축

개발된 SCAR 표지 Bo6-16를 MAS에서의 응용가능성을 알아보기 위해서 본 연구에 쓰인 9개 계통과 분자마커 개발 위한 집단의 양친(저항성-DS, 감수성-CT)을 이용하여 확인 실험을 실시하였다. Bo6-16로 실험한 결과 그림 3-6과 같이 3개의 감수성 계통(NG, SF, MCIS)은 본 시험에서 사용된 감수성 친인 CT와 같이 동일한 양상을 보였고, 포장 실험결과 중도저항성으로 나타난 FL, HG, GL 등 3계통은 내충성 친인 DS와 같은 밴드를 보였다 (그림 3-6, FL HG, DK). 이 결과는 표 3-13에서와 같이 전자의 경우는 포장 실험의 결과와 일치함으로써, 본 연구에서 개발된 SCAR 마커 Bo6-16는 배추 좁나방 저항성 계통과 감수성 계통의 조기 선발에 이용될 수 있는 마커로 사료되었다. 한편 후자의 경우 포장시험의 결과는 중도 저항성으로 나타났으나 SCAR마커로 조사한 결과는 내충성 DS와 동일한 밴드를 나타내고 있어 이들 계통들이 원래는 저항성 계통에 속하는 것이나 포장 시험시 배추좁나방의 밀도 및 여러 환경조건 등에 의한 오차에 기인한 것이 아닌가 라고도 추정할 수 있을 것으로 생각되었다.

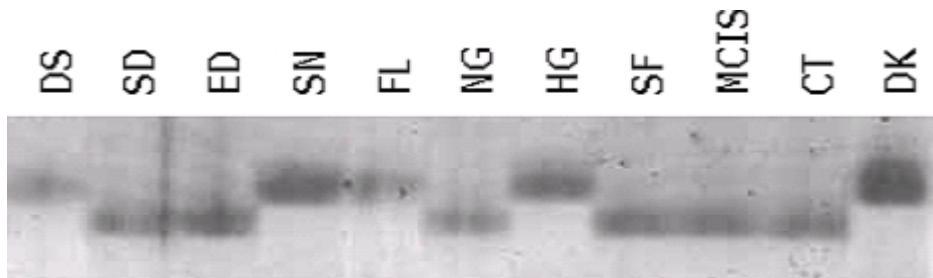


그림 3-6. Bo6-16을 가진 양배추 inbred line 조사

표 3-13. SCAR 마커 Bo-6-16으로 내흔계의 검정

내흔계	저항성 검정*	마크의 유전자형**
DS	R	+
SD	R	-
ED	R	-
SN	R	+
FL	MR	+
NG	S	-
HG	MR	+
SF	S	-
MCIS	S	-
CT	S	-
DK	MR	+

* R-저항성; MR-중도 저항성; S-감수성
 ** +: 저항성 SCAR 마커 Bo-6-16 있음
 -: 저항성 SCAR 마커 Bo-6-16 없음

포장시험결과 저항성으로 조사되었던 SN은 SCAR마커의 결과와 일치하였으나, 포장시험결과 내충성으로 조사되었던 SD 및 ED계통은 SCAR마커의 결과와는 차이가 있었다. 이러한 차이는 본 실험에 이용된 저항성 계통들이 밴드의 유사성으로 보아 다음과 같은 2개의 group로 나눌 수 있다고 생각되며, 이는 Group I - DS 와 SN; Group II - SD 와 ED로 구분 되어 질 수 있었다. 지금까지 확보되어진 배추좀나방 내충성 양배추 계통들에 대해 본 연구에서 개발된 SCAR 마커,를 이용하여 평가해 본 결과 2개의 그룹으로 나누어 질 수 있다는 사실은 이전의 배추좀나방 저항성 양배추 품종에 대한 연구(Eigenbrode 등. 1990, Stoner 1992)에서 배추좀나방 저항성에 1개 이상의 유전자가 관여할 것이라는 보고와 일치하였다. 나아가 광택이 있는 양배추나 컬리플라워 잎들이 배추좀나방에 내충성을 보였다는 연구 결과(Dickson MH 등.1990)와 달리 본 연구에 사용된 내충성 계통 DS는 광택(glossy)이 없는 일반적인 밀납(waxy bloom)을 가진 잎의 특징을 고려해 볼 때, 저항성 유전자 *DBMR*은 일반적인 밀납성 양배추에 존재하는 antibiosis나 nonpreference를 유도하는 두 가지 형태의 저항성 중 하나라고 추정할 수 있었다. 이러한 결과를 이용하여 현재 확보되어 있는 모든

유전자원에 대한 배추줄나방 저항성 여부를 평가할 수 있을 것이며, 이러한 기법을 이용하여 육종과정상의 MAS(Marker Assisted Selection) 체계를 구축, 실용화 할 수 있다고 생각한다. 특히 이 기법은 저항성 유전자 *DBMR*을 가지고 있는 육성재료들에 대한 적용이 가능하다고 사료되었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연구 개발 목표	목표의 달성도	관련분야에의 기여도
○ 내충성관련유전분석 - 내충성 유전분석 집단 양성 - 내충성 line의 선발 및 확인 - F ₁ 및 F ₂ 교배, 저항성품종 예비선발 - 내충성유전분석	100 100 100 100	- 배추좁나방저항성 유전자가 단일우성 유전자임을 밝혀 저항성품종육성을 위한 기초 자료를 확보할 수 있었다. - 저항성 유전자의 특성을 분석할 수 있게 됨으로서 신품종 육성에 새로운 지평을 열게 되었다.
○ 저항성계통 및 내충성,내병성고품질샐러드용품종육성 - 저항성 품종의 선발 - 고품질 샐러드용 품종선발 - 내충성 계통 육성 - 저항성 계통을 이용한 F ₁ 육종체계확립 - 육성품종의 국내외 현지실 증시험 - 시제품생산 및 품종보호 신청	100 100 100 100 100 100	- 2개의 신품종을 개발하여 품종보호출원을 하게 됨으로서 금후 양배추 종자 수출 및 국제경쟁력을 확보할 수 있게 되었다. - 국내에 고품질 배추좁나방 저항성 양배추 생산에 의해 농민의 소득증대와 농약사용을 최소화하여 생산할 수 있는 신품종을 개발하게 됨에 따라 국민의 건강증진 및 환경개선에 이바지할 수 있는 길을 열게 되었다.
○ 내충성 분자마커 개발 및 MAS시스템개발 - AFLP기법이용 primer조합을 이용한 BSA - Polymorphic band로부터 cloning염기서열분석 - SCAR 마커 디자인 및 개발 - AFLP이용 유전자지도작성 - 내충성 분자마커이용 MAS 시스템 개발	100 100 100 100 100	- 배추좁나방 저항성 유전자에 관한 마커를 개발하여 특허준비중이며, 이는 앞으로 배추과 작물 전체의 육종 및 생명공학분야에 있어서 세계적인 우위를 점하게 되었으며, 신품종육성시 로알티를 확보할 수 있는 길을 열게 되었다. - 양배추 육종에 있어 MAS 체계를 구축하게 됨으로서 육종을 통한 신품종육성의 국제경쟁력을 확보할 수 있는 계기가 되었다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 육성된 품종의 활용계획

1. 국내용 고품질계 샐러드용 양배추

가. 국내용 고품질계 샐러드용 양배추로 개발된 '샐러드' 양배추 및 '스위트 캘리포니아'를 현행처럼 납품업체를 통하여 우선 재배 확대시키고 그 생산물을 대형 마트를 통하여 유통시킨다. 아울러 상기의 고품질 양배추 품종을 재배함으로써 농가는 좋은 수입원이 될 수 있다는 인식을 심어 줌으로서 점차 샐러드용 양배추 재배를 확대해 나간다면 현재 많은 수입종 품종의 재배면적이 샐러드용 재배로 전환할 수 있을 것이다.

나. 샐러드용 양배추의 품질우수성을 TV나 신문, 인터넷, 기타 상보나 홍보자료 등을 통하여 홍보하여 소비를 극대화한다.

다. '샐러드' 양배추 및 '스위트 캘리포니아' 품종은 이미 중국현지 농가로부터 호평을 받고 있고 인도나 베트남 등에서도 선발되었으므로 금후 각종 종자교류회 등에 참석하여 홍보활동 (아래 그림참조) 하거나 현지 농가시험을 확대, 적극적인 개발활동을 통하여 미국이나 유럽등지로 판매를 확산시킴으로서 수출확대에 이바지 하도록 하며 아울러 한국산 종자의 우수성을 널리 알리도록 한다.

2. 내충성 내병성 양배추

가. 내충성, 내병성, 내서성 및 기타 특성이 우수하여 육성된 '로얄스톤' 양배추의 국내 재배를 유도하며 여름재배용으로 육성된 흑부병 내병계 품종인 'SDX81'은 시제품이 이미 생산되었으므로 2006년도 1월 품종 생산판매신고를 하여 강원도 및 충북, 경북 등지의 고냉지에 재배함으로써 수입종 종자의 반입을 줄이도록 할 수 있을 것이다.

나. 내충성 내병성 양배추의 품종우수성을 TV나 신문, 인터넷, 기타 상보나 홍

보자료 등을 통하여 홍보하여 소비를 극대화한다.

다. '로얄스톤' 양배추는 이미 중국현지 농가로부터 좋은 성적을 얻어 중국현지 수입회사로부터 종자수출을 주문 받은 바 있으며 인도나 베트남 등에서도 선발 되었으므로 금후 적극적인 지역연락시험을 통하여 원형계가 주로 재배 되어지는 인도, 미국이나 동남아, 유럽 등지로 판매를 확산시킴으로서 수출확대에 이바지 하도록 한다. 'SDX 81' 또한 인도 캘커타 등지에서 일본산 품종과 대비하여 그 특성이 우수하였으므로 금후 아열대 지역의 현지연락시험을 확대하며 2005년도 중국 광둥성에서 시험되고 있는 결과를 광둥성 중국종자교류회에 참석한 중국현지 수입상등을 초대하여 그 우수성을 알려 금후 수출확대를 도모하도록 한다.

3. 기타 품종

본 연구를 통해 육성된 기타 조합들은 현재 전 세계적으로 현지 연락시험이 진행되고 있으므로 그 결과를 보아 품종보호 출원이나 생산판매신고를 실시하여 수출하도록 한다.

JS Early Beauty



F1 Hybrid Cabbage

JS早美

特征特性: 极早熟, 从定植到收获45-50天, 单球重约 1.1-1.4 kg, 高圆型, 绿色压多, 食味佳, 耐贮藏, 较耐盐味。
Extremely early type, can be harvested after 45-50 days from transplanting, about 1.1-1.4kg in weight, high-round type, more green leaves than other type, very good taste, good for shipment.

特征特性: 圆球型, 早熟品种, 从定植到收获约55天, 叶球绿色有光泽, 单球重约 1.2-1.5kg, 耐寒, 抗病, 耐裂球, 耐抽苔, 结球紧实, 品质优秀, 商品性好, 耐贮藏。
Round head, early maturity type, can be harvested about 55 days from transplanting. Green and glossy head, 1.2-1.5kg in weight. Good cold and disease tolerant, late bolting with very firm head, very good quality and marketability. Good heat holding ability and suitable for shipment.

F1 Hybrid Cabbage

JS88





F1 Hybrid Cabbage

JS99

特征特性: 1. 中早熟品种, 外叶深绿色, 从定植到收获约58-60天 2. 圆球型, 深绿色, 结球紧实, 单球重1.2-1.5kg 3. 具有一定耐暑性, 中心柱低, 具有一定耐寒性 4. 适应性广, 大部地区可全年种植。
Medium early type, deep green outer leaves, 58-60 maturity after transplanting. Round and very firm head with 1.2-1.5kg in weight. Good heat tolerant with short core and also cold tolerant. Wide regional adaptability thus can be grown under various growing conditions and seasons.

JS Summer Beauty

特征特性: 中早熟, 从定植到收获约65天, 圆球型, 单球重约 1.2-1.5kg, 灰绿色, 耐(虫、病、暑)性较强, 耐延迟采收。
Medium-early type, can be harvested after 60-65 days from transplanting. 1.2-1.5kg in weight, round head, grey-green color, very good disease, pest and heat tolerance. Very good heat holding ability.

F1 Hybrid Cabbage

JS夏美



<중국 북경 종자교류회 참석 시 홍보용 자료>

제 2 절 배추좁나방 저항성 마커의 활용계획

1. 배추 좁나방 저항성 마커의 확보 및 육종에의 응용

가. 본 연구를 통하여 개발된 배추 좁나방 저항성 유전자가 단일우성유전자임을 밝혀 저항성품종육성을 위한 기초 자료를 확보할 수 있게 되었으며, 이를 이용하여 저항성 마커를 개발하였고, 이 유전자 및 유전자 마커의 유전자지도내 위치를 확인 할 수 있었다.

나. 위와 같이 저항성 유전자의 특성을 분석할 수 있게 됨으로서 신품종 육성시 배추좁나방 저항성 검정에 있어서 실험실 내에서 손쉽게 실시할 수 있게 되었으며, 육종시간을 단축할 수 있게 되어 포장검정에 따르는 비용 및 인력의 절감에 결정적인 기여를 하게 될 것으로 생각하며, 이러한 기술은 각 종묘회사의 육종가에게 보급되어 육종과정에 직접적으로 응용이 될 것으로 판단되고 있다.

다. 따라서 본 연구를 통하여 확보된 배추좁나방 저항성 유전자에 관한 마커 정보에 관해 특허준비중이며, 이는 앞으로 배추과 작물 전체의 육종 및 생명공학분야에 있어서 세계적인 우위를 점할 수 있게 될 것이며, 이를 이용하여 신 품종을 육성하고자 하는 종묘회사로부터 로열티를 확보할 수 있을 것으로 생각하고 있다.

2. 배추좁나방 저항성 마커를 이용한 MAS 체제 구축 및 응용

가. 양배추 육종에 있어 좁나방저항성 품종의 조기선발이 가능하게 됨에 따라 육종가가 계통의 선발 및 도태시 포장에서 직접 수행하기 보다는 실험실에서 조기에 검정할 수 있는 체제를 구축하게 됨으로서 육종을 통한 신품종육성의 국제경쟁력을 확보할 수 있는 계기가 되었다. 이러한 MAS 체제의 개발은 신품종육성 기간을 획기적으로 단축할 수 있고, 동시에 타 경쟁 종묘회사보다 품종육성에 대한 경쟁력을 제고할 수 있기 때문에 세계적인 우위를 점할 수 있다고 생각한다.

나. 양배추뿐만 아니라 배추좁나방은 배추, 무, 유채 등 주요 배추과 작물에 모두 문제가 되는 충해로서 이러한 기법이 즉각적으로 다른 배추과 작물의 육종

및 MAS 체계에 적용될 수 있을 것으로 생각되며, 이의 경제적 파급효과는 지대할 것으로 판단된다.

3. 추가연구의 필요성

가. 본 연구를 통하여 양배추의 배추좁나방 저항성 유전자의 특성을 밝히고, 마커를 개발하기는 하였으나 결정적으로 배추좁나방 저항성 유전자를 확보한 것은 아니다. 따라서 최종적으로 배추좁나방 저항성 유전자를 cloning하기 위하여 몇 가지 추가 연구가 필요하다고 생각한다.

나. 현재 개발된 마커는 저항성유전자와 약 4cM 정도의 거리정도 떨어져 있기 때문에 MAS 적용시 선발 정확도가 약간 떨어진다. 따라서 좀더 고밀도의 유전자 지도 작성 및 새로운 마커를 개발하여야 할 것이다. 이를 위해서는 F3 집단의 유전분석도 필요하며, 동시에 상당히 큰 mapping population을 작성해야 할 것이다.

다. 유전자의 확보를 위해 BAC library 등을 만들어 map-based cloning기법을 이용하여 유전자를 cloning할 수 있어야 할 것이다.

라. 배추좁나방 저항성 기작에 대한 연구가 세계적으로 거의 이루어져 있지 않으므로 추가적으로 장기적 관점에서 연구가 진행되었으면 한다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. Experience-altered oviposition responses to a neem-based product, Neemix(R), by the diamondback moth, *Plutella xylostella*.

출처: Pest Manag Sci. 2005 Oct 10.

저자: Liu TX, Liu SS.

소속: Vegetable IPM Laboratory, Department of Entomology, Texas Agricultural Experimental Station, Texas A&M University, 2415 East Highway 83, Weslaco, TX 78596, USA.

초록: The oviposition responses of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L., to Neemix((R)) 4.5, a neem-based oviposition repellent/deterrent, with or without previous experience were studied in the laboratory on plain aluminum foil sheets, on aluminum foil sheets coated with cabbage juice, and on cabbage plants. In the plain aluminum foil sheet experiment, the females without prior experience of Neemix (inexperienced females) deposited more eggs (66.2%) on sections with untreated sheets than on sections with Neemix-treated sheets (33.8%), indicating that the inexperienced females were significantly repelled and/or deterred by Neemix. In contrast, the Neemix-experienced females deposited more eggs (69.2-69.7%) on sections with Neemix-treated sheets than on sections with untreated sheets (30.3-30.8%), implying that the females were not repelled and/or deterred by Neemix following an experience. In the tests using egg-laying sheets coated with cabbage juice or with cabbage juice plus Neemix, the inexperienced females deposited more eggs (63.8%) on the sections with sheets treated with cabbage juice only than on the sections with sheets coated with cabbage juice and Neemix (36.2%), indicating that inexperienced females were repelled

and/or deterred by Neemix. Similarly, Neemix-experienced females deposited more eggs (62.2–65.6%) on the sections with sheets treated with cabbage juice plus Neemix than on the sections with sheets treated with juice only (34.4–37.8%), suggesting that the females were not repelled and/or deterred by Neemix following an experience. On cabbage plants, inexperienced females oviposited similar numbers of eggs on both Neemix-treated (50.8%) and untreated plants (49.2%). However, the Neemix-experienced females oviposited more eggs on the plants treated with Neemix (56.3%) than on untreated plants (43.7%), indicating that the females were attracted by Neemix-treated plants following an experience. The significance of this study for applications of insect repellents/deterrents in pest management is discussed.

2. Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers.

출처: Theor Appl Genet. 2005 Sep 27;:1-10.

저자: Piquemal J, Cinquin E, Couton F, Rondeau C, Seignoret E, Doucet I, Perret D, Villeger MJ, Vincourt P, Blanchard P.

소속: Euralis Semences laboratoire de genetique moleculaire, Domaine de Sandreau, 31700, Mondonville, France,1

초록: We constructed a *Brassica napus* genetic map with 240 simple sequence repeats (SSR) primer pairs from private and public origins. SSR, or microsatellites, are highly polymorphic and efficient markers for the analysis of plant genomes. Our selection of primer pairs corresponded to 305 genetic loci that we were able to map. In addition, we also used 52 sequence-characterized amplified region primer pairs corresponding to 58 loci that were developed in our lab. Genotyping was performed on six F₂ populations, corresponding to a total of 574 F₂ individual plants, obtained

according to an unbalanced diallel cross design involving six parental lines. The resulting consensus map presented 19 linkage groups ranging from 46.2 to 276.5 cM, which we were able to name after the *B. napus* map available at <http://ukcrop.net/perl/ace/search/BrassicaDB>, thus enabling the identification of the A genome linkage groups originating from the *B. rapa* ancestor and the C genome linkage groups originating from the *B. oleracea* ancestor in the amphidiploid genome of *B. napus*. Some homoeologous regions were identified between the A and the C genomes. This map could be used to identify more markers, which would eventually be linked to genes controlling important agronomic characters in rapeseed. Furthermore, considering the good genome coverage we obtained, together with an observed homogenous distribution of the loci across the genome, this map is a powerful tool to be used in marker-assisted breeding.

3. Response of *Plutella xylostella* and its parasitoid *Cotesia plutellae* to volatile compounds.

출처: J Chem Ecol. 2005 Sep;31(9):1969-84.

저자: Ibrahim MA, Nissinen A, Holopainen JK.

소속: Department of Ecology and Environmental Science, University of Kuopio, Kuopio, Finland

초록: The effects of limonene, a mixture of limonene + carvone (1:1, v/v), and methyl jasmonate (MeJA) on diamondback moth (DBM) (*Plutella xylostella* L.) oviposition, larval feeding, and the behavior of its larval parasitoid *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) with cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata*, cvs. Rinda and Lennox) and broccoli (*B. oleracea* subsp. *Italica* cv Lucky) were tested. Limonene showed no deterrent effect on DBM when plants were sprayed with or exposed to limonene, although there was a cultivar difference. A mixture of limonene and carvone released from

vermiculite showed a significant repellent effect, reducing the number of eggs laid on the cabbages. MeJA treatment reduced the relative growth rate (RGR) of larvae on cv Lennox leaves. In Y-tube olfactometer tests, *C. plutellae* preferred the odors of limonene and MeJA to filtered air. In cv Lennox, the parasitoid preferred DBM-damaged plants with limonene to such plants without limonene. *C. plutellae* females were repelled by the mixture of limonene + carvone. In both cultivars, exogenous MeJA induced the emission of the sesquiterpene (E,E)-alpha-farnesene, the homoterpene (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT), and green leaf volatile (Z)-3-hexenyl acetate + octanal. The attractive effect of limonene and MeJA predicts that these two compounds can be used in sustainable plant protection strategies in organic farming.

4. Novel insect resistance in *Brassica napus* developed by transformation of chitinase and scorpion toxin genes.

출처: Plant Cell Rep. 2005 Nov;24(9):549-55.

저자: Wang J, Chen Z, Du J, Sun Y, Liang A.

소속: The Agri-Biotechnology Research Centre of Shanxi Province, Taiyuan, 030031, P.R. China.

초록: Transgenic plants with introduced pest-resistant gene offer an efficient alternative insect control. The novel insect-resistant gene combination, chitinase(chi) and BmkIT(Bmk), containing an insect-specific chitinase gene and a scorpion insect toxin gene was introduced into *Brassica napus* cultivar via *Agrobacterium*-mediated transformation. Fifty-seven regenerated plantlets with kanamycin-resistance were obtained. Transgenic plants were verified by Southern blot analysis. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and bioassay of artificial inoculation with diamondback moth (*Plutella maculipennis*) (DBM) larvae indicated that some of the transgenic plants were high-level

expression for both chitinase and scorpion toxin proteins and performed high resistance against the tested pest infestation. The genetic analysis of T(1) progeny confirmed that the inheritance of introduced genes followed the Mendelian rules.

5. Using yellow rocket as a trap crop for diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae).

출처: J Econ Entomol. 2005 Jun;98(3):884-90.

저자: Badenes-Perez FR, Shelton AM, Nault BA.

소속: Department of Entomology, Cornell University, New York State Agricultural Experiment Station, 630 W. North Street, Geneva, NY 14456, USA.

초록: Yellow rocket, *Barbarea vulgaris* (R. Br.) variety *arcuata*, was evaluated as a trap crop for diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), in cabbage, *Brassica oleracea* L. variety *capitata*, in 2003 and 2004. In 2003, the numbers of *P. xylostella* larvae found in field plots of cabbage alone were 5.2-11.3 times higher than those on cabbage plants in plots that included cabbage and several rows of yellow rocket. In an outdoor experiment in screenhouses, *P. xylostella* oviposition on cabbage was compared among six treatments that varied in the percentage of yellow rocket in relation to cabbage (0, 4, 8, 16, 24, and 32% of the plants were yellow rocket). Results indicated that the percentage of eggs laid on cabbage decreased as the percentage of yellow rocket in the treatment increased, but this decrease was not significant beyond 20% of the plants being yellow rocket. In 2004, the numbers of *P. xylostella* larvae in field plots of cabbage alone were 1.6-2.4 and 1.7-2.8 times higher than numbers in treatments with 10 and 20% trap crop, respectively. Sticky trap and sweep net captures of *P. xylostella* adults indicated that within-field dispersal was reduced by the

presence of yellow rocket and aggregation occurred around yellow rocket plants. Our study suggests that using yellow rocket as a trap crop may reduce *P. xylostella* infestations in cabbage fields, and this possibility is discussed in the context of general crop and insect pest management practices in crucifers.

6. Manipulating the attractiveness and suitability of hosts for diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae).

출처: J Econ Entomol. 2005 Jun;98(3):836-44.

저자: Badenes-Perez FR, Nault BA, Shelton AM.

소속: Department of Entomology, Cornell University, New York State Agricultural Experiment Station, 630 W. North Street, Geneva, NY 14456, USA.

초록: Ovipositional preference and larval survival of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), were compared among cabbage, *Brassica oleracea* L. variety capitata; glossy collards, *Brassica oleracea* L. variety acephala; and yellow rocket, *Barbarea vulgaris* (R. Br.) variety arcuata in different treatments of planting density, host plant age, intercropping, and water stress in 2003 and 2004. *P. xylostella* laid nearly twice as many eggs per plant in the high planting densities of glossy collards and yellow rocket than in the standard planting densities. Ovipositional preference was positively correlated with plant age in cabbage, glossy collards, and yellow rocket. Larval survival on cabbage was 1.9 times higher on 6-wk than on 12-wk-old plants, whereas larval survival on collards was 12.1 times higher on the younger plants. No larvae survived on either 6- or 12-wk-old yellow rocket plants. Intercropping cabbage with either tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill., or fava bean, *Vicia fava* L., did not reduce the number of eggs laid on cabbage. No significant differences in oviposition were found between water-stressed

and well-irrigated host plants treatments. Yet, *P. xylostella* larval survival on water-stressed cabbage was 2.1 times lower than on well-irrigated cabbage plants. Based on our findings, the effectiveness of trap crops of glossy collards and yellow rocket could be enhanced by integrating the use of higher planting densities in the trap crop than in the main crop and seeding of the trap crop earlier than the main crop.

7. Genes and environment interact to determine the fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis*.

출처: Proc Biol Sci. 2005 Jul 22;272(1571):1519-24.

저자: Raymond B, Sayyed AH, Wright DJ.

소속: Department of Biological Sciences, Imperial College London, Silwood Park campus, Ascot, Berks SL5 7P

초록: Genes which provide resistance to novel challenges such as pesticides, toxins or pathogens often impose fitness costs on individuals with a resistant phenotype. Studies of resistance to *Bacillus thuringiensis* and its insecticidal Cry toxins indicate that fitness costs may be variable and cryptic. Using two field populations (Karak and Serd4) of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, we tested the hypothesis that the costs associated with resistance to the *B. thuringiensis* toxin Cry1Ac would be evident when insects were grown under poor environmental conditions, namely limited or poor quality resources. On a poor quality resource, a cultivar of *Brassica oleracea* var. *capitata* with varietal resistance to *P. xylostella*, only one resistant population, Karak, showed reduced fitness. Conversely, when we limited a high quality resource, *Brassica pekinensis*, by imposing larval competition, only resistant Serd4 insects had reduced survival at high larval densities. Furthermore, Cry1Ac resistance in Serd4 insects declined when reared at high larval densities while resistance at low densities fluctuated but did not decline

significantly. These results confirm the hypothesis that resistance costs can appear under stressful conditions and demonstrate that the fitness cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* can depend on the particular interaction between genes and the environment.

8. Novel genetic basis of field-evolved resistance to Bt toxins in *Plutella xylostella*.

출처: *Insect Mol Biol.* 2005 Jun;14(3):327-34.

저자: Baxter SW, Zhao JZ, Gahan LJ, Shelton AM, Tabashnik BE, Heckel DG.

소속: CESAR, Department of Genetics, University of Melbourne, Victoria, Australia.

초록: Insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* (Bt) are widely used to control pest insects, but evolution of resistance threatens their continued efficacy. The most common type of Bt resistance ('Mode 1') is characterized by recessive inheritance, > 500-fold resistance to at least one Cry1A toxin, negligible cross-resistance to Cry1C, and reduced binding of Bt toxins to midgut membrane target sites. Mutations affecting a Cry1A-binding midgut cadherin protein are linked to laboratory-selected Mode 1 resistance in *Heliothis virescens* and *Pectinophora gossypiella*. Here we show that field-evolved Mode 1 resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, has a different genetic basis, indicating that screening for resistance in the field should not be restricted to a previously proposed DNA-based search for cadherin mutations.

9. Concurrent use of transgenic plants expressing a single and two

Bacillus thuringiensis genes speeds insect adaptation to pyramided plants.

출처: Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Jun 14;102(24):8426-30.

저자: Zhao JZ, Cao J, Collins HL, Bates SL, Roush RT, Earle ED, Shelton AM.

소속: Department of Entomology, Cornell University/New York State Agricultural Experiment Station, Geneva, NY 14456, USA.

초록: Transgenic plants expressing insecticidal proteins from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) were grown on over 13 million ha in the United States and 22.4 million ha worldwide in 2004. Preventing or slowing the evolution of resistance by insects ("resistance management") is critical for the sustainable use of Bt crops. Plants containing two dissimilar Bt toxin genes in the same plant ("pyramided") have the potential to delay insect resistance. However, the advantage of pyramided Bt plants for resistance management may be compromised if they share similar toxins with single-gene plants that are deployed simultaneously. We tested this hypothesis using a unique model system composed of broccoli plants transformed to express different Cry toxins (Cry1Ac, Cry1C, or both) and a synthetic population of the diamondback moth (*Plutella xylostella*) carrying genes for resistance to Cry1Ac and Cry1C at frequencies of approximately 0.10 and 0.34, respectively. After 24-26 generations of selection in the greenhouse, the concurrent use of one- and two-gene plants resulted in control failure of both types of Bt plants. When only two-gene plants were used in the selection, no or few insects survived on one- or two-gene Bt plants, indicating that concurrent use of transgenic plants expressing a single and two Bt genes will select for resistance to two-gene plants more rapidly than the use of two-gene plants alone. The results of this experiment agree with the predictions of a Mendelian deterministic simulation model and have important implications for the regulation and deployment of pyramided Bt plants.

10. Hymenopteran parasitoids of diamondback moth (Lepidoptera: Ypeunomutidae) in northern Thailand.

출처: J Econ Entomol. 2005 Apr;98(2):449-56.

저자: Rowell B, Bunsong N, Satthaporn K, Phithamma S, Doungsa-Ard C.

소속: National Biological Control Research Center, Upper Northern Regional Center, P.O. Box 11, Sansai, Chiang Mai 50290, Thailand.

초록: Larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Ypeunomutidae), cause severe economic damage to cabbage, *Brassica oleracea* L. variety *capitata* (Brassicaceae) and related vegetables in Thailand. Overuse of broad-spectrum insecticides for diamondback moth control is a serious problem and has obscured the contributions of indigenous parasitoids. Our objectives were to identify indigenous diamondback moth parasitoids in northern Thailand and to assess their potential for natural control. Six parasitoid species were reared from diamondback moth larvae and pupae collected in 1990 and in 2003-2004. These included the larval parasitoid *Cotesia plutellae* Kurdjumov (Braconidae), a larval-pupal parasitoid *Macromalon orientale* Kerrich (Ichneumonidae), and pupal parasitoids *Diadromus collaris* Gravenhorst (Ichneumonidae) and *Brachymeria excarinata* Gahan (Chalcididae). Single specimens of *Isotima* sp. Forster (Ichneumonidae) and *Brachymeria lasus* Walker (Chalcididae) also were reared from diamondback moth hosts. *C. plutellae* was the dominant larval parasitoid and was often reared from host larvae collected from fields sprayed regularly with insecticides; parasitism ranged from 14 to 78%. Average parasitism by *M. orientale* was only 0.5-6%. Parasitism of host pupae by *D. collaris* ranged from 9 to 31%, whereas *B. excarinata* pupal parasitism ranged from 9 to 25%. An integrated pest management (IPM) protocol using simple presence-absence sampling for lepidopterous larvae and the exclusive use of *Bacillus thuringiensis* (Bt) or neem resulted in the highest yields of

undamaged cabbage compared with a control or weekly sprays of cypermethrin (local farmer practice). IPM programs focused on conservation of local diamondback moth parasitoids and on greater implementation of biological control will help alleviate growing public concerns regarding the effects of pesticides on vegetable growers and consumers.

11. Impact of oilseed rape expressing the insecticidal serine protease inhibitor, mustard trypsin inhibitor-2 on the beneficial predator *Pterostichus madidus*.

출처: Mol Ecol. 2005 Jan;14(1):337-49.

저자: Ferry N, Jouanin L, Ceci LR, Mulligan EA, Emami K, Gatehouse JA, Gatehouse AM.

소속: School of Biology, University of Newcastle Upon Tyne, Newcastle, NE1 7RU, UK.

초록: Abstract Insect-resistant transgenic plants have been suggested to have deleterious effects on beneficial predators feeding on crop pests, through transmission of the transgene product by the pest to the predator. To test this hypothesis, effects of oilseed rape expressing the serine protease inhibitor, mustard trypsin inhibitor -2 (MTI-2), on the predatory ground beetle *Pterostichus madidus* were investigated, using diamondback moth, *Plutella xylostella* as the intermediary pest species. As expected, oilseed rape expressing MTI-2 had a deleterious effect on the development and survival of the pest. However, incomplete pest mortality resulted in survivors being available to predators at the next trophic level, and inhibition studies confirmed the presence of biologically active transgene product in pest larvae. Characterization of proteolytic digestive enzymes of *P. madidus* demonstrated that adults utilize serine proteases with trypsin-like and chymotrypsin-like specificities; the former activity was completely inhibited by MTI-2 in vitro.

When *P. madidus* consumed prey reared on MTI-2 expressing plants over the reproductive period in their life cycle, no significant effects upon survival were observed as a result of exposure to the inhibitor. However, there was a short-term significant inhibition of weight gain in female beetles fed unlimited prey containing MTI-2, with a concomitant reduction of prey consumption. Biochemical analyses showed that the inhibitory effects of MTI-2 delivered via prey on gut proteolysis in the carabid decreased with time of exposure, possibly resulting from up-regulation of inhibitor-insensitive proteases. Of ecological significance, consumption of MTI-2 dosed prey had no detrimental effects on reproductive fitness of adult *P. madidus*.

12. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in a greenhouse-derived strain of cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae).

출처: J Econ Entomol. 2004 Dec;97(6):2073-8.

저자: Kain WC, Zhao JZ, Janmaat AF, Myers J, Shelton AM, Wang P.

소속: Department of Entomology, Cornell University, New York State Agricultural Experiment Station, Geneva, NY 14456, USA.

초록: A population of cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Hubner), collected from commercial greenhouses in the lower mainland of British Columbia, Canada, in 2001 showed a resistance level of 24-fold to Dipel, a product of *Bacillus thuringiensis* (Bt) subspecies *kurstaki*. This population was selected with Cry1Ac, the major Bt Cry toxin in Dipel, to obtain a homogenous population resistant to Cry1Ac. The resulting strain of *T. ni*, named GLEN-Cry1Ac, was highly resistant to Cry1Ac with a resistance ratio of approximately 1000-fold. The larvae from the GLEN-Cry1Ac strain could survive on Cry1Ac-expressing transgenic broccoli plants that were highly insecticidal to *T. ni* and diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). The inheritance of Cry1Ac resistance in this *T. ni* strain was autosomal and incompletely

recessive. The degree of dominance of the resistance was -0.402 and -0.395 , respectively, for the neonates in reciprocal crosses between the GLEN-Cry1Ac and a laboratory strain of *T. ni*. Using chi2 goodness-of-fit test, we demonstrated that the inhibition of larval growth resulting from testing 12 toxin doses in the progeny of the backcross fit the predicted larval responses based on a monogenic inheritance model. Therefore, we conclude that the inheritance of the resistance to Cry1Ac in the *T. ni* larvae is monogenic.

13. Experimental analysis of the influence of pest management practice on the efficacy of an endemic arthropod natural enemy complex of the diamondback moth.

출처: J Econ Entomol. 2004 Dec;97(6):1814-27.

저자: Furlong MJ, Shi ZH, Liu YQ, Guo SJ, Lu YB, Liu SS, Zalucki MP.

소속: Department of Zoology and Entomology, School of Life Sciences, University of Queensland, St. Lucia 4072, Queensland, Australia.

초록: Maximizing the contribution of endemic natural enemies to integrated pest management (IPM), programs requires a detailed knowledge of their interactions with the target pest. This experimental field study evaluated the impact of the endemic natural enemy complex of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) on pest populations in commercial cabbage crops in southeastern Queensland, Australia. Management data were used to score pest management practices at experimental sites on independent Brassica farms practicing a range of pest management strategies, and mechanical methods of natural enemy exclusion were used to assess the impact of natural enemies on introduced cohorts of *P. xylostella* at each site. Natural enemy impact was greatest at sites adopting IPM and least at sites practicing conventional pest management strategies. At IPM sites, the

contribution of natural enemies to *P. xylostella* mortality permitted the cultivation of marketable crops with no yield loss but with a substantial reduction in insecticide inputs. Three species of larval parasitoids (*Diadegma semiclausum* Hellen [Hymenoptera: Ichneumonidae], *Apanteles ippeus* Nixon [Hymenoptera: Braconidae], and *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov [Hymenoptera: Eulophidae]) and one species of pupal parasitoid *Diadromus collaris* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae) attacked immature *P. xylostella*. The most abundant groups of predatory arthropods caught in pitfall traps were Araneae (Lycosidae) > Coleoptera (Carabidae, Coccinellidae, Staphylinidae) > Neuroptera (Chrysopidae) > Formicidae, whereas on crop foliage Araneae (Clubionidae, Oxyopidae) > Coleoptera (Coccinellidae) > Neuroptera (Chrysopidae) were most common. The abundance and diversity of natural enemies was greatest at sites that adopted IPM, correlating greater *P. xylostella* mortality at these sites. The efficacy of the natural enemy complex to pest mortality under different pest management regimes and appropriate strategies to optimize this important natural resource are discussed.

14. Impact of oilseed rape expressing the insecticidal serine protease inhibitor, mustard trypsin inhibitor-2 on the beneficial predator *Pterostichus madidus*.

출처: Mol Ecol. 2005 Jan;14(1):337-49.

저자: Ferry N, Jouanin L, Ceci LR, Mulligan EA, Emami K, Gatehouse JA, Gatehouse AM.

소속: School of Biology, University of Newcastle Upon Tyne, Newcastle, NE1 7RU, UK.

초록: Insect-resistant transgenic plants have been suggested to have deleterious effects on beneficial predators feeding on crop pests, through

transmission of the transgene product by the pest to the predator. To test this hypothesis, effects of oilseed rape expressing the serine protease inhibitor, mustard trypsin inhibitor -2 (MTI-2), on the predatory ground beetle *Pterostichus madidus* were investigated, using diamondback moth, *Plutella xylostella* as the intermediary pest species. As expected, oilseed rape expressing MTI-2 had a deleterious effect on the development and survival of the pest. However, incomplete pest mortality resulted in survivors being available to predators at the next trophic level, and inhibition studies confirmed the presence of biologically active transgene product in pest larvae. Characterization of proteolytic digestive enzymes of *P. madidus* demonstrated that adults utilize serine proteases with trypsin-like and chymotrypsin-like specificities; the former activity was completely inhibited by MTI-2 in vitro. When *P. madidus* consumed prey reared on MTI-2 expressing plants over the reproductive period in their life cycle, no significant effects upon survival were observed as a result of exposure to the inhibitor. However, there was a short-term significant inhibition of weight gain in female beetles fed unlimited prey containing MTI-2, with a concomitant reduction of prey consumption. Biochemical analyses showed that the inhibitory effects of MTI-2 delivered via prey on gut proteolysis in the carabid decreased with time of exposure, possibly resulting from up-regulation of inhibitor-insensitive proteases. Of ecological significance, consumption of MTI-2 dosed prey had no detrimental effects on reproductive fitness of adult *P. madidus*.

15. Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in Brassica crop species.

출처: Theor Appl Genet. 2004 Apr;108(6):1103-12.

저자: Lowe AJ, Moule C, Trick M, Edwards KJ.

소속: IACR Long Ashton Research Station, Long Ashton, BS41 9AF, Bristol, UK.

초록: A set of 398 simple sequence repeat markers (SSRs) have been developed and characterised for use with genetic studies of Brassica species. Small-insert (250–900 bp) genomic libraries from Brassica rapa, B. nigra, B. oleracea and B. napus, highly enriched for dinucleotide and trinucleotide SSR motifs, were constructed. Screening the clones with a mixture of oligonucleotide repeat probes revealed positive hybridisation to between 75% and 90% of the clones. Of these, 1230 were sequenced. Primer pairs were designed for 398 SSR clones, and of these, 270 (67.8%) amplified a PCR product of the expected size in their focal and/or closely related species. A further screen of 138 primers pairs that produced a PCR product in B. napus germplasm found that 86 (62.3%) revealed length polymorphisms within at least one line of a test array representing the four Brassica species. The results of this screen were used to identify 56 SSRs and were combined with 41 SSRs that had previously shown polymorphism between the parents of a B. napus mapping population. These 97 SSR markers were mapped relative to a framework of RFLP markers and detected 136 loci over all 19 linkage groups of the oilseed rape genome.

16. A PCR-based approach to distinguish important Diadegma species (Hymenoptera: Ichneumonidae) associated with diamondback moth, Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae).

출처: Bull Entomol Res. 2004 Oct;94(5):465–71.

저자: Wagener B, Reineke A, Lohr B, Zebitz CP.

소속: International Centre of Insect Physiology and Ecology, PO Box 30772, 00100 GPO Nairobi, Kenya

초록: The diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) has a cosmopolitan distribution and is one of the major pests on cruciferous plants.

Biological control, especially with species of the genus *Diadegma*, has been successfully employed in several parts of the world, mainly in South East Asia. The taxonomy of this genus based on classical morphological characters is still unclear and misidentifications are reported. In the present study seven *Diadegma* species associated with *P. xylostella* were separated using polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR–RFLP) analyses. The second internal transcribed spacer (ITS2) of the ribosomal DNA (rDNA) was successfully amplified in all 167 individuals and digested using 11 different restriction enzymes. One restriction enzyme (*CfoI*) showed different restriction profiles in all species and also between two population samples of *D. mollipla* (Holmgren) from eastern and southern Africa. In addition, a new *Diadegma* species associated with *P. xylostella* from Ethiopia was discovered.

17. Transgenic Bt-producing Brassica napus: Plutella xylostella selection pressure and fitness of weedy relatives.

출처: Environ Biosafety Res. 2003 Oct–Dec;2(4):263–76.

저자: Mason P, Braun L, Warwick SI, Zhu B, Stewart CN Jr.

소속: Agriculture and Agri-Food Canada, Eastern Cereal and Oilseed Research Centre, K. W. Neatby Bldg., Ottawa, Ontario, K1A 0C6, Canada.

초록: Release of transgenic insect-resistant crops creates the potential not only for the insect pest to evolve resistance but for the escape of transgenes that may confer novel or enhanced fitness-related traits through hybridization with their wild relatives. The differential response of diamondback moth (*Plutella xylostella*) populations in eastern and western Canada to Bt-producing (GT) *Brassica napus* and the potential for enhanced fitness of GT *B. napus* and weedy GT *Brassica rapa* x *B. napus* hybrid populations

(F₁, BC₁, BC₂) were studied. Comparative bioassays using neonates and 4th instars showed that GT *B. napus* and GT *B. rapa* x *B. napus* hybrids are lethal to larvae from both populations. No measurable plant fitness advantage (reproductive dry weight) was observed for GT *B. napus* (crop) and GT *B. rapa* x *B. napus* hybrid populations at low insect pressure (1 larva per leaf). At high insect densities (>10 larvae per leaf), vegetative plant weight was not significantly different for GT *B. napus* and non-GT *B. napus*, whereas reproductive plant weight and proportion of reproductive material were significantly higher in GT *B. napus*. Establishment of the Bt trait in wild *B. rapa* populations may also increase its competitive advantage under high insect pressure.

18. Laboratory evaluations of a wild crucifer *Barbarea vulgaris* as a management tool for the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).

출처: Bull Entomol Res. 2004 Dec;94(6):509-16.

저자: Lu JH, Liu SS, Shelton AM.

소속: Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, 268 Kaixuan Road, Hangzhou 310029, China.

초록: The term 'dead-end trap cropping' has recently been proposed to identify a plant that is highly attractive for oviposition by an insect pest, but on which offspring of the pest cannot survive. The potential of the wild crucifer *Barbarea vulgaris* R. Br. to allure and serve as a dead-end trap crop for the diamondback moth *Plutella xylostella* (L.), an important pest of cruciferous crops worldwide, was examined in laboratory experiments. When *P. xylostella* adults were provided with a dual-choice of plants of *B. vulgaris*, and Chinese cabbage *Brassica campestris* (L.), in one arena, adult moths laid 2.5-6.8 times more eggs on the former than on the latter. When *P. xylostella*

adults were provided with a dual-choice of plants of *B. vulgaris* and common cabbage *Brassica oleracea* L., adult moths laid virtually all their eggs on the former and ignored the latter. Nearly all *P. xylostella* eggs laid on the three species of plants hatched successfully, but nearly all individuals on plants of *B. vulgaris* died as neonates or early instar larvae, while 87–100% of the larvae on Chinese cabbage and common cabbage survived to pupation. Dual choice tests with a Y-tube olfactometer showed that volatiles from *B. vulgaris* were much more attractive to *P. xylostella* adults than those from common cabbage. The results demonstrate that *B. vulgaris* has a great potential as a dead-end trap crop for improving management of *P. xylostella*. Factors that may influence the feasibility of using *B. vulgaris* as a trap crop in the field are discussed, and ways to utilize this plant are proposed.

19. Evaluating trap crops for diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).

출처: J Econ Entomol. 2004 Aug;97(4):1365-72.

저자: Badenes-Perez FR, Shelton AM, Nault BA.

소속: Department of Entomology, New York State Agricultural Experiment Station, 630 W. North Street, Cornell University, Geneva, NY 14456, USA.

초록: Potential trap crops for the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), were evaluated through a series of ovipositional preference and larval survival experiments in outdoor screenhouses in 2002 and 2003. Hosts examined as trap crops were glossy and waxy collards, *Brassica oleracea* L. variety *acephala*; Indian mustard, *Brassica juncea* (L.) Czern; and yellow rocket, *Barbarea vulgaris* (R. Br.) variety *arcuata*. More eggs were laid on the potential trap crops, with the exception of waxy collards, than on cabbage. When *P. xylostella* was offered multiple hosts at the same time, numbers of eggs laid on glossy collards, Indian mustard, and

yellow rocket were 3, 18, and 12 times greater than on cabbage, respectively. Similarly, when *P. xylostella* was offered a single trap crop host and cabbage, numbers of eggs laid on glossy collards, Indian mustard, and yellow rocket were 300, 19, and 110 times greater than on cabbage, respectively. Our studies suggest differences in oviposition between the potential trap crops and cabbage were likely due to host volatiles, leaf morphology and color, or a combination of these factors, rather than to total leaf areas, leaf shape, or plant architecture. Two-choice tests with a Y-tube olfactometer indicated that plant volatiles were major factors in *P. xylostella* host preference. The percentage larval survival from egg to pupation was 22.2% on cabbage, 18.9% on waxy collards, and 24.4% on Indian mustard, whereas survival was significantly lower on glossy collards (6.7%) and yellow rocket (0%). Based on our tests, it seems that yellow rocket may be the best candidate for use as a trap crop for *P. xylostella* because it is highly attractive for oviposition, but larvae do not survive on it.

20. Microbial control of diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) using bacteria (*Xenorhabdus nematophila*) and its metabolites from the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*.

출처: J Zhejiang Univ Sci. 2004 Oct;5(10):1183-90.

저자: Mahar AN, Munir M, Elawad S, Gowen SR, Hague NG.

소속: Department of Agriculture, University of Reading, RG6 6AT, UK.

초록: Cells and cell-free solutions of the culture filtrate of the bacterial symbiont, *Xenorhabdus nematophila* taken from the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in aqueous broth suspensions were lethal to larvae of the diamondback moth *Plutella xylostella*. Their application on leaves of Chinese cabbage indicated that the cells can penetrate into the

insects in the absence of the nematode vector. Cell-free solutions containing metabolites were also proved as effective as bacterial cells suspension. The application of aqueous suspensions of cells of *X. nematophila* or solutions containing its toxic metabolites to the leaves represents a possible new strategy for controlling insect pests on foliage.

21. Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).

출처: J Insect Physiol. 2004 May;50(5):435-43.

저자: Schuler TH, Denholm I, Clark SJ, Stewart CN, Poppy GM.

소속: Division of Plant and Invertebrate Ecology, Rothamsted Research,

초록: A range of crops have been transformed with delta-endotoxin genes from *Bacillus thuringiensis* (Bt) to produce transgenic plants with high levels of resistance to lepidopteran pests. Parasitoids are important natural enemies of lepidopteran larvae and the effects of Bt plants on these non-target insects have to be investigated to avoid unnecessary disruption of biological control. This study investigated the effects of Cry1Ac-expressing transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) on the solitary braconid endoparasitoid *Cotesia plutellae* in small-scale laboratory experiments. *C. plutellae* is an important natural enemy of the diamondback moth (*Plutella xylostella*), the most important pest of brassica crops world-wide. Bt oilseed rape caused 100% mortality of a Bt-susceptible *P. xylostella* strain but no mortality of the Bt-resistant *P. xylostella* strain NO-QA. *C. plutellae* eggs laid in Bt-susceptible hosts feeding on Bt leaves hatched but premature host mortality did not allow *C. plutellae* larvae to complete their development. In contrast, *C. plutellae*

developed to maturity in Bt-resistant hosts fed on Bt oilseed rape leaves and there was no effect of Bt plants on percentage parasitism, time to emergence from hosts, time to adult emergence and percentage adult emergence from cocoons. Weights of female progeny after development in Bt-resistant hosts did not differ between plant types but male progeny was significantly heavier on wildtype plants in one of two experiments. The proportion of female progeny was significantly higher on Bt plants in the first experiment with Bt-resistant hosts but this effect was not observed again when the experiment was repeated.

22. Bt transgenic crops do not have favorable effects on resistant insects.

출처: J Insect Sci. 2004;4:4.

저자: Tabashnik BE, Carriere Y.

소속: Department of Entomology, University of Arizona, Tucson, AZ 85721,

초록: Sayyed et al. (Ecology Letters (2003) 6: 167-169) hypothesized that insecticidal *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxins produced by transgenic crops could have nutritionally favorable effects that increase the fitness of resistant insects eating such crops. This idea was based on increased pupal weight of resistant larvae of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), fed leaf discs treated externally with a Bt toxin. We summarize evidence from diamondback moth and other pests showing that the Bt toxins in transgenic crops do not enhance performance of resistant insects. Aside from a few notable exceptions in which performance of resistant insects did not differ between Bt and non-Bt crops, Bt crops had adverse affects on resistant insects.

23. Chromosomal mapping of Brassica oleracea based on ESTs from Arabidopsis thaliana: complexity of the comparative map.

출처: Mol Genet Genomics. 2003 Feb;268(5):656-65.

저자: Babula D, Kaczmarek M, Barakat A, Delseny M, Quiros CF, Sadowski J.

소속: Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, 60-479 Poznan, Poland.

초록: Expressed sequence tags (ESTs) from the Arabidopsis thaliana sequencing project were used to construct a genetic RFLP map for Brassica oleracea. Of the 110 A. thaliana ESTs tested, 95 were found to be informative RFLP probes in map construction. In total, 212 new loci corresponding to the 95 ESTs were added to the existing genetic map of B. oleracea. The enriched map covers all nine basic linkage groups and confirms that the chromosomes of B. oleracea and A. thaliana are similar in linear organization. However, varying levels of sequence conservation between the chromosomes of B. oleracea and A. thaliana were detected in different regions of the genomes. Long conserved regions encompassing entire chromosome arms in both genomes were identified; these are probably shared by descent. On the other hand, extensive rearrangements were observed in numerous chromosome regions, producing a mosaic of A. thaliana-like segments in the genome of Brassica. The presence of extensive chromosome duplication in A. thaliana was taken into consideration in the construction of the comparative maps of B. oleracea and A. thaliana.

24. Comparison of a Brassica oleracea genetic map with the genome of Arabidopsis thaliana.

출처: Genetics. 2003 May;164(1):359-72.

저자: Lukens L, Zou F, Lydiate D, Parkin I, Osborn T.

소속: Department of Agronomy, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin

초록: *Brassica oleracea* is closely related to the model plant, *Arabidopsis thaliana*. Despite this relationship, it has been difficult to both identify the most closely related segments between the genomes and determine the degree of genome replication within *B. oleracea* relative to *A. thaliana*. These difficulties have arisen in part because both species have replicated genomes, and the criteria used to identify orthologous regions between the genomes are often ambiguous. In this report, we compare the positions of sequenced *Brassica* loci with a known position on a *B. oleracea* genetic map to the positions of their putative orthologs within the *A. thaliana* genome. We use explicit criteria to distinguish orthologous from paralogous loci. In addition, we develop a conservative algorithm to identify collinear loci between the genomes and a permutation test to evaluate the significance of these regions. The algorithm identified 34 significant *A. thaliana* regions that are collinear with >28% of the *B. oleracea* genetic map. These regions have a mean of 3.3 markers spanning 2.1 Mbp of the *A. thaliana* genome and 2.5 cM of the *B. oleracea* genetic map. Our findings are consistent with the hypothesis that the *B. oleracea* genome has been highly rearranged since divergence from *A. thaliana*, likely as a result of polyploidization.

25. Identification of cryII-type genes from *Bacillus thuringiensis* strains and characterization of a novel cryII-type gene.

출처: Appl Environ Microbiol. 2003 Sep;69(9):5207-11.

저자: Song F, Zhang J, Gu A, Wu Y, Han L, He K, Chen Z, Yao J, Hu Y,

Li G, Huang D.

소속: State Key Laboratory of Biology for Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, People's Republic of China.

초록: A PCR-restriction fragment length polymorphism method for identification of cryII-type genes from *Bacillus thuringiensis* was established by designing a pair of universal primers based on the conserved regions of the genes to amplify 1,548-bp cryII-type gene fragments. Amplification products were digested with the Bsp119I and BanI enzymes, and four kinds of known cryII-type genes were successfully identified. The results showed that cryII-type genes appeared in 95 of 115 *B. thuringiensis* isolates and 7 of 13 standard strains. A novel cryII-type gene was found in one standard strain and six isolates. The novel cryII gene was cloned from *B. thuringiensis* isolate Btc007 and subcloned into vector pET-21b. Then it was overexpressed in *Escherichia coli* BL21(DE3). The expressed product was shown to be toxic to the diamondback moth (*Plutella xylostella*), Asian corn borer (*Ostrinia furnacalis*), and soybean pod borer (*Leguminivora glycinivorella*). However, it was not toxic to the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*), beet armyworm (*Spodoptera exigua*), or elm leaf beetle (*Pyrrhalta aenescens*) in bioassays. Subsequently, the Cry protein encoded by this novel cry gene was designated CryIIe1 by the *B. thuringiensis* delta-endotoxin nomenclature committee.

26. Effects of cruciferous vegetables on experimental population of diamondback moth *Plutella xylostella*

출처: Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. 2003 Oct;14(10):1732-4.

저자: Lu LH, He Y, Pang X.

소속: Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640,

초록: The impact of four species of cruciferous vegetables on the experimental population of diamondback moth (DBM) *Plutella xylostella* was evaluated in the laboratory. The results showed that there was no significant difference in total fecundity and longevity of DBM female moths reared on different crucifers. The population increase index of DBM reared on flowering Chinese cabbage, Chinese kale, leaf mustard, and pak-choi was 41.0, 69.5, 38.2 and 52.4, respectively, and the natural death at larvae stage was the most important factor influencing the population increase of DBM. The relatively lower natural death rates of larvae on Chinese kale and pak-choi contributed a higher increasing potential of DBM populations. It was concluded that among four species crucifers, Chinese kale could provide the most suitable nutrients for the development and reproduction of DBM population, and thus, it was considered as the best host of DBM. However, although leaf mustard has been reported as one of the most preferable host for DBM adult oviposition, it was not as better as three other crucifers for DBM development due to the higher natural death rate of larvae.

27. Inheritance of resistance to Bt canola in a field-derived population of *Plutella xylostella*.

출처: Pest Manag Sci. 2003 Nov;59(11):1197-202.

저자: Sayyed AH, Schuler TH, Wright DJ.

소속: Department of Biological Sciences, Imperial College London, Silwood Park campus, Ascot, Berkshire SL5 7PY, UK.

초록: Crops expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) insecticidal Cry proteins are grown on millions of hectares. Recommendations to delay resistance are

based on a high expression/refugia strategy that aims to kill resistant heterozygotes and enable some susceptible insects to survive. Leaf-dip bioassays on F₁ crosses of Malaysian populations of diamondback moth (*Plutella xylostella* (L)) showed that CryIAc resistance was not fully recessive. The survival of ca 50% of heterozygotes on Bt canola (*Brassica napus* L) leaves expressing low concentrations of CryIAc agreed with a non-fully-recessive model for resistance. Extrapolations based on log dose-logit mortality regressions for heterozygotes using leaf-dip bioassays showed that a relatively high level of expression, of ca 2000 ng CryIAc mg⁻¹ total leaf protein, would be required to give 90% mortality to heterozygotes. If high enough levels of expression of Bt toxin to kill heterozygotes cannot be achieved and maintained under field conditions, the effectiveness of the high-dose/refugia strategy would be reduced.

28. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution.

출처: Nat Biotechnol. 2003 Dec;21(12):1493-7.

저자: Zhao JZ, Cao J, Li Y, Collins HL, Roush RT, Earle ED, Shelton AM.

소속: Department of Entomology, Cornell University/NYSAES, 630 W. North Street, Geneva, New York 14456, USA.

초록: Preventing insect pests from developing resistance to *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxins produced by transgenic crops is a major challenge for agriculture. Theoretical models suggest that plants containing two dissimilar Bt toxin genes ('pyramided' plants) have the potential to delay resistance more effectively than single-toxin plants used sequentially or in mosaics. To test these predictions, we developed a unique model system consisting of Bt transgenic broccoli plants and the diamondback moth, *Plutella xylostella*. We conducted a greenhouse study using an artificial

population of diamondback moths carrying genes for resistance to the Bt toxins Cry1Ac and Cry1C at frequencies of about 0.10 and 0.20, respectively. After 24 generations of selection, resistance to pyramided two-gene plants was significantly delayed as compared with resistance to single-gene plants deployed in mosaics, and to Cry1Ac toxin when it was the first used in a sequence. These results have important implications for the development and regulation of transgenic insecticidal plants.

29. Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Barbarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*.

출처: J Chem Ecol. 2002 Mar;28(3):587-99.

저자: Shinoda T, Nagao T, Nakayama M, Serizawa H, Koshioka M, Okabe H, Kawai A.

소속: National Institute of Vegetable and Tea Science, Ano, Mie, Japan.

초록: Larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, a crucifer specialist, refuse to feed on a crucifer, *Barbarea vulgaris*, because of the presence of a feeding deterrent, which is extractable with chloroform. We isolated a feeding deterrent from *B. vulgaris* leaves, by successive fractionations with silica-gel, ODS, i.e., C18 reversed phase, and Sephadex LH-20 column chromatographies, and ODS-HPLC, guided by a bioassay for feeding deterrent activity. The structure of the compound was determined to be a monodesmosidic triterpenoid saponin, 3-O-[O-beta-D-glucopyranosyl-(1->4)-beta-D-glucopyranosyl]-hederagenin, based on FAB-MS, ¹H- and ¹³C-NMR spectra, and hydrolysis experiments. When the compound was applied to cabbage leaf disks at greater than 0.18 microg/mm², consumption of the disks by third instars was less than 11% of

control disks treated with the solvent alone. Furthermore, all first instars died on the disks treated with the same concentrations. Because the concentration of the compound in the fresh leaves of *B. vulgaris* was comparable to the effective dose in the cabbage leaf disk tested, we conclude that the unacceptability of *B. vulgaris* to *P. xylostella* larvae is primarily due to this saponin.

30. Optimum timing of insecticide applications against diamondback moth *Plutella xylostella* in cole crops using threshold catches in sex pheromone traps.

출처: Pest Manag Sci. 2001 Jan;57(1):90-4.

저자: Reddy GV, Guerrero A.

소속: Department of Biological Organic Chemistry, IIQAB (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034-Barcelona, Spain.

초록: Field trials were conducted in cabbage (*Brassica oleracea* var *capitata*), cauliflower (*B. oleracea* var *botrytis*) and knol khol (*B. oleracea* *gongyloides*) crops at two different locations in Karnataka State (India) to optimize the timing of insecticide applications to control the diamondback moth, *Plutella xylostella*, using sex pheromone traps. Our results indicate that applications of cartap hydrochloride as insecticide during a 12-24 h period after the pheromone traps had caught on average 8, 12 and 16 males per trap per night in cabbage, cauliflower and knol khol, respectively, were significantly more effective than regular insecticide sprays at 7, 9, 12 or 15 days after transplantation. This was demonstrated by estimation of the mean number of eggs and larvae per plant, the percentage of holes produced, as well as the marketable yield of the three crops at each location. A good correlation between the immature stages, infestation level, the estimated crop yield and the number of moths caught in pheromone traps was also found, indicating

the usefulness of pheromone-based monitoring traps to predict population densities of the pest.

31. Diamondback moth compensatory consumption of protease inhibitor-transformed plants.

출처: Mol Ecol. 2001 Apr;10(4):1069-74.

저자: Winterer J, Bergelson J.

소속: Department of Biology, Franklin and Marshall College, PO Box 3003,

초록: Prior study of the effect of protease inhibitors (PIs) on diamondback moths suggests that moths are resistant to them, so PIs represent an ineffective defence against moths. However, our data suggest that diamondback moths do suffer lower growth rates when they consume plants transformed with potato protease inhibitor (PI2), but that effect is hidden by compensatory consumption. Plants, instead of gaining an advantage by lowering the insect growth rate, suffer a disadvantage as moths consume more tissue to mitigate the effect. Furthermore, PI2, when used in conjunction with another transgenic pesticidal protein, Bt (from *Bacillus thuringiensis*) counteracts the effectiveness of Bt at protecting plant tissue. Thus, transgenic PIs are not only less effective than previously thought in protecting Brassica plants from diamondback moths, they may actually lead to increased plant damage by the moths.

32. Behavioral responses of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to green leaf volatiles of *Brassica oleracea* subsp. *capitata*.

출처: J Agric Food Chem. 2000 Dec;48(12):6025-9.

저자: Reddy GV, Guerrero A.

소속: Department of Biological Organic Chemistry, Institute of Chemical and Environmental Research (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain.

초록: Green leaf volatiles (GLVs) from *Brassica oleracea* subsp. *capitata* L. have been identified as 1-hexanol, (Z)-3-hexen-1-ol, 1-hexen-3-ol, hexanal, (E)-2-hexenal, hexyl acetate, and (Z)-3-hexenyl acetate, by their mass spectra and retention times in comparison with authentic samples. No isothiocyanates were found in the extract. The activity of these chemicals has been determined on mated and unmated males and females of the diamondback moth (DBM) *Plutella xylostella* in the laboratory (wind tunnel) and in the field. On unmated males, mixtures of (Z)-3-hexenyl acetate, (E)-2-hexenal, and (Z)-3-hexen-1-ol with the pheromone induced attractant/arresting behavior in 80-100% of the males tested, significantly higher than the effect induced by the pheromone alone. On mated males and unmated females the effect of the GLVs alone or in combination with the pheromone was poor, while on mated females these compounds elicited upwind flight and arresting behavior in 40-60% of the females assayed. There was no synergism when these chemicals were mixed with the pheromone. In the field, (Z)-3-hexenyl acetate, the most active GLV in laboratory tests, when mixed with the pheromone in 1:1 ratio, enhanced 6-7-fold the number of females and 20-30% the number of males caught by traps over those baited with the pheromone alone. Our results indicate that the enhancement of the attraction of both males and females of the DBM to traps baited with pheromone blended with the relatively inexpensive and environmentally safe (Z)-3-hexenyl acetate may be important for future control strategies of the pest.

33. Development and characterization of diamondback moth resistance

to transgenic broccoli expressing high levels of Cry1C.

출처: Appl Environ Microbiol. 2000 Sep;66(9):3784-9.

저자: Zhao JZ, Collins HL, Tang JD, Cao J, Earle ED, Roush RT, Herrero S, Escriche B, Ferre J, Shelton AM.

소속: Department of Entomology, Cornell University, New York State Agricultural Experiment Station, Geneva, New York 14456, USA.

초록: A field-collected colony of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, had 31-fold resistance to Cry1C protoxin of *Bacillus thuringiensis*. After 24 generations of selection with Cry1C protoxin and transgenic broccoli expressing a Cry1C protein, the resistance that developed was high enough that neonates of the resistant strain could complete their entire life cycle on transgenic broccoli expressing high levels of Cry1C. After 26 generations of selection, the resistance ratios of this strain to Cry1C protoxin were 12,400- and 63,100-fold, respectively, for the neonates and second instars by a leaf dip assay. The resistance remained stable until generation 38 (G38) under continuous selection but decreased to 235-fold at G38 when selection ceased at G28. The Cry1C resistance in this strain was seen to be inherited as an autosomal and incompletely recessive factor or factors when evaluated using a leaf dip assay and recessive when evaluated using Cry1C transgenic broccoli. Saturable binding of ¹²⁵I-Cry1C was found with brush border membrane vesicles (BBMV) from both susceptible and Cry1C-resistant strains. Significant differences in Cry1C binding to BBMV from the two strains were detected. BBMV from the resistant strain had about sevenfold-lower affinity for Cry1C and threefold-higher binding site concentration than BBMV from the susceptible strain. The overall Cry1C binding affinity was just 2.5-fold higher for BBMV from the susceptible strain than it was for BBMV from the resistant strain. These results suggest that reduced binding is not the major mechanism of resistance to Cry1C.

34. Oviposition by *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and effects of phylloplane waxiness.

출처: J Econ Entomol. 2000 Aug;93(4):1152-9.

저자: Justus KA, Dosdall LM, Mitchell BK.

소속: Department of Biological Sciences, University of Alberta, Edmonton, Canada.

초록: Three approaches were used to investigate effects of host plant epicuticular waxes on oviposition site selection by *Plutella xylostella* (L.). In the first approach, oviposition on canola (*Brassica napus* L.) that had epicuticular wax reduced by application of a carbamate herbicide (S-ethyl dipropylthiocarbamate) was compared with oviposition on untreated control plants. A second approach compared oviposition on sibling strains of *B. napus* with different wax blooms (glossy and waxy), and a third approach compared oviposition by *P. xylostella* on parafilm that had been applied to glossy and waxy *B. napus* strains for transfer of leaf components. Significantly more eggs were deposited on herbicide-treated plants (with reduced epicuticular wax) than on untreated controls. Similarly, more eggs were deposited on glossy than on waxy sibling strains of *B. napus*. In parafilm assays significantly more eggs were deposited on treated than on untreated parafilm. Several mechanisms could explain the differences in attractiveness of surfaces with varying wax content as oviposition sites for *P. xylostella*, including visual, chemical, and tactile differences between substrates. These mechanisms are discussed.

제 7 장 참고문헌

- Ajnone-Marsan P, Monfredini G, Ludwig WF, Melchinger AE, P. Franceschini, Pagnotto G, Motto M (1995) In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one-fourth of the genetic variation for grain yield. *Theor Appl Genet.* 90:415-424
- Bohn M, Groh S, Khairallah MM, Hoisington DA, Utz AF, Melchinger HF (2001) Re-evaluation of the prospects of marker-assisted selection for improving insect resistance against *Diatraea* spp. in tropical maize by cross validation and independent validation. *Theor Appl Genet.* 103: 1059-1067
- Brigneti G, Voinnet O, Li WX, Ji LH, Ding SW, Baulcombe DC (1998) Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *EMBO J.* 17:6739-6746
- Chang C, Meyerowitz EM (1991) Plant genome studies: restriction fragment length polymorphism and chromosome mapping information. *Curr Opin Genet Dev* 1: 112-118
- Dickson MH, Shelton AM, Eigenbrode SD, Vamosy Mora M. (1990) Selection for resistance to diamondback moth, *Plutella xylostella*, in cabbage. *Hort Sci.* 25:1643-1646
- Edwards M, Johnson L (1994) RFLP for rapid recurrent selection. In: *Proceedings of the Symposium of Analysis of Molecular Marker Data.* American Society for Horticultural Science, Proceedings. P33-40
- Eigenbrode SD, Shelton AM, Dickson MH (1990) Two types of resistance to the diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*) in cabbage. *Environ Entomol.* 19:1086-1090
- Guillemaut P, Marechal-drouard L (1992) Isolation of plant DNA: a fast,

- inexpensive and reliable method. *Plant Mol Biol Rep.* 10:60-65
- Hittalmani S, Parco A, Mew TV, Zeigler RS, Huang N (2000) Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theor Appl Genet.* 100:1121-1128
- Huang N, Parco A, Mew T, Magpantay G, McCouch S, Guiderdoni E, Xu J, Subidhi P, Angeles R, Khush GS (1997) RFLP mapping of isozymes, RAPD, and QTLs for grain shape, brown plant hopper resistance in a doubled-haploid rice population. *Mol Breed.* 3:105-113
- Justus KA, Dosdall LM, Michell BK (2000) Oviposition by *Plutella xylostella* (*Lepidoptera: Plutellidae*) and effects of phylloplane waxiness. *J Econ Entomol.* 93:1152-1159
- Kang BC, Woong YJ, Lee M-H, Kim B-D (1997) Applicability of AFLP in hot pepper genetic analysis. *J Kor Soc Hort Sci* 38:698-703
- Knapp SJ (1998) Marker assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting super genotypes. *Crop Sci.* 38:1164-1174
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen.* 12:172-175
- Lander ES, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly MJ, Lincoln SE, Newburg L (1987) MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181
- MacIntosh SC, Stone TB, Jokerst RS, Fuchs RL (1991) Binding of *Bacillus thuringiensis* proteins to a laboratory-selected line of *Heliothis virescens*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 88:8930-8933
- Maughan PJ, Saghi Maroof MA, Buss GR (1995) Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean. *Genome.* 38:715-723

- Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV (1991) Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 88:9828-9832
- Nam SH, Woong YJ, Kang BC, Kim B-D (1997) Selection of parental lines for hot pepper mapping population using RFLP and AFLP analysis. *J Kor Soc Hort Sci*. 38:693-697
- 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
- Picoaga A, Cartea ME, Soengas P, Monetti L, Ordas A (2003) Resistance of kale populations to lepidopterous pests in northwestern Spain. *J Econ Entomol*. 96:143-147
- Pierre G, Marchal-Drouard L (1992) Isolation of plant DNA: A fast, inexpensive, and reliable method. *Plant Mol Bio Rep*. 10:60-65
- Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH (1998) *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev*. 62:775-806
- Sall T, Nilsson NO (1994) The robustness of recombination frequency estimates in intercrosses with dominant markers. *Genetics*. 1137:589-596
- 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
- Stoner KA (1990) Glossy leaf wax and plant resistance to insect in *Brassica oleracea* under natural infestation. *Environ Entomol*. 19:730-739

- Stoner KA (1992) Resistance and susceptibility to glossy genetic lines of *Brassica oleraceae* in Connecticut. Management of diamondback moth and other crucifer pest: Proceedings of the second international workshop. Shanhua, Taiwan: Asian Vegetable Research Center. P57-63
- Stuber CW, Edwards MD (1986) Genotypic selection for improvement of quantitative traits in corn using molecular marker loci (Proceedings of the 41st Annual Corn and Sorghum Research Conference). Am Seed Trade Assoc. 41:70-83
- Jones DA, Thomas CM, Hammond-Kosack KE, Balint-Kurti PJ, Jones JD (1995) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. Science. 266:789-793.
- Van Ooijen JW, Voorrips RE (2001) JoinMap Version 3.0: Software for the calculation of genetic linkage maps. CPRODLO, Wageningen
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 21:4407-4414
- Wang YH, Thomas CE, Dean RA (1997) A genetic map of melon (*Cucumis melo* L.) based on amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. Theor Appl Genet. 95:791-798
- Wang ZX, Yano M, Yamanouchi U, Iwamoto M, Monna L, Hayasaka H, Katayose Y, Sasaki T (1999) The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. Plant J. 19:55-64.
- Voorrips RE, Jongerius MC, Kanne HJ (1997) Mapping of two genes for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in a population of doubled haploid lines of *Brassica oleracea* by means of RFLP and AFLP markers. Theor Appl Genet. 94:75-82