

<첨부 2>

최종실적보고서(제출용) 작성용 표지 서식

☞ 보안과제/일반과제/과제번호 부분을 삭제하고 발간등록번호로 대체

<p>(뒷면)</p> <p style="text-align: right;">309008-0 5-1-cg0 00</p> <p style="text-align: center;">동 서 남 아</p> <p style="text-align: center;">수 출 용</p> <p style="text-align: center;">흑 부 병</p> <p style="text-align: center;">양 배 추</p> <p style="text-align: center;">품 종 육 성 연 구</p> <p style="text-align: center;">농 림 축 산 식 품 부</p> <p style="text-align: center;">해 양 수 산 부</p> <p style="text-align: center;">농 촌 진 흥 청</p> <p style="text-align: center;">산 림 청</p> <p style="text-align: center;">↑ 3cm ↓</p> <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 40px; margin: 20px auto; text-align: center; padding: 5px;"> <p>주 의 (편집순서 8)</p> </div> <p style="text-align: center;">(15 포인트 고딕체열)</p> <p style="text-align: center;">↑ 6cm ↓</p>	<p style="text-align: right;">(앞면)</p> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 30px; margin: 0 auto; text-align: center; padding: 5px;"> <p>발간등록번호</p> </div> <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 20px; margin: 5px auto; text-align: center; padding: 5px;"> <p>11-1543000-000485-01</p> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">5cm ↓</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.2em;">동서남아 수출용 흑부병 양배추 품종육성연구</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.1em;">(Breeding of Black Rot Resistant Cabbage Varieties for Export Expansion in South-East and South-West Asia region)</p> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">서울대학교</p> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">↑ 9cm ↓</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.1em;">농림축산식품부·해양수산부·농 촌진흥청·산림청</p> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">↑ 4cm ↓</p>
--	--

## 제 출 문

농림축산식품부장관 . 해양수산부장관 . 농촌진흥청장 . 산림청장 귀하

이 보고서를 “Golden Seed” 프로젝트(세부프로젝트 “동서남아 수출용 흑부병 양배추 품종 육성연구”)의 보고서로 제출합니다.

2014 년 07 월 09 일

프로젝트 연구기관명 : 서울대학교

프로젝트 책임자 : 양 태 진

세부프로젝트 연구기관명 : 조은종묘

세부프로젝트 책임자 : 안 경 구

## 요 약 문

### I. 제 목

동서남아 수출용 흑부병 양배추 품종육성연구

### II. 연구성과 목표 대비 실적

구분	특허		신품종				유전자원 등록	논문		기타
	출원	등록	품종명칭 등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차 년도	목표			0						
	달성			1						
2차 년도	목표						1			
	달성						0			
3차 년도	목표	1		1			1	1		
	달성					3		1		
4차 년도	목표	1	1	2	2	2	1	2		
	달성			1				2		
5차 년도	목표		1	4	2	2	1	2		
	달성	(1)		4	2	3	(3)	3		
계	목표	2	2		7	4	4	3	5	
	달성	(1)	0		6	5	3	(3)	6	

### III. 연구개발의 목표 및 기대성과

#### 1. 연구목표

중국, 인도 등 동남아 국가들의 양배추 시장 수요 증대에 대응하여 이들 지역에서 양배추 뿐만 아니라 다른 배추과 작물(배추, 무, 브로콜리, 콜리플라워 등) 재배시 크게 문제가 되고 있는 흑부병에 강하면서 고품질로 각 지역별 시장 선호도에 맞는 고부가가치의 양배추 품종들을 육성불임계를 활용 고순도 종자를 생산하여 우수한 양배추 품종의 종자 수출을 확대하고자 한다. 이와 더불어 흑부병과 뿌리혹병 저항성 마커를 개발하고 배추유전체와 양배추 유전체의 생물정보 분석을 통하여 고해상도 분자유전 지도를 작성하여 양배추의 육종 효율 증진을 위한 분자유종 시스템을 개발하고 양배추 품종육성 과정에 직접 활용하여 우수한 품종을 조기에 육성할 수 있도록 지원할 것이며 나아가 향후에는 우리나라 양배추 육종가들에게 본 과제를 통해 정착된 분자유종시스템을 기술이전 혹은 분석 지원하여 양배추 품종육성의 세계적 경쟁력 제고 및 해외 시장을 향한 수출시장 확대에 이바지 하고자 한다.

#### 2. 연구개발에 따른 기대성과

##### 가. 국내 양배추 유전지도 및 분자유종시스템 개발 기대성과

- (1) 국내 영세 종묘회사들이 양배추 품종육성을 위해 사용할 수 있는 분자유종기술 정착 및 분석지원 시스템 구축
  - 쉽게 사용할 수 있는 표준화된 유전지도 작성 및 웹기반 공개
  - 여교잡 육종, 우수 계통 육성, 교배조합 작성, 유전자원 스크리닝 등에 활용

- 우리나라 양배추 품종육성기술의 국제 경쟁력 강화 및 수출시장 확대 기반 마련
- (2) 양배추의 가장 주요병인 흑부병과 뿌리혹병 저항성 유전자를 신속간이 방법으로 분석할 수 있는 DNA 마커 개발 및 상품화
  - 저항성 유전자와 밀접히 연관된 마커의 개발 및 신속진단 방법 정착
  - 밀접히 연관된 마커의 특허화 및 육종과정에 사용될 수 있는 기술지원을 상품화
- (3) 양배추 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 마커의 개발은 저항성 품종 육성 기간을 획기적으로 단축할 수 있으며, 육성 경비와 노력을 크게 절감할 수 있을 뿐만 아니라 흑부병 및 뿌리혹병 복합 내병성 품종을 짧은 시간내에 육성할 수 있는 기반 확보

**나. 수출용 주요 병저항성 우수 양배추 신품종 개발 기대성과**

- (1) 본 과제를 통해 중국, 인도, 기타 동남아시아 지역을 대상으로 특성화된 우수한 흑부병 저항성 품종들이 개발되면 양배추 종자 수출시장의 확대 및 거의 전량 수입되는 일본품종의 대체 효과 기대
- (2) 중국, 인도 및 동남아시아 수출용 고품질 흑부병 내병성 양배추 품종의 개발로 기존 흑부병에 약한 주재배 품종들과 차별화하여 보다 높은 가격(약 150-200%)으로 일본 및 유럽 품종들을 빠르게 대체하여 양배추 종자수출 증대는 물론 보다 높은 부가가치를 창출할 것이며 미국 남동부, 중남미 혹은 아프리카 등지로 수출을 확대할 수 있는 기반 확보
- (3) 양배추 흑부병과 뿌리혹병 저항성 병리 검정 및 검정기술의 확립으로 금후 병저항성 품종 육성을 위한 기반 확립

**IV. 연구개발 내용 및 범위**

연구 개발 내용	연구 범위
<p>&lt;제 1세부&gt; 양배추 분자유전지도 작성 및 흑부병과 뿌리혹병 저항성 연관 마커 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 분자유전지도 작성을 위한 기초연구               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 양배추 및 근연 배추속 유전체 정보 수집 및 생물정보 분석 시스템 구축</li> <li>- 국제 배추 제논 프로젝트와 공동연구 및 협조를 통한 정보수집 활용</li> <li>- 양배추와 유채의 표준지도 유래 마커와 생물정보 기반 마커 개발</li> <li>- 생물정보분석을 통한 유용전이인자 탐색 및 활용법 개발</li> <li>- 분자유전지도 제작 및 분자유전체시스템구축을 위한 육성계통 유전적다양성 분석 최적 양친조합선정</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 분자유전지도 작성               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 품종육성을 위해 선정된 두 양친조합에서 다형성 마커개발</li> <li>- 454 GS-FLX Titanium을 이용한 transcriptome sequencing</li> <li>- Illumina Hiseq2000을 이용한 transcriptome sequencing</li> <li>- 양배추 표준유전체 염기서열정보를 활용하여 Illumina Hi-seq 2000을 이용한 whole genome resequencing</li> <li>- Illumina Hiseq2000을 이용한 78개체 Genotyping by Sequencing</li> <li>- MITE family 동정 및 마커로의 활용을 위한 시스템 구축</li> <li>- 다형성을 보인 마커로 유전지도 작성을 위해 F2 genotyping</li> <li>- 상업적 양배추 자원의 유전적 다양성 분석</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 흑부병 저항성 연관 마커개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 생물정보분석을 통한 병저항성 유전자의 NBS-LRR domain 서열 정보 수집 및 이에 기반한 마커 개발</li> <li>- 흑부병 저항성 관련 QTL 동정</li> </ul> </li> </ul>
<p>&lt;제1협동&gt; 수출용 고품질 흑부병 저항성 양배추 품종육성</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 수출용 고품질 흑부병 저항성 품종 육성               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 중국용 원형 극조생계 품종 육성</li> <li>- 인도용 원형 조생계 저항성 품종 육성</li> <li>- 인도, 중국용 원형 조생계, 중생계 흑부병 저항성 품종 육성</li> <li>- 동남아시아용 편형계 흑부병 저항성 품종 육성</li> <li>- 고순도의 종자 생산과 해외 채종시 원종 유출 방지를 위한 세포질</li> </ul> </li> </ul>

	<p>웅성불입 채종체계 도입</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 검정 및 검정 방법 확립 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내외 병원균 수집 및 접종 방법을 적용하여 신속 정확하며 경제적인 저항성 검정 방법 확립</li> <li>- 저항성 소재의 저항성 유전 인자를 확인하고 유전 양식 연구를 통한 저항성 품종 개발을 위한 기초 연구</li> </ul> </li> </ul>
--	--

V. 연구개발결과

결과 요약	비고
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 및 다양한 근연 배추속 식물들의 유전체 정보 수집 및 활용체계 구축</li> <li>○ 국내 육성계통 간에 약 800개 이상의 다형성 마커 개발</li> <li>○ 국내 elite 육성 계통인 C1184와 C1234 간 354개 마커로 구성된 유전지도 작성</li> <li>○ 개발된 마커를 이용한 91개의 전세계 상업적 양배추 품종의 유전적 다양성 분석</li> <li>○ 양배추에서 발현된 여러 유전자들의 정보가 포함된 EST 정보 생산</li> <li>○ 4계통에 대한 WGS 정보 생산 및 양질의 SNP 지역을 발굴할 수 있는 pipeline 구축</li> <li>○ 흑부병 저항성 후보 QTL 지역 동정</li> <li>○ 양배추를 포함한 여러 Brassica species내 여러 MITE family들의 동정 및 이를 이용한 마커 개발</li> </ul>	제 1 세부과제
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 수출용 고품질 흑부병 저항성 품종 육성  <b>(총 11 품종 개발 - 품종보호출원 5 품종, 생산판매신고 6 품종)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 중국용 원형 극조생계 품종 육성 <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 패스트볼(Fast Ball) - 품종보호출원번호 : 출원 2012-89</li> <li>2) 에이스볼(Ace Ball) - 품종보호출원번호 : 출원 2014-106</li> </ol> </li> <li>- 인도용 원형 조생계 저항성 품종 육성 <ol style="list-style-type: none"> <li>3) 포르테 9 (Forte 9) - 품종보호출원번호 : 출원 2014-107</li> <li>4) 비너스 11 (Venus 11) - 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-7</li> </ol> </li> <li>- 인도, 중국용 원형 조생계, 중생계 흑부병 저항성 품종 육성 <ol style="list-style-type: none"> <li>5) 스마트(Smart) - 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2009-10</li> <li>6) 조은에이스(Joeun Ace) - 품종보호출원번호 : 출원 2012-90</li> <li>7) 엘로라 (Ellora) - 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-7</li> </ol> </li> <li>- 동남아시아 및 중국용 편형계 흑부병 저항성 품종 육성 <ol style="list-style-type: none"> <li>8) 오션 99 (Ocean 99) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-5</li> <li>9) 트로픽 에이스(Tropic Ace) - 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2012-1</li> <li>10) 그린스페이스(Green Space) - 품종보호출원번호 : 출원 2012-88</li> </ol> </li> <li>- 자색 양배추 품종 육성 <ol style="list-style-type: none"> <li>11) 자색양배추 베로나(VERONA) - 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-2</li> </ol> </li> <li>- 고순도의 종자 생산과 해외 채종시 원종 유출 방지를 위한 세포질 웅성불입성을 도입한 채종 체계 구축</li> </ul> </li> </ul>	제 1 협동과제

<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 흑부병(검은썩음병) 및 뿌리혹병 저항성 검정 및 검정 방법 확립 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국립 화학연구원에 의뢰하여 국내외 수집 균주를 이용하여 효율적이고 정확한 병리 검정 방법 확립 및 저항성 검정</li> <li>- 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 소재의 저항성 유전 인자를 확인하고 유전 양식 연구를 통해 저항성 품종 개발을 위한 기초 연구</li> </ul> </li> </ul>	
---	--

## VI. 연구성과 및 성과활용 계획

### 1. 연구성과

구분	연구성과 요약
특허	○ “녹색꽃양배추(브로콜리)의 돌연변이에 의한 우성단인자 응성불임성인자의 연관 분자 마커 개발“ 내용으로 특허출원 준비 중에 있다.
신제품	○ 6건의 품종 생판신고 등록 ○ 5건의 품종보호 출원 - 2012년에 품종보호 출원을 한 3건에 대해서는 최종 등록단계 중으로, 2014년에 출원한 2건에 대해서는 2015년 이후에 등록이 될 예정이다. ○ 3건의 유전자원 등록 진행 중
논문	○ 5편의 논문이 국외 SCI 저널 게재 ○ 1편의 논문이 국외 SCI 저널에 투고 중
기타	○ 국내 학술대회에 6건의 발표(구두발표 1번, 포스터 발표 5번) ○ 국외 학술 대회에서 7건의 발표(구두발표 1번, 포스터 발표 6번) ○ 6번의 전시회 ○ 3명의 박사 인력 양성

### 2. 성과활용 계획

구분	성과활용 계획
실용화, 산업화 계획	○ 11건의 품종이 상품화(목표 4건) ○ 상품화가 된 11 품종 2014년도 5월에 기술이전 예정
교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획	○ 2건의 양배추 재배요령 및 품종 설명에 대한 교육 실시 (목표 4건) ○ 2014년 6월 중국, 베트남, 방글라데시 거래처 방문 및 교육 실시 예정 ○ 2014년 12월 베트남 현지농민 지도 교육 실시 예정
특허, 품종, 논문 등 지식 재산권 확보 계획	○ Whole genome resequencing data를 기반 SNP들을 dCAPS 마커개발과 흑부병 저항성 QTL 지역 동정에 대한 논문 투고예정 ○ GBS방법에 의한 high-density 유전지도와 뿌리혹병 저항성 QTL 지역을 동정에 대한 논문을 투고예정
추가연구, 타연구에 활용계획	○ WGS data 활용 대규모의 SNP 탐색 pipeline - 40개 양배추계통의 GWAS 분석 연구에 활용

## SUMMARY

In response to our dependent on foreign market demand of *Brassica oleracea* species the development cabbage seed with black rot resistance as well as high quality, high value, and market preference products that causes the problem during growing and also favorable within these region is necessary to expand the business as seed exporting market. In addition, development of resistance marker for black rot and club root while constructing high resolution molecular genetic map to create molecular breeding system for cabbage's breeding efficiency enhancement would in the future contribute our Korean cabbage varieties towards global competitiveness and export market expansion in overseas markets.

The application and the genetic information of *B.oleracea* and it's closely related *Brassica* species, was established by sharing information from International *Brassica rapa* genome projects and joint projects. It also allowed to developed varieties of markers on domestic elite breeding line using the markers obtained from genetic map and the EST and WGS(Whole Genome Sequencing) information using NGS(Next Generation Sequencing) technology of *B. oleracea* and *B. napus*. Utilizing the markers of domestic elite breeding line, molecular genetic map formed by 354 markers related to black rot resistance was created. Moreover, black rot pathology test targeting F<sub>3</sub> individual was tested about 3 times repeatedly. By linking both result of vaccination of black rot and the genetic result map, the candidate of black rot resistance QTL regions were identified.

Within combination of club root related, about 78 of F<sub>2</sub> individuals have been genotyped around 15,000 SNP regions following GBS(Genotyping by Sequencing) method. Within 35 developed markers the genotyping of F<sub>2</sub> individuals have been completed and the high-density genetic map using F<sub>2</sub> genotyping results is still under process. The result of club root disease pathology test, for race 9 strain by repeating 2 times each while race 2 and 5 strains has each gave clean result just by performing only one time. As the genetic map completes by linking result from pathology test we could candidate the club root resistance QTL regions by each race strains.

Among many markers developed during the course of research, 184 SSR markers were used for genetic diversity analysis with worldwide 91 commercial varieties of *B. oleracea*, and we could obtain 16 cultivar specific markers. As the result of this experiment, various consume species could each be identified and developed for species varieties of distinctness, uniformity, stability to utilize as a useful test. We also performed research on MITE(Miniature Inverted-repeat Transposable Element) family's identification and characterization of brassica species including cabbage. Utilizing it could further

developed 36 inter-species classification polymorphic marker and 90 intra-species classification polymorphic marker.

Total 11 commercial varieties were developed for China, India and South East Asia markets. Fast Ball and Ace Ball were developed for China market and they have round head shape and green head color and extra early maturity and stronger cracking tolerance. Forte 9 was developed for India market and its maturity is 2~3 days earlier, more compact and greener than check varieties. Venus 11 is 5~6 days earlier, its plant frame is more compact, greener and stronger cracking tolerance than check varieties. Smart was developed for heat tolerant, round and mid-early maturity group market in India, China and S.E. Asia. It has more compact, more stable core, stronger cracking tolerance and black rot resistance than check varieties. Joeun Ace was developed for China, India and Pakistan market. It has about one week earlier, more green color and stable head shape than check varieties and it is suitable for high density transplanting and it has more green head color, stronger transportation ability, cracking tolerance and better taste. Joeun Ace showed stronger black rot resistance than check varieties in India local trials and in vivo test. Ellora was developed to replace 'Green Express' from Sakata, 'T-621' from Takii, Zennith and Millennium 111 from Seminis in India market. It has one week earlier than check varieties and its heat tolerance, black rot resistance and cracking tolerance level was increased up to heat tolerant type varieties. Ocean 99 was developed to replace 'KK-Cross' from Takii and 'KS-Cross' from Syngenta in South China market, West Bengal market in India and S.E. Asia market. Ocean 99 is 4~5 days earlier and it has stronger heading ability under hot temperature condition, stronger cracking tolerance and stronger black resistance than check varieties. Tropic Ace was developed to replace 'KK-Cross' and Grand KK from Takii. Its head shape is more stable and stronger heading ability under hot temperature condition. Green Space was developed to replace 'New Star Cross(NSX)' from Tokita in Vietnam market. It has earlier maturity, heavier head weight, stronger cracking tolerance and black rot resistance. Verona was developed for purple cabbage market and it has 75 day maturity, round head shape and excellent internal purple color and good results in China, India and Europe market.

The segregation ratio in  $F_2$  population derived from the cross between black rot resistant line and susceptible line(C1184 x C1234) was R(resistant) : MR(intermediate) : S(susceptible) = 63 : 45 : 34( 1.9 : 1.3 : 1) and R+MR(resistant + intermediate) : S(susceptible) = 3.2 : 1. The black rot resistance of  $F_3$  population was tested during 2013 and 2014 and it was used for development of marker in Seoul National University.

The segregation ratio in  $F_2$  population derived from the cross between clubroot resistant line and susceptible line (C1220 x C1176) was R:MR:S=62:62:68(1:1:1) and the ratio of C1176 x C1220  $F_2$  population was 159:32:3 and the ration of C1220 x C1126  $F_2$  population was R:MR:S=147:30:21 and the ration of C1126 x C1220  $F_2$  population was R:MR:S= 67:77:53. The clubroot resistance of  $F_3$  population was tested during 2013 and 2014 and it was used for development of marker in Seoul National University.

# CONTENTS

Chapter 1 Overview of the project ······ 10

Chapter 2 Domestic and worldwide trends in technology development ···· 11

Chapter 3 Contents of the project and research results ······ 13

Chapter 4 Achievements and contribution to related fields ······ 98

Chapter 5 Application plan of research results ······ 100

Chapter 6 Information obtained during implementation of the project ···· 108

Chapter 7 References ······ 109

## 목 차

제 1 장	프로젝트의 개요 및 성과목표	10
제 2 장	국내외 기술개발 현황	11
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	13
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	98
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	100
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	108
제 7 장	참고문헌	109

# 제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표

## 1. 연구개발의 필요성

- 가. 중국, 인도 등 동남아 국가들의 양배추 시장 수요 증대하고 있지만 이들 지역에서 양배추 뿐만 아니라 다른 배추과 작물(배추, 무, 브로콜리, 콜리플라워 등) 재배시 흑부병과 뿌리혹 병등이 크게 문제가 되고 있다.
- 나. 흑부병에 강하면서 고품질로 각 지역별 시장 선호도에 맞는 고부가가치의 양배추 품종들을 육성불임계를 활용 고순도 종자를 생산하여 우수한 양배추 품종의 종자 수출 확대의 필요성이 대두되고 있다.
- 다. 국내 영세 종묘회사들이 양배추 품종육성을 위해 사용할 수 있는 분자유종기술 및 분석지원 시스템이 전무한 실정이다.
- 라. 따라서 쉽게 사용할 수 있는 표준화된 유전지도를 작성하여 우리나라 양배추 품종육성기술의 국제 경쟁력 강화 및 수출시장 확대 기반을 마련하고, 흑부병과 뿌리혹병 저항성 유전자 연관 마커를 개발하여 육종과정에 사용될 수 있는 기술지원이 필요하다.

## 2. 연구개발의 최종 목표

- 가. 배추와 양배추의 유전체 정보 기반 양배추의 고해상도 분자유전지도 작성
- 나. 흑부병저항성과 뿌리혹병 저항성 유전자 연관 마커 개발 및 분자유종시스템 개발
- 다. 중국, 인도, 동남아시아에 지역에 특성화된 수출용 고품질 흑부병 저항성 품종 육성
- 라. 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 검정 및 검정 방법 확립
- 마. 종자수출을 확대하고 향후 양배추의 분자유종시스템을 국가적으로 지원하여 양배추 품종 육성의 국제 경쟁력을 구축하여 우리나라 농업 및 종자산업 발전에 기여

## 3. 연구성과 목표 대비 실적

구분	특허		신품종				유전자원 등록	논문		기타
	출원	등록	품종명칭 등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차 년도	목표			0						
	달성			1						
2차 년도	목표						1			
	달성						0			
3차 년도	목표	1		1			1	1		
	달성					3		1		
4차 년도	목표	1	1	2	2	2	1	2		
	달성			1				2		
5차 년도	목표		1	4	2	2	1	2		
	달성	(1)		4	2	3	(3)	3		
계	목표	2	2	7	4	4	3	5		
	달성	(1)	0	6	5	3	(3)	6		

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내외 관련분야 기술개발 현황

#### 가. 차세대 유전체 분석장치등의 발전에 따른 대규모 식물 유전체 분석

- (1) 대규모의 유전체 연구가 육종사업에 실용적으로 활용될 수 있는 구체적인 가능성을 제시 (2010년 Plant & Animal Genome Conference 및 이후 여러 conference)
- (2) 글로벌 종자회사에서 대규모 유전체 연구를 통해 allele mining과 Genomics assisted breeding을 구현하고 있고 있으며, 중국의 Beijing Genome Institute에서 전세계 100개 작물 species에 대하여 100개 유전형 완전염기서열 분석을 공표하고 수행중에 있음. 우리나라의 소규모 육종회사에 있어 분자육종 기반은 점점 입지가 줄어들 것으로 예상
- (3) 전체 정보 생산량은 늘어나지만 효율적인 유전체 정보를 활용하는 생물정보분석지원 체제가 필요한데 우리나라의 경우 특히 농업 분야에 있어 생물정보를 분석하고 지원해 줄 수 있는 국가 차원의 농업생물정보센터가 절실히 필요한 상황임
- (4) 배추과 여러 식물종들의 유전체 분석이 이루어지고 있고, 또 해독이 완성된 식물들도 늘어나고 있으며 일부 식물에 국한되어 있던 GWAS 분석이 다양한 식물로 그 활용이 커지고 있음 (2014년 19<sup>th</sup> Crucifer Genetics Workshop)
  - *B.rapa* (중국), *B.oleracea* 2개(중국, 캐나다), *B.napus* 2개(중국, 프랑스) 완성
  - *B.nigra*, *B.juncea*, *Raphanus sativus*, *Camelina sativa* 등의 식물도 활발한 연구가 진행
- (5) 유전체 연구의 방향이 점점 작물에 대한 Genomics Assisted Breeding 방향으로 진행되고 있고, Reference genome sequence 기반 Genome Wide Association study (GWAS)를 통해 농업적으로 우수한 형질의 QTL mapping과 분자육종이 진행됨

#### 나. 양배추 재배 관련 기술현황

- (1) 중국 산서성과 인도 북부와 중부지방 출장 중 양배추 주재배 단지의 흑부병 발생이 매우 심하여 양배추 재배시 심각한 문제로 대두되고 있어 흑부병 내병성 품종에 대한 요구가 많아지고 있음을 확인함
- (2) 인도의 경우 우기 재배시 흑부병과 연부병 발생이 극심하여 양배추 재배를 포기하는 농가도 많이 발생하고 있음을 확인할 수 있었음
- (3) 중국 남방 고랭지와 인도 우티 지역 고랭지를 중심으로 한 양배추 주재배단지에 뿌리혹병이 다발하여 양배추 재배에 큰 피해를 주고 있어 내병성 품종에 대한 시장 요구가 매우 커지고 있으며, 신젠타에서 인도 고랭지 지역에 뿌리혹병 내병성 품종을 시판하고 있음

## 2. 연구 결과가 국내외 기술 개발 현황에서 차지하는 위치

### 가. 양배추 유전지도 작성 및 유전체 연구

- (1) 프로젝트를 진행하며 여러 양배추 계통들의 transcriptome sequencing 및 whole genome resequencing을 진행하여 많은 data를 보유하고 있지만, 전세계적으로 양배추 뿐만 아니라 Brassica 속 내 다른 작물들에 대한 대규모의 유전체 연구가 진행되고 있어 전체적인 유전체 정보량에 있어서는 미치지 못하고 있다. 하지만 여러 국제 연구기관과 공조관계를 맺고 긴밀히 협력하며 data를 공유하는 방식으로 부족한 점을 보완하고 있다. 중국 BGI에서 Nature communications에 투고한 논문(양배추 표준유전체 염기서열정보의 해독과 polyploid genome들의 진화)에도 공동저자로 참여하였다.
- (2) 다른 해외 연구기관에서 유전적 거리가 상당히 먼 계통들을 양친으로 사용하여 더 density가 높은 유전지도를 작성한 사례들이 있지만, 이 프로젝트를 통해 작성된 유전지도는 순수 국내 육성계통들을 모부분으로 사용한 것으로 바로 국내 종묘회사들이 유용하게 사용할 수 있다는 장점이 있다.

### 나. 병 저항성 관련 마커 개발 연구

- (1) 국내에서 양배추 흑부병 저항성 QTL을 동정하고 연관된 마커를 개발하는 연구는 거의 본 연구실에서만 진행하고 있다. 전세계적으로도 배추에서 흑부병 저항성 연구는 비교적 많이 이루어지고 있지만, 양배추에서는 활발히 이루어지지 않고 있다.
- (2) 양배추 뿌리혹병 저항성 연관된 연구는 일본을 비롯해 많은 국가에서 활발히 이루어지고 있지만 우리나라에서는 많이 이루어지지 않고 있다. 따라서 국내종묘회사의 저항성 육종 재료를 사용한 저항성 QTL 동정 및 연관마커 개발은 큰 의미가 있을 것으로 사료된다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1절 양배추 분자유전지도 작성 및 흑부병과 뿌리혹병 저항성 연관 마커 개발 (제1 세부과제)

#### 1. 양배추 분자유전 지도 작성을 위한 기초 연구

##### 가. 유전체 정보 수집 및 활용체계 구축

양배추의 유전체 정보를 최대한 활용하고 유용한 마커를 개발하기 위하여 양배추 뿐 아니라 배추과 식물의 유전체 정보를 모두 수집하여 본 연구실 유전체분석 시스템에서 효율적으로 활용할 수 있는 시스템을 2010년, 1년차 연구기간에 구축하였다. 본 연구실 서버에 구축된 생물정보 분석량은 표 2와 같이 배추과 작물 전체로는 2,374,364 건에 1,574,946,652 bp이며 양배추의 서열정보는 826,256 건에 446,029,460 bp이다(Fig 1, Table 1).

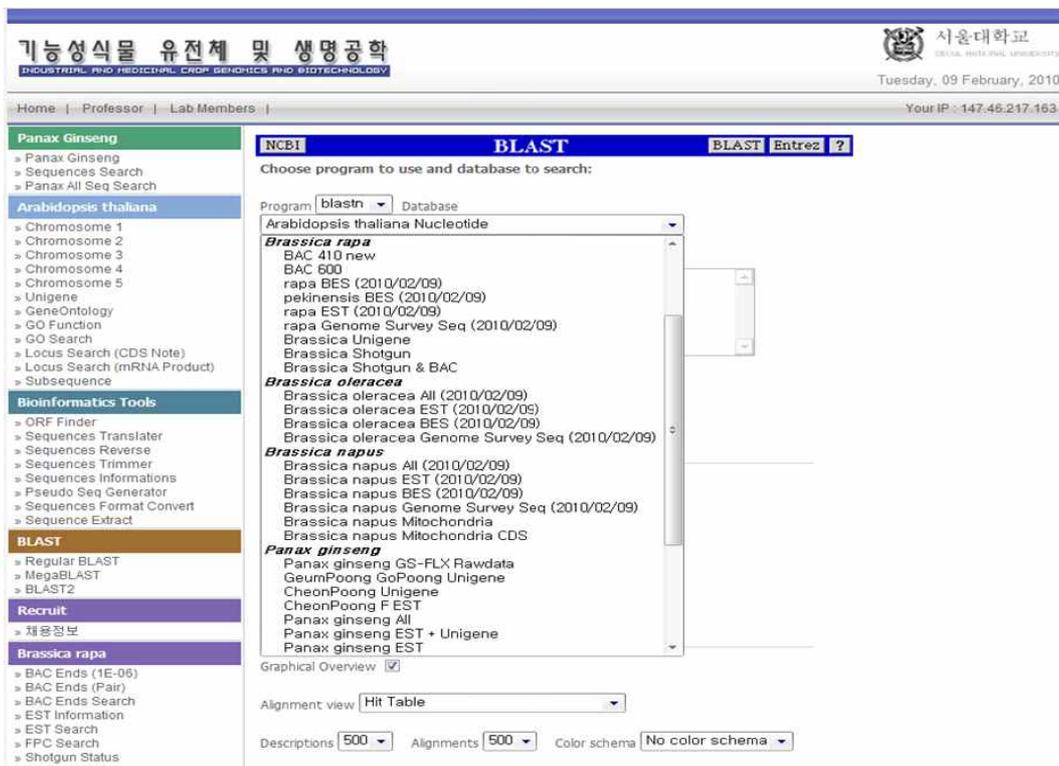


Figure 1. Established database of genomic sequence information of *Brassica* species

Table 1. Information of genomic sequence of *Brassica* species established in lab bioinformatic system

Species	Kinds	Numbers	bp
<b>Brassica rapa</b>	ALL	771,053	559,790,916
	EST	194,300	110,322,910
	BES	378,168	294,849,612
	GSS	198,585	154,618,394
<b>Brassica oleracea</b>	ALL	826,256	446,029,460
	EST	59,946	381,790,331
	BES	85,416	48,914,733
	GSS	680,894	15,324,396
<b>Brassica napus</b>	ALL	777,055	569,126,276
	EST	643,943	31,810,791
	BES	101,103	67,020,858
	GSS	32,009	470,294,627
<b>Tatal</b>		<b>2,374,364</b>	<b>1,574,946,652</b>

이들 유전체 정보를 이용하여 양배추의 분자유종 시스템 구축에 필요한 유용한 마커를 개발하고자 하였다. 특히 국제배추체놈프로젝트(Multi National Brassica Genome Project, MBGP)와의 적극적인 협력을 통해 이들의 연구 결과를 적극 수용하여 효율적인 시스템을 구축하고자 노력하고 있다. 이를 위해 MBGP 멤버들과의 협력은 물론 미국의 Andrew Paterson 그룹이 수행하는 *Brassica oleracea* physical mapping 등에 대한 협력을 하고 있으며 또한 이들이 수행한 BAC end sequence 정보를 제공받아 분석할 수 있도록 하였다.

이 후 NGS 기술의 발달로 인해 급진적인 유전체 연구가 진행됨에 따라 중국 BGI(Beijing Genome Institute)와 캐나다 그룹에서 양배추 표준유전체 염기서열정보가 완성되었다. 3차년도에 BGI 서열과 4차년도 캐나다 서열정보를 각각 인계받아 본 연구실 유전체분석 시스템에서 효율적으로 활용할 수 있도록 시스템을 구축하였다. 또한 배추의 전체 표준유전체 염기서열도 2011년도에 update된 정보를 인계받아 역시 활용할 수 있도록 해놓았다(Table 2).

Table 2. Information of genome sequence of *Brassica oleracea* from BGI & Canadian group

	Pseudo-molecule	Scaffolds	Total	Coverage (690 Mb)
BGI	385,006,588 bp	130,333,472 bp	515,340,060 bp	74.7 %
Canada	446,885,882 bp	41,736,625 bp	488,622,507 bp	70.8 %

수집된 염기서열 정보를 살펴보면 9개의 pseudo-chromosome으로 assembly된 염기서열은 각각 385 Mb (BGI 서열), 446 Mb(캐나다 서열)로 캐나다 그룹의 서열이 더 많은 부분을 cover하고 있고, anchoring 되지 않은 scaffold 서열까지 합하면 BGI 서열은 약 515 Mb, 양배추 유전체 크기의 74.7%, 캐나다 서열은 약 489 Mb, 70.8% 에 해당하는 염기서열 정보를 해독한 것으로 약간 차이가 있는 것을 알 수 있었지만, 두 그룹에서 확보한 유전체정보 모두 국내

양배추 품종 육성 연구에 중요한 자료로써 활용이 가능하다고 판단된다.

### 나. 양배추 양친 조합 선정

양배추의 유전지도를 작성하기에는 형태적 유전적으로 거리가 먼 *B. oleracea* 계통을 양친으로 이용하는 교잡 후대 집단을 이용하는 것이 유리하지만 양배추의 분자유종 시스템에 활용될 수 있는 양배추의 유전지도는 우리나라에서 육성되는 계통들의 교배 양친간 조합에서 유래된 집단을 이용하는 것이 필요하다. 따라서 조은종묘에서 육성 중인 계통들 중 저항성 그룹과 이병성 그룹간 상대적으로 유전적 유사도가 먼 양친조합을 선정하는 것이 중요하다. 고밀도 유전지도를 작성하고 병저항성유전자와 연관된 마커를 개발하기 위하여 다양한 종류의 마커를 수집하고 또한 유전체 정보를 이용하였다

조은종묘로부터 흑부병 저항성인 6계통, 이병성인 10계통, 뿌리혹병 저항성인 2계통을 포함한 113계통과 28개의 F<sub>1</sub> 식물체 잎 sample을 확보하여 5g씩 나눠 포장한 후 -70℃에 보관하였다. 확보된 sample 중 16계통의 잎시료 5g에서 DNA를 추출하여 마커 분석을 수행하였다 (Table 3). 사용된 16계통은 모두 조은종묘에서 육성 중인 계통들이며 이중 흑부병 저항성 5계통, 이병성 9계통, 뿌리혹병 저항성인 2계통이 포함되었으며 이들 계통의 일반적 특성은 표와 같이 조생 원형에서부터 결구성이 약해 상품성이 약한 계통들이 포함되어 있다. 대체적으로 이병성계통들은 농업 형질이 인도, 중국 등 수출용 양배추 품종 육성에 적합한 계통들이며 저항성 계통들은 저항성 유전자가 도입된 육성 계통들이다.

Table 3. Information of 16 cabbage materials for selecting parental lines

	작물	회사명	계통/F1	흑부병 / 뿌리혹병	특성
C1162	양배추	조은종묘	계통	흑부병저항성계통	조생,원형
C1165	양배추	조은종묘	계통	흑부병저항성계통	조생,원형
C1169	양배추	조은종묘	계통	흑부병저항성계통	조생,원형
C1234	양배추	조은종묘	계통	흑부병저항성계통	중생,편원형,추대조,결구긴도약
C1239	양배추	조은종묘	계통	흑부병저항성계통	중조생,고구형,추대조,결구긴도중,맛없음
C1176	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	조생,원형,소구
C1177	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	조생,원형,소구
C1179	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	조생,원형
C1184	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	중조생, 원형, 소구
C1185	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	조생,원형
C1223	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	중생,편원형,내서성
C1226	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	중생,편원형,내서성
C1248	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	중조생,고구형,추대만,결구긴도중강
C1253	양배추	조은종묘	계통	흑부병이병성계통	중생,편원형,추대만,내열구성,내한성강
C1220	양배추	조은종묘	계통	뿌리혹병저항성계통	만생,편원형,결구력약
C1235	양배추	조은종묘	계통	뿌리혹병저항성계통	만생,편원형,결구력약

유전지도 작성과 흑부병과 뿌리혹병 저항성 유전자의 마커를 개발하기 위한 유전 집단을 육성의 목적을 가지고 16 계통간 마커 분석을 통해 유전적 다양성을 조사하였으며 또한 이들 16 계통을 세 개의 그룹, 즉 흑부병저항성 그룹, 병 이병성그룹, 뿌리혹병저항성 그룹으로 구분하고 그룹 간 교배조합을 작성하여 F<sub>2</sub> 종자를 획득하였다 (Fig 2).

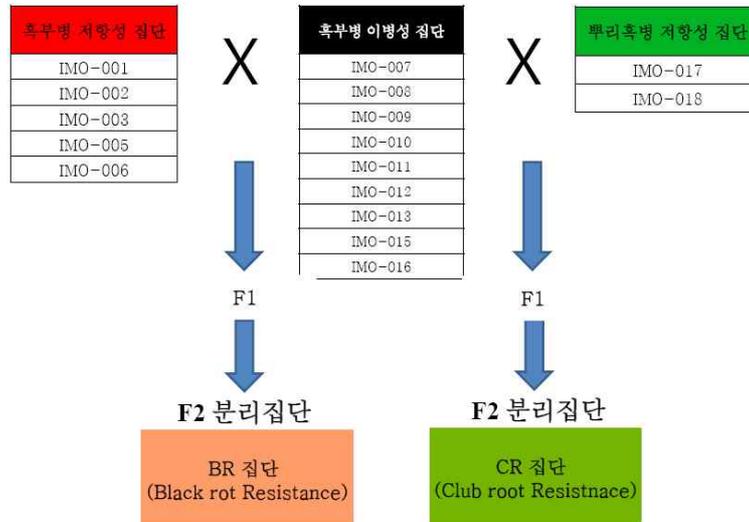


Figure 2. 흑부병 저항성 및 이병성, 뿌리혹병 저항성 그룹간 교배조합 작성 모식도

이 16계통들 사이에 흑부병 저항성과 뿌리혹병 저항성 관련 조합 양친을 선발하기 위해서 여러 종류의 분자마커로 PCR 실험을 실시하기 위해 다음의 5가지 종류의 마커들의 정보를 수집하고 일부를 프라이머로 제작하였다. (1) 우선 지금까지 양배추와 유채에서 보고된 논문들에서 알려진 SSR 마커정보를 모두 수집하고 프라이머를 제작하였다(Suwabe et al. 2002). (2) 병 저항성 유전자의 전형적인 특징인 NBS domain을 가지고 있는 EST sequence를 수집하였으며 시퀀스가 상이한 160 종류의 EST를 대상으로 primer를 제작하였다. (3) 유채 (*B. napus*)는 배추(*B. rapa*: AA genome)와 양배추(*B. oleracea*: CC genome) 간에 배수성이 일어난 allotetraploid라는 특성을 가지고 있어서 유채의 유전체 중 CC genome에 해당하는 마커를 수집하여 프라이머를 제작하였다(Cheng et al. 2009). (4) 또한 배추와 양배추의 비교유전체 연구를 수행하기 위하여 배추의 표준지도에 위치한 SSR, IBP 마커를 수집하여 프라이머를 제작하였다(Kim et al. 2009). (5) 또한 배추과 작물에 많이 분포하는 전이인자 유래 마커를 개발하기 위하여 TRIM 인자와 MITE를 새로 탐색하여 이들 전이인자의 특이한 특성과 특이 서열정보를 이용한 다수의 마커를 개발하고자 하였다. 이 마커 종류들에 대한 좀 더 자세한 설명은 “다” chapter에 하도록 하겠다.

Table 4. 양배추 분자지도작성을 위해 제작된 프라이머 정보 요약

Kinds of marker		The Number of markers				
		collected	designed	amplified	polymorphic	% polymorphism
Map-derived SSR markers	in <i>B. oleracea</i>	86	44	44	17	38.6
	in <i>B. napus</i>	58	10	9	4	44.4
NBS domain derived markers		164	30	30	6	20.0
C.genome map of <i>B.napus</i>		100	100	98	60	61.2
B.rapa map-derived markers	SSR	38	16	13	4	30.8
	IBP(국립 농업과학원)	749	96	81	14	17.3
MITE-derived markers		652	4	2	2	100.0
Total		1847	300	277	107	38.6

전체 1,847개의 유용한 프라이머 정보를 수집하였고 이 중 300개의 프라이머를 제작하여 16계통을 대상으로 분석하였다. 그 결과로 107개의 다형성 마커를 확보할 수 있었다(Table 4). 16계통에 대한 다형성 조사 결과를 바탕으로 최적의 양친 조합을 선정하고 가장 다형성이 높은 양친조합으로부터 육성된 F<sub>2</sub> 집단을 이용한 밀도 높은 우수한 유전지도를 작성하고자 하였다. 양친 간에 다형성 정도가 낮을 경우에는 유전지도 작성이 불가하기 때문에 저항성 계통 그룹과 감수성 계통 그룹들 중 육성 계통들간에 유전적 거리가 가장 먼 양친을 선발하기 위하여 다형성을 보이는 107개의 마커중 MITE-derived 마커 2개를 제외한 105개 마커(SSR 85개, NBS-based 6개, IBP 14개)를 이용하여 각 계통에 대한 genotyping을 하였으며 이 결과를 바탕으로 phylogenetic 분석을 수행하였다. 각각의 마커에 대한 16계통의 유전형은 haplotype의 종류에 따라 각각의 밴드에 대해 유전자형을 1 (있음) 과 0 (없음)으로 표시하였다(Table 5).

Table 5. 다형성을 보이는 105개 마커에 대한 계통별 유전자형 scoring 결과

No	Marker	C1E2	C1E5	C1E9	C2E4	C2E9	C1E6	C1E7	C1E9	C1E8	C1E5	C2E3	C2E5	C2E8	C2E3	C2E0	C2E5	
1	PBCGSSRB01	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	9	1	
		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
		1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	9	1
2	BoREM 1b	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3	BoKAH45TR	0	0	0	0	0	1	1	1	1	9	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	0	0	0	0	9	1	1	1	1	1	1	1
4	BoDCTD1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	PBCGSSRB02	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
		1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	
6	NA10-CoIC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
7	PBCGSSRB06	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
8	RA02-AO4a	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1
		1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0
9	RA02-AO4c	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	
		1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
10	PBCGSSRB05	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	9	1
		0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	9	0
11	NIF0-2a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
12	PBCGSSRB08	0	9	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	9	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13	PBCGSSRB022	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0
		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
14	PBCGSSRB030	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
15	PBCGSSRB031	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
16	PBCGSSRB033	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
17	PBCGSSRB029	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18	PBCGSSRB035	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0
		1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
19	PBCGSSRB038	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

		1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	
20	PBCGSSRB039	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
		1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	
21	PBCGSSRB028	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
22	OI11H02	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	9	0	
		0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	
		0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	9	1
23	SS2277	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	
24	BRMS-015	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	
		0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
25	BRMS-034	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
26	BoNBS3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
27	BoNBS11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1
28	BoNBS21	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
29	BoNBS28	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
		0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	Na10F06	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	SA34	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1
32	Na12E03	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
33	OI11H09	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
34	SR12095	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
		1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1
35	MR049	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	
		0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1
36	OI10B02	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37	HAU23	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	
		1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1
38	Na12A02	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	
		1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0
39	SR12387	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
40	CB10028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0
41	Na12C03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
42	Bo44L16-5	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	
		1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
43	MR133-1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	
		0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
44	CB10288	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45	BRMS-008	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
46	BRMS-017	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
47	SS2486	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	
		1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	
		0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0
48	BoNBS15	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1

		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
49	BoNBS12	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0
		0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
50	HAU337	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
		0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	SS2131	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
		0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
52	CNU400	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1
53	SN0706	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1
		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
54	SNRH63	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	9	1
		1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	9	0
55	OI12G04	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	9	0
		1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	9	1
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	9	0
56	SN11670	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	9	0
		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	9	1
57	OI13H09	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
58	SA02	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59	SR5795	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	MR140	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
61	CB10208	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
62	BRAS019	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1
		1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0
63	SORF73	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
64	SNRE30	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
		1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1
		0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
65	Na12C08	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
66	SORA43	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
67	OI11G11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
68	OI13C03	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	9	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	9	0
		0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	9	1
69	SA30	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	9	0
		0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	9	1
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	9	0
70	CB10258	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	9	0	1
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	9	1	0	0
		0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	9	0	0	0
71	CB10234	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
72	SN3761	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
		0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
73	Na10G06	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0

74	SA27	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
		0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	
75	CB10369	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
76	CB10530	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
77	Na12E01	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1		
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
78	MR64	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
79	IBP 1c3	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
		9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
80	IBP 1c4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	
81	IBP 2c9	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1		
		0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	
		1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
82	IBP 3c7	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	
		1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	
83	IBP 3c5	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
		0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	
84	IBP3c8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	
85	IBP 6c3	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	
		1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	
86	IBP 3c2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0
87	IBP 1c2	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
88	IBP 2c4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1
89	IBP 3c6	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	
		0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	
90	IBP 5c1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	
		1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
91	IBP 5c6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
92	IBP 6c2	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	
		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	
93	Na12G12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
94	H099108	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
95	H121P05	0	0	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	0	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
96	O10A10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	
		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	
		0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
97	KS11090	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
98	MR155	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	
		0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
99	B068N22-1	1	1	1	1	9	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
		0	0	0	0	9	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	niab022	1	1	0	0	9	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	1	1	9	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
		0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
101	Na10D07	0	0	0	0	9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

		0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		1	1	1	1	9	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0
102	BRAS068	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
103	BN12A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
104	CNU099	1	0	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	1	1	0	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
105	CB10064	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1

위 105개 다형성 분자마커들의 결과를 토대로 16계통에 대한 유전적 유사도 분석을 하였을 때의 결과는 table 6과 같으며 figure 3와 같은 phylogenetic tree를 얻을 수 있었다. 이 결과들을 토대로 흑부병 저항성 마커 개발 및 유전지도 제작을 위해서 C1184 x C1234 조합, 뿌리혹병 저항성 관련 연구를 위해서는 C1184 x C1235 조합을 선정, 두 조합 3계통을 선발하였다.

Table 6. 16개 계통에 대한 유전적 거리 matrix

	C1162	C1165	C1169	C1234	C1239	C1176	C1177	C1179	C1184	C1185	C1223	C1226	C1248	C1253	C1220	C1235
C1162	0															
C1165	0.12	0														
C1169	0.21	0.17	0													
C1234	0.18	0.21	0.23	0												
C1239	0.27	0.27	0.32	0.26	0											
C1176	0.32	0.34	0.36	0.3	0.31	0										
C1177	0.35	0.37	0.43	0.35	0.35	0.17	0									
C1179	0.38	0.36	0.35	0.32	0.32	0.29	0.3	0								
C1184	0.33	0.3	0.39	0.35	0.34	0.38	0.35	0.34	0							
C1185	0.34	0.32	0.34	0.34	0.33	0.33	0.3	0.32	0.26	0						
C1223	0.31	0.27	0.2	0.35	0.35	0.36	0.4	0.39	0.46	0.37	0					
C1226	0.29	0.26	0.24	0.33	0.33	0.35	0.39	0.38	0.46	0.36	0.07	0				
C1248	0.29	0.25	0.26	0.27	0.29	0.38	0.45	0.41	0.38	0.36	0.24	0.25	0			
C1253	0.31	0.33	0.36	0.33	0.38	0.41	0.41	0.39	0.4	0.32	0.33	0.3	0.33	0		
C1220	0.37	0.33	0.36	0.4	0.37	0.42	0.42	0.4	0.44	0.35	0.29	0.31	0.33	0.38	0	
C1235	0.38	0.33	0.33	0.38	0.38	0.4	0.43	0.4	0.45	0.39	0.22	0.22	0.28	0.38	0.11	0

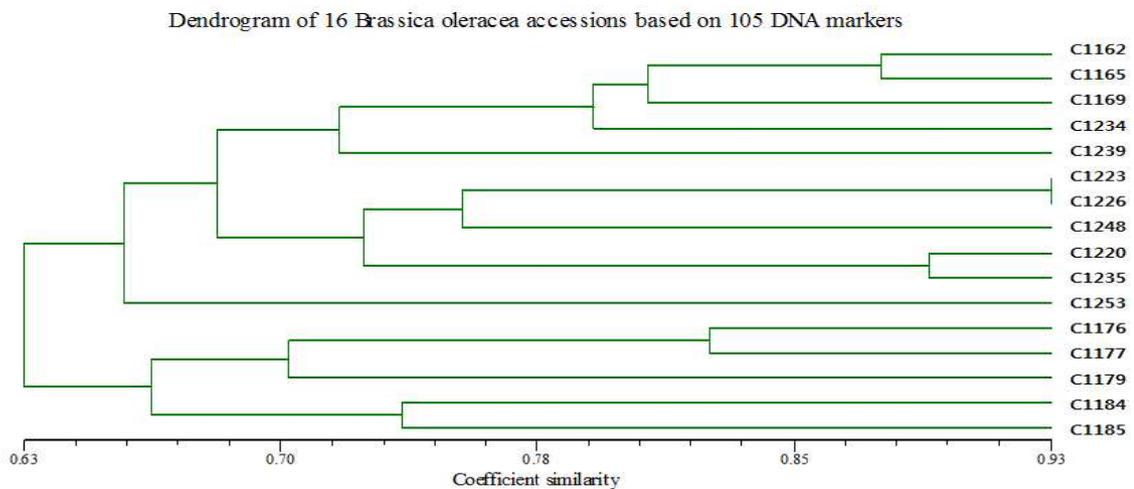


Figure 3. 105개 마커에 의해 분석된 16개 계통에 대한 Cluster analysis

그러나 뿌리혹병 관련 양친인 C1184와 C1235 계통을 양친으로 하여 세대를 진전시키며 연구를 진행하던 중, 이 두 양친을 모부본으로 사용하였을 때 후대에서 종자의 결실율이 낮게 나타난다는 문제점을 조은종묘로부터 듣게 되었고, 이 때문에 3년차 후반에 뿌리혹병 저항성을 보이는 C1220 계통과 이병성인 C1176 계통을 모부본으로 변경하기로 결정하였다.

## 2. 유전지도 작성을 위해 선정된 양친 계통간 다형성 마커 Screening

가. 기존 연구관련 문헌에서 개발된 마커 적용

(1) 근연종에서 개발되어있는 배추 IBP 및 reported SSR

(가) IBP(Intron-based polymorphism)

IBP(Intron-based polymorphism) 마커는 전사되는 엑손 부분에서 프라이머를 제작하여 매우 conserved된 서열 유래이며 따라서 유사종 간에도 활용이 될 수 있는 반면 인접한 엑손 사이의 인트론 부분에는 다형성이 많이 존재하기 때문에 이를 찾아내는 마커이다. 프라이머 부위는 지놈 내 다른 지역보다 근연관계에 있는 작물 사이에 sequence 수준에서 잘 보존이 되어있는 엑손 지역으로부터 유래되기 때문에 배추와 가까운 양배추에 comparative genomics 분석을 하기에 매우 적합한 마커라고 할 수 있다. 이러한 이유로 국립농업과학원으로부터 배추 유전체 정보에 기반을 두어 제작되었던 IBP 마커를 확보하여 본 연구 양배추 재료에 적용시켜 실험을 실시하였다(Mun et al. 2009).

IBP 마커를 사용한 PCR 증폭산물의 크기는 보통 500bp에서 1,500bp 정도이기 때문에 genomic DNA를 이용하여 생성된 amplicon은 비교적 낮은 6%의 non-denaturing polyacrylamide gel에 loading 후 전기영동을 통해 계통 간 band의 크기 차이에 대한 다형성을 확인하였다(Fig 4).

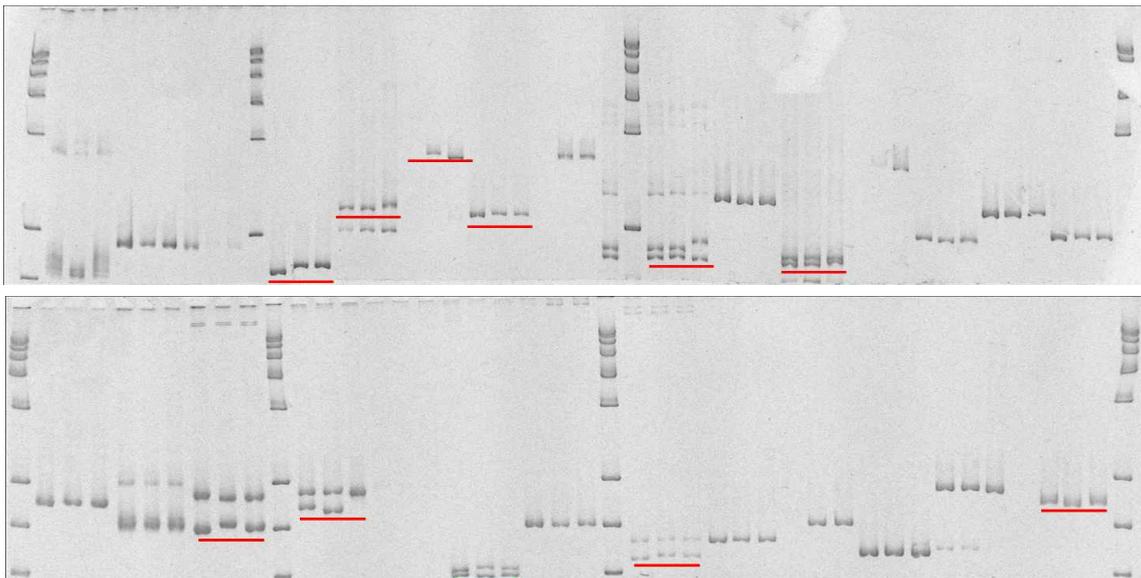


Figure 4. Survey of polymorphic markers among 3 parental accessions with IBP markers

2차년도까지 계통간 총 1841개의 IBP 마커를 이용하여 양친 계통간 다형성 조사를 실시한 결과 흑부병 관련조합에서는 152개, 양친 변경 이전의 뿌리혹병 관련조합에서는 171개가 polymorphism을 보였다(Table 7).

Table 7. Summary of used markers for research and results of polymorphic survey

Parental combination	marker type	The number of Polymorphic markers	The number of Polymorphic markers
C1184 x C1234 (Black rot resistance)	Reported SSR	615	91
	IBP	1841	152
	NBS domain	30	0
	Total	2,801	243
C1235 x C1184 (Club root resistance)	Reported SSR	615	80
	IBP	1841	171
	NBS domain	30	0
	Total	2,801	251

(나) SSR (Simple Sequence Repeat) 마커

총 8개의 참고문헌으로부터 양배추뿐만 아니라 근연종인 배추, 유채에서 개발된 SSR들도 활용하여 양친간 다형성 조사를 실시하였다(Wang et al. 2012, Smith et al. 2000, Lowe et al. 2004, Piquemal et al. 2005, Long et al. 2007, Radoev et al. 2008, Cheng et al. 2009, Kim et al. 2009). 이 SSR마커를 사용한 PCR 증폭산물의 크기는 대부분 300bp보다 작은 크기이기 때문에 9%의 non-denaturing polyacrylamide gel에 loading 후 전기영동을 통해 계통 간 band의 크기 차이에 대한 다형성을 확인하였고, 총 615개의 마커를 대상으로 실험하여 두가지 조합에서 각각 91개, 80개의 polymorphism을 보이는 마커들을 확보하였다(Table 7).

(2) NBS-based 마커 개발

지금까지 알려진 대부분의 식물 병저항성 유전자들은 비교적 conserved 된 NBS-LRR domain을 가지고 있는 것으로 알려져 있으며(Fig 5) 이 중 NBS domain은 대부분의 저항성 유전자에 존재하며 이런 NBS domain을 가진 유전자는 식물의 유전체에 다량으로 존재하므로 이 유전자의 conserved domain을 이용할 경우 유전체 전체에 걸쳐 유용한 마커를 개발할 수 있음은 물론 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 유전자를 바로 찾아낼 수도 있으리라 판단하였다.

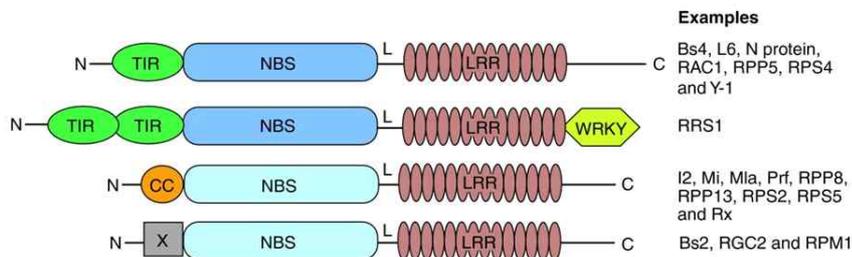


Figure 5. 식물 R 유전자 중 NBS-LRR domain을 가진 유전자들의 종류

배추과 모델 식물인 207개의 NBS domain gene 이 보고되어있으며 비교유전체 연구를 통해 *Brassica rapa*에서 92개의 NBS-encoding 저항성 유전자가 보고된바 있다 (Mun et al. 2009, Fig 6). 본 연구에서는 이들 92개의 sequence정보를 이용하여 양배추의 EST 시퀀스 데

이터베이스 BLAST 검색을 통해 독특한 160개 homolog 유전자를 탐색하였으며 이들 160개 시퀀스를 이용하여 마커를 개발하고자 하였다. Brassica database에 BLAST search를 위하여 92개의 NBS-encoding 저항성 유전자 sequence가 query로 사용되었고, 93%이상의 homology를 보이는 양배추에서 116개 sequence와 유채에서 26개의 sequence, 배추에서 22개 sequence 총 164개의 sequence가 BLAST 결과로 얻어졌다. 이렇게 얻어진 sequence들로부터 Primer 3.0 소프트웨어를 사용하여 30개의 프라이머 set를 제작하였다.

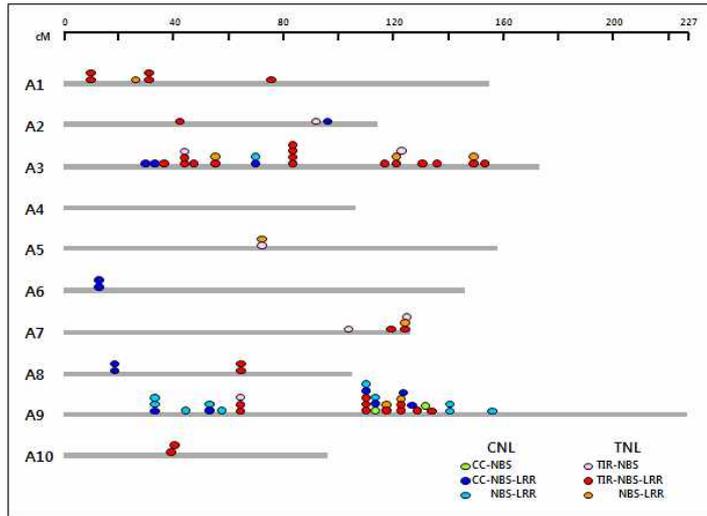


Figure 6. *Brassica rapa* 92개 NBS-encoding 저항성 유전자의 유전지도 (Mun et al. 2009)

30개의 마커를 제작하여 실험을 실시하였으나 양친 대부분 선발을 위해 16개 계통을 대상으로는 6개의 다형성마커가 있었지만(Table 4), 흑부병 및 뿌리혹병 두 조합 3계통 사이에서 다형성을 보이는 마커는 발견할 수 없었다(Table 7).

#### 나. NGS 기술을 활용한 여러 sequencing data 생산과 마커 개발

##### (1) EST (Expressed Sequence Tag) 정보의 활용

Transcriptome sequencing은 조직에서 전사된 mRNA를 추출하여 이를 sequencing함으로써 유전자의 발현 profiling, genome annotation, comparative genomics등 여러 분야에서 활용이 가능한 장점을 가지고 있다. 이 sequencing을 통해 생산된 EST는 genome에서 전사가 이루어진 부분에 대한 연구를 할 수 있는 간단한 전략으로 활용이 되고 있고, 이 data로부터 발견되는 유전자 지역에 해당하는 마커를 제작할 수 있기 때문에 본 연구실에서도 NGS를 통해 EST를 생산하였다.

##### (가) C1234, C1184, C1235 세 계통의 transcriptome sequencing

###### ① EST 생산 및 assembly

2차년도에 유전자지도 제작용 양친 조합으로 선발된 C1234, C1184, C1235 세 계통의 대규모 EST 정보를 생산하기 위하여 454 GS-FLX-Titanium을 이용하여 각각의 계통으로부터 mRNA를 추출하고 cDNA를 합성하였으며 Fig. 9와 같은 방법에 의해 각각의 품종의 cDNA에 대해 1/8 lane reaction으로 sequencing이 수행되었다. 각각의 품종으로부터 평균 길이 420bp로 약 92,000-120,000개의 발현유전자 정보가 생산되었는데 이는 전체 서열정보로는 37~53Mbp 길이에 해당하였다. 생산된 염기서열 데이터는 Newbler2.3 프로그램에서 98% 이상의 sequence

similarity로 assembly하였을 때 평균길이 약 750bp 정도의 isotig들이 형성되었다. 최종적으로 singlet을 포함하였을 때 각각의 계통에 대해 약 35,000 개 정도의 unigene set을 확보하였으며 이들의 전체 서열 정보는 14~17Mbp 정도로 양배추 전체 게놈의 약 2.5% 정도에 해당하는 정보를 얻을 수 있었다 (Table 8).

Table 8. Summary of 454 transcriptome sequencing and assembly data-1

	Reads No	Length	Isotigs No	Singles No	Singles Length	Largest Isotig	Avg Isotig Size	N50 Isotig Size	Largest Isotig Size
C1184	92,255	37,988,126	5,515	28,651	10,978,478	3,820	745	760	3,820
C1234	127,522	53,250,461	7,271	32,879	12,404,186	8,231	791	815	8,231
C1235	92,247	38,713,637	5,382	29,350	11,347,746	4,181	752	764	4,181

이 데이터가 생산된 이후, 3차년도에 뿌리혹병 저항성 관련 조합 양친들이 변경이 되어 454 GS-FLX로 생산된 데이터는 흑부병 관련 조합 양친(C1184와 C1234)에 대해서 분석을 진행하였다. Sequencing 결과로 생산된 raw data들을 다시 contig 형태로 전과 같은 방법으로 assembly한 결과들은 table 9와 같다.

Table 9. Summary of 454 transcriptome sequencing and assembly data-2 (Izzah et al. 2014)

Parameters	C1184	C1234
Response to black rot disease	Susceptible	Resistant
No. of HQ reads	92,255	127,522
Total number of assembled contigs	6,037	8,068
No. of singletons	28,651	32,879
No. of unigenes	34,688	40,947
Largest contig length (bp)	3,820	6,337
Average contig length (bp)	693	730
N50 length (bp)	734	781

Assembly결과 두 양친에서 각각 6,037개의 contig와 28,651개의 singleton (C1184), 8,068개의 contig들과 32,879개의 singleton(C1234)들이 형성되었고, 이 약 3만4천~4만개에 달하는 unigene set들을 상대로 functional annotation 분석을 실시하였다. NCBI non-redundant protein database에 BLASTx 알고리즘을 통해 similarity search를 하고, BLAST 결과들을 Blast2GO 프로그램을 통해 Gene Ontology(GO) term들을 얻어낼 수 있었다. GO level 2 수준에서 3개의 메인 카테고리에서 unigene distribution은 figure 7와 같다.

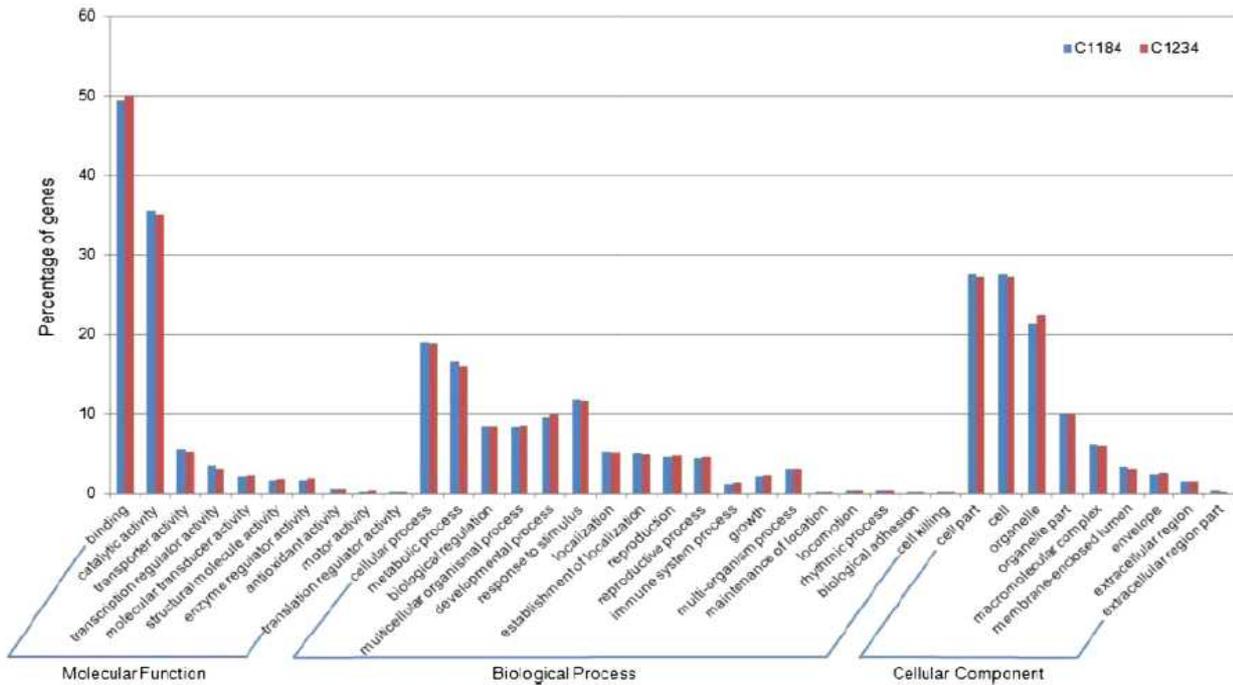


Figure 7. Functional classifications of C1184 and C1234 unigenes. (Izzah et al. 2014)

## ② EST-SSR 마커 개발 및 양친간 다형성 조사

EST기반 SSR마커는 transcripton이 일어난 유전자 서열에 존재하는 SSR motif들을 대상으로 마커를 제작하기 때문에 유전자와 직접적인 연관이 있는 서열에서 마커 개발을 하는 장점이 있고, 더불어 유전지도를 작성하고 현재 연구하고 있는 계통뿐만 아니라 이외의 계통 혹은 다른 근연종들의 연구에도 유용하게 활용될 수 있는 잠재성을 가지고 있어 이를 적극 이용하고자 마커제작을 실시하였다. 양친 두 계통중 C1234에서 assembled sequence를 대상으로 MISA 프로그램을 통해 SSR motif들을 탐색하였다(Table 10).

Table 10. Summary of EST-based SSRs identified (Izzah et al. 2014)

Investigated elements	Number
Total EST sequences examined	40,947
Total SSRs	2,405
- Dinucleotide motif	750
- Trinucleotide motif	1,591
- Tetranucleotide motif	24
- Pentanucleotide motif	12
- Hexanucleotide motif	28
ESTs containing SSRs (SSR-ESTs)	2,214
- ESTs containing 1 SSR	2,023
- ESTs containing more than 2 SSRs	96
- ESTs with SSRs in compound formation	95
SSR primer design	
- ESTs used for SSR primer design	937
- ESTs excluded for primer design	
· exact match between both parents	740
· short flanking sequence insufficient to design primers	624

2,214개의 EST에서 2,405개의 SSR motif들이 검색이 되었고, 탐색 대상의 염기서열이 EST라는 특성상 trinucleotide로 구성되는 motif들이 1,591(66.2%)개로 가장 많은 것을 확인할 수 있었다. 이들을 대상으로 937 프라이머set들이 제작되었고, 이미 genotyping에 사용된 여러 마커들과 동일하게 먼저 양친간 다형성 여부를 PCR 실험을 실시한 후 9% non-denaturing polyacrylamide gel에서 loading하여 전기영동을 함으로써 확인하였다(Fig 8).

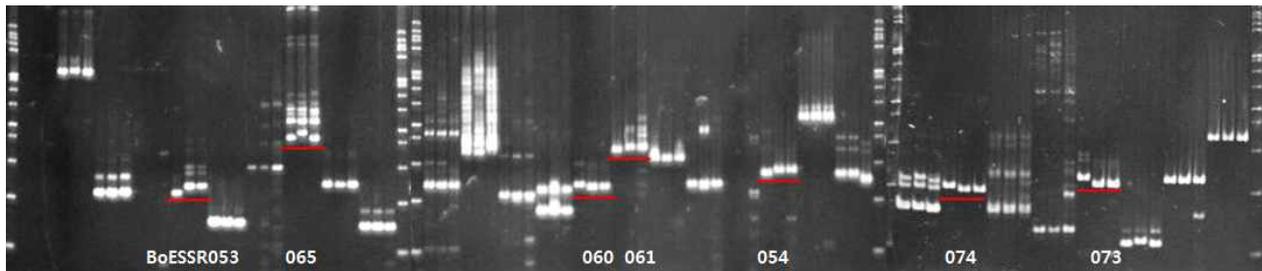


Figure 8. Parental survey of EST-SSR markers among C1234, C1184, and C1235.

제작된 937개의 EST-SSR 마커들 중 829개(88.5%) 마커가 성공적으로 amplicon들이 생성되었으며, 이중 116개(14.0%) 마커에서 양친간 다형성을 보였다(Table 11). 이 다형성 마커들 역시 후에 흑부병 관련 조합 유전지도 작성을 위해 F2 집단에 genotyping을 실시하였다.

Table 11. Summary of EST-SSR & SNPs between homologous EST pairs between C1184 and C1234

	designed	amplified	polymorphic
EST-SSR	937	829 (88.5%)	116 (14.0%)
EST-dCAPS	97	90 (92.8%)	49 (54.4%)

### ③ EST-dCAPS 마커 개발 및 양친간 다형성 조사

Single Nucleotide Polymorphism (SNP)은 SSR보다 그 수가 많아 대규모로 마커를 제작할 수 있는 장점이 있기 때문에 생산된 EST에서 양친 간 SNP에서 마커를 제작하였다. 먼저 C1184에서 assembled contig들에 CLC로 C1234에서 생산된 raw reads들을 mapping 하여 비교하는 방법으로 두 계통간 SNP 지역을 탐색하였고 총 1,327개의 SNP 지역을 발견하였다(Table 12). 발견된 전체 SNP 중에서 transition과 transversion은 각각 703, 464개였고, INDEL은 160개가 있었다. 이렇게 발견된 candidate SNP 지역을 dCAPS Finder 2.0 프로그램을 이용하여 dCAPS 마커로 제작하였다.

Table 12. Summary of SNPs between homologous EST pairs from two cabbage lines (Izzah et al. 2014)

Type of SNP	Number	
Transition	A <-> G	341
	C <-> T	362
	Total	703
Transversion	A <-> T	128
	G <-> T	110
	G <-> C	120
	A <-> C	106
Total	464	
Total SNPs	1,167	
INDELs	160	
Total	1,327	

제작된 프라이머 set를 사용하여 PCR 증폭을 시킨 이후 agarose gel에서 증폭 여부를 확인한 후에 각 프라이머 set에 해당하는 제한효소를 처리하여 37°C에서 overnight incubation을 시키고, 9% non-denaturing polyacrylamide gel에서 loading하여 전기영동을 실시하였다(Fig 9). 전체 97개의 dCAPS 마커가 제작되었고 그 중 92.78%에 해당하는 90개의 마커에서 성공적으로 PCR 증폭이 되었으며, 49개 마커(59.44%)에서 다형성을 확인하였다(Table 11).

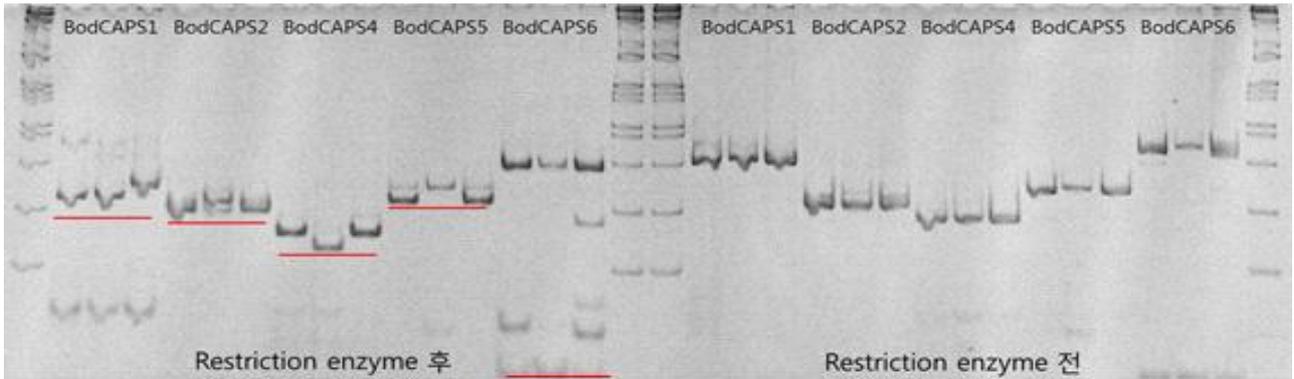


Figure 9. Parental survey of EST-dCAPS markers among C1234, C1184, and C1235.

④ 배추의 표준유전체 염기서열과의 비교를 통한 발현량 차이 조사

양배추의 표준유전체 정보를 확보하기 전에 생산된 EST에 대한 비교분석을 위해 근연종일 뿐만 아니라 실험실 생물정보분석 database에 구축되어 있던 배추의 유전체 정보를 reference로 삼는 방법으로 발현량의 차이를 알아보았다. Sequencing 하여 생산된 raw read들을 GSMapper 프로그램을 이용하여 90% sequence similarity 옵션으로 배추의 pseudo-chromosome sequence에 mapping을 실시하였다. 전체 raw read들 중 약 38~45% 정도의 read들이 *B. rapa* pseudo chromosome에 mapping 되었으며 이를 Gbrowse 형태로 구현하였다(table 13, fig 10).

Table 13. Summary of the result of comparative mapping of transcriptomes on *B.rapa* pseudo chromosome genome.

	C1184		C1234		C1235	
	No	%	Reads	No	%	Reads
Mapped Reads	89,631	38.33	123,348	45.59	89,244	42.46
Mapped Bases	12,352,596	32.65	21,580,147	40.64	14,532,674	37.66
Fully Mapped	22,596	24.50	27,841	21.84	20,221	21.93
Partially Mapped	9,379	10.17	12,307	9.65	8,567	9.29
Unmapped	2,203	2.39	3,627	2.84	2,631	2.85
Repeat	3,382	3.67	17,985	14.11	10,369	11.24
Chimeric	54,274	58.84	65,215	51.15	50,087	54.31
Too Short	404	0.44	528	0.41	342	0.37

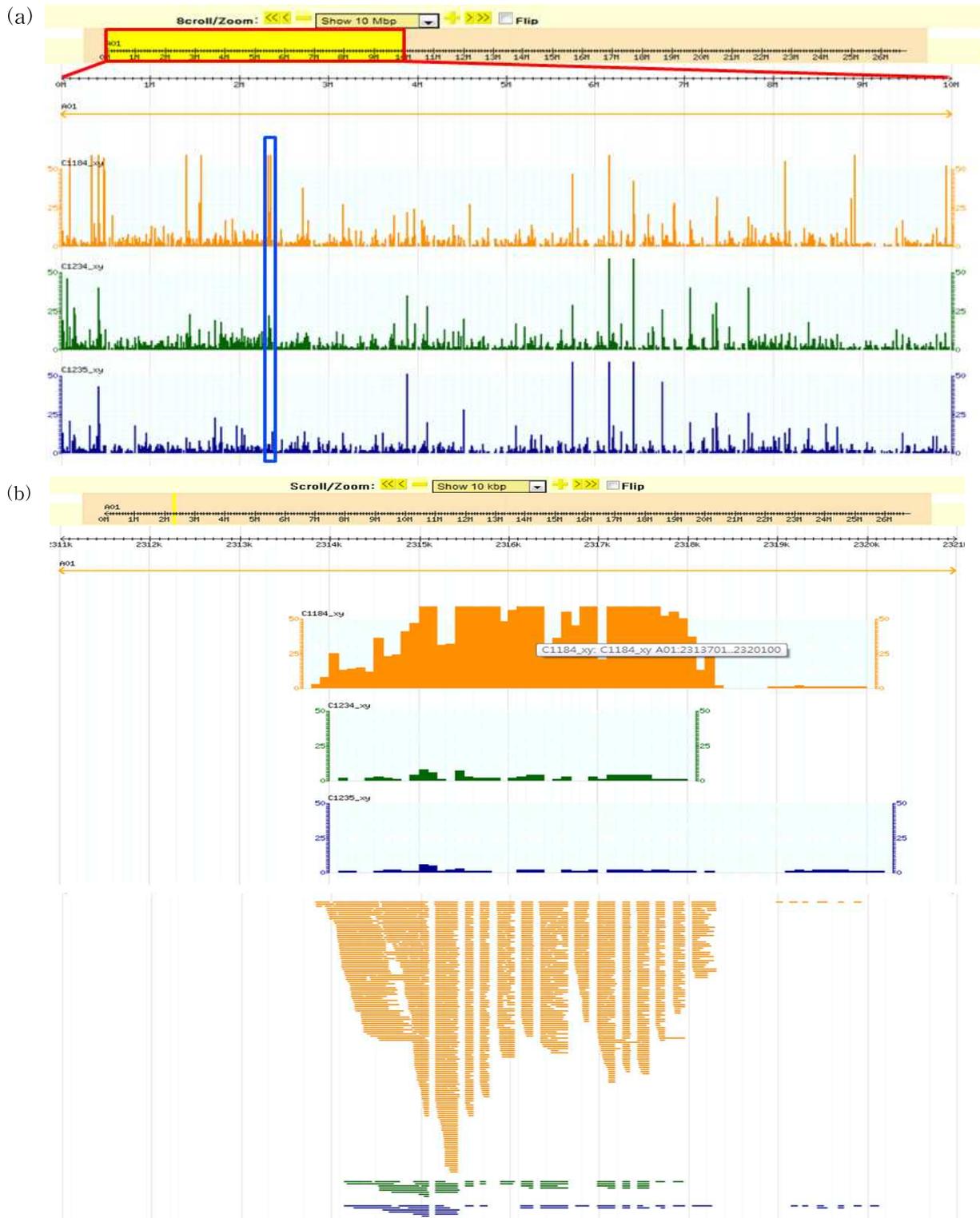


Figure 10. Pictures of comparative mapping of raw reads of 3 lines on *Brapa* pseudo chromosome 1 genome; (a) mapping results on 10 Mbp (Yellow region in red lines) of chromosome 1. (b) mapping on a 10 kb part of chromosome 1, which is zoomed-in region in blue box of (a)

(a)는 배추 1번 염색체 중 빨간색 선으로 둘러싸인 노란색으로 표시된 10Mbp 창에서 read 들이 mapping이 된 양을 나타낸 것으로 한눈에 계통간 발현량의 차이를 볼 수 있다. 좀 더 자세히 볼 수 있도록 파란색으로 표시된 부분을 zoom-in 하여 10kb 창으로 본 것이 (b) 그림

이다. 각각의 실제로 각각의 read들이 어떤 부위에 어떻게 mapping이 되었는지를 볼 수 있어 유용한 tool로 활용할 수 있다. 이렇게 발현량의 차이가 나는 유전자 지역을 screening하기 위해 RPKM (Reads Per Kilobase per Million mapped reads)으로 두배 이상 차이가 나는 지역을 찾아보았다(table 13).

Table 13. Characterization of gene regions which have different expression level in 2 combination.

	Black rot	Club-root
	C1184 x C1234	C1184 x C1235
No match	272	271
characterized	623	646
uncharacterized	154	123
Total	1049	1040

이 결과 흑부병 관련 조합에서 1049개 유전자 지역에서 C1184와 C1234 계통간에 발현량의 차이가 있는 것을 알아볼 수 있었고, 본 연구 초반 뿌리혹병 관련 조합 양친으로 선정했던 C1184와 C1235 사이에는 1040개의 유전자 지역에서 발현량의 차이가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 이렇게 screening하여 나온 유전자들은 NCBI에서 reference RNA sequence 데이터베이스에 BLASTN search를 실시함으로써 characterization을 하였고, 현재 이 유전자들이 어떤 gene family들로 이루어져 있는지에 대한 분석을 실시하였다(Fig 11). 약 천여개의 유전자들이 46개의 gene family들로 구성되어 있는 것을 알 수 있었으며, 빨간 줄로 표시된 gene family들은 식물이 병에 반응하는 데에 연관되어 있는 것으로 알려져 있다. 여기에 해당하는 유전자들이 실제로 흑부병 저항성 및 뿌리혹병 저항성에 연관되어 있는지에 대한 추가적인 연구가 진행중이다.

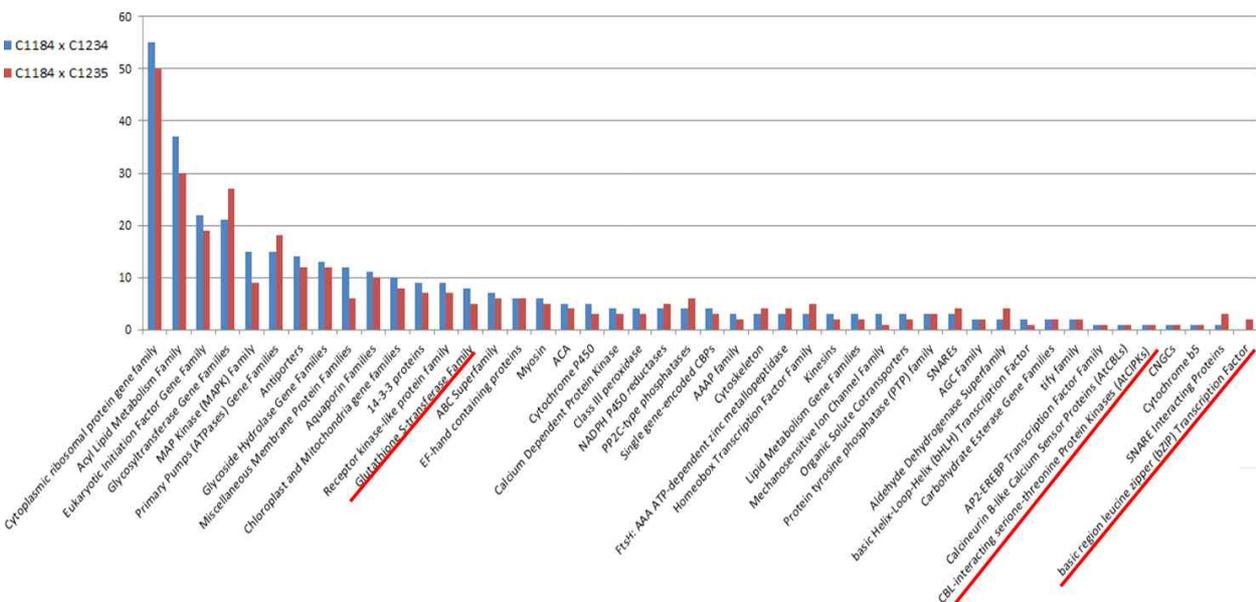


Figure 11. Gene family analysis of differential expressed ESTs in C1184 x C1234 and C1184 x C1235 combinations.

⑤ 통계적 분석을 통한 계통간 생산된 EST 발현량 차이 조사

두 양친 계통에서 생성된 전사물 중에서 발현량이 두배 이상 차이나는 것 유전자들에 대하여 negative binomical distribution의 통계모델을 사용하여 profiling을 실시하였다. 흑부병에 저항성인 C1234의 contig들을 reference로 하여 C1184와 C1234에서 생성된 raw read들을 RSEM 프로그램을 사용하여 mapping하였다. 총 27 EST에서 expression level이 차이가 나는 것을 확인할 수가 있었고 이를 heat map으로 구현하였다(Fig 12). 27 EST 중에 9개가 C1234에서 up-regulation, 18개가 down-regulation이 일어났음을 알 수 있었고, 가장 up-regulation이 일어난 EST는 contig06948로 Ankyrin repeat domain and RING finger-containing protein XBAT31 유전자이며, 가장 down-regulation이 일어난 EST는 contig06786으로 photosystem 1 light harvesting complex gene임을 알 수 있었다. XBAT31 유전자는 the ethylene biosynthesis enzymes aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase4 (acs4)와의 상호작용에 의해 ethylene content를 증가시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 이 ethylene의 증가는 흑부병 저항성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있어 이 연구에서 저항성에 관련있는 후보 유전자가 될 수도 있을 것으로 추측되어 추가적인 분석이 진행 중이다(Prasad et al, 2010).

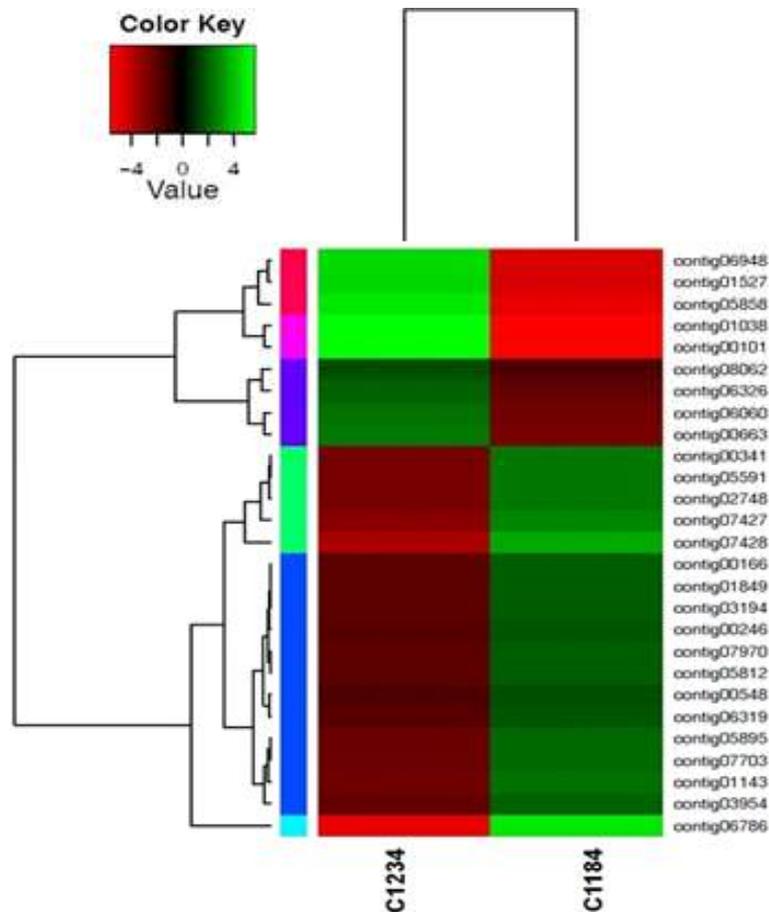


Figure 12. Different expression of 27 ESTs between C1184 and C1234 parental lines.

(나) 변경된 뿌리혹병 조합 양친 transcriptome sequencing

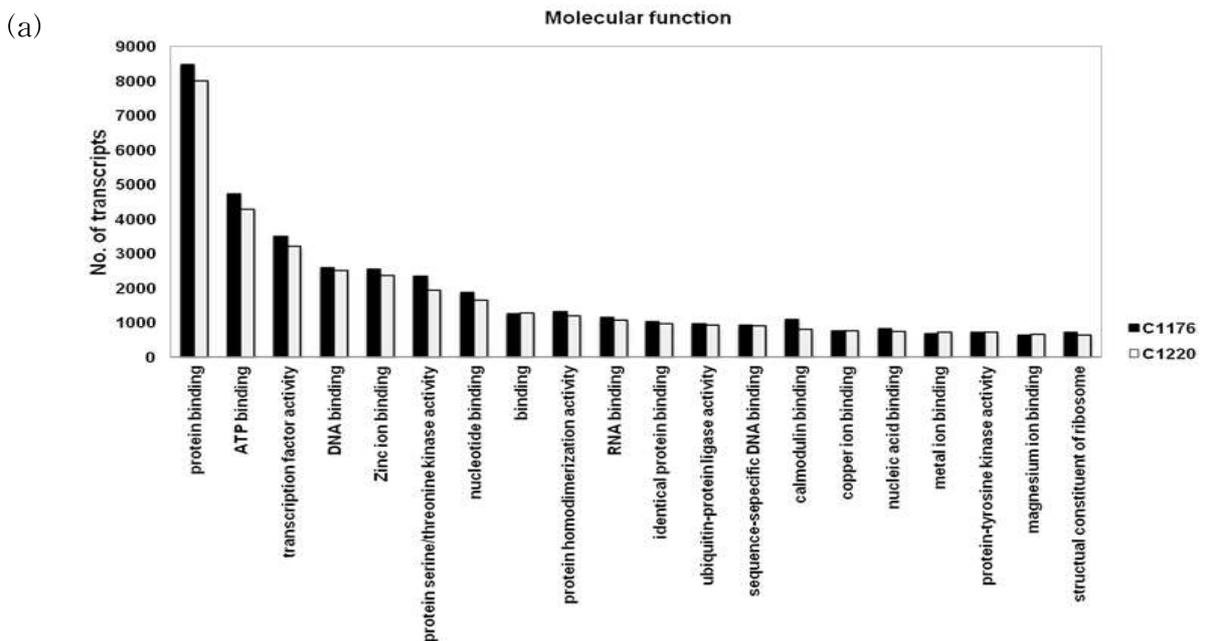
① EST 생산 및 assembly

기존 뿌리혹병 저항성 관련 조합 모부분이었던 C1184와 C1235 계통 간 교배가 이루어질 경우 후대에서 종자의 결실율이 다른 조합에 의해 상당히 저해된다는 문제점을 조은종묘로부터 듣고, 3차년도에 회의를 거쳐 새로운 모부분으로 변경하기로 결정하였다. 뿌리혹병 저항성 계통인 C1220을 모본으로 삼고, 이병성 계통인 C1176을 부분으로 한 F<sub>2</sub> 후대세대에서 유전 지도를 작성하기로 하였고, 모부분 두 계통에 대해서도 transcriptome sequencing을 수행하였다. Sequencing 기술은 Illumina Hi-seq 2000을 사용하였으며, read length가 450~500bp 정도인 454 GS-FLX Titanium과 비교했을 때 Illumina는 101bp 정도로 read length가 짧지만 생산되는 정보의 크기는 훨씬 큰 특징이 있다. 양친 모두에서 총 12~13 Gb의 정보가 생산이 되었고, 생산된 염기서열 정보는 Trinity 프로그램으로 assembly가 진행되었다. Assembly 결과 양친 모두에서 평균 1.5kb 정도의 contig가 생성되었고, C1176 계통에서는 59,892개, C1220 계통에서는 56,237개의 unigene set가 만들어졌다(Table 14).

Table 14. Summary of Illumina transcriptome sequencing and assembly data

	Reads No	Length	Sequence No	Length	Avg seq Size	N50 seq Size	Largest seq Size
C1176	113,578,646	11,172,869,375	59,892	91,219,867	1523	1,867	16,405
C1220	123,131,369	12,116,998,750	56,237	84,253,772	1498	1,839	16,384

생성된 EST들에 대한 functional annotation 분석을 2차년도에 GS-FLX로 생산한 EST와 같은 방법으로 진행하였다. 양친의 EST 정보의 GO distribution 결과는 figure 12과 같다.



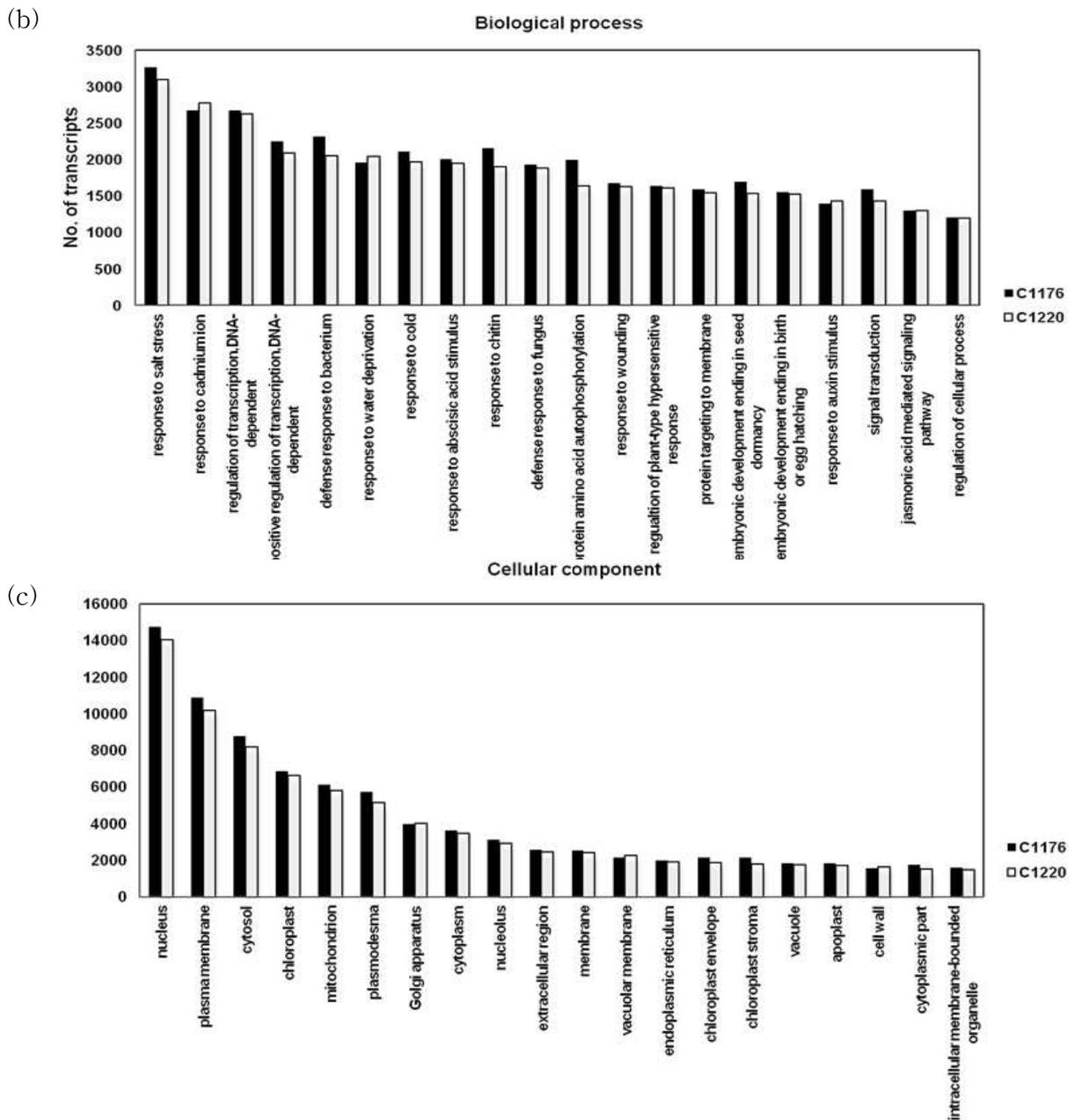


Figure 12. Functional classifications of C1176 and C1220 transcripts; (a)Molecular function , (b) Biological process, (c ) Cellular component

② 계통간 생산된 EST 발현량 차이 조사

C1176과 C1220 계통에서 생산된 EST에서 발현량 차이가 나는 유전자들을 profiling 하기 위해서 assembly하여 나온 EST에 Bowtie 프로그램을 이용하여 C1176 transcript에는 C1220 raw read들을, C1220 transcript에는 C1176 raw read들을 mapping 하였다. 이 후 RSEM 프로그램을 통해 transcript abundance 와 FPKM을 estimation을 한 후 통계적인 분석으로 발현량이 두배 이상 차이 나는 transcript들을 확인하였다(Table 15).

Table 15. Summary of differential expressed transcripts between C1176 and C1220

Sample	Statistically identified DEG (count)	Most significant DEG transcripts (FPKM) (p-value= 0.001 & FC= 2 fold)	
C1220 & C1176	8,331 (5,122 unigenes set)	1,782 (1,316 unigenes set)	
		Upregulated ( $\geq 2$ fold)	Downregulated ( $\leq 2$ fold)
		1,176 (958 NR)	606 (511 NR)

단순 통계적으로 발현량에 차이가 나는 transcript들은 8,331개가 발견되었고 이 중에서 두배 이상의 발현량 차이가 나는 것은 1,782개 transcripts(1,316 unigene sets) 였으며, 이 결과를 heat map으로 구현한 것이 figure 13과 같다.

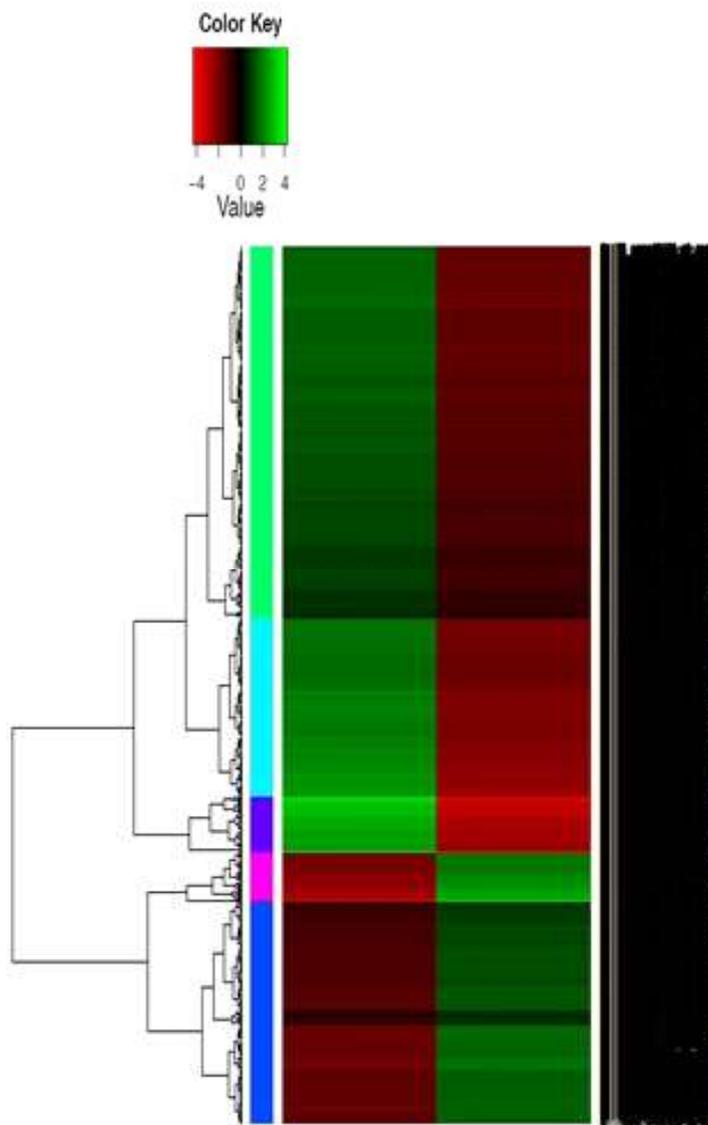


Figure 13. Heat-map of 1,782 differentially expressed transcripts between C1220 and C1176 lines.

현재까지 밝혀진 식물 병저항성 관련 유전자들은 대부분 NBS-LRR 도메인을 가지고 있는 것으로 많은 연구를 통해 알려져 있다. 따라서 두배 이상 발현량이 차이나는 1,782개의

transcript들 중에서 병 저항성 유전자들의 특성을 가지고 있는 것들이 얼마나 되는지에 대해서 살펴보았다. 뿌리혹병에 저항성인 C1220 계통에서 발현된 transcript들 중에서 NBS-LRR 도메인을 가지고 있으면서 C1176 계통과 두배 이상의 발현량을 보이는 것은 총 30개가 있었으며, 이 중에 up-regulated 는 21개, down-regulated 는 9개가 있었다(Table 16). 이 30개의 transcript 들에 대하여 heat-map으로 figure 14와 같이 표현할 수 있다. 이 유전자 지역들에 대하여 뿌리혹병 저항성의 후보 유전자로 보고 real time PCR 등으로 validation 하는 작업이 진행 중이다.

Table 16. Summary of differential expressed transcripts related to disease resistance between C1176 and C1220

	TIR-NBS-LRR	CC-NBS-LRR	Unclassified	Nr set	Total
No. of transcripts (C1220)	27	2	1	17	30 up-regulated : 21 down-regulated : 9

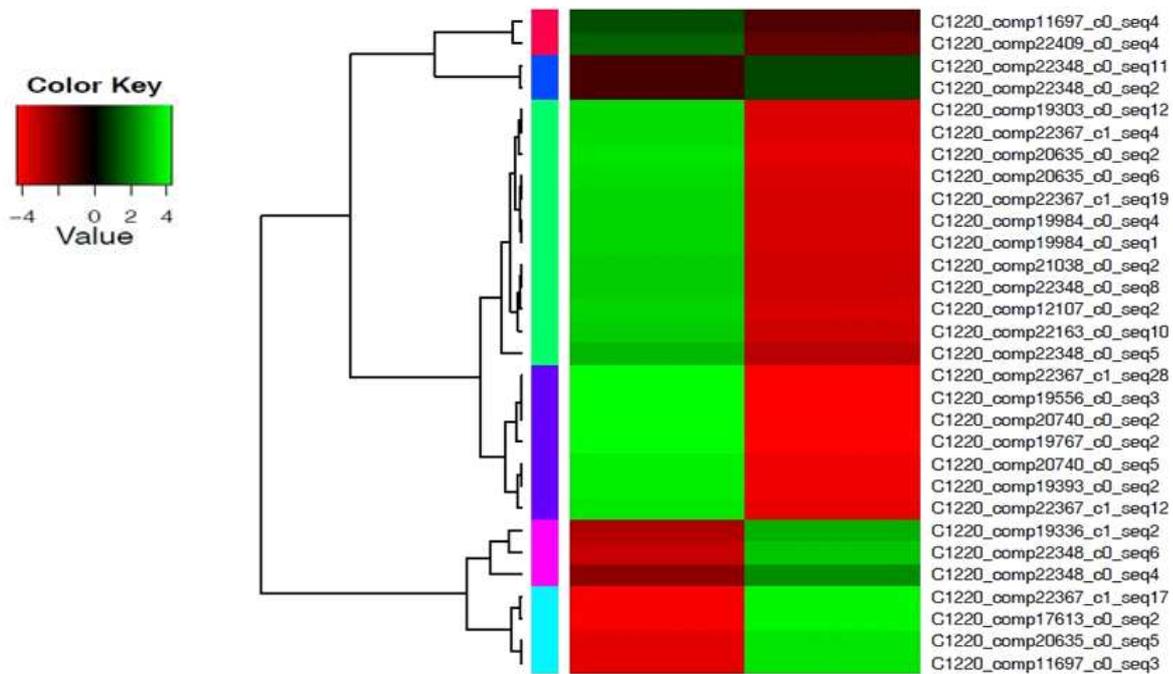


Figure 14. Heat-map of different expression of 30 NBS-LRR transcripts between C1220 and C1176

### ③ EST-dCAPS 마커 개발 및 양친간 다형성 조사

흑부병 조합 양친에서와 마찬가지로 C1176과 C1220 계통 EST 서열정보에서도 유전지도 작성의 목적을 갖고 SNP를 대상으로 한 dCAPS 마커를 제작하였고, PCR로 증폭된 product들은 9% non-denaturing acrylamide gel에 loading 하여 전기영동으로 확인하였다(Fig 15). 총 27개의 마커를 제작하여 26개 마커가 증폭이 되었고, 11개의 마커에서 다형성을 보였으며 이 중에서 4개의 마커는 heterozygous한 형태를 보이는 것을 확인하였다(Table 17).

Table 17. Summary of SNPs between homologous EST pairs from C1176 and C1220

	designed	amplified	polymorphic
EST_dCAPS	27	26 (92.78%)	11 (4) (54.44%)

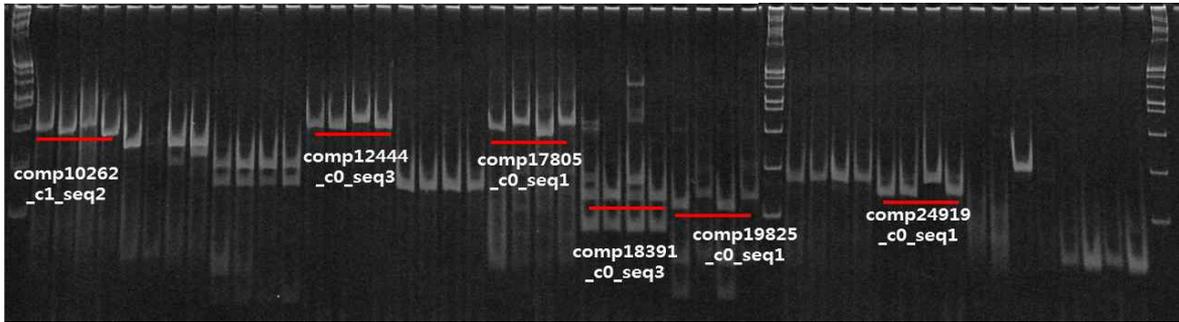


Figure 15. Parental survey of EST-dCAPS markers between C1176 and C1220

뿌리혹병 저항성 관련 양친은 프로젝트가 시작되고 3년이 지나서야 변경이 되었기 때문에 보다 빠른 유전지도 작성을 위해서 Genotyping by Sequencing 방법으로 genotyping이 진행 중이기 때문에 많은 수의 마커가 제작되지 않았다.

(2) 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 조합 4계통의 whole genome resequencing 정보의 활용

(가) Sequence data 생산 및 대규모 SNP 탐색

양배추 표준 유전체 염기서열 정보를 효율적으로 사용해보고자 4차년도에 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 조합 4개 모부분 양친들로 Illumina Hi-seq 2000 sequencer를 이용하여 whole genome shotgun resequencing을 진행하였다. 1차와 2차 두 번에 걸쳐 sequencing을 하여 table 18과 같이 계통 당 19~23x의 coverage에 해당하는 data를 얻을 수 있었다.

Table 18. Produced sequence data of whole genome resequencing of 4 lines

Sample	1차			2차		
	Reads No	Total Length	Coverage	Reads No	Total Length	Coverage
C1176	18,882,762	1,907,158,962 bp	3.0x	126,837,064	12,810,543,464	20.3x
C1184	12,683,216	1,281,004,816 bp	2.0x	114,454,524	11,559,906,924	18.3x
C1220	19,033,880	1,922,421,880 bp	3.0x	100,552,700	10,155,822,700	16.1x
C1234	15,476,252	1,563,101,452 bp	2.5x	113,830,992	11,496,930,192	18.2x

이 데이터들을 활용하여 대규모 SNP를 탐색하는 pipeline을 구축하였다(Fig 16). 과거 원시조상식물에서부터 triplication 이벤트를 겪어 3군데의 paralogous 관계 지역이 많이 존재하는 양배추 genome의 특성과 Illumina sequencing 기술의 원리를 고려하였다.

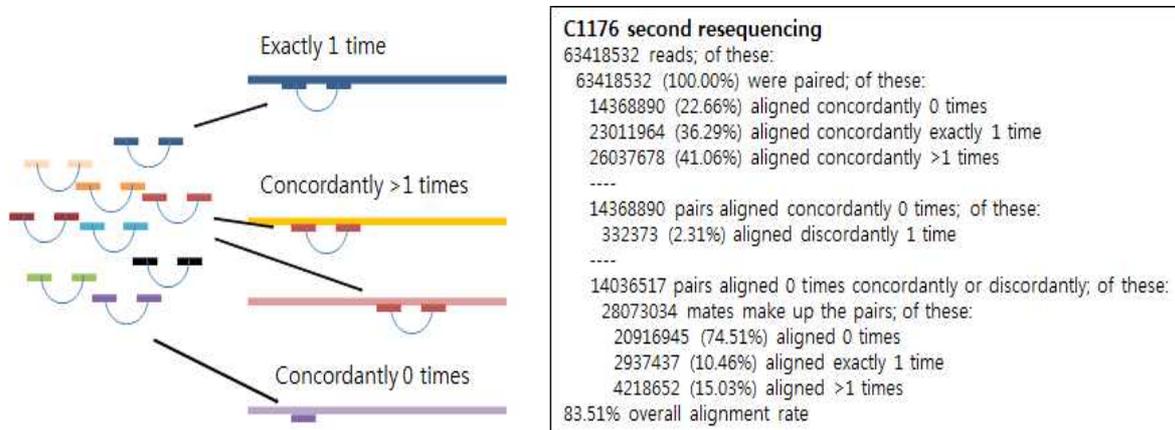


Figure 16. 양배추 대규모 SNP 탐색 방법

대상 식물 DNA를 insert size가 약 500bp 정도인 library를 제작하여 paired 101bp 씩 해독하여 정보가 생산되는데 이 raw read 데이터를 양배추 pseudo-molecule 형태의 reference 정보에 계통별로 mapping을 한다. Mapping 시에 paired read들이 insert size를 고려하여 정확한 위치에 붙는 read들만 사용하였고, 또한 paralogous 지역으로 인해 전체 유전체에 두 지역에 붙는 것은 제거하는 방식으로 SNP를 탐색하였다. 이 방법으로 양배추 4개 계통을 Canada 그룹으로부터 확보한 유전체정보를 기준으로 삼아 C1184와 C1234간, C1176과 C1220간 SNP들을 찾아내었다(Table 18). 두 조합에서 110만개가 넘는 SNP가 발견되었고, 염색체 수준에서 distribution을 한눈에 볼 수 있도록 figure 17과 같이 구현해본 결과 SNP의 분포는 조합 간에 지역별로 차이가 있는 것을 알 수 있었다.

Table 18. 양배추 4계통 2조합에서 탐색된 염색체별 SNP 갯수

	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	Total
C1184 x C1234	115,002	126,720	196,745	144,807	96,929	101,993	115,888	116,133	111,464	1,125,681
C1220 x C1176	108,957	104,473	180,842	127,039	123,948	108,428	116,241	106,748	178,968	1,155,644

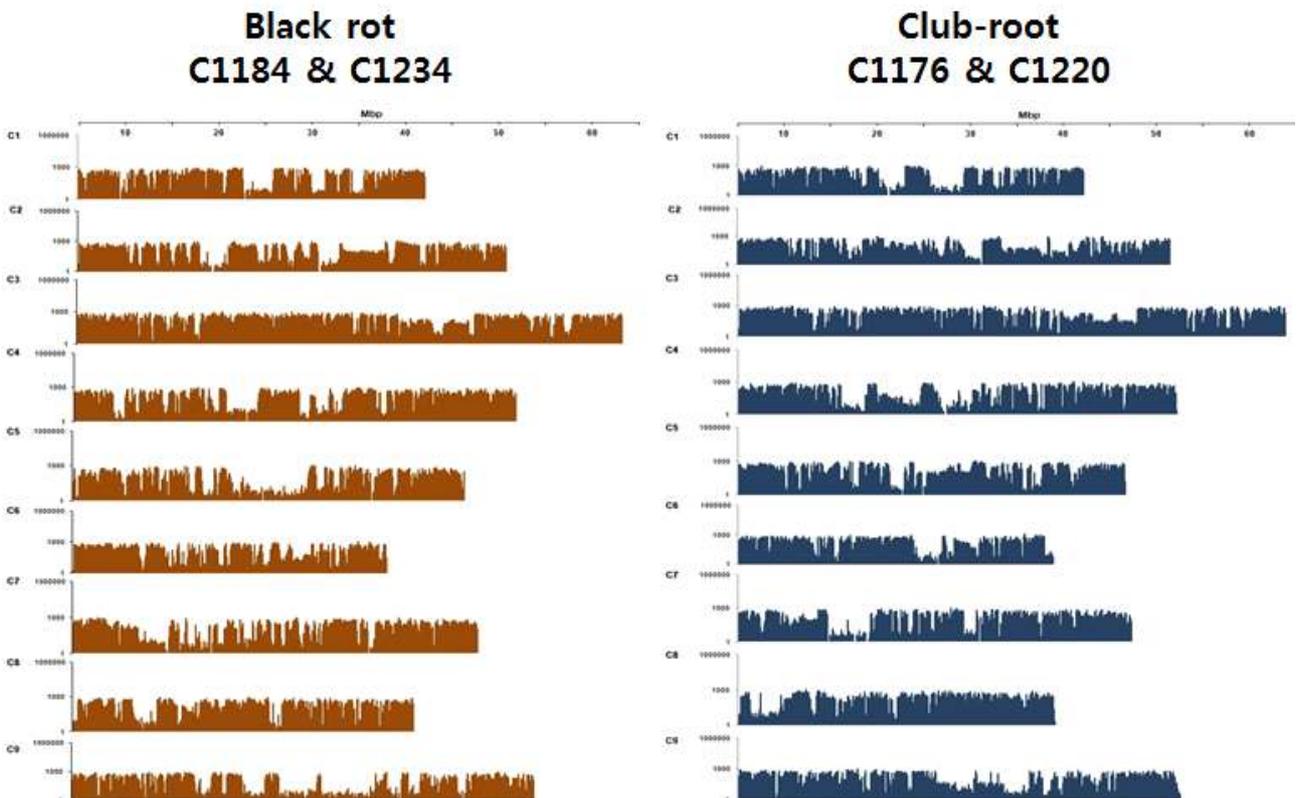


Figure 17. 양배추 9개 염색체 지역별 SNP distribution.

(나) SNP 지역을 대상으로 한 dCAPS 마커 제작

흑부병과 뿌리혹병 조합 모두 백만개가 넘는 candidate SNP들이 발견되었고 이를 대상으로 모부분 간에 다형성 마커를 찾기 위해 dCAPS 마커를 제작하였다. EST 정보를 사용하여 만든 방법과 동일하게 프라이머 set를 제작하였고, 동일한 실험방법으로 polymorphism을 확인하였다.

그 결과로 흑부병 관련 조합 양친 간에 제작된 188개 마커 중에서 143개(76.1%)가 성공적으로 PCR 증폭이 되었고, 그중 100개(69.9%) 마커에서 다형성을 보였다. 뿌리흑부병 관련 조합 양친 간에는 163개의 제작된 마커 중에서 121개(74.2%)가 증폭되었고, 79개(65.3%) 마커에서 다형성을 확인하였다(Table 19)

Table 19. 양배추 4계통 2조합에서 탐색된 염색체별 SNP 갯수

	Designed	Amplified	Polymorphic
Black rot (C1184 x C1234)	188	143 76.1 %	100 (23) 69.9 %
Club-root (C1220 x C1176)	163	121 74.2 %	79 (18) 65.3 %

### 3. 모부분 계통간 다형성 마커를 이용한 분자유전지도 작성

#### 가. 흑부병 조합 분자유전지도 작성

유전지도 작성을 작성하기 위해 이전 chapter에서 양친 간 다형성 조사를 마친 많은 종류의 마커들 중에서 C1184와 C1234계통 사이에 polymorphic 마커들을 사용하여 F<sub>2</sub> 97개 개체들에 대하여 genotyping을 실시하여 모계, 부계, 혹은 heterozygous type을 갖는지를 확인하였다. 마커들 중에서는 양친 계통간에 다형성은 보였으나 이를 집단에 적용하였을 때, 결과가 깨끗하지 않거나 3가지 type이 아닌 두가지 type만 보이는 마커들은 제외되었으며, table 와 같이 총 354개의 마커로 분석이 되었다(Table 20). 이는 4차년도에 게재한 논문보다 89개 마커가 추가된 것으로 더 높은 density의 map을 만들 수 있었다(Izzah et al. 2014). Genotyping 결과와 이에 대한 이론 분리비 1:2:1에 적합도 여부를 확인한 chi-square 검정결과는 table 21과 같다.

Table 20. Summary of used markers for F<sub>2</sub> genotyping for black rot combination

Marker type	No. of markers
Reported SSR	92
IBP	58
EST-SSR	98
EST-dCAPS	26
Resequencing-dCAPS	73
others (MIP, SSR)	7
Total	354

Table 21. Chi-square test for 94 F<sub>2</sub> mapping population against black rot disease

No.	Marker name	Observed value				Chi-square	P-value
		P1	H	P2	total		
1	BoESSR045-u	18	55	21	94	2.91	0.23
2	RSdcaps1-4	19	50	24	93	1.06	0.59
3	CB10097	21	51	22	94	0.7	0.70
4	RSdcaps1-5	20	52	20	92	1.57	0.46
5	BoESSR472	20	53	20	93	1.82	0.40
6	BoREM_1b	19	53	21	93	1.9	0.39
7	BoESSR031	17	56	21	94	3.79	0.15
8	O112-F11	17	52	25	94	2.43	0.30
9	KC40590-5	16	57	21	94	4.79	0.09

10	RSdcaps1-6	16	59	17	92	7.37*	0.03
11	H073E22-3	15	59	20	94	6.66*	0.04
12	BnGMS301	15	58	21	94	5.91	0.05
13	BoESSR726	15	60	19	94	7.53*	0.02
14	BoESSR145	14	59	21	94	7.17*	0.03
15	RSdcaps1-19	15	56	20	91	5.4	0.07
16	BoESSR089	17	56	23	96	3.42	0.18
17	BoESSR216	14	54	25	93	5.02	0.08
18	Rsdcaps1-28	16	60	18	94	7.28*	0.03
19	Rsdcaps1-33	16	59	18	93	6.81*	0.03
20	Rsdcaps1-32	17	59	18	94	6.15*	0.05
21	Rsdcaps1-29	16	60	18	94	7.28*	0.03
22	Rsdcaps1-11	17	59	18	94	6.15*	0.05
23	RSdcaps1-13	15	57	20	92	5.8	0.05
24	RSdcaps1-14	20	58	16	94	5.49	0.06
25	BnGMS299	23	52	15	90	3.6	0.17
26	BoEcaps4	17	57	19	93	4.83	0.09
27	RSdcaps1-10	21	49	18	88	1.34	0.51
28	BoESSR632	21	54	19	94	2.17	0.34
29	KR30260-2	24	49	19	92	0.93	0.63
30	RSdcaps1-22	25	49	20	94	0.7	0.70
31	RSdcaps1-25	30	45	18	93	3.19	0.20
32	RSdcaps1-27	32	41	20	93	4.4	0.11
33	Ni4-B10	33	39	22	94	5.3	0.07
34	RSdcaps2-12	17	61	15	93	9.13*	0.01
35	BoSF2447	17	45	24	86	1.33	0.52
36	RSdcaps2-1	20	48	25	93	0.63	0.73
37	sR12095	21	46	25	92	0.35	0.84
38	O111-H09	21	48	25	94	0.38	0.83
39	BoSF2294	19	48	24	91	0.82	0.66
40	RSdcaps2-13	18	51	22	91	1.68	0.43
41	BoSF2479	20	41	30	91	3.09	0.21
42	RSdcaps2-16	16	46	31	93	4.85	0.09
43	RSdcaps2-17	19	45	29	93	2.25	0.33
44	BoEcaps11	19	32	38	89	15.13**	0.00
45	BoESSR122	21	46	27	94	0.81	0.67
46	BoESSR482	23	44	26	93	0.46	0.79
47	RSdcaps2-6	23	46	23	92	0	1.00
48	Na12-H09	22	45	23	90	0.02	0.99
49	CB10026	22	47	25	94	0.19	0.91
50	PBCGSSRBo30	21	48	25	94	0.38	0.83
51	CB10093	20	49	23	92	0.59	0.75
52	O110-C05	21	47	26	94	0.53	0.77
53	BoESSR193	21	47	26	94	0.53	0.77
54	BoSF1275	19	47	26	92	1.11	0.57
55	BoESSR151	19	49	24	92	0.93	0.63
56	BoSF2745	21	48	24	93	0.29	0.86
57	BrSF556	19	49	26	94	1.21	0.55
58	Rsdcaps1-35	18	50	26	94	1.74	0.42
59	BoSF996	19	48	27	94	1.4	0.50
60	RSdcaps2-10	22	43	27	92	0.93	0.63
61	B078G17-5	21	42	26	89	0.84	0.66
62	BnGMS629	19	49	26	94	1.21	0.55
63	BoSF2532	19	46	29	94	2.17	0.34
64	BoESSR262	21	44	26	91	0.65	0.72
65	BoEcaps32	19	46	25	90	0.84	0.66
66	BoESSR281	19	47	26	92	1.11	0.57
67	M1-BoI-21(18)	26	39	25	90	1.62	0.44

68	RSdcaps3-1	30	45	18	93	3.19	0.20
69	CB10513	28	47	17	92	2.67	0.26
70	CB10263	28	47	16	91	3.26	0.20
71	BoESSR045-d	33	46	18	97	4.9	0.09
72	BoESSR844	33	43	17	93	6.03*	0.05
73	BoESSR673	34	44	15	93	8.03*	0.02
74	RSdcaps3-4	30	42	21	93	2.61	0.27
75	H048M02-5	28	38	24	90	2.53	0.28
76	BoESSR685	26	41	25	92	1.11	0.57
77	BoEcaps43	32	35	24	91	6.25*	0.04
78	BoEcaps34	33	33	25	91	8.27*	0.02
79	BoE506	26	43	25	94	0.7	0.70
80	H003D18-3	27	41	24	92	1.28	0.53
81	H072P15-5	26	46	22	94	0.38	0.83
82	BoESSR086	27	43	24	94	0.87	0.65
83	OII0-B04	26	46	25	97	0.28	0.87
84	B086M08_1	26	45	23	94	0.36	0.83
85	BoESSR079	24	48	22	94	0.13	0.94
86	H021E08-5	23	48	23	94	0.04	0.98
87	BoESSR766	24	47	23	94	0.02	0.99
88	BoESSR510	23	48	23	94	0.04	0.98
89	BoEcaps35	23	46	23	92	0	1.00
90	BoESSR614	21	50	23	94	0.47	0.79
91	BoESSR541	21	50	23	94	0.47	0.79
92	Rsdcaps3-22	21	48	24	93	0.29	0.86
93	Rsdcaps3-20	21	44	28	93	1.32	0.52
94	Rsdcaps3-19	21	48	24	93	0.29	0.86
95	Rsdcaps3-18	20	50	24	94	0.72	0.70
96	Rsdcaps3-16	19	53	22	94	1.72	0.42
97	Rsdcaps3-14	19	53	22	94	1.72	0.42
98	Rsdcaps3-12	19	53	22	94	1.72	0.42
99	B041F06-2	18	54	22	94	2.43	0.30
100	BoESSR291	17	45	19	81	1.1	0.58
101	OII1-G11	18	51	24	93	1.65	0.44
102	BnGMS417	18	55	21	94	2.91	0.23
103	RSdcaps3-8	20	53	21	94	1.55	0.46
104	BoESSR492	18	51	23	92	1.63	0.44
105	CNU099	20	51	23	94	0.87	0.65
106	BoESSR030	21	50	23	94	0.47	0.79
107	M1-Bol-61	22	49	22	93	0.27	0.87
108	BoESSR358	20	47	23	90	0.38	0.83
109	PBCGSSRB038	23	51	20	94	0.87	0.65
110	H004A02-3	23	49	22	94	0.19	0.91
111	H004A02-4	23	47	21	91	0.19	0.91
112	H001K17-3	23	48	23	94	0.04	0.98
113	H001K17-4	23	47	22	92	0.07	0.97
114	BoESSR065	23	48	23	94	0.04	0.98
115	MR013	23	48	21	92	0.26	0.88
116	BoESSR168	23	49	22	94	0.19	0.91
117	OII3-A10	23	50	21	94	0.47	0.79
118	BnGMS575	22	50	20	92	0.78	0.68
119	Na12-F12	23	50	20	93	0.72	0.70
120	BoESSR560	22	51	20	93	0.96	0.62
121	C03u-2	22	47	21	90	0.2	0.90
122	BnGMS273	23	52	22	97	0.53	0.77
123	BoESSR077	22	52	20	94	1.15	0.56
124	CALSSR	20	55	19	94	2.74	0.25
125	BnGMS289	25	50	19	94	1.15	0.56

126	CB10629	25	50	19	94	1.15	0.56
127	BoEcaps65	19	46	19	84	0.76	0.68
128	BoEcaps22	21	54	19	94	2.17	0.34
129	BoESSR073	21	54	19	94	2.17	0.34
130	BoESSR186	24	48	18	90	1.2	0.55
131	cnu286	22	56	16	94	4.21	0.12
132	BrSF024	22	44	25	91	0.3	0.86
133	BoESSR105	22	48	24	94	0.13	0.94
134	KR20980-2	19	49	26	94	1.21	0.55
135	BoESSR303	20	49	25	94	0.7	0.70
136	BRAS072	20	51	23	94	0.87	0.65
137	RSdcaps4-2	19	50	24	93	1.06	0.59
138	sS2277	20	45	28	93	1.47	0.48
139	BoESSR467	21	46	26	93	0.55	0.76
140	BoSF1269	20	49	25	94	0.7	0.70
141	BoSF184	9	60	25	94	12.64**	0.00
142	BoESSR333	21	46	24	91	0.21	0.90
143	BoE862	21	48	25	94	0.38	0.83
144	BoESSR845	20	48	24	92	0.52	0.77
145	BoE149	20	46	26	92	0.78	0.68
146	BoSF1818	21	47	25	93	0.35	0.84
147	B071M14-5	22	47	25	94	0.19	0.91
148	BoESSR515	20	47	24	91	0.45	0.80
149	BoSF2435	21	48	25	94	0.38	0.83
150	BoE129	21	48	25	94	0.38	0.83
151	B096E22-4	23	44	24	91	0.12	0.94
152	BoSF1941	21	46	25	92	0.35	0.84
153	BoSF2370	21	48	25	94	0.38	0.83
154	BoE530	21	48	25	94	0.38	0.83
155	BoSF2645	21	47	25	93	0.35	0.84
156	Na10-D09	21	47	24	92	0.24	0.89
157	Rsdcaps4-8	22	47	25	94	0.19	0.91
158	KR31040-1	22	44	26	92	0.52	0.77
159	B043N17-1	22	44	26	92	0.52	0.77
160	BoSF2212	21	46	27	94	0.81	0.67
161	BoSF2230	21	46	27	94	0.81	0.67
162	BoESSR208	21	46	27	94	0.81	0.67
163	sN0464	21	45	28	94	1.21	0.55
164	BoESSR087	20	45	29	94	1.89	0.39
165	B080L16-1	25	41	25	91	0.89	0.64
166	BoESSR286	24	42	28	94	1.4	0.50
167	BoESSR108	23	44	27	94	0.72	0.70
168	BoEcaps18	24	44	23	91	0.12	0.94
169	CNU246	23	42	27	92	1.04	0.59
170	B094O17-5	23	41	30	94	2.57	0.28
171	KC20460-2	23	43	27	93	0.87	0.65
172	BoESSR409	24	43	27	94	0.87	0.65
173	BoESSR763	24	40	30	94	2.85	0.24
174	KR11180-2	27	36	31	94	5.49	0.06
175	RSdcaps4-18	23	45	22	90	0.02	0.99
176	BnGMS160	24	50	19	93	1.06	0.59
177	OH10-B01	21	53	20	94	1.55	0.46
178	BoESSR248	20	49	25	94	0.7	0.70
179	Rsdcaps5-2	9	56	28	93	11.65**	0.00
180	Rsdcaps5-3	23	56	15	94	4.81	0.09
181	Rsdcaps5-4	28	49	17	94	2.74	0.25
182	H091P21-1	28	51	14	93	5.09	0.08
183	comp17805	36	46	12	94	12.3**	0.00

184	BoEcaps69	36	43	13	92	11.89**	0.00
185	BRAS052	36	49	9	94	15.68**	0.00
186	BoESSR945	39	45	10	94	18.06**	0.00
187	B035G16-2	40	43	10	93	19.88**	0.00
188	comp10262	41	44	9	94	22.17**	0.00
189	C05-46	40	42	10	92	20.26**	0.00
190	B096E22-3	40	43	10	93	19.88**	0.00
191	BoESSR305	41	44	9	94	22.17**	0.00
192	O105_MS025	40	44	10	94	19.53**	0.00
193	C05-21	41	38	9	88	24.91**	0.00
194	BoESSR343	41	44	9	94	22.17**	0.00
195	Rsdcaps5-8	41	45	8	94	23.34**	0.00
196	Rsdcaps5-12	41	45	8	94	23.34**	0.00
197	C05-44	42	41	8	91	26.3**	0.00
198	C05-38	39	41	9	89	20.78**	0.00
199	H015M19-4	42	43	9	94	23.85**	0.00
200	Rsdcaps5-7	39	46	8	93	20.68**	0.00
201	Rsdcaps5-9	40	45	8	93	22.12**	0.00
202	BoEcaps109	42	43	9	94	23.85**	0.00
203	CB10435	42	42	10	94	22.85**	0.00
204	B094O17-2	39	44	11	94	17.06**	0.00
205	Na10-A08	34	51	9	94	13.98**	0.00
206	C05u-3	43	39	9	91	27.26**	0.00
207	C05_12	45	40	8	93	31.26**	0.00
208	C05_8	42	42	8	92	25.83**	0.00
209	B053k16-1	40	45	9	94	20.62**	0.00
210	B092A24-4	41	44	9	94	22.17**	0.00
211	BoESSR752	41	44	9	94	22.17**	0.00
212	CB10229	42	42	10	94	22.85**	0.00
213	BoESSR414	29	52	13	94	6.51*	0.04
214	BoESSR902	28	52	14	94	5.23	0.07
215	BoESSR207	27	51	16	94	3.26	0.20
216	M2-Bol-30	25	52	17	94	2.43	0.30
217	BoESSR206	27	51	16	94	3.26	0.20
218	BoEcaps42	26	41	15	82	2.95	0.23
219	Rsdcaps6-2	27	47	20	94	1.04	0.59
220	Rsdcaps6-5	26	49	19	94	1.21	0.55
221	KC11470-3	26	47	21	94	0.53	0.77
222	Rsdcaps6-29	26	47	20	93	0.78	0.68
223	Rsdcaps6-30	27	47	20	94	1.04	0.59
224	H012I05-5	26	44	21	91	0.65	0.72
225	BoESSR863	24	50	20	94	0.72	0.70
226	Rsdcaps6-32	23	53	18	94	2.06	0.36
227	Rsdcaps6-34	21	45	22	88	0.07	0.97
228	Rsdcaps6-26	25	43	26	94	0.7	0.70
229	BoEcaps50	22	42	25	89	0.48	0.79
230	Na12-A02	23	45	26	94	0.36	0.83
231	Rsdcaps6-25	26	41	26	93	1.3	0.52
232	21ND-M1-boV21	22	44	27	93	0.81	0.67
233	BoESSR416	21	44	26	91	0.65	0.72
234	sR12387	22	44	28	94	1.15	0.56
235	Rsdcaps6-22	15	50	29	94	4.55	0.10
236	O110-G06	19	46	25	90	0.84	0.66
237	BnGMS353	21	47	26	94	0.53	0.77
238	BoESSR576	20	45	27	92	1.11	0.57
239	KC11470-1	20	48	26	94	0.81	0.67
240	BoKAH45TR	20	47	26	93	0.78	0.68
241	CB10526	20	48	26	94	0.81	0.67

242	BoESSR041	20	50	24	94	0.72	0.70
243	CB10234	19	52	23	94	1.4	0.50
244	BoESSR903	20	50	23	93	0.72	0.70
245	Rsdcaps6-9	19	52	23	94	1.4	0.50
246	Rsdcaps6-20	21	49	24	94	0.36	0.83
247	BoESSR581	20	51	23	94	0.87	0.65
248	MR156	19	52	23	94	1.4	0.50
249	Rsdcaps6-16	18	51	24	93	1.65	0.44
250	BoEcaps102	20	50	23	93	0.72	0.70
251	BoSF2369	22	51	21	94	0.7	0.70
252	BoESSR080	22	70	2	94	31.02**	0.00
253	BoEcaps101	21	48	23	92	0.26	0.88
254	O110-H04	23	33	23	79	2.14	0.34
255	B051E13-3	22	46	24	92	0.09	0.96
256	BoESSR053	23	47	24	94	0.02	0.99
257	CB10528	23	45	26	94	0.36	0.83
258	BoESSR389	18	50	25	93	1.58	0.45
259	BoESSR723	18	50	25	93	1.58	0.45
260	BoESSR854	19	49	22	90	0.91	0.63
261	BoESSR212	19	49	24	92	0.93	0.63
262	CNU400	20	49	25	94	0.7	0.70
263	CB10014	20	51	22	93	0.96	0.62
264	BRMS-050	19	48	26	93	1.15	0.56
265	BRMS-042-2	18	50	26	94	1.74	0.42
266	KC30890-3	19	49	26	94	1.21	0.55
267	BoESSR523	18	52	24	94	1.83	0.40
268	BoEcaps38	18	53	22	93	2.16	0.34
269	CB10034	18	51	25	94	1.72	0.42
270	H073E22-1	19	51	24	94	1.21	0.55
271	KC40650-1	21	56	17	94	3.79	0.15
272	KC40680-3	21	51	18	90	1.8	0.41
273	B047J10-4	18	62	13	93	10.87**	0.00
274	BoESSR814	17	59	16	92	7.37*	0.03
275	BoESSR943	17	63	14	94	11.09**	0.00
276	KC40890-3	19	59	16	94	6.32*	0.04
277	BoESSR125	18	61	15	94	8.53*	0.01
278	BoESSR370	20	58	15	93	6.23*	0.04
279	BoESSR758	20	59	15	94	6.66*	0.04
280	MR187	12	67	15	94	17.21**	0.00
281	BoESSR553	28	60	4	92	21.04**	0.00
282	Rsdcaps8-5	26	52	16	94	3.19	0.20
283	BoESSR074	27	48	17	92	2.35	0.31
284	BoESSR702	29	47	18	94	2.57	0.28
285	sA34	30	48	18	96	3	0.22
286	BoESSR403	30	43	21	94	2.4	0.30
287	B065D24-5	31	43	20	94	3.26	0.20
288	BoESSR719	30	42	22	94	2.43	0.30
289	Rsdcaps8-6	28	44	22	94	1.15	0.56
290	Rsdcaps8-9	29	40	25	94	2.43	0.30
291	Rsdcaps8-8	29	42	23	94	1.83	0.40
292	BoESSR935	31	39	24	94	3.77	0.15
293	BoEcaps44	31	40	23	94	3.45	0.18
294	BoEcaps45	31	40	23	94	3.45	0.18
295	BoESSR934	34	42	18	94	6.51*	0.04
296	BoESSR060	35	43	16	94	8.36*	0.02
297	Rsdcaps8-10	33	44	17	94	5.83	0.05
298	BoESSR371	32	45	17	94	4.96	0.08
299	KC20380-3	32	46	16	94	5.49	0.06

300	BoESSR251	32	47	15	94	6.15*	0.05
301	BoESSR054	32	47	15	94	6.15*	0.05
302	H015M19-5	30	41	16	87	4.79	0.09
303	BoEcaps54	32	43	17	92	5.28	0.07
304	CB10042	33	45	16	94	6.32*	0.04
305	BoESSR338	31	44	19	94	3.45	0.18
306	KC10330-3	30	47	17	94	3.6	0.17
307	H022L18-3	29	45	20	94	1.89	0.39
308	At1g01608	26	49	19	94	1.21	0.55
309	sORB29A	26	49	19	94	1.21	0.55
310	BnGMS340	26	48	19	93	1.15	0.56
311	CB10139	25	46	22	93	0.2	0.90
312	H121P05-1	36	39	19	94	8.87*	0.01
313	B009P13-4	39	38	17	94	13.74**	0.00
314	B009P13-3	37	39	16	92	11.72**	0.00
315	BoEcaps52	38	37	19	94	11.94**	0.00
316	BoESSR538	36	38	20	94	8.89*	0.01
317	H106N11-4	38	37	16	91	13.81**	0.00
318	KR51130-2	39	47	8	94	20.45**	0.00
319	KR50760-2	35	44	14	93	9.75**	0.01
320	S003M22-1	35	45	14	94	9.55**	0.01
321	PBCGSSRBo2	35	42	17	94	7.96*	0.02
322	BoESSR061	23	51	20	94	0.87	0.65
323	BoESSR453	25	48	19	92	0.96	0.62
324	KC20250-1	26	41	17	84	1.98	0.37
325	BoEcaps60	24	48	20	92	0.52	0.77
326	KC20250-2	26	47	19	92	1.11	0.57
327	Iso0857_371bc	24	48	22	94	0.13	0.94
328	BoESSR920	26	46	22	94	0.38	0.83
329	BoESSR035	29	44	18	91	2.76	0.25
330	C05-49	26	55	13	94	6.32*	0.04
331	H099I08-130	26	45	23	94	0.36	0.83
332	niab022	28	45	21	94	1.21	0.55
333	BoESSR484	26	44	24	94	0.47	0.79
334	O113-C03	27	43	22	92	0.93	0.63
335	BnGMS213	28	42	24	94	1.4	0.50
336	BoESSR165	27	41	25	93	1.39	0.50
337	BoESSR570	26	42	26	94	1.06	0.59
338	BoESSR565	25	43	26	94	0.7	0.70
339	Rsdcaps9-10	25	43	26	94	0.7	0.70
340	Rsdcaps9-9	25	43	26	94	0.7	0.70
341	Rsdcaps9-4	27	41	26	94	1.55	0.46
342	BoESSR029	25	44	25	94	0.38	0.83
343	Rsdcaps9-15	24	44	26	94	0.47	0.79
344	Rsdcaps9-14	25	44	25	94	0.38	0.83
345	BoESSR901	24	45	24	93	0.1	0.95
346	Rsdcaps9-29	24	45	25	94	0.19	0.91
347	H054I24-1	26	43	25	94	0.7	0.70
348	BoESSR391	27	42	25	94	1.15	0.56
349	M1-Bol-16	32	31	23	86	8.58*	0.01
350	B007J05-2	26	42	26	94	1.06	0.59
351	B075D20-5	26	42	26	94	1.06	0.59
352	Rsdcaps9-33	28	44	22	94	1.15	0.56
353	Rsdcaps9-35	26	45	23	94	0.36	0.83
354	BoEcaps110	26	46	22	94	0.38	0.83

354개 중 279개 마커는 이론 분리비에 적합한 결과를 보였지만 75개는 유의수준 0.05이하에서 편이된 분리비를 보여주었다. 이 genotyping 결과들을 토대로 JoinMap 4.1 프로그램을 이용하

여 genetic map을 작성하였다. 마커들을 grouping하기 위한 parameter는 “linkage LOD”를, 알고리즘은 “Maximum Likelihood mapping”으로 사용하였으며 mapping function은 “Kosambi’s”를 기준으로 하여 유전지도를 작성하였다. 354개의 마커 모두 9개의 linkage group에 분포됨을 볼 수 있었고, 이는 총 1499.3 cM을 커버하였으며 평균적으로 마커와 마커간 4.23 cM의 interval을 보였다(Fig 18)

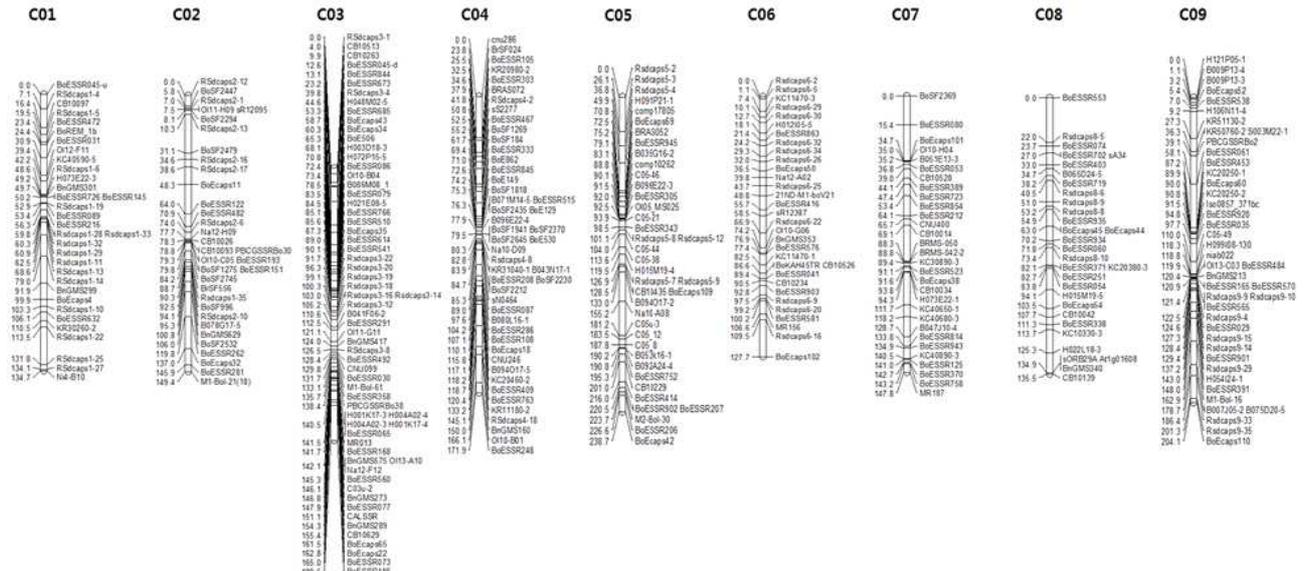


Figure 18. Genetic map constructed with 354 markers

이렇게 작성된 유전지도는 병리검정 결과와 연계하여 흑부병 저항성 QTL 동정에 사용될 것이다. 좀 더 density가 높은 양질의 genetic map을 작성하기 위해서 추가 마커개발과 genotyping이 진행 중에 있고, 이렇게 국내 양배추 육성계통 간 작성된 유전지도는 나아가 분자육종 시스템 구축에 기본 뼈대가 될 수 있을 것이다. 기존 265개의 마커로 구성된 유전지도가 논문을 통해 공개가 되었고, 100개가 넘는 마커를 추가한 개선된 유전지도에 대해서 논문이 작성중이다. 국내 육성 계통간 개발된 마커로 구성이 되어있어 추후 국내 양배추 육성에서 주요 형질들과 연계하여 중요하게 활용될 수 있을 것으로 예상된다.

## 나. 뿌리혹병 조합 분자유전지도 작성

### (1) 개발된 마커들을 사용한 genotyping

프로젝트 초기에 뿌리혹병 저항성에 관련하여 유전지도 제작에 사용될 모부분 조합은 C1235와 C1184 계통으로 오랜 연구기간동안 양친 간에 다형성을 보이는 마커를 개발해오고 있었다. 하지만 앞서 언급했던 내용처럼 실제 필드에서 양친을 교배하여 후대를 진전시키면 종자 결실율이 많이 떨어지는 현상이 발견되어 3년차 이후에 C1220, C1176 계통으로 모부분을 변경하였기 때문에 이 두 양친 간에 확보된 다형성 마커가 많지 않았다. 11개의 resequencing 유래 dCAPS 마커와 2개의 EST-dcaps, 20개의 SSR 마커, 1개의 MIP 마커등 총 35개의 마커들에 대해서만 94개 F<sub>2</sub> 개체들에 genotyping이 실시되었고, 이들의 genotyping 결과와 이에 대한 이론 분리비 1:2:1에 적합도 여부를 확인한 chi-square 검정결과 table 22와 같다.

Table 22. Chi-square test for 94 F2 mapping population against Club root disease

No.	Marker	Observed value (O)				Chi-square	P-value
		P1	H	P2	total		
1	dcaps1-5	30	44	20	94	2.51	0.28
2	M4-Bol-6	27	40	25	92	1.65	0.44
3	dcaps1-6	24	50	20	94	0.72	0.7
4	BoSF2294	23	50	21	94	0.47	0.79
5	dcaps2-1	24	48	22	94	0.13	0.94
6	BoSF2447	21	52	21	94	1.06	0.59
7	c02_mu-08	18	49	26	93	1.65	0.44
8	comp7993	16	47	30	93	4.23	0.12
9	CB10093	19	50	25	94	1.15	0.56
10	Na12-H09	19	48	27	94	1.4	0.5
11	dcaps2-10	17	54	23	94	2.85	0.24
12	M1-bol-18	19	51	22	92	1.28	0.53
13	dcaps3-2	22	42	26	90	0.76	0.69
14	dcaps3-4	28	44	22	94	1.15	0.56
15	dcaps3-8	30	42	22	94	2.43	0.3
16	dcaps3-9	34	37	19	90	7.84*	0.02
17	BoESSR303	34	43	17	94	6.83*	0.03
18	BRAS072	38	37	19	94	11.94**	0
19	dcaps4-2	41	40	9	90	23.87**	0
20	BrSF024	40	34	16	90	18.18**	0
21	BoSF184	30	58	6	94	17.4**	0
22	BoSF2435	30	57	7	94	15.51**	0
23	dcaps4-14	30	57	7	94	15.51**	0
24	BoSF1941	30	54	10	94	10.6**	0.01
25	sN0464	24	59	8	91	13.64**	0
26	BoESSR108	22	61	11	94	10.91**	0
27	cnu246	23	62	9	94	13.74**	0
28	BoESSR409	22	63	9	94	14.49**	0
29	dcaps4-18	26	53	15	94	4.11	0.13
30	BnGMS160	26	50	16	92	2.87	0.24
31	BoDCTD1	21	54	17	92	3.13	0.21
32	BRAS067	22	44	19	85	0.32	0.85
33	BRAS076	30	40	19	89	3.63	0.16
34	BrMS034	30	49	11	90	8.73*	0.01
35	BRAS112	22	48	20	90	0.49	0.78

(2) GBS(Genotyping by Sequencing) 방법에 의한 대규모 genotyping

기존 방법처럼 다형성 마커의 탐색과정을 거쳐 genotyping을 하기에는 시간이 너무 오래 걸리는 한계가 있기 때문에 대규모로 genotyping을 수행할 수 있는 GBS방법을 선택하고 78개 F<sub>2</sub> 개체들을 대상으로 이 새로운 방법을 수행하였으며, 원리는 figure 19와 같다.

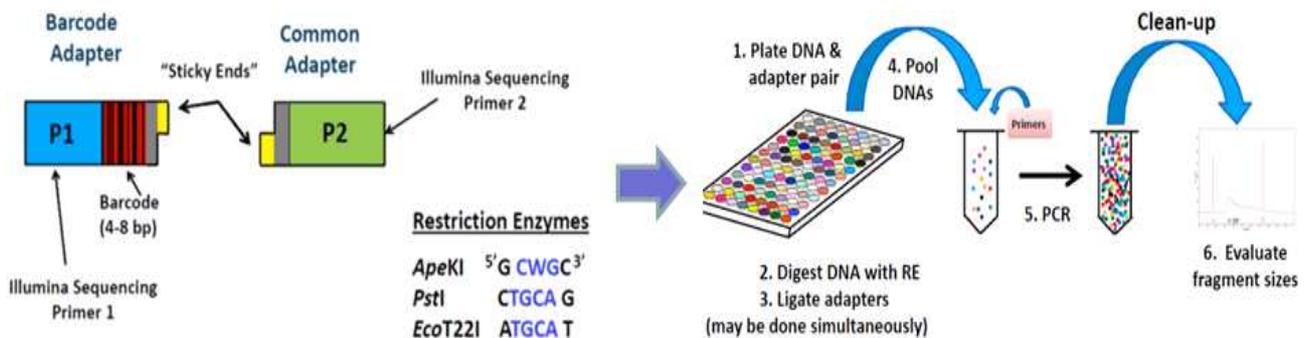


Figure 19. Principle of Genotyping by Sequencing methods

모부분과 78개의 F<sub>2</sub> 개체들의 DNA를 특정 제한효소를 처리해 절단한 다음, 그 절단부위에 상보적인 서열을 가지고 있고 각 sample들을 인식할 수 있는 barcode 서열이 포함된 adapter를 붙여 이들을 NGS로 대규모 sequencing을 진행하는 방법이다. 유전체 전반에 걸쳐 랜덤한 지역을 무작위로 sequencing하는 것과는 다르게 앞뒤에 정해진 제한효소로 잘려진 조각만을 사용하기 때문에 모든 sample에서 거의 동일한 지역이 sequencing이 이루어질 수 있고, 이로 인해 바로 염기서열 수준에서 high-throughput genotyping이 가능하다.

현재 1차적인 sequencing 결과가 생산되어 이를 validation 하는 작업이 수행중이다. 각 개체에서 loci당 생성된 평균 read depth는 7~12x 정도이며(fig 20), 발견된 모든 SNP 지역은 78,989개 이다. 이 중에서 78개 F2 individual에서 공통으로 sequencing이 이루어진 SNP 지역은 15,174개에 이르는 것을 알 수 있었다. 이 data를 토대로 high-density genetic map을 완성할 수 있을 것으로 판단하고 있다.

No.	Sample	Unique Stacks	Polymorphic Loci	SNPs Found	Avg. Depth	No.	Sample	Unique Stacks	Polymorphic Loci	SNPs Found	Avg. Depth
1	C1220	174,221	19,812	33,964	9X	41	12-3	106,840	19,845	32,902	10X
2	C1176	100,631	12,909	22,555	9X	42	12-4	93,434	25,725	40,560	8X
3	1-1	97,859	22,287	36,204	8X	43	12-5	93,313	22,140	35,496	9X
4	1-3	95,752	23,265	37,301	8X	44	12-6	95,205	21,792	35,426	8X
5	1-4	129,047	33,978	53,969	9X	45	13-2	115,596	32,229	50,768	8X
6	1-5	125,447	27,823	44,723	9X	46	13-3	101,292	23,066	37,243	9X
7	1-6	113,524	28,941	45,810	9X	47	13-4	112,257	28,303	45,350	9X
8	2-1	107,034	24,151	38,748	9X	48	13-5	78,690	15,452	26,044	7X
9	2-4	90,499	18,976	30,833	8X	49	13-6	63,389	13,642	22,291	7X
10	3-1	119,661	29,941	48,253	9X	50	14-1	115,272	19,281	32,353	9X
11	3-2	105,264	26,291	42,084	8X	51	14-2	70,374	17,271	27,858	7X
12	3-3	76,832	19,908	31,658	7X	52	14-3	66,955	18,029	28,835	7X
13	3-4	115,304	30,436	48,444	8X	53	14-4	104,094	26,166	42,145	8X
14	3-5	116,258	30,897	48,879	8X	54	14-5	102,146	24,253	38,739	8X
15	4-1	110,549	20,660	34,467	9X	55	15-2	93,686	19,007	31,301	8X
16	4-2	115,082	27,258	43,715	9X	56	15-3	103,501	23,940	38,875	8X
17	4-4	120,773	27,768	44,888	9X	57	15-4	98,765	28,012	44,114	8X
18	4-6	112,268	28,742	45,529	9X	58	16-1	113,533	22,698	37,184	10X
19	5-1	108,410	26,108	41,996	8X	59	16-2	84,599	17,179	28,053	8X
20	5-2	89,040	22,574	35,945	7X	60	16-3	54,458	12,626	20,439	6X
21	6-1	117,933	29,061	46,364	10X	61	16-5	107,333	20,417	34,228	13X
22	6-2	87,344	20,331	32,723	8X	62	17-1	76,875	22,483	35,365	7X
23	6-3	114,233	29,398	46,890	10X	63	18-1	110,439	25,154	40,923	11X
24	7-1	116,460	30,969	49,355	10X	64	18-2	110,951	29,478	46,952	9X
25	8-1	117,124	25,796	42,009	11X	65	18-3	111,824	27,854	43,891	10X
26	8-2	116,471	29,139	47,081	11X	66	18-4	105,210	25,874	41,326	9X
27	8-3	118,366	30,523	48,888	12X	67	18-6	112,710	25,838	42,023	11X
28	8-4	124,207	27,401	44,237	11X	68	19-1	112,008	25,202	40,858	12X
29	8-5	122,464	34,799	54,738	10X	69	19-3	97,379	24,733	39,261	9X
30	8-6	88,039	19,953	32,574	8X	70	19-4	80,974	16,939	27,803	9X
31	9-1	122,175	30,269	48,695	11X	71	20-1	105,781	33,084	52,608	10X
32	9-2	94,170	20,331	32,789	9X	72	21-3	79,034	17,364	28,073	9X
33	9-3	82,140	17,057	27,998	8X	73	21-5	79,102	16,892	27,599	8X
34	9-4	110,505	23,697	38,644	10X	74	22-1	107,972	28,925	45,921	9X
35	10-2	120,837	28,628	46,252	10X	75	22-2	109,817	28,405	45,489	9X
36	10-6	115,210	33,968	53,598	9X	76	22-3	112,473	32,939	51,912	10X
37	11-1	117,724	28,158	45,397	10X	77	22-4	115,810	33,788	53,445	10X
38	11-4	114,896	24,135	39,421	11X	78	23-1	100,222	22,676	37,042	12X
39	12-1	81,510	16,821	27,648	9X	79	23-2	74,096	16,666	26,718	8X
40	12-2	121,471	30,093	48,082	11X	80	23-3	114,627	28,973	46,707	10X

Figure 20. Result of GBS data processing for 80 samples

#### 4. 개발된 마커를 활용한 양배추 상업 품종들의 유전적 다양성 연구

*Brassica oleracea*는 전세계적으로 6개의 아종들이 여러 형태로 소비가 이루어지고 있는 주요 작물으로써, 본 실험실에서 사용된 마커들을 사용하여 실제 분자마커들이 F1 품종들에서 유전적 다양성 및 관계등을 설명할 수 있을 것으로 판단하고 실험을 실시하였다. 49개 일반 양배추, 22개 브로콜리, 5개 콜리플라워, 9개 콜라비, 3개 케일, 3 카이란 등 6개 아종의 F1 91 품종들을 대상으로(table 23), 연구실에서 유전지도 작성에 사용했던 많은 마커들 중 148개의 SSR 다형성 마커들을 사용하여 PCR 실험을 통해 다양성과 유전적 구조등을 알아보았다.

Table 23. Characteristics of the 91 *B.oleracea* L. cultivars used in this experiment and their proportion of heterozygosity (Izzah et al. 2013)

No	Cultivar	Varietal group	Cultivar name	Origin	Country	Proportion of heterozygosity (%)	Main phenotypic characteristics <sup>z,y</sup>
1	C1	Cabbage	8398	IVF, CAAS	China	27.54	EM, RH, LBt, CrT
2	C2	Cabbage	Zhong gan 21	IVF, CAAS	China	30.43	EM, RH, LBt, CrT
3	C22	Cabbage	Golden Acre	India	India	30.43	EM, RH, LBt, CrT
4	C30	Cabbage	Xi wang	Sakata	Japan	28.99	EM, RH, LBt, CrT
5	C31	Cabbage	Zennith	Seminis	Korea	24.64	EM, RH, LBt, CrT
6	C33	Cabbage	Green Express	Sakata	Japan	33.33	EM, RH, LBt, CrT
7	C37	Cabbage	Head Start	Seminis	U.S.A.	28.99	EM, RH, LBt, CrT
8	C51	Cabbage	Charmant	Sakata	Japan	40.58	EM, RH, LBt, CrT
9	C53	Cabbage	Kranti	Mahyco	India	39.13	EM, RH, LBt, CrT
10	C54	Cabbage	GC 60	Golden Seed	India	40.58	EM, RH, LBt, CrT
11	C70	Cabbage	Goody ball-65	Golden Seed	India	34.78	EM, RH, LBt, CrT, CT
12	C87	Cabbage	Rinda	Seminis	Netherlands	47.83	EM, RH, LBt, CrT
13	C102	Cabbage	Green Challenger	Seminis	Korea	46.38	EM, RH, EBt, HT
14	C111	Cabbage	Saint	Seminis	Korea	40.58	EM, RH, LBt, HT
15	C157	Cabbage	Blue Vantage	Sakata	Japan	37.68	MM, RH, LBt, HT, CT
16	C158	Cabbage	Vantage Point	Sakata	Japan	27.54	MM, RH, LBt, HT, CT
17	C159	Cabbage	Royal Vantage	Sakata	Japan	40.58	MM, RH, LBt, HT, CT
18	C160	Cabbage	Rareball	Kaneko	Japan	43.48	EM, RH, MBt, HT, CT
19	C162	Cabbage	Lucky ball	Kaneko	Japan	44.93	EM, RH, MBt, HT
20	C163	Cabbage	Wonder ball	Seminis	Korea	30.43	EM, RH, MBt, HT, DR
21	C171	Cabbage	Gloria F1	Ohlsens Enke	Denmark	37.68	EM, RH, MBt, HT, DR
22	C172	Cabbage	Pruktor F1	Ohlsens Enke	Denmark	37.68	EM, FH, MBt, HT, DR
23	C174	Cabbage	KY-Cross	Takii	Japan	31.88	EM, FH, EBt, HT
24	C176	Cabbage	Grand KK	Takii	Japan	37.68	EM, FH, EBt, HT, DR
25	C177	Cabbage	Tropic Sun Plus	Seminis	Korea	40.58	EM, FH, EBt, HT, DR
26	C181	Cabbage	Hayadori	Kobayashi	Japan	36.23	EM, FH, EBt, HT
27	C185	Cabbage	New Star Cross	Tokida	Japan	37.68	EM, FH, EBt, HT
28	C202	Cabbage	Grand 11	Chia Tai	Thailand	43.48	EM, FH, MBt, HT, DR
29	C209	Cabbage	Green Nova	Takii	Japan	42.03	MM, FH, MBt, HT, DR
30	C217	Cabbage	Ogane	Takii	Japan	40.58	MM, FH, MBt, HT, DR
31	C220	Cabbage	Han Chun No. 4	Jing Tian Seed	Japan	36.23	MM, FH, LBt, CT
32	C221	Cabbage	Han Kwang	Asahi	Japan	37.68	MM, FH, LBt, CT
33	C222	Cabbage	Green Coronet	Takii	Japan	40.58	MM, FH, LBt, CT
34	C223	Cabbage	Super Coronet	Takii	Japan	42.03	MM, FH, LBt, CT
35	C226	Cabbage	Han Chun No. 5	Jing Tian Seed	Japan	42.03	MM, FH, LBt, CT
36	C244	Cabbage	YR Hogeol	Takii	Japan	42.03	MM, FH, LBt, CT
37	C253	Cabbage	Primero	Bejo	Netherlands	18.84	RCb, EM, MBt, CT
38	C254	Cabbage	Red Sun	Seminis	Korea	33.33	RCb, MM, MBt, CT
39	C257	Cabbage	Kai Bi	Bijing Tang Yuan Seed	China	31.88	RCb, EM, MBt, CT
40	C258	Cabbage	Danish Ballhead	OSC Seed	Canada	30.43	LM, RH, LBt, FHA, CT
41	C259	Cabbage	Tekila	Syngenta	Switzerland	40.58	LM, RH, LBt, FHA, CT
42	C260	Cabbage	Quisor	Syngenta	Switzerland	44.93	LM, RH, LBt, FHA, CT
43	C261	Cabbage	Jewelry 068	Jewelry	China-imported from Europe	47.83	LM, RH, LBt, FHA, CT

44	C268	Cabbage	Beltis	Seminis	Netherlands	39.13	LM, RH, LBt, FHA, CT
45	C273	Cabbage	Quartz	Seminis	Korea	44.93	LM, RH, LBt, FHA, CT
46	C277	Cabbage	Megaton	Bejo	Netherlands	49.28	LM, RH, LBt, FHA, CT
47	C278	Cabbage	Jewelry 1698	Jewelry	China-imported from Europe	37.68	LM, RH, LBt, FHA, CT
48	C279	Cabbage	Tobia	Seminis	Netherlands	46.38	LM, RH, LBt, FHA, CT
49	C295	Cabbage	Atria	Seminis	Netherlands	39.13	LM, RH, LBt, FHA, CT
50	B2008	Broccoli	Yuan you qing hua cai	Tokita	Japan	30.43	EM, DH, MB, HT
51	B2013	Broccoli	Yu huang	Hongkong Seed	Japan	37.68	MM, DH, MB, CT
52	B2014	Broccoli	Youshou	Sakata	Japan	36.23	EM, DH, FB, HT
53	B2056	Broccoli	Heart Land	Sakata	Japan	39.13	MM, DH, AF, MB, CT
54	B2060	Broccoli	Subaru	Brolead	Japan	33.33	EM, DH, FB, HT
55	B2061	Broccoli	Fighter	Brolead	Japan	28.99	EM, DH, AF, FB, HT
56	B2065	Broccoli	KB-052	Mikado-Kyowa	Japan	34.78	EM, FH, BB, HT
57	B2070	Broccoli	Green Majic	Sakata	Japan	28.99	EM, DH, FB, HT
58	B2071	Broccoli	Tradition	Seminis	U.S.A.	31.88	EM, DH, FB, HT
59	B2073	Broccoli	Montop	Syngenta	Switzerland	30.43	EM, DH, FB, HT
60	B2085	Broccoli	Green Belt	Sakata	Japan	26.09	MM, DH, MB, CT
61	B2097	Broccoli	Grace	Bejo	Netherlands	37.68	MM, DH, MB, CT
62	B2098	Broccoli	Super Grace	Bejo	Netherlands	40.58	MM, DH, MB, CT
63	B2134	Broccoli	Castle	Takii	Japan	30.43	EM, FH, BB, HT
64	B2135	Broccoli	Anfree-747	Takii	Japan	28.99	EM, FH, AF, BB, HT
65	B2138	Broccoli	Marathon	Sakata	Japan	30.43	LM, HDH, FB, CT
66	B2139	Broccoli	BI-15(Monaco)	Syngenta	Switzerland	26.09	LM, HDH, FB, CT
67	B2140	Broccoli	Heritage	Seminis	U.S.A.	27.54	LM, HDH, FB, CT
68	B2145	Broccoli	Ironman	Seminis	Netherlands	31.88	LM, HDH, FB, CT
69	B2193	Broccoli	Aosima	Sakata	Japan	40.58	LM, HDH, AF, FB, CT
70	B2198	Broccoli	Green Dome	Takii	Japan	28.99	LM, DH, AF, FB, CT
71	B2205	Broccoli	Endevour	Takii	Japan	27.54	LM, DH, AF, FB, CT
72	B2266	Cauliflower	Snow Dream	Takii	Japan	20.29	MM, WC, HDH, GCv, CT
73	B2267	Cauliflower	White Dream	Takii	Japan	26.09	MM, WC, HDH, GCv, CT
74	B2268	Cauliflower	Snow March	Takii	Japan	26.09	MM, WC, HDH, GCv, CT
75	B2270	Cauliflower	Violet Dream	Takii	Japan	10.14	EM, VC, EBt
76	B2271	Cauliflower	Orange Dream	Takii	Japan	30.43	MM, OC, HDH
77	K3001	kohlrabi	Korist	Bejo	Netherlands	40.58	EM, RH, MSC, HT, DR
78	K3008	kohlrabi	Express Forcer	Takii	Japan	40.58	EM, FH, PGC, HT
79	K3038	kohlrabi	White Rookie	Numhems Korea	Korea	47.83	EM, FH, GC, HT
80	K3039	kohlrabi	Winner	Takii	Japan	50.72	MM, FH, PGC, HT
81	K3044	kohlrabi	UFO	Seminis	Korea	46.38	EM, FH, GC, HT
82	K3048	kohlrabi	Worldcol	Joemun Seed	Korea	52.17	EM, FH, GC, HT, DR, FHA
83	K3065	kohlrabi	Kolibri	Bejo	Netherlands	44.93	EM, FH, RC, HT
84	K3066	kohlrabi	Purple King	Joemun Seed	Korea	26.09	EM, FH, RC, HT, LB
85	K3083	kohlrabi	Dongchuan	Kompyong Nksaeng Chaejo Seed	China	15.94	LM, FH, GC, HB, EBt
86	K3598	Kale	Este	Sakata	Japan	8.7	Vg, BGC
87	K3600	Kale	Kale	Joemun Seed	Korea	8.7	Vg, LBt, GC, HT
88	K3601	Kale	Joemun kale	Joemun Seed	Korea	7.25	Vg, dGC, HT, DR
89	K3603	Kailan	Kailan	China	China	11.59	EBt, HT
90	K3608	Kailan	Kailan	Thailand	Thailand	15.94	EBt, HT
91	K3611	Kailan	Kailan	China	China	11.59	EBt, HT

148개의 마커들 중에서 결과가 재현성을 보이고, 전기영동 결과가 깨끗한 resolution을 보이며, 91개 sample에 대하여 높은 PCR 증폭률을 보이는 마커가 69개가 발견되었다. 이 69개의 마커들로부터 91개 모든 품종에서 총 359 allele들의 fingerprint를 얻을 수 있었으며, 얻은 결과들로 PowerMarker 프로그램을 이용하여 allele의 수와 rare allele, major allele frequency, gene diversity, expected heterozygosity, polymorphic information content(PIC) value 등의 통계적인 분석을 실시하였다(table 24).

Table 24. Characteristics of the 69 polymorphic SSR loci across 91 *B. oleracea* cultivars (Izzah et al. 2013)

Locus	N <sub>A</sub> <sup>a</sup>	Rare alleles <sup>b</sup>	Size (bp)	Frequency of major allele (%)	GD <sup>d</sup>	H <sub>e</sub> <sup>e</sup>	PIC <sup>f</sup>
BoESSR003	5	4	160-180	40	0.26	0.11	0.24
BoESSR012	2	-	382-390	38	0.21	0.23	0.19
PBCGSSRBo2	6	3	180-205	15	0.67	0.18	0.59
BoREM1b	4	2	170-210	38	0.23	0.24	0.22
BoKAH45TR	6	3	170-200	15	0.58	0.36	0.49
BoESSR020	3	1	170-190	34	0.27	0.32	0.24
BoESSR029	3	-	150-155	20	0.49	0.31	0.37
BoESSR031	3	-	290-295	21	0.47	0.62	0.42
BoESSR030	4	-	230-290	19	0.53	0.52	0.46
sR12387	8	5	280-300	18	0.59	0.51	0.54
BoDCTD1	11	7	150-180	22	0.6	0.39	0.56
sN11670	4	2	150-200	28	0.4	0.39	0.33
PBCGSSRBo33	3	-	120-150	23	0.46	0.39	0.35
PBCGSSRBo22	6	3	260-270	30	0.39	0.33	0.36
BoESSR040	4	2	250-280	33	0.31	0.3	0.27
BoESSR037	4	2	330-350	40	0.24	0.15	0.22
BoESSR049	5	3	290-300	40	0.25	0.12	0.23
sR5795	3	2	200-230	46	0.1	0.07	0.1
CB10064	13	10	140-180	16	0.68	0.59	0.65
PBCGSSRBo34	6	2	195-230	22	0.6	0.25	0.53
sR12384	2	-	280-310	39	0.19	0.21	0.17
BoESSR073	7	5	220-260	19	0.56	0.49	0.49
BoESSR074	3	-	214-220	20	0.5	0.41	0.37
BnGMS51	3	1	230-270	36	0.31	0.2	0.26
BoESSR077	5	2	270-300	26	0.49	0.19	0.39
BRMS-006	2	1	150-155	47	0.06	0.07	0.06
BRMS-034	3	-	140-160	21	0.5	0.19	0.37
CB10267	3	1	120-150	27	0.4	0.54	0.32
CB10005	4	3	250-270	44	0.14	0.08	0.13
CB10172	2	-	210-230	34	0.26	0.31	0.23
BRAS039	4	2	200-240	35	0.31	0.22	0.27
CB10632	3	-	170-180	32	0.38	0.2	0.31
CB10130	2	-	240-295	40	0.18	0.2	0.16
BRAS112	6	3	240-280	34	0.48	0.19	0.43
Na10D11	5	2	170-205	19	0.64	0.23	0.56
OH10-D02	11	8	140-210	22	0.62	0.56	0.54
Na10F06	5	2	100-150	20	0.51	0.22	0.39
MR133.1	3	1	240-250	37	0.36	0.03	0.3
CB10427	5	1	150-180	15	0.57	0.4	0.48
CB10288	5	2	200-220	31	0.48	0.18	0.42
OH10-F08	4	2	160-200	38	0.29	0.13	0.26
MR049	9	6	170-290	20	0.64	0.22	0.59
OH13G05	4	2	130-160	32	0.51	0.3	0.45
CB10109	2	-	250-290	34	0.27	0.32	0.23
OH11H09	10	8	150-230	23	0.59	0.19	0.51
sORF73	14	10	130-200	12	0.73	0.54	0.69
BoESSR106	4	3	200-230	41	0.21	0.14	0.2
sNRH63	8	5	90-160	24	0.54	0.34	0.49
Na10-D07	2	1	150-200	47	0.13	0	0.12
CB10629	4	2	100-150	23	0.46	0.46	0.37
CB10258	7	3	180-200	24	0.61	0.3	0.56
CB10028	14	13	120-190	32	0.48	0.24	0.47
CB10014	5	1	200-220	25	0.56	0.24	0.5
nga111	9	6	120-160	21	0.64	0.55	0.59
CB10611	8	6	160-180	35	0.42	0.11	0.38
Na12-B11	4	-	150-160	23	0.55	0.24	0.45
BoESSR110	2	1	280-550	47	0.5	0.94	0.37
BnGMS539	4	-	180-200	32	0.6	0.76	0.53
BnGMS326	4	1	270-290	24	0.61	0.74	0.53
Na10-H03	3	1	100-120	32	0.32	0.32	0.27

CB10229	4	2	270-295	38	0.61	0.97	0.54
CNU400	4	1	260-290	21	0.74	0.84	0.7
OII0-C05	7	2	100-160	18	0.7	0.59	0.66
CALSSR	10	5	140-200	18	0.77	0.93	0.73
CB10435	8	6	140-170	25	0.51	0.36	0.45
BnGMS160	8	3	280-380	20	0.62	0.48	0.58
Na12-A02	2	-	180-190	40	0.31	0	0.27
BnGMS83	6	4	200-240	26	0.59	0.13	0.52
MR216	3	1	170-200	35	0.3	0.23	0.25
Mean	5.2	3.33		28.75	0.45	0.34	0.4

하나의 locus당 allele의 숫자는 2~14개로 평균적으로는 5.20개의 allele들에 해당하는 수치가 된다. Gene diversity는 0.06~0.77 범위에서 다양하게 나타났으며 평균적으로 0.45의 수치를 보였으며, PIC value는 0.06~0.77 범위로 평균 0.40의 수치가 나타났다. Major allele들의 frequency는 12~47% 범위에서 평균 28.75%로 마커 locus에서 91품종들 중 평균 28.75%의 식물체에서 공통의 major allele이 나타난다는 것을 알 수 있었고, allele frequency가 5%보다 작게 나타나는 rare allele들의 수는 locus당 1~13개 범위에서 평균 3.33개인 것을 확인할 수가 있었다. 이 결과들을 6개의 아종별로 정리한 것이 table 25과 같다. 이 6개의 아종들 중 콜라비가 가장 높은 heterozygosity 수준이고, 케일이 가장 낮은 수준임을 알 수 있었다.

Table 25. Genetic differentiation among six varietal groups of *B.oleracea* L. cultivars (Izzah et al. 2013)

Varietal group	No. of cultivars tested	Mean no. alleles/locus	Major allele frequency	Mean genetic diversity	Mean heterozygosity	Mean PIC value
Cabbage	49	3.81	0.32	0.39	0.38	0.34
Broccoli	22	2.42	0.37	0.28	0.32	0.25
Cauliflower	5	1.80	0.41	0.26	0.23	0.22
Kohlrabi	9	2.81	0.33	0.41	0.41	0.35
Kale	3	1.77	0.39	0.33	0.08	0.27
Kai-lan	3	1.46	0.43	0.22	0.13	0.18
Total	91	14.07	2.25	1.89	1.55	1.61
Average		2.35	0.38	0.32	0.26	0.27

또한 분석한 마커들 중에서 Rare allele이 있는 것으로 나타난 마커가 54개가 있었는데, 이 중 총 27개의 unique allele을 확인할 수 있는 18개 마커는 단 하나의 품종에서만 특이적으로 나타나는 것을 확인할 수가 있었다(table 26).

Table 26. Summary of cultivar-specific allele markers (CAMs) (Izzah et al. 2013)

Marker	No. of alleles	Unique alleles	Varietal type	Representative cultivar
BoESSR073	7	a/c	cabbage	Tropic Sun Plus
CB10267	3	b/b	cabbage	Wonder ball
Na10F06	5	a/d b/c	cabbage	Han Kwang Han Chun No. 5
CB10611	8	a/d	cabbage	Han Chun No. 5
sNRH63	8	b/f a/g	cabbage	Jewelry 1698 Megaton
CALSSR	10	a/d	cabbage	Gloria F1
CB10435	8	a/c	cabbage	Zennith
nga111	9	c/f a/c	cabbage broccoli	Red Sun KB-052
MR049	9	d/e	broccoli	Fighter

		e/f	broccoli	Tradition
CB10064	13	c/f	broccoli	Montop
		a/b	kale	Este
BnGMS83	6	a/a	kale	Joemun kale
BoDCTD1	11	e/e	kale	Joemun kale
BoESSR077	5	a/a	kale	Este
		d/d	kai-lan	K3608 Thailand
sORF73	14	f/f	kai-lan	K3603 China
		b/e	kohlrabi	White Rookie
BoREM 1b	4	b/b	kohlrabi	Kolibri
OH10-D02	11	a/f	kohlrabi	Kolibri
BRAS039	4	b/b	kohlrabi	Purple King
		a/a	kohlrabi	White Rookie
BRAS112	6	a/b	kohlrabi	UFO
		b/b	cauliflower	Snow Dream

PCR 결과들을 종합하여 genetic similarity value를 토대로 91개 품종들을 유전적 다양성을 분석해보기 위해서 UPGMA clustering dendrogram과 principal coordinate analysis(PCoA)을 이용해서 2차원적 scale diagram 으로 표현해보았다. Threshold 수준으로 72%의 유사계수를 정하고 UPGMA clustering을 하였더니 figure 21과 같이 91개의 품종들이 6개의 아종 그대로 나뉘어지는 것을 확인할 수가 있었다. 뿐만 아니라 일반 양배추는 head의 모양에 의해서 두 하위 그룹으로 나뉘어지는 것을 확인할 수가 있었다.

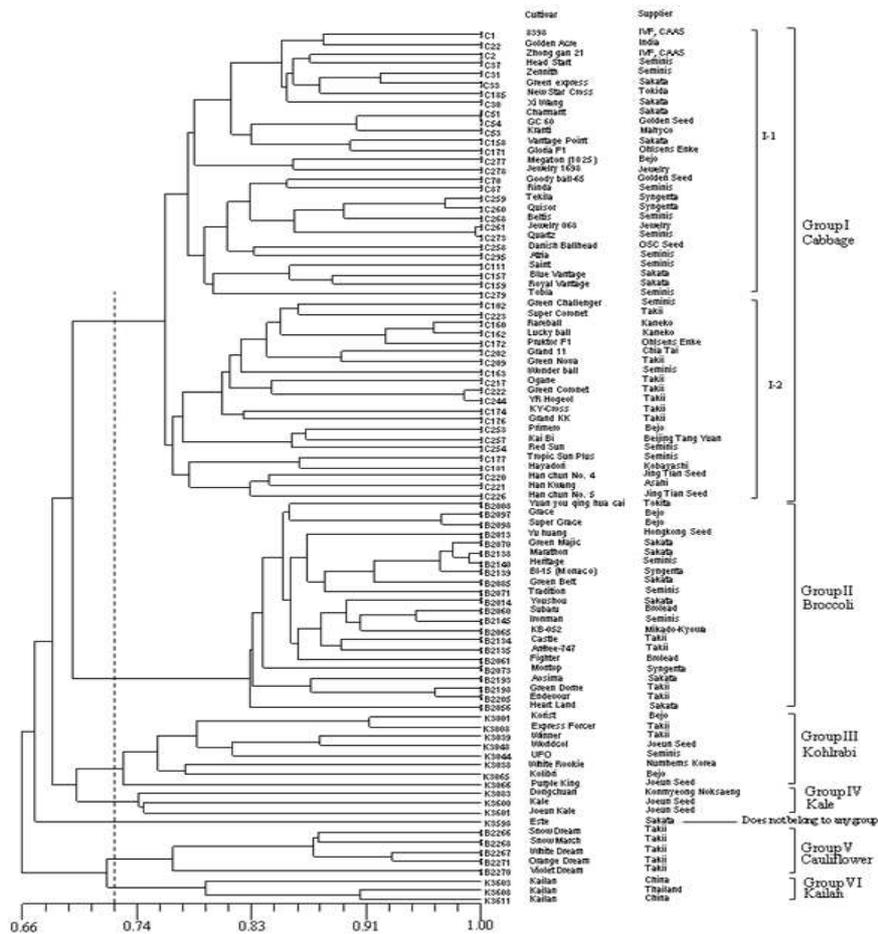


Figure 21. UPGMA cluster dendrogram showing the genetic relationships among 91 commercial *B. oleracea* L. cultivars based on 69 microsatellite loci. Each cultivar is identified by cultivar number, name and seed supplier. (Izzah et al. 2013)

이 연구에 대한 결과로 SSR 분자마커로 인해 이미 소비되고 있는 많은 품종들을 서로 식별하는데 강력한 도구가 되는 것을 알 수가 있었고, 앞으로 개발될 새로운 품종들의 distinctness, uniformity, stability등을 시험하는 데에 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 판단되며, 앞으로 양배추의 육종에 중요한 정보를 줄 수 있을 것이라고 생각된다. 이 연구 결과에 대해서 Genetic Resources and Crop Evolution 저널에 논문을 게재하였다(Izzah et al. 2013).

## 5. 흑부병과 뿌리혹병 저항성 QTL 동정

### 가. 흑부병 저항성 연구

#### (1) 흑부병 병리검정 결과

병리검정은 조은종묘 측에서 한국화학연구원에 의뢰하여 3, 4, 5차년도에 3차례에 걸쳐 수행되었으며, F<sub>2</sub> 집단 각각의 개체별로 F<sub>3</sub> 10~15개의 종자들을 사용하여 병리검정을 실시하였다. 3차례에 걸친 병리검정실험 모두 F<sub>3</sub> 종자 파종 이후 4주 뒤에 병원체 *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* KACC 10377을 접종시켜 나타나는 발병도를 병반면적율로 계산하였다(Fig 22). 병리검정에 대한 자세한 조건 및 설명은 77 페이지 “2. 흑부병(검은썩음병) 저항성 검정“에 명시되어 있다.

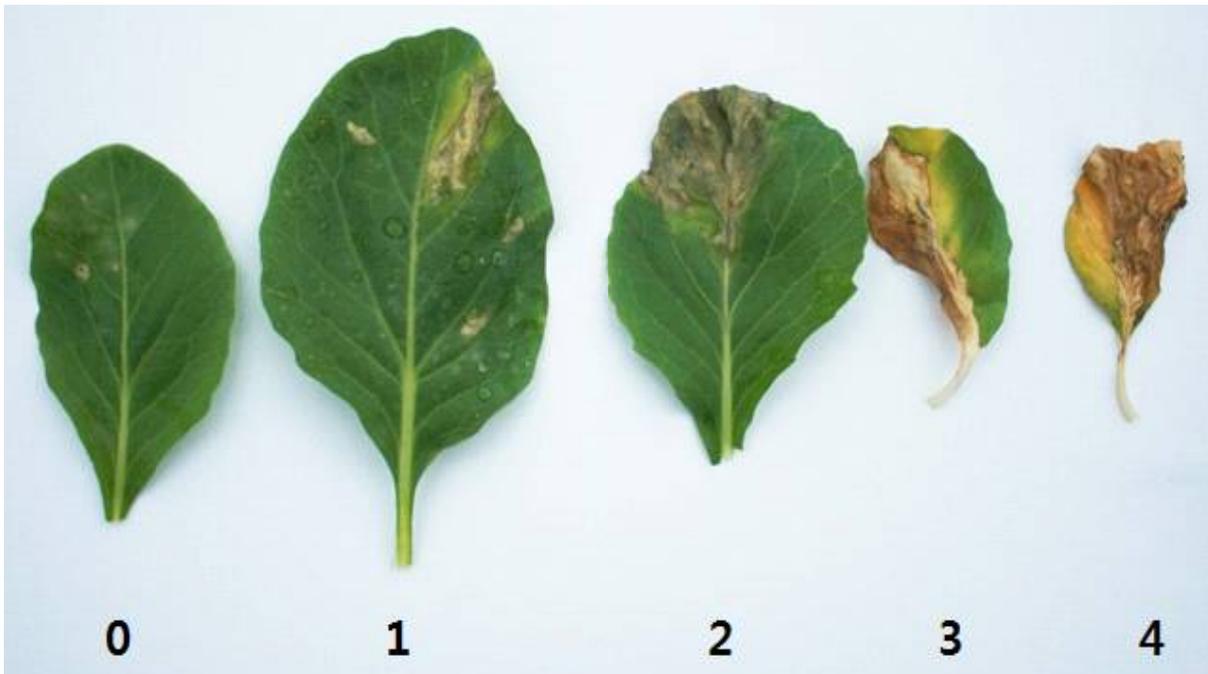


Figure 22. Black rot disease symptoms

병원균을 접종한 후에 병반이 옆의 0~15% 이내면 index 0, 15~30% 이면 1, 30~55%이면 2, 55~80% 이면 3, 80~100%에 달하면 4로 index를 정하였고, 이 기준에 맞춰 같은 F<sub>2</sub> 개체에서 유래된 F<sub>3</sub> 모든 개체들에 대한 발병도를 조사한 이후 평균값을 그 F<sub>2</sub> 개체의 발병도 대푯값으로 정하였다. 그러나 흑부병의 경우 3차에 걸친 병접종실험에서 위와 같은 방법으로 index를 각각 정한 후에 F<sub>2</sub> 개체들의 index가 반복 간 결과가 많이 흔들리는 것을 확인할 수가 있었다. Figure 23에서 F<sub>2</sub> 집단내 index distribution만 보더라도 2014년도에 수행한 3차 병접종 실험에서 앞선 1, 2차 실험에서보다 강하게 발병한 개체수가 훨씬 많은 것을 볼 수가 있다. 현재 신뢰성

있는 병리검정 결과를 도출하기 위해서 여러 방법이 시도되고 있다.

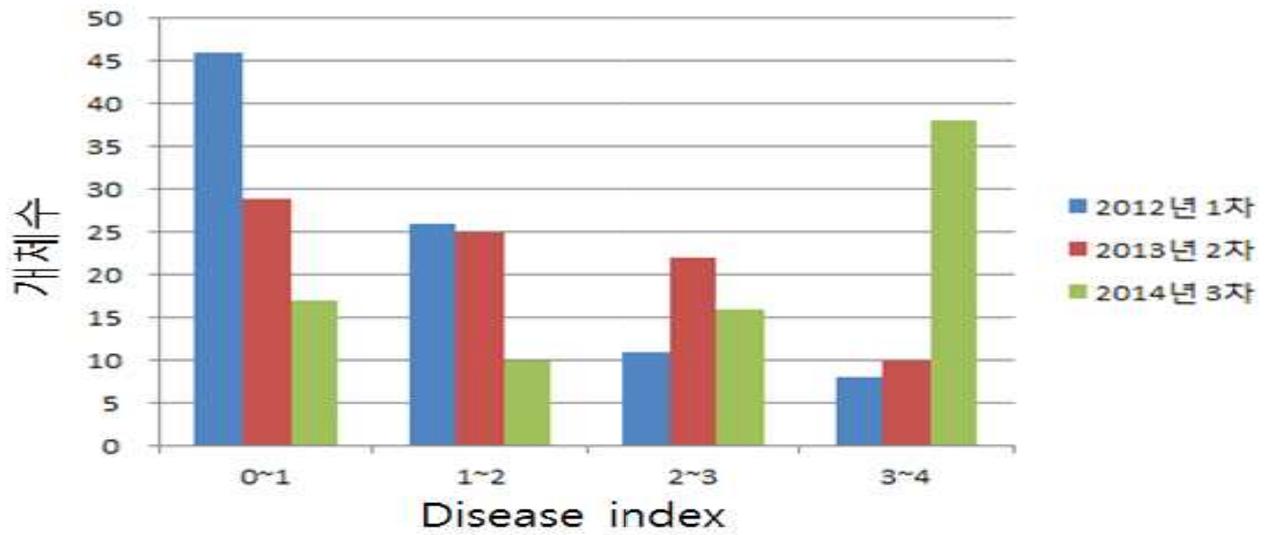
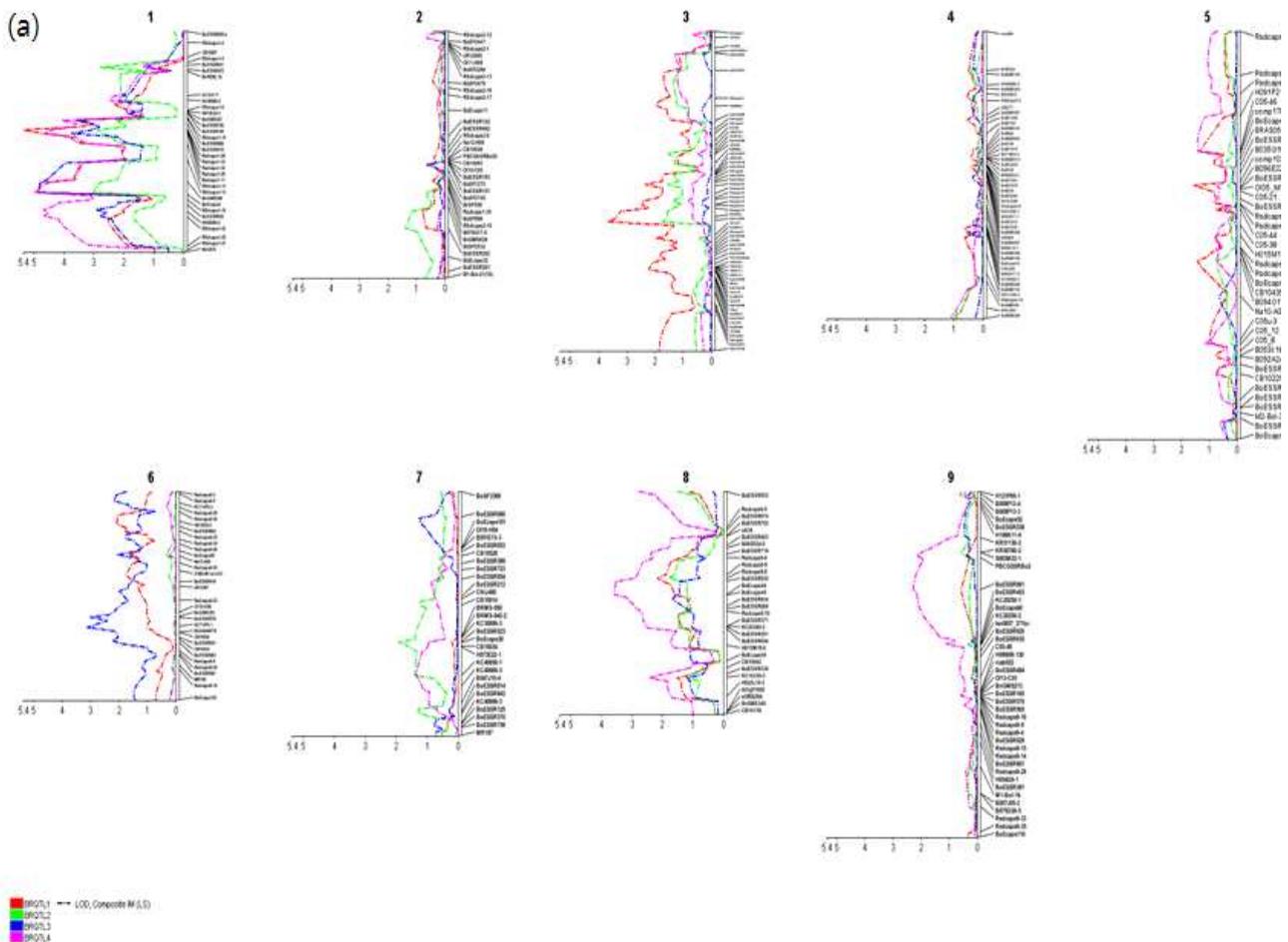


Figure 23. Black rot disease index distribution of F<sub>2</sub> families

(2) 흑부병 저항성 QTL 동정

병리검정 결과와 본 연구실에서 작성한 유전지도를 연계한 data를 QGene 프로그램을 이용하여 QTL 분석을 실시하였다. Composit Interval Mapping 분석에서 LOD값을 기준으로 예측되는 지역을 찾아보았고 그 결과는 Figure 24와 같다.



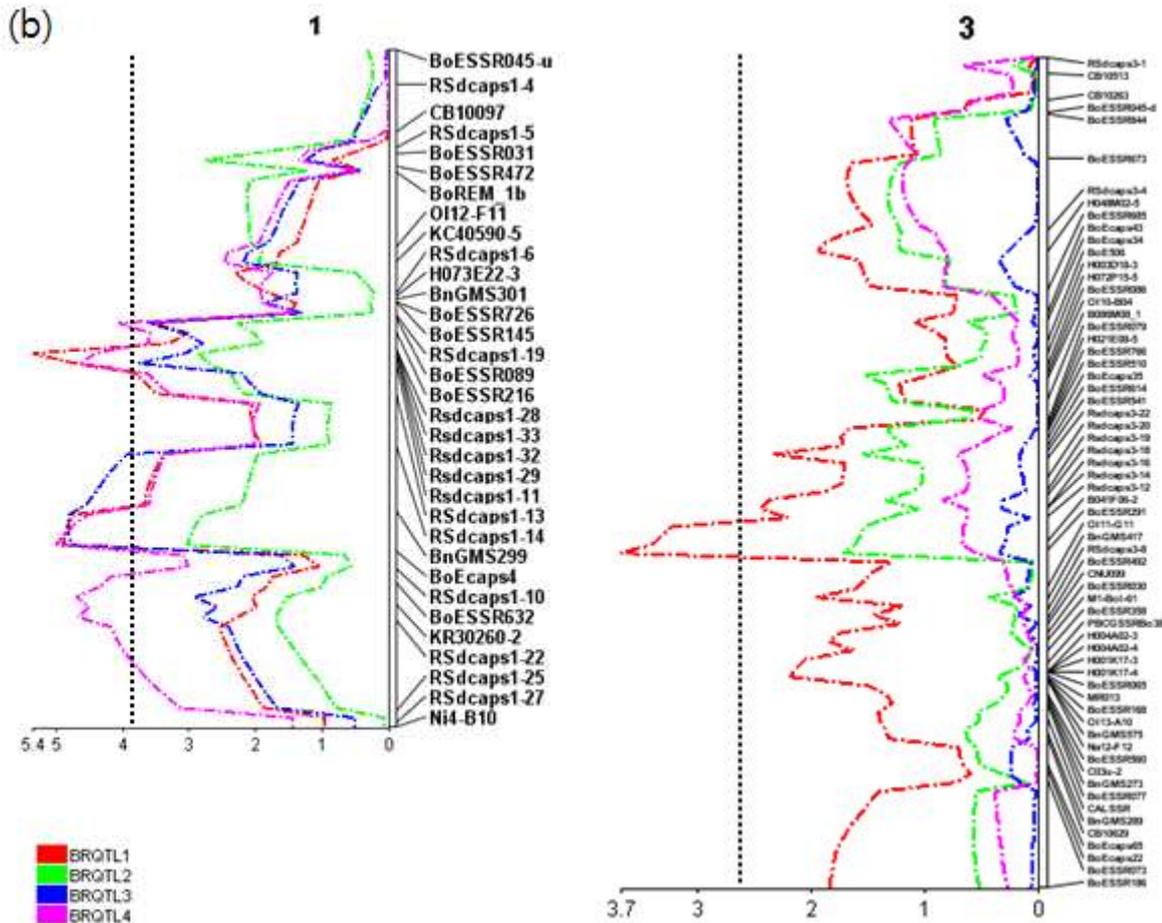


Figure 24. Developed linkage map, and LOD profiles for Black rot resistance. LOD score profiles of the test is shown as red. (a) Whole linkage group with LOD profiles (b) Linkage group 1 and 3 which have relatively high LOD score region

빨간색의 BRQTL1, 초록색의 BRQTL2, 파란색의 BRQTL3은 차례대로 각각 1, 2, 3차 병리검정 결과들에 해당하는 것을 나타내고 자주색의 BRQTL4는 이 세 반복의 결과를 모두 합친 이후 계산한 평균값의 결과를 나타내는 것이다. 양배추 염색체 1번에 해당하는 linkage group에서는 각각의 병리조사에 따른 결과가 비교적 같은 지역(RSdcaps1-11와 RSdcaps1-29지역, BnGMS299와 BoEcaps4지역)들에 상당히 높은 LOD 값을 보여주는 경향을 보이고, 3번 염색체에서는 B041F06-2와 BoESSR291 지역에 1차 병리검정 결과에만 특이적으로 높은 LOD 값을 보여주고 있다.

반복 간에 심하게 흔들리는 병리결과에서 신뢰성 있는 data를 얻어내는 추가 분석과 EST 서열에서 나타난 병저항성 관련 유전자에 대한 연구, reference 유전체 서열에서 저항성 유전자 탐색등의 분석을 실시함으로써 좀 더 완전한 저항성 QTL을 탐색할 수 있을 것이고, 현재 저항성에 유의성이 큰 마커들의 검정을 거쳐 2014년 안으로 특허를 출원할 예정이다. 이 저항성 마커들은 종묘회사 및 개인 육종가들이 흑부병 저항성 품종을 육성하는 과정에서 marker assisted selection의 재료로써 육종연한을 단축시키는 데에 충분히 활용될 수 있을 것이다.

나. 뿌리혹병 저항성 연구

뿌리혹병에 대한 병점종 실험 역시 한국화학연구원에 의뢰하여 2012년도와 2014년도 두 차례에 걸쳐 수행되었다. 흑부병과 마찬가지로 F<sub>2</sub> 집단 각각의 개체별로 F<sub>3</sub> 10~15개의 종자들을 사용하여 병리검정을 실시하였다. 2012년도에는 *Plasmodiophora brassicae* 강릉(race 9) 하나의 균주에 대해서만 실험이 수행되었고, 2014년도에는 강릉(race 9), 연천(race 2), 대전(race 5) 세 개 균주에 대해서 점종을 실시하였다. 병발생 조사는 흑의 크기에 따라 0~4의 발병지수를 사용하여 점종 후 약 5주가 지난 시점에 실시하였다. 역시 F<sub>2</sub> 개체들의 병조사 index는 같은 개체에서 유래된 F<sub>3</sub> 모든 개체들에 대한 발병도를 조사한 이후 평균값을 그 F<sub>2</sub> 개체의 발병도 대푯값으로 정하였다. 이 결과를 기인하여 F<sub>2</sub> 집단에서의 index distribution은 figure 25와 같다. 병리검정에 대한 자세한 조건 및 설명은 90 페이지 "3. 뿌리혹병 저항성 검정"에 명시되어 있다.

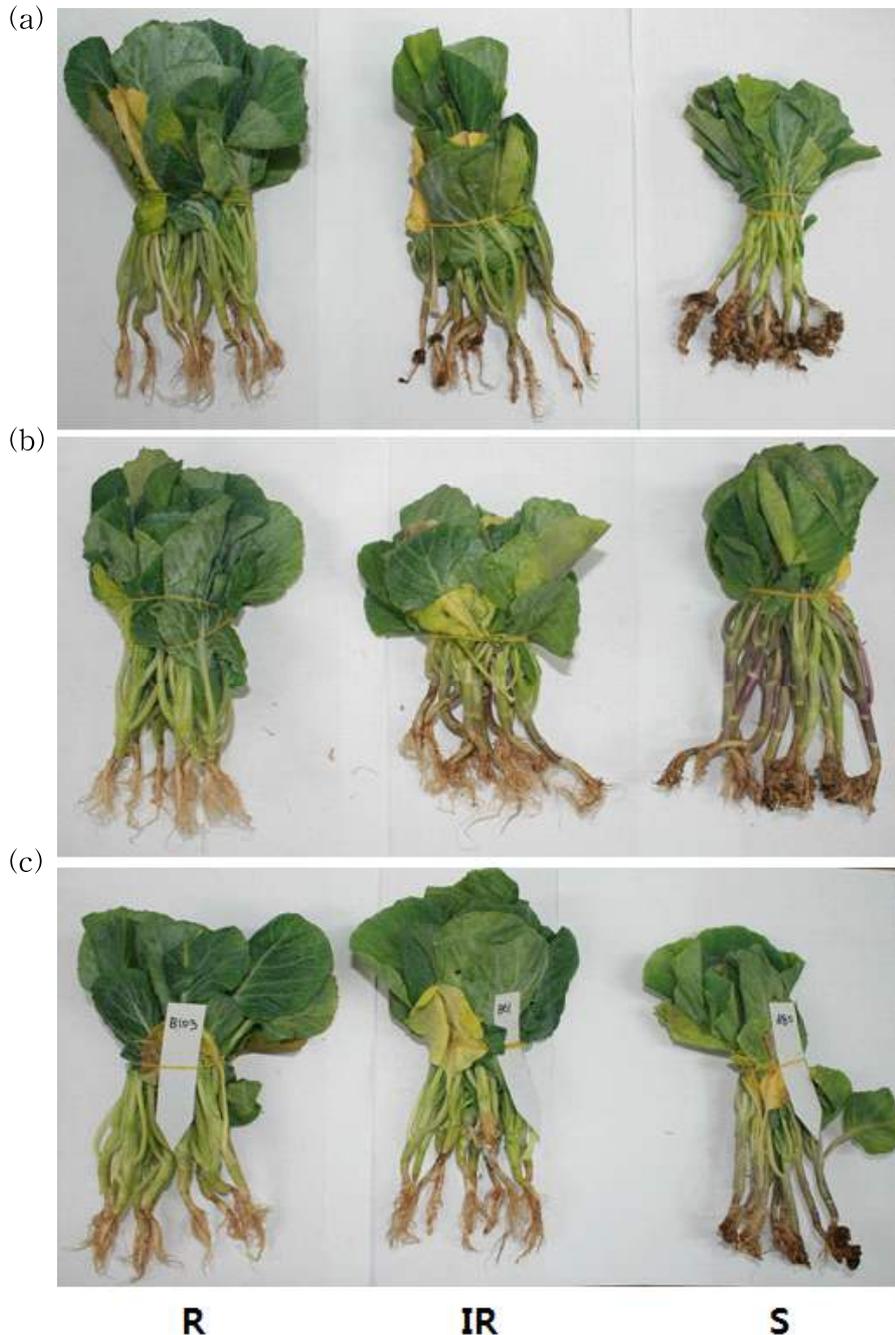


Figure 25. Club root disease symptoms.;(a) 연천(race 2), (b) 대전(race 4), (c) 강릉(race 9)

같은 강릉(race 9) 균주로 진행한 두 번의 실험결과로부터 얻어진 F<sub>2</sub> 개체들의 대푯값은 크게 차이나지 않는 것을 알 수 있었으며 figure 26과 마찬가지로 index distribution도 다른 race들과 비교하였을 때, 반복 간에 차이가 크지 않다는 것을 확인할 수가 있었다. 연천(race 2)균주가 가장 병원성이 크게 나타나고, 대전(race 5)균주의 병원성이 가장 약하게 나타난 것을 알 수 있었다.

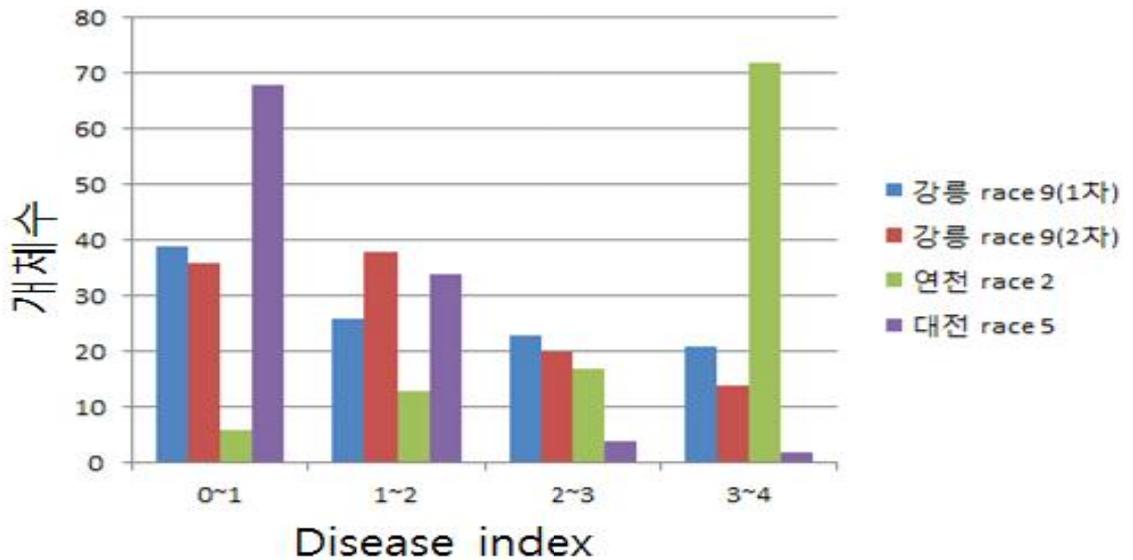


Figure 26. Club-root disease index distribution of F<sub>2</sub> families

35개 마커로 실시한 genotyping 및 GBS 결과를 합쳐 고밀도의 뿌리혹병 저항성 관련 조합 유전지도가 작성되면 이 병리검정 결과와 연계하여 저항성 QTL을 동정할 수 있을 것이다. 강릉(race 9) 균주의 반복 접종실험결과가 흑부병에 비해 상당히 안정적으로 신뢰할 수 있기 때문에 저항성 QTL 지역을 깨끗하게 찾아낼 수 있을 것인데, 또한 다른 race의 균주들에 대한 각기 다른 QTL도 한번에 찾아낼 수 있을 것으로 판단된다.

## 6. Brassica species 내 MITE연구

MITE(Miniature Inverted-repeat Transposable Element)는 non-autonomous DNA transposon으로 유전체 영역 전반에 걸쳐 high copy로 존재하지만 600bp 이내로 다른 element들에 비해 상대적으로 크기는 매우 작으며 유전자가 밀집하여 분포하는 지역에 분포하는 특성을 가지고 있다. 또한 12bp ~ 1Kbp에 이르는 terminal inverted repeat(TIR)과 2~10bp의 target site duplication(TSD) sequence등의 DNA transposon의 구조적 특징들도 가지고 있다. 대부분의 MITE는 크게 *stowaway-like*(TSD가 TA)와 *tourist-like*(TSD가 TAA) 두 major family로 나뉘어진다. 배추과 식물처럼 진화 과정에 genome duplication이 많이 된 식물의 경우 동형유전자 (homologous gene)의 진화에 MITE가 결정적인 역할을 할 것으로 추정된다. 따라서 유용한 MITE를 발굴하고 효율적인 마커 시스템을 개발하기 위한 연구를 진행하였다.

### 가. MITE family 동정

십자화과 유전체 내에 존재하는 MITE들을 찾아내기 위해 1차년도부터 실험실에 구축해 놓은 여러 database에서 여러 프로그램을 이용하여 MITE family들을 찾아내는 연구를 실시하였다. 1차년도에 구축한 database에서는 CENSOR, MUST, REPEAT FINDER, MITE hunter 등의 프로그램을 이용하여 2개의 MITE family들을, 2차년도에는 *B.rapa* A03 염색체 위의 BAC contig(KBrB059A03)의 sequence를 dotplot 분석등을 통하여 3개의 family들을, 3차년도 이후에는 283Mb의 *B.rapa* pseudo-chromosome sequence에서 1차적으로 mining을 실시하고, 기본적인 구조적 특징들을 annotation하는 방법으로 총 23개의 family들을 발굴할 수 있었으며, 이들의 2차구조는 figure 27와 같다.

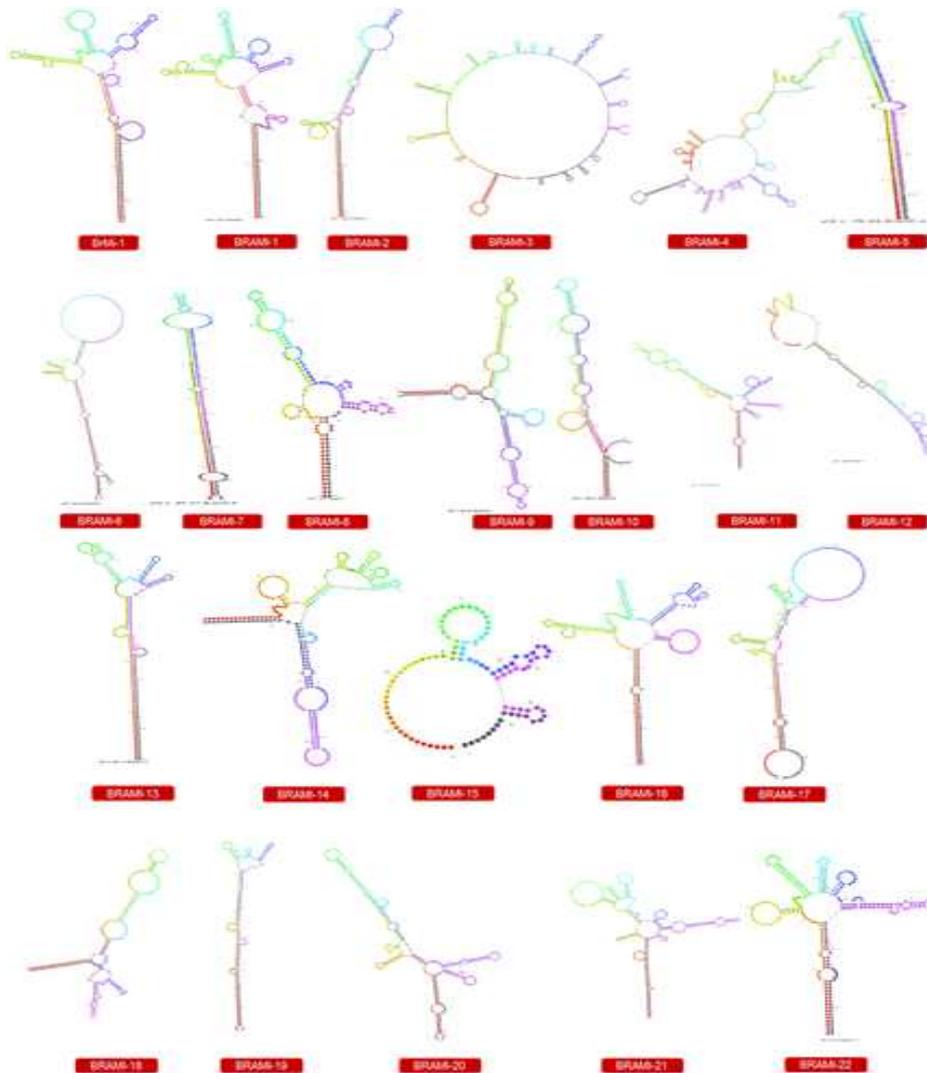


Figure 27. Representation of predicted secondary structure and expected loop formation in 23 MITE families

이렇게 연구에 사용된 MITE family들은 CENSOR 프로그램을 사용하여 BRAMU-10, 11은 *A. thaliana*와 보고된 MITE와, BRAMI-2는 *M. truncatula*에서 보고된 MITE와 약 75% 이상의 homology가 있는 것을 알아낼 수 있었다. 또한 대부분의 MITE family들은 A+T content가 50% 이상인 특징이 있었다.

나. 각 MITE family의 member들의 분포와 특징

각각의 MITE family에 속하는 member들을 동정하기 위해서 283Mb 배추 표준유전체 염기서열과 Genbank에 올라있는 470Mb의 양배추, 15Mb의 유채 shot gun sequence들에 23개의 MITE family들의 consensus sequence들을 사용하여 80% 이상의 sequence coverage와  $1e-20$ 의 e-value의 기준으로 BLASTn search를 실시하였다. 그 결과 배추에는 7221개, 양배추에는 5267개, 유채에는 154개의 copy들이 존재하는 것을 확인할 수가 있었다(Table 27).

Table 27. Summary of Characteristics of BRAMI 1-22 and its copy numbers in *Brassica genome*

ID	Super Family	size (bp)	TIR (bp)	TSD (bp)	A+T Ratio (%)	Copies in <i>B. rapa</i> <sup>a</sup>		Copies in <i>B. oleraceae</i> <sup>d</sup>		Copies in <i>B.napus</i> <sup>e</sup>		No. of RE Motif	No. of RE
						Total <sup>a</sup>	Copies with >80% similarity	Total	Copies with >80% Similarity	Total	Copies with >80% Similarity		
BrMi-1	stowaway	267	30	2	76	267	16	201	22	4	2	19	17
BRAMI-1	stowaway	260	34	2	74	697	401	471	129	13	4	14	12
BRAMI-2	stowaway	242	39	2	70	14	6	2	1	0	0	43	30
BRAMI-3	stowaway	556	24	2	82	906	23	628	12	18	0	20	20
BRAMI-4	stowaway	558	24	2	83	1369	97	663	69	27	2	16	14
BRAMI-5	Tourist	212	58	3	68	207	8	908	41	26	0	22	19
BRAMI-6	Tourist	366	31	3	70	222	61	131	22	5	2	17	12
BRAMI-7	Tourist	252	85	3	63	513	245	255	52	14	3	15	10
BRAMI-8	Tourist	160	16	3	51	636	287	110	24	3	2	23	17
BRAMI-9	Tourist	286	16	3	69	207	118	70	18	0	0	22	16
BRAMI-10	Tourist	257	18	3	64	167	60	134	20	6	0	21	18
BRAMI-11	Tourist	366	36	3	70	213	54	421	99	11	2	22	21
BRAMI-12	Tourist	348	16	3	77	137	29	69	6	0	0	13	10
BRAMI-13	Tourist	264	46	3	39	227	20	77	2	1	0	11	8
BRAMI-14	Tourist	255	18	3	69	138	35	121	25	4	1	25	14
BRAMI-15	Tourist	305	45	3	57	4	4	16	0	0	0	66	47
BRAMI-16	Tourist	273	46	3	60	239	66	193	42	4	1	14	11
BRAMI-17	Tourist	271	56	3	74	141	24	89	11	0	0	16	15
BRAMI-18	Tourist	268	24	3	63	140	74	124	41	10	1	8	5
BRAMI-19	Tourist	273	45	3	39	206	40	78	3	1	0	16	13
BRAMI-20	Tourist	365	70?	3	72	215	69	127	21	4	2	19	16
BRAMI-21	Ac	439	35	8	67	339	24	367	31	3	0	22	20
BRAMI-22	Ac	248	17	8	58	17	16	12	7	0	0	27	26

<sup>a</sup> MITE copies and MITE fractions analysis were done using the available 283 Mb whole genome pseudo-chromosome sequences

<sup>c</sup> MITEs were estimated to whole genome (529 Mb) by simple conversion

<sup>d</sup> MITEs copies were analyzed from 470 Mb GSS sequences of *B. oleraceae* from Genbank

<sup>e</sup> MITEs copies were analyzed from 15 Mb GSS sequences of *B. napus* from Genbank

이렇게 BLAST 분석의 결과로 이 23개의 family들이 세 species에 모두 분포하고 있기 때문에 이 MITE들은 3~4백만 년전 배추와 양배추가 분화하기 전에 발생하고 이후 크게 증폭이 되었다고 추정할 수 있었다. Softberry의 Plant Transcription Regulatory Sites database에 비교하여 Regulatory Elements(REs)들의 motif를 찾아본 결과 23개 MITE family들에게서 95% 이상의 homology를 갖는 391개의 RE에서 491개의 motif들을 찾아낼 수 있었다.

MITE family에 속하는 member들의 genomic relation을 분석하기 위해 각 family에서 80% 이상의 sequence similarity를 보이는 거의 intact한 member들을 사용하여 phylogenetic 분석을 해보았다(fig 28).

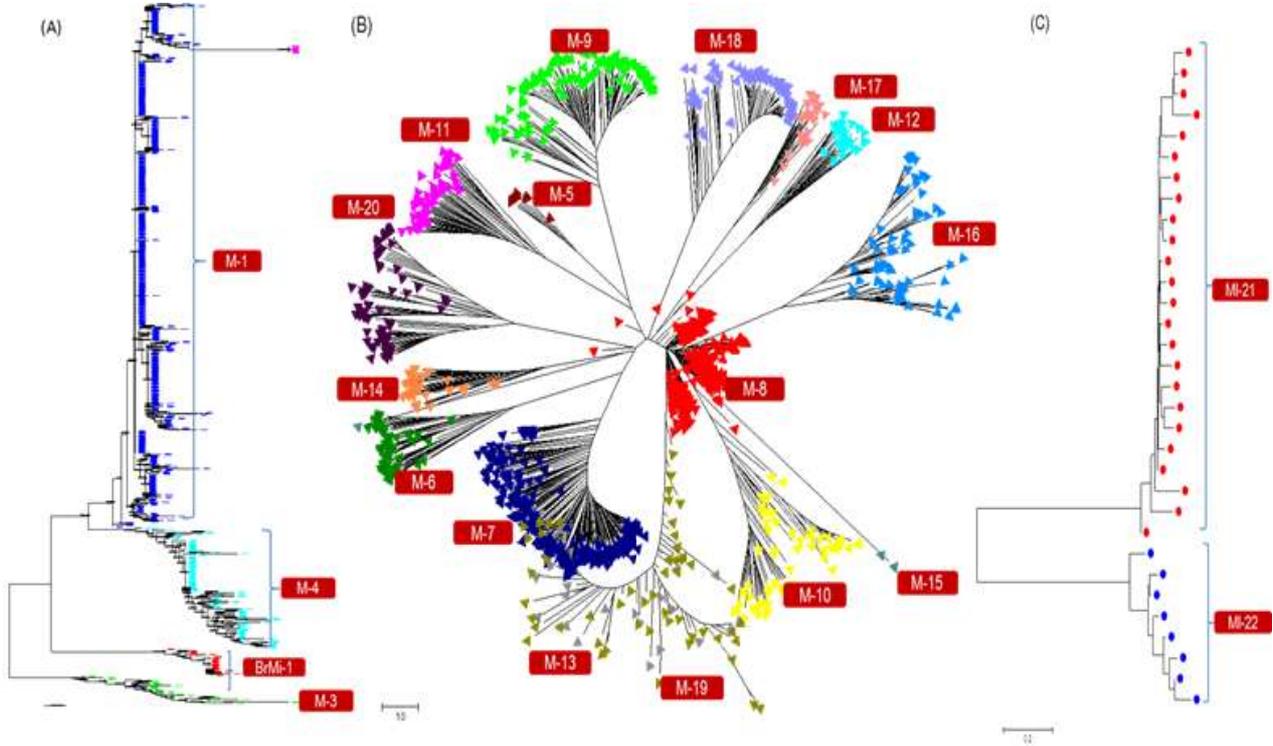


Figure 28. Phylogenetic analysis of the Three MITE super families (*stowaway*-like, *Tourist*-like and *hAT*-like) using members of 23 MITE families from *B. rapa* with 80% sequence similarity. A) Phylogenetic trees were generated from five *stowaway*-like family members (BrMi-1, BRAMI-1-4), B) Phylogenetic trees were generated from five *tourist*-like family members (BRAMI-5-20) C) Phylogenetic trees were generated from five *hAT*-like family members (BRAMI-21-22). Phylogenetic trees were constructed by neighbor-joining method with 500 replications

BRAMI-1, 2, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21에 해당하는 member들은 하나의 clade로 잘 보존되어 있는 것으로 보아 빠르게 증폭이 되었다는 것을 예측할 수 있었지만, BrMi-1, BRAMI-3, 4, 8, 10, 13, 16, 19, 22에 해당하는 member들은 염기서열 상 diverse한 것으로 보아 genome 상에서 여전히 활동적으로 증폭되고 있을 것으로 추측되어진다.

#### 다. MITE 삽입에 의한 다형성 관찰

MITE의 삽입과 이들의 transposition activity 확인을 위해, 22개 MITE family들의 flanking sequence에서 187개의 프라이머들을 제작하여 table 28에 표시한 개체들을 가지고 PCR 실험을 하였다(Fig 29).

Table 28. Accessions used for MITE insertion polymorphisms analysis

	Genome	Species	Accessions
1	AACC	<i>B. napus</i>	Tapidor
2	AACC	<i>B. napus</i>	Ningyou7
3	AA	<i>B. rapa</i>	Chiifu
4	AA	<i>B. rapa</i>	Kenshin
5	CC	<i>B. oleracea</i>	C1234
6	CC	<i>B. oleracea</i>	C1184
7	CC	<i>B. oleracea</i>	C1235
8	AT	<i>A. thaliana</i>	Col-At

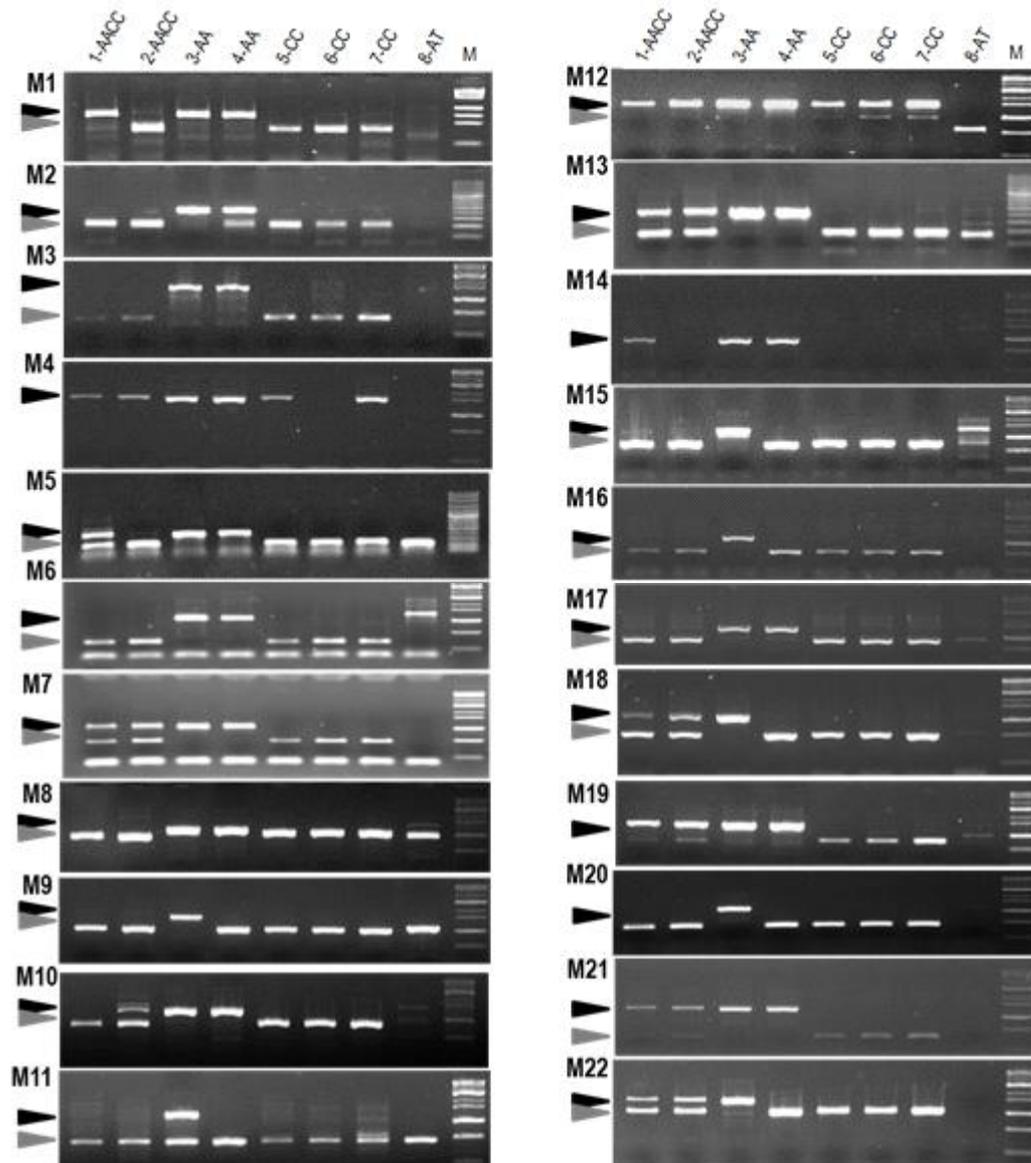


Figure 29. MITE insertion polymorphisms (MIP) analysis for confirmation of 22 MITE families on the *Brassica* genome. M, molecular size marker. *Black* and *gray* arrowheads indicate that product with and without MITE insertion, respectively. Here M1-M13 represents the BRAMI-1-22, respectively.

이중 160개 프라이머 세트에서 잘 증폭된 amplicon들을 얻을 수 있었고, 38개의 프라이머 세트에서 중간 다형성을, 90개 프라이머 세트에서는 종내 다형성을 보이는 결과를 얻을 수 있었다(Table 29).

Table 29. Summary of MITE insertion polymorphism analysis

MITE	Primers analyzed	Polymorphisms profile							
		Among <i>B. napus</i>	Among <i>B. rapa</i>	Among <i>Boleracea</i>	Inter-species	Between <i>B.rapa</i> & <i>B.napus</i>	Between <i>B.rapa</i> & <i>Boleracea</i>	Between <i>B.napus</i> & <i>Boleracea</i>	Intera-species
BRAMI-1	61	3	8	0	11	23	27	20	38
BRAMI-2	4	0	2	0	2	4	2	0	4
BRAMI-3	6	0	1	0	1	1	1	0	1
BRAMI-4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
BRAMI-5	8	0	1	0	1	3	1	0	3

BRAMI-6	5	0	2	0	2	4	3	0	4
BRAMI-7	6	0	2	0	2	3	3	1	3
BRAMI-8	6	0	1	0	1	3	1	0	3
BRAMI-9	9	0	3	1	4	7	6	1	7
BRAMI-10	6	1	0	0	1	1	3	2	3
BRAMI-11	5	0	0	0	0	0	0	0	0
BRAMI-12	4	1	0	0	1	1	1	1	2
BRAMI-13	17	3	4	0	6	8	6	6	9
BRAMI-14	2	0	0	0	0	0	0	0	0
BRAMI-15	2	2	1	0	2	2	2	2	2
BRAMI-16	2	0	0	0	0	2	1	0	1
BRAMI-17	2	0	0	0	0	0	1	1	1
BRAMI-18	2	0	1	0	1	1	1	1	1
BRAMI-19	2	0	0	0	0	0	2	2	2
BRAMI-20	2	0	1	0	1	2	2	2	2
BRAMI-21	2	0	0	0	0	0	1	1	1
BRAMI-22	5	1	1	0	2	2	3	3	3

대부분의 프라이머 세트 결과에서 종내 혹은 종간에 다형성을 볼 수 있었고, 이 결과들로부터 여러 종들 사이에서 MITE들은 잘 보존되어있으면서, 또한 굉장히 다양하고 active하다는 것을 알아볼 수 있었다. MITE family들이 오랜 시간을 지나오면서 그들의 보존에 대해 selection pressure의 강약에 따라 BRAMI-2, 5, 7, 8과 같이 거의 다형성을 볼 수 없는 family들, BRAMI-1, 6, 11, 12와 같이 많은 다형성을 관찰할 수 있는 것을 확인할 수 있는 family들이 있음을 확인할 수 있었다. MITE Insertion Polymorphism 마커들이 유전자가 많은 euchromatin 지역에 산재되어 family들에 대해서는 종간 혹은 종내에서 다형성을 구별할 수 있는 좋은 마커로 활용이 가능하다.

현재 본 연구실에서 BRAMI-1 family에 대해서는 더 많은 분석을 통해서 배추와 양배추, 유채의 sequence에서 총 1400 copy가 넘게 존재하고 있고, 이들중 78%정도는 gene-rich 지역에 존재하고 있음을 밝혀내었다. 이 MITE family가 duplicated 된 Brassica genome 내에서 duplicated 된 유전자들의 진화에 영향을 끼쳤을 수 있는 것으로 사료된다(Sampath et al. 2013).

## 2절 수출용 고품질 흑부병 저항성 양배추 품종육성 (제1 협동과제)

### 1. 수출용 고품질 흑부병 저항성 품종 육성

가. 중국용 원형 극조생계 품종 육성

(1) 패스트볼(Fast Ball) - 품종보호출원번호 : 출원 2012-89



패스트볼(JS 107) 중국 현지 재배포장 (2013년 8월 중국 하북성 장자커우 지역)



패스트볼(JS 107) 입모

인도 Gujarat주  
현지 적응성 시험

패스트볼(JS 107)과 Golden  
Cross 비교(인도 텔리)

패스트볼(JS 107)은 현재 중국에서 가장 많이 재배되고 있는 품종 중의 하나인 극조생계 품종인 8398을 대체하기 위하여 개발 되었으며, 중국에서 2010년부터 2-3년간 현지 적응성 시험을 수행 하였다. 중국 현지 적응성 시험 결과 패스트볼은 8398에 비해 2-3일 빠른 숙기를 보였고, 초형과 구형 등 외관이 더 우수하고 안정되어 있으며, 8398이 열구가 극히 빠른 반면 패스트볼은 극조생종 품종으로서 내열구성이 매우 강한 특성을 보여 중국 현지 회사로부터 주문을 받아 2012년부터 소량 판매를 시작하였다. 또한 인도 서부 지역에 Takii사의 '골든크로스(Golden Cross)' 라는 원형 극조생종계 시장이 있는데, 2011년부터 인도에서도 시험을 시행해 온 결과 현지로부터 패스트볼이 숙기가 매우 빠르고 구형 및 구색이 더 우수하다는 평가를 받아 2012년에서 2013년까지 확대 시교를 실시하였으며 2014년부터 본격적인 판매가 계획되어 있다. 2013년 300kg내외를 수출할 예정이었으나 생산량이 부족하여 100kg을 수출하였다. 2014년에는 600kg를 수출할 예정이다.

인도 현지 적응성 시험

(파종 : 2012. 8. 15, 정식 : 2012. 9. 10, 수확 : 2012. 11. 1, 인도 델리)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴 도	수송 성	내열 구성	흑부병
골든크로스 (Takii사)	50	중	원형	0.9	11.5	11.1	4.0	중	중	약	약
패스트볼	48	상	원형	1.0	11.8	12.0	3.8	강	중상	중	약

품종명	2012년 수출량	2013년 수출량	2014년 수출 예정량
패스트볼	5kg	100kg	600kg

나. 중국용 원형 조생계 품종 육성

(1) 에이스볼(Ace Ball) - 품종보호출원번호 : 출원 2014-106



에이스볼(Ace Ball) 중국 현지 적응성 시험(2011년 11월 북경 근교)

중국에서 가장 폭넓게 재배되고 있는 중국 농업과학기술원의 ‘중감 21호’ 및 Sakata사의 ‘Xiwang’ 등 원형 조생계를 대체하기 위하여 개발된 에이스볼(JS 20)을 중국 현지 적응성 시험을 2010년부터 수행하였다. 에이스볼은 중감 21호 대비하여 숙기가 거의 유사하며, 구가 약간 더 크고, 구형이 더 안정적이며 색이 더 녹색으로 우수한 장점을 확인하여 중국 현지에 확대 시험을 수행하여 왔다. 주재배 단지에서 좋은 결과를 얻어 왔으며 현지 회사로부터 주문을 받아 2011년 소량 판매를 하였고, 2012년 670kg를 생산 공급하였다. 2013년 2,000kg를 주문 받았으나 작년 채종이 원활하지 않아 940kg를 생산 공급하였다. 중국 현지에서 영업적인 반응이 좋아서 금후 중감 21호 시장을 상당 부분을 대체할 수 있을 것으로 기대되는 품종이다.

중국 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 2. 25, 정식 : 2012. 4. 6, 수확 : 2012. 6. 12, 북경)

품종명	숙기 (일)	균일도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴도	수송성	내열구성	흑부병
8398	48	중	원형	1.1	12.5	12.1	5.4	중	중	약	약
중감 21호	50	상	원형	1.3	15.5	15.1	6.8	중강	중상	중약	약
에이스볼	50	상	원형	1.4	16.8	16.3	6.8	중강	중상	중약	약



에이스볼(Ace Ball, JS 20) 조은종묘 연구농장 춘계 성능 시험 (2013년 6월)

품종명	2011년 수출량	2012년 수출량	2013년 수출량	2014년 수출 예정량
에이스볼	71kg	670kg	940kg	1,000kg

다. 중국용 원형 중만생계 월동양배추 품종 육성

(1) JS 98, JS 100, JS 83

중국 양쯔강 일대는 겨울이 다른 지역에 비해 온난하여 8월에 과종하고 9월에 정식하여 11월부터 4월까지 수확하는 월동 작형이 1990년대 중반부터 본격화되어 발달되어 왔다. 11월부터 12월까지 연내에 수확하는 작형에는 Seminis사의 ‘움파로스’ 등 편원형계 품종들이 많이 재배되고, 1-2월 수확하는 작형에는 일본 Nozaki사의 ‘한춘 4호’ 그리고 3-4월 수확하는 작형에는 ‘동승’ 등 편원형계 품종들이 많이 재배되고 있다. 또한 유럽 bejo사의 ‘1038’과 ‘1039’ 그리고 ‘진품’ 등 유럽계 원형계 품종들이 1990년 후반부터 개발되어 12월부터 3월까지 수확하는 월동용 품종들로 자리 잡고 있다. 연내에 수확하는 작형에서는 안토시안 색소 발현이 크게 문제되지 않아 숙기가 비교적 빠른 75-80일종인 편원형계 품종들이 재배되고 있고, 본격적인 저온기로 접어드는 1월부터 4월 수확하는 작형에는 저온에서 안토시안 색소가 나오지 않고 녹색을 유지하는 편원형계 85-100일 품종들이 자리를 잡고 있다. 시장 조사 결과 주소비지가 양배추 재배가 안 되는 중국 북방쪽이어서 구형이 원형인 품종들을 선호하는 경향이 있고, 또한 시장 가격이 편원형에 비해 원형계 품종들의 수확물 가격이 높은 것으로 조사되었다.



JS 98(CB 916) 현지 적응성 시험(2011년 11월, 중국 우한)



JS 100(CB 917) 현지 적응성 시험(2011년 11월, 중국 우한)

2010-2011년 연구소 시험 결과 선발한 원형계 JS 83, JS 98, JS 100, JS 104, JS 295를 중국 현지 회사를 통해 우한 지역에 2011년 8월 10일 파종하고 9월 15일 정식하여 현지 적응성 시험을 하였다. 시험 결과 JS 83은 숙기가 80-85일로서 구중이 약 2.0kg 정도이고 구긴도와 내한성이 약하고 멩아고가 긴 단점이 다소 보였으며, JS 98번과 100번은 75일종으로 진품과 1039에 비해 숙기가 5-10일 정도 빠르고 내열구성이 강하고 결구 길이 우수한 특성이 있었다. 또한 구색이 중국에서 선호되는 녹색이고 외엽이 간출한 장점이 있었다. 그러나 숙기가 75-80 일종으로서 2-4월 수확하는 용으로는 숙기가 빨라서 열구가 대비종들에 비해 빠를 것으로 판단되었다. 한편 인도 북부에서도 동절기에 JS 100과 같은 내한성이 우수한 원형계 품종 시장이 있어 2012년부터 시험을 하였으며 현지에서 좋은 결과를 받았다. JS 100 품종이 JS 98 보다 색이 더 진하고 품질이 우수하여, JS 100을 최종 선발하였으며, 2013년 종자생산을 시작하여 2014년 200kg 첫판매가 예정되어 있다. 판매시기에 맞추어 품종등록 예정에 있다. 한편 JS 83은 길도가 다소 부족한 특징이 있으나, JS 100보다 수량성이 우수한 특징이 있어 향후 시험을 계속 진행할 계획이다.

중국 월동양배추 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 8. 10, 정식 : 2012. 9. 4, 수확 : 2012. 11. 28 / 2013. 2. 8, 중국 우한)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	땡아고 (cm)	구긴 도	수송 성	내열 구성	내한성
진품	80	중	원형	1.2	14.0	13.4	8.5	중강	중강	중강	중강
JS 83	85	중	원형	2.0	17.2	16.9	9.5	중약	중하	중강	약
JS 295	80	상	원형	1.5	14.4	11.5	8.2	중	중하	강	약
JS 98	70	상	원형	1.8	13.4	13.1	7.7	강	상	강	중강
JS 100	75	상	원형	1.7	14.8	14.3	8.9	중	중하	강	강

라. 인도용 원형 조생계 품종 육성

(1) 포르테 9 (Forte 9) - 품종보호출원번호 : 출원 2014-107)

비너스 11 (Venus 11) - 생산판매신고 필증번호 02-0003-2014-7)



비너스 11 현지 적응성 시험  
(인도 하이드라바드)

비너스 11 현지 적응성 시험

포르테 9 인도 현지 적응성

인도에서 많이 재배되고 있는 원형 조생계 품종 중의 하나인 Mahyco사의 ‘크란티 (Kranti)’를 대체하기 위해 포르테 9과 비너스 11을 개발하여 2012년부터 2013년까지 인도 현지 적응성 시험을 하였다. 포르테 9은 델리 시험에서는 숙기가 크란티보다 2-3일 빠르고 긴도가 더 우수하며 구색이 더 진녹색인 특성을 보여 현지 회사로부터 좋은 평가와 주문을 받아 현재 종자 생산중에 있고 2014년 400kg를 수출할 예정이다.

비너스 11은 숙기가 대비종에 비해 5-6일 정도 빠르며, 초형이 간출하고 구색이 더 녹색이고 내열구성 등이 매우 강한 장점이 있어 2012년 시고 종자를 2kg을 생산하여 인도에 공급하여 현지 적응성 시험을 수행하여왔다. 2013년 현지 회사로부터 우수한 현지 시험 성적을 받았으며, 2013년 하반기 200kg 주문을 받은 상태로서 2014년 하반기 상업용 종자 판매 예정이다. 인도 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 10. 10, 정식 : 2012. 11. 15, 수확 : 2013. 2. 3, AP주 하이드라바드 근교)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴 도	수송 성	내열 구성	흑부병
크란티	55	중상	원형	1.1	14.4	13.9	5.8	중강	중상	중약	약
비너스 11	50	상	원형	1.2	15.9	15.7	3.6	강	상	강	중
포르테 9	53	상	원형	1.1	14.8	14.3	4.2	강	상	극강	중



비너스11 및 포르테9 조은종묘 연구농장 성능시험 (2013년 6월, 좌 비너스11, 우 포르테 9)

품종명	2012년 수출량	2013년 수출량	2014년 수출 예정량
포르테 9	3kg	50kg	400kg
비너스 11	2kg	30kg	200kg

마. 인도용 원형 중생계 품종 육성

(1) 스마트(Smart) - 생산판매신고 필증번호 02-0003-2009-10



스마트 입모

인도 현지 스마트 재배 포장  
(Madhya Pradesh 지역)

인도, 중국 및 동남아에서 폭넓게 재배되고 있는 일본 Kaneko의 원형중조생계 품종인 'Rare Ball'과 세미니스의 'Green Challenger'를 대체하기 위해 개발한 '스마트'를 인도와 중국 현지 적응성 시험 및 판매 결과 대비종인 'Rare Ball'에 비해 구긴도가 더 강하고, 맹아고가 더 안정되어 있으며, 내열구성이 강하고 인도와 중국에서 우기에 특히 다발하는 흑부병 저항성을

보였다. 인도 중부지역인 Madhya Pradesh 지역에서 세미니스 품종인 ‘Green Challenger’에 비해 구긴도가 더 강하고 맵아고가 더 안정되어 있으며 흑부병에 더 강한 특성을 보여 현지에서 좋은 반응을 얻고 있으며 ‘Green Challenger’ 시장을 대체하고 있는 상황이다. 2010년부터 인도와 중국에 수출을 시작하였으며 현지에서의 좋은 반응으로 수출량이 계속 증가하고 있다. 2013년 중국과 인도에 1,900kg를 수출하였으며, 2014년에도 2,300kg를 수출할 예정이다.

품종명	2011년 수출량	2012년 수출량	2013년 수출 예정량	2014년 수출 예정량
스마트	925kg	1,265kg	1,900kg	2,300kg

(2) 조은에이스(JOEUN ACE) - 품종보호출원번호 : 출원 2012-90



조은에이스(JS 213)는 중국과 인도에서 2010년부터 2013년 초까지 현지 적응성 시험 결과 중국과 인도 및 파키스탄에서 폭넓게 재배되고 있는 원형 중조생계인 Seminis사의 ‘세인트’ 보다 숙기가 일주일 정도 빠르고 초형이 더 간출하여 밀식재배에 적합하고 구색이 더 녹색이며, 세인트가 고온기에 구가 붕괴해지는 단점이 있는데, 조은에이스는 정원형을 유지하였다. 그리고 세인트에 비해 구긴도가 더 우수하여 장거리 수송에 더 유리한 결과를 얻었으며, 맛이 더 좋은 장점이 있었으며 내열구성이 더 우수한 결과를 얻었다. 조은에이스는 한국화학연구소 병리검정 결과 흑부병 저항성이 세인트에 비해 매우 강한 결과를 얻었다. 인도 우기 재배시 그리고 중국 고랭지 여름 재배시 흑부병이 다발하여 큰 피해를 입고 있으며, 기존에 많이 판매되고 있는 세인트의 경우도 흑부병에 대한 저항성이 약하여 흑부병 저항성 품종에 대한 요구가 시급한 실정이다. 그동안 2-3년간의 중국, 인도 및 파키스탄 등 현지에서 현지 적응성 시험 결과가 우수하여 주문을 받아 해외 생산중에 있다.

인도 현지 적응성 시험

(과종 : 2011. 10. 28, 정식 : 2011. 11. 29, 수확 : 2012. 2. 8, 인도 마하라쉬트라)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구 긴도	수송 성	내열 구성	흑부병
세인트	65	중상	원형	1.2	14.1	15.7	5.9	중	중	중	중하
JS 213	60	상	원형	1.3	15.7	15.8	5.4	강	강	강	강

파키스탄 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 10. 23, 정식 : 2012. 11. 24, 수확 : 2013. 1. 27, 파키스탄, 구지란왈라)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구 긴도	수송 성	내열 구성	흑부병
세인트	63	중상	원형	1.2	16.1	13.5	6.1	중	중	중	중하
JS 213	56	상	원형	1.4	16.3	16.1	5.8	강	강	강	강

품종명	2014년 수출 예정량	2015년 수출 예정량
조은에이스	50kg	300kg

(3) 엘로라 (Ellora) - 생산판매신고 필증번호 02-0003-2014-7



엘로라 조은종묘 연구농장 성능시험 (충북 괴산)

엘로라(JS17)는 인도 웨스트 벵갈쪽에서 폭넓게 재배되고 있는 원형 조생종인 사카다의 ‘그린 익스프레스(Green Express)’, 다끼이의 ‘T-621’, 세미니스의 ‘제니스(Zennith)’ 그리고 ‘밀레니엄

111(Millennium111)'을 대체하기 위해 개발 되었다. 대비종들에 비해 일주일 이상 빠르면서 원형 조생계 품종들의 단점인 내서성, 내병성(흑부병) 및 내열구성이 내서성 그룹 정도로 보장된 신개념의 품종이다. 또한 기존 원형조생계 품종들이 빨리 깨지는 단점이 있는 반면 엘로라는 내열구성이 극히 강한 장점이 있다. 2013년 200kg 주문을 받아 현재 종자 생산중에 있으며, 2014년 하반기 첫 상업용 종자가 판매 될 예정이다.

양배추 조합능력 검정(가을시험)

(과종 : 2013. 7. 26, 정식 : 2013. 8. 28, 수확 : 2013. 11. 11,

충북 괴산군 소재 조은종묘 육종 연구소)

품종명	숙기 (일)	균일도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴도	수송성	내열 구성	흑부병
그린익스프레스 (Sakata)	58	중	원형	1.2	12.4	14.5	6.5	중	중	약	약
T-621(Takii)	60	상	원형	1.1	13.1	13.0	6.1	중	중	중강	약
밀네니엄111 (Seminis)	58	상	원형	1.2	13.0	13.5	6.0	중	중	중강	약
엘로라	50	상	원형	1.5	15.6	15.0	4.3	강	상	강	중강

품종명	2013년 수출량	2014년 수출 예정량
엘로라	10kg	200kg

#### (4) JS 80



인도에서 많이 재배되고 있는 원형 중생계 품종 중의 하나인 세미니스의 '인두(Indu)'를 대체하기 위해 JS 80번을 선발하여 2012-2014년 인도 현지 적응성 시험을 하였다. JS 80번은 텔리 시험에서 인두보다 숙기가 10일 정도 빠르고 구긴도가 더 우수하며 구색이 더 진녹색이고 맹아고가 더 안정적인 특성을 보였다. 현지 회사로부터 금년 확대 시험을 할 시교 종자를 요청 받았으며, 약 5kg 정도를 생산하여 인도에서 현지 확대 공시할 예정이다. 2014년 현재 확

대 시험중에 있으며 최종 결과는 2015년 2월에 예정되어 있다. 시험 결과에 따라 상업화를 결정 및 등록 예정이다.

인도 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 9. 4, 정식 : 2012. 10. 10, 수확 : 2013. 2. 7, 인도 델리 근교 )

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴 도	수송 성	내열 구성	흑부병
인두	75	상	원형	1.5	14.4	15.3	6.8	중강	중상	강	약
JS 80	65	상	원형	1.4	13.2	13.1	3.6	강	상	강	중

바. 동남아시아 및 중국용 편형계 품종 육성

(1) 오션 99 (Ocean 99) 생산판매신고 필증번호 02-0003-2014-5



Ocean 99 (JS 199)은 중국 남방, 인도 웨스트 벵갈 그리고 동남아시아 열대 및 아열대 지역에 폭넓게 재배되고 있는 편형계 시장을 공략하기 위해 개발되었다. 현재 이들 지역에는 주로 일본 다끼이사의 'KK-Cross', 신첸타사의 'KS-Cross' 그리고 세미니스사의 '트로픽션 플러스' 등이 재배되고 있다. Ocean 99은 중국 우한 및 광조우 시험 결과 기존 편형계 품종들에 비하여 숙기가 4-5일 정도 빠르고 고온 결구력이 강하고 기존 품종들보다 구색이 녹색으로 중국 시장 선호도에 부합하는 현지 시험 결과를 얻었다. 또한 기존 품종들의 경우 숙기가 지난 후 약 7-10일 정도 지나면 열구가 되는 특성이 있는 반면 Ocean 99은 약 20-25일 정도의 재포성을 가져 기존 내서 편형계 품종들과 뚜렷한 차별성을 보여 2012년부터 중국, 인도 및 동남아 등에서 주문을 받고 있으며, 확대 시험중에 있다. 현재 50kg 생산중에 있으며 2015년부터 판매될 예정이다.

중국 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 7. 16, 정식 : 2012. 8. 20, 수확 : 2012. 10. 24, 중국 우한 지역)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴 도	수송 성	내열 구성	후부병
트로픽션 플러스	60	중	편형	1.5	15.2	20.7	7.5	중	중	약	중
Ocean 99	55	상	편형	1.7	15.8	21.9	6.2	강	중상	강	강

품종명	2014년 수출 예정량	2015년 수출 예정량
오션 99	50kg	200kg

(2) 트로픽 에이스(TROPIC ACE) - 생산판매신고 필증번호 02-0003-2012-1



Tropic Ace는 중국 남방, 인도 웨스트 벵갈 그리고 동남아시아 열대 및 아열대 지역에 폭 넓게 재배되고 있는 편형계 시장을 공략하기 위해 개발되었다. Tropic Ace는 중국, 인도 및 동남아 시험 결과 Takii의 KK-Cross 그리고 Grand KK와 숙기는 비슷하지만 구형이 더 우수하며, 고온 결구력이 더 강하여 현지 농가들로부터 기존 품종들보다 더 우수하다는 호평을 얻었다. 현재 중국, 인도 및 동남아 등지에 2012년 150kg, 2013년 300kg를 수출하였으며, 2014년 600kg를 수출할 예정이다.

베트남 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 7. 14, 정식 : 2012. 8. 20, 수확 : 2012. 10. 17, 베트남 하노이 근교 지역)

품종명	숙기 (일)	균일 도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴 도	수송 성	내열 구성	후부병
Grand KK	55	중	편형	1.4	15.1	18.2	6.9	중	중	중	중
트로픽 에이스	55	상	편형	1.6	15.3	20.9	6.3	강	중	중	중강

품종명	2012년 수출량	2013년 수출량	2014년 수출 예정량
트로픽 에이스	150kg	300kg	600kg

(3) 그린스페이스(GREEN SPACE) - 품종보호출원번호 : 출원 2012-88

 <p>01/07/2013 06:27 PM</p>	 <p>01/08/2013 04:57 PM</p>
<p>그린스페이스 입모</p>	<p>흑부병 포장 저항성 비교(하노이 근교) (좌:Green Helmet,중앙:NSX,우:G.Space)</p>
 <p>01/08/2013 04:58 PM</p>	 <p>01/08/2013 04:59 PM</p>
<p>Green Helmet/Sakata</p>	<p>NSX(New Star Cross)/Tokita</p>
 <p>01/08/2013 04:58 PM</p>	 <p>01/08/2013 05:10 PM</p>
<p>Green Space/Jo Eun Seeds</p>	<p>구형 및 구내부 품질 비교 (좌:NSX, 중:Green Helmet,우:G.Helmet)</p>
 <p>01/07/2013 06:26 PM</p>	 <p>01/08/2013 04:56 PM</p>
<p>Green Space 전시포(하노이 근교)</p>	<p>Green Space 전시포(하노이 근교)</p>

Green Space는 중국 남방, 인도 웨스트 벵갈 그리고 동남아시아에 폭넓게 재배되고 있는 편형계 시장을 공략하기 위해 개발되었다. 중국, 인도 및 베트남 현지 적응성 시험 결과 기존 편형계 품종들에 비하여 내서성이 강하고 구가 크고 구색이 녹색이고 흑부병 저항성이 강하다는 평가를 얻었다. 베트남에서 Tokida사의 'New Star Cross(NSX)' 라는 품종이 하노이 근교에서 겨울철 많이 재배되고 있는데, 2011년 현지 적응성 시험에서 대비종에 비해 숙기가 빠르면서 내열구성이 강하고 구중이 많이 나가고 구색이 녹색이면서 흑부병 등 내병성이 강한 특성을 보였다. 금년에도 NSX 대비하여 앞의 여러 장점들을 다시 한번 확인하였다. 특히 NSX가 흑부병에 약하여 수확량이 극히 적은데 비해, Green Space는 흑부병에 거의 걸리지 않아 수확량에서 매우 큰 차이를 보이는 것을 확인하였다. Sakata사의 Green Helmet을 대비 하여서도 구중이 더 나가고 흑부병에 더 강한 특성과 맛이 더 우수하여 현지에서 좋은 반응을 얻었다. 2012년 현지에 조은종묘 브랜드로 판매를 시작 하였으며, 현지 수입 판매 회사가 Tokita사의 NSX와 Sakata의 Green Helmet 품종 대비하여 전시포를 조성하여 재배 농가 및 현지 dealer 들을 모아 놓고 필드데이를 개최하는 등 판매 증진을 위한 여러 마케팅 활동을 통해 판매를 급격히 증가 시키고 있다. 현재 동남아와 중국으로 수출 중이며, 향후 내서 편형계를 선호하는 국가 혹은 지역 개발이 가능할 것으로 사료된다.

베트남 현지 적응성 시험

(과종 : 2012. 9. 12, 정식 : 2012. 10. 10, 수확 : 2012. 12. 28, 베트남 하노이 근교)

품종명	숙기 (일)	균일도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴도	수송성	내열구성	흑부병	맛
NSX (Tokita)	80	중	편형	1.5	12.5	20.8	5.9	중	중	약	약	중
Green Helmet (Sakata)	75	상	편형	1.7	14.2	22.4	6.5	강	상	중강	중강	하
Green Space	75	상	편형	1.8	14.6	22.6	6.5	강	상	중강	강	상

품종명	2012년 수출량	2013년 수출량	2014년 수출 예정량	2015년 수출 예정량
그린 스페이스	59kg	80kg	150kg	250kg

사. 자색양배추

(1) 베로나(VERONA) - 생산판매신고 필증번호 02-0003-2014-2



Verona는 전세계적으로 샐러드 이용시 색깔을 내기 위해 이용되는 자색 양배추 시장을 공략하기 위해 개발된 품종이다. 숙기는 정식 후 약 75일 정도 되는 원형 중생계 품종으로서 구 내부 자색 발현이 좋은 장점이 있다. 중국, 인도 그리고 유럽에서 현지 시험에서 좋은 결과를 얻어 수출 중에 있으며 향후 수출 물량이 증가할 예정이다.

중국 현지 적응성 시험

(파종 : 2013. 4. 20, 정식 : 2013. 5. 25, 수확 : 2013. 8. 13, 중국 하북성)

품종명	숙기 (일)	균일도	구형	구중 (kg)	구고 (cm)	구폭 (cm)	맹아고 (cm)	구긴도	수송성	내열구성	흑부병	자색 발현
초홍 70 (Jinzhengseed)	70	중	원형	1.2	15.8	15.1	8.9	중	중	중	약	하
Ruby Ball(Takii)	75	상	원형	1.3	15.6	15.3	8.5	중	중	중	약	중
Verona	75	상	원형	1.5	16.8	16.9	8.7	중강	상	중강	중	상

품종명	2012년 수출량	2013년 수출량	2014년 수출 예정량
베로나(Verona)	50kg	150kg	280kg

## 2. 흑부병(검은썩음병) 저항성 검정

### 가. 양배추 (C1184 x C1234) F<sub>2</sub> 집단 개체들의 검은썩음병 저항성 검정

#### (1) 검정 방법 및 결과

- 양배추 검은썩음병균은 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* KACC 10377을 사용하여 실험하였음.
- 양배추는 파종 4주 후에 핀셋으로 상처 접종하였으며, 양배추 검은썩음병 조사는 접종 13일 후에 실시하였음.
- 접종 후 22℃의 습실상에서 1일 동안 습실처리 하였으며, 그 이후에는 22-24℃ 항온항습실로 옮겨 하루에 12시간씩 광을 처리하며 재배하였음.
- 병조사는 병반 크기에 따라 0-3의 발병지수를 사용하였으며, 각각의 발병도는 다음과 같음. (0, 병징 없음; 1, 약한 괴사 및 퇴록(접종부위만); 2, V-자 형의 병반(면적 1cm<sup>2</sup> 이하)과 검은 잎맥; 4, V-자 형의 병반(면적 1cm<sup>2</sup> 이상)과 검은 잎맥).
- 양배추 검은썩음병의 감수성 및 저항성 대조 품종은 오조라, Wonderball, XCCR500 사용하였으며, 각각 4.0, 1.3, 1.1의 발병도를 보였음.
- 양배추 검은썩음병에 대한 저항성 정도는 표 1에 정리하였음.

표 1. BR117(C1184 x C1234) F<sub>2</sub> 집단의 1엽 검은썩음병 검정 결과

1.5	MR	2	MR	4	S	1	R	1.5	MR	1.5	MR	2	MR	4	S	1.5	MR	1	R
2	MR	3	S	4	S	4	S	1.5	MR	2.5	S	2	MR	0	R	0.5	R	1.5	MR
2	MR	2	MR	1	R	1	R	2	MR	4	S	4	S	0.5	R	0.5	R	2	MR
1.5	MR	4	S	1.5	MR	0.5	R	4	S	1.5	MR	0.5	R	2	MR	4	S	1.5	MR
2.5	S	4	S	1	R	1.5	MR	0	R	2	MR	2	MR	2	MR	1.5	MR	4	S
1	R	4	S	2	MR	1.5	MR	2	MR	2	MR	0	R	0.5	R	4	S	1.5	MR
2	MR	1	R	0.5	R	4	S	4	S	4	S	0.5	R	4	S	0	R	0.5	R
4	S	1	R	2.5	S	1	R	1	R	1	R	1.5	MR	0.5	R	1	R	2	MR
0	R	0	R	4	S	1	R	1	R	0.5	R	0.5	R	1	R	0.5	R	1	R
2	MR	2	MR	1	R	1.5	MR	0.5	R	1	R	1	R	0.5	R	0	R	1.5	MR
4	S	1	R	0	R	1	R	1	R	0.5	R	4	S	3	S	1	R	0.5	R
0.5	R	1	R	1.5	MR	1	R	1	R	4	S	2	MR	2	MR	4	S	4	S
2	MR	2	MR	0.5	R	1.5	MR	4	S	4	S	4	S	2	MR	1	R	0	R
0	R	3	S	4	S	2	MR	0	R	0.5	R	0.5	R	0.5	R	1	R	0	R
1	R	2	MR																

저항성 판단 기준: R, 0-1.0; MR, 1.1-2.0; S, 2.1-4.0

(2) 검정 결과 분석

표 2에서 보는 바와 같이 (C1184 x C1234) F<sub>2</sub> 집단의 제 1엽의 검은썩음병에 대한 저항성 검정 결과 분리비는 R : MR : S = 63 : 45 : 34( 1.9 : 1.3 : 1) 이었다. 저항성 (저항성 + 중도저항성) : 감수성은 약 3.2 : 1 이었다.

표 2. BR117(C1184 x C1234) F<sub>2</sub> 집단의 1엽의 검은썩음병에 대한 결과

반응	개체수
R	63
MR	45
S	34
합계	142

( $\chi^2 = 0.085$ )

1엽의 결과 ("R, 0-1.0; MR, 1.1-2.0; S, 2.1-4.0"의 기준)

- 저항성 : 중도저항성 : 감수성 = 1.9 : 1.3 : 1
- 저항성 : 감수성 = 3.2 : 1

(3) 대조 품종들의 검은썩음병 검정 결과

표 3에서 보는 바와 같이 대조 품종으로 감수성 품종으로 사용된 오조라는 4로서 감수성으로 나타났으며, Wonder Ball(세미니스)는 1.3으로 중도 저항성 그리고 저항성 품종으로 사용된 XCCR500(조은종묘)는 1.1로서 저항성을 보였다.

표 3. 대조 품종 결과

대조품종	특성	1엽	
		오조라	감수성
Wonder ball	저항성	1.3	MR
XCCR500	저항성	1.1	MR

나. 양배추 (C1184 x C1234) F<sub>3</sub> 집단 개체들의 검은썩음병 저항성 검정 결과

(1) 검정 방법 및 결과

- o 종자를 파종하여 온실에서 3주 동안 재배한 후 검은썩음병균을 살포하여 접종하였음.
- o *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* KACC 10377 균주를 사용하였음.
- o 양배추 (C1184 x C1234) F<sub>3</sub> 116개체들의 검은썩음병에 대한 저항성 결과는 표1, 2와 같음.

표 1. 양배추 (C1184 x C1234) F<sub>3</sub> 집단 개체들의 흑부병 저항성 검정 결과 : 1차

번호	발병도(%)	반응	번호	발병도(%)	반응	번호	발병도(%)	반응
BR1	3	R	BR22	63	S	BR42	36	MR
BR2	75	S	BR23	26	MR	BR43	56	MR
BR3	0	R	BR24	5	R	BR44	41	MR
BR4	27	MR	BR25	16	R	BR45	17	R
BR6	18	R	BR26	21	R	BR46	29	MR
BR7	21	R	BR27	19	R	BR47	12	R
BR8	17	R	BR28	32	MR	BR48	14	R
BR9	10	R	BR29	31	MR	BR49	12	R
BR10	14	R	BR30	33	MR	BR50	19	R
BR11	3	R	BR31	31	MR	BR51	8	R
BR12	100	S	BR32	9	R	BR52	50	MR
BR13	20	R	BR33	15	R	BR53	21	R
BR14	5	R	BR34	7	R	BR54	1	R
BR15	49	MR	BR35	32	MR	BR55	13	R
BR16	14	R	BR36	28	MR	BR56	14	R
BR17	26	MR	BR37	34	MR	BR57	27	MR
BR18	2	R	BR38	40	MR	BR58	52	MR
BR19	25	R	BR39	48	MR	BR59	90	S
BR20	68	S	BR40	16	R	XCCR500	19	R
BR21	1	R	BR41	92	S	오조라	1	R

R: 병반면적율 0-25%, MR: 병반면적율 26-60%, S: 병반면적율 61-100%

표 2. 양배추 (C1184 x C1234) F<sub>3</sub> 집단 개체들의 흑부병 저항성 검정 결과 : 2차

번호	발병도(%)	반응	번호	발병도(%)	반응	번호	발병도(%)	반응
BR60	13	R	BR80	17	R	BR100	3	R
BR61	64	MR	BR81	40	MR	BR101	29	MR
BR62	30	R	BR82	98	S	BR102	24	MR
BR63	3	R	BR83	53	MR	BR103	8	R
BR64	84	S	BR84	0	R	BR104	12	R
BR65	44	MR	BR85	11	R	BR105	38	MR
BR66	16	R	BR86	52	MR	BR106	86	S
BR67	68	MR	BR87	8	R	BR107	5	R
BR68	2	R	BR88	21	R	BR108	12	R
BR69	22	R	BR89	26	R	BR109	23	R
BR70	18	R	BR90	8	R	BR110	11	R
BR71	2	R	BR91	41	MR	BR111	83	S
BR72	97	S	BR92	3	R	BR112	35	MR
BR73	92	S	BR93	87	S	BR113	13	R
BR74	55	MR	BR94	39	MR	BR114	11	R
BR75	41	MR	BR95	4	R	BR115	80	S
BR76	19	R	BR96	28	R	BR116	37	MR
BR77	16	R	BR97	40	MR	XCCR 500	32	MR
BR78	1	R	BR98	8	R	오조라	0	R
BR79	22	R	BR99	41	MR			

R: 병반면적율 0-30%, MR: 병반면적율 31-70%, S: 병반면적율 71-100%

다. 양배추 품종별 검은썩음병 저항성 검정 결과(표 1)

- 선발된 JS 17은 중감 21호 그리고 세미니스의 Millennium 111보다 흑부병이 더 강한 것으로 나타났음.
- 세인트가 감수성인 반면 JS 213은 중도 저항성을 보여 흑부병에 대해 강한 결과를 보였음.
- 'Rare Ball'이 감수성인 반면 신조합 JS 35는 흑부병에 저항성을 보였음.
- 'NSX'가 감수성인 반면 JS 150과 JS 343은 흑부병에 저항성을 보였음.
- 신조합 JS 205는 'Grand 11'에 비해 흑부병에 강한 저항성을 보였음.

표 1. 양배추 검은썩음병에 대한 in vivo 병리검정 결과

BR250(중감 21호/IVF)	2	1	■	3	2	2	■	3	3	3	2.4	S
BR251(M. 111/Seminis)	■	2	2	3	2	3	2	2	2		2.3	S
BR252(JS 17)	2		■	2	0	2	1	0	2		1.3	MR
BR253(Saint/Seminis)	2	3	3	2	■	3	2	3	2	3	2.6	S
BR254(JS 213)	■	1	1	2	2	2	2	1	0	1	1.3	MR
BR255	1	2	■		■	2	2	2	2		1.8	S
BR256	■	3	■	3	2		2		■		2.5	S
BR257	2	1	1	2	2	2	3	3	3	2	2.1	S
BR258	■	0	2	3	1		0	2	3		1.6	S
BR259	2		3	3	0	3	2		3	2	2.3	S
BR260(Rare Ball/Kaneko)	2	2	2	2	2	2	3	3	3		2.3	S
BR261	2	1	3	3	2	2	2	2	3	1	2.1	S
BR262	3		■	2	1		3	2	1	1	1.9	S
BR263(JS 35)	1	2	■	0	1		1	1	2	1	1.1	MR
BR264(NSX/Tokita)	■		■		■		■	2	■		2.0	S
BR265	■	2	2		1	0	■	2	3	2	1.7	S
BR266(JS 150)	■	2	2		1		1	1	0		1.2	MR
BR267(JS 343)	2		1	1	2	1	■	1	1	1	1.3	MR
BR268(Grand 11/Chia Tai)	2	2	2	1	2		■	1	2	2	1.8	S
BR269(JS 205)	1	2	1	0	0	3	0	0	2	0	0.9	R
YR에코플러스 <sup>a</sup>	2	1	3	1	1	1	2				1.6	S
레드마트	2	1	2	2	2		■		■		1.8	S

R, 0-1.0; MR, 1.1-1.5; S, 1.6-3.0

사진. 양배추 검은썩음병에 대한 in vivo 병리검정 사진



라. 양배추 (C1184 x C1234) F<sub>3</sub> 집단 개체들의 검은썩음병 저항성 검정

2012-2013년에 F<sub>3</sub> 집단 개체들의 검은썩음병 저항성 검정 결과를 보완하고, 2013년 7월에 추가로 얻어진 F<sub>3</sub> 개체들의 저항성을 검정하였다. 2013-2014년 한국화학연구원 병리사업단에 의뢰하여 검은썩음병을 검정하고 검정 결과는 서울대학교 양태진 교수 연구팀의 저항성 마커 개발을 위한 기초 데이터로 사용하였다.

(1) 검정 방법

○ 양배추 재배

- 실험 3주전 40-1 플러그 포트에 원예용상토 5호(부농사)를 눌러 담아준 후, 양배추 종자를 1립씩 파종하였다.
- 품종당 10반복 실험을 실시할 예정으로 온실에서 충분한 물을 공급하며 재배하였다.

○ 접종원 준비

- 접종 4일 전에 deep freezer에서 KACC에서 분양받은 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* KACC 10377\_090513을 꺼내어 TSA배지에 스트레킹하여 30℃에서 배양하였다.
- 접종 1일 전에 TSA배지에서 전배양한 균주에서 TSA배지로 스트레킹하여 30℃에 배양하고, 약 10 plates(8×7 cm)를 준비하였다.
- 1일 배양된 plate에 멸균수를 부어 플라스틱 spreader을 이용하여 수확한 후, 세균현탁액에 잘 흔들어 고르게 희석하였다.
- 균현탁액의 농도가 OD600=0.125가 되도록 멸균수를 이용하여 조정하였다.
- 40개체(40구 plug 포트 1판)를 접종할 때 약 80 ml의 균 현탁액이 필요하고 계산하여 현탁액을 준비하였다.
- 스프레이 접종할 때 잎의 앞뒷면이 충분히 젖도록 분사하고 되도록 빨리 dew chamber에 넣었다.

○ 접종

- 접종 전날 Dew chamber를 28℃로 세팅하였다.
- 접종은 되도록 오전에 하였다.  
(Dew chamber에서 항온항습실로 옮길 때 광시간때로 조절한다).
- 접종 후 저면관수하여 전날부터 셋팅되어 있는 dew chamber(28℃)에서 48시간 보관하였다.
- 항온항습실(25℃, 상대습도 80%)로 이동하여 하루에 12시간씩 광을 처리하고 저면관수하여 병을 관찰하고 3-10일 사이에 결과를 확인한다.

○ 병조사

- 접종 7일 후 본엽을 대상으로 발병도를 조사하였다.  
R, 병반면적율: 0-25, MR, 병반면적율: 26-50, S, 병반면적율: 51-100.

(2) 검정 결과

총 4차례에 걸쳐 검정하였으며, 검정 결과는 아래 표 1에서 4와 같다.

표 1. 1차 검은썩음병 저항성 검정 결과

번호	반복										발병율	반응	파종 후 접종일
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
BR2	70	80									75	S	20일
BR3	100	100	100	100	100						100	S	20일
BR5	60	95	50	95	100	75	100	75	100		83	S	20일
BR6	30	60	80	95	90						71	S	20일
BR7	100	95	90	75	80	90	95	100	90	95	91	S	20일
BR8	70	75	0	80	0	90					53	S	20일
BR8-1	80	100	100	85	95	80					90	S	20일

BR9	15	15	40	15							21	R	20일
BR10	15	50	75	30	95	5	95	10	75		50	MR	20일
BR11	100	100	100								100	S	22일
BR12	60	100	100	100	100	85	80	100			91	S	22일
BR15	100	100	100	100	100	100	100				100	S	22일
BR16	55	30	15	50	100	85	65				57	S	22일
BR17	100	100	25	70	90						77	S	22일
BR18	40	75	80	75	85						71	S	20일
BR19	100	100	100	90	40	100	60				84	S	22일
BR20	100	100	100	100	100	100	100	100			100	S	22일
BR21	0	0	0	0	5	70	0	0			9	R	20일
BR22	100	100	100								100	S	22일
BR23	65	100	90	100	100	100	80	75			89	S	22일
BR24	100	100	85	70	100	100	100				94	S	22일
BR25	85	80	85	100	95	70					86	S	20일
BR26	75	95	90	100	95	100	75	75	75	95	88	S	20일
BR27	90	95	95	75	80	95	90	75	0		77	S	20일
BR28	95	100	100	95	20	100	100	75	95		87	S	20일
BR29	55	35	75	60	40	5					45	MR	20일
BR30	95	100	75	100	100	95	80	100			93	S	20일
BR31	85	75	80	30	85	70					71	S	20일
BR32	65	5	0	10	10	5	0				14	R	20일
BR33	80	100	60								80	S	20일
BR34	25	5	0	5	10	40	5	0	40	0	13	R	20일
BR35	100	95	100	80	30	80	80	100	90		84	S	20일
BR36	100	75	5	10	10	75	100	15	40		48	MR	20일
BR37	35	100	85	75	100	40	85				74	S	20일
BR39	100	100	75	100							94	S	22일
BR41	100	100	35	100							84	S	22일
BR42	90	65	100	40	75	100	100				81	S	22일
BR43	95	55	100	50	100	75					79	S	22일
BR44	65	90	100	100	100	100					93	S	22일
BR46	100	100	100	75	70	100	100	70	95	75	89	S	20일
BR47	45	50	60	50	60	95	5	55	45		52	S	22일
BR48	100										100	S	22일
BR49	75	90	80	100	25	50					70	S	22일
BR50	100	65	100								88	S	22일
BR52	50	50	95	75							68	S	22일

BR53	100	40	100	55	10						61	S	22일
BR54	0	5	30	5	35	5	15	10	20		14	R	20일
BR56	0	5	100	50	80	95	35	70	85	5	53	S	20일
BR57	75	95	90	85	95	100					90	S	20일
BR58	95	75	75	100	100	100	85	100	100		92	S	20일
BR60	100	100	100	100	80						96	S	22일
BR61	90	75	95	90	85						87	S	20일
조은에이스	5	0	5	5	5	5	0	10	5		4	R	20일
오조라	30	65	55	75	75	70	60	80	95	65	67	S	20일
YR에코플러스	50	55	75	75	90	65	75	50	55	75	67	S	20일
레드마트	65	75	85	60	100	90	95	80	35		76	S	20일

표 2. 2차 검은썩음병 저항성 검정 결과

번호	반복										발병도	반응	파종후 접종일
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
BR63	10										10	R	20일
BR64	15	10	100	70	55						50	MR	20일
BR65	65	40	95	5	65	5					46	MR	20일
BR66	50	100	55	5	35	5	10	30	25	80	40	MR	20일
BR67	75	50	5	5	60	95	100	55	10	100	56	S	20일
BR68	0	0	10	0	0	5	0				2	R	20일
BR69	5	55									30	MR	20일
BR70	30	25	10	55	100	5	5	0	5	10	25	R	20일
BR71	5	5	0	5	5	55					13	R	20일
BR72	100	90	100	100	100	55	75	65	100	100	89	S	20일
BR73	75	45	55	75	75						65	S	20일
BR74	5	10	5	0	30	60	20	10	50		21	R	20일
BR75	25	65	5	10	100						41	MR	20일
BR76	60	5	0								22	R	20일
BR77	100	50	100	35	60	50	55	55	5		57	S	20일
BR78	0	50	5	5	10	0	0				10	R	20일
BR79	65	100	20	10	5						40	MR	20일
BR80	10	0	5	5							5	R	22일
BR81	5	5	0	5	0						3	R	20일
BR82	100	95	85	65	100	80	55	75	50	45	75	S	20일
BR84	15	5	0	5							6	R	20일
BR85	10	30	10	15	20						17	R	20일
BR86	60	50	10	0	5						25	R	20일
BR87	5	5	5	5	0	5					4	R	20일
BR88	50	55	25	0	0	5					23	R	20일
BR89	5	10	5	15	5	5	45				13	R	20일
BR90	5	5	5	5	0	0	100	5	5		14	R	20일
BR91	15	10	100	90							54	S	20일
BR92	0	25	5	65	10	5	0	10			15	R	20일
BR93	50	40	5	5	20						24	R	22일

BR94	25	5	5	10	5	20	10	10	40		14	R	20일
BR95	5	0	55								20	R	20일
BR96	5	5	55								22	R	20일
BR97	100	15	100	15	10						48	MR	20일
BR98	55	0	0	50	0	5	5	0			14	R	20일
BR99	30	50	50	55	15	5	50	60			39	MR	20일
BR100	10	10	100	5	55						36	MR	20일
BR100-1	80	25	5	100	55	5					45	MR	20일
BR101	25	50	100	75	5	5					43	MR	20일
BR102	5	0	0	5	0	5	0				2	R	20일
BR103	50										50	MR	20일
BR104	100	75	30	70	55						66	S	20일
BR105	80	55	85	100	15						67	S	20일
BR106	95	25	10	5							34	MR	20일
BR107	10	75	55	5	0	25	10	0	5	5	19	R	20일
BR108	0	5	55	20	5						17	R	20일
BR109	5	10	5	5	5						6	R	20일
BR110	20	65									43	MR	20일
BR111	0	5	5								3	R	20일
BR112	5	5									5	R	20일
BR113	55	5	10	5	5	10	5				14	R	20일
BR114	10										10	R	22일
BR115	5	10	35	15	70	75					35	MR	20일
BR116	15	5									10	R	22일
조은에이스	5	5	0	0	0	5	0	0	5	0	2	R	20일
오조라	40	10	5	80	0	75	10	5	10	5	24	R	20일
YR에코플러스	100	65	55	55	40	85	60	50	70	50	63	S	20일
레드마트	60	20	55	80	55	70	70	30			55	S	20일

표 3. 3차 검은썩음병 저항성 검정 결과

번호	반복										발병도	반응	파종후 접종일
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
BR117	5	10	5	40	5						13	R	20일
BR118	25	100	5	70	100	100					67	S	20일
BR119	25	55	50	25	5	95					43	S	20일
BR120	100	100	100	70	55	100	100	100			91	S	22일
BR121	55	70	100	60	100	95					80	S	22일
BR122	10										10	R	20일
BR123	10	10	0	15							9	R	20일
BR124	5	20	10								12	R	20일
BR125	100	100									100	S	22일
BR126	100	10	100	100	90	100	55				79	S	22일
BR127	55										55	S	20일
BR128	10	5	10	55	5	55	10	35	10		22	MR	20일
BR129	5										5	R	20일
BR130	95	10	35								47	S	20일
BR131	20										20	R	20일
BR133	95	55									75	S	22일
BR134	15	0									8	R	20일

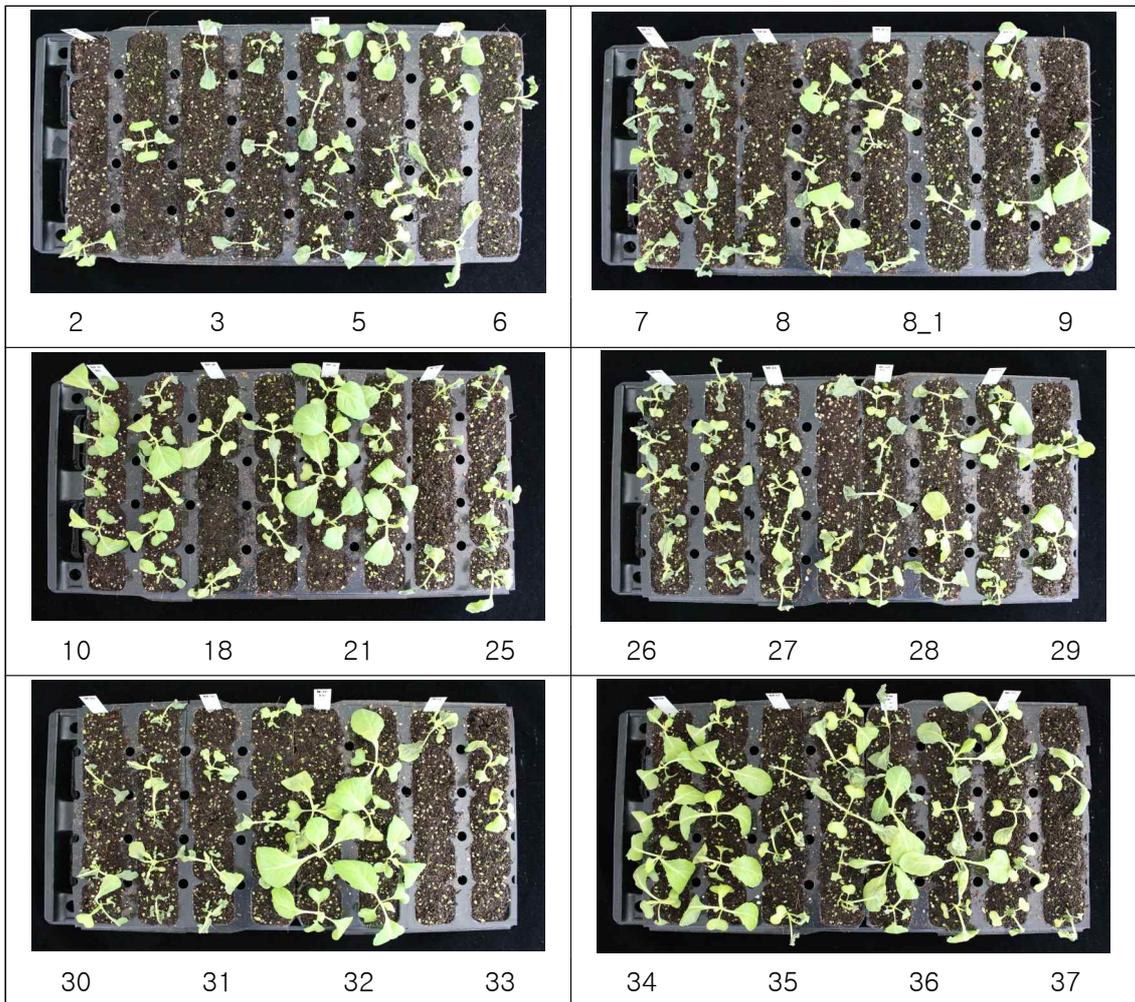
BR135	55	55	10								40	MR	20일
BR136	50	70	10	10	5	20	65	100			41	S	20일
BR137													
BR138	10	85	0								32	MR	22일
BR139	35	0	50	0	0	5	5				14	R	20일
BR140	5	0									3	R	20일
BR141	100	65	65	55	55	60	55	85	50		66	S	20일
BR142	50	50	15	50	50	50					44	S	20일
BR143													
BR144	60	55	55	10	55						47	MR	20일
BR145													
BR146	55	5									30	MR	20일
BR147	50										50	S	20일
BR148	15	20	15	5	45	15					19	R	20일
BR149	10	5	10	35							15	R	20일
BR150	10	75	5								30	MR	20일
BR151	5	5	5	5	10	55	50				19	R	20일
BR152	5	10	5	5	5	5					6	R	20일
BR153	15	5	15	5	55	55					25	MR	20일
BR154	15	15	60	0	50	30					28	MR	20일
BR155	5	5	10	5	5	5	0				5	R	20일
BR156	5	10	100	5	20						28	MR	20일
BR158	5	65	15	15							25	MR	20일
BR159	15	55	10	25	15	35	20				25	MR	20일
BR162	55	20	55	15							36	MR	20일
BR163													
BR165	60	5	5	15	15	5					18	R	20일
BR166	5										5	R	20일
BR167	5	25	35	0	5						14	R	20일
BR168	5	10	10	5	55						17	R	20일
BR169	0	5	5	5	10	10					6	R	20일
BR170	10	5	10	15	10	5					9	R	20일
BR171	50	100	100	100							88	S	20일
BR172	10	100	10								40	S	20일
BR173	60	55	55	35	55	55	55	55			53	S	20일
BR174	10	5	30	5							13	R	20일
BR175	100	90	95								95	S	22일
BR176	15	5	10	5	10	5	5	15	5	15	9	R	20일
BR177	60	55	85	90							73	S	20일
BR178													22일
BR179	5	55	90	50	10	85					49	S	22일
BR180	100	100	65	100							91	S	22일
BR181													
BR182	60	70	50	50	55	55					57	S	20일
BR183	20	35	20	5	10	15	40	25			21	MR	20일
BR184	100	90	60	15	85						70	S	22일
BR185	100	85									93	S	22일
조은에이스	15	20	25	25	0	15	20	25	25	0	17	R	20일
오조라	30	45	40	20	15	55	55	5	0		29	MR	20일
YR에코플러스	55	5	65	35	25	60	50	65	55	30	45	S	20일
레드마트	40	65	35	65	45	40	50	65	30	20	46	S	20일

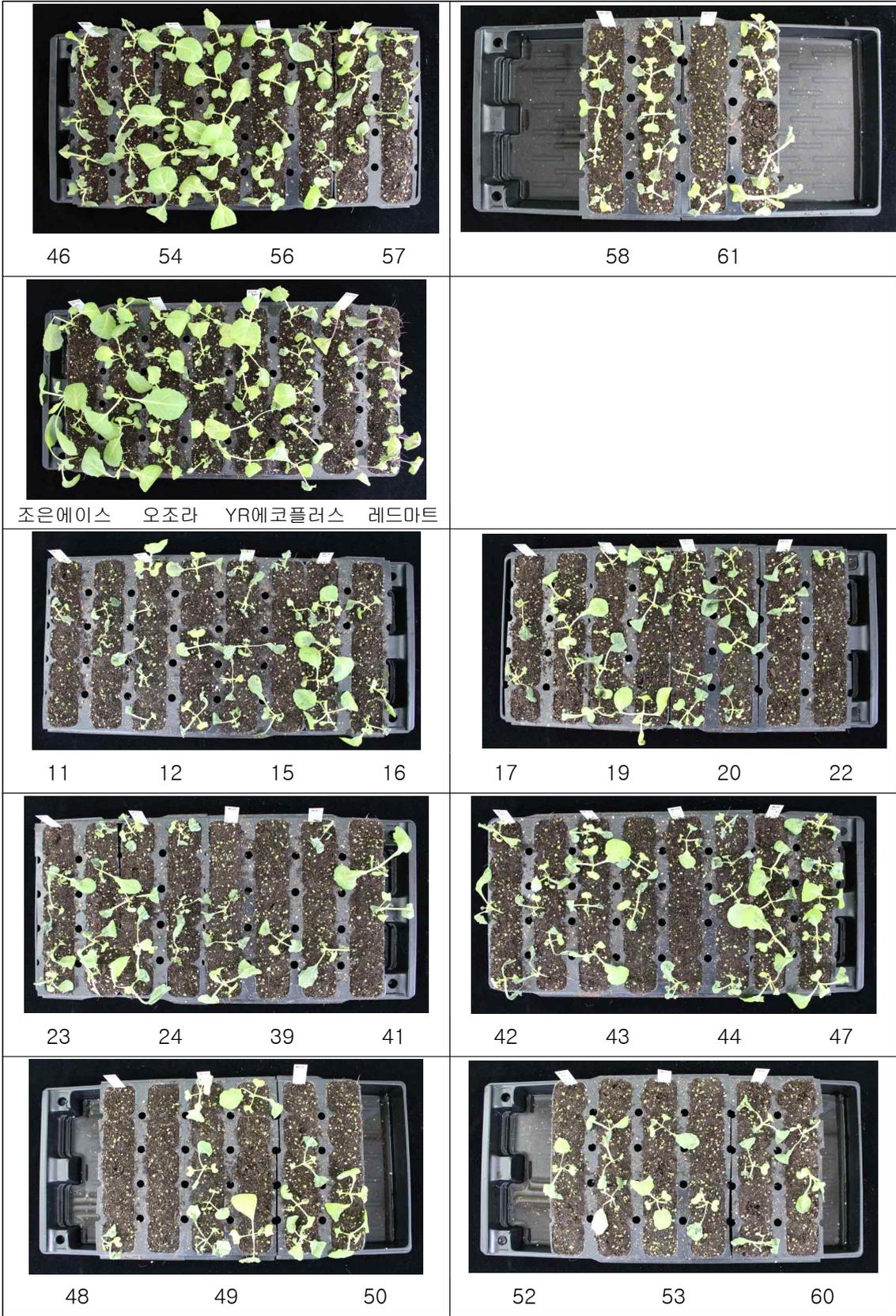
표 4. 4차 검은썩음병 저항성 검정 결과

	반복										발병도	반응	파종후 접종일
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
BR186	80	100									90	S	22일
BR187	10	20	5								12	R	22일
BR188	95										95	S	22일
BR189	55	70	75	10	55	50					53	S	20일
BR190	5	10	5	15	15						10	R	22일
BR191	5	10	5	10							8	R	20일
BR192	5	5	10	5	5						6	R	22일
BR193	75	50	100								75	S	20일
BR194													20일
BR195	35	5	25	35	80						36	MR	20일
BR196	25	5	25	5	5	5	5	35	45	35	19	R	20일
BR197	5	5	5	10	0	5	5	10			6	R	20일
BR198	50										50	MR	22일
BR199	10	15	40	55							30	MR	20일
BR200	50										50	MR	20일
BR201	30	5	5	10	0						10	R	20일
BR202	15	100									58	S	22일
BR203	100										100	S	22일
BR204	95	80	100								92	S	22일
BR205	55	95									75	S	20일
BR206	15	5									10	R	22일
BR207	90	75	100	85							88	S	22일
BR208	100										100	S	22일
BR209	10	50									30	MR	22일
BR210	90										90	S	22일
BR211	10	25	35	10	100	30	30				34	MR	20일
BR212	100	100	55	55	80	60	100	100	80		81	S	20일
BR213													20일
BR214	55	15	15	100							46	MR	20일
BR215	0	35	5	0	95	10	5				21	R	20일
BR216	5	5	5	20							9	R	20일
BR217	5	5	5	10							6	R	20일
BR218	80	55	55	95							71	S	20일
BR219	95	95	100	100							98	S	20일
BR220	15	5	5	5							8	R	20일
BR221	5	50	35								30	MR	20일
BR222	10	5	0	65	5						17	R	20일
BR223	10	45	55	80	55	70	55	60	85		57	S	20일
BR224	0										0	R	20일
BR225	15	0									8	R	22일
BR226	5	55									30	MR	20일
BR227	5										5	R	20일
BR228	95	50	5								50	MR	22일
BR229	50	55	5								37	MR	20일
BR230	95	100									98	S	22일
BR231	100										100	S	20일
BR232	90	90	85	90	65	25	70	90	100	10	72	S	20일
BR233	20	60	80	65	5						46	MR	22일
BR234	15	45	20	95							44	MR	20일

BR235	10	55									33	MR	20일
BR236	5	10	5	15	5	5	5	5	5		7	R	20일
BR237	0	5	25								10	R	20일
BR238													22일
BR239	35	0	10	15	5	0	20				12	R	20일
BR240	10	20	55	15	15	20	5	10			19	R	22일
BR241	95										95	S	22일
BR242													22일
BR243													22일
BR244	95	80									88	S	22일
BR245	100										100	S	22일
BR246	5	5	5	65							20	R	22일
BR247	5	15	15	5	10	10	5				9	R	20일
BR248	75	55	5								45	MR	22일
BR249	95	100	100	100	95	95	90	80			94	S	22일
조은에이스	5	0	0	5	5	5	0	5	0	0	3	R	20일
오조라	10	10	5	60	55	20	10	10	5	10	20	R	20일
Y에코플러스	60	10	65	60	55	50	60	55	50	100	57	S	20일
레드마트	60	55	60	65	65	60	30	45	55	75	57	S	20일

사진. 검은썩음병 1차 검정 사진-접종후 3일 후





### 3. 뿌리혹병 저항성 검정

#### 가. 양배추 뿌리혹병 저항성 반응(강릉 race 9 균주)

##### (1) 검정 방법

- 양배추의 *Plasmodiophora brassicae* 강릉(race 9)에 대한 저항성 검정 결과는 표 1, 표 2, 표 3 및 표 4에 나타내었음.
- 양배추는 파종 14일 후에 그리고 배추는 파종 10일 후에 각각 접종하였음.
- 병조사는 혹의 크기에 따라 0-4의 발병지수를 사용하여 약 접종 5주 후에 하였음.
- 양배추 뿌리혹병의 감수성 및 저항성 대조품종은 각각 오조라 양배추는 4.0 그리고 CR 황록배추는 0.1의 발병도를 보여 양배추 뿌리혹병 실험이 성공적임을 알 수 있었음.
- CR105부터 CR109는 각각 200개체를 실험하여 각각의 발병도를 조사하고(표 3) 0과1의 발병도를 보이는 것은 저항성(R), 2의 발병도는 중도 저항성(MR) 그리고 3 이상의 발병도는 감수성으로 분류하여 각각의 개체수를 표 4로 나타내었음.

##### (2) 검정 결과

표 1. 양배추 뿌리혹병 저항성 반응<(C1220 x C1176) F<sub>3</sub> 개체>

품종	개체수	Disease index										Mean	Response
		4	2	4	4	4	4	4	0	1			
CR1	10	4	2	4	4	4	4	4	0	1		3.0	S
CR2	10	4	4	3	4	4	4	4	3	3	4	3.7	S
CR3	10	1	1	1	1	2	1	1	1	1		1.1	MR
CR4	10	1	2	3	4	4	2	4				2.9	S
CR5	10	2	1	2	2	3	3	1	1	2	2	1.9	MR
CR6	10	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0.7	R
CR7	10	4	4	3	4	4	4	1	4	4	4	3.6	S
CR7-1	10	4	4	4	4	4	4	2	4	2	1	3.3	S
CR8	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	R
CR9	10	0	4	0	0	1	1	1	2	2	4	1.5	MR
CR10	10	1	0	0	0	0	3	2	4	1		1.2	MR
CR10-1	10	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0.5	R
CR11	10	2	4	1	2	0	1	0	4	3		1.9	MR
CR12	10	1	2	2	1	1	1	0	0	1		1.0	R
CR13	10	1	0	1	2	0	1	1	0	1	1	0.8	R
CR14	10	1	2	0	1	4	1	4	3	4		2.2	S
CR15	10	1	1	1	4	3	2	1	2			1.9	MR
CR16	10	3	1	1	1	0	1	1	1	0		1.0	R
CR17	10	0	0	0	0	0	0	0	1	0		0.1	R
CR18	10	3	2	1	2	1	3	3	3	3		2.3	S
CR19	10	2	4	2	3							2.8	S
CR20	10	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0.4	R
CR21	10	0	0	3	1	4	1	3	1	1	2	1.6	MR
CR22	10	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0.7	R
CR23	10	4	3	3	4	3	4	2	3	3	4	3.3	S
CR24	10	4	4	3	1	4	4					3.3	S
CR25	10	1	1	1	2	1	0	2	1	0	0	0.9	R
CR26	10	1	1	1	1	1	1	0	3	2		1.2	MR
CR27	10	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0.3	R
CR28	10	1	3	2	3	3	1	2	1	0		1.8	MR

CR29	10	4	4	3	4	4	2	4				3.6	S
CR30	10	2	4	3	1	3	1	3	1			2.3	S
CR31	10	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4	3.8	S
CR32	10	0	2	2	2	2	0	1	1	2		1.3	MR
CR33	10	2	2	1	1	1	1	1	1	0	0	1.0	R
CR34	10	3	0	3	4	4	4	2	3	2		2.8	S
CR35	10	1	4	2	0	4	0	1	0			1.5	MR
CR36	10	3	3	4	1	1	4	2	3	4	4	2.9	S
CR37	10	1	1	3	0	0	1	0				0.9	R
CR38	10	0	0	3	1	0	1	3	0	1	1	1.0	R
CR39	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0.0	R
CR40	10	2	4	3	4	4	2	1				2.9	S
CR41	10	2	2	2								2.0	MR
CR42	10	3	4	4	4	3	3	2	1			3.0	S
CR43	10	2	3	4	1	1	3	1	3	2	3	2.3	S
CR44	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	R
CR45	10	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0.4	R
CR46	10	2	1	1	1	0	3	3	1	1		1.4	MR
CR47	10	1	2	2	1	0	1	2	2	2	1	1.4	MR
CR48	10	1	2	2	2	2	1	1				1.6	MR
CR49	10	2	2	4	1	4	3	4	2	2	1	2.5	S
CR50	10	2	4	3	2	1	0	1	0	4	4	2.1	S
CR51	10	3	3	1	3	4	1	1	2			2.3	S
CR52	10	3	2	3	3	4	1	3	3	3		2.8	S
CR53	10	0	0	1	1	1	0	1	0	1		0.6	R
CR54	10	4	4	2	3	1	2	3	2	3	1	2.5	S
CR54-1	10	0	0	0	0	0	0					0.0	R
CR55	10	3	2	1	2	4	2					2.3	S
CR56	10	3	4	4	2	3	1	2	3	4	4	3.0	S
CR57	10	1	0	0	0	1	0	2	1	2	1	0.8	R
CR58	10	2	2	4	4	1	2	3	4	3		2.8	S
CR59	10	2	4	4	4	4	4					3.7	S
CR60	10	3	1	1	2	0	2	0	1	0	2	1.2	MR
CR61	10	0	2	4	3	2	2	3	3	2	1	2.2	S
CR62	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0		0.1	R
CR63	10	2	1									1.5	MR
CR64	10	0	1	1	0	1	0	0	0	0		0.3	R
CR65	10	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0.3	R
CR65-1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	1		0.1	R
CR66	10	3	2	1	1	1	1	3	2	2		1.8	MR
CR67	10	2	2	3	3	4	2	1	1	3		2.3	S
CR68	10	3	3	3	4	4	2	4				3.3	S
CR69	10	4	4	4	4							4.0	S
CR70	10	4	4	4	2	2	4	4	4	4		3.6	S
CR71	10	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0.6	R
CR72	10	0	1	0	1	1	0	2	0	4		1.0	R
CR73	10	2	1	2	1	1	1	2	0	0		1.1	MR
CR74	10	2	3	3	1	0	3	1	1	2		1.8	MR
CR75	10	1	2	2	2	4	2	1				2.0	MR
CR76	10	2	2	4	3	3	3	3	1			2.6	S
CR77	10	4	2	4	3	4	4	4	4	3	2	3.4	S
CR78	10	1	2	3	2	0	1	1	0			1.3	MR
CR79	10	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0.2	R
CR80	10	4	4	3	4	4	4	4	0			3.4	S
CR81	10	3	4	1	4	3	3	3	3			3.0	S
CR82	10	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0.3	R
CR83	10	3	1	3	1	0	1	3	3	2	2	1.9	MR
CR84	10	0	2	2	4	1	3	4	1			2.1	S

CR85	10	1	1	0	1	1	1	1	1			0.9	R
CR86	10	2	4	2	2	1	0	1	3	1	2	1.8	MR
CR87	10	4	3	4	4	4	4	4	4	4		3.9	S
CR88	10	2	4	4	2	2	4	0	4			2.8	S
CR89	10	4	1	2	2	4	3	2				2.6	S
CR90	10	1	1	0	1	0	1	1	1	0	2	0.8	R
CR91	10	4	4	4	4	4	2	4	4	3		3.7	S
CR92	10	4	4	4	2	4	4	3	3	4	4	3.6	S
CR93	10	0	3	1	0	2	0	1	0			0.9	R
CR94	10	3	4	4	4	4	4	4	2			3.6	S
CR95	10	1	2	2	2	2	2	0	1	2	2	1.6	MR
CR95-1	10	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0.7	R
CR96	10	1	0	1	1	1	0	3	1	1	1	1.0	R
CR97	10	3	1	0	1	0	0	1	1			0.9	R
CR98	10	3	3	1	1	3	1					2.0	MR
CR99	10	1	2	0	1	1	1	1	1	1		1.0	R
CR100	10	1	1	1	1	1	1	0	1			0.9	R
CR101	10	2	2	2	2	3	4	2	2	2	2	2.3	S
CR102	10	1	0	0	0	0	1	1	1	1		0.6	R
CR103	10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.1	R
CR104	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	R
오조라	20	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4.0	S
		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
CR황록	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	R
		0	0	0	0	1							

표 2. 양배추 뿌리혹병 disease index에 따른 개체수 비율

D.I.	CR105 (C1220 x C1176)	CR106 (C1176 x C1220)	CR107 (C1220 x C1126)	CR108 (C1126 x C1220)	CR109 (C1179 x C1220)
0	17	95	103	22	33
1	45	64	44	45	39
2	62	32	30	77	58
3	46	3	18	48	44
4	22		3	5	20
Total	192	194	198	197	194

D.I. : Disease Index

표 3. CR105-CR109번(F2 세대)의 뿌리혹병에 대한 반응에 따른 개체수

Response	CR105 (C1220 x C1176)	CR106 (C1176 x C1220)	CR107 (C1220 x C1126)	CR108 (C1126 x C1220)	CR109 (C1179 x C1220)
R(0,1)	62	159	147	67	72
MR(2)	62	32	30	77	58
S(3,4)	68	3	21	53	64
Total	192	194	198	197	194

- C1220 x C1176 F<sub>2</sub> 개체들의 뿌리혹병 저항성 분리비는 R:MR:S=62:62:68(1:1:1), C1176 x C1220 F<sub>2</sub> 개체들의 저항성 분리비는 159:32:3 으로 분리비에서 차이를 보였음.
- C1220 x C1126 F<sub>2</sub> 개체들의 뿌리혹병 저항성 분리비는 R:MR:S=147:30:21, C1126 x C1220 F<sub>2</sub> 개체들의 저항성 분리비는 67:77:53 으로 분리비에서 차이를 보였음.
- 본 연구에서 사용된 저항성 계통과 감수성 계통의 F<sub>2</sub> 분리비에 있어, 사용된 감수성 계통에 따라 분리비가 심한 차이를 나타내는 것으로 보아 복수의 유전자가 뿌리혹병 저항성에 관련되어 있는 것으로 사료된다. 이는 지금까지 양배추류의 다른 연구에서 보고되어 온 뿌리혹병 저항성 유전양식과 같이 QTL로 생각되어 진다.

사진. 양배추 뿌리혹병 in vivo 병리검정 사진



## 나. 양배추 뿌리혹병 균주별 저항성 반응

### (1) 실험일정

과중 : 2014년 02월 28일, 접종 : 2014년 03월 14일, 조사 : 2014년 04월 21일

### (2) 실험재료

토양 : 원예용상토 5호(부농), 포트 : 40-2 플러그 포트(범농)

### (3) 품종

실험 품종 : 양배추 3,540주 (각 접종원 당 1,180주)

대조 품종 저항성 : CR청록(몬산토코리아), 대박나(아시아종묘),  
Jersey Queen, Badger Shipper, 10반복

감수성 : 노랑김장배추(홍농), 오조라 양배추(사카타코리아), 10반복

총 3,720주 과중(각 접종원 별 1,300주로 가정하고 접종원을 준비함)

※ 양배추는 완전한 저항성 품종이 없어서 상대적으로 발병도가 낮은 품종과 관별품종 2가지를 저항성 대조 품종으로 실험에 사용함(중도저항성 품종: 대박나).

(4) 접종원: 연천-2(레이스 2), 대전-1(레이스 5), 강릉-1②(레이스 9)

(5) 접종원 농도: 0.25 g/pot 연천-2( $1.4 \times 10^8$  spores/ml,  $7.0 \times 10^8$  spores/pot)

0.25 g/pot 대전-1( $1.1 \times 10^8$  spores/ml,  $5.5 \times 10^8$  spores/pot)

0.25 g/pot 강릉-1②( $4.0 \times 10^7$  spores/ml,  $2.0 \times 10^8$  spores/pot)

※ 발아 불량(발아 수/종자 수): 19번(17/50), 29번(14/50), 41번(8/50), 63번(19/50), 68번(17/50), 88번(19/50)

### (6) 검정 방법

(가) 40구 플러그 포트(40-2, 80ml)에 원예용 상토 5호를 눌러 담고, 흙을 충분히 눌러 담되 블록 튀어나오게 하지 않았다.

(나) 포트 당 종자 1립을 과중하여 온실에서 14일간 재배하였다.

(다) 접종 하루 전에 관수상자에 넣어 줄 물을 미리 양동이에 담아두고, 포자현탁액을 만들 때 필요한 멸균수 19.5 L( $1,400 \text{ ml} \times 12$ 병,  $900 \text{ ml} \times 3$ 병)도 함께 준비하였다.

(라) 접종 전에 40구 트레이의 가장자리를 가위로 잘라주고 관수 상자를 받쳐두었다.

(마) 연천-2 균주를 꺼내서 각 325 g을 준비하였다.

(바) 흐르는 물에 뿌리의 흙을 제거하며 꼼꼼히 씻었다.

(사) 큰 믹서기에 뿌리 325 g과 멸균수를 넣어 갈고, 작은 믹서기를 이용해서 한 번 더 곱게 갈아주었다.

(아) 뿌리혹을 충분히 갈아준 뒤, 갈때기에 4겹의 거즈를 씌우고 식물 조직을 걸러낸 후 포자현탁액 stock의 최종 부피가 900 ml이 되도록 정확히 맞추었다.

(자) 멸균수 1,400 ml이 든 병에 stock을 225 ml씩 나누어 담았다( $1,625 \text{ ml} \times 4$ 병).

(차) 희석된 포자현탁액을 고루 섞은 다음, 사선으로 자른 팁을 이용하여 포트 당 5 ml씩 접종하였다(나머지 두 균주의 접종 준비도 5-10 과정을 반복함).

(카) 접종된 플러그 포트는 관수상자에 증류수를 채워서 저면 관수하였다. 증류수는 포트 끝이 5 mm 정도 잠길 정도로 채워두고 1~2시간 뒤에 물이 잘 흡수되었는지 확인 후, 부족한 경우에는 증류수를 더 채워주었다.

(타) 접종된 포트는 20℃ 항온항습실로 이동하여 3일간 재배하고, 3일 후에는 저면 관수한 물을 제거하고 4일 동안 더 재배하였다.

(파) 접종 1주일 후에는 온실로 이동하여 재배하였다.

※ 온실로 이동 후에는 온실의 온도가 너무 높게 올라가지 않도록 차광막과 창문으로 온도를 조절함(적정 온도: 20~25℃).

저면 관수하는 시기를 제외하곤 과습하게 관리할 필요는 없으므로 일반적인 발상태가 되도록 유지함.

(7) 실험 결과

**Table 1.** <(C1220 x C1176) F<sub>3</sub> 개체> 균주별 양배추 뿌리혹병 저항성 검정

시료 번호	연천-2(레이스 2)		강릉-1②(레이스 9)		대전-1(레이스 5)		평균 <sup>y</sup>
	발병도	반응 <sup>z</sup>	발병도	반응	발병도	반응	
1	3.3	S	2.8	S	1.5	MR	2.5
2	4.0	S	2.6	S	0.9	R	2.5
3	2.6	S	1.0	R	0.5	R	1.4
4	2.8	S	0.5	R	0.8	R	1.4
5	4.0	S	2.9	S	1.2	MR	2.7
6	3.8	S	1.5	MR	0.8	R	2.0
7	4.0	S	3.1	S	2.5	S	3.2
7-1	4.0	S	2.2	S	1.4	MR	2.5
8	1.0	R	1.0	R	0.0	R	0.7
9	3.7	S	1.7	MR	1.1	MR	2.2
10	2.6	S	0.5	R	0.3	R	1.1
10-1	1.3	MR	0.5	R	0.7	R	0.8
11	2.3	S	1.1	MR	0.0	R	1.1
12	3.2	S	1.3	MR	0.7	R	1.7
13	1.1	MR	0.7	R	0.5	R	0.8
14	3.6	S	1.9	MR	0.9	R	2.1
15	4.0	S	2.7	S	0.7	R	2.5
16	3.6	S	0.7	R	0.4	R	1.6
17	2.2	S	0.5	R	0.4	R	1.0
18	3.9	S	2.9	S	1.8	MR	2.9
19	4.0	S	3.3	S	0.8	R	2.7
20	3.7	S	1.0	R	1.4	MR	2.0
21	3.8	S	1.6	MR	1.3	MR	2.2
22	3.7	S	1.7	MR	1.2	MR	2.2
23	2.9	S	1.7	MR	0.8	R	1.8
24	4.0	S	3.3	S	1.0	R	2.8
25	3.5	S	0.9	R	0.6	R	1.7
26	1.6	MR	0.5	R	0.0	R	0.7
27	1.6	MR	0.4	R	0.3	R	0.8
28	3.2	S	1.5	MR	0.2	R	1.6
29	3.5	S	3.2	S	0.6	R	2.4
30	3.6	S	1.9	MR	0.1	R	1.9
31	3.9	S	1.9	MR	1.8	MR	2.5
32	4.0	S	1.0	R	1.7	MR	2.2
33	2.4	S	0.5	R	0.3	R	1.1
34	3.5	S	2.3	S	0.5	R	2.1
35	2.9	S	3.1	S	0.9	R	2.3
36	4.0	S	2.6	S	1.1	MR	2.6

37	1.8	MR	1.2	MR	0.2	R	1.1
38	3.9	S	2.2	S	0.5	R	2.2
39	2.0	MR	0.8	R	0.3	R	1.0
40	3.6	S	2.4	S	1.0	R	2.3
41	2.0	MR	4.0	S	0.5	R	2.2
42							
43	4.0	S	1.4	MR	1.2	MR	2.2
44	2.8	S	1.7	MR	1.1	MR	1.9
45	3.8	S	1.5	MR	0.4	R	1.9
46	4.0	S	3.8	S	1.9	MR	3.2
47	4.0	S	3.0	S	1.4	MR	2.8
48	3.6	S	1.4	MR	1.4	MR	2.1
49	3.8	S	3.1	S	1.1	MR	2.7
50	3.0	S	2.3	S	1.1	MR	2.1
51	3.4	S	2.2	S	1.1	MR	2.2
52	3.6	S	1.4	MR	1.7	MR	2.2
53	3.8	S	1.0	R	0.4	R	1.7
54	3.1	S	3.4	S	0.3	R	2.3
54-1	0.6	R	0.3	R	0.2	R	0.4
55	3.1	S	3.1	S	1.2	MR	2.5
56	3.9	S	3.2	S	1.4	MR	2.8
57	1.1	MR	1.3	MR	0.1	R	0.8
58	3.9	S	1.6	MR	0.8	R	2.1
59	2.8	S	1.4	MR	0.8	R	1.7
60	1.4	MR	0.9	R	0.2	R	0.8
61	3.9	S	1.5	MR	0.7	R	2.0
62	0.9	R	0.0	R	0.2	R	0.4
63	2.7	S	1.0	R	0.5	R	1.4
64	2.0	MR	0.5	R	0.5	R	1.0
65	1.2	MR	0.6	R	0.1	R	0.6
65-1	1.9	MR	0.1	R	0.1	R	0.7
66	4.0	S	1.2	MR	1.0	R	2.1
67	3.8	S	3.3	S	0.3	R	2.5
68	3.5	S	2.5	S	1.4	MR	2.5
69	2.4	S	0.9	R	0.2	R	1.2
70	4.0	S	2.6	S	3.1	S	3.2
71	3.6	S	0.8	R	0.4	R	1.6
72	3.5	S	1.6	MR	0.6	R	1.9
73	2.6	S	1.4	MR	0.2	R	1.4
74	4.0	S	1.3	MR	1.1	MR	2.1
75	3.9	S	1.2	MR	0.3	R	1.8
76	3.6	S	2.2	S	1.7	MR	2.5
77	4.0	S	2.8	S	2.1	S	3.0
78	3.5	S	0.7	R	1.3	MR	1.8
79	1.8	MR	1.4	MR	0.7	R	1.3
80	4.0	S	4.0	S	3.1	S	3.7
81	3.9	S	3.2	S	2.0	MR	3.0
82	3.4	S	1.0	R	0.6	R	1.7
83	3.6	S	2.3	S	0.5	R	2.1
84	3.6	S	1.9	MR	0.6	R	2.0
85	3.7	S	1.3	MR	1.0	R	2.0
86	3.6	S	0.8	R	1.0	R	1.8
87	3.7	S	1.9	MR	1.7	MR	2.4
88	3.8	S	2.2	S	2.4	S	2.8

89	3.3	S	1.8	MR	0.5	R	1.9
90	3.4	S	1.0	R	0.6	R	1.7
91	3.9	S	1.4	MR	2.7	S	2.7
92	4.0	S	2.6	S	0.9	R	2.5
93	2.2	S	1.9	MR	0.0	R	1.4
94	3.9	S	1.4	MR	1.1	MR	2.1
95	3.3	S	0.7	R	1.0	R	1.7
95-1	2.3	S	0.7	R	0.2	R	1.1
96	3.7	S	1.2	MR	1.3	MR	2.1
97	2.4	S	0.2	R	1.2	MR	1.3
98	3.2	S	1.6	MR	1.3	MR	2.0
99	3.9	S	1.6	MR	1.1	MR	2.2
100	3.7	S	1.0	R	0.9	R	1.9
101	3.3	S	1.7	MR	1.5	MR	2.2
102	1.0	R	0.8	R	0.0	R	0.6
103	0.1	R	0.0	R	0.0	R	0.0
104	0.7	R	0.7	R	0.0	R	0.5
Badger shipper	4.0	S	0.1	R	0.3	R	1.5
Jersey queen	4.0	S	1.8	MR	0.8	R	2.2
오조라	4.0	S	4.0	S	4.0	S	4.0
대박나	3.9	S	1.7	MR	0.0	R	1.9
노랑 김장	4.0	S	4.0	S	4.0	S	4.0
CR청록	4.0	S	0.0	R	1.0	R	0.0

<sup>2</sup>저항성 조사 기준. 평균 발병도가 1.0 이하인 경우에는 저항성(R), 1.0 초과에서 2.0 이하는 중도저항성(MR), 2.0 초과는 감수성(S)으로 판정함.

<sup>3</sup>3군주 발병도의 평균값.

**Table 2.** 양배추 F2 종자, CR105의 뿌리혹병 disease index 별 개체 수

Disease index	연천-2(레이스 2)	강릉-1②(레이스 9)	대전-1(레이스 5)
0	0	8	25
1	5	23	43
2	1	21	10
3	15	26	12
4	75	21	4
Total	96	99	94

**Table 3.** 양배추 F2 종자, CR105의 뿌리혹병에 대한 저항성 및 감수성 개체수

Disease index	연천-2(레이스 2)	강릉-1②(레이스 9)	대전-1(레이스 5)
R(0,1)	5	31	68
MR(2)	1	21	10
S(3,4)	90	47	16
Total	96	99	94

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

세부과제명	연구개발 목표	연구개발 내용 및 관련분야에의 기여	달성도 (%)
<제1세부> 양배추 분자유전지도 작성 및 흑부병과 뿌리혹병 저항성 연관 마커 개발	흑부병 관련 조합 양배추 분자유전지도 작성	- 전체 354개로 구성된 분자유전지도 완성 . 국내 육성계통만을 활용한 지도로 종묘 회사들의 분자유종기술 정착 및 구축에 유용할 것임	100
	뿌리혹병 관련 조합 양배추 분자유전지도 작성	- 35개 마커에 대한 genotyping이 완료되어있고, 100개가 넘는 다형성 마커 개발 - 78개 F2 개체들에 대한 GBS data가 생산되어 15,000개가 넘는 SNP 지역에 대하여 genotyping이 완료 . 이 역시 국내 육성계통만을 활용하고 더 density가 높은 지도가 완성될 예정임	100
	흑부병 저항성 QTL 지역 동정 및 연관 마커 개발	- 1번 염색체와 3번 염색체 두 군데에 후보 저항성 QTL이 발견되었고, 이 지역에 가깝게 존재하는 마커들이 유전지도에 올라와 있어 이 지역에 대한 신뢰성을 높이는 과정이 수행 중임	100
	뿌리혹병 저항성 QTL 지역 동정 및 연관 마커 개발	- 강릉(race 9)군주로 두반복 깨끗한 병리검정결과와 다른 race들의 병접종 실험결과가 나와있고, 뿌리혹병 조합 분자유전지도가 완성되는 데로 저항성 race별 저항성 QTL 지역 동정 및 저항성 마커가 개발될 예정임. . 국내 저항성 육성계통을 재료로 활용한 만큼 국내 육종기술 및 분석지원에 기여가 높을 것임	100
<제1협동> 수출용 고품질 흑부병 저항성 양배추 품종육성	중국용 원형 극조생계 품종 육성	- 패스트볼(Fast Ball) 품종보호출원 : 출원 2012-89 (재배심사완료, 2014년 상반기 등록예정) - 에이스볼(Ace Ball) 품종보호출원 : 출원 2014-106	100
	인도용 원형 조생계 흑부병 저항성 품종 육성	- 포르테 9 (Forte 9) 품종보호출원 : 출원 2014-107 - 비너스 11 (Venus 11) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-7	150
	인도, 중국용 원형 중조생계 흑부병 저항성 품종 육성	- 스마트(Smart) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2009-10 - 조은에이스(Joeun Ace) 품종보호출원 : 출원 2012-90 (재배심사완료, 2014년 상반기 등록예정) - 엘로라 (Ellora)	150

		생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-7	
동남아시아용 편형계 흑부병 저항성 품종 육성	- 오션 99 (Ocean 99) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-5 - 트로픽 에이스(Tropic Ace) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2012-1 - 그린스페이스(Green Space) 품종보호출원 : 출원 2012-88 (재배심사완료, 2014년 상반기 등록예정) - 베로나(VERONA) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-2 - 고순도의 종자 생산과 해외 채종시 원종 유출 방지를 위한 세포질 융성불임성을 도입한 채종 체계 구축	200	
흑부병(검은썩음병) 및 뿌리혹병 저 항성 검정 및 검정 방법 확립	- 국립 화학연구원에 의뢰하여 국내외 수집 균주를 이용하여 효율적이고 정확한 병리 검정 방법 확립 및 저항성 검정 - 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 소재의 저항성 유전 인자를 확인하고 유전 양식 연구를 통해 저항성 품종 개발을 위한 기초 연구	90	

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 1. 연구성과 목표

(단위 : 건수)

구분	특허		신제품				유전자원 등록	논문		기타
	출원	등록	품종명 명칭등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI	
					출원	등록				
1차 년도	목표			0						
	달성			1						
2차 년도	목표						1			
	달성						0			
3차 년도	목표	1		1			1	1		
	달성					3		1		
4차 년도	목표	1	1	2	2	2	1	2		
	달성			1				2		
5차 년도	목표		1	4	2	2	1	2		
	달성	(1)		4	2	3	(3)	3		
계	목표	2	2	7	4	4	3	5		
	달성	(1)	0	6	5	3	(3)	5 (1)		

구 분		목 표	성 과	비 고
(1)	특허 출원	2	(1)	
(2)	특허 등록	2	0	
(3)	품종생산 수입판매 신고	7	6	
(4)	품종 보호 출원	4	5	
(5)	품종 보호 등록	4	(3)	
(6)	유전자원 등록	3	(3)	
(7)	상품화	4	11	
(8)	논문	SCI	5 (1)	1편은 투고중
		비SCI	-	-
(9)	학술 대회 발표	국내	-	구두(1), 포스터(5)
		국외	-	구두(1), 포스터(6)
(10)	교육 지도	4	2	
(11)	전시회	-	6	
(12)	인력양성	-	3	박사3
(13)	언론 홍보	2	0	
(14)	기타활용	-	1	공동브로셔 제작

(1), (2) 특허 출원 및 등록

	년도	특 허 명	구분	출원등록자	출원국	출원등록번호	비고
1	2014	녹색꽃양배추(브로콜리)의 돌연변이에 의한 우성단인자 음성불임성 인자의 연관 분자 마커 개발	출원중	서울대학교 산학협력단	대한민국		

(단위 : 건수)

(3) 품종생산 수입판매 신고

	구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	등 록			기 타
				생판신고	등록일	등록번호	
1	생판신고	스마트	대한민국	안경구	2009.11.9	02-0003-2009-10	
2	생판신고	트로픽에이스	대한민국	안경구	2012.7.6	02-0003-2012-1	
3	생판신고	베로나	대한민국	안경구	2014.1.8	02-0003-2014-2	
4	생판신고	오션 99	대한민국	안경구	2014.1.27	02-0003-2014-5	
5	생판신고	비너스 11	대한민국	안경구	2014.1.27	02-0003-2014-6	
6	생판신고	엘로라	대한민국	안경구	2014.1.27	02-0003-2014-7	

(단위 : 건수)

(4), (5) 품종보호 출원 및 등록

	구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
				출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	품종 보호	조은에이스	대한민국	안경구	2012.2.2	출원-2012-90				
2	품종 보호	패스트볼	대한민국	안경구	2012.2.2	출원-2012-89				
3	품종 보호	그린스페이스	대한민국	안경구	2012.2.2	출원-2012-88				
4	품종 보호	포르테9	대한민국	안경구	2014.2.12	출원-2014-107				
5	품종 보호	에이스볼	대한민국	안경구	2014.2.12	출원-2014-106				

(단위 : 건수)

(6) 유전자원

번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	숙기 75~80일, 편원형, 내서성, 내병성	인도				등록예정
2	숙기 45~50일, 원형, 조숙, 맛 우수	중국				등록예정
3	숙기 75~80일, 편원형, 내한성, 흑부병 이병성	베트남				등록예정

(7) 상품화

번호	상품명	제품(상품)설명	출시 시점	판매 국가	매출액 발생 연도	매출액 (천원)	순이익 (천원)
1	스마트	인도 동부 및 중부에서 판매되고 있는 Kaneko사의 Rare Ball품종 및 Seminis사의 G. Challenger를 대체하기 위해 개발함	2010년	인도 중국	2010년	204,600 (13년)	81,840
2	패스트볼	인도 Gujarat주의 우점 품종인 Takii사의 Golden Cross품종을 대체하기 위해 개발함	2011년	인도 중국	2012년	11,880 (13년)	5,940
3	조은에이스	인도에서 많이 재배되고 있는 Seminis사의 세인트(Saint)를 대체하기 위해 개발함	2012년	인도 중국	2015년 (예정)	n/a	n/a
4	그린스페이스	동남아에서 많이 재배되고 있는 편원형계인 Tokita사의 NS Cross를 대체하기 위해 개발함	2011년	베트남 대만	2012년	7,150 (13년)	3,575
5	트로픽에이스	동남아, 인도 동부, 중국 남부에서 많이 재배되는 Takii사의 KK-Cross와 세미니스사의 Tropic Sun Plus를 대체하기 위해 개발함	2011년	인도 베트남 태국	2012년	36,300 (13년)	18,150
6	에이스볼	중국 시장에 많이 판매되고 있는 Sakata사의 Xiwang 을 대체하기 위해 개발함	2010년	중국	2011년	103,400 (13년)	31,020
7	비너스 11	인도에서 동부를 중심으로 많이 재배되고 있는 Seminis사의 밀레니엄 111을 대체하기 위해 개발함	2013년	인도	2014년 (예정)	24,200 (14년 예약)	9,680
8	포르테9	인도에서 많이 재배되고 있는 Mahyco사의 크란티(Kranti)를 대체하기 위해 개발함	2013년	인도	2014년 (예정)	57,200 (14년 예약)	28,600
9	엘로라	인도 동부에서 많이 재배되고 있는 Takii사의 T 621을 대체하기 위해 신 품종 개발	2012년	인도	2014년 (예정)	24,200 (14년 예약)	12,100
10	오션 99	동남아, 인도 동부, 중국 남부에서 많이 재배되는 Takii사의 KK-Cross와 세미니스사의 Tropic Sun Plus를 대체하기 위해 신 품종 개발	2012년	인도 중국 베트남	2015년 (예정)	n/a	n/a
11	베로나	중국 및 인도에서 널리 재배되고 있는 중생계 적양배추인 Takii사의 Ruby Ball을 대체하기 위해 신 품종 개발	2010년	중국 인도	2011년	32,890 (13년)	19,734

(8) 논문

계제연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2011	De novo genetic variation associated with retrotransposon activation, genomic rearrangements and trait variation in a recombinant inbred line population of Brassica napus derived from interspecific hybridization with Brassica rapa	Zou J	Meng J	양태진	The Plant Journal	68, 212 - 224	국외	SCI
2013	Characterization of a new high copy Stowaway family MITE, BRAMI-1 in Brassica genome	Sampath Perumal	Tae-Jin Yang	Sang-Choon Lee, Jonghoon Lee, Nur Kholilatul Izzah, Beom-Soon Choi, Mina Jin, Beom-Seok Park	BMC Plant Biology	13:56	국외	SCI
2013	Microsatellite- based analysis of genetic diversity in 91 commercial Brassica oleracea L. cultivars belonging to six varietal groups	Nur Kholilatul Izzah	Tae-Jin Yang	Jonghoon Lee, Sampath Perumal, Jee Young Park, Kyounggu Ahn, Donghui Fu, Goon-Bo Kim, Young-woo Nam	Genetic Resources and Crop Evolution	60:1967-1986	국외	SCI
2014	Transcriptome sequencing of two parental lines of cabbage (Brassica oleracea L. var. capitata L.) and construction of an EST- based genetic map	Nur Kholilatul Izzah, Jonghoon Lee	Tae-Jin Yang	Murukarthick Jayakodi, Sampath Perumal, Mina Jin, Beom-Seok Park, Kyounggu Ahn	BMC Genomics	15:149	국외	SCI
2014	Comparative analysis of Cassandra TRIMs in three Brassicacea genomes	Sampath Perumal	Tae-Jin Yang	-	Plant Genetic Resources:	Characterization and Utilization: 1 - 5 doi:10.1017/S1479262114000446	국외	SCI
2014	Brassica TED - a public database for utilization of miniature transposable elements in Brassica species	Sampath Perumal, Murukarthick Jayakodi	Tae-Jin Yang	Sang-Choon Lee, Beom-Soon Choi, Natesan Senthil, Shengyi Liu	BMC Research Notes	submitted	국외	SCI

(9) 학술 대회 발표

	발표자	발표제목 (구두/포스터)	발표날짜	학술대회명칭	발표장소	국내외
1	Sampath Perumal	A new MITE family belonging Stowaway super family, its distribution and insertion polymorphisms in the Brassica relatives (포스터)	2010-04-08	한국작물학회	대전 베스트웨스턴 레전드호텔	국내
2	Nur Kholilatul Izzah	Construction of high density genetic map and development of DNA markers related to black rot and club root disease resistance to support molecular breeding system in Brassica oleacea L. (포스터)	2010-07-08	한국육종학회	대전 충남대학교 정심화국제문화회관	국내

3	양태진	양배추 분자유종 시스템 구축 (구두)	2010-11-11	양배추유전체 육종지원사업 단	대전 한국생명공학 연구원	국내
4	이중훈	Comparative mapping of Brassica oleracea using sequence-based markers derived from other Brassica relatives and transcriptome sequences generated from (포스터)	2011-01-15	Plant & Animal Genome Conferenc	San Diego, CA	국외
5	Sampath perumal	A new MITE family belonging Stowaway super family, its distribution and insertion polymorphisms in the Brassica relatives (포스터)	2011-01-15	Plant & Animal Genome Conferenc	San Diego, CA	국외
6	이중훈	Transcriptome sequencing using NGS technology and EST analysis of Brassica oleracea (포스터)	2011-04-21	한국작물학회	목포	국내
7	이중훈	Transcriptome characterization and development of EST-derived SSR and SNP markers in Brassica oleracea L. (포스터)	2012-07-05	한국육종학회	대구 호 텔 인터 불고	국내
8	Nur Kholilatul Izzah	Microsatellite-based analysis of genetic diversity in 91 commercial Brassica oleracea L. cultivars belonging to six varietal groups (포스터)	2013-01-14	Plant & Animal Genome Conferenc	San Diego, CA	국외
9	Perumal Sampath	Genome-wide identification and characterization of miniature inverted-repeat transposable elements in Brassica rapa (포스터)	2012-07-05	한국육종학회	대구 호 텔 인터 불고	국내
10	Nur Kholilatul Izzah	Microsatellite-based analysis of genetic diversity in 91 commercial Brassica oleracea L. cultivars belonging to six varietal groups (포스터)	2014-01-13	Plant & Animal Genome Conferenc	San Diego, CA	국외
11	이중훈	EST analysis and development of EST-derived SSR and SNP markers in three Brassica oleracea L. (포스터)	2013-04-15	Genomics of Plant Genetic Resources	제주도	국외
12	Sampath Perumal	Genome-Wide identification and characterization of miniature inverted-repeat transposable elements in Brassica species (구두)	2013-04-17	Genomics of Plant Genetic Resources	제주도	국외
13	Nur Kholilatul Izzah	Development of EST-SSR markers and an SSR-based genetic Linkage map in cabbage (Brassica oleracea L. var. capitata L.) (포스터)	2013-04-16	Genomics of Plant Genetic Resources	제주도	국외

(10) 교육 지도

	교육 명	날짜	내 용	교재	교육 장소	교육 대상	교육생 수	비고 <sup>가)</sup>
1	양배추교육	2010-09-01~03	양배추 재배요령 및 품종 설명	자체 자료 (파워포인트)	조은종묘 육종연구소	농민	50	강사
2	양배추교육	2014-01-14	양배추 재배요령 및 품종 설명	자체 자료 (파워포인트)	충북 생극	농민	45	강사

(11) 전시회

	전시회 명	주최	날짜	장소	내 용
1	2010 해외현지 품종전시회 시범사업	국립종자원	2010	인도	양배추 신품종 전시

2	2010 해외현지 품종전시포 시범사업	국립종자원	2010	중국	양배추 신품종 전시
3	2010 우리품종 전시회	국립종자원	2010.11	서울 삼성동 COEX 전시장 (Korea Food Expo)	양배추 신품종 전시
4	양배추 품종 해외전시포 사업	국립종자원	2012. 2. 8	인도 Hyderabad	당사 양배추 신품종 등 12 품종 현지시험 품종평가회 참석
5	Asian Seed Congress 2012	Asia Pacific Seed Association	2012.11. 5~9	인도네시아 Bali	아시아 태평양 종자협회 회원사 대상 품종 홍보 및 무역 상담
6	Asian Seed Congress 2013	Asia Pacific Seed Association	2013.11. 18~22	일본 Kobe	아시아 태평양 종자협회 회원사 대상 품종 홍보 및 무역 상담

(12) 인력양성

번호	분류	기준년도	인력양성 현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	박사	2010											
			1				1			1			
2	박사	2014											
			2				1	1	2				

(13) 언론홍보

- 해당사항 없음

(14) 기타활용(단행본발간)

	날짜	활용명칭	활용내역
1	2010-11-01	공동브로셔 제작	신품종 홍보

## 2. 연구 성과 활용 계획

구 분	계 획
(1) 실용화, 산업화 계획 (기술실시 등)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 중국용 원형 극조생계 품종               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 패스트볼(Fast Ball) : 2012년 품종 보호 출원 중국 및 인도 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 에이스볼(Ace Ball) : 2014년 품종 보호 출원 중국 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> </ul> </li> <li>○ 인도용 원형 조생계 흑부병 저항성 품종               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 포르테 9 (Forte 9) : 2014년 품종 보호 출원 2014년 인도 수출 예정 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 비너스 11 (Venus 11) : 2014년 생산판매신고 인도 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> </ul> </li> <li>○ 인도, 중국용 원형 중조생계 흑부병 저항성 품종               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 스마트(Smart) : 2012년 품종 보호 출원, 중국 및 인도 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 조은에이스(Joeun Ace) : 2014년 품종 보호 출원 중국 및 인도 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 엘로라 (Ellora) : 2014년 생산판매신고 인도 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> </ul> </li> <li>○ 동남아시아용 편형계 흑부병 저항성 품종               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 오션 99 (Ocean 99) : 2014년 생산판매신고 동남아, 인도 중국 수출 예정 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 트로픽 에이스(Tropic Ace) : 2012년 생산판매신고, 동남아, 인도 및 중국 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 그린스페이스(Green Space) : 2012년 품종 보호 출원 동남아 및 중국 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> <li>- 베로나(VERONA) : 2014년 생산판매신고 동남아, 중국 및 인도 수출중 2015년 5월 기술이전 예정</li> </ul> </li> </ul>
(2) 교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 교육 강원 평창 양배추 재배농민 교육 지도 : 2010년 9월 충북 음성 양배추 재배 농민 양배추 교육 지도 : 2014년 1월</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍보</li> <li>중국 광조우 품종 전시포 시범 사업(국립중자원 주관) : 2010년 10월</li> <li>우리 품종 전시회(코엑스,국립중자원 주관) : 2010년 11월</li> <li>인도 전시포 시범 사업(국립중자원 주관) : 2011년 2월</li> <li>인도 하이드라바드 양배추 전시포 사업(국립중자원 주관) 참석 : 2012년 2월</li> <li>인도네시아 발리 APSA 참석 : 2012년 11월</li> <li>일본 고베 APSA 참석 : 2013년 11월</li> </ul>
(3) 특허, 품종, 논문 등 지식 재산권 확보 계획	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Whole genome resequencing data를 기반으로 많은 양의 SNP들을 dCAPS 마커로 전환하여 유전지도의 density를 높이고, 병리검정 결과와 연계하여 흑부병 저항성 QTL 지역 동정하는 내용으로 논문을 투고예정</li> <li>- 흑부병 저항성 마커에 대한 검정 실험을 거친 이후 올해 안으로 특허 출원 예정</li> <li>- GBS방법으로 완성될 high-density 유전지도와 뿌리혹병 병리 검정 결과를 연계하여 뿌리혹병 저항성 QTL 지역을 동정하는 내용의 논문을 투고예정</li> </ul>
(4) 추가연구, 타연구에 활용 계획	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 프로젝트의 좋은 결과로 인해 WGS data를 활용하여 구축된 대규모의 SNP 탐색 pipeline 구축 등의 결과들은 후속 GSP 40개 양배추 계통의 GWAS(Genome-wide associated study) 분석에 관한 프로젝트에 확대 투자되어 사용될 예정이다.</li> <li>- 2014년 생산되는 F4 세대의 병리검정 결과와 서울대 연구팀에서 개발된 검은썩음병 저항성과 관련된 마커를 이용, 저항성 결과를 분석하여 개발된 마커의 사용 가능성을 확인하고 추후 저항성 계통 육성에 이용할 예정이다.</li> </ul>
(5) 기타 계획	

구분		기술실시(이전)	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타
활용건수	목표	7 (5품종포함)	4		4	2	
	달성	0	11		2	0	

## 제 6 장 연구개발과정에 수집한 해외과학기술 정보

### 1. 양배추 표준유전체 염기서열 확보

제 3장에서 언급했던 대로 중국 BGI(Beijing Genome Institute)와 캐나다 그룹에서 양배추 표준유전체 염기서열정보를 완성하였고, 두 그룹 모두의 공조를 얻어 전체 염기서열정보를 인계받아 유전체분석 시스템을 구축하여 효율적으로 활용하고 있다. 양배추의 전체 유전체의 크기인 690 Mb에 비교하였을 때 중국 BGI 서열정보는 74.7%에 해당하는 515 Mb, 캐나다 서열정보는 70.8%에 달하는 489 Mb 이다.

## 제 7 장 참고 문헌

- Cheng, X., Xu, J., Xia, S., Gu, J., Yang, Y., Fu, J., . . . Liu, K. (2009). Development and genetic mapping of microsatellite markers from genome survey sequences in *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*, *118*(6), 1121-1131.
- Izzah, N. K., Lee, J., Jayakodi, M., Perumal, S., Jin, M., Park, B.-S., . . . Yang, T.-J. (2014). Transcriptome sequencing of two parental lines of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata L.) and construction of an EST-based genetic map. *BMC genomics*, *15*(1), 149.
- Izzah, N. K., Lee, J., Perumal, S., Park, J. Y., Ahn, K., Fu, D., . . . Yang, T.-J. (2013). Microsatellite-based analysis of genetic diversity in 91 commercial *Brassica oleracea* L. cultivars belonging to six varietal groups. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *60*(7), 1967-1986.
- Kim, H., Choi, S. R., Bae, J., Hong, C. P., Lee, S. Y., Hossain, M. J., . . . Bang, J.-W. (2009). Sequenced BAC anchored reference genetic map that reconciles the ten individual chromosomes of *Brassica rapa*. *BMC genomics*, *10*(1), 432.
- Long, Y., Shi, J., Qiu, D., Li, R., Zhang, C., Wang, J., . . . Park, B.-S. (2007). Flowering time quantitative trait loci analysis of oilseed *Brassica* in multiple environments and genomewide alignment with *Arabidopsis*. *Genetics*, *177*(4), 2433-2444.
- Lowe, A., Moule, C., Trick, M., & Edwards, K. (2004). Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species. *Theoretical and Applied Genetics*, *108*(6), 1103-1112.
- Mun, J.-H., Kwon, S.-J., Yang, T.-J., Seol, Y.-J., Jin, M., Kim, J.-A., . . . Choi, B.-S. (2009). Genome-wide comparative analysis of the *Brassica rapa* gene space reveals genome shrinkage and differential loss of duplicated genes after whole genome triplication. *Genome Biol*, *10*(10), R111.
- Mun, J.-H., Yu, H.-J., Park, S., & Park, B.-S. (2009). Genome-wide identification of NBS-encoding resistance genes in *Brassica rapa*. *Molecular Genetics and Genomics*, *282*(6), 617-631.
- Piquemal, J., Cinquin, E., Couton, F., Rondeau, C., Seignoret, E., Perret, D., . . . Blanchard, P. (2005). Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, *111*(8), 1514-1523.
- Prasad, M. E., Schofield, A., Lyzenga, W., Liu, H., & Stone, S. L. (2010). *Arabidopsis* RING E3 ligase XBAT32 regulates lateral root production through its role in ethylene biosynthesis. *Plant physiology*, *153*(4), 1587-1596.
- Radoev, M., Becker, H. C., & Ecke, W. (2008). Genetic analysis of heterosis for yield and yield components in rapeseed (*Brassica napus* L.) by quantitative trait locus mapping. *Genetics*, *179*(3), 1547-1558.
- Sampath, P., Lee, S.-C., Lee, J., Izzah, N. K., Choi, B.-S., Jin, M., . . . Yang, T.-J. (2013).

- Characterization of a new high copy Stowaway family MITE, BRAMI-1 in Brassica genome. *BMC plant biology*, 13(1), 56.
- Sampath, P., Lee, S.-C., Lee, J., Izzah, N. K., Choi, B.-S., Jin, M., . . . Yang, T.-J. (2013). Characterization of a new high copy Stowaway family MITE, BRAMI-1 in Brassica genome. *BMC plant biology*, 13(1), 56.
- Sampath, P., Murukarthick, J., Izzah, N. K., Lee, J., Choi, H.-I., Shirasawa, K., . . . Yang, T.-J. (2014). Genome-Wide Comparative Analysis of 20 Miniature Inverted-Repeat Transposable Element Families in Brassica rapa and B. oleracea. *PloS one*, 9(4), e94499.
- Smith, L. B., & King, G. J. (2000). The distribution of BoCAL-a alleles in Brassica oleracea is consistent with a genetic model for curd development and domestication of the cauliflower. *Molecular Breeding*, 6(6), 603-613.
- Suwabe, K., Iketani, H., Nunome, T., Kage, T., & Hirai, M. (2002). Isolation and characterization of microsatellites in Brassica rapa L. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(6-7), 1092-1098.
- Wang, W., Huang, S., Liu, Y., Fang, Z., Yang, L., Hua, W., . . . Zhuang, M. (2012). Construction and analysis of a high-density genetic linkage map in cabbage (Brassica oleracea L. var. capitata). *BMC genomics*, 13(1), 523.

## 본문 작성 요령

- 가. 본문의 순서는 장, 절, 1, 가, (1), (가), ①, ㉠ 등으로 하고, 장은 17 포인트 고딕계열, 절은 15포인트 명조계열, 본문은 11 포인트 명조계열로 합니다. 다만, 본문의 내용 중 중요부문은 고딕계열을 사용할 수 있습니다.
- 나. 장은 원칙적으로 페이지를 바꾸어 시작합니다.
- 다. 본문은 11 포인트 횡으로 작성합니다.
- 라. 쪽 번호는 하단 중앙에 표기하되, 11 포인트로 합니다.
- 마. 각주는 해당 쪽 하단에 8포인트로 표기하며, 본문과 구분하도록 합니다.
- 바. 쪽 수는 편집순서 2의 제출문부터 시작합니다. 이 경우 삽입물이 있을 때에는 그 삽입물의 크기에 관계없이 1면을 한 쪽으로 하여 일련번호를 붙입니다.
- 사. 한글·한문·영문을 혼용합니다.
- 아. 뒷면지에 주의문을 넣습니다.
- 자. 참고문헌(reference) 인용의 경우 본문 중에 사용처를 반드시 표시하여야 합니다.
- 차. <첨부>자료는 협약 시 연구계획서 별첨으로 제출한 특허, 논문 및 시장분석보고서를 기준으로 연구 완료 후 변동 내용을 작성하시기 바랍니다.

[별첨 1] 연구개발보고서 초록

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 동서남아 수출용 흑부병 양배추 품종육성 연구				
	(영문) Breeding of Black Rot Resistant Cabbage Varieties for Export Expansion in South-East and South-West Asia region				
프로젝트 연구기관	서울대학교 농업생명과학대학	프 로 제 크 트 책 임 자	(소속) 서울대학교 농업생명과학대학		
참 여 기 업	조은종묘		(성명) 양태진		
총연구개발비 (1,435,000 천원)	계	1,435,000	총 연구 기간	2009.04.10. ~ 2014.04.09. (5년)	
	정부출연 연구개발비	1,250,000	총 참 여 원 수	총 인 원	25
	기업부담금	185,000		내부인원	25
	연구기관부담금	-		외부인원	-

○ 연구개발 목표 및 성과

중국, 인도 등 동남아 국가들의 양배추 시장 수요 증대에 대응하여 이들 지역에서 양배추 뿐만 아니라 다른 배추과 작물(배추, 무, 브로콜리, 콜리플라워 등) 재배시 크게 문제가 되고 있는 흑부병에 강하면서 고품질로 각 지역별 시장 선호도에 맞는 고부가가치의 양배추 품종들을 육성불임계를 활용 고순도 종자를 생산하여 우수한 양배추 품종의 종자 수출을 확대하고자 한다. 이와 더불어 흑부병과 뿌리혹병 저항성 마커를 개발하고 배추유전체와 양배추 유전체의 생물정보 분석을 통하여 고해상도 분자유전지도를 작성하여 양배추의 육종 효율 증진을 위한 분자유종 시스템을 개발하고 양배추 품종육성 과정에 직접 활용하여 우수한 품종을 조기에 육성할 수 있도록 지원할 것이며 나아가 향후에는 우리나라 양배추 육종가들에게 본 과제를 통해 정착된 분자유종시스템을 기술이전 혹은 분석 지원하여 양배추 품종 육성의 세계적 경쟁력 제고 및 해외 시장을 향한 수출시장 확대에 이바지 하고자 한다.

○ 연구내용 및 결과

국제 배추 제논 프로젝트와 공동연구 및 협조를 통한 정보 뿐만 아니라 양배추 및 다양한 근연 배추속 식물들의 유전체 정보 수집 및 활용체계 구축하였고, 양배추와 유채의 표준지도 유래 마커와 NGS 기술을 사용한 EST 및 WGS 정보를 생산하여 이를 활용한 마커등을 이용해 국내 elite 육성계통 간에 많은 다형성 마커를 개발하였다. 이를 활용하여 흑부병 저항성 관련 조합에서 354개 마커로 구성된 분자유전지도를 작성하였다. 그리고 F3 개체들을 대상으로 흑부병 병리검정을 3반복으로 수행하였으며, 이 병접종 결과와 작성된 유전지도결과를 연계하여 흑부병 저항성 후보 QTL 지역 동정하였다.

뿌리혹병 관련 조합에서는 78개 F2 개체들의 genotyping by sequencing 방법으로 15,000개의 SNP 지역에 대한 genotyping이 수행되었고 개발된 35개의 마커들에 대해서도 F2 집단 genotyping을 완료하였으며, 이를 통해 high-density 유전지도가 작성 중에 있다. 뿌리혹병에 대한 병리검정은 race 9 균주

에 대하여 2반복으로 수행되었고, race 2와 5 균주에 대해서 각각 한번 씩 수행되어 깨끗한 결과를 얻을 수 있었다. 유전지도가 완성이 되면 병리검정 결과와 연계하여 각 균주 race 별로 저항성 QTL 지역을 동정할 수 있을 것이다.

연구과정을 통해 개발된 많은 마커들 중에서 184개의 SSR마커로 91개 전세계 상업적 양배추 품종간 유전적 다양성 분석을 수행하였고, 16개의 cultivar specific marker들을 확보할 수 있었다. 이 연구에 대한 결과로 많은 소비 품종들을 서로 식별하고 새로 개발이 되는 품종들의 distinctness, uniformity, stability등을 시험하는 데에 유용하게 활용 될 수 있을 것이다. 또한 양배추를 포함한 여러 Brassica species내 23개 MITE family들의 동정 및 characterization 연구를 수행하였다. 이를 이용하여 38개의 중간 구분 다형성 마커와 90개의 종내 구분 다형성 마커를 개발하였다.

중국, 인도 등 동남아 국가들의 양배추 시장의 다양한 시장 요구도에 맞는 수출용 양배추 품종 총 11 품종을 개발하였다. 중국 수출용으로 개발된 패스트볼(Fast Ball)과 에이스볼(Ace Ball)은 구형이 원형이면서 구색이 녹색이고 숙기가 극히 빠르고 내열구성이 강한 특성을 보였다. 인도 수출용으로 개발된 포르테 9(Forte 9)은 숙기가 대비종들보다 2~3일 빠르고 긴도가 더 우수하며 구색이 더 진녹색인 특성을 보였다. 비너스 11(Venus 11)은 숙기가 대비종에 비해 5~6일 정도 빠르며, 초형이 간출하고 구색이 더 녹색이고 내열구성 등이 매우 강한 장점을 보였다. 스마트(Smart)는 인도, 중국 및 동남아에서 폭넓게 재배되고 있는 내서 원형 중조생계 시장용으로 개발되었다. 대비종들에 비해 구긴도가 더 강하고, 맵아고가 더 안정되어 있으며, 내열구성이 강하고 인도와 중국에서 우기에 특히 다발하는 흑부병 저항성을 보였다. 조은에이스(Joehn Ace)는 중국과 인도 및 파키스탄에서 폭넓게 재배되고 있는 원형 중조생계 시장용으로 개발되었다. 숙기가 대비종들보다 일주일 정도 빠르고 초형이 더 간출하여 밀식 재배에 적합하고 구색이 더 녹색이며, 구형이 정원형을 유지하였다. 구 긴도가 더 우수하여 장거리 수송에 더 유리한 결과를 얻었으며, 맛이 더 좋은 장점이 있었으며 내열구성이 더 우수한 결과를 얻었으며, 현지 적응성 시험 및 병리검정 결과 흑부병 저항성이 세인트에 비해 매우 강한 결과를 보였다. 엘로라(Ellora) 인도 웨스트 벵갈쪽에서 폭넓게 재배되고 있는 원형 조생종인 사카다의 '그린익스프레스(Green Express)', 다끼이의 'T-621', 세미니스의 '제니스(Zennith)' 그리고 '밀레니엄 111(Millennium111)'을 대체하기 위해 개발 되었다. 대비종들에 비해 일주일 이상 빠르면서 원형 조생계 품종들의 단점인 내서성, 내병성(흑부병) 및 내열구성이 내서성 그룹 정도로 보강된 신개념의 품종이다. 오션 99(Ocean 99)은 중국 남방, 인도 웨스트 벵갈 그리고 동남아시아 열대 및 아열대 지역에 폭넓게 재배되고 있는 편형계 시장을 공략하기 위해 개발되었다. 현재 이들 지역에는 주로 일본 다끼이사의 'KK-Cross', 신젠타사의 'KS-Cross' 그리고 세미니스사의 '트로픽션 플러스' 등이 재배되고 있다. Ocean 99은 중국 우한 및 광저우 시험 결과 기존 편형계 품종들에 비하여 숙기가 4-5일 정도 빠르고 고온 결구력이 강하고 기존 품종들보다 구색이 녹색으로 중국 시장 선호도에 부합하는 현지 시험 결과를 얻었다. 또한 기존 품종들의 경우 숙기가 지난 후 약 7-10일 정도 지나면 열구가 되는 특성이 있는 반면 Ocean 99은 약 20-25일 정도의 재포성을 가져 기존 내서 편형계 품종들과 뚜렷한 차별성을 보였다. Tropic Ace는 중국 남방, 인도 웨스트 벵갈 그리고 동남아시아 열대 및 아열대 지역에 폭넓게 재배되고 있는 편형계 시장을 공략하기 위해 개발되었다. Tropic Ace는 중국, 인도 및 동남아 시험 결과 Takii의 KK-Cross 그리고 Grand KK와 숙기는 비슷하지만 구형이 더 우수하며, 고온 결구력이 더 강한 결과를 얻었다. Green Space는 베트남에서 Tokida사의 'New Star Cross(NSX)' 라는 품종이 하노이 근교에서 겨울철 많이 재배되고 있는데, 2011년 현지 적응성 시험에서 대비종에 비해 숙기가 빠르면서 내열구성이 강하고 구중이 많이 나가고 구색이 녹색이면서 흑부병 등 내병성이 강한 특성을 보였다. Verona는 전세계적으로 샐러드 이용시 색깔을 내기 위해 이용되는 자색 양배추 시장을 공략하기 위해 개발된 품종이다. 숙기는 정식 후 약 75일 정도 되는 원형 중생계 품종으로서 구 내부 자색 발현이 좋은 장점이 있다. 중국, 인도 그리고 유럽에서 현지 시험에서 좋은 결과를 얻었다.

흑부병 저항성 계통과 감수성 계통(C1184 x C1234)간의 F<sub>2</sub> 집단의 흑부병(검은썩음병)에 대한 저항

성 검정 결과 분리비는 R(저항성) : MR(중도저항성) : S(감수성) = 63 : 45 : 34( 1.9 : 1.3 : 1), R+MR(저항성 + 중도저항성) : S감수성 = 약 3.2 : 1 이었다. 2013~2014년에 F<sub>3</sub> 집단 개체들의 흑부병 저항성을 검정하고 검정 결과는 서울대학교 양태진 교수 연구팀의 저항성 마커 개발을 위한 기초 데이터로 사용하였다.

뿌리혹병 저항성 계통과 감수성 계통(C1220 x C1176) F<sub>2</sub> 개체들의 뿌리혹병 저항성 분리비는 R:MR:S=62:62:68(1:1:1), C1176 x C1220 F<sub>2</sub> 개체들의 저항성 분리비는 159:32:3, C1220 x C1126 F<sub>2</sub> 개체들의 저항성 분리비는 R:MR:S=147:30:21, C1126 x C1220 F<sub>2</sub> 개체들의 저항성 분리비는 67:77:53 로 분리비에서 차이를 보였다. 2013~2014년에 뿌리혹병 저항성 계통과 감수성 계통(C1220 x C1176) F<sub>3</sub> 집단 개체들의 뿌리혹병 저항성을 검정하고, 검정 결과는 서울대학교 양태진 교수 연구팀의 저항성 마커 개발을 위한 기초 데이터로 사용하였다.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

연구성과

구분	연구성과
특허	○ “녹색꽃양배추(브로콜리)의 돌연변이에 의한 우성단인자 음성불임성인자의 연관 분자 마커 개발“ 내용으로 특허출원 준비 중에 있다.
신품종	○ 6건의 품종 생판신고 등록 ○ 5건의 품종보호 출원 - 2012년에 품종보호 출원을 한 3건에 대해서는 심사단계가 완료되어 최종 공고가 날 예정이고, 2014년에 출원한 2건에 대해서는 현재 심사단계가 진행되고 있으며 2015년 이후에 등록이 될 예정이다. ○ 3건의 유전자원 등록 진행 중
논문	○ 5편의 논문이 국외 SCI 저널 게재 ○ 1편의 논문이 국외 SCI 저널에 투고 중
기타	○ 국내 학술대회에 6건의 발표(구두발표 1번, 포스터 발표 5번) ○ 국외 학술 대회에서 7건의 발표(구두발표 1번, 포스터 발표 6번) ○ 6번의 전시회 ○ 3명의 박사 인력 양성

성과활용 계획

구분	성과활용 계획
실용화, 산업화 계획	○ 11건의 품종이 상품화(목표 4건) ○ 상품화가 된 11 품종 2014년도 5월에 기술이전 예정
교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획	○ 2건의 양배추 재배요령 및 품종 설명에 대한 교육 실시 (목표 4건) ○ 2014년 6월 중국, 베트남, 방글라데시 거래처 방문 및 교육 실시 예정 ○ 2014년 12월 베트남 현지농민 지도 교육 실시 예정
특허, 품종, 논문 등 지식 재산권 확보 계획	○ Whole genome resequencing data를 기반 SNP들을 dCAPS 마커개발과 흑부병 저항성 QTL 지역 동정에 대한 논문 투고예정 ○ GBS방법에 의한 high-density 유전지도와 뿌리혹병 저항성 QTL 지역을 동정에 대한 논문을 투고예정
추가연구, 타연구에 활용계획	○ WGS data 활용 대규모의 SNP 탐색 pipeline - 40개 양배추계통의 GWAS 분석 연구에 활용

<붙임 3> 프로젝트별 현장실태조사보고서 및 자체평가보고서

프로젝트별 현장실태조사표

2014. 05. 09.

1. 과제개요

과제번호	309008-05-1-cg000	연구기간	2009년 04월 ~ 2014년 04월(총 05년)		
사업단명	Golden Seed Project 원예종자사업단				
프로젝트명	동서남아 수출용 흑부병 양배추 품종육성연구				
세부프로젝트 연구기관	세부프로젝트명	연구기관	세부프로젝트 책임자	해당 연구개발비(천원)	
	<제1세부> 양배추 분자유전지도 작성 및 흑부병과 뿌리혹병 저항성 연관 마커 개발	서울대학교	양태진	7000,000	
	<제1협동> 수출용 고품질 흑부병저항성 양배추 품종육성	조은종묘	안경구	735,000	
연구개발비총괄 (단위 : 백만원)	정부출연금	참여기업 부담금			합 계
		현금	현물	소계	
1차년도	250	3.7	33.3	37	287
2차년도	250	3.7	33.3	37	287
3차년도	250	3.7	33.3	37	287
4차년도	250	3.7	33.3	37	287
5차년도	250	3.7	33.3	37	287
합계	1,250	18.5	166.5	185	1,435

2. 연구추진실적(현재까지 추진실적)

가. 연구개발내용

연구기관	주요연구내용	연구개발비 (천원)	가중치 (%)
(프로젝트 연구기관)	○유전지도의 마커 대량분석기술 확립 및 양배추 분자유종 육종 시스템 구축 - 전체 350개 이상의 표준유전지도 완성 - Resequencing data를 사용하여 대규모 SNP 발굴 및 여러 SNP지역을 한번에 genotyping을 실시 할 수 있는 기술 활용 ○세밀한 유전지도 작성과 함께 흑부병 병리검정의 재 실시 ○NBS-LRR 도메인 유전자 탐색 및 마커 개발	1,400,000	100

	○흑부병과 뿌리혹병 저항성 QTL 분석 및 주요 QTL 마커 개발		
(세부프로젝트 연구기관)	<p>○중국용 원형 극조생계 품종 육성</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 패스트볼(Fast Ball) 품종보호출원 : 출원 2012-89</li> <li>- 에이스볼(Ace Ball) 품종보호출원 : 출원 2014-106</li> </ul> <p>○인도용 원형 조생계 흑부병 저항성 품종 육성</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 포르테 9 (Forte 9) 품종보호출원 : 출원 2014-107</li> <li>- 비너스 11 (Venus 11) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-7</li> </ul> <p>○인도, 중국용 원형 중조생계 흑부병 저항성 품종 육성</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 스마트(Smart) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2009-10</li> <li>- 조은에이스(Joeun Ace) 품종보호출원 : 출원 2012-90</li> <li>- 엘로라 (Ellora) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-7</li> </ul> <p>○동남아시아용 편형계 흑부병 저항성 품종 육성</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 오션 99 (Ocean 99) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-5</li> <li>- 트로픽 에이스(Tropic Ace) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2012-1</li> <li>- 그린스페이스(Green Space) 품종보호출원 : 출원 2012-88</li> <li>- 베로나(VERONA) 생산판매신고 필증번호 : 02-0003-2014-2</li> </ul> <p>- 고순도의 종자 생산과 해외 채종시 원종 유출 방지를 위한 세포질 융성불임성을 도입한 채종 체계 구축</p> <p>○흑부병(검은썩음병) 및 뿌리혹병 저항성 검정 및 검정 방법 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국립 화학연구원에 의뢰하여 국내외 수집 균주를 이용하여 효율적이고 정확한 병리 검정 방법 확립 및 저항성 검정</li> <li>- 흑부병 및 뿌리혹병 저항성 소재의 저항성 유전 인자를 확인하고 유전 양식 연구를 통해 저항성 품종 개발을 위한 기초 연구</li> </ul>	1,470,000	100

나. 연구계획대비 진도표

개발내용	구분	연구 개발 기간(월)												진도 (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
○ 유전지도의 마커대량 분석기술 확립 및 분자유종 시스템 구축														100
○ 병 저항성 QTL 분석 및 QTL 마커 개발 및 활용														95
○ 저항성 마커 대량 분석기술 확립														100
○ 중국용 원형 극조생계 품종 육성														120
○ 인도용 원형 조생계 흑부병 저항성 품종 육성														150
○ 인도, 중국용 원형 중조생계 흑부병 저항성 품종 육성														150
○ 동남아시아용 편형계 흑부병 저항성 품종 육성														200
○ 흑부병(검은썩음병) 및 뿌리혹병 저항성 검정 및 검정 방법 확립														90
총 진도율														140
* → 로 진도표기														

### 3. 연구개발비 집행실적(연구개발비 기준)

(현재까지, 단위 : 천원)

#### <총괄>

비목	연도		2009	2010	2011	2012	2013
	세목						
직접비	인건비	미지급용	(34,920)	(37,351)	(30,151)	(30,151)	(32,786.4)
		지급용	74,840	86,275	88,180	86,298	76,500
		현물	-	-	-	-	-
	학생인건비		28,560	21,720	28,560	28,560	21,360
	연구장비·재료비	현금	101,340	90,099.2	81,293	91,009	70,021
		현물	33,300	33,300	33,300	33,300	33,300
	연구과제추진비		-	-	-	-	11,189
	연구활동비		19,461	21,186.8	24,657	15,925	32,909
	연구수당		6,100	5,800	7,980	8,980	10,700
	위탁연구개발비		-	-	-	-	-
간접비	간접비	23,390	28,000	23,330	23,330	31,050	
연구개발비 총액			286,991	286,381	287,300	287,402	287,029

#### <1세부>

비목	연도		2009	2010	2011	2012	2013
	세목						
직접비	인건비	미지급용	(18,720)	(21,151)	(13,951)	(13,951)	(16,586.4)
		지급용	10,800	18,000	18,000	18,000	18,000
		현물	-	-	-	-	-
	학생인건비		28,560	21,720	28,560	28,560	21,360
	연구장비·재료비	현금	58,500	51,860.2	46,216	52,420	25,695
		현물	-	-	-	-	-
	연구과제추진비		-	-	-	-	10,220
	연구활동비		13,750	15,419.8	16,914	10,710	24,975
	연구수당		5,000	5,000	6,980	6,980	8,700
	위탁연구개발비		-	-	-	-	-
간접비	간접비	23,390	28,000	23,330	23,330	31,050	
연구개발비 총액			140,000	140,000	140,000	140,000	140,000

<1협동>

비목	연도		2009	2010	2011	2012	2013
	세목						
직접비	인건비	미지급용	(16,200)	(16,200)	(16,200)	(16,200)	(16,200)
		지급용	64,040	68,275	70,180	68,298	58,500
		현물	-	-	-	-	-
	학생인건비		-	-	-	-	-
	연구장비·재료비	현금	42,840	38,239	35,077	38,589	44,326
		현물	33,300	33,300	33,300	33,300	33,300
	연구과제추진비		-	-	-	-	969
	연구활동비		5,711	5,767	7,743	5,215	7,934
	연구수당		1,100	800	1,000	2,000	2,000
	위탁연구개발비		-	-	-	-	-
간접비	간접비		-	-	-	-	-
연구개발비 총액			146,991	146,381	147,300	147,402	147,029

4. 참여기업 재무현황(현재기준)

사업자등록번호	317-90-11954	대표자	안 경 구
설립년도	2008년 1월	주요생산품	양배추, 브로콜리 종자
실무책임자	유 재 흥	연 락 처	043-836-3514
주 소	충북 괴산군 청안면 칠보로 371 (문방리 174번지)		

자 본 금	33천만원		
연간 매출액	75.6천만원	수출액	70천만원
연구개발투자비용	30천만원	매출액대비 비율	40%
총 종업원수	10명	연구가용인력	8명
재무상황			
프로젝트 책임자의 종합의견	* 검토방법 : 사업자등록증 확인, 기업회계자료 검토, 기업소속 참여 연구원 재직현황 확인 등		

5. 기타의견

가. 연구관리규정 및 제도개선이 필요한 사항

나. 연구수행 중 애로사항 및 건의사항

다. 성과에 대한 홍보 요청사항

6. 프로젝트 책임자의 종합의견

## 자체평가보고서

사업단명	Golden Seed Project 원예종자사업단	과제번호	309008-05-1-cg000		
프로젝트명	동서남아 수출용 흑부병 양배추 품종육성연구				
프로젝트연구기관	서울대학교 농업생명과학대학				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	양태진			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	서울대학교	성명	양태진
		기관(부서)	조은종묘	성명	안경구
연구기간	총 기간	2009.04.10 ~ 2014.04.09. (총 5년)		당해연도 기간	2013.04.10. ~ 2014.04.09
연구비(천원)	총 규모	1,435,000		당해연도 규모	287,000

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행    
  계획대로 진행    
  계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상의 성과 얻음    
  어느 정도 얻음    
  얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표	4	4	2	2	5			3	3					
연구기간내 달성실적	5	3	(1)	0	6			6	0		960 천불			
달성율(%)	125	75	50	0	120			200	0					

### 3. 연구개발 성과 세부 내용

#### 3-1 기술적 성과

- 해외에서 수집된 양배추 유전자원들은 향후 우수 신품종 육성에 필요한 육성 재료로 이용
- 해외 여러 국가들의 양배추 시장 분석, 선호도 분석 그리고 품종 개발을 통해 해외 시장에서 일본 혹은 유럽 회사들과 해외 시장에서 경쟁할 수 있는 경쟁력 확보
- 내서성, 내열구성 및 내병성 검정방법의 확립으로 향후 양배추 품종 육성에 있어 효율적인 선발 및 육종기간의 단축 가능
- 옹성불임성을 이용한 채종 체계 확립을 통해 안정적 생산 체계 및 유전자원 보호 체계 구축
- 중국, 인도 및 동남아시아에서 양배추 재배시 문제가 많이 되고 있는 흑부병(검은썩음병) 저항성 관련 유전 분석 및 저항성 품종 개발로 해외 시장에서 국제 경쟁력 확보
- 배추과 채소 재배시 문제가 많이 되고 있는 뿌리혹병에 대한 양배추 저항성 유전 자원 확보 및 유전분석을 통해 뿌리혹병 저항성 양배추 품종 육성을 위한 기초 연구

#### 3-2 과학적 성과

- 양배추에 있어서 흑부병(검은 썩음병) 및 뿌리혹병에 대한 저항성 관련 유전 연구로 향후 양배추 류(양배추, 브로콜리, 콜리플라워, 콜라비 등)에 있어서 병 저항성 품종 개발을 위한 토대 구축
- 양배추 및 다양한 근연 배추속 식물들의 유전체 정보 수집 및 활용체계 구축
- 국내 육성계통 간에 약 800개 이상의 다형성 마커 개발
- 국내 elite 육성 계통인 C1184와 C1234 간 354개 마커로 구성된 유전지도 작성
- 개발된 마커를 이용한 91개의 전세계 상업적 양배추 품종의 유전적 다양성 분석
- 양배추에서 발현된 여러 유전자들의 정보가 포함된 EST 정보 생산
- 4계통에 대한 WGS 정보 생산 및 양질의 SNP 지역을 발굴할 수 있는 pipeline 구축
- 흑부병 저항성 후보 QTL 지역 동정
- 양배추를 포함한 여러 Brassica species내 여러 MITE family들의 동정 및 이를 이용한 마커 개발

#### 3-3 경제적 성과

- 총 11개의 중국, 인도 및 동남아시아용 내서성, 내열구성 및 병저항성 품종들을 개발하여 5 품종 보호 출원 및 해외 양배추 수출 확대
- 국산 양배추 품종들의 해외 수출로 해외 시장에서 국산 종자들의 인지도 상승으로 향후 국산 종자들의 해외 수출 촉진에 기여
- 2013년 기준 양배추 수출액 33만불 달성, 2014년 40만불, 2015년 70만불 달성 예정

### 4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음                       현재로서 불투명함                       그렇지 않음

### 5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?



○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오.

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다**                       약간 조정필요                       전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족**                       보통                       미흡

(근거 : 상업화 품종 9개 및 상업화예정 품종 2개 개발, 프로젝트 최종년도 연매출 40만불 달성예정)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분**                       보통                       불충분

나. 연구성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분**                       보통                       불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분**                       보통                       불충분

나. 향후 계속 참여 의사는? (※중간·단계평가에 한함)

충분                       고려 중                       중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는? (※중간·단계평가에 한함)

확대                       동일                       축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

■ 즉시 기업화 가능     수년 내 기업화 가능     기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	서울대학교	부교수	양 태 진 (인)

※ 보고서 겉표지 뒷면 하단에 다음 문구 삽입

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.

[부 표]

## 인 쇄 내 용

### I. 인쇄규격

1. 크기 : A4 신판(가로 210mm \* 세로297mm)
2. 제본 : 좌철
3. 용 지
  - 가. 표지 200g/m<sup>2</sup> 양면 아트지
  - 나. 내용 80g/m<sup>2</sup> 모조지
4. 인쇄방법
  - 가. 표지 : 바탕 백색,활자 흑색
  - 나. 내용 : 흑색 지정활자
  - 다. 양면인쇄

### II. 편집순서

1. 표 지
2. 제출문
3. 보고서 요약서
4. 요약문
5. 영문 요약서(Summary)
6. 영문 목차(Contents)
7. 목 차
8. 본 문
9. 뒷면지

### III. 참고사항

전자조판 인쇄 시에는 이에 준한다.