

최 종  
연구보고서

수출용 고추 종자 생산을 위한 바이러스  
(ChiVMV, TMV) 저항성 분자 표지 개발 및  
MAS 확립

Development of Molecular Marker Related to Virus  
(ChiVMV, TMV) Resistance

(주)에프앤피부설기술연구소

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “수출용 고추 종자 생산을 위한 바이러스 (ChiVMV, TMV) 저항성 분자 표지 개발 및 MAS 확립에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008년 4월 25일

주관연구기관명 : (주)에프엔피

총괄연구책임자 : 김 신 제

연 구 원 : 김 군 보

연 구 원 : 김 창 균

연 구 원 : 남 희 영

연 구 원 : 김 수

연 구 원 : 정 혜 진

연 구 원 : 이 순 봉

연 구 원 : 조 아 영

연 구 조 원 : 김 신 애

# 요 약 문

## I. 제 목

수출용 고추 종자 생산을 위한 바이러스 (ChiVMV, TMV) 저항성 분자표지 개발 및 MAS 확립

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구개발의 목적은 다음과 같다.

- 1) Chili Vein Mottle Virus와 TMV의 가장 상위인 L4 저항성 식물체와 이병성 식물체를 교배하여 population 육성
- 2) Chili Vein Mottle Virus와 TMV의 가장 상위인 L4 저항성과 관련된 1CM 이내의 분자 표지 개발
- 3) Chili Vein Mottle Virus 저항성에 관련된 고추분자표지 작성
- 4) 궁극적으로는 ChiVMV와 TMV L4에 대한 marker assistant selection 체계를 확립
- 5) 고 부가가치 수출용 고추 종자 생산에 활용

본 연구가 진행되어야 할 필요성은 다음과 같이 요약할 수 있다.

- 1) 고추의 경우 바이러스의 종자 감염이 심각한 상태임. 특히, 담배모자익바이러스 (TMV)는 병 저항성 인자 중 L3의 분자표지가 개발되어 용이하게 이용되고 있으나, 최근에 국내외의 대부분의 고추품종이 TMV에 감염되어 심각한 생산 감소를 초래. 따라서 L3 보다 상위인 TMV L4 저항성 인자에 대한 분자표지의 개발이 절실히 요구됨.
- 2) 앞으로 국내에서 생산되는 수출용 고추 종자의 경우 ChiVMV의 저항성 인자를 보유하고 있으면 고가의 종자 값을 받을 수 있으나, 국내에 본 바이러스가 존재하지 않음으로 병저항성 테스트조차 어려움. 국내 종묘업계에서 생산하는 대부분의 고추종자는 인도, 동남아시아, 중국 등의 시장을 겨냥하고 있기 때문에 ChiVMV의 저항성 인자 도입이 필수적이므로 국내 종묘회사로부터 분자표지 개발에 대한 요구를 받음.
- 3) 본 과제의 개발 대상 기술은 종묘회사에서 바이러스 (ChiVMV, TMV) 저항성 품종을 보다 빠르고, 정확하게 선발하기 위한 분자표지개발로 단기간에 고품질종자의 생산으로 수출의 증대 및 생력화 가능하므로 개발이 절실함

### III. 연구개발 내용 및 범위

연구개발 내용 및 범위는 표 1과 같다.

표 1. 연구개발의 내용 및 범위

년도	연구개발 내용 및 범위	
1단계	ChiVMV	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ ChiVMV 저항성 P3488 line과 이병성 PP14 line의 교배조합 작성</li> <li>○ 작성된 교배조합에서의 F2 및 F3 식물체 육성</li> <li>○ F2 교배조합에서의 병저항성 test 후 유전양상 분석</li> <li>○ RAPD 와 BSA 방법을 이용한 적어도 2개 이상의 RAPD marker 개발</li> </ul>
	TMV	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 개발된 TMV 저항성 식물체 선발 마커의 CAPS 또는 SCAR 등 co-dominant 마커로의 전환</li> <li>○ RAPD marker의 cloning 및 Southern 분석을 통한 다형성밴드 확인</li> <li>○ RAPD marker의 Sequencing 후 이 유전자의 염기서열정보와 RT-PCR 또는 DNA walking을 통한 100kb 이내의 주변염기서열 분석</li> <li>○ RAPD marker를 probe로 사용하여 BAC library를 screening 한 후 이 BAC library 내의 다형성 확인으로 co-dominant 마커로의 전환</li> <li>○ 기 육성된 NIL인 FP21RX FP21 FP22RX FP22를 이용한 두개의 교배조합 작성 및 마커의 Recombination 율을 측정하기 위한 F2 육성</li> <li>○ 국내종묘회사 육성 프로그램 중 식물체 샘플의 확보</li> </ul>
2단계	ChiVMV	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 신규 RAPD 마커의 CAPS 또는 SCAR등의 co-dominant 마커로의 전환 마커의 개발</li> <li>○ 개발된 마커의 유용성을 AVRDC 의 병저항성 검정결과와 비교 분석</li> </ul>
	TMV	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ F2 육성 집단내에서의 마커 분석과 병저항성 검정 를 비교 분석</li> <li>○ TMV 저항성 식물체 마커의 선발 육종집단내의 MAS 유용성 검정</li> <li>○ 국내외 종자회사 샘플을 이용한 blind test 및 용역서비스</li> </ul>
3단계	ChiVMV	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 야생종 또는 중간 교배조합에서 사용 가능한 신규 마커의 개발</li> <li>○ 개발된 마커의 유용성을 AVRDC 의 병저항성 검정결과와 비교 분석</li> <li>○ 완전한 QTL 연관 유전자 지도 완성 및 1 cM 까지 커버하는 분자 표지 개발</li> <li>○ 국내외유용유전자원을 이용한 교배 조합의 작성 및 국내외 종묘회사와의 기술교류협력</li> <li>○ 국내외 기술 이전 및 용역계약</li> </ul>
	TMV	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 여러 교배 집단 (중간 또는 야생종간) 에서의 효율성 test를 위한 F2 육성 후 식물체 제공</li> <li>○ 종자회사로의 개발된 마커의 기술이전 및 KIT 제작</li> <li>○ 마커의 기술 이전 및 용역계약</li> </ul>

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 가. 연구개발결과

#### 1. ChiVMV와 관련된 연구 결과

- 본 과제의 제 1년차에서 육성된 ChiVMV 저항성 P3488 line과 이병성 PP14 line의 교배조합 작성과 F2 식물체의 병저항성 검정으로 병저항성 양상이 QTL임을 확인
- F2 교배조합에서 예측된 유전양상 분석결과를 F3에서 확인하기 위한 유전양상 분석으로 QTL임을 확인
- QTL 분석임에도 육종에서 활용하기 위하여 완전저항성과 이병성 개체를 분리하여 F2 population을 활용한 BSA 방법을 통한 RAPD 분석 5개의 RAPD marker 개발
- 개발된 ChiVMV 저항성 식물체 선발 마커인 3개의 RAPD marker의 F2 population에서 병저항성 검정과 동일성을 확인한 결과, 1개 마커 만이 약 3cM 정도에서 co-segregation 됨을 확인
- 본 RAPD marker의 효용성을 알아보기 위하여 종자회사의 샘플을 이용한 blind test

#### 2. TMV와 관련된 연구 결과

- Tobamovirus 그룹에 가장 상위 그룹인 TMV-L4 마커를 개발하기 위하여 TMV 저항성 식물체와 이병성 식물체 co-dominant 마커 개발
- 국내외 종묘회사의 육성중인 라인을 활용한 TMV 마커의 활용성 확인
  - 개발된 마커의 우수성을 확인하기 위하여 국내외종자회사의 육성중인 식물체를 샘플로 사용하였음. 그 결과 한국다끼이, 농우바이오, 한국세미니스, 일본 다끼이에서 그 결과가 예측결과와 일치하는 것을 확인하였음.
- TMV 저항성 식물체 co-dominant 마커의 개발 완료로 기술료 납부
  - 담배모자이크바이러스의 저항성 마커로 선발된 RAPD 마커를 SCAR 마커로 전환하는데 성공하였으며 이 마커를 분자육종에 활용하였음. 즉, 포장에서 육성중인 계통들의 바이러스 저항성을 예측하는 마커로 사용하였음
- 국내종묘회사와의 용역 사업의 시작
  - 본사는 국내외종묘회사의 육종지원사업을 시작하여 약 천만원정도의 용역 매출을 달성하였고 이 마커는 고추분자마커 사업단에 제공하여 사업단내의 연구자에게 서비스를 시작하였음.

## 나, 연구개발 결과 활용에 관한 건의

1. ChiVMV와 TMV 에 대한 궁극적으로는 marker assistant selection체계를 확립  
육종회사의 궁극적 목표는 저가에 고품질 종자를 생산하는 것이다. 특히 병 저항성 품종을 육성하는 경우, 병 저항성 인자를 가진 다른 품종으로부터 지속적인 역교배를 통하여 그 인자를 도입하여야 한다. 그리고 도입단계마다 병 저항성 test거쳐 선발하여야 하는데 이러한 선발단계시 분자 마커를 이용한다면 그 노동력이 절감 될 수 있다. 바이러스의 경우 종자 감염이 심각한 상태이다. 특히 국내에 존재하지 않는 해외에 심각한 바이러스의 내병성 검정은 국내에서 종자 육성에 사용할 수 없으므로 MAS 체계의 확립이 필수이고 이로 인한 동남아시아, 인도, 중국에 수출하면 종묘생산은 3백억의 증가를 가져올 수 있음 (현재 국내군소 종묘수출은 5억원/년).

2. ChiVMV 이 경우 QTL map을 다음 마커 개발에 활용

본 연구진이 ChiVMV의 마커 개발을 위하여 작성한 고추 분자지도에 등록된 모든 marker는 다음 마커의 개발에 활용할 수 있음. 추후 고추의 주요 형질관련 유전자를 개발하는 경우 3CM이상 멀리 있는 마커를 개발하여도 본사는 현재 BAC library를 보유하고 있으므로 유전자지도가 확보된다면 마커를 찾아가는데 연구비 및 소요시간 절감이 가능함.

3. TMV L4저항성 유전자 cloning 및 병 저항성 형질전환체 개발

본 연구가 종료되는 시점에서는 TMV 저항성의 최고 수준인 L4 gene을 위하여 BAC library를 작성하여 그 유전자를 map based cloning 방법을 통하여 cloning한다. cloning된 유전자는 유전자의 특성을 구명하는 연구를 수행하는 한편 담배모자의 바이러스의 저항성 식물체의 육종에 형질전환 재료로 사용 가능함.

4. 위의 과제들은 다음 단계의 추가 연구과제로 수행할 수 있는 기본이 되는 연구자료이므로 연구과제의 추가 선정 및 지원이 필요함

## SUMMARY

### I. Subject

Development of Molecular Marker Related to Virus (ChiVMV, TMV) Resistance

### II. Purpose and necessity

The purpose of this project are as follows.

- 1) Development of population by cross with susceptible line and resistant line that resistance to Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV) and superiors TMV-L4
- 2) Development of molecular marker within 1 cM related to resistance to Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV) and superiors TMV-L4
- 3) Draw pepper molecular marker related to resistance to Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV) and TMV-L4
- 4) Establish marker assisted selection (MAS) system for resistance to Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV) and TMV-L4
- 5) Use to the production of higher value-added export pepper seeds

The necessity of this project can be summarized as follows.

- 1) The virus infection is a serious in pepper cultivation field. The TMV-resistant molecular marker, L3 have been used for selection of resistant line. However, the most of red pepper that cultivated inside and outside of the country were infected to the TMV and it due to decrease the productivity of pepper. Therefore, development of molecular marker related to resistance to TMV-L4 superior than L3
- 2) If the export pepper seeds has a resistance to ChiVMV, it can get the high price. However, the test of resistance impossible due to the domestic field do not have ChiVMV. The domestic seedling companies produce the pepper seeds for export to India, Southeast Asia and China. Consequently, the export seeds have to have resistance to the ChiVMV. Hence the domestic company requested to develop the molecular marker resistance to ChiVMV.
- 3) Because of the molecular marker can be possible to reduction of labor and time, the objective technique of this project can develop the new varieties of pepper resistance to ChiVMV and TMV with quickly and exactly as well as short period time. Consequently, it should be increase the export of seeds by high quality.

# 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	8
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성 .....	8
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	9
제 1 절 국외 관련기술의 현황과 문제점 .....	9
제 2 절 국외 관련기술의 현황과 문제점 .....	9
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과 .....	11
제 1 절 이론적 실험적 연구방법 .....	11
제 2 절 연구수행 결과 .....	14
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	24
제 1 절 목표 달성도 .....	24
제 2 절 관련분야에의 기여도 .....	25
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	26
제 1 절 ChiVMV와 TMV에 대한 궁극적으로는 MAS 체계를 확립 .....	26
제 2 절 ChiVMV이 QTL일 경우 map을 다음 마커 개발에 활용 .....	26
제 3 절 TMV L4 저항성 유전자 cloning 및 병 저항성 형질전환체 개발 .....	26
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	27
제 7 장 참고문헌 .....	28



# 목 차

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 1. 연구개발의 목적 및 필요성

▷ 선진 각국에서는 새로운 품종을 개발하기 위하여 분자 표지를 이용하는 방법을 사용하고 있다. 육종에 분자유전학적인 기술의 응용은 목적형질에 밀접히 연관된 RFLP, RAPD, AFLP 등 분자표지(molecular marker)를 찾아내어 사용함으로써, 선발에 있어서 객관성과 목적성을 부여하고, 선발효율을 높이며, 선발에 소요되는 시간을 줄이는 실용적인 사용이 이루어지고 있음.

▷ 고추의 경우 바이러스의 종자 감염이 심각한 상태이고 특히, 담배 모자이크 바이러스 (TMV)는 병 저항성 인자 중 L3의 분자 마커가 개발되어 용이하게 활용되어지고 있으나, 최근에 국내외의 대부분 고추 품종이 TMV 계통에 의하여 감염되고 심각한 생산 감소를 초래하기 때문에 L3 보다 상위인 TMV L4 저항성 인자에 대한 분자표지의 개발이 시급함.

▷ Chili Vein Mottle Virus 는 동남아, 인도 중국 등에 만연하는 바이러스로 이 바이러스에 감염된 고추 식물체로부터는 과실의 착과가 어려우며, 착과가 되더라도 상태가 불량하므로 수확량은 없다고 말할 수 있다. 그러므로 앞으로 국내에서 수출되는 수출용 고추 종자의 경우 ChiVMV의 저항성 인자를 보유하고 있으면 고가의 종자 값을 높이 받을 수 있으나 국내에 본 바이러스가 존재하지 않음으로 병저항성 테스트조차가 어려움.

▷ 그러나 국내 종묘업계에서 생산하는 대부분의 고추종자는 인도 동남아시아 중국 등지의 시장을 겨냥하여 F1 종자개발을 하고 있음으로 ChiVMV의 저항성 인자 도입이 필수적이므로 국내종묘회사로부터 마커 개발에 대한 요구를 받음.

▷ 본 과제에서의 개발 대상 기술은 종묘회사에서 바이러스 (ChiVMV, TMV) 품종 육성을 보다 간편하고, 빠르고, 확실하게 선발하기 위한 분자표지를 1cM 이내에서 개발하고 개발된 분자표지를 이용하여 Maker Assistant Selection 체계를 확립 하는 것임.체

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1절 국외 관련기술의 현황과 문제점

▷ 선진 각국에서는 새로운 품종의 개발에 분자 표지를 이용하는 방법을 사용하고 있다. 분자유전학적인 기술의 육종에의 응용은 목적형질에 밀접히 연관된 RFLP, RAPD, AFLP 등 분자표지(molecular marker)를 찾아내어 사용함

▷ 용도는 실용적인 사용에서부터, 식물의 유전자지도를 작성하고 위의 표지들을 유전자 지도에 위치시키고, 세밀하게 연관된 표지를 지속적으로 찾아 들어가며 이러한 표지를 이용하여 중국에는 map based cloning하고 이를 다시 목적 식물에 형질전환시켜 목표로 하는 형질을 가지는 식물을 다른 부작용 없이 얻게 되는 적극적인 사용에까지 다양함.

▷ 현재 가장 앞선 미국의 경우 여러 작물의 병충해 저항성 유전자가 유전자 지도에 기반한 클로닝 (map based cloning) 방법으로 분리되었으며, 이로 인하여 식물의 병원체에 대한 저항성에 대한 기초, 응용 양쪽의 연구가 활기를 띠고 있다. 분자 유전학적인 방법으로 분리된 여러 병 저항성 유전자들도 있음.

▷ TMV L4의 경우 많은 연구진이 오랫동안 연구를 수행하여 왔으며 dominant marker를 개발한 보고가 2003년 일본원예학회지에서 보고되었다. 그러나 마커는 co-dominant로의 전환이 불가능하며 미국의 syngenta에서 마커를 사용하고 있다고는 하지만 확인된 바 없음. ChiVMV의 경우는 본사가 보유한 저항성 line이 최초의 보고임.

### 제 2절 국외 관련기술의 현황과 문제점

▷ 현재 우리나라의 육종회사의 판세를 파악하면, 거대 종묘회사인 중앙종묘와 흥농종묘는 다국적 기업인 Seminis에 서울종묘 역시 다국적기업인 Singenta에 흡수 합병된 상태이다. 이들 기업은 자본과 기술이 분자유종을 하기에 충분히 보유하고 있어 기존의 육종 체계에 분자마커를 이용하는 빠른 전환을 가지고 왔다. 또 국내에 일본계 거대 종자회사인 TAKII Seed Corp.와 SAKADA Seed Corp.이 중국의 거대 시장을 겨냥하여 한국진출을 마친 상태임

▷ 국내 종묘 회사중 대기업에 속하는 농우 바이오의 경우도 기존의 육종 체계에 분자마커를 이용하는 하기위하여 발빠른 대처를 하고 있다. 이러한 다국적 회사와 일본계 회사의 각축전 속에서 몇몇 국내 중소종묘회사와 개인육종가가 수출 및 국

내 틈새 시장을 겨냥한 품종을 육성하여 그 명맥을 유지하고 있다. 이들 육종회사는 대부분이 영세하므로 종묘회사의 자력으로 마커를 개발하기 어려울 뿐만 아니라 개발된 마커를 기술이전 하더라도 분석할 만한 장비를 갖추어 사용하기 어려운 실정임.

▷ 이러한 중에도 (주)에프엔피 기술연구소는 오이모자이크바이러스 저항성 마커를 개발하여 특허를 획득하였으며, 일본계종묘회사인 TAKII Seed Corp.과 국내종묘회사인 농우바이오에 기술 이전하였다. 이외에도 고추의 주요형질인 웅성불임, 과색, 과실형태, 매운맛 관련마커를 개발하였고 현재 기술이전을 위한 협상 중에 있음.

▷ 본사는 몇몇 국내중소 종묘업체와의 마커 개발에 대한 회의 도중 ChiVMV의 저항성 마커 개발을 절실함을 보고받았다. 앞서 언급한 바와 같이 ChiVMV는 국내에서 병저항성 실험 자체를 수행할 수없으므로 수출용 종자의 국내의 종묘업체에서의 유용형질 선발에의 MAS사용을 위하여 본사 연구소가 ChiVMV 저항성 마커 개발을 위하여 AVRDC를 2004년 8월에 방문하여 연구에 관하여 협의 하였고, AVRDC의 Dr. Green연구진은 ChiVMV 병 접종실험을 수행하기로 하고 본사는 마커개발의 전반적인 연구를 수행하기로 함. AVRDC의과의 연구협력이 성사 되어 본 과제를 기획하였고 마커를 개발하기로 함.



그림1) 본사의 기술이전에 관한 소식이 국내뉴스로 소개

## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구개발 수행 방법 및 연구내용

본 과제는 ChiVMV와 TMV 저항성 식물체 선발 마커를 개발하는 것으로 나누어져 있고 이 두개의 저항성 식물체 선발 마커는 기술을 공유할 수 있으므로 빠른 연구 결과를 도출할 수 있다. ChiVMV와 TMV의 저항성 분자마커 개발을 위한 개발내용 및 범위는 각 바이러스별로 나누어 설명하면 다음과 같다.

#### 1. Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV)

##### 1-1. ChiVMV 저항성 P3488 line과 이병성 PP14 line의 교배조합 작성

ChiVMV 저항성 라인으로 고정된 P3488 line과 이병성 line인 PP14 line와 교배를 실시하여 현재 F1 종자를 확보하였고 이 식물체로부터 F2 종자를 수확하여 200개의 population을 국내에서 유지할 예정임 이들 개체로부터 DNA를 분리하여 분자마커 개발

##### 1-2. 작성된 교배조합에서의 F2 및 F3 식물체 육성 및 병저항성 test 유전양상 분석

위에서 언급한 F2 개체들로부터 종자를 수확하여 각 F2 개체별 20개체씩 3반복으로 바이러스저항성 실험을 실시할 예정임.(AVRDC로 의뢰) F2 유지 개체가 아닌 F2 식물체에서 ChiVMV의 저항성 유전인자의 유전양상을 예측하고 이에 따른 연구방법을 설계하여 유전양상에 적합한 방법을 도출하여 연구수행 하였음

##### 1-3. RAPD와 BSA 방법을 이용한 적어도 2개 이상의 RAPD marker 개발

F2 개체에서의 병저항성 식물체와 이병성 식물체의 각각 10개씩을 조합으로 BSA방법을 사용하여 RAPD를 실시하여 Candidate primer를 적어도 5개 이상을 확보하도록 함.

##### 1-4. 유전양상이 QTL인 경우 유전자 지도 초안작성

F2 200개체에서의 DNA를 분리하여 채-dominant maker로의 효율이 가장 높은 RFLP연관 지도를 작성한다. 사용하는 DNA 절단효소는 5가지로 하고 1차 유전자연관 지도에 올릴수 있는 마커를 개수를 100개로 하여 southern blot을 실시함. QTL 연관지도위에 마커는 모두 국내 연구진과 본사가 보유하고 있는 clone들로 한정하였음. 이 연관지도는 2,3 차년도에 F3에서의 바이러스 저항성 test 후 QTL marking을 하는데 필수적이므로 수행하였음

##### 1-5. 국내외종자 회사 육성 재료를 이용한 Blind test

연구 2년차에서 개발된 RAPD 마커를 이용한 국내외종자 회사 재료를 대상으로 마커의 유용성을 test 하였음

## 2. Tobacco Mosaic Virus (TMV)

### 2-1. 개발된 TMV 저항성 식물체 선발 마커의 CAPS 또는 SCAR등의 co-dominant 마커로의 전환

기존의 연구결과에 서보는 바와 같이 본사는 TMV L4에 대하여 저항성 식물체 선발 마커를 개발하는데 성공하였다. 포장 실험이 완료된 육성 조합을 국내 종자회사로부터 식물체 잎을 분양 받아 RAPD 분자표지의 유용성을 test 한 결과 이 마커의 유용성이 입증되었으나 dominant marker인 RAPD marker는 육종에서 가장 중요한 육종연한을 단축하는 효과가 충분치 않으므로 co-dominant 마커로 전환하였고 개발 방법은 참고문헌2에 기술되어 있음

### 2-2. RAPD marker의 cloning 및 Southern 분석을 통한 다형성 밴드 확인

개발된 RAPD marker의 밴드를 elution하여 cloning 한 후 TMV 저항성 식물체 선발 마커의 CAPS 또는 SCAR등의 co-dominant 마커로의 전환하기 위한 육성된 NIL인 저항성 식물체, FP21R, FP21, FP22R, FP22의 DNA를 분리하여 10개이상의 DNA제한효소로 절단한 후 southern blot을 실시하였고 이 southern blot의 결과에서 다형성 밴드를 확인 할 수 있어 SCAR등의 co-dominant 마커로의 전환하였음

### 2-3. RAPD marker의 Sequencing 후 이 유전자의 염기서열정보와 RT-PCR 또는 DNA walking을 통한 20kb 이내의 주변염기서열 분석

현재 보유하고 있는 마커의 size가 400bo로 너무 작기 때문에 이 마커의 주변염기서열을 분석하기위한 RT-PCR 또는 DNA walking실험을 실시하고 이실험결과 cloning된 유전자를 활용하여 CAPS co-dominant 또는 SCAR co-dominant 마커를 개발할 것임. 이때 목표로 하는 주변염기서열은 20kb로 함

### 2-4. RAPD marker를 probe로 사용하여 BAC library를 screening 한 후 이BAC library 내의 다형성 확인

일본에서 보고된 TMV L4마커의 경우 그 주변 염기서열내에 다형성이 존재하지않으므로 co-dominant 마커를 개발하는 것이 어려운 실정이다. 본사는 이미 고추의 EcoRI BAC library 6X와 BamHI BAC library12X를 확보하고 있다. 그러므로 앞의 RT-PCR 또는 DNA walking을 통한 20kb 이내의 주변염기서열 분석으로 다형성 밴드를 찾기 어려울 경우 BAC library를 활용하여 SCAR co-dominant 마커를 개발하였음

## 2-6. 기 육성된 NIL인 FP21RX FP21 FP22RX FP22를 이용한 두개의 교배조합작성 및 마커의 Recombination 율을 측정하기 위한 F2 육성

본사가 개발한 마커의 재조합 율을 계산하기 위하여 NIL인 FP21RX FP21 FP22RX FP22를 이용한 두개의 교배조합으로부터 BC6F2 세대와 F2에서 각 200개의 개체를 재배하여 Recombination 율을 조사한다. 각기 다른 세대를 사용할 경우 같은 sites 내의 Recombination의 비교 분석이 가능함

## 2-7. 국내종묘회사 육성 프로그램 중 식물체 샘플의 확보

국내 종묘회사대부분이 TMV L4 저항성을 김장용고추, 파리 고추, 수출용고추에 도입하기위한 육성 program을 보유하고 있다. 이들 육성 과정은 호모와 헤테로를 확인하기 위한 후대 검정이 필수적이므로 2년 이상의 육종연한을 단축하기 위하여 본 마커가 유용하다. 현재 육성중인 식물체의 잎을 실험 재료로 사용하면 육종가와 바로 연결되어 이 마커의 유용성을 조사할 수 있음 . 그러므로 co-dominant 마커 개발 이후의 유용성 test를 위하여 실험재료를 확보하여 blind test를 실시 하였음

## 제 2 절 연구수행 결과

### 1. Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV)

#### 1-1. Chili Vein Mottle Virus (ChiVMV)의 저항성 식물체의 선발

ChiVMV 는 동남아, 인도 중국등에 만연하는 바이러스로 이 바이러스에 감염된 고추 식물체로부터는 과실의 착과가 어려우며, 착과가 되어도 생육이 불량하므로 수확량은 제로에 가깝다. “ChiVMV is one of the most predominant viruses of peppers in Asia. Our surveys in 16 Asian countries have shown that 30% of pepper crops are affected by this disease. The virus significantly reduces yields, with yield losses at AVRDC ranging from 55-95% in sweet pepper and from 9-74% in chili pepper trials” AVRDC의 Dr. Green 박사와 본사는 ChiVMV에 대한 저항성 계통을 선발하여 고추의 여러 계통에 ChiVMV를 접종한 후, 바이러스의 감염정도를 측정하여 2개의 저항성 계통을 선발하였다.



그림 2) 고추의 유묘기에 Chili Vein Mottle Virus 를 접종 2개월 후 저항성 식물체인 P3488(좌)와 이병성 식물체 PP14 line을 비교한 사진

그 중 그림2 에서 보는 것과 같이 P3488 line에서 가장 강한 저항성을 보였고 이 라인은 6세대의 자가수분을 통한 형질고정을 실시하였다. 이를 통하여 가장 심한 이병성을 보인 PP14 line을 3년 동안 실험을 하여 고정한 후 확보하였다.

그림 2는 종자친과 화분친으로 사용할 고추의 계통에 ChiVMV를 접종 2 개월 후, 그 생육정도를 관찰한 것이다. 같은 생육조건에서 두 계통간 현저한 생육 차이를 보였으며 이병성 계통인 PP14에서는 과실의 수확량은 전혀 없었다. 또한, 고추에서 오이 모자이크 바이러스의 감염이 엄청난 수확량의 감소를 가져오는 것을 입증할 수 있었다. 위의 식물체로부터 얻은 종자를 파종하여 유묘기에 ChiVMV의 감염정도를 ELISA방법을 통하여 측정한 각각 100개의 유묘 중 P3488 line은 단 한 개체에 서도 감염되는 것을 볼 수 없었으며, PP14 는 100개체 모두에서 ChiVMV가 감염되어 있는 것을 확인하였다.

### 1-2. P3488 X PP14의 교배 조합작성

ChiVMV에 대한 저항성 계통을 선발하여 고추의 여러 계통에 ChiVMV를 접종한 후, 바이러스의 감염정도를 측정하여 2개의 저항성 계통을 선발하였다. 선발된 P3488 lineX PP14 line을 교배하여 F1 종자를 확보하였고 2006년 F2종자를 확보하였다. 그리고 2006년 후반기에 F3종자를 확보할 수 있었고 이 교배 육성 조합을 이용하여 ChiVMV의 병저항성을 검정하여 유전자의 유전양상을 분석하는 재료로 사용하였다. 계속적인 재료 육성 중 ChiVMV의 새로운 저항성 유전양상이 보이는 것으로 예측되는 ChiVMV에 저항성 인자를 가진 VC series와의 교배를 추가하여 새 조합을 만들었다.



그림3) ChiVMV에 저항성 인자를 가진 VC series와의 교배를 추가 새로운 조합 작성



### 1-3. 가. P3488 X PP14의 집단의 병 저항성 검정

가장 강한 저항성과 이병성을 나타내는 두 라인을 이용한 P3488 X PP14의 F1으로 부터 2년차에 확보한 F2집단에서 일차적인 병저항성 Test를 실시하였다. 병 검정결과 300개의 식물체중 217 개체가 저항성으로 22개체는 고사하였고 64개체가 이병성으로 나타내었다. 본 ChiVMV에 대한 P3488의 저항성 인자는 단인자인 것으로 추측되어졌다. 한편으로 F3식물체를 얻기 위하여 F2 식물체 200개체를 온실에서 생육시켰다 (그림4). 이들 200개의 식물체로부터 모두 F3 종자를 수확하였고 이들 200개의 F2로부터 F3 식물체 20개씩을 취하여 ChiVMV저항성 test를 실시하였다. 초기 연구결과는 바이러스의 농도를 높게 접종하였을 경우 그 결과 역시 F2 연구결과와 마찬가지로 단인자가 병저항성 에 관련되어 있는 것으로 결론을 지었으나 2007년 2차와 3차 접종에서 바이러스이 활력이 떨어졌을 경우에는 QTL 양상을 나타내는 것으로 보여졌다, 교배 조합의 F3 단계에서 바이러스 활력을 증강시켜 실험을 수행하기 위하여 현재 발아 단계에 있다. 이 결과는 현재 고추분자 마커사업단에서 개발하고 있는 역병의 저항성 경우 역병 균의 농도에 따른 저항성 양상이 단인자 우선 또는 QTL로 보여지는 것과 양상과 일치하므로 그 마커를 추후에 찾을 수 있을 것으로 예상된다



그림 4) P3488 X PP14의 F2 식물체의 온실에서 생육

#### 1-4. P3488 의 저항성 관련 RAPD 마커의 개발

위의 교배 조합에서 저항성 개체 10개씩 2집단과 이병성 개체 10개씩 2집단을 BSA 방법으로 RAPD를 수행하였다. 그 결과, 그림 2에서 보는 것과 같이 병 저항성집단에서만 증폭되는 RAPD primer를 발견할 수 있었다 (그림 5).



그림 5) BSA 방법을 이용한 ChiVMV 저항성 특이 RAPD 마커의 개발

개발된 ChiVMV 저항성 특이 RAPD 마커를 각각의 F2 개체에 적용시켜 보았더니 병저항성 위치로부터 약 3cM정도 떨어져 있는 것으로 판명되었다. ChiVMV 저항성 유전자 위치와 보다 가까운 마커를 개발하기 위하여 RAPD를 실시하였으나 정확히 다형성을 나타내는 밴드를 찾을 수 없었다. 본 연구진은 현재 개발된 marker를 Chi-1이라 명명하였고 보다 근접 마커를 확보하기 위하여 BAC library Screening 또는 Inverse PCR을 수행 하는 추가 실험을 실시하기로 하였다.

#### 1-5. BAC library Screening and Inverse-PCR

ChiVMV에 대하여 저항성 선발마커인 Chi-1을 탐침으로 하여 BAC library를 Screening 하였다. 그 결과, Chi-1에 대하여 Positive clone은 모두 12개였으며 이들 clone들이 Chi-1을 보유하고 있는지 알아보기 위하여 PCR을 수행하였다. 그 결과 Chi-1을 보유한 clone은 모두 5개로 확인되었다. 이들 clone은 NCBI에서 Search 한 결과, retrotransposon 지역과 높은 homology를 보여 주었으며 이 지역의 Sequence와 BAC clone을 활용한 유전자의 cloning에는 어려움이 있어 Inverse-PCR을 genomic DNA를 template로 사용하여 수행하고 있다.

## 2. Tobacco Mosaic Virus (TMV)

### 2-1. TMV 분자 표지 개발용 교배조합 및 NIL 육성

고추에서 담배모자이크바이러스의 감염은 5-6월에 정식후 초기에 만연하여 고추의 생육을 저조하게하는 원인이 된다. 이들 고추에 감염되는 Tobamovirus Group은 Pathotype이 P0, P1, P2, P3로 구분되어 있고, 이에 해당하는 저항성 유전자 L1은 P0를 L2은 P0와 P1을 L3는 P0, P1, P2를 L4는 P0, P1, P2, P3로 구분된다. 그러므로 고추에 TMV 저항성 인자 중에 L4에 대한 저항성 인자가 존재하면 Tobamovirus Group의 바이러스에 대하여 저항성을 보이므로 종묘회사에서 L4 유전인자의 도입이 중요한 육종목표이다.

본 기술연구소는 *Capsicum cacohense*로부터 *Capsicum annuum*으로 내병인자가 도입된 피망고추 계통을 확보하였고, 이 피망의 L4 저항성 인자를 김장용 고추계통에 도입하여 Near Isogenic Line(NIL)을 만드는데 성공하였다. 이들 NIL계통을 이용한 분자표지 개발을 실시하였다.

### 2-2. 육성된 NIL을 활용한 TMV 저항성 분자표지 개발

피망의 TMV 저항성 line인 FP20과 김장용고추 계통인 FP21과 FP22에 L4 저항성 인자가 도입된 라인 FP21R과 FP22R의 DNA를 분리하여 RAPD를 실시하였다. 약 147개의 OPERON primer를 이용하여 Screening 하였고, 그 결과 3개의 primer 에서 polymorphic band가 보였으나 재 확인결과, 단 1개의 primer 조합에서 저항성과 감수성을 구분할 수 있는 약 320bp band를 찾을 수 있었다 (그림6).

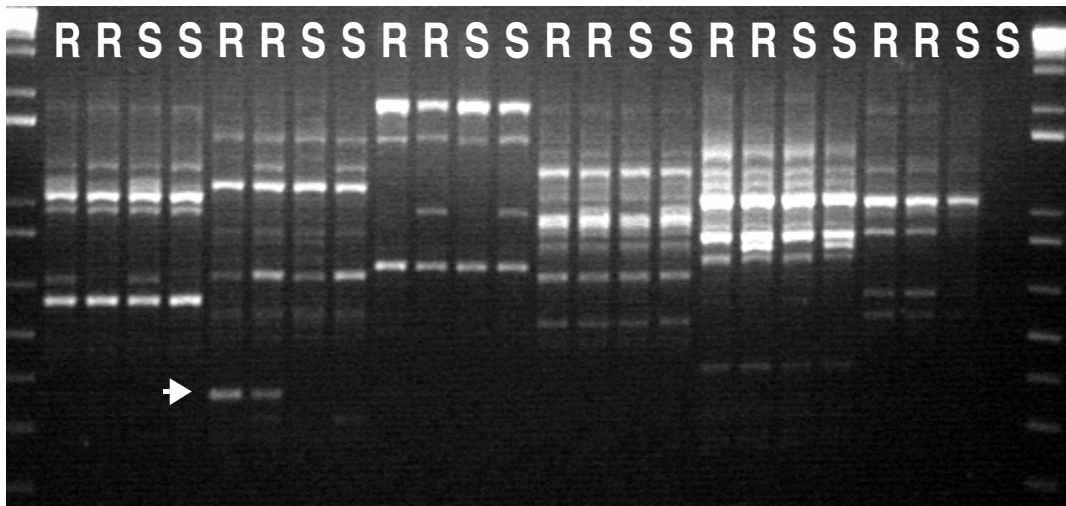


그림 6) TMV 저항성 NIL과 이병성 개체로부터 DNA를 분리하여 RAPD를 수행한 결과

이 primer의 polymorphism을 재확인 한 결과, 저항성에서만 band를 보이는 것을 여러 차례 확인 할 수 있었고, 이 RAPD 마커의 유용성을 테스트하기 위하여 국내 종묘회사로부터 여러개의 육성 조합의 잎을 샘플로 분양받아 실험분석을 실시하였다. 교배 조합의 모본 또는 부분에 TMV 저항성 인자가 있을 경우 이 인자의 유전 양상을 분석하는데 본 개발 마커의 유용성을 입증할 수 있었다.

### 2-3. TMV 저항성 RAPD 분자표지의 육성 조합에서의 유용성 확인

포장 실험이 완료된 육성 조합을 국내 종자회사로부터 식물체 잎을 분양 받아 RAPD 분자표지의 유용성을 test 할 수 있었다. 총 37 samples (포장결과 모두 저항성)에서 test한 결과 4483-4를 제외한 나머지는 포장 test와 일치하였다 (그림7). 4483-4의 경우 육종가가 병저항성 test결과 저항성으로 선발되어 육성도중에 있는 식물체였으나, 본 마커 결과 이병성으로 판별되었으므로 이의 이 식물체의 후대에 병저항성 test를 다시 한번 실시하였다. 4483-4 plant를 후대에서 분석한 결과 이식물체는 이병성식물체인 것이 확인되었다.

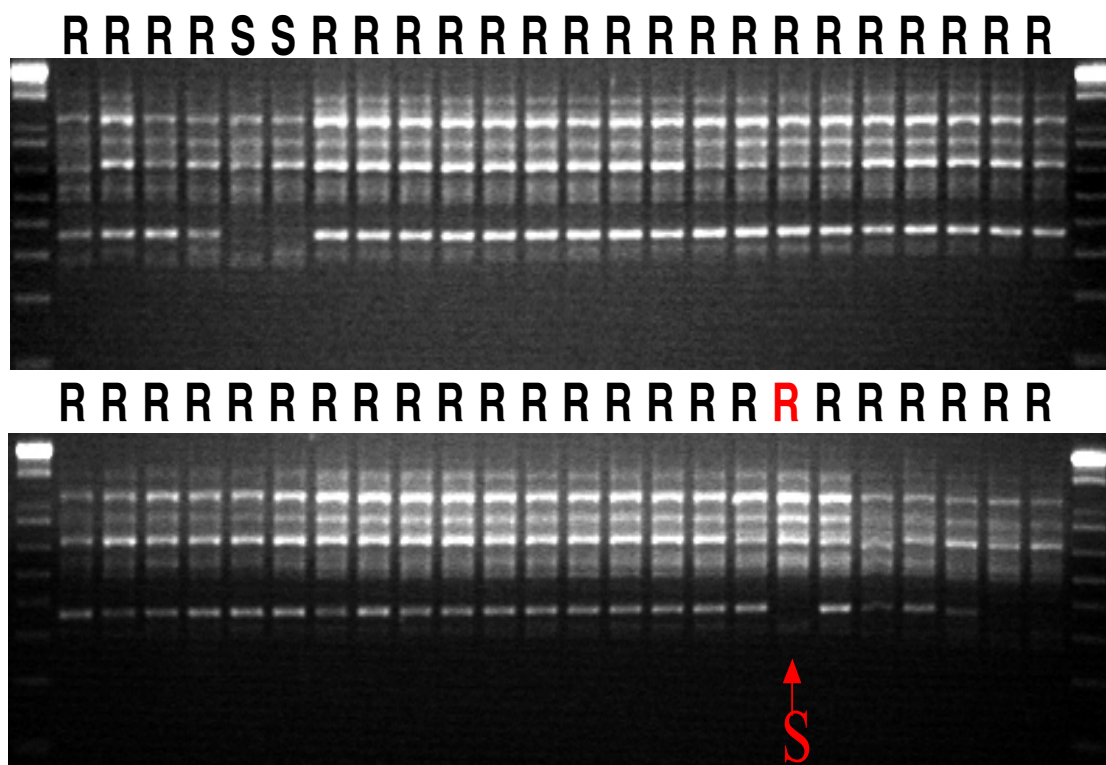


그림 7) 국내 종자회사로부터 식물체 잎을 분양 받아 RAPD 분자표지의 유용성 test 결과

#### 2-4. TMV 저항성 RAPD 분자표지의 SCAR marker 및 CAPS marker로의 전환

개발된 RAPD marker(그림6)의 sequence를 근거로 하여 DNA walking *SpeedUP*<sup>TM</sup> kit(seegene; K-1502)을 이용하여(그림 8) 1.5kb까지 sequence를 연장하였다. 실험과정을 간단히 설명하면, 우선 known 영역에서 nested primer를 3개 작성한다. 첫 번째 PCR을 시행하고, 증폭한 product를 template로 하여 두 번째 다른 primer로 PCR하고 이 증폭산물을 다시 확인하여(세번째 PCR) 마지막 product를 sequencing 하는 것이다.

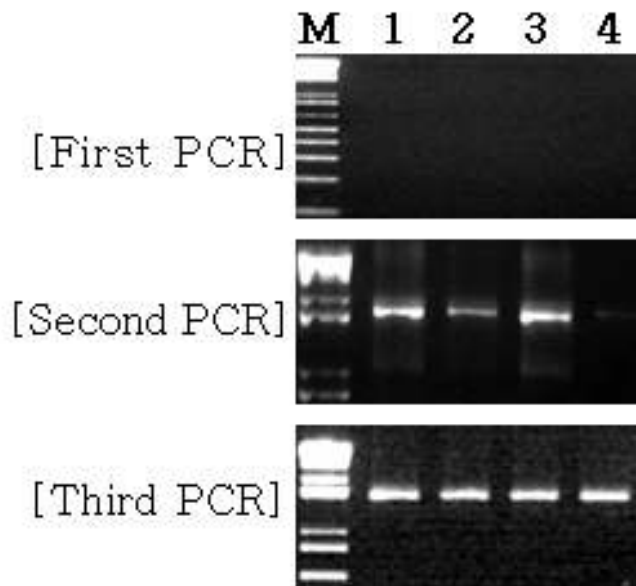


그림 8) 저항성 식물체를 이용한 L4 region의 유전자 증폭

\*\*\* M: 1kb DNA plus ladder, 1,2,3,4: ACP의 종류.

이 염기서열을 근거로 SCAR primer를 작성하여 감수성 sequence를 확보하였다. 저항성과 감수성의 sequence를 비교한 결과 저항성에 140bp가량의 결실부위가 있는 것으로 확인되었다. 이 후 결실 부위를 이용하여 codominant marker 전환 가능성을 확인하였고, 그 결과로 L4-1 marker를 개발하였다 (그림 9).

## 2-4 FP21R× FP21, FP22R× FP22를 이용한 두개의 교배조합작성

TMV (tobacco mosaic virus)에 대한 친으로 FP21R와 FP22R을, 이병성 친으로 FP21와 FP22을 선정하였다. 조합은 각각 FP21R×FP21 (이하 L4pop1라함), FP22R× FP22 (이하 L4pop2라함)으로 하였다. 양친간의 교배를 통해서 F<sub>1</sub>을 얻고, F<sub>1</sub>을 자가수분 하여 나온 F<sub>2</sub> 집단을 얻고, F<sub>2</sub> 집단 각 개체별로 시료를 채취하였다. 그리고 F<sub>2</sub> 집단의 유전자형을 파악하기 위하여 개체별로 자가수분하여 F<sub>3</sub>을 얻었다. 작성된 두 집단의 F<sub>3</sub>의 저항성 검정결과 F<sub>2</sub>의 유전자형 분리비는 저항성이 하나의 우성유전자에 의해 결정된다는 것을 알 수 있었다. 본 marker의 유용성을 검정하고자 두 F<sub>2</sub>집단 (FP21R× FP21, FP22R× FP22)에서 실험을 하였다 (그림 9). 검정결과 RAPD분석 결과와 동일하게 저항성과 감수성이 구분되었고, 유전자형은 포장검정결과와 비교했을 때 감수성 한 개체가 이형접합자(Rr)로 나타나는 것을 제외하고는 모두 일치하였다.

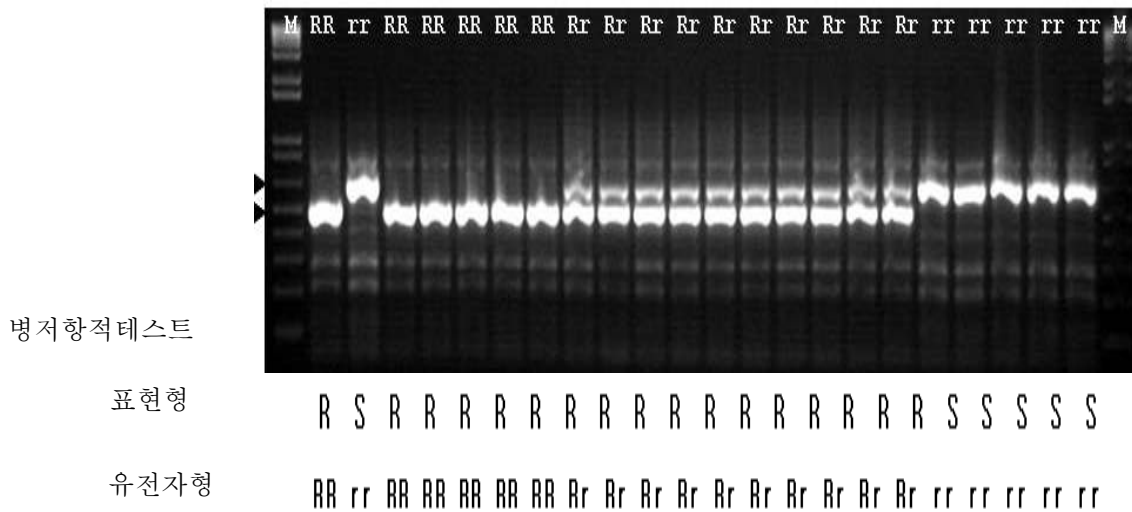


그림 9) L4-1 marker의 F<sub>2</sub> 집단에서의 codominant marker 가능성을 확인한 실험결과.

\*\*\* M: 1kb DNA plus ladder, 1,2,3,4: ACP의 종류.

표 2) F<sub>2</sub>집단을 이용한 TMV L<sub>4</sub>의 유전분석결과

	Plant	Genotype			Expected ratio	$\chi^2$	Probability
		RR	Rr	rr			
L4pop1-F <sub>2</sub>	106	19 (26.5)*	51 (53.0)	36 (26.5)	1:2:1	5.604	0.95-0.05
L4pop2-F <sub>2</sub>	111	23 (27.8)	54 (55.5)	34 (27.8)	1:2:1	1.45	0.95-0.90
합계	217	42	105	70			

\* 기대값

## 2-5. 국내종묘회사와의 용역 사업의 시작

L4-1 marker에 대한 에 종묘회사의 육성 계통을 이용한 바이러스 저항성 검정결과, 현재의 SCAR marker가 품종 식별 능력이 있어 MAS 확립에 적절한 마커로 평가 받았다. 본 연구 결과는 TMV 바이러스군에서 가장 상위 인 TMV-L4에 대한 저항성 마커를 개발하여 1년차에 국내 특허를 출원하였으며 2년차에는 PCT를 출원 (그림 10)과 기술료를 정부에 납부 하였다.

또한 본 marker의 유용성은 4개국 (일본, 이스라엘, 네델란드, 미국)에서 Sample 을 보내 유용성을 검정하였고 이 결과는 병저항성 검정 결과와 일치한다는 보고를 받았으며 용역 서비스를 실시하였음. .

## 2-6. 고추분자마커 사업단에서 본 마커를 이용한 유용 품종 개발

농림부가 지원하는 고추분자마커사업단 에서는 본 ARPC연구과제 수행중에 개발한 마커를 활용하여 MAS 체계를 확립하였으며 3개의 국내종묘회사가 보유 유전자원의 분석과 육성 계통이나 분리집단의 유용인자 보유 상화를 단시간에 파악 육종에 활용하였음.

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

<b>0</b>	<b>For receiving Office use only</b>	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	<b>Form PCT/RO/101 PCT Request</b>	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE Version 3.51.015.190 MT/FOP 20061001/0.20.5.7
0-5	<b>Petition</b> The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	<b>Receiving Office (specified by the applicant)</b>	Korean Intellectual Property Office (RO/KR)
0-7	<b>Applicant's or agent's file reference</b>	OP07-1001
<b>I</b>	<b>Title of Invention</b>	MOLECULAR MARKER ASSOCIATED WITH TMV RESISTANCE AND USE THEREOF
<b>II</b>	<b>Applicant</b>	
II-1	This person is	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	FNP CORP., LTD.
II-5	Address	RM 4-206, Bio-Valley, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University,, Seodun-dong, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do441-100 Republic of Korea
II-6	State of nationality	KR
II-7	State of residence	KR
II-8	Telephone No.	82-31-298-3843
II-9	Facsimile No.	82-31-298-3846

그림 10) PCT 출원 증명서



## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 목표달성도

년도	평가의 착안점 및 척도		달성도
1차 년도 (’05 -’06)	ChiVMV	○ ChiVMV 저항성 P3488 line과 이병성 PP14 line의 교배 조합 작성 및 F2 및 F3 식물체 육성 ○ F2 교배조합에서의 병저항성 test 후 유전양상 분석 ○ 적어도 2개 이상의 RAPD marker 개발 및 유전양상이 QTL인 경우 유전자 지도 초안 작성	100 100 100
	TMV	○ TMV 저항성 식물체 co-dominant 마커의 개발 ○ FP21RX FP21, FP22RX FP22를 이용한 두개의 교배조합 작성 ○ 국내특허1건	100 100 100
2차 년도 (’06 -’07)	ChiVMV	○ CAPS 또는 SCAR등의 co-dominant 마커로의 전환 마커의 개발 ○ 개발된 마커의 유용성을 AVRDC 의 병저항성 검정결과와 비교 분석 ○ 유전양상이 QTL인 경우 유전자 지도 초안작성	100 100 100
	TMV	○ F2 육성 집단내에서의 마커 분석과 병저항성 검정을 비교 분석 ○ TMV 저항성 식물체 마커의 선발 육종집단내의 MAS 유용성 검정 ○ 국내외 기술 이전료 납부 ○ 국외(PCT)특허 1건	100 100 100 100
3차 년도 (’06 -’07)	ChiVMV	○ 야생종 또는 중간 교배조합에서 사용 가능한 신규 마커의 개발 ○ 개발된 마커의 유용성을 AVRDC 의 병저항성 검정결과와 비교 분석 ○ 완전한 QTL 연관 유전자 지도 완성 및 1cM가지 커버하는 분자마커 개발 ○ 국내외 기술 이전 및 용역계약	100 100 100 100
	TMV	○ 여러 교배 집단 (중간 또는 야생종간) 에서의 효율성 test ○ 종자회사에서의 마커 개발에 활용	100 100

## 제 2 절 관련 분야에의 기여도

- 담배모자이크바이러스 저항성 식물체를 유전자 감식법에 의하여 선발 가능한 마커 개발
- 내병성 품종 육성에서 육종 연한과 노동력 그리고 비용을 절감할 수 있는 MAS 체계 확립
- 유용유전자 cloning에 기초자료 확립으로 활용가능
- 유용유전자 cloning 후 고추 이외의 작물에 형질전환하여 담배모자이크바이러스 저항성 식물체 개발가능
- 종묘회사와의 용역 사업을 시작하였고, 국외 4개 회사로부터 기술이전 또는 용역을 추진함으로써 MAS에 관한 유용성 증가
- 고추분자마커 사업단에서 고추 육종을 위하여 국내 3개 회사가 활용

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 제1절. ChiVMV와 TMV에 대한 궁극적으로는 marker assisted selection 체계를 확립

○ 육종회사의 궁극적 목표는 저가에 고품질 종자를 생산하는 것이다. 특히 병 저항성 품종을 육성하는 경우, 병 저항성 인자를 가진 다른 품종으로부터 지속적인 역교배를 통하여 그 인자를 도입하여야 함

○ 도입단계마다 병 저항성 검정을 거쳐 선발하여야 하는데 이러한 선발단계 시 분자표지를 이용한다면 그 노동력이 절감 될 수 있음.

○ 고추에서는 탄저병이나 역병과 같은 곰팡이 병의 억제는 농약으로 방제를 할 수 있으나, 바이러스 병의 경우는 유전자의 도입방법만이 유일한 방법이다. 그러므로 종자회사에서는 단시일에 빠른 선발이 가능하므로 경제적인 효과가 큼.

○ 본 연구진이 개발한 marker는 현재는 그 방제 방법이 없음. 또한 바이러스의 경우 종자 감염이 심각한 상태 임.

○ 특히 국내에 존재하지 않는 해외에 심각한 바이러스의 내병성 검정은 국내에서 종자 육성에 사용할 수 없으므로 MAS 체계의 확립이 필수적 임.

○ 따라서 이로 인한 동남아시아, 인도, 중국에 수출하면 종묘생산은 3백억의 증가를 가져올 수 있음 (현재국내군소종묘수출은 5억원/년).

### 제2절. ChiVMV이 QTL일 경우 map을 다음 마커 개발에 활용

○ 본 연구진이 ChiVMV의 마커 개발을 위하여 작성한 고추 분자지도에 등록된 모든 marker는 다음 마커의 개발에 활용할 수 있음.

○ 추후 고추의 주요 형질관련 유전자를 개발하는 경우 3 cM 이상 멀리 있는 마커를 개발하여도 본사는 현재 BAC library를 보유하고 있으므로 유전자지도가 확보된다면 마커를 찾아가는데 연구비 및 소요시간 절감이 가능함.

### 제3절. TMV L4 저항성 유전자 cloning 및 병 저항성 형질전환체 개발

○ 본 연구가 종료되는 시점에서는 TMV 저항성의 최고 수준인 L4 gene을 위하여 BAC library를 작성하여 그 유전자를 map based cloning 방법을 통하여 cloning.

○ Cloning된 유전자는 유전자의 특성을 구명하는 연구를 수행하는 한편 담배모자의 바이러스의 저항성 식물체의 육종에 형질전환 재료로 사용.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

- 고추의 분자표지 개발 현황으로 현재 국제 consortium으로 진행 중인 과제에서 *Capsicum annuum* cv. NuMex RNaky X *C. chinese* var PI159234의 F2 population을 이용한 마커로 약 427개 개발 - 359 SSR markers와 68 RFLP markers로 약 1304.8 cM을 커버 함.
- 또한 *Capsicum annuum* cv. NuMex RNaky X *C. frutescence* BG 2814-6의 F2 population을 이용한 마커로 약 728개 개발 - 489 SSR markers와 195 AFLP markers, 8 개의 PCR 특이 그리고 36 RFLP로 약 1358.7 cM을 커버 함.
- 토마토의 유전집단인 *L. esculentum* LA925 x *L. pennellii* LA716 80개의 F2 집단을 에 Conserved Ortholog Set (COS) 544, COSII 877, KFG 38 그리고 CAPS 1070, RFLP 1342, SNP 19, SSR 155 개가 포함된 연관지도작성이 보고되었음 (Tanksley S. group) 그리고 물리지도의 경우 3447개의 contig를 작성하였음
- Tomato-FISH, IL, AGP 그리고 physical map 등의 자료가 수집되고 있어, 유연관계가 높은 고추의 마커개발과 연관지도 작성에 유용한 참고자료로 이용할 수 있음. 기 개발된 토마토의 마커가 고추에 일부 사용가능할 것으로 예상되어짐

## 제 7 장 참고문헌

- Sang Jik Lee, Nu-Chung Shu, Shinje Kim, Jin-Kyung Kwon, Minwoo Kim, Kyung-Hee Paek, Doil Choi, and Byung-dong Kim. (2001) Molecular cloning and targeting of a novel pathogen-inducible cDNA encoding a putative acyl-CoA synthetase from *Capsicum annuum* L. *Plant Molecular Biology* 46:661-671.
- Hyun-Jung Kim, Jae-Hyeong Yoo, Hwa-Jin Cho, Jung-Heon Han, Byung-Dong Kim (2005) Development of Molecular Markers Linked to TMV (Tobacco Mosaic Virus) L4 Locus in Hot Pepper, *Korean Journal of Horticulture* 23:73~73.
- Hiskias Y., D. -E. Lesemann and H. J. Vetten (1999) Occurrence, Distribution and Relative Importance of Viruses Infecting Hot Pepper and Tomato in the Major Growing Areas of Ethiopia, *Journal of Phytopathology* 147:5-11.
- Benoit Moury, Alain Palloix, Carole Caranta, Patrick Gognalons, Sylvie Souche, Kahssay Gebre Selassie and Georges Marchoux (2005) Serological, Molecular and Pathotype Diversity of Pepper veinal mottle virus and Chili veinal mottle virus, *Virology* 95:227-232
- Nono Womdim R., I. S. Swai, M. L. Chadha, Duluti, Arusha, Tanzania, K. Gebre-Selassie and G. Marchoux (2001) Occurrence of Chilli veinal mottle virus in *Solanum aethiopicum* in Tanzania, *Plant Disease* 85:801-810
- Nobuhiko Takamatsu, Masayuki Ishikawa, Tetsuo Meshi, and Yoshimi Okada (1987) Expression of bacterial chloramphenicol acetyltransferase gene in tobacco plants mediated by TMV-RNA, *EMBO J* 6:307-311.
- Ohno T, Aoyagi M, Yamanashi Y, Saito H, Ikawa S, Meshi T, Okada Y. (1984) Nucleotide sequence of the tobacco mosaic virus (tomato strain) genome and comparison with the common strain genome. *J Biochem.* 96:1915-1923.
- Toru Sugita, Tetsuji Kinoshita, Tomoe Kawano, Kenichi Yuji, Kazunori Yamaguchi, Ryutaro Nagata, Akifumi Shimizu, Lanzhuang Chen, Shinji Kawasaki and Atsushi Todoroki (2005) Rapid Construction of a Linkage Map using High-efficiency Genome Scanning/AFLP and RAPD, Based on an Intraspecific, Doubled-haploid Population of *Capsicum annuum*, *Breeding Science* 55:287-295

## 주 의

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