

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “토마토 고품질·복합내병성 품종육성 및 분자표지 개발”의 최종보고서로 제출합니다.

2013년 6 월 일

주관연구기관명 : 농업회사법인(주)농우바이오

총괄연구책임자 : 원 동 찬

연 구 원 : 홍동오, 임병환, 이재무, 허남한,
김애정, 김옥화, 박정자, 김보람

세부연구기관명 : 농업회사법인(주)농우바이오

세부연구책임자 : 이 흥 렬

연 구 원 : 이장하, 안혜정, 박종영

세부연구기관명 : 농업회사법인(주)농우바이오

세부연구책임자 : 조 화 진

연 구 원 : 이경아, 장인창, 이인숙

협동연구기관명 : 강원대학교

협동연구책임자 : 이 해 익

연 구 원 : 김희웅, 김일기, 길영준, 박미정

요 약 문

I. 제 목

토마토 고품질·복합내병성 품종육성 및 분자표지 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

○ 세계 각국은 식량안보 및 산업경쟁력 제고를 위해 유전자원 수집·평가·이용 등 유전자원에 대한 주권을 강화하고 있는 추세이다.

○ 선진국의 유용자원에 대한 광범위한 채취 및 특허·독점권 행사 행위와 이에 반발한 개도국의 자국 유용자원 보호의 대립이 첨예하다.

○ 우리나라의 UPOV 가입(2002)과 품종보호제도 전면시행으로 로열티 지급위무 발생 품목이 급증하고 이에 대응하는 품종 개발이 미흡하다. 품종보호 대상작물은 98년 기준 27건이었으나 2008년이후로 223건으로 증가하였다.

○ 세계시장의 50%이상을 점유하고 있는 글로벌 종자기업은 인수합병을 통한 외형 확대 등 지속적인 집중화와 대형화 추세를 보이고 있으며, 세계시장 규모는 693억불 내외로 추정되며 분자마커, GM 기술 등 첨단생명공학기법 접목으로 지속적으로 성장 할 것으로 예상하고 있다.

○ 국내 토마토 종자시장은 약 170억 이상이고, 이중 일본 및 유럽회사의 종자가 70% 이상을 차지하고 있으며 국내회사는 30% 정도에 지나지 않으므로 수입대체 품종의 개발이 시급한 실정이다(2012. 한국종자협회).

○ 토마토는 고부가가치 작물로 우선적으로 국내시장의 수입품종을 대체할 수 있는 품종을 개발하여 달러의 해외 유출을 막고 농가에게 소득증대 뿐만 아니라 국내 토마토 산업의 활성화를 가져와야 된다.

○ 세계 토마토 재배면적은 약 470만 ha (FAO, 2011)이며, 이 중 20%인 98만 ha가 중국, 18%인 86만 ha가 인도, 5%인 26만 ha가 터키, 4%인 21만 ha가 이집트에서 재배되고 있어 한정적인 국내시장 뿐만 아니라 거대한 규모의 수출용 토마토 시장에도 투자를 하여야 할 시점이고 현재 농우바이오에서 판매하고 일부 품종이 해외에서의 토마토 시장에서의 접근 가능성을 확인하였다.

○ 다국적기업에서는 이미 토마토 한 품종에 내병성 유전자 5-6점이 마커를 이용하여 고정되고 있으며 국내에 상주하고 있는 몬산토, 신젠타 등 외국기업에서는 자국에서 개발된 마커를 이용한 토마토 육성을 하고 있다. 이에 대한 대비책을 마련하려면 국내에서 개발한 마커를 이용한 토마토 육성 인프라를 확립해야 한다.

○ 한국의 토마토 품종 육성 연한은 30여년에 지나지 않으며, 토마토 육종에 참여하고 있는 국내 기업이 극소수이며 장기 투자에 대하여 주저하고 있다. 토마토 육성기 양성에 소홀하여 경력 육성가가 극소수에 불과하다. 토마토 육성의 가장 큰 핵심 요소인 내병성 육종의 기술력 및 연구기반이 선진국 기술 수준에 비하여 취약한 편이다.

○ 현재 국내 민간회사에서도 한 품종에 4~5개 이상의 내병성 인자를 가지고 있는 복합내병성 품종들이 출시되어 농가에 보급되고 있으나 초기 단계이다.

○ 토마토 육종에 반드시 필요한 병저항성 분자표지 5점인 Cf-9(잎곰팡이병), K(갈색근부병), J3(근부위조병), F3(시드름병), PM-Lv(흰가루병)을 개발하여 내병성 육종을 지원하고자 하며 또한 기능성 관련 분자표지 3점인 SP(무한성장형), AH(Anthocyanin Hoffman:배축색), J(Jointless)를 개발하여 고품질 신품종을 만들 수 있도록 지원해야 된다.

○ 토마토 품종육성에서 중요한 요소인 병저항성인자의 도입과 관련하여, 연관된 분자마커를 이용하여 저항성인자의 도입에 필요한 기간을 단축시킬 수 있고, 이를 통하여 외국종자회사와의 품종경쟁력을 제고할 수 있다. 토마토 육성은 1년에 2세대가 진행되며, 3월 말부터 4월초에 춘계정식이 이루어지고, 7월 말부터 8월초까지 추계정식이 이루어진다. 분자마커를 통한 육종 재료의 인자분석은 토마토의 경우 포트에 가식되어 있는 수만개의 묘종에 대하여 분포장 정식 전에 샘플에 대한 분석이 완료되어야 한다. 일반적으로 육성팀으로부터 분석의뢰를 받아 실험실에서 개체별 인자형을 분석한 후에 육종가에게 결과를 통보하기까지 허용되는 기간은 10일 정도이며 이 시간 동안 춘계의 경우 5~6만점, 추계의 경우 4~5만점을 분석하여야 한다. 또한, 종자회사에서 취급하는 대부분의 원예작물이 봄과 가을에 비슷한 시기에 정식이 이루어지기 때문에 분자마커를 신속하게 대량으로 분석하는 시스템은 매우 중요하다고 할 수 있다. 이러한 관점에서 기존에 사용되고 있는 토마토 병저항성 연관마커의 형태를 CAPS 시스템에서 SNP 시스템으로 전환하고, 종자회사에서 사용하기에 적합한 저비용 대용량 SNP 분석시스템을 구성해야 만 한다.

○ 현재까지 토마토의 품질은 건물량, 당도, 구연산 및 기타 유기산 및 휘발성 화합물의 량 등을 중심으로 다루어 왔다. 토마토는 GABA, carotenoids, lycopene, phenolic compounds 등과 같은 많은 2차 대사산물을 축적한다. 이들 대사산물은 혈압강하, 항산화, 항암, 면역력 증강, 혈중 콜레스테롤 저하 등 많은 생리 활성을 나타내고 있다. 2차 대사산물의 함량은 계통이나 품종 간 큰 차이가 있으므로 육종 단계에서 기능성성분을 정량하여 육종에 반영하는 것은 매우 중요하다. 식습관의 wellbeing 경향으로 인해 소비자들은 식품으로부터 nutraceutical 성분을 공급받고자하는 기대치가 높아짐에 따라 토마토의 대표적인 항산화성분인 lycopene의 고함유 토마토 개발의 필요성이 대두되게 되었다. 이러한 목적을 이루기 위하여 본 연구진에서 보유하고 있는 계통 및 육성 중인 계통으로부터 lycopene의 함량 측정이 필요하다.

○ 토마토육종팀으로부터 제공되는 토마토 sample을 대상으로 lycopene 함량과 glutamate 함량을 각각 측정하여 토마토 육성이 기반이 되는 자료를 구축하고 이 실험의 결과를 바탕으로 주스 위주의 소비에서 샐러드, 조리 등 선진국형 소비형태로 전환될 경우 토마토 소비량은 급격하게 증가할 것으로 예상되며 이에 적합한 다양한 유형의 고품종 품종을 개발할 필요가 있다<소비량 (g/1인/일) : 이태리 187.9, 스페인 126.0, 미국 97.6, 한국 29.3>.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 국내·해외용 신품종 및 계통육성

가. 국내용 (4품종 이상)

- 1) 축성·반축성 : 저온신장성이 우수하여 동절기 작형에 적합한 복합내병성 완숙계 중대과종 품종육성
- 2) 억제 : 내서성이 강해 하절기 작형에 알맞은 잎곰팡이병(Cf9) 내병계 완숙계 품종육성
- 3) 미니 : 재배가 용이하고 고당도로 식미가 우수하며 차별화된 과형의 고품질계 품종육성
- 4) 요리 : 주스 소비에서 벗어나 샐러드, 조리 등에 적합한 선진국형 품종육성
- 5) 기능성 : Pink, Red, Yellow, Orange, Purple 등 다양한 과색 및 과형을 갖는 고기능성 품종육성
- 6) 대목 : 접목 용이성이 편리하고 초세가 강해 중장기 재배를 가능하게 하면서 청고병에 강한 내병성 품종육성(연구수행 중 추가 항목)

나. 해외용 (3품종 이상)

- 1) 중국 : TYLCV, N 내병계로 하우스 재배용 무한생장형, 노지재배용 유한생장형 Beef type 대과종 품종육성
- 2) 인도 : TYLCV와 TSWV 내병계로 과 품질이 우수하고 다수확형인 장동중대과종 품종육성
- 3) 인도네시아 : 내서성이 강하고 청고병과 TYLCV에 내병계인 중저지대용 품종육성

다. 병 저항성 및 유용형질 판별 분자표지 개발(8점 이상)

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
-내병성 경우 병검정과 대조연구 J3;근부위조병, Cf9;잎곰팡이병, K;갈색근부병, F3;시들음병레이스3 Ty-2:TYLCV, PM-Lv; 흰가루병, GLS; 반점병	AFLP, RFLP 정보 유전자 정보 분리집단 확보 RAPD 마커 SSR 마커	-토마토 육성팀과 연계하여 육성팀의 분리집단을 이용하여 개발 -내병성 마커의 검정은 (주)농우바이오 생명공학연구소 병리연구팀의 도움으로 병검정과 대조하여 마커의 활용도 확인 -분자마커 개발은 알려진 정보를 먼저 이용(논문) -Primer 디자인 후 합성의뢰하고 분리집단에 적용 -한국생명공학연구원 식물유전체 연구센터의 DB 분석자료 이용 -서울대학교 토마토 DB 자료 이용
-기능성 경우 형태적 관찰 SP(무한생장형), AH(Anthocyanin Hoffman: 배축색), J(Jointless)	Cornell web site 논문자료 등을 이용	-토마토 육성팀과 연계하여 육성팀의 분리집단을 이용하여 개발 -기능성 마커의 검정은 토마토 육성팀의 관독하에 추진 -분자마커 개발은 알려진 정보를 먼저 이용(논문) -Primer 디자인 후 합성의뢰하고 분리집단에 적용 -한국생명공학연구원 식물유전체 연구센터의 DB 분석자료 이용 -서울대학교 토마토 DB 자료 이용

라. 저항성 연관 DNA 마커 대량 분석 시스템 확립

- 1) 현재 사용되고 있는 토마토 저항성연관마커 중에서 사용빈도가 높은 Tm-2a, Ty-1, Sw-5, Mi에 대한 SNP 마커타입으로의 전환
- 2) 96 well microplate와 stainless steel ball을 이용한 대량 genomic DNA 추출법개발
- 3) 토마토 생체잎, 고온건조 잎, 동결건조 잎 등 식물체 상태에 따른 PCR 결과 확인
- 4) SNP 분석에 사용되는 1회용품과 시약 등에 대한 최소필요량 규명과 이를 통한 분석단가 최소화 등에 대한 연구를 진행
- 5) 이러한 결과를 바탕으로 5차년도까지 제1세부 토마토 육성사업지원을 지속적으로 수행하였으며, 제2세부 신규마커개발로부터 이전 받은 마커정보를 바탕으로 실제 육성에 사용될 수 있도록 분석과 결과를 육성과 마커개발자와 공유하면서 사업을 진행.

마. 육성 계통의 nutraceutical 성분 분포를 분석하여 품종개발에 활용

- (1) Nutraceutical 성분 및 맛 성분의 미량 신속 검정법 확립
- (2) Lycopene, β -carotene, GABA, glutamic acid의 신속 검정법 수립
- (3) 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분 분석
 - (가) 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분을 신속 검정법으로 분석
 - (나) 타 세부과제로부터 제공되는 계통 1000 점의 nutraceutical 성분 분석
- (4) Nutraceutical 성분이 강화된 선발 계통의 맛 성분 분석
 - (가) 타 세부과제로부터 제공되는 계통 100 점의 맛 성분 분석
- (5) 토마토 AGI의 특성 규명을 통한 추출법 확립
 - (가) HPTLC를 이용한 토마토 AGI의 분획
 - (나) 열 안정성 및 pH 안정성 검정

IV. 연구개발결과

1. 신제품 생산판매 신고 및 품종보호출원

구 분	조합명	품종명	등록년도	국내 품종 등록		목표 시장	비 고
				생산수입판매	품종보호출원		
국내 완숙	09T230	하드랑	2010	0		국내, 동유럽	국내 상업화
"	10T251	티와이 알토랑	2011	0	0	국내, 중국	"
국내 미니	10T544	티티찰	2011	0	0	국내	"
"	09T528	골드미니찰	2011	0	0	국내, 중국	"
"	10T507	레드광	2012	0	0	국내	"
국내 대목	09T021	올라운드	2011	0		"	"
국내, 해외 미니	09T511	페트라	2011	0		국내, 중국, 중동, 유럽	확대 적응성 시험중
인도, 중동	08T735	아지테시	2010	0		인도, 중동	인도 상업화
인도네시아	08T420	모나리자 (국내 마니아)	2009	0		인도네시아	인도네시아 "Monalisa"로 상업화

2. 병 저항성 및 유용형질 판별 분자표지 개발(10점)

가. 관행 접종방법과 병행하여 유용한 내병성 DNA marker 개발(7점)

(J3; 근부위조병, Cf9; 잎곰팡이병, K; 갈색근부병, F3; 시들음병 레이스3, Ty-2: TYLCV, PM-Lv; 흰가루병, GLS; 반점병)

나. 유용형질 판별 분자표지 개발(3점)

(sp ; self pruning, j ; jointless, 배축색)

3. 토마토 생체잎으로부터 동시에 대량으로 genomic DNA를 추출할 수 있는 시스템을 마련하였다. 96 well plate와 3mm stainless bead, 그리고 TissueLyser를 이용하여 1명의 연구자가 하루 8시간동안 16~24 plate를 처리할 수 있게 되었다. 고온건조와 동결건조한 토마토 잎에 대한 genomic DNA 추출, PCR 실험에서 생체잎과 동일한 실험결과를 얻어 분석 샘플의 원거리수송

에 의한 마커분석지원이 가능한 시스템을 구성하였다. 샘플 분석단가를 낮추기 위하여 SNP 분석에 사용되는 PCR plate간 비교, probe 농도에 따른 SNP 결과 비교, PCR master mixture와 실험실에서 제조한 master mixture 간의 SNP 결과 비교, film에 따른 비교, passive reference 인 "ROX"의 농도에 따른 SNP 결과 비교 등을 수행하여 SNP 분석을 위한 최저 단가를 구성하였다.

4. 1년차부터 5년차까지의 토마토 sample을 대상으로 lycopene, glutamate 및 α -glucosidase 저해 활성을 정량 분석하였다. Lycopene과 glutamate의 함량은 계절적 요인과 재배 요인에 의해 변화의 폭이 컸으나 같은 재배 조건의 경우 함량의 변이가 크게 나타나고 있다. 일부의 시료에 대해 혈당 강하에 관여하는 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 추후 혈당강하 기능을 갖는 기능성 토마토의 육성 가능성을 타진하였다. 그 결과 계통별로 α -glucosidase 저해 활성의 변이 폭이 커 일부의 계통은 기능성 토마토의 육성 가능성을 제시하고 있다. α -glucosidase 저해 활성을 갖는 토마토는 장내 소화효소인 α -glucosidase의 활성을 억제해 비만이나 당뇨에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 열안정성과 pH안정성을 확인해 본 결과 80°C 이상, pH 9 이상에서도 AGI가 변성되지 않는 것으로 나타났다. 본 연구에서 확보된 데이터는 토마토 육종의 기초 자료로 활용이 가능 할 것으로 판단된다.

1. 주요 선발조합 및 F1 품종의 Lycopene, Glutamate, α -glucosidase 함량 분석

품종명	과색	Lycopene (mg/kg)	Glutamate (mg/kg)	α -glucosidase inhibition(%)
10T217	Pink	45.8	2292	20.6
11T3152	"	58.4	1417	5.7
10T262	"	67.7	878	20.9
티와이알토랑 (10T251)		61.0	1458	4.3
10T259		55.0	1458	12.2
11T321	Red	46.8	2220	13.2
10T346	"	50.5	1198	13.2
티티찰 (10T544)	"	65.9	2569	26.6
10T550	"	65.4	5569	26.6
11T555	Pink	46.7	3519	26.9
11T573	Purple	63.5	5319	17.5
10T577	Yellow	3.7	3947	8.9
11T608	Red	65.8	1361	24.5

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 신제품 및 시교 조합

구 분	조합명	품종명	등록 년도	성과 활용	국내 품종 등록		목표 시장	성과 활용 계획
					생산수입 판매	품종보호 출원		
국내 완숙	09T230	하드랑	2010	자체사업화	0		국내, 동유럽	국내판매증 및 동유럽 수출
"	10T251	티와이 알토랑	2011	"	0	0	국내, 중국	국내 판매증 및 중국, 터키 지역 품종 등록 예정
국내 미니	10T544	티티찰	2011	"	0	0	국내	국내 판매증
"	09T528	골드미니찰	2011	"	0	0	국내, 중국	국내 판매증
"	10T507	레드팡	2012	"	0	0	국내	국내 판매증 추천, 부여 이외의 지역 판매 확대 및 대규모 품종 홍보
국내 대목	09T021	올라운드	2011	"	0		"	국내 판매증
국내, 해외 미니	09T511	페트라	2011	"	0		국내, 중국, 중동, 유럽	유럽, 북아프리카 확대 적응성 시험중
인도, 중동	08T735	아지테시	2010	"	0		인도, 중동	인도 상업화
인도네시아	08T420	모나리자 (국내 마니아)	2009	"	0		인도네시아	스리랑카, 방글라데시 판매 예정

2. 논문게재(5편)

발표년도	제목	발표 논문게제지
2011	Application of Disease Resistance Markers for Developing Elite Tomato Varieties and Lines	Kor. J. Hort. Sci. Technol. 29(4):336-344.
2012	CAPS Marker Linked to Tomato Hypocotyl Pigmentation	Kor. J. Hort. Sci. Technol. 30(1):56-63
2013	토마토 숙성저해 유전자의 SCAR 분자표지 개발	Kor. J. Breed. Sci. 45(2):104-108 (2013. 6 <i>in press</i>)
	고품질 내병성의 방울토마토 '티티찰'	Kor. J. Breed. Sci. 45(2):153-157
	고품질 내병성의 완숙토마토 'TY알토랑'	Kor. J. Breed. Sci. 45(2):148-152

가. 포스터 발표(1건)

Lee et al., SCAR Marker Linked to RIPENING-INHIBITOR (Rin) in Tomato. PAGE conference. Sandiego, USA, January 11 - 16, 2013, P0404.

<https://pag.confex.com/pag/xxi/webprogram/Paper7722.html>

나. 연구성과 활용 계획은 10점(J3; 근부위조병, Cf9; 잎곰팡이병, K; 갈색근부병, F3; 시들음병 레이스3, Ty-2: TYLCV, PM-Lv; 흰가루병, GLS; 반점병, sp ; self pruning, j ; jointless, AH(Anthocyanin Hoffman:배축색))의 마커를 개발하여 농업회사법인(주)농우바이오 토마토 육종팀에 전달하였으며 계통화, 품종화를 할 수 있도록 협력할 것이다.

3. 대량 마커 분석

연구기간 동안 총 224,000여점의 육성재료를 분석하여 제1세부에 전달하였으며, 96 well plate를 이용한 gDNA 추출법을 확립하였다. 사용빈도가 높은 Tm-2a, Ty-1 등 8개 마커에 대하여 SNP 타입으로 전환하였고, SNP 분석에 사용되는 시약에 대한 적정 사용량 규명을 통하여 분석단가를 상업용 master mixture를 사용했을 때 보다 50%이하로 절감 할 수 있었다. 본 연구과제를 통하여 얻어진 genomic DNA 추출법과 SNP 분석 프로토콜은 고추와 같은 마커를 활용하고 있는 다른 원예작물의 대량마커분석 시스템에 바로 적용될 수 있다. 또한 고온건조 또는 동결건조 처리된 시료에 대한 분석실험에서 해외주재의 연구소 육성 연구원들에게도 마커분석을 통한 genotyping을 지원 할 수 있는 시스템을 완성하였다.

4. 성분분석

1년차부터 5년차까지의 토마토 sample을 대상으로 lycopene, glutamate 및 α -glucosidase 저해 활성을 정량 분석하였다. Lycopene과 glutamate의 함량은 계절적 요인과 재배 요인에 의해 변화의 폭이 컸으나 같은 재배 조건의 경우 함량의 변이가 크게 나타나고 있다. 이에 Lycopene과 glutamate이 계절에 따라 변이가 크지 않는 재배 방법을 농가에 보급하여 성분함량이 높게 나올 수 있도록 재배 방법을 개선할 필요성이 있으며 일부의 시료에 대해 혈당 강하에 관여하는 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 추후 혈당강하 기능을 갖는 기능성 토마토의 육성 가능성을 타진하였다.

SUMMARY

○ Tomato is one of the most important vegetables in the world. The estimated area of tomato cultivation is about 4.5 million ha and the major tomato growing countries are China (1.3 million ha) and India (0.54 million ha). In Korea, the value of the tomato seed market is estimated to be more than 17 billion dollars and Japanese and European seed companies accounted for more than 70 % of the domestic seed market. Thus, the development of new varieties for import substitution is urgently needed. Molecular markers have been used for identification of genes (QTLs) for agronomically important traits in tomato. Market-assisted breeding helps breeders accelerate the development of new varieties. Tomatoes are the major source of lycopene and contain other metabolites with health benefits. A diverse collection of tomato germplasm should be screened to develop a valuable variety with the high concentrations of key metabolites, which would potentially be used as a source for human consumption.

We registered multi-disease resistant 6 varieties for domestic greenhouse culture, multi-disease resistant 2 varieties for India, Indonesia open field culture and 1 variety for China, North Africa of long shelf life cherry tomato in greenhouse. Especially, we registered 4 varieties for plant variety protection in Korea. Development of multi-disease resistant varieties improve farm income and the import substitution effect can be expected.

○ Recently, a breeding using only traditional breeding method is difficult to be performed in profitable crops. In addition, low genetic diversity of breeding sources limits development of new cultivars with novel traits. Meanwhile, DNA markers have been developed since 1980's, and nowadays actively applied on commercial breeding. In multinational corporations, molecular breeding systems were constructed and combined with traditional breeding system, and these combined systems increased highly new cultivar development and yield production. These breeding systems helped by application of molecular markers have several benefits. The benefits are 1) breeding period shortening from 10 to 5 years, 2) running cost saving such as labor and facilities, 3) increasing cultivar combination numbers due to early selection of seedlings, 4) stable selection of quantitative characteristics using linked markers, 5) intragenerational developing of cultivars containing multi-traits.

In the beginning of this study, 5 resistant (Cf-9, K, J3, F3, PM-Lv) and 3 functional (SP, AH (Anthocyanin Hoffman), and J (Jointless)) molecular markers were necessary in tomato breeding program. Firstly, we selected these traits to develop molecular markers because resistant marker was so important for tomato yield production, and functional marker was too. Secondly, to develop molecular markers linked to the 8 traits, all plant materials were supported by tomato breeding team in Nongwoobio Co. Ltd. Finally, the developed molecular markers are 7 resistant (J3, Cf9, K, F3, Ty-2(TYLCV), PM-Lv, GLS)

and 3 functional (SP, AH (Anthocyanin Hoffman), J (Jointless)) markers. The developed markers have been used actively in tomato breeding program in Nongwoobio Co. Ltd. These applications will be increasingly used to use the breeding program.

○ Molecular markers linked to disease resistance are important tool in tomato breeding for reducing time needed to make lines homozygous. Most global tomato breeding companies uses DNA markers for their breeding programs, therefore, a high-throughput DNA marker analysis system is need to us to make competitive tomato F1 hybrids in the markert. Generally, we can proceed two generations in a year for tomato breeding, spring and fall. The time of a nursery to soil is about 7 to 10 days. In this period, we have to finish genotyping of tomato breeding materials about fifty thousands of samples. In addition, life cycles of most vegetable crops are the same with each other, then the time for marker analysis is overlapped among the crops. It's the reason why we need a high-throughput DNA marker analysis system. We changed the DNA marker system, CAPS to SNP and set up the SNP analysis platform reducing a cost per sample. Additionally high-throughput genomic DNA extraction protocol was also developed in this project. For the five years of this project, we analysed two hundreds twenty-four thousands of samples for tomato breeding project. Eight tomato CAPS markers which were used high frequently in tomato breeding, for example, Tm-2a and Ty-1, were converted to SNPs. The SNP system resulted in time saving of 50% compare to CAPS system and the cost per sample for SNP analysis was down to a half of recommended commercial master mixture.

CONTENTS

I. Introduction of Research and Development -----	14
Chapter 1. Necessities of Research Development -----	14
II. Overview of technical advances in domestica and worldwide -----	20
III. Contents and Results of Research Project -----	24
Chapter 1. Development of multi-disease resistant tomato variety -----	24
1. Collections of Genetic Resources -----	24
2. Characterization of genetic lines and F1 selection -----	25
3. Seed production ability test -----	79
4. Adaptive testing and registration of new varieties -----	81
Chapter 2. Development of molecular markers for the development of new varieties Tomatoes -----	100
1. Development of resistant molecular markers -----	100
2. Development of functional molecular markers -----	119
Chapter 3. High-throughput genotyping for marker assisted breeding of tomato by using SNP markers -----	128
1. Material and methods -----	128
2. Results -----	129
Chapter 4. Evaluation of tomato genetic resources for developing new tomato varieties with high contents of phytochemicals -----	144
1. Material and methods -----	144
2. Results -----	149
IV. Achievement of project goal and Contribution -----	203
V. Products of project and Future application plan -----	209
VI. Collected foreign technology in project -----	211
VII. Reference -----	215

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 -----	14
제 1절	연구개발의 필요성 -----	14
제 2 장	국내외 기술개발 현황 -----	20
제1절	국내외 기술개발 현황 -----	20
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 -----	24
제 1절	복합내병성 토마토 품종 개발 -----	24
1.	유전자원 도입 -----	24
2.	계통특성 검정 및 F1 조합 선발 -----	25
3.	생산력 검정 -----	79
4.	농가 적응성 시험 및 신품종 등록 -----	81
제 2절	토마토 신품종 육성을 위한 분자표지 개발 -----	100
1.	내병성 마커 개발 -----	100
2.	기능성 분자표지 개발 -----	119
제 3절	SNP 마커 시스템을 이용한 토마토 품종육성 재료의 대량인자분석 -----	128
1.	실험방법 -----	128
2.	실험결과 -----	129
제 4절	고기능성 토마토 품종 육성을 위한 토마토계통의 평가 -----	144
1.	실험방법 -----	144
2.	실험결과 -----	149
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	203
제 1절	목표달성도 -----	203
제 2절	관련분야의 기여도 -----	207
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획 -----	209
제 1절	연구개발 성과 -----	209
제 2절	연구개발 성과활용 계획 -----	211
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	212
제 7 장	참고문헌 -----	215

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 필요성 및 배경

○ 국내 토마토 종자시장은 약 170억 이상이고, 이중 일본 및 유럽회사의 종자가 70% 이상을 차지하고 있으며 국내회사는 30% 정도에 지나지 않으므로 수입대체 품종의 개발이 시급한 실정이다(2012. 한국종자협회).

○ 세계 토마토 재배면적은 약 470만 ha(FAO, 2011)이며, 이 중 20%인 98만 ha가 중국, 18%인 86만 ha가 인도에서 재배되고 있으며, 이들 국가에서 재배되고 있는 품종과 본 연구소 토마토연구팀에서 육성한 품종 간에 경쟁력이 충분히 있기 때문에 중국, 인도, 인도네시아 등을 비롯한 아시아권에 수출용 품종의 개발에 의하여 토마토 산업 전반에 걸친 국가 경쟁력을 높여야 한다.

○ 주스 위주의 소비에서 샐러드, 조리 등 선진국형 소비형태로 전환될 경우 토마토 소비량은 급격하게 증가할 것으로 예상되며 이에 적합한 다양한 유형의 고기능성 품종을 개발할 필요가 있다. <소비량 (g/1인/일) : 이태리 187.9, 스페인 126.0, 미국 97.6, 한국 29.3>

○ 국내외적으로 매우 중요한 토마토의 경우 미래 신품종 개발을 한다면 국내 종자, 생산물, 가공 시장이 대형화 해 질 것이며 이에 따른 경제적 전망이 매우 높다.

○ 관행육종 방법으로는 더 이상 고부가가치 작물 육성을 할 수 없다. 육종재료인 유전자원이 한계점에 도달하여 극복방안이 절실하며 이에 선진국, 다국적기업에서는 이미 분자유종기술을 구축하였다. 이 분자유종기술의 도입이 신품종개발을 촉진하였고 농업 생산성을 증대시켰다.

○ 1980년대 본격적으로 시작된 원예작물의 DNA 마커 개발 및 활용은 현재 실험실 단계에서 마커를 개발하는 것에서 벗어나 종자회사의 품종육성 현장에서 활발하게 이용되고 있다.

○ 가장 중요한 토마토 육종 program은 분자표지를 이용한 신품종 개발이며 분자표지를 많이 개발하면 할수록 토마토 품종에 관한 국제경쟁력에서 우위에 점할 수 있으며 세계 틈새시장 확보에 접근할 수 있다.

○ 분자마커를 이용한 육종 program을 통해서 1) 작물의 육종기간이 10년에서 약 5년으로 단축되며 2)노동력, 시설측면에서 상당한 운영경비를 감축 3) 묘상에서 DNA 마커를 이용한 1차 선발을 통하여 포장에서 조합 검정 할 수 있는 조합의 수를 상대적으로 증가시킬 수 있으며, 4) 외부환경에 의해 표현형이 왜곡 될 수 있는 원예적 형질에 대한 선발과정의 부정확성을

극복하고, 5) 복합내병성 품종육성을 위하여 동시에 여러 종류의 병저항성 여부를 DNA 마커분석을 통하여 동일세대에서 완료할 수 있게 되었다.

○ 다국적기업에서는 이미 토마토 한 품종에 내병성 유전자 5-6점이 마커를 이용하여 고정되고 있으며 국내에 상주하고 있는 몬산토, 신젠타 등 외국기업에서는 자국에서 개발된 마커를 이용한 토마토 육성을 하고 있다. 이에 대한 대비책을 마련하려면 국내에서 개발한 마커를 이용한 토마토 육성 인프라를 확립해야 한다.

○ 네델란드의 Keygene 회사는 여러 유럽종자회사들과 일본의 다끼이 종묘 등이 출자하여 육종에 필요한 분자표지를 개발하여 출자회사에 공급하고 있다. 여기서 개발한 표지 마커들은 첨단 마커로서 향후 신품종 육성에 지대한 영향을 미치는 바 경쟁력 있는 마커개발이 절실히 요구된다.

○ 국내 토마토 품종 육성의 역사가 외국과 비교하여 절대적으로 짧은 상황에서 국내 토마토 종자시장 뿐만 아니라 해외 시장의 개척을 위해서도 토마토 품종육성에서 DNA 마커대량 분석시스템의 활용과, 원예적 형질과 연관되어 육성목표에 부합되는 새로운 분자마커를 찾기 위한 노력의 필요성은 매우 크다고 하겠다.

○ (주)농우바이오는 국내에서 유일하게 토마토 분자 표지를 개발하고 이를 이용하여 육종을 실용화 하고 있으며 국제적 경쟁력이 있는 인프라구조를 보유하고 있다. 그러나 국내 기업 자본만으로는 연구 시설 확충이나 연구원 활용 등에서 연구비가 매우 부족한 실정이다.

○ 현재까지 토마토의 품질은 건물량, Brix 값, 당당류, 구연산 및 기타 유기산 및 휘발성 화합물의 량 등을 중심으로 다루어져 왔으나, 금후에는 GABA, carotenoids, lycopene, phenolic compounds 등과 같은 많은 2차 대사산물의축적 양에 따라서 품종의 우열이 정해질 것으로 판단된다.

○ 이들 대사산물은 혈압강하, 항산화, 항암, 면역력 증강, 혈중 콜레스테롤 저하 등 많은 생리 활성을 나타내고 있다.

○ 2차 대사산물의 함량은 계통이나 품종 간 큰 차이가 있으므로 육종 단계에서 기능성성분을 정량하여 육종에 반영하는 것은 매우 중요하다.

○ 내병성 분자표지 개발

Cf-9: 잎곰팡이병은 잎의 표면에 흰색 또는 담황색의 반점으로 나타나고, 진전되면 황갈색 병반으로 확대된다. 잎뒷면에는 담갈색의 병반이 형성되는데 병반상에는 갈색의 곰팡이가 응단처럼 밀생되어 있는 것을 볼 수 있으며, 오래되면 균총이 연한 갈색으로 변한다. 주로 하엽부터 발생하며, 심한 포장은 잎전체가 황화되고 말라죽는 증상을 보이는 토마토 재배에 치명적인 병중에 하나이다. 잎곰팡이병은 *Cladosporium fulvum*에 의해 발생하는데 이에 대한 저항

성은 여러 유전자인 Cf-1, 2, 4, 5, 9, 11, 19 등에 의해 결정되며 이들 유전자는 서로 다른 유전자원에 분포되어 있다. 이중에서 Cf-9 gene은 *L. pimpinellifolium*이라는 wild type에서 확보된 강한 저항력을 나타내는 유전자이다. 즉 Cf-9 단백질은 가장 잘 알려진 receptor-like 저항성 단백질인데 extracellular LRR domain을 가지고 있으며 *C. fulvum*에서 만들어진 Avr9 단백질을 감지하는 역할을 한다. 감지하는 순간에서부터 토마토의 저항성 시스템을 발동시켜 잎곰팡이에 대한 자체적인 내성을 갖게 된다. Cf-9 gene은 chromosome 1번 short arm에 위치하고 있으며 기존에 DNA sequence가 확보되어 있어서 본 유전자 내의 primer set을 이용하여 연관마커를 개발할 예정이다. 최근 내성과 감수성이 있는 개체들에 대해 Cf-9 내부 유전자를 이용하여 예비실험을 하고 있으나 working이 용이하지 않아, 본 연구소에서는 자연발병을 통하여 내성, 감수성 분리집단을 확보하여 다시 시도하고자 한다.

K: 갈색 근부병 또는 갈색 뿌리 썩음병으로 일컬으며 *Pyrenochaeta lycopersici*에 의해 감염된다. 감염초기에 생장점 부근의 어린잎이 맑은 날 낮에 시들다가 차츰 포기전체의 잎이 시들게 되며 잎의 시들음이 회복되지 않고 아래잎부터 서서히 황화하면서 위로 올라가다가 결국 말라죽게 된다. 또한 가는 뿌리의 일부가 갈색으로 변하면서 약간 팽창하고 그 중심부에 검은 반점이 생긴다. 특히 열대지역에서 심한 경우에는 70%의 과실이 유실된 적도 있다. 이러한 갈색 근부병의 내성은 py-1이라는 열성 단인자에 의해 조절되는데 기존의 논문 등에서 이미 유전자에 근접한 RFLP 마커들의 개발이 보고되어 있어서 유용한 DNA 마커개발에 용이할 것으로 생각된다. 현재 내성 관련 분리집단이 마련되었으며, 이를 이용하여 CAPS 마커를 개발하고자 한다.

F3: *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici의 토양전염성 곰팡이에 의해 감염되며 병원균은 후막포자의 형태로 토양속에 생존하며, 특히 후막포자는 좋지 못한 환경에서도 최대 수십년간 기주체 없이 생존할 수 있어, 잠재연한이 긴 병이라 할 수 있다. 주로 뿌리의 상처부위나 곁뿌리에서 나온 틈, 혹은 근관을 통하여 침입하며 식물체의 피층을 통하여 물관부에 도달하고 그곳에서 증식하여 주로 많은 소형분생포자를 형성한다. 소형분생포자는 물관부의 물을 따라 상부로 이동하면서 급격히 퍼지며, 물관부는 균사나 포자 혹은 병원균이 분비하는 독소 등에 의하여 점차 막히게 된다. 결국 양분의 흡수원인 물의 흐름을 가로막힌 식물이 시들게 된다. 식물체가 고사하면 뿌리에 있던 병원균은 후막포자 형태로 토양속에 잔존하면서 다음해의 전염원이 된다. 시들음병균은 가장 보편적인 토양전염병이며, 종자를 통하여도 전염된다. 병든 식물체에는 병원균이 종자 내부에까지 침입하여 균사형태로 잔존하게 되는데, 이렇게 남아있던 균사에 의해 종자 발아시 잘록병이 일어나거나 생육기에 시들음병이 발생한다. 병든 식물체는 처음에는 아랫잎부터 누렇게 변하고 포기가 시들면서 점차 어린 윗잎으로 번진다. 줄기 한쪽의 잎만 시드는 증상도 있는데 잎이 시들면 시든 잎이 줄기에 맞닿게 된다. 병이 진전하면서 전체잎이 황색으로 변하고 식물전체가 말라죽는다. 토마토 품종에 대한 병원성에 따라 3개의 race(race1, 2, 3)가 알려져 있다. 전국의 토마토 재배지역에 고루 발생하고 있는 토마토 시들음병은 race3에 의한 발생이 많으며 전체 토마토 재배 면적의 11%에서 발생하지만, 국내에서 재배되는 시판 토마토 품종은 대부분 race3에 대한 저항성이 없기 때문에 F3에 대한 marker 개발이 꼭 필요하다. Tomato chromosome 7의 TG217 marker와 linkage된 정보를 토대로 CAPS marker를 개발하고자 한다.

J3: 뿌리썩음시들음병 또는 근부위조병의 경우 잎이 전체적으로 황화되거나 시들음증상이 나타나면서 피해가 심할 경우에는 고사하는데, 특히 뿌리의 부패가 심각하다. 발병한 토마토는 부패부위로부터 줄기상부로 유관속이 갈변되어 노지뿐만 아니라, 시설재배에서도 많은 피해를 일으키고 있어, 근부위조병 저항성 마커를 개발하고자 한다. 뿌리썩음시들음병 저항성 유전자는 우성 단인자로서 *Fr1* gene으로 밝혀져 있다. 근부위조병은 감염시 토마토의 유실이 심하여 국제적으로 심각하다고 알려진 병이며, soil fumigation이 유일한 방제 대책으로 알려져 있어, 저항성 유전자원을 활용하기 위한 마커 개발이 절실히 요구된다. TG101이 *Fr1*이 연관되어 있다고 알려져 있으나 발표된 기존 마커들을 그대로 계통에 사용하면 잘 적용되지 않는 단점이 있어, 본 연구소에서 확보된 마커개발 분리집단을 이용하면서 TG101 DNA sequence를 재분석하고 DNA walking을 통하여 codominant 마커를 재확보할 예정이다. 또한 기존의 마커는 일본, 동남아, 유럽품종에 다르게 판정이 되어 고르게 사용할 수 없기 때문에 모든 지역에서 상호 보완 가능한 마커의 개발이 필요하다.

Ty-2: TYLCV는 담배가루이 (*Bemisia tabaci*)를 매개로 전염된다. 지중해 및 중동지역, 아프리카와 중미의 열대지역 도처에서 재배되는 토마토에 심각한 영향을 미쳐 열매를 맺지 않게 하거나 과실크기를 감소시키는 등 작황에 피해를 초래하고 있다. 이에 대한 저항성은 *S.chilense*과 *S. habrochatis*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*과 *S. cheesmaniae*에서 유래한 4개의 주동 유전자에 의해 나타나는 것으로 보고된다. 불완전 우성인 Ty-1과 Ty-3는 LA1969(*S.chilense*)와 LA2779(*S.chilense*)에서 유래하며, 이를 통해 작성된 유전자 지도의 tomato chromosome 6에 위치한다. TYLCV에 대한 저항성 정도는 Ty-3>Ty-1>Ty-2이지만 현재 Ty-1이 도입된 저항 품종들의 저항성이 흔들리고 있어, Ty-1과 Ty-2를 교배할 때 Ty-1 단독일 때보다 강하게 나타나는 성질을 이용하여 품종을 개발하기 위해, Ty-2를 Ty-1과 함께 집적시킬 수 있는 Ty-2 마커 개발이 필요하다. 본 연구소에서는 8개의 품종을 토대로 Tomato chromosome 7에 위치하는 Ty-2 마커를 개발하고, 이 품종들의 F2개체 총129주를 이용하여 Ty-2 마커의 검정을 수행하고자 한다.

PM-Lv: 토마토에서 흰가루병은 세계적으로 심각한 영향을 끼치는 곰팡이병으로, 잎에 노란색 피사를 일으키며, 과실의 수량과 질을 떨어뜨린다. 병원균의 생장과 번식을 위한 적정 온도는 15~21°C이고, 서늘하고 습한 환경에서 빠르게 증식한다. 이러한 흰가루병의 저항성 유전자로 보고된 Lv는 단일우성으로 작동하며, 염색체 12번에 존재한다. 따라서, Lv 유전자좌 근처에 존재하는 여러 마커 정보를 활용하여 표현형과 일치되는 마커를 탐색한다.

GLS: Gray leaf Spot는 토마토의 생육단계에 관계없이 두루 나타나는 병으로, 엽에 흑갈색의 반점이 1-2mm로 점점 커지다가 황화되거나 갈변하면서 낙엽이 일어난다. 모든 가지과 작물에서 발병함으로써, 이들 작물의 죽거나 마른 잔재물, 혹은 바람이나 비에 의해 곰팡이 포자가 전염될 가능성이 있다. 또한, 20~30°C의 따뜻한 온도에서 비나 이슬로 인해 잎이 젖었을 때 병증식이 잘 일어난다. 국내에서 1995년 이래로 지역적인 발병이 보고되었고, 미국, 멕시코, 유럽 등에서도 심각한 병의 하나로, 수출용 토마토에는 회색점무늬병저항성이 구비되어야 한다. 따라서, 불완전 우성으로 보고된 저항성 유전자인 Sm과 관련한 마커를 개발하고자, Sm이 존재하는 것으로 보고된 염색체 11번의 유용 마커 정보를 이용하여 스크린하고 주변 마커를 개발

하고자 한다.

○ 기능성 분자표지 개발

SP: 무한생장형 토마토는 wild type인데 보통 개화되는 꽃이 3개의 node 다음에 생기는 반면 유한생장형은 첫 번째 node 다음에 2개의 꽃이 개화한다. 무한생장형인 sympodial segment를 줄이면 유한생장형으로 성장이 고정되어 육종과 수확에 큰 도움이 될 수 있다. 이러한 형질에는 Recessive SP (sp/sp) 유전자가 관여하는 것으로 보고되었으며 이미 유전자는 분리되어 있다. 따라서 분리된 유전자 염기서열을 이용하여 유전자내의 다수 primer set를 디자인하고 합성하여 분리집단에 적용하고자 한다.

J: 토마토 과실을 쉽게 수확하기 위해서, 또는 과실 공정과정의 편의성을 위해서는, 과실에 붙어 있는 꽃자루가 섞이지 않는 것이 좋다. 꽃자루 중간에 위치하는 joint라는 부위에 mutation이 일어나서 jointless가 되면 이러한 꽃자루가 없는 간편한 수확에 많은 도움이 될 것이다. Jointless는 꽃자루에 분리층이 없는 열성인자로 RAPD와 RFLP의 연관 마커가 보고되어 있다. 분리집단을 확보하는 중이어서 보고된 연관마커를 이용하여 jointless 분자표지를 개발하고자 한다.

배축색: 식물 배축은 자색과 녹색으로 관찰되는데, 배축색은 화기, 줄기, 잎, 과실과 같은 다른 기관에서 생성되는 색소와는 연관성이 없는 것으로 보이는 고유한 현상이다. 따라서, 배축색은 교배잡종을 확인(Motten and Stone, 2000)하기 위한 visible 분자표지로 이용되기도 한다 (Vuong and Harper, 2000). 토마토 배축색은 일반적으로 자색과 녹색 중 하나를 나타내며, 이는 단인자 우성유전자에 의해 조절되는 것으로 조사되었다. 농우바이오 육종연구소의 육종가에 의해 관찰된 토마토 녹색 및 자색 배축색은 ToMV, FCRR (fusarium crown and root rot), bacterial wilt 저항성과 같은 내병성과 응성불임과 같은 중요한 원예적 형질들과 연관될 것으로 예상된다. 따라서, 토마토 배축색 연관 분자표지는 이러한 중요한 원예적 형질의 선발과 배축색의 동형접합체와 이형접합체를 선발할 수 있게 함으로써, 우량 식물 계통의 선발에 이용할 수 있을 것으로 기대한다.

○ 1980년대 본격적으로 시작된 원예작물의 DNA 마커 개발 및 활용은 현재 실험실 단계에서 마커를 개발하는 것에서 벗어나 종자회사의 품종육성 현장에서 활발하게 이용되고 있다. DNA 마커가 활용되기 전의 품종육성은 병 접종 실험결과 및 육성가의 경험적인 판단과 결정에 의하여 이루어지는 것이 일반적이었다. 그러나 DNA 마커를 이용한 인자분석이 가능하게 되면서 1) 품종육성에 소요되는 기간이 단축되고, 2) 묘상에서 DNA 마커를 이용한 1차 선발을 통하여 포장에서 조합 검정 할 수 있는 조합의 수를 상대적으로 증가시킬 수 있으며, 3) 외부환경에 의해 표현형이 왜곡 될 수 있는 원예적 형질에 대한 선발과정의 부정확성을 극복하고, 4) 복합내병성 품종육성을 위하여 동시에 여러 종류의 병저항성 여부를 DNA 마커분석을 통하여 동일세대에서 완료할 수 있게 되었다. 특히, 토마토는 F1 품종 육성에 있어 다양한 병저항성 인자의 집적이 필수적인 요소이며, 이를 위해서 DNA 마커를 사용하여 여러 종류의 내병성 인자를 단일세대에서 검정하는 것은 토마토 품종육성의 경쟁력을 제고 하는데 매우 중요한 요소가 되어 있다. 국내 토마토 품종 육성의 역사가 외국과 비교하여 절대적으로 짧은 상황에서 국내 토마토 종자시장 뿐만 아니라 해외 시장의 개척을 위해서도 토마토 품종육성에서 DNA 마커대량 분석시스템의 활용과, 원예적 형질과 연관되어 육성목표에 부합되는 새로운 분자마커를 찾기 위한 기본적인 자료로써 토마토 유전

자 연관지도의 작성이 필요한 상황이다.

○ Nutraceutical은 1989년부터 사용되어온 신조어로 영양을 뜻하는 'nutrition'과 의약품을 뜻하는 'pharmaceutical'의 합성어이다. 질병 치료나 예방에 도움을 주는 식품, 또는 식품에서 추출한 특정 성분 등이 모두 nutraceutical에 해당된다. 예를 들어 lycopene강화 토마토라든가 연어에서 추출한 오메가-3로 만든 건강기능식품 등이 모두 nutraceutical에 속한다. 소비자들은 nutraceutical을 통하여 약리적 효과를 기대하기 때문에 기능성을 갖는 작물의 개발은 기존의 시장을 포함한 새로운 시장을 형성 할 수 있으며 소비자의 높은 선호도를 기대 할 수 있다. 현재까지 토마토의 품질은 건물량, 당도, 구연산 및 기타 유기산 및 휘발성 화합물의 량 등을 중심으로 다루어 왔다. 토마토는 GABA, carotenoids, lycopene, phenolic compounds 등과 같은 많은 2차 대사산물을 축적한다. 이들 대사산물은 혈압강하, 항산화, 항암, 면역력 증강, 혈중 콜레스테롤 저하 등 많은 생리 활성을 나타내고 있다. 2차 대사산물의 함량은 계통이나 품종 간 큰 차이가 있으므로 육종 단계에서 기능성성분을 정량하여 육종에 반영하는 것은 매우 중요하다. 토마토의 carotenoid 중 60%를 차지하는 lycopene은 free radical scavenger 능력을 갖고 있는 천연 항산화제로서 β -carotene보다 항산화 활성이 2배 이상 높아 생물학계에 존재하는 carotenoid 중 가장 높은 singlet oxygen quenching 율을 가지고 있다. Lycopene은 강한 항산화 작용을 하여 암의 발병률을 감소시키고, 면역 반응 상향 조절 기능을 가지고 있다. lycopene은 최근에 인체 내에서 전립선 암과 혈관계질환을 예방 한다는 연구결과가 발표되어 관심을 받고 있다. [3,4] 식습관의 wellbeing 경향으로 인해 소비자들은 식품으로부터 nutraceutical 성분을 공급받고자하는 기대치가 높아짐에 따라 토마토의 대표적인 항산화성분인 lycopene의 고함유 토마토 개발의 필요성이 대두되게 되었다. 이러한 목적을 이루기 위하여 본 연구진에서 보유하고 있는 계통 및 육성 중인 계통으로부터 lycopene의 함량 측정이 필요하다. 본 연구의 결과는 lycopene 고함유 토마토 육성의 기초자료로 활용하였다. 토마토의 L-glutamate 함량은 당 함량과 더불어 토마토의 맛을 결정하는 중요한 인자의 하나이다. 따라서 본 연구에서는 타 세부 과제로부터 제공되는 토마토 sample을 대상으로 lycopene 함량과 glutamate 함량을 각각 측정하여 토마토 육성이 기반이 되는 자료를 구축하였다. 우리나라 국민의 식생활이 서구화되며 당뇨병은 주요 성인병 중의 하나이고, 당뇨병 발생빈도는 1960년대에는 1% 미만(추정)에서 70년대 2.5%, 80년대에는 약 3%에 달하는 것으로 나타났으며 2000년대에는 우리 나라 인구의 약 11-12%가 당뇨병자인 것으로 추정된다. 당뇨병과 그와 관련된 질병의 치료에 지불되는 비용은 날로 증가하고 있으므로 당뇨병과 관련된 치료제 내지는 치료 보조제의 개발 뿐 아니라 적절한 형태의 건강 보조 식품의 개발은 시급한 실정이다. α -Glucosidase 저해물질은 십이지장을 비롯한 공장 상부에서 탄수화물의 소화 흡수율을 저하시키므로 혈당치의 상승을 억제할 수 있으므로 당뇨병, 비만증, 과당증 등 성인병의 예방과 치료 목적으로 이용 될 수 있으며 실제로 위와 같은 목적으로 본 연구진은 수확된 토마토 계통의 70% 에타놀 추출액을 대상으로 α -glucosidase inhibitor(AGI)를 탐색한 결과 일부의 토마토에 효소활성 저해제가 분포하고 있음을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 이미 탐색된 토마토 기원 AGI의 혈당강하 기능성 토마토로서의 개발 가능성을 타진한다. 토마토의 carotenoid 중 60%를 차지하는 것이 바로 lycopene으로, lycopene은 β -carotene의 전구체로서 free radical scavenger 능력을 갖고 있는 천연 항산화제이며 β -carotene보다 항산화 활성이 2배 이상 높은 특징을 가진다. Lycopene은 강한 항산화 작용을 하여 암의 발병률을 감소시키고, 면역 반응 상향 조절의 기능을 기대 할 수 있다. lycopene은 최근에 인체 내에서 전립선 암과 혈관계질환을 예방 한다는 연구결과가 발표되어 관심을 받고 있다. 식습관의 wellbeing 경향에 따라 특정 성분이 강화된 작물의 개발은 새로운 수요를 창출할 수 있을 것으로 기대된다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 연구개발대상 기술의 국내·외 현황

(1) 세계적 수준

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

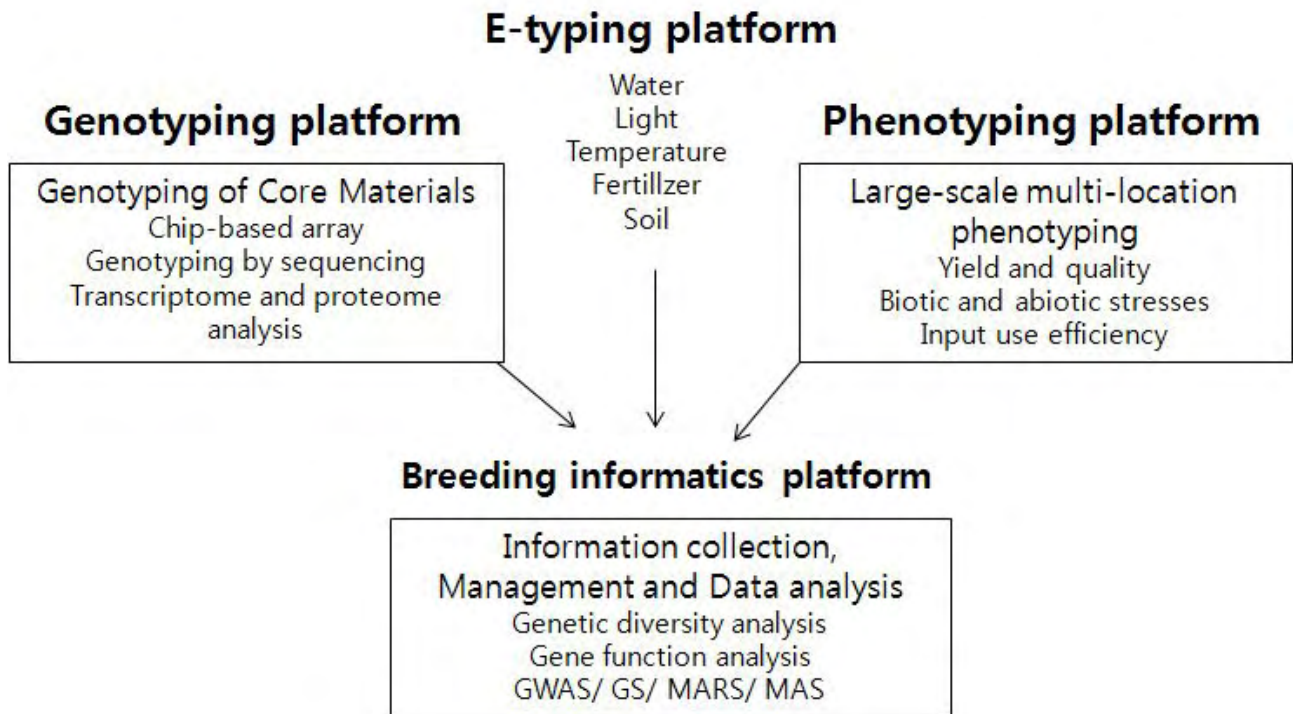
○ 토마토는 세계적인 채소작물로 현재 보건의식품으로써 각광을 받고 있으며, 육종의 수준도 채소작물 중 으뜸이다. 최근 국가별 선호 토마토 품종은 4-5종 이상의 내병성 인자가 들어 있는 복합내병성 품종이다. 생식용 소비 형태에서 벗어나 다양한 요리 형태에 적합한 과색별·과형별 품종들이 개발되어 소비자들에게 선을 보이고 있다. 또한 일본 및 유럽에서는 내병성 품종의 개발뿐만 아니라 알레르기, 생활 습관병에 효과가 있는 토마토의 기능성 성분인 naringenin chalcone(NGC)、 γ -아미노酪酸(GABA)등을 다량 생산하는 토마토 계통을 개발하고 있다.

○ 토마토 F1 품종육성에 있어 DNA 마커의 활용은 다양한 마커개발과 대량분석 방법의 발달로 채소작물 중에서 가장 활발하게 이루어지고 있다. 다국적 종자회사인 몬산토 산하의 세미나스는 전체 약 70개의 형질연관 분자마커를 주요한 작물 (토마토, 고추, 상추, 양채류, 메론, 대두 등)의 품종육성에 사용하고 있으며, 이중 34개의 마커가 토마토 품종육성을 위하여 이용되고 있다. 마커가 연관된 형질의 범위도 매우 다양하여 34개의 토마토 마커중 병저항성 관련 마커가 15종, high solids 와 brix QTL 관련마커 11종, 형태적 특성과 관련된 마커 8종 등으로 기능성 및 형태적 특성과 관련된 분자마커도 육성에 실제로 이용하고 있다.

○ Marker-Assisted Breeding (MAB)을 통한 품종육성을 위하여 기본적으로 필요한 DNA 마커분석 시스템은, 마커형태의 발달 (Isozyme \rightarrow RFLP \rightarrow PCR-based DNA 마커)과 함께 점차적으로 대량화 및 자동화하는 추세에 있으며, 특히 이러한 DNA 마커분석 시스템의 자동화 및 대량화에는 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 마커의 개발이 중요한 전환점이 되었다. 몬산토의 경우 대부분의 토마토 마커를 Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) 형태에서 대량분석이 가능한 SNP 마커형태로 전환하여 사용하고 있으며, 분석과정의 대부분을 자동화하여 토마토 품종육성을 위해서 연간 수십만점의 분석결과를 제공하고 있다. 현재 가장 선진적인 형태의 DNA 대량분석 시스템의 핵심적인 부분은, 1) DNA 추출법 (대량 조직파쇄기, plate & liquid handler)과 2) 결과 분석시스템 (SNP end-point detection system, Laboratory Information Management System-LIMS) 이다. 이러한 시스템을 통하여 몬산토의 경우 연간 3,300 만점의 DNA 마커분석을 하여 품종육성을 지원하고 있다.

○ 여러 주요작물에 대한 whole genome sequencing이 일반화되고 많은 결과가 도출되면서 여기서 얻어진 수많은 정보들을 품종 육성에 활용하고자 하는 새로운 시도들이 이루어지고 있다. 토마토의 경우 국제공조 뿐만 아니라 미국 독자적으로 토마토 전체 염기서열을 규명하려는 연구가 진행되고 있으며, next generation sequencing (NGS) 방법을 이용하여 비교적 수월하게 draft sequence 정보를 얻는 것은 어려

운 일이 아니게 되었다. 토마토의 경우 그간 축적된 많은 유전적 정보를 기반 채소작물 중에서 DNA 마커를 육성에 활발하게 사용하고 있는 대표적인 작물이며, 이러한 기초는 whole genome sequencing 결과를 바탕으로 한 단계 진전된 'DNA 마커 정보를 활용한 품종육성' 분야에서 채소작물 중 대표적인 작물로 그 위치를 유지할 것으로 예상된다. 이처럼 많은 염기서열정보를 육종에 이용하기 위해서는 인자분석에 소요되는 비용의 감소와 전체 genome을 분석할 수 있는 high-throughput genotyping method, 다양한 DNA 마커와 표현형과의 연관성을 신속하게 분석할 수 있는 high-throughput phenotyping, 그리고 이두가지 요소를 분석하고 정리할 수 있는 bioinformatics system이 필수적이다. 특히, high-throughput phenotyping 분야는 whole genome을 스크리닝할 수 있는 불특정 다수의 SNP를 활용한 품종육성이 현실화되면서 매우 핵심적인 부분으로 부각되고 있는 분야이다. 이를 위해서는 표현형 측정 기계의 개발, 측정 시스템 자동화, 컴퓨터와 연계된 표현형 분석 소프트웨어의 개발이 이루어져야 한다. Whole-genome sequence에 기초한 품종육성의 새로운 시스템을 도식화하면 아래와 같다.



출처: Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding. Molecular breeding (2012) 29:833-854

○ 우리나라와 식생활 패턴이 비슷한 일본의 경우 토마토의 기능성을 높이기 위한 대단위 연구가 진행되고 있다. (연구제목 : 토마토 기능성 성분을 활용한 꽃가루 알레르기·생활습관병 대책 식품의 개발, 연구책임자 : 河田 照雄(京都大學), 연구기간 : 2004~2009)

2. 국내수준

○ 국내에서 토마토 품종을 개발하는 회사는 Monsanto Korea, Syngenta Korea와 농우바이

오 3개 민간회사 뿐이며, 국가 및 지자체에서는 기본적인 육성소재 만을 유지하고 있는 실정이다. 그 외의 한국 다끼이, 한국 사까다, 코레곤, 꾸이코리아 등은 일본 혹은 유럽으로부터 수입하여 적응성 시험을 걸쳐 판매하는 회사들이다.

○ 한국의 토마토 품종 육성 연한은 30여년에 지나지 않으나, 내병성 육종 수준은 선진국 회사의 수준에 비하여 결코 떨어지지 않는다. 현재 국내 민간회사에서도 한 품종에 4~5개 이상의 내병성 인자를 가지고 있는 복합내병계 품종들이 속속 출시되어 농가에 보급되면서 점차 국내 육성 품종들도 자리를 잡아가고 있다.

○ 1997년 흥농종묘(현, 몬산토코리아)가 다국적 종자회사 세미니스에 인수되면서 토마토 품종육성에 사용되는 DNA 마커가 국내에서도 활용되기 시작하였다. 이와는 별도로 농우바이오에서는 지난 수년간 논문 등에 공개된 자료와 자체개발을 통하여 기본적인 병저항성 마커들을 토마토 육성에 활용하고 있다.

3. 국내·외의 연구현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
다끼이, 사카다(일본)	고품질/ 저온기 토마토 개발 재배안정성, 내병성 토마토 개발	도태랑, 슈퍼썬로드, 큐티, TY도태랑위너 오오야마, TY스마트
몬산토(미국)	복합내병계/다수성 토마토 개발	라피도(디루이티), 유니콘, 박커스 (한국 완숙, 방울 시장의 부상 품종)
서안황관(중국), 천성농업사(중국), 몬산토(미국)	내병성, 수량성, 수송성 개량 품종 개발	금봉1호, 보관, 구순 (중국 분홍과 시장의 주 품종)
Namdhari (인도), 신젠타, 누넵(네덜란드), US Agriseeds (미국)	내병성, 수량성, 수송성 개량 품종 개발	Shaktiman, Abhinav, Lakshmi, US 1196 (인도 시장의 80% 이상 점유)
East West (인도네시아)	청고병, 내서성 개량 품종 개발	Permata, Marta (인도네시아 시장의 60% 이상 점유)
(주)농우바이오(한국)	대과종, 방울, 대목토마토 품종 개발 유용형질 연관 분자마커 개발 대사성분 분석 활용기술 개발	큐피랑, 티와이알토랑, 미니찰, 올라운 드, 티티찰
토마토시험장(한국)	유전자원 수집 및 품종 개발	썸머킹, 화분용 보급 재배
동부하이텍(한국)	유전자원 수집 및 품종 개발	‘라이코핀 플러스’ 등 품종 보급
원예연구소(한국)	유전자원 수집 및 계통 육성	계통 육성 및 분양
한경대학교(한국)	유전자원 수집, 평가 및 품종 개발	계통육성 및 계통분리
서울대학교, 한국생명공학원(한국)	토마토 유전체 해독 국제 공동 연구	유전체 활용을 위한 DB 구축
브리티시 콜롬비아 대학교 (캐나다), 피듀 대학교, 미시간 주립대학교 (미국) 전남대학교 (한국),	애기장대 등 식물체의 큐티클 대사체 및 전사체 연구	윤활유, 코팅제 등 산업원료로의 사용 가능성 확대
TGRC (미국)	유전자원 수집, 평가 및 증식	연간 약 600점 유전자원 분양
코넬대학교(미국)	유전체 해독 국제 공동 연구 유전자 지도 작성 분자마커 개발	가지과 작물 유전체 DB 구축
KeyGene (네덜란드)	가지과 작물의 유용형질 연관 분자 마커 개발	출자 회사에 분자마커 보급

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 토마토 복합내병성 품종 개발

1. 토마토 유전자원 도입

가. 연구기간 동안 국내, 중국, 동서남 아시아, 중동, 유럽, 중남미의 종묘회사, 대학, 연구기관, 농가 등에서 1차년도에 144점, 2차년도에 81점, 3차년도에 226점, 4차년도에 150점, 5차년도에 50점을 총 6점을 도입하여 원예적 형질 및 내병성을 평가하였다(표1. 그림1). 이들 도입소재 중에서 원예적 형식 또는 특정 내병성 인자를 가진 유전자원은 세대를 진전시켰다.

표 1. 연차별 신규 도입 유전자원

구분	Pink	Red						기타	합계
		Beef		Saladette		Processing	Cherry		
		ID [†]	D [‡]	ID [†]	D [‡]				
1차년도	19	11	7	23	20	31	21	12	144
2차년도	10	20	6	15	10	10	10	0	81
3차년도	10	67	44	13	65	9	15	3	226
4차년도	41	28	20	6	30	7	11	7	150
5차년도	5	10	5	10	8	7	5	0	50

[†] ID : Indeterminate

[‡] D : Determinate

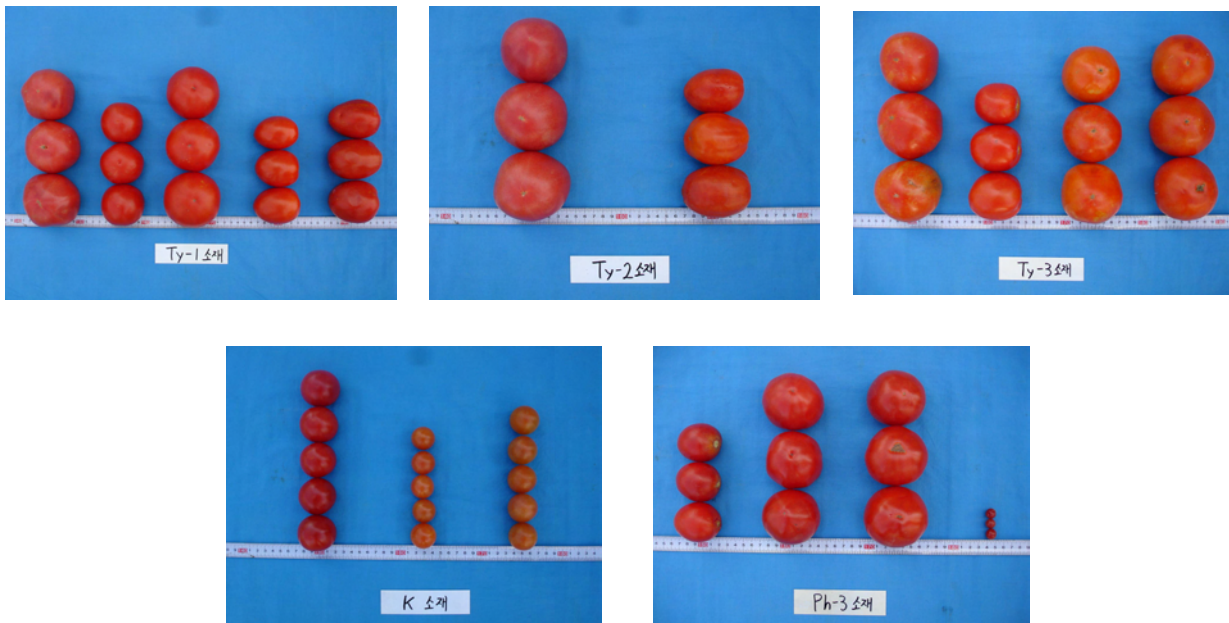


그림 1. 신규 유전자원 내병성 소재의 과형사진

2. 계통특성 검정 및 F1 조합 선발

가. 1차년도 수행결과

(1) 기 보유계통의 내병성 평가

기 보유중인 유전자원의 내병성 평가는 Pink용 140계통, 유럽용 93계통, 인도네시아용 92계통, 미니용 103계통, 중국용 50계통, 인도용 216계통 등 총 694계통을 2008년 추계(7월 파종)와 2009년 춘계(3월 파종) 2회에 걸쳐 TMV(Tm-2a), TYLCV(Ty-1), TSWV(Sw-5), V(Ve), F2(I2), N(Mi), LM(Cf-9)에 대하여 분자 마커를 이용하여 내병성을 평가하였으며(표 2), 또한 청고병에 대한 내병성 생물검정을 실시하여 아래와 같이 정리하였다(표 3, 그림 2).

표 2. 1차년도 유전자원에 대한 분자마커 검정 현황

마커종류	년도	샘플수	내병성		
			RR	RS	SS
TMV(Tm-2a)	2008년	1,156	235	703	218
	2009년	2,384	450	1,392	542
TYLCV(Ty-1)	2008년	1,274	250	539	485
	2009년	1,751	332	887	532
TSWV(Sw-5)	2008년	1,285	243	614	428
	2009년	1,266	215	656	395
V(Ve)	2008년	497	90	156	251
	2009년	0	0	0	0
F2(I2)	2008년	478	83	210	185
	2009년	0	0	0	0
N(Mi)	2008년	1,002	178	495	329
	2009년	1,326	245	650	431
LM(Cf-9)	2008년	1,730	294	1,115	321
	2009년	1,370	252	640	478
계		15,519	2,867	8,057	4,595

표 3. 1차년도 유전자원에 대한 청고병 생물검정

년도	계통수	*내병성정도				선발주수
		1.0-1.9	2.0-2.9	3.0-3.9	4.0-5.0	
2008년	12	7	3	0	2	0
2009년	145	73	44	17	11	1,800

*내병성정도 : 1.0 = 강, 5.0 = 약



그림 2. 청고병 생물검정시 내병성과 이병성 계통 비교(좌 : 내병성 ,우 : 이병성)

육성목적에 부합하여 선발된 내병성 주요 계통은 그림 3와 같으며 이들 개체들은 세대진전을 위하여 재배 하였다(2008년 추계 사진).



TMV+N 저항성 Pink용 계통



TYLCV+ 청고병 인도네시아 계통



LM 저항성 미니 계통

그림 3. 육성 목적에 부합하여 선발된 내병성 주요 계통

(2) 기 보유계통의 형질평가

2008년 추계(7월 파종)에 694계통을 공시하여 포장재배 시험을 통해 일반 원예적 특성을 평가하였으며 연구목적에 적합한 계통들은 선발 세대진전을 위하여 2009년 3월 파종한 후 4월 중순에 정식하여 재배하였다. 또한 2008년 공시된 계통중에서 원예적 형질이 우수한 주요 계통들은 당도, 산도와 경도를 측정하였다(표 4, 5, 6).

표 4. 유전자원에 대한 당도 측정

계통수	당도(Brix)							
	3.0이하	3.1-4.0	4.1-5.0	5.1-6.0	6.1-7.0	7.1-8.0	8.1-9.0	9.1이상
208	2	54	81	37	9	18	4	3

표 5. 유전자원에 대한 산도 측정

계통수	산도(pH)			
	3.9이하	4.0-4.3	4.4-4.7	4.8이상
208	23	95	84	6

표 6. 유전자원에 대한 경도 측정

계통수	경도(kgf/mm ²)					
	0.3이하	0.4-0.7	0.8-1.1	1.2-1.5	1.6-1.9	2.0이상
118	0	7	35	44	26	6

- 당도 : 국내 Pink 토마토는 평균 당도 6.0내외, 미니토마토는 평균 8.0 내외이나 기 보유중인 일부 계통은 미니용에서 9.0이상의 계통들이 있어 고당도 품종 및 계통육성이 가능할 것으로 판단되었다.
- 산도 : 토마토의 맛은 당도와 산도의 비율(당산비)에 따라 크게 좌우된다. 조사된 결과를 토대로 국내 소비자에게 적합한 당산비율을 구명하고자 한다.
- 경도 : 토마토 과실의 신선도는 과 경도에 의해 결정된다. 과실의 경도가 약한 품종은 유통기간중에 신선도가 크게 떨어져 상품성이 불량해지기 쉽다. 국내에서 유통되는 Pink 토마토는 보통 경도가 1.0이하(kgf/mm²)인 것이 대부분인 반면 조사된 유전자원들 중에는 경도가 매우 강해 2.0 이상도 있었다.

(3) 기 보유계통의 성분분석

(가) 성분분석을 위해 기 보유계통을 2008년 2회에 걸쳐 협동과제를 수행하는 강원대학교에 원예적 형질이 우수한 계통만을 선별하여 분석한 결과 Glutamate와 Lycopene 함량을 분석한 결과 Glutamate와 Lycopene이 높은 유전자원들이 다수 분석되었다.

(4) 기 보유 우수계통에 내병성인자 여교잡 및 내병성 검정

기 보유 계통중에서 과형, 착과성, 착색, 당도, 경도 등과 같은 원예적 형질은 우수하지만 목적하는 특정 내병성 인자가 부족한 계통들을 선별하여 다음과 같은 내병성인자를 여교잡을 실시하여 도입중에 있다(표 7).

표 7. 우수계통에 내병성 인자 도입 현황

구분	TMV (Tm-2a)	TYLCV (Ty-1)	TSWV (Sw-5)	V(Ve)	F2(I2)	N(Mi)	LM(Cf-9)	계
계통수	18	22	21	7	9	11	20	108

(5) 고품질 계통에 대한 응성 불임화

1차 년도에 원예적 형질이 우수한 국내 Pink 및 미니용 계통을 선별하여 GMS(응성불임)유전자를 도입하기 위하여 여교잡을 진행중에 있으며 GMS 유전자 도입 현황 및 계통특성은 표 8, 8-1과 같다.

표 8. GMS 유전자 도입 계통 현황

구분	국내 Pink용	미니용	계
계통수	13	24	37

표 8-1. GMS 유전자 도입 계통의 특성

No	구분	생장형	숙기 (개화일)	초세	과형	과중(g)	과색	내병성
1	국내 Pink	무한	65	강	원형	210	Pink	Tm2a. Cf-9
2	"	"	68	"	"	165	"	Tm2a. Cf-9
3	"	"	60	중	"	210	"	Tm2a. Cf-9
4	"	"	62	"	"	190	"	Tm2a. Cf-9
5	"	"	58	"	편원형	240	"	Ve. F2. Mi
6	"	"	"	"	"	210	"	Tm2a. Ve. I2. Mi
7	"	"	"	"	"	200	"	Tm2a. Ve. I2. Mi
8	"	"	60	중강	"	220	"	Tm2a. Ve. I2. Mi
9	"	"	62	"	"	200	"	Tm2a. Ve. Mi
10	"	"	58	중	"	230	"	Tm2a. Ve. Mi
11	"	"	60	중강	"	250	"	Tm2a. Mi
12	"	"	65	강	원형	210	"	Tm2a. Ve
13	"	"	67	"	"	"	"	Tm2a. Ve
14	미니	"	57	강	원형	19	Red	Tm2a
15	"	"	55	"	편원형	25	"	Mi
16	"	"	"	"	"	27	"	Mi
17	"	"	58	"	원형	23	"	Tm2a. Cf-9
18	"	"	"	"	"	25	"	Tm2a. Cf-9
19	"	"	53	중강	"	22	"	Mi
20	"	"	50	중	"	20	"	Tm2a
21	"	"	"	"	"	23	"	Tm2a
22	"	"	55	중강	"	25	Orange	Cf-9. Mi
23	"	"	58	"	"	23	"	Tm2a. Cf-9. Mi
24	"	"	59	"	"	27	"	Tm2a. Cf-9. Mi
25	"	유한	60	중	"	26	Purple	Tm2a. Cf-9. Mi
26	"	무한	62	중강	장동형	40	"	Tm2a. Cf-9. Mi
27	"	유한	55	중	"	18	Red	Tm2a
28	"	"	"	"	"	"	"	Tm2a
29	"	"	53	"	"	17	"	Tm2a. Cf-9. Mi
30	"	"	"	"	"	18	"	Tm2a. Cf-9. Mi

31	"	"	"	중강	"	"	"	Tm2a. Cf-9. Mi
32	"	"	56	"	"	20	"	Tm2a
33	"	"	"	"	"	"	"	
34	"	"	"	"	"	"	"	
35	"	"	52	약	"	17	Orange	Tm2a. Cf-9
36	"	"	"	"	"	"	"	Tm2a. Cf-9
37	"	"	"	"	"	18	"	Tm2a. Cf-9. Mi

배축색과 연관된 보유중인 GMS 유전자(그림 3, 4) 육성 소재를 교배친으로 택하여 형질이 우수한 계통을 각 반복친으로 교배하여 아래와 같은 방법으로 GMS 계통을 육성중에 있다(그림 5).

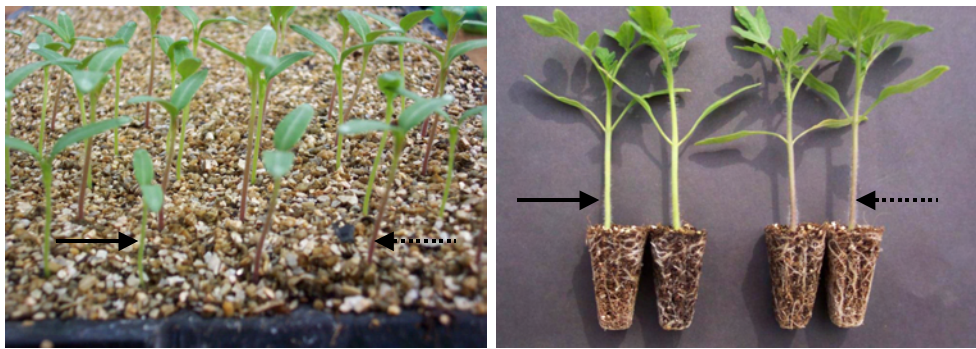


그림 3. GMS 유전자 육성 소재의 배축색 비교

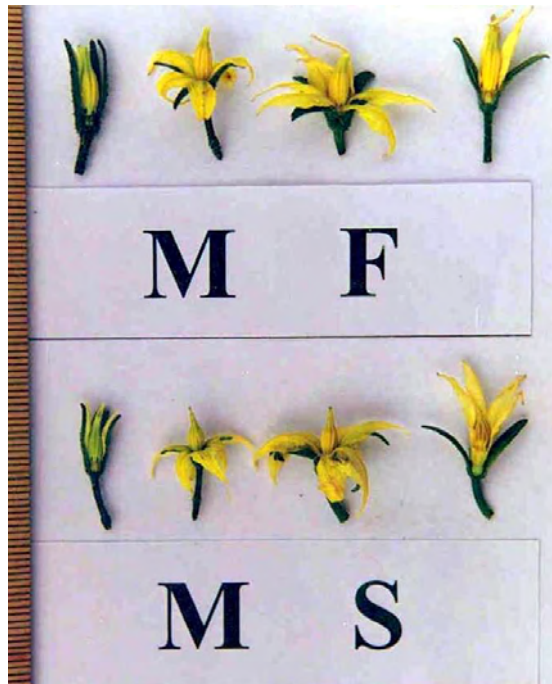


그림 4. GMS 유전자 육성 소재의 MS와 MF 화기 구조 비교

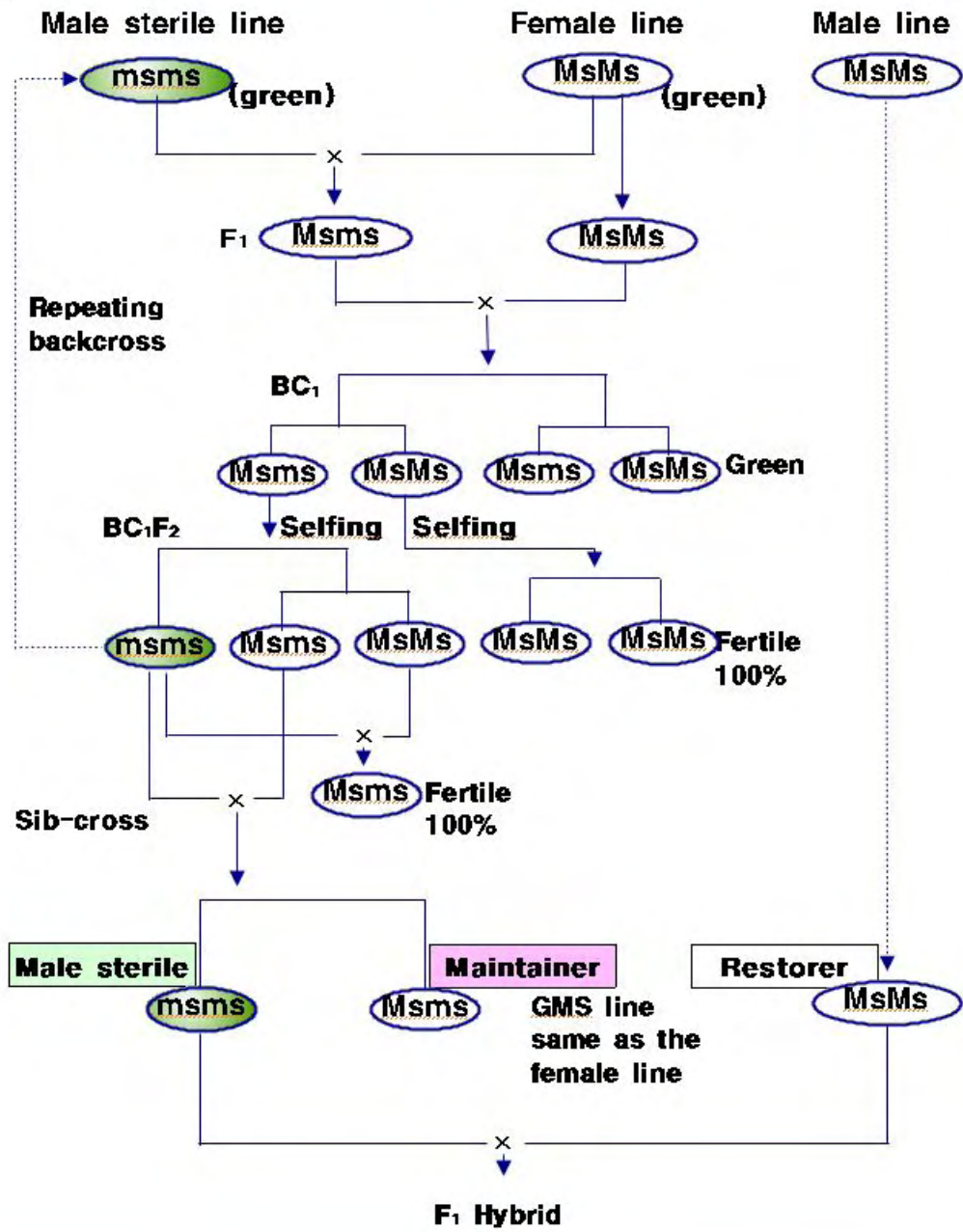


그림 5. GMS 유전자 도입 모식도

2. 2차년도 수행결과

가. 선발 우수 계통 순화 및 특성조사

(1) 기 보유 계통 후대 검정, 선발 및 원예적 형질 평가

2009년 추계(7월 파종)에 Pink용 128계통, 유럽용 93계통, 인도네시아용 77계통, 미니용 131계통, 중국용 46계통, 인도용 133계통 등 총 608 계통을 공시하여 포장재배 시험을 통해 일반 원예적 특성을 평가하였으며 연구 목적에 적합한 계통들은 선발 후대검정을 위하여 2010년 3월 순도가 고정 완료된 계통들과 함께 파종한 후 육묘하여 4월 중순에 정식하여 재배중에 있다. 2010년 3월 공시된 계통은 Pink용 174, 유럽용 224, 인도네시아용 187, 미니용 300, 중국용 87, 인도용 185등 총 1157 계통이다. 2009년 공시된 계통중에서 형질이 우수한 계통들은 원예적 특성과 당도, 산도와 경도를 측정하였다(표9, 10, 11, 12).

표 9. 주요 계통의 원예적 특성

BN	생장형	초세	숙기(일)	착과성	과				
					과색	과형	과중(g)	과경(cm)	과장(cm)
1019	무한	강	60	중양	Pink	원형	340	8.8	7.4
1142	"	중강	54	양	"	"	300	7.6	7.2
1170	"	강	62	보통	"	편원형	465	8.5	7.0
1328	"	중강	63	중	Red	원형	140	6.3	5.6
1339	"	강	65	우수	"	"	170	7.0	6.7
1507	"	중강	57	"	"	장동형	100	5.2	6.6
1513	"	"	60	양	"	"	110	5.5	7.0
1754	"	"	52	우수	"	원형	26	3.5	3.4
1796	"	"	56	"	Orange	장동형	40	4.3	4.8
1863	유한	중	52	"	"	"	20	2.9	4.5
2115	"	중강	55	"	Red	"	130	6.2	7.0
2201	"	"	57	"	"	원형	90	5.3	5.3

표 10. 주요 계통에 대한 당도 측정

계통수	당도 (Brix)							
	3.0이하	3.1-4.0	4.1-5.0	5.1-6.0	6.1-7.0	7.1-8.0	8.1-9.0	9.1이상
358	3	29	152	107	36	14	6	11

표 11. 주요 계통에 대한 산도 측정

계통수	산도 (pH)			
	3.9이하	4.0-4.3	4.4-4.7	4.8이상
358	34	99	167	58

표 12. 주요 계통에 대한 경도 측정

계통수	경도 (kgf/mm ²)					
	0.3이하	0.4-0.7	0.8-1.1	1.2-1.5	1.6-1.9	2.0이상
334	0	0	57	148	115	14

당도와 산도는 토마토 맛을 결정하는 주 요소이다. 산도(신맛)는 미각을 자극하여 다시 먹고 싶은 욕구를 증진시키며 또한 식욕을 증진시키는 역할을 한다. 조사한 결과를 토대로 볼 때 국

내 소비자에 적합한 당산비율(당도/산도)은 대략 1.5이상 인 것으로 판단 된다(표 13). 토마토 과실의 유통기간은 과 경도와 보관 시설에 의해 결정된다. 과실의 경도는 유통기간과 신선도를 결정하는 주 요소이며 과채류 육종의 주 목표중 하나이다.

국내 Pink계 품종들은 보통 경도가 1.0이하 인것이 대부분인 반면 재육성된 소재 일부는 1.3 이상(kgf/mm²)인 것도 있었고, 특히 유럽형 소재는 2.0이상도 있어 이들 소재들을 이용하여 과실 경도를 강화하고자 한다.

표 13. 주요 계통의 당산비율(당도/산도)

BN	구분	생장형	초세	과색	과형	과중(g)	당도(Brix)	산도(pH)	당산비 (당도/산도)
1194	국내	무한	강	Pink	편원형	310	7.3	5.03	1.45
1169	"	"	중강	"	"	310	6.9	4.52	1.52
1075	"	"	중	"	원형	290	6.5	4.60	1.41
1745	미니	"	중강	Red	"	28	11.4	4.78	2.38
1839	"	유한	"	"	장동형	23	10.9	4.45	2.44
1710	"	무한	"	"	원형	20	10.7	4.70	2.27
3749	인도	유한	중	"	장동형	145	6.2	4.70	1.31
3728	"	"	중강	"	"	110	6.1	4.60	1.32
1328	유럽	무한	강	"	원형	175	6.4	4.97	1.28
1373	"	"	"	"	편원형	260	6.1	4.88	1.25

(2) 기 보유 계통 내병성 평가

기 보유 계통의 내병성은 2009년 추계에 608계통, 2010년 춘계에 1157계통을 과종하여 육묘 기간과 본포 생육 기간중에 TMV(Tm2a), TYLCV(Ty-1), TSWV(Sw-5), V(Vd), F2(I2), N(Mi), LM(Cf9), K(Pi)에 대하여 DNA마커로 분석하여 내병성을 검정하였다(표 14).

표 14. 2009-2010년 기 보유 계통에 대한 분자마커 검정 현황

마커종류	년도	샘플수	내병성		
			RR	RS	SS
TMV(Tm2a)	2009	2,074	498	856	720
	2010	3,589	893	1868	828
TYLCV(Ty-1)	2009	2,378	545	932	901
	2010	4,178	927	2206	1045
TSWV(Sw-5)	2009	1,728	306	963	459
	2010	1,560	391	829	340
V(Vd)	2009	191	37	82	72
	2010	0	0	0	0
F2(I2)	2009	186	25	73	88
	2010	0	0	0	0
N(Mi)	2009	567	109	236	222
	2010	1,031	273	368	390
LM(Cf9)	2009	1,116	202	498	416
	2010	1,738	409	820	509
K(Pi)	2009	0	0	0	0
	2010	180	38	102	40
계		20,516	4,653	9,833	6,030

내병성을 분석한 계통중에서 원예적 형질이 우수하며 복합내병성을 가지고 있는 주요 계통의 특성은 아래와 같다(표 15, 그림 6, 7).

표 15. 주요 계통의 내병성

BN	생장형	초세	숙기 (일)	과색	과중(g)	과형	내병성
1155	무한	강	59	Pink	415	편원형	Vd, F2, J3, N
3088	"	중강	58	"	295	"	TSWV, F3, LM, N
1339	"	강	65	Red	170	원형	TMV, Vd, F2, LM, PM
1515	"	중강	60	"	110	장동형	BW, TMV, TYLCV, TSWV
1544	"	강	68	"	50	원형	BW, TMV, Vd, F2, J3, N
1362	"	중강	69	Purple	125	"	TMV, F2, J3, N
2201	유한	"	57	Red	90	"	TMV, TYLCV, TSWV, Vd, F2
2312	"	"	60	"	180	편원형	BW, TMV, TYLCV, TSWV, J3



그림 6. BN 1339의 착과 사진

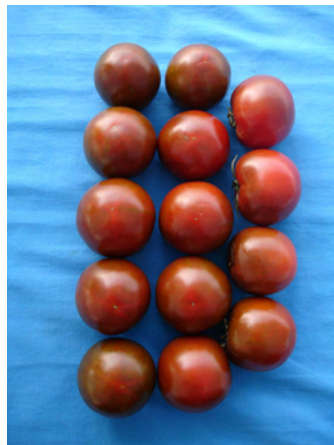


그림 7. BN 1362의 과형사진

보유 계통의 청고병에 대한 생물 검정을 위하여 2009년 추계(8월 파종)와 2010년 춘계(3월 파종) 2회에 걸쳐 파종, 육묘한 다음 접종하였으며, 저항성을 나타낸 개체를 선발하여 4월 하순에 정식하여 세대진전을 할 예정이다(표 16).

표 16. 보유 계통의 청고병 생물검정

년도	계통수	내병성 정도*				선발주수
		1.0-1.9	2.0-2.9	3.0-3.9	4.0-5.0	
2009년 추계	10	7	2	1	0	0
2010년 춘계	91	32	29	14	16	1,200
계	101	39	31	15	16	1,200

*내병성 정도 : 1.0=강, 5.0=약

(3) 기 보유 계통의 성분분석

성분 분석을 위해 기 보유 계통을 2009년 7월과 12월 2회에 걸쳐 협동과제를 수행하는 강원대학교에 원예적 형질이 우수한 계통만을 선별하여 Lycopene, Glutamate, GABA 함량을 분석한 결과 이들 함량이 높은 계통들이 다수 분석되었으며, F₁ 조합과 신규 계통의 육성을 위하여 이들 유전자원을 사용하고자 한다(표 17).

표 17. 주요 계통의 Lycopene 함량과 원예적 특성

BN	생장형	초세	숙기(일)	과색	과중(g)	과형	성분량(mg/kg)
1182	무한	강	58	Pink	310	편원형	121.7
1191	"	"	59	"	295	"	122.0
1356	"	중	55	Purple	95	원형	36.1
1839	유한	중강	53	Red	23	장동형	45.8
1863	"	중	52	Orange	20	"	3.7
2050	"	강	60	Green(rin)	165	편원형	0.9

나. 제웅 F₁ 조합 작성

2008년과 2009년 춘계에 선발한 우수 계통을 2009년 추계(7월 파종)에 파종하여 F₁ 조합을 작성하였다(표 18).

표 18. F₁ 조합 작성 및 시험 개요

시장구분		F ₁ 조합 작성				F ₁ 시험				
		조합수	파종	교배	종과수확	조합수	작형	파종	정식	조사시기
국내	완숙	26	2009.7월	2009.9월	2009.12월	26	하우스	2010.2월	2010.3월	2010.6월
	미니	28	"	"	"	28	"	"	"	"
중국	하우스	70	"	"	"	70	"	2010.2월	2010.3월	2010.6월
	노지	45	"	"	"	45	노지	2010.3월	2010.4월	2010.7월
인도		51	"	"	"	51	"	2010.4월	2010.5월	2010.8월
인도네시아		36	"	"	"	36	"	"	"	"
								2010.3월	2010.4월	2010.7월

작성된 F₁ 조합은 시장별로 2010년 2월, 3월과 4월에 걸쳐 파종하여 국내 완숙과 미니, 중국

하우스 Pink용은 3월에 정식하여 재배중에 있으며(그림 8), 그 외 중국 노지, 인도, 인도네시아 용은 4월과 5월에 정식 예정에 있다. 3차년도에 시장별로 우수 조합을 선발하고자 한다. F₁ 조합 작성에 사용된 주요 계통의 특성은 표 19와 같다.



그림 8. F₁ 조합 재배시험(2010. 4월)

표 19. F₁ 조합에 사용된 주요 계통 특성

BN	시장구분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
1142	국내완숙	무한	중강	54	양	원형	7.6	7.2	Pink	300	TMV, Vd, J3, LM, N
3072	"	"	강	62	우수	편원형	7.7	6.2	"	210	TMV, Vd, F2, LM, N
1903	국내미니	"	중강	53	"	원형	3.5	3.2	Red	21	TMV, LM, N
1742	"	"	"	50	"	"	2.9	3.0	"	16	N
1339	중국하우스	"	강	65	"	"	7.0	6.7	"	170	Tm2a, Vd, I2, LM, PM
1380	"	"	"	62	중양	편원형	8.1	6.1	"	290	F2, N
3608	중국노지	유한	"	59	"	원형	7.1	6.8	"	180	F2, N
3631	"	"	중강	57	"	편원형	7.7	6.5	"	250	TMV, TYLCV, LM, N
2115	인도	"	"	55	우수	장동형	6.2	7.0	"	130	F2
2208	"	"	"	56	"	"	5.4	6.3	"	100	TMV, TYLCV, Vd, F2, J3
1566	인도네시아	무한	중	58	양	원형	7.3	6.8	"	180	BW, TMV, J3, N
1513	"	"	중강	60	"	장동형	5.2	6.6	"	110	BW, TMV, TYLCV

다 주요 계통 음성 불임화 및 MS 이용한 F₁ 조합 작성

(1) 주요 계통 음성 불임화

1, 2차년도에 원예적 형질이 우수한 중국용 25계통, 인도용 17계통을 선별하여 GMS 유전자

(웅성불임)를 도입하기 위하여 여교잡을 진행중에 있으며 주요 계통 특성은 표 20과 같다.

표 20. GMS 유전자 도입 계통의 특성

BN	구분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과색	과중(g)	내병성
3004	중국용	무한	중강	58	우수	원형	Pink	200	TMV, LM
3008	"	"	"	60	양	"	"	180	TMV, TYLCV, TSWV, LM
2011	"	유한	강	62	"	"	Red	300	TMV, Vd
2016	"	"	"	60	"	"	"	230	TMV
2118	인도용	"	중강	57	우수	장동형	"	100	
2185	"	"	강	59	양	"	"	110	TMV
2212	"	"	중	54	우수	"	"	115	F2
2278	"	"	중강	55	"	원형	"	80	TMV

(2) MS 이용한 F₁ 조합 작성

1, 2차년도에 육성한 MS 계통을 2009년 추계(7월 파종)에 파종하여 육묘중에 자색 배측 묘종을 도태한 다음 정식하여 개화한 후 임성 감별을 하고 교배를 하여 F₁ 조합을 작성하였으며, 기타 재배 사항 및 F₁ 시험 개요는 제용 F₁ 조합과 동일하다(표 21).

표 21. MS F₁ 조합 작성 및 시험개요

구분	F ₁ 조합 작성				F ₁ 시험				
	조합수	파종	교배	종과수확	조합수	작형	파종	정식	조사시기
국내완숙	39	2009. 7월	2009. 9월	2009. 12월	39	하우스	2010. 2월	2010. 3월	2010. 6월
국내미니	51	"	"	"	51	"	"	"	"

작성된 F₁ 조합은 2010년 2월에 파종하여 3월 정식한 다음 재배중에 있으며(그림 9), 2010년 6월말 고품질 다수확형의 복합내병계 조합을 예비 선발할 계획이다. MS F₁ 조합 작성에 사용된 주요 계통의 특성과 착과사진은 아래와 같다(표 22, 그림 10).



그림 9. MS F₁ 조합 재배시험(2010. 4월)

표 22. MS F₁ 조합에 사용된 주요 계통 특성

BN	시장구분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
3047	국내완숙	무한	중강	51	우수	원형	7.9	6.9	Pink	245	TMV, Vd, N
3056	"	"	강	57	양	"	7.5	7.2	"	240	TMV, Vd
3063	"	"	중강	56	"	"	5.1	5.7	"	115	TMV, TYLCV, TSWV, Vd
3402	국내미니	"	"	52	우수	"	3.8	3.4	Red	28	TMV, LM
3484	"	유한	"	55	"	장동형	2.9	3.4	"	23	TMV
3486	"	"	중	54	"	"	2.8	3.2	"	20	TMV, TYLCV, TSWV

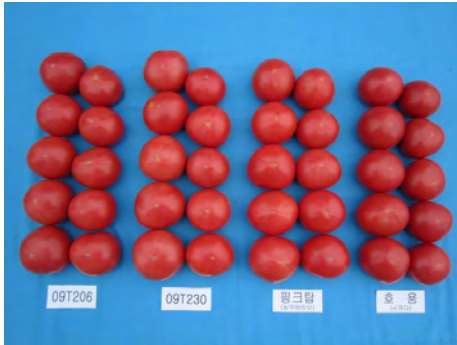


그림 10. MS F₁ 조합에 사용된 BN 3063, 3402의 착과사진

라. 주요 F₁ 예비 선발 조합

표 23. 예비 선발된 주요 F₁ 조합 특성

구분	예비선발 BN명	생장형	과형	과중	시장	작형	주요 내병성	비고
국내완숙 일반계	09T206	무한	편원형	230	한국	하우스	Cf9,J3,N	농가적응성 시험중
	09T230	"	"	240	"	"	"	"
	10T217	"	"	230	"	"	"	"
국내완숙 TYLCV	10T251	"	"	220	한국,중국	"	Ty,TS,Cf9,J3,N	농가적응성 예정
	10T254	"	"	225	"	"	"	"
	10T262	"	"	230	"	"	Ty,Cf9,J3,N	"
국내미니 TYLCV	10T506	"	원형	20	"	"	Ty,TS,Cf9,N	"
해외미니	09T511	"	"	20	중국,중동	"	Cf9	해외시험중
	10T553	"	장동형	25	중동	하우스, 노지	Ty,TS	
	10T572	유한	"	25	"	"	"	
인도 TYLCV	07T745	"	"	90	인도,중동	노지	Ty,J3	상업화
	09T730	"	원형	100	"	"	Ty,TS	해외시험중
	08T420	무한	장동형	90	인도, 인도네시아	"	BW,Ty	상업화



<국내완숙계>



<국내완숙TYLCV>



<10T506>



<해외미니>



<07T745>



<08T420>

그림 11. 예비 선발된 주요 F₁ 조합 과형사진

3. 3차년도 수행 결과

가. 선발 우수 계통 순화 및 특성조사

(1) 기 보유 계통 후대 검정, 선발 및 원예적 형질 평가

2010년 추계(7월 파종)에 Pink용 166계통, 유럽용 98계통, 인도네시아용 94계통, 미니 138계통, 중국용 50계통, 인도용 111계통 등 총 657계통을 공시하여 포장재배 시험을 통해 일반 원예적 특성을 평가하였으며 연구 목적에 적합한 계통들은 선발 후대검정을 위하여 2011년 3월 순도가 고정 완료된 계통들과 함께 파종한 후 육묘하여 4월 중순에 정식하여 재배 중에 있다. 2011년 3월 공시된 계통은 Pink용 221계통, 유럽용 178계통, 인도네시아용 214계통, 미니 250계통, 중국용 105계통, 인도용 282계통 등 총 1250 계통이다. 2010년 공시된 계통 중에서 형질이 우수한 계통들은 원예적 특성과 당도, 산도와 경도를 측정하였다(표24, 25, 26, 27).

표 24. 주요 계통의 원예적 특성

BN	생장형	초세	착과성	과				
				과색	과형	과중(g)	과경(cm)	과장(cm)
1074	무한	중	우수	Pink	원형	230	6.6	7.7
1086	"	강	양	"	고구형	137	6.1	6.3
1114	"	중	우수	"	편원형	161	5.8	6.8
1339	"	중강	"	Red	"	160	5.7	6.7
1619	"	"	양	"	장동형	89	5.7	5.3
1620	"	강	"	"	"	102	6.4	5.2
1673	"	중강	"	"	"	93	5.6	5.3
1917	유한	강	우수	Yellow	"	27	3.3	3.9
2115	"	중	양	"	"	14	3.8	2.3
2249	"	중강	"	Red	고구형	171	5.8	6.9
2409	"	"	우수	"	"	111	5.7	5.2
2467	"	강	양	"	"	92	6.7	4.3

표 25. 주요 계통에 대한 당도 측정

계통수	당도 (Brix [°])							
	3.0이하	3.1-4.0	4.1-5.0	5.1-6.0	6.1-7.0	7.1-8.0	8.1-9.0	9.1이상
601	4	108	191	109	81	46	22	40

표 26. 주요 계통에 대한 산도 측정

계통수	산도 (pH)			
	3.9이하	4.0-4.3	4.4-4.7	4.8이상
601	9	63	219	310

표 27. 주요 계통에 대한 경도 측정

계통수	경도 (kgf/mm ²)					
	0.3이하	0.4-0.7	0.8-1.1	1.2-1.5	1.6-1.9	2.0이상
601	0	10	108	274	141	68

당도와 산도는 토마토 맛을 결정하는 주 요소이다. 산도(신맛)는 미각을 자극하여 다시 먹고 싶은 욕구를 증진시키며 또한 식욕을 증진시키는 역할을 한다. 조사한 결과를 토대로 볼 때 국내 소비자에 적합한 당산비율(당도/산도)은 대략 1.5이상 인 것으로 판단된다(표 28).

그러나 수출용 토마토는 국내용 토마토와는 반대로 저장성과 경도가 중요한 요인이 되어 당산 비율이 낮게 나타났다. 또한 각 국가별 기후대에 따라 당산도 비율이 달라지는 경향이 있다. 예를 들면 열대지역에서는 산도가 낮은 토마토를 선호하며 실제 조사결과 당산비가 1.0 이하로 나타났다.

토마토 과실의 유통기간은 과 경도와 보관 시설에 의해 결정된다. 과실의 경도는 유통기간과 신선도를 결정하는 주 요소이며 과채류 육종의 주 목표중 하나이다. 국내 Pink계 품종들은 보통 경도가 1.0이하 인 것이 대부분인 반면 재육성된 소재 일부는 1.3이상(kgf/mm²)인 것도 있었고, 특히 유럽형 소재는 2.0이상도 있어 이들 소재들을 이용하여 과실 경도를 강화하고자 한다.

표 28. 주요 계통의 당산비율(당도/산도)

BN	구분	생장형	초세	과색	과형	과중(g)	당도 (Brix,°)	산도(pH)	당산비 (당도/산도)
1064	국내	무한	강	Pink	원형	250	6.5	4.6	1.4
1074	"	"	중	"	"	230	7.2	4.6	1.6
1087	"	"	강	"	고구형	150	7.5	4.5	1.7
1207	"	"	중강	"	"	350	6.7	4.7	1.4
1147	"	"	"	"	편원형	181	7.2	4.4	1.6
1318	중국	"	강	Red	"	135	6.0	5.1	1.2
1382	국내	"	중	Purple	원형	115	6.4	4.9	1.3
1611	인니	"	강	Red	장동형	110	5.4	5.1	1.1
1948	국내	"	"	"	원형	20	8.1	4.8	1.7
2115	"	"	중	Yellow	장동형	14	9.5	5.0	1.9

(2) 기 보유 계통 내병성 평가

기 보유 계통의 내병성은 2010년 추계에 657계통, 2011년 춘계에 1250계통을 과중하여 육묘 기간과 본포 생육 기간중에 TMV(Tm2a), TYLCV(Ty-1), TSWV(Sw-5), V(Vd), F2(I2), F3(I3), N(Mi), LM(Cf9), J3, Ty-2, K(Pi)에 대하여 DNA마커로 분석하여 내병성을 검정하였다 (표 29).

표 29. 2010-2011년 기 보유 계통에 대한 분자마커 검정 현황

마커종류	년도	샘플수	내병성		
			RR	RS	SS
TMV(Tm2a)	2010	6,474	1731	3154	1589
	2011	8,785	2520	4271	1994
TYLCV(Ty-1)	2010	5,759	1602	2801	1356
	2011	5,747	1346	2900	1501
TSWV(Sw-5)	2010	1,927	403	994	530
	2011	3,161	843	1376	942
V(Vd)	2010	96	30	31	35
	2011	122	30	54	38
F2(I2)	2010	96	21	41	34
	2011	122	28	60	34
F3(I3)	2010	1,407	317	664	426
	2011	981	251	519	211
N(Mi)	2010	2,443	641	1082	720
	2011	4,658	1091	2330	1237
LM(Cf9)	2010	2,395	511	1200	684
	2011	2,026	428	1000	598
K(Pi)	2010	145	35	70	40
	2011	252	61	133	58
J3	2010	528	157	200	171
	2011	418	109	197	112
Ty-2	2010	60	15	27	18
	2011	0	0	0	0
계		47,602	12,170	23,104	12,328

보유 계통의 청고병에 대한 생물 검정을 위하여 2011년 춘계(3월 파종)에 파종, 육묘한 다음 접종하였으며, 저항성을 나타난 개체를 선발하여 4월 하순에 정식하여 세대진전 중에 있다(표 30).

표 30. 보유 계통의 청고병 생물검정

년도	계통수	내병성 정도*				선발주수
		1.0-1.9	2.0-2.9	3.0-3.9	4.0-5.0	
2011년 춘계	147	37	46	40	24	1,101

*내병성 정도 : 1.0 = 강, 5.0 = 약

동남아시아 중에서 TYLCV 발병이 가장 심한 인도네시아에서 TYLCV의 유전자 소재별 포장 내병성을 조사한 결과 Ty-1과 Ty-3 유전자의 품종군이 내병성이 우수한 결과를 보였으며, Ty-2 유전자의 소재들은 대조 품종에 비하여 감염율이 적었으나 내병성이 뚜렷하게 인정되지 않았다(표 31, 그림 12). Ty-1과 Ty-3의 유전자간에 내병성의 차이는 크게 없었으나 전반적인 내서성과 착과성으로 볼 때 Ty-1의 유전자 소재들이 Ty-3 소재들보다 우수한 면을 보여주고 있어, 특히 내서성이 요구되는 TYLCV 내병성 육성소재로 Ty-1 유전자 소재가 유용할 것으로 판단되었다.

표 31 . TYLCV 유전자별 자연발병 시험

시험지 : 인도네시아 동부자바

과종 : 2010. 12.10, 정식 : 2011. 1. 1, 조사 : 2011. 2. 19

품종명	TYLCV gene	정식주	TYLCV 감염주	감염율 (%)	내서성	생장형	과형	착과성	비 고
Emma	Ty-1	39	2	5.1	5	D	장동형	5	상업품종
10T254	Ty-1	46	4	8.6	4	ID	편원형	4	조합
CLN2443	Ty-2	37	16	43.2	5	D	장동형	4	분양소재
CLN2498	Ty-2	45	23	51.1	3	D	원형	3	분양소재
Inbar	Ty-3	5	0	0	1	D	편원형	1	상업품종
Alankar	Ty-3	23	1	4.3	2	D	장동형	1	상업품종
Nova	control	42	33	78.5	3	D	원형	3	상업품종
CLN2679	Ty-2	42	23	54.7	2	D	장동형	3	분양소재

내서성과 착과성 : 1 = 불량, 5 = 우수

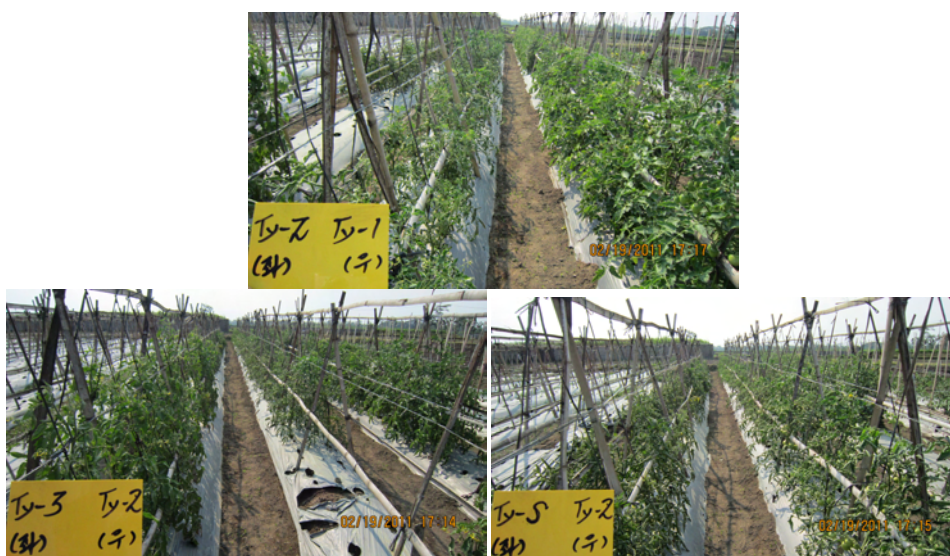


그림 12 . TYLCV 유전자 소재별 포장 내병성 비교

(3) 기 보유 계통의 성분분석

성분 분석을 위해 기 보유 계통을 2010년 7월, 8월, 12월 3회에 걸쳐 협동과제를 수행하는 강원대학교에 원예적 형질이 우수한 계통만을 선별하여 Lycopene, Glutamate, α-glucosidase 함량을 분석한 결과 이들 함량이 높은 계통들이 다수 분석 되었으며, F₁ 조합과 신규 계통의 육성을 위하여 이들 유전자원을 사용하고자 한다(표 32).

표 32. 주요 계통의 Lycopene 함량과 원예적 특성

BN	생장형	초세	숙기(일)	과색	과중(g)	과형	성분량(mg/kg)
1076	무한	중강	58	Pink	182	편원형	154.0
1104	"	강	59	"	205	원형	149.0
1157	"	중강	55	"	345	고구형	141.0
1471	"	중	53	Red	227	편원형	170.0
1439	"	중강	52	"	250	"	122.0
2003	"	"	60	"	17	장동형	151.0
1917	유한	강	55	Yellow	27	"	4.0
3626	"	중	57	Red(rin)	126	편원형	8.0

나. 고품질, 내병성 토마토 F₁ 조합작성, 성능검정 및 조합선발

(1) F₁ 조합작성

F₁ 조합작성은 2010년 6월과 9월 2회에 걸쳐 선발된 우수계통 모.부계를 이용하여 작성하였다(표 33).

표 33. F₁ 조합 작성 개요

시장구분		2010년 춘계			2010년 추계			조합 작성수
		과중	교배	종과수확	과중	교배	종과수확	
국내	완숙	2010.3월	2010.5월	2010.7월	2010.7월	2010.9월	2010.12월	97
	미니	"	"	"	"	"	"	111
	대목	"	"	"	"	"	"	10
중국	하우스	"	"	"	"	"	"	69
	노지	"	"	"	"	"	"	45
인도, 중동		"	"	"	"	"	"	80
(인도 법인)		2010.2월	2010.4월	2010.6월	2010.8월	2010.10월	"	50
인도네시아		2010.3월	2010.5월	2010.7월	2010.7월	2010.9월	"	55

F₁ 조합은 국내연구소에서 총괄적으로 작성하였으며, 인도법인 연구소에서는 인도용과 중동용 토마토 위주로 조합을 작성하였다. F₁ 조합에 이용된 주요 계통의 특성은 표 34, 35와 같다.

표 34. F₁ 조합에 사용된 주요 계통 특성

BN	시장구분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
3064	국내완숙	무한	중강	51	양	원형	6.8	7.0	Pink	255	Vd, F2, LM, N
3114	"	"	중	55	우수	편원형	7.0	6.2	"	350	TMV, Vd, F2, J3, LM, N
3426	국내미니	"	중강	55	"	원형	3.3	3.3	Red	21	TMV, LM, N
3432	"	"	강	52	"	"	2.8	2.9	"	19	N
1637	대목	"	"	53	"	"	4.2	4.5	"	60	TMV, Vd, F1.2, J3, N, BW
1638	"	"	"	58	중양	"	4.4	4.7	"	65	TMV, Vd, F1.2, J3, N, BW
3204	중국하우스	"	"	62	우수	"	6.3	6.6	"	160	TMV, Vd, F2, LM, PM
3631	"	유한	중강	56	중	편원형	7.3	6.3	"	220	TMV, TYLCV
2409	인도	"	"	53	우수	장동형	6.0	7.0	"	110	F2
2468	"	"	"	56	"	"	5.2	6.5	"	90	TMV, TYLCV, Vd, F2, J3
1673	인도네시아	무한	"	58	양	"	5.5	6.8	"	100	BW, TMV, TYLCV
3337	"	"	중	60	우수	"	5.8	7.0	"	110	TMV, TYLCV, Vd, F2

표 35. GMS F₁ 조합에 사용된 주요 모계 특성

BN	시장구분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
3041	국내완숙	무한	강	57	중양	원형	6.8	6.9	Pink	190	TMV, Vd
3060	"	"	"	60	중	"	6.5	6.8	"	160	TMV, TYLCV, TSWV, Vd
1907	국내미니	"	중강	52	우수	"	2.7	2.8	Red	22	TMV
1917	"	"	강	53	"	"	2.9	2.9	"	27	LM, N
2099	"	유한	중	55	중양	장동형	2.8	3.3	"	27	TMV, TYLCV, TSWV
1620	인도네시아	무한	강	58	양	"	5.5	6.5	"	110	Vd
2210	중국노지	유한	중강	59	"	원형	6.7	6.9	"	240	TMV

(2) F₁ 성능검정 및 조합선발

F₁ 성능검정과 조합선발 시험은 국내연구소와 농우 인도법인, 중국법인, 인도네시아법인 연구소에서 실시하였다. 국내 완숙과 미니토마토는 년 2회(2월과 7월 파종), 중국 하우스와 노지토마토, 인도와 중동토마토, 인도네시아토마토는 년 1회(3월 파종), 인도법인에서는 2월과 8월에 파종하여 년 2회에 걸쳐 성능검정과 조합선발 시험을 실시하였다(표 36).

표 36. F₁ 성능검정 개요

시장구분		2010년 춘계			2010년 추계			2011년 춘계		
		조합수	파종	조사	조합수	파종	조사	조합수	파종	조사
국내	완숙	65	2010. 2.11	2010. 6월-7월	50	2010. 7.23	2010. 11월-12월	47	2011. 2.11	2011. 6월-7월
	미니	79	"	"	38	"	"	73	"	"
	대목	10	2010. 3. 4	2010. 3월-7월				8	2011. 3.10	2011. 3월-7월
중국	하우스	49	2010. 3.25	2010. 7월-8월				48	2011. 4. 1	2011. 7월-8월
	노지	45	2010. 4. 2	2010. 7월-8월				21	"	"
인도, 중동		51	"	"				80	"	"
(인도 법인)		110	2010. 3.18	2010. 5월-7월	108	2010. 8. 7	2010. 11월-12월	120	2011. 2. 7	2011. 5월-6월
인도네시아		31	2010. 4. 2	2010. 7월-8월				55	2011. 4. 1	2011. 7월-8월

(가) 국내완숙토마토 조합선발 시험

2010년 춘계와 추계에 성능검정을 실시하여 원예적 형질이 우수하고 복합내병성인 5 조합을 선발하여 농가실증시험과 2011년 춘계에 재 성능검정 중에 있다(표 37, 그림 13).

표 37. 선발조합의 주요 특성

조합명	조합구분	생장형	숙기	초세	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성	비고
09T206	GMS	무한	중조	중강	고구 (0.81)	230	홍	1.4	ToMV.V.F1.F2. J3.N.Cf9	농가실증시험중
09T230	"	"	"	강	고구 (0.83)	235	"	1.6	"	상업화 (생산수입판매)
10T217	제응	"	조	중강	편원 (0.74)	225	농홍	1.4	"	농가실증시험중
10T251	GMS	"	중조	"	고구 (0.88)	215	홍	1.4	ToMV.TYLCV. TSWV.V.F1.F2 .J3.N.Cf9	"
10T259	"	"	조	강	고구 (0.80)	225	농홍	1.5	"	"



그림 13. 선발조합과 주요 대비종의 과형 비교

(나) 국내와 중국미니토마토 조합선발시험

국내와 중국미니토마토는 2010년 춘계에 79 조합, 추계에 38 조합을 공시하여 7 조합을 선발하였으며, 2011년 농가실증시험과 더불어 신조합과 함께 재공시하여 성능검정 중에 있다(표 38, 그림 14, 15, 16). 기존의 원형 미니토마토와 차별화를 위하여 대추형 조합(10T550)도 선발하였으며 이 조합은 원형계 토마토에서 문제시 되었던 식후에 과피 남음 현상과 열과 발생이 개량되었으며, 저장성이 월등하여 상품성의 지속 기간이 길고 당도가 높아 고품질계의 미니토마토 조합으로 판단되었다.

표 38. 선발조합의 주요 특성

조합명	조합 구분	생장형	숙기	초세	과색	과형 (지수)	과중 (g)	당도 (Brix)	착색	경도	열과	내병성	비 고
09T511	GMS	무한	중	강	적색	원형 (0.9)	22	7.7	양	우수	강	ToMV.V.F1.F2.Cf9	상업화 (생산수입판매)
10T507	제응	"	중조	중	"	원형 (1.0)	22	7.6	우수	강	"	ToMV.F1.N.Cf9	농가실증시험중
10T524	"	"	조	중강	"	원형 (1.0)	21	7.4	"	"	"	"	"
10T544	GMS	"	중	"	"	장동 (1.4)	24	9.5	"	우수	"	ToMV.TYLCV.TSWV.Cf9.N	"
10T550	제응	"	"	강	"	장동 (1.3)	23	9.7	"	"	"	ToMV.Cf9	"
10T569	GMS	"	중조	중강	"	장동 (1.5)	25	9.0	양	강	"	ToMV.TYLCV.TSWV	"
09T528	"	"	중	강	오렌지색	장동 (1.2)	20	9.0	우수	중강	중강	ToMV.Cf9.N	상업화 (보호출원중)



09T511



10T507



10T524

그림 14. 원형 미니토마토 선발조합의 착과상태



그림 15. 대추형 미니토마토 선발조합의 착과상태(좌: 10T544, 우: 10T550)



그림 16. 선발조합 09T528의 착과상태와 과형 비교

(다) 청고병 내병성 토마토 조합선발 시험

국내 토마토 재배에서 대목을 사용하는 주된 이유는 토양병과 환경적응성을 넓혀 재배안정성을 높이는데 있다. 토양병에 강한 조합 선발시험은 국내 토마토 재배단지에서 주로 발생하는 청고병, 근부위조병, 선충의 내병성 조합선발에 주안점을 두고 실시하였으며, 환경적응성을 보기 위하여 춘계와 추계에 후기 초세에 중점을 두고 조합을 선발하였다(표 39, 40). 춘계와 추계에 청고병을 집중하고 내병성이 우수한 조합을 예비 선발하였다.

표 39. 주요 조합의 청고병 내병성 비교

조합명	이병지수	이병정도				
		1	2	3	4	5
07T003	1.52	42	2			6
09T021	1.48	44				6
09T023	1.72	38	4			8
09T025	2.66	24	7			19
09T008	2.62	26	5			19
Doctor Q	1.54	41	3			6
Control A	3.26	14	7	5		24
Control B	5.00					50

이병지수 : 1.0 = 강, 5.0 = 약(완전 고사)

표 40. 주요 조합의 특성 비교

조합명	배축장	절간장	초기 생육속도	초세		흡비력	내병성	비 고
				전기	후기			
09T008	중단	중단	중만	강	강	강	BW.ToMV.V.F1.F 2.J3.N	
09T021	단	단	만	중강	"	"	"	상업화 (생산수입판매)
09T025	"	중단	"	"	"	"	"	
Doctor Q	"	중	중만	"	"	중강	"	상업품종

(라) 중국 하우스와 노지토마토 조합선발 시험

중국 하우스와 노지토마토는 국내연구소에서 총괄적으로 조합선발 시험을 실시하였으며, 농우 중국연구소에서는 하우스토마토와 미니토마토 위주로 유망한 조합을 공시하여 성능검정을 실시한 후 조합을 선발하였다. 중국토마토는 red계의 beef형 토마토를 중점으로 공시하여 선발하였고, 최근 전 세계적으로 문제시되는 TYLCV에 대한 내병성 조합을 주로 선발하였다(표 41, 그림 17). 이 조합들은 중국시장 뿐만 아니라 유럽, 중동, 중남미 시장을 겨냥한 조합들이다.

표 41. 선발조합의 주요 특성

조합명	조합 구분	생장형	숙기	초세	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도	내병성	비 고
10T309	제응	무한	중	강	편원 (0.73)	185	양	강	ToMV.TYLCV.V .F1,2.Fr.Cf9.N	
10T314	"	"	"	"	편원 (0.75)	210	우수	"	ToMV.V.F1,2.Cf9	
10T329	"	"	중조	"	편원 (0.77)	165	"	중강	ToMV.TYLCV.V .F1,2.Cf9	
10T346	"	"	"	"	편원 (0.78)	170	"	"	ToMV.TYLCV.V .F1,2.Cf9.N	
09T623	"	유한	중	중강	편원 (0.82)	170	양	강	ToMV.TYLCV.V .F1,2.N	농가실증시험중
09T641	"	"	"	강	편원 (0.78)	150	우수	"	ToMV.TYLCV.V .F1,2,3.N	"
10T609	"	"	"	"	편원 (0.79)	180	"	"	ToMV.TYLCV.V .N	
10T628	"	"	"	중강	편원 (0.84)	170	"	"	ToMV.TYLCV.V .Cf9.N	

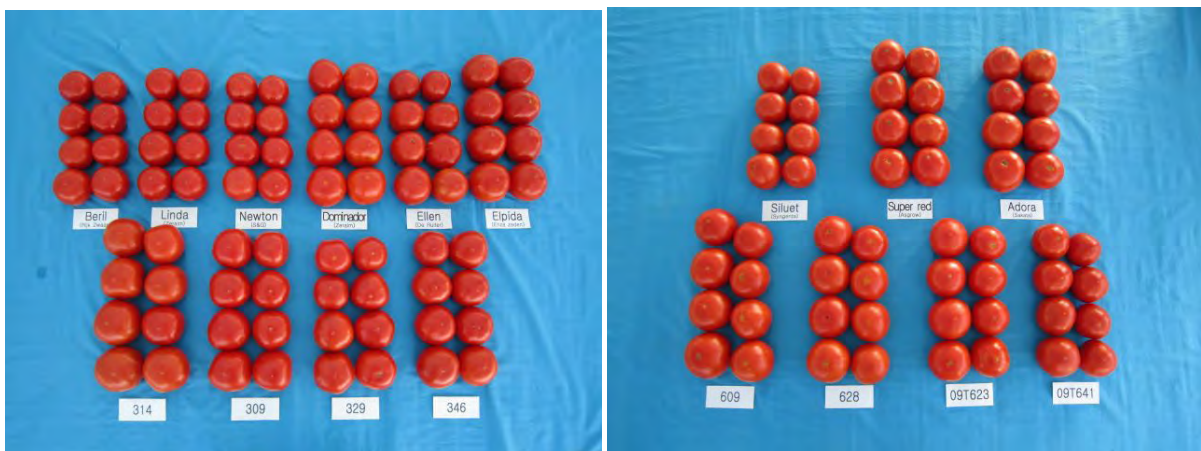


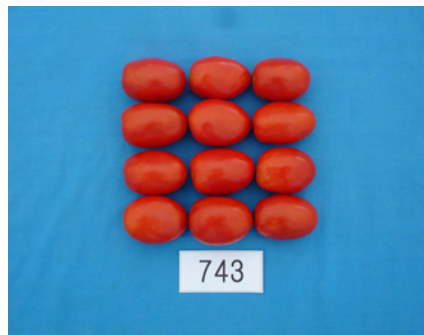
그림 17. 선발조합의 과형 비교

(마) 인도와 중동토마토 조합선발 시험

인도와 중동토마토는 내서성과 TYLCV의 내병성이 기본적으로 요구되는 시장이다. TYLCV의 내병성을 가진 조합 위주로 성능검정이 실시되었다. 2010년 춘계에 51 조합을 국내연구소에 공시하여 4 조합을 선발하였으며(표 42, 그림 18), 주요 조합들은 농우 인도법인 연구소에서 동시에 성능검정이 진행되었다. 선발된 조합과 신규 조합을 포함하여 2011년 춘계에 국내연구소에서 80 조합을 공시하여 조합선발 시험이 진행 중이며, 또한 인도연구소에서도 시험 사업이 실시되고 있다.

표 42. 선발된 주요 조합의 특성

조합명	조합 구분	생장형	숙기	초세	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도	내병성	비 고
08T735	제응	유한	중만	강	장동 (1.2)	74	우수	우수	ToMV.TYLCV.V.F1,2.Fr	상업화 (생산수입판매)
09T730	"	"	중	"	원형 (1.0)	91	"	강	ToMV.TYLCV.TSWV.V.F1,2	농가실증시험중
09T732	"	"	"	중강	원형 (1.0)	88	"	우수	"	"
09T743	"	"	"	강	장동 (1.3)	90	"	중강	ToMV.TYLCV.V.TSWV.F1,2.BSK.N	"



08T735

그림 18. 선발된 조합의 착과상태와 과형 비교

(바) 인도네시아토마토 조합선발 시험

인도네시아는 대표적인 열대지역으로 강우량이 많고 기온이 높아 내습성과 내서성이 동시에 요구되는 지역일 뿐만 아니라 고지대를 제외한 대부분의 과채류 재배단지는 청고병의 오염도가 나날이 증가하고 있는 추세이다. 또한 아시아 지역 중에서도 TYLCV의 발병이 심각하며 특히 건기가 시작되는 3월부터 9월까지가 더욱 심하게 발병된다. 인도네시아토마토는 생장형을 구분하여 무한생장형은 하우스 재배로, 유한생장형은 노지재배로 조합선발 시험을 실시하였고 주요 조합은 인도네시아 농우 현지 연구소를 이용하여 성능검정을 하였다. 선발된 조합의 주요 특성은 다음과 같다(표 43, 그림 19).

표 43. 선발된 주요 조합의 특성

조합명	조합 구분	생장형	숙기	초세	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도	내병성	비 고
08T906	제웅	유한	중조	중강	원형 (0.9)	85	양	중강	BW.ToMV. TYLCV.F1.Fr	농가실증시험중
08T946	"	"	조	강	장동 (1.2)	60	우수	중	BW.ToMV. TYLCV..V.Fr	"
09T905	"	"	중	"	장동 (1.2)	70	양	우수	BW.ToMV.V TYLCV.F1,2.Fr	"
09T917	"	"	조	중	장동 (1.2)	70	우수	강	"	"
08T412	GMS	무한	중	강	장동 (1.2)	98	양	우수	BW.ToMV.TYLCV. TSWV.F	"
08T420	"	"	중조	"	장동 (1.2)	100	"	"	BW.ToMV.TYLCV. F.Fr	상업화 (생산수입판매)



그림 19. 선발조합의 과형비교

4. 4차년도 수행결과

가. 선발 우수 계통 순화 및 특성조사

(1) 기 보유 계통 후대 검정, 선발 및 원예적 형질 평가

2011년 추계(7월 파종)에 Pink용 111계통, 유럽용 131계통, 인도네시아용 101계통, 미니용 113계통, 중국용 61계통, 인도용 221계통 등 총 738계통을 공시하여 포장재배 시험을 통해 일반 원예적 특성을 평가하였으며 연구 목적에 적합한 계통들은 선발 후대검정을 위하여 2012년 3월 순도가 고정 완료된 계통들과 함께 파종한 후 육묘하여 4월 중순에 정식하여 재배 중에 있다. 2012년 4월 공시된 계통은 Pink용 198, 유럽용 239, 인도네시아용 124, 미니용 266, 중국용 99, 인도용 364 등 총 1290 계통이다. 2011년 공시된 계통 중에서 형질이 우수한 계통들은 원예적 특성과 당도, 산도와 경도를 측정하였다(표46, 47, 48, 49).

표 46. 주요 계통의 원예적 특성

BN	생장형	초세	착과성	과				
				과색	과형	과중(g)	과경(cm)	과장(cm)
1046	무한	중강	우수	Pink	고구형	228	6.8	8.2
1053	"	강	양	"	"	175	6.5	6.9
1175	"	중강	우수	"	편원형	285	6.6	8.3
1371	"	중	"	Red	"	153	5.9	6.6
1617	"	중강	"	"	장동형	123	7.2	5.7
1721	"	강	"	"	"	84	7.5	4.4
1910	"	중강	"	Yellow	원형	27	3.0	3.3
1934	"	"	"	Red	"	28	3.2	3.5
2001	"	"	"	"	장동형	19	3.6	3.1
2356	유한	강	양	"	편원형	181	5.4	6.9
2549	"	중	우수	"	장동형	97	6.7	4.9
2586	"	"	"	"	"	107	6.9	5.2

표 47. 주요 계통에 대한 당도 측정

계통수	당도 (Brix)							
	3.0이하	3.1-4.0	4.1-5.0	5.1-6.0	6.1-7.0	7.1-8.0	8.1-9.0	9.1이상
476	4	121	169	50	37	55	31	9

표 48. 주요 계통에 대한 산도 측정

계통수	산도 (pH)		
	4.0-4.3	4.4-4.7	4.8이상
476	32	247	197

표 49. 주요 계통에 대한 경도 측정

계통수	경도 (kgf/mm ²)				
	0.4-0.7	0.8-1.1	1.2-1.5	1.6-1.9	2.0이상
476	5	57	197	164	53

당도와 산도는 토마토 맛을 결정하는 주 요소이다. 산도(신맛)는 미각을 자극하여 다시 먹고 싶은 욕구를 증진시키며 또한 식욕을 증진시키는 역할을 한다. 특히 국내용 미니 장동형 토마토의 경우 당산비가 1.5이상 나타나 식미가 우수한 것으로 나타났다(표 50). 그러나 수출용 토마토는 국내용 토마토와는 반대로 저장성과 경도가 중요한 요인이 되어 당산비율이 낮게 나타났다. 또한 각 국가별 기후대에 따라 당산도 비율이 달라지는 경향이 있다. 예를 들면 열대지역에서는 산도가 낮은 토마토를 선호하며 실제 조사결과 당산비가 1.0 이하로 나타났다.

토마토 과실의 유통기간은 과 경도와 보관 시설에 의해 결정된다. 과실의 경도는 유통기간과 신선도를 결정하는 주 요소이며 과채류 육종의 주 목표중 하나이다. 국내 Pink계 품종들은 보통 경도가 1.0이하 인 것이 대부분인 반면 재육성 되어 고정된 계통은 1.3이상(kgf/mm²)인 것도 있었고, 특히 중국, 인도용의 계통은 1.8이상으로 높은 것이 많아 경도가 보장 되었다.

표 50. 주요 계통의 경도와 당산비율(당도/산도)

BN	국가	생장형	초세	과색	과형	과중 (g)	경도 (kgf/mm ²)	당도 (Brix)	산도 (pH)	당산비 (당도/산도)
1041	국내	무한	중강	Pink	고구형	219	1.4	6.1	5.0	1.2
1053	"	"	강	"	"	175	1.4	5.9	4.9	1.2
1174	"	"	중강	"	편원형	284	1.4	5.5	4.9	1.1
1371	중국	"	중	Red	"	153	1.3	5.4	4.6	1.2
1617	인니	"	중강	"	장동형	123	1.7	3.8	4.6	0.8
1721	중남미	"	강	"	"	84	1.8	5.7	4.7	1.2
1910	국내	"	중강	Yellow	원형	27	1.3	5.2	5.1	1.0
1934	"	"	"	Red	"	28	1.3	4.9	5.0	1.0
2001	"	"	"	"	장동형	19	1.0	8.4	5.1	1.6
2356	중동	유한	강	"	편원형	181	1.7	4.4	4.7	0.9
2549	인도	"	중	"	장동형	97	1.8	2.9	4.7	0.6
2586	"	"	"	"	"	107	1.7	3.3	4.6	0.7

(2) 기 보유 계통 내병성 평가

(가) DNA 마커분석

기 보유 계통의 내병성과 형질은 2011년 추계에 738계통, 2012년 춘계에 1290계통을 파종하여 육묘 기간과 본포 생육 기간중에 TMV(Tm2a), TYLCV(Ty-1), TSWV(Sw-5), V(Vd), F2(I2), F3(I3), N(Mi), LM(Cf9), J3, Ty-2, K(Pi), PM-Lv, sp 에 대하여 DNA마커로 분석하였다(표 51).

표 51. 2011-2012년 기 보유 계통에 대한 분자마커 검정 현황

마커종류	2011년	2012년	합 계	비고
TMV(Tm2a)	4,150	6,472	10,624	SNP
TYLCV(Ty-1)	3,040	5,613	8,652	SNP
TSWV(Sw-5)	1,692	2,790	4,477	SNP
V(Vd)	0	79	79	SNP
F2(I2)	63	0	65	SNP
F3(I3)	431	483	917	SNP
N(Mi)	1,852	4,233	6,085	SNP
LM(Cf9)	979	1,734	2,722	CAPS
K(Pi)	267	166	433	CAPS
J3	1,045	1,560	2,608	SNP
Ty-2	13	82	93	SCAR
sp	145	334	479	CAPS
PM-Lv	0	161	161	CAPS
계	15,688	25,719	41,407	

(나) 청고병 집중

보유 계통의 청고병에 대한 생물 검정을 위하여 2012년 춘계(3월 파종)에 파종, 육묘한 다음 집중하였으며, 저항성을 나타난 개체를 선발하여 4월 하순에 정식하여 세대진진을 할 예정이다(표 52).

표 52. 보유 계통의 청고병 생물검정

년도	계통수	내병성 정도*				선발주수
		1.0-1.9	2.0-2.9	3.0-3.9	4.0-5.0	
2012년 춘계	184	13	48	69	54	1121

*내병성 정도 : 1.0=강, 5.0=약

2011년 춘계 청고병 집중을 하여 내병성이 우수하게 나타난 주요 계통의 특성은 표 53과 같다.

표 53. 청고병 내병성이 우수한 주요 계통의 특성

BN	국가	생장형	초세	과색	과형	과중 (g)	이병 지수*
B-9	국내	무한	강	Red	원형	93	1.24
B-80	인도네시아	유한	중	"	장동형	58	1.00
B-82	"	"	중약	"	"	78	1.47
B-86	"	"	약	"	"	113	1.24
B-81	인도	"	중강	"	"	84	1.08
B-95	"	"	중약	"	"	72	1.88
B-100	"	"	중강	"	"	66	1.92
B-132	"	"	"	"	"	85	1.32

* 이병지수 : 1.0=강, 5.0=약

(3) 기 보유 계통의 성분분석

성분 분석을 위해 기 보유 계통을 2011년 9월, 2012년 2월 2회에 걸쳐 협동과제를 수행하는 강원대학교에 원예적 형질이 우수한 계통만을 선별하여 Lycopene, Glutamate, α -glucosidase inhibition(%) 함량을 분석한 결과 이들 함량이 높은 계통들이 다수 분석되었으며, 이를 바탕으로 F1 조합 및 F1 품종의 성분분석을 하여 함량치를 조사하였으며, 또한 신규 계통의 육성을 위하여 새로 도입된 유전자원을 분석하여 사용하고자 하였다(표 54, 55, 56).

표 54. 계통별 성분분석 의뢰 점수

구 분	2011년	2012년	소 계
Pink	21	17	38
ID Beef	16	22	38
ID Saladette	20	19	39
D Beef	17	4	21
D Saladette	44	32	76
Cherry	25	51	76
국내용 완숙 F1	39	15	55
국내용 미니 F1	47	23	71
ID Beef F1	27	0	28
ID Saladette F1	25	0	26
계	281	183	464

표 55. 주요 계통의 Lycopene, Glutamate, α-glucosidase inhibition 함량

BN	생장형	초세	과중 (g)	과형	과색	Lycopene (mg/kg)	Glutamate (mg/kg)	α-glucosidase inhibition(%)
1096	무한	증강	144	편원형	Pink	85.7	2347	22.7
1179	"	중	320	"	"	63.1	1239	14.4
1315	"	"	145	원형	Red	53.3	1654	15.7
1329	"	중약	184	편원형	"	54.3	1207	12.4
1699	"	중	118	장동형	"	96.8	859	12.7
1721	"	중약	114	"	"	105.8	1312	19.1
1739	"	증강	107	편원형	"	92.8	1033	7.7
1963	"	중	19	원형	"	60.5	1476	42.8
3531	"	"	18	"	"	88.5	3708	29.4
3542	"	"	20	장동형	"	79.0	2125	22.2
2357	유한	증강	233	편원형	"	64.9	986	9.3
2369	"	"	210	"	"	65.0	1013	10.2
3806	"	"	92	장동형	"	73.3	1750	19.8
3821	"	중	92	"	"	61.4	2750	23.0

표 56. 주요 조합 및 F1 품종의 Lycopene, Glutamate, α-glucosidase inhibition 함량

품종명	국가	생장형	초세	과중(g)	과형	과색	Lycopene (mg/kg)	Glutamate (mg/kg)	α-glucosidase inhibition(%)
10T217	국내	무한	중강	225	편원형	Pink	45.8	2292	20.6
11T3152	"	"	"	235	"	"	58.4	1417	5.7
10T262	중국	"	"	240	고구형	"	67.7	878	20.9
11T321	중국, 중동, 중남미	"	중	245	편원형	Red	46.8	2220	13.2
10T346	중국, 유럽	"	강	170	"	"	50.5	1198	13.2
10T426	중남미	"	중강	110	장동형	"	85.8	1187	17.4
10T544	한국	"	"	24	"	"	65.9	2569	26.6
10T550	"	"	강	25	"	"	65.4	5569	26.6
11T555	한국, 중국	"	중강	22	"	Pink	46.7	3519	26.9
11T573	한국, 중국	유한	중	18	"	Purple	63.5	5319	17.5
10T577	한국, 중국	"	"	20	"	Yellow	3.7	3947	8.9
11T608	중국, 중동	"	강	240	편원형	Red	65.8	1361	24.5

나. 국내용 토마토 고품질, 복합내병성 품종개발

(1) F₁ 조합작성

F₁ 조합 작성에 필요한 모계와 부계는 2011년 춘계와 추계 2회에 걸쳐 재배하여 사용하였다. 춘계는 3월에 162공 트레이에 파종하여 22-25일 육묘 후에 12cm 개체 포트에 가식한 다음 20-25일 후에 정식하였으며, 추계는 7월에 파종하여 18-20일 육묘 후에 가식한 다음 18-20일 후에 정식하여 우수 개체를 선발한 다음 모계와 부계로 사용하여 F₁ 조합을 작성하였다(표 57).

표 57. F₁ 조합 작성 개요

구 분	2011년 춘계			2011년 추계			조합 작성수
	파종	교배	종과수확	파종	교배	종과수확	
완숙토마토	2011.3월	2011.5월	2011.7월	2011.7월	2011.9월	2011.12월	84 (GMS : 35)
미니토마토	"	"	"	"	"	"	118 (GMS : 38)
기능성토마토	"	"	"	"	"	"	15 (GMS : 10)

F₁ 조합은 제웅 조합과 GMS 조합으로 구분하여 작성하였다.

제웅조합은 30 계통의 모계와 15계통의 부계를 사용하여 F₁ 조합을 작성하였다. 완숙토마토의 모계는 착과성이 우수하고 과형이 정연하고 착색이 우수하면서 바이러스(Tm2a)의 내병성을 보유한 계통을 주로 사용하였다(표 58, 그림 20). 정식 후 제 2화방이 전개될 때 제웅, 수분 작업을 실시하였고 조합당 10개 이내로 교배하였다. 과비대가 우수하고 경도가 좋아 수송성이 뛰어나면서 잎곰팡이병(Cf9)과 선충(N) 등에 내병성을 가진 편원형의 대과균을 주로 부계로 사용하였다.

GMS 조합은 15계통의 모계를 사용하여 F₁ 조합을 작성하였다(표 59). GMS 모계를 파종한 다음 파종상에서 배축색의 분리를 확인 후 자색 배축묘를 모두 제거하고 녹색묘만을 골라 가식 및 정식을 하였으며, 개화 후에 일정비율의 가임주(MF주)를 제거한 다음 교배 모계로 사용하였다. 1화방은 임성감별을 하였고 제 2화방부터 각 조합별로 10화 이내로 교배를 실시하였다.



BN 3219

BN3524

그림 20. 제웅 F₁ 조합에 사용된 주요 계통의 착과 상태

표 58. 제웅 F₁ 조합에 사용된 주요 계통 특성

BN	구 분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
1041	완숙	무한	중강	53	양	원형	6.8	7.0	Pink	280	Vd, F2, J3, N
1174	"	"	강	57	우수	편원형	7.4	6.3	"	360	TMV, Vd, F2, J3, LM, N
1115	"	"	중강	59	"	원형	6.3	6.1	"	207	TMV, N
1168	"	"	강	60	"	"	7.1	7.0	"	320	Vd, F2, J3, LM, N
1177	"	"	중	55	보통	편원형	7.0	6.2	"	260	Vd, F2, J3, LM, N
1963	미니	"	"	51	우수	원형	2.6	2.6	Red	19	TMV, N
1938	"	"	강	55	"	"	2.5	2.6	"	20	TMV, LM, N
1951	"	"	"	58	중	"	2.7	2.8	"	22	TMV, TYLCV, TSWV, LM, N
1998	"	"	중	50	우수	대추형	2.7	3.2	"	26	TMV, LM, N
3450	"	"	강	52	"	원형	2.6	2.7	Pink	21	TMV, N
3219	기능성	"	중강	53	양	"	5.1	5.2	Purple	80	TMV, F2, J3, N
3524	"	"	중	60	우수	"	3.8	4.0	Orange	50	TMV, Vd, F2, LM

표 59. GMS F₁ 조합에 사용된 주요 모계 특성

BN	구 분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
1054	완숙	무한	강	54	중	원형	6.6	6.7	Pink	210	TMV, Vd
1072	"	"	"	60	"	"	6.5	6.3	"	170	TMV, TYLCV, Vd
3024	"	"	중강	58	우수	"	6.5	6.7	"	190	TMV, TYLCV, TSWV, Vd
3503	미니	"	강	51	"	"	2.6	2.8	Red	23	LM, N
3557	"	유한	중	55	"	장동형	2.6	3.2	"	25	TMV, TYLCV, TSWV, N
3546	기능성	"	중강	53	"	"	2.4	3.0	Pink	22	TMV, LM, N
1914	"	"	강	57	"	원형	3.0	2.9	Purple	30	TMV, LM, N

(2) F₁ 성능검정 및 선발 조합

F₁ 성능검정은 농우바이오(주) 여주연구소에서 춘계와 추계 년 2회에 걸쳐 실시하였다(표 60). 조합별로 162공 트레이에 54립씩 파종하고 20-25일 후에 12cm 개체 포트에 가식하여 육묘한 다음 파종 후 40-50일경 정식하였다. 재식 간격은 이랑 간격 150cm x 주간 30cm 1조 정식이며, 조합당 7주 2반복으로 시험하였다. 수정벌을 사용하여 수정하였으며, 무한생장형은 7화방 적심을 하여 수확량을 조사하였다.

표 60. F₁ 성능검정 개요

구 분	2011년 춘계			2011년 추계			2012년 춘계		
	조합수	파종	조사	조합수	파종	조사	조합수	파종	조사
완 숙	64	2011. 2.11	2011. 6월-7월	22	2011. 7.25	2011. 11월-12월	83	2012. 2.10	2012. 6월-7월
미 니	77	"	"	41	"	"	80	"	"
기능성	15	"	"				20	"	"

(가) 완숙토마토 선발조합

완숙토마토는 고품질계의 일반토마토와 TYLCV 내병계 토마토로 구분하여 조합을 선발하였다. 고품질계 토마토로 BN 3152 조합과 TYLCV 내병계로 BN 230, 237 조합을 선발하였으며(표 61, 그림 21), 선발된 조합은 인도법인 연구소에서 농가 적응성 시험용 종자를 생산 중에 있으며 5월부터 농가에 공시하여 적응성을 검정하고자 한다.

표 61. 선발조합의 주요 특성표

품종명	숙기	초세		절간	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
		전기	후기						
3152	중조	중강	중강	단	편원 (0.80)	235	홍	1.4	ToMV.V.F1.F2 J3.N.Cf9
대비종 T사	조	"	중	중단	" (0.80)	230	"	1.3	ToMV.V.F1.F2 J3.N
230	중조	중강	중강	중장	고구 (0.82)	230	홍	1.4	ToMV.Ty.V.F1.F2 J3.N.Cf9
237	조	"	"	"	" (0.83)	225	농홍	1.5	ToMV.Ty.TS.V F1.F2.J3.N.Cf9
대비종 M사	중	중강	중	장	" (0.83)	240	연홍	1.2	Ty
대비종 M사	조	중	중약	중단	" (0.84)	225	농홍	1.2	"

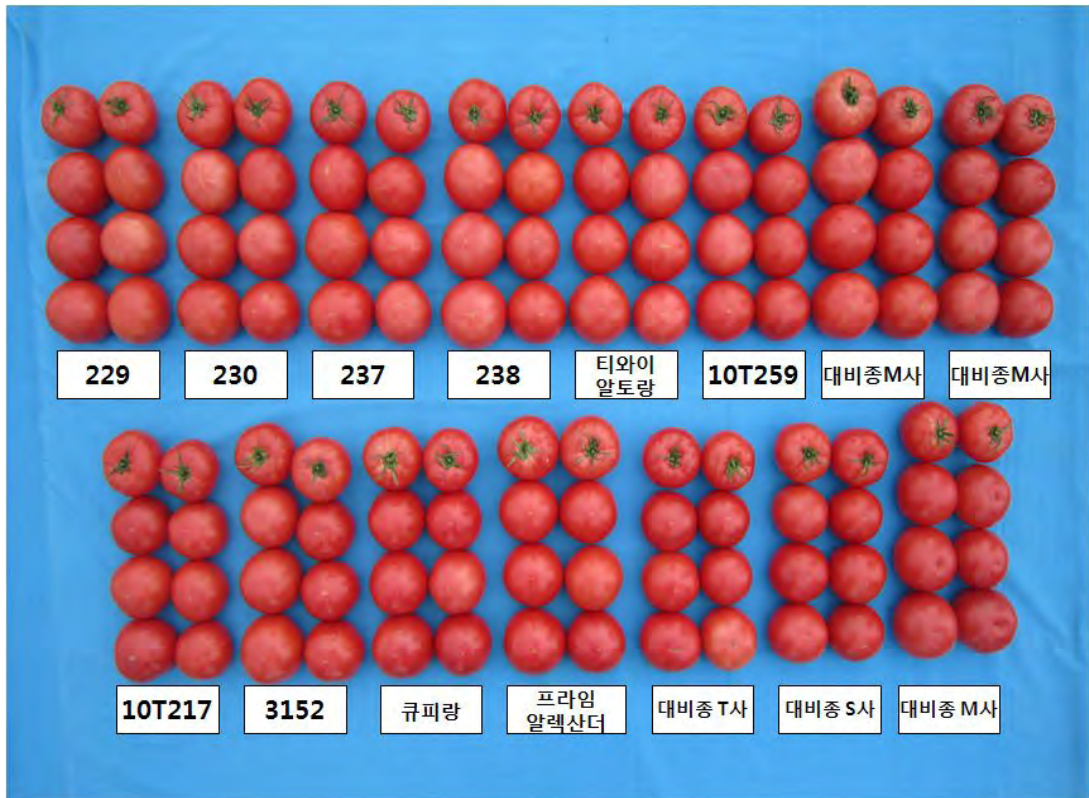


그림 21. 선발조합의 과형비교

선발된 BN 3152 조합은 화방출현이 안정되어 있으며 공동과 발생이 적어 축성 및 반축성 작형에 적합할 것으로 판단되며, 숙기는 중조생종으로 평균과중 235g 내외의 대과종 완숙 토마토로 초세가 비교적 강하며 절간이 짧고 착과가 안정된 잎곰팡이병(Cf9) 내병계 조합이다.

지구 온난화의 영향으로 국내 기후도 아열대 기후대로 변화하고 있으며, 이전에 존재하지 않았던 새로운 병충해와 생리장해가 발생되고 있다. 국내에서도 토마토 황화위축바이러스(TYLCV)가 점점 증가하고 있으며 그 발생의 지역도 매년 북상하여 작물에 피해를 주고 있다.

TYLCV 내병계로 선발된 조합 BN 230, 237은 Ty-1 유전자를 가지는 조합으로 국내에서 발생되는 TYLCV에 대하여 충분한 내병성을 보이고 있으며, 2011년 농가 포장에서 내병성 정도를 확인할 수 있었다. BN 230은 중조생종으로 고구형이며, 평균과중 230g 내외의 중대과종 완숙토마토이며, BN 237은 조생종으로 과색이 짙은 농홍색이며, 평균과중 225g 내외의 중과종으로 경도가 우수하여 저장성이 좋은 조합이다. 2조합은 TYLCV, 잎곰팡이병(Cf9), 근부위조병(J3), 선충(N) 등에 복합내병충성이다.

(나) 미니토마토 선발조합

미니토마토 선발시험은 원형과 대추형으로 구분하여 시험을 실시하였다. 2012년 선발시험에서는 TYLCV 내병계 위주로 선발되었으며, 원예적 형질면에서는 저장성, 착색, 열과 발생 등에 중점을 두었다. 원형 미니토마토에서는 BN 3659와 3662 조합을 선발하였으며, 그 특성은 아래와 같다(표 62, 그림 22).

표 62. 선발된 원형 미니토마토 특성표

품종명	숙기 (착색일*)	초세	절간	이상경	과중 (g)	당도 (Brix°)	착색	경도 (kgf/mm ²)	열과 (%)	내병성	주당수량(g) (지수)
3659	조 (49)	중	중단	적음	20	6.9	양호	1.7	2.7	ToMV, Ty, T S N, Cf9	1334 (112)
3662	중조 (52)	강	중장	#	21	6.7	#	1.9	1.4	#	1112 (93)
대비종M사	조 (50)	중	장	#	21	7.3	우수	1.3	22.3	Ty	1191 (100)

* 착색일 : 정식 후 1번과가 착색되는 시기까지의 일수



그림 22. 선발된 원형 미니토마토 과형 비교

BN 3659은 조생종으로 조기수량이 많은 중과종의 원형 미니토마토로 6-8 단 재배에 적합할 것으로 판단되며, 절간이 짧으면서 이상줄기 발생이 적어 재배가 용이하며 열과 발생이 적다. BN 3662은 초세가 강하면서 이상줄기가 적어 재배가 쉽고 평균과중 21g 내외의 중대과종 원형 미니토마토로 숙기는 중조생종으로 열과 발생이 적고 경도가 매우 강하여 수송성이 좋다. 선발된 2조합은 바이러스(Tm2a), TYLCV, TSWV, 선충(N), 잎곰팡이병(Cf9)에 내병충성이다 2012년 5월부터 TYLCV가 문제시되는 전남, 대전, 경남 등지에 공시하여 내병성과 현지적응성 여부를 조사하여 품종화 여부를 결정하고자 한다. 대추형 미니토마토는 BN 3675와 3680 2조합을 선발하였으며, 그 특성은 아래와 같다(표 63, 그림 23).

BN 3675은 초세가 강하면서 이상줄기 발생이 적어 재배가 쉬운 대과종의 대추형 미니토마토로 수량성이 비교적 높으며, 중생종으로 경도와 열과에 강하여 수송성이 좋고 선충(N)에 저항성이다. BN 3680은 중생종으로 과형이 정연하며 착색이 양호한 편으로 경도가 우수하고 열과 발생이 적어 상품 화율이 높다. 선발된 2조합은 TYLCV, TSWV, 잎곰팡이병(Cf9)에 내병성이며, 5월부터 농가에 공시하여 적응성을 검정하고자 한다.

표 63. 선발된 대추형 미니토마토 특성표

품종명	조합 구분	숙기 (착색일*)	초세	절간	이상 경	과형 (지수)	과 중 (g)	당도 (Brix ^o)	착색	경도 (kgf/mm ²)	열과 (%)	내병성	주당수량(g) (지수)
3675	GMS	중 (61)	강	장	적음	장동 (1.6)	26	8.9	보통	1.8	5.0	ToMV.Ty. TS.N.Cf9	1060 (93)
3680	GMS	" (61)	"	"	"	" (1.4)	25	9.0	양호	1.9	5.2	ToMV.Ty TS.Cf9	1040 (90)
미니찰		" (59)	중강	"	"	" (1.4)	24	9.9	양호	1.8	3.9	ToMV. Cf9	1143 (100)

* 착색일 : 정식 후 1번 과가 착색 되는 시기까지의 일수



그림 23. 선발된 대추형 토마토 과형 비교

(다) 기능성 토마토 예비선발 조합

기능성 토마토는 기존 형태의 완숙과 미니토마토 형태에서 벗어나 과형과 과색의 차별성에 중점을 두었으며, 특정 성분 함량이 많을 것으로 판단되는 조합과 기존 소비 형태와 다른 요리, 조리용도에 좀 더 적합할 것으로 보이는 조합들을 예비 선발하였다. 15 조합을 공시하여 착색별로 BN 11T560, 11T562, 11T563 3조합을 예비선발하여 2012년 재 성능검정과 동시에 소량 시작용 종자를 생산하여 2012년 추계부터 농가 적응성을 조사하고자 한다(표 64, 그림 24).

표 64. 선발된 기능성 토마토의 특성표

조합명	조합구분	생장형	숙기	초세	과색	과형	과중(g)	당도(Brix)	착색	경도	열과	내병성	비고
11T560	GMS	무한	중만	강	Purple	원형	50	6.5	양	양호	중	ToMV..F2. J3.LM.N	
11T562	제웅	"	조	중강	Red	"	45	6.7	우수	"	"	ToMV.Vd. LM.N	
11T563	"	"	중조	강	Orange	"	55	6.0	"	우수	중강	ToMV.Vd. F2.LM	



11T560



11T562



11T563



11T562

11T563

11T560

그림 24. 선발된 기능성 토마토의 착과상태 및 과형비교

다. 해외용 토마토 복합내병성 품종개발

(1) F₁ 조합작성

F₁ 조합작성은 2011년 5월과 9월 2회에 걸쳐 선발된 우수계통 모·부계를 이용하여 작성하였다 (표 65). 모계 80계통, 부계 50계통, GMS 모계 17계통을 이용하였다.

표 65. F₁ 조합 작성 개요

시장구분		2011년 춘계			2011년 추계			조합 작성수
		과종	교배	종과수확	과종	교배	종과수확	
중국	하우스	2011.3월	2011.5월	2011.7월	2011.7월	2011.9월	2011.12월	101
	노지	"	"	"	"	"	"	66
인도, 중동		"	"	"	"	"	"	218
(인도 법인)		2011.2월	2011.4월	2011.6월	2011.8월	2011.10월	"	180
기 타		2011.3월	2011.5월	2011.7월	2011.7월	2011.9월	"	20

F₁ 조합은 국내연구소에서 총괄적으로 작성하였으며, 인도법인 연구소에서는 인도용과 중동용 토마토 위주로 조합을 작성하였다. F₁ 조합에 이용된 주요 계통의 특성은 표 66와 같다.

표 66. F₁ 조합에 사용된 주요 계통 특성

BN	시장구분	생장형	초세	숙기 (일)	착과성	과형	과경 (cm)	과장 (cm)	과색	과중 (g)	내병성
1310	중국	무한	강	62	양	원형	6.2	6.5	Red	165	ToMV, Vd, F2, LM, J3
1715	"	"	중	55	우수	"	6.0	6.2	"	130	ToMV, TYLCV, F2
1400	"	"	강	63	보통	편원형	8.9	7.3	"	294	ToMV, J3, LM
2325	"	유한	"	60	"	"	8.3	7.2	"	254	ToMV, N
2353	"	"	"	55	"	"	7.5	6.2	"	224	ToMV, TYLCV
2316	"	"	중	52	우수	원형	6.3	6.6	"	156	F2, N
2043	미니	"	중강	51	"	대추형	2.6	3.2	Pink	26	ToMV, LM, N
2061	"	무한	강	56	"	"	2.5	3.3	"	27	ToMV, LM
2585	중동	유한	"	56	양호	장동형	6.1	7.1	Red	115	ToMV, Vd, F2
2633	"	"	중	52	"	"	5.2	6.5	"	90	TYLCV
2635	"	"	"	55	"	"	5.8	7.2	"	130	
2579	"	"	"	57	우수	"	5.6	6.8	"	110	TMV, TYLCV

(2) F₁ 성능검정 및 조합선발

F₁ 성능검정과 조합선발 시험은 국내연구소와 농우 인도법인 연구소에서 실시하였다. 중국용 토마토는 하우스와 노지작형으로 구분하여 성능검정을 실시하였고, 인도와 중동토마토, 인도법인 토마토는 노지작형에서, 기타 시장용은 하우스 작형에서 선발하였다. 인도법인에서는 2월과 8월에 파종하여 연 2회에 걸쳐 성능검정과 조합선발 시험을 실시하였다(표 67).

표 67. F₁ 성능검정 개요

시장구분		2011년 춘계			2011년 추계			2012년 춘계		
		조합수	파종	조사	조합수	파종	조사	조합수	파종	조사
중국	하우스	48	2011. 4. 1	2011. 7월-8월				53	2012. 4. 2	2012. 7월-8월
	노지	21	"	"				41	"	"
인도, 중동		80	"	"				138	"	"
(인도 법인)		84	2011. 2. 5	2011. 5월-7월	108	2011. 8. 7	2011. 11월-12월	96	2012. 2. 7	2012. 5월-6월
기 타		12	2011. 4. 1	2011. 7월-8월				8	2012. 4. 2	2012. 7월-8월

(가) 중국용 토마토 선발조합

중국용 토마토는 하우스 작형과 노지작형으로 구분하여 선발하였으며, 하우스 작형에서는 무한생장형을, 노지작형에서는 유한생장형을 공시하였다. 하우스 작형에서는 중장기 재배가 가능한 조합으로 321, 326을 노지작형에서는 단기재배용으로 608, 619을 선발하였다(표 68, 69, 그림 25, 26).

608 조합은 인도법인에서 시작용 종자를 생산 중에 있으며, 5월부터 유한생장형의 Beef 대과군이 재배되는 중국남부, 중동, 중남미 등지에서 적응성 시험을 하고자 한다. 그 이외의 3조합(321, 326, 619)은 2012년 춘계에 시험용 종자를 생산 중에 있으므로 추계부터 해당지역에서 적응성 검정을 할 예정이다.

표 68. 선발된 중국용 하우스 토마토 특성

품종명	회사명	숙기	초세	절간	잎의 크기	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
321	농우	중	강	중장	대	245	편원형 (0.74)	U	양호	1.55	ToMV.V.F1.2.Fr. Cf
326	농우	조	중강	"	중대	170	" (0.80)	"	우수	1.63	ToMV.Ty.F1.2.Cf
Starbuck	De Ruitter	중	강	장	대	258	고구형 (0.83)	"	양호	1.25	ToMV.Cf
Linda	Zeraim	중조	중	"	중	155	편원형 (0.76)	"	우수	1.50	Ty
Beril	Rijk Zwaan	조	"	중단	대	160	" (0.78)	"	"	1.43	-

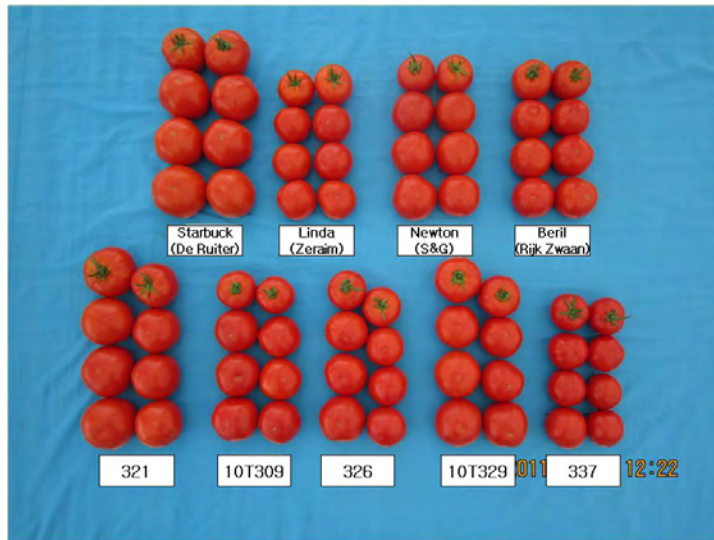


그림 25. 선발된 조합의 과형 비교

표 69. 선발된 중국용 노지토마토 특성

품종명	회사명	숙기	초세	절간	잎의 크기	엽색	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
608	농우	중	강	중단	중대	DG	240	편원형 (0.72)	U	양호	2.25	ToMV.Ty
Bobcat	S&G	중만	"	단	대	"	250	" (0.80)	"	"	1.40	-
619	농우	중조	중강	중	중대	G	150	고구형 (0.89)	U	우수	1.83	ToMV.Ty. F2.N
Super Red	Asgrow	조	중	중단	중	"	170	" (0.84)	"	양호	1.53	Ty



그림 26. 선발된 조합의 과형비교

(나) 인도용 토마토 선발조합

인도용 토마토는 인도법인 연구소에서 선발을 하였다. 기후 특성상 건기와 우기(주 작형)로 구분하여 선발시험을 하였으며, 건기에는 내서성과 TYLCV 내병성 위주로, 우기에는 과 품질과 내습성 위주로 시험을 실시하였다. 2011년도에는 우기용 조합으로 3 조합을 선발하였다(표 70, 그림 27).

표 70. 선발된 인도용 토마토 특성

품종명	회사명	숙기	초세	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색 *	경도	내병성	주당수량(g) (지수)**
1124	농우	중	강	70	장동 (1.20)	U	5	중강	ToMV, Ty F1, F2, Fr	3160 (97)
1116	농우	중만	"	72	" (1.17)	"	3	중	Ty, V	3500 (107)
1112	농우	중조	중강	85	" (1.18)	"	4	강	Ty, F1, F2	3350 (102)
Samrat	Namdhari	"	"	74	" (1.14)	"	5	"	-	3320 (101)
NS501	"	중만	강	83	" (1.21)	"	3	중	-	2780 (85)
To-1389	Syngenta	중	중	68	" (1.28)	"	4	"	Ty	3280 (100)

* 착색 : 우수(5) - 불량(1)

** 주당수량은 건기 성적임



그림 27. 선발 조합의 과형비교

선발조합 1124는 초세가 강하고 엽색이 짙으면서 포엽성이 좋고 착색과 광택이 우수하며 과가 정연하여 과품질이 우수하다. 1116은 엽색은 다소 옅으나 내습성이 우수하며 초세가 강한 편으로 평균과중 70g 내외의 중과중으로 착과성이 좋아 수량성이 우수하다. 1112 조합은 초자가 안정적이며, 내습성이 좋은 중대과중 토마토로 과비대가 우수할 뿐만 아니라 과가 정연하며 경도가 우수하다. 이 3조합은 2012년 건기에 확대용 시교종자를 생산하여 주 재배시기인 우기에 폭 넓게 적응성 검정을 실시하고자 한다.

(다) 중동용 토마토 선발조합

신흥시장으로 부상하고 있는 이집트, 이란 등은 토마토 재배면적 뿐만 아니라 종자가격이 높아 고부가가치 시장으로 평가 받고 있다. 시장 요구도는 대과종, 내서성, 수량성, 저장성, TYLCV 내병성 등이 필요하다. 중동과 중남미 시장 개발을 위하여 노지 재배 가공용(장동 과형) 품종을 선발하여 시장에 접근하고 있으며, 국내 여주연구소에서 원예적 형질과 DNA 마커를 이용한 내병성 검정을 토대로 조합을 선발한 다음 현지에서 시교를 실시하여 품종화하고 있다. 여주연구소에서 2011년 4월 1일 과종한 후 9공 트레이에 가식하여 육묘하여 5월 10일 조합별로 6주 X 2반복으로 정식하여 일반적인 원예적 형질과 수량성, 경도 등을 조사하여 대비종들과 비교하여 경쟁력이 있다고 판단되는 조합들을 선발하였다(표 71, 그림 28).

표 71. 선발된 중동용 토마토 주요 특성

품종명	회사명	숙기	초세	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
733	농우	중만	중강	110	단타원형 (1.06)	U	우수	1.80	ToMV.Ty.V. F1.2
765	농우	중	강	112	장동형 (1.24)	#	#	1.96	Ty.F1.2.N
739	농우	#	중강	127	세장형 (1.60)	#	보통	2.26	ToMV.Ty.TS
774	농우	조	중	120	# (1.52)	#	#	2.00	ToMV.Ty
Xico	농우	#	#	100	장동형 (1.43)	#	양호	1.83	V.F1.2.BSK.N
El Coya	Seminis	중조	중강	120	# (1.40)	#	#	1.96	Ty

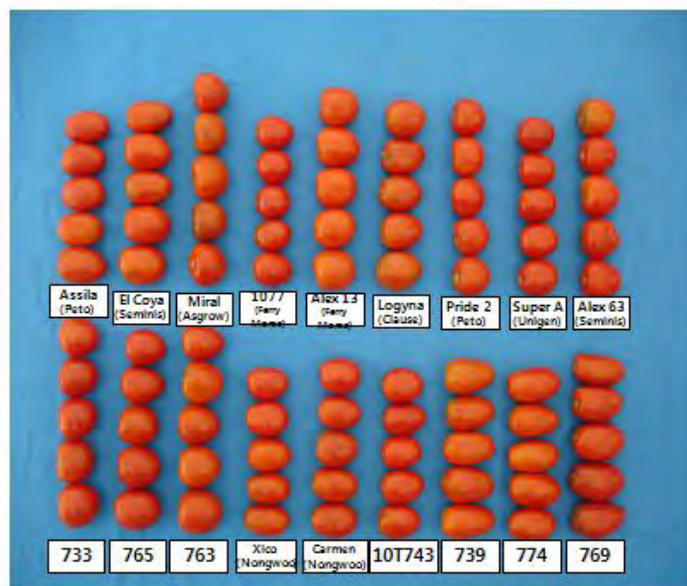


그림 28. 선발 조합의 과형비교

선발 조합 733은 기존에 품종화하여 시판하고 있는 Savera, Eureka와 유사한 형태를 가진 조합이나 이 품종보다 초세가 우수하고 착과와 과비대가 좋으며, 수량성이 안정적이고 과형이 정연하다. 765 조합은 TYLCV와 N에 내병충성을 가진 조합으로 초세가 강하며 포엽성이 우수하고 과비대가 좋아 수량성이 높다. 중생종으로 평균과중 112g 내외의 중대과종이며, 착색과 경도가 좋아 상품성이 우수하다. 739 조합은 TLCV와 TSWV에 내병성이며, 중생종으로 127g 내외의 세장형 대과종이며, 경도가 우수하여 수송성이 좋은 것이 특징이다. 774 조합은 조생종으로 평균과중 120g 내외의 세장형 대과종이며, 경도가 좋아 수송성이 우수하고 절간이 짧으며 집중착과형으로 조기 수량성이 높다. 선발된 4조합은 이집트, 이란, 브라질, 알제리, 터키 등에서 소량으로 시험중에 있으며, 인도법인에서 생산된 시작 종자를 가지고 2012년 5월부터 대규모로 현지에서 적응성을 검증하고자 한다.

(라) 기타 시장용 토마토 선발조합

중국 미니토마토는 과형이 대추형 토마토가 주종으로 재배되고 있으며, 과색은 Pink색이 많다. 이 시장을 겨냥하여 대추형 Pink색 미니토마토를 선발하였다(표 72, 그림 29). Red 대추형과 비교하여 산도가 높고 식후에 잇몸에 과피가 적게 남아 식미가 뛰어난 것이 특징이다. 선발 조합은 2012년 춘계에 시작 종자를 생산하여 8월부터 중국과 국내에서 개발하고자 한다.

표 72. 선발 조합의 주요 특성

품종명	회사명	숙기 (착색일*)	초세	절간	과색	과형 (지수)	과중 (g)	당도 (Brix°)	착색	경도 (kgf/mm ²)	열과	내병성	주당수량(g) (지수)
555	농우	중 (59)	중강	중단	Pink	장동형 (1.28)	22	8.7	우수	1.43	강	ToMV.Cf .N	1720 (95)
558	농우	" (60)	"	중	"	" (1.24)	23	9.3	양호	1.48	중강	ToMV.Cf .N	2254 (125)
千禧	대만농우	중만 (64)	강	중장	"	" (1.33)	24	8.9	우수	1.65	강	-	1802 (100)

* 착색일 : 정식 후 1번과가 착색되는 시기까지의 일수



그림 29. 선발조합의 과형비교

5. 5차년도 수행결과

가. 토마토 고품질, 복합내병성 품종개발

(1) F₁ 조합 선발 시험

4차년도에 F₁ 조합을 작성하여 2012년 춘계와 추계 2회에 걸쳐 재배 시험을 하였다. 국내용 완숙 미니토마토 F₁ 조합은 3월에 7월에 파종하여 2회에 걸쳐 시험을 하였으며, 해외용 토마토 F₁ 조합은 3월에 파종하여 5월에 정식하여 1회에 걸쳐 시험을 진행하였다.(표 73).

표 73. F₁ 조합 선발 시험

구 분	2012년 춘계			2012년 추계			2013년 춘계		
	조합수	파종	조사	조합수	파종	수확	조합수	파종	조사
국내 완숙토마토	83	2012.2월	2012.6-7월	26	2012.7월	2012.12월	68	2013.2	2013.7
국내 미니토마토	100	"	"	45	"	"	97	"	"
중국용	하우스	146	2012.4월	2012.8			144	2013.4	2013.7
	노지	68	"	"			95	"	"
인도·중동용	189	"	"				160	"	"
인도네시아용	110	"	"				118	"	"

(2) 토마토 선발조합

(가) 국내용 완숙토마토

국내용 완숙토마토는 중장기 재배용 TYLCV 내병계 조합을 선발하였다. 220조합은 TYLCV, TSWV에 복합내병성이고 235g의 중대과종으로 경도가 강하면서 초세가 강한 중장기 재배용으로 선발하였다(표 74, 그림 30). 인도법인에서 소량 시교 생산되어 농가에서 시교 검정 중에 있다.

표 74. 선발조합의 주요 특성표

품종명	숙기	초세		절간	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
		전기	후기						
220	중	강	강	장	편원 (0.76)	235	홍	1.3	ToMV.Ty.TS.V. F1.F2.J3.N.Cf9
티와이알토랑 (10T251)	중조	중강	중	중장	고구 (0.88)	230	홍	1.3	ToMV.Ty.V.F1.F2 J3.N.Cf9
대비종 T사	조	중	"	중	" (0.80)	230	농홍	1.2	Ty
대비종 M사	중	중강	"	장	" (0.83)	245	연홍	1.1	"
대비종 M사	조	중	중약	중단	" (0.84)	220	농홍	1.1	"

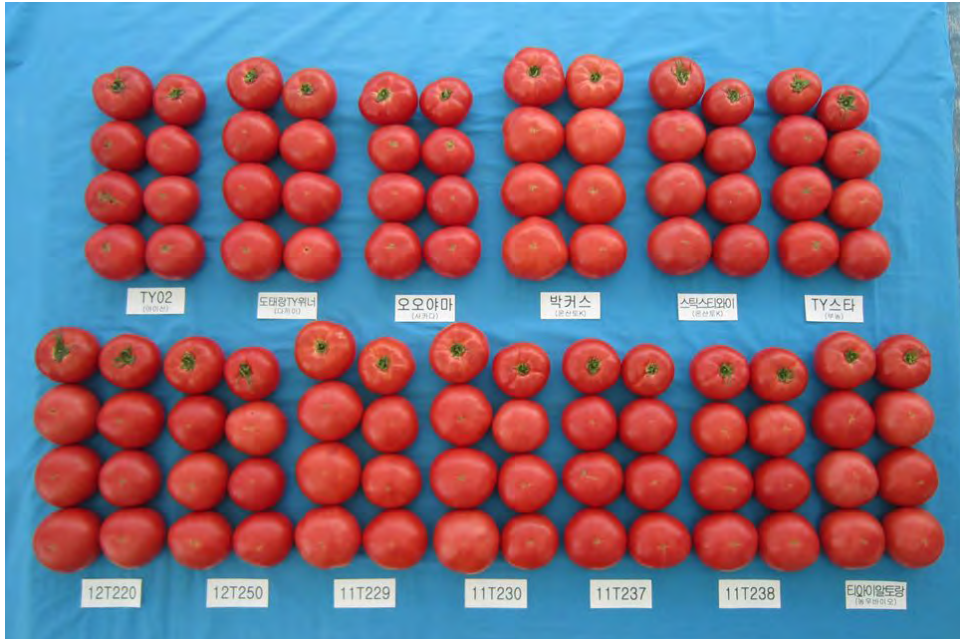


그림 30. 선발조합의 과형비교

선발조합 220은 TYLCV, TSWV에 복합내병성이며 초세가 강하여 생육 중후기까지 과비대가 우수한 장점을 가지고 있다. 기존에 시판되고 있는 타사의 품종들은 TYLCV에 대한 내병성은 강하나 과경도가 약하고, 공동과, 기형과 등이 많이 발생하고 생육 중후반기로 갈수록 초세가 약해져서 과크기가 작아지는 경향이 있어 일반계 품종보다 원예적 형질이 다소 떨어진다는 평가를 받고 있다. 220번 조합은 이러한 단점을 극복하고자 선발하였다. 12년 추계에 소량 농가 적응성 검정을 실시하였고, 13년 춘계에 대규모 농가 적응성 검정을 시험중에 있으며 고온기에 TYLCV에 대한 내병성 검정을 진행할 계획이다.

(나) 미니토마토 선발조합

국내 미니토마토 과색은 주로 빨간색이 많고 소량으로 자색, 노란색, 녹색 토마토가 판매되어 소비되고 있다. 또한 국내용 완숙토마토의 색깔은 핑크색으로 빨간 완숙토마토보다 소비가 많다. 반면에 중국은 과색이 빨간색 보다 핑크색을 선호한다. 특징은 토마토 육질이 부드럽고, 평균 당도가 8-9Brix 이고 산도가 높아 식미가 우수한 특징이 있다. 선발된 조합은 국내, 중국 농가에서 시험 중에 있으며 선발조합 3723, 3725는 대비종인 千禧에 비해 Tm2a, Cf, N에 대해 복합내병충성을 가지고 있다. 또한 숙기가 빠르고 당도가 우수한 장점을 가지고 있다(표75, 그림 31).

표75. 선발조합의 주요 특성

품종명	숙기 (착색일 [†])	초세	절간	이상경	과형 (지수)	과중 (g)	당도 (Brix)	착색	경도 (kgf/mm ²)	열과	내병성
3723	중조 (53)	중강	중	적음	장동 (1.3)	21	8.5	양호	1.7	강	ToMV.Cf.N
3725	중 (56)	중	중장	"	" (1.4)	23	7.7	"	1.7	중강	ToMV.Cf.N
11T558	중 (57)	강	"	"	" (1.2)	22	7.8	우수	1.8	중강	ToMV.Cf.N
千禧	중만 (59)	"	장	"	" (1.3)	24	7.9	"	1.9	강	-



그림 31. 선발조합의 과형비교

(다) 중국용 토마토 선발조합

중국용 토마토는 하우스 무한성장형 작형 조합만 선발하였다. 312 조합은 TYLCV, F3, N에 복합내병충성이며, 숙기는 중조생이며 210g의 중과종이다(그림 32). 초세가 강하고 절간이 짧아 재배가 용이한 장점을 가지고 있다. 이 조합은 2013년 춘계에 농가 적응성 검정을 할 계획에 있다. 4차년도에 선발한 608, 619 조합은 현재 중국 뿐만 아니라 중동, 브라질, 아르헨티나 지역에서 1차 적응성 검정을 마쳤고, 2차 농가 확대 시교 사업중에 있다.

표 76. 선발된 중국용 하우스 토마토 선발조합의 특성

품종명	숙기	초세	절간	앞의 크기	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
312	중조	강	중단	중	210	고구형 (0.90)	U	우수	1.6	ToMV.Ty. F3.N
09T334	"	중강	중장	대	190	" (0.90)	"	우수	1.4	ToMV.Ty. F3.N
Roja	중	강	중	중대	230	" (0.91)	"	양호	1.3	ToMV.Ty. F3,N
Starbuck	중	"	장	대	235	" (0.87)	"	우수	1.5	ToMV.Cf

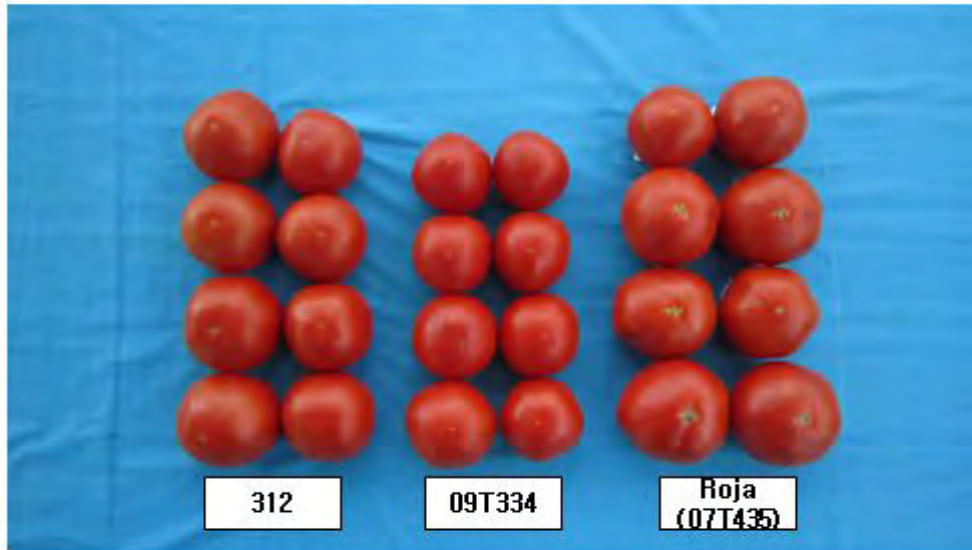


그림 32. 선발된 조합의 과형 비교

(라) 중동용 토마토 선발 조합

중동용 토마토는 대과종, 내서성, 수량성, 저장성, TYLCV 내병성 등이 복합적으로 필요한 시장이다. 국내에서 원예적 형질과 DNA마커를 이용하여 내병성을 검정하였고, 현지 중동국가 농가에서 내서성, TYLCV 내병성등의 적응성을 검정하여 선발을 하고 있다. 이러한 방법을 통하여 769, 815, 824 조합을 선발하였다. 769 조합은 숙기가 빠르고 초세가 강하며 착색이 우수한 특징을 가지고 있다. 815 조합은 숙기가 빠르고 125g의 대과종으로 과장이 길다(그림 33). 824 조합은 숙기가 빠르고 130g의 대과종으로 경도가 우수하고 TYLCV, TSWN, N에 복합내병충성을 가지고 있다. 세 조합 모두 포엽성이 뛰어나서 모래 바람이나 강광에 대한 피해를 줄일 수 있는 장점이 있다. 또한 인도법인에서 시교 종자를 소량 생산하여 현지 농가에서 1차로 농가 적응성 검정을 마쳤고 2차로 확대 농가 시험 계획중에 있다.

표 77. 선발된 중동용 토마토 주요 특성

품종명	숙기	초세	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색	경도 (kgf/mm ²)	내병성
769	중조	강	118	장동 (1.25)	U	우수	1.67	ToMV.Ty
815	#	중강	125	장장동 (1.38)	#	보통	1.50	ToMV.Ty.N
824	#	#	130	장동 (1.32)	#	양호	1.73	ToMV.Ty.TS, N
Xico	조	중	100	장동형 (1.31)	#	#	1.67	V.F1.2.BSK.N
6189	중조	#	100	장동 (1.18)	#	#	1.66	-
Assila	중	중강	120	장장동 (1.31)	#	양호*	1.63	Ty.N

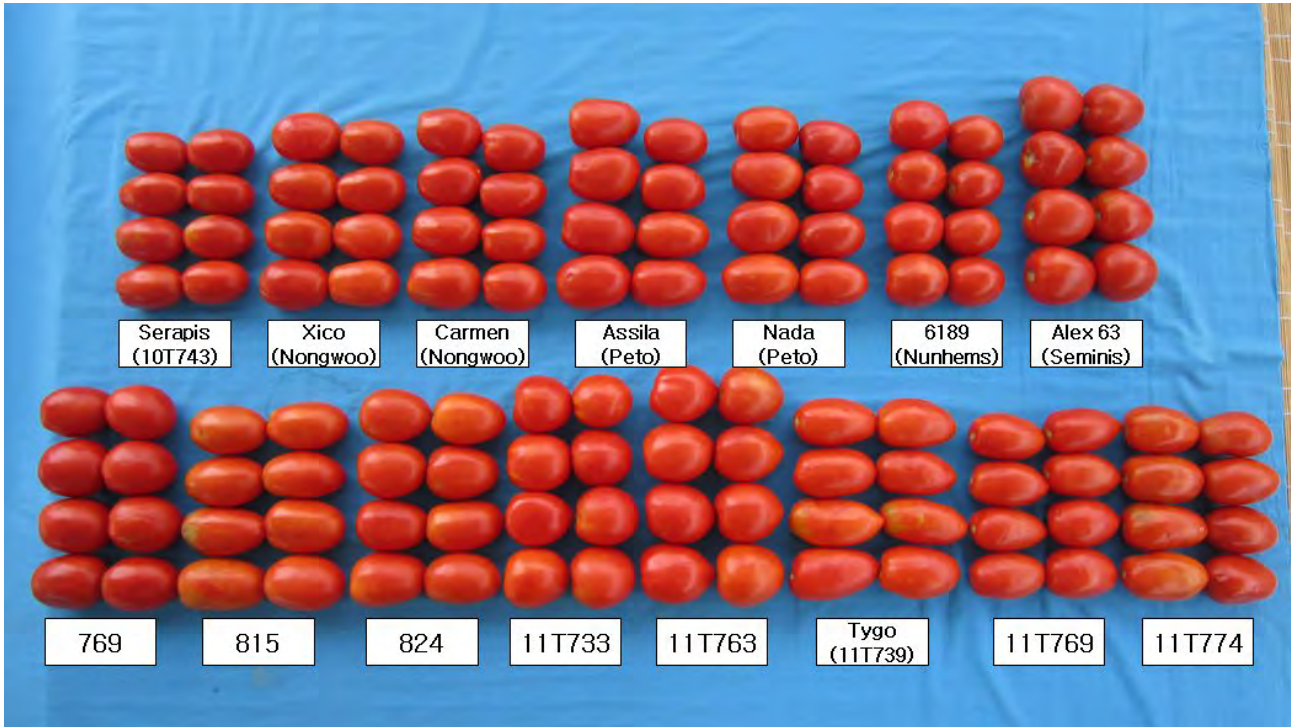


그림 33. 선발조합의 과형비교

(마) 인도용 토마토

인도용 토마토는 인도 현지법인 연구소에서 시험하여 선발하였다. 작형을 건기와 우기로 구분하여 선발시험을 하였으며, 건기에는 내서성과 TYLCV 내병성, 우기에는 과품질과 내습성 위주로 시험을 실시하였다. 5차년도에는 건기용 TYLCV 내병계 조합을 선발하였다. 선발조합 1194는 초세가 강하고 TYLCV에 대한 내병성을 가지고 있고 내서성이 강하다. 또한 착색이 우수한 장점을 가지고 있다(그림 34). 평균과중이 74g으로 대비종인 Abhinav에 과가 크고 중후기까지 과비대가 양호한 특징을 가지고 있다. 이 품종은 인도의 마하스트라주 건기에 농가 적응성 검정을 할 계획이다.

표 78. 선발된 인도용 토마토 특성

품종명	숙기	초세	과중 (g)	과형 (지수)	어깨색	착색 *	경도	내병성	주당수량(g) (지수)
1194	중만	강	74	장동 (1.2)	U	4	중강	ToMV.Ty.V F1.F2	5120 (103)
Omnia	중	중강	79	" (1.2)	"	"	중	ToMV.Ty.V. F1.F2.Fr	5330 (107)
Ajitesh	중만	강	72	" (1.2)	"	"	"	"	4920 (99)
Abhinav	"	"	73	" (1.2)	"	3	중강	Ty	4950 (100)

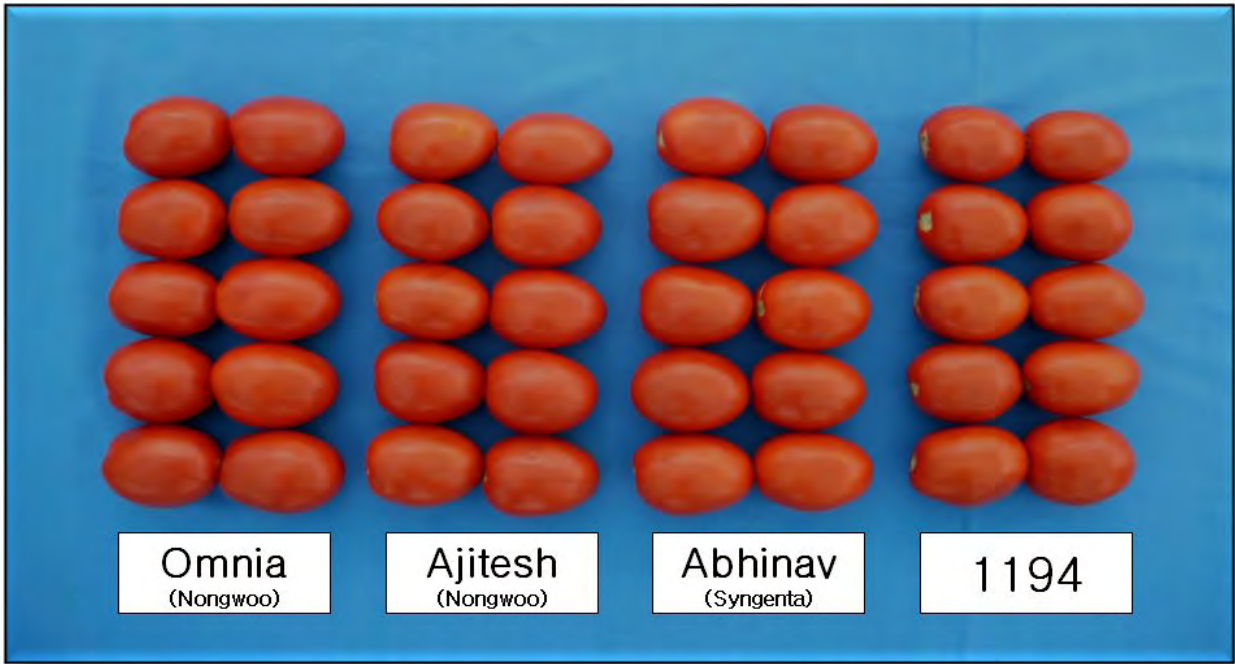


그림34. 선발된 인도용 토마토의 과형 비교

3. 생산력 검정

생산력 검정은 선발된 조합 중 유망한 조합을 선별한 다음 제웅과 응성불임조합으로 구분하여 채종시험을 진행하였다. 생산력 시험은 농우의 국내분장, 농우의 중국, 인도, 인도네시아 연구소에서 실시되었다(표 44, 그림 35).

가. 생산력 시험

표 44. 주요 선발조합의 모계 특성과 생산량 비교

구 분	조합명	조합 구분	모 계				시험지	과당 종자 (립)	주당 생산량 (g)	10a당 예상량 (kg)	비 고
			생장형	과형	과중 (g)	과색					
국내완숙	09T206	GMS	무한	원형	120	Pink	국내	110	5.2	12.4	
국내미니	10T524	제웅	"	"	21	Red	인도네시아	45	4.2	10.0	
	10T544	GMS	유한	장동형	27	"	국내	39	6.5	15.6	
대목	09T021	제웅	무한	원형	60	"	인도네시아	67	5.7	13.6	
중국용	09T623	"	유한	"	180	"	국내	105	6.3	15.1	
	09T641	"	"	"	180	"	"	105	6.3	15.1	
인도용	08T735	"	"	장동형	110	"	인도	55	4.7	11.2	
인도네시아용	09T946	"	"	"	80	"	국내	50	4.2	10.0	

- 주) 1. 무한생장형은 1줄기, 유한생장형은 2 - 3줄기 재배 기준
 2. 무한생장형의 대과종은 5화방 기준, 중과종과 소과종은 6화방 교배 기준
 3. 10a당 예상 생산량은 평당 8주 정식 기준임.



그림 35. 생산력 검정 시험(초기 과 비대 모습, 농우 인도네시아 연구소)

나. 제웅생산과 응성불임(GMS)생산 비교시험

응성불임(GMS)성을 이용한 채종시험을 위하여 응성불임이 도입되어 선발된 조합 중에서 원예적 형질이 우수한 3조합 09T230, 09T528, 08T420을 이용하여 비교 시험을 진행하였다(표 45, 그림 36). 제웅생산은 3조합의 MS인자 도입 전의 육성 계통을 사용하여 생산량을 비교한 결과 GMS 생산 시험구에서 3조합 모두 주당 생산량이 증가하였으나 대과종보다는 소과종에서 생산량의 현저한 차이를 보였다. 특히 미니토마토에서 생산량의 차이가 많았던 주된 원인은 제웅 교배시 꽃이 작아 제웅이 힘들고 자방이나 주두에 상처 또는 물리적 자극으로 인하여 수분, 수정이 원활하지 못하여 중과종과 대과종 조합보다 차이가 큰 것으로 풀이되었다.

표 45. 제웅생산과 응성불임(GMS)생산 비교시험

구 분	조합명	제웅 생산(A)		GMS 생산(B)		B/A (%)
		주당 생산량 (g)	g당 종자 (립)	주당 생산량 (g)	g당 종자 (립)	
국내완숙	09T230	4.6	225	5.5	228	119
인도네시아용	08T420	4.7	310	6.3	301	134
국내미니	09T528	5.2	398	8.7	406	167



그림 36. GMS 조합의 초기 교배 모습(농우 북경연구소)

4. 농가 적응성 시험 및 신제품 출원

가. 국내 및 해외용 토마토 농가실증시험 및 신제품 등록

F1 성능검정과 조합선발 시험에서 선발된 조합은 해당되는 국가에서 현지 적응성 검정 및 시교 사업을 진행하였다. 국내 완숙토마토 10개의 조합, 대목토마토 2조합, 미니토마토 18조합이 국내와 중국에서 시험사업이 진행되었고, 중국용 하우스 무한생장용과 노지용 유한생장용 토마토 12조합, 중동용 노지용 유한생장형 토마토 10개 조합은 중국, 서남아, 중동, 중남미 지역에서 농가 적응성 검정 및 시교사업을 진행하였고, 인도 노지용 토마토 6조합은 인도지역에서, 인도네시아용 노지 토마토 7조합은 동남아시아 등지에서 시험을 진행하였다(표 79, 80, 81, 82, 83, 84). 시교 사업 진행은 농우바이오에서 거래하고 있는 해외 거래처를 중심으로 농가를 섭외하였고, 현지 연구소가 있는 인도, 인도네시아 지역은 해당 법인의 거래처, 딜러, 관리 농가를 통하여 시교 사업을 진행하였다.

(1) 국내용 완숙토마토

선발된 조합중 09T230은 춘천, 경기, 경남 등 지역에서 농가실증시험을 실시하였다(그림 37). 농가적응성 시험 결과 잎곰팡이(Cf9)에 내병성을 가지면서 고구형의 대과종으로 저장성이 우수하고 수량성이 높다는 평을 받아 “하드랑”으로 2010년 7월 생산수입판매신고(02-0005-2010-37)를 완료하여 상업화 하였다.

표 79. 국내 완숙토마토 농가 실증시험

구분	조합명	조합 구분	숙기	초세	과중	착색	내병성	시험진행 상황
일반계	09T206	GMS	중조	중강	230	홍	ToMV.V.F1.F2.J3.N.Cf9	탈락
	09T230	"	"	강	235	"	"	상업화 '하드랑'
TYLCV 내병계	10T217	제웅	조	중강	225	농홍	"	탈락
	11T3152	제웅	중조	중강	235	홍	ToMV.V.F1.F2.J3.N.Cf9	탈락
	10T251	GMS	중조	"	215	홍	ToMV.TYLCV. F1.F2.J3.N.Cf9	상업화 '티와이 알토랑'
	10T259	"	조	강	225	농홍	ToMV.TYLCV.TSWV. V.F1.F2.J3.N.Cf9	시험중
	10T262	제웅	중조	중강	230	홍	"	시험중
	11T230	GMS	중조	중강	230	홍	ToMV.TYLCV. F1.F2.J3.N.Cf9	시험중
	11T237	"	조	중강	225	농홍	ToMV.TYLCV.TSWV. V.F1.F2.J3.N.Cf9	탈락
	12T220	"	중조	강	235	홍	ToMV.TYLCV.TSWV. V.F1.F2.J3.N.Cf9	시험중



그림 37. 하드랑(230)의 농가실증시험 모습(좌 : 부산, 우 : 춘천 농가)

TYLCV 내병성인 10T251, 10T259는 조합은 2010년 8월에 경남 김해지역에 공시하여 1차적으로 평가를 받은 결과 TYLCV에 대한 내병성이 인정되고 초세가 강해 재배가 안정적이고 착과와 과 비대가 무난하면서 경도가 강하다는 평을 받았다(그림 38).

특히 10T251(티와이알토랑)은 2011년과 2012년 2년에 걸쳐 농가 적응성 시험을 실시한 결과 대비종들과 비교할 때 대부분 무난하다는 평가를 받았다. 경남 김해, 전남 광주, 대전 등지에서 적응성 시험을 실시하였다(그림 39). 남부지역의 억제작형은 TYLCV의 발생이 심한 경향이 있는데 “티와이알토랑”은 TYLCV에 대한 내병성이 인정되어 바이러스 피해가 없었다. 초세가 안정되고 착과와 과형이 정연하여 상품성이 좋고 경도가 강하여 수송성이 뛰어나다는 평가를 받았다. 2012년 3월 “티와이알토랑”으로 생산판매신고(02-0005-2012-6)를 완료 하였으며 현재 품종보호 출원 중에 있다(그림40).



그림 38. 국내완숙토마토 TYLCV 내병계 조합 농가실증시험 모습(좌 : 251, 우 : 259)



경남 김해 칠산 김상겸(정식 8. 27, 조사 12. 1)



전남 담양 진상금 10T251 품종 설명회(12. 1)

그림 39. “티와이알토랑(10T251)” 농가적응성 시험 및 품종 설명회 모습

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 박수진 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 ☎ 130-0116 경기도 안양시 만안구 안양로 184

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2012. 2.13	품종보호 출원번호: 출원 2012 - 121
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 품 명: 토마토
 품종 명칭: 티와이알토랑
 출 원 인: 농업회사법인 (주)농우바이오
 주 소: 경기도 수원시 영통구 중부대로368번길 8-12

2012년02월13일


국립종자원 



그림 40. “티와이알토랑(10T251)” 품종보호출원 및 포장재 모습

(2) 미니토마토

국내 미니토마토는 원형과 대추형으로 구분하여 시장을 개발하고 있다.

원형계 3조합 중 10T507과 10T524는 국내시장에, 저장성이 매우 우수한 09T511은 해외시장을 겨냥하여 개발 하였다. 10T507과 10T524는 농가실증시험을 진행하였으며 특히 10T507 조합은 춘천, 부여, 예산 등지에서 농가 적응성 시험 결과 대비종에 비하여 착과 및 과 비대가 우수하고 수량성이 높을 뿐만 아니라 상품성이 좋다는 평을 받아 2012년 12월에 생산수입판매 신고를 하고 품종보호출원(2012-596) 중에 있다(그림 42, 43). 09T511은 장거리 수송에 알맞은 LSL형의 원형계 토마토로 중국, 중동 등의 지역에 적합할 것으로 판단되어 해외 시험에 치중하여 진행 중에 있으며 “Petra”로 국내에 2011년 4월 생산수입판매 신고(02-0005-2011-19)를 실시하였다(그림 45). TYLCV 내병계 조합 11T3659와 11T3662는 TYCV가 발병이 되는 7월에 부여, 전남, 경남 등지에서 내병성 검정과 농가 적응성 검정을 일차로 진행하였고, 금년도에 확대 시교 사업을 진행중에 있다.

TYLCV 내병계 대추형 10T544 조합은 2011년 춘계와 주계에 대추형 미니토마토가 많이 재배되는 충남 부여, 전남 광주, 보성 등지에서 시험을 실시하였다. 시험 결과 TYLCV에 대한 내병성이 인정되어 기존 재배 품종인 미니찰, 베타티니 등과 비교하여 바이러스 발생이 없었다. 바이러스 내병성과 착과, 과비대성, 원예적 형질 등이 우수하다는 평을 받아 2012년 3월 “티티찰” 토마토로 생산판매신고(02-0005-2012-7)를 하였으며 현재 품종보호 출원 중에 있다(그림 42, 44). 또한 11T3675, 11T3680 조합 역시 전남, 부여, 경남 등지에서 1차로 TYLCV가 발병되는 7월지역에 내병성 검정과 농가 적응성 검정을 마쳤고, 금년도에 폭넓게 확대 시교 사업중에 있다.

09T528 조합은 고식미계의 대추형 오렌지색 토마토로 국내시장 뿐만 아니라 해외시장에서도 상업화를 위해 폭넓게 적응성을 검정하고 있다. 이 조합은 “골드미니찰” 토마토로 국내에서 2011년 4월 생산수입판매(02-0005-2011-17)를 실시하고, 현재 품종보호출원(출원2011-288)중에 있다(그림 41). 또한 국내 뿐만 아니라 중국시장에서도 개발 중이며, 미니토마토가 재배되는 주단지권에 폭 넓게 적응성을 검정 중에 있다.

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이
 통지권 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 박수진 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 430-016 경기도 안양시 만안구 안양로 184

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2011. 4. 6	품종보호 출원번호: 출원 2011 - 288
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 물 명: 토마토
 품종 명칭: 골드미니찰
 출 원 인: 농업회사법인 (주)농우바이오
 주 소: 경기도 수원시 영통구 중부대로368번길 8-12

2011년04월06일


국립종자원 



그림 41. 골드미니찰(09T528) 품종보호출원 및 중국연구소 검정 시험

표80. 미니토마토 농가 실증시험

구분	과형	조합명	조합구분	과색	초세	당도	착색	내병성	시험진행 상황
일반계	원형	09T511	GMS	Red	중	7.7	양호	ToMV.V.F1.F2.Cf9	상업화 'Petra'
		10T507	제웅	"	중조	7.6	우수	ToMV.F1.N.Cf9	상업화 '레드광'
		10T524	"	"	조	7.4	"	"	탈락
	대추형	10T542	GMS	"	중조	9.8	"	ToMV.F1.N.Cf9	확대 시교중
		10T550	제웅	"	중	9.7	"	ToMV.Cf9	탈락
		11T555	GMS	PINK	"	8.7	"	ToMV.N.Cf9	시험중
		11T558	"	"	"	9.3	양호	ToMV.N.Cf9	시험중
		12T3723	"	"	중강	8.5	"	ToMV.N.Cf9	시험중
		12T3725	"	"	중	8.7	"	ToMV.N.Cf9	시험중
		09T528	"	YELLOW	"	9.0	우수	ToMV.N.Cf9	상업화 '골드미니칼'
TYLCV 내병계	원형	10T506	제웅	RED	"	6.5	양호	ToMV.Ty.TSN.Cf9	탈락
		11T531	"	"	"	6.4	"	ToMV.Ty.TS.N.Cf9	탈락
		11T3659	"	"	조	6.9	"	ToMV.Ty.TS.N.Cf9	시험중
		11T3662	"	"	중조	6.7	"	"	시험중
	대추형	10T544	GMS	"	중	9.0	우수	"	상업화 '티티칼'
		10T569	"	"	중조	9.0	양	"	탈락
		11T3675	"	"	중	8.9	보통	"	시교중
		11T3680	"	"	"	9.0	양	ToMV.Ty.TS.Cf9	확대 시교중

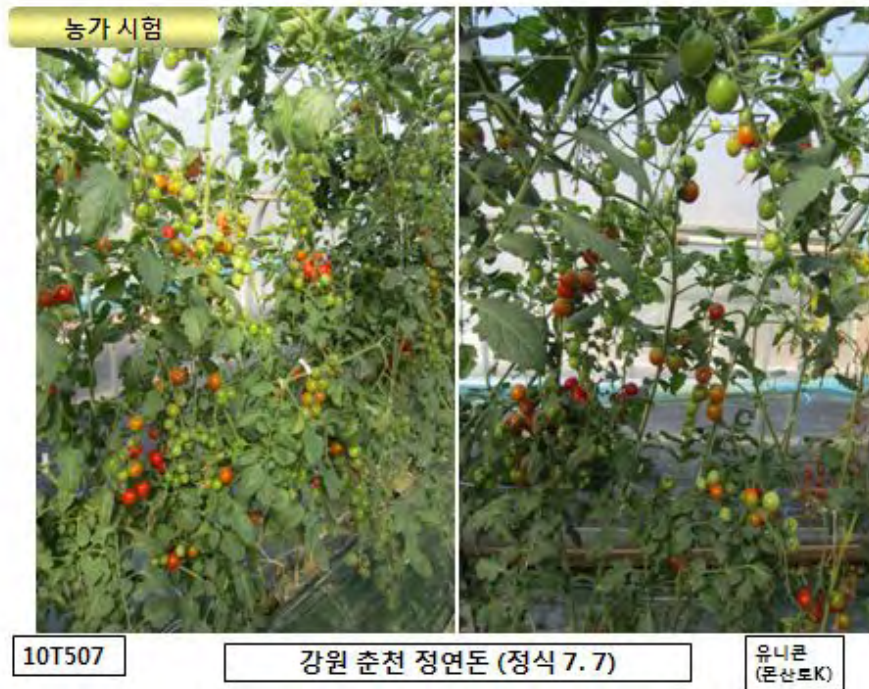


그림 42. "레드광(10T507)과 "티티찰(10T544)"토마토 농가 적응성 시험

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.	
담당자: 박수진 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116	
인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr	
430-016	경기도 안양시 만안구 안양로 184

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2012.11.22	품종보호 출원번호: 출원 2012 - 596
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 품 명: 토마토
 품종 명칭: 레드광
 출 원 인: 농업회사법인 (주)농우바이오
 주 소: 경기도 수원시 영통구 중부대로368번길 8-12

2012년11월22일


국립종자원 

그림 43. 레드광(10T507) 품종보호출원번호 통지서

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.	
담당자: 박수진 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116	
인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr	
430-016	경기도 안양시 만안구 안양로 184

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2012. 2.13	품종보호 출원번호: 출원 2012 - 122
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 품 명: 토마토
 품종 명칭: 티티찰
 출 원 인: 농업회사법인 (주)농우바이오
 주 소: 경기도 수원시 영통구 중부대로368번길 8-12

2012년02월13일


국립종자원 



그림 44. 티티찰(10T544) 품종보호출원번호 통지서 및 포장재

(3) 대목토마토

선발된 조합중 09T021, 09T025 2조합을 육묘장을 통하여 실증시험을 실시하였다. 충남, 춘천, 광주권의 육묘장을 통하여 시험을 실시한 결과 09T021은 대비종인 일산품종보다도 특히 고온기에 배축장이 짧고 굵어 접목용이성이 뛰어나고 활착율도 높을 뿐만 아니라 후기까지도 초세가 유지되어 과 상품성에서도 우수하다는 평을 받았다(그림 46). 이 조합은 국내시장 개발을 위하여 2011년 4월 “올라운드”로 생산수입판매(02-0005-2011-18)를 완료하여 상업화 하였다(그림 47).



그림 46. 선발된 대목토마토 조합의 생육초기 모습(전남 광주 육묘장)

[별지 제21호 서식]

품종 생산·수입판매 신고증명서

신고번호 : 02-0005-2011-18

성명	정종동	생년월일	1961년 02월 20일 (외국인은 면적)
신성인 (대표자)	주소	경기도 수원시 팔달구 풍무대로555번길 8-12 (우)1443-370	
법인명칭	농업회사법인 (주)농우하이오	전화번호	031-218-4321
성명	최동찬 외 1명	생년월일	1963년 09월 17일 (외국인은 면적)
육성자	주소	경기 의정부 가남면 양화로 113-141 농업회사법인 (주)농우하이오 육묘업소 전화번호 031-883-7055	
품종이 속하는 과물의 과명 및 명칭	Solomon Superstar(소) 토마토		
육종의 명칭	올라운드 (All Round)		

종자산업법 제 138조 제3항 및 품종시행규칙 제111조 제2항의 규정에 의하여 품종의 생산·수입판매신고필증을 교부합니다.

2011년 04월 05일

국립종자원

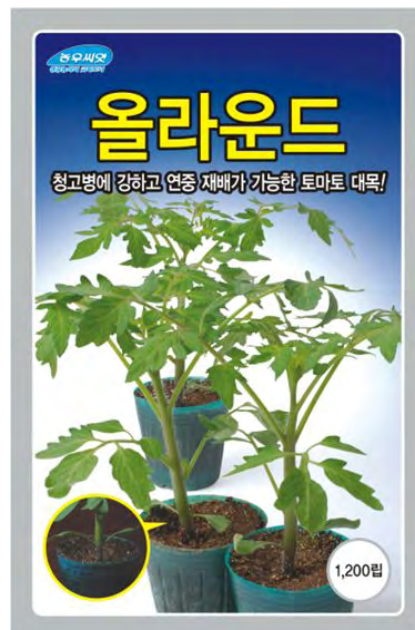


그림 47. 올라운드(09T021) 생산수입판매신고증명서 및 포장재

나. 해외 적응성시험 및 신품종 등록

(1) 중국용 하우스 무한생장형, 노지용 유한생장형 Beef 토마토

중국용 토마토 하우스 무한생장형과 노지용 유한생장형 토마토는 중국, 중동, 터키, 중남미 등지에서 폭 넓게 재배 시험이 되었다. 특히 중국은 북경세농 연구소에서 1차로 성능검정을 진행하여 선발된 조합을 가지고 현지 농가 적응성 시험을 하였고 그 외에 지역은 해당 국가의 거래처에서 농가를 선발하여 시험 사업을 진행하였다.

하우스 무한생장형 토마토 10T346은 중국, 터키에서 2년간 시교 사업을 통하여 TYLCV에 대한 내병성이 강하고 초세가 안정되고, 과가 정연하며 경도가 강하고 착색이 우수한 장점이 있어 현지 국가에서 선발되어 확대 시교사업을 진행 중에 있다(그림 48). 그 외에 조합들은 열과, 과 정연성이 부족하여 탈락되었다.

노지 유한생장형 토마토는 중국, 중남미, 러시아 등지에서 시험사업을 진행하였다. 09T641은 이집트와 호주 10T609는 브라질, 10T628은 이란·러시아, 11T608은 알제리·아르헨티나 지역에서 1차 선발 되어 확대 시교 사업 중에 있다(그림 49). 이들 국가에서의 품종 요구도는 TYLCV, N에 대한 강한 내병성과 내서성, 과경도 등이 중요한데 이 조합들이 일차적으로 이러한 요구도를 갖추고 있어 현지 국가에서 선발되어 좋은 반응을 보이고 있다.

표81. 중국용 하우스 무한생장용과 노지용 유한생장형 토마토 농가 실증 시험

조합명	조합 구분	생장형	숙기	초세	과중 (g)	경도	내병성	시험지역	시험 진행 상황
10T309	제응	무한	중	강	185	강	ToMV.TYLCV.V .F1,2.Fr.Cf9.N	유럽,중남미	탈락
10T329	"	"	중조	"	165	중강	ToMV.TYLCV.V .F1,2.Cf9	유럽,중남미 중국	탈락
10T346	"	"	"	"	170	"	ToMV.TYLCV.V .F1,2.Cf9.N	"	터키, 중국 확대시험 중
11T321	"	"	중	강	245	중강	ToMV.V.F1,2. Fr.Cf9	"	시험중
11T326	"	"	조	중강	170	강	ToMV.Ty.F1,2. Cf9	"	탈락
12T312	"	"	중조	강	210	"	ToMV.Ty.F3. N	"	시험중
09T623	"	유한	중	중강	170	"	ToMV.TYLCV.V .F1,2.N	중동,중남미 중국	탈락
09T641	"	"	"	강	150	"	ToMV.TYLCV.V .F1,2,3.N	"	이집트, 호주 확대시험 중
10T609	"	"	"	"	180	"	ToMV.TYLCV.V .N	"	브라질 확대시험 중
10T628	"	"	"	중강	170	"	ToMV.TYLCV.V .Cf9.N	"	이란, 러시아 확대시험중
11T608	"	"	중	강	240	"	ToMV.TYLCV	"	알제리, 아르헨티나 확대시험중
11T609	"	"	중조	중강	150	"	ToMV.TYLCV. F2.N	"	시험중

ID Beef



터키 Kumluca, Adena 지역
Adela(10T329),10T346 작황조사
(2.25정식)

그림 48. 터키 10T329,10T346 농가 시험



10T609
브라질 Agristar 작황조사 (10T609 선발)
Siluet
(Syngenta)

그림 49. 브라질 10T609 현지 회사 시범포 시험

(2) 중동용 노지 유한생장형 Saladette 토마토

중동용 노지 유한생장형 Saladette 토마토는 중동국가, 터키, 중남미, 서남아 등지에서 시험을 하였다. 이 지역은 노지에서 무지주 재배가 대부분이고, 특히 중동지역은 모래 바람이 심하게 불고 한낮의 일사량이 많아 강광 조건에서의 내서성이 강해야 되고 절간이 짧고 포엽성이 우수해야 되는 특징이 있다. 또한 TYLCV, N에 대한 내병성이 있어야 하고, 평균 과중이 110g 이상에 경도가 강한 품종이 요구된다. 이 지역에 나가서 선발된 조합들은 1차적으로 TYLCV에 대한 내병성을 갖췄고 평균 과중이 110g 이상이 되는 조합들을 연구소에서 선발하여 현지에서 1차로 농가 적응성 검정을 하였다. 그 중 11T733, 11T765, 12T769는 중동지역에서 선발되어 확대 시교 사업중에 있으며, 11T739 조합은 브라질에서 선발되어 확대 시교 사업중에 있다(그림 51). 10T743 조합은 90g의 중과중으로 TYLCV, TSWV, BSK가 문제가 되는 파키스탄에서 선발되어 확대시교 사업중에 있다(표 82).

표 82. 중동용 토마토 농가 실증 시험

조합명	조합 구분	생장형	숙기	초세	과형	과중 (g)	착색	경도	내병성	시험 진행 상황
09T730	제웅	유한	중	강	원형	91	우수	강	ToMV.TYLCV. TSWV.V.F1,2	탈락
09T732	"	"	"	중강	"	88	"	"	"	"
10T743	"	"	"	강	장동	90	"	중강	ToMV.TYLCV.V TSWV.F1,2.BSK.N	파키스탄 확대시험 중
11T733	"	"	중만	중강	단타원	110	"	"	ToMV.TYLCV. V.F1,2	중동,중남미 확대시험
11T765	"	"	중	강	장동	112	"	"	TYLCV.F1,2	"
11T739	"	"	중	중강	세장	127	보통	강	ToMV.TYLCV. TSWV	"
11T774	"	"	조	중	세장	120	"	"	ToMV.TYLCV	탈락
12T769	"	"	중조	강	장동	118	우수	강	ToMV.TYLCV	시험중
12T815	"	"	"	중강	장장동	125	보통	강	ToMV.TYLCV.N	"
12T824	"	"	"	"	장동	130	양호	강+	ToMV.TYLCV. TSWV.N	"



10T743 이란 현지 시험 결과

그림 50. 10T743 적응성 시험



브라질 Orizona Tygo(11T739) 작황조사 - 선발 확대시험

그림 51. 브라질 11T765,763,739,774 농가 포장 적응성 검정 시험

(3) 인도용 토마토

농우 인도법인연구소에서는 인도용토마토 선발시험에 치중하여 사업을 진행하였다. 인도는 건기와 우기로 나누어 품종군을 구분하여 볼 수 있는데 건기에는 내서성과 TYLCV 내병성 품종, 주 재배기인 우기에는 고품질과 다수확계, Early blight와 TYLCV 내병성 품종이 요구되고 있다. 선발된 조합과 신규조합은 공시되어 성능검정을 실시하였다(표 83).

인도 건기용 조합으로 선발된 08T735 조합은 2009년과 2010년 2년에 걸쳐 농가실증시험이 진행되었다. 대비종과 비교하여 내서성 뿐만 아니라 TYLCV의 내병성도 떨어지지 않고 과 품질도 우수한 면을 보여 인도 현지에서 “Ajitesh”로 명명하여 품종화 하였으며, 국내에서도 “아지테시”로 2011년 4월 생산판매행고(02-0005-2011-16)를 하였다(그림 53, 54). 또한 12T1194조합도 현재 인도의 MS주에서 시교 사업중에 있다.

북인도는 해발이 높고 토마토 재배기간이 길기 때문에 유한성장형보다는 무한성장형 토마토가 많이 재배되고 있어 무한성장형인 5103과 5104 조합을 가지고 적응성 시험을 주로 하고 있다(표 34, 그림 52). 대비종인 Heem Sohna(Syngenta)보다 과 비대가 우수하여 수량성이 높고 수확 후기에 과가 작아지지 않아 상품화율이 좋은 것이 장점이라는 평이다.

1318, 1320은 청고병 내병계 조합으로 청고병과 TYLCV가 문제시 되는 지역에서 2012년에 적응성 시험이 진행되고 있으며, 2013년 2년차 시험 결과에 따라 상업화를 결정할 예정이다.

표 83. 인도용 토마토 적응성 시험

조합명	조합 구분	성장형	숙기	초세	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도	내병성	시험 진행 상황
08T735	제응	유한	중만	강	장동 (1.2)	74	우수	우수	ToMV.TYLCV.V. F1,2,Fr	“Ajitesh”상업화
11T5103	”	무한	중	강	편원 (0.94)	132	양	우수	ToMV.TYLCV. F1,2,N	북인도 2년차 시험중
11T5104	”	”	”	”	편원 (0.91)	128	우수	”	ToMV.TYLCV. F1,2,N	”
11T1320	”	유한	중조	중	장동 (1.18)	74	”	강	BW.ToMV.TYLCV. V.F1,F2,Fr	인도 청고병 문제지역
11T1318	”	”	중	강	장동 (1.17)	72	”	중강	BW,ToMV.TYLCV. N	”
12T1194	GMS	”	중만	강	장동	74	양호	중강	ToMV.TYLCV. F1,2	인도MS주 시험사업



그림 52. 선발된 조합의 착과상태(좌 : 5103, 우 : 5104)



Ajitesh 착과상태



현지 재배농민



과형비교(좌 : Ajitesh, 중앙 : Omnia(농우), 우 : 대비종)

그림 53. 품종화된 Ajitesh의 재배상태 및 과형비교

272

No.QCC/Seed/142/12/OW /QC-7/8
Commissionerate of Agriculture
Maharashtra State,
Pune-411 001 Date : 13.05.2010

To,

M/S. Nongwoo Seed India Pvt Ltd
C/o Kiran Kandge,A 1 - Kapil Malhar Bungalows,
Baner Rd, Baner, Pune-411 045`

Subject :- Licence under Seeds (Control) Order, 1983.

Reference: Your letter No.Nil ,dated 30/1 /2010

2. Variety Scouting Committee Meeting Dt. 28/4/10

With reference to the subject, the Licence bearing No.470 dated 13.05.2010 is hereby granted for sale of self produced seeds. Which is valid upto 12.05.2013. The detail information of the company is as under


- 1) Name of the company :M/S. Nongwoo Seed India Pvt Ltd
- 2) Address :C/o Kiran Kandge,A 1 - Kapil Malhar Bungalows,
Baner Rd, Baner, Pune-411 045`
- 3) Seed Licence valid Period : Up to / 05 / 2013.
- 4) Information regarding seeds to be handled / produced by company is as below :-

Sr.No.	Name of crop	Notified varieties	Research varieties	No.of varieties
1	Hot Papper	Nil	Naval,Haripriya,Agrima,Flame, Ajita, Dubby King	6
2	Cauliflower	Nil	White Pearl, Shrawani	2
3	Cabbage	Nil	Ojas	1
4	Cucumber	Nil	Sheetal,Praise	2
5	Tomato	Nil	Omnia,Ajitesh	2
6	Carrot	Nil	New Kuroda	1

5. Name of Responsible person : Shri.Diwakar Kalhapure ,
and address : Regional Manager Trial , Age 36Years
C/o Kiran Kandge,A 1 - Kapil Malhar Bungalows,
Baner Rd, Baner, Pune-411 045
Mob-/Ph.No. 020-27207060, 9975555991
Email- diwarkarkalhapure@noogwooseedindia.com

The above seed should be marketed through your distributor . If the Licence to carry on the business of a dealer in seeds has already been granted by Agriculture Development Officer, Zilla Parishad in favour of M/S. Nongwoo Seed India Pvt Ltd , C/o Kiran Kandge,A 1 - Kapil Malhar Bungalows, Baner Rd, Baner, Pune-411 045` should be got cancelled by him.

Encl :- Copy of Licence


Licensing Authority
Commissionerate of Agriculture,
Maharashtra State, Pune-1

Copy forwarded for information to:-

- 1) Joint Director of Agriculture (All)
- 2) Dist.Superintending Agriculture Officer, (All) ,
- 3) Agriculture Development Officer, Z.P.(All) for information and necessary action.
- 4) Technical Officer (Seeds) C.A.M.S.Pune-1

그림 54. 인도 Maharashtra주에서 상업화된 "Ajitesh" 판매증명서

(4) 인도네시아용 청고병 내병계 토마토

인도네시아는 고도의 청고병과 TYLCV 내병성, 내서성, 내습성이 요구되는 지역이다. 인도네시아 토마토는 국내에서 1차로 선발된 조합 위주로 현지 농우 인도네시아연구소를 이용하여 적응성을 진행한 다음 우수 조합을 재 선발하여 농가 적응성 시험을 진행하였다. 최종적으로 무한성장형 3조합, 유한성장형 4조합을 선발하여 확대 농가 적응성 시험 중에 있다(그림 56, 57). 무한성장형 조합 중에서 08T420은 2009년과 2010년 2년에 걸쳐 시험한 결과 대비종에 비하여 TYLCV 내병성이 우수하고 후기 초세도 강하여 수량성이 우수하다는 현지 농가의 평을 받고 있어 인도네시아 현지에서 "Monalisa"로 명명하여 상업화 하였으며(그림 55, 그림 58), 국내에서는 2011년 4월 "Mania"(국내에서는 신젠타의 모나리자와 중복으로 마니아로 신청함)로 생산 수입판매신고(02-0005-2011-20)를 하였다.

표84. 인도네시아 토마토 적응성 시험

조합명	조합 구분	성장형	숙기	초세	과형 (지수)	과중 (g)	착색	경도	내병성	시험 진행 상황
08T906	제응	유한	중조	중강	원형 (0.9)	85	양	중강	BW.ToMV. TYLCV.F1.Fr	인도네시아. 방글라데시
08T946	"	"	조	강	장동 (1.2)	60	우수	중	BW.ToMV. TYLCV..V.Fr	"
09T905	"	"	중	"	장동 (1.2)	70	양	우수	BW.ToMV.V TYLCV.F1,2.Fr	"
09T917	"	"	조	중	장동 (1.2)	70	우수	강	"	"
08T412	GMS	무한	중	강	장동 (1.2)	98	양	강	BW.ToMV.TYLCV. TSWV.F	"
08T420	"	"	중조	"	장동 (1.2)	100	"	"	BW.ToMV.TYLCV. F.Fr	상업화 (생산수입판매)
12T403	"	"	중	강	장동	110	보통	강	BW.ToMV.TYLCV	인도네시아, 미얀마, 필리핀



08T420 착과상태

대비종 착과상태

과형비교

그림 55. 무한성장형 조합의 현지 재배농가 과형비교



그림 56. 유한생장형 조합의 현지 재배농가 과형비교



방글라데시 Comilla Vega(08T946), Dana(09T917) 작황조사-11.3 정식

그림 57. 선발조합의 착과상태와 과형비교

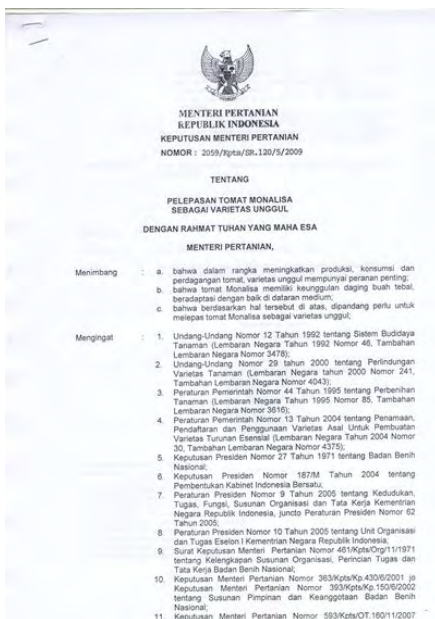


그림 58. 'Monalisa' 토마토의 인도네시아 품종등록증 및 종합상보

다. 신제품 등록 현황

5차년도 연구기간동안 총 9개의 품종을 등록하였다. 국내용 6품종, 해외용 3품종을 해당국가에 생산수입판매 신고 및 등록을 마쳤고 품종보호출원은 국내에 4건을 등록시켰다(표 85). 협약 당시 연구성과 목표를 신제품 등록을 7건을 목표로 정하였으나 2건을 초과하여 등록을 시켰다.

표 85. 신제품 등록 현황

구 분	조합명	품종명	등록년도	국내 품종 등록		목표 시장	비 고
				생산수입판매	품종보호출원		
국내 완숙	09T230	하드랑	2010	0		국내, 동유럽	국내 상업화
"	10T251	티와이 알토랑	2011	0	0	국내, 중국	"
국내 미니	10T544	티티찰	2011	0	0	국내	"
"	09T528	골드미니찰	2011	0	0	국내, 중국	"
"	10T507	레드팡	2012	0	0	국내	"
국내 대목	09T021	올라운드	2011	0		"	"
국내, 해외 미니	09T511	페트라	2011	0		국내, 중국, 중동, 유럽	확대 적응성 시험중
인도, 중동	08T735	아지테시	2010	0		인도, 중동	인도 상업화
인도네시아	08T420	모나리자 (국내 마니아)	2009	0		인도네시아	인도네시아 "Monalisa"로 상업화

제2절 토마토 신품종 육성을 위한 분자표지 개발

1. 내병성 분자표지 개발

가. 내병성 마커 개발: Cf-9(잎곰팡이)

잎곰팡이병은 *Cladosporium fulvum*에 의해 발생하는데 잎의 표면에 흰색 또는 담황색의 반점이 나타나고 진전되면 황갈색 병반으로 확대된다. 이에 대한 저항성 유전자는 Cf-1, 2, 4, 5, 9, 11, 19가 존재 하며 서로 다른 유전자원에 따라 분포되어있다. 그 중 Cf-9 gene은 *L.impinellifolium*라는 wild type 에서 가장 강한 저항성을 가지는 유전자이다. 또한 Cf-4 (*L. hirsutum*), Cf-9 (*L. pimpinellifolium*) R gene은 chromosome 1 short arm에 존재하면서 서로 간의 상동성이 매우 높으며 Hcr4/9(Homologues of *C. fulvum* resistance) gene family에 속해 있다 (그림 59). Genetics 167:459-470의 논문을 참고.

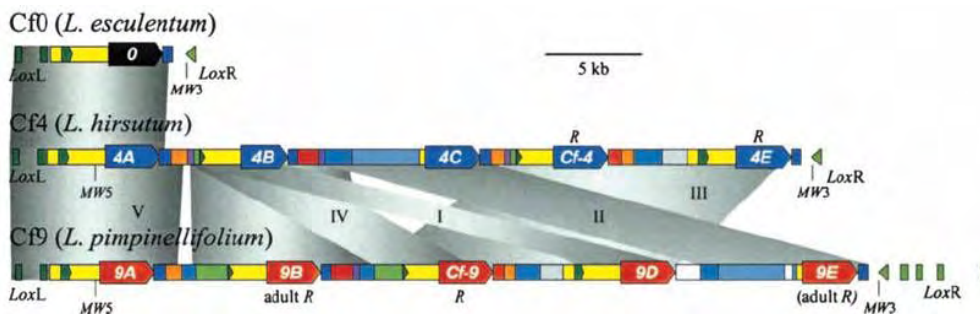


그림 59. Hcr4/9(Homologues of *C. fulvum* resistance) gene family.

따라서 Hcr4/9 cluster 부분의 genetic mapping을 조사하여 milk way라는 loci에서 CP46과 TG236 mapping marker를 이용하고자 하였다. 이들 mapping marker의 DNA sequencing data 중에서 차이점이 나는 region에서 PCR primer를 상당수 제작하였다.

DNA sample은 토마토티에서 받은 저항성 origin C line (*Lycopersicon esculentum* haplotype), Cf line(*Lycopersicon esculentum* haplotype Southern Cross)의 각 pink계와 mini계 2가지와 유럽계로부터 추출하였다. 각 계통은 비저항성 계통과 교배하여 F2 세대에서 저항성 (R), 비저항성(S), 저항성이면증폭되고 digestion 된 DNA sample을 3% agarose gel에 roading 하고 band의 polymorphic하면서 특이적인 marker를 screening하였다. 제한효소 *Hinf I*으로 절단 후 각각의 결과를 토대로 3% gel에서 genotyping하여 검정 결과를 확인 및 검증 할 수 있었다 (그림 60, 61).

먼저 C line pink계를 이용하여 확보한 CAPS 마커(*Hinf I*)가 R, H, S를 정확히 구별하였다. 최종목표는 한 마커로 여러 계통에 동시에 이용할 수 마커를 찾는 것이기에 이를 다른 line에 적용하였고 다른 line F2 집단에서도 비록 band의 구성은 다르나 각 line의 R, H, S를 구별할 수 있게 되었다.

2. 내병성 마커 개발: K(갈색근부병)

Corky root rot(CRR)으로 갈색 근부병 또는 갈색 뿌리 썩음병으로 일컬으며 *Pyrenochaeta lycopersici*이라는 곰팡이 균에 의해 토양을 통해 감염되는 병이다. CRR은 뿌리의 물과 양분의 흡수를 저해하며 총체적인 식물의 뿌리 시스템의 저하를 꾸준히 진행시킨다. 결과적으로 식물의 생장이 저해당하고 과실의 생산성 또한 줄어들게 되는 것이다. 토양에 의해 처음 감염 시 2-3개월 동안은 뚜렷한 증상을 보이지 않으면서 병이 천천히 진행된다. 초기에 감염된 뿌리는 괴저성의 병변이 전체 뿌리 시스템을 통해 번져가고 잔뿌리는 점점 썩어 없어지고 큰 뿌리는 굵어짐과 동시에 뿌리색이 어두워지면서 코르크질로 변하게 된다(그림 62).

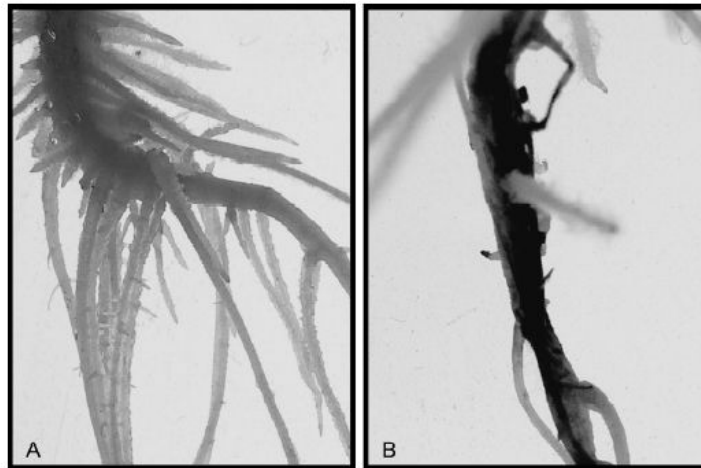


그림 62. Corky root rot symptoms on tomato root grown in hydroponic culture. A: Root infected with *P. lycopersici* 4 days post infection; B: Disease development is fast and the plant will not survive

CRR에 의한 감염은 일반적으로 식물을 죽이지는 않지만 과실의 생산량을 심각하게 줄어 들게 한다. 만약 감염된 토양을 그대로 방치시 CRR의 감염률이 높아질 뿐만 아니라 5-6년 이후엔 최대치가 되어 결과적으로 식물의 뿌리 손상을 초래하게 된다. CRR은 *py-1*이라는 열성 단 인자에 의해서 조절되는데(TAG. 97: 784-788, 1998) mapping data를 이용하여 *py-1* locus가 tomato chromosome 3에 위치하고 있는 것으로 동정되었으며 TG40과 CT31 RFLP 마커사이에 linkage되어져 있는 것을 확인하였다(그림 63). 따라서, TG40과 CT31 사이의 TG324 마커를 이용하여 K 마커를 확보하였다.

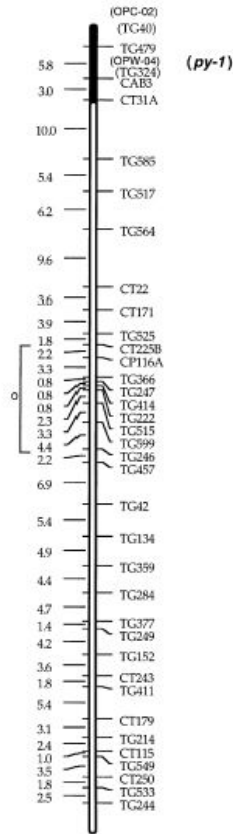


그림 63. Map of tomato chromosome 3 showing position of the *py-1* gene.

DNA sample은 토마토 팀에서 받은 저항성, 이병성 계통을 이용하였으며 이들의 tomato genomic DNA를 추출하고 추출된 DNA는 1.0% agarose gel을 이용하여 정량을 확인하였다. 확인된 DNA를 template로 하여 PCR product 증폭(그림 6)후 제한효소 *DraI*으로 절단 후 각각의 결과를 토대로 genotyping하여 검정 결과를 확인 및 검증 할 수 있었다(그림 7).

PCR cocktails

Template DNA	: 20ng
10x Buffer	: 1/10
dNTP	: 0.2mM
F/R primer	: 0.5mM
Polymerase	: 0.5unit
Total	: 20ul

PCR profile

94°C - 5min	-	1 cycle
94°C - 1min		
55°C - 1min	>	35 cycle
72°C - 2min		
72°C - 5min	-	1 cycle

그림 64. PCR 증폭 조건

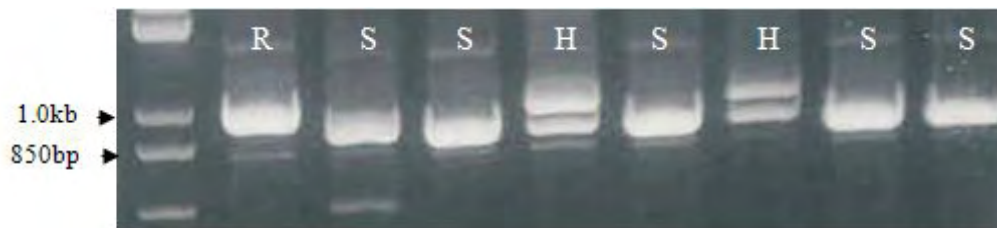


그림 65. 개발된 K 마커를 이용하여 증폭된 PCR product를 제한효소 *DraI*으로 절단한 후 2% agarose gel에 roading한 결과.

개발된 K 마커를 이용하여 각 계통의 R(CRR-저항), H(CRR-hetero), S(CRR-이병) 각각을 명확히 구별 가능하여 CRR 내성 형질을 구별 할 수 있게 되었다.

3. 내병성 마커 개발: F3(*Fusarium wilt race 3*-시들음병)

*Fusarium wilt*는 전국의 토마토 재배지역에서 발생하여 많은 피해를 주고 있는 *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici*의 토양전염성 곰팡이에 의해 감염되는 병이다. 병원균은 병든 식물체의 조직이나 토양 속에서 균사와 후막포자 상태로 월동하고 물로 이동되는 거리는 매우 짧고 주로 흙 입자에 의해 이동된다. 병원균은 주로 가는 뿌리나 상처를 통해 침입하는데 월동체인 후막포자는 기주가 없어도 토양 내에서 수 년간 생존하기 때문에 방제가 매우 어려운 병해이다. 병든 식물체는 생육이 억제되며 일반적으로 병진전이 다소 느리고, 아랫잎이 약간 누렇게 변하여 서서히 죽는다. 주로 곁뿌리가 나온 부분으로 병원균이 침입하여 도관부를 침해한다.

병원균은 토마토 품종에 대한 병원성에 따라 3가지의 생리형으로 구분되는데 우리나라에는 3종의 생리형(*Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* race1, 2, 3)이 모두 분포한다. 국내에서 시판 재배되는 토마토 품종은 race1 또는 race1과 race2에 대한 저항성을 가지고 있지만 전체 토마토 재배면적의 11.1% 면적에서 발생하는 race3에 의한 저항성이 없기 때문에 이에 대한 genetic 마커 개발이 필요하다.

Fusarium wilt race1에 대한 저항성 유전자인 *I*는 Bohn and Tucker group(1939)에 의해 tomato chromosome 11에 mapping되어졌고 *Fusarium wilt* race2에 대한 저항성 유전자인 *I-2*는 다른 7개의 비슷한 유전자의 cluster와 함께 Stall and Walter group(1965)에 의해 chromosome 11의 long arm에 mapping되어졌다. *Fusarium wilt* race3는 1982년에 Florida와 Australia에서 처음 발견되고 *L. pennellii* species의 PI414773과 LA716에서 isolation된 단일 저항 유전자인 *I-3*는 tomato chromosome 7의 long arm에 Got-2의 allozyme로 mapping되어졌다(그림 66).

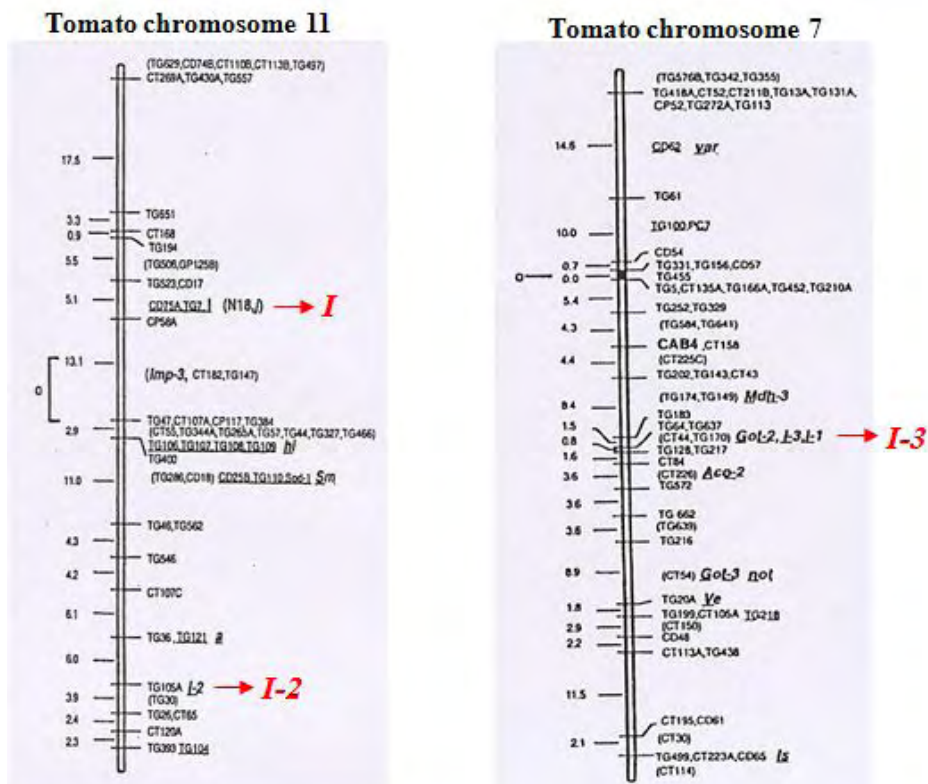


그림 66. Map of the *I*, *I-2*, *I-3* marker on chromosome 11,7.

Chromosome 7에 mapping 되어진 *I-3*와 관련된 마커 중 TG217 마커의 정보를 이용해 PCR 증폭한 후 토마토 팀에서 받은 저항성과 이병성 계통의 DNA sample의 sequence 비교를 통해 새로운 primer를 다시 제작하여 F3 마커를 개발하였다. 제작된 PCR primer로 상기 DNA sample을 증폭한 다음 각각 저항과 이병성 계통의 sequence 비교시 제한효소 *Hinf*I에 대한 nucleotide sequence의 차이를 확인하였다. 토마토 genomic DNA를 추출하고 추출된 DNA는 1.0% agarose gel을 이용하여 정량을 확인하였다. 확인된 DNA를 template로 하여 PCR product 증폭후 제한효소 *Hinf*I으로 절단 후 각각의 결과를 토대로 genotyping하여 검정 결과를 확인 및 검증 할 수 있었다(그림 67).

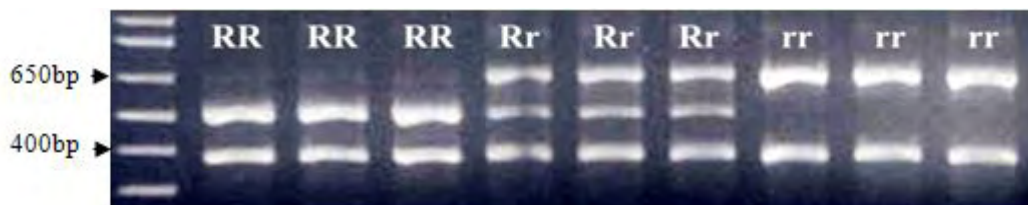


그림 67. 개발된 F3 마커를 이용하여 증폭된 PCR product를 제한효소 *Hinf*I으로 절단한 후 2% agarose gel에 roading한 결과.

F3 마커를 이용하여 저항과 이병 계통에서 RR(F3 저항), Rr(F3 hetero), rr(F3 이병) 을 구별하였다. 또한 이 마커의 병접종 data(그림 68)와 비교한 결과 일치하여 F3 마커로 토마토 시

들음병 내성 형질을 구별할 수 있게 되었다.



F3 이병 F3 저항
그림 68. F3 병검정 결과

4. 내병성 마커 개발: J3(근부위조)

뿌리썩음시들음병 혹은 근부위조병으로 황화되거나 시들음 증상이 나타나며, 특히 뿌리부패가 심하다 (그림 69). 근부위조병은 감염시 soil fumigation이 유일한 방제 대책으로 알려져 있으므로, 저항성 소재를 이용한 방제를 위하여 분자표지 개발이 절실히 요구된다. 근부위조병 저항성 유전자는 single dominant로서 Tm-2a와 연관되어져 있다.



그림 69. 육종연구소 하우스에서 재배중인 이병성 계통의 근부위조병증을 보이는 토마토 식물 사진. 식물체가 아래로부터 시들어 올라오는 모습과 유관속이 갈변되는 현상도 함께 보임.

염색체 9번의 Tm-2a와 가까운 분자표지를 스크린 하였으나 정확히 연관된 분자표지를 개발하지 못하였다. 먼저 Tm-2a 가깝게 개발된 분자표지는 계통 및 분리집단에 적용하였을 경우, 분자표지의 정확도가 낮아 현실적으로 사용하기 어려웠다. 우선 분자표지 개발을 위해, 저항성 계통과 이병성 계통 및 F2 분리집단의 근부위조 병접종을 병리팀에서 수행하였고 (표86, 87; 그림 12), 병접종으로 인한 결과를 통해 표현형을 확인하였다.

표 86. 토마토 계통별 근부위조 접종 결과

No.	계통명	접종결과	No.	계통명	접종결과	No.	계통명	접종결과
1	TMY(13)	저항성	11	TMY(13)×RDTY	저항성	21	RDTY	이병성
2	DDY(15)	저항성	12	DDY(15)×IMR18	저항성	22	IMR18	이병성
3	DEDTR(16)	저항성	13	DEDTR(16)×RY142(7)	저항성	23	RY142(7)	이병성
4	RSD(12)	저항성	14	RSD(12)×AMD(3)	저항성	24	AMD(3)	이병성
5	RCF	저항성	15	RCF ×ARDEF	저항성	25	ADF.ARDEF	이병성
6	BL128	저항성	16	Nova	저항성	26	RZY(13)	이병성

표 87. 토마토 F2 근부위조 접종 결과

No.	계통명	세대	접종 결과	비고
			R : S	
1	NWJ1	F2	46 : 19	



그림 70. 생명공학연구소 병리연구팀의 토마토 근부위조병 접종 후 모습. 이병성 계통에서는 병증이 나타났고, 저항성 계통에서는 무병증을 보임.

접종 결과를 바탕으로 저항성과 이병성 계통 10개체씩을 PCR template으로 사용하였고, <http://solgenomics.net/>의 정보를 조사하여, Tm2-a 주변의 윗부분과 아랫부분의 분자표지들을 선별하고 스크린에 이용하였다. 그 결과 아랫부분은 병접종 표현형과 많은 개체에서 일치하지 않는 반면, Fri 유전자 주변 윗부분은 좀 더 잘 맞는 것을 확인하였다. 따라서 기존에 보고된 Fri 유전자 주변 분자표지를 포함하여 수집된 분자 표지를 스크린하였고(그림 13) 그중 정확도가 높은 분자표지를 새롭게 개발하였다.

◎ Tomato 9번 chromosome의 map

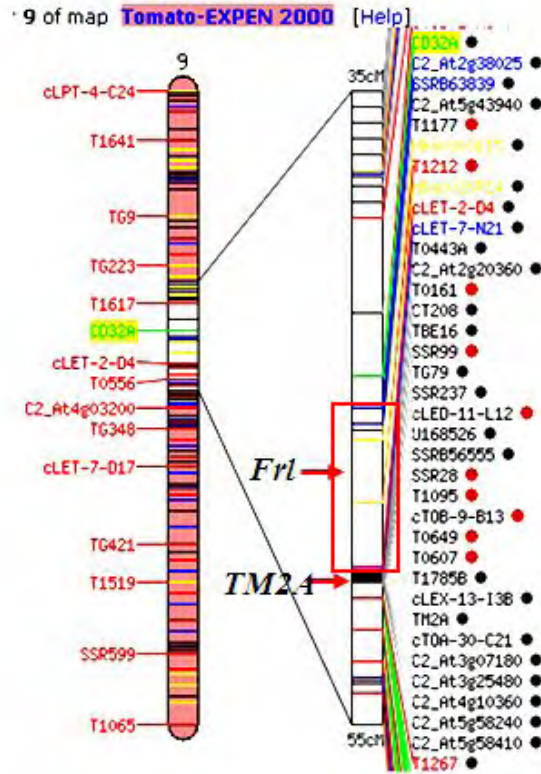


그림 71. J3 분자표지를 개발하기 위하여 SGN의 토마토 유전자 지도의 *fri* 주변의 유전자 지도 정보를 이용하여 새롭게 분자표지를 선발하는 과정

개발된 분자표지는 400bp의 길이로 증폭된 PCR 산물이며, *Cla*I, *Dde*I 제한효소를 37도에서 반응하는 처리를 하여 170bp, 230bp와 100bp 크기 미만의 산물로 나타냈다. 분자표지의 PCR 조성 및 program은 다음과 같다(그림 72). 앞에서 병접종에 사용했던 18계통과 F2 65개체에 PCR을 수행한 후 제한효소를 처리하였다(그림 73-1, 73-2). 그 결과 18계통 모두 접종 결과와 일치하였으나, F2 개체에서는 6개체가 서로 다른 것으로 나타났다. 조사한 분자표지 결과가 저항성과 이병성의 19계통에서는 일치하여 나타났기 때문에 새로 개발된 분자표지는 표현형과 거리는 다소 있으나, 많은 계통에 폭넓게 사용할 수 있는 것으로 효율적으로 사용할 수 있을 것으로 사료된다. 또한, 개발된 분자표지는 제3세부과제를 통해 토마토계통 육종에 활용 가능한 것으로 최종 확인되었다.

PCR cocktails

Template DNA : 20ng
 10x Buffer : 1/10
 dNTP : 0.2mM
 F/R primer : 0.5mM
 Polymerase : 0.5unit
 Total : 20ul

PCR profile

94°C - 5min — 1cycle
 94°C - 30sec
 55°C - 30sec } 35 cycles
 72°C - 30sec
 72°C - 5min — 1cycle

그림 72 PCR 반응의 조성 및 프로그램

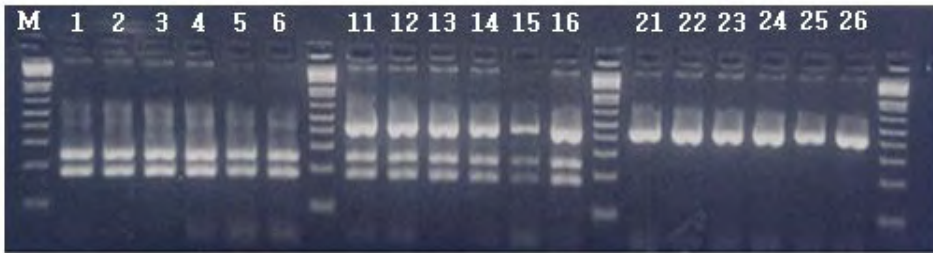


그림 73.-1 토마토팀에서 분양받은 12개 집단에서 J3 병저항성을 구분하기 위해 개발한 마커를 이용하여 PCR 반응 후 제한효소를 처리하여 3% agarose gel에 전기영동한 사진. M은 1kb size -ladder marker를 나타냄.

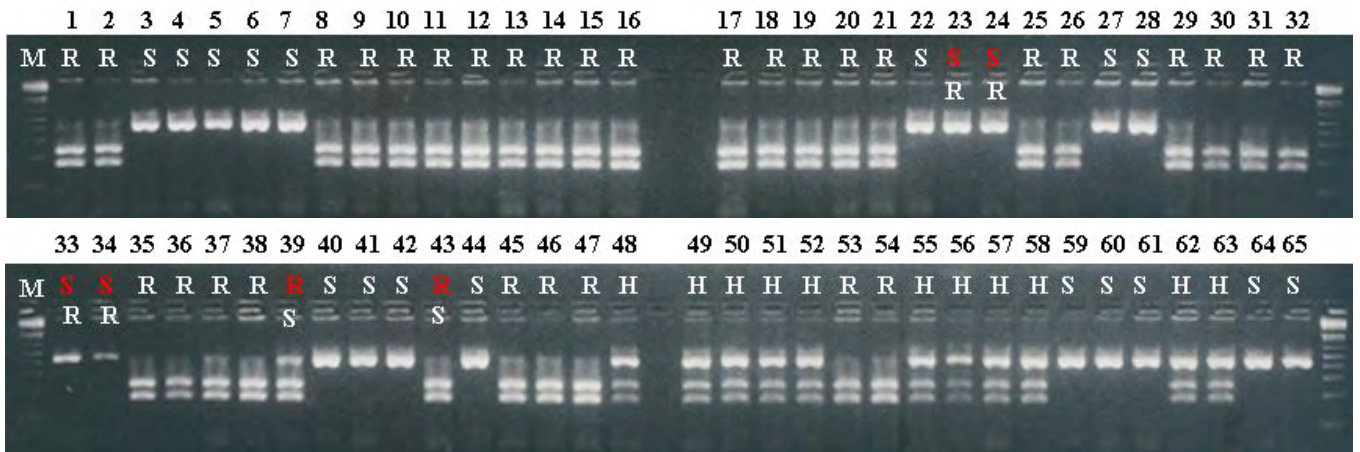


그림 73.-2. 토마토팀에서 분양받은 65개체의 집단과 F1에서 J3 병저항성을 구분하기 위해 개발한 마커를 이용하여 PCR 반응 후 제한효소를 처리하여 3% agarose gel에 전기영동한 사진. 붉은색은 마커결과가 예상과 맞지 않는 개체. M은 1kb size -ladder marker를 나타냄.

5. 내병성 마커 개발: Ty-2



그림 74. 2010년 전남 광양의 한 농가 재배하우스에서 발병한 TYLCV 병증 사진

TYLCV병은 열대 및 아열대 지역에서 발병하는 바이러스로 알려져 있다. 국내의 기후가 아열대화로 점차 진행되어 가면서 시설재배 농가의 하우스에서 발병이 두드러지게 일어나는 것으로 알려져 있다 (그림 74) 또한 이 바이러스는 인위적인 병접종이 불가하다는 문제점을 가지고 있어, 기존 논문에 보고된 분자표지(Park et. al., 2010)를 활용하여 자연 병발생을 유도하였고 이에 따른 결과로 분자표지의 활용도를 검정하였다.

TYLCV는 담배가루이 (*Bemisia tabaci*)를 매개로하여 감염되는 것으로 보고되었고, 저항성 정도는 Ty-3>Ty-1>Ty-2이지만 현재 Ty-1이 도입된 저항 품종들의 저항성이 흔들리고 있어, 이에 Ty-1과 Ty-2를 교배시 Ty-1 단독일 때보다 강한 저항성을 나타내는 성질을 이용하기 위해, Ty-2 marker를 개발하고자 하였다. 8개의 품종을 토대로 marker를 개발하고 이 품종들의 총123주 F2개체를 이용하여 Ty-2 marker의 검정을 수행하였다 (그림 75).

Ty-2 분자표지의 PCR 조성 및 program은 다음과 같다.

PCR cocktails

Template DNA : 20ng
 10x Buffer : 1/10
 dNTP : 0.2mM
 F/R primer : 0.5mM
 Polymerase : 0.5unit
 Total : 20ul

PCR profile

94 °C - 5min —1cycle
 94 °C - 40sec
 60 °C - 40sec } 35 cycles
 72 °C - 40sec
 72 °C - 5min —1cycle

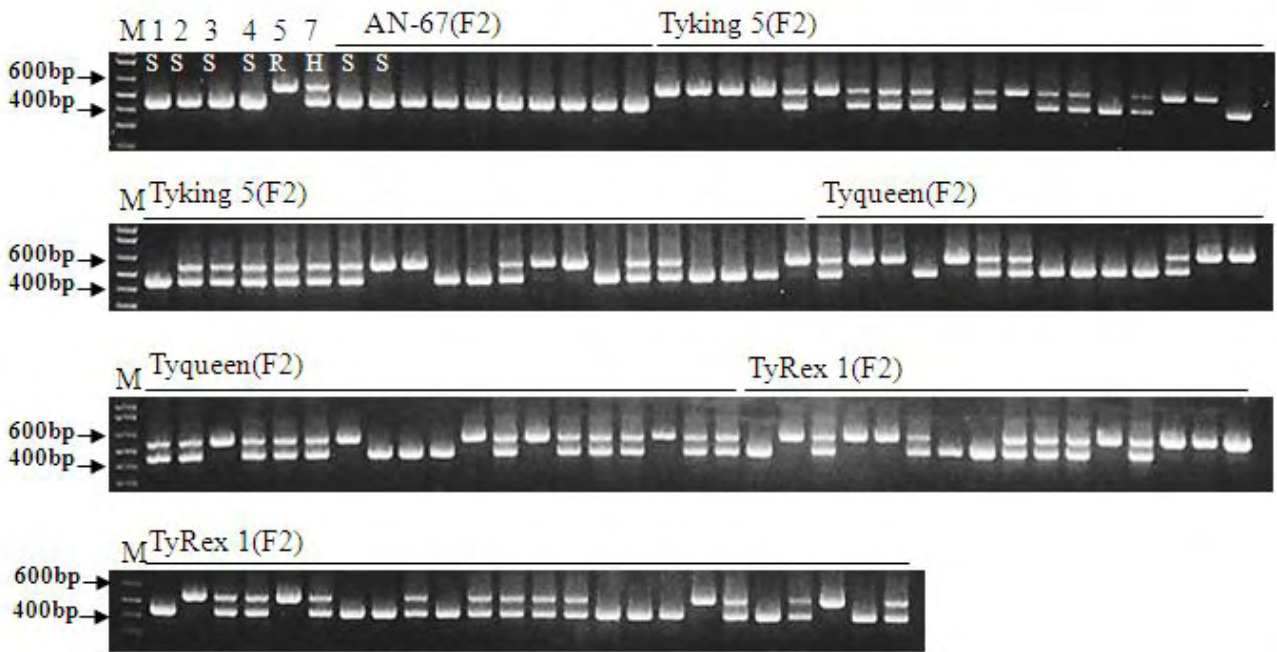


그림 75. Ty2 분자표지의 계통 및 F2에 적용 결과. 2% 아가로스 젤에서 전기영동한 밴드사진. M: marker, 1: MS Ms-TST(호모 이병성), 2: F1(हे테로 저항성), 3: Ty-1(저항성), 4: Ty-1(저항성), 5: Ty-2(AVRDC 호모 저항성 계통), 7: Ty-3(저항성), An-67: F2 샘플 10점, Tyking5: F2 샘플 40점, Tyqueen: F2 샘플33점, TyRex1: F2 샘플 40점

6. 내병성 마커 개발: 흰가루병 저항성 (Lv)

토마토에서 흰가루병은 세계적으로 문제가 되는 심각한 영향을 끼치는 곰팡이병이다. 병원균의 생장과 번식을 위한 적정 온도는 15~21°C이고, 흐린 날처럼 서늘하고 습한 환경에서 빠르게 증식한다. 어린 잎과 노엽 모두에서 노란색 괴사를 일으키며, 토마토 과실의 수량과 질을 떨어뜨린다(그림 76).



그림 76. 흰가루병에 감염된 토마토 잎

불가리아의 연구그룹에서 흰가루병에 저항성인 야생종 (*Lycopersicon chilense* LA1969)을 재배종에 교배하여 저항성 재료(Laurica)를 만들었고, 이를 이용하여 저항성 유전자인 Lv가 연구되었다. 단일우성으로 작동하는 Lv는 염색체 12번의 RFLP마커인 CT121, CT129 사이에 존재한다고 보고되었다(Chunwongse et al. 1994 and 1997). 3800주의 F2집단을 사용하여 Lv를 mapping한 결과에 따르면, CT121과 CT129사이 0.84cM에 존재(그림 77)하며, CT121과는 0.16cM 거리에 있다. 따라서, 본실험실에서는 이들 Lv근처의 마커를 사용하여 스크린을 수행하였고, cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) 타입의 Lv 후보마커를 3개 개발하여 자연발병된 하우스에서 표현형을 조사한 180개의 breeding lines에 적용해 보았다(표 88). 이 중에서 Lv1이 가장 흰가루병 저항성과 일치하는 결과를 보였고, 밴드 양상은 그림 78와 같다.

Chromosome 12

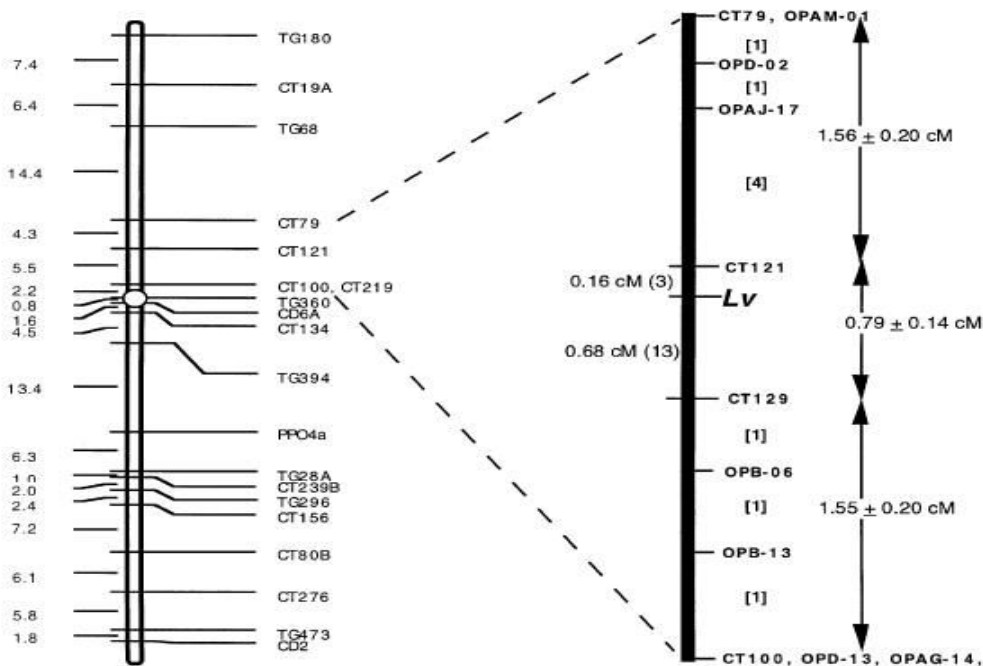
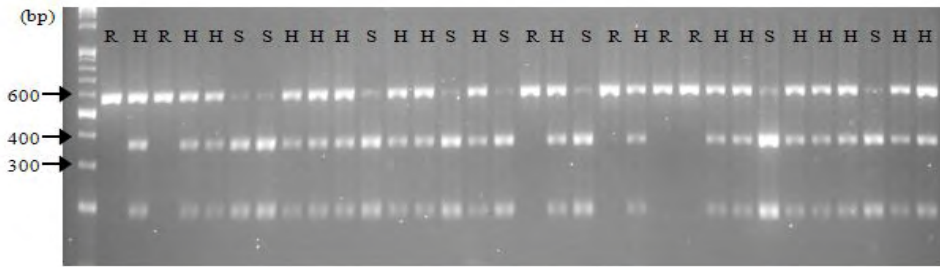


그림 77. 흰가루병 저항성 Lv 유전자 지도(Chunwongse et al. 1997)

표 88. Lv 주변의 3가지 후보 CAPS 마커의 스코어링 결과. 빨간색 글씨는 표현형과 분일치한 결과이다.

No.	Lv1	Lv2	Lv3	No.	Lv1	Lv2	Lv3	No.	Lv1	Lv2	Lv3
1	S	S	S	33	S	S	S	65	R	R	R
2	R	R	R	34	S	S	S	66	R	R	R
3	H	H	H	35	S	S	S	67	R	R	R
4	S	S	S	36	S	S	S	68	R	R	R
5	H	H	H	37	S	S	S	69	R	R	R
6	R	R	R	38	H	H	H	70	R	R	R
7	H	H	H	39	S	S	S	71	R	R	R
8	H	H	H	40	S	S	S	72	R	R	R
9	H	H	H	41	H	H	H	73	R	R	R
10	S	S	S	42	R	R	R	74	R	R	R
11	H	H	H	43	R	R	R	75	R	R	R
12	H	H	H	44	H	H	S	76	R	R	R
13	H	H	H	45	R	R	R	77	R	R	R
14	S	S	S	46	S	S	S	78	R	R	R
15	S	S	S	47	H	R	H	79	R	R	R
16	S	S	S	48	S	H	S	80	R	R	R
17	R	R	R	49	R	S	R	81	R	R	R
18	S	S	S	50	H	H	H	82	R	R	R
19	H	H	H	51	S	H	S	83	S	S	S
20	S	S	S	52	R	R	R	84	S	S	S
21	R	R	R	53	H	R	H	85	-	-	-
22	H	H	H	54	R	H	R	86	S	S	S
23	H	H	H	55	R	H	R	87	S	S	S
24	R	R	R	56	H	S	H	88	S	S	S
25	H	H	H	57	H	H	H	89	S	S	S
26	R	R	R	58	S	S	S	90	S	S	S
27	R	R	R	59	H	H	H	91	S	S	S
28	H	H	H	60	H	S	H	92	S	S	S
29	R	R	R	61	H	H	H	93	S	S	S
30	H	H	H	62	S	H	H	94	S	S	S
31	H	H	H	63	H	H	H	95	S	S	S
32	H	H	H	64	H	H	H	96	S	S	S



Band description : homozygous susceptible-S, homozygous resistance-R, heterozygous resistance-H.

그림 78. Lv1마커를 이용하여 증폭된 PCR 산물을 Bsp DI 으로 절단한 밴드 양상.

7. 내병성 마커 개발: Gray Leaf Spot(GLS; 회색점무늬병)

토마토의 유표기부터 성체까지 두루 나타나는 병으로, *Stemphylium solani*와 *S. lycopersici*에 의해 발병한다(그림 79). 가지과 작물에서 발병하며, 이들 작물의 죽거나 마른 잔재물, 혹은 바람이나 비에 의해 곰팡이 포자가 전염된다. 20~30°C의 따뜻한 온도에서 비나 이슬로 인해 잎이 젖을 때 병증식이 잘 일어난다. 어린잎 혹은 노엽에서 흑갈색의 반점이 1-2mm로 점점 커지다가 황화되거나 갈변하면서 낙엽이 일어난다. 간혹, 어린 줄기와 엽병에서도 이러한 증상이 보이나, 과실에는 영향을 끼치지 않는다. 병의 방제를 위해서는 여러 저항성 품종의 이용, 감염초기 살균제의 살포, 그늘진 곳을 피하기 위한 육묘베드를 높이 조절, 환기 유지, 가지과 작물의 연작 기피, 가지과 잡초 제거가 필요하다. 또한, 감염된 경우에는 수확 후 신속하게 제거하며, 스프링클러 같이 작물 위에서 뿌려주는 관수도 피한다.

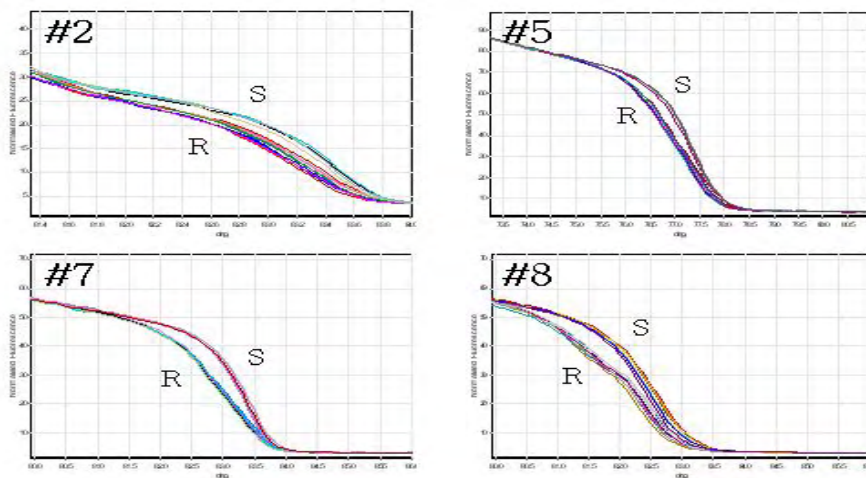


그림 79. 회색점무늬병에 감염된 토마토 엽(A)과 Gray leaf spot 저항성 유전자(Sm)의 염색체 11번에서 위치 (B; Behare et al. 1991)

1942년에 *Lycopersicon pimpinellifolium* 이 저항성 소재로서 발견되었고, 토마토 육종에 50년이 넘도록 사용되었으나, 그 저항성이 깨지지 않아, 소수의 유전자가 있음을 예측할 수 있었다. 1991년 Behare et al은 Motelle(저항성)과 Moneymaker(감수성) 사이의 F1, 이를 자가수분한 자식주 124 F2를 후대검정하여, 불완전 단일 유전자(Sm)의 유전기작을 확인했고, F3를 이용하여

저항성을 양적으로 분석한 다음, 저항성 정도에 따라 질적으로 전환하여 Sm 유전자가 염색체 11번의 TG110과 T10 마커 사이의 10.9cM (그림 80) 내에 위치한다고 보고하였다 (Behare et al. 1991).

따라서, 4년차 실험에서는 TG110과 TG36 사이에 위치하는 conserved ortholog set II (COS II) 마커와 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 마커를 사용하여 저항성과 이병성 재료 36 breeding lines을 스크린(그림 80)하였고, 이들 중 2개의 후보 마커 (HRM1 and 2)를 선발하였다. 이들 중, HRM1은 CAPS(그림 81)로 전환되었으나, HRM2는 전환되지 못했다. 이들 2개의 HRM 마커와 1개의 전환된 CAPS 마커는 자연발병된 하우스에서 조사한 200 breeding lines에 적용하여, 마커 결과와 표현형 결과를 비교(표. 89)하였다. 이들 후보마커들은 본 5차년도 실험에서 병리실에서 GLS 병발생을 위한 적정조건을 규명한 후, 다시 적용하여 표현형과 비교하는 조사를 더 수행하고자 하였다. 인위적 병접종법의 구축을 위한 병원성 여부의 점검 및 균일한 병원성의 유지에 관련한 여러 차례의 실험을 시도중에 있으나 아직 접종법 구축까지는 이르지 못했다. 대신에 기존에 상용품종으로 출시된 저항성 4품종(슈퍼도태랑, 도태랑 다이아, 호용, 마이로꾸)과 감수성 3품종(디저트, 유니콘, 썬체리250; 표 90)을 대비종으로 사용하여 육성집단 200 breeding lines에 추가 적용하였고, 자연발병을 통한 병징을 관찰하여 마커 선발에 적용하였다(표 91). 추가 선발 및 대비종을 기준으로 하여 HRM2를 최종 GLS 마커로 선발하였다.



Breeding line	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Genotype	r	r	r	r	r	r	S	S	r	S	r	S	r	r	r	S	R	R
Breeding line	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Genotype	r	r	r	R	r	R	r	r	r	R	R	R	R	R	r	R	S	S

그림 80. High resolution melting (HRM) 후보마커의 melting curves.

R: homozygous resistance line; r: heterozygous resistance line; S: homozygous susceptible line

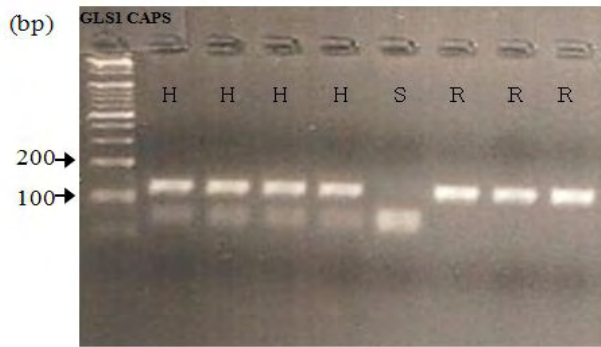


그림 81. HRM1의 염기서열에서 전환된 CAPS 마커의 엔자임 처리 후 밴드 양상.

R: homozygous resistance line; H: heterozygous resistance line; S: homozygous susceptible line

표 89. 선발한 3개의 후보마커 HRM1, CAPS, HRM2의 결과와 표현형. 빨간색 글씨는 표현형과 불일치한 결과이다.

No.	표현형	HRM1	CAPS1	HRM2	No.	표현형	HRM1	CAPS1	HRM2	No.	표현형	HRM1	CAPS1	HRM2
1	S	S	S	S	33	R	S	S	S	65	R	H	H	H
2	R	R	R	R	34	R	R	R	R	66	R	H	H	H
3	R	R	R	R	35	R	R	R	R	67	R	H	H	H
4	S	R	R	R	36	R	R	R	R	68	R	H	H	H
5	S	R	R	R	37	R	R	R	R	69	R	S	S	S
6	S	R	R	R	38	R	R	R	R	70	R	R	R	R
7	S	R	R	R	39	R	R	R	R	71	R	R	R	R
8	R	R	R	R	40	S	S	S	S	72	R	R	R	R
9	R	R	R	R	41	R	R	R	R	73	R	R	R	R
10	R	H	H	H	42	R	R	R	R	74	R	R	R	R
11	R	S	S	S	43	R	R	R	R	75	R	R	R	R
12	R	R	R	R	44	R	R	R	R	76	R	R	R	R
13	R	R	R	R	45	R	R	R	R	77	R	R	R	R
14	S	S	R	R	46	R	R	R	R	78	R	R	R	R
15	S	S	R	R	47	R	R	R	R	79	R	R	R	R
16	S	R	R	R	48	R	R	R	R	80	R	R	R	R
17	R	S	S	S	49	R	R	R	R	81	R	R	R	R
18	R	R	R	R	50	R	R	R	R	82	R	R	R	R
19	R	R	R	R	51	R	R	R	R	83	R	R	R	R
20	S	R	R	R	52	R	R	R	R	84	R	R	R	R
21	S	S	S	S	53	R	R	R	R	85	R	R	R	R
22	S	S	S	S	54	R	R	R	R	86	R	R	R	R
23	S	S	S	S	55	R	R	R	R	87	R	R	R	R
24	S	S	S	S	56	R	R	R	R	88	R	R	R	R
25	S	S	S	S	57	R	R	R	R	89	R	R	R	R
26	S	R	R	R	58	R	R	R	R	90	R	R	R	R
27	R	H	H	H	59	R	R	R	R	91	R	R	R	R
28	R	H	H	H	60	R	H	H	H	92	R	R	R	R
29	R	R	R	R	61	R	R	R	R	93	R	R	R	R
30	R	R	R	R	62	R	H	H	H	94	R	R	R	R
31	R	S	R	R	63	R	H	H	H	95	R	R	R	R
32	R	R	R	R	64	R	H	H	H	96	R	R	R	R

표90. GLS 저항성과 감수성 품종

No.	품종명	내병성
1	슈퍼도태랑	R
2	도태랑다이아	R
3	호용	R
4	마이로꾸	R
5	디저트	S
6	유니콘	S
7	썬체리250	S

표 91. 선발한 3개의 후보마커 HRM1, CAPS1, HRM2의 결과와 표현형. 빨간색 글씨는 표현형과 불일치한 결과이다.

No.	표현형	HRM1	CAPS1	HRM2	No.	표현형	HRM1	CAPS1	HRM2	No.	표현형	HRM1	CAPS1	HRM2
1	R	R	R	R	33	S	S	S	S	65	R	H	H	R
2	S	S	S	S	34	S	S	S	S	66	R	R	R	R
3	R	R	R	R	35	S	S	S	S	67	S	H	H	S
4	S	S	S	S	36	S	S	S	S	68	S	S	S	S
5	S	S	S	S	37	R	R	R	R	69	S	S	S	S
6	S	S	S	S	38	R	R	R	R	70	S	S	S	S
7	S	S	S	S	39	R	R	R	R	71	S	S	S	S
8	S	S	S	S	40	R	R	R	R	72	R	R	R	R
9	S	S	S	S	41	R	R	R	R	73	S	S	S	S
10	S	S	S	S	42	R	R	R	R	74	S	S	S	S
11	S	S	S	S	43	R	R	R	R	75	S	S	S	S
12	S	S	S	S	44	R	R	R	R	76	S	H	H	S
13	S	S	S	S	45	R	R	R	R	77	S	S	S	S
14	S	S	S	S	46	R	R	R	R	78	R	H	H	H
15	S	S	S	S	47	R	R	R	R	79	R	H	H	H
16	S	S	S	S	48	R	R	R	R	80	R	R	R	R
17	S	S	S	S	49	R	R	R	R	81	R	R	R	R
18	S	S	S	S	50	R	R	R	R	82	R	R	R	R
19	S	S	S	S	51	R	R	R	R	83	R	R	R	R
20	S	S	S	S	52	R	H	H	H	84	R	H	H	H
21	S	S	S	S	53	R	R	R	R	85	S	S	S	S
22	S	S	S	S	54	R	R	R	R	86	S	S	S	S
23	S	S	S	S	55	R	R	R	R	87	R	H	H	H
24	S	S	S	S	56	R	H	H	H	88	R	H	H	H
25	S	S	S	S	57	R	H	H	H	89	S	S	S	S
26	S	S	S	S	58	R	H	H	H	90	R	H	H	H
27	S	S	S	S	59	R	H	H	H	91	S	S	S	S
28	S	S	S	S	60	S	S	S	S	92	S	S	S	S
29	S	S	S	S	61	R	H	H	H	93	R	R	R	R
30	S	S	S	S	62	R	H	H	H	94	R	R	R	R
31	S	S	S	S	63	R	R	R	R	95	R	R	R	R
32	S	S	S	S	64	R	H	H	H	96	R	R	R	R

할 수 있었고 이 sequence가 ScrFI의 restriction site라는 것을 토대로 여러 가지의 PCR marker를 개발하였다. ScrFI digestion을 통하여 확보된 마커를 SP-2로 명명하였으며 본 SP-2 마커를 확인하기 위하여 *L. esculentum* 무한생장형, 유한생장형, 중간인 F1 Variety를 이용하였다.

이들 토마토 genomic DNA를 추출하였으며, 추출된 DNA는 1.0% agarose gel을 이용하여 정량을 확인하였다. 확인된 DNA를 template로 하여 PCR product 증폭(그림 83)후 제한효소 ScrFI으로 절단 후 각각의 결과를 토대로 genotyping하여 검정 결과를 확인 및 검증 할 수 있었다(그림 25).

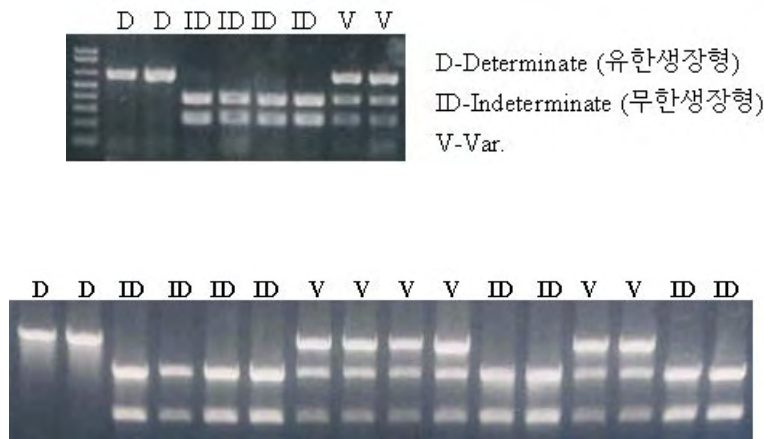


그림 83. 개발된 SP-2 마커를 이용하여 증폭된 PCR product를 제한효소 ScrFI으로 절단한 후 2% agarose gel에 loading한 결과 및 집단 sample에 대한 screening.

그림 25에서 보듯이 D와 ID가 각각 1밴드, 2밴드로 구별이 되며 D와 ID를 교배한 F1 V에선 2가지 형태의 밴드를 모두 보여주었다. V의 표현형은 D가 열성임으로 같은 열성으로 나타난다. 따라서 1) 잎곰팡이 내성 유전자 Cf-9 선발마커인 Hcr-C와, 2) SP-2 마커를 모두 개발하여 토마토팀에서 MAS 육종이 가능하게 되었다.

2. 기능성 마커개발: J(Jointless)

Abscission zones(절단부위)는 leaves, flowers and fruits와 같은 조직을 둘러싸고 있으며, 이 부위는 flower pedicel(꽃자루)의 중심부위에 위치하며 흔히 "Joint"라고 일컫는다. Jointless 마커 개발은 토마토 대량 생산에 있어서 기계적인 대량의 수확을 할 수 있는 장점이 있기 때문에 토마토 육종 산업에 있어서 꼭 필요하다. 토마토에서 joint의 형성을 완벽하게 억제 시킬 수 있는 두 개의 열성 mutants인 jointless(j), jointless 2(j-2)를 1936년에 Butler group이 *L. esculentum*을 소재로 하여 발견했다.

Chromosome 11의 약 30cM 부근에 mapping된 Jointless 마커는 화기 발달에 관여하는 MADS-box gene과 sequence의 상동성이 있음을 확인하였다(그림 84).

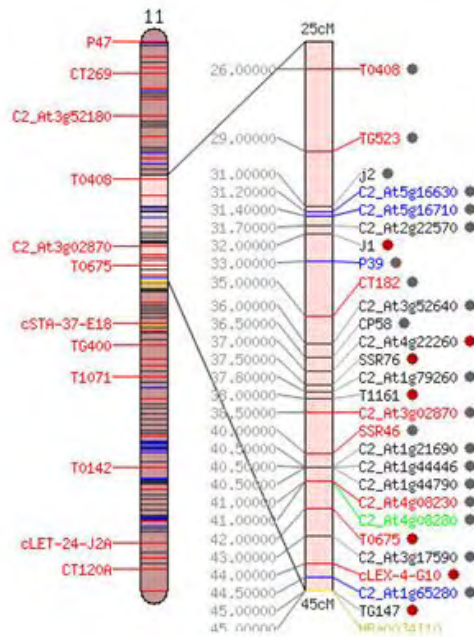


그림 84. Map of the *J1*, *j2* marker on chromosome 11.

J1 마커를 이용한 PCR product의 sequence(968bp)를 이용하여 blast search한 결과 MADS-box transcription factor JOINTLESS gene(118,761bp) function을 가진 유전자와 100% sequence 상동성을 보였다. 하지만 chromosome11에 위치한 마커의 경우 본 연구진이 보유하고 있는 genetic source에는 적용이 불가하여 tomato chromosome 12에 mapping된 *j-2* 마커의 정보를 기재한 논문을 이용하고자 하였다(그림 85)(TAG. 100: 1183-1189, 2000).

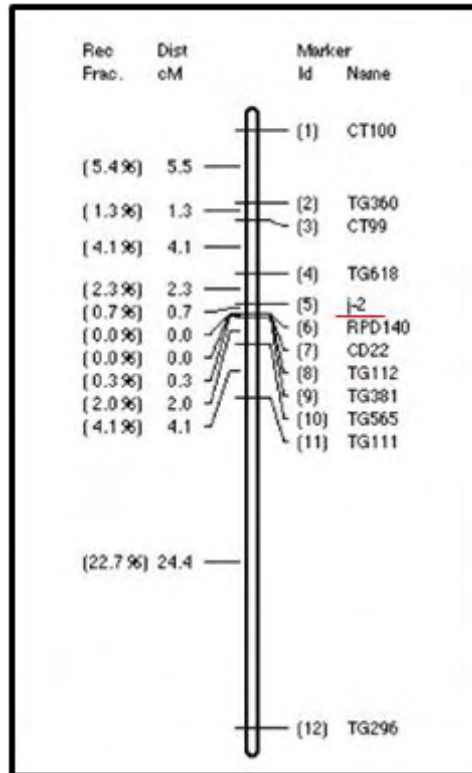


그림 85. High resolution mapping of the *jointless-2* locus on chromosome 12.

1956년에 Rick group이 Galapagos섬에서 *L. cheesmanii*(LA166)인 wild species에서 *jointless-2*를 발견하였다. *Jointless-2*는 육종되어지고 있는 토마토에 널리 쓰이고 있으며 현재까지 광범위하게 토마토 산업에 이용되고 있다. 따라서 j-2 마커와 같은 위치에 mapping된 BAC clone RPD140은 정보의 미공개로 RPD140과 0.1cM 떨어진 CD22 mapping 마커(그림 86)의 정보를 이용하고자 하였다.

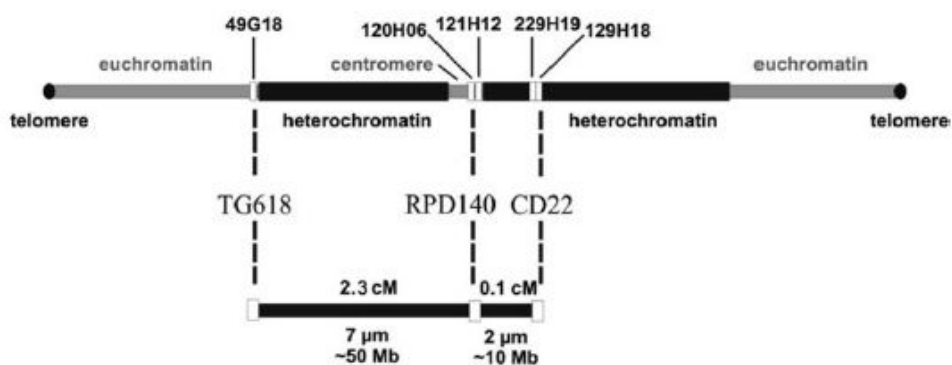


그림 86. Comparison of physical and genetic distance between molecular markers TG618, RPD140 and CD22.

Jointless 마커를 확인하기 위하여 DNA sample은 토마토 팀에서 받은 joint와 jointless 집단을 각각 이용하였다. PCR 증폭 후 joint와 jointless 개체의 sequence를 비교한 결과 제한효소 *Sau96I*의 nucleotide sequence의 차이를 확인하였다. Tomato genomic DNA를 추출하고 추출된 DNA는 1.0% agarose gel을 이용하여 정량을 확인하였다. 확인된 DNA를 template로 하여 PCR product 증폭(그림 87)후 제한효소 *Sau96I*으로 절단 후 각각의 결과를 토대로 genotyping하여 검정 결과를 확인 및 검증 할 수 있었다(그림 88).

PCR cocktails

Template DNA	: 20ng
10x Buffer	: 1/10
dNTP	: 0.2mM
F/R primer	: 0.5mM
Polymerase	: 0.5unit
Total	: 20ul

PCR profile

94°C - 5min	-	1 cycle
94°C - 30sec		
58°C - 30sec	>	35 cycle
72°C - 45sec		
72°C - 5min	-	1 cycle

그림 87. PCR 증폭 조건

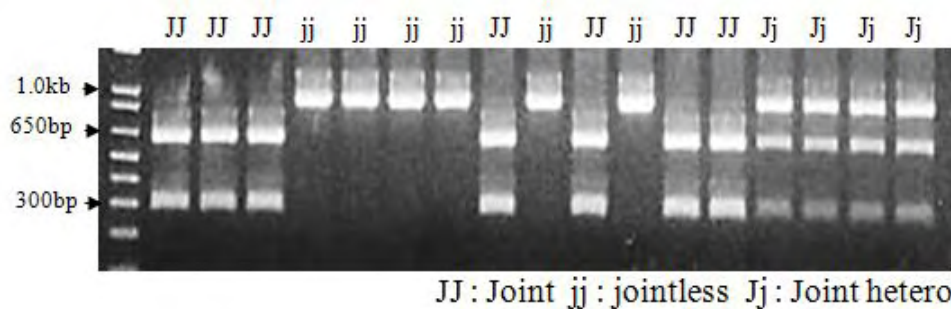


그림 88. 개발된 *Jointless* 마커를 이용하여 증폭된 PCR product를 제한효소 *Sau96I*으로 절단한 후 2% agarose gel에 roading한 결과.

그림 88에서 보듯이 *Jointless* 마커를 이용하여 검정한 결과 Joint유무에 따라 각각을 명확히 구별하였다.

3. 기능성 마커개발: 배축색

배축색 관련 마커 개발은 제2차년도 결과에 식물재료공급과 관련하여 연구에 어려움이 있었으나, 3차년도에 식물재료의 안정적인 확보와 함께 개발을 수행하게 되었고, 마커 개발에 성공하였다. 이는 토마토에서 처음으로 개발된 배축색 연관 분자표지이다. 자세한 개발내용은 아래와 같다.

식물 배축은 자색과 녹색으로 관찰되는데, 배축색은 화기, 줄기, 잎, 과실과 같은 다른 기관에서 생성되는 색소와는 연관성이 없는 것으로 보이는 고유한 현상이다. 따라서, 배축색은 교배잡종을 확인하기 위한 visible 분자표지로 이용되기도 한다 (Vuong and Harper, 2000). 또한, 다른 작물에서의 보고에 의하면, 콩의 하얀색 배축색 (W1)은 종피색, 작은잎 모양(Choi et al., 1989), soybean mosaic virus 저항성 (SMV)과 연관되어 있으며, 땅콩의 peanut stripe virus 저항성 (PStV: Choi et al., 1989)과 연관되어 있다. 사탕무에서는 붉은 배축색을 유도하는 R 유전자가 염색체 3번에 위치하며, 이는 추대와 관련된다고 보고하였다. 그러나 토마토에서는 아직까지 안토시아닌 관련 유전자들과 배축색 관련 연구가 보고된 사례가 없다.

토마토 배축색은 일반적으로 자색과 녹색 중 하나를 나타내며, 이는 단인자 우성유전자에 의해 조절되는 것으로 조사되었다. 농우바이오 육종연구소의 육종가에 의해 관찰된 토마토 녹색 및 자색 배축색은 ToMV, FCRR (fusarium crown and root rot), bacterial wilt 저항성과 같은 내병성과 응성불임과 같은 중요한 원예적 형질들과 연관될 것으로 예상된다. 따라서, 토마토 배축색 연관 분자표지는 이러한 중요한 원예적 형질의 선발과 배축색의 동형접합체와 이형접합체를 선발할 수 있게 함으로써, 우량 식물 계통의 선발에 이용할 수 있을 것으로 기대한다.

토마토의 배축색 연관 분자표지를 동정하기 위하여 녹색과 자색을 보이는 13계통에서 스크린을 수행하였다. 스크린에 사용한 분자표지용 프라이머는 1)안토시아닌 관련 유전자, 2) 안토시아닌 관련 유전자 근처의 conserved ortholog set II (Cos II), 3) Cos II 근처의 RFLP 분자표지의 염기서열을 사용하였다. 이 중에서 RFLP 분자표지에서 다형성을 개발하여 아가로즈 젤에서 확인하였다. RFLP 표지의 정보를 이용하여 개발된 분자표지는 자색과 녹색을 구별할 수 있는 PCR 공우성 표지로 개발하기 위해 CAPS 표지로 개발되었다. 개발된 CAPS표지는 F2 135 개체의 유전자형을 구별하기 위해 적용하였고, 132개체에서 일치하는 결과를 보였다.

가. 식물재료 및 방법

사용한 식물재료는 자색유형인 NWp1과 녹색유형인 NWg3을 교배하였고, 그로부터 얻은 F1 식물체로 자가수분을 하여 F2 집단을 확보하였다. 양친, F1, F2, BC1F1을 유전분석에 사용하였고, 개발된 분자표지의 정확성을 보기 위하여 F2 135개체를 검정에 이용하였다. 자색 10계통, 녹색 3계통은 분자표지의 개발을 위해 안토시아닌 유전자들과 유전자 주변 분자표지에서 디자인한 프라이머 스크린에 사용하였다. gDNA 추출은 논문(Kang et al., 2003)에 보고된 방법과 동일하게 수행하였고, PCR은 denaturation at 94°C for 5 min; 35 cycles of 94°C for 30 s, 55°C for 30 s, and 72°C for 30 s and a final elongation at 72°C for 5 min으로 수행하였다. PCR 산물은 HpaII 제한효소로 2시간 처리후 1.5% 아가로즈젤에서 전기영동을 통해 확인하였다. 개발한 분자표지의 거리를 보기 위하여 CARTHAGENE (Schiex and Gaspin, 1997) program을 사용하여 Kosambi function으로 LOD 4, Maximum distance 40 centiMorgan(cM)으로 분석하여 거리를 cM으로 표시하였다.

나. 배축색 관련 마커 개발 결과

배축색 유전분석은 다음과 같다. 토마토 배축색은 그림89와 같이 주로 자색과 녹색으로 나타난다. 본 연구에서는 처음으로 토마토의 자색과 녹색 배축색을 유전학적으로 확인하였다. 자색과 녹색의 배축색을 가진 토마토와 교배한 F1은 자색을 나타냈으며, F2 집단에서는 자색과 녹색의 비율이 3:1이었고, BC1F1의 경우에는 1대1의 분리비를 확인하였다(표 92).



그림 89. 토마토 배축색 사진, P: 자색배축색, G:녹색 배축색

표 92. 토마토 자색 또는 녹색을 갖는 배축색 유전 분석

Plant material	No. of phenotype		Expected ratio (Purple: Green)	χ^2	P
	Purple	Green			
NWp1	20	0	1 : 0		
NWg3	0	20	0 : 1		
F1 (NWp1 x NWg3)	20	0	1 : 0		
F2 (NWp1 x NWg3) 1	120	40	3 : 1	0.000	1.000
F2 (NWp1 x NWg3) 2	115	37	3 : 1	0.035	0.851
BC ₁ F ₁ (F1 x NWg3)	40	41	1 : 1	0.024	0.912

다. 후보유전자와 Cos II 분자표지를 이용한 접근 결과

안토시아닌 관련 유전자로부터 디자인한 High Resolution Melting (HRM)용 PCR 프라이머를 스크린하였으나 자색과 녹색 배축색을 구별하는 다형성은 찾지 못했다. 이 결과, 자색 배축색과 녹색 배축색은 보고된 안토시아닌 관련 유전자들과 직접적인 연관성을 갖지 않을 수도 있으리라 추측된다. CosII 분자표지는 염색체 2, 9, 10, 11번에서 각각 12, 13, 5, 10개씩의 분자표지를 선발하여 HRM으로 분석을 수행했으나, 대부분의 분자표지에서는 자색과 녹색간의 melting 곡선에서 차이를 나타내지 않았으므로, 이들간의 다형성이 발견되지 않았다. 단지, 염색체 9번 C2At5g02230과 C2At4g10360 분자표지에서 HRM 분석을 통한 다형성을 찾을 수 있었으나(그

림 90), 이 두 CosII 분자표지는 CAPS로 전환되지 못했다.

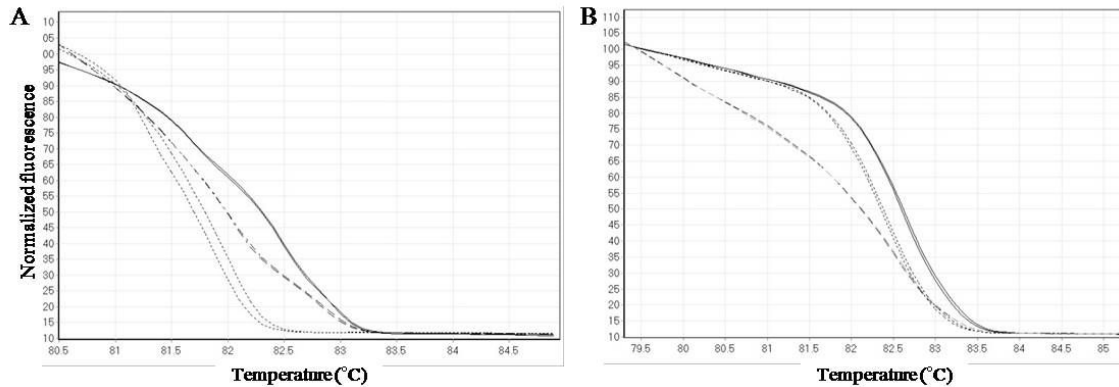


그림 90. HRM 분석한 melting 곡선 결과. C2At5g02230 (A)와 C2At4g10360 (B) 프라이머를 사용하여 증폭한 melting 곡선으로 자색과 녹색 배축의 토마토에서 다형성을 보여준다. PCR template은 자색모친(NWp1; 실선), 녹색부친 (NWg3; 점선), F1(자색; 띠줄)로 사용하였다.

RFLP 염기서열을 이용한 PCR 분자표지로 의 전환 결과

두 개의 CosII 분자표지(C2At5g02230과 C2At4g10360) 근처의 RFLP 분자표지들을 HRM 분석을 위해 프라이머로 디자인되었다(표 93). 그 중 cLET2D4 염기서열을 이용한 표지에서 다형성을 찾을 수 있었다. 따라서, 이들 두 개의 서로 다른 배축색의 양친을 이용한 PCR 산물의 염기서열을 분석하였다.

표 93. Primers designed from RFLP fragments localized near COS II markers.

Marker	Primer sequence (5'-3')	Fragment size (bp)
CD3	F: GTTCGTGGACGACCAGTTCT	176
	R: AATCTTGCCATTCCATCCAA	
Hy (cLET2D4)	F: GAAGCCCTCCTCTATAGTTTCC	414
	R: GGTCCTGAAATGTCCGATTC	
TG79	F: GGAACCCCTCTGGAATAAA	223
	R: AGGAGAAATGGGGAAAACG	
cLED11L12	F: GGCTTCATAGGAGCAGCAG	195
	R: AAAATGTGGGAACGGTGTC	
cTOB9B13	F: AAAGTGTATTTGCGGGTTTCG	230
	R: ATCGCCGTAAGCACTTGACT	
cTOB1K3	F: CCCAACC GTTCACTCTCCTA	218
	R: TCCATTGACCCGAATATCGT	

F: forward primer; R: reverse primer

염기서열은 414bp 길이로, 5개의 single nucleotide polymorphism (SNP)을 가지고 있으며, 223번째 SNP 염기에서 Hpa II 제한효소 반응 자리를 확인하였다 (그림 91). cLET2D4를 PCR 수행한 후, Hpa II 제한효소를 처리하였고 공우성 분자표지를 확인하였으며, 성공적으로 CAPS 마커로 전환되었다. 전환된 분자표지는 Hy 분자표지로 명명하였다.

개발된 Hy 분자표지의 정확성을 알아보기 위하여 자색과 녹색 양친, F1, 135개체의 F2에 적용하였다. F2 135개체 중 132개체가 배축색과 Hy 분자표지 결과간에 일치하였다(그림 92). 표현형과 분자표지간에 일치하지 않는 F2 3개체는 녹색 배축색을 보이는 개체였으나, Hy표지의 결과는 자색을 나타냈다.

```

G GAAGCCCTCCTCTATAGTTCCATTCTCTCTTTTTCCCTCTTCTTTCTCTCTCAAATCTC 60
P GAAGCCCTCCTCTATAGTTCCATTCTCTCTTTTTCCCTCTTCTTTCTCTCTCAAATCTC 60
*****

G TCCATCTCTTTTCCAGCTGAAAGATGTCACCCAAATGACAAAAAGCCCTCCTAGAAITCAA 120
P TCCATCTCTTTTCCAGCTGAAAGATGTCACCCAAATGACAAAAAGCCCTCCTAGAAITCAA 120
*****

G AAAAGCTCTGGGTAATCCTGATGATTTGGGTAATTGGAATCCCAAACCTGATTGCTGCAT 180
P AAAAGCTCTAGGTAATCCTGATGATTTGGGTAATTGGAATCCCAAACCTGATTGCTGCAT 180
*****

G TGACTGGTACGGACCTACTCTCGAATGCGATGAAAATCGAA[CCGG]ATTAATCTCATCGA 240
P TGACTGGTACGGACCTACTCTCGAATGCGATGAAAATCGAA[CCGG]ATTAATCTCATCGA 240
*****

G TTTCTCCAAAATGAATCTCTCTGGATAATCTCTCTCCCGCCATCGGAGATCTCACATACCT 300
P TTTCTCCAAAATGAATCTCTCTGGATAATCTCTCTCCCGCCATCGGAGATCTCACATACCT 300
*****

G TACGAAATTCAGTATCCACAATGTACGTAATCTC[CCGG]TCCAATTCATCAACAATTGT 360
P TACGAAATTCAGTATCCACAATGTACGTAATCTC[CCGG]TCCAATTCATCAACAATTGT 360
*****

G TAAGCTCACGAAATCTCAATTTCTTTCAGAAATTAGTGAATCGGACATTTTCAGGACC 414
P TAAGCTCACGAAATCTCAATTTCTTTCAGAAATTAGTGAATCGGACATTTTCAGGACC 414
*****

```

그림 91. Hy 분자표지 PCR 산물을 자색 (NWp1), 녹색 (NWg3) 양친의 염기서열 분석 결과. 상자는 Hpa II 제한 효소의 반응 자리임.

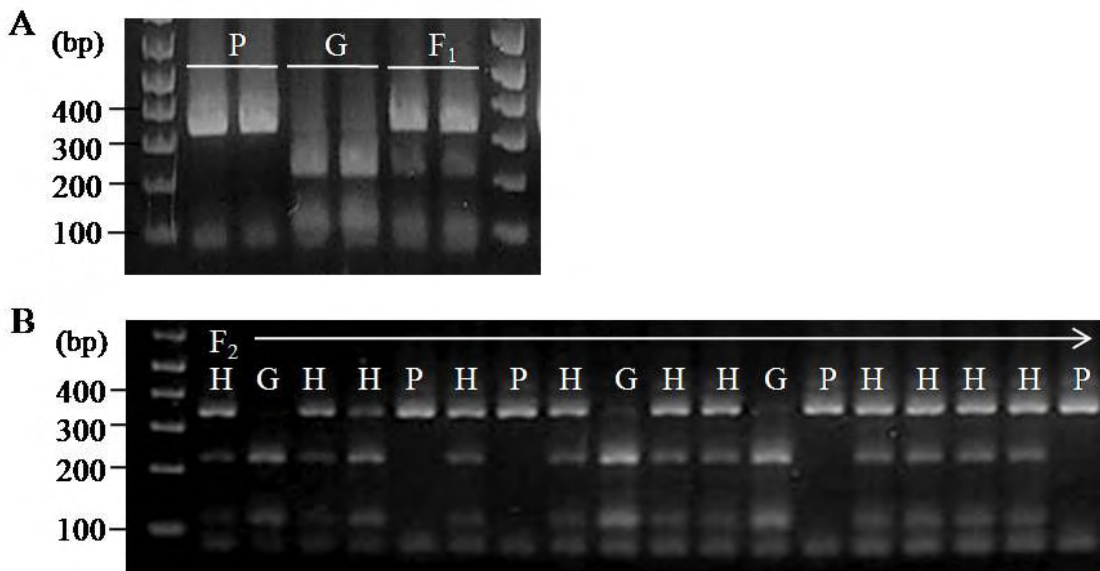


그림 92. Hy CAPS 분자표지를 증폭한 밴드 사진. A. 자색 모친 (NWp1; P); 녹색 부친 (NWg3; G); F1샘플(F1)에서의 밴드 양상, B. F2 개체에서 Hy마커의 증폭후 Hpa II 제한효소 처리 결과 사진

제3절 SNP 마커 시스템을 이용한 토마토 품종육성 재료의 대량인자 분석

1. 실험방법

가. 식물체 genomic DNA 대량추출

토마토 식물체 어린잎에서 가로와 세로 각각 0.5cm 크기로 잎을 절단하여 1.4ml sample tube (MATRIX, Cat. #4140)에 핀셋을 이용하여 넣은 뒤 empty latch rack (MATRIX, Cat. #4890)에 순서대로 꼽아서 실험전까지 냉장보관하였다. TissueLyser 3mm bead dispenser (Qiagen, Cat. #69973)를 이용하여 한 샘플당 2개의 지름 3 mm 스테인레스 구슬 (KOPECO, <http://www.kpcball.co.kr>, Cat. #-SUS316L)을 넣고, 300 μ l TissueLyser extraction buffer (200mM Tris-HCl, pH 7.5; 250mM NaCl; 25mM EDTA; 0.5% SDS)를 넣었다. TissueLyser (Qiagen, Cat. #85220)를 이용하여 초당 30회의 진동수 (30/sec.)로 1분 30초간 같은 뒤, 방향을 바꾸어 동일한 조건으로 1회 더 같았다. 대용량 원심분리기 (Hanil, Union 32R plus, 자이로젠, 1580R)를 이용하여 15도, 3,000rpm의 속도로 17분간 원심분리한 후, 상등액 150 μ l를 취하여 미리 50 μ l 5M potassium acetate (pH 6.5)가 분주된 96-well V-bottom plate (Costar, Cat. #3897)에 분주하여 섞어주었다. Plate를 Platform Shaker (Heidolph, Titramax 1000)에 놓고 600rpm으로 5분간 흔들어서 섞어준 뒤 15도, 3,000rpm의 속도로 17분간 원심분리 하였다. 새로운 96-well V-bottom plate에 isopropanol 75 μ l를 분주하여 미리 준비해두고, 원심분리가 끝나면 상등액 75 μ l를 취하여 미리 분주한 isopropanol과 잘 섞어주었다. 2분간 Platform Shaker에서 450rpm으로 섞어준 뒤 15도, 3,000rpm의 속도로 17분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액을 취하여 버리고 DNA pellet을 상온에서 2시간 동안 말린 뒤 100 μ l TE (RNase A 포함)에 녹인 뒤 PCR 반응에 사용하였다.

나. PCR 반응조건

토마토 CAPS 마커분석을 위하여 추출한 template DNA 1 μ l와 마커 프라이머 (각 5pmol을 첨가하고, Genet-Bio 10X reaction buffer [Tris-HCl (pH 9.0), PCR enhancers, (NH₄)₂SO₄, 20mM MgCl₂], dNTP 125 μ M, Taq polymerase 0.4 units을 넣고, 최종 반응 부피는 15 μ l로 하여 PCR 반응 용액을 만들었다. PCR 기기는 Applied Biosystems사의 GeneAmp PCR system 9700을 사용하였고, PCR 반응은, 92°C에서 2분간 1 cycle-predenaturation, 92°C에서 20초~40초-denaturation, 50°C~60°C에서 20초~40초-annealing, 72°C에서 40초-polymerization 35 cycles의 범위에서 마커마다 적합한 조건을 이용하여 수행하였다. PCR이 끝난 반응용액은 마커별 지정된 제한효소를 처리하여 최종 반응부피를 25 μ l로 하여 8시간 이상 37도 또는 65도에서 반응하였다. 반응이 끝난 샘플은 5Xgel loading buffer 5 μ l를 첨가하여 섞어준 뒤, 2%~3% agarose gel (LONZA, SeaKem LE Ararose, Cat # 50004)에 4.5 μ l씩 loading하고 EtBr 염색을 통하여 인자형을 확인하고 기록하였다.

다. SNP 반응조건

토마토 SNP 마커분석을 위하여, 추출한 template DNA 1 μ l와 프라이머 각 10pmol을 첨가하

고, Genet-Bio사의 Hot start Taq polymerase 10X reaction buffer [Tris-HCl (pH 9.0), PCR enhancers, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 20mM MgCl_2], dNTP 200uM, Taq polymerase 0.25 units, probe 4pmol, 50XROX 0.3 μ l를 넣어 반응을 수행하였다. 최종 반응 부피는 15 μ l로 하였고, PCR 기기는 Applied Biosystems사의 GeneAmp PCR system 9700을 사용하였다. PCR 반응조건은, 92°C에서 10분간 Taq polymerase를 활성화시키고, 92°C에서 15초-denaturation, 60°C에서 60초-annealing 및 polymerization의 조건으로 40 cycle을 반복하여 진행하였다. PCR이 끝난 plate는 짧게 원심분리한 후 Applied Biosystems사의 Real-Time PCR 기기인 ABI7300으로 형광을 조사하여 인자형을 구분하고, 이를 엑셀화일로 옮겨 인자형을 정리하였다.

2. 실험결과

가. 식물체 상태별 genomic DNA 추출 및 PCR 반응확인

96 well plate와 TissueLyser를 활용한 DNA 추출법이 재료의 상태에 따라 어떻게 나타나는지 알아보기 위하여 1) 생체잎, 2) 고온 (50도) 건조된 잎, 3) 동결 건조된 잎에 대하여 동일한 방법으로 DNA를 추출하여 PCR 반응 후 실제 이용가능성을 가능성을 확인하여 보았다. 그 결과 그림 93에서 보는 바와 같이 3가지 식물체 상태별 분리된 genomic DNA와 토마토 Mi 마커를 이용한 PCR 테스트에서 대량분석에 이용될 수 있는 깨끗한 분석 결과를 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 분석 샘플의 장거리 수송을 가능하게 하여, 외국주재 육종연구원으로부터 샘플을 전달받아 한곳에서 마커 분석을 할 수 있는 기본 시스템을 구축하는데 크게 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

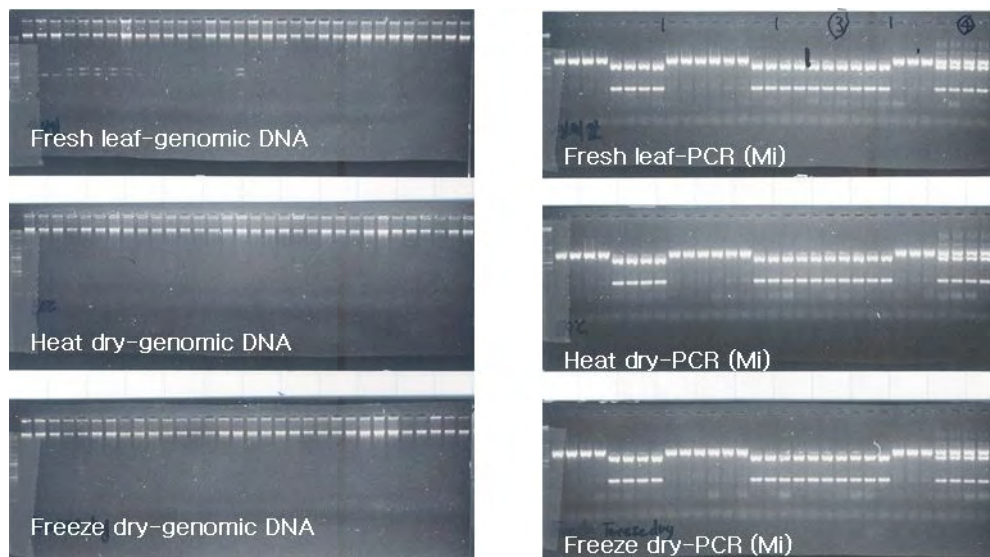


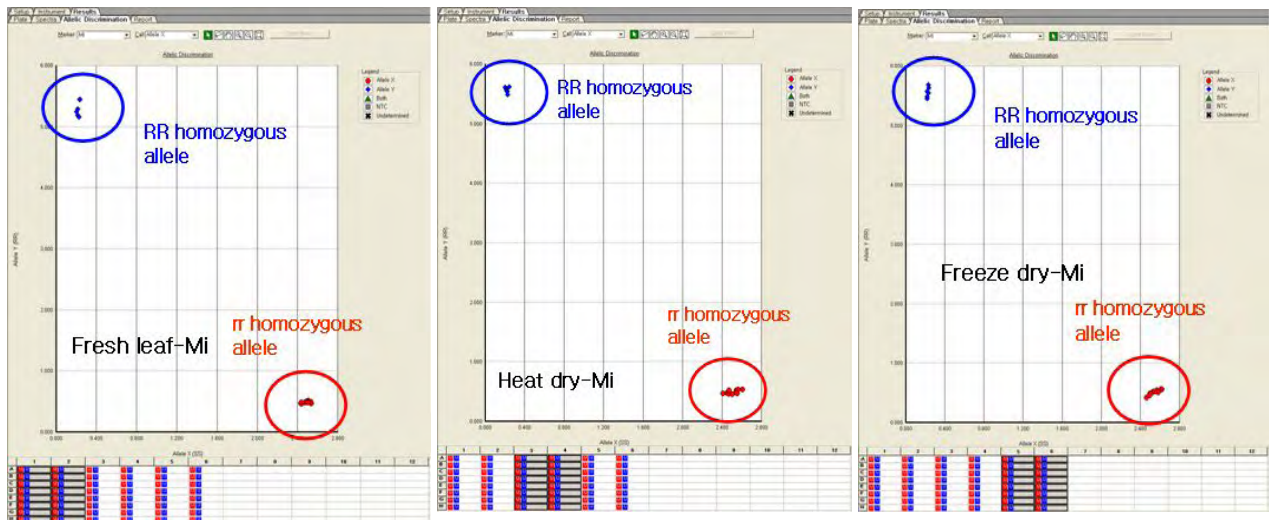
그림 93. 재료준비 상태에 따른 토마토 genomic DNA 추출결과와 이를 template로 사용한 PCR 결과. 사용된 마커는 토마토 선충저항성 마커 Mi이며, 제한효소 *Taq* I으로 절단하여 1.6% agarose gel에 4 ul씩 loading하여 분석하였다.

나. SNP 마커 분석시스템 구축

SNP 분석을 위하여 필요한 ABI 사의 master mixture와 권장하는 반응 프로토콜을 사용하여 TaqMan probe 방식으로 SNP 분석을 하는 경우 최대 분석단가가 샘플당 3,000원으로 계산되어 일반 종자회사에서 대량분석을 위하여 사용하기에는 고비용의 문제가 있다. 샘플당 분석단가를 낮추기 위하여 권장하는 프로토콜에서 사용되는 시약의 농도를 단계별로 낮추고, 기존 master mixture 제품을 개별 시약을 저렴하게 구매하여 실험실에서 master mixture를 구성하여 반응에 사용될 수 있는지 테스트를 수행하였다. 수행된 실험처리구는 아래와 같다.

- 생체잎, 고온 건조잎, 동결건조잎에 대한 SNP 마커분석
- ABI PCR plate와 Axygen PCR plate의 SNP 결과 비교
- Probe 농도에 따른 SNP 결과 비교
- PCR master mixture 와 실험실 제조 master mixture 간의 SNP 결과 비교
- ABI film과 Axygen film 비교
- Passive reference "ROX" 농도에 따른 SNP 결과 비교

(1) 생체잎, 고온 건조잎, 동결건조 잎에 대한 SNP 마커분석: 생체잎과 고온 건조된 잎, 동결 건조된 잎으로부터 genomic DNA를 추출하여 ABI 7300을 이용하여 토마토 Mi SNP 마커로 분석한 결과 3가지 형태 모두 예상된 결과와 일치하는 것을 알 수 있었다 (그림 94). 이 결과로부터 3가지 다른 형태의 재료준비 과정에서 얻어진 토마토 잎 샘플에서 SNP 마커분석이 모두 가능하다는 것을 확인하였다.



(생체잎)

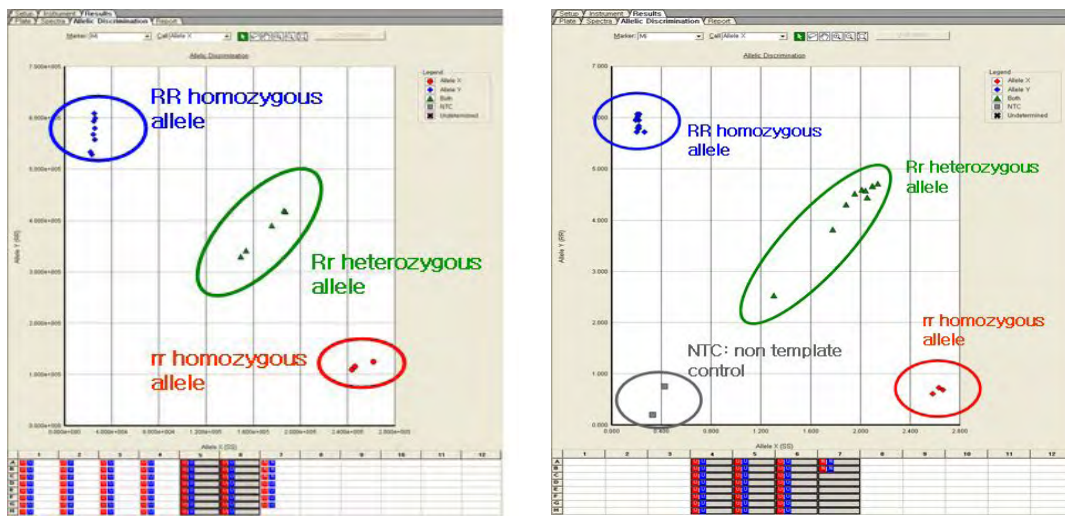
(고온 건조잎)

(동결 건조잎)

그림 94. 토마토 샘플 준비 형태에 따른 SNP 마커 결과 비교.

(2) ABI PCR plate와 Axygen plate의 SNP 결과 비교: SNP 마커분석에 소요되는 분석비용을 최소로 줄이기 위하여, 무형광 PCR plate (ABI)와 무형광처리가 되어있지 않은 일반 PCR plate를 구매하여 SNP 결과를 비교하여 보았다. 토마토 Mi SNP 마커를 사용하여

ABI PCR plate (샘플당 104원-2009년 판매가 기준)와 Axygen사의 PCR plate (샘플당 43원-2009년 판매가 기준)를 비교해본 결과 동일한 SNP 마커분석 결과를 얻었다 (그림 95). 따라서, 고가의 non-fluorescence optical PCR plate 대신에 저가의 일반 PCR plate를 SNP 분석에 사용하여도, 일반 PCR plate가 가지고 있는 형광량이 SNP 분석할 때 사용되는 형광보다 현저히 적기 때문에 그 영향이 적은 것으로 생각된다. 그러나, 무형광 처리가 되어있지 않은 일반 PCR plate를 장시간 사용했을 때 특정 well에서 이상 형광시그널이 나타나는 경우가 발생하여, Real-time PCR에 대한 주기적인 유지보수와 calibration이 필수적이다.



(무형광 PCR plate/ 샘플당 104원)

(일반 PCR plate/ 샘플당 43원)

그림 95. Non-fluorescence optical PCR plate (ABI)와 일반 PCR plate (Axygen) 간 토마토 Mi SNP 마커분석 결과비교.

(3) Probe 농도에 따른 SNP 결과 비교: SNP 마커분석 단가를 낮추기 위하여 probe 농도를 달리하여 최저 농도를 설정하였다. 본 과제에서 사용하는 기본 SNP 분석법은 TaqMan assay 방법으로 서로 다른 두 개의 allele에 존재하는 single nucleotide polymorphism을 각각의 allele에 상보적으로 결합하는 probe를 합성하여 서로 다른 형광으로 표지를 하고 형광 발현의 유무를 검출하여 샘플의 인자형을 결정하는 방법이다. 이러한 TaqMan probe 방식의 SNP 분석법에서 가장 큰 비용을 차지하는 것이 probe 비용이다. Probe의 농도를 50 nM, 100 nM, 150 nM, 200nM (권장농도)로 달리하여 토마토 Mi SNP 마커로 분석한 결과 분석성과 비용면에서 100 nM의 probe 농도가 가장 적합한 것으로 밝혀졌다 (그림 96). Probe의 농도를 200nM로 사용하는 경우 샘플당 단가는 약 580원이 소요되며, 이를 반으로 줄이게 되면 샘플당 단가는 290원으로 낮아지게 되어 전체 분석단가를 낮추는데 많은 효과를 주었다.

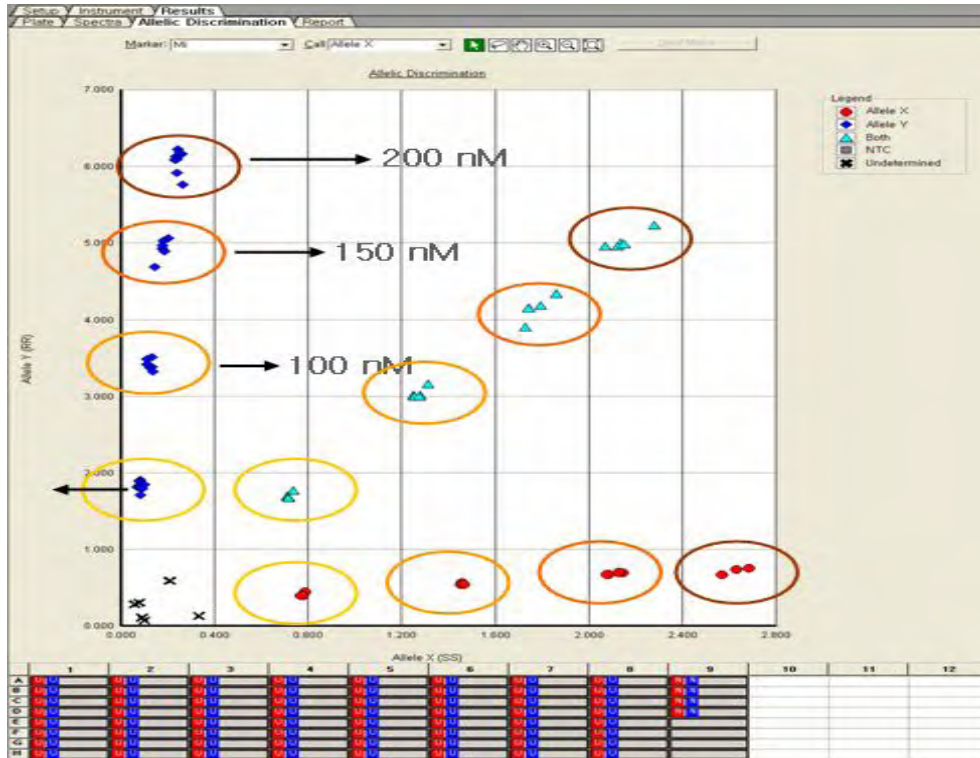


그림 96. TaqMan probe 방식의 SNP 마커분석법에서 probe 농도별 토마토 Mi 마커의 SNP 결과비교

(4) PCR master mixture와 실험실 조제 master mixture 간 SNP 결과 비교: ABI genotyping 용 master mix (ABI, Cat. # 4371355)와 일반 Hot start Taq polymerase (GenetBio)간 SNP 마커분석 결과를 비교하고, 반응 용액에 HS Taq 농도 0.1unit과 0.25 unit을 비교하여 적절한 HS Taq 농도를 결정 하였다 (그림 97). 토마토 Mi SNP 마커를 이용하여 비교해 본 결과 두 종류의 반응용액 간 결과 차이는 보이지 않았으며, PCR 반응 용액에 HS Taq polymerase 0.25 unit과 0.1 unit을 첨가한 결과에서도 Taq polymerase 농도차이가 인자형을 구분하는 데는 큰 영향을 주지 않았다. ABI master mixture의 경우 샘플당 400원이 소요되었으며, GenetBio사의 Hot start Taq polymerase를 사용하여 실험실에서 master mixture를 조제하는 경우는 샘플당 100원이 소요되어 75%의 비용절감 효과를 얻을 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 토마토 SNP 마커분석을 위한 SNP 반응용액은 고가의 master mix를 이용하지 않고, 실험실에서 조제한 master mixture에 GenetBio사의 Hot start Taq polymerase 0.1 unit을 첨가하여 분석에 사용하는 것으로 결정하였다.

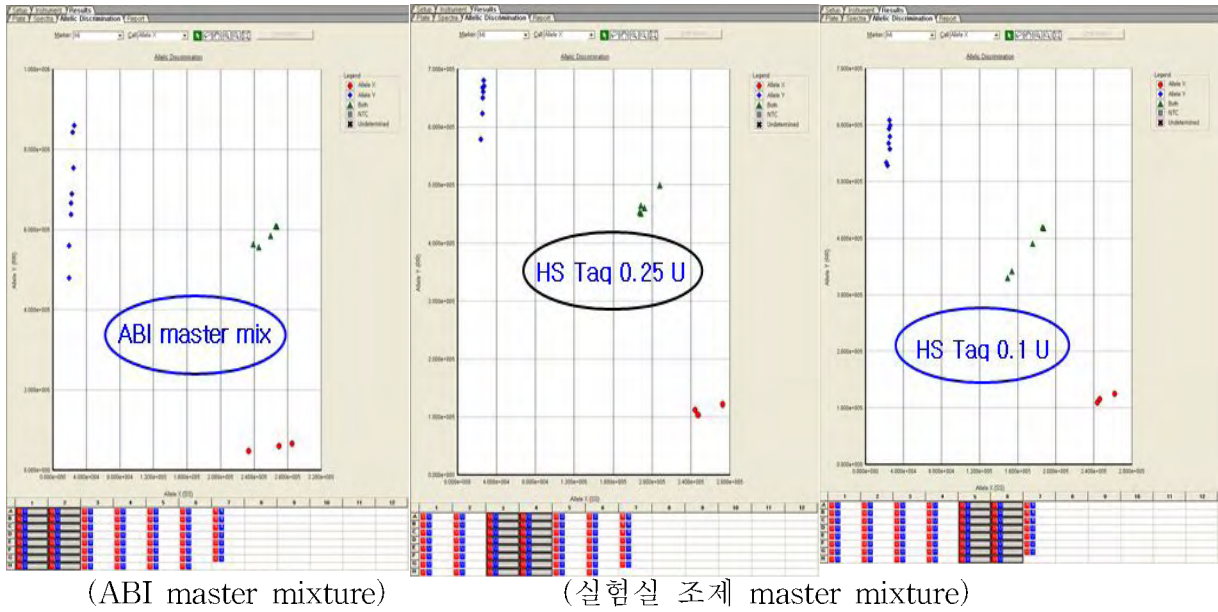


그림 97. ABI genotyping master mix와 HS Taq polymerase manual mixture, HS Taq polymerase 농도간 SNP 결과 비교.

(5) ABI film과 Axygen film 비교: SNP 분석을 하는 경우 기기에서 plate 상호간의 cross-contamination을 방지하기 위하여 non-fluorescence optical film으로 밀봉을 하고 PCR을 수행하게 된다. 이때 사용되는 film의 샘플당 가격은 2009년 판매가격 기준으로 36원이 소요되었다. 그러나 일반 PCR film의 경우 단가가 9원으로 일반 PCR film을 사용할 수 있게 되면 75%의 비용 절감 효과가 있다. ABI 제품 (non-fluorescence optical film)과 Axygen 제품 (일반 PCR film)을 이용하여 토마토 Mi SNP 마커를 분석한 결과 두처리간에 동일한 결과를 얻을 수 있었다. (그림 98)

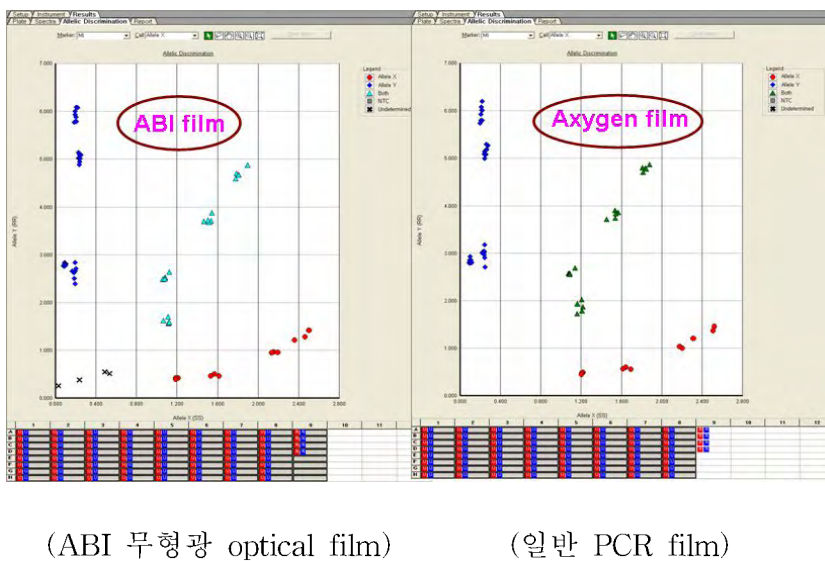


그림 98. non-fluorescence optical film과 일반 PCR film간 토마토 Mi SNP 마커분석 비교.

(6) Passive reference "ROX" 농도에 따른 SNP 결과 비교: TaqMan probe 방식으로 마커를

분석할 때, 일반 판매하는 genotyping용 SNP master mixture 대신에 실험실에서 제조하는 master mixture를 만들어서 사용하게 되는 경우에는 형광의 최저 기준양을 지정해 주는 passive reference를 따로 첨가해 주어야 원하는 인자분석 결과를 얻을 수 있다. SNP 마커분석 시스템을 구축하기 위한 마지막 단계로 passive reference의 농도별 SNP 분석결과를 비교하여 보았다 (그림 99). 대표적인 passive reference로 사용되고 있는 ROX를 0.1X, 0.25X, 0.5X, 1.0X로 농도를 달리하여 토마토 Mi SNP 마커를 분석해 본 결과 0.5X 농도가 샘플간 형광값의 분산도가 적은 적합한 농도로 판명되었다.

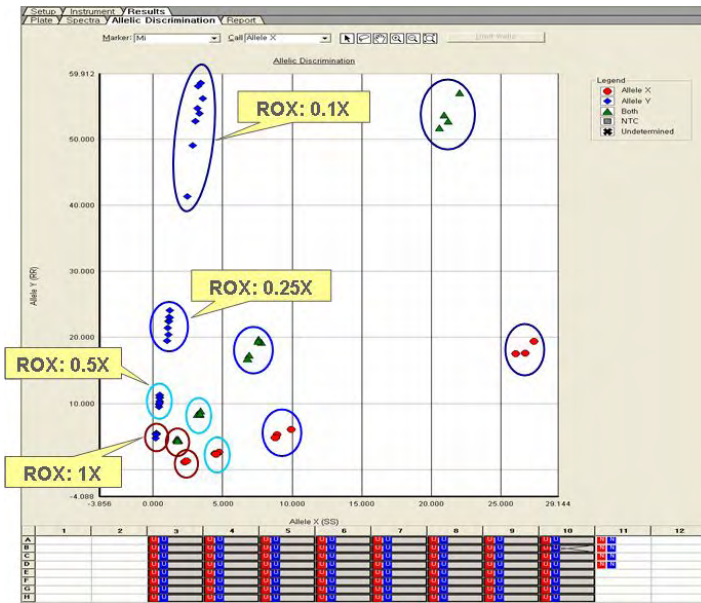


그림 99. passive reference 'ROX'의 농도에 따른 토마토 Mi SNP 마커 분석결과.

(7) SNP 마커를 이용한 대량분석 PCR 반응조건: 앞선 결과를 바탕으로 소요비용을 최소화한 TaqMan probe 방식의 SNP PCR 반응 최종 protocol은 표 94와 같다. 과제가 진행되면서 5차년도에는 SNP 마커분석의 전체반응 부피를 10ul로 줄여서 사용하였다.

표 94. 토마토 SNP 마커분석을 위한 PCR 반응표

Components	사용량	Final Conc.	
Template	1 ul	—	
Primer	1.8 ul +1.8 ul	18 pmol	900 nM
Probe	0.5 ul+0.5 ul	2 pmol	100nM
10x b/f	2.0 ul	1X	
dNTP	1.6 ul	200 uM	
ROX (50X)	0.2 ul	0.5X	
HS Taq (2.5u/ul)	0.1 ul	0.25 U	
d.w	10.5 ul		
Total	20 ul		

Primer stock: 10,000pmol/1ml = 10pmol/ul = 10 uM
 Final 사용농도: 900nM, 900nM X 20ul=18uM 1.8 ul/ 20ul reaction
 Probe stock: 6,000pmol/1.5ml = 4pmol/ul = 4 uM
 Final 사용농도: 100nM, 100nM X 20ul=2uM 0.5 ul/ 20ul reaction

다. CAPS 마커의 SNP 마커 전환

(1) Mi 마커와 Tm-2a 마커의 SNP 전환: 이병성 계통과 저항성 계통으로부터 기존 CAPS 마커를 이용하여 PCR을 수행한 후, 복수의 PCR 단편을 cloning하여 각각의 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열에서 target candidate SNP sites를 정하고, Primer Express ver. 3.0 프로그램을 이용하여 적정한 SNP primer와 probe 조합을 선정하였다. 선정된 primer와 probe 조합들에 대하여 형광 표지된 probe로 테스트를 하여 CAPS 마커결과와 동일한 결과를 보이는 primer/probe 조합을 결정하였다 (그림 100. 그림 101). 육성 중에 있는 토마토 재료를 대상으로 CAPS 마커의 결과와 SNP 마커의 결과를 비교하여 전환된 SNP 마커의 정확성을 확인하였다.

[토마토 Mi SNP 마커]

저항성 421
 CTACCTTTGCTTGCACTAGTGTCCCTTCCGGTCARACAAGGAGACCCTTGCTACCTTT
 TCC 480

||||| ||

이병성 425
 CTACCTTTGCTTGCACTAGTGTCCCTTCCGGTCAGACAAGGAGACCCTTGCTACCTTT
 TCC 484

저항성 481
 TTCCTGGAGATGTCATCACATATTTTTTCCATAGAATCTTGGGGATTACATGTCAAG
 GAA 540

|||| ||

이병성 485
 TTCCTAGAGATGTCATCACATATTTTTTCCATAGAATCCTGGGGATTACATGTCAAG
 GAA 544

저항성 541
 TCTCGAAGTTCTCTCCCTTTTCTCTTAATCGGAGAATCATTATTGTCACACTTCCCT
 TA 600

|||| ||

이병성 545
TCTCGCAGTTCTCTCCCTTTTCTCTTAATCGGAGAATCATTATTGTCACACTTCCCCT
TA 604

저항성 601
TGCGTTGACACATCGGAAATATAAGCTTCTGGGTTCTTTGCTGAAACCAAGTCTTTC
TTT 660

|||||

이병성 605
TGCGTTGACACATCGGAAATATAAGCTTCTGGGTTCTTTGCTGAAACCAAGTCTTTC
TTT 664

Forward primer: 5'-CCC TTG CTA CCT TTT CCT TCC T-3'

Reverse primer: 5'-GGC TAC ACA GTT GGG TAT TCC-3'

저항성 probe : 5'-ATC TCG AAG TTC TCT T-3'

이병성 probe : 5'-TCT CGC AGT TCT C-3'

그림 100. 토마토 선충저항성 마커의 이병성과 저항성 염기서열 및 SNP 프라이머와 probe site.

[토마토 Tm-2a SNP 마커]

저항성 241
GTATGGGCCATAAAGTTCAAGATGGATGTTGCTAAGGTATTGGCTCTCAGTTACAAT
GATT 300

|||||

이병성 241
GTATGGGCCATAAAGTTCAAGATGGATGTTGCTAAGGTATTGGCTCTCAGTTACAAT
GATT 300

저항성 301
TACCTATTGCCTCAAGGCCATGTTTCTTGTACTTTGGCCTTTACCCCGAGGACCAT
GAAA 360

|||| |

이병성 301
TACCGATTGCCTCAAGGCCATGTTTCTTGTACTTTAGCCTTTACCCCGAGGACCAT
GAAA 360

저항성 361
TTCGTGCTTTTGATTTGATAAATATGTGGATTGCTGAGAAGTTTATAGTAGTAAA
TAGTG 420

|||||

이병성 361
TTCGTGCTTTTGATTTGATAAATATGTGGATTGCTGAGAAGTTTATTGTAGTAAA
TAGTG 420

Forward primer: 5'-TGT GCT AAG GTA TTG GCT CTC AGT-3'

Reverse primer: 5'-GAG TCG TTA GGT GTA TAA ATA GTT TAG-3'

저항성 probe : 5'-ACT TTG GCC TTT ACC-3'

이병성 probe : 5'-CTT TAG CCT TTA C-3'

그림 101. 토마토 TMV 저항성 연관마커 (Tm-2a)의 이병성과 저항성 염기서열 및 SNP 프라이머와 probe site.

(2) SNP 전환 마커 예비테스트 결과

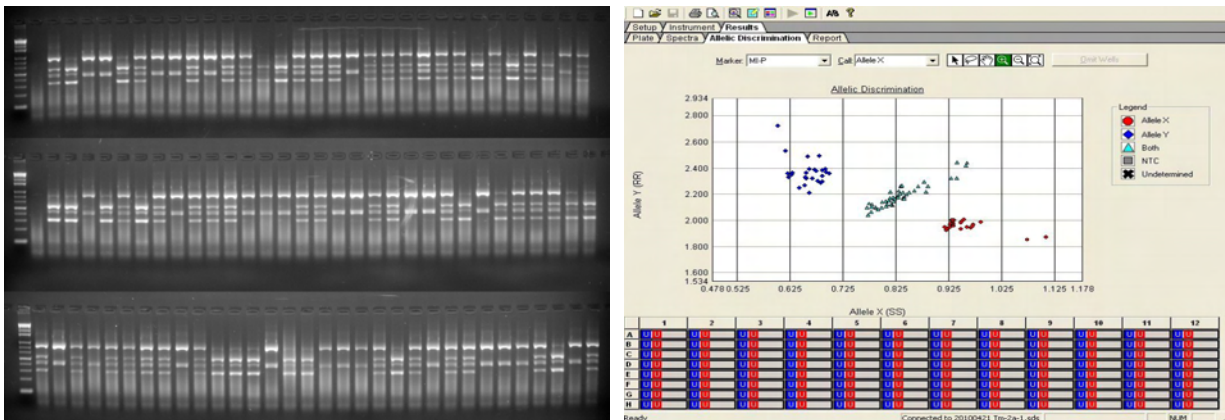
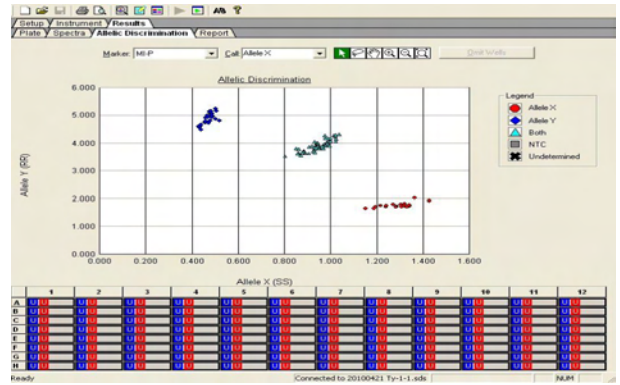
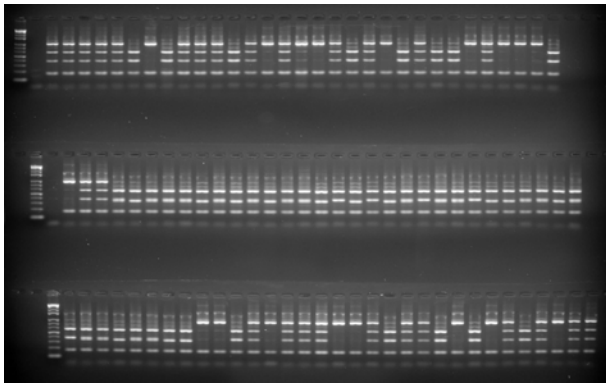


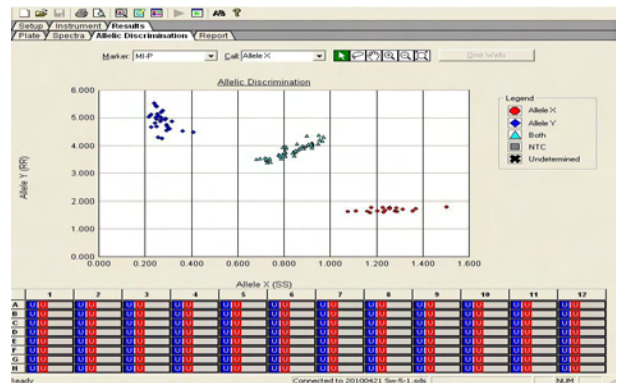
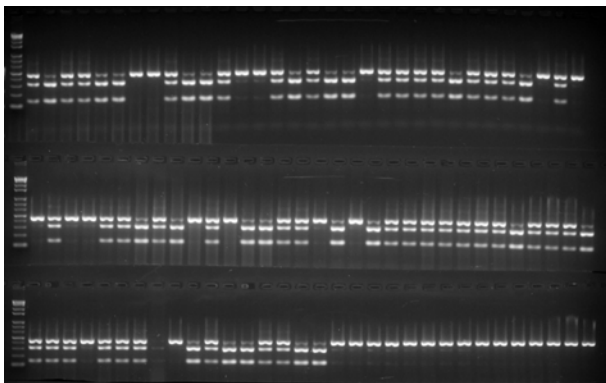
Plate # 10-Tm-2a											
No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP
1	1004-1	RS	RS	33	1053-1	RS	RS	65	1097-6	SS	SS
2	" -2	RR	RR	34	" -2	SS	SS	66	" -7	SS	SS
3	" -3	RR	RR	35	" -3	RS	RS	67	" -8	SS	SS
4	" -4	RR	RR	36	" -4	RR	RR	68	" -9	SS	SS
5	" -5	RR	RR	37	" -5	RS	RS	69	" -10	SS	SS
6	" -6	RS	RS	38	" -6	RS	RS	70	" -11	RR	RR
7	" -7	RS	RS	39	" -7	nd	SS	71	" -12	RS	RS
8	" -8	RS	RS	40	" -8	RS	RS	72	" -13	RR	RR
9	" -9	RS	RS	41	" -9	RS	RS	73	" -14	RR	RR
10	1052-1	SS	SS	42	" -10	RR	RR	74	" -15	RR	RR
11	" -2	SS	SS	43	" -11	RS	RS	75	" -16	RR	RR
12	" -3	RR	RR	44	" -12	RR	RR	76	" -17	RS	RS
13	" -4	SS	SS	45	" -13	SS	SS	77	" -18	RS	RS
14	" -5	RS	RS	46	" -14	SS	SS	78	" -19	RS	RS
15	" -6	RS	RS	47	" -15	SS	SS	79	" -20	SS	SS
16	" -7	RR	RR	48	" -16	RS	RS	80	" -21	RR	RR
17	" -8	RS	RS	49	" -17	RR	RR	81	" -22	RS	RS
18	" -9	SS	SS	50	" -18	RS	RS	82	" -23	RS	RS
19	" -10	SS	SS	51	" -19	SS	SS	83	" -24	RR	RR
20	" -11	RS	RS	52	" -20	RS	RS	84	" -25	RS	RS
21	" -12	RS	RS	53	" -21	RS	RS	85	" -26	RS	RS
22	" -13	SS	SS	54	" -22	RS	RS	86	1097-101	RS	RS
23	" -14	RR	RR	55	" -23	RS	RS	87	" -102	RS	RS
24	" -15	SS	SS	56	" -24	RR	RR	88	" -103	RR	RR
25	" -16	RR	RR	57	" -25	RS	RS	89	" -104	RR	RR
26	" -17	SS	SS	58	" -26	SS	SS	90	" -105	RR	RR
27	" -18	RS	RS	59	" -27	RS	RS	91	" -106	SS	SS
28	" -19	RR	RR	60	1097-1	RS	RS	92	" -107	RS	RS
29	" -20	SS	SS	61	" -2	RR	RR	93	" -108	SS	SS
30	" -21	RR	RR	62	" -3	RS	RS	94	" -109	RS	RS
31	" -22	RS	RS	63	" -4	RS	RS	95	" -110	RS	RS
32	" -23	RS	RS	64	" -5	RS	RS	96	" -111	SS	SS

그림 102. 토마토 TMV 저항성 연관마커 (Tm-2a)의 CAPS 마커분석 결과와 SNP 마커분석 결과비교.



No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP
395	1010-1	RS	RS	417	1067-6	SS	SS	449	1069-13	RS	RS
396	"-2	RS	RS	418	"-7	RS	RS	450	"-14	RR	RR
397	"-3	SS	SS	419	"-8	SS	SS	451	"-15	RR	RR
398	"-4	RS	RS	420	"-9	RS	RS	452	"-16	RS	RS
399	"-5	RS	RS	421	"-10	SS	SS	453	"-17	RR	RR
399	"-5	RS	RS	421	"-10	SS	SS	453	"-17	RR	RR
390	"-6	RS	RS	422	"-11	SS	SS	454	"-18	RR	RR
391	"-7	RS	RS	423	"-12	RS	RS	455	"-19	RR	RR
392	"-8	SS	SS	424	"-13	SS	SS	456	"-20	RR	RR
393	"-9	SS	SS	425	"-14	RS	RS	457	"-21	RR	RR
394	"-10	RS	RS	426	"-15	RS	RS	458	"-22	RS	RS
395	"-11	RS	RS	427	"-16	SS	SS	459	"-23	RR	RR
396	"-12	RS	RS	428	"-17	SS	SS	460	"-24	RR	RR
397	"-13	SS	SS	429	"-18	RS	RS	461	"-25	RS	RS
398	"-14	RS	RS	430	"-19	SS	SS	462	"-26	RR	RR
399	"-15	SS	SS	431	"-20	SS	SS	463	"-27	RR	RR
400	"-16	SS	SS	432	"-21	SS	SS	464	1069-101	RR	RR
401	"-17	RS	RS	433	"-22	SS	SS	465	"-102	RS	RS
402	"-18	RS	RS	434	"-23	RS	RS	466	"-103	RR	RR
403	"-19	RS	RS	435	"-24	RS	RS	467	"-104	RS	RS
404	"-20	RS	RS	436	"-25	RS	RS	468	"-105	RS	RS
405	"-21	RS	RS	437	1069-1	RR	RR	469	"-106	RR	RR
406	"-22	RS	RS	438	"-2	RR	RR	470	"-107	RR	RR
407	"-23	SS	SS	439	"-3	RS	RS	471	"-108	RR	RR
408	"-24	RS	RS	440	"-4	RR	RR	472	"-109	RR	RR
409	"-25	RS	RS	441	"-5	RR	RR	473	"-110	RR	RR
410	"-26	RS	RS	442	"-6	RR	RR	474	"-111	RR	RR
411	"-27	RS	RS	443	"-7	RR	RR	475	"-112	RR	RR
412	1067-1	RS	RS	444	"-8	RR	RR	476	"-113	RR	RR
413	"-9	SS	SS	445	"-9	RR	RR	477	"-114	RS	RS
414	"-3	RS	RS	446	"-10	RS	RS	478	"-115	RR	RR
415	"-4	RS	RS	447	"-11	RR	RR	479	"-116	RS	RS
416	"-5	SS	SS	448	"-12	RS	RS	480	"-117	RR	RR

그림 103. 토마토 TYLCV 저항성 연관마커 (Ty-1)의 CAPS 마커분석 결과와 SNP 마커분석 결과비교.



No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP
395	1010-1	RS	RS	417	1067-6	SS	SS	449	1069-13	RS	RS
396	"-2	RS	RS	418	"-7	RS	RS	450	"-14	RR	RR
397	"-3	SS	SS	419	"-8	SS	SS	451	"-15	RR	RR
398	"-4	RS	RS	420	"-9	SS	SS	452	"-16	RR	RR
399	"-5	RS	RS	421	"-10	SS	SS	453	"-17	RR	RR
399	"-5	RS	RS	421	"-10	SS	SS	453	"-17	RR	RR
390	"-6	SS	SS	422	"-11	RS	RS	454	"-18	RR	RR
391	"-7	SS	SS	423	"-12	RS	RS	455	"-19	RS	RS
392	"-8	SS	SS	424	"-13	SS	SS	456	"-20	RR	RR
393	"-9	RS	RS	425	"-14	RS	RS	457	"-21	RR	RR
394	"-10	SS	SS	426	"-15	RS	RS	458	"-22	RS	RS
395	"-11	SS	SS	427	"-16	SS	SS	459	"-23	RR	RR
396	"-12	RS	RS	428	"-17	RS	RS	460	"-24	RR	RR
397	"-13	RS	RS	429	"-18	RS	RS	461	"-25	RR	RR
398	"-14	SS	SS	430	"-19	RS	RS	462	"-26	RR	RR
399	"-15	SS	SS	431	"-20	RS	RS	463	"-27	RR	RR
400	"-16	RS	RS	432	"-21	RS	RS	464	1069-101	RR	RR
401	"-17	SS	SS	433	"-22	SS	SS	465	"-102	RR	RR
402	"-18	RS	RS	434	"-23	SS	SS	466	"-103	RR	RR
403	"-19	RS	RS	435	"-24	RS	RS	467	"-104	RS	RS
404	"-20	RS	RS	436	"-25	RS	RS	468	"-105	RS	RS
405	"-21	SS	SS	437	1069-1	RR	RR	469	"-106	RR	RR
406	"-22	RS	RS	438	"-2	RR	RR	470	"-107	RR	RR
407	"-23	SS	SS	439	"-3	RR	RR	471	"-108	RR	RR
408	"-24	SS	SS	440	"-4	RR	RR	472	"-109	RR	RR
409	"-25	RS	RS	441	"-5	RR	RR	473	"-110	RR	RR
410	"-26	SS	SS	442	"-6	RR	RR	474	"-111	RR	RR
411	"-27	RS	RS	443	"-7	RR	RR	475	"-112	RS	RS
412	1067-1	RS	RS	444	"-8	RR	RR	476	"-113	RR	RR
413	"-9	SS	SS	445	"-9	RR	RR	477	"-114	RR	RR
414	"-3	RS	RS	446	"-10	RR	RR	478	"-115	RR	RR
415	"-4	RS	RS	447	"-11	RR	RR	479	"-116	RS	RS
416	"-5	RS	RS	448	"-12	RR	RR	480	"-117	RR	RR

그림 104. 토마토 TSWV 저항성 연관마커 (Sw-5)의 CAPS 마커분석 결과와 SNP 마커분석 결과비교.

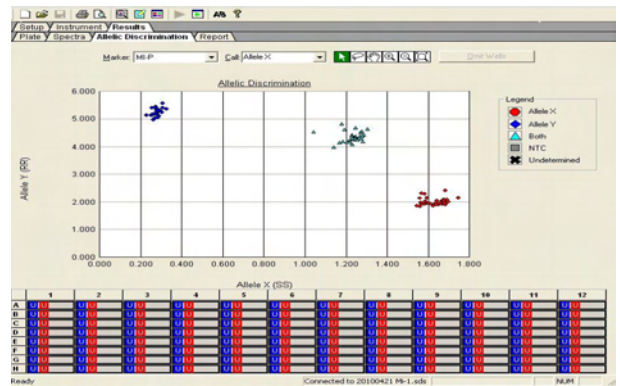
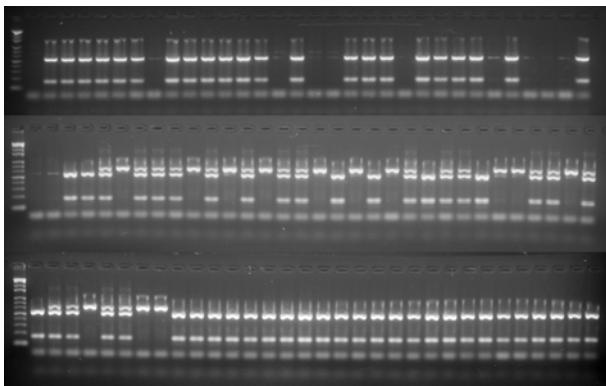


Plate # 36 Mi											
No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP	No.	BN	CAPS	SNP
2497	1136-1	SS	SS	2529	1137-6	RR	RR	2561	1138-11	SS	SS
2498	"-2	SS	SS	2530	"-7	RS	RS	2562	"-12	RS	RS
2499	"-3	SS	SS	2531	"-8	RR	RR	2563	"-13	RR	RR
2500	"-4	SS	SS	2532	"-9	RS	RS	2564	"-14	RS	RS
2501	"-5	SS	SS	2533	"-10	RS	RS	2565	"-15	RS	RS
2502	"-6	SS	SS	2534	"-11	RR	RR	2566	"-16	RS	RS
2503	"-7	SS	SS	2535	"-12	RR	RR	2567	"-17	SS	SS
2504	"-8	SS	SS	2536	"-13	RR	RR	2568	"-18	RS	RS
2505	"-9	SS	SS	2537	"-14	RR	RR	2569	"-19	RR	RR
2506	"-10	SS	SS	2538	"-15	RR	RR	2570	"-20	SS	SS
2507	"-11	SS	SS	2539	"-16	RR	RR	2571	"-21	RR	RR
2508	"-12	SS	SS	2540	"-17	SS	SS	2572	"-22	RS	RS
2509	"-13	SS	SS	2541	"-18	SS	SS	2573	"-23	RS	RS
2510	"-14	SS	SS	2542	"-19	RR	RR	2574	"-24	RS	RS
2511	"-15	SS	SS	2543	"-20	RS	RS	2575	"-25	SS	SS
2512	"-16	SS	SS	2544	"-21	RR	RR	2576	"-26	RS	RS
2513	"-17	SS	SS	2545	"-22	RR	RR	2577	"-27	RS	RS
2514	"-18	SS	SS	2546	"-23	RS	RS	2578	1139-1	RS	RS
2515	"-19	SS	SS	2547	"-24	RS	RS	2579	"-2	RR	RR
2516	"-20	SS	SS	2548	"-25	RS	RS	2580	"-3	RS	RS
2517	"-21	SS	SS	2549	"-26	RS	RS	2581	"-4	SS	SS
2518	"-22	SS	SS	2550	"-27	SS	SS	2582	"-5	RS	RS
2519	"-23	SS	SS	2551	1139-1	RR	RR	2583	"-6	SS	SS
2520	"-24	SS	SS	2552	"-2	RS	RS	2584	"-7	RR	RR
2521	"-25	SS	SS	2553	"-3	RR	RR	2585	"-8	RR	RR
2522	"-26	SS	SS	2554	"-4	RR	RR	2586	"-9	RS	RS
2523	"-27	SS	SS	2555	"-5	SS	SS	2587	"-10	RS	RS
2524	1137-1	RS	RS	2556	"-6	RS	RS	2588	"-11	RS	RS
2525	"-2	RR	RR	2557	"-7	SS	SS	2589	"-12	RS	RS
2526	"-3	RR	RR	2558	"-8	SS	SS	2590	"-13	RS	RS
2527	"-4	RR	RR	2559	"-9	RR	RR	2591	"-14	RS	RS
2528	"-5	SS	SS	2560	"-10	RR	RR	2592	"-15	RS	RS

그림 105. 토마토 선충 저항성 연관마커 (Mi)의 CAPS 마커분석 결과와 SNP 마커분석 결과비교.

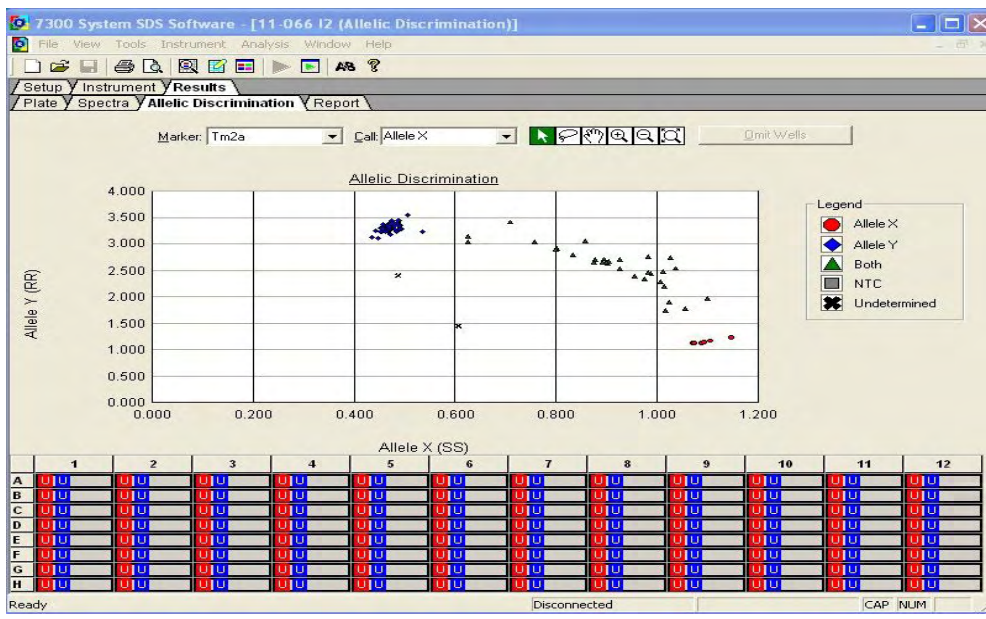


그림 106. 토마토 Fusarium wilt race 2 저항성 연관마커 (I2)의 SNP 마커분석결과.

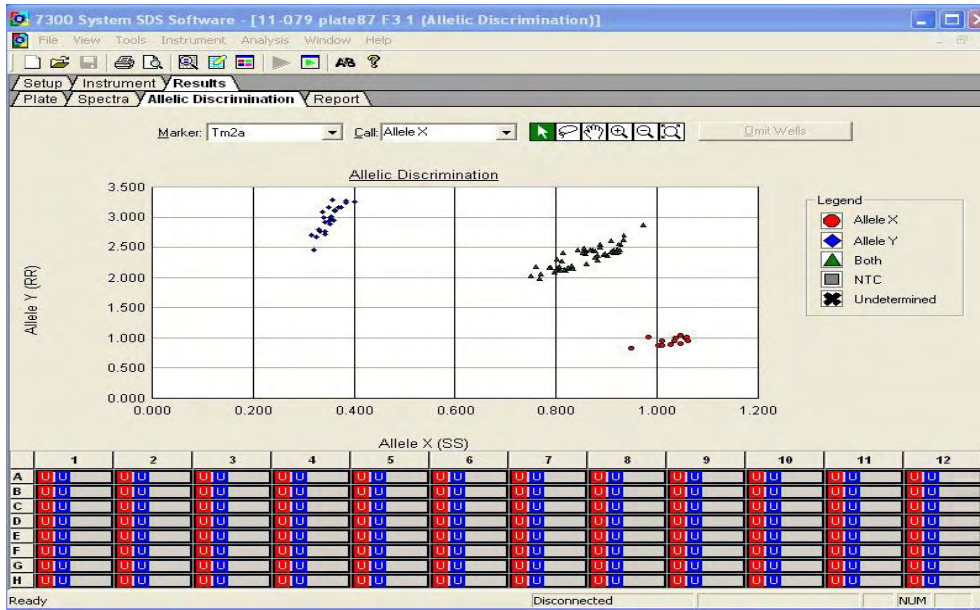


그림 107. 토마토 Fusarium wilt race 3 저항성 연관마커 (I3)의 SNP 마커분석결과.

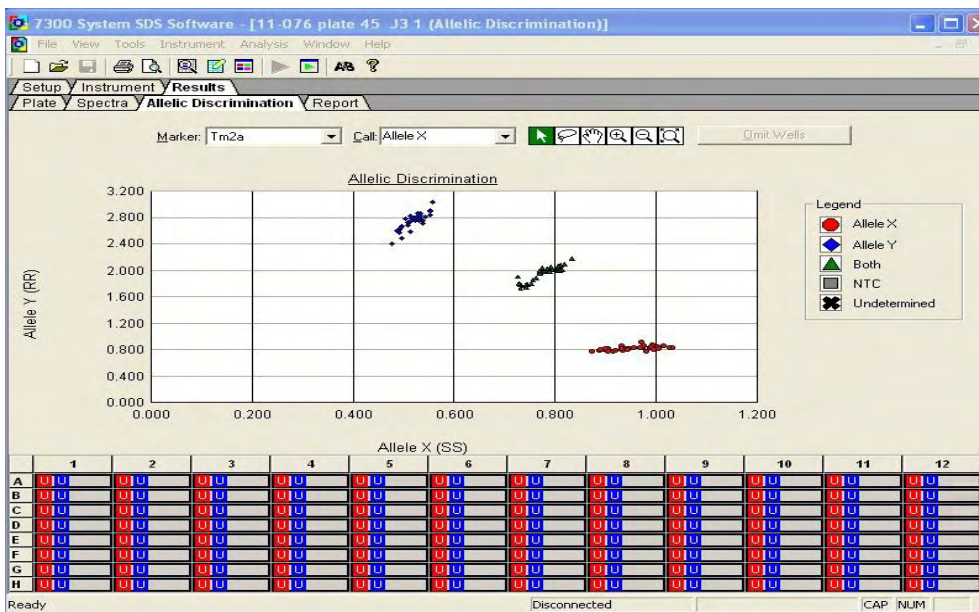


그림 108. 토마토 Fusarium root rot 저항성 연관마커 (Fr1)의 SNP 마커분석결과.

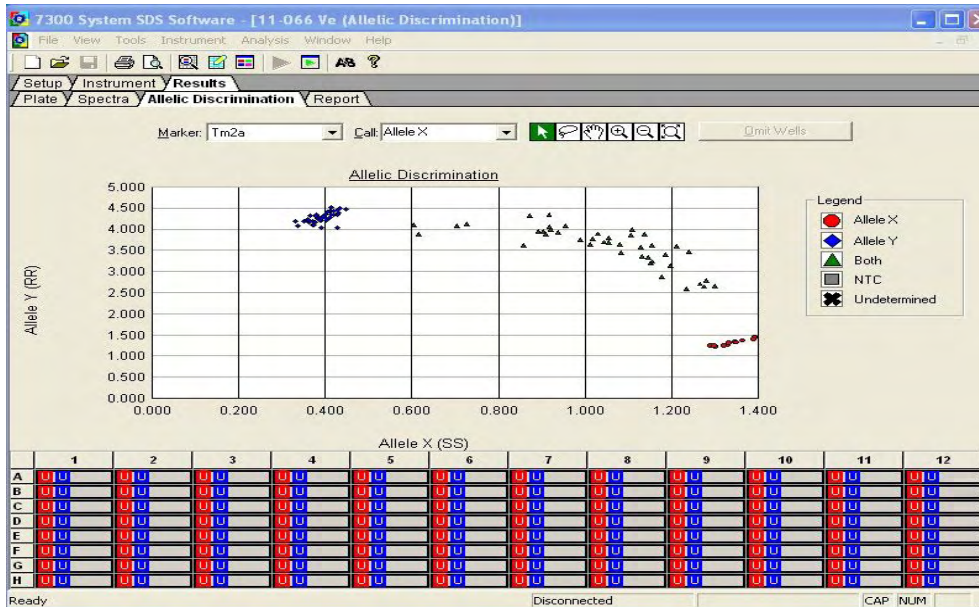


그림 109. 토마토 Verticillium 저항성 연관마커 (Vd)의 SNP 마커분석결과.

라. 토마토 품종육성을 위한 마커분석지원

(1) 5년간 마커분석량: 1차년도에 기존 보유한 마커와 새로이 개발한 마커를 포함하여 모두 7개의 병저항성 연관마커를 사용하여 품종육성을 위한 인자형 분석을 수행하였다. 사용된 마커는 Tm-2a, Ty-1, Mi, Sw-5, I2, Vd, cf-9이었으며, 총 15,519점을 분석하였다. 2차년도에는 K (py-1)와 Sp 마커가 추가되어 총 9개의 마커로 23,676점을 분석하였으며, Tm-2a, Ty-1, Mi, Sw-5는 CAPS 마커와 SNP 마커가 병행하여 분석에 사용되었다. 3차년도에는 I3, Frl, Ty-2, Jointless, 배축색 마커가 추가되었고, 이 중에서 실제 육성에는 I3 마커와 Frl 마커가 사용되어 총 47,602점을 분석하였다. 5차년도에는 전반기 39,856점과 후반기 53,577점을 분석하여 총 93,433점을 분석하였고, 5년간 총 분석량은 224,075점 이었다. 연도별 분석량을 그래프로 나타내면 그림 110과 같다.

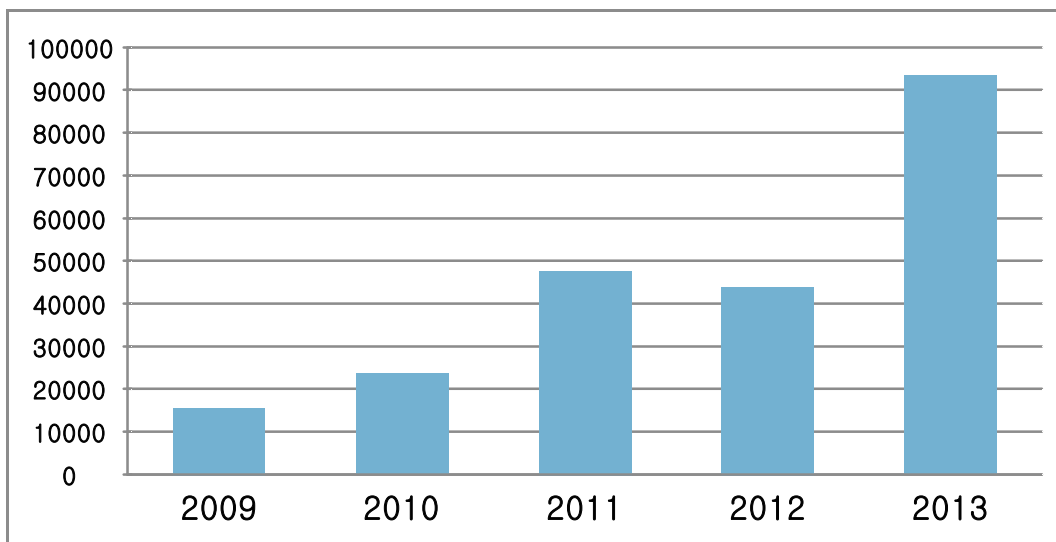


그림 110. 2009년~2013년 연도별 마커분석량

마커별 분석량은 Tm-2a, Ty-1, Mi, Sw-5, cf-9이 2만점 이상 분석하였으며, 토마토 품종육성에서 주요한 병저항성 형질임을 알 수 있었다 (표 95). 5년간 마커별 분석량을 그래프로 나타내면 그림 111과 같다.

표 95. 연도별/ 마커별 분석량 분포

마커종류	2009	2010	2011	2012	2013	합계
Tm-2a	3,540	7,343	15,259	12,985	25,997	65,124
Ty-1	3,025	6,556	11,506	9,587	22,675	53,349
Mi	2,328	3,038	7,101	8,577	16,515	37,559
Sw-5	2,551	3,288	5,088	4,482	9,099	24,508
cf-9	3,100	2,854	4,421	2,713	7,533	20,621
Vd	497	191	218	751	1,257	2,914
I2	478	186	218	63	1,155	2,100
K (py-1)	—	180	397	433	507	1,517
Sp	—	40	—	479	834	1,353
I3	—	—	2,388	914	1,146	4,448
Frl	—	—	946	2,605	5,626	9,177
Ty-2	—	—	60	95	205	360
PM_Lv	—	—	—	161	424	585
PM_OI	—	—	—	—	460	460
합계	15,519	23,676	47,602	43,845	93,433	224,075

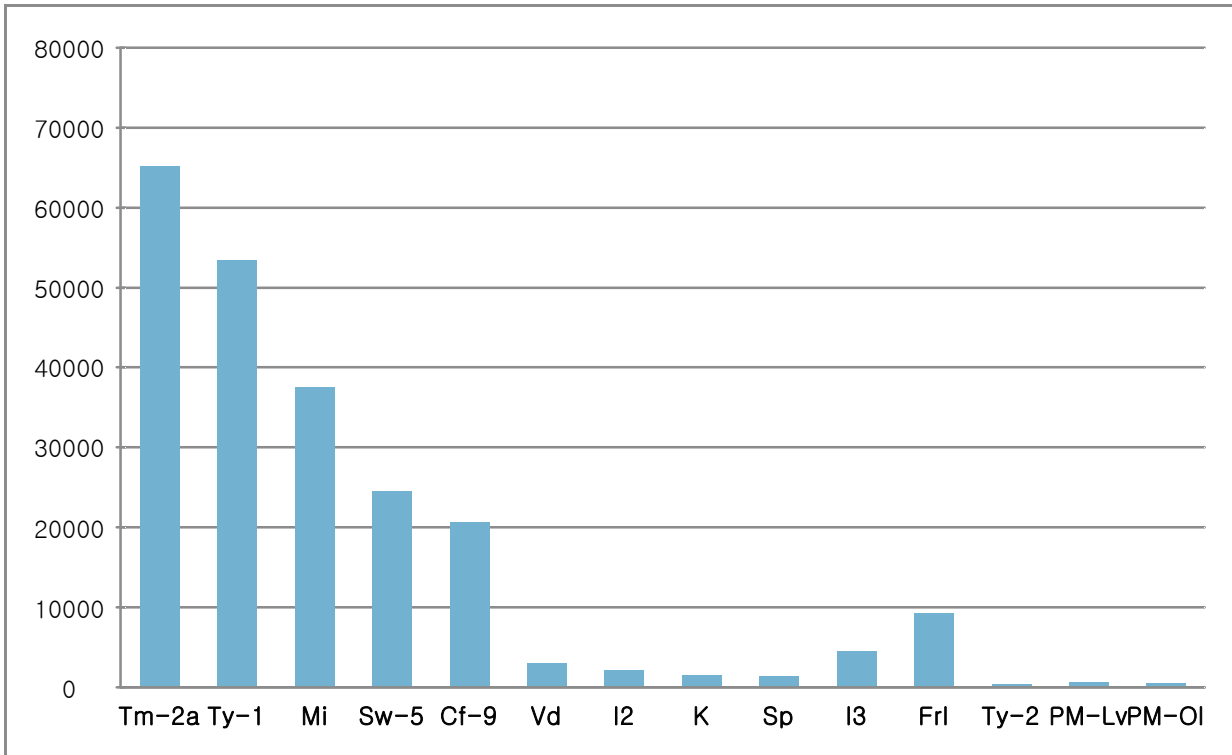


그림 111. 2009년~2013년 마커별 총 분석량

제4절 고기능성 토마토 품종 육성을 위한 토마토계통의 평가

1. 실험 방법

가. Lycopene 함량 측정

Lycopene 측정은 Fish and others[4] 의 low hexane volume method로 진행했다. 1g의 신선한 시료를 마쇄한 후 0.05% butylated hydroxyl toluene in acetone 5ml과 95% ethanol 5ml, hexane 10ml을 넣고 15분간 암실에서 shaking 하고 3ml 증류수를 넣고 다시 5분간 암실에서 shaking 했다. shaking이 끝나면 5분간 방치해서 水층과 hexane층이 분리되게 한다. 그 다음 상층의 hexane 층만을 가지고 503nm 흡광도를 측정 하였다. blank는 hexane으로 한다. 흡광도는 UVmini-1240(Shimadzu, Japan)를 사용하였다.

Lycopene함량 측정 방법

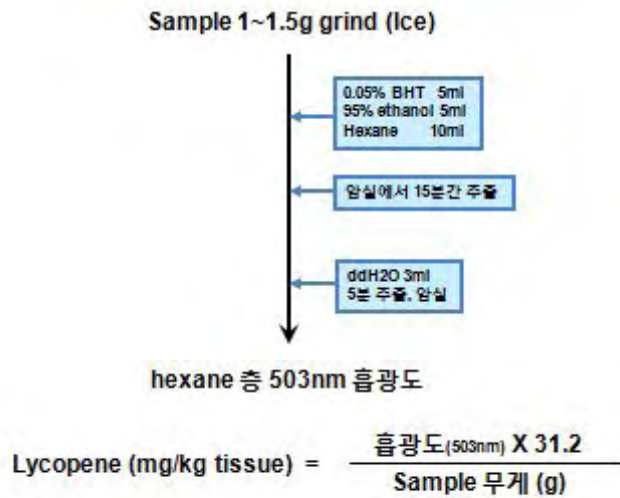


그림 112. Lycopene 측정방법

나. L-glutamate 함량 측정

L-glutamate는 glutamate 정량 kit(Yamasa社, Japan)를 사용하여 측정하였다. 방법은 시약의 사용 방법에 따라 실행 하였다. 적당히 희석된 sample $10\mu\text{l}$ 와 측정시약 $150\mu\text{l}$ 를 96 well plate에서 실온 30분 반응 시켜 발색 정도를 standard와 비교하여 함량을 계산했다. plate reader는 EL800 (Biotek, Korea)이다.

kit 구성물

L-glutamate 표준시약

발색시약완충용액

발색효소

Glutamate 측정 원리

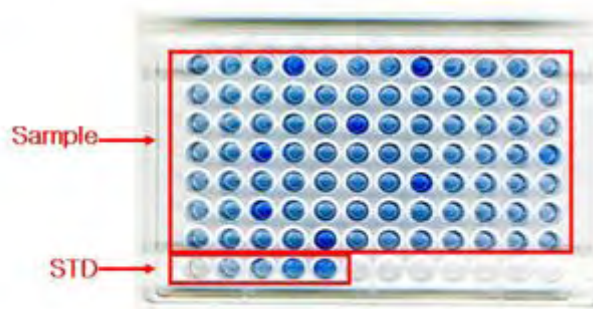
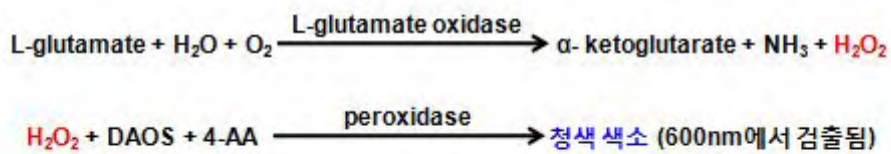


그림 113. L-glutamate 측정원리

토마토의 glutamate 정량

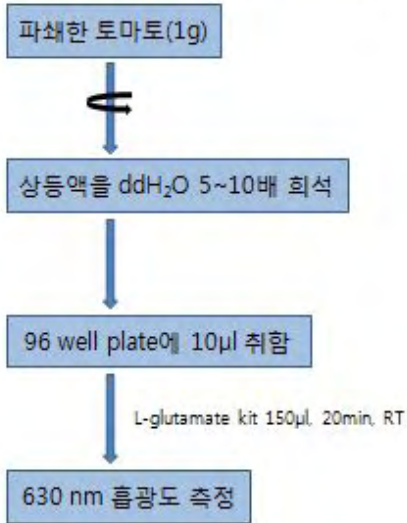


그림 114. L-glutamate 측정 방법

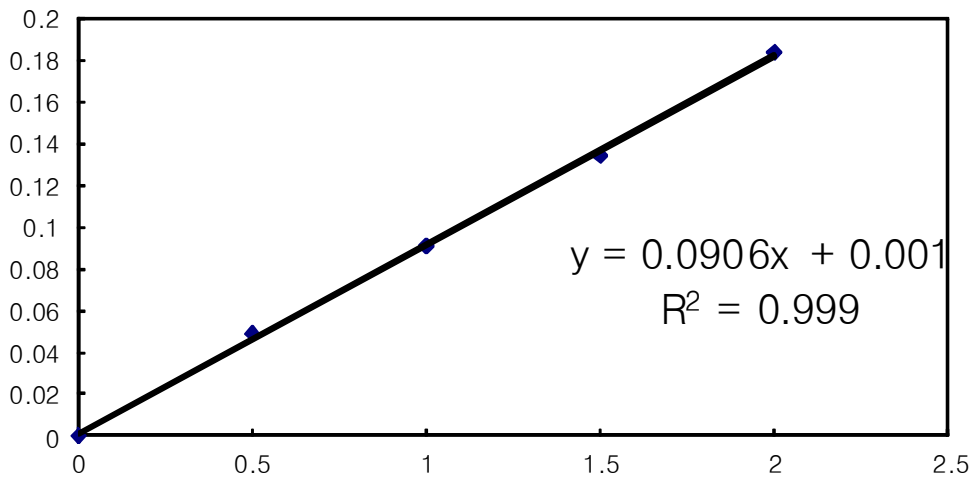


그림 115. L-Glutamic acid 표준 검량선

STD(standard)의 흡광도 값은 plate가 바뀔 때마다 재측정 하여 그 plate에 있는 sample의 흡광도 값을 가지고 L-glutamate 함량 계산 시 이용 한다.

다. 토마토에 함유된 α-Glucosidase 저해 활성 측정

(1) 토마토 α-glucosidase inhibitor 추출 용매 선정

토마토의 α-glucosidase inhibitor(AGI)를 추출하기 위한 추출용매를 우선 선정하기로 하였다. 여러가지 용매(Ethanol, Methanol, Ethyl acetate, Acetone, H₂O)를 가지고 추출 하여 추출 효율이 가장 높은 용매를 다음 실험 후에 실험에 사용하였다. 토마토 시료에 2.5배량의 용매를 가하고 homogenize 한 후 저온에서 12시간 교반 추출하였다. 추출물을 원심분리 한 후 상등액을 희석하여 maltose를 기질로 하여 돼지 소장 기원의 α-glucosidase에 대한 저해 활성을 측정 하였다. 유기 용매의 경우 용매를 날린 후 Ethanol에 용해하여 활성 측정 하였다.

(2) 토마토의 AGI 활성 측정

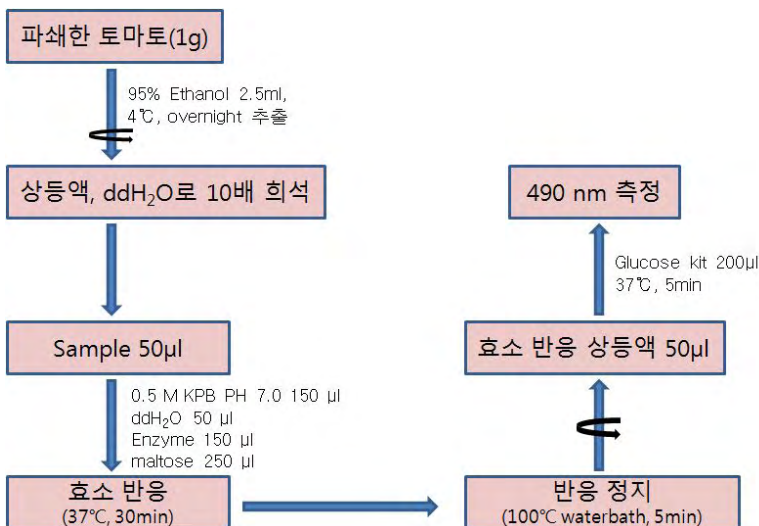


그림 116. α-glucosidase inhibition 측정방법

토마토 시료에 2.5배량의 ethanol을 가하고 homogenize 한 후 저온에서 12시간 교반 추출하였다. 추출물을 원심분리 한 후 상등액을 적당히 희석하여 maltose를 기질로 하여 돼지 소장 기원의 α-glucosidase에 대한 저해 활성을 다음과 같은 방법으로 측정 하였다.

Glucose kit는 현재 시판되고 있는 시약을 구입하여 사용하였다. (Asan set, 아산제약社, korea)

(3) HPTLC를 이용한 토마토 AGI의 분획

HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography, Merck社) 를 이용하여 토마토 AGI의 분획 밴드의 위치를 확인하였다. AGI 성분이 함유된 토마토를 농축한 다음 시료를 HPTLC에 spotting 하고 전개한 후에 각 silicagel 판을 5mm 간격으로 긁어내어 다시 용출하였다. 각 fraction을 70% EtOH로 용출한 시료를 가지고 AGI를 실험하였다. 전개용매는 propanol : acetic acid : water = 4:1:1 이다

(4) 토마토 AGI의 열안정성, pH 안정성

AGI가 함유된 토마토를 상업적으로 가공하였을 경우 AGI가 파괴되거나 실활되는지 알아보기 위해 열안정성과 pH안정성을 확인하였다. AGI 활성이 높은 토마토 sample을 모아서 열안정성과 pH안정성을 확인하였다. 열안정성 실험에서 열처리 조건은 모아진 sample을 용기에 담고 30분간 가열한 다음 AGI활성을 측정하였다. 80℃까지는 직접 중탕 가열하였고, 그 이후는 autoclave를 이용하여 가열하였다. pH 안정성 실험은 각각의 pH에 해당하는 완충용액을 제조하여 추출 용매에 첨가한 후 기존의 추출방법과 동일하게 추출한 다음 pH를 토마토의 기본 pH인 약산성(pH 6)으로 보정한 후 AGI 실험을 진행하였다.

3. 실험결과

가. 1차년도 실험 결과

표 96. 유전 자원에 대한 Glutamic acid 분포

계통수	glutamate(mg/kg)					
	< 1000	1001~2000	2001~3000	3001~4000	4001~5000	5000 >
256	54	62	67	38	28	7

표 97. 토마토 Glutamic acid - 1차 샘플

NO.	glutamate(mg/kg)	NO.	glutamate(mg/kg)	NO.	glutamate(mg/kg)
1	1410	24	-164	47	1541
2	3311	25	33	48	2492
3	-66	26	508	49	2230
4	1295	27	721	50	1426
5	1885	28	1246	51	1754
6	787	29	3475	52	2869
7	918	30	2164	53	754
8	1639	31	410	54	1836
9	-82	32	-328	55	3689
10	2623	33	164	56	1016
11	4541	34	393	57	492
12	1836	35	-295	58	557
13	1820	36	1016	59	1475
14	2984	37	443	60	689
15	639	38	443	61	533
16	852	39	426	62	2984
17	279	40	262	63	1180
18	2328	41	1016	64	1328
19	2607	42	1705	65	1787
20	2164	43	1246	66	2197
21	2016	44	984	67	2328
22	2984	45	1016	68	2459
23	623	46	-197	69	2607

표 98. 토마토 Glutamic acid - 2차 샘플

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
201	2392.2	234	2666.7	268	3451
202	2137.3	235	2470.6	269	1019.6
203	2941.2	236	2666.7	270	882.4
204	2196.1	237	2196.1	271	2823.5
205	2215.7	238	2333.3	272	3607.8
206	1941.2	239	2490.2	273	4568.6
207	2294.1	240	2549	274	3431.4
208	2137.3	241	2470.6	275	4725.5
209	3196.1	242	2509.8	276	4019.6
210	1313.7	243	2843.1	277	3019.6
211	1313.7	244	3470.6	278	4431.4
212	1529.4	246	2862.7	279	2215.7
213	1980.4	247	2098	280	3431.4
214	2098	248	1960.8	281	3254.9
215	2764.7	249	2647.1	282	3607.8
216	2980.4	250	3156.9	283	2431.4
217	3156.9	251	3490.2	284	5137.3
218	4607.8	252	3196.1	285	3647.1
219	4372.5	253	4098	286	4176.5
220	3235.3	254	2196.1	287	3098
221	4196.1	255	2705.9	288	4862.7
222	3666.7	256	2764.7	289	2568.6
223	4333.3	257	2960.8	290	4431.4
224	3627.5	258	3411.8	291	1941.2
225	5490.2	259	4000	292	4000
226	4098	260	3137.3	293	4882.4
227	3862.7	261	3843.1	294	4451
228	4745.1	262	2431.4	295	2078.4
229	3529.4	263	3725.5	296	2488.9
230	3764.7	264	4294.1	297	622.2
231	2823.5	265	2039.2	298	922.2
232	4352.9	266	2392.2	299	911.1
233	4254.9	267	3235.3	300	2200

표 99. 유전 자원에 대한 Lycopene 분포

계통수	lycopene(mg/kg)				
	< 60	61 ~ 90	91 ~ 120	121 ~ 150	150 >
259	45	85	83	33	13

표 100. 토마토 Lycopene - 1차 샘플

No	mg/kg	No	mg/kg	NO	mg/kg	NO	mg/kg
1	86.6	41	85.3	81	89.8	121	74.6
2	100.2	42	79.1	82	81.0	122	76.3
3	128.5	43	54.7	83	100.9	123	65.5
4	82.5	44	130.1	84	3.0	124	112.6
5	97.4	45	109.7	85	7.6	125	110.9
6	134.6	46	97.6	86	9.8	126	12.1
7	100.8	47	52.7	87	5.2	127	10.4
8	76.1	48	136.3	88	4.8	128	75.4
9	79.5	49	101.6	89	7.4	129	72.3
10	97.6	50	74.8	90	8.4	130	113.5
11	89.5	51	19.3	91	14.1	131	89.5
12	128.5	52	11.3	92	1.4	132	88.7
13	98.7	53	8.9	93	89.4	133	78.6
14	113.5	54	4.7	94	142.6	134	100.8
15	90.7	55	111.9	95	87.1	135	111.9
16	117.3	56	77.3	96	88.5	136	85.2
17	157.5	57	72.7	97	97.4	137	72.7
18	7.5	58	86.8	98	52.7	138	83.8
19	15.0	59	94.4	99	78.8	139	82.0
20	156.4	60	96.7	100	78.9	140	112.8
21	136.9	61	84.4	101	93.0	141	51.8
22	98.9	62	113.6	102	71.8	142	81.3
23	85.3	63	69.1	103	67.1	143	73.4
24	57.8	64	96.0	104	81.9	144	56.9
25	73.7	65	83.0	105	99.0	145	112.2
26	82.6	66	73.9	106	92.7	146	83.4
27	179.7	67	73.1	107	95.6	147	49.8
28	85.5	68	93.5	108	61.7	148	48.2
29	84.5	69	85.7	109	122.6	149	95.4
30	95.2	70	62.8	110	67.5	150	92.0

31	78.5	71	116	111	93.9	151	48.5
32	2.3	72	140.8	112	95.9	152	92.9
33	65.3	73	77.9	113	94.1	153	93.2
34	2.0	74	117.0	114	106.6	154	83.7
35	80.3	75	84.9	115	77.8	155	107.3
36	118.9	76	68.5	116	58.4	156	121.7
37	117.2	77	120.6	117	75.1	157	144.2
38	117.8	78	84.2	118	70.8	158	137.9
39	2.3	79	84.3	119	85.9	159	84.2
40	72.0	80	80.0	120	119.2	160	50.7

표 101. 토마토 Lycopene - 2차 샘플

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
201	81.3	226	113.8	252	107.5	277	154.6
202	77.4	227	106.2	253	94.4	278	120.4
203	93.9	228	163.9	254	86.0	279	99.1
204	87.9	229	98.0	255	102.3	280	88.0
205	88.5	230	86.2	256	106.3	281	126.5
206	93.0	231	109.9	257	143.9	282	10.0
207	74.7	232	97.6	258	87.9	283	10.7
208	110	233	106.6	259	100	284	127.5
209	93.5	234	124.5	260	98.3	285	127.4
210	87.8	235	150.8	261	156.7	286	76.3
211	108.6	236	118.2	262	142.9	287	3.4
212	97.0	237	105.9	263	13.7	288	5.1
213	90.1	238	129.2	264	139	289	5.5
214	85.9	239	81.4	265	100	290	96.4
215	35.1	240	122.7	266	94.3	291	95.1
216	113.1	241	120.9	267	108.8	292	135.4
217	75.0	242	96.7	268	92.3	293	125.4
218	89.5	243	134.4	269	11.1	294	151.8
219	81.3	244	144.3	270	11.1	295	28.0
220	13.4	246	156.6	271	12.3	296	136.1
221	150.9	247	128.9	272	14.3	297	82.1
222	117.7	248	4.6	273	183.7	298	120.2
223	157.1	249	102.5	274	113.5	299	186.9
224	96.7	250	120.5	275	125	300	72.8
225	134.1	251	107.8	276	141.3		

나. 2차년도 실험결과

표 102. Lycopene(2009. 8월)

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
150~100		346	60.9	433	61.6	546	58.9	340	38.5
357	107.2	347	50.7	441	54.6	549	53.7	341	45.3
403	121.7	355	66	443	60.8	550	62.6	342	36.9
404	122	356	60	446	65.7	309	69.7	349	39.5
100~70		361	51.9	451	59.6	431-1	60.6	350	40.7
401	82.9	364	53.5	452	54.6	50~30		351	37.3
402	98.2	372	53.1	458	52.4	301	45.7	352	36.4
406	84	374	50.6	459	51.3	302	36.4	354	47.6
518	90.5	379	51.3	465	61.9	303	45.6	359	42.1
525	83.1	384	53.9	481	59.6	306	44.8	360	36.6
70~50		385	56.5	483	56.2	310	41.5	362	30.6
304	57.7	386	54.1	489	53.5	313	31.6	363	34.8
305	55.8	387	66.1	492	63.9	315	31.5	365	39.5
307	57.5	389	54.9	493	54.4	320	48.9	366	49.1
309	69.7	396	55	498	61.1	322	34.2	367	37
311	51.1	397	61.3	503	66.2	323	37.9	369	38.1
312	58.9	398	55.7	506	50.5	326	43.6	370	49.5
316	50.2	402	60.6	507	55.2	327	32.2	371	35.5
317	54.5	405	64.6	513	50.1	329	32.1	373	31.2
318	57.5	408	55.6	519	54	330	39.8	375	38
319	58.9	410	59.4	523	57.2	331	45.1	377	40.2
321	50.9	423	54.4	526	56.6	332	44.6	378	33.2
324	55.1	424	57.1	527	56	333	32.4	380	37.8
325	57.3	426	57.3	528	62.7	334	45	381	37.9
328	58	427	59.1	529	57.1	335	43.9	382	44.3
345	53.8	431-1	60.6	534	54.6	336	44	383	39.9
390	44.6	442	36.8	496	42.7	540	35.5	391	28.1
395	45.8	442	47.7	497	46.1	542	32.2	392	16.1
409	39.9	444	46.6	499	40.7	543	47.6	393	22.2
411	48.1	445	45.8	500	35.1	544	48.4	394	28.9
412	39.5	446	34.6	501	33.6	545	35	399	23.2
413	33.1	446	45	504	37.5	547	41.2	400	25.2
415	32.9	448	41.9	505	41.1	548	38.7	407	23.9
416	36.1	452	47.9	505	50	551	39.2	414	18.6

417	33.7	453	45.4	508	49.1	422-1	34.8	420	24.7
418	31.3	454	37.1	509	45.3	422-2	34.8	421	17
419	39.9	455	32.3	510	46.9	30~0		434	6.2
419	40.2	456	49.8	511	38.6	308	26.3	437	27
421	46	457	45.3	512	44.1	337	5	439	24.5
424	46.5	460	38.7	514	35	338-1	3.5	440-1	27.3
425	40.4	461	43.3	515	37.5	338-2	5.4	447	3.7
425	45.2	462	48.8	516	47.8	339-1	3.4	449	26.9
428	42.3	464	46.3	517	35.3	339-2	4.9	450	0.9
429	38.5	480	31.3	520	44.7	343	3		
430	37.8	484	41.8	521	46.3	343	2.6		
431	45	485	31.6	522	37.8	344	5.8		
431-2	46.2	486	41.9	530	48.8	348	29		
435	42.5	488	36.8	531	37.7	353	27.8		
436	44	490	45.9	533	39.9	358	8.4		
438	37.4	491	41.4	536	34.8	368	23.9		
440	39.6	494	37.5	538	32.6	376	25.8		
441	48.9	495	40.5	539	43.8	388	19.2		

표 103. Lycopene(2009. 8월) 분포

Lycopene (mg/kg)	Sample 수
150~100	3
100~70	5
70~50	72
50~30	134
30~0	32
Total	246

표 104. Lycopene(2009. 12월)

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
60~120		30~60		30~60		<30		<30	
113	118.2	63	56.3	86	38.7	35	29.0	81	5.0
117	116.3	18	55.5	130	38.7	41	27.7	97	5.0
111	107.4	67	54.6	37	38.6	133	27.4	90	4.7
17	99.5	28	54.2	50	38.6	40	27.3	95	4.5
131	96.9	5	53.7	68	37.9	78	26.3	102	2.1
135	90.8	3	53.2	66	37.8	101	26.0	26	1.9
84	87.8	108	53.0	82	37.6	30	25.8	89	1.9
119	86.4	12	52.8	116	36.7	136	25.5	53	1.1
92	82.0	59	52.4	138	36.7	55	25.4		
1	79.4	125	52.3	134	36.5	99	25.2		
15	78.5	103	51.4	6	36.1	45	24.4		
120	76.5	58	48.1	70	35.5	128	22.3		
112	76.1	19	47.0	80	35.4	42	22.2		
100	75.7	118	46.0	7	35.3	38	21.6		
122	75.6	48	44.9	8	35.2	47	21.4		
93	73.6	114	44.0	16	35.1	51	21.2		
107	71.9	46	43.8	139	34.8	60	21.2		
73	71.1	126	43.8	13	34.5	36	21.1		
88	67.5	62	43.6	71	34.5	31	20.3		
109	67.5	2	42.7	52	34.3	44	20.1		
77	64.6	57	42.7	75	34.3	54	17.9		
29	63.9	76	42.7	10	33.9	106	17.7		
64	63.9	105	42.7	61	33.9	23	17.1		
137	63.7	94	42.6	69	33.9	27	15.2		
83	63.0	22	42.4	32	33.6	43	15.0		
14	60.9	98	42.4	104	33.6	24	14.3		
30~60		127	41.8	65	33.3	87	13.6		
129	59.9	74	41.6	34	33.2	11	13.0		
33	59.6	132	41.5	115	32.1	121	9.1		
49	59.6	123	40.3	79	31.8	110	6.3		
20	58.4	140	40.2	4	31.0	124	5.6		
56	58.0	39	39.5	25	30.7	91	5.1		
72	57.2	21	38.8	85	30.3	96	5.1		

표 105. Lycopene(2009. 12월) 분포

Lycopene (mg/kg)	Sample 개수
60~120	26
30~60	72
<30	41
Total	139

표 106. Glutamate(2009. 8월)

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
9000~6000		338-1	4158	520	3267	512	1764
445	8619	506	4036	436	3262	370	1754
348	7992	4000~2000		536	3252	402	1739
356	7567	372	3925	376	3247	400	1714
333	7061	441	3915	495	2043	511	1688
443	6707	306	3890	403	2037	541	1688
335	6059	375	3869	407	2037	437	1668
6000~4000		434	3809	383	2027	547	1668
444	5947	460	3804	515	2017	373	1628
446	5866	518	3799	326	2007	419	1612
343	5681	361	3753	483	2007	535	1612
334	5620	431	3708	542	2002	513	1607
442	5563	447	3682	2000~0		324	1597
528	5514	368	3662	330	1987	505	1597
343	5383	462	3662	480	1987	405	1587
336	5195	328	2316	488	1972	414	1587
507	5185	546	2316	428	1957	427	1582
440-1	4927	303	2306	534	1941	493	1577
350	4917	382	2301	395	1936	505	1572
357	4877	411	2301	417	1926	398	2817
332	4785	499	2301	396	1921	393	2766
529	4775	302	2235	384	1906	431-2	2761
509	4740	369	2235	421	1896	551	2741
317	4710	452	2235	465	1896	342	2736
448	4705	466	2235	322	1876	316	2731
439	4689	386	2220	514	1860	366	2731
530	2528	312	2205	457	1855	526	2731
346	2518	310	2189	540	1840	320	2726
308	2513	453	2159	378	1835	525	2700
401	2508	323	2154	307	1830	394	2695
498	2503	325	2129	497	3227	431-1	2690
321	2478	329	2129	352	3217	377	2685
440	2473	389	2108	494	3212	454	2675
304	2458	399	2108	362	3196	527	2665
327	2452	374	2103	503	3191	388	2640
464	2452	449	2093	385	3171	481	2630
309	2447	510	2083	416	3161	425	2619

371	2442	418	2078	406	3151	452	2614
539	2442	313	2063	430	3131	500	2594
301	2407	392	2063	496	3100	412	2579
429	2392	423	2063	341	3095	311	2569
390	2346	550	3662	501	3055	519	2554
409	2341	420	3591	359	3050	484	2549
545	2336	337	3530	544	3019	482	2544
402	2331	345	3515	331	2999	318	2528
415	2331	492	3510	353	2984	458	1552
315	2326	363	3500	355	2948	391	1547
459	2326	364	3490	408	2948	533	1542
485	2326	549	3465	319	2933	421	1531
305	2321	379	3449	354	2918	387	1491
413	2321	442	3444	425	2893	516	1461
523	2321	365	3414	339-2	2883	532	1461
351	4502	461	3404	380	2867	491	1456
360	4477	508	3404	531	2857	537	1440
340	4472	381	3384	517	2837	424	1283
435	4467	397	3384	410	2822	419	1268
347	4451	543	3368	504	1825	463	1208
349	4436	455	3363	446	1820	538	1051
441	4429	339-1	3358	404	1805	424	975
358	4335	367	3353	451	1805	426	833
433	4300	490	3313	489	1779	450	742
438	4264	344	3293	548	1779		
456	4209	521	3272	486	1764		

표 107. Glutamate(2009. 8월) 분포

Glutamate (mg/kg)	Sample 개수
9000~6000	6
6000~4000	31
4000~2000	150
2000~0	59
Total	246

표 108. Glutamate(2009.12월)

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
1500~3000		750~1500		200~750		200~750	
18	2891	16	1266	45	713	101	230
20	2802	56	1257	116	713	132	221
91	2534	68	1239	52	695	119	221
90	2471	112	1239	78	695	34	204
114	2463	37	1230	104	686	<200	
88	2382	100	1221	86	641	131	186
82	2329	22	1213	25	632	75	177
96	2275	73	1159	115	632	98	159
14	2230	23	1105	111	596	106	141
113	2204	93	1070	130	596	127	141
79	2141	139	1061	17	588	39	123
89	2016	60	1043	107	570	43	114
64	1971	27	1043	44	543	129	105
122	1829	83	1034	84	534	135	96
76	1802	95	998	57	507	33	79
120	1784	118	989	123	480	69	79
5	1695	40	954	36	480	24	70
29	1650	30	927	66	471	125	52
1	1579	2	918	63	445	61	43
59	1579	97	918	80	436	87	43
85	1561	140	882	32	409	41	34
55	1543	128	873	94	409	121	25
4	1534	117	855	13	400	126	25
6	1534	10	838	15	400	102	14
750~1500		12	838	65	400	53	13
19	1498	46	802	54	382	26	12
21	1471	74	802	62	364	138	12
108	1471	38	793	105	346	124	11
67	1409	750~1500		47	329	92	11
7	1400	8	784	99	302		
3	1391	137	766	48	302		
71	1391	103	766	72	302		
110	1373	31	757	134	284		
70	1355	200~750		81	275		
28	1293	42	739	133	266		
77	1284	58	739	51	257		
11	1275	49	739	50	257		
109	1275	136	730	35	239		

표 109. Glutamate(2009.12월) 분포

L-Glutamate (mg/kg)	Sample 개수
1500~3000	24
750~1500	45
200~750	46
<200	24
Total	139

다. 3차년도 실험 결과

표 110. L-Glutamic acid (2010년 7월)

No	mg/kg	No	mg/kg	No	mg/kg	No	mg/kg
3000 >		902	1727.7	883	1312.5	< 1000	
872	3567.0	839	1709.5	966	1310.5	M941	1000.0
M858	3020.2	862	1687.5	M874	1294.1	M808	983.9
2000 ~ 3000		879	1683.0	M893	1285.7	M897	983.2
848	2942.9	926	1656.3	899	1272.3	967	979.8
M856	2826.6	M854	1649.2	M867	1270.2	M832	975.8
842	2819.0	880	1647.3	803	1247.6	M943	970.6
859	2790.5	M963	1646.6	814	1247.6	M953	970.6
837	2747.6	920	1633.9	940	1246.0	846	966.7
844	2595.2	M809	1629.0	M807	1241.9	884	959.8
843	2581.0	M852	1621.0	M866	1241.9	939	955.6
896	2526.8	M959	1620.7	M870	1218.5	M945	932.8
821	2461.9	815	1609.5	M833	1213.7	M947	920.2
M844	2447.6	863	1598.2	M870	1197.5	M806	903.2
849	2438.1	M853	1592.7	M892	1197.5	968	895.2
M890	2399.2	M962	1556.0	922	1192.0	M904	895.0
820	2366.7	M869	1544.4	924	1192.0	M914	882.4
860	2361.6	864	1513.4	965	1189.5	888	812.5
930	2267.9	918	1513.4	927	1187.5	M905	806.7
M857	2250.0	M875	1504.2	802	1176.2	M836	806.5
894	2214.3	M865	1504.0	921	1174.1	931	798.4
878	2209.8	925	1464.3	830	1157.1	840	790.5
847	2195.2	M906	1445.4	M964	1150.9	M899	789.9
871	2165.2	812	1442.9	811	1138.1	919	763.4
813	2133.3	M910	1432.8	845	1138.1	M831	758.1
886	2062.5	M855	1423.4	972	1133.1	M954	741.4
838	2052.4	M935	1407.6	969	1121.0	M928	731.1
850	2042.9	882	1406.3	M955	1120.7	944	713.7
861	2031.3	M891	1403.4	828	1119.0	M958	676.7
1000 ~ 2000		M912	1390.8	M877	1109.2	M951	672.3

801	1985.7	M925	1386.6	849	1104.8	915	669.6
822	1900.0	M961	1383.6	916	1102.7	923	669.6
M868	1875.0	M934	1373.9	M907	1096.6	M929	663.9
M933	1857.1	829	1366.7	824	1095.2	M956	663.8
823	1847.6	M805	1362.9	825	1081.0	937	657.3
817	1823.8	896	1361.6	900	1062.5	M909	626.1
819	1814.3	971	1358.9	887	1049.1	938	612.9
M957	1806.0	917	1352.7	M960	1043.1	M835	612.9
827	1800.0	810	1352.4	M949	1042.0	M950	609.2
841	1795.2	962	1346.8	932	1040.3	M908	584.0
903	1745.5	M873	1344.5	M946	1033.6	M834	548.4
816	1733.3	M913	1336.1	885	1022.3	M898	529.4
881	1732.1	M936	1319.3	970	1016.1	M911	470.6
804	1728.6	826	1314.3	901	1004.5	Total 171	

표 111. L-Glutamic acid (2010년 7월) 분포

L-Glutamate (mg/kg)	sample 수
3000 >	2
2000 ~ 3000	25
1000 ~ 2000	102
< 1000	42
Total	171

표 112. Lycopene(2010년 7월)

No	mg/kg	No	mg/kg	No	mg/kg	No	mg/kg
200 ~ 220		863	102	828	80	M905	61
944	218	816	101	M807	80	M875	60
3개	150~200	826	101	M950	80	887	60
940	177	M929	100	802	79	886	60
969	183	801	100	844	79	M893	58
916	154	830	100	972	78	971	56
100 ~ 150		50 ~ 100		926	78	M925	52
924	149	M945	99	M867	77	882	50
938	141	968	99	927	77	M870	50
M852	139	M946	98	862	77	0 ~ 50	
M957	138	M853	94	M866	77	903	49
939	138	M854	94	M856	76	967	49
839	137	M954	93	M963	75	M806	48
896	129	M852	93	M951	75	881	48
M834	129	M936	93	824	75	899	48
M912	128	M809	92	M910	74	885	48
M858	127	M907	92	M906	74	902	47
M955	124	M831	91	878	73	M836	46
840	121	843	91	M953	73	901	46
921	120	M964	90	812	73	M865	44
837	118	819	90	M914	73	M897	43
M909	118	M832	88	814	72	M873	42
842	117	930	88	821	71	M899	39
937	117	813	88	817	70	M898	36
M961	117	822	88	880	70	M890	31
M958	116	917	88	M877	70	871	19
931	116	M855	88	811	69	918	17
847	115	M934	87	965	68	928	16
920	115	915	87	M805	67	879	15
925	112	M943	87	970	67	M870	13
922	112	818	86	M835	66	M869	11

966	112	M833	85	M891	65	850	9
M960	111	M935	85	823	65	894	9
M956	111	M949	85	829	65	848	7
841	109	825	84	804	64	M908	5
M913	109	860	84	827	64	815	5
846	108	896	84	845	64	M857	4
M911	108	872	84	884	63	900	4
919	106	M947	83	M808	63	923	3
M941	106	810	83	962	63	932	2
M892	105	M844	83	888	62	838	2
861	105	M874	82	883	62	849	2
803	104	849	82	864	62	Total 172	
M933	104	820	82	M904	62		
M959	103	859	81	M868	62		

표 113. Lycopene(2010년 7월) 분포

Lycopene (mg/kg)	sample 수
200 ~ 220	1
100 ~ 150	44
50 ~ 100	92
0 ~ 50	32
Total	172

표 114. L-Glutamic acid(2010년 8월)

No	mg /kg	No	mg /kg	No	mg /kg	No	mg /kg	No	mg /kg
10000 >		1019	2817	1148	1703	1113	879	1192	569
1064	15935	979	2771	1195	1701	1124	879	1140	558
1078	13543	1204	2770	1011	1635	986	871	1159	558
1063	11978	1083	2761	1024	1634	1086	870	1106	540
1080	11739	1054	2739	992	1547	985	865	1179	529
1066	11457	1033	2711	1004	1465	1154	860	1101	522
1065	11174	1051	2704	1132	1464	1119	857	1134	522
1074	10587	1028	2690	1187	1460	1007	853	1153	512
1090	10522	1013	2627	984	1459	1180	845	1129	509
1057	10326	1200	2598	1205	1431	1194	845	1020	507
8000 ~ 10000		1183	2506	1145	1407	1111	830	1009	506
1076	9848	1089	2435	1001	1394	1112	830	1193	506
1073	9087	1198	2420	997	1382	1191	787	1008	500
1075	8261	991	2318	1025	1380	1034	782	1094	500
6000 ~ 8000		998	2312	1031	1373	976	776	1096	496
1088	7978	1022	2261	1206	1322	1150	767	1178	494
1058	7348	1081	2239	1146	1310	1117	763	1161	494
1087	7348	1027	2225	1196	1305	1181	753	990	494
1079	7152	1131	2201	1147	1297	1109	746	1095	491
1071	6370	1060	2184	1015	1254	1110	741	1138	488
1062	6348	1077	2174	998	1247	1105	737	1021	486
4000 ~ 6000		1017	2141	1099	1237	1125	737	1136	471
1048	5458	999	2112	1146	1221	1190	736	1103	469
1072	5348	1197	2109	1122	1219	1123	732	1127	455
1047	5092	1005	2106	1016	1218	1157	727	1143	436
1056	5043	1201	2092	1104	1201	1151	721	1141	413
1018	4845	1130	2076	973	1188	1118	714	1167	407
1082	4696	980	2029	1135	1151	1003	700	1133	379
1070	4587	1035	2028	1002	1118	1165	698	1175	379
1060	4478	1010	2024	1100	1116	1120	692	1142	378
1184	4471	1029	2021	1203	1115	1156	686	1108	375
1061	4457	988	2012	981	1112	1000	682	1168	372
1049	4049	982	2006	1155	1105	1098	674	1169	355

2000 ~ 4000		1000 ~ 2000		1030	1092	1093	674	1126	348
1045	3789	1014	1972	1185	1080	1137	657	1144	326
1038	3556	1182	1948	983	1076	1091	652	1055	283
1046	3514	1141	1925	993	1071	1097	652	1149	273
1199	3471	989	1924	1058	1063	1107	647	1092	239
1059	3457	2546	1914	< 1000		996	647	1170	186
1067	3457	1036	1908	1043	993	995	641	1173	174
1040	3387	1012	1888	977	988	1186	638	1068	130
1053	3359	1069	1870	1139	977	1114	634	1174	128
1208	3316	1160	1866	1163	971	1128	625	1085	109
1052	3211	1188	1816	1121	960	975	588	1171	87
1037	3169	1189	1810	987	947	1116	580	1172	70
1042	3077	978	1800	1158	942	1023	577	1026	14
1039	2901	1162	1791	1164	936	1177	575	974	6
1044	2880	1166	1791	1032	908	1102	571	1084	0
1006	2824	1207	1753	1115	906	1152	570	Total 237	

표 115. L-Glutamic acid(2010년 8월)분포

L-Glutamate (mg/kg)	sample 수
10000 >	9
8000 ~ 10000	3
6000 ~ 8000	6
4000 ~ 6000	11
2000 ~ 4000	48
< 2000	160
Total	237

표 116. Lycopene(2010년 8월)

No	mg /kg	No	mg /kg	No	mg /kg	No	mg /kg	No	mg /kg
200 ~ 250		1205	151	1079	123	1151	101	1168	78
1129	238	1060	151	1103	123	1074	101	1063	77
170 ~ 200		1150	151	1045	122	1140	100	1195	76
1121	194	1135	150	988	122	1197	100	1097	76
1166	193	1015	150	1035	122	50 ~ 100		1010	75
1126	192	120 ~ 150		976	121	1146	99	1048	73
1107	190	1157	148	1141	121	1090	99	1183	72
1120	189	1199	147	1194	121	1109	98	977	72
1009	188	1154	146	999	120	1141	98	1065	71
1057	187	1060	145	981	120	1118	98	1100	70
1027	187	1143	144	100 ~ 120		1172	98	1171	69
1071	186	1011	142	1144	119	1201	98	1175	68
1031	186	1180	142	974	119	1078	98	1073	67
1034	185	1110	142	1029	119	1161	98	997	63
1025	184	1128	141	1023	118	1054	98	1092	63
1203	183	1014	141	1190	118	1193	97	995	59
1030	182	1061	140	1051	118	1191	94	1012	58
1101	182	1158	139	1039	118	1105	93	1099	57
1130	182	1095	139	1000	117	1192	92	1123	56
1112	181	1004	139	1021	116	1172	92	986	56
1115	178	1058	138	1067	115	1007	92	1196	53
1113	177	1016	138	1022	115	1070	92	1167	52
1117	176	1134	138	1111	115	1024	92	0 ~ 50	
1139	175	1160	138	990	114	1174	92	1156	49
1098	173	1131	138	1087	114	1188	91	1082	47
1136	173	1155	138	1152	113	1145	91	1026	46
1020	173	1052	137	1132	112	1001	90	973	44
1119	173	1162	135	1040	112	1122	90	1208	42
1013	173	1163	134	989	112	1084	90	1138	42
991	170	1033	134	1053	111	1181	89	1170	36
150 ~ 170		1042	134	1047	111	1058	89	1142	35
1108	169	1106	133	1149	111	1187	88	1186	34

1148	165	998	133	987	111	1066	88	1028	32
993	163	1008	132	1125	111	1055	88	1114	30
992	162	1200	131	1069	111	1133	88	1072	21
1096	161	1185	130	982	110	1093	87	1086	19
1184	160	1124	130	979	110	1019	87	1147	17
1146	160	1153	129	1043	109	1182	87	1080	17
1159	159	1018	129	1198	108	1081	86	1169	4
1178	158	1127	127	1006	107	1177	85	1044	4
1207	158	1077	127	1062	107	1064	85	1032	4
998	156	1179	126	983	107	978	84	1002	4
1056	156	1059	126	980	106	985	83	1049	4
1036	154	1204	124	1137	106	1046	83	1089	4
1088	153	1094	124	1165	105	1083	80	1085	3
1037	153	1017	123	984	105	975	80	1091	3
996	153	2546	123	1075	104	1104	79	1102	3
1003	153	1206	123	1189	101	1038	79	1164	3
1005	152	1076	123	1068	101	1116	79	Total 237	

표 117. Lycopene (2010년 8월)분포

Lycopene (mg/kg)	sample 수
200~250	1
170~200	27
150~170	23
120~150	53
100~120	42
50~100	66
0~50	25
Total	237

표 118. L-Glutamic acid(2010년 12월)

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
2000 >		1460	467.2	1434	284.3	1445	189.7	1401	85.6
1429	2913.0	1394	466.2	1371	283.3	1488	186.5	1332	81.1
1423	2595.7	1361	456.5	1403	274.2	1415	182.3	1353	80.9
1427	2500.0	1441	450.8	1467	270.5	1370	180.4	1350	79.5
1462	2300.0	1454	447.8	1476	269.3	1405	177.5	1306	77.9
1500 ~ 2000		1455	435.8	1507	269.1	1404	177.2	1308	77.9
1413	1725.4	1336	430.6	1453	264.3	1477	172.1	1365	76.6
1416	1680.3	1480	426.3	1401-1	264.1	1487	172.1	1317	66.5
1419	1672.1	1351	426.1	1508	262.3	1461	171.7	1456	64.7
1451	1530.4	1342	420.6	1352	258.2	1367	168.0	1470	63.2
1000 ~ 1500		1399	415.1	1392	257.2	1410	165.2	1309	60.3
1414	1295.8	1447	413.3	1421	255.3	1509	164.1	1436	60.1
1435	1234.8	1474	402.5	0 ~ 250		1340	157.1	1390	58.9
1304	1120.6	1346	399.7	1443	250.0	1356	155.7	1380	57.7
1478	1043.5	1374	396.4	1438	247.1	1322	152.9	1331	57.1
1430	1042.6	1420	392.6	1337	239.5	1349	151.7	1344	56.3
500 ~ 1000		1387	385.3	1326	236.8	1320	150.1	1494	55.6
1368	1000.0	1457	384.4	1388	235.5	1384	147.4	1382	54.7
1469	921.7	1376	379.9	1311	234.2	1341	145.7	1504	49.5
1377	856.5	1409	375.0	1312	229.4	1324	144.3	1362	46.5
1313	840.2	1379	372.1	1458	229.4	1496	142.6	1506	41.8
1452	819.6	1483	369.4	1466	227.9	1440	140.3	1318	39.1
1302	808.7	1397	363.2	1491	226.1	1505	140.2	1482	39.0
1428	800.3	1391	347.8	1500	224.4	1468	138.7	1305	36.1
1363	773.9	1381	338.2	1334	221.6	1495	138.2	1372	31.5
1498	737.7	1314	333.8	1418	221.3	1499	136.8	1345	22.4
1446	665.2	1398	326.1	1386	220.7	1321	135.6	1479	21.6
1473	639.1	1364	326.1	1378	219.7	1463	131.8	1354	20.5
1510	624.6	1426	326.1	1406	216.0	1383	131.5	1335	18.2
1407	621.7	1492	324.3	1375	211.7	1347	125.5	1369	16.8
1448	614.7	1303	323.8	1333	210.7	1489	124.8	1411	13.0
1425	606.6	1432	323.7	1431	209.5	1373	123.0	1437	12.0
1424	594.6	1502	321.3	1357	206.2	1472	121.4	1315	8.8
1412	579.5	1393	321.2	1459	205.2	1497	117.4	1465	8.7
1485	551.1	1330	315.6	1323	202.7	1396	111.1	1433	5.9
1481	539.1	1422	315.6	1464	202.0	1343	109.8	1310	5.8

1444	538.2	1325	307.8	1355	201.5	1493	102.9	1366	4.4
1486	524.6	1319	301.6	1408	200.8	1339	100.0	1338	4.3
1398	508.7	1301	297.3	1348	199.4	1327	99.6	1417	4.3
250 ~ 500		1471	292.9	1449	198.2	1328	98.4	1400	4.1
1450	494.2	1442	290.3	1484	197.1	1385	91.2	1503	1.4
1439	491.8	1395	289.7	1501	195.7	1307	90.2	Total 207	
1329	469.6	1475	285.7	1490	192.6	1316	89.6		

표 119. L-Glutamic acid(2010년 12월) 분포

L-Glutamate (mg/kg)	sample 수
2000 >	4
1500 ~ 2000	4
1000 ~ 1500	5
500 ~ 1000	22
250 ~ 500	58
0 ~ 250	114
Total	207

표 120. Lycopene(2010년 12월)

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
100 >		1395	54.0	1510	40.0	1304	30.1	1401-1	20.7
1431	114.9	1415	52.9	1483	39.5	1477	30.0	1345	20.5
1423	104.2	1485	52.5	1444	38.9	1320	29.5	1361	20.3
50 ~ 100		1342	52.5	1317	38.9	1408	29.2	1494	20.2
1457	97.5	1372	51.2	1459	38.8	1365	29.1	1409	19.9
1426	95.7	1357	50.8	1375	38.3	1434	28.7	1507	19.8
1473	93.6	1334	50.8	1338	37.6	1501	28.4	1407	19.6
1424	88.4	1349	50.4	1363	37.3	1479	28.2	1445	19.0
1425	87.4	1373	50.2	1404	36.7	1344	27.9	1396	18.9
1367	85.3	25 ~ 50		1376	36.4	1362	27.7	1461	18.4
1419	83.5	1474	49.8	1391	36.2	1397	27.7	1380	17.4
1492	82.1	1348	49.7	1499	35.9	1448	27.6	1390	16.5
1484	78.8	1476	49.6	1454	35.8	1495	27.4	1386	16.1
1505	75.4	1333	49.6	1329	35.6	1427	27.2	1370	15.8
1414	73.6	1350	49.5	1387	35.6	1467	27.0	1364	14.9
1446	72.7	1398	48.8	1309	35.6	1475	26.8	1450	13.9
1471	72.7	1413	48.4	1496	35.2	1330	26.7	1378	13.8
1478	70.3	1447	47.3	1388	35.0	1384	26.6	1491	13.2
1392	69.2	1319	46.7	1486	34.4	1303	26.6	1470	13.1
1324	68.8	1381	46.7	1500	34.2	1488	26.2	1466	12.9
1410	68.3	1509	46.3	1353	34.1	1371	26.2	1443	10.9
1432	68.0	1374	46.0	1312	33.4	1307	26.0	1366	10.4
1354	67.5	1347	46.0	1422	33.4	1469	26.0	1433	8.5
1318	64.7	1352	45.6	1310	33.3	1382	25.7	1429	8.1
1480	63.8	1393	45.4	1458	33.3	1308	25.3	1506	8.0
1335	63.0	1487	45.4	1462	33.2	0 ~ 25		1439	7.3
1418	62.4	1323	44.9	1493	33.0	1468	24.8	1332	5.9
1412	62.2	1498	44.7	1463	32.8	1504	24.7	1437	5.8
1416	62.0	1337	44.1	1313	32.6	1452	24.7	1451	5.7
1428	61.9	1405	44.0	1497	32.5	1326	24.7	1343	5.5
1336	59.7	1351	44.0	1453	32.4	1321	24.6	1346	4.2
1438	59.7	1331	43.9	1472	32.2	1406	23.9	1430	3.5

1368	59.1	1398	43.9	1302	32.0	1305	23.9	1456	3.4
1339	58.1	1340	42.4	1502	31.6	1503	23.7	1400	2.6
1421	58.0	1441	42.3	1417	31.3	1464	23.1	1482	2.5
1411	57.6	1489	42.3	1379	31.3	1403	23.0	1356	2.4
1420	56.7	1316	42.1	1328	31.2	1383	22.1	1442	2.1
1355	56.4	1322	41.8	1315	30.9	1306	21.9	1399	1.4
1435	56.3	1325	41.6	1465	30.9	1449	21.6	1369	0.9
1455	56.3	1341	41.5	1436	30.7	1311	21.6	Total 207	
1301	55.7	1440	41.0	1377	30.7	1401	21.3		
1314	54.6	1460	40.8	1508	30.7	1385	21.3		
1481	54.3	1394	40.1	1327	30.3	1490	21.1		

표 121. Lycopene(2010년 12월) 분포

Lycopene (mg/kg)	sample 수
100 >	2
50 ~ 100	48
25 ~ 50	101
0 ~ 25	56
Total	237

라. 4차년도 실험 결과

표 122. L-Glutamic acid (2011년 11월)

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
5000~6000		1719	2112	1657	1409	800~900	
1639	5907	1775	2111	1760	1400	1880	898
1670	5569	1609	2104	1627	1399	1684	896
1680	5319	1602	2086	1612	1399	1878	888
1637	5248	1618	2073	1867	1377	1763	882
4000~5000		1825	2066	1718	1377	1876	879
1636	4766	1739	2044	1737	1374	1606	878
1663	4428	1633	2025	1698	1374	1699	874
1674	4250	1792	2020	1748	1365	1869	869
1634	4232	1824	2011	1841	1361	1864	869
1673	4196	1885	2002	1833	1361	1823	869
1651	4178	1500~2000		1810	1312	1806	869
1635	4160	1865	1996	1764	1303	1720	869
1659	4143	1813	1993	1863	1285	1829	860
3000~4000		1735	1988	1850	1285	1804	859
1675	3964	1656	1988	1843	1281	1798	856
1655	3947	1883	1987	1696	1268	1780	856
1750	3857	1741	1967	1837	1263	1782	847
1664	3822	1743	1958	1786	1260	1819	843
1807	3768	1887	1952	1789	1257	1772	835
1678	3768	1875	1938	1716	1251	1808	830
1679	3715	1619	1929	1845	1245	1768	830
1752	3697	1615	1929	1726	1239	1721	821
1757	3661	1761	1926	1690	1236	1830	816
1840	3608	1703	1919	1891	1225	1791	812
1676	3590	1630	1919	1629	1225	1756	807
1652	3572	1610	1919	1603	1218	500~800	
1660	3537	1744	1909	1816	1216	1826	798
1677	3519	1605	1880	1727	1211	1858	789
1647	3483	1758	1874	1785	1207	1849	780
1643	3412	1846	1864	1682	1200	1831	780
1662	3305	1820	1846	1691	1198	1857	777
1654	3287	1695	1812	1877	1197	1889	753
1851	3234	1658	1812	1827	1191	1860	751
1672	3216	1650	1812	1770	1187	1724	724
1814	3144	1697	1804	1683	1174	1859	715
1681	3055	1644	1795	1713	1172	1893	696
2000~3000		1817	1765	1767	1156	1809	696

1608	2806	1847	1755	1854	1154	1755	688
1638	2892	1717	1751	1874	1148	1800	686
1844	2882	1685	1746	1828	1147	1796	669
1747	2863	1613	1736	1856	1128	1784	660
1731	2746	1687	1726	1799	1119	1797	623
1640	2728	1776	1725	1788	1119	1769	590
1604	2658	1641	1725	1787	1119	1834	565
1866	2640	1668	1717	1706	1111	1861	556
1671	2569	1753	1716	1746	1100	1835	547
1620	2565	1621	1707	1778	1084	1732	540
1661	2497	1802	1697	1848	1084	1881	538
1701	2497	1779	1663	1890	1075	1870	530
1616	2468	1784	1654	1722	1071	1872	513
1648	2435	1730	1654	1693	1067	0~500	
1626	2425	1642	1646	1886	1066	1711	488
1617	2401	1774	1637	1705	1064	1873	474
1733	2400	1694	1637	1894	1042	1712	470
1669	2379	1625	1630	1812	1033	1811	464
1839	2354	1818	1611	1805	1033	1888	440
1745	2353	1795	1611	1729	1032	1801	416
1689	2351	1773	1607	1855	1023	1714	384
1715	2347	1790	1593	1728	1014	1781	374
1649	2342	1645	1593	1710	1014	1836	333
1646	2339	1628	1579	1822	1013	1793	304
1704	2324	1838	1567	1766	1009	1740	262
1622	2295	1665	1558	900~1000		1832	243
1666	2283	1759	1549	1853	996	1723	185
1611	2276	1700	1549	1765	994		
1736	2260	1623	1514	1862	991		
1882	2256	1624	1505	1821	986		
1762	2242	1000~1500		1709	979		
1686	2220	1688	1496	1632	975		
1852	2207	1653	1496	1667	968		
1751	2204	1884	1478	1631	965		
1868	2193	1815	1476	1892	956		
1692	2186	1738	1476	1708	954		
1707	2167	1614	1466	1803	946		
1702	2148	1754	1450	1771	946		
1601	2148	1734	1444	1725	936		
1742	2141	1607	1442	1871	926		
1783	2121	1842	1424	1777	909		

표 123. L-Glutamic acid (2011년 11월) 분포

L-glutamate (mg/kg)	sample 수
5000~6000	4
4000~5000	8
3000~4000	22
2000~3000	52
1500~2000	56
1000~1500	62
900~1000	15
800~900	25
500~800	24
0~500	13
total	281

표 124. L-glutamic acid (2012년 4월)

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
3000~4000		1954	1750	1980	1208	2043	792
1943	3833	2058	1750	2047	1208	2049	792
1941	3708	2056	1708	2058	1208	2055	792
2031	3708	2008	1667	1935	1167	2033	750
1958	3625	2023	1667	2081	1167	2063	750
2006	3417	2070	1667	2045	1146	2075	750
1985	3208	1921	1625	1977	1125	2001	708
1942	3125	1981	1625	1996	1125	2011	708
1953	3125	2030	1625	1998	1125	2025	708
1960	3000	2042	1625	2002	1125	2040	708
1983	3000	2071	1625	2079	1125	2012	708
2000~3000		1911	1542	1906	1083	1914	667
2037	2875	1930	1542	1908	1083	2020	667
1919	2833	1975	1542	1920	1083	2029	667
1924	2750	1994	1542	1929	1083	2038	667
2064	2750	1904	1500	1988	1083	2077	667
1961	2708	2024	1500	1989	1083	1946	625
1945	2625	1910	1458	2015	1083	1982	625
1917	2583	1912	1458	1909	1042	2084	625
1933	2583	2028	1458	1913	1042	2013	583
1936	2542	2044	1458	1928	1042	2051	583
1947	2542	2057	1458	1949	1042	2004	542
1959	2500	1902	1417	1976	1042	2053	542
2041	2417	1965	1417	1992	1042	1923	500
1916	2333	1967	1417	1939	1000	2005	500
1940	2333	2009	1417	1990	1000	0~500	
1984	2333	1903	1375	1991	1000	1997	458
1901	2292	1915	1375	2018	1000	2067	458
1952	2292	1932	1375	500~1000		2068	458
1986	2250	1948	1375	1987	958	1963	417
1951	2125	2016	1375	1999	958	2000	417
2027	2125	2054	1375	2019	958	2026	417
1950	2042	2072	1375	2065	958	2034	417
1973	2042	1905	1333	2080	958	2052	417
2074	2042	1937	1333	1922	917	2078	417
1971	2000	1968	1333	1993	917	1979	375
1000~2000		1974	1333	2017	917	2036	375

1934	1958	2007	1333	2032	917	2003	333
1918	1917	1972	1292	1926	875	1966	292
1931	1917	2076	1292	2082	875	1938	250
1956	1917	1978	1250	2083	875	2014	250
1964	1875	2010	1250	1927	833	2061	208
2039	1833	2022	1250	2048	833	2035	125
1944	1792	2069	1250	2050	833	2046	125
1955	1792	1925	1208	2066	833	2062	125
1995	1792	1957	1208	1907	792	2060	83
2073	1792	1962	1208	2021	792		

표 125. L-glutamic acid (2012년 4월) 분포

L-glutamate (mg/kg)	sample 개수
3000~4000	10
2000~3000	24
1000~2000	85
500~1000	43
0~500	20
total	182

표 126. Lycopene(2011년 11월)

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
100~105		1880	53	1718	42	1735	34.5
1810	106	1861	53	1689	42	1843	34.4
1665	101	1889	53	1817	42	1633	34.3
70~100		1878	53	1851	42	1763	34.1
1804	97	1757	53	1605	41	1835	34.1
1812	92.8	1860	52	1692	41	1710	33.8
1796	86	1840	52.2	1700	41	1626	33.8
1770	85.8	1743	52	1707	41	1772	33.7
1715	86	1842	51.5	1616	41	1874	33.1
1799	85	1638	51	1666	41	1602	32.9
1786	83	1758	51	1658	41	1784	32.3
1720	79.5	1868	51.2	1668	41	1873	32
30~70		1791	51	1855	41	1695	31.8
1606	68	1865	51	1820	40.4	1683	31.7
1681	67.6	1819	51	1746	40	1798	31.6
1671	67	1853	51	1808	40	1618	31.5
1800	67	1789	51	1625	40	1737	31.2
1693	66	1750	51	1711	40.3	1753	30.9
1841	66	1691	51	1785	40.2	1722	30.7
1675	65	1776	50	1761	40.2	10~30	
1670	65	1862	50	1684	40	1634	29.8
1849	65	1892	50	1679	39.7	1729	29.7
1822	65	1790	50	1661	39.7	1705	29.6
1759	65	1838	49	1663	39.5	1837	29.6
1821	65	1650	49	1732	39.5	1614	29.5
1664	64.9	1648	49	1801	39.5	1612	29.5
1846	64	1834	49	1762	39.4	1769	29.4
1823	64	1704	48	1702	39.4	1608	28.1
1794	64	1604	48	1629	39.4	1672	27.8
1680	64	1643	48	1697	39	1725	27.4
1726	63	1646	48	1816	39	1788	26.6
1676	63	1847	48	1728	39	1886	25.9
1653	63	1839	47.8	1703	39	1637	24.7
1802	63	1844	47.8	1696	39	1883	23.2
1773	63	1690	47.6	1778	39	1623	23
1682	62.4	1622	47.5	1824	39	1636	22.5
1644	62.4	1698	47.4	1876	38	1706	21.3
1632	62.4	1782	47	1724	38	1717	20.4
1885	62	1686	46.8	1863	38	1734	20.3
1673	62	1677	46.7	1779	38	1635	17.7
1754	62	1869	46.7	1803	38	1631	16.9
1620	62	1624	46.5	1731	38	1781	15.6
1836	62	1678	46	1749	38	1730	11.4
1882	61	1685	45.9	1857	38	1709	10.2

1738	61	1795	46	1669	38	0~10	
1831	60	1667	46	1848	37.4	1827	9.3
1766	59	1607	46	1627	37.3	1651	9
1864	58.8	1797	45	1674	37.2	1752	8.8
1727	58.6	1610	45.3	1856	37.1	1654	8.4
1649	58.6	1828	45	1713	37.1	1745	7.8
1641	58.4	1747	45	1826	37	1652	6.3
1879	58.4	1736	44.9	1768	36.9	1739	5.5
1767	58.2	1628	45	1806	36.9	1657	5
1870	58	1609	45	1712	36.5	1748	3.8
1813	57.8	1659	45	1771	36.5	1655	3.7
1807	57	1859	45	1742	36.5	1716	2
1619	56.7	1660	44	1805	36.2	1780	1.4
1852	56.3	1877	44	1875	36.2	1814	1.2
1818	56.1	1756	44	1830	36.2	1714	0.8
1809	56	1774	44	1662	36	1751	0.7
1755	55	1866	44	1642	36	1744	0.3
1871	55	1701	44	1854	36	1793	0.2
1777	55	1894	44	1845	36	1656	0.1
1867	55	1833	44	1792	36		
1764	55	1615	43	1601	36		
1893	55	1850	43	1723	35.3		
1881	55	1719	43	1787	35.3		
1872	55	1617	43	1888	35.2		
1858	55	1811	42.9	1640	35.1		
1887	54	1639	42.9	1733	35		
1694	54	1647	42.8	1699	35		
1611	53	1815	43	1621	34.8		
1760	53	1688	42.2	1613	34.7		
1829	53	1645	42	1687	34.6		

표 127. Lycopene(2011년 11월) 분포

Lycopene (mg/kg)	sample 개수
100~105	2
70~100	8
30~70	229
10~30	24
0~10	18
total	281

표 128. Lycopene (2012년 4월)

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
100~110		2042	64	1903	55	1997	39
1918	106	2016	64	1955	55	1913	37
1916	103	1980	64	2017	55	2001	37
1924	103	2025	64	2075	55	1907	36
1936	100	2039	63	2009	55	2065	35
70~100		2022	63	1912	55	2066	33
1952	99	2011	62	2038	54	1977	34
1922	98	2024	62	2027	53	2052	33
1927	95	1982	62	2067	53	2018	31
1917	94	2057	61	1988	54	0~30	
2056	92	2037	61	2061	54	2078	27
1919	90	2074	61	1937	54	2004	26
1928	90	2082	62	2015	53	2005	26
1987	90	2064	61	1958	53	1993	26
2031	88	2032	61	1904	52	1994	24
1920	87	1962	61	1905	52	2077	24
1930	87	1953	61	1908	52	1996	22
1949	85	1910	61	2008	52	2012	20
1931	81	2069	60	2010	51	2034	18
1944	80	2072	61	2070	51	1932	18
1915	79	2076	60	1981	51	1998	16
2040	79	2063	60	2033	50	2051	14
1950	79	2019	60	30~50		2000	13
1951	79	2035	59	1974	50	2029	12
2083	79	1984	59	1983	50	2050	10
2013	78	2007	59	1909	50	1939	10
2023	78	1948	59	2006	50	1985	7
1923	78	2003	59	2021	49	2047	7
1929	76	1902	58	1926	48	2054	4
1945	74	1956	58	1979	48	2080	4
1940	73	1906	58	2068	48	1935	4
2055	73	2053	58	1968	48	1991	3
2058	73	1989	58	1914	48	2041	3
2036	73	1971	58	1963	47	1965	2.9
2071	72	2046	58	2045	47	1966	2.9
1986	70.8	2058	57	2026	46	1959	2

2028	70.6	2084	57	1901	46	1964	1.5
50~70		1942	57	2062	45.1	1999	1.4
1943	68	2081	57	1992	44	2079	1.1
1954	68	1941	57	1973	44	1933	1
1946	67	2014	57	2060	44	1934	1
1947	67	2043	57	1976	43.9	2048	1
1972	67	2073	56	2030	43.2	1961	0.9
1938	66	1957	56	1911	41.4	1960	0.4
1925	66	2002	56	1975	40.9	1967	0.4
1921	66	2044	55.9	1995	40.3		
1990	66	2020	55.8	1978	39.5		

표 129. Lycopene (2012년 4월) 분포

Lycopene (mg/kg)	sample 개수
100~110	4
70~100	13
50~70	78
30~50	33
0~30	36
total	182

표 130. α -glucosidase inhibition(2011년 11월)

NO.	%	NO.	%	NO.	%	NO.	%
30~50		1739	23	1777	17	1663	12
1738	43	1831	23	1821	17	1646	12
1805	42	1841	23	1624	17	1659	12
1810	40.7	1606	22.7	1602	17	1667	12
1742	40	1714	23	1701	17	1727	11.9
1803	38.3	1718	22.5	1705	17	1799	11.7
1868	38	1816	22	1760	17	1832	11.7
1807	35.8	1607	22	1775	16.9	1839	11.7
1837	34	1610	22.1	1627	17	1684	11.7
1838	34	1830	22	1645	17	1614	11.7
1811	33	1715	22	1643	17	1790	11.3
1707	32.2	1863	22	1866	16.5	1797	11.3
1743	31.4	1664	22	1761	16.4	1616	11
1802	31	1893	22	1781	16.4	1836	11
1885	30.7	1603	22	1712	16.1	1662	10.4
1886	30	1833	21	1720	16.1	5~10	
1887	30	1862	21	1725	16.1	1691	9.9
25~30		1753	21	1818	16	1700	9.9
1678	30	1785	21	1812	16	1874	9.9
1736	30	1669	21	1765	16	1798	9.9
1804	30	1819	21	1774	16	1787	9.4
1814	30	1639	21	1860	15.9	1654	9.4
1891	29	1642	21	1864	15.9	1617	9.2
1636	29	1632	21	1852	15.9	1611	9.2
1834	29	1633	21	1630	15.6	1844	9
1733	28.8	1723	21	1757	15.5	1651	8.9
1637	29	1769	21	1764	15.5	1688	8.8
1873	29	1730	20	1779	15.5	1880	8.7
1710	28	1628	20	1784	15.5	1704	8.5
1734	28	1768	20.2	1888	15.3	1782	8.5
1890	28	15~20		1858	15.3	1795	8.5
1608	28	1706	19.9	1867	15.3	1655	8.3
1751	28	1708	19.9	1749	15.3	1661	8.3
1752	28	1680	19.9	1716	15.3	1728	8.1
1671	28	1629	19.8	1835	15.2	1697	7.6
1672	27.5	1820	19.8	1843	15	1754	7.5
1806	27.2	1822	19.8	1780	15	1652	7.3
1808	27.2	1817	19.8	1793	15	1794	7
1746	27	1767	19.7	10~15		1876	6.9
1670	27	1792	19.7	1815	15	1861	6.9
1675	27	1609	19.6	1631	15	1622	6.8
1747	27	1703	19.5	1763	15	1649	6.8
1635	27	1721	19.5	1766	15	1732	6.4
1604	26	1829	19.3	1850	15	1666	6.3

1679	26	1840	19.3	1724	14	1650	5.7
1870	26	1845	19.3	1726	14	1653	5.2
1801	26	1626	19.3	1875	14	0~5	
1813	25.9	1621	19.3	1865	14	1692	4.7
1711	25.8	1778	19.2	1869	14	1748	4.7
1894	25.8	1789	19.2	1872	14	1881	4.5
1889	25.8	1702	19.1	1786	14	1882	4.5
1605	25.8	1750	19.1	1791	14.1	1665	4.2
1677	25.7	1612	19	1644	14.1	1827	3.7
1713	25.4	1859	19	1656	14.1	1825	3.7
1674	25.1	1772	19	1682	14	1848	3.4
1641	25	1776	19	1689	14	1648	3.1
20~25		1740	19	1851	13.8	1693	2.9
1788	24.9	1756	18.3	1824	13.6	1698	2.9
1842	24.8	1762	18	1660	13.5	1849	2.8
1846	24.8	1770	18	1668	13.5	1647	2.6
1722	24.6	1773	18.3	1686	13.5	1828	2.5
1735	24.6	1638	18	1615	12.9	1826	2.5
1741	24.6	1640	18	1685	12.9	1618	2.5
1601	24.5	1717	18	1687	12.9	1695	2.3
1634	24.5	1744	18	1755	12.7	1877	2.1
1796	24.4	1681	18	1800	12.7	1879	2.1
1719	24.2	1690	18.1	1657	12.5	1871	1.5
1673	24	1847	18	1823	12.3	1853	1.4
1745	23.7	1758	18	1857	12.3	1696	1.2
1809	23.5	1783	18	1731	12.3	1699	1.2
1676	23.4	1619	18	1892	12.3	1658	10.9
1613	23	1625	18	1759	12.2	1729	10.6
1709	23	1620	18	1771	12.2	1878	10.5
1737	23	1683	18	1623	12		

표 131. α -glucosidase inhibition(2011년 11월) 분포

inhibition(%)	sample 수
30~50	16
25~30	38
20~25	46
15~20	81
10~15	43
5~10	30
0~5	28
total	282

표 132. α -glucosidase inhibition (2012년 4월)

NO.	%	NO.	%	NO.	%	NO.	%
30~50 (11)		1947	20.1	1958	15.3	1968	8.3
2045	43	1931	20.1	2065	15.1	2006	7.8
2044	41	15~20 (46)		10~15 (32)		2013	7.8
2041	38.1	2076	19.9	2080	14.9	1990	7.8
1945	38	1975	19.9	1939	14.6	2011	7.2
2036	34.9	1914	19.9	2052	14.3	1993	7.2
2035	34	2058	19.8	2067	14.3	2018	7.2
2032	32.5	1960	19.4	1933	13.9	1907	7.2
2038	32	2082	19.1	1934	13.9	2010	6.5
2040	32	2055	19	1956	13.9	1992	6.5
2047	32	2060	19	1962	13.9	2015	6.5
2033	31	1948	18.8	1920	13.6	2014	5.9
20~30		1954	19	1929	13.6	1982	6
2029	29	1959	19	2068	13.5	1985	6
2048	29.4	2022	19	2075	13.5	1997	6
2049	29	1923	18.6	1976	13.5	2007	5.9
2031	29	2072	18	2001	13.1	2017	6
1908	29.2	1977	18.4	1927	12.9	1902	6
2037	29	2054	18	1928	13	1913	6
2046	29	2057	18	2079	13	2062	6
2042	29	2069	18.3	1932	13	1981	5
1924	28	1942	18	1961	13	1987	5
2034	28	1971	18	1912	12.2	1994	5
1953	27	1925	18	2026	12	1911	5
2030	27	2078	18	1957	12	0~5	
2039	27	2081	18	1988	12	2012	5
2077	26	1974	18	1930	12	1983	5
1967	24	1949	17	1955	11	1991	5
2061	23	1964	17	1989	11	1906	4.3
2064	23	1921	17	1903	11	1910	4.3
1941	23	2063	17	2084	11	1972	4.2
1950	23	1965	17	1999	10.5	2008	3.3
1951	22	2053	17	2021	11	2009	3.3
1952	22	2059	17	1915	10	2024	3.3
2043	22	1918	17	1926	10	2025	3.3
1916	21.5	2004	16	5~10 (35)		2019	3.3
1919	21.5	2070	16	2000	9.8	1946	2.8

2027	21.4	1940	16	1963	9.7	1996	2.6
2056	21	1938	16	2003	9.7	2023	2
2083	21	2050	16	1904	9.3	1986	2
1978	21	2051	16	1905	9.3	1937	1.4
1917	21	1922	15.8	1909	9.3	1979	1.4
2028	21	2071	15.6	2005	9.2	2020	1.3
1901	21	2074	15.6	1998	9.2	1995	1.3
2073	21	1935	15.3	2066	8.7	1966	0
1980	20	1936	15.3	1984	8.5	1973	0
1944	20	1943	15.3	2002	8.5	2016	0

표 133. α -glucosidase inhibition (2012년 4월) 분포

inhibition(%)	sample 수
30~50	11
20~30	36
15~20	46
10~15	32
5~10	35
0~5	22
total	182

마. 5차년도 실험 결과

표 134. L-glutamic acid (2012년 9월)

NO.	mg/Kg	NO.	mg/Kg	NO.	mg/Kg	NO.	mg/Kg
7000 이상		2386	1532	2353	1036	2352	697
2221	7066	2295	1530	2441	1036	2108	687
3000 ~ 4500		2389	1530	2223	1026	2228	687
2234	4334	2349	1522	2248	1026	2369	678
2145	3651	2308	1512	2304	1026	2373	668
2151	3542	2148	1510	2345	1026	2383	668
2131	3502	2279	1510	2245	1016	2247	649
2133	3472	2291	1510	2296	1016	2270	649
2144	3453	2127	1502	2177	1007	2385	649
2235	3443	2101	1500	2432	1007	2435	649
2120	3324	1000 ~ 1500		500 ~ 1000		2168	639
2104	3037	2357	1492	2175	997	2384	639
2121	3037	2321	1491	2225	997	2434	639
2000 ~ 3000		2290	1482	2268	978	2274	629
2152	2928	2286	1481	2380	978	2336	629
2236	2918	2359	1472	2162	968	2375	629
2224	2809	2126	1471	2289	968	2394	629
2102	2720	2358	1471	2315	968	2395	629
2314	2710	2307	1462	2407	968	2439	629
2410	2621	2368	1462	2161	958	2302	620
2297	2522	2350	1452	2163	958	2426	620
2142	2363	2391	1452	2233	949	2154	610
2103	2334	2422	1452	2298	949	2266	610
2361	2284	2106	1443	2367	949	2370	610
2334	2274	2119	1442	2438	939	2278	600
2341	2254	2282	1442	2271	920	2393	600
2301	2245	2257	1423	2285	920	2251	591
2344	2215	2317	1423	2323	920	2418	591
2390	2215	2421	1423	2338	920	2436	581
2135	2165	2429	1423	2419	920	2425	571
2222	2155	2284	1404	2138	900	2160	561
2335	2146	2112	1384	2313	900	2253	561
2122	2121	2113	1375	2337	900	2376	561
2348	2066	2333	1375	2388	891	2292	552
2111	2017	2259	1355	2179	881	2174	542
2125	2017	2342	1355	2232	881	2406	542
1500 ~ 2000		2254	1307	2238	881	2158	532
2312	1977	2265	1297	2327	881	2316	532
2153	1967	2354	1297	2377	871	2239	523
2117	1957	2255	1288	2378	871	2424	523
2227	1957	2109	1278	2413	871	2241	513
2150	1928	2110	1278	2242	862	2414	503
2305	1928	2115	1278	2252	862	0 ~ 500	
2281	1918	2411	1268	2166	852	2360	494
2136	1908	2440	1258	2171	852	2372	494
2143	1908	2329	1249	2399	852	2159	484
2139	1898	2423	1249	2157	842	2165	455

2147	1858	2442	1249	2167	842	2397	455
2146	1819	2392	1239	2180	842	2244	445
2381	1819	2319	1229	2443	842	2400	445
2118	1799	2396	1229	2322	823	2267	426
2137	1799	2363	1220	2433	823	2303	426
2408	1779	2415	1220	2269	813	2277	407
2365	1750	2420	1200	2347	813	2318	407
2320	1730	2172	1191	2309	803	2404	397
2107	1720	2288	1191	2311	803		
2124	1720	2263	1181	2226	794		
2306	1720	2156	1171	2276	794		
2132	1710	2229	1171	2387	794		
2141	1700	2346	1162	2371	784		
2230	1700	2262	1152	2374	784		
2351	1700	2264	1152	2437	784		
2299	1690	2325	1152	2343	774		
2428	1660	2293	1142	2412	774		
2149	1650	2328	1142	2275	765		
2240	1650	2129	1133	2324	765		
2340	1650	2261	1133	2409	765		
2140	1621	2250	1123	2173	755		
2287	1617	2339	1113	2382	755		
2116	1601	2379	1113	2258	745		
2355	1588	2431	1113	2402	736		
2332	1581	2105	1104	2260	726		
2366	1581	2130	1104	2356	726		
2362	1578	2249	1104	2170	707		
2134	1568	2416	1094	2178	707		
2114	1561	2294	1075	2280	707		
2128	1561	2427	1075	2398	707		
2123	1551	2169	1055	2417	707		
2331	1551	2430	1045	2243	697		

표 135. L-glutamic acid (2012년 9월) 분포

Glutamate (mg/Kg)	sample 수
7000 이상	1
3000 ~ 4500	10
2000 ~ 3000	22
1500 ~ 2000	52
1000 ~ 1500	78
500 ~ 1000	110
0 ~ 500	26
total	299

표 136. L-Glutamate 함량 측정(2013)

NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg	NO.	mg/kg
4000이상		2432	1802	2589	1340	2576	788
2221	4269	2481	1802	2600	1326	2434	784
3000~4000		2497	1770	2493	1326	2572	783
2505	3653	2490	1765	2228	1325	2509	777
2234	3361	2233	1758	2282	1324	2567	777
2510	3200	2496	1755	2467	1322	2417	772
2123	3171	2540	1730	2587	1287	2571	770
2120	3171	2598	1723	2487	1281	2443	747
2504	3098	2472	1700	2423	1257	2247	734
2235	3047	2594	1689	2570	1232	2580	733
2000~3000		2422	1673	2597	1231	2438	731
2566	2888	2486	1665	2430	1230	2425	727
2115	2822	2517	1653	2491	1226	2556	727
2466	2627	2545	1653	2365	1225	2441	722
2410	2566	2552	1648	2494	1218	2483	716
2604	2532	2332	1641	2544	1211	2285	712
2588	2506	2110	1628	2529	1203	2435	710
2236	2506	2355	1625	2442	1193	2338	710
2230	2397	2116	1618	2366	1180	2400	698
2103	2360	2257	1611	2593	1171	2108	691
2607	2330	2012-2	1600	2258	1123	2246	674
2229	2324	2348	1600	2413	1117	2414	669
2564	2311	2506	1599	2534	1108	2356	668
2223	2300	2475	1595	2474	1103	2516	663
2533	2296	2569	1594	2583	1103	2347	639
2538	2286	2411	1593	2585	1102	2546	595
2542	2259	2565	1584	2358	1088	2424	594
2537	2225	2562	1578	2599	1065	2353	593
2102	2217	2523	1575	2419	1050	2418	589
2561	2207	2503	1555	2531	1049	2530	578
2502	2196	2488	1545	2468	1046	2478	572
2578	2162	2290	1545	2479	1036	2484	562
2471	2157	2606	1539	2469	1031	2518	561
2602	2134	2501	1516	2105	1031	2511	543
2408	2123	2605	1511	2412	1031	2343	539
2601	2122	2596	1509	2477	1019	2515	539
2224	2090	2608	1502	2440	1008	2520	517

2117	2067	2357	1497	2409	1008	2283	513
2519	2064	2250	1491	2476	1004	2336	506
2470	2063	2541	1487	2243	1001	2482	504
2560	2054	2333	1481	500~1000		0~500	
2532	2051	2495	1478	2406	997	2524	496
2240	2022	2507	1477	2433	974	2547	475
2581	2008	2407	1442	2563	950	2535	473
2107	2005	2591	1438	2575	942	2485	437
2558	2002	2568	1425	2573	924	2525	426
1000~2000		2415	1421	2231	924	2342	423
2555	1973	2340	1420	2363	920	2513	421
2361	1972	2582	1412	2603	919	2480	415
2586	1969	2473	1409	2339	915	2579	393
2341	1953	2286	1406	2577	915	2512	326
2429	1940	2584	1403	2539	913	2352	301
2590	1924	2239	1403	2260	911	2360	247
2334	1918	2559	1400	2436	897	2514	245
2100	1913	2521	1391	2426	878	2527	192
2595	1870	2492	1383	2346	843	2364	59
2526	1858	2543	1382	2337	843		
2528	1856	2592	1375	2288	843		
2281	1851	2421	1371	2508	842		
2574	1846	2106	1368	2232	842		
2222	1842	2091	1363	2416	841		
2428	1838	2226	1361	2350	832		
2522	1827	2359	1351	2536	828		
2101	1803	2489	1341	2439	794		

표 137. L-Glutamate 함량 측정(2013) 분포

Glutamate (mg/kg)	Sample 개수
4000이상	1
3000~4000	7
2000~3000	35
1000~2000	122
500~1000	63
0~500	14
총 개수	242

표 138. Lycopene 함량 측정(2012년 9월)

NO.	mg/Kg	NO.	mg/Kg	NO.	mg/Kg	NO.	mg/Kg
100 ~ 140		2125	75.3	2401	54.9	2107	36.5
2290	139	2154	75.2	2411	54.6	2304	36.4
2298	135.4	2279	74.1	2225	54.1	2387	35.9
2163	129.9	2311	73.9	2277	54.0	2274	35.0
2162	128	2176	73.8	2412	53.9	2146	34.8
2156	127.1	2232	73.5	2319	53.4	2106	34.7
2438	121	2227	72.4	2113	53.0	2282	33.8
2428	119.5	2419	72.1	2312	52.6	2405	33.5
2159	118	2175	71.9	2103	52.4	2314	33.2
2161	117	2389	71.9	2169	52.3	2326	33.2
2261	117	2359	71.4	2254	51.9	2342	33.1
2437	115.9	2111	71.3	2403	51.7	2400	33.1
2178	115.1	2365	71.0	2372	51.5	2414	32.9
2166	113.1	2433	71.0	2226	51.0	2294	32.8
2300	111.7	2425	70.8	2221	50.9	2253	32.4
2343	110	2394	70.7	2384	50.9	2134	32.3
2430	109	2278	70.5	2150	50.7	2230	32.0
2157	106.4	2351	70.5	2415	50.3	2105	31.9
2416	104	2395	69.9	0 ~ 50		2296	31.8
2177	101	2130	69.7	2346	49.8	2133	31.7
2179	100	2102	69.4	2331	49.8	2248	31.0
50 ~ 100		2117	69.4	2120	49.7	2249	30.8
2361	100	2171	69.1	2377	49.7	2101	30.0
2366	98	2281	69.0	2264	48.9	2121	29.9
2436	96	2379	69.0	2409	48.7	2333	29.9
2339	95.5	2116	68.6	2443	48.7	2325	29.5
2340	96	2393	68.5	2287	48.4	2327	28.6
2432	94	2360	68.0	2369	48.4	2132	27.9
2180	93	2352	67.9	2337	47.9	2252	27.9
2421	93	2363	67.2	2123	47.9	2234	27.8
2344	92	2422	67.2	2246	47.6	2289	27.5
2348	92	2179	66.6	2355	47.5	2258	27.3
2306	91	2376	66.5	2407	47.5	2149	27.3
2110	91	2397	66.3	2375	47.2	2288	27.1
2167	91	2392	66.1	2374	46.8	2147	26.6
2329	90.5	2410	65.8	2382	46.6	2251	25.3
2431	90.3	2423	65.7	2222	46.6	2285	23.0
2242	90.2	2269	65.4	2406	46.4	2345	22.4
2349	89.7	2286	65.4	2115	46.2	2322	22.3
2373	89.5	2390	65.2	2297	45.7	2284	21.5
2307	89.4	2440	64.4	2255	45.6	2316	19.9
2153	89.4	2439	63.5	2308	45.6	2148	17.9
2417	88.3	2128	63.2	2396	45.6	2145	13.5
2245	88.1	2338	63.0	2122	45.4	2259	8.4

2378	88.1	2402	62.7	2275	45.4	2236	4.2
2336	87.2	2165	62.3	2126	44.8	2229	3.6
2350	87.2	2356	62.2	2260	44.7	2142	3.5
2160	86.9	2129	61.9	2266	44.4	2152	3.5
2168	86.9	2385	61.5	2265	44.1	2228	2.4
2299	86.1	2233	61.3	2295	44.1	2139	2.3
2435	86.1	2332	60.5	2305	44.1	2238	2.2
2170	86.0	2441	60.5	2353	44.0	2138	2.1
2324	85.8	2335	60.5	2143	43.9	2239	2.0
2358	85.8	2270	60.3	2418	43.9	2137	1.1
2424	85.8	2367	60.2	2380	43.8	2141	1.0
2427	85.5	2318	59.8	2112	43.7	2240	0.9
2224	85.0	2114	59.6	2388	43.4	2108	0.8
2280	83.8	2124	59.5	2250	43.2	2364	0.8
2164	82.5	2354	59.5	2127	42.8		
2155	82.4	2320	58.9	2317	42.2		
2172	82.4	2131	58.7	2271	41.7		
2174	81.7	2399	58.3	2231	40.7		
2386	81.7	2292	58.0	2243	40.1		
2391	80.2	2223	57.7	2257	39.9		
2434	80.2	2268	57.7	2334	39.8		
2408	79.6	2302	57.7	2404	39.6		
2323	79.4	2303	57.7	2151	38.7		
2158	79.1	2321	57.6	2109	38.6		
2347	79.1	2413	57.4	2247	38.4		
2429	78.8	2267	56.9	2383	38.3		
2341	78.2	2398	56.8	2301	38.1		
2262	78.0	2144	56.7	2328	37.9		
2420	77.8	2313	56.2	2244	37.7		
2442	77.7	2276	55.9	2241	37.6		
2263	77.2	2104	55.6	2370	37.3		
2426	76.4	2368	55.3	2309	37.1		
2291	76.0	2293	55.2	2362	36.6		
2357	75.7	2381	55.2	2371	36.6		

표 139. Lycopene 함량 측정(2012년 9월) 분포

Lycopene 함량 (mg/Kg)	sample 개수
100~140	20
50~100	152
0~50	127
total	299

표 140. Lycopene 함량 측정(2013)

No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg	No.	mg/kg
80~60		2483	30.62	2578	20.57	2596	11.24
2366	78.19	2439	30.54	2595	20.52	2488	11.24
2421	72.14	2091	30.07	2515	20.11	2608	10.99
2123	70.1	2116	30.02	0~20		2231	10.52
2110	61.86	2357	29.92	2243	19.61	2536	10.49
40~60		2513	29.91	2282	19.5	2559	10.33
2117	55.03	2230	29.54	2343	19.17	2507	10.33
2424	54.79	2601	29.36	2599	19	2489	10.3
2435	54.13	2522	29.33	2582	18.98	2535	10.27
2419	52.44	2430	29.23	2512	18.6	2506	10.25
2438	50.55	2233	29.12	2332	18.49	2258	9.99
2363	48.67	2101	29.05	2574	18.49	2477	9.47
2358	48.36	2107	28.98	2580	18.16	2491	9.47
2105	45.81	2337	28.92	2510	18.16	2556	9.28
2434	44.98	2606	28.61	2341	16.85	2560	9.04
2224	43.88	2288	28.45	2566	16.41	2494	8.95
2428	43.58	2537	28.35	2503	16.36	2476	8.65
2408	43.27	2605	28.32	2519	16.25	2486	8.09
2246	42.83	2361	27.87	2520	16.12	2508	8.05
2115	42.01	2579	27	2414	16.11	2417	7.83
2336	41.79	2260	26.89	2558	15.97	2493	7.19
2416	41.76	2418	26.72	2590	15.89	2478	7.02
2286	41.13	2400	26.53	2285	15.81	2509	6.74
20~40		2413	26.19	2487	15.79	2555	6.7
2423	39.88	2422	25.76	2339	15.75	2475	6.2
2346	39.85	2589	25.36	2474	15.39	2545	6.19
2436	39.85	2502	25.17	2353	15.34	2575	5.89
2106	39.25	2234	24.96	2594	15.24	2561	5.59
2442	38.9	2412	24.9	2576	14.96	2497	5.43
2342	38.5	2290	24.74	2541	14.77	2572	5.28
2356	38.43	2557	24.59	2504	14.35	2567	4.88
2112-2	38.28	2525	24.29	2552	14.32	2570	4.79
2425	37.93	2250	24.26	2593	14.11	2480	4.62
2102	37.46	2597	24.21	2359	13.94	2568	4.47
2409	37.08	2426	23.6	2348	13.8	2482	4.4
2226	36.35	2103	23.53	2603	13.64	2565	4.36
2415	36.2	2511	23.53	2406	13.61	2546	4.22

2433	36	2247	23.41	2495	13.52	2547	4.21
2592	35.58	2585	23.36	2429	13.24	2530	3.72
2222	35.51	2481	23.35	2473	12.95	2526	3.61
2120	35.17	2365	23.33	2591	12.72	2411	3.33
2600	35.03	2581	23.31	2492	12.59	2229	2.78
2516	34.67	2221	23.27	2564	12.53	2485	2.68
2350	34.1	2223	23.05	2514	12.45	2571	2.67
2281	32.44	2587	22.81	2472	12.12	2544	2.65
2334	32.25	2360	22.39	2466	12.01	2484	2.37
2432	32.23	2232	22.23	2534	11.95	2228	2.26
2441	31.98	2355	22.18	2543	11.92	2573	1.84
2347	31.89	2598	21.68	2540	11.76	2518	1.63
2607	31.71	2410	21.59	2588	11.65	2563	1.54
2602	31.71	2523	21.38	2467	11.65	2577	1.32
2338	31.67	2407	21.34	2584	11.6	2468	1.13
2443	31.05	2505	21.34	2562	11.6	2538	0.99
2524	31.02	2352	21.3	2586	11.52	2469	0.97
2340	30.76	2490	21.29	2569	11.37	2283	0.96
2100	30.76	2333	21.16	2583	11.37	2604	0.89
2440	30.68	2517	20.8	2496	11.26	2239	0.88

표 141. Lycopene 함량 측정(2013) 분포

Lycopene (mg/kg)	Sample 개수
60~80	4
40~60	17
20~40	93
0~20	128
총 개수	242

표 142. 토마토 AGI 측정(2012년 9월)

NO.	%	NO.	%	NO.	%	NO.	%
20~30		2255	12.5	N.D		N.D	
2140	32	2393	12.5	2101		2351	
2118	29.6	2298	11.7	2108		2352	
2126	29.6	2319	11.7	2109		2353	
2127	30	2320	11.7	2115		2354	
2138	29.6	2331	11.7	2148		2355	
2221	29	2227	11.3	2158		2356	
2271	28.1	2107	11.1	2159		2357	
2114	28	2242	10.9	2161		2358	
2117	28	2284	10.9	2165		2359	
2113	28	2315	10.4	2228		2360	
2125	27.8	2324	10.4	2241		2361	
2223	27.4	2419	10.3	2243		2362	
2129	25.9	2424	10	2244		2363	
2110	25.9	2417	10	2245		2364	
2120	26	1~10		2246		2365	
2121	26	2173	9.7	2247		2366	
2416	25.9	2134	9.3	2248		2367	
2149	26	2311	9.1	2249		2368	
2151	26	2322	9.1	2250		2369	
2150	24	2383	8.6	2251		2370	
2169	24.2	2384	8.6	2253		2371	
2124	24	2162	8.1	2257		2372	
2153	23	2179	8.1	2258		2373	
2225	23	2269	7.8	2259		2374	
2233	22.6	2262	7.8	2260		2375	
2137	22	2301	7.8	2261		2376	
2103	22	2123	7.4	2265		2377	
2252	22	2146	7.4	2268		2378	
2275	22	2381	6.9	2270		2379	
2278	22	2308	6.5	2282		2382	
2139	20	2329	6.5	2283		2386	
2122	20	2157	6.5	2286		2388	
2132	20	2171	6.5	2287		2389	
2136	20	2263	6.2	2289		2392	
2142	20.4	2264	6.2	2290		2394	
15~20		2112	5.6	2292		2395	
2152	19.4	2412	5.2	2293		2396	
2111	19	2385	5.2	2294		2397	
2325	18	2391	5.2	2295		2400	
2224	18	2398	5.2	2296		2402	
2230	18	2399	5.2	2297		2404	
2231	18	2420	5.2	2300		2405	
2222	18	2421	5.2	2302		2406	

2279	17	2163	4.8	2305		2407	
2236	17	2176	4.8	2307		2408	
2299	17	2226	4.8	2309		2410	
2143	17	2232	4.8	2310		2411	
2106	17	2266	4.7	2312		2413	
2135	17	2276	4.7	2313		2414	
2170	16.1	2277	4.7	2314		2418	
2175	16	2281	4.7	2317		2422	
10~15		2240	3.9	2318		2423	
2105	15	2291	3.9	2326		2425	
2133	15	2401	3.4	2327		2426	
2144	15	2403	3.4	2328		2427	
2128	14.8	2154	3.2	2330		2428	
2130	14.8	2172	3.2	2332		2429	
2131	14.8	2234	3.2	2333		2430	
2168	14.5	2288	3.1	2334		2431	
2323	14.3	2303	2.6	2335		2432	
2238	14.3	2304	2.6	2336		2433	
2321	14.3	2306	2.6	2337		2434	
2254	14.1	2147	1.9	2338		2435	
2415	13.8	2104	1.9	2339		2436	
2239	13	2116	1.9	2340		2437	
2145	13	2380	1.7	2341		2438	
2102	13	2387	1.7	2342		2439	
2119	13	2390	1.7	2343		2440	
2141	13	2155	1.6	2344		2441	
2160	12.9	2164	1.6	2345		2442	
2166	12.9	2174	1.6	2346		2443	
2167	12.9	2274	1.6	2347		2409	
2177	12.9	2267	1.6	2348		2256	
2178	12.9	2285	1.6	2349		2229	
2180	12.9	2235	1.3	2350			
2156	12.9	2316	1.3				
2280	12.5						

표 143. 토마토 AGI 측정(2012년 9월) 분포

Inhibition(%)	sample 개수
20~30	35
15~20	15
10~15	40
1 ~10	52
N.D	157
total	299

표 144. 토마토 AGI 측정(2013)

NO.	(%)	NO.	(%)	NO.	(%)	NO.	(%)
60~30		2120	24.6	2513	14.3	2286	6.7
2102	60	2470	23.8	2479	14	2334	6.7
2530	47.1	2436	23.3	2258	13.9	2348	6.3
2531	44.3	2581	23.3	2222	13.8	2239	5.8
2541	43	2598	22.7	2231	13.8	2357	5.6
2103	41	2223	22.5	2552	13.8	2356	5.6
2537	39	2565	22.4	2555	13.8	2406	5.6
2426	38	2400	22.3	2503	13.7	2494	5.5
2421	37	2442	22.2	2504	13.4	2567	5.3
2424	37	2106	22.1	2508	13.4	2515	5.3
2416	36	2486	22.1	2430	13.3	2501	5
2422	35.7	2497	21.9	2588	13.1	2589	5
2423	35.7	2574	21.9	2338	13.1	2339	4.9
2532	35.6	2607	21.9	2578	13	2283	4.9
2528	34.2	2410	21.6	2477	12.8	2358	4.8
2425	34	2260	21.3	2585	12.5	2361	4.8
2533	34	2112.-2	21.3	2591	12.5	2484	4.5
2534	33.9	2546	21.3	2495	12.3	2115	4.1
2415	34	2545	21.3	2224	12.3	2365	4.1
2469	33	2433	21.1	2230	12.3	2363	3.3
2558	33	2236	20.6	2233	12.3	2587	3.1
2582	32.2	2606	20.3	2091	12.3	2343	3
2559	32	2439	20	2489	12.3	2232	2.9
2542	32	2440	20	2517	12	2288	2.1
2539	32	2432	20	2590	11.9	2346	1.2
2529	31.5	20~10		2592	11.9	N.D	
2467	31	2544	19.9	2507	12	2290	ND
2535	31	2360	19.6	2407	12	2332	ND
30~20		2523	19.5	2434	12	2336	ND
2471	30	2435	19.4	2579	12	2226	N.D
2418	30	2359	19.3	2221	11.6	2228	N.D
2536	30	2472	18.8	2105	11.5	2229	N.D
2438	29	2597	18.8	2516	11.3	2234	N.D
2562	29	2492	18.5	2475	11.2	2282	N.D
2414	29	2584	18.5	2481	11.2	2337	N.D
2595	28.9	2505	18.4	2482	11.2	2342	N.D
2429	28.9	2246	18	2506	11.2	2350	N.D

2466	28.9	2250	18	2568	11.1	2352	N.D
2411	28	2599	18	2496	11	2355	N.D
2571	28	2483	17.9	2593	10.9	2364	N.D
2605	28.1	2341	17.7	2235	10.9	2478	N.D
2417	27.8	2476	17.3	2333	10.4	2509	N.D
2428	27.8	2502	17.3	2353	10.2	2510	N.D
2468	27.8	2101	17.2	2366	10.2	2511	N.D
2540	27.6	2243	17.2	2564	10.1	2512	N.D
2572	27.4	2490	17.2	2443	10	2514	N.D
2408	27.3	2602	17.2	10~1		2518	N.D
2557	27	2573	17.1	2521	9.8	2520	N.D
2594	26.6	2583	17.1	2519	9	2525	N.D
2601	26.6	2493	16.4	2116	9	2547	N.D
2518	26	2570	16.4	2576	8.9	2561	N.D
2575	26	2604	16.4	2340	8.7	2563	N.D
2560	25.9	2488	16.4	2556	8.7	2566	N.D
2412	26	2409	16	2473	8.6	2569	N.D
2419	26	2526	15.8	2485	8.4	2600	N.D
2100	25.4	2474	15.6	2480	7.8		
2117	25.4	2596	15.6	2524	7.5		
2107	25.4	2491	15.1	2608	7.5		
2123	25.4	2580	15.1	2543	7.4		
2538	25.3	2522	15	2240	7.2		
2413	25	2487	14.8	2281	7.2		
2603	25	2441	14.4	2347	7.1		
2110	24.6	2577	14.4	2586	6.9		
2247	24.6	2527	14.3	2285	6.7		

표 145. 토마토 AGI 측정(2013) 분포

Inhibition(%)	Sample 개수
60~30	27
30~20	60
20~10	84
10~1	42
N.D	29
총 개수	242

바. 토마토 AGI의 특성 규명

(1) 토마토 AGI 추출 용매 선정

표 146. 토마토 AGI 추출 용매 선정

70% EtOH	NO.	%
yellow	2138	14
	2140	21.6
	2118	14.7
red	2127	16.3
	2118	23.3
	2126	11.6

90% EtOH	NO.	%
yellow	2138	14.4
	2140	20
	2118	17.8
red	2127	14.4
	2118	28.9
	2126	16.7

Acetone	NO.	%
yellow	2138	12
	2140	13.8
	2118	17.2
red	2127	17.9
	2118	20
	2126	18.7

70% MeOH	NO.	%
yellow	2138	11.1
	2140	16.7
	2118	18.9
red	2127	11.1
	2118	14.4
	2126	10.0

EtOAc	NO.	%
yellow	2138	ND
	2140	ND
	2118	ND
red	2127	ND
	2118	ND
	2126	ND

水	NO.	%
yellow	2138	8.6
	2140	14.8
	2118	9.3
red	2127	12.8
	2118	15.9
	2126	13.1

MeOH	NO.	%
yellow	2138	7.8
	2140	11.1
	2118	10.0
red	2127	15.6
	2118	22.2
	2126	11.1

물을 포함 여러 가지 용매와 또 농도를 달리 하여 추출 하였고, 유기용매는 추출 후 추출물의 용매를 기화시킨 후 ethanol로 다시 용출시켜 활성을 측정하였다. 그 결과 ethanol 계열의 용매가 AGI 성분 물질의 추출양과 추출 후 안정도 면에서 가장 좋은 것으로 나타났다. 특히 ethanol 계열의 용매는 추출 후 가공을 할 때 다른 용매보다 다루기 쉬워 추출 용매로서 적당하다고 판단된다. 다음 실험에서는 ethanol을 추출 용매로서 공통적으로 사용하였다.

(2) HPTLC를 이용한 토마토 AGI의 분획

AGI 성분이 함유된 토마토를 농축한 다음 시료를 HPTLC에 spotting 하고 전개한 후에 각 silicagel 판을 5mm 간격으로 긁어내어 다시 용출하였다. 각 fraction을 70% EtOH로 용출한 시료를 가지고 AGI를 실험하였다. 전개용매는 propanol : acetic acid : water = 4:1:1(v/v/v) 이다.

fraction을 보았을 때 origin을 기준으로 1번과 10번이 가장 활성이 높았다. 그리고 다른 fraction에도 활성이 존재하는 것으로 보아 토마토에 함유된 AGI는 보통 2개이상의 물질이 존재하는 것으로 확인이 되었다.

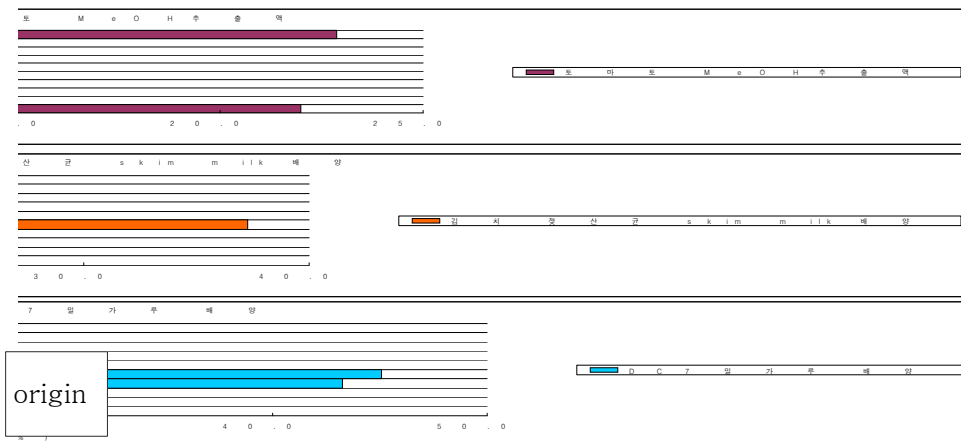


그림 117. HPTLC 실험결과 그래프

(3) 열 안정성과 pH 안정성

표 147. 토마토 AGI 추출물의 열안정성

온도(°C)	Inhibition(%)
30	23.3 ± 1.71
40	23.3 ± 1.71
50	22.3 ± 2.27
60	21.1 ± 1.71
80	19.3 ± 0.86
100	16.1 ± 2.63
120	8.3 ± 2.2

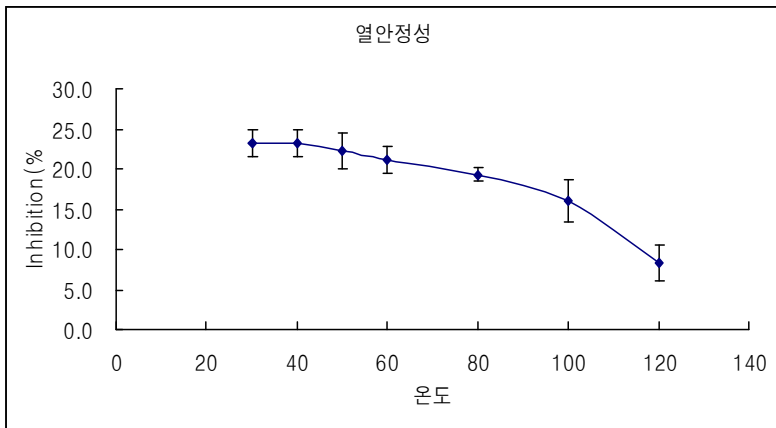


그림 118. 토마토 AGI 열안정성 그래프

열처리 온도는 30~120℃ 까지 10~20℃ 간격으로 설정하여 하였고 100℃까지는 증탕가열 하여 열처리를 하였다. 120℃의 열처리는 autoclave를 이용하였다. 실험 결과 80℃의 온도까지는 AGI 성분이 90%이상 파괴되지 않고 남아있는 것을 확인하였다. 기능성 토마토를 이용한 제품 생산을 위해 열을 가해서 해야 하는 가공과정에서도 AGI가 파괴되지 않을 것으로 예상되어 기능성 토마토를 이용한 제품개발도 가능할 것으로 기대된다.

표 148. 토마토 AGI 추출물의 pH 안정성

pH	Inhibition(%)
2	13.1 ± 1.94
3	13.6 ± 2.54
4	16.5 ± 1.94
5	17.0 ± 0.9
6	22.5 ± 1.27
7	20.3 ± 1.8
8	19.3 ± 1.8
9	17.5 ± 1.27
10	14.4 ± 1.27

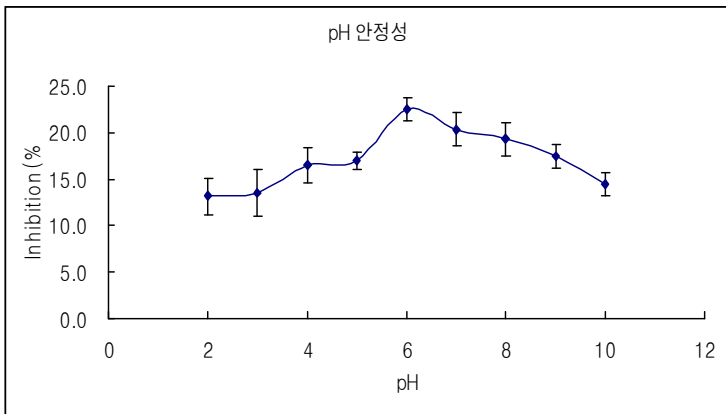


그림 119. 토마토 AGI 추출물의 pH 안정성 그래프

pH 안정성 실험은 각각의 pH에 해당하는 완충용액을 제조하여 추출 용매에 첨가한 후 기존의 추출방법과 동일하게 추출한 다음 AGI 실험을 진행하였다. pH6에서 가장 높고 pH가 산성과 염기성에 가까울수록 떨어지는 것을 확인하였다. 하지만 pH의 변화에 따른 활성의 감소가 적은 것으로 보아 기존의 식품가공과정 중 pH를 바꾸는 과정에도 적용할 수 있을 것으로 기대한다. 또한 섭취 후 산성인 장내 환경에도 AGI 물질이 쉽게 변성되지 않고 인체에 적용될 것으로 예상된다.

4. 결론

1년차부터 5년차까지의 토마토 sample을 대상으로 lycopene, glutamate 및 α -glucosidase 저해 활성을 정량 분석하였다. Lycopene과 glutamate의 함량은 계절적 요인과 재배 요인에 의해 변화의 폭이 컸으나 같은 재배 조건의 경우 함량의 변이가 크게 나타나고 있다. 일부의 시료에 대해 혈당 강하에 관여하는 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 추후 혈당강하 기능을 갖는 기능성 토마토의 육성 가능성을 타진하였다. 그 결과 계통별로 α -glucosidase 저해 활성의 변이 폭이 커 일부의 계통은 기능성 토마토의 육성 가능성을 제시하고 있다. 본 연구에서 확보된 데이터는 토마토 육종의 기초 자료로 활용이 가능 할 것으로 판단된다.

Lycopene은 항산화 효과를 함유하고 있는 carotenoid로서 여러 carotenoid 생합성의 중간물질이다. Lycopene은 주로 적색 열매 채소에 많이 함유되어 있는데 많이 알려진 대로 토마토와 수박에 많이 함유 되어있다.

특히 토마토의 carotenoid 중 70% 이상이 lycopene 이라는 연구결과가 보고된 만큼 본 lycopene 함량 측정에 기인한 토마토 육종연구는 일반 소비자에 끼치는 영향이나 기업의 신 품종개발에 큰 효과를 가지고 올 것으로 예상된다.

Glutamate는 식품가공과정에서 식품의 풍미를 올려주는 천연 조미료로 쓰일 수 있고, 토마토

에 그 함량이 많다면 토마토의 맛이 좋아질 것으로 판단된다. 이것 역시 맛이 좋은 토마토 종자 육종의 기초자료로 활용이 가능하다.

α -glucosidase 저해활성을 갖는 토마토는 장내 소화효소인 α -glucosidase의 활성을 억제해 비만이나 당뇨에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 열안정성과 pH안정성을 확인해 본 결과 80°C 이상, pH 9 이상에서도 AGI가 변성되지 않는 것으로 나타났다. 이는 AGI 활성을 가지고 있는 토마토의 가공과정이 용이하다고 볼 수 있다. 일반적으로 토마토는 가공과정을 거쳐 주스나 소스류인 케찹 형태로 가공이 되는데 여기서 필수적으로 쓰이는 과정이 열처리 과정이다. 앞서 실험 결과에서 보았듯이 열처리를 하였음에도 50% 이상 활성이 남아있기 때문에 기능성 식품으로의 가공이 가능할 것으로 판단되며, 이 또한 새로운 토마토 종자 육종의 기초자료로 쓰일 수 있다.

하지만 가장 문제가 되는 것은 육종이 될 때의 계절로서 일반적으로 여름에 자란 토마토 sample이 겨울에 자란 sample보다 좀 더 높은 생리활성물질의 함량이나 고 활성의 AGI를 보였다. 계절마다 특이성을 보이는 결과를 개선할 수 있는 연구가 보완되어야 할 것으로 판단되며 이는 육종 연구의 또 다른 과제가 될 것으로 제안이 되어야 할 것이다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 목표달성도

1. 토마토 복합내병성 품종개발

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2008- 2009)	1. 고품질 · 내병성 계통 육성	100	-기 보유계통 내병성 및 형질 평가 -기 보유 우수계통에 내병성 인자 여교잡 및 내병성 검정 -신규 유전자원 확보 -고품질 계통에 대한 융성불입화
2차 연도 (2009- 2010)	1. 고품질 · 내병성 계통 육성 및 조합작성	100	- 선발 우수계통 순화 및 특성 조사 - F ₁ 조합 작성 - 주요계통 융성 불입화 및 F ₁ 조합 작성
3차 연도 (2010- 2011)	1. 고품질 · 내병성 조합 작성 및 선발	100	-축성 · 반축성, 억제용 완숙토마토 선발 -고품질계 미니토마토 선발
	2. 생산력 검정	100	-중국, 인도, 인도네시아용 품종선발 (2품종)
	3. 농가적응성 및 신품종 출원 준비	100	-주요조합 생산력 시험 실시 -농가선정 -주요조합 특성조사
4차 연도 (2011- 2012)	1. 국내용 토마토 고품질 · 복합내병성 품종개발(2품종 이상)	100	-복합내병성 완숙토마토 및 고품질 미니토마토 최종선발
	2. 해외용 토마토 복합내병성 품종개발(2품종 이상)	100	-농가적응성 시험 및 신품종 출원(5품종) -TYLCV내병계 인도용 품종선발 및 현지적응성 시험
	3. 생산력 검정, 농가 적응성 및 신품종 출원	100	-주요조합 생산력 시험 -기능성 품종 선발, 품종 출원 및 적응성 시험(1품종)
5차 연도 (2012- 2013)	1. 국내용 토마토 고품질 · 복합내병성 품종개발(3품종 이상)	100	- 잎곰팡이병에 내병성인 고품질계 미니토마토 등록(1품종) -농가적응성 시험 및 신품종 출원 -복합내병성인 중국, 인도네시아용 품종선발 (BW, TYLCV내병) 및 현지 적응성 시험
	2. 해외용 토마토 복합내병성 품종개발(2품종 이상)	100	
	3. 기능성 토마토 품종개발 (1품종 이상)	100	
	4. 농가 적응성 및 신품종 출원	100	

2. 토마토 신품종 육성을 위한 분자표지 개발

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2008- 2009)	1. 내병성마커개발: Cf-9 (잎곰팡이)	100	-AFLP, RFLP 정보 이용 -유전자 정보 이용 -분리집단 이용 -Cornell web site 이용
	2. 기능성 마커 개발: self-pruning(유한생장형)	90	-RAPD, SSR 마커 이용 -primer 디자인, 합성과 적용 -논문과 여러 정보를 통합적으로 이용하여 본연구실 특유의 마커를 개발함
2차 연도 (2009- 2010)	1. 내병성 마커개발: K(갈색 근부병), F3(시들음병)	100	-AFLP, RFLP 정보 이용 -유전자 정보 이용 -분리집단 이용 -Cornell web site 이용
	2. 기능성 마커 개발: J(Jointless)	100	-primer 디자인, 합성과 적용 -논문과 여러 정보를 통합적으로 이용하여 본연구실 특유의 마커를 개발함
3차 연도 (2010- 2011)	1. 내병성마커개발: J3(근부위조), Ty-2	100	-유전자 정보 이용 -분리집단 이용 -Cornell web site 이용
	2. 기능성 마커 개발: 배축색	100	-primer 디자인, 합성과 적용 -논문과 여러 정보를 통합적으로 이용하여 본연구실 특유의 마커를 개발함
4차 연도 (2011- 2012)	1. 내병성 마커개발: 흰가루병 (Lv), GLS (회색점무늬병)	100	-유전자 정보 이용 -분리집단 이용 -Cornell web site 이용 -primer 디자인, 합성과 적용 -논문과 여러 정보를 통합적으로 이용하여 본연구실 특유의 마커를 개발함
5차 연도 (2012- 2013)	1. 내병성 마커개발: GLS (회색점무늬병)	100	-분리집단 이용 -Cornell web site 이용
		100	-primer 디자인, 합성과 적용
		100	-논문과 여러 정보를 통합적으로 이용하여
		100	본연구실 특유의 마커를 개발함

3. SNP 마커 시스템을 이용한 토마토 품종육성 재료의 대량인자 분석

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2008- 2009)	CAPS 마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분석	100	Tm-2a, Mi, Ty-1, Sw-5, Ve, I2, Cf-9마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분석
	SNP 마커 분석 시스템 구축	90	SNP 마커분석 시스템 최적화 및 Tm-2a, Mi CAPS 마커를 SNP 마커로 전환
2차 연도 (2009- 2010)	CAPS와 SNP 마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분 석	100	Tm-2a, Mi, Ty-1, Sw-5, Ve, I2, Cf-9, K, sp (CAPS 및 SCAR 마커)를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분석
	SNP 마커 분석 시스템 구축	100	Ve, I2, Sw-5 CAPS 마커의 SNP 마커로 전 환 및 활용
3차 연도 (2010- 2011)	SNP 마커와 CAPS 마커를 이용한 토마토 육성재료의 대 량분석	100	Tm-2a, Mi, Ty-1, Sw-5, Ve, I2, F3, J3 (SNP 마커)와 Cf-9, K, sp, Ty-2 (CAPS 및 SCAR 마커)를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분석
	SNP 마커 분석 시스템 구축	100	I2, I3, Ve, J3 마커를 SNP 마커로 전환
4차 연도 (2011- 2012)	SNP 마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분석	100	Tm-2a, Mi, Ty-1, Sw-5, I2, F3, J3, Ve 연관 마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분 석
	CAPS 및 SCAR 마커를 이 용한 토마토 품종 육성재료 인자분석	100	Cf-9, K, sp, Ty-2, Jointless, 배축색 PM(Lv) 연관마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자 분석
	DNA 마커를 이용한 시교순 도검정	100	Tm-2a, Ty-1, Mi, Ve 마커를 이용한 시교순도검정
5차 연도 (2012- 2013)	SNP 마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분석	100	Tm-2a, Mi, Ty-1, Sw-5, I2, F3, J3, Ve 연관 마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자분 석
	CAPS 및 SCAR 마커를 이 용한 토마토 품종 육성재료 인자분석	100	Cf-9, K, sp, Ty-2, Jointless, 배축색, PM(Lv), PM(OI) 연관마커를 이용한 토마토 품종 육성재료 인자 분석

4. 고기능성 토마토 품종 육성을 위한 토마토계통의 평가

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2008- 2009)	Nutraceutical 성분 및 맛 성분 의 미량 신속 검정법 확립	100	- Lycopene, β -carotene, GABA, glutamic acid의 신속 검정법 수립
	기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분 분석	100	- 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분을 신속 검정법으로 분석
2차 연도 (2009- 2010)	Nutraceutical 성분 및 맛 성분 의 미량 신속 검정법 확립	100	- Lycopene, β -carotene, GABA, glutamic acid의 신속 검정법 수립
	기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분 분석	100	- 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분을 신속 검정법으로 분석
3차 연도 (2010- 2011)	Nutraceutical 성분 및 맛 성분 의 미량 신속 검정법 확립	100	- Lycopene, β -carotene, GABA, glutamic acid의 신속 검정법 수립
	기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분 분석	100	- 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분을 신속 검정법으로 분석
4차 연도 (2011- 2012)	Nutraceutical 성분 및 맛 성분 의 미량 신속 검정법 확립	100	- Lycopene, β -carotene, GABA, glutamic acid의 신속 검정법 수립
	기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분 분석	100	- 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분을 신속 검정법으로 분석
5차 연도 (2012- 2013)	Nutraceutical 성분 및 맛 성분 의 미량 신속 검정법 확립	100	- Lycopene, β -carotene, GABA, glutamic acid의 신속 검정법 수립
	기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분 분석	100	- 기존 및 육성계통의 nutraceutical 성분을 신속 검정법으로 분석

제 2절 관련분야의 기여도

○ 전 세계 토마토 재배면적은 약 470만ha (FAO, 2011)이며, 이 중 약 20%인 98만ha가 중국, 18%인 86만ha가 인도, 5%인 26만ha가 터키, 4%인 21만ha가 이집트에서 재배되고 있다. 국내의 토마토 재배면적은 약 6,300('12) 로 전 세계에서 재배되는 면적과 비교했을 때 적은 면적이지만 국내의 토마토 재배면적 및 종자시장은 지속적으로 증가되고 있는 추세고, 일본 및 다국적 종자회사 등의 토마토 종자가 토마토 종자시장의 70% 이상을 차지하고 있다. 국내 토마토 종자시장의 규모를 보면 : ('01) 35 → ('06) 92 → ('10) 134억원 → ('11) 149억 → ('12) 170 억원으로 증가하는 추세이다.

○ 다국적 종자회사에서는 분자유종 기술을 도입하여 분자마커를 활용한 토마토 신품종 개발을 추진하면서 전 세계 토마토 시장을 주도하고 있으므로 이에 대응할 국내 연구 개발이 시급히 요구되었다.

○ 특히 다국적기업에서는 이미 토마토 한 품종에 내병성 유전자 5-6점이 마커를 이용하여 고정되고 있으며 국내에 상주하고 있는 몬산토, 신젠타 등 외국기업에서는 자국에서 개발된 마커를 이용한 토마토 육성을 하고 있다. 이에 대한 대비책을 마련하려면 국내에서 개발한 마커를 이용한 토마토 육성 인프라를 확립해야 한다.

○ 토마토의 품질 및 기능성 관련 분자마커의 개발을 통하여 고품질 및 고기능성 신품종 육성의 효율성을 증진할 수 있는 분자유종 체계를 확립하여 다국적 종자회사에 대한 경쟁력을 확보해야 하는 토마토는 본 과제를 수행하면서 기본적으로 필요한 분자마커를 개발하였다.

○ 본 과제에서 개발된 병저항성 분자표지 7점인 Cf-9(잎곰팡이병), K(갈색근부병), J3(근부위조병), F3(시드름병), PM-Lv(흰가루병), Ty-2, GLS(회색점무늬병)은 (주)농우바이오 토마토 육종에 있어 내병성 프로그램을 마커 개발을 통한 선발 효율성을 증진하였으며, 또한 기능성 관련 분자표지 3점인 SP(무한생장형), AH(Anthocyanin Hoffman:배축색), J(Jointless)를 개발하여 고품질 신품종을 만들 수 있도록 지원하였다. 또한 본 과제를 수행하면서 구축된 SNP 형태의 DNA 마커 대량분석 시스템을 토마토에 도입하여 육성 효율을 증대 시켜 품종 육성 기간의 단축을 가속화 할 수 있다.

○ 이로 인한 전통 육종 효율성은 분자마커를 이용한 육종 program을 통해서 1) 작물의 육종기간이 10년에서 약 5년으로 단축되며 2)노동력, 시설측면에서 상당한 운영경비를 감축 3) 묘상에서 DNA 마커를 이용한 1차 선발을 통하여 포장에서 조합 검정 할 수 있는 조합의 수를 상대적으로 증가시킬 수 있으며, 4) 외부환경에 의해 표현형이 왜곡 될 수 있는 원예적 형질에 대한 선발과정의 부정확성을 극복하고, 5) 복합내병성 품종육성을 위하여 동시에 여러 종류의 병저항성 여부를 DNA 마커분석을 통하여 동일세대에서 완료할 수 있게 되었다. 뿐만아니라 국내에서 새로 발병되기 시작한 TYLCV에 대한 내병성을 가진 품종을 개발하는데 속도를 가속화 할 수 있었다.

○ 고기능성 성분, 응성불입, 병 내병성 도입 및 평가 등 품종 육성시 필요한 기술 개발 및 체계를 확립한다.

○ 해외용 토마토 품종 육성을 통해 새로 도입된 유전자원을 바탕으로 내병성 유전인자와 유용한 원예적 형질을 가진 계통을 보유함에 따라 ELITE 신소재 계통을 육성하여 급격하게 변화하는 환경 변화에 대응하는 품종을 육성할 수 있는 기술을 보유 할 수 있어 선진국의 다국적 기업과 대등한 경쟁력 확보 기회를 가지면서 농가들에게 고품질 복합내병성 토마토

품종을 공급하여 안정적인 재배를 유도 할 수 있다.

○ 해외 토마토 종자시장을 개발함으로써 국내 시장의 협소한 종자시장 탈피를 위한 발판 마련하고 해외용 품종을 육성하여 종자 수출의 고부가가치 창출에 기여하고 한국 종자의 우수성을 알려 국가 경쟁력을 제고에도 도움을 줄 수 있다.

○ 본 연구과제에서 개발될 국내용 고품질, 복합내병성 품종들은 향후 3~4년 사이에 품종화 되어 농가에서 재배될 수 있을 것이다. 이로 인한 다국적 기업이 점유율이 높은 국내 시장의 점유율을 변화시킬 수 있어 농가들에게 다양한 품종 선택권이 주어지고 농가 소득에도 기여한다.

○ 발암 억제 활성을 갖는 lycopene, β -carotene이나 혈압 정상화 작용을 갖는 γ -aminobutyric acid(GABA)등의 nutraceutical 성분을 많이 함유하는 기능성 토마토의 육성이 가능할 것이다. 기능성 성분을 활용한 부가가치가 높은 음료 및 식품의 개발이 가능하므로 토마토의 안정적 생산이 가능할 것이다.

○ 국내외 우수 품종 및 유전자원을 수집하여 특성 및 내병성 등을 평가하여 가능 수준을 평가하고 국내 시설과 기후에 적합한 신품종을 개발하여 안정적이면서도 고품질의 토마토를 다수확 할 수 있도록 하여 수입대체효과를 높인다.

○ 다양한 유형의 품종 개발로 주스용 소비 형태에서 벗어나 선진국형 소비 형태인 샐러드, 조리 등의 요리 소비 형태로 전환하여 토마토 소비 증진은 물론 지속적인 재배 면적 증가를 꾀한다.

○ 지구 온난화로 인하여 점차 아열대 기후로 변하는 국내시장에 적합한 아열대 품종 육성을 위한 기초 토대를 마련한다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절 연구개발 성과 및 활용 계획

구 분	조합명	품종명	등록 년도	성과 활용	국내 품종 등록		목표 시장	성과 활용 계획
					생산수입 판매	품종보호 출원		
국내 완숙	09T230	하드랑	2010	자체사업화	0		국내, 동유럽	국내판매중 및 동유럽 수출
"	10T251	티와이 알토랑	2011	"	0	0	국내, 중국	국내 판매중 및 터키 중국 지역 품종 등록예정
국내 미니	10T544	티티찰	2011	"	0	0	국내	국내 판매중
"	09T528	골드미니찰	2011	"	0	0	국내, 중국	국내 판매중
"	10T507	레드짱	2012	"	0	0	국내	국내 판매중 춘천, 부여 이외의 지역 판매 확대 및 대규모 품종 홍보
국내 대목	09T021	올라운드	2011	"	0		"	국내 판매중
국내, 해외 미니	09T511	페트라	2011	"	0		국내, 중국 중동, 유럽	유럽, 북아프리카 확대 적응성 시험중
인도, 중동	08T735	아지테시	2010	"	0		인도, 중동	인도 상업화
인도네시아	08T420	모나리자 (국내 마니아)	2009	"	0		인도네시아	인도네시아 스리랑카, 방글라데시 판매 예정

2. 논문게재(5편)

발표년도	제목	발표 논문게제지
2011	Application of Disease Resistance Markers for Developing Elite Tomato Varieties and Lines	Kor. J. Hort. Sci. Technol. 29(4):336-344.
2012	CAPS Marker Linked to Tomato Hypocotyl Pigmentation	Kor. J. Hort. Sci. Technol. 30(1):56-63
2013	토마토 숙성저해 유전자의 SCAR 분자표지 개발	Kor. J. Breed. Sci. 45(2):104-108
	고품질 내병성의 방울토마토 '티티찰'	Kor. J. Breed. Sci. 45(2):153-157
	고품질 내병성의 완숙토마토 'TY알토랑'	Kor. J. Breed. Sci. 45(2):148-152

가. 포스터 발표(1건)

Lee et al., SCAR Marker Linked to RIPENING-INHIBITOR (Rin) in Tomato. PAGE conference. Sandiego, USA, January 11 - 16, 2013, P0404.

<https://pag.confex.com/pag/xxi/webprogram/Paper7722.html>

나. 연구성과 활용 계획은 10점(J3; 근부위조병, Cf9; 잎곰팡이병, K; 갈색근부병, F3; 시들음병 레이스3, Ty-2: TYLCV, PM-Lv; 흰가루병, GLS; 반점병, sp ; self pruning, j ; jointless, AH(Anthocyanin Hoffman:배축색))의 마커를 개발하여 농업회사법인(주)농우바이오 토마토 육종팀에 전달하였으며 계통화, 품종화를 할 수 있도록 협력할 것이다.

3. 대량 마커 분석

가. 성과 및 활용계획

연구기간 동안 총 224,000여점의 육성재료를 분석하여 제1세부에 전달하였으며, 96 well plate를 이용한 gDNA 추출법을 확립하였다. 사용빈도가 높은 Tm-2a, Ty-1 등 8개 마커에 대하여 SNP 타입으로 전환하였고, SNP 분석에 사용되는 시약에 대한 적정 사용량 규명을 통하여 분석단가를 상업용 master mixture를 사용했을때보다 50%이하로 절감 할 수 있었다. 본 연구과제를 통하여 얻어진 genomic DNA 추출법과 SNP 분석 프로토콜은 고추와 같은 마커를 활용하고 있는 다른 원예작물의 대량마커분석 시스템에 바로 적용될 수 있다. 또한 고온건조 또는 동결건조 처리된 시료에 대한 분석실험에서 해외주재의 연구소 육성 연구원들에게도 마커분석을 통한 genotyping을 지원 할 수 있는 시스템을 완성하였다.

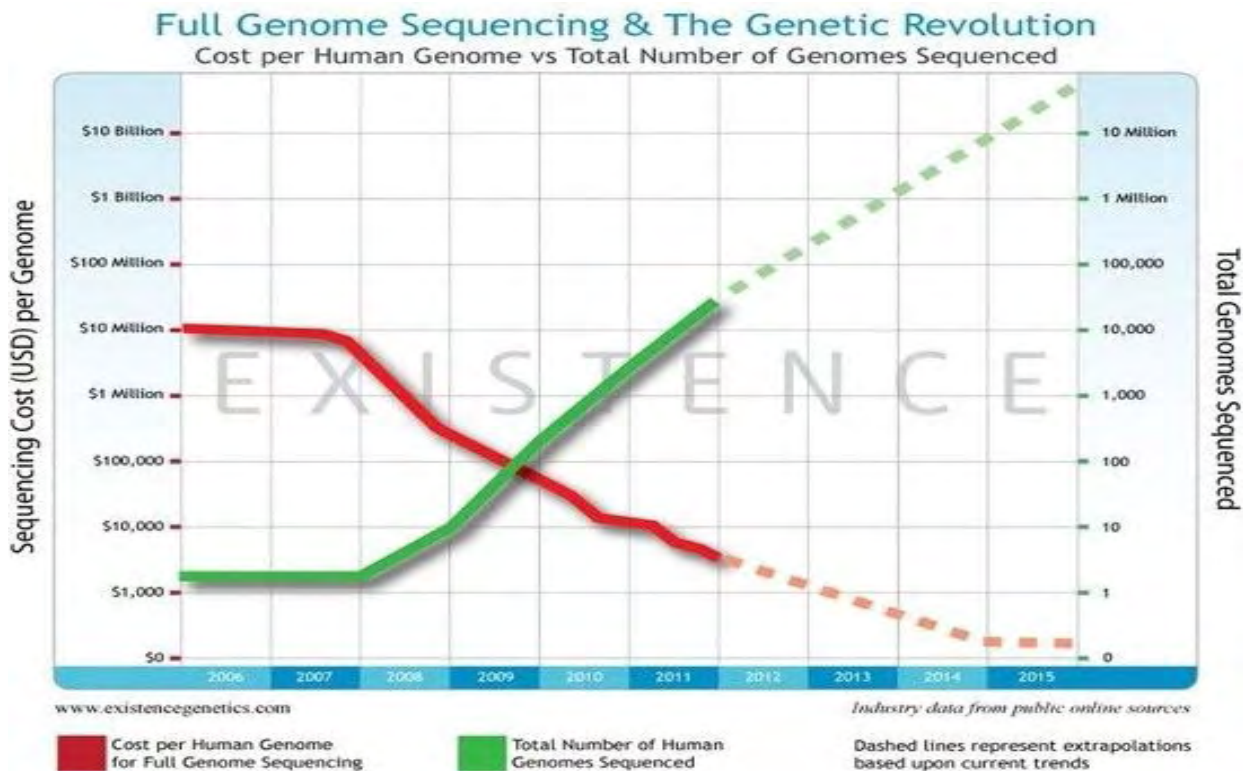
4. 성분분석

1년차부터 5년차까지의 토마토 sample을 대상으로 lycopene, glutamate 및 α -glucosidase 저해 활성을 정량 분석하였다. Lycopene과 glutamate의 함량은 계절적 요인과 재배 요인에 의해 변화의 폭이 컸으나 같은 재배 조건의 경우 함량의 변이가 크게 나타나고 있다. 이에 Lycopene과 glutamate이 계절에 따라 변이가 크지 않는 재배 방법을 농가에 보급하여 성분함량이 높게 나올 수 있도록 재배 방법을 개선할 필요성이 있으며 일부의 시료에 대해 혈당 강하에 관여하는 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 추후 혈당강하 기능을 갖는 기능성 토마토의 육성 가능성을 타진하였다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 연구개발대상 기술의 국내·외 현황

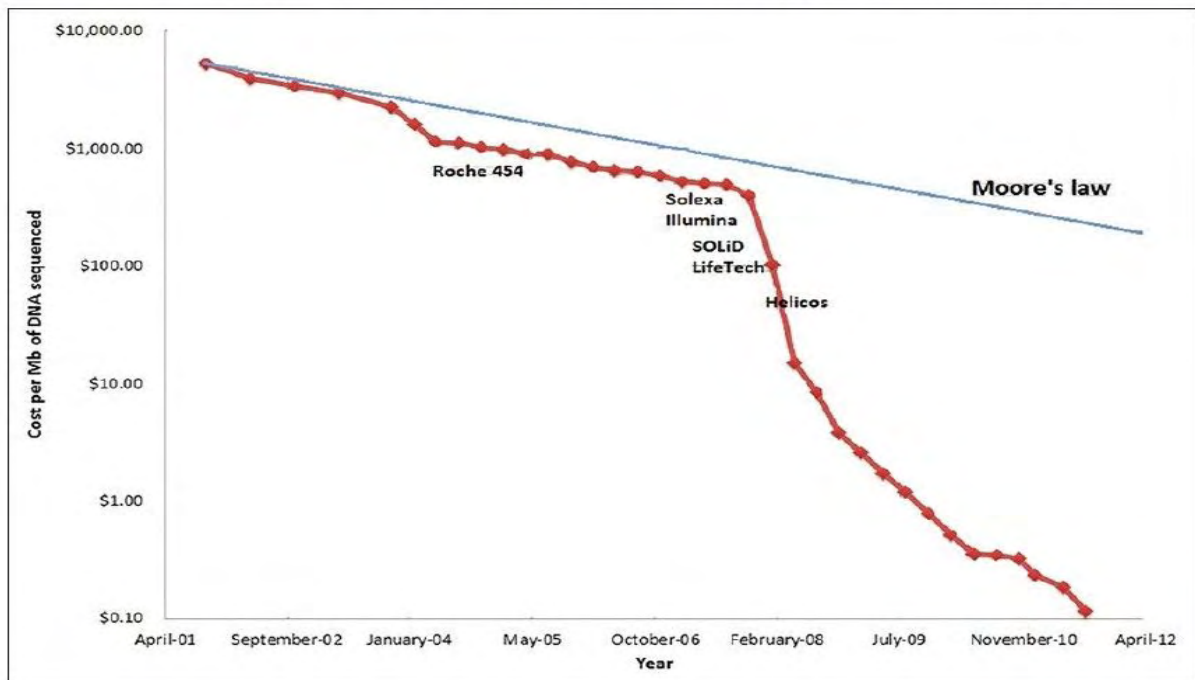
DNA 마커분석 시스템은, 마커형태의 발달 (Isozyme -> RFLP -> PCR-based DNA 마커) 과 함께 점차적으로 대량화 및 자동화하는 추세에 있으며, 특히 이러한 DNA 마커분석 시스템의 자동화 및 대량화에는 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 마커의 개발이 중요한 전환점이 되었다. 지난 15년 동안 SNP 마커 분석 기술은 자동화와 소형화되면서 마커 밀도를 높이는 반면, 분석 단가는 낮추었다.



2007년 이후부터 기존의 염기서열 분석방법인 sanger법과 차별화를 둔 새로운 염기서열 분석법이 개발되기 시작하면서 기존 sanger 법과 구분하기 위하여 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS)하는 용어를 사용하기 시작하였다. 이들 기술이 더욱 활발히 개발(Roche454, Illumina, SOLiD, LifeTech Inc. 등), 활용 되면서 예전보다 대용량의 염기서열 정보를 보다 빠르고 낮은 가격으로 분석할 수 있게 되었다. 대량분석(highthrough-put) 기술의 발전은 전체 유전체 서열 분석을 가능하게 하고 유전체 정보를 바탕으로 다양한 대량분석 기술과 접목되어 유전체 기반으로 개별 유전자 발현이 아닌 전 유전체의 기능 분석 가능성을 보여준다. 이러한 변화는 식물 육종에서 multiple QTL을 포함한 어려운 형질 육성을 위한 방법으로 유전체정보 활용(Genome Selection, GS; Genotyping-by-Sequencing, GBS) 혹은 전체 유전체 서열을 기본으로 하여 도출되는 대량의 SNP로 고밀도의 유전자 지도를 작성하고 이러한

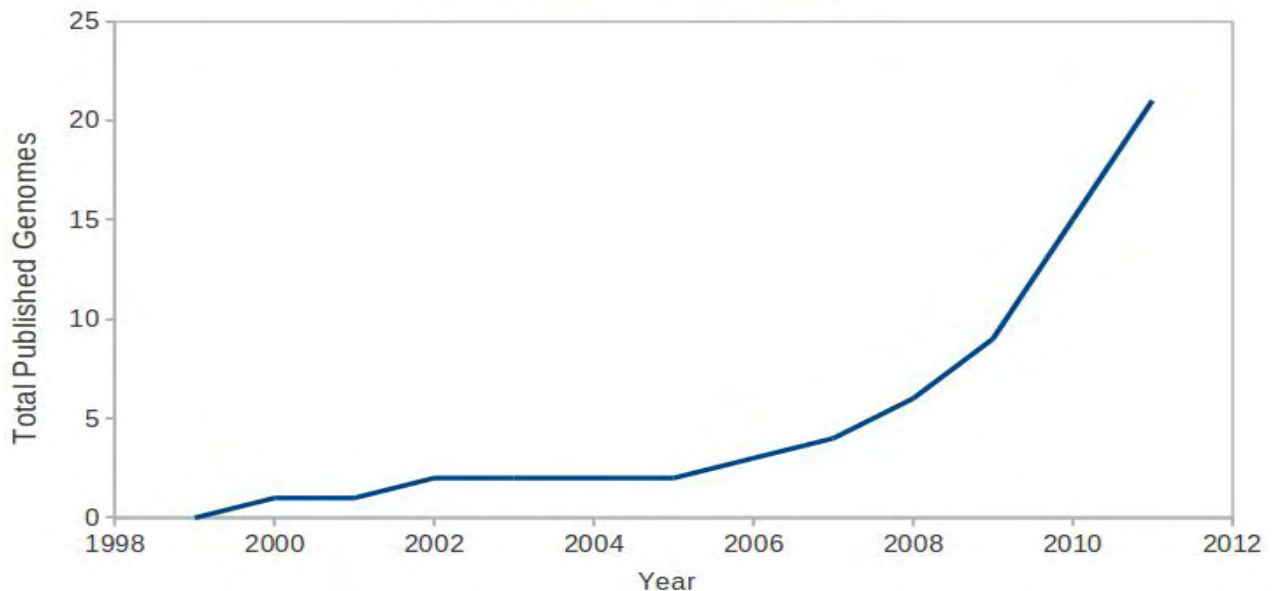
대량의 SNP와 다양한 유전형을 가진 집단을 mapping해 나가는 유전체 정보를 활용한 association mapping에 대한 연구(Genome Wide Association Study, GWAS)가 시도되고 있다.

Figure 2: Cost per megabase of DNA sequenced in the last decade. The semi - log plot shows a dramatic reduction in the cost per megabase of DNA sequenced in the last decade. Also shown are the approximate dates of introduction of different NGS instruments by commercial vendors into the market. The costs have fallen dramatically since 2007 due to competition from multiple vendors. Data source - <http://www.genome.gov/sequencingcosts/>



<출처 J Pathol Inform 2012. 3:40>

Growth in Plant Genomes



<출처 http://genomeevolution.org/wiki/index.php/Sequenced_plant_genomes.

Graph up to date as of September 19th 2011>

Table 1. next-generation sequencing 기술의 비교.

Sequencing Platform	Sequencing Chemistry	Detection Chemistry	Run Time ^a	Read length (bp)	Read per Run (million)	Throughput per Run(Gbp)
Roche 454 FLX Titanium	Sequencing by Synthesis	Light	23 hours	~800	~1	~0.7
Illumina MiSeq	Sequencing by Synthesis	Fluorescence	39 hours	2 x 250 ^b	~1	~8
Illumina HiSeq2500	Sequencing by Synthesis	Fluorescence	11 days(high output)/27 hours (rapid run)	2 x 100 ^b	~3,000	~600(high output)/~120 (rapid run)
Life Technologies 5500xl	Sequencing by Ligation	Fluorescence	8 days	75 + 35 ^b	~5,000	~310
Ion Torrent PGM	Sequencing by Synthesis	pH	4 hours	100	1	~0.1

^a Not including library construction; ^b Paired-end read sequencing.

<출처: Biology 2012, 1, 460-483>

고밀도, 대량의 SNP 도출은 서로 다른 유전형질을 가진 샘플을 찾기 위한 highthrough-put genotyping을 가능하게 하였다. 대량분석(highthrough-put) SNP genotyping 은 1) 대량 샘플 각각의 DNA 추출법 (대량 조직파쇄기, plate & liquid handler)과 2) 결과분석시스템 (SNP end-point detection system, Laboratory Information Management System-LIMS)의 발전과 함께 하고 있다. 일차적인 bottleneck은 수 천개의 샘플 DNA를 추출하는 과정이다. DNA 추출은 많은 고가의 시약과 복잡한 단계로 인한 시간소비와 전문 인력을 필요로 하기에 이것을 해소하기 위하여 조직 파쇄방법, 조직별 추출방법(종자, 잎), tube에서 96, 384 plate로의 대체와 liquid handler(automated plate handling, automated liquid handling etc.) 등을 이용한 자동화 시스템으로 함으로써 이를 극복하고자 노력하고 있다. 또한 SNP 분석시스템은 Taqman, Molecular Beacons 그리고 Invader와 같은 PCR 산물의 SNP specific Hybridization probes의 형광 감지를 기본으로 한 시스템과 MALDI-TOF mass spectrophotometry 원리의 Sequenom 과 같은 시스템으로 발전되어왔다. 이들 기술은 하루에 샘플당 수천 SNPs 분석을 하며, Taqman과 Invader 와 같은 end-point fluorescent assay 경우 96, 384, 혹은 1,536 well microtiter plates 등 사용으로 분석 규모를 현저하게 증가시켰다.

제 7 장 참고문헌

농림수산식품부, 2009. 2020 종자산업 육성대책(안).

농림수산식품부. 2011. Golden Seed 프로젝트.

KB금융지주 경영연구소.(n.d.).국내외 종자산업 현황 및 성장 전망.

FAO, 2012. FAO Statistical Database of Agriculture.

A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. PLoS ONE. 2011. 6(5): e19379

A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. Genetics, Selection, Evolution. 2002. 34: 275-305

Behare J., H. Laterrot, M. Sarfatti, and D. Zamir. 1991. Restriction fragment length polymorphism mapping of the *Stemphylium* resistance gene in tomato. Mol. Plant Microbe Interact.4:489-492.

Choi, S.H., S.K. Green, and D.R. Lee. 1989. Linkage relationship between two genes conferring resistance to peanut stripe virus and soybean mosaic. Euphytica 44:163-166.

Chunwongse J., S. Doganlar, C. Crossman, J. Jiang, and S.D. Tanksley. 1997. High-resolution genetic map of the *Lv* resistance locus in tomato. Theor. Appl. Genet. 95:220-223.

Chunwongse J., T.B. Bunn, C. Crossman, J. Jiang, and S.D. Tanksley. 1994. Chromosomal localization and molecular-marker tagging of the powdery mildew resistance gene (*Lv*) in tomato. Theor. Appl. Genet. 89:76-79.

Genotyping-by-sequencing in plants. Biology 2012. 1: 460-483

Genotyping-by-sequencing for plant breeding and genetics. The plant genome. 2012. 5(3): 92-102

High-throughput genotyping of single nucleotide polymorphisms using new biplex invader technology. Nucleic Acids Research. 2002. 30 (12): e53

Kang, B.C., S.H. Nahm, J.H. Huh, H.S. Yoo, J.W. Yu, M.H. Lee, and B.D. Kim. 2001. An

interspecific (*Capsicum annuum* × *C. chinense*) F₂ linkage map in pepper using RFLP and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 102:531–539.

Kim, M. K. 2004. Development of Good Quality F₁ Hybrids with Increased Level of β-carotene and Lycopene in Tomato. Graduate School of Chungnam National University. Ph. D. Thesis. pp. 18–58.

Next generation sequencing in clinical medicine: challenges and lessons for pathology and biomedical informatics. *J Pathol Inform* 2012. 3:40

Pnueli L., L. Carmel-Goren, D. Hareven, T. Gutfinger, J. Alvarez, M. Ganal, D. Zamir, E. Lifschitz. 1998. The SELF-PRUNING gene of tomato regulates vegetative to reproductive switching of sympodial meristems and is the ortholog of CEN and TFL1. *Development* 125 1979 - 1989.

Rapid ID technology (RIDT) in plants: High-speed DNA fingerprinting in grain seeds for the identification, segregation, purity, and traceability of varieties using labautomation robotics. *Journal of the Association for Laboratory Automation.* 2009. August:221–231

Schiex, T. and C. Gaspin. 1997. CARTHAGENE: Constructing and joining maximum likelihood genetic maps. Fifth Intl. Conf. on Intelligent Systems for Mol. Biol. Porto Carras Halkidiki Greece, p. 258–267.

SNP markers: Methods of analysis, ways of development, and comparison on an example of common wheat. 2006. 42(6):585–594

The invader assay for SNP genotyping. *Mutation Research.* 2005. 573 (1-2): 103–110

Vuong, T.D. and J.E. Harper. 2000. Inheritance and allelism analysis of hypernodulating genes in the NOD3-7 and NOD2-4 soybean mutants. *Crop Sci.* 40:700–703.

Zhang, H-B., M. A. Budiman, R. A. Wing. 2000. Genetic mapping of jointless-2 to tomato chromosome 12 using RFLP and RAPD markers. *TAG* 100: 1183–1189

Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding.. *Molecular breeding* (2012) 29:833–854

Won, D. C. 2003. Studies on the induction of male sterility and its use in tomato. Graduate School of Yeungnam University. Ph. D. Thesis. pp. 24

주 의

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