

발간등록번호

11-1543000-000953-01

중국 수출용 대과 및 미니 토마토
품종 개발

(Variety Development of Large & Mini Tomato for
China Market)

토마토생명과학연구소

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부장관 귀하

이 보고서를 “중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발” 프로젝트의 보고서로 제출합니다.

2015 년 9 월 10 일

프로젝트 연구기관명 : 토마토생명과학연구소

프로젝트 책임자 : 김 명 권

세부프로젝트 연구기관명 : 토마토생명과학연구소

세부프로젝트 책임자 : 김 명 권

연 구 원 : 어백선 윤희탁 최민

세부프로젝트 연구기관명 : 부산대학교

세부프로젝트 책임자 : 박 영 훈

연 구 원 : 김혁준 김빛샘

요 약 문

I. 제 목

중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종개발

II. 연구성과 목표 대비 실적

본 연구과제의 성과목표는 중국용 토마토 품종을 육종 개발하여 토마토 종자를 중국에 수출하는 것이며, 특히 중국의 산동성, 허북성, 요녕성의 시설재배에 적합한 대과토마토와 미니토마토 신품종을 개발하여 현지에 보급 판매하며, 정량적 목표로 품종보호출원 2품종, 품종보호등록 2품종, 품종생산판매신고 4품종을 하는 것으로 설정하였다. 이에 성과로는 품종보호출원 5품종, 품종보호등록 3품종, 품종생산판매신고 6품종을 완료하였으며, 연구기간 내에 토마토 종자 수출 12만불, 중국 현지 생산판매 20만불, 국내 토마토 종자 판매 3억원을 달성하였다.

분자마커개발 성과목표로 토마토 분자마커이용선발(MAS)을 통한 민간회사(주관기관)의 내병성 품종육성을 지원하고, 마커이용여교잡(marker-assisted backcross, MAB)육종을 위한 토마토 게놈 선발용 마커개발, 토마토 병저항성 신규 분자마커(TYLCV, 역병, 흰가루, 근부위조병 등) 개발, 정량적 성과목표는 논문발표 3건과 특허출원 1편을 설정하였다. 이러한 목표대비 실적은 토마토 내병성 마커 14종을 이용하여 민간회사 MAS 총 약 20,000점 지원, 토마토 MAB용 SSR 마커 및 SNP 마커 세트 개발, 역병 저항성, 근부위조병 저항성, 과색 선발용 분자마커 3종 개발을 하였으며, SCI 논문 4편 게재와 특허출원 1건을 달성하였다.

III. 연구개발의 목적 및 필요성

품종개발: 대과토마토로 200-250g 정도에 착과비대가 균일하고 저장성, 수송성, 내병성이 우수한 F₁ hybrid 신품종을 육성하며, 미니토마토로 20-30g 정도에 화방발달이 잘 되고 당도가 높으며, 저장성, 수송성, 내병성이 우수한 F₁ hybrid 신품종을 육성하여 보급 판매하며, 다양한 신소재 토마토 유전자원의 확보와 우수계통 육성선발로 유전적 고정된 inbred line을 만들어 지속적인 국내외용 토마토 품종육성 재료로 활용하는데 있다.

중국은 세계 최대의 토마토 종자시장으로, 이 중 핵심시장인 산동성, 허북성, 요녕성의 시설재배에 적응할 수 있는 품종개발에 초점을 맞추었으며, 특히 저장성, 수송성이 좋고 황화위축 바이러스(TYLCV), 선충(N) 등에 내병성 품종에 대한 요구도가 매우 높다.

분자마커개발: 기존에 개발된 주요 토마토 내병성 분자마커를 이용하여 민간회사(주관기관)의 복합내병성 품종육성을 위한 MAS 프로그램을 지원하고, 내병성 계통육성을 위한 여교잡 효율을 극대화하기 위한 마커이용여교잡(marker-assisted backcross, MAB)용 토마토 게놈 선발용 마커세트를 개발하며, 기존에 부재하였던 토마토 병저항성 신규 분자마커(TYLCV, 청고병, 역병,

흰가루, 근부위조병 등)를 개발하는 것이다. 수출용/수입대체용 토마토 품성육성에서 복합내병성이 기본적으로 요구되는 상황이며, 기존 개발된 마커들을 활용하여 민간회사의 MAS 프로그램을 체계적으로 지원한다면 매우 효율적으로 우수 신품종개발이 가능하다. 내병성 MAS와 더불어 여교잡을 통해 내병성 계통육성을 효율화 할 수 있는 마커이용여교잡기술이 확립되어 실용화 된다면, 야생 근연종으로부터 유용한 형질의 도입이 매우 효율적으로 될 수 있다. 하지만 국내 토마토에서는 MAB는 전혀 이루어지지 않고 있는 실정이다. 또한 기존 개발된 내병성 마커 이외에 저항성 유전자에 기반한 TYLCV, 역병, 근부위조병, 흰가루병 저항성 선발용 분자마커의 신규 개발이 절실히 요구되고 있다.

IV. 연구개발 내용 및 범위

제1세부과제 : 다양한 토마토 유전자원들의 수집 특성검정으로 새로운 육종소재를 확보하여 분리선발 및 재육성소재로 활용하였으며, 기존에 고정계통에 새로운 유전자를 도입하고자 Backcross 방법으로 특정 유전자 집적으로 신계통을 창출하였다. 우량계통 육성 선발로 대과종 800여 계통, 미니토마토 700여 계통들에 대한 모든 원예형질(배축색, 유묘생장, 초세, 엽형, 절간, 화방발달, 착과성 등)과 과품질 형질(과형, 과크기, 과색, 어깨색, 당도, 맛, 경도, 저장성, 열과, 과균일도 등), 내병성에 대한 조사 분석으로 양친으로 사용할 수 있는 순화 고정된 inbred line을 만들었다. 내병성 검정으로 황화위축바이러스(TYLCV tomato yellow leaf cur virus), 토마토모자이크바이러스(ToMV tomato mosaic virus), 토마토반점시들음바이러스(TSWV tomato spotted wilt virus), 선충(N nematode), 시들음병(F fusarium), 반신위조병(Ve verticillium, 근부위조병(Fr fusarium radicles, 잎곰팡이병(Cf cladosporium fulvum), 역병(Ph phytophthora) 등은 분자마커로 검정하여 선발하였으며, 점무늬병(LS leaf spot), 세균성반점병(BS bacterial spot) 등은 포장저항성 검정을 하였다. 고정계통간에 F₁ hybrid 조합을 작성하고 조합선발시험으로 1차 선발하였으며, 선발된 조합에 대해 농가실증시험을 통하여 최종선발과 품종화하였다.

제2세부과제: 기존에 개발하여 확보되어 있는 토마토 내병성 분자마커 14종을 이용하여 주관 기관(토마토생명과학연구소)의 내병성 신품종육성을 위한 MAS를 총 12,975 점 지원하였다. 국내외에서 수집된 토마토 야생종 및 엘리트 계통에 대한 SSR 마커의 다형성 검정 및 SolCAP Tomato SNP array 분석을 통해 마커이용여교잡(marker-assisted backcross, MAB) 육종에 활용 가능한 마커 세트를 확보하였다. 여교잡용마커개발을 위해 기존 유전자지도에 맵핑된 SSR 마커를 염색체별로 다수 선발하고, SolCAP SNP array chip을 이용하여 50여종의 국내 계통 유전자원의 다형성을 분석하였다. 기존 토마토 병저항성 분자마커로서 TYLCV 저항성(*Ty-1*, *Ty-3*) 마커를 이용하여 국내외 품종평가를 수행하였으며, 신규 마커로서 역병 저항성 (*Ph-3*), 근부위조병 저항성 (*Fr*), 과색 (*Smyb12*) 유전자 근접 마커를 개발하였다. 신규 내병성 분자마커개발을 위해서 내병성 유전자원 8점을 확보하고 유전자지도 작성 및 마커연과분석에 필요한 F₂과 RIL 분리집단을 양성하였으며, 병리검정 및 염색체에 physically anchored 된 PCR 마커를 이용하여

마커-표현형 association을 분석하였다. 기존 연구목표에 추가적으로 토마토 과색 유전자로 보고된 Slmyb-12 유전자를 목표로 유전자지도작성을 통해 CAPS 마커세트를 개발하였다.

V. 연구개발결과

1. 토마토 유용 유전자원들의 수집 및 특성검정

토마토 유전자원을 여러 지역으로부터 생장형별로 유한형, 무한형, 과크기별로 대과종, 중과종, 미니종, 색상별로 pink color, red color, orange color, yellow color, brown color, 과형별로 편구형, 고구형, 타원형, 원형 등을 수집하였고, 저장성이 우수하고 열과저항성인 유전자원, TYLCV, 잎곰팡이병, 근부위조병, 점무늬병, 역병, 흰가루병, 청고병 등에 내병성 토마토 유전자원 46점을 수집하여 평가하고 분리육성하거나 재육성 소재로 활용하였다.

2. 우량 parent line들의 육성 선발

대과토마토 우량계통 육성 선발: 모계육성으로 단간에 착과성이 좋고 저장성, 과균일도, 착색이 우수하고, 선충, 시들음병, 점무늬병 등에 내병성이 있는 256계통을 육성 선발하였으며, 부계육성으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성, 수송성이 우수하며, 황화위축바이러스, 잎곰팡이병, 근부위조병, 역병 등에 내병성이 있는 243계통을 육성 선발하여 고정계통들은 F₁ 조합작성에 사용하였다.

미니토마토 우량계통 육성 선발: 모계육성으로 화방의 발달이 잘 되고 색상이 선명하며 열과저항성이 있으며, 토마토모자이크바이러스, 시들음병, 반신위조병 등에 내병성이 있는 277계통을 육성 선발하였으며, 부계육성으로 초세가 강하고 당도가 높으며, 황화위축바이러스, 잎곰팡이병, 근부위조병 등에 내병성 등이 있는 257계통을 육성 선발하여 고정계통들은 F₁ 조합작성에 활용하였다.

3. 신소재 육성 Backcross

(저장성계 x 내병계), (고품질계 x 내병계), (고당도계 x 내병계) 등 pink 대과 4그룹, red 대과 3그룹, 미니 7그룹의 신소재육성 조합을 작성하고, backcrossing으로 유전자를 집적하여 BC₄F₃ 단계의 신소재를 육성하였다.

4. 세대진전시험

초기세대(F₂-F₅) 육성재료들을 빠른 세대진전으로 유전적 순화와 열악한 형질들을 도태하여 258개체의 종자를 받았다.

5. F₁ hybrid 조합 선발시험 및 농가실증시험

제2차년도에 대과토마토 38조합, 미니토마토 38조합을 작성하여 대과토마토 16조합, 미니토

마토 17조합을 선발하였고, 3차년도에 대과 29조합, 미니 30조합을 작성하여 대과 18조합, 미니 19조합을 선발하였다. 제4차년도에 대과 44조합, 미니 29조합을 작성하여 대과 31조합, 미니 22조합을 선발하였으며, 5차년도에 대과 46조합, 미니 23조합 중에서 대과 31조합, 미니 20조합을 선발하였다. best로 선발된 조합들은 농가실증시험을 실시하였다.

6. 품종등록 및 상품화

최종선발된 조합은 품종등록을 하였으며, 대과토마토 ‘TY마라톤’ ‘TY포르테’ ‘토스트’, 미니토마토 ‘TY미라클’ ‘툼제리’ 등은 품종보호출원을 하였으며, 이 중 ‘토스트’ ‘툼제리’ ‘TY미라클’은 품종보호등록을 완료하였다. 또한 대과토마토 ‘바하’ ‘마라톤알파’ ‘TY맛나’, 미니토마토 ‘TY크라운’ ‘다니엘TY’ ‘브라보TY’ 등은 품종생산판매신고를 하여 보급 판매하거나 확대시험 중에 있다.

7. 제2세부과제 연구결과

가. 토마토 여교잡용 분자마커 개발

본 연구는 마커이용여교잡(Marker-assisted backcross, MAB)을 통한 내병성 토마토 신품종육성에 필요한 기초 정보를 얻기 위해 수행되었다. TYLCV, 시들음역병, 청고병, 흰가루병에 내병성인 공여친 계통 10종과 이병성이지만 우수 원예형질을 지닌 회복친 계통 4종에 대해 병리검정과 TYLCV 내병성 연관 분자마커 분석을 수행하였다. MAB를 위한 회복친 유전자 선발(background selection)용 마커개발을 목표로 SOL Genomics Network에 공시된 토마토 유전자지도(reference map)로부터 전 계놈에 균등히 분포된 108개(염색체 당 평균 9개) SSR 마커를 분석하여, 총 303개의 다형성 마커를 기반으로 공여친, 회복친 계통간 유연관계를 분석하였다. 그 결과, 유사도 값의 전체 범위는 0.33~0.80으로 계통간 가장 높은 유사도 값(0.80)을 나타낸 것은 청고병에 저항성인 ‘10BA333’와 ‘10BA424’ 이었고, 가장 낮은 유사도 값(0.33)을 나타낸 것은 시들음역병에 내병성인 야생종 L3708(*Solanum pimpinellifolium* L.)과 청고병에 저항성인 ‘10BA424’ 이었다. 유사도 값을 이용하여 UPGMA 분석한 결과, 유사도 0.58를 기준으로 나누었을 때 3개의 군(cluster)으로 분류되었는데, 대부분 동일한 내병성을 지닌 공여친 계통간 유전적 거리가 가까워 이들은 공통된 저항성 재료를 이용한 육성과정에서 파생된 계통일 것이라 판단되었다. 계통수(dendrogram)를 기준으로 유전적 거리가 지나치게 멀지 않으면서 비교적 다수의 회복친 유전자 선발용 SSR 마커의 확보가 가능한 여교배 조합(공여친 x 회복친)은 TYLCV 내병성의 경우 ‘TYR1’ x ‘RPL1’, 청고병의 경우 ‘10BA333’ 또는 ‘10BA424’ x ‘RPL2’, 흰가루병의 경우 ‘KNU12’ x ‘AV107-4’ 또는 ‘RPL2’로 판단 되었다. 시들음역병의 경우 내병성 공여친인 ‘L3708’은 야생종으로서 모든 회복친 계통들과 유전적 거리가 매우 멀었으며, 적절한 조합은 유사도 값이 0.41이며 계통간 45개의 다형성 SSR 마커가 선발된

‘L3708’ x ‘AV107-4’ 로 판단되었다.

총 26개의 완숙토마토 계통과 22개의 방울토마토 계통을 이용하여 SolCAP Tomato SNP array (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) 분석을 수행하였다. 분석을 통해 총 48개 계통들 간 6,652개 SNP가 확인되었다. 이들의 유연관계 분석결과 각 마켓 타입과 종에 따라 정확히 분리됨을 알 수 있었다. 또한 총 325개 토마토 계통 [48개 국내 수집계통(27개 완숙용, 22 방울)과 277개 SolCAP 유전자원 (109 완숙용, 27 방울, 141 가공용)]에 대한 SNP-array 결과를 기반으로 한 PCA 분석 결과, 국내 완숙용은 SolCAP 유전자원의 완숙용과 유사한 그룹으로 분리되었으나, 국내 방울토마토의 경우 SolCAP의 계통과 다소 차이가 있음을 확인 하였다. 48개 국내 수집 계통 간 6,589 SNP의 PIC value 분포를 12개 염색체상에 plotting하였다. PIC value가 높은 SNP 일수록 여교잡용 마커로서의 활용도가 높다 할 수 있으며, plot에 나타난 염색체상 위치를 고려하여 MAB에 효과적인 SNP 세트를 상황에 따라 선발하여 사용할 수 있다.

나. 분자마커를 이용한 토마토 TYLCV 저항성 품종 평가

본 연구는 외국 종자 회사의 토마토 F₁품종들을 대상으로 토마토 황화잎말림바이러스 (TYLCV) 저항성 분자마커 분석과 포장 병리검정을 통해 각 품종의 저항성 유전자형과 내병성 수준을 분석하였다. 40개 공시품종의 분자마커 및 병리검정 결과, 높은 저항성으로 표기된 두 품종에서는 모두 *Ty-1*과 *Ty-3a* 유전자 연관마커가 이형접합이었으며, 발병률은 0%와 3.3%로 매우 낮았다. 중간 저항성으로 표기된 5 품종 중 4 품종은 18.1~33.3%의 발병률을 보였으며, 마커형도 이병성이었다. 저항성을 지니는 것으로 표기된 28 품종에서는 ‘*Ty-Mamoru*’와 ‘TC30882’가 *Ty-1* 유전자 마커형이 이형접합이지만, 발병률에서는 각각 0.0%와 67.8%로 매우 상반되었다. ‘TC32957’를 비롯한 4 품종에서는 저항성 마커가 발견되지 않았으며, 발병률은 3.3%~20.0% 이었다. 나머지 22 품종들은 모두 *Ty-1*과 *Ty-3*, 또는 *Ty-3a* 유전자 마커형이 이형접합 또는 동형접합이었으며, ‘HNS12860544’ (40%)과 ‘80087’ (30%), ‘TC30882’ (67.8%)를 제외하고는 비교적 낮은 발병률(0.0~3.3%)을 보였다. 저항성이 표기되지 않은 3 품종 중 ‘TOP1199’은 마커형, 발병률 모두 저항성이었으며, ‘TT346’과 ‘TOP1184’은 마커형, 발병률 모두 이병성이었다. 마커형과 발병률이 일치하지 않는 품종에 대해 저항성 유전자 부근의 8개 측면 마커들을 대상으로 마커-유전자간 재조합 가능성을 검정하였지만, 증거는 확인되지 않았다. 내병성이 확인된 F₁품종들을 대상으로 원예형질 특성조사 결과, 유럽형 TYLCV 저항성 대과종 품종은 국내 선호 대비종보다 비교적 수량이 높고 당도 및 당산도도 크게 떨어지지 않아 국내용 품종 육성재료로 적합하였지만, 높은 과실 경도의 문제점이 있었다. 반면, 소과종 품종들은 수량, 당도 등에서 국내 선호 대비종보다 낮고 절간장도 길어 이들을 활용한 고품질 TYLCV 저항성 품종 육성을 위해서는 대과종에 비해 많은 시간과 노력이 소요

될 것으로 판단되었다.

다. 토마토 역병 저항성 분자마커 개발

역병(late blight)은 토마토(*Solanum lycopersicum*)에 치명적인 질병이며 곰팡이 병원균인 *Phytophthora infestans*(Mont.) de Bary에 의해 발생된다. 이 연구에서는 LB 저항성 유전자 *Ph-3*은 한국의 *P. infestans* 분리균주를 사용하여 평가 하였다. LB 저항성 계통인 L3708(*S. pimpinellifolium*)과 LB 감수성 계통인 AV107-4(*S. lycopersicum*)의 교배로부터 얻어진 F6 집단을 이용하여 *ph-3* 유전자좌에 가깝게 연관된 TG 328과 TG591 마커를 이용하여 형질과의 연관성을 분석하였다. 분석 결과, *Ph-3*의 유전자좌와 국내 분리균주에 대한 저항성 간 높은 연관성이 확인 되었다. *Ph-3* 유전자의 위치를 파악하기 위해 TG328, TG591 마커의 클론 시퀀스가 존재하는 *S. pimpinellifolium* draft-genome sequence의 ultracontig SL2.4ch09를 분석하였다. 분석결과 이 contig 상에 TG328과 TG591 가까운 지역에 네 개의 연속으로 반복된 상동성의 coiled-coil leucine-rich repeat(CC-NBS-LRR) class 염기서열이 발견되었으며, *ph-3*의 후보 유전자(이 연구에서 *ph-3a*, *ph-3b*, *ph-3c* 그리고 *ph-3d*으로 명명)로 추측되었다. 이들 *Ph-3* 후보 유전자 시퀀스는 감자에서 LB-저항성 유전자로 밝혀진 CC-NBS-LRR class의 *Rpi-vnt1.1*와 *Rpi-vnt1.3* 유전자와 높은 시퀀스의 상동성을 보여주었다, *ph-3c*와 *ph-3d*는 *Rpi-vnt1.1*와 *Rpi-vnt1.3* 에서 가장 높은 단백질 시퀀스 상동성(80%)을 보이며, 반면에 *ph-3a* 와 *ph-3b*는 70%의 상동성을 보여주었다. 이들 각각의 상동 *ph-3* 유전자를 구별하기 위해 SCAR 마커 set은 개발하였으며, 이를 이용하여 저항성인 ‘L3708’ 과 다양한 감수성 토마토 계통에 대해 마커형 분석을 하였다. 본 연구에서 개발된 SCAR 마커를 이용하여 토마토 개체 내 각 *Ph-3* 상동 유전자를 구분할 수 있을 뿐만 아니라, LB 저항성 대립 유전자의 효과적인 선발이 가능하다.

라. 토마토 근부위조병 저항성 분자마커 개발

토마토에서 근부위조병은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL)에 의해 발생하는 심각한 토양성 곰팡이병이다. FORL 저항성은 염색체 9번에 단일 우성 유전자좌인 *Fr1*에 의해 조절된다. 그러나 이 유전자의 정확한 유전적 위치는 확실하게 밝혀지지 않았다. 본 연구에서는, *Fr1*의 상세한 위치를 염색체 9번에 물리적으로 가까이 있는 분자 마커들과 FORL-resistant inbred AV107-4 (*S. lycopersicum*) x susceptible L3708 (*S. pimpinellifolium*)에서 유래된 F2 단을 이용하여 측정하였다. F2 집단의 병리검정 결과, AV107-4의 한국에서 분리된 FORL 분리균주에 대한 저항성은 이전 연구보고 된 바와 같이 단일우성 유전자에 의해 조절됨을 알 수 있었다. 염색체 9번의 3.6 Mb에서 72 Mb 사이의 염색체 영역에서부터 두 개의 SCAR와 11개의 CAPS 마커들을 Tomato-EXPEN 2000 map과 SolCAP SNP-array chip 분석결과를 기반으로 개발하였다. 이 마커들을 345개의 F2 개체에 검정한 결과, 5.1 Mb ~ 46.4 Mb의 매우 넓

은 영역에 위치하는 마커들이 저항성 유전자위 *Fr1*에 공통적으로 매우 강하게 연관되어 있었는데, 이는 *Fr1*이 염색체 재조합이 강하게 되는 영역으로 알려진 paracentromeric 영역에 존재할 수 있음을 암시한다. 개발된 연관마커를 이용하여 60개의 FORL 저항성 또는 감수성의 상업용 품종을 이용하여 검정하였다. 그 결과 ~6 Mb에 위치한 CAPS마커는 표현형과 92%의 높은 일치율을 나타냈다. 약 5 Mb 와 25 Mb 부근에 있는 두 개의 CAPS flanking marker는 60%의 감소된 일치율을 보였고, 이에 따라 *Fr1*이 염색체 9번의 short arm 상의 이 20 Mb 간격내에 존재하는 것으로 추정된다.

마. 토마토 과색 분자마커 개발

노랑거나 투명한 과피의 색은 과피 내의 naringenin chalcone (NGC) 의 축적 또는 결함으로 인하여 야기되며, 이에 따라 토마토의 외관상 과색이 색이 빨강색 또는 분홍색으로 보이도록 결정된다. NGC 합성은 염색체 1번의 Y 유전자좌의 유전자 *SIMYB12* 에 의하여 조절되며, 따라서 *SIMYB*를 기반으로 개발되는 DNA marker는 토마토 과피색(과색)의 marker- assisted selection (MAS)에 유용하게 이용될 수 있다. 유전자 기반 마커를 개발하기 위하여 잠재적인 promoter 영역을 포함하고 있는 4.9kb의 *SIMYB12* 유전자를 붉은 과실(Y) 계통인 ‘FCR’ 과 분홍색 과실(yy) 계통인 ‘FCP’ 에서 sequencing 하였다. 이들 *SIMYB12* 대립유전자간의 염기서열 비교 결과 ‘FCR’ 과 ‘FCP’ 사이의 염기서열 변이는 나타나지 않았다. *SIMYB12*와 염색체상 연관된 single nucleotide polymorphisms (SNPs)를 찾기 위하여 SolCAP Tomato SNP array 을 이용하여 ‘FCR’ 과 ‘FCP’ 를 genotyping 하였으며, *SIMYB12*와 가장 가까이 연관된 4개의 SNP (solcap_snp_sl_456,531,13762,38123)로부터 CAPS markers (CAPS-456, 531, 13762, and 38123)를 개발하였다. 개발된 CAPS marker 를 ‘FCR’ × ‘FCP’ 에서 유래된 F₂를 이용하여 mapping한 결과, 과피 색의 유전자좌(Y)의 지도상 위치는 CAPS-13762 (0 cM) - 456(11.09 cM) - Y (15.71 cM) - 38123 (17.82cM) - 531 (30.86 cM) 이며 *SIMYB12*의 DNA sequence는 물리적으로 CAPS-456과 CAPS-38123의 중간 부분에 위치하고 있음을 알 수 있었다. 총 64개의 SolCAP 토마토 유전자원d에 대해 토마토 과피 색과 solcap_snp_sl_456 과 38123 사이에 위치한 7개의 SNP를 분석한 결과, 이들 SNP들이 분홍색 과실 특이적인 특성을 지니고 있음을 알 수 있었으며, 따라서 과색 선발용으로 유용할 수 있음을 알 수 있었다..

바. 복합 내병성 품종 육성을 위한 MAS 지원

본 연구는 민간육종회사(주관연구기관: 토마토생명과학연구소)의 복합 내병성 품종육성을 지원하는 목적으로 본 연구책임자가 보유한 토마토 내병성 유전자 선발용 분자마커 14종을 이용하여 수행되었다. 총 연구기간 5년간 12,970개 포인트에 대한 MAS를 지원하였다. 연구결과 주관연구기관의 다양한 복합내병성 신품종 및 계통을 개발하는데 도움을 주었다.

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 토마토 품종 개발

본 연구과제로 육성한 토마토 품종들은 중국에 수출할 뿐만 아니라 국내에도 보급함으로써 수입대체로도 활용할 수 있다. 대과토마토 ‘바하’ ‘토스트’, 미니토마토 ‘TY크라운’ ‘브라보TY’ 등은 중국시장에 계속 판매가 증가할 것으로 예상하고 있다. 또한 국내에 ‘TY마라톤’은 과육이 단단하고 열과에 강한 핑크대과로, ‘토스트’는 과형이 매우 균일하고 저장성이 우수한 TYLCV내병계 레드대과 토마토로 보급하고 있으며, 대추방울토마토로 ‘TY크라운’ ‘브라보TY’, 원형방울토마토 ‘TY미라클’ ‘다니엘TY’ 등도 국내에 보급하고 있어, 국내 토마토 종자의 수입대체에도 크게 기여할 것으로 기대하고 있다. 육성된 elite line들은 계속해서 토마토 신품종을 육성하는 데 유용하게 쓰일 것이다.

2. 토마토 분자마커 개발

본 연구의 대표적 성과는 TYLCV 저항성 등 기존 확보된 내병성 마커의 MAS를 지원함으로써 주관기관의 복합내병성 품종육성에 기여한 것이다. 이러한 MAS 지원을 통해 주관기관에서는 TY-마라톤 등 다양한 신품종을 출원, 등록하였다. 또한 본 연구를 통해 신규로 개발된 역병 및 근부위조병 저항성과 과색 선발용 마커들은 현재 민간 육종회사의 MAS 프로그램 지원에 활용되고 있다. TYLCV와 역병저항성 마커에 대한 정보는 국내외 SCI 논문에 게재되어 일반 user들이 활용 가능하도록 제공하였으며, 근부위조병 저항성 마커는 현재 논문투고와 동시에 특허출원하여 지식재산권을 확보하였다. 또한 개발된 여교잡선발용(MAB) 마커 중 품종간 높은 변이 (high PIC value)를 보이는 염색체별 SNP 마커세트는 향후 Fludime와 같은 through-put genotyping이 가능한 platform에 적용할 경우, 육종 프로그램에 실질적인 활용가치가 높다 할 수 있다.

성과활용 계획으로 본 연구에서 개발된 근부위조병 마커는 특허출원 후 생물정보분석 회사인 (주)시더스로 기술이전을 추진하고 있으며, 국제 SCI 저널(Genome)에 투고하였다. 또한 본 연구에서 개발된 분자마커들은 기술이전을 통해 GSP 원예종자사업단의 토마토 품목 개발과 민간 육종단지의 마커 서비스 사업에 적극 활용할 수 있도록 지원할 계획이다. 향후 추가 연구가 필요한 부분으로는 개발된 근부위조병 저항성 마커를 기반으로 저항성 유전자를 클로닝할 수 있는 연구가 지속적으로 이루어져야 하며, 연구목표 이외 추가로 개발된 과색 판별 마커의 경우, 다양한 유전자원에 대해 과색 유전자(Slmyb12)의 염기서열을 비교분석하여 유전자 기반 공우성 마커의 개발이 가능하다면 육종가들이 핑크계와 레드계 품종을 육성하는데 매우 긴요히 활용될 수 있다.

SUMMARY

I. Title

Variety Development of Large & Mini Tomato for China Market

II. Research Goal and Achievements

Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) is the most important fruit vegetable in the world, major goal of this study was breeding and developing big tomato and mini tomato variety adaptable in Shandong Province, Hebei Province, Liaoning Province in China under protected cultivation. the quantitative goal of this project was established on variety protection application 2 varieties, variety protection registration 2 varieties and variety production and sales declaration 4 varieties. the achievements on this goal have been completed variety protection application 5 varieties, variety protection registration 3 varieties, variety production and sales declaration 6 varieties, and exported tomato seeds of 120,000 USD, done actual local production and sales of 200,000 USD in China, and achieved tomato seed sales in domestic of 300 million KRW within this study period.

The goal of molecular marker development was supporting disease resistance tomato cultivar breeding program of private seed company (PI) by using marker-assisted selection (MAS), developing markers for selecting tomato genome background for marker-assisted backcross (MAB) breeding, and developing new disease resistance markers [Late blight (LB), Powdery mildew (PM), Fusarium club root rot (FCRR) and etc.], In addition, from the project, publication of three research papers and a patent application was aimed. The actual achievements was supporting about 20,000 sample points of MAS for the private seed company using 14 disease resistance markers, developing SSR and SNP marker sets available for tomato MAB program, developing new LB and FCRR resistance markers and a fruit color marker, and publishing 4 SCI research papers and 1 patent application.

III. Aims and Needs for Research Development

Tomato variety development: breed big tomato F₁ hybrid variety with 200-250g good fruit setting on the clusters, keeping storage and transportation, TYLCV, Nematode Cladosporium etc. disease resistance, mini tomato F₁ hybrid variety with 20-30g size, good clusters growing,

high brix content, cracking tolerance, multi-disease resistance, supply and sales tomato seeds, also acquisition of diverse tomato genetic resources and the selected, developed and fixed elite inbred lines are constant using for new tomato variety breeding for domestic and foreign market.

China tomato seed market is the biggest in the world, this project focused on core market adaptable protect cultivation in Shandong Province, Hebei Province, Liaoning Province, especially needed to uniform fruit setting, good store ability and shipping quality with tomato TYLCV(tomato yellow leaf curl virus), Nematode, Cladosporium disease resistance.

Molecular marker development: support disease resistance tomato cultivar breeding program of private seed company(PI) by using marker-assisted selection (MAS), develop markers for selecting tomato genome background for marker-assisted backcross, MAB) breeding, and develop new disease resistance markers [Late blight (LB), Powdery mildew (PM), Fusarium club root rot (FCRR) and etc.], In tomato breeding for export and domestic use, multi-disease resistance is essentially required trait, and systematical support for MAS program of seed companies using existing molecular markers can enable efficient development of new tomato cultivars. In addition to MAS for disease resistance, establishment of marker-assisted backcross (MAB) and its practical use can facilitate introgression of useful traits from related wild species. However, MAB has not been carried out in domestic tomato breeding programs. For MAS, development of new markers for TYLCV, LB, FCRR, or PM is also required in addition to the markers currently available.

IV. Contents and Range of Research Development

The 1st detail study : collected and evaluated diverse tomato genetic resources for using segregating breeding and recombination matter, created new lines as present lines accumulated with new gene by backcross method, prime inbred line breeding selection is to made to use parent line from big tomato about 800 materials, mini tomato about 700 materials which were evaluated and analysed all the horticultural characteristics(cotyledon color, seedling growth, plant vigor, leaves shape, internode, clusters developing, fruit setting etc.) and fruit quality characteristics (fruit shape, fruit size, fruit color, shoulder color, sugar content, taste, firmness, storage, crack, fruit uniformity etc.), disease resistance was tested and selected by molecular marker on TYLCV(tomato yellow leaf curl virus), ToMV(tomato mosaic virus), TSWV(tomato spotted wilt virus), N(nematode), F(fusarium), Ve(verticillium),

Fr(*Fusarium radicans*), Cf(*Cladosporium fulvum*), Ph(*Phytophthora*) etc. and leaf spot, bacterial spot etc. were checked in the field tolerance. The crossed F₁ hybrid combinations between fixed lines tested and selected by hybrid selection trial, final selections through actual farmer's field trial were registered for commercial variety.

The 2nd detail study : we provided MAS of approximately 20,000 sample points for PI (Tomato Life Science Research Center) of this project using 14 disease resistance molecular markers. By evaluating SSR marker and SolCAP Tomato SNP array on diverse wild-type and elite tomato inbred lines collected from overseas and Korea, a set of SSR and SNP markers for MAB were developed. For developing MAB markers, SSRs located on each chromosome were selected based on a publicly available tomato genetic map, and about 50 germplasm lines were evaluated for polymorphism using SolCAP SNP array. Markers for resistance to LB and FCRR, and for fruit color were newly developed in this study. For this purpose, 8 inbreds with disease resistances were collected, F₂ and RIL populations were developed for genetic linkage map construction, and marker-phenotype association was assessed via disease evaluation and PCR of physically anchored molecular markers. In addition to original goals, CAPS marker set for selecting fruit color gene, *Smyb-12*, was developed by linkage map construction.

V. Results of Research Development

<The 1st detail study>

1. Collection and evaluation of tomato useful genetic resources

Collected and evaluated 46 tomato genetic resources which are determinate type, indeterminate type by growth habit, big size, medium size, mini size by fruit weight, pink, red, orange, yellow, brown by color, oblate, deep oblate, round, oval by fruit shape etc. good storage and cracking tolerance genetic resources, TYLCV, *Cladosporium*, *Fusarium radicans*, Leaf spot, *Phytophthora*, Powdery mildew, Bacterial wilt resistant tomato genetics, these materials were evaluated and selected from the segregating population or used for recombination matter.

2. Elite parent lines breeding and selection

Big tomato elite line breeding selection: bred and selected 256 inbred lines as female with

short internode, good fruit setting, storage, fruit uniformity, color, multi disease resistant, 243 inbred lines as male with vigorous plant, firm fruit, good storage and shipping quality, multi disease resistant.

Mini tomato elite line breeding selection: bred and selected 277 inbred lines as female with good cluster developing, shining skin color, cracking tolerance, multi disease resistant. 257 inbred lines as male with vigorous plant, high brix, multi disease resistant, and fixed inbred lines were used for F₁ hybrid combination crossing.

3. New material creation backcross

Improved to BC₄F₃ stage by backcross method that was accumulated new gene in pink big 4 group, red big 3 group, mini 6 group from (storage x disease resistant), (high quality x disease resistant), (high sugar content x disease resistant) combinations.

4. Generation advancement

Obtained 258 individual seeds by generation advancement trial after F₂~F₅ segregating materials selected and discarded recessive phenotype.

5. F₁ hybrids selection and farmers' field trial

In the 2nd year, selected big tomato 16 combinations out of 38 hybrids, mini tomato 17 combinations out of 38 hybrids, in the 3rd year, selected big tomato 18 combinations out of 29 hybrids, mini tomato 19 combinations out of 30 hybrids, in the 4th year, selected big tomato 31 combinations out of 44 hybrids, mini tomato 22 combinations out of 29 hybrids, in the 5th year, big tomato 31 combinations out of 46 hybrids, mini tomato 20 combinations out of 23 hybrids. the best selections were tested at actual farmers' field trial.

6. Variety registration and commercialization

Final selected hybrids were registered that variety protection application on big tomato 'TY Marathon' 'TY Forte' 'Toast', mini tomato 'TY Miracle' 'Tom Jerry' and 'Toast' 'Tom Jerry' 'TY Miracle' were completed variety protection registration, also have been submitted variety production and sales declaration on big tomato 'Bach' 'Marathon Alpha' 'TY Matna', mini tomato 'TY Crown' 'Daniel TY' 'Bravo TY', all the varieties are on sales or large scale trial currently.

<The 2nd detail study>

1. Development of molecular markers for marker-assisted backcross (MAB)

This study was conducted to achieve basal information for the development of tomato cultivars with disease resistances through marker-assisted backcross (MAB). Ten inbred lines with TYLCV, late blight, bacterial wilt, or powdery mildew resistance and four adapted inbred lines with superior horticultural traits were collected, which can be useful as the donor parents and recurrent parents in MAB, respectively. Inbred lines collected were evaluated by molecular markers and bioassay for confirming their disease resistances. To develop DNA markers for selecting recurrent parent genome (background selection) in MAB, a total of 108 SSR (simple sequence repeat) primer sets (nine per chromosome at average) were selected from tomato reference genetic maps posted in SOL Genomics Network. Genetic similarity and relationships among the inbred lines were assessed using a total of 303 polymorphic SSR markers. Similarity coefficient ranged from 0.33 to 0.80; the highest similarity coefficient (0.80) was found between bacterial wilt-resistant donor lines '10BA333' and '10BA424', and the lowest (0.33) between a late blight resistant-wild species L3708 (*S. pimpinellifolium* L.) and '10BA424'. UPGMA analysis grouped the inbred lines into three clusters based on the similarity coefficient 0.58. Most of the donor lines of the same resistance were closely related, indicating the possibility that these lines were developed using a common resistance source. Parent combinations (donor parent x recurrent parent) showing appropriate levels of genetic distance and SSR marker polymorphism for MAB were selected based on the dendrogram. These combinations included 'TYR1' x 'RPL1' for TYLCV, '10BA333' or '10BA424' x 'RPL2' for bacterial wilt, and 'KNU12' x 'AV107-4' or 'RPL2' for powdery mildew. For late blight, the wild species resistant line 'L3708' was distantly related to all recurrent parental lines, and a suitable parent combination for MAB was 'L3708' x 'AV107-4', which showed similarity coefficient of 0.41 and 45 polymorphic SSR markers.

Recently, a high-density single nucleotide polymorphism (SNP) array was developed based on genome-wide SNPs in tomato. In this study, we genotyped a collection of 48 Korean elite varieties (26 fresh market and 22 cherry) using 7,720 SNPs on the array. Of 6,652 polymorphic SNPs (86.1 %) in the entire collection, there were 6,589 SNPs with < 10% missing

data. The number of polymorphic SNPs in the fresh market and cherry sub-groups were 4,733 (61.3%) and 6,087 (78.8%), respectively. In order to examine genetic differentiation between sub-populations, the SNP genotypes of the Korean germplasm were analyzed along with the previously reported SNP data of the 277 SolCAP varieties (109 fresh market, 27 cherry, and 141 processing). Principal component analysis (PCA) revealed that two sub-populations in the Korean germplasm were genetically differentiated from three SolCAP sub-populations. Also, the Korean fresh market varieties represented a distinct sub-population relative to the cherry varieties. The genetic differentiation between these five sub-populations were confirmed using two statistics, pairwise F_{st} and Nei's standard genetic distance. In addition, we validated a further division within the cherry varieties using the UPGMA method. Genetic diversity within each sub-population was estimated based on allelic richness and expected heterozygosity. The fresh market and cherry sub-populations in the Korean germplasm showed similar levels of genetic diversity relative to the corresponding SolCAP sub-populations, respectively. Visualization of polymorphic information content (PIC) across 12 chromosomes revealed regions of the genome that separated the fresh market varieties from the cherry varieties in the Korean germplasm. These results suggest that diversifying selection for market niches and environment adaptation has led to genetic differentiation and allelic variation between sub-populations.

2. Evaluation of TYLCV-resistance tomato germplasm using molecular markers

This study was conducted to evaluate imported tomato F_1 cultivars as breeding materials for the resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) by molecular markers and bioassay. From marker genotyping and disease evaluation of 40 F_1 cultivars, two cultivars declared as TYLCV-resistance carried heterozygous marker genotype for the TYLCV resistance genes *Ty-1* and *Ty-3a*, and showed low disease rates of 0% and 3.3%. Four of 5 F_1 cultivars declared as intermediate resistance showed marker genotype for susceptibility and disease rates ranged 18.1~33.3%. Among 28 cultivars declared as possessing the resistance, 'Ty-Mamoru' and 'TC30882' showed heterozygous marker genotype for *Ty-1*, but conflicting disease rates of 0.0% and 67.8%, respectively. Four cultivars including 'TC32957' were susceptible in marker genotype and showed disease rates ranged

3.3%~20.0%. Remaining 22 cultivars were heterozygous or homozygous for *Ty-1*, *Ty-3*, or *Ty-3a*, and showed relatively low disease rates (0.0~3.3%) except for ‘HNS12860544’ (40%), ‘80087’ (30%), and ‘TC30882’ (67.8%). Of 3 cultivars with unknown information for the resistance, ‘TOP1199’ was resistant, while ‘TT346’ and ‘TOP1184’ were susceptible for both marker genotype and disease rate. For the cultivars showing inconsistency in marker genotype and disease rate, 8 additional markers flanking the genomic region of the *Ty-1* were tested, but no evidence for genetic recombination between the marker and the *Ty-1* was found. Characterization of horticultural traits of the F₁ cultivars with TYLCV-resistance indicated that European large-sized fruit cultivars were higher in yield and similar in sugar contents and solid-acid ratio compared to a control cultivar preferred in domestic market, although hardness remained to be a problem. On the other hand, cherry tomato cultivars showed lower yield and brix, but longer internode compared to a control cultivar, indicating that breeding for TYLCV-resistance using these cultivars will require more efforts and time compared to large-sized.

3. Development of molecular markers for tomato late blight resistance

Late blight (LB) is a devastating disease in tomato (*Solanum lycopersicum*), which is caused by the oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. In this study, the LB-resistance gene *Ph-3* was evaluated using a pathogenic isolate of *P. infestans* from Korea. Molecular mapping of the TG328 and TG591 regions, which are tightly linked to the *Ph-3* locus, was performed using F₆ families derived by crossing the LB-resistant accession “L3708” (*S. pimpinellifolium*) with the LB-susceptible accession “AV107-4” (*S. lycopersicum*). The map indicated that the *Ph-3* locus also conferred high resistance to the Korean isolate of *P. infestans*. To identify the putative *Ph-3* gene, the ultracontig SL2.4ch09 of the *S. pimpinellifolium* draft-genome sequence, which contained the TG328 and TG591 clone sequences, was investigated. Four tandemly duplicated putative *Ph-3* homologs (designated as *Ph-3a*, *Ph-3b*, *Ph-3c*, and *Ph-3d* in this study) belonging to the coiled-coil nucleotide-binding site leucine-rich repeat (CC-NBS-LRR) class of pathogen resistance genes were identified in a flanking region of TG328 and TG591. TG591 sequences and partial sequences of *Ph-3c* and *Ph-3d* were tandemly repeated. Protein sequences of *Ph-3* homologs showed high sequence

homology with *Rpi-vnt1.1* and *Rpi-vnt1.3*, the CC-NBS-LRR LB-resistance genes in potato. *Ph-3c* and *Ph-3d* showed the highest protein sequence homology (80%) to *Rpi-vnt1.1* and *Rpi-vnt1.3*, whereas *Ph-3a* and *Ph-3b* showed 70% homology to these genes. A set of sequence characterized amplified region (SCAR) markers that could distinguish each copy of the *Ph-3* gene homolog were developed, and allelic compositions of the *Ph-3* locus were compared between “L3708” and a variety of LB-susceptible tomato accessions. These SCAR markers proved useful, not only for studying the organization of the *Ph-3* homologs in an individual tomato plant, but also for selection of the LB-resistance allele

4. Development of molecular markers for tomato fusarium crown root rot resistance

Fusarium crown root rot is a severe fungal disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) in tomato. Resistance to FORL is conferred by single dominant locus *Frl* on chromosome 9, but its precise genomic location is not clearly determined. In this study, detailed location of *Frl* was assessed by using a set of molecular markers physically anchored on Chr. 9 and F2 and RIL population derived from FORL-resistant inbred AV107-4 (*S. lycopersicum*) x susceptible L3708 (*S. pimpinellifolium*). Bioassay of the two populations with a FORL strain isolated from Korea resulted in single dominant inheritance of the resistance as previously reported. Two SCAR and 11 CAPS markers encompassing from 3.6 Mb to 72 Mb of Chr. 9 were developed from Tomato-EXPEN 2000 map and SolCAP SNP-array chip analysis. These markers were genotyped on 126 RILs and 345 F2 plants, and markers locating at a 5.1 Mb ~ 46.4 Mb interval were tightly linked to the *Frl*, indicating that *Frl* is present on a pericentromeric region of suppressed chromosomal recombination. The marker set was tested on 60 FORL-resistance or susceptibility commercial cultivars and a CAPS marker located on ~6 Mb showed the highest match (92%) with the phenotype. Two markers flanking the CAPS at ~5 Mb and ~25 Mb showed decreased match ratio of 60% and 80%, respectively, indicating that *Frl* is possibly located at this 20 Mb genomic interval on the short arm of Chr. 9.

5. Development of molecular markers for tomato fruit color

Yellow or transparent fruit peel color is caused by the accumulation or lack of naringenin chalcone (NG, C) in fruit peel and determines the red or pink appearance of tomato fruit,

respectively. NGC synthesis is regulated by the *SIMYB12* gene of the *Y* locus on chromosome 1, and DNA markers derived from *SIMYB12* can be useful for marker-assisted selection (MAS) of tomato fruit color. To develop a gene-based marker, a 4.9 kb of the *SIMYB12* gene including a potential promoter region was sequenced from the red-fruited (*YY*) line ‘FCR’ and pink-fruited (*yy*) line ‘FCP’. Sequence alignment of these *SIMYB12* alleles revealed no sequence variations between ‘FCR’ and ‘FCP’. To identify *SIMYB12*-linked single nucleotide polymorphisms (SNPs), ‘FCR’ and ‘FCP’ were genotyped using a SolCAP Tomato SNP array and CAPS markers (CAPS-456, 531, 13762, and 38123) were developed from the four SNPs (solcap_snp_sl_456, 531, 13762, and 38123) most closely flanking the *SIMYB12*. These CAPS markers were mapped using F₂ plants derived from ‘FCR’ × ‘FCP’. The map positions of the fruit peel color locus (*Y*) were CAPS-13762 (0 cM) - 456 (11.09 cM) - *Y* (15.71 cM) - 38123 (17.82 cM) - 531 (30.86 cM), and the DNA sequence of *SIMYB12* was physically anchored in the middle of #456 and #38123, indicating that fruit peel color in domesticated tomato is controlled by *SIMYB12*. A total of 64 SolCAP tomato germplasms were evaluated for their fruit peel color and SNPs located between solcap_snp_sl_456 and 38123. Seven SNPs that were detected in this interval were highly conserved for pink-fruited accessions and specific to transparent fruit peel traits, as depicted by a phenetic tree of 64 accessions based on the seven SNPs

6. Support for marker-assisted selection for breeding multiple disease resistance tomato cultivars

This study was conducted to support of MAS for breeding multi-disease resistance tomato cultivars and breeding lines of a private seed company (PI: Tomato Life science Research Center). A total of 14 different types of markers linked to diverse disease resistances including TYLCV, Fusarium, ToMV and etc. were used for MAS. During the research years, a total of 12,970 sample points were screened. As a result, MAS was greatly helpful for the seed company in developing efficiently the disease resistance new commercial cultivars and breeding lines.

VI. Research Achievement and Application of the Results

1. Tomato variety development

Tomato new varieties bred and developed in this study could be not only export to China but also supply to domestic market. big tomato 'Bach' 'Toast', mini tomato 'TY Crown' 'Bravo TY' will be expected to increasing sales in China, and some varieties are supplying in domestic that 'TY Marathon' has firm fruit texture, cracking tolerance, 'Toast' has very uniform fruit shape, firm, TYLCV resistant red tomato and jujube type cherry tomato 'TY Crown' 'Bravo TY', round type 'TY Miracle' 'Daniel TY' etc. will be contributed to substitution of importing tomato seeds. also elite inbred lines bred and selected will be using for making new variety continuously.

2. Tomato molecular marker development

A representative outcome of this study was the contribution to developing new commercial tomato cultivars of PI by supporting with MAS of multiple disease resistance. With MAS assistance, PI could apply and register patent for newly developed cultivars. Importantly, the newly developed markers for LB and FCRR are currently used for supporting MAS programs of private seed companies, Information for TYLCV and LB resistance markers were published in international SCI journals and provided freely to public users. The marker for FCRR resistance was submitted for publication in 'Genome' and patent was applied for intellectual property protection. In addition, SNP markers for MAB with high level of polymorphism (high PIC value) among the germplasm variation have great potential for their practical utility when applied by high-throughput genotyping platform such as Fluidigm

As plans for utilization of outcomes of this study, the patented marker for FCRR is under process for technology transfer to a Bioinformatics Analysis company (Seeders) and was submitted for publication. Also, the markers information developed in this study will be provided to GSP research group and Seed valley service group via technology transfer. In the future, further research on cloning the resistance gene for FCRR need to be continued, and in case of fruit color marker, fruit color gene Slmyb-12 should be sequenced from diverse breeding materials and compared for developing a gene-based co-dominant marker, which will be useful for breeders to breed cultivars for red and pink fruit market.

CONTENTS

Chapter 1	Outline and Goal of the Research Project	22
Section 1	Purpose of the research	22
Section 2	Necessity of the research	22
Section 3	Achievement on the research target comparison	24
Chapter 2	Current Status of Research Development Worldwide	29
Section 1	Current status of the domestic research	29
Section 2	Current status of the foreign research	30
Chapter 3	Contents and Results of the Research Project	32
	<The 1 st Detail Project>	
Section 1	Collection and evaluation of genetic resources	32
Section 2	Breeding and developing prime parent lines	35
Section 3	New material developing backcross	60
Section 4	Generation advancement trial	61
Section 5	Disease resistance test and selection	64
Section 6	F ₁ combination selection and farmers field trial	66
Section 7	Foundation seed multiplication and sample seed production	103
	<The 2 nd Detail Project> Contents and Results of the Research Project	105
Chapter 4	Achievement of Goal and Contribution to Related Field	182
Chapter 5	Outcome of the Research Development and Plan for Application	189
Chapter 6	Overseas Scientific Technology Information Collected during the Process of the Research Development	194
Chapter 7	References	195

목 차

제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표	22
제 1 절 연구개발의 목적	22
제 2 절 연구개발의 필요성	22
제 3 절 연구성과 목표 대비 실적	24
제 2 장 국내외 기술개발 현황	29
제 1 절 국내 기술개발 현황	29
제 2 절 국외 기술개발 현황	30
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	32
<제1세부과제>	
제 1 절 유전자원의 수집 및 특성 평가	32
제 2 절 우량 양친 계통육성	35
제 3 절 신소재육성 여교잡	60
제 4 절 세대진전시험	61
제 5 절 내병성검정 및 선발	64
제 6 절 F ₁ 조합선발시험 및 농가실증시험	66
제 7 절 원종증식 및 시교채종	103
<제2세부과제> 연구개발수행 내용 및 결과	105
제 1 절 마커이용여교잡(MAB)을 위한 반복친 계놈 선발용 마커개발	105
제 2 절 토마토 황화잎말림 바이러스 저항성 분자마커 및 육종소재 평가	120
제 3 절 토마토 역병 저항성 선발용 분자마커 개발	134
제 4 절 토마토 근부위조병 저항성 분자마커 개발	156
제 5 절 토마토 과색 선발용 분자마커 개발	170
제 6 절 복합 내병성 품종 육성을 위한 MAS 지원	180
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	182
제 1 절 목표달성도	182
제 2 절 관련분야에의 기여도	187
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	189
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	194
제 7 장 참고문헌	195

제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표

제 1 절 연구개발의 목적

본 연구과제의 목적은 중국의 토마토 종자 핵심시장인 산동성, 화북성, 요녕성의 시설재배에 적합한 대과토마토 및 미니토마토 품종을 육종 개발하여 중국에 토마토 종자를 수출하는데 목적이 있다. 이를 위해 다양한 토마토 유전자원의 수집 평가하여 육종소재로 이용하고, 새로운 유전자를 창출하기 위해 recombination을 통한 유전변이를 유기하며, backcrossing으로 특정유전자를 집적하여 신소재를 창출하며, 초기 분리세대 계통들을 순화 고정화하는 세대진전시험을 실시하여 육종연한을 단축하며, 우량 parent line을 육성 선발하여 F₁ hybrid 조합작성을 하고, 조합선발시험과 농가실증시험을 통하여 품종화, 상품화하는데 목적이 있다. 대과토마토로 200-250g 정도에 착과비대가 균일하고 저장성, 수송성, 내병성이 우수한 F₁ hybrid 신품종을 육성하며, 미니토마토로 20-30g 정도에 수량성과 당도가 높으며 저장성, 수송성, 내병성이 우수한 F₁ hybrid 신품종을 육성하여 보급 판매하며, 다양한 신소재 토마토 유전자원의 확보와 우수계통 육성선발로 유전적 고정된 inbred line을 만들어 지속적인 국내외용 토마토 품종육성 재료로 활용할 수 있다.

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 토마토 품종 개발

세계의 토마토 재배현황은 2013년도 FAO 통계로 472만 5천ha에서 생산량은 1억 6천 3백만 톤으로 과채류 중에서 가장 많은 재배면적과 생산량을 보이고 있으며, 이 중 중국의 토마토 재배현황은 98만 4천ha에서 5,066만 톤의 토마토를 생산하고 있어, 재배면적과 생산량에서 세계 최대라고 할 수 있다. 중국의 토마토 종자소요량은 연간 약 120,000kg(120톤)에 토마토 종자시장 규모가 1000억을 상회할 것으로 추산되며 역시 세계 최고의 토마토 종자시장이다(Table 1, Figure 1).

Table 1. Tomato cultivation acreage and production quantity in the world (FAO Statistics 2013)

국가	재배면적		생산량	
	천 ha	%	천 톤	%
중 국	984	20.8	50,664	30.8
인 도	880	18.6	18,227	11.1
터 키	311	6.5	11,820	7.2
나이지리아	272	5.7	1,565	0.9
이집트	212	4.4	8,533	5.2
이 란	163	3.4	6,174	3.7
미 국	149	3.1	12,574	7.6
러시아	119	2.5	2,644	1.6
이탈리아	95	2.0	4,932	3.0

멕시코	87	1.8	3,282	2.0
우크라이나	84	1.7	2,051	1.2
스페인	45	0.9	3,683	2.2
일본	12	0.2	748	0.4
한국	6	0.1	388	0.2
기 타	1,306	27.6	36,678	22.3
계	4,725	100.0	163,963	100.0

중국의 토마토 재배는 전지역에서 재배되고 있으며, 하남성 > 산둥성 > 허북성 > 신장성 > 호북성 순으로 많이 재배되고 있다. 호남성, 광둥성 등 남부지역은 노지재배로 중과종 유한생장형의 토마토가 주로 재배되며, 서부의 신장지역은 세계적인 가공용 토마토 집산지이다. 중국 토마토의 핵심시장은 산둥성, 허북성, 북경근교, 상해근교의 시설 토마토 재배단지이다. 이 지역은 종자가격과 토마토 과일의 가격이 높아 고부가가치의 시장이라고 할 수 있으며, 시설재배 지역에서 핑크대과(pink large) 시장이 가장 크며, 레드대과(red large)와 미니토마토의 재배면적은 상대적으로 적지만 종자가격은 핑크대과보다 높은 편이다. 각 지역별로 local 품종들이 싼 가격으로 거래되고 있는데 비해, 저장성, 수송성이 좋고 내병성이 있는 수입품종들은 local 품종에 비해 훨씬 높은 가격으로 거래되고 있어 시장의 규모가 계속 증가하고 있다. 최근에는 토마토황화위축바이러스(TYLCV)가 남부는 물론 중북부인 허북성, 산둥성까지 퍼져 중국 토마토 재배단지에 심각한 타격을 주고 있는 실정이다. 따라서 핵심시장인 산둥성, 허북성, 요녕성의 시설재배에 적응할 수 있는 품종개발에 초점을 맞추었으며, 저장성, 수송성이 좋고 황화위축바이러스(TYLCV), 선충(N), 잎곰팡이병(Cf) 등에 내병성이 있는 F₁ hybrid 품종을 개발하면 고부가가치를 창출할 수 있다.



Figure 1. Tomato market size and value in China

2. 토마토 분자마커 개발

- 분자표지이용선발(Marker-assisted selection, MAS)기술은 목표형질을 유전자를 기반으로 선발(forground selection)함으로써 전통육종의 단점을 보완하고 우량개체선발효율을 극대화 시킴과 동시에 육종연한과 투자비용을 현저히 감소시키므로 종자산업계에서 상위 경쟁력

확보를 위해서는 필수적인 기술로 인식되고 있다.

- 분자표지이용 여교잡(Marker-assisted backcross, MAB) 또한, 여교잡세대별 반복친 계놈(genome) 회복율이 높은 개체를 유묘기에 효율적으로 선발함으로써 세대단축(기존의 BC₄F₅ 세대에서 BC₂F₂ 세대로) 뿐 아니라 노동력, 공간 등을 크게 절감할 수 있다.
- 이러한 분자표지 육종의 중요성과 필요성에 대한 인식이 날로 증가하고 있으며, 몬산토, 신젠타와 같은 거대 다국적 기업 및 국내 선도 기업들은 많은 R&D 예산을 분자표지 개발에 투자하고 있음.
- 국내에서도 1990년대 말부터 정부기관, 대학 및 일부 종자기업을 중심으로 분자표지 연구가 꾸준히 진행되고 있으며, 전통육종가를 대상으로 한 분자육종 워크샵 등을 통해 분자표지개발 과정과 활용에 대한 이해도를 고취하기 위한 교육이 펼쳐지고 있다.
- 분자표지 개발에 광대한 유전체 정보를 활용해야 하는 시점에서 생물정보(Bioinformatics)분석 회사들도 크게 성장하고 있다.
- 분자마커이용선발(Marker-assisted selection, MAS)기술은 전통육종의 단점을 보완하고 우량개체선발 효율을 극대화시킴과 동시에 육종연한과 투자비용을 현저히 감소시키므로 종자산업계에서 우위 경쟁력 확보를 위해서는 필수적인 기술로 인식되고 있다.
- 병저항성 분자마커를 이용한 MAS를 통해 우수 내병성 품종의 신속한 개발이 가능한데, 현재 토마토 내병성 MAS를 위한 다수의 마커들이 이미 개발되어, 해외 MAS 육종 프로그램에 크게 활용되고 있지만, 아직 국내 대부분의 종자회사에서는 전문인력과 기술의 부족, 기반시설의 미비로 인해 그 활용도가 제한적이다. 따라서, 기존 개발된 마커를 통한 병저항성 유전자 집적 기술 체계화가 지원된다면 국내 토마토 품종 육종수준을 국제 수준으로 발전시킬 수 있는 시점이다.
- 분자마커의 활용에 있어 특정형질 마커를 이용한 MAS와 더불어 여교잡용 마커의 이용이 확대되고 있다. 우수 F1 품종개발을 위한 부모본 계통육성 및 새로운 병에 대한 저항성 인자와 같은 주요형질의 신속한 도입 등을 위해서는 여교잡육종이 필수적이다. 여교잡 마커를 이용하여 여교잡세대별 반복친 계놈(genome) 회복율이 높은 개체를 유묘기에 효율적으로 선발함으로써 세대단축(기존의 BC₄F₅ 세대에서 BC₂F₂ 세대로) 뿐 아니라 노동력, 공간 등을 크게 절감할 수 있다.
- 이러한 마커이용여교잡(MAB)은 1)기존 확보된 내병성 마커를 통한 공여유전자 선발(foreground selection), 2)저항성 유전자 주위의 flanking marker를 통한 재조합개체 선발(recombinant selection, linkage-break selection), 3) 반복친 계놈에 고르게 분포된 마커를 통한 반복친 염색체 선발(background selection)을 각 여교잡세대에서 순차적으로 진행함으로써 이루어진다.
- 형질연관 마커에 의한 공여 유전자의 선발(foreground selction)과 반복친 특이적 마커에 의한 계놈 선발을 유묘기에 동시에 대량 수행함으로써 여교잡육종 효율을 극대화 할 수 있다.

제 3 절 연구성과 목표 대비 실적

1. 토마토 품종 개발(제1세부)

대과토마토와 미니토마토 신품종을 육종 개발하여 품종보호출원 2품종, 품종보호등록 2품종,

품종생산판매신고 4품종을 개발하여 중국에 토마토 종자를 수출하는 것이 목표였다. 이에 성과로는 품종보호출원 대과토마토 3품종, 미니토마토 2품종을 하였으며, 이 중 대과토마토 1품종, 미니토마토 2품종은 품종보호등록을 완료하였으며, 또한 대과토마토 3품종, 미니토마토 3품종은 품종생산판매신고를 하였다. 연구기간 내에 토마토 종자 수출 12만불, 중국 현지 생산판매 20만불, 국내 판매 3억원을 달성하였다.

(제1세부과제성과)

구분	품종개발			특허		논문		분자마커	유전자원		국내매출액	종자수출액	기술이전	마케팅전략 수립 보고서	인력양성
	보호출원	보호등록	생판신고	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표	2	2	4												
연구기간내 달성실적	5	3	6						46		3억 원	32만불			1
달성율 (%)	250	150	150												

○ 품종보호

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 진부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다

구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록		기타
			출원인	육성자	출원일	출원번호	등록일	등록번호	
①	토스트	한국	김명권	김명권	2012.6.1	2012-380	2014.12.24	제5219호	레드 대과
②	TY미라클	한국	정경애	김명권	2011.3.17	2011-250	2014.2.20	제4806호	미니
③	툼체리	한국	김명권	김명권	2013.2.1	2013-85	2015.2.2	제5271호	미니
④	TY포르테	한국	정경애	김명권	2013.4.18	2013-286			핑크 대과
⑤	TY마라톤	한국	정경애	김명권	2014.2.26	2014-155			핑크 대과

○ 품종생산판매신고 및 품종명칭등록

구분	품종명	국명	신고인	육성자	신고일	신고번호	품종명 등록번호	기타
①	TY크라운	한국	정경애	김명권	2013.3.6	02-0005-2013-20	2013-490	미니
②	다니엘TY	한국	김명권	김명권	2013.10.8	02-0005-2013-63	40-2013-001248	미니
③	브라보TY	한국	김명권	김명권	2014.8.14	02-0005-2014-94	40-2014-001152	미니
④	바하	한국	김명권	김명권	2014.12.22	02-0005-2014-131	40-2014-001738	대과
⑤	마라톤알파	한국	김명권	김명권	2015.2.27	02-0005-2015-24	40-2015-000490	대과
⑥	TY맛나	한국	김명권	김명권	2015.5.22	02-0005-2015-41	40-2015-000783	대과

2. 분자마커개발(제2세부)

○ 연구성과 목표

- 토마토 분자마커이용선발(MAS)을 통한 민간회사(주관기관)의 내병성 품종육성 지원
- 마커이용여교잡(marker-assisted backcross, MAB)육종을 위한 토마토 게놈 선발용 마커개발
- 토마토 병저항성 신규 분자마커 (청고병, 역병, 흰가루, 근부위조병 등) 2종 개발

○ 목표대비 실적

- 토마토 내병성 마커 14종을 이용하여 민간회사 MAS 총 19,000 점 지원
- 토마토 MAB용 SSR 마커와 SNP 마커 세트 개발
- 역병 저항성, 근부위조병 저항성, 과색 선발용 분자마커 3종 개발
- SCI 논문 4편 게재
- 특허 1편 출원

○ 목표대비 실적(제2세부과제)

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표			1		2	1	2							
연구기간내 달성실적			1		4		3							
달성율(%)			100		200		150							

○ 특허출원

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출 원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
①	특허출원	한국	박영훈 김빛샘	2015. 6.30	10-2015-0 092628				토마토 근부위 조병 저항성 유전자 선발용 분자마커

○ 논문발표

논문(국내외 전문학술지) 게재								
번호	논문명	학술지명	주저 자명	호	국명	발행 기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	
①	분자마커 여교잡 육종을 위한 토마토 유전자원 평가 및 SSR 마커 개발	원예과학기술 지	황지현 (교신저자: 박영훈)	30(5)	한국	Elsevier	SCI	
②	토마토 황화잎말림병(TYLCV) 저항성 품종선발 및 원예특성 분석	원예과학기술 지	김우일 (교신저자: 박영훈)	31(3)	한국	한국 원 예학회	SCI	
③	Development of the gene-based SCARs for the Ph-3 locus, which confers late blight resistance in tomato	Scientia Horticulturae	박영훈	164	네덜 란드	한국 원 예학회	SCI	
④	Single Nucleotide Polymorphisms linked to SIMYB12 Gene that Controls Fruit Peel Color in Domesticated Tomatoes (Solanum lycopersicumL.)	원예과학기술 지	김빛샘 (교신저자: 박영훈)	in press	한국	한국 원 예학회	SCI	

○ 분자마커 개발

MAB 용 분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도
①	SSR		국내외 14 계통간 MAB 최적화 마커 세트	2011 이후
②	SNP		국내외 48 계통간 MAB 최적화 마커 세트	2012 이후

MAS 용 분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도
①	SCAR	1	토마토 역병(Ph-3)	2013 이후
②	CAPS/HRM	2	토마토 근부위조병(Frl)	2014 이후
③	CAPS	1	레드/핑크계 과색	2015 이후

○ MAS 지원

시기	개체수	마커종류	검정샘플 수
1차년도	358	Ty-1 등 8개 마커타입	2864
2차년도	324	Ty-1 등 7개 마커타입	2268
3차년도	250	Ty-1 등 8개 마커타입	2000
4차년도	318	Ty-1 등 8개 마커타입	1438
5차년도	550	Ty-1 등 8개 마커타입	4400
총계	1800	14개 마커 타입	12,970

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 기술개발 현황

- 토마토의 국내 재배현황은 2013년도에 6,054ha에서 388,524톤 정도 생산했으며, 과채류 중에서 농가 소득, 농산물 공급, 국민건강 차원에서 그 중요성이 매우 크다고 할 수 있다.
- 국내토마토는 방울토마토와 대과토마토로 대별되며 방울토마토 45%, 대과토마토 55% 정도로 재배되고 있으며, 재배품종은 국내육성품종이 약 35%, 수입품종이 65% 정도로 외국품종의 비율이 아직도 높은 편이다.
- 국내의 토마토의 상업적 품종육성은 1990년대부터 시작해서 육종기술도 짧은 시간에 많이 발전하여 국내 육종가가 만든 품종의 비율이 점차 높아지고 있으며, 특히 방울토마토의 경우 국내육성 품종의 시장점유율이 급상승하고 있다.
- 한국생명공학연구원을 중심으로 2003년부터 시작된 국제가지과유전체 컨소시엄에 참가하여, 6년간 국제컨소시엄을 구성하였고, 토마토 유전체 분석(2번 염색체 담당)을 수행하여 우수한 성과를 거둬.
- 초고밀도 유전지도가 작성될 경우 현재 표준유전체에서 확보하지 못한 유전체의 조각들을 보완하여 보다 완성도 높은 표준유전체로 개선할 수 있음.
- 국내용/수출용 토마토 품종육성을 위한 MAS 지원을 가속화하기 위해서는 형질별 요구도, 기술도, 분자표지 개발용 유전자원 확보유무에 따라 우선순위 선정이 필요하고, 표지개발이 해외에서 보고가 되었으나, 국내 활용 가능성 검토가 필요한 표지와 신규로 개발이 필요한 표지에 대한 연구가 분리되어 진행되어야 함.
- 내병성 분자표지를 이용한 MAS를 통해 우수 내병성 품종의 신속한 개발이 가능한데, 현재 토마토 내병성 MAS를 위한 다수의 분자표지가 이미 개발되어 해외 MAS 육종 프로그램에 크게 활용되고 있지만, 아직 국내 대부분의 종자회사에서는 전문인력과 기술의 부족, 기반시설의 미비로 인해 그 활용도가 제한적임.

Table 2. The status of tomato molecular marker development and application in domestic

작물	식물병 / 특징		병원균	분자마커
토마토	바이러스	황화잎말림바이러스	<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	Ty1,Ty2,Ty3Ty5
		토마토모자이크바이러스	<i>Tomato mosaic virus</i>	Tm2a
		얼룩시들음병	<i>Tomato spotted wilt virus</i>	Sw5
	세균	세균성반점병	<i>Pseudomonas syringae</i>	Pto
		세균성점무늬병	<i>Xanthomonas campestris</i>	Bs4
	곰팡이	시들음병	<i>Fusarium oxysporum sp. Lycopersici</i>	I2,I3
		반신위조시들음병	<i>Verticillium dahliae</i>	Ve4
		근부위조병	<i>Fusarium radici</i>	For1
		잎곰팡이병	<i>Cladosporium fulvum</i>	Cf9

		역병	<i>Phytophthora infestans</i>	Ph3
	선충	뿌리혹선충	<i>Meloidogyne incognita.</i>	Mi1

제 2 절 국외 기술개발 현황

- 토마토는 세계적인 작물로 미국, 유럽, 일본 등 선진국에서는 오래전부터 토마토 품종개발을 해왔으며, 대표적으로 네덜란드, 이스라엘, 일본의 경우에는 대학, 연구소, 기업에서 토마토 종자산업에 적극적으로 투자해 전세계 토마토 종자시장을 지배하고 있다.
- 유럽, 미국의 회사들은 주로 레드(red) 토마토 품종을 육성해 왔으며, 핑크(pink)대과나 미니토마토 품종개발은 미진하며, 핑크(pink)대과토마토와 미니방울토마토 품종 육종기술은 한국과 일본이 앞서간다고 할 수 있다.
- 토마토는 시장 규모만큼이나 종자시장도 크며, 다른 채소작물에 비해 선도적인 육종기술이 개발되었고 유전자 지도도 가장 먼저 작성되어 토마토 유전체 해독이 완료되었고, 2012년 5월 Nature에 발표되어 유전체 정보가 공개되었다.
- 육종에 있어 분자표지의 중요성이 크게 부각되어 있으며, 다국적 종자회사들을 중심으로 자체 마커 개발기술과 High-throughput(HT)-MAS system 확립에 많은 투자를 하고 있으며, SolCAP (<http://solcap.msu.edu/>)은 가지과 작물 유전체를 실용화하기 위하여 토마토와 감자에 집중하여 SNP 등 육종에 필요한 마커 및 분석용 tool로 개발 중이다.
- 세계 종자시장의 다국적 기업은 자체 연구소를 가지고 있으며 학계와의 공동연구를 통하여 기업을 중심으로 전통 육종기술과 더불어 형질전환이나 분자마커를 이용한 육종(Marker-assisted breeding; MAB) 기술을 적극적으로 도입하여 신품종을 꾸준히 개발하고 있다.

Table 3. Molecular marker for tomato breeding in the worldwide

(*Ref. Majid R. Foolad, 2007, Genome Mapping and Molecular Breeding of Tomato, International Journal of Plant Genomics, p21-29)

Trait	Source species	Gene/QTL(Q)	Reference
Bacterial canker	<i>L .peruvianum</i>	3Q	Seed companies
	<i>L .hirsutum</i>	Rcm2.0,Rcm5.1 (Q)	[287]
Bacterial speck	<i>L .pimpinellifolium</i>	Pto	Seed companies,[447]
Bacterial spot	<i>L. esculentum</i>	Rx-3(Q)	[447]
Bacterial wilt	<i>L .esculentum</i>	2Q	Seed companies
Blackmold	<i>L. cheesmanii</i>	FewQ	[288]
Corky root rot	<i>L. peruvianum</i>	Py-1	Seed companies
Fusarium wilt	<i>L. pimpinellifolium</i>	I-2C,I-3	Seed companies, public breeders
Jointless	<i>L. cheesmanii</i>		Seed companies

Late blight	<i>L. pimpinellifolium</i>	Ph-3	Seed companies, public breeders
	<i>L. hirsutum</i>	4Q	[342]
Lycopene	<i>L. esculentum</i>	Ogc,cr	Seed companies
Powdery mildew	<i>L. chilense, L. hirsutum</i>	Lv,OI-1,OI-2	Seed companies
Ripening inhibitor	<i>L. cheesmanii</i>	rin	Seed companies
Root-knot nematode	<i>L. peruvianum</i>	Mi	Seed companies, public breeders
Self pruning	<i>L. esculentum</i>	sp	Seed companies, public breeders
Soluble solids	<i>Not known</i>	Q	Seed companies
Tomato spotted wild virus	<i>L. peruvianum</i>	Sw-5	Seed companies
Tomato yellow leaf curl virus	<i>Different species</i>	FewQ	Seed companies
Tobacco mosaic virus	<i>L. peruvianum</i>	Tm-2a	Seed companies
Verticillium wilt	<i>L. esculentum</i>	Ve	Seed companies, public breeders

- 토마토는 미국에서 1992년 야생종과 재배종 교배집단에 대한 RFLP 마커 기반 고밀도 유전자 지도가 작성된 후 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)에 기초한 다양한 분자마커들이 개발되었고 이와 더불어 선도적인 분자유종기술이 개발되어 왔음.
- 2009년 미시간 주립대, 오하이오 주립대, UC-Davis, 코넬대 등의 토마토와 감자 연구진들은 재배종간 다형성을 보여주는 분자표지를 대량 개발 및 효율적인 MAS 체계 확립을 목표로 하는 SolCAP 과제(4년간 \$3.75 M)를 미국 USDA NIFA로부터 수주하여 연구를 수행 중에 있음.
- 미국 SolCAP 토마토 연구팀은 재배품종을 대표하는 3개의 생식용 품종과 1개의 가공용 품종과 더불어 2개의 야생종을 선발, Next Generation Sequencing(NGS)의 RNA-Seq 기술을 이용하여 품종당 2.7~3.0 Gb(토마토 전체 지놈 크기 0.9 Gb의 3배 이상)의 발현유전자의 염기서열(transcriptome) 정보를 확보하였고 이를 생물정보학적 방법으로 분석하여 57,996개의 genome-wide SNP을 동정함.
- 이러한 SNP을 바탕으로 7,720개의 SNP을 동시에 분석할 수 있는 토마토 최초의 대량(high-throughput) 유전자형 분석 array를 Illumina®와 콘소시엄을 형성하여 개발 및 상업화하였으며 전 세계에서 수집된 500여종의 SolCAP 토마토 유전자원들의 유전자형 분석 및 DB를 구축하였음.
- 유전자지도 및 유전체 염기서열 정보를 바탕으로 주요 육종형질에 대한 MAS용 분자표지의 개발이 꾸준히 진행되어 보고되고 있으며, 특히 다양한 내병성 관련 분자표지가 발표되고 있음. 하지만, 다수 내병성에 대해서는 아직 국내 육종소재 개발에 있어 표지의 유용성이 검증되어야 함.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

<제1세부과제>

제 1 절 유전자원의 수집 및 특성 평가

본 과제의 목적에 맞는 토마토 유전자원을 수집평가하여 육종소재로 활용하고자 하였으며, 특히 저장성이 우수하고 과균일도가 높으며 황화위축바이러스, 선충, 근부위조병, 잎곰팡이병 등에 내병성이 있는 토마토 유전자원을 수집하는 데 중점을 두었으며, 중국, 일본, 유럽, 인도, 미국 등에서 다양한 경로로 토마토 유전자원을 수집하여 재배시험과 특성조사 평가를 한 후, 분리 선발하거나 재육성 재료로 활용하였다.

2010-2011년도에 중국, 이스라엘, 네덜란드 등지에서 토마토 유전자원 20점을 수집하여 특성검정을 하였으며, 金棚은 중국 하북성에서 유한생장형에 절간이 짧고 하단 착과성이 매우 우수하며 분홍색에 247g 정도의 대과로 수량성이 높은 계통이었으며, 寶冠은 유한생장형에 대과로 착과성이 우수하고 반신위조병 (Verticillium), 시들음병(Fusarium) 등에 내병성을 지니고 있다. 상해1호는 유한형으로 205g 정도에 분홍과로 경도가 매우 우수하여 저장성 재료로 사용하였으며, 상해 6호는 무한생장형에 타원형과로 토마토모자이크바이러스, 시들음병, 반신위조병 등에 내병성이 있었다. 북경3호는 잎곰팡이병 내병성 소재로, 북경6호는 경도가 우수한 소재, 북경13호는 orange color에 75g 정도의 중과종으로 타원형이며 TYLCV(황화위축바이러스) 내병성 소재로, 북경14호는 방울토마토로 brix 8.0에 고당도 소재로, 북경24호는 오렌지색 중과종으로, 북경25호는 유한형에 61g 정도의 타원형 소재로 수집하였다. 巨粉寶石1호는 고구형에 조숙성 소재로, 巨粉寶石2호는 250g에 대과로 단단하여 저장성, 수송성이 우수한 육종소재로, 巨紅寶石1호는 red 대과로 토마토모자이크바이러스, 선충, 반신위조병 내병성을 지니며, 巨紅寶石2호는 red 252g 정도의 대과에 단단한 소재로 수집하여 재배시험 평가하여 분리육성 혹은 재육성 소재로 활용하였다. 또한 남방1호는 bush type의 유한형에 타원형으로 청고병(bacterial wilt) 내병계로, 남방2호는 장타원형에 착과성이 좋고 단단하며 청고병 내병계로, 拉比는 red color로 무한생장형에 204g 정도로 황화바이러스(TYLCV) 내병계로 중국에서 수집하여 평가하고 개체선발을 하였다. Harvest는 이스라엘에서 수집된 유전자원으로 red color이며 매우 단단하고 착과성이 좋으며 선충, 시들음병, 반신위조병 등에 내병성 계통으로, Campari는 35g 정도의 과크기로 8-10과가 한화방에 착과되어 송이형 소재로, Defnis는 red color에 TYLCV 내병성이면서 착과비대가 매우 균일하고 저장성이 뛰어난 소재로 수집하여 분리 선발하였다 (Table 4).

Table 4. Tomato genetic resources collected and evaluated during 2010-2011 years

유전자원명	수집처	초형	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	수집목적
金棚	중국	유한	고구	247	pink	1.4	5.2	Tm.F	대과, 조숙성
寶冠	중국	무한	고구	240	pink	1.6	5.4	Tm.Ve	대과, 착과성
상해1호	중국	유한	고구	205	pink	1.8	5.0	F.Ve	저장성
상해6호	중국	무한	타원	178	red	1.8	4.8	Tm.F.Ve	착과균일도
북경3호	중국	무한	고구	232	pink	1.2	5.5	Cf.Ve	앞곰팡이내 병성
북경6호	중국	무한	타원	183	pink	1.5	5.5	Tm.Ve	경도, 저장성
북경13호	중국	무한	장타원	75	orange	1.0	5.7	Tm.Ve.Ty	오렌지색, TY내병성
북경14호	중국	무한	원형	22	red	1.0	8.0	Tm.Ve	미니.고당도
북경24호	중국	유한	타원	109	orange	1.2	5.6	Tm.F.Ve	오렌지색
북경25호	중국	유한	타원	61	orange	1.2	5.8	Tm.F.Ve.Cf	앞곰팡이내 병성
巨粉寶石1호	중국	무한	고구	236	pink	1.5	5.6	Tm.N.F	조숙성
巨粉寶石2호	중국	무한	고구	250	pink	1.6	5.2	F.Ve.Cf	대과, 저장성
巨紅寶石1호	중국	무한	고구	247	red	1.8	5.0	Tm.N.Ve	대과, 저장성
巨紅寶石2호	중국	무한	고구	252	red	2.0	4.8	Tm.F.Ve.Cf	대과, 저장성
남방1호	중국	유한	타원	78	red	1.8	4.5	Bw.Ty	청고병.TY내 병성
남방2호	중국	유한	타원	82	red	1.6	4.5	Bw.Ty	청고병.TY내 병성
拉比	중국	무한	고구	204	pink	2.2	5.2	Tm.F.N.Ty	저장성, TY내병성
Harvest	이스라엘	무한	고구	182	red	2.2	5.3	Tm.F.N.Ve	착과균일도, 저장성
Campari	네덜란드	무한	원형	35	red	1.5	8.2	Tm.F.Cf	송이형
Defunis	국내	무한	편구	189	red	2.0	4.7	Tm.F.N.Cf.Ty	저장성, TY내병성
계	20점								

* 내병성, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium, Cf: cladosporium,
Ty: TYLCV, Ve: verticillium, Bw: Bacterial wilt

2012년부터 2013까지 중국, 베트남 등지에서 새로운 유전자원 11점을 수집 평가하여 분리육성 및 재 조합 육성 소재로 활용하였다. Tiffany는 핑크토마토로 208g 정도에, 단단하며 TYLCV(황화바이러스), 앞곰팡이병(Cf) 내병계로 수집하였으며, 德澳特302는 중국 산둥성 수광지역의 red토마토로 착과비

대성과 과균일도가 우수한 TYLCV 내병계로 수집하였으며, 북경8호는 유한형 고구형으로 점무늬병(LS) 내병계로, 심양1호는 196g 정도에 pink color로 저장성이 우수해서, Mamirio는 초세가 강하고 어깨색이 매우 진하며 열과에 강한 계통으로 육성하고자 수집하였으며, Anna는 83g 정도에 장타원형에 소재로 red color에 역병(Phytophthora)에 내병성을 지니고 있다. 齊達利는 중국 산둥 수광의 하우스재배에 많이 재배되고 있는 red 대과로 분리육성소재로, 齊選棚은 round형에 착색이 진하고 185g 정도에 매우 단단한 계통으로 육성하고자 하였으며, 華蓮은 미니토마토로 25g 정도에 타원형이며 유한형에 수량성이 높은 계통으로 대만에서 수집하였으며, 북경20호, 북경21호는 yellow color 미니토마토로 당도 brix 9-10으로 높고 맛이 좋은 소재로 수집하여 분리선발 및 recombination line 육성에 사용하였다(Table 5).

Table 5. Tomato genetic resources collected and evaluated during 2012~2013 years

유전자원명	수집처	초형	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	수집목적
Tiffany	중국	무한	편구	208	pink	2.5	5.0	Ty.Tm.F.Cf	ty pink
德澳特302	중국	무한	편구	215	pink	2.5	5.3	Ty.Tm.F.Ve	pink 저장성
북경8호	중국	유한	고구	193	pink	2.4	5.1	Tm.F.Ve.LS	저장성
심양1호	중국	무한	고구	196	pink	2.4	4.8	Tm.F.Ve.LS	저장성
Mamirio	국내	무한	편구	209	pink	2.2	5.3	Ty.Tm.F.Ve	ty pink
Anna	베트남	무한	타원	83	red	2.2	4.5	Tm.F.N.Ph	경도, 중과
齊達利	중국	무한	고구	188	red	2.3	4.8	Ty.Tm.N.Ve	ty red
齊選棚	중국	무한	편구	185	red	2.3	4.6	Ty.Tm.N.Ve	ty red
華蓮	대만	유한	타원	25	red	1.8	7.8	Tm.F.Ve.Cf	열과저항성
북경20호	중국	무한	타원	17	yellow	1.2	9.2	Tm.F.Ve	고당도 미니
북경21호	중국	유한	타원	15	yellow	1.2	9.2	Tm.F.Ve	고당도 미니
계	11점								

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, F: fusarium, Ve: verticillium, N: nematode
Cf: cladosporium, LS: leaf spot, Ph: phytophthora

2013년부터 2014년까지 중국, 스페인, 미국, 인도 등에서 토마토 유전자원 15점을 수집하여 특성평가하고 분리육성 및 소재로 활용하였다. 瑞星5호는 pink계로 과가 매우 균일하고 단단하며 황화바이러스 내병계로 수집하였으며, 中川盾, 蔓多拉는 저장성 소재로, 東方美는 점무늬병(leaf spot, stemphyllium) 내병 소재로, 奧美拉는 red color에 과형이 uniform하며, 鴻圖는 과가 매우 단단하며, 東方美는 TYLCV내병 레드계이며, Tyrade는 근부위조병(Fusarium radices) 내병계이며, 苗德利, BA333, BA424, NMT 등은 청고병(bacterial wilt) 내병계로 수집하였으며, 그 외 흑색, 자주색, 얼룩무늬 토마토 소재도 수집하여 평가하고 육종소재로 활용하였다 (Table 6).

Table 6. Tomato genetic resources collected and evaluated during 2013~2014 years

유전자원명	수집처	초형	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	수집목적
瑞星5호	중국	무한	고구	184	pink	2.2	5.0	Ty.Tm.F.Ve.LS	uniform fruit
中川盾	중국	무한	고구	206	pink	2.4	5.2	Tm.F.Ve.LS	storability
蔓多拉	중국	무한	고구	178	pink	2.4	5.1	Tm.F.Ve.LS	storability
東方美	중국	무한	고구	209	pink	2.0	5.5	Ty.Tm.N.Ve.LS	Ty.LS
奧美拉	중국	무한	고구	185	red	2.5	4.6	Ty.Tm.F.Ve	uniform fruit
鴻圖	중국	무한	고구	207	red	2.5	4.6	Tm.F.Ve	firm
芭德利	중국	유한	고구	236	red	2.2	4.5	Tm.F.N.Bw	bacterial wilt 내병계
東方美	중국	무한	고구	203	red	2.3	4.8	Ty.Tm.N.Ve	ty red
Tyrade	스페인	무한	편구	230	pink	1.8	5.6	Ty.Tm.N.Ve.Fr	Fr내병계
흑방울	중국	무한	타원	25	brown	1.2	7.8	Tm.F.N	brown color
얼룩방울	중국	무한	타원	20	red+green	1.5	8.2	Tm.F.Ve	stripe color
Purple	중국	무한	원형	32	purple	1.5	6.7	Tm.F.Ve	purple color
BA333	미국	유한	타원	63	red	1.8	4.5	Tm.F.Ve.Bw	Bacterial wilt-R
BA424	미국	유한	타원	63	red	1.8	4.5	Ty.Tm.F.Ve.Bw	Ty,Bw-R
NMT	인도	유한	타원	80	red	2.0	4.3	Tm.F.N.Bw	Bw-R
계	15점								

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, F: fusarium, Ve: verticillium, N: nematode
Cf: cladosporium, LS: leaf spot, Bw: bacterial wilt, Fr: fusarium radicis

제 2 절 우량 양친 계통육성

1. 연구방법

보유 육성중인 대과종 800여 계통, 미니종 700여 계통들에 대한 재배시험으로 유묘기부터 종과수확시기까지 모든 형질을 조사 평가한 후 양친(parent line)으로 쓸 수 있는지를 반복선발해서 세대진전과 유전적 순화, 고정화를 시켰나갔다.

- 처리 : 40구 트레이에 과종하여 40-50일 육묘하여 2중 비닐하우스에 정식
- 시험방법 : 주지1본 재배, 줄유인, 개화후 selfing을 시켰으며 7단까지 착과시킴

- 조사내용

- ▷ 초형: 무한생장형(indeterminate type), 유한생장형(determinate type)
- ▷ 숙기: 제1화방의 개화시기와 착색이 빠르고 늦음에 따라 조.중조.중,중만,만으로 구분
- ▷ 과형: 편구형(약간 납작한 형태), 고구형(과고가 높은 형태), 원형, 타원형, 장타원형
- ▷ 과중: 5과의 평균과중
- ▷ 과색: 착색시의 색상에 따라 분홍색(pink), 홍색(red), yellow(노란색), orange(주황색), 갈색(brown)으로 나눔, rin은 착색이 되지 않는 rin gene
- ▷ 어깨색: 착색이 되기 전 과일의 어깨부분의 base green의 정도에 따라 LG(light green), G(green), DG(dark green), NG(no green)
- ▷ 경도: 성숙시 단단한 정도를 경도계로 측정함, 과일의 경도는 저장성, 수송성과 연관이 있음
- ▷ 당도: Brix 당도계로 측정하였으며, 식미와 연관이 있음
- ▷ 내병성: TYLCV(tomato yellow leaf curl virus 황화잎말림바이러스), Tm(tomato mosaic virus 토마토모자이크바이러스), N(nematode 선충), F(fusarium 시들음병), Fr(fusarium radicis 근부위조병), Ve(verticillium 반신위조병), Cf(cladosporium fuvum 잎곰팡이병), Ph(phytophthora 역병) 등은 분자마커로 검정하였고, LS(leaf spot 점무늬병)은 포장검정을 하였고, Bw(bacterial wilt)는 접종외실험을 하였다.
- ▷ 기타 : 초세, 절간, 엽형, 엽색, 화방발달, 열과성, 착색 등도 달관조사하였다.



Figure 2. Process of tomato inbred line developing

2. 연구결과

가. 제1차년도 대과토마토 우량계통 육성 선발

A Line(모계육성)으로 단간에 착과성이 좋고 저장성, 과균일도가 좋고, 선충, 잎곰팡이 등에 내병성이 있는 67계통을 육성하였으며, F4세대 8개체, F5세대 20개체, F6세대 12개체, F7 세대 13개체, 고정계통 7계통을 선발하였으며, 고정된 계통들은 조합작성에 사용함 (Table 7, Figure 3).

Table 7. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in big tomato at 1st study year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
10L1001	F4	무한	조	고구	156	pink	1.8	6.0	Tm.F.Ve	8
10L1002	F5	무한	중조	편구	210	pink	1.2	6.0	Tm.F.Ty.Ve	6
10L1003	F5	유한	조	편구	209	pink	1.2	6.0	Tm.F.Ty.Ve	7
10L1004	F5	무한	중	고구	178	pink	2.0	6.2	Tm.N.F.Ty..Ve	7
10L1005	F6	무한	중	고구	202	red	2.0	4.8	Tm.N.F	6
10L1006	F6	무한	조	편구	221	pink	1.5	6.0	F.Ve	6
10L1007	F7	무한	중	편구	225	pink	1.3	5.8	Tm.N.F.Cf.Ve	4
10L1008	F7	무한	중	편구	212	pink	1.3	5.6	Tm.N.F.Cf.Ve	5
10L1009	F7	무한	중	편구	218	red	1.0	5.2	Tm.N.F.Cf.Ve	4
10L1010	Fn	유한	조	고구	220	pink	1.2	5.6	Ve	1
10L1011	Fn	무한	중	고구	178	pink	1.0	5.5	Ve	1
10L1012	Fn	유한	중조	고구	208	pink	1.4	5.6	F.Ve	2
10L1013	Fn	무한	중조	고구	231	pink	1.6	5.6	Ve.Cf	1
10L1014	Fn	무한	중	고구	138	pink	1.8	5.4	F.Ve	1
10L1015	Fn	무한	중	고구	156	pink	1.0	5.5	Tm.F.Cf	2
계										67

* 내병성, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium, Cf: cladosporium,
Ty: TYLCV, Ve: verticillium

B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성, 수송성이 우수하며, 위조병, TYLCV 등에 내병성이 있는 F5세대 10개체, F6세대 18개체, F7세대 9개체, F8세대 2개체, 고정계통 5계통을 육성 선발하였으며, 고정된 계통들은 조합작성에 사용함 (Table 8, Figure 3)

Table 8 . Major characteristics of male inbred lines bred and selected in big tomato at 1st study year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
10L2001	F5	무한	중	편구	223	pink	2.2	5.8	Tm.N.F.Cf.Ve	5
10L2002	F5	무한	중	편구	215	pink	2.2	5.6	Tm.N.F.Cf.Ve	5
10L2003	F6	무한	중조	고구	203	pink	1.0	6.2	Tm.N.F.Ty	4
10L2004	F6	무한	조	편구	200	pink	1.2	6.0	F.Ty	4
10L2005	F6	무한	조	편구	166	pink	1.2	6.4	Tm.F.Ty	5
10L2006	F6	무한	조	고구	181	pink	1.5	6.3	Tm.N.F.Ty	5
10L2007	F7	무한	중조	고구	159	pink	1.0	6.3	Tm.N.Ty.Ve	4
10L2008	F7	무한	조	편구	210	pink	1.3	6.4	Tm.N.F	3
10L2009	F7	무한	중조	고구	183	pink	1.3	6.2	Tm.N.F.Ty	2
10L2010	F8	무한	조	편구	159	pink	1.7	6.4	Tm.F.Ty	2
10L2011	Fn	무한	중만	타원	182	rin	1.6	4.7	Tm	1
10L2012	Fn	무한	중조	편구	207	pink	1.2	6.0	F.Cf	2
10L2013	Fn	무한	중	고구	176	pink	2.0	5.5	F.Ve	1
계										43

* 내병성, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium, Cf: cladosporium, Ty: TYLCV, Ve: verticillium

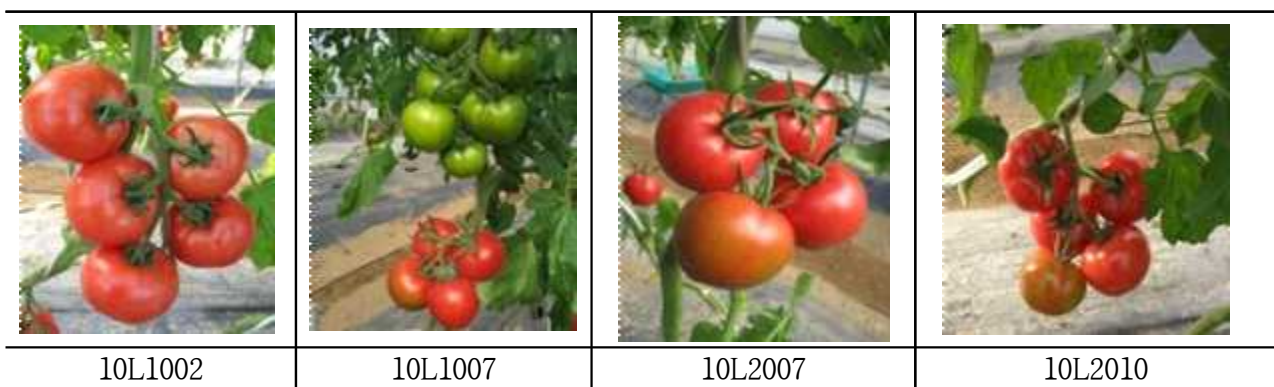


Figure 3. Pictures of big tomato inbred lines bred and selected at 1st study year

나. 제1차년도 미니토마토 우량계통 육성 선발

- A Line으로 화방의 발달이 매우 균일하고 색상이 선명하며 열과저항성이 있으며, 잎곰팡이 등 내병성이 우수한 77계통을 선발하였으며, F3 27개체, F5 8개체, F6 12개체, F7 14개체, F8 6개체, 고정계통 10계통을 육성하였으며, 고정계통들은 F₁ 조합작성에 사용하였다. (Table 9, Figure 4).

Table 9. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in mini tomato at 1st year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
10C3001	F3	무한	중조	타원	22	pink	1.8	8.7	Tm.F.Cf	12
10C3002	F3	무한	중조	원형	17	pink	1.6	8.9	Tm.F.Cf	15
10C3003	F5	무한	중조	원형	23	red	2.0	8.2	Tm.N.F.Cf.Ty	8
10C3004	F6	무한	조	타원	25	red	1.7	8.4	Tm.N.F.Ve	6
10C3005	F6	무한	조	타원	23	red	1.3	8.5	Tm.N.F.Ve	6
10C3006	F7	무한	중	원형	25	red	1.5	8.0	Tm.N.F.Cf	5
10C3007	F7	무한	조	원형	15	red	1.7	8.2	Tm.N.F.Cf.Ty	2
10C3008	F7	유한	조	원형	15	red	1.7	8.2	Tm.N.F.Cf.Ty	3
10C3009	F7	무한	조	원형	18	red	1.0	8.7	Tm.N.F.Ty	2
10C3010	F7	무한	조	원형	13	pink	1.0	9.0	Tm.F.Cf.Ty	2
10C3011	F8	무한	조	타원	17	red	1.5	9.3	Tm.F	2
10C3012	F8	무한	조	원형	17	red	1.2	9.2	Tm.F.Ty	2
10C3013	F8	무한	조	원형	17	red	1.2	9.2	Tm.F.Ty	2
10C3014	Fn	무한	중	원형	23	red	1.7	8.2	Tm.N.F.Cf	2
10C3015	Fn	무한	중	원형	20	red	1.5	8.3	Tm.F.Cf	2
10C3016	Fn	무한	중	원형	26	pink	1.2	8.7	Tm.F.Cf	1
10C3017	Fn	무한	중조	원형	28	red	1.6	8.5	Tm.N.F.Cf	1
10C3018	Fn	무한	조	타원	22	red	1.8	9.1	Tm.F.Ve	2
10C3019	Fn	무한	조	타원	22	red	1.8	9.0	Tm.F.Ve	2
계										77

* 내병성, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium, Cf: cladosporium,
Ty: TYLCV, Ve: verticillium

- B line으로 초세가 강하고 당도가 높으며, TYLCV 내병성 등에 내병성이 있는 57계통을 선발하여, F3 27개체, F4 9개체, F5 3개체, F7 4개체, F8 8개체, 고정계통 6계통을 육성선발하였으며 고정계통들은 조합작성에 활용함 (Table 10, Figure 4).

Table 10. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in mini tomato at 1st year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
10C4001	F3	유한	중조	타원	25	red	1.8	8.7	F	2
10C4002	F3	무한	중조	타원	23	orange	1.4	9.0	F	3
10C4003	F3	무한	중조	타원	20	orange	1.4	8.8	F.Ve	2
10C4004	F3	무한	조	타원	17	yellow	1.5	8.7	Tm.F.Cf	3
10C4005	F3	무한	중	원형	17	red	2.0	8.4	Tm.N.F.Cf	3
10C4006	F3	무한	중조	타원	21	red	1.8	8.9	Tm.F.Cf	3
10C4007	F3	무한	중조	타원	15	pink	1.8	9.2	N.F.Ty.Ve	3
10C4008	F3	무한	중만	타원	25	pink	1.7	8.7	F.Ve	3
10C4009	F3	무한	중	원형	15	red	1.7	8.5	Tm.N.F.Cf	3
10C4010	F3	무한	중만	원형	28	red	1.5	7.8	Tm.N.F.Ve	2
10C4011	F4	무한	중조	타원	15	yellow	1.5	8.7	F	6
10C4012	F4	무한	중조	타원	23	orange	1.5	8.9	F.Ve	3
10C4013	F5	무한	중	원형	27	pink	1.2	8.5	Tm.F	3
10C4014	F7	무한	중조	원형	12	orange	1.4	9.2	Tm.F.Ty	3
10C4015	F7	무한	중조	타원	20	pink	1.4	9.5	.F.Ve	1
10C4016	F8	무한	조	원형	17	red	1.5	8.9	Tm.F	2
10C4017	F8	무한	중	원형	17	red	1.8	8.5	Tm.N.F.Cf	2
10C4018	F8	무한	중만	타원	28	red	1.8	8.0	F.Ve	2
10C4019	F8	무한	조	원형	22	red	1.2	8.9	Tm.F.Ty	2
10C4020	Fn	무한	조	원형	16	red	1.5	9.2	Tm.N.F.Cf	2
10C4021	Fn	무한	조	원형	18	red	1.7	9.2	Tm.N.F.Cf	2
10C4022	Fn	무한	조	타원	15	pink	2.0	9.1	Tm.F	2
계										57

* 내병성, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium, Cf: cladosporium,
Ty: TYLCV, Ve: verticillium



Figure 4. Pictures of mini tomato inbred lines bred and selected at 1st study year

다. 제2차년도 대과토마토 우량계통 육성 선발

- A Line(모계육성)으로 절간이 짧고 착과비대성이 좋고 저장성, 과균일도가 우수하며, 선충(N).위조병(F).잎곰팡이(Cf) 등에 내병성이 있는 61계통을 선발 육성하였으며, F4 6개체, F5 6개체, F6 9개체, F7 15개체, F8 6개체, 고정계통 12계통 들을 선발 육성함 (Table 11).

Table 11. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in big tomato at 2nd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
11L1001	F4	무한	중조	고구	224	pink	1.6	6.0	F.Ve.LS	6
11L1002	F5	무한	조	고구	159	pink	1.8	6.0	Tm.F.Ve	6
11L1003	F6	무한	중	고구	178	pink	2.0	6.2	Ty.Tm.N.F.Ve	5
11L1004	F6	무한	중조	편구	210	pink	1.2	6.0	Ty.Tm.F.Ve.LS	4
11L1005	F6	유한	조	편구	205	pink	1.2	6.0	Ty.F.Ve.LS	5
11L1006	F7	유한	중조	고구	221	pink	2.0	5.4	Ve.N.F.LS	3
11L1007	F7	무한	조	편구	220	pink	1.3	6.0	F.Ve.LS	5
11L1008	F7	무한	중조	편구	234	red	1.7	5.1	Tm.N.F.Cf	3
11L1009	F7	무한	중	고구	208	red	2.3	4.8	Tm.N.F	4
11L1010	F8	무한	중	편구	210	red	1.5	5.2	Tm.N.F.Cf.Ve	2
11L1011	F8	무한	중	편구	225	pink	1.5	5.8	Tm.N.F.Cf.Ve	2
11L1012	F8	무한	중	편구	210	pink	1.5	5.6	Tm.N.F.Cf.Ve	2
11L1013	Fn	유한	조	고구	222	pink	1.0	5.6	Ve.LS	2
11L1014	Fn	무한	중	고구	176	pink	1.2	5.5	Ve.LS	2
11L1015	Fn	유한	중조	고구	206	pink	1.8	5.6	F.Ve.LS	2
11L1016	Fn	무한	중조	고구	230	pink	1.7	5.6	Ve.Cf.LS	2
11L1017	Fn	무한	중	고구	138	pink	2.0	5.4	F.Ve.LS	2
11L1018	Fn	무한	중만	타원	182	rin	1.8	4.7	Tm.LS	2
11L1019	Fn	무한	중	고구	155	pink	1.4	5.5	Tm.F.Cf	2
계										61

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

- B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성.수송성이 우수하며, 황화위축 바이러스(TYLCV).반신위조병(Ve).점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 67계통을 선발육성하였으며, F4 21개체, F5 10개체, F6 6개체, F7 18개체, F8 6개체, 고정계통 6계통을 육성선발하였다 (Table 12).

Table 12. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in big tomato at 2nd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
11L2001	F4	무한	조	고구	209	pink	1.8	5.2	F.Ve	6
11L2002	F4	무한	중	편구	127	red	2.3	5.0	Tm.N.F.Cf	5
11L2003	F4	유한	중조	고구	230	red	2.0	4.8	F.Ve	5
11L2004	F4	무한	중조	고구	188	pink	2.0	5.3	F.Ve	5
11L2005	F5	무한	조	고구	136	red	2.3	4.8	Tm.N.F	5
11L2006	F5	무한	중만	고구	130	red	2.4	4.7	Tm.N.F	5
11L2007	F6	무한	중	편구	220	pink	2.0	5.8	Tm.N.F.Cf.Ve	3
11L2008	F6	무한	중	편구	211	pink	2.0	5.6	Tm.N.F.Cf.Ve	3
11L2009	F7	무한	중조	고구	203	pink	1.6	6.2	Ty.Tm.N.F	3
11L2010	F7	무한	조	편구	167	pink	1.4	6.4	Ty.Tm.F.LS	3
11L2011	F7	무한	조	고구	188	pink	1.7	6.3	Ty.Tm.N.F.LS	3
11L2012	F7	무한	중	고구	180	pink	2.2	5.6	Ty.Tm.F	3
11L2013	F7	유한	조	편구	208	pink	1.5	6.0	Ty.Tm.F	3
11L2014	F7	무한	중	고구	175	pink	2.2	5.8	Ty.Tm.F	3
11L2015	F8	무한	조	편구	210	pink	1.7	6.4	Tm.N.F.LS	2
11L2016	F8	무한	중조	고구	159	pink	1.5	6.3	Ty.Tm.N.Ve	2
11L2017	F8	무한	중조	고구	182	pink	1.5	6.2	Ty.Tm.N.F	2
11L2018	Fn	무한	조	편구	158	pink	1.5	6.4	Ty.Tm.F	2
11L2019	Fn	무한	중조	편구	206	pink	1.8	6.0	F.Cf.LS	2
11L2020	Fn	무한	중	고구	178	pink	2.2	5.5	F.Ve	2
계										67

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

라. 제2차년도 미니토마토 우량계통 육성 선발

- A Line으로 화방의 발달이 매우 균일하고 색상이 선명하며 열과저항성이 있으며, ToMV. 위조병.잎곰팡이 등에 내병성이 있는 56계통을 선발하였으며, F4 13개체, F6 5개체, F7 8개체, F8 12개체, 고정계통 12계통을 육성 선발하였다 (Table 13)

Table 13. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in mini tomato at 2nd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 계통수/ 개체수
11C3001	F4	무한	중조	타원	22	pink	1.5	8.7	Tm.F.Cf	7
11C3002	F4	무한	중조	원형	17	pink	1.5	8.9	Tm.F.Cf	6
11C3003	F6	무한	중조	원형	23	red	2.0	8.2	Ty.Tm.N.F.Cf	5
11C3004	F7	무한	조	타원	25	red	1.8	8.4	Tm.N.F.Ve	4
11C3005	F7	무한	조	타원	23	red	1.5	8.5	Tm.N.F.Ve	4
11C3006	F8	무한	조	원형	15	red	1.8	8.2	Ty.Tm.N.F.Cf	2
11C3007	F8	유한	조	원형	15	red	1.8	8.2	Ty.Tm.N.F.Cf	2
11C3008	F8	무한	조	원형	18	red	1.6	8.7	Ty.Tm.N.F	2
11C3009	F8	무한	조	원형	13	pink	1.5	9.0	Ty.Tm.F.Cf	3
11C3010	F8	무한	중	원형	25	red	1.8	8.0	Tm.N.F.Cf	3
11C3011	F9	무한	조	원형	20	red	1.5	9.2	Ty.Tm.F	2
11C3012	F9	무한	조	원형	20	red	1.5	9.2	Ty.Tm.F	2
11C3013	Fn	무한	중	원형	20	red	1.8	8.3	Tm.F.Cf	2
11C3014	Fn	무한	중	원형	25	pink	1.4	8.7	Tm.F.Cf	2
11C3015	Fn	무한	조	타원	17	red	1.8	9.3	Tm.F.Ve	2
11C3016	Fn	무한	중	원형	23	red	1.9	8.2	Tm.N.F.Cf	2
11C3017	Fn	무한	중조	원형	25	red	1.7	8.5	Tm.N.F.Cf	2
11C3018	Fn	무한	조	타원	22	red	1.4	9.1	Tm.F	2
11C3019	Fn	무한	조	타원	20	red	2.0	9.0	Tm.F	2
계										56

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

- B Line으로 초세가 강하고 당도가 높으며, TYLCV.선충.반신위조병 등에 내병성이 있는 64계통을 선발하여, F4 29개체, F5 15개체, F6 2개체, F8 4개체, 고정계통 14계통을 육성선 발하여 고정계통은 조합작성에 사용하였다 (Table 14).

Table 14. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in mini tomato at 2nd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도* (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 계통수/ 개체수
11C4001	F4	무한	조	타원	25~30	pink	1.2	8.4	Tm.F.Cf	12
11C4002	F4	유한	중조	타원	25	red	1.2	8.7	F.Ve	2
11C4003	F4	무한	중조	타원	23	orange	1.6	9.0	F.Ve	3
11C4004	F4	무한	중조	타원	20	orange	1.5	8.8	F.Ve	2
11C4005	F4	무한	조	타원	17	yellow	1.8	8.7	Tm.F.Cf	2
11C4006	F4	무한	중만	타원	25	pink	1.8	8.7	F.Ve	3
11C4007	F4	무한	중	원형	15	red	1.8	8.5	Tm.N.F.Cf	3
11C4008	F4	무한	중만	원형	30	red	1.6	7.8	Tm.N.F.Ve	2
11C4009	F5	무한	중	원형	17	red	2.0	8.4	Tm.N.F.Cf	2
11C4010	F5	무한	중조	타원	21	red	1.7	8.9	Tm.N.F.Cf	3
11C4011	F5	무한	중조	타원	15	pink	2.0	9.2	Ty.N.F.Ve	3
11C4012	F5	무한	중조	타원	15	yellow	1.5	8.7	F	4
11C4013	F5	무한	중조	타원	20	orange	1.5	8.9	F.Ve	3
11C4014	F6	무한	중	원형	27	pink	1.0	8.5	Tm.F	2
11C4015	F8	무한	중조	원형	12	orange	1.2	9.2	Ty.Tm.F.Ve	2
11C4016	F8	무한	중조	타원	20	pink	1.2	9.5	Ty.Tm.F.Ve	2
11C4017	Fn	무한	중만	타원	28	red	1.8	8.0	F.Ve	2
11C4018	Fn	무한	조	원형	20	red	1.3	8.9	Ty.Tm.F	2
11C4019	Fn	무한	조	원형	17	red	1.3	8.9	Tm.F	2
11C4020	Fn	무한	중	원형	17	red	1.6	8.5	Tm.N.F.Cf	2
11C4021	Fn	무한	조	원형	16	red	1.6	9.2	Tm.N.F.Ve.Cf	2
11C4022	Fn	무한	조	원형	18	red	1.5	9.2	Tm.N.F.Ve.Cf	2
11C4023	Fn	무한	조	타원	15	pink	2.0	9.1	Tm.F	2
계										64

* 경도, MF: medium firm, F: firm, FF: very firm

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

마. 제3차년도 대과토마토 우량계통 육성 선발

- 세대가 진전되면서 유전적 순화 및 고정화가 되었고 원예형질도 upgrade된 개체와 계통이 선발됨.
- A Line(모계육성)으로 절간이 짧고 착과비대성이 좋고 저장성, 과균일도가 우수하며, 선충(N).위조병(F).잎곰팡이(Cf) 등에 내병성이 있는 74계통을 육성 선발하였으며, F5 4개체, F6 16개체, F7 6개체, F8 6개체, 고정계통 28계통을 육성 선발하였다, 고정계통들은 F₁ 조합 작성에 사용함 (Table 15).

Table 15. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in big tomato at 3rd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 계통수/ 개체수
12L1001	F5	무한	중조	고구	217	pink	LG	1.7	6.0	F.Ve.LS	4
12L1002	F6	무한	조	고구	158	pink	G	1.8	6.0	Tm.F.Ve	4
12L1003	F6	무한	조	고구	182	pink	NG	1.4	6.3	Ty.Tm.N.F.Ve.LS	4
12L1004	F6	무한	중	고구	165	red	NG	2.4	4.8	Ty.Tm.F	4
12L1005	F6	무한	중만	고구	168	red	LG	2.4	4.8	Ty.Tm.N.F	4
12L1006	F8	무한	중	고구	153	rin	LG	2.5	5.2	Tm.F.Ve	3
12L1007	F7	무한	중	고구	186	pink	DG	2.0	6.2	Ty.Tm.N.F.Ve	3
12L1008	F7	무한	중	고구	223	pink	G	2.2	6.3	Tm.N.F.Fr	3
12L1009	F8	무한	중조	편구	214	pink	G	1.6	6.0	Ty.Tm.F.Ve.LS	2
12L1010	Fn	유한	중조	고구	220	pink	NG	2.2	5.4	Ve.N.F.LS	3
12L1011	F8	무한	조	편구	218	pink	LG	1.6	6.0	F.Ve.LS	3
12L1012	F7	무한	중	고구	196	pink	NG	1.8	5.0	Tm.F.LS	3
12L1013	F8	무한	중조	편구	233	red	NG	2.0	5.1	Tm.N.F.Cf	3
12L1014	F8	무한	중	고구	207	red	NG	2.4	4.8	Tm.N.F	3
12L1015	Fn	무한	중	편구	210	red	NG	1.9	5.2	Tm.N.F.Cf.Ve	2
12L1016	Fn	무한	중	편구	226	pink	G	1.6	5.8	Tm.N.F.Cf.Ve	2
12L1017	Fn	무한	중	편구	211	pink	G	1.6	5.6	Tm.N.F.Cf.Ve	2
12L1018	Fn	무한	조	편구	167	pink	G	1.5	6.2	Tm.N.F.Ve.LS	2
12L1019	Fn	무한	중	고구	169	pink	NG	1.5	5.3	Tm.F.Ve	2
12L1020	Fn	유한	조	고구	220	pink	NG	1.8	5.6	Ve.LS	2
12L1021	Fn	무한	중	고구	178	pink	NG	1.8	5.5	Ve.LS	2
12L1022	Fn	유한	중조	고구	208	pink	NG	2.0	5.6	F.Ve.LS	2
12L1023	Fn	무한	중	편구	182	pink	NG	2.0	5.3	Tm.F.Ve.LS	2
12L1024	Fn	유한	중	고구	230	pink	NG	2.1	5.3	F.Ve.LS	2
12L1025	Fn	무한	중조	고구	231	pink	LG	1.8	5.6	Ve.Cf.LS	2
12L1026	Fn	무한	중	고구	139	pink	NG	2.2	5.4	F.Ve.LS	2
12L1027	Fn	무한	중만	타원	188	rin	LG	1.8	4.7	Tm.LS	2
12L1028	Fn	무한	중	고구	156	pink	LG	1.8	5.5	Tm.F.Cf	2
계											74

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, F: fusarium, Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot, Fr: fusarium radices

- B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성.수송성이 우수하며, 황화 잎말림바이러스(TYLCV).반신위조병(Ve).점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 75계통을 육성 선발하였으며 고정계통들은 F₁ 조합작성에 사용함 (Table 16).

Table 16. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in big tomato at 3rd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨* 색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 개체수/ 계통수
12L2001	F5	무한	조	고구	201	pink	NG	1.7	5.2	F.Ve	4
12L2002	F5	무한	중	편구	128	red	NG	2.2	5.0	Tm.N.F.Cf	3
12L2003	F5	유한	중조	고구	236	red	NG	2.0	4.8	F.Ve	3
12L2004	F5	무한	중조	고구	188	pink	LG	1.7	5.3	F.Ve	3
12L2005	F6	유한	조	고구	137	pink	NG	2.3	5.7	Ty.F	4
12L2006	F6	무한	중조	고구	215	pink	G	1.5	6.5	Ty.Tm.N.F.LS	4
12L2007	F6	무한	중만	고구	156	red	NG	2.2	5.5	Tm.F.N	2
12L2008	F6	무한	중	고구	158	red	NG	2.2	4.8	Ty.Tm.N	2
12L2009	F6	무한	조	고구	136	red	NG	2.4	4.8	Tm.N.F	4
12L2010	F6	무한	중만	고구	139	red	NG	2.4	4.7	Tm.N.F	4
12L2011	F7	무한	중	편구	221	pink	DG	2.4	5.8	Tm.N.F.Cf.Ve	3
12L2012	F7	무한	중	편구	213	pink	DG	2.2	5.6	Tm.N.F.Cf.Ve	3
12L2013	F7	무한	중	편구	228	pink	LG	2.0	6.0	Tm.F.N.Ve.LS	2
12L2014	F7	무한	중	고구	169	pink	DG	2.4	6.0	Tm.F.Ve	3
12L2015	F8	무한	중조	고구	205	pink	G	1.6	6.2	Ty.Tm.N.F	2
12L2016	F8	무한	조	편구	168	pink	G	1.4	6.4	Ty.Tm.F.LS	2
12L2017	F8	무한	조	고구	180	pink	LG	1.7	6.3	Ty.Tm.N.F.LS	2
12L2018	Fn	무한	중	고구	182	pink	G	2.2	5.6	Ty.Tm.F	2
12L2019	F8	유한	조	편구	205	pink	G	1.6	6.0	Ty.Tm.F	2
12L2020	Fn	무한	중	고구	178	pink	DG	2.0	5.8	Ty.Tm.F	2
12L2021	Fn	무한	조	편구	211	pink	G	1.8	6.4	Tm.N.F.LS	2
12L2022	Fn	무한	중조	고구	159	pink	DG	1.5	6.3	Ty.Tm.N.Ve	2
12L2023	Fn	무한	중조	고구	183	pink	G	1.5	6.2	Ty.Tm.N.F	2
12L2024	Fn	무한	중만	고구	176	rin	NG	2.0	4.8	N.F.Ve	2
12L2025	Fn	유한	중조	편구	186	pink	NG	1.7	5.4	Tm.N.LS	2
12L2026	Fn	무한	중	편구	212	pink	NG	1.7	5.6	Tm.F.N.Cf.LS	2
12L2027	Fn	무한	조	편구	158	pink	LG	1.4	6.4	Ty.Tm.F	2
12L2028	Fn	무한	중조	편구	208	pink	LG	1.4	6.0	F.Cf.LS	2
12L2029	Fn	무한	중	고구	170	pink	NG	2.3	5.5	Tm.F.Ve	2
12L2030	Fn	무한	중	고구	159	pink	NG	2.3	5.5	Tm.F.Ve	1
계											75

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

바. 제3차년도 미니토마토 우량계통 육성 선발

- A Line(모계육성)으로 화방의 발달이 매우 균일하고 색상이 선명하며 열과저항성이 있으며, ToMV.위조병.잎곰팡이 등에 내병성이 있는 53계통을 선발 육성하였으며 고정된 28계통을 순도확이하여 F1 조합작성에 사용함 (표 3).
- B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 당도가 높으며, 황화잎말림바이러스(TYLCV).반신 위조병(Ve).점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 78계통을 육성 선발하였으며 고정계통들은 F1 조합작성에 사용함 (Table 17).

Table 17. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in mini tomato at 3rd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 개체수/ 계통수
12C3001	F4	무한	중조	원형	17	red	G	1.5	8.5	Tm.N.F	4
12C3002	F5	무한	중조	타원	22	pink	G	1.5	8.7	Tm.F.Cf	4
12C3003	F5	무한	중조	원형	17	pink	LG	1.7	8.9	Tm.F.Cf	4
12C3004	F6	무한	조	타원	20	red	LG	1.8	8.5	Tm.N.F.Cf	4
12C3005	F7	무한	중조	원형	23	red	NG	2.0	8.2	Ty.Tm.N.F.Cf	3
12C3006	F8	무한	조	타원	15	red	LG	1.8	8.5	Tm.F.Ve	2
12C3007	F8	무한	조	타원	25	red	LG	1.8	8.4	Tm.N.F	2
12C3008	F8	무한	조	타원	23	red	NG	1.5	8.5	Tm.N.F.Ve	2
12C3009	Fn	무한	조	원형	15	red	NG	1.7	8.2	Ty.Tm.N.F.Cf	2
12C3010	Fn	유한	조	원형	15	red	NG	1.7	8.2	Ty.Tm.N.F.Cf	2
12C3011	Fn	무한	조	원형	18	red	LG	1.4	8.7	Ty.Tm.N.F	2
12C3012	Fn	무한	조	원형	13	pink	G	1.4	9.0	Ty.Tm.F.Cf	2
12C3013	Fn	무한	중	원형	25	red	NG	1.8	8.0	Tm.N.F.Cf	2
12C3014	Fn	무한	조	원형	20	red	G	1.2	9.2	Ty.Tm.F.Ve	2
12C3015	Fn	무한	조	원형	20	red	G	1.2	9.2	Ty.Tm.F.Ve	2
12C3016	Fn	무한	중	원형	20	red	LG	1.6	8.3	Tm.F.Cf	2
12C3017	Fn	무한	중	원형	25	pink	G	1.0	8.7	Tm.F.Cf	2
12C3018	Fn	무한	조	타원	17	red	LG	1.7	9.3	Tm.F.Ve	2
12C3019	Fn	무한	중	원형	23	red	NG	2.0	8.2	Tm.N.F.Cf	2
12C3020	Fn	무한	중조	원형	25	red	LG	2.2	8.5	Tm.N.F.Cf	2
12C3021	Fn	무한	조	타원	22	red	LG	1.7	9.1	Tm.F.Ve	2
12C3022	Fn	무한	조	타원	20	red	LG	2.0	9.0	Tm.F.Ve	2
계											53

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

- B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 당도가 높으며, 황화잎말림바이러스(TYLCV).반신
위조병(Ve).점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 78계통을 육성 선발하였으며, 고정된 14계통들
은 순도확인을 한후 F1 조합작성에 사용함 (Table 18).

Table 18. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in mini tomato at 3rd year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 개체수/ 계통수
12C4001	F3	무한	중	원형	28	red	NG	2.0	7.8	Ty.Tm.N.F	4
12C4002	F3	무한	중조	원형	17	red	G	1.6	8.2	Tm.N.F	4
12C4003	F4	무한	중조	타원	20	red	G	1.8	9.0	Ty.Tm.F.Ve	5
12C4004	F4	무한	중조	타원	25	pink	NG	1.8	8.0	F.Ve	4
12C4005	F5	무한	조	타원	25~30	pink	LG	1.3	8.4	Tm.F.Cf	5
12C4006	F5	유한	중조	타원	25	red	LG	1.5	8.7	F.Ve	3
12C4007	F5	무한	중조	타원	23	orange	LG	1.5	9.0	F.Ve	3
12C4008	F5	무한	중조	타원	20	orange	NG	1.4	8.8	F.Ve	3
12C4009	F5	무한	조	타원	17	yellow	LG	1.7	8.7	Tm.F.Cf	3
12C4010	F5	무한	중만	타원	25	pink	LG	1.7	8.7	F.Ve	3
12C4011	F5	무한	중	원형	15	red	LG	1.8	8.5	Tm.N.F.Cf	3
12C4012	F5	무한	중만	원형	30	red	LG	1.5	7.8	Tm.N.F.Ve	3
12C4013	F6	무한	중	원형	17	red	LG	2.0	8.4	Tm.N.F.Cf	3
12C4014	F6	무한	중조	타원	21	red	NG	1.8	8.9	Tm.N.F.Cf	3
12C4015	F6	무한	중조	타원	15	pink	LG	2.1	9.2	Ty.N.F.Ve	3
12C4016	F6	무한	중조	타원	15	yellow	LG	1.6	8.7	F.Ve	3
12C4017	F6	무한	중조	타원	20	orange	LG	1.6	8.9	F.Ve	3
12C4018	F7	무한	중	원형	27	pink	G	1.2	8.5	Tm.F	2
12C4019	F9	무한	중조	원형	12	orange	LG	1.4	9.2	Ty.Tm.F.Ve	2
12C4020	F9	무한	중조	타원	20	pink	LG	1.4	9.5	Ty.Tm.F.Ve	2
12C4021	Fn	무한	중만	타원	28	red	LG	1.9	8.0	F.Ve	2
12C4022	Fn	무한	조	원형	20	red	G	1.2	8.9	Ty.Tm.F	2
12C4023	Fn	무한	조	원형	17	red	LG	1.7	8.9	Tm.F	2
12C4024	Fn	무한	중	원형	17	red	NG	1.7	8.5	Tm.N.F.Cf	2
12C4025	Fn	무한	조	원형	16	red	NG	1.8	9.2	Tm.N.F.Ve.Cf	2
12C4026	Fn	무한	조	원형	18	red	NG	1.8	9.2	Tm.N.F.Ve.Cf	2
12C4027	Fn	무한	조	타원	15	pink	LG	2.0	9.1	Tm.F.Ve	2
계											78

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

사. 제4차년도 대과토마토 우량계통 육성 선발

- 양친(parent line)으로 사용할 수 있는 우량한 고정계통과 세대가 진전되면서 유전적 순화 및 원예이 안정화된 개체와 계통들이 선발됨.
- 대과종 A Line(모계육성)으로 절간이 짧고 착과비대성이 좋고 저장성, 과균일도가 우수하며, multi 내병성인 고정계통 30line, 세대진전된 35line을 육성선발함 (Table 19)
- 고정계통들은 F₁ hybrid 조합작성에 사용함.

Table 19. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in big tomato at 4th year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성***	선발 계통수/ 개체수
13L1001	F5	무한	조	고구	195	pink	NG	2.3	5.8	Tm.V.LS	3
13L1002	F6	무한	중조	고구	217	pink	LG	1.8	6.0	F2.V.LS	3
13L1003	F7	무한	조	고구	158	pink	G	2.2	6.0	Tm.F2.V	3
13L1004	F7	무한	조	고구	182	pink	NG	1.5	6.3	Ty1,3.Tm.N.F2. V.LS	3
13L1005	F7	무한	중	고구	165	red	NG	2.4	4.8	Ty1,3.Tm.F2	3
13L1006	F7	무한	중만	고구	168	red	LG	2.4	4.8	Ty1,3.Tm.N. F2.Fr	3
13L1007	F8	무한	중	고구	196	pink	NG	2.6	5.0	Tm.F2.LS.Ph	2
13L1008	F8	무한	중	고구	186	pink	DG	2.2	6.2	Ty1.Tm.N.F2.V	2
13L1009	F8	무한	중	고구	223	pink	G	2.0	6.3	Tm.N.F2.Fr	2
13L1010	F9	무한	중조	편구	214	pink	G	1.7	6.0	Ty1.Tm.F2.V.LS	2
13L1011	F9	무한	조	편구	218	pink	LG	1.7	6.0	F2.V.LS	2
13L1012	F9	무한	중	고구	153	rin	LG	2.5	5.2	Tm.F2.Fr.V.LS	2
13L1013	F9	무한	중조	편구	231	red	NG	2.0	5.1	Tm.N.F2.Cf	3
13L1014	F9	무한	중	고구	209	red	NG	2.4	4.8	Tm.N.F2	2
13L1015	Fn	유한	중조	고구	223	pink	NG	2.0	5.4	N.F2.V.LS	2
13L1016	Fn	무한	중	편구	215	red	NG	1.7	5.2	Tm.N.F2.V.Cf	2
13L1017	Fn	무한	중	편구	220	pink	G	1.5	5.8	Tm.N.F2.V.LS.Cf	2
13L1018	Fn	무한	중	편구	218	pink	G	1.7	5.6	Tm.N.F2.V.LS.Cf	2
13L1019	Fn	무한	조	편구	166	pink	G	1.5	6.2	Tm.N.F2.V.LS	2
13L1020	Fn	무한	중	고구	169	pink	NG	1.4	5.3	Tm.F2.V.Ph	2
13L1021	Fn	유한	조	고구	221	pink	NG	1.7	5.6	V.LS	2
13L1022	Fn	무한	중	고구	179	pink	NG	1.7	5.5	V.LS	2
13L1023	Fn	유한	중조	고구	205	pink	NG	1.9	5.6	F2.V.LS	2
13L1024	Fn	무한	중	편구	187	pink	NG	2.0	5.3	Tm.F2.V.LS	2
13L1025	Fn	유한	중	고구	232	pink	NG	2.0	5.3	F2.V.LS	2
13L1026	Fn	무한	중조	고구	236	pink	LG	1.8	5.6	V.LS.Cf	2
13L1027	Fn	무한	중	고구	138	pink	NG	2.3	5.4	F2.V.LS	2
13L1028	Fn	무한	중만	타원	180	rin	LG	2.0	4.7	Tm.LS	2
13L1029	Fn	무한	중	고구	159	pink	LG	1.7	5.5	Tm.F2.Cf	2
계											65

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F2: fusarium race2, N: nematode,

Cf: cladosporium, V: verticillium, LS: leaf spot. Ph: phytophthora

- B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성.수송성이 우수하며, 황화
잎말림바이러스(TYLCV).위조병(F).반신위조병(V).점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 고정
계통 24line, 세대진전된 50line을 육성 선발함 (Table 20).

Table 20. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in big tomato at 4th year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨* 색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 개체수/ 계통수
13L2001	F5	무한	중	고구	194	pink	NG	2.1	5.5	Ty1,3.Tm.N. F.Ve	4
13L2002	F6	무한	조	고구	205	pink	NG	1.8	5.2	F.Ve	3
13L2003	F6	무한	중	편구	129	red	NG	2.3	5.0	Tm.N.F.Cf	3
13L2004	F6	유한	중조	고구	232	red	NG	1.8	4.8	F.Ve	3
13L2005	F6	무한	중조	고구	180	pink	LG	1.8	5.3	F.Ve	3
13L2006	F7	유한	조	고구	139	pink	NG	2.2	5.7	Ty1,3.Tm. F.Fr	3
13L2007	F7	무한	중조	고구	214	pink	G	1.5	6.5	Ty1,3.Tm.N. F.LS	3
13L2008	F7	무한	중만	고구	150	red	NG	2.0	5.5	Tm.N.F2	2
13L2009	F7	무한	중	고구	155	red	NG	2.2	4.8	Ty1,3.Tm.N	2
13L2010	F7	무한	조	고구	137	red	NG	2.4	4.8	Tm.N.F	3
13L2011	F7	무한	중만	고구	137	red	NG	2.4	4.7	Tm.N.F	3
13L2012	F8	무한	중	편구	222	pink	DG	2.3	5.8	Tm.N.F.Ve.Cf	3
13L2013	F8	무한	중	편구	211	pink	DG	2.2	5.6	Tm.N.F.Ve.Cf	3
13L2014	F8	무한	중	편구	220	pink	LG	2.0	6.0	Tm.N.F.Fr. Ve.LS	2
13L2015	F8	무한	중	고구	163	pink	DG	2.4	6.0	Tm.F.Ve	3
13L2016	F9	무한	중조	고구	206	pink	G	1.8	6.2	Ty1.Tm.N.F	2
13L2017	F9	무한	조	편구	167	pink	G	1.5	6.4	Ty1.Tm.F.LS	2
13L2018	F9	무한	조	고구	183	pink	LG	1.8	6.3	Ty1.Tm.N.F. LS	2
13L2019	F9	유한	조	편구	208	pink	G	1.8	6.0	Ty1.Tm.F	2
13L2020	Fn	무한	중	고구	180	pink	G	2.2	5.6	Ty1.Tm.F.Fr	2
13L2021	Fn	무한	중	고구	172	pink	DG	2.2	5.8	Ty1.Tm.F. Fr.Ph	2
13L2022	Fn	무한	조	편구	215	pink	G	1.8	6.4	Tm.N.F.LS	2
13L2023	Fn	무한	중조	고구	157	pink	DG	1.6	6.3	Ty1.Tm.N.Ve	2
13L2024	Fn	무한	중조	고구	183	pink	G	1.6	6.2	Ty1.Tm.N.F	2
13L2025	Fn	무한	중만	고구	170	rin	NG	2.1	4.8	N.F.Ve.Ph	2
13L2026	Fn	유한	중조	편구	188	pink	NG	1.7	5.4	Tm.N.LS	2
13L2027	Fn	무한	조	편구	157	pink	LG	1.7	6.4	Ty1.Tm.F.Ve	2
13L2028	Fn	무한	중조	편구	205	pink	LG	1.9	6.0	F.LS.Cf	2
13L2029	Fn	무한	중	고구	173	pink	NG	2.2	5.5	Tm.F.Fr.Ve.Ph	2
13L2030	Fn	무한	중	고구	159	pink	NG	2.2	5.5	Tm.F.Fr.Ve.Ph	2
계											74

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium race2, N: nematode,

Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot. Ph: phytophthora

아. 제4차년도 미니토마토 우량계통 육성 선발

- 미니종 A Line(모계육성)으로 화방의 발달이 매우 균일하고 색상이 선명하며 열과저항성이 있으며, multi 내병성이 있는 고정계통 28line, 세대진전된 24line을 육성 선발함.
(Table 21).
- 고정계통들은 F1hybrid 조합작성에 사용함.

Table 21. Major characteristics of female inbred lines bred and selected in mini tomato at 4th year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 개체수/ 계통수
13C3001	F4	무한	중조	원형	20	red	LG	1.7	8.5	Tm.N.F.Fr.Ve	4
13C3002	F5	무한	중조	원형	17	red	G	1.5	8.5	Tm.N.F	3
13C3003	F6	무한	중조	타원	22	pink	G	1.5	8.7	Tm.F.Cf.Ph	3
13C3004	F6	무한	중조	원형	17	pink	LG	1.4	8.9	Tm.F.Cf	3
13C3005	F7	무한	조	타원	20	red	LG	1.8	8.5	Tm.N.F.Cf	3
13C3006	F8	무한	중조	원형	23	red	NG	2.0	8.2	Ty1,3.Tm.N. F.Cf	2
13C3007	F9	무한	조	타원	15	red	LG	1.8	8.5	Tm.F.Ve	2
13C3008	F9	무한	조	타원	25	red	LG	1.8	8.4	Tm.N.F	2
13C3009	F9	무한	조	타원	23	red	NG	1.6	8.5	Tm.N.F	2
13C3010	Fn	무한	조	원형	15	red	NG	1.7	8.2	Ty1,3.Tm.N. F.Cf	2
13C3011	Fn	유한	조	원형	15	red	NG	1.7	8.2	Ty1,3.Tm.N. F.Ve.Cf	2
13C3012	Fn	무한	조	원형	18	red	LG	1.5	8.7	Ty1,3.Tm.N. F.LS	2
13C3013	Fn	무한	조	원형	13	pink	G	1.4	9.0	Ty1,3.Tm.F. Cf.LS	2
13C3014	Fn	무한	중	원형	25	red	NG	1.8	8.0	Tm.N.F.Cf	2
13C3015	Fn	무한	조	원형	20	red	G	1.2	9.2	Ty1,3.Tm.F	2
13C3016	Fn	무한	조	원형	20	red	G	1.2	9.2	Ty1,3.Tm.F	2
13C3017	Fn	무한	중	원형	20	red	LG	1.7	8.3	Tm.F.Ve.Cf	2
13C3018	Fn	무한	중	원형	25	pink	G	1.4	8.7	Tm.F.Ve.Cf	2
13C3019	Fn	무한	조	타원	17	red	LG	1.9	9.3	Tm.F.Ve	2
13C3020	Fn	무한	중	원형	23	red	NG	2.1	8.2	Tm.N.F.Fr. Cf.Ph	2
13C3021	Fn	무한	중조	원형	25	red	LG	2.0	8.5	Tm.N.F.Cf	2
13C3022	Fn	무한	조	타원	22	red	LG	1.6	9.1	Tm.F.Ve	2
13C3022	Fn	무한	조	타원	20	red	LG	2.1	9.0	Tm.F.Ve	2
계											52

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium race2, N: nematode,

Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot. Fr: fusarium radicans, Ph: phytophthora

- B Line(부계육성)으로 초세가 강하고 당도가 높으며, 황화잎말림바이러스(TYLCV).반신 위조병(V). 근부위조병(Fr), 잎곰팡이병(Cf) 등에 내병성이 있는 고정계통 18line, 세대진 전된 계통 62line을 육성 선발함 (Table 22).

Table 22. Major characteristics of male inbred lines bred and selected in mini tomato at 4th year

계통번호	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성**	선발 개체수/ 계통수
13C4001	F4	유한	조	타원	25	red	LG	1.8	8.0	Tm.N.F.Ve.LS	4
13C4002	F4	무한	중	원형	28	red	NG	2.0	7.8	Ty1,3.Tm.N. F	4
13C4003	F4	무한	중조	원형	17	red	G	1.6	8.2	Tm.N.F	4
13C4004	F5	무한	중조	타원	20	red	G	1.6	9.0	Ty1,3.Tm. F.Ve	4
13C4005	F5	무한	중조	타원	25	pink	NG	1.8	8.0	F.Ve.LS	4
13C4006	F6	무한	조	타원	25	pink	LG	1.4	8.4	Tm.F.LS.Cf	4
13C4007	F6	유한	중조	타원	25	red	LG	1.4	8.7	F.Ve	3
13C4008	F6	무한	중조	타원	23	orange	LG	1.7	9.0	F.Ve	3
13C4009	F6	무한	중조	타원	20	orange	NG	1.5	8.8	F2.Ve	3
13C4010	F6	무한	조	타원	17	yellow	LG	1.5	8.7	Tm.F.Cf	3
13C4011	F6	무한	중만	타원	25	pink	LG	1.8	8.7	F.Ve	3
13C4012	F6	무한	중	원형	15	red	LG	1.8	8.5	Tm.N.F.Ve.Cf	3
13C4013	F6	무한	중만	원형	30	red	LG	1.7	7.8	Tm.N.F.Ve	3
13C4014	F7	무한	중	원형	17	red	LG	2.0	8.4	Tm.N.F.Cf	3
13C4015	F7	무한	중조	타원	21	red	NG	1.6	8.9	Tm.N.F.Cf	3
13C4016	F7	무한	중조	타원	15	pink	LG	2.1	9.2	Ty1,3.N.F.Ve. Cf.LS.Ph	3
13C4017	F7	무한	중조	타원	15	yellow	LG	1.5	8.7	F	3
13C4018	F7	무한	중조	타원	20	orange	LG	1.3	8.9	F.Ve	3
13C4019	F8	무한	중	원형	27	pink	G	1.2	8.5	Tm.F.Ve	2
13C4020	Fn	무한	중조	원형	12	orange	LG	1.2	9.2	Ty1,3.Tm. F.Ve	2
13C4021	Fn	무한	중조	타원	20	pink	LG	1.2	9.5	Ty1,3.Tm. F.Ve	2
13C4022	Fn	무한	중만	타원	28	red	LG	2.2	8.0	Tm.F.Ve	2
13C4023	Fn	무한	조	원형	20	red	G	1.2	8.9	Ty1,3.Tm.F	2
13C4024	Fn	무한	조	원형	17	red	LG	1.5	8.9	Tm.F	2
13C4025	Fn	무한	중	원형	17	red	NG	1.8	8.5	Tm.N.F.Cf	2
13C4026	Fn	무한	조	원형	16	red	NG	1.6	9.2	Tm.N.F.Ve.Cf	2
13C4027	Fn	무한	조	원형	18	red	NG	1.6	9.2	Tm.N.F.Ve.Cf	2
13C4028	Fn	무한	조	타원	15	pink	LG	2.1	9.1	Tm.F.Fr.Ph	2
계											80

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, F: fusarium race2,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

제 3 절 신소재 육성 Backcross

고품질계 x 내병계, 저장성계 x 내병계, 고당도계 x 내병계 등 신소재 육성 조합 pink 대과 4그룹, red big 토마토 3그룹, 미니토마토 6그룹 작성하여 기존의 고정계통에 TYLCV, 잎곰팡이 내병성, 고당도 등의 인자를 집적하는 Backcross를 실시하여 BC1 -> BC2 -> BC3 -> BC4F3까지 진행하여 신계통을 육성하였다 (Table 23).

Table 23. Donor and recurrent lines used for backcrossing

Combination	Stage	Doner	Target gene	Remark
		Recurrent		
TJ63/DK56	BC4F3	TJ63	ty	pink big
		DK56	uniform fruit, Cf	pink big
MOB/DK58	BC4F3	MOB	earliness	pink big
		DK58	uniform fruit	pink big
DK58/TKP	BC4F3	DK58	uniform fruit	pink big
		TKP	firmness	pink big
TJ60/TKP	BC4F3	TJ60	ty	pink big
		TKP	firmness	pink big
TJ60/GRD	BC4F3	TJ60	ty	pink big
		GRD	red, big	red big
TJ60/MDS(rin)	BC4F3	TJ60	ty, taste	pink big
		MDS(rin)	firmness(rin)	rin big
TJ60/MDS	BC4F3	TJ60	ty, taste	pink big
		MDS	big, firm	red big
GT90/DC	BC4F3	GT90	ty	mini
		DC	cf, brix	mini
CH15/GT90/CH15	BC4F3	GT90	ty, taste	mini
		CH15	crack-tolerance	mini
CHE/INT	BC4F3	CHE	firmness	mini
		INT	high brix	mini
CHE/MT90	BC4F3	CHE	firmness	mini
		MT90	ty,cf	mini
AM/GT91	BC4F3	AM	crack-tolerance	mini
		GT91	ty, taste	mini
PS/GT92	BC4F3	PS	firmness	mini
		GT92	ty, taste	mini

제 4 절 세대진전시험

초기세대(F3~F5) 계통들을 태국에 시험포장을 임대하여 재배시험하고 약세주, 병감염주 등 열악한 형질을 도태하고 한 세대를 진전시키고 개체별로 종자를 받았다, 1차년도에 158개체, 2차년도에 100개체를 선발하여 세대진전하고 유전적 순화하여 계통육성에 사용하였다.

가. 시험방법

파종: 9월 중순 파종 정식: 10월 중순, 수정: 10월 말 ~ 12월 초

조사 및 종과수확: 1월 ~ 2월, 시설: net house

시험지: 태국 콘켄, 기타관리: 5단까지 착과시킴

나. 시험결과

- 제1차년도에 F5 → F6 21개체, F3 → F4 40개체, F2 → F3 83개체를 세대진전하여 종자를 받음 (Table 24, Figure 5).

Table 24. Individual plant number by generation advancement trial at 1st year

계통명	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 개체수
CN98	F6	무한	중	고구	185	pink	2.3	5.6	Tm.F.Ty	4
CBS15	F6	유한	조	편구	206	pink	1.5	6.0	Tm.F.Ty	5
CN26	F6	무한	중	고구	172	pink	2.2	5.8	Tm.F.Ty	5
TRD	F6	무한	조	고구	163	pink	2.0	5.8	N.F.Ty.Ve	7
GRD	F6	무한	중조	편구	232	red	1.8	5.1	Tm.N.F.Cf	6
MDS (nor)	F6	무한	중	고구	215	red	2.4	5.2	Tm.N.F	8
MDS (rin)	F6	무한	중	고구	227	rin	2.5	4.6	Tm.N.F	7
OD123	F4	무한	조	고구	187	pink	1.8	5.7	Tm.F.Ve	8
OD124	F4	무한	중	고구	180	pink	1.8	5.7	Tm.F.Ve	8
HAV137	F4	무한	조	고구	138	red	2.3	4.8	Tm.N.F	12
HAV138	F4	무한	중만	고구	135	red	2.3	4.7	Tm.N.F	12
GBS2	F3	무한	중조	고구	224	pink	1.5	6.0	F.Ve	15
GHB2	F3	무한	조	고구	209	pink	1.6	5.2	F.Ve	10
HZ09	F3	무한	중	편구	127	red	1.8	5.0	Tm.N.F.Cf	12
DH	F3	유한	중조	고구	233	red	1.2	4.8	F.Ve	10
DB	F3	무한	중조	고구	182	pink	1.2	5.3	F.Ve	8
MGC	F3	무한	조	타원	26	pink	1.0	8.4	Tm.F.Cf	28
계										158

- 제2차년도에 F3 → F4 100개체를 세대진전하고 종자를 받음 (Table 25, Figure5).

Table 25. Individual plant number by generation advancement trial at 2nd year

계통명	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	내병성*	선발 개체수
MSC/CBS	F4	무한	중조	고구	212	pink	1.8	6.5	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	5
SS5	F4	무한	조	편구	186	pink	2.3	6.0	Ty.Tm.F.Ve	4
SSR	F4	무한	중	고구	210	pink	1.7	6.3	Tm.F.N.Ve.LS	4
TFY	F4	무한	중조	고구	197	pink	2.0	5.8	Ty.Tm.F.Ve	4
GR900	F4	무한	중조	고구	227	pink	1.6	6.5	Tm.F.N.Ve.LS	4
DGI	F4	무한	조	고구	205	pink	1.6	6.5	Ty.Tm.F.N.Ve.Cf	5
RAB	F4	무한	중조	고구	187	red	2.5	5.4	Ty.Tm.F.Ve.Cf	3
BT928	F4	무한	중조	편구	182	red	2.4	5.1	Ty.Tm.F.Ve.Cf	4
HZ23	F4	무한	중	고구	192	red	2.6	5.2	Ty.Tm.F.Ve.Cf	5
DFN	F4	무한	중	고구	210	red	2.5	4.6	Ty.Tm.F.N.Ve.Cf	5
JSB	F4	무한	중조	고구	203	red	2.5	4.8	Ty.Tm.F.N.Ve	4
BCN	F4	무한	중	고구	208	red	2.2	4.7	Ty.Tm.F.N.Ve	4
YTT	F4	무한	조	타원	23	orange	1.6	8.2	F.Ve	8
ELT	F4	무한	중	원형	17	red	1.8	8.0	Tm.F.N.Cf	4
LCI	F4	무한	중조	타원	20	red	2.0	8.8	Tm.F.N.Cf	6
LCD	F4	유한	조	타원	20	red	2.0	8.7	Tm.F.N.Cf	5
PEI	F4	무한	중조	타원	22	pink	2.1	8.3	Tm.F.N.Cf	7
PED	F4	유한	중조	타원	22	pink	2.0	8.3	Tm.N.F.Cf	4
VM/GT	F4	무한	조	타원	15	red	1.5	8.5	Ty.Tm.F.N.Ve	5
JK/GT	F4	무한	조	타원	20	red	1.5	8.5	Ty.Tm.F.N.Ve	6
PS/H58	F4	무한	조	타원	17	red	1.8	8.3	Tm.F.N.Ve.Cf	4
계										100

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot



Figure 5. Generation advancement trial field in Thailand

제 5 절 내병성검정 및 선발

1. 시험방법

유전자원, 신소재육성, 계통육성, F₁ hybrid 등 모든 육성재료들에 대한 내병성을 분자마커로 검정하였으며, 1차로 유묘기에 있을 sampling하여 협동과제기관(부산대)에 보내어 내병성 유무를 확인하여 정식을 하였으며, 2차로 과일이 성숙되고 최종 선발된 개체에 대해 재확인 검정을 함 (Figure 6).



Figure 6. Tomato leaves sampling for DNA marker test and confirmation

2. 실험결과

- 육성 line들에 대한 multi 내병성을 분자마커로 검정하여 선발에 활용함.
- 토마토황화잎말림바이러스 Ty1 156점, Ty3 133점, 토마토모자이크바이러스 Tm2a 348점, 선충 Mi1 212점, 위조병레이스2 I2 404점, 근부위조병 Fr 29점, 반신위조병 Ve 224점, 잎곰팡이병 Cf9 146점, 역병 Ph3 28점의 저항성 유전자를 확인하고 선발하였으며, 점무늬병(LS)은 포장저항성으로 선발함.
- F₁ hybrids에 대한 검정결과 Ty1 267, Ty3 232, 토마토모자이크바이러스 Tm2a 284, 선충 Mi1 180, 위조병레이스2 I2 232, 근부위조병 Fr 15, 반신위조병 Ve 199, 잎곰팡이병 Cf9 78, 역병 Ph3 10, 점무늬병 LS 97 조합에서 내병성이 확인되었다. (Table 26, Figure 7).

Table 26. Number of lines and F₁ hybrids checked disease resistance by marker test

구분	내병 인자	Ty1	Ty3	Tm2a	N(Mi1)	F(I2)	Fr	Ve	Cf9	Ph3	LS
Inbred line	1차년도	27	21	52	27	57	-	29	24	-	-
	2차년도	25	20	58	34	70	-	38	30	-	-
	3차년도	31	27	85	50	88	-	44	34	-	-
	4차년도	35	30	78	49	93	6	53	31	10	75
	5차년도	38	35	75	52	96	23	60	27	18	84
소계		156	133	348	212	404	29	224	146	28	159
F ₁ hybrid		267	232	284	180	232	15	199	78	10	97
총계		423	365	632	392	636	44	423	224	38	256

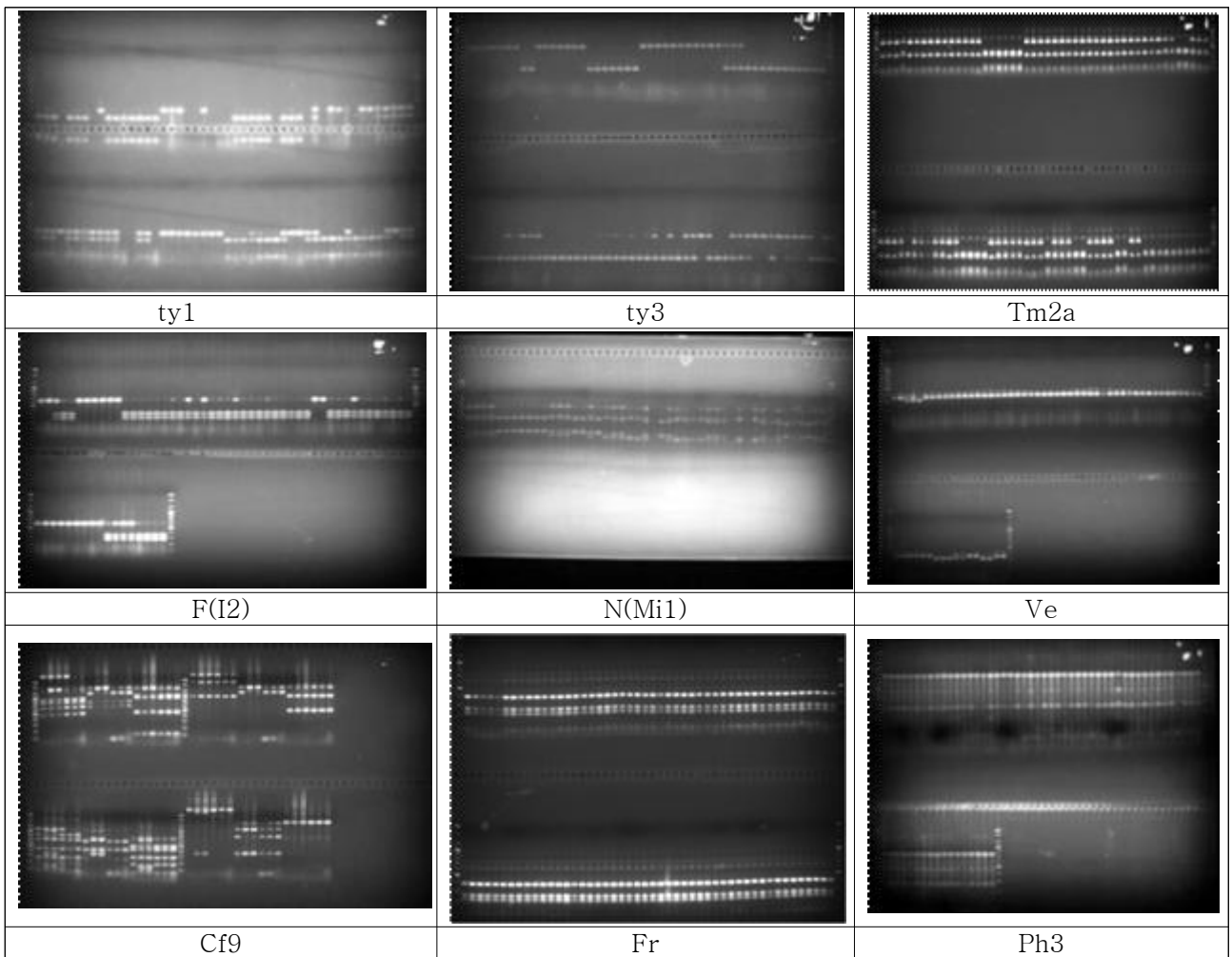


Figure 7. Molecular marker band on tomato disease resistant gene

제 6 절 F₁ 조합 선발시험 및 농가실증시험

제2차년도부터 제5차년도까지 중국 현지에 농가 일광하우스를 임대하여 F₁ 조합 선발시험과 농가실증시험을 실시하였다.

1. 제2차년도 F₁ hybrid 선발시험 및 농가실증시험

가. 대과토마토 F₁ hybrid 선발시험

(1) 시험방법

- 파종: 2011.10.16 정식: 2011.11.26 수확: 2012. 3월 초 ~ 4월 말
- 시험주수: 12주 2반복, 시설: 日光하우스
- 작과: 토마토톤 100-120배액 처리
- 시험지: 중국 산둥성 壽光市 古城鎮 官村
- 시험농가: 張炳福 전화: 1380 646 0375

(2) 시험결과

- 중국 현지 산둥성 수광시의 농가 일광하우스에, 대과토마토 38조합을 공시하여 시험한 결과, 초형, 숙기, 과형, 과중, 과색, 경도, 당도, 과균일도, 재배안정성, 내병성 등을 종합평가하여 16조합을 1차로 선정하였으며, 이 중 Best로 BN174, BN180 조합을 선발하였다.
- BN174: 무한생장형으로 조생에 착과비대가 균일하고 착색이 깨끗하며, TYLCV, ToMV, 선충, 시들음병, 점무늬병 등에 내병성이 있었으며, 경도 2.2로 매우 단단한 조합이다.
- BN180: 초형이 유한생장형으로 숙기가 매우 빠르고 고구형이며, 과육이 단단하여 수송성이 우수하며, TYLCV, ToMV, 선충, 시들음병, 점무늬병, 잎곰팡이병 등에 내병성이 있었으며, 조생종이면서 착과비대와 균일한 것이 장점이라고 할 수 있다.
- 우수조합들은 재시험을 하고, Best 2조합은 시교채종을 하여 농가 확대시험을 하였다.

Table 27. Evaluation data of big tomato F₁ hybrids in 2011-2012 year trial

2011 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (brix)	과 * 균일도	수량 (g)	내병성**	총평 ^Z
161,대비중	무한	중	고구	187	pink	2.2	4.5	8	3,179	Ty.Tm.F.LS	◎
162	무한	중조	고구	185	pink	1.7	5.2	7	3,145	Ty.Tm.F.LS	○
163	무한	중	고구	203	pink	2.0	5.0	8	3,451	Ty.Tm.F.N.LS	◎
164	무한	중	편구	210	pink	1.8	4.8	7	3,570	Ty.Tm.F.N.LS	○
165	무한	중조	고구	213	pink	2.2	5.2	8	3,621	Ty.Tm.F.N.LS	◎
166	무한	중	편구	205	pink	1.7	5.5	7	3,485	Ty.Tm.F.N.LS	○
167	무한	중	고구	195	pink	1.8	5.1	8	3,315	Ty.Tm.F.N.Cf	◎
168	무한	중	고구	203	pink	2.0	5.1	7	3,451	Ty.Tm.F.N	◎
169	무한	중조	편구	210	pink	1.8	5.3	7	3,570	Ty.Tm.F.N.LS	◎
170	무한	조	고구	197	pink	1.8	5.5	8	3,349	Ty.Tm.F.N.LS	◎
171	무한	조	편구	205	pink	1.5	5.0	7	2,907	Ty.Tm.F.N.LS	○
172	무한	조	고구	203	pink	1.5	5.2	7	3,451	Ty.Tm.F.N.LS	○
173	무한	중조	고구	207	pink	1.7	4.8	7	3,519	Ty.Tm.F.N.Cf	○
174	무한	중조	고구	205	pink	2.2	5.6	8	3,485	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	★
175	무한	중조	편구	210	pink	1.5	5.3	7	3,570	Ty.Tm.F.N.LS	○
176	무한	중조	편구	207	pink	1.7	5.2	7	3,519	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	◎
177	무한	중조	편구	205	pink	1.7	5.5	7	3,485	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	○
178	무한	조	편구	205	pink	1.7	5.2	7	3,485	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	◎
179	유한	조	고구	208	pink	2.0	5.2	7	3,536	Ty.Tm.F.Cf.LS	◎
180	유한	조	고구	203	pink	2.2	5.4	8	3,451	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	★
181	무한	중조	편구	213	pink	1.8	5.2	7	3,621	Ty.Tm.F.Cf.LS	◎
182	무한	조	고구	202	pink	1.6	5.4	8	3,434	Ty.Tm.F.N.LS	○
183	무한	조	고구	197	pink	2.0	5.0	8	3,349	Ty.Tm.F.N.LS	◎
184	무한	중만	편구	203	pink	1.8	4.8	6	3,451	Ty.Tm.F.Cf.LS	○
185	무한	중만	편구	208	pink	1.8	5.0	7	3,536	Ty.Tm.F.LS	◎
186	무한	중	고구	200	pink	2.4	4.8	7	3,400	Ty.Tm.F.LS	○

187	무한	중	고구	206	pink	2.0	5.2	8	3,502	Ty.Tm.F.LS	○
188	무한	중조	고구	203	pink	2.2	5.0	9	3,451	Ty.Tm.F.N.LS	◎
189	무한	중조	고구	205	pink	1.8	5.2	8	3,485	Ty.Tm.F.N.LS	○
190	무한	조	고구	190	pink	1.5	5.2	8	3,230	Ty.Tm.F.LS	○
191	무한	조	고구	197	pink	2.0	5.2	8	3,349	Ty.Tm.F.LS	○
192	무한	중조	편구	200	pink	1.7	5.2	7	3,400	Ty.Tm.F.N.LS	○
193	무한	중조	편구	208	pink	1.7	5.5	7	3,536	Ty.Tm.F.N.LS	○
Red계											
220 대비종	무한	중만	고구	210	red	2.3	4.3	8	3,570	Ty.Tm.F.N.Cf	◎
221	무한	중	고구	204	red	2.0	4.5	8	3,468	Ty.Tm.F.N.Cf	○
222	무한	중조	고구	214	red	2.4	4.5	9	3,638	Ty.Tm.F.N.Cf	◎
223	무한	중	편구	198	red	2.2	4.5	8	3,366	Ty.Tm.F.N	○
224	무한	중조	편구	208	red	2.0	4.2	8	3,536	Ty.Tm.F.N.Cf	○
225	무한	중	편구	205	red	2.0	4.2	7	3,485	Ty.Tm.F.N	○
226	무한	중	고구	197	red	2.2	4.7	8	3,349	Ty.Tm.F.N	○

* 과균일도, 9 excellent - 1 poor

** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,

Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

총평² : ○ 보통 ◎ 우수 ★ 매우 우수







선발조합 174



선발조합 180 : 대비종

Figure 8. Pictures of big tomato F₁ hybrids in 2011-2012 year trial

- 농가실증시험을 거쳐 BN174는 2013년도에 'TY 포르테(Forte)'로 품종보호출원을 하였고,

BN180은 ‘바하(巴赫, Bach)’로 품종생산판매신고를 하여, 현재 중국에서 판매가 되고 있다.



Figure 9. Pictures of BN174 and BN180 advertisement post in China

나. 미니토마토 F₁ 조합 선발시험

(1) 시험방법

- 파종: 2011.10.14 정식: 2011.11.26 수확: 2012.3월 초 ~ 4월 말
- 시험주수: 12주 2반복, 시설: 日光하우스
- 착과: 토마토톤 100-120배액 처리
- 시험지: 중국 산둥성 壽光市 田馬鎮
- 시험농가: 郭春林 전화: 1385 445 4075

(2) 시험결과

- 미니토마토 38조합을 공시하여 시험한 결과, 17조합을 1차 선발하였으며, 그 중 Best로 원형계 345, 타원형계 354번 조합이 초세.화방발달.착과성.색상.저장성.당도.내병성 등에서 가장 우수하였다.
- 특히 타원계 354 조합은 대비종인 千禧(대만農友)에 비해 착색이 진하고 과면이 smooth하고 균일하며, 저장성.당도가 우수하였으며, 대비종은 TYLCV(황화잎말림바이러스)에 내병성이 없는 반면에 354는 TYLCV 내병성 조합으로 선발했다.
- 선발조합들은 재시험을 하였으며, 가장 우수한 2조합은 시교생산을 하여 확대시험을 함.

Table 28. Evaluation data of mini tomato F₁ hybrids in 2011-2012 year trial

2011 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	경도 (저장성)	당도 (맛)	수량성 (g)	내병성**	총평 ^Z
千禧 (대비종)	유한	중	타원	20	pink	1.3	8.0	2,520	Tm.F.Ve	◎
321	무한	중	고구	21	red	1.3	7.8	2,646	Ty.Tm.F.Ve.N	◎
322	무한	중	타원	18	red	1.0	8.0	2,268	Ty.Tm.F.Ve.N	○
323	무한	중	고구	21	red	0.8	8.0	2,646	Ty.Tm.F.Ve.N	○
324	무한	중조	타원	18	red	1.2	8.2	2,268	Ty.Tm.F.Ve.N	◎
325	무한	중조	타원	20	orange	1.0	8.2	2,520	Ty.Tm.F.Ve.N	○
326	무한	중	원형	17	red	1.2	7.7	2,142	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	○
327	무한	중	타원	20	pink	1.5	8.0	2,520	Tm.F.Ve	◎
328	무한	중	고구	21	red	1.2	7.8	2,646	Tm.F.Ve.Cf	○
329	무한	조	타원	20	pink	1.4	8.1	2,520	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
330	무한	조	고구	22	red	1.0	8.2	2,772	Ty.Tm.F.Ve.N	◎
331	무한	중조	고구	18	red	1.4	7.8	2,268	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
332	무한	조	타원	20	red	0.8	8.5	2,520	Ty.Tm.F.Ve.N	○
333	유한	조	타원	19	red	1.2	4.7	2,394	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
334	무한	조	타원	22	red	0.8	8.5	2,772	Ty.Tm.F.Ve.N	◎
335	유한	중조	타원	20	red	1.0	8.2	2,520	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
336	무한	조	고구	18	red	1.0	8.5	2,268	Ty.Tm.F.Ve.N	○
337	유한	조	타원	20	red	1.2	8.3	2,520	Ty.Tm.F.Ve.N	○
338	무한	조	고구	23	red	1.2	8.3	2,898	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
339	무한	중조	타원	17	red	1.0	8.0	2,142	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
340	무한	중	원형	19	red	1.5	7.7	2,394	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
341	무한	중	고구	20	orange	1.0	7.8	2,520	Ty.Tm.F.Ve.N	○
342	무한	조	타원	23	red	0.9	8.4	2,898	Ty.Tm.F.Ve	◎
343	유한	조	타원	19	red	1.2	7.7	2,394	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
344	무한	중조	고구	21	red	1.2	8.0	2,646	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	◎
345	무한	중조	고구	23	red	1.3	8.3	2,898	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	★

346	무한	조	고구	20	red	1.0	7.8	2,380	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
347	무한	중조	원형	17	red	0.8	7.8	2,023	Ty.Tm.F.Cf	○
348	무한	중조	타원	20	red	0.8	8.2	2,380	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
349	무한	중조	고구	18	red	0.9	8.4	2,142	Ty.Tm.F.Ve	○
350	무한	조	고구	18	red	1.0	8.5	2,142	Ty.Tm.F.Ve	○
351	무한	조	타원	21	red	1.0	8.3	2,499	Ty.Tm.F.Ve	◎
352	무한	조	타원	20	red	1.3	8.5	2,380	Ty.Tm.F.Ve	◎
353	무한	중조	타원	22	red	1.2	8.5	2,618	Ty.Tm.F.Ve.N	◎
354	무한	중	타원	24	red	1.8	8.5	2,856	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	★
355	무한	중조	고구	23	red	1.8	8.0	2,727	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	◎
356	무한	중	타원	21	red	1.2	8.0	2,499	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	○
357	무한	중	타원	21	red	1.0	8.2	2,499	Ty.Tm.F.Ve.N	○
358	무한	중조	고구	23	red	1.0	8.2	2,727	Ty.Tm.F.Ve.N	○

* 내병성, Ty: TYLCV, Tm: ToMV, N: nematode, F: fusarium,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

총평^z: ○ 보통 ◎ 우수 ★ 매우 우수







Figure 10. Pictures of mini tomato F₁ hybrids in 2011-2012 year trial

- 농가실증시험을 거쳐 원형계 BN345는 ‘TY미라클(Miracle)’ 로 명명하여 품종보호출원을 하였으며, 타원형계 BN354는 ‘톰제리(Tom Jerry)’ 로 명명하여 품종보호출원을 하여, 중국과 국내에 보급 판매되고 있다.



Figure 11. ‘TY Miracle’ seed package in China and ‘Tom Jerry’ fruit shape compared to Check variety.

5. 제3차년도 F₁ 조합 선발시험 및 농가실증시험

가. 대과토마토 F₁ 조합 선발시험

(1) 시험방법

공시 : 대과종 F₁ hybrid 28조합, 대비품종 2품종

파종 : 2012년 8월 6일, 50구 트레이에 점파, 정식 : 2012년 9월 6일

수확 : 2012. 12월 ~ 2013. 4월

시설 : 日光하우스(sunny green house), 재식거리 : 100cm x 35cm (외줄재배)

시험주수 : 12주 2반복, 착과 : 토마토톤 100-120배 처리

시험장소 : 중국 산둥성 壽光市 古城鎮 曹家村

시험농가 : 王安森 전화: 187-0658-7698

기타관리 : 중국현지 농가재배 방식과 똑같이 관리함

(2) 시험결과

- 착과비대, 초세, 절간, 과형, 착색, 경도, 당도, 과균일도, 내병성 등을 종합평가하여 16조합을 선정

하였으며, 그 중 가장 우수한 조합으로 503, 521를 선발하였다.

- BN 503은 무한생장형에 핑크(pink)대과로 대비종인 瑞星5호(중국 local 품종) 보다 숙기가 빠르고 과비대가 크며 착색이 진하며, 황화잎말림바이러스(TY), 시들음병(F), 점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 조합으로 선발했다.
- BN 521은 레드(red)대과 토마토로 착과성이 매우 좋고, 과비대가 균일하고 단단하며, 황화잎말림바이러스(TY), 위조병(F), 선충(N) 등에 내병성이 있는 조합으로 선발하였다.

Table 29. Evaluation data of big tomato F₁ hybrids in 2012-2013 year trial

2012 BN	초형	숙기	과형	과중(g)	과색	어깨색*	경도(저장성)	당도(brix)	과**균일도	내병성***	총평 ^Z
501(대비종)	무한	중만	고구	195	pink	NG	2.3	4.8	8	Ty.Tm.F.LS	◎
502	무한	중	편구	208	pink	NG	2.3	5.0	8	Ty.Tm.F.Ve	◎
503	무한	중조	고구	200	pink	NG	2.5	5.3	8	Ty.Tm.F.Ve.LS	★
504	유한	조	고구	196	pink	NG	2.5	5.2	8	Ty.Tm.N.F.LS	◎
505	유한	중조	편구	213	pink	NG	2.0	5.2	7	Ty.Tm.F.N.LS	○
506	유한	중조	고구	209	pink	NG	1.8	5.0	7	Ty.Tm.F.N.LS	○
507	무한	중	고구	205	pink	NG	1.8	5.0	7	Ty.Tm.F.N.LS	○
508	무한	중조	고구	195	pink	G	2.4	5.5	8	Ty.Tm.N.F.LS	◎
509	무한	중조	고구	207	pink	G	1.8	5.3	8	Ty.Tm.N.F.LS	◎
510	무한	중조	편구	205	pink	G	1.8	5.4	7	Ty.Tm.N.F.LS.Ve	○
511	무한	중	편구	207	pink	G	2.0	5.2	7	Ty.Tm.F.N.LS	○
512	무한	중조	고구	205	pink	G	2.0	5.2	8	Ty.Tm.F.N.LS	◎
513	무한	중	편구	220	red	NG	1.7	5.0	7	Ty.Tm.F.N.Cf	○

514	무한	중조	고구	204	red	NG	2.0	4.8	8	Ty.Tm.N.F.Ve	◎
515	무한	중	고구	197	red	NG	1.8	4.8	7	Ty.Tm.N.F.Ve	○
516	무한	중	고구	212	red	NG	1.8	5.0	8	Ty.Tm.N.F.Ve	◎
517	무한	중	고구	205	red	NG	1.8	5.0	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
518	무한	중	고구	212	red	NG	2.4	5.3	8	Ty.Tm.F.N.Ve.Cf	◎
519	무한	중	고구	215	red	NG	2.4	5.0	8	Ty.Tm.F.N.Cf	◎
520	무한	중	고구	203	red	NG	2.2	5.2	8	Ty.Tm.F.N.Cf	◎
521	무한	중	고구	213	red	NG	2.5	5.2	8	Ty.Tm.F.N.Ve	★
522	무한	중조	고구	212	red	NG	2.0	5.2	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
523	무한	중조	고구	208	red	G	1.9	5.0	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
524	무한	중만	고구	205	red	LG	2.3	4.8	8	Ty.Tm.F.Cf	◎
525	무한	중조	고구	218	pink	LG	1.7	5.6	8	Ty.Tm.F.N.LS	◎
526	유한	조	고구	197	pink	LG	2.4	5.2	8	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	◎
527	유한	조	고구	197	pink	LG	2.4	5.5	8	Ty.Tm.F.N.Cf.LS	◎
528	무한	중조	고구	213	red	NG	2.2	5.0	7	Ty.Tm.F.N.Cf	○
529	무한	중조	고구	215	red	NG	2.2	5.0	8	Ty.Tm.F.N.Cf	◎
530(대비중)	무한	중조	고구	206	red	NG	2.4	5.4	8	Ty.Tm.F.Cf.Ve	◎

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 과균일도, 9 Excellent- 1 poor

*** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium, N: nematode,
Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

총평^Z: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통







Figure 12. Pictures of big tomato F₁ hybrids in 2012-2013 year trial

○ 농가실증시험

- 선발된 503, 521은 농가실증시험을 거쳐 BN503은 핑크대과 ‘TY마라톤’ 으로 품종보호출원을 하였으며, BN 521은 레드대과 ‘토스트’ 로 품종보호출원을 하여, 중국과 국내에 판매 중이다 (Figure 13).



Figure 13. Farmers' field performance of big tomato hybrids in 2012-2013 year

나. 미니토마토 F₁ hybrid 선발시험

(1) 시험방법

공시품종 : 미니토마토 F₁ hybrid 30조합

파종 : 2012년 11월 16일, 50구 트레이에 점파, 정식 : 2012년 12월 16일

수확 : 2013. 3월 ~ 2013. 5월

시설 : 日光하우스(sunny green house), 재식거리 : 100cm x 35cm (주지1본 재배)
 시험주수 : 12주 2반복, 착과 : 토마토톤 100-120배 처리
 시험장소 : 중국 산둥성 壽光市 田柳鎮 增后村
 시험농가 : 苗乃安茂 전화: 150-0656-9305
 기타관리 : 중국현지 농가재배 방식과 똑같이 관리함

(2) 시험결과

- 타원형 방울토마토로 BN404, 원형계로 BN413을 가장 우수한 조합으로 선정하였다.
- BN404는 타원형계로 조숙성이며, 착색이 깨끗하고 당도가 높고, TYLCV, 위조병, 선충 등에 내병성이 있어 선발하였다.
- BN413은 20g 전후의 원형계로 착과가 균일하고 색상, 맛, 저장성, 내병성 등에서 우수한 조합으로 선발되었다.
- 2조합은 시교생산을 하여 확대시험을 함.

Table 30. Evaluation data of mini tomato F₁ hybrids in 2012-2013 year trial

2012 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장성)	당도 (맛)	과** 균일도	내병성***	총평 ^Z
千禧 (대비종)	유한	중조	타원	20	pink	LG	1.8	8.3	8	Tm.F.N.Ve	◎
401	무한	중조	타원	23	red	LG	1.8	8.6	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
402	무한	중조	원형	21	red	G	1.6	7.8	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
403	무한	중조	고구형	15	pink	LG	1.8	8.2	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
404	무한	조	타원	25	red	G	2.0	8.7	8	Ty.Tm.F.N.Ve.Cf	★
405	무한	중조	원형	17	red	G	1.5	8.5	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
406	무한	중	장타원	23	red	LG	1.6	8.0	7	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
407	무한	중조	타원	18	red	LG	1.6	8.3	7	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	○
408	무한	중조	타원	15	pink	LG	1.8	8.0	8	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	◎
409	무한	중	고구형	21	red	LG	1.4	7.8	7	Ty.Tm.F.Ve.	○
410	무한	조	원형	17	red	G	1.6	8.5	8	Ty.Tm.F.Ve	◎
411	무한	조	타원	17	pink	LG	1.8	8.3	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
412	무한	중조	고구형	20	red	LG	1.8	8.0	8	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎

413	무한	중조	원형	17	red	G	1.8	9.0	9	Ty.Tm.F.N.Ve	★
414	무한	중조	타원	18	red	LG	1.6	8.2	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
415	무한	중	타원	15	red	LG	1.2	8.5	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
416	무한	중조	타원	15	red	LG	1.5	8.5	8	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
417	무한	조	타원	17	red	LG	1.8	8.0	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
418	무한	중조	타원	15	red	G	1.5	8.3	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
419	무한	중조	타원	22	red	G	1.3	8.3	8	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
420	무한	중조	원형	17	red	G	1.5	8.0	8	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
421	무한	중	원형	17	red	G	1.2	7.7	7	Ty.Tm.F.Ve	○
422	무한	중	타원	17	red	LG	1.2	7.8	7	Ty.Tm.F.N.Ve	○
423	무한	중조	타원	17	red	LG	1.7	7.8	8	Ty.Tm.F.N.Ve	◎
424	무한	중조	타원	15	red	LG	1.3	8.0	7	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
425	무한	중조	타원	21	red	LG	1.5	8.0	8	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	◎
426	무한	중	장타원	23	red	G	1.8	8.1	8	Ty.Tm.F.Ve.N.Cf	◎
427	무한	중조	타원	20	red	LG	1.8	8.5	8	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎
428	무한	중	장타원	20	red	LG	1.6	7.8	7	Ty.Tm.F.Cf	○
429	무한	중만	장타원	24	red	G	1.3	7.8	7	Ty.Tm.F.Ve.Cf	○
430	무한	중조	장타원	22	red	LG	1.6	8.4	8	Ty.Tm.F.Ve.Cf	◎

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 과균일도, 9 excellent - 1 poor

*** 내병성, Ty: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium, N: nematode,

Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot

총평²: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통

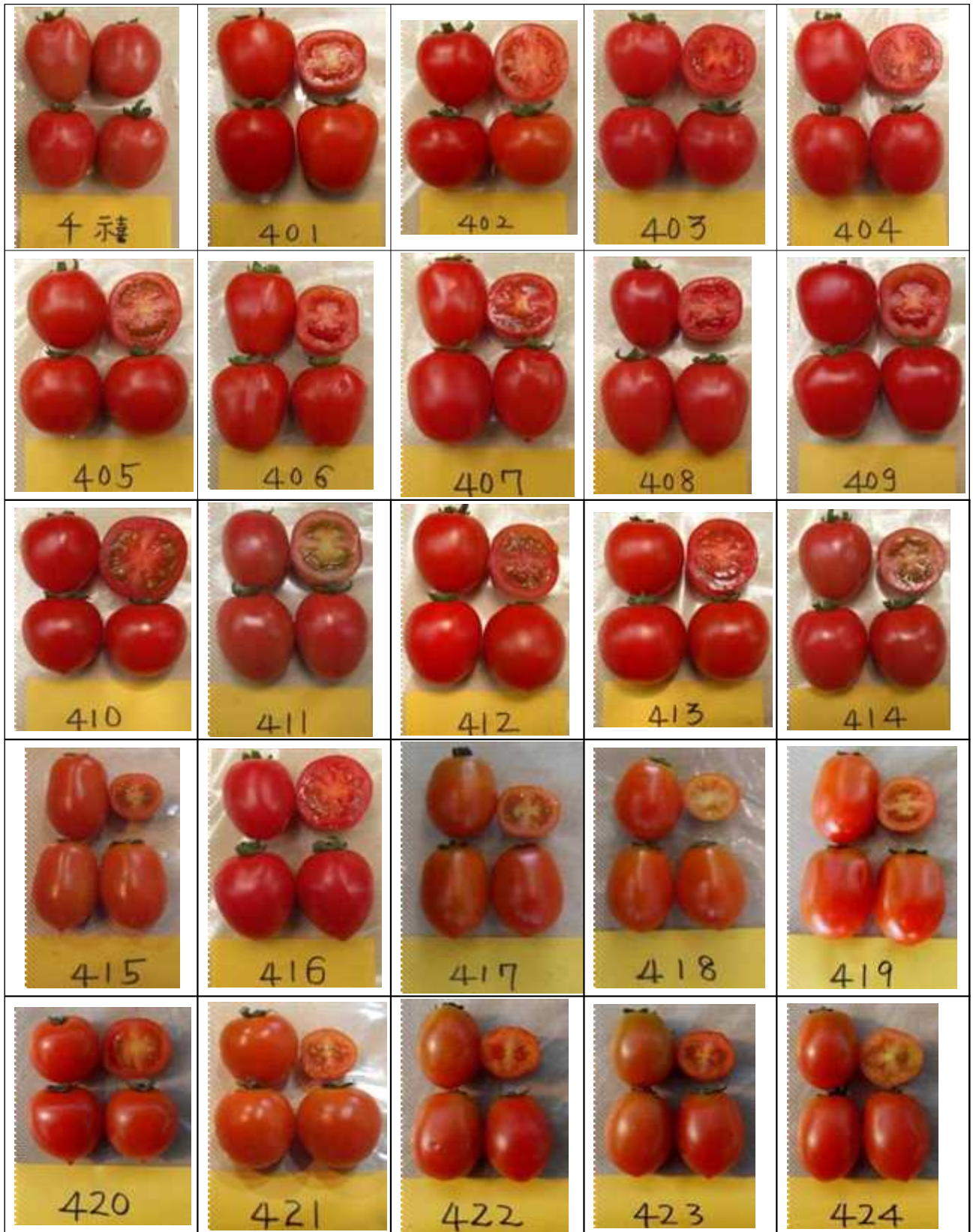




Figure 14. Pictures of mini tomato F₁ hybrids in 2012-2013 year trial

- 농가실증시험을 거쳐 BN 404는 ‘TY크라운’ 으로 품종생산판매신고를 하였고, 원형계 BN 413은 ‘다니엘TY’ 로 품종생산판매신고를 하여 중국과 국내에 보급 판매를 하고 있다.



Figure 15. Performance of mini tomato at farmers' field trial in 2012-2013 year

6. 제4차년도 F₁ 조합 선발시험 및 농가실증시험

가. 대과토마토 F₁ 조합 선발시험

(1) 시험방법

공시 : Pink대과(粉紅大果) 27조합 대비종 2품종

Red대과(大紅果) 15조합 대비종 2품종

과종 : 2013년 7월 30일, 40구 트레이에 점과, 정식 : 2013년 8월 28일

수확 : 2013. 11월 ~ 2014. 3월

시설 : 日光하우스(sunny green house), 재식거리 : 폭100cm x 주간35cm (외줄재배)

시험주수 : 12주 2반복, 착과 : 토마토톤 100-120배 처리

시험장소 : 중국 산둥성 壽光市 古城鎮 趙家村

시험농가 : 王安森 전화: 187-0658-7698

기타관리 : 중국 현지 농가재배 방식과 같이 관리함

(2) 시험결과

- 초형, 절간, 숙기, 착과성, 과균일도, 경도, 내병성 등을 종합평가하여 pink대과계 21조합, red 대과계 10조합을 선정하였다.
- 핑크대과로 218, 220을 Best로 선발하였으며, BN218은 무한생장형에 착과비대성이 우수하며 고구형에 TYLCV 등 멀티내병성을 지니고 있으며, BN220은 유한형이면서 숙기가 빠르고 과육이 매우 단단하여 저장성, 수송성이 우수하며, TYLCV, 선충, 근부위조병, 점무늬병 등에 복합내병성을 지니고 있다.
- 특히 BN220은 대비종인 德澳特302보다 숙기가 5~7일 정도 빠르고 절간이 짧아 재배관리가 용이하며, 과육이 매우 단단하여 열과에 강하고 저장성, 수송성이 우수하므로, 시교생산을 하여 확대시험 중이며 품종화할 예정이다.

Table 31. Evaluation data of big tomato F₁ hybrids in 2013-2014 year trial

2013 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장성)	당도 (brix)	과** 균일도	수량 (g)	내병성***	총평 ^Z
201 (대비종)	무한	중만	고구	197	pink	NG	2.4	4.8	8	3,349	Ty1.Tm.F.Ve.LS	◎
202	무한	중	고구	205	pink	NG	2.4	5.0	8	3,485	Ty1.Tm.F.Ve.LS	◎
203	무한	중	고구	208	pink	NG	2.0	5.2	7	3,536	Ty1.Tm.F.Ve.LS	○
204	무한	중만	고구	215	pink	NG	2.4	5.0	8	3,655	Ty1.Tm.N.F.LS	◎
205	무한	중	고구	197	pink	NG	2.5	5.2	8	3,349	Ty1.Tm.N.F.Ve.LS	◎
206	무한	중조	고구	210	pink	NG	2.2	5.0	8	3,570	Ty1.3.Tm.F.Ve.LS	◎
207	무한	중	고구	208	pink	LG	2.2	4.8	8	3,536	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	◎
208	무한	중조	고구	202	pink	LG	2.2	5.2	8	3,434	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
209	무한	중	고구	200	pink	NG	1.9	5.0	8	3,400	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	○
210	무한	중	편구	212	pink	NG	1.8	4.8	8	3,604	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	○
211	무한	조	고구	193	pink	NG	2.3	5.0	8	3,281	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
212	무한	중	편구	204	pink	G	2.0	5.2	8	3,468	Ty1.Tm.N.F.Ve.LS	◎
213	유한	조	편구	191	pink	NG	2.5	4.8	8	3,247	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	◎
214	무한	중조	고구	213	pink	NG	2.1	5.2	8	3,621	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
215	무한	중	고구	208	pink	LG	2.3	5.0	8	3,536	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
216	무한	중	편구	217	pink	LG	2.3	5.4	8	3,689	Ty1,3.Tm.N.F.Ve Cf.LS	◎
217	무한	중조	편구	205	pink	LG	2.0	5.2	8	3,485	Ty1.Tm.N.F.Ve. Cf.LS	○
218	무한	중조	고구	208	pink	LG	2.6	5.2	8	3,536	Ty1,3.Tm.N.F.Fr. Ve.LS	★
219	유한	조	편구	195	pink	LG	2.4	5.0	8	3,315	Ty1,3.Tm.N.F.Ve Cf.LS	◎
220	유한	조	고구	204	pink	NG	2.5	5.0	8	3,468	Ty1,3.Tm.F.Fr. Ve.S	★
221	유한	중조	고구	194	pink	NG	2.2	4.7	7	3,298	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	◎
222	유한	조	고구	196	pink	NG	2.2	5.0	8	3,332	Ty1.Tm.N.F.Cf.LS	◎
223	유한	조	고구	203	pink	NG	2.0	5.2	8	3,451	Ty1.Tm.N.F.Cf.LS	◎
224	유한	중조	고구	205	pink	NG	2.3	5.2	8	3,485	Ty1.Tm.F.Ve.LS	◎
225	유한	중조	고구	189	pink	NG	1.9	5.0	8	3,213	Ty1.Tm.N.F.LS	○
226	무한	중	고구	207	pink	NG	1.9	4.8	7	3,519	Ty1.Tm.F.Ve.LS	○

227	무한	중	편구	200	pink	NG	2.2	5.0	8	Ty1.Tm.F.Ve.LS	◎
228	무한	중만	고구	205	pink	NG	2.4	5.0	8	Ty1.Tm.N.F.LS	◎
229 (대비종)	무한	중	고구	198	pink	NG	2.4	4.8	8	Ty1.Tm.N.F.Ve.LS	◎

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 과균일도, 9 excellent - 1 poor

*** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium race2, N: nematode,

Fr: Fusarium radices, Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot. Ph: phytophthora

총평² : ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통





Figure 16. Pictures of pink big tomato F1 hybrids in 2013-2014 year trial

- **BN218**은 농가실증시험을 거쳐 ‘마라톤알파(Marathon Alpha)’ 로 품종생산판매신고를 하였으며 종자 생산 중에 있다.
- 레드대과로 231, 235를 Best로 선발하였으며, BN231은 무한형에 고구형이고 평균과중 212g으로 어깨색은 없으며 과육이 매우 단단하며, Ty1,3. N. F2. Fr. V 등에 내병성을 지니고 있다.
- BN 235는 절간이 짧고 숙기가 빠르며 과가 매우 균일하고 단단하며, Ty1,3. N. F2. Fr. V. LS 등에 내병성을 지니고 있다 (Table 29).

Table 32. Evaluation data of red big tomato F₁ hybrids in 2013-2014 year trial

2013 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장성)	당도 (brix)	과** 균일도	수량 (g)	내병성***	총평 ^Z
230 (대비중)	무한	중만	고구	215	red	NG	2.5	4.8	8	3,655	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
231	무한	중만	고구	212	red	NG	2.5	5.0	8	3,604	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.Fr	◎
232	무한	중	고구	205	red	NG	2.3	5.2	8	3,485	Ty1,3.Tm.N.F.Fr.Ve.LS	◎
233	무한	중만	고구	217	red	NG	2.3	5.0	8	3,689	Ty1,3.Tm.N.F.Fr.LS	◎
234	무한	중만	고구	204	red	NG	2.0	4.7	7	3,468	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	○
235	무한	중조	고구	208	red	LG	2.4	5.2	8	3,536	Ty1,3.Tm.N.F.Fr.V.LS	◎
236	무한	중조	고구	204	red	NG	2.4	4.8	8	3,468	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
237	무한	중	고구	200	red	NG	2.3	5.0	8	3,400	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
238	무한	중	고구	208	red	NG	2.0	5.0	8	3,536	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
239	무한	중만	고구	212	red	NG	1.9	4.8	8	3,604	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	○
240	무한	중만	고구	203	red	NG	2.4	5.0	8	3,451	Ty1,3.Tm.N.F.Ve.LS	◎
241	무한	중만	편구	212	red	NG	2.2	4.8	7	3,604	Ty1.Tm.N.F.Ve.LS	○
242	무한	중조	편구	198	red	NG	2.2	5.3	8	3,366	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	○
243	무한	중만	고구	212	red	NG	2.0	5.2	8	3,604	Ty1.Tm.N.F.Ve	○
244	무한	중	고구	210	red	NG	2.4	5.0	8	3,570	Ty1.Tm.N.F.Ve	◎
245	무한	중	고구	217	red	NG	2.4	5.2	8	3,689	Ty1.Tm.N.F.Ve	◎
246 奧美拉	무한	중	고구	213	red	NG	2.4	5.0	8	3,621	Ty1.Tm.N.F.Ve	◎

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 과균일도, 9 cellent - 1 poor

*** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium race2, N: nematode,

Fr: Fusarium radicis, Cf: cladosporium, Ve: verticillium, LS: leaf spot. Ph: phytophthora

총평^Z: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통





BN231 : 대비종

BN235 : 대비종

Figure 17. Pictures of red big tomato F₁ hybrids in 2013-2014 year trial



Figure 18. Performance of big tomato at farmers' field trial in 2013-2014 year

나. 미니토마토 F₁ 조합 선발시험

(1) 시험방법

- 공시 : 미니토마토 F₁ Hybrid 29조합, 대비품종 2품종
- 파종 : 2013년 7월 30일, 40구 트레이에 점파
- 정식 : 2013년 8월 29일, 수확 : 2013. 11월 ~ 2014. 3월
- 시설 : 日光하우스(sunny green house)
- 재식거리 : 이랑폭100cm x 주간35cm (주지1본재배)
- 시험주수 : 12주 2반복, 착과 : 토마토톤 120-150배 처리
- 시험장소 : 중국 산둥성 壽光市 古城鎮 古二村
- 시험농가 : 胡志安 전화: 1395 3686 621
- 기타관리 : 중국 현지 농가재배 방식과 똑같이 관리함

(2) 시험결과

- 초형, 절간, 숙기, 착과성, 당도, 경도, 내병성 등을 종합평가하여 22조합을 선정하였으며, 그 중에서 best로 304와 310을 선발하였다.
- BN304는 초세가 강하고 화방발달이 좋으며 평균과중 20g으로 단타원형에 색상이 선명하여 광택이 나며 Ty1,3. Tm. N. F2. V. Cf 등에 내병성있다.
- BN310은 장타원형으로 과육이 단단하고 수량성이 높으며 특히 황화바이러스(Ty), 역병(Ph)에 내병성이 있는 조합으로 선발했다.
- 2조합은 시교생산하여 확대시험을 함.

Table 33. Evaluation data of mini tomato F₁ hbrids in 2013-2014 year trial

2013 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장 성)	당도 (맛)	과** 균일도	수량 (g)	내병성***	총평 ^Z
301 (대비중)	무한	중	장타원	20.1	pink	LG	2.2	7.8	8	2,391	Ty1.Tm.F.Ve	◎
302	무한	중	장타원	18.8	red	LG	2.0	8.3	8	2,237	Ty1.Tm.F.Ve	◎
303	무한	중조	단타원	18.5	red	LG	2.0	8.0	8	2,201	Ty1,3.Tm.N.F. V.Ph	◎
304	무한	중조	단타원	20.6	red	G	2.2	8.3	8	2,451	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	★
305	무한	중조	장타원	21.0	red	LG	1.8	8.5	8	2,499	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
306	무한	중조	장타원	22.3	red	LG	1.4	8.2	8	2,653	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Ph	○
307	무한	중	장타원	22.4	red	LG	1.7	8.2	8	2,665	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Ph	◎
308	무한	중조	장타원	19.7	red	LG	1.7	8.0	8	2,344	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
309	무한	중	장타원	23.6	red	LG	1.8	8.0	8	2,808	Ty1,3.Tm.F. Ve.Ph	◎
310	무한	중조	장타원	22.6	red	LG	2.2	8.5	8	2,689	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Ph	★
311	무한	중	단타원	17.0	red	G	1.7	7.8	8	2,023	Ty1,3.Tm.F.Ve.Cf	○
312	유한	중조	장원형	18.7	red	LG	1.8	8.0	7	2,225	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
313	무한	중	단타원	22.4	orange	G	1.5	8.2	8	2,665	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
314	무한	중	단타원	19.5	red	LG	1.8	7.8	7	2,320	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
315	무한	중	장타원	20.0	red	LG	1.5	7.8	8	2,380	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	○
316	무한	중조	장타원	21.6	red	LG	2.0	8.0	7	2,570	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
317	무한	조	장타원	18.9	red	LG	1.7	8.5	8	2,249	Ty1,3.Tm.F. Ve.Cf	○
318	무한	조	원형	18.5	red	G	1.8	8.3	8	2,201	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
319	무한	중조	단타원	17.8	red	LG	1.8	8.0	8	2,118	Ty1,3.Tm.N.F. Ve.Cf	◎
320	무한	중	단타원	20.3	red	LG	1.5	7.8	8	2,415	Ty1,3.Tm.F.Cf	◎
321	무한	중	단타원	16.8	pink	LG	1.4	8.2	8	1,999	Ty1,3.Tm.N.F.	○
322	무한	중조	장타원	17.9	red	LG	1.8	8.0	8	2,130	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
323	무한	중조	장타원	20.2	red	G	2.0	8.3	8	2,403	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
324	무한	중조	단타원	18.4	red	G	1.7	8.0	8	2,189	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
325	무한	중조	원형	19.2	brown	G	F	7.8	8	2,284	Ty1,3.Tm.F.Ve	○

326	무한	조	원형	15.7	brown	LG	MF	7.8	8	1,868	Ty1,3.Tm.F.Ve	○
327	무한	중조	단타원	17.4	green/ red	G	F	8.0	8	2,070	Tm.F.Ve	◎
328	무한	중조	원형	18.2	red	LG	F	7.8	8	2,165	Tm.N.F	◎
329	무한	중조	원형	18.6	red	LG	F	8.2	8	2,213	Tm.F.Ve	◎
330	무한	조	단타원	19.0	yellow	LG	MF	8.5	8	2,261	Tm.F.Ve	◎
331 (대비종)	무한	중조	원형	20.5	orange	G	F	8.2	8	2,439	Tm.F.Ve	◎

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 과균일도, 9 Excellent - 1 poor

*** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F2: fusarium race2, N: nematode,
Cf: cladosporium, V: verticillium, LS: leaf spot. Ph: phytophthora

총평²: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통

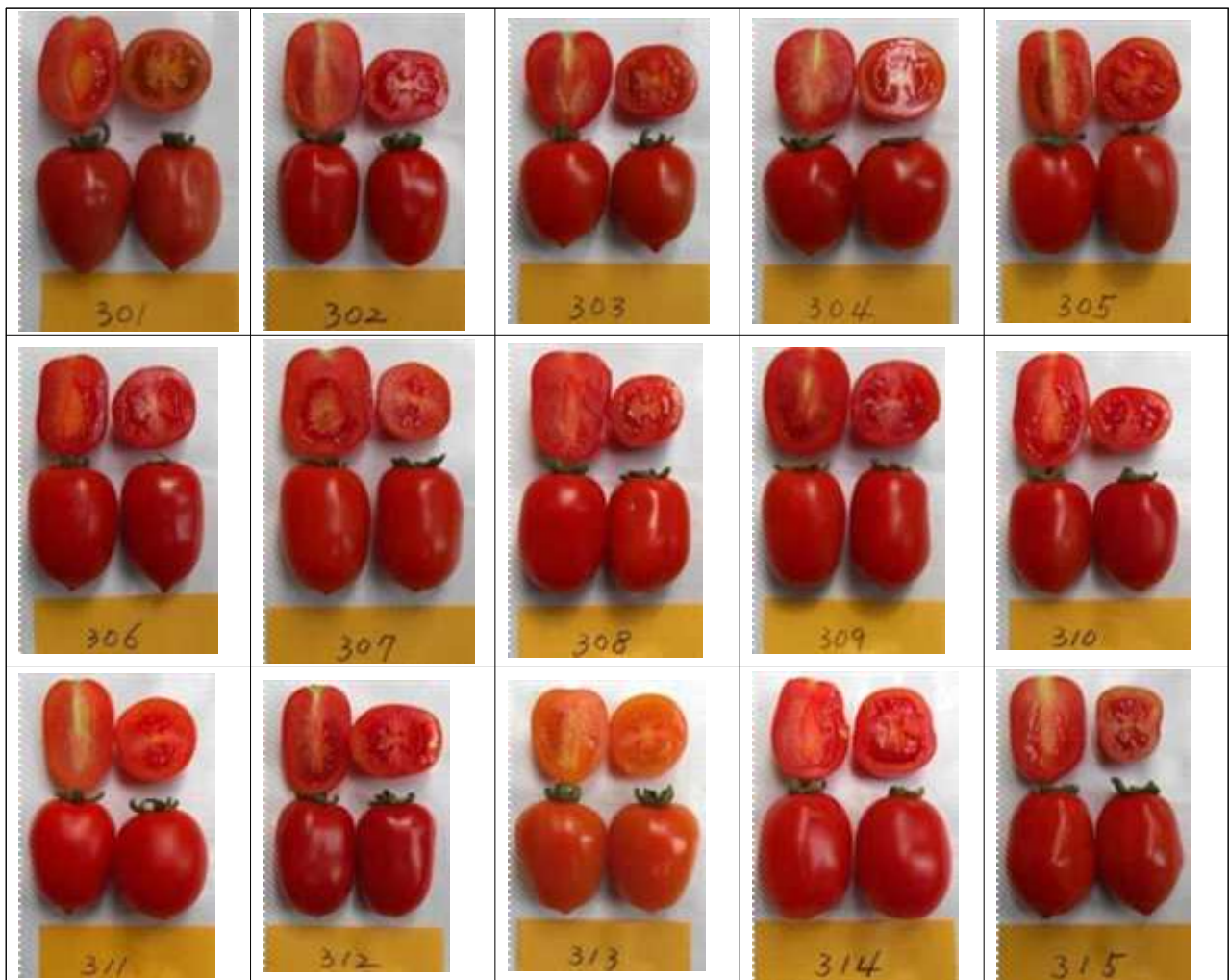




Figure 19. Pictures of mini tomato F_1 hybrids in 2013-2014 year trial

○ 농가실시함을거쳐 BN310은 ‘브라보TY’ 로 품종생산판매신고를 하고 중국과 한국에 launching 준비중이다.



Figure 18. Performance of mini tomato at farmers' field trial in 2013-2014 year

7. 제5차년도 F₁ 조합 선발시험 및 농가실증시험

가. 대과토마토 F₁ 조합 선발시험

(1) 시험방법

공시 : Pink대과(粉紅大果) 28조합 대비종 2품종

Red대과(大紅果) 18조합 대비종 2품종

파종 : 2014년 7월 4일, 40구 트레이에 점파, 정식 : 2013년 8월 28일

수확 : 2014. 11월 ~ 2015. 3월

시설 : 日光하우스(sunny green house), 재식거리 : 폭100cm x 주간35cm (외출재배)

시험주수 : 12주 2반복, 착과 : 토마토톤 100-120배 처리

시험장소 : 중국 산둥성 壽光市 古城鎮 趙家村

시험농가 : 王安森 전화: 187-0658-7698

기타관리 : 중국 현지 농가재배 방식과 같이 관리함

(2) 시험결과

- 초형, 절간, 숙기, 착과성, 과균일도, 경도, 내병성 등을 종합평가하여 pink대과계 19조합, red대과계 13조합을 선정하였다.
- 핑크대과로 602, 626이 Best로 선발하였으며, **BN602**는 215g 정도에 base green이 없고 경도 2.4로 단단하며 황화바이러스, 선충, 시들음병, 근부위조병, 잎곰팡이병, 점무늬병 등에 멀티 내병성을 지니고 있다, **BN626**은 유한생장형으로 절간이 짧고 경도 2.5로 단단하며 과균일도가 매우 좋으며 멀티내병성 조합으로 선발하였다.

Table 34. Evaluation data of pink big tomato F₁ hybrids in 2014-2015 year trial

2014 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장성)	당도 (brix)	과** 균일도	수량 (g)	내병성***	총평 ^Z
601 (대비종)	무한	중	편구	207	pink	NG	2.4	4.8	8	3,519	Ty1.3.Tm.F.Ve.LS	◎
602	무한	중	고구	215	pink	G	2.2	6.0	8	3,655	Ty1.3.Tm.N.F.Ve.Fr. Cf.LS	★
603	무한	중	고구	208	pink	NG	1.8	5.2	7	3,536	Ty1.Tm.F.Ve.LS	○
604	무한	중만	고구	205	pink	NG	2.0	5.0	8	3,485	Ty1.Tm.N.F.LS	◎
605	무한	중	고구	207	pink	NG	2.2	5.0	8	3,519	Tm.N.F.Ve.LS	◎
606	무한	중조	고구	215	pink	NG	2.2	5.0	8	3,655	Ty1.Tm.F.Ve.LS	◎
607	무한	중만	고구	212	pink	LG	1.9	5.2	8	3,604	Tm.N.F.Ve.Fr.Cf.LS	◎
608	무한	중조	고구	200	pink	LG	1.8	6.0	8	3,400	Ty1.Tm.F.N.Ve.LS	◎
609	무한	중	고구	222	pink	LG	2.0	5.5	7	3,774	Ty1.Tm.N.F.LS	○
610	무한	중만	편구	225	pink	NG	2.0	4.7	8	3,825	Tm.N.F.Ve.Fr.Cf. LS.Ph	○
611	무한	중	고구	190	pink	NG	2.2	5.2	8	3,230	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	◎
612	무한	중만	고구	222	pink	LG	1.8	5.8	8	3,774	Ty1.Tm.N.F.Ve.Fr LS	◎
613	유한	조	고구	183	pink	NG	1.8	5.5	8	3,111	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	◎
614	유한	중조	편구	190	pink	LG	2.0	5.2	8	3,230	Ty1,3.Tm.F.LS	◎
615	무한	중	고구	205	pink	NG	2.3	5.2	8	3,485	Tm.N.F.Ve.LS	◎
616	무한	중	고구	208	pink	NG	2.2	5.0	8	3,536	Tm.N.F.Ve.LS	◎
617	무한	중조	편구	205	pink	LG	1.6	5.2	8	3,485	Tm.N.F.Ve.Cf.LS	○
618	무한	중조	고구	220	pink	LG	1.8	5.0	8	3,740	Ty1,3.Tm.N.F.Fr. Ve.LS	◎
619	무한	중만	고구	224	pink	NG	1.5	4.8	7	3,808	Ty1,3.Tm.N.F.Cf. LS	○
620	무한	중만	편구	220	pink	NG	1.7	5.0	8	3,740	Ty1,3.Tm.F.LS	○
621	무한	중조	편구	200	pink	LG	1.8	5.6	9	3,400	Ty1,3.Tm.F.Ve.Fr.Cf. LS	◎
622	무한	중	고구	228	pink	LG	2.0	5.3	8	3,876	Ty1.3.Tm.N.F.Ve.LS. Ph	◎
623	무한	중	고구	212	pink	NG	2.2	5.0	8	3,604	Ty1.3.Tm.F.Ve.LS	◎
624	유한	중조	편구	208	pink	NG	2.2	5.5	8	3,536	Ty1.3.Tm.F.Ve.LS	◎
625	유한	조	편구	193	pink	NG	1.7	5.0	8	3,281	Ty1.3.F.Ve.LS	○

626	유한	중조	고구	207	pink	NG	2.5	5.3	9	3,519	Ty1.3.Tm.N.F.Ve.LS	★
627	무한	중	고구	213	pink	LG	2.2	5.6	8	3,621	Ty1.3.Tm.F.Ve.Fr.Cf LS	◎
628	무한	중	고구	215	pink	DG	2.2	6.0	8	3,655	Ty1.3.Tm.N.F.Ve.Fr. LS	◎
629	무한	중만	편구	230	pink	NG	2.2	5.6	8	3,910	Tm.N.F.Ve.LS	◎
新蔓多拉 (대비중)	무한	중	고구	227	pink	NG	2.4	4.8	8	3,859	Ty1.3.Tm.N.F.LS	◎

* 어깨색, LG: light green, G: green, DG: dark green, NG: no green

** 과균일도, 9 excellent - 1 poor

*** 내병성, Ty1,3: TYLCV, Tm: Tomato Mosaic Virus, F: fusarium race2, N: nematode,

Fr: Fusarium radicans, Cf: cladosporium, V: verticillium, LS: leaf spot. Ph: phytophthora

총평² : ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통





Figure 21. Pictures of pink big tomato F₁ hybrids in 2014-2015 year trial

- 레드대과로 634는 고구형에 어깨색이없고 경도 2.6, 당도 5.0이며, 과균일도 9로 매우 uniform 하며 황화바이러스, 선충, 점무늬병 등에 내병성이 있어 선발했다, 특히 대부분의 red 대과 토마토 품종은 LS(점무늬병) 저항성이 없는데 비해 선발조합 BN634는 점무늬병에 저항성이 있어 차별화 될 수 있다 (Table 35, Figure 22).

Table 35. Evaluation data of red big tomato F₁ hybrids in 2014-2015 trial

2014 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 * (저장성)	경도 (저장성)	당도 (brix)	과** 균일도	수량 (g)	내병성***	총평 ^Z
631 (대비종)	무한	중만	편구	220	red	NG	2.5	4.5	9	3,740	Ty1.3.Tm.N.F	◎
632	무한	중	편구	212	red	NG	2.2	5.0	9	3,604	Ty1.3.Tm.N.F	◎
633	무한	중	고구	228	red	NG	2.0	4.8	7	3,876	Ty1.3.Tm.F	○
634	무한	중조	고구	208	red	NG	2.6	5.0	9	3,536	Ty1.3.Tm.N.F.Ve.LS	★
635	무한	중	고구	223	red	NG	2.4	4.8	8	3,791	Ty1.3.Tm.N.F.Ve	◎
636	무한	중만	고구	235	red	NG	2.0	5.2	8	3,995	Ty1.3.Tm.F	○
637	무한	중만	고구	228	red	NG	2.4	5.0	8	3,876	Ty1.3.Tm.N.F.Cf	◎
638	무한	중	고구	224	red	LG	2.4	5.8	8	3,808	Ty1.3.Tm.N.F	◎
639	무한	중	고구	213	red	NG	2.2	5.2	9	3,621	Ty1.3.Tm.N.F.LS	◎
640	무한	중만	고구	227	red	NG	2.5	4.7	8	3,859	Ty1.3.Tm.F	◎
641	무한	중	고구	216	red	NG	2.5	5.6	9	3,672	Ty1,3.Tm.F.Ve.LS	◎
642	무한	중	편구	218	red	NG	2.3	4.9	8	3,706	Ty1.3.Tm.N.F.Ve	◎
643	무한	조만	편구	230	red	NG	2.2	5.1	8	3,910	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
644	부한	중	고구	225	red	LG	2.4	5.6	8	3,825	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
645	무한	중	고구	228	red	LG	2.5	5.4	8	3,876	Ty1.3.Tm.N.F.Ve	◎
646	무한	중만	고구	212	red	NG	1.9	5.0	8	3,604	Ty1.3.Tm.F.Ve.LS	○
647	무한	중조	편구	220	red	NG	2.3	5.2	8	3,740	Ty1.3.Tm.F.Ve.LS	◎
648	무한	중	편구	226	red	NG	2.2	4.8	8	3,842	Ty1,3.Tm.N.F	◎
649	무한	중만	고구	228	red	NG	2.2	4.8	8	3,876	Ty1,3.Tm.N.F	◎
650 (대비종)	무한	중만	고구	220	red	NG	2.6	5.0	9	3,740	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎



Figure 22. Pictures of red big tomato F₁ hybrids in 2014-2015 year trial

○ 농가실증시험

- 핑크대과 **BN602**는 절간이 짧고 조생에 착과비대가 균일하고, 어깨색이 진하며 당도가 6.0으로 식미가 뛰어나며, Ty.Tm.F.Fr.V.Cf.LS 등에 내병성으로 ‘TY맛나’로 품종생산판매를 하여 보급용 종자생산을 하고 있다.

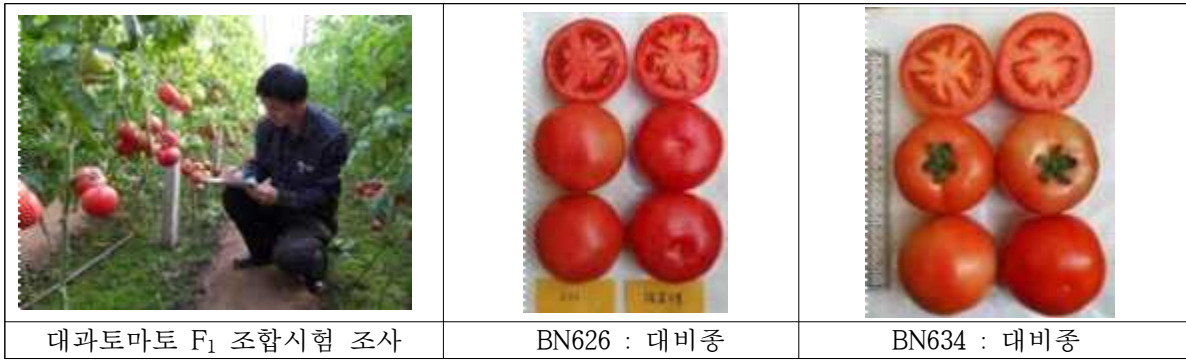


Figure 23. Evaluation of big tomato F₁ hybrids and selected combinations compared to Check.

나. 미니토마토 F₁ 조합 선발시험

(1) 시험방법

공시 : 23조합 대비종 2품종

과종 : 2014년 7월 4일, 40구 트레이에 점과, 정식 : 2013년 8월 28일

수확 : 2014. 11월 ~ 2015. 3월

시설 : 日光하우스(sunny green house), 재식거리 : 폭100cm x 주간35cm (외줄재배)

시험주수 : 12주 2반복, 착과 : 토마토톤 100-120배 처리

시험장소 : 중국 산둥성 壽光市 古城鎮 趙家村

시험농가 : 王安森 전화: 187-0658-7698

기타관리 : 중국 현지 농가재배 방식과 같이 관리함

(2) 시험결과

- 미니토마토 F₁ 조합 선발시험 결과 BN655는 red color 장타원형으로 23g 정도에 과면이 주름이 없고 어깨색은 light green에 경도가 2.0으로 단단하고 황화바이러스(ty1.3), 토마토모자이크바이러스(Tm), 선충(N), 시들음병(F), 잎곰팡이(Cf) 등에 내병성을 가지는 조합으로 선발되었다. BN661은 pink color, 과중 22g에 장타원형이며, 경도 2.2로 매우 단단하며, 당도 brix 8.7로 맛이 좋으며, 황화바이러스, 잎곰팡이병, 역병 등에 내병성을 가진 조합으로 선발하였다, 특히 중국에는 pink color 미니토마토가 주품종이므로 향후 **BN661**은 확대시험을 거쳐 품종화될 가능성이 매우 높다고 할 수 있다 (Table 36, Figure 24).

Table 36. Evaluation data of mini tomato F₁ hybrids in 2014-2015 year trial

2014 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (저장성)	당도 (맛)	과** 균일도	수량 (g)	내병성***	총평 ^Z
651 (대비중)	무한	중	타원	20.2	pink	LG	1.8	8.2	8	2,403	Ty1,3.Tm.F	◎
652	무한	중	타원	22.4	red	LG	1.6	8.5	8	2,665	Ty1,3.Tm.F	◎
653	무한	중조	타원	17.7	red	LG	1.6	8.7	8	2,106	Ty1,3.Tm.N.F.Cf. Ph	◎
654	무한	중조	장타원	21.2	red	LG	1.8	8.5	8	2,522	Ty1,3.Tm.N.F	◎
655	무한	중조	장타원	23.0	red	LG	2.0	8.5	8	2,737	Ty1,3.Tm.N.F.Cf	★
656	무한	중조	단타원	15.8	red	LG	1.8	8.0	8	1,880	Ty1,3.Tm.N.F.Ve. Fr	◎
657	무한	중	단타원	17.7	orange	LG	1.7	8.7	8	2,106	Ty1,3.Tm.F.Ve	◎
658	무한	중	장타원	22.2	orange	LG	1.7	8.8	8	2,641	Ty1,3.Tm.F.Ve.P h	◎
659	무한	중조	장타원	20.4	red	LG	1.8	8.2	8	2,427	Ty1,3.Tm.F	◎
660	무한	중	장타원	20.8	red	LG	1.5	7.8	8	2,475	Tm.N.F.Ve	◎
661	무한	중	장타원	22.5	pink	LG	2.2	8.7	8	2,677	Ty1,3.Tm.N.F.Ve. Cf.Ph	★
662	무한	중	장타원	23.1	red	LG	1.8	8.2	8	2,748	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
663	무한	중만	장타원	18.9	red	LG	1.5	7.8	8	2,249	Ty1,3.Tm.F	○
664	무한	중조	원형	17.2	red	LG	1.7	8.0	8	2,046	Ty1,3.Tm.N.F.Ve. Cf	◎
665	무한	중조	원형	17.6	orange	LG	1.5	8.8	8	2,094	Ty1,3.Tm.F.Ve	◎
666	무한	조	단타원	15.0	red	LG	1.2	8.2	7	1,785	Tm.N.F	○
667	무한	중	단타원	18.4	red	LG	1.4	8.5	8	2,189	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
668	무한	중만	장타원	23.1	orange	LG	1.8	8.2	8	2,748	Ty1,3.Tm.N.F.Ph	◎
669	무한	중만	장타원	20.7	red	LG	1.8	8.0	7	2,463	Ty1,3.Tm.N.F	○
670	무한	중	장타원	18.8	orange	LG	1.7	8.5	8	2,237	Ty1,3.Tm.N.F	◎
671	무한	중	장타원	22.1	red	LG	2.0	8.2	8	2,629	Ty1,3.Tm.F.Ve	◎
672	무한	조	원형	15.7	red	G	1.4	9.0	9	1,868	Ty1,3.Tm.N.F.Ve	◎
673	무한	조	단타원	17.2	red	LG	1.7	8.5	8	2,046	Ty1,3.Tm.F.Ve	◎
674	무한	중조	원형	18.6	red	LG	1.5	8.8	9	2,213	Ty1,3.Tm.N.F	◎
675 (대비중)	무한	중	장타원	20.3	pink	LG	2.0	8.4	8	2,415	Ty1,3.Tm.N.F	◎





대비종 : BN661

Figure 24. Pictures of mini tomato F₁ hybrids in 2014-2015 year trial



Figure 25. Farmers' field trial of mini tomato in 2014-2015 year

제 7 절 원종증식 및 시교채종

- 최종선발된 조합과 상품화된 품종들에 대한 원원종, 원종증식과 시교채종, 판매용 종자를 생산하여 확대시험하거나 보급용 종자로 사용하였다 (Table 37, Figure 26).

Table 37. List of foundation seed multiplication and hybrid seed production each year

구 분	품종수	원종증식
2차년도	4 hybrids	8 lines
3차년도	6 hybrids	12 lines
4차년도	8 hybrids	16 lines
5차년도	10 hybrids	20 lines
계	28 hybrids	56 lines



Figure 26. Foundation seed increasing management, artificial pollination and inspection of crossing.

연구개발수행 내용 및 결과

<제2세부과제>

제 1 절 마커이용여교잡(MAB)을 위한 반복친 계놈 선발용 마커개발

1. 연구배경 및 목적

분자 마커는 여교잡 육종에도 활용될 수 있는데, 이러한 분자마커이용여교잡 (Marker-assisted backcross, MAB)은 하나 또는 소수의 특정 형질 유전자를 가진 공여친 (donor parent)을 우수한 형질을 지닌 회복친(recurrent parent)과 교잡하여 만들어지는 F1을 다시 회복친과 반복 교잡함으로써 우수한 형질에 원하는 특정 유전자를 가진 개체를 선발하는 과정에서 분자마커를 이용하는 방법이다(Herzog and Frisch, 2011).

MAB는 크게 공여친의 특정 유전자를 선발하는 공여친 유전자 선발(foreground selection)과 회복친의 전체 계놈(genome)을 선발하는 회복친 유전자 선발(background selection)로 구성되는데, 공여친 유전자 선발은 공여되는 특정형질의 유전자 연관마커를 이용하는 반면, 회복친 유전자 선발은 회복친의 각 염색체 별로 균등히 분포된 마커들을 이용해 여교잡 세대에서 순차적으로 이루어진다. 이러한 MAB를 통해 공여친 유전자와 회복친 유전자들을 효과적으로 선발 할 수 있고, 이입된 유전자위의 연관지연(linkage drag)을 최소화 할 수 있으며, 여교잡 세대별 회복친 계놈의 회복률이 높은 개체를 유묘기에 효율적으로 선발함으로써 육종연한 단축뿐 아니라 노동력, 공간 등을 크게 절감할 수 있다(Collard and Mackill, 2008; Hospital, 2001; Servin and Hospital 2002).

토마토의 경우 내병성을 비롯한 많은 유용형질 유전자들이 야생종에서 발견되고 있기 때문에(Foolad, 2007) MAB를 활용하여 이들 유용유전자들을 고품질 계통으로 신속히 도입(introgression)할 수 있는 육종과정이 요구된다. 효과적인 MAB를 위해서는 공여친과 회복친의 전 계놈에 고루 분포하며 두 교배친간 다형성을 보이는 분자마커의 확보가 우선적으로 필요하다. 비록 국내에서 토마토의 내병성 및 주요 형질 연관마커에 대한 보고(Park et al., 2010a; Park et al., 2010b)는 이루어지고 있으나, MAB에 활용할 수 있는 회복친 계놈 특이적 마커선발에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다.

Simple sequence repeats (SSRs) 또는 microsatellites는 대부분 2-4bp의 단일염기의 반복으로 이루어진 DNA 염기서열로 DNA 복제 과정 중에 증합효소의 미끄러짐 현상이나 불공평한 교차의 결과로 품종 또는 개체간의 다형성이 생긴다. SSR 마커는 PCR을 기반으로 높은 재현성과 다대립유전자위(multi-allelic nature), 공우성 유전과 같은 장점과 마커검정에 있어 신속하고 비용이 저렴하여 식물육종과 유전체 연구에 많이 이용되고 있다(He et al., 2003;

Hwang et al., 2011; Levinson and Gutman, 1987). 특히 토마토의 경우 SSR 마커로 이루어진 고밀도 유전자지도들이 공시되어 있어 전체 계통에 균등히 분포된 SSR 마커의 선발 및 활용이 매우 용이하다.

본 연구에서는 국내 토마토 내병성 계통 MAB 수행을 위한 기초자료 수립을 목표로 내병성 및 고품질 토마토 계통 유전자원의 확보와, 확보된 유전자원에 대한 계통 선발용 SSR 마커개발 및 다형성 검정을 수행하였다. 또한 토마토 유전자원간 유연관계 분석을 통하여, MAB 적용이 비교적 용이한 공여친과 회복친 조합을 선발하고자 하였다.

2. 연구 재료 및 방법

가. 식물시료 및 DNA 추출

황화잎말림바이러스, 청고병, 흰가루병, 역병에 대해 내병성으로 알려진 계통(공여친 후보) 10점과 소과, 중과, 대과의 국내 재배에 적합한 우수 원예형질 계통(회복친 후보) 4점을 수집하였다(Table 1). DNA 추출을 위해 토마토 잎 1-2g을 1.5mL microcentrifuge tube에 steel beads와 600 μ L DNA extraction buffer를 넣고 TissueLyser(QIAGEN, Netherlands)를 이용하여 분쇄한 다음 65 $^{\circ}$ C에서 45분 동안 반응시켰다. 그 다음 7.5M ammonium acetate 용액 200 μ L를 첨가한 후 4 $^{\circ}$ C에 20분간 반응시킨 후, 14,240Xg에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 새로운 1.5mL tube에 옮긴 후 glycogen solution(5mg \cdot mL $^{-1}$) 용액 5 μ L와 isopropanol 600 μ L를 첨가 후 잘 혼합하고 이를 14,240Xg 에서 10분간 원심분리 시키고 난 뒤 상층액을 버리고 DNA pellet을 70% Et-OH 용액 300 μ L로 세척하였다. Pellet을 완전히 건조시킨 후 0.1M Tris 용액 200 μ L에 용해시켰다. 추출한 DNA는 Nano-drop 1000(Thermo Scientific, USA) 분광광도계로 정량분석을 하였다.

나. 내병성 생물검정

각 병에 대한 생물검정은 내병성으로 알려진 각 공여친 후보 계통과 이병성으로 알려진 4개의 회복친 후보 계통들의 병반응을 재확인하는 수준에서 이루어졌다. 토마토 청고병 검정은 김천지역의 이병주로부터 분리한 청고병 병원균SL341(*Ralstonia solanacearum* race 1) (Jeong et al., 2007)을 CPG broth 액체 배지에서 37 $^{\circ}$ C, 180rpm으로 18시간 정도 배양하여 0.3O.D. 농도로 희석한 후, 토마토 유묘의 본엽 4~5매 단계에 식물 뿌리에 4mL씩 분주하여 10개체 반복으로 접종하였다. 접종 후 16h-light(126 μ mol \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$)/8h-dark cycle 28 \pm 2 $^{\circ}$ C 조건의 growth chamber에서 발병을 유도하였다. 발병도의 조사는Lee et al.(2011)의 방법에 따라 접종 후 2주째에 잎의 시들음 증상을 확인하였다.

흰가루병의 병원균(*Erysiphe cichoracearum*)은 활물기생으로서, 유전자원의 내병성은 2010

년 가을, 부산대학교 유리온실 내에서 자연발병을 통해 확인하였다. 발병도는 5개체 반복으로 본엽 3~4매의 유묘단계에서 성묘단계까지 흰가루 포자의 형성정도를 달관조사하였다.

토마토 시들음역병의 검정은 2010년 가을 강릉원주대학교에서 수행하였으며, 동 대학이 보유한 KA2 균주(*Phytophthora infestans*)의 포자현탁액(105sporangia/mL)을 13℃에서 2.5시간 동안 저온처리하여 유주자를 유출시킨 후 준비된 토마토 유묘에 반복당 10개체씩 3반복으로 분무 접종하였다. 병원균을 접종한 토마토 유묘는 20℃ 습실상에서 48시간 습실처리한 후 20℃ 항온항습실(상대습도 95%이상)로 옮겨 3일간 발병시킨 후 발병도를 조사하였다. 발병도는 발병정도에 따라 발병 계수 0=병징 없음, 1=극히 일부의 잎에 발병, 2=1/4정도의 잎에 발병, 3=1/2정도의 잎에 발병, 4= 3/4정도의 잎에 발병으로 하여 다음과 같은 방법으로 산출하였다.

$$\text{발병도}(\%) = \frac{\sum(\text{발병수} \times \text{발병계수})}{(4\text{개체수})} \times 100$$

TYLCV 내병성 검정은 2010년 가을, 경상남도 농업기술원 온실 내에서 보독된 온실가루이를 살포하여 발병도를 확인하였으며 자세한 방법은 Kim et al. (2010)에 기술되어 있다.

다. TYLCV 내병성 분자마커 검정

TYLCV 내병성 선발(공여친 유전자 선발)을 위하여 Park et al.(2010)의 마커 primer 정보와 PCR 조건에 따라 분자마커 검정을 수행되었다.

라. 여교잡용 SSR 마커 개발

가지과 유전정보 데이터베이스(SOL Genomics Network, SGN; <http://www.solgenomics.net>)에 공개된 3개의 토마토 유전자지도(EXPEN 2000, LXCHM 2007, EXPIMP 2008) 정보에 따라, 각 염색체 별로 약 10cM 간격으로 평균 9개씩, 총 108개의 SSR 마커를 선발하여 PCR primer set을 합성하였다. 6, 11, 12번 염색체의 경우 공시된 SSR 마커 수의 부족으로, 각각 5, 5, 3개의 마커를 선발하였다. 선발된 모든 SSR 마커에 대한 SSR primer 염기서열, SSR motif, 유전자지도상의 위치 등에 대한 자세한 정보는 SGN에서 확인 할 수 있다.

SSR 마커 검정을 위한 PCR 용액의 조성은 20ng의 genomic DNA, 10X PCR buffer, 10mM dNTPs, 50μM forward, reverse primer, Taq DNA polymerase(5U·μL⁻¹)0.2μl(Solgent,Koera)를 혼합하여 이용하였다. PCR condition은 95℃에서 5분 간 반응시키고, 94℃에서 15초, 60℃에서 1 cycle 마다 0.5℃로 온도가 떨어지도록 30초씩 진행하고 72℃에서 1분간 10 cycle 동안 수행하고 94℃에서 15초, 55℃에서 30초, 72℃에서 1분간 35 cycle을 반복한 후 72℃에서 3분 간 반응하였다. 전기영동은 2.5% agarose gel(Certified TM

Molecular Biology, Bio-Red, USA)을 사용하여 120V에서 약 2시간 동안 수행하였다. PCR 생성물은 Ethidium Bromide로 stain 시킨 후 UV light로 확인하였다.

마. SSR 마커 다형성 및 유연관계 분석

DNA 시료로부터 강하게 증폭된 PCR 밴드를 각 유전자위(SSR primer set)에 대한 대립유전자(allele)로 간주하고, 대립유전자의 유무에 따라 '1' 또는 '0'으로 하여 genotyping 한 후, data matrix를 작성하였다. 각 SSR 마커(primer set)의 Polymorphic Information Content(PIC) 값은 다음과 같은 식으로 산출하였다(Botstein et al., 1980). PIC_i는 특정(i) SSR 마커의 다형성을 나타내는 지표로써 i는 SSR 마커이고 j는 마커의 다형성 패턴의 빈도 수이며 n은 j의 수를 의미한다. 유연관계 분석을 위한 계통간 유사성 계수분석은 Nei-Li(Nei and Li, 1979) 방식을 따라 $2a/(n-d)$ 의 식으로 산출되었는데, a는 '1'로 표기된 유전자위의 수이고 d는 '0'으로 표기된 유전자위의 수이며 n은 전체 유전자위의 수이다. 계통군(Clustering)과 계통수(dendrogram) 분석은 유전적 거리값을 기초로 비가중평균결합법(Unweighted pair-group method on arithmetic averaging, UPGMA) (Sokal and Michener, 1958)을 이용하여 수행하였다. 모든 분석은 NTSYS-pc version 2.02k software (Rohlf, 2002)를 사용하여 수행하였다.

마. 여교잡용 SNP 마커 개발

총 26개의 완숙토마토 계통과 22개의 방울토마토 계통을 이용하여 SolCAP Tomato SNP array (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) 분석을 수행하였다 (계통 리스트 생략). 유전자형 분석은 각 계통당 250 ng DNA를 추출하고 Infinium 분석에 맞는 프로코콜을 기반으로 분석하였으며 SNP calling은 GenomeStudio version 1.7.4 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA)을 사용하였다. 계통간 유전적 다양성 분석은 277개 SolCAP 품종을 더하여 통합한 후 수행되었다. 총 7,146 개 다형성 SNP를 선별하고 이를 기반으로 계통간 principal component analysis (PCA)을 수행하였다. 48개 국내 수집종에 대한 PCA는 unweighted pair group mean algorithm (UPGMA)를 통해 재 분석 되었다. 또한 이들 계통들에 대해 SNP의 PIC value를 계산하여 다형성이 높은 SNP를 선별하고자 하였다.

3. 연구결과 및 고찰

가. 토마토 유전자원의 수집 및 평가

여교잡을 위한 내병성 토마토 10 계통과 고품질 4 계통들에 대해 생물검정과 분자마커를 통

해 내병성을 확인하였다(Table 1). 생물검정 결과, 청고병에 대해 저항성으로 알려진 국내 계통 'BWR1'과 미국과 중국 도입계통인 'Hawaii-7996', '10BA333', '10BA424' 의 경우 모든 반복개체에서 시들음 증상이 관찰되지 않아 내병성으로 확인되었다. 온실 내 유묘기 및 성묘기 흰가루병 검정에서는 'KNU9'와 'KNU12'로부터 포자의 형성이 발견되지 않아 강한 내병성이 관찰되었다. 시들음역병에 있어서는 'L3708'에서 발병도 3% 이하의 강한 내병성이 확인되었다 (Kim, 2012). 또한 바이러스 온실접종 실험에서는 TYLCV에 대한 내병성으로 알려진 미국 도입계통 'GC2711'과 국내 계통 'TYR1'과 'TYR2'에 대해 접종된 5개 반복개체 모두에서 병증상이 발견되지 않아 강한 저항성이 확인되었다. 내병성 연관 마커검정 결과에서도 'GC2711', 'TYR1', 'TYR2' 모두 Ty-1 저항성 유전자를 지닌 것으로 나타나 표현형과 일치함을 확인하였다. 따라서, 수집된 계통들의 내병성 여부가 기존 정보와 일치함을 확인 하였으며, 여교잡 육종의 우수한 공여친으로 활용될 수 있음을 알 수 있었다. 반면 회복친 4 계통에 대한 병리검정 결과, 모든 병에 대해 강한 이병성이 확인되었다.

나. SSR 마커의 PCR 확인과 염색체별 다형성

토마토 게놈에 균등히 위치한 총 108개 SSR 마커(SSR primer set)을 이용하여 14개 토마토 계통의 PCR 검정과 마커 다형성률을 분석하였다(Fig.1). 92(85.2%)개의 primer set에서 PCR 증폭이 성공적으로 이루어졌으며, 그 중 73(67.6%)개로부터 계통 간 다형성이 관찰되었다. 각 SSR 유전자위 당 평균 대립유전자 수는 3.29개로서 총 관찰 된 대립유전자 수는 303개였으며, 이 중 21(6.9%)개는 계통간 다형성이 없었으며, 282(93.0%)개는 다형성이었다. SSR 마커의 PIC 값은 평균 0.39로, SSR360 마커가 0.84로 가장 높았으며 SSR74, SSR76, SSR105, SSR136, SSR162, SSR276, SSR304, SSR326, SSR593, SSRB18031, SSRB105694 가 모두 0.12로 가장 낮았다. 염색체 별 마커들의 평균 다형성률을 볼 때, 6번 염색체의 5개 SSR 마커들이 0.53로 가장 높았고 5번 염색체의 5개 SSR 마커들이 0.25로 가장 낮았다(Table 2).

Table 1. List of 14 tomato inbred lines collected in this study and their resistances to different diseases.

Inbred line ^z	Source ^y	Trait ^x	Disease phenotyping ^w				TYLCV marker genotyping ^v		
			TYLCV	BW	PM	LB	TY1	TY2	TY3
GC2711	UW	M, IM	R	-	-	-	R	S	S
TYR1	TLSRC	S, I	R	-	-	-	R	S	S
TYR2	TLSRC	ML, I	R	-	-	-	R	S	S
Hawaii-7996	NIHHS	S, D	-	R	-	-	S	S	S
BWR1	TLSRC	M, D	-	R	-	-	S	S	S
10BA333	NIHHS	M, IM	-	R	-	-	S	R	S
10BA424	NIHHS	M, IM	-	R	-	-	S	R	S
KNU9	KWNU	M, I	-	-	R	-	S	S	S
KNU12	KWNU	M, I	-	-	R	-	S	S	S
L3708	NIHHS	S, I	-	-	-	R	S	S	S
RPL1*	TLSRC	L, I	S	S	S	S	S	S	S
RPL2*	TLSRC	S, D	S	S	S	S	S	S	S
RPL3*	TLSRC	M, I	S	S	S	S	S	S	S
AV107-4*	NIHHS	L, I	S	S	S	S	S	S	S

^zAdapted inbred lines that are useful as recurrent parents in backcross breeding are indicated by *.

^yUW, University of Wisconsin-Madison; TLSRC, Tomato Life Science & Research Center; NIHHS, National Institute of Horticulture and Herbal Science; KWNU, Kangrung-Wonju National University.

^xM, medium; S, small; L, large; ML, medium-large sized fruit; I, indeterminate, D, determinate; IM, intermediate growth.

^wTYLCV, Tomato Yellow Leaf Curl Virus; BW, Bacterial wilt; PM, Powdery mildew; LB, Late blight; R, resistance; S, susceptibility; -, disease assay was not conducted in this study. ^vTY1, TY2, and TY3, marker for theTYLCV –resistant gene *Ty-1*, *Ty-2*, and *Ty-3*, respectively.

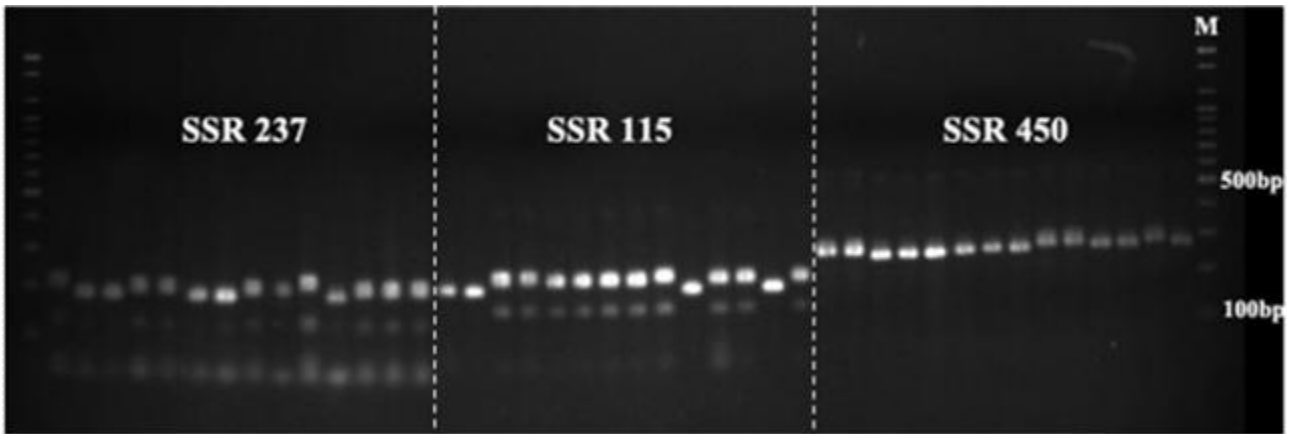


Fig. 1. Agarose gel image showing PCR products amplified by tomato SSR markers (SSR237, SSR115, and SSR450) that were polymorphic among 14 tomato lines used in this study. From the right to left, each lane corresponds to the DNA samples listed in Table 1. M, size standard marker.

Table 2. Evaluation of SSR makers for background selection in marker-assisted backcross and the number of markers per each chromosome that are polymorphic among 14 tomato lines tested.

Chromosome	No. of SSR markers		
	Tested	Amplified	Polymorphic
1	21	16	11
2	10	10	7
3	9	9	9
4	10	10	7
5	7	7	5
6	5	5	5
7	7	4	4
8	7	6	4
9	10	6	5
10	14	11	8
11	5	5	5
12	3	3	3
Total	108	92(85.2%)	73(67.6%)

확보된 내병성 유전자원 간 유전적 다양성은 비교적 높은 편이었으며, 이는 사용된 SSR 마커들의 PIC 값의 분포로 유추할 수 있었다. 본 연구에서 사용된 14개의 계통을 92개의 SSR 마커로 검정한 결과 평균 3.29개의 대립유전자(allele) 수와 0.39의 평균 PIC 값이 관찰되었으며, 가장 높은 PIC 값은 0.84, 상위 30%의 PIC 값의 평균은 0.74로 높은 다형성률을 나타내었다. He et al.(2003)에 따르면 19개의 토마토 유전자원을 65개의 SSR 마커로 검정한 결과, 각 유전자위당 평균 2.7개 대립유전자, 평균 0.37의 PIC 값이 관찰되었고, 마커 LEta019이 5개의 대립유전자로 0.67의 가장 높은 PIC 값을 나타내었다. 또한, Benor et al.(2008)의 보고에 의하면 29개의 유한생장형과 10개의 무한생장형 토마토 유전자원을 35개 SSR 마커로 검정한 결과, 각 유전자위 당 평균 4.3개 대립유전자와 0.31의 PIC 값이 관찰되었고, 마커 AW037347에서 0.60로 가장 높은 PIC 값이 관찰되었다. 다른 작물과 마찬가지로 토마토 육종 또한 과형, 과색, 당도, 경도 등과 같은 농업적으로 중요한 형질들에 목적을 두고 품종을 육성하기 때문에 유전적 배경이 상당히 비슷하다. 하지만 본 연구에서 사용된 집단의 경우 재배종 뿐만 아니라, 대목용이나 야생형의 다양한 토마토 유전자원으로 이루어져 계통간 다형성이 비교적 높게 나타났다고 판단된다.

다. SSR 마커에 의한 유전적 다양성 및 유연관계

총 303개 대립유전자를 대상으로 14개 계통간 유연관계를 분석한 결과, 유사도값의 전체 범위는 0.33~0.80으로 계통간 가장 높은 유사도값(0.80)을 나타낸 것은 청고병에 저항성인 ‘10BA333’와 ‘10BA424’이었고, 가장 낮은 유사도 값(0.33)을 나타낸 것은 시들음역병에 내병성인 야생종 L3708(*Solanum pimpinelliflorum* L.)과 청고병에 저항성인 ‘10BA424’이었다. 유사도 값을 이용하여 UPGMA 분석한 결과, 유사도 0.58를 기준으로 나누었을 때 3개의 군(cluster)으로 분류되었다(Fig. 2).

첫번째 군(Cluster 1)은 TYLCV 저항성 계통(‘GC2711’, ‘TYR1’, ‘TYR2’)들과 감수성 계통 ‘RPL1’으로 구성되었는데, 이들은 공통된 저항성 재료를 이용한 육성과정에서 파생된 계통일 가능성을 보여준다. ‘GC2711’과 ‘TYR2’는 모두 TYLCV에 저항성이고 과형 또한 중과의 형태로 0.79의 높은 유사도를 나타낸 반면, ‘TYR1’은 방울토마토 계통으로서 ‘GC2711’, ‘TYR2’와 각각 0.65, 0.63의 유사도로 이들과 근연관계에 있었다. 토마토 계통의 유연관계는 과실 크기와 상관되어 있으며(Park et al, 2010), 본 연구의 경우 대과종인 ‘RPL1’은 ‘TYR2’를 Ty-1 유전자의 공여친으로, 소과종인 ‘RPL2’는 ‘TYR1’를 공여친으로 하여 여교잡할 때 비교적 단기간 내 저항성 대과종 토마토와 방울토마토 육성이 가능하리라 보여진다. 하지만 마커를 이용한

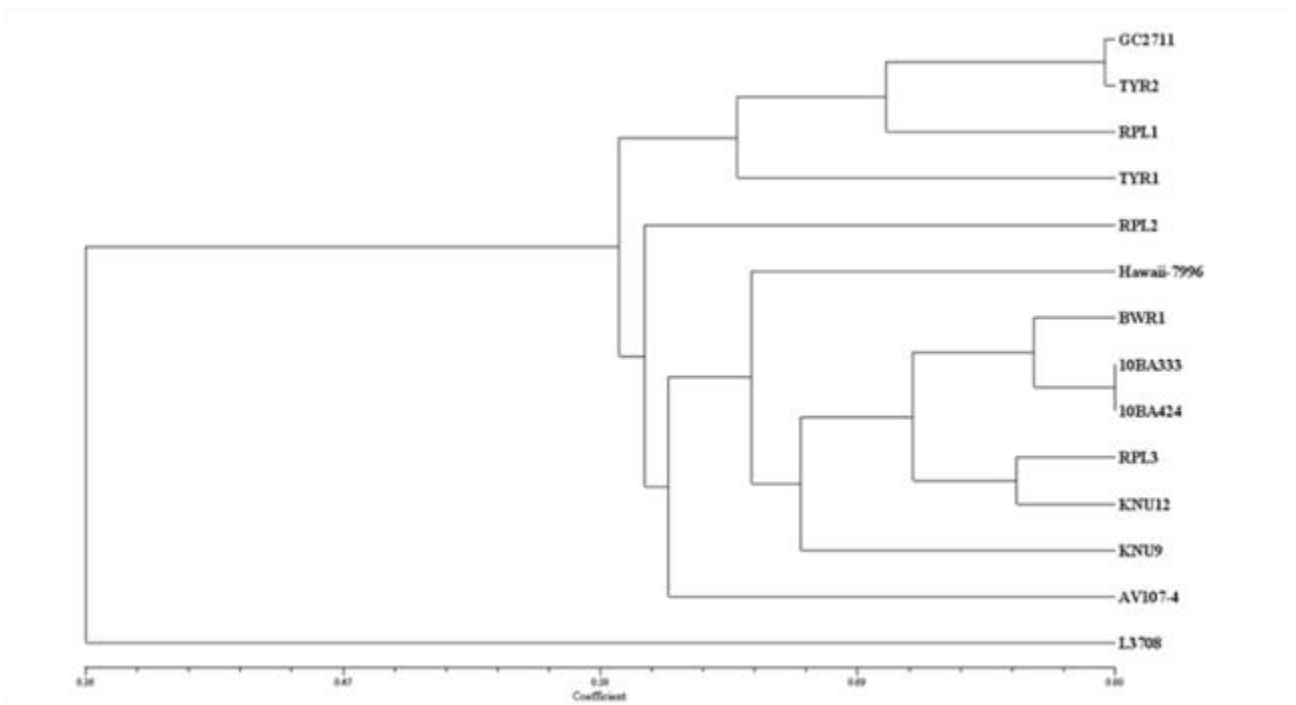


Fig. 2. A dendrogram showing the genetic relationship among 14 tomato cultivars and related species as revealed by 108 tomato SSR markers

회복친 유전자 선발을 통해 여교배 육종을 하기에는 이들 계통간 다형성 마커의 확보가 어려울 수 있어, 소과종인 ‘TYR1’을 공여친으로 대과종인 ‘RPL1’과 여교배 한다면 회복친 유전자 선발을 위한 마커 확보가 더욱 용이하리라 생각된다. 실제 Table 3에서 보여지듯이, 17개 SSR primer set에서 이들 두 계통간 다형성 마커가 관찰되었는데, 1번 염색체에서 4번 염색체까지는 이미 각 염색체 당 3개 이상의 background selection 마커가 확보되었고, 타 염색체에 대해서도 추가적인 마커선발이 이루어진다면 PCR 기반의 SSR 마커의 MAB가 가능하리라 본다.

두번째 군(Cluster 2)은 총 9개의 계통들로 구성되었는데, 청고병과 흰가루병 저항성 계통들이 주를 이루었다. 청고병에 대해서 저항성인 ‘10BA333’과 ‘10BA424’는 중국 도입종으로 중과의 노지재배용 유한생장형으로 높은 유사도값(0.80)을 보였으며, 국내 내병성 유한생장형 소과 계통인 ‘BWR1’도 이들과 가깝게 위치하였다. 근부위조병에 대해 저항성이라고 알려진 무한생장형 중과종 계통인 ‘RPL3’의 경우 이들 청고병 저항성 계통들과 높은 유사도값(0.70-0.76)을 보여(Fig. 2) 회복친으로 사용할 경우 단기간 여교잡 육종이 가능하리라 예상되지만, MAB를 위한 다형성 마커 확보는 어려울 것이다. 따라서 유사도 값이 비교적 낮은 우수계통인 ‘RPL1’

또는 ‘RPL2’과 여교배 시에는 높은 MAB 효율을 기대할 수 있을 것이다.

또한, 흰가루병 저항성이며 미국 도입계통인 ‘KNU9’와 ‘KNU12’가 같은 Cluster 2에서 근접하게 위치하고 있어 유전적으로 매우 유사한(0.67) 것으로 생각되며, 이들 외에 AVRDC 도입계통인 선홍색 중과의 ‘AV107-4’와 소과종인 ‘RPL2’가 이 cluster에서 가장 외곽에 위치하였다. ‘L3708’은 역병에 강한 저항성을 보이는 야생종으로서 타 계통들과 유전적 거리가 매우 멀었다. 따라서 ‘L3708’를 공여친으로 활용하는 여교잡에서 높은 효율의 MAB를 기대할 수 있는데, 한 예로 유사도 값이 0.41인 ‘L3708’과 ‘AV107-4’ 간 다형성인 SSR 마커가 45개 선발되어(Table 4), 이를 회복친 유전자 선발마커로 활용한다면 이들 계통간 MAB가 충분히 가능하리라 예상된다.

이와 같이 유전적 유사도에 기반한 계통수 분석을 통해 내병성 계통들 간 유전적 특성 및 상관관계 평가가 가능하였다. 일반적으로 동일한 병에 저항성을 지닌 계통간에는 매우 높은 유사도가 관찰되었는데, 이는 이들 계통이 동일한 육종계보나 육성경로로부터 파생되었을 가능성을 보여준다. 또한 계통수를 통해 MAB 효율을 기대할 수 있는 여교잡 계통 조합을 예상할 수 있는데, 계통간 유사도가 낮을수록 많은 수의 회복친 계통선발용 다형성 마커를 확보할 수 있어 MAB 효율을 증대시킬 수 있다.

Table 3. List of SSR markers that are useful for background selection in marker-assisted backcross (MAB) with a cross combination of ‘TYR1’ and ‘RPL1’.

Marker	SGN ID	Genetic Map	Chromosome	Position(cM)
TMS45	SGN-M11431	Tomato-LXCHM 2007	1	12.6
SSR266	SGN-M939	Tomato-EXPIMP 2008	1	41
SSR65	SGN-M738	Tomato-LXCHM 2007	1	61.2
SSR32	SGN-M705	Tomato-EXPIMP 2008	2	58
SSR50	SGN-M723	Tomato-EXPEN 2000	2	70.5
SSR331	SGN-M1004	Tomato-EXPEN 2000	2	78
SSR22	SGN-M695	Tomato-LXCHM 2007	3	26.8
SSR111	SGN-M784	Tomato-EXPIMP 2008	3	70
SSR22	SGN-M695	Tomato-EXPEN 2000	3	99
SSR43	SGN-M716	Tomato-EXPIMP 2008	4	15
SSR306	SGN-M979	Tomato-EXPIMP 2008	4	48
SSR450	SGN-M1123	Tomato-EXPEN 2000	4	54.5
SSR115	SGN-M788	Tomato-EXPIMP 2008	5	12
SSR128	SGN-M801	Tomato-EXPIMP 2008	6	37

SSR318	SGN-M991	Tomato-EXPIMP 2008	10	31
SSR360	SGN-M1033	Tomato-EXPEN 2000	10	39
SSR46	SGN-M719	Tomato-EXPEN 2000	11	40

Table 4. List of SSR markers that are useful for background selection in marker-assisted backcross (MAB) with a cross combination of ‘AV107-4’ and ‘L3708’.

Marker	SGN ID	Genetic map	Chromosome	Position (cM)
SSR92	SGN-M765	Tomato-EXPEN 2000	1	0
TMS45	SGN-M11431	Tomato-LXCHM 2007	1	12.6
SSR192	SGN-M865	Tomato-EXPIMP 2008	1	41
SSR105	SGN-M778	Tomato-EXPIMP 2008	1	51
SSR75	SGN-M748	Tomato-EXPEN 2000	1	53.5
SSR65	SGN-M738	Tomato-LXCHM 2007	1	61.2
SSR316	SGN-M989	Tomato-EXPIMP 2008	1	66
SSR134	SGN-M807	Tomato-EXPIMP 2008	1	75
SSR295	SGN-M968	Tomato-EXPIMP 2008	2	28
SSR96	SGN-M769	Tomato-EXPIMP 2008	2	39
SSR356	SGN-M1029	Tomato-EXPEN 2000	2	44
SSR605	SGN-M1278	Tomato-EXPEN 2000	2	48.5
SSR32	SGN-M705	Tomato-EXPIMP 2008	2	58
SSR331	SGN-M1004	Tomato-EXPEN 2000	2	78
SSR22	GN-M695	Tomato-LXCHM 2007	3	0
SSR231	SGN-M904	Tomato-EXPEN 2000	3	75.4
SSR22	SGN-M695	Tomato-EXPEN 2000	3	99
SSR14	SGN-M687	Tomato-EXPEN 2000	3	162.5
SSR300	SGN-M973	Tomato-EXPEN 2000	3	166
SSR593	SGN-M1266	Tomato-LXCHM 2007	4	13.9
SSR43	SGN-M716	Tomato-EXPIMP 2008	4	15
SSR325	SGN-M998	Tomato-EXPEN 2000	5	18.5
SSR602	SGN-M1275	Tomato-EXPEN 2000	5	27
SSR162	SGN-M835	Tomato-EXPIMP 2008	5	99
SSRB18031	SGN-M9615	Tomato-EXPEN 2000	5	119
SSR128	SGN-M801	Tomato-EXPIMP 2008	6	37
SSR326	SGN-M999	Tomato-EXPEN 2000	6	39
SSR350	SGN-M1023	Tomato-LXCHM 2007	6	55.8
SSR276	SGN-M949	Tomato-EXPEN 2000	7	18
SSR45	SGN-M718	Tomato-EXPEN 2000	7	60

SSR344	SGN-M1017	Tomato-EXPIMP 2008	8	0
SSR327	SGN-M1000	Tomato-EXPIMP 2008	8	20
SSR335	SGN-M1008	Tomato-EXPEN 2000	8	49.7
SSR38	SGN-M711	Tomato-EXPEN 2000	8	55
SSRB105694	SGN-M9638	Tomato-EXPEN 2000	8	87
SSR73	SGN-M746	Tomato-EXPEN 2000	9	32
SSRB102358	SGN-M9654	Tomato-EXPEN 2000	10	0
SSR34	SGN-M707	Tomato-EXPIMP 2008	10	13
SSR318	SGN-M991	Tomato-EXPIMP 2008	10	31
SSR218	SGN-M891	Tomato-EXPEN 2000	10	33.7
SSR360	SGN-M1033	Tomato-EXPEN 2000	10	39
SSR74	SGN-M747	Tomato-EXPEN 2000	10	74
SSR223	SGN-M896	Tomato-EXPEN 2000	10	75
SSR136	SGN-M809	Tomato-EXPEN 2000	11	11
SSR80	SGN-M753	Tomato-EXPIMP 2008	11	14

다. SNP 기반 유전적 다양성 및 유연관계

SNP array 분석을 통해 총 48개 계통들 간 6,652개 SNP가 확인되었다. 염색체 당 확인된 SNP의 수는 Table 5와 같다. 이들 SNP를 이용한 유연관계 분석결과 각 마켓 타입과 종에 따라 정확히 분리됨을 알 수 있었다 (Fig. 3). 총 325개 토마토 계통 [48개 국내 수집계통(27개 완숙용, 22 방울)과 277개 SolCAP 유전자원 (109 완숙용, 27 방울, 141 가공용)]에 대한 SNP-array 결과를 기반으로 한 PCA 분석 결과(Fig. 4), PC1과 PC2가 각각 21%와 8% 총 변이를 설명하였다. PCA 결과 국내 완숙용은 SolCAP 유전자원의 완숙용과 유사한 그룹으로 분리되었으나, 국내 방울토마토의 경우 SolCAP의 계통과 다소 차이가 있음을 확인 하였다.

48개 국내 수집 계통 간 6,589 SNP의 PIC value 분포를 12개 염색체상에 plotting하였다 (Fig. 5). PIC value가 높은 SNP 일수록 여교잡용 마커로서의 활용도가 높다 할 수 있으며, plot에 나타난 염색체상 위치를 고려하여 MAB에 효과적인 SNP 세트를 상황에 따라 선발하여 사용할 수 있다.

Table 5. Distribution of polymorphic SNPs in all 48 Korean varieties and two sub-populations. Chromosome assignment for each marker was based on physical position relative to the tomato genome sequence v SL2.40 (The Tomato Genome Consortium, 2012).

Chr	All combined (n=48)		Fresh market (n=26)		Cherry (n=22)	
	SNP No.	%	SNP No.	%	SNP No.	%
1	453	6.8	255	5.4	425	7.0
2	694	10.4	418	8.8	640	10.5
3	551	8.3	312	6.6	512	8.4
4	792	11.9	676	14.3	679	11.2
5	717	10.8	579	12.2	650	10.7
6	690	10.4	586	12.4	627	10.3
7	383	5.8	194	4.1	379	6.2
8	334	5.0	235	5.0	299	4.9
9	409	6.1	277	5.9	378	6.2
10	347	5.2	156	3.3	323	5.3
11	883	13.3	752	15.9	836	13.7
12	351	5.3	266	5.6	291	4.8
Unknown	48	0.7	27.0	0.6	48	0.8
Total	6652	100.0	4733	100.0	6087	100.0

Figure 3. UPGMA dendrogram of 48 Korean tomato breeding lines using the NTSYS software and 7,146 genome-wide SNP markers

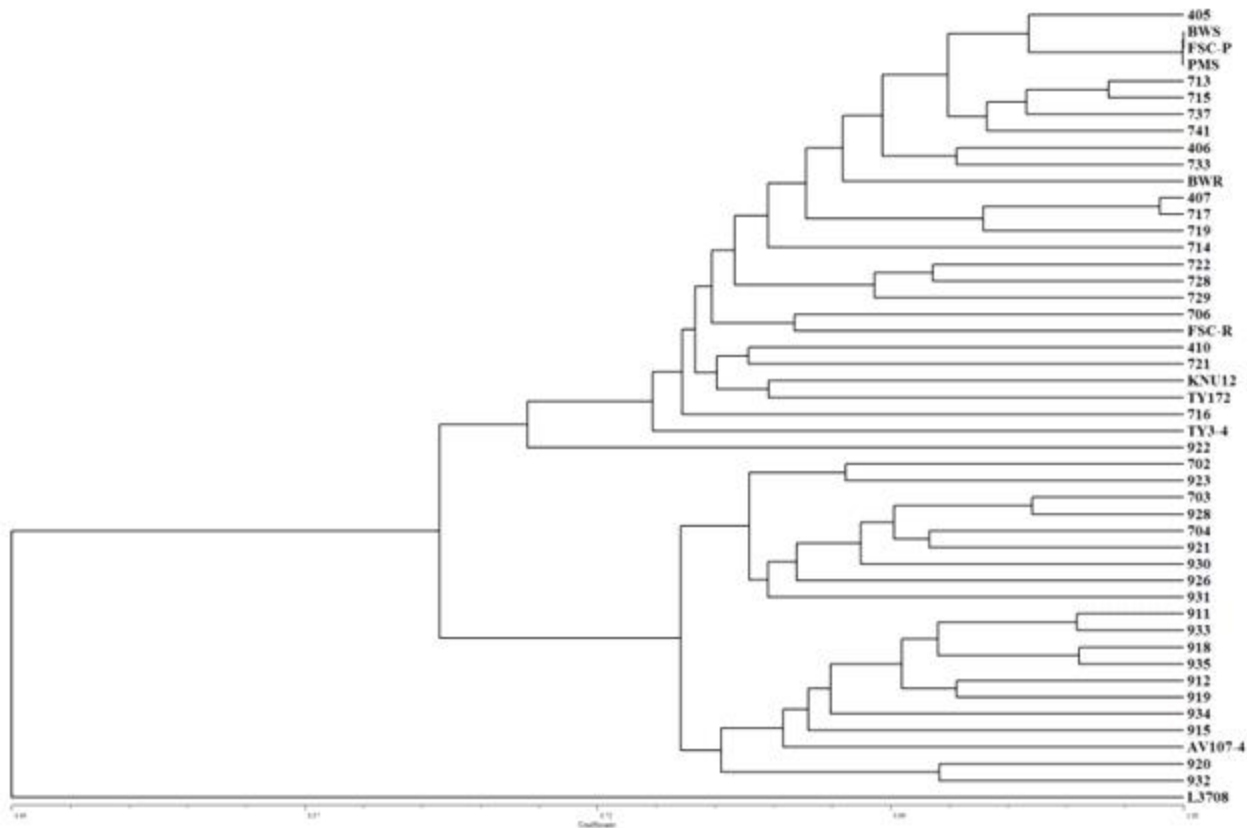
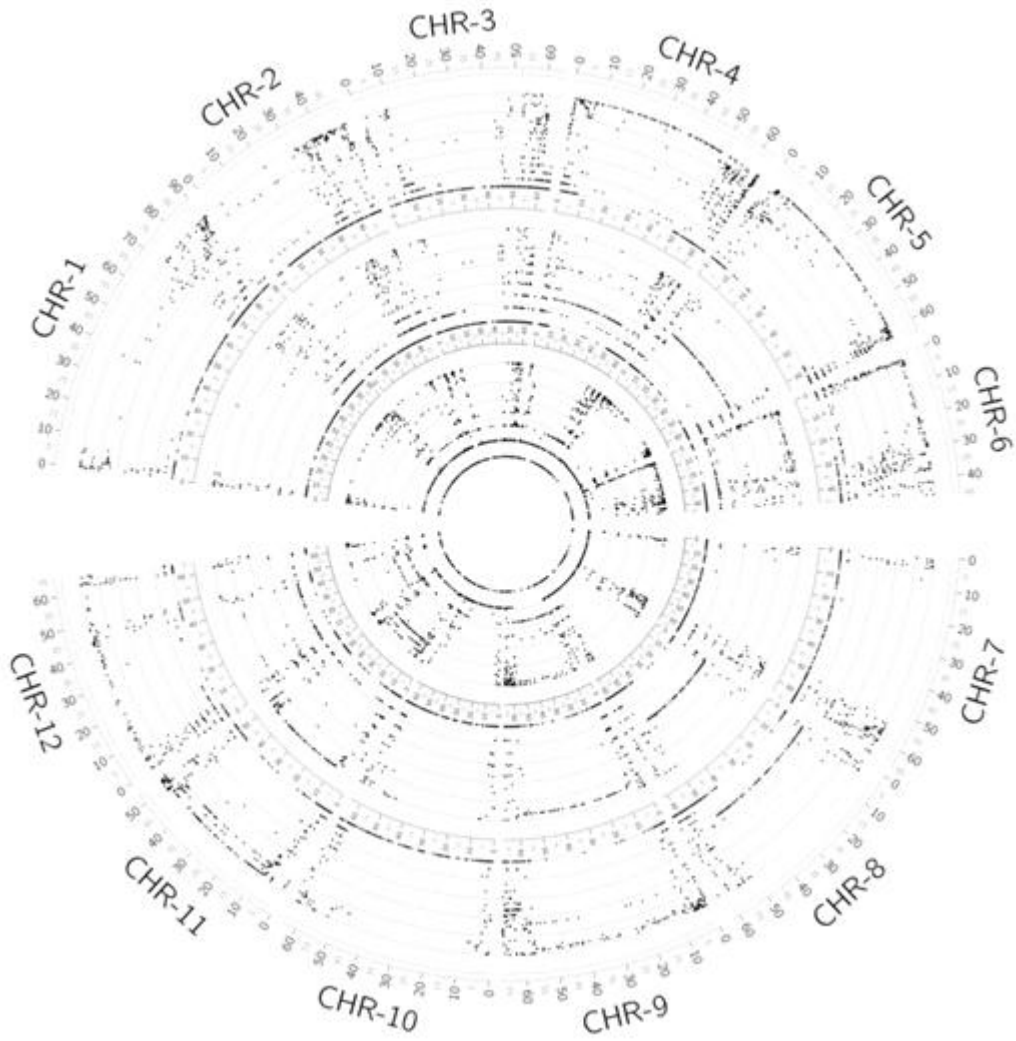
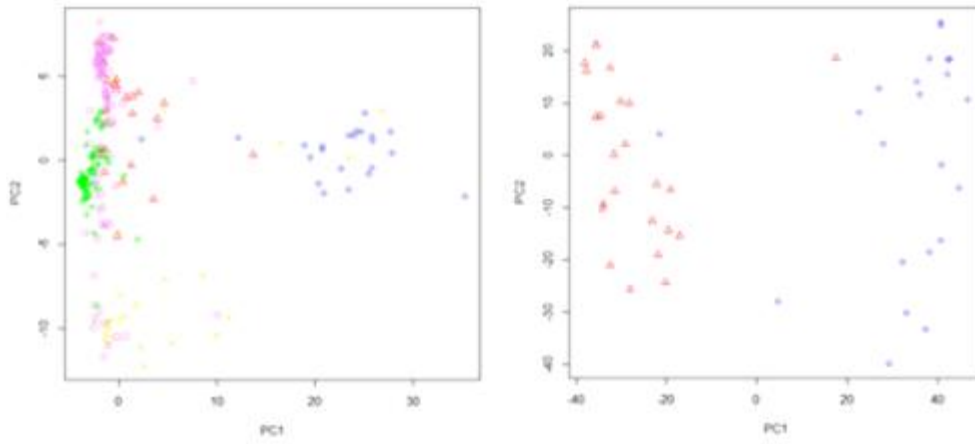


Figure 4. Principal component analysis (PCA) of 325 tomato varieties (48 Korean inbreds and 277 SolCAP inbreds) using 7,146 genome-wide SNP markers in the SolCAP array. The PCA was conducted using all data (A) and data for only the 48 Korean varieties (B). 26 Korean fresh market are indicated Δ (red); 22 Korean cherry, \circ (blue); 109 SolCAP fresh market, \square (violet); 27 SolCAP cherry, \diamond (gold); 141 SolCAP processing, \boxplus (green).

Figure 5. Visualization of polymorphic information content (PIC) values for 6,542 genome-wide SNP markers in three groups of the Korean germplasm (26 fresh market, 22 cherry, and all of 48 varieties). The PIC values across 12 chromosomes (CHR-1 to CHR-12) are shown as dots in the Circos plots (Krywinski et al. 2009).



제 2 절 토마토 황화잎말림 바이러스 저항성 분자마커 및 육종소재 평가

1. 연구배경 및 목적

최근 국내에서는 토마토 생산량과 농가소득 감소의 주요 원인이 되고 있는 황화잎말림바이러스(Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)의 심각성이 대두되고 있다. TYLCV는 담배가루이(*Bemisia tabaci* Genn.)를 매개충으로 전염되며, 2008년 경남 통영에서 최초로 보고가 되었고 그 해 경남, 전남, 전북, 제주 등 10개 지역에서 발병되었다. 최근에는 경기도까지 확산되어 발병되는 것으로 보고되고 있어 병피해를 최소화 할 수 있는 재배관리 기술이나 저항성 품종의 재배가 필요하다. 하지만, TYLCV 저항성을 가지는 국내 품종 개발은 뒤쳐져 있는 상황이며, 저항성이라고 표기된 몇몇 유럽품종이 시판되어 농가에서 재배되고 있지만, 이들 품종의 내병성 수준과 원예형질에 대한 객관적인 평가는 이루어지지 못하고 있다.

현재까지 밝혀진 토마토의 TYLCV 저항성 유전자로는 야생종 *S. chilense* 계통인 'LA1969', 'LA1932', 'LA2779'에서 Ty-1(Hoogstraten 등, 2005; Ji 등, 2007a), Ty-3, Ty-3a(Ji 과 Scott, 2006; Ji 등, 2007b)이 각각 보고되었으며, *S. habrochaites* 계통인 'B6013'에서 Ty-2(Garcia 등, 2007), *S. chilense* 계통 'LA1932' (Ji 등., 2009)에서 Ty-4(Ji 등, 2009), *S. peruvianum* 'TY172' 계통에서 Ty-5(Anbinder 등, 2009) 등이 보고되었다. 저항성 유전자가 존재하는 염색체 또한 Ty-1은 6번, Ty-2는 11번, Ty-4는 3번, Ty-5는 4번염색체이며, Ty-3과 Ty-3a는 6번염색체의 동일한 유전자좌에 존재하는 대립유전자로 보고되었다. 최근 유전자지도 분석에 따르면 Ty-1과 Ty-3이 매우 근접하게 위치하여 동일한 유전자좌의 대립유전자일 가능성이 있다(Verlaan 등, 2011). 이들 유전자를 이용한 저항성 계통 및 품종 육성이 활발히 이루어지고 있는데, Ty-1과 Ty-3 유전자를 지니는 대표적 고정계통으로는 'Gc9', 'Gc171', 'Gc173', 'Gc2711' 등이 미국(University of Wisconsin-Madison)과 과테말라(University of San Carlos)에서 개발되었으며, Ty-2를 지니는 고정계통으로는 'CLN2498E', 'CLN2498O', 'CNL2545A', 'CLN2545B', 'CLN2679A', 'PT4922A' 등이 아시아채소개발연구소(AVRDC)에서 개발된 바 있다. 상용품종 육성도 활발히 이루어지고 있어 TYLCV 저항성을 지닌 다수 유럽계 품종들이 국내에 시판되고 있으며, 특히 국내에서도 TYLCV 저항성이 주요 육종목표가 되고 있다.

QTL 분석 및 분자표지를 이용한 유전자 지도작성을 통해 TYLCV 유전자들의 염색체상 위치 및 근접 표지들이 개발되고 있는데, Ty-1은 마커 'Ty-seminis'(Hoogstranten 등, 2005), Ty-2는 마커 'TO302', Ty-3와 Ty-3a는 마커 'P6-25'가 개발되어 사용되고 있으며, 최근에

는 Verlaan 등(2011)이 정밀유전자지도 작성을 통해 더욱 정확한 Ty-1과 Ty-3(또는 Ty-3a) 유전자의 염색체상 위치를 밝히고 이전 마커보다 저항성 유전자에 더욱 근접한 Cleaved amplified polymorphic sequence(CAPS) 마커들을 보고하였다. Park (2010)등은 TYLCV 저항성 유전자와 연관된 마커들을 이용하여 다양한 TYLCV 저항성 도입계통 및 국내 유전자원들의 유전자형에 대해 평가 하였으며, Kim 등(2011)은 분자표지이용선발 (Marker-assisted selection, MAS)을 통해 TYLCV 저항성 유전자(Ty-1, Ty-2, Ty-3, 3a)들의 집적(gene pyramiding)을 시도한 바 있다.

본 연구에서는 해외에서 개발되어 시판되고 있는 TYLCV 저항성 F1품종들에 대해 분자표지와 포장 병리검정을 통해 각 품종이 지니는 저항성 유전자형(genotype)과 내병성 수준을 분석하고자 하였다. 또한 주요 저항성 품종을 대상으로 원예형질 특성 평가를 통해 TYLCV 저항성 계통육성을 위한 분리육종에 적절한 품종선발을 목표로 수행되었다.

2. 연구재료 및 방법

가. 식물재료

TYLCV 저항성 평가를 위해 내병성이라고 표기된 시판종 34 품종과 표기가 확인 되지 않는 4품종, 그리고 이병성으로 알려진 대비종 2품종을 포함한 총 40 품종이 사용 되었다(Table 1). 또한, TYLCV 저항성 연관 분자마커 검정을 위한 표준식물재료로서 저항성 계통인 'Gc9'(Ty-1, Ty-3 보유), 'Gc171'(Ty-3a 보유), 'Gc2711'(Ty-1, Ty-3 보유), 그리고 저항성 F1품종인 'FAVI-9'이 사용 되었으며(Table 2), 이병성 대비종 계통으로 'TTC04'를 사용 하였다.

나. TYLCV 접종

경남농업기술원 온실 내에서 2010년 2월 육묘용 상토와 50공 트레이를 사용하여 한반복당 각 품종 별 10립씩 파종하였으며 본 잎 5~7엽기에 난괴법을 이용하여 2010년 4월 품종간 거리 10cm를 두고 16cm 좌우 교차 정식(주간거리 32cm)하였다. 정식은 실험간의 오차를 줄이기 위하여 세개의 비닐하우스를 이용하여 3반복으로 하였으며, 정식 후 관비용 양액(140ℓ/1일, 1000ℓ/1주, 요소 1540g 질산칼륨 2600g/1,000ℓ)을 제조하여 두상관수 하였다.

TYLCV 접종은 Ji 등(2009)과 유사한 방법으로 진행하였으며 온실 내에서 비병원성, 또는 TYLCV를 보독시킨 담배가루이를 반복당 2,000마리씩 총 3회 방사하였다. 1차 접종(2010년 5월 20일)은 TYLCV에 감염된 개체 2~3주를 구하여 비닐하우스내에 식재 후 보독 되지 않은 담배가루이를 방사하여 자연발병과 유사한 형태의 감염을 유도 하였다. 2차(2010년 5월. 25

일)와 3차(2010년 6월 1일) 접종은 감염된 식물체를 채취하여 땅으로 싸인 용기 속에 배양된 비병원성 담배가루이와 함께 넣어 하루동안 보독시킨 후 검정포에 방사함으로서 1차 감염보다 확실한 감염을 유도 하였다.

다. 분자마커 검정 및 포장발병률 조사

Genomic DNA 추출은 은 Park 등(2010)의 방법을 이용하여 유묘기에 진행 하였다. 수집된 품종의 TYLCV 저항성 마커검정은 1차적으로 SCAR 마커인 ‘Ty-seminis’(연관 유전자: Ty-1), ‘TO302’(연관 유전자: Ty-2), ‘P6-25’(연관 유전자: Ty-3 또는 Ty-3a)를 이용하여 수행 하였다(Park 등, 2010) (Table. 2). 마커 유전자형과 표현형이 일치하지 않는 품종의 경우 유전자-마커간 재조합 가능성을 검정하기 위해 2차적으로 8개의 CAPS 마커(Verlaan 등, 2011)를 이용하여 수행하였다(Table 3). 각 품종의 포장발병률은 보독된 담배가루이 방사 42 일 후 각 반복당 전체 식물 개체수로부터 뚜렷한 병징을 보이는 식물 개체수의 비율을 조사하고, 3 반복에 대한 평균값으로 구하였다.

Table 1. Results of bioassay and molecular marker evaluation for the TYLC- resistance of diverse F₁ tomato cultivars.

EN	Cultivar	Company	Information ^z	Test result			
				Incidence ^y	Marker genotype ^x		
					<i>Ty-1</i>	<i>Ty-2</i>	<i>Ty-3</i> or <i>3a</i>
1	TT 229	Hazera	M	18.1	S	S	S
2	TT 239	Hazera	H	0	H	S	H-a
3	TT 240	Hazera	H	3.3	H	S	H-a
4	TT 420	Hazera	M	20	S	S	S
5	TT 424	Hazera	M	23.3	S	S	S
6	TT 404	Hazera	M	33.3	S	S	S
7	TT 443	Hazera	M	3.3	H	S	H
8	TT 346	Hazera	N	60	S	S	S
9	AGN T9	Hazera	P	0	H	S	H-a
10	JN T53	Hazera	P	0	R	S	H-a
11	EXP 9161	Top seeds	P	3.3	H	S	H-a
12	EXP 9173	Top seeds	P	0	H	S	H-a
13	TOP 1199	Top seeds	N	0	H	S	H-a
14	EXP 8893	Top seeds	P	7	H	S	H-a
15	EXP 9337	Top seeds	P	0	H	S	H-a
16	Bacus	Seminis	P	9.5	R	S	H-a
17	HSS0544	Seminis	P	40	H	S	H-a
18	Tyrade	Synzenta	P	0	R	S	H-a
19	Ty-Mamoru	Synzenta	P	0	H	S	S

20	Dafnis	Synzenta	P	0	H	S	H
21	Daylos	Synzenta	P	3.3	H	S	H
22	RAFITO F ₁	De ruiters seeds	N	53.3	S	S	S
23	EXP 8731	Top seeds	P	3.3	H	S	H
24	Top 1184	Top seeds	N	86.7	S	S	S
25	80087	Enza zaden	P	30	H	S	H-a
26	80122	Enza zaden	P	3.3	H	S	H-a
27	80129	Enza zaden	P	6.7	H	S	H-a
28	80138	Enza zaden	P	0	H	S	H-a
29	80151	Enza zaden	P	0	H	S	H-a
30	TC 30882	Synzenta	P	67.8	H	S	S
31	TC 31583	Synzenta	P	0	R	S	H-a
32	TC 32347	Synzenta	P	0	R	S	R-a
33	TC 32857	Synzenta	P	0	H	S	H-a
34	TC 32957	Synzenta	P	3.3	S	S	S
35	TC 32961	Synzenta	P	13.3	S	S	S
36	TC 33018	Synzenta	P	20	S	S	S
37	TC 33069	Synzenta	P	6.7	S	S	S
38	TC 33086	Synzenta	P	0	H	S	H-a
39	TC 33089	Synzenta	P	0	R	S	R-a
40	Redyoyo	Gonong	N	23.3	S	S	S

^zM, Midium resistance; H, High resistance; P, resistance position; N, None TYLCV resistance.

^yDisease incidence was calculated based on the ratio of plants with TYLCV disease symptom in the total number of plants.

^xS, Susceptibility (*ty/ty*); H, Heterozygosity (*Ty/ty*); R, Resistance (*Ty/Ty*); H-a, Heterozygosity of *Ty-3a* (*Ty-3a/ty-3a*); R-a, Resistance of *Ty-3a* (*Ty-3a/Ty-3a*)

Table 2. TYLCV- resistant genes and their origins, chromosomal locations, and primer sequences for SCAR markers .

Gene	Accessio	Species	Regions	Chromosome
<i>Ty-1</i>	LA1969	<i>S. chilense</i>	South America, Europe	6
<i>Ty-2</i>	B6013	<i>S. habrochaites</i>	Israel, Taiwan	11
<i>Ty-3</i>	LA1932	<i>S. chilense</i>	South America, Europe	6
<i>Ty-3a</i>	LA2779	<i>S. chilense</i>	South America, Europe	6

라. 원예형질 특성조사

시험한 품종들의 원예형질 특성조사는 국립종자원 품목별 특성조사요령(토마토)에 근거하여 엽자세는 주축과 연결된 소엽의 자세를 직립(서다), 반개장(수평), 개장(처지다)의 3가지로 분류하였으며, 엽장 및 엽폭은 6월 14일 최대 엽의 길이를 실측하였고, 절간장은 1단~4단까지의 길이를 실측하여 환산하였다. 수량은 6월 1일부터 7월 27일까지 일주일에 2회 수확하여 상품 및 비상품으로 구분 조사하여 주당 상품과 수 및 1과중을 환산하였으며, 과실 경도는 7월 7일에 수확한 과실을 SMS P/3 모델의 물성측정기로 test speed 2.0mm/s, post test speed 5.0mm/s, distance 10mm, force 20g의 조건으로 측정하였고, 당도는 Brix 당도계를 활용하였으며, 산도는 pH 8.3으로 적정하여 구연산 계수로 환산하였다.

3. 연구결과 및 고찰

가. TYLCV 저항성 분자마커 및 생물검정

40개 공시 품종에 대한 생물검정 및 1차 마커검정 결과(Table 1), TYLCV 이병성 대비품종 ‘Rafito’(대과)와 ‘Red Yoyo’(소과)에서는 저항성 유전자 연관 마커가 발견되지 않았으며, 발병률도 각각 53.3%와 23.3%로 비교적 높았다. 높은 저항성(Hi)으로 표기된 두 품종(EN 2, 3)에서는 모두 *Ty-1*과 *Ty-3a* 유전자 연관마커가 이형접합으로 발견되었으며, 발병률은 0%와 3.3%로 매우 낮았다. 중간 저항성(Mi)으로 표기된 5품종(EN 1,4,5,6,7) 중 ‘TT443’을 제외한 4 품종은 18.1~33.3%의 발병률을 보였으며, 마커검정에서도 저항성 유전자를 지니지 않는 것으로 나타났다.

각 종자회사에서 TYLCV 저항성을 지니는 것(Po)으로 표기된 28 품종에서는 ‘Ty-Mamoru’

와 ‘TC30882’가 Ty-1 유전자 마커를 이형접합으로 지니지만, 발병률에서는 각각 0.0%와 67.8%로 매우 상반된 결과를 보여주었다. ‘TC32957’를 비롯한 4 품종(EN 34,35,36,37)에서는 저항성 마커가 발견되지 않았으며, 발병률은 3.3%~20.0%로 분포하였다. 나머지 22 품종들은 모두 Ty-1과 Ty-3, 또는 Ty-3a 유전자 마커를 동시에 이형접합 또는 동형접합으로 지니는 것으로 분석되었는데, 발병률 또한 ‘HNS12860544’(40%)과 ‘80087’(30%) ‘TC30882’(67.8%)를 제외하고는 비교적 낮은 수준(0.0~3.3%)으로 관찰되었다. 저항성이 표기되지 않은 3 품종 중 두 품종에서는 저항성 마커가 관찰되지 않았는데, 발병률에 있어서는 ‘TT346’과 ‘Top1184’가 각각 60.0%, 86.7%로 이병성 대비중에 비해 높은 발병률을 보였으나, ‘TOP1199’는 마커와 발병률(0.0%) 모두 저항성으로 관찰되었다.

모든 공시품종에서 Ty-2 유전자에 대한 마커가 발견되지 않아 사용된 대부분 유럽 품종의 TYLCV 저항성은 모두 Ty-1과 Ty-3 또는 Ty-3a 유전자를 지니는 *S. chilense*로부터 유래하였을 것이라 유추된다. 실제 Ty-2 유전자의 경우 이스라엘과 대만에서 저항성 재료로 사용해진 *S. habrochaites*로부터 유래한 것으로서 유럽국가의 품종특성에는 맞지 않을 가능성이 크다. Ty-3와 Ty-3a 유전자는 *S. chilense*의 ‘LA1932’, ‘LA2779’에서 발견된 동일 유전자좌의 대립유전자로 보고되었는데, 사용된 공시품종의 대부분 품종이 Ty-3a 유전자를 지니고 있어, ‘LA2779’가 저항성 육종소재로 광범위하게 쓰였을 가능성을 보여준다.

마커형과 표현형을 비교해 볼 때 전반적으로 Ty-1, Ty-3, 또는 Ty-3a 대립유전자 마커 중 하나의 마커만 지녀도 발병률이 7.0% 이하로 이병성 대비중(23.3%)에 비해 매우 낮고, 저항성 마커가 관찰되지 않는 품종들에 있어서는 발병률이 전반적으로 이병성 대비중과 비슷하거나 높은 수치를 보여 마커와 표현형간의 일치성을 확인 할 수 있었다. 하지만 ‘HNS12860544’(Seminis), ‘80087’(Enza zaden), ‘TC30882’(Syngenta) 세 품종은 저항성 유전자 마커를 지님에도 불구하고 이병성 대비중과 비슷한 경향의 발병률을 보였고, Syngenta사의 ‘TC32957’과 ‘TC33069’은 저항성 마커가 관찰되지 않았지만 이병성 대비중에 비해 매우 낮은 수준의 발병율을 보여 마커-표현형간 일치하지 않는 것으로 관찰되었다. 마커와 표현형 간 불일치 하는 경우는 크게 마커와 연관된 유전자와 저항성 유전자가 상이할 경우, 생식세포의 감수분열에서 마커와 저항성 유전자 사이에 교차가 일어난 경우, 그리고 표현형 검정이 정확히 이루어지지 않은 경우로 판단된다. 생물검정에서는 저항성으로 관찰되지만, 마커검정에서는 이병성으로 나온 품종의 경우에는 저항성 유전자를 Ty-1,3,3a가 아닌 Ty-4 또는 Ty-5를 육종과정을 통해 도입 하였을 가능성이 있다. 하지만 아직 Ty-4와 Ty-5에 대한 마커의 개발이 이루어지지 않아 확인은 용이하지 않다. 마커는 이병성이지만 생물검정결과 발병률이

타 저항성 품종과 비슷하거나 이병성 대비종 보다 낮은 경우 표현형 검정의 오류 가능성이 있는데 이는 병원체와 숙주식물 간 접촉, 침입, 감염의 과정이 정상적으로 이루어지지 못해 생기는 병회피의 경우라 할 수 있다. 마커와 저항성 유전자간의 교차에 의한 불일치는 저항성 유전자의 양측에 근접하게 연관되어 있는 마커(flanking marker)들을 이용한 교차 분석을 통해 가 능할 수 있다.

나. Flanking marker를 이용한 교차 분석

마커는 저항성이지만 생물검정에서 이병성을 보인 품종에 대한 교차분석을 위한 마커 검정에는 Ty-1, Ty-3(3a) 마커 이외에 최근 정밀 유전자지도 작성을 통해 Ty-1과 Ty3(3a) 유전자좌에 더욱 근접한 마커들로 보고된 8개의 CAPS 마커(Verlaan 등, 2011)를 사용하였다. 이들 CAPS 마커는 저항성 유전자좌가 위치하는 6 번염색체의 물리적 지도로 볼 때 약 26.0에서부터 31.75Mbp 범위에 분포되어 있으며, 특히 Ty-1은 마커 MSc05732-4(30.60Mbp)와 MSc05732-14(31.20Mbp)사이에, Ty-3는 T0774(30.00Mbp)와 본 연구에서 Ty-3 마커로 사용된 P6-25와 동일한 위치의 마커인 cLEG-31-P16(30.90Mbp) 사이에 존재하는 것으로 보고되었다. 따라서 본 실험에서는 이들 CAPS 마커들을 활용하여 마커 유전자형과 TYLCV 저항성 표현형간 일치 하지 않았던 3개의 품종들에 대해 마커와 저항성 유전자좌 사이의 재조합 가능성을 알아보았다. 분석에 사용한 CAPS 마커들에 있어 저항성 또는 이병성과 연관된 DNA 절편(밴드)의 크기에 대한 정보를 얻기 위해 Ty-1 유전자 도입(introgression) 계통인 'Gc9'와 Ty-3a 유전자 도입 계통인 Gc171를 비롯하여 Ty-1, Ty-3 유전자를 지닌 내병성 F1품종인 'FAVI-9', 그리고 이병성인 국내 고품질 완숙형 계통 'TCC04'과 'TT346'(EN 8)을 대비종으로 사용하였으며, 재조합 검정대상으로 'Bacus'(EN 16), 'HNS12860544'(EN 17), '80087'(EN 25)를 사용하였다.

8개의 CAPS 마커 중 MSc05732-4를 제외한 모든 마커에서 저항성, 이병성 대비종간 다형성 밴드가 관찰되어 Ty-1와 Ty-3 유전자 특이적 밴드들을 유추할 수 있었다(Fig. 2). 두 이병성 대비종 계통은 모든 마커에서 유전자형이 동일하게 나왔으며, 저항성 계통인 'Gc171'은 cLEG-31-16(30.90Mbp)에서부터 하위에 위치하는 3개의 마커에서 이병성 계통과 다형성으로 나와 유전자가 MSc05732-4(30.60Mbp)과 cLEG-31-16(30.90Mbp)사이로 범위가 더욱 좁아질 수 있는 가능성을 제시하였다. 'FAVI-9'에서는 저항성 계통과 이병성 계통간 다형성 마커들이 이형접합으로 나와 마커검정 결과에 신뢰성을 가질 수 있었다.

본 마커들에 대해 3개의 F1품종을 검정한 결과 마커와 유전자위 사이에 염색체 재조합(교

차)가 일어났을 가능성을 찾을 수는 없었다(Table 3, Fig. 2). 모든 F1품종들이 Ty-1, 또는 Ty-3 유전자 연관마커를 이형접합으로 지니고 있었다. 단 PG9(31.70Mbp)에서는 저항성 밴드(a,c)가 아닌 이병성 밴드(b)만 관찰되었지만, 이 마커는 Ty-1 와 가장 가깝게 위치하면서 저항성밴드를 보였던 cLEG-31-P16보다 더 멀리 연관되어 있어, 재조합이 일어났다 하더라도 저항성표현형에는 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다. 이상의 마커검정 결과로 볼 때, 세 품종은 Ty-1 또는 Ty-3 유전자를 지니고 있는 것으로 판단되었지만, 표현형 검정에서 이병성으로 나온 이유에 대해서는 뚜렷한 해답을 얻을 수 없었다. 보독된 담배가루이 집단이 밀도가 이들 품종군에서 예외적으로 높아 다수 개체에서 저항성이 무너졌을 가능성도 있지만, 정확한 원인 규명을 위해서는 표현형 및 유전자형의 재검정이 필요하다고 판단된다.

기존 국내의 TYLCV 저항성 MAS에 사용되고 있는 두 마커는 삽입/결실(In/Del)의 유전자 염기서열 변이를 다형성으로 이용한 Sequence characterized amplified region(SCAR) 마커로서 PCR 산물을 전처리 없이 아가로스 젤 전기영동을 통해 쉽게 유전자형 분석이 쉬운 장점이 있다. 하지만, 본 연구 결과와 같이 기존 마커보다 TYLCV 저항성 유전자에 더욱 근접한 CAPS 마커의 다형성이 확인되었으므로 이들 마커를 이용할 경우 향후보다 보다 정확한 MAS가 가능하리라 본다. 다만 CAPS 마커의 특성상 전기영동 이전에 PCR 증폭산물을 특정 제한 효소로 전처리 해야 하는 번거로움이 있어, 제한효소를 이용하지 않는 Single nucleotide polymorphism(SNP) 기반의 자동화분석 마커형(Hwang 등, 2011; Liew 등, 2004)으로 전환한다면 대량샘플분석을 통한 효율적인 MAS가 가능할 것이다.

다. 원예특성 및 생산성 검정

분자마커 및 병리검정결과에서 발병률 3.3% 이하의 강한 내병성을 보인 품종들에 대한 원예특성 및 수량 검정을 실시하였다(Table 4). TYLCV 내병성으로 선발된 대과종에 속하는 13개 품종 중 8 품종이 대비종과 동일한 반개장의 엽자세를 보였으며, 나머지 품종은 개장형이었다. 엽장과 엽폭에 있어 'EXP9173'이 각각 가장 높은 55.8과 49.6cm로 대비종(47.4와 46.3cm)에 비해 높게 관찰되었으며, 'JNT53' 품종에서 39.3과 35.3cm으로 가장 낮게 나타났다. 절간장은 대비종(8.2cm)에 비해 'EXP9173'에서 10.1cm로 가장 길었으며, 'Ty-mamoru'에서 6.1cm로 가장 짧았다. 수량에서는 가장 높은 'AGN19'(3150.8g)을 비롯하여 6 품종에서 대비종(2412.0g)보다 높았다. 당도는 'TT443'(4.7°Bx)에서 가장 높게 나타났으며, 다른 4 품종에서도 대비종의 4.0°Bx 보다 같거나 높게 나타났다. 신미를 결정짓는 당산비는 'JN153'이

Table 3. Genotype evaluation of markers mapped in the genomic region of chromosome 9 that covers genomic region carrying the loci of TYLCV resistance gene *Ty-1* and *Ty-3*.

Marker ^z	Distance ^y (Mbp)	Cultivar							
		GC9	Gc171	TCC04	FAVI-9	EN8	EN16	EN17	EN25
DSI (%)						60	9.5	40	30
TG97	26.00	b	a	a	ab	a	b	ab	ab
M-M067G18	29.10	ac	bcd	bcd	abcd	bcd	abcd	abcd	abcd
T1563	29.25	bcd	ab	ab	abcd	ab	abcd	abcd	abcd
MSc01216-6*	29.55								
M-M026P 18*	29.80								
M-H302A23	30.00	ade	bc	bc	bc	bc	abc	abc	abc
T0774*	30.00								
M-M082G10*	30.20								
MSc05732-3	30.55	a	a	a	a	a	ab	ab	ab
MSc05732-4	30.60	bc	a	a	abc	a	abc	abc	abc
cLEG-31-16	30.90	b	a	c	bc	c	ac	ac	ac
MSc05732-14*	31.20								
PG3*	31.55								
MSc05732-18*	31.57								
PG9	31.65	ac	ac	b	ab	b	bd	bd	bd
C2_At3g11210	31.72	ab	ab	cd	abcd	cd	abcd	abcd	abcd
M-M005H10*	31.75	cd	bd	a	abcd	a	abcd	abcd	abcd

^zMarkers used in the genotyping of all 40 cultivars (Table2) were indicated by bolded letters. MSc05732-4 and MSc05732-14 are the flanking markers

of Ty-1(Verlaanetal.,2011). M-H302A23 and cLEG-31-16 are the franking markers of Ty-3 (Huttonetal.,2010). *The genotype of these markers were not tested in this study.

^y Distances were approximately calculated based on the schematic physical maps reported in Verlaan et al (2011).

Table 4. Characterization of horticultural traits of TYLCV-resistant F₁ cultivars selected by molecular markers and bioassay.

EN ^Z	Cultivar	Leaf position	Leaf length (cm)	Leaf range (cm)	Internode Length (cm)	No. of fruit per plant	Fruit Weight (g)	Yield ^y (g)	Longitude (g)	Brix (°Bx)	Acidity (%)	Solid-acid ratio ^x
2	TT 239	SO	47.1	52.1	7.1	21.8	89.3	1946.7	1,116	4	0.29	13.9
3	TT 240	Open	48.1	43.3	7.9	11.8	163.3	1926.9	1,070	3.9	0.36	11.1
7	TT 443	Semi open	43.2	45.9	9.1	10.9	110.6	1205.5	1,153	4.7	0.44	10.8
9	AGN T9	Open	47.6	53.7	8.7	16.1	195.7	3150.8	1,021	4	0.38	10.5
10	JN T53	Open	39.3	35.3	8.6	20.5	127	2603.5	1,008	3.6	0.26	14
11	EXP 9161	Open	51.8	46.3	8.6	11.5	217.3	2499.0	1,010	3.5	0.33	10.6
12	EXP 9173	Open	55.8	49.6	10.1	10.6	213.1	2258.9	1,313	3.9	0.41	9.8
13	TOP 1199	Semi open	46.4	44	8.4	11.3	169.3	1913.1	981	3.7	0.39	9.4
15	EXP 9337	Semi open	48.2	48.9	7.3	13.4	211.3	2831.4	1,230	3.5	0.28	12.7
18	Tyrade	Semi open	50.1	53	7	14.8	170.9	2529.3	947	3.8	0.27	13.9
19	Ty-Mamoru	Semi open	48.4	43.2	6.1	12.6	160.2	2018.5	764	4.2	0.44	9.6
20	Dafnis	Semi open	46.1	43	6.4	14.6	166.9	2436.7	1,055	4.2	0.34	12.4
21	Daylos	Semi open	45.4	47	7.6	13.7	156	2137.2	1,291	4.3	0.35	12.5

22	Rafito F₁	Semi open	47.4	46.3	8.2	14.4	167.5	2412.0	761	4	0.36	11
23	EXP 8731	Open	43.8	40.1	9	56	16.5	924.0	937	4.9	0.45	11
26	80122	Stand erect	36.2	37.3	6.4	56.8	15	852.0	1,096	4.5	0.35	13
28	80138	Stand erect	39.6	35.9	6.7	67.5	14.4	972.0	1,103	4.5	0.36	12.6
29	80151	Semi open	42.9	38.7	6.3	55.1	15.8	870.6	1,053	4.6	0.42	11.1
31	TC 31583	Semi open	32	25	10.2	99.2	11.9	1180.5	1,403	4.9	0.36	13.6
32	TC 32347	Semi open	38.3	38	7.5	59.4	15.2	902.9	1,360	4.9	0.32	15.5
33	TC 32857	Semi open	33.1	31.2	7.6	55.3	14.3	790.8	1,513	4.7	0.39	12.3
34	TC 32957	Semi open	40.3	42.1	6.9	60.8	18.2	1106.6	1,162	4.4	0.45	9.9
38	TC 33086	Semi open	40	41.3	7.6	48.1	24	1154.4	1,281	4	0.42	9.6
39	TC 33089	Stand erect	38.3	37.9	7.6	53.1	17.4	923.9	1,508	4.7	0.35	13.3
40	Redyoyo	Stand erect	45.2	40.4	6	89.3	13.4	1196.6	913	5.2	0.39	13.3

^zEN, entry number. EN 2~22 are general fruit type cultivars. EN 23~40 are cherry type cultivars. Control cultivars for each tomato type are indicated by bolded letters.

^yYield was calculated by multiplying no. of fruit per plant and fruit weight.

^x Solid-acid ratio was calculated by dividing the value of brix with acidity.

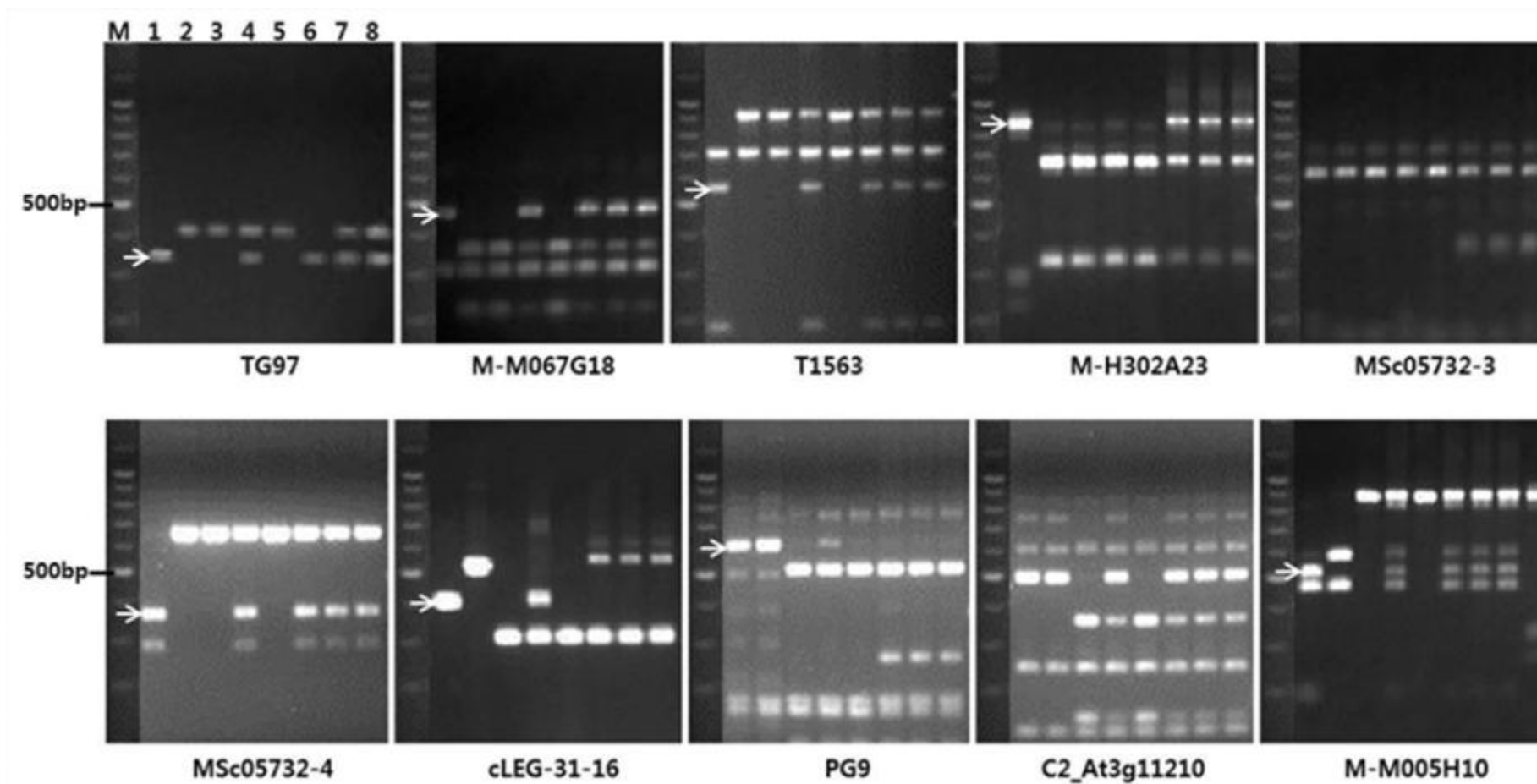


Figure 1. Analysis for possible genetic recombination between markers and TYLCV-resistance genes. Agarose gel image of 8 cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers tested on various TYLCV-resistant or susceptible tomato accessions. The name of each CAPS markers are

located at the bottom of gel pictures. TG97 and cLEG-31-16 are the name of clones from which marker 'Ty-seminis' for *Ty-1* and 'P6-25' for *Ty-3(3a)* were derived, respectively. Each lane from 1 to 8 corresponds to the tomato accession 'Gc9', 'Gc171', 'TCC04', 'FAVI-9', 'TT346'(EN8) 'Bacus'(EN16) 'HNS12860544'(EN17), and '80087'(EN25), respectively. DNA fragments produced were scored in alphabet order from the largest band (Table3). DNA fragments specific to TYLCV-resistance gene are indicated by arrows. M, 100-bp size marker.

14로 가장 높았으며, 'TT239'를 비롯한 6 품종에서 대비종(11) 보다 높게 나타났다. 하지만 과실의 경도에 있어서는 대비종이 761인데 반해 대부분 품종들이 이보다 높거나 1,000g 이상으로 높아 생식용보다는 가공용에 적합한 것으로 판단되었다.

TYLCV 내병성으로 선발된 소과종에 속하는 10개 품종 중 3 품종이 대비종(Red Yoyo)와 동일한 직립의 엽자세를 보였으며, 개장형의 'EXP8731'을 제외하고 나머지 품종은 모두 반개장형이었다. 엽장의 경우 모든 품종이 대비종(45.2cm)보다 짧았으며, 엽폭에서도 두 품종을 제외하고 대비종보다 짧아 소형의 엽크기를 보였다. 절간장은 'TC31583'(10.2cm)을 비롯하여 모든 품종에서 대비종(6.0cm)보다 길었다. 수량은 모든 품종이 대비종(1196.6g) 보다 낮았는데, 이는 낮은 주당 과실수에 기인하는 것이었으며 실제 과실당 무게는 대부분 품종이 대비종보다 높아 국내에서 선호하는 과크기 보다는 비교적 큰 것으로 나타났다. 당도는 전체적으로 소과종에서 대과종보다 높았으나, 대비종(5.2°Bx) 보다는 약간 낮은 경향을 보였다. 'TC31583'과 'TC32347'에서 가장 높은 당도(4.9°Bx)를 보였다. 하지만 당산비에서는 이들 두 품종이 대비종(13.3) 보다 높았으며 특히 'TC32347'은 낮은 산도(0.32)에 의해 당산도가 15.5로 매우 높았다. 경도는 대과종에서와 유사한 경향을 보여 대비종(913)과 비슷한 'EXP8731'을 제외하고 모든 품종이 1,000 이상으로 경도가 높았다.

종합적으로 판단할 때 유럽형 TYLCV 저항성 대과종 품종은 국내 선호 품종보다 비교적 수량이 높고 당도 및 당산도도 크게 떨어지지 않아 국내용 품종 육성재료로 적합하리라 판단되지만, 높은 과실 경도는 해결되어야 할 문제로 판단된다. 반면에 소과종 품종들은 수량, 당도 등에서 국내 선호 품종보다 낮고 절간장도 길어 이들을 활용한 고품질 TYLCV 저항성 품종 육성을 위해서는 대과종에 비해 많은 시간과 노력이 소요될 것으로 판단된다.

TYLCV 병피해를 최소화 하기 위해서는 적절한 재배와 관리기술과 더불어 내병성 품종의 육성과 보급이 필요하다. 또한 단기간에 우수 내병성 계통육성을 위해서는 기존 F1품종을 육성재료로 활용하는 분리육종법이 용이할 수 있다. 따라서, 향후 해외 TYLCV 저항성 F1품종들

에 대한 지속적인 평가와 선발, 그리고 기 확보된 분자마커를 활용한 MAS를 육종과정에 복합적으로 적용한다면, TYLCV 저항성 토마토 국내 신품종육성이 조기에 가능하리라 기대한다.

제 3 절 토마토 역병 저항성 선발용 분자마커 개발

1. 연구배경 및 목적

토마토 역병은 oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary에 의해 일어나며 심각한 경제적 손실을 초래하고 있다. 증상은 잎과 줄기, 과실상에 흑갈색의 수침병반이 나타나고 (Fry et al., 1992). 역병은 세계전역에 걸쳐 일어나며 국내에서도 오랫동안 넓은 지역에 퍼져 있다 (Zhang and Kim, 2007; Chen et al., 2008; Miranda et al. 2010; Park et al., 2010; Geven et al., 2011; Kim 2012). 하지만 역병의 방제는 매우 어려운데, 이는 *P. infestans* 균주의 유전적 변이가 다양하고 복잡하게 존재하여, 복수 레이스(race)가 두 mating type (A1, A2) 간의 생식번식에 의해 지속적으로 형성되기 때문이다 (Zhang and Kim, 2007; Chen et al., 2008; Klarfeld et al., 2009). 신생하는 병원성 균주는 기존에 사용되는 살균제인 metalaxyl fungicidedp 내성을 지니거나, 이전에 저항성으로 알려진 품종에 병을 일으키는 예들이 보고된바 있다 (Chunwongse et al., 2002; Knapova and Gisi, 2002; Miranda et al., 2010).

토마토에서는 다수의 레이스에 저항성인 유전자들이 알려진 바 있는데, 이들은 gene-for-gene reaction manner나 race non-specific resistance를 보이는 것으로 보고되었다. 다섯개의 non-allelic 하거나 race-specific single gene인 Ph-1 에서 Ph-5까지 보고되었는데, 이는 야생종인 *Solanum pimpinellifolium*의 유전자원들로부터 유래되었다. 단일우성유전자인 Ph-1는 *P. infestans* tomato race 0 (T0)에 저항성을 보이며, *S. pimpinellifolium* West Virginia 106로부터 기원하였으며 (Gallegly and Marvel, 1955), chromosome 7에 map된 바 있다 (Peirce, 1971). Ph-2 또한 T0에 높은 저항성을 보이며 T1에는 중도 저항성을 보이는데, *S. pimpinellifolium* West Virginia 700에서 기원하였으며 (Turkensteen, 1973), chromosome 10 (Moreau et al., 1998)에 존재 하였다. 하지만, 이들 유전자들은 아시아 국가의 *P. infestans* 분리균주에는 충분한 저항성을 보이지 못하고 병원성이 강한 특정 균주에서는 저항성이 무너지는 것으로 보고 되었다 (Chunwongse et al., 2002). 반면 *S. pimpinellifolium* accession “L3708” (Asian Vegetable Research and Development Center [AVRDC], 1998)에서 유래한 단일부분우성 유전자인 Ph-3 (Black et al., 1996)은 이들 아시

아 균주에 저항성을 보이며, chromosome 9번에 존재하는 것으로 보고 되었다. 다른 연구보고에서는 “L3708”이 Ph-3 이 외 한 개 이상의 LB resistance gene 이 존재 한다고 하였으며 이 유전자를 Ph-4 로 명명한 바 있다(Kim and Mutschler, 2005; Chen et al., 2008).

비록 Ph-3 와 국내 *P. infestans* 균주간의 직접적 연관성은 아직 확인되지 않았지만 Ph-3 을 지닌 “L3708”은 유용한 저항성 재료가 될 수 있는데, 이는 국내 우생 균주가 A2 mating type 한가지로 알려져 있어, 집단 구조가 간단하기 때문이다(Kim, 2012). 하지만 해외에서는 Ph-3 가 신생 균주에 의해 무너진 바 있으며, 토마토 유전자원의 검정을 통해 Ph-5 gene 이 *S. pimpinellifolium* accession “PSLP153”로부터 밝혀진 바 있다(Nowicki, et al., 2012). 최근, 이 유전자는 chromosome 1 (Nowicki, et al., 2012)에 mapping이 되었다. 다양한 LB 레이스에 중도 장기 저항성을 보이는 non-specific gene 또한 보고된 바 있다. 표현형 변이의 25%를 차지하는 주동 QTL이 *S. pennellii* 의 chromosome 6에서 발견되었다 (Smart et al., 2007). 또한 부분우성과 우성상위유전을 보이는 두 개의 독립적인 유전자들이 *S. pimpinellifolium* accession “L3707”에서 발견되었다 (Irzhansky and Cohen, 2006). 따라서, 이러한 QTL과 레이스 특이적 유전자들에 대한 연구는 LB 저항성 품종육성을 위해 매우 필수적이라 할 수 있다.

LB 저항성 유전자에 근접한 분자마커는 저항성 개체 선발을 위한 MAS 뿐만 아니라 이러한 유전자들의 map-based cloning에 유용하게 사용될 수 있다 LB 저항성 QTL과 연관된 몇 개의 restricted fragment length polymorphism (RFLP) 마커가 *S. hirsutum*에서 보고된 바 있다(Brouwer and St. Clair, 2004). 유전자지도 작성을 통해 RFLP marker, TG591이 “L3708”이 Ph-3 에 의한 표현형 변이의 71.4%를 설명하는 것으로 보고되었으며 (Chunwongse et al., 2002), 이 TG591 마커는 cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) 마커로 개발되어 육종과정에서 MAS에 활용되고 있다 (Francis et al., 2012).

본 연구에서는 국내 LB 분리균주에 있어 “L3708”의 Ph-3 유전자의 유전적 영향을 알아 보고자 하였으며, 나아가 TG591, TG328 두 clone의 DNA 서열을 지니는 염색체 부위를 서열분석 하여 Ph-3의 후보유전자를 찾아내기 위해 수행되었다. 또한 Ph-3 유전자 기반의 sequence characterized amplified polymorphism (SCAR) 마커를 개발함으로써 향후 LB 저항성 육종에 활용하고자 하였다.

2. 연구재료 및 방법

가. 식물재료 및 DNA 추출

LB-저항성 계통“L3708”(S. pimpinellifolium)과 LB-감수성 계통 “AV107-4” (S. lycopersicum) 간 F2 집단을 원예특작과학원 (NIHHS)으로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 이 F2 집단으로부터 자가수정을 통해 총 112 F6 RIL 집단을 부산대 온실에서 2008~2011 동안 작성하였다. 다양한 원예형질과 병저항성을 지닌 토마토 10 계통을 유전자 기반 SCAR 마커의 평가에 활용하였다. Total genomic DNA 샘플은 Hwang et al.(2012)의 방법에 따라 어린 본엽에서부터 채취하였다.

나. RIL 집단의 표현형 검정

RIL 집단의 LB 저항성 검정은 강릉원주대학교 온실에서 2011년 12월에 수행되었다. 병리 검정은 각 RIL 마다 10 개 개체씩 3 반복으로 이루어졌다. 병접종을 위해 순수 분리한 *P. infestans* isolate “KA2” 은 V-8 juice-rye agar medium 상에서 22°C에서 보존하였다. 포자현탁은 5 ml 의 증류수에 희석하여 hemocytometer를 이용하여 농도 1×10^5 sporangia/ml로 준비하였고, 냉장고에 (13°C) 2.5 h 동안 비치하였다가 4-5 본엽 시기에 유묘에 분사접종(spraying)하였다. 접종된 유묘는 20°C 습실에서 48 h동안 치상 후 상대습도 95% 의 생장상에 옮겨졌다. 3일 후 각 식물개체의 병반응을 관찰 후 발병지수 (disease severity index, DSI)를 0에서 4까지 부여하였다 (0=병징없음, 1=엽면적 1-5%에서 발병, 2=엽 면적 5-25%에서 발병, 3=엽면적 26-50%에서 발병, 4=엽면적 51-75%에서 발병). 발병도 (disease severity rating, DSR)은 Kim (2012)이 보고한 식을 통해 계산하였다. 각 RIL의 저항성은 RIL 당 30개의 접종개체로부터 조사된 평균 DSR 값을 통해 측정되었으며, DSR이 <10%, 11-40%, 그리고 >41%일 경우 각각 저하성, 중도저항성, 감수성으로 간주하였다.

다. TG591, TG328 마커와 LB-저항성간 연관분석

TG591과 TG328 clone로부터 제작된 CAPS 마커의 염기서열, PCR 프라이머, 제한효소 정보는 Francis et al. (2012)로부터 얻었다. 이들 두 CAPS 마커의 분석은 다음의 조건을 통해 수행하였다. PCR amplifications in a total volume of 20 ml, containing 20 ng of genomic DNA, 0.3 mM each forward and reverse primer, 1X PCR buffer, 0.2 mM dNTPS, and 0.6 U of Taq polymerase (SolGent, Daejeon, Korea). The PCR conditions were as follows: 1 cycle of 5 min at 95°C, 10 cycles of 15 s at 95°C, 30 s at 60°C (in decreasing steps of 0.5°C/cycle for cycles 2-10), 30 s at 72°C, and 1 min at 72°C, followed by 35 cycles of 15 s at 95°C, 30 s at 55°C, and 1 min at 72°C. PCR 생성물의 BstNI과 NciI 제한효소 처리는 제조회사(NEB, Ipswich, USA)의 매뉴얼에 따라 수행하였

다. 젤 전기영동은 Tris-acetate EDTA (TAE)가 첨가된 2.5% 아가로스젤을 통해 120표에서 두시간 동안 수행한 후 ethidium bromide staining 후 UV light 하에서 관찰 하였다.

라. Ph-3 후보유전자 탐색

TG328과 TG591 RFLP clone의 DNA 염기서열은 SOL genomics network (SGN; <http://solgenomics.net/>)에서 ‘marker search engine’을 이용하여 탐색하였다. 이들 염기서열을 지니는 *S. pimpinellifolium* draft genome sequence의 ultracontig (SL2.4ch09)는 SGN Tomato Genome website의 genome browser를 이용하여 BLASTN search기능을 통해 탐색하였다. Ultracontig 상의 두 마커 서열을 확인 후 Ph-3 후보를 포함하여 기능 유전자의 protein-coding sequences (CDS)을 gene prediction tool을 통해 확인 하였다. DNA와 아미노산 서열간 alignment와 염기서열변이 탐색은 ClustalW software를 이용하여 수행하였다.

마. Ph-3 유전자 기반 분자마커 개발

Putative Ph-3 gene homologs 서열을 ClustalW software를 이용하여 비교분석한 후 .homolog 간 In/del 변이를 증폭시켜 각 homolog 서열을 구별하는 PCR 프라이머를 제작하였다. 마커의 PCR 증폭과 touchdown cycling 조건은 상기 기술한 바와 같다.

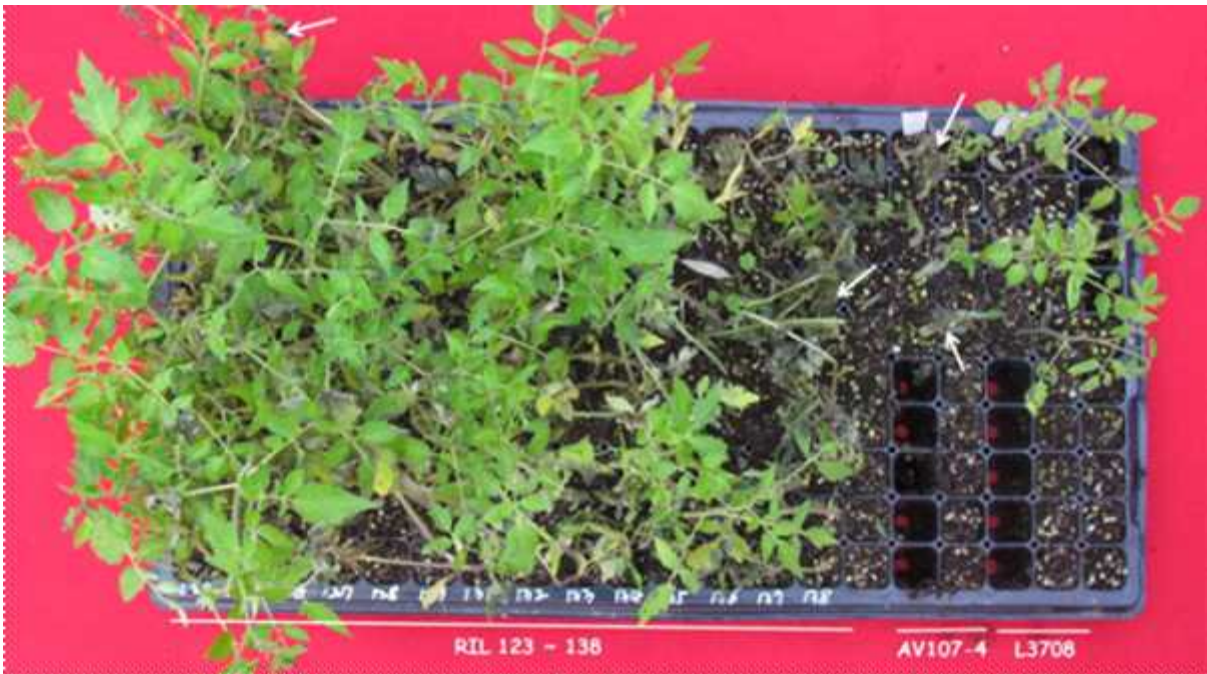
3. 연구결과 및 고찰

가. 표현형 평가

두 개 부모본을 포함하여 총 112 RIL의 국내 *P. infestans* isolate “KA2”에 대한 병리검정 수행결과 (Fig. 1), 저항성 모본 “L3708”과 감수성 부분 “AV107-4”의 DSR은 각각 2.1% 과 48.9%였으며 이는 “L3708”이 LB에 매우 높은 수준의 저항성을 보임을 알 수 있었다. RIL의 DSR은 0.7-100%로 관찰되었으며, 61 RIL이 저항성, 11 RIL이 중도저항성, 41 RIL이 감수성으로 나타났다(Table 1).

나. LB-저항성의 연관분석

Figure 1. Late blight (LB) disease severity rating for F₆ families (recombinant inbred line, RIL) derived from a cross between the LB-resistant accession “L3708” (*Solanum pimpinellifolium*) and the LB-susceptible accession “AV107-4” (*Solanum lycopersicum*). The image shows the disease reaction of 10 plants of RILs 123 to 138, “L3708,” and “AV107-4” in the second replication. Ten seeds were sown for each line. Several LB-affected plants with severe disease symptoms are indicated by arrows. The phenotyping results are shown in Table 1.



기존 연구에서 Ph-3에 근접하게 연관된 것으로 보고된 TG328 and TG591 CAPS 마커를 112 RIL에 대해 분석하고 그 결과를 RIL 병리검정 결과와 비교 분석하였다 (Table 1). “L3708”에 있어 TG328 PCR 증폭크기는 260/240 bp 이었으며 TG591은 160 bp인 반면, “AV107-4에 있어 TG328 PCR 증폭크기는 500 bp, TG591은 150 bp로 관찰되었다. 여섯개 RIL에서 두 마커가 이형(heterozygous) 이었는데 이는 이들 RIL이 F6 세대에서 완전히 순계로 고정되지 않고 이들 유전자좌가 분리되고 있음을 보여주었다. 더욱이 3 RIL은 TG328에 대해 이형이면서 TG591dp 대해서는 저항성 또는 감수성 동형 마커 유전자형이 관찰되어 두 마커간 crossing over가 일어났음을 알 수 있었다. 마커-표현형 간 연관분석을 통해 Ph-3 유전자가 국내 균주에 대해서도 저항성을 지니고 있음을 알 수 있었다.

다. Ph-3 유전자위의 구조분석

Table 1. Late blight (LB) disease severity rating (DSR) and DNA marker genotyping of F6 families derived from the LB-resistant accession ‘L3708’ (*S.pimpinellifolium*) x LB-susceptible accession ‘AV107-4’(*S.lycopersicum*).

Line	Disease severity rating(%) ^a	Phenotype	Marker genotype ^c
------	---	-----------	------------------------------

	Rep1	Rep2	Rep3	Mean		TG32	TG59	SCAR-Ph3-1	SCAR-Ph3-3
AV107-4	33.50	95.30	18.00	48.90	S	S	S	S	S
L3708	2.00	4.30	0.00	2.10	R	R	R	R	R
1	54.00	73.50	94.30	73.90	S	S	S	S	S
3	95.50	93.80	100.00	96.40	S	S	S	S	S
6	2.80	2.00	8.80	4.50	R	R	R	R	R
7	3.50	1.80	2.30	2.50	R	R	R	R	R
8	1.80	7.50	30.80	13.40	MR	S	S	S	S
9	3.30	7.80	43.00	18.00	MR	S	S	S	S
10	23.00	58.80	89.30	57.00	S	S	S	S	S
11	1.30	4.50	2.80	2.90	R	R	R	R	R
13	0.00	3.30	4.30	2.50	R	R	R	R	R
14	0.00	4.30	3.80	2.70	R	R	R	R	R
15	69.00	93.50	100.00	87.50	S	S	S	S	S
17	2.00	2.80	1.50	2.10	R	R	R	R	R
18	2.30	2.50	1.50	2.10	R	R	R	R	R
19	92.80	100.00	100.00	97.60	S	S	S	S	S
20	94.00	100.00	100.00	98.00	S	S	S	S	S
21	1.80	2.30	2.80	2.30	R	R	R	R	R
22	2.30	2.50	1.50	2.10	R	R	R	R	R
24	6.50	6.80	100.00	37.80	MR	S	S	S	S
25	3.80	3.50	0.30	2.50	R	R	R	R	R
26	2.00	1.80	2.00	1.90	R	R	R	R	R
27	2.30	11.40	2.00	5.20	R	H	H	H	H
31	2.80	3.80	5.30	4.00	R	R	R	R	R
33	3.80	2.00	4.30	3.40	R	R	R	R	R
34	0.00	0.00	2.00	0.70	R	R	R	R	R
34	0.00	0.00	2.00	0.70	R	R	R	R	R
35	49.50	55.80	30.50	45.30	S	S	S	S	S
36	92.80	73.00	100.00	88.60	S	S	S	S	S
37	2.50	2.30	24.30	9.70	R	H	H	H	H
38	1.80	0.30	2.30	1.50	R	H	H	H	H
40	2.50	2.50	8.00	4.30	R	R	R	R	R
42	96.80	96.50	76.30	89.90	S	S	S	S	S
43	0.00	12.00	7.00	6.30	R	R	R	R	R
44	0.00	1.00	15.50	5.50	R	R	R	R	R
45	0.00	4.30	0.00	1.40	R	R	R	R	R
46	48.30	34.50	84.00	55.60	S	S	S	S	S
49	93.30	100.00	100.00	97.80	S	S	S	S	S

50	83.50	94.00	85.50	87.70	S	S	S	S	S
51	16.50	0.00	2.00	6.20	R	R	R	R	R
52	91.00	92.80	82.00	88.60	S	S	S	S	S
53	2.30	3.00	4.50	3.30	R	R	R	R	R
54	2.50	3.80	1.50	2.60	R	R	R	R	R
55	14.30	58.80	98.80	57.30	S	S	S	S	S
57	93.50	84.50	94.80	90.90	S	S	S	S	S
58	100.00	96.30	96.30	97.50	S	S	S	S	S
59	2.00	4.50	2.00	2.80	R	R	R	R	R
60	100.00	96.30	100.00	98.80	S	S	S	S	S
62	0.00	0.00	3.50	1.20	R	R	R	R	R
63	43.50	5.50	79.50	42.80	S	S	S	S	S
64	1.80	3.80	2.50	2.70	R	R	R	R	R
65	0.00	4.30	1.50	1.90	R	R	R	R	R
66	1.00	3.50	1.50	2.00	R	R	R	R	R
67	1.30	4.30	14.80	6.80	R	R	R	R	R
68	93.30	94.80	90.00	92.70	S	S	S	S	S
69	26.50	19.30	26.00	23.90	MR	S	S	S	S
70	39.80	93.80	19.50	51.00	S	S	S	S	S
71	73.30	74.50	21.00	56.30	S	S	S	S	S
72	100.00	100.00	90.80	96.90	S	S	S	S	S
73	100.00	100.00	100.00	100.00	S	S	S	S	S
74	95.80	78.00	72.30	82.00	S	S	S	S	S
75	44.00	47.00	69.50	53.50	S	S	S	S	S
76	90.80	95.30	59.00	81.70	S	S	S	S	S
77	2.80	2.30	3.30	2.80	R	R	R	R	R
78	2.00	19.30	54.80	25.40	MR	S	S	S	S
79	1.30	42.30	79.30	41.00	S	S	S	S	S
80	1.30	4.30	0.00	1.90	R	R	R	R	R
81	10.00	3.30	4.80	6.00	R	R	R	R	R
82	96.30	95.00	100.00	97.10	S	S	S	S	S
84	81.30	75.30	56.00	70.90	S	S	S	S	S
85	96.50	100.00	100.00	98.80	S	S	S	S	S
89	1.30	58.50	25.80	28.50	MR	S	S	S	S
90	66.30	67.50	98.50	77.40	S	S	S	S	S
91	1.30	2.30	2.00	1.90	R	R	R	R	R
92	100.00	78.80	92.50	90.40	S	S	S	S	S
93	3.50	7.30	7.30	6.00	R	R	R	R	R
94	3.50	7.30	3.00	4.60	R	R	R	R	R

95	4.00	3.00	2.50	3.20	R	R	R	R	R
96	8.80	1.50	3.80	4.70	R	R	R	R	R
97	1.00	11.80	0.00	4.30	R	R	R	R	R
98	1.50	2.50	9.50	4.50	R	R	R	R	R
99	1.30	4.80	3.30	3.10	R	R	R	R	R
100	61.80	17.30	96.30	58.50	S	S	S	S	S
101	100.00	100.00	100.00	100.00	S	S	S	S	S
102	74.00	89.50	48.00	70.50	S	S	S	S	S
103	92.50	100.00	91.30	94.60	S	S	S	S	S
105	4.00	1.00	0.00	1.70	R	R	R	R	R
106	2.00	5.80	1.80	3.20	R	R	R	R	R
107	2.30	14.00	4.50	6.90	R	R	R	R	R
109	39.50	33.30	4.00	25.60	MR	H	H	H	H
110	0.00	100.00	100.00	66.70	S	S	S	S	S
111	5.80	37.00	51.00	31.30	MR	S	S	S	S
112	1.30	1.50	3.80	2.20	R	R	R	R	R
113	0.50	2.00	1.80	1.40	R	R	R	R	R
114	1.00	2.50	13.30	5.60	R	R	R	R	R
115	0.00	8.30	3.80	4.00	R	R	R	R	R
116	1.00	4.30	2.30	2.50	R	R	R	R	R
117	1.00	2.00	24.30	9.10	R	R	R	R	R
118	1.30	5.80	0.00	2.40	R	R	R	R	R
119	100.00	94.80	63.80	86.20	S	S	S	S	S
120	1.30	3.30	3.80	2.80	R	R	R	R	R
121	92.00	73.00	85.00	83.30	S	S	S	S	S
122	22.80	3.30	40.00	22.00	MR	H	H	H	H
123	6.80	3.30	2.50	4.20	R	R	R	R	R
126	5.50	9.30	10.00	8.30	R	R	R	R	R
127	5.30	5.00	77.80	29.40	MR	S	S	S	S
129	0.00	4.50	25.30	9.90	R	R	R	R	R
131	0.00	3.30	3.30	2.20	R	R	R	R	R
132	0.00	4.50	4.80	3.10	R	R	R	R	R
133	0.00	1.00	3.30	1.40	R	R	R	R	R
134	6.30	4.30	0.80	3.80	R	R	R	R	R
135	100.00	100.00	100.00	100.00	S	S	S	S	S
136	4.80	4.00	0.00	2.90	R	R	R	R	R
137	72.00	95.50	94.30	87.30	S	S	S	S	S
138	25.00	22.80	49.50	32.40	MR	S	S	S	S

^a The disease severity rating (DSR) was calculated using the formula described by Kim (2012). Rep, Replication.

^bR, Resistance; MR, Moderately resistance; S, Susceptibility.

^cR, presence of PCR band specific to the resistance allele [approximate band size of 260/240 bp for TG328, 160 bp for TG591(band *k* in Fig. 5), 368/380 bp for SCAR-Ph3-1 (band *a* / *b* in Fig. 4 and 5), 358/370 bp for SCAR-Ph3-3 (band *g* / *h* in Fig. 4 and 5)]; S, presence of PCR band specific to the susceptibility allele [approximate band size of 500 bp for TG328, 150bp for TG591 (band *j* in Fig. 5), 330bp for SCAR-Ph3-1 (band *c* in Fig. 4 and 5), 650bp for SCAR-Ph3-3 (band *l* in Fig.4 and 5)]; H, presence of all PCR bands specific to the resistance and susceptibility allele.

S. pimpinellifolium draft-genome sequence BLAST를 통해 TG328 and TG591 clone의 forward와 reverse genomic sequences를 얻고 이들 서열을 alignment 하였다. BLASTN search를 통해 chromosome 9의 ultracontig, SL2.4ch09에서부터 두 clone의 서열을 확인하였다. Ultracontig의 전체 염기서열을 조사하여 TG328와 TG591의 정확한 위치와 Ph-3 후보 유전자 및 다수 기능 유전자를 존재를 확인하였다. TG328 sequence는 chromosome 9의 6709447~66710212 bp에 존재하였으며, TG591는 두 개의 영역에 나란히 중복되어 있었는데 이들 중복 서열의 sequence homology는 각각 92.26% and 98.97% 매우 높았으며, 위치는 각각 chromosome 9의 66783126~66784185 bp, 66794012~66795071 bp 존재하였다(Fig. 2). TG591의 PCR primer sequences는 이들 중복영역(duplicated regions)에 잘 보존되어 있었으며, 두 중복 영역에서 동일한 크기의 PCR 산물을 동시에 증폭하는 것으로 예상되었다.

Gene prediction을 통해 10개의 complete CDS가 ultracontig SL2.4ch09 영역내에 존재함을 알 수 있었다. 이 중 4개 CDS가 coiled-coil nucleotide-binding site leucine-rich repeat (CC-NBS-LRR) class의 병 저항성 유전자이었다. 4개 CDS의 서열 길이는 2541에서 2762 bp였으며 서열 간 높은 homology가 관찰되었다. (Appendix 1). 또한 이들 CDS는 66762154에서 66795103 bp 범위의 영역내에서 연속적으로 중복되어 있었다. 본 연구에서 각 중복 유전자를 Ph-3a, Ph-3b, Ph-3c, Ph-3d로 명명하였다(Fig. 2). 이들 유전자의 단백질 서열을 Pairwise comparison한 결과 유사성(similarity)이 77.0%에서 95.0%였으며, 가장 높은 유사성은 95%로 Ph-3c와 Ph-3d에서 관찰되었다(Appendix 2). Ph-3의 단백질 서열을 기능이 알려진 유전자들과 align한 결과, 높은 서열 유사성이 Rpi-vnt1.1과 Rpi-vnt1.3 유전자로부터 관찰되었는데, 이들 유전자는 감자에서 CC-NBS-LRR LB-저항성 유전자로 보고된 바 있다(Appendix 2). 단백질 서열 alignment로부터 Ph-3c와 Ph-3d가 Rpi-vnt1.1와 Rpi-vnt1.3에

80%fh 높은 상동성을 보이는 반면 Ph-3a and Ph-3b는 이들 유전자들과 약 70%의 유사성을 보임을 알 수 있었다. 이러한 단백질 서열에 있어서의 유사성은 Ph-3 유전자가 “L3708”에서 LB-저항성을 만드는 실제적인 유전자 일 수 있음을 보여주었다.

라. Ph-3 유전자 기반 SCAR 마커 개발

각 Ph-3 gene homolog를 구별할 수 있는 SCAR 마커들을 개발하였다(Table 2). Ph-3 gene homolog 간 single nucleotide polymorphisms (SNPs)과 insertion/deletions (In/Dels) 서열변이의 존재를 multiple sequence alignment로 분석하였다. 13개 SNP와 In/Del 영역이 탐색되었으며, 이 세 개의 주요 In/Del(> 8 bp) 을 타겟으로 세개의 PCR primer pair (SCAR-Ph3-1, SCAR-Ph3-2, and SCAR-Ph3-3)를 디자인 하였다. 이 들 primer를 조합으로 이용하여 PCR 증폭산물의 크기의 차이에 따라 각 homolog들을 구분할 수 있도록 하였다 (Fig. 3). 이들 primer 서열과 “L3708”내의각 Ph-3 gene homolog로부터 예상되는 PCR 산물의 크기에 대한 정보는 Table 2에 나타내었다. PCR과 전기영동 후, 각 homolog는 homolog-specific banding pattern을 통해 구분되는데 Ph-3a로부터는 291, 358, 368 bp 밴드가, Ph-3b로부터는 300, 358, and 368 bp 밴드가 세 개의 primer set을 이용하여 증폭된다(Table 2, Fig. 4).

LB-감수성인 “AV107-4”를 SCAR 마커로 검정한 결과, 각 마커로부터 “L3708”과의 다형성이 관찰되었다(Fig. 4). 특히 SCAR-Ph3-1와 SCAR-Ph3-3에 있어, “L3708” 내 Ph-3 homolog로부터 예상되는 PCR 증폭이 “AV107-4”에서는 관찰되지 않았다. 반면에 “L3708”에 특이적인 단일 PCR 밴드 (Fig. 4의 a, b, g, and h in) 두 마커로부터 증폭 되었다. SCAR-Ph3-2에 있어서는 “AV107-4”로부터 Ph-3a와 거의 동일한 크기의 단일 PCR 밴드 (Fig. 4의 f) 가 증폭된 반면 Ph-3b, Ph-3c, 또는 Ph-3din에 특이적인 크기의 밴드는 “AV107-4”에서 관찰되지 않았다 (Table 2). 이들 SCAR 마커를 이용한 PCR profiling은 “AV107-4” 가 적어도 한 개 이상의 Ph-3 gene homolog를 지니고 있으며, 이들 homolog들은 DNA 서열 수준에서 “L3708”의 homolog들과 상이함을 보여주었다.

Table 2. PCR primers for SCAR markers specific to the *Ph-3* homolog genes and expected size of the PCR products

Marker ID	Primer sequence (5'-3')		Expected PCR product size (bp)			
	Forward	Reverse	<i>Ph-3a</i>	<i>Ph-3b</i>	<i>Ph-3c</i>	<i>Ph-3d</i>
SCAR-Ph3-1	TGATTCAAAAATTGGCAGTAGG	TTAATGCAATAGGCAAATCATTG	368	368	380	380
SCAR-Ph3-2	CTTCTTTCACACCGAGCACA	AATTGCAGATAGCGTAAGCAAC	291	300	300	300
SCAR-Ph3-3	GCTCTGAAGCTCATATTTTWKTAT CA	TTTTCAATTTAGGCATACTSACA TC	358	358	370	358

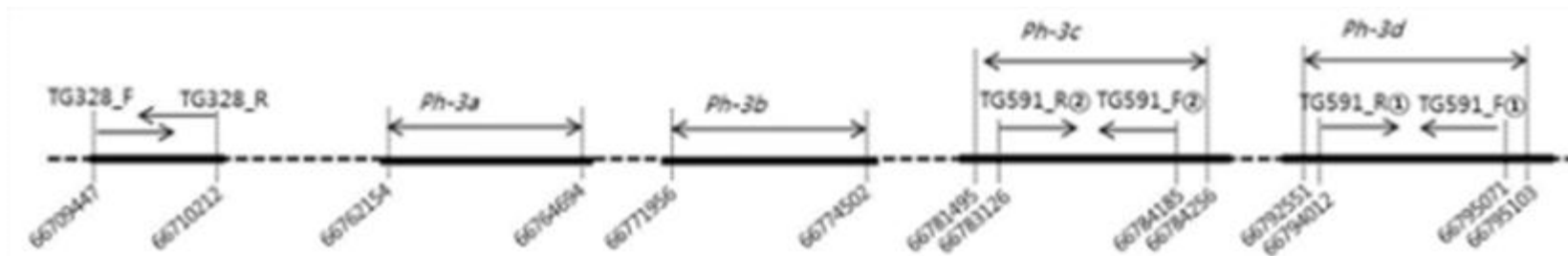


Figure 2. A schematic representation of the ultracontig of *Solanum pimpinellifolium* genomic sequence showing the locations of the TG328 and TG591 clones and *Ph-3* gene homologs (*Ph-3a*, *Ph-3b*, *Ph-3c*, and *Ph-3d*). Forward and reverse sequences of each clone are marked as F and R, respectively. The 2 homologous regions of TG591 are indicated as ① and ②. The start and stop points of the clones and *Ph-3* homolog genes are shown as the number of base-pairs(bp) below the line. The first and second copies of the TG591 sequence were

contained in *Ph-3c* and *Ph-3d*, respectively.

Table 2. The PCR primers for SCAR markers specific to the *Ph-3* homolog genes and expected size of PCR products.

Marker ID	Primer sequence (5'-3')	Expected PCR product size(bp)			
		Ph-3a	Ph-3b	Ph-3c	Ph-3d
SCAR-Ph3-1	(F)TGATTCAAAAATTGGCAGTAGG	368	368	380	380
	(R)TTAATGCAATAGGCAAATCATTG				
SCAR-Ph3-2	(F)CTTCTTTCACACCGAGCACA	291	300	300	300
	(R)AATTGCAGATAGCGTAAGCAAC				
SCAR-Ph3-3	(F)GCTCTGAAGCTCATATTTTWTATCA	358	358	370	358
	(R)TTTTCAATTTAGGCATACTSACATC				

마. 유전자 기반 마커의 MAS 유용성 검증

두 공우성 SCAR 마커(SCAR-Ph3-1과 SCAR-Ph3-3)를 112 RIL에 테스트 하였으며, 그 결과를 TG591 마커 검정 결과와 비교분석하였다(Table 1). SCAR 마커와 TG591간 완전한 유전자형 일치에 관찰되었는데, 이는 본 맵핑 집단에서 *Ph-3* homolog 간 유전적 재조합이 일어나지 않았음을 시사하였다. *Ph-3* homologs의 게놈상 구조를 다양한 토마토 유전자원을 통해 분석하였다(Fig. 5). LB-감수성인 8개 토마토 계통을 SCAR 마커로 검증한 결과 모두 “AV107-4”와 동일한 유전자형을 보였다.

SCAR 마커 검정결과 “L3708”과 테스트된 대부분의 감수성 유전자원 간 *Ph-3* 후보유전자에 대해 다형성이 관찰되었는데 이는 이들 SCAR 마커들이 *Ph-3* 유전자 도입을 위한 MAS에 유용하게 활용될 수 있음을 보여준다. 하지만 *Ph-3* 유전자가 LB에 부분적인 저항성을 지니고 있고, *Ph-3* 유전자를 완전히 무너뜨릴 수 있는 새로운 병원균주가 발생할 수 있으므로 *Ph-4*, *Ph-5*, 또는 durable QTL과 같은 다수 유전자의 pyramiding이 LB-저항성 품종 육성에 요구된다.

Fig. 2. DNA sequence alignment of the *Ph-3* gene homologs detected from the ultracontig SL2.4ch09 of *S.pimpinellifolium* draft genome sequence.

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

Ph-3c      ATGGCTGATATTCTTCTTACAGCAGTCATCAATAAATCTGTTGAAATAGCTGCAAATCTA 60
Ph-3d      ATGGCTGATATTCTTCTTACAGCAGTCATCAATAAATCTGTTGAAATAGCTGCAAATCTA 60
Ph-3a      ATGGGAGAAATTGTTCTTCTTCTGCAGTTATCAGTAAAGCAACAGAGGCAGCCGGAATCTA 60
Ph-3b      ATGGGAGAAATTGTTCTTCTTCTGCAGTTATCAGTAAAGCAACAGAGGCAGCCGGAATCTA 60
          ****  ** *** ***** * ***** ** ** * ** * *****

Ph-3c      CTCGTGCAAGAAGGTACGCGTTTATATGGTTGAAGGAGGACATCGATTGGCTCCAAAGA 120
Ph-3d      CTCGTGCAAGAAGGTACGCGTTTATATGGTTGAAGGAGGACATCGATTGGCTCCAAAGA 120
Ph-3a      CTCGTTGAGAAATGGTCAAACCTTGACTTCATTAGAAGAGAGCATGAATTGGCTCAAACA 120
Ph-3b      CTCATTGAGAAATGGTCAAACCTTGAATTCATTAGAAGAGAGCATGAATTGGCTCAAACA 120
          *** * * ** * * ** ** * * ** * ** ***** ** *

                                     TG591

Ph-3c      GAAATGAAACACATTCGATCATATGTAGACGATGCAAAGGCAAAGGAAGTTGGAGGTGAT 180
Ph-3d      GAAATGAAACACATTCGATCATATGTAGACGATGCAAAGGCAAAGGAAGTTGGAGGTGAT 180
Ph-3a      GAAATGTTGCTAATTCAGTCTTACATTATTTGATGCAAGAACCAAATTAAGTCAAGGAGAT 180
Ph-3b      GAAATGTTGCTAATTCAGTCTTACATTATTTGATGCAAGAACCAAATTAAGTCAAGGACAT 180
          ***** * **** ** ** * ***** * ** * * ** **

Ph-3c      TCAAGGGTCAAAAACCTATTAGAAGATATTCAACAACCTGGCAGGTGATGTGGAGGATCTA 240
Ph-3d      TCAAGGGTCAAAAACCTATTAGAAGATATTCAACAACCTGGCAGGTGATGTGGAGGATCTA 240
Ph-3a      TCAACGGTCAAAAACCTTGATCAAATATATTGAACAACCTGCGGATGATGCAAACGACATC 240
Ph-3b      TCAACGGTCAAAAACCTTGATCAAATATATTGAACAACCTGCGGATGATGCAAACGACATC 240
          **** ***** * * ** ***** ***** ** * ***** * ** *

Ph-3c      TTAGATGAGTTCCTTCCAAAATTCACAATCCAATAAGT--TCATTTGTTGCCTTAAGA 298
Ph-3d      TTAGATGAGTTCCTTCCAAAATTCACAATCCAATAAGT--TCATTTGTTGCCTTAAGA 298
Ph-3a      TTAGATGAATTCCTTCCAAAATTGAACG--CAAAGGAACAATTGGTTGTCGCGTTAGTA 298
Ph-3b      TTAGATGAATTCCTTCCAAAATTGAACG--CAAAGGAACCATTTGGTTGTCGCGTTAGTA 298
          ***** ***** ***** ** * ** * * ** * ** * **

Ph-3c      CTGTTTATTTTGCGAATAAGTTTGTCTATGGAGATTGAGAAGATAAAAAGAAGAGTTGCTG 358
Ph-3d      CTGTTTATTTTGCGAATAAGTTTGTCTATGGAGATTGAGAAGATAAAAAGAAGAGTTGCTG 358
Ph-3a      ATGTTTCTTCTGCCAACAAAGTTTGTGCGGAGATTGAAAAGATAAAAACGAAGAGTTGCTG 358
Ph-3b      ATGTTTCTTCTGCCAACAAAGTTTGTGCGGAGATTGAAAAGATAAAAACGAAGAGTTGCTG 358
          ***** ** *** ** ***** ***** ***** *****

Ph-3c      ATATTGACCGTGTAAAGACAACCTTACAACATCACAGATACAAGTAACAATAATGAT---- 414
Ph-3d      ATATTGACCGTGTAAAGACAACCTTACAACATCACAGATACAAGTAACAATAATGAT---- 414
Ph-3a      AGATTGATGGTTTGAAGAACAACCTATGGCATCACTGATACAAGTAACAATAACAATCAAC 418
Ph-3b      AGATTGATCGTTTGAAGAACAACCTATGGCATCACTGATACAAGTAACAATAACAATCAAC 418
          * ***** ** * ** ***** ***** ***** *****

Ph-3c      --GATTGCATTCCAATGGACCGGAGAAGACGATTCTTCATGCTTATGATGAAACAGAGG 472
Ph-3d      --GATTGCATTCCAATGGACCGGAGAAGACGATTCTTCATGCTTATGATGAAACAGAGG 472
Ph-3a      ATGACTACATTCCGTGGGACCAGAGAGGAGTATTCTTCATGCT--GATGAAACAGAGG 475

```

Ph-3b ATGACTACATTCGGTTGGACCAGAGAGGATTATTCCTTCATGCT--GATGAAACAGAGG 475
* * * * *

Ph-3c TCATCGGTTTGGATCATGACTTCAACAAGCTCCAACACAAATTGCTTCTCAAGATTTGC 532
Ph-3d TCATCGGTTTGGATCATGACTTCAACAAGCTCCAACACAAATTGCTTCTCAAGATTTGC 532
Ph-3a TCGTCGGTTTGGATGATGACTTCAATAAGCTACAAGCCAAATTAATTGATCATCATTTC 535
Ph-3b TCGTCGGTTTGGATGATGACTTCAATAAGCTACAAGCCAAATTAATTGATCATCATTTC 535
* * * * *

Ph-3c CTTATGGAGTTGTTTCAATAGTTGGCATGCCCGGTTTGGGAAAACTACTCTTGCCAAGA 592
Ph-3d CTTATGGAGTTGTTTCAATAGTTGGCATGCCCGGTTTGGGAAAACTACTCTTGCCAAGA 592
Ph-3a CTTATAAAGTTGTTTCAATAGTTGGCATGCCCGGTTTGGGAAAACTACTCTTGCCAAGA 595
Ph-3b CTTATGGAGTTGTTTCAATAGTTGGCATGCCCGGTTTGGGAAAAACAACCTCTTGCCAAGA 595
* * * * *

Ph-3c AACTTTATAGGCACGTCCGTCAATTTGAATGTTCTGGATTGGTCTATGTCTCGCAGC 652
Ph-3d AACTTTATAGGCACGTCCGTCAATTTGAATGTTCTGGATTGGTCTATGTCTCGCAGC 652
Ph-3a AACTTTATAGGCACGTCCGTCAATTTGAATGTTCTGGATTGGTCTATGTCTCGCAGC 655
Ph-3b AACTTTATAGGCACGTCCGTCAATTTGAATGTTCTGGATTGGTCTATGTCTCGCAGC 655
* * * * *

Ph-3c AGCCAAGGGCGGGAGAAATCTTGCTTAACATAGCCAACAAGTTGGACTGACGGAGAAG 712
Ph-3d AGCCAAGGGCGGGAGAAATCTTGCTTAACATAGCCAACAAGTTGGACTGACGGAGAAG 712
Ph-3a AGCCAAGGGCGGGAGAAATCTTGCTTAAGATAGCCAACAAGTTGGACTGACGGAGAAG 715
Ph-3b AGCCAAGGGCGGGAGAAATCTTGCTTAAGATAGCCAACAAGTTGGACTGACGGAGAAG 715
* * * * *

Ph-3c AAAGGAAAGAGAACTTGAACACAACCTAAGATCACTCTGAAAATAAAAAGGTACGTTA 772
Ph-3d AAAGGAAAGAGAACTTGAACACAACCTAAGATCACTCTGAAAATAAAAAGGTACGTTA 772
Ph-3a AAAGGAAAGAGAACTTGAAGACAACCTAAGATCACTCTGAAAAGAAAAGGTATGTTA 775
Ph-3b AAAGGAAAGAGAACTTGAAGACAACCTACGATCACTCTGAAAAGAAAAGGTATGTTA 775
* * * * *

Ph-3c TCCTTTTAGATGACATTTGGGATGTTGAAATTTGGGATGATCTAAAACCTGTCCTTCCTG 832
Ph-3d TCCTTTTAGATGACATTTGGGATGTTGAAATTTGGGATGATCTAAAACCTGTCCTTCCTG 832
Ph-3a TCCTCTTAGATGACATTTGGAAGTTCAAATTTGGGATGATCTCAAACCTGTCCTTCCTG 835
Ph-3b TCCTCTTAGATGACATTTGGAAGTTCAAATTTGGGATGATCTCAAACCTGTCCTTCCTG 835
* * * * *

Ph-3c AATCTGATTCAAAAATTGGCAGTAGGATAATTATGACCTCTCGAAATAGTAATGTAGGCA 892
Ph-3d AATCTGATTCAAAAATTGGCAGTAGGATAATTATAACCTCTCGAAATAGTAATGTAGGCA 892
Ph-3a AATGTGATTCAAAAATTGGCAGTAGGATAATTATTACTTCTCGAAATAATGATGTAGGCA 895
Ph-3b AATGTGATTCAAAAATTGGCAGTAGGATAATTATTACTTCTCGAAATAATGATGTAGGCA 895
* * * * *

TG591R

Ph-3c GATACATAGGAGGGGATTTCTCAATCCACGAGTTGCAACCTCTAGACTCAGAGAACAGTT 952
Ph-3d GATACATAGGAGGGGATTTCTCAATCCACGAGTTGCAACCTCTAGACTCGGAGAACAGTT 952
Ph-3a GATACATAGGAGGGGATTCCTCGCTCCACGAGTTGCAACCTTTGACTCAGAGAAGAGTT 955
Ph-3b GATACATAGGAGGGGATTCCTCGCTCCACGAGTTGCAACCTTTAGACTCAGAGAAGAGTT 955
* * * * *

Ph-3c TTGAACTCTTTACCAAGAAAATCTGTAATTTTGTAAATGATAATTTGGCCAATACTTCAC 1012
Ph-3d TTGAACTCTTTACCAAGAAAATCTGTAATTTTGTGATGATAATTTGGCCAATACTTCAC 1012
Ph-3a ATGAACTCTTTACCAAGAAAATCTTTATTTTGG---ATAATAATCA-----TTCAG 1003
Ph-3b TTGAACTCTTTACCAAGAAAATCTTTATTTTGG---ATAATAATCA-----TTCAG 1003
***** ** ***** ** ***** *****

Ph-3c CAGACTTGGTAAATATTGGTAGATGTATAGTTGAGAGATGTGGAGGTATACCGCTAGCTA 1072
Ph-3d CAGACTTGGTAAATATTGGTAGATGTATAGTTGAGAGATGTGGAGGTATACCGCTAGCGA 1072
Ph-3a TTGACTTGGTAGATATTGGTAAAAGTATAGTTAAGAGATGTGGTAGTATACCATTAGCCA 1063
Ph-3b TTGACTTGGTAGATATTGGTAAAAGTATAGTTAAGAGATGTGGTAGTATACCATTAGCCA 1063
***** * ***** ***** ***** ***** *

Ph-3c TTGTGGTACTGCAGGTATGTTAAGGGCAAGAGGAAGAACAACATGCATGGAACAGAG 1132
Ph-3d TTGTGGTACTGCAGGTATGTTAAGGGCAAGAGGAAGAACAACATGCATGGAACAGAG 1132
Ph-3a TTGTGTGACAGCAGGCGTGTAAAGGGCAAGAGAAAGAACGGAACATGCATGGAACAAAG 1123
Ph-3b TTGTGTGACAGCAGGCGTGTAAAGGGCAAGAGAAAGAACGGAACATGCATGGAACAGAG 1123
**** ***** ***** ***** ***** ***** *

Ph-3c TACTTGAGAGTATGACTCACAAAATTCAGAGGGATGTGCTAAGGTATTGGCTTTGAGTT 1192
Ph-3d TACTTGACAGTATGACTCATAAAAATTCAGAGGGATGTGCTAAGGTATTGGCTTTGAGTT 1192
Ph-3a TACTTGAGAGTATGGCCATAGAGTTGAAGATGGATGTGCTAAGGTATTGGCTTTGAGTT 1183
Ph-3b TACTTGAGAGTATGGCCATAGAGTTGAAGATGCATGTGCTAAGGTATTGGCTTTGAGTT 1183
***** ***** * * * * * ***** ***** ***** *****

Ph-3c ACAATGATTTGCCTATTGCATTAAGGCCATGTTTCTTGATTTTGGCCTTTTCCCGAGG 1252
Ph-3d ACAATGATTTGCCTATTGCATTAAGGCCATGTTTCTTGACTTTGGCCTTTTCCCGAGG 1252
Ph-3a ACAATGATTTGCCTATTGCATTAAGGCCATGTTTCTTGACTTTGGCCTTTTCCCAAGG 1243
Ph-3b ACAATGATTTGCCTATTGCATTAAGGCCATGTTTCTTGACTTTGGCCTTTTCCCGAGG 1243
***** ***** ***** ***** ***** ***** *

Ph-3c ACCATGAAATTCGTGCTTTTGATTTGATAAATATGTGGATTGCTGAGAAGCTCATAGTTG 1312
Ph-3d ACTATGAAATTCGTGCTTTTGATTTGATAAATATGTGGATTGCTGAGAAGCTCATAGTTG 1312
Ph-3a ACCATGAAATTCGTGCTTTTGATTTGATAAATATGTGGATTGCTGAGAAGCTCATAGTTG 1303
Ph-3b ACCATGAAATTCGTGCTTTTGATTTAATAAATATGTGGATTGCTGAGAAGCTCATAGTTG 1303
** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****

Ph-3c TAAATAGTAGTAATACGCGAGAGGCTGAAAGTAAGGCGGAGGATTCCTAAATGATTTGG 1372
Ph-3d TAAATAGTGGAATACGCGAGAGGCTGAAAGTAAGGCGGAGGATTCCTAAATGATTTGG 1372
Ph-3a TAAATAGTGGAATACGCGAGAGGCTGAAAGTAAGGCGGAGGATTCCTAAATGATTTGG 1363
Ph-3b TAAATAGTGGAATACGCGAGAGGCTGAAAGTAAGGCGGAGGATTCCTAAATGATTTGG 1363
***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****

Ph-3c TTTCTAGAACTTGATCCAAGTTGCCAAAAGGAGATATGATGGAAGAATTTCAACTTGTC 1432
Ph-3d TTTCTAGAACTTGATCCAAGTTGCCAAAAGGAGATATGATGGAAGAATTTCAACTTGTC 1432
Ph-3a TTTCTAGAACTTGATCCAAGTTGCCAAAAGGAGATATGATGGAAGAATTTCAACTTGTC 1423
Ph-3b TTTCTAGAACTTGATCCAAGTTGCCAAAAGGAGATATGATGGAAGAATTTCAACTTGTC 1423
***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****

Ph-3c GCATACATGACTTGTACATAGTTTGTGTGTGGAGTTGGGCAAGGAAAGTAACTTCTTTC 1492
Ph-3d GCATACATGACTTGTACATAGTTTGTGTGTGGAGTTGGGCAAGGAAAGTAACTTCTTTC 1492
Ph-3a GCATACATGACTTGTACATAGTTTGTGTGTAGAGTTGGGCAAGGAAAGTAACTTCTTTC 1483

Ph-3b GCATACATGACTTGTACATAGTTTGTGTGGAGTTGGGCAAGGAAAGTAACTTCTTTC 1483

Ph-3c ACACCGAGCACAATGCATTTGGTGATCCCGGCAATGTTTCTAGGGTGCGAAGGATTACAT 1552
 Ph-3d ACACCGAGCACAATGCATTTGGTGATCCCGGCAATGTTTCTAGGGTGCGAAGGATTACAT 1552
 Ph-3a ACACCGAGCACAATGCATTTGGTGATCCCGGCAATGTTTCTAGGGTGCGAAGGATTACAT 1543
 Ph-3b ACACCGAGCACAATGCATTTGGTGATCCCGGCAATGTTTCTAGGGTGCGAAGGATTACAT 1543

Ph-3c TCTACTCTAATATTAATGCCATGAATGATTTCTCCGTTCAAATCCTAAGCCTAAGAAAC 1612
 Ph-3d TCTACTCTAATATTAATGCCATGAATGATTTCTCCGTTCAAATCCTAAGCCTAAGAAAC 1612
 Ph-3a TCTACTCTGATATTAATGCCATGAATAAGTTCCTCCGTTCAAATCCTAATCCTAAGAAAC 1603
 Ph-3b TCTACTCTGATATTAATGCCATGAATGAGTTCCTCCGTTCAAATCCTAATCCTAAGAAAC 1603

Ph-3c TTCGTGCACTTTTCTGTTTTATAAATGATACTTGCCATTTTTCTCAACTGGCTCGTCATG 1672
 Ph-3d TTCGTGCACTTTTCTGTTTTATAAATGATACTTGCCATTTTTCTCAACTGGCTCGTCATG 1672
 Ph-3a TTCGTGCACTTTTCTGTTTTATAGATGATACTTGCCATTTTTCTCAACTGGCTCGTCATG 1663
 Ph-3b TTCGTGCACTTTTCTGTTTTGTACATAATAGGTGCCATTTTTTGAAGTGGCTCGTCATG 1663

Ph-3c ACTTCAAATTATTGCAAGTGTGGTTGTAGTCATAGCTTATGATTATTTTTTAAGTTACA 1732
 Ph-3d ACTTCAAATTATTGCAAGTGTGGTTGTAGTCATAGCTTATGATTATTTTTTAAGTTACA 1732
 Ph-3a ACTTCAAATTATTGCAAGTGTGGTTGTAGTCATAGCTAATGATTATT-----CCA 1714
 Ph-3b ACTTTAAATTATTGCAAGTGTGGTTGTAGTCATACCTTATGATCATTATTTAGACCCA 1723
 **** ***** ** ***** **

Ph-3c TAGGAATCCCAAAAACGTTTGGGAAGACGAGTTGCTTACGCTATCTGCAATTTGAGGGGC 1792
 Ph-3d TAGGAATCCCAAAAACGTTTGGGAAGACGAGTTGCTTACGCTATCTGCAATTTGAGGGGC 1792
 Ph-3a TGGAAATCCCAAACACGTTTGGGAAGACGAGTTGCTTACGCTATCTGCAATTTGAGGGGC 1774
 Ph-3b TGGTTATCCCAAACACGTTTGGGAAGAAGAGTTGCTTACGCTATCTGCAATTTGAGGGGC 1783
 * * ***** ***** *****

Ph-3c ATATGTATGGGGAAGTCCCAAATAGTATGGTCAAACATATGCAGACCCATAAATATTGAAA 1852
 Ph-3d ATATGTATGGGGAAGTCCCAAATAGTATGGTCAAACATATGCAGACCCATAAATATTGAAA 1852
 Ph-3a AAATGCGTGGGAAATGCCCAAATAGTATGGTCAAACATATGCAGACCCATAAATATTGAAA 1834
 Ph-3b ATATGTATGGGGAAGTCCCAAACAGTATGGTCAAACATATGCAGACCCATAAATATTGAAA 1843
 * *** ***** ***** *****

Ph-3c ATAGCTGGGCAATACTTCCACTGGTGTGTTGGGAGTCTACACAATTGAGACATCTTCGTT 1912
 Ph-3d ATAGCTGGGCAATACTTCCACTGGTGTGTTGGGAGTCTACACAATTGAGACATCTTCGTT 1912
 Ph-3a ATAGCTCGACTTACCTTCCACTGGTGTGTTGGGAGTCTAAACAATTGAGACATCTTCGTT 1894
 Ph-3b ATAGCTTCACTGAACCTTCCACTGGTGTGTTGGGAGTCTAAACAATTGAGACATCTTCGTT 1903

Ph-3c GTAAAGTAATTTACAAGAATCTAACTGTGCTTTTCTATAAGCCGAAACATTTGCTCAT 1972
 Ph-3d GTAAAGTAATTTACAAGAATCTAACTGTGCTTTTCTATAAGCCGAAACATTTGCTCAT 1972
 Ph-3a ATAAAGTGTTTGAAGCATCTAACTGTGCTTTTCTATAAGCCGAAAAATTTACTCAT 1954
 Ph-3b ATAATGGTACTTTTCAAGCATCTAACTGTGCTTTTCAATAAGCCGAAAAATTTACTCAT 1963
 *** ** * * ***** ***** *****

Ph-3c TGCCCTCCTACTAATCTACAAAACCTTGATGTGTGTGGATGATAAGTTTGTGAACCGAGAT 2032
Ph-3d TGCCCTCCTACTAATCTACAAAACCTTGATGTGTGTGGATGATAAGTTTGTGAACCGAGAT 2032
Ph-3a TGCCCTCCTAATAATATACAAAACCTTGATGTGTGTGGATGATAAGTTTGTGAACCGAGAT 2014
Ph-3b TGCCCTCCTAATAATATACAACTTTGATGTATGTGGATGATAATTTTGTGAACCTGAGAT 2023
***** **

Ph-3c TATTTACCCGGTTGATCAACTTAAGAAAACCTGGGTATATGGAGAGTATCTGATTCTACCA 2092
Ph-3d TATTTACCCGGTTGATCAACTTAAGAAAACCTGGGTATATGGAGAGTATCTGATTCTACCA 2092
Ph-3a TATTTACCCGGTTGATCAACTTAAGAAAACCTGGGTATATGGAGTGTATCAGATTCTACCG 2074
Ph-3b TATTTACCCGGTTTATCAACTTAAGAAAACCTGGGTATATGGAGTGTATCAGATTCTACCG 2083

Ph-3c TTCAGATATTATCAACGTTGCCAAAAGAGTTGGAAGCTCTGAAGCTCATATTTTGTATC 2152
Ph-3d TTCAGATATTATCAACGTTGCCAAAAGAGTTGGAGGCTCTGAAGCTCATATTTTGTATC 2152
Ph-3a TTCAGATATTATCAACATTGCCAAAAGAGTTGGAGGCTCTGAAGCTCATATTTTATTATC 2134
Ph-3b TTCAGATATTATCAACATTGCCAAAAGAGTTGGAGGCTCTGAAGCTCATATTTTATTATC 2143

Ph-3c AATCGAGTGAGCAAATAAACTTGTCCACCTTTCCAAATATTGTTAAGTTGATTTGTCTT 2212
Ph-3d AATCGAGTGAGCAAATAAACTTGTCCACCTTTCCAAATATTGTTAAGTTGCATTGAAT- 2211
Ph-3a AATCGAGTGAGCAAATAAACTTGTTCGTCCTGTTTCATATATTGTTAAGTTGCATTGAGA- 2193
Ph-3b AACCGAGTGAGCAAATAAACTTGTTCGTCCTATCCATATATTGTTAAGTTGCATTGAAT- 2202
** *****

Ph-3c CGGAAGTTTGCAGTACAGTATTGCCTTCGAACTGTGAAGCATTCCCTCCAAATCTTGCCA 2272
Ph-3d -GGAAG----CGA-----GCATTGAACTCTGAAACGTTCCCTCCAAATCTTGTC 2257
Ph-3a -GGAAG----CGT-----GCGTTTGAACCTGAAATCATTCCCTCCAAATCTCATCA 2239
Ph-3b -GGAAG----TGT-----GCGTTTGAATCTGAAATCATTCCCTCCAAATCTCGTCA 2248
***** *

Ph-3c AGCTTACTCTTGTTTAC-TTGATGGTAGAAGGCCATGCAGTGTCAACGCTTAAGAAATG 2331
Ph-3d AGCTTACTCTTAGCTGCATTGA-GGTAGAAGGTCATTTAGTAGCATTGCTTAAGAAATG 2316
Ph-3a AGCTTACTCTTTGCTACATTGA-TGTAGAGGGTCATTTAGTGGCATTGCTTAAGAAATG 2298
Ph-3b AGCTTACTCTTCGCAACATTGA-GGTAGAGGGTCATTTAGTGGCATTGCTTAAGAAATG 2307
***** * *****

Ph-3c CCCAAATTAAGATGCTTAAAATGATTTCTGCAGCCATATGGAAGAAAAGATGGATCTC 2391
Ph-3d CCCAAATTAAGAATACTTAAAATGATTTACTGCCAACATAAGGAAGAAAAGATGGATCTC 2376
Ph-3a TCCAAATTAAGAATACTTAAAATGATTCGGTGCAACATAAGGAAGAAAAGATGGATCTC 2358
Ph-3b CCCAAATTAAGAATACTTAAAATGATTTACTGCCAACATAAGGAAGAAAAGATGGATCTC 2367
***** ** *****

Ph-3c TCTGGTGGT--GATAGCTTTCTGCAACTTGAATTTTGCATATTCAAAACCAATCGGG 2448
Ph-3d TCTGGTGATAATGATAGCTTTCTGCAACTTGAAGTTCTGCATATTCAAAACCAATCGGG 2436
Ph-3a TGTGGTGTGGTGTAGCTTTCCGCAACTTGAAGTTCTTCATATTCAGAACCATCCGGG 2418
Ph-3b TCTGGTGATAATGATAGCTTTCTGCAACTTGAAGTTCTGCATATTCAGAACCATCCGGG 2427
* ***** *

Ph-3c TTGTCTGAAGTAGCGTGCACAGATGATGTGAGTATGCCTAAATGAAAAAGCTATTACTT 2508
Ph-3d TTATCTGAAGTAGAGTGCACAGATGATGTGAGTATGCCTAAATGAAAAAGTTATTACTG 2496
Ph-3a TTGTCTGAAGTAGAGTGCATGGATGATGTGAGTATGCCTAAATGAAAAAGCTATTACT- 2477

```

Ph-3b      TTGTCTGAAGTAGAGTGACAGATGATGTGAGTATGCCTAAATTGAAAAAGCTATTACTT 2487
           ** ***** ** * ***** ***** ***** ***** *****
Ph-3c      AT--AAAAATACCTTATTCCAACCTTAGGCTCTCGAAACGTCTTGCAAAGCTTA----- 2560
Ph-3d      A----AACATACCAAGTTC-AACATTAGGCTCTCGGAACGTCTTACAAAGCTGA----- 2545
Ph-3a      ---GAAACGTACCAAGTTC-AACATTAGGCTCTCGGAACATGTTACAAAGCTGATGATCA 2533
Ph-3b      ATAGAAACA-ACTAATTC-AACCTTAGGCTCTCGAAACGTCTTGCAAAGCTGA----- 2539
           **  * *  * * * * ***** ** * * * ***** *

Ph-3c      GAGTATGAAAATCTCAATGCATCAACAGGTTAGTTTGCTACCTTAATTATTTACAATTTT 2620
Ph-3d      GAGTATGA----- 2553
Ph-3a      GAATATGA----- 2541
Ph-3b      GAGTATGA----- 2547
           ** *****

Ph-3c      CTCTCAATAAGCAAATTTTTTTAATTAATGAACATAAATCATTTTATGTCTAATAAATTGC 2680
Ph-3d      -----
Ph-3a      -----
Ph-3b      -----

Ph-3c      AGATGCATTTTAGAATGATTCAAGTCTTTGCTGGAGACCATGA 2723
Ph-3d      -----
Ph-3a      -----
Ph-3b      -----

```

Fig. 3. Protein sequence alignment of the *Ph-3* gene homologs in tomato and the *Rpi-vnt1.1* and *Rpi-vnt1.3* gene in potato.

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

Ph-3c      -----MADILLTAVINKS 13
Ph-3d      -----MADILLTAVINKS 13
Ph-3a      -----MGEIVLSAVISKA 13
Ph-3b      -----MGEIVLSAVISKA 13
Rpi-vnt1.1 MNYCVYKTWAVDS-----YFPFLILTFRKKKFNEKLKEMAEILLTAVINKS 46
Rpi-vnt1.3 MNYCVYKTWAVDSNTKANSTSFLLSSFSYFPFLILTFRKKKFNEKLKEMAEILLTAVINKS 60
           *.:*:*:***.*:

Ph-3c      VEIAANLLVQEGTRLYWLKEDIDWLQREMKHIRSYVDDAKAKEVGGDSRVKNLLEDIQQL 73
Ph-3d      VEIAANLLVQEGTRLYWLKEDIDWLQREMKHIRSYVDDAKAKEVGGDSRVKNLLEDIQQL 73
Ph-3a      TEAAGNLLVEKWSNLTSLEESMNWLKTEMLLIQSYIIDARTKLTQGDSTVKNLIKIEQL 73
Ph-3b      TEAAGNLLIEKWSNLNSLEESMNWLKTEMLLIQSYIIDARTKLTQGHSTVKNLIKIEQL 73
Rpi-vnt1.1 IEIAGNVLFQEGTRLYWLKEDIDWLQREMRHRSYVDNAKAKEVGGDSRVKNLLKDIQQL106

```


Rpi-vnt1.3 IEIAGNVLFQEGTRLYW**LKEDIDWLOREMR**HIRSYVDNAKAKEVGGDSRVK**NLLKDIQQL**120
* *.*:*.*.:.:. *.*:.*:***: ** *:*:*: :*:*: . *.* *****:.*:**

Ph-3c AGDVEDLLDEFLPKIQQSNKFICCLKT**VYFANKFAMEIEKIKRRVADIDRV**RTTYNITDT 133
Ph-3d AGDVEDLLDEFLPKIQQSNKFICCLKT**VYFANKFAMEIEKIKRRVADIDRV**RTTYNITDT 133
Ph-3a ADDANDILDEFLPKIERKGTIGCRVSNVSSANKFVAE**IEKIKRRVAEIDGL**RTTYGITDT 133
Ph-3b ADDANDILDEFLPKIERKGTIGCRVSNVSSANKFVAE**IEKIKRRVAEIDRL**RTTYGITDT 133
Rpi-vnt1.1 AGDV**EDLLDEFLPKIQQSNKFICCLKT**VSFADEF**FAMEIEKIKRRVADIDRV**RTTYSITDT 166
Rpi-vnt1.3 AGDV**EDLLDEFLPKIQQSNKFICCLKT**VSFADEF**FAMEIEKIKRRVADIDRV**RTTYSITDT 180
..*:*****:..... * ..* *:*.* *****:.*:****.****

Ph-3c SNNND--DCIPMDRRRRLFLHAYDETEVIGLDHDFNKLQH**KLLQLDPYGVVSVIVGMPGLG** 191
Ph-3d SNNND--DCIPMDRRRRLFLHAYDETEVIGLDHDFNKLQH**KLLQLDPYGVVSVIVGMPGLG** 191
Ph-3a SNNNNQHDIYIPWDQ**RGVFLHA-DETEVVGLDDD**FNKLQAKLIDH**HPYKVVSVIVGMPGLG** 192
Ph-3b SNNNNQHDIYIPLDQ**RGLFLHA-DETEVVGLDDD**FNKLQAKLIDH**HPYKVVSVIVGMPGLG** 192
Rpi-vnt1.1 SNNND--DCIPLDRRRLFLHA-DETEVIGLEDDFNTLQAKL**LHDLPYGVVSVIVGMPGLG**223
Rpi-vnt1.3 SNNND--DCIPLDRRRLFLHA-DETEVIGLEDDFNTLQAKL**LHDLPYGVVSVIVGMPGLG**237
****: * * * *.* *****:.*:.*.* ** : .*.* *****

Ph-3c K**TT**LAKKLYRHVRHQ**FEC**SLVYVSQQPRAGEILLN**IAKQVGLTEEERKENLEHN**LRSLL 251
Ph-3d K**TT**LAKKLYRHVRHQ**FEC**SLVYVSQQPRAGEILLN**IAKQVGLTEEERKENLEHN**LRSLL 251
Ph-3a K**TT**LAKKLYRHVRDQ**FEC**SLLYVSQQPRAGEILL**KIAKQVGLTEEERKENLED**NLRSLL 252
Ph-3b K**TT**LAKKLYRHVRDQ**FEC**SLVYVSQQPRAGEILL**KIAKQVGLTEEERKENLED**NLRSLL 252
Rpi-vnt1.1 K**TT**LAKKLYRHV**CHQ**FEC**SLVYVSQQPRAGEIL**H**DIAKQVGLTEEERKENLENN**LRSLL 283
Rpi-vnt1.3 K**TT**LAKKLYRHV**CHQ**FEC**SLVYVSQQPRAGEIL**H**DIAKQVGLTEEERKENLENN**LRSLL 297
***** .*****:***** .*****.*****.*****

Ph-3c KIKRYVILLDDI**W**DVEI**W**DDLK**L**VL**P**ESDSKIGSRI**I**ITSRNSNVGRYIGGDFSI**HELQ**P 311
Ph-3d KIKRYVILLDDI**W**DVEI**W**DDLK**L**VL**P**ESDSKIGSRI**I**ITSRNSNVGRYIGGDFSI**HVLQ**P 311
Ph-3a KRKRYVILLDDI**W**KVQI**W**DDLK**L**VL**P**ESDSKIGSRI**I**ITSRNNDVGRYIGGDS**LHELQ**P 312
Ph-3b KRKRYVILLDDI**W**KVQI**W**DDLK**L**VL**P**ESDSKIGSRI**I**ITSRNNDVGRYIGGDS**LHELQ**P 312
Rpi-vnt1.1 KI**KRYVILLDDI**W**D**VEI**W**DDLK**L**VL**P**ESDSKIGSRI**I**ITSRNSNVGRYIGGDFSI**HVLQ**P 343
Rpi-vnt1.3 KI**KRYVILLDDI**W**D**VEI**W**DDLK**L**VL**P**ESDSKIGSRI**I**ITSRNSNVGRYIGGDFSI**HVLQ**P 357
* *****.*:*****.*****.*****:*****.*:* **

Ph-3c LDSE**NS**FEL**FT**KK**I**CNFVND**N**WANTS**P**DLVNIGRC**I**VERCGGI**PLAIVV**TAG**M**L**R**ARG**R**T 371
Ph-3d LDSE**NS**FEL**FT**KK**I**CNFVDD**N**WANTS**P**DLVNIGRC**I**VERCGGI**PLAIVV**TAG**M**L**R**ARG**R**T 371
Ph-3a FDSE**K**SYEL**FT**KK**I**FIFD**N**---NHSV**D**LVDIG**K**SIV**K**RCGS**I**PLAIV**V**TAG**V**L**R**AR**E**R**T** 368
Ph-3b LDSE**K**S**F**EL**FT**KK**I**FIFD**N**---NHSV**D**LVDIG**K**TIV**R**RCGG**I**PLAIV**V**TAG**V**L**R**AR**E**R**T** 368
Rpi-vnt1.1 LDSE**K**S**F**EL**FT**KK**I**FNFVND**N**WANAS**P**DLVNIGRC**I**VER**CGGIPLAIVV**TAG**M**L**R**ARG**R**T 403
Rpi-vnt1.3 LDSE**K**S**F**EL**FT**KK**I**FNFVND**N**WANAS**P**DLVNIGRC**I**VER**CGGIPLAIVV**TAG**M**L**R**ARG**R**T 417
:***:.*:***** * : * * *:*:*: *.*.*.*****:**** **

Ph-3c EHAW**N**RVLE**S**M**T**H**K**I**Q**EG**C**AK**V**L**A**L**S**Y**N**D**L**P**I**A**L**R**P**C**F**L**Y**F**G**L**F**P**E**D**H**E**I**R**A**F**D**L**I**N**M**W**I** 431
Ph-3d EHAW**N**RVLD**S**M**T**H**K**I**Q**EG**C**AK**V**L**A**L**S**Y**N**D**L**P**I**A**L**R**P**C**F**L**Y**F**G**L**F**P**E**D**Y**E**I**R**A**F**D**L**I**N**M**W**I** 431
Ph-3a EHAW**N**K**V**LE**S**M**G**H**R**VED**G**CA**K**V**L**A**L**S**Y**N**D**L**P**I**A**L**R**P**C**F**L**Y**F**G**L**F**P**K**D**H**E**I**R**A**F**D**L**I**N**M**W**I 428
Ph-3b EHAW**N**RVLE**S**M**G**R**R**VED**A**CA**K**V**L**A**L**S**Y**N**D**L**P**I**A**L**R**P**C**F**L**Y**F**G**L**F**P**E**D**H**E**I**R**A**F**D**L**I**N**M**W**I 428
Rpi-vnt1.1 EHAW**N**RVLE**S**MA**H**K**I**Q**D**G**C**G**K**V**L**A**L**S**Y**N**D**L**P**I**A**L**R**P**C**F**L**Y**F**G**L**Y**P**E**D**H**E**I**R**A**F**D**L**T**N**M**W**I 463
Rpi-vnt1.3 EHAW**N**RVLE**S**MA**H**K**I**Q**D**G**C**G**K**V**L**A**L**S**Y**N**D**L**P**I**A**L**R**P**C**F**L**Y**F**G**L**Y**P**E**D**H**E**I**R**A**F**D**L**T**N**M**W**I 477
*****:.*:* * :.:.*.*****.*****.*****:.*:***** **

Ph-3c AEKLIVVNSSNTREAESKAEDFLNDLVSFRNLIQVAKRRYDGRISTCRIHDDLHSLCVELG 491
Ph-3d AEKLIVVNSGNTREAESKAEDFLNDLVSFRNLIQVAKRRYDGRISTCRIHDDLHSLCVELG 491
Ph-3a AEKLIVVNSGNTREAESKAEDFLNDLVSFRNLIQVAKRRYDGRISTCRIHDDLHSLCVELG 488
Ph-3b AEKLIVVNSGNTREAESKAEDFLNDLVSFRNLIQAARRYDGRISTCRIHDDLHSLCVELG 488
Rpi-vnt1.1 AEKLIVVNTGNGREAESLADDVLNDLVSFRNLIQVAKRTYDGRISSCRIHDDLHSLCVDLA 523
Rpi-vnt1.3 AEKLIVVNTGNGREAESLADDVLNDLVSFRNLIQVAKRTYDGRISSCRIHDDLHSLCVDLA 537
*****:.* ***** :.*.*****.*** *****:*****:.*.

Ph-3c KESNFFHTEHNAFGDPGNVSRVRRITFYSDINAMNDFFRSNPKPKLRLALFCFINDTCLF 551
Ph-3d KESNFFHTEHNAFGDPGNVSRVRRITFYSDINAMNDFFRSNPKPKLRLALFCFINDTCLF 551
Ph-3a KESNFFHTEDNAFGDPGNVSLVRRITFYSDINAMNDFFRSNPNPKLRLALFCFIDDTCLF 548
Ph-3b KESNFFHTEHNAFGDPGNVSRVRRITFYSDINAMNEFFRSNPNPKLRLALFCFVHNRCIF 548
Rpi-vnt1.1 KESNFFHTEHNAFGDPSNVARRRITFYSDDNAMNEFFHLNPKPKLRLALFCFTKDRCIF 583
Rpi-vnt1.3 KESNFFHTEHYAFDPSNVARRRITFYSDDNAMNEFFHLNPKPKLRLALFCFTKDRCIF 597
*****. *****:**: *****: *****:**: **:* ***:***** .: **:

Ph-3c SQLARHDFKLLQVLVVVIAVDYFLSYIGIPKTFGKTSCLRYLQLEGHMYGELPNSMVKH- 610
Ph-3d SQLARHDFKLLQVLVVVIAVDYFLSYIGIPKTFGKTSCLRYLQLEGHMYGELPNSMVKH- 610
Ph-3a SQLARHDFKLLQVLVVVIAVDYFLSYIGIPKTFGKTSCLRYLQLEGHMYGELPNSMVKH- 604
Ph-3b FELARHDFKLLQVLVVVIAVDYFLSYIGIPKTFGKTSCLRYLQLEGHMYGELPNSMVKH- 607
Rpi-vnt1.1 SQMAHLNFKLLQVLVVVMSQKG-YQHVTFPKKIGNMSCLRYVRLGAIKRVKLPNSIVKLG 642
Rpi-vnt1.3 SQMAHLNFKLLQVLVVVMSQKG-YQHVTFPKKIGNMSCLRYVRLGAIKRVKLPNSIVKLG 656
::*: :*****:.. . :*:.:*: *****:.*: :*.**:*

Ph-3c -MQTLNIENSWAILPTGVWESTQLRHLCRKGNLQESNCCFSSIRNICS LPPTNLQTLMCV 669
Ph-3d -MQTLNIENSWAILPTGVWESTQLRHLCRKGNLQESNCCFSSIRNICS LPPTNLQTLMCV 669
Ph-3a -VQTINIENSSTYLPTGVWESKQLRHLCRKGNLQESNCCFSSIRNICS LPPTNLQTLMCV 663
Ph-3b -MQTLNIENSFTLPTGVWESKQLRHLCRKGNLQESNCCFSSIRNICS LPPTNLQTLMCV 666
Rpi-vnt1.1 CLETLDIFHSSSKLPFGWESKILRHLCYT---EECYCVSFASPF CRIMPNNLQTLMWV 699
Rpi-vnt1.3 CLETLDIFHSSSKLPFGWESKILRHLCYT---EECYCVSFASPF CRIMPNNLQTLMWV 713
::*:.* :* : ** *****. ***** . : . * * :**.*:*:* *

Ph-3c DDKFVEPRFLHRLINLRKLGIVRSDSTIQILSTL---PKELEALKLIFLYQSSEQINLS 726
Ph-3d DDKFVEPRFLHRLINLRKLGIVRSDSTIQILSTL---PKELEALKLIFLYQSSEQINLS 726
Ph-3a DDKFVEPRFLHRLINLRKLGIVRSDSTVQILSTL---PKELEALKLIFLYQSSEQINLS 720
Ph-3b DDNFVELRLHRLINLRKLGIVRSDSTVQILSTL---PKELEALKLIFLYQSSEQINLS 723
Rpi-vnt1.1 DDKFCEPRLHRLINLRKLGIVRSDSTIKILSALSVPVRALEVLKLRFFKNTSEQINLS 759
Rpi-vnt1.3 DDKFCEPRLHRLINLRKLGIVRSDSTIKILSALSVPVRALEVLKLRFFKNTSEQINLS 773
:* * **:*:*:*:*:* * * **.*:*:*:*:* * * **.*:* * :.*:*:*:

Ph-3c PFPNIVKLYLSSEVCGTVLPSNCEAFPPNLAKLTIVYLMVEGHAVSTLKKLPKLMKMI 786
Ph-3d PFPNIVKLYLSSEVCGTVLPSNCEAFPPNLAKLTIVYLMVEGHAVSTLKKLPKLMKMI 781
Ph-3a SCSYIVKLYLSSEVCGTVLPSNCEAFPPNLAKLTIVYLMVEGHAVSTLKKLPKLMKMI 775
Ph-3b SYPYIVKLYLSSEVCGTVLPSNCEAFPPNLAKLTIVYLMVEGHAVSTLKKLPKLMKMI 778
Rpi-vnt1.1 SHPNIVELGLVGFSA---MLLNI EAFPPNLVKLNVLGMLVDGHLAVLKKLPKLRILIL 816
Rpi-vnt1.3 SHPNIVELGLVGFSA---MLLNI EAFPPNLVKLNVLGMLVDGHLAVLKKLPKLRILIL 830
. . **:* * . : *:*:*:* * * * : *:*:* : *:*:*:*:* * * * :

Ph-3c SCSHMEEKMDLSG-GDSFLQLEIHLHIQKPIGLSEVACTDDVSMPLKLLKLLIKIPYSN-- 843
Ph-3d YCQHKEEKMDLSG-GDSFLQLEIHLHIQKPIGLSEVACTDDVSMPLKLLKLLIKIPYSN-- 838
Ph-3a RCKHKEEKMDLSG-GDSFLQLEIHLHIQKPIGLSEVACTDDVSMPLKLLKLLIKIPYSN-- 832

```

Ph-3b      YCQHKEEKMDLSGDNDSFLQLEVLHIQEPSEGLSEVECTDDVSMPLKLLKLLLIETTNSN-- 836
Rpi-vnt1.1 WCRHDAEKMDLSG--DSFPQLEVLVIEDAQGLSEVTCMDDMSMPKLLKFLVQGFNISPI 874
Rpi-vnt1.3 WCRHDAEKMDLSG--DSFPQLEVLVIEDAQGLSEVTCMDDMSMPKLLKFLVQGFNISPI 888
          * *  *****.*  ***  ***:*:*:..  ***** *  **:******:*  .

Ph-3c      -LRLSKRLAKLRV---- 855
Ph-3d      -IRLSERLTKLRV---- 850
Ph-3a      -IRLSEHVTKLMIRI-- 846
Ph-3b      -LRLSKRLAKLRV---- 848

```

Fig. 4. Agarose gel image showing PCR banding patterns of the *Ph-3* specific SCAR markers and polymorphisms between ‘L3708’(right) and ‘AV107-4’(left). Lane1,100-bp size marker. The size of PCR bands for ‘L3708’ produced by each SCAR marker match to the expected size demonstrated in Table 3.

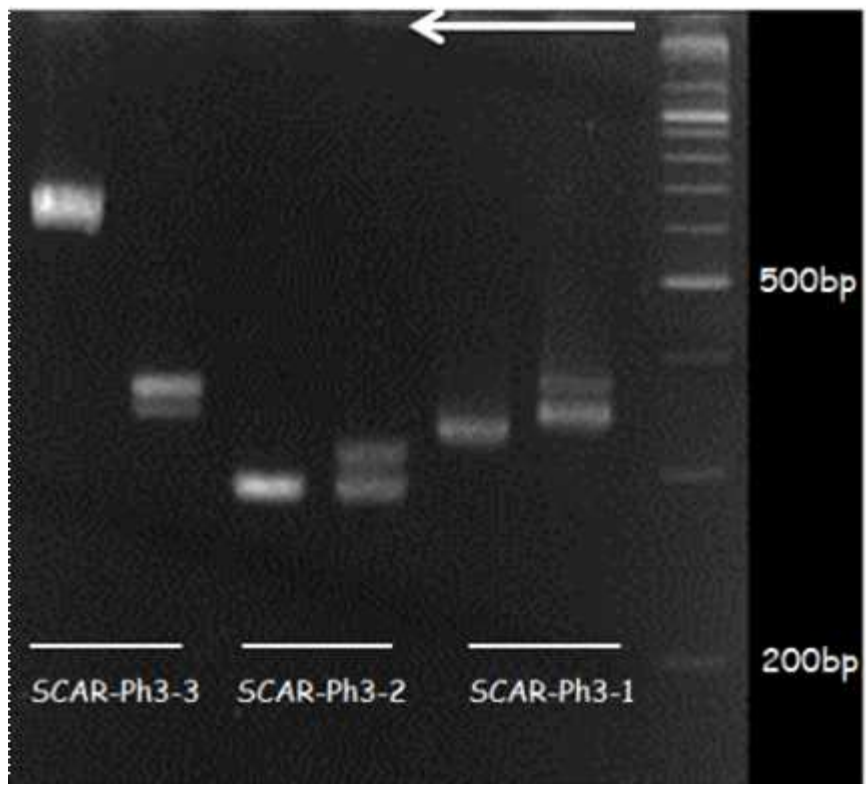


Fig. 5. DNA sequence alignment of the *Ph-3* gene homologs detected from the ultracontig SL2.4ch09 of *S. pimpinellifolium* draft genome sequence. The forward and reverse primer regions for the *Ph-3* gene homolog-specific SCAR markers (Table 1) are indicated by open boxes. Skipped DNA sequences were indicated by dotted lines.

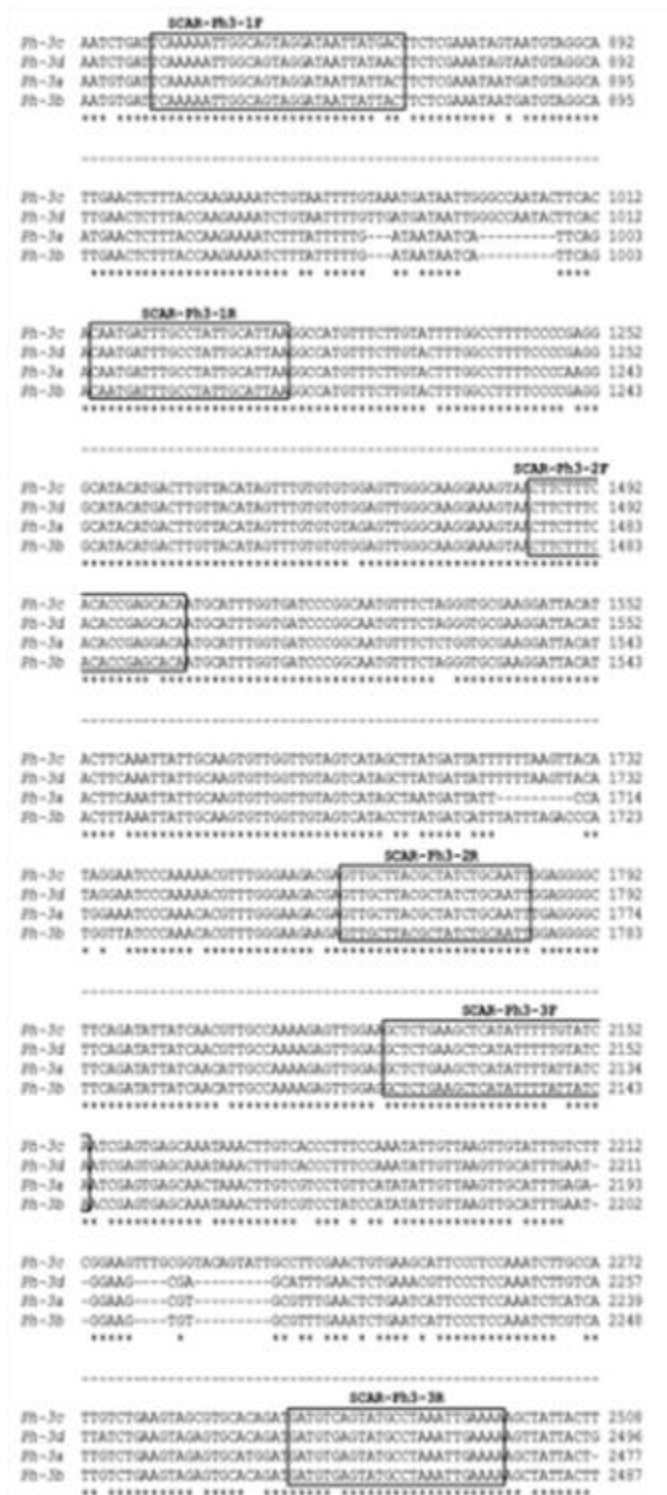
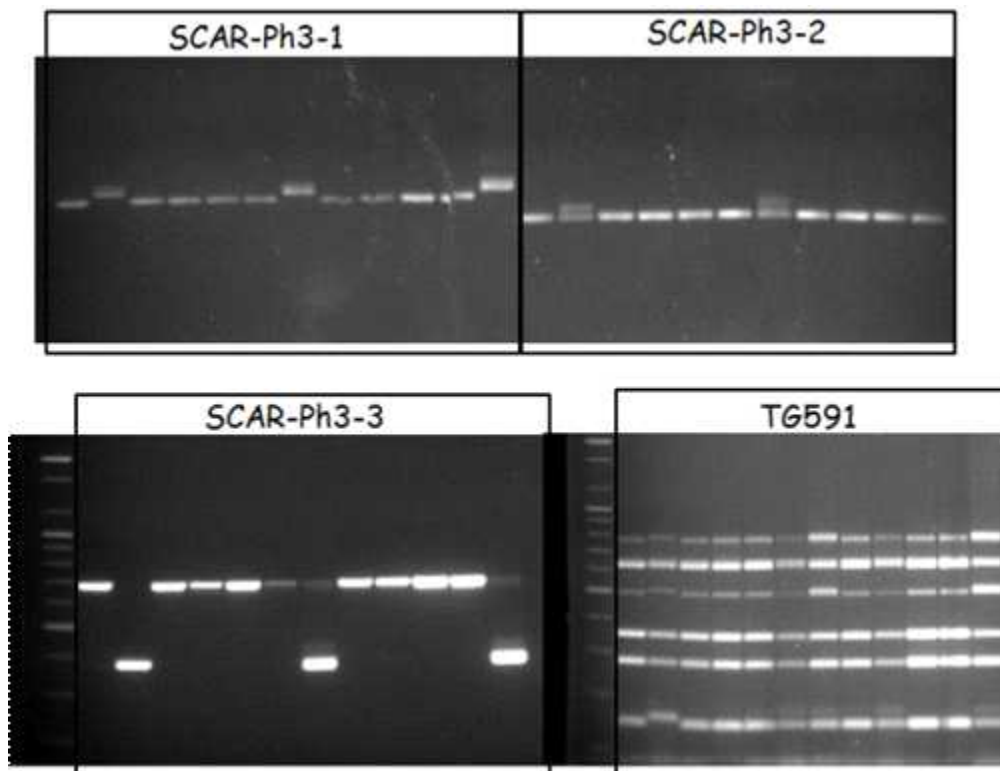


Fig. 6. LB-resistance marker genotyping for 10 tomato accessions that are resistant to various diseases and possibly susceptible to LB. The name of the accessions from left: AV107-4, L3708, TY172, Ty-R(mini), Ty-R(middle), BW-R, 10-BA-3-33, 10-BA-4-24, KNU12, PM-S, BW-S, Ty-S. All accessions showed marker genotype for susceptibility, except for 10-BA-3-33 and Ty-S. For these two accessions, bioassay for LB-resistance need to be evaluated.



제 4 절 토마토 근부위조병 저항성 분자마커 개발

1. 연구배경 및 목적

토마토 근부위조병(*Fusarium crown root rot*, FCRR)은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*(FORL)에 의해 발병하는 토양성 전염병으로, 식물이 과실을 맺기 전에 시들어 죽게하거나 품질이 낮은 과실을 생성하게 한다. 한국을 비롯하여 세계적으로 발병하고 있으며 FORL에 저항성을 가지는 유전자 *Fr1*은 9번 염색체의 long arm 부근에 위치한다고 알려져 있다. Fazio et al.(1999)는 RAPD 마커를 이용한 유전자 지도작성을 통해 *Fr1*과 가까이 위

치하는 마커를 찾고, 이들 마커들이 UBC655-UBC116-UBC194-Fr1 순으로 위치하는 것을 밝혔다. 본 연구에서는 Fr1과 가까이 위치하는 RAPD마커의 증폭 염기서열을 파악하여 tomato reference genome에서 위치를 파악한 후, Tomato EXPEN-2000 map상에서 유전적으로 가까이 위치하는 마커들을 선별하여 이용함으로써 Fr1의 유전자좌(locus)를 보다 정밀하게 관찰하고자 하였다.

2. 연구재료 및 방법

가. 식물 재료

분자마커와 FORL-저항성 간 유전적 연관(genetic linkage or association)을 조사하기 위해, FORL 저항성 계통인 AV107-4(*S. lycopersicum*)과 감수성 계통인 L3708(*S. pimpinellifolium*)을 이용하여 F2집단을 생성하였다. F1세대를 만들기 위해 AV107-4를 모본으로, L3708을 부본으로 인공수분하고 이어서 F1개체를 자가 수정시켜 F2세대를 진전하였으며 이러한 F2집단을 이용하여 FORL 저항성 유전자좌(locus)인 Fr1의 위치를 알아내기 위한 근부위조병 검정 및 마커 유전자형 검정을 수행하였다.

또한 토마토 상업품종(F1 hybrid)에서도 마커와 FORL-저항성 간 연관을 분석하기 위해 17개의 F1 hybrid 품종을 종자회사에서 확보하여 F2 집단에서와 동일한 방법으로 병리검정 및 분자마커의 유전자형 검정을 수행하였다. 추가로 42개의 품종에 대해서는 종자회사에서 공시한 근부위조병 정보 (저항성 29 품종, 감수성 13 품종)를 이용하여 분자마커 검정 및 연관분석을 실시하였다.

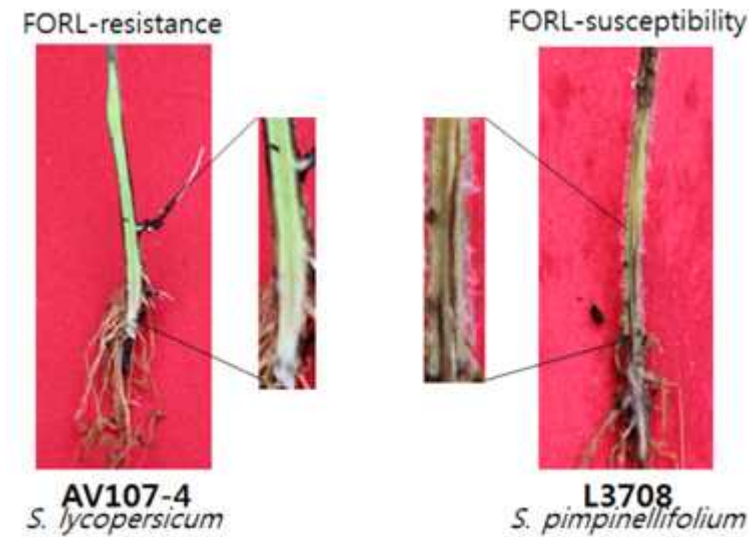
나. 근부위조병 병리검정

AV107-4와 L3708 (Fig. 1)을 이용하여 생성한 345개의 F2개체와 17개 상업품종 (품종당 10 개체)의 근부위조병 저항성을 파악하기 위해, 병원 접종 및 발병도 측정을 비롯한 병리검정을 강릉원주대학교의 온실에서 수행하였다.

병원균 접종을 위해 FORL 균주 KACC 40031을 한국 미생물 은행(Korean Agriculture culture collection, KACC)에서 제공받아 PDA배지에서 25℃에서 5일동안 배양한 후, 그 하생균사를 potato dextrose broth에 옮겨 25℃에서 7일동안 회전식 진동기에서 150rpm으로 유지하였다. 균사체들은 3겹의 소독된 거즈를 이용해 걸러지고, 포자 현탁액은 증류수로 희석되어

Figure 1. Bioassay of two parental lines for the resistance to FCRR. 'AV107-4' shows no internal browning, whereas 'L3708' shows severe internal browning and extending from the tap root into the

lower stem.



최종 농도를 1×10^7 conidia/mL로 맞추었다. 토마토 종자는 원예용 상토가 채워진 96 hole plug tray에 심겨져 온실에서 $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 3주간 재배되었다. 이후 각 유묘는 뿌리의 흙을 제거하기 위해 수세된 후, 뿌리 끝을 잘라 FORL 1×10^7 conidia/mL 포자 현탁액에 15분 동안 침지하여 접종되었다. 접종된 식물체는 온실의 15cm 직경의 화분에 옮겨서 4주 동안 약 90%의 습도, $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. 4주 후 각 식물체의 뿌리는 날카로운 칼로 잘라져 단면의 도관 갈변 정도에 따라 아래와 같이 FORL 발병도(Disease severity index, DSI)를 0에서 3까지 수치로 평가하였다:

0= 원뿌리 및 줄기 내부 갈변 없음, 1= 원뿌리 내부 갈변 약하게 발생, 2= 전체 원뿌리에서 다소 심각한 내부 갈변 발생, 3= 원뿌리에서 토양에 접한 낮은 줄기 부위에 걸쳐 심각한 내부 갈변 발생.

각 F2개체의 FORL 저항성 여부는 DSI 값을 이용하였으며, 0의 값은 저항성, 1~3의 값은 감수성으로 간주하였다.

다. Frl 연관 RAPD 마커 분석

FORL 저항성 유전자인 Frl과의 연관이 보고된 random amplified polymorphic DNA (RAPD) 마커들을 PCR을 이용해 보유한 식물재료에 평가하였다. UBC#194, UBC#116, UBC#655 RAPD primer 염기서열을 Fazio의 논문에서 이용하여 PCR mixture는 40ng의

genomic DNA, 1.25uM의 primer, 1X PCR buffer, 0.2mM dNTPs 와 0.6 U 의 Taq polymerase(Solgent, Daejeon, Korea)를 사용하여 총 20ul로, PCR condition은 94°C에서 30초 1회, 92°C에서 20초, 36°C에서 50초, 72°C에서 2분을 45회, 72°C에서 7분 1회 후 4°C에서 10분 수행하였다. 전기영동은 1.5% Tris-acetate EDTA (TAE) agarose gel에서 160V 1시간 수행한 후 Ethidium bromide(Et-br)로 staining하여 UV로 밴드를 확인하였다.

국내 저항성 품종인 간바루네의 DNA를 이용한 PCR 결과 Fr1과 가까운 UBC#194에서 보고된 저항성 DNA 절편이 관측되지 않은데 반해, UBC#116에서 저항성 밴드가 확인되었다. UBC#116의 증폭된 DNA 절편을 아가로스 젤에서 채취하여 ExpinTM Gel SV (GeneAllBiotechnology, Seoul, Korea)를 이용하여 정제한 후 dye-termination method 를 이용해 제노텍에서 시퀀싱 수행하였다. 파악한 염기서열은 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)을 이용하여 Tomato reference genome (<http://solgenomics.net/>, ITAG2.3 release) 상에서 UBC116의 물리적 위치를 파악하였다.

라. 마커-표현형 연관 분석을 위한 마커개발

UBC#116의 Tomato reference genome상 물리적 위치를 기반으로 Tomato EXPEN-2000 map (<http://solgenomics.net/>) 에서 이를 포함하는 40 cM ~55 cM 영역에서 마커를 선발하였다. 유전적, 물리적으로 UBC116과 연관된 이 마커들 중에서, AV107-4와 L3708에 PCR 증폭 후 다형성을 보이는 두개의 SSR 마커와 PCR 증폭 후 제한효소를 처리하여 다형성을 보이는 세개의 RFLP 마커를 확인하였으며(Table 1), 두개의 SSR 마커는 SSR70 and SSR237로 각각 map 상에서 42 cM, 50.37 cM에 위치하며, 세개의 RFLP 마커는 T1212, Clet-2-D4, and CD3로 각각 map 상에서 48cM, 50cM, 52.1cM에 위치하였다.

선발된 마커들의 PCR은 genomic DNA 20ng, 각 forward 와 reverse primer 0.3M, 1X PCR buffer, 0.2mM dNTPs 와 의 Taq polymerase 0.6 U (Solgent, Daejeon, Korea)를 총 20ul로 mix 하여, 다음과 같은 PCR 조건으로 수행하였다: 95°C에서 5분 1회, 94°C에서 30초, AT(annealing temperature, Table 1.)에서 30초, 72°C에서 1분을 35회, 72°C에서 7분 1회 후 4°C에서 10분. PCR 후 SSR마커의 경우 PCR 증폭산물을 1.5% Tris-acetate EDTA (TAE) agarose gel에서 160 V로 1시간 수행한 후 Ethidium bromide(Et-br)로 staining하여 UV light 하에서 확인하였으며, RFLP마커들의 경우, PCR 증폭산물을 다양한 제한효소(NEB, Ipswich, Suffolk, England)를 이용하여 처리한 후 2.5% Tris-acetate EDTA (TAE) agarose gel 로 전기영동하여 다형성을 확인하였다.

이들 마커에 추가적인 분자마커를 개발하여 더 정밀한 FrI의 locus를 예측하기 위해서 AV107-4와 L3708의 genomic DNA를 SNP Genetics Inc. (Seoul, Korea)에 SolCAP Tomato SNP array 의 Infinium platform(Illumina Inc., San Diego, CA, USA) 분석을 의뢰하여 개체간 SNP를 분석하였으며 각 SolCAP SNP들의 annotation 정보는 SGN database에서 다운로드하여 이용하였다. 9번 염색체의 5Mb~ 72Mb에 있는 총 8개의 SNP를 CAPS designer software (<http://solgenomics.net/>)를 이용하여 Cleaved Amplified Polymorphic Sequence(CAPS) 마커로 전환하였다(Table 1). 물리적 위치상 2개의 SNP(solcap_snp_sl_100431, 53169)는 cLET-2-D4와 SSR237사이에, 2개의 SNP(solcap_snp_sl_100181, 100461)는 SSR237과 CD3사이에, 4개의 SNP(solcap_snp_sl_43011, 46840, 58307, 63662)는 CD3와 9번 염색체의 말단 사이에 위치하였다. PCR 증폭, 제한효소, 전기영동은, 위 RFLP마커에서 사용한 방법과 동일하게 수행하였다.

3. 연구결과 및 고찰

가. 마커-저항성 연관분석을 위한 마커개발

이전 Fazio et al. (1999)의 보고에 따르면 FrI 유전자는 9번 염색체의 long arm에 mapping되어 RAPD마커들과 UBC655-UBC116-UBC194-FrI 순으로 위치하며 UBC194는 FrI과 5.1 cM으로 가깝게 연관되어 있다. 본 실험에서는 AV107-4와 L3708 사이에 이들 마커들의 다형성을 관찰한 결과, UBC116과 UBC655 프라이머에서만 다형성 PCR 밴드가 관찰되어 FrI과 보다 근접한 UBC116의 PCR 밴드를 cloning하여 염기서열을 파악하였다. 확보한 염기서열을 blast하여 reference genome(ITAG 2.4) 상의 위치를 확인한 결과, 이 400 bp 정도의 염기서열은 물리적으로 9번 염색체의 약 45 Mb, 유전적으로는 Tomato EXPEN-2000 map 상에서 50cM에 위치하였다. UBC116 마커의 염기서열이 위치하는 것으로 예측되는 염색체 지도 영역인 40 cM~ 55 cM에서 AV107-4와 L3708 간 다형성인 두개의 SSR마커(SSR70, SSR237)와 세개의 CAPS마커(PNU-T1212, -D4, -CD3)를 개발하여 F2집단의 마커 유전자형을 검정하였다 (Table 1). 또한 보다 상세한 FrI의 위치를 예측하기 위해 3.6Mb~72Mb에 걸친 8개 SolCAP SNP(solcap_snp_sl_100431, 53169, 100181, 100461, 43011, 46840, 58307, 63662)를 이용하여 CAPS마커(PNU-100431, 53169, 100181, 100461, 43011, 46840, 58307, 63662)를 제작하여 F2집단에 추가 검정하였다 (Table 1).

Table 1. Molecular markers anchored for chromosome 9 of *Solanum lycopersicum* L. that were used for association with Fusarium crown root rot-resistance locus *Frl* in this study.

Marker	Marker type ^a	Location		Primer sequence (5'-3')	T _m _d	Enzyme	Product size ^e (AV107-4/L3708)
		Reference genome (bp) ^b	genetic map (cM) ^c				
SSR70	SSR	3626502-3629252	42	F:TTTAGGGTGTCTGTGGGTCCC R:GGAGTGCGCAGAGGATAGAG	TD	-	120 / 104
PNU-T1212	RFLP	5090038-5092652	48	F:GGAGGAGTTAAGTGCATGGC R:GTGACCATCGGATCCTTTGC	TD	<i>MspI</i>	2014(1100/1200)
PNU-D4	RFLP	6097378-6097754	50	CAGCTGAAAGATGTCACCCA TGATCATTTACAAGGCGCA	54	<i>MboI</i>	938 (465/387)
PNU-100431	CAPS	25170985-25173931	-	GATCACTAGTCGTCCTGGTCAA TTCACGATGGTCTTTATTCGT	54	<i>HpyI88III</i>	513 (340/292)
PNU-53169	CAPS	28023613-28029028	-	AGAGACGGTACATGCTTTGACA GTTCAATTTGCATGGCTTCCT	54	<i>AluI</i>	408 (167/103)
SSR237	SSR	46426906-46426925	50.4	GTGGTAACGGCAAAGGGACT CTTATGGCCTTAGCAGCCAG	TD	-	161 / 191
PNU-100181	CAPS	48783965-48806510	-	TGACCAAGTTGTGAGCAAGG GCTTCACTTGGTGCTGGTTT	55	<i>ApoI</i>	662 (405/291)
PNU-100461	CAPS	56943553-56948073	-	AAGCGTCGACCTGATGTTGT ATGAAATGGGACCAAATGGA	60	<i>TaqI</i>	603 (470/603)
PNU-CD3	RFLP	63108341-63111046	52.1	CGAGTGGTGCAGTTGAGAAG CGCTCCTTCAAATCTTCCGG	56	<i>MspI</i>	2042 (1170/2042)

PNU-43011	CAPS	64520600-64528534	-	GATGGATATCCCGCTCAAGA GGCTTAGGCCCTGGTTAGTC	53	<i>AluI</i>	702 (240/145)
PNU-46840	CAPS	67134247-67142334	-	GGAGTGGATAATGTTGCCTGT TTGCAAGAAGATTGCTGCTC	55	<i>AluI</i>	893 (680/396)
PNU-58307	CAPS	68877546-68881816	-	TTTGCAAATGTCCAAACACAA TACCTCAACCCGAATTGGTC	53	<i>RsaI</i>	764 (501/764)
PNU-63662	CAPS	72029006-72032743	-	TTCCATCTCCCAAAAAGACG AAGGACTGCCCTAGTGTT	53	<i>ApoI</i>	866 (866,647)

^aSSR, simple sequence repeat; RFLP, restriction fragment length polymorphism; CAPS, cleaved amplified polymorphic sequene.

^bPhysical locations of the primer sequences on the reference genome sequence ITAG2.4 (<http://solgenomics.net/>).

^cLocations on the Tomato EXPEN-2000 map (<http://solgenomics.net/>); -, unkown

^dTm, PCR annealing temperatures; TD, touchdown PCR

^ePCR fragment sizes specific to A107-4 and L3708 were presented in parenthesis with slash.

나. F2집단에서 마커-저항성 연관분석

AV107-4와 L3708을 교배하여 생성된 총 345개의 F2개체들의 FORL 균주(KACC 40031)에 대한 저항성 여부를 파악하고 9번 염색체에 존재하는 13개 마커에 대한 유전자형을 비교해 Fr1의 유전적 위치를 추정하였다. FORL 생물학적 검정 결과, AV107-4는 평균 DSI가 0.2로 높은 저항성 수준을 보인 반면 L3708은 2.38로 높은 감수성을 나타냈다(Fig. 1). 이를 부모본으로 한 F2집단에서는 255개의 개체가 저항성(DSI<1), 90개의 개체가 감수성(DSI<=1)으로 저항성 개체와 감수성 개체의 분리비가 3:1($\chi^2=0.29$, $P < 0.05$)을 따라 FORL 저항성 유전자가 단일 우성 유전하는 것을 확인하였다.

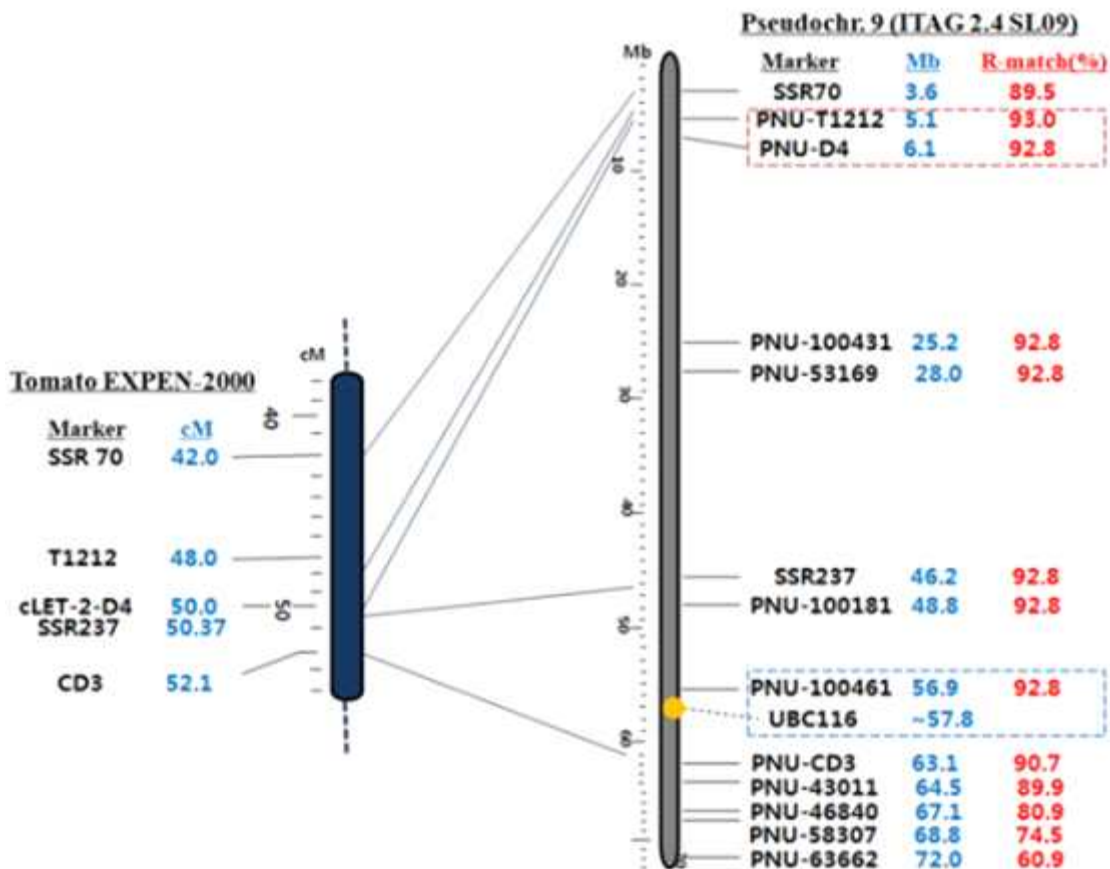
F2 개체들의 유전형 분석은 13개의 마커(Tomato EXPEN-2000 map기반으로 2개의 SSR 마커와 3개의 CAPS마커, AV107-4와 L3708 간 SNP를 기반으로 8개의 CAPS 마커)를 이용하여 수행되었다. Tomato reference genome의 9번 염색체 3.62Mb(Tomato EXPEN-2000의 42cM)에 위치하는 SSR70 마커는 상대적으로 낮은 89.5%의 마커-저항성 일치율을 보였다. 다음 5.09Mb와 6.09Mb(48.0cM과50.0cM)에 위치하는 PNU-T1212와 -D4는 각각 93.2%, 93.0%의 높은 마커-저항성 일치율을 보였다. 다음 25.17Mb에 위치하는 PNU-100431은 92.7%로 일치율이 감소했는데, 흥미롭게도 같은 수준의 일치율(92.7%)이 각각 28.02Mb, 46.42Mb, 48.78Mb, 56.94Mb (3.62Mb~56.94Mb)에 위치하는 PNU-53169, SSR237(50.37cM), PNU-100181, CAPS-100461에서 관찰되었다 (Fig. 2). 이러한 넓은 영역에서 마커-저항성 일치율이 유지되는 경향은 이 영역이 유전적 재조합(genetic recombination or crossing-over)이 극도로 억제되어 염색체상 물리적 거리가 멀어짐에도 유전적 거리가 유지되는 pericentromeric region에 포함된다는 것을 암시한다(Sim et al., 2012). 하지만 이들 마커들의 하위영역인 63.10Mb, 64.52Mb, 67.13Mb, 68.87Mb, 72.02Mb(63.10Mb~72.02Mb)에 위치하는 PNU-CD3, -43011, -46840, -58307, C-63662 마커들은 표현형과의 일치율이 90.8%에서 60.8%로 순차적으로 낮아지는 것을 알 수 있으며, 이는 마커가 염색체 long arm의 telomere에 가까이 위치할수록 마커와 저항성 유전자좌 사이에서 교차의 빈도가 점차적으로 늘어나는 것을 암시한다(Fig. 2).

다. 상업 품종에서 마커-표현형 연관분석

FORL 저항성 유전자인 Fr1은 염색체 교차 빈도가 제한되는 연관그룹(Linkage block) 내부

Figure 2. Genetic and physical location of 14 markers used for studying association with the FORL-resistance. Despite of large physical distance between D4 and SSR237, genetic distance is

only 0.4 cM, indicating severely suppressed crossing-over in this region. Previously reported possible location of *Frl* and linked RADP was marked by blue dotted box and yellow dot, respectively. In this study, T1212 and D4 showed the highest match with resistance(R-match%)(pink dotted box), which implies *Frl* is located on a pericentromeric region of short arm of Chr.9.



에 위치하고 있기 때문에 양친으로 얻은 F2집단에서 해당 영역에 마커를 포화시켜 더 정밀한 locus 를 찾는 것은 어려우며, 따라서 다양한 토마토 상업품종 집단에서 *Frl*과 마커들의 연관성을 검정해 보고자 하였다. 본 연구에서는 17개의 상업품종에 대하여 근부위조병 병리검정을 수행하였으며, 17개의 집중된 식물체 중 14개는 저항성(DSI=0), 3개는 이병성(DSI>=1)으로 나타나 종자회사에서 공시한 표현형 정보와 일치하였으며, F2 집단에서 저항성과 높은 일치율을 보인 5개의 마커(T1212, PNU-D4, PNU-100431, PNU-53169, SSR237)로 이들 품종들

의 유전자형을 조사하여 비교하였다. 추가로, 종자회사에서 공시한 기타 29개의 저항성, 13개의 감수성 품종에서도 위 5개의 마커로 검정하였다 (Fig. 3).

이와 같이 60개 품종(17개의 감수성, 43개의 저항성)에 대하여 9번 염색체의 약 41Mb(5.09Mb~ 46.42Mb)에 걸쳐 분포하는 PNU-T1212, PNU-D4, PNU-100431, PNU-53169, SSR237 마커의 유전자형을 분석한 결과, F2집단에서의 결과와 다르게 표현형과 가장 높은 일치율을 보였던 T1212가 감수성 품종에서 100%, 저항성 품종에서 46.51%의 낮은 일치율을 나타냈다 (Table 2, Fig. 4). 반면에 PNU-D4 마커의 경우, 감수성 품종에서 88%, 저항성 품종에서 95%의 가장 높은 일치율을 관찰할 수 있었으며, 이 결과는 특히 종자회사의 FORL 저항성 품종 육종과정 중, T1212와 PNU-D4사이 영역의 유전적 재조합이 빈번하게 일어났다는 것을 암시한다. PNU-D4 마커 하부의 PNU-100431, PNU-53169, SSR237 마커들에서는 일치율이 더욱 감소되는 양상을 보였다 (Table 2) 따라서 다양한 상업품종을 분석한 경우 F2 집단에서보다 마커-Fr1 간 보다 높은 교차빈도가 확인되어 상세한 Fr1의 locus를 추측하는 것이 가능하였다.

추가적으로 PNU-D4 CAPS 마커를 대량샘플 자동화 분석이 가능한 마커 타입인 High-resolution melting (HRM) 타입의 마커로 전환시켰다. PNU-D4 마커에 의해 L3708과 AV107-4로부터 PCR 증폭된 산물의 염기서열을 분석한 결과 MboI 제한효소 인식부위에 단일염기서열변이(SNP)를 확인하였으며, 이 SNP를 타겟으로 HRM 마커를 디자인하였다 (Table 4). 개발된 HRM 마커를 이용하여 농우바이오의 근부위조병 저항성 및 감수성 계통 50 점을 분석한 결과 표현형 정보와 HRM 마커 간 100% 일치함을 확인할 수 있었다 (Fig. 3, Fig. 4).

본 연구의 결과는 Fr1 유전자가 기존에 보고된 염색체 9번의 long arm에 존재하기 보다는 염색체 교차가 크게 억제되는 short arm의 pericentromeric region에 존재함을 보여준다. 본 연구에서 개발된 PNU-D4는 F2 집단과 상업품종군을 대상으로 한 검정에서 근부위조병 저항성과 매우 높은 연관성을 보여줌으로서 향후 근부위조병 저항성 품종 육성을 위한 마커이용선발(marker-assisted selection, MAS)에 매우 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Table 3. Genotyping of 60 commercial hybrid cultivars by molecular markers anchored for chromosome 9 of *Solanum lycopersicum* L. that were used to study association with Fusarium crown

root rot-resistance locus *Frl*. Cultivars that were bioassayed and disease resistance were validated were asterisk. Phenotype information of all other cultivars were based on the description by seed providers.

Cultivar	Seed Provider	Pheno type	Marker Genotype				
			PNU-T1212 5090038	PNU-D4 609737 8	PNU-100431 2517098 5	PNU-53169 2802361 3	SSR237 46426906
Alexander Deluxe	PPS	R	S	H	H	H	H
All Round	Nongwoobio	R	R	R	R	R	R
AS6*	Daeyoun	R	S	R	R	R	R
AS7*	Daeyoun	R	S	R	R	R	R
ASD-152*	Daeyoun	R	S	H	R	R	R
ASD-312*	Daeyoun	R	S	H	H	H	H
B Blocking*	Koregon	R	H	H	R	R	R
Barkus		R	S	H	H	H	H
BetaAlexander	PPS	R	S	H	H	H	H
Block*	Daeyoun	R	S	H	R	R	R
Doctor Q	Nongwoobio	R	R	R	R	R	R
DOTAERANG DIA	Koregon	R	S	H	H	H	H
Dotaerang Gourmet Dotaerang	Takii	R	S	H	H	H	H
Master Dotaerang	Koregon	R	S	H	H	H	H
Season	Koregon	R	S	H	H	H	H
Fighting	Takii	R	S	H	R	R	R
Ganbarune 11*	Daeyoun	R	S	H	H	H	H
Greenguard*	Daeyoun	R	R	R	R	R	R
Greensaver*	Daeyoun	R	R	R	R	R	R
Harmony		R	R	R	R	R	R
High Power*	Daeyoun	R	R	H	R	R	R
Kyupirang	Nongwoobio	R	S	H	H	H	H
Magnet	Sakata Korea	R	H	R	R	R	R
MB*		R	H	H	R	R	H
Prime Alexander	PPS	R	S	H	H	H	H

Rafito		R	H	H	R	R	R
Rex AD*		R	S	R	R	R	R
Shincheonggang		R	S	H	H	H	H
SPECIAL	Koregon	R	H	H	R	R	R
Spider		R	R	R	R	R	R
Spike 23*	Daeyoun	R	H	R	R	R	R
Suhosin	PPS	R	R	R	R	R	H
Super 334		R	H	H	H	H	H
Super	Sakata	R	H	H	H	H	S
sun road	Korea						
Superprime	PPS	R	S	H	H	H	H
SUPPORT	Sakata	R	H	R	R	R	R
	Korea						
Tosama*		R	H	H	H	H	S
TY Altorang	Nongwoobio	R	S	H	H	H	H
Ultra	PPS	R	R	R	R	R	R
Zuiken	Sakata	R	S	H	H	H	H
	Korea						
Ace Ggul		S	S	S	S	S	S
Biolight		S	S	S	S	S	R
Charming		S	S	H	S	S	S
Dream 900*	Daeyoun	S	S	S	H	H	H
Galuxy		S	S	S	S	S	S
House		S	S	S	H	H	H
Doterang		S	S	S	H	H	H
Kary		S	S	S	H	H	R
Koko		S	S	S	H	H	S
Marune TY*	Daeyoun	S	H	S	H	H	H
Maskara		S	S	S	H	H	R
Olkepper*		S	S	H	?	R	R
Sinhunggwang		S	S	S	H	H	H
Super Ace		S	S	S	S	S	S
Super		S	S	R	H	H	R
Doterang		S	S	R	H	H	R
Tenten		S	S	S	H	H	S
Tiara	PPS	S	S	S	H	H	H
Umgi		S	S	S	H	H	H

Figure 3. Sequence alignment of the PCR fragment amplified by PNU-D4 primers from AV107-4 and L3708. Single nucleotide polymorphisms (SNP) were presented in blue, and a causal SNP for RFLP and HRM was marked by green rectangle.

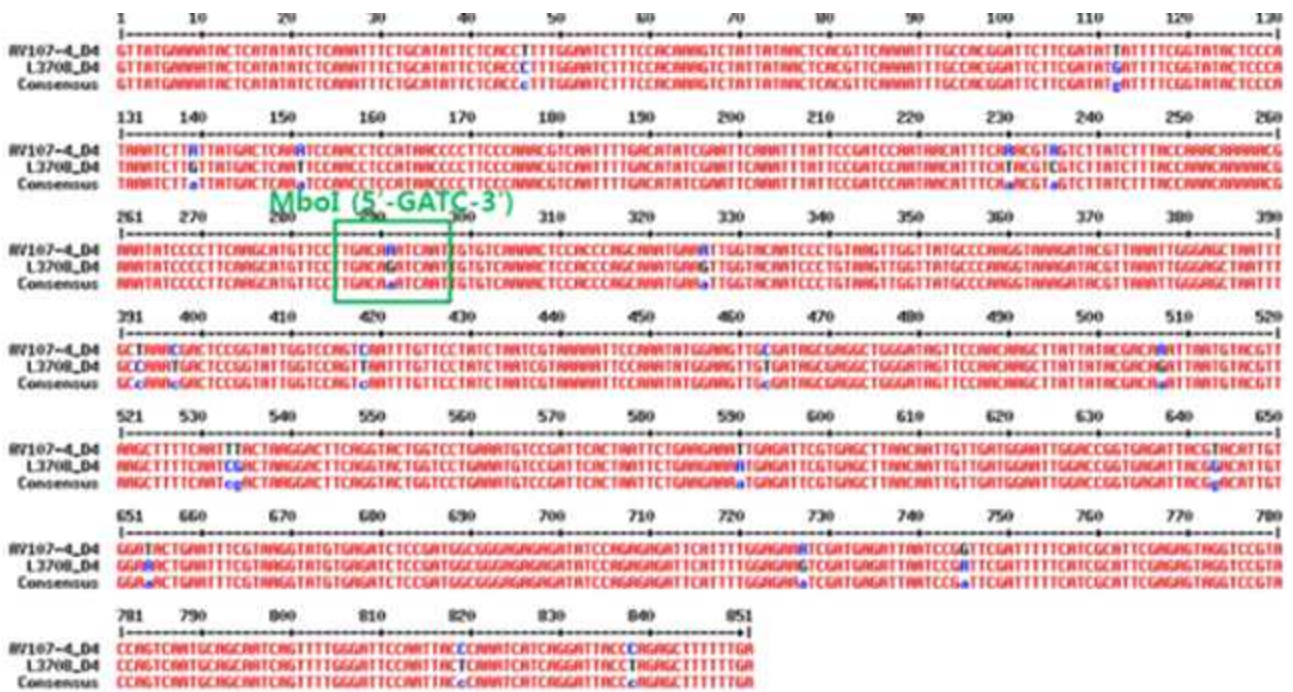
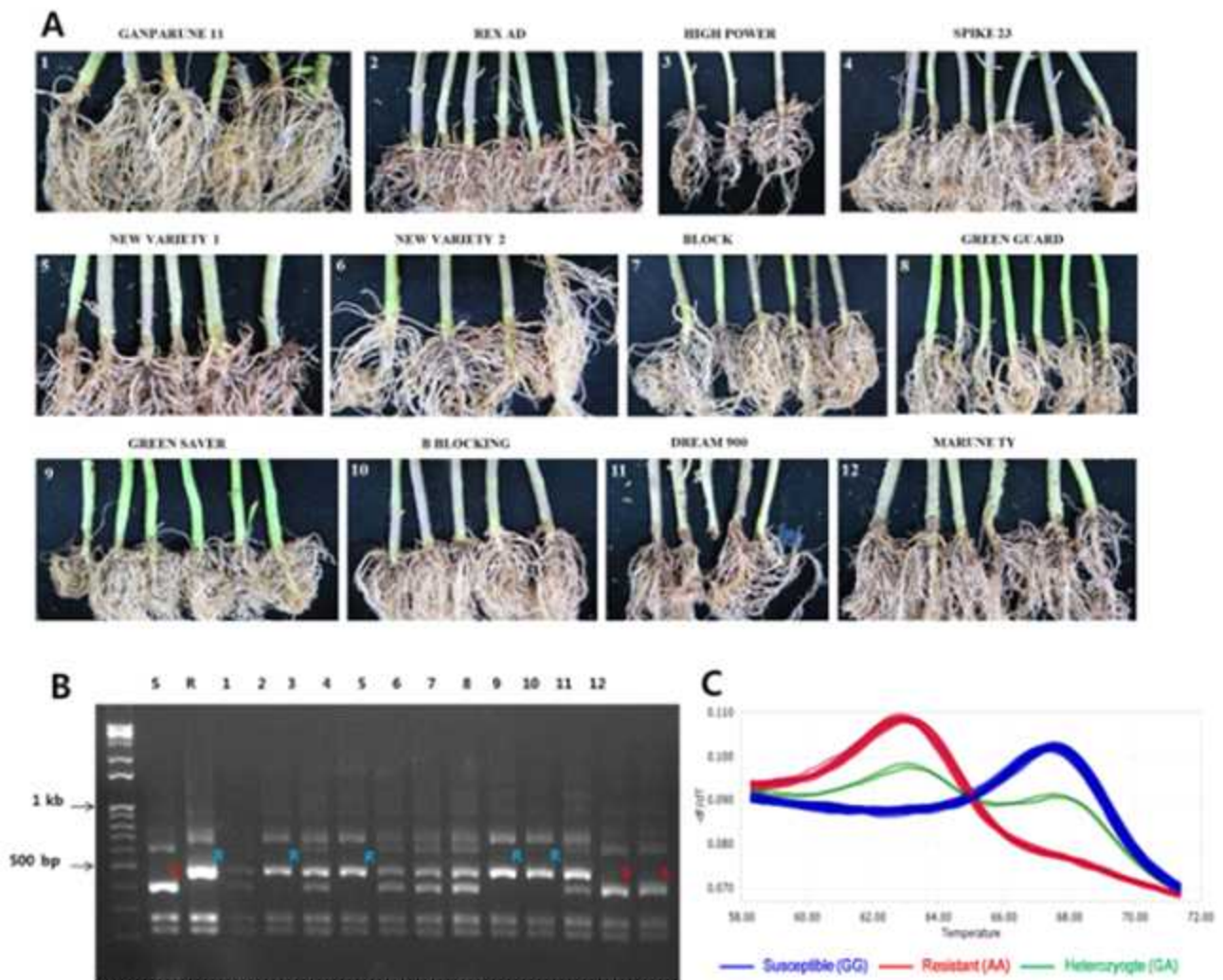


Table 4. List of primers and a probe used for sequencing RFLP marker PNU-D4 and development of high-resolution melting (HRM) marker.

Name	Sequence (5'-3')	Remarks
PNU-D4-F	CAGCTGAAAGATGTCACCCA	forward primer for sequencing
PNU-D4-R	TGATCATTTACAAGGCGGCA	reverse primer for sequencing
J3-D4-aF1	TCTTCGATATGATTTTCGGTATACTCCCATAAATCT	forward primer for HRM
J3-D4-aR1	AATTA ACTGGACCAATACCGGAGTCATTTGGCA	reverse primer for HRM
J3-D4-pF1	GTTCCCTTGACAGATCAATTGTGTCA	probe for HRM

Figure. 4. (A) F1 hybrid cultivars were evaluated for FORL-resistance. In this Figure 12 cultivars were tested and 10 cultivars were resistance, while 2 (#11 and 12) were susceptible. (B) Marker

PNU-T1212 and PNU-D4 were tested on these cultivars and PNU-D4 (CAPS) genotype was perfectly matched with the disease response, while PNU-T1212 showed 50% match. The result indicated that a high level of genetic recombination occurred between these markers in this population, and possibly, PNU-D4 is more closely linked to *Frl*. (C) PNU-D4 was converted to High Resolution Mating(HRM) maker and tested on 55 breeding lines resistant or susceptible to FORL. A perfect match between PNU-D4 HRM marker genotype and FORL-resistance was observed.



제 5 절 토마토 과색 선발용 분자마커 개발

1. 연구배경 및 목적

토마토 과색은 외관상 심미적 효과, 색소체의 항산화 효과를 가져 예로부터 중요한 육종형질 중 하나이다. 특히 붉은색 토마토와 분홍색 토마토의 경우 지역적으로 선호도가 다른데, 유럽과 서부 국가에서는 붉은색 토마토가 인기있는 반면 분홍색 토마토는 아시아에서 선호된다(Ballester et al., 2010). 붉은색 토마토와 분홍색 토마토의 차이는 과피 형질에서 비롯된다. Naringenin chalcone(NGC)는 붉은색 토마토 과피에 가장 많이 존재하는 flavonoid계 색소로서, 과실이 성숙하는 동안 큐티클에 축적되어 과피색을 노랗게 만든다(Hunt and Baker, 1980). 반면에 분홍색 토마토는 노란색 색소인 NGC가 결핍되어 투명한 과피를 가진다(Lindstrom, 1925). 붉은색 토마토를 야기하는 유전자(Y)는 단일 우성유전하며(Rick and Butler, 1956), 1번 염색체에 존재한다고 보고되어있다. Ballester et al.(2010)는 1번 염색체에 위치한 SIMYB12 유전자가 과피의 NGC의 함량을 조절하는 것을 Virus-induced gene silencing(VIGS)로 확인하였으며, 붉은색 토마토인 Moneyberg(*S.lycopersicum*), 분홍색 토마토인 LA1480(*S.chmielewski*)의 유전자 염기서열을 비교하여 내부의 indel을 발견하였다. 본 연구에서는 보고된 indel의 여부를 국내 유전자원인 FCR과 FCP에서 확인하고자 하였으며, 과피색을 선별할 수 있는 분자마커를 개발해 과색 육종과 정의 효율을 높이하고자 하였다.

2. 연구재료 및 방법

가. 식물 재료

국내 토마토자원(*S.lycopersicum*)에서 과피색 유전자의 mapping을 위해 붉은색 토마토인 FCR과 분홍색 토마토인 FCP를 이용하여 F2집단을 만들었다. FCR을 모본으로, FCP를 부본으로 인공수분하여 생성한 F1을 자가 수정하여 F2세대를 만들었으며, 각 개체들의 과피색 형질 및 마커 유전자형을 검정하였다. 또한 다른 자원에서의 마커-형질의 연관을 살펴보기 위해, 64개의 SOLCAP germplasm 의 array 상 SNP 유전형을 SOLCAP database 에서 확보하여 관찰한 과피색 형질과 비교하였다.

나. 표현형 검정

FCR과 FCP를 이용하여 생성한 272개의 F2개체와 64개의 SOLCAP 유전자원의 과피색 형질을 관찰하기 위해, 수정 후 45-50일된 성숙한 토마토를 수확하였다. 토마토의 과피를 벗겨 과육을 수세한 후, 과피를 흰 종이에 올려 색을 확인하였다. 과피가 노란색인 경우 'Y(붉은색

토마토, yellow)', 투명한 경우 'T(분홍색 토마토, transparent)'로 표시하였다.

다. SIMYB12유전자 기반 SCAR검정

붉은색 토마토인 Moneyberg(*S.lycopersicum*)와 분홍색 토마토인 LA1480(*S.chmielewski*)에서 보고된 SIMYB12 유전자의 두번째 intron에 위치한 35bp의 indel, 세번째 exon에 위치한 72bp의 indel을 보유한 유전자원에서 확인하기 위해서 SCAR마커 검정하였다. 두번째 intron의 indel을 확인하기 위해서 보고된 마커(i628F/i909R)를 이용하고, 세번째 exon의 indel을 확인하기 위해 Sol Genome Network(SGN, <http://solgenomics.net/>)에서 SIMYB12의 Moneyberg, LA1480 염기서열을 얻어 alignment(<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>)하여 primer3(<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)로 프라이머를 제작하였다. PCR은 genomic DNA 20ng, 각 forward 와 reverse primer 0.3M, 1X PCR buffer, 0.2mM dNTPs 와 의 Taq polymerase 0.6 U (Solgent, Daejeon, Korea)를 총 20ul로 mix 하여, 다음과 같은 PCR 조건으로 수행하였다: 95°C에서 5분 1회, 94°C에서 30초, AT(annealing temperature, Table 1.)에서 30초, 72°C에서 1분을 35회, 72°C에서 7분 1회 후 4°C에서 10분. PCR 후 PCR 증폭산물을 1.5% Tris-acetate EDTA (TAE) agarose gel에서 160 V로 1시간 수행한 후 Ethidium bromide(Et-br)로 staining하고 UV light 하에서 다형성을 확인하였다.

라. SIMYB12유전자 클로닝

FCR과 FCP의 genomic DNA를 이용해 SIMYB12 유전자의 염기서열을 파악함으로써 두 부모본 간 염기서열 변이를 찾고, 유전자 기반 마커를 개발하고자 SIMYB12(3Kb)를 포함하는 4.5kb 영역을 증폭하는 총 4개의 프라이머(Table 1)가 제작되었다. 위의 PCR 조건과 전기영동을 동일하게 시행한 후, 증폭된 DNA 산물을 Expin™ Gel SV(GeneAll Biotechnology, Seoul, Korea)를 이용해 agarose gel에서 추출한 후, 이를 pGEM-T-Easy Vector(Promega, Madison, WI, USA)와 Hit-DH5α competent cell(RBC, Banqiao, Taiwan) 를 이용하여 cloning하였다. Plasmid DNA는 GeneAll Plasmid kit (GeneAll Biotechnology, Seoul, Korea)를 이용해 수거된 후, inset DNA는 Genotech (Daejeon, Korea)에서 dye-termination method로 시퀀싱되었다.

Table 1. List of PCR primers used for genotyping of the genes linked to fruit peel trait and cloning of *SIMYB12* gene in tomato (*S. lycopersicum*).

Primer ID	Primer sequence (5' - 3')	Product size (bp)	Enzyme	Allele size (bp) ^z		Marker type ^y	Marker location ^x
				FCR	FCP		
wi628F	CACAATAATTTGGTGCTCCGATCTA AC	336	-	336	336	SCAR	Intron 2 of <i>SIMYB12</i>
wi909R	ATATTAAATTTATCACACGAACAAC AGC						
ex3-F	GCAGAACATTTATCAGGTAGAACAG A	316	-	316	316	SCAR	Exon 3 of <i>SIMYB12</i>
ex3-R	CCTCTATAGGTCCTGCCCAAG						
clo1-F	TGGA ACTCTCATCTAAGTCGAAA	1285	-				
clo1-R							
clo2-F	AGGCTCTTGGAGGTCGTTAC	963	-				
clo2-R	CACACGAACAACAGCTGAGA						
clo3-F	GGTGCCCGATCTAACAACAC	957	-				
clo3-R	TGTCACA ACTCACA ACTAACACA						
clo4-F	TTTTGATTAATGAATGGGCAAA	1257	-				
clo4-R	TCTGGACCTAGACTAAAAAGAAACA A						
clo5-F	CCAACGTTACCATGGGAATTA	1089	-				
clo5-R	GGTGGGAATGAGCTTCTCAA						
13762-F	GTTGGTTTGCAGGAACAGGT	555	<i>MnlI</i>	555	207/348	CAPS	67,855,513(#13762)
13762-R	AGGCCAGAAGCCAGTAGTCA						

456-F	GAATGGATCTTCAGTGCCT						
456-R	CCTGTTTTCTGAGTAACATTCTCG	183	<i>MnI</i>	119/64	183	CAPS	71,090,567(#456)
38123-F	TCCTGTAGTGCAGCACTACCACCT						
38123-R	CCAATCTTGGTGGACAGAGTT	178	<i>MnI</i>	178	124/54	CAPS	71,476,848(#38123)
531-F	CTCTTGTTCCAGCAATGCAA						
531-R	TGCTTCTTTCTGTTCACTTTATTCA	851	<i>PvuII</i>	266/585	851	CAPS	73,023,201(#531)

^zInbred lines for yellow peel ('FCR') and transparent peel ('FCP') fruit used for developing a segregating population of F₂.

^ySCAR, Sequence characterized amplified region; CAPS, Cleaved amplified polymorphic sequence. SCAR markers were developed from in/del of *SIMYB12* and the CAPS markers were developed from SNPs of four genes linked to *SIMYB12*.

^xMarker locations of CAPS were represented with the genomic locations of SNPs on chromosome 1 and their SolCAP array SNP ID in parenthesis.

^wThe primers to check insertion in second intron are from Ballester et al. (2010).

마. SNP array 분석 및 CAPS 마커개발

FCR과 FCP의 Genomic DNA를 이용하여 분석한 SolCAP Tomato SNP array상의 여러 SNP marker들 중, SIMYB12부근의 SNP marker 유전자형을 살펴보았다. SNP annotation information은 SolCAP database에서 다운로드하여 사용했으며, SIMYB12와 물리적으로 가까운 4개의 SNP(solcap_snp_sl_13762, 456, 38123, 531)를 CAPS designer를 사용하여 CAPS마커(CAPS-13762, 456, 38123, 531)로 전환하였다(Table 1). PCR은 위와 같은 방법으로 수행되었으며, PCR product의 restriction enzyme digestion은 각 enzyme의 지침(NEB, Ipswich, Suffolk, England)에 따라 처리되었다. 전기영동은 2.5% Tris-acetate EDTA (TAE) agarose gel에서 160 V로 1시간 수행한 후 Ethidium bromide(Et-br)로 staining하고 UV light 하에서 다형성을 확인하였다.

바. 유전적 연관 분석

총 272개의 F2 개체에 대해 SIMYB12 유전자와 연관된 4개의 CAPS마커 유전자형을 검정한 후, 과피색 유전자(y)와 CAPS마커들의 연관을 확인하기 위해서 Joinmap version 4.0의 LOD 3.0을 이용하여 연관지도를 그렸다. 또한 64개의 SolCAP germplasm(8개의 분홍색 토마토와 56개의 붉은색 토마토)와 부모본(FCR과 FCP)의 유전적 연관성을 판단하기 위해 SIMYB12를포함하는 7개의 SNP marker에 대한 염기서열을 이용하여 NTSYS_PC version 2.02k software로 dendrogram을 그렸다.

3. 연구결과 및 고찰

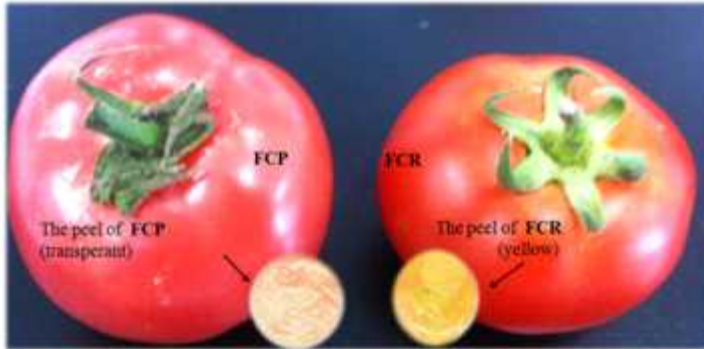
가. 과피색 형질의 유전

성숙된 FCR의 과피는 노란색, FCP의 과피는 투명하며(Fig. 1), FCP의 외관상 분홍색은 SIMYB12 유전자의 발현이 억제되어 과피의 flavonoid계 색소인 naringenin chalcone(NCG)의 축적이 억제되기 때문으로 예측된다. FCR과 FCP를 교배한 F2집단의 과피 표현형을 검정한 결과, 208개는 FCR(노란색, Y)의 과피형질을, 64개는 FCP(투명, T)의 형질을 따랐다. F2집단의 과피형질 분리비는 붉은색 토마토(노란색 과피)와 분홍색토마토(투명한 과피)가 3:1($\chi^2 = 0.31, P < 0.05$)로 분리되어 FCR의 노란색 과피색 유전자는 단일 우성 유전(Y)한다는 것을 알 수 있다.

나. SCAR마커 검정과 SIMYB12 유전자 클로닝

Figure 1. The fruit and peel color of the tomato inbred lines (*Solanum lycopersicum* L.) 'FCR' (A)

and 'FCP' (B). 'FCR' shows red fruit color with a yellowish peel, while 'FCP' shows pink fruit color with a transparent peel.



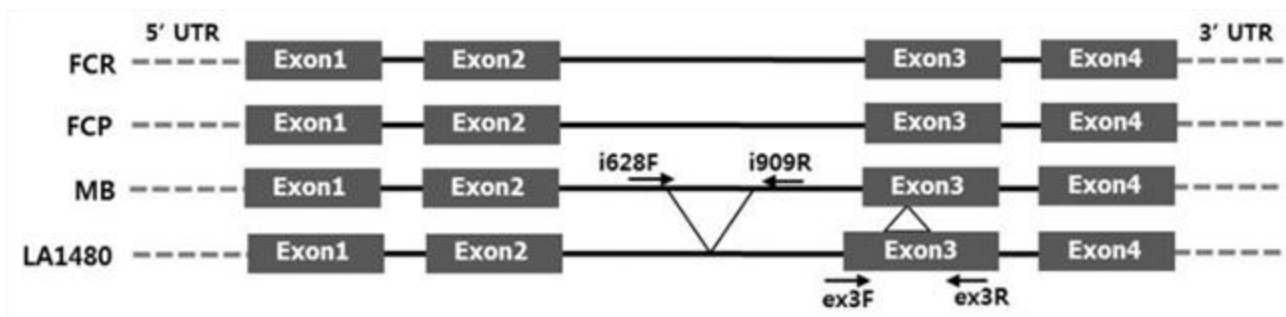
이전의 연구에서(Ballester et al., 2010), Moneyberg(*S. lycopersicum*), LA1480 (*S. chmielewski*)의 과피색 차이를 야기한다고 예상된 SIMYB12 내부의 indel이 두번째 intron 과 세번째 exon에서 보고되었다. 본 연구에서는 논문에서 참조한 마커(두번째 intron의 indel을 검정하기 위한)와 세번째 엑손의 indel을 검정하기 위해 제작한 마커를 이용하여 보고된 유전자 내의 변이를 국내 자원에서 확인하고자 하였다. 그 결과, FCR과 FCP에서 보고된 변이를 찾을 수 없었으며, 이후 gene-based 마커를 개발하기 위해 SIMYB12 유전자의 5'-UTR 앞으로 700bp와 3'-UTR 뒤로 800bp를 포함하는 full-gene sequencing을 진행하여 각 염기서열을 파악하였으나(총 4.5kbp) 어떠한 염기서열 다형성을 관찰할 수 없었으며 이는 Adato et al.의 결과(Adato et al., 2009)와 일치한다(Fig. 2). 이로 인해 국내의 육종 계통(FCR, FCP, *S. lycopersicum*)에서 과피색 형질과 유전자 SIMYB12를 직접적으로 연관짓는 유전자 기반 마커를 개발하는 것이 어려워졌다. 그러므로 SIMYB12와 인접한 염기서열 변이를 SolCAP Tomato SNP array를 이용하여 찾고 이 마커들을 연관마커로서 과피색 유전자(y)를 맵핑하였다.

다. SolCAP SNPs를 이용한 과피색 유전자의 유전자 지도작성

F2 집단에서 SIMYB12 유전자와 과피형질의 연관을 확인하기 위해 SolCAP Tomato SNP array를 이용하여 FCR과 FCP간의 SNP를 대량 발굴하였다. Array를 이용한 genotyping platform상의 7,720개의 SNPs (Sim et al., 2012) 중 FCR과 FCP에서 다형성을 띠는 1,631개의 SNP를 선별하였다. 이 중 55개의 SNPs가 1번 염색체에 존재하며, SIMYB12 유전자 인근의 11개 SNP를 선별한 후, 제한효소 인지부위에 위치하는 4개의 SNP를 CAPS마커로 전환하

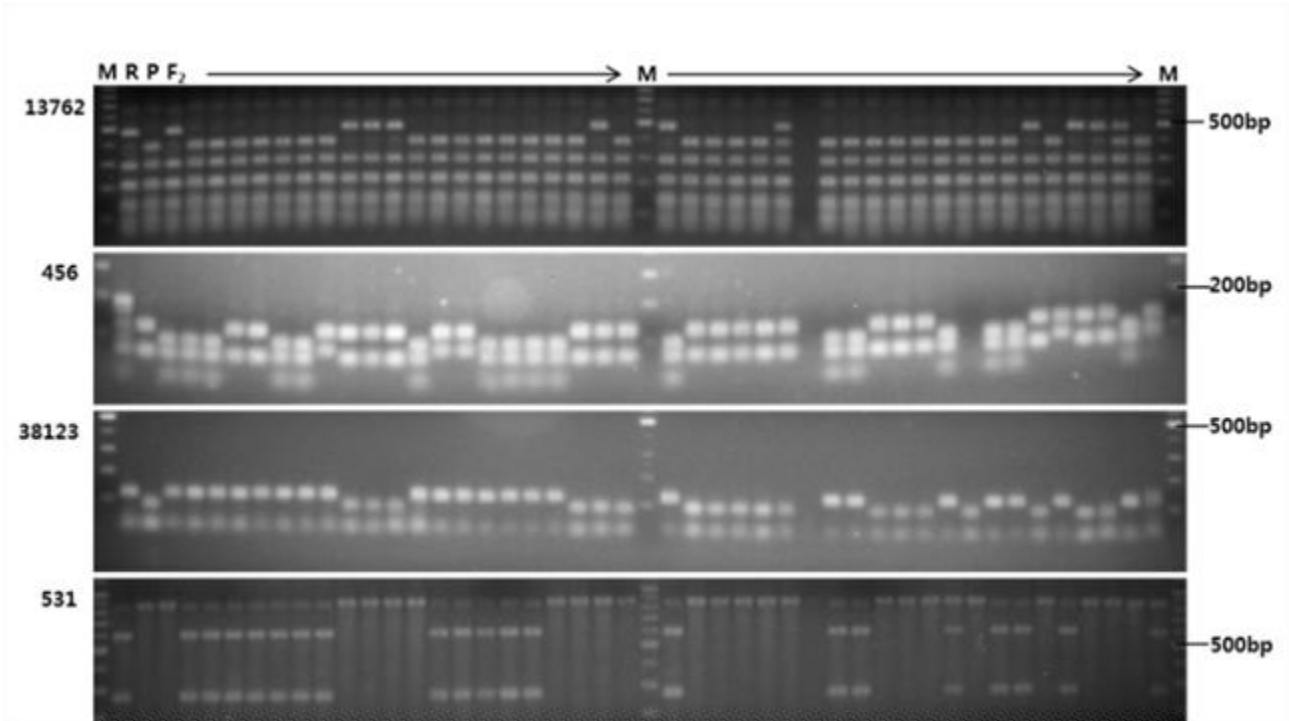
였다.

Figure 2. A schematic presentation of the structure of the *Slmyb12* gene and SCAR marker used for allele discrimination. Nucleotide sequences of the 5' and 3' UTR and introns were represented by dotted lines and solid lines, respectively. Two indel regions in intron2 and exon3 were marked as triangles, and primers for amplification of each insertion or deletion were represented by their names and arrows. 'FCR', red fruit; 'FCP', pink fruit; 'MB', Moneyberg (*Solanum lycopersicum* L.), red fruit; LA1480 (*Solanum chmielewskii*), pink fruit.



이 4개의 CAPS 마커(CAPS-38762, 456, 38123, 531)는 각각 reference genome (<http://solgenomics.net/>) 1번 pseudochromosome(ITAG 2.3 release) 상의 67,855,513bp, 71,090,567bp, 71,476,848bp, 73,023,201 bp에 위치하며, 이 마커들을 F2 집단에 검정한 결과 과피색 표현형과 각각 89.7%, 94.1%, 97.4%, 89.2% 일치하였다(Fig. 3). 이 마커들의 유전형과 과피형질 표현형을 이용하여 유전자 지도를 작성한 결과, 4개의 마커는 CAPS-(13762-456-38123-531)의 순으로 위치하였으며, 과피색 유전자(Y)는 CAPS-456, CAPS-38123 사이에 위치하였다(Fig. 4). CAPS-456, CAPS-38123는 y로부터 각각 4.62cM, 2.11cM 떨어져 있으며, SIMYB12(SGN,40ch01:71,255,600-71,258,882)유전자가 물리적으로 CAPS-456(SIMYB12유전자 start codon에서 165,033bp), 38123(SIMYB12유전자 stop codon에서 217,966bp)사이에 위치한다. 이 결과는 비록 FCR과 FCP간 SIMYB12 유전자 내부의 염기서열 변이는 관찰할 수 없었지만, SIMYB12는 여전히 과피 형질과 관련된 강력한 후보유전자이며, CAPS-456, 38123은 과피색 선발용 마커로 사용하기 적합하다. 이후 우리는 이 마커들의 범용성을 평가하기 위해 다양한 유전적 기원을 가진 64개의 SolCAP 토마토 계통에 검정하였다.

Figure 3. Agarose gel image showing marker genotype for four CAPS markers (13762, 456, 38123 and 531) for the F₂ population of a cross between ‘FCR’ and ‘FCP’. Refer to Tables 1 and 2 for information regarding each SCAR and CAPS marker. M; 100 bp size marker, R; ‘FCR’; P, ‘FCP’.



라. 64개 SolCAP 토마토 유전자원을 이용한 연관분석

F₂ 집단에서 과피 표현형과 유전형이 높게 일치한 CAPS-456, 38123(40ch01:71090567..71476848) 내부에 위치한 genomic block의 7개 SNP(solcap_snp_sl_456, 457, 38096, 25922, 38116, 38119, 38123)에 대해서, 62개의 SolCAP 계통 과 두개의 부모본의 유전형을 SolCAP Tomato Infinium SNP annotation Table(<http://solcap.msu.edu/>)에서 참고하였다. 그 결과 분홍색 SolCAP 토마토의 7개 SNPs set에서의 염기서열이 매우 보존적으로 유지된다는 것을 발견하였다(Table 2). 총 64개의 계통에 유전적 다양성을 살펴보기 위해서 7개 SNP set의 유전형을 이용하여 계통수를 그린 결과, 총 8개의 분홍색 토마토 중 6개의 분홍색 토마토 계통들이 군집을 이루어 독립적인 그룹으로 존재하며, 다른 2개의 분홍색 토마토는 다른 그룹에 위치함을 알 수 있다(Fig 5). 이러한 결과는 과피 형질 대립유전자(y)가 공통의 유전적 기원에서 유래하였으며, SIMYB12와 인근한 genomic block이 이입되어 투명한 과피를 가진 돌연변이가 유도되었을 가능성을 보여준다.

Figure 4. A genetic linkage map composed of four cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers (Table 1) and locus for tomato fruit peel color. The map was constructed using JoinMap version 4 with an LOD value of 3.0. The CAPS-13762, 456, 38123 and 531 markers are derived from SNP marker information for each SolCAP.

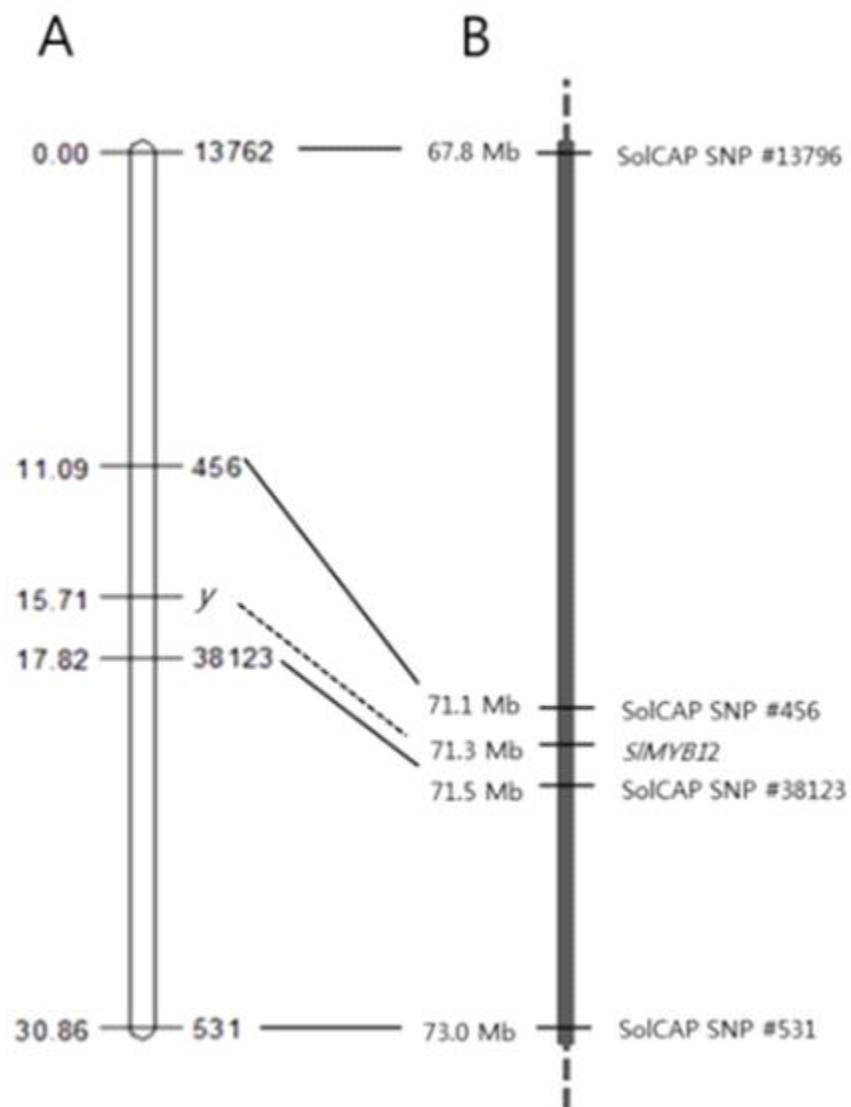
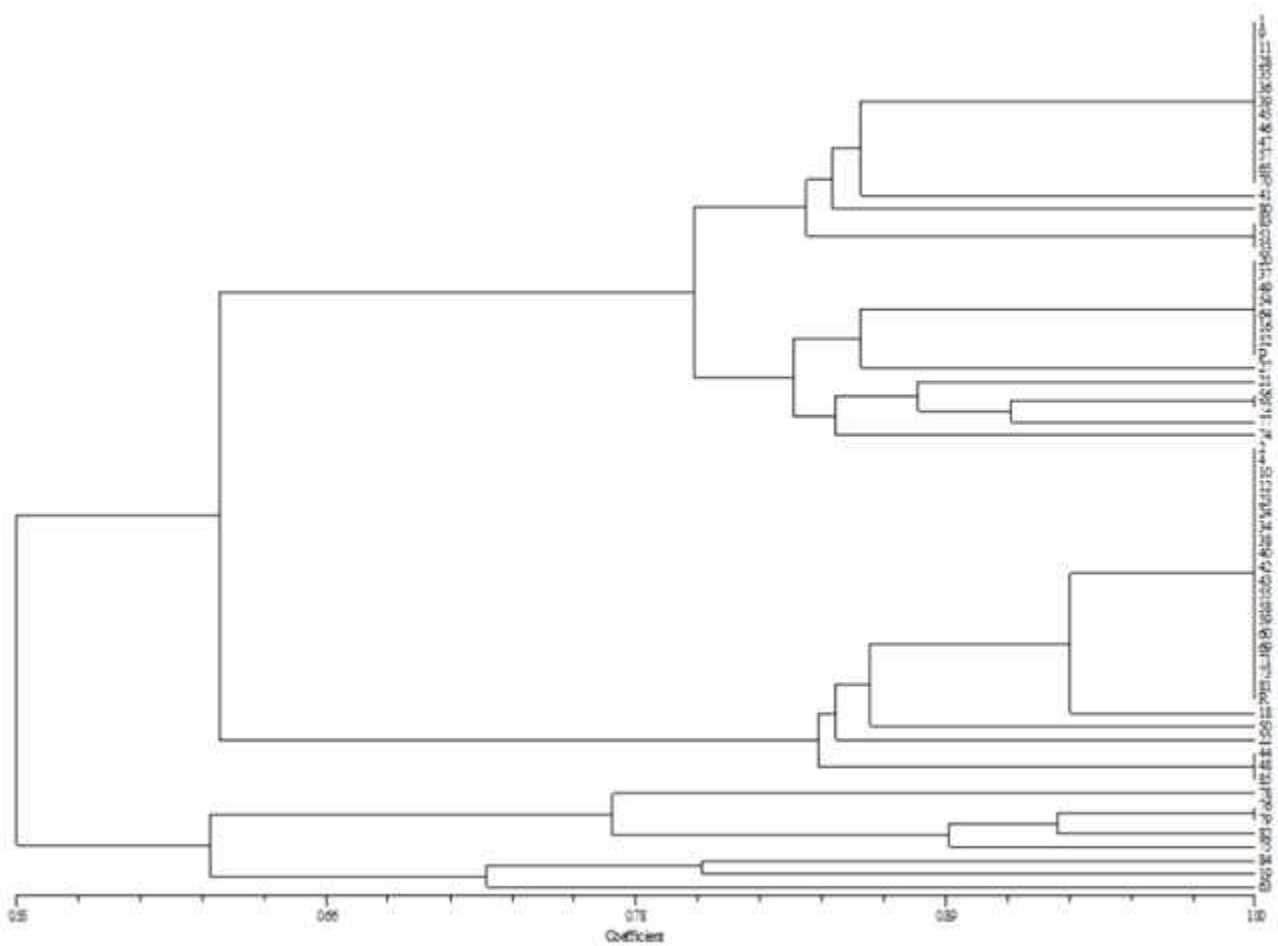


Figure 5. A phenetic tree showing the genetic relationships among eight pink-fruited (colorless peel, designated by dot) and 54 red-fruited (yellow peel) SolCAP tomato accessions, and ‘FCR’ and ‘FCP’, as revealed by seven SNPs in a *SIMYB12*-harboring genomic region of chromosome 1. The name of each accession can be found in Table S2 based on its entry number.



결론적으로, 1번 염색체에 존재하는 *y* 유전자는 토마토의 투명한 과피색과 외관상 분홍색 과색을 야기하며, 유전자 지도상에서의 위치를 고려할 때, 후보 유전자인 *SIMYB12*가 *y* 유전자 좌에 관련되어있다. 하지만 *SIMYB12* 대립유전자(*Y* 와 *y*)의 프로모터를 포함한 넓은 영역을 시퀀싱한 결과 어떠한 염기서열도 발견되지 않아 gene-based 마커를 개발하기 어려웠다. *SIMYB12*와 인근한 genomic block에 있는 분홍색 토마토 특이적인 SNPs의 염기서열을 이용하여 62개의 SolCAP 토마토 계통의 염기서열을 분석한 결과, *SIMYB12*와 가까이 연관된 마

커의 개발은 육종과정에서 분홍색 토마토를 효과적으로 선별할 수 있음이 예측된다.

제 6 절 복합 내병성 품종 육성을 위한 MAS 지원

본 연구는 민간육종회사(주관연구기관: 토마토생명과학연구소)의 복합 내병성 품종육성을 지원하는 목적으로 본 연구책임자가 보유한 토마토 내병성 유전자 선발용 분자마커 14종을 이용하여 수행되었다 (Table 1, Fig.1). 총 연구기간 5년간 12,970개 포인트에 대한 MAS를 지원하였다(Table 2). 연구결과 주관연구기관의 다양한 복합내병성 신품종 및 계통을 개발하는데 도움을 주었다.

Table 1. List of molecular markers used for supporting MAS for breeding multi-disease resistance tomato cultivars and lines

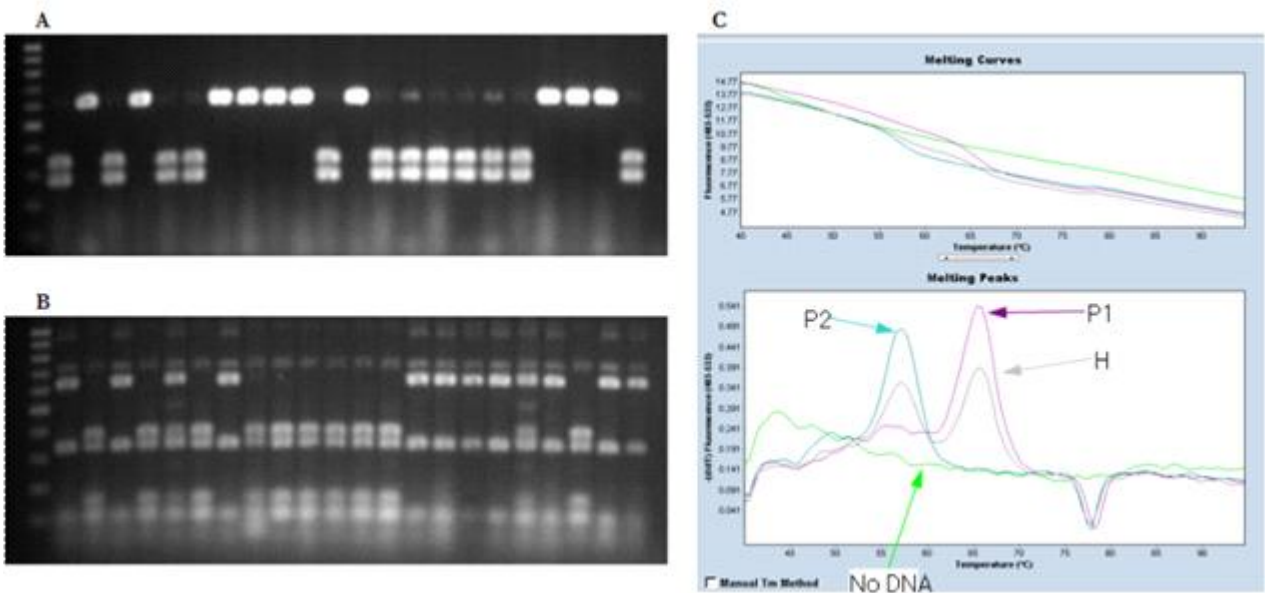
병명	병명(영명)	병원균	R 유전자	마커타입
줄기마름병	Alternaria stem canker	Alternaria alternata	Asc-1	CAPS
시들음병	Fusarium wilt	Fusarium oxysporum lycopersici-race 2	I2	CAPS
		Fusarium oxysporum lycopersici-race 3	I3	CAPS
잎곰팡이병	Leaf mold	Cladosporium fulvum (Fulvia fulva)	Cf-9	SCAR
반신위조병	Verticillium wilt	Verticillium dahliae-race 1	Ve	CAPS
담배모자이크 바이러스	ToMV	Tomato mosaic virus	Tm-2(a)	CAPS
얼룩시들음병 바이러스	TSWV	Tomato Spotted Wilt Virus	Sw-5	SCAR
토마토황화잎말림바이러스	TYLCV	Tomato Yellow Leaf Curl Virus	Ty-1	CAPS
			Ty-2	SCAR
			Ty-3	SCAR
세균성반점병	Bacterial speck	Pseudomonas syringae pv. tomato.	Pto	CAPS
세균성점무늬병	Bacterial spot	Xanthomonas campestris pv. vesicatoria	Bs4	CAPS
갈색근부병	Corky root rot	pyrenochaeta lycopersici	Py-1	CAPS
잎마름역병	Late blight	Phytophthora infestans	Ph-3	SCAR
(고구마)선충 뿌리혹병	Root knot nematode	Meloidogyne incognita	Mi-1	CAPS

Table 2. Number of test points for MAS supported during the research years

시기	개체수	마커종류	검정샘플 수
1차년도	358	Ty-1 등 8개 마커타입	2864
2차년도	324	Ty-1 등 7개 마커타입	2268
3차년도	250	Ty-1 등 8개 마커타입	2000

4차년도	318	Ty-1 등 8개 마커타입	1438
5차년도	550	Ty-1 등 8개 마커타입	4400
총계	1800	14개 마커 타입	12,970

Table 1. Molecular markers used in this study and exemplar cultivars developed. A, TYLCV; B, ToMV; C, I-2 (fusarium)



제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표달성도

(제1세부)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2010- 2011)	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	새로운 유전자원 도입 및 특성검정	100	- TYLCV내병계 및 저장성이 우수한 토마토 유전자원 20여점을 수집 하여 특성 검정하였음 - 분리육성 및 재조합 소재로 이용함
		계통육성 및 선발	100	- 기존의 보유 육성중인 대과종에서 모계 67계통, 부계 43계통을 육성 선발 - 보유 육성중인 미니종에서 모계로 77 계통, 부계로 57계통을 육성 선발
		신소재 육성 및 Backcross	100	- TYLCV 내병계 F2 및 BC1F2 집단 등 20여 개의 분리계통을 만들고 계통과 개체 선발 - 특정인자집적을 위한 Backcrossing 13 집단을 만들
		세대진전시험	100	- 초기세대(F2~F5) 128 계통들에 대한 세대진전시험을 하여 재조합
2차 년도 (2011- 2012)	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	계통육성 및 선발	100	- 대과종 우량한 양친으로 모계 61 계통, 부계 67계통을 육성 선발함 - 미니종 우량한 양친으로 모계 56 계통, 부계 64계통을 육성 선발함
		신소재 육성 및 Backcross	100	- 저장성과 내병성 인자집적 13집단 을 BC2F1 단계까지 진행함
		F ₁ 조합작성 및 조합 선발시험	100	- 대과토마토 38조합, 미니토마토 38 조합을 작성 - 중국 현지시험에서 대과종 16조합, 미니종 17조합을 선발함
		세대진전 및 시교생산	100	- F3~F5 세대 100계통을 세대진전하 여 종자를 받았음 - 조합선발시험에서 best로 선발된 4조 합은 시교채종을 함
		품종등록 및 상품화	100	- 미니토마토 BN345는 “TY미라클” 로 품종보호출원을 함

3차 년도 (2012- 2013)	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	육성계통들에 대한 원 예형질 및 과품종 평 가 선발	120	- 대과토마토 A line(모계) 74계통, B line(부계) 75계통을 선발 육성함 - 미니토마토 A line 53계통, B line 78 계통을 선발 육성함
		Multi 내병성 계통 육성 선발	100	- 복합내병성 계통육성: 분자마커로 TYLCV(ty1.ty3).TMV(Tm2a).선충 (N).위조병(F2).반신위조병(Ve).잎 곰팡이병(Cf9).점무늬병(LS) 등을 검정하여 선발에 활용함
		Backcross 및 신소재 육성	100	- 고품질계, TYLCV내병계 신재료 육성으로 BC3F1까지 진행함 - 핑크대과 4계통, 레드대과 3계통 미니계통 6계통을 육성
		F ₁ 조합 선발시험 및 농가실증시험(중국)	130	- 대과종 29조합, 미니종 30조합시험을 하여 대과토마토 18조합, 미니토마토 19조합을 선발함 - 전년도에 선발된 대과종 2품종과 미니종 2품종을 확대시험함
		시교생산 및 원종증식	100	- 전년도 best로 선발된 4품종에 대한 시교종자를 생산하여 확대 시험용으로 활용하고 그 원종도 증식함
		품종등록 및 상품화	200	- 대과토마토 2품종 “토스트” “TY 포르테”, 미니토마토 1품종 “툼제 리” 품종보호 출원하였으며 상품화
4차 년도 (2013- 2014)	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	육성 계통들의 순화 및 고정화(fixation)	120	- 대과토마토: A line(모계)으로 고정계 통 30 line, 세대진전 35 line을 육성 함. B line(부계)으로 고정계통 24 line, 세대진전된 50 line을 육성함 - 미니토마토: A line으로 고정계통 28 line, 세대진전된 24 line을 육성함. B line으로 고정계통 18 line, 세 대진전계통 62 line을 육성함

4차 년도 (2013- 2014)	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	Multi-resistance line 육성 선발	120	- 복합내병성 계통육성: 분자마커로 토마토황화잎말림바이러스 Ty1 70점, Ty3 51점, 토마토모자이크바이러스 Tm2a 214점, 선충 Mi1 126점, 위조병 레이스2 I2 254점, 근부위조병 Fr 26 점, 반신위조병 V 133점, 점무늬병 LS 75점, 잎곰팡이병 Cf9 75점, 역병 Ph3 18점을 선발함
		신소재 육성 Backcross	100	-(고품질계 x 내병계) backcrossing 으로 BC4F2까지 진행함 -핑크대과 4그룹, 레드대과 3그룹 미니 6그룹을 육성함
		F ₁ 조합 선발시험 및 농가실증시험(중국)	120	- 고정계통간의 조합작성으로 대과토마 토 핑크대과 29조합, 레드대과 15조 합, 미니토마토 29조합을 작성함 - 조합선발시험으로 핑크대과 21조합, 레드대과 10조합, 미니토마토 22조합 을 선발함 - 전년도에 선발된 대과종 2품종과 미니종 2품종을 농가확대시험함
		시교생산 및 원종증식	100	- 선발된 4품종에 대한 시교 증자를 생산하여 확대시험용으로 활용하였으며, 품종화된 3품종에 대한 원종증식을 함
		품종등록 및 상품화	150	- 대과토마토 1품종 “TY마라톤” 품종 보호출원하였으며, 미니토마토 1품 종 “다니엘TY” 품종생산판매신고를 하여 상업화함
5차 년도 (2014- 2015)	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	양친고정계통들의 순도검정	100	- 고정된 대과종 모계 42계통, 부계 28 계통들에 대한 순도확인 - 고정된 미니종 모계 39계통, 26계통 들에 대한 순도검정을 함
		Multi-resistance line 선발		복합내병성 계통육성으로 ty1 38점, ty3 35 점, Tm2a 75점, Mi1 52점, F 96점, Fr 23 점, Ve 60점, Cf9 27점, Ph3 18점, LS 84점 을 선발함

5차년도	중국 수출용 대과 및 미니 토마토 품종 개발	인자집적 Backcross	100	- 신소재육성 인자집적 backcross로 BC4F3 계통 확보
		F ₁ 조합선발시험 및 농가실증시험	100	- 핑크대과 28조합, 레드대과 18조합을 시험하여 pink 19조합, red 13조합을 선발함. - 미니토마토 23조합을 시험하여 20조합을 1차로 선정하고 2차시험을 진행중임.
		원종증식 및 종자생산	100	- 품종화된 8품종의 원종증식 및 판매용 종자생산
		품종등록 및 상품화	100	- 대과종 “마라톤알파” “TY맛나” 품종 생산판매신고, 미니토마토 “브라보TY” 품종 생산판매신고를 하여 Launching 준비중임

목표달성도(제2세부과제)

구분 (연도)	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2010- 2011)	<ul style="list-style-type: none"> ○마커이용여교잡을 위한 반복친 계능 선발용 마커개발 ○내병성 분자마커를 이용한 MAS 지원 	100	<ul style="list-style-type: none"> - TYLCV 내병성 계통개발을 위한 여교잡용 공여친(저항성)/반복친(감수성) 4계통 선정 - 공여친, 반복친 간 F1 세대진전 - 반복친 계능(염색체) 선발용 SSR 마커 120개 검정 - 8개 내병성 마커에 대해 358 개체 MAS 수행 - 대량샘플마커분석 자동화 시스템(HT-MAS)용 내병성 마커 개발
2차 년도 (2011- 2012)	<ul style="list-style-type: none"> ○마커이용여교잡을 위한 반복친 계능 선발용 마커개발 ○내병성 분자마커를 이용한 MAS 지원 	100	<ul style="list-style-type: none"> - 수집계통의 병리검정 - 계통간 유연관계 분석 - MAB용 SSR 마커 200종 추가 검정 - 여교잡 부모본 계통들의 염색체들에 대한 SSR 마커 genotype profiling -기 확보된 병 저항성 분자마커를 이용한 제1세부과제 육종 프로그램의 MAS 지원 (2,200점 이상) -내병성 연관마커: TYLCV, ToMV, 위조병, 선충, 풋마름역병, 점무늬병, 잎곰팡이병 등
3차 년도 (2012- 2013)	<ul style="list-style-type: none"> ○역병 저항성 선발용 분자마커 개발 ○근부위조병 저항성 선발용 분자마커 개발 ○내병성 분자마커를 이용한 MAS 지원 	100	<ul style="list-style-type: none"> -마커개발을 위한 RIL 집단 작성 -RIL 집단 역병 병리검정 -RIL 집단 마커검정 -역병 저항성 후보유전자(Ph-3) 탐색 및 유전자 기반의 분자마커 개발 -근부위조병 F2 집단에 대한 병리검정 -근부위조병 F6 집단에 대한 병리검정

<p>4차 년도 (2013- 2014)</p>	<p>○MAS용 내병성 마커개발 ○MAB용 마커개발 ○내병성계 품종육성을 위한 MAS 지원</p>	<p>100</p>	<ul style="list-style-type: none"> -흰가루병 분리집단(F2:3) 작성 -흰가루병 분리집단(F3)의 표현형 검정 -근부위조병 분리집단(RIL)의 표현형 검정 -근부위조병 저항성 연관마커 개발 -여교잡용 공여친 및 반복친 48 계통확보 -확보된 계통에 대한 Tomato SNP-array 분석 및 SNP 탐색 -계통간 유연관계 분석 -주관연구기관의 MAS를 4차에 걸쳐 지원 (총 1,500점 분석)
<p>5차 년도 (2014- 2015)</p>	<p>○MAS용 내병성 마커개발 ○MAB용 과색 마커개발 ○내병성계 품종육성을 위한 MAS 지원</p>	<p>100</p>	<ul style="list-style-type: none"> -과색 분리집단 (F2) 작성 -과색 유전자 Slmyb12 염기서열 분석 -분리집단 부모본 SNP-array 분석 및 SNP 탐색 -과색 분리집단 맵핑 -개발된 마커를 이용한 유전자원 분석 및 마커-표현형 연관 분석 -주관연구기관의 MAS를 4차에 걸쳐 지원 (총 3,000점 분석)

제 2 절 관련분야에의 기여도

토마토 신품종 육종 개발로 토마토 종자의 수출 길을 열었으며, 중국에 토마토 종자수출과 동시에 국내 토마토 종자 수입대체에도 기여하였다. 또한 토마토 품종육종 수준이 한 단계 up-grade 되었으며 세계와 경쟁할 수 있는 기반을 다졌다고 할 수 있다, 향후 계속해서 새로운 토마토 품종을 육성할 수 있는 역량 향상으로 국내육성 토마토 품종에 대한 신뢰도가 제고되었다.

내병성 마커로 MAS를 지원함으로써 주관기관의 복합내병성 품종육성에 기여한 것이다. 이러한 MAS 지원을 통해 주관기관에서는 ‘토스트’ 등 다양한 신품종을 출원, 등록하였다. 또한 본 연구를 통해 신규로 개발된 TYLCV, 역병 및 근부위조병 저항성 선발용 마커들은 현재 민간 육종회사의 MAS 프로그램 지원에 활용되고 있다. YLCV와 역병저항성 마커에 대한 정보는 국내외 SCI 논문에 게재되어 일반 user 들이 활용 가능하도록 제공하였으며, 근부위조병 저항성 마커는 현재 논문투고와 동시에 특허출원하여 지식재산권을 확보하였다. 또한 개발된 여교

잡선발용(MAB) 마커 중 품종간 높은 변이(high PIC value)를 보이는 염색체별 SNP 마커세트는 향후 Fluidigm와 같은 through-put genotyping이 가능한 platform에 적용할 경우, 육종 프로그램에 실질적인 활용가치가 높다 할 수 있다. 개발된 근부위조병 마커는 특허출원 후 생물정보분석 회사인 (주)시더스로 기술이전을 추진하고 있으며, 국제 SCI 저널(Genome)에 투고하였다. 또한 본 연구에서 개발된 분자마커들은 기술이전을 통해 GSP 원예종자사업단의 토마토 품목 개발과 민간육종단지의 마커 서비스 사업에 적극 활용할 수 있도록 지원할 계획이다. 향후 추가 연구가 필요한 부분으로는 개발된 근부위조병 저항성 마커를 기반으로 저항성 유전자를 클로닝할 수 있는 연구가 지속적으로 이루어져야 하며, 연구목표 이외 추가로 개발된 과색 판별 마커의 경우, 다양한 유전자원에 대해 과색 유전자(Slmyb12)의 염기서열을 비교분석하여 유전자 기반 공우성 마커의 개발이 가능하다면 육종가들이 핑크계와 레드계 품종을 육성하는데 매우 진요히 활용될 수 있다.

제 5 장 연구개발성과 및 성과활용계획

제 1 절 연구개발성과

1. 품종육성개발

가. 품종보호출원 및 등록

구분	품종명	국 명	출원				등 록		기타
			출원인	육성자	출원일	출원번호	등록일	등록번호	
①	토스트	한국	김명권	김명권	2012.6.1	2012-380	2014.12.24	제5219호	레드 대과
②	TY미라클	한국	정경애	김명권	2011.3.17	2011-250	2014.2.20	제4806호	미니
③	툼제리	한국	김명권	김명권	2013.2.1	2013-85	2015.2.2	제5271호	미니
④	TY포르테	한국	정경애	김명권	2013.4.18	2013-286			핑크 대과
⑤	TY마라톤	한국	정경애	김명권	2014.2.26	2014-155			핑크 대과



나. 품종생산판매신고 및 품종명칭등록

구분	품종명	국 명	신고인	육성자	신고일	신고번호	품종명칭 등록번호	기타
①	TY크라운	한국	정경애	김명권	2013.3.6	02-0005-2013-20	2013-490	미니
②	다니엘TY	한국	김명권	김명권	2013.10.8	02-0005-2013-63	40-2013-001248	미니
③	브라보TY	한국	김명권	김명권	2014.8.14	02-0005-2014-94	40-2014-001152	미니
④	바하	한국	김명권	김명권	2014.12.22	02-0005-2014-131	40-2014-001738	대과
⑤	마라톤알파	한국	김명권	김명권	2015.2.27	02-0005-2015-24	40-2015-000490	대과
⑥	TY맛나	한국	김명권	김명권	2015.5.22	02-0005-2015-41	40-2015-000783	대과

2. 분자마커개발

MAS 용 분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도
①	SCAR	1	토마토 역병(Ph-3)	2013 이후
②	CAPS/HRM	2	토마토 근부위조병(Fr1)	2014 이후
③	CAPS	1	레드/핑크계 과색	2015 이후

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
①	분자마커 여교잡 육종을 위한 토마토 유전자원 평가 및 SSR 마커 개발	원예과학기술지	황지현 (교신저자: 박영훈)	30(5)	한국	Elsevier	SCI
②	토마토 황화잎말림병(TYLCV) 저항성 품종선발 및 원예특성 분석	원예과학기술지	김우일 (교신저자: 박영훈)	31(3)	한국	한국 원예학회	SCI
③	Development of the gene-based SCARs for the Ph-3 locus, which confers late blight resistance in tomato	Scientia Horticulturae	박영훈	164	네덜란드	한국 원예학회	SCI
④	Single Nucleotide Polymorphisms linked to SIMYB12 Gene that Controls Fruit Peel Color in Domesticated Tomatoes (Solanum lycopersicumL.)	원예과학기술지	김빛샘 (교신저자: 박영훈)	in press	한국	한국 원예학회	SCI

제 2 절 연구성과 활용계획

1. 실용화, 산업화 계획

가. 대과토마토

- ‘바하(Bach)’ : pink color, 200g 전후, 유한생장형에 마디가 짧고 극조생종으로 산동성, 요녕성에서 확대 보급 판매할 계획임,
- ‘토스트(toast)’ : red color, 210-240g, 저장성, 수송성이 우수하고 상품수확율이 높아 중국과 국내에서 launching 했으며, 특히 국내 red 대과 토마토가 유럽에 수입이 많이 되고 있는데, 이에 ‘토스트’가 수입대체에 크게 기여할 것으로 기대함.
- ‘TY마라톤’ : 초세가 강하고 단단하여 열과에 강한 pink 토마토로, 국내 전북 장수, 강원 횡성 등지의 고랭지 작형에 보급 중에 있음.

나. 미니토마토

- 대추방울토마토 ‘TY크라운’ ‘브라보TY’ 는 기존의 품종보다 황화바이러스(TYLCV) 내병성이 있으면서 수량이 높은 품종으로 평가받고 있으며, 원형방울토마토 ‘다니엘TY’ 도 국내 농가에 확대 보급할 계획임.

구분	품종명	주요특성	상태	전망
대과	TY마라톤	pink, 190-220g, 과균일, 열과강, TY	시판중	→
	TY포르테	pink, 180-210g, 청고병강, TY	시장탐색	→
	바하	200g 전후, pink, 유한생장형, 단간, 매우조생, TY	시판중	→
	토스트	red, 210-240g, 매우 균일, 단단, TY	시판중	↗
	마라톤알파	pink, 200-230g, 열과강	확대시험	↗
	TY맛나	pink, 어깨색이 진하고 맛이 좋음	확대시험	→
미니	TY미라클	원형방울, 수량성이 높고 TY 내병계	시판중	→
	툼제리	타원형 방울, 24g, TY내병계	확대시험	→
	TY크라운	대추방울토마토로 화방당 착과수가 많음	시판중	→
	다니엘TY	원형방울 17g, 당도 9-10	시판중	↗
	브라보TY	타원형, 22g, TY, 역병(Ph) 내병계	확대시험	↗

- 선발된 모든 조합과 품종들에 대한 국내외 다양한 시장에 적응성 시험을 거쳐 시장을 확대 나갈 예정이다.

2. 교육지도 및 홍보

- 개발된 품종들에 대한 농가평가회, 품종설명회, 세미나, 재배지도 등 사후관리를 계속해서 해나갈 계획임.
- 중국 이외 중동, 동유럽 등지에 적응할 수 있는 토마토 품종개발을 하여 토마토 종자 수출확대에도 적극 추진할 계획임.
- 육성 계통된 elite line들은 계속해서 토마토 신품종을 육성하는 재료로 유용하게 사용할 수 있으며, 신소재를 창출할 기본 재료로도 활용가능.
- 본 연구에서 개발된 TYLCV, 근부위조병, 역병 저항성 마커는 현재 민간 육종회사의 MAS 프로그램 지원에 활용되고 있음.
- 수집된 유전자원들은 유전적인 원예형질을 고정시켜 국립유전자원센터에 유전자원등록을 할 예정임.

3. 논문, 특허, 기술이전

- 본 연구에서 개발된 여교잡용 마커, TYLCV와 역병저항성 마커에 대한 정보는 국내외 SCI

논문에 게재되어 일반 user 들이 활용 가능하도록 제공하였음.

- 본 연구에서 개발된 근부위조병 저항성 마커는 현재 논문투고와 동시에 특허출원하여 지식재산권을 확보하였음.
- 본 연구에서 개발된 근부위조병 마커는 생명공학 회사인 (주)시더스로 기술이전을 추진하고 있음.
- 본 연구에서 개발된 근부위조병 저항성 마커를 기반으로 저항성 유전자를 클로닝할 수 있는 추가 연구가 지속적으로 이루어져야 함.
- 본 연구에서 개발된 분자마커들은 기술이전을 통해 GSP 원예종자사업단의 토마토 품목 개발과 민간육종단지의 마커 서비스 사업에 적극 활용할 수 있도록 지원할 계획임,

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

본 연구목표 중 여교잡용 분자마커 개발을 위해 최근 미국 SolCAP 컨소시엄에서 개발하여 상용화 되어 있는 Tomato SNP array 기술을 적용하였으며, 이에 대한 이론적, 기술적 정보를 확보 할 수 있었다. 이 SNP array는 세계의 주요 토마토 야생종과 재래종 및 재배종 20여개의 transcript sequence를 분석하여 품종간 높은 다형성을 보이는 핵심 SNP 7000여개를 파악하여 high-through genotyping이 가능한 infinium platform으로 개발 한 것이다. 특히 이들 선발된 SNP들은 전체 토마토게놈에 고르게 분포되어 있고, 발견된 유전자에 기반한 functional 마커들의 유전학적, 육종학적 활용가치가 매우 높고 다양한 분야에 적용 가능하다.

본 연구에서는 이러한 SNP array를 이용하여 수집된 48 계통들을 genotyping 하여 염색체에 고르게 분포하고 계통간 높은 다형성 (PIC value)을 보이는 SNP set을 여교잡선발용 마커로 매우 효과적으로 선발할 수 있었다.



제 7 장 참고문헌

농림수산식품기술기획평가원. 2012. 중국. 일본의 종자시장 동향 분석

농촌진흥청. 2010. 중국채소 종자시장 조사 보고서

생명공학정책연구센터. 2010. 종자산업

그린국제특허법률사무소. 2013. Golden seed 프로젝트 토마토 동향조사 보고서

황지현, 김혁준, 채영, 최학순, 김명권, 박영훈. 2012. 분자마커 이용 여교잡 육종을 위한 토마토 유전자원 평가 및 SSR 마커 개발. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 30(5):557-567

한정현, 이원필, 이준대, 김미경, 최홍수, 윤재복. 2011. 토마토반점위조바이러스에 대한 재배 및 야생형 고추 수집종의 병징과 저항성 조사. 한국식물병리학회. 17(1):59-65.

김병섭. 2012. 잎마름역병 저항성 육종을 위한 토마토 유전자원의 저항성 평가. Res. Plant Dis. 18(1):35-39.

최홍수, 이수현, 김미경, 광해련, 김정수, 조점덕, 최국선. 2010. 2009년 우리나라주요 작물 바이러스병 발생 상황. 식물병연구 16: 1-9.

FAO, 2013. FAO Statistical Database of Agriculture.

Babu, R., S.K. Nair, A. Kumar, S. Venkatesh, J.C. Sekhar, N.N. Singh, G. Srinivasan, and H.S. Gupta. 2005. Two-generation marker-aided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize (QPM). Theor. Appl. Genet. 111:888-897.

Barone, A. 2004. Molecular marker-assisted selection for potato breeding. Amer. J. of. Potato. Res. 81:111-117.

Behera, T.K., J.E. Staub, S.Behera, I.Y. Deannay and J.F. Chen. 2011. Marker-assisted backcross selection in an interspecific *Cucumis* population broadens the genetic base of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Euphytica 178:261-272.

Benor, S., M. Zhang, Z. Wang, and H. Zhang. 2008. Assessment of genetic variation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) inbred lines using SSR molecular markers. J. Genet. Genomics. 35:373-379.

Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J.Hum. Genet. 32: 314-331.

Cho, Y.G., M.Y. Eun, S.R. McCouch, and Y.A. Chae. 1994. The semiwarf gene, sd-1 or rice

(*Oryza sativa* L.). II: Molecular mapping and marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 89:54-59.

Collard, B.C.Y. and D.J. Mackill. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the 21st century. *Phil. Trans. Royal. Soc. B. Rev.* 363:557-572

Fazio, G., S.M. Chung, and J.E. Staub. 2003. Comparative analysis of response to phenotypic and marker-assisted selection for multiple lateral branching in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107:875-883.

Fulton, T.M., R. van der Hoeven, N.T. Eannetta, and S.D. Tanksley. 2002. Identification, analysis and utilization of a conserved ortholog set (COS) markers for comparative genomics in higher plants. *The Plant Cell* 14:1457-1467

F.A.O. 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/>

Gonzalo, M.J. and E. van der Knaap. 2008. A comparative analysis into the genetic bases of morphology in tomato varieties exhibiting elongated fruit shape. *Theor. Appl. Genet.* 116:647-656

Herzog, E. and M. Frisch. 2011. Selection strategies for marker-assisted backcrossing with high-throughput marker systems. *Theor. Appl. Genet.* 123:251-260.

He, C., V. Poysa, and K. Yu. 2003. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 106:363-373

Hospital, F., C. Chevalet, and P. Mulsant. 1992. Using markers in gene introgression breeding programs. *Genetics* 132:1199-121

Hospital, F. 2001. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics* 158:1363-1379

Hwang, J.H., S.G. Ahn, J.Y. Oh, Y.W. Choi, J.S. Kang, and Y.H. Park. 2011. Functional characterization of watermelon (*Citrullus lanatus* L.) EST-SSR by gel electrophoresis and high resolution melting analysis. *Scientia Horticulturae* 130:715-724.

Iftekharruddaula, K.M., M.A. Newaz, M.A. Salam, H.U. Ahmed, M.M.A Mahbub, E.M. Septiningsih, B.C.Y. Collard, D.L Sanchez, A.M. Pamplona, and D.J. Mackill. 2011. Rapid and high-precision marker assisted backcrossing to introgress the *SUB1* QTL into BR11, the rainfed lowland rice mega variety of Bangladesh. *Euphytica* 178:83-97.

Jeong, Y., J. Kim, Y. Kang, S. Lee, and I. Hwang. 2007. Genetic diversity and distribution of Korean isolates of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Dis.* 91:1277-1287.

- Kim, B.S. 2012. Evaluation of tomato genetic resources for the development of resistance breeding lines against late blight. *Res. Plant Dis.* 18:35-39.
- Kim, W.I., B.J. Lee, J.Y. Oh, H.S. Lee, G.M. Shon, C.W. Rho, C.S. Lim, J.H. Ha, Y.H. Park, and Y.B. Kim. 2010. Selection of tomato yellow leaf curl virus(TYLCV) resistant cultivar and fruit quality in tomato. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28(SUPPL. II) (Poster)
- KOSIS. 2010. Korean Statistical Information Service. <http://kosis.kr>
- Levinson, G. and G.A. Gutman. 1987. Slipped-Strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 4:203-221.
- Lee, H.J., E.J. Jo, N.H. Kim, Y. Chae, and S.W. Lee. 2011. Disease responses of tomato pure lines against *Ralstonia solanacearum* strains from Korea and susceptibility at high temperature. *Res. Plant Dis.* 17:326-333.
- M.R. Foolad. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics.* Article ID 64358. 52 pages.
- Neeraja, C.N., R. Rodriguez-Maghirang, A. Pamplona, S. Heuer, B.C.Y. Collard, E.M. Septiningsih, G. Vergara, D. Sanchez, K. Xu, A.M. Ismail, and D.J. Mackill. 2007. A marker-assisted backcross approach for developing submergence-tolerant rice cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 115:767-776.
- Nei, M. and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76,5269-5273.
- Oliveira, L.K., L.C. Melo, C. Brondani, M.J.D. Peloso and R.P.V. Brondani. 2008. Backcross assisted by microsatellite markers in common bean. *Genet. Mol. Res.* 7(4):1000-1010.
- Park, P.H., Y. Chae, H.R. Kim, K.H. Chung, D.G. Oh, and K.T. Kim. 2010a. Development of a SCAR maker linked to Ph-3 in *Solanum* ssp. *Korean J. Breed. Sci.* 42:139~143.
- Park, Y.H., K.H. Kim, Y.M. Choi, H.S. Choi, Y. Chae, K.S. Park, and S.M. Chung. 2010b. Evaluation of TYLCV-resistant tomato germplasm using molecular markers. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28(1):89-97.
- Prigge, V., A.E. Melchinger, B.S. Dhillon, and M. Frisch. 2009. Efficiency gain of marker-assisted backcrossing by sequentially increasing marker densities over generations. *Theor. Appl. Genet.* 119:23-32.
- Rohlf, F.J. 2002. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.1. Exeter Publishing Ltd., Setauket, NY

- Ribuat, J.M. and M. Ragot. 2007. Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. *J. Exp. Bot.* 58(2):351-360.
- Servin, B. and F. Hospital. 2002. Optimal positioning of markers to control genetic background in marker-assisted backcrossing. *J. Hered.* 93(3):214-217
- Sokal, R. and Michener, C. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas. Sci. Bull.* 38:1409-1438.
- Stam, P. and A.C. Zeven. 1981. The theoretical portion of the donor genome in near-isogenic lines of self-fertilizers bred by backcrossing. *Euphytica* 30:227-238
- Tanksley, S.D., N.D. Young, A.H. Patterson, and M.W. Bonierbale. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Bio Technol.* 7:257-264
- Yang, W. and D.M. Francis. 2005. Marker-assisted Selection for Combining Resistance to Bacterial Spot and Bacterial Speck in Tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130(5):716-721.
- Anbinder, I., M. Reuveni, R. Azari, I. Paran, S. Nahon, H. Shlomo, L. Chen, M. Lapidot, and I. Levin. 2009. Molecular dissection of tomato leaf curl virus resistance in tomato line Ty172 derived from *Solanum peruvianum*. *Theor. Appl. Genet.* 119:519-530.
- Garcia, B.E., E. Graham, K.S. Jensen, P. Hanson, L. Mejía, and D.P. Maxwell. 2007. Co-dominant SCAR markers for detection of the begomovirus-resistance *Ty2* locus derived from *Solanum habrochaites* in tomato germplasm. www.plantpath.wisc.edu/GeminivirusResistantTomatoes/Markers
- Hwang, J.H, S.G. Ahn, J.Y. Oh, Y.M. Choi, J.S. Kang, and Y.H. Park. 2011. Functional Characterization of Watermelon (*Citrullus lanatus* L.) EST-SSR by Gel Electrophoresis and High Resolution Melting Analysis. *Sci. Hort.* 130:715-724.
- Hoogstraten, J., C. Braun, and H. McDonough. 2005. Methods for coupling resistance alleles in tomato. United States Patent Application. US 20050278804A1.
- Ji, Y. and J.W. Scott. 2006. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus linked to *Ty-1* on chromosome 6. *Rpt. Tomato Genet. Coop.* 56: 22-25.
- Ji, Y., M. Salus, B. Van Betteray, J. Smeets, K. Jensen, C. Martin, L. Mejia, J. Scott, M. Havey, and D. Maxwell. 2007a. Co-dominant SCAR Markers for Detection of the *Ty-3* and *Ty-3a* Loci from *Solanum chilense* at 25 cM of Chromosome 6 of Tomato. *Tomato Genet. Coop.* 57:25-29.

- Ji, Y., D.J. Schuster, and J.W. Scott. 2007b. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. *Mol. Breeding* 20:271-284.
- Ji, Y., J.W. Scott, D.J. Schuster, and D.P. Maxwell. 2009. Molecular mapping of *Ty-4*, a new Tomato yellow leaf curl virus resistance locus on chromosome 3 of Tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 134:281-288.
- Kim, K.H. 2011. Gene pyramiding of disease resistances using molecular markers in tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). M.S. Thesis, Pusan National University, Miryang, Korea.
- Liew, M., R. Pryor, R. Palais, C. Meadows, M. Erali, E. Lyon, and C. Wittwer. 2004. Genotyping of single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting of small amplicons. *Clin. Chem.* 50:1156-1164.
- Park, Y.H., K.H. Kim, Y.M. Choi, H.S. Choi, Y. Chae, Y.H. Park, and S.M. Chung. 2010. Evaluation of TYLCV-resistant tomato germplasm using molecular markers. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:89-97.
- Verlaan, M.G., D. Szinay, S.F. Hutton, H. Jong, R. Kormelink, R.G.F. Visser, J.W. Scott, and Y. Bai. 2011. Chromosomal rearrangements between tomato and *Solanum chilense* hamper mapping and breeding of the TYLCV resistance gene *Ty-1*. *Plant J.* 68:1093-1103
- Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC), 1998. AVRDC Report 1997. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan, 83-84.
- Ballvora, A., Ercolano, M.R., Wei β , J., Meksem, K., Bormann, C.A., Oberhagemann, P., Salamini, F., Gebhardt, C., 2002. The *RI* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/ NBS/LRR class of plant resistance genes. *The Plant J.* 30, 361-371.
- Bell, J.K., Mullen, G.E., Leifer, C.A., Mazzoni, A., Davies, D.R., Segal, D.M., 2003. Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors, *Trends Immunol.* 24, 528-533.
- Black, L.L., Wang, T.C., Huang, Y.H., 1996. New sources of late blight resistance identified in wild tomatoes. *Trop. Veg. Info. Serv. Nswl.* 1, 15-17.
- Brouwer, D.J., Clair, D.A., 2004. Fine mapping of three quantitative trait loci for late blight resistance in tomato using near isogenic lines (NILS) and sub-NILS. *Theor. Appl. Genet.* 108, 628-638.
- Chen, C.H., Sheu, Z.M., Wang, T.C., 2008. Host specificity and tomato-related race composition of *Phytophthora infestans* isolates in Taiwan during 2004 and 2005. *The Amer. Phytopathol. Soc.* 92, 751-755.

- Chunwongse, J., Chunwongse, C., Black, L., Hanson, P., 2002. Molecular mapping of the *Ph-3* gene for late blight resistance in tomato. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 77, 281-286.
- Flagel, L.E., Wendel, J.F., 2009. Gene duplication and evolutionary novelty in plants. *New Phytol.* 183, 557-564.
- Francis, D.M, Robbins, M.D., Panthee, D.R., Gardner, R.G., Stevens, M.R., 2012. Marker assisted selection for coupling phase resistance to tomato spotted wilt virus and late blight in tomato. U.S. Patent Application Publication, US2012/0054905 A1.
- Fry, W.E., Goodwin, S.B., Matuszak, J.M., Spoelman, L.J., Milgroom, M.G., Drenth, A., 1992. Population genetics and intercontinental migration of *Phytophthora infestans*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30, 107-129
- Gallegly, M.E., Marvel, M.E., 1955. Inheritance of resistance to tomato race 0 of *Phytophthora infestans*. *Phytopathol.* 45, 103-109.
- Gevens, A.J., Seidl, A.C., Clark, R., 2011. Potato and tomato late blight in Wisconsin: a new type of late blight in a new decade. *Proc. of the 2011 Wisconsin Crop Mgt. Conf.*, Vol.50.
- Hwang, J.H., Kim, H.J., Chae, Y., Choi, H.S., Kim, M.K., Park, Y.H., 2012. Evaluation of germplasm and development of SSR markers for marker-assisted backcross in tomato. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 30, 557-567.
- Irzhansky, I., Cohen, Y., 2006. Inheritance of resistance against *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pimpinellifolium* L3707. *Euphytica* 149, 309-316.
- Kim, B.S., 2012. Evaluation of tomato genetic resources for the development of resistance breeding lines against late blight. *Res. Plant Dis.* 18, 35-39.
- Kim, M.J., Mutschler, M.A., 2005. Transfer to processing tomato and characterization of late blight resistance derived from *Solanum pimpinellifolium* L. L3708. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130, 877-884.
- Klarfeld, S., Rubin, A., Cohen, Y., 2009. Pathogenic fitness of oosporic progeny of *Phytophthora infestans* on late-blight-resistant tomato lines. *Plant Dis.* 93, 947-953.
- Knapova, G., Gisi, U., 2002. Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* populations on potato and tomato in France and Switzerland. *Plant Pathol.* 51, 641-653.
- McHale, L., Tan X., Koehl, P., Michelmore, R.W., 2006. Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. *Genome Biol.*, 7:212 (doi:10.1186/gb-2006-7-4-212).

- Meyers, B.C., Dickerman A.W., Michelmore R.W., Sivaramakrishnan S., Sobral B.W., Young N.D., 1999. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *Plant J.* 20, 317-332.
- Meyers, B.C., Kaushik, S., Nandety, R.S., 2005. Evolving disease resistance genes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 129-134.
- Miranda, B.E.C., Suassuna, N.D., Reis, A., 2010. Mating type, mefenoxam sensitivity, and pathotype diversity in *Phytophthora infestans* isolates from tomato in Brazil. *Pesq. Agropec. Bras.* 45, 671-679.
- Moreau, P., Thoquet, P., Olivier J., Laterrot, H., Grimsley, N., 1998. Genetic mapping of Ph-2, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato. *Mol. Plant. Microbe Interact.* 11, 259-269.
- Nowicki, M., Foolad, M.R., Nowakowska, M., Kozik, E.U., 2012. Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An overview of pathology and resistance breeding. *Plant Dis.* 96, 4-17.
- Park, P.H., Chae, Y., Kim, H.R., Chung, K.H., Oh, D.G., Kim, K.T., 2010. Development of a SCAR marker linked to *Ph-3* in *Solanum spp.* *Korean J. Breed. Sci.* 42, 139-143.
- Pel, M.A., Foster, S.J., Park, T.H., Rietman, H., van Arker, Gert., Jones, J.D.G., Van Eck, H.J., Jacobsen, E., Visser, R.G.F., Van der Vossen, E.A.G., 2009. Mapping and cloning of late blight resistance genes from *Solanum venturii* using an interspecific candidate gene approach. *Mol. Plant. Microbe Interact.* 22, 601-615.
- Peirce, L.C., 1971. Linkage tests with Ph conditioning resistance to race 0, *Phytophthora infestans*. *Tomato Genetic Cooperative Report* 21, 30.
- Rizzon, C., Ponger, L., Gaut, B.S., 2006. Striking similarities in the genomic distribution of tandemly arrayed genes in Arabidopsis and rice. *PLoS Comput. Biol.* 2, e115.
- Smart, C.D., Tanksley, S.D., Mayton, H., Fry, W.E., 2007. Resistance to *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pennellii*. *Plant Dis.* 91, 1045-1049.
- Turkensteen, L.J., 1973. Partial resistance of tomatoes against *Phytophthora infestans*, the late blight fungus. *Agricultural Research Report*, 810. Centre for Agricultural Publishing and documentation, Wageningen, The Netherlands.
- Zhang, X.Z., Kim, B.S., 2007. Physiological races of *Phytophthora infestans* in Korea. *Plant Pathol. J.* 23, 219-222.
- Armstrong, G. 1981. *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases. Fusarium: diseases, biology, and taxonomy .*

- Berry, S. and Oakes, G. 1987. Inheritance of resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato. *HortScience* **22**:110-111.
- Can, C. et al. 2004. First report of *Fusarium* crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in Turkey. *Plant Pathol.* **53**:814-814.
- Chen, X. et al. 2006. AB-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *The Plant Journal* **46**:794-804.
- De Ceuster, T.J. and Hoitink, H.A. 1999. Prospects for composts and biocontrol agents as substitutes for methyl bromide in biological control of plant diseases. *Compost Sci. Util.* **7**:6-15.
- Diener, A.C. and Ausubel, F.M. 2005. RESISTANCE TO FUSARIUM OXYSPORUM 1, a dominant *Arabidopsis* disease-resistance gene, is not race specific. *Genetics* **171**:305-321.
- Elkind, Y. et al. 1988. Linkage between Tm-2 and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* resistance (FORL). *Rep.Tomato Genet.Coop* **38**:22.
- Fazio, G., Stevens, M.R. and Scott, J.W. 1999. Identification of RAPD markers linked to *Fusarium* crown and root rot resistance (Fri) in tomato. *Euphytica* **105**:205-210.
- Frary, A., Presting, G.G. and Tanksley, S.D. 1996. Molecular mapping of the centromeres of tomato chromosomes 7 and 9. *Molecular and General Genetics MGG* **250**:295-304.
- Ganal, M.W., Young, N.D. and Tanksley, S.D. 1989. Pulsed field gel electrophoresis and physical mapping of large DNA fragments in the Tm-2a region of chromosome 9 in tomato. *Molecular and General Genetics MGG* **215**:395-400.
- Huang, C. 2009. Molecular phylogenetics and population genetics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and its management by silicon amendment.
- Kim, J.T. et al. 2001. Crown and root rot of greenhouse tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in Korea. *PLANT PATHOLOGY JOURNAL* **17**:290-294.
- Kim, S. et al. 2005. Vegetative Compatibility Group of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in Korea. *The Plant Pathology Journal* **21**:214-220.
- Kouki, S. et al. 2012. Control of *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* using mixture of vegetable and *Posidonia oceanica* compost. *Applied and Environmental Soil Science*
- Laterrot, H. and Moretti, A. 1991. Allelism of various FORL resistance sources. *Rep Tomato*

Genet Coop **41**:28-30.

Laterrot, H. and Couteaudier, Y. 1989. Linkage between TMV and FORL resistance. Tomato Genet Coop Rep **39**:21.

Laterrot, H. and Pecaut, P. 1969. Gene Tm-2: new source. Tomato Genet Coop Rep **19**:13-14.
Lee, C., Park, E. and Lee, C. 1994. Fusarium crown rot of tomatoes on a rockwool culture system. Korean Journal of Plant Pathology (Korea Republic)

Ma, J. and Bennetzen, J.L. 2006. Recombination, rearrangement, reshuffling, and divergence in a centromeric region of rice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **103**:383-388.

Olivain, C. and Alabouvette, C. 1997. Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. New Phytol. **137**:481-494.

Ori, N. et al. 1997. The I2C family from the wilt disease resistance locus I2 belongs to the nucleotide binding, leucine-rich repeat superfamily of plant resistance genes. Plant Cell **9**:521-532.

Pan, Q. et al. 2000. Comparative genetics of nucleotide binding site-leucine rich repeat resistance gene homologues in the genomes of two dicotyledons: tomato and arabidopsis. Genetics **155**:309-322.

Park, Y. et al. 2013. Development of the gene-based SCARs for the Ph-3 locus, which confers late blight resistance in tomato. Scientia Horticulturae **164**:9-16.

Pillen, K., Ganal, M. and Tanksley, S. 1996. Construction of a high-resolution genetic map and YAC-contigs in the tomato Tm-2a region. Theor. Appl. Genet. **93**:228-233.

Recorbet, G. et al. 2003. Wanted: pathogenesis-related marker molecules for *Fusarium oxysporum*. New Phytol. **159**:73-92.

Ristaino, J.B. and Thomas, W. 1997. Agriculture, methyl bromide, and the ozone hole: can we fill the gaps? Plant Dis. **81**:964-977.

Rowe, R. 1980a. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America and Japan. Phytopathology **70**:1143-1148.

Rowe, R. 1980b. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America and Japan. Phytopathology **70**:1143-1148.

Scott, J. and Farley, J. 1983. OHIO CR-6 TOMATO. HortScience **18**:114-115.

- Sidhu, D. and Gill, K.S. 2005. Distribution of genes and recombination in wheat and other eukaryotes. *Plant cell, tissue and organ culture* **79**:257-270.
- Sim, S. et al. 2012a. Development of a large SNP genotyping array and generation of high-density genetic maps in tomato. *PLoS One* **7**:e40563.
- Simons, G. et al. 1998. Dissection of the fusarium I2 gene cluster in tomato reveals six homologs and one active gene copy. *Plant Cell* **10**:1055-1068.
- Sivan, A. and Chet, I. 1993. Integrated control of Fusarium crown and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. *Crop Protection* **12**:380-386.
- Vakalounakis, D. 1988. The genetic analysis of resistance to fusarium crown and root rot of tomato. *Plant Pathol.* **37**:71-73.
- Vakalounakis, D. et al. 1997. Linkage between Frl (Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici resistance) and Tm-2 (tobacco mosaic virus resistance-2) loci in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Ann. Appl. Biol.* **130**:319-323.
- Wu, F. and Tanksley, S.D. 2010. Chromosomal evolution in the plant family Solanaceae. *BMC Genomics* **11**:182-2164-11-182.
- Yamakawa, K. and Nagata, N. 1975. Three tomato lines obtained by the use of chronic gamma radiation with combined resistance to TMV and Fusarium race J-3. *Tech News Inst Radit Breed* **16**:2-95.
- Yan, H. et al. 2005. Transcription and histone modifications in the recombination-free region spanning a rice centromere. *Plant Cell* **17**:3227-3238.
- Young, N. and Tanksley, S. 1989. RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the Tm-2 locus of tomato during backcross breeding. *Theor. Appl. Genet.* **77**:353-359.
- Adato, A., T. Mandel, S. Mintz-Oron, I. Venger, D. Levy, M. Yativ, E. Domínguez, Z. Wang, R.C. De Vos, R. Jetter, L. Schreiber, A. Heredia, I. Rogachev, and A. Aharoni. 2009. Fruit-surface flavonoid accumulation in tomato is controlled by a SIMYB12-regulated transcriptional network. *PLoS Genet.* **5**:e1000777.
- Ballester, A.R., J. Molthoff, R. De Vos, B. Hekkert, D. Orzaez, J.P. Fernandez-Moreno, P. Tripodi, S. Grandillo, C. Martin, J. Heldens, M. Ykema, A. Granell, and A. Bovy. 2010. Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SIMYB12 leads to pink tomato fruit color. *Plant Physiol.* **152**:71-84.

Hunt, G.M. and E.A. Baker. 1980. Phenolic constituents of tomato fruit cuticles. *Phytochemistry* 19:1415-1419.

Lindstrom, E.W. 1925. Inheritance in Tomatoes. *Genet.* 10:305-317.

Rick, C.M. and L. Butler. 1956. Cytogenetics of the tomato. *Adv. Genet.* 8:267-382.

Sim, S.C., G. Durstewitz, J. Plieske, R. Wieseke, M.W. Ganai, A. Van Deynze, J.P. Hamilton, C.R. Buell, M. Causse, and S. Wijeratne. 2012. Development of a large SNP genotyping array and generation of high-density genetic maps in tomato. *PLoS One* 7:e40563.

주 의

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