

(뒷면)

(옆면)

(앞면)

11-1543000-001720-01

발간등록번호
11-1543000-001720-01

월동형 적색 결구배추 품종 육성 및 분자육종지원체계 구축 최종보고서

2017

농림축산식품부

농생명산업기술개발사업 R&D Report

월동형 적색 결구배추 품종 육성 및 분자육종지원체계 구축

최종보고서

2017. 3. 29.

주관연구기관 / 순천대학교
협동연구기관 / 아시아종묘(주)
위탁연구기관 / 한국생명공학연구원


농림축산식품부


제 출 문


농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “월동형 적색 결구배추 품종 육성 및 분자육종지원체계 구축”(개발기간 : 2011. 12. 27~ 2016. 12. 26)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 3. 29.

주관연구기관명 : 순천대학교 산학협력단장 (인) 

협동연구기관명 : 농업회사법인 아시아종묘(주) (인) 

위탁연구기관명 : 한국생명공학연구원장 (인) 

주관연구책임자 : 노 일 섭

협동연구책임자 : 이 인 호

위탁연구책임자 : 김 석 원

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	111161-5	해 당 단 계 연구 기 간	2011.12.27.~ 2016.12.26	단 계 구 분	단계구분 없음
연구사업명	농생명산업기술개발사업				
연구과제명	프로젝트명	월동형 적색 결구배추 품종 육성 및 분자유종지원체계 구축			
	세부 과제명	월동형 배추 품종 육성을 위한 내한성 분자마커 및 육종소재 개발			
	협동 과제명	월동형 적색 결구배추 품종 육성 및 고기능성 함유 계통 신속 선발체계 확립			
	위탁 과제명	FT-IR 대사체 기반 다변량 통계분석을 이용한 기능성 적색배추의 신속 선발체계를 확립			
연구책임자	노 일 섭	총 연구기간 참여 연구원 수	총: 108명 내부: 108명 외부: 0명	총 연구개발비	정부: 700,000천원 민간: 187,500천원 계: 887,500천원
연구기관명 및 소속부서명	순천대학교 원예학과				
협 동 연 구	연구기관명: 농업회사법인 아시아종묘(주)			연구책임자: 이 인 호	
위 탁 연 구	연구기관명: 한국생명공학연구원			연구책임자: 김 석 원	

○ 연구개발 목표

- 본 연구는 최근 부각되고 있는 기능성 웰빙 트렌드에 적합하게 월동형 적색 결구배추 1대 잡종 품종을 육성하여 배추 종자의 수입대체 및 일본, 중국, 동남아 및 서구 선진국 수출에 적합한 품종을 개발하고자 실시함
- 내한성 관련 유전자들의 대규모 해석 및 안토시아닌 생합성 관련 유전자들의 발현 분석을 통한 발현마커의 개발로 월동형 적색배추 F1 품종의 조기선발을 하고자 함
- 월동형 적색 결구배추 품종 육성을 위해 FT-IR 대사체 기반 다변량통계분석을 이용하여 다수의 계통으로부터 고기능성 적색배추의 신속 선발체계를 확립하는 것임

○ 연구개발 결과

- 유전자원 특성 검정, 선발 및 SSD에 의해 내한성배추 125계통, 미니무모형배추 152계통을 선발하여 우수 교배친을 육성함
- 뿌리혹병 내병성 계통 및 응성불임계통 육성
- 조합능력검정 및 지역적응성시험을 거쳐 우수 품종으로 검증된 7품종(레드씨클, 진홍쌈, 아시아빨강미니, 미니홍쌈, 미스홍, 미스터홍, 핑크스타일)을 품종보호출원 하였음
- 월동형 배추 육성을 위한 대규모의 내한성 관련 유전자군의 동정 및 해석
- 안토시아닌 생합성 경로 관련 유전자들의 발현 분석을 통한 적색 배추 선발 후보 유전자군 확보
- 적배추 잎시료로부터 FT-IR 스펙트럼 기반 flavonoids, anthocyanin 함량 예측 PLS 모델링을 확립하여 기능성 성분 고함유라인의 고속선발체계를 확립함.
- 적배추 부계, 모계 및 F₁라인의 genomic DNA FT-IR스펙트럼 기반 F₁ hybrid 식별 체계 확립
- 적배추 부계, 모계 및 F₁라인의 대사체 기반 FT-IR스펙트럼 다변량통계분석을 통한 F₁ hybrid 식별체계 확립
- 적배추, 일반배추 및 개량 라인의 대사체 기반 FT-IR스펙트럼 다변량통계분석을 통한 색상별 식별체계 확립

보고서
면수 :
304

〈 요약문 〉

	D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>1) 연구의 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> - 배추는 한국, 일본, 중국시장을 비롯하여 동남아 및 미국, 유럽 등 세계 채소시장에서 매우 중요한 작물임. 본 연구는 최근 부각되고 있는 기능성 웰빙 트렌드에 적합하게 월동형 적색 결구배추 1대 잡종 품종을 육성하여 배추 종자의 수입대체 및 일본, 중국, 동남아 및 서구 선진국 수출에 적합한 품종을 개발하고자 실시함 - 내한성 관련 유전자들의 대규모 해석 및 안토시아닌 생합성 관련 유전자들의 발현 분석을 통한 발현마커의 개발로 월동형 적색배추 F1 품종의 조기선발을 하고자 함 - 월동형 적색 결구배추 품종 육성을 위해 FT-IR 대사체 기반 다변량통계분석을 이용하여 다수의 계통으로부터 고기능성 적색배추의 신속 선발체계를 확립하는 것임 <p>2) 연구개발 내용 및 범위</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 국내 시판 F1 품종을 이용한 지부계 및 권심계의 분류 <ul style="list-style-type: none"> - 국내 수집 배추 30품종의 gDNA를 이용하여 지부계 및 권심계 구분 마커로 PCR 검정 및 이온리키지 측정을 통한 지부계 및 권심계를 분류하였음 ② EST, Br24K 및 Br135K microarray를 이용한 내한성 관련 유전자의 발현분석 <ul style="list-style-type: none"> - 농촌진흥청 Tissue-Specific EST database를 이용하여 저온관련 유전자 정보 획득 및 Br24K microarray를 통해 저온에 의한 발현반응을 보인 유전자를 찾고, RT-PCR과 realtime-PCR을 통해 발현반을 재확인함 ③ 저온 및 색소 관련 유전자군의 발현 분석 <ul style="list-style-type: none"> - WRKY, Alfin-like, aquaporin, ANS, DFR 유전자군을 배추과 작물 데이터베이스에서 검색하여 동정한 후 DNA, 단백질 염기서열 분석으로 유전자군을 해석하였음. ④ 월동형 적색결구 배추 계통 및 품종 육성 <ul style="list-style-type: none"> - 기 보유 품종과 국내, 중국, 일본, 동남아, 미국, 유럽연합 등에서 재배하고 있는 F1 품종들을 수집하여 식물체 특성, 뿌리혹병 내병성 등을 검정하였으며, 우수형질을 보유한 유전자원은 적색결구배추계통과 교배 후 세대진전하여 유용계통으로 육성하였음. 종자생산력이 우수한 기존의 선발 육성불임계통과 목적 육성품종의 유망 양친으로 가능성이 높은 F₃~F₆세대 또는 소포자 배양을 통해 획득한 우수계통을 여교잡하여 육성불임계통을 육성하였음. 세대단축을 통한 다양한 계통육성을 위하여 단립계통육종법을 이용하였으며 세대진전 중 영양생장과정에서 원예형질, 내한성, 내병성, 기능성 테스트를 거쳐 월동형 적색결구배추 계통에 적합한 우수한 계통을 육성하였음. 또한 빠른 계통확보를 위해 소포자배양 기술을 활용하여 다양한 적색결구배추 적합형 배추계통을 확보하였음. 이렇게 확보한 계통을 활용하여 국내 수입대체 및 종자 수출을 목표로 F1조합을 작성하여 성능검정을 실시하고 우수 조합은 소망실 시교생산, 종자생산성 검정, 농가재배 테스트 등을 거쳐 품종보호출원 후 상업화 하여 국내 판매 및 수출활동을 수행 하였음 ⑤ 적색 결구배추 교배 계통별 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 교배 계통별 부모계통 및 F1 교배 라인 시료 확보 및 powder library 제작

	<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 각 교배 계통별 시료의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계 분석 <p>⑥ 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 정량 예측 모델링의 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 계통별 시료의 기능성 물질(total carotenoids, flavonoids, anthocyanins, phenolic contents)들의 정량 및 정성분석 - 적색 결구배추 시료의 FT-IR 데이터와 기능성 물질의 함량 데이터를 이용한 PLS 정량 예측 모델의 개발 - 적색 결구배추 시료로부터 기능성 물질 고함유 라인 선발 및 대사체 수준 검증 <p>⑦ 적색 결구배추 inbreeding line의 total flavonoids, anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발체계 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 inbreeding line(20계통 총98점의 개체) 시료 확보 및 powder library 제작 - 적색 결구배추 inbreeding line의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계분석 - 적색 결구배추 inbreeding line의 total flavonoids, anthocyanins 정량 분석 - 적색 결구배추 inbreeding line의 FT-IR 데이터와 total flavonoids, anthocyanins 함량 데이터를 이용한 PLS 정량 예측 모델의 개발 - 적색 결구배추 시료로부터 total flavonoids, anthocyanins 고함유 라인 선발 및 대사체 수준 검증 <p>⑧ 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발체계 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> - 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추 시료 확보 및 powder library 제작 - 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계 분석 - 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 anthocyanins 정량 분석 - 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 FT-IR 데이터와 anthocyanins 함량 데이터를 이용한 PLS 정량 예측 모델의 개발 - 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추 시료로부터 total flavonoids, anthocyanins 고함유 라인 선발 및 대사체 수준 검증 <p>⑨ 교배 세대별 적색 결구배추(부모계통 및 교배라인)들의 anthocyanins 고함유 라인 선발 및 FT-IR 스펙트럼 DB 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> - 교배 세대별 적색 결구배추 시료 확보 및 powder library 제작 (모계, 부계, F1, F2를 포함하는 19가지 라인 63점) - 교배 세대별 적색 결구배추의 anthocyanins 고함유 라인 선발 - 교배 세대별 적색 결구배추의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계분석 <p>⑩ 배추 및 양배추의 색상별 inbreeding line의 식별체계 확립을 위한 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 색상별 배추 inbreeding 라인 및 양배추의 시료 확보 및 powder library 제작 (색상별 배추 23가지와 양배추 2가지 라인) - 색상별 배추 inbreeding 라인의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계분석 - 색상별 배추와 양배추 의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계분석
--	--

연구개발성과	<p>1) 지부계, 권심계 배추의 구분 및 이온리키지 활용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 마커를 활용하여 국내 배추 작형별 30품종의 지부계 및 권심계 구분한 결과 봄작형에서는 10품종 모두 지부계를 가지고 있었으며, 여름작형에는 4품종은 지부계, 1품종은 권심계, 5품종은 지부/권심 혼합계이였음. 겨울작형에서는 2품종은 지부계, 8품종은 지부/권심 혼합계로 나뉘었음 - 이온리키지를 이용하여 -2℃에서 저온에 강 및 약한 집단의 분류하였음 <p>2) EST 데이터베이스로부터 저온 관련 대량의 유전자 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> - BrTED로부터 903개의 raw read 염기서열을 얻었음. Gene ontology 분석을 통해 biological process 카테고리에 abiotic stimulus의 하위 카테고리에 속해있는 113개의 EST 정보를 확보함. 확보한 정보들에서 microarray 결과 저온에서 발현이 증가되는 12개의 유전자를 선발함 <p>3) Br24K 및 Br135K microarray 정보로부터 저온 발현 반응을 보인 유전자 선발</p> <ul style="list-style-type: none"> - Br24K microarray 정보로 부터 지부와 권심 모두에서 높은 발현을 보인 22개의 유전자, 지부에서만 특이적으로 발현이 높은 21개 유전자를 획득하였음. - Br135K microarray를 이용하여 지부 특이적, 권심 특적, 지부/권심 모두에서 저온에 반응하는 대량의 유전자들을 분석하여 저온에 높은 발현반응을 보인 63개의 유전자를 분리함 <p>4) 월동형 배추 육성을 위한 대규모의 내한성 관련 유전자군의 동정 및 해석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 저온 반응성 관련 유전자군으로 WRKY에서 145개의 유전자, Alfin-like에서 15개의 유전자, aquaporin에서 59개의 유전자, MYB에서 475개의 유전자들을 동정하고 저온에 대한 발현 분석을 통하여 저온에 의한 발현 차이를 보이는 다수의 유전자들을 확보함 <p>5) 안토시아닌 생합성 경로 관련 유전자들의 발현 분석을 통한 후보 유전자군 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> - 안토시아닌 생합성 경로에 관여하는 ANS, DFR, MYB2-2, TT8의 적색배추의 발현 실험을 통해 적색인 배추에서 유전자의 발현양에 차이가 있음을 확인함 <p>6) 배추와 적양배추 간의 배배양으로 안토시아닌 선발 마커 개발용 39개체 DH라인 F1 소재 확보함</p> <p>7) 수집 유전자원의 특성 검정 및 선발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 월동형 적색결구 배추 품종을 개발하기위하여 국내를 비롯한 중국, 유럽, 동남아시아 등에서 213품종을 수집 및 특성 검정을 실시, 선발 및 세대진전 하였음 <p>8) 우수계통 육성</p> <p>① 유전자원 특성 검정, 선발 및 SSD에 의한 계통 육성</p> <p>국내를 비롯 중국, 유럽, 동남아시아 등에서 수집한 유전자원, 기보유 고정계통 및 분리계통을 2012년부터 5년간 분류하고 포장특성검정, 임성테스트, 자가불화합성테스트, 세대진전 등을 수행하여 내한성배추 125계통, 미니무모형배추 152계통을 선발하여 우수 교배친을 육성하였음</p>
--------	--

② 뿌리혹병 내병성 계통 육성

뿌리혹병에 대한 내병성 계통 육성을 위하여 2012년부터 2016년까지 고정계통, 교배 조합, 수집 유전자원, SSD 육성계통, 소포자 배양에서 획득한 개체 등(F₁ 및 F₂, F₃, F₄, F₅ 등)에 대하여 저항성 검정을 실시하였음. 그 결과, 2012년(1차년도, 경기광주균주, race11), 32계통, 2013년(2차년도, 경기안성균주, race5) 23계통, 2014(3차년도, 강원태백균주, race4)년 13계통, 2015년(4차년도, 전남해남균주, race4) 32계통의 해당 테스트 균주에 대한 뿌리혹병 저항성 계통을 선발하였음

③ 응성불임계통 육성

우수한 기 보유 계통 및 수집계통의 CMS화를 진행하기 위하여 CMS모본에 우수계통을 반복 여교잡을 수행하였으며, 1차년도에 22계통, 2차년도에 10계통, 3차년도에 10계통, 4차년도에 10계통, 5차년도에 14계통을 각각 선발하였음

④ 소포자 배양

소포자 배양에 의한 조합친 계통의 조기 다량 확보를 위하여 엇갈이형자색배추×녹색결구배추계통을 이용하여 소포자배양을 수행하였음. 연구기간동안 소포자배양을 통해 1차년도에는 47점, 2차년도 3,499점, 3차년도 2,875점, 4차년도 353점, 5차년도 585점의 배를 발생시켰으며, 이를 식물체로 유도 후 화분에 이식 및 순화 고정하였음. 이를 각각 FS, BS채종을 통해 149종의 소포자배양 계통을 최종적으로 확보하였음

9) 우수 F₁ 조합 작성 및 선발

내한성 배추품종 육성을 위하여 5년간(2012-2016년) 약 118조합을 작성하여 포장에 공시하여 특성 검정을 실시하였으며, 총 5조합을 선발하였음. 적색결구배추는 5년간(2012-2016년) 총 47조합의 조합을 작성 후 포장에 공시하여 특성검정을 실시하였으며 총 14조합을 선발하였음

10) 선발조합의 종자생산력 검정

우수선발 조합의 종자생산성 검증을 위해 우수선발조합 대해서 벌을 이용한 망실채종을 수행하음(513-1H, 513-2H, 514-2H, 515-1H, 406-1H, 710-2H(BN5212), 207-1H(BN5216), BN5009, BN5012, BN5014, BN5015, BN5023, BN5024). 이들 우수선발조합을 종자생산성을 검증한 결과 각각 주당 20g이상 생산함을 확인하였음. 이를 통해서 선발한 우수조합들의 종자생산성 또한 뛰어나 상업생산에 적합함을 확인할 수 있었음

11) 품종보호출원

조합능력검정 및 지역적응시험을 거쳐 우수 품종으로 검증된 1차년도 2품종(레드씨클, 진홍쌈), 2차년도 1품종(아시아빨강미니), 3차년도 1품종(미니홍쌈), 4차년도 2품종(미스홍, 미스터홍), 5차년도 1품종(핑크스타일) 총 7품종을 품종보호출원하였음

12) 적색 결구배추 교배 계통별 FT-IR 스펙트럼 DB 구축

8계통에서 5개체 씩 총 40점과 교배에 사용된 부계, 모계 또한 각각 4계통에서 5개체 씩 총 20점을 확보하였고, 신조합에서 5점, 대비종에서 10점(총 95점)을 확보하여

powder library를 제작한 뒤 FT-IR 스펙트럼 DB를 구축하였음. 월동형 적색 결구배추 95 점 중 계통 A에 속하는 15 점의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 다변량통계분석을 수행한 결과 PLS-DA score plot상의 모계, 부계, F1의 뚜렷하게 식별되었음

13) 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 정량 예측 모델링의 확립

월동형 적색 결구배추 시료 95점을 UV-스펙트럼을 이용하여 기능성 성분인 total carotenoids, total flavonoids, total phenolic contents, total anthocyanins의 함량을 정량 분석하였음. 기능성 성분들 중 total anthocyanins 함량을 absorbance 값으로 비교한 결과, 계통 C에 속한 5388이 가장 높게 나타났고, 계통 B에 속한 5396이 가장 낮게 나타남. 적색 결구배추 기능성 성분들과 FT-IR 스펙트럼 데이터와의 상관분석을 통한 기능성 성분별 함량 예측 PLS 모델링을 실시한 결과 total carotenoids의 상관지수(R)는 0.97로 높게 나타났고, total flavonoids의 상관지수는 0.96, phenolic contents는 0.96, anthocyanin은 0.99로 높게 나타났음. 본 결과로 미루어볼 때 향후 기능성 성분별 함량 예측 PLS 모델링을 이용하여 기능성 성분의 함량이 높은 고기능성 라인의 신속한 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대됨

14) 적색 결구배추 inbreeding line의 total flavonoids, anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발체계 확립

20계통 총98점의 적색 결구배추 inbreeding line 시료로부터 powder library를 제작한 뒤 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 total flavonoids, anthocyanins 함량 예측과 FT-IR 스펙트럼 분석을 실시함. 98개 시료의 평균 total flavonoids 함량은 약 9.3 ug/mg dw이었음. 적색결구배추 inbreeding line별로 total flavonoids 함량을 비교 분석한 결과 018계통이 11.8 ± 1.8 ug/mg dw로 조사한 20개 계통 중에서 total flavonoids 함량이 가장 높은 라인임을 알 수 있었음. 적색결구배추 inbreeding line별로 total anthocyanins 함량을 비교 분석한 결과 033계통이 $0.921 (A_{530} - 0.25 * A_{657}) / \text{mg dw}$ 로 조사한 20개 계통 중에서 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인 있었음. FT-IR 스펙트럼 데이터와 이들 시료의 total flavonoids 및 anthocyanins 함량 데이터 사이의 PLS regression 모델링 분석을 수행한 결과 total flavonoids의 결정계수는 0.94, total anthocyanins는 0.961으로 매우 높게 나타남. 상기의 PLS 함량예측 PLS 모델에 근거하여 10개 적색결구배추 시료로부터 total flavonoids 및 total anthocyanins 함량을 예측하였으며 또한 이들 시료의 실측 함량과의 선형회귀분석을 수행한 결과 결정계수는 각각 0.712와 0.701으로 나타나 높은 정확성을 보였음. 본 연구에서 개발된 PLS 모델링은 배추의 잎 조직으로부터 total flavonoids 및 total anthocyanins 함량 예측 모델로 사용이 가능할 것으로 기대되며 이는 고기능성 배추 품종 육성을 위한 기능성 품종 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대됨

15) 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발체계 확립

아시아종묘에서 육성중인 가을 적색 결구배추 23라인과 여름 적색 결구배추 11라인의 잎 동결건조 시료의 anthocyanin 함량 조사 및 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 수행함. 적색결구배추 line별로 total anthocyanins 함량을 비교 분석한 결과 가을 적색 결구배추 라인들 중에는 5726-♀(15)계통이 $1.698 (A_{530} - 0.25 A_{657}) / \text{mg dw}$ 로 조사한 23개 계통 중에서 total anthocyanins 함량이 가장 높았으며 여름 적색결구배추 11개 계통 중에는 306계통이 $0.436 (A_{530} - 0.25 A_{657}) / \text{mg dw}$ 으로 가장 높게 나타남. 가을 적색 결구배추의 PCA score plot과 각 계열별 total

anthocyanins 함량 데이터와 상관을 분석한 결과 적색결구배추 육성계통 중에서 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PCA score plot의 우측하단에 비교적 낮은 계통에 속하는 시료들이 좌측상단에 주로 분포함을 알 수 있었음. 여름 적색 결구배추의 PCA score plot상에서는 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PCA score plot의 우측에 낮은 계통에 속하는 시료들이 좌측에 주로 분포함을 알 수 있었음. PLS-DA score plot에서도 total anthocyanins 함량에 따른 경향을 보임. 적색결구배추의 일 시료로부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터와 이들 시료의 total anthocyanins 함량 데이터 사이의 PLS regression 모델링 분석을 수행하여 적배추 시료의 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링을 개발함. PLS 모델에서 가을 배추의 결정계수는 0.982, 여름 적색결구배추는 0.969로 매우 높게 나타남. 상기의 PLS 함량예측 PLS 모델에 근거하여 적색결구배추 시료로부터 total anthocyanins 함량을 예측하여 실측 함량과의 선형회귀 분석을 수행한 결과 가을 적색결구배추의 결정계수는 0.82, 여름 적색결구배추는 0.58로 나타나 대체로 높은 정확성을 보임. 본 연구에서 개발된 PLS 모델링은 배추의 일 조직으로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델로 사용이 가능할 것으로 기대되며 이는 고기능성 배추 품종 육성을 위한 기능성 품종 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대됨

16) 교배 세대별 적색 결구배추(부모계통 및 교배라인)들의 anthocyanins 고함유 라인 선발 및 FT-IR 스펙트럼 DB 구축

적색결구배추를 포함하는 63개 배추 일 시료들 중 같은 cross combination group에 속하는 부계(5644) 3개, 모계(5437) 3개 및 F1 3개 라인(5042, 5644 X 5437)의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사함. 다변량 통계분석결과 PCA 분석에서는 부계(5644), 모계(5437) 및 F1(5042) 시료들 간의 식별이 잘 되지 않았으나 PLS-DA 분석에서는 각 계통 집단의 분포 범위가 보다 분명하게 구분됨을 알 수 있었음. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 계통별 유용 기능성 성분들의 양적, 질적 패턴 차이로 적색결구배추의 계통 식별이 가능할 것으로 사료됨. 다변량 통계분석 결과 식별이 잘 이루어진 cross combination group(부계, 모계, F1)에 F2 계통(5205-H, 5205-M, 5205-L)의 시료들이 추가되었을 때 대사체 수준에서 계통, 세대별로 식별이 되는지 알아보기 위해 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석을 실시함. 판별분석(PLS-DA) 결과 부계(5644), 모계(5437), F1(5042) 및 F2 (5205) 시료들 간의 식별이 명확하게 잘 이루어짐. Comp1과 2를 이용하여 작성한 PLS-DA score plot 상에 모계(5437) 라인들은 좌측 상단에, 부계(5644) 라인들은 모계라인의 바로 우측에 위치하였으며 F1(5042) 라인들은 부계, 모계라인의 바로 아래 중간지점에 위치함. F2 (5205) 라인들은 부계, 모계 및 F1 라인들이 위치한 곳의 우측하단지역에 넓게 퍼짐. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 대사 산물들의 양적, 질적 패턴 차이로 적색결구배추의 계통, 세대별 식별이 가능할 것으로 사료됨

17) 배추 및 양배추의 색상별 inbreeding line의 식별체계 확립을 위한 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

색상별 배추 및 양배추 일 시료들로부터 대사체 분석을 위해 다양한 색상의 배추 계통 23종과 색상이 다른 양배추 계통(일반양배추, 빨간양배추) 2종이 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석에 사용됨. PCA와 PLS-DA 분석 결과 PCA score plot과 PLS-DA score plot상에 inbreeding 배추 시료들은 각각 일의 색상

	<p>따라 근접하게 위치하였음. 또한 배추와 양배추(일반배추 2종과 적색배추 3종과 일반 양배추 1종, 빨간양배추 1종) 및 시료들의 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석 결과에서도 종 및 색상에 의한 식별이 가능하였음. 이상의 결과로 미루어볼 때 배추와 양배추들의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PCA score plot과 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료에서 대사 산물들의 양적, 질적 패턴 차이로 종식별이 가능할 뿐만 아니라 각 종의 색상별 계통 식별이 가능 할 것으로 사료됨</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 수집된 유전자원 및 육성계통은 우량품종 육성에 활용될 것이며 적색배추 등 개발 품종(진홍쌈, 미스홍, 핑크스타일 등) 및 선발조합들을 호주 lefroyvalley, 일본 kobatashi seed 등의 거래처로 부터 종자 생산 요구를 받고 있으며, 종자 수출을 위하여 시험재배 및 시험채종과 원종생산을 거쳐 최대한 빨리 상용화를 추진할 계획 이다. 또한 본 과제를 통하여 육성한 우수계통들을 기능성 배추시장을 개척할 수 있는 품종 개발에 활용할 것임 - 대규모 내한성 관련 유전자들의 분석을 통한 내한성 배추과 작물의 육성에 기초 자료로 활용 가능함. - 안토시아닌 생합성 경로에 관여하는 유전자들의 발현 분석을 통하여, 적색배추 개발에 있어서 발현마커로 활용 가능성이 높음. - 최근 식물 대사체 연구분야는 유전체학에서 제공되는 풍부한 생물학적 정보와 분석 기기의 발달에 힘입어 기능유전체학의 연구 수단은 물론 식물의 종, 품종, GM 식물의 식별, 대사조절 기작 규명, 유용물질 생산, 식물의 다양한 생리적 반응 이해 등 다양한 분야에서 활용이 가능 - 본 연구과제에서 확립된 FT-IR 스펙트럼 대사체 기반 신속평가 기술은 다수의 시료를 복잡한 기기분석 과정을 거치지 않고 비교적 정확한 기능성 성분 측정값을 예측함으로써 육종에 필요한 대사체 특성 평가 및 소재 선발 기간을 크게 단축하여 궁극적으로 기능성 작물의 성분 육종의 선발수단으로 활용이 가능할 것으로 기대됨. - 적색 결구배추 기능성물질 정보로부터 유용 대사산물의 대사경로 조절 연구나 품종 화를 위한 고속 탐색 원천기술로 적용 가능하여 적배추는 물론 다양한 작물에 확대 적용 가능한 기반기술로 활용 예정 - 본 과제에서 개발된 연구결과는 추가적으로 논문으로 출판할 예정 				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>적색 결구배추</p>	<p>내한성</p>	<p>마커</p>	<p>품종</p>	<p>다변량 분석</p>

< SUMMARY >

		D-02
Purpose& Contents	<p>Chinese cabbage is very important crop in Korea, Japan, China, and South-East Asia vegetable market. The purpose of this study is developing of the F₁ hybrid red color Chinese cabbage cultivars. Moreover, the development of domestic high quality red color Chinese cabbage cultivars can substitute import cultivars and can export Chinese cabbage seeds to China and Southeast Asia market.</p> <p>Development of molecular markers for wide range of cold tolerance and early selection of red leafed chinese cabbage F₁ cultivars using gene based expression profiling of cold tolerant and anthocyanin biosynthesis genes.</p> <p>To determine whether FT-IR spectral analysis based on multivariate analysis for whole cell extracts can be used to discriminate Chinese cabbage breeding line at metabolic level, different breeding lines (paternal, maternal and F₁ lines) were subjected to Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). FT-IR spectral data from Chinese cabbage plants were analyzed by principal component analysis (PCA), partial least square discriminant analysis (PLS-DA). PCA and PLS-DA were able to discriminate the Chinese cabbage breeding lines into separate clusters in a anthocyanin contents- and lineage-dependent manner. Thus we suggested that the PCA and PLS-DA of FT-IR spectral data from Chinese cabbage breeding lines could represent the most probable chemotaxonomical relationship among maternal, paternal and F₁ plants as well as high functional content breeding lines.</p>	
Results	<p>To develop F₁ hybrid red color Chinese cabbage cultivars, we have collected leading varieties from China, Japan, USA, EU, South-East Asia etc. We have tested main characteristics and club root resistance of previously possessed and brand new Chinese cabbage. We made male sterility lines by backcross between selected CMS Chinese cabbage lines with high seed productivity, parents lines (F₃-F₆ generation). The single seed decent method was used to develop various cabbage line through generation shortening. Microspore cultures were performed to generate DH line in short time. Through these procedures, we bred and made combination F₁ red color Chinese cabbage cultivars with collected gene resources and existing lines to export in China, EU, USA, and South-East Asia etc.</p> <p>The markers that are already developed could be used to classify 30 Korean chinese cabbage cultivars and also could classified them into strong and weak ion leakage groups at -2 °C. We obtained 903 raw read sequences from BrTED. We have identified 113 ESTs information belonging to abiotic stimulus of the biological process category through Gene Ontology analysis (GO). We have also confirmed 12 genes with higher expression at low temperature through microarray results. From Br24K microarray information, we have obtained 22 genes that showed higher expression in both 'Chiffu' and 'Kenshin' and 21 genes that were specifically expressed in 'Chiffu'. Using 'Chiffu-specific', 'Kenshin-specific' and both 'Chiffu and Kenshin-specific' Br135K microarray were used to select 63 genes with higher expression at low temperature by analyzing</p>	

	<p>a large number of genes responsive to low temperatures. In addition, we have identified 145 genes in WRKY, 15 genes in Alfin-like, 59 genes in aquaporin, and 475 genes in MYB belonging to low-temperature responsive gene families. Furthermore, we confirmed that the anthocyanin biosynthetic pathway genes ANS, DFR, MYB2-2, and TT8 had differential expression in red chinese cabbage compared to traditional yellow chinese cabbage. Thirty nine F1DH lines were obtained through interspecies cross between chinese cabbage and red cabbage followed by embryo rescue for development of anthocyanin selection markers.</p> <p>In order to determine the feasibility of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy for simultaneous determination of total flavonoid and anthocyanin contents in different inbreeding lines of Chinese cabbage, Chinese cabbages leaf samples were subjected to FT-IR spectroscopy. Quantification of total flavonoids, anthocyanin, carotenoid, flavonoid and phenolic contents from the inbreeding lines of Chinese cabbages was confirmed by UV-VIS spectrophotometer. The most significant spectral variations were mostly observed in the amide region (1,700-1,500cm⁻¹), phospholipid (1,400-1,300cm⁻¹) and carbohydrate region (1,200-1,000cm⁻¹) among inbreeding lines of Chinese cabbages.</p> <p>And calibration models for each total anthocyanin, carotenoid, flavonoid and phenolic contents were established by the partial least squares (PLS) regression analysis for validation/prediction purpose. In cross validation, there were high correlations (total anthocyanin R=0.99, carotenoids R=0.97, flavonoid R=0.96 and phenolic contents R=0.96) between predicted content of 4 individual contents by PLS regression modeling from FT-IR spectra and measured content by UV-VIS spectrophotometer. In external validation, total flavonoid (R²=0.712) and anthocyanin contents (R²=0.701) were predicted with good accuracy from FT-IR spectral data using PLS regression modeling.</p>				
Expected Contribution	<p>It can be utilized as basic data for development of cold tolerant Brassica crops through analysis of wide range of cold tolerance genes. Through analysis of genes involved in anthocyanin biosynthetic pathway could be used as an expression marker for development of red chinese cabbage.</p> <p>Considering the results of PLS regression modeling, FT-IR in combination with multivariate analysis enables not only discrimination of metabolic variation between inbreeding lines of Chinese cabbages, but also prediction of total flavonoid and anthocyanin contents from Chinese cabbage for HTS. Furthermore these metabolic discrimination systems could be applied for rapid selection and classification of useful Chinese cabbage cultivars.</p>				
Keywords	Red heading type chinese cabbage	Cold tolerance	Marker	Cultivar	multivariate analysis

< CONTENTS >

Chapter 1. Introduction of the research	14
Section 1. Purpose of the research	14
Section 2. Necessity of the research	14
Chapter 2. The scope of the research	16
Chapter 3. Methods and results	18
Section 1. Methods	18
Section 2. Results	34
Chapter 4. Achievement and contributions	287
Chapter 5. The utilization plan of the results	292
Chapter 6. International research information	299
Chapter 7. Restriction level of the results	299
Chapter 8. Status of research facilities and equipment for registered in national science and technology information system	299
Chapter 9. Results of performing safety measure	300
Chapter 10. Results relevant to the representative research	300
Chapter 11. The others	300
Chapter 12. References	301

〈 목 차 〉

제 1 장 연구개발과제의 개요	14
제 1 절 연구개발의 목적	14
제 2 절 연구개발의 필요성	14
제 2 장 국내외 기술개발 현황	16
제 3 장 연구수행 내용 및 결과	18
제 1 절 연구개발수행 내용	18
제 2 절 연구개발 결과	34
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	287
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	292
제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	299
제 7 장 연구개발성과의 보안등급	299
제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	299
제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	300
제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적	300
제 11 장 기타사항	300
제 12 장 참고문헌	301

제 1 장 연구개발과제의 개요

D-03

제 1 절 연구개발 목적

- 배추는 한국, 중국, 일본, 동남아지역을 비롯하여 유럽, 오세아니아, 북미 등 세계 채소 시장에서 매우 중요한 작물임 특히 중국, 인도, 동남아시아 국가들은 육종기술이 초기 수준이고 종자수요량의 대부분을 수입에 의존하고 있으며 점점 내병성, 내서성, 내한성 등의 내재해성과 고순도, 고품질 형질을 갖춘 품종 육구가 더해가고 있음
- 중국에서는 일명 '와와차이'로 불리는 미니배추를 껌용 및 샷브샷브용으로 많이 사용되며 전통적으로 적색을 선호하여 수요창출이 기대되고, 요즘 중국 전역에 걸쳐 뿌리혹병이 급속도로 퍼지고 있어 앞으로 뿌리혹병 저항성 품종의 요구도가 증가하고 있다. 한편, 유럽 및 구미 선진국에서는 모용이 없는 무모형을 선호하며 또한 기능성이 강화, 적색 등의 배추 소비가 증가하고 있음
- 다행히 우리 아시아 종묘(주)는 수년전부터 잎쌈홍 등 적색배추 1대 잡종(F₁) 품종을 육성하고 있으며 실용화 단계에 이르고 있다. 따라서 본 연구에서는 적색결구배추 1대 잡종 품종 육성 기술을 이용하고 품종 개발을 위한 재료로 유전자원을 수집, 선발, 활용하여 중국, 동남아시아, 유럽 국가에의 종자 수출용 기능성 적색결구배추 품종을 개발하고자 연구를 수행하였음

제 2 절 연구개발의 필요성

- 중국 배추종자의 시장규모는 2,000톤 정도로 추정되고 있으며 우리나라 배추종자의 주요 수출국임에 틀림없으나 더 많은 수출량 증대를 위해서는 소비자 기호, 지역별, 작형별 맞춤형 품종육성이 반드시 필요함
- 중국 배추종자는 일반종이 차지하는 비율이 컸으나 중국 경제수준의 발달로 인하여 F1 시장 증가가 급속도로 늘어날 것으로 보임 (현재 중국 배추종자 시장규모는 약 2,000만불 정도로 추정 → 5년 후 5,000만불 이상으로 늘어날 것으로 예상)
- 중국은 배추 품종육성에 절대적으로 필요한 내병성, 내한성, 고품질 등의 품종 육성 능력이 국내육성 능력에 미치지 못하고 있으므로 우수한 국내 배추 품종 육성능력을 발휘하여 기호도에 알맞은 맞춤형 우수 품종 개발에 활용할 필요성이 있음
- 중국에서는 일명 '와와차이'로 불리는 미니배추를 껌용 및 샷브샷브용으로 많이 사용되며 전통적으로 적색을 선호하여 수요창출이 기대되고, 요즘 중국 전역에 걸쳐 뿌리혹병이 급속도로 퍼지고 있어 앞으로 뿌리혹병 저항성 품종의 요구도가 증가할 것으로 보이므로 육종소재 탐색 및 관련 DNA 마커의 개발이 필요함

- 유럽에서는 모용이 없는 무모형을 선호하며 또한 기능성이 강화, 적색 등의 배추의 소비가 증가하고 있음
- 자사의 기존 적색배추를 이용한 김치가 농수산식품쇼핑을 통해 기존 배추김치의 2배의 높은 가격으로 판매하였는데 전량 매진되어 총 9ton 판매하였고, “두리반김치“ 라는 김치 생산업체에서 자사를 찾아와 적색김치의 소비자의 호평을 전하며, 높은 기대감을 표시하고, 아울러 김치가공용으로 우수한 월동형 적색 결구배추를 육성하여 줄 것을 요청하는 성과가 있었음
- 대사체는 유전자의 유연관계 보다 유전자의 표현형을 결정하는 최종요소로 작용함.
 - 기능성 성분 고함유 품종의 육종을 위해서는 각 라인/계통별 유전자의 유연관계 보다는 대사산물 패턴의 유연관계가 신물질 및 기능성 물질 탐색에 보다 유리함.
 - 아직 주요 유용 대사물질들에 대한 QTL-marker 부족한 실정임
- 최근 식물 대사체 정보로부터 대사체 마커 탐색 필요성이 커지고 있으며 다변량 통계 분석 기법을 활용한 대사체 기반 기능성 품종 고속선발 기술 개발이 가속화 되고 있음
 - NIR/FT-IR, HNMR, LC, GC-MS, FT-MS 등 다양한 분석기기를 기반으로 대사체 분석 및 다변량 통계분석을 통한 품종 식별 기술이 개발되고 있음(Krishnan et al., 2005)
- 천연 기능성 소재에 대한 국내외 관심이 크게 증가하고 있음.
 - 기능성 성분의 함량이 증가된 신제품에 대한 소비자 요구증가로 기능성 함량 증대 신제품 개발 연구가 활발하게 진행되고 있음(Kim et al. 2004; Harbaum et al. 2007)
 - 기능성 신제품 육성을 가속화 하기 위해서는 주요 작물의 대사체 기반 신속 선발체계 확립이 필수적으로 요구됨.
- 따라서 본 과제에서는 월동형 적색 결구배추 품종 육성을 위해 FT-IR 대사체 기반 다변량통계분석을 이용하여 다수의 계통으로부터 고기능성 적색배추의 신속 선발체계를 확립하고자 함.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

D-04

- 전세계적으로 배추에 대한 연구는 많이 진행되고 있으나 배추 종자공급은 주로 신젠타, 몬산토, 다끼이, 사카타 종묘 등에서 종자공급을 하고 있고 지속적인 연구개발비의 투자로 기술수준 또한 상당히 진전됨
- Sakata, Syngenta 등의 일본계 종자 회사들은 분자마커 및 병리등의 기술 접목으로 복합 내병성 및 고품질 중국용 배추 품종 개발을 진행하고 있으며, 품종 육성의 효율화를 시도하고 있음
- 현재 배추 육성프로그램은 전통교배 육종방법을 이용함. 특히 자가불화합성(Self-Incompatibly)을 이용하여 대부분의 품종을 개발하고 있으나 최근 응성불임성(Male Sterility)을 이용한 육종방법이 활발히 연구되어 MS를 이용한 품종이 상업화 되고 있음
- 최근 전 세계적으로 유전체연구가 활발히 이루어지고 있으며 이러한 첨단기술을 실제 육종방법에 적용하여 육성연한 단축, 내병성육종 및 종자순도검정에 적용을 하고 있음
- 우리나라는 일찍이 흥농, 서울종묘 등이 배추 육성을 개시하여 이제는 안정된 육성기반을 구축함
- 일부 국내 종자회사에서는 뿌리혹병, 노균병, TuMV 등 병 저항성 마커와 MS, SI등의 분자마커를 실제 육종에 활용되고 있으나 개인육종가 및 소규모 육종회사들은 아직까지 전통 육종에 의존하고 있는 실정
- 식물 대사체 정보로부터 다변량 통계분석 기법을 활용한 고속 선발 기술 개발이 가속화되고 있음
 - 대사산물 즉 대사체는 유전자 발현 최종 산물로서 대사체의 양적 또는 질적 변화는 궁극적으로 생물의 표현형을 결정하는 핵심 요소임. 따라서 대사산물의 패턴 변화는 형태적 변화는 물론 눈에 보이지 않는 구조적, 기능적 변화의 원인이 됨
 - 이와 같은 식물 대사체 연구는 최근 대사산물 분석 장비의 해상도 증가 및 다양한 다변량 데이터의 통계분석 알고리즘 개발을 통해 다양한 응용연구는 물론 식물의 생리적 기능 연구 수단으로 연구 영역이 확대되고 있음
 - 최근 대사체 정보 기반 고속 탐색 기술은 식물의 종, 품종, GM 작물의 조기 식별은 물론 식품이나 한약재의 품질 평가, 농산물 원산지 식별, 농산물 연령구분 등 다양한 농수산 산업분야에 적극적인 활용이 이루어지고 있음(Ahn et al. 2015; Kim et al. 2007; Kim et al. 2009; Kwon et al. 2011; Kwon et al. 2014).

- 아울러 대사체 패턴 분석기술은 고기능성 유용물질의 정량분석 기술과 접목을 통해 다양한 식물 시료로부터 신속하고 효율적인 대사체 분석 및 정량 예측이 가능함
- 따라서 적색 결구배추의 대사체 정보 기반 고속 탐색 기술은 고기능성 품종 및 변이체의 조기선발은 궁극적으로 적색 결구배추의 신품종 육성에 요구되는 육성 기간을 크게 단축시켜 적색 결구배추의 고기능성 품종 개발을 더욱 가속화시킬 것임

○ 식물유래 천연물을 이용한 기능성 식품이나 의약품 산업의 수요 확대에 따른 품질관리 표준화 기술 개발 요구가 확대되고 있음.

- 미래의 고부가가치 산업의 중요한 소재로서 적색 결구배추에 대한 수요가 증가하고 있으나 천연식물 추출물의 성격상 제품공정의 표준화에 많은 난관을 겪고 있으며 이러한 표준화를 통한 품질관리가 이들 천연소재를 이용한 제품개발의 성공여부에 핵심기술로 부상하고 있음
- 현재 천연식물을 이용한 기능성 식품이나 의약품 산업의 경향을 보면 기존에 알려진 추출물의 단일 지표성분을 중심으로 한 품질 표준화에서 여러 함유성분을 동시에 분석하고 그 패턴을 분석하여 표준화 기술을 구축하는 방향으로 진화하고 있음.
- 적색 결구배추 유래 기능성 물질의 분석법 확립 및 대사체 정보DB 구축은 기능성 적색 결구배추를 이용한 제품개발의 유용성분 기준 및 근거를 제공하는 토대가 될 것임

제 3 장 연구수행 내용 및 결과

D-05

제 1 절 연구개발수행 내용

1. 국내 시판 F1 품종을 이용한 지부계 및 권심계의 분류

가. 실험재료

국내에서 시판되고 있는 봄작형 배추 10 품종, 여름작형 배추 10 품종 그리고 겨울작형 배추 10 품종 총 30 품종의 종자를 수집하여 배양실(22°C)에서 4주간 키운 식물체를 이용하여 실험을 수행하였다.

나. 배추 품종의 지부계 및 권심계 구분

충남대학교(허윤강 교수)에서 개발한 배추의 지부계 및 권심계 구분 마커 2종을 이용하여 수집된 국내 배추 30품종의 gDNA를 추출한 후 PCR 검정을 수행하였다. 배추 30 품종의 gDNA는 DNeasy plant mini kit(Qiagen, USA)를 이용하여 추출하였다. PCR 수행은 CCA1F × CCA1-1R 마커의 경우 94°C에서 5분간 pre-denature 시켰으며, 94°C에서 30초, 40°C에서 30초, 72°C에서 30초 간 5 cycle 수행 후 다시 94°C에서 30초, 60°C에서 30초 72°C에서 30초 간 25 cycle를 수행한 후 마지막으로 72°C에서 5분간 post-extension 시켰다. CCA1F × CCA1-3R 마커의 경우 94°C에서 5분간 pre-denature 시켰으며, 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초 간 30 cycle 수행하였으며 마지막으로 72°C에서 7분간 post-extension 시켰다.

다. 이온리키지 측정

마커를 이용하여 분류된 지부계, 권심계, 지부/권심계 배추를 파종 후 4주된 식물체의 3-4 번째 잎을 이용하여 이온리키지 실험을 수행하였다. 저온 처리는 암상태에서 4°C에서 6시간, 0°C에서 2시간, -2°C에서 2시간 그리고 -4°C에서 2시간 동안 처리하였다. 처리된 식물체들의 3-4번째 잎을 이용하여 직경 0.3cm leaf disc 10개를 편칭하여 수집한 후 10ml 증류수가 담긴 시험관에 넣고, 실온에서 30분간 150rpm으로 배양하였다. 그 후 CON110을 이용하여 initial conductivity(I)를 측정하였고, 시험관을 끓는 물에 10분간 끓여 세포를 완전히 파괴시킨 후 실온으로 냉각시켰다. 실온으로 시험관 내의 증류수가 식으면 다시 CON110을 이용하여 final conductivity(F)를 측정하였다. 이온리키지 값은 $I/F \times 100$ 의 공식을 이용하여 계산하였으며 3 반복 수행하였다.

2. EST 및 Br24K microarray를 이용한 내한성 관련 유전자의 발현분석

가. 저온 반응을 보이는 유전자 염기서열 수집

농촌진흥청 *Brassica rapa* Tissue-Specific EST Database 정보를 이용하여 stress chilled에서 반응을 보인 unigene과 singletons (P>0.05)를 검색하여 총 903개의 EST 염기서열 정보를 획득하였다.

또한 *B. rapa* Br24K microarray data에서 저온(-4°C)에 대해 지부계와 권심계 모두에서 높은 발현을 보인 22개의 유전자와 지부계에서만 특이적으로 높은 발현을 보인 21개 유전자들을

선발하여 총 43개의 유전자를 획득하였다.

나. Blast2go 분석

위에서 획득한 유전자 cDNA 염기정보를 NCBI/NrBlastX로 검색하여 significant match 되는 것들은 Gene mapping을 하였고, significant match가 되지 않는 no blast hits 유전자들은 바로 interpro scan 분석을 수행하였다. Significant match된 유전자들은 먼저 gene ontology(GO) 분석을 수행하여 몇 가지 카테고리로 분류하였고 KEGG 분석을 통하여 획득된 유전자들이 어떤 metabolism등의 pathway에 관여하고 있는지를 검색하였다. 마지막으로 PFAM으로 모든 EST들을 분석하여 Functional annotation을 수행하였다(그림 1).

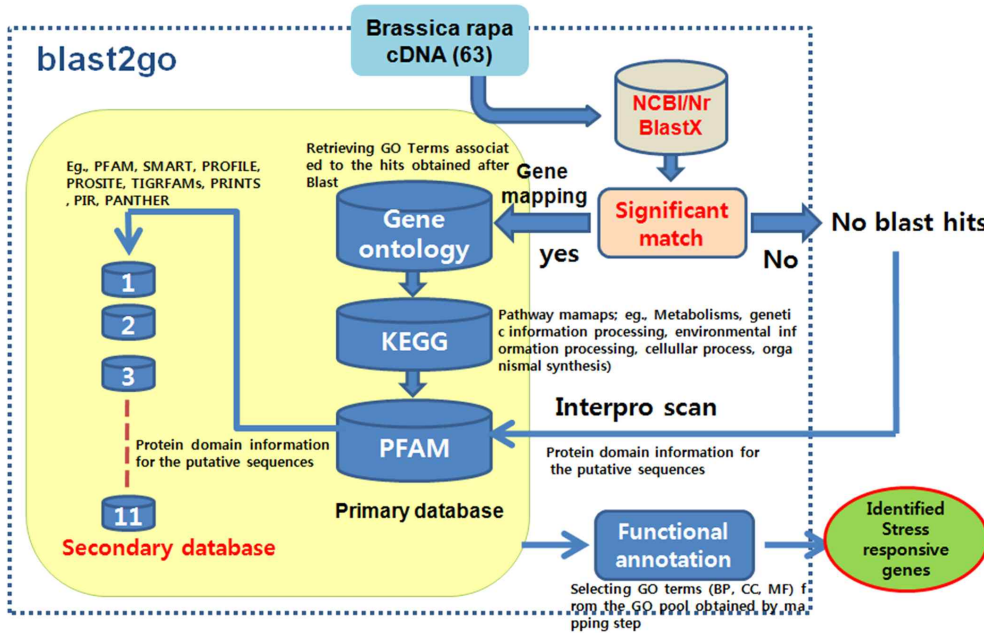


그림 1. Blast2go 분석 개요

다. 샘플채취 및 RNA 추출

1/2 MS 고체 배지에서 16시간 광주기 22°C에서 3주 동안 키운 눈나라배추(지부), 아시아 알파인배추(권심) 그리고 월동천하배추(지부/권심)를 사용하여 실험을 수행하였다. 식물체를 1/2 MS 액체 배지에 옮긴 후 3°C, -2°C, -6°C에 2시간씩 놓아 저온 처리한 즉시 식물전체를 채취 하였다. 채취한 샘플은 액체질소에 동결시켜 RNA 추출을 위해 -80°C에 저장하였다. 또한 기관별 발현 특이성을 알아보기 위해 성숙한 배추에서의 뿌리, 줄기, 잎과 꽃봉오리의 샘플을 채취하여, 즉시 액체질소에 동결시켜 RNA 추출을 위해 -80°C에 저장하였다. RNA 추출을 위해서 RNeasy Plant mini kit (Qiagen, USA)를 사용하여 추출한 후 RNase-free DNase (Promega, USA)를 사용하여 genomic DNA를 제거하였다.

라. RT-PCR 및 Real-time PCR 수행

RT-PCR 수행을 위하여 반응 시약으로는 AMV one step RT-PCR kit(Takara, Japan)를 사용하여 최종 볼륨 20 µl가 되도록 하였다. Forward primer와 Reverse primer는 각각의

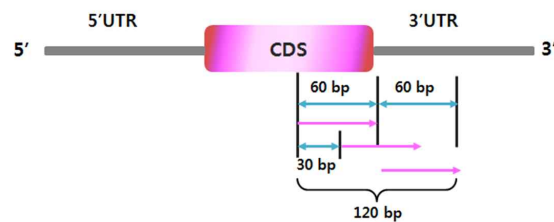
유전자에 특이적으로 디자인하였으며 20pmol의 농도 1 μ l를 사용하였다. PCR 조건으로는 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 pre-denaturing 시킨 후 94 $^{\circ}$ C에서 30초, 58 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 45초간 30회 반복하였다. 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 final extension 하였다.

Real-time PCR을 위하여 반응 시약으로 iTaqTMSYBR[®]Green Super-Mix with ROX(California, USA)를 사용하여 최종 볼륨 25 μ l로 실험하였다. PCR 조건으로는 94 $^{\circ}$ C에서 10분간 pre-denaturing 시킨 후 94 $^{\circ}$ C에서 30초, 58 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 45초간 40회 반복하였다. Real-time PCR기체는 Rotor-Gene 6000 real-time rotary analyser(Corbett Life Science, Australia)를 사용하였으며, Ct값을 취하여 분석하였다.

3. Br135K microarray를 이용한 내한성 관련 유전자의 발현분석

가. Br135K microarray

중국 북경유전체 연구소(BGI)의 ‘Brassica Genome Sequencing Project Consortium’ 결과 배추 전체 염기서열에 대한 논문이 발표되었다. 공개된 배추 염기서열을 이용하여 GGBIO(주)에서 새로운 칩(Br135K microarray)를 개발하였으며(그림 2) 본 실험은 이를 이용하여 저온에 반응하는 대량의 배추 유전자를 동정하고자 하였다. Expression microarray의 실험 방법으로는 먼저 total RNA의 quality를 확인하고, double strand cDNA를 합성한 후 Cy3로 형광표지 시킨다. microarray와 형광표지된 ds cDNA와 hybridization 시키고 스캔한 후 데이터를 분석하였다(그림 3).



Description	Genes	Probes/Target	Features	Replicates
Unigenes	41,173	3	123,647	1

그림 2. Br135K microarray 분석 개요

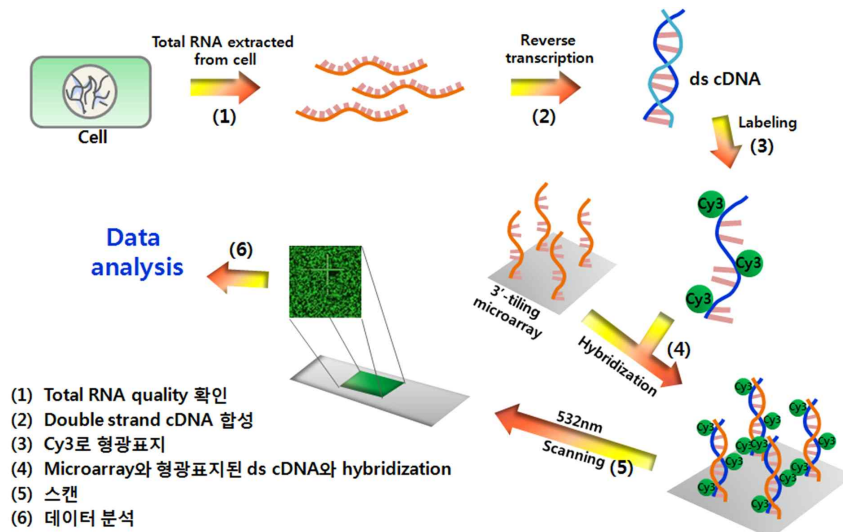


그림 3. Expression microarray 실험 방법

나. 샘플 채취 및 저온 처리

2-3주된 지부(C, 113005)와 권심(K, 271002) 배추를 가지고 실험을 수행 하였다(그림 4). 22°C(C1, K1) 및 4°C에서 6시간 동안(C2, K2) 처리, 0°C에서 2시간 동안(C3, K3) 처리, -2°C에서 2시간 동안(C4, K4) 처리, -4°C에서 2시간 동안(C5, K5) 처리 그리고 저온처리 후 22°C에서 24시간 놓아 두어 회복(C6, K6)시킨 후 샘플링을 하였다(그림 5).



그림 4. 지부와 권심 재료

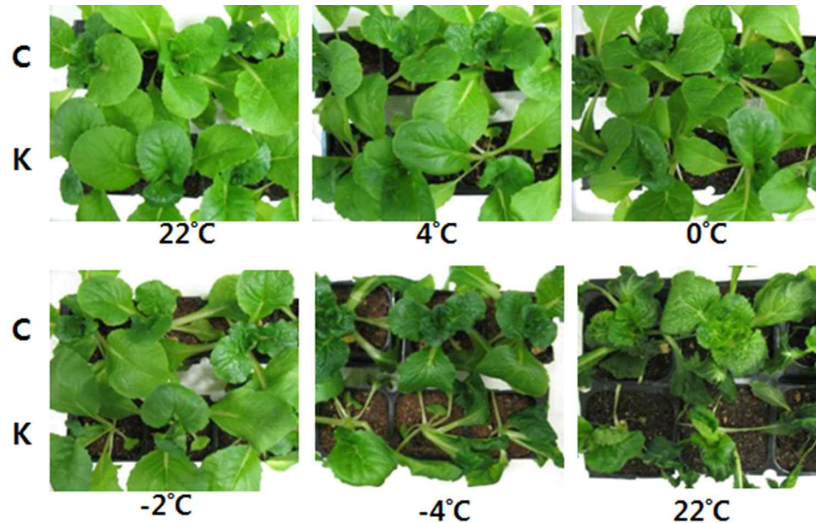


그림 5. 저온처리 과정

다. RT-PCR 수행

RT-PCR 수행을 위하여 반응 시약으로는 AMV one step RT-PCR kit(Takara, Japan)를 사용하여 최종 볼륨 20 μ l가 되도록 하였다. Forward primer와 Reverse primer는 각각의 유전자에 특이적으로 디자인하였으며 20pmol의 농도 1 μ l를 사용하였다. PCR 조건으로는 94°C에서 5분간 pre-denaturing 시킨 후 94°C에서 30초, 58°C에서 30초, 72°C에서 45초간 30회 반복하였다. 그리고 72°C에서 5분간 final extension 하였다.

4. 저온 및 색소 관련 유전자군의 발현 분석

BrWRKY, Alfin-like, aquaporin, ANS, DFR 유전자군을 Brassica database (<http://brassicadb.org/brad/>), SWISSPROT 도구, SMART 프로그램, TMHMM Server v.2.0 및 NCBI BLAST를 통해 동정하였으며, 계통수 작성 및 도메인 분석을 통해 서브그룹을 완성하였다. Subcellular localization을 확인하기 위해 Plant-mPloc를 이용하였으며, 단백질의 기본 정보 검색을 위해 ExPasy의 protParam을 이용한다. ORF를 찾기 위해 NCBI의 ORF finder를 이용하였으며, 단백질의 염기서열 비교를 위해 CLUSTALW를 이용하였다. 유전자의 물리적 위치를 표시하기 위해 Map Chart version 2.2을 이용하였다. 계통수 작성에는 ClustalW와 MEGA6.0 소프트웨어를 활용하였다. motif 검색을 위해 MEME 웹사이트를 이용하였으며, 엑손-인트론 구조 분석을 위해 GSDS 2.0 소프트웨어를 이용하였다. *cis*-acting 조절 인자 검색을 위해 'PlantCARE' 웹사이트를 활용하였다. 배추와 애기장대 유전자 간의 상호작용을 알아보기 위해 STRING 프로그램을 사용하였다. 저온에 강한 지부 계통과 저온에 약한 권심 계통의 저온 스트레스 처리한 microarray에서 발현 반응을 분석하였다. 배추 기관별 특이적 발현을 분석하기 위하여 배추의 여러 기관(뿌리, 줄기, 잎, 꽃받침, 꽃잎, 수술, 주두, 꽃봉오리)에서 tRNA를 추출 후 cDNA로 역전사하여 RT-PCR을 수행하였다. 또한 정밀한 발현 실험을 위하여 real-time PCR로 환경 스트레스(저온, 건조, 염류, ABA, 수분) 및 생물학적 스트레스(시들음병)에 대한 발현 반응을 분석하였다.

5. 소포자배양을 이용한 고품유 안토시아닌 적색 배추 개발

배추와 적양배추 간의 배배양으로 F1 식물체를 획득하였으며, 배추 및 양배추 특이적인 마커 검정으로 AC genome임을 확인하였다. 중간 교잡종인 F1의 입성 회복을 위해 콜히친 처리를 하였으며 유세포 분석을 통해 4배체임을 확인하였다. 안토시아닌 분자마커 개발을 위하여 35 set의 primer를 안토시아닌 생합성 경로에 관여하는 유전자들을 기반으로 작성하였다.

6. 형질전환 Vector 구축을 위한 promoter 및 유전자 선발

형질전환을 위한 벡터로 pCAMBIA에서 향상시킨 모벡터와 중간벡터로 pGRP1 및 pZRT3-Bar를 이용하였다. 내한성 증진을 위한 프로모터 및 타겟 유전자를 크로닝하였으며, 자엽법으로 형질전환하였다.

7. 수집 유전자원의 특성 검정 및 선발

적색결구배추 신품종 육성을 위한 자원으로 활용하고자 국내, 중국, 유럽, 동남아 등에서 많이 재배되는 인기 품종과 현지에서 재배하고 있는 F₁ 품종들을 현지 출장 및 해외 거래처를 통하여 수집하였다. 수집자원은 성능 검정 및 대비종으로 사용하기 위하여 아시아종묘(주) 육종 연구서에서 봄, 가을, 월동 작형으로 나누어 특성 검정을 실시하였다. 봄 작형은 매년 3월초에 파종을 실시하여 4월 초에 정식을 실시하였으며, 6월에 특성을 조사하였다. 가을 작형은 8월 중순에 파종하여 9월 초순에 정식을 실시하고 10월 하순에 특성 조사를 실시하였다. 월동작형은 8월 중순에 파종하여 9월 초순에 정식을 실시하고 이듬해 1-2월에 특성 조사를 실시하였다. 특성 조사는 국립종자원의 “배추 특성조사요령“ 및 농촌진흥청 농업 유전자원정보센터의 “식물특성조사 기준“에 준하여 원예적 형질을 수확기에 조사하였으며, 본 연구사업의 목적에 맞는 육성소재로 이용하기 위하여 우수개체를 선발하였다.

8. 우수계통 육성

가. 유전자원 특성 검정, 선발 및 계통 육성

해당 연구년도 또는 전년도에 수집된 유전자원과 기존 분리계통에서 선발한 계통들을 가을 작기에 재배하여 모본의 특성을 검정하였다. 엽색, 결구근도, 내추대성, 포장저장성, 순도, 모용 등을 종합적으로 고려하여 우수개체를 선발하였다. 선발 계통들은 교배를 실시하여 세대 진전 및 고정하였고 고정계통은 조합작성을 위하여 조합작성에 활용하였다.

나. SSD에 의한 계통 육성

선발된 유전자원과 위황병 내병성 계통 등의 다양한 계통을 신속하게 고정 계통으로 육성하기 위하여 단립계통육종법(Single Seed Decent)을 이용하였다.

다. 뿌리혹병 내병성 계통 육성

뿌리혹병에 대한 내병성 계통 육성을 위하여 2012년부터 2016년까지 고정계통, 교배조합, 수집 유전자원, SSD 육성계통, 소포자 배양에서 획득한 개체 등(F₁ 및 F₂, F₃, F₄, F₅ 등)에 대하여 저항성 검정을 실시하였다. 뿌리혹병 접종에는 경기도 광주수집 균주(racell), 경기도

안성수집 균주(race5), 강원도 태백수집 균주 (race4), 전라남도 해남수집 균주(race4) 사용하였다. 균주 접종에 이용된 식물체는 50cm× 30cm 파종상자에 5cm 줄 간격으로 파종한 후 2주일된 유묘를 뽑아 뿌리를 약 30초 침지한 다음 105구 트레이에 이식한 후 48시간동안 70% 차광처리 하였다. 뿌리혹병 균주 접종 35일 후 뿌리혹 발생정도를 조사하여 내병성과 이병성으로 분류하였다. 뿌리혹병 내병성으로 선발된 계통들은 특성 검정을 통해 계통을 육성하였다. 육성된 계통은 F₁ 조합 작성에 공시하여 목적 형질 또는 시장에 적합한 품종 개발에 활용하였다.

라. 응성불임계통의 육성

우수한 기 보유 계통 및 수집계통의 CMS화를 진행하기 위하여 CMS모본에 우수계통을 반복여교잡을 수행하였으며, 1차년도에 22계통, 2차년도에 10계통, 3차년도에 10계통, 4차년도에 10계통, 5차년도에 14계통을 각각 선발하였다.

마. 소포자 배양

소포자 배양에 의한 조합친 계통의 조기 다량 확보를 위하여 (엇갈이형자색배추X녹색결구배추계통)을 이용하여 소포자배양을 수행하였다. 배양재료의 화서를 절취하여 2% sodium hypochlorite 용액에 10분간 침지하고 이를 멸균수로 3회 이상 수세하였다. 표면살균 된 꽃봉오리는 13%의 sucrose가 첨가된 B5를 각각 조금씩 첨가하여 막자사발로 분쇄하여 45 μ m의 sieve로 여과한 용액을 원심분리하여 소포자를 분리하였다. 수집된 소포자는 배양배지에 넣어 60×15mm petri dish에 2.5 ml씩 분주하였다. 전처리 온도 및 시간별 처리와 배양배지 조건에 따른 배발생을 조사하기 위해 표 7과 8와 같은 처리를 통해 배발생을 유도하였다. 각 처리당 30개의 bud를 실험재료로 사용하였다. 발생한 배로부터 유기된 유식물체를 성장조절제가 첨가되지 않은 MS 배지로 옮겨 발근을 유도하였다. 유기된 유식물체를 6주간 생장시킨 후 8℃의 춘화처리 시설에 옮겨 배양하였다. 8주 후 춘화처리된 식물체를 화분에 옮겨 4주에 걸쳐 순화처리를 거치면서 추대를 유도하여 교배에 이용하였으며, 이를 각각 FS, BS채종을 통해 소포자배양 계통을 최종적으로 확보하였다.

9. 우수 F₁조합 작성 및 선발

내한성 배추는 남해안지역(해남 남부연구소)에서 8월 하순 파종, 9월 중순 정식 후 이듬해 1-2월경 수확이 가능하면서 내한성, 내포성, 내추대성의 품종 육성을 위해 조합을 작성하고 우수한 조합을 선발하였다. 이를 위해 기 보유 고정계통, 전년도에 선발한 우수계통을 이용하여 조합을 작성하였고 이 중 타가화합인 조합을 포장에 공시하여 엽장, 엽폭, 외엽수, 구중, 구고, 구폭, 코어길이, 숙기 등의 특성을 조사 후 선발하였다. 정확한 특성검정과 우수품종을 선발하기 위해 아시아종묘의 대표 월동배추인 '아시아월동', '남풍'을 대비품종으로 공시하였다. 적색결구배추는 중부지방(이천 생명공학육종연구원)에서 8월 중순 파종, 9월 초순 정식 후 10월 말에 결구가 되며, 수확이 가능한 적색결구배추 품종육성을 위해 조합을 작성하고 우수한 조합을 선발하였다. 이를위해 기 보유 고정계통, 전년도에 선발한 우수계통을 이용하여 조합을 작성하였고 이 중 타가화합인 조합을 포장에 공시하여 엽장, 엽폭, 외엽수, 구중, 구고, 구폭, 코어길이, 숙기등의 특성을 조사 후 선발하였다. 정확한 특성검정과 우수품종을 선발하기 위해

아시아종묘의 대표 가을배추인 '휘모리', '장생3호'를 대비품종으로 공시하였다.

10. 선발조합의 종자생산력 검정

웅성불임성 및 자가불화합성을 이용한 채종조합에 대하여 시험 재배 종자를 확보하고자 종자생산력을 검정하였다. 우수조합(513-1H, 513-2H, 514-2H, 515-1H, 406-1H, 710-2H(BN5212), 207-1H(BN5216), BN5009, BN5012, BN5014, BN5015, BN5023, BN5024)을 공시하여 선발 한 후 월동을 거쳐 망실 하우스에 정식한 다음 벌을 이용하여 시험 채종하였다.

11. 적색 결구배추 교배 계통별 FT-IR 스펙트럼 DB 구축

가. 적색 결구배추 교배 계통별 부모계통 및 F1 교배 라인 시료 확보 및 powder library 제작
월동형 적색 결구배추는 (주)아시아종묘가 품종육성을 위해 개발 및 보유중인 라인을 포함하여 총 95 점을 확보하였다. 8 계통에서 5개체 씩 총 40 점과 교배에 사용된 부계, 모계 또한 각각 4 계통에서 5개체 씩 총 20 점을 확보하였고, 신조합에서 5 점, 대비종에서 10 점을 확보하였다. 적색결구배추 잎 시료로부터 전세포추출물 제조는 확보한 월동형 적색 결구배추의 잎 분말 시료 20 mg을 tube에 넣고 20% methanol 용액을 200 μ L 씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50° C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 13,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 회수한 상층액은 원심분리과정을 반복하여 찌꺼기가 들어가지 않도록 조심스럽게 새로운 tube에 상층액을 옮겼다. 회수된 상층액은 -20° C에서 보관한 다음 FT-IR 스펙트럼 조사에 사용하였다.

나. 결구배추 각 교배 계통별 시료의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계분석
확보한 월동형 적색 결구배추(총 95 점)는 마쇄하여 powder library를 제작하여 -70°C 저온 냉동 보존하였다. 월동형 적색 결구배추 powder library로부터 FT-IR 스펙트럼을 조사하였다. 적색결구배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석은 FT-IR(Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)를 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료 5 μ l를 384-well silicon plate에 분주하여, 37° C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 silicon plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4,000-400 cm^{-1} 범위에서 그리고 4 cm^{-1} 간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 통계적 분석을 위해 각각 3반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램(version 2.15.0, Auckland, New Zealand)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점(1,800-800 cm^{-1})의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 2차 미분을 수행한 다음 전처리가 완료된 스펙트럼 데이터를 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다. 가공된

FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘(Wold, 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.15.0)에서 PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis) 분석(Fiehn et al., 2000; Trygg et al., 2007)을 수행하였다.

12. 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 정량 예측 모델링의 확립

가. 적색 결구배추 계통별 시료의 기능성 물질(total carotenoids, flavonoids, anthocyanins, phenolic contents)들의 성분 함량 정량 및 고함유라인 선별

Total carotenoids의 함량을 측정하기 위해 아시아종묘에서 육성중인 적색 결구배추 잎 동결건조 powder 시료 (총 95점)를 각각 20mg씩 1.5ml EP tube에 준비하였다. 준비된 시료에 80% Acetone 용액을 1ml씩 첨가하고, 용매와 잘 섞이도록 흔들어 주었다. 잘 섞인 시료를 13,000rpm에서 5분간 원심분리하고, 상층액을 새로운 1.5ml EP tube에 옮겼다. UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 측정하였다. 측정간격은 >2nm간격으로 350~750nm 범위의 흡광도를 조사하였으며, 최대 흡광도가 0.3~0.85가 되도록 희석하여 조사하였다. Chlorophyll과 total carotenoids의 함량은 아래의 수식을 이용하여 정량하였다.

$$\text{Chl a (ug/ml)}=12.25A_{663}-2.79A_{647}$$

$$\text{Chl b (ug/ml)}=21.50A_{647}-5.1A_{663}$$

$$\text{Car(x+c) (ug/ml)}=(1000A_{470}-1.82\text{Chl a}-85.07\text{Chl b})/198$$

Total flavonoids 함량을 측정하기 위해 적색 결구 배추의 잎 동결건조 powder 시료 10mg을 이용하여 Zhishen et al. (1999)의 방법을 사용하여 total flavonoids 함량을 UV-VIS spectrophotometer를 통해 조사하였다. 배추 잎 시료 10 mg을 100% ethanol 1mL 들어가 있는 tube에 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어준 후 1시간 동안 상온에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 5분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 100 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 100 uL에 증류수 400 uL를 첨가하여 혼합한 다음 5% NaNO₂ 30 uL를 첨가하여 상온에서 10분간 반응 시켰다. 10분간 반응이 끝난 후 10% AlCl₃용액 30 uL를 첨가하여 상온에서 다시 1분간 반응 시켰다. 반응이 끝난 후 1M NaOH 200 uL를 첨가하여 반응액의 최종 부피가 1mL가 되도록 증류수 240 uL를 첨가하였다. 준비된 시료는 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 510nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Reference compounds로는 catechin(100mg · L⁻¹)을 사용하여 total flavonoids 함량을 측정하였다.

Total anthocyanin 함량을 측정하기 위해 적색 결구 배추의 잎 동결건조 powder 시료는 Mancinelli et al. (1991)의 방법을 약간 수정하여 anthocyanin 함량이 조사되었다. 배추 잎 시료 10 mg을 담은 tube에 900ul의 methanol (1% [w/v] HCl)을 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어준 후 18시간 동안 4℃, 암상태에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 10분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 300 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 300 uL에 증류수 200 uL를 첨가하여 혼합한 다음 chloroform을 200ul 첨가하여 혼합하였다. 혼합액은 13,000rpm으로 10분간 원심분리한 뒤 상층액만을 회수하여 530 nm 와 657 nm에서 UV-VIS spectrophotometer를 통해 흡광도를 측정하였다. Anthocyanin의 함량은 $A_{530} - 0.25 A_{657} / \text{mg dry wt}$ 으로 표기하였다.

Total phenolics contents 함량을 측정하기 위해 적색 결구 배추의 잎 동결건조 powder 시료를 각각 10mg씩 1.5ml EP tube에 준비하였다. 준비된 시료에 80% EtOH 용액을 500ul씩 첨

가하고, 용매와 잘 섞이도록 흔들어주었다. 준비된 시료는 95°C에서 5분간 가열하여 추출하였다. 추출된 시료는 12,000rpm에서 15분간 원심분리하고, 상층액을 새로운 1.5ml EP tube에 옮겼다. 추출된 용액 20ul에 2N Folin-Ciocalteu's phenol 용액 50ul와 20% Na₂CO₃ 용액 100ul를 첨가하고 최종 부피가 1ml이 되게 D.W 830ul를 첨가하여 준비하였다. Control로 사용될 용액은 D.W 850ul에 2N Folin-Ciocalteu's phenol 용액 50ul와 20% Na₂CO₃ 용액 100ul를 첨가하고 최종 부피가 1ml이 되게 준비하였다. Standard는 ChIA in 20ul ethanol 용액에 2N Folin-Ciocalteu's phenol 용액 50ul와 20% Na₂CO₃ 용액 100ul를 첨가하고 최종 부피가 1ml이 되게 D.W 830ul를 첨가하여 준비하였다. 준비된 용액은 상온에서 20분간 반응 시킨 후에 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 725nm에서 흡광도를 조사하여 total phenolics contents를 측정하였다.

나. 적색 결구배추 시료의 FT-IR 데이터와 기능성 물질의 함량 데이터를 이용한 PLS 정량 예측 모델의 개발

적색 결구배추의 FT-IR 스펙트럼데이터로부터 total carotenoids, flavonoids, anthocyanin, phenolics contents 함량예측모델을 개발하였다. 적색 결구배추 시료의 FT-IR 스펙트럼데이터와 동일 시료로부터 얻어진 total carotenoids, flavonoids, anthocyanin, phenolics contents 실측 정량데이터를 이용하여 X 변수에는 FT-IR 스펙트럼데이터를 사용하였고, 3개의 Y 변수에는 UV-VIS spectrophotometer를 통해 얻어진 total carotenoids, flavonoids, anthocyanin, phenolics contents 정량데이터를 각각 사용하였다. PLSR(partial least square regression) 분석은 R 프로그램(version 2.15.0)을 이용하였다. 예측모델링의 정확도를 향상시키기 위하여 1개의 X 변수에 대해 3개의 Y 변수를 각각 교차검정을 실시하였다. 확립된 예측모델링을 이용하여 각각의 적색 결구배추 시료의 total carotenoids, flavonoids, anthocyanin 및 phenolics contents 함량예측을 수행하였다. 함량예측모델링의 정확도를 조사하기 위하여 적색 결구배추 시료로부터 total carotenoids, flavonoids, anthocyanin 및 phenolics contents 함량 실측치와 예측치에 대한선형회귀분석을 수행하여 상관계수를 조사하였다. 각 시료별로 예측된 값의 통계적 유의성(p < 0.05) 조사는 ANOVA 분석을 통해 검증하였다.

13. 적색 결구배추 inbreeding line의 total flavonoids, anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고숙선발체계 확립

가. UV-VIS spectrophotometer을 이용한 total flavonoids 함량 조사

아시아종묘에서 육성중인 적색 결구 배추의 잎 동결건조 시료 10mg을 이용하여 Zhishen et al. (1999)의 방법을 사용하여 total flavonoids 함량을 UV-VIS spectrophotometer를 통해 조사하였다. 배추 잎 시료 10 mg을 100% ethanol 1mL 들어가 있는 tube에 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어준 후 1시간 동안 상온에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 5분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 100 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 100 uL에 증류수 400 uL를 첨가하여 혼합한 다음 5% NaNO₂ 30 uL를 첨가하여 상온에서 10분간 반응 시켰다. 10분간 반응이 끝난 후 10% AlCl₃용액 30 uL를 첨가하여 상온에서 다시 1분간 반응 시켰다. 반응이 끝난 후 1M NaOH 200 uL를 첨가하여 반응액의 최종 부피가 1mL가 되도록 증류수 240 uL를 첨가하였다. 준비된 시료는 UV-VIS

spectrophotometer를 이용하여 510nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Reference compounds로는 catechin(100mg · L⁻¹)을 사용하여 total flavonoids 함량을 측정하였다.

나. UV-VIS spectrophotometer을 이용한 total anthocyanins 함량 조사

아시아종묘에서 육성중인 적색 결구 배추의 잎 동결건조 시료는 약간 수정된 Mancinelli et al. (1991)의 방법으로 anthocyanin 함량을 조사하였다. 배추 잎 시료 10 mg을 담은 tube에 900ul의 methanol (1% [w/v] HCl)을 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어준 후 18시간 동안 4°C, 암상태에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 10분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 300 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 300 uL에 증류수 200 uL를 첨가하여 혼합한 다음 chloroform을 200ul 첨가하여 혼합하였다. 혼합액은 13,000rpm으로 10분간 원심분리한 뒤 상층액만을 회수하여 530 nm 와 657 nm에서 UV-VIS spectrophotometer를 통해 흡광도를 측정하였다. Anthocyanin의 함량은 $A_{530} - 0.25 A_{657} / \text{mg dry wt}$ 으로 표기하였다.

다. 적색결구배추 잎 시료로부터 total flavonoids 및 anthocyanin 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유라인 선발 및 검증

(1) 적색결구배추 잎 시료로부터 추출액 제조

적색결구배추 계통(98라인)의 잎 분말 시료 20 mg을 tube에 넣고 20% methanol 용액을 200 uL씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50°C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 13,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 회수한 상층액은 원심분리과정을 반복하여 찌꺼기가 들어가지 않도록 조심스럽게 새로운 tube에 상층액을 옮겼다. 회수된 상층액은 -20°C 에서 보관한 다음 FT-IR 스펙트럼 조사에 사용하였다.

(2) 적색결구배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량 통계 분석

FT-IR(Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)를 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료 5µl를 384-well ZnSe plate에 분주하여, 37° C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 ZnSe plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4,000-400 cm⁻¹ 범위에서 그리고 4 cm⁻¹간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 통계적 분석을 위해 각각 3반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램(version 2.15.0, Auckland, New Zealand)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점(1,800-800 cm⁻¹)의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 2차 미분을 수행한 다음 전처리가 완료된 스펙트럼

데이터를 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다. 가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘(Wold, 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.15.0)에서 PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis) 분석(Fiehn et al., 2000; Trygg et al., 2007)을 수행하였다.

(3) 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 및 flavonoids 함량 예측 PLS 모델링 개발 및 검증

적색결구배추 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 total anthocyanins 및 flavonoids 함량 예측 모델을 개발하였다. 총 98개 아프리카인 암 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터와 동일 시료로부터 얻어진 total anthocyanins 및 flavonoids 함량 데이터를 이용하여 X 변수에는 FT-IR 스펙트럼 데이터를 사용하였고, 2개의 Y 변수에는 UV-VIS spectrophotometer를 통해 얻어진 total anthocyanins 및 flavonoids 함량 데이터를 각각 사용하였다. PLSR(partial least square regression) 분석은 R 프로그램(version 2.15.0)을 이용하였다. 예측 모델링의 정확도를 향상시키기 위하여 1개의 X 변수에 대해 2개의 Y 변수를 각각 교차검정을 실시하였다. 확립된 예측 모델링을 이용하여 각각의 아프리카인 암 시료의 total anthocyanins 및 flavonoids 함량 예측을 수행하였다. 함량 예측 모델링의 정확도를 조사하기 위하여 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 및 flavonoids 함량 실측치와 예측치에 대한 선형회귀분석을 수행하여 상관계수를 조사하였다.

14. 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발체계 확립

가. 가을적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 고함유라인 선발 및 PLS 예측 모델링과 검증

(1) 가을 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사

아시아종묘에서 육성중인 적색 결구 배추 23라인의 잎 동결건조 시료는 약간 수정된 Mancinelli et al. (1991)의 방법으로 anthocyanin 함량을 조사하였다. 배추 잎 시료 10 mg을 담은 tube에 900ul의 methanol (1% [w/v] HCl)을 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어준 후 18시간 동안 4°C, 암상태에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 10분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 300 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 300 uL에 증류수 200 uL를 첨가하여 혼합한 다음 chloroform을 200ul 첨가하여 혼합하였다. 혼합액은 13,000rpm으로 10분간 원심분리한 뒤 상층액만을 회수하여 530 nm 와 657 nm에서 UV-VIS spectrophotometer를 통해 흡광도를 측정하였다. Anthocyanin의 함량은 $A_{530} - 0.25 A_{657} / \text{mg dry wt}$ 으로 표기하였다.

(2) 가을 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유라인 선발 및 검증

(3) 적색결구배추 잎 시료로부터 추출액 제조

적색결구배추 계통(68라인)의 잎 분말 시료 20 mg을 tube에 넣고 20% methanol 용액을

200 uL씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50° C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 13,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 회수한 상층액은 원심 분리과정을 반복하여 찌꺼기가 들어가지 않도록 조심스럽게 새로운 tube에 상층액을 옮겼다. 회수된 상층액은 -20° C에서 보관한 다음 FT-IR 스펙트럼 조사에 사용하였다.

(4) 적색결구배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석
FT-IR(Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)를 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료 5µl를 384-well ZnSe plate에 분주하여, 37° C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 ZnSe plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4,000-400 cm⁻¹ 범위에서 그리고 4 cm⁻¹간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 통계적 분석을 위해 각각 3반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램(version 2.15.0, Auckland, New Zealand)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점(1,800-800 cm⁻¹)의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 1차 미분을 수행한 다음 전처리가 완료된 스펙트럼 데이터를 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다. 가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘(Wold, 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.15.0)에서 PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis) 분석(Fiehn et al., 2000; Trygg et al., 2007)을 수행하였다.

(5) 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링 개발 및 검증
적색결구배추 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델을 개발하였다. 총 68개 적색결구배추 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터와 동일 시료로부터 얻어진 total anthocyanins 함량 데이터를 이용하여 X 변수에는 FT-IR 스펙트럼 데이터를 사용하였고, Y 변수에는 UV-VIS spectrophotometer를 통해 얻어진 total anthocyanins 함량 데이터를 각각 사용하였다. PLSR(partial least square regression) 분석은 R 프로그램(version 2.15.0)을 이용하였다. 예측 모델링의 정확도를 향상시키기 위하여 X 변수에 대해 Y 변수를 교차검정 실시하였다. 확립된 예측 모델링을 이용하여 각각의 월동형 적색 시료의 total anthocyanins 함량 예측을 수행하였다. 함량 예측 모델링의 정확도를 조사하기 위하여 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 실측치와 예측치에 대한 선형회귀분석을 수행하여 상관계수를 조사하였다.

나. 여름 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 고함유라인 선발 및 PLS 예측 모델링과 검증

(1) 여름 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사

아시아종묘에서 육성중인 11가지 적색 결구 배추의 잎 동결건조 시료는 Mancinelli et al. (1991)의 방법을 약간 수정하여 anthocyanin 함량을 조사하였다. 배추 잎 시료 10 mg을 담은 tube에 900ul의 methanol (1% [w/v] HCl)을 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어준 후 18 시간 동안 4°C, 암상태에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 10분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 300 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 300 uL에 증류수 200 uL를 첨가하여 혼합한 다음 chloroform을 200ul 첨가하여 혼합하였다. 혼합액은 13,000rpm으로 10분간 원심분리한 뒤 상층액만을 회수하여 530 nm 와 657 nm에서 UV-VIS spectrophotometer를 통해 흡광도를 측정하였다. Anthocyanin의 함량은 $A_{530} - 0.25 A_{657} / \text{mg dry wt}$ 으로 표기하였다.

(2) 여름 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanin 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유 라인 선별 및 검증

(3) 여름 적색결구배추 잎 시료로부터 추출액 제조

적색결구배추 계통(11라인)의 잎 분말 시료 20 mg을 tube에 넣고 20% methanol 용액을 200 uL씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50° C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 13,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 회수한 상층액은 원심 분리과정을 반복하여 찌꺼기가 들어가지 않도록 조심스럽게 새로운 tube에 상층액을 옮겼다. 회수된 상층액은 -20° C에서 보관한 다음 FT-IR 스펙트럼 조사에 사용하였다.

(4) 하절기 적색결구배추 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석

FT-IR(Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)를 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료 5μl를 384-well ZnSe plate에 분주하여, 37° C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 ZnSe plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4,000-400 cm^{-1} 범위에서 그리고 4 cm^{-1} 간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 통계적 분석을 위해 각각 3반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램(version 2.15.0, Auckland, New Zealand)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점(1,800-800 cm^{-1})의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 1차 미분을 수행한 다음 전처리가 완료된 스펙트럼 데이터를 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다. 가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘(Wold, 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.15.0)에서

PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis) 분석(Fiehn et al., 2000; Trygg et al., 2007)을 수행하였다.

(5) 하절기 적색결구배추 잎 시료의 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링 개발 및 검증

적색결구배추 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델을 개발하였다. 총 33개 적색결구배추 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터와 동일 시료로부터 얻어진 total anthocyanins 함량 데이터를 이용하여 X 변수에는 FT-IR 스펙트럼 데이터를 사용하였고, Y 변수에는 UV-VIS spectrophotometer를 통해 얻어진 total anthocyanins 함량 데이터를 각각 사용하였다. PLSR(partial least square regression) 분석은 R 프로그램(version 2.15.0)을 이용하였다. 예측 모델링의 정확도를 향상시키기 위하여 X 변수에 대해 Y 변수를 각각 교차검정을 실시하였다. 확립된 예측 모델링을 이용하여 각각의 적색결구배추 시료의 total anthocyanins 함량 예측을 수행하였다. 함량 예측 모델링의 정확도를 조사하기 위하여 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 실측치와 예측치에 대한 선형회귀분석을 수행하여 상관계수를 조사하였다.

15. 교배 세대별 적색 결구배추(부모계통 및 교배라인)들의 anthocyanins 고함유 라인 선발 및 FT-IR 스펙트럼 DB 구축

가. 교배 세대별 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사 UV-VIS spectrophotometer를 이용한 total anthocyanins 함량 조사

아시아종묘에서 육성중인 적색 결구 배추 21 라인의 잎 동결건조 시료는 약간 수정된 Mancinelli et al. (1991)의 방법으로 anthocyanin 함량을 조사하였다. 배추 잎 시료 10 mg을 담은 tube에 900ul의 methanol (1% [w/v] HCl)을 넣어주었다. 용매와 잘 섞이도록 흔들어진 후 18시간 동안 4°C, 암상태에서 반응 시켰다. 반응이 끝난 시료를 상온에서 13,000rpm으로 10분간 원심분리하고, 원심분리가 끝난 시료의 상층액 300 uL를 새로운 tube에 옮겼다. 옮겨진 시료 300 uL에 증류수 200 uL를 첨가하여 혼합한 다음 chloroform을 200ul 첨가하여 혼합하였다. 혼합액은 13,000rpm으로 10분간 원심분리한 뒤 상층액만을 회수하여 530 nm 와 657 nm에서 UV-VIS spectrophotometer를 통해 흡광도를 측정하였다. Anthocyanin의 함량은 $A_{530} - 0.25 A_{657} / \text{mg dry wt}$ 으로 표기하였다.

나. 적색결구배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 다변량 통계분석

(1) 적색결구배추 잎 시료로부터 추출액 제조

적색결구배추 계통(63라인)의 잎 분말 시료 20 mg을 tube에 넣고 20% methanol 용액을 200 uL씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50° C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 13,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 회수한 상층액은 원심 분리과정을 반복하여 찌꺼기가 들어가지 않도록 조심스럽게 새로운 tube에 상층액을 옮겼다. 회수된 상층액은 -20° C에서 보관한 다음 FT-IR 스펙트럼 조사에 사용하였다.

(2) 적색결구배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량

통계분석

FT-IR (Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)를 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료 5 μ l를 384-well silicon plate에 분주하여, 37 $^{\circ}$ C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 ZnSe plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4,000-400 cm^{-1} 범위에서 그리고 4 cm^{-1} 간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 통계적 분석을 위해 각각 3반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램(version 2.15.0, Auckland, New Zealand)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점(1,800-800 cm^{-1})의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 1차 미분을 수행한 다음 전처리가 완료된 스펙트럼 데이터를 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다. 가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘(Wold, 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.15.0)에서 PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis) 분석(Fiehn et al., 2000; Trygg et al., 2007)을 수행하였다.

16. 배추 및 양배추의 색상별 inbreeding line의 식별체계 확립을 위한 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

가. 배추 및 양배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 다변량 통계분석

(1) 색상별 배추 및 양배추 잎 시료들로부터 추출액 제조

색상별 배추 및 양배추 잎 시료들로부터 대사체 분석을 위해 다양한 색상의 배추 계통 23종과 색상이 다른 양배추 계통(일반양배추, 빨간양배추) 2종이 추출액 제조에 사용되었다. 총 25종의 잎 시료들은 동결건조하여 분쇄한 뒤 20 mg을 tube에 넣고 20% methanol 용액을 200 μ L씩 첨가하여 잘 섞어주었다. 각 tube를 50 $^{\circ}$ C 수조에서 20분간 반응시킨 다음 13,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 회수한 상층액은 원심분리과정을 반복하여 찌꺼기가 들어가지 않도록 조심스럽게 새로운 tube에 상층액을 옮겼다. 회수된 상층액은 -20 $^{\circ}$ C에서 보관한 다음 FT-IR 스펙트럼 조사에 사용하였다.

(2) 색상별 배추 및 양배추 잎 시료들로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석

FT-IR(Fourier transform infrared) 스펙트럼 조사는 Tensor 27(Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Germany)를 사용하였고, DTGS(deuterated triglycine sulfate) 검출기로 분석하였다. 추출된 각각의 시료 5 μ l를 384-well silicon plate에 분주하여, 37 $^{\circ}$ C hot plate에서 약 20분간 건조하였다. 건조된 silicon plate는 Tensor 27에 장착된 HTS-XT(Bruker Optics GmbH) 고효율 자동화 장치를 이용하여 스펙트럼을 조사하였다. 각 시료의 스펙트럼은 총 4,000-400 cm^{-1}

범위에서 그리고 4 cm^{-1} 간격으로 총 128회 반복 측정된 평균 스펙트럼을 분석에 사용되었다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼은 통계적 분석을 위해 각각 3반복 측정하였다. FT-IR 스펙트럼 조사 및 데이터 변환에 사용된 프로그램은 Bruker에서 제공하는 OPUS Lab(ver. 6.5, Bruker Optics Inc.)를 사용하였다. FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석을 위해 먼저 FT-IR 스펙트럼 데이터의 baseline 교정, normalization 및 mean centering 등 스펙트럼의 전처리 과정을 R 프로그램(version 2.15.0, Auckland, New Zealand)을 이용하여 수행하였다. Baseline 교정을 위해 FT-IR 스펙트럼 분석 영역의 양 끝점($1,800\text{--}800\text{ cm}^{-1}$)의 흡광도를 0으로 조정하였으며 실험상의 오차를 최소화하기 위하여 각 스펙트럼을 동일 면적으로 normalization 하였다. 이후 데이터의 mean centering 과정을 거쳐 1차 미분을 수행한 다음 전처리가 완료된 스펙트럼 데이터를 다변량 통계분석 분석을 위한 표준화된 데이터로 사용하였다. 가공된 FT-IR 스펙트럼 데이터는 NIPALS 알고리즘(Wold, 1966)을 이용하여 R 프로그램(version 2.15.0)에서 PCA(Principal component analysis)와 PLS-DA(Partial least square discriminant analysis) 분석(Fiehn et al., 2000; Trygg et al., 2007)을 수행하였다.

제 2 절 연구개발 결과

1. 국내 시판 F1 품종을 이용한 지부계 및 권심계의 분류

가. 국내 시판 배추 품종의 지부계 및 권심계 구분

지부계 및 권심계 구분 마커인 CCA1F × CCA1-1R과 CCA1F × CCA1-3R를 이용하여 국내 시판 배추 30 품종(봄 작형 10 품종, 여름작형 10 품종, 겨울작형 10 품종)을 검정한 결과 권심계, 지부계 및 지부/권심계의 3가지 형태로 나뉠 수 있었다(그림 6). 봄작형 배추 10 품종에 대해서는 모두 지부계였으며, 여름작형 배추에서는 지부계만을 가지고 있는 것이 4 품종, 권심계만을 가지고 있는 것이 1 품종 이었고 나머지 5 품종은 지부/권심계의 혼합형태를 가지고 있었다. 겨울작형에서는 지부계만을 가지고 있는 것이 2 품종, 그리고 나머지 8 품종은 지부/권심계의 혼합형태를 가지고 있었다(표 1, 그림 7). 수집된 국내 시판 배추 30 품종은 지부계만을 가지고 있는 것이 16 품종으로 가장 많았으며, 권심계만을 가지고 있는 것이 1 품종 지부/권심계의 혼합형태를 가지고 있는 것이 13 품종 있었다.

나. 저온처리 후 배추의 이온리키지 측정

수집된 30 품종 중 봄작형 배추 2품종, 여름작형 배추 3품종 그리고 겨울작형 배추 3품종을 이용하여 배양실(22°C)에서 4주간 키운 식물체 후 각각의 저온 처리 후 세포 파괴정도를 알아볼 수 있는 이온리키지를 측정하였다. 그 결과 봄작형, 여름작형, 겨울작형 배추 간에 이온리키지 값은 연관성을 나타내지 않았으며, 어떤 작형의 배추인가 보다는 품종 간에 이온리키지 값을 확인할 수 있었다(그림 8). -2°C 에서의 이온리키지를 보면 그나마 춘정(지부계)이 저온 스트레스에 대하여 강하였고, 그 다음으로 아시아월동(지부/권심계), 노랑관동(지부/권심계), 아시아성하(지부/권심계), 아시아알파인(권심계), 남풍(지부/권심계), 춘연(지부계) 순으로 강했

으며, 동품(지부/권심계)이 가장 약하게 나타났다(표 2).

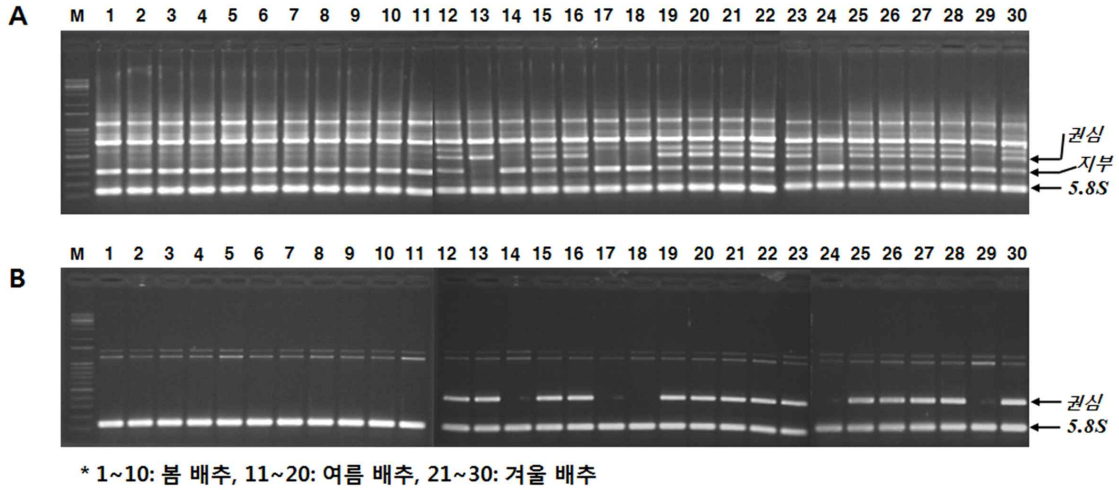


그림 6. 마커를 이용한 작형별 국내 시판 배추 30품종의 지부계 및 권심계의 구분
(A: CCA1F × CCA1-1R, B: CCA1F × CCA1-3R)

표 1. 국내 시판 배추 30 품종의 품종명, 작형, 지부계 및 권심계 구분

품종명	작기	지부/권심	회사명
아시아봄노랑	봄작형	지부	아시아종묘
춘연		지부	아시아종묘
춘광		지부	사카다코리아
157		지부	몬산토코리아
진청		지부	홍농
청명엇같이		지부	동원농산
대통		지부	농우종묘
봄맛		지부	농우종묘
진광		지부	농협
춘정		지부	우리종묘
조은여름	여름작형	지부	아시아종묘
아시아성하		지부/권심	아시아종묘
아시아알파인		권심	아시아종묘
노랑여름		지부	몬산토코리아
노랑관동		지부/권심	몬산토코리아
CR청록		지부/권심	몬산토코리아
아라리		지부	농협
강추여름		지부	농협
CR강산		지부/권심	농협
청옥		지부/권심	우리종묘
아시아월동	겨울작형	지부/권심	아시아종묘

남풍
동풍
CR동풍
겨울나기
월동천하
설왕
참설
눈나라
설중매



지부/권심
지부/권심
지부
지부/권심
지부/권심
지부/권심
지부/권심
지부
지부/권심

아시아종묘
몬산토코리아
몬산토코리아
농우종묘
농우종묘
농협
농협
농협

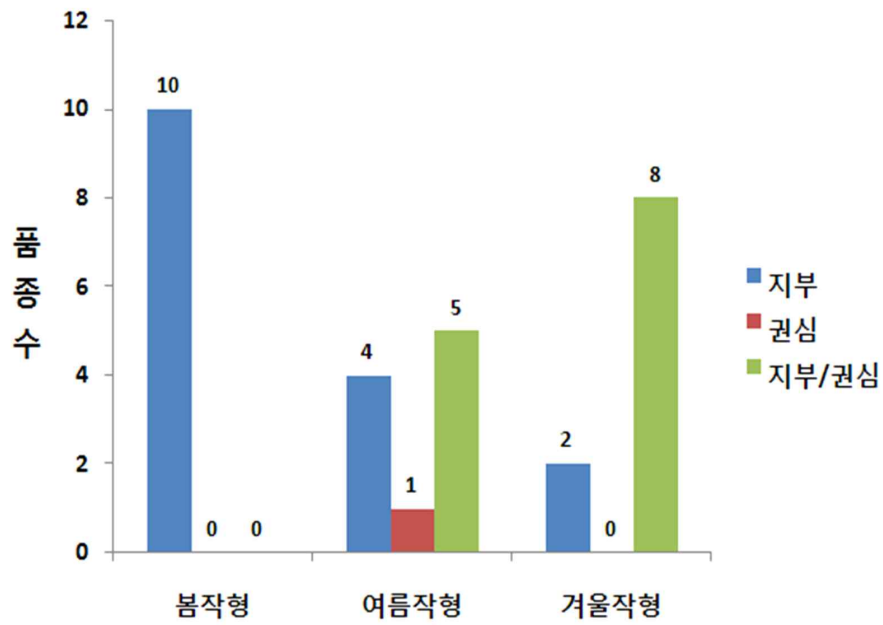


그림 7. 국내 시판 배추 30 품종의 작형별 지부계, 권심계 및 지부/권심계 분포

Ion leakage in Chinese Cabbage

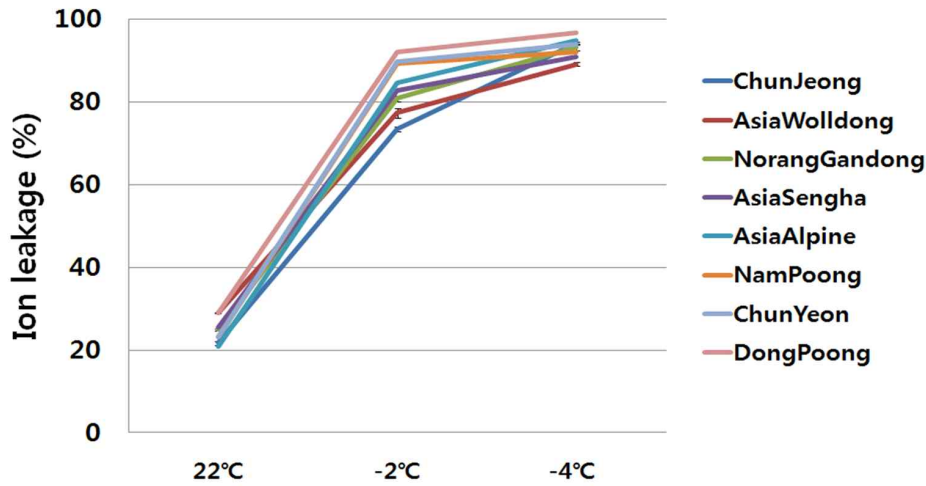


그림 8. 저온처리 후 배추 8 품종에 대한 이온리키지 검정 결과

표 2. 배추 8 품종에 대한 저온처리 후에 이온리키지의 평균값 (C: 지부, K: 권심)

	22°C (1/17 ~ 2/22)	-2°C (2h in dark)	-4°C (2h in dark)	작형	C/K
ChunJeong	21.687225	73.381846	94.289509	봄	C
AsiaWolldong	28.949843	77.322964	89.085873	겨울	C/K
NorangGandong	24.947862	80.791506	93.184741	여름	C/K
AsiaSengha	25.425882	82.796258	91.014752	여름	C/K
AsiaAlpine	20.921895	84.540117	94.912985	여름	K
NamPoong	23.130570	89.369910	92.012410	겨울	C/K
ChunYeon	23.196147	89.863408	93.978171	봄	C
DongPoong	28.870780	92.060880	96.660194	겨울	C/K

2. EST 및 Br24K microarray를 이용한 내한성 관련 유전자의 발현분석

가. Unigene 염기서열의 클러스터링

Unigene assembly와 annotation을 위해 singlet과 contig로 이루어진 903개의 raw read 염기서열들과 BrTED (<http://s47.ma.kr/BrTED/index.php>)로 부터 <0.05 저온 스트레스에 관여하는 short repetitive 염기서열을 얻었다. 고품질의 시퀀스를 얻기 위해 무료 웹사이트인 EGassembler (Masoudi-Nejad et al. 2006; Falgueras et al. 2010)를 이용하였다. EST assembly를 위한 EGassembler는 기본 값으로 수행하였다. 이를 통해 저품질의 시퀀스를 제거하였으며, repetitive element를 제거하였다.

Assemble한 unique 전사체는 Blast2go(Götz et al. 2008)를 이용해 public 데이터베이스에서 검색하여 annotation을 BLAST hit로 얻어 내었다.

경로 분석으로 위해서 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 데이터베이스 (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) (Kanehisa & Goto 2000)를 이용하였다. Enzyme commission (EC) number는 BLASTX를 통해 E value 10^{-10} 으로 KEGG 단백질 데이터베이스에서 검색하였다.

사용한 식물 재료로는 북방계 품종인 농협종묘의 “눈나라“, 남방계 품종인 아시아종묘의 “아시아 알파인“ 배추의 종자를 사용하여 5번째 본엽이 나올 때까지 22°C 에서 생육시켰다. 저온 스트레스 처리는 22°C, 3°C, -2°C, -6°C를 각각 6시간씩 처리하였다. 스트레스 처리 후 곧바로 액체 질소를 이용하여 동결한 후 -80°C에 RNA를 추출하기 전까지 보관하였다. Total RNA는 뿌리, 줄기, 잎, 꽃봉오리 및 저온 처리한 샘플에서 RNase mini kit (Qiagen, USA)를 이용하여 추출하였다. RNase-free DNase (Promega, USA) (Shoresh et al. 2001)로 genomic DNA를 제거하여 RT-PCR을 수행하였다.

903개의 unique 염기서열은 535개의 contig와 368개의 singlet으로 이루어져 있으며 염기서열의 평균 길이는 863 bp 이었다. PolyA/T tail에 32개가 있는 경우 unigened로 확인하였다. Contig의 시퀀스의 길이는 작게는 180 bp, 크게는 3,288 bp까지 분포되어 있었으며, 평균 1,124 bp이었다. Singleton의 시퀀스의 길이는 작게는 117 bp, 크게는 945 bp까지 분포되어 있었으며, 평균, 484 bp 이었다. 총 903개의 시퀀스의 평균 길이는 863 bp이었으며, 이 중 851개는 annotation이 되어 있었으며, 52개는 annotation되어 있지 않았다(표 3). 또한 903개의 unigene에 대하여 blast hit한 결과 *Arabidopsis thaliana*에서는 3,425개의 매우 많은 유전자들이 검색되었으며, *Brassica rapa*에서는 unigene의 1/10인 98개의 유전자들이 검색되었다(표 4).

표 3. Unigene에 대한 요약

Items	Contigs	Singletons
Number	535	368
Total number of sequence		903
Prescen of poly A/T (AAUAAA)		32
Minimum length	180	117
Maximum length	3,288	945
Average length	1,124	484
Average length of sequence		863
Number of sequence annotated		851
Total number of un-annotated sequences		52

표 4. 903개의 unigene에 대한 blast hit 결과

Species	BLAST Hits	Species	BLAST Hits
<i>Arabidopsis thaliana</i>	3425	<i>Picea sitchensis</i>	101
<i>Glycine max</i>	1900	<i>Brassica rapa</i>	98
<i>Vitis vinifera</i>	1763	<i>Unknown</i>	65
<i>Arabidopsis lyrata</i>	1578	<i>Brassica napus</i>	64
<i>Populus trichocarpa</i>	1350	<i>Solanum lycopersicum</i>	61
<i>Oryza sativa</i>	1015	<i>Nicotiana tabacum</i>	61

<i>Ricinus communis</i>	780	<i>Gossypium hirsutum</i>	51
<i>Medicago truncatula</i>	684	<i>Solanum tuberosum</i>	47
<i>Brachypodium distachyon</i>	371	<i>Pisum sativum</i>	37
<i>Zea mays</i>	339	<i>Brassica oleracea</i>	33
<i>Sorghum bicolor</i>	337	<i>Silene latifolia</i>	31
<i>Hordeum vulgare</i>	271	<i>Arabidopsis halleri</i>	31
<i>Selaginella moellendorffii</i>	199	<i>Cucumis melo</i>	30
<i>Physcomitrella patens</i>	164	<i>Malus x</i>	29
<i>Thellungiella halophila</i>	111	Others	1029

나. Unigene의 기능적 측면에서의 annotation

BLAST2GO suite를 사용하여 Gene Ontology(GO)를 분석을 수행하였다. 먼저 GO 분석 중 주요 카테고리인 molecular function(MF), biological processes(BP)와 cellular component(CC)를 분석하였으며 그림 8에 나타내었다. 또한 주요 카테고리 각각에 대하여 하위 카테고리도 분석하였다. 그 결과 첫 번째로 BP의 하위 카테고리에서는 response to stress에서 139개로 가장 많이 속해 있었고, catabolic process에는 115개, response to abiotic stimulus에는 113개, protein modification process에는 103개, signal transduction에는 88개 순으로 많이 속해 있었다(그림 9). 두 번째로 CC의 하위 카테고리에는 plastid에서 219개로 가장 많이 속해있었고, protein complex에는 160개, plasma membrane에는 130개, mitochondrion에는 89개 순으로 많이 속해 있었다(그림 10). 또한 MF의 하위 카테고리에는 nucleotide binding에서 185개로, DNA binding에는 74개, protein kinase activity에는 66개 순으로 많이 속해 있었다(그림 11).

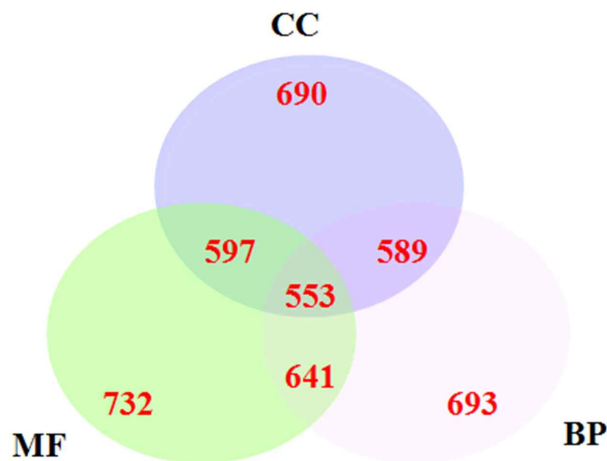


그림 8. 903개 EST의 GO 벤다이어그램

(MF: molecular function, CC: cellular component, BP: biological process)

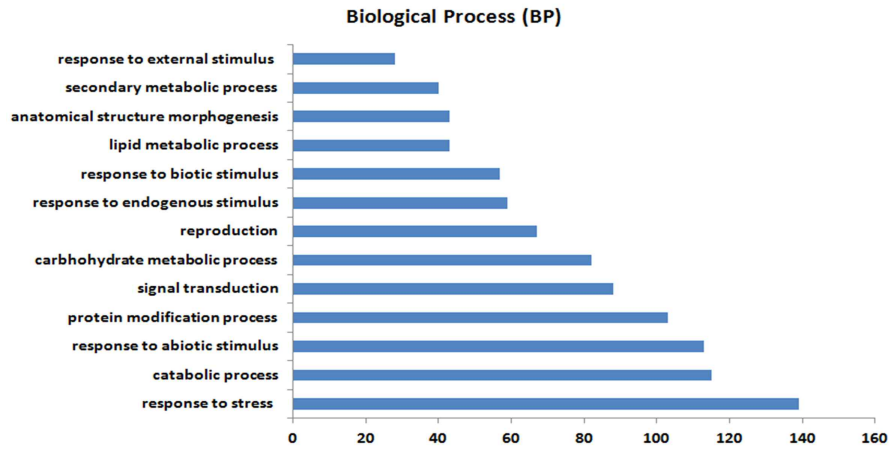


그림 9. GO의 biological process 카테고리에 대한 하위 카테고리 분석

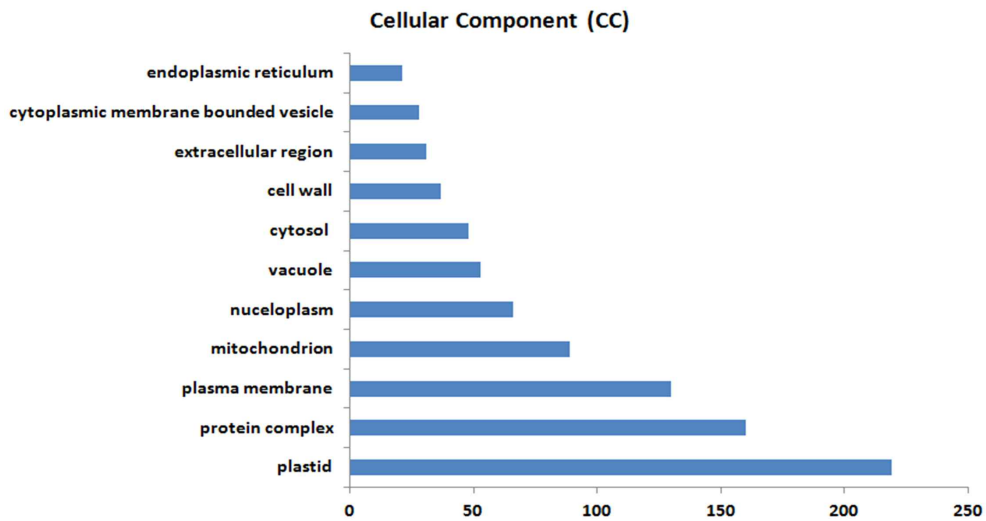


그림 10. GO의 cellular component 카테고리에 대한 하위 카테고리 분석

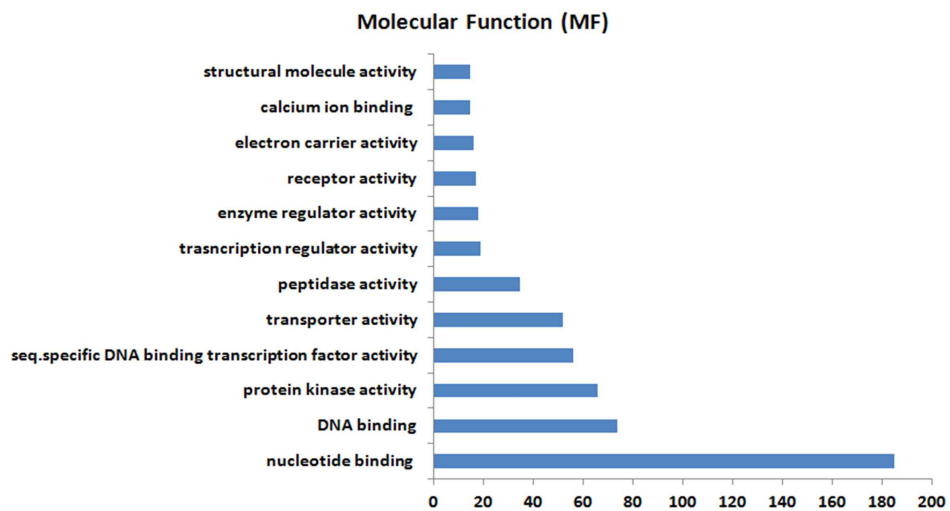


그림 11. GO의 molecular function 카테고리에 대한 하위 카테고리 분석

특히 biological processes(BP) 카테고리에서의 환경 및 비환경 스트레스에 관련된 하위 카테고리를 더욱 자세하게 분석하였다. 그 결과 139개의 EST가 response to stress(SR)에 속하였으며, 113개의 EST가 abiotic stimulus(AS), 57개의 EST가 biotic stimulus(BS)의 카테고리에 속하였다. 또한 81개의 EST는 SR과 AS의 카테고리에, 21개의 EST는 AS와 BS의 카테고리에, 42개의 EST는 BS와 SR의 카테고리에 속하였으며, 16개의 EST는 SR, AS, BS 카테고리 모두에 속하였다(그림 12). 세 가지 하위 카테고리 중 AS에만 속해 있는 113개의 EST에 대한 정보는 표 5와 같다. 이 113개의 EST 유전자를 이용하여 BrGP (Brassica rapa Genome Project)의 microarray 정보로 부터 저온(4℃)에서 크게 발현이 증가되는 12개의 유전자(Bra031349, Bra032023, Bra036648, Bra009355, Bra015499, Bra013945, Bra009705, Bra009356, Bra031307, Bra018288, Bra009382, Bra020611)를 선발하였다(그림 13).

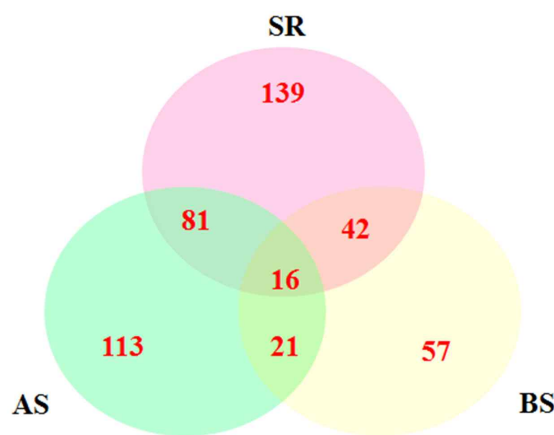


그림 12. BP 카테고리의 스트레스에 관련된 3가지 하위 카테고리에 대한 벤다이어그램 (SR: response to stress, AS: abiotic stimulus, BS: biotic stimulus)

표 5. Abiotic stimulus에 속한 113개의 EST 정보

No.	Seq. Name	Blast with BRAD	identity %	Seq. Description	Seq. Length (bp)	min. eValue	mean Similarity
1	ST3430	Bra031349	99	dead-box atp-dependent rna helicase 53-like	707	8.12E-96	75.25%
2	ST3641	Bra018423	99	glucan water dikinase	684	2.71E-141	92.65%
3	ST3633	Bra032023	99	heat stress transcription factor a-1b	508	3.66E-61	58.60%
4	ST3765	Bra003276	100	autoinhibited calcium atpase	453	1.76E-88	83.55%
5	ST3533	Bra038534	98	calmodulin-binding transcription activator 3	240	2.15E-27	71.80%
6	ST3577	Bra002955	99	glucose-6-phosphate phosphate-translocator	636	4.80E-56	74.25%
7	ST3529	Bra040484	100	pseudo response regulator	242	8.18E-39	89.50%
8	ST3512	Bra040219	100	acyl- binding protein 4	560	2.35E-95	81.05%
9	ST3629	Bra022805	98	root phototropism protein 2	514	5.49E-83	86.45%
10	ST3637	Bra023952	99	cellulose synthase catalytic subunit	648	1.80E-125	93.90%
11	ST3599	Bra037337	100	sodium-dependent phosphate transport protein	618	2.97E-46	69.90%
12	ST3734	Bra039641	100	myosin 1	309	8.34E-56	91.35%
13	ST3639	Bra029673	100	transcriptional adapter ada2a	388	2.45E-44	79.75%

14	ST3724	Bra039869	100	transcription factor jumonji and c5hc2 type zinc finger domain-containing protein	492	3.50E-57	75.35%
15	ST3484	Bra040219	99	acyl- binding protein 4	478	1.20E-80	90.70%
16	ST3746	Bra036648	99	stress-inducible protein	563	2.22E-82	84.80%
17	ST3470	Bra001846	100	udp-glucuronosyl udp-glucosyl transferase family protein	624	3.34E-55	61.50%
18	ST3685	Bra033282	100	cbl-interacting serine threonine-protein kinase 9	706	6.45E-139	88.40%
19	ST3459	Bra025738	99	3-ketoacyl- synthase 4-like	514	3.07E-72	91.85%
20	ST3417	Bra017730	100	phospholipase d delta	648	2.54E-123	84.35%
21	ST3647	Bra013973	100	della protein	564	1.12E-77	63.55%
22	ST3455	Bra005012	88	gamma-glutamyl phosphate reductase	236	9.04E-11	57.05%
23	ST3719	Bra036289	99	xanthine dehydrogenase	416	9.85E-80	89.70%
24	ST3458	Bra000960	100	homeobox-leucine zipper protein anthocyaninless 2-like	758	1.66E-150	85.55%
25	ST3700	Bra025517	100	dna repair endonuclease uvh1	177	2.97E-20	75.53%
26	ST3708	Bra018722	98	abc transporter c family member 4-like	148	1.05E-22	87.50%
27	ST3502	Bra027599	99	tir-nbs-lrr class disease resistance protein	388	2.11E-62	79.75%
28	ST3479	Bra026937	100	cytochrome p450	466	2.30E-80	80.60%
29	ST3737	Bra035381	99	histidine kinase 4	589	9.37E-99	74.45%
30	ST3671	Bra018659	100	rna-directed dna polymerase (reverse transcriptase)-related family protein	350	3.48E-25	57.55%
31	ST3419	Bra009355	100	rna helicase	595	2.30E-125	93.55%
32	ST3749	Bra016908	98	cytochrome p450 monooxygenase	562	7.84E-98	84.00%
33	TC164	Bra035416	100	pyruvate dehydrogenase e1 alpha subunit	1498	0	94.65%
34	TC8463	Bra022864	99	udp-glucuronosyl udp-glucosyl transferase family protein	947	1.72E-179	65.05%
35	TC8716	Bra005183	100	protein sodium-and lithium-tolerant 1	2083	0	82.60%
36	TC509	Bra011671	99	ferulate-5-hydroxylase	1881	0	92.35%
37	TC1929	Bra012676	99	beta-amylase	1989	0	86.50%
38	TC3789	Bra030429	99	cinnamyl alcohol dehydrogenase	2284	0	92.90%
39	TC1751	Bra015499	99	filamentation temperature-sensitive h 2b	2249	0	92.05%
40	TC2253	Bra029328	100	snap25 homologous protein snap33	1044	3.42E-162	76.35%
41	TC4313	Bra011172	99	h(+)-atpase 2	1183	0	97.00%
42	TC4161	Bra013945	100	abscisic acid insensitivity 1b	962	1.79E-93	74.65%
43	TC9004	Bra005541	99	e3 ubiquitin-protein ligase cop1	965	0	83.10%
44	TC8805	Bra009705	99	dual specificity protein phosphatase family protein	851	3.61E-119	80.45%
45	TC5697	Bra009356	99	rna helicase	965	4.20E-166	82.40%
46	TC3994	Bra002129	99	phosphoacetylglucosamine mutase	693	5.52E-78	79.60%
47	TC2968	Bra029198	99	rcc1 and btb domain-containing protein	940	0	90.80%
48	TC8922	Bra005638	99	inositol polyphosphate 5-phosphatase	825	3.09E-160	82.15%
49	TC2429	Bra034941	100	cytochrome p450 monooxygenase	1742	0	85.25%
50	TC599	Bra003781	100	betaine-aldehyde dehydrogenase	1829	0	92.80%

51	TC556	Bra026115	99	pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump 1	1575	0	93.50%
52	TC9033	Bra030524	99	dna repair helicase uvh6	1520	0	94.40%
53	TC4392	Bra031307	100	udp-glucuronosyl udp-glucosyl transferase family protein	1457	0	74.05%
54	TC9088	Bra005031	100	geranylgeranyl transferase type-1 subunit beta	1404	0	77.20%
55	TC8741	Bra004503	99	protein cca1	2011	0	70.75%
56	TC8392	Bra002632	99	protein	519	9.61E-84	74.80%
57	TC8929	Bra023220	100	extra-large gtp-binding protein 3	825	3.66E-89	73.30%
58	TC8972	Bra011554	99	arginine partial	549	2.60E-60	91.25%
59	TC6593	Bra031393	100	glucose-6-phosphate phosphate translocator 2	1006	8.12E-179	85.55%
60	TC5246	Bra013604	100	immutans protein	1251	0	81.05%
61	TC5115	Bra034863	100	omega-3 fatty acid desaturase	1695	0	88.10%
62	TC5114	Bra001392	100	omega-3 fatty acid desaturase	1696	0	88.25%
63	TC8596	Bra027152	98	phosphatidylinositol 3-kinase	1000	0	87.95%
64	TC8974	Bra004283	99	c2h2-like zinc finger protein	872	1.56E-134	93.65%
65	TC8160	Bra036319	99	abc1 protein	803	7.28E-60	68.58%
66	TC8550	Bra017742	100	glycine-rich protein	748	1.08E-62	64.60%
67	TC9072	Bra037533	100	abscisic acid-insensitive 5-like protein 7	655	5.71E-79	74.70%
68	TC2162	Bra015815	100	tubulin beta-1 chain	1543	0	98.00%
69	TC3852	Bra000263	100	cold-regulated protein cor15b precursor	716	2.97E-79	82.90%
70	TC3441	Bra003748	100	probable salt tolerance-like protein at1g75540-like	1077	4.43E-154	66.65%
71	TC8632	Bra005176	100	expansin	971	0	91.50%
72	TC2198	Bra009244	100	ribulose-phosphate 3- chloroplastic-like	1265	4.12E-170	91.15%
73	TC755	Bra003633	96	v-type proton atpase catalytic subunit a	2596	0	97.70%
74	TC8562	Bra040094	99	hat4	945	4.40E-123	97.40%
75	TC9027	Bra020611	99	protein far1-related sequence 10	918	1.15E-129	73.40%
76	TC8599	Bra025579	99	protein	1523	0	86.75%
77	TC1103	Bra027115	98	dna helicase	1035	0	87.75%
78	TC5754	Bra016749	100	transcription factor ice1	1133	5.60E-96	58.60%
79	TC8407	Bra016740	99	cytochrome p450	911	2.69E-166	74.50%
80	TC1763	Bra034556	99	nbs-lrr resistance protein	1349	0	73.25%
81	TC3196	Bra018700	99	dihydrolipoyl dehydrogenase 1	1949	0	94.20%
82	TC1752	Bra018288	100	atp-dependent zinc metalloprotease ftsh chloroplastic-like	2272	0	91.50%
83	TC2205	Bra027127	99	atp-citrate lyase a-1	1522	0	95.40%
84	TC8855	Bra013145	99	nuclear cap-binding protein	1040	0	83.15%
85	TC6983	Bra001090	99	at5g17920 mpi7_60	1336	0	93.65%
86	TC1485	Bra033901	100	atp sulfurylase	1837	0	91.35%
87	TC3735	Bra016683	99	purple acid phosphatase	1210	1.59E-160	82.65%

88	TC8420	Bra019539	100	protein-l-isoaspartate o-methyltransferase	941	3.39E-96	84.10%
89	TC8535	Bra017949	100	f-box family protein	986	1.97E-177	83.15%
90	TC8397	Bra024097	99	vernalization5 vin3-like protein	2011	0	62.80%
91	TC1873	Bra024749	100	3-ketoacyl- synthase	1761	0	91.95%
92	TC1984	Bra015634	100	ethylene-responsive transcription factor rap2-4	1809	2.78E-165	69.25%
93	TC1975	Bra013507	94	ribophorin ii family protein	1090	0	79.65%
94	TC6055	Bra025392	99	glycosyl family 35 protein	2707	0	86.15%
95	TC3129	Bra024413	99	receptor-like protein kinase	2095	0	90.85%
96	TC8985	Bra007632	99	dof zinc finger protein	746	1.79E-24	92.65%
97	TC8094	Bra017317	99	wwe protein-protein interaction domain family protein	886	3.11E-118	67.75%
98	TC8667	Bra006185	100	bidirectional sugar transporter n3-like	772	6.35E-146	80.35%
99	TC8566	Bra020566	100	protein dehydration-induced 19 homolog 3-like isoform 1	1017	1.03E-97	73.00%
100	TC8639	Bra020017	100	phytochrome-interacting factor	823	3.67E-98	85.30%
101	TC14327	Bra002046	90	cyclin	843	9.48E-58	83.25%
102	TC543	Bra035951	99	protein cobra	823	8.27E-138	90.60%
103	TC8625	Bra037953	100	atfro6 fro6	530	1.26E-49	76.65%
104	TC8800	Bra000019	99	aldo-keto reductase family 4 member c9-like	1046	4.22E-153	87.40%
105	TC4747	Bra018970	100	tsk-associating protein 1	626	5.70E-55	64.33%
106	TC2292	Bra005751	99	protein lhy cca1-like 1	646	2.00E-88	76.30%
107	TC3978	Bra000039	99	auxin transporter-like protein 1	838	2.42E-147	88.45%
108	TC8703	Bra011485	99	abscisic acid-insensitive 5-like protein 6	827	7.59E-22	93.00%
109	TC8702	Bra011485	99	abscisic acid-insensitive 5-like protein 6	746	6.85E-86	67.25%
110	TC8102	Bra009382	99	calmodulin-binding transcription activator 1	502	5.26E-105	77.10%
111	TC1974	Bra013507	96	ribophorin ii family protein	753	3.05E-116	87.50%
112	TC5477	Bra030253	98	inositol-3-phosphate synthase	1831	0	97.85%
113	TC4202	Bra017443	98	della protein	2169	0	91.60%

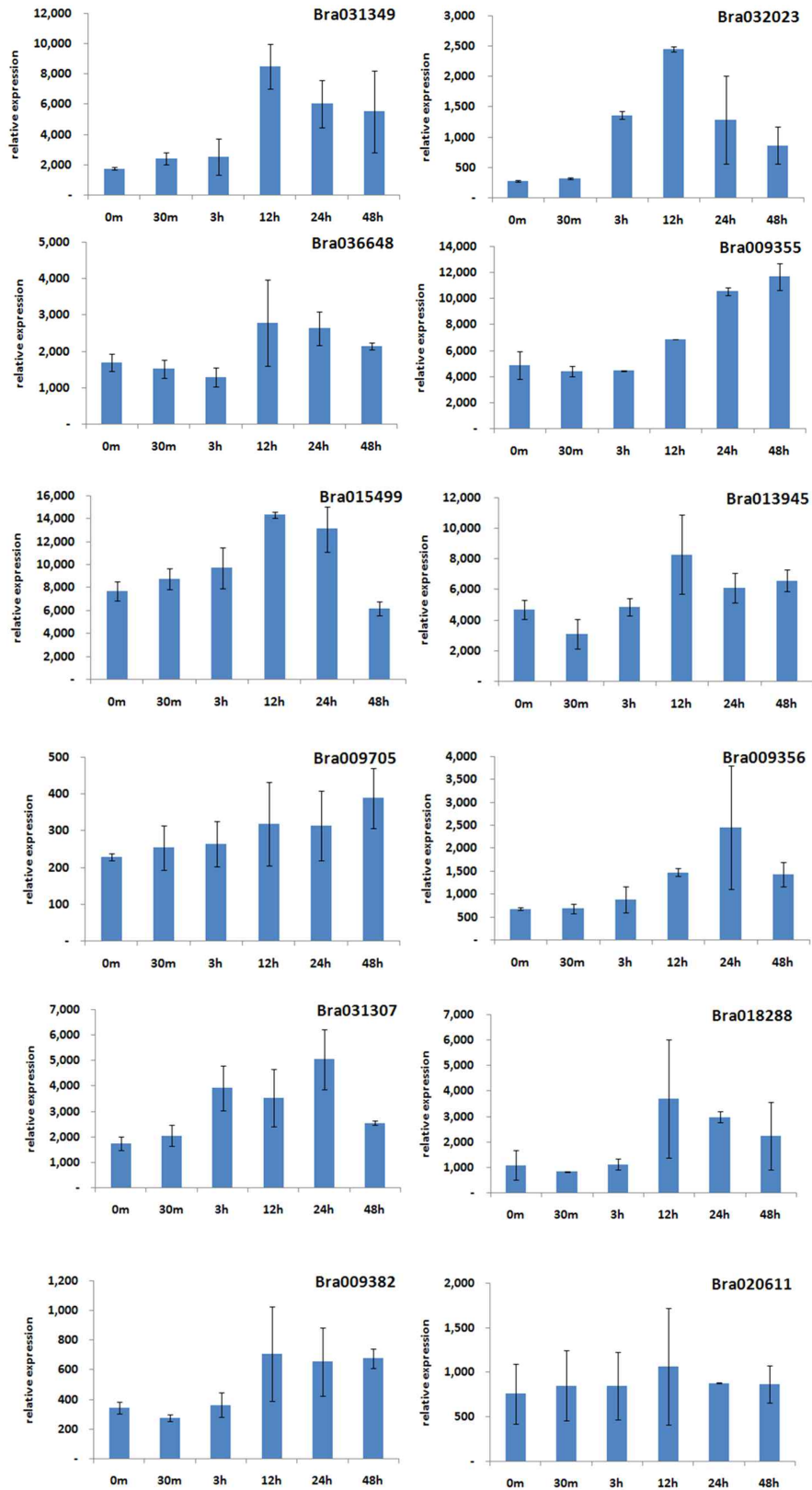


그림 13. BrGP (Brassica rapa Genome Project) microarray의 저온(4°C)에서 발현이 증가되는 12개 유전자

다. *Br24K* microarray 정보를 이용한 저온 반응성 유전자의 동정

보유 중인 *Br24K* microarray 정보를 이용하여 지부와 권심 모두에서 높은 발현을 보인 22개의 유전자와 지부에서만 특이적으로 높은 발현을 보인 21개 유전자를 선별하였다(표 6, 표 7). 이들 유전자 각각에 대한 정보는 표 8, 표 9와 같다. 또한 이 43개 유전자들을 다시 *BrGP* (*Brassica rapa* Genome Project)의 microarray 정보를 이용하여 저온처리(4°C)에서 크게 발현이 증가되는 8개의 유전자(Bra031521, Bra012845, Bra006146, Bra020541, Bra037232, Bra026701, Bra011208, Bra034103)를 선별하였다(그림 14).

표 6. *Br24K* microarray에서 지부와 권심 모두에서 저온에 높은 발현을 보인 유전자들

No.	Seq ID	At. homologue	지부 22°C	지부 4°C	권심 22°C	권심 4°C	지부 4°C/22°C	권심 4°C/22°C
1	BRAS0001S00012498	AT1G27100	469	8,048	427	11,048	17.1	25.9
2	BRAS0001S00001571	AT2G42530	448	6,108	907	12,196	13.6	13.4
3	BRAS0001S00000857	AT1G52030	239	3,033	913	8,124	12.7	8.9
4	BRAS0001S00001092	AT1G28370	1,540	19,109	2,735	29,659	12.4	10.8
5	BRAS0001S00029402	No Hit	251	2,902	2,311	5,189	11.6	2.2
6	BRAS0001S00004493	AT1G51760	547	6,054	2,202	7,420	11.1	3.4
7	BRAS0001S00014249	AT1G28370	1,578	17,258	2,623	31,827	10.9	12.1
8	BRAS0001S00029359	AT5G07350	1,445	15,461	1,911	22,962	10.7	12.0
9	BRAS0001S00013399	AT2G46510	470	5,032	1,632	6,904	10.7	4.2
10	BRAS0001S00006653	AT1G60190	876	9,193	534	14,451	10.5	27.1
11	BRAS0001S00018555	AT4G30350	848	8,151	1,068	7,664	9.6	7.2
12	BRAS0001S00009958	AT5G15850	721	6,211	1,297	20,702	8.6	16.0
13	BRAS0001S00002479	AT1G74430	1,981	16,443	1,789	4,663	8.3	2.6
14	BRAS0001S00003313	AT2G18680	1,897	15,613	1,773	16,895	8.2	9.5
15	BRAS0001S00019648	AT2G36440	700	5,741	639	16,118	8.2	25.2
16	BRAS0001S00012222	AT3G51660	558	4,387	1,220	4,940	7.9	4.0
17	BRAS0001S00014048	AT3G10300	2,709	21,192	7,104	44,830	7.8	6.3
18	BRAS0001S00003204	AT2G34930	762	5,919	1,058	3,994	7.8	3.8
19	BRAS0001S00029058	AT5G60600	526	4,030	1,209	5,274	7.7	4.4
20	BRAS0001S00000132	AT4G20890	299	2,278	1,020	3,105	7.6	3.0
21	BRAS0001S00011324	AT1G71697	1,826	13,702	2,554	22,082	7.5	8.6
22	BRAS0001S00026260	AT5G05190	1,020	7,538	1,739	7,778	7.4	4.5

표 7. *Br24K* microarray에서 지부에서만 저온에 높은 발현을 보인 유전자들

No.	Seq ID	At. homologue	지부 22°C	지부 -4°C	권심 22°C	권심 -4°C	지부 -4°C/22°C	권심 -4°C/22°C
-----	--------	---------------	---------	---------	---------	---------	--------------	--------------

1	BRAS0001S00020457	AT1G45015	1,041	9,504	17,387	9,256	9.1	1.9
2	BRAS0001S00013377	AT5G48850	576	3,769	824	903	6.5	0.9
3	BRAS0001S00003200	AT5G23960	341	2,141	208	201	6.3	1.0
4	BRAS0001S00011635	AT1G66720	383	2,387	494	414	6.2	1.2
5	BRAS0001S00022128	AT4G30470	1,040	5,702	5,673	4,592	5.5	1.2
6	BRAS0001S00003420	AT3G56060	453	2,422	1,409	1,672	5.3	0.8
7	BRAS0001S00004816	AT2G24210	973	5,061	10,770	12,623	5.2	0.9
8	BRAS0001S00011757	AT5G38340	1,007	5,162	1,027	1,179	5.1	0.9
9	BRAS0001S00019407	AT2G20610	2,253	10,705	13,381	17,473	4.8	0.8
10	BRAS0001S00026259	AT1G09480	744	3,506	887	690	4.7	1.3
11	BRAS0001S00029062	AT5G57015	779	3,653	833	1,036	4.7	0.8
12	BRAS0001S00020944	AT5G15600	1,379	6,095	3,100	2,141	4.4	1.4
13	BRAS0001S00002363	AT3G17860	978	4,310	3,007	4,203	4.4	0.7
14	BRAS0001S00018446	AT5G22500	1,637	6,853	9,362	12,035	4.2	0.8
15	BRAS0001S00000926	AT4G12480	869	3,511	11,168	11,404	4.0	1.0
16	BRAS0001S00022709	No Hit	401	1,606	1,039	910	4.0	1.1
17	BRAS0001S00008883	AT3G45140	839	3,255	4,094	2,188	3.9	1.9
18	BRAS0001S00001873	AT3G22930	484	1,874	453	505	3.9	0.9
19	BRAS0001S00004723	AT3G51670	432	1,664	1,230	1,717	3.9	0.7
20	BRAS0001S00019843	AT5G26260	804	3,030	17,227	19,547	3.8	0.9
21	BRAS0001S00003996	AT2G32870	2,257	7,911	22,932	25,095	3.5	0.9

표 8. *Br*24K microarray에서 지부와 권심 모두에서 저온에 높은 발현을 보인 유전자 정보

No.	Seq Id	BRAD Id	Identity	Sequence description
1	BRAS0001S00012498	Bra016306	100	hypothetical protein [A. thaliana]
2	BRAS0001S00001571	Bra000263	100	low-temperature regulated protein BN115 14.8 kda protein [B. napus]
3	BRAS0001S00000857	Bra018941	100	myrosinase-binding protein [B. napus]
4	BRAS0001S00001092	Bra010880	100	putative ethylene-responsive element binding factor [B. rapa]
5	BRAS0001S00029402	Bra014427	81	AGP20 (ARABINOGALACTAN PROTEIN 20) Arabinogalactan peptide 20 precursor (AG-peptide 20) putative protein
6	BRAS0001S00004493	Bra018932	100	IAA-amino acid hydrolase 3 [B. rapa]
7	BRAS0001S00014249	Bra010880	100	
8	BRAS0001S00029359	Bra006082	99	null
9	BRAS0001S00013399	Bra004532	98	At2g46510/F13A10.4 [A. thaliana]

10	BRAS0001S00006653	Bra031521	100	armadillo/beta-catenin repeat family protein / U-box domain-containing protein, U-box domain-containing protein 19, Contains similarity to zinc-binding protein (PWA33)
11	BRAS0001S00018555	Bra024084	99	heat shock protein-related putative protein
12	BRAS0001S00009958	Bra008668	98	constans-like 1 protein [B. juncea]
13	BRAS0001S00002479	Bra015912	99	MYB95 (myb domain protein 95); DNA binding / transcription factor
14	BRAS0001S00003313	Bra038546	100	unknown protein [A. thaliana]
15	BRAS0001S00019648	Bra034552	100	F-box/LRR-repeat protein 15
16	BRAS0001S00012222	Bra012845	100	LS1-like protein [A. thaliana]
17	BRAS0001S00014048	Bra034103	100	calcium-binding EF hand family protein, Unknown protein
18	BRAS0001S00003204	Bra005378	99	disease resistance family protein
19	BRAS0001S00029058	Bra006839	98	CKL12 (Casein Kinase I-like 12); casein kinase I/ kinase
20	BRAS0001S00000132	Bra020912	100	TUB9 (tubulin beta-9 chain); structural molecule
21	BRAS0001S00011324	Bra016126	100	ATCK1 (CHOLINE KINASE)
22	BRAS0001S00026260	Bra005847	97	unknown protein

표 9. *Br24K* microarray에서 지부에서만 높은 발현을 보인 유전자 정보

No.	Seq Id	BRAD Id	Identity	Sequence description
1	BRAS0001S00020457	Bra028884	99	MD-2-related lipid recognition domain-containing protein / ML domain-containing protein
2	BRAS0001S00013377	Bra023965	100	KNAT5 (KNOTTED1-LIKE HOMEBOX GENE 5)
3	BRAS0001S00003200	Bra009717	93	putative delta-cadinene synthase, PUP8
4	BRAS0001S00011635	Bra004175	100	AtPP protein [B. napus]
5	BRAS0001S00022128	Bra024073	100	cinnamoyl-CoA reductase-related
6	BRAS0001S00003420	Bra007212	93	unknown
7	BRAS0001S00004816	Bra000568	99	TPS10 (TERPENE SYNTHASE 10); myrcene/(E)-beta-ocimene synthase, putative limonene cyclase
8	BRAS0001S00011757	Bra006146	99	disease resistance protein
9	BRAS0001S00019407	Bra036703	100	ROOTY/SUPERROOT1
10	BRAS0001S00026259	Bra020019	100	cinnamyl-alcohol dehydrogenase family / CAD family
11	BRAS0001S00029062	Bra034648	88	arginine decarboxylase [Brassica juncea]
12	BRAS0001S00020944	Bra008685	97	nitrilase associated protein-like
13	BRAS0001S00002363	Bra021281	100	JAI3/JAZ3/TIFY6B (JASMONATE-ZIM-DOMAIN PROTEIN 3)
14	BRAS0001S00018446	Bra002416	100	acyl CoA reductase, putative / male-sterility protein, putative, male sterility 2-like protein
15	BRAS0001S00000926	Bra029456	100	pEARLI 1; lipid binding
16	BRAS0001S00022709	Bra040589	100	SFR3 [B. oleracea]

17	BRAS0001S00008883	Bra004057	98	lipoxygenase 2 [B. napus]
18	BRAS0001S00001873	Bra023786	98	calmodulin, putative
19	BRAS0001S00004723	Bra012843	100	SEC14 cytosolic factor family protein / phosphoglyceride transfer family protein
20	BRAS0001S00019843	Bra020541	100	meprin and TRAF homology domain-containing protein / MATH domain-containing protein
21	BRAS0001S00003996	Bra022923	99	meprin and TRAF homology domain-containing protein / MATH domain-containing protein

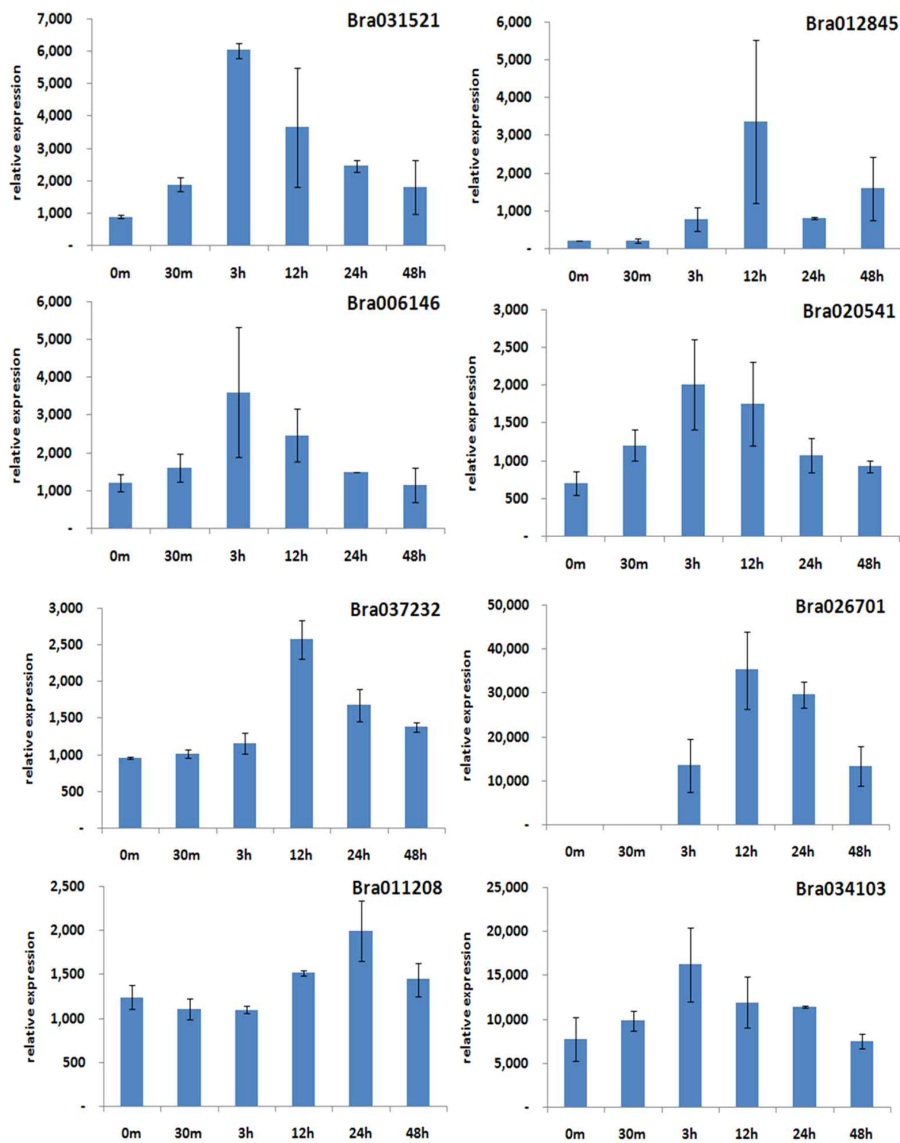


그림 14. BrGP (Brassica rapa Genome Project) microarray의 저온(4°C)에서 발현이 증가되는 8개 유전자

라. 선발한 20개 유전자에 대한 KEGG 결과

Brassica rapa Tissue-Specific EST Database에서 선발한 12개 유전자와 *Br24K* microarray data에서 선발한 8개의 유전자를 정보를 이용하여 KEGG 분석을 수행하였다. 그 결과 5개의 유전자가 adenosine triphosphatase, nucleoside-triphosphatase, phosphorylase, 5-amino-6-(5-phosphoribosylamino)uracil reductase의 enzyme합성에 관여하는 것을 나타내었다. 그리고 물질 대사 경로로는 purine metabolism, thiamine metabolism, starch and sucrose metabolism, riboflavin metabolism에 관여하였다(표 10). 이에 대한 경로의 map은 그림 15, 그림 16, 그림 17, 그림 18와 같다.

표 10. 선발한 20개 유전자에 대한 KEGG 결과

Enzyme	Seqs	Pathway Id
adenosine triphosphatase	Bra037232	purine metabolism
nucleoside-triphosphatase	Bra006146	purine metabolism
nucleoside-triphosphatase	Bra006146	thiamine metabolism
phosphorylase	Bra009705	starch and sucrose metabolism
5-amino-6-(5-phosphoribosylamino)uracil reductase	Bra009705	riboflavin metabolism

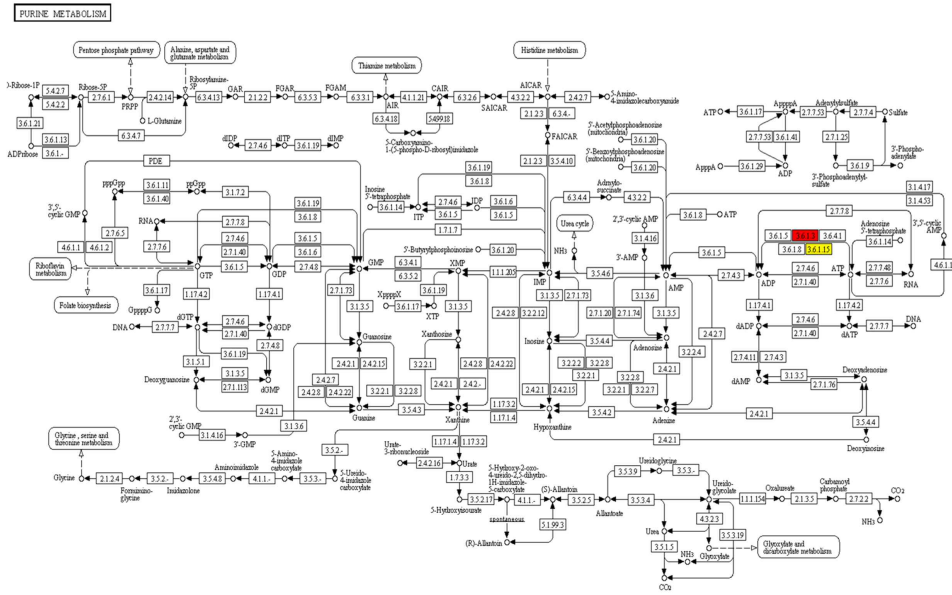


그림 15. Purine metabolism의 경로

STARCH AND SUCROSE METABOLISM

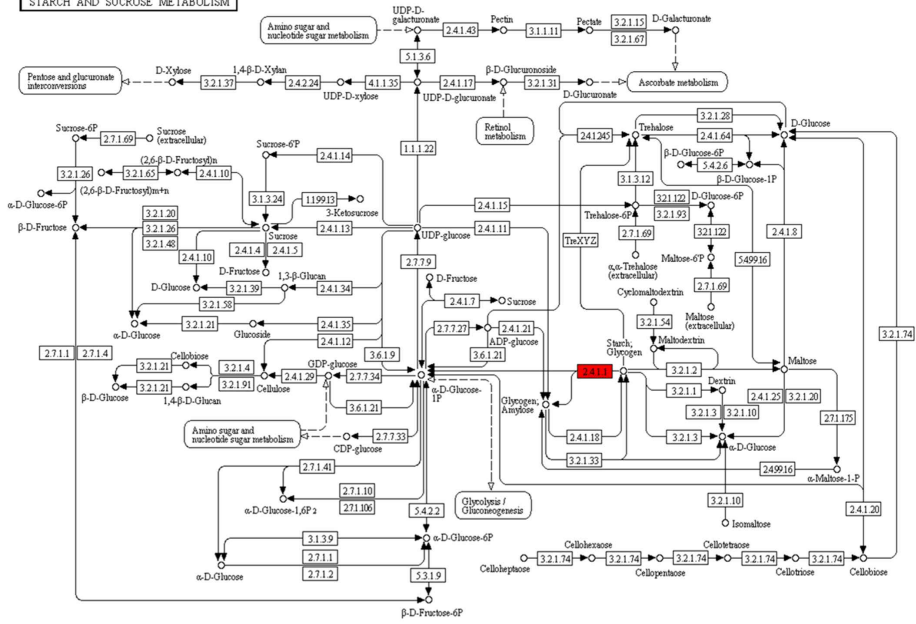


그림 16. Starch and sucrose metabolism의 경로

THIAMINE METABOLISM

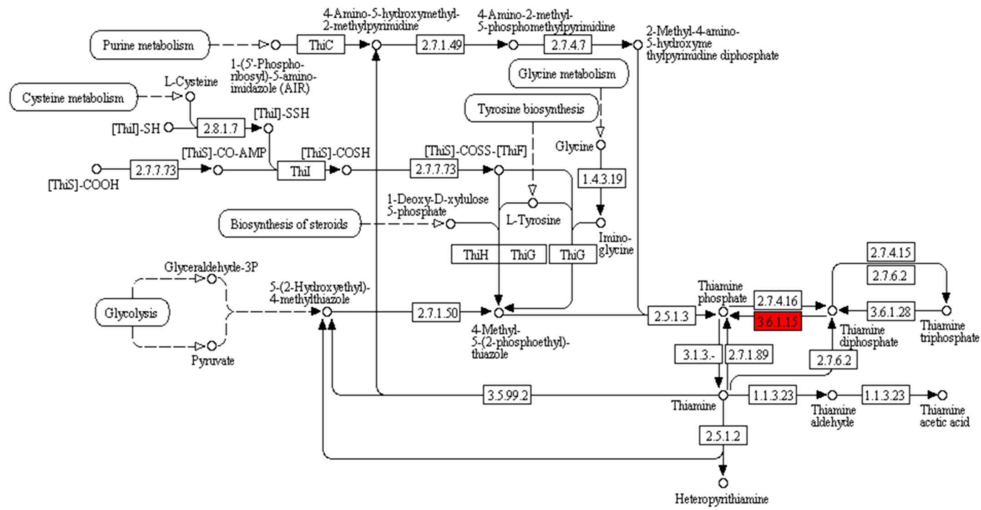


그림 17. thiamine metabolism의 경로

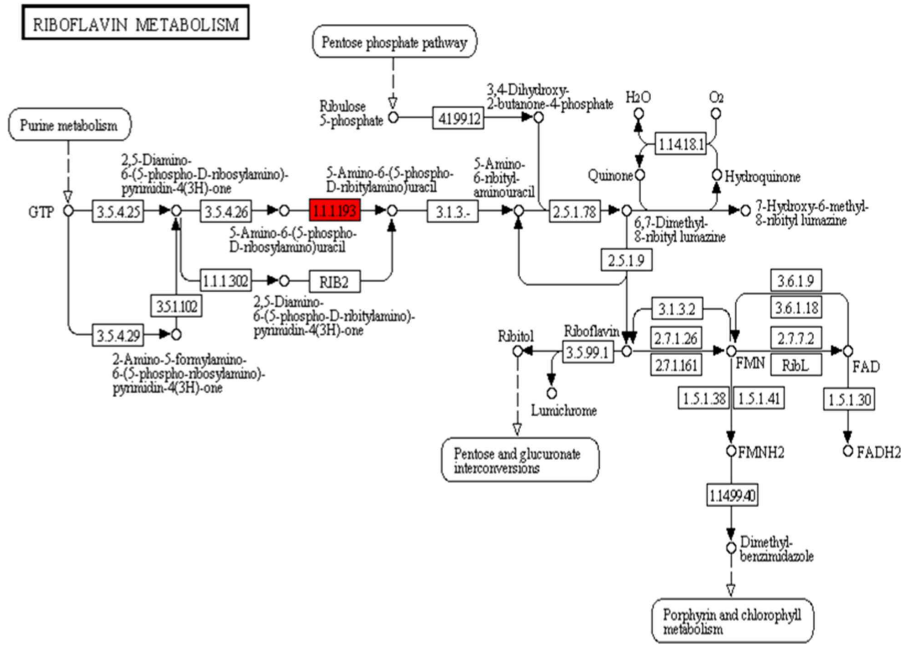


그림 18. Riboflavin metabolism의 경로

마. 20개 유전자에 대한 RT-PCR

위의 microarray 정보를 이용하여 선발한 총 20개의 CRG(cold responsive gene) 유전자의 PCR산물이 약 200 bp가 되도록 primer를 디자인하였다(표 11). 선발된 유전자들의 기관 특이성을 알아보기 위하여 root, stem, leaf 그리고 flower의 각각의 조직에서 mRNA를 추출하여 발현양상을 관찰하였다. 그 결과 20개의 유전자들은 거의 모든 기관에서 발현을 나타내었다. 대부분의 유전자들이 root에서의 발현양상은 비교적 적었고, stem, leaf, flower에서는 대부분 발현양이 많았다. 선발된 유전자들을 이용하여 배추의 지부(눈나라배추 품종), 권심(아시아알과인 배추 품종) 및 지부/권심 혼합형태(월동천하배추 품종)를 나타내는 품종을 재료로 하여 저온 처리(3°C, -2°C, -6°C) 후 RT-PCR을 수행하였다. 그 결과 BrCRG1, BrCRG2, BrCRG3, BrCRG5, BrCRG7, BrCRG8, BrCRG9, BrCRG11, BrCRG12, BrCRG13, BrCRG14, BrCRG17, BrCRG18, BrCRG19, BrCRG20 유전자들이 저온에 반응하여 발현양이 증가하였다. 특히, 지부와 권심의 발현 패턴이 BrCRG1, BrCRG2, BrCRG4, BrCRG5, BrCRG9, BrCRG14 유전자들에서는 확연히 다른 양상을 나타내었다. 그리고 지부/권심의 발현 패턴은 지부의 발현 패턴과 비슷하였으나 권심의 발현 패턴과는 상의하였다. 이것은 지부가 권심에 우성의 성질을 가진다고 생각된다(그림 19).

표 11. 선발된 20개 유전자에 대한 Primer 정보

BRAD Id	Clone Id	Primer sequence (5' → 3')		Pro. length (bp)
		Forward primer	Reverse primer	
Bra031349	BrCRG1	GAATCTATCAGAGGTTTCAG	AACAAGATCAATCGTCAA	199
Bra032023	BrCRG2	CAAGTCACCGAGCATCATCTG	CGTAACCGCCAGAGAACTTC	200
Bra036648	BrCRG3	ACCACTTCACCGAAGCAATC	GCTTCTTCGAGCTGGTTCAG	199

Bra009355	BrCRG4	CGTGTTTCGTCGAAATGTAGAG	TCTCTATCACCAAACCGGTTG	200
Bra015499	BrCRG5	CAAACGCAGATGAACAAGGA	CTCTTGACTCAACCCCGGTA	194
Bra013945	BrCRG6	TATGCCTTTCATGCCGTTCC	GACGACGACGACGATGATG	200
Bra009705	BrCRG7	CCTGCAAACCTCTTACTAACC	AGGACTGCGAGACCAAACG	180
Bra009356	BrCRG8	ATTGCGTTCAAGAGGGTAGTG	ATGGATCTCTCTGACGTTTACG	200
Bra031307	BrCRG9	AAGACCGCCTCCACTACAAC	GTTGGCCACATCAATCATCTC	200
Bra018288	BrCRG10	AAGGGAGTTCTGCTCATTGGT	ATCAACAAAGACGATGCAAGG	198
Bra009382	BrCRG11	TGGCTCATCCATAAAGTGACC	GTTTCCTCCCTGCCACTAAAC	203
Bra031521	BrCRG12	TGGTTATTTCGTGGCTTAAACG	CTTGACGGAGACGTTACCAAC	200
Bra012845	BrCRG13	CGTTCTACTCGGAAGTCACCA	ACCAACGGTTGAAATAAGCTG	191
Bra006146	BrCRG14	TCATTCAAGCAACTGGTTAGT	CATGTTTCGAAATATCAGTGGT	199
Bra020541	BrCRG15	ACGCAAGGCAGAGGAACTG	CCATCGTTAGCATTACCAACC	200
Bra037232	BrCRG16	TCCTAACCCCTCCATCGCTTG	CGTTGATTATCGACGAGAATC	200
Bra026701	BrCRG17	CCAAACATAGAAGGAAAGGAT	CAGTACCATATGACTGCTGCT	214
Bra011208	BrCRG18	CTGCGAGATCTTAATAGC	CACTGTAATCCTGAGTTT	182
Bra020611	BrCRG19	CCTAACCAAACAAGTCCTTGC	GCTCTAACAGCTTCACGATCC	200
Bra034103	BrCRG20	CAAGCCGCACAAAGAAAAGC	GAAGCAAGTCACGATGTTCG	200

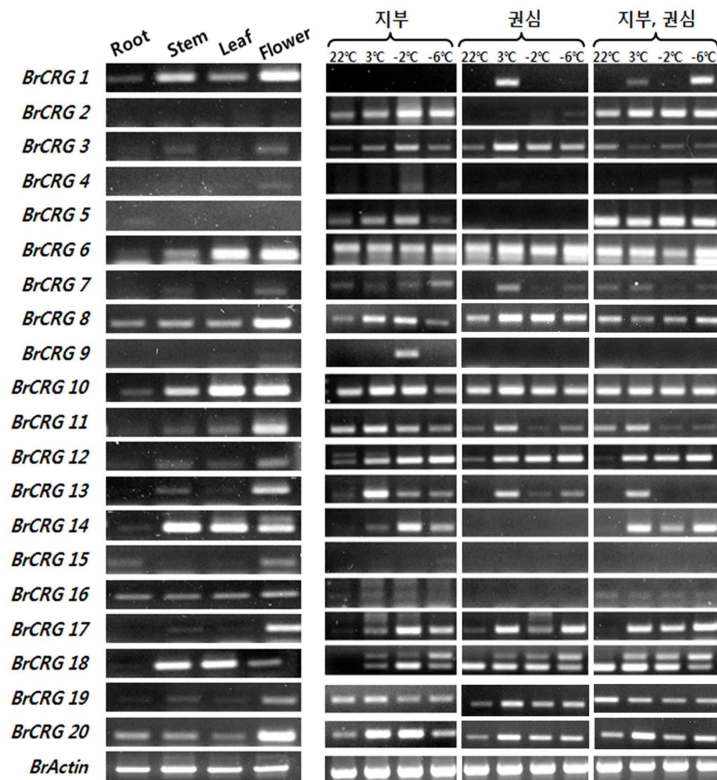
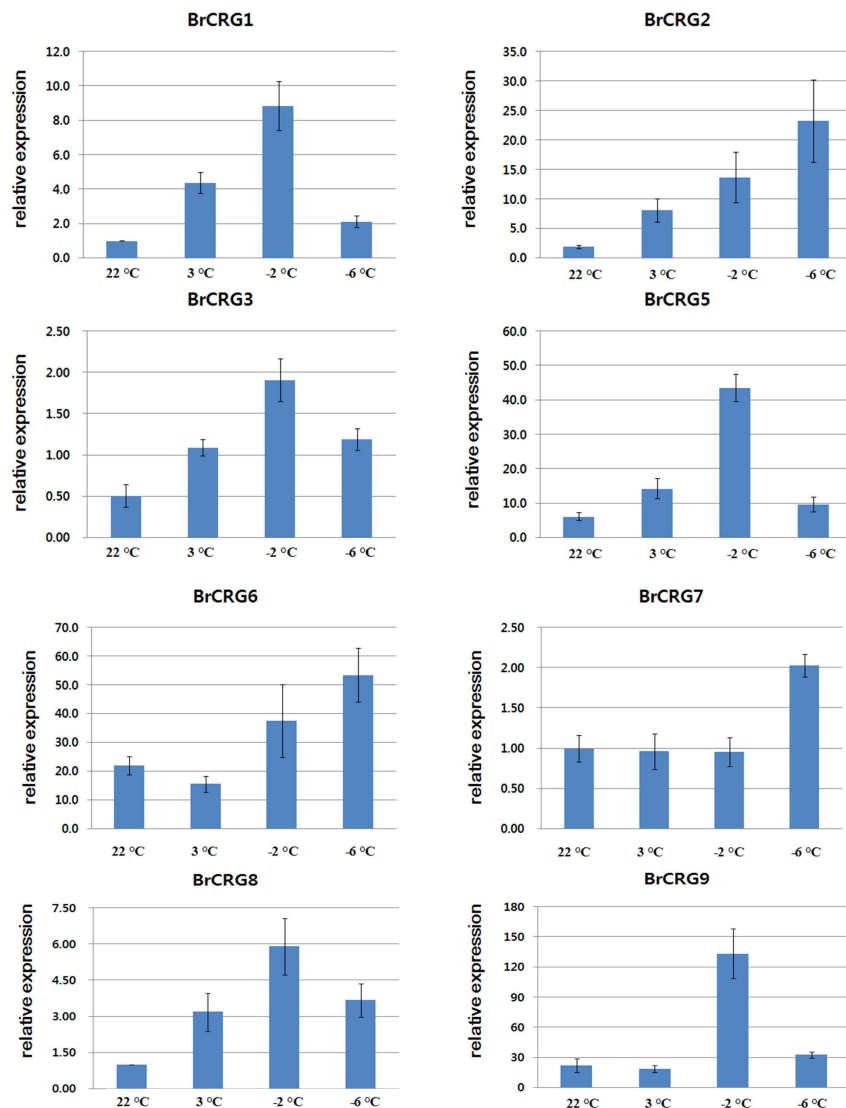


그림 19. 저온에 반응하는 20개 유전자에 대한 RT-PCR 결과
(지부: 눈나라배추, 권심: 아시아알파인배추, 지부/권심: 월동천하배추)

바. 20개 유전자에 대한 Real-time PCR

선발된 20개의 유전자에 대하여 Real-time PCR을 수행하였다. 그 결과 지부에서는 BrCRG1, BrCRG2, BrCRG3, BrCRG5, BrCRG6, BrCRG7, BrCRG8, BrCRG9, BrCRG10, BrCRG12, BrCRG13, BrCRG14, BrCRG17, BrCRG18, BrCRG20의 15개 유전자가 저온에 대하여 반응을 나타내었다(그림 20). 권심에서는 BrCRG1, BrCRG2, BrCRG3, BrCRG7, BrCRG8, BrCRG11, BrCRG12, BrCRG13, BrCRG17, BrCRG18, BrCRG20의 11개 유전자가 저온에 대하여 반응을 나타내었다(그림 21). 또한 지부/권심 혼합형태에서는 BrCRG1, BrCRG2, BrCRG3, BrCRG5, BrCRG11, BrCRG12, BrCRG13, BrCRG17, BrCRG18, BrCRG20의 10개의 유전자가 저온에 대하여 반응을 나타내었다(그림 22). 눈나라배추, 아시아알파인 배추 및 월동천하배추의 3품종 모두에서 저온에 대하여 발현을 보인 유전자로는 BrCRG1, BrCRG2, BrCRG3, BrCRG12, BrCRG13, BrCRG17, BrCRG18, BrCRG20의 8개의 유전자였다. 또한 3품종에 있어서 저온에 대한 발현 양상이 상의하게 나타난 유전자로는 BrCRG5, BrCRG6, BrCRG7, BrCRG8, BrCRG9, BrCRG10, BrCRG11, BrCRG14의 8개 유전자였다.



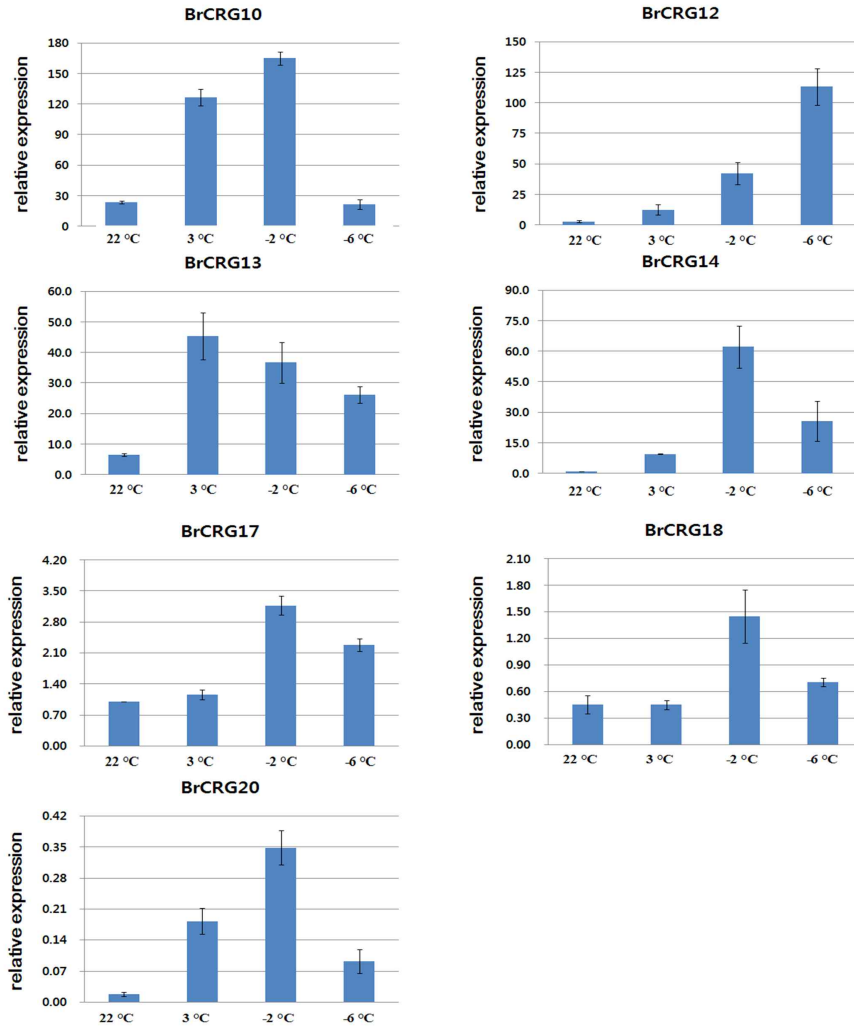
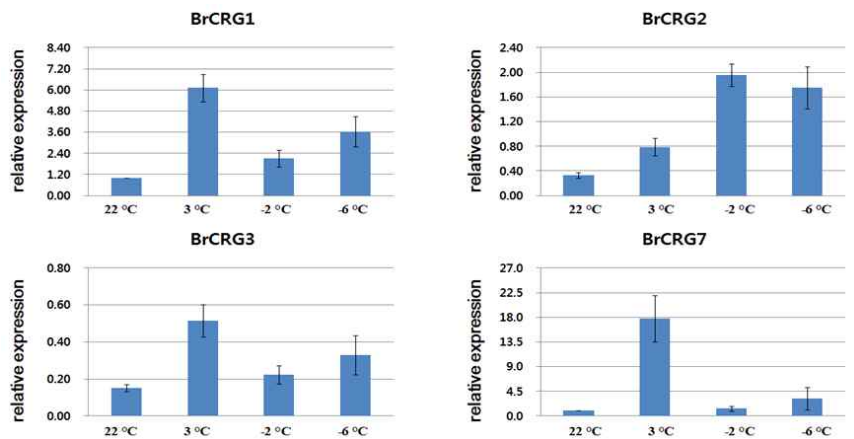


그림 20. 지부에서 저온에 반응을 보인 Real-time PCR 결과



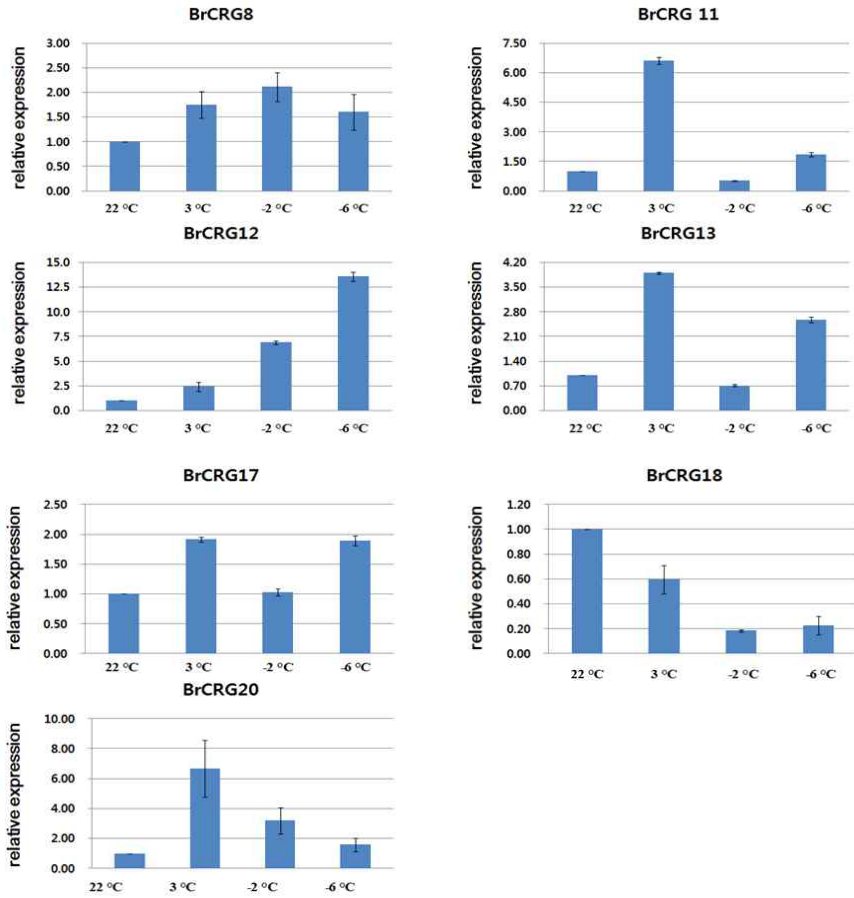
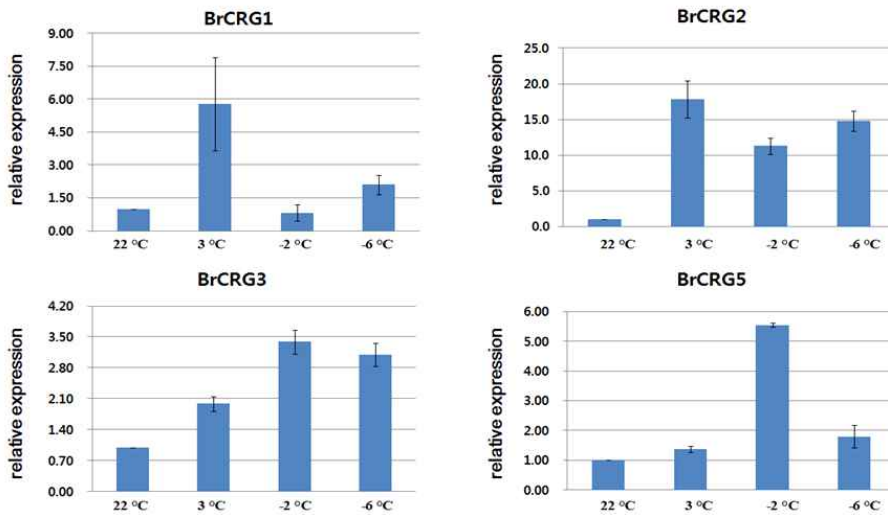


그림 21. 권심에서 저온에 반응을 보인 Real-time PCR 결과



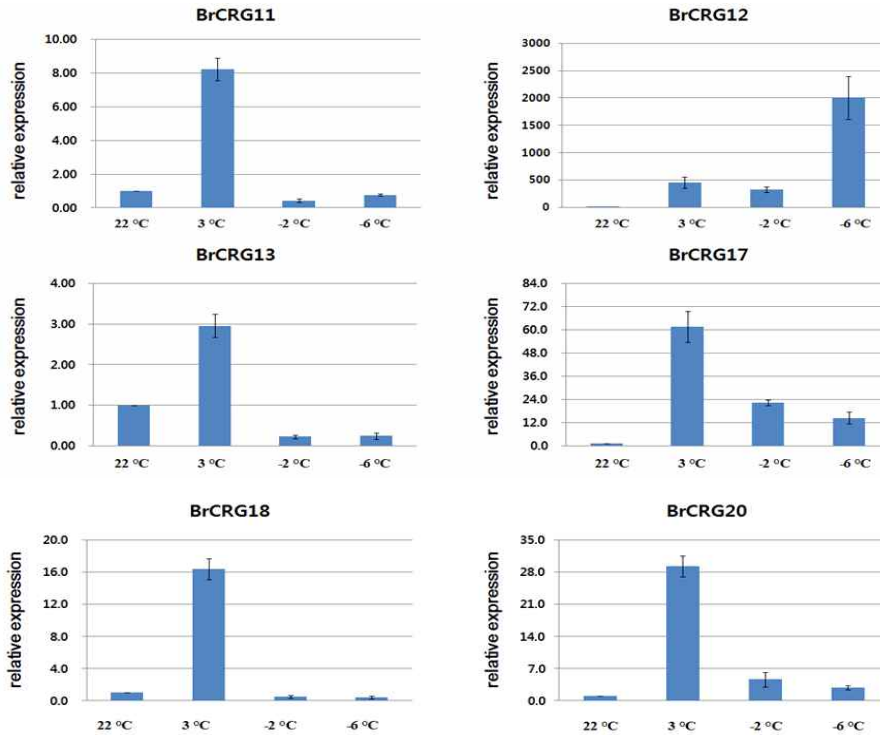


그림 22. 지부/권심 혼합형태에서 저온에 반응을 보인 Real-time PCR 결과

3. Br135K microarray를 이용한 내한성 관련 유전자의 발현분석

Br135K microarray 데이터를 분석한 결과 지부 특이적, 권심 특이적, 지부/권심 모두에서 저온에 반응하는 각각의 유전자들을 대량으로 분리할 수 있었다. 먼저 지부 특이적으로 발현이 증가되는 유전자, 권심 특이적으로 발현이 증가되는 유전자, 지부/권심 모두에서 발현이 증가하는 유전자들을 다수 선발하였다. 또한, 지부 특이적으로 발현이 감소하는 유전자, 권심 특이적으로 발현이 감소하는 유전자, 지부/권심 모두에서 발현이 감소하는 유전자들을 다수 선발하였으며 그 예시를 그림 23, 24, 25, 26, 27, 28에 나타내었다.

	SEQ.ID	<i>A. thaliana</i> homologue	<i>A. thaliana</i> homologue Description	C1	C2	C3	C4	C5	C6	K1	K2	K3	K4	K5	K6
공통 유도	Bra013227	AT3G25180	CYP82G1 cytochrome P450, family 82, subfamily G, poly peptide 1	28	4,345	4,186	3,998	132	53	22	1,774	1,978	3,024	2,011	449
	Bra039558	AT4G15248	B-box type zinc finger family protein	40	5,290	5,845	3,184	310	244	29	4,200	5,076	3,326	4,545	451
	Bra016286	AT1G26790	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein	40	5,057	3,780	2,314	163	157	21	4,796	3,979	1,829	5,821	653
	Bra013892	AT4G25433	peptidoglycan-binding LysM domain-containing protein	57	5,294	7,412	7,702	315	203	99	5,187	8,375	11,620	8,034	1,476
	Bra001449	AT3G12320	unknown protein	167	13,378	16,443	15,648	1,477	1,379	77	8,867	11,178	13,163	15,748	3,461
	Bra013113	AT2G15020	unknown protein	123	7,204	8,754	4,408	446	510	348	9,788	12,706	7,383	11,673	1,904
	Bra021734	AT2G31380	STH salt tolerance homologue	442	21,015	22,062	17,479	3,202	3,305	319	14,507	17,254	18,184	18,464	6,892
	Bra022722	AT5G54470	B-box type zinc finger family protein	411	16,438	16,479	16,264	967	1,003	340	11,761	12,318	10,492	16,557	2,946
	Bra033643	AT5G42760	Leucine carboxyl methyltransferase	89	3,166	2,742	1,033	408	501	203	4,260	3,258	1,191	4,908	888
	Bra016945	AT2G41250	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein	273	9,562	8,692	5,912	1,012	863	265	12,433	9,526	6,478	10,498	1,940

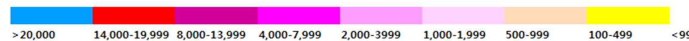


그림 23. 지부와 권심 모두에서 발현이 증가되는 유전자들의 예시 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

	SEQ. ID	<i>A. thaliana</i> homologue	<i>A. thaliana</i> Homologue Description	C1	C2	C3	C4	C5	C6	K1	K2	K3	K4	K5	K6
지부 특이적 유도	Bra033985	AT1G72260	THI2.1, THI2.1.1 thionin 2.1	810	8,924	9,859	5,990	1,497	1,255	118	236	167	177	141	176
	Bra034094	AT3G10120	unknown protein	294	1,448	1,178	993	316	356	276	436	210	264	598	427
	Bra024091	AT4G30230	unknown protein	662	2,761	2,807	1,308	726	635	511	802	674	971	533	480
	Bra039899	AT5G54450	Protein of unknown function (DUF295)	654	2,752	2,535	2,047	598	767	233	359	245	304	258	199
	Bra021122	AT3G15620	UVR3 DNA photolyase family protein	526	1,632	1,654	1,973	674	616	286	406	283	510	379	312
	Bra021165	AT3G16160	Tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein	128	2,229	1,709	2,249	268	426	92	103	56	198	120	71
권심 특이적 유도	Bra014525	AT3G59810	Small nuclear ribonucleoprotein family protein	295	316	167	160	173	141	302	2,503	2,586	2,049	2,687	469
	Bra001343	AT3G08810	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein	405	378	592	451	100	175	146	1,035	1,114	684	1,592	240
	Bra024410	AT5G65690	PCK2, PEPCK phosphoenolpyruvate carboxylase 2	214	188	305	410	598	562	390	1,858	1,639	790	2,447	3,253
	Bra018160	AT3G47340	ASN1, DIN6, AT-ASN1 glutamine-dependent asparagine synthase 1	743	608	912	402	752	664	467	2,111	2,083	1,051	2,316	1,950
	Bra030039	AT1G27330	Ribosome associated membrane protein RAMP4	357	393	425	576	460	386	705	2,821	2,642	2,823	980	1,859

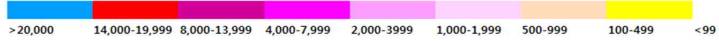


그림 24. 지부 및 권심 특이적으로 발현이 증가되는 유전자들의 예시 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

	SEQ. ID	<i>A. thaliana</i> homologue	<i>A. thaliana</i> homologue Description	C1	C2	C3	C4	C5	C6	K1	K2	K3	K4	K5	K6
지부 감소	Bra034114	AT3G10440	Shugoshin C terminus	3,482	429	403	322	802	723	311	270	305	295	360	353
	Bra027953	AT1G44542	Cyclase family protein	1,505	558	580	594	625	753	407	430	434	326	418	427
	Bra039247	AT5G42180	Peroxidase superfamily protein	1,230	305	580	488	402	391	149	206	176	252	228	204
	Bra025101	AT5G44820	Nucleotide-diphosphoglucosyl transferase family protein	1,203	551	562	229	174	245	128	208	85	168	102	172
	Bra028209	NA	NA	1,096	340	274	475	384	199	76	60	73	92	273	217
	권심 감소	Bra023479	AT5G14620	DRM2, DMT7 domains rearranged methyltransferase 2	371	426	308	349	402	354	9,153	426	370	304	526
Bra035489		NA	NA	306	344	241	335	368	278	1,242	533	438	470	561	608
Bra013044		NA	NA	23	48	35	75	23	64	1,010	365	340	204	278	710

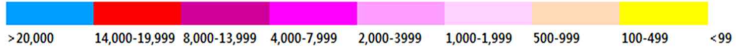


그림 25. 지부 및 권심 특이적으로 발현이 감소되는 유전자들의 예시 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

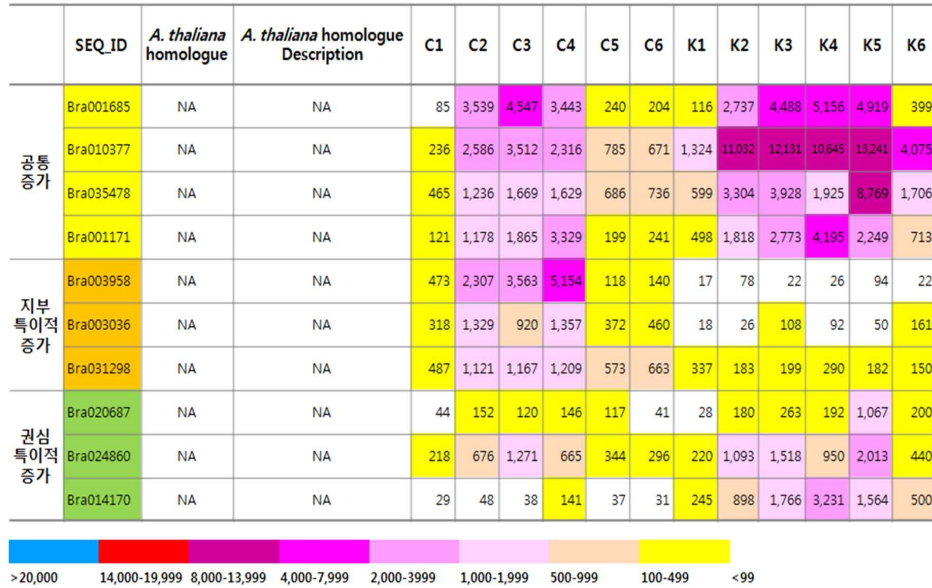


그림 26. 지부, 권심 및 지부/권심 특이적으로 발현이 증가되는 유전자들의 예시 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

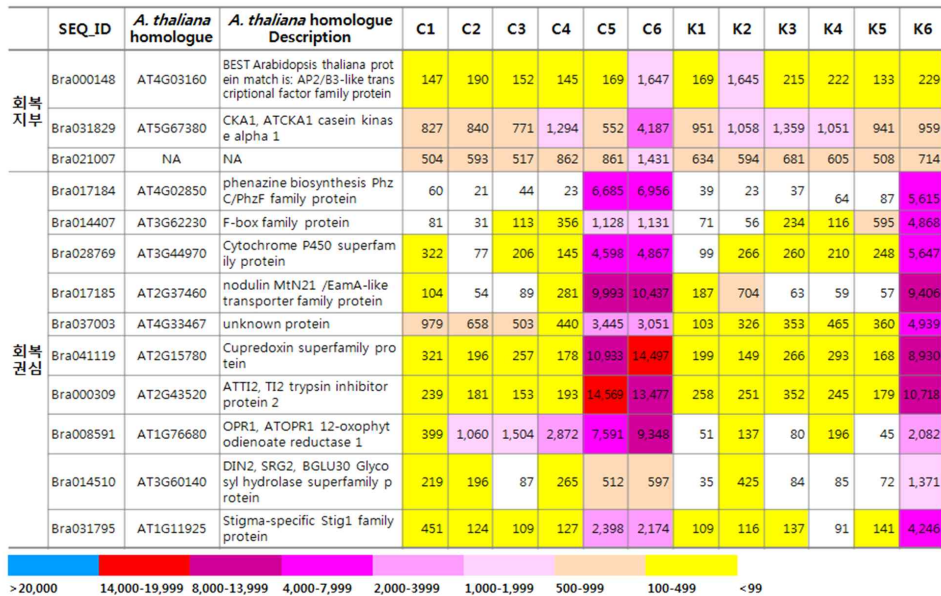


그림 27. 저온처리 후 회복시킨 재료에서 발현이 증가되는 유전자들의 예시 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

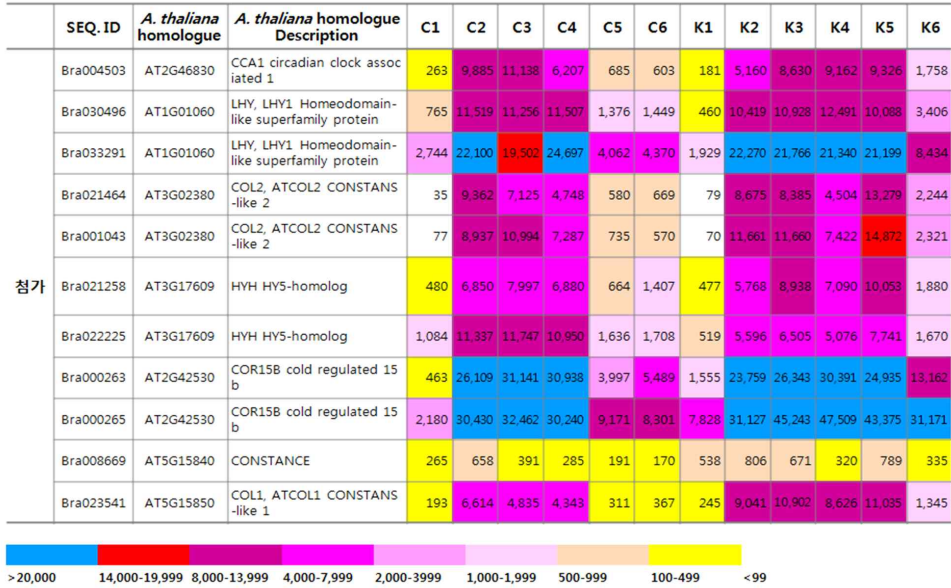


그림 28. 저온에 반응한다고 이미 보고된 중요 유전자들의 발현 예시 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

가. Primer 디자인 및 RT-PCR

Brl35K 저온처리 microarray에서 공통 유도된 10개 유전자, 지부 특이적 유도된 6개 유전자, 권심 특이적 유도된 5개 유전자, 지부감소 유전자 5개, 권심감소 유전자 3개, 공통증가 유전자 4개, 지부 특이적 증가된 3개 유전자, 권심 특이적 증가된 3개 유전자, 회복지부 유전자 3개, 회복권심 유전자 10개, 그 외 이미 저온에 반응한다고 보고된 중요 유전자 11개 총 63개의 유전자 정보를 이용하여 각각의 유전자 특이적으로 primer를 디자인하였다(표 12). 이 63개 유전자가 실제 저온에 반응하는지를 검토하기 위하여 지부와 권심 배추에 저온 처리 후 mRNA를 추출한 후 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA를 이용하여 RT-PCR을 한 결과 microarray의 결과와 거의 비슷한 경향을 나타내었다(그림 29, 30, 31, 32, 33, 34).

표 12. 저온처리에 반응하는 유전자 63개의 primer 정보

SEQ. ID	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')	Size (bp)	Remarks
Bra013227	ATCTGGCATGACCCAGAAAC	CAGACGCCTTATGCAACTCA	193	공통 유도
Bra039558	GAAGAAGAGACGACGGAGGA	TCTCCGAGCAAGAAAATTCG	155	
Bra016286	CAAGCACATCAGTTCCGAGA	AAGGAGGCGAAACAGAGGAT	203	
Bra013892	TGGAGACGAAGGGAAGAAGA	GGGTTACGCTCCACGATAAA	151	
Bra001449	CAGTGTGGCTCTTCGTCAA	CCTGCAACACCAGTTCTTCA	173	
Bra013113	AAAGTGGCTCCGAGAGTGAA	ATCCCTTCCAAAACCATCC	216	
Bra021734	GTCTGCTGCTCCATCTCCTC	TGCCGGTAGAGCTTCTTGAT	163	
Bra022722	AGAATCAGGTGGTGCCATGT	CAAGGTTGCATCTCTCGTCA	203	
Bra033643	CACACAGAGGCAATGCAAGT	AAATTCGCATCTGGATCACC	209	
Bra016945	CAGAAACCATGGGGTCAATC	CCGTTCTTTGATAGCCTTG	196	
Bra033985	TCATGGCGCAAATTCAAGTA	CGAGTTCTGGACAGTGGTCA	164	

Bra034094	TGGTGACAACACCAAGGAGA	TCCAGCCTCTAAGACCCTCA	179	특이적 유도
Bra024091	GCAAGCTCACACGTCGTTTA	ATGGAAACATAACCGGTGGA	225	
Bra039899	CGATGACCCATGCTTCTTTT	CGTGTGCTGCATTTCAAAC	187	
Bra021122	ACCATCTAGCGCGTCACTCT	AGGAGGAGGTAATGCCTGGT	179	
Bra021165	TGCAAATGCAAAAAGAACCAA	AGGGAACCTCTGAGGAGCACA	164	
Bra014525	TGGGAGACCTGTTGTTGTGA	ATTGTTTCCACGGATGAAGG	160	권심 특이적 유도
Bra001343	AGAGAGTTGGAGGGGTTGGT	CCACTCAACTTTTCCCCAAA	207	
Bra024410	TGCTGCGTTCATTATGCTTC	TGCATTGAGGAGACTTCCCTG	193	
Bra018160	GCACACCCATGTTCTTGATG	TTGCGACAAGTTTCTTGGTG	151	
Bra030039	TGGCCAAATCTTTACCCAAA	GCCAATGACAACGAAGACAA	193	
Bra034114	CCGTTGAAGGTGTTTCCACT	CGACCTTCCAGAAACTCTGC	206	지부 감소
Bra027953	CGGTACACACCTTGATGCAC	AGAGCACACGACGAACTCCT	188	
Bra039247	ATGCTTATGCAAGGCCAATC	TCATTACCATTCCGGCTGAT	164	
Bra025101	GTTTTGACAACCTGGGCCAAC	TGCATTGTGCAAACCAAGTT	247	
Bra028209	AGATTTTCATCGCGCTAGCAT	CATGTGACTTCCCCACTCCT	173	
Bra023479	TCACTGGTATTGGTGGTGGG	GGTTGTTGCACGGACTACCT	246	권심 감소
Bra035489	TTGATGTTGCCTCAAAGCTG	GGTGGCATTTCAGAAACAGGT	242	
Bra013044	CACAGCCAACGAGACAAAAT	CTGTTTTTTCAGCAGCCTTGA	165	
Bra001685	CCAGTTTTTGCCTCGAACTC	ACCCAACAGCGTAGTTGAC	208	공통증가
Bra010377	AACTGGAATCCTCGCTGCT	CCTTCTTCCGAACCCTTCTT	150	
Bra035478	GAGATCGATGGCTCGAGATT	GTGATACGTGGCTTGGTGTG	165	
Bra001171	CAGCCACTGTCGTAGAGATCC	TCCCTGGTGATGGCATAAA	157	
Bra003958	CGGAGTCAAAGAGCTCCAAG	GTAGATTCGGGTGGTTGCAT	165	
Bra003036	CCAGAATGCCAGAGGGTAGA	CCCAGTTTTCTTGCACCATT	171	지부 특이적 증가
Bra031298	AGCCTTGGGTGATAGGTGTG	TGACCCGGGAGAGTTAACAG	173	
Bra020687	CTCGTCACGTGTTGAGTGAG	TCTCAGTATCAGAGAGCATATGACA	152	권심 특이적 증가
Bra024860	AGGAGCGTGCAGAGACTGAT	GCGTTCAATAGCATCAAGCA	155	
Bra014170	CTTCGATGGTGGACTACACG	GCTTTCACGACAGTGTTCCT	184	
Bra000148	GCTAAGTAAGGCGCAAGTGG	CACAAACGTGTTCCATCCTG	181	회복 지부
Bra031829	GGAGTACAATGTGCGTGTGG	TGATTGTCATGCCCGTAGAA	159	
Bra021007	TTCTTCTGCTAGCCTCAGTCG	GTTTTTCCATGGCTGCTGTT	157	
Bra017184	CAAGCGGGTCCAGATACAT	CAGCTTCCCAAGATGAAAGC	224	회복 권심
Bra014407	CCGATGGAGACGAGACATTT	TTGATACGCCCAATACGACA	180	
Bra028769	ACCTTCGGTGGTTCATCTTG	GCAAACCTCTGAACCAGCACA	150	
Bra017185	GACTTCAGTGGGAGGAACCA	AGTGAGAGCTCGGTCCGATA	216	
Bra037003	TAGAAAATGCCCGAGAGGAG	AGCTGAAGCAATGTCCAAC	203	
Bra041119	GGTTGGGGAAGTCACTCAA	TCTTCACATCGCACTTTTCG	235	
Bra000309	ATGGCCATGGCAACTAAGTC	ATTGGCATCTTCCACCTTTG	207	
Bra008591	GCAAGAAACGCTATGGAAGC	CTTGTGGGTTTCGTGTCTCCT	250	
Bra014510	CCATGACACGCATATCCAAC	TGAGGAACCGCTTAAACCAC	203	
Bra031795	AGGTGGGAACCGTACAAGTG	ACACGATCTCCCTTTGTTGC	250	

Bra004503	CTTATGGACCTTCCGGTGAA	TTCGAGCCACAAGAAGACCT	217	첨가
Bra030496	GTGTGGGTCAAACACACCTTCAGG	ATGAGCCAATGGCATTGACGTGTCG	260	
Bra033291		AGGAGCCATCGGCATTGACGTATCA	280	
Bra021464	TGGTTACTCTACAGAACCTCAGTACAG	CTGGAGTTAGCTGCTGCACCATCT	110	
Bra001043	CCTTAAAGGACCTAAACCATACTGTATCTG		120	
Bra021258	AGCGAGGAGGAGGAGTTGATGG	GCCAAGCATTGTGTTCTCGTTCATCA	320	
Bra022225	TAACCTCAACCGCCAAGCGGGG		220	
Bra000263	TAGCCAAGCAGAGCGGCGTTG	CTGCTTTACCCTCAACAACTCGGC	330	
Bra000265		CAACGTAGTCTTTTGCTTTCTCTCCATC	200	
Bra008669	TCGAGTATGGACTACAAGTTCACTGGT	TCAGGTGCTGTCTGCTCCGGA	250	
Bra023541	GAGACAACAGCGATGACAGGTCC	GTGTCACTTGTCGTTGACTCTGGC	300	

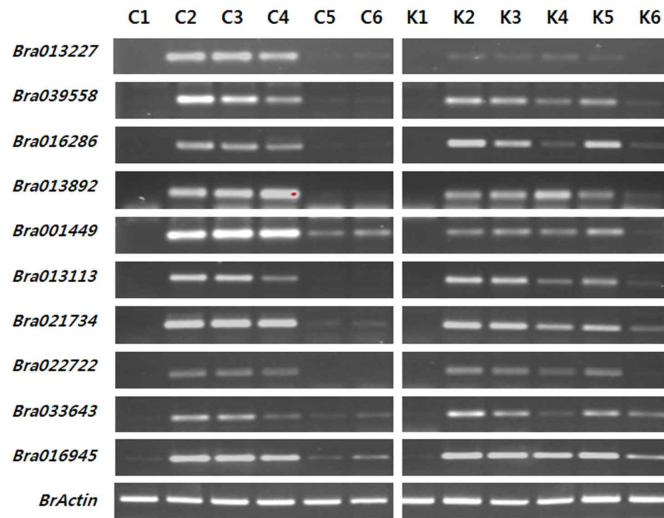
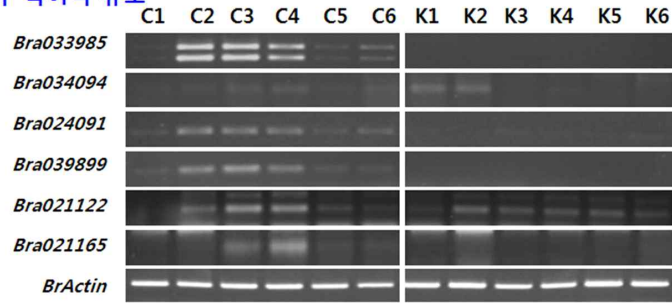


그림 29. 지부와 권심 모두에서 발현이 유도되는 유전자들의 RT-PCR 결과 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

지부 특이적 유도



권심 특이적 유도

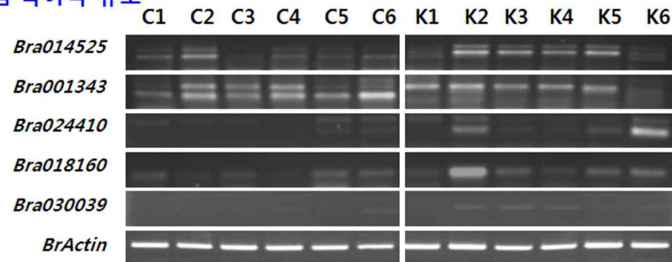
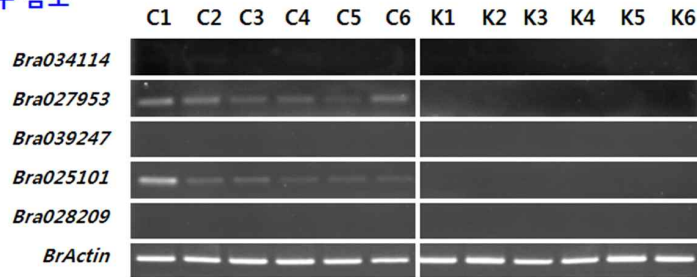


그림 30. 지부 또는 권심 특이적으로 발현이 유도되는 유전자들의 RT-PCR 결과 (C1,K1: 22°C, C2,K2: 4°C, C3,K3: 0°C, C4,K4: -2°C, C5,K5: -4°C, C6,K6: 22°C)

지부 감소



권심 감소

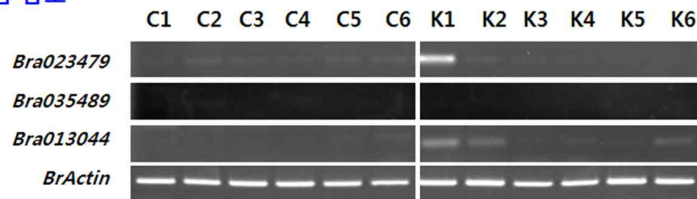


그림 31. 지부 또는 권심 특이적으로 발현이 감소되는 유전자들의 RT-PCR 결과 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

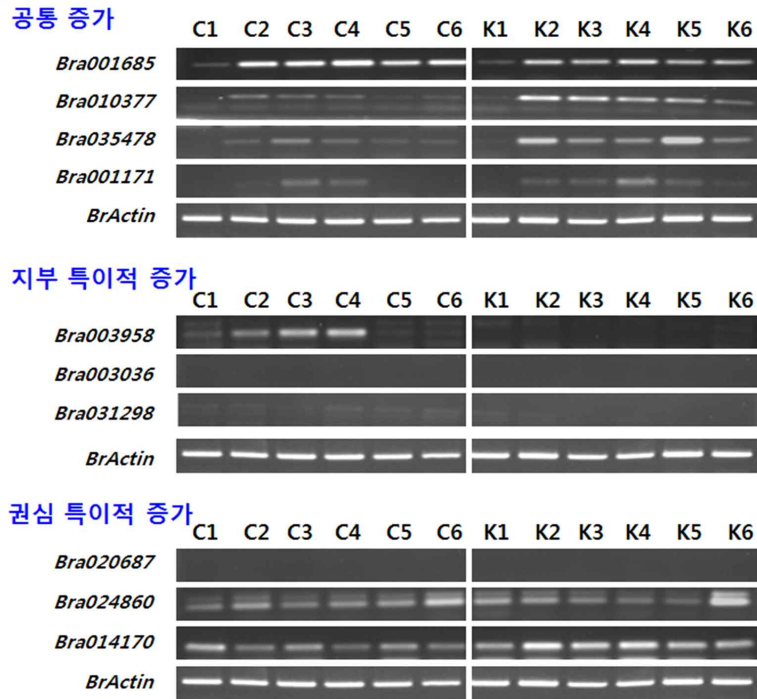


그림 32. 지부/권심, 지부 및 권심 특이적으로 발현이 증가되는 유전자들의 RT-PCR 결과 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

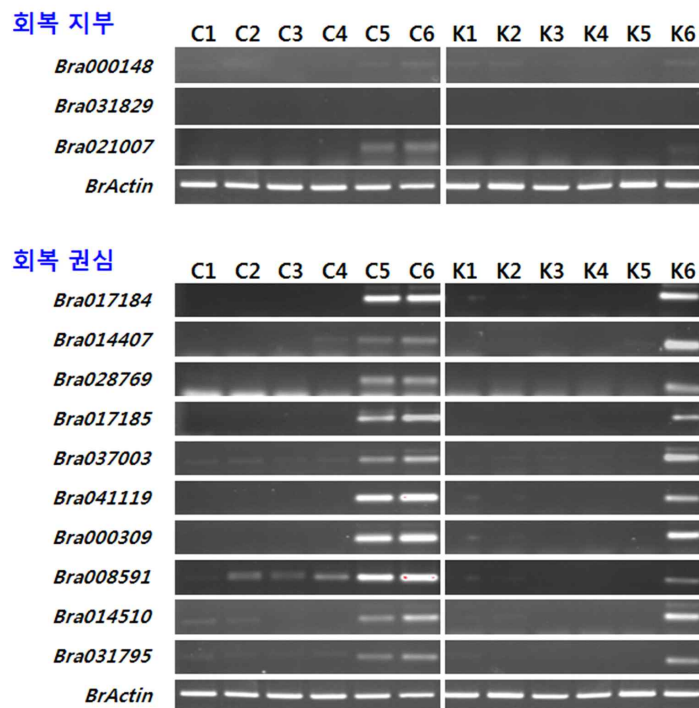


그림 33. 지부 및 권심 특이적으로 저온처리 후 회복단계에서 발현이 증가하는 유전자들의 RT-PCR 결과 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

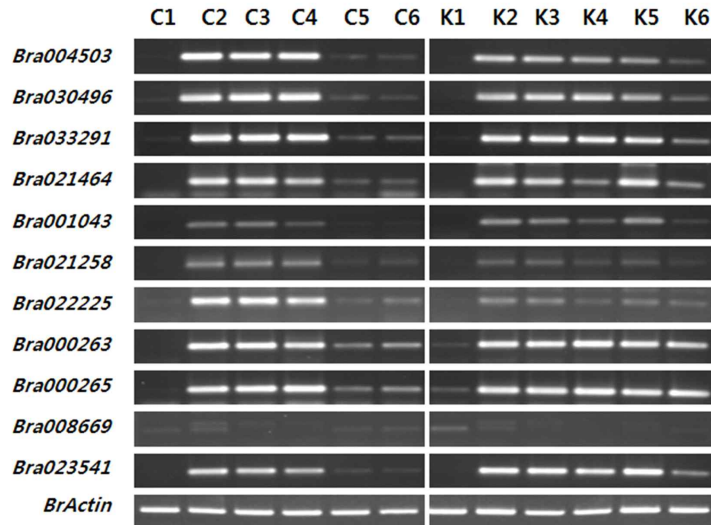


그림 34. 저온에 반응한다고 보고된 중요 유전자들의 RT-PCR 결과 (C1, K1: 22°C, C2, K2: 4°C, C3, K3: 0°C, C4, K4: -2°C, C5, K5: -4°C, C6, K6: 22°C)

나. 63개 유전자에 대한 Gene Ontology 분석

저온에 반응하는 63개 유전자에 대하여 Gene Ontology를 분석을 수행하였다. 그 결과 Biological process 카테고리에서 Response to abiotic stimulus에 14개의 유전자, Response to stress에 16개의 유전자가 포함되었다. Cellular component 카테고리에는 Protein complex가 12개, Nucleoplasm이 12개, 그리고 Mitochondrion이 5개의 유전자가 포함되었고 Molecular function 카테고리에서는 Transcription factor가 12개, Catalytic activity가 12개, Protein binding이 9개, DNA binding에 9개의 유전자가 포함되었다(그림 35, 그림 36, 그림 37).

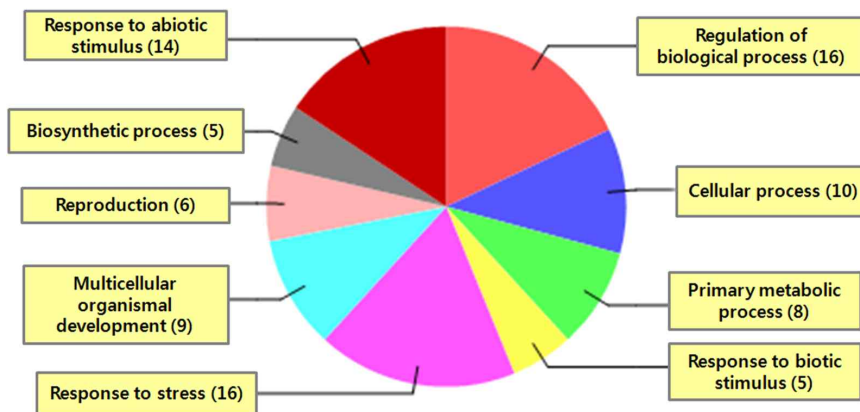


그림 35. 63개 유전자의 GO 분석 중 biological process 분석

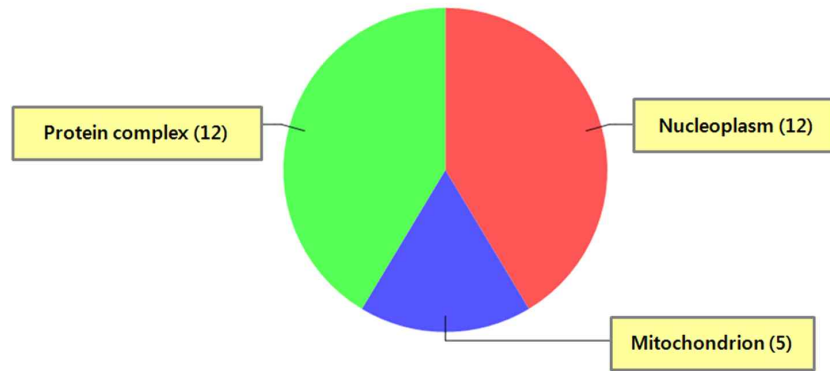


그림 36. 63개 유전자의 GO 분석 중 cellular component 분석

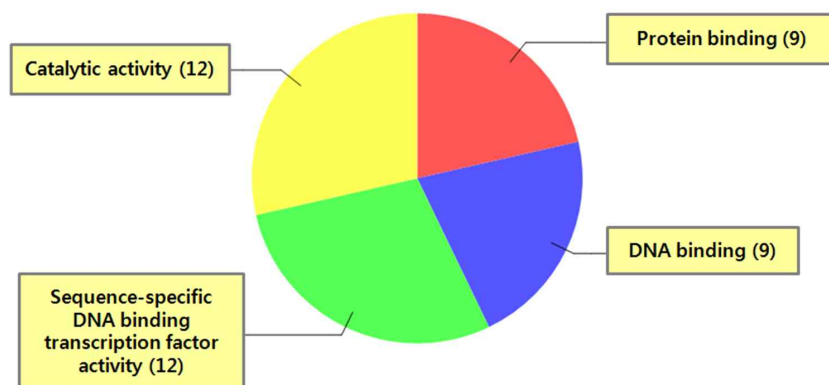


그림 37. 63개 유전자의 GO 분석 중 molecular function 분석

다. Br135K microarray에서 배추의 내한성 및 내동성 관련 후보 유전자 발굴

배추의 내한성 및 내동성 관련 유전자를 발굴하기 위하여 25°C, 4°C, 0°C, -2°C 및 -4°C를 처리한 후 microarray를 수행하여 얻은 데이터로부터 내한성 및 내동성 관련 유전자를 다수 발굴하였다. 각각의 처리구로부터 얻은 데이터로부터 내한성 관련 유전자들을 발굴하기 위하여 25°C 및 4°C, 25°C 및 0°C의 데이터들을 비교하였다. 이들 비교 데이터로부터 4°C 및 0°C에서 25°C에서 보다 10배 이상 발현양이 높은 181개의 유전자들을 선발하였으며, 4°C 및 0°C에서 25°C에서 보다 10배 이상 발현양이 낮은 128개의 유전자들을 선발하였다(표 13, 14, 표 15, 표 16). 또한 내동성 관련 유전자들을 발굴하기 위하여 25°C 및 -2°C, 25°C 및 -4°C의 데이터들을 비교하였다. 이들 비교 데이터로부터 -2°C 및 -4°C에서 25°C에서 보다 10배 이상 발현양이 높은 162개의 유전자들을 선발하였으며, -2°C 및 -4°C에서 25°C에서 보다 10배 이상 발현양이 낮은 149개의 유전자들을 선발하였다(표 17, 18, 19, 20). 발굴된 유전자들 중 4°C 및 0°C, -2°C 및 -4°C 모두에서 반응을 나타내는 유전자들이 있는 반면에 각각 4°C 및 0°C, -2°C 및 -4°C에서 특이적으로 반응을 나타내는 유전자들도 있었다. 현재 이들 유전자를 이용하여 각각의 유전자들에 대하여 특이적으로 증폭시킬 수 있는 프라이머를 합성하였다. 이들 유전자 특이적 프라이머 및 25°C, 4°C, 0°C, -2°C, -4°C 처리된 샘플들을 이용하여 발현 실험을 수행할 예정이다. 또한 발굴된 유전자들이 종묘회사에서 보유하고 있는 내한성 및 내동성이 강한 계통 및 약한 계통들에 있어서 발현 차이를 나타내는지 확인할 예정이다. 그리고

발현 차이를 나타내는 유전자들은 내한성 및 내동성이 강한 계통 및 약한 계통들을 이용하여 5'-UTR 영역을 포함한 약 2kb 영역 및 유전자를 클로닝하여 염기를 비교하여 SNP 또는 InDel 영역을 탐색할 계획이다.

13. 25°C 및 4°C 데이터 비교로부터 4°C 에서 10배 이상 고발현 유전자 발굴

Bra013227	CYP82G1 cytochrome P450, family 82, subfamily G
Bra039558	B-box type zinc finger family protein
Bra016286	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein
Bra001043	COL2, ATCOL2 CONSTANS-like 2
Bra013892	peptidoglycan-binding LysM domain-containing protein
Bra001449	unknown protein
Bra013113	unknown protein
Bra000263	COR15B cold regulated 15b
Bra021734	STH salt tolerance homologue
Bra001685	NA
Bra009716	EMB3009, PEL3, DCR HXXXD-type acyl-transferase family protein
Bra034762	unknown protein
Bra026356	Dynein light chain type 1 family protein
Bra022722	B-box type zinc finger family protein
Bra004503	CCA1 circadian clock associated 1
Bra033643	Leucine carboxyl methyltransferase
Bra016945	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein
Bra007177	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
Bra023541	COL1, ATCOL1 CONSTANS-like 1
Bra010463	CBF1, DREB1B, ATCBF1 C-repeat/DRE binding factor 1
Bra013226	Vacuolar iron transporter (VIT) family protein
Bra004314	unknown protein
Bra015329	Major facilitator superfamily protein
Bra020126	unknown protein
Bra029769	unknown protein
Bra001886	ELIP1, ELIP Chlorophyll A-B binding family protein
Bra023610	RVE1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra035649	ACA8, AT-ACA8 autoinhibited Ca ²⁺ -ATPase, isoform 8
Bra038652	SNRK2-5, SNRK2.5, SRK2H SNF1-related protein kinase 2.5
Bra010461	DREB1A, CBF3, ATCBF3 dehydration response element B1A
Bra016197	octicosapeptide/Phox/Bem1p (PBI) domain-containing protein
Bra009237	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1
Bra023857	B-box type zinc finger family protein
Bra003994	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein
Bra010718	B-box type zinc finger family protein
Bra009302	unknown protein
Bra021165	Tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein
Bra026701	unknown protein
Bra010082	CDF1 cycling DOF factor 1
Bra022838	STH salt tolerance homologue
Bra008563	RVE1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra030496	LHY, LHY1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra006575	unknown protein

Bra021202	Protein phosphatase 2C family protein
Bra021258	HYH HY5-homolog
Bra037110	unknown protein
Bra000265	COR15B cold regulated 15b
Bra018141	CDF3 cycling DOF factor 3
Bra012231	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra012780	IAGLU indole-3-acetate beta-D-glucosyltransferase
Bra025743	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
Bra029261	CDF1 cycling DOF factor 1
Bra017111	Protein of unknown function (DUF567)
Bra040724	Phosphatidylinositol 3- and 4-kinase family protein
Bra010460	CBF2, DREB1C, FTQ4, ATCBF2 C-repeat/DRE binding factor 2
Bra002986	B-box type zinc finger family protein
Bra009236	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1
Bra013974	unknown protein
Bra010408	B-box type zinc finger family protein
Bra018363	UGT71C2 UDP-glucosyl transferase 71C2
Bra023783	unknown protein
Bra018249	STH salt tolerance homologue
Bra033928	unknown protein
Bra012732	Plant self-incompatibility protein S1 family
Bra014148	unknown protein
Bra036465	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily protein
Bra033985	THI2.1, THI2.1.1 thionin 2.1
Bra005688	Homeodomain-like superfamily protein
Bra010377	NA
Bra019466	unknown protein
Bra000546	Protein of unknown function (DUF295)
Bra032117	RNI-like superfamily protein
Bra022225	HYH HY5-homolog
Bra018707	Pectin lyase-like superfamily protein
Bra038558	unknown protein
Bra014186	Uncharacterised protein family (UPF0497)
Bra027530	ATPOP1, ATNAP2, POP1 P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
Bra007843	AFR Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein
Bra021802	AtRLP22, RLP22 receptor like protein 22

14. 25°C 및 4°C 데이터 비교로부터 4°C 에서 10배 이상 저발현 유전자 발굴

Bra007811	Plant protein of unknown function (DUF868)
Bra006599	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra026744	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
Bra028865	Protein phosphatase 2C family protein
Bra020731	ERD5, PRODH, AT-POX, ATPOX, ATPDH, PRO1 Methylene tetrahydrofolate reductase family protein
Bra030208	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra036656	ENT3, FUR1, ATENT3 Major facilitator superfamily protein
Bra007683	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
Bra011052	RmlC-like cupins superfamily protein
Bra001600	unknown protein
Bra021998	SAG12 senescence-associated gene 12

Bra040857	Cupredoxin superfamily protein
Bra035987	ATEXPB4, EXPB4, ATHEXP BETA 1.1 expansin B4
Bra026280	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra037848	unknown protein
Bra011761	CYP91A2, CYP81F1 cytochrome P450, family 91, subfamily A, polypeptide 2
Bra025046	SAG12 senescence-associated gene 12
Bra012910	MYB77 myb domain protein 77
Bra022955	Dormancy/auxin associated family protein
Bra016400	DREB26 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra034114	Shugoshin C terminus
Bra040309	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra014188	Protein kinase superfamily protein
Bra023093	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra035061	F-box/RNI-like superfamily protein
Bra031136	Proteinofunknownfunction(DUF506)
Bra015660	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra012906	Plant protein of unknown function (DUF247)
Bra027099	TPS04, GES, TPS4 terpene synthase 04
Bra015882	ORA47 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra030912	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein
Bra012959	ACHT5atypicalCYS HIS rich thioredoxin 5
Bra003778	JAZ2, TIFY10B TIFY domain/Divergent CCT motif family protein
Bra016462	Arabidopsis protein of unknown function (DUF241)
Bra031043	Protein of unknown function (DUF567)
Bra002214	Eukaryotic aspartyl protease family protein
Bra032607	unknown protein
Bra010397	unknown protein
Bra022956	Dormancy/auxin associated family protein
Bra021923	JAZ7, TIFY5B jasmonate-zim-domain protein 7
Bra016164	ATMYBL2, MYBL2 MYB-like 2
Bra033279	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
Bra007826	CCD1, ATCCD1, ATNCED1, NCED1 carotenoid cleavage dioxygenase 1
Bra036022	DREB26 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra033690	BHLH92 basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra010210	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra000637	ACS11 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 11
Bra033339	unknown protein
Bra003780	ORA47 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra032273	B-box type zinc finger protein with CCT domain
Bra039508	ethylene-responsive nuclear protein -related

15. 25°C 및 0°C 데이터 비교로부터 0°C 에서 10배 이상 고발현 유전자 발굴

Bra013227	CYP82G1 cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide 1
Bra039558	B-box type zinc finger family protein
Bra001043	COL2, ATCOL2 CONSTANS-like 2
Bra013892	peptidoglycan-binding LysM domain-containing protein
Bra001449	unknown protein
Bra016286	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein
Bra010463	CBF1, DREB1B, ATCBF1 C-repeat/DRE binding factor 1
Bra013113	unknown protein

Bra010461	DREB1A, CBF3, ATCBF3 dehydration response element B1A
Bra000263	COR15B cold regulated 15b
Bra034762	unknown protein
Bra001685	NA
Bra035649	ACA8, AT-ACA8 autoinhibited Ca ²⁺ -ATPase, isoform 8
Bra021734	STH salt tolerance homologue
Bra026356	Dynein light chain type 1 family protein
Bra004503	CCA1 circadian clock associated 1
Bra022722	B-box type zinc finger family protein
Bra013226	Vacuolar iron transporter (VIT) family protein
Bra001886	ELIP1, ELIP Chlorophyll A-B binding family protein
Bra038652	SNRK2-5, SNRK2.5, SRK2H SNF1-related protein kinase 2.5
Bra007177	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
Bra016945	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein
Bra033643	Leucine carboxyl methyltransferase
Bra015329	Major facilitator superfamily protein
Bra009716	EMB3009, PEL3, DCR HXXXD-type acyl-transferase family protein
Bra020126	unknown protein
Bra023541	COL1, ATCOL1 CONSTANS-like 1
Bra004314	unknown protein
Bra009302	unknown protein
Bra016197	octicosapeptide/Phox/Bem1p (PB1) domain-containing protein
Bra009237	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1
Bra023857	B-box type zinc finger family protein
Bra010718	B-box type zinc finger family protein
Bra003994	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein
Bra010460	CBF2, DREB1C, FTQ4, ATCBF2 C-repeat/DRE binding factor 2
Bra023610	RVE1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra015989	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
Bra026701	unknown protein
Bra010082	CDF1 cycling DOF factor 1
Bra026181	PCR2 PLANT CADMIUM RESISTANCE 2
Bra026755	IAA5, ATAUX2-27, AUX2-27 indole-3-acetic acid inducible 5
Bra000546	Protein of unknown function (DUF295)
Bra009236	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1
Bra005688	Homeodomain-like superfamily protein
Bra027530	ATPOP1, ATNAP2, POP1 P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
Bra012780	IAGLU indole-3-acetate beta-D-glucosyltransferase
Bra001918	O-Glycosyl hydrolases family 17 protein
Bra013974	unknown protein
Bra021258	HYH HY5-homolog
Bra022838	STH salt tolerance homologue
Bra029769	unknown protein
Bra029261	CDF1 cycling DOF factor 1
Bra000712	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra014500	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra036465	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily protein
Bra008563	RVE1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra001171	NA

Bra000265	COR15B cold regulated 15b
Bra010377	NA
Bra015328	AWPM-19-like family protein
Bra030496	LHY, LHY1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra021202	Protein phosphatase 2C family protein
Bra014148	unknown protein
Bra018249	STH salt tolerance homologue
Bra025743	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
Bra021802	AtRLP22, RLP22 receptor like protein 22
Bra040724	Phosphatidylinositol 3- and 4-kinase family protein
Bra041022	FEM111, AGL80 AGAMOUS-like 80
Bra018363	UGT71C2 UDP-glucosyl transferase 71C2
Bra021165	Tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein
Bra024795	RNS1, ATRNS1 ribonuclease 1
Bra033303	anac005, NAC005 NAC domain containing protein
Bra019918	NA
Bra019466	unknown protein
Bra012231	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra038558	unknown protein
Bra037110	NA
Bra033985	THI2.1, THI2.1.1 thionin 2.1
Bra012972	Remorin family protein
Bra011549	SQS2 squalene synthase 2
Bra033928	unknown protein
Bra014186	Uncharacterised protein family (UPF0497)
Bra010301	NA
Bra027760	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
Bra017111	Protein of unknown function (DUF567)
Bra029571	ANAC023, NAC023 NAC domain containing protein 23
Bra020644	NA
Bra022225	HYH HY5-homolog
Bra011328	Myosin heavy chain-related protein
Bra031663	AtGolS3, GolS3 galactinol synthase 3
Bra020063	RAP2.11 related to AP2 11
Bra019959	ATPP2-A10, PP2-A10 phloem protein 2-A10
Bra010408	B-box type zinc finger family protein
Bra018141	CDF3 cycling DOF factor 3
Bra009427	Nuclear transport factor 2 (NTF2) family protein
Bra019058	B-box type zinc finger family protein
Bra031521	ARM repeat superfamily protein
Bra004481	VGD1 Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily
Bra037243	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra028627	SNG2, SCPL19 serine carboxypeptidase-like 19
Bra004592	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
Bra002856	RING/U-box superfamily protein

16. 25°C 및 0°C 데이터 비교로부터 0°C 에서 10배 이상 저발현 유전자 발굴

Bra021308	Protein kinase superfamily protein
Bra000576	SCPL12 serine carboxypeptidase-like 12
Bra017919	PGSIP2, GUX3 plant glycogenin-like starch initiation protein 2

Bra023093	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra013026	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein
Bra017807	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family
Bra036022	DREB26 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra039700	Protein of unknown function (DUF581)
Bra033460	chx28 cation/hydrogen exchanger 28
Bra028166	HXXXD-type acyl-transferase family protein
Bra024961	GATA27 GATA transcription factor 27
Bra031043	Protein of unknown function (DUF567)
Bra009250	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra029895	NA
Bra007683	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
Bra035183	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein
Bra012298	DREB26 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra012549	SCD6 protein-related
Bra038077	unknown protein
Bra027020	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily protein
Bra023958	IAA29 indole-3-acetic acid inducible 29
Bra020731	ERD5, PRODH, AT-POX, ATPOX, ATPDH, PRO1 Methylenetetrahydrofolate reductase family protein
Bra016164	ATMYBL2, MYBL2 MYB-like 2
Bra004266	NA
Bra019685	FUT6, ATFUT6 fucosyltransferase 6
Bra028607	unknown protein
Bra003779	Protein of unknown function (DUF581)
Bra019087	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra035261	Ankyrin repeat family protein
Bra028865	Protein phosphatase 2C family protein
Bra007381	N-acetylglucosaminylphosphatidylinositol de-N-acetylase family protein
Bra040857	Cupredoxin superfamily protein
Bra015881	Protein of unknown function (DUF581)
Bra010383	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra014188	Protein kinase superfamily protein
Bra031341	U2 snRNP auxilliary factor, large subunit, splicing factor
Bra011660	oxidoreductase, 2OG-Fe(II) oxygenase family protein
Bra012959	ACHT5atypicalCYS HIS rich thioredoxin 5
Bra034653	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra036768	NA
Bra034114	Shugoshin C terminus
Bra033279	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
Bra036397	ATSPPL1, SPPL1 SIGNAL PEPTIDE PEPTIDASE-LIKE 1
Bra001721	RING/U-box superfamily protein
Bra024452	AHA1, PMA, OST2, HA1 H(+)-ATPase 1
Bra011761	CYP91A2, CYP81F1 cytochrome P450, family 91, subfamily A, polypeptide 2
Bra014734	unknown protein
Bra030912	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein
Bra003780	ORA47 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra026326	NA
Bra040924	ATPUP10, PUP10 purine permease 10
Bra015882	ORA47 Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra032440	Ribonuclease H-like superfamily protein

Bra003877	LCR37 low-molecular-weight cysteine-rich 37
Bra030208	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra022955	Dormancy/auxin associated family protein
Bra032894	DRM1, DYLL1 dormancy-associated protein-like 1
Bra040309	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra025046	SAG12 senescence-associated gene 12
Bra021923	JAZ7, TIFY5B jasmonate-zim-domain protein 7
Bra002214	Eukaryotic aspartyl protease family protein
Bra032665	NA
Bra001360	F-box and associated interaction domains-containing protein
Bra028207	CYP96A8 cytochrome P450, family 96, subfamily A, polypeptide 8
Bra018781	RING/U-box superfamily protein
Bra003778	JAZ2, TIFY10B TIFY domain/Divergent CCT motif family protein
Bra022956	Dormancy/auxin associated family protein
Bra032811	F-box and associated interaction domains-containing protein
Bra034038	Protein kinase superfamily protein
Bra017035	ELF4 Protein of unknown function (DUF1313)
Bra004987	Phosphoinositide-specific phospholipase C family protein
Bra030920	Protein of unknown function (DUF581)
Bra032273	B-box type zinc finger protein with CCT domain
Bra027853	UPL1 ubiquitin-protein ligase 1
Bra039508	ethylene-responsive nuclear protein-related
Bra021998	SAG12 senescence-associated gene 12

17. 25°C 및 -2°C 데이터 비교로부터 -2°C 에서 10배 이상 고발현 유전자 발굴

Bra013227	CYP82G1 cytochrome P450, family 82, subfamily G, polypeptide
Bra013892	peptidoglycan-binding LysM domain-containing protein
Bra001043	COL2, ATCOL2 CONSTANS-like 2
Bra001449	unknown protein
Bra010461	DREB1A, CBF3, ATCBF3 dehydration response element B1A
Bra034762	unknown protein
Bra039558	B-box type zinc finger family protein
Bra010463	CBF1, DREB1B, ATCBF1 C-repeat/DRE binding factor 1
Bra000263	COR15B cold regulated 15b
Bra035649	ACA8, AT-ACA8 autoinhibited Ca ²⁺ -ATPase, isoform 8
Bra016286	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein
Bra012828	AT-HSFA7A,HSFA7Aheatshocktranscriptionfactor A7A
Bra007177	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
Bra001886	ELIP1, ELIP Chlorophyll A-B binding family protein
Bra009716	EMB3009, PEL3, DCR HXXXD-type acyl-transferase family protein
Bra001685	NA
Bra022722	B-box type zinc finger family protein
Bra021734	STH salt tolerance homologue
Bra038652	SNRK2-5, SNRK2.5, SRK2H SNF1-related protein kinase 2.5
Bra013113	unknown protein
Bra015329	Major facilitator superfamily protein
Bra033468	AT-HSFA7A,HSFA7Aheatshocktranscriptionfactor A7A
Bra026356	Dynein light chain type 1 family protein
Bra009237	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1

Bra009302	unknown protein
Bra001171	NA
Bra010460	CBF2, DREB1C, FTQ4, ATCBF2 C-repeat/DRE binding factor 2
Bra013226	Vacuolar iron transporter (VIT) family protein
Bra004503	CCA1 circadian clock associated 1
Bra026701	unknown protein
Bra024795	RNS1, ATRNS1 ribonuclease 1
Bra023541	COL1, ATCOL1 CONSTANS-like 1
Bra016197	octicosapeptide/Phox/Bem1p (PB1) domain-containing protein
Bra016945	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein
Bra011549	SQS2 squalene synthase 2
Bra023857	B-box type zinc finger family protein
Bra015989	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
Bra000557	ATHSFA2, HSFA2 heat shock transcription factor A2
Bra004314	unknown protein
Bra009236	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1
Bra005688	Homeodomain-like superfamily protein
Bra010718	B-box type zinc finger family protein
Bra000320	Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein
Bra021165	Tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein
Bra013974	unknown protein
Bra022838	STH salt tolerance homologue
Bra036465	Pyridoxal phosphate (PLP)-dependent transferases superfamily protein
Bra024080	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
Bra023610	RVE1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra018363	UGT71C2 UDP-glucosyl transferase 71C2
Bra015328	AWPM-19-like family protein
Bra041022	FEM111, AGL80 AGAMOUS-like 80
Bra037110	NA
Bra030496	LHY, LHY1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra000546	Protein of unknown function (DUF295)
Bra026755	IAA5, ATAUX2-27, AUX2-27 indole-3-acetic acid inducible 5
Bra038049	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily
Bra028845	Mediator complex, subunit Med7
Bra021258	HYH HY5-homolog
Bra040724	Phosphatidylinositol 3- and 4-kinase family protein
Bra000265	COR15B cold regulated 15b
Bra011215	RING/U-box superfamily protein
Bra029261	CDF1 cycling DOF factor 1
Bra007118	Papain family cysteine protease
Bra025743	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
Bra026606	MEE66 F-box family protein
Bra010082	CDF1 cycling DOF factor 1
Bra014500	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra006560	EFR EF-TU receptor
Bra008563	RVE1 Homeodomain-like superfamily protein
Bra021225	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily protein
Bra012345	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra035353	ATWBC19, WBC19 white-brown complex homolog 19
Bra003994	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein

Bra006137	HSP17.6II 17.6 kDa class II heat shock protein
Bra018249	STH salt tolerance homologue
Bra037395	Transcription factor jumonji (jmc) domain-containing protein
Bra001918	O-Glycosyl hydrolases family 17 protein
Bra023783	unknown protein
Bra035561	O-Glycosyl hydrolases family 17 protein
Bra040489	SWEET13, AtSWEET13 Nodulin MtN3 family protein
Bra031521	ARM repeat superfamily protein
Bra012732	Plant self-incompatibility protein S1 family
Bra027530	ATPO1, ATNAP2, PO1 P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
Bra011328	Myosin heavy chain-related protein
Bra033643	Leucine carboxyl methyltransferase
Bra007886	NRT1.7 nitrate transporter 1.7
Bra027760	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
Bra014186	Uncharacterised protein family (UPF0497)
Bra018707	Pectin lyase-like superfamily protein
Bra020126	unknown protein
Bra031663	AtGolS3, GolS3 galactinol synthase 3
Bra008195	NA
Bra002856	RING/U-box superfamily protein
Bra003958	NA
Bra023798	ELIP1, ELIP Chlorophyll A-B binding family protein
Bra009235	PGIP1, ATPGIP1 polygalacturonase inhibiting protein 1
Bra002076	RPM1-interacting protein 4 (RIN4) family protein
Bra012972	Remorin family protein
Bra038787	NA
Bra035738	NA
Bra026181	PCR2 PLANT CADMIUM RESISTANCE 2
Bra040164	Major facilitator superfamily protein
Bra014148	unknown protein
Bra005606	Transcription factor IIS family protein
Bra029526	PCFS4 PCF11P-similar protein 4
Bra022225	HYH HY5-homolog
Bra033303	anac005, NAC005 NAC domain containing protein 5
Bra020063	RAP2.11 related to AP2 11
Bra030737	PCK1, ATPPCK1 phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 1
Bra007816	HSP98.7, CLPB-M, CLPB4 casein lytic proteinase B4

18. 25°C 및 -2°C 데이터 비교로부터 4°C 에서 10배 이상 저발현 유전자 발굴

Bra031293	CERK1, LYSM RLK1 chitin elicitor receptor kinase 1
Bra016148	PLC-like phosphodiesterases superfamily protein
Bra026744	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
Bra028402	Protein kinase family protein
Bra023093	SAUR-likeauxin-responsiveproteinfamily
Bra011540	CIB1 cryptochrome-interacting basic-helix-loop-helix 1
Bra010447	CAP (Cysteine-rich secretory proteins, Antigen 5, and Pathogenesis-related 1 protein) superfamily protein
Bra028631	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
Bra035721	unknown protein

Bra002707	ATGDU3, GDU3, LSB1 glutamine dumper 3
Bra010320	Alkaline-phosphatase-like family protein
Bra030188	ATNUDX25, NUDX25 nudix hydrolase homolog 25
Bra039125	Major facilitator superfamily protein
Bra030208	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra014401	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
Bra000889	ATCNGC12, CNGC12 cyclic nucleotide-gated channel 12
Bra035230	RHA1A RING-H2 finger A1A
Bra001600	unknown protein
Bra031035	MYB51, AtMYB51, BW51A, BW51B, HIG1 myb domain protein 51
Bra009590	unknown protein
Bra004830	protein N-terminal asparagine amidohydrolase family protein
Bra030732	SIGB, SIG1, SIG2, SIGA, ATSIG1, ABC1, ATSIG2 RNAPolymerase sigma subunit 2
Bra026171	scpl50 serine carboxypeptidase-like 50
Bra010593	MYB73, ATMYB73 myb domain protein 73
Bra014244	Phototropic-responsive NPH3 family protein
Bra031136	Protein of unknown function (DUF506)
Bra035157	ZFP1, ATZFP1 zinc-finger protein 1
Bra022955	Dormancy/auxin associated family protein
Bra016117	unknown protein
Bra007683	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
Bra035898	Protein of unknown function (DUF1442)
Bra022956	Dormancy/auxin associated family protein
Bra004028	unknown protein
Bra011542	unknown protein
Bra007191	NA
Bra012938	ERF104 ethylene response factor 104
Bra009478	PKS4 phytochrome kinase substrate 4
Bra001122	PR4, HEL, PR-4 pathogenesis-related 4
Bra005755	Protein phosphatase 2C family protein
Bra012907	Plant protein of unknown function (DUF247)
Bra035183	Galactose oxidase/kelch repeat superfamily protein
Bra010210	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra032433	ORA59 octadecanoid-responsive Arabidopsis AP2/ERF 59
Bra002214	Eukaryotic aspartyl protease family protein
Bra013026	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein
Bra024213	ATRMA2, RMA2 RING membrane-anchor 2
Bra003649	GRF2, 14-3-3OMEGA, GF14 OMEGA general regulatory factor 2
Bra006086	unknown protein
Bra031781	oxidoreductase, 2OG-Fe(II) oxygenase family protein
Bra034114	Shugoshin C terminus
Bra029821	Calcium-binding EF-hand family protein
Bra026402	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein
Bra011052	RmlC-like cupins superfamily protein
Bra015881	Protein of unknown function (DUF581)
Bra006123	SSP5 SCP1-like small phosphatase 5
Bra022485	unknown protein
Bra038235	Phototropic-responsive NPH3 family protein
Bra040309	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra027540	Protein kinase superfamily protein

Bra004987	Phosphoinositide-specific phospholipase C family protein
Bra016462	Arabidopsis protein of unknown function (DUF241)
Bra009250	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra027020	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily protein
Bra040924	ATPUP10, PUP10 purine permease 10
Bra001721	RING/U-box superfamily protein
Bra012959	ACHT5atypicalCYS HIS rich thioredoxin 5
Bra028865	Protein phosphatase 2C family protein
Bra027974	Ubiquitin-like superfamily protein
Bra003304	D111/G-patch domain-containing protein
Bra002386	ATJ3, ATJ DNAJ homologue 3
Bra032273	B-box type zinc finger protein with CCT domain c
Bra039508	ethylene-responsive nuclear protein -related
Bra025046	SAG12 senescence-associated gene 12
Bra032894	DRM1, DYLL1 dormancy-associated protein-like 1
Bra031043	Protein of unknown function (DUF567)
Bra021998	SAG12 senescence-associated gene 12

19. 25℃ 및 -4℃ 데이터 비교로부터 4℃에서 10배 이상 고발현 유전자 발굴

Bra017184	phenazine biosynthesis PhzC/PhzF family protein
Bra017185	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
Bra000309	ATTI2, TI2 trypsin inhibitor protein 2
Bra024795	RNS1, ATRNS1 ribonuclease 1
Bra014547	PRN, PRN1, ATPIRIN1 pirin
Bra041119	Cupredoxin superfamily protein
Bra031392	BGLU46 beta glucosidase 46
Bra039047	CYP81D1 Cytochrome P450 superfamily protein
Bra027681	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
Bra038089	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
Bra016501	LCR78, PDF1.4 Arabidopsis defensin-like protein
Bra023404	Rap2.6L related to AP2 6l
Bra016580	Kunitz family trypsin and protease inhibitor protein
Bra008591	OPR1, ATOPR1 12-oxophytodienoate reductase 1
Bra004655	PGAZAT, ADPG2 polygalacturonase abscission zone
Bra007437	PRN, PRN1, ATPIRIN1 pirin
Bra024530	Gibberellin-regulated family protein
Bra020114	GLP3, GLP3A, GLP3B, ATGER3, GER3 germin 3
Bra032678	NA
Bra009142	UGT76C2 UDP-glucosyl transferase 76C2
Bra017491	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
Bra020021	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
Bra009716	EMB3009, PEL3, DCR HXXXD-type acyl-transferase family protein
Bra005688	Homeodomain-like superfamily protein
Bra004086	NA
Bra028769	Cytochrome P450 superfamily protein
Bra002937	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein
Bra014407	F-box family protein
Bra014716	ATJRG21, JRG21 jasmonate-regulated gene 21
Bra013399	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
Bra026317	HSP21 heat shock protein 21

Bra035634	BGAL4 beta-galactosidase 4
Bra034899	NA
Bra028826	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein
Bra027219	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family protein
Bra041038	RPS2 ribosomal protein S2
Bra030416	Leucine-rich repeat protein kinase family protein
Bra030414	Leucine-rich repeat protein kinase family protein
Bra026570	RNS1, ATRNS1 ribonuclease 1
Bra026885	F-box/RNI-like/FBD-like domains-containing protein
Bra017024	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra004826	Cysteine/Histidine-rich C1 domain family protein
Bra009105	Peroxidase superfamily protein
Bra013486	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra017132	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra037007	Peroxidase superfamily protein
Bra004314	unknown protein
Bra031933	Peroxidase superfamily protein
Bra038766	Subtilase family protein
Bra033512	NA
Bra005197	C2H2 and C2HC zinc fingers superfamily protein

20. 25°C 및 -4°C 데이터 비교로부터 4°C 에서 10배 이상 저발현 유전자 발굴

Bra025892	VQ motif-containing protein
Bra019469	Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein
Bra025668	SOT17, ATSOT17, ATST5C sulfotransferase 17
Bra034424	unknown protein
Bra025101	Nucleotide-diphospho-sugar transferase family protein
Bra031393	GPT2, ATGPT2 glucose-6-phosphate/phosphate translocator 2
Bra016025	ATPS2, PS2 phosphate starvation-induced gene 2
Bra017927	Calcium-binding EF-hand family protein
Bra012938	ERF104 ethylene response factor 104
Bra034038	Protein kinase superfamily protein
Bra026326	NA
Bra010210	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra000963	C2 calcium/lipid-binding plant phosphoribosyltransferase family protein
Bra003959	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
Bra040564	RING/U-box superfamily protein
Bra013790	Protein of unknown function (DUF679)
Bra038814	unknown protein
Bra021239	Cupredoxin superfamily protein
Bra007491	NA
Bra023665	unknown protein
Bra039037	Calcium-binding EF-hand family protein
Bra026744	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
Bra001941	MYB305, ATMYB71 myb domain protein 305
Bra020093	PIK-boxregionandMADS-boxtranscriptionfactorfamilyprotein
Bra011244	Biotin/lipoate A/B protein ligase family
Bra002377	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra031287	DMP1, AtDMP1 DUF679 domain membrane protein 1

Bra012906	Plant protein of unknown function (DUF247)
Bra003778	JAZ2, TIFY10B TIFY domain/Divergent CCT motif family protein
Bra009590	unknown protein
Bra007381	N-acetylglucosaminylphosphatidylinositol de-N-acetylase family protein
Bra040309	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra027156	AtGolS4, GolS4 galactinol synthase 4
Bra025046	SAG12 senescence-associated gene 12
Bra006599	Integrase-type DNA-binding superfamily protein
Bra027602	CYP707A3 cytochrome P450, family 707, subfamily A, polypeptide 3
Bra030208	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
Bra015740	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
Bra024400	Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein
Bra027162	WRR4, ADR2 Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class)
Bra015124	scpl21 serine carboxypeptidase-like 21
Bra006805	unknown protein
Bra018521	AOP3 2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra039508	ethylene-responsive nuclear protein-related
Bra031035	MYB51, AtMYB51, BW51A, BW51B, HIG1 myb domain protein 51
Bra012672	unknown protein
Bra022081	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily protein
Bra009070	CYP78A7 cytochrome P450, family 78, subfamily A, polypeptide 7
Bra023450	ATIMD1, IMD1 isopropylmalate dehydrogenase 1
Bra027100	NA
Bra024579	F-box/RNI-like/FBD-like domains-containing protein
Bra025997	Pectin lyase-like superfamily protein
Bra000288	Aconitase/3-isopropylmalate dehydratase protein
Bra000889	ATCNGC12, CNGC12 cyclic nucleotide-gated channel 12
Bra025666	MYB51, AtMYB51, BW51A, BW51B, HIG1 myb domain protein 51
Bra035194	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
Bra004744	IPMI2, ATLEUD1 isopropylmalate isomerase 2
Bra011822	AKN2, APK2 APS-kinase 2
Bra020459	CYP81F2 cytochrome P450, family 81, subfamily F, polypeptide 2
Bra000848	AOP1, AOP, AOP1.1 2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra022448	BCAT4 branched-chain aminotransferase4
Bra000760	BAT5, BASS5 bile acid transporter 5
Bra038546	unknown protein
Bra013011	MAM1, IMS3 methylthioalkylmalate synthase 1
Bra034180	AOP3 2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
Bra005949	MYB29, ATMYB29, PMG2 myb domain protein 29
Bra000637	ACS11 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 11
Bra029355	MAM1, IMS3 methylthioalkylmalate synthase 1
Bra035544	AK3 aspartate kinase 3
Bra016446	PHT1;8 phosphate transporter 1;8
Bra026058	CYP79F1, BUS1, SPS1 cytochrome p450 79f1
Bra021998	SAG12 senescence-associated gene 12

4. 저온 반응성 관련 유전자군의 발현 분석

가. BrWRKY 유전자군의 동정 및 저온 반응성 발현 분석

BrWRKY 유전자를 Brassica database (<http://brassicadb.org/brad/>)에서 검색한 결과 총 145개의 유전자가 검색되었다. 검색된 145개의 BrWRKY 유전자들이 배추의 각 염색체상의 분포 양상을 분석한 결과, 1번 염색체에는 14개의 유전자, 2번 염색체에는 20개의 유전자, 3번 염색체에는 26개의 유전자, 4번 염색체에는 15개의 유전자, 5번과 6번과 8번 염색체에는 각각 11개의 유전자, 7번 염색체에는 8개의 유전자, 9번 염색체에는 21개의 유전자, 10번 염색체에는 3개의 유전자가 있었으며, 5개의 유전자는 scaffold 영역에서 검출되었다. 또한 검색된 145개의 BrWRKY 유전자들에 대한 *inn silico* 분석으로부터 이들 단백질의 길이는 143~1,082aa, 등전점 값은 4.62~10.03, 단백질에 대한 분자량은 16.00~119.99kDa로 단백질의 길이, 등전점, 분자량 등이 일정하지 않고 매우 다양하게 분포하고 있었으며, ORF영역의 크기 또한 432~3,249 bp로 매우 다양한 크기를 나타내었다(표 21).

표 21. BrWRKY 유전자군 동정

Sl. No.	Gene symbol	Annotation ID	Chr. No.	Deduced polypeptide			ORF (bp)
				Length	pI	Mw(kDa)	
01	BrWRKY11	Bra026414	01	535	7.08	59.12	1608
02	BrWRKY12	Bra026438	01	534	6.17	58.83	1605
03	BrWRKY28	Bra026554	02	475	7.68	51.92	1428
04	BrWRKY29	Bra028707	02	319	9.20	35.89	960
05	BrWRKY35	Bra000064	03	473	8.37	52.20	1422
06	BrWRKY42	Bra001023	03	1064	9.43	118.27	3195
07	BrWRKY46	Bra013187	03	447	8.07	49.21	1344
08	BrWRKY47	Bra019095	03	754	6.59	83.68	2265
09	BrWRKY48	Bra019105	03	529	5.89	58.33	1590
10	BrWRKY53	Bra022786	03	378	6.34	42.56	1137
11	BrWRKY55	Bra023112	03	420	9.48	46.05	1263
12	BrWRKY58	Bra024035	03	589	5.24	63.84	1770
13	BrWRKY59	Bra028939	03	449	6.04	49.04	1350
14	BrWRKY60	Bra028971	03	485	7.71	53.88	1458
15	BrWRKY67	Bra017117	04	463	6.87	50.80	1392
16	BrWRKY68	Bra021623	04	350	6.98	39.27	1053
17	BrWRKY80	Bra005104	05	457	7.69	50.26	1374
18	BrWRKY81	Bra005210	05	409	9.12	44.89	1230
19	BrWRKY84	Bra018325	05	373	6.58	42.14	1122
20	BrWRKY86	Bra039147	05	1082	9.38	119.99	3249
21	BrWRKY91	Bra019697	06	493	7.70	53.39	1482
22	BrWRKY93	Bra024780	06	486	8.15	53.47	1461
23	BrWRKY108	Bra010266	08	457	6.49	49.56	1374
24	BrWRKY109	Bra010431	08	545	6.75	59.95	1638
25	BrWRKY113	Bra016716	08	465	8.64	50.30	1398
26	BrWRKY122	Bra026869	09	480	8.18	51.91	1443
27	BrWRKY138	Bra002828	10	673	5.92	73.01	2022
28	BrWRKY2	Bra011299	01	317	8.23	35.71	954
29	BrWRKY16	Bra008435	02	290	7.55	32.43	873
30	BrWRKY49	Bra019123	03	194	8.18	20.83	585
31	BrWRKY56	Bra023983	03	345	4.62	38.49	1038

32	BrWRKY99	Bra003588	07	297	8.90	32.93	894
33	BrWRKY105	Bra035148	07	300	8.85	33.42	903
34	BrWRKY106	Bra010220	08	308	8.16	34.71	927
35	BrWRKY5	Bra013584	01	538	5.51	58.63	1617
36	BrWRKY14	Bra040505	01	535	8.74	57.90	1608
37	BrWRKY15	Bra007884	02	383	7.30	42.99	1152
38	BrWRKY27	Bra023505	02	516	7.18	55.32	1551
39	BrWRKY33	Bra033956	02	710	6.11	80.30	2133
40	BrWRKY40	Bra000793	03	519	6.49	57.15	1560
41	BrWRKY44	Bra006283	03	527	6.05	56.74	1584
42	BrWRKY95	Bra025693	06	287	9.10	30.73	864
43	BrWRKY101	Bra004285	07	328	5.58	37.35	987
44	BrWRKY103	Bra016263	07	748	5.76	81.01	2247
45	BrWRKY112	Bra016535	08	474	6.34	52.58	1425
46	BrWRKY123	Bra027057	09	552	5.79	60.45	1659
47	BrWRKY127	Bra029491	09	492	6.05	54.28	1479
48	BrWRKY128	Bra031053	09	470	6.05	51.55	1413
49	BrWRKY139	Bra008719	10	551	5.88	59.66	1656
50	BrWRKY133	Bra036315	09	490	6.31	53.94	1473
51	BrWRKY141	Bra034482	-	507	5.88	55.32	1524
52	BrWRKY3	Bra011861	01	298	8.87	33.89	897
53	BrWRKY4	Bra013289	01	308	7.09	34.38	927
54	BrWRKY9	Bra021393	01	322	6.42	36.13	972
55	BrWRKY22	Bra020546	02	168	6.52	18.85	507
56	BrWRKY24	Bra020628	02	392	6.49	43.59	1179
57	BrWRKY25	Bra022033	02	317	6.16	36.35	954
58	BrWRKY31	Bra031900	02	197	7.00	22.20	594
59	BrWRKY34	Bra038313	02	299	6.23	33.02	900
60	BrWRKY38	Bra000362	03	210	9.04	24.16	633
61	BrWRKY43	Bra006178	03	147	9.30	17.09	444
62	BrWRKY45	Bra012614	03	312	6.27	34.99	939
63	BrWRKY71	Bra025490	04	174	8.65	20.31	525
64	BrWRKY72	Bra030273	04	196	6.44	22.64	591
65	BrWRKY75	Bra037637	04	181	8.93	20.27	546
66	BrWRKY76	Bra004466	05	319	6.23	26.03	960
67	BrWRKY79	Bra004864	05	215	8.80	24.43	648
68	BrWRKY85	Bra037106	05	432	4.98	48.03	1299
69	BrWRKY88	Bra009885	06	176	6.52	19.57	531
70	BrWRKY90	Bra010032	06	399	6.27	44.50	1200
71	BrWRKY92	Bra024328	06	206	5.68	23.31	621
72	BrWRKY94	Bra025021	06	323	6.90	36.61	972
73	BrWRKY96	Bra033616	06	292	9.13	32.97	879
74	BrWRKY97	Bra038006	06	654	5.36	73.55	1965
75	BrWRKY100	Bra004002	07	289	6.12	31.97	870
76	BrWRKY102	Bra004370	07	294	6.92	32.52	885
77	BrWRKY104	Bra030178	07	227	8.54	31.53	834
78	BrWRKY110	Bra010683	08	296	7.84	33.90	891
79	BrWRKY115	Bra030847	08	447	5.07	50.58	1344
80	BrWRKY116	Bra030848	08	203	5.87	22.76	612
81	BrWRKY120	Bra017561	09	321	7.71	36.53	966
82	BrWRKY119	Bra007674	09	298	7.20	34.16	897
83	BrWRKY124	Bra027480	09	328	7.68	37.68	987

84	BrWRKY125	Bra027675	09	189	6.70	21.30	570
85	BrWRKY126	Bra027768	09	187	6.70	21.16	564
86	BrWRKY129	Bra031221	09	197	6.50	22.69	594
87	BrWRKY131	Bra032340	09	273	7.75	30.92	822
88	BrWRKY132	Bra036138	09	353	6.22	39.42	1062
89	BrWRKY134	Bra036563	09	158	4.92	17.52	477
90	BrWRKY136	Bra037796	09	168	7.05	18.92	507
91	BrWRKY140	Bra008858	10	147	9.52	17.07	444
92	BrWRKY143	Bra040557	-	144	9.43	16.77	435
93	BrWRKY144	Bra040926	-	294	7.68	33.27	885
94	BrWRKY1	Bra011282	01	322	9.83	35.29	969
95	BrWRKY8	Bra013779	01	143	10.03	16.00	432
96	BrWRKY23	Bra020617	02	337	9.78	37.29	1014
97	BrWRKY41	Bra001117	03	319	9.44	35.24	960
98	BrWRKY50	Bra019239	03	348	9.81	38.02	1047
99	BrWRKY54	Bra022808	03	338	9.87	38.06	1017
100	BrWRKY57	Bra023998	03	328	9.54	36.09	987
101	BrWRKY69	Bra021652	04	321	9.92	36.12	966
102	BrWRKY73	Bra032084	04	325	9.94	35.31	978
103	BrWRKY74	Bra032174	04	319	9.75	34.65	960
104	BrWRKY83	Bra018303	05	335	9.67	37.89	1008
105	BrWRKY89	Bra010005	06	341	9.63	37.91	1026
106	BrWRKY107	Bra010231	08	332	9.66	36.37	999
107	BrWRKY142	Bra040396	-	303	9.45	33.52	912
108	BrWRKY6	Bra013708	01	296	7.56	32.95	891
109	BrWRKY10	Bra026228	01	396	5.55	43.04	1191
110	BrWRKY26	Bra022612	02	344	5.51	38.23	1035
111	BrWRKY52	Bra019297	03	299	5.82	33.39	900
112	BrWRKY62	Bra014556	04	278	4.95	30.80	837
113	BrWRKY70	Bra021934	04	396	5.60	43.14	1191
114	BrWRKY82	Bra005388	05	403	5.76	43.42	1212
115	BrWRKY111	Bra010839	08	261	5.41	29.25	786
116	BrWRKY114	Bra020814	08	308	8.45	34.17	927
117	BrWRKY118	Bra007413	09	270	4.99	30.03	813
118	BrWRKY130	Bra032300	09	262	5.33	29.56	789
119	BrWRKY135	Bra037368	09	298	6.66	32.34	897
120	BrWRKY145	Bra041029	-	407	5.70	44.28	1224
121	BrWRKY7	Bra013732	01	316	5.83	35.27	951
122	BrWRKY13	Bra026467	01	312	6.49	35.05	939
123	BrWRKY17	Bra008454	02	198	4.87	22.86	597
124	BrWRKY18	Bra008456	02	248	4.85	28.06	747
125	BrWRKY19	Bra008459	02	258	5.67	29.39	777
126	BrWRKY30	Bra028918	02	290	7.75	33.52	873
127	BrWRKY20	Bra020196	02	284	6.05	32.62	855
128	BrWRKY21	Bra020197	02	280	6.42	32.03	843
129	BrWRKY32	Bra033158	02	331	5.78	36.80	996
130	BrWRKY36	Bra000202	03	300	6.50	33.55	903
131	BrWRKY37	Bra000203	03	340	5.25	38.31	1023
132	BrWRKY39	Bra000423	03	281	5.76	31.99	846
133	BrWRKY51	Bra019265	03	323	5.67	36.02	972
134	BrWRKY61	Bra014426	04	277	5.67	31.79	834
135	BrWRKY63	Bra014692	04	285	6.05	32.18	858

136	BrWRKY64	Bra014693	04	264	5.74	29.73	795
137	BrWRKY65	Bra016974	04	330	5.22	36.93	993
138	BrWRKY66	Bra016975	04	284	6.39	31.61	855
139	BrWRKY77	Bra004540	05	285	5.33	32.20	858
140	BrWRKY78	Bra004586	05	339	5.66	37.99	1020
141	BrWRKY87	Bra009734	06	313	6.31	35.53	942
142	BrWRKY98	Bra003239	07	283	5.78	31.97	852
143	BrWRKY117	Bra007243	09	276	6.31	31.06	831
144	BrWRKY121	Bra023211	09	258	6.04	29.74	777
145	BrWRKY137	Bra002421	09	288	5.59	33.02	867

검색된 145개의 BrWRKY 유전자들의 염기 분석 결과 이들 유전자군은 크게 3개의 그룹으로 나뉘었다. Group I은 2개의 WRKY 도메인을 포함하고 있었으며, Group II와 III는 1개의 WRKY 도메인을 포함하고 있었다. 또한, Group I 및 II는 C2H2 type의 zinc-finger motif를 가지고 있었지만, Group III는 C2HC의 zinc-finger motif를 가지고 있었다. 145개의 BrWRKY 유전자들은 Group I, II 및 III에 각각 27개, 93개, 25개의 유전자가 포함되었다.

Group II는 5개의 sub-group(-a, -b, -c, -d, -e)로 다시 나뉘었으며, Group II에 속한 93개의 유전자들이 sub-group a에 7개, b group에 17개, c group에 42개, d group에 14개, e group에 13개의 유전자가 포함되었다(표 22).

표 22. BrWRKY 유전자군의 WRKY domain 분석

Sl. No.	Gene symbol	WRKY domain			
		Conserved heptapeptide	Zinc-finger motif	Domain No.	Group No.
01	BrWRKY11	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
02	BrWRKY12	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
03	BrWRKY28	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
04	BrWRKY29	WRKDGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
05	BrWRKY35	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
06	BrWRKY42	WMKYGQK/WRKYGK	C2H2	2	I
07	BrWRKY46	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
08	BrWRKY47	WRKNGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
09	BrWRKY48	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
10	BrWRKY53	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
11	BrWRKY55	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
12	BrWRKY58	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
13	BrWRKY59	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
14	BrWRKY60	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
15	BrWRKY67	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
16	BrWRKY68	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
17	BrWRKY80	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
18	BrWRKY81	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
19	BrWRKY84	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
20	BrWRKY86	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I

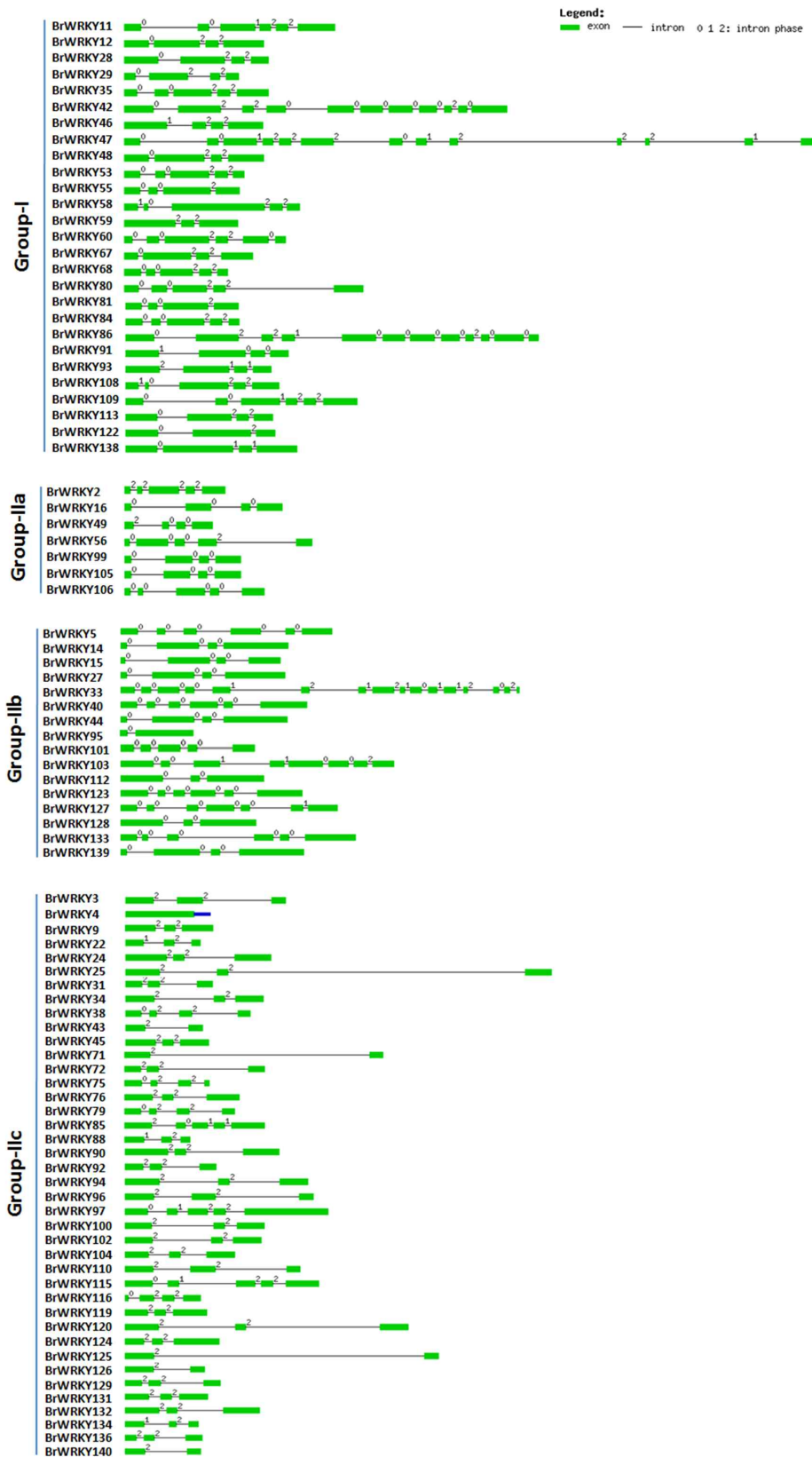
21	BrWRKY91	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
22	BrWRKY93	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
23	BrWRKY108	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
24	BrWRKY109	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
25	BrWRKY113	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
26	BrWRKY122	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
27	BrWRKY138	WRKYGQK/WRKYGQK	C2H2	2	I
28	BrWRKY2	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
29	BrWRKY16	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
30	BrWRKY49	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
31	BrWRKY56	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
32	BrWRKY99	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
33	BrWRKY105	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
34	BrWRKY106	WRKYGQK	C2H2	1	II-a
35	BrWRKY5	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
36	BrWRKY14	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
37	BrWRKY15	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
38	BrWRKY27	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
39	BrWRKY33	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
40	BrWRKY40	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
41	BrWRKY44	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
42	BrWRKY95	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
43	BrWRKY101	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
44	BrWRKY103	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
45	BrWRKY112	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
46	BrWRKY123	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
47	BrWRKY127	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
48	BrWRKY128	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
49	BrWRKY139	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
50	BrWRKY133	WRKYGQK	C2H2	1	II-b
51	BrWRKY141	WRKYGQK	C2	1	II-b
52	BrWRKY3	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
53	BrWRKY4	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
54	BrWRKY9	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
55	BrWRKY22	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
56	BrWRKY24	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
57	BrWRKY25	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
58	BrWRKY31	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
59	BrWRKY34	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
60	BrWRKY38	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
61	BrWRKY43	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
62	BrWRKY45	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
63	BrWRKY71	WRKYGQK	C2H2	1	II-c

64	BrWRKY72	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
65	BrWRKY75	WRKYGQK	Motif absent	1	II-c
66	BrWRKY76	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
67	BrWRKY79	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
68	BrWRKY85	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
69	BrWRKY88	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
70	BrWRKY90	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
71	BrWRKY92	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
72	BrWRKY94	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
73	BrWRKY96	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
74	BrWRKY97	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
75	BrWRKY100	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
76	BrWRKY102	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
77	BrWRKY104	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
78	BrWRKY110	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
79	BrWRKY115	WRKYGRK	C2H2	1	II-c
80	BrWRKY116	WKKYGQR	C2H2	1	II-c
81	BrWRKY120	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
82	BrWRKY119	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
83	BrWRKY124	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
84	BrWRKY125	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
85	BrWRKY126	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
86	BrWRKY129	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
87	BrWRKY131	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
88	BrWRKY132	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
89	BrWRKY134	WRK	C2H2	1	II-c
90	BrWRKY136	WRKYGKK	C2H2	1	II-c
91	BrWRKY140	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
92	BrWRKY143	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
93	BrWRKY144	WRKYGQK	C2H2	1	II-c
94	BrWRKY1	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
95	BrWRKY8	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
96	BrWRKY23	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
97	BrWRKY41	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
98	BrWRKY50	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
99	BrWRKY54	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
100	BrWRKY57	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
101	BrWRKY69	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
102	BrWRKY73	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
103	BrWRKY74	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
104	BrWRKY83	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
105	BrWRKY89	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
106	BrWRKY107	WRKYGQK	C2H2	1	II-d

107	BrWRKY142	WRKYGQK	C2H2	1	II-d
108	BrWRKY6	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
109	BrWRKY10	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
110	BrWRKY26	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
111	BrWRKY52	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
112	BrWRKY62	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
113	BrWRKY70	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
114	BrWRKY82	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
115	BrWRKY111	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
116	BrWRKY114	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
117	BrWRKY118	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
118	BrWRKY130	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
119	BrWRKY135	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
120	BrWRKY145	WRKYGQK	C2H2	1	II-e
121	BrWRKY7	WRKYGQK	C2HC	1	III
122	BrWRKY13	WRKYGQK	C2HC	1	III
123	BrWRKY17	WRKYGQK	C2HC	1	III
124	BrWRKY18	WMKYGQK	CHC	1	III
125	BrWRKY19	WRKYGQK	C2HC	1	III
126	BrWRKY30	WRKYGQK	C2HC	1	III
127	BrWRKY20	WRKYGQK	C2HC	1	III
128	BrWRKY21	WRKYGQK	C2HC	1	III
129	BrWRKY32	WRKYGQK	C2HC	1	III
130	BrWRKY36	WRKYGQK	C2HC	1	III
131	BrWRKY37	WRKYGQK	C2HC	1	III
132	BrWRKY39	WRKYGQK	C2HC	1	III
133	BrWRKY51	WRKYGQK	C2HC	1	III
134	BrWRKY61	WRKYGQK	C2HC	1	III
135	BrWRKY63	WRKYGKK	C2HC	1	III
136	BrWRKY64	WRKYGQK	C2HC	1	III
137	BrWRKY65	WRKYGQK	C2HC	1	III
138	BrWRKY66	WRKYGQK	C2HC	1	III
139	BrWRKY77	WRKYGQK	C2HC	1	III
140	BrWRKY78	WRKYGQK	C2HC	1	III
141	BrWRKY87	WRKYGQK	C2HC	1	III
142	BrWRKY98	WRKYGQK	C2HC	1	III
143	BrWRKY117	WRKYGQK	C2HC	1	III
144	BrWRKY121	WRKYGQK	C2HC	1	III
145	BrWRKY137	WRKYGQK	C2HC	1	III

145개의 WRKY 유전자에 대하여 exon-intron 구조를 분석하였다. 그 결과, group I의 유전자들은 2~12개의 intron을 포함하였다. 그리고 Group IIa의 유전자들은 3개 혹은 4개의 intron을 포함하였으며, group IIb의 유전자들은 다양하게 1~15개의 intron, Group IIc의 유전자

들은 0~4개의 intron, Group IId의 유전자들은 2개 혹은 3개의 intron, Group IIe의 유전자들은 1개 혹은 2개의 intron, Group III의 유전자들은 2개 혹은 3개의 intron들을 포함하고 있었다 (그림 38).



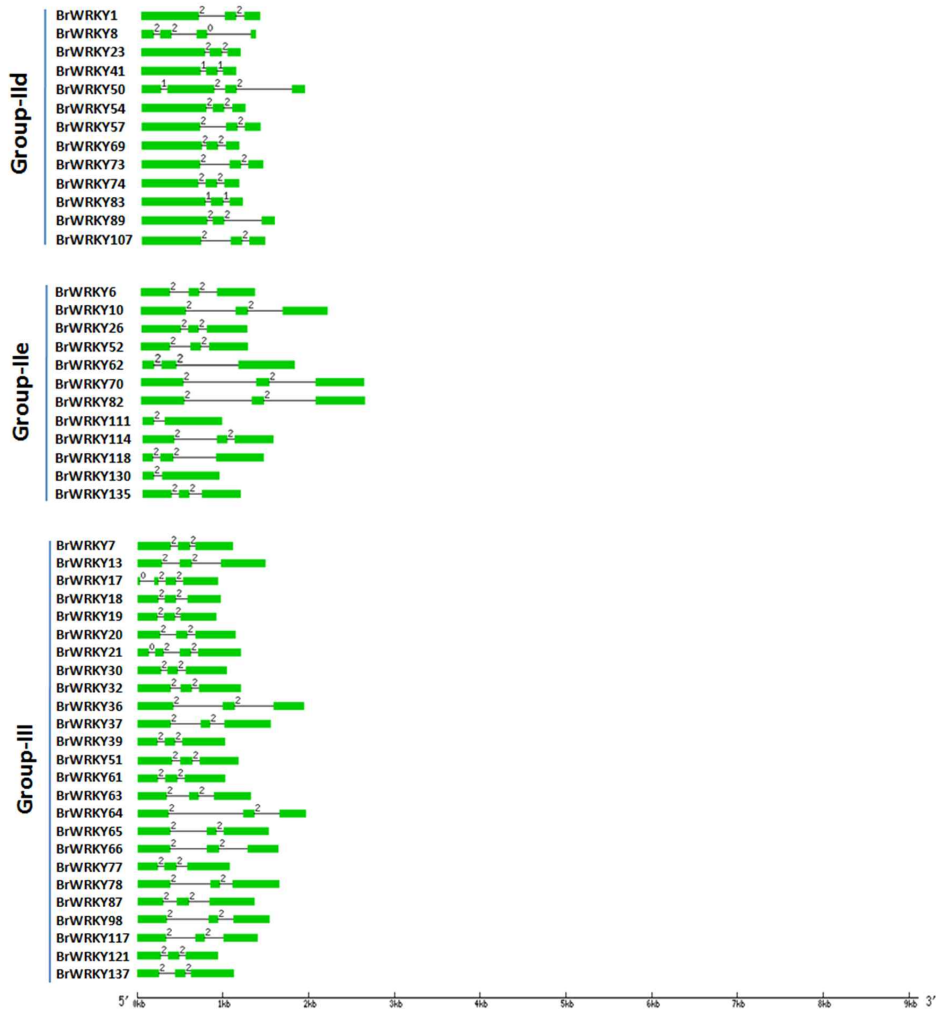


그림 38. BrWRKY에 대한 exon-intron 구조 분석

BrWRKY 유전자들을 이용하여 NCBI BLAST 검색한 결과, 애기장대(*Arabidopsis lyrata* subsp. *lyrata*, *A. thaliana*), 유채(*Brassica napus*), 양배추(*B. oleracea* var. *italica*), 배추(*B. rapa* subsp. *chinensis*), 망그로브(*Bruguiera gymnorrhiza*), 오이(*Cucumis sativus*), 용안(*Dimocarpus longan*), 딸기(*Fragaria ananassa*), 콩(*Glycine max*), 목화(*Gossypium barbadense*), 고무나무(*Hevea brasiliensis*), 보리(*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*), 쿠르카스(*Jatropha curcas*), 사과(*Malus domestica*), 알팔파(*Medicago truncatula*), 담배(*Nicotiana tabacum*), Alpine Penny-cress(*Noccaea caerulescens*), 토마토(*Solanum lycopersicum*), 카카오(*Theobroma cacao*), 밀(*Triticum aestivum*), 왕머루(*Vitis amurensis*), *Vitis pseudoreticulata* 등으로부터 동정된 WRKY 유전자들과 높은 상동성을 나타내었다(표 23).

표 23. 145개의 BrWRKY 유전자에 대한 상동성 분석

Gene name	Top matched clones	Name of protein	% Identity	e-value	Top homologous species
BrWRKY1	ACI14384.1	WRKY11-1 transcription factor	99%	0.0	<i>Brassica napus</i>
	AGQ04233.1	WRKY transcription factor 43.1	63%	2e-128	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY2	AGQ04215.1	WRKY transcription factor 27	46%	8e-74	<i>Jatropha curcas</i>

	AAS13378.1	WRKY1	79%	2e-175	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>chinensis</i>
BrWRKY3	EOX92322.1	WRKY DNA-binding protein 13	43%	6e-56	<i>Theobroma cacao</i>
	AGQ04203.1	WRKY transcription factor 15	45%	6e-55	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY4	ACI14393.1	WRKY28-1 transcription factor	84%	0.0	<i>Brassica napus</i>
	ADU52524.1	WRKY protein	47%	8e-47	<i>Cucumis sativus</i>
BrWRKY5	XP_002867796.1	WRKY DNA-binding protein 31	89%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACQ76807.1	WRKY transcription factor 42	68%	0.0	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY6	ACI14394.1	WRKY29-1 transcription factor	75%	8e-153	<i>Brassica napus</i>
	AGQ04236.1	WRKY transcription factor 45	70%	3e-42	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY7	ACQ76808.1	WRKY transcription factor 53	98%	0.0	<i>Brassica napus</i>
	ABN79278.1	WRKY53 transcription factor	74%	3e-160	<i>Noccaea caerulescens</i>
BrWRKY8	XP_002869730.1	WRKY DNA-binding protein 7	94%	7e-81	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14406.1	WRKY7-1 transcription factor	85%	5e-71	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY9	NP_182248.1	WRKY DNA-binding protein 23	71%	2e-140	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	AGQ04210.1	WRKY transcription factor 22	60%	4e-69	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY10	XP_002890885.1	WRKY DNA-binding protein 14	78%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACH99804.1	WRKY35 transcription factor	56%	5e-118	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY11	ACI14387.1	WRKY20-1 transcription factor	94%	0.0	<i>Brassica napus</i>
	ACD80361.1	WRKY17 transcription factor	43%	2e-112	<i>Triticum aestivum</i>
BrWRKY12	BAB61056.1	WRKY DNA-binding protein	50%	2e-112	<i>Nicotiana tabacum</i>
	ADU52508.1	WRKY protein	50%	4e-109	<i>Cucumis sativus</i>
BrWRKY13	NP_568439.1	WRKY DNA-binding protein 30	68%	5e-140	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	BAG15875.1	WRKY transcription factor	45%	7e-46	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>
BrWRKY14	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	58%	8e-161	<i>Brassica napus</i>
	NP_001234802.1	transcription factor WRKY72	40%	1e-67	<i>Solanum lycopersicum</i>
BrWRKY15	ACI14398.1	WRKY transcription factor 36	76%	00	<i>Brassica napus</i>
	AGQ04224.1	WRKY transcription factor 35	38%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY16	ACQ76806.1	WRKY transcription factor 40	97%	00	<i>Brassica napus</i>
	AGQ04215.1	WRKY transcription factor 27	55%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY17	XP_002874078.1	WRKY DNA-binding protein 38	47%	3e-26	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ABI13398.1	WRKY transcription factor 32	39%	7e-15	<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>
BrWRKY18	AAK28310.1	WRKY DNA-binding protein 62	37%	2e-22	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	AGQ04250.1	WRKY transcription factor 56	30%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY19	AAK28310.1	WRKY DNA-binding protein 62	40%	5e-30	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACY69975.1	WRKY transcription factor	29%	5e-19	<i>Vitis pseudobreticulata</i>
BrWRKY20	XP_002874078.1	WRKY DNA-binding protein 38	65%	1e-120	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACY69975.1	WRKY transcription factor	36%	1e-21	<i>Vitis pseudobreticulata</i>
BrWRKY21	XP_002874078.1	WRKY DNA-binding protein 38	59%	2e-105	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AAF61864.1	DNA-binding protein 4	44%	3e-18	<i>Nicotiana tabacum</i>
BrWRKY22	ACH99807.1	WRKY50 transcription factor	98%	7e-119	<i>Brassica napus</i>
	AGQ04202.1	WRKY transcription factor 14	49%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY23	ACI14408.1	WRKY74-1 transcription factor	85%	0.0	<i>Brassica napus</i>
	AGQ04202.1	WRKY transcription factor 40	53%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY24	AEO31516.2	WRKY transcription factor 31	53%	4e-60	<i>Dimocarpus longan</i>

	AGQ04211.1	WRKY transcription factor 23	46%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY25	ACI14410.1	WRKY8-1 transcription factor	79%	2e-179	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04214.1	WRKY transcription factor 26	53%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY26	ACI14392.1	WRKY27-1 transcription factor	99%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	NP_001267594.1	WRKY transcription factor 22	40%	2e-47	<i>Cucumis sativus</i>
BrWRKY27	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	78%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04226.1	WRKY transcription factor 37	46%	4e-49	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY28	NP_178433.1	WRKY DNA-binding protein 3	78%	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACI14395.1	WRKY3-1 transcription factor	76%	7e-119	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY29	ACI14391.1	WRKY26-1 transcription factor	92%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	ACD80357.1	WRKY2 transcription factor	49%	-	<i>Triticum aestivum</i>
BrWRKY30	AAK28310.1	WRKY DNA-binding protein 62	79%	2e-117	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACY69975.1	WRKY transcription factor	33%	1e-22	<i>Vitis pseudoreticulata</i>
BrWRKY31	XP_002864923.1	WRKY DNA-binding protein 51	77%	5e-96	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04200.1	WRKY transcription factor 12	54%	1e-37	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY32	XP_002872545.1	WRKY DNA-binding protein 41	71%	2e-154	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ABN79278.1	WRKY53 transcription factor	53%	4e-101	<i>Noccaea caerulea</i>
BrWRKY33	AGQ04223.1	WRKY transcription factor 34	49%	7e-65	<i>Jatropha curcas</i>
	NP_001234802.1	transcription factor WRKY72	42%	1e-54	<i>Solanum lycopersicum</i>
BrWRKY34	NP_001237777.1	WRKY32 protein	51%	1e-65	<i>Glycine max</i>
	AGQ04212.1	WRKY transcription factor 24	61%	1e-37	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY35	ACI14397.1	WRKY33-1 transcription factor	95%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52154.1	WRKY transcription factor 08	49%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY36	XP_002879888.1	WRKY DNA-binding protein 55	75%	1e-160	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04249.1	WRKY transcription factor 55	39%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY37	NP_181607.1	WRKY DNA-binding protein 54	70%	2e-160	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACQ76810.1	WRKY transcription factor 70	45%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY38	XP_002881979.1	WRKY family transcription factor	79%	2e-170	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04204.1	WRKY transcription factor 16	57%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY39	ADM32893.1	WRKY46	71%	4e-131	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>chinensis</i>
	AGQ04246.1	WRKY transcription factor 52	41%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY40	ACQ76807.1	WRKY transcription factor 42	99%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04246.1	WRKY transcription factor 32	51%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY41	XP_002884457.1	WRKY DNA-binding protein 39	82%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04230.1	WRKY transcription factor 40	53%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY42	AAL29431.1	WRKY transcription factor 58	48%	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY43	ACI14409.1	WRKY75-1 transcription factor	100%	3e-105	<i>Brasica napus</i>
	ACH88751.1	WRKY DNA binding protein	70%	-	<i>Fragaria ananassa</i>
BrWRKY44	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	99%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04230.1	WRKY transcription factor 40	49%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY45	ACI14393.1	WRKY28-1 transcription factor	99%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04214.1	WRKY transcription factor 26	50%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY46	ACI14383.1	WRKY1-1 transcription factor	91%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52158.1	WRKY transcription factor 01.1	55%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY47	ACI14387.1	WRKY20-1 transcription factor	78%	0.0	<i>Brasica napus</i>

	ACD80361.1	WRKY17 transcription factor	41%	4e-107	<i>Triticum aestivum</i>
BrWRKY48	ACH99803.1	WRKY2 transcription factor	45%	4e-129	<i>Brasica napus</i>
	BAA86031.1	Transcription factor NtWRKY4	47%	4e-103	<i>Nicotiana tabacum</i>
BrWRKY49	AEK65121.1	Transcription factor WRKY3	96%	2e-104	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>
	ACI14387.1	WRKY20-1 transcription factor	96%	0.0	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY50	ACI14406.1	WRKY7-1 transcription factor	97%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04230.1	WRKY transcription factor 42	55%	5e-114	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY51	ABN79278.1	WRKY53 transcription factor	76%	5e-165	<i>Noccaea caerulescens</i>
	ACQ76808.1	WRKY transcription factor 53	73	4e-148	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY52	XP_002869775.1	WRKY DNA-binding protein 29	83%	1e-175	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14394.1	WRKY transcription factor 29-1	84%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY53	XP_002881094.1	WRKY DNA-binding protein 25	81%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14390.1	WRKY transcription factor 25-1	80%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY54	XP_002879270.1	WRKY DNA-binding protein 21	74%	9e-168	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14390.1	WRKY transcription factor 21-1	73%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY55	ACH99805.1	WRKY44 transcription factor	98%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52160.1	WRKY transcription factor 4.2	45%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY56	AAX76840.1	WRKY DNA-binding protein 1	99%	0.0	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>chinensis</i>
	ACN89257.1	WRKY transcription factor 18	95%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY57	ACQ76798.1	WRKY transcription factor 11	79%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52155.1	WRKY transcription factor 43.1	61%	8e-135	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY58	NP_567862.3	WRKY DNA-binding protein 32	61%	4e-140	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACI14396.1	WRKY transcription factor 32-1	65%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY59	ACQ76801.1	WRKY transcription factor 2	77%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	ADU52508.1	WRKY protein	60%	3e-146	<i>Cucumis sativus</i>
BrWRKY60	XP_002867553.1	WRKY DNA-binding protein 20	66%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14387.1	WRKY transcription factor 20-1	64%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY61	ADM32893.1	WRKY46	50%	5e-81	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>chinensis</i>
	AGQ04246.1	WRKY transcription factor 52	38%	2e-159	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY62	XP_002876476.1	WRKY DNA-binding protein 69	86%	6e-154	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14405.1	WRKY transcription factor 69-1	90%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY63	ACQ76810.1	WRKY transcription factor 70	77%	2e-144	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04251.1	WRKY transcription factor 57	45%	2e-159	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY64	XP_002879888.1	WRKY DNA-binding protein 55	48%	2e-80	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04249.1	WRKY transcription factor 55	43%	2e-159	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY65	NP_181607.1	WRKY DNA-binding protein 54	70%	1e-150	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACQ76810.1	WRKY transcription factor 70	49%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY66	XP_002879888.1	WRKY DNA-binding protein 55	71%	2e-139	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04249.1	WRKY transcription factor 55	44%	2e-159	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY67	ACI14397.1	WRKY33-1 transcription factor	79%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52153.1	WRKY transcription factor 07	50%	2e-159	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY68	ACI14390.1	WRKY25-1 transcription factor	93%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52153.1	WRKY transcription factor 07	43%	2e-159	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY69	NP_565703.1	WRKY DNA-binding protein 21	69%	9e-161	<i>Arabidopsis thaliana</i>

	ACI14388.1	WRKY transcription factor21-1	76%	1e-159	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY70	ACH99804.1	WRKY35 transcription factor	78%	3e-165	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04240.1	WRKY transcription factor 49	50%	3e-77	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY71	ACN89258.1	WRKY transcription factor 24	100%	6e-107	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04209.1	WRKY transcription factor 21	80%	3e-77	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY72	XP_002880404.1	WRKY transcription factor 59	78%	2e-98	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04201.1	WRKY transcription factor 13	50%	2e-25	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY73	ACQ76799.1	WRKY transcription factor 17	96%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	ADU52502.1	WRKY protein	46%	6e-74	<i>Cucumis sativus</i>
BrWRKY74	XP_002878677.1	WRKY DNA-binding protein 15	78%	7e-163	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14385.1	WRKY15-1 transcription factor	91%	5e-116	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY75	XP_002881979.1	WRKY family transcription factor	89%	2e-83	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04204.1	WRKY transcription factor 16	52%	1e-32	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY76	NP_182248.1	WRKY DNA-binding protein 23	73%	2e-137	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ADU52532.1	WRKY protein	47%	6e-48	<i>Cucumis sativus</i>
BrWRKY77	ADM32893.1	WRKY46	99%	0.0	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>chinensis</i>
	AGQ04246.1	WRKY transcription factor 52	38%	2e-42	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY78	NP_181607.1	WRKY DNA-binding protein 54	70%	2e-161	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACQ76810.1	WRKY transcription factor70	45%	1e-61	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY79	XP_002881979.1	WRKY family transcription factor	89%	1e-125	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04204.1	WRKY transcription factor 16	55%	2e-66	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY80	ACI14397.1	WRKY33-1 transcription factor	77%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ70092.1	WRKY protein	77%	0.0	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>
BrWRKY81	NP_181263.2	WRKY transcription factor 44	75%	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACH99805.1	WRKY44 transcription factor	77%	00	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY82	ACH99804.1	WRKY35 transcription factor	93%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	XP_002890885.1	WRKY DNA-binding protein 14	61%	6e-139	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
BrWRKY83	ACI14388.1	WRKY21-1 transcription factor	97%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04228.1	WRKY transcription factor 39.1	57%	2e-66	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY84	XP_002881094.1	WRKY DNA-binding protein 25	80%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14390.1	WRKY25-1 transcription factor	80%	0.0	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY85	XP_002894513.1	WRKY10	48%	1e-130	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGJ52156.1	WRKY transcription factor11	40%	1e-31	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY86	AAL29431.1	WRKY transcription factor 58	72%	4e-172	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY87	NP_568439.1	WRKY DNA-binding protein 30	73%	8e-152	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	AGQ04247.1	WRKY transcription factor53	48%	3e-52	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY88	XP_002874303.1	WRKY DNA-binding protein 50	80%	4e-78	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACH99807.1	WRKY50 transcription factor	79%	7e-78	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY89	ACI14408.1	WRKY74-1 transcription factor	99%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	NP_198217.1	WRKY transcription factor 74	85%	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY90	ADL36864.1	WRKY domain transcription factor	44%	9e-65	<i>Malus domestica</i>
	AGQ04211.1	WRKY transcription factor23	49%	2e-60	<i>Jatropha curcas</i>

BrWRKY91	ACI14399.1	WRKY4-1 transcription factor	93%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AFH35047.1	WRKY transcription factor	55%	2e-167	<i>Gossypium barbadense</i>
BrWRKY92	XP_002864923.1	WRKY DNA-binding protein 51	80%	1e-106	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04200.1	WRKY transcription factor12	54%	1e-46	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY93	ACI14395.1	WRKY3-1 transcription factor	94%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AFH35047.1	WRKY transcription factor	59%	5e-160	<i>Gossypium barbadense</i>
BrWRKY94	ACI14410.1	WRKY8-1 transcription factor	82%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04214.1	WRKY transcription factor12	55%	7e-56	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY95	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	44%	8e-46	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04225.1	WRKY transcription factor36	43%	2e-43	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY96	ADL36863.1	WRKY domain transcription factor	47%	1e-58	<i>Malus domestica</i>
	AGQ04203.1	WRKY transcription factor15	54%	6e-60	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY97	XP_002894513.1	WRKY10	47%	2e-102	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACD80356.1	WRKY1 transcription factor	35%	2e-29	<i>Triticum aestivum</i>
BrWRKY98	ACQ76810.1	WRKY transcription factor 70	79%	1e-150	<i>Brasica napus</i>
	AAM64939.1	WRKY transcription factor 70	43%	e-135	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY99	ACI14400.1	WRKY40-1 transcription factor	88%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04215.1	WRKY transcription factor27	55%	3e-99	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY100	NP_001237777.1	WRKY32 protein	50%	1e-70	<i>Glycine max</i>
	AGQ04212.1	WRKY transcription factor24	47%	1e-65	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY101	AGQ04223.1	WRKY transcription factor 34	49%	1e-73	<i>Jatropha curcas</i>
	NP_001234802.1	transcription factor WRKY72	41%	7e-55	<i>Solanum lycopersicum</i>
BrWRKY102	NP_001237777.1	WRKY32 protein	50%	1e-63	<i>Glycine max</i>
	AGQ04212.1	WRKY transcription factor24	44%	6e-63	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY103	ACQ76804.1	WRKY transcription factor 36	84%	5e-172	<i>Brasica napus</i>
	NP_564976.1	WRKY DNA-binding protein 36	67%	5e-113	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY104	XP_002890835.1	WRKY DNA-binding protein 71	69%	8e-106	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04214.1	WRKY transcription factor26	60%	9e-54	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY105	ACI14400.1	WRKY40-1 transcription factor	97%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04215.1	WRKY transcription factor27	54%	2e-101	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY106	AEO31524.1	WRKY transcription factor 2-7	49%	2e-69	<i>Dimocarpus longan</i>
	ACN89257.1	WRKY transcription factor18	76%	8e-152	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY107	XP_003588631.1	WRKY transcription factor	57%	9e-115	<i>Medicago truncatula</i>
	ACQ76798.1	WRKY transcription factor11	79%	5e-179	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY108	ACI14396.1	WRKY32-1 transcription factor	95%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52149.1	WRKY transcription factor02	50%	2e-109	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY109	XP_002867553.1	WRKY DNA-binding protein 20	80%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACI14387.1	WRKY20-1 transcription factor	78%	0.0	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY110	ADL36863.1	WRKY domain transcription factor	48	6e-62	<i>Malus domestica</i>
	AGQ04203.1	WRKY transcription factor15	47%	1e-59	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY111	ACI14404.1	WRKY65-1 transcription factor	98%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04241.1	WRKY transcription factor50.1	57%	1e-75	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY112	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	40%	1e-72	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04225.1	WRKY transcription factor36	40%	1e-75	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY113	XP_002890032.1	WRKY DNA-binding protein 4	77%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>

	ACI14399.1	WRKY4-1 transcription factor	80%	0.0	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY114	ACI14394.1	WRKY29-1 transcription factor	100%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	XP_002869775.1	WRKY DNA-binding protein 29	84%	3-168	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
BrWRKY115	XP_002894513.1	WRKY10	50%	1e-135	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	BAA86031.1	Transcription factor NtWRKY4	35%	8e-32	<i>Nicotiana tabacum</i>
BrWRKY116	XP_002894513.1	WRKY10	55%	2e-20	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGJ52155.1	WRKY transcription factor09	42%	1e-22	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY117	ACI14407.1	WRKY70-1 transcription factor	100%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	XP_002878082.1	WRKY DNA-binding protein 70	71%	5e-125	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
BrWRKY118	ACI14405.1	WRKY69-1 transcription factor	98%	6e-170	<i>Brasica napus</i>
	NP_567073.2	WRKY DNA-binding protein 69	87%	2e-150	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY119	ADF45433.1	WRKY1	40%	4e-51	<i>Hevea brasiliensis</i>
	AGQ04210.1	WRKY transcription factor22	35%	7e-44	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY120	ACI14410.1	WRKY8-1 transcription factor	98%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04214.1	WRKY transcription factor26	60%	4e-55	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY121	AAK28310.1	WRKY DNA-binding protein 62	75%	1e-127	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	AGQ04250.1	WRKY transcription factor56	34%	5e-23	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY122	XP_002890032.1	WRKY DNA-binding protein 4	80%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AFH35047.1	WRKY transcription factor	58%	4e-161	<i>Gossypium barbadense</i>
BrWRKY123	ACI14403.1	WRKY6-1 transcription factor	98%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	XP_002886480.1	WRKY DNA-binding protein 6	85%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
BrWRKY124	XP_002862895.1	WRKY DNA-binding protein 49	65%	7e-116	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04227.1	WRKY transcription factor38	41%	6e-48	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY125	NP_198972.1	WRKY transcription factor 24	68%	9e-75	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACN89258.1	WRKY transcription factor24	68%	4e-70	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY126	NP_198972.1	WRKY transcription factor24	65%	1e-71	<i>Arabidopsis thaliana</i>
	ACN89258.1	WRKY transcription factor24	69%	1e-69	<i>Brassica napus</i>
BrWRKY127	ACQ76807.1	WRKY transcription factor 42	80%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	XP_002867796.1	WRKY DNA-binding protein 31	60%	3e-176	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
BrWRKY128	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	43%	8e-70	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04225.1	WRKY transcription factor36	39%	1e-73	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY129	XP_002880404.1	WRKY transcription factor 59	78%	9e-94	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04201.1	WRKY transcription factor13	47%	4e-25	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY130	ACI14404.1	WRKY65-1 transcription factor	81%	3e-147	<i>Brasica napus</i>
	AAS79556.1	WRKY family transcription factor	83%	4e-139	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY131	XP_002890835.1	WRKY DNA-binding protein 71	72%	7e-115	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AFK27602.1	WRKY71	46%	8e-57	<i>Vitis amurensis</i>
BrWRKY132	ADL36864.1	WRKY domain transcription factor	51%	3e-60	<i>Malus domestica</i>
	AGQ04211.1	WRKY transcription factor23	49%	1e-55	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY133	XP_002874963.1	WRKY DNA-binding protein 47	80%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04218.1	WRKY transcription factor30.1	45%	3e-111	<i>Jatropha curcas</i>

BrWRKY134	XP_002874303.1	WRKY DNA-binding protein 50	75%	2e-66	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACH99807.1	WRKY50 transcription factor	73%	1e-64	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY135	ACI14389.1	WRKY22-1 transcription factor	96%	1e-180	<i>Brasica napus</i>
	NP_192034.1	WRKY transcription factor 22	86%	4e-180	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY136	XP_002864923.1	WRKY DNA-binding protein 51	78%	1e-83	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AGQ04200.1	WRKY transcription factor12	50%	3e-37	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY137	XP_002874078.1	WRKY DNA-binding protein 38	67%	1e-128	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	AAL35288.1	WRKY transcription factor 38	69%	5e-121	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY138	ACQ76801.1	WRKY transcription factor 2	99%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGJ52156.1	WRKY transcription factor 11	49%	0.0	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY139	XP_002871650.1	WRKY DNA-binding protein 72	82%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACH99808.1	WRKY72 transcription factor	81%	0.0	<i>Brasica napus</i>
BrWRKY140	ACI14409.1	WRKY75-1 transcription factor	87%	4e-87	<i>Brasica napus</i>
	ACH88751.1	WRKY DNA binding protein	69%	9e-59	<i>Fragaria ananassa</i>
BrWRKY141	ACI14403.1	WRKY6-1 transcription factor	74%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04220.1	WRKY transcription factor 31	47%	3e-117	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY142	ACN89259.1	WRKY transcription factor 39	95%	0.0	<i>Brasica napus</i>
	XP_002884457.1	WRKY DNA-binding protein 39	78%	1e-173	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
BrWRKY143	ACH99806.1	WRKY45 transcription factor	99%	4e-103	<i>Brasica napus</i>
	NP_186846.1	WRKY transcription factor 45	77%	4e-65	<i>Arabidopsis thaliana</i>
BrWRKY144	ACI14393.1	WRKY28-1 transcription factor	82%	1e-176	<i>Brasica napus</i>
	AGQ04214.1	WRKY transcription factor 26	53%	5e-56	<i>Jatropha curcas</i>
BrWRKY145	XP_002890885.1	WRKY DNA-binding protein 14	76%	0.0	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>
	ACH99804.1	WRKY35 transcription factor	59%	1e-125	<i>Brasica napus</i>

배추와 애기장대, 오이, 벼에서 WRKY 유전자의 개수를 그룹별(group I, II(-a~-e), III)로 나누어 백분율로 비교해본 결과 group I에서 벼는 15.6% 이었으며 나머지 식물들은 18%를 차지하고 있었다. Group II에서는 오이에서 70.9%로 다른 식물들에 비해 가장 많았으며, 배추와 애기장대는 비슷하게 60%를 조금 넘는 수치였다. 하지만 벼에서는 훨씬 작은 수치인 46.9%로 가장 적었다. Group III에서는 오이가 제일 적은 10.9%였고, 그 다음으로 배추와 애기장대가 각각 17.2%, 19.4%이었으며, 벼에서는 오히려 37.5%로 group III 중 가장 많은 비율을 차지하고 있었다(표 24).

표 24. 배추를 비롯한 애기장대, 오이, 벼에서의 WRKY 유전자 개수

Species of WRKY gene	Group I (%)	Group II					Total Group II(%)	Group III(%)
		Group IIa	Group IIb	Group IIc	Group IId	Group IIe		
BrWRKY	27(18.6)	7	17	42	14	13	93(64.2)	25(17.2)
AtWRKY	13(18.1)	4	7	18	7	9	45(62.5)	14(19.4)
CsWRKY	10(18.2)	4	4	16	8	7	39(70.9)	6(10.9)
OsWRKY	15(15.6)	4	8	15	7	11	45(46.9)	36(37.5)

배추의 145개 BrWRKY 유전자와 이미 보고되어 있는 벼 및 애기장대의 WRKY 유전자들을 이용하여 계통수를 작성하였다. 그 결과 배추의 145개 BrWRKY 유전자들은 벼 및 애기장대의 WRKY 유전자들의 그룹에 grouping되었다(그림 39).

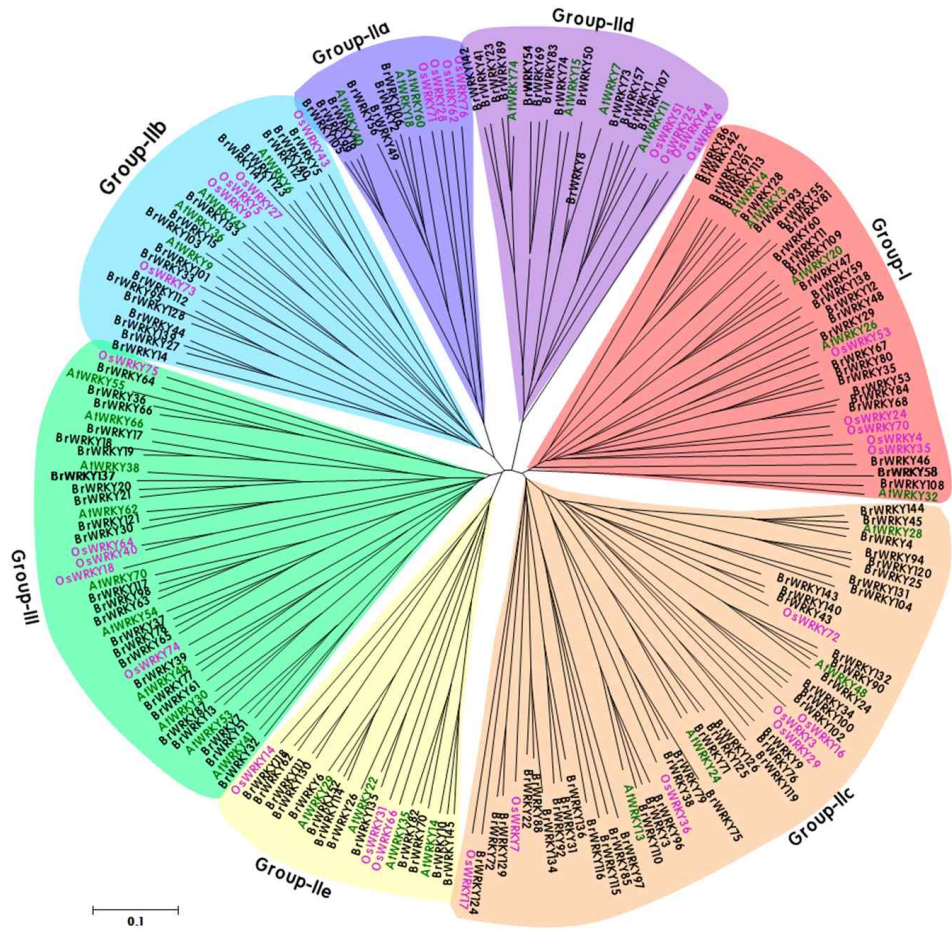


그림 2. 배추의 WRKY 유전자에 대한 계통수
(분홍색: 벼의 WRKY 유전자, 녹색: 애기장대 WRKY 유전자)

BrWRKY 유전자 중 group II에 대한 계통수를 분석해 본 결과, 5개의 sub group들은 모두 WRKY 도메인을 1개씩 가지고 있었으며, 그 외에 sub group 마다 각기 조금씩 다른 nuclear localization sequence, potential leucine zipper structure 등으로 이루어져 있었다(그림 40).

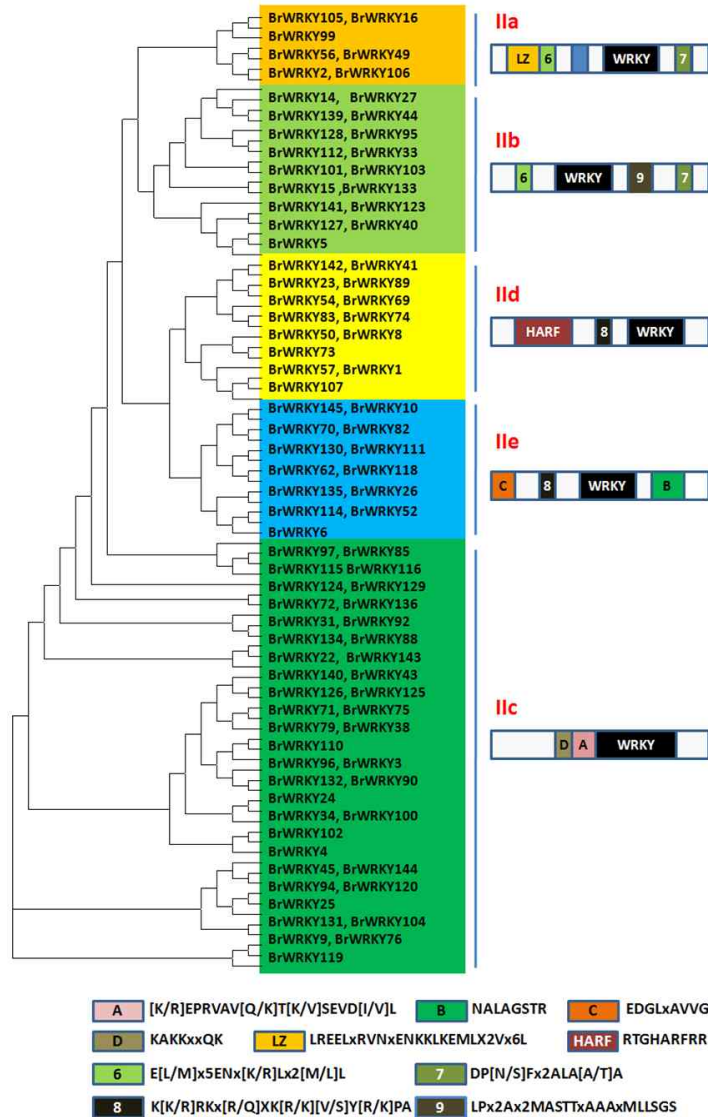


그림 40. BrWRKY 유전자의 group II에 대한 계통수 분석

(WRKY: WRKY domain, 6 · 7 · 8 · 9: nuclear localization sequence, LZ: potential leucine zipper structure)

또한 WRKY 유전자에 대하여 보고된 예기장대와 베퍼와 함께 본 연구에서 동정한 배추의 WRKY 도메인에 대한 다중 염기서열을 분석하였다(그림 41). 분석한 결과, 대부분의 WRKY 도메인에 'WRKYGQK'의 염기와 zinc-finger motif 염기가 잘 보존되어 있음을 확인하였다.

Group-Ic

ATWRKY13 LDDGKARKYGGKVKVKTQHPRSYRCTDCKRVKRVRELAADPRMIIITTEGRHLISP 60
 ATWRKY24 LDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 ATWRKY28 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY48 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTVGGVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY100 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY102 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY104 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPLIITTEGVHHP 60
 BrWRKY110 LDDGKARKYGGKVKVKTQHPRSYRCTDCKRVKRVRELAADPRMIIITTEGRHLISP 60
 BrWRKY115 PDDGYARKYGGKRLDGNHNSPYRCTYGGCNVKRVERGADVKKLVITTEGVHHP 60
 BrWRKY116 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTYAGCNVKRVERADNKKLVITTEGVHHP 60
 BrWRKY119 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY120 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY124 SDDGKARKYGGKISKNSPNRPSYRCTNSIINAKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY125 LDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY126 LDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY129 LDDGKARKYGGKPIRGSPFPHHDKCSNPHLIVKKLIDHTSHDYLLITTEGVHHP 60
 BrWRKY131 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTQICNVKRVRELAADPRMIIITTEGRHLISP 60
 BrWRKY132 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTVGGVKKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY134 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTVGGVKKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 47
 BrWRKY136 MDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY140 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTHGGCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY143 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTEKGCNVKRVRLSGEGVITTEGVHHP 60
 BrWRKY144 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY22 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTAARCPVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY24 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTVGGVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY25 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY3 LDDGKARKYGGKVKVKTQHPRSYRCTDCKRVKRVRELAADPRMIIITTEGRHLISP 60
 BrWRKY31 MDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY34 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY38 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY4 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY43 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTYAGCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY45 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY71 LDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY72 LDDGKARKYGGKPIRGSPFPHHDKCSNPHLIVKKLIDHTSHDYLLITTEGVHHP 60
 BrWRKY75 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTASCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 37
 BrWRKY76 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTASCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY79 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY85 PDDGKARKYGGKPIRGSPFPHHDKCSNPHLIVKKLIDHTSHDYLLITTEGVHHP 60
 BrWRKY88 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTASCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY90 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTVGGVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 BrWRKY92 MDDGKARKYGGKSVKQIHAFHPRSYRCTDHTCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60
 BrWRKY94 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 BrWRKY96 LDDGKARKYGGKVKVKTQHPRSYRCTDCKRVKRVRELAADPRMIIITTEGRHLISP 60
 BrWRKY97 PNDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTSHKGLDKRVERADNKKLVITTEGVHHP 60
 OsWRKY16 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTTUKCNVKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 OsWRKY17 ADDGKARKYGGKISKNSPNRPSYRCTNSIINAKRVERSEDDPTVITTEGVHHP 60
 OsWRKY29 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 OsWRKY3 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 OsWRKY36 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 OsWRKY7 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTNSRCTVKKRVERSEDDPSIITTEGVHHP 60
 OsWRKY72 LDDGKARKYGGKAVKNSPYRPSYRCTHGGCNVKRQVRLAKDPKVVITTEGVHHP 60

Group-IId

OsWRKY6 FSDNYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSKDKCPARKHVERCRSDPAMLLVTEGHRHQAQ 61
 OsWRKY51 FADDFSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSLKGCEARKHVERDEADPSLIVTEGHRHQAQ 61
 OsWRKY44 FADEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 OsWRKY25 FADEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY89 PPDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY83 PPDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY8 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 60
 BrWRKY74 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY73 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY69 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY57 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY54 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY50 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY41 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY23 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY142 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY107 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY1 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY74 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY7 SDFDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY15 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY11 PFDDEYSWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61

Group-Ile

AtWRKY14 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY22 NSDYAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY29 LSDAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 AtWRKY35 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY10 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY111 PSDSAAWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY114 LSDAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY118 PSDSAAWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY130 PSDSAAWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY135 NNDYAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY145 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY26 SSDMAWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY52 LSDAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY6 LSDAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY62 PSDSAAWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY70 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 BrWRKY82 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 OsWRKY14 PTDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61
 OsWRKY31 APDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 62
 OsWRKY66 PSDLAWWKYGGKPIKGSFPHRGYYKCSYKGCCEARKHVERAADDPAITVITTEGHRHQAQ 61

Group-II

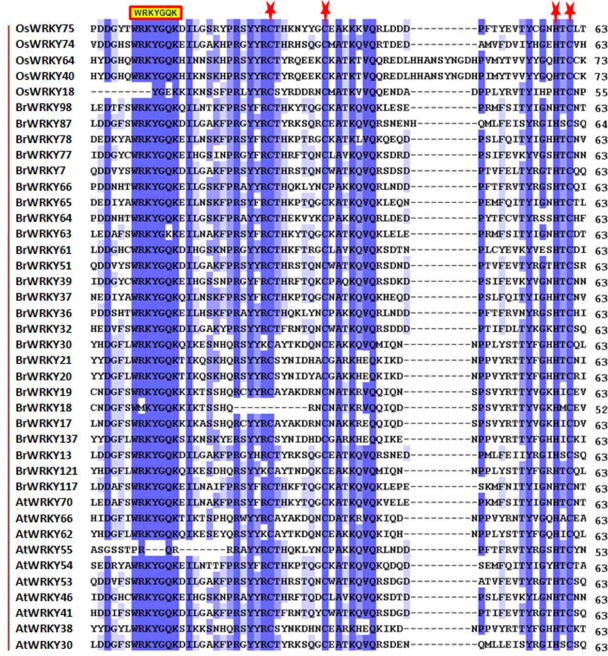


그림 41. 배추와 애기장대, 벼와 함께 WRKY 도메인에 대한 다중 염기서열 분석 (빨간색 별표: zinc-finger motif)

저온에 강한 지부(chiffu) 계통과 저온에 약한 권심(kenshin) 계통을 이용하여 각기 다른 온도의 저온 스트레스를 처리한 후 얻어낸 microarray 결과 분석으로부터 BrWRKY 유전자 중 34개의 유전자가 저온에 반응을 보였다(그림 42). 이들 유전자들은 저온이 주어졌을 때 지부 및 권심 계통 모두 또는 한쪽 계통에서 발현량이 증가하거나 줄어들었다. 특히 BrWRKY 5, 9, 16, 61, 90, 105 유전자들은 지부와 권심 모두에서 저온 스트레스를 주었을 때 발현량이 늘어났음을 확인하였고, BrWRKY89, 98, 117, 135 유전자들은 저온이 주어졌을 때 지부에서만 특이적이 발현량이 증가하는 양상을 나타내었다. 본 실험에서 동정된 유전자들은 내한성 또는 내동성 작물을 육성하는 데 중요한 후보 유전자가 될 것으로 기대된다.

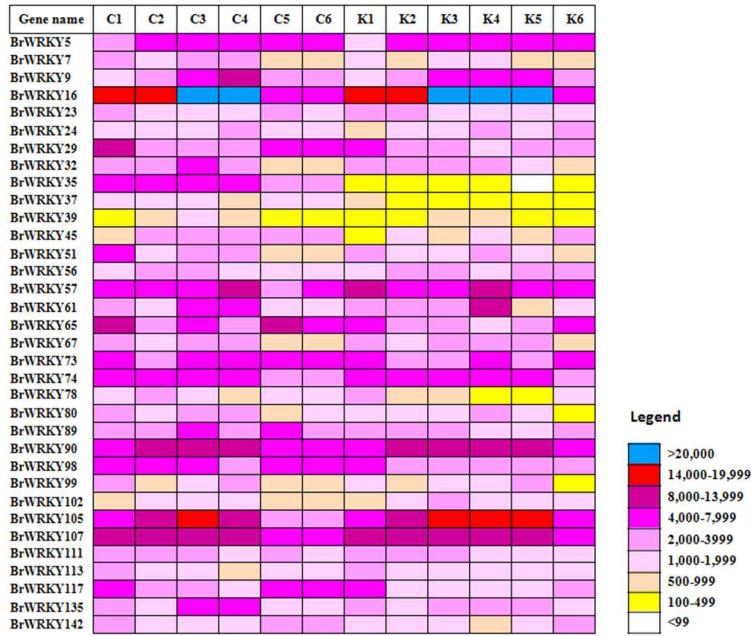


그림 42. 저온 처리에 반응하는 34개의 WRKY 유전자에 대한 microarray 결과 (C: chiffu, K: kenshin, C1 · K1: 22°C (control), C2 · K2: 4°C, C3 · K3: 0°C, C4 · K4: -2°C, C5 · K5: -4°C, C6 · K6: 22°C (recovery))

나. 저온 반응성 관련 유전자 Alfin-like의 발현 분석

Alfin-like (AL) 전사인자 유전자군은 많은 생물학적 처리과정에서 중요한 역할을 하며, 식물 성장 및 뿌리 발달, 성장점 발달과 더불어 비생물학적 및 생물학적 스트레스에 반응하는 유전자로 알려져 있다. 하지만 현재까지 유전자의 조절 메카니즘 및 어떤 스트레스에 어떤 유전자들이 반응하는지 잘 알려져 있지 않다. 따라서 배추의 Alfin-like (AL) 유전자들이 배추 genome상에 몇 개가 존재하며 이들 유전자들이 어떤 스트레스 특히 저온 스트레스에 어떤 유전자들이 반응하는지를 검토하였다. 배추 BRAD 데이터베이스(<http://brassicadb.org/brad/index.php>)로부터 15개의 Alfin-like (AL) 유전자가 검색되었다. 검색된 AL 유전자들은 PHD finger motif와 DUF3594 도메인을 포함하고 있었다. BrAL1~14 유전자들은 모두 염색체 1번에서 10번 사이에 위치하고 있었으나, BrAL15는 염색체 상에는 아직 찾을 수 없었고 Scaffold에 위치하고 있었다. BrAL 단백질은 240~282 아미노산으로 이루어져 있었으며, pI는 4.89~5.49, 분자량은 27.31~31.88 KDa이었다. 또한, ORF 길이는 매우 비슷하여 723~849 bp로 평균 760 bp였다. 배추 AL 유전자들과 애기장대 유전자와의 ortholog를 찾아 본 결과 BrAL1, 4, 5 유전자가 AT3G11200로 검색되었으며, BrAL2, 13가 AT5G20510, BrAL6, 9, 12가 AT1G14510, BrAL3, 7, 10이 AT5G26210로 검색되었다(표 25). 도메인 검색으로부터 배추 15개의 AL 유전자들은 PHD domain이 47~51 aa의 길이를 가지고 있었으며, DUF3594 domain으로는 134~139 aa의 길이를 가지고 있었다(표 26). 이 중 PHD finger motif는 C₄HC₃ zinc-finger-like motif 였다. 15개의 배추 AL 유전자들의 단백질 서열을 비교해본 결과 배추 AL 유전자들은 매우 유사한 서열을 가지고 있음을 확인하였다(그림 43).

표 25. 배추 15개의 AL 유전자에 대한 염색체 위치, 단백질 정보 및 애기장대와의 비교

Gene name	Gene ID	Chromosome				Protein Length (aa)	pI	Mw (KDa)	ORF length	At ortholog
		No.	Start	Stop	Strand					
BrAL1	Bra034169	A01	24631609	24633597	+	250	5.33	28.24	753	AT3G11200
BrAL2	Bra020107	A02	4042540	4044218	-	254	5.01	28.92	765	AT5G20510
BrAL3	Bra020543	A02	24129346	24130879	-	254	5.05	28.99	765	AT5G26210
BrAL4	Bra001393	A03	16180914	16182583	-	250	5.36	28.47	753	AT3G11200
BrAL5	Bra034860	A05	22492396	22494422	+	247	5.21	28.01	744	AT3G11200
BrAL6	Bra026210	A06	5271378	5272746	-	250	5.31	27.91	753	AT1G14510
BrAL7	Bra009887	A06	18511372	18513347	-	261	4.91	29.38	786	AT5G26210
BrAL8	Bra024817	A06	22539527	22541228	-	246	5.27	27.78	741	AT2G02470
BrAL9	Bra016698	A08	18828787	18830348	+	250	5.46	28.18	753	AT1G14510
BrAL10	Bra036568	A09	2784846	2786405	+	257	4.89	29.16	774	AT5G26210
BrAL11	Bra017415	A09	14028227	14030385	+	244	5.04	27.37	735	AT2G02470
BrAL12	Bra026825	A09	35641149	35642692	+	244	5.33	27.31	735	AT1G14510
BrAL13	Bra002307	A10	10454287	10456420	+	282	5.18	31.88	849	AT5G20510
BrAL14	Bra009121	A10	15162058	15163445	+	240	5.49	27.31	723	AT5G05610
BrAL15	Bra034950	Scaffold	54582	55726	-	254	4.95	28.29	765	AT3G42790

표 26. 배추 15개의 AL 유전자에 대한 도메인 위치

Gene name	PHD Domain		Pfam:DUF3594 Domain	
	Start	end	Start	end
<i>BrAL1</i>	195	243	10	143
<i>BrAL2</i>	201	248	12	148
<i>BrAL3</i>	199	247	10	147
<i>BrAL4</i>	196	244	9	147
<i>BrAL5</i>	193	241	9	142
<i>BrAL6</i>	193	242	4	140
<i>BrAL7</i>	207	255	15	151
<i>BrAL8</i>	192	240	13	149
<i>BrAL9</i>	197	243	10	146
<i>BrAL10</i>	203	251	10	146
<i>BrAL11</i>	190	138	10	146
<i>BrAL12</i>	190	236	11	147
<i>BrAL13</i>	207	255	13	149

<i>BrAL14</i>	186	234	9	143
<i>BrAL15</i>	198	248	11	147

DUF3594 Domain

```

ATAL1 -----MAEENSRFTVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----IKD
ATAL2 -----MAAAYNSNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----MKD
ATAL3 -----MEGGALNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----MAKAD-KSSAAN
ATAL4 -----MEAGGANFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----KQKDKSSVSN
ATAL5 -----MEGGTARHFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----MPSAN
ATAL6 -----MEGITHFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSAN
ATAL7 -----MEGICQHFVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSAN
BrAL1 -----MAAYNSNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----IKD
BrAL2 -----MEGGGGARINFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QPSVSN
BrAL3 -----MEKDCANFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----LAKLSEKYSVSN
BrAL4 -----MAAYNSNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----IKD
BrAL5 -----MAAYNSNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----IKD
BrAL6 -----MEGRAEVDFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSG
BrAL7 -----MEGGGGARINFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----LAKLSEKYSVSN
BrAL8 -----MEGSIHTQHFVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSG
BrAL9 -----MEGICQHFVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSAN
BrAL10 -----MEGGGANFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSG
BrAL11 -----MEVITHFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSAN
BrAL12 -----MEGICQHFVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----QSKDSAN
BrAL13 -----MEGGGGARINFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----KASAN
BrAL14 -----MAGESSNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----IKD
BrAL15 -----MEGGALNFRVVEEFDKGRRAAGLKAITDQVDFEYVQCDPEKENICLYGPNNEWEVNLPAEVEPPELPPALGINFARDGMCKEMLSLVAVHSDWLLSVSYFGARLNENE-----RRKLFSLINDLPTLFEVVTGRKPF-----KSSAAN

```

PHD Zinc finger motif

```

ATAL1 QKPMDSGKSRNG-YRSEIQGKSTP-KLMEEYVEDE-----DEHDTLGGSG--GNYTDEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----
ATAL2 NFPSSDGSKSRNG-TRSDIQGKSTPKLMEEYVEE-----EEDEHDTLGGSG--GHYTFEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----
ATAL3 QMNSKSNKSRNG-VKRSQKSTKQKPEE-----EEIDEDDDEHDTLGGSG--GADEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARA-----
ATAL4 NSNRSKSSKSRNG-SEKAKSFKFRDDE-----EEEGVEE--DEEQQEAGG--EYSADEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRAS-----
ATAL5 QMNSKSNKSRNG-LEKSKSHAKOEEELSEEEDEDEHDTLGGSG--GNYSDEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
ATAL6 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
ATAL7 HNSKSKSGVRFKSESHKASM-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL1 NFPSSDGSKSRNG-TRSDIQGKSTPKLMEEYVEE-----DEHDTLGGSG--GNYTDEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----
BrAL2 RNKNSKSNKSRNG-VKRSQKSTKQKPEE-----EEEGVEE-----EYSADEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL3 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL4 NFPSSDGSKSRNG-TRSDIQGKSTPKLMEEYVEE-----DEHDTLGGSG--GNYTDEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----
BrAL5 NFPSSDGSKSRNG-TRSDIQGKSTPKLMEEYVEE-----DEHDTLGGSG--GNYTDEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----
BrAL6 -NRSKSKSGVRFKSESHKASM-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL7 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL8 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL9 HNSKSKSGVRFKSESHKASM-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL10 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL11 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL12 NNSKSKFGQVRSQSELSKVMSP-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL13 QMNSKSNKSRNG-VKRSQKSTKQKPEE-----EEIDEDDDEHDTLGGSG--GHYTFEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----
BrAL14 -RFSKSKSGVRFKSESHKASM-PPPKKEEEDSEDESDDEEQAVGAG--INVT-DEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-SNKRARF-----
BrAL15 RYKNSKSKSRNG-VKRSQKSTKQKPEE-----EEIDEDDDEHDTLGGSG--GHYTFEFWICDVEKRYGKVKITPAKADIKVKYFP-CAKGRG-----

```

그림 43. 배추 15개의 AL 유전자에 대한 DUF3594, PHD motif 서열

배추 15개의 AL 유전자에 대한 *cis*-acting 조절 인자를 분석하기 위해, 각 유전자의 프로모터 영역으로 예상되는 유전자의 up-stream 쪽으로 1,500 bp 이용해 'PlantCARE' 웹사이트를 이용하여 프로모터 분석을 수행하였다. 검색된 프로모터 부분의 *cis*-element는 비생물학적 스트레스 반응, 광, 일주기 리듬 조절, 병 저항성, 종자 발달에 관련된 영역들인 TC-rich repeats, TCA-element, HSE element, ERE element, Box-W1 element, MBS element, as-2-box element, LTR element, CAT-box, as-1 element, ABRE, circadian, WUN-motif, CE3 및 RY-element들이 존재하였다(표 27).

표 27. 배추 AL 유전자들의 프로모터 *cis*-element 분석

Gene name	Cis element	Organism	Sequence	Function
BrAL1	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	Fungal elicitor responsive element
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AGAAAATTTCG	Cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	MBSII	<i>Petunia hybrida</i>	AAAAGTTAGTTA	MYB binding site involved in flavonoid biosynthesis genes regulation
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTTCA	Cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA-element	<i>Brassica oleracea</i>	GAGAAGAATA	Cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
	Circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	Cis acting regulatory element involved in circadian control

	ABRE	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TACGTG	Cis-acting element involved in abscisic acid responsiveness
BrAL2	MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTCTCTAAC	Cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	Circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	Cis acting regulatory element involved in circadian control
	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	Fungal elicitor responsive element
BrAL3	ABRE	<i>Oryza sativa</i>	GCCGCGTGCC	Cis-acting element involved in abscisic acid responsiveness
	EIRE	<i>Nicotiana tabacum</i>	TTCGACC	Elicitor-responsive element
	ERE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	ATTTCAAA	Ethylene responsive element
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	Cis-acting element involved in low temperature responsiveness
	MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	Fungal elicitor responsive element
	MBSI	<i>Petunia hybrida</i>	AAAAAAC(G/C)GTT A	MYB binding site involved in flavonoid biosynthesis genes regulation
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTTCA GTTTTCTTAC	Cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA element	<i>Brassica oleracea</i>	GAGAAGAATA	Cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
	WUN motif	<i>Brassica oleracea</i>	AAATTTCTCT	Wound-responsive element
BrAL4	ABRE	<i>thaliana</i>	TACGTG	Cis-acting element involved in abscisic acid responsiveness
	HSE	<i>B. oleracea</i>	AAAAAATTTTC	Cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	Fungal elicitor responsive element
	MBS	<i>A. thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought inducibility
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTTCA	Cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA element	<i>Brassica oleracea</i>	GAGAAGAATA	Cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
BrAL5	A-box	<i>Petroselinum crispum</i>	CCGTCC	Cis-acting regulatory element
	ABRE	<i>Hordeum vulgare</i>	GCAACGTGTC	Cis-acting element involved in abscisic acid responsiveness
	ARE	<i>Zea mays</i>	TGGTTT	Cis-acting regulatory element essential for the anaerobic induction
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	Cis-acting element involved in low temperature responsiveness
	MBS	<i>A. thaliana</i>	TAACTG	MYB binding site involved in drought inducibility
	OBP-1 site	<i>A. thaliana</i>	TACACTTTTGG	Cis acting regulatory element
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTCCA	Cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
BrAL6	5UTR Py-rich stretch	<i>Lycopersicon esculentum</i>	TTTCTTCTCT	cis-acting element conferring high transcription levels

	ERE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	ATTTCAAA	ethylene-responsive element
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AAAAAAT TTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	MBSII	<i>Petunia hybrida</i>	AAAAGTTAGTTA	MYB binding site involved in flavonoid biosynthetic genes regulation
BrAL7	5UTR Py-rich stretch	<i>Lycopersicon esculentum</i>	TTTCTCTCTCTC	cis-acting element conferring high transcription levels
	ABRE	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CACGTG	cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness
	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	fungal elicitor responsive element
	MBS	<i>thaliana</i>	TAACTG	MYB binding site involved in drought inducibility
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTTCA	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA-element	<i>Brassica oleracea</i>	GAGAAGAATA	cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
BrAL8	ARE	<i>Zea mays</i>	TGGTTT	cis-acting regulatory element essential for the anaerobic induction
	ERE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	ATTTCAAA	ethylene-responsive element
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AAAAAAT TTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTTCA	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA-element	<i>Brassica oleracea</i>	GAGAAGAATA	cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
BrAL9	ABRE	<i>Hordeum vulgare</i>	GCCACGTACA	cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness
	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	fungal elicitor responsive element
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
	RY-element	<i>Helianthus annuus</i>	CATGCATG	cis-acting regulatory element involved in seed-specific regulation
	TCA-element	<i>Brassica oleracea</i>	TCAGAAGAGG	cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
	as-2-box	<i>Nicotiana tabacum</i>	GATAatGATG	involved in shoot-specific expression and light responsiveness
	circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	cis-acting regulatory element involved in circadian control
BrAL10	CE3	<i>Oryza sativa</i>	GACGCGTGTC	cis-acting element involved in ABA and VP1 responsiveness
	ERE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	ATTTCAAA	ethylene-responsive element
	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	fungal elicitor responsive element
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AGAAAAATTCG	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	TCA-element	<i>Nicotiana tabacum</i>	CCATCTTTTT	cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
BrAL11	CAT-box	<i>Arabidopsis thaliana</i>	GCCACT	cis-acting regulatory element related

				to meristem expression
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AAAAAATTTTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTCTCTAAC	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	as1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TGACGTCA	cis-acting regulatory element involved in the root-specific expression
	circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	cis-acting regulatory element involved in circadian control
BraL12	ABRE	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TACGTG	cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
	ERE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	ATTTCAAA	ethylene-responsive element
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AAAAAATTTTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	GTTTTCTTAC	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA-element	<i>Brassica oleracea</i>	GAGAAGAATA	cis-acting element involved in salicylic acid responsiveness
	WUN-motif	<i>Brassica oleracea</i>	AAATTTCTT	wound-responsive element
	circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	cis-acting regulatory element involved in circadian control
	BraL13	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC
MBS		<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
TC-rich repeats		<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTCTCTAAC	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
circadian		<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	cis-acting regulatory element involved in circadian control
BraL14	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	fungal elicitor responsive element
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AAAAAATTTTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	GTTTTCTTAC	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	as-2-box	<i>Nicotiana tabacum</i>	GATAatGATG	involved in shoot-specific expression and light responsiveness
	circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	cis-acting regulatory element involved in circadian control
BraL15	Box-W1	<i>Petroselinum crispum</i>	TTGACC	fungal elicitor responsive element
	CCGTCC-box	<i>Arabidopsis thaliana</i>	CCGTCC	cis-acting regulatory element related to meristem specific activation
	HSE	<i>Brassica oleracea</i>	AAAAAATTTTC	cis-acting element involved in heat stress responsiveness
	LTR	<i>Hordeum vulgare</i>	CCGAAA	cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
	MBS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility
	TC-rich repeats	<i>Nicotiana tabacum</i>	ATTTTCTTCA	cis-acting element involved in defense and stress responsiveness
	TCA-ele	<i>Nicotiana tabacum</i>	CCATCTTTTT	cis-acting element involved in salicylic

ment			acid responsiveness
circadian	<i>Lycopersicon esculentum</i>	CAANNNNATC	cis-acting regulatory element involved in circadian control

총 24개의 식물 종 및 배추의 AL 유전자들을 이용하여 계통수를 작성하였다(그림 44). 현재까지 보고된 22개의 고등식물과 2개의 하등식물(*Chlamydomonas reinhardtii*, *Ostreococcus tauri*) 들로부터 251개의 AL 단백질들이 검색되었다. 그림 44에서 보여지는 것과 같이 AL 유전자는 종 분화 이전에 존재하고 있었으며, 종이 분화될수록 AL 유전자의 수가 더 늘어남을 알 수 있었다. 또한 배추와 애기장대와의 AL 유전자군에 대한 계통수를 작성하여 4개의 그룹으로 묶을 수 있었다. 그룹 I에서는 배추에서 5개 유전자가 속해 있었으며, 애기장대에서는 2개의 유전자가 속해 있었다. 그룹 I에 있는 *Alfin1* 유전자를 형질전환시킨 알팔파에서 염류 내성이 증가된 연구가 보고되었다. 그룹 I의 배추와 애기장대 AL 유전자들은 *Alfin1*과 매우 유사한 염기를 가지고 있으므로 이들 유전자들은 염류 내성 기능을 가질 것으로 판단되었다. 그룹 II에서는 배추에서 4개의 유전자가 속해 있었으며, 애기장대에서 2개의 유전자가 속해 있었다. 그룹 III에서는 배추에서 3개, 애기장대에서 2개, 그룹 IV에서는 배추에서 3개, 애기장대에서 1개의 유전자가 속하였다(그림 45).

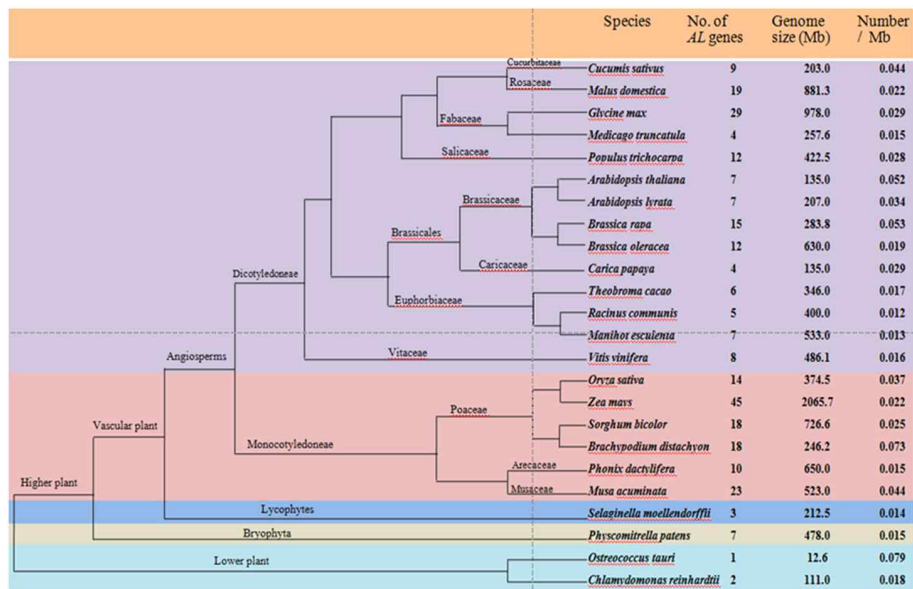


그림 44. 24개의 유전체에 대한 AL 유전자에 대한 계통수

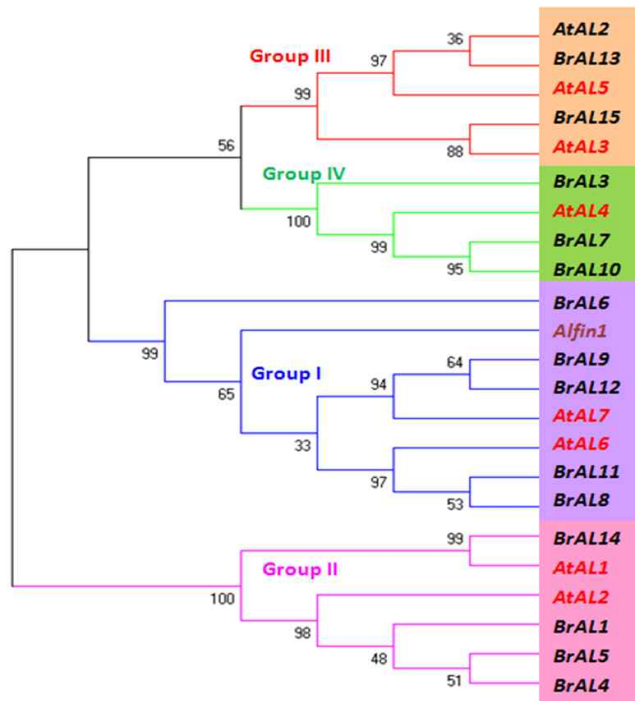


그림 45. 배추 AL 유전자군과 애기장대 AL 유전자군과의 계통수

배추 15개의 AL 유전자에 대한 motif를 분석해 본 결과 8개의 motif들이(motif 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9) 모든 유전자들에서 공통적으로 존재하였다. motif 10은 그룹 III를 제외한 모든 그룹에서 공통적으로 존재하였으며 Motif 11은 그룹 II에서만 존재하였다(그림 46). Motif들 중 motif 2, 3, 4, 5, 6은 DUF3594 domain을 구성하고 있으며, motif 1, 7, 8은 PHD zinc finger motif를 나타내었다. 또한 유전자의 구조를 분석한 결과 14개의 유전자들이 5개의 엑손과 4개의 인트론으로 이루어져 있었으며, 예외적으로 BrAL4는 6개의 엑손과 5개의 인트론으로 이루어져 있었다(그림 47).

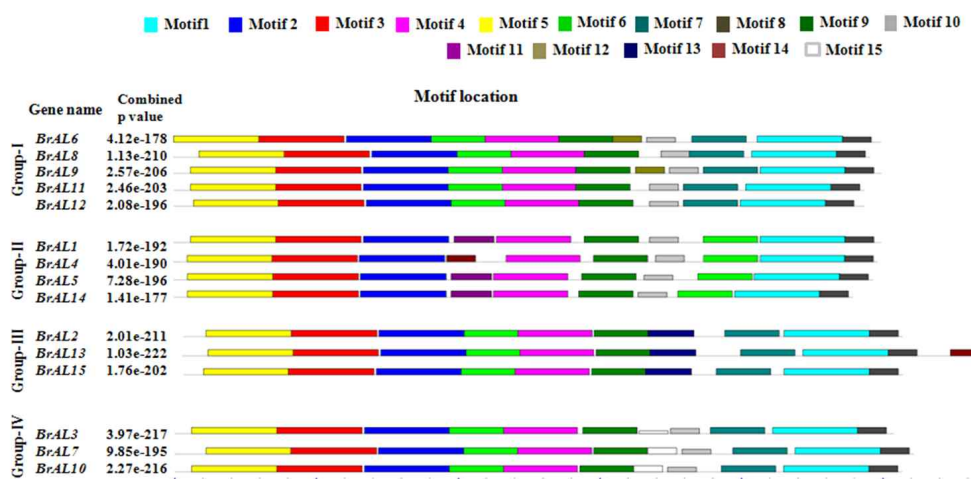


그림 46. 배추 15개 AL 유전자에 대한 motif 분석

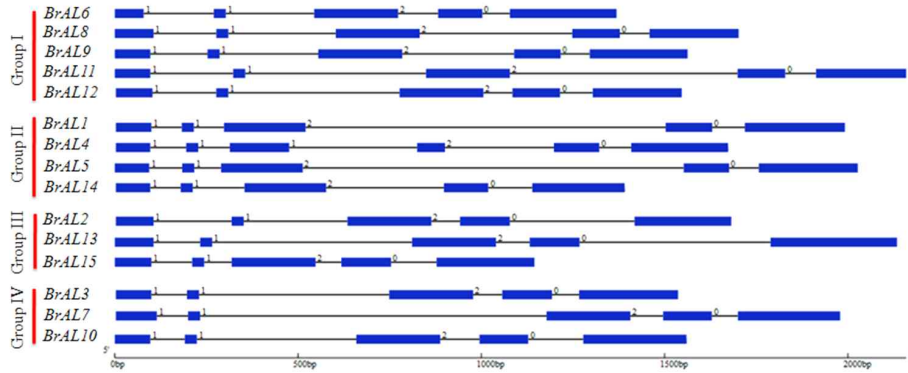


그림 47. 배추 15개 AL 유전자에 대한 유전자 구조

염색체 상에 유전자들의 위치를 표시해 본 결과 염색체 6번과 9번에 3개의 유전자들이 위치하였고, 염색체 2번과 10번에서는 2개의 유전자, 염색체 1번, 3번, 5번, 8번에서는 각각 한 개의 유전자들이 위치하였지만, 염색체 4번과 7번에서는 유전자가 존재하지 않았다(그림 48). 배추 유전자들끼리의 상동성을 분석해 본 결과 AL1, 4, 5와 AL3, 7, 10 유전자들은 각각 triplication되었음을 알수 있었으며, AL2, 13과 AL8, 11 및 AL9, 12 유전자들은 duplication되었음을 나타내었다. 그러나 AL6, 14, 15 유전자들은 duplication이 일어나지 않은 유전자들이었다(표 28).

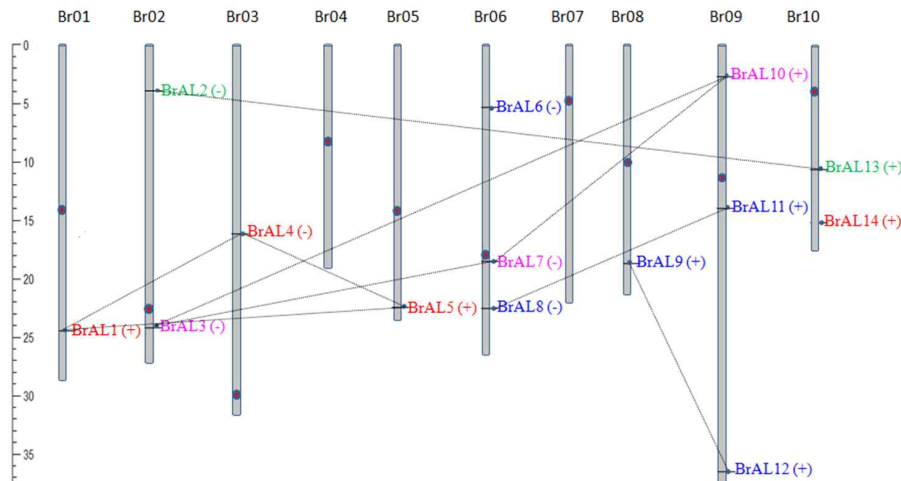


그림 48. 배추 염색체 상에서 AL 유전자의 위치

표 28. 배추 AL 유전자에 대한 상동성 분석

	<i>BrAL1</i>	<i>BrAL2</i>	<i>BrAL3</i>	<i>BrAL4</i>	<i>BrAL5</i>	<i>BrAL6</i>	<i>BrAL7</i>	<i>BrAL8</i>	<i>BrAL9</i>	<i>BrAL10</i>	<i>BrAL11</i>	<i>BrAL12</i>	<i>BrAL13</i>	<i>BrAL14</i>	<i>BrAL15</i>
<i>BrAL1</i>	100	56	56	85	95	49	56	57	54	58	56	52	69	75	56
<i>BrAL2</i>		100	64	52	57	52	70	64	60	70	63	58	84	55	74
<i>BrAL3</i>			100	52	56	54	81	61	58	82	62	57	65	53	61
<i>BrAL4</i>				100	88	46	52	53	48	53	51	49	54	70	52
<i>BrAL5</i>					100	50	77	58	53	58	57	53	58	76	57
<i>BrAL6</i>						100	56	62	67	56	65	66	54	50	52
<i>BrAL7</i>							100	65	60	91	66	58	72	55	67
<i>BrAL8</i>								100	71	65	87	73	67	56	63

<i>BrAL9</i>									100	59	75	86	61	52	59
<i>BrAL10</i>										100	66	57	71	56	67
<i>BrAL11</i>											100	74	64	55	64
<i>BrAL12</i>												100	58	52	60
<i>BrAL13</i>													100	55	75
<i>BrAL14</i>														100	54
<i>BrAL15</i>															100

15개의 AL 유전자들은 BrAL8을 제외한 모든 기관(뿌리, 줄기, 잎, 생식기관인 꽃받침, 꽃잎, 수술, 암술)에서 발현하였다. 그러나 BrAL8 유전자는 뿌리, 줄기, 잎에서는 발현하지 않았고 화기관(꽃받침, 꽃잎, 수술, 암술)에서만 발현하였다. 이들 중 BrAL1, 5, 9, 10, 13, 15 유전자들은 모든 기관에서 높은 발현을 보였으며, BrAL2, 4는 뿌리, 줄기, 꽃잎에서 발현양이 적었다. BrAL3는 뿌리와 줄기에서 발현양이 낮았다. BrAL7은 뿌리, 잎, 꽃잎에서 발현양이 적었으며, BrAL12는 뿌리와 잎에서 발현양이 낮았으며, BrAL6, 11은 모든 기관에서 발현이 전체적으로 적었다(그림 49).

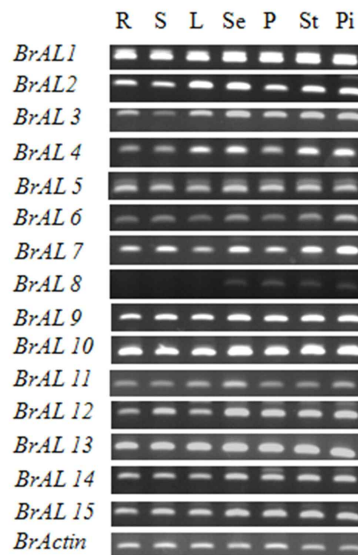


그림 49. 배추 AL 유전자에 대한 기관 특이적 발현 분석
(R: roots, S: stems, L: leaves, Se: sepals, P: petals, St: stamens, Pi: pistils)

배추 15개의 AL 유전자에 대하여 다양한 환경 스트레스에 대한 발현양상을 알아보기 위해 배추 중에서 저온에 강한 계통인 지부와 저온에 약한 계통인 권심을 이용하여, 저온을 비롯한 건조 및 염류 스트레스에 유전자들이 어떻게 발현하는가에 대하여 실험을 수행하였다. 저온 스트레스에 대하여 BrAL1, 4, 5, 7, 9, 12, 15 유전자들은 발현이 0h에서 12h 되었을 때 증가하였으며, BrAL2, 3, 10, 11, 14 유전자들은 0h에서 4h 되었을 때 발현양이 증가되었으나, BrAL6는 1h에서 발현양이 가장 높았고 그 이후에는 발현양이 감소하였다. BrAL8, 13은 0.5h에서 발현을 보여 빠르게 반응하여 점차적으로 감소하였다. 특히 BrAL1, 5, 9, 12 유전자들은 지부에서 0h에 비해 각각 35배, 8배, 18배, 10배 높은 발현양을 보였다. 반면 권심에서는 지부에 비해 발현양이 전체적으로 적었다(그림 50).

건조 스트레스에 대해서는 BrAL2, 3, 4, 5, 7, 12, 13, 14 유전자들이 지부보다 권심의 발현양이 높았다. 염류 스트레스에 대해서는 대부분의 유전자들이 권심에서 0.5h 이후에

급격하게 발현양이 높아졌다(그림 51, 52).

또한 AL 유전자들은 생물학적인 스트레스에서도 반응을 보이므로 배추 시들음병을 처리한 샘플을 이용하여 발현실험을 수행하였다. 15개의 AL 유전자들 중 10개의 유전자들이 시들음병에 반응을 보였다. 대부분의 유전자들은 감염 후 8일 이후에 매우 높은 발현양을 보였다. BrAL9, 13, 14는 감염 6일 이후에 매우 높은 발현양을 보였으며, BrAL1, 2는 감염 후 3 시간에 매우 높은 발현양을 보였다. BrAL2, 4, 7, 13, 14는 감염시키지 않은 샘플에 비해 각각 9배, 5배, 4배, 12배, 9배 더 높은 발현양을 보였다(그림 53).

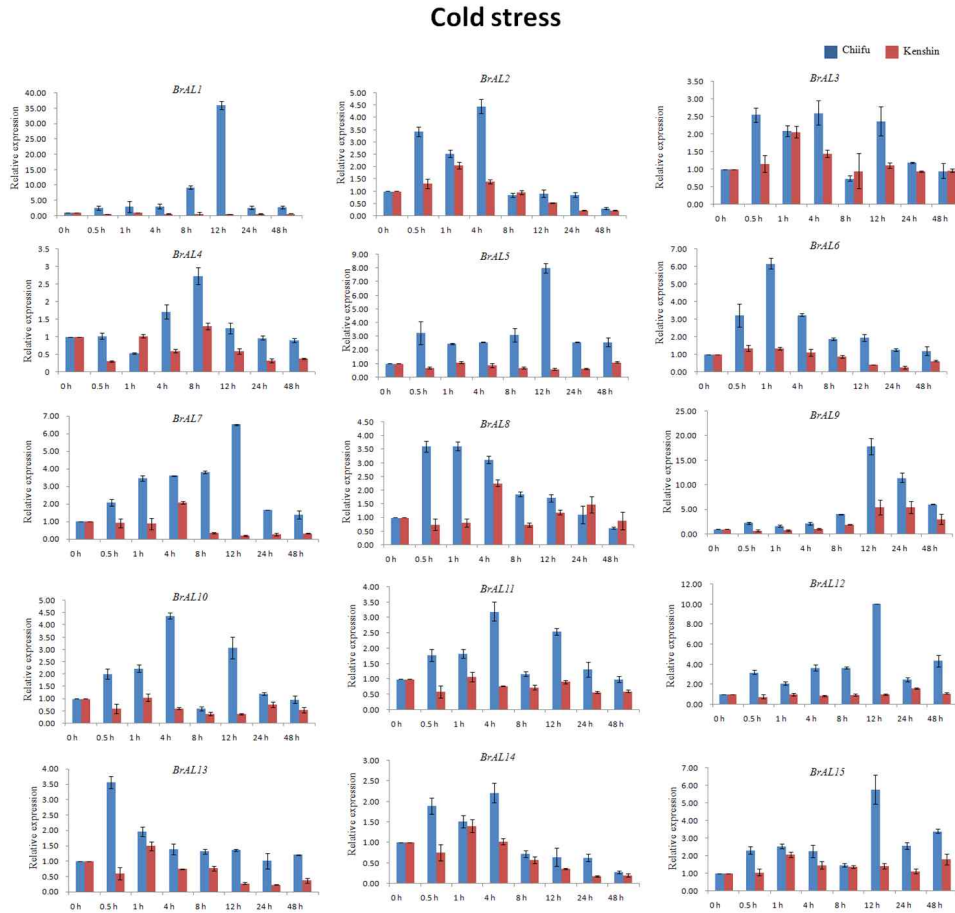


그림 50. 저온 스트레스에 대한 AL 유전자의 발현

Drought stress

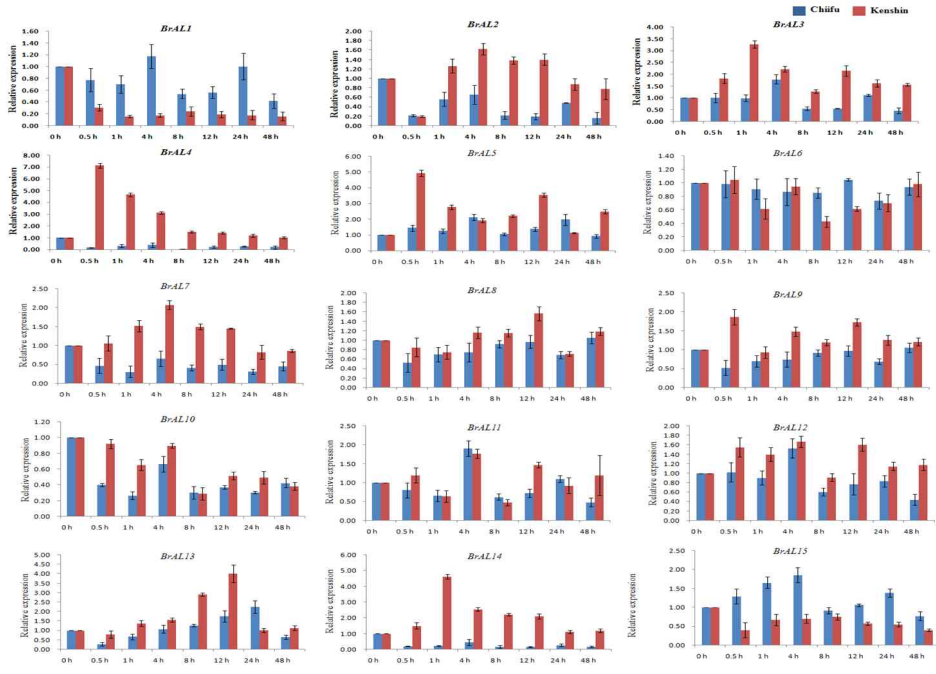


그림 51. 건조 스트레스에 대한 AL 유전자의 발현

Salt stress

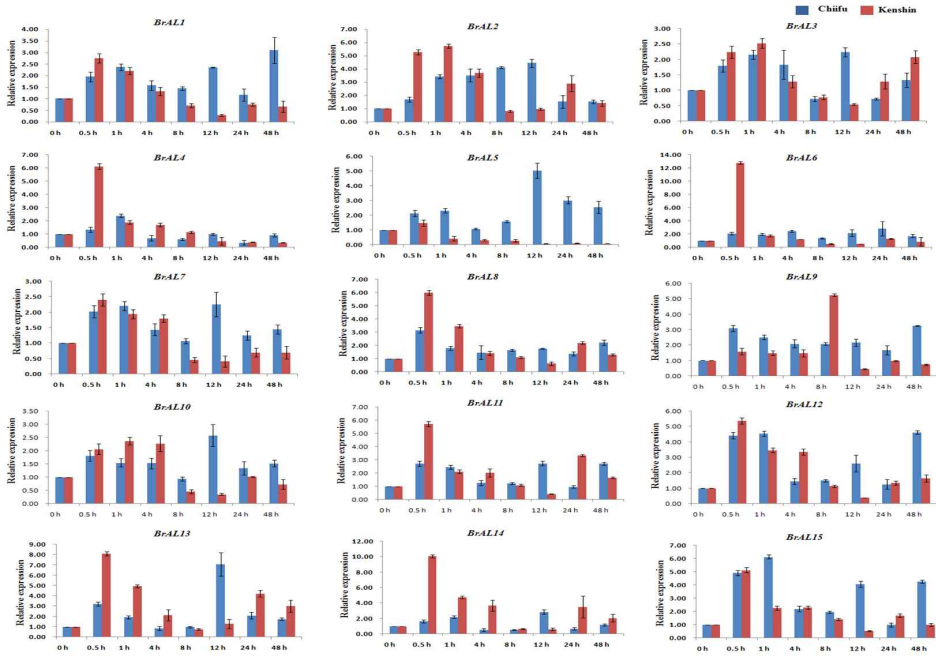


그림 52. 염류 스트레스에 대한 AL 유전자의 발현

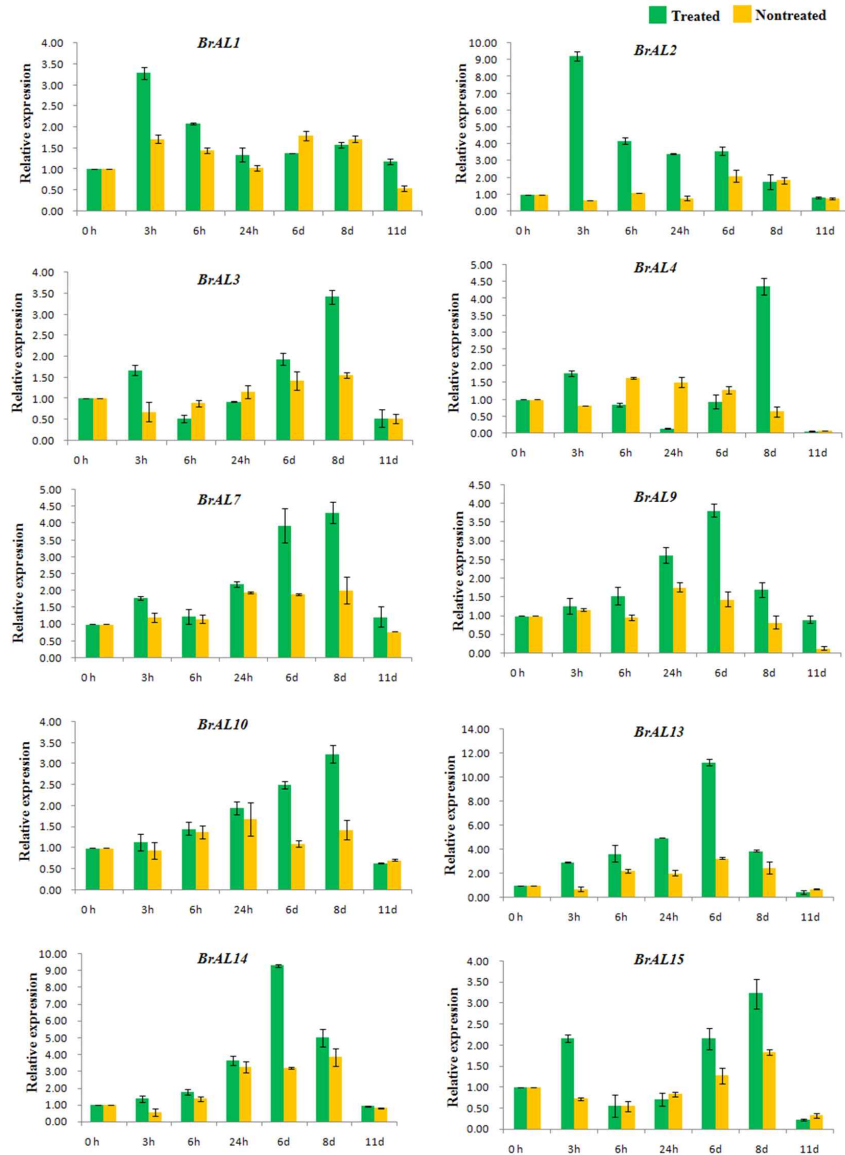


그림 53. 배추 시들음병에 대한 AL 유전자의 발현

다. 스트레스에 반응하는 aquaporin 유전자군의 동정 및 해석

Aquaporin (AQP) 단백질들은 식물에서 매우 다양한 형태로 존재한다. Aquaporin 유전자들은 물과 다른 영양물질 분자들을 살아 있는 세포벽을 통해 운송하는 역할을 수행한다. 또한 고 염분이나 가뭄과 같은 스트레스 환경에서 살아남을 수 있게 하는 중요한 유전자이다. *B. rapa* 데이터베이스 (<http://brassicadb.org/brad/index.php>; Cheng et al. 2011)에서 SWISSPROT tool을 이용해 키워드는 “aquaporin”으로 검색하였으며, 또한 지부와 권심에 대한 저온 처리한 샘플에 대한 Br135K microarray 데이터로부터 키워드를 “aquaporin”으로 검색하여 CDS(coding DNA sequence)를 얻었다. AQP 유전자임을 동정하기 위해 transmembrane helical 도메인을 SMART 프로그램 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>; Letunic et al. 2009) 및 TMHMM Server v.2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>; Krogh et al. 2001)을 통해 확인하였다. Subcellular localization을 확인하기 위해 Plant-mPloc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant/>)를 이용하였으며, 단백질 길이, 분자

무게, 등전점 등의 주요 유전자 구조를 알아보기 위해 ExPasy (http://au.expasy.org/tools/pi_tool.html)을 이용하였다. 또한 ORF를 찾기 위해 NCBI의 ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)을 이용하였으며, 단백질 염기서열 비교를 위해서 CLUSTALW (www.genome.jp/tools/clustalw/)를 이용하였으며, 단백질 상동성 검색을 위해 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 이용하였다. Sub-genome fractionation과 10개 염색체 상의 위치 정보를 얻기 위해 *B. rapa* 데이터베이스 및 Map Chart version 2.2 (<http://www.wageningenur.nl/en/show/Mapchart.html>)을 이용하였다. 계통수 작성을 위해서 모든 염기서열을 ClustalW의 기본값으로 정렬한 후 MEGA6.0 소프트웨어 (<http://www.megasoftware.net>; Saitou and Nei 1987; Tamura et al. 2007)을 이용하였으며 neighbor-joining 방법으로 1,000 bootstrap 반복으로 수행하였다. 그리고 conserved된 motif를 검색하기 위해 Multiple Expectation Maximization for Motif Elicitation (MEME; <http://meme.sdsc.edu/meme/intro.html>)를 가지고 maximum motif 숫자를 10개로 하고 minimum motif 길이를 15으로 maximum motif 길이를 50으로 설정하였다. Exon-Intron 구조 분석을 위해 GSDS 2.0 소프트웨어 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn>)을 이용하였으며, BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 통해 비교 분석 염기서열의 80% 초과, identity가 80% 초과(Kong et al. 2013)인 경우 duplicate 유전자로 판단하였다. 또한 100-kb 범위 안에 매우 상동성이 높은 유전자들은 tandem duplicated 유전자로 판단하였다. 총 59개의 *BrAQP* 유전자들을 동정하였으며, 이를 토마토 (*Solanum lycopersicum*) 및 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*)의 AQP들과의 계통수 작성을 통해 subfamily를 결정하였으며, 그 subfamily로는 small basic intrinsic proteins (SIPs), NOD26-like intrinsic proteins (NIPs), tonoplast intrinsic proteins (TIPs), plasma membrane intrinsic proteins (PIPs)로 나눌 수 있었다. SIP에는 6개의 유전자, NIP에는 15개의 유전자, TIP에는 16개의 유전자, PIP에는 22개의 유전자가 분포되어 있었으며, 각각 subgenome으로 less fractioned 및 more fraction subgenome이 있었으며, subcellular localization은 *SIP* 유전자에서는 cell membrane, cell membrane 및 vacuole로 이루어져 있었으며, *NIP* 유전자에서는 전부 cell membrane이었으며, *TIP* 유전자에서는 vacuole, cell membrane 및 vacuole로 이루어져 있었으며, *PIP* 유전자에서는 전부 cell membrane 이었다(표 29).

표 29. 59개의 aquaporin 유전자에 대한 subgenome, subcellular localization 분석

No.	Gene name	Subgenome	Subcellular localization
1	<i>BrSIP1;1a</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
2	<i>BrSIP1;1b</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
3	<i>BrSIP1;2</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
4	<i>BrSIP2;1a</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane & Vacuole
5	<i>BrSIP2;1b</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane & Vacuole
6	<i>BrSIP2;1c</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
7	<i>BrNIP1;2a</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
8	<i>BrNIP1;2b</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
9	<i>BrNIP2;1a</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
10	<i>BrNIP2;1b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane

11	<i>BrNIP3;1a</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
12	<i>BrNIP3;1b</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
13	<i>BrNIP4;1</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
14	<i>BrNIP4;2a</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
15	<i>BrNIP4;2b</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
16	<i>BrNIP4;2c</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
17	<i>BrNIP5;1a</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
18	<i>BrNIP5;1b</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
19	<i>BrNIP6;1a</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
20	<i>BrNIP6;1b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
21	<i>BrNIP7;1</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
22	<i>BrTIP1;1</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
23	<i>BrTIP1;2a</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
24	<i>BrTIP1;2b</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
25	<i>BrTIP1;3</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
26	<i>BrTIP2;1a</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
27	<i>BrTIP2;1b</i>	More fractioned subgenome 2	Vacuole
28	<i>BrTIP2;1c</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
29	<i>BrTIP2;2</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
30	<i>BrTIP2;3a</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
31	<i>BrTIP2;3b</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
32	<i>BrTIP3;1a</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
33	<i>BrTIP3;1b</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
34	<i>BrTIP3;2a</i>	Less fractioned subgenome	Vacuole
35	<i>BrTIP3;2b</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
36	<i>BrTIP4;1</i>	More fractioned subgenome 1	Vacuole
37	<i>BrTIP5;1</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane & Vacuole
38	<i>BrPIP1;1a</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
39	<i>BrPIP1;1b</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
40	<i>BrPIP1;2a</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
41	<i>BrPIP1;2b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
42	<i>BrPIP1;3a</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
43	<i>BrPIP1;3b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
44	<i>BrPIP1;4</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
45	<i>BrPIP1;5</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
46	<i>BrPIP2;1</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
47	<i>BrPIP2;2a</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
48	<i>BrPIP2;2b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
49	<i>BrPIP2;3a</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
50	<i>BrPIP2;3b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane

51	<i>BrPIP2;4a</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
52	<i>BrPIP2;4b</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane
53	<i>BrPIP2;4c</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
54	<i>BrPIP2;5a</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
55	<i>BrPIP2;5b</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
56	<i>BrPIP2;6</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
57	<i>BrPIP2;7a</i>	More fractioned subgenome 2	Cell membrane
58	<i>BrPIP2;b</i>	Less fractioned subgenome	Cell membrane
59	<i>BrPIP2;7c</i>	More fractioned subgenome 1	Cell membrane

Aquaporin 유전자들을 염색체 1번에 5개, 2번에 6개, 3번에 10개, 4번에 9개, 5번에 9개, 6번에 4개, 7번에 4개, 8번에 2개, 9번에 7개, 10번에 3개의 유전자가 분포되어 있어 전체 염색체 상에 비교적 고르게 분포되어 있음을 확인하였다. 유전자의 ORF 길이는 495~1,014 bp로 이루어져 있었으며, 평균 길이는 807 bp이었다. Genome 상에 유전자의 방향은 정방향인 37개, 역방향인 22개 이었다. 단백질의 길이는 164~337 aa 이었으며, 평균 268 aa이었다. 등전점은 4.9~10.13 Pi 이었으며, 평균 7.84 Pi이었다. 분자량은 36.08~17.56 KDa 이었으며, 평균 28.26 KDa 이었다(표 30).

표 30. Aquaporin 유전자에 대한 염기서열 분석

No.	Gene Name	Gene ID	Chro. Number	ORF (bp)	Strand	Protein length	Isoelectric point (Pi)	Mw (KDa)
1	<i>BrSIP1;1a</i>	Bra040150	A01	765	+	254	9.93	27.24
2	<i>BrSIP1;1b</i>	Bra031946	A05	720	+	239	9.52	25.61
3	<i>BrSIP1;2</i>	Bra002151	A10	732	+	243	10.13	26.18
4	<i>BrSIP2;1a</i>	Bra014661	A04	714	+	237	9.49	25.90
5	<i>BrSIP2;1b</i>	Bra003257	A07	717	-	238	9.61	26.03
6	<i>BrSIP2;1c</i>	Bra007285	A09	705	-	234	9.49	25.49
7	<i>BrNIP1;2a</i>	Bra013361	A01	894	+	297	7.76	31.64
8	<i>BrNIP1;2b</i>	Bra012567	A03	897	+	298	8.61	31.69
9	<i>BrNIP2;1a</i>	Bra005430	A05	864	+	287	8.79	30.38
10	<i>BrNIP2;1b</i>	Bra005428	A05	861	+	286	8.57	30.32
11	<i>BrNIP3;1a</i>	Bra035520	A08	972	-	323	6.3	34.55
12	<i>BrNIP3;1b</i>	Bra033867	A05	1,014	-	337	8.54	36.08
13	<i>BrNIP4;1</i>	Bra025437	A04	831	+	276	7.62	29.60
14	<i>BrNIP4;2a</i>	Bra028151	A04	852	+	283	8.24	30.24
15	<i>BrNIP4;2b</i>	Bra025436	A04	594	+	197	9.77	20.82
16	<i>BrNIP4;2c</i>	Bra025435	A04	495	+	164	9.93	17.56
17	<i>BrNIP5;1a</i>	Bra033181	A02	906	+	301	8.66	31.14
18	<i>BrNIP5;1b</i>	Bra000710	A03	906	-	301	8.9	31.21
19	<i>BrNIP6;1a</i>	Bra008442	A02	918	+	305	7.69	31.83

20	<i>BrNIP6;1b</i>	Bra035156	A07	918	+	305	8.57	31.82
21	<i>BrNIP7;1</i>	Bra020777	A05	819	+	272	6.57	28.60
22	<i>BrTIP1;1</i>	Bra017222	A04	756	+	251	6.02	25.55
23	<i>BrTIP1;2a</i>	Bra025210	A06	762	+	253	5.61	25.77
24	<i>BrTIP1;2b</i>	Bra032937	A02	762	-	253	5.32	25.79
25	<i>BrTIP1;3</i>	Bra037415	A09	759	-	252	5.35	25.86
26	<i>BrTIP2;1a</i>	Bra027181	A05	747	-	248	5.58	24.86
27	<i>BrTIP2;1b</i>	Bra001626	A03	750	+	249	5.66	24.89
28	<i>BrTIP2;1c</i>	Bra021171	A01	633	-	210	5.1	20.98
29	<i>BrTIP2;2</i>	Bra026245	A01	753	-	250	4.98	24.99
30	<i>BrTIP2;3a</i>	Bra024943	A06	756	+	251	4.9	25.25
31	<i>BrTIP2;3b</i>	Bra022131	A02	615	-	204	6.75	20.68
32	<i>BrTIP3;1a</i>	Bra008079	A02	801	+	266	6.54	28.00
33	<i>BrTIP3;1b</i>	Bra016014	A07	798	+	265	6.49	28.00
34	<i>BrTIP3;2a</i>	Bra025947	A06	804	+	267	6.54	28.58
35	<i>BrTIP3;2b</i>	Bra031005	A09	804	-	267	5.3	28.46
36	<i>BrTIP4;1</i>	Bra034271	A04	750	+	249	6.05	26.10
37	<i>BrTIP5;1</i>	Bra018148	A06	768	-	255	8.86	26.30
38	<i>BrPIP1;1a</i>	Bra007603	A09	861	+	286	9.16	30.72
39	<i>BrPIP1;1b</i>	Bra014437	A04	861	-	286	9.16	30.71
40	<i>BrPIP1;2a</i>	Bra039301	A04	843	+	280	8.88	30.15
41	<i>BrPIP1;2b</i>	Bra004950	A05	861	+	286	9.1	30.26
42	<i>BrPIP1;3a</i>	Bra032644	A09	861	-	286	9.03	30.54
43	<i>BrPIP1;3b</i>	Bra033248	A10	861	-	286	9.03	30.52
44	<i>BrPIP1;4</i>	Bra000974	A03	867	+	288	9.14	30.75
45	<i>BrPIP1;5</i>	Bra019307	A03	864	+	287	8.99	30.76
46	<i>BrPIP2;1</i>	Bra006997	A09	864	-	287	7.68	30.40
47	<i>BrPIP2;2a</i>	Bra023102	A03	852	-	283	6.51	30.03
48	<i>BrPIP2;2b</i>	Bra005215	A05	717	-	238	6.81	25.29
49	<i>BrPIP2;3a</i>	Bra023103	A03	858	+	285	6.95	30.27
50	<i>BrPIP2;3b</i>	Bra005216	A05	696	+	231	9.12	24.27
51	<i>BrPIP2;4a</i>	Bra020238	A02	852	+	283	8.22	29.97
52	<i>BrPIP2;4b</i>	Bra006650	A03	858	+	285	7.62	30.12
53	<i>BrPIP2;4c</i>	Bra002462	A10	783	-	260	6.88	27.29
54	<i>BrPIP2;5a</i>	Bra007100	A09	861	+	286	8.99	30.47
55	<i>BrPIP2;5b</i>	Bra003196	A07	861	+	286	8.77	30.49
56	<i>BrPIP2;6</i>	Bra000111	A03	867	+	288	8.6	30.87
57	<i>BrPIP2;7a</i>	Bra034675	A08	846	-	281	9.13	29.71
58	<i>BrPIP2;b</i>	Bra011585	A01	846	-	281	8.62	29.74
59	<i>BrPIP2;7c</i>	Bra017697	A03	846	+	281	8.62	29.80

SIP subfamily는 모두 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있었으며, NIP subfamily는 3~5개의 exon과 2~4개의 intron으로 구성되어 있었다. TIP subfamily는 1~3개의 exon과 0~2개의 intron으로 구성되어 있었다. PIP subfamily에는 3~5개의 exon과 2~4개의 intron으로 구성되어 있었다(그림 54).

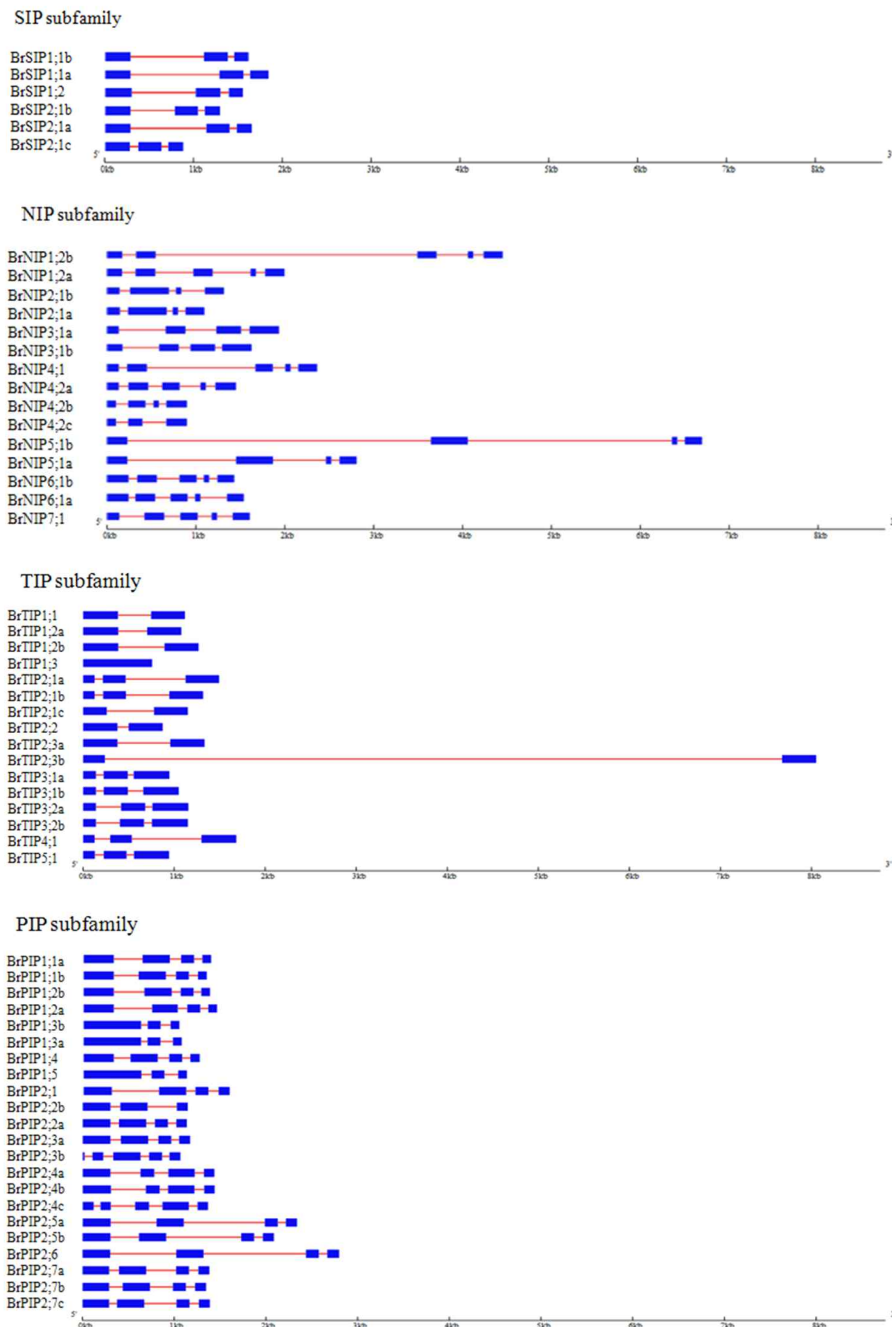


그림 54. 59개의 BrAQPs 유전자에 대한 intron-exon 구조

Aquaporin 유전자에 대하여 duplication을 분석한 결과 query cover는 78~100%이었으며, identity는 78~99%이었다. duplication type은 segmental이 94개, tandem은 3개로 구성되어

있었다(표 31).

표 31. Aquaporin 단백질의 duplicated 유전자 분석

No.	Duplicated Gene pairs		Query cover	e-value	Identity	Duplication type
1	<i>BrSIP1;1b</i>	<i>BrSIP1;1a</i>	94%	6e-138	93%	Segmental
2	<i>BrSIP2;1b</i>	<i>BrSIP2;1a</i>	100%	1e-163	92%	Segmental
3	<i>BrSIP2;1b</i>	<i>BrSIP2;1c</i>	100%	5e-144	82%	Segmental
4	<i>BrSIP2;1a</i>	<i>BrSIP2;1c</i>	100%	5e-144	81%	Segmental
5	<i>BrNIP1;2b</i>	<i>BrNIP1;2a</i>	100%	0.0	94%	Segmental
6	<i>BrNIP2;1b</i>	<i>BrNIP2;1a</i>	100%	0.0	95%	Tandem
7	<i>BrNIP3;1a</i>	<i>BrNIP3;1b</i>	99%	0.0	81%	Segmental
8	<i>BrNIP4;1</i>	<i>BrNIP4;2a</i>	100%	6e-170	85%	Segmental
9	<i>BrNIP4;1</i>	<i>BrNIP4;2b</i>	88%	3e-121	89%	Tandem
10	<i>BrNIP4;2a</i>	<i>BrNIP4;2b</i>	85%	2e-115	83%	Segmental
11	<i>BrNIP4;2b</i>	<i>BrNIP4;2c</i>	93%	2e-104	82%	Tandem
12	<i>BrNIP5;1b</i>	<i>BrNIP5;1a</i>	100%	0.0	95%	Segmental
13	<i>BrNIP6;1b</i>	<i>BrNIP6;1a</i>	100%	0.0	95%	Segmental
14	<i>BrTIP1;1</i>	<i>BrTIP1;2a</i>	100%	9e-157	89%	Segmental
15	<i>BrTIP1;1</i>	<i>BrTIP1;2b</i>	100%	4e-155	86%	Segmental
16	<i>BrTIP1;2a</i>	<i>BrTIP1;2b</i>	100%	8e-170	93%	Segmental
17	<i>BrTIP2;1a</i>	<i>BrTIP2;1b</i>	100%	7e-166	94%	Segmental
18	<i>BrTIP2;1a</i>	<i>BrTIP2;1c</i>	83%	5e-139	95%	Segmental
19	<i>BrTIP2;1b</i>	<i>BrTIP2;1c</i>	98%	4e-139	96%	Segmental
20	<i>BrTIP2;2</i>	<i>BrTIP2;3a</i>	98%	2e-158	90%	Segmental
21	<i>BrTIP2;2</i>	<i>BrTIP2;3b</i>	97%	3e-129	92%	Segmental
22	<i>BrTIP2;3a</i>	<i>BrTIP2;3b</i>	80%	3e-134	94%	Segmental
23	<i>BrTIP3;1a</i>	<i>BrTIP3;1b</i>	100%	2e-155	91%	Segmental
24	<i>BrTIP3;1a</i>	<i>BrTIP3;2a</i>	100%	6e-153	82%	Segmental
25	<i>BrTIP3;1a</i>	<i>BrTIP3;2b</i>	100%	2e-152	82%	Segmental
26	<i>BrTIP3;1b</i>	<i>BrTIP3;2a</i>	100%	3e-152	82%	Segmental
27	<i>BrTIP3;1b</i>	<i>BrTIP3;2b</i>	100%	2e-151	81%	Segmental
28	<i>BrTIP3;2a</i>	<i>BrTIP3;2b</i>	100%	3e-178	95%	Segmental
29	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;2a</i>	100%	5e-176	84%	Segmental
30	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;3b</i>	100%	0.0	93%	Segmental
31	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;3a</i>	100%	0.0	94%	Segmental

32	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;5</i>	100%	0.0	90%	Segmental
33	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;1b</i>	100%	0.0	97%	Segmental
34	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;2b</i>	100%	0.0	95%	Segmental
35	<i>BrPIP1;1a</i>	<i>BrPIP1;4</i>	100%	0.0	94%	Segmental
36	<i>BrPIP1;1b</i>	<i>BrPIP1;2a</i>	100%	2e-177	85%	Segmental
37	<i>BrPIP1;1b</i>	<i>BrPIP1;3b</i>	100%	0.0	94%	Segmental
38	<i>BrPIP1;1b</i>	<i>BrPIP1;3a</i>	100%	0.0	94%	Segmental
39	<i>BrPIP1;1b</i>	<i>BrPIP1;5</i>	100%	0.0	89%	Segmental
40	<i>BrPIP1;1b</i>	<i>BrPIP1;2b</i>	100%	0.0	96%	Segmental
41	<i>BrPIP1;1b</i>	<i>BrPIP1;4</i>	100%	0.0	94%	Segmental
42	<i>BrPIP1;2b</i>	<i>BrPIP1;2a</i>	100%	6e-177	86%	Segmental
43	<i>BrPIP1;2b</i>	<i>BrPIP1;3b</i>	100%	0.0	93%	Segmental
44	<i>BrPIP1;2b</i>	<i>BrPIP1;3a</i>	100%	0.0	94%	Segmental
45	<i>BrPIP1;2b</i>	<i>BrPIP1;5</i>	100%	0.0	90%	Segmental
46	<i>BrPIP1;2b</i>	<i>BrPIP1;4</i>	100%	0.0	93%	Segmental
47	<i>BrPIP1;2a</i>	<i>BrPIP1;3b</i>	100%	1e-173	83%	Segmental
48	<i>BrPIP1;2a</i>	<i>BrPIP1;3a</i>	100%	8e-176	84%	Segmental
49	<i>BrPIP1;2a</i>	<i>BrPIP1;5</i>	100%	4e-156	80%	Segmental
50	<i>BrPIP1;2a</i>	<i>BrPIP1;4</i>	100%	1e-175	84%	Segmental
51	<i>BrPIP1;3b</i>	<i>BrPIP1;3a</i>	100%	0.0	98%	Segmental
52	<i>BrPIP1;3b</i>	<i>BrPIP1;5</i>	100%	0.0	92%	Segmental
53	<i>BrPIP1;3b</i>	<i>BrPIP1;4</i>	100%	0.0	97%	Segmental
54	<i>BrPIP1;3a</i>	<i>BrPIP1;5</i>	100%	0.0	93%	Segmental
55	<i>BrPIP1;3a</i>	<i>BrPIP1;4</i>	100%	0.0	97%	Segmental
56	<i>BrPIP1;4</i>	<i>BrPIP1;5</i>	99%	0.0	92%	Segmental
57	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;3a</i>	100%	0.0	92%	Segmental
58	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;2a</i>	99%	0.0	91%	Segmental
59	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;4a</i>	99%	2e-179	83%	Segmental
60	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;4b</i>	99%	0.0	84%	Segmental
61	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;3b</i>	82%	3e-157	94%	Segmental
62	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;6</i>	95%	2e-162	79%	Segmental
63	<i>BrPIP2;1</i>	<i>BrPIP2;5a</i>	100%	1e-171	79%	Segmental
64	<i>BrPIP2;2b</i>	<i>BrPIP2;3a</i>	100%	5e-163	81%	Segmental
65	<i>BrPIP2;2b</i>	<i>BrPIP2;2a</i>	99%	1e-163	82%	Segmental
66	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;3a</i>	100%	0.0	96%	Segmental

67	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;4a</i>	100%	2e-180	84%	Segmental
68	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;5a</i>	100%	2e-169	78%	Segmental
69	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;4b</i>	100%	1e-180	84%	Segmental
70	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;3b</i>	78%	4e-163	99%	Segmental
71	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;5b</i>	100%	9e-168	78%	Segmental
72	<i>BrPIP2;2a</i>	<i>BrPIP2;6</i>	99%	5e-166	78%	Segmental
73	<i>BrPIP2;3a</i>	<i>BrPIP2;4a</i>	99%	2e-180	83%	Segmental
74	<i>BrPIP2;3a</i>	<i>BrPIP2;5a</i>	100%	2e-170	78%	Segmental
75	<i>BrPIP2;3a</i>	<i>BrPIP2;4b</i>	99%	0.0	84%	Segmental
76	<i>BrPIP2;3a</i>	<i>BrPIP2;3b</i>	78%	1e-161	98%	Segmental
77	<i>BrPIP2;3a</i>	<i>BrPIP2;5b</i>	100%	6e-170	79%	Segmental
78	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;7a</i>	91%	1e-126	82%	Segmental
79	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;4a</i>	95%	3e-140	85%	Segmental
80	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;7c</i>	91%	3e-130	83%	Segmental
81	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;7b</i>	91%	8e-132	83%	Segmental
82	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;5a</i>	96%	3e-136	81%	Segmental
83	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;4b</i>	95%	9e-142	86%	Segmental
84	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;2b</i>	93%	3e-119	81%	Segmental
85	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;6</i>	94%	5e-134	82%	Segmental
86	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;5b</i>	96%	2e-134	80%	Segmental
87	<i>BrPIP2;3b</i>	<i>BrPIP2;4c</i>	95%	3e-142	86%	Segmental
88	<i>BrPIP2;4a</i>	<i>BrPIP2;4b</i>	100%	0.0	96%	Segmental
89	<i>BrPIP2;4a</i>	<i>BrPIP2;4c</i>	100%	1e-177	86%	Segmental
90	<i>BrPIP2;4b</i>	<i>BrPIP2;4c</i>	100%	0.0	88%	Segmental
91	<i>BrPIP2;5a</i>	<i>BrPIP2;5b</i>	100%	0.0	95%	Segmental
92	<i>BrPIP2;5a</i>	<i>BrPIP2;6</i>	96%	5e-165	79%	Segmental
93	<i>BrPIP2;5b</i>	<i>BrPIP2;3a</i>	100%	6e-170	79%	Segmental
94	<i>BrPIP2;5b</i>	<i>BrPIP2;1a</i>	100%	2e-169	78%	Segmental
95	<i>BrPIP2;7a</i>	<i>BrPIP2;7c</i>	100%	0.0	95%	Segmental
96	<i>BrPIP2;7a</i>	<i>BrPIP2;7b</i>	100%	0.0	98%	Segmental
97	<i>BrPIP2;7b</i>	<i>BrPIP2;7c</i>	100%	0.0	97%	Segmental

남방계 배추인 권심과 북방계 배추인 지부에 대한 저온 스트레스의 Br135K microarray 데이터를 비교한 결과 SIP subfamily 유전자들은 발현수준이 대체적으로 높았으며, NIP subfamily 유전자들은 발현이 1개의 유전자를 제외하고는 매우 낮았다. TIP subfamily 유전자들은 발현수준이 낮은

것부터 높은 것이 반반씩 분포하고 있었으며, PIP subfamily 유전자들은 매우 높은 발현수준을 나타내었다(그림 55).

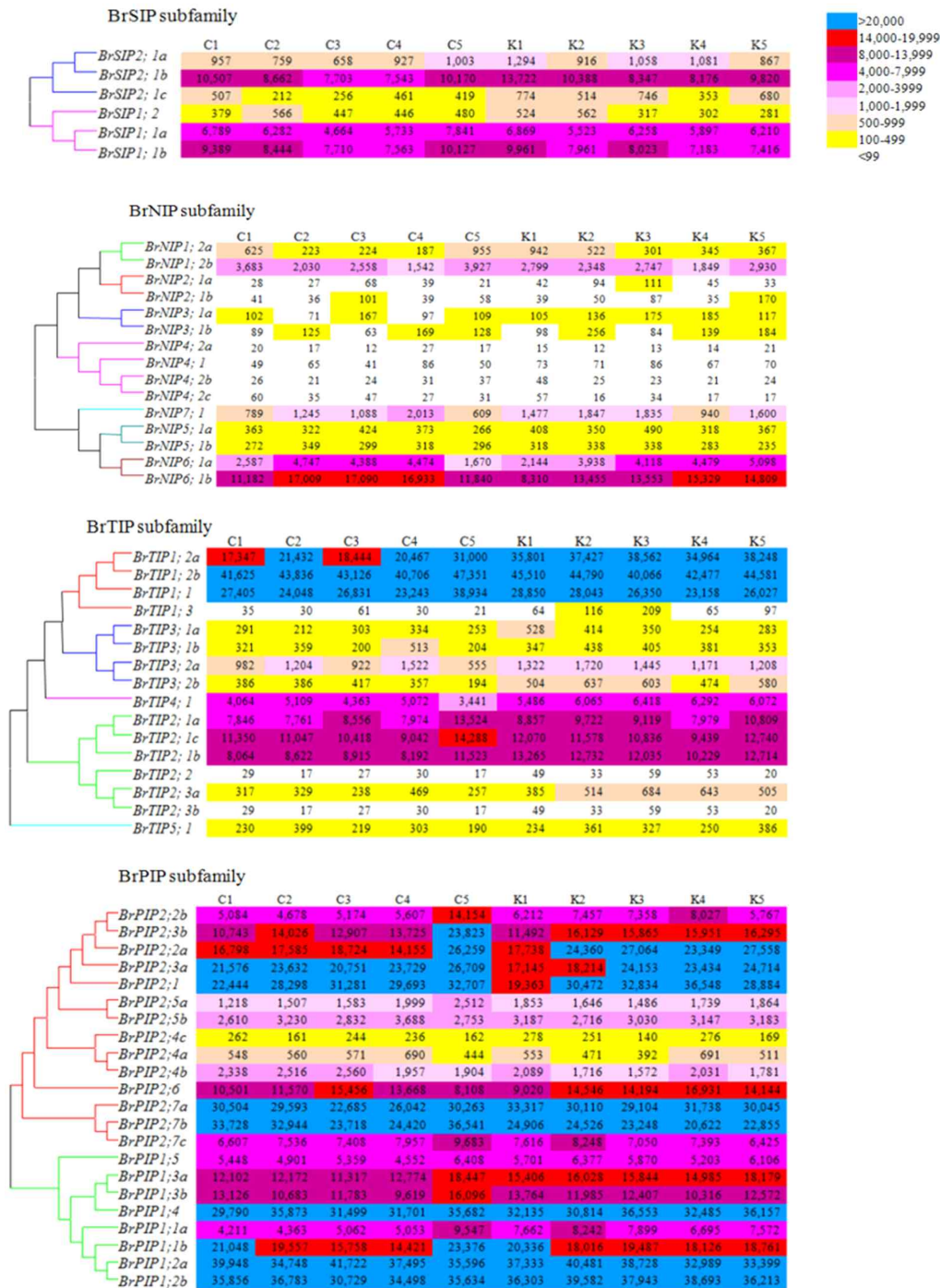


그림 55. 저온처리한 지부 및 권심 샘플에 대한 *BrAQP* 유전자의 microarray 결과 (control: C1&K1, 4°C: C2&K2, 0°C: C3&K3, -2°C(C4&K4), -4°C(C5&K5))

Aquaporin 유전자들 중에서 microarray 데이터를 통해 발현양이 월등히 높은 PIP subfamily 유전자들에 특이적으로 기관 특이적 발현 양상 및 다양한 비생물학적 스트레스 하에서의 발현

양상을 분석하였다.

모든 *BrPIP* 유전자들은 기관 특이적으로 발현하고 있었으며, *PIP* subfamily 유전자들은 저온, 염분, 건조 및 침수 스트레스에 대하여 발현을 분석하였다. 22개의 *BrPIP* 유전자들 중 12개의 유전자들이 저온에 대하여 반응을 보였으며 7개의 *BrPIP* 유전자들은 건조 스트레스에 반응을 보였으며, 17개의 *BrPIP* 유전자들은 염분 스트레스에 반응을 보였다. 또한 18개의 *BrPIP* 유전자들은 ABA 처리 하에서 발현양이 증가하였으며, 침수 스트레스에 대해서는 모든 *BrPIP* 유전자들의 발현양이 감소하였다(그림 56, 57).

선발은 22개의 *BrPIP* 유전자들은 다양한 비생물학적 스트레스에 반응을 하고 있었으며, 이는 비생물학적 스트레스에 한 가지인 내한성 및 내동성을 증진시키기 위한 중요한 역할을 할 수 있는 유전자임을 확인할 수 있었다.

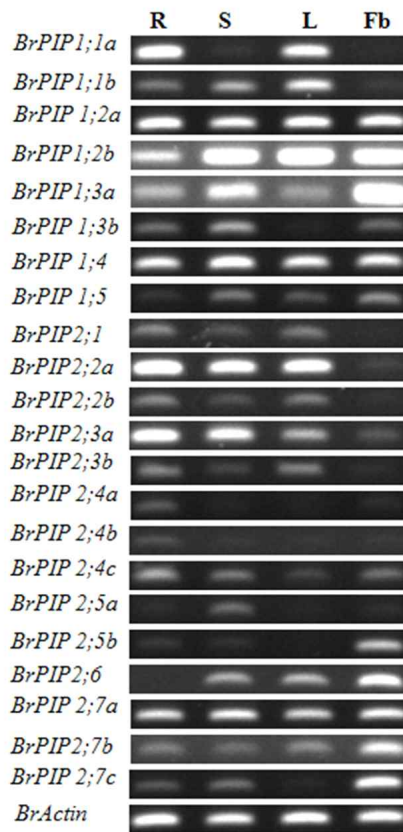
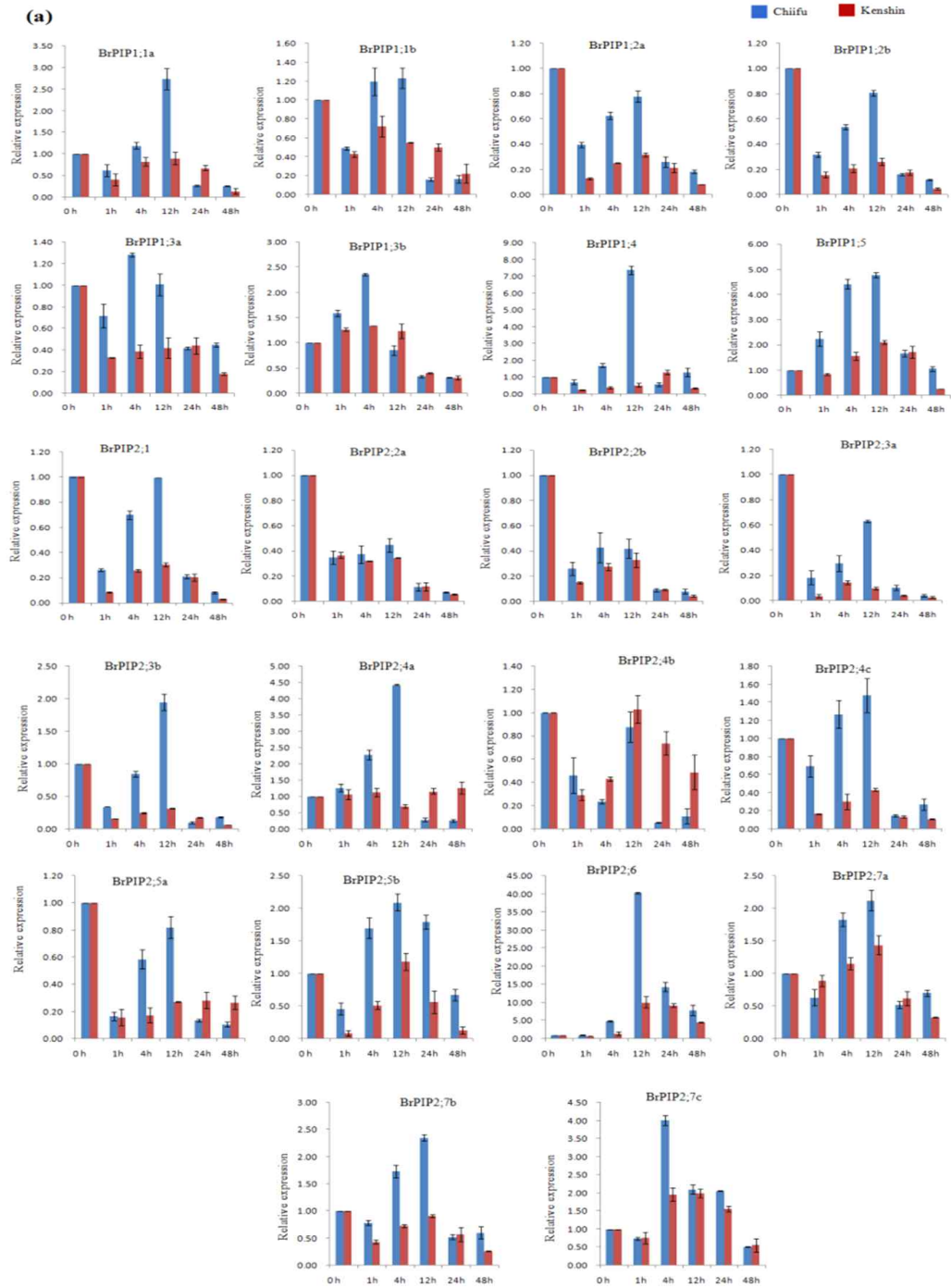
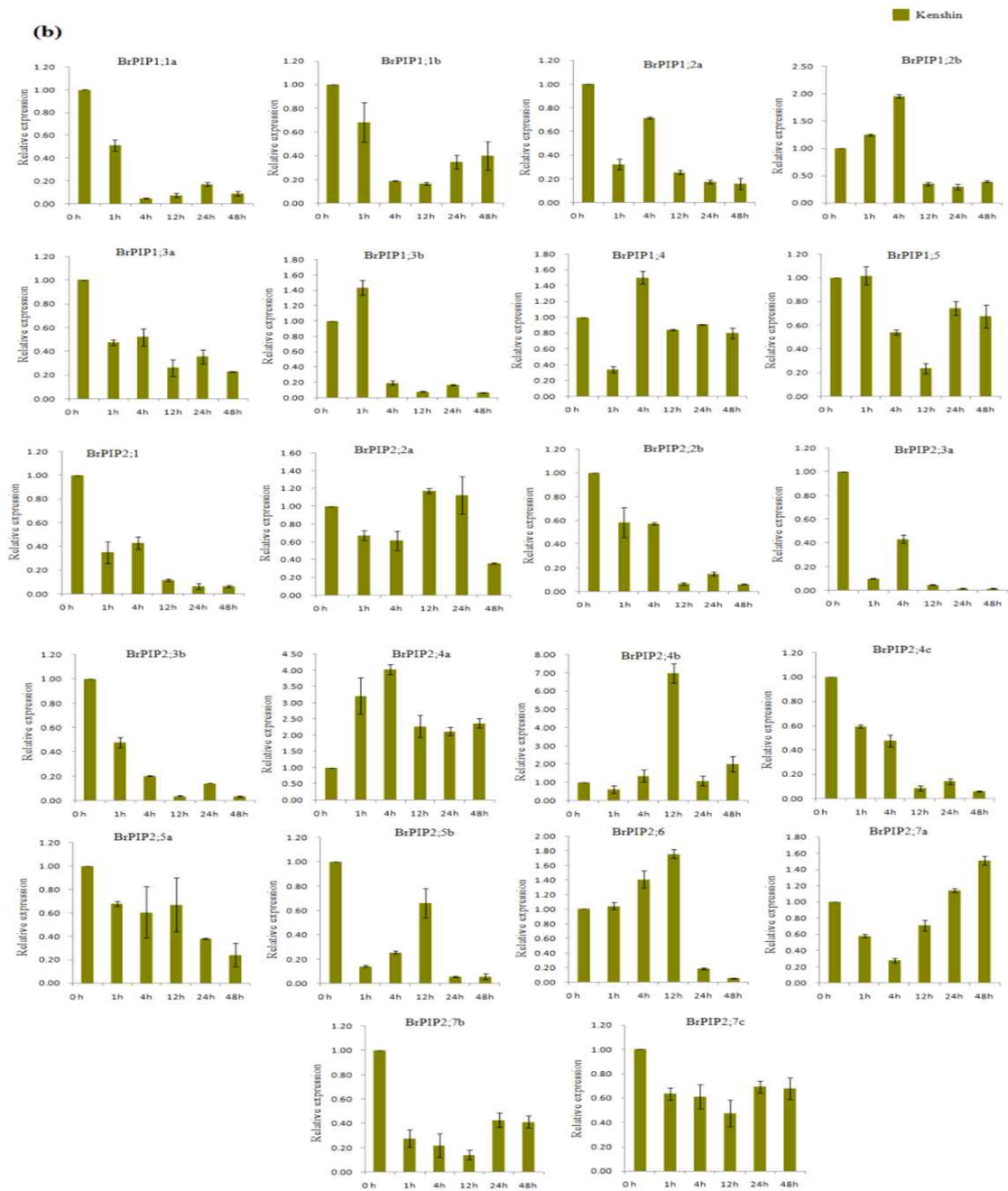


그림 56. 22개의 *BrPIP* 유전자에 대한 기관 특이적 발현 분석
(R: root, S: stem, L: leaf, Fb: flower bud)





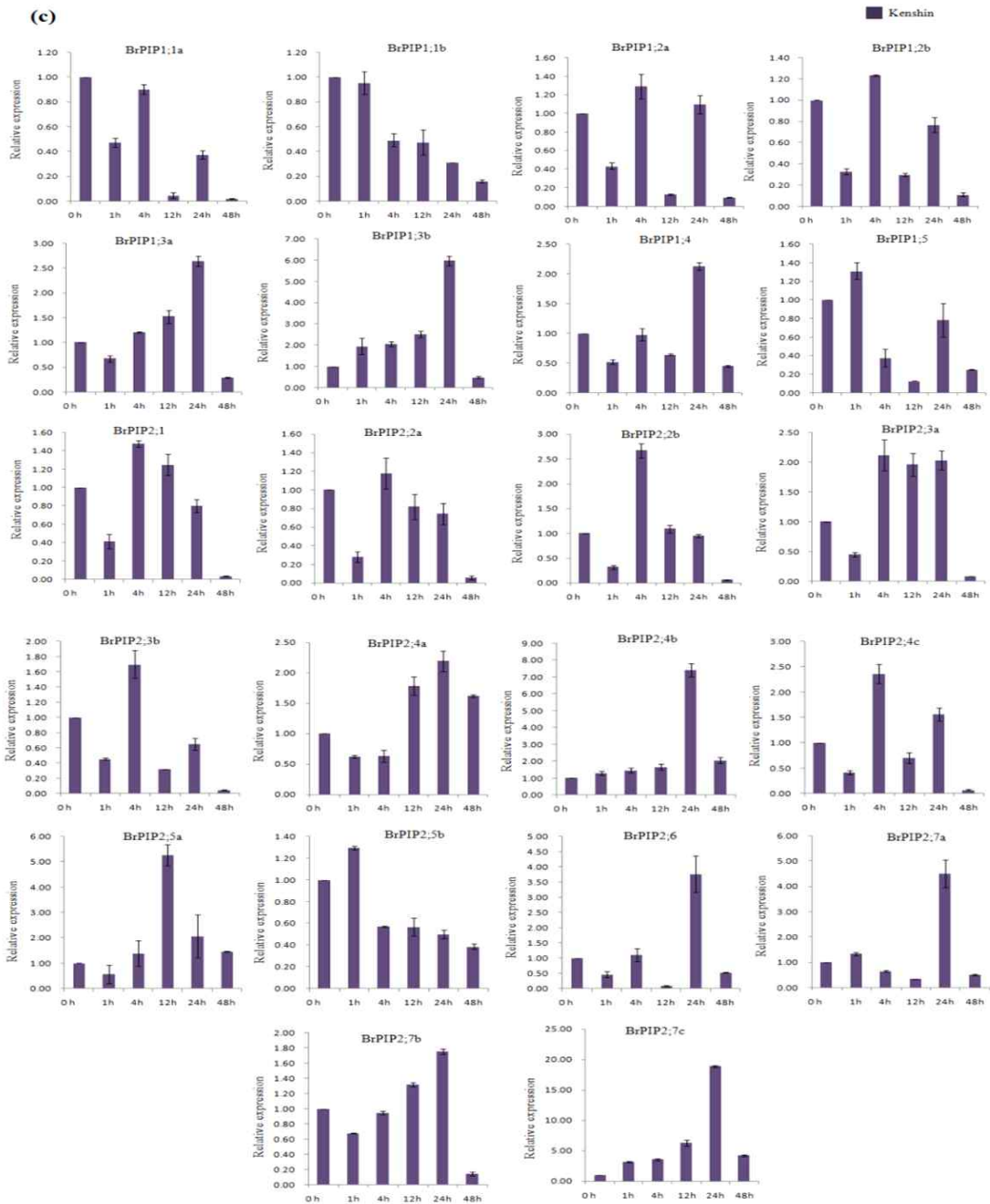






그림 57. 다양한 비생물학적 스트레스 샘플에 대한 *BrPIP* 유전자의 발현 분석
(a: cold, b: drought, c: salinity, d: ABA, e: water logging)

라. 다양한 비생물학적 스트레스에 반응하는 MYB 유전자의 동정 및 해석
MYB 단백질은 식물에 전사인자로 많은 수가 있으며 식물발달, 물질대사 및 다양한 방어
기작 등의 다양한 생물학적 처리과정에 조절역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구를 통해
475개의 MYB 유전자들을 동정하였으며, 이 중 256개의 유전자들은 *R2R3-MYB* 이었으며,

202개의 유전자들은 *MYB-related*의 subfamily에 속해 있었다. 단백질의 motif 구조는 5가지의 카테고리 (*1R*, *2R*, *3R*, *4R*, *5R*)로 분류하였다.

SWISSPROT 및 *Brassica* 데이터베이스 (BRAD) (<http://brassicadb.org/brad/>) (Cheng et al. 2011)의 TRIMBLE에서 키워드를 “MYB”으로 검색하였다. 단백질의 도메인 검색을 위해 EMBL의 SMART (http://smart.embl.de/smart/set_mode.cgi?GENOMIC=1)를 이용하였다. 주요 구조 분석을 위해 protParam (<http://expasy.org/tools/protparam.html>)을 이용하였다. 단백질 염기 서열은 ClustalW (Thompson et al. 1997)를 이용해 비교하였으며, *MYB* 유전자들을 blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 통해 duplicate 유전자들을 찾아 내었으며, 검색은 >80% (Kong et al. 2013)으로 하였다. 스트레스 처리는 semisolid 배지에서 10일 동안 키운 식물체를 이용하였다. 스트레스와 호르몬 처리는 6가지 시간 때(0h, 1h, 4h, 12h, 24h, 48h)로 하였으며, 저온 처리를 위해 4°C, 건조 처리를 위해 Whatmann 3 mm filter를 사용하였다. 염분 스트레스 처리를 위해, 다른 petri dish (72×72×100mm)에 옮긴 후 각각 200 mM NaCl을 처리하였다. Realtime PCR을 수행하기 위해 *B. rapa* (FJ969844)를 control로 이용하였다.

MYB 유전자의 분자량은 6,508~209,942 MW이었으며, 평균 40,955 MW이었다. 등전점은 4~12 PI이었으며, 평균 7.5 PI 이었다. 염색체별로 분포를 보면 염색체 1번에는 44개의 유전자, 2번에는 58개의 유전자, 3번에는 77개의 유전자, 4번에는 19개의 유전자, 5번에는 46개의 유전자, 6번에는 52개의 유전자, 7번에는 47개의 유전자, 8번에는 33개의 유전자, 9번에는 52개의 유전자, 10번에는 36개의 유전자가 있었으며, 그 외에 염색체 상에 아직 위치하지 않는 유전자가 11개가 있었다. 유전체 상에 유전자는 정방향으로 222개의 유전자가 위치해 있었으며, 역방향으로는 253개의 유전자가 위치해 있었다(표 32).

표 32. 475개의 *MYB* 유전자의 동정

No.	Gene name	Gene locus	MW (Dalton)	PI	Chromosome	Strand
1	<i>BrMYB1R1</i>	Bra011870	16252.19	9.1055	A01	-
2	<i>BrMYB1</i>	Bra011785	34932.32	6.8343	A01	+
3	<i>BrMYB2</i>	Bra011749	35355.27	6.6644	A01	-
4	<i>BrMYB1R2</i>	Bra011720	36967.72	7.0823	A01	+
5	<i>BrMYB1R3</i>	Bra011691	9167.06	8.959	A01	-
6	<i>BrMYB3</i>	Bra011576	32843.15	8.365	A01	+
7	<i>BrMYB1R4</i>	Bra011533	101584.91	4.7514	A01	-
8	<i>BrMYB4</i>	Bra011441	28862.08	10.3257	A01	+
9	<i>BrMYB4R1</i>	Bra011376	101038.28	5.2496	A01	-
10	<i>BrMYB1R5</i>	Bra011042	41123.02	5.2738	A01	+
11	<i>BrMYB1R6</i>	Bra040176	36655.78	7.2309	A01	-
12	<i>BrMYB5</i>	Bra040181	38835.59	4.9721	A01	-
13	<i>BrMYB1R7</i>	Bra013279	33564.9	9.7601	A01	-
14	<i>BrMYB6</i>	Bra013346	51032.02	6.9438	A01	+
15	<i>BrMYB5R1</i>	Bra013415	83794.38	5.5476	A01	-
16	<i>BrMYB7</i>	Bra013526	40453.72	6.4101	A01	-
17	<i>BrMYB8</i>	Bra013633	30198.45	6.2806	A01	-

18	<i>BrMYB9</i>	Bra013900	24915.28	10.3074	A01	+
19	<i>BrMYB1R8</i>	Bra026297	6507.56	9.9194	A01	-
20	<i>BrMYB10</i>	Bra026281	32526.51	5.6979	A01	-
21	<i>BrMYB1R9</i>	Bra026253	38752.91	6.9583	A01	+
22	<i>BrMYB1R10</i>	Bra033809	31011.38	6.6554	A01	+
23	<i>BrMYB1R11</i>	Bra029978	24710.44	10.5587	A01	+
24	<i>BrMYB11</i>	Bra029990	32435.58	8.8168	A01	-
25	<i>BrMYB1R12</i>	Bra035457	48598.63	8.1967	A01	-
26	<i>BrMYB12</i>	Bra028369	31306.22	9.1215	A01	+
27	<i>BrMYB1R13</i>	Bra028359	31669.68	6.3646	A01	-
28	<i>BrMYB13</i>	Bra023742	31852.47	6.1849	A01	-
29	<i>BrMYB14</i>	Bra021515	40357.2	7.5101	A01	+
30	<i>BrMYB1R14</i>	Bra038729	67740.25	8.6321	A01	+
31	<i>BrMYB15</i>	Bra034173	28976.52	7.8251	A01	+
32	<i>BrMYB1R15</i>	Bra034144	35142.08	7.0431	A01	-
33	<i>BrMYB3R1</i>	Bra034132	41458.53	7.6613	A01	+
34	<i>BrMYB16</i>	Bra034131	23345.21	4.8859	A01	+
35	<i>BrMYB17</i>	Bra034130	23146.11	6.872	A01	+
36	<i>BrMYB1R16</i>	Bra034074	29480.57	10.1698	A01	-
37	<i>BrMYB3R2</i>	Bra034067	53203.34	6.9116	A01	-
38	<i>BrMYB18</i>	Bra034057	42654.58	6.8372	A01	-
39	<i>BrMYB19</i>	Bra040274	36919.71	4.8222	A01	-
40	<i>BrMYB20</i>	Bra040221	121909.98	5.5608	A01	-
41	<i>BrMYB1R17</i>	Bra036412	44506.05	7.7531	A01	+
42	<i>BrMYB21</i>	Bra021382	37031.48	7.2873	A01	-
43	<i>BrMYB22</i>	Bra021483	37806.1	6.7913	A01	-
44	<i>BrMYB23</i>	Bra028892	29193.68	7.1425	A02	-
45	<i>BrMYB24</i>	Bra028780	24103.53	5.8082	A02	-
46	<i>BrMYB1R18</i>	Bra028717	42264.97	7.1877	A02	+
47	<i>BrMYB25</i>	Bra028654	29831.02	6.1712	A02	-
48	<i>BrMYB26</i>	Bra028593	37949.73	6.5116	A02	+
49	<i>BrMYB1R19</i>	Bra023380	23479.02	4.6275	A02	-
50	<i>BrMYB27</i>	Bra023486	21784.42	8.0973	A02	-
51	<i>BrMYB28</i>	Bra023515	34557.61	6.9966	A02	+
52	<i>BrMYB1R20</i>	Bra023570	44510.67	9.4812	A02	-
53	<i>BrMYB1R21</i>	Bra023610	41607.49	7.5003	A02	-
54	<i>BrMYB29</i>	Bra023637	36238.26	9.736	A02	+
55	<i>BrMYB1R22</i>	Bra023689	127750.98	5.6436	A02	-
56	<i>BrMYB30</i>	Bra020228	36742.88	8.7335	A02	+
57	<i>BrMYB31</i>	Bra020289	27360.85	9.2846	A02	+
58	<i>BrMYB32</i>	Bra020346	47952.82	9.2114	A02	-
59	<i>BrMYB1R23</i>	Bra020373	31446.99	9.4873	A02	-
60	<i>BrMYB33</i>	Bra020428	37693.09	6.9953	A02	-

61	<i>BrMYB34</i>	Bra035604	36105.49	7.4582	A02	-
62	<i>BrMYB35</i>	Bra035547	60958	6.7609	A02	+
63	<i>BrMYBIR24</i>	Bra022637	9072.28	9.6928	A02	-
64	<i>BrMYB36</i>	Bra022602	22703.67	9.7122	A02	+
65	<i>BrMYB37</i>	Bra039763	28459.44	9.0532	A02	+
66	<i>BrMYB38</i>	Bra033948	33125.88	5.4324	A02	+
67	<i>BrMYBIR25</i>	Bra038360	40515.15	8.2194	A02	+
68	<i>BrMYBIR26</i>	Bra007867	36741.27	6.7257	A02	+
69	<i>BrMYBIR27</i>	Bra007892	25710.74	10.2181	A02	-
70	<i>BrMYBIR28</i>	Bra007957	21718.57	8.484	A02	-
71	<i>BrMYB39</i>	Bra008096	27333.79	9.6836	A02	+
72	<i>BrMYB40</i>	Bra008131	37635.81	6.0944	A02	+
73	<i>BrMYB41</i>	Bra008149	28334.37	9.8288	A02	+
74	<i>BrMYB42</i>	Bra008160	37870.94	5.0862	A02	+
75	<i>BrMYBIR29</i>	Bra008169	24577.76	9.9663	A02	-
76	<i>BrMYBIR30</i>	Bra008186	10973.44	10.2943	A02	-
77	<i>BrMYB43</i>	Bra008286	59555.45	7.7747	A02	-
78	<i>BrMYBIR31</i>	Bra008411	38695.57	8.4857	A02	-
79	<i>BrMYB3R3</i>	Bra008522	84206.79	9.0634	A02	-
80	<i>BrMYB3R4</i>	Bra008523	61568.67	10.2373	A02	-
81	<i>BrMYBIR32</i>	Bra008539	8955.19	6.5204	A02	+
82	<i>BrMYBIR33</i>	Bra018498	8240.74	11.2892	A02	+
83	<i>BrMYBIR34</i>	Bra022127	38293.31	6.959	A02	+
84	<i>BrMYBIR35</i>	Bra026618	29346.72	8.0848	A02	+
85	<i>BrMYB44</i>	Bra026578	53731.9	5.5634	A02	-
86	<i>BrMYBIR36</i>	Bra026548	46676.52	7.2874	A02	+
87	<i>BrMYB45</i>	Bra033027	54160.16	7.6499	A02	-
88	<i>BrMYB46</i>	Bra033067	36478.49	8.7032	A02	+
89	<i>BrMYB47</i>	Bra033078	33316.29	9.9105	A02	-
90	<i>BrMYB48</i>	Bra020744	29648	9.5213	A02	+
91	<i>BrMYB49</i>	Bra020624	36693.69	5.2154	A02	-
92	<i>BrMYBIR37</i>	Bra020622	44636.41	4.7356	A02	+
93	<i>BrMYBIR38</i>	Bra020584	103130.43	9.5046	A02	+
94	<i>BrMYB50</i>	Bra020526	49229.62	10.2457	A02	-
95	<i>BrMYB51</i>	Bra029380	35727.13	8.6004	A02	+
96	<i>BrMYB52</i>	Bra029350	34468.68	5.2546	A02	+
97	<i>BrMYB53</i>	Bra029349	31179.99	4.8916	A02	+
98	<i>BrMYBIR39</i>	Bra029320	33410.78	9.5032	A02	-
99	<i>BrMYB54</i>	Bra029311	42063.9	6.5129	A02	+
100	<i>BrMYB55</i>	Bra029258	38400.8	5.6568	A02	-
101	<i>BrMYB56</i>	Bra031847	41669.52	6.3129	A02	+
102	<i>BrMYBIR40</i>	Bra005751	31128.88	4.9627	A03	-
103	<i>BrMYBIR41</i>	Bra005794	56435.26	10.0705	A03	-

104	<i>BrMYB57</i>	Bra005818	24154.67	6.1671	A03	-
105	<i>BrMYB1R42</i>	Bra005837	28063.78	9.9973	A03	+
106	<i>BrMYB1R43</i>	Bra005912	42019.86	7.1923	A03	+
107	<i>BrMYB58</i>	Bra005949	37140.91	4.5387	A03	+
108	<i>BrMYB59</i>	Bra005997	13649.62	4.3221	A03	-
109	<i>BrMYB60</i>	Bra006055	38274.95	6.6793	A03	+
110	<i>BrMYB3R5</i>	Bra006102	94958.89	5.6057	A03	+
111	<i>BrMYB61</i>	Bra006166	31685.61	6.7821	A03	-
112	<i>BrMYB62</i>	Bra006249	26870.46	6.624	A03	+
113	<i>BrMYB63</i>	Bra006296	36873.5	7.9311	A03	+
114	<i>BrMYB64</i>	Bra006370	38054.4	5.8224	A03	+
115	<i>BrMYB1R44</i>	Bra006394	40662.73	8.5725	A03	-
116	<i>BrMYB65</i>	Bra006422	35447.68	10.0735	A03	+
117	<i>BrMYB66</i>	Bra006694	28027.56	8.2048	A03	+
118	<i>BrMYB67</i>	Bra006741	31662.27	6.9624	A03	+
119	<i>BrMYB68</i>	Bra006744	47749.86	8.2617	A03	-
120	<i>BrMYB69</i>	Bra006811	37474.95	7.2347	A03	-
121	<i>BrMYB1R45</i>	Bra006853	22959.23	10.5489	A03	-
122	<i>BrMYB70</i>	Bra028997	61316.2	6.8504	A03	+
123	<i>BrMYB71</i>	Bra029033	35254.16	7.0386	A03	+
124	<i>BrMYB1R46</i>	Bra029111	35036.44	9.2082	A03	+
125	<i>BrMYB72</i>	Bra029113	22939.91	8.4919	A03	+
126	<i>BrMYB73</i>	Bra029129	30998.76	9.0274	A03	-
127	<i>BrMYB74</i>	Bra022831	28528.79	5.0548	A03	-
128	<i>BrMYB75</i>	Bra022888	51186.62	6.3256	A03	-
129	<i>BrMYB76</i>	Bra023085	32935.06	8.3724	A03	+
130	<i>BrMYB1R47</i>	Bra023092	40773.57	6.9659	A03	+
131	<i>BrMYB77</i>	Bra000011	40405.16	9.9033	A03	-
132	<i>BrMYB78</i>	Bra000038	33203.68	5.9818	A03	+
133	<i>BrMYB1R48</i>	Bra000180	43913.74	9.5364	A03	-
134	<i>BrMYB1R49</i>	Bra000270	32663.04	7.7859	A03	-
135	<i>BrMYB79</i>	Bra000453	42144.81	5.2207	A03	+
136	<i>BrMYB1R50</i>	Bra000456	94152.1	4.969	A03	+
137	<i>BrMYB80</i>	Bra000531	48448.25	4.9274	A03	+
138	<i>BrMYB81</i>	Bra000680	25011.01	9.4544	A03	+
139	<i>BrMYB1R51</i>	Bra000941	8986.23	7.7032	A03	+
140	<i>BrMYB82</i>	Bra001005	23940.13	10.1071	A03	+
141	<i>BrMYB83</i>	Bra001202	35351.96	4.6476	A03	+
142	<i>BrMYB84</i>	Bra001284	38244.74	6.7318	A03	-
143	<i>BrMYB3R6</i>	Bra001311	53100.48	8.5856	A03	-
144	<i>BrMYB85</i>	Bra001323	36718.1	7.2123	A03	-
145	<i>BrMYB1R52</i>	Bra001377	15590.72	10.4676	A03	+
146	<i>BrMYB1R53</i>	Bra001378	11358.88	6.6298	A03	+

147	<i>BrMYB86</i>	Bra001404	73844.64	9.8147	A03	-
148	<i>BrMYB87</i>	Bra001472	26697.01	7.3279	A03	-
149	<i>BrMYBIR54</i>	Bra001484	35388.61	5.1055	A03	-
150	<i>BrMYB88</i>	Bra001907	32141.63	5.4087	A03	+
151	<i>BrMYB89</i>	Bra001917	28389.59	9.1228	A03	-
152	<i>BrMYBIR55</i>	Bra001927	32195.22	6.6289	A03	-
153	<i>BrMYB90</i>	Bra001941	31434.33	8.9883	A03	-
154	<i>BrMYB91</i>	Bra013055	33024.17	8.7293	A03	-
155	<i>BrMYB92</i>	Bra013000	34916.87	4.7657	A03	+
156	<i>BrMYB93</i>	Bra012961	39870.09	5.9902	A03	-
157	<i>BrMYBIR56</i>	Bra012936	35828.65	9.9066	A03	+
158	<i>BrMYBIR57</i>	Bra012919	23199.42	6.6887	A03	+
159	<i>BrMYB94</i>	Bra012910	32247.12	5.5691	A03	-
160	<i>BrMYB95</i>	Bra012815	209942.16	6.6036	A03	+
161	<i>BrMYBIR58</i>	Bra012721	54355.87	7.6902	A03	-
162	<i>BrMYBIR59</i>	Bra012665	36821.1	7.3623	A03	-
163	<i>BrMYB96</i>	Bra012641	39444.45	5.4479	A03	-
164	<i>BrMYB97</i>	Bra012579	45514.31	7.8491	A03	+
165	<i>BrMYB98</i>	Bra038774	39770.09	6.4477	A03	-
166	<i>BrMYB99</i>	Bra019368	30388.87	6.9232	A03	-
167	<i>BrMYB100</i>	Bra019154	52770.15	9.8726	A03	+
168	<i>BrMYB101</i>	Bra024224	31701.29	10.1456	A03	-
169	<i>BrMYBIR60</i>	Bra024188	32345.52	6.6023	A03	-
170	<i>BrMYB4R2</i>	Bra037045	99711.99	5.2446	A03	+
171	<i>BrMYB102</i>	Bra037004	27703.83	9.8645	A03	-
172	<i>BrMYB103</i>	Bra017685	30852.9	8.6121	A03	-
173	<i>BrMYBIR61</i>	Bra017795	33780.36	8.3352	A03	-
174	<i>BrMYB104</i>	Bra017813	28949.4	6.1508	A03	+
175	<i>BrMYB105</i>	Bra014446	31680.91	7.9304	A04	-
176	<i>BrMYBIR62</i>	Bra014512	63962.28	10.2008	A04	-
177	<i>BrMYB106</i>	Bra025652	29828.96	10.3489	A04	-
178	<i>BrMYB107</i>	Bra025589	29275.03	8.2133	A04	+
179	<i>BrMYB108</i>	Bra025575	31842.75	7.8738	A04	-
180	<i>BrMYB109</i>	Bra025574	30100.7	8.7667	A04	-
181	<i>BrMYB110</i>	Bra025564	37960.44	7.275	A04	+
182	<i>BrMYB4R3</i>	Bra025529	79004.55	5.8772	A04	-
183	<i>BrMYB111</i>	Bra032176	31392.23	8.3309	A04	-
184	<i>BrMYB112</i>	Bra021708	28893.06	6.5101	A04	-
185	<i>BrMYB113</i>	Bra021791	43625.67	6.8299	A04	-
186	<i>BrMYBIR63</i>	Bra021864	51288.42	5.1502	A04	+
187	<i>BrMYB114</i>	Bra017218	32728.82	7.8396	A04	+
188	<i>BrMYBIR64</i>	Bra017214	29115.93	7.9371	A04	+
189	<i>BrMYB115</i>	Bra017138	32855.45	5.0696	A04	+

190	<i>BrMYB1R65</i>	Bra016893	66939.29	9.8171	A04	+
191	<i>BrMYB1R66</i>	Bra039283	10280.82	10.0144	A04	-
192	<i>BrMYB1I6</i>	Bra021389	31442.84	5.0582	A04	+
193	<i>BrMYB1R67</i>	Bra021391	45598.93	9.7863	A04	+
194	<i>BrMYB1R68</i>	Bra004441	57351.62	4.5652	A05	-
195	<i>BrMYB1I7</i>	Bra004456	40446.69	4.5989	A05	-
196	<i>BrMYB1R69</i>	Bra004471	48577.58	9.5798	A05	-
197	<i>BrMYB1I8</i>	Bra004473	31644.98	4.8108	A05	-
198	<i>BrMYB1R70</i>	Bra004503	60223.21	6.4709	A05	-
199	<i>BrMYB1R71</i>	Bra004539	10308.84	10.1006	A05	+
200	<i>BrMYB1R72</i>	Bra004593	27138.87	9.7622	A05	-
201	<i>BrMYB1R73</i>	Bra004831	69500.1	9.6346	A05	+
202	<i>BrMYB1R74</i>	Bra004973	45728.56	9.6688	A05	+
203	<i>BrMYB1I9</i>	Bra005006	43983.3	7.7624	A05	+
204	<i>BrMYB1R75</i>	Bra005124	38652.87	8.6384	A05	+
205	<i>BrMYB1I20</i>	Bra005139	32911.43	5.0555	A05	-
206	<i>BrMYB1I21</i>	Bra005177	41840.6	9.9035	A05	+
207	<i>BrMYB1R76</i>	Bra005230	78478.58	6.7588	A05	-
208	<i>BrMYB1I22</i>	Bra005234	32805.79	7.0336	A05	-
209	<i>BrMYB1I23</i>	Bra005597	54028.44	5.2061	A05	-
210	<i>BrMYB1I24</i>	Bra018267	29406.94	6.8708	A05	-
211	<i>BrMYB1R77</i>	Bra039503	37398.24	8.5501	A05	-
212	<i>BrMYB1R78</i>	Bra040662	36960.59	5.9686	A05	+
213	<i>BrMYB1R79</i>	Bra033844	44298.02	8.7057	A05	+
214	<i>BrMYB1R80</i>	Bra031282	126963.65	8.2224	A05	+
215	<i>BrMYB5R2</i>	Bra022280	97979.61	5.7503	A05	-
216	<i>BrMYB1R81</i>	Bra027170	39934.36	8.3921	A05	-
217	<i>BrMYB1I25</i>	Bra027389	39177.93	7.2793	A05	+
218	<i>BrMYB1I26</i>	Bra027423	28620.43	8.9929	A05	-
219	<i>BrMYB1R82</i>	Bra034737	21598.34	5.9523	A05	+
220	<i>BrMYB1I27</i>	Bra034738	33228.58	7.9532	A05	+
221	<i>BrMYB1R83</i>	Bra034751	67047.58	8.2853	A05	+
222	<i>BrMYB1I28</i>	Bra034841	72719.02	8.5774	A05	+
223	<i>BrMYB1I29</i>	Bra034842	57292.34	5.7245	A05	-
224	<i>BrMYB1I30</i>	Bra034853	26266.5	7.6216	A05	+
225	<i>BrMYB1R84</i>	Bra029866	31258.83	7.0994	A05	-
226	<i>BrMYB1R85</i>	Bra029856	17373.39	6.2345	A05	+
227	<i>BrMYB1R86</i>	Bra029778	33458.56	7.9127	A05	-
228	<i>BrMYB3R7</i>	Bra029762	56067.26	6.7231	A05	-
229	<i>BrMYB1I31</i>	Bra029696	37286.42	5.6346	A05	+
230	<i>BrMYB1R87</i>	Bra029673	61861.36	6.5892	A05	+
231	<i>BrMYB1I32</i>	Bra029582	37128.86	4.6135	A05	-
232	<i>BrMYB1R88</i>	Bra020751	122283.29	5.3897	A05	-

233	<i>BrMYB1R89</i>	Bra039443	115867.79	9.702	A05	-
234	<i>BrMYB1R90</i>	Bra039470	45119.19	7.437	A05	+
235	<i>BrMYB1R91</i>	Bra031952	44184.62	6.8464	A05	+
236	<i>BrMYB133</i>	Bra032028	36635.95	6.7547	A05	-
237	<i>BrMYB134</i>	Bra039142	36226.71	8.7677	A05	-
238	<i>BrMYB135</i>	Bra039108	23600.7	9.843	A05	-
239	<i>BrMYB1R92</i>	Bra038033	40379.05	6.2946	A06	-
240	<i>BrMYB1R93</i>	Bra018818	38940.36	10.0909	A06	+
241	<i>BrMYB1R94</i>	Bra018794	33606.79	5.4945	A06	-
242	<i>BrMYB136</i>	Bra018772	32697.67	9.291	A06	-
243	<i>BrMYB137</i>	Bra018598	32215.72	5.3853	A06	-
244	<i>BrMYB138</i>	Bra020016	37185.41	8.0622	A06	+
245	<i>BrMYB1R95</i>	Bra019998	60913.63	9.7995	A06	+
246	<i>BrMYB139</i>	Bra019993	95724.41	6.2924	A06	+
247	<i>BrMYB1R96</i>	Bra019824	41525.4	5.6492	A06	-
248	<i>BrMYB140</i>	Bra019658	49768.6	5.3098	A06	+
249	<i>BrMYB1R97</i>	Bra026202	22357.19	9.5714	A06	-
250	<i>BrMYB141</i>	Bra026048	32262.01	6.9123	A06	-
251	<i>BrMYB1R98</i>	Bra025973	71294.98	5.2991	A06	+
252	<i>BrMYB1R99</i>	Bra025967	32639.3	9.3705	A06	-
253	<i>BrMYB1R100</i>	Bra025914	36828.7	8.8851	A06	-
254	<i>BrMYB142</i>	Bra025666	38407.18	6.2672	A06	+
255	<i>BrMYB143</i>	Bra025678	29555.07	5.266	A06	+
256	<i>BrMYB1R101</i>	Bra025681	24515.92	4.4282	A06	+
257	<i>BrMYB1R102</i>	Bra025745	11281.82	8.9282	A06	-
258	<i>BrMYB1R103</i>	Bra017943	67693.58	5.2575	A06	-
259	<i>BrMYB144</i>	Bra017963	34565.19	8.0035	A06	-
260	<i>BrMYB145</i>	Bra018027	29421.16	8.6929	A06	-
261	<i>BrMYB1R104</i>	Bra018204	32882.42	5.9488	A06	-
262	<i>BrMYB146</i>	Bra018223	29451.1	8.7775	A06	-
263	<i>BrMYB147</i>	Bra010085	50089.29	7.211	A06	-
264	<i>BrMYB148</i>	Bra024368	35007.35	6.0773	A06	+
265	<i>BrMYB149</i>	Bra024419	41500.3	5.8412	A06	+
266	<i>BrMYB1R105</i>	Bra024438	31572.91	10.6954	A06	+
267	<i>BrMYB150</i>	Bra009699	36921.13	9.0732	A06	-
268	<i>BrMYB151</i>	Bra009910	37456.04	8.2866	A06	-
269	<i>BrMYB1R106</i>	Bra009950	139709.24	7.5789	A06	-
270	<i>BrMYB152</i>	Bra010021	36492.62	5.4535	A06	+
271	<i>BrMYB153</i>	Bra010022	36492.62	5.4535	A06	+
272	<i>BrMYB154</i>	Bra037419	38762.1	4.7672	A06	+
273	<i>BrMYB1R107</i>	Bra037494	173751.13	5.401	A06	+
274	<i>BrMYB155</i>	Bra025410	31147.43	8.3615	A06	-
275	<i>BrMYB156</i>	Bra025361	37067.24	7.5002	A06	-

276	<i>BrMYB157</i>	Bra025337	35921.09	8.1719	A06	+
277	<i>BrMYB158</i>	Bra025311	26073.06	7.922	A06	+
278	<i>BrMYB159</i>	Bra025300	25827.67	6.8792	A06	-
279	<i>BrMYB160</i>	Bra025299	53563.95	8.542	A06	+
280	<i>BrMYB1R108</i>	Bra025161	42274.84	5.8269	A06	-
281	<i>BrMYB1R109</i>	Bra025115	46857.66	6.9933	A06	-
282	<i>BrMYB161</i>	Bra024804	52028	6.1591	A06	+
283	<i>BrMYB1R110</i>	Bra024836	28884.22	7.9247	A06	-
284	<i>BrMYB1R111</i>	Bra024909	31200.63	5.7827	A06	+
285	<i>BrMYB1R112</i>	Bra025071	31210.04	8.5973	A06	+
286	<i>BrMYB162</i>	Bra025078	33735.01	6.7078	A06	+
287	<i>BrMYB1R113</i>	Bra033726	41344.7	6.5117	A06	-
288	<i>BrMYB163</i>	Bra033572	33099.69	8.5556	A06	-
289	<i>BrMYB1R114</i>	Bra036482	47466.35	7.5167	A07	-
290	<i>BrMYB1R115</i>	Bra036469	39105	5.9549	A07	-
291	<i>BrMYB1R116</i>	Bra039617	9393.27	9.5276	A07	+
292	<i>BrMYB164</i>	Bra002042	52072.81	5.9102	A07	-
293	<i>BrMYB1R117</i>	Bra015134	34271.3	5.1156	A07	+
294	<i>BrMYB165</i>	Bra015029	31061.92	8.3296	A07	+
295	<i>BrMYB166</i>	Bra014929	32206.98	5.0999	A07	-
296	<i>BrMYB167</i>	Bra012482	33020.94	5.9223	A07	-
297	<i>BrMYB1R118</i>	Bra012471	37485.51	8.816	A07	+
298	<i>BrMYB168</i>	Bra012337	31559.48	8.2085	A07	-
299	<i>BrMYB1R119</i>	Bra012183	15198.23	7.3399	A07	+
300	<i>BrMYB169</i>	Bra012149	32338.27	8.3354	A07	-
301	<i>BrMYB170</i>	Bra012038	97555.32	5.1252	A07	-
302	<i>BrMYB1R120</i>	Bra012014	23159.65	4.8331	A07	-
303	<i>BrMYB171</i>	Bra028550	28676.35	7.4602	A07	-
304	<i>BrMYB172</i>	Bra003413	33290.43	6.0814	A07	-
305	<i>BrMYB173</i>	Bra003443	31466.62	8.0208	A07	+
306	<i>BrMYB1R121</i>	Bra003611	38426.36	8.6583	A07	+
307	<i>BrMYB174</i>	Bra003619	30276.47	5.2809	A07	-
308	<i>BrMYB175</i>	Bra003702	52803.75	10.3395	A07	+
309	<i>BrMYB176</i>	Bra003793	37889.59	5.4061	A07	-
310	<i>BrMYB177</i>	Bra003801	29936.57	4.9767	A07	-
311	<i>BrMYB1R122</i>	Bra003870	65214.52	5.4295	A07	-
312	<i>BrMYB1R123</i>	Bra003871	65272.55	5.3357	A07	-
313	<i>BrMYB1R124</i>	Bra003969	26533.45	10.6487	A07	+
314	<i>BrMYB1R125</i>	Bra003993	36936.66	6.5328	A07	-
315	<i>BrMYB178</i>	Bra003995	34535.99	9.5204	A07	-
316	<i>BrMYB179</i>	Bra004041	32803.41	4.6269	A07	-
317	<i>BrMYB180</i>	Bra004155	32100.39	6.416	A07	+
318	<i>BrMYB181</i>	Bra004162	27946.7	8.7454	A07	+

319	<i>BrMYB182</i>	Bra004297	32814.51	4.936	A07	+
320	<i>BrMYB1R126</i>	Bra004330	39934.69	8.8614	A07	+
321	<i>BrMYB183</i>	Bra004394	37015.78	8.5676	A07	+
322	<i>BrMYB1R127</i>	Bra004397	37499.33	7.5943	A07	+
323	<i>BrMYB1R128</i>	Bra016164	21976.83	9.7764	A07	-
324	<i>BrMYB1R129</i>	Bra016044	66063.68	5.8667	A07	+
325	<i>BrMYB1R130</i>	Bra016037	81507.85	6.7845	A07	-
326	<i>BrMYB184</i>	Bra015992	26566.8	9.628	A07	+
327	<i>BrMYB185</i>	Bra015939	36555.59	6.1485	A07	+
328	<i>BrMYB186</i>	Bra015912	31436.23	5.4573	A07	+
329	<i>BrMYB187</i>	Bra015911	31347.26	5.9842	A07	+
330	<i>BrMYB188</i>	Bra015899	37318.46	6.8435	A07	+
331	<i>BrMYB1R131</i>	Bra015890	27111.84	9.7481	A07	-
332	<i>BrMYB1R132</i>	Bra015856	10150.31	9.5776	A07	-
333	<i>BrMYB189</i>	Bra015715	65398.92	7.7394	A07	-
334	<i>BrMYB190</i>	Bra035097	30936.31	5.1535	A07	+
335	<i>BrMYB1R133</i>	Bra035118	39541.46	8.6279	A07	-
336	<i>BrMYB191</i>	Bra030812	34423.22	5.9478	A08	-
337	<i>BrMYB1R134</i>	Bra030894	8292.56	9.5858	A08	-
338	<i>BrMYB1R135</i>	Bra014348	34178.16	5.6246	A08	-
339	<i>BrMYB1R136</i>	Bra014227	30459.59	9.6759	A08	+
340	<i>BrMYB192</i>	Bra014169	33342.55	9.3178	A08	-
341	<i>BrMYB193</i>	Bra035532	29695.8	9.3069	A08	-
342	<i>BrMYB1R137</i>	Bra021038	20267.82	10.7171	A08	-
343	<i>BrMYB194</i>	Bra021033	39878.83	6.5996	A08	-
344	<i>BrMYB195</i>	Bra020992	49608.77	7.0691	A08	+
345	<i>BrMYB196</i>	Bra020892	39429.94	6.6227	A08	+
346	<i>BrMYB197</i>	Bra020837	30591.99	6.4134	A08	-
347	<i>BrMYB198</i>	Bra034565	29085.44	10.1496	A08	+
348	<i>BrMYB4R4</i>	Bra034531	101762.15	5.3451	A08	-
349	<i>BrMYB1R138</i>	Bra010355	43731.26	6.0614	A08	+
350	<i>BrMYB1R139</i>	Bra010560	9128.02	8.9561	A08	+
351	<i>BrMYB1R140</i>	Bra010581	35900.56	8.8879	A08	-
352	<i>BrMYB199</i>	Bra010593	33751.42	6.0792	A08	+
353	<i>BrMYB1R141</i>	Bra010701	66043.33	4.2874	A08	-
354	<i>BrMYB200</i>	Bra010736	31649.07	8.3557	A08	-
355	<i>BrMYB201</i>	Bra016285	40820.4	7.1115	A08	+
356	<i>BrMYB1R142</i>	Bra016289	36111.47	5.7102	A08	+
357	<i>BrMYB1R143</i>	Bra016409	86212.15	4.9634	A08	+
358	<i>BrMYB1R144</i>	Bra016530	28892.38	9.5048	A08	+
359	<i>BrMYB202</i>	Bra016546	29508.24	5.7161	A08	-
360	<i>BrMYB203</i>	Bra016553	37303.49	4.8998	A08	-
361	<i>BrMYB204</i>	Bra016575	28159.85	9.2883	A08	-

362	<i>BrMYB1R145</i>	Bra016598	32625.2	9.3734	A08	+
363	<i>BrMYB1R146</i>	Bra016734	39078.74	6.9007	A08	-
364	<i>BrMYB205</i>	Bra030798	95803.52	6.6823	A08	-
365	<i>BrMYB206</i>	Bra030783	38782.01	8.0741	A08	-
366	<i>BrMYB207</i>	Bra030743	30210.78	6.5097	A08	+
367	<i>BrMYB1R147</i>	Bra030689	67781.58	9.8075	A08	+
368	<i>BrMYB1R148</i>	Bra030496	64161.69	5.9061	A08	-
369	<i>BrMYB1R149</i>	Bra037365	37905.18	9.5214	A09	-
370	<i>BrMYB1R150</i>	Bra037388	8985.26	7.5251	A09	-
371	<i>BrMYB208</i>	Bra036317	37717.91	7.3095	A09	-
372	<i>BrMYB209</i>	Bra039065	22726.58	9.5829	A09	-
373	<i>BrMYB210</i>	Bra039040	37772.06	8.214	A09	+
374	<i>BrMYB211</i>	Bra039036	22152.11	10.5152	A09	-
375	<i>BrMYB212</i>	Bra036202	31010.23	8.2941	A09	+
376	<i>BrMYB1R151</i>	Bra036179	47721.99	4.5097	A09	-
377	<i>BrMYB213</i>	Bra036145	39519.77	4.8986	A09	-
378	<i>BrMYB1R152</i>	Bra036123	45412.29	6.1567	A09	-
379	<i>BrMYB214</i>	Bra036588	37824.38	8.1616	A09	+
380	<i>BrMYB215</i>	Bra035954	33544.8	5.2973	A09	+
381	<i>BrMYB216</i>	Bra035929	40509.6	5.83	A09	-
382	<i>BrMYB217</i>	Bra035893	37415.87	6.4231	A09	-
383	<i>BrMYB218</i>	Bra037828	35317.28	5.4553	A09	+
384	<i>BrMYB1R153</i>	Bra037837	10840.6	11.7506	A09	+
385	<i>BrMYB1R154</i>	Bra037839	32435.02	10.607	A09	+
386	<i>BrMYB1R155</i>	Bra036679	37120.74	5.516	A09	+
387	<i>BrMYB219</i>	Bra027771	41567.09	6.3888	A09	-
388	<i>BrMYB220</i>	Bra027668	41982.54	6.6235	A09	+
389	<i>BrMYB221</i>	Bra027160	26941.52	10.1157	A09	+
390	<i>BrMYB1R156</i>	Bra027882	74928.93	10.2522	A09	+
391	<i>BrMYB1R157</i>	Bra017487	35607.89	10.0278	A09	+
392	<i>BrMYB1R158</i>	Bra017349	40154.67	6.7276	A09	+
393	<i>BrMYB1R159</i>	Bra029503	20079.11	10.7433	A09	-
394	<i>BrMYB222</i>	Bra029553	38115.41	6.569	A09	+
395	<i>BrMYB223</i>	Bra028063	40885.45	5.1853	A09	-
396	<i>BrMYB1R160</i>	Bra023254	41471.81	7.7445	A09	+
397	<i>BrMYB3R8</i>	Bra024760	30913.52	5.4018	A09	+
398	<i>BrMYB1R161</i>	Bra024685	20135.92	7.8303	A09	+
399	<i>BrMYB224</i>	Bra024526	30544.35	8.1622	A09	-
400	<i>BrMYB1R162</i>	Bra036035	26105.29	5.5148	A09	+
401	<i>BrMYB225</i>	Bra036048	29614.09	6.7946	A09	-
402	<i>BrMYB226</i>	Bra006915	180149.63	7.1014	A09	+
403	<i>BrMYB227</i>	Bra006977	29210.64	6.7981	A09	-
404	<i>BrMYB228</i>	Bra007186	41047.18	5.4647	A09	-

405	<i>BrMYB1R163</i>	Bra007371	64624.67	6.6711	A09	-
406	<i>BrMYB1R164</i>	Bra007506	65735.84	10.2941	A09	+
407	<i>BrMYB229</i>	Bra007536	30621.24	6.6852	A09	-
408	<i>BrMYB230</i>	Bra007588	32541.67	7.7943	A09	+
409	<i>BrMYB1R165</i>	Bra031129	45532.26	7.2607	A09	-
410	<i>BrMYB1R166</i>	Bra031060	29687.91	8.5044	A09	+
411	<i>BrMYB231</i>	Bra031041	24350.34	5.2032	A09	-
412	<i>BrMYB232</i>	Bra031035	36371.62	5.6832	A09	-
413	<i>BrMYB233</i>	Bra031008	28392.87	9.0591	A09	-
414	<i>BrMYB1R167</i>	Bra030992	32340.84	9.8971	A09	+
415	<i>BrMYB234</i>	Bra026720	32212.46	4.6766	A09	+
416	<i>BrMYB1R168</i>	Bra026818	27196.15	9.1548	A09	+
417	<i>BrMYB235</i>	Bra031669	36689.78	7.153	A09	-
418	<i>BrMYB1R169</i>	Bra032635	9653.03	8.4984	A09	+
419	<i>BrMYB1R170</i>	Bra015585	66925	9.9904	A10	+
420	<i>BrMYB236</i>	Bra039067	25942.7	6.7215	A09	+
421	<i>BrMYB237</i>	Bra015481	28742.86	5.3737	A10	-
422	<i>BrMYB1R171</i>	Bra033291	65551.69	6.5151	A10	-
423	<i>BrMYB1R172</i>	Bra033257	31011.46	9.9073	A10	+
424	<i>BrMYB1R173</i>	Bra003117	33794.13	9.4417	A10	-
425	<i>BrMYB238</i>	Bra002938	64210.37	6.9226	A10	-
426	<i>BrMYB239</i>	Bra002847	35845.28	7.7027	A10	+
427	<i>BrMYB1R174</i>	Bra002790	21223.82	8.1346	A10	+
428	<i>BrMYB1R175</i>	Bra002659	48586.27	4.9164	A10	+
429	<i>BrMYB240</i>	Bra002610	31885.53	7.2732	A10	-
430	<i>BrMYB1R176</i>	Bra002566	63298.43	8.8502	A10	+
431	<i>BrMYB241</i>	Bra002533	27550.95	8.6919	A10	-
432	<i>BrMYB242</i>	Bra002448	37315.53	8.1411	A10	-
433	<i>BrMYB243</i>	Bra002173	123285.39	5.7582	A10	+
434	<i>BrMYB1R177</i>	Bra002145	44300.48	6.2848	A10	+
435	<i>BrMYB244</i>	Bra002107	36850.9	9.6838	A10	-
436	<i>BrMYB1R178</i>	Bra008563	39324.07	8.9491	A10	+
437	<i>BrMYB245</i>	Bra008596	38602.7	6.4037	A10	-
438	<i>BrMYB1R179</i>	Bra008613	32839.2	11.2578	A10	+
439	<i>BrMYB246</i>	Bra008705	36423.75	7.1792	A10	-
440	<i>BrMYB247</i>	Bra008740	22966	9.327	A10	+
441	<i>BrMYB248</i>	Bra008764	30687.83	6.512	A10	-
442	<i>BrMYB249</i>	Bra008875	31758.49	5.9647	A10	+
443	<i>BrMYB3R9</i>	Bra008956	102765.33	5.731	A10	-
444	<i>BrMYB3R10</i>	Bra009044	34321.52	6.2493	A10	-
445	<i>BrMYB250</i>	Bra009346	31587.93	6.4259	A10	+
446	<i>BrMYB251</i>	Bra009245	10148.72	9.6015	A10	+
447	<i>BrMYB1R180</i>	Bra009230	80327.66	7.8495	A10	-

448	<i>BrMYB1R181</i>	Bra009228	42259.33	7.8051	A10	-
449	<i>BrMYB252</i>	Bra009134	30609.41	8.3935	A10	+
450	<i>BrMYB1R182</i>	Bra009087	29745.28	6.9772	A10	-
451	<i>BrMYB253</i>	Bra009432	23721.43	7.0982	A10	+
452	<i>BrMYB1R183</i>	Bra009562	34654.32	6.972	A10	-
453	<i>BrMYB1R184</i>	Bra009591	64325.84	7.4003	A10	-
454	<i>BrMYB3R11</i>	Bra009597	58146.25	8.0417	A10	+
455	<i>BrMYB1R185</i>	Bra035311	70579.79	6.8776	Scaffold000103	-
456	<i>BrMYB1R186</i>	Bra036015	40992.1	7.0638	Scaffold000111	+
457	<i>BrMYB254</i>	Bra039339	33381.94	8.4899	Scaffold000164	-
458	<i>BrMYB1R187</i>	Bra039340	26916.35	7.4497	Scaffold000164	-
459	<i>BrMYB255</i>	Bra039344	26911.18	7.0885	Scaffold000164	-
460	<i>BrMYB1R188</i>	Bra039364	48828.26	5.401	Scaffold000164	-
461	<i>BrMYB256</i>	Bra039395	28195.77	7.5045	Scaffold000164	-
462	<i>BrMYB1R189</i>	Bra039650	34176.72	9.4468	Scaffold000172	+
463	<i>BrMYB1R190</i>	Bra040196	44462.64	5.6808	Scaffold000191	-
464	<i>BrMYB1R191</i>	Bra040578	56076.76	6.9304	Scaffold000219	-
465	<i>BrMYB1R192</i>	Bra040649	115256	9.27	Scaffold000229	+
466	<i>BrMYB1R193</i>	Bra001258	27974.5	8.94	A03	+
467	<i>BrMYB1R194</i>	Bra029658	28123.6	8.74	A05	-
468	<i>BrMYB1R195</i>	Bra040015	27389	8.41	A01	-
469	<i>BrMYB1R196</i>	Bra024472	47502.5	6.76	A06	-
470	<i>BrMYB1R197</i>	Bra009485	57404.7	9.09	A10	+
471	<i>BrMYB1R198</i>	Bra000360	39300.6	9.2	A03	-
472	<i>BrMYB1R199</i>	Bra004859	33619.5	9.45	A03	-
473	<i>BrMYB1R200</i>	Bra031545	46897.9	5.33	A09	-
474	<i>BrMYB1R201</i>	Bra033600	35757.3	4.3	A06	-
475	<i>BrMYB1R202</i>	Bra001951	39220	4.77	A03	+

MYB 유전자에 대하여 duplicate를 분석한 결과 max score는 160~1950이었으며, 평균 608이었다. Total scores는 160~1950이었으며, 평균 616이었다. Query coverage는 86~100%이었으며, 평균 97%이었다. 또한 identity는 92~99%이었으며, 평균 87%이었다(표 33).

표 33. *MYB* 유전자의 duplicate 분석

No.	Genes in duplicated segments		Chromosome no.	Max score	Total score	% Query covered	E-value	% identity
1	BrMYB1R66	BrMYB1R71	A04/A05	160	160	100%	6e-57	92%
2	BrMYB1R51	BrMYB1R32	A03/A02	135	135	100%	8e-48	86%
3	BrMYB1R51	BrMYB1R150	A03/A09	132	132	97%	2e-46	85%
4	BrMYB1R32	BrMYB1R150	A02/A09	141	141	97%	8e-50	84%
5	BrMYB1R46	BrMYB1R173	A03/A10	499	499	98%	0.0	85%
6	BrMYB1R183	BrMYB1R40	A10/A03	455	455	86%	5e-166	85%

7	BrMYB1R12	BrMYB1R156	A01/A09	472	656	99%	6e-164	81%
8	BrMYB1R193	BrMYB1R195	A03/A01	459	459	100%	6e-169	88%
9	BrMYB1R193	BrMYB1R194	A03/A05	445	445	99%	2e-163	87%
10	BrMYB1R194	BrMYB1R195	A05/A01	447	447	99%	4e-164	86%
11	BrMYB1R9	BrMYB1R59	A01/A03	593	593	98%	0.0	85%
12	BrMYB1R102	BrMYB1R119	A06/A07	167	167	86%	6e-59	92%
13	BrMYB1R132	BrMYB1R30	A07/A02	152	152	89%	1e-53	91%
14	BrMYB1R3	BrMYB1R139	A01/A08	140	140	86%	1e-49	96%
15	BrMYB1R22	BrMYB20	A02/A02	1743	1743	94%	0.0	84%
16	BrMYB1R22	BrMYB1R88	A02/A05	1701	1701	94%	0.0	83%
17	BrMYB20	BrMYB1R88	A02/A05	1950	1950	100%	0.0	94%
18	BrMYB1R18	BrMYB1R181	A02/A10	516	516	90%	0.0	82%
19	BrMYB1R133	BrMYB1R121	A07/A07	624	624	100%	0.0	88%
20	BrMYB1R133	BrMYB1R31	A07/A02	658	658	99%	0.0	90%
21	BrMYB1R121	BrMYB1R31	A07/A02	616	616	99%	0.0	85%
22	BrMYB1R17	BrMYB1R91	A01/A05	684	684	100%	0.0	86%
23	BrMYB1R13	BrMYB1R55	A01/A03	515	515	100%	0.0	87%
24	BrMYB1R26	BrMYB1R127	A02/A07	526	541	99%	0.0	84%
25	BrMYB1R127	BrMYB1R125	A07/A07	526	542	97%	0.0	84%
26	BrMYB1R111	BrMYB1R135	A06/A08	517	517	100%	0.0	91%
27	BrMYB1R137	BrMYB1R6	A08/A01	299	299	93%	3e-106	84%
28	BrMYB1R79	BrMYB1R160	A05/A09	570	570	99%	0.0	84%
29	BrMYB1R20	BrMYB1R179	A02/A10	399	413	93%	2e-142	83%
30	BrMYB1R122	BrMYB1R123	A07/A07	1228	1228	100%	0.0	99%
31	BrMYB1R36	BrMYB1R109	A02/A06	694	694	100%	0.0	84%
32	BrMYB1R103	BrMYB1R143	A06/A08	1028	1065	97%	0.0	83%
33	BrMYB1R191	BrMYB1R58	Scaffold00 0219/A03	875	875	100%	0.0	89%

BrMYB 유전자 중에서 51개를 선발하여 realtime PCR을 위해 표 34과 같이 프라이머를 디자인하였다. 일단 15개의 *R2R3-BrMYB* 유전자들 중 *BrMYB2*, 13, 77, 81, 88, 121, 166, 169, 217 유전자들이 저온에 대하여 지부에서 발현량이 증가하였다(그림 58). 특히 *BrMYB13*은 1h과 4h에서 매우 높은 발현양을 보였다. 반면에 저온 처리한 권심 샘플에서는 *BrMYB2*와 *BrMYB53*을 제외한 대부분의 유전자들의 발현양이 감소하였다(그림 59).

BrMYB-related 유전자에서 지부의 저온 처리한 샘플에서 *BrMYB1R25*, 44, 70, 77, 171, 178 유전자들이 발현양이 증가하였다(그림 60). 특히 *BrMYB1R44*와 *BrMYB1R77*은 각각 >70, >200배 더 발현양이 증가하여 이는 *BrMYB-related* 유전자들이 *R2R3-BrMYB* 유전자들 보다 상당히 발현양이 많이 증가함을 확인할 수 있었다. 반면에 *BrMYB-related* 유전자들은 저온 처리한 권심 샘플에 대해서는 발현양이 감소하거나 변함이 없었다(그림 61).

BrMYB222 유전자는 염분 스트레스 하에서 >200배의 발현양이 증가하였으며, 또한 *BrMYB118*과 *BrMYB196* 유전자는 >80배의 발현양이 증가하였다. *BrMYB13*, 88도 염분 스트레스에

대하여 유의하게 발현양이 증가함을 확인하였다(그림 62).

건조 스트레스에 대해서는 *BrMYB118* 유전자는 90배 발현양이 증가하였으며, *BrMYB55*, 168, 224 역시 20배 이상 발현양이 증가하였다(그림 63).

본 연구에서 대량으로 발굴한 내한성 관련 유전자들에 대한 발현마커는 육종현장에서 이용하기에 실효성이 떨어지므로, 대량으로 발굴된 내한성 관련 유전자들에 대한 후속연구를 통하여 SNP, InDel마커 등을 개발하여 실효성 있는 마커를 개발할 예정이다.

표 34. Realtime PCR 분석을 위한 *BrMYB* 유전자의 프라이머

No.	Gene name	Left primer	Right primer	Tm (°C)	Product size
1	<i>BrMYB2</i>	TATGACGGTAACTTGGGAGAG	CTTAGACAAGTCGGGGGATC	58	218
2	<i>BrMYB7</i>	GTTGATTATATCCAGCAACA	TGTTCTTCCAGGCAAACGTG	58	225
3	<i>BrMYB10</i>	CTACCTGGAAGGACTGACAAC	CCTCAATACATCAGGATTAAG	58	210
4	<i>BrMYB11</i>	GGAGGTTAGCAAATCTGTTCC	TCCTCATCACAATGAGATTACC	58	272
5	<i>BrMYB13</i>	CGAGTGATGAAGTTTCTTCAGA	ACTCTTGCTTCATCTCATCAAG	58	222
6	<i>BrMYB19</i>	CCACAAATGTTACCGGATG	TAAGTGTATTCAGAAGTTGC	58	219
7	<i>BrMYB40</i>	GAAAGGTATCGATCCGTTGA	GAAAGAACTCGATGACTTTTC	58	292
8	<i>BrMYB53</i>	GAACACAAACCTCAAGAAGC	TGAATGTTTCAGTATCGCTTG	58	247
9	<i>BrMYB55</i>	GTATATGCCTCAAGCGCTGA	ATGGAAGAAGTTTGTCTCCTGA	58	222
10	<i>BrMYB58</i>	CGGACATAGCGAGACATTTA	TTGTTGGTAAGACGAGACAG	58	244
11	<i>BrMYB71</i>	ATTACACCGGTTCTGGTGAC	ATGTCGCTTCCGTAACCTCTC	58	220
12	<i>BrMYB77</i>	TAGTGAGAGTGTGTTTCATGTCA	CAGCGTCTCTCCTCAAACCA	58	269
13	<i>BrMYB81</i>	AAGATTACCAGGAAGAACAGAC	AGTCCAGATTAACCTCTTTCTC	58	270
14	<i>BrMYB83</i>	CGATTATTCTGGATTACTAG	TTGTCAGAAGTCGTTATTATTG	58	190
15	<i>BrMYB88</i>	ATGAGGTTTCTTCTGTGACAC	GTGTCTCATCATCAAAACCAGT	58	222
16	<i>BrMYB91</i>	TGTTTCTTTTGGGTCTCTGT	CATCATGATTCTTGTTGTGC	58	209
17	<i>BrMYB98</i>	TGCAATTCCTCTTCACATCA	ACGTCATGATGATAAACCGT	58	203
18	<i>BrMYB101</i>	TCCAATCACAACGGTGTGCTG	CTATACATAATGGCTCTTAG	58	265
19	<i>BrMYB116</i>	GTATGACCCAGTGGAGTCA	CACACGTTGTCTCCATCATC	58	270
20	<i>BrMYB118</i>	CATTGTCAACAGCAACAGTTC	AACTGGTCCCTGGAATAACCAA	58	221
21	<i>BrMYB121</i>	CTGCGGTGATGGCTAGTTCA	GCTGCTGCTGCTGCAGCCAT	58	213
22	<i>BrMYB137</i>	TTCAGAAAACATGGCGTTGC	TTGTACATGCTCGCATGGAA	58	220
23	<i>BrMYB147</i>	TTCAAACCTGCCGATGAACAAG	TGTAGCTCCTGGTGTATCATC	58	221
24	<i>BrMYB163</i>	GACACACCTAGAAGCAATCAC	AACAACATCAGGAAGGCTGA	58	220
25	<i>BrMYB166</i>	ACGAAGAAGGCTACTAAACCTA	GCAATATTGATGTCTCCCGAT	58	221
26	<i>BrMYB168</i>	TAGCTGGGAGATTACCAGGAA	GGTTTAACCGTCCGTTGTTG	58	220
27	<i>BrMYB169</i>	CCGTTTTAACCTCTGTTGAG	CTCTGAATCCACCAGAGAAC	58	240

28	<i>BrMYB185</i>	GTCCTTAGGGCCATCATCAG	CGTACACTAACTGAGCGGAGG	58	266
29	<i>BrMYB186</i>	AGAACGTTATCATGTCGGAACC	CAGGTCAAGTTGATCATCACTG	58	272
30	<i>BrMYB196</i>	CACACGGCTTATCATCATGA	CTAGAGCTTGCATAGTCGTT	58	209
31	<i>BrMYB200</i>	CCAGTCCAAGAATCATCATCAG	CTCAAGATTCAAATCTGGCAAC	58	222
32	<i>BrMYB207</i>	ATTTTCAGAGAACATCCCGTTG	AGAACCTTGTTTCATATGGAGAC	58	222
33	<i>BrMYB217</i>	ATCACAGCTCAAACAAAGGT	CCCTGATAGGCATTGAGTAG	58	221
34	<i>BrMYB222</i>	TCTCCTCCATTCTCAGCTCA	TGGTTTACTTCGGGTTGGTT	58	220
35	<i>BrMYB224</i>	CGAAAACAACAACACCGTCA	CGGTAACTCCTCGTAGTAGC	58	220
36	<i>BrMYB225</i>	GTCGATCTGGTAAATCGTGT	TCTAAACATTTCCGCTTGAG	58	214
37	<i>BrMYB232</i>	TCAACGAGCTCTTCCTTAC	CGGGCATCATTTCTACGTTG	58	268
38	<i>BrMYB237</i>	AATGATGAACAACCTCGTCTCAG	GAAAGGTTGCAATCCATCGAT	58	221
39	<i>BrMYB241</i>	TTCCTCATCTTCAAACCTGCT	GAGGAAGAGGAGGGAAATTA	58	209
40	<i>BrMYB1R21</i>	ACAAGGAACTGAAGAAGCAA	GGACTCCCTTTTCTGACTCT	58	246
41	<i>BrMYB1R25</i>	GTCCGGTCTTAGAGGAGTTT	CACTTTCGCCTTCTTACCTA	58	200
42	<i>BrMYB1R44</i>	GTAATAGACCCACAAGAAGAAC	AATCCTCTTGAGTTTGAFTCAG	58	272
43	<i>BrMYB1R54</i>	CTGATGGAGCCTTTCATGATC	AATGGACATTCCTCCAGAGAG	58	221
44	<i>BrMYB1R70</i>	ACTCCTTCGAGTAGTGACGA	AACTTTGTGGCAACACTTCT	58	247
45	<i>BrMYB1R77</i>	TGAGAAATCCATTGAGATCC	AACTCATGCACCTGGTAATC	58	234
46	<i>BrMYB1R80</i>	GCAGATGAAGACACAGCATG	CCGTCCCTTTCTGATTACAG	58	270
47	<i>BrMYB1R86</i>	GGTGCTTCAAGCTGTTCC	ATCTCGGTGTTACCTCATC	58	219
48	<i>BrMYB1R92</i>	CCACCACAAGAAGCTTTCAG	CTTCTTCGTATGGAATGCTCAG	58	221
49	<i>BrMYB1R148</i>	GGAAAACAATTAGCGACAC	GCAGACCTTTTCATCATTGT	58	219
50	<i>BrMYB1R171</i>	AAGACAGAGATTGCCTCAGA	CTTAAACCCTGACTGTCTCG	58	208
51	<i>BrMYB1R178</i>	TGCAACTACTGAAAATGCAC	CGAGAGTTTCTTGGTAATG	58	208
-	<i>Br-Actin</i>	ATGGTTGGGATGGGTCAAAAA	TCTTTAATGTCACGGACGATT	-	-

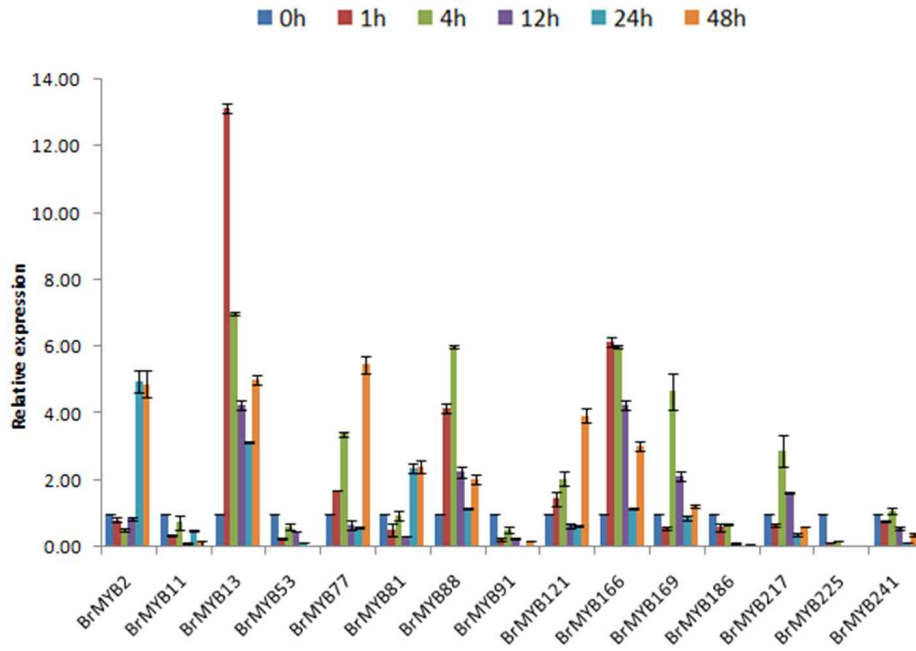


그림 58. *R2R3-BrMYB* 유전자에 대한 저온 처리한 지부 샘플의 realtime PCR

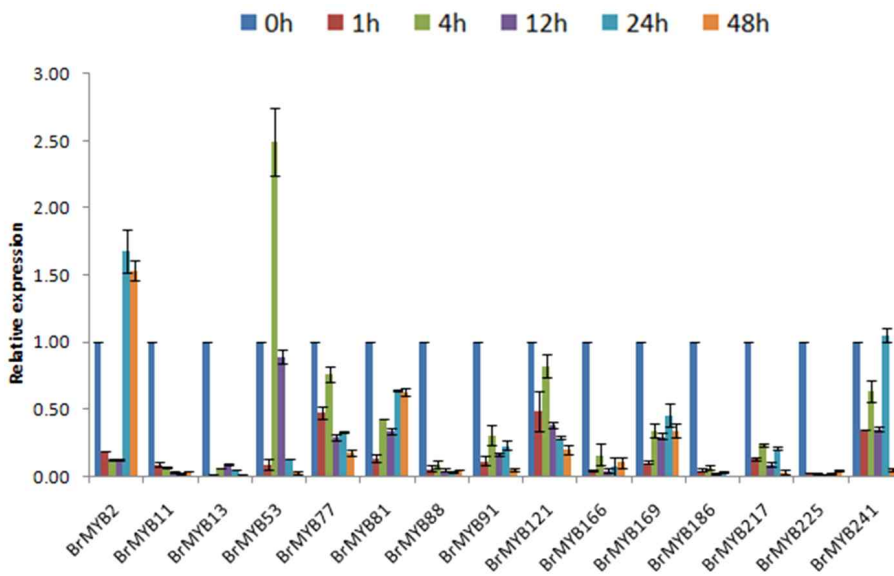


그림 59. *R2R3-BrMYB* 유전자에 대한 저온 처리한 권심 샘플의 realtime PCR

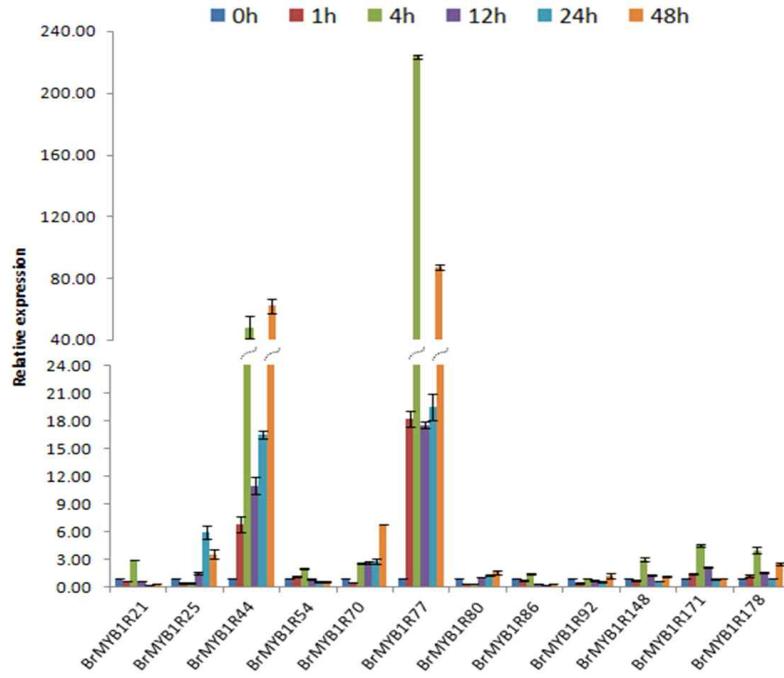


그림 60. *BrMYB-related* 유전자에 대한 저온 처리한 지부 샘플의 realtime PCR

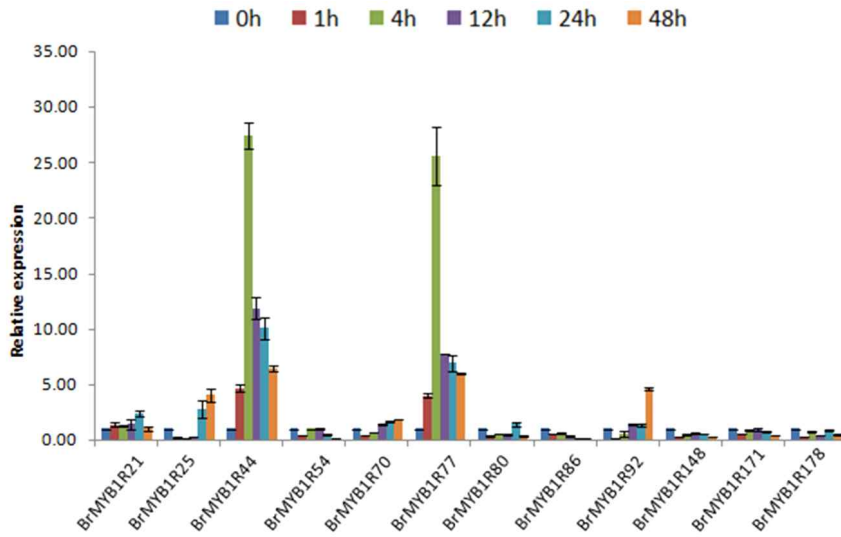


그림 61. *BrMYB-related* 유전자에 대한 저온 처리한 권심 샘플의 realtime PCR

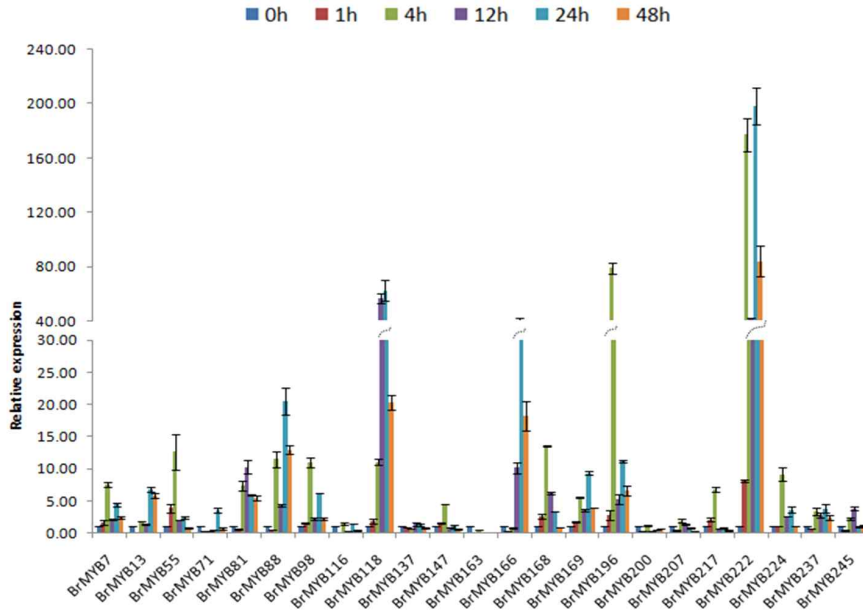


그림 62. 염분 스트레스에 대한 BrMYB 유전자의 realtime PCR

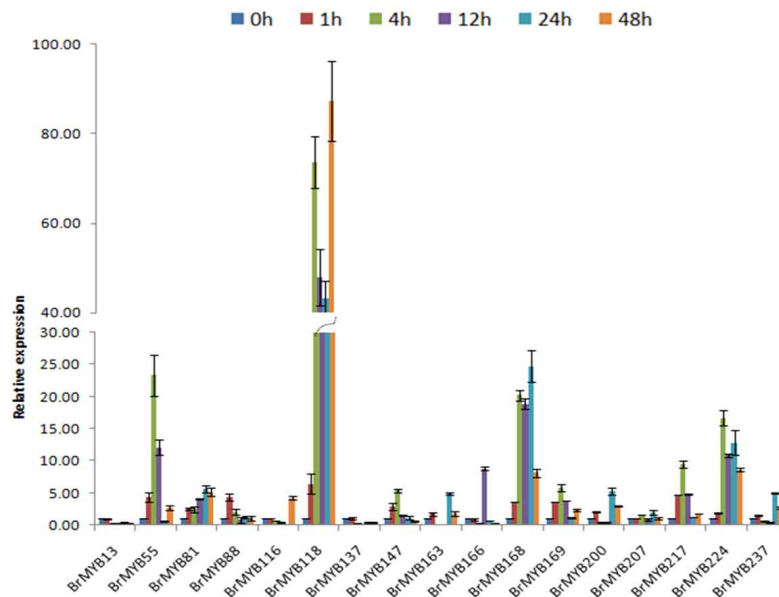


그림 63. 건조 스트레스에 대한 BrMYB 유전자의 realtime PCR

5. 색소관련 유전자의 분석

가. *Brassica rapa* Anthocyanidin synthase (ANS) gene

배추과 작물 데이터베이스(<http://brassicadb.org/brad/index.php>)로부터 색소 관련 유전자들을 검색하였다. 그 결과 4개의 Anthocyanidin synthase (ANS) 유전자 BrANS 1, BrANS 2, BrANS 3, BrANS 4를 동정하였다. 이들 4개의 유전자들은 배추 염색체 1번, 3번, 4번에 위치하고 있었으며, ORF 길이는 1,062~1,077bp로 크기가 거의 비슷하였다. 단백질의 분자량도 39~40 KD로 비슷하였으며 등전점 값도 5~7 사이로 배추의 ANS 유전자 간에 큰 차이가 없었다(표 35).

표 35. 배추과 작물 데이터베이스로부터 검색한 Anthocyanidin synthase (ANS) gene에 대한 정보

Name	Accession Number	ORF (bp)	Chromosome number	Protein		
				Length (aa)	Mol. Wt. (KD)	pI
BrANS1	Bra019350	1,074	A03	357	40.77	5.13
BrANS2	Bra017132	1,065	A04	354	39.83	6.21
BrANS3	Bra013652	1,077	A01	358	40.87	5.24
BrANS4	Bra000045	1,062	A03	353	39.79	6.21

BrANS 1, BrANS 2, BrANS 3, BrANS 4 유전자에 대한 상동성을 NCBI BLAST(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 통해 분석한 결과 BrANS 1은 *B. juncea*와 *A. thaliana*의 Anthocyanidin synthase 유전자와 90%가 넘는 상동성을 보였으며, BrANS 2는 *A. thaliana*의 Putative Anthocyanidin synthase 유전자와 84%의 상동성, BrANS 3은 *B. juncea*와 *A. thaliana*의 Anthocyanidin synthase 유전자와 90%가 넘는 상동성, BrANS 4는 *A. thaliana*의 Putative Anthocyanidin synthase 유전자와 83%의 상동성을 나타내었다(표 36).

표 36. 배추의 4 ANS 유전자에 대한 상동성 분석

Protein	Top matched clones	Top matched protein	Identity (%)	E-value	Top homologous species	Function	References
BrANS1	ACH58397	Anthocyanidin synthase	93	0.0	<i>Brassica juncea</i>	Proanthocyanidins biosynthesis and seed coat color formation	Yan et al. (2011)
	AEI99590	Anthocyanidin synthase	92	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Anthocyanin accumulation in developing seedlings	Appelhagen et al. (2011)
BrANS2	AAM63604	Putative Anthocyanidin synthase	84	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>	-	Alexandrov et al. (2006)
BrANS3	ACH58397	Anthocyanidin synthase	99	0.0	<i>Brassica juncea</i>	Proanthocyanidins biosynthesis and seed coat color formation	Yan et al. (2011)
	AEI99590	Anthocyanidin synthase	92	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Anthocyanin accumulation in developing seedlings	Appelhagen et al. (2011)
BrANS4	AAM63604	Putative Anthocyanidin synthase	83	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>	-	Alexandrov et al. (2006)

BrANS 1, BrANS 2, BrANS 3, BrANS 4 유전자들의 발현을 알아보기 위한 실험재료는 엽색이 강한 빨간색인 빨강배추(권농), 중간 정도의 빨간색인 8053(아시아종묘), 엽색이 녹색인 서울배추 및 아시아종묘의 적색 배추 육종에 사용되고 있는 모계와 부계 및 그 자식 품종을 사용하였

다. 그림 64의 3번은 1번을 모계로, 2번을 부계로 하여 나온 F1이며, 5번은 1번을 모계로, 4번을 부계로 하여 나온 F1이다. 6번은 진홍쌈으로 F1이며, 7번과 8번은 계통분리 시키고 있는 도중에 나온 녹색과 빨간색이며, 9번과 10번은 각각 7번과 8번의 엽맥 부분이다.

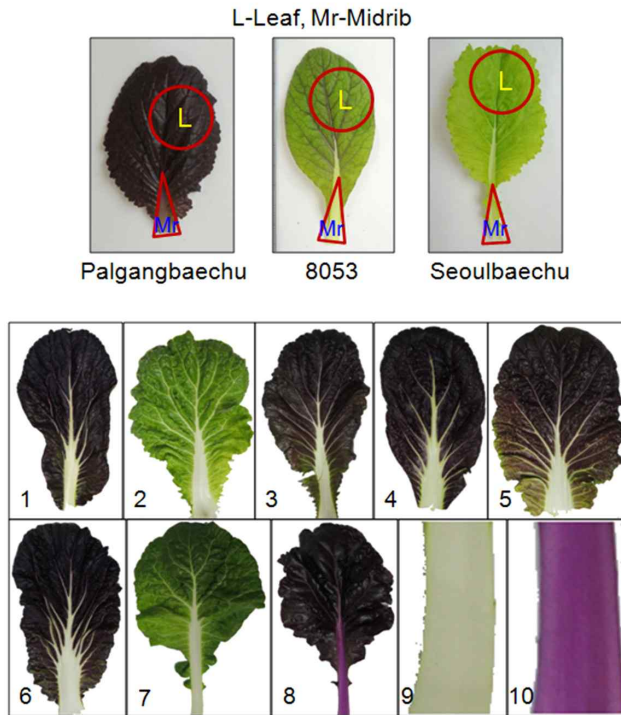


그림 64. 샘플링한 빨강배추 및 녹색배추 식물재료

배추의 ANS 유전자와 다른 식물 종의 ANS 유전자를 가지고 계통수를 그려본 결과, 크게 2가지 그룹으로 묶을 수 있었으며, 이는 또 다시 3가지 그룹으로 나눌 수 있었다. 그 중 2가지의 그룹에 BrANS 유전자들이 속해있었다. BrANS1과 3을 같은 그룹으로 묶을 수 있었으며, 나머지 BrANS2와 4를 같은 그룹으로 묶을 수 있었다(그림 65).

BrANS1과 3이 속해 있는 그룹에는 배추(Acc. no. ABY89681, *Brassica rapa* ssp. *olifera*), 갓(Acc. no. ADB45308, *Brassica juncea*), 양배추(Acc. no. AAO73440, *Brassica oleracea*), 비단향꽃무(Acc. no. AAB82287, *Matthiola incana*), 애기장대(NP194019, AEI99590, *Arabidopsis thaliana*), 서양배(Acc. no. ABB70119, *Pyrus communis*), 사과(Acc. no. BAB92998, *Malus domestica*), 복숭아나무(Acc. no. ABX89941, *Prunus persica*), 콩(Acc. no. AAR26526, *Glycine max*), 알팔파(Acc. no. *Medicago truncatula*) 등의 ANS 유전자들이 속하였으며, BrANS2와 4가 속해 있는 그룹에는 애기장대(Acc. no. AAM63604, *Arabidopsis thaliana*), 알팔파(Acc. no. *Medicago truncatula*)가 포함되었다. 나머지 한 그룹에는 안개꽃(Acc. no. AAP13054, *Gypsophila elegans*), 버베나(Acc. no. BAE72879, *Verberna* × *hybrida*), 꽃도라지(Acc. no. BAD34462, *Eustoma grandiflorum*), 오렌지(Acc. no. AAT02642, *Citrus sinensis*), 포도(Acc. no. ABM67590, *Vitis vinifera*), 목화(Acc. no. ABM64801, *Gossypium hirsutum*), 카카오(Acc. no. ADD51356, *Theobroma cacao*) 등의 ANS 유전자들이 속하였다.

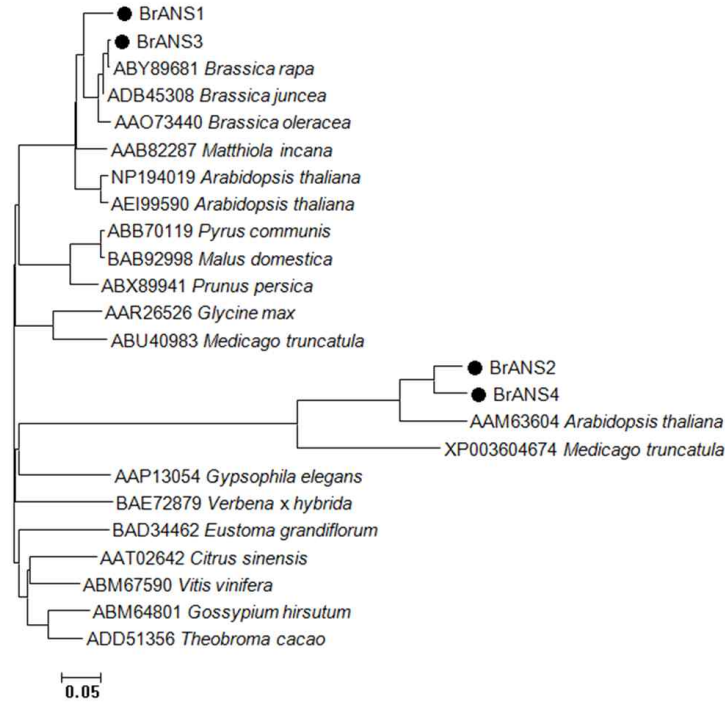


그림 65. 배추 ANS 유전자에 대한 계통수

BrANS1과 3을 포함하는 그룹에 대한 단백질 염기서열을 분석한 결과 3개의 시스테인 부분이 보존되어 있었으며, 같은 그룹 내의 유전자들과 상당히 유사한 염기서열을 가지고 있음을 확인하였다(그림 66). 또한 BrANS2와 4를 포함하는 그룹 역시 3개의 시스테인 부분이 보존되어 있었으며, 같은 그룹 내의 유전자들과 상당히 유사한 염기서열을 가지고 있었다(그림 67).

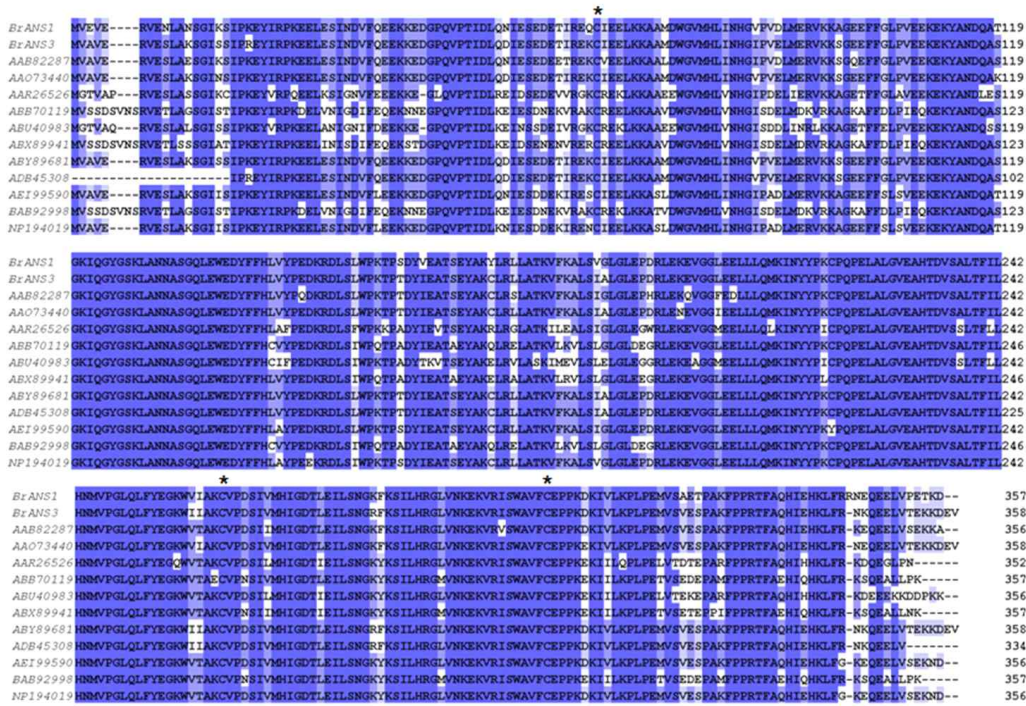


그림 66. BrANS1과 BrANS3을 포함하는 그룹에 대한 단백질 염기서열 분석

```

BrANS2  MVAS-NPEPIVSQALSQAGISTVFSRYVKEAQRPFVVVNSDQSG-----LDMEVPLVLDMSDIWR---KPEGLRVRNACEEWGFFQV79
BrANS4  MVAS-NPEPIVSQALSQAGVSTVFNRYVKEAQRPFVYKSDQSG-----LDMEIPLVLDMSDMWR---NPEGLKRVRKACEEWGFFQV78
AAM63604 MATC-NPEPIVSQSLSQTVFVFNRYVKEAQRPFVFTTQSD-----AGIEIPLVLDMSDVMRG---KPEGLRVRNACEEWGFFQV78
XF003604674 MASEGNPEPIVIRVQALAESGISISIQHFIRKPKSRQFTKNSFTSQTFHVHVDENRKNINIPVILQHLIGEDEKLERETLKRVSEACREWGFFQV96
BrANS2  VNHGVDHMLMESVRGAWREFFDLFEVVKRKYANSFDIYEGYGSRIQVVKDAKLWSDYFFLNLPSSIRNPSKNVSPQPKIRELIEEYGEVVKLC175
BrANS4  VNHGVDHMLMERVGRGAWREFFDLFEVVKRKYANSFDIYEGYGSRIQVVKDAKLWSDYFFLNLPSSIRNPSKNVSPQPKIRELIEEYGEVVKLC174
AAM63604 VNHGVDHMLMERVGRGAWREFFELELEKRYANSFDIYEGYGSRIQVVKDAKLWSDYFFLNLPSSIRNPSKNVSPQPKIRELIEEYGEVVKLC174
XF003604674 LNHGVDHMLKRAREVNRFELELEVKEEYANSFTIYEGYGSRIQVVKDAKLWSDYFFLNLPSSIRNPSKNVSPQPKIRELIEEYGEVVKLC192
BrANS2  ERLVETLSESLGLEFNHLMKAFQGEDKVGANLRANFYFKCQPQHLTLGLSSHSDPGGITIVLPDEKVAGLQVRRGDCWVTIKSVFNALIVNIGDQV271
BrANS4  ERLVETLSESLGLEFNHLMKAFQGEDKVGASLRANFYFKCQPQHLTLGLSSHSDPGGITIVLSDENVAGLQVRRGDCWVTIKSVFNALIVNIGDQV270
AAM63604 ERLVETLSESLGLEFNHLMKAFQGEDKVGASLRANFYFKCQPQHLTLGLSSHSDPGGITIVLSDENVAGLQVRRGDCWVTIKSVFNALIVNIGDQV270
XF003604674 QHVLLELSINLGNDDFFLNAFQGEDLGGCLRVHFYFKCQPQHLTLGLSSHSDPGGLTILLFDQYVSLQVRRGDCWVTIKSVFNALIVNIGDQV288
BrANS2  QILSNGIYKSVHQVIVNSGMDRVSIALFYNPRSDIFIGFVKELLTEDQPALYKPIRFDEYRLLIRQKGSQKNQVDSLLAST 354
BrANS4  QILSNGIYKSVHQVIVNSGMDRVSIALFYNPRSDIFIGFVELELDNRPALYKPIRFDEYRLLIRQKGSQKNQVDSLLAST 353
AAM63604 QILSNGIYKSVHQVIVNSGMDRVSIALFYNPRSDIFIGFIEELVEANRPAKYPIRFDEYRLLIRQKGSQKNQVDSLLAST 353
XF003604674 QVLSNATYKSIHRVIVNSNDRVSLAFFYNPRSDLLIQFAKELITKDRPALYPEMTFDEYRLLIRQKGSQKNQVDSLLAST 371

```

그림 67. BrANS2와 BrANS4를 포함하는 그룹에 대한 단백질 염기서열 분석

BrANS 유전자를 가지고 식물기관(뿌리, 줄기, 잎, 꽃봉오리)에 대한 발현 여부 및 발현 양상을 알아보기 위해 RT-PCR을 수행한 결과 BrANS1은 식물기관 전체에서 미미한 발현을 보였으며 잎에서 조금 더 많은 발현을 보였다. BrANS2는 전체적으로 식물기관에 대하여 발현양이 적었으며, 특히 잎에서는 발현을 거의 하지 않았다. BrANS3은 뿌리, 줄기, 잎, 꽃봉오리 모두에서 발현되었으며, 발현양도 많았다. BrANS4는 뿌리에서는 약간 발현하였고 꽃봉오리에서는 많이 발현하였다(그림 68).

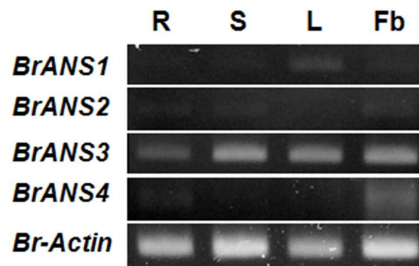


그림 68. 식물 기관에 대한 BrANS 유전자의 RT-PCR 결과
(R: root, S: stem, L: leaf, Fb: flower bud)

BrANS1 유전자는 빨강배추(P.beachu)의 잎과 엽맥에서는 많이 발현하였지만 8053과 서울배추(Seoulbaechu)의 잎과 엽맥에서는 발현양이 적었고, F1인 3번(red color)과 5번(red color)에서 발현하였으며, 계통분리 시키고 있는 7번(green color)와 8번(red color)에서 발현하였는데, 특히 8번(red color)에서 월등하게 발현양이 많았다. BrANS3 유전자는 빨강배추(P.beachu)의 잎과 엽맥에서 BrANS1과 비슷하게 많이 발현하였고, 8053에서는 빨간색인 잎에서 발현양이 많았지만 녹색인 엽맥에서는 발현양이 적었다. 이와 비슷하게 녹색인 서울배추에서는 잎과 엽맥 모두 발현양이 적었으며, 배추 중에서는 거의 다 발현이 잘되었지만, 잎색이 녹색인 2번(green color)과 7번(green color)에서 발현양이 조금 적었으며 엽맥인 9번(green color)과 10번(red color)도 발현양이 조금 적었다. 그 외에 BrANS2와 4의 경우 유전자의 발현이 전체적으로 낮아 의미가 없었다(그림 69).

따라서 적색에 발현하는 유전자로는 BrANS1과 3이 있었으며, BrANS1은 빨간색의 정도가

강했을 때와 빨간배추가 F1인 경우에 특별하게 발현하는 것을 볼 수 있었다. BrANS3은 빨간색의 정도가 강하거나 조금이라도 빨간색인 경우에 발현양이 많았으며, 초록색인 경우에는 발현양이 적었다.

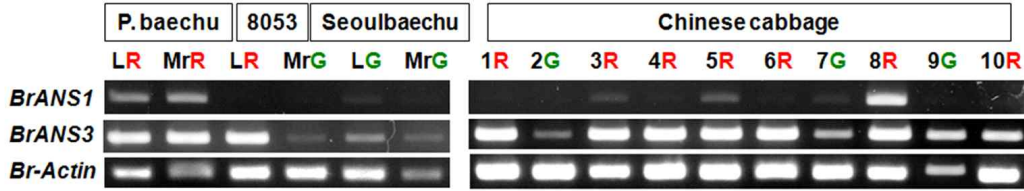


그림 69. 적색 및 녹색배추에 대한 BrANS 유전자의 발현 양상(G: green color, R: red color)

빨간색의 정도가 강한 빨강배추, 빨간색의 정도가 중간인 8053, 녹색인 서울배추를 저온(4°C)에 0, 8, 24, 72h 조건에서 처리하여 BrANS 유전자의 발현을 살펴본 결과 BrANS1 유전자는 빨강배추에서만 모든 시간 때에 발현하였으며, BrANS3은 빨강배추와 8053에서만 모든 시간 때에 발현하였다. BrANS2와 BrANS4는 발현양이 극히 적었다(그림 70).

이와 같은 결과 BrANS1 유전자는 빨간색이 강한 경우에 발현하는 유전자이었으며, BrANS3 유전자는 조금이라도 빨간색이 있는 경우에 발현하는 유전자로 이 두 유전자는 빨간색 색소와 연관이 있는 유전자로 보여지며, 이는 적색 월동배추를 육성하는 데 중요한 역할을 하는 유전자가 될 것이라 판단된다.

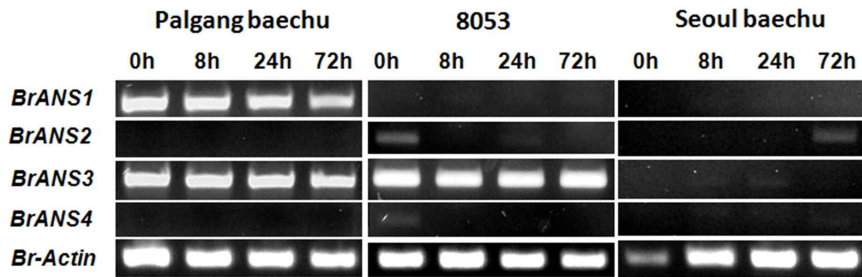


그림 70. 저온(4°C) 스트레스 처리 후의 3가지 배추(빨강배추, 8053, 서울배추)에 대한 RT-PCR 결과

2차년도에 수행하였던 플라보노이드 색소 관련 유전자인 ANS1, 2, 3, 4 유전자, BrMYB2-2 및 BrTT8 유전자들을 이용하여 STRING 분석을 수행하였다. 그 결과 BrANS1과 3의 단백질이 LDOX 단백질과 매우 상동성이 높았으며, BrANS2와 4의 단백질은 2OG-Fe(II) oxygenase family 단백질(AT2G38240)과 매우 높은 상동성을 나타내었다(표 37). 또한 배추와 애기장대 간의 유전자 상호작용을 알아 본 결과 BrMYB2-2와 BrTT8은 안토시아닌 생합성에 매우 중요한 역할을 하고 있음을 확인할 수 있었다(그림 71).

색소 관련 유전자들 중 BrANS4는 화기관에서만 발현하고 있어 BrANS4를 제외한 유전자들에 대하여 발현실험을 수행하였다. 잎과 중륵 모두 빨간색인 '빨강배추', 잎만 빨간색인 '8053', 잎과 중륵 모두 초록색인 '서울배추'를 재료로 하여 저온 처리한 샘플에 대하여 색소관련 유전자를 가지고 real-time PCR을 수행하였다. 그 결과 BrANS1에서는 저온 처리하에서 빨강배추에서

발현양이 가장 높았으며, 8053에서 상대적으로 발현양이 적었다. BrANS2에서는 저온처리 72 시간 후에 빨강배추와 서울배추에서 발현양이 높았으며, 8053에서는 발현양이 전체적으로 낮았다. 또한 BrANS3과 BrMYB2-2는 8h처리된 빨강배추에서 발현양이 가장 높았다. BrTT8은 다른 유전자들과는 달리 서울배추에서 월등하게 발현양이 높았다(그림 72).

또한 저온에 강한 계통인 지부와 저온에 약한 계통인 권심을 이용하여 저온 처리하여 microarray 데이터를 기초로 색소관련 유전자들의 발현양을 비교해 본 결과 BrANS1은 지부 및 권심에서 저온처리하에 발현양이 서서히 적어졌고, BrANS2과 3은 지부에서 -4℃ 처리했을 때 발현양이 매우 높았다. BrMYB2-2는 전체적으로 권심보다 지부에서 발현양이 높았으며 저온을 처리하지 않은 지부에서의 발현양이 가장 높았다. BrTT8은 지부 및 권심에서 저온 처리하에서 별다른 차이를 보이지 않았다(그림 73).

색소 관련 유전자들 중 BrANS1, 2, 3, BrMYB2-2는 적색 색소에 관련된 유전자임을 확인할 수 있었으나 BrTT8은 녹색 색소에서만 반응이 일어났다. 반면에 저온에 색소 관련 유전자들의 발현 결과는 BrANS2와 3을 제외한 다른 유전자들에서는 특이점을 찾을 수 없었다.

표 37. 배추 색소 관련 유전자의 STRING 분석

Query sequence	STRING protein		Identity	Bit score
BrANS1 and 3	LDOX	LDOX (leucoanthocyanidin dioxygenase); encodes leucoanthocyanidin dioxygenase, which is involved in proanthocyanin biosynthesis. Oxidation of leucoanthocyanidins into anthocyanidins	92%	669
BrANS2 and 4	AT2G38240	2OG-Fe(II) oxygenase family protein; oxidoreductase, involved in: response to salt stress	84%	622
BrMYB2-2	MYB2	MYB2 (myb domain protein 2); DNA binding / calmodulin binding / transcription activator/ transcription factor; Encodes a MYB transcription factor that possesses an R2R3 MYB DNA binding domain and is known to regulate the expression of salt- and dehydration-responsive genes.	86%	495
BrTT8	TT8	TT8 (transparent testa 8); DNA binding / transcription factor; TT8 is a regulation factor that acts in a concerted action with TT1, PAP1 and TTG1 on the regulation of flavonoid pathways, namely proanthocyanidin and anthocyanin biosynthesis. Affects dihydroflavonol 4-reductase gene expression. It is thought that a ternary complex composed of TT2, TT8 and TTG1 is necessary for correct expression of BAN in seed endothelium. Also important for important for marginal trichome development. ; Transcription activator, when associated with MYB75/PAP1 or MYB90/PAP2.	73%	740

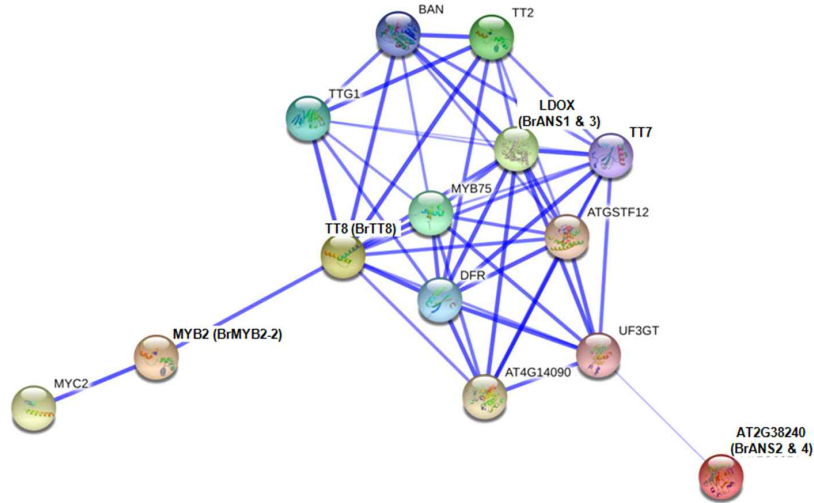


그림 71. 배추 및 애기장대 ANS 유전자 중심으로 색소 관련 유전자의 상호작용

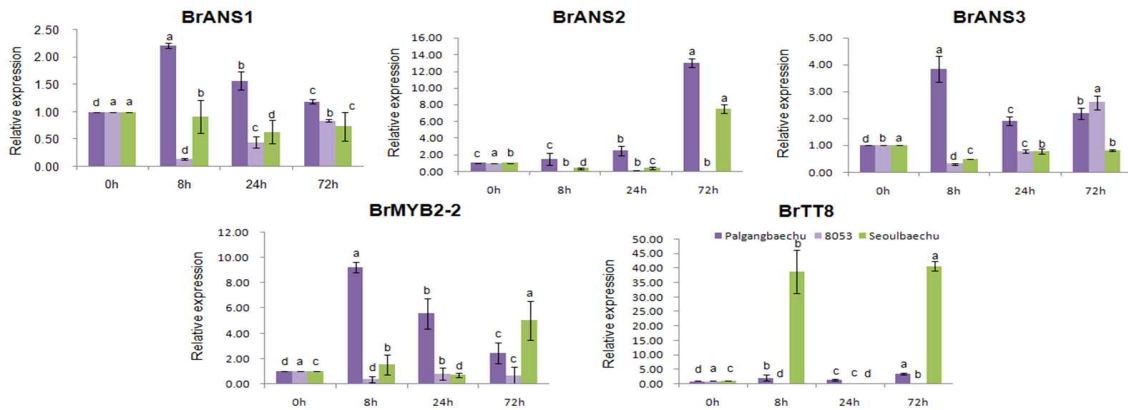


그림 72. 빨강배추, 8053, 서울배추의 저온처리에 대한 색소 관련 유전자의 realtime PCR

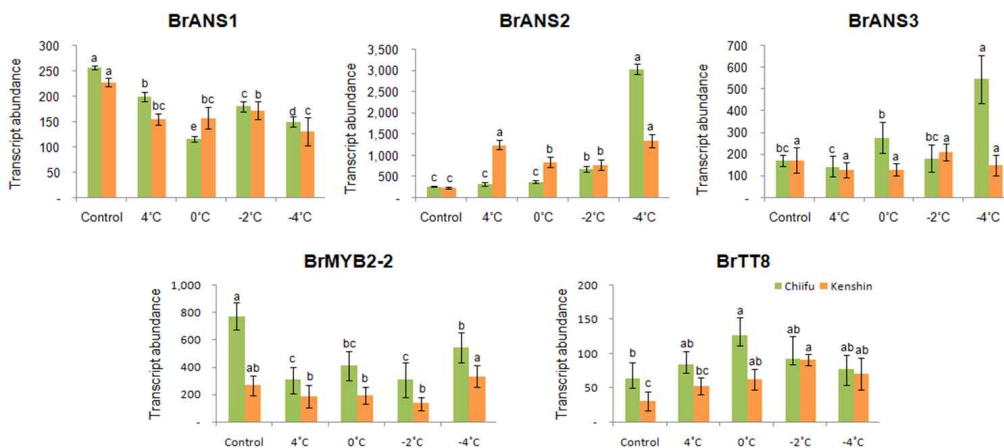


그림 73. 지부 및 권심의 저온처리에 대한 색소 관련 유전자의 microarray 발현

나. *Brassica rapa* Dihydroflavonol 4-reductase (DFR) gene

배추 데이터베이스로부터 검색한 Dihydroflavonol 4-reductase (DFR) 유전자의 ORF 길이는 255~1,092bp 사이였고, 2번과 3, 6, 8, 9번 염색체에 존재하였다. 단백질은 84~363aa 사이였고 분자량은 9.60~40.45KD이었으며, 등전점 값은 5.20~8.65이었다(표 38).

표 38. 배추과 작물 데이터베이스로부터 검색한 Dihydroflavonol 4-reductase (DFR) 유전자에 대한 정보

Name	Accession Number	ORF (bp)	Chromosome number	Protein		
				Length (aa)	Mol. Wt. (KD)	pI
BrDFR1	Bra038342	978	A02	325	35.52	5.41
BrDFR2	Bra031666	951	A09	316	34.76	5.66
BrDFR3	Bra026600	966	A02	321	35.42	5.49
BrDFR4	Bra024747	711	A09	236	26.32	8.65
BrDFR5	Bra024746	255	A09	84	9.60	5.26
BrDFR6	Bra024744	1,092	A09	363	40.45	5.45
BrDFR7	Bra023231	978	A09	325	35.86	5.20
BrDFR8	Bra020021	969	A06	322	35.91	5.36
BrDFR9	Bra020020	969	A06	322	35.42	5.90
BrDFR10	Bra020019	981	A06	326	36.15	5.21
BrDFR11	Bra019062	1,065	A03	354	39.65	6.09
BrDFR12	Bra010535	933	A08	310	34.86	6.20

RF 유전자에 대한 기관(뿌리, 줄기, 잎, 꽃봉오리) 특이성을 알아보기 위해 RT-PCR을 수행하였다. BrDFR2는 뿌리와 잎에서만 발현하였고, BrDFR3는 뿌리를 제외한 줄기, 잎, 꽃봉오리에서 발현하였다. BrDFR5는 뿌리와 줄기에서는 약하게 발현하였고, 잎과 꽃봉오리에서는 강하게 발현하였다. BrDFR6은 BrDFR5와 비슷하게 잎과 꽃봉오리에서 강하게 발현하였다. BrDFR7은 꽃봉오리에서만 발현하였다. BrDFR8은 뿌리와 꽃봉오리에서만 발현하였고, BrDFR9는 잎에서 발현양이 가장 많았으며, 나머지 뿌리, 줄기, 꽃봉오리에서도 약하게 발현하였다. BrDFR10은 뿌리와 잎에서 발현양이 많았으며 줄기와 꽃봉오리에서도 발현되었다. BrDFR11과 12는 BrDFR7과 같이 꽃봉오리에서만 특이적으로 발현하는 것을 볼 수 있었다(그림 74).

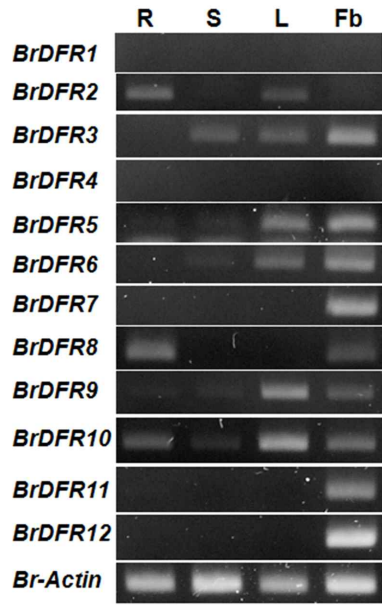


그림 74. 식물 기관에 대한 BrDFR 유전자의 RT-PCR 결과
(R: root, S: stem, L: leaf, Fb: flower bud)

DRF 유전자의 발현을 알아보기 위한 실험재료로 엷색이 강한 빨간색인 빨간배추, 중간 정도의 빨간색인 8053, 엷색이 녹색인 서울배추와 적색 배추 육종에 사용되는 모계와 부계 및 그 자식을 사용하였다. BrDFR 유전자 중 BrDRF2는 잎의 샘플에서만 발현하였고, 엷맥 중에는 빨간색이 강한 chinese cabbage의 10R과 P. baechu의 MrR에서만 발현하였고 녹색인 엷맥에서는 발현을 하지 않았다. BrDFR6은 특히 빨간색이 강한 P. baechu에서 발현양이 많은 것을 볼 수 있었다. BrDFR9는 chinese cabbage의 빨간색이 있는 특정 샘플에서만 발현하였고, BrDFR10은 잎과 엷맥에서 전체적으로 발현하였는데 특히 잎과 엷맥이 모두 빨간색인 P. baechu에서 발현양이 많았으며, 빨간색의 정도가 P.baechu 보다 약한 8053이나 완전히 녹색인 Seoulbaechu에서 잎은 모두 강하게 발현하였으나 엷맥에서는 발현양이 적었다(그림 75). 이와 같은 결과 BrDFR2, 6, 9, 10 유전자는 적색 색소와 연관된 유전자라 보여진다. 특히 BrDFR2는 엷맥 색소관련 유전자로 판단된다.

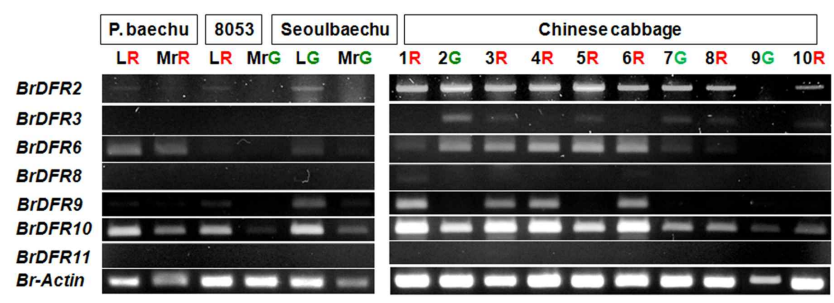


그림 75. 적색 및 녹색배추에 대한 BrDFR 유전자의 발현 양상(G: green color, R: red color)

전 년도에 배추에서 동정한 안토시아닌 색소 생합성 경로에 중요한 역할을 하는 DRF 유전자에 대하여 다양한 종에서의 염기 상동성을 분석하였다. 상동성이 있는 유전자가 검색된

종들로 *Vitis vinifera*, *Medicago truncatula*, *Arabidopsis thaliana*, *Cicer arietinum*, *A. lyrata* subsp. *lyrata*가 있었으며, 각기 배추 DFR 유전자에 대하여 상동성이 56~87%이었다. 검색된 유전자들로는 Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase, Dihydroflavonol 4-reductase, Dihydroflavonol 4-reductase putative, Dihydroflavonol4-reductase-like가 있었다(표 39).

표 39. 배추 12개의 DRF 유전자에 대한 상동성 분석

Protein	Top matched clones	Top matched protein	Identity (%)	E-value	Top homologous species
<i>BrDFR1</i>	XP003633516	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	61	5e-134	<i>Vitis vinifera</i>
<i>BrDFR2</i>	XP003633516	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	62	4e-136	<i>V. vinifera</i>
<i>BrDFR3</i>	XP002269382	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	72	1e-170	<i>V. vinifera</i>
	XP003594438	Dihydroflavonol 4-reductase	61	1e-145	<i>Medicago truncatula</i>
<i>BrDFR4</i>	XP003614640	Dihydroflavonol 4-reductase	56	3e-81	<i>M. truncatula</i>
	XP003614640	Dihydroflavonol 4-reductase	69	3e-37	<i>M. truncatula</i>
<i>BrDFR5</i>	XP003631221	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	70	2e-35	<i>V. vinifera</i>
<i>BrDFR6</i>	AAG50819	Dihydroflavonol 4-reductase putative	83	0.0	<i>Arabidopsis thaliana</i>
<i>BrDFR7</i>	XP002285368	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	77	0.0	<i>V. vinifera</i>
	XP003598002	Dihydroflavonol 4-reductase	75	0.0	<i>M. truncatula</i>
<i>BrDFR8</i>	XP003633516	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	59	1e-132	<i>V. vinifera</i>
<i>BrDFR9</i>	XP003633516	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	59	3e-127	<i>V. vinifera</i>
<i>BrDFR10</i>	XP003633516	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	59	6e-124	<i>V. vinifera</i>
<i>BrDFR11</i>	XP002282842	Dihydroflavonol4-reductase-like	60	2e-144	<i>V. vinifera</i>
	XP004505424	Dihydroflavonol/flavanone 4-reductase	59	4e-136	<i>Cicer arietinum</i>
<i>BrDFR12</i>	NP195268	Dihydroflavonol4-reductase-like	87	0.0	<i>A. thaliana</i>
	XP002867074	Dihydroflavonol4-reductase	87	0.0	<i>A. lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>

DRF 유전자에 대한 구조 분석을 수행한 결과 *BrDFR6*, 7, 11, 12 유전자들은 6개의 엑손과 5개의 인트론으로 구성되어 있었으며, *BrDFR1*, 2, 4, 8, 9, 10 유전자들은 5개의 엑손과 4개의 인트론으로 구성되어 있었다. 또한 *BrDFR3*과 5 유전자는 2개의 엑손과 1개의 인트론으로 구성되어 있었다(그림 76).

배추 및 애기장대 등 다른 종들과의 DFR 유전자에 대하여 계통수를 작성해 본 결과 애기장대와 배추는 서로 다른 그룹을 형성하였다(그림 77). 이 결과는 종 분화 이후 배추 AL 유전자들은 애기장대의 AL 유전자들과 달리 배추 특이적으로 진화되었을 가능성을 시사한다. 배추 AL 유전자들이 속한 그룹 I에 대하여 아미노산 염기서열을 비교해 본 결과 매우 짧은 염기를 가지고 있는 *BrDFR5*를 제외하고는 매우 유사한 아미노산으로 구성되어 있었으며, 3개의 시스테인 보존 영역이 존재하였다(그림 78).

그룹 I에 속해 있는 유전자들에 대한 단백질의 motif 영역을 비교해 본 결과 총 10개의 motif가 존재하고 있었다. Motif 7, 10은 모든 유전자에 존재하였으며, motif 1, 4, 8은 BrDFR5를 제외한 모든 유전자에 존재하였다. motif 6은 BrDFR11을 제외한 모든 유전자에 존재하였으며, motif 2는 BrDFR5와 CAR64530을 제외한 모든 유전자에 존재하였다. motif 9는 BrDFR4와 11을 제외한 모든 유전자에 존재하였고, motif 3는 BrDFR4, 5 및 CAR64530을 제외한 모든 유전자에 존재하였다. 또한, motif 5는 BrDFR4, 5, 12를 제외한 모든 유전자에 존재하였다. 따라서 그룹 I의 총 17개의 유전자 중 5개의 유전자(BrDFR4, 5, 11, 12, CAR64530)를 제외하고 12개의 유전자들은 10개의 motif를 모두 가지고 있었다(그림 79).

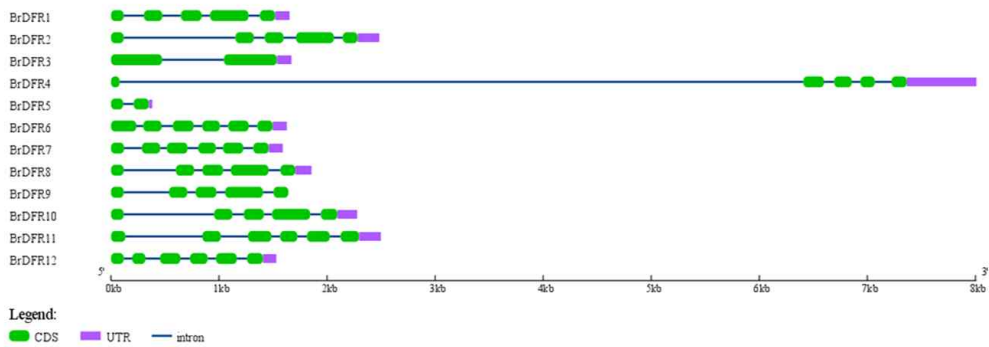


그림 76. 배추 12개의 DFR 유전자에 대한 구조 분석

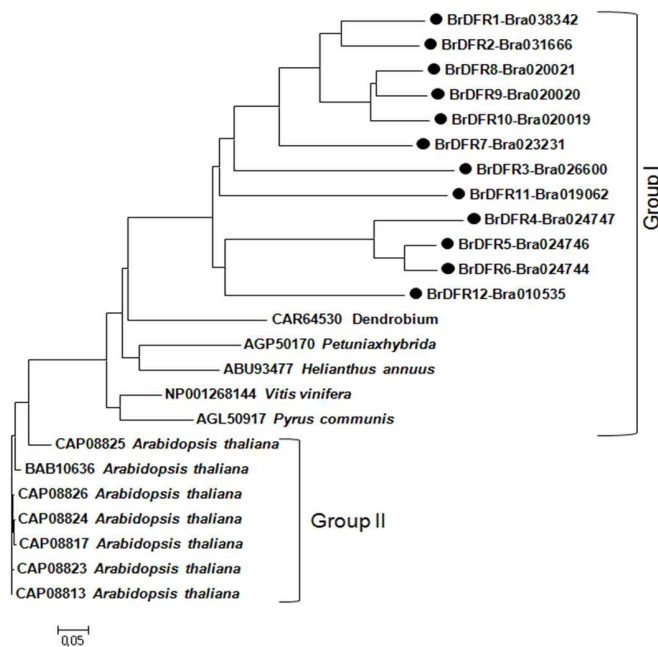


그림 77. DFR 유전자에 대한 계통수

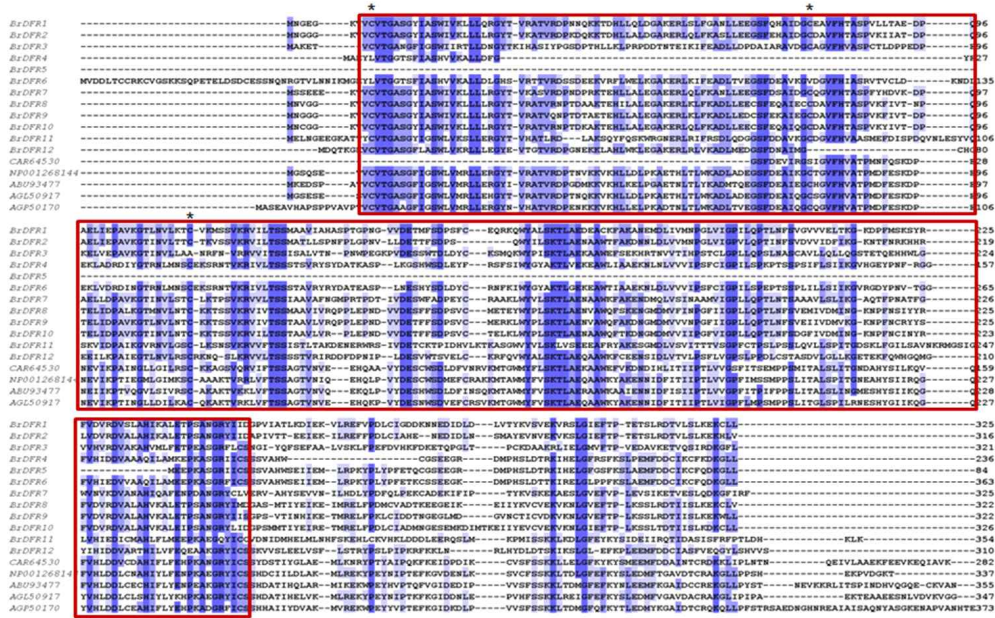


그림 78. 그룹 I에 대한 아미노산 염기의 서열 비교



그림 79. 그룹 I에 대한 단백질의 motif 분석

ANS 유전자들 분석과 같이 DFR 유전자에 대해서도 색소관련 샘플인 '빨강배추', '8053'과 '서울배추'의 저온 처리한 샘플을 이용하여 real-time PCR을 통해 유전자의 발현을 알아 보았다. 배추 12개의 DFR 유전자 중에서 색소 관련해서 6개의 유전자에서 발현량의 차이를 보였다. BrDFR2, 8, 9 유전자들은 저온이 주어졌을 때 빨강배추에서만 특이적으로 발현량이 높았다. BrDFR4 유전자는 빨강배추와 8053에서 저온이 주어졌을 때 발현량이 높아 졌다. BrDFR6은 저온처리에 의해 처리 8시간에서 8053과 서울배추에서 발현량이 가장 높았다가 점차 감소하였다. 이들 유전자들가는 달리 BrDFR3은 저온처리를 하지 않은 0시간 때에서 빨강 배추, 8053, 서울배추 모두에서 높은 발현량을 보이다가 저온처리 후에 오히려 발현량이 점차 작아졌는데, 특히 저온처리 8시간에서 빨강배추와 8053의 발현량은 0시간에 비해 절반으로 줄어든 것에 비해 서울배추에서는 0시간과 거의 비슷한 값을 유지하다가 그 이후에 발현값이 적어졌다(그림 80).

또한 저온에 강한 계통인 지부 및 저온에 약한 계통인 권심을 저온처리한 샘플에 대하여 miroarray를 수행한 결과에서 총 12개의 배추 DFR 유전자 중 8개의 유전자들이 발현값의 차이를 보였다. BrDFR3, 4, 5, 6 유전자는 지부 및 권심 모두 저온이 주어졌을 때 발현값이 감소하였으며, 그 중 BrDFR3, 5, 6은 -4°C 에서 약간 지부에서 발현값이 증가하는 경향을 보였다. BrDFR1 유전자에서는 권심이 저온처리에 의해 점차적으로 발현값이 증가하였지만, 지부에서는 4°C 에서 급격히 발현양이 증가한 후 계속 높은 발현값을 유지하였다. BrDFR2 유전자는 저온처리에 의해 권심과 지부 모두 급격하게 유전자의 발현값이 높아졌으며, -4°C 에서는 지부의 발현값은 현저하게 낮아졌으나 권심의 발현값이 여전히 높은값을 유지하였다. BrDFR9 유전자는 지부에서만 특이적으로 발현값이 높았으며, 특히 저온처리에 의해 그 값이 증가하는 경향을 보였다. BrDFR10 유전자는 권심에서는 저온처리에 의해 발현양의 차이가 없었으나, 지부에서만 저온이 주어졌을 때 발현양이 증가하는 경향을 보였다(그림 81). 배추의 DFR 유전자들의 발현은 모두 일정한 것이 아니라 개개의 유전자에 따라서 다른 경향을 보여 적색 색소와 저온에 의해 반응하는 유전자들을 발현패턴을 보고 다양하게 분류할 수 있었다.

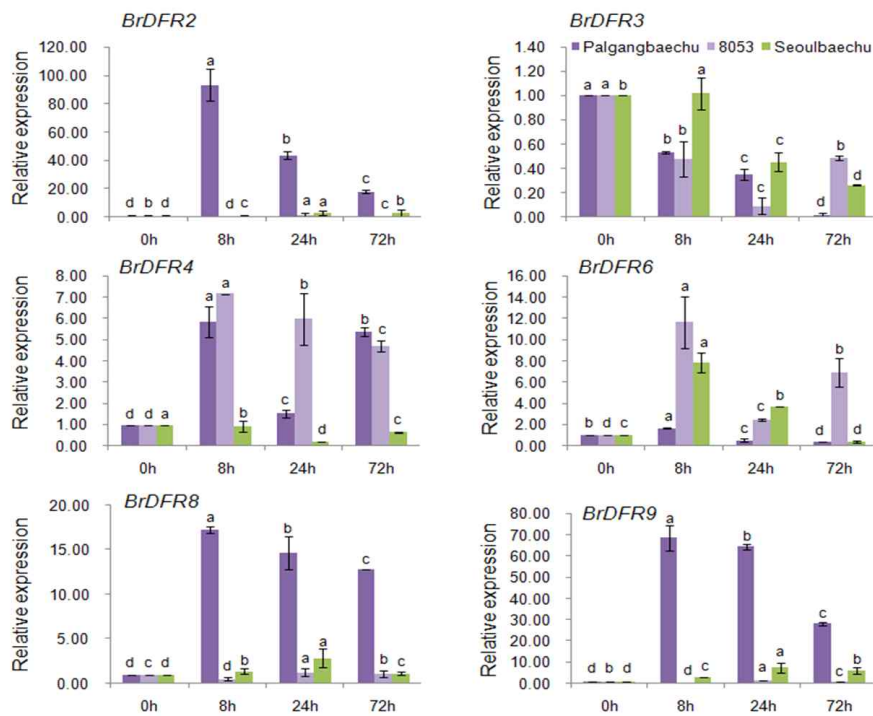


그림 80. 빨강배추, 8053, 서울배추의 저온처리에 대한 DFR 유전자의 realtime PCR

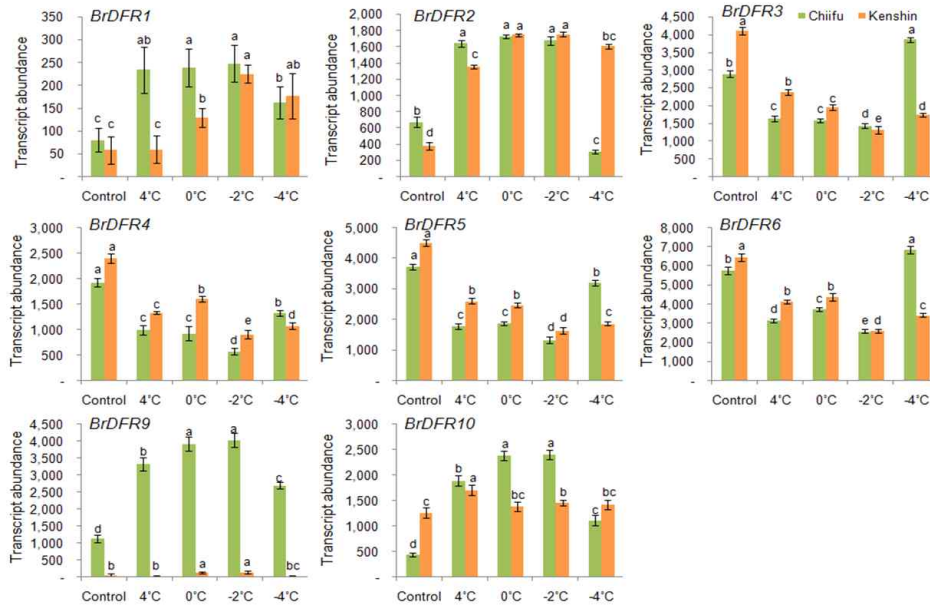


그림 81. 지부 및 권심의 저온처리에 따른 DFR 유전자의 microarray 결과

다. Anthocyanin 생합성 경로 및 저온/내동성 조절 유전자의 분석

Anthocyanin은 다양한 꽃, 열매, 종자, 채소 등에 빨간색, 오렌지색 및 파란색을 조절하는 물질로 알려져 있다. Anthocyanin 생합성에 대해서 이미 광범위하게 알려져 있으며, 주로 구조 및 조절 역할을 하는 유전자이다(Grotewold, 2006; Harborne and Williams, 2000; Quattrocchio et al., 1993).

*Arabidopsis thaliana*의 경우 LDOX 프로모터의 조절 및 BHLH 요소 EGL3와 TT8를 포함하는 MYB-BHLH-WD40 전사인자의 상호작용에 의해 분석될 수 있다(Appelhagen et al., 2011). *Brassica oleracea*의 경우 bHLH 유전자는 BoTT8이며, MYB 전사인자는 BoMYB2가 anthocyanin 생합성 경로에서 조절 유전자임이 보고되었다(Yuan et al., 2009).

본 연구는 배추에서 anthocyanin 생합성 경로를 조절하는 유전자들을 동정하고 또한 저온 및 내동성에 관여하는 유전자들에 대한 분석하였다. 식물 재료로는 배추인 “빨강배추”, “8053”, “서울배추”를 이용하였으며, 염기서열 분석을 위해, primary structure는 <http://expasy.org/tools/protparam.html>을 도메인 분석을 위해 http://smart.embl.de/smart/set_mode.cgi?GENOMIC=1을 염기서열 비교를 위한 검색은 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>를 이용하였으며, 다중 단백질 염기서열 비교를 위해 <http://pir.georgetown.edu/pirwww/search/multialn.shtml>을 단백질과 단백질 간의 상호작용을 알아보기 위해 STRING 프로그램을 이용하였다. 또한 cis-elements 분석을 위해 Plant CARE을 사용하였으며, 발현 분석을 위하여 RNeasy mini kit (Qiagen, USA)를 사용해 total RNA를 추출하여 RNase-free DNase (Promega, USA)로 genomic DNA를 제거하여 RT-PCR 및 Realtime PCR을 수행하였다.

배추의 잎과 줄기 부분을 사용하였으며, 이는 전체가 빨간색인 “빨강배추”, 부분적으로 빨간색인 “8053”, 전체적으로 초록색인 “서울배추”를 사용하였다. 그 이외에 잎이 빨간색인 6개 샘플과 초록색인 2개의 샘플을 재료로 사용하였다.

배추에서 anthocyanin 생합성 경로를 조절하는 *BrPAP1*, *BrPAP2-1*, *BrPAP2-2*, *BrMYB2-1*,

BrMYB2-2, *BrMYB3-1*, *BrMYB3-2*, *BrMYB4-1*, *BrMYB4-2*, *BrGL3*, *BrEGL3-1*, *BrEGL3-2*, *BrTT8*, *BrbHLH151-1*, *BrbHLH151-2*, *BrTTG1*, *BrTT16-1*, *BrTT16-2*, *BrHY5* 유전자 총 19개를 동정하였으며, 이들 유전자에 대하여 *BrMYB2-2* 유전자는 “빨강배추“의 잎에서만 특이적으로 발현하였으며, *BrTT8*은 “빨강배추“의 잎과 중륵에서만 특이적으로 발현하여, 이 두 유전자는 anthocyanin 생합성에 있어 중요한 유전자임을 확인하였다. 또한 이를 realtim PCR로 확인한 결과 *BrMYB2-2*와 *BrTT8*이 “빨강배추“에서만 특이적으로 발현하고 있음을 확인하였다 (그림 82).

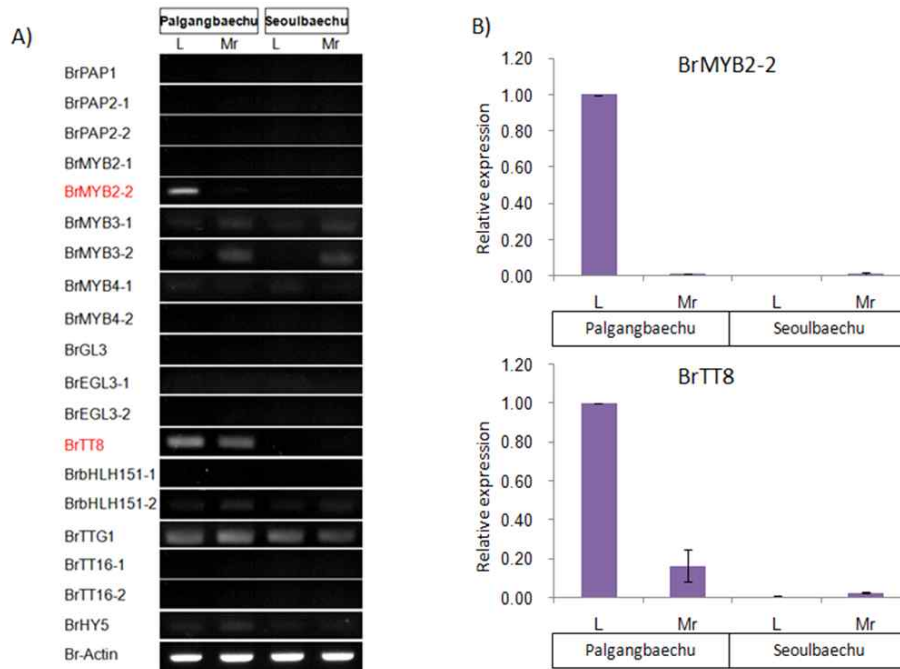


그림 82. 배추에서 anthocyanin 생합성을 조절하는 유전자들에 대한 발현 분석 (L: leaf, Mr: midrib)

Anthocyanin 생합성을 조절하는 유전자 19개 중에 빨간색과 초록색 잎 및 중륵에서 발현 차이를 보이는 2개의 유전자를 선발하였으며, 잎과 중륵이 모두 빨간색인 “빨강배추“, 잎이 빨간색이고 중륵은 초록색인 “8053“, 잎과 중륵이 모두 초록색인 “서울배추“, 그리고 8개의 배추 계통을 선발하여, 잎이 빨간색인 6계통 (1, 3-6, 8), 잎이 초록색인 2계통 (2, 7)을 재료로 이용하여 선발한 *BrMYB2-2*, *BrTT8* 유전자에 대한 발현을 알아보았다. 그 결과 *BrMYB2-2*는 “빨강배추“의 잎에서만 특이적으로 발현하였고, *BrTT8*은 실험한 모든 빨간색 재료에 대하여 특이적으로 발현하였다(그림 83).

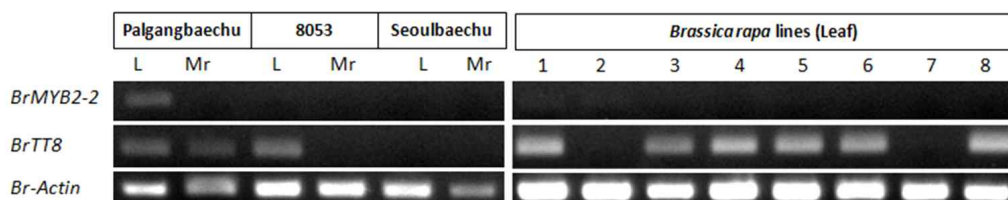


그림 83. *BrMYB2-2*, *BrTT8*에 대한 잎 및 중륵이 빨간색인 것과 잎 및 중륵이 초록색인

여러 계통들과의 발현 분석

(“빨강배추“의 leaf와 midrib은 빨간색, “8053“의 leaf는 빨간색, midrib은 초록색,
 “서울배추“의 leaf와 midrib은 초록색, 1, 3-6, 8: 빨간색 잎, 2, 7: 초록색 잎)

또한, anthocyanin 생합성 경로에 관여하는 구조 유전자들인 *BrPAL1*, *BrCHS*, *BrF3H1*, *BrF3'H1*, *BrFLS*, *BrDFR8*, *BrANS1*, *BrUFGT*, *BrBAN*의 9개 유전자들에 대하여 잎과 중륵이 모두 빨간색인 “빨강배추“, 잎이 빨간색이고 중륵은 초록색인 “8053“, 잎과 중륵이 모두 초록색인 “서울배추“, 그리고 8개의 배추 계통을 선발하여, 잎이 빨간색인 6계통 (1, 3-6, 8), 잎이 초록색인 2계통 (2, 7)을 재료로 이용하여 발현분석을 한 결과 크게 의미있는 데이터는 없었다 (그림 84).

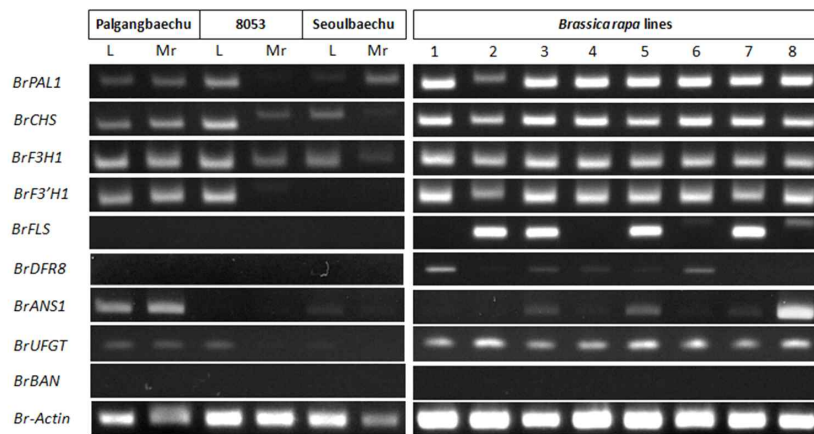


그림 84. Anthocyanin 생합성 경로에 관여하는 구조 유전자의 발현 분석
 (“빨강배추“의 leaf와 midrib은 빨간색, “8053“의 leaf는 빨간색, midrib은 초록색,
 “서울배추“의 leaf와 midrib은 초록색, 1, 3-6, 8: 빨간색 잎, 2, 7: 초록색 잎)

*BrMYB2-2*와 *BrTT8* 유전자는 지난 3차년도에 저온 처리한 배추 샘플에서 발현양이 높아졌으며, 북방계 배추인 지부와 남방계 배추인 지부에서 발현양을 비교해 보았을 때 권심보다 지부에서 발현양이 높음을 확인하였다. 따라서 배추에 저온 스트레스가 주어졌을 때 이 두 유전자들은 상대적으로 반응하면서 anthocyanin 생합성 경로를 조절하는 하는 작용을 하는 것으로 여겨진다.

배추에서 저온 스트레스 하에서 anthocyanin 생합성 경로를 조절하는 유전자가 반응하며, 이는 그 하류의 유전자들의 프로모터 부분에 결합하여 저온 조절 유전자들을 움직이며, 이 작용에 의해 내한성을 증진시킬 수 있다(그림 85).

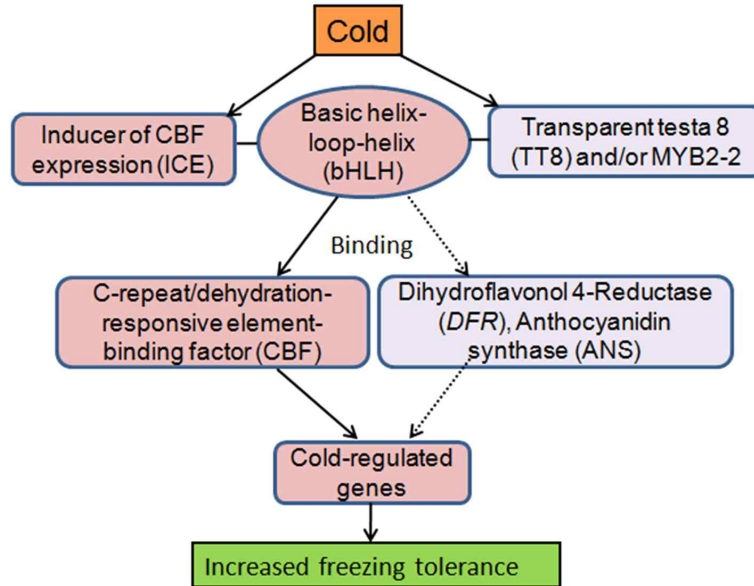


그림 85. CBF 저온-반응 경로에서 anthocyanin 생합성 조절물질 들이 관여 (점선은 가능성 있는 조절 기작)

6. 소포자배양 및 분자마커를 활용한 고탍유 안토시아닌 적색 배추 개발

식물의 중요한 이차대사산물들로는 anthocyanin, beta-carotene, glucosinolates, nutty smell, pungency 등이 있다. 그 중 안토시아닌은 플라보노이드 성분이며, 식물에 있어 생물학적인 기능을 하는데 중요한 역할을 한다. 형질전환을 통해 내한성이 증진된 또한 안토시아닌은 암과 심장질환으로부터 인간의 건강을 보호해주는 기능이 있다. 배추(*Brassica rapa*, 100% AA genome)와 적양배추(*Brassica oleracea*, 100% CC genome)를 배배양(embryo rescue)하여, 중간잡종 F1 식물체(50% A + 50% C genome)를 39개체 얻었으며, AC genome을 마커로 판별 하였다(그림 86, 87, 88). F1 개체(AC genome)에 콜히친 처리에 의해 성숙한 F1개체를 획득 하였다(그림 89). 성숙한 F1 개체에 대하여 유세포분석(Flow cytometry)을 통해 콜히친 처리로 4배체(tetraploid)을 확인하였다(그림 90). 4배체 F1개체(AACC)를 배추와 여교배하여 F1BC1을 작성하여 현재, 춘화처리하고 있는 중이다, 그 후 실험은 소포자배양(microspore culture)하여, 안토시아닌 선발 마커(개발중)로 선발할 예정이다.



그림 86. 배추와 적양배추 간의 배배양에 의해 획득한 F1 식물체



그림 87. *in vitro* 상태에서 F1 식물체의 성장 상태



그림 88. 배배양으로 얻은 F1 개체에 대한 마커 검정으로 AC genome 확인



그림 89. 콜히친 처리를 통한 획득한 성숙한 F1 개체 (50% AA + 50% CC genome)

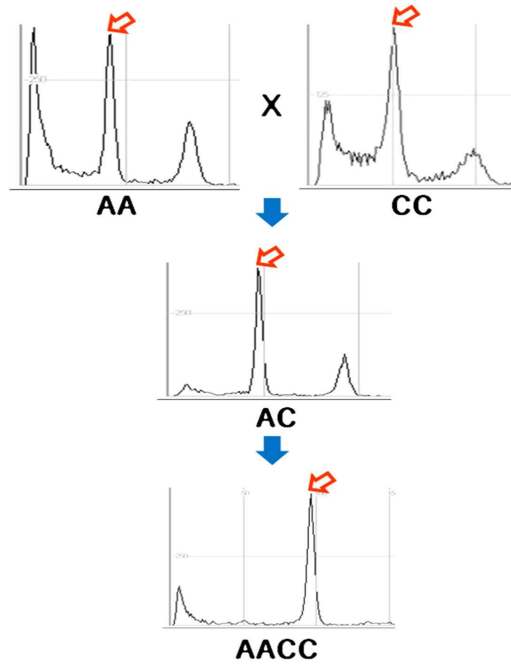


그림 90. 유세포분석(Flow cytometry)에 의해 콜히친을 처리한 F1 개체가 4배체임을 확인

안토시아닌(색소) 선발 마커의 개발을 위해 안토시아닌 생합성 경로에 있는 주요 유전자들의 선발하여 35 set의 primer를 디자인 하였으며, realtime PCR로 배추와 적양배추 간의 배배양에 의해 획득한 F1 식물체 39개체에 대하여 안토시아닌 함량 조사 및 안토시아닌 선발 마커를 개발 중이다.

7. 형질전환 Vector 구축 및 형질전환 수행

스트레스가 주어지면 세포막에서 인지하여, 칼슘 센서가 하류의 kinases 또는 phosphatases로 신호를 보낸다. 이 과정에서 관여하는 단백질들의 발현이 스트레스의 반응에 주요한 영향을 미친다. 또한 스트레스에 대해 유전자들은 빠르게 반응하는 early 유전자와 늦게 반응하는 delayed 유전자로 구분할 수 있다. early 유전자들은 몇 분 이내에 스트레스를 인식하여 보통 일시적으로 발현한다. 반면에 delayed 유전자들은 천천히 활성화되며, 몇 시간 이내에 발현을 하며, 보통 발현을 유지하는 경향을 보인다. early 유전자로는 전사조절 유전자가 있으며 delayed 유전자로는 전사조절 유전자에 의해서 활성화되는 실제 스트레스 반응 유전자들이 있다. delayed 유전자들로는 RD, KIN, COR, RAB18, RAB29B 등이 보고되어 있다(그림 91).

그리고 저온에 반응하는 중요 유전자인 COR 유전자의 발현 과정을 살펴보면 우선 ICE (inducer of CBF expression) 유전자의 bHLH 도메인이 CBF(CRT-binding factor) 유전자의 프로모터 영역에 존재하는 cis-element인 CANNTG염기에 binding하여 CBF 유전자를 활성화시킨다. 이 활성화된 CBF 유전자의 AP2-domain이 다시 하류 영역에 존재하는 COR 유전자의 프로모터 영역에 존재하는 DRE/CRT (C-repeat/drought-responsive element)에 binding되어 COR 유전자를 발현시키므로써 저온에 저항성을 가지게 된다(그림 92).

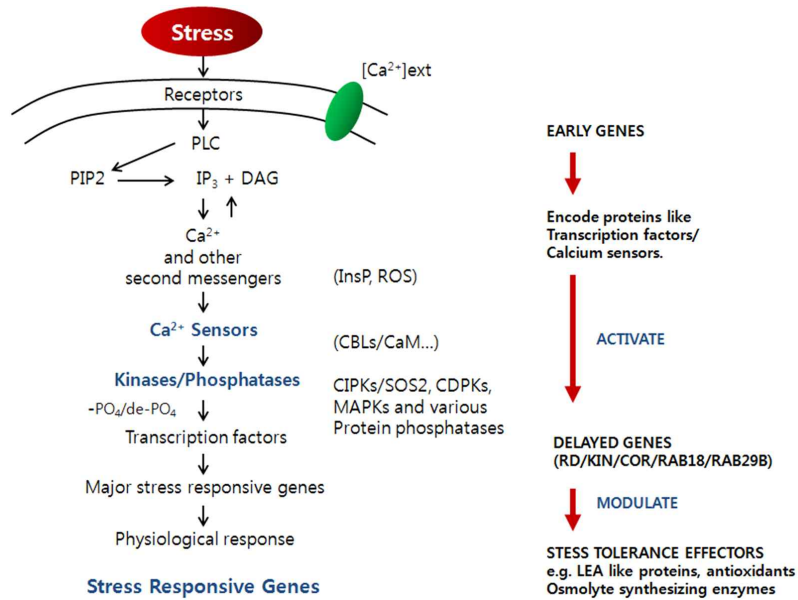


그림 91. 비생물학적 스트레스에 반응하는 전사조절 유전자의 경로

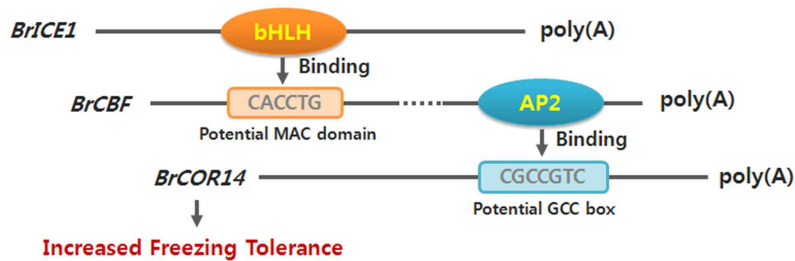


그림 92. 비결구 배추의 CBF cold-response 예상 경로

가. 벡터구축

모벡터로는 pCAMBIA에서 약간 변형된 벡터로 backbone 상에 Spectinomycin resistance gene인 *aadA*가 있다(그림 93). 중간벡터로는 pGRP1과 pZRT3-Bar를 이용하였으며 pZRT3-Bar은 Bar 유전자를 첨가시켜 선발마커로서 이용할 수 있게 하였다(그림 94). 프로모터 부분으로 앞쪽에는 *HindIII*와 *XhoI*를 뒤쪽에는 *KpnI*과 *NotI*의 adaptor를 붙였으며, target gene 부분으로 앞쪽에는 *KpnI*과 *NotI*을 뒤쪽에는 *BamHI*과 *SmaI*의 adaptor를 각각 첨가하여 프로모터 및 target gene을 증폭하였다.

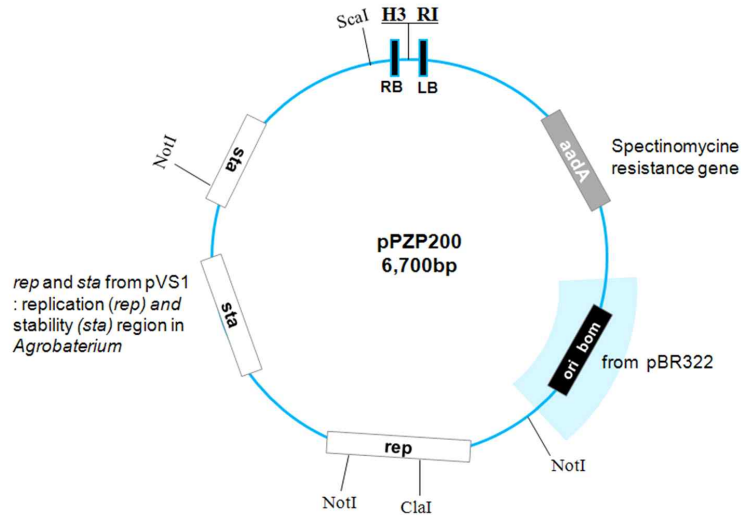


그림 93. pCambia에서 향상시킨 모벡터

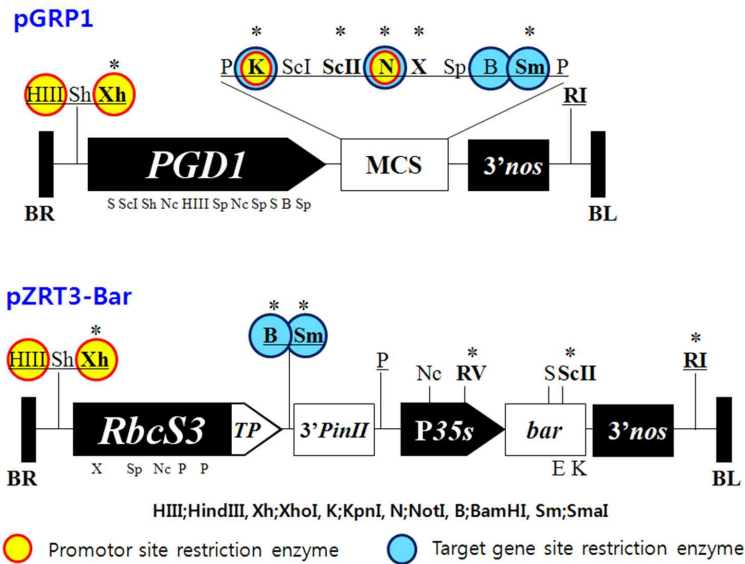


그림 94. 중간벡터 맵 (pGRP1, pZRT3-Bar)

나. 저온에 반응하는 주요 유전자 구조 분석

저온에 반응하는 *ICE*, *CBF*, *COR* 유전자들과 그 프로모터 영역의 염기서열에 있는 element를 분석하였다. *ICE*에서는 프로모터영역에 CRT/DRE나 ABRE가 있는 유전자도 있었고 없는 유전자도 있었다(그림 95). *CBF* a region과 b region이 있으며 AP2 domain을 가지고 있는데 1가지 유전자는 a region과 b region이 없으며 AP2 domain만을 가지고 있었다(그림 96). *COR*은 프로모터 영역에 CRT/DRE나 ABRE가 대부분 유전자의 5'쪽 가까이 위치에 있는 것을 볼 수 있었다(그림 97).

ICE

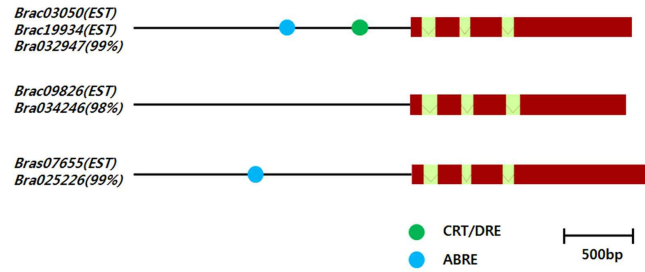


그림 95. ICE 유전자 및 프로모터 영역의 구조

CBF

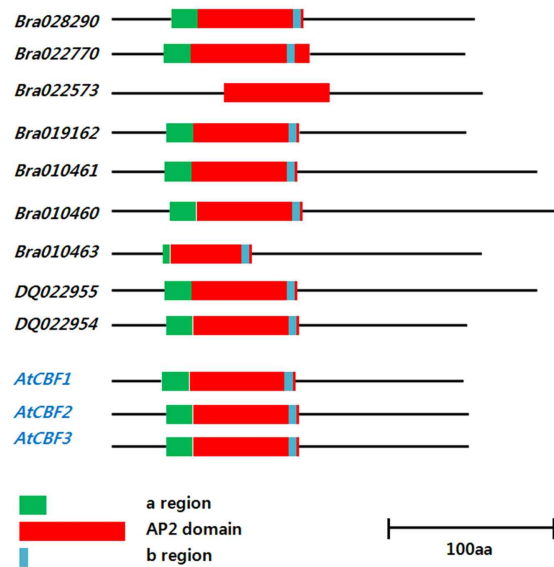


그림 96. CBF 유전자의 구조

COR

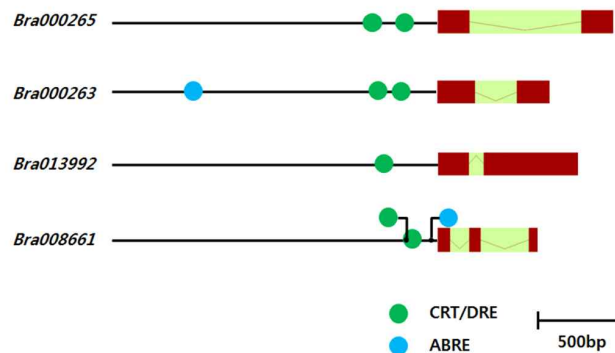


그림 97. COR 유전자 및 프로모터 영역의 구조

다. 프로모터 크로닝

아래 표 40의 프라이머를 사용하여 애기장대에서 저온에 반응하는 AtRd29a 프로모터 영역 (850bp)을 증폭한 후 크로닝하여 염기를 확인하였다. AtRd29a 프로모터 영역의 cis-element를

분석한 결과 AtRd29a 프로모터 영역은 DRE, C-repeat/DRE, ABRE, TC-rich repeats 등의 다양한 *cis*-element들을 포함하고 있었다(표 41). 염기가 확인된 AtRd29a 프로모터 클론으로부터 plasmid를 추출 후 중간 벡터인 pGRP1 벡터의 PGD1 영역을 제거한 후 제거된 자리에 AtRd29a 프로모터 영역을 ligation 시켰다. ligation된 클론은 PCR을 이용하여 확인하였다(그림 98, 99, 100, 101).

표 40. 프로모터 크로닝 primer 정보

Promoter	5' → 3'		T _m (°C)	% GC	Length	Pro. Size(bp)
AtRd29a	FW	AAGCTTCTCGAGCGACTCAAAACAAACTTACG	58	48	32	850
	RV	GCGGCCGCGGTACCAATCAAACCCTTTATTCTG	59	56	34	

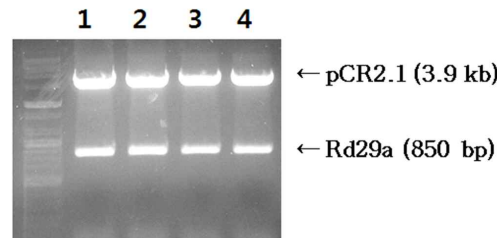


그림 98. topo TA cloning하여 Rd29a의 insert 확인

>AtRd29a promoter

AAGCTTCTCGAGCGACTCAAAACAAACTTACGAAATTTAGGTAGAACTTATATACATTATA
 TGTGTAATTTTTTTGTAACAAAATGTTTTTATTATTATTATAGAATTTTACTGGTTAAATT
 AAAAAATGAATAGAAAAGGTGAATTAAGAGGAGAGAGGAGGTAACATTTTCTTCTATTTT
 TTCATATTTTCAGGATAAATTATTGTAGAAGTTTAAAAGATTTCCATTTGACTAGTGTA
 ATGAGGAATATTCTCTAGTAAGATCATTATTTTCATCTACTTCTTTTATCTTCTACCAGTAG
 AGGAATAACAATATTTAGCTCCTTTGTAAATACAAATTAATTTTTCGTTCTTGACATCATT
 CAATTTTAATTTTACGTATAAAAATAAAAGATCATACTATTAGAACGATTAAGGAGAAAT
 ACAATTCGAATGAGAAGGATGTGCCGTTTGTATAATAAACAGCCACACGACGTAACGTA
 AAATGACCACATGATGGCCAATAGACATGGACCGACTAATAATAGTAAGTTACATTT
 TAGGATGGAATAAATATCATACCGACATCAGTTTGAAAAGAAAAGGGAAAAAAGAAAAA
 TAAATAAAAGATATACTACCGACATGAGTTCAAAAAGCAAAAAAAGATCAAGCCGACA
 CAGACACGCGTAGAGAGCAAAATGACTTTGACGTCACACCAGAAAACAGACGCTTCATACG
 TGTCCCTTTATCTCTCTCAGTCTCTATAAACTTAGTGAGACCCTCCTCTGTTTTACTCAC
 AAATATGCAAACTAGAAAACAATCATCAGGAATAAAGGGTTTGATTGGTACCGCGGCCGC

그림 99. AtRd29a의 Promoter 부분 염기서열 결정

표 41. AtRd29a의 Promoter 부분에 *cis*-acting elements 분석

Cis-acting elements	Position	Function
DRE	(+552,+609)	dehydration, low-temp, salt stresses
C-repeat/DRE	(+604)	cold- and dehydration-responsiveness
ABRE	(+712)	ABA responsiveness
CE3	(-656)	ABA and VP1 responsiveness
HSE	(-52,+203)	heat stress responsiveness

TC-rich repeats	(+154)	defense and stress responsiveness
5UTR Py-rich stretch	(+156)	high transcription levels

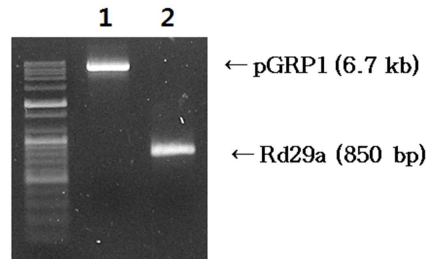


그림 100. Plasmid 추출 후 벡터 및 프로모터 영역 확인

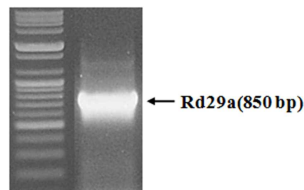


그림 101. AtRd29a 프로모터 영역을 pGRP1에 ligation한 후 insert 확인

라. 타겟 유전자의 크로닝

저온에 감응하는 타겟 유전자 10개(BrCBF1, BrCBF4, BrZAT10-2, BrCOR15B-1, Bra0293396, Bra039558, Bra001449, Bra022722, Bra001043, Bra012845)를 선발한 후 표 42의 프라이머를 이용하여 타겟 유전자를 증폭하였다. 증폭된 각각의 산물을 TA 벡터에 클로닝한 후 염기를 확인하였다(그림 102, 103). 그 후 확인된 클론의 plasmid들을 이용하여 현재 중간벡터에 형질전환을 하고 있는 중이다.

표 42. 타겟 유전자의 프라이머 정보

No.	Gene		Sequence (5' → 3')	Gene Size (bp)
1	BrCBF1	fw	GGTACCGCGGCCGCATGACCTCATTTTCTACCTT	696
		rv	CCCGGGGGATCCCTAATAACTCCAAAGGGACACG	
2	BrCBF4	fw	GGTACCGCGGCCGCATGGATCCATTTTACACTTC	663
		rv	CCCGGGGGATCCCTAAAAACTCCAGAGTGACACGTC	
3	BrZAT10-2	fw	GGTACCGCGGCCGCATGGCGCTTGAGGCTATCAG	690
		rv	CCCGGGGGATCCTTAAGCTTTCTCCGAGAAGTC	
4	BrCOR15B-1	fw	GGTACCGCGGCCGCATGGCGATGTCATTCTCAGGA	390
		rv	CCCGGGGGATCCTCATGCCTTTGTAGTGCCTTATC	
5	Bra029396	fw	GGTACCGCGGCCGCATGGGCTGCTCTCTGTGCGAA	666
		rv	CCCGGGGGATCCTTAGAAATATAGGTTTTGCAACTCC	
6	Bra039558	fw	GGTACCGCGGCCGCATGTGCAGAGGTTTTGAGG	294
		rv	CCCGGGGGATCCTCAACTCGTATCTTTATC	

7	Bra001449	fw	GGTACCGCGGCCGCATGGATTGTTATACGGGAAG	798
		rv	CCCGGGGGATCCCTACTGCACTCTCTCTGGTAG	
8	Bra022722	fw	GGTACCGCGGCCGCATGGAGAAGATGAAGTGTG	606
		rv	CCCGGGGGATCCCTCACAGTCGTTTGGATTTTA	
9	Bra001043	fw	GGTACCGCGGCCGCATGTTGAAAGAAGAGACCAAC	687
		rv	CCCGGGGGATCCCTCAAATGAAGGAACAATTC	
10	Bra012845	fw	GGTACCGCGGCCGCATGCCTTGTCTTTATATTAC	339
		rv	CCCGGGGGATCCCTATAGTTTAGAAGGAAGAG	

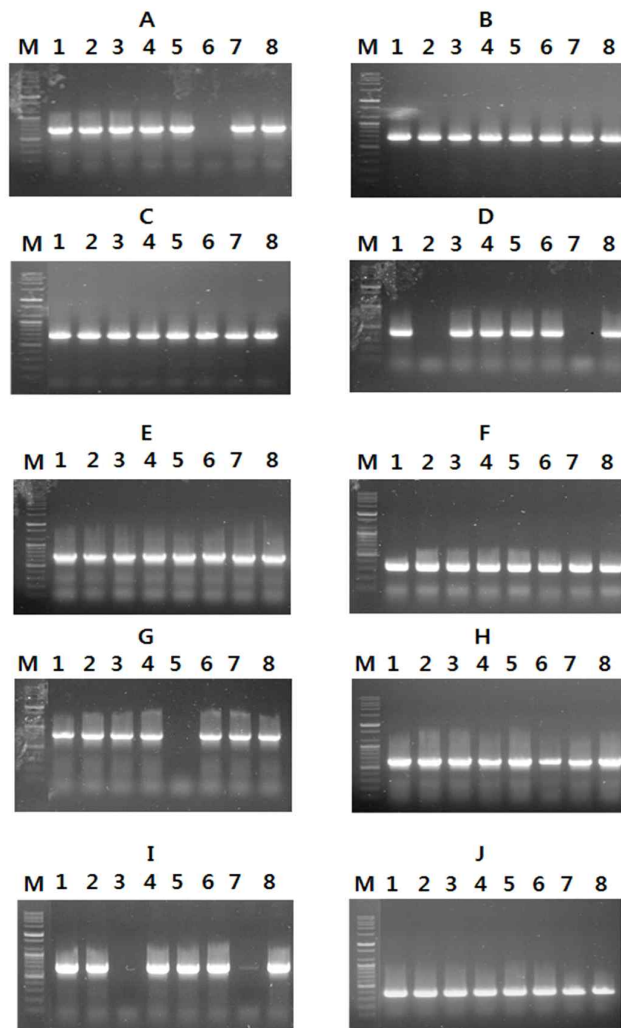


그림 102. 타겟 유전자의 TA cloning후 insert 확인

(A: BrCBF1 amplicon 696 bp, B: BrCBF4 amplicon 663 bp, C: BrZAT10-2 amplicon 690 bp, D: BrCOR15B-1 amplicon 390 bp, E: Bra0293396 amplicon 666 bp, F: Bra039558 amplicon 294 bp, G: Bra001449 amplicon 798 bp, H: Bra022722 amplicon 606 bp, I: Bra001043 amplicon 687 bp, J: Bra012845 amplicon 339 bp)

>BrCBF1
GGTACCGCGGCCGC**ATG**ACCTCATTCTACCTTTTCTGAAATGTTGGGCTCCGAGTATGAG
TCTCCGGTTACATTAGGCGGAGAGTATTGTCCGAAGCTGGCCGCGAGCTGTCCGAAGAAACC
AGCCGGTCGTAAGAAGTTTCGGGAGACGCGTCACCCAGTTTATAGAGGAGTTCGTCTGAGAA

ACTCAGGTAAATGGGTGTGTGAAGTGAGGGAGCCAAACAAGAAATCCAGGATTTGGCTCGG
TACTTTCTTAACCGCCGAGATCGCAGCTCGTGCTCACGACGTCGCCGCCATAGCCCTCCGCGG
CAAATCAGCTTGTCTCAATTTTGCTGACTCGGCTTGGCGGCTCCGTATCCCGGAGACAACAT
GCCCCAAGGAGATTCAGAAGGCGGCTGCTGAAGCCGCTTGGCTTTTCAGGCTGAGATAAAT
AATACGACGACGGATCATGGCCTGGACATGGAGGAGACGATCGTGGAGGCTATTTTCACGGA
GAAAACAACGATGTGTTTTATATGGACGAGGAGTCCATGTTAGAGATGCCGGCCTTGTGTTG
CTAGTATGGCGGAAGGAATGCTTTTGCCGCCCGCTCCGTACATTTTCGGACATAAATATGAC
TTTGACGGAGATGCTGACGTGTCCCTTTGGAGTTAT**TAG**GGATCCCCCGG

>BrCBF4

GGTACCGCGGCCGC**ATG**GATCCATTTTACACTTCTTTCTCAGACTCGTTCCCTCTCGATCCCTG
ACCACAGATCTCCAGTTTCCGACAGTAGTGAGTGTCTCCGAAGCTAGCTTCGAGCTGTCCG
AAGAAACGAGCAGGAGGAAGAAGTTTCGTGAGACACGTCATCCGATTTACAGAGGAGTTCCG
TCAGAGAAACTCAGGGAAATGGGTTTGTGAAGTTAGGGAGCCTAACAAGAAGTCGAGGATT
TGGTTAGGGACTTTTCCGACCGTCGAAATGGCCGCTCGTGCTCACGACGTCGCCGCTTAGCC
CTTCGTGGCCGCTCCGCTTGTCTTAATTTCCGCCACTCGGCGTGCCGTCTCCGGATCCTGAG
TCTACTTGTCTAAAGAAATTCAGAGAGCTGCGGCTGAAGCTGCAATGGCGTTTCAGAAGGA
GACGGCTACGACTGAGACGACTATGGTTGAGGCAAGTGAACCGGCGGAGGAGACGGTTGGGC
AAACGGGTGGGAGACCACGGAAGAGAACGGTGTGTTTTATATGGATGAAGAAGCGGGTTT
TGGGATGCCAAGGTTTCTTGAGAATATGGCGGAGGAGATGCTCTTGCCGCCGCCGGAACCTG
GATGGAATCATAACGACTTGACCGGAGATGCTGACGTGTCACTCTGGAGTTTT**TAG**GGATCC
CCCCGG

>BrZAT10-2

GGTACCGCGGCCGC**ATG**GCGCTTGAGGCTATCAGTTCACCGAGATTAGCTTCACCGGTCCCTC
CTCTGCTCGAAGATTCTTCAAGATTCCACGGCGTCGATCACTGGACCAAAGGTAAGATCT
AAACGGTCCAGATCCGACTTCCACCACAAGAACCTCACAGAAGAAGAGTATCTCGCTTTCTG
CCTCTTGCTCCTCGCTCGTGACGGCGATCGCAGCAACCGTAACCCCTTCTCCTCCTCCGGTG
ACGGTGGCGGAGAAGTCGTC AACCTACACGTGCAGCGTCTGCGACAAGTCCCTTCTCGTCTTAC
CAAGCCCTCGGGGACACAAGGCGAGCCACCGAAAAACTTATCACAGACCTATCCGGCGGA
GGAGATGATCAATCGACGTTGACCACATCCCGCCGACAAACCGGAAGTGGGAAGTCTCACGT
CTGCTCGATCTGTCAACAAGTCGTTTCTTCCGGCCAAGCTCTCGGCGGACACAAGCGGTGCCA
CTACGAGGGGAATAACAACAGTAGCAGCAGCGTGGCTAACTCCGAAGGAGCGGGGTCCACCA
GCCACGTGAGCAGCGGTACCGTGGGTTTGACCTTAACATCCCTCCTGTACCGGAATTCTCGC
TGGTGAACGGAGACGACGAAGTGATGAGCCCGATGCCGGCAAGAAGCCCCGTTTTGACTTC
TCGGAGAAAGCT**TAA**GGATCCCCCGG

>BrCOR15B-1

GGTACCGCGGCCGC**ATG**GCGATGTCATTCTCAGGAGCTGTTCTCAGTGGGATTAATTCTTCT
TTCCCCAGCGGCGTAGCCAAGCAGAGCGGCGTTGGCGCCGTCAGATTTGGCCGGAACCTGAG
CTCGTTGTGCTCGCTCAGCGCAAGAAGTCGTGATCTACGCCGAGAAAGGTGATGGAAACAT
TCTCGATGACATCAATGAGGCCACAAGAGAGCTCAGATTACGTGACAGACAAGACAAGG
AGCGTTGAAAAGATGGAGAGAAAGCAAAAGACTACGTTGATGAGAAAAACGTTGAAGCCAA
AGACACTGCATTGGATGAAGCTCAGAAAGTTTTGGATTATGTGAAGAAAAAGGAAACGAA
GCAGGAGAGGATAAAGGACACTACAAAGGCAT**TGA**GGATCCCCCG

>Bra029396

GGTACCGCGGCCGC**ATG**GGCTGCTCTCTGTGTCGAAGAAGAAGAAAATTGCAATACCACCGCCG
GGATATGAGGATCCGGACCTTCTTGCATCCGTTACGCCGTTTACGGCAGCAGAAGTTGAAGT
TTTGTACGAATTGTTCAAAAAACTAAGCAGCTCAATCATCGAGGACGGTCTTATTCATAAG
GAAGAGTTTCAGCTGGCTTTACTCGGAAACAGGAACCGGAACAATCTTTTCGCTGATCGGAT
ATTTGATGATTTGATGTGAAACGTAATGGAGTGATCGAGTTTGGTGAATTTGTTCGGTCT
TTAGTGTCTTCCATCCAAATGCACCTGTCCATGAAAAGATCAAATTTGCTTTCAAATTTG
ACGATCTAAGGCAAACCTGGATTTCATCGAGCGAGAAGAATTGAAAGAGATGGTAATAGCGCT
TCTTCAAGAACTGAACTTGTCTTCTGAAAGATATGATCGAAGTAATGGTGGATAAAGGCG
TTTACTGAAACAGATCGCAACAATGACGGGAAAATTGATGTAGATGAGTGGAAAGATCTTG
TGTCCATGAATCCGTCGCTCATCAAAAACATGACTTTGCCCTATCTAAAGGACATAAAGGCG
ACGTTTCCAAGTTTTGTTTTATCTAGTGAAGACGAAGAAGTGGAGTTGCAAAACCTATATT
CT**TAA**GGATCCCCCGG

>Bra039558

GGTACCGCGGCCGC**ATG**TGCAGAGGTTTTGAGGAACAAGAGAGAAGAAGAGACGACGGAGGA
TGCCGGAGAATCAGAGCTCCGGTAAGCTGCGATCTCTGCGGTGAGAACGCAGCCGTGTATTG
TGAAGCCGACACTGCTTTCCCTCTGTAGGAAATGCGATCGATGGGTCCACTCTGCGAATTTTC
TTGCTCGGAGACATCTTCGGCGCGTGATCTGCACAACCTTCCGGAGATTAATCATCGTTTT
CTTGTCGGAGATAATTCAGTGTGCTTACCAGAGTCAAAGATAAAGATACGAGTT**TAG**
GATCCCCCGG

>Bra001449
 GGTACCGCGGCCGC**ATG**GATTGTTATACGGGAAGGAACCTTTGAAGATTTTGTGTGCTACT
 TATCAAGAAACGTCACCATCTAATGGTATGTGGGGTGGTGGATGGAGCATGAACTCCCCTGA
 AGCTACTGAGAAATGCTTTGATTACGATCGTTTTAATAGCCAGATGGGTATGAGGACAAGC
 GAAGAAGAAGAAGAAGAGTCTAAGAGAACAAAAGCTTTCTACGGCGCTTCTTCGCTTCACG
 AGTTCGAAGGAATCGAACAGATGGATGATATGTTCTTAAGTTCTATCTTGGAGGATGTTCC
 TGGAGATGTACACCGTGCTTCAAGCAGTAATAACAGTGTGGCTCTTCGTCAATGTATGGTG
 GTGGTGAAGTCCCTATGTTCCATTGTCAAGCCGTGCCTTTAAAGGAAGAGGCTCCTTTCACA
 ATCTCAGATCTGTCTGAAGAGAACATGTTAGATTCACAGTATGTGGATGATGAACTGTCCT
 CTGAAGAACTGGTGTTCAGGATCTACAAAGAGCTTCAGAAAAGTTAACTGATGAAACAAG
 AAAGTGTTCGAGATACGTTTTACCGGCTTGCAAGAAGCTCACAAAGAGAAGTTGGATTCCG
 ACAACAACACTAACTCAGGAGAGTCCATATGCAAGCATCCAGATATGATGATTATGGTGA
 CAACACTACCAGGTTGAGTAGAGAGGAAGAGATTGAATCAGAAAACAACTCAATAGACAGA
 GCCGTTGCAAACCTTACTTACAACAAGATGGAATCCAACATAAGCAACTTTCCTCTACCAGA
 GAGAGTGCAG**TAG**GGATCCCCCGGG

>Bra022722
 GGTACCGCGGCCGC**ATG**GAGAAGATGAAGTGTGAGCTATGTGAGGGTGTGGCGAGAATGTTC
 TGTGAGTCAGACCAGGCGAGTTTATGCTGGGACTGCGACGGTAACGTTACAGGAGCTAACTT
 TCTGGTGGCTAAACACGCGCGCTGCCTTCTTTGTAGCGGTGCCAATCTCCTACGCCTTGAA
 AGCTTCTGGCCTTCGGCTCTGTCCAACCGTTTTCTATATGCGAGTCTTGCCTTGCTCGTAAGA
 ATAACTCCGGCGCCGGCAGCAATAGTTACGGAGAAGACGACGGCGCAGAATCTTATGATGAG
 GATGAGGAGGAAGAAGAAGAAAGTATGATGATGAGGAAGAAGAAGAAGAAGCAGGAGAAATC
 AGGTGGTGGCATGTGATGCGGCTGCGGCGGTGCAAGAATCTCCGGTGTGAGTTTCATCGTCT
 TCCGTTAGCAGCGGAGAGGAACGTTTCAGTTTGGTAGCGAAAAGGACGCGACAAGATTTCAGA
 ACTTAACTCCGATGATGAAGAATCAAACGACGAGTCACGACCTTTGAAACGGCTGACGAGAG
 ATGCAACCTTGCCAAGATCAGCGGCTATGATGAAATCAACCTTAAAAATCAAACGACTG**TG**
AGGATCCCCCGGG

>Bra001043
 GGTACCGCGGCCGC**ATG**TTGAAAGAAGAGACCAACGAGAGTGGCTTTGTGGCGGGTAAAGAA
 GACGATGAGGCTGATAGAGAGGTGGCTTCATGGTTGATGCTGAATGCAGAGAAAGACAGTG
 ATAATCACAACAATGGGTCTTGTGGTGGTGGTGTGAGTATCTTGACCTTGTGGACTACAGCAGC
 AGCGTAGACAACCAGTTCGAAGATCAGTACAGTCACTACCAGAGGAGCTTTGGGGGAGAAGA
 TGGAGTTGTACCACTTCAAGTTGAAGAACCAAAAAGTTACCAAAAACAAAGCCATCACAAC
 TATGGTCACTACAACATAAATGGTTCTTAAAGGACCTAAACCATACTGTATCTGTTTCATC
 AATGGACATCACTGTTGTGCCAGAGTCAACAGAGAGTGACACAACAGTCCAATACTATAAA
 GAGACGATAGACCAACTATTTGGCCACCTACTCAGATGGTGCAGCAGCTAACTCCAGCGGA
 CAGGGAGGCTAGGGTCCAGAGATACAGAGAGAAGAAGAAGAGGAGGAAGTTTCGAGAAGACA
 ATAAGGTATGCTTCAAGAAAGGCATATGCAGAAATAAGACCACGGATCAAGGGACGTTTTG
 CAAAGAGGACAGAAACTGAAGCTGATGCAGAACTCTTTTCAACATCTCTAATGGCCGGA
 TATGGAATTGTTCTTTCATTT**TGAGGATCCCCCGGG**

>Bra012845
 GGTACCGCGGCCGC**ATG**CCTTGTCTTTTATATTACAACCTAACGTCAATTTGGACGGCTTCAAA
 ACCGATCCGTTCTACTCGGAAGTCACCAAAGCCGTCGCTTCTATCGTTGGACGGCCTGAGAAC
 TTGGTGTGATGGTGGTGTGTTGAAGGGGTCAATAGAGATAGTGTTCGGTGGAAACAAAGAAGCAG
 CTGCATATGCAGAGATTGTGTGATGGGAGGCATACCAAGCAAGTTAAGAGGCAGCTTATT
 TCAACCGTTGGTTCTATTCTTCACTCATTTTTCTATTTCATCCCACTCGTTTTATCTTTAA
 AGTTTTTGTATATCAATTTCTTTGCCTCTTCTTCTAAACTAT**TAGGATCCCCCGGG**

그림 103. 타겟 유전자 10개에 대한 염기서열 결정

마. 강발현 벡터구축 및 형질전환

(1) 사용된 유전자 및 primer 정보

형질전환에 사용된 유전자의 exon과 intron의 구조를 보면 intron이 없는 유전자 2개, 1개의 intron을 가지고 있는 유전자 2개, 7개의 intron을 가지고 있는 유전자 한 개로 구성되어 있다 (그림 104). 이 5가지의 유전자에 대한 primer 정보는 아래 표 43과 같다.

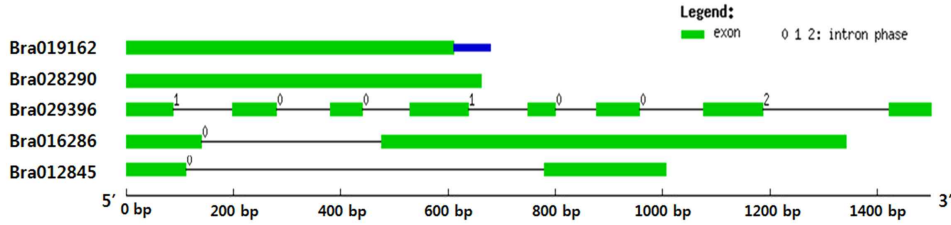


그림 104. 형질전환에 사용된 유전자의 exon-intron 구조 분석

표 43. 형질전환에 사용된 유전자의 Primer 정보

No.	Gene		Sequence (5' → 3')	Size (bp)
1	Bra019162	fw	GGTACCGCGCCGCATGACCTCATTTTCTACCTT	637
		rv	CCCGGGGATCCCTAATAACTCCAAAGGGACACG	
2	Bra028290	fw	GGTACCGCGCCGCATGGATCCATTTTACTACTTC	689
		rv	CCCGGGGATCCCTAAAACTCCAGAGTGACACGTC	
3	Bra029396	fw	GGTACCGCGCCGCATGGGCTGCTCTCTGTGCGAA	692
		rv	CCCGGGGATCCCTTAGAAATATAGGTTTTGCAACTCC	
4	Bra016286	fw	GGTACCGCGCCGCATGTCTGAACTTAGAGATAC	1,034
		rv	CCCGGGGATCCCTACTGAATCTCTCTTCTTC	
5	Bra012845	fw	GGTACCGCGCCGCATGCCTTGTCTTTATATTAC	365
		rv	CCCGGGGATCCCTATAGTTTAGAAGGAAGAG	

※ GGTACC: Kpn I, GCGCCGC: Not I, CCTAGG: BamH I, GGGCCC: Sma I

형질전환에 사용된 유전자를 가지고 애기장대와의 상동성을 blast를 통해 알아 본 결과, 저온 및 환경 스트레스에 저항성을 가지고 있는 유전자들인 CBF(C-REPEAT/DRE BINDING FACTOR), calcium ion binding protein, zinc finger domain-containing protein, MIF family protein 등이 검색되었다(표 44). 그리고 형질전환에 사용된 유전자들의 DNA 및 단백질 염기 서열 정보는 그림 105에 있다.

표 44. 애기장대와 형질전환에 사용된 배추 유전자의 blast 검색 결과

S. no.	<i>B. rapa</i> gene	<i>A. thaliana</i>	E. value	<i>A. T.</i> annotations
1	Bra019162	AT4G25470	2.00e-81	CBF2(C-REPEAT/DRE BINDING FACTOR 2), DREB1C, FTQ4, ATCBF2, DNA binding, transcription activator, transcription factor
2	Bra028290	AT5G51990	7.00e-81	CBF4(C-REPEAT-BINDING FACTOR 4), DREB1D, DNA binding, transcription activator, transcription factor
3	Bra029396	AT5G24270	4.00e-100	SOS3(SALT OVERLY SENSITIVE 3), CBL4, calcium ion binding, calcium-dependent protein serine/threonine phosphatase
4	Bra016286	AT1G26790	2.00e-100	Dof-type zinc finger domain-containing protein
5	Bra012845	AT3G51660	2.00e-56	macrophage migration inhibitory factor family protein, MIF family protein

>Bra019162

atgacctcattttctacctttttctgaaatggtgggctccgagtatgagtctccggttaca
M T S F S T F S E M L G S E Y E S P V T
ttaggcggagagattgtccgaagctggccgcgagctgtccgaagaaccagccggctcgt
L G G E Y C P K L A A S C P K K P A G R
aagaagtttcgggagacgcgtcaccagtttatagaggagttcgtctgagaaactcaggt
K K F R E T R H P V Y R G V R L R N S G
aaatgggtgtgtgaagtgagggagccaaacaagaaatccaggatttggctcgggtactttc
K W V C E V R E P N K K S R I W L G T F
ttaaccgcccagatcgcagctcgtgctcagcagctcgcgccatagccctccgcggcaaa
L T A E I A A R A H D V A A I A L R G K
tcagcttgtctcaattttgctgactcggcttggcggctccgtatcccggagacaacatgc
S A C L N F A D S A W R L R I P E T T C
cccaaggagattcagaaggcggctgctgaagccgccttggcttttcaggctgagataaat
P K E I Q K A A A E A A L A F Q A E I N
aatacgacgacggatcatggcctggacatggaggagacgatcgtggaggctattttcacg
N T T T D H G L D M E E T I V E A I F T
gaggaanaacaacgatgtgttttatatggacgaggagtcgatgtagagatgccggccttg
E E N N D V F Y M D E E S M L E M P A L
ttggctagtaggcggaaggaatgcttttgccgcccgcgtccgtacatttcggacataac
L A S M A E G M L L P P P S V H F G H N
tatgactttga
Y D F -

>Bra028290

atggatccattttacacttctttctcagactcgttccctctcgatccctgaccacagatct
M D P F Y T S F S D S F L S I P D H R S
ccagtttccgacagtagtgagtgttctccgaagctagcttcgagctgtccgaagaacga
P V S D S S E C S P K L A S S C P K K R
gcagggaggaagaagtttcgtgagacacgtcatccgatttacagaggagttcgtcagaga
A G R K K F R E T R H P I Y R G V R Q R
aactcagggaaaatgggtttgtgaagttagggagcctaacaagaagtgcaggatttggtta
N S G K W V C E V R E P N K K S R I W L
gggacttttccgaccgtcgaatggccgctcgtgctcagcagctcgcgcgttttagccctt
G T F P T V E M A A R A H D V A A L A L
cgtggccgctccgcttgtttaaatttcgcccagctcggcgtggcgtctccggattcctgag
R G R S A C L N F A D S A W R L R I P E
tctacttgcctaaagaatcagagagctgcggctgaagctgcaatggcgtttcagaag
S T C P K E I Q R A A A E A A M A F Q K
gagacggctacgactgagacgactatggttgaggcagtgaaaccggcggaggagacggtt
E T A T T E T T M V E A V K P A E E T V
gggcaaacgggtggggagaccacggaagagaacgggtgtgttttatatggatgaagaagcg
G Q T G G E T T E E N G V F Y M D E E A
ggttttgggatgccaaaggtttcttgagaatatggcggaggagatgctcttgcggccgccc
G F G M P R F L E N M A E E M L L P P P
gaacttggatggaatcataacgacttgaccggagatgctgacgtgtcactctggagtttt
E L G W N H N D L T G D A D V S L W S F
tag
-

>Bra029396

atggctgctctctgtcgaagaagaagaaaattgcaataccaccgcccgggatatgaggat
M G C S L S K K K K I A I P P P G Y E D
ccggaccttcttgcacccgttacgcccgtttacggcagcagaagttgaagttttgtacgaa
P D L L A S V T P F T A A E V E V L Y E
ttgttcaaaaaactaagcagctcaatcatcgaggacggctcttattcataaggaagagttt
L F K K L S S S I I E D G L I H K E E F

cagctggccttactcggaaacaggaaccggaacaatcttttcgctgatcggatatttgat
Q L A L L G N R N R N N L F A D R I F D
gtatttgatgtgaaacgtaatggagtgatcgagtttgggtaatttgttcggctcttaggt
V F D V K R N G V I E F G E F V R S L G
gtcttccatccaaatgcacctgtccatgaaaagatcaaatttgccttccaaattgtacgat
V F H P N A P V H E K I K F A F K L Y D
ctaaggcaaacctggattcatcgagcgcgagaagaattgaaagagatggtaatagcgccttctt
L R Q T G F I E R E E L K E M V I A L L
cacgaatctgaacttgttctttctgaagatatgatcgaagtaatgggtggataagggcgtt
H E S E L V L S E D M I E V M V D K A F
actgaaacagatcgcaacaatgacgggaaaattgatgtagatgagtggaagatcttgtg
T E T D R N N D G K I D V D E W K D L V
tccatgaaatccgtcgcctcatcaaaaacatgacttggccctatctaaaggacataaaggcg
S M N P S L I K N M T L P Y L K D I K A
acgtttccaagttttgtttatctagtgaaagacgaagaactggagttgcaaacctatat
T F P S F V L S S E D E E L E L Q N L Y
ttctaa
F -

>Bra016286

atgtctgaacttagagatactccgataaaaattggttgggtggacaattacatcttctctg
M S E L R D T P I K L F G W T I T S S L
tctcctgttcttaaagattcttcagatcacagcatggagtttcttctcctcgtcttctttt
S P V L K D S S D H S M E Y S S S S S F
ccctcacttggactacacatgatgaacaaccaatcagctactgataacagtgaaacaagac
P S L G L H M M N N Q S A T D N S E Q D
attacaagtcttaacatatcatctgatcttaacaaagagtcaaaagaaacatctgagaac
I T S L N I S S D L N K E S K E T S E N
agctacgaccaacacagcgcgagatcacaacaacaactacgtcgcgaagagaaaacaactgaa
S Y D Q H S E I T T T T T S E E K T T E
ctgaagaaaccagacaagattcttccgtgtccttagatgcaacagcggagacaccaagttc
L K K P D K I L P C P R C N S G D T K F
tgttactacaacaactacaacgttagccagccacgtcacttctgcagacactgccagagg
C Y Y N N Y N V S Q P R H F C R H C Q R
tattggacttccgggtggatccatgaggagcgtcccgggtcgggttcaggccgcgcgaagaac
Y W T S G G S M R S V P V G S G R R K N
aaaggatgggttccacagacaattacaagcacatcagttccgagaataacgattataat
K G W V S T D N Y K H I S S E N N D Y N
agctcctcgcactaagattctcagctttgaatcttccggactcttgtatttagtgagaaaggt
S S S T K I L S F E S S D S C I S E K G
aagcatcaaccaagcgattcaaacataaccaaataattctgtttctcaagatttcaagaag
K H Q P S D S N I T K Y S V S Q D F K K
ttccacgggttcttctcgtgcaagtaacatcctctgtttcgcctccttggccttatacat
F H G F L P V Q V T S S V S P P W P Y H
cagtaccctctaaaccctagtttctaccacatacccgtctactggggctacacgggtgcc
Q Y P L N P S F Y H I P V Y W G Y T V P
gtttcgtctactctagagacttccacatgtctaggaaaaaggacaagagacgagcttcac
V S S T L E T S T C L G K R T R D E L H
acgaaaatgttagagagcaaagacacttctgtgagagcaagattggattcaccctctgag
T K M L E S K D T S V R A R L D S P S E
agtattaaatgatgacgtgagcgtagaagacagagcaactcagcaaaagagcaacaacaggg
S I N D D V S V E D R A T Q Q R A T T G
agagcatgtaacgtcaaacatacactaagaagaagagagattcagtag
R A C N V K H T L R R R E I Q -

>Bra012845

atgccttgtctttatattacaactaacgtcaatttggacggcttcaaacccgatccgcttc

M P C L Y I T T N V N L D G F K T D P F
tactcgggaagtcaccaaagccgctcgcttctatcgttggacggcctgagaacttgggtgatg
Y S E V T K A V A S I V G R P E N L V M
gtgggtgttgaaggggtcaatagagatagtggttcgggtggaacaaagaagcagctgcatat
V V L K G S I E I V F G G N K E A A A Y
gcagagattgtgtcgatgggagggcatcaccaagcaagttaagagggcagcttatttcaacc
A E I V S M G G I T K Q V K R Q L I S T
gttggttctattcttcacactcatttttctattcatcccactcgttttatctttaaagtt
V G S I L H T H F S I H P T R F I F K V
tttgatatcaattctttgacctcttctctaaactatag
F D I N S L P L P S K L -

그림 105. 형질전환에 사용된 유전자의 DNA 및 단백질 염기서열 정보

(2) 방법

식물 종자를 50ml tube에 약 4-5ml넣고, 30-40ml의 1.2% sodium hypochlorite를 넣은 후 30분간 실온에서 강하게 흔들어 종자를 소독한다. 30-40ml의 멸균수로 5회 종자를 세척한다. 세척한 종자를 필터 페이퍼에 펼쳐 놓아 살짝 말리고 종자밭아 배지에 10립 씩 종자를 치상 하여, 4일간 실온에서 암 배양을 한다. 고체 LB(with antibiotic) 배지에 형질전환용 agrobacterium을 streaking하여 28°C에서 2일간 배양한 후 single colony를 취하여 10ml 액체 LB(with antibiotic) 배지에서 250rpm에 28°C에서 36시간 동안 배양한다. 현탁 배양한 agrobacterium을 10분간 실온에서 5,500xg로 원심분리하여 MS minimal organic liquid (without antibiotic) 배지를 이용하여 OD₆₅₀값을 0.05로 조정한다. 4일간 암 배양한 식물체에서 자엽의 1-2mm 아래 부분을 예리한 메스로 절단한 후 자엽 절편을 agrobacterium suspension(0.05값으로 조정된)에 30초 동안 담구어 감염시켜 25°C의 dim light(약 660 lux)에서 2일간 배양한다. 2일 후에 자엽 절편을 캘러스 유도 배지에 옮겨 7일간 25°C의 dim light에서 배양한다. 캘러스가 유도되면 슈트 유도 배지에 옮겨 25°C의 광(16h, ~3,300 lux)에서 2주간 배양 후 2주간 한 번 더 계대배양하고 슈트 성장배지에 옮겨 다시 또 2~4주간 배양한다. 이 후 형질전환체 선발을 위해 캘러스 부분을 완전히 제거하고 형질전환체 선발 배지에 5~6 개체씩 옮겨 25°C의 dim light에서 2(~3)주간 배양한다. 선발된 식물체들은 뿌리 유도 배지에 1~2개체씩 옮겨 25°C의 광(16h, ~3,300 lux)에서 뿌리가 나올 때까지 약 2주간 배양한다. 뿌리가 잘 뻗어 나온 식물체는 뿌리가 상하지 않도록 뽑아 미지근한 물로 배지를 제거한 후 토양으로 옮겨 1주일 간 비닐봉지를 씌워 습도 조건을 유지시키면서 순화시킨다.

(3) 형질전환체 육성을 위한 벡터

형질전환체 육성을 위한 벡터로는 pCAMBIA에서 향상시킨 모벡터에 유전자의 강발현을 위한 35S 프로모터를 가지고 있으며, 위의 4가지 유전자(Bra019162, Bra028290, Bra029396, Bra016286, Bra012845)를 삽입하였으며 형질전환식물체 선발 및 제초제 저항성인 bar 유전자를 포함하고 있다.

바. 형질전환체 T0 분석 및 T1 종자 수확

2차년도에서 구축한 내한성 관련 유전자(Bra019162, Bra028290, Bra029396, Bra016286, Bra012845)가 들어간 벡터에 대하여 배추에 형질전환을 수행하여 3개의 유전자(Bra029396,

Bra016286, Bra012845)에서는 형질전환체를 획득하지 못하였고, 나머지 2개의 유전자 (Bra019162, Bra028290)에서는 형질전환체를 획득하여 삽입된 유전자의 존재 여부를 확인하였다. Bra019162 유전자를 도입하여 얻은 총 32개의 예상 형질전환 식물체로부터 7개체에서 삽입 유전자가 확인되었다(그림 106). 또한 Bra028290 유전자를 도입한 총 16개의 예상 형질전환 식물체 중에서 2개의 개체에서 삽입된 유전자가 존재함을 확인하였다(그림 107).

현재 Bra019162 유전자를 도입한 7개의 형질전환체와 Bra028290 유전자를 도입한 2개의 형질전환 식물체(T0)에서 올해 T1 종자를 수확하였다.

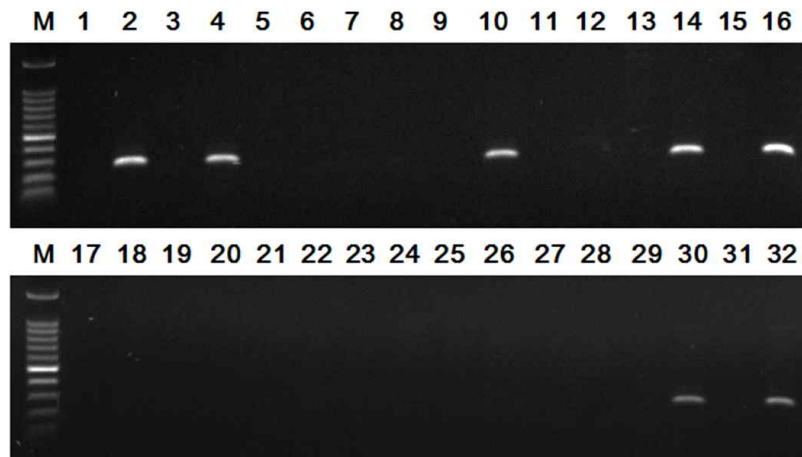


그림 106. 형질전환 식물체의 Bra019162 유전자 삽입 여부 확인



그림 107. 형질전환 식물체의 Bra028290 유전자 삽입 여부 확인

사. 형질전환체의 세대진전 및 homo event화

저온에 내한성을 보이는 *1-sst* 유전자를 사용해 형질전환체를 작성하였는데, *1-sst* 유전자는 식물체내에서 fuctan이 합성되는 과정에 필요한 효소이다. 이 효소에 의해 fuctan이 합성되면 생성된 fuctan은 식물의 여러 조직에 축적되어 다양한 스트레스에 저항성을 나타냄으로서 내한성을 증진시킬 수 있다. 현재 *1-sst* 유전자를 *Brassica carinata* 등의 배추과 작물 형질전환하여, 형질전환체가 삽입된 T1을 T2세대에 진전 시켰다. 각각의 형질전환체의 T2 종자를 이용해 삽입 유전자의 copy 수를 확인하였으며, 3:1로 분리된 T2 식물체를 T3세대로 진전시키고 있는 중이다. 차후 연구는 homo화된 식물체를 이용해 내한성 검정을 수행할 예정이다. Homo화된 형질전환체의 양적·질적 형질을 평가하기 위해 저온 처리 후 식물체 앞에서의 이온리키지 측정 및 4°C 저온 처리 후의 *1-sst* 유전자의 발현량을 확인할 예정이며, SCI 논문에 투고할 계획이다.

8. 유용 유전자원 수집 및 평가

월동형 적색결구 배추 품종을 개발하기 위해 2011년 12월부터 2016년 12월까지 연구를 진행하였다. 배추 소비시장은 기능성이 강화된 배추, 내병성 배추, 생체 및 샐러드용 배추 등 고부가 가치 시장으로 변하고 있다. 배추 시장의 변화에 따라 당연구소에서는 연구개발 목표에 적합한 적색 및 황금색의 유색배추(국내 및 유럽), 안토시아닌 및 베타카로틴이 고 함유된 배추(미국 및 유럽), 무모용 및 맵지 않는 배추(미국 및 유럽), 소형이며 샐러드용인 배추(중국 및 동남아), 월동배추, 뿌리혹병에 저항성인 배추(국내 및 중국) 등의 육성재료를 확보하기 위하여 아시아, 유럽, 중국 등에서 많이 재배되는 선도품종 및 인기품종을 2012년(1년차) 89점, 2013년(2년차) 30점, 2014년(3년차) 29점, 2015년(4년차) 35점, 2016년(5년차) 30점, 총 213점을 수집하였다(그림 108-117, 표 46).



108. 수집 유전자원의 특성검정(2012년)



그림 109. 수집 유전자원의 특성검정(2013년)



110. 수집 유전자원, 신규 F1조합, 및 계통의 특성검정(2014년)



그림 111. 수집 유전자원, 신규 F1조합, 및 계통의 특성검정(2015년)



그림 112. 수집 유전자원, 신규 F1조합, 및 계통의 특성검정(2016년)

정식된 유전자원은 포장검정 국립종자원의 “배추 특성조사요령” 및 농촌진흥청 농업 유전자원정보센터의 “식물특성조사 기준”에 준하여 초장, 엽장, 엽폭, 중특장, 중특폭, 엽색, 색의 정도, 외엽수, 결구력, 모용 등의 원예적 형질을 조사하였다(표 46).

1차년도(2012년)에는 수집된 유전자원의 원예적 형질을 조사한 결과, 초장의 분포는 $286 \pm 59\text{mm}$ 이었고, 최대 초장은 592mm이었으며, 최저 초장은 86mm이었다. 또한 엽장은 $267 \pm 58\text{mm}$ 이었고, 엽폭은 $186 \pm 55\text{mm}$ 이었으며, 중특장은 $110 \pm 32\text{mm}$, 중특폭은 $25 \pm 6\text{mm}$ 이었다. 수집 및 기보유 유전자원은 다양한 유형으로 외엽이 10매 이상인 유전자원 31품종, 결구력이 강한 유전자원 38품종, 유럽 수출용 및 남방계 배추 소재로 활용 가능한 유전자원 25품종, 적색 품종으로 육성하는데 활용 가능한 소재 32품종 등을 포함하여 품종 육종 목표에 맞추어 선발하였다(표 46, 그림 113).

대비품종은 일반배추에 비해 결구된 속의 엽까지 붉은색(안토시아닌) 발현이 우수한 “빨간 배추(No90)”와 잎이 적색이고 황산화 성분인 수용성 안토시아닌을 다량 함유한 아시아종묘의 “신흥쌈(No91)” 품종을 대비종으로 조사하였다. No90은 결구 속도가 늦고 구가 다소 작은 편이지만 결구된 속의 엽까지 붉은색발현이 우수한 특성을 보였고, No91은 황산화 성분 수용성 안토시아닌을 다량 함유하고 있고 겨울 재배 시 적색 발현이 뛰어나며, 잎은 타원형으로 청경채와 배추의 맛을 동시에 느낄 수 있는 품종으로 결구가 늦어 쌈용으로 이용하기에 상품성이 우수한 품종으로 보였다. 주요 선발 품종의 특성은 아래와 같다.



그림 113. 선발한 우수 적색 유전자원(2012년)

No1은 내한성에 강하고, 겉잎이 연한 다홍색을 가져 상품성이 좋을 것으로 생각되어 선발하였다. No2은 내한성에 강하고 겉잎이 진한 적색이며 초세가 좋고 뿌리가 튼튼해서 생육후기까지 왕성하게 성장하여 선발하였다. No36은 내한성이 뛰어나 생육후기 저온 하에서도 결구력이 우수하였고 월동재배가 가능한 다목적 품종으로 판단되며, 겉잎은 진한 녹색이고 속잎은

노란색이며 엽수가 많고 수분함량이 적어 내한성 배추를 육성하는데 매우 중요한 유전자원으로 판단되었다. No39는 겉잎은 중간 녹색이고 속이 노란 월동형 배추로서, 구는 H형으로 포장 및 출하하기에 수월하고 맛이 좋으며 김장배추 겸용으로 사용할 수 있을 것으로 생각되었다. 또한 저온 결구력이 뛰어나고 만추대성으로 월동형 결구배추 품종 육성 소재로 활용할 예정이다. No44은 내한성이 강하고 추대가 늦으며 재포 능력이 우수한 만생계 김장배추였다. No55는 내한성, 만추대성 및 재포성이 뛰어난 겨울 수확용 중만생종으로 내한성 육성 소재로 활용할 계획이다. No60은 내한성이 강하고 저장성이 우수한 만생계 배추이며 뿌리혹병에 강한 월동배추로 뿌리혹병 저항성 품종을 육성하는데 중요한 유전자원이 될 것으로 판단되었다. No74 ~ No89는 배추 아종의 품종이었고, No84는 키가 작고 녹색이며 저온신장성이 우수해 동절기에도 재배가 안정적 이었다. No85는 식물체의 크기가 작고 초형은 입성이며, 줄기가 두껍고 연녹색이었다. No89는 적색이 뚜렷하고 키가 작은 청경채였다. 육종 목표에 부합한 특성을 가진 63계통 74개체를 최종적으로 선발하였다.

2차년도(2013)에는 수집된 유전자원의 원예적 형질을 조사한 결과, 초장의 분포는 226~380 mm이었고, 엽장은 421~546 mm, 엽폭은 236~384 mm이었으며, 중특장은 128~440 mm, 중특폭은 52~71 mm이었다. 수집 유전자원은 다양한 유형으로 외엽이 10매 이상인 유전자원 23품종, 속기가 빠르거나 늦은 품종이 각각 1품종씩, 유럽 수출용으로 소재활용이 가능한 무모형 2품종, 적색 배추개발용으로 소재활용이 가능한 엽색이 자색인 유전자원이 20품종, 엽색이 진한자색인 유전자원이 9품종으로 조사되었으며 각각 품종 육성 목표에 맞추어 선발하였다(표 46, 그림 114). 대비품종은 일반배추에 비해 붉은색(안토시아닌) 발현이 우수한 아시아종묘의 “진홍쌈(No.31)”과 잎이 적색이고 황산화 성분인 수용성 안토시아닌을 다량 함유한 아시아종묘의 “신흥쌈(No91)” 품종을 대비종으로 조사하였다. No.2와 No.20은 잎색이 녹색이지만 각각 크고 결구력이 좋거나 조생종등의 뚜렷한 특징이 있어 향후 월동형 적색결구배추개발의 유전자원으로 활용성이 뛰어날 것으로 여겨진다. No.24는 진한자색에 외엽수가 많고 속기가 적당하며 모용이 없는 특징이 있어 샐러드용으로 적합하여 수출용 품종개발에 사용될 수 있을 것으로 여겨진다.



그림 114. 선발한 우수 적색 유전자원(2013년)

3차년도(2014)에는 수집된 유전자원의 원예적 형질을 조사한 결과, 초장의 분포는 239~599 mm이었고, 엽장은 302~580 mm, 엽폭은 206~340 mm이었으며, 중륵장은 202~340 mm, 중륵폭은 40~73 mm이었다. 수집 유전자원은 다양한 유형으로 외엽이 10매 이상인 유전자원 24품종, 숙기가 빠른 품종 1품종, 늦은품종 3품종, 유럽 수출용으로 소재활용이 가능한 무모형 2품종, 적색 배추개발용으로 소재활용이 가능한 엽색이 자색인 유전자원이 1품종, 적색인 유전자원이 2품종으로 조사되었으며 각각 품종 육성 목표에 맞추어 선발하였다(표 46, 그림 115). 대비품종은 일반배추에 비해 붉은색(안토시아닌) 발현이 우수한 아시아종묘의 "진홍쌈(No.1)" 품종을 대비종으로 조사하였다. No.2는 잎의 앞뒷면, 중륵이 모두 진한 붉은색이며 모용이 없으며 반결구형의 독특한 유전자원으로써 앞으로 많은 활용이 기대되는 유전자원이다. No. 3은 진한 자색의 포합형으로 결구되는 품종으로 자색의 결구배추로 활용될 것으로 여겨지고 있다. No. 4는 숙기가 빠르며 결구가 강하며 모용이 없는 샐러드 및 생식용으로 적합하여 선발하였다. No.18은 만생계이면서 잎색이 진한녹색의 월동배추형으로 월동배추용 유전자원으로 선발하였다. No.28은 붉은색에 포합형 결구배추로 숙기가 적당하여 유전자원으로 활용가능 할 것으로 여겨진다. No. 29는 적당한 숙기에 유모형이며 속이 노란색으로 가을배추 타입으로 선발하였다.



그림 115. 선발한 우수 유전자원(2014년)

4차년도(2015)에는 수집된 유전자원 35품종의 원예적 형질을 조사한 결과, 초장의 분포는 286~470mm이었고, 엽장은 347~500mm, 엽폭은 227~410mm이었으며, 중륵장은 120~255mm, 중륵폭은 46~80 mm이었다. 수집 유전자원의 다양한 원예적 특성으로 결구형이 포피가 12품종, 포합이 15품종, 반결구가 8품종으로 조사되었다. 또 외엽이 10매 이상인 유전자원 34품종, 숙기가 빠른 품종 13품종, 늦은품종 3품종, 유럽 수출용으로 소재활용이 가능한 무모형 3품종, 적색 배추개발용으로 소재활용이 가능한 엽색이 진한적색인 유전자원이 8품종으로 조사

되었으며 이 유전자원들은 각각 품종 육성 목표에 맞추어 선발하였다(표 46, 그림 116). 대비 품종은 일반배추에 비해 붉은색(안토시아닌) 발현이 우수한 아시아종묘의 “진홍쌈” 품종을 대비종으로 조사하였다. 진홍쌈은 잎이 진한 자색으로 저온 및 고온에서도 적색발현이 뛰어나고, 결구가 늦어 쌈용으로 적당하며, 어린잎은 샐러드와 어린잎 채소로도 이용가능하다. No.6는 초장의 높이가 470mm로 가장 길고 외엽색은 진한녹색이며 결구내엽은 황색으로 모양이 우수하고 상품성 모두 만족하는 유전자원이다. No.15는 외엽색과 내엽색이 모두 붉은색이고, 조생종으로 결구가 빠르고 포합형태의 유전자원으로 활용성이 높다. No.20는 외엽의 길이가 500mm로 가장 길고 외엽색은 연한 녹색이며 내엽색은 노란색으로 결구력이 뛰어나며 단단한 포피형의 배추 유전자원이다. 엽색이 녹색인 유전자원은 No.1~No.12, No.16~No.18, No.20~22, No.26~No.34 으로 총 27품종의 유전자원을 확보하였고, 엽색이 자색인 유전자원은 No.13~No.15, No.19, No.23~No.25, No.35으로 총 8품종의 유전자원으로써 품종 육성에 활용이 기대되는 유전자원이다. No.34는 외엽색이 진한 녹색이고 내엽색이 연한노랑색으로 특이하며, 결구력이 뛰어나고 배추의 품질을 결정하는 코어가 짧아 조생종 배추 품종 육성에 중요한 유전자원이라고 할 수 있다. No. 35는 외엽색은 진한자색이고, 중륵이 두꺼우며, 모용이 없어 무모용 유전자원으로 활용할 계획이다.

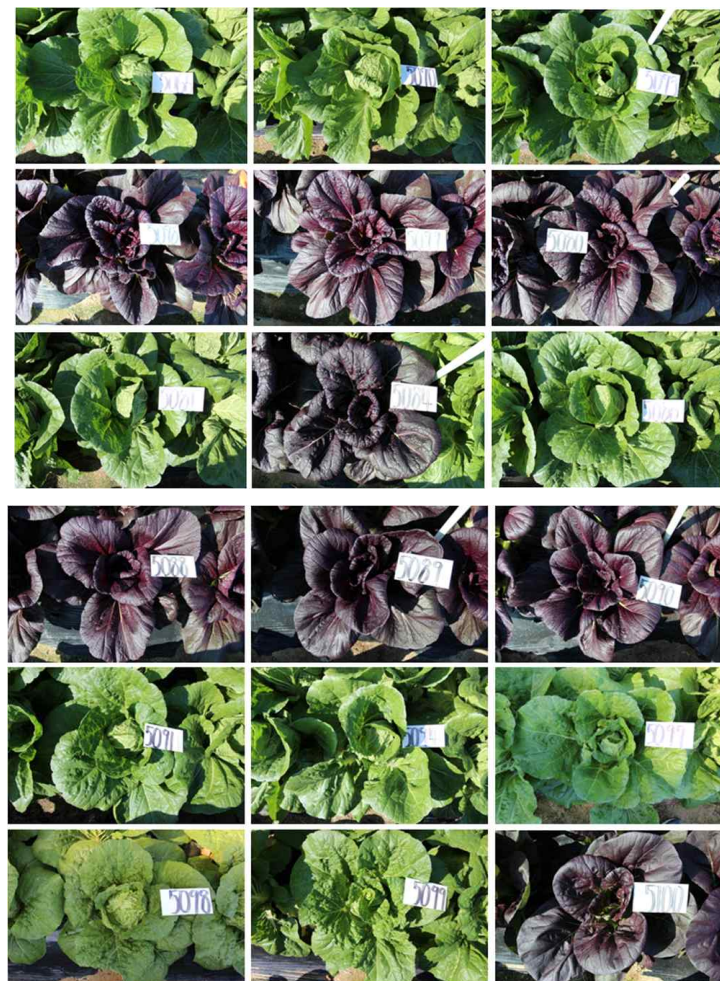


그림 116. 선발한 우수 유전자원(2015년)

5차년도(2016)에는 수집된 유전자원 30품종의 원예적 형질을 조사한 결과, 초장의 분포는 310~550mm이었고, 엽장은 348~584mm, 엽폭은 236~390mm이었으며, 중륵장은 145~285mm, 중륵폭은 48~82 mm이었다. 수집 유전자원의 다양한 원예적 특성으로 결구형이 포피가 10품종, 포합이 18품종, 반결구가 2품종으로 조사되었다. 또 외엽이 3매는 18품종, 4매는 8품종, 5매는 4품종 이었고, 숙기가 빠른 품종 12품종, 늦은품종 3품종, 중간품종 15품종이었다. 유럽 수출용으로 소재활용이 가능한 무모형 3품종 이었으며, 이 유전자원들은 각각 품종 육성 목표에 맞추어 선발하였다(표 45, 그림 117).

이와 같이 1-5차년도 연구기간동안 획득한 유전자원은 기능성테스트, 뿌리혹병 내병성 테스트, 내한성테스트, 월동테스트 등을 수행하여 특성에 맞게 선별한 후 연구기간동안 세대진전 및 소포자배양을 수행하여 계통화를 진행하였으며 이를 적색 결구배추의 품종 육성을 위한 소재로 활용하였으며, 향후 추가적으로 품종개발을 위해 활용할 계획이다.



그림 117. 선발한 우수자원 (2016년)

표 45. 수집 유전자원 특성조사

년도	BN	초장 (mm)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	중륵장 (mm)	중륵폭 (mm)	엽색 a	정도 b	외엽수 ea	결구력 c	모용 d
2012	1356	289	279	207	126	23	2	강	9	강	유
	1363	314	302	231	132	22	2	약	4	약	유
	1369	343	328	244	139	18	2	강	4	약	유
	1371	347	327	226	134	33	2	약	5	강	유

	1378	301	291	204	130	26	2	강	4	약	유
	1380	314	304	214	124	19	2	강	10	강	유
	1390	268	262	154	93	25	2	강	4	약	유
	1390	296	285	142	114	26	2	약	5	강	유
	1398	311	297	234	114	26	2	약	8	약	유
	2416	302	294	218	118	26	2	약	13	강	유
	2419	343	332	227	133	29	2	강	11	강	유
	2429	335	323	249	122	33	2	강	8	약	유
	2436	280	223	157	160	15	3	강	10	약	유
	2439	301	200	167	120	26	3	강	5	약	유
	2439	592	569	426	218	41	2	약	8	강	유
	2440	242	231	132	93	19	1	약	7	약	유
	2448	377	347	172	160	24	2	강	8	약	유
	4510	315	289	205	112	24	2	강	8	약	유
	4512	322	295	176	125	17	2	강	9	약	유
	4514	343	323	228	154	31	2	강	10	강	유
	4518	345	326	220	147	25	2	약	10	중	유
	4521	265	244	178	109	28	1	약	8	중	유
	4523	294	279	226	103	27	2	약	7	약	유
	4528	282	252	203	110	27	2	약	10	강	유
	4529	228	207	154	68	19	1	강	5	약	무
	4534	309	284	229	102	31	2	강	10	약	유
	4539	308	287	215	103	27	2	약	9	약	유
	4540	233	218	147	76	21	1	강	9	약	유
	4542	335	312	253	136	28	2	강	8	약	유
	4546	158	144	94	54	11	2	약	8	중	유
	4549	325	298	192	138	21	2	약	7	중	무
	4550	325	315	217	135	21	2	강	4	중	유
	4556	317	297	214	119	24	2	약	4	중	유
	4559	271	260	192	110	25	3	약	5	중	유
	5660	274	264	201	108	23	2	약	4	약	유
	5664	285	255	228	86	27	3	강	10	강	유
	5668	294	257	210	82	31	3	약	10	강	유
	5669	247	234	206	76	26	3	약	5	약	유
	5670	286	274	195	115	22	3	약	9	강	유
	5676	257	243	203	88	20	3	약	4	약	유
	5679	276	264	194	115	23	3	약	4	약	유
	5680	260	253	208	88	26	3	강	5	강	유
	5689	268	257	211	88	26	3	약	5	중	유
	5692	298	180	259	122	28	3	강	10	강	유

	5694	316	278	266	104	35	3	강	13	강	유
	5698	182	164	113	50	15	3	약	6	중	무
	6700	227	214	72	78	25	3	약	8	중	무
	6706	281	276	194	112	28	3	약	5	중	유
	6716	313	307	202	123	27	3	강	11	강	유
	6719	297	271	194	112	30	3	강	10	강	유
	6720	309	279	224	104	30	3	약	12	강	유
	6736	307	285	126	97	26	3	강	12	강	유
	6738	336	324	248	105	40	3	강	13	강	유
	6745	298	282	211	120	32	3	강	10	강	유
	6748	319	296	219	120	32	3	강	5	강	무
	6750	280	264	210	103	28	3	약	5	중	유
	6755	265	245	210	76	28	3	약	7	중	유
	6761	320	310	220	142	35	3	강	12	강	유
	6762	266	237	240	94	30	3	강	4	중	유
	6765	296	288	160	133	26	3	강	10	강	유
	6768	284	278	272	68	35	3	약	8	강	유
	6769	290	278	207	103	29	3	약	5	중	무
	6770	303	295	222	122	28	3	강	12	강	유
	6772	307	297	202	99	26	3	강	11	강	유
	6773	350	340	230	145	34	3	강	3	중	무
	6775	258	245	203	76	29	3	약	8	약	유
	6778	308	280	214	104	34	3	약	13	강	유
	6779	305	299	203	114	28	3	강	11	강	유
	6780	215	207	70	68	20	3	약	8	약	무
	6782	298	286	200	98	26	3	약	10	강	유
	6783	252	244	189	82	24	3	강	5	약	유
	6785	317	307	208	127	34	3	강	7	약	무
	6788	278	274	189	92	30	3	약	4	약	유
	6789	280	273	132	139	17	3	강	5	약	무
	6790	265	251	120	143	18	3	강	9	강	무
	6791	297	284	142	160	16	3	강	4	약	무
	6792	306	298	126	158	13	3	강	4	약	무
	6793	327	299	120	159	11	1	강	5	강	무
	6795	204	190	87	87	13	1	강	5	중	무
	6796	281	264	91	148	13	2	강	10	강	무
	6798	323	190	120	152	12	1	강	13	강	무
	6799	263	249	100	52	33	3	강	3	중	무
	6800	170	150	117	48	30	3	강	8	약	무
	6802	142	138	90	54	22	3	강	5	중	무

	6804	195	158	108	43	23	3	강	11	강	무
	6805	226	205	142	82	19	3	강	5	중	무
	6807	86	177	111	60	26	3	강	11	강	무
	6808	306	274	140	132	16	2	강	10	강	무
	6810	175	142	82	60	17	2	강	12	강	무
	6921	241	223	157	176	15	1	강	10	강	유
	6922	301	284	167	110	26	1	강	5	강	유
2013	5001	226	458	236	350	56	3	만	9	-	유
	5002	380	546	342	389	63	2	중	8	포피	유
	5003	350	509	325	346	39	3	중	10	포피	무
	5004	340	493	302	378	49	3	중	10	포피	유
	5005	291	489	331	312	52	3	중	15	포피	유
	5006	303	490	321	337	63	3	중	17	포피	유
	5007	246	597	384	440	59	3	중	19	포합	유
	5008	314	628	371	436	56	3	중	10	포합	유
	5009	253	480	345	358	61	3	중	12	포피	유
	5010	247	535	348	337	69	3	중	12	포피	유
	5011	260	437	319	237	64	3	중	9	포피	유
	5012	244	467	303	264	61	3	중	10	포피	유
	5013	226	481	327	304	64	3	중	12	포피	유
	5014	266	468	336	291	66	3	중	13	포합	유
	5015	271	500	331	277	60	3	중	12	포합	유
	5016	307	511	345	296	67	3	중	14	포합	유
	5017	254	485	328	296	67	3	중	12	포합	유
	5018	264	426	294	258	63	3	중	19	포합	유
	5019	264	434	328	254	59	3	중	10	포합	유
	5020	217	421	347	212	71	1	조	8	포피	유
	5021	278	475	295	258	63	4	중	8	포합	유
	5022	303	399	272	277	56	4	중	12	포합	유
	5023	268	459	303	271	60	4	중	18	포합	유
	5024	264	448	267	249	63	4	중	19	포합	무
	5025	218	414	274	128	61	4	중	10	포합	유
	5026	257	453	290	220	64	4	중	10	포피	유
	5027	223	405	280	224	65	4	중	12	포합	유
	5028	231	429	305	277	64	4	중	12	포합	유
	5029	250	454	301	311	61	3	중	10	포합	유
	5030	280	472	288	308	68	4	중	12	포합	유
	진흥쌈	266	425	287	278	58	4	중	20	포합	유
	진흥쌈	272	517	319	307	70	3	중	10	포합	유
2014	5001	405	492	314	243	57	4	중	18	반결구	유

	5006	402	512	314	288	59	3	중	16	반결구	무
	5050	340	431	318	246	63	2	조	10	포함	유
	5060	337	354	206	222	55	1	중	16	포함	무
	5070	291	302	212	202	52	1	중	12	포함	유
	5071	239	495	300	300	64	1	중	12	반포	유
	5072	350	424	282	250	40	1	중	12	포함	유
	5073	330	336	273	264	51	1	중	14	포함	유
	5074	374	493	260	311	55	1	중	12	반포	유
	5075	404	492	300	324	54	1	중	14	반피	유
	5076	383	492	299	246	53	1	중	14	반피	유
	5077	364	475	296	233	50	1	중	12	반피	유
	5078	332	447	225	313	71	1	중	14	반피	유
	5079	460	580	312	302	54	1	중	14	반합	유
	5080	405	530	297	355	60	1	중	12	반합	유
	5081	356	405	216	262	54	1	중	10	반합	유
	5082	430	460	302	226	54	1	중	12	반합	유
	5083	396	475	288	300	54	1	만	10	포함	유
	5084	355	456	235	305	53	1	중	10	반합	유
	5085	300	446	311	251	73	1	중	10	반합	유
	5086	280	410	260	264	59	1	중	8	포함	유
	5087	264	426	270	255	62	1	중	8	반합	유
	5088	348	448	340	310	52	1	중	10	포함	유
	5089	340	457	328	280	64	1	중	8	포함	유
	5090	355	453	318	305	60	1	중	12	포함	유
	5091	599	543	340	330	58	1	만	10	포함	유
	5092	386	402	196	340	71	1	만	12	포함	유
	5108	349	460	290	308	64	3	중	14	포함	유
	5111	350	454	240	297	57	1	중	8	포함	유
2015	5066	414	452	280	212	63	1	조	10	포피	유
	5067	436	471	355	210	63	1	조	12	포피	유
	5068	428	475	320	190	67	1	중	10	포함	유
	5069	449	472	328	255	72	1	중	12	포피	유
	5070	430	463	310	200	65	1	조	12	포피	유
	5071	470	492	410	220	80	1	조	12	포피	유
	5072	440	450	290	210	70	1	중	12	포함	유
	5073	390	425	260	192	60	1	중	14	포함	유
	5074	402	430	265	190	62	1	조	18	포함	유
	5075	420	430	286	182	72	1	중	18	포함	유
	5076	420	478	336	220	68	1	중	16	포함	유
	5077	400	426	302	178	64	1	조	18	포함	유

	5078	423	445	320	198	74	3	중	12	반결구	유
	5079	340	446	306	210	63	3	만	12	반결구	유
	5080	450	480	310	200	67	3	조	10	반결구	유
	5081	390	400	295	164	51	1	중	10	포피	유
	5082	345	437	325	165	68	1	중	12	포합	유
	5083	410	455	352	181	65	1	중	12	포합	유
	5084	353	410	323	175	60	3	조	10	반결구	유
	5085	419	500	400	190	70	1	조	12	포피	유
	5086	410	440	275	200	55	1	중	14	포피	유
	5087	415	440	300	198	50	1	중	10	포합	유
	5088	423	390	278	150	50	3	중	12	반결구	무
	5089	419	405	270	156	54	3	중	14	반결구	유
	5090	395	404	253	170	48	3	만	14	반결구	무
	5091	410	456	380	178	77	1	중	14	포피	유
	5092	440	420	275	166	57	1	중	20	포합	유
	5093	378	422	290	194	62	1	조	18	포합	유
	5094	381	413	310	172	57	1	중	14	포피	유
	5095	390	410	287	172	61	1	조	16	포합	유
	5096	328	347	242	180	50	1	중	18	포합	유
	5097	358	412	320	158	57	1	중	12	포합	유
	5098	286	353	298	120	53	1	조	10	포피	유
	5099	342	380	300	147	60	1	조	8	포피	유
	5100	390	403	227	180	46	3	만	16	반결구	무
2016	5234	430	500	370	236	70	1	중	4	반결구	유
	5235	510	584	360	280	70	1	중	3	포피	유
	5236	500	548	350	270	60	1	중	5	포피	유
	5237	530	532	380	285	82	1	조	4	포합	유
	5238	360	402	298	180	58	1	중	5	포합	유
	5239	390	470	321	235	70	1	조	3	포합	유
	5240	425	460	310	210	60	1	조	3	포합	유
	5241	420	455	320	180	64	1	중	5	포피	유
	5242	405	463	357	215	48	1	조	4	포합	유
	5243	340	365	250	265	70	1	만	3	포합	유
	5244	390	424	270	205	66	1	만	5	포합	유
	5245	340	390	265	170	65	1	조	4	반결구	유
	5246	360	452	323	200	67	1	중	4	포합	유
	5247	330	385	250	180	60	1	중	4	포합	유
	5248	310	348	290	180	70	1	조	3	포합	무
	5249	365	445	334	220	65	1	중	3	포피	유
	5250	330	420	340	180	52	1	중	3	포피	무
	5251	380	465	390	190	60	1	조	3	포합	유
	5252	430	480	310	235	60	1	중	3	포합	유
	5253	340	418	290	180	60	1	만	3	포피	유
	5263	320	365	270	145	60	1	조	3	포피	유
	5264	440	455	305	205	65	1	중	3	포합	유
	5265	350	465	380	180	72	1	조	3	포합	유

	5266	310	367	270	180	64	1	중	3	포함	무
	5267	490	450	285	185	50	1	중	4	포피	유
	5268	400	450	320	210	72	1	조	3	포함	유
	5269	550	475	280	280	70	1	조	4	포함	유
	5270	345	410	290	200	68	1	중	3	포함	유
	5271	395	480	350	210	65	1	조	3	포피	유
	5272	365	400	236	175	66	1	중	3	포피	유

9. 우수 계통 육성

가. 내한성 검정 및 우수계통, 조합 선발

내한성 배추는 중국의 남부 연해지역과 우리나라 해남, 진도, 무안, 신안, 제주에서 배추의 주 소비시기인 12월부터 이듬해 2월까지 동절기 추위에 강하고 포장저장성 및 결구력이 우수한 품종에 대한 선호도가 높아 이를 위한 품종 개발이 요구 된다. 따라서 내한성 검정은 전남 및 제주도지역에서 동절기 일사량이 적고, 일조시간도 짧으며 포장저장성이 우수한 품종을 선발하였다. 해남은 전반적으로 1월부터 4월까지 지형적인 영향에 의한 강설 현상이 자주 발생하며 겨울철 평균기온이 3~4℃이다. 이에 전남 해남의 남부육종연구소에서 원예적 형질을 평가하였으며, 내한성 검정을 통해 내한성이 약한 계통들을 도태시켰고, 강한 계통을 최종 선발하였다(표 46).

표 46. 내한성 검정 및 선발된 우수계통

년도	No.	계통명	내 추대성 ^a (강:7)	포장 저장성 ^b (강:7)	결구 진도 ^c (강:5)	외엽수 ^d (강:5)	순도 ^e (강:3)	선발	비고
2012	1	24-3-51-51	5	3	3	5	3	1	
	2	8004-51-51-51	5	3	5	4	3	1	
	3	8006-51-51-51	5	7	3	5	3	1	
	4	8007-51-51-51	5	7	3	5	3	1	
	5	8009-51-51-51	5	7	3	3	3	1	
	6	8053-52-2-51-51	3	3	3	5	3	1	
	7	8053-52-2-51-52	7	5	5	5	3	3	
	8	8053-52-2-51-52	3	7	5	5	3	1	
	9	8053-52-2-52-51	5	5	5	4	3	2	
	10	8053-52-2-52-52	3	5	3	4	3	2	
	11	8067-51-51-51-1	5	7	5	4	3	1	
	12	8067-51-51-51-2	5	7	5	4	3	1	
	13	8093-51-1-51-51	3	7	3	3	3	1	
	14	8093-51-4-51-52	5	3	5	5	3	1	
	15	5434-51-1-2	7	5	3	5	3	2	
	16	5436-52-2-3	5	7	5	5	3	3	
	17	5439-51-1-3	5	7	5	4	3	3	
	18	5442-52-2-2	5	5	3	4	3	2	
	19	5426-51-1-2	7	3	3	4	3	2	
	20	5428-52-1-2	5	5	5	4	3	2	

	21	5430-3-51-1-2	7	2	5	5	3	2	
	22	5432-3-52-1-2	7	7	5	5	3	2	
2013	23	5256-51-51-51-51-51	7	3	5	5	9	1	
	24	5256-51-51-51-51-52	3	7	5	5	9	1	
	25	5230-51-51-51-51	5	3	5	5	9	1	
	26	5163-51-51-51	3	7	5	5	9	1	
	27	5164-51-51-51	5	7	3	3	7	1	
	28	5166-51-51-51	5	3	5	5	9	1	
	29	5167-51-51-51	3	5	5	4	9	1	
	30	5170-51-51-51	5	3	5	5	7	1	
	31	26-1s-51-51	3	5	3	5	5	2	
	32	27-1-51-51	3	5	3	5	5	2	
	33	28-3-51-51	5	7	3	3	5	2	
	34	29-1-51-51	5	7	3	3	7	2	
	35	31-1-51-51	7	7	5	4	5	2	
	36	34-1-51-51	7	5	5	5	5	2	
	37	34-3-51-51	3	5	3	5	5	2	
	38	38-2-51-51	7	5	3	5	5	2	
	39	5322-51-51	5	5	5	3	7	2	
	40	NJ-56-51	7	5	3	3	5	2	
	41	WC2-56-51	7	3	3	4	5	2	
	42	B19-1-51	7	3	3	5	5	2	
	43	61-1-G6-51-51-51	5	7	5	5	9	1	
	44	72C-3-G4-51-51-51	7	7	5	5	9	1	
	45	341-6-51-51-52-51-51	7	7	5	5	9	1	
2014	46	5404-51-51	7	7	5	5	9	2	
	47	5407-51-51	7	7	5	4	9	2	
	48	5408-51-51	7	7	5	5	9	2	
	49	8053-52-2-52-51-3-51-51	7	3	5	5	9	1	
	50	5413-51-51	5	7	3	5	7	1	
	51	5053-52-1-51-51-51-51-51	5	3	3	5	9	1	
	52	8093-51-1-51-51-51-51-51	7	3	5	5	9	1	
	53	8004-51-51-51-51-51-51	7	7	5	5	9	2	
	54	8006-51-51-51-51-51-51	7	7	5	5	9	2	
	55	8052-51-51-51-51-51-51-51	5	7	5	4	7	2	
	56	5505-51-51	7	7	3	5	7	1	
	57	5515-51-51	5	5	5	4	9	2	
	58	5515-52-51	7	5	5	5	9	2	
	59	5526-51-51	7	3	5	5	9	1	
	60	8002-51-51-51-51-51-51	7	3	5	5	7	1	
	61	5400-51-51	7	3	5	5	9	1	
	62	2SP-5-51	7	7	5	5	9	2	
	63	2SP-26-51	5	5	3	4	9	1	
	64	2SP-118-51	3	7	5	4	9	1	

	65	3SP-258-51	3	7	5	4	9	1	
	66	3SP-293-51	7	5	5	5	9	2	
	67	3SP-96-51	3	7	5	4	9	1	
	68	3SP-159-51	7	7	3	5	9	1	
2015	69	5013-51-51-51-51-51	5	7	3	4	9	1	
	70	5013-51-52-51-51-51-51-51-51	7	3	3	4	7	1	
	71	5018-51-51-51-51	7	5	5	5	9	2	
	72	5018-51-52-51	7	7	5	4	9	1	
	73	5021-51-51-51-51-51	7	7	5	5	7	1	
	74	5023-51-51-51-51-51	7	3	3	4	7	1	
	75	5023-51-52-51-51-52	7	7	3	5	9	1	
	76	5050-51-51-51-51-51	7	5	5	5	9	2	
	77	(8053X ♂)-51-G3-51	7	3	3	5	7	1	
	78	5191-51-51-51-51-51-51-51	5	5	5	5	7	1	
	79	(8053X ♂)-51-52-52	7	7	5	5	7	1	
	80	5387-51-51-51-51-51	7	5	3	4	9	1	
	81	5388-51-51-51-51-51	5	7	5	4	9	1	
	82	5388-51-51-52-51-51-51-51	5	3	3	5	7	1	
	83	5388-52-51-51-51-51	7	3	5	4	9	1	
	84	5388-52-52-51-51-51	7	3	5	5	9	1	
	85	5407-51-51-51	7	5	3	5	9	1	
	86	5407-51-51-52-51-51	7	5	5	4	9	1	
	87	5408-51-51-51	3	3	3	4	7	1	
	88	5408-51-51-52-51-51	7	3	5	4	9	1	
	89	AW ♀ -2-51-52-51	7	7	5	4	9	1	
	90	AW ♀ -2-51-52-52	7	5	3	5	7	1	
	91	AW ♀ -1-51-51-51-53	7	7	5	5	7	1	
	92	AW ♀ -1-51-51-52-51	7	3	5	5	7	1	
	93	WC1-51-51-51-51	7	3	5	4	9	1	
	94	WC1-52-51-51-51-51	7	7	5	5	9	2	
	95	WC1-53-51-51-51	3	7	3	4	9	1	
	96	WC2-52-51-51-51-51-51-51	3	5	3	5	9	1	
	97	WC2-52-52-51-51-51	7	5	5	5	9	2	
	98	WC2-54-51-51-51-51	3	3	3	4	9	1	
2016	99	8052-G7-51	7	3	5	4	3		
	100	8052-51-51-52-G5-51	3	3	1	5	3		
	101	5505-51-51-51-51	7	3	1	5	3		
	102	8053-51-51-51-51-51-51-51-51	7	5	5	4	3		
	103	8053-51-51-51-51-52-51-51-51	7	7	5	4	3		
	104	8053-51-51-52-51-51-51-51-51	3	7	1	4	3		
	105	8053-51-51-52-51-51-51-51-52	3	3	1	5	3		
	106	8053-51-51-52-51-51-52-51-51	3	7	5	3	3		
	107	8053-51-51-52-51-51-52-51-52-51	3	5	5	4	3		

108	8053-51-52-51-51-51-51-51-51-51	3	3	5	5	3		
109	5512-51-51-51-51	5	3	1	4	3		
110	8053-51-54-51-51-51-51-51-51-51	3	7	1	3	3		
111	5515-51-51-51-51	5	3	5	5	3		
112	5515-52-51-51-51	7	3	5	5	3		
113	8053-51-55-51-51-52-51-51-51-51	7	7	5	4	3		
114	8053-51-55-52-51-51-51-51-51-51	3	3	5	5	3		
115	8054-51-52-51-51-51-51-51-51-51	7	3	1	4	3		
116	8066-51-51-51-51-51-51-51-51-51	3	7	5	3	3		
117	8066-51-51-51-51-51-51-51-51-52	3	3	1	4	3		
118	8067-51-51-51-51-51-51-51-51-51	5	5	5	5	3		
119	8067-51-51-51-51-51-51-51-52-51-51	7	7	5	3	3		
120	8067-51-51-51-51-51-51-52-51-51-51	3	3	5	5	3		
121	8067-51-51-51-51-51-52-51-51-51-51	3	3	1	4	3		
122	8067-51-51-51-51-51-52-52-51-51-51	5	5	5	5	3		
123	8067-51-51-51-51-51-53-51-51-51-51	3	7	1	5	3		
124	8067-51-51-51-51-51-53-52-51-51-51	7	7	5	3	3		
125	5526-51-51-51-51	3	3	5	3	3		

1-5차년도(2012-2016년) 연구기간동안 내한성 검정을 위해 자사의 월동배추인 “아시아월동“, “남풍“을 대비종으로 공시하여 순도, 외엽수의 정도, 결구 긴도, 포장저장성, 내추대성 등을 비교하여 선발하였다.

1차년도에는 공시한 계통 중 내한성 검정 지표 기준에 따라 외엽수가 많은 계통(No1, No3, No4, No6, No7, No8, No14, No15, No16, No21, No22), 결구긴도가 우수한 계통(No2, No7, No8, No9, No11, No12, No14, No16, No17, No20, No21, No22), 포장저장성이 우수한 계통(No3, No4, No5, No8, No11, No12, No13, No16, No17, No22), 내추대성이 우수한 계통(No7, No15, No19, No21, No22) 등을 종합하여 내한성 우수계통으로 선발하였다. No8은 결구긴도가 양호하였고, 포장 저장성이 강하였지만, 내추대성이 약하였다. No11은 외엽수의 정도가 양호하였고, 순도가 균일하였으며, 결구긴도가 양호하고 포장저장성이 우수하였다. No12은 순도가 균일하였고, 외엽수가 많았고, 포장저장성이 강했으며, 결구긴도가 우수하였다. No16은 포장 저장성이 매우 우수하였고, 결구긴도가 좋았으며, 외엽수가 많았고 순도가 일정하여 3개체를 선발하였다. No17은 순도가 균일하였고, 포장저장성이 강하였으며, 결구긴도가 우수하여 3개체를 선발하였다. No22은 조사기준인 외엽수, 결구긴도, 포장저장성, 순도가 우수하여 2개체를 선발하였고, 차년도에 월동배추 조합의 한쪽 친으로 사용 가능할 것이라 생각된다. 최종적으로 선발한 총 22계통의 36개체는 성숙모본으로 선발하였다(표 47).

2차년도(2013)에는 공시한 계통 중 내한성 검정 지표 기준에 따라 외엽수가 많은 계통(No23, No24, No25, No26, No28, No39, No31, No32, No36, No37, No38, No42, No43, No44, No45), 결구긴도가 우수한 계통(No23, No24, No25, No26, No28, No29, No30, No35, No36, No39, No43, No44, No45), 포장저장성이 우수한 계통(No24, No26, No27, No33, No34, No35, No43, No44, No45), 내추대성이 우수한 계통(No23, No35, No36, No38, No40, No41, No42, No44, No45) 등을 종합하여 내한성 우수계통으로 선발하였다. No23은 내추대성, 결구긴도가

양호하였으며 외엽수가 많은 장점이 있었으나, 포장저장성이 약한 단점이 있었다. No26는 포장저장성, 결구진도가 좋았으며 외엽수가 많았으나 내추대성이 좋지 않았다. No36은 순도가 약간 떨어졌으나, 내추대성, 포장저장성, 결구진도가 우수하였으며 외엽수 또한 많아서 세대진전을 통해 순도를 높인다면 훌륭한 내한성 계통이 될 가능성이 있었다. No44, No45은 외엽수가 많으며 내추대성, 포장저장성, 결구진도 및 순도가 매우 우수하여 내한성 조합작성에 사용할 수 있을 것으로 여겨졌다. 최종적으로 선발한 총 23계통의 35개체는 성숙모본으로 선발하였다(표 47).

3차년도(2014)에는 공시한 계통 중 내한성 검정 지표 기준에 따라 외엽수가 많은 계통(No46, No48, No49, No50, No51, No52, No53, No54, No56, No58, No59, No60, No61, No62, No66, No68), 결구진도가 우수한 계통(No46, No47, No48, No49, No52, No53, No54, No55, No57, No58, No59, No60, No61, No62, No64, No65, No66, No67), 포장저장성이 우수한 계통(No46, No47, No48, No50, No53, No54, No55, No56, No62, No64, No65, No67, No68), 내추대성이 우수한 계통(No46, No47, No48, No49, No52, No53, No54, No56, No58, No59, No60, No61, No62, No66, No68) 등을 종합하여 내한성 우수 23계통을 선발하였다. No46, No48, No53, No54, No62, No66,은 내추대성, 포장저장성, 결구진도, 외엽수, 순도등이 모두 양호하여 선발하였으며, No49, No52, No59, No61은 내추대성, 결구진도 외엽수 및 순도가 좋았으나 포장저장성이 좋지 않았다. No64, No65, No67는 포장저장성, 결구진도, 순도가 좋았으나 내추대성이 좋지 않았으며, 외엽수도 많지 않았다. No47, No50, No51, No55, No56, No57, No58, No60, No63, No68은 내추대성, 포장저장성, 결구진도, 외엽수, 및 순도가 각각 다양한 특징을 보이고 있었으나 기타 원예적 형질이 우수하여 선발하였다(표 47).

4차년도(2015)에는 외엽수가 많은 계통(No71, No73, No74, No75, No76, No77, No78, No79, No82, No84, No85, No90, No91, No92, No94, No96, No97), 결구진도가 우수한 계통(No71, No72, No73, No76, No78, No79, No81, No83, No84, No86, No88, No89, No91, No92, No93, No94, No91, No97), 포장저장성이 우수한 계통(No69, No72, No73, No75, No79, No81, No89, No91, No94, No95), 내추대성이 우수한 계통(No70~77, No79~80, No83~86, No88~94, No97) 등을 종합하여 내한성 우수 30계통을 선발하였다. No73, No76, No79, No86, No89, No91, No97는 내추대성, 포장저장성, 결구진도, 외엽수, 순도등이 모두 비교적 양호하여 선발하였으며, No84, No88, No92~93는 내추대성, 결구진도 외엽수 및 순도가 좋았으나 포장저장성이 좋지 않았다. No69~72, No74~75, No77~78, No80~83, No85, No87~88, No90, No94~98 내추대성, 포장저장성, 결구진도, 외엽수, 및 순도등에서 각각 다양하게 단점을 보이고 있었으나 기타 원예적 형질이 우수하여 선발하였다(표 47).

5차년도(2016)에는 외엽수가 강한 계통(No100, No101, No105, No108, No111, No112, No114, No118, No120, No122, No123), 결구진도가 우수한 계통(No99, No102, No103, No106, No107, No108, No111, No112, No113, No114, No116, No118, No119, No120, No122, No124, No125), 포장저장성이 우수한 계통(No103, No104, No106, No110, No113, No116, No119, No123, No124) 내추대성이 우수한 계통(No99, No101, No102, No103, No112, No113, No115, No119, No124) 등을 종합하여 내한성 우수 27계통을 선발하였다.

No103, No112, No113, No119, No124는 내추대성, 포장저장성, 결구진도, 외엽수, 순도등이

모두 비교적 양호하여 선발하였으며, No110, No104, No123는 포장저장성과 순도가 좋았으나, 결구긴도, 내추대성이 좋지 않았다. No107, No108, No111, No114, No118, No120, No122 결구긴도와 외엽수에서 강하여 선발하였다. No106, No116은 포장저장성과 결구긴도, 순도가 우수하였고, No99, No102는 내추대성, 결구긴도, 순도가 우수하였고, No100, No105은 외엽수, 순도가 우수하였고, No115은 내추대성과 순도가 우수하여 선발하였다. No109, No117, No121은 내추대성, 포장저장성, 결구긴도, 외엽수 등에서 각각 다양하게 단점을 보이고 있었으나 기타 원예적 형질이 우수하여 선발하였다(표 47).

이와 같이 1-5차년도 연구기간동안 획득한 우수계통은 연구기간동안 지속적으로 세대진전을 수행하여 보다 더 심화된 계통화를 진행하였으며 이를 적색 결구배추의 품종 육성을 위한 소재로 활용하였으며, 향후 추가적으로 품종개발에 유용하게 이용될 것이다.

내한성 조합성능검정은 총 118조합을 작성하여 전남 해남의 아시아종묘(주) 남부육종연구소에서 8월20일경 파종, 9월 15일경 정식 후 월동 후 2월 초에 특성조사를 실시한 후 성능검정을 수행하였다. 내추대성, 포장저항성, 결구긴도는 1, 3, 5, 7등급 범주로 1은 약함, 7은 강함으로 표시하여 조사하였고, 순도는 1, 3, 5 범주로 1은 약함, 5를 강함으로 지정하여 조사하였다. 내추대성, 포장저장성, 결구긴도, 외엽수, 순도 등을 항목으로 한 내한성 조합 성능검정 결과는 표 47과 같았다. 그 결과 이들 118조합 중 5조합 (B001, B011, B013, B053, B012)을 최종적으로 우수선발조합으로 선발하였다(표 47, 그림 118-123).

표 47. 내한성 조합 성능검정

No.	계통명	내추대성 ^a (강:7)	포장저장성 ^b (강:7)	결구긴도 ^c (강:5)	외엽수 ^d (강:5)	순도 ^e (강:3)	선발	비고
1	8053-4S-7×AW-5S-1	7	7	3	4	5	○	
2	8067-4S-2×NW2-2	7	7	5	4	5	○	
3	319-52S×5227-51S	3	5	3	3	1		
4	5227-51S×319-52S	3	5	3	3	3		
5	5239-52-51×5239-54-51	1	3	7	4	5	○	
6	5239-52-52×5240-51-51	3	3	3	3	1		
7	5239-54-51×5239-52-51	1	3	3	4	1		
8	5239-55S-1×319-52S	5	7	3	3	5	○	
9	5240-51-51×5239-52-52	3	3	5	5	3		
10	8009-51-51-52-51×8067-5S	3	3	3	4	1		
11	8053-2-52-51-1×AW2호-1	7	7	3	4	5	○	
12	8053-5S×8085-5S	1	3	3	4	3		
13	8053-5S×8060-5S	3	3	3	4	3		
14	8053-52-2-2S-1×AW1-1	7	5	5	5	5		
15	8053-52-2-2S-1×AW2-1	5	5	5	4	5		
16	8053-52-2-2S-1×AW2-1	3	7	7	5	5	○	
17	8053-52-2-2S-2×NW1-2	5	7	5	5	5		
18	8053-52-2-2S-2×NW1-2	7	5	5	4	5		
19	8053-52-2-2S-2×NW2-2	5	7	5	5	5		

20	8053-52-2-2S-2×NW2-2	7	5	3	5	5		
21	8053-52-2-2S-1×AW1-1	7	5	5	3	3		
22	8053-52-2-2S-1×AW-1	5	7	7	5	5	◎	
23	8053-52-2-2S-2×NW1-2	3	5	7	6	5		
24	8053-52-2-2S-2×NW1-2	5	7	5	5	5		
25	8053-52-2-2S-2×NW2-2	5	5	7	3	5		
26	8053-52-2-2S-2×NW2-2	5	5	5	4	3		
27	8053-52-2-3S×5166-2S	3	5	5	5	1		
28	8053-52-2-3S×58067-5S	5	1	3	5	1		
29	8053-52-2-3S×5067-5S	5	1	3	4	1		
30	8067-4S-1×AW1-1	7	3	5	4	3		
31	8067-4S-1×AW1-1	7	5	5	4	5		
32	8067-4S-1×AW2-1	5	5	5	4	5		
33	8067-4S-1×AW2-1	3	7	5	5	3		
34	8067-4S-2×NW1-2	5	5	7	3	5		
35	8067-4S-2×NW1-2	7	5	5	5	3	◎	
36	8067-4S-2×NW2-2	7	5	5	3	5		
37	연RCP2-14MS×NW1-1	5	7	5	4	5		
38	연RCP2-14MS×AW1-2	5	5	5	5	3		
39	8053-52-2-51-51-1×AW ♀ -1	7	7	5	3	3	○	
40	8053-52-2-51-51-1×AW ♂ -1	7	7	5	4	5		
41	8053-52-2-51-51-2×NPW ♀ -2	5	5	5	3	5		
42	8053-52-2-51-51-2×NPW ♂ -2	7	3	5	4	3		
43	8053-52-2-51-51-3×HMR ♂ -1	1	3	3	4	3		
44	8053-52-2-51-51-3×HMR ♀ -1	5	5	3	5	3	○	
45	8067-51-51-51-51-1×AW ♂ -1	3	3	5	5	3		
46	8067-51-51-51-51-1×AW ♀ -1	3	7	5	3	3		
47	8067-51-51-51-51-2×NW ♂ -2	7	3	5	3	3		
48	8067-51-51-51-51-2×NW ♀ -2	3	3	5	3	3		
49	8067-51-51-51-51-3×CY ♀ -1	1	7	3	4	3		
50	8067-51-51-51-51-3×CY ♂ -1	5	3	3	4	3		
51	8067-51-51-51-51-3×HM ♂ -1	5	7	3	5	3		
52	8067-51-51-51-51-3×HM ♀ -1	7	5	3	5	1	○	
53	8053-52-2-52-51-1×AW ♂ -1	7	5	5	5	3		
54	8053-52-2-52-51-1×AW ♀ -1	7	7	5	5	5		
55	8053-52-2-52-51-1×NW ♂ -1	5	7	5	5	3		
56	8053-52-2-52-51-1×NW ♀ -1	5	5	5	3	3		
57	8053-52-2-52-51-1×HM ♀ -1	5	7	3	4	3		
58	8053-52-2-52-51-1×HM ♂ -1	3	3	3	5	3		
59	CG ♀ -1×HM ♂ -1	3	5	3	3	1		
60	8053-G3-51×8067-G4-51	3	7	5	5	1	○	
61	8053-G3-51×8067-G3-52-51	1	5	5	5	3		
62	8053-G3-51×8067-G4-52	7	7	3	5	3		

63	8093-G4-51×8067-G4-51	7	3	5	3	3		
64	8093-G3-52-51×8067-G4-51	5	5	3	4	5		
65	8009-G4-51×8067-G4-51	7	5	5	5	5		
66	8053-G4-51×8054-G4-51	3	1	3	3	5		
67	8053-G4-51×8060-G4-51	7	7	5	3	1		
68	8053-G4-51×8067-G4-51	7	3	5	3	1	O	
69	5166-52S-52-51-51×H♀-2-51-51	7	7	5	5	3	O	B001
70	5166-52S-52-51-51×J3♀-1-52-51	3	5	5	4	3		
71	5166-52S-52-51-52×H♀-2-51-52	7	5	5	4	5		
72	5166-52S-52-51-52×J3♀-1-52-51	5	7	7	5	5		
73	5166-52S-51-51×H♀-2-51-51	5	7	7	4	5		
74	5166-52S-51-51×J3-1-52-51	7	5	5	4	3		
75	5166-52S-51-52×H♀-2-51-51	7	7	7	5	3		
76	5166-52S-51-52×J3♀-1-52-51	5	5	3	4	1		
77	5166-52S-51-53×H♀-2-51-51	7	5	5	5	5		
78	5166-52S-51-53×J3♀-1-52-51	5	7	5	5	5		
79	WC2-52-51-51×319-52S-G3-51-51-51-51	5	7	5	4	5	O	B011
80	WC2-56-51-51×H♀-2-51-51	7	7	7	4	5		
81	5166-52S-52-51-52×J3♀-52-51	7	7	7	5	3	O	B013
82	WC2-58-51-51×H♀-2-51-51	7	7	5	5	1		
83	WC2-58-51-51×J3♀-1-51-51	7	7	5	5	5		
84	5166-52S-52-51-51×W♀-2-51-51	5	5	5	4	3		
85	5166-52S-52-51-51×J3♀-1-52-51	7	7	5	5	3		
86	5121-51(5)-52-51-51×319-52S-G3-51(4)	7	5	5	4	3		
87	5166-52S-52-51-52×W♀-2-51-52	7	7	7	5	5	O	B054
88	3SP-258-51×H♀-2-51-51	7	7	7	5	5		
89	5166-52S×H♀-1	7	7	5	5	3		
90	H♀-1×5166-52S	7	7	5	5	5		
91	WC-2-52S-51×NP♀-1-51	7	7	5	5	3		
92	NP♀-1-51×WC-2-52S-51	7	7	5	5	5		
93	(8053×♂)-51-51-51-51×2SP-265-51-52-51	7	7	5	3	1		B012
94	2SP-265-51-52-51×5388-51-51-52-51	3	7	3	3	1		
95	2SP-265-51-52-51×5388-52-51-51-51	5	5	3	4	3		
96	2SP-265-51-52-51×9053SP-30-C1-C1	7	5	5	3	3		
97	2SP-265-51-52-51×9053SP-64-C2-C1	5	5	3	3	3		
98	2SP-265-52-51-51×9053SP-51-C2-C1	5	5	3	4	3		
99	2SP-265-52-51-51×5388-51-51-52-51	3	3	3	3	3		
100	2SP-265-52-51-51×5388-52-51-51-51	3	3	3	3	3		
101	3SP-258-51-51-51×5388-51-51-52-51	5	7	3	3	3		
102	3SP-258-51-51-51×5388-52-51-51-51	7	5	3	5	3		
103	5SP-318-51-51-51×5388-51-51-52-51	7	5	5	3	1		
104	5SP-318-51-51-51×5388-52-51-51-51	3	5	3	3	3		

105	5SP-318-51-51-51×5388-52-52-51-51	3	5	3	4	3		
106	5SP-318-51-51-52×5393-51-52-51-51	3	7	3	4	3		
107	5SP-318-51-51-52×5408-51-51-52-51	5	5	3	3	3		
108	5SP-318-51-51-52×5410-51-51-51-51	5	5	3	3	3		
109	8085-51-52-51-51-51-51-51-51× 5408-51-51-52-53	5	3	5	5	3		
110	8085-51-52-51-51-51-51-51-51× 5410-51-51-51-52	7	5	3	5	3		
111	B44-2-51-51-51-51×CG↑-2-51-51-51	5	3	3	4	3		
112	B19-1-51-51-51-51×9052SP-8-51-51	5	3	3	5	3		
113	B19-1-51-51-51-51×5166-52S-51-51-51	5	5	5	5	3		
114	B19-1-51-51-52-51×9052SP-14-C2-C1	3	3	3	5	3		
115	MSBC4-8053-52-2-51-51-52-2-1-51-51 ×8067-51-51-51-52-52-51-2-51-51	3	7	5	5	3		
116	MSBC3-8067-51-51-51-52-52-51-1-51-51 ×8053-51-51-52-51-51-51-51-51	3	3	5	5	3		
117	MSBC3-8067-51-51-51-52-52-51-1-51-51 ×8053-51-51-52-51-51-51-51-52	7	3	5	4	3		
118	MSBC3-8067-51-51-51-51-53-6-1-6-1-51-51 ×8053-51-51-52-51-51-51-51-51	3	7	5	5	3		

내한성 조합성능검정은 총 118조합을 작성하여 전남 해남의 아시아종묘(주) 남부육종 연구소에서 8월20일경 파종, 9월 15일경 정식 후 월동 후 2월 초에 특성조사를 실시한 후 성능검정을 수행하였다. 내추대성, 포장저항성, 결구긴도는 1, 3, 5, 7등급 범주로 1은 약함, 7은 강함으로 표시하여 조사하였고, 순도는 1, 3, 5 범주로 1은 약함, 5를 강함으로 지정하여 조사하였다. 내추대성, 포장저장성, 결구긴도, 외엽수, 순도 등을 항목으로 한 내한성 조합 성능검정 결과는 표 47과 같았다. 그 결과 이들 118조합 중 5조합 (B001, B011, B013, B053, B012)을 최종적으로 우수선발조합으로 선발하였다(표 47, 그림 118-123).



그림 118. 아시아종묘(주) 전라남도 해남군 소재 남부연구소와 월동배추 재배전경



그림 119. No.69 (B001) 월동용 김장배추 선발 조합

No.69 (B001)은 외엽수가 많고 결구건도가 강했으며 내추대성 및 2월까지 포장저장성이 뛰어나서 선발하였음. 구가 크고 결구된 속잎이 노란색으로 식감이 뛰어난 월동용배추로 적합한 조합이었음(그림 119).



그림 120. No.79 (B011) 자색 월동용 김장배추 선발 조합

No79(B011)은 월동배추계통에 진한자색배추를 도입한 조합으로써 포장저장성과 결구건도가 강했으며 순도가 좋은 특성이 있었다. 결구된 구의 바깥쪽잎은 자색이면서 구의 안쪽잎은 노란색을 띠고 있어 미관상 뛰어났으며 식감이 뛰어난데다 일반적으로 적색을 띠게 되면 크기가 작아지는 경향이 있으나 No79는 자색의 월동형 김장배추로 손색이 없을 정도로 큰 구를 형성하는 조합이었음(그림 120).



그림 121. No.81 (B013) 자색 월동용 배추 선발 조합

No81(B013)역시 월동배추계통에 진한자색배추를 도입한 조합으로써 내추대성, 포장저장성이 좋았으며 결구긴도가 강한데다 외엽수가 많았으며 또한 순도가 좋은 우수한 조합이었음. 결구된 구의 바깥쪽잎은 자색이면서 구의 안쪽잎은 노란색을 띠고 있어 미관상 뛰어났으며 식감이 뛰어난 특징이 있었음(그림 121).



그림 122. No.87 (B054) 월동용 김장배추 선발 조합

No87(B054)는 내추대성, 포장저장성이 좋았으며 결구긴도가 강한데다 외엽수가 많았으며 또한 순도가 좋은 우수한 조합이었음. 속잎이 노랑고 탄탄한 구에 해남지역에서 2월까지 싱싱한 상태를 유지하는 우수한 특징이 있는 월동용 김장배추로써 적합한 조합이었음(그림 122).



그림 123. No.93 (B012) 월동용 적색김장배추 선발 조합

B012는 외엽수가 많고 결구긴도가 강했으며 내추대성 및 2월까지 포장저장성이 뛰어나서 선발하였음. 구가 크고 결구된 속잎이 자색과 황색을 동시에 띄고 있으며 식감이 뛰어난 월동용 배추로 적합한 조합이었음(그림 123).

나. 분리세대 및 순화고정

(1) 내한성 배추 우수계통의 순화고정

전남 해남에서 내한성 관련 유전자원들을 대상으로 내한성 검정을 한 결과 선발된 2012년 내한성이 우수한 22계통, 36개체의 성숙모본, 2013년 내한성이 우수한 23계통, 35개체의 성숙모본, 2014년 우수한 23계통, 33개체의 성숙모본, 2015년 우수한 30계통, 30개체의 성숙모본, 2016년 우수한 32계통, 32개체를 유리온실로 옮긴 후 가온하여 추대시켰고, 순화고정을 목적으로 세대단축 교배하였다. FS(flower selfing, 개화수분)는 15개, BS(bud selfing, 뇌수분) 25개 이상을 교배하였으며, 결협수, 종자량, 임성을 조사하였다(표 48).

1차년도(2012)에는 선발된 22계통의 평균 종자량은 약 100립 이상으로, 최대 종자량은 256립, 최소 종자량은 12립이었다. 또한 평균 결협수는 20협 이상으로, 최대 결협수는 38, 최소 결협수는 14였다. No1, No2, No9, No12, No13, No22 계통은 전년도 실험결과 자가불화합성이 강하고 임성이 높아 BS로만 교배하였다. 반면 No17, No20 계통은 자가불화합성이 매우 강하여 FS 종자는 얻지 못하였고 BS로 각각 150립, 210립의 종자를 얻었다. 또한 나머지 계통도 자가불화합성이 강하여 종자량이 적었다. 이와 같이 FS 임성은 0~7, BS 임성은 0.3~8.1을 나타내어 종자생산력의 차이를 보였다(표 48).

2차년도(2013)에는 선발된 23계통의 평균 종자량은 약 117립 이상으로, 최대 종자량은 210립, 최소 종자량은 60립이었다. 또한 평균 결협수는 16협 이상으로, 최대 결협수는 20, 최소 결협수는 10이었다. No26, No31, No36, No44 계통은 전년도 실험결과 자가불화합성이 강하여 BS로만 교배하였다. No37, No39, No41, No42 계통은 자가불화합성이 매우 강하여 FS 종자를 거의 얻지 못하였고 또한 나머지 계통도 자가불화합성이 강하여 종자량이 적은 경향을 나타내었다. 그러나, No29 No30 No32 No33 No35은 자가불화합성이 상대적으로 약하였다. 이와 같이 FS 임성은 0~3.58, BS 임성은 3~10.5를 나타내어 종자생산력의 차이를 보였다(표 48).

3차년도(2014)에는 선발된 23계통의 평균 종자량은 약 250립 이상으로, 최대 종자량은 600립, 최소 종자량은 56립이었다. 또한 평균 결협수는 23협 이상으로, 최대 결협수는 35, 최소 결협

수는 16이었다. No53, No60, No62은 자가불화합성이 매우 강하여 FS종자를 거의 얻지 못하였으며, No55, No56, No63, No65, No66 계통은 자가불화합성이 강하였다. 또한 나머지 계통도 자가불화합성이 강하여 종자 량이 적은 경향을 나타내었다. 그러나, No46 No47 No49 No50 No51, No57, No58은 자가불화합성이 상대적으로 약하였다. 이와 같이 FS 임성은 0~6.4, BS 임성은 2.3~20.5를 나타내어 종자생산력의 차이를 보였다(표 48).

4차년도(2015)에는 선발된 30계통의 FS(flower selfing, 개화수분) 평균 종자량은 약1.3립 이상으로, 최대 종자량은 6립, 최소 종자량은 0립이었다. BS(bud selfing, 뇌수분) 평균 종자량은 약 150립 이상으로, 최대 종자량은 480립, 최소 종자량은 32립이었다. 또한 평균 결핵수는 18립 이상으로, 최대 결핵수는 44, 최소 결핵수는 6이었다. 내한성에 강하고, 자가불화합성(SI, self-incompatibility)의 정도가 강한 계통을 선발하기 위하여 임성을 조사한 결과 No76, No83, No85은 자가불화합성이 매우 강하여 FS종자를 거의 얻지 못하였으며, No78, No79, No86, No88, No89 계통은 자가불화합성이 매우강한 성향을 보였다. 또한 나머지 계통도 자가 불화합성이 강하여 SI채종을 위한 모본으로 적당한 계통임을 알 수 있었다. 이와 같이 FS 임성은 0~0.3, BS 임성은 2.2~19.2를 나타내어 종자생산력의 차이를 보였다(표 48).

5차년도(2016)에는 선발된 32계통의 FS(flower selfing, 개화수분) 평균 종자량은 약 23립 이상으로, 최대 종자량은 약190립, 최소 종자량은 0립이었다. BS(bud selfing, 뇌수분) 평균 종자량은 약 179립 이상으로, 최대 종자량은 약 430립, 최소 6립이었다. 또한 평균 결핵수는 FS 평균 4립, BS 평균 17립 이상으로 최대 결핵수는 FS 11립, BS 27립, 최소 결핵수는 FS 0립, BS 6립이었다. 내한성에 강하고, 자가불화합성(SI, self-incompatibility)의 정도가 강한 계통을 선발하기 위하여 임성을 조사한 결과 No101, No102, No123, No124, No125은 매우 강하여 FS 종자를 거의 얻지 못하였으며, No100, No103, No104, No105, No107, No110, No115, No122 계통은 자가불화합성이 매우강한 성향을 보였다. 또한 나머지 계통도 자가불화합성이 강하여 SI채종을 위한 모본으로 적당한 계통임을 알 수 있었다. 이와 같이 FS 임성평균은 1.9였고, BS 임성평균은 8.2를 나타내어 종자생산력의 차이를 보였다(표 48).

이와 같이 1-5차년도 연구기간동안 획득한 우수계통은 연구기간이 종료한 후에도 지속적으로 세대진전을 수행하여 보다 더 심화된 계통화를 진행함으로써 향후 추가적으로 품종 개발에 유용하게 이용될 것이다.

표 48. 내한성 우수계통의 종자 결실

년도	No.	계통명	수분 화수		결핵수		종자량		임성		비고
			FS	BS	FS	BS	FS	BS	FS	BS	
2012	1	24-3-51-51	-	25	-	21	-	120	-	4.8	
	2	8004-51-51-51	-	30	-	21	-	150	-	5	
	3	8006-51-51-51	9	21	5	14	20	110	2.2	5.2	
	4	8007-51-51-51	10	25	11	24	30	89	3	3.5	
	5	8009-51-51-51	8	25	8	22	56	200	7	8	
	6	8053-52-2-51-51	12	30	11	27	5	180	0.4	6	
	7	8053-52-2-51-52	10	24	8	20	15	120	1.5	5	
	8	8053-52-2-51-52	14	26	12	24	29	130	2	5	
	9	8053-52-2-52-51	-	19	-	14	-	45	-	2.3	

	10	8053-52-2-52-52	12	15	11	12	20	60	1.6	4	
	11	8067-51-51-51-1	15	17	13	10	42	42	2.8	2.4	
	12	8067-51-51-51-2	-	20	-	12	-	68	-	3.4	
	13	8093-51-1-51-51	-	32	-	15	-	120	-	3.7	
	14	8093-51-4-51-52	10	16	10	12	36	63	3.6	3.9	
	15	5434-51-1-2	9	22	2	13	0	64	-	2.9	
	16	5436-52-2-3	8	24	4	20	7	150	0.9	6.3	
	17	5439-51-1-3	15	31	0	24	0	150	-	4.8	
	18	5442-52-2-2	13	24	1	24	4	8	0.3	0.3	
	19	5426-51-1-2	14	26	1	22	0	210	-	8.1	
	20	5428-52-1-2	12	20	0	19	0	86	-	4.3	
	21	5430-3-51-1-2	13	23	1	19	3	150	0.2	6.5	
	22	5432-3-52-1-2	-	32	-	24	-	100	-	3.1	
2013	23	5256-51-51-51-51-51	10	20	1	19	2	110	0.2	5.5	
	24	5256-51-51-51-51-52	10	20	2	18	3	130	0.3	6.5	
	25	5230-51-51-51-51	11	20	4	20	7	160	0.36	5.2	
	26	5163-51-51-51	-	20	-	17	-	100	-	8	
	27	5164-51-51-51	9	21	2	16	8	75	0.88	3.57	
	28	5166-51-51-51	8	22	3	17	7	180	0.87	8.18	
	29	5167-51-51-51	10	20	4	16	12	120	1.2	6	
	30	5170-51-51-51	10	20	9	13	34	130	3.4	6.5	
	31	26-1s-51-51	-	20	-	14	-	100	-	5	
	32	27-1-51-51	11	19	7	12	20	70	1.81	3.68	
	33	28-3-51-51	11	20	10	10	39	115	3.54	5.75	
	34	29-1-51-51	10	21	3	12	7	87	0.7	4.14	
	35	31-1-51-51	10	25	2	15	10	120	1	4.8	
	36	34-1-51-51	-	20	-	12	-	90	-	4.5	
	37	34-3-51-51	10	20	1	13	0	60	0	3	
	38	38-2-51-51	10	20	2	17	3	110	0.3	5.5	
	39	5322-51-51	10	20	0	18	0	100	0	5	
	40	NJ-56-51	10	20	1	20	2	170	0.3	8.5	
	41	WC2-56-51	10	20	1	19	0	210	0	10.5	
	42	B19-1-51	9	20	2	18	0	75	0	3.75	
	43	61-1-G6-51-51-51	7	21	1	19	3	150	0.42	7.14	
	44	72C-3-G4-51-51-51	-	20	-	18	-	100	-	5	
	45	341-6-51-51-52-51-51	10	19	2	15	6	130	0.6	6.84	
2014	46	5404-51-51	11	26	6	26	42	400	3.8	15.4	
	47	5407-51-51	10	28	8	25	61	420	6.1	15	
	48	5408-51-51	9	38	4	35	25	600	2.8	15.8	
	49	8053-52-2-52-51-3-51-51	11	22	11	20	46	70	4.2	3.2	
	50	5413-51-51	11	28	10	24	70	300	6.4	10.7	
	51	8053-52-1-51-51-51-51-51	15	25	14	25	61	100	4.1	4	
	52	8093-51-1-51-51-51-51-51	11	27	5	20	8	250	0.7	9.3	

	53	8004-51-51-51-51-51-51	13	29	0	18	0	170	0	5.9	
	54	8006-51-51-51-51-51-51	12	24	11	20	28	56	2.3	2.3	
	55	8052-51-51-51-51-51-51-51	17	21	4	16	4	100	0.2	4.8	
	56	5505-51-51	12	26	5	23	4	100	0.3	3.9	
	57	5515-51-51	11	28	11	26	56	300	5.1	10.7	
	58	5515-52-51	11	21	11	21	45	350	4.1	9.5	
	59	5526-51-51	12	31	8	25	16	200	1.3	6.5	
	60	8002-51-51-51-51-51-51	10	29	0	26	0	150	0	5.2	
	61	5400-51-51	9	22	2	22	12	200	1.4	9.1	
	62	2SP-5-51	11	22	0	22	0	170	0	7.7	
	63	2SP-26-51	10	26	2	26	2	320	0.2	12.3	
	64	2SP-118-51	13	22	6	22	6	450	0.5	20.5	
	65	3SP-258-51	11	22	2	22	2	300	0.2	13.6	
	66	3SP-293-51	13	25	1	24	2	280	0.2	11.2	
	67	3SP-96-51	11	22	8	22	8	220	0.7	10	
	68	3SP-159-51	11	20	11	20	32	260	2.9	13	
2015	69	5013-51-51-51-51-51	10	27	1	20	1	93	0.1	3.4	
	70	5013-51-52-51-51-51-51-51-51	10	26	1	26	1	140	0.1	5.4	
	71	5018-51-51-51-51	9	22	2	22	0	80	0	3.6	
	72	5018-51-52-51	11	28	2	28	1	290	0.1	10.3	
	73	5021-51-51-51-51-51	10	21	1	21	1	120	0.1	5.7	
	74	5023-51-51-51-51-51	12	22	3	22	2	220	0.1	10	
	75	5023-51-52-51-51-52	9	49	1	44	1	400	0.11	8.2	
	76	5050-51-51-51-51-51	13	23	5	15	3	130	0.2	5.7	
	77	(8053X ♂)-51-G3-51	10	24	1	24	1	130	0.1	5.4	
	78	5191-51-51-51-51-51-51-51	9	34	0	30	0	74	0	2.2	
	79	(8053X ♂)-51-52-52	12	36	2	20	2	120	0.17	3.3	
	80	5387-51-51-51-51-51	11	22	1	21	1	160	0.09	7.3	
	81	5388-51-51-51-51-51	11	20	2	16	2	260	0.2	13	
	82	5388-51-51-52-51-51-51-51	17	23	1	14	2	240	0.1	10.4	
	83	5388-52-51-51-51-51	11	25	5	23	6	480	0.5	19.2	
	84	5388-52-52-51-51-51	12	21	0	12	0	35	0	1.7	
	85	5407-51-51-51	10	24	13	24	1	120	0.1	5	
	86	5407-51-51-52-51-51	10	20	10	18	2	340	0.2	17	
	87	5408-51-51-51	11	23	8	22	1	210	0.09	9.1	
	88	5408-51-51-52-51-51	11	48	0	7	0	32	0	0.7	
	89	AW ♀-2-51-52-51	12	20	1	6	1	78	0.08	3.9	
	90	AW ♀-2-51-52-52	13	21	2	12	0	86	0	4.1	
	91	AW ♀-1-51-51-51-53	10	29	5	12	0	100	0	3.4	
	92	AW ♀-1-51-51-52-51	11	21	3	12	1	58	0.09	2.8	
	93	WC1-51-51-51-51	11	26	10	16	1	160	0.09	6.2	
	94	WC1-52-51-51-51-51	11	22	9	11	1	89	0.09	4.04	
	95	WC1-53-51-51-51	10	53	3	17	3	80	0.3	1.5	

	96	WC2-52-51-51-51-51-51-51-51	15	24	4	13	4	87	0.3	3.6	
	97	WC2-52-52-51-51-51	10	24	0	18	0	77	0	3.2	
	98	WC2-54-51-51-51-51	9	22	0	15	0	180	0	8.2	
2016	99	8052-G7-51	10	24	10	24	60	180	0.6	7.5	
	100	8052-51-51-52-G5-51	10	25	0	21	0	180	0	7.2	
	101	5505-51-51-51-51	13	23	1	14	1	110	0.08	4.8	
	102	8053-51-51-51-51-51-51-51-51	14	45	2	15	2	190	0.2	4.2	
	103	8053-51-51-51-51-52-51-51-51	11	22	0	20	0	74	0	3.4	
	104	8053-51-51-52-51-51-51-51-51	13	30	0	11	0	11	0	0.4	
	105	8053-51-51-52-51-51-51-51-52	12	27	0	18	0	18	0	0.7	
	106	8053-51-51-52-51-51-52-51-51	11	23	3	23	3	200	0.3	8.7	
	107	8053-51-51-52-51-51-52-51-52	10	26	0	25	0	230	0	8.9	
	108	8053-51-52-51-51-51-51-51-51	10	24	7	15	16	35	1.6	1.5	
	109	5512-51-51-51-51	10	21	9	21	26	200	2.6	9.5	
	110	8053-51-54-51-51-51-51-51-51	12	22	0	16	0	350	0	15.9	
	111	5515-51-51-51-51	10	20	8	18	28	200	2.8	11.1	
	112	5515-52-51-51-51	10	20	10	20	130	350	13	17.5	
	113	8053-51-55-51-51-52-51-51-51	10	20	10	20	190	430	19	21.5	
	114	8053-51-55-52-51-51-51-51-51	10	24	3	22	6	210	0.6	8.8	
	115	8054-51-52-51-51-51-51-51-51	14	23	0	11	0	60	0	2.6	
	116	8066-51-51-51-51-51-51-51-51	10	20	3	20	8	100	0.8	5	
	117	8066-51-51-51-51-51-51-51-52	10	20	4	19	6	370	0.6	18.5	
	118	8067-51-51-51-51-51-51-51-51	10	20	6	16	30	300	0.3	15	
	119	8067-51-51-51-51-51-51-52-51	12	29	11	27	36	300	3	10.4	
	120	8067-51-51-51-51-51-52-51-51	10	24	7	19	18	280	1.8	11.7	
	121	8067-51-51-51-51-52-51-51-51	10	20	7	20	15	400	1.5	20	
	122	8067-51-51-51-51-52-52-51-51	13	25	0	11	0	87	0	3.5	
	123	8067-51-51-51-51-53-51-51-51	13	27	1	16	1	51	0.08	1.9	
	124	8067-51-51-51-51-53-52-51-51	15	16	1	13	1	100	0.07	6.3	
	125	5526-51-51-51-51	10	21	1	11	1	11	0.1	0.5	

(2) 미니, 무모, 적색결구 배추 우수계통의 순화고정

경기도 이천 생명공학육종연구소에서 2012년-2016년 연구기간동안 미니, 무모, 적색결구배추 우수152계통을 11월 초에 선발하였으며 이를 월동 후 2월 중순부터 유리온실로 옮긴 후 가온하여 추대시켰고, 세대단축 교배하여 순화 고정하였다. 교배작업은 FS(flower selfing, 개화수분) 15개, BS(bud selfing, 뇌수분) 25개 이상을 교배하였으며, 채종 후 결협수, 종자량, 임성을 조사하였다(표 49).

1차년도(2012)에는 선발된 39계통의 평균 종자량은 약 300립 이상이었고, 최대 종자량은 800립, 최소 종자량은 8립이었다. 선발된 39계통에서 종자생산력의 차이가 있었다. 평균 결협수는 20협이었고, 최대 결협수는 39협, 최소 결협수는 1협이었다. No1, No5, No9, No12, No16, No17계통은 전년도 실험결과 자가불화합성이 약하고 임성이 높아 FS로만 교배하여 종자량이 적었고, No2, No6, No10, No11, No15, No18, No24, No25, No26, No27, No30, No31,

No32, No33, No34, No37, No40, No42, No43, No46, No49, No50 계통은 전년도 실험결과 자가불화합성이 강하고 임성이 낮아 BS로만 교배하였다. No3, No4, No7, No8, No13, No14, No22, No23, No28, No29, No35, No36, No38, No39, No44, No45, No47, No48계통은 자가불화합성 정도를 파악하지 못하여 FS, BS를 하였다. No3 계통은 자가불화합성이 약해 FS를 통해 800립, BS를 통해 100립 총 900립의 종자를 얻었다. No6 계통은 자가불화합성이 매우 강하여 FS 종자는 얻지 못하였고 BS로 500립의 종자를 얻었다. No27 계통은 자가불화합성이 강해 BS 종자만 17립을 얻었다. 이들 중 임성과 종자량을 고려하여 15계통을 선발하였으며, 선발된 계통은 평균적으로 15 이상의 임성을 나타냈고, 임성이 20이상인 계통은 5계통, 10이상인 계통은 10계통 이었다(그림 124, 표 49).

2차년도(2013)에는 선발된 20계통의 평균 종자량은 약 160립 이상이었고, 최대 종자량은 260립, 최소 종자량은 80립이었으며 각각의 선발된 20계통에서 종자생산력의 차이가 있음을 알 수 있었다. No58, No67 계통은 전년도 실험결과 자가불화합성이 강하고 임성이 낮아 BS로만 교배하였다. No51~57, No59~66, No68~70계통은 자가불화합성 정도를 파악하지 못하여 FS, BS를 하였다. No56 계통은 상대적으로 자가불화합성이 약한 편이었으며(FS임성 1.3), No59, No62 계통은 자가불화합성이 매우 강하여 FS 종자를 거의 얻지 못하였고 BS로 180, 120립의 종자를 각각 얻었다(그림 125, 표 49).

3차년도(2014)에는 선발된 20계통의 평균 종자량은 약 138립 이상이었고, 최대 종자량은 350립, 최소 종자량은 19립이었으며 각각의 선발된 22계통에서 종자생산력의 차이가 있음을 알 수 있었다. No76, No77, No82, No82, No84 계통은 전년도 실험결과 자가불화합성이 강하고 임성이 낮아 BS로만 교배하였다. No71~75, No78~81, No85~92계통은 자가불화합성 정도를 파악하지 못하여 FS, BS를 하였다. No73, No74, No78, No88 계통은 상대적으로 자가불화합성이 약한 편이었으며(FS임성 1.6~3.6), No80, No81, No86, No90 계통은 자가불화합성이 매우 강하여 FS 종자를 거의 얻지 못하였고 BS로 55~170립의 종자를 각각 얻었다(그림 126, 표 49).

4차년도(2015)에는 선발된 30계통의 FS(flower selfing, 개화수분) 평균 종자량은 약1.3립 이상으로, 최대 종자량은 6립, 최소 종자량은 0립이었다. BS(bud selfing, 너수분) 평균 종자량은 약 150립 이상으로, 최대 종자량은 480립, 최소 종자량은 32립이었다. 또한 평균 결핵수는 18협 이상으로, 최대 결핵수는 44, 최소 결핵수는 6이었다. 내한성에 강하고, 자가불화합성(SI, self-incompatibility)의 정도가 강한 계통을 선발하기 위하여 임성을 조사한 결과 No100, No107, No109은 자가불화합성이 매우 강하여 FS종자를 거의 얻지 못하였으며, No102, No103, No110, No112, No113 계통은 자가불화합성이 매우강한 성향을 보였다. 또한 나머지 계통도 자가불화합성이 강하여 SI채종을 위한 모본으로 적당한 계통임을 알 수 있었다. 이와 같이 FS 임성은 0~0.3, BS 임성은 2.2~19.2를 나타내어 종자생산력의 차이를 보였다(그림 127, 표 49).

5차년도(2016)에 선발된 30계통의 평균 종자량은 약 197립 이상이었고, 최대 종자량은 410립, 최소 종자량은 36립이었으며 각각의 선발된 30계통에서 종자생산력의 차이가 있음을 알 수 있었다. 선발된 30계통에 대해 자가불화합성 정도를 파악하지 못하여 FS, BS를 교배하였다. No123, No125, No126, No130, No134, No136, No137, No139, No142~No144 계통은 상대적으로 자가불화합성이 약한 편이었으며(FS임성 0.3~5.9), No124, No128, No129, No132, No134, No135, No138, No141, No145, No146, No149, No150, No151 계통은 자가불화합성이 매우

강하여 FS 종자를 거의 얻지 못하였고 BS로 51~400립의 종자를 각각 얻었다(그림 128, 표 49).

선발된 유전자원은 임성이 높아 종자를 확보하는데 유리할 것으로 판단되며, 원예적 특징과 임성을 고려하여 연구기간동안 다양한 조합작성 및 품종개발에 활용하였으며 연구기간 종료 후에도 활발히 활용될 수 있을 것으로 판단된다. 또한 순화고정이 끝나지 않은 선발계통의 경우에도 지속적으로 세대진전을 수행하여 순화고정을 완료하여 향후 연구개발에 활용할 계획이다.

표 49. 미니, 무모 적색결구 우수계통의 종자 결실

년도	No.	도입번호	수분화수		결업수		종자량		임성		비고
			FS	BS	FS	BS	FS	BS	FS	BS	
2012	1	5388-82-5	24	-	32	-	360	-	15	-	
	2	5389-81-3	-	30	-	22	-	120	-	4	
	3	5390-51	32	25	36	23	800	100	25	4	
	4	5390-52	8	24	4	20	7	150	0.9	6.3	
	5	5391-92-3	24	-	26	-	390	-	16.3	-	
	6	5395-78-5	-	23	-	21	-	500	-	21.7	
	7	5396-51	19	24	24	24	500	200	26.3	8.3	
	8	5396-52	23	27	4	19	5	109	0.2	4	
	9	5397-57-1	17	-	24	-	500	-	29.4	-	
	10	5397-57-3	-	31	-	24	-	150	-	4.8	
	11	5398-22-6	-	31	-	27	-	280	-	9	
	12	5399-59-1	22	-	21	-	450	-	20.5	-	
	13	5400-51	18	20	1	19	3	200	0.3	10	
	14	5400-52	15	21	1	17	1	280	0.1	13.4	
	15	5406-22-7	-	31	-	23	-	105	-	3.3	
	16	5407-59-7	22	-	14	-	250	-	11.4	-	
	17	5408-98-6	27	-	26	-	400	-	14.8	-	
	18	5409-56-8	-	32	-	20	-	18	-	0.6	
	19	5410-25-4	21	-	30	-	125	-	9	-	
	20	5411-23-2	23	-	24	-	190	-	8.3	-	
	21	5418-64-8	13	-	13	-	200	-	15.4	-	
	22	5424-51	15	29	7	23	18	150	1.2	5.2	
	23	5424-52	13	24	3	16	10	60	1.8	2.5	
	24	5425-27-8	-	15	-	15	-	250	-	10	
	25	5435-34-5	-	28	-	25	-	150	-	5.4	
	26	5438-59-2	-	21	-	17	-	100	-	3.8	
	27	5440-24-8	-	16	-	23	-	17	-	2.6	
	28	5441-51	20	28	5	20	16	149	0.5	5.3	
	29	5441-52	14	26	7	26	13	300	0.9	11.5	
	30	5442-31-8	-	24	-	24	-	8	-	0.3	
	31	5443-14-7	-	23	-	21	-	8	-	0.3	

	32	5446-27-8	-	21	-	17	-	280	-	10	
	33	5447-16-5	-	32	-	24	-	100	-	3.1	
	34	5448-14-9	-	28	-	27	-	430	-	15.3	
	35	5455-51	12	21	11	16	1	150	0.08	7.1	
	36	5455-52	10	22	1	21	1	350	0.1	15.9	
	37	5456-95-1	-	23	-	10	-	90	-	3.9	
	38	5457-53	15	28	10	17	32	200	2.1	7.1	
	39	5457-54	11	39	9	39	27	210	5.5	5.4	
	40	5459-35-7	-	22	-	19	-	200	-	9.1	
	41	5439-35-8	10	25	-	22	-	400	-	16	
	42	5462-45-6	-	29	-	19	-	120	-	4.1	
	43	5465-98-7	-	19	-	16	-	210	-	11.1	
	44	5466-51	8	23	5	12	3	30	0.3	1.3	
	45	5466-52	10	24	3	16	4	130	0.4	5.4	
	46	5469-65-4	-	34	-	28	-	300	-	8.8	
	47	5471-51	16	23	5	21	10	36	0.6	1.6	
	48	5471-52	13	25	3	4	7	30	0.5	1.2	
	49	5472-48-2	-	23	-	13	-	36	-	1.6	
	50	5473-26-5	-	23	-	5	-	10	-	0.4	
2013	51	NDG-56-51	10	20	-	-	2	250	0.2	12.5	미니배추계통
	52	NDG-56-52	10	19	-	-	3	210	0.3	11.05	미니배추계통
	53	NDG-52-51	10	20	-	-	6	230	0.6	11.5	미니배추계통
	54	NDG-53-51	9	20	-	-	3	220	0.33	11	미니배추계통
	55	SSG-51-51	8	21	-	-	8	150	1	7.14	미니배추계통
	56	SSG-52-51	10	20	-	-	13	160	1.3	8	미니배추계통
	57	SSG-53-51	9	20	-	-	7	150	0.77	7.5	미니배추계통
	58	SSG-53-52	-	22	-	-	-	80	-	3.63	미니배추계통
	59	WDC-51-51	10	20	-	-	1	180	0.1	9	무모계통
	60	WDC-52-51	9	20	-	-	1	150	0.11	5.4	무모계통
	61	WDC-53-51	10	21	-	-	2	160	0.2	7.5	무모계통
	62	WDC-54-51	10	20	-	-	0	130	0	2.6	무모계통
	63	5422-51	10	20	-	-	3	120	0.3	6.5	적색결구계통
	64	5422-52	10	19	-	-	5	100	0.5	5.26	적색결구계통
	65	5423-51	9	20	-	-	4	110	0.44	5.5	적색결구계통
	66	5424-51	9	18	-	-	5	90	0.55	5	적색결구계통
	67	5430-51	-	20	-	-	-	100	-	5	적색결구계통
	68	5430-52	10	20	-	-	7	120	0.7	6	적색결구계통
	69	5433-51	10	19	-	-	8	260	0.8	13.68	적색결구계통
	70	5434-51	10	20	-	-	6	230	0.6	11.5	적색결구계통
2014	71	5060-51	11	21	-	-	1	350	0.09	16.7	적색결구
	72	5114-51-51	11	43	-	-	2	100	0.2	2.3	적색결구
	73	5116-51-51	13	21	-	-	64	67	2.08	3.2	적색결구
	74	5119-51-51	10	28	-	-	36	140	3.6	5	적색결구

	75	5120-51-51	22	28	-	-	3	250	0.1	8.9	적색결구
	76	MSBC7×5164-51S-G8	-	30	-	-	-	45	-	1.5	적색결구
	77	MSBC3×5239-54-53-51(3)	-	31	-	-	-	19	-	4.2	적색결구
	78	61-1-G6-51(4)	10	25	-	-	18	230	1.8	9.2	무모계통
	79	5239-52-52-51(3)	10	30	-	-	1	33	0.1	1.1	무모계통
	80	5239-54-51(3)	14	20	-	-	0	55	0	2.8	무모계통
	81	5239-54-53-51(3)	11	28	-	-	0	100	0	3.6	무모계통
	82	MSBC8×61-1-G10	-	25	-	-	-	230	-	9.2	무모계통
	83	MSBC8×61-2-G10	-	35	-	-	-	250	-	7.1	무모계통
	84	MSBC0×61-1-G10	-	61	-	-	-	85	-	1.4	무모계통
	85	5147-51(4)	11	26	-	-	2	78	0.18	3	무모계통
	86	8004-51(6)	13	29	-	-	0	170	0	5.9	무모계통
	87	5239-55S-G3-52-51(3)	14	21	-	-	2	25	0.1	1.2	미니배추계통
	88	2호-1-G3-51(4)	10	24	-	-	16	300	1.6	12.5	미니배추계통
	89	OMF-G4-51(3)	10	28	-	-	9	200	0.9	7.1	미니배추계통
	90	5240-51-51-1-51-51	8	10	-	-	0	120	0	12	미니배추계통
	91	8010-51(6)	12	23	-	-	7	90	0.6	3.9	미니배추계통
	92	8316-51(4)	10	27	-	-	5	100	0.5	3.7	미니배추계통
2015	93	5013-51-51-51-51-51	10	27	1	20	1	93	0.1	3.4	
	94	5013-51-52-51-51-51-51-51-51-51	10	26	1	26	1	140	0.1	5.4	
	95	5018-51-51-51-51	9	22	2	22	0	80	0	3.6	
	96	5018-51-52-51	11	28	2	28	1	290	0.1	10.3	
	97	5021-51-51-51-51-51	10	21	1	21	1	120	0.1	5.7	
	98	5023-51-51-51-51-51	12	22	3	22	2	220	0.1	10	
	99	5023-51-52-51-51-52	9	49	1	44	1	400	0.11	8.2	
	100	5050-51-51-51-51-51	13	23	5	15	3	130	0.2	5.7	
	101	(8053×♂)-51-G3-51	10	24	1	24	1	130	0.1	5.4	
	102	5191-51-51-51-51-51-51-51	9	34	0	30	0	74	0	2.2	
	103	(8053×♂)-51-52-52	12	36	2	20	2	120	0.17	3.3	
	104	5387-51-51-51-51-51	11	22	1	21	1	160	0.09	7.3	
	105	5388-51-51-51-51-51	11	20	2	16	2	260	0.2	13	
	106	5388-51-51-52-51-51-51-51	17	23	1	14	2	240	0.1	10.4	
	107	5388-52-51-51-51-51	11	25	5	23	6	480	0.5	19.2	
	108	5388-52-52-51-51-51	12	21	0	12	0	35	0	1.7	
	109	5407-51-51-51	10	24	13	24	1	120	0.1	5	
	110	5407-51-51-52-51-51	10	20	10	18	2	340	0.2	17	
	111	5408-51-51-51	11	23	8	22	1	210	0.09	9.1	
	112	5408-51-51-52-51-51	11	48	0	7	0	32	0	0.7	
	113	AW♀-2-51-52-51	12	20	1	6	1	78	0.08	3.9	
	114	AW♀-2-51-52-52	13	21	2	12	0	86	0	4.1	
	115	AW♀-1-51-51-51-53	10	29	5	12	0	100	0	3.4	
	116	AW♀-1-51-51-52-51	11	21	3	12	1	58	0.09	2.8	
	117	WC1-51-51-51-51	11	26	10	16	1	160	0.09	6.2	

	118	WC1-52-51-51-51-51	11	22	9	11	1	89	0.09	4.04	
	119	WC1-53-51-51-51	10	53	3	17	3	80	0.3	1.5	
	120	WC2-52-51-51-51-51-51-51-51	15	24	4	13	4	87	0.3	3.6	
	121	WC2-52-52-51-51-51	10	24	0	18	0	77	0	3.2	
	122	WC2-54-51-51-51-51	9	22	0	15	0	180	0	8.2	
2016	123	2SP-5-51-51-51	13	24			76	280	5.9	11.7	적색결구
	124	2SP-24-51-51-51	10	24			0	90	0	3.8	적색결구
	125	2SP-26-51-51-51	10	23			20	410	2	17.8	적색결구
	126	2SP-91-51-51-51	10	20			14	120	1.4	6	적색결구
	127	2SP-118-51-51-51	10	21			1	160	0.1	7.6	적색결구
	128	2SP-119-51-51-51	10	19			0	300	0	15.8	적색결구
	129	2SP-120-51-51-51	10	24			0	180	0	7.5	적색결구
	130	2SP-122-51-51-51	11	19			21	100	1.9	5.3	무모계통
	131	2SP-123-51-51-51	13	25			9	100	0.7	4	적색결구
	132	2SP-126-51-51-51	11	23			0	300	0	13.1	적색결구
	133	2SP-127-51-51-51	12	26			1	36	0.09	1.4	적색결구
	134	2SP-128-51-51-51	11	27			0	210	0	7.8	적색결구
	135	2SP-129-51-51-51	10	20			0	130	0	6.5	무모계통
	136	2SP-131-51-51-51	10	25			5	300	0.5	12	적색결구
	137	2SP-133-51-51-51	10	25			22	200	2.2	8	무모계통
	138	2SP-134-51-51-51	10	23			0	180	0	7.8	적색결구
	139	2SP-135-51-51-51	14	26			4	250	0.3	9.6	적색결구
	140	2SP-137-51-51-51	12	26			1	150	0.09	5.8	적색결구
	141	2SP-143-51-51-51	10	28			0	400	0	14.3	무모계통
	142	2SP-182-51-51-51	10	23			4	96	0.4	4.2	미니배추계통
	143	2SP-229-51-51-51	12	20			3	130	0.3	6.5	적색결구
	144	2SP-265-51-52-51	12	20			28	200	2.3	10	적색결구
	145	2SP-265-52-51-51	7	20			0	200	0	10	미니배추계통
	146	2SP-272-51-51-51	11	20			0	66	0	3.3	미니배추계통
	147	2SP-275-51-51-51	10	21			1	180	0.1	8.6	미니배추계통
	148	2SP-311-51-51-51	11	23			2	250	0.2	10.9	미니배추계통
	149	2SP-324-51-51-51	11	24			0	350	0	14.6	미니배추계통
	150	2SP-328-51-51-51	10	25			0	51	0	2	미니배추계통
	151	3SP-124-51-51-51	8	23			0	300	0	13	미니배추계통
	152	3SP-150-51-51-51	14	22			1	200	0.08	9.1	무모계통



124. 선발된 내한성 및 적색, 미니, 무모 우수계통의 순화 및 고정(2012년)



그림 125. 선발된 내한성 및 적색, 미니, 무모 우수계통의 순화 및 고정(2013년)



그림 126. 선발된 내한성 및 적색, 미니, 무모 우수계통의 순화 및 고정(2014년)



그림 127. 선발된 내한성 및 적색, 미니 우수계통의 순화 및 고정(2015년)



그림 128. 선발된 내한성 및 적색, 미니 우수계통의 순화 및 고정(2016년)

10. 유전자원 등록

본 연구과제를 수행하는 동안 1차년도 11계통, 2차년도 11계통, 3차년도 8계통을 순화 고정시켜 총 30계통을 유전자원 등록하였다.

1차년도(2012) 유전자원은 적경수채 2계통, 배추 9계통을 2011년도까지 순화 고정시켜, F6 세대 이상인 No1, No3, No4, No5, No6, No7, No8, No9, No10, No11을 2012년 2월~4월에 증식하여 등록하였다. No1은 엽색이 적색이며 결각이 심한 경수채로서 숙기가 빠르고, 자가불화합성 정도는 중이었다. No2은 자가불화합성이 약하며 엽색이 적색이고 결각이 매우 심하고 숙기가 빠른 경수채이다. No3은 엽색이 녹색이고 추대가 매우 늦으며, 자가불화합성 정도는

강한, 봄배추 계통이다. No4은 자가불화합성 정도가 중이고, 엽색이 녹색이고, 추대 늦으며 뿌리혹병 약한 봄배추 계통이다. No5은 엽색이 녹색이며 추대가 다른작물 보다 빠르고 털이 없는 남방계배추로 자가불화합성의 정도는 중인 계통이다. No6 계통은 엽색이 진녹색이며, 추대가 늦으며 자가불화합성의 정도가 중간 정도인 미니 배추이다. No7은 엽색이 녹색이며 추대가 중간이고 자가불화합성이 중간인 미니배추이다. No8은 엽색이 연한 적색이고, 추대가 안정되어 있으며, 자가불화합성 정도가 매우 강한 적색 미니 배추이다. No9은 엽색이 진한적색이며 추대가 중간이고 자가불화합성 정도가 중간인 적색미니배추이다. No10은 엽색이 적색이고 추대가 안정적이며 자가불화합성의 정도가 중간이 적색 배추 계통이다. No11은 엽색이 적색이고 추대가 중간이며 자가불화합성의 정도가 중간인 적색미니배추이다(표 50).

2차년도(2013) 유전자원은 적경수채 4계통, 배추 7계통을 2011년도까지 순화 고정시켜, S6 세대 이상인 11계통을 2013년 2월~4월에 증식하여 등록하였다. No.12은 엽색이 녹색이며 생육과 추대가 빠른 자가불화합성이 중간이며 크기는 중간인 청경채이다. No.13는 엽색이 진한 녹색이며 생육이 빠르나 추대와 자가불화합성은 중간정도인 청경채이다. No.14는 엽색이 적색이며 초장이 길고 추대가 중간인 소송채이다. No.15는 엽색이 적색이며 추대가 빠른 청경채이다. No.16는 녹색의 무사마귀병에 강한 배추이며, No.17는 생육이 빠르며 추대가 중간인 적색배추이다. No.18은 숙기가 빠르고 초장이 짧은 적색배추이다. No.19은 숙기가 빠른 중간 정도의 자가불화합성의 적색배추이다. No.9는 숙기가 빠르고 중간 정도의 자가불화합성이며 강한 내한성의 적색배추이다. No.21은 추대시기가 보통이며 중간 정도의 자가불화합성의 적색 배추이다. No.22은 추대시기가 보통이며 중간 정도의 자가불화합성이며 뿌리혹병에 약한 특징의 엽색진한 적색배추이다(표 50).

3차년도(2014) 유전자원은 Pakchoi 3계통, 배추 5계통을 2012년도까지 순화 고정시켜, S6 세대 이상인 8계통을 2014년 2월~4월에 증식하여 등록하였다. No.1은 엽색이 진한자색이며 생육과 추대가 빠른 세포질용성불임계통(CMS)이며 초장이 중간인 Pakchoi이다. No.24는 엽색이 열은자색이며 생육이 빠르나 추대는 중간정도인 CMS 청경채이다. No.25는 엽색이 진한자색이며 추대가 중간이며 초장이 긴 Pakchoi이다. No.26는 엽색이 녹색이며 추대와 무사마귀병에 중간 정도의 내성을 보이며 자가불화합성은 중간인 고정종 배추이다. No.27는 엽색이 진한녹색이며 추대는 중간이며, 생육은 빠르며, 내한성이 강한 고정종이나 뿌리혹병에는 약한 특성의 배추이다. No.28는 엽색이 적색에 숙기가 빠르고 초장이 짧은 특징의 소구형 배추이다. No.29은 엽색이 적색이며 숙기가 빠른타입에 자가불화합성이 중간인 배추 고정종이다. No.30은 소구형에 엽색이 적색이며 숙기가 빠른 자가불화합성이 중간정도인 배추이다(표 50).

표 50. 배추 유전자원의 등록 정보

년도	No.	기관 관리번호	작물명	품종명	계통명	원산지	자원구분	육성년도	균일성
2012	1	PT12-8	적경수채	RP-771	6033	대한민국	계통	2012	고정종
	2	PT12-9	적경수채	RP-772	6034	대한민국	계통	2012	고정종
	3	CC12-1	배추	CC-3011	6003	대한민국	계통	2012	고정종
	4	CC12-2	배추	CC-3012	6004	대한민국	계통	2012	고정종

	5	CC12-3	배추	CC-3022	6007	대한민국	계통	2012	고정종
	6	CC12-4	배추	CC-3031	6001	대한민국	계통	2012	고정종
	7	CC12-5	배추	CC-3032	6002	대한민국	계통	2012	고정종
	8	CC12-6	배추	RC-321	6017	대한민국	계통	2012	고정종
	9	CC12-7	배추	RC-322	6018	대한민국	계통	2012	고정종
	10	CC12-8	배추	RC-332	6014	대한민국	계통	2012	고정종
	11	CC12-9	배추	RC-341	6015	대한민국	계통	2012	고정종
2013	12	K222907	청경채	PT13-1	9037	대한민국	계통	2013	고정종
	13	K222908	청경채	PT13-2	9039	대한민국	계통	2013	고정종
	14	K222909	청경채	PT13-3	9041	대한민국	계통	2013	고정종
	15	K222910	청경채	PT13-4	9034	대한민국	계통	2013	고정종
	16	K222911	배추	CC13-1	9001	대한민국	계통	2013	고정종
	17	K222912	배추	CC13-2	9016	대한민국	계통	2013	고정종
	18	K222913	배추	CC13-3	9020	대한민국	계통	2013	고정종
	19	K222914	배추	CC13-4	9032	대한민국	계통	2013	고정종
	20	K222915	배추	CC13-5	9012	대한민국	계통	2013	고정종
	21	K222916	배추	CC13-6	9014	대한민국	계통	2013	고정종
	22	K222917	배추	CC13-7	9017	대한민국	계통	2013	고정종
2014	23	PT14-1	청경채	DH-5ms	-	대한민국	계통	2014	고정종
	24	PT14-2	청경채	DHBPms	-	대한민국	계통	2014	고정종
	25	PT14-3	청경채	DH-10	-	대한민국	계통	2014	고정종
	26	CC14-1	배추	5166	-	대한민국	계통	2014	고정종
	27	CC14-2	배추	월천-2	-	대한민국	계통	2014	고정종
	28	CC14-3	배추	3SP-15	-	대한민국	계통	2014	고정종
	29	CC14-4	배추	8605	-	대한민국	계통	2014	고정종
	30	CC14-5	배추	8607	-	대한민국	계통	2014	고정종

4. 적색결구배추계통 소포자 배양

가. 적색배추계통 선발 및 소포자 배양 방법

배양재료의 화서를 절취하여 2% sodium hypochlorite 용액에 10분간 침지하고 이를 멸균수로 3회 이상 수세하였다. 표면살균 된 꽃봉오리는 13%의 sucrose가 첨가된 B5를 각각 조금씩 첨가하여 막자사발로 분쇄하여 45 μ m의 sieve로 여과한 용액을 원심분리하여 소포자를 분리하였다. 수집된 소포자는 배양배지에 넣어 60 \times 15mm petri dish에 2.5 ml씩 분주하였다 (그림 129). 전처리 온도 및 시간별 처리와 배양배지 조건에 따른 배발생을 조사하기 위해 표 52와 53과 같은 처리를 통해 배발생을 유도하였다. 각 처리 당 30개의 bud를 실험재료로 사용하였다.

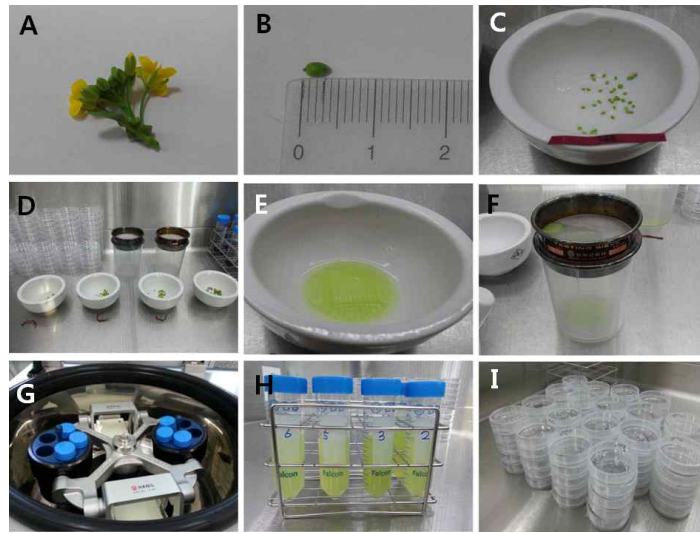


그림 129. 소포자 배양과정 A. 배양재료; B. 사용되는 bud의 크기; C. 소독 된 bud; D. 막자 사발에 옮겨진 멸균된 bud; E. 막자 사발로 분쇄한 bud; F. 45 μ m sieve에 걸려진 소포자; G. 원심분리; H. 배양배지에 소포자 현탁; I. 60x15mm petri dish에 분주

발생된 배로부터 유기된 유식물체를 성장조절제가 첨가되지 않은 MS 배지로 옮겨 발근을 유도하였다. 유기된 유식물체를 6주간 성장시킨 후 8 $^{\circ}$ C의 춘화처리 시설에 옮겨 배양하였다. 8주 후 춘화처리된 식물체를 화분에 옮겨 4주에 걸쳐 순화처리를 거치면서 추대를 유도하여 교배에 이용하였다.

표 51. 소포자 배양 조성

B.N.	Felid Label	Culture medium	Temperature condition	
			Temperature($^{\circ}$ C)	Time(d)
AS20	2	1, 2, 3, 4, 5	30, 32.5	1d, 2d, 3d
AS21	3	1, 2, 3, 4, 5	30, 32.5	1d, 2d, 3d
A23	4	1, 2	30, 32.5	1d, 2d, 3d
AS24	5	1, 2, 3, 4, 5	30, 32.5	1d, 2d, 3d
AS34	6	1, 2, 3, 4, 5	30, 32.5	1d, 2d, 3d

표 52. 소포자 배양에 이용된 주요 배지의 조성표

번호	배지조성			
1	NLN + S13% + AgNO ₃	1.0 + CaNO ₃	0.5g/l + NAA0.5mg/ml + BAP0.5mg/ml	
2	NLN + S13% + AgNO ₃	1.0 + CaNO ₃	0.5g/l + NAA1.0mg/ml + BAP1.0mg/ml	
3	NLN + S15% + AgNO ₃	1.0 + CaNO ₃	0.5g/l + NAA1.0mg/ml + BAP1.0mg/ml	
4	1/2NLN + S13% + AgNO ₃	1.0 + CaNO ₃	0.25g/l + NAA0.5mg/ml + BAP0.5mg/ml	
5	1/2NLN + S13% + AgNO ₃	1.0 + CaNO ₃	0.25g/l + NAA1.0mg/ml + BAP1.0mg/ml	

나. 소포자 배양 결과

1차년도(2012년)에는 8계통의 실험 결과 많은 수의 배를 획득하지는 못하였으나, 위와 같은 소포자 배양 과정을 걸쳐 WC1-51, WC1-52, WC1-54, WC1-55, 5004, 5043, 5045, 5003계통의 배 발생을 결과를 얻었다(표 53). AS-1계통은 70개의 꽃봉오리를 실험하여 2개의 배가 발생했으며, 1개의 배를 MS 치상하였다. 이때 배지 조건은 NLN + S15% + N · B0.5에서 실험했으며 30℃에서 24시간 온도를 처리하였다. AS-2계통은 60개의 꽃봉오리를 실험하여 1개의 배가 발생했으나 생육상태가 좋지 않아 MS치상을 하지 않았다. AS-3계통은 180개의 꽃봉오리를 실험하여 1개의 배가 발생했으며, 1개의 배를 MS 치상하였다. 배지조건은 NLN + S13% + N · B0.5에서 실험했으며 30℃에서 24시간 온도를 처리하였다. AS-4계통은 90개의 꽃봉오리를 실험하였으나 배가 발생하지 않았다. AS-6계통은 60개의 꽃봉오리를 실험하여 10개의 배가 발생했으며, 5개의 배를 MS 배지에 치상하였다. 이때 배지 조건은 ½NLN + S10% + N · B0.5에서 실험했으며 30℃에서 48시간 온도를 처리하였다. AS-7계통은 60개의 꽃봉오리를 실험하여 15개의 배가 발생했으며, 10개의 배를 MS 배지에 치상하였다. 이때 배지조건과 온도 조건은 위의 조건과 동일하다. AS-8계통과 AS-9계통에서 각각 60개의 꽃봉오리를 실험하였고 각각 2개와 4개의 배가 발생하였으나 그 상태가 좋지 않아 도태시켰다.

표 53. 배추 소포자 배양의 배발생을 (2012년)

	Field Label	실험개수 (Bud)	배발생 개수	MS치상 개수	배지조건	온도처리
AS-1	WC1-51	70	2	1	NLN+S15%+N · B0.5	30℃ 24h
AS-2	WC1-52	60	1	-	NLN+S15%+N · B1.0	30℃ 24h
AS-3	WC1-54	180	1	1	NLN+S13%+N · B0.5	30℃ 24h
AS-4	WC1-55	90	-	-	NLN+S15%+N · B0.5	30℃ 24h
AS-5	5004	60	10	5	½NLN+S10%+N · B0.5	30℃ 48h
AS-6	5043	60	12	10	½NLN+S10%+N · B0.5	30℃ 48h
AS-7	5045	60	15	10	½NLN+S10%+N · B0.5	30℃ 48h
AS-8	5003	60	2	-	½NLN+S13%+N · B0.5	30℃ 48h
AS-9	5004	60	4	-	½NLN+S10%+N · B0.5	30℃ 48h

2차년도(2013년도)에는 5계통의 실험재료를 전처리 온도 및 처리기간과 배지조성에 따른 총 30가지 실험구에 처리하여 배발생을 조사하였다(표 54).

표 54. 계통의 전처리 온도 및 시간, 배지조성에 따른 배발생 (2013년)

2번 계통의 전처리 온도 및 시간, 배지조성에 따른 배발생							
배지조성	전처리 온도 및 시간						총 배수
	30℃	30℃ 2d	30℃ 3d	32.5℃	32.5℃ 2d	32.5℃ 3d	
1	427	184	42	0	0	19	672
2	171	56	26	0	0	23	276
3	6	2	0	0	0	0	8
4	0	0	0	31	55	0	86

5	0	0	0	5	27	0	32
총 배수	604	242	68	31	55	42	1042
3번 계통의 전처리 온도 및 시간, 배지조성에 따른 배발생							
배지조성	전처리 온도 및 시간						총 배수
	30℃	30℃ 2d	30℃ 3d	32.5℃	32.5℃ 2d	32.5℃ 3d	
1	253	175	59	0	0	45	532
2	2	0	25	0	0	41	68
3	7	31	0	0	0	0	38
4	0	0	0	42	41	0	83
5	0	3	0	18	37	0	55
총 배수	262	209	84	60	78	86	779
4번 계통의 전처리 온도 및 시간, 배지조성에 따른 배발생							
배지조성	전처리 온도 및 시간						총 배수
	30℃	30℃ 2d	30℃ 3d	32.5℃	32.5℃ 2d	32.5℃ 3d	
1	39	0	0	0	0	0	39
2	23	0	0	0	0	0	23
총 배수	62	0	0	0	0	0	62
5번 계통의 전처리 온도 및 시간, 배지조성에 따른 배발생							
배지조성	전처리 온도 및 시간						총 배수
	30℃	30℃ 2d	30℃ 3d	32.5℃	32.5℃ 2d	32.5℃ 3d	
1	166	96	0	0	0	0	262
2	19	7	0	0	0	0	26
3	2	37	0	120	21	0	180
4	3	0	28	39	23	0	93
5	0	1	0	33	43	5	82
총 배수	190	141	28	192	87	5	643
6번 계통의 전처리 온도 및 시간, 배지조성에 따른 배발생							
배지조성	전처리 온도 및 시간						총 배수
	30℃	30℃ 2d	30℃ 3d	32.5℃	32.5℃ 2d	32.5℃ 3d	
1	241	245	0	0	0	0	486
2	72	0	0	0	0	0	72
3	38	85	0	120	125	0	368
4	0	0	0	12	0	0	12
5	0	0	15	2	6	12	35
총 배수	351	330	15	134	131	12	973

전처리는 32.5℃에서보다 30℃에서 높았으며 처리 시간은 1일에서 가장 높은 배발생을 나타냈다. 32.5℃ 처리시 배발생은 현저히 낮아졌으며 3일간 처리한 2, 3번 계통에서만 배발생이 유도되었다. 배지는 13% sucrose에 각각 0.5mg/l의 NAA와 BAP가 첨가된 1번 배지에서 5계통 모두 효율이 가장 높으며 1mg/l으로 호르몬의 농도가 높아지면서 배발생은 2배 이상 현저히 낮아졌다. 1mg/l의 NAA와 BAP의 같은 호르몬 농도처리에서도 sucrose 농도가 15%로

높아진 3번 배지에서는 배발생이 현저히 낮아졌다. 또한 NLN농도가 낮아지면 30℃ 전처리에서는 배발생이 거의 이루어지지 않았으며 32.5℃ 처리에서 일부 유도되었다.

계통별 배발생은 2번 계통에서 1072개로 가장 높았으며 시료를 많이 채취하지 못한 4번 계통을 제외한 계통에서는 6번 973개, 3번 779개, 5번 649개로 나타났다. 모든 계통에서 30℃에서 1일간 전처리 후 1번 배지조성에서 배양한 경우 배발생이 가장 많았으며 그 이외의 조건은 각 계통별 처리에 따라 배발생율이 상이하였다. 배발생은 계통간의 전처리 온도와 시간 및 호르몬 농도에 따라 크게 상이하였으며 sucrose 농도에 따라서도 차이가 발생율의 차이를 보였다.

3차년도(2014년)에는 계통별 배발생은 AS2 계통에서 985개로 가장 높았으며 AS1 계통은 843개, AS3 계통은 698개, AS4 계통은 349개의 배가 발생되었다. 계통별로 상이하나 1번 또는 2번 배양배지를 사용하여 30℃에서 2일간 전처리를 한 경우 배발생률이 가장 높았다. control배지를 제외한 1번, 2번 배지에서의 배발생률이 상이하고 그 외의 배양배지에서는 배발생률이 매우 낮다는 점에서 계통별로 조건에 맞는 배지는 다르나 동량의 cytokinin과 Auxin 첨가하는 것이 첨가량을 달리하는 것보다 효율이 높은 것을 알 수 있었으며 NAA와 BAP가 리터 당 1mg 이상 첨가되면 오히려 그 효율이 더 낮아지는 것을 확인할 수 있었다. (표 52. 5번 배지) 온도 및 시간처리 별 효율은 큰 차이가 없고 계통별로 상이하나 30℃에서 1일간 처리하였을 때는 전반적으로 낮은 효율을 보여 다른 배추과 작물에 비해 적색결구 배추의 소포자 배양 실험에서는 30℃에서 2일처리, 32.5℃에서 1일 처리를 하는 것이 효율을 높은 것을 알 수 있었다(표 55).

표 55. 적색결구배추 소포자 배양 결과 배 발생 및 식물체 유기율 (2014년)

	총 사용 꽃봉오리 수	발생배 수 (A)	기형배 수	정상배 수 (B)	유기된 식물체의 수(C)	식물체 유기율(C/A)
AS 1	130	843	814	29	23	2.7
AS 2	150	985	923	62	58	5.8
AS 3	120	698	681	17	15	2.1
AS 4	100	349	342	7	5	1.4
합계	500	2875	2760	115	101	3.5

4차년도(2015년)에는 계통별로 채취하여 선별이 끝난 화뢰는 불필요한 부분을 제거하고 계통별로 거즈에 묶어 70% EtOH에 30초, 2% sodiumhypochlorite용액에 15분간 표면소독 후 멸균된 증류수로 3회 이상 수세하였다. 시료는 13% sucrose가 첨가된 B5 액체배지와 함께 넣어 막자사발로 분쇄하여 45µm sieve로 약벽과 조직을 걸러내어 원심분리를 통해 소포자를 분리하였다. Tube에서 분리된 소포자는 식물생장조절제가 첨가된 배양배지에 activated chacoal과 함께 60X15mm petri dish에 2.5ml씩 분주하였다. 1~2일 간 전처리 후에는 25℃ 항온항습기에서 15~20일간 암배양하며 배발생을 관찰하였다. 발생된 배는 육안으로 확인이 되면 60~70rpm으로 shaking하며 명배양하였으며 7일 후 배를 식물생장조절제가 첨가되지 않은 MS배지로 옮겨 발근을 유도하였다(표 56).

표 56. 계통별 전처리 온도 및 처리시간에 따른 배발생 (2015년)

B N.	Media	Temperature condition(°C, hour)		Total
		32.5°C 24h	30°C 48h	
412	A	34	41	75
	B	10	0	10
	C	255	13	268
	D	0	0	0
Total		299	54	353

5차년도(2016년)에는 적색배추계통 육성을 위한 배유래 식물체를 얻기 위해 F1자색배추 조합 (엇갈이형 자색계통×소구형녹색배추계통, BN412, 그림 130)을 대상으로 총 1,262개의 소포자 배를 획득하여 유식물체로 유기 후 춘화처리를 통해 추대를 유도하였다. 파종 후 본엽이 7~8매 전개된 식물체를 정식하고 개화가 시작된 bud를 채취하여 화엽의 길이가 주두 길이의 1/2~1/3 가량 되는 화뢰만을 선별하여 사용하였다. 계통별로 채취한 화뢰의 70% EtOH 30초, 2% sodiumhypochlorite용액에 20분간 침지하여 표면소독한 후 멸균된 증류수로 3회 이상 수세하였다. 시료는 13% sucrose가 첨가된 B5 액체배지를 넣어 막자사발로 분쇄한 다음 45µm sieve로 약벽과 조직을 걸러 원심분리하여 소포자를 분리하였다. 분리된 소포자는 식물생장 조절제가 첨가된 배양배지에 넣어 60X15mm petri dish에 2.5ml씩 분주하였다. 1~2일 간 전처리 후에는 25°C 항온항습기에서 20~30일간 암배양하며 배발생을 관찰하였고 전처리 온도 및 시간별 처리와 배양배지의 식물생장조절제 구성에 따른 배발생을 조사하였다(표 57).

표 57. 계통별 전처리 온도 및 처리시간에 따른 배발생

B N.	Media	Temperature condition(°C, hour)			Total
		30°C 48h	31°C 24h	32.5°C 24h	
412	A(control)	80	112	122	314
	B	19	54	19	92
	C	21	86	30	137
	D	17	12	4	33
	E	2	7	-	9
Total		139	271	175	585

배양효율을 높이기 위하여 전처리 온도를 3가지로 실험하였고 전년도 실험결과를 바탕으로 효율이 좋았던 배양배지 조성 및 새로운 조성으로 실험을 진행하였다. 발생된 배는 육안으로 확인이 되면 60rpm으로 shaking하며 명배양하였으며 7일 후 유식물체를 식물생장조절제가 첨가되지 않은 MS배지로 옮겨 발근을 유도하였고 발근 후에는 배양실에서 토양순화시켰다. (明:16h, 暗:8시간, 25°C, 그림 130). 배양배지 별 수율은 A(control)배지 외에 C배지에서 다소 높은 효율을 얻었으며 나머지는 비슷한 배 발생률을 보였다. 배양온도는 전반적으로 유사하지만 32.5°C 24h 처리에서 높은 효율을 보였던 전년도 배양결과와 달리 새로 추가된 31°C 24h 처리에서 더 높은 효율을 보였다. 그러나 배 발생 이후 정상적인 생육으로 이어지는 배의

개수는 32.5℃ 24h 처리구가 더 많았고 이어 토양순화까지 이어진 개체 역시 32.5℃ 24h에서 가장 많아 적색배추의 온도조건 확립을 할 수 있었다.



그림 130. 소포자 배양재료로 사용한 결구형 적색배추인, BN412 F1자색 배추

다. 소포자 배양 계통 확보

연구기간동안 소포자배양을 통해 1차년도에는 47점, 2차년도 3,499점, 3차년도 2,875점, 4차년도 353점, 5차년도 585점의 배를 발생시켰으며, 이를 식물체로 유도 후 화분에 이식 및 순화 고정하였다. 이를 각각 FS, BS채종을 통해 149종의 소포자배양 계통을 최종적으로 확보하였다 (그림 131-132). 5차년도에 발생한 배의 경우 식물체로 유도하는 과정에 있으며 이를 저온 처리후 순화고정 및 채종하여 계통을 확보할 예정이다.

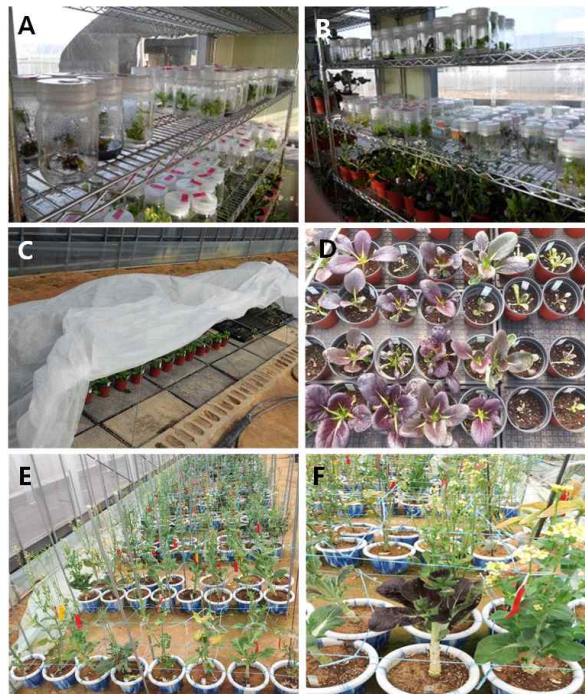


그림 131. 춘화처리를 통한 추대 유도 A,B 춘화처리; C,D 토양 이식 후 순화처리; E,F 추대유도



그림 132. 적색결구배추 품종개발을 위해 소포자배양 후 획득한 고정된 우수 계통

12. 뿌리혹병 병리 검정 및 저항성 계통 및 조합선발

가. 뿌리혹병 병리 검정

최근 세계적인 급격한 기후변화로 인해서 작물 생육단계에서의 변화와 고온, 건조, 다습 등 환경스트레스에 대한 변화로 새로운 병, 해충의 출현이 많아지는 가운데 배추 작물에 가장 큰 영향을 미치는 배추 뿌리혹병 저항성 품종의 필요성이 점점 더 절실해 지고 있다. 배추 뿌리혹병은 토양 중에서 휴면포자의 형태로 월동 및 전염을 하는 병원균으로, 보통 정식 후 20~30일에 잎이 누렇게 변하고 아랫잎이 늘어지는 증상과 함께 뿌리에 여러개의 크고 작은 혹이 생겨난다. 토양을 통해 전염되는 뿌리혹병은 상품성 있는 배추 생산을 저하시키고, 오염된 토양은 계속해서 병을 유발하여 방제에 어려움을 겪게 한다. 이에 육종가들은 뿌리혹병 균주를 수집 및 접종을 통해 뿌리혹병 저항성 품종을 개발하고자 여러 가지 실험을 통해 노력하고 있다.

본 과제의 최종목표인 월동형 적색결구배추이면서 뿌리혹병에 강한 품종을 개발하기 위해서 1차년도에는 경기도 광주, 2차년도 채소병리검정지원사업단의 강릉원주대학교 김병섭 교수를 통해 수집한 뿌리혹병 균주(경기도 안성지역에서 채집), 3차년도 강원도 태백시 매봉산 인근 제2개간지 고랭지 배추밭에서 수집한 뿌리혹병 균주, 4차년도 전남 해남군일대의 배추밭에서 뿌리혹병 균주, 5차년도에는 경기도 연천군에서 수집하여 배추뿌리 이병조직을 채집하였다. 뿌리혹 병균의 순도를 높이기 위하여 채집한 이병조직을 온실에서 재배한 본 엽 2엽기 배추에 접종하여 Growth chamber에서 1주일 동안 배양한 후 포장에 정식하여 60일 동안 재배하여 증식한 균주를 사용하였다. 증식한 균주의 레이스를 규명하기 위해서 Race별 저항 품종을

수집하여 접종 실험한 결과(그림 133), 1차년도에는 Race 11 뿌리혹병 저항성 품종인 '추월 배추', '대통', '추노'가 이 균주에 저항성을 나타내어 사용한 균주는 Race 11(그림 133)로 유추하였고, 2차년도 Williams 판별기주 4종인 Jersey Queen(WCD1), Badger Shipper(WCD2), Laurentian(WCD3), Wilhelmsburger(WCD4)를 사용하여 Race판별하였다. 그 결과 판별 host인 WCD1, WCD2, WCD3, WCD4에서 모두 사용균주에 대하여 이병성을 나타내고 있음을 확인하여 본 저항성 검정 시험에서 사용한 균주가 Race5(그림 134)임을 판별되었으며, 3차년도 뿌리혹병 균주(Race) 판별은 Race4로 판별되었으며, 4차년도, 5차년도 수집 균주 역시 Race4(그림 135)로 판별되었다.

포장에서 수확한 뿌리혹병 균주의 배추 뿌리 이병조직은 -80°C deep freezer에 보관하면서 실험에 사용하였다. 접종하기 직전에 보관중인 균주를 꺼내어 증류수로 수차례 세척하여 이물질을 깨끗이 제거한 후 멸균수를 첨가하여 마쇄하였다. 그리고 식물조직을 제거하기 위하여 2겹의 가제로 여과하였으며 약 10^8 개/mL의 농도로 접종 액을 만들어 사용하였다. 뿌리혹병 균주 접종에 이용된 식물체는 $50\text{cm} \times 30\text{cm}$ 파종상자에 5cm 줄 간격으로 파종한 후 9일된 유묘를 사용하였다. 뿌리혹병 균주 접종을 수행하였다. 균주 접종은 줄뿌림된 파종상의 유묘를 뽑아 뿌리의 흙을 털어낸 후 약 30초 침지한 다음 105구 트레이에 이식한 후 48시간 70% 차광 처리 하였다. 뿌리혹병 접종 10일 후 1차 발병정도를 조사하였고, 1차 조사이후 7일 후 2차 발병정도를 조사하였다. 뿌리혹병의 발병은 눈으로 식별하였으며 주근에 흑이 형성된 것은 이병성(S), 세근에 흑이 형성되거나 주근의 모양이 기형적으로 뒤틀린 것은 중간 이병성(M), 세근이 고르게 잘 퍼져있으며 주근이 매끈할 경우 저항성(R)으로 분류하였다(그림 136). 또한 뿌리혹병의 조사기준은 이병 정도에 따라 극저항성(1), 저항성(3), 보통(5), 이병성(7), 극이병성(9) 등으로 분류하였고 1과 3은 저항성 품종, 7과 9는 이병성 품종으로 구분하였다(표 58).



그림 133. 레이스 판별 품종을 이용한 레이스 판별(race11)



그림 134. Williams 판별기주 4종을 이용한 뿌리혹병 Race 판별(race5)



그림 135. Williams 판별기주 4종을 이용한 뿌리혹병 Race 판별(race4)

1차년도(2012)에는 뿌리혹병 접종을 위하여 사용된 배추 계통은 뿌리혹병 이병성 대비품종 (CR01, CR02), 내병성 대비품종(CR38, CR39, CR40), 수집계통(CR27), S₄, S₅ 세대진전 계통 (CR03, CR04, CR05, CR06, CR07, CR08, CR09, CR10), S₃ 세대진전 계통 (CR36, CR37), 저항성 조합(CR11, CR12, CR13, CR14, CR15, CR16, CR17, CR18, CR19, CR20, CR21, CR22, CR23, CR24, CR25, CR26, CR28, CR29), 신조합 (CR30, CR31, CR32, CR33, CR34, CR35) 등 총 40계통으로 뿌리혹병 저항성 여부를 조사하는데 사용하였다. (표 58, 그림 136). 이병성 대비품종은 아시아종묘의 “휘모리”, “장생3호”였고, 내병성 대비품종은 NW사의 “WR”, “SWR”, “MC”였다. 수집계통은 중국 창용에서 수집하여 왔고, 저항성 조합은 작년 뿌리혹병 검정을 통해 선발한 S₅ 이상 세대가 진전된 내병성 계통을 이용하여 작성하였다. 신조합은 이번 년도에 내병성을 가진 계통을 이용하여 새로운 조합을 작성하였다. 이병성 대비품종 “HM”, “JS3-1”은 이병율이 각각 89%, 81%이었고, 내병성 대비품종 “WR”, “SWR”, “MC”은 모두 저항성으로 판별되었다. S₄, S₅ 세대진전 계통 중 CR09은 총 14개체를 판별하여 저항성 5개체,

이병성 9개체로 64%의 이병율을 보이며 이병성으로 판별되었다. 저항성 조항 중 CR15은 저항성 7개체, 이병성 13개체로 65%의 이병율을 보였으며 뿌리혹병 Race 11에 대해서 저항성이 없는 것으로 보였다. 또한 CR20은 저항성 9개체, 이병성 12개체로 57%의 이병율로 중도저항성을 가진 조합으로 생각되었다.

CR01, CR02는 맛이 좋고 상품성이 좋은 김장배추로서 11월 수확용으로 인기가 있는 “휘모리“, “장생 3호“ 라는 뿌리혹병에 약한 품종으로 뿌리혹병 병리검정 대비종으로 사용하였다. Race 11의 균주에 각각 89%와 81%의 이병율을 보였으며 모두 이병성으로 판별되어 뿌리혹병 검정이 제대로 되었다는 것을 확인할 수 있다. CR03~CR08, CR11~16, CR21~25는 각각 “CR가을“, “CR가을시교“, “CR만수무강“, “CR청동“, “CR춘대항“ 등으로 뿌리혹병 저항성 계통들이며 CR15를 제외하고 모두 저항성으로 나타났다. CR15는 “CR동등“ 으로 총 20개체 중에서 저항성 7개체, 이병성 13개체로 이병율 65%를 나타냈다. CR동등은 NH사에서 나온 품종으로 내병성계통과 이병성계통의 조합구성으로 판단된다. CR30~CR37은 저항성계통×이병성계통, 이병성계통×저항성계통의 조합으로 구성되어 있으며 매우 높은 저항성을 보여 양친이 저항성 계통들 간의 조합으로 추측되었다. 수집유전자원의 검정결과 CR20은 이병성 품종이었고 CR17, CR18, CR19등은 저항성 품종이었다. 이와 같은 검정결과를 바탕으로 저항성에 강한 계통을 총 35개체를 선발하였다(표 58).

2차년도(2013)에는 뿌리혹병 접종을 위하여 사용된 배추 계통은 전년도 선발한 32종류의 계통 및 품종과(CR1~32), 19종류의 수집품종(CR33~51)을 사용하였으며 뿌리혹병 내병성 대비 품종(CR52, CR53), 이병성성 대비품종(CR54, CR55), 판별품종(CR56~59)등 총 59계통으로 뿌리혹병 저항성 여부를 조사하는데 사용하였다. 이병성 대비품종은 아시아종묘의 “HR“, “JS3-1호“였고, 내병성 대비품종은 NW사의 “WR“, “SWR“였다. 이병성 대비품종 “HM“, “JS3-1“은 이병율이 모두 100%였고, 내병성 대비품종 “WR“, “SWR“은 모두 저항성으로 판별되었다. 전년도 뿌리혹병 Race11에 저항성으로 나타난 32계통(CR1~32)을 올해 수집한 Race5 균주에도 저항성을 나타내는지 알아내기 위해 테스트한 결과 32계통 중 19계통이 저항성임을 밝혀 낼 수 있었다. 이를 통해 특정 Race에 대해서 내병성을 보이는 계통일지라도 다른 Race에 노출되면 상당수가 병에 대해 저항성을 잃게 됨을 확인 할 수 있었으며, 다양한 뿌리혹병 Race 수집과 이에 대한 저항성 테스트의 수행이 반드시 필요함을 재확인 할 수 있었다. 그렇지만 본 연구를 통해 알아낸 CR1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21 계통은 뿌리혹병 Race11과 Race5 모두에 저항성을 가지고 있기 때문에 향후 뿌리혹병 저항성 품종 육성에 크게 활용할 수 있을 것으로 기대되고 있다. CR33~51, 총 19계통은 모두 새롭게 수집한 계통으로 Race5균주에 대해 4계통(CR36, 37, 43, 51)만이 저항성을 나타내고 있었다. 향후 올해 선발해낸 이들 저항성 계통을 소포자배양등을 통하여 고정계통을 확보한 후 내병성 조합육성에 활용할 계획이다(표 58).

3차년도(2014)에는 뿌리혹병 접종을 위하여 사용된 배추 계통은 전년도 선발한 21종류의 계통(CR1~18, CR41~43), 29종류의 수집품종(CR19~40, CR44~50)을 사용하였으며 뿌리혹병 내병성 대비품종(CR51, CR52), 이병성성 대비품종(CR53, CR54), 판별품종(CR55~58)등 총 58계통으로 뿌리혹병 저항성 여부를 조사하는데 사용하였다. 이병성 대비품종은 아시아종묘의 “HR“, “JS3-1호“였고, 내병성 대비품종은 NR사의 “AM“, “AR“였다. 이병성 대비품종 “HM“, “JS3-1“은 이병율이 모두 100%였고, 내병성 대비품종 “AM“, “AR“은 저항성 품종으로 알려진

바와는 달리 태백에서 수집한 균주에 대해서 저항성을 나타내지는 못하였다. 전년도 뿌리혹병 Race4에 저항성으로 나타난 21계통을 올해 수집한 태백 균주에도 저항성을 나타내는지 알아내기 위해 테스트한 결과 21계통 중 13계통이 저항성임을 밝혀 낼 수 있었다. 이를 통해 특정 수집지역 균주에 대해서 내병성을 보이는 계통일지라도 다른 지역의 균주에 노출되면 상당수가 병에 대해 저항성을 잃게 됨을 확인 할 수 있었으며, 다양한 뿌리혹병 Race 수집과 이에 대한 저항성 테스트의 수행이 반드시 필요함을 재확인 할 수 있었다. 또한 저항성을 나타낸 13계통 중 10계통인 CR4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 16, 17, 24의 경우 모든 개체가 저항성을 나타내지 않은 특징을 보이고 있었다. 그렇지만 흥미로운 점은 CR41, 42, 43의 경우 전년도 수집균주에도 100%의 모든 개체가 저항성을 나타내었을 뿐만 아니라 이번에 수집한 태백균주에도 모두 저항성을 나타내는 결과를 보이고 있었다. 따라서 향후 이들 선발 계통을 활용해서 새로운 계통육성과 조합작성을 수행하여 뿌리혹병 내병성 품종개발을 수행할 계획이다(표 58).

4차년도(2015)에는 뿌리혹병 접종을 위하여 사용된 배추 계통은 전년도 선발한 26종류의 계통(CR1~CR2, CR5~CR9, CR11~CR30), 20종류의 수집품종(CR31~CR50)을 사용하였으며 뿌리혹병 내병성 대비품종(CR3, CR4), 이병성성 대비품종(CR10, CR22), 판별품종 WCD1, WCD2, WCD3, WCD4 등 총 54계통으로 뿌리혹병 저항성 여부를 조사하는데 사용하였다. (표 58, 그림 136). 이병성 대비품종은 아시아종묘의 “NRMN“, T사의 “MS“였고, 내병성 대비품종은 J사의 “DKMK“, S사의 “CHJK“였다.



그림 136. 뿌리혹병 저항성 배추 선발을 위한 뿌리혹병 채취, 접종, 및 발병 과정

이병성 대비품종 아시아종묘의 “NRMN“, T사의 “MS“은 이병율이 모두 100%였고, 내병성 대비품종 J사의 “DKMK“, S사의 “CHJK“은 모두 해남에서 수집한 균주에 대해서 저항성을 나타내었다. 작년에 선발된 뿌리혹병 Race4에 저항성으로 나타난 26계통을 올해 수집한 해남 균주에 저항성을 나타내는지 알아내기 위해 테스트한 결과 26계통 중 16계통이 저항성임을 밝혀 낼 수 있었다. 이를 통해 특정 수집지역 균주에 대해서 내병성을 보이는 계통일지라도 다른 지역의 균주에 노출되면 상당수가 병에 대해 저항성을 잃게 됨을 확인 할 수 있었으며,

다양한 뿌리혹병 Race 수집과 이에 대한 저항성 테스트의 수행이 반드시 필요함을 재확인할 수 있었다. 또한 작년에 선발된 계통(CR1~CR2, CR5~CR9, CR11~CR30), 중 CR1, CR2, CR5, CR6, CR9, CR12, CR15, CR16, CR28, CR30은 50%미만의 이병율을 보여서 선발하였고, 그 외에 이병율이 높더라고 향후 계통 활용을 위해 선발된 개체도 있다. CR30의 경우 전년도 수집균주에서도 100% 저항성을 나타내었을 뿐만 아니라 이번에 수집한 해남 균주에서 이병율 0%를 나타내어 2개체를 선발하였다. 또한 올해 수집품종인 CR33도 100%의 저항성을 보여 2개체를 선발하였다. 따라서 향후 이들 선발 계통을 활용하여 새로운 계통을 육성하고 조합을 작성하여 뿌리혹병 내병성 품종개발을 수행할 계획이다(표 58).

5차년도(2016)에는 뿌리혹병 접종을 위하여 사용된 배추 계통은 전년도 선발한 계통, 수집 품종포함 60계통을 사용하였으며 뿌리혹병 내병성 대비품종(천하장군, Akimeki), 이병성성 대비 품종(아시아노랑미니), 판별품종 WCD1, WCD2, WCD3, WCD4 등 총 67계통으로 뿌리혹병 저항성 여부를 조사하는데 사용하였다. 그러나 5차 년도에 사용한 경기도 연천군에서 수집한 뿌리혹병 균주에 대해서 모든 계통, 개체가 이병성으로 나타났다(저항성품종, 판별품종, 이병성 품종 포함). 따라서 선발이 불가능 하였다. 이는 5차년도에 수집한 연천균주가 기존에 사용한 균주에 비해 더욱 강력한 균주임을 알 수 있었으며, 이에 대한 저항성 계통육성의 필요성이 향후 제기될 것으로 사료된다.

표 58. 뿌리혹병 접종 후 이병율 조사

년도	BN	이병정도					저항성	이병성	합계	이병률(%)	결과
		1	3	5	7	9					
2012	CR01	2				17	2	17	19	89	S
	CR02	3		2	5	6	3	13	16	81	S
	CR03	21					21	0	21	0	R
	CR04	16				1	16	1	17	6	R
	CR05	19					19	0	19	0	R
	CR06	20					20	0	20	0	R
	CR07	21					21	0	21	0	R
	CR08	19					19	0	19	0	R
	CR09	5		2	3	4	5	9	14	64	S
	CR10	11					11	0	11	0	R
	CR11	21					21	0	21	0	R
	CR12	20					20	0	20	0	R
	CR13	21					21	0	21	0	R
	CR14	21					21	0	21	0	R
	CR15		7		2	11	7	13	20	65	S
	CR16	18					18	0	18	0	R
	CR17	21					21	0	21	0	R
	CR18	21					21	0	21	0	R
	CR19	21					21	0	21	0	R
	CR20	9			7	5	9	12	21	57	S
	CR21	21					21	0	21	0	R
	CR22	15					15	0	15	0	R
	CR23	20				1	20	1	21	5	R
	CR24	21					21	0	21	0	R

	CR25	14					14	0	14	0	R
	CR26	21					21	0	21	0	R
	CR27	12					12	0	12	0	R
	CR28	21					21	0	21	0	R
	CR29	20					20	0	20	0	R
	CR30	19					19	0	19	0	R
	CR31	21					21	0	21	0	R
	CR32	19					19	0	19	0	R
	CR33	15					15	0	15	0	R
	CR34	20					20	0	20	0	R
	CR35	17					17	0	17	0	R
	CR36	16					16	0	16	0	R
	CR37	12					12	0	12	0	R
	CR38	21					21	0	21	0	R
	CR39	19					19	0	19	0	R
	CR40	21					21	0	21	0	R

년도	BN	이병정도					저항성	이병성	합계	결과	비고
		1	3	5	7	9					
2013	CR01	15	6				21	0	21	R	
	CR02				7	14	0	21	21	S	
	CR03	14	3	1	2		18	2	20	R	
	CR04	21					21	0	21	R	
	CR05	18	2		1		20	1	21	R	
	CR06	20	1				21	0	21	R	
	CR07	17			2		17	2	19	R	
	CR08	14	5	2			21	0	21	R	
	CR09	14	7				21	0	21	R	
	CR10				1	20	0	21	21	S	
	CR11				3	18	0	21	21	S	
	CR12	3	14	3		1	20	1	21	R	
	CR13	18	2	1			20	0	20	R	
	CR14	18					18	0	18	R	
	CR15	19					19	0	19	R	
	CR16					21	0	21	21	S	
	CR17	19	2				21	0	21	R	
	CR18	16	3	2			21	0	21	R	
	CR19	16	5				21	0	21	R	
	CR20	14	2	4			20	0	20	R	
	CR21	10	5	4	1		19	1	20	R	
	CR22					21	0	21	21	S	
	CR23					21	0	21	21	S	
	CR24				1	20	0	21	21	S	
	CR25		1		1	19	1	20	19	S	
	CR26					21	0	21	21	S	
	CR27					21	0	21	21	S	
	CR28	15	1				16	0	16	R	
	CR29			3		18	3	18	21	S	
	CR30				5	16	0	21	21	S	

	CR31	14	5		2		21	0	21	R	
	CR32				2	19	0	21	21	S	
	CR33					21	0	21	21	S	
	CR34					21	0	21	21	S	
	CR35					18	0	18	18	S	
	CR36	10	5	6			21	0	21	R	
	CR37	21					21	0	21	R	
	CR38					19	0	19	19	S	
	CR39					21	0	21	21	S	
	CR40					21	0	21	21	S	
	CR41				2	19	0	21	21	S	
	CR42				6	15	0	21	21	S	
	CR43	6	8	7			21	0	21	R	
	CR44					21	0	21	21	S	
	CR45					19	0	19	19	S	
	CR46					21	0	21	21	S	
	CR47				11	9	0	20	20	S	
	CR48			3	15	3	3	18	21	S	
	CR49			5		15	5	15	20	S	
	CR50				4	17	0	21	21	S	
	CR51	16	1	2	1	1	21	0	21	R	
	CR52	15	6				21	0	21	R	내병성 대비중
	CR53	17	3				20	0	20	R	내병성 대비중
	CR54				5	14	0	19	19	S	이병성 대비중
	CR55					20	0	20	20	S	이병성 대비중
	CR56	20					20	0	20	S	관별품종
	CR57	19					19	0	19	S	관별품종
	CR58	16	5				21	0	21	S	관별품종
	CR59	18	2				20	0	20	S	관별품종

년도	BN	이병정도					저항성	이병성	합계	결과	선발
		1	3	5	7	9					
2014	CR01				21		0	21	21	S	
	CR02			5	15		0	20	20	S	
	CR03			15	3		0	18	18	S	
	CR04	1	17	2	1		18	3	21	R	1
	CR05		15	3			15	3	18	R	1
	CR06	10	6	3	1		16	4	20	R	2
	CR07		19		2		19	2	21	R	2
	CR08	14	4	2	1		18	3	21	R	2
	CR09			1	1		0	2	2	S	
	CR10	1	3	1	20		1	21	4	R	1
	CR11	3	16	1			19	1	20	R	1
	CR12				20		0	20	0	S	
	CR13			1	6		0	7	7	S	
	CR14		1	2	5		1	7	8	S	
	CR15			1	12		0	13	13	S	
	CR16	2	10		9		12	9	21	R	2
	CR17	6	5	2	2		11	4	15	R	2

	CR18	2	8	5	6		10	11	21	S	1
	CR19			3	4		0	7	7	S	
	CR20		1	4	7		1	11	12	S	
	CR21				4		0	4	4	S	
	CR22	1	4	6	10		5	16	18	S	1
	CR23	1	2	12			3	12	15	S	1
	CR24	5	7	8	1		12	9	21	R	2
	CR25	5	1	14	1		6	15	21	S	1
	CR26	2	6	4	7		8	11	19	S	1
	CR27				21		0	21	21	S	
	CR28				21		0	21	21	S	
	CR29		3	3	11		3	14	17	S	
	CR30		5	3	13		5	16	21	S	
	CR31				19		0	19	19	S	
	CR32		1	15	2		1	17	18	S	
	CR33				19		0	19	19	S	
	CR34		1	3	15		1	18	19	S	
	CR35			8	10		0	18	18	S	
	CR36			10	10		0	20	20	S	
	CR37	1	2	4	10		3	14	17	S	1
	CR38		1	10	7		1	17	18	S	
	CR39			11	8		0	19	19	S	
	CR40		1	12	7		1	19	20	S	
	CR41	20	1				21	0	21	R	3
	CR42	19					19	0	19	R	3
	CR43	20					20	0	20	R	3
	CR44				19		0	19	19	S	
	CR45				18		0	18	18	S	
	CR46		1	5	4		1	9	10	S	
	CR47	2	1	1	8		3	9	12	S	1
	CR48	1	3	1	8		4	9	13	S	1
	CR49		2	1	12		2	13	15	S	
	CR50		1	7	7		1	14	21	S	
	CR51		5	15			5	15	20	S	내병성 대비종
	CR52	2	3	4	10		5	14	19	S	내병성 대비종
	CR53			1	17		0	18	18	S	이병성 대비종
	CR54			2	18		0	20	20	S	이병성 대비종
	CR55				20		20	0	20	S	관별품종
	CR56				19		21	0	21	S	관별품종
	CR57			5	16		21	0	21	S	관별품종
	CR58			2	18		20	0	20	S	관별품종

년도	BN	저항성	이병성(%)	합계	이병률	선발	비고
2015	CR1	9		9	0		내병성 대비품종
	CR2	7	1	8	13		내병성 대비품종
	CR3	9		9	0		
	CR4	11		11	0		
	CR5	9	3	12	25	1	

	CR6	7	1	8	13		이병성 대비품종
	CR7	5	6	11	55	1	
	CR8	4	6	10	60	1	
	CR9	9	1	10	10	1	
	CR10		10	10	100		
	CR11	3	4	7	57	1	
	CR12	5	2	7	29	1	
	CR13	2	4	6	67	1	
	CR14	4	4	8	50	0	
	CR15	7	2	9	22	1	
	CR16	4	2	6	33	1	
	CR17	5	5	10	50	1	
	CR18	3	6	9	67	0	이병성 대비품종
	CR19	3	7	10	70	0	
	CR20	5	4	9	44	0	
	CR21	8	2	10	20	0	
	CR22	0	7	7	100		
	CR23	3	5	8	63	1	
	CR24	5	5	10	50	1	
	CR26	5	5	10	50	0	
	CR27	3	4	7	57	0	
	CR28	5	2	7	29	1	
	CR29	3	7	10	70	0	
	CR30	7		7	0	2	
	CR31	18	1	19	5	1	
	CR32	18	2	20	10	1	
	CR33	21		21	0	2	
	CR34	17	6	23	26	1	
	CR35	12	8	20	40	1	
	CR36	18		18	0	1	
	CR37	9	3	12	25	1	
	CR38	12	2	14	14	1	
	CR39	13	6	19	32	1	
	CR40	19	5	24	21	1	
	CR41	23	1	24	4	1	
	CR42	7	16	23	70	1	
	CR43	8	14	22	64	1	
	CR44	12	10	22	45	1	
	CR45	9	12	21	57	1	
	CR46	3	16	19	84	0	
	CR47	1	20	21	95	1	
	CR48	3	20	23	87	0	
	CR49	9	13	22	59	1	
	CR50	12	10	22	45	1	
	WCD1	14	10	24	42		Race 관별품종
	WCD2	14	9	23	39		Race 관별품종
	WCD3	19	2	21	10		Race 관별품종
	WCD4	21	3	24	13		Race 관별품종

13. 기능성 강화배추 및 신규 응성불임성(CMS)계통 육성

배추과 작물에서 세포질응성불임(CMS; Cytoplasmic male sterility)을 이용한 채종체계가 많이 사용되고 있는데 그 이유는 다음과 같다. 첫 째로, 제웅작업을 생략할 수 있고, 두 번째로 연속 여교잡에 의한 핵치환으로 세포질 인자만을 삽입한 불임계통을 만들 수 있으며, 세 번째로 노력과 경비를 절감할 수 있기 때문에 CMS를 이용한 F1채종이 활발히 이루어지고 있다. 세포질 응성불임계통을 만들기 위해서는 응성불임세포질을 가진 품종을 모본으로 하고 유지계통을 화분친으로 하여 연속적으로 여교잡을 실시하고 핵치환하여 육성해야 한다. 4~5회 정도 여교잡을 실시하면 주요 재배적 특성 면에서 유지친과 유사해지고, 온실에서 1년에 2~3번 정도 여교잡을 실시하면 2년을 전후로 거의 고정된 응성불임계통을 얻을 수 있고, 고정된 응성 불임계통은 새로운 계통을 육성하는데 중요한 유전자원으로 사용된다. 원예적 형질이 뛰어나고 세포질응성불임성을 가진 다양한 계통의 육성을 위하여 1차년도 22계통, 2차년도 32계통, 3차 년도 32계통, 4차년도 42계통 에 대하여 응성불임계통을 이용한 여교잡을 실시하였다(표 59, 그림 137). 여교잡 종자는 가을 포장시험에 재배하여 교잡친과 최대한 표현형이 비슷한 계통 을 선발하여 고정시켜 나갈 예정이다.



그림 137. 세포질응성불임에 의한 배추의 응성불임성

표 59. 응성불임계통을 이용한 여교잡

년도	No.	계통명	조제 번호	교배 방법	교배 개수	결협 수	종자 량	임성	비고
2012	1	MSBC5×323-56S-G4-2S	2188	BC	27	19	30	1.1	
	2	MSBC1×5239-3S	2189	BC	28	29	210	7.5	
	3	MSBC7×4-M-G6-2S	2191	BC	58	28	21	0.4	
	4	MSBC7×3-M-G6-2S	2192	BC	33	18	28	0.8	
	5	MSBS5×5164-51S-G4-2S	2194	BC	34	31	32	0.9	
	6	MSBC7×2호-3-G4-2S	2195	BC	50	21	12	0.2	
	7	MSBC3×341-8S-51	2197	BC	33	9	20	0.6	
	8	MSBC3×341-5S	2198	BC	42	11	29	0.7	

	9	MSBC1×5239-3S	2199	BC	30	4	23	0.8	
	10	MSBC1×5239-3S	2200	BC	35	19	167	4.8	
	11	MSBC6×OM-1호-G4-2S	2289	BC	31	14	5	0.2	
	12	MSBC4×2호-1-G2-2S	2337	FC	34	22	19	0.6	
	13	MSBC4×2호-1-G2-2S	2338	FC	34	31	400	11.8	
	14	MSBC4×2호-1-G2-2S	2339	FC	23	20	18	0.8	
	15	MSBC7×61-1-66-51-51	2457	BC	72	58	200	2.8	
	16	MSBC7×61-1-G6-2S	2460	BC	35	-	60	1.7	
	17	MSBC2×5239-3S	2470	BC	16	16	38	2.4	
	18	MSBC2×5239-3S	2471	BC	17	15	93	5.5	
	19	SMSBC1×4-M-G6-2S	2502	BC	15	14	80	8.8	
	20	MSBC2×8053-6S	300	FC	20	20	40	2	
	21	MSBCO×8053-2-2-3S	301	FC	22	19	35	1.6	
	22	MSBC2×8053-5S	311	FC	15	14	24	1.6	
2013	23	MSBC6×5164-51s-G7	661	BC	29	25	80	2.75	미니무모
	24	MSBC2×5239-G3-51	662	FC	30	26	120	4	미니무모
	25	MSBC5×5266-51	742	BC	30	27	200	6.66	미니무모
	26	MSBC8×61-1-G9	752	BC	28	28	180	11	미니무모
	27	MSBC2×8010-G4-51	770	BC	30	23	60	6.42	적색결구
	28	MSBC3×8053-G5-51	771	BC	30	24	30	1	적색결구
	29	MSBC×8067-G5-51	1341	BC	30	24	110	3.66	적색결구
	30	MSBC2×3-M-G9	1342	BC	29	25	40	1.37	무모계통
	31	SCMSBC×5166-52s-G2	1343	FC	30	29	250	8.33	무모계통
	32	SCMSBC6×JA99	1500	BC	30	28	270	9	무모계통
2014	33	MSBC8×61-1-G10	350	BC	35	30	250	9.2	미니무모
	34	MSBC4×5239-54-53-51-51	362	BC	28	28	90	3.2	미니무모
	35	MSBC3×8010-G6	834	BC	28	12	102	3.6	적색미니
	36	MSBC4×8053-G7	835	BC	30	19	166	5.5	적색계통
	37	MSBC1×8067-G4-52-51-52-5	844	BC	42	26	150	3.6	적색결구
	38	MSBC4×8053-51-55-G5	845	BC	29	26	270	9.3	적색결구
	39	MSBC3-8010-G6	846	BC	37	33	170	4.6	적색미니
	40	MSBC4×8085-52-54-51-52-51-51-51	847	BC	39	35	320	8.2	적색계통
	41	SCMSBC1×2호-1-G3-51-51-51-51	1010	BC	41	30	30	0.7	미니계통
	42	MSBC3×8053-52-2-51-51-51-2-1-51	1100	BC	32	32	320	10	적색계통
2015	43	MSBC0×61-1-GH	1752	BC	31	26	98	3.2	
	44	MSBC1×8067-G8	2286	BC	30	6	16	0.5	
	45	MSBC0×8067-G3-52-G4	2288	BC	34	23	180	5.3	
	46	MSBC0×8053-52-2-G6	2291	BC	48	32	350	7.3	
	47	MSBC0×8067-G4-52-51-52-51-51	2294	FC	30	6	12	0.4	
	48	SCMSBC0×5166-52S-52-51-51-51	2441	BC	35	6	35	1	
	49	SCMSBC0×2호-1-G3-51-51-51-51-51	2444	BC	37	14	14	0.4	

	50	MSBC0×8067-G4-53-1-1-51-51	2557	BC	30	15	130	8.6	
	51	MSBC0×8067-G3-52-52-51-1-51-51	2558	BC	30	28	74	2.5	
	52	MSBC0×8067-51-51-51-52-6-1-51-51	2559	BC	41	21	35	0.9	
2016	53	MSBC5×5237-54-52-51-51-51-51-51	653	B.C	18	18	30	1.7	미니무모
	54	MSBC6×5239-54-54-51-51-51-51	1074	B.C	22	20	100	4.6	미니무모
	55	SMSBC5×5239-54-51-51-51-51-51	1081	B.C	29	29	100	3.5	미니무모
	56	DHMSBC4×CG ♂ -1-51-51-51-51	1370	B.C	29	9	9	0.3	미니무모
	57	DHMSBC4×CH ♂ -1-51-51-51-52	1372	B.C	28	4	4	0.2	미니무모
	58	DHMSBC4×J3H ♂ -2-51-51-51-51	1373	F.C	19	2	2	0.1	적색미니
	59	DHMSBC4×J3H ♂ -2-51-51-51-52	1374	B.C	45	31	123	2.7	적색미니
	60	DHMSBC4×AW ♀ -2-51-51-51-51	1375	B.C	27	16	350	13	적색미니
	61	DHMSBC4×AW ♀ -2-51-51-52-51	1376	B.C	54	26	210	3.9	적색계통
	62	DHMSBC4×AW ♂ -2-51-51-51-51	1378	B.C	37	27	150	4.1	적색계통
	63	DHMSBC4×WC-2-52-51-51-51-51	1381	B.C	37	18	240	6.5	적색계통
	64	DHMSBC4×WC-2-52-51-51-51-52	1383	B.C	35	20	500	14.3	적색계통
	65	DHMSBC4×NP ♂ -2-51-51-51-51	1384	BC	20	6	61	3.1	적색계통
	66	DHMSBC4×NP ♂ -2-51-51-51-52	1385	BC	33	9	58	1.8	적색계통

14. F1 조합작성, 우수조합 선발

적색 결구 배추 조합능력 검정은 가을 작기인 10월말-11월초에 포장 검정하여 선발하였다. 검정기준으로 배추의 기본원예적형질인 초장, 엽장, 엽폭, 중륵길이, 중륵너비, 엽색, 구중, 모용 등을 조사하였고, 조사 당시의 포장저항성과 순도를 고려하여 1차년도 5조합, 2차년도 5조합, 3차년도 6조합, 4차년도 6조합, 5차년도 3조합의 우수조합을 선발하였다(표 60, 그림 138-140).

1차년도에는 적색결구 우수조합에서 선발된 BN5015, BN5016, BN5017, BN5018, BN5023, BN5037은 순도가 높고 진한 적색을 가지며 초장이 216~315mm로 평균적 이였고, 결구력이 우수하였다. BN5026은 적색발현이 진하고 내한성에 강해 가을 김장용배추로 사용하기에 적합한 품종이다. 특히 BN5037은 조생종으로 생장속도가 빠르며 색의 강도가 진한 자색이고 광택이 강하였다. 대비 품종인 “레드초이“를 대체할 수 있는 조합으로 생각되며 “레드씨클“으로 품종보호를 출원하였다. 2차년도에는 적색결구 우수조합에서 선발된 No1, No7, No8, No9, No10은 순도가 높고 진한 적색을 가지며 초장이 238~297mm로 평균적 이였고, 결구력이 우수하였다.

3차년도에는 적색결구 우수조합에서 선발된 No2, No3, No5, No7, No8, No10은 순도가 높고 진한 적색을 가지며 초장이 333~429mm로 평균적 이였고, 결구력이 우수하였다(그림 138). 4차년도에는 적색결구 35조합 중 우수조합으로 선발된 BN5025, BN5115, BN5116, BN5118, BN5146, BN5155는 순도가 높고 자색 및 진자색을 보이며 초장이 351~524mm, 구중이 1490~3200g으로 소형 및 중형의 비교적 장타원형의 결구배추였다(그림 139). 5차년도에는 적색결구 11조합 중 우수조합으로 BN5103, BN5105, BN5133을 선발하였다(그림 140). BN5103은 구가 상대적으로 장타원형에 속이 붉은 반포피형이며, BN5105는 구내부의 내엽이 상대적으로

약하지만 구중이 무겁고 구가 큰 특징이 있었다. BN5133의 경우 키가 크면서 구가 비교적 크게 형성되면서 속잎이 매우 붉은 특징에 엽수가 많고 중륵이 얇은 특징이 있는 우수한 조합이었다. BN5133은 지금까지 본과제를 통해 개발한 적색배추 중 가장 원예적형질이 뛰어난 조합으로 판단되었으며, 또한 순천대학교에서 보유하고 있는 뿌리흑병 저항성 마커검정을 수행한 결과 Crr1, Crr2 및 CRc 저항성을 가지고 있었다. BN5113은 연구종료 후에도 연구개발을 지속하여 추후 상품화해야 할 품종으로 여겨진다.



그림 138. 적색결구 우수조합 선발(2014년)



그림 139. 적색결구 우수조합 선발(2015년)



그림 140. 적색결구 우수조합 선발(2016년)

표 60. F1 적색결구 우수조합 선발

년도	BN	초장 (mm)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	중륵 길이 (mm)	중륵 너비 (mm)	엽색	결구력	모용	순도	선발
2012	5010	316	302	231	132	22	2	3	유	5	○
	5015	308	291	204	130	26	2	3	유	5	
	5016	315	304	214	124	19	2	3	유	5	
	5017	267	262	154	93	25	2	3	유	5	
	5018	294	285	142	114	26	2	3	유	5	
	5023	305	294	218	118	26	2	3	유	5	
	5026	338	323	249	122	33	2	3	유	5	○
	5037	216	210	190	200	25	2	3	유	5	○
	5056	225	218	198	114	26	2	3	유	5	○
	5068	235	221	199	116	27	2	3	유	5	○

년도	No.	계통명	초장 (mm)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	중륵 길이 (mm)	중륵 너비 (mm)	엽색	구중 (g)	모용	순도	선발
2013	1	8053-G4-51×8085-G4-51	297	375	220	134	54	3	1400	유	1	○
	2	8052-G4-51×8085-G4-51	294	496	309	334	55	3	1400	유	5	
	3	8053-G4-51×8060-G4-51	257	493	298	314	57	3	1500	유	5	
	4	8053-G4-51×8067-G4-51	220	424	292	246	63	3	750	유	5	
	5	8067-G4-51×8053-52-G4	314	432	290	304	55	3	1900	유	5	

	6	8067-G4-51×8053-53-G4	226	448	298	266	64	3	1250	유	5	
	7	8067-G4-51×8009-G3-51	275	521	284	346	64	3	2175	유	1	○
	8	8067-G4-51×8010-G3-51	282	520	340	330	59	3	1320	유	3	○
	9	8067-G4-51×8085-G4-51	288	511	333	311	75	3	1800	유	3	○
	10	8067-G4-51×8053-G4-51	238	410	268	242	56	3	900	유	1	○

년도	No.	계통명	초장 (mm)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	중륵 길이 (mm)	중륵 너비 (mm)	엽색	구중 (g)	모용	선발
2014	1	3SP-258-51×5116-51-51	338	378	279	185	33	자색	2350	무	
	2	5116-51-51×2SP-256-51	377	496	340	294	53	자색	1750	유	○
	3	5SP-165-51×H우-2-51-51	395	462	251	146	50	진자색	1450	유	○
	4	H상-2-51×2SP-265	439	481	328	309	67	자색	2350	유	
	5	WC2-52-51×3SP-258-51	333	426	273	269	60	자색	2050	유	○
	6	2SP-265-51×WC2-52-51-51	355	465	304	250	62	자색	1400	무	
	7	3SP-258-51×319-52S-G3-51(4)	428	517	307	326	70	자색	1550	유	○
	8	3SP-258-51×341-20S-51(4)	429	510	305	297	69	자색	1450	유	○
	9	3SP-258-51×H상-2-51-51	420	462	284	322	62	자색	2760	유	
	10	3SP-258-51×321-4-51(4)-52-51(3)	358	414	258	222	45	자색	1300	유	○

년도	BN	계통명	초장 (mm)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	중륵 길이 (mm)	중륵 너비 (mm)	엽색	구중 (g)	모용
2015	5025	2SP-265-51-51×3SP-15-52-51	370	430	236	175	64	진자색	1490	유
	5115	8004-G6-51×5413-51-51-51	524	540	310	280	54	진자색	3200	유
	5116	8004-G6-51×8085-52-54-52-G4	456	469	327	214	59	자색	2450	유
	5118	8004-G6-51×3SP-258-51-51	476	520	288	205	60	진자색	2600	유
	5146	3SP-258-51-51×319-52S-G7	457	486	343	227	60	진자색	2050	유
	5155	8067-G7×8053-51-51-52-G4	351	426	272	190	55	진자색	1700	유

년도	BN	계통명	초장 (mm)	엽장 (mm)	엽폭 (mm)	중륵 길이 (mm)	중륵 너비 (mm)	엽색	구중 (g)	모용	선발
2016	5100	5102-52-51×9052sp-14-c2-c1	370	447	389	240	73	진자색	3500	유	
	5101	5074-51-53-51×5170-53-51-51-51-51	400	480	310	210	55	진자색	2400	유	
	5102	8053-51-51-51-51-51-51×2sp-265-51-51-51	368	450	270	230	48	자색	950	유	
	5103	2sp-265-51-51-51×5388-51-51-52-51	490	520	380	250	59	진자색	2500	유	○

5104	2sp-265-51-51-51×5388-52-51-51-51	410	450	300	220	52	진자색	1100	유	
5105	3sp-258-51-51-51×5388-51-51-52-51	480	510	290	250	60	자색	1542	유	○
5133	5408-51-51-52-53×5413-51-51-51-51	500	600	335	234	65	진자색	2550	유	○
5134	5410-51-51-51-51×5388-51-51-52-51	400	498	275	260	57	자색	1450	유	
5135	MSwd-2-51-51-51-51×9052sp-14-c2-c1	415	480	360	220	62	자색	2600	유	
5136	5408-51-51-52-51×5404-51-51-51-51	500	240	330	275	68	자색	2150	유	
5137	5164-51-51-51-51-51×36-51-52-52-52-52	340	445	310	240	68	자색	2380	유	

15. 우수선발조합의 종자생산성 검증 시험

우수선발 조합의 종자생산성 검증을 위해 우수선발조합 대해서 벌을 이용한 망실채종을 수행하였다(513-1H, 513-2H, 514-2H, 515-1H, 406-1H, 710-2H(BN5212), 207-1H(BN5216), BN5009, BN5012, BN5014, BN5015, BN5023, BN5024, 그림 141).

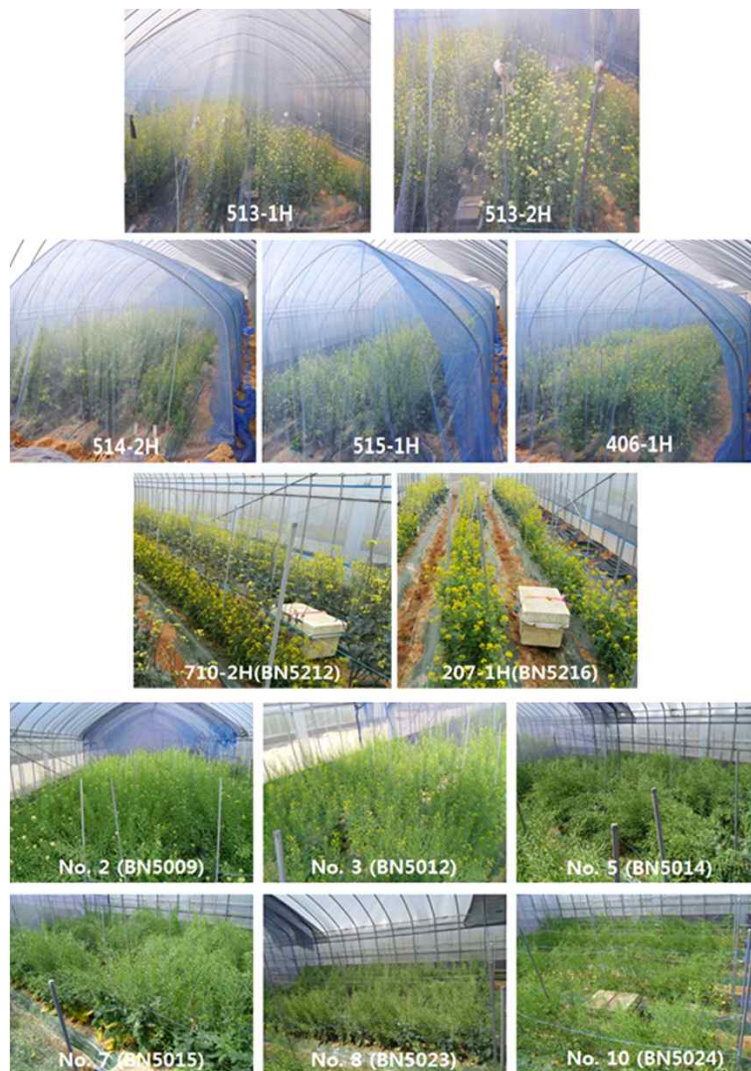


그림 141. 우수선발조합의 종자생산성 검증을 위한 벌을 이용한 망실채종



그림 142. 벌을 이용한 망실채종과정

이들 우수선발조합을 그림 142와 같은 과정을 거쳐 종자생산성을 검증한 결과 각각 주당 20g이상 생산함을 확인하였다. 이를 통해서 선발한 우수조합들의 종자생산성 또한 뛰어난 상업생산에 적합함을 확인할 수 있었다.

16. 품종보호출원

조합능력검정 및 지역적응시험을 거쳐 우수 품종으로 검증된 1차년도 2품종(레드씨클, 진홍쌈), 2차년도 1품종(아시아빨강미니), 3차년도 1품종(미니홍쌈), 4차년도 2품종(미스홍, 미스터홍), 5차년도 1품종(핑크스타일) 총 7품종을 품종보호출원하였다.

가. 레드씨클 (*Brassica campestris* L. spp. *chinensis* Jusl.)

- (1) 구분: 육성품종
- (2) 육성내력

구분년도	2007	2008	2009	2010	2011	2012
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

① 2007년 ~ 2009년 : 재료수집 및 계통고정

농가소득 증대와 새로운 수요 창출을 목적으로 안토시아닌 함량이 높은 자색의 고기능성 어린잎채소 계통을 육성하기 위해 일본, 중국 등지에서 재료를 수집하여 그 목적에 따라 교잡 분리·고정하였음.

② 2010년 ~ 2011년 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시하여 자색이 진하여 안토시아닌 함량이 높은 고기능성 어린잎채소용의 우수한 조합을 선발하였음.

③ 2011년 ~ 2012년 : 지역적응성 및 농가실증시험

선발된 조합을 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 레드 씨클로 품종보호 출원을 하고자 함.

④ 육성기관 : 아시아종묘 생명공학육종연구소

(3) 주요특성

- ① 잎 색은 적자색으로 입맛을 돋우는 웰빙 채소입니다.
- ② 바깥잎 모양은 약간 둥글고 요철이 약간 있습니다.
- ③ 조생종으로 성장속도가 빠르며, 어린잎채소용으로 적합합니다.

(4) 적응지역 : 남부(해남, 진도) 및 제주도

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 봄 재배 시에는 육묘온도를 13℃ 이상으로 보온 육묘하여 추대 위험을 미리 막아야 합니다.
- ③ 고온에서는 벌레가 쉽게 잎을 먹을 수 있으므로 방충망을 설치해야 합니다.
- ④ 봉사와 석회를 밑거름으로 시비해 주고, 유기칼슘제를 엽면시비 해주면 상품성이 좋아집니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 곧추서는 모양이다.
- 바깥잎의 모양은 원형이고 끝부분의모양은 둥글다.
- 바깥잎의 요철은 중간이고 요철의 크기는 중간이다.
- 바깥잎의 색은 자색이고 색의 강도는 진하다.
- 바깥잎의 광택은 강하다.
- 바깥잎의 세로로 자른면의 모양은 볼록하다.
- 바깥잎의 가장자리의 물결모양과 결각, 톱니모양은 없거나 매우 약하다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2007	RCP14	8028	재료수집
2008	RCP14MSBC2	8028-1-51	계통순화 및 계통고정
2009	RCP14MSBC4	8028-1-51-52-51	“
2010	RCP14MSBC6 × 8028-G6		계통선발 및 조합작성 및 채종시험
2011	0 × 0		지역적응성 및 농가실증시험
2012	레드씨클		품종명 부여

* RCP14MSBC6는 RCP16계통을 육성불임 계통에 6번 여교잡(Back Cross)하였음을 나타냄

* 0는 계통이 고정되었음을 표시함

* 51, 52는 성숙모본으로 선발되었음을 나타냄

(8) 재배전경 : 좌-출원품종(레드써클, BN8094), 우-대조품종(레드초이-아시아종묘, BN8128)



(9) 수확 후 측정 및 비교 : 좌-출원품종(레드써클, BN8094), 우-대조품종(레드초이-아시아종묘, BN8128)



나. 진홍쌈 (*Brassica campestris* L. spp. *pekinensis*(Lour.) Rupr.)

(1) 구분: 육성품종

(2) 육성내력

구분년도	2007	2008	2009	2010	2011	2012
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

① 2007년 ~ 2009년 : 재료수집 및 계통선발

농가 소득 증대와 새로운 수요 창출을 위한 자색의 싹용 배추 계통을 육성하기 위해 기존에 보유중인 자색의 청경채 계통에 다양한 배추계통을 교잡하여 그 목적에 따라 분리·고정하였음.

② 2008년 ~ 2010년 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시한 결과 색이 진한 자색으로 싹 및 어린잎채소용으로 이용이 가능한 우수조합을 선발하였음.

③ 2011년 ~ 2012년 : 자가불화합성을 이용한 채종시험, 지역적응성 및 농가 실증시험
선발된 조합을 채종시험, 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “진홍싹”배추로 품종보호출원을 하고자 함.

(3) 주요특성

- ① 잎 색은 적자색으로 입맛을 돋우는 웰빙 채소입니다.
- ② 바깥잎 모양은 약간 둥글고 요철이 약간 있습니다.
- ③ 조생종으로 생장속도가 빠르며, 어린잎채소용으로 적합합니다.

(4) 적응지역 : 남부(해남, 진도) 및 제주도

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 봄 재배 시에는 육묘온도를 13℃ 이상으로 보온 육묘하여 추대 위험을 미리 막아야 합니다.
- ③ 고온에서는 벌레가 쉽게 잎을 먹을 수 있으므로 방충망을 설치해야 합니다.
- ④ 봉사와 석회를 밑거름으로 시비해 주고, 유기칼슘제를 엽면시비 해주면 상품성이 좋아 집니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 약간서는 모양이다.
- 바깥잎의 모양은 거꾸로 세운 달걀형이고 선단은 둥근모양이다.
- 바깥잎의 요철은 없거나 매우 약하고 요철의 크기는 작다.
- 바깥잎의 색은 자색이고 색의 강도는 진하다.
- 바깥잎의 광택은 강하다. - 바깥잎의 털이 많다.
- 바깥잎의 가장자리의 물결모양과 결각, 톱니모양은 없거나 매우 약하다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2007	8067	8053	재료수집
2008	8067-1-51	8053-2-52	계통순화 및 계통고정
2009	8067-1-51-2-51	8053-2-52-51-52	“
2010	8067-G6 × 8053-G6		계통선발 및 조합작성 및 채종시험

2011	0 × 0	지역적응성 및 농가실증시험
2012	진홍쌈	품종명 부여

(8) 재배전경 : 좌-출원품종(진홍쌈, BN5037), 우-대조품종(잎쌈홍-아시아종묘, BN5087)



(9) 수확 후 측정 및 비교 :좌-출원품종(진홍쌈, BN5037), 우-대조품종(잎쌈홍-아시아종묘, BN5087)



다. 아시아빨강미니 (*Brassica campestris* L. spp. *pekinensis*(Lour.) Rupr.)

- (1) 구분: 육성품종
- (2) 육성내력

구분년도	2008	2009	2010	2011	2012	2013
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

① 2008년 ~ 2010년 : 재료수집 및 계통선발

농가 소득 증대와 새로운 수요 창출을 위한 자색의 싹용 배추 계통을 육성하기 위해 기존에 보유중인 자색의 배추계통에 다양한 배추계통을 교잡하여 그 목적에 따라 분리·고정하였음.

② 2009년 ~ 2011년 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시한 결과 색이 진한 자색으로 싹 및 알배기용으로 이용이 가능한 우수 조합을 선발하였음.

③ 2012년 ~ 2013년 : 채종시험, 지역적응성 및 농가 실증시험

선발된 조합을 채종시험, 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “아시아빨강미니“배추로 품종보호출원을 하고자 함.

(3) 주요특성

- ① 잎따내기의 싹용 및 알배기용으로 적합한 소형 자색 배추입니다.
- ② 잎은 진한 자색으로 특히 겨울철 재배시 자색 발현이 더 뛰어납니다.
- ③ 어린잎은 샐러드와 같은 어린잎 채소로 이용이 가능합니다.

(4) 적응지역 : 경기도 이천시 장호원읍

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 과습지를 피해야 하며 두둑을 높여 주는 것이 병충해 예방에 좋습니다.
- ③ 석회결핍을 막기 위해 주의해야 하며, 결핍이 예상될 경우 유기칼슘제를 5-7일 간격으로 엽면살포해 주면 효과적입니다.
- ④ 봄재배시는 육묘온도를 13℃ 이상으로 보온육묘하여 추대 위험을 미리 막아야 합니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 곧추서다 이다.
- 바깥잎의 모양은 거꾸로 세운 달걀형이고 선단은 둥근모양이다.
- 바깥잎의 요철은 중간이고 요철의 크기는 중간이다.
- 바깥잎의 색은 진한 자색이고 색의 강도는 진하다.
- 바깥잎의 광택은 강하다.
- 바깥잎의 세로로 자른면의 만곡은 오목하다

- 바깥의 가장자리의 물결모양과 결각, 틱니모양은 없거나 매우 약하다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2008	8053	8067	재료수집
2009	8053-51-51	8067-51-51	계통순화 및 계통고정
2010	8053-51-51-52-51	8067-51-51-51-51	“
2011	8053-G6 × 8067-G6		계통선발 및 조합작성 및 채종시험
2012	0 × 0		지역적응성 및 농가실증시험
2013	적삼		품종명 부여

* 0는 계통이 고정되었음을 표시함

* 51, 52는 성숙모본으로 선발되었음을 나타냄

(8) 재배전경 : 좌-출원품종(아시아빨강미니, BN034), 우-대조품종(진홍쌈-아시아종묘, BN052)



(9) 수확 후 측정 및 비교 : 좌-출원품종(아시아빨강미니, BN034), 우-대조품종(진홍쌈-아시아종묘, BN052)



라. 미니홍쌈 (*Brassica campestris* L. spp. *pekinensis*(Lour.) Rupr.)

(1) 구분: 육성품종

(2) 육성내력

구분년도	2009	2010	2011	2012	2013	2014
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

① 2009년 ~ 2011년 : 재료수집 및 계통선발

농가 소득 증대와 새로운 수요 창출을 위한 자색의 소구형 배추 계통을 육성하기 위해 기존에 보유중인 자색의 청경채 계통에 다양한 배추계통을 교잡하여 그 목적에 따라 분리·고정하였음.

② 2010년 - 2013 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시한 결과 색이 진한 자색소구형의 쌈, 곁절이, 국거리등 다양한 용도로 이용이 가능한 우수조합을 선발하였음.

③ 2013 - 2014 : 자가불화합성을 이용한 채종시험, 지역적응성 및 농가 실증시험으로 선발된 조합을 채종시험, 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “미니홍쌈”으로 품종보호출원을 하였음.

(3) 주요특성

- ① 쌈용, 곁절이채소용 및 다양한 용도로 적합한 자색 배추입니다.
- ② 잎은 진한 자색으로 특히 가을철 재배시 자색 발현이 더 뛰어납니다.
- ③ 소구형으로 빨리 형성됩니다.
- ④ 독특한 색깔과 크기의 구와 잎이 형성되어 쌈밥집 용도로 적합합니다.

(4) 적응지역 : 경기도 이천시 장호원읍

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 과습지를 피해야 하며 두둑을 높여 주는 것이 병충해 예방에 좋습니다.
- ③ 석회결핍을 막기 위해 주의해야 하며, 결핍이 예상될 경우 유기칼슘제를 5-7일간격으로 엽면살포해 주면 효과적입니다.
- ④ 봄재배시는 육묘온도를 13℃ 이상으로 보온육묘하여 추대 위험을 미리 막아야 합니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 곧추서있다.

- 바깥잎의 모양은 거꾸로 세운 달걀형이고 선단은 둥근모양이다.
- 바깥잎의 요철은 심하고 요철의 크기는 작다.
- 잎의 색은 진한 자색이고 색의 강도는 진하다.
- 바깥잎의 광택은 강하다.
- 바깥잎의 세로로 자른면의 만곡은 오목하다
- 바깥잎의 가장자리의 물결모양과 결각, 톱니모양은 없거나 매우 약하다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2009	8053	8085	재료수집
2010	8053-51	8085-52	계통순화 및 계통고정
2011	8053-51-51	8085-52-54	“
2012	8067-G5 × 8053-G5		계통선발 및 조합작성 및 채종시험
2013	0 × 0		지역적응성 및 농가실증시험
2014	RC-42		품종명 부여

* 0는 계통이 고정되었음을 표시함

* 51, 52는 성숙모본으로 선발되었음을 나타냄

(8) 재배전경 : 좌-대조품종(진홍쌈), 우-출원품종(미니홍쌈, RC-42)



(9) 수확 후 측정 및 비교 : 좌-대조품종(진홍쌈), 우-출원품종(미니홍쌈, RC-42)



마. 미스홍 (*Brassica campestris* L. spp. *pekinensis*(Lour.) Rupr.)

- (1) 구분: 육성품종
- (2) 육성내력

구분년도	2009	2010	2011	2012	2013	2014
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

① 2009년 - 2011년 : 재료수집 및 계통선발

농가 소득 증대와 새로운 수요 창출을 위한 자색의 소구형 배추 계통을 육성하기 위해 기존에 보유중인 자색의 청경채 계통에 다양한 배추계통을 교잡하여 그 목적에 따라 분리·고정하였음.

② 2010년 - 2013 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시한 결과 색이 진한 자색소구형의 쌈, 곱절이, 국거리등 다양한 용도로 이용이 가능한 우수조합을 선발하였음.

③ 2013 - 2014 : 자가불화합성을 이용한 채종시험, 지역적응성 및 농가 실증시험

선발된 조합을 채종시험, 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “미스홍(Miss Hong)”으로 품종보호출원을 하였음.

(3) 주요특성

- ① 쌈용, 곱절이채소용 및 다양한 용도로 적합한 자색 배추입니다.
- ② 잎은 진한 자색으로 특히 가을철 재배시 자색 발현이 더 뛰어납니다.
- ③ 자색 소구형 배추로 가을재배에 적합합니다.

④ 독특한 색깔과 크기의 구와 잎이 형성되어 찜밥집, 샐러드, 걸절이 용도로 적합합니다.

(4) 적응지역 : 경기도 이천시 장호원읍

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 과습지를 피해야 하며 두둑을 높여 주는 것이 병충해 예방에 좋습니다.
- ③ 석회결핍을 막기 위해 주의해야 하며, 결핍이 예상될 경우 유기칼슘제를 5-7일간격으로 엽면살포해 주면 효과적입니다.
- ④ 가을재배에 적합하며 봄 재배 시 구가 형성되지 않을 수 있습니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 곧추서있다.
- 바깥잎의 모양은 거꾸로 세운 달걀형이고 선단은 둥근모양이다.
- 바깥잎의 요철은 중간이고 요철의 크기는 작다.
- 잎의 색은 진한 자색이고 색의 강도는 진하다.
- 바깥잎의 광택은 강하다.
- 바깥잎의 세로로 자른면의 만곡은 볼록하다
- 바깥잎의 가장자리의 물결모양은 중간이다.
- 중간정도 단단한 자색 내엽의 구를 형성하며 고갱이 부근의 노란색 잎이 특징이다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2009	8053	8067	재료수집
2010	8053-51	8067-51	계통순화 및 계통고정
2011	8053-51-51	8067-51-51	“
2012	8067-G5 × 8053-G5		계통선발 및 조합작성 및 채종시험
2013	0 × 0		지역적응성 및 농가실증시험
2015	미스홍		품종명 부여

* 0는 계통이 고정되었음을 표시함

* 51, 52는 성숙모본으로 선발되었음을 나타냄

(8) 재배전경 : 좌-출원품종(미스홍), 우-대조품종(진홍쌈)



(9) 수확 후 측정 및 비교 : 좌-출원품종(미스홍), 우-대조품종(진홍쌈)



바. 미스터홍 (*Brassica campestris* L. spp. *pekinensis*(Lour.) Rupr.)

- (1) 구분: 육성품종
- (2) 육성내력

구분년도	2009	2010	2011	2012	2013	2014
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

(1) 2009년 ~ 2011년 : 재료수집 및 계통선발

농가 소득 증대와 새로운 수요 창출을 위한 자색의 소구형 배추 계통을 육성하기 위해

기존에 보유중인 자색의 청경채 계통에 다양한 배추계통을 교잡하여 그 목적에 따라 분리 고정하였음.

(2) 2010년 ~ 2013년 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시한 결과 색이 진한 자색소구형의 싹, 곁절이, 국거리등 다양한 용도로 이용이 가능한 우수조합을 선발하였음.

(3) 2013년 ~ 2014년 : 자가불화합성을 이용한 채종시험, 지역적응성 및 농가 실증시험
선발된 조합을 채종시험, 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “미스터홍(Mister Hong)”으로 품종보호출원을 하였음.

(3) 주요특성

- ① 싹용, 곁절이채소용 및 다양한 용도로 적합한 자색 배추입니다.
- ② 잎은 진한 자색으로 특히 가을철 재배시 자색 발현이 더 뛰어납니다.
- ③ 자색 소구형 배추로 가을재배에 적합합니다.
- ④ 독특한 색깔과 크기의 구와 잎이 형성되어 싹밥집, 샐러드, 곁절이 용도로 적합합니다.

(4) 적응지역 : 경기도 이천시 장호원읍

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 과습지를 피해야 하며 두둑을 높여 주는 것이 병충해 예방에 좋습니다.
- ③ 석회결핍을 막기 위해 주의해야 하며, 결핍이 예상될 경우 유기칼슘제를 5-7일간격으로 엽면살포해 주면 효과적입니다.
- ④ 가을재배에 적합하며 봄 재배 시 구가 형성되지 않을 수 있습니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 약간 서있다.
- 바깥잎의 모양은 거꾸로 세운 달걀형이고 선단은 둥근모양이다.
- 잎의 색은 진한 자색이고 색의 강도는 진하다.
- 바깥잎의 광택은 강하다.
- 바깥잎의 세로로 자른면의 만곡은 볼록하다
- 바깥잎의 가장자리의 물결모양과 결각, 톱니모양은 없거나 매우 약하다.
- 중간정도 단단한 자색 내엽의 구를 형성하며 고갱이 부근의 노란색 잎이 특징이다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2009	8053	3sp	재료수집
2010	8053-51	3sp-51	계통순화 및 계통고정

2011	8053-51-51	3sp-51-51	“
2012	8067-G5 × 3sp-G5		계통선발 및 조합작성 및 채종시험
2013	0 × 0		지역적응성 및 농가실증시험
2014	미스터홍		품종명 부여

* 0는 계통이 고정되었음을 표시함

* 51, 52는 성숙모본으로 선발되었음을 나타냄

(8) 재배전경 : 좌-출원품종(미스터홍), 우-대조품종(진홍쌈)



(9) 수확 후 측정 및 비교 : 좌-출원품종(미스터홍), 우-대조품종(진홍쌈)



사. 핑크스타일 (*Brassica campestris* L. spp. *pekinensis*(Lour.) Rupr.)

(1) 구분: 육성품종

(2) 육성내력

구분년도	2011	2012	2013	2014	2015	2016
소재도입						
계통순화, 선발 및 조합작성						
조합작성 및 채종시험						
지역적응성 시험 및 농가 실증 시험						

① 2011년 ~ 2013년 : 재료수집 및 계통선발

농가 소득 증대와 새로운 수요 창출을 위한 자색의 소구형 배추 계통을 육성하기 위해 기존에 보유중인 자색의 청경채 계통에 다양한 배추계통을 교잡하여 그 목적에 따라 분리·고정 하였음.

② 2012년 ~ 2015 : 계통선발, 조합작성 및 채종시험

목적에 부합되는 계통을 양친으로 조합을 작성하고 이 조합들에 대하여 성능검정을 실시한 결과 색이 진한 자색소구형의 째, 샐러드, 곁절이, 국거리등 다양한 용도로 이용이 가능한 우수조합을 선발하였음.

③ 2015 ~ 2016 : 자가불화합성을 이용한 채종시험, 지역적응성 및 농가 실증시험

선발된 조합을 채종시험, 지역적응성시험 및 농가실증시험을 실시한 결과 성능이 우수하여 “핑크스타일 (Pink Style)” 로 품종보호출원을 하고자 함.

(3) 주요특성

- ① 다양한 용도로 적합한 자색 배추입니다.
- ② 내엽은 분홍빛깔의 열은 자색으로 특히 가을철 재배 시 자색 발현이 더 뛰어납니다.
- ③ 자색 배추로 봄, 가을재배에 적합합니다.
- ④ 독특한 색깔과 크기의 구와 잎이 형성되어 쌈밥집, 샐러드, 곁절이 용도로 적합합니다.

(4) 적응지역 : 경기도 이천 및 전라남도 해남

(5) 재배상 유의점

- ① 육묘시 진딧물 피해를 막기 위해 예방위주의 방제를 하고 한랭사를 설치합니다.
- ② 봄 재배 시에는 육묘온도를 13℃ 이상으로 보온 육묘하여 추대 위험을 미리 막아야 합니다.
- ③ 고온에서는 벌레가 쉽게 잎을 먹을 수 있으므로 방충망을 설치해야 합니다.
- ④ 봉사와 석회를 밑거름으로 시비해 주고, 유기칼슘제를 엽면시비 해주면 상품성이 좋아집니다.

(6) 시험성적(품종의 특성설명)

- 바깥잎의 자세는 약간 서있다.
- 바깥잎의 모양은 거꾸로 세운 달걀형이고 선단은 둥근모양이다.
- 외엽은 자색이고 내엽의 색은 분홍색/노란색이다.

- 구의 형태는 계란형이며 결구형태는 반열립이다.
- 출원품종의 바깥잎 색이 자색이며 광택이 약하다.
- 출원품종의 바깥잎 중륵을 가로자른면의 모양이 평평하다.
- 출원품종은 비결구형 대조품종과 달리 반열립 형태로 결구가 이루어진다.
- 출원품종은 대조품종에 비해 중륵이 넓고 더 길다.

(7) 육성계통도

년도	계 통 도		비 고
	모계	부계	
2011	CGNR	2sp-265	재료수집
2012	CGNR-51-51	2sp-265-51-51	계통순화 및 계통고정
2013	CGNR-51-51-51-51	2sp-265-51-51-51-51	“
2014	CGNR-G6 × 2sp-265-G6		계통선발 및 조합작성 및 채종시험
2015	0 × 0		지역적응성 및 농가실증시험
2016	핑크스타일 (Pink Style)		품종명 부여

* 0는 계통이 고정되었음을 표시함

* 51, 52는 성숙모본으로 선발되었음을 나타냄

(8) 재배전경 : 좌-출원품종(핑크스타일, Pink Style), 우-대조품종(진홍쌈, 아시아종묘)

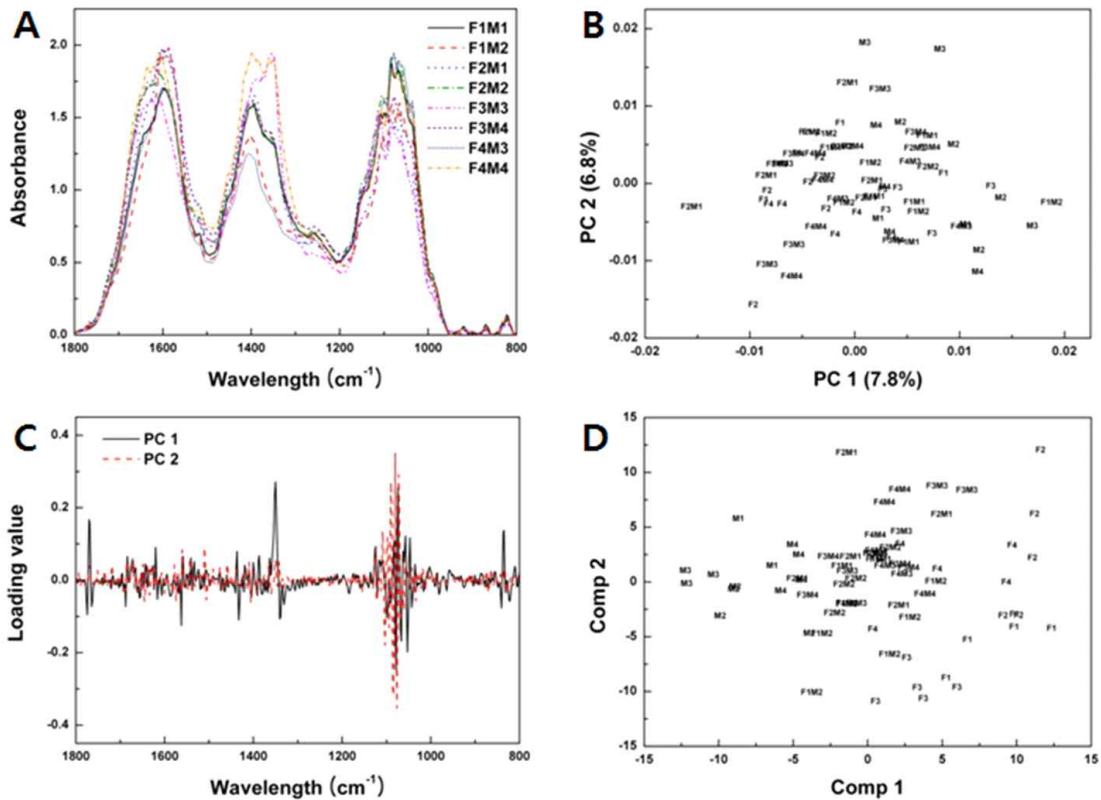


(9) 수확 후 측정 및 비교 : 좌-출원품종(핑크스타일, Pink Style), 우-대조품종(진홍쌈, 아시아종묘)



17. 적색 결구배추 교배 계통별 FT-IR 스펙트럼 DB 구축

가. 결구배추 각 교배 계통별 시료의 FT-IR 스펙트럼 DB 구축 및 다변량 통계분석
 월동형 적색 결구배추 95 점의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 다변량통계분석을 수행한 결과 스펙트럼의 1500 - 1700, 1300 - 1500, 950 - 1100 cm^{-1} 부위에서 패턴 변화가 크게 이루어짐을 알 수 있어 F1별로 amide I, II, lipids, carbohydrates계열의 화합물들의 양적, 질적 변화가 크게 이루어지고 있음을 알 수 있었다(그림 143A). 또한 이들의 PCA score plot을 보면 각각의 F1이 교배모본인 부계나 모계에 일정하게 치우치지 않고, 전체적으로 8계통과 이들의 F1 8개 라인은 고르게 분포함을 알 수 있었다(그림 143B). PCA loading value 역시 FT-IR 스펙트럼에서 보여지는 것처럼 1500 - 1700, 1300 - 1500, 950 - 1100 cm^{-1} 부위에서 큰 차이가 있음을 알 수 있었다(그림 143C). PLS-DA 분석 결과 각 계통별로 별도의 집단을 형성하지 않고 부계는 좌측으로 모계는 우측으로 분포하며 이들의 F1들은 계통과 상관없이 중앙부분에 분포함을 알 수 있었다(그림 143D). 이상의 결과로 볼 때 대사체 수준에서는 각 계통과 이들의 F1들이 별도의 집단구분이 이루어지지 않음을 의미하며 이는 각 시료들의 대사체 수준에서 유연관계가 매우 높기 때문이라고 추정된다.

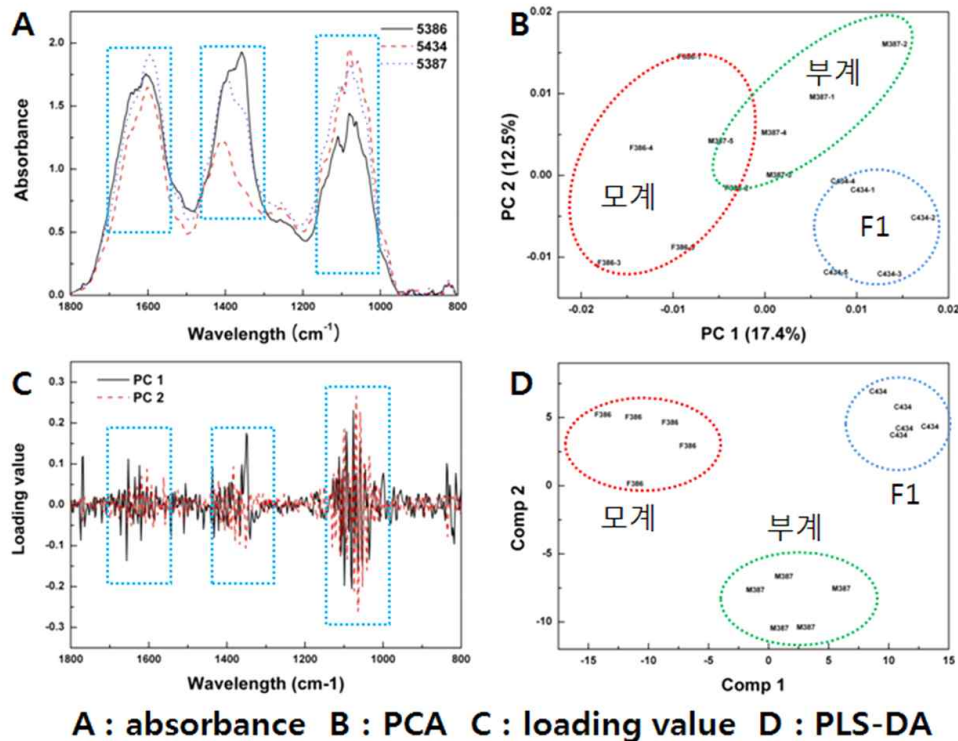


A : absorbance B : PCA C : loading value D : PLS-DA

그림 143. 월동형 적색 결구배추 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

나. 계통 A에서 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석 및 대사체 수준 유연관계 조사 연구

월동형 적색 결구배추 95 점 중 계통 A에 속하는 15 점의 FT-IR 스펙트럼 데이터로부터 다변량통계분석을 수행한 결과 스펙트럼의 1500 - 1700, 1300 - 1500, 950 - 1100 cm^{-1} 부위에서 패턴 변화가 크게 이루어짐을 알 수 있었고 부계, 모계와 교배종별로 amide I, II, lipids, carbohydrates 계열의 화합물들의 양적, 질적 변화가 크게 이루어지고 있음을 알 수 있었음(그림 144A). PCA plot을 보면 모계와 부계가 약간 겹치는 부분이 생기지만, 두 계통이 나뉘는 모습을 볼 수 있었고, F1 계통이 부계와 근접하게 분포하고 있다(그림 144B). Loading plot을 보면 스펙트럼과 마찬가지로 1500 - 1700, 1300 - 1500, 950 - 1100 cm^{-1} 부위에서 패턴 변화가 나타났(그림 144C). PLS-DA plot을 PCA와 다르게 3계통이 뚜렷하게 구분되어 나타나고, F1이 모계보다 부계에 가깝게 근접하고 있는 모습을 볼 수 있었다(그림 144D). 지금의 결과를 보면 계통을 구분하여 다변량통계분석을 하면 각각의 계통이 잘 나뉘는 모습을 볼 수 있었고, 다른 계통들 또한 지금의 결과와 비슷한 결과를 얻을 수 있었다.



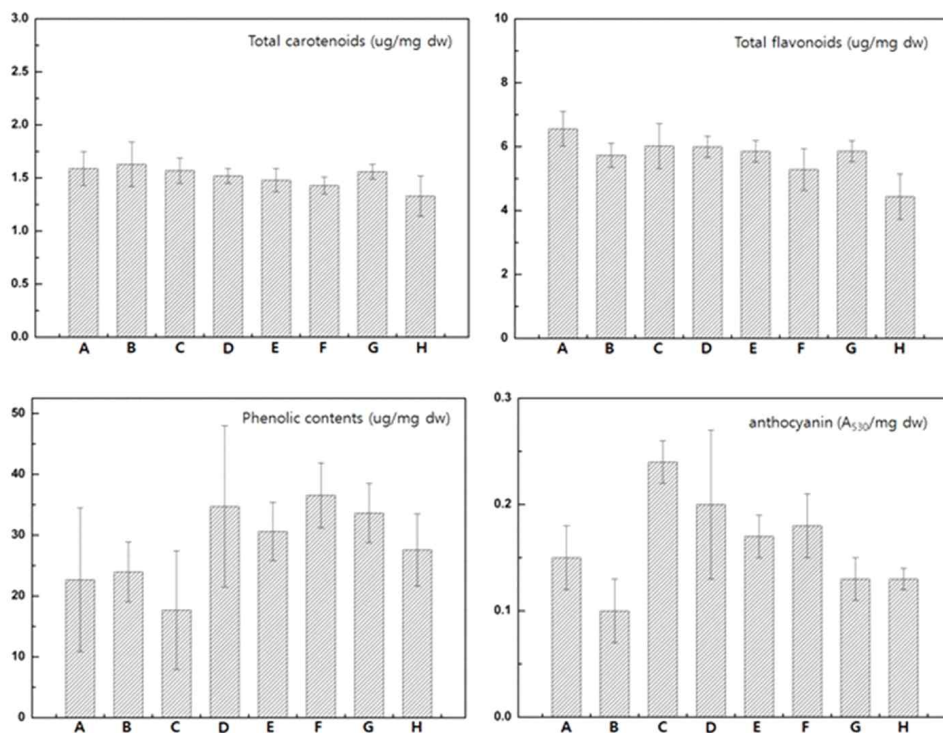
144. 계통 A로부터 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

11. 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 정량 예측 모델링의 확립

가. 월동형 적색 결구배추 시료의 UV-스펙트럼을 이용한 기능성 성분함량 정량

월동형 적색 결구배추 시료 95점을 UV-스펙트럼을 이용하여 기능성 성분인 total carotenoids, total flavonoids, total phenolic contents, total anthocyanins의 함량을 정량 분석 하였음(표 62). 8계통의 속한 F1 개체들의 평균 값을 비교 분석하였다. 그 결과, total carotenoids의 함량은 계통 B에 속한 5396이 1.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 높게 나타났고, 계통 H에 속한 5400이 1.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 낮게 나타났다. 또한 total flavonoids는 계통 A에 속한 5387이 6.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 높게 나타났고, 계통 H에 속한 5400이 4.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 낮게 나타났다.

Total phenolic contents는 계통 F에 속하는 5399가 36.5 ug/mg으로 가장 높게 나타났고, 계통 C에 속한 5388이 17.6 ug/mg으로 가장 낮게 나타났다. Total anthocyanins 함량은 상대 정량을 absorbance 값으로 비교한 결과, 계통 C에 속한 5388이 가장 높게 나타났고, 계통 B에 속한 5396이 가장 낮게 나타났다. 기능성 성분들의 함량을 조사한 결과 주로 계통 H에 속한 5400이 낮게 나타났다. 또한 carotenoid와 flavonoid는 계통간에 성분 차이가 심하지 않았지만, phenolic content와 anthocyanin의 함량은 계통간에 성분 차이가 약 2배 정도 차이가 남을 알 수 있었다(그림 145) 모계 계통인 5389는 기능성 성분들이 주로 높게 나타났다. Anthocyanin의 경우는 주로 5086 개체들이 높게 나타났다(표 61).



145. 월동형 적색 결구배추 UV-스펙트럼 데이터를 이용한 기능성 성분 함량 분석

나. 월동형 적색 결구배추 기능성 성분들과 FT-IR 스펙트럼 데이터와의 상관분석을 통한 기능성 성분별 함량 예측 PLS 모델링

월동형 적색 결구배추 기능성 성분들과 FT-IR 스펙트럼 데이터와의 상관관계를 분석한 결과 각각의 성분들에서 상관계수가 높게 나타났다. Total carotenoids와 상관관계를 분석한 결과 상관지수가 $R = 0.97$ 로 높게 나타났고, total flavonoids와의 상관지수 또한 $R = 0.96$ 으로 나타났고, phenolic contents는 $R = 0.96$, anthocyanin은 $R = 0.99$ 로 높게 나타났다(그림 146). 본 결과로 미루어볼 때 향후 기능성 성분별 함량 예측 PLS 모델링을 이용하여 기능성 성분의 함량이 높은 고기능성 라인의 신속한 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

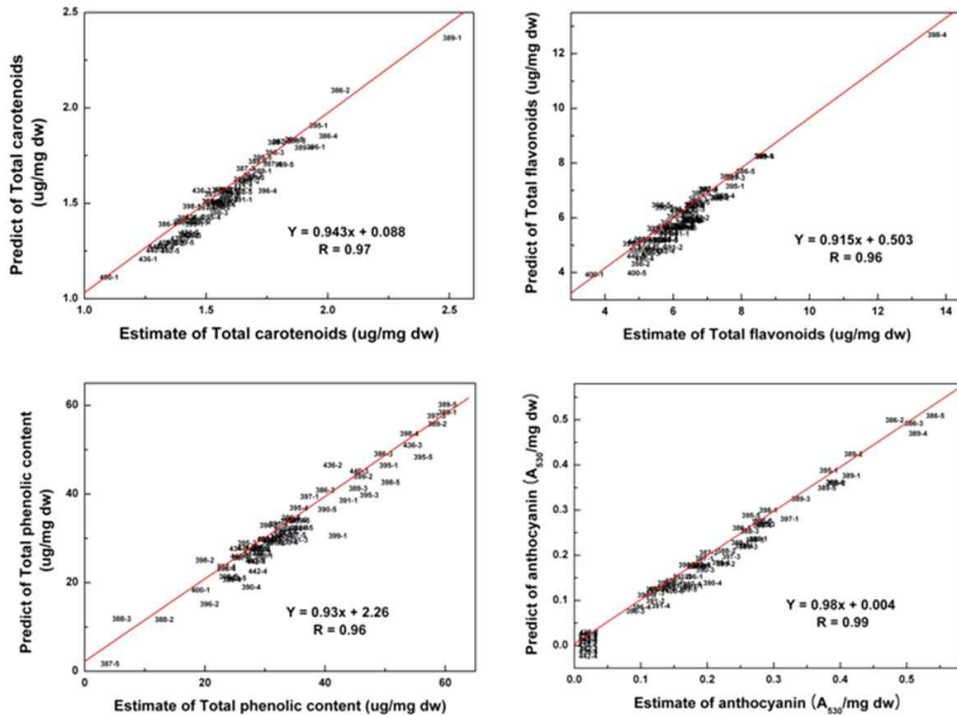


그림 146. 월동형 적색 결구배추 기능성 성분별 PLS 정량 예측 모델링 및 회귀분석

61. 월동형 적색 결구배추 UV-스펙트럼 데이터를 이용한 함량 분석

Sample Name	Sample Label	total carotenoids (ug/mgdw)			total flavonoids (ug/mgdw)		anthocyanin (A_{530} /mgdw)	
		value	average	sd	average	sd	average	sd
386-1	1	1.3	33.7	0.04	4.6	0.16	0.2	0.001
386-2	2	2.0	37.9	0.05	7.0	0.09	0.5	0.002
386-3	3	1.8	47.6	0.06	6.4	0.06	0.5	0.000
386-4	4	2.0	32.5	0.03	7.2	0.11	0.4	0.001
386-5	5	1.8	30.9	0.02	7.8	0.10	0.5	0.001
387-1	6	1.8	24.2	0.07	6.3	0.11	0.2	0.001
387-2	7	1.4	28.2	0.01	6.2	0.10	0.2	0.001
387-3	8	1.6	27.1	0.01	7.5	0.11	0.1	0.000
387-4	9	1.7	31.7	0.03	6.7	0.10	0.2	0.002
387-5	10	1.4	2.1	0.01	6.2	0.07	0.1	0.001
388-1	11	1.7	27.7	0.03	7.0	0.08	0.3	0.001
388-2	12	1.4	11.1	0.01	5.0	0.09	0.2	0.001
388-3	13	1.7	4.0	0.06	6.1	0.11	0.2	0.001
388-4	14	1.5	22.3	0.04	5.9	0.07	0.2	0.001
388-5	15	1.6	23.2	0.04	6.0	0.08	0.3	0.001
389-1	16	2.5	58.3	0.00	8.3	0.04	0.4	0.000
389-2	17	1.7	56.6	1.20	6.6	0.06	0.4	0.001

389-3	18	1.7	43.4	0.44	6.3	0.06	0.3	0.001
389-4	19	1.9	32.2	0.23	8.3	0.06	0.5	0.001
389-5	20	1.8	58.3	0.00	7.3	0.12	0.4	0.001
395-1	21	1.9	48.5	0.22	7.4	0.05	0.4	0.001
395-2	22	1.5	24.9	0.01	6.3	0.02	0.4	0.000
395-3	23	1.6	45.2	0.26	6.3	0.02	0.3	0.001
395-4	24	1.5	33.5	0.19	6.2	0.02	0.3	0.001
395-5	25	1.6	54.2	0.59	6.4	0.07	0.2	0.000
396-1	26	1.9	30.8	0.13	5.9	0.32	0.2	0.001
396-2	27	1.5	18.7	0.13	5.5	0.04	0.1	0.001
396-3	28	1.7	27.2	0.05	6.2	0.04	0.1	0.000
396-4	29	1.7	21.5	0.15	5.8	0.06	0.1	0.002
396-5	30	1.4	21.8	0.03	5.2	0.07	0.1	0.001
397-1	31	1.6	35.3	0.09	6.1	0.05	0.3	0.001
397-2	32	1.6	27.3	0.10	6.4	0.09	0.1	0.000
397-3	33	1.5	56.4	1.58	6.0	0.08	0.2	0.000
397-4	34	1.4	21.4	0.11	6.0	0.08	0.2	0.001
397-5	35	1.5	33.2	0.03	5.5	0.10	0.2	0.001
398-1	36	1.4	30.4	0.09	4.7	0.05	0.3	0.000
398-2	37	1.3	17.9	0.53	4.7	0.07	0.2	0.002
398-3	38	1.5	27.3	0.06	4.9	0.10	0.2	0.001
398-4	39	1.4	51.9	0.43	4.4	0.04	0.3	0.001
398-5	40	1.7	48.8	0.25	5.3	0.13	0.3	0.001
400-1	41	1.1	17.2	0.16	3.3	0.07	0.1	0.001
400-2	42	1.5	30.3	3.35	4.9	0.09	0.1	0.001
400-3	43	1.3	30.4	0.39	4.3	0.09	0.1	0.000
400-4	44	1.5	31.8	0.03	5.2	0.12	0.1	0.001
400-5	45	1.3	28.2	0.17	4.6	0.07	0.1	0.000
399-1	46	1.4	40.0	0.03	5.2	0.03	0.2	0.000
399-2	47	1.5	44.2	0.39	4.4	0.03	0.2	0.001
399-3	48	1.5	32.0	0.37	5.1	0.29	0.2	0.001
399-4	49	1.4	32.7	0.25	6.2	0.09	0.1	0.001
399-5	50	1.4	33.8	0.01	5.5	0.07	0.2	0.002
434-1	51	1.3	21.6	0.22	5.8	0.35	0.0	0.000
434-2	52	1.5	28.1	0.07	6.0	0.07	0.0	0.000
434-3	53	1.4	23.5	0.19	5.7	0.08	0.0	0.000
434-4	54	1.4	24.8	0.14	5.3	0.11	0.0	0.000
434-5	55	1.1	25.4	0.05	5.6	0.09	0.0	0.000
390-1	56	1.5	28.8	0.09	6.3	0.11	0.2	0.000

390-2	57	1.6	31.9	0.15	6.0	0.07	0.2	0.001
390-3	58	1.6	28.6	0.56	5.7	0.12	0.2	0.001
390-4	59	1.3	25.6	0.15	5.9	0.05	0.2	0.001
390-5	60	1.4	38.2	0.08	5.4	0.09	0.2	0.001
391-1	61	1.6	41.8	0.29	5.8	0.07	0.2	0.001
391-2	62	1.6	29.6	0.05	5.6	0.12	0.1	0.002
391-3	63	1.5	33.5	0.03	6.3	0.07	0.1	0.001
391-4	64	1.5	30.2	0.03	5.5	0.11	0.1	0.000
391-5	65	1.5	33.3	0.05	6.0	0.10	0.1	0.001
071-1	66	1.7	43.2	0.19	6.1	0.07	0.5	0.001
071-2	67	1.7	47.2	0.23	6.6	0.07	0.3	0.001
071-3	68	1.5	43.5	0.16	5.1	0.03	0.4	0.001
071-4	69	1.1	17.9	0.05	5.0	0.12	0.2	0.001
071-5	70	1.0	22.4	0.03	3.8	0.16	0.1	0.001
436-1	71	1.2	29.0	0.11	5.5	0.08	0.0	0.001
436-2	72	1.4	39.1	0.10	5.6	0.08	0.0	0.000
436-3	73	1.3	52.5	0.25	5.0	0.05	0.0	0.000
436-4	74	1.1	26.4	0.07	5.4	0.13	0.0	0.000
436-5	75	1.4	34.3	0.16	5.8	0.08	0.0	0.000
440-1	76	1.2	15.3	0.01	4.7	0.08	0.0	0.000
440-2	77	1.0	35.9	0.05	4.2	0.18	0.0	0.000
440-3	78	1.2	43.6	0.15	4.6	0.06	0.0	0.000
440-4	79	1.3	23.7	0.07	4.8	0.07	0.0	0.000
440-5	80	1.3	26.2	0.43	4.5	0.07	0.0	0.000
442-1	81	1.2	26.5	0.25	5.1	0.08	0.0	0.001
442-2	82	1.6	25.9	0.16	5.4	0.11	0.0	0.000
442-3	83	1.5	26.7	0.10	5.6	0.03	0.0	0.000
442-4	84	1.5	26.7	0.09	5.4	0.09	0.0	0.000
442-5	85	1.3	55.8	0.00	5.0	0.06	0.0	0.000
086-1	86	-0.1	55.8	0.00	5.3	0.10	0.5	0.001
086-2	87	0.9	48.3	0.20	4.1	0.21	0.5	0.002
086-3	88	0.9	55.8	0.00	5.2	0.11	0.5	0.001
086-4	89	1.1	55.8	0.00	4.5	0.04	0.6	0.001
086-5	90	1.1	34.0	1.33	4.4	0.02	0.4	0.002
087-1	91	1.7	55.8	0.00	5.9	0.13	0.1	0.002
087-2	92	1.7	32.4	0.19	5.8	0.07	0.1	0.001
087-3	93	1.3	20.6	0.44	5.1	0.07	0.1	0.001
087-4	94	1.6	21.2	0.26	5.5	0.07	0.1	0.000
087-5	95	1.8	22.7	0.10	6.3	0.07	0.1	0.000

19. 적색 결구배추 inbreeding line의 total flavonoids, anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발체계 확립

가. 적색결구배추 잎 시료로부터 total flavonoids 함량 조사

적색결구배추 계통별로 5개체씩 샘플링된 시료군에서 배추 잎에 존재하는 total flavonoids 함량을 조사한 결과 총 98개 시료의 평균 total flavonoids 함량은 약 9.3 ug/mg dw이었다. 각 개체별로 함량이 가장 높은 라인은 066-2번 개체로 total flavonoids 함량이 13.7±0.3 ug/mg dw이었다. 다음으로 함량이 높은 라인은 034-3, 036-4, 012-4, 018-2 그리고 060-2번 순으로 평균함량보다 약 25% 가량 높은 total flavonoids 함량을 가짐을 알 수 있었다(표 62). 008 계열에 속하는 개체인 008-6번 개체의 경우 total flavonoids 함량이 약 1.2±0.1 ug/mg dw로 평균 함량에 비하여 약 7.8배나 함량이 낮음을 알 수 있었다. 다음으로 total flavonoids 함량이 낮은 개체는 008 계열에 속하는 008-5 및 008-7번 개체로 total flavonoids 함량이 2.7 ug/mg dw 이함 임을 알 수 있었다(표 62). 이상의 결과로 볼 때 적색결구배추 잎 시료에서 개체간에 total flavonoids 함량이 최대 11.4배가량 차이가 남을 알 수 있었다.

적색결구배추 inbreeding line별로 total flavonoids 함량을 비교 분석한 결과 018계통이 11.8 ± 1.8 ug/mg dw로 조사한 20개 계통중에서 total flavonoids 함량이 가장 높은 라인임을 알 수 있었다. 다음으로 060과 036 계통이 각각 11.2 ± 2.3 ug/mg dw 와 11.1 ± 1.9 ug/mg dw의 함량을 나타내 total flavonoids 함량이 우수한 계통임을 알 수 있었다(그림 147). 반대로 008 계통은 4.1 ± 3.7 ug/mg dw으로 조사된 20개 계통가운데서 total flavonoids 함량이 가장 낮은 계통임을 알 수 있었다. 또한 074 및 035 계통의 경우 total flavonoids 함량이 각각 6.9 및 7.3 ug/mg dw으로 008에 이어 가장 함량이 낮은 계통임을 알 수 있었다(그림 147). Total flavonoids 함량이 가장 높은 계통인 018계통과 가장 낮은 계통인 008계통의 함량을 비교한 결과 약 2.9배 정도 total flavonoids 함량 차이가 이루어짐을 알 수 있었다. 이상의 결과를 미루어볼 때 total flavonoids 함량이 우수한 계통으로 018 계통을 이용하여 개체 선발이 이루어진다면 함량이 flavonoid 계열 고기능성라인 선발이 가능할 것으로 기대된다.

표 62. Contents of total flavonoids from leaf of Chinese cabbage inbreeding lines.

Number of line	Sample number	Total flavonoids contents (ug/mg dw)	Average of total flavonoids	Number of line	Sample number	Total flavonoids contents (ug/mg dw)	Average of total flavonoids
001	001-1	9.1±0.1	9.0±0.3	018	018-2	12.8±0.1	11.8±1.8
	001-2	8.8±0.2			018-3	12.7±0.0	
	001-3	9.2±0.3			018-4	8.7±0.1	
	001-4	8.5±0.2			018-5	12.1±0.1	
	001-5	9.2±0.2			018-6	12.7±0.1	
002	002-1	7.7±0.4	8.3±2.0		033	033-1	
	002-2	7.9±0.3		033-2		9.7±0.2	
	002-3	5.7±0.3		033-3		8.8±0.0	
	002-4	9.4±0.2		033-4		9.7±0.1	
	002-5	11.0±0.2		033-5		8.7±0.1	
003	003-1	6.8±0.1	8.3±2.4	035	035-4	7.7±0.1	7.3±0.9

	003-2	11.3±0.2			035-5	7.9±0.2	
	003-3	9.3±0.2			035-6	7.9±0.1	
	003-4	5.1±0.3			035-7	5.8±0.3	
	003-5	9.0±0.2			035-8	7.1±0.1	
004	004-1	10.9±0.1	10.5±2.4	036	036-1	12.6±0.3	11.1±1.9
	004-2	6.5±0.2			036-2	11.5±0.2	
	004-3	10.7±0.2			036-3	10.2±0.2	
	004-4	11.2±0.1			036-4	13.0±0.3	
	004-5	13.0±0.2			036-5	8.2±0.3	
007	007-1	11.6±0.2	10.2±2.7	047	047-1	10.7±0.1	9.1±1.2
	007-2	10.0±0.2			047-3	8.7±0.2	
	007-3	5.8±0.3			047-4	10.0±0.3	
	007-4	11.0±0.2			047-5	8.4±0.1	
	007-5	12.8±0.1			047-7	7.7±0.3	
008	008-1	4.9±0.2	4.1±3.0	052	052-2	10.9±0.2	9.6±2.2
	008-4	9.0±0.1			052-3	10.4±0.2	
	008-5	2.6±0.2			052-4	12.0±0.1	
	008-6	1.2±0.1			052-5	6.3±0.4	
	008-7	2.7±0.1			052-7	8.4±0.4	
009	009-1	11.7±0.3	8.7±2.7	060	060-1	7.3±0.2	11.2±2.4
	009-2	11.2±0.1			060-2	12.8±0.5	
	009-3	7.3±0.1			060-3	12.5±0.3	
	009-4	8.1±0.2			060-4	12.9±0.5	
	009-5	5.1±0.1			060-7	10.6±0.2	
010	010-1	11.2±0.1	10.9±1.8	066	066-1	5.2±0.1	9.0±3.2
	010-2	8.1±0.1			066-2	13.7±0.3	
	010-4	12.5±0.1			066-3	9.9±0.2	
	010-5	12.5±0.1			066-4	9.5±0.3	
	010-6	10.4±0.1			066-5	6.8±0.1	
011	011-1	12.0±0.1	10.6±1.6	074	074-1	8.4±0.3	6.9±2.2
	011-2	9.2±0.1			074-2	3.6±0.1	
	011-3	10.3±0.2			074-3	7.8±0.3	
	011-4	12.7±0.1			074-4	9.1±0.3	
	011-5	9.0±0.2			074-6	5.7±0.2	
012	012-2	7.1±0.1	9.6±3.7	034	034-2	10.5±0.2	10.9±1.7
	012-3	5.6±0.1			034-3	13.2±0.2	
	012-4	12.9±0.0			034-5	9.1±0.1	
	012-6	12.7±0.1			034-6	10.9±0.1	
Average						9.3±0.2	9.3±2.1

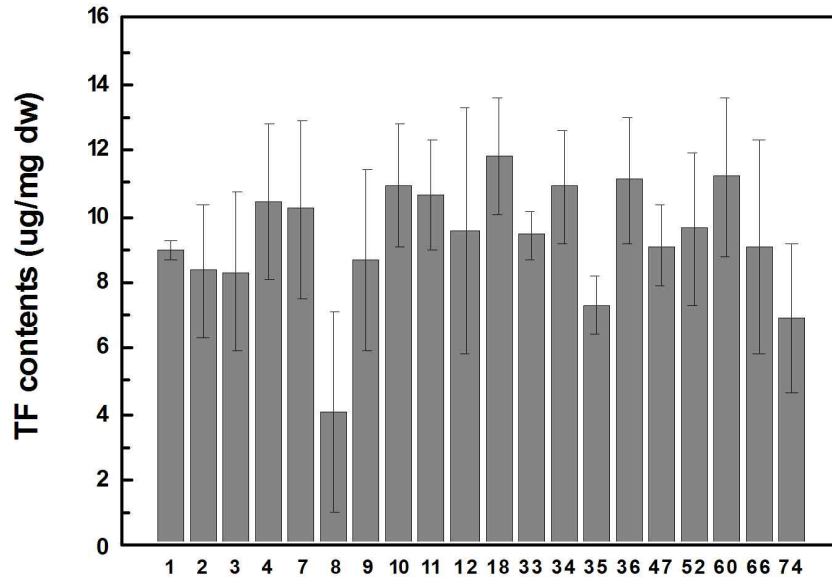


그림 147. 적색결구배추 계통별 total flavonoids 함량 비교분석

나. 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사

적색결구배추 계통별로 5개체씩 샘플링된 시료군에서 배추잎에 존재하는 total anthocyanins 함량을 조사한 결과 총 98개 시료의 평균 total anthocyanins 함량은 약 0.352 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw이었다. 대조구인 청색월동배추의 total anthocyanins 함량은 0.011 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw로 아시아종묘에서 육성중인 적색결구배추에 비하여 함량이 32배 낮았다. 적색결구배추의 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인인 074-4번 개체로 함량이 1.516 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw이었으며 평균함량 보다 4.3배 가량 함량이 높았다(표 63). 다음으로 함량이 높은 라인인 052-2번, 35-6번 개체와 033 계통에 속하는 개체들로서 033-4, 033-2, 그리고 033-1번 개체로 모두 total anthocyanins 함량이 0.936 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw 이상이었다(표 64). 반대로 066 계통에 속하는 개체인 066-1, 2, 3, 4, 와 5번 개체는 total anthocyanins 함량이 0.007 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw 이하로 매우 함량이 낮았으며 거의 대조구 개체와 함량이 비슷함을 알 수 있었다(표 63). 각 개체별로 total anthocyanins 함량 차이는 대조구와 비교하면 약 0.6배-137배 정도 함량차이가 나타남을 알 수 있었다. 이 결과로 미루어볼 때 적색결구배추 잎 시료로부터 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 높은 라인을 신속하게 선발 할 수 있을 것으로 사료된다.

적색결구배추 inbreeding line별로 total anthocyanins 함량을 비교 분석한 결과 033계통이 0.921 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw로 조사한 20개 계통중에서 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인임을 알 수 있었다(그림 148). 다음으로 035, 034와 052 계통이 각각 0.705, 0.657 및 0.655 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw로 평균 함량보다 약 1.9배 정도 높은 계통임을 알 수 있었다(그림 148). 반대로 066 및 008 계통은 total anthocyanins 함량이 각각 0.007 및 0.06 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw로 대조구보다 낮거나 대조구보다 약 5.5배 높음을 알 수 있었다. Total anthocyanins 함량이 가장 높은 계통인 033계통과 가장 낮은 계통인 066계통의 함량을 비교한 결과 약 131배의 함량 차이가 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 미루어볼 때 total anthocyanins 함량이 우수한 계통으로 033 계통을 이용하여 개체 선발이 이루어진다면

대조구에 비해 cyanidin 함량이 높은 고기능성라인 선발이 가능할 것으로 기대된다.

63. Contents of total anthocyanins from leaf of Chinese cabbage inbreeding lines.

Number of line	Sample number	Anthocyanin (A530-0.25* A657/mg dw)	Average of anthocyanin	Number of line	Sample number	Anthocyanin (A530-0.25* A657/mg dw)	Average of anthocyanin
001	001-1	0.271±0.000	0.393±0.102	018	018-2	0.070±0.000	0.116±0.061
	001-2	0.441±0.000			018-3	0.138±0.000	
	001-3	0.357±0.001			018-4	0.035±0.000	
	001-4	0.357±0.000			018-5	0.164±0.001	
	001-5	0.541±0.001			018-6	0.174±0.000	
002	002-1	0.553±0.001	0.293±0.155	033	033-1	0.936±0.001	0.921±0.053
	002-2	0.307±0.000			033-2	0.946±0.061	
	002-3	0.233±0.000			033-3	0.831±0.000	
	002-4	0.222±0.000			033-4	0.966±0.000	
	002-5	0.153±0.000			033-5	0.928±0.002	
003	003-1	0.055±0.000	0.096±0.048	035	035-4	0.823±0.000	0.705±0.302
	003-2	0.179±0.000			035-5	0.930±0.001	
	003-3	0.079±0.000			035-6	1.007±0.001	
	003-4	0.084±0.000			035-7	0.340±0.000	
	003-5	0.081±0.000			035-8	0.427±0.001	
004	004-1	0.070±0.000	0.120±0.062	036	036-1	0.815±0.000	0.646±0.148
	004-2	0.044±0.000			036-2	0.668±0.000	
	004-3	0.127±0.000			036-3	0.658±0.003	
	004-4	0.182±0.000			036-4	0.683±0.000	
	004-5	0.177±0.000			036-5	0.406±0.000	
007	007-1	0.222±0.000	0.165±0.086	047	047-1	0.824±0.001	0.552±0.225
	007-2	0.243±0.000			047-3	0.716±0.000	
	007-3	0.034±0.000			047-4	0.249±0.000	
	007-4	0.203±0.000			047-5	0.517±0.000	
	007-5	0.121±0.000			047-7	0.454±0.001	
008	008-1	0.071±0.000	0.061±0.031	052	052-2	1.157±0.001	0.655±0.350
	008-4	0.105±0.000			052-3	0.678±0.062	
	008-5	0.068±0.000			052-4	0.485±0.001	
	008-6	0.028±0.000			052-5	0.206±0.000	
	008-7	0.035±0.000			052-7	0.747±0.001	
009	009-1	0.349±0.000	0.283±0.102	060	060-1	0.029±0.000	0.109±0.078
	009-2	0.419±0.001			060-2	0.227±0.001	
	009-3	0.250±0.000			060-3	0.117±0.000	
	009-4	0.243±0.000			060-4	0.124±0.000	
	009-5	0.155±0.000			060-7	0.049±0.000	
010	010-1	0.156±0.000	0.204±0.098	066	066-1	0.005±0.000	0.007±0.001
	010-2	0.071±0.000			066-2	0.007±0.000	
	010-4	0.226±0.000			066-3	0.007±0.000	
	010-5	0.234±0.001			066-4	0.007±0.000	
	010-6	0.336±0.000			066-5	0.007±0.000	

011	011-1	0.425±0.000	0.277±0.151	074-1	0.135±0.000	0.607±0.602
	011-2	0.109±0.000		074-2	0.933±0.000	
	011-3	0.190±0.000		074-3	0.241±0.000	
	011-4	0.448±0.001		074-4	1.516±0.002	
	011-5	0.213±0.000		074-6	0.207±0.000	
012	012-2	0.170±0.000	0.280±0.149	034-2	0.616±0.002	0.657±0.256
	012-3	0.133±0.000		034-3	0.312±0.000	
	012-4	0.408±0.001		034-5	0.827±0.001	
	012-6	0.409±0.001		034-6	0.874±0.000	
control		0.011±0.000	0.011±0.000			
Average				0.352±0.002	0.341±0.146	

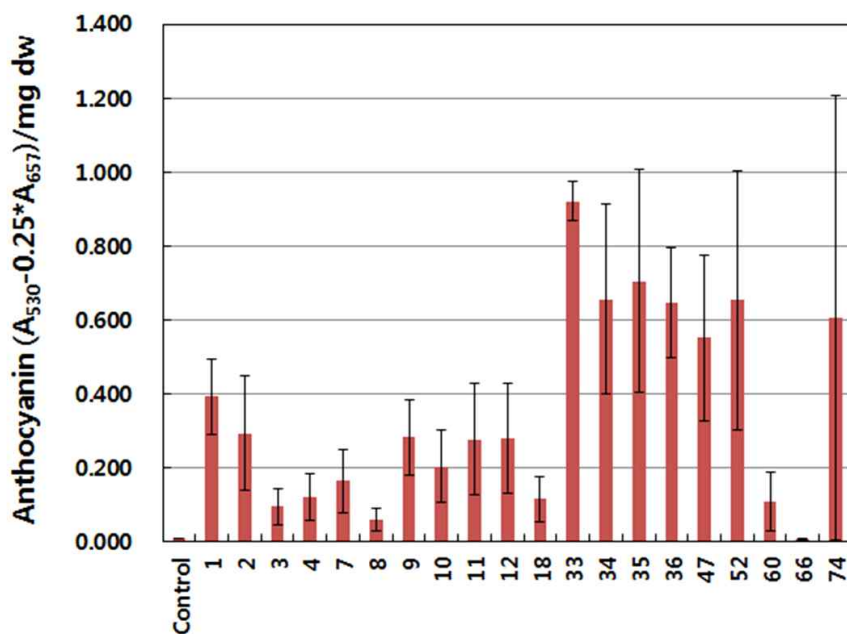


그림 148. 적색결구배추 계통별 total anthocyanins 함량 비교분석

다. 적색결구배추 잎 시료로부터 total flavonoids 및 anthocyanin 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유라인 선발 및 검증

(1) 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석

적색결구배추의 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 149A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,400-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간에 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 149A). 이들 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석결과 총 98개 라인중에서 대부분의 시료들은 반복 측정시료의 PCA score plot상에서 분포가 인접하여 이루어짐을 알 수 있어 대체로 반복 조사의 재현성이 높음을 알 수 있었다(그림 149B). 그러나 일부 시료의 경우 반복 측정 시료들의 분포가 매우 상이하여 일정한 경계를 벗어나는 것으로 나타나 비록 동일한 육성 계통에 속하는 시료라 하더라도 개체간에 생장 상태에 따른 차이가 크게 이루어져 나타나는 현상이라고 사료된다. 또한 PC score 1과 2의 전체 데이터셋의 변이 설명정도가 각각 9.6%와

8.2%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 17.8%에 불과하여 각 시료들간에 FT-IR 스펙트럼 상에서 차이가 크지 않음을 알 수 있었다. PCA score plot 상에서 각 시료들간의 계통별 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 부위에서 각 시료들간에 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 149C).

동일한 계통에 속하는 시료들에 대한 계통정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 반복 측정에 대한 재현성이 크게 증가하였으며 각 계열별 total anthocyanins 함량 데이터와 상관성을 분석한 결과 적색결구배추 육성계통중에서 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PLS-DA score plot의 좌측 하단부에 주로 분포함을 알 수 있었다(그림 149D). 그림 8B와 8D의 화살표는 각 시료들에서 total anthocyanins 함량이 높은 시료가 존재하는 방향을 나타낸다. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선 분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료내에 존재하는 total anthocyanins 함량의 많고 적음을 비교적 정확하게 예측할 수 있을 것으로 사료된다(그림 149D).

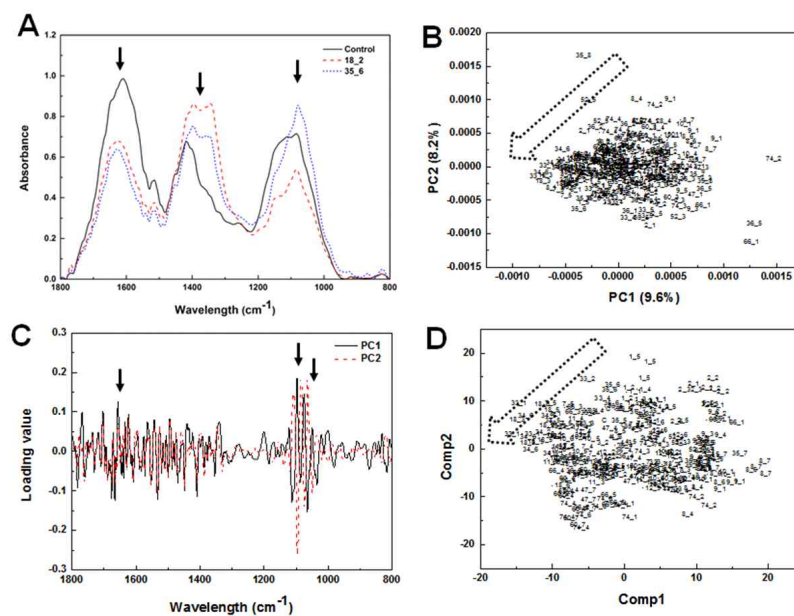


그림 149. 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량통계분석. A:FR-IR spectra; B: PCA score plot; C: PCA loading value; D:PLS-DA score plot.

(2) 적색결구배추 잎 시료로부터 total flavonoids 함량 예측 PLS 모델링

총 98개 적색결구배추의 잎 시료로부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터와 이들 시료의 total flavonoids 함량 데이터 사이의 PLS regression 모델링 분석을 수행하여 각 적배추 시료의 total flavonoids 함량 예측 PLS 모델링을 개발하였다(그림 150). Total flavonoids 함량 PLS 모델링에서 결정계수(R-square)는 0.946로 매우 높게 나타났다(그림 150A). Total flavonoids 함량 예측에 대한 PLS 모델의 정확성을 조사하기 위해 cross-validation을 수행하였다. 상기의 PLS 함량예측 PLS 모델에 근거하여 10개의 적색결구배추 시료로부터 total flavonoids 함량을

예측하였으며 또한 이들 시료의 실측 함량과의 선형회귀분석을 수행한 결과 결정계수(R-square)는 0.712로 나타나 PLS 모델링 단계에서의 정확성이 매우 높음을 알 수 있었다(그림 150B). 본 연구에서 개발된 PLS 모델링은 배추의 잎 조직으로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델로 사용이 가능할 것으로 기대되며 이는 고기능성 배추 품종 육성을 위한 기능성 품종 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

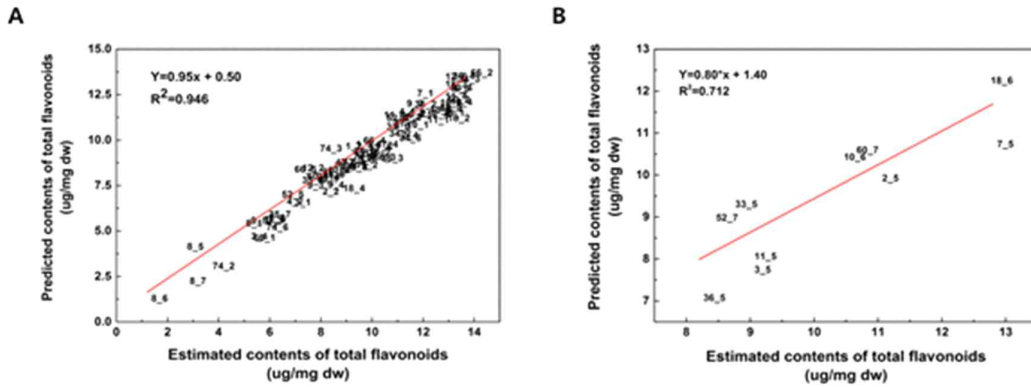


그림 150. 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터로부터 total flavonoids 함량 예측 PLS 모델링. A: PLS regression modeling of total flavonoids; B: Cross-validation of PLS model.

(3) 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링

총 98개 적색결구배추의 잎 시료로부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터와 이들 시료의 total anthocyanins 함량 데이터 사이의 PLS regression 모델링 분석을 수행하여 각 적배추 시료의 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링을 개발하였다(그림 151). PLS 모델링에서 결정계수(R-square)는 0.961로 매우 높게 나타났다(그림 151A). Total anthocyanins 함량 예측에 대한 PLS 모델의 정확성을 조사하기 위해 cross-validation을 수행하였다. 상기의 PLS 함량 예측 PLS 모델에 근거하여 10개 적색결구배추 시료로부터 total anthocyanins 함량을 예측하였으며 또한 이들 시료의 실측 함량과의 선형회귀분석을 수행한 결과 결정계수(R-square)는 0.701로 나타나 정확성이 매우 높음을 알 수 있었다(그림 151B). 이 결과는 PCA분석에서 시료의 구분이 anthocyanins 함량과 상관성이 있는 것으로 나타난 다변량통계분석 결과와 일치하는 결과라 사료된다. 본 연구에서 개발된 PLS 모델링은 total flavonoids와 마찬가지로 배추의 잎 조직으로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델로 사용이 가능할 것으로 기대되며 이는 고기능성 배추 품종 육성을 위한 기능성 품종 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

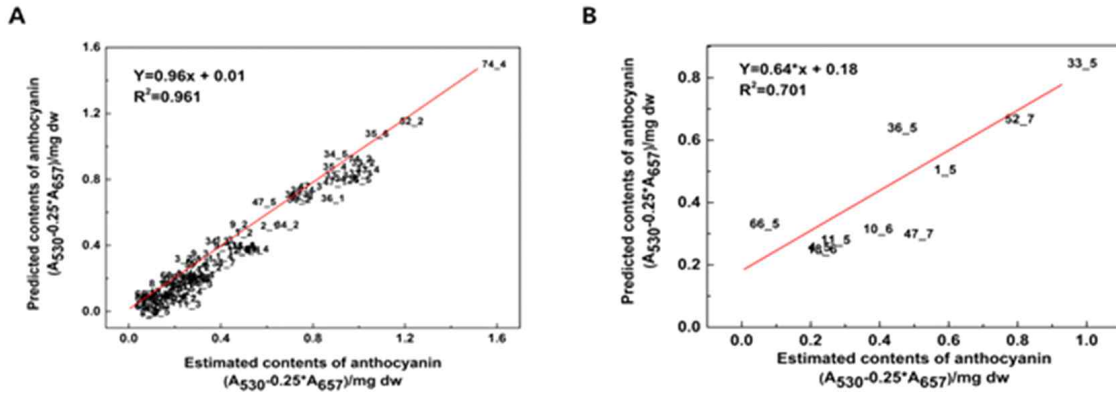


그림 151. 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터로부터 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링. A: PLS regression modeling of total flavonoids; B: Cross-validation of PLS model.

20. 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성 라인 고속선발체계 확립

가. 수확시기별(여름, 가을) 적색 결구배추의 anthocyanins 함량 예측 모델링 및 고기능성 라인 고속선발체계 확립

(1) 가을 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사

적색결구배추 선발을 위해 23가지 계통별로 3개체씩 샘플링 된 시료군(5514♂ 계통은 2개체)에서 배추 잎에 존재하는 total anthocyanins 함량을 조사하였다. total anthocyanins의 함량을 조사한 결과 총 68개 시료의 평균 total anthocyanins 함량은 약 0.716 (A₅₃₀-0.25*A₆₅₇)/mg dw 이었다. 대조구인 청색 control 배추 (F1-5112)의 total anthocyanins 함량은 0.008 (A₅₃₀ - 0.25 A₆₅₇)/mg dw로 아시아종묘에서 육성중인 적색결구배추 F1-5047에 비하여 함량이 150.6배 낮았다. 적색결구배추의 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인은 15-3 (5726♀) 개체로 함량이 1.987 (A₅₃₀-0.25*A₆₅₇)/mg dw이었으며 평균함량 보다 2.8배 가량 함량이 높았다(표 64). 15-3 (5726♀) 개체의 anthocyanin 함량은 적색 대조구 배추인 F1-5108 (22)와 비교하면 약 1.4배 높은 수치를 보였다. 다음으로 함량이 높은 라인은 16-3 (F1-red chicory)번 개체와 22-2 (F1-5108)번 개체로 total anthocyanins 함량이 각각 1.878과 1.647 (A₅₃₀-0.25*A₆₅₇)/mg dw 이었다(표 64). 반대로 5403♂ 계통에 속하는 개체인 2-1, 2, 3과 5417♀ 계통에 속하는 3-1개체는 total anthocyanins 함량이 0.005 (A₅₃₀-0.25*A₆₅₇)/mg dw 이하로 매우 함량이 낮았으며 거의 녹색 대조구 개체와 함량이 비슷함을 알 수 있었다(표 64). 각 개체별로 total anthocyanins 함량 차이는 녹색 대조구와 비교하면 약 0.4배-248.4배 정도 함량차이가 나타남을 알 수 있었다. 이 결과로 미루어볼 때 적색결구배추 잎 시료로부터 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 높은 라인을 신속하게 선발 할 수 있을 것으로 사료된다.

표 64. Contents of total flavonoids from leaf of Chinese cabbage inbreeding lines.

Number of line	Sample number	Anthocyanin (A ₅₃₀ -0.25*A ₆₅₇ /mg dw)	Average of anthocyanin	Number of line	Sample number	Anthocyanin (A ₅₃₀ -0.25*A ₆₅₇ /mg dw)	Average of anthocyanin

5390 ♀	1-1	0.008±0.002		5510 ♀	13-1	0.159±0.003	
	1-2	0.009±0.001	0.008±0.002		13-2	0.144±0.006	0.165±0.026
	1-3	0.005±0.002			13-3	0.194±0.002	
5403 ♂	2-1	0.005±0.003		5514 ♂	14-1	0.471±0.019	
	2-2	0.003±0.001	0.004±0.001		14-2	1.047±0.043	0.759±0.407
	2-3	0.003±0.003					
5417 ♀	3-1	0.004±0.002		5726 ♀	15-1	1.500±0.050	
	3-2	0.006±0.000	0.005±0.002		15-2	1.608±0.012	1.698±0.044
	3-3	0.007±0.001			15-3	1.987±0.099	
5438 ♀	4-1	1.170±0.028		F1-red chicory	16-1	1.198±0.016	
	4-2	0.985±0.008	1.112±0.110		16-2	1.221±0.021	1.432±0.018
	4-3	1.180±0.024			16-3	1.878±0.049	
5467 ♂	5-1	1.040±0.012		F1-5039	17-1	0.878±0.034	
	5-2	1.142±0.018	1.056±0.079		17-2	1.187±0.009	1.112±0.014
	5-3	0.986±0.012			17-3	1.272±0.010	
5469 ♂	6-1	0.873±0.014		F1-5040	18-1	0.915±0.017	
	6-2	0.942±0.022	0.804±0.183		18-2	0.896±0.016	0.879±0.013
	6-3	0.597±0.021			18-3	0.828±0.039	
5484 ♀	7-1	0.756±0.036		F1-5041	19-1	0.773±0.020	
	7-2	0.835±0.047	0.677±0.209		19-2	0.744±0.017	0.682±0.019
	7-3	0.440±0.031			19-3	0.528±0.051	
5490 ♀	8-1	1.058±0.016		F1-5044	20-1	0.615±0.055	
	8-2	0.702±0.044	0.954±0.220		20-2	0.679±0.005	0.608±0.027
	8-3	1.103±0.025			20-3	0.530±0.010	
5492 ♂	9-1	0.890±0.118		F1-5047	21-1	1.312±0.087	
	9-2	0.897±0.011	0.860±0.059		21-2	1.459±0.033	1.205±0.039
	9-3	0.792±0.058			21-3	0.842±0.011	
5493 ♀	10-1	0.404±0.024		F1-5108	22-1	1.455±0.016	
	10-2	0.619±0.024	0.486±0.116		22-2	1.647±0.047	1.444±0.015
	10-3	0.434±0.006			22-3	1.230±0.033	
5494 ♂	11-1	0.249±0.004		F1-5112	23-1	0.008±0.002	
	11-2	0.306±0.010	0.262±0.039		23-2	0.008±0.000	0.008±0.001
	11-3	0.232±0.009			23-3	0.008±0.000	
5496 ♀	12-1	0.204±0.009		Total		0.716±0.023	
	12-2	0.314±0.007	0.256±0.055				
	12-3	0.250±0.010					

적색결구배추 line별로 total anthocyanins 함량을 비교 분석한 결과 5726-♀(15)계통이 1.698 ($A_{530}-0.25*A_{657}$)/mg dw로 조사한 23개 계통 중에서 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인임을 알 수 있었다(그림 152). 5726♀ (15) 계통의 anthocyanin 평균 함량은 적색 대조구 배추인 F1-5108 (22)와 비교하면 약 1.2배 높은 수치를 보였다. 다음으로 F1-5108 (22), F1-RC (16)와 F1-5047 (21)계통이 각각 1.444, 1.432 및 1.205 ($A_{530}-0.25*A_{657}$)/mg dw로 이들 상위 4개 계통들의 평균 함량은 전체 평균 함량보다 약 2.4배 정도 높음을 알 수 있었다 (그림 152). 반대로 5403-♂ (2), 5417-♀ (3) 및 5390-♀ (1) 계통은 total anthocyanins 함량이 각각

0.004, 0.005 및 0.008 ($A_{530}-0.25 \cdot A_{657}$)/mg dw로 녹색 대조구 F1-5112 보다 낮거나 대조구와 비슷함을 알 수 있었다. Total anthocyanins 함량이 가장 높은 계통인 5726-우 (15)계통과 가장 낮은 계통인 5403-♂ (2)계통의 함량을 비교한 결과 약 425배의 함량 차이가 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 미루어볼 때 total anthocyanins 함량이 우수한 계통인 5726-우 (15) 계통을 이용하여 개체 선발이 이루어진다면 대조구에 비해 cyanidin 함량이 높은 고기능성 라인 선발이 가능할 것으로 기대된다.

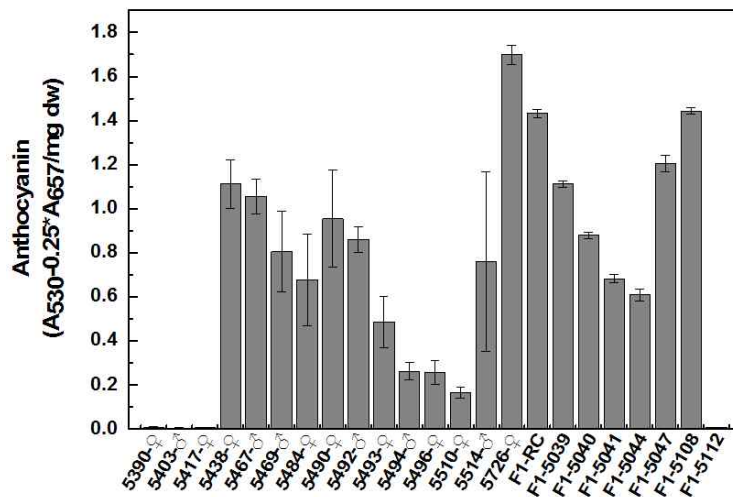


그림 152. 적색결구배추 23가지 계통별 total anthocyanins 함량 비교분석

(2) 가을 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석

적색결구배추의 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 153A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,500-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료 간에 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 153A). 이들 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석결과 총 68개 라인 중에서 대부분의 시료들은 반복 측정시료의 PCA score plot상에서 분포가 인접하여 이루어짐을 알 수 있어 대체로 반복 조사의 재현성이 높음을 알 수 있었다(그림 153B). 그러나 일부 시료의 경우 반복 측정 시료들의 분포가 매우 상이하여 일정한 경계를 벗어나는 것으로 나타나 비록 동일한 육성 계통에 속하는 시료라 하더라도 개체간에 성장 상태에 따른 차이가 크게 이루어져 나타나는 현상이라고 사료된다. 또한 PC score 1과 2의 전체 데이터셋의 변이 설명정도가 각각 34.7%와 10.9%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 45.6%였다. PCA score plot과 각 계열별 total anthocyanins 함량 데이터와 상관을 분석한 결과 적색결구배추 육성계통 중에서 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PCA score plot의 우측하단에 비교적 낮은 계통에 속하는 시료들이 좌측상단에 주로 분포함을 알 수 있었다(그림 153B). PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 계통별 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식 별로 차이가 이루어졌던 부위와 900-800 cm^{-1} 범위에서 각 시료들 간에 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 153C).

동일한 계통에 속하는 시료들에 대한 계통정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score

plot에서는 반복 측정에 대한 재현성이 크게 증가하였으며 각 계열별 total anthocyanins 함량 데이터와 상관을 분석한 결과 적색결구배추 육성계통중에서 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PLS-DA score plot의 좌측상단에 비교적 낮은 계통에 속하는 시료들이 우측하단에 주로 분포함을 알 수 있었다(그림 153D). 그림 153B와 153D의 화살표는 각 시료들에서 total anthocyanins 함량이 높은 시료와 낮은 시료가 존재하는 방향을 나타낸다. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료 내에 존재하는 total anthocyanins 함량의 많고 적음을 비교적 정확하게 예측할 수 있을 것으로 사료된다(그림 153D).

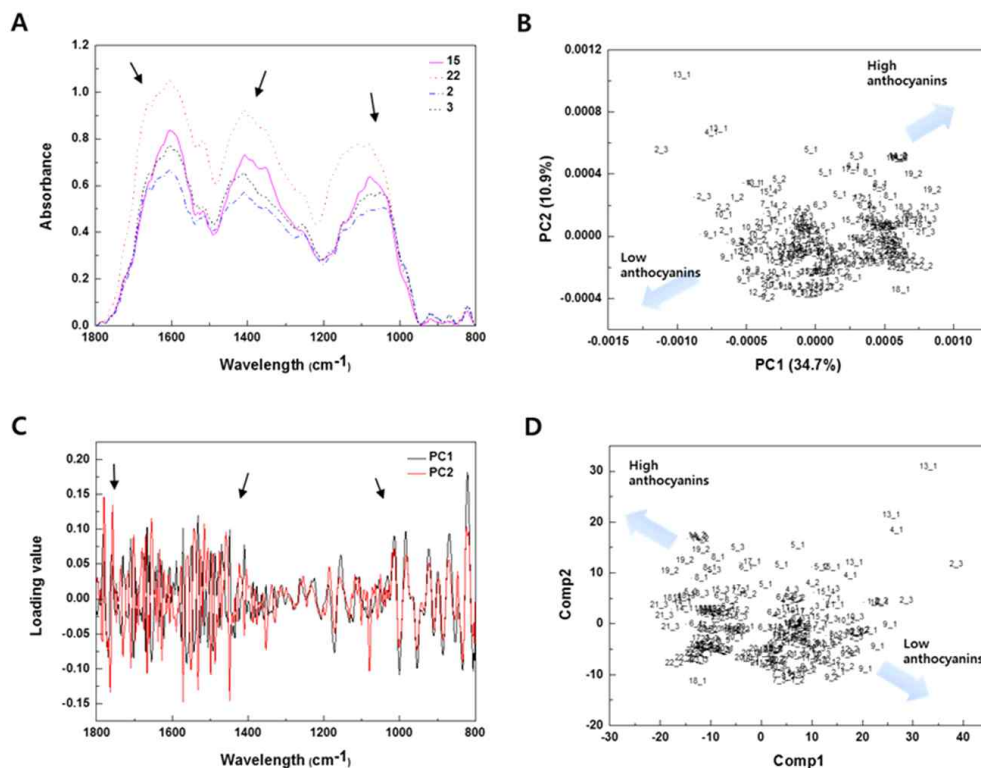


그림 153. 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량통계분석. A:FR-IR spectra; B: PCA score plot; C: PCA loading value; D: PLS-DA score plot.

(3) 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유라인 선발 및 검증

총 68개 적색결구배추의 잎 시료로부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터와 이들 시료의 total anthocyanins 함량 데이터 사이의 PLS regression 모델링 분석을 수행하여 각 적배추 시료의 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링을 개발하였다(그림 154). PLS 모델링에서 결정계수(R^2)는 0.982로 매우 높게 나타났다(그림 154A). Total anthocyanins 함량 예측에 대한 PLS 모델의 정확성을 조사하기 위해 cross-validation을 수행하였다. 상기의 PLS 함량예측 PLS 모델에 근거하여 23개 적색결구배추 시료로부터 total anthocyanins 함량을 예측하였으며 또한 이들 시료의 실측 함량과의 선형회귀분석을 수행한 결과 결정계수(R^2)는 0.82로 나타나 정확성이 매우 높음을 알 수 있었다(그림 154B). 이 결과는 PCA분석에서 시료의 구분이

anthocyanins 함량과 상관성이 있는 것으로 나타난 다변량통계분석 결과와 일치하는 결과라 사료된다. 아울러 적색결구배추 내에 존재하는 total anthocyanins 함량의 개체간 차이가 크게 이루어지기 때문에 모델링의 정확도가 상승한 것으로 사료된다. 본 연구에서 개발된 PLS 모델링은 배추의 잎 조직으로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델로 사용이 가능할 것으로 기대되며 이는 고기능성 배추 품종 육성을 위한 기능성 품종 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

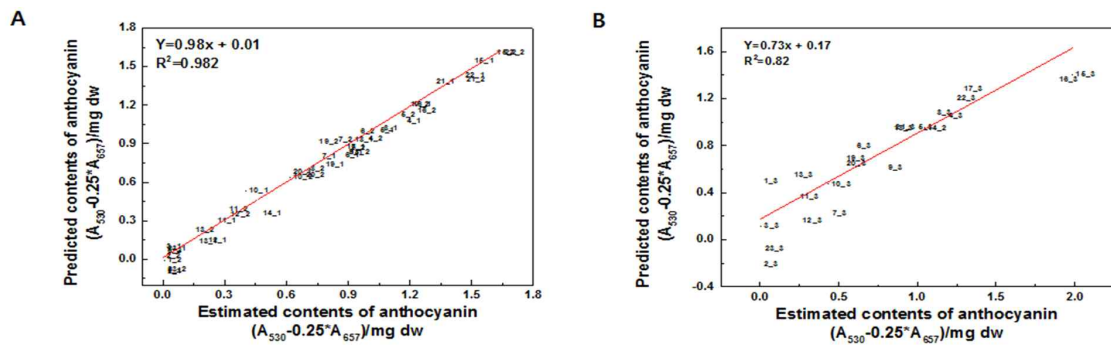


그림 154. 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터로부터 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링. A: PLS regression modeling of total anthocyanins; B: Cross-validation of PLS model.

나. 여름 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 고함유라인 선발 및 PLS 예측 모델링과 검증

(1) 가을 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사

적색결구배추 11가지의 계통별로 3개체씩 샘플링 된 시료군에서 배추 잎에 존재하는 total anthocyanins 함량을 조사한 결과 총 33개 시료의 평균 total anthocyanins 함량은 약 0.13 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw이었다. 적색결구배추의 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인들은 306 계통에 속하는 개체들로서 306-1번 개체의 함량이 0.552 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw로 가장 높았고 다음으로 높은 306-2와 306-3번 개체는 각각 함량이 0.432와 0.325 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw이었다. 함량이 가장 높은 306-1은 평균함량 보다 4.2배 가량 높은 함량을 보였다(표 65). 다음으로 함량이 높은 개체는 310-1번 개체로 total anthocyanins 함량이 0.292 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw 었다(표 65). 반대로 324와 369 계통에 속하는 개체인 324-1~3, 369-1~3번 개체는 모두 total anthocyanins 함량이 0.003 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw 이하로 매우 낮은 함량값을 보였다(표 65). 각 개체별 total anthocyanins 함량은 0.001-0.552 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw로 개체간의 큰 함량 차이를 보였다. 이 결과로 미루어볼 때 적색결구배추 잎 시료로부터 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 높은 라인을 신속하게 선발 할 수 있을 것으로 사료된다.

적색결구배추 inbreeding line별로 total anthocyanins 평균함량을 비교 분석한 결과 306 계통이 0.436 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw로 조사한 11개 계통 중에서 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인임을 알 수 있었다(표 65). 다음으로 311, 310 및 312 계통이 각각 0.170, 0.169 및 0.163 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw로 평균 함량보다 약 1.2배 정도 높은 계통임을 알 수 있었다

(그림 155). 반대로 324 및 369 계통은 total anthocyanins 함량이 각각 0.001 및 0.002 ($A_{530}-0.25*A_{657}$)/mg dw로 매우 낮은 함량값을 보였다. Total anthocyanins 함량이 가장 높은 계통인 306 계통과 가장 낮은 계통인 324 계통의 함량을 비교한 결과 약 436배의 함량 차이가 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 미루어볼 때 total anthocyanins 함량이 우수한 계통으로 306 계통을 이용하여 개체 선발이 이루어진다면 대조구에 비해 cyanidin 함량이 높은 고기능성라인 선발이 가능할 것으로 기대된다.

표 65. Contents of anthocyanin from leaf of 11 Chinese cabbage inbreeding lines.

Number of line	Sample number	Anthocyanin ($A_{530}-0.25*A_{657}$ /mg dw)	Average of anthocyanin
306	306-1	0.552 ± 0.045	0.436 ± 0.113
	306-2	0.432 ± 0.003	
	306-3	0.325 ± 0.007	
310	310-1	0.292 ± 0.013	0.169 ± 0.108
	310-2	0.129 ± 0.007	
	310-3	0.087 ± 0.020	
311	311-1	0.166 ± 0.002	0.170 ± 0.022
	311-2	0.151 ± 0.006	
	311-3	0.195 ± 0.003	
312	312-1	0.137 ± 0.007	0.163 ± 0.023
	312-2	0.181 ± 0.013	
	312-3	0.172 ± 0.007	
313	313-1	0.075 ± 0.003	0.086 ± 0.014
	313-2	0.081 ± 0.004	
	313-3	0.102 ± 0.003	
315	315-1	0.150 ± 0.015	0.160 ± 0.016
	315-2	0.153 ± 0.004	
	315-3	0.178 ± 0.019	
316	316-1	0.052 ± 0.001	0.092 ± 0.038
	316-2	0.128 ± 0.004	
	316-3	0.097 ± 0.004	
324	324-1	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000
	324-2	0.001 ± 0.000	
	324-3	0.002 ± 0.000	
331	331-1	0.004 ± 0.000	0.004 ± 0.002
	331-2	0.003 ± 0.001	
	331-3	0.006 ± 0.001	
353	353-1	0.095 ± 0.002	0.150 ± 0.072
	353-2	0.231 ± 0.014	
	353-3	0.123 ± 0.008	
369	369-1	0.003 ± 0.000	0.002 ± 0.001
	369-2	0.001 ± 0.000	
	369-3	0.001 ± 0.000	
Total		0.13 ± 0.128	

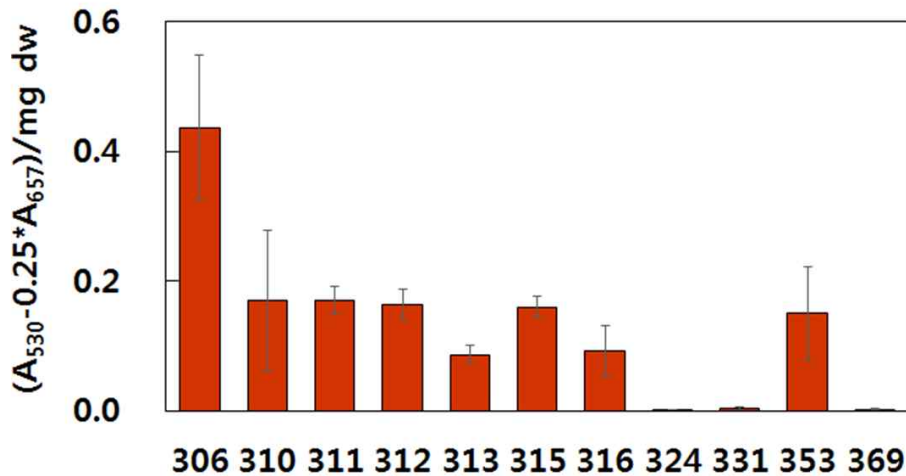


그림 155. 적색결구배추 계통별 total anthocyanins 함량 비교분석

(2) 하절기 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanin 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유라인 선발 및 검증

① 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석

11가지 계통의 적색결구배추의 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 156A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm⁻¹범위, 1,500-1,300 cm⁻¹범위, 그리고 1,200-1,000 cm⁻¹범위에서 시료간에 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 156A). 이들 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석결과 총 33개 라인 중에서 대부분의 시료들은 반복 측정시료의 PCA score plot상에서 분포가 인접하여 이루어짐을 알 수 있어 대체로 반복 조사의 재현성이 높음을 알 수 있었다(그림 156B). 그러나 일부 시료의 경우 반복 측정 시료들의 분포가 매우 상이하여 일정한 경계를 벗어나는 것으로 나타나 비록 동일한 육성 계통에 속하는 시료라 하더라도 개체간에 성장 상태에 따른 차이가 크게 이루어져 나타나는 현상이라고 사료된다. 또한 PC score 1과 2의 전체 데이터셋의 변이 설명정도가 각각 18.2%와 9.0%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 27.2%에 불과하여 각 시료들 간에 FT-IR 스펙트럼 상에서 차이가 크지 않음을 알 수 있었다. PCA score plot과 각 계열별 total anthocyanins 함량 데이터의 상관을 분석한 결과 적색결구배추 육성 계통 중에서 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PCA score plot의 우측에 비교적 낮은 계통에 속하는 시료들이 좌측에 주로 분포함을 알 수 있었다(그림 156B). PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 계통별 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 부위인 1,400-1,300 cm⁻¹범위와 1,200-1,000 cm⁻¹범위에서 각 시료들 간에 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 156C).

동일한 계통에 속하는 시료들에 대한 계통정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 반복 측정에 대한 재현성이 크게 증가하였으며 각 계열별 total anthocyanins 함량 데이터와 상관을 분석한 결과 적색결구배추 육성계통중에서 total anthocyanins 함량이 비교적 높은 계통에 속하는 시료들이 PLS-DA score plot의 좌측상단부에 비교적 낮은 계통에 속하는 시료들이 PLS-DA score plot의 우측하단부에 주로 분포함을 알 수 있었다(그림 156D). 그림 156B와 156D의 화살표는 각 시료들에서 total anthocyanins 함량이 높은 시료와

낮은 시료들의 존재하는 방향을 나타낸다. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료내에 존재하는 total anthocyanins 함량의 많고 적음을 비교적 정확하게 예측할 수 있을 것으로 사료된다(그림 156D).

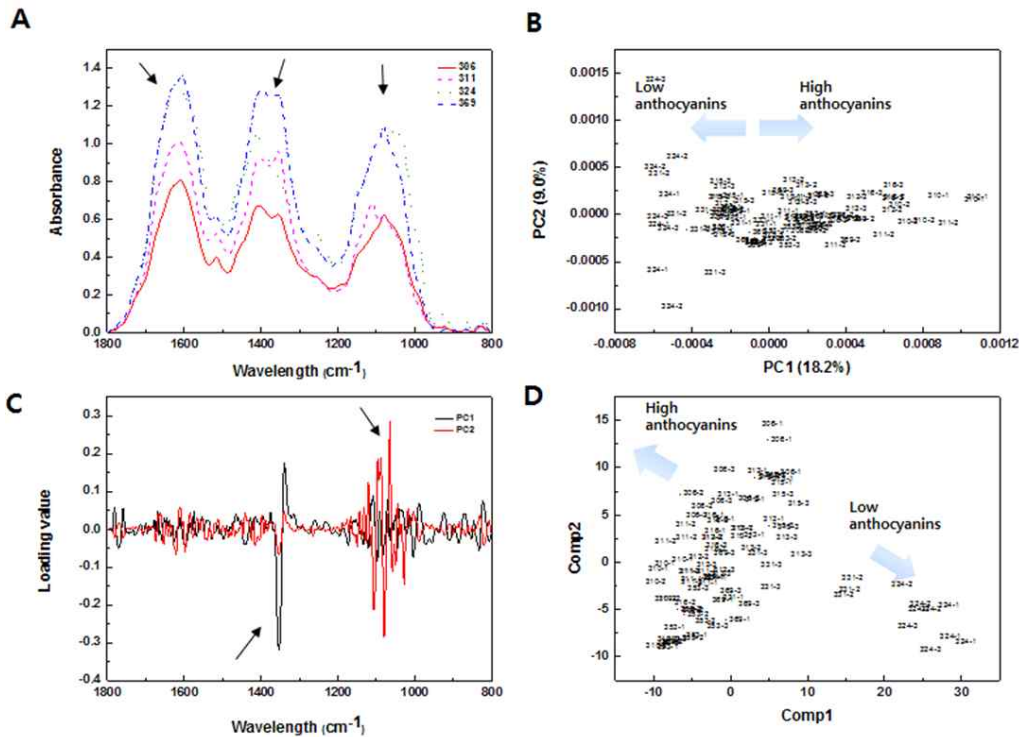


그림 156. 11 계통의 하절기 적색결구배추 잎 시료로부터의 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량통계분석. A:FR-IR spectra; B: PCA score plot; C: PCA loading value; D: PLS-DA score plot.

② 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanin 함량 예측 PLS 모델링 및 고함유라인 선발 및 검증

총 33개 적색결구배추의 잎 시료로부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터와 이들 시료의 total anthocyanins 함량 데이터 사이의 PLS regression 모델링 분석을 수행하여 각 적배추 시료의 total anthocyanins 함량 예측 PLS 모델링을 개발하였다(그림 157). PLS 모델링에서 결정계수(R^2)는 0.969로 매우 높게 나타났다(그림 157A). Total anthocyanins 함량 예측에 대한 PLS 모델의 정확성을 조사하기위해 cross-validation을 수행하였다. 상기의 PLS 함량예측 PLS 모델에 근거하여 11개 라인의 적색결구배추 시료로부터 total anthocyanins 함량을 예측하였으며 또한 이들 시료의 실측 함량과의 선형회귀분석을 수행한 결과 결정계수(R^2)는 0.58로 나타나 정확성이 대체로 높음을 알 수 있었다(그림 157B). 이 결과는 PCA분석에서 시료의 구분이 anthocyanins 함량과 상관성이 있는 것으로 나타난 다변량통계분석 결과와 일치하는 결과라 사료된다. 아울러 total anthocyanins 함량의 개체간 차이가 크게 이루어지기 때문에 모델링의 정확도가 상승한 것으로 사료된다. 본 연구에서 개발된 PLS 모델링은 배추의 잎 조직으로부터 total anthocyanins 함량 예측 모델로 사용이 가능할 것으로 기대되며 이는 고기능성 배추 품종 육성을 위한 기능성 품종 선발 수단으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

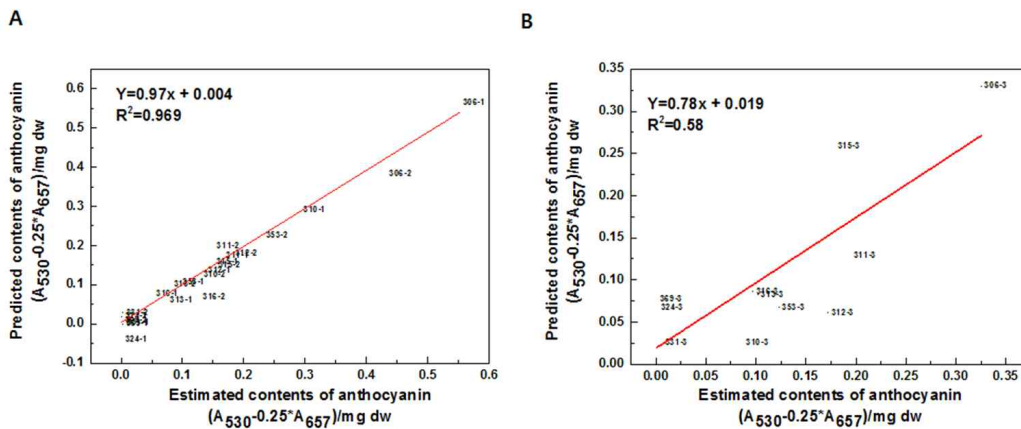


그림 157. 하절기 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터로부터 total flavonoids 함량 예측 PLS 모델링. A: PLS regression modeling of total flavonoids; B: Cross-validation of PLS model.

21. 교배 세대별 적색 결구배추(부모계통 및 교배라인)들의 anthocyanins 고함유 라인 선발 및 FT-IR 스펙트럼 DB 구축

가. 교배 세대별 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사 UV-VIS spectrophotometer을 이용한 total anthocyanins 함량 조사

(1) 적색결구배추 잎 시료로부터 total anthocyanins 함량 조사

적색결구배추 선발을 위해 19가지 계통별(5205는 자색 정도에 따라 3개 라인)로 3개체씩 샘플링 된 시료군에서 배추 잎에 존재하는 total anthocyanins 함량을 조사하였다. total anthocyanins의 함량을 조사한 결과 총 63개 시료의 평균 total anthocyanins 함량은 약 0.549 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw이었다. 대조구인 청색 control 배추(5233)의 total anthocyanins 함량은 0.112 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw이었으며 청색 월동배추(5437)의 total anthocyanins 함량은 0.021 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw이었다. 이들 청색배추의 total anthocyanins 함량은 가장 높은 total anthocyanins 함량을 보인 계통(5595)에 비해 청색 대조구(5233)는 25.9배, 녹색 월동배추계통인 5437은 135배 낮았다. 또한 모든 계통의 평균 total anthocyanins 함량은 청색 대조구(5233)에 비해 4.9배, 청색 월동배추 계통 5437에 비해 25.6배 높았다. 적색결구배추의 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인은 5595-1로 함량이 3.158 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw이었으며 평균함량보다 약 5.8배 가량 함량이 높았다(표 66). 5595-1 개체의 anthocyanin 함량은 청색 대조구(5233)와 비교하여 약 28.3배 높은 수치를 보였다. 다음으로 함량이 높은 라인들은 순서대로 5595-3, 5595-2, 5763-1 개체로 total anthocyanins 함량이 각각 3와 2.5, 2.2 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw 이었다(표 66). 이로써 total anthocyanins 함량이 가장 높은 3개 개체는 모두 5595 계통이었으며 다음으로 함량이 높은 개체는 5763-1이었다. 반대로 5205-L, 5437 계통의 개체들과 5414-2 개체는 total anthocyanins 함량이 0.03 ($A_{530-0.25} \cdot A_{657}$)/mg dw 이하로 매우 함량이 낮았으며 이들의 평균 total anthocyanin 함량은 청색 대조구(5233)에 비해 5.3배 낮았다(표 66). 각 개체별로 total anthocyanins 함량 차이는 녹색 대조구와 비교하면 약 0.2배-28.3배 정도 함량차이가 나타남을 알 수 있었다. 이 결과로

미루어볼 때 적색결구배추 잎 시료로부터 각 개체별로 total anthocyanins 함량이 높은 라인을 신속하게 선발 할 수 있을 것으로 사료된다.

표 66. Contents of anthocyanin from leaf of 19 Chinese cabbage inbreeding lines.

Number of line	Sample number	Anthocyanin (A530-0.25* A657/mg dw)	Average of anthocyanin	Number of line	Sample number	Anthocyanin (A530-0.25* A657/mg dw)	Average of anthocyanin
5042	1	0.278±0.004	0.296±0.019	5516	1	0.079±0.013	0.098±0.020
	2	0.294±0.023			2	0.097±0.016	
	3	0.316±0.026			3	0.118±0.012	
5205_H	1	0.401±0.018	0.428±0.031	5595	1	3.158±0.089	2.888±0.338
	2	0.420±0.010			2	2.510±0.051	
	3	0.463±0.065			3	2.998±0.152	
5205_M	1	0.232±0.011	0.239±0.069	5609	1	0.077±0.028	0.248±0.297
	2	0.311±0.015			2	0.078±0.008	
	3	0.174±0.020			3	0.591±0.046	
5205_L	1	0.017±0.005	0.022±0.005	5711	1	0.087±0.013	0.340±0.220
	2	0.027±0.004			2	0.484±0.023	
	3	0.022±0.007			3	0.448±0.017	
5233	1	0.201±0.072	0.112±0.078	5644	1	1.130±0.014	1.090±0.038
	2	0.058±0.019			2	1.085±0.011	
	3	0.076±0.026			3	1.054±0.034	
5409	1	0.203±0.027	0.145±0.052	5713	1	0.141±0.016	0.102±0.043
	2	0.129±0.025			2	0.110±0.031	
	3	0.102±0.027			3	0.056±0.013	
5413	1	0.037±0.018	0.045±0.012	5764	1	0.396±0.039	0.405±0.054
	2	0.040±0.023			2	0.357±0.052	
	3	0.059±0.022			3	0.463±0.049	
5414	1	0.048±0.021	0.040±0.019	5763	1	2.154±0.035	1.730±0.398
	2	0.018±0.008			2	1.672±0.033	
	3	0.055±0.028			3	1.364±0.034	
5437	1	0.020±0.016	0.021±0.002	5602	1	0.963±0.059	1.149±0.240
	2	0.021±0.006			2	1.064±0.023	
	3	0.024±0.010			3	1.420±0.049	
5505	1	0.237±0.028	0.246±0.053	5761	1	1.474±0.029	0.933±0.489
	2	0.198±0.061			2	0.524±0.046	
	3	0.303±0.047			3	0.801±0.045	
5511	1	1.151±0.021	0.946±0.331	Total		0.549±0.717	
	2	1.124±0.019					
	3	0.564±0.027					

적색결구배추 line별로 anthocyanins 함량을 비교 분석한 결과 5595 계통이 2.9 (A₅₃₀-0.25*A₆₅₇)/mg dw로 조사한 19개 계통 중에서 total anthocyanins 함량이 가장 높은 라인임을 알 수 있었다(그림 158). 5595 계통의 anthocyanin 평균 함량은 전체 계통의 평균함량에

비해 5.3배 높았다. 다음으로 5763 계통은 $1.7 (A_{530}-0.25*A_{657})/mg\ dw$, 5602와 5644 계통은 $1.1 (A_{530}-0.25*A_{657})/mg\ dw$ 로 이들 상위 4개 계통들의 평균 함량은 전체 평균 함량보다 약 3.1 배 정도 높음을 알 수 있었다(그림 158). 반대로 5437, 5205-L과 5414 계통이 각각 0.021, 0.022 및 0.040 $(A_{530}-0.25*A_{657})/mg\ dw$ 로 청색 대조구 5233 보다 모두 낮았다. 이상의 결과를 미루어볼 때 total anthocyanins 함량이 우수한 계통인 5595 계통과 5763, 5602 및 5644를 이용하여 개체 선발이 이루어진다면 대조구에 비해 cyanidin 함량이 높은 고기능성라인 선발이 가능할 것으로 기대된다.

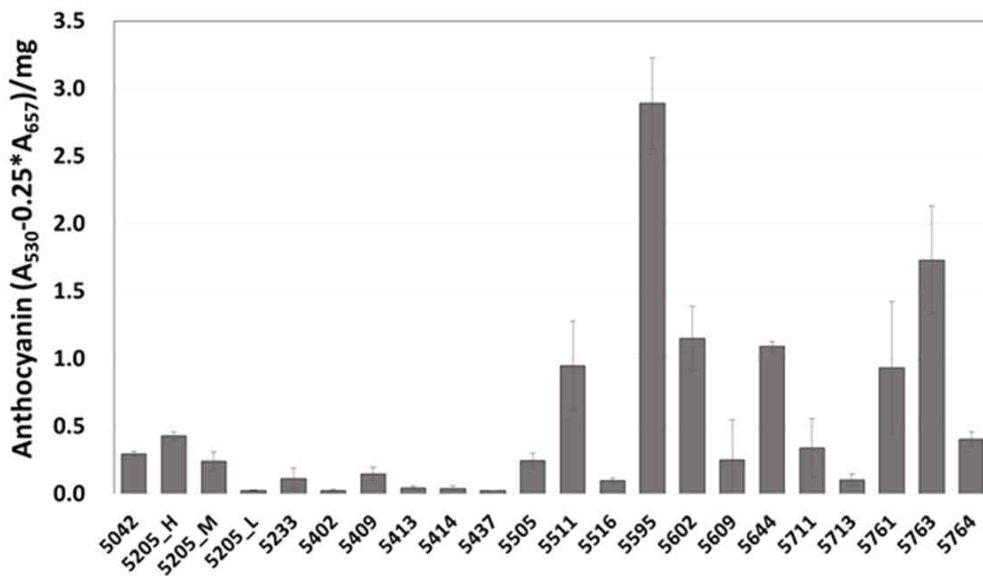


그림 158. 적색결구배추 19가지 계통별 total anthocyanins 함량 비교분석

나. 교배 세대별 적색결구배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 다변량 통계분석

(1) 교배 세대별 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼 데이터 다변량 통계분석

적색결구배추를 포함하는 63개 배추 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 159A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 $1,700-1,500\ cm^{-1}$ 범위, $1,500-1,300\ cm^{-1}$ 범위, 그리고 $1,200-1,000\ cm^{-1}$ 범위에서 시료 간에 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다 (그림 159A). 이들 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석결과 총 63개 라인 중에서 대부분의 시료들은 반복 측정시료의 PCA score plot상에서 분포가 인접하여 이루어짐을 알 수 있어 대체로 반복 조사의 재현성이 높음을 알 수 있었다(그림 159B). 그러나 일부 시료의 경우 반복 측정 시료들의 분포가 매우 상이하여 일정한 경계를 벗어나는 것으로 나타나 비록 동일한 육성 계통에 속하는 시료라 하더라도 개체간에 성장 상태에 따른 차이가 크게 이루어져 나타나는 현상이라고 사료된다. 또한 PC score 1과 2의 전체 데이터셋의 변이 설명정도가 각각 10.2%와 5.7%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 15.9%였다(그림 159B). PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 계통별 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 부위와 $900-800\ cm^{-1}$ 범위에서 각 시료들 간에 차이가 이루어짐을 알 수

있었다. 특히 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 차이가 가장 크게 나타난 것으로 나타났다(그림 159C). 동일한 라인에 속하는 시료들에 대한 정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 반복 측정에 대한 재현성이 크게 증가하였다. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PCA, PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 계통별 유용 기능성 성분들의 양적, 질적 차이를 예측할 수 있을 것으로 사료된다(그림 159D).

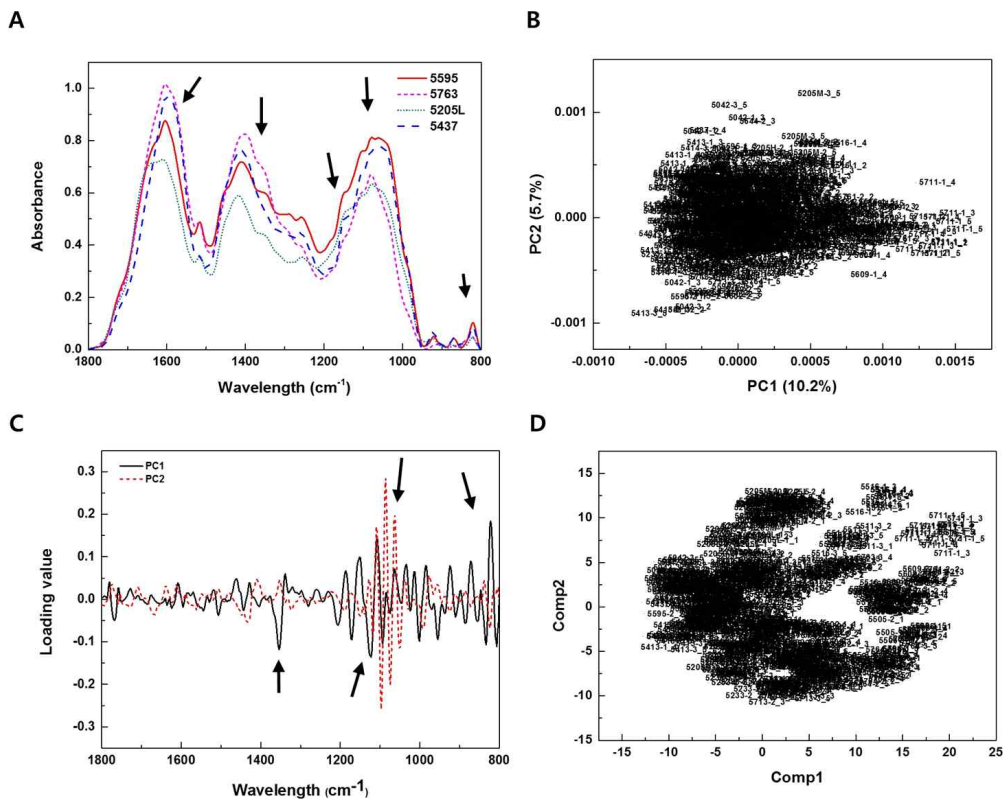


그림 159. 적색결구배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석. A: FT-IR spectrum; B: PCA score plot; C: PCA loading value; D: PLS-DA score plot.

(2) 부계, 모계 및 F1 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

적색결구배추를 포함하는 63개 배추 잎 시료들 중 같은 cross combination group에 속하는 부계(5644) 3개, 모계(5437) 3개 및 F1 3개 라인(5042, 5644 X 5437)의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 160A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,500-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 160A). FT-IR 스펙트럼의 1,700-1,500 cm^{-1} , 1,500-1,300 cm^{-1} 및 1,200-1,000 cm^{-1} 부위는 각각 Amid I과 II를 포함하는 아미노산 및 단백질 계열의 화합물, 지방산과 carbohydrates 계열의 화합물들을 나타내는 부위로 이들 화합물들의 질적, 양적 차이가 배추의 계통, 세대별 대사산물의 차이를 결정하는 중요한 성분임을 의미하는 결과라 사료된다. 다변량 통계분석결과 PCA score plot상에 부계(5644), 모계(5437) 및 F1(5042) 시료들 간의 식별이 잘 되지 않았다(그림 160B). PC score 1과 2의 전체

데이터셋의 변이 설명정도가 각각 8.4%와 7.8%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 16.2%로 대사체 수준에서 시료들 간의 차이가 크지 않은 것으로 나타났다(그림 160B). PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 부위에서 각 시료들 간에 차이가 이루어짐을 알 수 있었다. 특히 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 차이가 가장 크게 나타난 것으로 나타났다(그림 160C). 동일한 라인에 속하는 시료들에 대한 정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 부계(5644), 모계(5437) 및 F1(5042) 시료들 간의 식별이 명확하게 잘 이루어졌다(그림 160D). PLS-DA score plot 상에 부계(5644) 라인들은 Comp1 축의 좌측, Comp2 축의 하단에 위치하였으며 모계(5437) 라인들은 Comp2 축을 기준으로 상단에 위치하였다. F1(5042) 라인들은 Comp1 축의 우측, Comp2 축의 하단에 위치하였다. PLS-DA분석의 경우 PCA분석에 비해 각 계통 집단의 분포 범위가 보다 분명하게 구분됨을 알 수 있었다. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 계통별 유용 기능성 성분들의 양적, 질적 패턴 차이로 적색결구배추의 계통 식별이 가능한 것으로 사료된다(그림 160D).

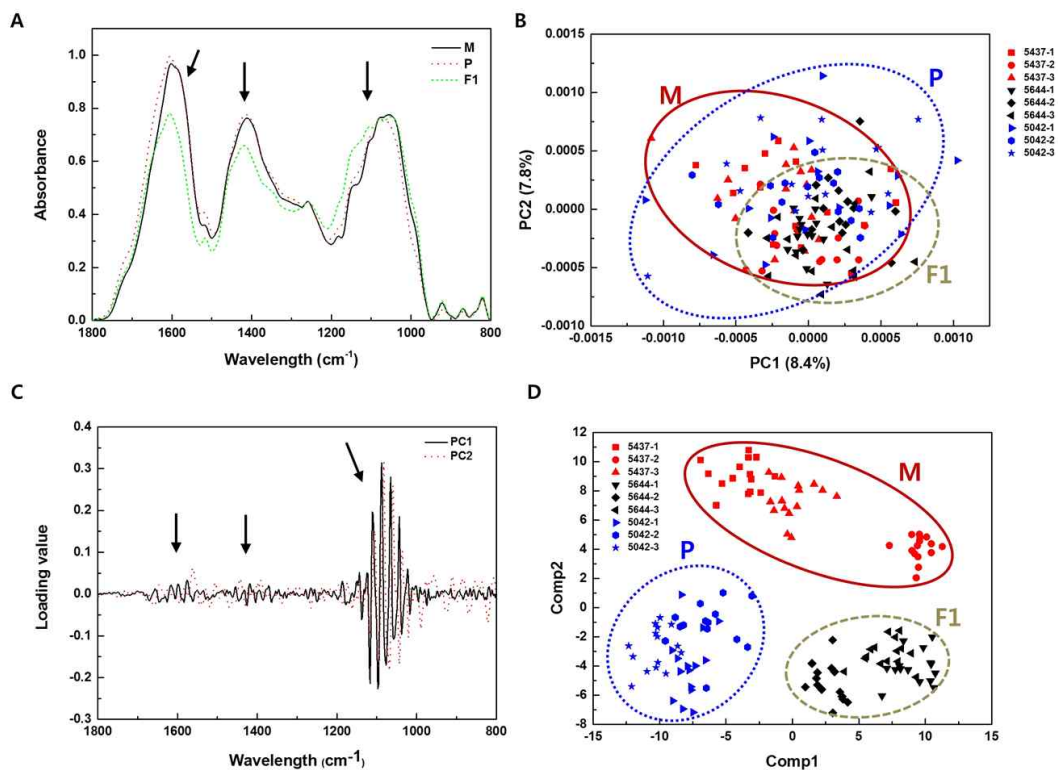


그림 160. 부계, 모계 및 F1 적색결구배추로부터 얻은 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석. (A) FT-IR spectrum. (B) PCA score plot. (C) PCA loading value. (D) PLS-DA score plot. P, Paternal line(5644); M, Maternal line(5437); F1, F1 line(5042)

(3) 부계, 모계, F1 및 F2로부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석 앞서 실시한 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석 결과 식별이 잘 이루어진 cross

combination group(부계, 모계, F1)에 F2 계통(5205-H, 5205-M, 5205-L)의 시료들이 추가되었을 때 대사체 수준에서 계통, 세대별로 식별이 되는지 알아보기 위해 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석을 실시하였다. 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,500-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다 (그림 161A). FT-IR 스펙트럼의 1,700-1,500 cm^{-1} , 1,500-1,300 cm^{-1} 및 1,200-1,000 cm^{-1} 부위는 각각 Amid I과 II를 포함하는 아미노산 및 단백질 계열의 화합물, 지방산과 carbohydrates 계열의 화합물들을 나타내는 부위로 이들 화합물들의 질적, 양적 차이가 배추의 계통, 세대별 대사산물의 차이를 결정하는 중요한 성분임을 의미하는 결과라 사료된다. 부계, 모계, F1 및 F2 시료간에 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PCA를 분석한 결과, PC1 과 PC2 score는 각각 8.3%, 6.0%의 설명력을 갖고 있으며 전체 변이량의 약 14.3%를 반영하였다(그림 161B). PCA score plot 상에 부계, 모계, F1 및 F2들은 서로 대사체 수준에서 유연관계가 높아 서로 중첩되는 모습을 볼 수 있었다. PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 부위에서 각 시료들 간에 차이가 이루어짐을 알 수 있었다. 특히 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 차이가 가장 크게 나타난 것으로 나타났다(그림 161C). 동일한 라인에 속하는 시료들에 대한 정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 부계(5644), 모계(5437), F1(5042) 및 F2 (5205)시료들 간의 식별이 명확하게 잘 이루어졌다(그림 161D). Comp1과 2를 이용하여 작성한 PLS-DA score plot 상에 모계(5437) 라인들은 좌측 상단에, 부계(5644) 라인들은 모계 라인의 바로 우측에 위치하였으며 F1(5042) 라인들은 부계, 모계라인의 바로 아래 중간지점에 위치하였다. 또한 F2 (5205) 라인들은 부계, 모계 및 F1 라인들이 위치한 곳의 우측하단 지역에 넓게 퍼져있다. F2 시료가 포함되어 있지 않을 때와 마찬가지로 PLS-DA분석의 경우 PCA분석에 비해 각 계통 집단들의 분포 범위가 보다 분명하게 구분됨을 알 수 있었다. 이상의 결과로 미루어볼 때 적색결구배추의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료에서 대사 산물들의 양적, 질적 패턴 차이로 적색결구배추의 계통, 세대 식별이 가능할 것으로 사료된다(그림 161D).

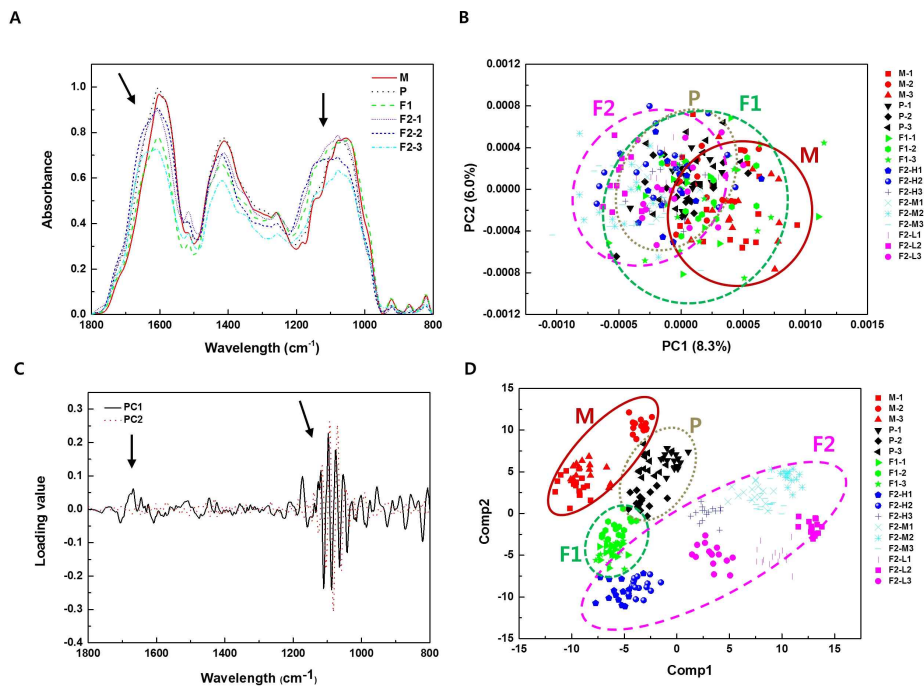


그림 161. 부계, 모계 및 F1, F2 적색결구배추로 부터 얻은 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석. (A) FT-IR spectrum. (B) PCA score plot. (C) PCA loading value. (D) PLS-DA score plot. P, Paternal line(5644); M, Maternal line(5437); F1, F1 line(5042); F2, F2 line(5205)

(4) 적색 발현 정도가 다른 F2 개체들로 부터 얻어진 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

적색결구배추 실험 시료들 중 적색 발현 정도가 다른 5205 계통의 F2 3개 라인들(5205-H, 5205-M, 5205-L)의 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 162A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,500-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 162A). FT-IR 스펙트럼의 1,700-1,500 cm^{-1} , 1,500-1,300 cm^{-1} 및 1,200-1,000 cm^{-1} 부위는 각각 Amid I과 II를 포함하는 아미노산 및 단백질 계열의 화합물, 지방산과 carbohydrates 계열의 화합물들을 나타내는 부위로 이들 화합물들의 질적, 양적 차이가 배추의 라인별 대사산물의 차이를 결정하는 중요한 성분임을 의미하는 결과라 사료된다. 특히, 1,200-1,000 cm^{-1} 부위에서 5205 계통의 F2 라인들은 anthocyanin 함량에 따라 고함유는 높은 스펙트럼을 저함유는 낮은 스펙트럼을 갖는 경향을 보였다. 적색 발현 정도가 다른 F2 시료 간에 FT-IR 스펙트럼 데이터의 PCA를 분석한 결과, PC1 과 PC2 score는 각각 8.8%, 7.4%의 설명력을 갖고 있으며 전체 변이량의 약 16.2%를 반영하였다(그림 162B). PCA score plot 상에 F2 라인들은 대사체 수준에서 유연관계가 높아 서로 중첩되는 모습을 볼 수 있었다. PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 적색 발현 정도에 따라 육안으로 차이가 있었던

1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료간의 차이가 가장 크게 나타난 것으로 밝혀졌다(그림 162C). 또한 900-800 cm^{-1} 범위와 1,700-1,500 cm^{-1} 범위에서도 시료들 간의 차이가 이루어짐을 알 수 있었다(그림 162C). 동일한 라인에 속하는 시료들에 대한 정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 F2 (5205) 라인들이 자색 발현 정도에 따라 명확하게 식별되었다(그림 162D). Comp1과 2를 이용하여 작성한 PLS-DA score plot 상에 자색 발현이 높은 라인에서 낮은 라인의 F2 들은 Comp1 축을 기준으로 우측 하단에서부터 시계반대방향으로 자색 정도에 따라 나열되는 경향을 보였다. 즉, 자색 발현이 가장 높은 5205-H 라인들은 Comp1 축의 우측 하단에 위치하였으며 중간정도의 자색 발현을 보인 5205-M에 속하는 라인들은 Comp1축을 기준으로 좌측 하단에 위치하였다. 또한 자색 발현이 가장 약한 5205-L 라인들은 Comp1축을 기준으로 좌측에 Comp2 축을 기준으로 상단에 위치하였다(그림 162D). 이상의 결과로 미루어볼 때 배추 잎 시료로부터 얻은 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통해 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료 내에 존재하는 total anthocyanins 함량의 많고 적음을 비교적 정확하게 예측할 수 있을 것으로 사료된다. 더 나아가 다양한 표현형을 보이는 동일 세대 라인 시료들의 대사산물을 비교하여 고기능성 라인을 신속히 선별하는 수단으로도 활용이 가능할 것으로 기대된다.

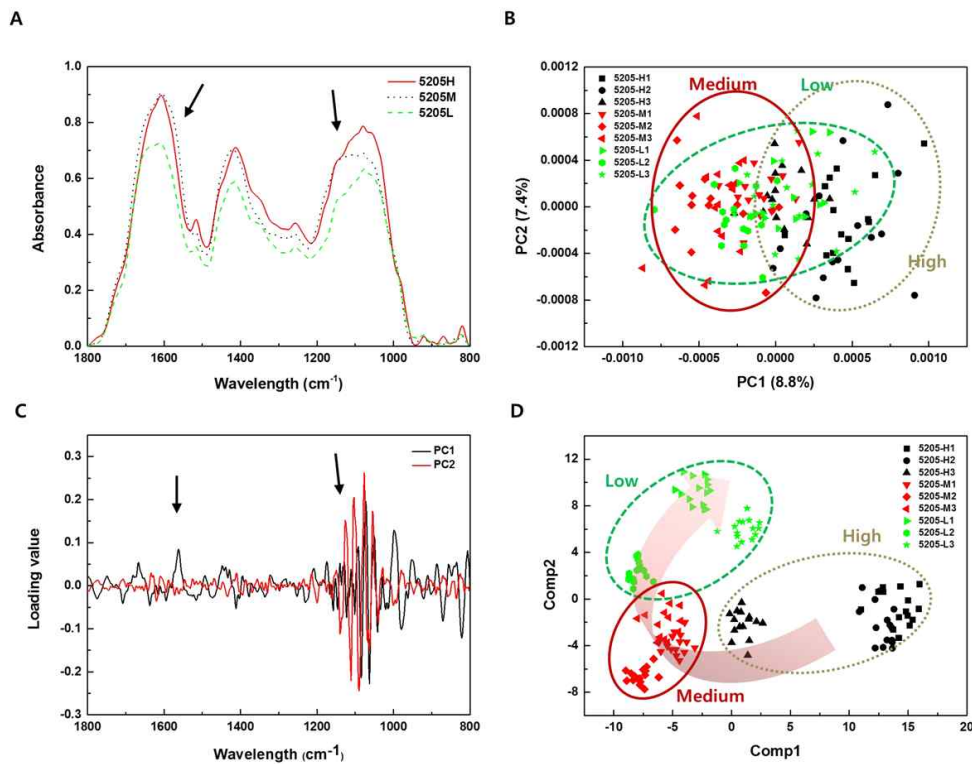


그림 162. 적색 발현 정도가 다른 동일 세대의 적색결구배추(5205, F2)들로 부터 얻은 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석. (A) FT-IR spectrum. (B) PCA score plot. (C) PCA loading value. (D) PLS-DA score plot. 5205-H, 5205 F2 line contained high content of anthocyanins; 5205-M, 5205 F2 line contained medium content of anthocyanins; 5205-L, 5205 F2 line contained low content of anthocyanins.

22 배추 및 양배추의 색상별 inbreeding line의 식별체계 확립을 위한 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

가. 색상별 배추 및 양배추 잎 시료로부터 FT-IR 스펙트럼 조사 및 다변량 통계분석

(1) 색상별 배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

색상별 inbreeding 배추 23종의 잎 시료들로부터 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 163A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,500-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료 간에 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다(그림 163A). 이들 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석결과 총 23개 라인 중에서 대부분의 시료들은 반복 측정시료의 PCA score plot상에서 분포가 인접하여 이루어짐을 알 수 있어 대체로 반복 조사의 재현성이 높음을 알 수 있었다(그림 163B). 또한 PC score 1과 2의 전체 데이터셋의 변이 설명정도가 각각 45.5%와 22.0%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 67.5%였다(그림 163B). PCA score plot상의 분포위치는 대체로 배추 잎의 색상에 따라 유사하게 나타났다. 일반배추는 PCA score plot상에 우측 가운데에 위치하였으며 적색배추와 월동적색배추는 대체로 좌측 상단, 오렌지배추와 분홍배추는 좌측하단에 위치하였다. 일반 배추에 비해 배추 내부 잎이 더 노란색을 띠는 베타-카로틴 고함유배추는 PC2를 기준으로 일반배추의 상단에 위치하였다. PCA분석 결과 적색배추와 월동적색배추의 분포위치는 대체로 중첩되는 경향을 보여서 이 시료들 사이의 대사 산물의 차이는 크지 않을 것으로 예상된다.

PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 계통별 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 1,700-1,500 cm^{-1} 범위와 1,100-800 cm^{-1} 범위에서 각 시료들 간에 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다. 특히 1,100-800 cm^{-1} 범위에서 시료간의 차이가 가장 크게 나타났다(그림 163C). 동일한 라인에 속하는 시료들에 대한 정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 시료들의 분포위치가 PCA score plot와 유사하게 나타났으며 각 계통의 반복 측정에 대한 재현성이 더욱 증가하였다. Comp1과 Comp2를 이용하여 작성한 PLS-DA score plot 상에 일반배추는 좌측 가운데에 위치하였으며 적색배추와 월동적색배추는 대체로 우측 하단, 오렌지배추와 분홍배추는 적색배추와 월동적색배추의 분포위치로부터 상단에 위치하였으며 베타-카로틴 고함유배추는 좌측하단에 위치하였다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 색상이 다른 배추 inbreeding 라인들의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PCA score plot과 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료에서 대사 산물들의 양적, 질적 패턴 차이로 색상별 배추 계통 식별이 가능 할 것으로 사료된다(그림 163D).

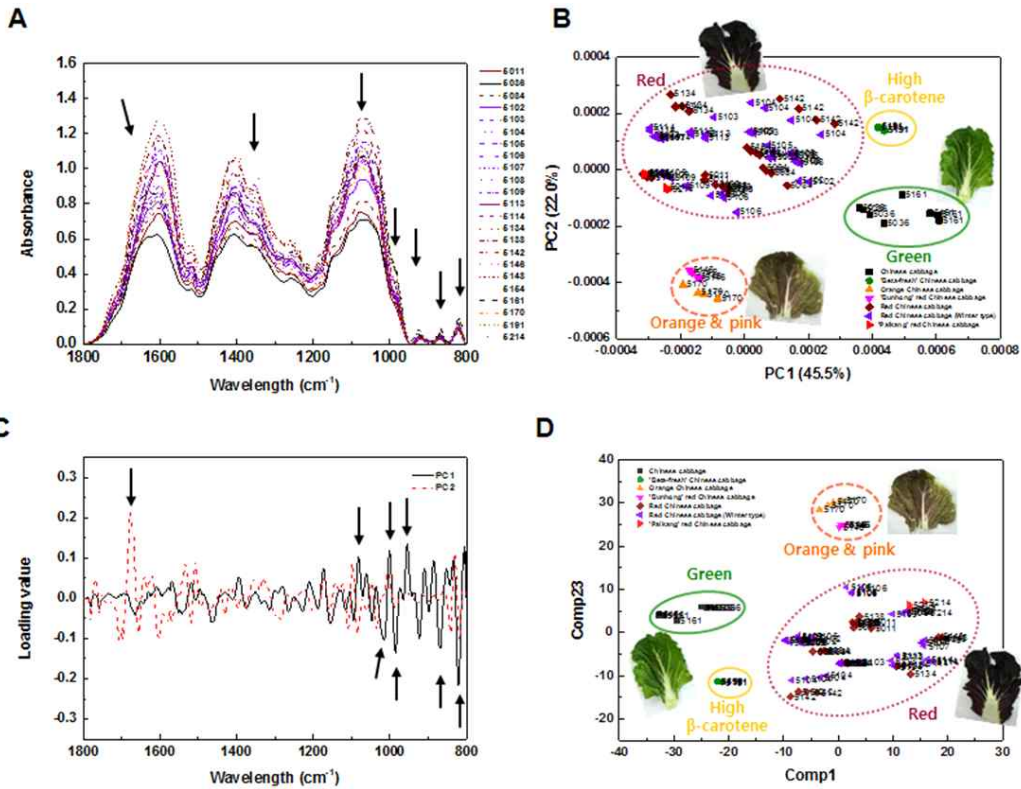


그림 163. 색상별 배추 잎 시료 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석. A: FT-IR spectrum; B: PCA score plot; C: PCA loading value; D: PLS-DA score plot.

(2) 배추 및 양배추 잎 시료의 FT-IR 스펙트럼 데이터의 다변량 통계분석

일반배추 2종 (5036, 5161)과 적색배추 3종 (5134, 5148, 5154)과 일반양배추 1종 (3848), 빨간 양배추 1종 (1106)의 잎 시료들로부터 FT-IR 스펙트럼 데이터를 조사하였다(그림 164A). 각 시료의 FT-IR 스펙트럼 비교분석 결과 스펙트럼 상의 1,700-1,500 cm^{-1} 범위, 1,500-1,300 cm^{-1} 범위, 그리고 1,200-1,000 cm^{-1} 범위에서 시료 간에 스펙트럼 차이가 크게 이루어짐을 알 수 있었다 (그림 164A). 이들 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석결과 모든 시료들은 PCA score plot상에서 반복 측정시료의 분포가 인접하여 이루어짐을 알 수 있어 대체로 반복 조사의 재현성이 높음을 알 수 있었다(그림 164B). 또한 PC score 1과 2의 전체 데이터셋의 변이 설명정도가 각각 54.9%와 28.7%인 것으로 나타나 PC 1과 2의 설명력 합이 83.6%로 대사체 수준에서 시료들 간의 차이가 큰 것으로 나타났다(그림 164B). PCA score plot상의 분포위치는 대체로 종과 잎의 색상에 따라서 식별되는 경향을 보였다. PC1과 PC2를 이용하여 작성한 PCA score plot상에 대체로 PC1을 기준으로 배추는 좌측, 양배추는 우측에 위치 하는 경향을 보였다. 또한 배추와 양배추 시료들 모두 PC2를 기준으로 붉은 계통은 상단, 초록색의 일반 계통은 하단에 위치하였다.

PCA score plot 상에서 각 시료들 간의 계통별 구분이 이루어지는데 관여하는 중요한 변수를 조사하기 위하여 PCA loading value를 조사한 결과 스펙트럼 상에서 육안식별로 차이가 이루어졌던 1,700-1,600 cm^{-1} 범위와 1,100-1,000 cm^{-1} 범위에서 각 시료들 간에 차이가 크게 나타났으며 1,000-800 cm^{-1} 범위 또한 시료들을 구분하는데 크게 기여한 범위로 나타났다. 특히 1,100-800 cm^{-1} 범위에서 시료간의 차이가 가장 크게 나타났다(그림 164C). 동일한 라인에

속하는 시료들에 대한 정보를 주고 분석한 판별분석(PLS-DA) score plot에서는 시료들의 분포 위치가 PCA score plot과 유사하게 나타났으며 각 계통의 반복 측정에 대한 재현성이 더욱 증가하였다. Comp1과 Comp2를 이용하여 작성한 PLS-DA score plot 상에 양배추는 좌측 상단에 위치하였으며 배추 시료들은 우측 하단에 위치하는 경향을 보였다. 또한 양배추 시료들 중 빨간 양배추는 일반양배추 시료보다 상단에 위치하였고 적배추 시료들은 일반배추 시료들에 비해 우측 상단에 위치하고 있었다. 이상의 결과로 미루어볼 때 배추와 양배추들의 적외선분광스펙트럼의 다변량 통계분석을 통하여 PCA score plot과 PLS-DA score plot상의 분포위치를 조사함으로써 이들 시료에서 대사 산물들의 양적, 질적 패턴 차이로 종식별이 가능할 뿐만 아니라 각 종의 색상별 계통 식별이 가능 할 것으로 사료된다(그림 164D).

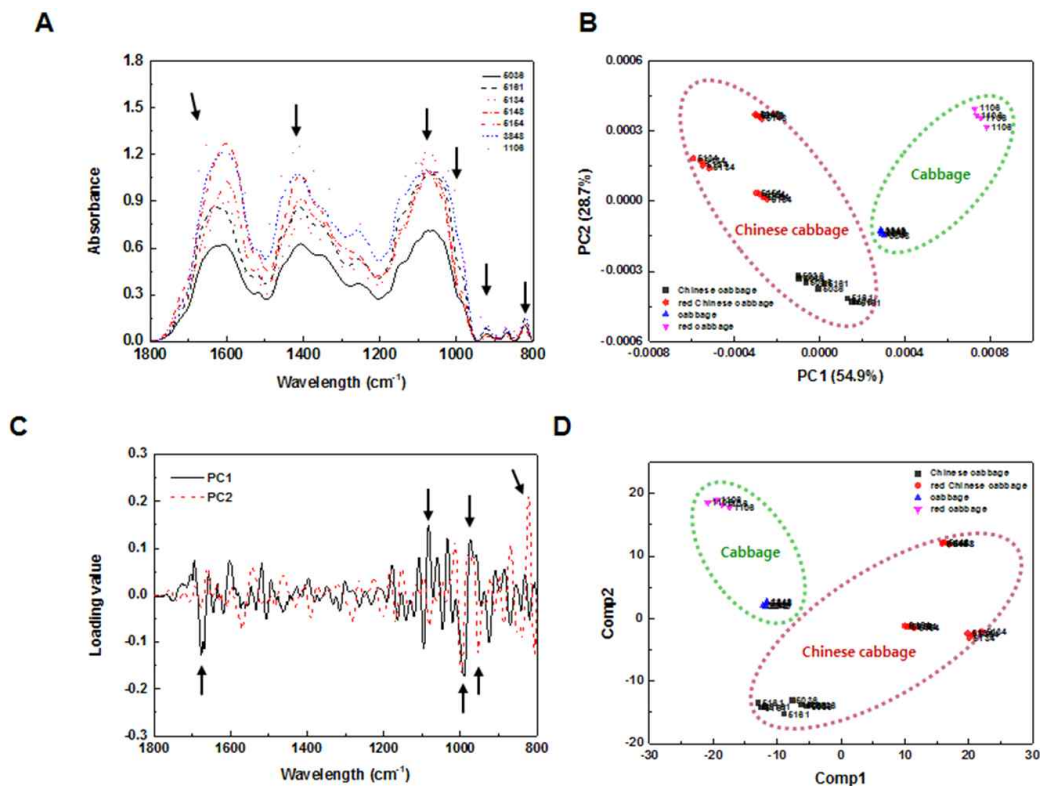


그림 164. 배추 및 양배추 시료들로 부터 얻은 FT-IR 스펙트럼데이터의 다변량 통계분석. (A) FT-IR spectrum. (B) PCA score plot. (C) PCA loading value. (D) PLS-DA score plot.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

D-06

1. 전략적 연구 목표 달성도

구분	특허		신품종				유전자원 등록	논문		기타 (학술발표)	
	출원	등록	품종 명칭 등록	품종생산 수입판매 신고	품종보호			SCI	비SCI		
					출원	등록					
1차년도	목표						9			1	
	달성			2		2	11			3	
2차년도	목표						8	1	2	2	
	달성	1		1		1	11	3	0	6	
3차년도	목표	1				1	8	2	1	2	
	달성			1		1	8	1	1	3	
4차년도	목표	1	1			2	1	2	1	2	
	달성	0	0	2		2	0	1	0	3	
5차년도	목표	1	1			1	1	2	1	2	
	달성	0	0	1		1	3	2 (1건은 Revision중)	2	4	
계	목표	3	2			4	2	25	7	5	9
	달성	1	0	7		7	4	30	7	3	19

2. 연차별 연구개발 목표, 내용 및 달성도

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도
1차 년도	2011	<ul style="list-style-type: none"> - 저온 반응성 관련 유전자 동정 및 염기분석 - 저온 반응성 관련 유전자의 발현 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - GeneBank, 애기장대 및 배추 database 이용하여 기 보고된 중요 저온 반응성 유전자들을 탐색하였음 - 기 보고된 저온 반응 중요 유전자 SST, COR, CBF 유전자를 배추 database를 활용하여 유전자 정보를 확보하였음 - 본 실험실에서 보유하고 있는 저온처리한 배추 재료를 이용한 배추 135K microarray data를 이용하여 다수의 저온 반응 유전자들을 동정하였음 - 다수 동정된 배추의 저온 반응 유전자들의 genomic DNA 및 cDNA 염기는 배추 database활용 및 PCR 산물의 클로닝등을 통하여 염기 정보를 확보하였음 - 다수의 저온에 반응하는 유전자들의 기관 특이성을 확인하기 위하여 뿌리, 잎, 줄기, 화기관등으로부터 mRNA를 추출한 후 기관별 발현 유무를 RT-PCR 실험으로 확인함 - 동정된 다수의 유전자들의 저온 반응을 확인하기 위하여 실제 포장에서 재배되는 월동형 배추 및 여름 배추등의 재료를 	100%

2차 년도	2012	<ul style="list-style-type: none"> - 이용하였으며, 또한 아시아종묘사에서 제공한 계통을 이용하여 저온처리 (22℃, 4℃, 0℃, -2℃, -4℃, -6℃) 후 재료로 이용함 - 아시아종묘사를 포함한 여러 종묘회사의 포장에서 재배되고 있는 월동형 및 여름 배추, 봄 배추등을 재료로 채취함 - 동정된 다수의 유전자들을 이용하여 RT-PCR 및 Real time PCR을 이용하여 저온에 반응하는 지를 확인 하였음 		
		<ul style="list-style-type: none"> - 유용 유전자원 수집 및 특성조사, 유전자원 등록 - 내한성검정 및 우수계통 선발 - 분리세대 및 순화 고정 - 육종연한 단축을 위한 소포자 배양 - 뿌리혹병 병리검정 확립 및 내병성 검정 - CMS계통 육성 - 우수조합 선발 및 품종보호출원 	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 및 해외, 재배산지, 현지시장등에서 신규 유용 유전자원 수집, 특성조사, 및 평가 수행하였음 - 내한성 마커를 이용한 내한성 검정 - 기보유계통과 선발계통을 이용한 교배 및 여교잡을 이용한 우수계통 선발 - 소포자 배양을 통한 육종연한 단축 및 계통 육성 - 내병성 계통 선발 및 우수계통 선발 - 세포질 응성불임을 이용한 계통 육성 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 (플라보노이드 계열) 정량 예측 모델링 및 고기능성라인 고속선발 체계 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 교배 세대별 부모계통 및 교배 라인 (4계통 총 100라인) 시료 확보 - 적색 결구배추 교배 세대별 시료(잎) powder library 제작 - 적색 결구배추 교배 세대별 시료 FT-IR 스펙트럼 분석 - 적색 결구배추 교배 세대별 시료의 기능성 물질(플라보노이드 계열) 정량 및 정성분석 - 적색 결구배추 시료의 FT-IR데이터로부터 기능성 물질 성분별 PLS 정량 예측 모델 개발 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 저온 반응성 관련 유전자의 발현 분석 - 색소관련 유전자의 분석 - 강발현 벡터구축 	<ul style="list-style-type: none"> - 배추 database에서 WRKY 유전자군 탐색 - DNA 및 Protein 정보를 다양한 소프트웨어를 이용해 WRKY 유전자군 동정 - Genebank 검색을 통한 다양한 식물종 (애기장대, 오이, 벼등)과 배추의 WRKY 유전자군 비교 분석 - 저온에 강한 지부(chiffu)와 저온에 약한 권심(kenshin)을 저온처리(22, 4, 0, -2, -4, 22℃)한 재료를 이용한 microarray 결과 저온에 반응을 보인 다수의 WRKY 유전자의 발현 분석 - 배추 database로부터 색소관련 유전자인 Anthocyanidin syntase (ANS) 유전자, Dihydroflavonol 4-reductase (DRF) 유전자 탐색 - BrANS, BrDRF 유전자의 기관 특이성을 알아보기 위해 각 기관(뿌리, 줄기, 잎, 꽃봉오리)별로 mRNA를 추출하여 발현 여부를 RT-PCR로 확인 - 적색 색소에 관련된 배추(빨강배추, 8053) 및 대조구(서울배추), 월동형 적색 배추 육종에 사용된 다양한 재료(모계, 부계, F1)를 이용하여 유전자(BrANS, BrDRF)의 발현 양상을 RT-PCR 실험으로 확인 - 형질전환을 위하여 저온에 유용한 유전자 (CBF,CBL,MIF 등)를 cloning하여 35S를 프로모터하여 강발현 벡터 제작 	100%
	<ul style="list-style-type: none"> - 신규 유용 유전자원 수집 및 특성조사, 유전자원 등록 	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 및 해외(중국, 유럽), 재배산지, 현지 시장 등에서 신규 유용 유전자원 수집 및 	100%	

3차 년도	2013	<ul style="list-style-type: none"> - 및 우수계통 선발 - 분리세대 및 순화 고정 - 육종연한 단축을 위한 소포자 배양 - 뿌리혹병 병리검정 - CMS계통 육성 - 우수조합 선발 및 품종보호출원 	<ul style="list-style-type: none"> - 평가 - 기보유계통과 선발계통을 이용한 교배 및 여교잡을 이용한 우수계통 선발 - 반복된 여교배를 통한 핵치환을 통해 CMS계통육성 - 소포자 배양을 통한 육종연한 단축 및 계통육성 - 선발 적색 결구배추 라인의 기능성 물질 검증 - 내한성 마커를 이용한 내한성 검정 - 시제품 종자 생산을 통한 생산성 검증 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 플라보노이드 계열 기능성 물질 고함유 적색 결구배추라인 선발 및 대사체 수준 검증 	<ul style="list-style-type: none"> - PLS 정량 예측 모델을 이용한 플라보노이드 계열 기능성 물질 고함유 적색 결구배추 라인 고속선발 (2라인 이상) - 선발 적색 결구배추 라인의 플라보노이드 계열 기능성 물질 대사체 수준 검증 (일반배추보다 시안니딘 함량 10배이상) 	
		<ul style="list-style-type: none"> - 저온 반응성 관련 유전자의 발현 분석 - 색소관련 유전자의 분석 - 배추의 내한성 및 내동성 관련 후보 유전자 발굴 - 형질전환체 T0 분석 및 T1 종자 수확 	<ul style="list-style-type: none"> - 배추 database로부터 15개의 Alfin-like (AL) 유전자 동정 - AL 유전자의 염색체상의 위치, 단백질 정보 및 프로모터 분석 - 식물 기관별(뿌리, 줄기, 잎, 꽃받침, 꽃잎, 수술, 암술) 발현 분석 - 지부(북방계 배추) 및 권심(남방계 배추)에 대한 저온, 건조, 염류 스트레스(환경 스트레스), 시들음병(생물학적 스트레스)에 대한 발현 분석 - BrMYB2-2, BrTT8 및 BrDRF 유전자 - 애기장대 중요 색소 관련 유전자들과의 상호작용 분석 - 색소 관련 배추(빨강배추, 8053, 서울배추)의 저온처리 샘플에 대한 발현 실험 및 지부(북방계 배추)와 권심(남방계 배추) 샘플에 대해 저온 처리한 microarray 발현 분석 - 저온 처리한 microarray데이터로부터 내한성 관련 유전자를 발굴하기 위해 25°C 및 4°C, 25°C 및 0°C의 데이터를 비교하여 4°C 및 0°C에서 25°C 보다 10배 이상 발현 양이 높고, 낮은 유전자 선발 - 25°C 및 -2°C, 25°C 및 -4°C의 데이터 비교하여 -2°C 및 -4°C에서 25°C 보다 10배 이상 발현양이 높고, 낮은 유전자 선발 - 저온 관련 유전자 Bra019162가 삽입된 형질전환체(T0) 7개체 획득, Bra028290가 삽입된 형질전환체(T0) 2개체 획득 - 식물체로부터 T1 ,종자 획득 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 신규 유용 유전자원 수집 및 특성조사, 유전자원 등록 - 내한성검정 및 우수계통 선발 - 분리세대 및 순화 고정 - 육종연한 단축을 위한 소포자 배양 - 뿌리혹병 병리검정 - CMS계통 육성 - 우수조합 선발 및 품종보호출원 	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 및 해외(중국, 유럽), 재배산지, 현지 시장 등에서 신규 유용 유전자원 수집 및 평가 - 기보유계통과 선발계통을 이용한 교배 및 여교잡을 이용한 우수계통 선발 - 반복된 여교배를 통한 핵치환을 통해 CMS계통육성 - 소포자 배양을 통한 육종연한 단축 및 계통육성 - 선발 적색 결구배추 라인의 기능성 물질 검증 - 내한성 마커를 이용한 내한성 검정 - 시제품 종자 생산을 통한 생산성 검증 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 (카로티노이드 계열) 정량 예측 	<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 계통별 기능성 물질 (카로티노이드 계열) 정량 분석 	100%

		<p>모델링 및 고기능성라인 고속선발 체계 확립</p> <p>* 변경사항 : 미량 성분인 카로티노이드 계열을 대신하여 월동형 적색배추의 주요 성분인 안토시아닌 고함유 라인의 선발에 집중하여 상업화 발판 구축에 기여하고자 함.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 카로티노이드 계열 물질 함량 예측 PLS 모델링 확립 - 카로티노이드 계열 고함유 적색 결구배추 라인 고속선발 및 대사체 수준 검증 	
4차 년도	2014	<ul style="list-style-type: none"> - 색소관련 유전자의 분석 - 저온 반응성 관련 유전자의 발현 분석 - 배추의 내한성 발현마커 개발 - 형질전환체의 세대진전 및 homo event화 	<ul style="list-style-type: none"> - anthocyanin 생합성 경로를 조절하는 유전자의 발현 분석 - 배추에서 anthocyanin 생합성 경로에 관여하는 구조 유전자의 발현 분석 - <i>BrTED</i>로부터 903개의 unigene 선발 및 GO 분석을 통해 abiotic stimulus (AS)한 113개의 유전자에서 7개의 unigene에 대한 발현 분석 - 59개의 aquaporin 유전자 선발 및 내한성에 대한 발현 분석 - 475개의 <i>MYB</i> 유전자의 동정 및 내한성에 대한 발현 분석 - <i>BrTED</i>로부터 <i>BrCRG2, 3, 5</i> 내한성 발현마커 선발 - <i>BrAQP</i> 유전자로부터 <i>BrPIPL1a, 1:5, 2:3b, 2:4a, 2:6, 2:7b, 2:7c</i> 내한성 발현마커 선발 - <i>R2R3-BrMYB</i>으로부터 <i>BrMYB2, 12, 77, 81, 88, 121, 166, 169, 217</i> 내한성 발현마커 선발 - <i>BrMYB-related</i>로부터 <i>BrMYBIR25, 1R44, 1R70, 1R77</i> 내한성 발현마커 선발 - 저온 관련 <i>I-sst</i> 유전자가 삽입된 형질전환체 T1 및 T2의 세대진전 - 각각의 형질전환체의 T2 종자를 이용한 삽입 유전자의 copy 확인 - 3:1로 분리된 T2 식물체의 T3 세대 진전 - Homo화된 식물체를 이용한 내한성 검정 예정 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 신규 유용 유전자원 수집 및 특성조사, 유전자원 등록 - 내한성검정 및 우수계통 선발 - 분리세대 및 순화 고정 - 육종연한 단축을 위한 소포자 배양 - 뿌리혹병 병리검정 - CMS계통 육성 - 우수조합 선발 및 품종보호출원 	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 및 해외(중국, 유럽), 재배산지, 현지 시장 등에서 신규 유용 유전자원 수집 및 평가 - 기보유계통과 선발계통을 이용한 교배 및 여교잡을 이용한 우수계통 선발 - 반복된 여교배를 통한 핵치환을 통해 CMS계통육성 - 소포자 배양을 통한 육종연한 단축 및 계통 육성 - 선발 적색 결구배추 라인의 기능성 물질 검증 - 내한성 마커를 이용한 내한성 검정 - 시제품 종자 생산을 통한 생산성 검증 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 카로티노이드 계열 기능성 물질 고함유 적색 결구배추라인 선발 및 대사체 수준 검증 <p>* 변경사항 : 미량 성분인 카로티노이드 계열을 대신하여 월동형 적색배추의 주요 성분인 안토시아닌 고함유 라인의 선발에 집중하여 상업화 발판 구축에 기여하고자 함.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - PLS 정량 예측 모델을 이용한 카로티노이드계열 기능성 물질 고함유 적색 결구배추 라인 고속선발 - 선발 적색 결구배추 라인의 카로티노이드 계열 기능성 물질 대사체 수준 검증 	100%
5차 년도	2015	<ul style="list-style-type: none"> - 색소관련 유전자 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - Anthocyanin 생합성 경로를 조절하는 35개 유전자의 해석 - 배추(♀)×적양배추(♂)의 F1, F2, BC1F1세대를 이용한 Anthocyanin 경로 조절 유전자 해석 - 배추 적색 발현 key 유전자 동정 	100%
		<ul style="list-style-type: none"> - 신규 유용 유전자원 수집 및 특성조사, 유전자원 등록 - 내한성검정 및 우수계통 선발 - 분리세대 및 순화 고정 - 육종연한 단축을 위한 소포자 배양 	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 및 해외(중국, 유럽), 재배산지, 현지 시장 등에서 신규 유용 유전자원 수집 및 평가 - 기보유계통과 선발계통을 이용한 교배 및 여교잡을 이용한 우수계통 선발 	100%

	<ul style="list-style-type: none"> - 병리검정 - CMS계통 육성 - 우수조합 선발 및 품종보호출원 	<ul style="list-style-type: none"> - 반복된 여교배를 통한 핵치환을 통해 CMS계통육성 - 소포자 배양을 통한 육종연한 단축 및 계통육성 - 선발 적색 결구배추 라인의 기능성 물질 검증 - 내한성 마커를 이용한 내한성 검정 - 시제품 종자 생산을 통한 생산성 검증 	
	<ul style="list-style-type: none"> - 기능성 물질(flavonoids 및 carotenoids) 고함유 적색배추의 신속 선발체계 확립 <p>* 변경사항 : 미량 성분인 카로티노이드 계열을 대신하여 월동형 적색배추의 주요 성분인 안토시아닌 고함유 라인의 선발에 집중하여 상업화 발판 구축에 기여하고자 함.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 적색 결구배추 부모계통 및 교배 라인별 대사체 물질 DB 구축 - 고기능성 적색 결구배추 품종화 기반 구축 	100%

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

D-07

1. 연구 개발 성과

가. 특허 출원

- 식물 DNA의 적외선 분광 스펙트럼 분석을 이용한 유전자 변이 식물체를 구별하는 방법 (국내출원, 출원번호 : 10-2013-0108816)

나. 국립유전자자원센터 유전자원 등록 및 기탁

- 전체 30품종 유원자원 등록

년도	기관 관리번호	작물명	품종명	계통명	원산지	자원구분	육성년도	균일성
2012	PT12-8	적경수채	RP-771	6033	대한민국	계통	2012	고정종
	PT12-9	적경수채	RP-772	6034	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-1	배추	CC-3011	6003	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-2	배추	CC-3012	6004	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-3	배추	CC-3022	6007	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-4	배추	CC-3031	6001	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-5	배추	CC-3032	6002	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-6	배추	RC-321	6017	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-7	배추	RC-322	6018	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-8	배추	RC-332	6014	대한민국	계통	2012	고정종
	CC12-9	배추	RC-341	6015	대한민국	계통	2012	고정종
2013	K222907	청경채	PT13-1	9037	대한민국	계통	2013	고정종
	K222908	청경채	PT13-2	9039	대한민국	계통	2013	고정종
	K222909	청경채	PT13-3	9041	대한민국	계통	2013	고정종
	K222910	청경채	PT13-4	9034	대한민국	계통	2013	고정종
	K222911	배추	CC13-1	9001	대한민국	계통	2013	고정종
	K222912	배추	CC13-2	9016	대한민국	계통	2013	고정종
	K222913	배추	CC13-3	9020	대한민국	계통	2013	고정종
	K222914	배추	CC13-4	9032	대한민국	계통	2013	고정종
	K222915	배추	CC13-5	9012	대한민국	계통	2013	고정종
	K222916	배추	CC13-6	9014	대한민국	계통	2013	고정종
	K222917	배추	CC13-7	9017	대한민국	계통	2013	고정종
2014	PT14-1	청경채	DH-5ms	-	대한민국	계통	2014	고정종
	PT14-2	청경채	DHBPms	-	대한민국	계통	2014	고정종
	PT14-3	청경채	DH-10	-	대한민국	계통	2014	고정종
	CC14-1	배추	5166	-	대한민국	계통	2014	고정종
	CC14-2	배추	월천-2	-	대한민국	계통	2014	고정종

	CC14-3	배추	3SP-15	-	대한민국	계통	2014	고정종
	CC14-4	배추	8605	-	대한민국	계통	2014	고정종
	CC14-5	배추	8607	-	대한민국	계통	2014	고정종

다. 품종보호 출원 : 전체 7품종

- 1년차 : '레드써클' 출원(출원-2012-552), '진홍쌈' 출원(출원-2012-554)
- 2년차 : '아시아빨강미니' 출원(출원-2013-432)
- 3년차 : '미니홍쌈' 출원(출원-2014-380)
- 4년차 : '미스홍' 출원(출원-2015-527), '미스터홍' 출원(출원-2015-528)
- 5년차 : '핑크스타일' 출원(출원-2016-337)

라. 품종 보호권 등록

- '레드써클' 품종보호권등록(품종보호 제 5342호)
- '진홍쌈' 품종보호권등록(품종보호 제 6282호)
- '아시아빨강미니' 품종보호권등록(품종보호 제 6284호)
- '미니홍쌈' 품종보호권등록(품종보호 제 6283호)



품종보호권 등록증

마. 논문발표 : 총 10편 (SCI 7편, 비SCI 3편)

학술 게재일	논문명	학술지명	블록번호: 페이지	국내외 구분	SCI 구분
2013.06.01	Enhancement of resistance to soft rot (<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>) in transgenic <i>Brassica rapa</i>	Eur J Plant Pathol	136: 317-322	국외	SCI
2013.06.01	Characterization and expression analysis of dirigent family genes related to stress in <i>Brassica</i>	Plant Physiology and Biochemistry	67: 144-153	국외	SCI
2013.09.28	Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy of genomic DNA to discriminate F1 progenies from their paternal lineage of Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>pekinensis</i>)	Mol Breeding	33: 453-464	국외	SCI
2014.03.08	Characterization of self-incompatibility genes in the intergeneric hybrid <i>xBrassicoraphanus</i>	Plant Syst Evol	300: 1903-1911	국외	SCI
2014.06.02	High-purity seed production of doubled haploid chinese cabbage [<i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i> (Lour.)] through microspore culture	Plant Breed Biotech	2: 167-175	국내	비SCI
2015.07.08	Monthly metabolic changes and PLS prediction of carotenoid content of citrus fruit by combined Fourier transform infrared spectroscopy and quantitative HPLC analysis	Plant Biotechnol Rep	9: 247-258	국외	SCI
2016.06.30	Rapid metabolic discrimination between <i>Zoysia japonica</i> and <i>Zoysia sinica</i> based on multivariate analysis of FT-IR spectroscopy	J Plant Biotechnol	43: 213-222	국내	비SCI
2016.09.12	Rapid discrimination system of Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i>) at metabolic level using Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) base on multivariate analysis	J Plant Biotechnol	43: 383-390	국내	비SCI
2016.10.20	Simultaneous estimation of saponin contents from soybean seed using Fourier transform infrared spectroscopy and high-performance liquid chromatography analysis	Plant Biotechnol Rep	10: 403-414	국외	SCI
-	Establishment of plant regeneration system via somatic embryogenesis and shoot organogenesis from leaf, petiole and stem explants of <i>Gynura procumbens</i>	Plant Biotechnol Rep	-	국외	SCI

바. 학술발표 : 총 19편

순번	발표일	발표제목	국내/ 국제	학술회의명
1	2012.05.17	Characterization of calcineurin B-like (CBL) genes of <i>Brassica</i>	국내	2012 한국원예학회 춘계 학술발표회
2	2012.10.22	Characterization and expression analysis of Dirigent family genes related to stresses in <i>Brassica</i>	국제	10 th International Cogresson Plant Molecular Biology
3	2012.11.12	Molecular characterization of stressresponsive family genes in <i>Brassica rapa</i>	국제	6 th International Symposiumon Brassica
4	2013.04.04	Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy of genomic DNA could discriminate F1 progenies of Chinese cabbage	국내	한국대사제학회 창립기념 학술대회

		(<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>pekinensis</i>) depend on their paternal lineage		
5	2013.05.24	Characterization and identification of stress resistance related potential genes of <i>Brassica rapa</i>	국내	2013 한국원예학회 추계학술발표회
6	2013.06.20	Rapid discrimination of CMS cybrid lines between <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> and <i>Raphanussativus</i> L. using Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy of genomic DNA	국내	2013 한국식물생명공학회 추계학술발표회
7	2013.10.01	High efficiency a method of microspore culture or Breeding of Chinese cabbage (<i>Brassica campestris</i> L. spp. <i>pekinensis</i> (Lour.) Pupr.)	국내	2013 한국자원식물학회 추계학술발표회
8	2013.11.01	Expression profiling and characterization of Calcineurin B-like (CBL) family genes in <i>Brassica rapa</i> under abiotic stresses	국내	2013 한국원예학회 추계학술발표회
9	2013.12.05	PLS prediction of total flavonoid and anthocyanin contents in Chinese cabbage (<i>Brassica campestris</i> ssp. <i>pekinensis</i>) combined by Fourier transform infrared spectroscopy	국내	2013 한국식물생명공학회 추계학술발표회
10	2014.05.28	Characterization and expression analysis of alfin-like transcription factors in response to biotic and abiotic stresses in <i>Brassica rapa</i>	국내	2014 한국원예학회 추계학술발표회
11	2014.07.02	Characterization of anthocyanidin synthase (ANS) genes correlating with cold and freezing stress in <i>Brassica rapa</i>	국내	2014 한국육종학회 공동심포지엄
12	2014.07.02	Characterization of Dihydroflavonol 4-Reductase (<i>DFR</i>) genes in association with cold and freezing stress in <i>Brassica rapa</i>	국내	2014 한국육종학회 공동심포지엄
13	2015.04.02	Discrimination of varieties by multivariate analysis of FT-IR spectroscopy in <i>Raphanussativus</i>	국내	2015 한국대사체학회 정기학술대회
14	2015.09.14	Analysis of regulatory genes for anthocyanin biosynthesis pathway and cold/freezing tolerance in <i>Brassica rapa</i>	국제	SABRAO conference 2015
15	2015.10.29	Rapid comparison of metabolic equivalence from standard medicinal parts of medicinal plants and their adventitious roots produced in vitro using FT-IR spectroscopy	국내	2015 한국원예학회 추계학술발표회
16	2016.05.26	Development of stable red colored anthocyanins rich chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i>) through introgression of genes from red cabbage (<i>Brassica oleracea</i>)	국내	2016 한국원예학회 추계학술발표회
17	2016.10.03	Interactive effect of flowering pathway genes on regulation of anthocyanin biosynthesis and accumulation in chinese cabbage	국제	Brassica 2016
18	2016.10.26	Establishment of plant regeneration system via somatic embryo genesis and shoot organogenesis from leaf, petiole and stem explants of <i>Gynuraprocumbens</i>	국내	2016 한국원예학회 추계학술발표회
19	2016.10.26	Development of molecular markers for detecting lateral and vertical introgressed anthocyanin genes in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i>)	국내	2016 한국원예학회 추계학술발표회

사. 홍보 성과

(1) 언론홍보

No	홍보일자	홍보유형	국내외	매체명	제목
1	2014.09.23	인터넷기사	국내	한국농어민신문	아시아종묘 자색쌈배추 '진홍쌈' 고소득

					작물각광
2	2013.06.27	인터넷기사	국내	한국농어민신문	쌈배추 자색 더 진하게...수확량 쑥
3	2014.09.22	인터넷기사	국내	원예산업신문	'진홍쌈' 소득작물로 자리매김
4	2013.06.28	인터넷기사	국내	농축유통신문	아시아종묘, 진홍쌈배추 인기
5	2014.09.12	인터넷기사	국내	농촌여성신문	보라색 쌈배추 신소득작물로 자리매김
6	2041.09.21	인터넷기사	국내	한국농촌경제신문	건강식 기능성 엽채소류 소비 늘어나면서 전국으로 확산 추세



▲ 원예산업신문을 통해하는 진홍색쌈배추의 수확량과 맛에 대해 설명하고 있다.

농축유통신문



▲ 진홍쌈배추(진)가 갖는 특색과 맛에 대해 설명하고 있다.



▲ 원예산업신문을 통해하는 진홍색쌈배추의 수확량에 대해 설명하고 있다.

농촌여성신문



▲ 이번 달부터 진홍색쌈배추의 수확량이 70% 이상 증가하여 수확량이 2배 이상 증가할 것으로 기대된다. 원예산업신문을 통해하는 진홍색쌈배추의 수확량과 맛에 대해 설명하고 있다.



▲ 원예산업신문을 통해하는 진홍색쌈배추의 수확량과 맛에 대해 설명하고 있다.

한국농촌경제신문



▲ 이번 달부터 진홍색쌈배추의 수확량이 70% 이상 증가하여 수확량이 2배 이상 증가할 것으로 기대된다. 원예산업신문을 통해하는 진홍색쌈배추의 수확량과 맛에 대해 설명하고 있다.

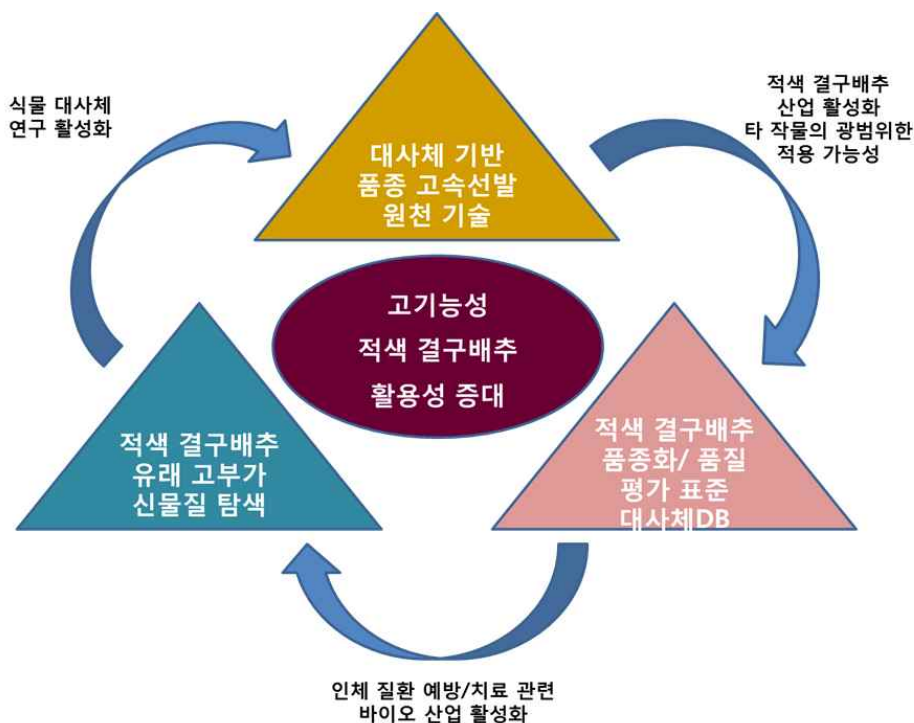
2. 연구개발성과의 활용방안 및 기대효과

가. 연구개발결과의 활용방안

- 세대진전을 통해 획득한 계통과 소포자 배양에 의해 조기 육성된 계통을 이용할 경우 연구 종료 후에도 산업화가 가능한 다양한 1대잡종 품종이 선발될 것이다. 이러한 품종을 이용함으로써 적색결구배추 종자 수출이 대폭적으로 증가될 것으로 기대됨.
- 소포자 배양 기술을 이용한 단기 교잡종 육성 체계는 다양한 품종개발에 활용이 가능할 뿐 아니라 타 작물에도 활용될 수 있을 것임.
- 수집된 유전자원 및 육성계통은 주관연구기관에서 연구 종료 후에도 지속적으로 보존하면서 우량품종 육성에 활용될 것임.
- 수집된 유전자원 및 육성계통은 우량품종 육성에 활용될 것이며 적색배추 등 개발 품종(진홍쌈, 미스홍, 핑크스타일 등) 및 선발조합들을 호주 lefroyvalley, 일본

kobatashi seed 등의 거래처로 부터 종자 생산 요구를 받고 있으며, 종자 수출을 위하여 시험재배 및 시험채종과 원종생산을 거쳐 최대한 빨리 상용화를 추진할 계획이다. 또한 본 과제를 통하여 육성한 우수계통들을 기능성 배추시장을 개척할 수 있는 품종 개발에 활용할 것임.

- 본 과제의 연구결과로 개발된 품종은 아시아종묘(주)의 영업망(제주, 전남, 대전, 강원 지점을 비롯한 9개 지점)을 통해 국내 시장을 적극 개발하기 위한 마케팅 전략을 추구할 예정임.
- 적색결구배추 품종에 추후 뿌리혹병 등 내병성을 추가하여 외국종의 경쟁품종과 차별화가 될 수 있도록 하겠음.
- 대규모 내한성 관련 유전자들의 분석을 통한 내한성 배추과 작물의 육성에 기초자료로 활용 가능함.
- 안토시아닌 생합성 경로에 관여하는 유전자들의 발현 분석을 통하여, 적색배추 개발에 있어서 발현마커로 활용 가능성이 높음.
- 본 연구를 통해 확보된 적색 결구배추라인의 기능성물질 정보는 유용 대사산물의 대사 경로 조절 연구나 품종화를 위한 고속 탐색 원천기술로 적용 가능
- 대사체 정보 기반 다양한 고기능성 적색 결구배추 품종 후보 선발이 가능하며 교배 육종을 통한 품종화가 촉진될 것임.
- 대사체 정보 기반 기능성 품종 고속선발 체계를 타 작물에 적용 가능한 기반기술로 활용.
- 적색 결구배추 유래 유용 대사산물의 항암, 항균, 항염증 등 인체질환 연구의 원천기술 개발에 활용 가능성이 높음.



나 기대효과

(1) 기술적 측면

- 기능성 물질을 보유하면서 내재해성, 내병성을 보유한 계통을 본 과제를 수행하면서 육성할 수 있었으며 이를 *Brassica rapa*의 다양한 작물(배추, 청경채, 다채, 경수채, 순무, 임생채 등)에 적용할 수 있을 것임.
- 소포자 배양기술을 활용하여 품종육성 연한을 대폭 단축할 수 있음.

(2) 경제적·산업적 측면

- 다양한 배추 품종의 국내시장 보급은 농민의 새로운 소득원이 될 수 있으며 적색 배추의 풍부한 안토시아닌은 국민건강에도 기여할 수 있을 것임.
- 우리의 우수한 육종기술로 개발한 적색결구배추 F₁품종개발은 전 세계에서 유일한 독특한 기능성 품종으로 향후 웰빙수요가 많은 서구선진국 지역으로 수출이 유망할 것임
- 우수 품종으로 유럽연합, 북미, 일본, 오세이니아 등 웰빙수요가 많은 지역으로 수출 시장을 공략할 경우 100만\$ 이상의 추가 외화획득이 기대됨.

제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

		D-08
<ul style="list-style-type: none"> - 적양배추와 자색콜리플라워에서는 안토시아닌 생합성 구조 유전자인 BoMYB2와 BoTT8에서 자색이 축적될 수록 발현양이 증가하였다(Yuan et al. 2009; Chiu et al. 2010). - 자색케일(Brassica oleracea var. acephala)에서는 R2R3 MYB 전사인자인 BoPAP1 (promotion of anthocyanin production 1) 유전자가 저온에 의한 발현양이 급격히 증가하였으며, 안토시아닌 함량이 증가하였다(Zhang et al. 2012). - 식물 대사체학 연구분야는 독일 막스 플랑크 연구소의 Fiehn 박사 그룹에서 GC-MS를 이용하여 토마토 줄기에서 대사체군 분석 결과를 보고한 이후, 현재 유전자 발현과 대사체의 통합 분석을 통해 세포 내에서 일어나는 전반적인 대사 경로를 분석하는 수준까지 진행되고 있다(Kind et al. 2009; Kumari et al. 2011). 더 나아가 식물 대사체를 조절하는 유전자-대사체 네트워크 분석이 가능해졌으며, 유사한 방법으로 전사체(transcriptome)와 대사체의 통합 분석을 통해 새로운 유전자 기능을 밝혀내는 수준까지 진행되고 있다. - 특히, 대표적 식물인 <i>Arabidopsis thaliana</i>에서 유전자 발현과 2차 대사산물의 통합 분석을 통해 AtMetExpress development dataset를 구축하는 데 성공하였으며 이는 식물 대사체 연구의 핵심 도구로 이용 가능성이 증대될 것이다(Matsuda et al. 2010). - 최근 식물 대사체 농도를 조절하는 유전적인 요인 분석을 위해 대사체 정량 형질 부위 (quantitative trait locus, QTL) 분석법이 도입되어 응용되고 있으며 이는 대사체와 다른 형질 간 상호작용을 대사체 데이터 분석을 통해 예측하는 것이 가능해질 것으로 사료된다. 		

제 7 장 연구개발결과의 보안등급 : 해당사항 없음

		코드번호	D-09
○			

제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황 : 해당사항 없음

					코드번호		D-10	
구입 기관	연구시설/연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치장소)	NTIS장비 등록번호

제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 : 해당사항 없음

	D-11
○	

제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/특허출원국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일/특허출원일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인용횟수 등)
1	논문	Enhancement of resistance to soft rot (<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>) in transgenic <i>Brassica rapa</i>	순천대학교	교신저자	European Journal of Plant Pathology	1.494	2013.06.01	단독사사	SCI/ 1회 인용
2	논문	Characterization and expression analysis of dirigent family genes related to stress in <i>Brassica</i>	순천대학교	교신저자	Plant Physiology and Biochemistry	2.928	2013.06.01	단독사사	SCI/ 6회 인용
3	논문	Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy of genomic DNA to discriminate F1 progenies from their paternal lineage of Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>pekinensis</i>)	한국생명공학연구원	교신저자	Molecular Breeding	2.108	2013.09.28	중복사사	SCI/ 5회 인용
4	논문	Monthly metabolic changes and PLS prediction of carotenoid content of citrus fruit by combined Fourier transform infrared spectroscopy and quantitative HPLC analysis	한국생명공학연구원	제1저자	Plant Biotechnology Reports	1.490	2015.07.08	중복사사	SCI/ 5회 인용
5	특허	식물 DNA의 적외선 분광 스펙트럼 분석을 이용한 유전자 변이 식물체를 구별하는 방법	한국생명공학연구원	-	대한민국	-	2013.09.11	-	-

제 11 장 기타사항 : 해당사항 없음

	D-13
○	

제 12 장 참고문헌

D-14

Ahn MS, Min SR, Jie EY, So EJ, Choi SY, Moon BC, Kang YM, Park SY, Kim SW (2015) Rapid comparison of metabolic equivalence of standard medicinal parts from medicinal plants and their in vitro-generated adventitious roots using FT-IR spectroscopy. *J Plant Biotechnol* 42:257-264.

Alexandrov NN, Troukhan ME, Brover VV, Tatarinova T, Flavell RB, Feldmann KA (2006) Features of Arabidopsis genes and genome discovered using full-length cDNAs. *Plant Mol Biol* 60:69-85.

Appelhagen I, Jahns O, Bartelniewoehner L, Sagasser M, Weisshaar B, Stracke R (2011) Leucoanthocyanidin dioxygenase in Arabidopsis thaliana: characterization of mutant alleles and regulation by MYB-BHLH-TTG1 transcription factor complexes. *Gene* 484:61-68.

Cao MQ, Li Y, Liu F, Doré C. Embryogenesis and plant regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) via in vitro isolated microspore culture. *Plant Cell Rep.* 1994 May;13(8):447-50.

Cheng F, Liu S, Wu J, Fang L, Sun S, Liu B, Wang X. BRAD, the genetics and genomics database for Brassica plants. *BMC Plant Biol.* 2011;11(1):136.

Chiu LW, Zhou X, Burke S, Wu X, Prior RL, Li L (2010) The purple cauliflower arises from activation of a MYB transcription factor. *Plant Physiol* 154:1470-1480.

Dong X, Kim WK, Lim YP, Kim YK, Hur Y. Ogura-CMS in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) causes delayed expression of many nuclear genes. *Plant Sci.* 2013 Feb;199-200:7-17.

Falgueras J, Lara AJ, Fernández-Pozo N, Cantón FR, Pérez-Trabado G, Claros MG. 2010. SeqTrim: a high-throughput pipeline for pre-processing any type of sequence read. *BMC Bioinformatics.* 11:1-12.

Fiehn O, Kopka J, Drmann P, Altmann T, Trethewey R, Willmitzer L (2000) Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol* 18:1157-1161.

Grotewold E (2006) The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu Rev Plant Biol* 57:761-780.

Götz S, García-Gómez JM, Terol J, Williams TD, Nagaraj SH, Nueda MJ, Robles M, Talón M, Dopazo J, Conesa A. 2008. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. *Nucleic Acids Res.* 36:3420-3435.

Harbaum B, Hubbermann EM, Wolff C, Herges R, Zhu Z, and Schwarz K (2007) Identification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in pak choi varieties (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) by HPLCESI-MS and NMR and their quantification by HPLCDAD. *J Agric Food Chem* 55:8251-8260.

Harborne JB, Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55:481-504.

Heng S, Shi D, Hu Z, Huang T, Li J, Liu L, Xia C, Yuan Z, Xu Y, Fu T, Wan Z. Characterization and classification of one new cytoplasmic male sterility (CMS) line based on morphological, cytological and molecular markers in non-heading Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). *Plant Cell Rep.* 2015 Sep;34(9):1529-37.

Kanehisa M, Goto S. 2000. Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 28:27-30.

Kind T, Wohlgemuth G, Lee do Y, Lu Y, Palazoglu M, Shahbaz S, Fiehn O. FiehnLib: Mass spectral and retention index libraries for metabolomics based on quadrupole and time-of-flight gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2009, 81, 10038-10048.

Kim DO, Padilla-Zakour OI, Griffiths PD (2004) Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. *J Food Sci* 69:685-689.

Kim H, Jo EJ, Choi YH, Jang KS, Choi GJ. Pathotype Classification of *Plasmodiophora brassicae* Isolates Using Clubroot-Resistant Cultivars of Chinese Cabbage. *Plant Pathol J.* 2016 Oct;32(5):423-430.

Kim JK, Ryu TH, Sohn SI, Kim JH, Chu SM, Yu CY, Baek HJ (2009) Metabolic fingerprinting study on the substantial equivalence of genetically modified (GM) Chinese cabbage to non-GM cabbage. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 52:186-192.

Kim SW, Cho SH, Chung H, Liu JR (2007) Genetic discrimination between *Catharanthus roseus* cultivars by multivariate analysis of fourier transform infrared spectroscopy data. *J Plant Biotechnology* 34:201-205.

Kong X, Lv W, Jiang S, Zhang D, Cai G, Pan J, Li D. Genome wide identification and expression analysis of calcium-dependent protein kinase in maize. *BMC Genom.* 2013;14:433.

Krishnan P, Kruger NJ, Ratcliffe RG (2005) Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR. *J Exp Bot* 56:255-265.

Krogh A, Larsson B, Von Heijne G, Sonnhammer E. Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes. *J Mol Biol.* 2001;305(3):567–80.

Kumari S, Stevens D, Kind T, Denkert C, Fiehn O (2011) Applying *in-silico* retention index and mass spectra matching for identification of unknown metabolites in accurate mass GC-TOF mass spectrometry. *Anal Chem* 83: 5895–5902.

Kwon YK, Kim SW, Seo JM, Woo TH, Liu JR (2011) Prediction and discrimination of taxonomic relationship within *Orostachys* species using FT-IR spectroscopy combined by multivariate analysis. *J Plant Biotechnol* 38:9–14.

Kwon YK, Ahn MS, Park JS, Liu JR, In DS, Min BW, Kim SW (2014) Discrimination of cultivation ages and cultivars of ginseng leaves using Fourier transform infrared spectroscopy combined with multivariate analysis. *J Ginseng Res* 38:52–58.

Lee SH, Hong MY, Kim S, Lee JS, Kim BD, Min BH, Baek NK, Chung YY. Controlling self-incompatibility by CO₂ gas treatment in *Brassica campestris*: structural alteration of papillae cell and differential gene expression by increased CO₂ gas. *Mol Cells.* 2001 Apr 30;11(2):186–91.

Letunic I, Doerks T, Bork P. SMART 6: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Res.* 2009;37:D229–32.

Mancinelli AL, Rossi F, Moroni A (1991) Cryptochrome, phytochrome, and anthocyanin production. *Plant Physiol* 96:1079–1085.

Masoudi-Nejad A, Tonomura K, Kawashima S, Moriya Y, Suzuki M, Itoh M, Kanehisa M, Endo T, Goto S. 2006. EGAssembler: online bioinformatics service for large-scale processing, clustering and assembling ESTs and genomic DNA fragments. *Nucleic Acids Res.* 34:W459–62.

Matsuda F, Hirai MY, Sasaki E, Akiyama K, Yonekura-Sakakibara K, Provart NJ, Sakurai T, Shimada Y, Saito K (2010) AtMetExpress development: a phytochemical atlas of *Arabidopsis* development. *Plant Physiol* 152:566–578.

Quattrocchio F, Wing JF, Leppen HTC, Mol JNM, Koes RE (1993) Regulatory genes controlling anthocyanin pigmentation are functionally conserved among plant species and have distinct sets of target genes. *Plant Cell* 5:1497–1512.

Shoresh M, Spivak M, Bernstein N. 2011. Involvement of calcium-mediated effects on ROS metabolism in regulation of growth improvement under salinity. *Free Radical Bio Med.* 51:1221-1234.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic acids research*, 25(24), 4876-4882.

Trygg J, Holmes E, Londstedt T (2007) Chemometrics in metabonomics. *J. Proteomes Res.* 6:467-479.

Wold H (1966) Estimation of principal components and related models by iterative least squares. p. 391-420. In: K. R. Krishnaiah (ed.). *Multivariate Analysis*. Academic Press, New York.

Wong RS, Zee SY, Swanson EB. Isolated microspore culture of Chinese flowering cabbage (*Brassica campestris* ssp. *parachinensis*). *Plant Cell Rep.* 1996 Feb;15(6):396-400.

Yan M, Liu X, Guan C, Chen X, Liu Z (2011) Cloning and expression analysis of an anthocyanidin synthase gene homolog from *Brassica juncea*. *Mol Breed* 28:313-322.

Yuan Y, Chiu LW, Li L (2009) Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in red cabbage. *Planta* 230:1141-1153.

Zhang B, Hu Z, Zhang Y, Li Y, Zhou S, & Chen G (2012) A putative functional MYB transcription factor induced by low temperature regulates anthocyanin biosynthesis in purple kale (*Brassica Oleracea* var. *acephala* f. *tricolor*). *Plant cell reports*, 31(2), 281-289.

Zhang H, Feng J, Manolii VP, Strelkov SE, Hwang SF. Characterization of a Gene Identified in Pathotype 5 of the Clubroot Pathogen *Plasmodiophora brassicae*. *Phytopathology*. 2015 Jun;105(6):764-70.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64:555-559.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.