

11-15430
00-00239
7-01

발간등록번호

11-1543000-002397-01

수출유망

딸기품종

육종을

위한

주요

병저항성

및

품질

관련

분자표지

개발

최종

보고

서

수출전략기술개발사업 R&D Report

수출유망 딸기품종 육종을 위한 주요 병저항성 및 품질 관련 분자표지 개발 최종보고서

2018. 11. 30.

주관연구기관 / 한국생명공학연구원
협동연구기관 / 국립원예특작과학원
전북대학교
충남농업기술원
순천대학교

농림축산식품부

2018

농림축산식품부

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “수출유망 딸기 육종을 위한 주요 병저항성 및 품질 관련 분자표지 개발”(개발기간 : 2015. 8. ~ 2018. 8.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 11. 30.

주관연구기관명	: 한국생명공학연구원	(대표자)	(인)
협동연구기관명	: 국립원예특작과학원	(대표자)	(인)
협동연구기관명	: 전북대학교	(대표자)	(인)
협동연구기관명	: 충남농업기술원	(대표자)	(인)
협동연구기관명	: 순천대학교	(대표자)	(인)

주관연구책임자 : 김혜란

협동연구책임자 : 김진희

협동연구책임자 : 이준대

협동연구책임자 : 함인기

협동연구책임자 : 김희택

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	315047-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2015. 08. 14 - 2018. 08. 13	단 계 구 분	(총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	수출전략기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	수출유망 딸기 육종을 위한 주요 병저항성 및 품질 관련 분자표지 개발			
연구책임자	김혜란	해당단계 참여연구원 수	총: 117명 내부: 117명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 1,500,000 천원 민간: 천원 계: 1,500,000 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 117명 내부: 117명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 1,500,000 천원 민간: 천원 계: 1,500,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터			참여기업명 (해당 없음)	
국제공동연구	상대국명: (해당 없음)			상대국 연구기관명: (해당 없음)	
위탁연구	연구기관명: (해당 없음)			연구책임자: (해당 없음)	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반/ 국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음
-------------------------	---

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구 시설· 장비	기술 요약 정보	소프 트웨 어	화 합물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물 자원	정 보	실물
등록·기탁 번호	-Sci. Agric., 74: 226-234. -J. Plant Biotechnol., 45: 90-101 -Korean J. Breed. Sci. 49:119-128 -Korean J. Breed. Sci. 50:203-210 -Tropical Plant Biol., 10:68-76 -J. Plant Biotechnol., 44:178-190 -Int. J. Mol. Sci., 19: 656 -Scientific Rep. (accepted) ^a -Hortic. Environ. Biotech. (major revision) -Front. Plant Sci. (submitted)	-제10- 188197 7 -제10- 179626 0						-NM-0435-0 00001 ~ NM0435-000 224 -NM-0517-0 00001 ~ NM-0517-00 0433			-출원- 2016-3 25

국가과학기술중합정보시스템에 등록한 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

- 딸기 육종소재 164점 확보 및 증식 후 주요 형질 원예적 특성 분석을 수행하였고, 표현형 결과를 Breeding Information Managemonet System (BIMS, <https://www.rosaceae.org/bims>)을 이용하여 데이터베이스화함
- 생물검정을 이용한 딸기(*Fragaria x ananassa* Duch.) 유전자원의 역병균(*Phytophthora cactorum*)에 의한 crown rot 저항성 평가
- 딸기 유전체 reference인 *Fragaria vesca* (2배체)를 포함하여 8배체인 *F. x ananassa*와 *F. iinumae* (71 Gb), *F. nipponica* (72 Gb), *F. nubicola* (74 Gb) 및 *F. orientalis* (75 Gb) 4개의 다른 야생종의 genome assembly 정보, CDS 정보, protein 정보, unigene 정보와 기존에 보고된 EST 데이터를 수집
- 딸기의 유용 분자마커 개발 및 유용 유전자 연구에 기반이 될 유전집단 및 유전자 지도 작성
 - 탄저병 저항성 관련 유전집단 2개 (‘보교조생’ X ‘매향’, ‘보교조생’ X ‘아키히메’) 작성 및 유전자지도 및 QTL 작성
 - 고경도 관련 고정계통을 이용한 F2 유전집단 및 고밀도 유전자지도 작성, QTL mapping
 - 역병저항성 관련 유전집단 및 유전자지도 작성
 - 고당도 관련 유전집단 및 유전자지도 작성

보고서 227쪽

- 딸기 유전체 정보 기반 유용형질 관련 분자마커 대량 발굴
 - 사계성 형질과 관련하여 개화유전자 *FaFT2*와 *FaCKX1*의 염기서열을 분석 후 사계성과 일계성 구별 가능한 SNP 마커 2개 발굴 (특허 제 10-1881977호)
 - 고당도와 저당도 유전자원 8점의 당도분석 및 당 합성 관련 유전자 18개의 발현 분석 (J. Plant Biotechnol., 45: 90-101)
 - 탄저병 저항성 관련 유전자원 3점의 transcriptome 분석을 통하여 탄저병 저항성 특이적으로 발현하는 유전자군 발굴
 - 탄저병 저항성 관련 유전집단 2개 ('보교조생' X '매향', '보교조생' X '아키히메')를 이용하여 유전자지도 작성 후 탄저병 저항성 관련 QTL분석 및 SNP 마커 1개 개발
 - 딸기 탄저병 저항성 SCAR마커 2종 개발
 - 고경도 고정계통을 F₂ 분리집단을 이용한 GBS (genotyping by sequencing)를 통해 고경도 관련 SNP 마커 개발가능성 확인
 - SNP 분자표지를 이용한 역병저항성 계통의 유전체 분석을 통해 딸기 8배체 SNP (HRM) 분자표지 224건, 433건 확보
 - 당도 및 사계성 연관 유전자 지도 작성 및 QTL 분석 후 당도 관련 3개의 SNP 분자마커와 사계성관련 5개의 분자마커를 개발
- 딸기 육종소재 유용 분자마커 개발
 - 수집한 딸기 유전자원을 식별할 수 있는 24개의 SNP 분자마커 및 Fluidigm EP1 system 개발
 - 딸기 육종소재의 구분 및 오염도 확인을 할수 있는 분자마커 5개 세트 개발
- 국내 확보된 육종소재 160점의 분자적 근연관계 분류

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 딸기 육종 소재의 주요 목표 형질 및 원예적 특성 탐색, 분류 및 데이터베이스 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 딸기 육종소재 분양 후 증식 및 재배 - 딸기의 주요 형질 표현형 조사 - 각 형질별 육종 소재의 분류 및 표현형 분석 결과 데이터베이스화 ○ 딸기 주요 병인 탄저병, 역병 저항성 검정법 개발 및 저항성 유전자원 탐색 <ul style="list-style-type: none"> - 딸기 역병균(<i>Phytophthora cactorum</i>)을 이용한 생물검정법 확립 - 국내, 일본, 미국, 유럽 등지에서 수집한 104개의 딸기 품종 또는 유전자원에 대해 역병 저항성/이병성 판별 - 딸기 탄저병 저항성 검정법 확립 - 탄저병 저항성 및 이병성 소재 발굴 ○ 딸기 유전체 정보 수집 및 분석 <ul style="list-style-type: none"> - Transcriptome, EST, genome sequence 등 관련 유전체 정보 수집 - 수집 정보 분석 및 가공 ○ 딸기 유전집단 및 유전자지도, QTL 작성 <ul style="list-style-type: none"> - 역병 저항성 품종과 이병성 품종 간의 교배를 통하여 F₁ 분리집단 육성함 - NGS 분석을 통해 개발된 분자표지를 이용하여 역병관련 딸기 집단의 유전자 지도 작성 - 생가생가나와 설향의 F₁ 분리집단에서 딸기 역병균(<i>Phytophthora cactorum</i>) 생물 검정으로 저항성/이병성 판별하여 유전분석 수행하고 역병 저항성 QTL mapping - 탄저병 저항성, 이병성 품종을 이용하여 분리집단 육성 - 탄저병 저항성 형질 QTL mapping - 딸기 당도 및 사계성 관련 소재 개발 (유전자원 수집 및 특성 분석) - 딸기 당도 및 사계성 연관 분자표지 개발용 F₁ 분리집단 특성조사 - NGS를 이용한 딸기 당도 및 사계성 관련 유전분석 및 유전자 연관 지도 작성 - 딸기 당도 및 사계성 QTL map 작성을 통한 연관 SNP 분자마커 선발 ○ 딸기 유전체 정보 기반 분자마커 발굴 <ul style="list-style-type: none"> - 목표형질 관련 육종 소재의 유전체 정보 생산 - 유전체 정보 기반 분자마커 대량 발굴 - 탄저병 저항성 연관 분자마커 개발 - NGS 방법을 이용하여 생가생가나와 설향의 염기서열 해독하여 대량 SNP 탐색함 (657개의 HRM 분자표지 개발) - 선행연구 결과를 활용한 RAPD 데이터 이용 탄저병 저항성 마커 SCAR 마커 전환 - 당도 및 사계성 관련 소재의 전사체 자료 생성 및 분석 - 딸기 과실 경도 관련 형질 연관 분자표지 개발 - xks ○ 딸기 주요 형질 연관 분자마커 검증
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 딸기 육종 소재의 주요 목표 형질 및 원예적 특성 탐색, 분류 및 데이터베이스 화 <ul style="list-style-type: none"> - 국내 보유 육종 소재 164점을 증식 및 시험 재배함

- 딸기 육종소재 164점의 엽형 (엽장, 엽폭 및 엽병 길이)과 열매관련 표현형 (과중, 과형, 경도, 당도 및 산도)을 조사
- 각 형질별 육종 소재의 분류 및 형질 조사 결과를 Breeding Information Management System (BIMS, <https://www.rosaceae.org/bims>)을 이용하여 데이터베이스화함
- 딸기 주요 육종소재 160점의 분자적 근연관계 분석을 통한 육종 기반 구축 (육종 소재간 genetic distance 확립)
- 딸기 주요 병인 탄저병, 역병 저항성 검정법 개발 및 저항성 유전자원 탐색
 - 딸기 역병균(*Phytophthora cactorum*)을 이용한 생물검정법 확립
 - 역병 저항성/이병성 딸기 품종 또는 유전자원 선발
 - 딸기 탄저병 저항성 검정법 확립
 - 탄저병 저항성 및 이병성 소재 발굴
- 딸기 주요 원예형질 유전자원 선발
 - 고당도, 저당도 자원 선발
 - 고경도 저경도 고정계통 육성
 - 사계성, 일계성 자원 선발
- 딸기 유전체 reference (*Fragaria vesca*), 재배종인 8배체 *F. x ananassa*, *F. iinumae*, *F. nipponica*, *F. nubicola* 및 *F. orientalis* 4개의 야생종 딸기의 genome assembly 정보, CDS 정보, protein 정보, unigene 정보 및 EST 데이터 확보
- 딸기 유전체 정보 기반 분자마커 대량 발굴
 - 사계성 형질과 관련하여 개화유전자 FaFT2와 FaCKX1의 염기서열을 분석하여 총 84개 SNP를 발굴하였고 (FaFT2 SNP 179개, FaCKX1 SNP 36개), HRM을 통해 사계성과 일계성을 구별할 수 있는 SNP 마커 2개를 선발
 - 고당도 (설향, 매향, 금실, 아람)와 저당도 (Missionary, Camonoreal, Jansan, 포톨라) 유전자원 선발 후 HPLC-ELSD를 이용하여 당 성분 분석 및 당 합성 유전자 18개의 발현양 분석
 - 탄저병 저항성 관련 유전자원 3점의 유전체 정보 생산 및 탄저병 저항성 특이적인 SNP와 증폭인자를 개발 (3협동과제와 협력)
 - 탄저병 저항성 관련 유전집단 2개 (‘보교조생’ X ‘매향’, ‘보교조생’ X ‘아키히메’)를 이용하여 유전자지도 작성 후 탄저병 저항성 관련 QTL분석 및 SNP 마커 1개 개발 (3협동과제와 협력)
 - 탄저병 저항성 SCAR마커 2종 개발
- 고경도 고정계통으로 8개의 고정계통 선정
 - 아끼히메, 아마오우, 베니훗-베, 카란, 문뢰, 조홍, 엘란, 도요노카
- 저경도 고정계통으로 9개의 고정계통 선정
 - 아마오우, 베니훗베, 사치노까, 카란, 조홍, 가비타, 도요노까, 첸들러
- 베니훗베, 도요노카 유래 계통을 고경도 친, 사치노까/첸들러 유래계통을 저경도 친으로 최종 선정
 - 고경도 x 저경도 F2 분리집단의 경도 검정 및 유전분석
- GBS를 통해 고정계통 유전자원에서 2,863의 유용 SNP를 발굴
 - 이를 활용하여 유연관계 분석 진행, 효과적으로 분류함을 확인

- <http://strawberry-garden.kazusa.or.jp/>에서 확보한 *Fragaria x ananassa* (FANhybrid_r1.2) 레퍼런스 정보를 확보하여 SNP 선발에 활용함)
- GBS를 통한 고정계통 간 F2집단(고경도x저경도) 분석으로 유용 SNP 발굴
 - T137 및 L80집단에서 최종 선발된 SNP 401개 및 SNP 196개에 대한 연관지도 작성 및 유용 QTL 분석
- 딸기 역병균(*Phytophthora cactorum*)을 이용한 생물검정법 확립
- 딸기 유전자원의 역병 저항성 검정
- HRM 마커 개발을 통한 8배체 딸기 유전자지도 작성
- 딸기 역병 저항성 유전분석
- 딸기 역병 저항성 QTL 탐색
- 사계성 및 당도 관련 딸기 유전자원 수집 및 특성분석
 - 사계성(중일성) 딸기 품종 13점, 당도관련 품종 6점 수집
 - 특성 분석을 통한 고당도 품종 2점, 저당도 품종 2점 선발
- 수집 유전자원 분류를 위한 SNP 기반 품종식별 마커 개발
 - 414 SNP로 부터 각 염색체별 2~9개씩 분포한 총 24개의 품종식별 SNP 마커 개발 (EP-1 Fluidigm system 기반)하였으며, 24개의 SNP 마커에 의해 딸기 110품종이 구별함
 - 다른 딸기 유전자원의 구별 마커로 활용 가능
- 유전체 정보를 활용한 사계성 연관 유전자 탐색 및 HRM 검정법을 개발하여 다형성 분석
 - 주요 딸기 품종으로부터 사계성 관련 TFL1 유전자 동정 및 염기서열 결정
 - 4개의 SNP 정보를 이용한 HRM 분자마커개발
- 당도관련 분자표지 개발을 위한 당관련 유전자의 발현분석 및 후보 유전자 선발
 - 전사체 정보 및 유전자 발현분석을 통하여 당도관련 3개의 후보유전자 (*FaFru2*, *FaGlu8*, *FaSuc1D*)를 선발
- 고당도 딸기 품종의 안토시아닌관련 유전자발현분석
 - 토군의 성숙한 과실보다 매향과 설향의 성숙한 과실의 안토시아닌 함량이 5배 이상 높음
 - 안토시아닌 합성에 관여하는 전사조절유전 및 생합성 초기, 후기에 관여하는 총 16개의 유전자 동정(전사조절유전자(Positive: *FaMYB10*, *FaMYB5*, *FabHLH3*, *FabHLH3-delta*, Negative: *FaMYB11*, *FaMYB9*, *FabHLH33*, *FaWD44-D*), 생합성 초기에 관여하는 유전자 (*Fa4CL7*, *FaF3H*, *FaCHI1*, *FaCHI3*, *FaCHS*), 생합성 후기에 관여하는 유전자 (*FaDFR4-3*, *FaLDOX*, *FaUFGT2*))
- 당도 및 사계성 분자마커 검정 및 분자표지 개발을 위한 NGS 분석을 통한 대량의 SNP획득
 - 당도관련 분자표지정보를 이용하여 고당도 품종과 저당도 품종을 구별할 수 있는 분자표지 2 sets (F03-022, S08-701)을 선발함
 - RAD-sequencing에 의해 매향(고당, 일계), 페스티발(저당, 일계), 알비온(저당, 중일)과 F₁ 분리집단 87개체로부터 평균 1,287,014 raw reads 데이터와 25,879개의 SNP 획득

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 당도 및 사계성 관련 유전자지도(Linkage map) 작성 <ul style="list-style-type: none"> - 선발된 당도 관련 SNP 정보로 부터 멘델의 분리비에 적합한 3,266 개 SNP를 선발 후 Linkage map을 작성하였으며, 게놈정보가 밝혀진 <i>F. vesca</i>의 Linkage map과 비교분석하여 1,553개의 SNP 분자마커정보와 연계되어 있는 53 Linkage map을 작성 - 선발한 3,501개의 SNP 분자마커를 이용하여 사계성 관련 F1 집단의 유전자형을 결정하여 76 Linkage map을 작성 후 게놈정보가 밝혀진 <i>F. vesca</i>의 Linkage map과 비교분석하여 1,268의 SNP 분자마커 정보와 연계되어 있는 46 Linkage map을 작성 ○ 당도 및 사계성 QTL map작성을 통한 분자마커 선발 <ul style="list-style-type: none"> - 당도관련 교배조합 F1 집단의 표현형과 53 Linkage map의 유전자형 정보를 이용하여 CIM 및 MLM 기법으로 4개의 당도관련 QTLs를 동정하였으며, 3개의 SNPs 분자마커(MF518, MF1321, MF3696)를 선발함 - 사계성관련 교배조합 F1 집단의 표현형과 46 Linkage map의 유전자형 정보를 이용하여 사계성 관련 7개의 QTLs를 동정하였으며, 5개 SNPs 분자마커(FAN3787, FAN3556, FAN1459, FAN457, FAN2967)를 선발함 ○ 새롭게 확인된 전사체, 유전체, 유전자, QTL 정보 공유 <ul style="list-style-type: none"> - ddRAD-seq에 의해 얻어진 SNP정보 및 유용한 유전자정보에 대한 data를 1세부와 공유함
<p style="text-align: center;">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 본 사업을 통해 완성된 딸기 유용 형질 검정법 연관 분자표지를 이용한 분석 서비스 제공으로 딸기 육종 프로그램 지원 ○ 딸기 육종 효율 증진을 통한 신품종 개발 연한 단축 및 국제경쟁력 있는 품종개발력 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 조기선발 및 정밀 육종 가능 - 육종연한 단축을 통한 신품종 개발 비용 절감 - 다양한 목표의 육종이 신속하게 가능하여 품종의 국제 경쟁력 강화 ○ GBS (genotyping by sequencing)를 통해 작성된 고밀도 유전자지도는 향후 효율적인 분자마커 개발의 기반으로 활용될 계획 ○ 내수품종 확대 및 수출 품종 개발 촉진 ○ 역병 저항성 분자표지를 이용한 지적 재산권 확보 ○ 분자표지를 이용한 딸기 고품질 품종 육성으로 수출 시장 확대, 국제 경쟁력 확대 <ul style="list-style-type: none"> - 고품질 딸기 육성 비용 절감을 통한 가격 경쟁력 및 부가가치 창출 - 각 시장 맞춤형 품종 개발을 통한 수출 시장의 확대 ○ SNP 기반 품종식별 마커는 딸기 유전자원의 분석을 통한 유전자원 보호 및 로열티 분쟁 해소 ○ 유전자원들의 실험적인 분석을 통해 Day-neutral type을 구분할 수 있음 ○ 교배조합은 고당도 품종과 저당도 품종, long-day type과 day-neutral type을 포함하는 4개의 조합으로 작성하였음. 이렇게 여러 형질들이 포함된 교배조합은 각각의 형질에 대해 linkage map 분석이 가능함. ○ 유전체정보 기반 유전자형분석기술 (Genotyping)의 발전에 기여하므로 딸기 국내 분자육종수준을 한 단계 끌어올리는데 중추적인 역할 수행

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 딸기의 원예적 형질인 당도 및 사계성에 관련된 분자표지 개발 기반을 구축 및 활용함으로써 육종효율 증대 및 고품질 딸기 품종 육성으로 경쟁력 제고에 기여 ○ 육종가의 편의 분자표지 선발 시스템 확립 및 기술 이전, 특허화 ○ Genotyping과 Phenotyping의 정밀 실행으로 목표형질이 안정적으로 검증된 유전자원을 육종 프로그램에 제공 				
국문핵심어 (5개 이내)	딸기	분자육종	분자표지	병저항성	품질관련 마커
영문핵심어 (5개 이내)	Strawberry	Molecular breeding	Molecular marker	Disease resistance	Fruit quality marker

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

〈 목 차 〉

1장. 연구개발과제의 개요	1
1절. 연구개발 목적	1
2절. 연구개발의 필요성	2
3절. 연구개발 범위	8
2장. 연구수행 내용 및 결과	10
1절. 연구개발 추진 전략 및 방법	10
2절. 연구개발 성과	12
3절. 연구결과	16
1. 딸기 육종소재의 주요 형질 원예적 특성 분석	16
2. 딸기 육종소재의 주요 형질 데이터베이스 구축	34
3. 딸기 유전체 정보 수집	36
4. 딸기 육종 정보 기반 유용형질 관련 분자마커 대량 발굴	38
5. 딸기 경도 관련 유전자원 탐색 및 경도 정밀검정법 개발	73
6. 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F ₁ 조합선발 및 F ₂ 조합작성	79
7. 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F ₂ 분리집단 육성	83
8. 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 경도 연관 분자표지 개발 ..	100
9. 딸기 역병 저항성 검정법 확립	108
10. 딸기 유전자원의 역병 저항성 검정	110
11. HRM 마커 개발을 통한 8배체 딸기 유전자지도 작성	115
12. 딸기 역병 저항성 유전분석	157
13. 딸기 역병 저항성 QTL 분석	158
14. 딸기 탄저병 저항성 SCAR 분자표지 개발	159
15. 딸기 유전자원 수집 및 SNP 기반 품종식별마커 개발	168
16. 딸기 사계성 관련 TFL 유전자 동정	173
17. 딸기의 당도 및 사계성 QTL 분석을 위한 F1 분리집단 육성 및 표현형 조사	178
18. 딸기의 당도 관련 분자표지 개발을 위한 당도 관련 유전자의 발현분석 및 후보유전자 선발	184
19. 기존의 보고된 분자 표지를 이용한 당도 및 사계성 품종 검정 및 분자표지 선발	190
20. 고당도 딸기품종의 과실색깔을 결정하는 안토시아닌 합성유전자의 발현양상과 당도의 연관성	192
21. 당도 및 사계성 관련 분자표지 개발을 위한 교배조합의 품종 및 F ₁ 분리집단의 NGS(Next Generation Sequencing) 분석	196
22. 딸기의 사계성, 당도 및 과실형질 관련 유전자 연관지도 작성 및 QTL map 작성 후 분자마커 선발	199

23. 딸기 유전자원 160점의 유전적 변이 분석	208
4절. 과제별 결과 종합 분석 결론	215
3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	218
1절. 목표	218
2절. 연구개발 성과	218
3절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책	222
4장. 연구결과의 활용 계획 등	223
1절. 연구성과의 활용 분야 및 활용 방안 (타 연구에의 응용 포함)	223
2절. 추가 연구의 필요성	224
3절. 기업화 추진방안 및 기술이전	224
붙임. 참고 문헌	225

<뒷면지>

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 수출전략개발기술사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 수출전략개발기술사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

1장. 연구개발과제의 개요

1절. 연구개발 목적

1. 최종 목표

- 딸기 주요 병인 탄저병, 역병 저항성 검정법 개발 및 저항성 유전자원 탐색
- 딸기 주요 품질 관련 형질인 당도, 경도 검정법 개발 및 고당도, 고경도 유전자원 탐색
- 딸기 탄저병, 역병 저항성 분자 표지 개발
- 딸기 당도, 경도 관련 분자 표지 개발
- 딸기의 사계성 관련 분자 표지 개발
- 딸기 품종 개발 지원 데이터베이스 개발

2. 주요 내용

- 딸기 주요 병인 탄저병, 역병 저항성과 당도와 경도 검정법 개발 및 저항성, 고당도, 고경도, 사계성 유전자원 탐색
 - 국내 보유 육종 소재, 주요 재배 품종 분양 후 증식 및 시험 재배
 - 딸기의 중요 표현형 (과중, 개화시기, 엽형, 초형, 과형) 분석과 경도, 당도, 기능성 성분, 병 저항성 형질 조사 (협동과제와 협력)
 - 각 형질별 육종 소재의 분류 및 형질 조사 결과 데이터베이스 화
- 딸기 탄저병 역병 저항성 분자 표지 개발
 - F₁ 분리집단 육성, 유전체 정보 기반 GBS, pseudotestcross mapping, 유전자 지도 작성, QTL분석
 - 유전체 기반 분자표지 개발
 - 개발된 분자 표지의 검정
- 딸기 당도, 경도 관련 분자 표지 개발
 - 자식 고정 계통을 이용하여 GBS 및 QTL 분석을 통해 경도 연관 분자 표지 개발
 - 유전자원 탐색, F₁ 분리집단 작성, pseudotestcross mapping, GBS 방법을 이용하여 유전자 지도 작성 및 QTL mapping
 - 개발된 분자 표지의 검정
- 딸기의 사계성 관련 분자 표지 개발
 - 전사체 정보 기반 분자표지 대량 생산
 - 유전자 지도 작성
 - 개발된 분자 표지의 검정
- 딸기 품종 개발 지원 데이터베이스 개발
 - 국내 딸기 육종소재의 주요 목표 형질 및 원예형질 특성 탐색, 분류 및 데이터베이스화
 - 딸기의 전사체 정보 생산, 분석 및 표준 유전자 세트 구축
 - 딸기의 유전체 정보 생산 및 분자마커 대량 발굴
 - 딸기의 유전체 정보 수집 및 데이터베이스 화
 - 유전자원 형질 정보, 유전체, 전사체, 마커 정보가 통합된 품종 개발 지원용 데이터베이스 구축

2절. 연구개발의 필요성

1. 딸기는 농가 주요 소득 작물로서 원예산업을 선도하고 있으며, 수출 확대 등 성장 잠재력이 큰 품목임

- 딸기 생산액은 현재 1조 2천억원으로 추정되어 과채류 생산액의 25%를 차지하는 중요 농가 소득 작물
 - 딸기 산업 규모 확대: 2004년 6,432억원 → 2012년 11,888억원
 - 농가소득 증가 (축성재배): 2004년 6,450천원/10a → 2012년 11,282/10a
 - 재배면적은 정체 상태이나 가격이 안정된 대표 고소득 작물로 부각
- 원예작물 중 국내 품종개발로 외국품종을 대체한 대표적 사례 작물임
 - 딸기 외국품종 재배비율: 2005년 92% → 2010년 43% → 2012년 28% → 2013년 22% (감소 추세)
 - 국산 품종 ‘설향’ 보급률: 2004년 0% → 2008년 36.8% → 2013년 75.4% (약 5,200 ha)
- 대내외 수출 여건 악화에도 불구하고 수출이 지속적으로 성장하는 수출 전략작목임
 - 딸기 수출실적: 2004년 4백만\$ → 2011년 2천1백만\$ → 2012년 2천2백만\$ → 2013년 2천9백만\$
 - 우수 품종 개발: 국산 품종 매향이 수출 물량의 90% 이상 점유
 - 수출 시장의 다변화로 시장 규모 증대
- 세계 딸기 생산 규모는 약 400만톤으로 생산 면적이 점차 확대되는 추세

2. 딸기 R&D 투자는 타 작물에 비해 상대적으로 불충분하지만 지난 10년간, 지속적인 정책지원과 품종 개발 투자를 통해 우수 국산 품종 개발 및 보급 확대로 딸기산업이 급속한 성장을 이룸

3. 지금까지 딸기는 국내 보급률 향상을 위한 생과용 품종 육성에 초점을 맞춰 왔으나, 내수 시장과 수출 확대를 위해 육종 목표가 다양화 됨

- 국내 딸기 품종 육성은 국가 연구기관에서 전담하고 있음
- ‘설향’ 과 ‘매향’ 품종의 편중재배 (78%)로 이상기온 등에 따른 수급불안 및 수출 물량확보에 어려움 상존하며 종자개발 투자가 절대 부족함
 - 내수용인 ‘설향’ (2005년 육성)이 75% 차지, 수출용 품종은 대부분 ‘매향’ (2001년)으로 이상기온, 병해충발생시 수급 및 수출차질이 우려됨
 - ‘설향’ 은 봄철 (고온기) 이후 과육이 약해 품질이 크게 저하. 국산 품종 보급에 기여도가 높지만 품종 편중 문제 초래
 - ‘매향’ 은 경도가 높지만 수량성이 낮아 수출물량 확보에 어려움이 있으며 기형과 발생 단점이 있음. 품종의 한계를 넘어설 수 있도록 적극적인 신품종 개발 투자가 필요함
- 딸기 수출시장이 홍콩, 말레이시아, 싱가포르 중심에서 아시아 10개국, 러시아, EU, 북미 등으로 변화하고 있어 각 시장에 맞춤형 품종 필요성 증대

4. 국산품종 보급률 90% 이상 강화와 수출 전략 품종 개발을 목표로 하는 **국가기관 주도의 딸기 품종 육성 사업 런칭**

- 전통 육종 방법에 근거한 품종 개발 추진 체계로서 **신속한 신품종 개발과 효율적인 육종을 위해서 분자표지의 필요성 절실**
- 기존 육종 방법은 품종 개발에 많은 인력과 시간이 소요되어 재배 농가와 시장 요구 품종 개발 대응 미흡한 실정
- 최신 육종기술을 적용하여 육종기간 단축 및 효율 증진 필요
- 내수 품종의 육종 목표
 - 다수성 품종 (3.8톤/10a --> 4.5톤/ha)
 - 병저항성 (역병, 탄저병, 시들음병)
 - 국내에서 재배되고 있는 품종 ‘설향’, ‘레드필’, ‘아끼히메’ 모두 탄저병 감수성이어서 그 피해가 심각함
 - 내수용 주요 재배종인 ‘설향’은 특히 역병에 취약함
 - 사계절 재배 및 수확 가능
- 수출 품종의 육성 방향
 - 경도 20g/mm 이상, 당도 12 brix 이상
 - 조기 수확에도 맛 유지
 - 여름 수확 품종 (사계성)
 - 수입국의 기호에 맞는 과형, 과크기 (중국은 강한 빨간색, 동남아는 큰 과실 선호)
- 이외에 가공용 및 기능성 품종에 개발에 대한 육성 방향

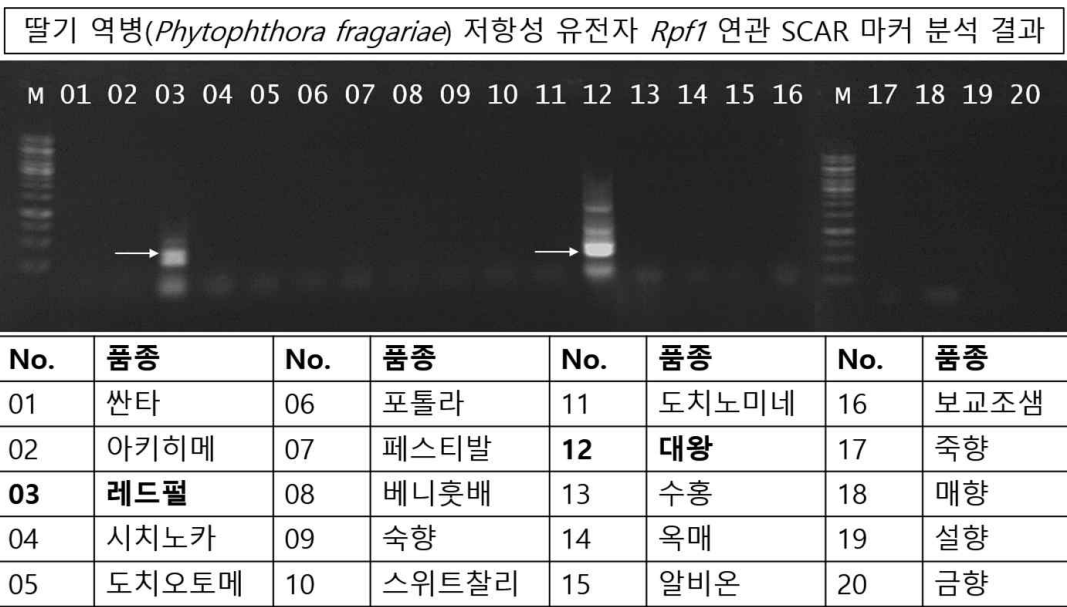
5. 딸기는 첨단 육종 기술 활용을 통한 **육종 연한 단축 및 육종 효율 증진 기술 개발의 절실**

- 딸기는 영양변식작물로 세대 단축이 어렵고 순계 작성이 어려워 전통육종방법으로는 많은 시간과 비용이 소요되어 분자육종 기술도입이 요구되고 있으나 국내 딸기 분자표지 연구실적은 미미한 실정
- 농산물 시장 개방으로 기술력 기반 고품질 농산물 생산을 위한 종자 개발이 필요하며, 해외 농산물 시장 개방에 따른 기회를 활용하기 위하여 글로벌 농업을 염두에 둔 효율적인 육종 시스템 확립이 필요함
- 첨단 오믹스 기법을 이용한 유용 형질의 조기 진단 분자표지 개발 및 선발/탐색 마커 개발은 딸기 품종 개발에 있어 효율과 경제성을 확보할 매우 중요한 tool 임
- 여러 가지 딸기 형질에 대한 분자표지가 개발이 되면 수출에 필요한 복합적인 형질을 지닌 품종을 빠른 시일 내에 개발이 가능하며 육종목표의 범위를 정밀하게 조절하는 것도 또한 가능하게 됨. 수출과 관련하여 확실한 목표 형질을 가진 개체를 유묘시기에 효율적으로 선발할 수 있기 때문에 분자마커를 이용하면 다변화되고 있는 수출 시장에 대한 신속 대응이 가능함
- 따라서 국제 경쟁력 있는 소비자 지향적 고부가가치 품종 개발이 필요한 시점이며, 이를 위한 신속 정확, 고효율적인 신품종 개발을 위한 국제 경쟁력 있는 첨단 tool 개발이 절실함

- 딸기 신품종 개발을 위한 분자지표 개발에 있어 현재 진행중인 딸기 육종 프로그램의 육종 목표와 일치하는 형질인 병저항성, 경도, 당도 및 사계성 형질에 대한 분자지표 개발이 우선시 됨

6. 딸기 역병 저항성 연구 현황과 문제점

- 딸기에 심한 피해를 주는 역병은 세계적으로 4종의 역병균 (*Phytophthora cactorum*, *P. fragariae*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* var. *parastica*)이 보고되어 있는데, *P. cactorum*은 뿌리 (root rot)와 관부 (crown rot) 및 과실 (fruit rot)에 주로 피해를 주고, *P. fragariae*는 뿌리에 주로 피해를 주고, *P. citrophthora*와 *P. nicotianae* var. *parastica*는 과실에 주로 피해를 주는 것으로 알려져 있음. 그 중 국내에서는 *P. cactorum* 균이 역병을 일으키는 주된 원인균인 것으로 보고됨
- 딸기 역병 저항성 연관 분자표지에 관한 연구는 1997년 *P. fragariae* 저항성 유전자인 *Rpf1*에 연관된 RAPD 분자표지 (OPO-16)가 보고된 바 있고, 그 후 2006년에 이 RAPD 분자표지 (OPO-16C)를 SCAR 분자표지로 개발한 연구가 있음
- 본 과제를 준비함에 있어 이 SCAR 분자표지를 20개의 딸기 품종에 적용해 본 결과, 레드필과 대왕 품종에서만 역병 (*P. fragariae*)에 대한 저항성이 있을 것으로 추정됨



- 그에 반해 *P. cactorum* 저항성에 관한 연구는 전 세계적으로 미미한 실정인데, *P. cactorum*에 대한 저항성은 여러 개의 상가적 유전자가 관여된다는 보고만 있을 뿐, 자세한 유전분석 결과나 저항성 연관 분자표지에 관한 연구는 전혀 보고된 바 없음
- 하지만 최근에 2배체 딸기 (diploid *Fragaria* species)를 이용하여 *P. cactorum*에 대한 저항성을 분석한 논문이 보고되었지만, 국내에 재배되는 딸기는 2배체가 아닌 8배체 딸기 (*Fragaria x ananassa*)이기 때문에 역병 저항성 2배체 딸기 (*Fragaria vesca*)를 역병 저항성 8배체 딸기 육종에 바로 이용하기는 힘든 상황
- 따라서 다양한 8배체 딸기 (*Fragaria x ananassa*) 유전자원에서 역병 (*P. cactorum*)에 대한 저항성 자원을 찾을 필요가 있고 또한 그것을 이용한 역병 저항성 딸기 육종을 위해서는 역병 저항성에 대한 유전분석 및 연관 분자표지 개발이 절실히 요구됨

7. 탄저병 저항성 연구와 분자표지 개발의 필요성

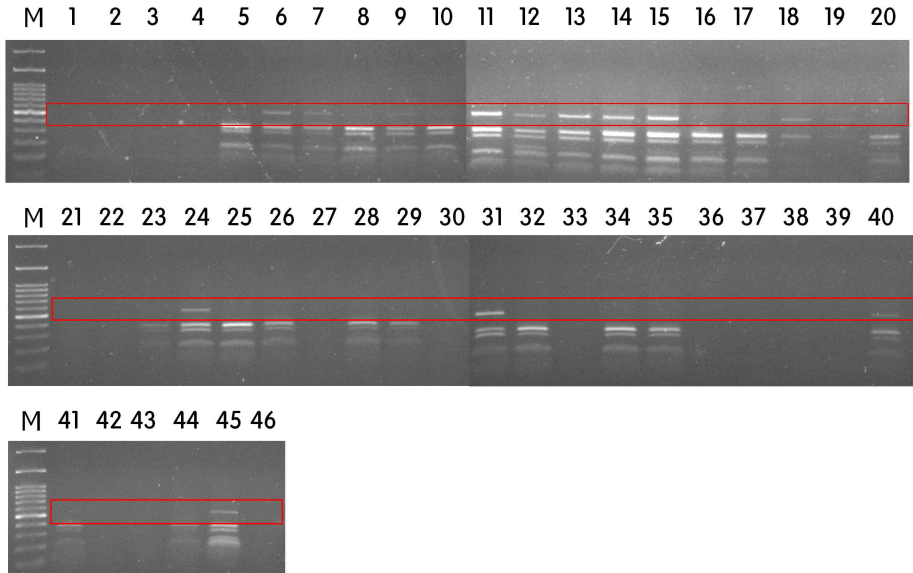
- 국내 딸기에서 발생하는 탄저병은 잎과 엽병, 런너, 크라운에 발생하는 탄저병균 *Colletotrichum gloeosporioides* 와 과실에 발생하는 탄저병균 *C. acutatum* 이 보고됨
- 그러나 최근에 탄저병균은 type 균주에 대한 재정립과 함께 분자 분류학적 분석을 통해 국내 딸기에 발생하는 *C. gloeosporioides*는 *C. fructicola*로 재평가됨
- 탄저병은 식물체에서 특별한 증상이 없이 잠재감염 상태로 존재하였다가 발병에 유리한 환경조건이 되면 발생하기 때문에 **잠재 감염주를 조기 진단하거나 살균제 처리 등 노력과 비용이 많이 소요**되므로 탄저병 저항성 품종을 육성하여 재배하는 것이 필요
- 국외에서는 국내에서 주로 문제되는 병원균과는 다른 종류인 *Colletotrichum acutatum*에 대한 저항성을 갖는 SCAR 마커가 개발되었고, 유전양식에 관한 연구도 이루어진 바 있음
- 또한 일본에서는 QTL 분석에 의하여 탄저병 저항성과 관련된 QTL을 발견하였고, 이를 이용한 특허가 공개(2015. 4.)되었으나, 국내 육종현장에 바로 적용하기는 어려우며, 국내에서도 탄저병 저항성과 관련된 SCAR마커가 제작 되었으나 범용으로 적용 되지 않아, 유전집단의 종류를 달리하고 다양한 접근방법을 통하여 딸기 품종개발에 범용으로 적용할 수 있는 마커 개발이 필요함.
- 딸기 탄저병은 주로 육묘기에 발생하여 문제가 되는 주요 병해로서 국내에 재배되고 있는 딸기 품종이 ‘설향’, ‘아끼히메’, ‘레드필’ 등이 모두 감수성이며, 특히 내수 품종의 75% 이상을 ‘설향’이 차지하여 발병시에는 그 피해가 매우 심각
- 따라서 딸기 **탄저병 저항성 품종 육성은 절실하며, 관련 분자표지개발은 조기에 우수한 품종을 육성하는데 매우 중요한 역할을 할 것임**

8. 딸기 고경도 품종개발 연구 현황 및 분자표지 개발 필요성

- 딸기 분자표지의 경우 국내 육성 품종과 일본 품종을 구별할 수 있는 RAPD, SSR, AFLP 등의 품종판별 분자표지가 주로 보고되어 있으며, 품질관련 분자표지 연구는 전무한 상태임
- 본 과제 참여 기관인 충남농업기술원에서는 최근 약배양에 의한 고경도 계통 육성 연구가 진행 중임
- 국내 신선딸기의 수출 증대를 위하여 수출에 유리한 고품질의 고경도 품종 육성이 절실히 요구되고 있음
- 우리나라의 경우 육종소재가 거의 일본 품종이어서 유전변이 폭이 협소하며, 특히 고경도 등의 유전자원 확보가 시급함
- 이러한 단점 보완을 위해서는 고경도 계통의 유전분석이 필요하고 지속적인 유전자원 수집 및 창성이 필요함
- 본 과제 참여 기관인 국립원예특작과학원에서는 국내외 재배품종 13종으로부터 2004년부터 7~9세대 자식으로 100여개의 inbred 계통을 육성하였으며, 이 고정계통을 이용하여 딸기 유전 분석 연구를 수행하고 있음
- 이 고정계통을 이용하여 계통별 특성조사와 연계하여 계통별 유전변이를 분석하고, 딸기 품종 육성 목표의 주요한 특성 중 하나인 고경도 연관 분자표지를 개발하면 딸기의 체계적인 품종 육성이 가능할 것임

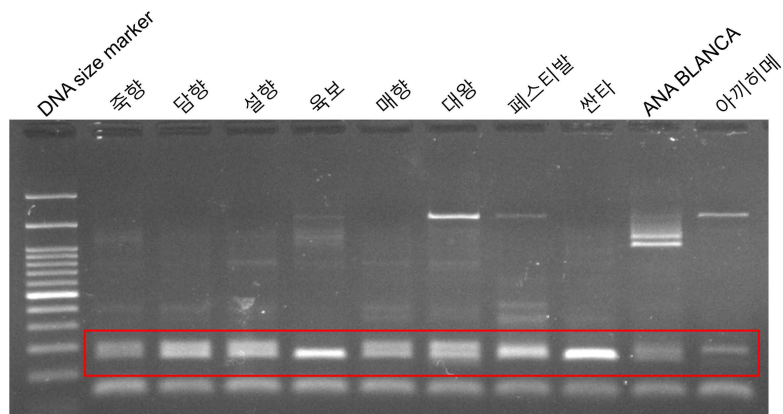
9. 딸기 당도 연관 분자표지 개발 필요성

- 현재 국내에서 내수용으로 재배되고 있는 설향 품종의 당도는 10~11° Brix 정도로 당도가 높지는 않음
- 국내 수출용으로 재배되는 매향은 당도가 높고 (12.0Brix, 농촌진흥청) 딸기에서 나는 향 또한 매우 좋으나 기형과 발생률이 높고 재배가 까다로워 대체 품종이 요구됨
- 당도마커가 fructose 함량 관련 마커가 보고된바 있으나, 2배체 딸기에서 개발된 마커로서 재배딸기에는 적용되지 않음



<담양농업기술센터 딸기 품종 및 계통 46종을 이용한 Fructose 관련 마커 VT-022 검정 결과>

- 위 샘플 37-43번은 저당도 품종이지만 마커 밴드가 검출되는 경우와 나머지 비교적 고당도의 품종에서도 밴드가 검출되거나 되지 않아 현 재배 품종의 당도와 보고된 마커는 상관성이 없는 것으로 판단됨



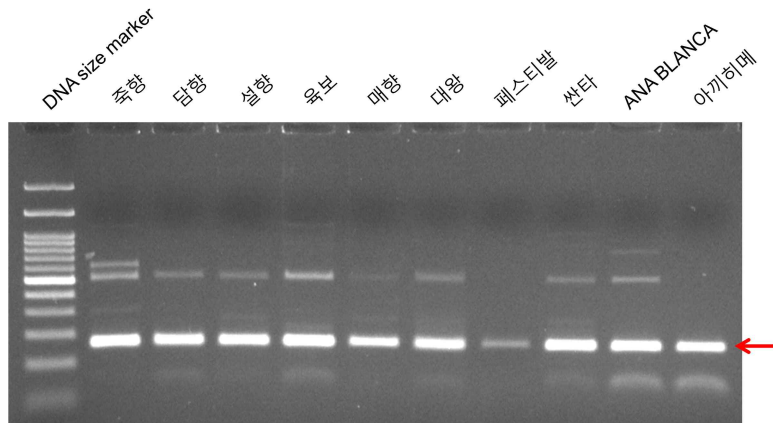
<현 재배품종의 Fructose 마커 EMFn134 검정 결과>

- 위 샘플 중 페스티발은 저당도 품종이지만 다른 품종들과 같은 밴드가 검출되어 현 재배품종의 당도와는 상관성이 없는 것으로 판단됨

- 딸기는 품질 관련 형질이 가장 중요한 형질이며, 한 품종에 치우친 내수용 품종과 수출용 품종을 시급히 대체할 품종 개발에 있어서 당도 연관 분자표지의 개발은 그 파급효과가 막대할 것으로 판단 됨

10. 사계성 분자표지의 개발 현황

- 2배체 딸기에서 개발되어 기 보고된 사계성 분자표지가 있으나 현 재배품종에는 적용되지 않음



<기보고된 seasonal flowering locus SFL-SCAR-3 분자마커를 이용한 현 재배 딸기 품종 검정>

- 위 샘플 중 페스티발과 ANA BLANCA는 사계성 품종이지만 다른 일계성 품종과 마커 검정결과가 일치해서 본 마커와 재배 품종의 사계성과 상관성이 없음

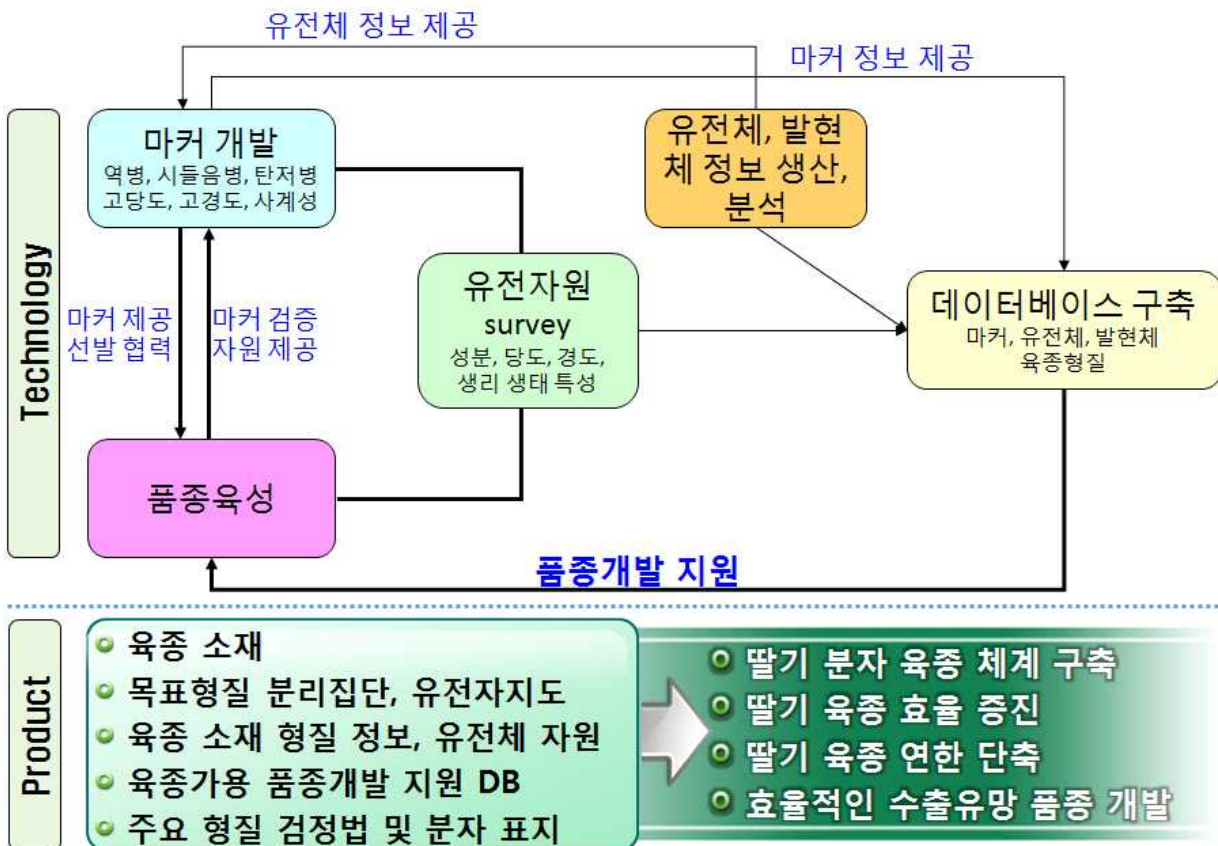
- 사계성 딸기의 개발은 딸기의 출하시기를 분산시켜 내수시장 및 생과 수출시장을 확대할 수 있어 사계성 분자표지의 개발은 품종 개발에 있어 매우 중요

11. 국내 육종 실정에 적합한 국내 육종가용 품종개발 지원 데이터베이스 필요

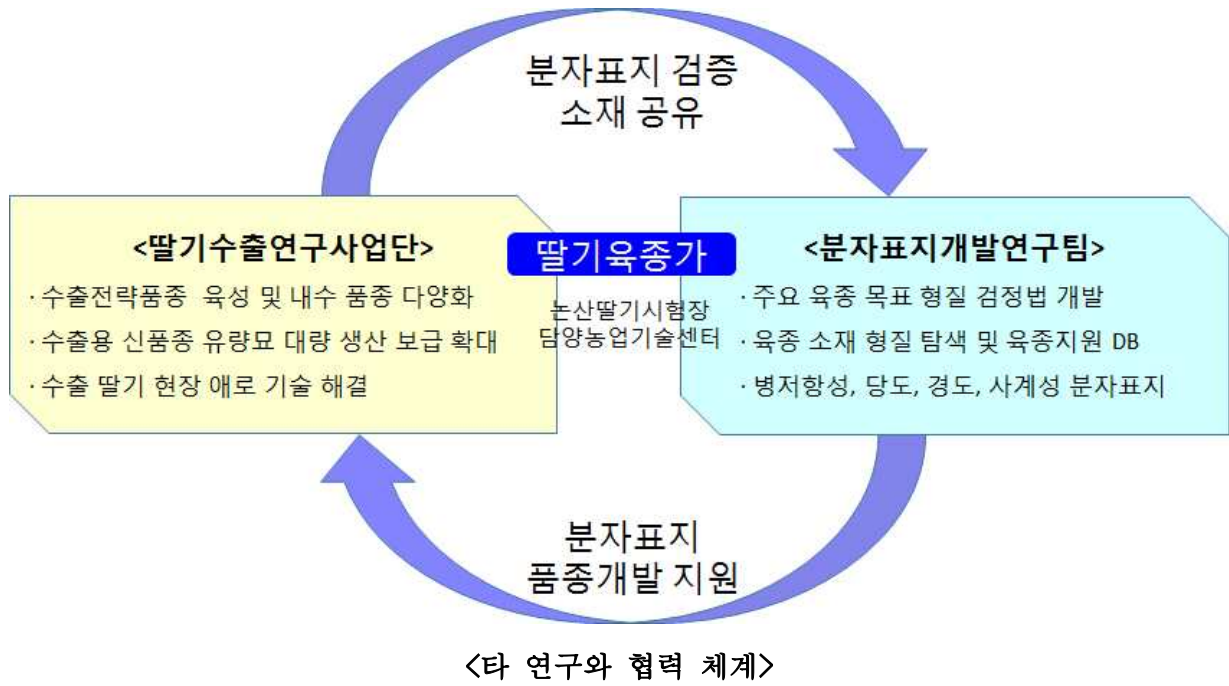
- 야생딸기 (*Fragaria vesca*)의 유전체 정보 해독으로 총 201Mb, 3,263 scaffold의 2배체 유전체 정보가 보고되어 표준유전체정보로서 역할을 함
- 재배종인 8배체의 유전체 정보 또한 1차 가공 상태로 보고되어 있음
- 딸기 유전자원은 논산딸기시험장, 국립원예특작과학원, 담양군농업기술센터, 성주과채류 시험장 및 국립농업유전자원센터에 수집 또는 작성되어 관리 하고 있으며, 일부 자원에 대한 원예적 특성이 검정되어 있으나 **총괄적이고 표준적인 특성검정 자료의 부재로 자원 이용에 한계**
- 분자표지 개발에 활용 가능한 공공 자원이 존재하지만 실제 육종 또는 분자표지 개발용으로 가공되지 않아 이용에 제약이 많은 상태
- 필요한 정보가 집약되어 있고 육종가가 이용하기 용이하고 국내 육종 실정에 적합한 **국내 육종가용 품종개발 지원 데이터베이스 필요**
- 따라서, **경제적이고 효율적으로 수출유망 딸기품종과 내수 확대용 딸기품종을 개발을 위해 딸기의 분자표지 개발이 시급**
- 현재 진행 중인 **딸기 육종 프로그램과 연계하며 병저항성, 품질관련, 사계성 분자표지의 개발이 우선시 됨**
- 또한 확보된 유전자원의 **총괄적이고 표준적인 육종 형질 탐색 정보와 품종개발지원 데이터베이스, 체계적인 육종소재의 관리**는 지속적이고 효율적인 고급 딸기 품종 개발의 플랫폼으로 역할을 할 것임

3절. 연구개발 범위

- 본 연구의 추진체계는 품종육성가로 구성된 소재 제공 및 개발 분자표지 현장 검정 연구진, 학연체계로 구성된 연구진의 목표형질 검정법 및 분자표지 개발, 그리고 이를 지원하고 도출결과를 통합하여 활용하기 용이한 상태로 재 가공하고자하는 유전체 및 데이터베이스 전문연구진으로 구성
- 현재 우리나라의 딸기 품종 육성은 국내재배품종의 78% 이상을 차지하는 ‘설향’, ‘매향’의 국산 품종 보급에 성공한 충남농업기술원 논산딸기시험장을 중심으로 육성되고 있으며 본 연구팀에 주요 육종가로 참여하여 소재를 제공함
- 또한 최근 ‘담양’ 품종의 개발기관인 담양농업기술원이 소재와 개발 분자표지 검정부문을 담당하며 본 연구에 참여
- 내수 시장과 수출 확대를 위한 딸기 품종 개발 연구가 딸기사업단의 사업으로 진행 중이며, 본 연구과제에서는 딸기 육종 프로그램의 육종 목표와 일치하는 형질인 병저항성, 품질 관련 및 사계성 연관 분자표지를 개발하여 딸기신품종개발을 실질적으로 지원하고자 하는 체계로 구성
- 첨단 오믹스 기법을 이용한 유용 형질의 조기 진단 분자표지 개발 및 선발/탐색 분자표지 개발을 통해 딸기 품종 개발에 있어 효율과 경제성을 확보할 tool을 개발하고자 하는 추진 체계임
- 연구 및 육종에 사용하는 소재의 목표형질 및 원예적 특성에 대한 검정은 각 세부 및 협동과제의 분자표지개발 목표 형질에 맞게 공동으로 협력 수행
- 품종 육성팀과 연구진과의 소재 공유, 개발된 형질 검정법으로 육종가 즉시 지원, 도출되는 모든 생명 정보 자원 및 연구 기술의 공유를 통한 연구 효율 증진의 체계로 구성



<연구 추진 체계 및 주요 연구 성과물, 연구 효과>



2장. 연구수행 내용 및 결과

1절. 연구개발 추진 전략 및 방법

- 딸기 육종소재의 주요 형질 원예적 특성 분석을 위한 유전자원은 논산딸기시험장으로부터 분양받아 재배 및 표현형 조사를 수행
- 딸기 유전체 정보 및 genome assembly 정보, CDS 정보, protein 정보, unigene 정보와 기존에 보고된 EST 데이터는 Strawberry GARDEN, Phytozone v10, GDR, dbEST에서 수집하여 가공함
- 딸기 유전체 정보 기반 유용형질 관련 분자마커 대량 발굴
 - 사계성 형질과 관련하여 개화관련유전자의 염기서열을 분석하여 SNP를 발굴
 - 고당도와 저당도 유전자원의 당도분석 및 당 합성 관련 유전자의 발현을 분석
 - 탄저병 저항성 관련 품종의 전사체 정보 생산 및 저항성 특이적인 SNP를 발굴하여 증폭 인자를 개발함 (3협동과 협력으로 추진)
 - 탄저병 저항성 관련 유전집단(‘보교조생’ X 매향’, ‘보교조생’ X ‘아키히메’)을 작성하여 유전자지도 작성 및 탄저병 저항성 관련 QTL을 분석하고, SNP 마커를 개발 (3협동과제와 협력)
- 딸기 경도 관련 유전자원 탐색 및 경도 정밀검정법 개발
- 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F1 조합 선발 및 F2 조합작성
- 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 SNP 분자표지 개발
- 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 경도 연관 분자표지 개발
- 개발한 딸기 고경도 연관 분자표지의 실용성 검정
- 본 연구과제에 참여하는 국내 대표적 딸기 품종 육성기관의 주요 육종가들은 육종에 사용하고 있는 육종 소재를 본 연구의 재료로 제공하여 보다 실용적이고 직접 활용 가능한 분자표지를 개발하고자 함
- 본 연구과제는 국내 딸기사업단의 품종육성팀과 육종 소재의 공유와 개발된 분자표지의 활용에 있어 긴밀한 협조체제로 추진
- 육종 소재 및 유전자원의 목표형질 및 원예적 특성 검정은 본 과제 참여 기관인 논산딸기시험장과 담양농업기술센터와의 협력으로 추진
- 본 과제에서 분자표지 개발 목표 형질인 역병저항성에 대한 검정법을 개발, 확립하고 이를 바탕으로 분자표지 개발 연구를 진행하고자 함
- 확립된 검정법은 즉시 직접적으로 육종가의 품종육성 과정에 도입하여 육종가를 지원하고자 함
- 각 형질의 표현형에 대한 정의는 육종가의 정의를 적용하고 실험적 진단 기법과 육종 현장의 여 개발 마커의 현장 활용도를 극대화 함
- 본 연구에서는 범용 가능한 분자표지를 개발하고자 유전자지도, 유전체 정보 기반의 연구를 수행 함
- Heterozygous한 딸기의 유전자 지도 작성은 F₁ 분리집단을 이용하는 double pseudotestcross mapping 방법을 이용하여 모본 부분의 순계작성 및 순계분리집단 작성 기간을 거치지 않아 본 연구기간 안에 완성 계획
- 분자표지 개발 전략에 있어 유전자 또는 유전체 기반으로 유전자 지도 정보와 형질의 평가 후 필요시 QTL 분석 정보를 통합하여 접근하여 범용 마커를 개발하고자 함

- Genotyping by sequencing(GBS)은 차세대 염기서열 분석 기술(NGS)을 바탕으로 한 최신 기술로, 목표 유전체를 제한효소로 처리한 후 잘려진 주변 서열만을 읽어 저렴한 비용으로 빠르고 쉽게 유전체 분석을 할 수 있는 기술이며 이 기술을 이용하여 단기간에 유전자지도 작성 및 수천 개의 SNP(single nucleotide polymorphism) 분자표지 확보
- 차세대 염기서열 분석(NGS)을 통한 딸기 유전체 정보 이용하여 기 보고된 야생 딸기 및 다른 종의 딸기 유전체 정보를 레퍼런스(Hirakawa et al. 2014, <http://strawberry-garden.kazusa.or.jp/>)로 활용하여 SNP 대량 발굴하고 분자표지 개발을 위한 정밀 유전자 지도를 작성
- 도출되는 분자표지는 딸기 품종 육성 현장에 적용하여 검정
- 본 연구의 추진체계는 품종육성가로 구성된 소재 제공 및 개발 분자표지 현장 검정 연구진, 학연체제로 구성된 연구진의 목표형질 검정법 및 분자표지 개발, 그리고 이를 지원하고 도출결과를 통합하여 활용하기 용이한 상태로 재 가공하고자하는 유전체 및 데이터베이스 전문연구진으로 구성
- 현재 우리나라의 딸기 품종 육성은 국내재배품종의 78% 이상을 차지하는 ‘설향’, ‘매향’의 국산 품종 보급에 성공한 충남농업기술원 논산딸기시험장을 중심으로 육성되고 있으며 본 연구팀에 주요 육종가로 참여하여 소재를 제공함
- 또한 최근 ‘담양’ 품종의 개발기관인 담양농업기술원이 소재와 개발 분자표지 검정부문을 담당하며 본 연구에 참여
- 내수 시장과 수출 확대를 위한 딸기 품종 개발 연구가 딸기사업단의 사업으로 진행중이며, 본 연구과제에서는 딸기 육종 프로그램의 육종 목표와 일치하는 형질인 병저항성, 품질 관련 및 사계성 연관 분자표지를 개발하여 딸기신품종개발을 실질적으로 지원하고자하는 체계로 구성
- 첨단 오믹스 기법을 이용한 유용 형질의 조기 진단 분자표지 개발 및 선발/탐색 분자표지 개발을 통해 딸기 품종 개발에 있어 효율과 경제성을 확보할 tool을 개발하고자 하는 추진 체계임
- 연구 및 육종에 사용하는 소재의 목표형질 및 원예적 특성에 대한 검정은 각 세부 및 협동과제의 분자표지개발 목표 형질에 맞게 공동으로 협력 수행
- 품종 육성팀과 연구진과의 소재 공유, 개발된 형질 검정법으로 육종가 즉시 지원, 도출되는 모든 생명 정보 자원 및 연구 기술의 공유를 통한 연구 효율 증진의 체계로 구성
- 딸기 탄저병 저항성 마커개발을 위한 유전집단 육성 및 이병지수 조사
 - 딸기 탄저병에 저항성인 ‘Hokowase’와 이병성성인 ‘Akihime’ 및 ‘Maehayang’을 이용하여 F1S1 및 F1의 실생묘를 이용하여 분리집단을 육성하고, 집단별 각각의 개체별로 런너를 이용하여 20주 이상 증식 후 유지하면서 DNA분석과 이병지수 조사에 이용
 - 유전집단의 탄저병 이병지수는 논산딸기시험장에서 보관중인 균주를 이용하여 포자현탁액으로 만들어 분무하고, 과습상태로 3일 간 유지한 다음 판정기준에 따라 5단계(0, 1, 2, 3, 4)로 나누어 조사
- 딸기 유전집단의 DNA 다형성 분석 및 마커 개발
 - 딸기 유전집단 중 ‘Akihime’ x ‘Hokowase’ F1S1 집단과 ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ F1 집단과 10mer 랜덤프라이머를 이용하여 각각의 DNA다형성을 조사
 - 유전집단의 DNA다형성 조사결과와 탄저병 이병지수 조사 결과를 이용하여 1차로 탄저병 저항성 마커를 선발하였고, 이중 일부를 SCAR마커로 전환
- 딸기 고당도 및 사계성 관련 소재 개발
 - 육종 소재 및 유전자원의 목표형질 및 원예적 특성 검정은 본 과제 참여 기관인 논산딸기시험장과 담양농업기술센터와의 협력으로 추진

- 육종소재를 활용한 당도 및 사계성 유전집단 작성 및 분자마커 개발을 위한 딸기 품종 구별 SNP 마커개발이 요구됨

○ 딸기 고당도 및 사계성 분자 마커 개발

- 기 보고된 당도 및 사계성 관련 QTL 정보 수집 및 관련 유전자 탐색 후 이 정보를 이용하여 기 보유하고 있는 딸기 품종 및 계통에 적용
- 당도 관련 인자의 발현여부 및 발현정도를 구분하기 위한 발현체 분석을 통해 당도 및 색소 관련 후보유전자 선발
- Next Generation Sequencing (NGS) 기술인 RAD-sequencing 분석을 통하여 얻은 high-throughput 유용 SSR, SNP/InDel 탐색 및 유전자 지도(Linkage map) 작성
- 당도 및 사계성 관련 교배친 및 F1분리 집단에 대한 분자표지를 활용한 유전자형과 당도, 산도에 대하여 QTL map을 작성하고, 당도 및 사계성 품종선발을 위한 후보 분자표지 선발
- 선발된 분자표지를 이용한 기 보유 유전자원 및 새롭게 수집된 유전자원 중 당도 및 사계성 자원을 활용 Validation 검증
- 본 연구팀은 SNP, SSR, Indel 등 genome 내의 다형성을 새로운 기술을 도입 및 개발하여 시험할 수 있는 기술과 기기를 보유하고 있음. 이러한 기술력과 보유 장비는 마커 서비스에 이용할 수 있으며, 새로운 마커 개발에 유용하게 이용 될 수 있음
- 본 연구팀은 Fluidigm사의 EP1 system (대용량분석시스템)을 갖추고 있어 단시간내에 대량 SNP 분석이 가능함. 1번의 반응으로 약 2500개-10,000개의 시료 분석 가능. 이러한 기술은 많은 양의 시료를 저비용으로 단시간내에 분석할 수 있는 system임. 딸기 품종 개발 중 F1 세대나 F2세대에서 단시간내에 분자마커 결과 확인
- 당도와 사계성 관련 기존 마커를 이용한 선행연구 실험결과 실험에 사용한 기존의 모든 마커들은 보완이 필요함. 따라서 개발된 SNP 분자 마커를 활용한 8배체의 딸기 품종에 대한 다양한 형질에 대한 새로운 분자마커 개발에 활용

2절. 연구개발 성과

1. 논문게재 성과

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	The genetic diversity among strawberry breeding resources based on SSRs	Scientia Agricola	Soohw an Lim	74	브라질	SciELO	SCI		
2	Sugar content and expression of sugar metabolism-related gene in	J. Plant Biotechnol.	Jeongyeo Lee	45	대한민국	Korean Society for Plant Biotechn	비SCI		

	strawberry fruits from various cultivars					ology			
3	Genotyping of Octoploid strawberry inbred lines by SNP discovery using Genotyping-by-sequencing	Horticulture, Environment, and Biotechnology	김진희	게재 확정(출판 일정 미정)	대한민국	게재 확정(출판 일정 미정)	SCI	게재 확정(출판 일정 미정)	게재 확정(출판 일정 미정)
4	SNP 분자표지를 이용한 8배체 딸기(<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.) 유전자지도 작성	한국육종학회지	이예린	49(3): 119-128	대한민국	한국육종학회	비SCI	2017.9.1	doi:10.9787/KJBS.2017.49.3.119
5	생물검정을 이용한 딸기(<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.) 유전자원의 역병균(<i>Phytophthora cactorum</i>)에 의한 crown rot 저항성 평가	한국육종학회지	이예린	50(3): 203-210	대한민국	한국육종학회	비SCI	2018.9.1	doi:10.9787/KJBS.2018.50.3.203
6	A system for distinguishing octoploid strawberry cultivars using high-throughput SNP genotyping	Tropical Plant Biology	정희정	2017(10) 68-76	영국		SCIE		1935-9756
7	Sugar content analysis and expression profiling of sugar related genes in contrasting Strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>) cultivars	Journal of Plant Biotechnology (한국식물생명공학회지)	Ashokraj Shanmugam	Vol. 44(2): 178-190	대한민국		비SCI (SCOPUS)		1229-2818
8	Expression Profiling of Regulatory and Biosynthetic Genes in Contrastingly Anthocyanin Rich Strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>) Cultivars Reveals Key Genetic Determinants of Fruit Color	IJMS (International Journal of Molecular Sciences)	Mohammad Rasheed Hossain	2018, 19, 656	스위스		SCIE		1422-0067
9	High density	Scientific	Moha		영국		SCI		

	linkage map and QTL for runner production in allo-octoploid strawberry, <i>Fragaria</i> x <i>Ananassa</i> based on ddRAD-seq derived SNPs	Report	mmad Rashe d Hossai n						
10	SNP based high density linkage map construction and identification of sugar related QTL in <i>Fragaria</i> x <i>Ananassa</i> using duple digested restriction site-associated DNA sequencing	Frontiers in Plant Science	Moha mmad Rashe d Hossai n		스위스		SCIE		

2. 특허 성과 (품종출원, 등록 성과)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	사계성 또는 일계성 딸기 품종 선별용 SNP 마커 및 이의 용도	대한민국	김혜란 이정여 노영희 김현비	2017.7.18	10-2017-0090672	김혜란 이정여 노영희 김현비	2018.7.19	10-1881977	50
2	딸기 품종 식별용 SNP 마커 세트 및 이를 이용한 딸기 품종 식별 방법	대한민국	노일섭 황인덕 정희정	2016.06.01	10-2016-0067856	노일섭 황인덕 정희정	2017.11.03	10-1796260	100
3	딸기 탄저병 저항성 중간모본 논산 9호(Nonsan-9)	대한민국	김현숙 남명현 함인기 장원석 김태일 이희철	2016	출원-2016-325				100

3. 기술요약 정보: 해당사항 없음

4. 보고서 원문: 해당사항 없음

5. 소프트웨어: 해당사항 없음

6. 생명정보

No	생명정보	등록번호	등록기관	발생년도
1	딸기 8배체 SNP (HRM) 분자표지	NM-0435-000001 ~ NM0435-000224	NABIC (농업생명공학정보)	2017.1.23

			센터) NABIC (농업생명공학정보 센터)	
2	딸기 8배체 SNP (HRM) 분자표지	NM-0517-000001 ~ NM-0517-000433		2018.6.4

7. 화합물: 해당사항 없음

8. 국내 및 국제학술회의 발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	한국원예학회 정기총회 및 제104차 춘계학술발표회	이정여	2016.5.25~2016.5.28	창원컨벤션센터	대한민국
2	International Conference of the Genetics Society of Korea 2016	이정여	2016.9.9~2016.9.11	제주도, 라마다 플라자 제주 호텔	대한민국
3	PAG Asia 2017	김혜란	2017.5.29.~2017.5.31	서울, 콘래드호텔	대한민국
4	2018년 한국식물생명공학회 정기학술발표회 및 정기총회	이정여	2018.05.31.~2018.6.2	여수엑스포컨벤션센터	대한민국
5	2017 한국식물생명공학회 정기학술발표회 및 총회	이정여	2017.6.8.~2017.6.9	대전, 호텔 인터시티	대한민국
6	2016 한국육종학회-차세대BG21사업단-GSP사업단 공동심포지엄	김진희	2016.6.29.~2016.7.01	청주 라마다 플라자 호텔	대한민국
7	PAG Asia 2017	김진희	2017.05.29.~31	서울, 콘래드호텔	대한민국
8	추계원예학회	김진희	2017.10.11.-14	송도컨벤시아	대한민국
9	Plant Animal Genome 2018	Abinaya Manivannan	2018. 5. 30.(수) ~6. 1(금)	서울 콘래드 호텔	대한민국
10	2016 한국원예학회 정기총회 및 제104차 춘계학술발표회	이예린	2016.5.26	창원컨벤션센터	대한민국
11	2016 한국육종학회-차세대BG21사업단-GSP사업단 공동심포지엄	이예린	2016.6.30	청주 라마다플라자 호텔	대한민국
12	2017 한국원예학회 정기총회 및 제106차 춘계학술발표회	이예린	2017.5.25	대전컨벤션센터	대한민국
13	2017 한국육종학회-차세대BG21사업단-GSP사업단 공동심포지엄	이예린	2017.7.5	대구 엑스코(EXCO)	대한민국
14	2018 한국원예학회 정기총회 및 제108차 춘계학술발표회	이예린 (구두)	2018.5.24	대전컨벤션센터	대한민국
15	2018 ASHS Annual Conference	이예린	2018.8.3	Washington DC	미국
16	2016 한국육종학회-차세대BG21사업단-GSP사업단 공동심포지엄	정희정	2016.06.29	라마다플라자 호텔(청주)	대한민국
17	일본원예학회	김희택	2018.03.24	일본 킨기대학	일본

3절. 연구결과

1. 딸기 육종소재의 주요 형질 원예적 특성 분석

가. 논산딸기시험장으로부터 육종 소재 및 유전자원의 runner를 분양받아 각 유전자원당 10~15주씩 증식하여 표현형 조사를 위한 재배 준비를 하였다. 1차년도에는 53점 유전자원 (2015년 9월 17일 정식), 2차년도 61점 유전자원 (2016년 9월 19일 정식), 3차년도에 62점 유전자원 (2017년 9월 18일 정식)의 딸기묘를 논산딸기시험장 비닐하우스에서 정식 후 딸기의 주요 표현형 (과중, 엽형, 초형 및 과형)과 경도, 당도 및 산도를 조사하였다. 총 164점의 유전자원을 3년으로 나누어 표현형 조사를 수행하였기 때문에 ‘설향’, ‘매향’, ‘보교조생’, ‘아키히메’, ‘페스티발’, ‘포틀라’ 6개 유전자원을 매년 반복하여 표현형을 조사하였다. 표현형 조사를 수행한 164점 유전자원의 목록은 표 1-1과 같다.

표 1-1. 주요 형질 원예적 특성 분석을 수행한 164점 딸기 유전자원 (육종소재) 목록

1차년도 (2015년)	2차년도 (2016년)	3차년도 (2017년)
관하	Aiberry	알프스
구노와세	Armored	America
금향	Bious	Blackmore
담향	Caminoreal	Cardinal
대왕	Cascade	Catskill
도요노카	Comet	Cavalier
도치노미네	Dabreak	Chioensis
도치오토메	Diamante	Columbia
레드벨	Elista	Cyclone
레드필	Favette	Donner
만향	J&Q's early	Doutch
매향	Jansan	Festival
명보	Juspa	Guardian
몬터레이	Kama	Guardsmen
베니훗페	Linn	Jerseybelle
베리스타	Micmac	클론다이크
보교조생	Missionary	Lassen
볼레로	Northwest	Marshall
사가호노카	Redrich	Newyork884
사치노카	Ventana	Pegasus
샌안드레아스	고령	핑크팬더
생가생가나	구루메52	포틀라
설향	금실	Premire
설홍	길경53	Redgrow

수경	나오아미	Redguantlet
수홍	니이가다	Regina
숙향	다홍	Selva
스위트찰리	단미	생각이나
신여봉	대학1호	Shasta
싼타	테루노카	Starcrimson
씨베리	레이유	Sunrise
아마오우	록기하라	Sweetcharlie
아스카웨이브	매향	Tohoe
아이베리	미홍	Victoria
아카네코	보교조생	Zepier
아카샤노미즈코	사계절	고하
아키히메	설향	도요타마
알비온	성강17호	두리향
에버베리	성강19호	라이호우
여봉	슈코	매향
여홍	스위트찰리	베리스타
오소그란테	신명	보교조생
옥향	신설매	삐아베리
점보푸어베리	아람	사마베리(썸머베리)
죽향	아마카	설향
카렌베리	아스카	아리향
카마로사	아이히메	아마오우
카오리노	아키히메	아마카
타마르	옥매	아키히메
페스티발	원교3111	야마가타
포틀라	원육	에치고히메
플라멩고	점보	여홍
하루노카	조생홍심	오키미
	조홍	요요히메
	천학	점보
	초동	점보푸어베리
	킹스베리	키누야마
	페스티발	키타에쿠보
	페치카	킹스베리
	포틀라	향미
	하루요이	홍복
		환타

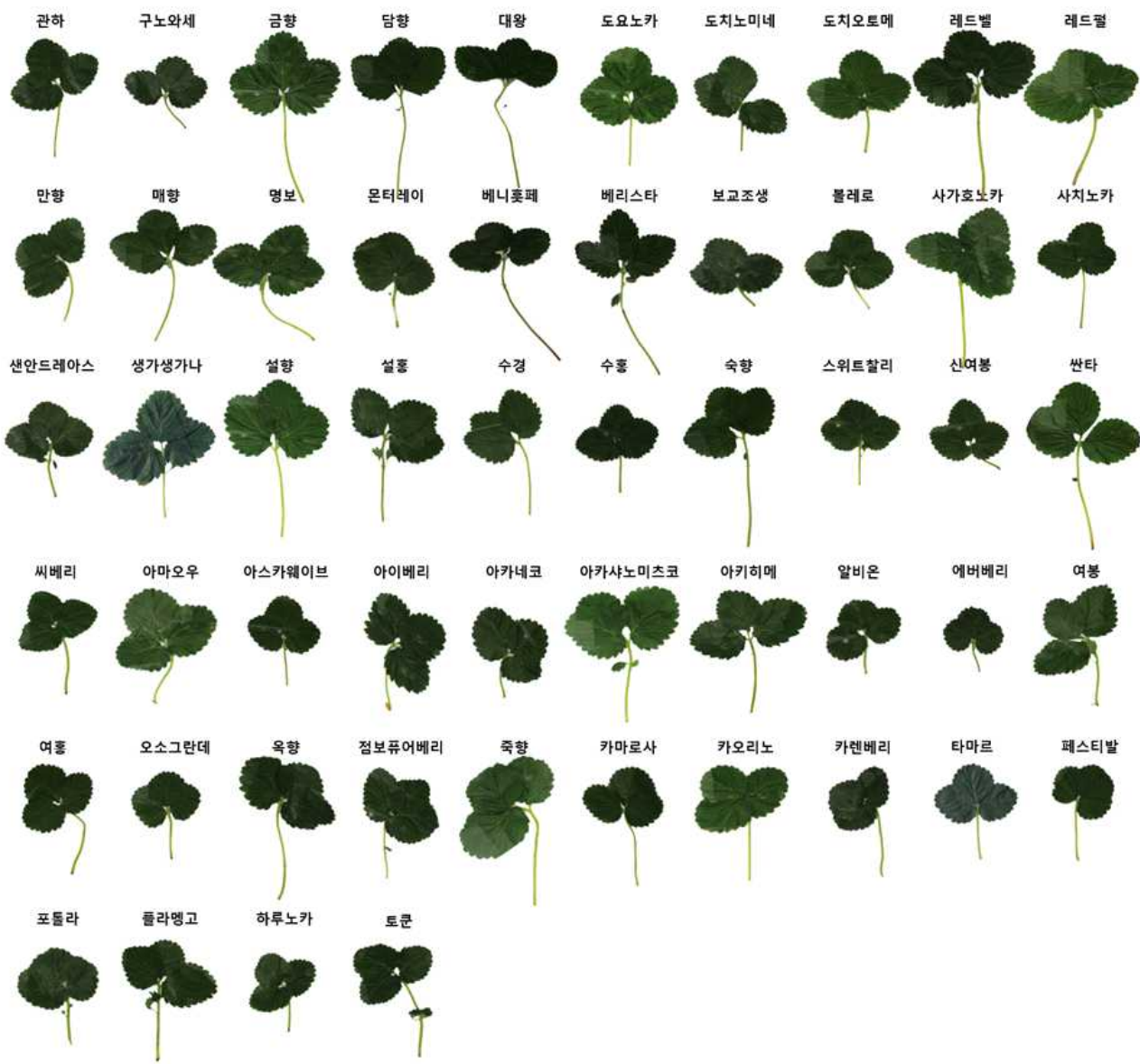
나. 이와 열매의 표현형 분석을 위해 164개 유전자원의 재배형태는 품종 당 10~15주씩 주간

거리 10~15cm로 하여 논산딸기시험장에 정식을 하였다. 표현형 조사는 정식 후 약 2달 후부터 조사를 시작하였고 1화방, 2화방, 3화방으로 구분하여 엽형 (엽장, 엽폭 및 엽병 길이)과 열매관련 표현형 (과중, 과형, 경도, 당도 및 산도)을 조사하였다. 엽형, 엽장, 엽폭 및 엽병 길이 조사는 딸기 1개 유전자원마다 약 10~15개체씩 조사하였다. 열매 표현형 조사는 딸기 1 유전자원마다 약 10~15개체의 4~5열매를 조사하여 과중, 과형, 경도, 당도 및 산도 표현형 조사를 수행하였다.

다. 1차년도에 표현형 특성 분석을 수행했던 53점 유전자원의 3번째 잎을 1 유전자원마다 10개 잎을 샘플링하여 엽병, 엽장 및 엽폭의 길이를 측정하였다. 설향과 매향을 기준으로 상대적인 비교를 해보면 엽병의 길이는 베리스타 (22.87 cm), 대왕 (22.54 cm), 베니훗페 (21.50 cm), 레드벨 (20.01 cm), 속향 (19.58 cm) 및 금향 (17.28 cm)이 길었고 알비온 (5.49 cm), 에버베리 (6.16 cm), 하루노카 (6.37 cm), 보교조생 (6.38 cm), 구노와세 (7.02 cm) 및 오소그란데 (7.15 cm)는 엽병의 길이가 짧은 그룹에 속하였다. 엽장의 길이는 대왕 (14.30 cm), 베리스타 (12.31 cm), 속향 (11.71 cm) 및 레드벨 (11.56 cm)이 설향과 매향보다 길었고, 알비온 (6.24 cm), 에버베리 (6.27 cm), 오소그란데 (6.48 cm) 및 보교조생 (6.50 cm)은 엽장의 길이가 짧았다. 엽폭 길이는 대왕 (11.20 cm), 사가호노카 (10.07 cm) 및 속향 (10.00 cm)이 길었고, 보교조생 (6.20 cm), 에버베리 (6.40 cm) 및 구노와세 (6.40 cm)는 짧은 그룹에 속했다 (그림 1-1, 표 1-2).

2차년도에 표현형 특성 분석을 수행했던 61점 유전자원의 엽형 조사결과 설향과 매향을 기준으로 상대적인 비교를 해보면 엽병의 길이는 단미 (23.43 cm), 옥매 (22.19 cm), 킹스베리 (21.56 cm), 아람 (20.81 cm), 조홍 (16.50 cm) 및 원교3111 (16.31 cm)이 길었고 J&Q' s early (3.54 cm), Linn (4.01 cm), Aiberry (4.30 cm), Comet (4.46 cm), 천학 (5.00 cm) 및 Micmac (5.21 cm)는 엽병의 길이가 짧은 그룹에 속하였다. 엽장의 길이는 아람 (11.89 cm), 옥매 (11.39 cm), 킹스베리 (11.19 cm), 원교3111 (10.93 cm), 다홍 (10.59 cm) 및 신명 (10.46 cm)이 설향과 매향보다 길었고, J&Q' s early (4.54 cm), Linn (4.54 cm), 길경53 (4.66 cm), Aiberry (4.76 cm) 및 Cascade (4.89 cm)은 엽장의 길이가 짧았다. 엽폭 길이는 아람 (10.09 cm), 킹스베리 (10.03 cm), 옥매 (9.73 cm) 및 아스카 (9.48 cm)이 길었고, Linn (3.82 cm), J&Q' s early (3.88 cm), Aiberry (4.33 cm), 길경53 (4.79 cm), Redrich (4.88cm) 및 천학 (5.00 cm)는 짧은 그룹에 속했다 (그림 1-1, 표 1-2).

3차년도에 표현형 특성 분석을 수행했던 62점 유전자원의 엽형 조사결과 설향과 매향을 기준으로 상대적인 비교를 해보면 엽병의 길이는 Cavalier (2.48 cm), Zepier (2.96 cm), Cardinal (2.98 cm), Newyork884 (3.51 cm), Tohoe (3.62 cm) 및 Lassen (3.67 cm)이 짧았고 오키미 (25.35 cm)는 엽병의 길이가 긴 그룹에 속하였다. 엽장의 길이는 매향이 10.12 cm로 가장 길었고, Cavalier (2.64 cm), Zepier (3.09 cm), Chioensis (3.50 cm), Tohoe (3.67 cm) 및 Sengagiana (3.67 cm)은 엽장의 길이가 짧았다. 엽폭 길이는 킹스베리 (9.32 cm), 오키미 (8.83 cm), 아리향 (8.28 cm) 및 Alps (8.19 cm)가 설향 (7.87 cm)보다 길었고, Cavalier (2.55 cm), Chioensis (2.77 cm), Zepier (3.22 cm), Lassen (3.50 cm), Catskill (3.60 cm) 및 America (3.65 cm)는 짧은 그룹에 속했다 (그림 1-1, 표 1-2).



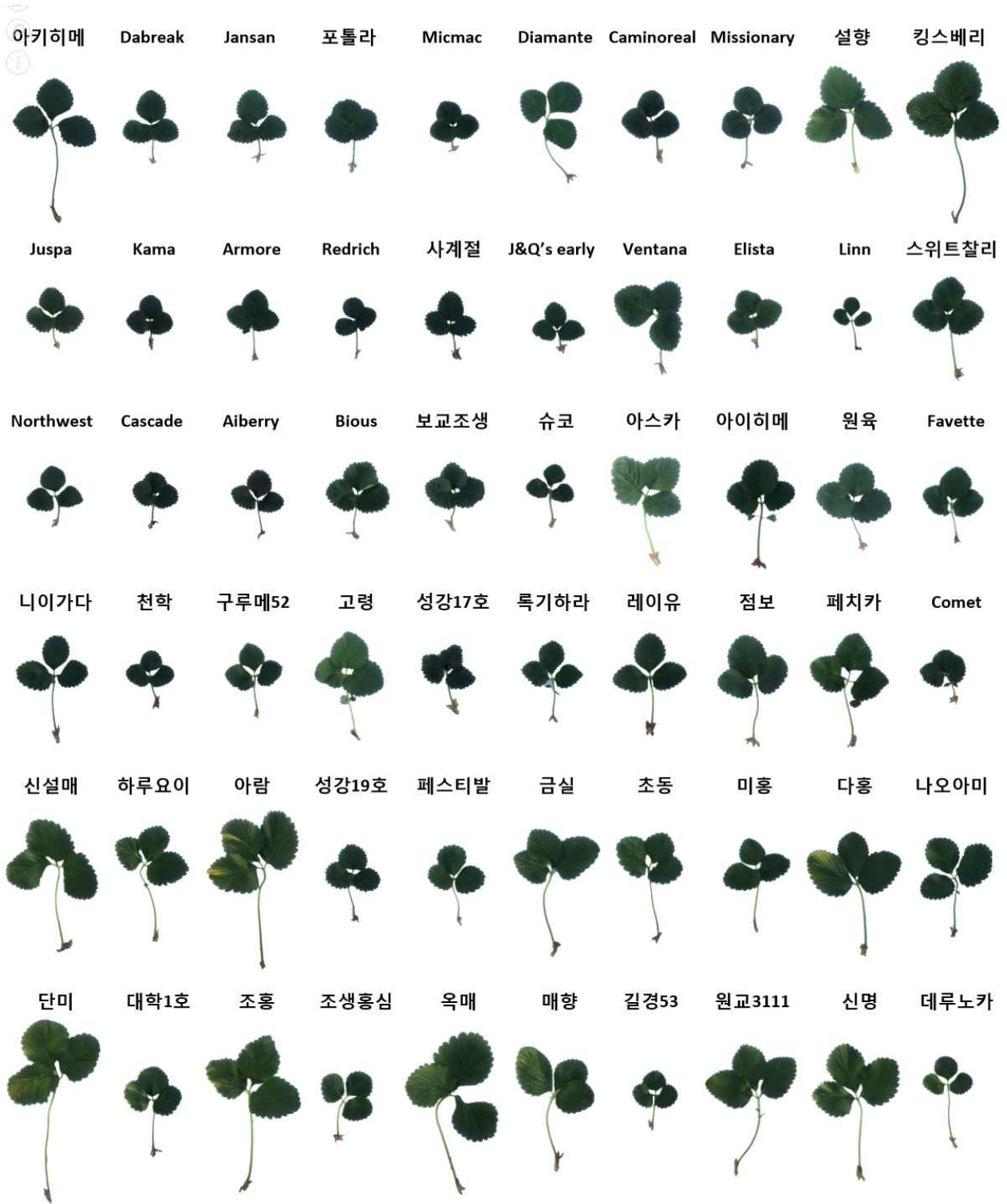




그림 1-1. 엽형 조사에 사용한 164개 유전자원의 3번째 잎

표 1-2. 164개 유전자원의 3번째 잎에서 측정된 엽병, 엽장 및 엽폭의 길이

	엽병길이 (cm)		엽장 (cm)		엽폭 (cm)	
	평균	표준편차	평균	표준편차	평균	표준편차
관하	9.95	0.84	8.12	0.59	7.20	0.71
구노와세	7.02	1.06	7.32	0.75	6.40	0.55
금향	17.28	2.11	10.69	0.41	8.56	0.57
담향	16.10	3.11	10.56	1.26	8.23	0.93
대왕	22.54	3.95	14.30	0.63	11.20	0.56
도요노카	10.65	1.35	8.67	0.66	9.03	0.78
도치노미네	8.70	1.15	9.14	1.06	7.30	0.77
도치오토메	9.00	1.25	8.95	1.15	7.59	0.85

레드벨	20.01	0.98	11.56	0.85	10.00	1.59
레드필	11.82	1.41	9.20	0.60	9.25	0.81
만향	9.12	1.64	7.46	0.68	7.61	0.60
매향	15.43	2.11	11.07	0.63	7.74	0.67
명보	12.62	2.28	9.05	0.71	7.26	0.64
몬터레이	9.10	1.03	7.49	0.52	7.78	0.75
베니훗페	21.50	2.49	11.12	0.95	9.33	0.74
베리스타	22.87	3.34	12.31	0.93	9.52	0.46
보교조생	6.38	1.56	6.50	0.75	6.20	0.60
블레로	8.99	2.54	8.04	2.00	8.29	1.84
사가호노카	13.78	1.63	11.24	0.75	10.07	0.88
사치노카	10.76	1.52	7.61	0.58	6.84	0.47
센안드레아스	7.35	1.93	6.66	0.88	7.19	0.68
생가생가나	9.50	1.27	8.04	0.72	7.94	0.59
설향	16.62	2.11	11.54	0.67	9.74	0.98
설홍	13.26	1.29	9.61	0.68	7.70	0.65
수경	14.62	1.57	9.80	0.33	7.31	0.44
수홍	7.98	1.35	7.16	0.47	7.15	0.63
숙향	19.58	1.86	11.71	1.24	10.00	0.54
스위트찰리	10.65	1.46	7.84	0.57	8.15	0.51
신여봉	7.35	0.99	7.58	0.58	6.58	0.54
싼타	15.22	1.95	10.40	1.10	8.35	0.83
씨베리	10.07	1.07	7.95	0.86	7.36	0.60
아마오우	10.03	1.37	9.23	0.62	8.60	0.64
아스카웨이브	8.20	0.74	7.15	0.47	7.30	0.42
아이베리	11.34	0.83	8.88	0.61	8.48	0.56
아카네코	7.20	1.06	7.75	0.94	7.80	1.41
아카샤노미츠코	13.96	1.50	9.87	0.53	9.20	0.62
아키히메	12.35	0.15	9.00	0.20	7.45	0.45
알비온	5.49	1.20	6.24	0.34	6.83	0.50
에머베리	6.16	0.88	6.27	0.47	6.40	0.62
여봉	10.79	1.10	9.52	0.29	7.24	0.56
여홍	10.49	1.54	8.21	0.80	8.20	0.69
오소그란데	7.15	0.90	6.48	0.49	6.93	0.51
옥향	14.06	1.02	9.73	0.50	9.43	0.51
점보퓨어베리	8.20	0.81	8.59	0.62	7.50	0.61
죽향	13.80	2.36	10.51	0.92	9.64	0.87
카렌베리	12.09	1.02	7.60	0.62	7.91	0.55
카마로사	10.06	1.27	7.66	0.45	7.56	0.81
카오리노	9.34	1.92	8.34	0.26	7.86	0.61
타마르	7.24	2.28	6.79	0.56	6.62	1.02

토쿤	12.15	2.19	8.26	0.76	8.60	0.73
페스티발	10.04	0.93	7.22	0.50	7.37	0.58
포틀라	9.00	1.41	6.85	1.02	7.99	0.70
플라멩고	13.38	1.61	9.55	0.95	7.66	0.95
하루노카	6.37	0.68	6.59	0.25	6.87	0.56
Aiberry	4.30	0.70	4.76	0.53	4.33	0.46
Armored	7.04	0.89	6.66	0.73	6.05	0.59
Bious	9.06	0.84	7.70	0.82	7.97	0.53
Caminoreal	7.96	0.93	5.87	0.49	6.23	0.62
Cascade	5.54	1.16	4.89	0.60	5.66	0.74
Comet	4.46	1.29	5.33	0.62	5.29	0.62
Dabreak	6.68	1.13	6.56	0.73	6.21	0.66
Diamante	11.29	1.85	8.65	0.91	8.29	0.92
Elista	6.31	0.88	6.20	0.45	6.51	0.51
Favette	5.96	1.17	6.13	0.72	6.09	0.62
J&Q's early	3.54	0.72	4.54	0.63	3.88	0.53
Jansan	5.86	1.14	6.15	0.89	6.15	0.81
Juspa	6.45	1.57	6.61	0.89	6.61	0.68
Kama	5.65	0.91	5.16	0.53	5.16	0.33
Linn	4.01	0.97	4.54	0.46	3.82	0.50
Micmac	5.21	0.62	5.76	0.38	5.69	0.38
Missionary	7.04	2.15	5.74	0.93	5.94	1.26
Northwest	5.45	0.76	5.19	0.64	5.49	0.70
Redrich	7.59	1.39	4.99	0.32	4.88	0.33
Ventana	9.81	1.16	7.44	0.64	7.64	0.82
고령	10.15	1.11	7.91	0.94	8.06	1.16
구루메52	8.38	1.23	6.66	0.74	5.46	0.54
금실	15.76	2.22	10.24	1.25	7.96	0.84
길경53	6.37	1.08	4.66	0.53	4.79	0.47
나오아미	12.44	2.96	7.83	0.87	6.71	0.78
니이가다	14.19	3.17	9.03	1.11	7.55	0.92
다홍	15.92	2.46	10.59	0.81	7.80	0.57
단미	23.43	14.81	9.71	1.60	7.91	1.53
대학1호	9.56	1.09	6.86	0.58	6.63	0.71
테루노카	9.83	1.81	6.28	0.76	6.15	0.76
레이유	8.35	1.04	7.40	1.07	5.58	0.66
룩기하라	9.75	1.96	8.54	1.29	6.51	0.93
매향	14.06	1.36	8.78	1.42	7.01	1.03
미롱	10.12	1.40	7.49	1.41	6.55	1.24
보교조생	6.49	1.63	6.86	1.29	6.96	1.33
사계절	7.07	0.96	6.59	0.35	6.48	0.59

설향	12.81	1.69	10.31	1.11	8.94	0.97
성강17호	7.54	0.96	6.54	0.65	6.11	0.52
성강19호	7.88	0.93	6.48	0.59	6.34	0.72
슈코	7.20	1.31	6.03	0.79	5.16	0.67
스위트찰리	8.47	1.50	6.81	0.84	6.66	0.67
신명	15.69	2.05	10.46	1.00	8.76	0.74
신설매	15.24	1.42	10.04	1.24	8.90	1.21
아람	20.81	1.24	11.89	1.24	10.09	0.93
아스카	10.01	2.17	8.54	1.25	9.48	1.92
아이히메	10.83	0.90	8.77	1.48	7.74	1.24
아키히메	12.99	2.57	9.09	0.87	8.21	0.69
옥매	22.19	2.32	11.39	1.44	9.73	1.15
원교3111	16.31	1.62	10.93	1.36	8.17	1.01
원육	7.92	1.43	7.18	0.77	7.09	0.92
점보	10.78	0.98	9.72	1.01	7.89	0.87
조생홍심	8.89	1.14	6.23	0.72	6.10	0.77
조홍	16.50	2.23	9.75	1.16	8.05	0.87
천학	5.00	0.77	5.29	0.90	5.00	1.23
초둥	8.16	1.92	6.19	0.53	5.75	0.44
킹스베리	21.56	1.81	11.19	0.93	10.03	0.91
페스티발	8.86	1.39	6.39	0.53	6.55	0.55
페치카	11.91	1.69	8.14	0.83	7.66	0.57
포틀라	6.67	1.11	6.07	0.58	7.20	0.52
하루요이	11.83	1.98	8.13	0.98	7.14	0.85
Catskill	4.64	0.57	4.48	0.36	3.60	0.40
Guardsman	4.36	0.63	4.50	0.41	4.12	0.53
Regina	4.90	0.64	4.62	0.43	4.35	0.33
Sengagiana	4.10	0.72	3.82	0.40	3.93	0.51
Cavalier	2.48	0.55	2.64	0.35	2.55	0.40
Lassen	3.67	0.82	6.00	0.90	3.50	0.33
Sunrise	4.64	0.75	4.57	0.80	4.60	0.53
Portola	7.97	1.47	5.75	0.60	6.20	0.80
Pinkpanda	3.92	0.66	3.87	0.60	3.74	0.51
두리향	15.77	1.66	8.72	1.70	7.10	0.69
Tohoe	3.62	0.80	3.67	0.42	3.76	0.90
Redgrow	4.90	0.77	4.17	0.46	4.26	0.91
Starcrimson	9.27	1.48	6.58	0.72	5.71	0.98
Chioensis	5.31	1.26	3.50	0.53	2.77	0.35
Selva	7.73	2.58	5.27	0.92	5.08	0.94
America	4.82	1.10	4.54	0.59	3.65	0.46
Cardinal	2.98	0.72	4.51	0.60	4.61	0.74

Redguntlet	4.14	0.40	4.00	0.29	3.81	0.27
Shasta	10.35	1.94	7.47	1.24	6.81	1.12
Pegasus	6.50	1.19	5.20	0.63	4.92	0.81
Premire	4.18	1.20	4.26	0.86	3.78	0.81
Jurseybelle	4.91	0.93	4.48	0.58	4.25	0.76
Zepier	2.96	0.78	3.09	0.47	3.22	0.52
Marshall	5.21	0.89	4.70	1.00	3.71	0.60
Guardian	8.44	1.52	6.78	0.66	5.33	0.97
Alps	10.55	1.76	8.66	1.35	8.19	1.55
Sweetcharlie	8.53	1.31	6.54	0.71	6.59	1.15
Doutch	4.24	0.92	4.41	0.52	3.96	0.57
Festival	10.41	1.71	6.50	0.70	6.39	0.82
Klondike	3.91	0.74	4.17	0.30	3.69	0.44
환타	11.24	1.95	7.55	1.62	7.12	1.20
아리향	14.25	1.70	9.37	0.55	8.28	0.72
설향	14.49	2.03	9.13	1.40	7.87	1.15
매향	19.07	1.78	10.12	0.87	7.02	0.73
킹스베리	18.36	2.23	9.50	0.83	9.32	2.48
Columbia	6.48	1.45	5.62	0.62	5.50	0.54
Donner	10.02	2.50	6.38	1.23	5.45	1.36
Newyork884	3.51	0.54	4.55	0.47	4.55	0.42
Cyclone	9.04	1.50	5.48	0.68	4.98	0.61
Victoria	4.62	0.35	4.55	0.37	3.98	0.39
Blackmore	8.62	1.62	7.06	0.95	5.33	0.50
아마오우	12.14	1.44	8.17	1.44	7.38	1.28
아키히메	14.82	2.01	8.28	0.41	7.14	2.99
홍복	8.62	1.58	6.12	0.50	5.86	0.70
여홍	10.88	1.41	6.97	1.21	6.26	1.43
사마베리	11.29	1.90	8.06	0.65	6.72	0.64
점보	15.65	1.10	9.63	1.13	7.68	0.72
점보퓨어베리	11.15	0.75	9.15	0.61	6.68	0.51
빠아베리	12.69	1.16	7.50	0.65	6.93	0.85
야마가타	14.98	1.77	8.25	0.91	7.45	0.80
고하	10.15	1.02	5.93	0.45	5.89	0.80
베리스타	18.71	2.45	9.84	1.18	7.80	0.87
도요타마	9.63	1.10	7.19	0.56	7.09	0.74
요요히메	11.24	1.45	7.39	0.88	6.45	0.89
라이호우	3.76	0.62	4.09	0.36	3.76	0.39
키타에쿠보	4.79	0.75	4.54	0.67	4.61	0.55
키누야마	10.81	1.39	6.85	0.67	6.00	0.60
향미	7.57	0.87	5.27	0.84	4.42	0.46

오키미	25.35	29.03	9.13	0.57	8.83	0.90
아마카	15.23	2.13	8.11	1.11	6.71	1.03
에치고히메	10.92	1.01	7.29	0.63	5.89	0.51
보교조생	7.21	1.43	5.84	0.72	5.19	0.57

라. 열매 표현형 분석의 과중, 당도, 산도 및 경도 결과 값은 수확시작기인 11월 말부터 4월 중순까지 수확 조사한 값의 평균으로 나타내었다 (표 1-3). 표현형 조사를 수행한 16개 유전자원의 열매는 아래와 같다 (그림 1-2).

(1차년도)



(2차년도)



(3차년도)

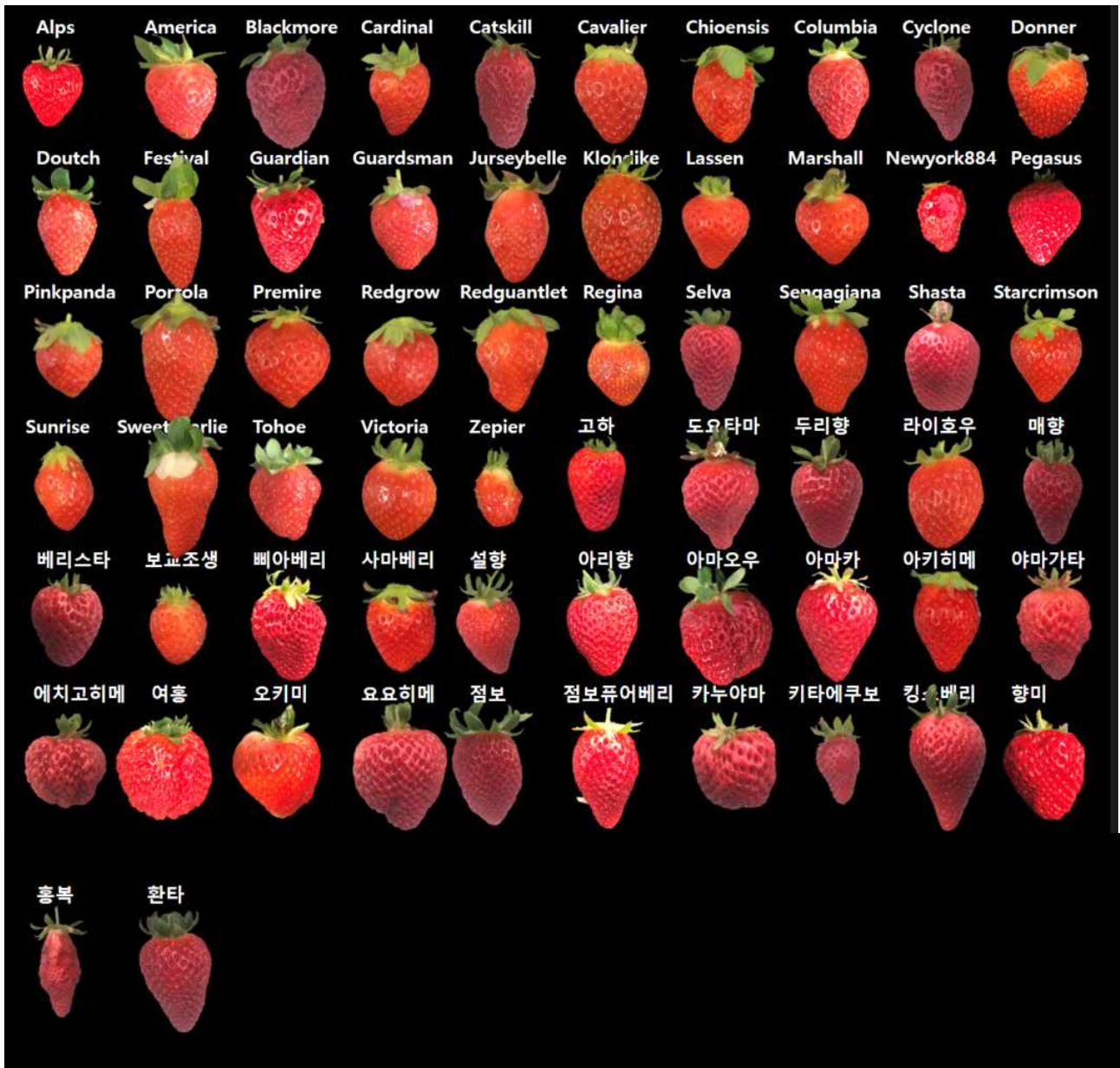


그림 1-2. 표현형 조사에 사용한 164개 유전자원의 열매

표 1-3. 164개 유전자원의 열매에서 측정된 과중, 과장, 과폭, 경도, 당도 및 산도

품종명	과중 (g)		과장 (cm)		과폭 (cm)		경도(g/5mm)		당도 (°brix)		산도 (%)	
	평균	표준 편차	평균	표준 편차	평균	표준 편차	평균	표준 편차	평균	표준 편차	평균	표준 편차
도치노미네	16.86	3.01	4.92	0.71	3.02	0.15	299.29	79.73	9.43	1.00	1.77	0.05
아카네코	20.52	3.20	3.98	0.34	3.75	0.27	173.33	31.57	9.82	0.77	1.73	0.13
아스카웨이브	19.75	7.65	4.12	0.42	3.53	0.75	209.88	37.41	10.04	1.09	1.84	0.19
구노와세	34.99	0.00	6.37	0.00	4.05	0.00	158.83	0.00	5.97	0.00	1.73	0.00
아키히메	22.03	0.29	5.20	0.18	3.42	0.08	160.23	21.91	9.07	1.92	1.70	0.02

하루노카	12.82	2.06	3.78	0.31	2.98	0.23	199.94	55.12	8.21	0.94	1.67	0.12
신여봉	16.54	2.94	4.17	0.34	3.11	0.20	204.66	66.30	8.25	0.88	1.78	0.77
도요노카	16.53	3.72	4.39	0.41	3.31	0.33	216.84	50.21	8.84	1.00	1.68	0.08
보교조생	13.65	1.26	3.98	0.15	3.12	0.19	106.73	25.00	8.83	3.40	1.64	0.07
여흥	13.84	3.90	3.51	0.35	3.17	0.38	228.31	50.96	8.68	1.05	1.62	0.14
에버베리	16.60	3.47	4.26	0.39	3.18	0.34	165.54	27.34	8.48	0.74	1.71	0.22
점보푸어베리	8.40	2.05	3.28	0.24	2.79	0.32	152.47	28.26	9.05	0.98	1.73	0.10
아마오우	32.66	2.09	5.24	0.28	4.21	0.14	285.63	39.01	9.12	0.80	1.77	0.08
여봉	17.34	2.12	4.39	0.32	3.24	0.21	291.11	55.19	9.67	1.17	1.71	0.07
사치노카	20.95	2.16	4.36	0.21	3.50	0.18	298.32	54.98	9.60	0.98	1.72	0.16
아카샤노미츠코	27.82	3.73	5.10	0.34	3.97	0.31	166.34	33.85	8.65	0.95	1.78	0.08
레드벨	19.07	1.50	4.35	0.50	3.41	0.15	212.46	54.05	8.77	1.14	1.75	0.05
도치오토메	21.17	4.94	4.86	0.62	3.30	0.33	266.52	46.55	9.68	2.19	1.86	0.12
만향	15.41	2.66	4.02	0.37	3.24	0.55	171.21	56.31	10.23	0.93	1.71	0.17
죽향	23.26	0.00	4.90	0.00	3.46	0.00	241.60	0.00	10.22	0.00	1.88	0.00
카오리노	18.52	0.00	4.12	0.00	3.44	0.00	290.73	0.00	10.02	0.00	1.72	0.00
아이베리	13.73	2.24	3.98	0.39	2.94	0.24	187.18	54.96	9.38	1.25	1.72	0.11
카렌베리	7.86	0.00	1.90	0.00	1.58	0.00	86.88	0.00	4.35	0.00	0.88	0.00
베니훗페	25.66	3.90	4.62	0.51	3.65	0.33	286.67	68.63	9.70	1.50	1.79	0.21
사가호노카	16.60	2.20	4.07	0.31	3.31	0.21	227.87	35.78	8.87	0.72	1.78	0.37
명보	13.66	1.30	3.77	0.13	3.15	0.52	137.20	30.51	9.63	0.27	1.83	0.11
설흥	15.17	2.48	4.19	0.30	3.10	0.23	243.70	53.50	10.03	0.91	1.79	0.13
수경	16.34	1.87	4.95	0.28	2.95	0.20	273.73	69.08	10.25	1.24	1.98	0.06
수홍	18.27	2.99	4.23	0.35	3.46	0.32	204.97	55.62	8.66	0.91	1.68	0.12
담향	18.81	2.81	4.08	0.28	3.43	0.22	213.03	37.81	10.11	1.07	1.88	0.10
싼타	20.74	3.68	4.53	0.32	3.45	0.28	189.36	39.53	10.34	0.94	1.97	0.29
베리스타	29.20	4.98	4.77	0.50	3.96	0.35	255.83	70.49	9.93	0.45	1.77	0.08
설향	24.42	3.13	4.68	0.38	3.74	0.27	182.82	69.34	10.11	0.81	1.83	0.10
금향	20.71	3.38	4.93	0.42	3.33	0.32	259.79	53.50	11.06	2.32	1.90	0.18
매향	17.00	4.05	4.92	0.37	2.90	0.36	230.69	38.15	10.60	1.78	2.02	0.09
스위트찰리	23.67	4.06	4.63	0.53	3.68	0.28	294.37	68.68	7.16	1.21	1.63	0.36
카마로사	19.76	4.53	4.44	0.48	3.45	0.36	335.12	53.21	7.28	1.59	1.66	0.34
몬터레이	25.74	2.75	4.64	0.25	3.82	0.23	374.50	59.59	6.47	0.86	1.86	0.11
포틀라	32.73	6.45	5.06	0.49	4.02	0.42	406.76	102.15	5.73	1.06	1.56	0.32
관하	14.65	1.77	4.10	0.17	3.19	0.22	191.82	34.14	6.67	0.68	1.57	0.28
옥향	25.02	3.67	5.09	0.30	3.54	0.28	255.64	72.64	9.64	1.14	1.80	0.13
레드벨	26.59	3.80	5.61	0.30	3.46	0.31	177.95	35.58	9.54	1.23	1.91	0.09
대왕	18.29	2.19	4.41	0.33	3.28	0.24	230.50	35.18	10.93	1.34	1.87	0.58
씨베리	12.39	2.02	3.17	0.33	2.93	0.22	214.25	48.94	10.44	1.11	1.59	0.60
샌안드레아스	26.12	3.12	5.15	0.23	3.59	0.21	473.50	116.08	8.28	1.66	1.80	0.21
오소그란데	17.68	3.74	3.95	0.41	3.39	0.30	533.32	106.61	7.23	0.89	2.06	2.60
알비온	23.85	2.49	4.98	0.57	3.34	0.23	518.91	183.26	8.56	1.69	1.77	0.52
페스티발	20.03	3.07	4.84	0.58	3.33	0.21	489.90	56.29	8.26	1.21	1.85	0.06
플라멩고	14.73	2.38	4.24	0.36	3.06	0.24	257.01	54.23	9.54	1.17	1.75	0.15
블레로	24.22	6.46	4.31	0.78	3.72	0.37	321.93	114.50	8.10	3.50	1.75	0.14

숙향	28.61	4.62	5.29	0.29	3.71	0.35	259.98	52.64	9.26	1.37	1.80	0.06
타마르	22.49	4.71	4.43	0.49	3.64	0.39	265.99	54.57	8.25	1.76	1.62	0.09
생가생가나	12.70	2.24	4.40	7.16	3.47	5.53	213.58	38.28	8.66	1.11	1.72	0.26
Aiberry	7.358	3.601	1.866	0.453	1.421	0.392	5.030	2.151	2.522	0.484	0.131	0.047
Armore	15.374	5.508	5.462	1.019	2.646	0.564	10.753	4.247	6.819	1.569	0.562	0.103
Bious	18.058	4.709	4.329	0.936	2.992	0.687	14.199	3.695	6.808	0.920	0.349	0.093
Caminoreal	21.352	6.895	4.449	0.870	3.291	0.718	17.711	7.657	5.313	0.956	0.627	0.906
Cascade	4.176	1.202	1.493	0.297	1.241	0.218	3.224	0.706	3.448	0.520	0.251	0.086
Comet	4.652	1.595	1.557	0.483	1.102	0.343	4.965	1.440	2.938	0.769	0.296	0.105
Dabreak	15.100	5.182	5.524	0.909	2.646	0.351	11.914	4.141	6.431	1.288	0.903	1.025
Diamante	20.605	6.554	4.463	0.810	3.752	0.704	7.673	2.112	5.931	1.304	0.495	0.096
Elista	14.003	4.459	4.106	0.510	2.941	0.519	7.835	1.412	7.390	1.396	0.313	0.096
Favette	4.472	1.676	1.450	0.424	1.219	0.367	3.313	1.386	2.853	0.772	0.387	0.627
J&Q's early	4.062	1.601	3.039	0.700	1.597	0.349	8.418	3.141	8.873	1.664	0.527	0.177
Jansan	5.155	1.257	1.824	0.220	1.445	0.128	2.528	0.856	2.378	0.324	0.186	0.052
Juspa	8.950	1.669	3.027	0.371	2.560	0.313	6.613	0.753	7.730	0.418	0.481	0.051
Kama	7.808	1.407	3.104	0.552	2.369	0.342	8.225	2.621	7.133	1.260	0.497	0.090
Linn	1.297	0.345	1.046	0.390	0.640	0.257	3.019	0.872	4.379	0.675	0.233	0.103
Micmac	11.594	3.832	3.864	0.851	2.559	0.449	11.110	2.996	6.113	1.285	0.403	0.088
Missionary	20.796	6.139	4.582	0.562	3.301	0.428	17.363	6.443	4.888	1.355	0.367	0.092
Northwest	3.615	0.934	1.479	0.446	0.998	0.338	3.824	1.072	3.802	0.619	0.275	0.087
Redrich	7.188	1.367	2.796	0.251	2.386	0.152	7.037	2.308	8.062	0.888	0.675	0.126
Ventana	21.884	7.883	4.261	1.007	3.327	0.708	13.217	3.390	6.091	1.575	0.432	0.128
고령	18.724	4.867	4.194	0.656	3.351	0.415	6.252	1.921	7.600	0.977	0.331	0.105
구루메52	7.295	2.651	1.601	0.557	1.209	0.401	3.647	0.750	3.115	0.571	0.175	0.079
금실	21.895	6.673	4.471	0.699	8.292	26.00	9.614	2.169	8.876	1.644	0.449	0.088
길경53	8.302	3.833	2.225	0.320	1.485	0.266	4.882	1.131	1.912	0.239	0.165	0.049
나오아미	22.873	8.100	4.166	0.724	3.714	0.741	8.365	1.745	8.064	1.273	0.504	0.125
니이가다	21.759	5.403	3.968	0.590	3.752	0.576	7.558	2.020	7.625	1.155	0.530	0.144
다홍	19.137	5.511	5.008	0.588	3.077	0.306	11.108	3.678	7.338	1.673	0.327	0.099
단미	13.551	3.513	3.692	0.624	2.932	0.374	7.577	2.046	9.518	1.296	0.611	0.141
대학1호	5.720	2.083	2.305	0.611	1.145	0.313	3.720	1.188	3.613	0.675	0.187	0.097
테루노카	8.656	1.480	3.819	0.485	2.732	0.378	6.251	1.047	6.776	0.676	0.332	0.050
레이유	17.849	5.634	4.276	0.670	3.048	0.589	6.755	1.614	7.690	1.458	0.411	0.096
록기하라	16.138	5.092	3.794	0.778	3.156	0.711	8.140	2.463	8.260	0.846	0.416	0.132
매향	18.323	6.556	4.625	0.580	3.031	0.411	11.345	3.002	8.897	2.099	0.446	0.079
미홍	17.895	4.451	3.872	0.642	3.326	0.457	9.253	2.080	7.934	1.786	0.459	0.129
보교조생	15.018	7.058	3.743	0.800	7.077	21.55	4.649	0.931	7.589	2.018	0.380	0.102
사계절	10.345	3.398	3.595	0.882	2.436	0.614	10.266	3.095	7.274	1.461	0.492	0.688
설향	19.873	6.951	3.750	0.941	3.193	0.768	8.418	2.111	8.811	1.341	0.390	0.087
성강17호	16.437	7.846	4.046	0.698	3.159	0.628	7.439	1.945	6.659	0.765	0.359	0.111
성강19호	10.362	3.236	3.564	0.779	2.476	0.504	12.352	4.746	7.417	1.074	0.427	0.150
슈코	17.381	4.304	3.839	0.538	3.378	0.298	6.794	1.386	7.588	1.168	0.401	0.132
스위트찰리	16.492	5.022	3.946	0.730	2.939	0.608	11.240	4.064	6.627	1.501	0.387	0.165
신명	20.064	6.604	4.110	0.914	3.266	0.681	7.814	1.428	8.152	1.038	0.345	0.099

신설매	24.279	8.118	4.798	0.624	3.425	0.565	8.260	1.578	8.819	1.179	0.372	0.101
아람	26.509	5.156	4.811	1.389	3.713	0.388	10.046	1.256	11.018	1.268	0.448	0.100
아스카	18.288	4.780	3.906	0.515	3.377	0.470	8.565	3.063	9.141	1.558	0.412	0.109
아이히메	25.012	9.047	4.104	0.610	3.924	0.600	6.678	1.426	6.952	1.475	0.423	0.103
아키히메	17.433	4.913	3.881	0.819	3.098	0.657	8.578	2.384	8.160	1.187	0.349	0.098
옥매	25.210	5.017	4.896	0.517	3.561	0.282	10.688	3.209	8.932	1.818	0.437	0.096
원교3111	20.791	5.789	4.570	0.778	3.338	0.505	7.841	2.528	8.221	1.423	0.303	0.093
원육	13.536	6.178	4.329	0.955	2.651	0.613	6.415	3.821	7.642	1.248	0.526	0.143
점보	23.509	8.013	4.193	0.747	3.666	0.643	6.664	1.946	7.112	1.212	0.534	0.918
조생홍십	10.516	2.177	4.075	0.920	2.490	0.430	8.355	3.078	8.214	1.018	0.458	0.123
조홍	10.084	3.576	2.079	0.355	1.625	0.240	4.974	1.367	4.225	0.563	0.208	0.049
천학	4.418	2.334	1.327	0.338	1.123	0.273	3.710	1.015	3.630	0.653	0.183	0.101
초동	13.939	2.658	4.228	0.396	2.900	0.359	7.435	2.490	6.718	0.566	0.446	0.057
킹스베리	28.560	9.505	5.543	0.944	3.491	0.721	7.231	2.098	9.133	2.211	0.444	0.129
페스티벌	19.973	7.932	4.745	0.932	3.033	0.665	19.915	6.407	6.496	1.597	0.471	0.120
페치카	14.167	5.766	4.149	0.602	2.841	0.339	9.130	1.961	8.063	1.595	0.352	0.125
포틀라	37.262	13.66	5.467	0.699	4.217	0.757	17.784	5.017	3.998	0.678	0.387	0.091
하루요이	15.964	4.761	4.204	0.622	3.065	0.360	9.467	2.698	7.342	1.500	0.542	0.119
Catskill	6.923	1.848	3.381	0.542	2.081	0.221	186.38	56.681	6.904	1.257	0.472	0.142
Guardzman	11.260	4.952	3.327	0.805	2.762	0.434	182.14	60.267	7.400	0.864	0.526	0.173
Regina	12.455	3.189	2.942	0.341	2.811	0.295	166.33	49.697	6.991	0.928	0.206	0.148
Sengagiana	12.709	4.052	4.414	1.127	2.613	0.203	143.00	26.966	5.538	1.865	0.590	0.145
Cavalier	15.420	0.100	4.031	0.100	2.509	0.100	145.00	1.400	5.400	0.100	0.470	0.010
Lassen	12.940	0.393	3.719	0.033	2.990	0.047	52.000	28.284	6.800	1.273	0.395	0.049
Sunrise	14.641	6.552	3.371	0.772	2.916	0.530	137.40	47.668	4.460	1.228	0.388	0.169
Portola	25.996	12.31	4.525	0.898	3.632	0.611	402.00	81.131	5.330	1.337	0.366	0.104
Pinkpanda	16.215	9.474	4.630	1.223	2.575	0.767	242.00	239.00	7.900	1.414	0.515	0.007
두리향	27.178	8.943	5.185	0.767	3.468	0.449	217.52	50.909	9.928	2.586	0.421	0.123
Tohoe	5.287	1.178	3.403	0.502	1.976	0.184	74.222	28.301	7.678	1.538	0.223	0.154
Redgrow	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Starcrimson	25.187	12.37	4.111	0.911	3.536	0.821	142.03	35.769	8.084	1.116	0.280	0.156
Chioensis	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Selva	23.702	6.075	4.755	0.756	3.364	0.393	176.45	101.57	5.542	1.569	0.406	0.108
America	10.000	0.100	3.201	0.100	2.745	0.100	87.000	1.000	6.400	0.100	0.390	0.010
Cardinal	19.919	5.541	3.792	0.537	3.232	0.324	234.03	51.712	5.906	1.590	0.383	0.109
Redquantlet	22.395	1.830	4.333	0.095	3.648	0.122	76.000	1.414	5.100	0.141	0.360	0.113
Shasta	22.784	7.376	4.537	0.834	3.324	0.544	151.74	38.251	10.803	1.903	0.538	0.142
Pegasus	20.643	7.573	3.604	0.751	3.120	0.326	143.50	29.827	6.825	1.389	0.428	0.195
Premire	5.724	2.472	2.704	0.428	2.188	0.298	137.15	26.623	8.015	0.843	0.278	0.224
Jurseybelle	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Zepier	7.492	6.700	2.596	0.675	2.261	0.433	96.756	22.881	6.263	1.657	0.437	0.092
Marshall	10.630	1.290	3.155	0.152	2.840	0.193	115.57	28.195	6.586	1.240	0.326	0.210
Guardian	14.283	6.250	3.863	0.769	2.807	0.519	137.57	44.375	8.632	1.955	0.469	0.106
Alps	20.138	9.869	3.707	0.635	3.399	0.622	199.78	73.509	8.866	1.800	0.382	0.141
Sweetcharlie	23.024	5.357	5.013	0.648	3.411	0.480	292.25	111.97	6.896	1.646	0.313	0.065

Doutch	7.264	1.259	2.368	0.391	2.333	0.306	74.714	17.265	9.256	2.521	0.518	0.155
Festival	25.138	9.507	5.385	0.895	3.353	0.520	475.79	181.95	7.834	1.286	0.448	0.074
Klondike	7.922	3.107	3.171	0.637	2.263	0.420	163.79	59.116	6.823	1.446	0.559	0.102
환타	20.751	9.946	4.599	0.951	3.233	0.554	327.71	99.488	8.365	1.748	0.524	0.085
아리향	20.988	8.279	5.441	6.797	4.169	5.749	190.91	81.471	10.841	1.808	0.505	0.137
설향	18.069	7.378	4.032	0.752	3.173	0.531	134.45	34.278	9.695	1.583	0.370	0.125
매향	18.140	5.743	4.699	0.853	2.999	0.358	148.95	43.169	9.917	1.662	0.458	0.123
킹스베리	34.901	15.56	6.178	0.987	3.747	0.708	106.23	32.124	9.900	2.226	0.487	0.080
Columbia	9.015	3.472	2.971	0.486	2.477	0.253	113.70	23.414	5.740	0.807	0.500	0.205
Donner	19.562	7.265	4.034	0.776	3.248	0.538	155.73	31.079	7.922	1.307	0.370	0.080
Newyork884	10.090	3.276	2.927	0.394	2.476	0.319	150.70	23.683	5.360	1.179	0.428	0.076
Cyclone	8.044	2.167	3.883	0.575	2.195	0.376	130.35	36.857	8.071	1.333	0.444	0.105
Victoria	8.876	2.581	3.945	0.570	2.395	0.274	137.44	28.183	7.811	1.571	0.558	0.142
Blackmore	21.885	8.123	4.241	0.982	3.114	0.656	151.76	47.251	8.294	2.221	0.440	0.093
아마오우	32.914	9.722	4.585	0.610	4.189	0.521	178.50	46.337	8.200	1.501	0.389	0.094
아키히메	19.480	6.156	5.533	0.971	2.989	0.541	102.52	27.348	11.309	1.600	0.418	0.111
홍복	23.047	9.161	6.205	1.005	3.424	1.098	169.33	52.080	8.467	2.801	0.263	0.242
여홍	30.427	9.554	6.977	10.68	3.817	0.490	152.85	32.847	7.833	1.091	0.321	0.062
사마베리	13.912	2.753	3.952	0.565	2.878	0.260	219.59	83.850	9.854	1.813	0.425	0.088
점보	21.176	5.222	5.021	0.629	3.025	0.342	158.55	46.569	7.576	2.103	0.415	0.062
점보푸어베리	26.322	8.511	5.575	0.647	3.253	0.445	202.42	70.337	8.886	1.882	0.789	1.312
빼아베리	16.687	5.247	4.223	0.670	3.091	0.470	122.96	37.074	9.330	1.245	0.425	0.110
야마가타	11.843	4.729	3.973	0.432	2.661	0.519	140.66	18.771	8.733	2.230	0.467	0.085
고하	16.475	6.257	3.991	0.997	2.696	0.579	216.33	58.185	7.121	1.523	0.517	0.113
베리스타	21.861	6.776	4.442	0.688	3.368	0.476	200.94	61.717	9.444	1.777	0.417	0.077
도요타마	18.709	6.813	4.008	0.535	3.362	0.485	178.05	55.034	8.940	1.120	0.385	0.083
요요히메	23.376	7.175	3.886	0.485	4.005	0.600	187.62	58.939	7.050	1.614	0.471	0.154
라이호우	11.460	3.594	2.968	0.577	3.016	0.436	150.65	83.501	5.490	1.299	0.276	0.070
키타에쿠보	7.087	3.407	2.787	0.310	2.007	0.150	173.90	53.679	7.027	1.966	0.411	0.108
키누야마	12.584	2.700	3.557	0.420	2.863	0.313	220.80	78.232	8.447	1.267	0.406	0.120
향미	11.226	4.321	3.155	0.606	2.740	0.446	218.34	155.89	6.583	1.570	0.335	0.139
오키미	35.315	8.565	5.087	0.669	4.252	0.477	187.75	42.859	8.569	1.618	60.178	239.1
아마카	22.964	4.920	5.098	0.693	3.680	0.521	160.50	39.821	7.330	1.676	0.524	0.079
에치고히메	19.797	4.584	3.735	0.426	3.638	0.464	158.89	46.247	5.318	1.237	0.402	0.105
보교조생	15.003	4.001	3.556	0.437	3.027	0.369	92.080	30.433	6.056	1.585	0.178	0.098

다. 1차년도에 표현형 특성 분석을 수행했던 53점 유전자원의 열매 표현형을 조사한 결과 과중 18 g 이상의 대과종 소재는 13개였다 (포틀라, 아마오우, 죽향, 숙향, 샌안드레아스, 몬터레이, 블레로, 아키히메, 베리스타, 카오리노, 타마르, 페스티발 및 아카샤노미츠코). 특히 포틀라 (27.06 g), 아마오우 (26.73 g), 죽향 (22.83 g), 숙향 (22.47 g), 샌안드레아스 (21.87 g), 몬터레이 (21.62 g), 블레로 (20.78 g), 아키히메 (20.45 g) 및 베리스타 (20.13 g)는 평균과중이 20 g 이상이였다. 반면에 아이베리 (9.60 g), 점보푸어베리 (8.39 g), 생가생가나 (7.75 g) 및 씨베리 (7.47 g)은 과중이 10 g 이하로 소과종 소재로 구분되었다 (표 1-3).

2차년도에 표현형 특성 분석을 수행했던 61점 유전자원의 열매 표현형을 조사한 결과 과중 18 g 이상의 대과종 소재는 23개였다 (포톨라, 킹스베리, 아람, 옥매, 아이히메, 신설매, 점보, 나오아미, 금실, Ventana, 니이가다, Caminoreal, Missionary, 원교3111, Diamante, 신명, 페스티발, 설향, 다홍, 고령, 매향, 아스카 및 Bious). 특히 포톨라 (37.262 g), 킹스베리 (28.560 g), 아람 (26.509 g), 옥매 (25.210 g), 아이히메 (25.012 g), 신설매 (24.279 g), 점보 (23.509 g), 나오아미 (22.873 g), 금실 (21.895 g), Ventana (21.884 g), 니이가다 (21.759 g), Caminoreal (21.352 g), Missionary (20.796 g), 원교3111 (20.791 g), Diamante (20.605 g) 및 신명 (20.064 g)는 평균과중이 20 g 이상이었다. 반면에 Juspa (8.950 g), 테루노카 (8.656 g), 길경53 (8.302 g), Kama (7.808 g), Aiberry (7.358 g), 구루메52 (7.295 g), Redrich (7.188 g), 대학1호 (5.720 g), Jansan (5.155 g), Comet (4.652 g), Favette (4.472 g), 천학 (4.418 g), Cascade (4.176 g), J&Q's early (4.062 g), Northwest (3.615 g) 및 Linn (1.297 g)은 과중이 10 g 이하로 소과종 소재로 구분되었다 (표 1-3).

3차년도에 표현형 특성 분석을 수행했던 62점 유전자원의 열매 표현형을 조사한 결과 과중 18 g 이상의 대과종 소재는 30개였다 (오키미, 킹스베리, 아마오우, 여홍, 두리향, 점보푸어베리, 포톨라, Starcrimson, 페스티발, Selva, 요요히메, 흥복, 스위트찰리, 아마카, Shasta, Redguantlet, Blackmore, 베리스타, 점보, 아리향, 환타, Pegasus, Alps, Cardinal, 에치고히메, Donner, 아키히메, 도요타마, 매향 및 설향). 특히 오키미 (35.315 g), 킹스베리 (34.901 g), 아마오우 (32.914 g) 및 여홍 (30.427 g)은 평균과중이 30 g 이상이었다. 반면에 Tohoe (5.287 g), Premire (5.724 g), Catskill (6.923 g), 키타쿠에보 (7.087 g), Douth (7.264 g), Zepier (7.492 g), Klondike (7.922 g), Cyclone (8.044 g), Victoria (8.876 g) 및 Columbia (9.015 g)는 과중이 10 g 이하로 소과종 소재로 구분되었다 (표 1-3).

바. 1차년도 열매 표현형 분석 결과, 고경도 소재는 알비온 (767.8 g/5mm), 페스티발 (556.3 g/5mm), 샌안드레아스 (579.1 g/5mm), 포톨라 (467.1 g/5mm), 몬터레이 (405.5 g/5mm), 카마로사 (391.2 g/5mm) 및 볼레로 (394.5 g/5mm)인데 이들 유전자원들은 주로 유럽종 및 미국에서 도입된 것으로 노지에 적합한 계통이었다. 따라서 식미의 측도가 되는 당도는 상당히 낮은 경향이였다. 반면에 점보푸어베리 (152.4 g/5mm), 구노와세 (158.8 g/5mm), 카렌베리 (173.7 g/5mm), 보교조생 (116.1 g/5mm) 및 명보 (146.2 g/5mm)는 경도가 매우 약했다 (표 1-3). 2차년도에 수행한 표현형 분석 결과는 고경도 소재는 페스티발 (19.915 g/5mm), 포톨라 (17.784 g/5mm), Caminoreal (17.711 g/5mm), Missionary (17.363 g/5mm), Bious (14.199 g/5mm), Ventana (13.217 g/5mm), 성강19호 (12.352 g/5mm) 및 Dabreak (11.914 g/5mm)인데 이들 유전자원들은 주로 유럽종 및 미국에서 도입된 것으로 노지에 적합한 계통이었다. 따라서 식미의 측도가 되는 당도는 상당히 낮은 경향이였다. 반면에 Jansan (2.528 g/5mm), Linn (3.019 g/5mm), Cascade (3.224 g/5mm), Favette (3.313 g/5mm), 구루메52 (3.647 g/5mm), 천학 (3.710 g/5mm), 대학1호 (3.720 g/5mm) 및 Northwest (3.824 g/5mm)는 경도가 매우 약했다 (표 3). 3차년도 결과에서는 고경도 소재로 페스티발 (475.7 g/5mm), 포톨라 (402.0 g/5mm), 환타 (327.7 g/5mm), 스위트찰리

(292.2 g/5mm) 및 Pinkpanda (242.0 g/5mm)이고, 저경도 유전자원은 Lassen (52.0 g/5mm), Tohoe (74.2 g/5mm), Douth (74.7 g/5mm), Redguntlet (76.0 g/5mm) 및 America (87.0 g/5mm)이었다.

사. 열매의 당함량은 양적형질로 기상조건과 토양조건에 많이 좌우된다. 본 시험의 당함량 조사는 토양수분이 약 60 ~ 70%내외의 대체로 수분함량이 높은 상태에서 조사를 하여 일반 토경재배에 비해 당함량이 대체적으로 낮은 경향이 있는데 그 결과는 표 1-3과 같다. 10 ° Bx이상은 금향 (11.9 ° Bx), 대왕 (11.7 ° Bx), 죽향 (11.2 ° Bx), 담향 (10.9 ° Bx), 매향 (10.9 ° Bx), 보교조생 (10.9 ° Bx), 씨베리 (10.8 ° Bx), 카오리노 (10.8 ° Bx), 옥향 (10.6 ° Bx), 아카네코 (10.6 ° Bx), 레드벨 (10.6 ° Bx), 사치노카 (10.6 ° Bx), 설향 (10.5 ° Bx), 아마오우 (10.5 ° Bx), 명보 (10.5 ° Bx), 썬타 (10.5 ° Bx), 베니훗페 (10.4 ° Bx), 아스카웨이브 (10.3 ° Bx), 설홍 (10.2 ° Bx), 생가생가나 (10.1 ° Bx), 여봉 (10.1 ° Bx), 수경 (10.1 ° Bx) 및 숙향 (10.0 ° Bx) 이었다. 대다수의 유전자원들이 8 ~ 10 ° Bx사이에 위치를 하였고, 8 ° Bx 미만인 자원도 8 점이 있었다 (카마로사 (7.9 ° Bx), 수홍 (7.9 ° Bx), 관하 (7.6 ° Bx), 페스티발 (7.5 ° Bx), 스위트찰리 (7.5 ° Bx), 오소그란테 (7.2 ° Bx), 하루노카 (7.2 ° Bx) 및 포틀라 (6.3 ° Bx)) (표 1-3).

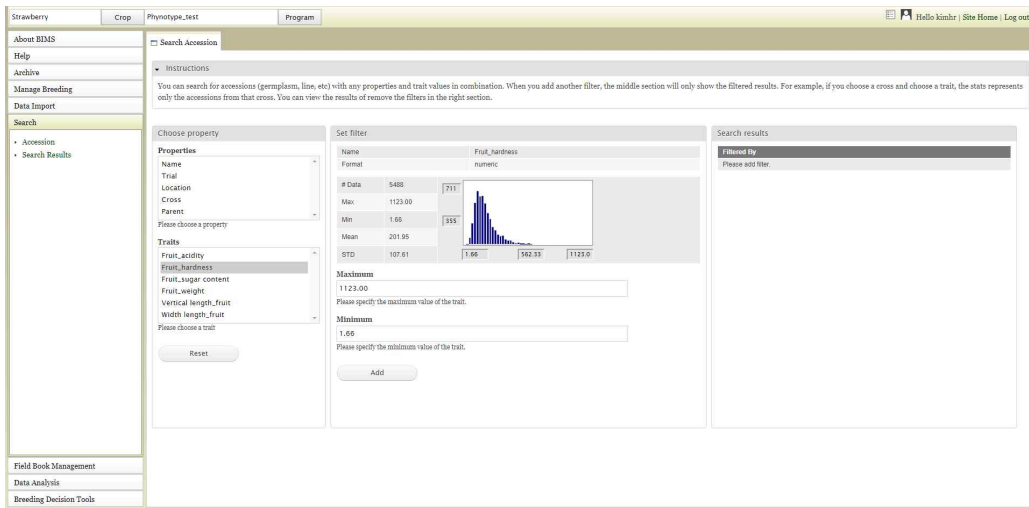
2차년도 결과에서는, 상대적인 기준으로 비교하는 설향 (8.811 ° Bx)과 매향 (8.897 ° Bx)의 당도가 작년보다 낮아졌으며 10 ° Bx이상은 아람 (11.018 ° Bx)이 유일하였고, 대다수의 유전자원들이 7 ~ 10 ° Bx사이에 위치를 하였으며, 5 ° Bx 미만인 자원이 14 점으로 매우 많았다 (Missionary (4.888 ° Bx), Linn (4.379 ° Bx), 조홍 (4.225 ° Bx), 포틀라 (3.998 ° Bx), Northwest (3.802 ° Bx), 천학 (3.630 ° Bx), 대학1호 (3.613 ° Bx), Cascade (3.448 ° Bx), 구루메52 (3.115 ° Bx), Comet (2.938 ° Bx), Favette (2.853 ° Bx), Aiberry (2.522 ° Bx), Jansan (2.378 ° Bx) 및 길경53 (1.912 ° Bx)) (표 1-3).

3차년도에 분석한 62개의 유전자원에서는 아키히메 (11.309 ° Bx), 아리향 (10.841 ° Bx), Shasta (10.803 ° Bx) 및 두리향 (9.928 ° Bx)이 설향과 매향보다 당도가 높았다. 반면에 Sunrise (4.460 ° Bx), Redguntlet (5.100 ° Bx) 및 에치고히메 (5.318 ° Bx)은 당도가 매우 낮은 유전자원으로 분류되었다 (표 1-3).

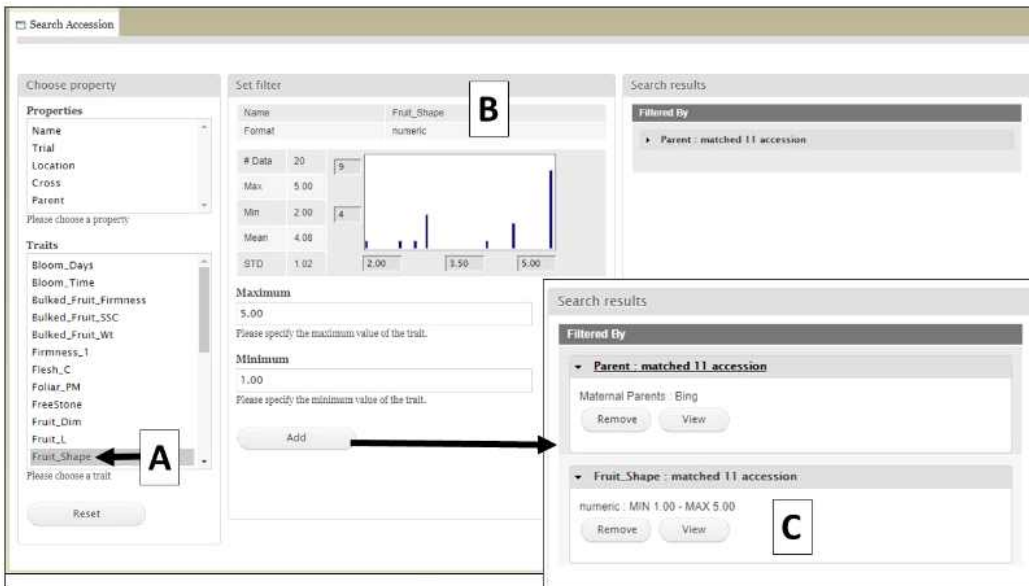
2. 딸기 육종소재의 주요 형질 데이터베이스 구축

가. 1차년도부터 3차년도까지 수행했던 딸기 육종소재 164점의 엽형 (엽장, 엽폭 및 엽병 길이)과 열매관련 표현형 (과중, 과형, 경도, 당도 및 산도) 조사 결과를 Breeding Information Management System (BIMS, <https://www.rosaceae.org/bims>)를 이용하여 데이터베이스화 하였다. 표현형 결과 값을 모두 입력한 후 Search 탭에서 입력된 traits별로 최소값, 최대값, 평균값 및 분포도가 그래프로 그려진다 (그림 1-3A). 또한 컬럼의 옵션을 선택하여 내가 원하는 traits만 열어볼 수 있고, 이 모든 검색 결과는 엑셀파일로 다운로드가 가능하며 원하는 traits 값에 따라 정렬하고 유전자원을 선발할 수 있도록 데이터베이스가 구축되었다 (그림 1-3B, 1-3C).

(A)



(B)



(C)

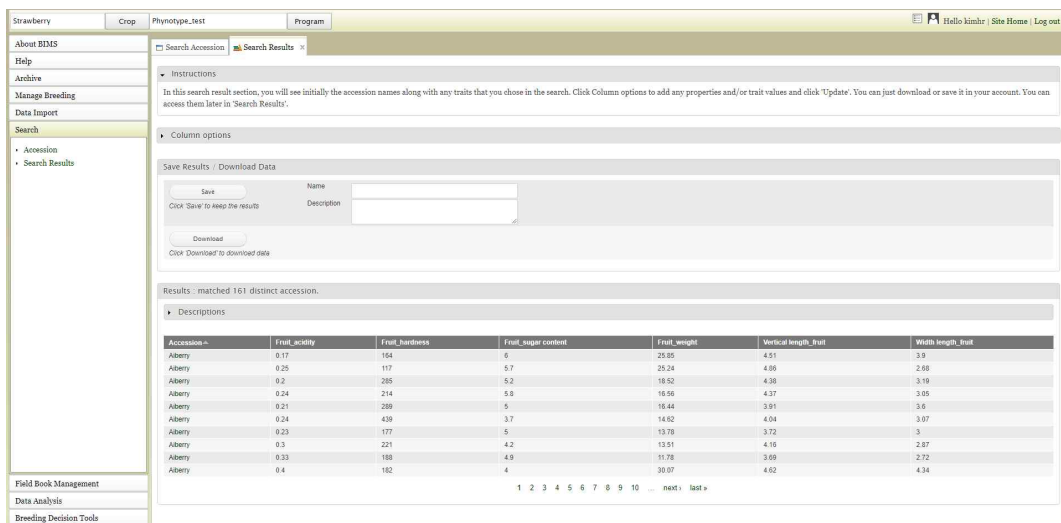


그림 1-3. BIMS를 이용하여 구축한 딸기 주요 형질관련 데이터베이스

3. 딸기 유전체 정보 수집

가. 현재 사용되고 있는 딸기 유전체의 reference는 *Fragaria vesca* (2배체)이다. 최근 8배체인 *F. x ananassa*와 *F. iinumae* (71 Gb), *F. nipponica* (72 Gb), *F. nubicola* (74 Gb) 및 *F. orientalis* (75 Gb) 4개의 다른 야생종의 유전체 정보가 보고되었다. 이 연구결과로 나온 genome assembly 정보, CDS 정보, protein 정보, unigene 정보와 기존에 보고된 EST 데이터를 Strawberry GARDEN, Phytozone v10, GDR, dbEST에서 수집하였다. 수집된 정보의 생산 절차와 가공 방법은 그림 1-4과 같다. 또한 reference genome과 8배체 딸기, 그리고 4종의 야생종 딸기의 genome assembly 결과는 표 7에 요약되었다. 간단히, 8배체 딸기의 경우 총 697.8 Mb의 assembly로 N50이 2.2 Kb이며, 4종의 야생종 (*F. iinumae*, *F. nipponica*, *F. nubicola*, *F. orientalis*)은 각각 199.6 Mb, 206.4 Mb, 203.7 Mb, 214.2 Mb의 assembly로 N50은 각각 3.3 Kb, 1.3 Kb, 1.3 Kb, 0.7 Kb이며 해독의 완성도는 낮은 편의 assembly이다 (표 1-4).

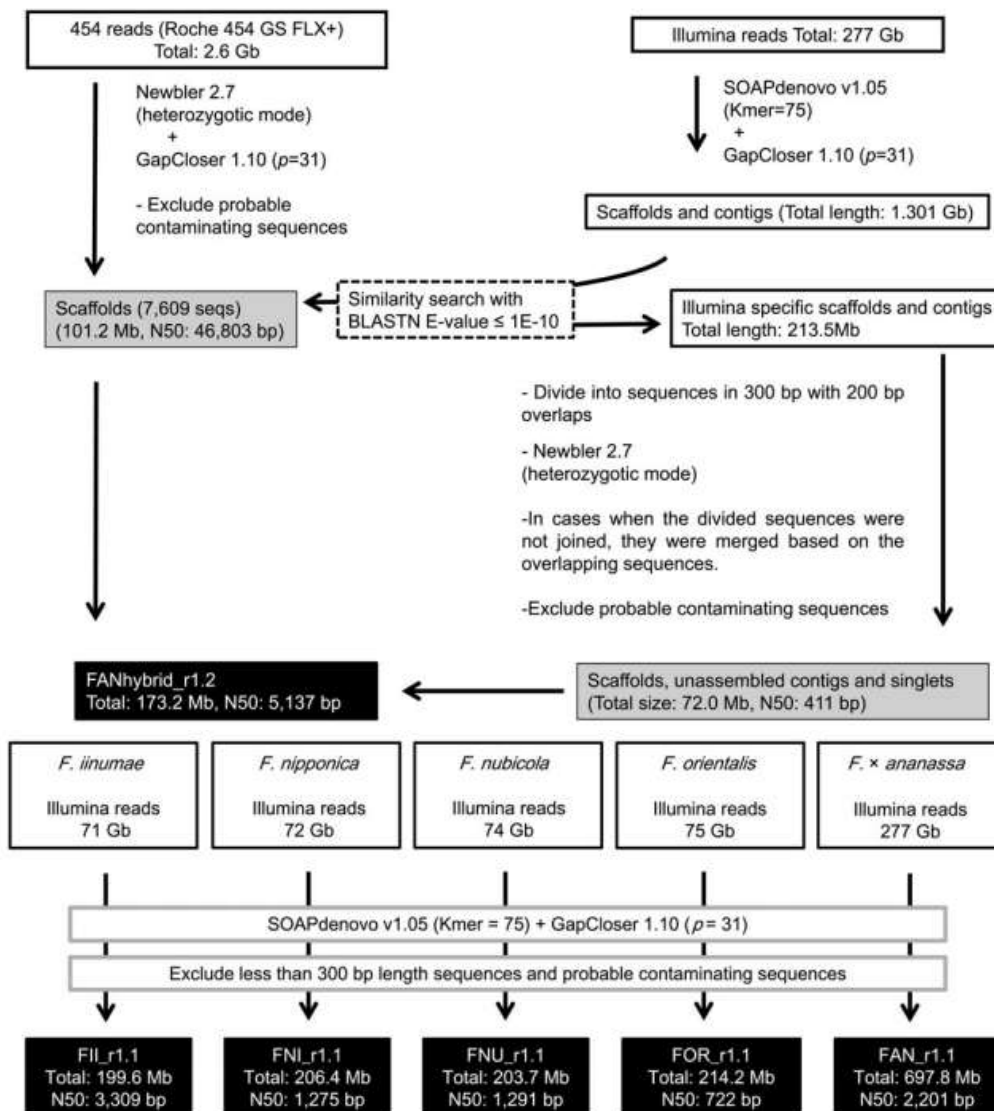


그림 1-4. *Fragaria* species genome assembly

2) 딸기의 reference genome인 2배체 딸기 *F. vesca* 의 genome은 8개의 molecule 로 구성되어 있으며, 전체 크기가 약 207 Mb이고, N50은 27.2 Mb이며, 총 CDS가 32,831 (phytozome 정보 기준)개이며 CDS 평균 길이는 1.185 bp였다 (표 1-4, 1-5). 이외에도 unigen 정보와 58,295개의 EST 정보를 수집하였다 (표 1-6, 1-7, 1-8).

표 1-4. Genome assembly 데이터

<i>Fragaria</i> species	Sequence	Total length(bp)	N50(bp)	Average length(bp)	Source
FAN_r1.1	625,966	697,765,214	2,201	1,115	S. GARDEN
FANhybrid_r1.2	211,588	173,229,572	5,137	819	S. GARDEN
FIL_r1.1	117,822	199,627,645	3,309	1,694	S. GARDEN
FNI_r1.1	215,024	206,414,979	1,275	960	S. GARDEN
FNU_r1.1	210,780	203,686,576	1,291	966	S. GARDEN
FOR_r1.1	323,163	214,184,046	722	663	S. GARDEN
Fvesca_v1.1_pseudo	7	195,120,776	28,438,568	27,874,397	S. GARDEN
Fvesca_226_v1.1	8	206,888,726	27,214,541	25,861,091	Phytozome v10
Fvesca_v1.1 Scaffolds	256	220,201,181	1,481,573	860,161	GDR

표 1-5. CDS 데이터

<i>Fragaria</i> species	Sequence	Total length(bp)	N50(bp)	Average length(bp)	Source
FAN_r1.1	230,838	123,332,484	729	534	S. GARDEN
FANhybrid_r1.2	45,377	32,959,863	1,290	726	S. GARDEN
FIL_r1.1	76,760	51,157,450	948	666	S. GARDEN
FNI_r1.1	87,803	46,675,420	703	532	S. GARDEN
FNU_r1.1	85,062	44,284,664	687	521	S. GARDEN
FOR_r1.1	99,674	40,665,402	484	408	S. GARDEN
Fvesca_226_v1.1	32,831	38,917,817	1,596	1,185	Phytozome v10
Fvesca_v1.0	34,809	40,390,572	1,587	1,160	GDR

표 1-6. Protein 데이터

<i>Fragaria</i> species	Sequence	Total length(bp)	N50(bp)	Average length(bp)	Source
FAN_r1.1	230,838	40,907,134	243	177	S. GARDEN
FANhybrid_r1.2	45,377	10,946,446	430	241	S. GARDEN
FIL_r1.1	76,760	16,983,331	316	221	S. GARDEN
FNI_r1.1	87,803	15,483,179	234	176	S. GARDEN
FNU_r1.1	85,062	14,688,223	229	173	S. GARDEN
FOR_r1.1	99,674	13,472,882	161	135	S. GARDEN
Fvesca_226_v1.1	32,831	12,971,889	532	395	Phytozome v10
Fvesca_v1.0	34,809	13,428,734	529	386	GDR

표 1-7. Unigene 데이터

<i>Fragaria</i> Unigene	Sequence	Total length(bp)	N50(bp)	Average length(bp)	Source
<i>Fragaria</i> Unigene v5.0	6,226	5,929,729	993	952	GDR

표 1-8. EST 데이터

<i>Fragaria</i> EST	Sequence	Total length(bp)	N50(bp)	Average length(bp)	Source
<i>Fragaria</i> ESTs	58,295	36,574,377	720	627	NCBI dbEST

4. 딸기 유전체 정보 기반 유용형질 관련 분자마커 대량 발굴

가. 사계성 형질 관련 개화유전자의 SNP 발굴

- 딸기의 일계성(단일)과 사계성(중일)의 표현형을 구별할 수 있는 마커를 선별하기 위하여 기존에 보고된 BX215 마커를 이용하여 일계성 품종인 설향과 매향, 사계성 품종인 고하, 관하, 무하, 알비온의 genomic DNA를 추출하여 테스트하였다. PCR 산물들은 MultiNA Microchip Electrophoresis System을 이용하여 DNA 염기서열의 크기를 확인하였다. 설향에서는 128 bp가 검출되었고, 나머지 품종에서는 127 bp로 검출되어, 사계성과 일계성 형질을 구별할 수 있는 대립인자가 정확히 검출되지는 않았다.
- 딸기에서 중요한 개화관련 유전자로 보고된 *FaFT2*와 개화 촉진과 관련이 있는 cytokinin oxidase 1 precursor를 인코딩하는 유전자 *FaCKX1*의 promoter와 gene 영역에서 사계성과 일계성 품종 간 차이를 보이는 SNP를 탐색하고 이를 이용한 HRM (high-resolution melting) 마커를 개발하여 품종 간에 구별이 가능한지 알아보고자 일계성(단일) 딸기인 설향, 매향과 사계성(중일) 딸기인 고하, 관하, 무하, 알비온에서 cloning하였고, 염기서열 비교를 수행하였다.
- 딸기에서 *FaFT2* 4.0 kb와 *FaCKX1* 5.6kb 염기서열을 분석한 결과 일계성 품종 설향, 매향과 사계성 품종 알비온 사이에서 차이를 보이는 SNP들은 *FaFT2*에서 총 84개, *FaCKX1*에서 총 179개가 발견되었고, 이 중에서 일계성 품종들인 설향, 매향과 사계성 품종들인 고하, 관하, 무하, 알비온 사이에서 차이를 보이는 SNP들은 *FaFT2*에서 2개, *FaCKX1*에서 2개가 발견되었다 (표1-9). 발견된 총 84개의 *FaFT2* SNP들과 179개의 *FaCKX1* SNP들을 이용하여 총 36개의 HRM 마커를 제작하였다 (표1-10).

표1-9. *FaFT2*와 *FaCKX1*에서 조사된 유전자원별로 구별 가능한 SNP 수

	<i>FaFT2</i>	<i>FaCKX1</i>
설향,매향vs 고하	90	245
설향,매향vs 관하	123	270
설향,매향vs 무하	136	306
설향,매향vs 알비온	84	179
설향,매향 vs 고하, 무하	9	18
설향,매향 vs 고하, 알비온	6	3
설향,매향 vs 무하, 알비온	6	8
설향,매향 vs 관하, 알비온	7	6
설향,매향vs 고하, 무하, 알비온	4	3
설향,매향vs 고하, 관하, 무하, 알비온	2	2

표1-10. 딸기 개화 관련 유전자들 *FaFT2* 및 *FaCKX1*의 SNP들을 이용한 HRM 마커 목록

Primer ID	Forward (5' -3')	Reverse (5' -3')	SNP
FT2HRM1	TCCTCAAGCTCCACGACATA	CGAGCCTCGTTAGAGGAGAG	T/G
FT2HRM2	CAAGCTTACTTCGTTGTGGTTT	ACTTGGAGCCTCGTGATTTAG	A/C
FT2HRM3	GGCAACAAAGGAATCGAGATAAG	GTACCCATCCTCGGGTTATTG	G/C
FT2HRM4	TCGAGATTCAATAACCTGAGAATAGG	GGCAGTTGCTTGAAGTTGTG	T/A
FT2HRM5	TTCAAGCAACTGCCGATTTTT	TATACTCCTCAACAAAATGGATTG	A/C
FT2HRM6	CAATCCATTTTGTGAGGAGTAT	TGCAGTTACATGGAATTTGACATC	G/A
FT2HRM7	GTTTAGATGACCCAACCTACGA	GGTCAATAAAGCTGAGAGTGAGA	T/A
FT2HRM8	TCTCACTCTCAGCTTTATTGACC	TGGAGAGAAACATATGCAGTCTT	T/A
FT2HRM9	TAGCCAACCTGAGAGAAGATTGC	TCAAACACATTAACCCCTTGATTCTG	A/T
FT2HRM10	ATCAAGGGTTAATGTGTTTGATAGG	GTACCACTGATGATACTCCAACCT	C/T
FT2HRM11	TGATTCGGGATTCAGGTTTGG	CCCACAAATCACACACAAATTCC	T/C
FT2HRM12	GGGCTATGATGCCAAGTAGAA	ACATTGAAGCATACCAAACCAT	C/G
FT2HRM13	TGCTTCAATGTATTATTCTTCTCCA	GGAAATATTTTCTATTAGCACTACAA	T/A
FT2HRM14	CGAGTTCAGATAGGTGGAGATG	AGTAATTGCTTACCAGAGTGTAGA	T/C
FT2HRM15	CATGCTCTTTGTCTGTTTGTTTAG	ACCATGACCTGCAATCAAGTA	C/G
FT2HRM16	CTTGATTGCAGGTCATGGTAGA	TTGAGGTTGGGATCACTTGG	C/T
FT2HRM17	GAAGAACATGCATCCGTTCA	CCTCAATCATCATCAACCTAGTG	T/C
FT2HRM18	GGGTTACTTCTAATACCAGCAAGA	AGATGGCCTTGGACTTTTCATAG	C/G
FT2HRM19	TGTGTCATAATGCTTGTAAGTTGTG	TTTGAGGTAGCCTTGCAAAA	C/T
FT2HRM20	TTTGCAAGGCTACCTCAA	GCCCATTTGAGTCCATTTG	C/T
CKX1HRM1	CACACATATACCGCAACCAATG	GGAATGCAAGAGGAGCTGT	G/T
CKX1HRM2	CCGATTCTCCATTGTCCAATAC	CCACCCCTCAGATTGTAGGA	T/G
CKX1HRM3	GAATTGAAATCTTCACTCAAGGACA	AGGTATTCCTGGTCTCTCGT	C/G
CKX1HRM4	AAAGTCATCATGGTCATTTTCGTT	TGTTCAAAAATGACGGAGGAA	A/T
CKX1HRM5	TTCTCCGTCATATTTTGAACA	AAACACTAAACATACAATGAGTGATGC	T/A
CKX1HRM6	GCATCACTCATTGTATGTTTAGTGT	GAAACCATATTAACCTAAATTTCTGC	A/T
CKX1HRM7	TCCTCCTCAACCCTCTACTTCCT	GGGTAAAAAGGCGAGAGGAGA	T/C
CKX1HRM8	TGGGTGGTGGGTATGAAAAA	CATCACCCCTTCTATAATAAACTCTT	A/G
CKX1HRM9	ACAGATAACCACTTCTCCCT	TCCGAAACACTTTCTGGATGTA	G/C
CKX1HRM10	GTTGCTGCTAGAGGCCAT	TGACTGACCTGGAGTGA	T/A
CKX1HRM11	GCTATATCCCTTCCACGCTATTT	CAGATACATGTACCCTGTCCAAA	T/C
CKX1HRM12	GGTTACACCGGAGGAACATA	TCCACTTGAAGAGGGAACCTG	T/A
CKX1HRM13	CACGTGTTAATTCAGAACAAAAGAA	GACCCCAAGATTGGCTGTTT	T/A
CKX1HRM14	ACACTAACTATTGTGAATACCAATCA	TGGCGCGGATTAAAGAAATA	T/G
CKX1HRM15	CTTTAATCCGCGCCAGTTTG	GCTGTTAGTGTACATAGCCCTAC	C/T
CKX1HRM16	CAGCCTGAACAACACTGAATTT	TGGATGTGTATGAAGGTGGATG	A/G

- HRM을 수행한 결과, FT2HRM4 마커가 일계성 품종들과 사계성 품종들을 구별 가능한 특이적 SNP를 검출하는 것을 확인하였다 (그림1-4). 일계성 품종인 설향과 매향은 서로 동일한 그래프 유형을 보였고, 사계성 품종들인 고하, 관하, 무하, 알비온은 일계성 품종들과는 다르나 사계성 품종들 간에는 동일한 그래프 유형을 보였다. 따라서 FT2HRM4 마커를 이용한 HRM 분석으로 사계성에 따른 품종을 구별할 수 있었다.

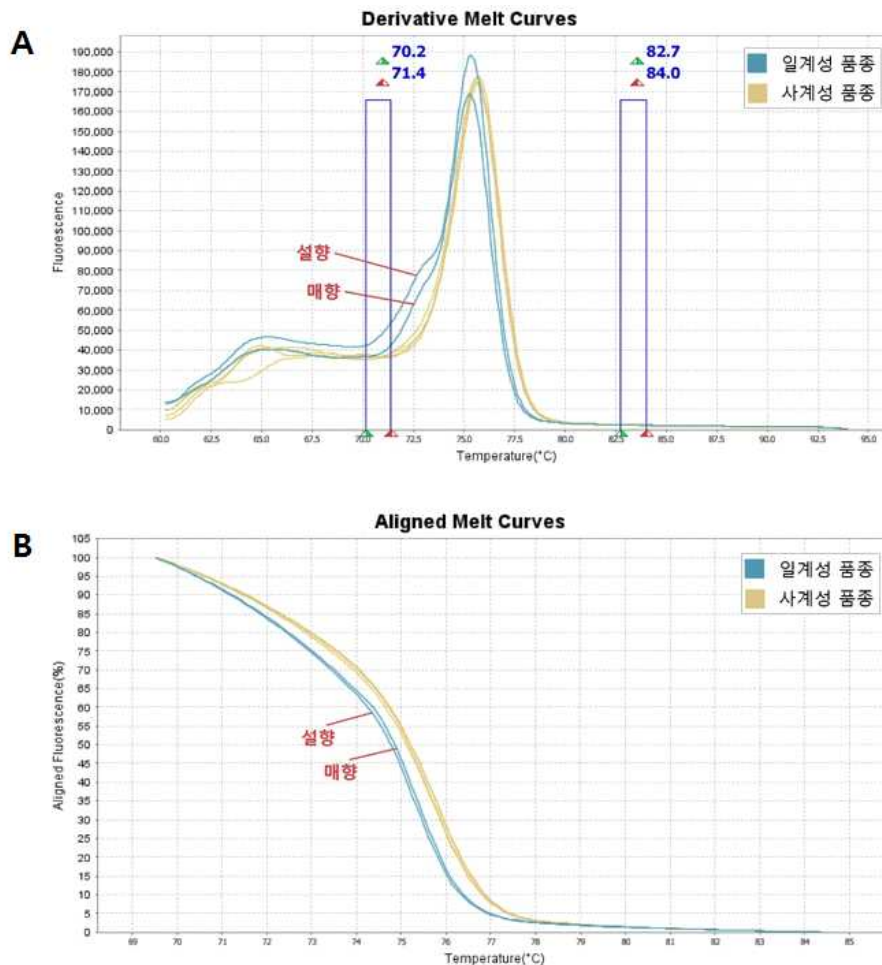


그림 1-4. 딸기 일계성 품종 및 사계성 품종 간의 개화시간 조절유전자 *FaFT2* 관련 SNP 마커 FT2HRM4를 이용한 High-resolution melting 분석 결과. (A) Derivative melt curve 결과, (B) Aligned melt curve 결과

- 딸기의 사계성 및 일계성 형질이 구별 가능한 SNP기반 분자마커를 제작하여 정확성을 좀 더 높이기 위해 국내 및 해외의 딸기 품종들을 이용하여 HRM을 수행하였다. 딸기 품종들은 사계성 및 일계성 형질이 알려진 품종들로, 사계성 품종은 4품종(미국 4품종), 중일성 8품종(영국 2품종, 일본 3품종, 한국 3품종), 그리고 일계성 품종 29품종(미국 8품종, 일본 6품종, 한국 15품종) 총 41품종이 실험에 사용되었다. 사계성과 일계성을 구별할 수 있는 SNP를 발굴하기 위해, 사계성인 미국 4품종(Albion, Monterey, San Andreas, Portola), 국내 중일성 2품종(고하, 무하), 일계성인 미국 2품종과 국내 2품종(설향, 매향)으로 *FaFT2* 및 *FaCKX2* 유전자를 증폭시켜 sequencing 후 SNP variant calling 분석을 통하여 사계성과 일계성의 서열에서 차이가 나는 후보 SNPs를 선별하였다(표1-11). 선별

된 SNPs를 기반으로 HRM 마커를 제작하고 HRM을 수행하였다 (표1-20). 실험 결과, 딸기 41품종과 CKX2SNP3-HRM 마커로 수행하여 melting curve pattern들을 확인하였을 때, 품종별로 사계성, 중일성, 일계성이 구분되는 것을 확인하였다(그림1-5, 표1-12). 중일성 품종 중 무하와 관하는 사계성 품종들과 동일한 패턴(pattern 1)을 보였으며 다른 중일성 품종들은 일계성 품종들과 동일한 패턴(pattern 2 와 pattern 3)을 보이는 것으로 나타났다(그림1-5, 표1-21).

표1-11. 딸기에서 *FaFT2* 및 *FaCKX2* 유전자들의 SNP variant 분석

Primer	Region	Position	사계성				중일성			일계성			
			Albion	Monterey	San Andreas	Portola	고하	무하	설향	매향	Shasta	Klondike	
FT2SNP1-HRM	Promoter	556	TT	TT	TT	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	
FT2SNP2-HRM	Promoter	1559	TT	TT	TT	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
FT2SNP3-HRM	Promoter	2194	TT	TT	TT	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	
CKX2SNP1-HRM	Promoter	1602	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GG	GG	GG	GG	
CKX2SNP2-HRM	Promoter	2150	TA	TA	TA	TA	TA	TA	TT	TT	TT	TT	
CKX2SNP3-HRM	<i>FaCKX2</i> exon4	4188	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AA	AA	AA	AA	

표1-12. *FaFT2* 및 *FaCKX2* 유전자들의 SNP 기반 HRM 마커 목록

Gene ID	Position	Primer name	Forward	Reverse	Temp.	Size
<i>FaFT2</i>	556	FT2SNP1-HRM	AGTTTCTGAAGCTGTTGTAGAG	GCTACATACCTTATTAATCGTACCC	60	74
	1559	FT2SNP2-HRM	AGGGACGACTAATACAGAATCA	ACTGATGGTACTCCAACCTCC	61	87
	2194	FT2SNP3-HRM	GATTTGTGGGTTTTGGGTG	ATTGAAGCATACCAAACC	55	121
<i>FaCKX2</i>	1602	CKX2SNP1-HRM	TGGTCATTTCGTTACTC	CAATGAGTGATGCTAAC	52	99
	2150	CKX2SNP2-HRM	CCAAGTAAACCAGCCATACC	GATTGAGATGTGCCAAGTGA	60	90
	4188	CKX2SNP3-HRM	ATCTATGGGACATTCCACAC	GAACACTCCTCGAGCAA	59	80

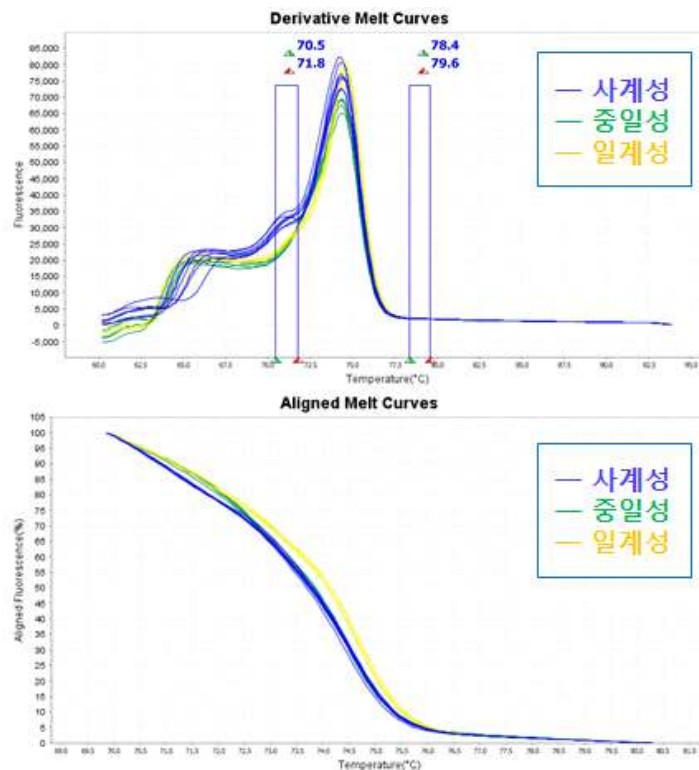


그림1-5. 딸기 41품종을 이용한 사계성 및 일계성 구별마커 CKX2SNP3-HRM 결과 그래프

표1-13. 딸기 41품종을 이용한 사계성 및 일계성 구별마커 CKX2SNP3-HRM 결과

Varieties	Trait	Country	CKX2SNP3-HRM curve pattern
Monterey	사계성	USA, California	1
Albion	사계성	USA, California	1
Portola	사계성	USA, California	1
San Andreas	사계성	USA, California	1
Flamenco	중일성	UK	2
Bolero	중일성	UK	2
Summerberry	중일성	Japan	2
Everberry	중일성	Japan	2
Pechika	중일성	Japan	2
고하	중일성	Korea	2
무하	중일성	Korea	1
관하	중일성	Korea	1
Camarosa	일계성	USA, California	3
Camino Real	일계성	USA, California	3
Klondike	일계성	USA	3
Shasta	일계성	USA	3
Strawberry Festival	일계성	USA, Florida	3
Sweet Charlie	일계성	USA, Florida	3
Cardinal	일계성	USA, Akansas	3
Missionary	일계성	USA	3
Sachinoka	일계성	Japan	3
육보 (Red Pearl)	일계성	Japan	3
장희 (Akihime)	일계성	Japan	3
Tochiotome	일계성	Japan	3
Akanekko	일계성	Japan	3
보교조생 (Houkouwase)	일계성	Japan	3
설향	일계성	Korea	3
매향	일계성	Korea	3
죽향	일계성	Korea	3
숙향	일계성	Korea	3
금향	일계성	Korea	3
설홍	일계성	Korea	3
다홍	일계성	Korea	3
미홍	일계성	Korea	3
조홍	일계성	Korea	3
수홍	일계성	Korea	3
초동	일계성	Korea	3
싼타	일계성	Korea	3
대왕	일계성	Korea	3
단미	일계성	Korea	3
옥매	일계성	Korea	3

- 딸기에서 중요한 개화 관련 유전자로 보고된 *FaFT2*에서 사계성과 일계성 품종을 구별할 수 있는 마커 후보로 선발되었다. 따라서 딸기의 어린잎과 늙은 잎에서 *FaFT2*의 발현을 비교하였고 (그림1-6), 어린잎에서는 *FaFT2*의 발현양이 매향과 관하에서 높고 설향, 고하, 무하에서는 낮았다. 그러나 늙은 잎에서 사계성보다 일계성인 설향, 매향에서 발현양이 많음을 알 수 있었다.
- 설향의 화아분화, 화아미분화 및 어린 런너 시기별로 잎과 엽병을 샘플링하여 *FaFT2*의 발현을 조사하였다(그림1-7). 전체적으로 엽병보다 잎에서의 발현양이 많았지만 시기에 따라 특이적인 발현 패턴을 보이지 않았다.

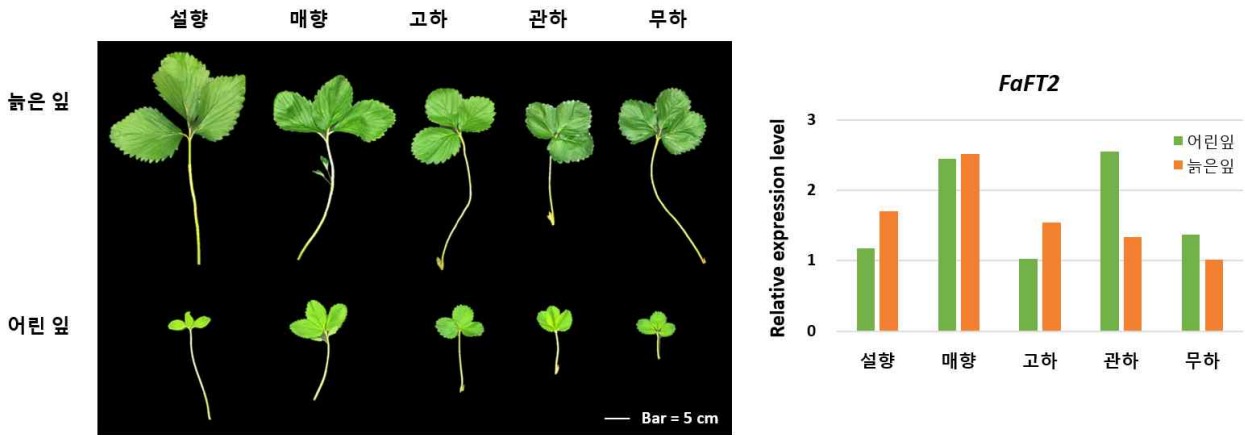


그림1-6. 딸기의 어린잎과 늙은잎에서 *FaFT2*의 발현양 비교

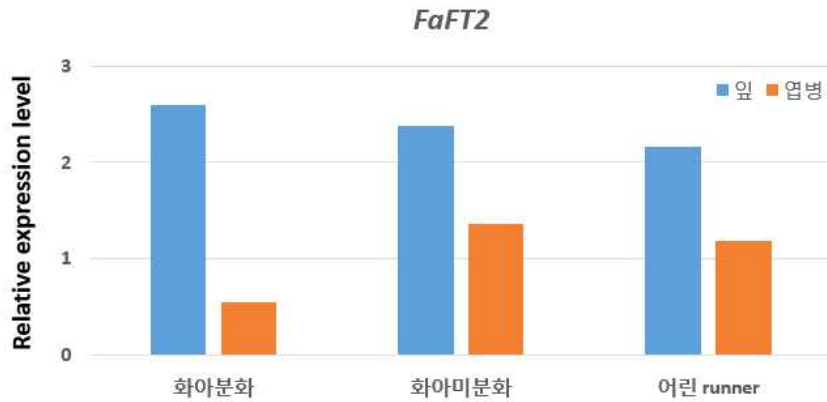


그림1-7. 설향 딸기의 화아분화, 화아미분화 및 어린 런너 시기의 잎과 엽병에서 *FaFT2*의 발현양 비교

나. 당함량 관련 유전자 분석

- 논산딸기시험장에서 재배 된 여러 품종의 딸기 중 2016년 겨울~2017년 봄 사이 당도 분석을 한 후 저당도의 딸기 4 품종 (당도), Missionary (4.4 °brix), Camonoreal (5.3°brix), 포톨라 (3.8°brix), Jansan (4.8°brix) 및 고당도의 딸기 4 품종, 설향 (9.4°brix), 금실 (9.1°brix), 아람 (10.7°brix), 매향 (9.1°brix)을 선별 하여 열매의 성숙/발달 단계에 따른 당도 분석을 진행하였다.

꽃에서 수정이 일어난 후 종자가 생성되고 꽃턱(receptacle)이 발달하여 열매의 형태를 나타내는 단계를 stage1, 열매의 부피 생장이 최대로 일어나고 색이 녹색에서 흰색으로 변하는 단계를 stage2, 열매의 전체가 빨간색이며 성숙이 최대로 진행 된 단계를 stage3으로 정하였다(그림1-8).



그림1-8. 딸기 열매의 발달/성숙 과정 별 샘플(좌) 및 열매의 부위 별 당도 분석을 위한 시료(우)

- 2017년 2월~3월, 논산딸기시험장에 재배중인 딸기를 채집하여 각 품종마다 열매의 발달 단계별로 당도를 측정하였다. 열매 발달 초기 stage1에서의 당도는 저/고당도의 열매 모두 5~6 ° brix정도로 별 차이를 보이지 않았지만 stage2 단계부터 당도 차이가 나타났다. 저당도의 품종은 stage1에 비해 당도가 떨어지고 고당도의 품종들은 stage1에 비해 당도 차이가 없거나 증가하였다. 최종적으로 stage3에서는 대부분의 품종에서 당도가 증가하는 양상을 보였다. 고당도의 품종들은 기존 당도 측정에서 대부분 10 °brix이상의 당도를 보였으나 시료 채집의 시기차이로 당도가 높지 않은 것으로 나타났다(그림1-9).

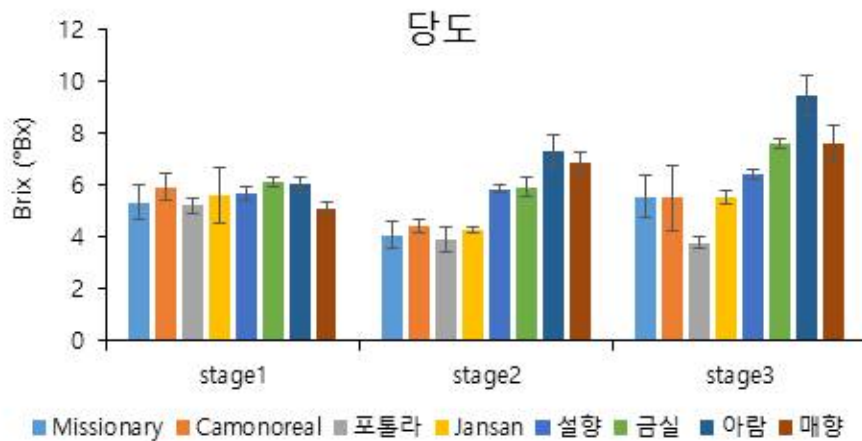


그림1-9. 열매의 발달/성숙 단계 별 당도 분석 결과

- 또한 열매가 완전히 성숙했을 때 꽃받침 및 줄기와 연결 되어있는 상단 부위와 그 반대 쪽 하단 부위의 당도를 분석 한 결과 Missionary (3.4 °brix), Camonoreal (4.3 °brix), 포틀라 (6.4 °brix), Jansan (6.4 °brix), 설향 (4.5 °brix), 금실 (4.9 °brix), 아람 (6.3 °brix), 매향 (5.1 °brix) 차이로 상단 부위 보다 하단 부위에서 당도가 높은 것으로 확인되었다(그림 1-10).

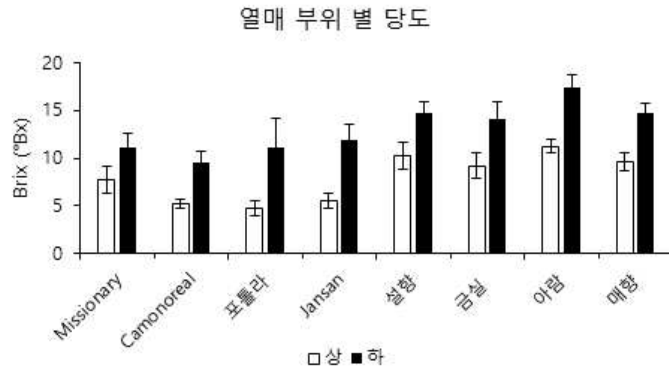


그림1-10. 열매의 상/하단 부위 별 당도 분석 결과

- 딸기 열매의 당도를 결정하는 당 성분을 확인하기 위해 HPLC-ELSD(High Performance Liquid Chromatography-Evaporative Light Scattering Detector) 방법을 이용하여 열매의 당 성분(자당, 포도당, 과당)을 분석하였다. 재료는 당도의 차이가 가장 큰 포틀라와 아람의 stage3 열매를 사용하였다. 당 함량 측정 결과 포도당과 과당의 양은 차이가 거의 없지만 자당의 양은 아람이 포틀라에 비해 2.7배 높게 확인되었다. 이것은 포틀라와 아람의 당도 차이 2.5배와 거의 일치하는 자료이다(그림1-11). 이 결과를 바탕으로 열매의 당도를 결정하는 당 성분은 자당일 것이라는 생각을 할 수 있다.

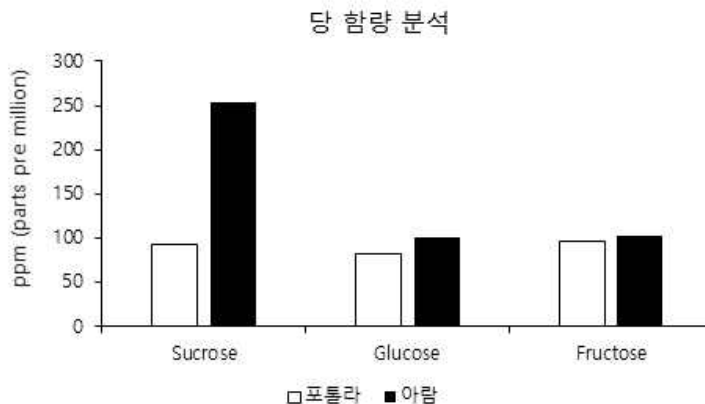
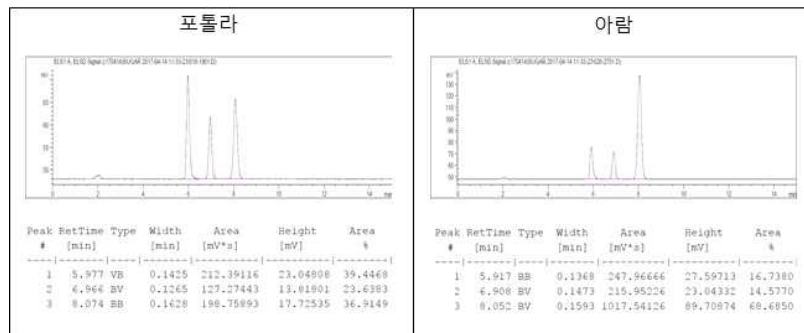


그림1-11. 포틀라, 아람의 stage3 시기의 열매에서 HPLC-ELSD 분석을 이용한 당 함량 분석 결과

- 식물이 가진 당 성분 중 자당(Sucrose), 포도당(Glucose), 과당(Fructose)이 열매의 당도와 밀접한 관계를 가진 것은 잘 알려진 사실이다. 식물체 내에서 생성되는 당 성분은 광합성 및 탄소대사 기작을 통해 만들어지며, 그 중 자당은 식물체 내에서 저장 및 이동이 가능한 성분이기 때문에 자당의 합성, 분해 및 이동에 관련 된 유전자가 식물의 당 생성에 결정적인 작용을 할 것이고 또한 광합성으로 생성 된 전분(Starch) 이 분해되어 자당을 형성하는 전구물질을 제공해주므로 전분 분해 과정이 중요할 것이다(그림1-12). 딸기의 전분 합성, 자당의 합성, 이동 및 분해 관련 유전자의 발현 확인을 위한 RT-PCR primer를 제작하여 발현을 분석하였다(표1-14).

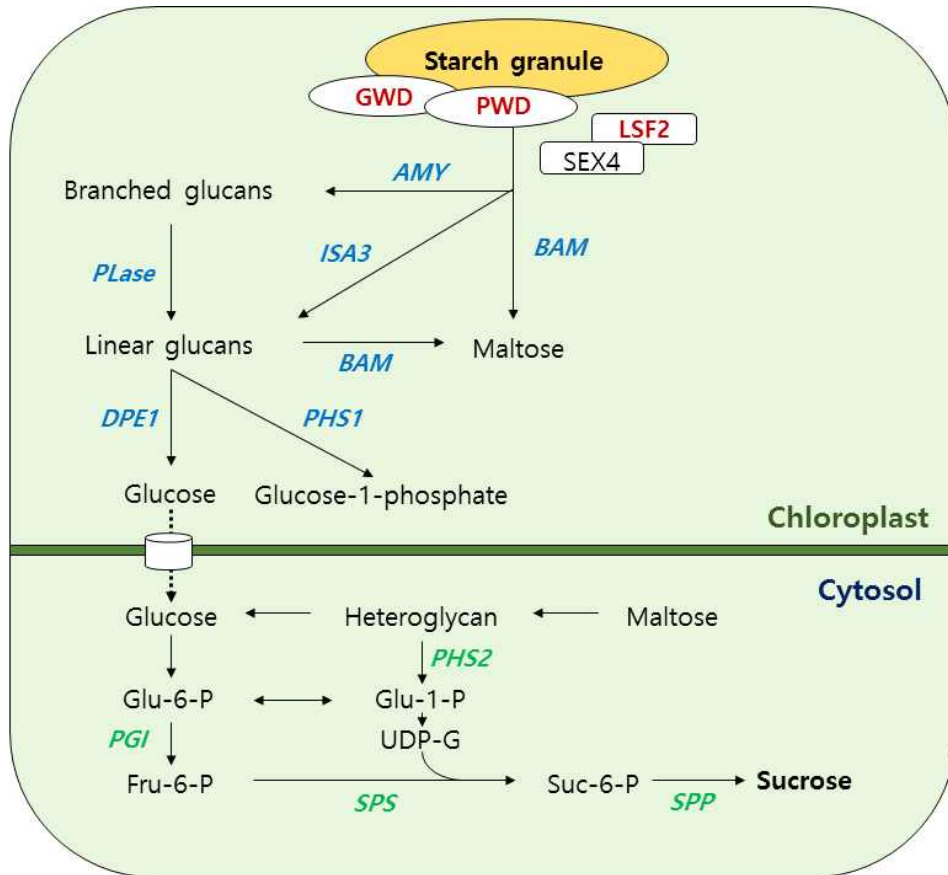


그림1-12. 식물체내 전분의 분해 및 자당의 합성 과정과 관련 유전자

표1-14. 딸기의 전분 합성, 자당의 합성, 이동 및 분해 관련 유전자의 발현 확인을 위한 RT-PCR primer

Primer	Sequence (5' →3')
<i>FaPHS1</i> forward	CAACATGAAGTTTGCAATGA
<i>FaPHS1</i> reverse	TCTTTGCCAACAAGGAAGTA
<i>FaPHS2</i> forward	TGTTTTTGTCCTCAAATTACAA
<i>FaPHS2</i> reverse	GCATCTAAATAGCCTGCAAA
<i>FaPWD</i> forward	CTTCATCAGAAAACAGCAATG
<i>FaPWD</i> reverse	TGATTCCATGGATTGCTT

<i>FaPLase1</i> forward	TCGACTTCACCTATAAATTCCAA
<i>FaPLase1</i> reverse	CATTGACGATAAACCACAATGTA
<i>FaBAM1</i> forward	TCAATGGGGAAAGAGAAACT
<i>FaBAM1</i> reverse	CTTGTCAAAACATTGGAAGG
<i>FaLSF2</i> forward	TGTGGCATAACATTCTAAACTTG
<i>FaLSF2</i> reverse	AGAAATGACACGGTCTTGAA
<i>FaGWD1</i> forward	CTTCAGCACAAGAAAAGTGAA
<i>FaGWD1</i> reverse	GATCTTCACCATTGGAATCA
<i>FaDPE2</i> forward	CAGCGATATTTTAGCAGCAT
<i>FaDPE2</i> reverse	TCCAATAATGCTTCGGATT
<i>FaISA3</i> forward	ATGCTGATGGGAGATGAATA
<i>FaISA3</i> reverse	GGGGATTGGAACCTCAATAA
<i>FaPGI</i> forward	TCGATTACAGTTTCTGTGGAA
<i>FaPGI</i> reverse	TAAAACCCGCTTTTGAAGA
<i>FaSPP1</i> forward	CAAATTTACCCCAAGAGAT
<i>FaSPP1</i> reverse	CGATTTGTGTTGGTAAAACC
<i>FaSPS1</i> forward	TGCATCTGAACAACCTTCAAC
<i>FaSPS1</i> reverse	AGTAAATTACATGGCACCTCAA
<i>FaSUC2</i> forward	CTCTTTGCTCTCCTGGGTAT
<i>FaSUC2</i> reverse	CTTGCATTCTTAGCTGTTGG
<i>FaSUC3</i> forward	CAAAATTGCTTCCTTGATTG
<i>FaSUC3</i> reverse	AAAAGAAGCCAAAACAAAGG
<i>FaSUS1</i> forward	TGAGATCCTTGTTGACTTCTTT
<i>FaSUS1</i> reverse	AGATTGCTTCTGCCTCTTTT
<i>FaSUS2</i> forward	TGTTTACGGTTTCTGGAAGTAT
<i>FaSUS2</i> reverse	GAACGTGTAATGTCAAAAACG
<i>FaINV-DRT</i> forward	AAAGTCATGAGTGGCGAATA
<i>FaINV-DRT</i> reverse	CTTTCTTGCAATTTGTGGTC
<i>Faa/nINVRT</i> forward	TCCAAAGCAAATGAAGCTA
<i>Faa/nINVRT</i> reverse	GATTCTGCACCAGCATTTTA
<i>FaGAPDH</i> forward	TCCATCACTGCCACCCAGAAGACTG
<i>FaGAPDH</i> reverse	AGCAGGCAGAACCTTTCCGACAG

- 그래서 이 과정에 관여하는 유전자의 발현을 분석된 열매에서 살펴보았다. 당 대사 관련 기작의 연구는 애기장대에서 활발히 연구가 되어있고 보고된 애기장대의 유전자 CDS(Coding Sequences)를 이용하여 *Fragaria vesca*의 유전자 서열과 비교한 후 50% 이상의 상동성을 가진 유전자를 선별하여 유전자 서열을 확인하고 RT-PCR(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)을 통해 유전자 발현을 확인하였다(그림1-13). 전분 분해에 관여하는 *PHS1*, *PWD*, *PLase1*, *LSF2*, *GWD1*, *DPE2* 유전자는 stage1에서 발현이 높고 stage2 및 stage3에서 발현 정도가 감소한다. 이는 stage1에서 열매 발달 초기에 광합성 작용으로 합성되어 저장된 전분을 분해하여 열매의 부피 성장 및 발달에 필요한 영양분으로 사용하는 맥락과 일치하는 결과이다. 또한 자당을 합성하는 유전자의 경우 stage2와 stage3에서 stage1보다 증가하는 양상을 보이며 반대로 자당을 분해하는 유전자의 경우 stage3에서 발현이 감소되는 것을 확인할 수 있다. 하지만 관련 유전자의 발현정도의 비교로는 저당도/고당도의 품종 간 차이를 확인할 수는 없었다.

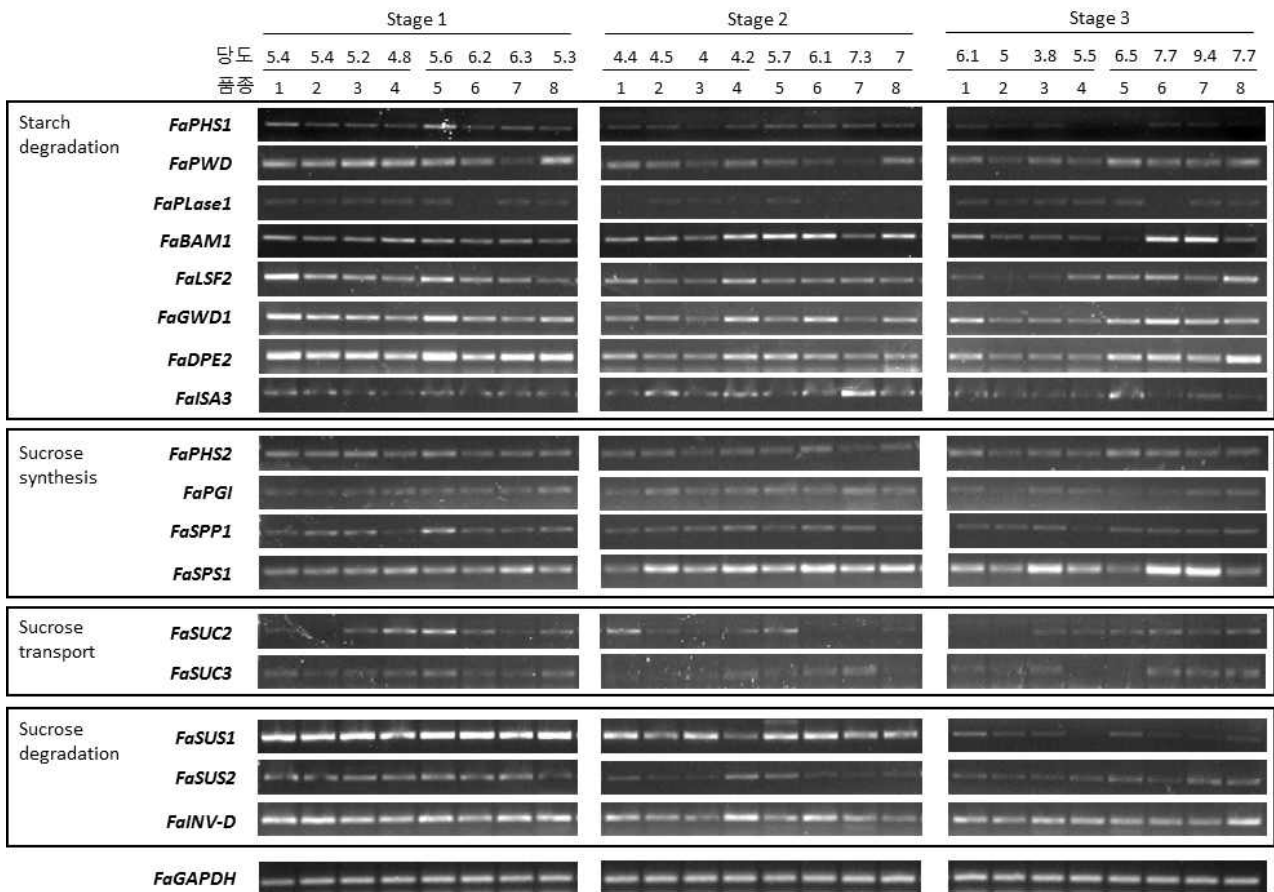


그림1-13. 저당도/고당도의 딸기 품종에서 열매의 발달/성숙 과정 별 전분 분해, 자당 합성, 자당 이동, 자당 분해에 작용하는 유전자의 발현 분석. PHS1, alphah 1,4 glucan phosphorylase; PWD, Phospho glucan water dikinase; PLase1, Pullulanase 1; BAM1, β -amylase; LSF2, Phosphoglucan phosphatase; GWD1, alpha-glucan water dikinase; DPE2, alpha-glucanotransferase; ISA3, Isoamylase; PHS2, alpha-glucan phosphorylase; PGI, glucose-6-phosphate isomerase; SPP1, sucrose-phosphatase 1; SPS1, sucrose-phosphate synthase 1; SUC2, sucrose transporter 2; SUC3, sucrose transporter 3; SUS1, sucrose synthase 1; SUS2, sucrose synthase 2; INV-D, invertase D; GAPDH, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. 품종 1, Missionary; 품종 2, Camonoreal; 품종 3, 포틀라; 품종 4, Jansan; 품종 5, 설향; 품종 6, 금실; 품종 7, 아람; 품종 8, 매향.

- 또한 위와 같은 유전자의 발현을 저당도/고당도 품종의 성숙한 열매의 상단 및 하단 부위에서 관찰하였다 (그림1-14). 대부분의 품종에서 상단/하단 부위에서 특이할 만한 결과를 발견하지 못하였다. 이는 딸기 열매의 과육 부분이 종단으로 형성되는 중심주의 바깥 쪽으로 형성되기 때문일 것으로 여겨지는데 특이할만한 점은 고당도의 품종에서 자당의 합성에 관여하는 유전자의 발현이 하단 부위에서 높은 것이다. 더하여 아람의 경우 전분 분해, 자당 합성, 자당 이동, 자당 분해에 작용하는 유전자의 발현이 상단 부위에서 높은 양상을 보였다. 이것은 다른 품종과는 달리 아람의 열매는 중심주와 외피 부분의 경계가 뚜렷하지 않은 형태를 가지고 있어서 일 것으로 추측된다.

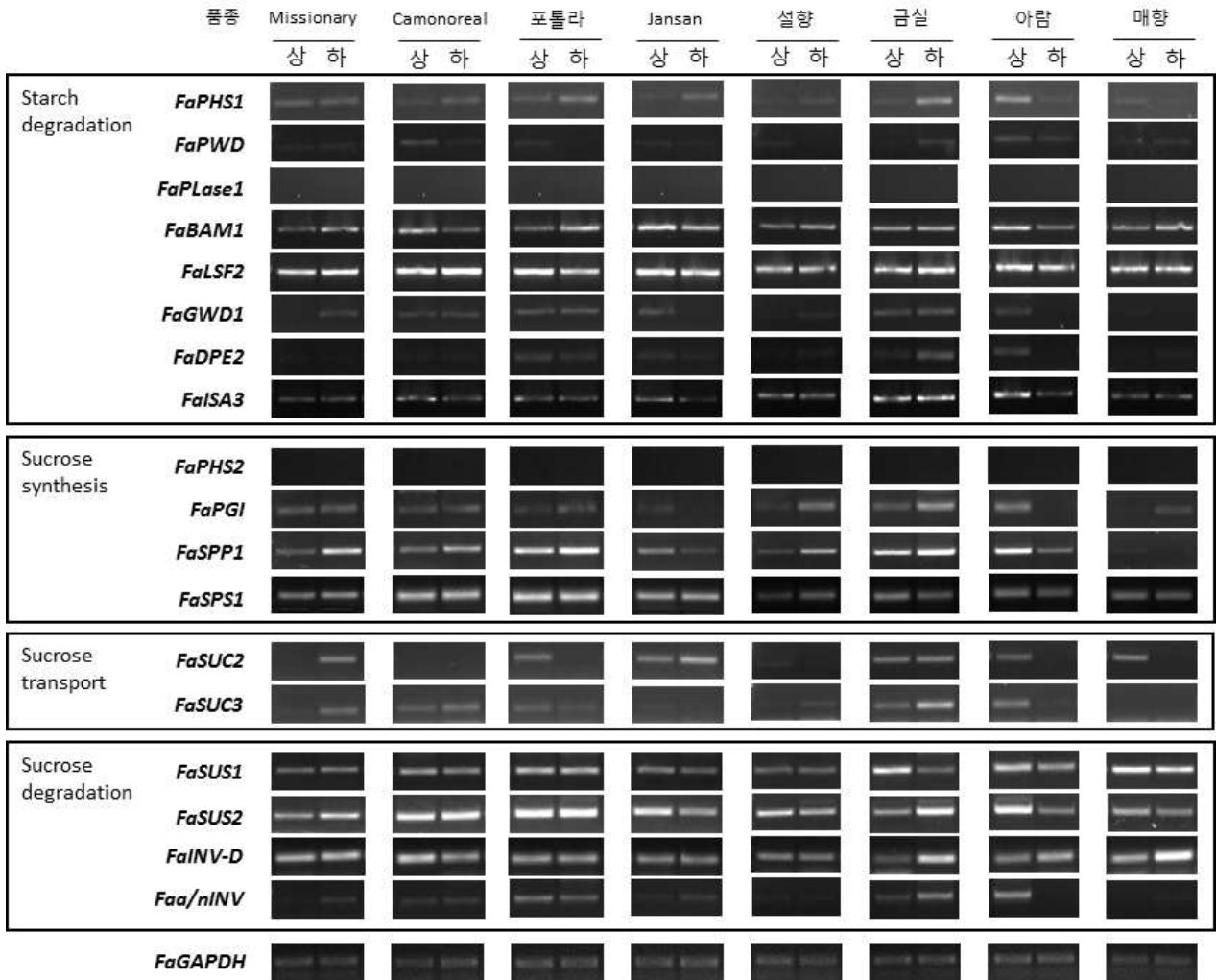


그림1-14. 저당도/고당도 딸기 품종의 열매 부위(상단/하단)별 전분 분해, 자당 합성, 자당 이동, 자당 분해에 작용하는 유전자의 발현 분석. *PHS1*, alph 1,4 glucan phosphorylase; *PWD*, Phospho glucan water dikinase; *PLase1*, Pullulanase 1; *BAM1*, β -amylase; *LSF2*, Phosphoglucan phosphatase; *GWD1*, alpha-glucan water dikinase; *DPE2*, alpha-glucanotransferase; *ISA3*, Isoamylase; *PHS2*, alpha-glucan phosphorylase; *PGI*, glucose-6-phosphate isomerase; *SPP1*, sucrose-phosphatase 1; *SPS1*, sucrose-phosphate synthase 1; *SUC2*, sucrose transporter 2; *SUC3*, sucrose transporter 3; *SUS1*, sucrose synthase 1; *SUS2*, sucrose synthase 2; *INV-D*, invertase D. *nINV*, alkaline/neutral invertase; *GAPDH*, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase.

다. 탄저병 저항성 관련 유전체 분석 및 분자마커 대량 발굴

- 딸기 탄저병은 잎, 엽병, 러너, 관부에 발생하여 묘를 고사시켜 문제가 되는 딸기의 주요한 병해로 국내에는 *Colletotrichum fructicola*에 의한 탄저병균이 관여한다. 딸기의 탄저병 저항성, 감수성에 특이적으로 발현되는 유전자를 대량으로 알아보기 위해 탄저병균 접종 후 transcriptome 분석을 수행하고자 하였다. 딸기 품종별 발현 패턴이 변화하는 유전자를 조사하기 위해 2016년 논산딸기시험장의 유리온실과 병 접종용 시설재배하우스에서 탄저병균 병처리를 실시하였다. 시험품종은 2016년(2차년도)에 금향, 대왕, 보교조생 및 스위트찰리 4종, 2017년(3차년도)에 보교조생, 매향 및 아키히메 3종을 시험에 이용하였고 탄저병균은 논산 딸기시험장의 딸기 병반에서 분리된 분리균 *C. fructicola* CGF160803을 사용하였다. 탄저병균 접종에 이용된 식물체는 딸기시험장의 유리온실에서 동일한 조건으로 각 품종의 모주를 5월 중순에 정식하여 8월까지 자묘를 받아 이용하였다. 6월 중순부터 비료(20-20-20)를 1주일 간격 2회 모주에 관주 처리하였고, 7월부터 모주에 완효성비료(오스모코트, 3개월용)를 주당 2g씩 시비하여 육묘하였다.
- 3잎을 가진 딸기자묘는 탄저병 접종을 위해 딸기시험장의 병 접종 비닐하우스로 옮겨 실시하였다. 탄저병균 접종은 2차년도에 2016년 9월 7일, 그리고 3차년도에 2017년 9월 5일에 실시하였다. 탄저병균 접종은 탄저병균 *C. fructicola* CGF160803의 포자현탁액을 5×10^5 conidia/ml 농도로 자묘당 3.6 ml씩 소형분무기를 이용하여 분무 접종하였다. Mock으로 0.001% tween 80을 탄저병균 접종과 동일하게 딸기 자묘에 분무하였다. 병원균 접종 후 72시간동안 과습상태로 비닐하우스를 밀폐한 후 자묘를 비닐하우스에서 재배하였다. 재배는 6일 간격으로 비료(30-10-10)를 주당 30 ml씩 자묘에 관주하여 관리하였다. 각 품종별 33주의 자묘를 시험에 사용하였다.

탄저병 발생은 병 접종 후 잎에 나타나는 흑색반점 형성율과 엽병(petiole)의 병징으로 이병지수(disease index)를 조사하였다. 흑색반점 형성율은 식물체에 반점이 없으면 0, 있으면 1로 구분하여 조사하였다. 또한 이병지수는 6, 10, 13, 15, 18, 20일에 조사하였으며 이병지수는 0, 무발생; 1, <50% 병징 발생; 2, ≥ 50% 병징 발생; 3, 시들음; 4, 고사이다. 흑색반점 형성율과 이병지수는 평균과 실험오차를 계산하여 그래프로 나타내었다.
- 탄저병 접종 6일부터 모든 품종의 엽병에서 흑색반점의 탄저병징이 시작하였다. 탄저병 접종 7일 후 4품종 모두 잎에 흑색반점을 형성하였고 품종 간 유의성은 없었다 (그림 1-15). 탄저병균 접종 20일 후까지 탄저병의 이병지수를 조사한 결과 보교조생, 스위트찰리는 1 이하의 탄저병 저항성을 보인 반면 금향과 대왕 품종은 4로 모두 고사하였다 (그림 1-15). 딸기 품종별 탄저병 저항성 검정에서 보교조생과 스위트찰리는 이병지수가 0과 0.17로 다른 품종보다 낮은 반면 금향은 3.25로 높은 이병지수를 보였는데, 이런 결과는 우리의 결과와 같은 경향을 보였다.

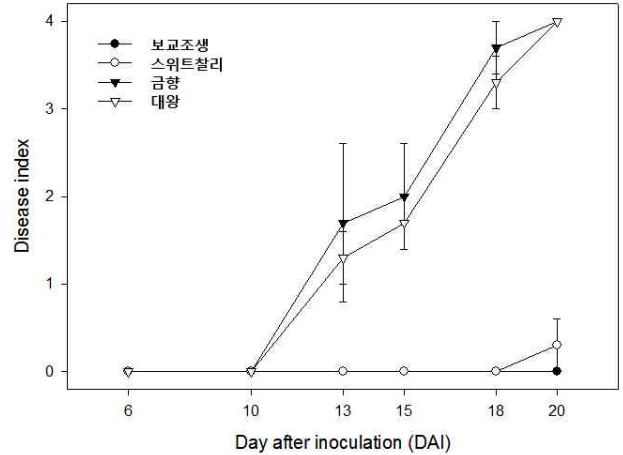
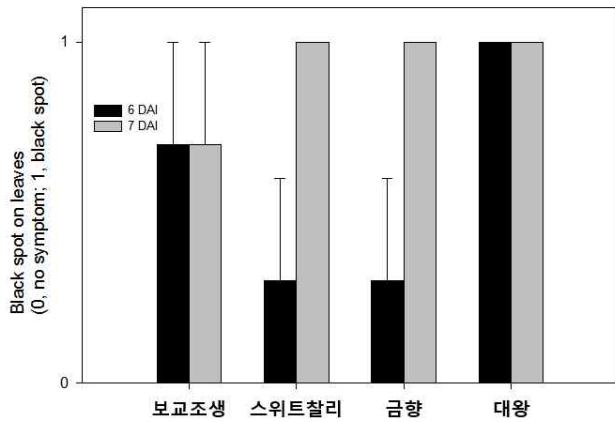


그림 1-15. 쌀기 품종 4종의 탄저병 처리 후 흑색반점 형성율과 이병지수

- 2차년도 실험과 마찬가지로 탄저병 접종 6일부터 모든 품종의 엽병에서 흑색반점의 탄저병징이 시작하였다. 탄저병 접종 7일 후 3품종 모두 잎에 흑색반점을 형성하였고 품종 간 유의성은 없었다 (그림 1-16). 탄저병균 접종 15일 후까지 탄저병의 이병지수를 조사한 결과 보교조생은 1 이하의 탄저병 저항성을 보인 반면 매향과 아키히메는 3에 가까운 감수성으로 식물 전체가 시들거나 고사하였다 (그림 1-16).
- 1차 및 2차 실험의 결과를 통해 보교조생과 스위트찰리는 탄저병에 저항성 품종인 것으로 나타났고, 반면 금향, 대왕, 매향 및 아키히메는 감수성인 것으로 나타났다.

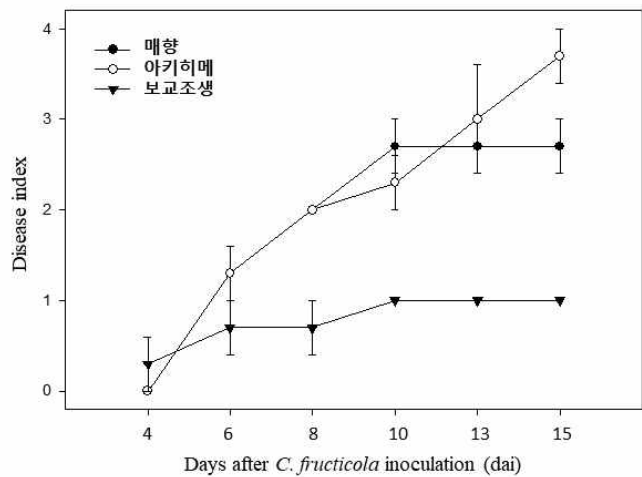
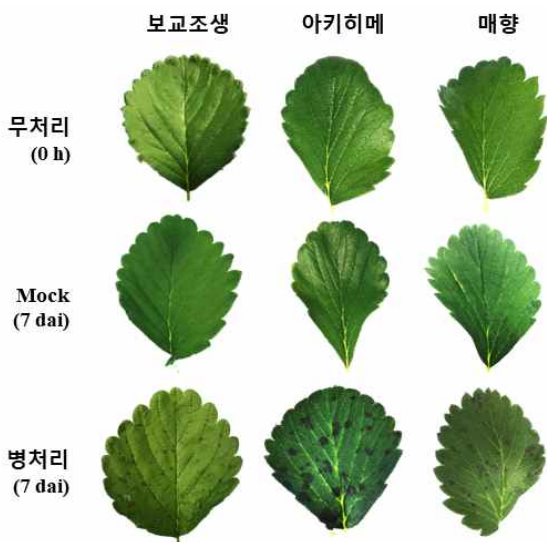


그림 1-16. 쌀기 품종 3종의 탄저병 처리 후 병징 및 이병지수

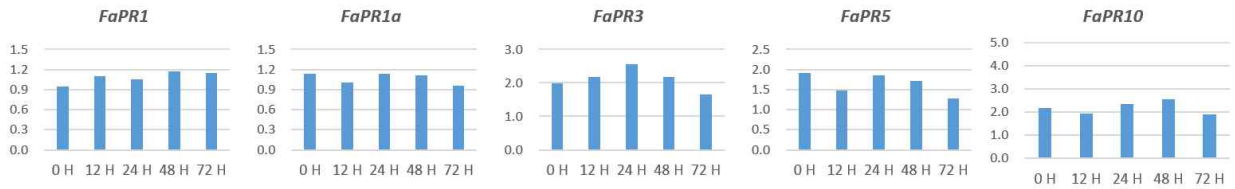
- 미국, 유럽 등의 주요 딸기 탄저병균 *Colletotrichum acutatum* 및 *C. gloeosporioides* 저항성과 관련된 유전자들로, 딸기 식물의 방어 기작 및 식물-식물병원균 상호작용에 관여하는 PR 유전자들(pathogenesis-related genes)이 기존에 보고되었다. 국내 딸기 탄저병균 *C. fructicola* 접종 처리에 의한 PR 유전자들의 발현 정도를 알아보기 위하여 기존에 보고된 RT-PCR용 primer를 이용하여 탄저병 저항성과 감수성 샘플들에서 발현 변화를 알아보았다 (표1-15). DEGs 분석을 위해 *FaRIB413*(1차)과 *FaEF1a* 유전자(2차)가 대조군을 위한 reference genes로 사용되었다. 1차 실험에서는 저항성 품종인 보교조생과 감수성 품종인 금향이 사용되었고, 2차 실험에서는 저항성 품종인 보교조생과 감수성 품종들인 매향 및 아키히메가 사용되었다. 샘플들은 각각 병처리 후 0, 12, 24, 48, 72시간일 때 채집하여 RNA를 추출하여 실험하였다.

표1-15. 딸기 *FaPR* gene의 발현양 조사를 위한 primer 서열

Gene Symbol	<i>F. vesca</i> Orthologue	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
<i>FaPR1</i>	gene01774	TAGCAGCCTATGCACAAAG	ACAGGTTTCACAGCAGATG
<i>FaPR1a</i>	gene01729	TGGACAATACGGTGAAAATC	CATAGTTGCACCCAATGAAG
<i>FaPR3</i>	gene17204	AACGGTGGACTTGAATGTGG	TCGAGGACACTTTTGTATGAG
<i>FaPR5</i>	gene09812	CCTAATGACACTCCCGAAACA	AGGTCCACCGAAGCATGTAA
<i>FaPR10</i>	gene07082	GAGTTCACCTCAGTCATC	GGTCCAACACCTCCATC
<i>FaRIB413</i>	gene33863	ACCGTTGATTCGCACAATTGGTCATCG	TACTGCGGGTCGGCAATCGGACG
<i>FaEF1a</i>	gene28639, gene28622, gene23217	TGGATTTGAGGGTGACAACATGA	GTATACATCCTGAAGTGGTAGACGGAGG

- 2차년도 실험 결과, 보교조생에서 *FaPR1*의 발현은 병 처리 후 72시간까지 증가하였고, *FaPR1a*와 *FaPR5*의 발현은 병처리 후 발현이 감소하는 경향을 보였다. 반면에 탄저병 감수성 품종인 금향에서는 *FaPR3*를 제외하고 *FaPR1*, *FaPR1a*, *FaPR5* 및 *FaPR10*의 발현이 감소하였다. *FaPR3*는 병처리 후 12시간 샘플에서는 발현이 감소하였지만 그 후 24~72시간까지는 증가하였다(그림1-17).
- 3차년도 실험에서는, 탄저병 저항성 품종인 보교조생은 병처리 후 12시간까지 발현량이 증가했다가 감소한 *FaPR3*를 제외하고 나머지 PR 유전자들에서는 발현량이 처리 후 0시간과 비교하였을 때 2배 이상 증가하거나 감소하지 않아 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 반면 감수성 품종인 매향과 아키히메에서는 *FaPR1a*과 *FaPR5*의 발현량이 점점 증가하였고, *FaPR3*의 발현량은 각각 병처리 후 12시간과 24시간까지 증가하였다가 감소하는 것으로 나타났다(그림 1-18).

탄저병 저항성 (보교조생)

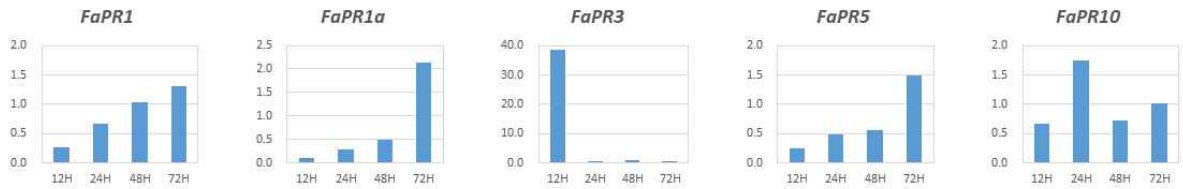


탄저병 감수성 (금향)

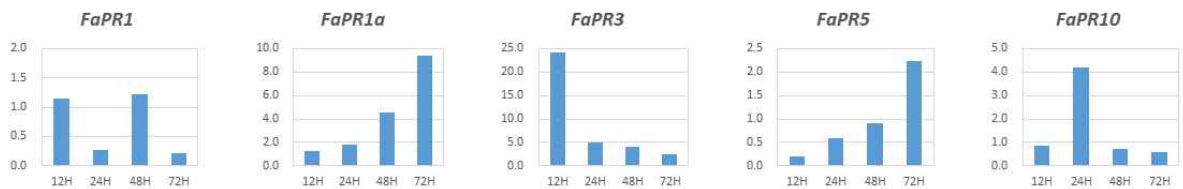


그림1-17. 딸기 2품종의 탄저병 처리 후 *FaPR* genes의 발현량 조사 결과

탄저병 저항성 (보교조생)



탄저병 감수성 (매향)



탄저병 감수성 (아키히메)

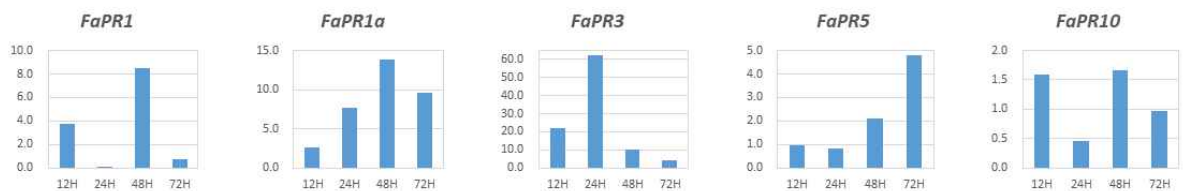


그림1-18. 딸기 3품종의 탄저병 처리 후 *FaPR* genes의 발현량 조사 결과

- 탄저병 처리 후 병징 및 *FaPR* 유전자들의 발현량을 조사한 결과로부터 비교조생과 스위트찰리는 탄저병에 저항성 품종, 대왕, 매향 및 아키히메는 감수성 품종으로 구별하여, 병 처리 후 0, 12, 24, 48 및 72시간에 샘플을 준비하였고 이로부터 total RNA를 추출하여 무처리, mock와 병처리 샘플로 pooling하여 transcriptome 분석을 수행하였다.
- 2차년도 실험에서는 비교조생, 스위트찰리, 대왕 3품종의 각각의 처리군에서 RNA를 추출하고 HiSeq2500을 이용하여 transcriptome 데이터를 생산하였다. HiSeq2500 library는 paired-end library로 insert size는 350 bp로 구축하였으며, 각 line당 2샘플을 섞어서 sequence를 생산하였다. 각 샘플당 데이터 생산량은 전체적인 유전자들의 발현을 모두 보기 위하여 최소한 read 개수가 30,000,000 이상이 되게 데이터를 생산하였다. Illumina 데이터 특성상 끝쪽(대략 225 bp 이후)에 생산되는 염기서열의 퀄리티가 낮아지는 특성이 있으므로, ‘Raw data’ 는 다음 분석을 위해 adapter 서열을 제거한 후, 시퀀싱 퀄리티가 낮은 부분 (Phred quality score < 20)을 잘라내는 trimming 단계를 진행하여 ‘Cleaned data’ 를 얻었다(그림1-19, 표1-16).

표1-16. 탄저병 처리 샘플로부터 Illumina HiSeq2500을 이용하여 생산한 유전체 정보

Sample	Raw data		Cleaned data	
	#Reads	Yield(Mbp)	#Reads	Yield(Mbp)
비교조생_무처리	41,817,798	4,223	40,368,048	4,040
비교조생_병처리	44,069,444	4,451	42,914,010	4,296
비교조생_Mock	45,633,616	4,609	44,744,978	4,479
스위트찰리_무처리	40,027,996	4,043	39,245,556	3,929
스위트찰리_병처리	41,714,382	4,213	40,902,016	4,095
스위트찰리_Mock	46,357,172	4,682	45,220,668	4,526
대왕_무처리	40,839,654	4,125	40,558,012	4,010
대왕_병처리	39,437,662	3,983	39,224,282	3,878
대왕_Mock	39,301,822	3,969	38,406,604	3,845

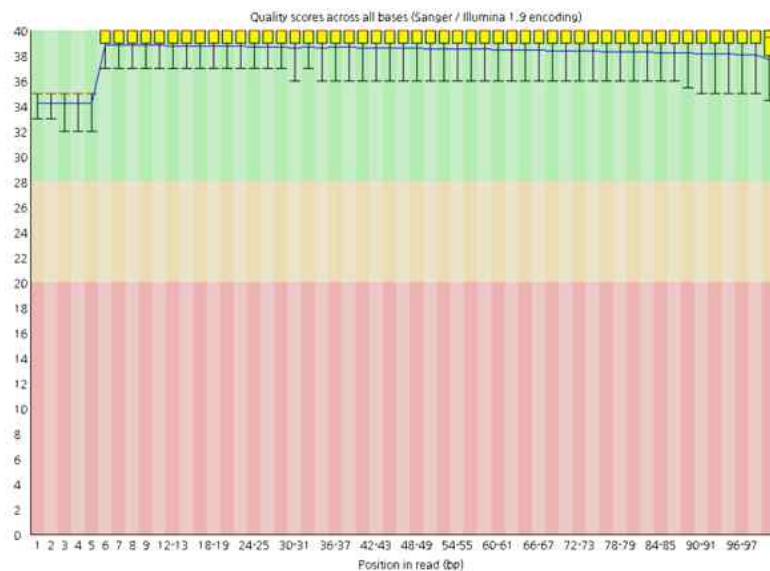


그림1-19. NGS cleaned 데이터 sequencing quality

- 탄저병 처리 후 발현 변화를 보이는 유전자를 선별하기 위하여, 무처리 vs. 병처리에서 나온 DEG와 Mock vs. 병처리 에서 나온 DEG를 비교 후 발현 변화 양상이 동일한 유전자를 선별하였다. DEGs는 위의 FPKM값을 normalization하여 DEG를 계산하는 tool (cufflinks)을 이용하여 fold-change 2배 이상, p-value 0.05 이하 기준으로 뽑은 DEG 결과이다. 탄저병 저항성 유전자원인 보교조생과 스위트찰리에서 병처리 후 발현이 변하는 유전자는 각각 48개와 28개였다. 이 중 보교조생과 스위트찰리에서 common DEG로 동정된 유전자는 1개이며, oligopeptide transporter 4 기능을 하는 유전자로 탄저병 처리에 의하여 발현이 감소하였다. 탄저병 감수성 유전자원인 대왕에서는 병처리 후 발현이 변한 유전자는 10개였고(표1-17), 각 유전자원에서 탄저병 처리에 의해 발현이 변한 유전자 목록은 표1-18에 정리되어 있다.

표1-17. 탄저병 처리 후 각 유전자원에서 선별한 DEGs

Sample	Number of DEGs		
	무처리 vs. 병처리	Mock vs. 병처리	공통 DEGs
보교조생	1,235	97	48
스위트찰리	1,110	78	28
대왕	1,008	140	10

표1-18. 탄저병 처리 후 발현이 변한 DEGs 목록

유전자원	ID	발현 변화	Pfam	Proposed function
보교조생	gene00940-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene04284-v1.0-hybrid	UP	unknown	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
	gene05421-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene09472-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene13469-v1.0-hybrid	UP	PF00477	Stress induced protein
	gene13575-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene15568-v1.0-hybrid	UP	PF01397,PF03936	terpene synthase 21
	gene26265-v1.0-hybrid	UP	PF00201	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
	gene05567-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene09156-v1.0-hybrid	UP	PF09258	glycosyltransferase family protein 47
	gene23613-v1.0-hybrid	UP	unknown	RING/U-box superfamily protein
	gene12602-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene16288-v1.0-hybrid	UP	unknown	Protein kinase superfamily protein
	gene21747-v1.0-hybrid	UP	PF01190	Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein
	gene29374-v1.0-hybrid	UP	PF02902,PF05659	Unknown protein
	gene16511-v1.0-hybrid	UP	PF07466	Unknown protein
	gene16523-v1.0-hybrid	UP	PF00646,PF03638	Tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein
	gene30965-v1.0-hybrid	UP	PF01397,PF03936	terpene synthase 21
	gene17640-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene20288-v1.0-hybrid	UP	PF03936,PF01397	Terpenoid cyclases/Protein prenyltransferases superfamily protein
gene10561-v1.0-hybrid	UP	PF13668	Unknown protein	
gene08831-v1.0-hybrid	UP	PF03055	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 5	

	gene15184-v1.0-hybrid	UP	PF03492	jasmonic acid carboxyl methyltransferase
	gene30669-v1.0-hybrid	UP	PF01397,PF03936	terpene synthase 14
	gene02370-v1.0-hybrid	UP	unknown	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family protein
	gene05307-v1.0-hybrid	UP	PF00646	F-box family protein
	gene11543-v1.0-hybrid	UP	PF05664	Protein of unknown function (DUF810)
	gene10015-v1.0-hybrid	UP	PF12315,PF00067	cytochrome P450, family 71, subfamily A, polypeptide 22
	gene05033-v1.0-hybrid	UP	PF13668	Unknown protein
	gene32484-v1.0-hybrid	UP	PF00194	alpha carbonic anhydrase 7
	gene25601-v1.0-hybrid	DOWN	PF03169	oligopeptide transporter 4
	gene18104-v1.0-hybrid	DOWN	PF00249	Homeodomain-like superfamily protein
	gene12002-v1.0-hybrid	DOWN	PF00450	serine carboxypeptidase-like 40
	gene15382-v1.0-hybrid	DOWN	PF01565,PF09265	cytokinin oxidase 7
	gene18688-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene18977-v1.0-hybrid	DOWN	PF05699	TTF-type zinc finger protein with HAT dimerisation domain
	gene21503-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene21324-v1.0-hybrid	DOWN	PF06470	structural maintenance of chromosomes 2
	gene24951-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene19575-v1.0-hybrid	DOWN	PF00892,PF00232,PF03151	glucose 6-phosphate/phosphate translocator 1
	gene24869-v1.0-hybrid	DOWN	PF00722	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16
	gene03057-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	nucleosome assembly protein 1:2
	gene03243-v1.0-hybrid	DOWN	PF07690	nitrate transporter 1.5
	gene14075-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	XH/XS domain-containing protein
	gene06506-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene00659-v1.0-hybrid	DOWN	PF00069	Protein kinase superfamily protein
	gene00661-v1.0-hybrid	DOWN	PF06955,PF00722	xyloglucan:xyloglucosyl transferase 33
	gene00748-v1.0-hybrid	DOWN	PF00931,PF13676,PF13855	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative
스위트칼리	gene26030-v1.0-hybrid	UP	PF03330,PF01357	expansin A1
	gene14938-v1.0-hybrid	UP	PF00257	dehydrin family protein
	gene31291-v1.0-hybrid	UP	PF00403	Heavy metal transport/detoxification superfamily protein
	gene18413-v1.0-hybrid	UP	PF01439	metallothionein 2A
	gene17742-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene07399-v1.0-hybrid	UP	unknown	GDSL-motif lipase 3
	gene04189-v1.0-hybrid	UP	PF03318,PF07468	Unknown protein
	gene04191-v1.0-hybrid	UP	PF03318,PF07468	Unknown protein
	gene04271-v1.0-hybrid	UP	PF16135,PF07897,PF16136	ABI five binding protein 3
	gene14256-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene21256-v1.0-hybrid	UP	PF04043	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily protein
	gene13272-v1.0-hybrid	UP	PF07918	CAP160 protein
	gene22067-v1.0-hybrid	UP	PF00067	cytochrome P450, family 94, subfamily C, polypeptide 1
	gene11617-v1.0-hybrid	UP	PF14547	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
	gene15091-v1.0-hybrid	UP	PF00394,PF07732,PF07731	laccase 14
	gene31149-v1.0-hybrid	UP	PF02365	NAC (No Apical Meristem) domain transcriptional regulator superfamily protein

	gene17017-v1.0-hybrid	UP	unknown	sequence-specific DNA binding transcription factors;transcription regulators
	gene28290-v1.0-hybrid	UP	PF05512	AWPM-19-like family protein
	gene28316-v1.0-hybrid	UP	PF01373	beta-amylase 1
	gene22805-v1.0-hybrid	UP	unknown	late embryogenesis abundant domain-containing protein / LEA domain-containing protein
	gene32000-v1.0-hybrid	UP	PF03018	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
	gene25601-v1.0-hybrid	DOWN	PF03169	oligopeptide transporter 4
	gene13446-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene02539-v1.0-hybrid	DOWN	PF02704	Gibberellin family protein
	gene22456-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene09759-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein
	gene03726-v1.0-hybrid	DOWN	PF07714	Leucine-rich repeat protein kinase family protein
대왕	gene07608-v1.0-hybrid	UP	PF03018	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
	gene14451-v1.0-hybrid	UP	unknown	Unknown protein
	gene28696-v1.0-hybrid	UP	PF06955,PF00722	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16
	gene08853-v1.0-hybrid	DOWN	PF02183,PF04618,PF00046	homeobox protein 2
	gene13917-v1.0-hybrid	DOWN	PF02519	SAUR-like auxin-responsive protein family
	gene18846-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Leucine-rich repeat protein kinase family protein
	gene05580-v1.0-hybrid	DOWN	PF00155	1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 9
	gene02650-v1.0-hybrid	DOWN	PF00642	Zinc finger C-x8-C-x5-C-x3-H type family protein
	gene29711-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	Unknown protein

- 3차년도 실험에서는 보교조생, 매향, 아키히메 3품종의 각각의 처리군에서 RNA를 추출하고 NextSeq500을 이용하여 transcriptome 데이터를 생산하였다. NextSeq500 library는 paired-end library로, 2 x 75 bp로 하여 샘플에 대하여 최소 10M reads 이상이 되게 데이터를 생성하였다. Transcriptome 분석에 의하여 생성된 raw sequencing data의 퀄리티는 FastQC ver 0.11.5를 사용하여 허용 품질의 reads를 측정하였다. 다음 분석을 위해 Skewer ver 0.2.2를 이용하여 raw reads에서 adapter 서열을 제거하고 시퀀싱 퀄리티가 낮은 부분을 잘라내는 trimming 단계를 진행하여 Cleaned reads를 얻었다. Cleaned reads는 Phytozome v12.1에서 제공하는 딸기 reference genome인 *Fragaria vesca* genome v1.1 데이터에 맞추어 STAR RNA-seq aligner ver 2.5를 이용하여 맵핑되었다(표 1-19).
- 탄저병 처리 후 발현 변화를 보이는 유전자를 선별하기 위하여, 무처리 vs. 병처리에서 나온 DEGs와 Mock vs. 병처리에서 나온 DEGs를 비교 후 발현 변화 양상이 동일한 유전자를 선별하였다. DEGs는 위의 FPKM값을 normalization하여 DEG를 계산하는 tool (cufflinks)을 이용하여 fold-change 2배 이상, p -value 0.1 이하 기준으로 뽑은 DEG 결과이다. 탄저병 저항성 유전자원인 보교조생에서 병처리 후 발현이 변하는 유전자는 110개였다(표1-9). 탄저병 감수성 유전자원인 매향과 아키히메에서는 병처리 후 발현이 변한 유전자는 각각 891개, 81개였고(표1-20), 3품종의 유전자들을 비교분석한 결과, 저항성 품종인 보교조생에서 특이적으로 발현하는 유전자들은 총 90개로 나타났다(그림1-20). 보교조생에서 탄저병 처리에 의해 특이적으로 발현이 변한 유전자 목록은 표1-21에 정리되어 있다.

표1-19. 탄저병 처리 샘플로부터 Illumina NextSeq500을 이용하여 생산한 유전체 정보

Sample	Raw data		Cleaned data	
	#Reads	Yield(Mbp)	#Reads	Yield(Mbp)
보교조생_무처리	18,399,223	2,797	18,397,705	2,796
보교조생_Mock	17,052,131	2,592	17,047,410	2,591
보교조생_병처리	15,720,543	2,390	15,718,263	2,389
매향_무처리	19,321,399	2,937	19,316,592	2,936
매향_Mock	18,299,141	2,781	18,296,408	2,781
매향_병처리	15,636,159	2,377	15,632,380	2,376
아키히메_무처리	15,980,242	2,429	15,977,573	2,428
아키히메_Mock	16,896,866	2,568	16,895,121	2,568
아키히메_병처리	18,713,653	2,844	18,709,080	2,843

표1-20. 탄저병 처리 후 각 유전자원에서 선발한 DEGs

Sample	Number of DEGs		
	무처리 vs. 병처리	Mock vs. 병처리	공통 DEGs
보교조생	1,183	503	110
매향	1,649	2,427	891
아키히메	1,069	738	81

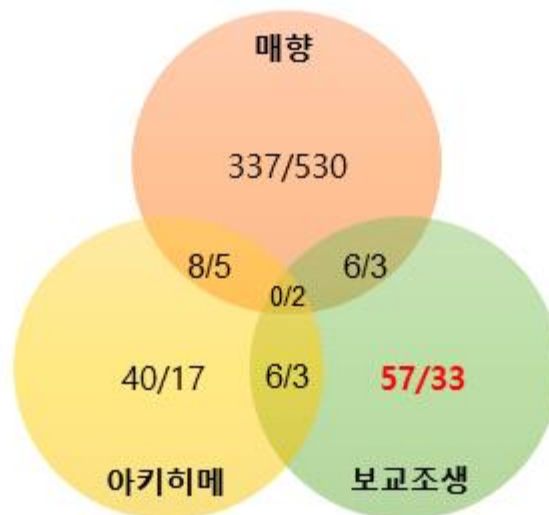


그림1-20. 딸기 3품종의 탄저병 처리 후 발현량이 변한 유전자 비교 분석

표1-21. 탄저병 처리 후 발현이 변한 DEGs 목록

유전 자원	ID	발현 변화	Pfam	Proposed function
보교 조생	gene00131-v1.0-hybrid	UP	unknown	Protein kinase family protein
	gene00477-v1.0-hybrid	UP	PF03168	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
	gene01336-v1.0-hybrid	UP	PF00319	K-box region and MADS-box transcription factor family protein
	gene02123-v1.0-hybrid	UP	PF05055	Protein of unknown function (DUF677)
	gene03662-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene04438-v1.0-hybrid	UP	PF13499	Calcium-binding EF-hand family protein
	gene04572-v1.0-hybrid	UP	unknown	FIZZY-related 2
	gene05313-v1.0-hybrid	UP	PF13962	Ankyrin repeat family protein
	gene06825-v1.0-hybrid	UP	PF03168	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
	gene07526-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene08528-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene09140-v1.0-hybrid	UP	unknown	SPla/Ryanodine receptor (SPRY) domain-containing protein
	gene09337-v1.0-hybrid	UP	PF04564	ARM repeat superfamily protein
	gene10512-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene10629-v1.0-hybrid	UP	PF04043,PF01095	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily
	gene11674-v1.0-hybrid	UP	PF03140	unknown
	gene11800-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene13159-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene13484-v1.0-hybrid	UP	PF00909	ammonium transporter 2
	gene13606-v1.0-hybrid	UP	PF13499,PF13405	calmodulin like 42
	gene13687-v1.0-hybrid	UP	PF00931	NB-ARC domain-containing disease resistance protein
	gene13821-v1.0-hybrid	UP	unknown	Histone superfamily protein
	gene15787-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene16425-v1.0-hybrid	UP	PF03208	PRA1 (Prenylated rab acceptor) family protein
	gene17203-v1.0-hybrid	UP	PF02365	NAC domain containing protein 36
	gene17372-v1.0-hybrid	UP	PF00368	hydroxy methylglutaryl CoA reductase 1
	gene17373-v1.0-hybrid	UP	PF00368	hydroxy methylglutaryl CoA reductase 1
	gene17719-v1.0-hybrid	UP	PF00069,PF00139	Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein
	gene18189-v1.0-hybrid	UP	PF09713	Plant protein 1589 of unknown function
	gene18349-v1.0-hybrid	UP	PF08659	NAD-dependent epimerase/dehydratase family protein
	gene19175-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene19563-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene19635-v1.0-hybrid	UP	PF00428	60S acidic ribosomal protein family
	gene19644-v1.0-hybrid	UP	PF14476	F-box family protein with a domain of unknown function (DUF295)
	gene19666-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene20078-v1.0-hybrid	UP	PF02365	NAC domain containing protein 42
	gene21089-v1.0-hybrid	UP	PF00954,PF01453,PF00069	receptor-like protein kinase 1
	gene21338-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
	gene22167-v1.0-hybrid	UP	PF00249	RAD-like 1
	gene22323-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene22654-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown	

gene23098-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene24692-v1.0-hybrid	UP	PF01494	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase family protein
gene25625-v1.0-hybrid	UP	PF13962,PF13857,PF12796	Ankyrin repeat family protein
gene25899-v1.0-hybrid	UP	PF08263,PF14681,PF00560,PF12799	disease resistance family protein / LRR family protein
gene28473-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene28726-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene29381-v1.0-hybrid	UP	PF00240	BCL-2-associated athanogene 4
gene30151-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene31444-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene31839-v1.0-hybrid	UP	PF00155	ACC synthase 1
gene31859-v1.0-hybrid	UP	PF03168	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
gene31870-v1.0-hybrid	UP	PF03168	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
gene31871-v1.0-hybrid	UP	PF03168	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
gene31874-v1.0-hybrid	UP	PF03168	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
gene33862-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene33865-v1.0-hybrid	UP	unknown	unknown
gene03355-v1.0-hybrid	DOWN	PF00067	cytochrome P450, family 716, subfamily A, polypeptide 1
gene03462-v1.0-hybrid	DOWN	PF00067	cytochrome P450, family 76, subfamily C, polypeptide 2
gene03471-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	ubiquitin-specific protease 12
gene05966-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	unknown
gene08454-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	unknown
gene08932-v1.0-hybrid	DOWN	PF02585	N-acetylglucosaminylphosphatidylinositol de-N-acetylase family protein
gene09065-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	phospholipase A 2A
gene09071-v1.0-hybrid	DOWN	PF14290	succinate dehydrogenase 5
gene10188-v1.0-hybrid	DOWN	PF12609	Wound-responsive family protein
gene10693-v1.0-hybrid	DOWN	PF13912	C2H2 and C2HC zinc fingers superfamily protein
gene11295-v1.0-hybrid	DOWN	PF06911	Senescence/dehydration-associated protein-related
gene12046-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	unknown
gene13749-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	unknown
gene13908-v1.0-hybrid	DOWN	PF02519	SAUR-like auxin-responsive protein family
gene14042-v1.0-hybrid	DOWN	unknown	unknown

	N		
gene14969-v1.0-hybrid	DOW N	unknown	unknown
gene17190-v1.0-hybrid	DOW N	PF03330,PF01357	expansin-like A1
gene17775-v1.0-hybrid	DOW N	PF07047	Optic atrophy 3 protein (OPA3)
gene18341-v1.0-hybrid	DOW N	PF03171,PF14226	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
gene18768-v1.0-hybrid	DOW N	unknown	unknown
gene18967-v1.0-hybrid	DOW N	PF00270,PF00271,PF00575,PF05922,PF07717,PF04408	RNA helicase family protein
gene20164-v1.0-hybrid	DOW N	unknown	unknown
gene20633-v1.0-hybrid	DOW N	PF00125	Histone superfamily protein
gene20760-v1.0-hybrid	DOW N	PF03291	mRNA capping enzyme family protein
gene22626-v1.0-hybrid	DOW N	PF00022	actin-11
gene24006-v1.0-hybrid	DOW N	unknown	unknown
gene26926-v1.0-hybrid	DOW N	PF06219	Protein of unknown function (DUF1005)
gene27120-v1.0-hybrid	DOW N	unknown	unknown
gene27662-v1.0-hybrid	DOW N	unknown	unknown
gene29424-v1.0-hybrid	DOW N	PF12695	acetone-cyanohydrin lyase
gene30484-v1.0-hybrid	DOW N	PF14223	unknown
gene31432-v1.0-hybrid	DOW N	PF13676	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family
gene34070-v1.0-hybrid	DOW N	PF00479	glucose-6-phosphate dehydrogenase 3

- 딸기의 탄저병 저항성과 관련된 마커를 발굴하기 위하여 비교조생, 스위트찰리, 대왕 유전자원에 탄저병 처리 후 transcriptome 분석한 결과를 바탕으로 SNP 마커 분석을 수행하였다. 탄저병 저항성 유전자원의 genome에 있는 SNP로 표현형이 바뀌는 경우의 마커 분석으로, DEGs로 뽑힌 유전자들의 영역에서 variant calling 실행하였다. Transcriptome 분석을 수행한 모든 샘플에서 5 depth 이상 시퀀싱 된 SNP를 추출하였고, 비교조생, 스위트찰리, 대왕의 genotype이 모두 같으면 SNP를 제거하였다. 또한 각 유전자원의 genotype이 다른 SNP를 제거하였다 (비교조생_무처리, 비교조생_병처리, 비교조생_Mock 의 genotype이 다르면 제거). 각 유전자원 DEG의 SNP는 각 유전자원의 샘플에서만 SNP가 존재 하는 것을 선택하였는데 예를들어 비교조생의 DEG는 비교조생 샘플들과 다른 샘플들의 SNP가 다른 것을 선택하고, 비교조생과 스위트찰리 공통 DEG는

두 종의 SNP와 대왕의 SNP가 구분 되는지 확인하였다. 그 결과 탄저병 저항성 유전자인 보교조생, 스위트찰리에서 공통 DEG로 뽑힌 유전자 gene25601-v1.0-hybrid의 SNP 한 개만 남았다(표1-22).

- 탄저병 저항성 유전자의 RNA에서 발생한 SNP로 표현형이 바뀌는 경우를 예측하여 다른 접근 방법으로 SNP 분석을 수행하였다. DEGs로 뽑힌 유전자들의 영역에서 variant calling 실행한 후 transcriptome 분석을 수행한 모든 샘플에서 5 depth 이상 시퀀싱 된 SNP를 추출하였다. 보교조생, 스위트찰리, 대왕의 genotype이 모두 같은 SNP는 제거하였고, 보교조생과 스위트찰리의 탄저병처리 샘플에서 genotype이 다른 것을 선택하였다. 예를 들어 보교조생_무처리와 보교조생_Mock이 같은 genotype이면서, 보교조생_병처리 샘플의 SNP가 다른 genotype인 SNP를 선택, 병처리 샘플의 genotype이 나머지 모든 샘플에 없는 것만 선택하였다. 그 결과 보교조생과 스위트찰리 유전자원에 탄저병 처리 샘플 특이적인 SNP를 선별하였다(표1-23).

표1-22. 탄저병 처리 후 감수성 품종의 특이적 발현 유전자 SNP 분석 결과

Gene ID	Chromosome	Position	Reference	Allele	보교조생 genotype			스위트찰리 genotype			대왕 genotype		
					무처리	병처리	Mock	무처리	병처리	Mock	무처리	병처리	Mock
gene25601-v1.0-hybrid	unanchored	6723758	C	T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T

표1-23. 탄저병 처리 후 저항성 유전자의 특이적 발현 유전자의 SNP 분석 결과

보교조생 marker

Gene ID	Chromosome	Position	Reference	Allele	보교조생 genotype			스위트찰리 genotype			대왕 genotype		
					무처리	병처리	Mock	무처리	병처리	Mock	무처리	병처리	Mock
gene30669-v1.0-hybrid	LG3	3342810	G	T	G/G	G/T	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene30669-v1.0-hybrid	LG3	3342868	A	T	A/A	A/T	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
gene15568-v1.0-hybrid	LG6	15036701	G	A	G/G	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene18104-v1.0-hybrid	LG6	4256237	C	T	C/T	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T
gene18104-v1.0-hybrid	LG6	4257010	T	A	T/T	T/A	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
gene09156-v1.0-hybrid	LG7	9067861	T	C	T/C	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C	T/C	T/C	T/C
gene21503-v1.0-hybrid	LG7	8330510	G	A	G/A	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A
gene21503-v1.0-hybrid	LG7	8330600	G	A	G/A	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A

스위트찰리 marker

Gene ID	Chromosome	Position	Reference	Allele	보교조생 genotype			스위트찰리 genotype			대왕 genotype		
					무처리	병처리	Mock	무처리	병처리	Mock	무처리	병처리	Mock
gene14938-v1.0-hybrid	LG1	8373491	G	A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A
gene17017-v1.0-hybrid	LG4	5634993	G	A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A

- 딸기의 탄저병 저항성과 관련된 마커를 발굴하기 위하여 보교조생, 매향, 아키히메 유전자원에 탄저병 처리 후 transcriptome 분석한 결과를 바탕으로 SNP 분석을 수행하였다. 탄저병 저항성 유전자원의 genome에 있는 SNP로 표현형이 바뀌는 경우의 마커 분석으로, DEGs로 뽑힌 유전자들의 영역에서 variant calling을 실행하였다. Transcriptome 분석을 수행한 모든 샘플에서 5 depth 이상 시퀀싱된 SNP를 추출하였고, 보교조생, 매향, 아키히메의 genotype이 모두 같으면 해당 SNP를 제거하였다. 또한 각 유전자원의 genotype이 다른 SNP를 제거하였다(보교조생-무처리, 보교조생-병처리의 genotype이 다르면 제거). 매향과 아키히메의 각 처리의 genotype이 서로 다른 SNPs도 제거하였다. 최종적으로 보교조생의 SNP이 매향과 아키히메 공통 SNP과는 특이적으로 다른 SNPs를 선발하였다. 그 결과 탄저병 저항성 유전자원인 보교조생에서 특이적으로 발현된 유전자들 90개 중 40개가 선발되었고 총 147개의 SNPs이 발굴되었다(표1-24).

표1-24. 탄저병 처리 후 저항성 품종 보교조생의 특이적 발현 유전자 SNP 분석 결과

Gene ID	Chromo -some	보교조생 genotype		매향 genotype		아키히메 genotype	
		무처리	병처리	무처리	병처리	무처리	병처리
gene03355-v1.0-hybrid	LG3	A/A	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene03462-v1.0-hybrid	LG4	G/A	G/A	A/A	A/A	A/A	A/A
gene05966-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/T	A/T	A/T	A/T
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	T/A	T/A	T/T	T/T	T/T	T/T
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	A/C	A/C	A/C	A/C
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/G	A/G	A/G	A/G
gene10188-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	A/G	A/G	A/G	A/G
gene12046-v1.0-hybrid	LG5	G/G	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A
gene12046-v1.0-hybrid	LG5	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene17190-v1.0-hybrid	LG2	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene17190-v1.0-hybrid	LG2	G/C	G/C	G/G	G/G	G/G	G/G
gene17190-v1.0-hybrid	LG2	T/G	T/G	T/T	T/T	T/T	T/T
gene17775-v1.0-hybrid	LG6	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene17775-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A
gene18341-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene18341-v1.0-hybrid	LG6	T/G	T/G	T/C	T/C	T/C	T/C
gene18341-v1.0-hybrid	LG6	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene18341-v1.0-hybrid	LG6	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene18341-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/G	C/G	C/G	C/G
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	A/T	A/T	A/T	A/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	A/A	A/A	A/T	A/T	A/T	A/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	C/T	C/T	C/T	C/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	C/T	C/T	C/T	C/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	A/A	A/A	G/A	G/A	G/A	G/A
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	C/C	C/C	T/C	T/C	T/C	T/C
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	A/T	A/T	A/T	A/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	G/G	G/G	A/G	A/G	A/G	A/G
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	A/A	A/A	G/A	G/A	G/A	G/A
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	G/G	G/G	A/G	A/G	A/G	A/G

gene18967-v1.0-hybrid	LG7	G/G	G/G	A/G	A/G	A/G	A/G
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	C/T	C/T	C/T	C/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	G/T	G/T	G/T	G/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/T	T/T	C/T	C/T	C/T	C/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	C/C	C/C	T/C	T/C	T/C	T/C
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/G	T/G	T/T	T/T	T/T	T/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/G	T/G	T/T	T/T	T/T	T/T
gene18967-v1.0-hybrid	LG7	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene26926-v1.0-hybrid	LG5	A/A	A/A	A/G	A/G	A/G	A/G
gene26926-v1.0-hybrid	LG5	T/A	T/A	T/T	T/T	T/T	T/T
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	A/C	A/C	A/A	A/A	A/A	A/A
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	G/C	G/C	G/G	G/G	G/G	G/G
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene27662-v1.0-hybrid	LG4	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene00477-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/T	A/T	A/T	A/T
gene00477-v1.0-hybrid	LG6	A/C	A/C	C/C	C/C	C/C	C/C
gene00477-v1.0-hybrid	LG6	G/T	G/T	T/T	T/T	T/T	T/T
gene00477-v1.0-hybrid	LG6	A/G	A/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene00477-v1.0-hybrid	LG6	C/A	C/A	A/A	A/A	A/A	A/A
gene00477-v1.0-hybrid	LG6	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene03662-v1.0-hybrid	LG4	C/G	C/G	C/C	C/C	C/C	C/C
gene04438-v1.0-hybrid	LG6	C/A	C/A	G/C	G/C	G/C	G/C
gene05313-v1.0-hybrid	LG3	A/C	A/C	A/A	A/A	A/A	A/A
gene05313-v1.0-hybrid	LG3	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene05313-v1.0-hybrid	LG3	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene06825-v1.0-hybrid	LG4	A/G	A/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene06825-v1.0-hybrid	LG4	C/T	C/T	T/T	T/T	T/T	T/T
gene06825-v1.0-hybrid	LG4	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene06825-v1.0-hybrid	LG4	G/G	G/G	T/T	T/T	T/T	T/T
gene06825-v1.0-hybrid	LG4	A/C	A/C	A/A	A/A	A/A	A/A
gene06825-v1.0-hybrid	LG4	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene09140-v1.0-hybrid	LG2	G/C	G/C	G/G	G/G	G/G	G/G
gene10512-v1.0-hybrid	LG5	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene10512-v1.0-hybrid	LG5	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene10512-v1.0-hybrid	LG5	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene10629-v1.0-hybrid	LG2	C/C	C/C	C/A	C/A	C/A	C/A
gene10629-v1.0-hybrid	LG2	G/G	G/G	G/C	G/C	G/C	G/C
gene10629-v1.0-hybrid	LG2	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene13159-v1.0-hybrid	LG7	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene13484-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A
gene13484-v1.0-hybrid	LG6	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene13484-v1.0-hybrid	LG6	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene13484-v1.0-hybrid	LG6	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene13484-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/A	C/A	C/A	C/A
gene13484-v1.0-hybrid	LG6	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C

gene13484-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A
gene13687-v1.0-hybrid	LG5	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
gene13821-v1.0-hybrid	LG6	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene17203-v1.0-hybrid	LG2	A/A	A/A	C/A	C/A	C/A	C/A
gene17203-v1.0-hybrid	LG2	A/A	A/A	C/A	C/A	C/A	C/A
gene17719-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/G	A/G	A/G	A/G
gene17719-v1.0-hybrid	LG6	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene17719-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene17719-v1.0-hybrid	LG6	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene17719-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/C	G/C	G/C	G/C
gene17719-v1.0-hybrid	LG6	T/G	T/G	T/T	T/T	T/T	T/T
gene18349-v1.0-hybrid	LG6	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene20078-v1.0-hybrid	LG3	C/C	C/C	C/A	C/A	C/A	C/A
gene20078-v1.0-hybrid	LG3	T/G	T/G	T/T	T/T	T/T	T/T
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	A/T	A/T	A/A	A/A	A/A	A/A
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	T/C	T/C	C/C	C/C	C/C	C/C
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	C/T	C/T	T/T	T/T	T/T	T/T
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	A/G	A/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	C/G	C/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	T/C	T/C	C/C	C/C	C/C	C/C
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	A/A	A/A	T/T	T/T	T/T	T/T
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	A/G	A/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene21089-v1.0-hybrid	LG1	A/G	A/G	G/G	G/G	G/G	G/G
gene22654-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/T	G/T	G/T	G/T
gene23098-v1.0-hybrid	LG4	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene23098-v1.0-hybrid	LG4	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene23098-v1.0-hybrid	LG4	G/T	G/T	G/G	G/G	G/G	G/G
gene24692-v1.0-hybrid	LG2	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene24692-v1.0-hybrid	LG2	G/G	G/G	G/T	G/T	G/T	G/T
gene24692-v1.0-hybrid	LG2	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene24692-v1.0-hybrid	LG2	A/A	A/A	A/G	A/G	A/G	A/G
gene24692-v1.0-hybrid	LG2	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene24692-v1.0-hybrid	LG2	G/T	G/T	G/G	G/G	G/G	G/G
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/G	T/G	T/G	T/G
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/G	T/G	T/G	T/G
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/C	T/C	T/T	T/T	T/T	T/T
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/G	A/G	A/G	A/G
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/C	A/C	A/C	A/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	A/A	A/A	A/C	A/C	A/C	A/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/A	T/A	T/A	T/A
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	T/T	T/T	T/C	T/C	T/C	T/C
gene25625-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/T	G/T	G/T	G/T
gene28726-v1.0-hybrid	LG6	G/G	G/G	G/A	G/A	G/A	G/A

gene30151-v1.0-hybrid	LG6	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene31839-v1.0-hybrid	LG5	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene31839-v1.0-hybrid	LG5	A/A	A/A	A/T	A/T	A/T	A/T
gene31839-v1.0-hybrid	LG5	C/A	C/A	C/C	C/C	C/C	C/C
gene31859-v1.0-hybrid	LG5	C/C	C/C	C/T	C/T	C/T	C/T
gene31859-v1.0-hybrid	LG5	A/A	A/A	A/G	A/G	A/G	A/G
gene31870-v1.0-hybrid	LG5	A/C	A/C	C/C	C/C	C/C	C/C
gene31871-v1.0-hybrid	LG5	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene31874-v1.0-hybrid	LG5	T/T	T/T	G/T	G/T	G/T	G/T
gene31874-v1.0-hybrid	LG5	C/T	C/T	C/C	C/C	C/C	C/C
gene31874-v1.0-hybrid	LG5	G/A	G/A	G/G	G/G	G/G	G/G
gene31874-v1.0-hybrid	LG5	T/A	T/A	T/T	T/T	T/T	T/T
gene33862-v1.0-hybrid	LG6	A/G	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A

- 지금까지의 분석 결과를 바탕으로, 탄저병 저항성 품종 비교조생에 특이적인 발현을 보이는 유전자들의 SNP 기반 분자마커를 개발하기 위해 마커 제작 및 HRM validation을 수행하였다. 147개의 SNPs를 기반으로 총 47개의 HRM primer sets를 제작하였다(표 1-25). 현재까지 저항성과 연관된 HRM 마커는 발견되지 않았다.

표1-25. 딸기 탄저병 저항성 품종 비교조생에 발현 특이적 유전자 SNP 기반 HRM 마커 목록

Primer name	Sequences (5' -3')	Temp	Size
03355-SNP01-F	TTTGGGCTTGAACGAGGAA	62	102
03355-SNP01-R	TTGAGGCTCCTGTTGTAACG		
03462-SNP01-F	CCAATCGAGGAATCGGACATT	62	106
03462-SNP01-R	CCGGCTTTACGTGGAAGTAG		
05966-SNP01-F	GTCATGCGCATTGCATTCT	62	82
05966-SNP01-R	TATCATTGCTTGCTGCATTTCG		
10188-SNP01-F	CATTCACCAAGAAGCCAAGAC	62	100
10188-SNP01-R	CTCATCTCGAACCTGCTAAA		
10188-SNP02-F	CTCAGGCCAACACAAAGTTATC	62	81
10188-SNP02-R	CCTCTGACTTCTTGAGCTTCTC		
10188-SNP03-F	CAACTAAGAGTCCAACCAAGAAC	61	111
10188-SNP03-R	AAGCCTAATTGATGGAACCAAA		
10188-SNP04-F	GCATAGAGCTTGGGCTGAAA	62	103
10188-SNP04-R	GGCCATAGACAATTGCAGAGA		
10188-SNP0506-F	ACATATTTATGGGAGCCATT	57	109
10188-SNP0506-R	CAATAGACAATTTCTTCCATC		
10188-SNP07-F	GCTTTAATTAGATGGAAGGA	55	70
10188-SNP07-R	AAACTCTACATCATTTTCGG		
12046-SNP01-F	CCAGAGTGTAGCTGTCAACATAG	62	75
12046-SNP01-R	TCCTCATCACACCTCCATAA		
12046-SNP02-F	CGTGTTTCGTCGTCGTAATAA	62	118
12046-SNP02-R	CTTCATCATCGTCCTCGGATTC		
17190-SNP01-F	CTTCAACCACGTACACCTACTT	62	107
17190-SNP01-R	CCCTACTGGTGTCCCATACT		
17190-SNP02-F	TATGGGACACCAGTAGGGTT	62	105
17190-SNP02-R	CAGCAGGAAGCACATTCTTTG		
17190-SNP03-F	GGAAGCCTGGGATGGTATATG	62	83
17190-SNP03-R	AATCCCATCATACAAGGAGAG		
17775-SNP01-F	TCAGGCGAATCATCGATTTACA	62	97

17775-SNP01-R	GACGGCTTTCTCCTCATTAAGT		
17775-SNP02-F	GATCAGAAGCAAGGAAGGAAGA	62	74
17775-SNP02-R	GCCCTTCCCTAGAATGGTAAC		
18341-SNP01-F	TCTGAGCAACGCCATATACAA	62	108
18341-SNP01-R	ATCAGCAGATCGCTCTTGG		
18341-SNP02-F	AGGTGACAATTGGGTGACTG	62	112
18341-SNP02-R	CACTCTGTGCTCTACGCTTT		
18341-SNP03-F	CAGACCTAACCTTGAATCTC	62	112
18341-SNP03-R	GTCACCCAATTGTCACCTTTAC		
18341-SNP04-F	CCAATGCTTTCGGAGGAGA	62	91
18341-SNP04-R	GAGATTCCAAGGGTTAGGTCTG		
18341-SNP05-F	CCGATTGTTGAGTCCAGTC	62	116
18341-SNP05-R	GGGATGTTGACGGTGGTATT		
18967-SNP0102-F	GAAGCAACGCAACCTCTAGT	62	115
18967-SNP0102-R	GTCTTGTATGTTGTATCCAATGTTCTG		
18967-SNP0304-F	ATCCTTGTTTTGGGTGAGTG	62	96
18967-SNP0304-R	GGTTGCGTTGCTTCTGTTTAG		
18967-SNP0506-F	GTGAGAAATTGAGCTACAAGGTAAG	62	73
18967-SNP0506-R	ACCAAGGATCCAAAGGATGAA		
18967-SNP07-F	AAAGCAGCAAGCAACCAAC	62	83
18967-SNP07-R	AGTGGCATTGTATGTGGAACATA		
18967-SNP08-F	ATTGATTCCCTGGACTCGGTTAC	62	78
18967-SNP08-R	GTTGGTTGCTTGCTGCTTT		
18967-SNP0910-F	GGTTCCTCATTAGCTCCATTAGTT	62	102
18967-SNP0910-R	GAGCTGCATAGTGGGATAGTTG		
18967-SNP11-F	GGTCAAGTGAACCCGAGAAA	62	86
18967-SNP11-R	TCATGGCATAGGAACCTGAATGT		
18967-SNP12-F	GCTCAATTCATCATGGCTTACAA	62	115
18967-SNP12-R	TCACTTGACCAACACCATAGG		
18967-SNP13-F	GAATTGGTCTCAAGCTGCAATAA	62	96
18967-SNP13-R	CATGTGTCCAGGATACCTCATAA		
18967-SNP14-F	TCCACATGTTGCTGGTGTAG	62	87
18967-SNP14-R	GTGGTCAGGATAGCAGATCTTATT		
18967-SNP15-F	TTTGATGCAGCCTGACATTG	61	87
18967-SNP15-R	TCACCATCCAACCCAGTAAG		
18967-SNP16-F	ATGTAGATCACCATCAGCAGTTAT	62	107
18967-SNP16-R	GGTGTCTGATCCCGGATTT		
18967-SNP17-F	TGGCATTGATAGGCAGTTCA	62	119
18967-SNP17-R	TCATACGATGGGCTTCATGATAA		
18967-SNP18-F	ATGCACCATGGTTGGTAACT	62	80
18967-SNP18-R	CTTTCCATTGCCCAAATGAACT		
18967-SNP19-F	GATAGTATAGCAGTTGGTGCATTTT	62	86
18967-SNP19-R	CCCAAACCTTGGTCCATCATTTT		
26926-SNP01-F	CTCCTCGCCGTGTTTCTG	62	103
26926-SNP01-R	GGTATTAGCGTCTAGGGTTTGG		
26926-SNP02-F	GCTTAAACAAAGGCGGGAAAT	62	85
26926-SNP02-R	GGCGAGTTCGGAACGAC		
27662-SNP01-F	AGGTCAAGCTCAGTTTCAGG	62	120
27662-SNP01-R	TCAACTTAATCCAACCATAATCAGC		
27662-SNP02-F	CCTCCTGATATTGACCCTCATAAC	62	114
27662-SNP02-R	ACCCAACCACTGAACTAACC		
27662-SNP03-F	ATGTGTCACTGCTCAAGAAGAA	62	102
27662-SNP03-R	TAGCTGCTGGGTACCATCT		
27662-SNP04-F	GAGTGGGTGAAGTAGCTTACAA	62	120

27662-SNP04-R	GGAAATGAGCTGCCACAAC		
27662-SNP05-F	CTTGCCATGGGCTGAGTATT	62	118
27662-SNP05-R	TGACCCTGGAATATAAGCTTGC		
27662-SNP06-F	GCAGGAGTGGCTCAAGTATT	62	119
27662-SNP06-R	TCCTTGAAGAATGACTCCCAA		
27662-SNP07-F	CGAGTATATGAACTCGAAA	56	119
27662-SNP07-R	TAACTTGGAACTTGTATTGG		
27662-SNP0708-F	CAAGCCCTCAAACCGAGAT	62	118
27662-SNP0708-R	TGTAGCCACTATTGGAAGTAACA		
27662-SNP09-F	GTTTGGCTGACTTGCTGATG	62	108
27662-SNP09-R	GCTCCATGAATTGTTCCACAC		

라. 딸기 탄저병 저항성 관련 유전자지도 작성

- 딸기 탄저병균 *C. fructicola*에 대한 저항성과 관련된 유전자좌(QTL) 및 그 지역에 위치하는 유전자군에 대한 연구가 미미하여 아직까지 딸기에서 *C. fructicola*에 대한 저항성 관련 QTL이 보고된 바가 없다. 따라서 딸기 탄저병 저항성 관련 QTL을 탐색하기 위해, 제3협동 과제와 협력하여 충남 농업기술원에서 재배된 딸기 탄저병 저항성 품종인 보교조생과 감수성 품종인 매향 및 아키히메를 각각 양친으로 하여 교잡한 보교조생x매향 F₁ 분리집단 224개체, 보교조생x아키히메 F₁ 분리집단 430개체를 이용하였다. 교배 모본으로 사용한 양친들과 각각의 F₁ 분리집단 개체들의 식물체로부터 Integrated DNA Technologies (IDT) Plant DNA Extraction Protocol을 수정한 방법을 사용하여 각각 DNA를 추출하였다.

- 유전자지도를 그리기 위해 유전자형을 분석할 genotyping 방법은 Affimatrix IStraw35 Axiom[®] array를 Eurofins사에 의뢰하여 수행하였다. IStraw35 SNP genotyping array 분석에는 보교조생, 매향, 아키히메는 각각 3개체씩 그리고 탄저병에 대한 표현형이 확실한 보교조생x매향 F₁ 분리집단 187개체, 보교조생x아키히메 F₁ 분리집단 188개체를 사용하였다.

SNP genotyping 분석 결과, 총 38,506개의 SNP probesets가 사용되었고 각 probesets에 대한 genotyping 결과는 총 6개의 conversion types로 나타났다. 다음 분석을 위해 관련 문헌들을 참고하여 딸기 유전자지도를 그리기 위해 추천되는 3개의 conversion types를 선발하였다: Probesets 사용 시 분리집단 개체들에게서 모든 genotypes의 유형(예시: AA, AB, BB)이 나타나는 PHR(Poly High Resolution), 한쪽의 homozygote만 나타나는 경우(예시: AA, AB 또는 BB, AB)인 NMH(No Minor Homozygote), 그리고 A나 B 외 낮은 intensity cluster를 보여주는 OTV(Off-target Variant). 이 중에서 양친의 genotype 3반복 결과가 모두 일치하거나 하나만 unknown일 경우를 다시 선발하였다(표1-14). 선발된 데이터에서 유전자지도 작성을 위해 minor allele frequency (MAF) > 0.05 (5%), SNP probesets 간 similarity < 1.0 (100%) 및 missing rate 10% 미만의 조건을 고려하여 데이터를 재선발하였다.

- 유전자지도 작성은 JoinMap 4.0 프로그램을 이용하여 수행하였다. 본 연구와 같은 Affimatrix Axiom[®] SNP genotyping array를 사용한 다른 문헌들을 참고하여 지도 거리는 Haldane mapping function을 이용하여 계산하였고, regression mapping 분석방법으로 grouping 및 mapping을 수행하였다. 기타 조건은 default 값으로 지정하여 수행하였다. 연관그룹들(linkage groups)은 independence LOD 값이 3.0~31.0 조건에서 총 28개의 그룹들로 나타났고, 결론적으로 보교조생 x 매향 F₁ 집단에서는 총 2,704개, 보교조생 x 아키히메 F₁

집단에서는 총 2,472개의 SNP probesets이 mapping되었다(표1-26). 최종 유전자지도는 Windows QTL Cartographer v2.5를 사용하여 작성하였다. 다른 논문들을 참고하여 CIM (composite interval mapping) 분석방법을 사용하였고, CIM model은 Model 6: Standard model을, regression 방법은 Forward & Backward 방법을 사용하였다. Windows size는 10 cM으로 설정하고, permutation 횟수는 1000회, 그리고 significance level은 0.05로 설정하여 비교조생 x 매향 F₁ 집단, 비교조생 x 아키히메 F₁ 집단의 유전자지도를 작성하였다(그림 1-21, 그림1-22). 다만 본 연구에서 작성된 유전자지도는 2배체 딸기 *Fragaria vesca* genome v1.1 database (GDR)를 기반으로 개발된 SNP probesets로 작성되어 8배체 딸기에서의 정확한 location을 모르기 때문에 8배체 딸기 유전체 상의 위치가 알려진 SSR 또는 SNP 마커들을 지도에 추가함으로써 정확한 subgenomes을 부여할 필요가 있다.

표1-26. 유전자지도를 그리기 위해 선발된 IStraw35 SNP genotyping 마커 수

Conversion type	비교조생 x 매향			비교조생 x 아키히메		
	Number of SNPs	Selected SNPs	Mapped SNPs	Number of SNPs	Selected SNPs	Mapped SNPs
PHR (Poly High Resolution)	4,957	4,178	1,052	4,140	3,447	790
NMH (No Minor Homozygote)	11,012	9,073	1,639	10,447	10,034	1,664
OTV (Off-Target Variant)	317	118	13	351	90	18
MHR (Mono High Resolution)	17,761	0	0	19,119	0	0
CRBT (CallRate Below Threshold)	920	0	0	845	0	0
Other	3,539	0	0	3,604	0	0
Total	38,506	14,269	2,704	38,506	13,571	2,472

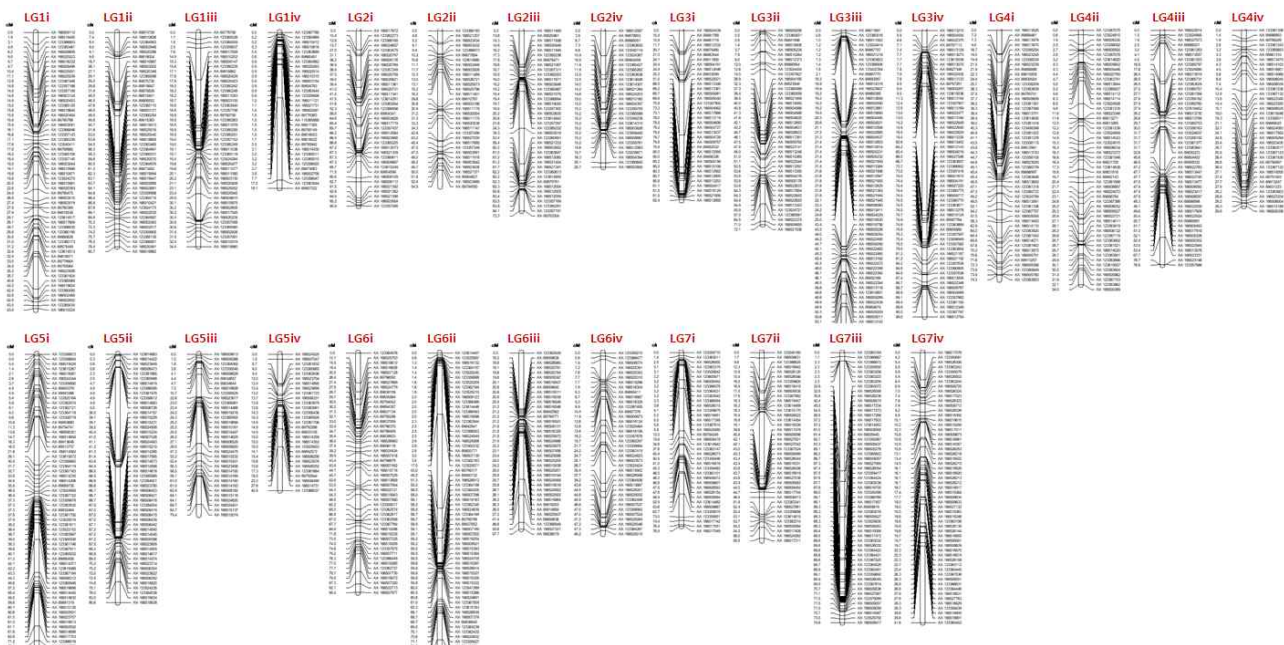


그림1-21. 비교조생 x 매향 F₁ 집단의 유전자지도

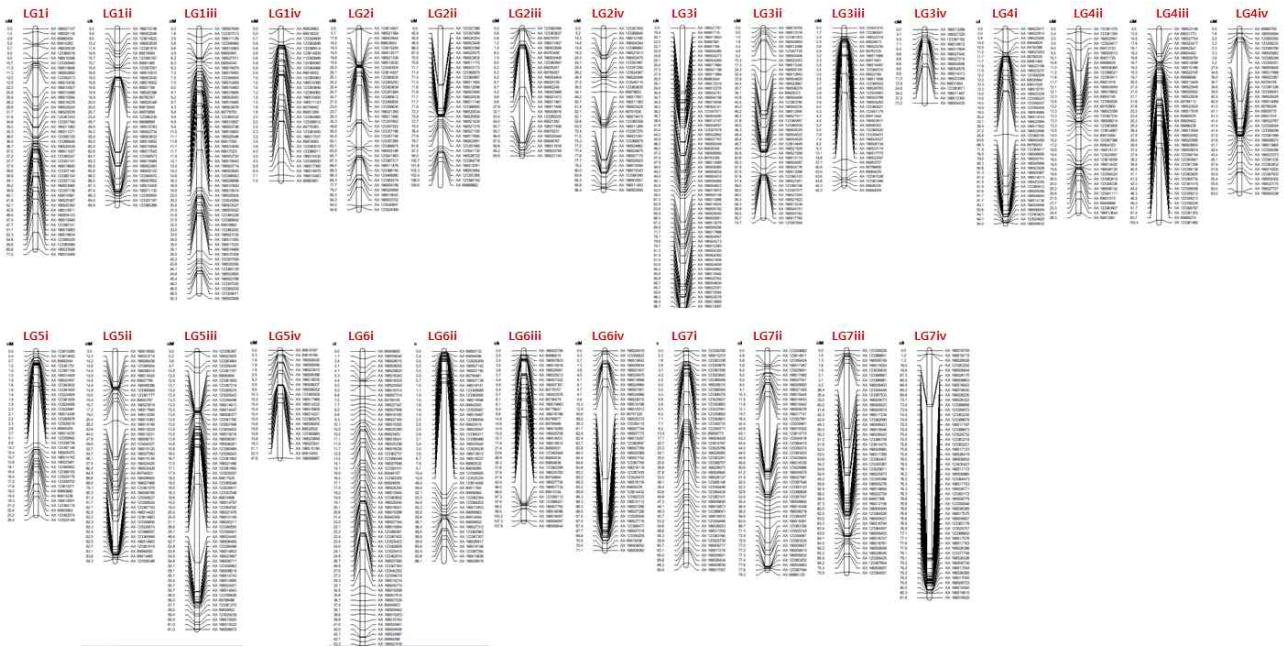


그림1-22. 보교조생 x 아키히메 F₁ 집단의 유전자지도

- 딸기 탄저병 처리 후 genotyping과 phenotyping 데이터를 사용해서 유전자지도를 작성하여 탐색된 보교조생 x 매향 F₁ 집단 QTL과 보교조생 x 아키히메 F₁ 집단 QTL을 바탕으로 가장 높은 LOD 값이 나타난 지역은 각각 LG6iv와 LG2i였다(그림1-23, 그림1-24). Threshold LOD 값을 3.0으로 했을 때 두 집단에서 공통으로 강하게 나타난 QTL은 발견하지 못했지만 LOD값 3.0 이상의 지역들 또는 근접하게 위치한 SNP probesets을 기반으로 HRM 마커를 제작하여 탄저병 저항성과 연관된 SNP 마커를 발굴하고자 하였다.

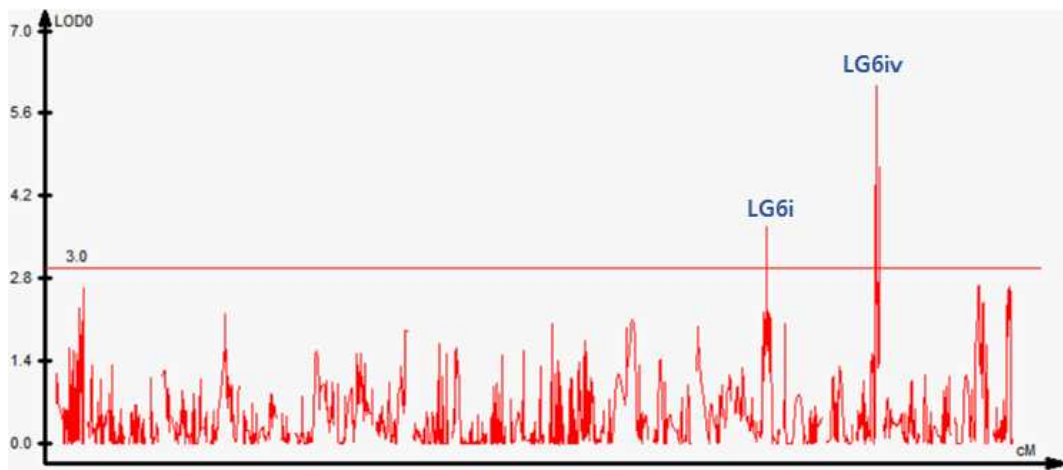


그림1-23. 보교조생 x 매향 F₁ 집단의 딸기 탄저병 저항성 연관 QTL 분석 결과

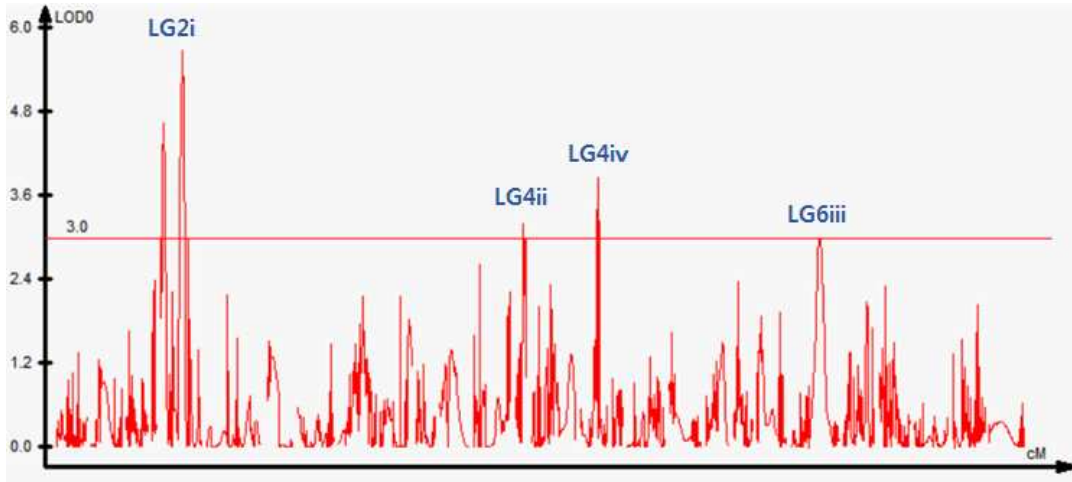


그림1-24. 보교조생 x 아키히메 F₁ 집단의 딸기 탄저병 저항성 연관 QTL 분석 결과

- 분석 결과, LOD값 3.0 이상의 지역들과 근접하게 위치한 SNPs는 보교조생 x 매향 F₁ 집단에서 총 29개, 보교조생 x 아키히메 F₁ 집단에서 총 45개가 발견되었다(표1-27, 표1-28). SNP probesets 염기서열을 바탕으로 HRM 마커로 제작하여 HRM을 수행하였다. HRM 반응액에는 1x MeltDoctor™ HRM Master Mix, 0.3 μM primer sets, template (10 ng/μL) 1 μL를 첨가 후 distilled water로 최종액의 volume이 5 μL가 되도록 했다. HRM 분석은 StepOne™ Plus System (Applied Biosystems, USA)을 사용하였다. 먼저 95°C에서 10분간 initial denaturation시킨 후, 95°C에서 10초 denaturation, 60°C에서 1분 annealing/extension의 반응을 40 cycles 수행하였다. PCR 반응이 끝난 후 60-90°C에서 0.1°C/s의 속도로 T_m(melting temperature)값을 측정하였다. Melting curve 분석은 High-Resolution Melt Software ver. 3.0 (Applied Biosystems, USA)를 사용하였다.

표1-27. 보교조생 x 매향 F₁ 집단의 딸기 탄저병 저항성 연관 SNP 기반 HRM 마커 목록

집단	Probeset ID	F ₁ X <i>ananasso</i> Chromosome	Position	LOD	SNP	Gene ID (F. vesca v2.0.a2)	Description	Forward primer	Reverse primer	Size
보교조생 x 매향	AX-123367764	LG6i	67.671	3.71	A/G	gene00575	atp-dependent dna helicase pif1-like	ACCAAAGTGTTCGCCAATC	ACATCAAGTCTTCAGGGTCACT	88
	AX-123366380	LG6i	70.032	2.06	C/T	gene00570	serine carboxypeptidase ii-3-like	GCCTGGAATATCAACAAGCTCATG	TGAGGGTGCAGGGATTCT	120
	AX-166519286	LG6i	70.525	2.02	-TAC	unknown	unknown	TTGATCTTTTCTGTGTGGCA	AACACATGCAATTGAACCCA	60
	AX-166515953	LG6i	70.703	2.11	A/G	gene37830	phosphatidylglycerophosphatase mitochondrial	AACGATGAATGGCTCCTCAG	TGGGAATCAAAATGGCTTCT	70
	AX-166518235	LG6i	73.265	2.27	A/G	gene28744	protein vacuoleless1	GATTCAGAACCCGAACCC	ATCAGCGCCATACAGTACGG	74
	AX-166516001	LG6i	73.894	2.22	A/G	gene24214	protein far-red elongated hypocotyl 3-like	ACCATGGACATAGACCTTCGGC	GCATCTTTTCTCATGTCCAGC	100
	AX-166515984	LG6i	74.516	2.17	A/G	gene24279	f-box kelch-repeat protein at3g23880-like	AGTGTCAATGATTTAGCCGAGG	GCATTCACGCCCTGTCTACT	80
	AX-123364926	LG6iv	39.194	3.10	A/G	gene07504	(promoter) pollen-specific leucine-rich repeat extension-like protein 1	AACAATGATGCCCTTATACGC	CTTGGAAATTTTATGGTCA	63
	AX-123364927	LG6iv	40.326	3.06	A/T	gene07407	rossmann-fold nad -binding domain protein	GGAGACGACAAAGGTTTCAGA	CCCCACATAAACACTTGCAGA	120
	AX-166527320	LG6iv	39.927	4.13	G/T	gene37787	coatomer subunit zeta-1-like	CATACCATTGGATGCTGATGC	TGGTTCACACTAGSACCACAA	75
	AX-166515831	LG6iv	42.006	5.73	G/T	gene07515	midasin isoform x1	GGTTCAATCTCAATTAAGCCG	TGAGCATAACCACCTTCCAA	66
	AX-166507546	LG6iv	42.736	5.58	C/T	gene06920	myb-related protein b-like	CAAAACTGAGGCATTGTGGT	CAAGTGTGCATCTTACCA	73
	AX-123358987	LG6iv	42.983	9.40	G/T	gene07330	glyoxylate succinic semialdehyde reductase chloroplastic	GGCTAGCGCTCAACTCTGT	GGTAGCAAGTCCACAGGCC	81
	AX-166507549	LG6iv	43.491	6.09	A/G	gene07488	phospholipid-transporting atpase 4	CCGTTCAAAATACATCAGCCA	AGTGCCTTGGGAAAGATGTGA	60
	AX-123363853	LG6iv	43.881	5.31	A/C	gene23053	receptor-like serine threonine-protein kinase ale2	AACCAAGTAGCAGCAATTG	CCTGAACAACCTGCCCATG	80
	AX-166505783	LG6iv	44.351	2.49	A/C	gene23126	fbd-associated f-box protein at5g22720	TGCAAGCCATTCTATTTTCCA	GGTCTCTTAAGCTTGATAGGT	118
	AX-166513867	LG6iv	43.65	4.96	G/T	gene23128	core-2 l-branched beta- n-acetylglucosaminyltransferase family protein	AGCGTTGGAGCAAACTTC	TACAACAACCAAGCCGACCTC	60
	AX-123362489	LG6iv	45.412	2.43	C/T	gene25699	atp-dependent 6-phosphofructokinase 6-like	CCTCTATTCCAAGAATTCGGTGG	TGTTCTCATGTATTGTGACA	119
	AX-166525051	LG6iv	45.426	2.68	C/T	gene25699	atp-dependent 6-phosphofructokinase 6-like	CCTCTATTCCAAGAATTCGGTGG	TGTTCTCATGTATTGTGACA	119
	AX-166515775	LG6iv	45.714	2.67	G/T	gene25708	cysteine proteinase inhibitor 1-like	ACAGAGATCGCAACTATGCTGT	AGATCAAGTGCCTTTGGTCTGT	61
	AX-166525052	LG6iv	45.745	2.74	G/T	gene25708	cysteine proteinase inhibitor 1-like	ACAGAGATCGCAACTATGCTGT	AGATCAAGTGCCTTTGGTCTGT	61
	AX-166518205	LG6iv	46.739	2.74	A/C	gene25727	PREDICTED: uncharacterized protein LOC101308489	CTGGTTCCGTGGGTAA	TGATCAACTGCATTCAATTC	105
	AX-123362499	LG6iv	46.902	2.49	A/C	gene25739	abc transporter g family member 29-like	TGGTAGACATCTGACCTCTGA	CGCTACTCCAACCTGTCTCT	79
	AX-166518212	LG6iv	47.604	2.42	A/T	gene37759	golgin candidate 5	TCTGCTTGTATGTTGTCTGA	AGATTTGGAAAGGACATCTCGTG	68
	AX-166507537	LG6iv	47.833	2.23	C/T	gene25745	arm repeat superfamily isoform 1	GCAACCTGTAAATTTCTGAGCA	ACAGGTGTGAAGTATGATGAC	80
	AX-123364263	LG6iv	48.163	2.03	A/G	gene20467	probable glutamate carboxypeptidase 2	TCAACCATGATTTCCACTGAA	ACTGGTATCTCATAATTCGAGA	113
	AX-166507513	LG6iv	48.797	2.28	C/T	gene25630	ankyrin repeat-containing protein at3g12360-like	SCCAATAAAGCTCAAAACACCA	AGCAACATGGGTGATCTTG	63
	AX-166525015	LG6iv	49.414	2.55	A/C	gene05987	-dioxygenase-like partial	TGATGATCTCATCACTGATGG	TAGCCGCATCACTTCTCT	64
	AX-123362480	LG6iv	49.082	3.48	A/G	gene05851	periodic tryptophan protein 2 homolog	CGGGGAAAGTGGGTATGA	AACAACAGCCCTCCACGAT	60

표1-28. 비교조생 x 아키히메 F₁ 집단의 딸기 탄저병 저항성 연관 SNP 기반 HRM 마커 목록

집단	Probeset ID	F. x ananassa Chromosome	Position	LOD	SNP	Gene ID (F. vesca v2.0.a2)	Description	Forward primer	Reverse primer	Size
비교조생 x 아키히메	AX-123357683	LG2i	30.911	2.23	C/T	gene28243	probable receptor-like protein kinase at1g49730 isoform x1	GGCCTTCAATCAACAGGTGCT	CCACTATGCATTGGGTCCGA	61
	AX-123357202	LG2i	49.169	4.94	G/T	gene08257	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 1-like	CTTTGCTTTGTGCAGATAGTTACA	GGCTCCACAGTTGGTTTCA	80
	AX-166511237	LG2i	50.592	5.39	A/G	gene35777	u3 small nucleolar ma-associated protein 18 homolog	AGGCTGCCTCCGAATTG	TGGATCGAAGGCTTAGGTTT	96
	AX-166520618	LG2i	50.733	5.45	A/G	gene35777	u3 small nucleolar ma-associated protein 18 homolog	AGGCTGCCTCCGAATTG	TGGATCGAAGGCTTAGGTTT	96
	AX-123360298	LG2i	51.122	5.46	G/T	gene35775	ribonuclease 3-like protein 1	TGCAGGGTTTTACGAAAGAGA	AGGTGATGCATATAACATACCCA	69
	AX-166509186	LG2i	63.612	5.69	-/GTTT	gene35868	PREDICTED: uncharacterized protein LOC101308145	GGTCTCTGTCTGTTGTTTGAGC	AGCCACATCATCCCTTATTTCA	119
	AX-123357269	LG2i	63.772	0.44	C/T	gene35866	snare-interacting protein keule-like	TCAAGAGATGTGGAGCCTAGA	ATTTCACTCAGGTTTGCC	75
	AX-123524337	LG2i	63.985	2.96	C/T	gene11193	f-box fld lrr-repeat protein at1g13570-like	GC GTTACAAGATGCCTCTGT	GAGGTTTTAGCAGACATCCAGT	80
	AX-123361521	LG4ii	19.944	2.84	A/G	gene11490	probable gpi-anchored adhesin-like protein pg955	GTGTTACAAGTGATACCAAGTCA	TGCTGTGATACATCTTAGGCTCT	72
	AX-123615058	LG4ii	20.04	3.2	-/TCGA	gene11540	protein nrt1 ptr family -like	TGCAGATGCATATCTTATGAAAC	GAACTAATTAACCAAGCTCTGACC	74
	AX-123367124	LG4ii	20.083	2.57	C/T	gene11561	peroxygenase	GGGACATGACCGAGGGAACA	CCAAAACCTAAAACGCATATGGGG	118
	AX-166514020	LG4ii	20.271	2.28	C/T	gene11546	19765651 cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase isoform 1	ACCGATGAACGCTATGATGAGT	TGGACAGTAACCATGGCAGA	119
	AX-123358335	LG4ii	20.29	2.44	C/T	gene28266	beta-amyirin 28-oxidase-like	TCTTGGATCAGGTAAGCAGTC	GCTAGTCATCGATGTGTCAACC	66
	AX-166506120	LG4ii	20.309	2.35	C/T	gene27888	g3bp-like protein	ATGTACGAAACTGCCACCT	ACTCTTCAGTCTGTGTAGT	88
	AX-123358337	LG4ii	20.457	2.37	A/G	gene28312	f-box protein skip23-like	ACACGGAGAGCCTGCAAAAC	ATCTTTCTCCGTCGCCACGG	84
	AX-123358336	LG4ii	20.522	2.2	A/G	gene28296	unknown	GCTTCATCGCTTAAGTTGGAGA	TCCCACTCAGCAGCCTTCT	88
	AX-166506132	LG4ii	20.649	2.18	A/G	gene28317	triglyceride lipases isoform 1	CAACATGGAAACGAGGACTTC	TCCCTAGACTTTTGGTTGGAGG	60
	AX-166505990	LG4ii	21.03	2.86	G/T	gene11534	PREDICTED: uncharacterized protein LOC101299857	CACITTTGGTTATGGCTGTGCT	TGCCAAGATGAACACCTTCTCT	80
	AX-123541111	LG4ii	21.195	2.62	G/T	gene11530	cyclic nucleotide-gated ion channel 1-like	TCTGGTGGGAAAGTGGAAAC	AGGATTAATGTGATGCGCAGCT	79
	AX-123358275	LG4ii	21.248	2.48	G/T	gene11525	19778359 transferase-like superfamily protein isoform 1	ACAATCCAGAGGTTTGCTG	GTGCTCCACTACCACCACTA	102
	AX-89831515	LG4ii	21.431	2.86	A/C	gene36561	tetrahelicopeptide repeat protein 7b-like	TGGCACGAATATTGTCAAGTCA	TCCCGCTGTGATGAGAGCA	78
	AX-123363896	LG4ii	21.887	2.43	C/T	gene11458	phosphoenolpyruvate carboxylase kinase 1-like	TGGTGGAAAGTAGACCCTGA	GTTACGACCCCGCACCTAG	84
	AX-89848686	LG4ii	22.063	2.94	A/T	gene11478	probable methyltransferase pmt3	GAAATACCTGAAGACTGCAT	GTGATTGTGCGCTTCT	69
	AX-123524855	LG4ii	22.854	2.85	G/T	unknown	unknown	TGTCTTACCATGCCTCACA	TGTTGTTGGAGAAAGTGGAGGT	71
	AX-123363907	LG4ii	23.714	2.98	C/T	gene29005	vegetative cell wall protein gp1-like	TCCCTAAAGAGAGAAGTCAAGAA	TGACAGCTGATTGACAACATCT	80
	AX-123615257	LG4ii	24.064	2.62	-/AGCT	gene29897	unknown	CAGTCTCCAACAACCTCCAAAGA	GATGAACGCAATGGCTTGG	63
	AX-166513644	LG4ii	24.695	2.96	C/T	gene06598	19753239 u2 small nuclear ribonucleoprotein auxiliary factor 35 kda subunit-related protein isoform 1	GCCTAAAATTTCCATTGCTCTCA	ACTCCTGAATAGCCGAAGAGA	89
	AX-123358092	LG4ii	25.175	0.99	A/G	gene06588	probable receptor protein kinase tmk1	TGCACTGCTTGAGAAAGTTTCA	ACTGGAAACCTACAACCCACGA	79
	AX-89813561	LG4ii	26.661	2.27	A/G	gene06568	unknown	TTTGGATTGTTGGCGGCGG	GCTGCTCATCTCTGCCACT	75
	AX-123361326	LG4iv	39.342	3.4	G/T	gene06522	PREDICTED: uncharacterized protein LOC101297829	ATGCTGTAGATTTGCTGATA	GCAAGAGAAGATGAAGAAAG	80
	AX-123358091	LG4iv	39.423	3.06	A/G	gene06562	dna repair protein rad50	ACTCAAAGGTCGAATCACTC	GCTTCAAATTTGGATATCTCACC	65
	AX-123365717	LG4iv	39.858	2.87	C/T	gene06576	xyloglucan galactosyltransferase katamar1 homolog	GCCCAACTTGAAGCTAGGC	CGAAAGCTAGAGAGGCT	111
	AX-166505528	LG4iv	39.99	3.53	A/G	gene06602	crocetin chloroplastic-like	CTTTGATGTTGGAGGTGCAAGA	ATAAACCCCTCGATGCTCT	60
	AX-123358094	LG4iv	40.133	3.2	C/T	gene06611	mini-ribonuclease 3	GGATGCATTGCTCCAGAACT	ACTCACCTCTCTTCTTCTGT	60
	AX-166514068	LG4iv	40.471	3.35	C/T	gene17267	proline-rich protein prcc	CCCCACATCGCTCCACTT	GCTCCGGGAGAAAGGCCATT	62
	AX-89828770	LG4iv	40.653	3.86	A/G	gene22406	ino80 complex subunit d-like	TCTCTTGTACTGTCCACTCCA	ACATTAAGCCCTGCTTCTCTCA	74
AX-89831918	LG4iv	40.838	3.69	C/T	gene21667	protein yif1b-like	AAGTCTGAACACCGCCAT	GCTGCAATCCCCAGCCTA	61	
AX-123365653	LG4iv	40.92	2.87	A/G	gene22430	probable importin-7 homolog	CATGCTGATTACCTGAGC	GCTCCATAACTGTGTATCTTG	80	
AX-123361566	LG4iv	41.081	3.28	C/T	gene36612	47589599 protein far1-related sequence 5-like	ACTTTCAAGGATAGCTGGTCA	AGCTTCGGAATAAGAAACGCT	100	
AX-166523402	LG4iv	41.114	2.58	A/G	gene21692	protein farnesyltransferase geranylgeranyltransferase type-1 subunit alpha	TCTACCAGACATGACACAATC	GTCAATGATGTCAGCCTGAAC	120	
AX-166506072	LG4iv	41.126	3.54	A/G	gene21673	probable fructokinase-4	TCTTCTTCTCTGTGGACTGA	CGCCGAAACTAACGATCAGACC	62	
AX-166518801	LG4iv	41.147	2.64	-/CAA	gene36612	47589599 protein far1-related sequence 5-like	CATGATCAAAATCTCTAGCTCC	TCAGTACTGCAATACCTGCAC	60	
AX-166505330	LG4iv	41.736	3.1	C/T	gene22387	clathrin interactor epsin 2	TGGGGACTCGTTTTAGCTCT	TGGTGTTCAGTGGACAGATCT	78	
AX-123361235	LG4iv	44.651	3.24	G/T	gene25633	bifunctional dethiobiotin synthetase -diamino-pelargonic acid mitochondrial	CGGAGTGGATGTTCAATGGAT	AGGAAGCTTGCTCACAGAGGT	80	
AX-166516038	LG6iii	95.254	3.00	A/G	gene10256	external alternative nad h-ubiquinone oxidoreductase mitochondrial	AGATTTGCTTTGCTGAGCTG	TCGGAACACAGGGTCGAC	124	

- 양친을 비롯한 비교조생 x 매향 F₁ 집단, 비교조생 x 아키히메 F₁ 집단으로 HRM을 수행한 결과, LG6iv에 위치하는 SNP probeset AX-166518205 기반의 HRM 마커를 사용하였을 때 탄저병 저항성과 감수성의 구별이 가능한 것으로 나타났다. 비교조생을 포함한 탄저병 저항성 샘플들(이병지수 ≤ 1.0)은 melting curve에서 pattern 1(blue)을 보였고, 매향 및 아키히메를 포함한 탄저병 감수성 샘플들(이병지수 ≥ 3.0)은 pattern 2(red)로 나타났다(그림

1-16). Melting curve patterns는 저항성과 감수성 샘플 모두 homozygous한 pattern을 보였으나 염기 차이로 Tm값이 다르게 나타나는 것을 보였다(그림1-25). 해당 SNP A/C와 Tm값을 비교해 보았을 때 비교조생을 포함한 저항성 샘플들은 AA, 매향 및 아키히메를 포함한 감수성 샘플들은 CC인 것으로 사례된다.

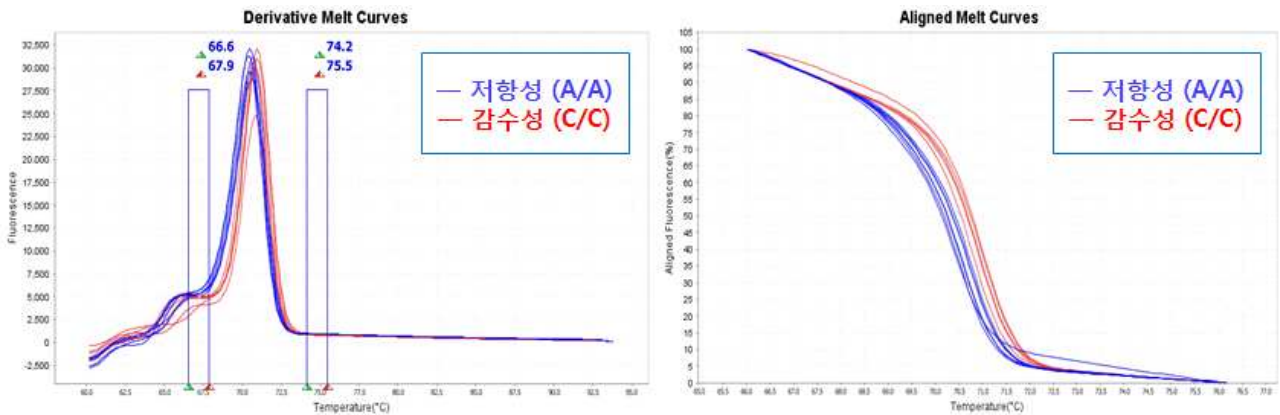


그림 1-25. 딸기 탄저병 저항성 및 감수성 샘플을 이용한 AX-166518205-HRM 마커 실험 결과

5. 딸기 경도 관련 유전자원 탐색 및 경도 정밀검정법 개발

가. 8배체 딸기 원예원 육성 고정계통의 경도 관련 특성 조사 및 재료 선발

1) 원예원 육성 고정계통의 경도 관련 특성 조사 및 재료 선발

- 8~9세대를 거쳐 온 개체별 특성조사 결과를 분석하였으며 이를 바탕으로 평균이 25~30 (g/mm²)이면 고경도, 13~20 (g/mm²)이면 저경도로 판단하였음
- 고경도 고정계통: 8개의 고정계통을 선발하였으며 아키히메, 아마오우, 베니훗베, 카란, 문뢰, 조홍, 엘란, 도요노카 유래 계통에서 선발하였음

※원예원 8배체 딸기 고정계통 구축과정은 Rho et al., 2012에 설명되어 있음

베니훗베(Benihoppe) 유래 고경도 고정계통

계통명	과중(g)	수량 (개/주)	경도 (q/mm ²)	당도(°Bx)	파종수	발아수
B3-5-1-8-307-8-138-5-1	7.3	12.8	34.5	9.3	55	39
B3-5-1-8-307-8-138-5-4	6.6	11.5	25.7	8.2	66	46
B3-5-1-8-307-8-138-5-4-14	12.0	183.5	28.2	9.9	50	34
B3-5-1-8-307-8-138-5-5	8.5	13.2	24.0	9.3	79	30
B3-5-1-8-307-8-138-5-5-11	10.1	124.4	28.2	9.7	42	10
B3-5-1-8-307-8-138-5-8-15	9.2	52.0	21.4	8.8	8	3
평균			26.2			

도요노카(Toyonoka) 유래 고경도 고정계통

계통명	과중(g)	수량 (개/주)	경도 (g/mm ²)	당도(°Bx)	파종수	발아수
Do1-3-6-40-7-10-1-8	5.2	68	21.1	10	50	6
Do1-3-6-40-7-10-1-8-13	8.0	16.8	28.0	10.0	70	46
Do1-3-6-40-7-10-1-8-13-1	8.0	75.0	26.5	9.7	34	17
Do1-3-6-40-7-10-1-8-13-2	7.1	62.6	28.2	9.1	23	14
Do1-3-6-40-7-10-1-8-14	8.4	12.4	22.4	8.8	81	42
Do1-3-6-40-7-10-1-8-5	6.1	13.9	23.9	9.6	32	24
Do1-3-6-40-7-10-1-8-5-12	6.9	92.5	30.1	9.5	50	3
평균			24.9			

그림 2-1. 고경도 고정계통 선발 과정

▶ 1차년도 : 고경도 후보 고정계통 8개 선발

- 저경도 고정계통: 9개의 고정계통을 선발하였으며 아마오우, 베니훗베, 사치노까, 카란, 조홍, 가비타, 도요노까, 찬들러 유래 계통에서 선발하였음

사치노카(Sachinoka) 유래 저경도 고정계통

계통명	과중(g)	수량 (개/주)	경도 (g/mm ²)	당도(°Bx)	파종수	발아수
S2-6-4-19-2-11-71-12-1	12.0	13.2	12.2	7.6	70	55
S2-6-4-19-2-11-71-12-105	10.5	19.4	7.5	7.7	70	16
S2-6-4-19-2-11-71-12-23	9.6	18.4	14.8	8.7	70	50
S2-6-4-19-2-11-71-12-33	10.9	12.4	12.1	9.3	70	47
S2-6-4-19-2-11-71-12-33-10	11.6	115.6	16.3	8.8	50	9
S2-6-4-19-2-11-71-12-33-13	8.5	73.4	16.3	10.1	20	9
S2-6-4-19-2-11-71-12-39	12.8	15.4	11.8	6.4	70	55
S2-6-4-19-2-11-71-12-55	9.7	17.1	11.0	7.1	70	39
S2-6-4-19-2-11-71-12-77-6	6.6	56.0	13.2	8.7	50	12
평균			17.7			

첸들러(Chandler) 유래 저경도 고정계통

계통명	과중(g)	수량 (개/주)	경도 (g/mm ²)	당도(°Bx)	파종수	발아수
Chandle50-29-6-5-15-10	5.2	16.5	16.4	8.0	9	4
Chandle50-29-6-5-15-12-12	8.2	6.6	12.7	10.0	70	35
Chandle50-29-6-5-15-12-9					2	1
Chandle50-29-6-5-15-20-1	13.8	55.0	17.3	5.2	14	4
Chandle50-29-6-5-15-2-3	8.0	13.0	7.8	8.1	9	9
Chandle50-29-6-5-15-2-9	8.0	20.5	12.5	8.0	51	16
Chandle50-29-6-5-15-2-9-2	9.3	144.5	15.3	6.4	14	2
Chandle50-29-6-5-15-3-2	6.1	19.1	8.3	8.4	45	34
Chandle50-29-6-5-15-3-2-3	8.4	68.0	12.9	5.8	25	13
Chandle50-29-6-5-15-3-2-6	9.6	214.4	11.7	7.2	25	9
Chandle50-29-6-5-15-3-8	9.8	15.0	16.3	9.1	70	60
Chandle50-29-6-5-15-3-8-6	11.5	181.8	10.7	7.6	25	18
Chandle50-29-6-5-15-7	4.5	8.8			10	6
평균			13.6			

그림 2-2. 저경도 고정계통 선발 과정

▶ 1차년도 : 저경도 후보 고정계통 9개 선발

2) 유전분석이 용이한 경도검정 조건 확립

- 현미경 측정의 경우 아직 고경도와 저경도의 기준을 파악하기 어렵고 유전분석을 위한 집단 신속 측정이 불가능하여 간이경도계와 고정경도계의 비교 실험을 통해 집단 분석에 적합한 기기 및 방법 선택

※ 사용한 경도계 : TA.XTplus Texture Analyser, 4610 Fruit Penetrometer, 2mm tip)

< 고정 경도계 분석 결과 >

- TA.XT plus Texture Analyser 고정경도계를 이용하여 저경도 딸기와 설향 품종의 경도를 비교함
- 최소 4개~12개의 반복수로 측정하였으며 딸기 성숙도 별(S100:성숙, S130:과숙), 딸기 외부껍질 유무 별, 탐침의 두꺼운 정도에 따라 값의 차이를 확인

저경도 계통(KJ14-1)과 설향의 고정 경도계 측정



저경도 계통(KJ12-1)을 이용한 경도 측정 방법 비교

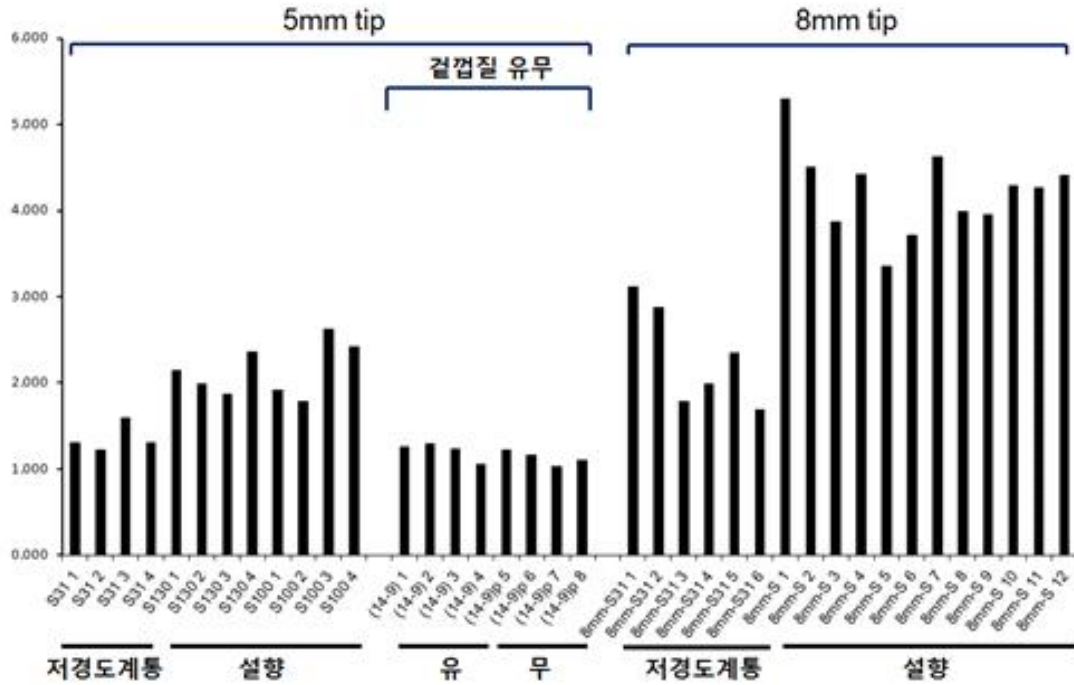
외부껍질 제거

외부껍질 미 제거



그림 2-3. 고정 경도계 분석용 딸기 시료 준비 과정

▶ 1차년도 : 효율적 검정을 위한 경도 측정 방법 비교함



<고정 경도계 딸기 샘플 평균 경도 결과>

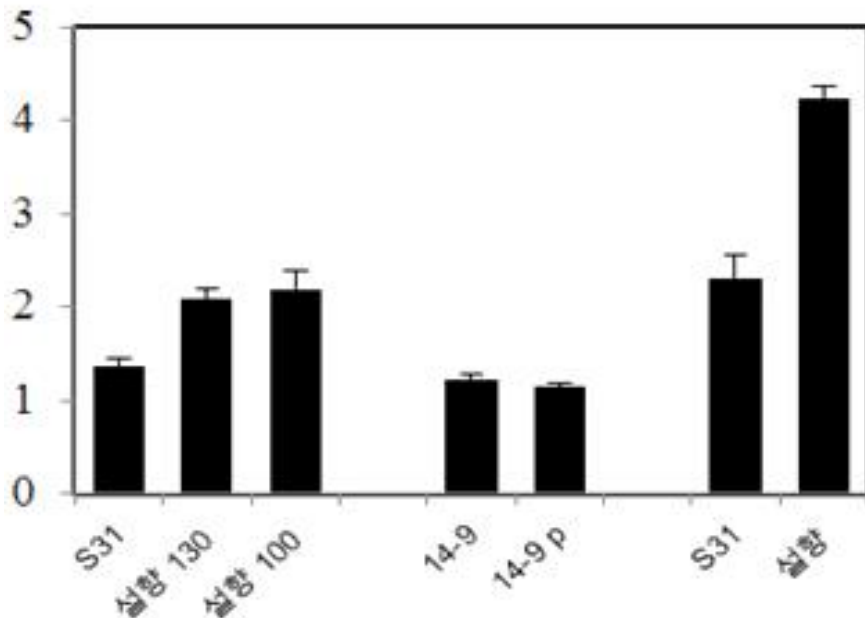


그림 2-4. 고정 경도계 딸기 샘플 개별 경도 결과

▶ 1차년도 : 효율적 검정을 위한 경도 측정 방법 비교함

- 그래프 분석 결과, 과숙된 과일의 경도가 정상 숙기 과일에 비해 높게 나오지 않았음
- 또한 외부겉질 유무는 경도 측정에 크게 영향을 주지 않았으며, 표면에 종자가 박힌 양상 또한 크게 결과 측정에 영향 주는 요인이 아니라는 것을 확인
- 어느 정도의 오차는 있었으나 5mm 탐침과 8mm 탐침 비교 결과 크게 값의 차이를 보이지 않는 5mm 탐침에 비해 8mm의 경우 뚜렷한 경도 차이를 나타내어 향후 집단 분석 등에 용이할 것으로 판단
- 고정 경도계의 경우 현장에서 즉시 경도 측정을 할 수 없는 한계 있음

< 간이 경도계 분석 결과 >

○ 4610 Fruit Penetrometer 간이 경도계를 이용하여 선발한 고경도 8개의 계통과 저경도 3개 계통들의 2016년 경도 특성조사

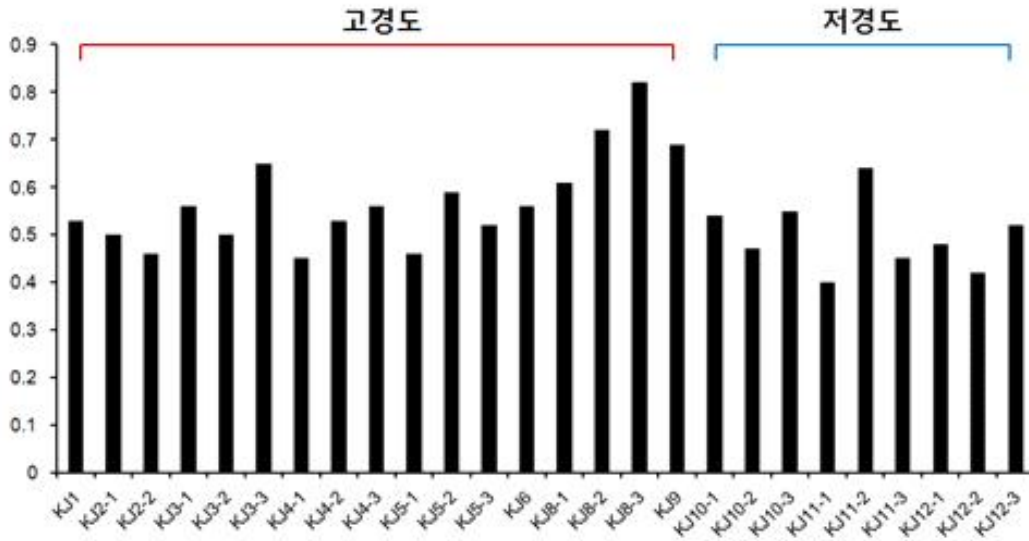


그림 2-5. 간이 경도계 딸기 샘플 개별 경도 결과

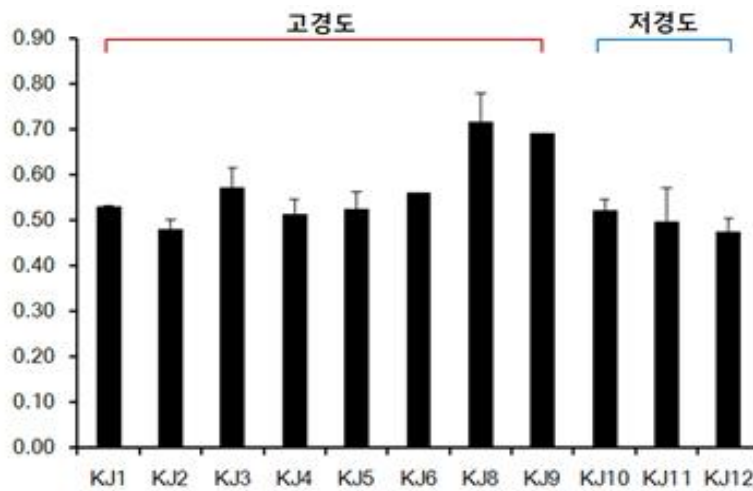


그림 2-6. 간이 경도계 딸기 샘플 평균 경도 결과

▶ 1차년도 : 효율적 검정을 위한 경도 측정 방법 비교함

- 고경도와 저경도 계통의 차이는 보였으나 유전분석이 가능한 뚜렷한 차이를 보이지는 않음
- 실험자의 개인차가 생길 가능성이 많음
- 2mm 팁이 오차 폭 등의 부분에서 딸기 경도 비교에 적합하지 않은 것으로 보임

계통명	평균수정경도	초기예상 경도
KJ1	27.01	고경도
KJ2	24.46	고경도
KJ3	29.04	고경도
KJ4	26.16	고경도
KJ5	26.67	고경도
KJ6	28.54	고경도
KJ8	36.52	고경도
KJ9	35.16	고경도
KJ10	26.50	저경도
KJ11	25.31	저경도
KJ12	24.12	저경도

그림 2-7. 간이 경도계를 이용한 올해 경도 결과와 예상 경도 결과 비교

- 간이 경도계를 이용한 결과에서 고경도 계통의 경우 평균 29 (g/mm²)의 경도 결과를 보였으나 그래프에서 확인된 것처럼 오차의 폭이 크고 고경도로 구분된 KJ4와 KJ5는 평균 26 (g/mm²)의 경도 결과를 보여 저경도로 구분된 계통과 차이를 보이지 않았음. 초기 예상 경도는 8~9세대까지 내려오면서 축적된 경도 데이터를 바탕으로 평균을 계산하여 고경도와 저경도를 분류한 것임.

6. 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F1 조합 선발 및 F2 조합작성

가. 고경도 고정계통와 저경도 고정계통 간의 교배를 통해 F1 조합 선발

1) 고경도 고정계통와 저경도 고정계통 간의 교배를 통해 F1 조합 선발

- 고경도 x 저경도 조합의 양친 계통 선발
- F1 조합 작성 및 SNP 분석(Genotyping by sequencing 이용)을 위한 고경도x저경도 계통의 gDNA 분리

표 2-1. 선발한 양친 후보

<고경도/저경도 양친 후보>		
이름	분양이름	특성
B3-5-2-10-72-8-46-5-40-14	KJ4-1	고경도
	KJ4-2	
	KJ4-3	
B3-5-2-10-72-8-28-9-4	KJ3-1	고경도
	KJ3-2	
	KJ3-3	
B3-5-2-10-72-8-46-5-40-9	KJ5-1	고경도
	KJ5-2	
	KJ5-3	
Do1-3-6-40-7-10-1-8-5-12	KJ6-1	고경도
	KJ6-2	
	KJ6-3	
J1-3-8-20-3-45-9-22-6-10	KJ8-1	고경도
	KJ8-2	
	KJ8-3	
J1-3-17-29-1-1-59-14-10	KJ7-1	고경도
	KJ7-2	
	KJ7-3	
S2-6-4-19-2-11-71-12-33-10	KJ10-1	저경도
	KJ10-2	
	KJ10-3	
J1-3-8-20-3-45-9-22-6-14	KJ9-1	고경도
	KJ9-2	
	KJ9-3	
S2-6-4-19-2-11-71-12-39	KJ12-1	저경도
	KJ12-2	
	KJ12-3	
S2-6-4-19-2-11-71-12-77-6	KJ11-1	저경도
	KJ11-2	
	KJ11-3	
Chandle50-29-6-5-15-3-8-6	KJ14-1	저경도
	KJ14-2	
	KJ14-3	
Chandle50-29-6-5-15-3-2-6	KJ13-1	저경도
	KJ13-2	



※ 2016년 이전 2015년까지의 특성조사 결과를 이용하여 선정함

▶ 1차년도 : 분리집단 구축을 위한 고경도 및 저경도 양친 후보 선정함

- 베니훗베, 도요노카, 준세 유래 계통 중 총 7개의 고경도 계통과 사치노카, 챠들러 유래 계통 중 총 5개의 저경도 계통 중 분리집단 위한 양친 선발
- 고경도 : 최종 베니훗베, 도요노카 유래 계통 선정
- 저경도 : 최종 사치노카, 챠들러 유래 계통 선정

<베니훗베 유래 계통>

- 베니훗베는 아키히메와 사치노카의 일본 교배종
- 9세대까지의 경도 특성 조사 결과를 분석한 결과 전체적으로 다른 유래 계통에 비해 경도가 25~29 (g/mm²) 정도로 높았으며 5세대에 분리가 일어나 상대적으로 약한 경도를 보이는 계통과 일정하게 강한 경도를 보이는 계통으로 나뉘짐.
- 9세대까지 어느 정도 균일한 높은 경도를 보였으며 ‘씨베리 “ 양친 중 하나인 베니훗베 자식계통을 선정함 (Jeong et al., 2015)

<도요노카 유래 계통>

- 도요노카는 구류미39와와 하루노카의 일본 교배종
- 대과형이며 전체적으로 경도가 높으나 저경도와 고경도 특성이 세대 중반에서 분리가 되는 현상을 보여 확보한 여러 계통 중 9세대까지 일정한 표현형을 보인 자식계통을 선정함
- 저경도 : 분리가 일어나지 않았고 15이하의 수치를 보인 사치노카/챠들러 유래계통 선정

<사치노카 유래 계통>

- 사치노카는 도요노카와 아이베리의 일본 교잡종
- 10세대까지 일정하게 낮은 경도 (평균 경도 17g/mm²)를 보인 자식계통을 선정

<챌들러 유래 계통>

- 챌들러는 미국 더글라스와 C55의 노지형 길계성 교잡 품종
- 평균 경도 결과가 15g/mm²로 보유하고 있는 자식 계통 중 경도가 가장 낮았으며, 8~9세대까지 일정한 특성결과 보이며 내려간 자식계통을 선정

- 선정한 양친 교배 : F1 조합 작성 (3월), F1 종자 수확 (4월말), 종자건조 (5월), 각 조합 당 500~1000립 이상 확보

나. F1 식물체의 자식을 통해 분자표지 개발을 위한 F2 분리집단 종자 확보

1) 기존에 조합이 있는 F1개체를 이용하여 F2집단 종자 확보

- 고정 계통을 통해 F1조합 기작성된 딸기 개체 보유
- 교배 : F1 selfing (1~2월), 과실 확인 (3월), F2 종자 확보 및 파종 (4~5월)
- 추후 평균 300 개체 씩 가식 예정이며 구축한 F2 집단은 QTL 유전분석 및 GBS 연구에 활용할 예정 (T137 F2 집단, L80 F2 집단)

표 2-2. F2 집단 채종 및 파종 결과

F ₁ 식물체	개체번호	채종량	파종량	비고
T137	#1	499	499	F ₂ 종자
	#2	130	130	F ₂ 종자
	#3	395	395	F ₂ 종자
	#4	210	210	F ₂ 종자
계		1,234	1,234	
L80	#1	723	500	F ₂ 종자
	#2	670	500	F ₂ 종자
계		1,393	1,000	

F₁ L80 : B3-5-1-8-307-8-138-5-8 (모) x S2-6-4-19-2-11-71-12-39 (부) T137 : B3-5-1-8-307-8-138-5-5 (모) x Chandle50-29-6-5-15-3-2-6 (부)

조합 베니훗베 유래(고경도) x 사치노까 유래 (저경도) 베니훗베 유래 (고경도) x 찬들러 유래 (저경도)

식물체



그림 2-8. 선발한 F₁ 식물체 사진 및 교배조합

▶ 1차년도 : 분리집단 구축을 위한 2가지 F₁ 조합 선정

7. 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F2 분리집단 육성

가. 분자표지 개발을 위한 F2 분리집단 육성

1) 딸기 F2 분리집단 및 그 양친 육성

○ 정식일자 : 16. 9. 28(반축성)

○ 정식장소 및 재식 거리 : 단동하우스, 110cm ÷ 2조식 × 10cm(재식거리)

○ 수확 : 생육불량으로 1화방은 제거하였으며 제 2화방에서 나온 과실부터 조사 시작 (그림 2-9, 표 2-3).



L80

T137

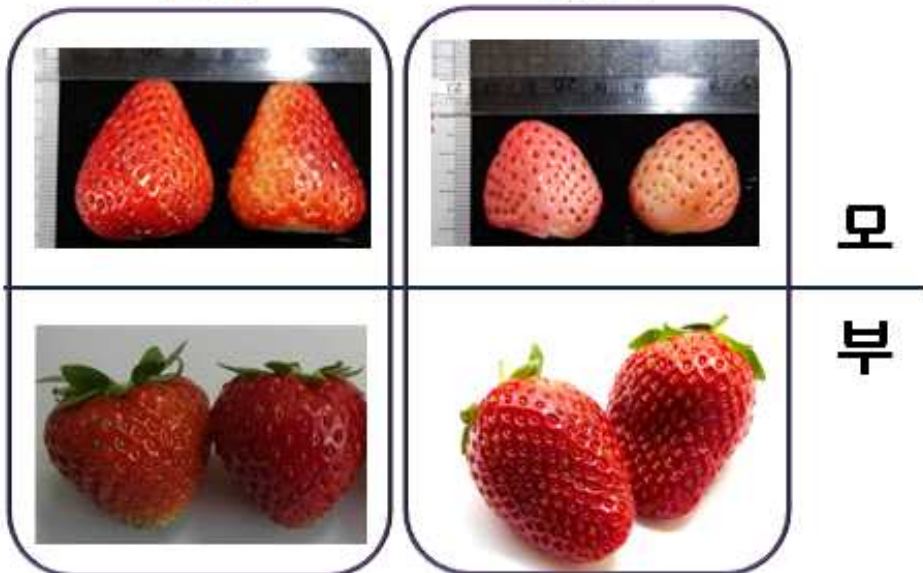


그림 2-9. F2 집단 구축 사진 및 딸기 양친 과실 사진

※ 모친 : 고경도 계통, 부친 : 저경도 계통

▶ 2차년도 : F2 분리집단 구축 사진

표 2-3. 정식한 딸기 목록

라벨링	세대	주수	모본	부분
KJ2×KJ12 (L80)	F ₁	24	KJ2	KJ12
KJ1×KJ13 (T137)	F ₁	40	KJ1	KJ13
KJ2	selfing	40	세대진전한 L80 모본	
KJ1	selfing	40	세대진전한 T137 모본	
KJ12	runner	5	runner 증식한 L80 부분	
KJ13	runner	5	runner 증식한 T137 부분	
L80	F ₁		KJ2	KJ12
L80#4-F ₂	F ₂	150	F ₁ selfing으로 구축한 F ₂ 집단 (L80)	
T137#3-F ₂	F ₂	4		
T137#2-F ₂	F ₂	4	F ₁ selfing으로 구축한 F ₂ 집단 (T137)	
T137#1-F ₂	F ₂	150		

→ 결과 및 고찰 : 1. F₂ 집단 (L80 및 T137)은 각각 100개체 이상으로 충분히 확보하였으나 초봄 의 저온 등의 문제로 딸기 과실의 성숙이 지연되었으며 기형 과가 다수 발생하였음

나. 고경도 x 저경도 F₂ 분리집단의 표현형 (경도) 검정 및 유전분석

1) 생육 및 과실 특성 조사

○ 2017년 2월 21부터 4월 4일까지 색, 모양, 수량 등의 전반적인 특성조사를 진행 (그림 10).

- 평균과중 : 수량과 무게로 계산하여 측정
- 수량성 : 총 무게를 주수로 계산하여 측정
- 크기 : 딸기를 반으로 잘라 폭과 길이를 자로 재어 확인하였음
- 속색과 겉색 및 직립/개장 여부는 눈으로 판단하여 상대적인 차이를 기록

※ 딸기 특성 조사는 국립종자원 딸기 특성조사 기준 및 딸기 특성조사 표준 매뉴얼을 참조하여 조사함.

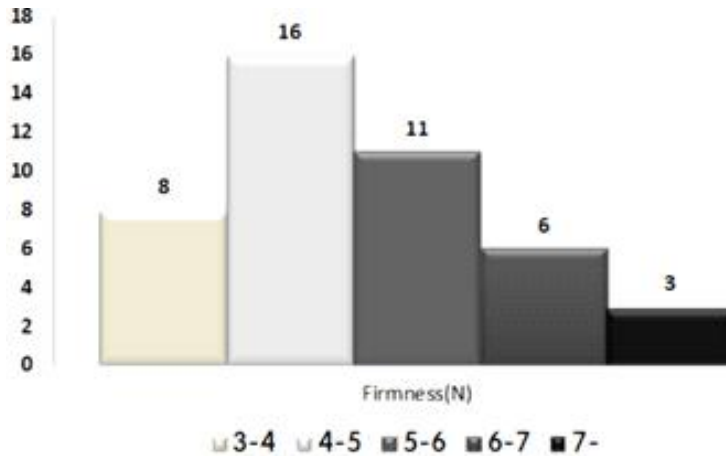


그림 2-12. L80 F2 집단에서의 경도 표현형 조사 결과

▶ 2차년도 : L80 F2 분리집단 특성조사 결과

4. 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 SNP 분자표지 개발

가. NGS를 이용한 고경도/저경도 고정계통 등 딸기 계통의 염기서열 재분석

1) 총 89개의 딸기 계통 (표4 및 그림 14, 9개 품종 유래되었으며 9-11세대까지 진전된 자식계통)에 대하여 GBS(genotyping by sequencing) 방법으로 염기서열 분석.

○ 딸기 특성 조사 결과는 표 5에 정리되어 있음

○ 89개의 딸기에서 신엽에서의 leaf disk 3장을 분리, CTAB을 이용한 방법으로 genomic DNA 추출

○ Nanodrop을 통하여 DNA 정량(500ng/ul) 후 GBS 분석 진행 (그림 2-13).

※ GBS 진행 과정 및 사용 프로그램

(1) 제한효소 처리 및 어댑터 라이게이션

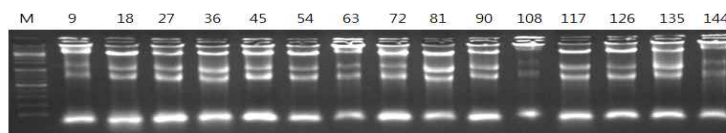
(2) 염기서열 분석 통한 Library 제작 및 퀄리티 테스트

(3) 시퀀스 다운로드, 표준유전체서열에 align하기

(4) SNP calling 및 filtering

✓ GBS data analysis: Sequence data download, alignment (BWA), sorting and readgrouping of bam file (SAM tools and Picard tools), SNP calling and filtering (GATK)

T137 #1-F2



L80 #4-F2

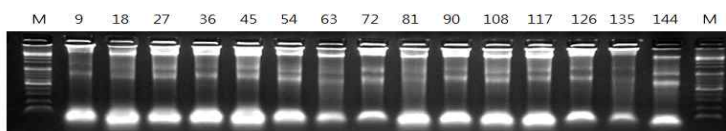










































































































그림 2-13. 딸기 샘플 gDNA 추출 결과

표 2-4. 분석한 딸기 계통 목록

Sample number	selfing generation	Descended parent	Parentage	Country
ST-64	S9	Akihime	Kunowase × Nyoho	Japan
ST-27	S9			
ST-25	S9			
ST-31	S9			
ST-30	S11	Amaou	Fukuoka S6	Japan
ST-24	S11			
ST-59	S11			
ST-89	S12			
ST-60	S10			
ST-61	S9			
ST-63	S9			
ST-29	S10			
ST-28	S10			
ST-43	S10			
ST-23	S10			
ST-69	S10			
ST-65	S10			
ST-88	S11			
ST-81	S10	Benihoppe	Akihime × Sachinoka	Japan
ST-26	S10			
ST-76	S10			
ST-62	S10			
ST-74	S10			
ST-52	S10			
ST-51	S11			
ST-5	S11			
ST-91	S10			
ST-95	S10			
ST-72	S11			
ST-75	S10			
ST-93	S10			
ST-94	S10			
ST-18	S11	Toyonoka	Himiko × Harunoka	Japan
ST-55	S11			
ST-54	S11			
ST-10	S10			
ST-4	S9			
ST-12	S9			
ST-6	S10			
ST-10	S10			
ST-53	S11			
ST-66	S10			
ST-73	S10			
ST-19	S10			
ST-67	S11			
ST-17	S10			
ST-68	S11			

ST-58	S10			
ST-5	S10			
ST-90	S11			
ST-20	S9	Elan	Fern × Rapella	Netherlands
ST-82	S9			
ST-78	S9			
ST-77	S10			
ST-96	S10			
ST-56	S10			
ST-80	S10			
ST-79	S10			
ST-21	S10			
ST-36	S10			
ST-34	S10			
ST-39	S10			
ST-35	S10			
ST-37	S10			
ST-71	S10			
ST-41	S10			
ST-84	S10			
ST-48	S9	Karan		
ST-32	S10			
ST-3	S9			
ST-14	S9	Chandler	douglas x c55	USA
ST-42	S9			
ST-44	S11	Johong	Nyoho × Akihime	Korea, South
ST-40	S11			
ST-45	S11			
ST-38	S11			
ST-49	S11			
ST-11	S11			
ST-47	S11			
ST-9	S11			
ST-1	S9			
ST-11	S9			
ST-8	S11			
ST-16	S10			
ST-46	S11	Sachinoka	Toyonoka × Aiberry	Japan
ST-50	S11			
ST-33	S11			
ST-86	S11			
ST-22	S11			
ST-2	S11			
ST-15	S10			
ST-7	S10			
	S9			

Inbred plant	Parent	Plant picture	Fruiting aspect	Cross section of fruit	Longitudinal section of fruit	The picture of ripened fruit
ST64	Akihime			N/A		
ST24				N/A		
ST23	Amaou	N/A		N/A		N/A
ST60			N/A	N/A		
ST61				N/A		
ST63						
ST69			N/A	N/A		N/A
ST65				N/A		
ST26						
ST10	Benihoppe					
ST52			N/A			
ST94						

ST91				N/A		
ST72						
ST-94						
ST18		N/A		N/A	N/A	
ST9	Toyonoka					
ST66						
ST68						
ST34	Elan					
ST36						
ST41						
ST-1	Johong			N/A		
ST47				N/A		
ST-84	Karan			N/A		N/A


















ST32						
ST2	Sachin oka			N/A		
ST46				N/A	N/A	
ST22				N/A	N/A	
ST86				N/A	N/A	N/A
ST7						
ST33		N/A				
ST14	Chandler					

그림 2-14. 분석한 89개 딸기 계통 사진

▶ 2차년도 : 89개 딸기 자식계통에 대해 GBS 분석 진행

표 2-5. 분석한 89개 딸기 계통 특성 조사표

Parent	Inbred samples	Number of plants	Number of fruits	fruit s per plant	Total weight(g)	Average weight(g/plant)	Firmness(mm ² /g)	Sweetness(brix, %)
Akihime	ST-64	10	122	93.90	939.00	7.7	26.16	7.83
	ST-27	10	211	140.60	1406.00	6.66	22.08	4.67
	ST-25	10	79	75.60	756.00	9.57	29.13	8.47
	ST-31	10	93	78.80	788.00	8.47	25.1	8.4
	ST-30	6	40	58.67	352.00	8.8	27.18	10.53
	ST-24	10	72	27.60	276.00	3.83	24.8	11.97
	ST-59	10	113	45.70	457.00	4.04	29.04	7.3
	ST-89	10	141	118.30	1183.00	8.39	31.17	9.32
Average		9.50	108.88	79.90	769.63	7.18	26.83	8.56
Amaou	ST-60	10	70	55.90	559.00	7.99	27.18	8.63
	ST-61	10	85	118.30	1183.00	13.92	33.97	9.47
	ST-63	20	172	82.70	1654.00	9.62	29.38	8.23
	ST-28	10	76	56.80	568.00	7.47	28.33	10.96
	ST-29	10	86	77.50	775.00	9.01	27.69	8.63
	ST-43	10	70	53.30	533.00	7.61	27.64	8.83
	ST-23	10	120	111.20	1112.00	9.27	28.22	9.04
	ST-69	8	91	86.50	692.00	7.6	26.5	8.68
	ST-65	8	90	91.25	730.00	8.11	30.57	7.67
	ST-88	1	24	207.00	207.00	8.63	23.78	9.07
	ST-81	6	48	81.00	486.00	10.13	34.23	9.53
Average		9.36	84.73	92.86	772.64	9.03	28.86	8.98
Benihoppe	ST-26	10	175	115.10	1151.00	6.58	19.11	6.3
	ST-76	9	117	109.33	984.00	8.41	23.95	9.48
	ST-62	10	153	130.40	1304.00	8.52	18.85	8.43
	ST-74	10	72	50.40	504.00	7	21.06	6.57
	ST-52	8	84	98.13	785.00	9.35	34.27	10.73
	ST-51	10	125	77.50	775.00	6.2	32.27	10.08
	ST-5	10	124	94.80	948.00	7.65	31.97	10.56
	ST-91	10	145	98.10	981.00	6.77	22.93	9.62
	ST-95	10	139	130.50	1305.00	9.39	27.01	9.1
	ST-72	10	95	141.70	1417.00	14.92	20.72	10.9
	ST-75	10	71	89.50	895.00	12.61	22.93	8.98
ST-93	9	54	59.44	535.00	9.91	27.01	7.4	

	ST-94	9	126	87.33	786.00	6.24	33.12	9.18
	ST-18	10	83	51.40	514.00	6.19	30.74	6.8
	ST-55	10	64	29.00	290.00	4.53	32.87	14.45
	ST-54	10	185	132.1 0	1321.00	7.14	33.21	8.37
	ST-10	10	9	7.40	74.00	8.22	27.01	9.5
	ST-4	10	27	23.30	233.00	8.63	24.46	11.45
	ST-12	10	133	88.60	886.00	6.66	32.61	10.28
	ST-6	10	156	86.30	863.00	5.53	33.8	11.01
	Average	9.75	106.85	85.02	827.55	8.02	27.49	9.46
Toyonok a	ST-53	10	68	58.60	586.00	8.62	28.03	8.67
	ST-66	10	79	91.60	916.00	11.59	28.03	10.07
	ST-9	10	23	24.20	242.00	10.52	28.54	9.4
	ST-73	3	28	55.67	167.00	5.96	29.55	14.4
	ST-19	7	161	97.43	682.00	4.24	25.31	10.07
	ST-67	10	149	90.00	900.00	6.04	28.64	9.94
	ST-17	10	267	176.4 0	1764.00	6.61	29.47	8.32
	ST-68	10	158	173.6 0	1736.00	10.99	24.05	9.3
	ST-58	1	9	81.00	81.00	9	-	-
	ST-90	1	0	0.00	0.00	-	-	-
	Average	6.89	102.11	91.59	759.11	7.88	27.58	10.11
Elan	ST-20	2	10	32.00	64.00	6.4	-	-
	ST-82	4	48	102.7 5	411.00	8.56	29.38	7.8
	ST-77	10	104	57.00	570.00	5.48	26.5	14.17
	ST-78	6	74	83.17	499.00	6.74	27.52	8.63
	ST-96	10	111	52.10	521.00	4.69	26.67	11.67
	ST-56	10	65	52.80	528.00	8.12	23.27	10.93
	ST-80	10	141	106.1 0	1061.00	7.52	22.17	10.25
	ST-79	10	85	19.60	196.00	2.31	21.4	10.4
	ST-21	10	104	84.10	841.00	8.09	25.48	10.27
	ST-36	10	66	93.10	931.00	14.11	28.87	9.27
	ST-34	10	96	78.60	786.00	8.19	32.27	7.6
	ST-39	10	119	84.90	849.00	7.13	30.74	8.9
	ST-35	10	116	83.00	830.00	7.16	22.42	8.93
	ST-37	10	132	52.10	521.00	3.95	33.46	16.07
	ST-71	10	136	48.40	484.00	3.56	47.9	13.75
ST-41	10	181	113.4 0	1134.00	6.27	26.33	8.7	
ST-90	1	0	0.00	0.00	-	-	-	
	Average	8.94	96.94	69.74	626.53	6.79	28.5	10.72
Karan	ST-48	10	66	29.20	292.00	4.42	26.33	7.4
	ST-32	10	18	12.30	123.00	6.83	-	-

	ST-84	10	60	42.50	425.00	7.08	31.69	14.23
	Average	13.33	131.33	51.42	890.00	6.18	24.97	7.2
Chandler	ST-14	20	241	102.1 0	2042.00	8.47	25.31	5.93
	ST-3	20	310	112.7 5	2255.00	7.27	23.61	7
	Average	15.00	177.50	110.3 0	1613.50	9.43	26.48	7.4
Johong	ST-1	10	87	57.90	579.00	6.66	-	-
	ST-8	10	54	41.80	418.00	7.74	35.16	17.8
	ST-11	10	33	15.40	154.00	4.67	36.52	14.87
	ST-38	10	72	72.00	720.00	10	30.57	9.3
	ST-40	10	75	99.30	993.00	13.24	17.32	8
	ST-42	10	114	118.5 0	1185.00	10.39	27.64	8.88
	ST-49	9	102	121.4 4	1093.00	10.72	27.18	10.53
	ST-44	8	119	109.1 3	873.00	7.34	29.13	10.45
	ST-45	2	35	165.0 0	330.00	9.43	-	-
	ST-47	10	86	76.20	762.00	8.86	26.6	10.38
	Average	8.91	64.55	72.32	571.09	8.55	28.88	11.04
Sachinok a	ST-46	10	116	105.5 0	1055.00	9.09	29.04	11.63
	ST-50	10	-	97.40	974.00	-	31.25	10.23
	ST-33	10	-	106.7 0	1067.00	-	23.78	9.3
	ST-86	10	143	117.1 0	1171.00	8.19	28.37	9.85
	ST-22	10	169	47.20	472.00	2.79	32.1	12.73
	ST-2	9	61	75.33	678.00	11.11	26.5	10.27
	ST-16	9	24	13.11	118.00	4.92	-	8.6
	ST-15	10	98	62.50	625.00	6.38	27.9	12.73
	ST-7	10	127	181.0 0	1810.00	14.25	31.93	11.05
	Average	9.88	119.00	99.09	981.50	8.64	28.86	10.97

○ GBS를 통해 평균 87,435,765 read가 확보되었으며 <http://strawberry-garden.kazusa.or.jp/>에서 확보한 *Fragaria x ananassa* (FANhybrid_r1.2) 레퍼런스 정보를 확보하여 SNP 선발에 활용 (표 2-6).

표 2-6. GBS 결과 요약(crude data)

Sample	selfing generation	Sample No.	Read file size
ST-1	S9	KJ7	70,361,673
ST-2	S10	KJ10	68,704,954
ST-3	S9	KJ13	93,330,219
ST-4	S9	KJ2	101,163,324
ST-5	S11	KJ5	106,873,140
ST-6	S10	KJ4	104,681,942
ST-7	S9	KJ12	85,820,953
ST-8	S10	KJ9	90,283,650
ST-9	S9	KJ6	90,609,797
ST-10	S10	KJ1	66,291,124
ST-11	S11	KJ8	99,699,346
ST-12	S9	KJ3	85,070,145
ST-13	S9xS9	Seedberry	89,591,826
ST-14	S9	KJ14	80,668,974
ST-15	S10	KJ11	105,358,580
ST-16	S11	105-4	90,853,659
ST-17	S10	56	54,552,846
ST-18	S11	43	73,918,622
ST-19	S10	54	91,822,208
ST-20	S9	61	76,294,928
ST-21	S10	70	90,196,727
ST-22	S11	105-3	85,681,830
ST-23	S10	15	87,739,429
ST-24	S11	7	94,894,486
ST-25	S9	4	83,146,501
ST-26	S10	25	72,897,311
ST-27	S9	3	64,168,197
ST-28	S10	13	79,061,075
ST-29	S10	12-1	88,000,365
ST-30	S11	6	63,653,173
ST-31	S9	5	94,394,697
ST-32	S9	104	200,678,334
ST-33	S11	105	76,543,802
ST-34	S10	73	63,213,002
ST-35	S10	75	79,607,031
ST-36	S10	71	67,573,381
ST-37	S10	77	63,009,463
ST-38	S11	88	75,571,965
ST-39	S10	74	68,182,543
ST-40	S11	86	75,324,661
ST-41	S10	80	57,774,859
ST-42	S11	81	61,811,856
ST-43	S10	14	56,786,812
ST-44	S11	85	131,228,043
ST-45	S11	87	79,031,580
ST-46	S11	105	67,149,205
ST-47	S11	95	71,934,007
ST-48	S10	100	85,300,934
ST-49	S11	90	60,709,891
ST-50	S11	105	66,172,147
ST-51	S11	32	89,933,021

ST-52	S10	31-1	84,210,386
ST-53	S11	50-3	129,363,866
ST-54	S11	46	81,092,188
ST-55	S11	44	97,235,119
ST-56	S10	67	99,396,390
ST-58	S10	58	82,527,465
ST-59	S11	8	108,666,001
ST-60	S10	10	98,277,944
ST-61	S9	11	73,833,812
ST-62	S10	28	27,799,069
ST-63	S9	12-2	95,830,946
ST-64	S9	2	103,787,499
ST-65	S10	18	95,846,057
ST-66	S10	52-1	71,137,245
ST-67	S11	55	90,130,214
ST-68	S11	57	95,359,229
ST-69	S10	16	94,738,388
ST-70	S11	92	78,212,468
ST-71	S10	78	89,901,794
ST-72	S11	37-3	100,326,581
ST-73	S10	53	109,477,726
ST-74	S10	29	81,055,234
ST-75	S10	38	89,540,178
ST-76	S10	27	102,543,886
ST-77	S10	64	72,243,587
ST-78	S10	63	70,652,119
ST-79	S10	69	98,667,399
ST-80	S10	68	81,614,426
ST-81	S10	21	90,102,759
ST-82	S9	62	71,811,924
ST-84	S9	97	107,798,529
ST-85	S10	26	82,448,241
ST-86	S11	105	78,311,320
ST-87	S10	51	68,315,875
ST-88	S11	20	110,728,256
ST-89	S12	9	75,273,466
ST-90	S9	60	92,996,565
ST-91	S10	34	262,774,008
ST-92	S11	33	111,617,430
ST-93	S10	40	68,641,902
ST-94	S10	41	84,271,037
ST-95	S10	35	78,265,763
ST-96	S10	66	106,971,445

▶ 2차년도 : 89개 딸기 자식계통에 대한 GBS 분석 결과

나. GBS (genotyping by sequencing) 통한 SNP 분자표지 개발

1) SNP 선발 과정

- 2차 필터링한 20,923개 SNP 중에서 딸기 레퍼런스 데이터베이스의 스캐폴드 당 1개씩
 퀄리티가 가장 높고 diallelic인 SNP 2,863개 선발하여(표 2-7) 딸기 유연관계 계통도(그
 림 15)를 그렸으며 (DARwin software (<http://darwin.cirad.fr>) version 6 사용, 표 2-5,

표 2-6), population 분석을 진행하였음 (Structure2.3.4 program, 그림 2-16).

표 2-7. GBS를 통한 SNP 선발 과정

Filtering option	Number of SNPs
Raw SNP	437,058
SNP quality ≥ 30	
Read depth of each SNP ≥ 3	
Genotype quality ≥ 20	67,390
Selected more than 50% of samples	
SNP quality ≥ 30	
Read depth of each SNP ≥ 3	
Genotype quality ≥ 20	20,923
Selected all samples	
The best quality, diallelic SNP exists in each scaffold	2,863

▶ 2차년도 : 89개 딸기 자식계통에 대한 GBS 분석 결과

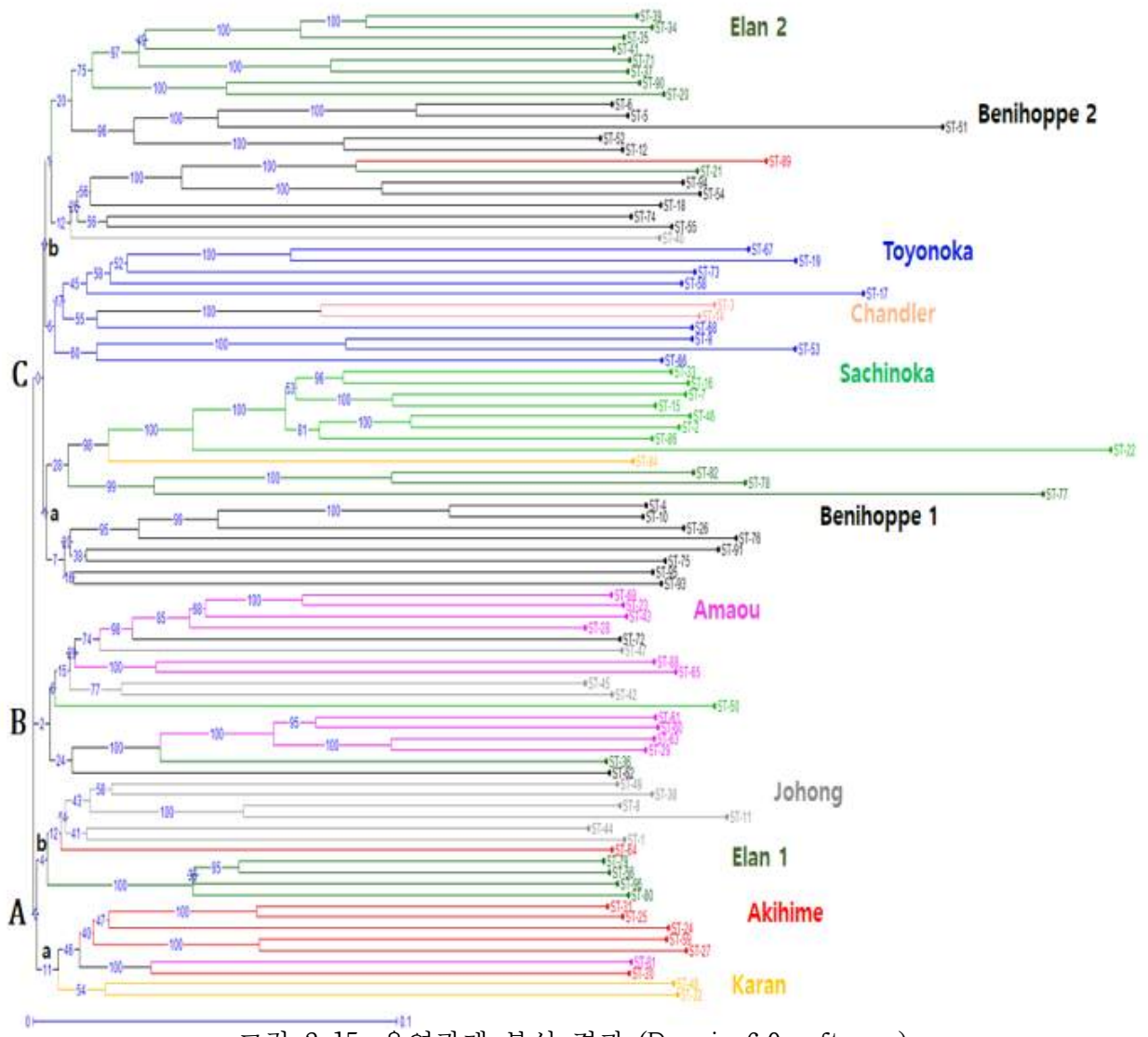


그림 2-15. 유연관계 분석 결과 (Darwin 6.0 software)

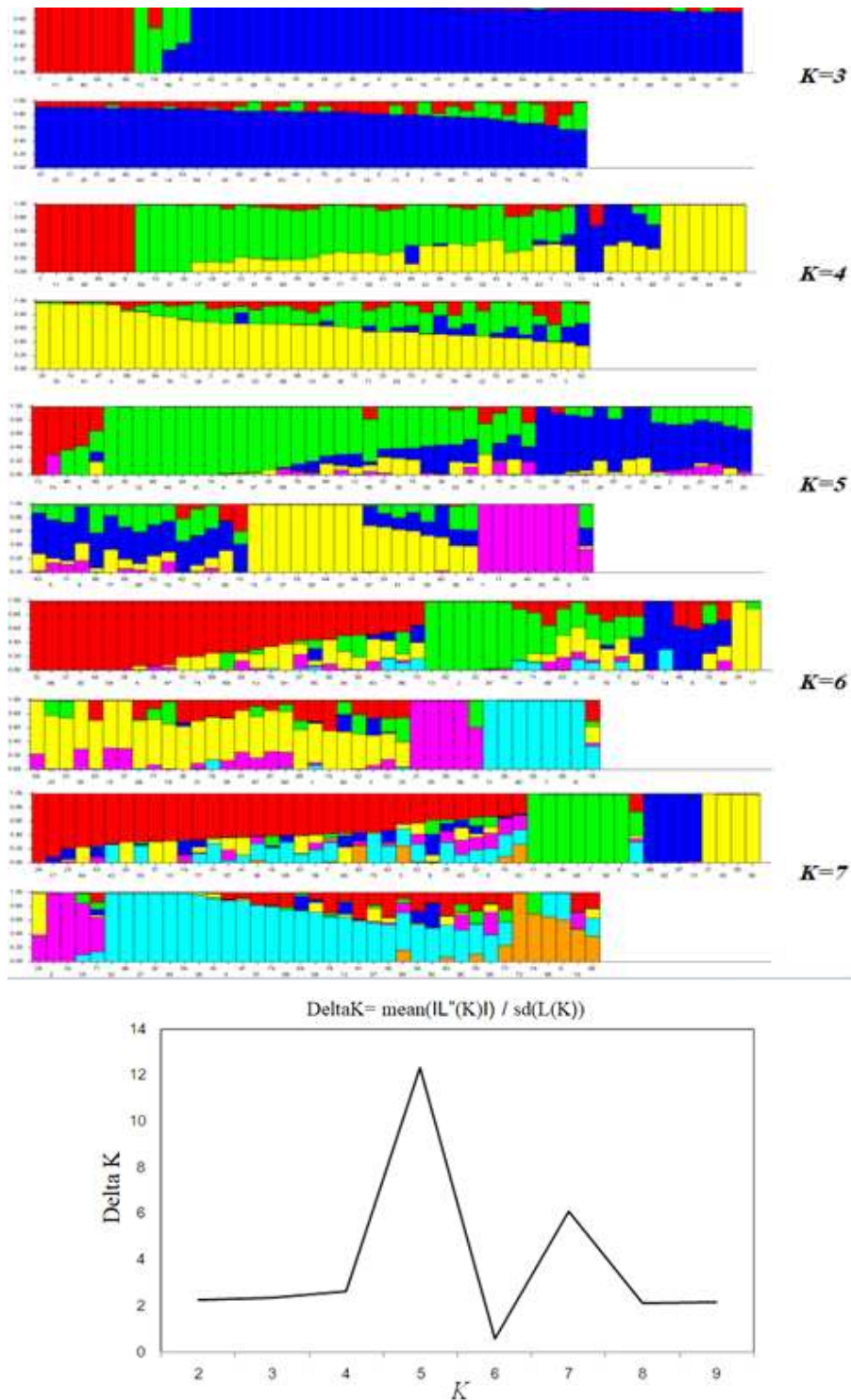


그림 2-16. 딸기 Population 분석 결과 (Structure2.3.4 program ,K=5)

▶ 2차년도 : 89개 딸기 자식계통에 대한 근연관계 및 집단 구조 분석 결과

- Darwin 결과에서는 아키히메, 토요노카, 사치노카, 조홍 유래 계통은 예상대로 그룹을 이룬데 비해 타 품종 유래 계통들은 2-3개의 그룹으로 나뉘는 양상을 보였으며 이는 세대가 진전됨에 따라 복잡한 유전적 배경을 가진 8배체 F1 딸기가 분리가 일어난 것으로 보임.
- Structure 결과에서는 사치노카, 아키히메, 아마오우, 엘란의 그룹을 뚜렷하게 확인할 수 있었으며 베니훗베를 비롯한 나머지 계통들은 하나의 그룹을 이루지 않았다. 가장 적합

한 K값(K=5)은 delta K method를 통하여 계산.

- Darwin에서의 clustering 결과와 비교하면 사치노카와 아키히메는 homozygosity가 높은 자식계통으로 향후 분자유종을 위한 집단 구축에 활용하기 좋을 것으로 판단.

8. 딸기 고정도/저정도 고정계통조합을 이용한 정도 연관 분자표지 개발

가. 변이구간 SNP 분자표지 선발 및 유전집단에 대한 고밀도 유전자지도 작성

1) GBS(genotyping by sequencing) 분석을 통해 확보한 양친 SNP 마커 이용

- 8배체 딸기 자식 고정계통 2개에 대하여 GBS 분석을 진행 (표 2-8)

- T137 집단 (모본: (8-9)#1-F2, 부분: KJ13 13) 147개체
- L80 집단 (모본: (8-10)#1-F2, 부분: KJ12 12) 150개체

○ GBS(genotyping by sequencing) 분석 방법

- Nagano et al. (2017)이 고안한 8배체 딸기의 genotyping 방법을 활용하여 SNP 연관 마커 지도를 제작하는 데 유의미한 SNP를 선발.
- Reference genome으로는 2배체 야생종을 이용한 Fvesca_v.2.0 pseudomolecule 혹은 8배체를 이용한 FANhybrid_r1.2를 활용함.
- Data source: Strawberry GARDEN 홈페이지 (<http://sstrawberry-garden.kazusa.or.jp/>)

< T137 분석 결과 >

- GBS 분석을 통해 얻은 reads는 2배체와 8배체 reference genome을 활용해 SNP calling에 사용됨.

표 2-8. T137 F2 집단의 GBS 분석 결과

FANhybrid_r1.2		Fvesca_v.2.0 pseudomolecule	
Filtering option	Number of SNP	Filtering option	Number of SNP
Raw SNP	2,245	Raw SNP	192,649
Number of scaffold bins	1,096	SNP qual >=30	
Average SNPs per bin	2.04	Read depth of each SNP >= 3	1,947
bin qual >=90		Homozygous and polymorphic b/w parents	
Read depth of each SNP >= 3	401	FvbUn	15
Homozygous and polymorphic b/w parents		Fvb1	306
		Fvb2	226
		Fvb3	302
		Fvb4	259
		Fvb5	283
		Fvb6	343
		Fvb7	213

▶ 3차년도 : T137 F2 집단의 GBS 분석 결과표

- 8배체 reference를 이용한 경우, SNP가 subgenome 특이적이어서 연관 그룹을 효과적으로 탐색할 수 있으며 이를 위해 Nagano et al. (2017)이 제시하였듯, [부 : 모 : heterozygous = 1 : 1 : 2]의 분리비를 보이는 SNP를 선발하여 연관 지도 제작에 사용함(그림 2-17).
- 두 reference를 활용해 얻은 두 가지 SNP 세트를 통해 연관 지도 제작을 시도함.
 - Carthagene 및 Joinmap 프로그램 활용

Scaffold	SNP num	T-F1-1	T-F1-2	T-F1-3	T-F1-4	T-F2-1	T-F2-10	T-F2-100	T-F2-101	T-F2-102	T-F2-103	T-F2-104	T-F2-105
FANhyb_rscf00000001.1	5	A	H	-	A	-	-	A	A	-	H	-	H
FANhyb_rscf00000002.1	1	-	-	-	A	A	-	A	A	-	-	A	-
FANhyb_rscf00000003.1	2	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A
FANhyb_rscf00000004.1	1	A	A	-	A	B	-	B	-	B	B	-	-
FANhyb_rscf00000005.1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FANhyb_rscf00000006.1	3	H	H	A	H	A	A	A	A	A	A	A	A
FANhyb_rscf00000007.1	8	H	H	H	H	H	H	H	B	B	H	H	H
FANhyb_rscf00000010.1	4	H	H	H	B	H	H	A	B	H	H	A	H
FANhyb_rscf00000011.1	4	-	B	H	H	A	-	A	A	H	H	A	H
FANhyb_rscf00000012.1	2	H	H	H	H	B	B	B	B	B	B	B	B
FANhyb_rscf00000013.1	1	H	-	H	-	B	-	-	B	B	B	B	B
FANhyb_rscf00000015.1	1	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A
FANhyb_rscf00000016.1	2	A	B	B	B	A	B	A	H	B	H	B	B
FANhyb_rscf00000017.1	6	H	A	-	H	H	H	B	-	H	H	H	H
FANhyb_rscf00000020.1	1	H	H	-	B	-	-	B	B	B	B	-	B
FANhyb_rscf00000021.1	1	B	B	H	B	-	A	A	A	A	A	A	-
FANhyb_rscf00000023.1	1	H	H	H	H	A	A	A	A	A	A	A	A
FANhyb_rscf00000025.1	5	H	H	A	H	H	H	H	H	H	B	H	A
FANhyb_rscf00000027.1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FANhyb_rscf00000028.1	1	H	A	H	A	B	B	-	B	B	B	B	B

그림 2-17. GBS를 통한 SNP 발굴 과정

▶ 3차년도 : 딸기 레퍼런스 기반 SNP 선발 진행

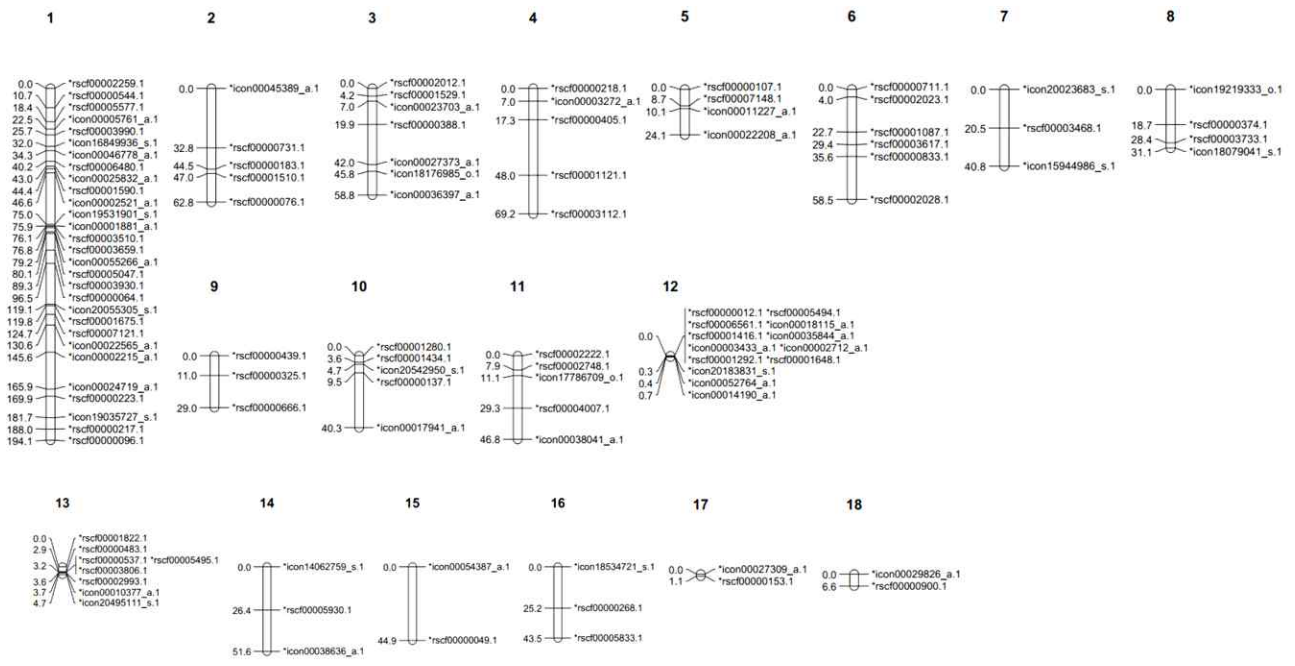


그림 2-18. T137 집단에서 얻은 8배체 reference 기반 SNP 연관 지도 (Joinmap 결과)

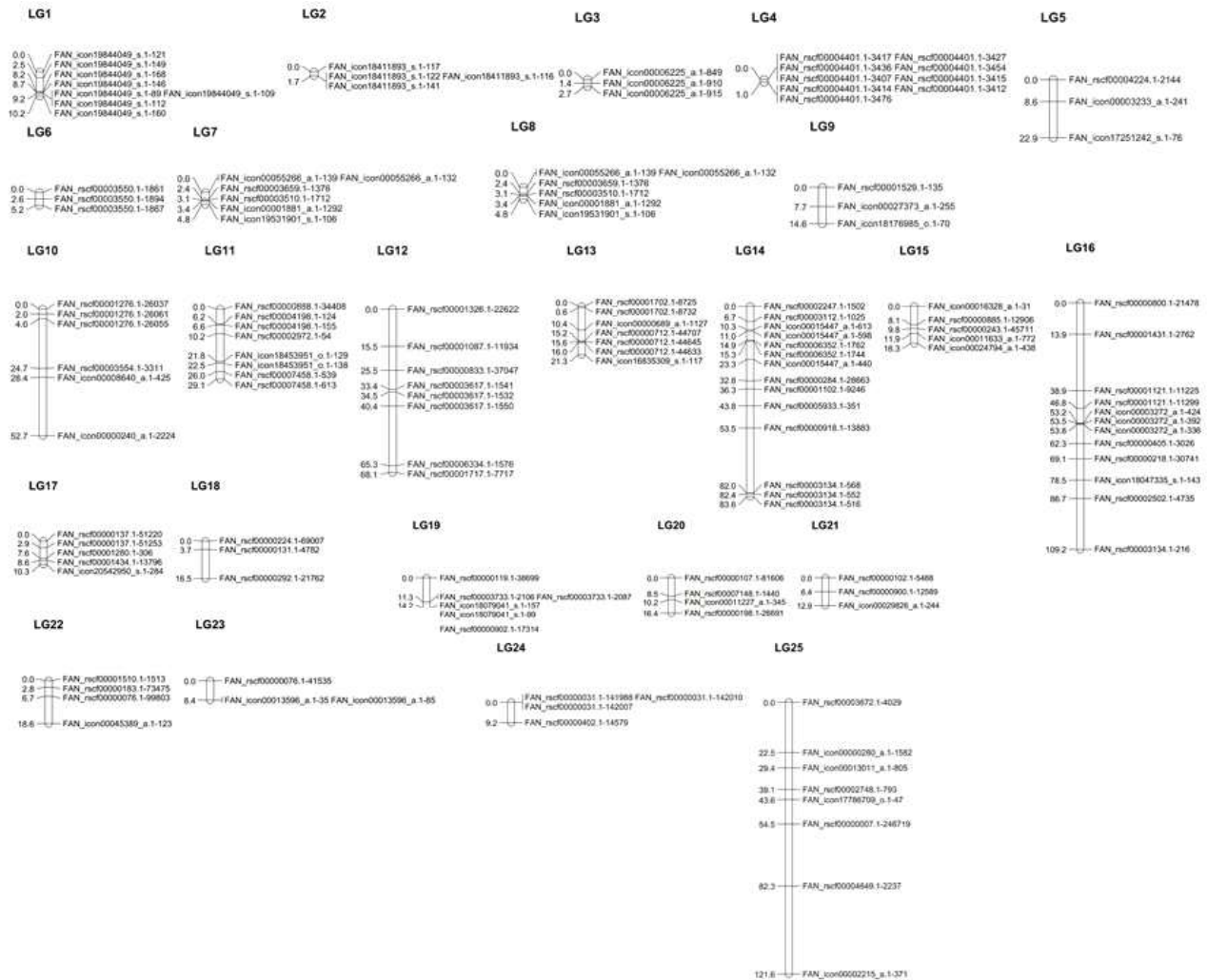


그림 2-19. T137 집단에서 얻은 8배체 reference 기반 SNP 연관 지도 (Carthagene 결과)

▶ 3차년도 : 딸기 F2집단 SNP 연관 지도 제작

- 2배체 reference를 이용한 SNP set는 하나의 염색체에서 여러 개의 연관 그룹으로 나뉘지는 경향이 보여 연관 지도 제작에 적합하지 않은 것으로 판단되었고 8배체 reference를 이용해 얻은 SNP set를 이용함.
- 연관 그룹의 threshold는 LOD score 2, 그룹간 거리 30cM으로 설정함.
- Joinmap의 경우 18개의 연관 그룹을 얻었으며(그림 2-18) Carthagene 분석 결과 25개의 연관 그룹을 얻었음(그림 2-19)

< L180 분석 결과 >

- GBS 분석을 통해 얻은 reads는 2배체와 8배체 reference genome을 활용해 SNP calling에 사용됨(표 2-9).

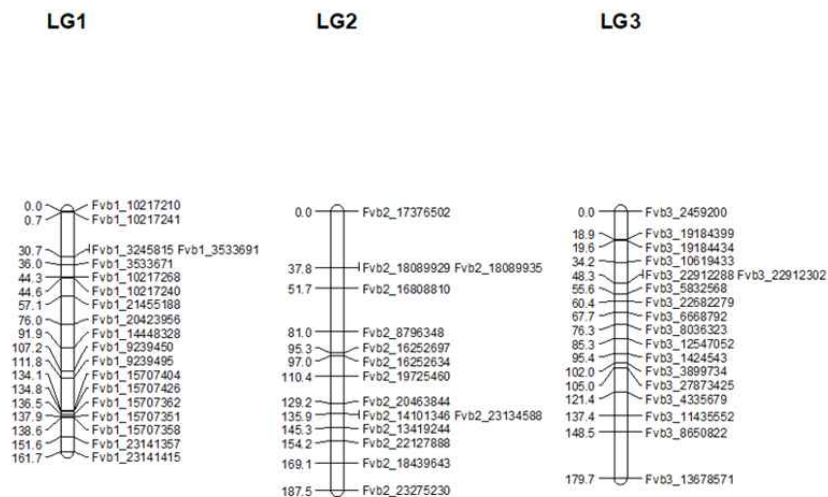
표 2-9. L80 F2 집단의 GBS 분석 결과

FANhybrid_r1.2		Fvesca_v.2.0 pseudomolecule	
Filtering option	Number of SNP	Filtering option	Number of SNP
Raw SNP	748	Raw SNP	165,893
Number of scaffold bins	353	SNP qual ≥ 30	
Average SNPs per bin	2.12	Read depth of each SNP ≥ 3	610
bin qual ≥ 90		Homozygous and polymorphic b/w parents	
Read depth of each SNP ≥ 3	196	FvbUn	10
Homozygous and polymorphic b/w parents		Fvb1	84
		Fvb2	79
		Fvb3	87
		Fvb4	98
		Fvb5	62
		Fvb6	114
		Fvb7	76

▶ 3차년도 : L80 F2 집단의 GBS 분석 결과표

- 8배체 reference를 이용한 경우, [부 : 모 : heterozygous = 1 : 1 : 2] 의 분리비를 적용하여 필터링하면 SNP이 70개로 줄어들어 연관 지도 제작에 적합하지 않다고 판단됨.
- 2배체 reference를 이용한 경우, 부모와 F1에서 다형성이 나타났으나 F2 집단에서 다형성이 발견되지 않은 SNP는 제거하였으며, 총 214개의 SNP를 선발하여 연관 지도 제작에 사용함.
- 연관 그룹의 threshold는 LOD score 2, 그룹간 거리 30cM으로 설정함.
- 결과적으로, 2배체 딸기의 7개 염색체에 대응하는 7개의 연관 그룹을 얻었음(그림 2-19).

- CarthaGene 프로그램 사용하여 결과 도출



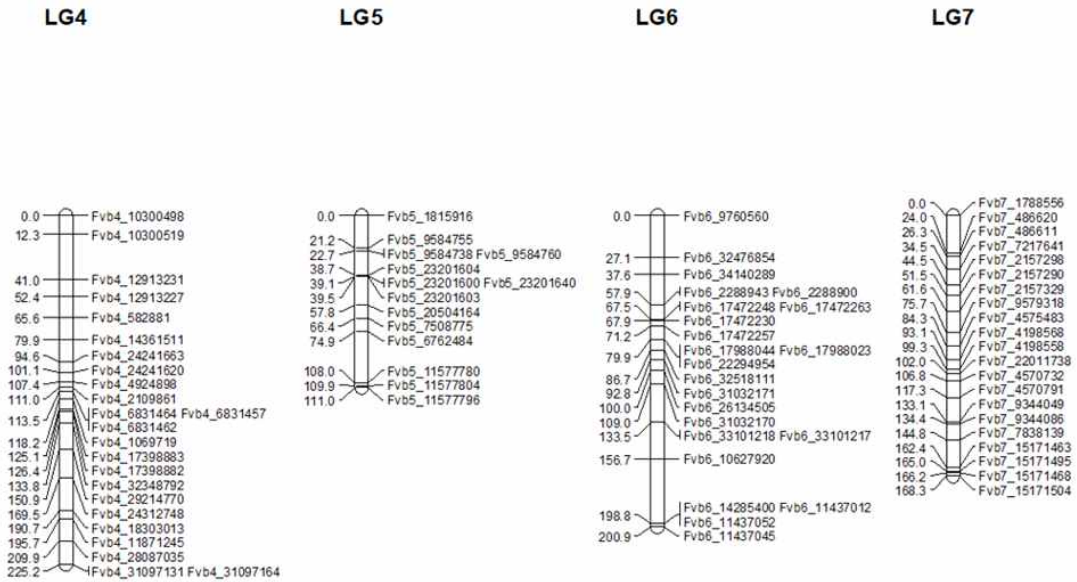


그림 2-19. L80 집단에서 얻은 2배체 reference 기반 SNP 연관 지도

▶ 3차년도 : 딸기 F2집단 SNP 연관 지도 제작

- T137 집단에서는 총 연관 길이 686 cM, L80 집단에서는 총 연관 길이 1,234 cM의 지도를 제작하였음.
- L80 집단은 그동안 활발히 연구되어 왔던 2배체 reference를 이용한 SNP calling과 연관 지도 제작방법을 활용하여 7개의 염색체를 대표하는 7개의 연관 그룹을 얻을 수 있었음(그림 19).

나. 경도 관련 양적 형질 유전자좌 (QTL) 분석으로 연관 분자표지 개발

1) 연관 QTL mapping 위한 표현형 데이터 분석 (그림 2-20, 2-21)

- 경도 표현형 조사 완료 및 결과 분석(T137 : 1~8단계/ L80 : 1~7단계)
- 경도계 : Takemura fruit hardness meter (FHM-1)

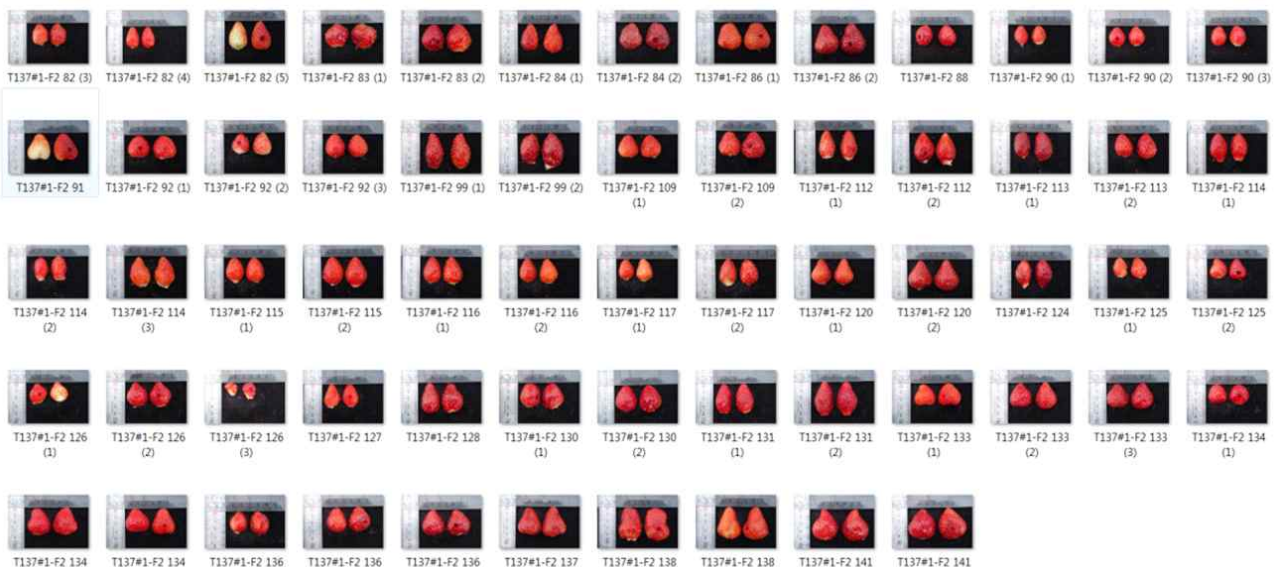


그림 20. T137 F2 집단 경도 특성 조사 과실 목록

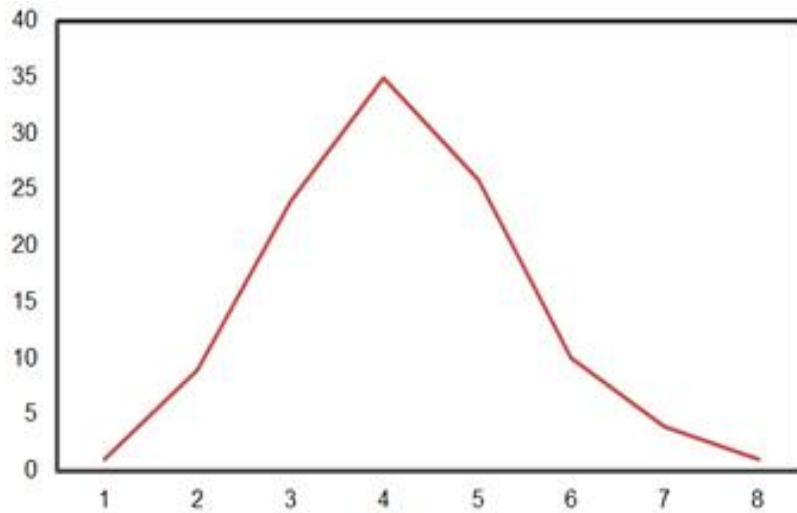


그림 2-21. T137 F2 집단 경도 정규분포 확인

▶ 3차년도 : T137 F2 집단의 경도 양적형질 확인

- T137 집단에서 경도 특성은 정규분포를 보여 예상대로 양적형질로 확인되었으며 QTL 분석을 진행하여 목표 유전자 확인이 필요(그림 2-21)
- 중간값인 경도 4 정도에서 가장 높은 개체수를 보였음
- T137 집단의 경우 1에서 8까지의 경도 범위를 보였음

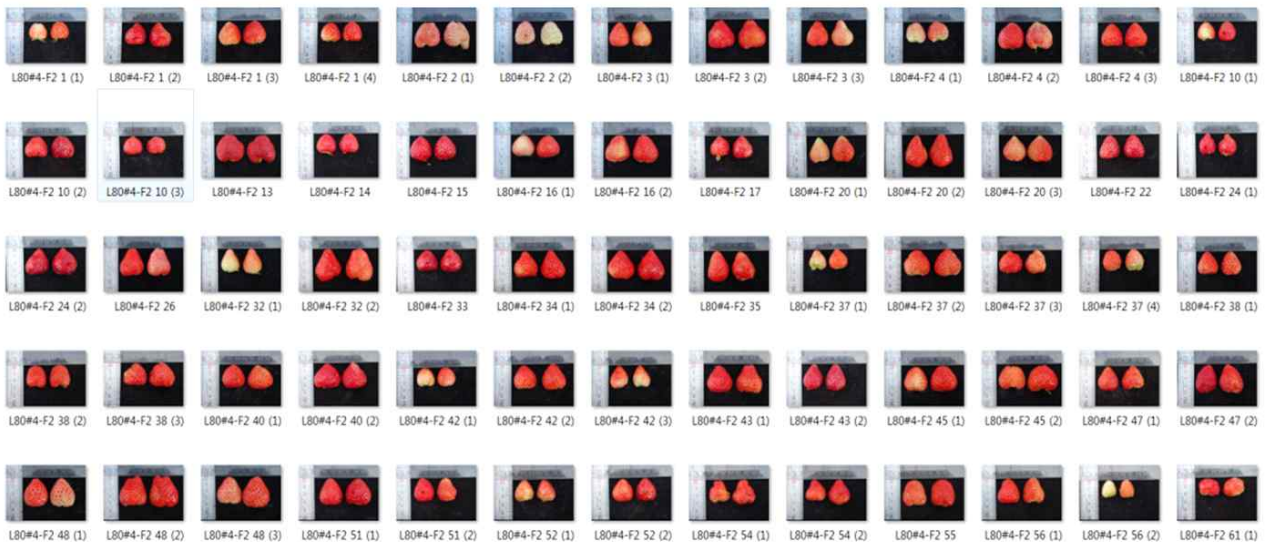


그림 2-22. L80 F2 집단 경도 특성 조사 과실 목록

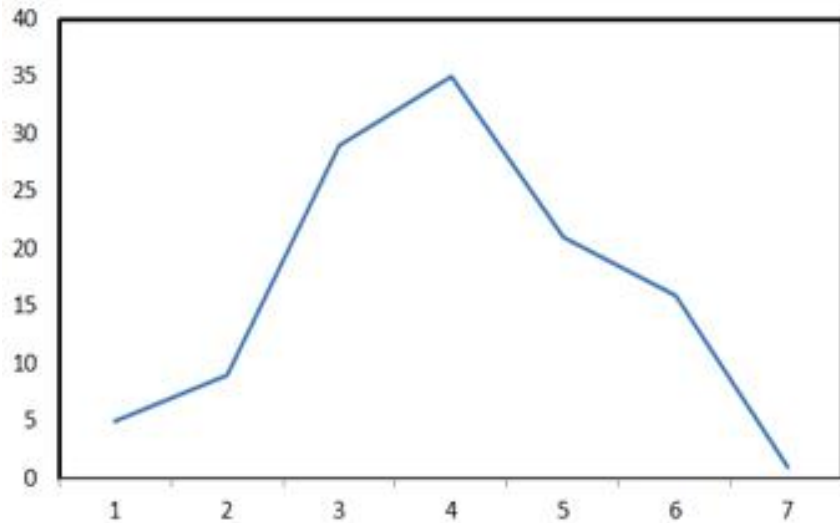


그림 2-23. L80 F2 집단 경도 정규분포 확인

▶ 3차년도 : L80 F2 집단의 경도 양적형질 확인

- L80 집단에서 경도 특성은 정규분포를 보여 예상대로 양적형질로 확인되었으며 QTL 분석을 진행하여 목표 유전자 확인이 필요(그림 2-23)
- 중간값인 경도 4 정도에서 가장 높은 개체수를 보였음
- L80 집단의 경우 1에서 7까지의 경도 범위를 보였음

2) MapQTL 프로그램 활용 QTL 분석

- LOD 값 분석 및 유효한 SNP/Indel 선발
 - 2개의 F2 집단 중 딸기 8배체 reference에 mapping이 된 T137(147개 개체)에 대해 경도 관련 QTL 분석을 진행하였음(그림 2-25)
 - Permutation test 결과 genome wide LOD 값은 5.0였으며 제일 큰 LOD 값은 2.27로 LG5 번에 23,133bp 부근에 위치하였음(그림 2-24)
 - 확인된 가까운 SNP 마커는 icon00022208_a.1 스캐폴드 마커로 확인되었음(그림 2-24)

Nr	Group	Position	Locus	LOD	# Iter.	mu_A	mu_H	mu_B	Variance	% Expl.	Additive	Dominanc	Cofactor
430	5	20.133		1.54	1	4.81011	4.72877	5.94093	0.42772	5.4	-0.56541	-0.64675	
431	5	21.133		1.83	1	4.80255	4.73186	6.25214	0.423188	6.4	-0.72479	-0.79549	
432	5	22.133		2.13	1	4.79488	4.74562	6.59861	0.418752	7.4	-0.90186	-0.95112	
433	5	23.133		2.27	1	4.78773	4.77587	6.85638	0.416597	7.8	-1.03433	-1.04618	
434	5	24.133		2.1	1	4.78239	4.81881	6.85106	0.419083	7.3	-1.03434	-0.99791	
435	5	24.144	*icon00022208_a.1	2.1	1	4.78235	4.8193	6.84923	0.419138	7.3	-1.03344	-0.99649	
436	6	0	*rscf00000711.1	0.51	1	4.98328	4.79109	-9.1684	0.443812	1.8	7.07584	6.88365	
437	6	1		0.51	1	4.98256	4.79783	-13.4608	0.44383	1.8	9.2217	9.03696	
438	6	2		0.49	1	4.97284	4.80705	-21.9899	0.444207	1.7	13.4814	13.3156	
439	6	3		0.45	1	4.9569	4.81917	-48.1458	0.444807	1.6	26.5514	26.4136	
440	6	4		0.41	1	4.93885	4.83414	-3053.66	0.445456	1.5	1529.3	1529.2	
441	6	4.018	*rscf00002023.1		1								

그림 2-24. 딸기 경도 관련 QTL 분석 데이터

Group 5

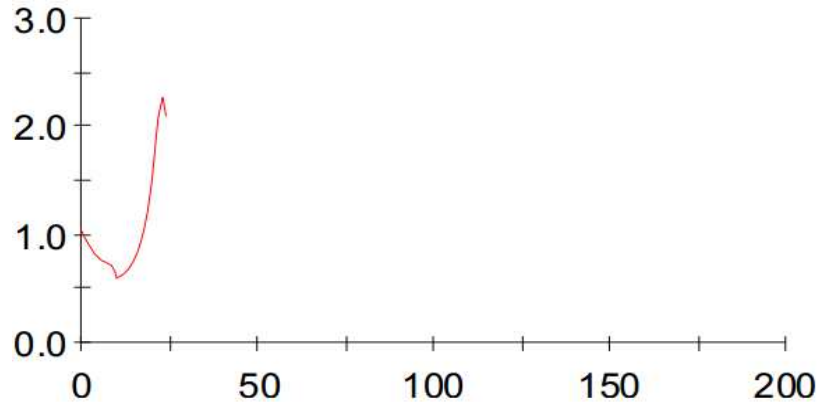


그림 2-25. 딸기 경도 관련 QTL 분석 그래프

▶ 3차년도 : T137 집단에 대한 QTL 분석 진행

9. 딸기 역병 저항성 검정법 확립

가. 딸기 역병 균 분양

딸기 역병(*Phytophthora cactorum*)균주는 충남농업기술원 논산딸기시험장에서 분양받았다(표 3-1). 균주 모두 설향에서 동정하였으며, 이 중 크라운(crown) 부위에서 동정한 ‘PC151111’을 본 실험에 사용하였다. ‘PC151111’을 28℃ incubator에서 증식하였으며(그림 3-1), 다 자란 균주는 계대배양을 통해 대량 증식하였다. 증식된 균주를 현미경으로 검정하여 균사가 뻗어 나온 것을 확인하였으며(그림 3-2). 유주자낭을 형성하기 위해 멸균수에 담가 12시간 조명의 28℃ incubator에서 3-5일 정도 배양하였다.

표 3-1. 분양받은 딸기 역병균주.

분리품종	분리위치	균주명
설향	크라운	PC131006
		PC131008
		PC131203
		PC151111
	관부	PC141004
		PC150301
	꽃대	PC140102

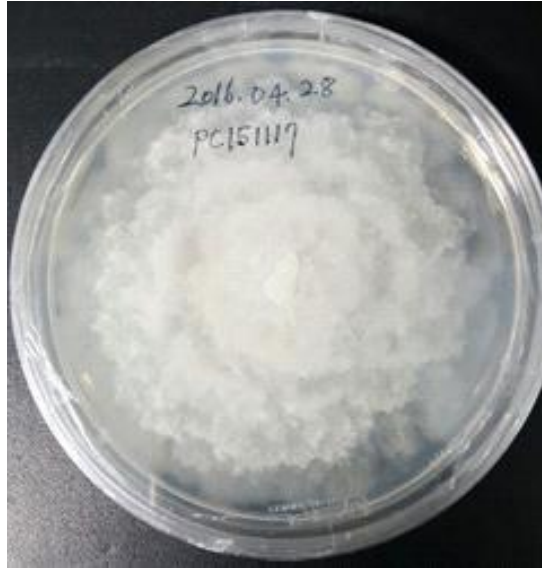


그림 3-1. 딸기 역병 균주(*Phytophthora cactorum*) 'PC151111' 증식.



그림 3-2. 딸기 역병 균주(*Phytophthora cactorum*) 'PC151111' 균사.

3-5일 정도 배양한 후 유주자낭을 수거하여 4°C에 1시간 정도 저온처리를 한 후 유주자(zoospores)를 유출시켰다(그림 3-3). Hemacytometer로 균주의 농도를 측정하였으며, 유주자 현탁액을 2×10^5 zoospores \cdot mL⁻¹로 농도를 맞춰 토양관주접종을 실시하였다(그림 3-4). 접종은 관부(crown)에 상처를 낸 후 유주자 현탁액 10 mL씩 토양관주 하였다. 접종 후 식물생장상에서 온도는 $25 \pm 3^\circ$ C, 습도 $80 \pm 5\%$, 광 조건은 백색형광등 30,000lux, 16h/8h (명/암) 조건 하에 병 발병을 유도하였다.

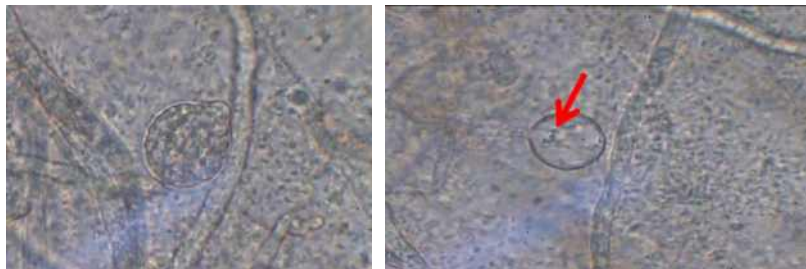


그림 3-3. 딸기 역병 균주(*Phytophthora cactorum*) PC151111 유주자낭 및 유주자.



그림 3-4. 딸기 역병 토양관주접종 과정.

10. 딸기 유전자원의 역병 저항성 검정

가. 104개의 딸기 품종 및 유전자원에 대해 역병 저항성 검정 수행

2015년(No.1-No.52), 2016년(No.52-No.104) 각각 52품종씩 총 104품종을 충남농업기술원 논산딸기시험장에서 분양받았으며, 이를 딸기 역병균 ‘PC151111’ 을 계대 배양하여 접종하였다(표 3-2). 접종 후 전북대학교 농업생명과학대학 유리온실에서 관리하였으며(그림 3-5), 최대 2주에서 3주 동안 식물체 병징을 조사하였다. 병 지수(DI, disease index)는 0-4까지 총 5 단계로 Shaw et al. (2008)의 평가 방법을 이용하여 조사하였다. 접종 후 21일 후 병 지수를 조사하였으며(Fig. 1), 0 =증상없음(no symptoms); 1 =몇 개의 갈색 반점 보임(a few brown speckles); 2 = 작은 괴사 증상 보임(small patches of necrosis); 3 = 50% 이상 갈색으로 괴사됨(more than 50% of the crown with necrosis); 4 = 죽음(dead)로 구분하였다(그림 3-6). 또한 품종 당 병 지수 평균을 계산하여 저항성을 평가하였다. 병 지수(DI)가 DK1일 때를 저항성 (resistant, R), 1≤DK<2일 때 중도저항성(moderately resistant, MR), 2≤DK<3일 때 이병성 (susceptible, S), 3≤DI일 때 높은 이병성(highly susceptible, HS)으로 평가하였다.

표 3-2. 논산딸기시험장으로부터 분양받은 딸기 품종 및 유전자원.

No.	품종명	No.	품종명	No.	품종명	No.	품종명	No.	품종명
1	도치노미네	23	명보	45	페스티벌	67	Missionary	89	레이유
2	아카네코	24	만향	46	플라멩고	68	J&Q's early	90	Northwest
3	아스카웨이브	25	죽향	47	볼레로	69	Bious	91	Redrich
4	구노와세	26	설홍	48	생가생가나	70	성강 19호	92	사계절
5	아키히메	27	수경	49	포톨라	71	슈코	93	Diamante
6	하루노카	28	수홍	50	타마르	72	Camouoreal	94	Elista
7	신여봉	29	짚타	51	옥매	73	고령	95	조홍
8	도요노카	30	베리스타	52	베니훗베	74	Cascade	96	나오아미
9	보교조생	31	설향	53	원옥	75	Linn	97	dabreak
10	여홍	32	금향	54	구르메52호	76	킹스베리	98	원교3111
11	에버베리	33	매향	55	나이가다	77	초동	99	성강 17호
12	점보푸어베리	34	숙향	56	록기하라	78	단미	100	아이히메
13	아마오우	35	관하	57	천학	79	Micmac	101	대학 1호
14	여봉	36	옥향	58	하루요이	80	Favette	102	Comet

15	사치노카	37	레드벨	59	다홍	81	신설매	103	조생홍심
16	아카샤노미즈코	38	대왕	60	아스카	82	신명	104	JusPa
17	레드펠	39	스위트찰리	61	페치카	83	테루노가	-	
18	도치오토메	40	카마로사	62	Ventana	84	금실	-	
19	카오리노	41	몬터레이	63	Aiberry	85	아람	-	
20	아이베리	42	샌안드레아스	64	미홍	86	Jansan	-	
21	토쿤	43	오소그란데	65	Kama	87	길경53호	-	
22	사가호노카	44	알비온	66	Armored	88	점보	-	



그림 3-5. 딸기 역병 접종 후 관리.



그림 3-6. 딸기 역병 발병도 지수(disease index).

본 연구는 딸기 역병균 *P. cactorum*의 저항성 품종 및 유전자원을 확인하기 위해 104개의 딸기 품종 및 유전자원을 이용하여 관부 상처를 통해 유주자 현탁액을 토양관주하여 crown rot 저항성을 평가하였다(표 3-3). 병 지수(DI)는 0.78에서 3.78까지 분포하였고, 일본 품종인 ‘Pechika’가 가장 높은 저항성을, 국내 품종인 ‘King’s berry’가 가장 높은 이병성을 보였다. 저항성 정도로 나누어 보면 저항성(R, $0 \leq DI < 1$)은 2종, 중도저항성(MR, $1 \leq DI < 2$)은 27종, 이병성(S, $2 \leq DI < 3$)은 44종, 높은 이병성(HS, $3 \leq DI \leq 4$)은 33종으로 분포하였다(표 3-3, 그림 3-7).

국내 품종인 ‘다홍(Dahong)’, ‘만향(Manhyang)’, ‘옥향(Okhyang)’ 및 ‘신명(Sinmyeong)’ 4개 품종이 *P. cactorum*에 대해서 중도저항성(MR)을 보인 반면 나머지 22개의 국내 딸기 품종은 이병성(S) 또는 높은 이병성(HS)을 보였다(표 4). 이 중 국내에서 많이 재배되고 있는 ‘설향(Seolhyang)’, ‘매향(Maehyang)’, ‘금향(Geumhyang)’ 품종의 경우에도 이병성(S) 혹은 높은 이병성(HS)으로 나타나 이전 연구와 일치하는 결과를 얻었다(표 3; Nam et al. 2009). 중도저항성(MR) 품종인 ‘다홍(Dahong)’의 경우 모친인 ‘Sachinoka’가 중도저항성(MR), 부친인 ‘매향(Maehyang)’이 이병성(S)이기 때문에 ‘다홍(Dahong)’의 저항성은 일본 품종인 ‘Sachinoka’에서 유래한 것으로 생각된다(표 3-3).

본 연구에서 가장 높은 저항성을 보인 품종은 일본 품종인 ‘Pechika’와 ‘Kaorino’로 병 지수가 각각 0.78과 0.89였다(표 3-3). 그러나 ‘설향(Seolhyang)’의 교배모본으로 잘 알려져 있는 ‘Akihime’와 ‘Red Pearl’의 경우 두 품종 모두 높은 이병성(HS)이기 때문에 ‘설향(Seolhyang)’ 품종 또한 높은 이병성(HS)을 보였다(표 3-3). 따라서 저항성 품종인 ‘Pechika’와 ‘Kaorino’는 딸기 역병 저항성 품종 육성 시 교배 모본/부분으로 사용될 수 있을 것이다. 또한 ‘설향(Seolhyang)’, ‘Akihime’, ‘Red Pearl’과 교배한 후대에서 딸기 역병 저항성 QTL 분석에도 유용하게 사용할 수 있을 것이다.

미국 유전자원 ‘Armora’, ‘Camarosa’, ‘Flamenco’, ‘Sweet Charlie’ 및 ‘Oso Grande’가 중도저항성(MR)이었으며, 그 외의 15종의 품종 및 유전자원은 이병성(S) 또는 높은 이병성(HS)이었다(표 3). ‘Diamante’와 ‘Ventana’의 경우 이전 연구에서 높은 이병성(HS)으로 보고되었으며, 본 실험에서도 같은 결과를 보였다(Browne et al. 2003; Schafleitner et al. 2013).

독일 품종인 ‘Senga Sengana’는 기존 연구(Eikemo et al. 2000; Schafleitner et al. 2013)에서 저항성(R)으로 보고되었으나, 본 연구에서는 높은 이병성(HS)이었다. 이는 *Phytophthora* spp.의 경우 다른 병원균에 비해 race 분류가 쉽지 않아 분류가 세세하게 되어있지 않으며, 같은 종 내에서도 유전적으로 분리되기 때문인 것으로 생각된다. 그 외 딸기에서 ‘Tamar’, ‘Favette’, ‘Micmac’, ‘Elista’, ‘Bious’, ‘Derunoka’ 및 ‘Gilkyong53’이 중도저항성(MR)으로 나타났다(표 3-3과 3-4).

딸기에서 *P. cactorum* 저항성과 관련된 연구는 이전에도 많이 보고되어 있다(Eikemo et al. 2000, 2003, 2010; Schafleitner et al. 2013; Eikemo & Stensvand 2015; Mangandi et al. 2017). 그러나 이전 연구 대부분은 유럽에서 재배되고 있는 딸기 품종 및 유전자원에 대해 역병 저항성을 평가였으며, 국내 및 일본 품종에 대해서는 아직까지 *P. cactorum*에 의한 역병 저항성 연구가 없었다. 본 실험에서 국내 주요 품종인 ‘설향(Seolhyang)’, ‘매향(Maehyang)’, ‘금향(Geumhyang)’과 일본의 주요 품종인 ‘Akihime’ 및 ‘Red Pearl’ 모두 이병성(S) 또는 높은 이병성(HS)을 보였다(표 3-3). 이는 역병 저항성 딸기 품종 개발이 절실히 필요하다는 것을 보여주는 결과이다. 또한 본 실험을 통해서 *P. cactorum*에 대해서 저항성을 가진 육종 소재(일본 품종인 ‘Pechika’와 ‘Kaorino’)를 선발할 수 있었다. 이러한 역병 저항성 자원은 딸기 역병 저항성 유전 분석, QTL 분석 및 마커 개

발 시 중요한 재료로 활용될 수 있고, 더 나아가 딸기 역병 저항성 품종 개발에 활용될 수 있을 것으로 생각된다(Lee et al. 2018).

표 3-3. 딸기 역병 저항성 검정 결과.

No.	Name	Origin	Parentage	Status	Resistance test to crown rot	
					Disease index	Resistance ^z
1	Chodong	Korea	Harunoka x Yachio	Cultivar	3.33 abcde ^y	HS
2	Daehak1	Korea	Unknown	Cultivar	2.44 efghijk	S
3	Daewang	Korea	Maehyang x Wonkyo3111	Cultivar	2.56 efghijk	S
4	Dahong	Korea	Sachinoka x Maehyang	Cultivar	1.44 nopqrs	MR
5	Danmi	Korea	Maehyang x Amaou	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
6	Geumhyang	Korea	Akihime x Tochiotome	Cultivar	3.44 abcd	HS
7	Gumsil	Korea	Maehyang x Sulhyang	Cultivar	3.44 abcd	HS
8	Johong	Korea	Nyoho x Akihime	Cultivar	2.67 cdefghi	S
9	Maehyang	Korea	Tochinomine x Akihime	Cultivar	2.89 abcdefg	S
10	Manhyang	Korea	Nyoho x Akanekko	Cultivar	1.67 lmnopqr	MR
11	Mihong	Korea	Toyonoka x Maehyang	Cultivar	2.22 ghijklm	S
12	Okmae	Korea	Toyonoka x Reiko	Cultivar	3.44 abcd	HS
13	Seolhyang	Korea	Akihime x Redpearl	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
14	Shinsulmae	Korea	Seolhyang x Gumhyang	Cultivar	2.78 cdefghi	S
15	Ssanta	Korea	Maehyang x Seolhyang	Cultivar	2.67 cdefghi	S
16	Suhong	Korea	Hokowase x Harunoka	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
17	Sukhyang	Korea	Seolhyang x Maehyang	Cultivar	3.33 abcde	HS
18	Sulhong	Korea	Suhong x Toyonoka	Cultivar	3.22 abcdef	HS
19	Wonkyo3111	Korea	Open pollinated of Benihoppe	Line	2.89 abcdefg	S
20	Gwanha	Korea	-	-	2.89 abcdefg	S
21	Joseonghongsim	Korea	-	Cultivar	2.89 abcdefg	S
22	Jukhyang	Korea	-	-	3.56 abc	HS
23	King's Berry	Korea	-	-	3.78 a	HS
24	Okhyang	Korea	-	-	1.67 lmnopqr	MR
25	Sinmyeong	Korea	-	-	1.56 mnopqrs	MR
26	Sukyeng	Korea	-	-	3.11 abcdefg	HS
27	Aiberry	Japan	Unknown	Cultivar	1.33 opqrs	MR
28	Akanekko	Japan	Aiberry x Hokowase	Cultivar	2.67 cdefghi	S
29	Akasyanomitsuko	Japan	Nyoho x Kunowase	Cultivar	2.44 efghijk	S
30	Akihime	Japan	Kunowase x Nyoho	Cultivar	3.33 abcde	HS
31	Amaou	Japan	Fukuoka S6	Cultivar	2.11 hijklmno	S
32	Aska	Japan	Unknown	Cultivar	1.78 klmnopq	MR
33	Asuka Wave	Japan	[Uzushio x {(Kurume Sokusei-3 x Hokowase) x (Donner x Hokowase)}] x {-(Kurume Sokusei-3 x Hokowase) x {Donner x (Kobe-1 x Hokowase)}}]	Cultivar	2.11 hijklmno	S
34	Benihoppe	Japan	Akihime x Sachinoka	Cultivar	2.44 efghijk	S
35	Everberry	Japan	Oishi-Sikinary x Haruyoi	Cultivar	1.56 mnopqrs	MR
36	Goryeong	Japan	Takane Haikara x Donner	Cultivar	2.22 ghijklm	S
37	Harunoka	Japan	Kurume103 x Donner	Cultivar	1.89 jklmnopq	MR
38	Haruyoi	Japan	Hokowase x Harunoka	Cultivar	1.67 lmnopqr	MR
39	Jumbo	Japan	Unknown	Cultivar	2.00 hijklmno	S
40	Jumbo Pure Berry	Japan	Unknown	Cultivar	2.33 ghijklm	S
41	Kunowase	Japan	Unknown	Cultivar	3.44 efghijk	HS
42	Kurume52	Japan	Unknown	Line	3.56 abc	HS
43	Myongbo	Japan	Meiho derived	Cultivar	2.44 efghijk	S
44	Pechika	Japan	Unknown	Cultivar	0.78 s	R
45	Red Pearl	Japan	Aiberry x Toyonoka	Cultivar	3.33 abcde	HS
46	Reiyu	Japan	Unknown	Cultivar	1.56 mnopqrs	MR

47	Rockyhara	Japan	Unknown	Cultivar	3.33 abcde	HS
48	Sachinoka	Japan	Toyonoka x Aiberry	Cultivar	1.44 nopqrs	MR
49	Sagahonoka	Japan	Unknown	Cultivar	3.33 abcde	HS
50	Shinyurbong	Japan	Unknown	Cultivar	2.56 efghijk	S
51	Sungkang19	Japan	Morioka19	Line	2.56 efghijk	S
52	Syuko	Japan	Shizutakara x Haruyoi	Cultivar	3.22 abcdef	HS
53	Tochinomine	Japan	(Florida69-266 x Reiko) x Nyoho	Cultivar	3.44 abcd	HS
54	Tochiotome	Japan	Kurume49 x Tochinomine	Cultivar	1.89 jklmnopq	MR
55	Toyonoka	Japan	Himiko x Harunoka	Cultivar	3.67 ab	HS
56	Wonyuk	Japan	Himiko derived	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
57	Bogyojoseong	Japan	-	-	1.56 mnopqrs	MR
58	Iberry	Japan	-	-	1.56 mnopqrs	MR
59	Kaorino	Japan	-	-	0.89 rs	R
60	Yeobong	Japan	-	-	2.00 hijklmno	S
61	Yeohong	Japan	-	-	2.11 hijklmno	S
62	SeongKang17	Japan	-	-	2.56 efghijk	S
63	Tochun	Japan	-	-	1.44 nopqrs	MR
64	Armore	United States	Blakemore x Aroma	Cultivar	1.89 jklmnopq	MR
65	Berry Star	United States	Unknown	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
66	Camarosa	United States	Douglas x Cal 85.218-605	Cultivar	1.78 klmnopq	MR
67	Cascade	United States	Shasta x Northwest	Cultivar	2.78 cdefghi	S
68	Comet	United States	Earlibelle x ARK 5063	Cultivar	2.78 cdefghi	S
69	Diamante	United States	Cal.87112-6 x Cal.145.52	Cultivar	2.78 cdefghi	S
70	Flamenco	United States	Evita x EMR077	Cultivar	1.33 ppqrs	MR
71	Juspa	United States	Unknown	Cultivar	3.22 abcdef	HS
72	Linn	United States	MDUS3184 x ORUS2414	Cultivar	2.11 hijklmno	S
73	Missionary	United States	Unknown	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
74	North West	United States	Unknown	Cultivar	3.11 abcdefg	HS
75	Red Rich	United States	Unknown	Cultivar	2.11 hijklmno	S
76	Sweet Charlie	United States	FL80-456 x Pajaro	Cultivar	1.44 nopqrs	MR
77	Ventana	United States	Cal.93.170-606 x Cal92.35-601	-	2.33 ghijklm	S
78	Festival	United States	-	Cultivar	2.67 cdefghi	S
79	Monterey	United States	-	Cultivar	3.22 abcdef	HS
80	Oso Grande	United States	Parker x Cal77.3-603	Cultivar	1.83 klmnopq	MR
81	Portola	United States	Cal97.93-7 x Cal97.209-1	Cultivar	2.33 ghijklm	S
82	San Andreas	United States	Albion x Cal97.86-1	Cultivar	3.22 abcdef	HS
83	Alibion	United States	-	-	2.11 hijklmno	S
84	Bolero	United Kingdom	LA0988 x Selva	Cultivar	2.22 ghijklm	S
85	Tamar	Israel	Osogrande x Dorit	Cultivar	1.44 nopqrs	MR
86	Senga Sengana	Germany	Markee x Sieger	Cultivar	3.22 abcdef	HS
87	Kama	Russia	Sengasengana x Cavluer	Cultivar	2.33 ghijklm	S
88	Favette	France	(Souvenir des Halles x Regina) x (Pocahontas x Aliso)	Cultivar	1.67 lmnopqr	MR
89	Micmac	Canada	-	Cultivar	1.56 mnopqrs	MR
90	Elista	Poland	-	-	1.22 pqrs	MR
91	Aram	Unknown	-	-	2.56 efghijk	S
92	Bious	Unknown	-	-	1.11 qrs	MR
93	Camouoreal	Unknown	-	-	2.11 hijklmno	S
94	Chonhak	Unknown	-	-	3.67 ab	HS
95	Dabreak	Unknown	-	-	2.67 cdefghi	S
96	Derunoka	Unknown	-	-	1.89 jklmnopq	MR
97	Gilkyong53	Unknown	-	-	1.56 mnopqrs	MR
98	Ihime	Unknown	-	-	3.11 abcdefg	HS
99	J&Q's Early	Unknown	-	-	2.33 ghijklm	S
100	Jansan	Unknown	-	-	2.33 ghijklm	S
101	Naoami	Unknown	-	-	2.22 ghijklm	S

102	Niigada	Unknown	-	-	3.22 abcdef	HS
103	Redbell	Unknown	-	-	3.33 abcde	HS
104	Sakyejeol	Unknown	-	-	2.33 ghijklm	S

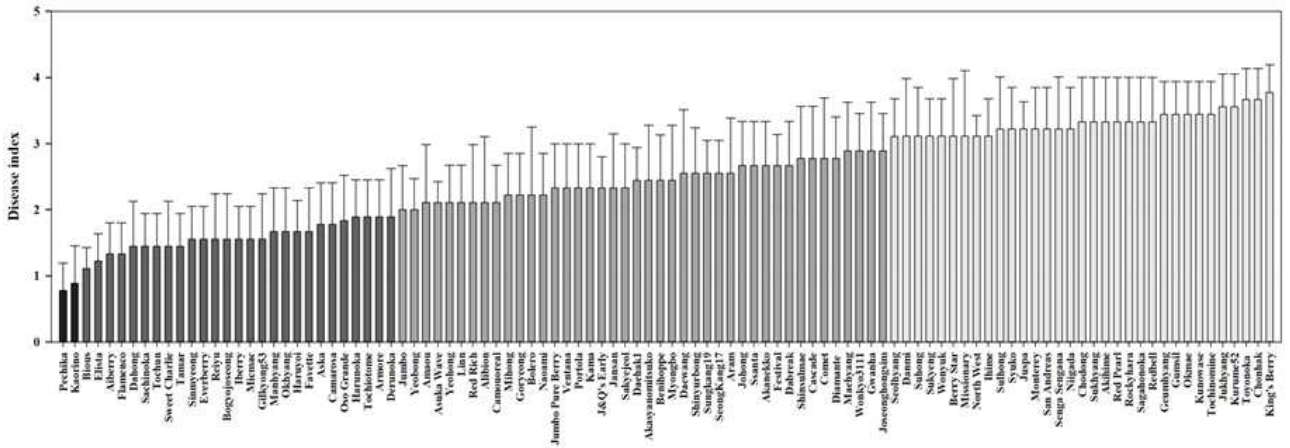


그림 3-7. 104개의 딸기 품종 및 유전자원의 역병 저항성 결과(저항성 순으로 배열).

표 3-4. 딸기 재료에 따른 역병 저항성 검정 결과.

딸기 재료의 구분	딸기 품종 및 유전자원 수				합계
	R ^z	MR	S	HS	
한국 품종 및 유전자원	0	4	10	12	26
일본 품종 및 유전자원	2	11	14	10	37
미국 품종 및 유전자원	0	5	9	6	20
기타 품종 및 유전자원	0	7	9	5	21
합계	2	27	42	33	104

11. HRM 마커 개발을 통한 8배체 딸기 유전자지도 작성

가. 역병 저항성 품종과 이병성 품종 간의 교배를 통하여 F₁ 분리집단 육성

과제 1차년도에 기존 논문에서 보고된 역병 저항성 품종 ‘생가생가나’와 역병 이병성 품종 ‘설향’을 이용하여 딸기 역병 저항성 연관 분자표지 개발용 F₁ 분리집단 육성하였다(그림 3-8).



그림 3-8. 딸기 역병 저항성 연관 분자표지 개발용 F₁ 분리집단 육성.

또한, 딸기 역병 저항성 분석용 분리집단 ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 도 자가수분을 통해 집단을 육성하였으며, 획득한 종자는 98% 황산에 5분 정도 담근 후 증류수로 씻어내 하루 동안 실온에서 shaking incubator에 두어 전처리를 한 후 과종을 실시하였다(표 3-5). 일주일 후 3개의 집단 모두 발아 되었으며, 현재 전북대학교 농업생명과학대학 부설 농장에서 재배하였다(그림 3-9).

표 3-5. 딸기 역병 저항성 분석용 분리집단

집단	종자 수
설향 x 생가생가나	432
설향 x 설향	216
생가생가나 x 생가생가나	144



그림 3-9. ‘설향’ × ‘생가생가나’ F₁ 분리집단.

나. 교배에 사용한 저항성 품종(‘생가생가나’)과 이병성 품종(‘설향’)의 genome ressequencing 분석 결과

대량의 SNP를 탐색하기 위하여 추출된 ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 의 DNA 1 μ g씩을 이용하여 차세대 염기서열 분석(next generation sequencing, NGS)을 수행하였다. 생물정보학회사인 씨더스(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 NGS resequencing 분석과 생물정보 분석을 수행하였다. 딸기 표준유전체 정보는 Strawberry GARDEN 홈페이지(<http://sstrawberry-garden.kazusa.or.jp/>)에 공개된 *Fragaria* × *ananassa* (FANhybrid_r1.2)을 이용하였다(Hirakawa et al. 2014). 딸기 표준유전체의 총 염기서열 길이는 720 Mbp였으며, DNA 단편조각인 387,847개의 scaffold와 238,119개의 contig로 구성되어 있었다(표 3-6). 대량 분석된 염기서열은 전처리, 표준유전체에 정렬, SNP 탐색, non-paralogous SNP 선발, HRM 프라이머 디자인의 과정을 거쳐 분석되었다. 전처리 과정은 solexaQA (v.1.13) package의 DynamicTrim과 LengthSort 프로그램을 사용하여 분석하였고(Cox et al. 2010), 전처리 과정을 통과한 cleaned reads를 BWA (0.6.1-r104) 프로그램을 사용하여 표준유전체에 mapping하였다(Li & Durbin 2009). 그 결과 생성된 BAM format의 파일을 SAMtools (0.1.16) 프로그램을 사용하여 raw SNP를 탐색하였고 동시에 consensus sequence를 추출하였다(Li et al. 2009). 그 다음 ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 의 SNP를 비교 분석하기 위해

SEEDERS in-house script를 이용하여 샘플 간 통합 SNP matrix를 작성하였다(Kim et al. 2014). 마지막으로 다형성 SNP의 flanking sequence (400 bp)를 추출하고, 딸기 표준유전체에 BLASTN (2.2.26+)을 수행하여 서열 비교를 통해 딸기 표준유전체에 한 번만 나타나는 SNP를 선별하였고, target SNP를 증폭할 수 있는 high-resolution melting (HRM) 분석용 프라이머를 디자인하였다.

표 3-6. 딸기 표준유전체 정보.

구분	No.	Total length (bp)	No. of Gene	Gene Length(bp)	CDS length (bp)
scaffolds	387,847	596,044,018	190,170	261,507,157	112,045,095
contigs	238,119	101,721,196	40,668	17,314,080	11,287,389
Total	625,966	697,765,214	230,838	278,821,237	123,332,484

유전자지도 작성용 교배 모본으로 사용된 ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 를 NGS resequencing한 결과, ‘생가생가나’ 는 총 30.7 Gbp의 염기서열을, ‘설향’ 은 총 25.3 Gbp의 염기서열을 획득하였다(표 3-7). 이 염기서열에서 필요없는 부분을 잘라낸(trimming) 결과, ‘생가생가나’ 는 총 21.8 Gbp, ‘설향’ 은 총 19.0 Gbp의 염기서열이 남았다(표 3-8). 이는 딸기 표준유전체의 길이인 720 Mbp의 약 30배(‘생가생가나’) 및 약 26.5배(‘설향’)에 해당하는 것이었다(표 3-8). 가공된 trimmed reads를 이용하여 딸기 표준유전체인 *F. × ananassa* (FANhybrid_r1.2) 염기서열에 mapping한 결과, ‘생가생가나’ 는 총 표준유전체의 약 76%인 530 Mbp를, ‘설향’ 은 약 76.5%인 534 Mbp를 커버하였다(표 3-9).

표 3-7. Sequencing raw data 통계치

Samples	Sequencing file	No. of Reads	Avg. length	Total length (bp)	Genome coverage*
생가생가나	Seangaseangana_160419_1.fq	151,892,011	101	15,341,093,111	≃ 42.61X
	Seangaseangana_160419_2.fq	151,892,011	101	15,341,093,111	
설향	Sulhyang_160419_1.fq	125,032,323	101	12,628,264,623	≃ 35.08X
	Sulhyang_160419_2.fq	125,032,323	101	12,628,264,623	
Total		553,848,668		55,938,715,468	

*Genome coverage: 각 샘플의 Total read length를 predicted genome size (720Mb)로 나눈 값.

표 3-8. Sequencing trimmed data 최종 통계치.

Samples	No. of Reads	Avg. length	Total length (bp)	Trimmed/Raw*	Genome coverage*
생가생가나	127,728,481	85.69	10,945,045,166	71.34%	≃ 30.34X
	127,728,481	85.35	10,901,657,640	71.06%	
설향	109,947,565	85.67	9,419,340,814	74.59%	≃ 26.50X
	109,947,565	87.87	9,661,451,194	76.51%	
Total	475,352,092		40,927,494,814		

*Genome coverage: 각 샘플의 Total read length를 predicted genome size (720Mb)로 나눈 값.

표 3-9. Cleaned read mapping 결과.

Sample	No. of Total reads	No. of Mapped reads	Mapped region* (percentage %)
생가생가나	255,456,962	193,915,797 (75.91%)	530,090,126 (75.97%)
설향	219,895,130	169,416,290 (77.04%)	533,936,123 (76.52%)

*Mapped region: Reference genome 대비, read mapping되어 cover하는 영역.

다. 대량 SNP 탐색 및 HRM용 프라이머 디자인

분석된 ‘생가생가나’와 ‘설향’의 염기서열을 비교하여 총 421,480개의 SNP를 탐색하였으며 그 중 양친 모두 동형접합형인(homozygous) SNP는 206,019개로 가장 많았다(표 3-10과 3-11). 그러나 본 연구에서는 F₁ 분리집단을 유전자지도 작성용 집단으로 사용하였기 때문에 사용할 수 없는 SNP였으며 이 SNP를 사용하기 위해서는 F₂ 분리집단을 이용하여야 한다(표 3-11). 그 이유는 F₁ 집단 모든 개체에서 이형접합형인(heterozygous) 유전자형만 나타나기 때문이다. 나머지 세 가지 경우(동형 대 이형, 이형 대 동형 및 이형 대 이형)의 SNP는 F₁ 분리집단에서 사용할 수 있다(표 3-11). 동형 대 이형 및 이형 대 동형의 SNP는 각각 53,933개 및 74,367개가 탐색되었고, 이 SNP는 F₁ 분리집단에서 1:1로 분리되기 때문에 pseudo-testcross mapping에 사용될 수 있는 것이다(Grattapaglia & Sederoff 1994). 이형 대 이형의 SNP는 87,161개가 탐색되었고, 이 SNP는 F₁ 분리집단에서 1:2:1로 분리되기 때문에 순계를 이용한 F₂ 분리집단과 같은 분리를 보인다. 따라서 본 연구에서는 이 네 가지 경우의 SNP 중에서 이형 대 이형, 동형 대 이형, 이형 대 동형 SNP를 이용하여 HRM 분자표지를 개발하였다(Lee & Lee 2017).

표 3-10. 생가생가나와 설향의 염기서열을 비교하여 탐색한 SNP 수.

Sample	No. of Total SNP	No. of Homozygous	No. of Heterozygous	No. of Etc.
생가생가나	1,645,331	564,788	488,861	591,682
설향	1,292,074	370,816	412,806	508,452

* No. of Homozygous: Reference genome에 mapping된 샘플의 reads의 90%가 동일한 SNP type을 나타내는 경우.

* No. of Heterozygous: Reference genome에 mapping된 샘플의 reads의 40%~60%만 동일한 SNP type을 나타내고, 나머지는 reference genome과 동일한 type을 나타내는 경우.

* No. of Etc.: homozygous/heterozygous 유형으로 구분할 수 없는 경우.

표 3-11. 탐색된 SNP의 유전자 위치에 따른 분류.

생가생가나 vs. 설향	No. of polymorphic SNP	No. of non-paralogous SNP	intergenic	genic	CDS	Intron	Exon
homo. vs. hetero.	53,933	2,896	1,578	1,318	540	513	266
hetero. vs. homo.	74,367	4,220	2,348	1,872	790	723	362
hetero. vs. hetero.	87,161	5,604	2,198	3,406	1,876	1,105	425
Total	215,461	12,720	6,124	6,596	3,206	2,341	1,053

탐색된 총 87,161개의 이형 대 이형 SNP 중에서 non-paralogous SNP의 수는 5,604개였다(표 3-12). 본 연구에서 사용한 딸기는 8배체이기 때문에 paralog들이 다수 존재해서 분자표지 개발하는데 원하지 않는 paralog 부분이 PCR될 수 있기 때문에 이러한 경우를 없애기 위해 non-paralogous SNP만을 선별하였다(표 3-12). 그 중 HRM용 프라이머를 디자인할 수 있는 SNP는 총 4,460개였고, 실제로 총 1,154개의 HRM 분석용 프라이머를 디자인하여 실험에 사용하였다(표 12). HRM 분석용 프라이머를 디자인한 1,154개의 SNP를 유전체의 위치에 따라 분류해 보면, 유전자 사이(intergenic)에 존재하는 것이 443개였고, 유전자 내부(genic)에 존재하는 것이 711개였다(표 3-13, 그림 3-10). 유전자 내부에서도 인트론(intron) 상에 존재하는 것이 181개, 엑손(exon) 상에 존재하는 것이 72였고, 단백질로 번역되지 않는 지역(untranslated region, UTR)에 존재하는 것이 458개였다(표 3-13, 그림 3-10).

표 3-12. SNP를 구분을 위한 HRM 분자표지용 프라이머 디자인 수.

생가생가나 vs. 설향	No. of polymorphic SNP	No. of non-paralogous SNP	No. of HRM candidates	No. of primer	No. of recommend primer*
homo. vs. hetero.	53,933	2,896	2,347	1,205	652
hetero. vs. homo.	74,367	4,220	3,460	1,967	1,338
hetero. vs. hetero.	87,161	5,604	4,460	1,408	1,154
Total	215,461	12,720	10,267	4,580	3,144

* No. of recommend primer: 디자인된 primer-set 중에서 product sequence의 염기서열이 모두 read mapping되어 base의 비교 과정을 통과하고, *in silico* PCR을 수행하여 genome에 한 번 관찰되는 primer 후보로서, 추천하는 primer를 의미함.

표 3-13. 유전자 위치에 따른 HRM 분석용 프라이머(SNP 구분용)의 분류.

생가생가나 vs. 설향	No. of recommend primer	intergenic	genic	CDS	Intron	Exon
homo. vs. hetero.	652	341	311	134	112	65
hetero. vs. homo.	1,338	676	662	298	247	117
hetero. vs. hetero.	1,154	443	711	458	181	72
Total	3,144	1,460	1,684	890	540	254

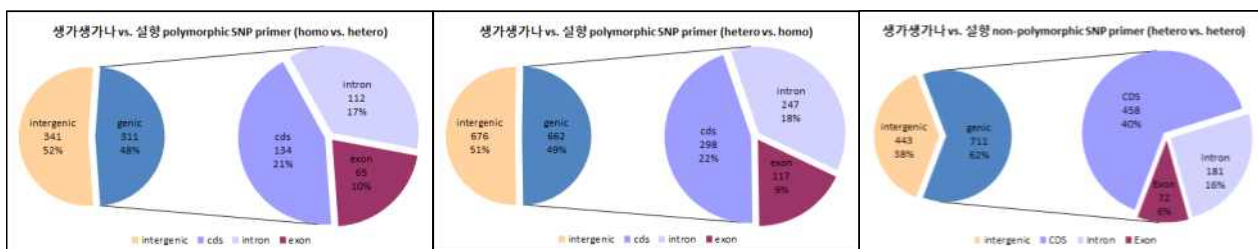


그림 3-10. 유전자 위치에 따른 HRM 분석용 프라이머(SNP 구분용)의 분류.

라. 탐색된 SNP를 기반으로 HRM 분자표지 개발

총 1,857개의 HRM 분석용 프라이머를 디자인하여 SNP 분자표지 개발에 사용하였다(표 14, Wittwer et al. 2003). 양친으로 사용된 ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 그리고 94개의 F₁ 개체를 이용하여 실제로 다형성이 존재하는지 확인하기 위하여 HRM 분석을 수행하였다. 그 결과 1,857개의 프라이머 조합 중 다형성(polymorphic)이 나타난 것은 800개였으며, 나머지 1,057개는 다형성이 없었거나(monomorphic), 두 개 이상의 단편이 증폭되어 melting curve가 복잡해 유전자형을 구분할 수 없었다. 고추(*Capsicum spp.*)의 경우 HRM 분자표지 개발 성공 확률이 80%인 것에 비하여 약간 낮은 성공률(75.7%)을 보였는데(Lee et al. 2013), 단형성(monomorphic)으로 나타난 것은 생물정보 분석에서 거짓양성(false positive)이 선발되기 때문이고, 복잡한 melting curve가 나타난 것은 딸기 표준유전체의 정보가 아직 불완전해 paralog를 완벽하게 제거하지 못하였기 때문인 것으로 생각된다(Hirakawa et al. 2014).

Ge et al. (2013)은 96개의 EST 염기서열로부터 총 116개의 SNP 분자표지를 개발하여 16개의 중국 딸기 재배 품종을 구분하는데 이용하였는데, 본 연구에서는 NGS resequencing을 이용하여 이보다 많은 SNP 분자표지를 개발하였다(표 3-14, 그림 3-11). 최근에 Bassil et al. (2015)과 Sargent et al. (2016)은 90 K Axiom[®] SNP array를 이용하여 각각 6,594개 및 8,407개의 SNP 분자표지를 개발하였다. 하지만 이는 high-throughput whole genome genotyping 분석 방법으로 한 번에 9만개의 SNP를 동시에 분석하는 것이라 본 연구에서 개발한 한 개씩 따로 분석할 수 있는 즉 형질과 연관되어 있다면 육종에 바로 사용할 수 있는 SNP 분자표지와는 다른 것이라 하겠다.

표 3-14. SNP 다형성 및 유전자 지도 작성에 사용한 프라이머

SNP type		추천받은 프라이머	실험에 사용된 프라이머	다형성이 존재하는 프라이머
생가생가나	설향			
Homozygous	Heterozygous	652	652	460
Heterozygous	Homozygous	1,138	180	116
Heterozygous	Heterozygous	1,154	1,025	224
Total		3,144	1,857	800

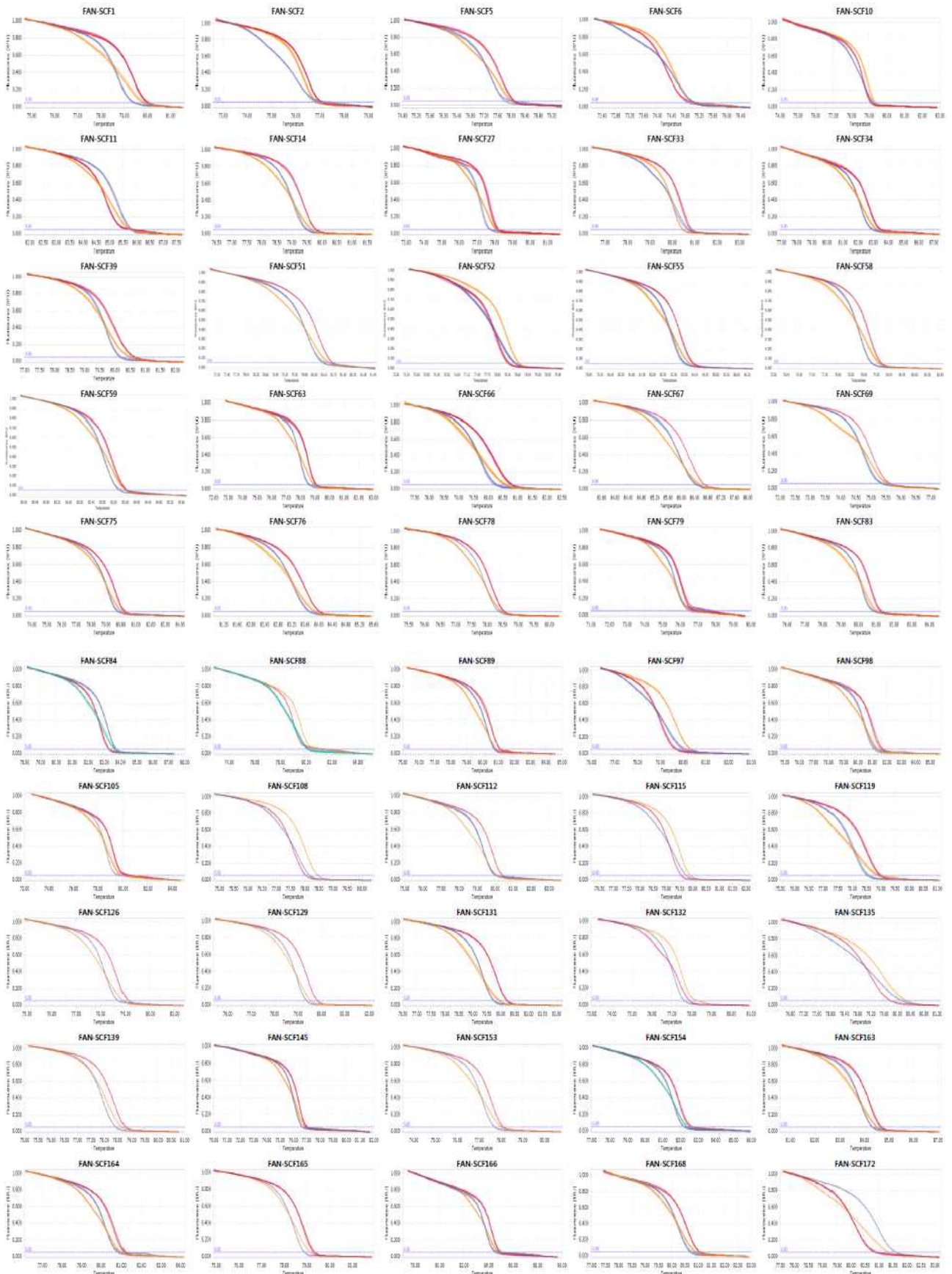


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진.

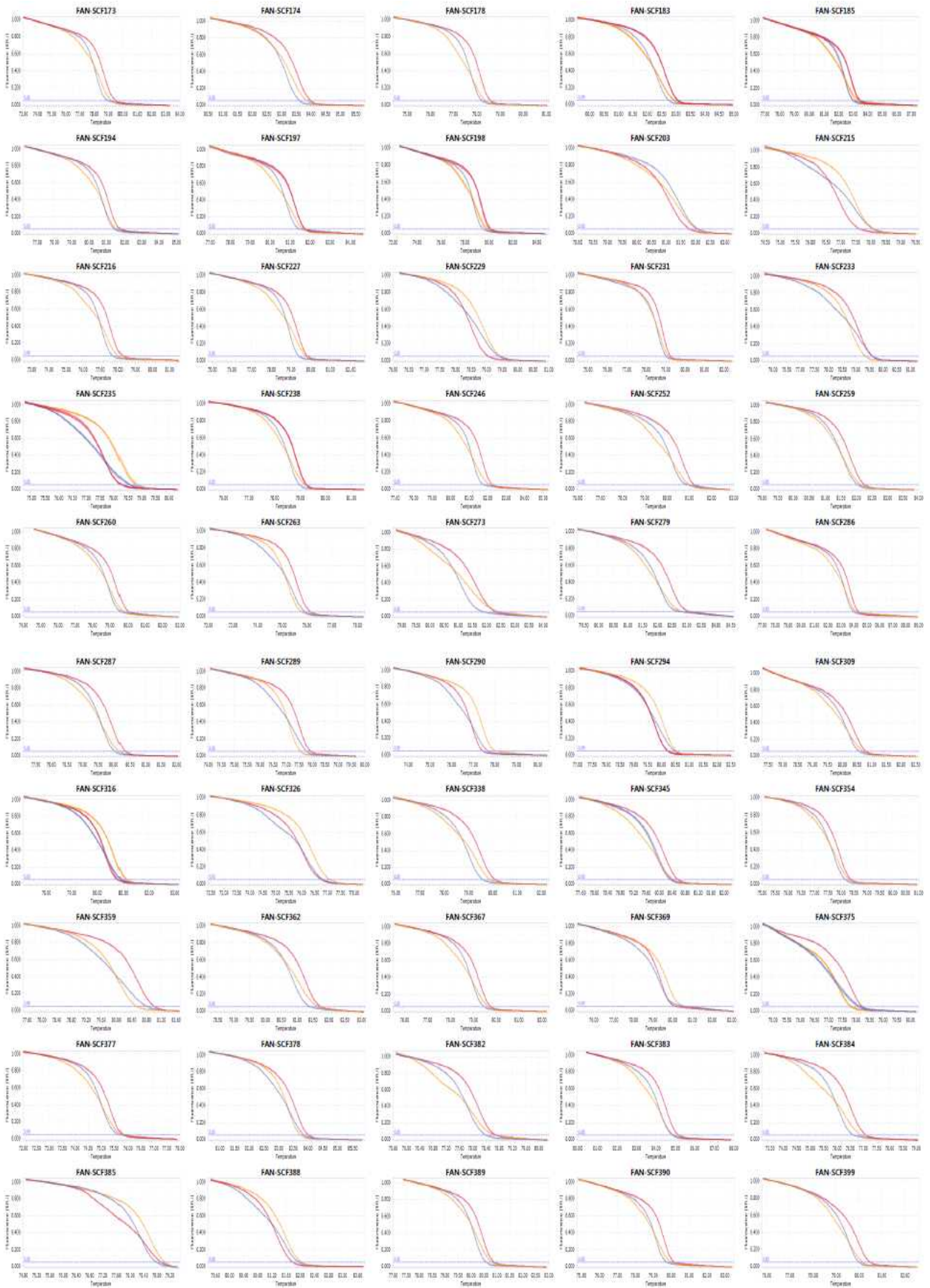


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

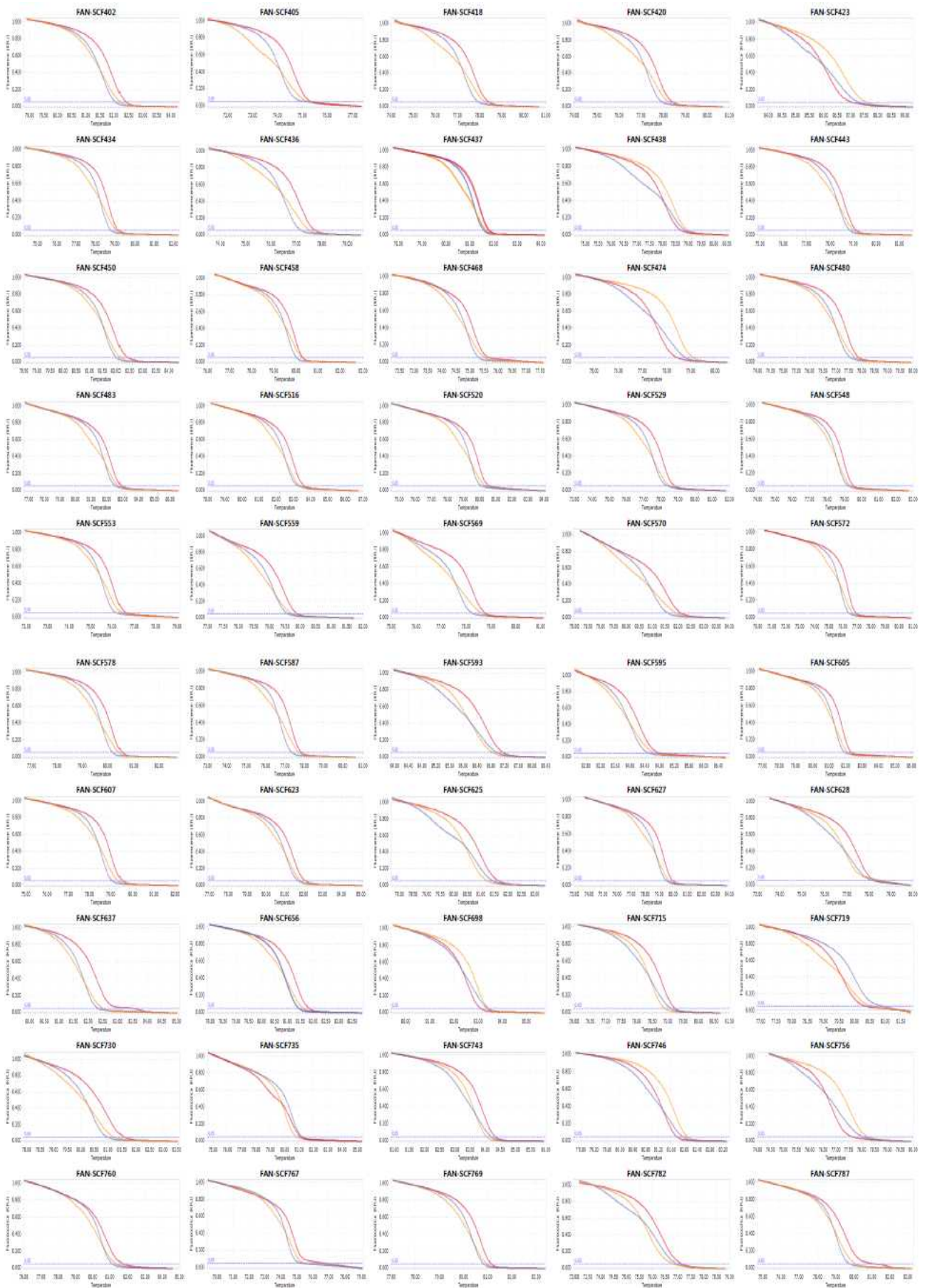


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

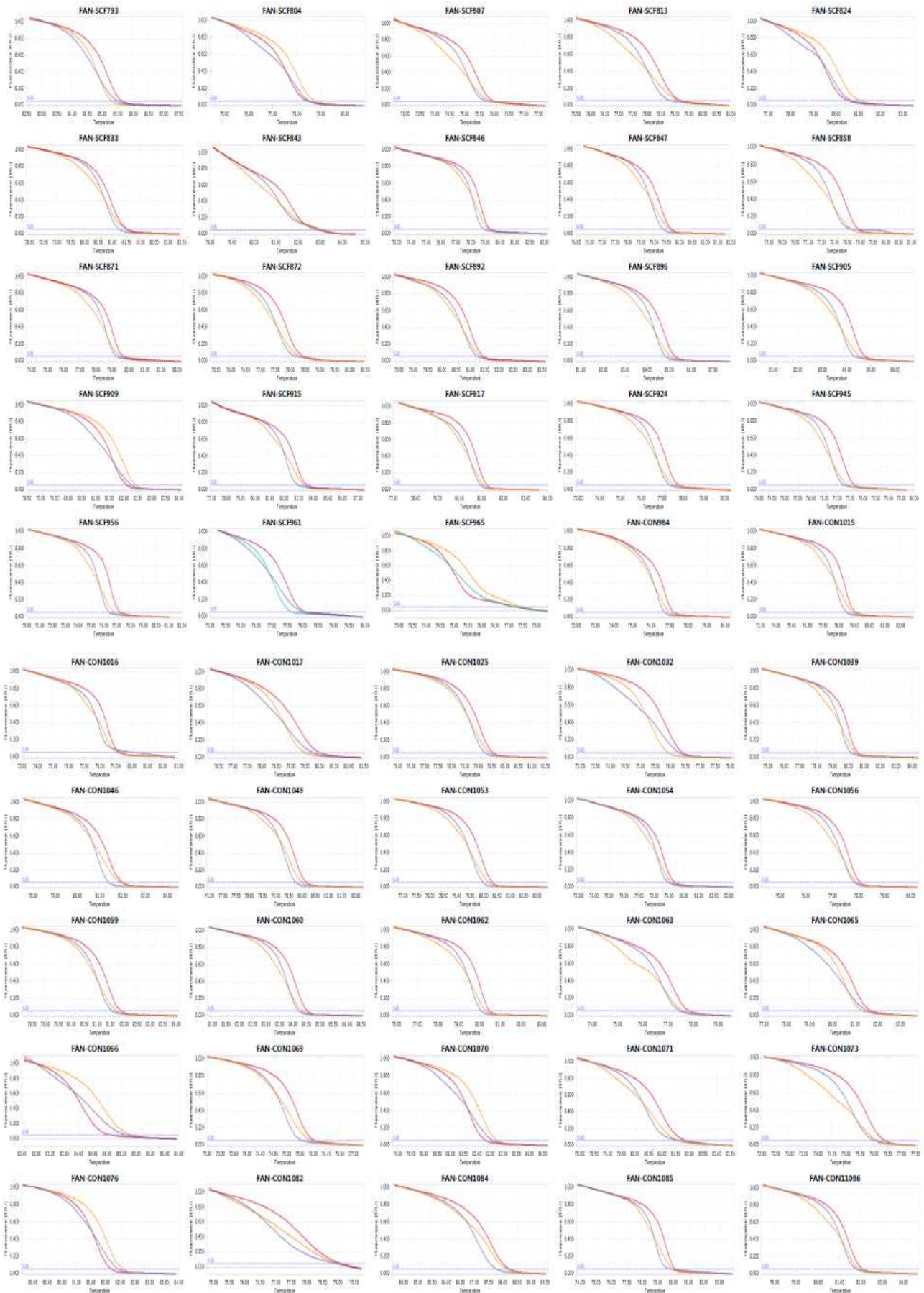


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

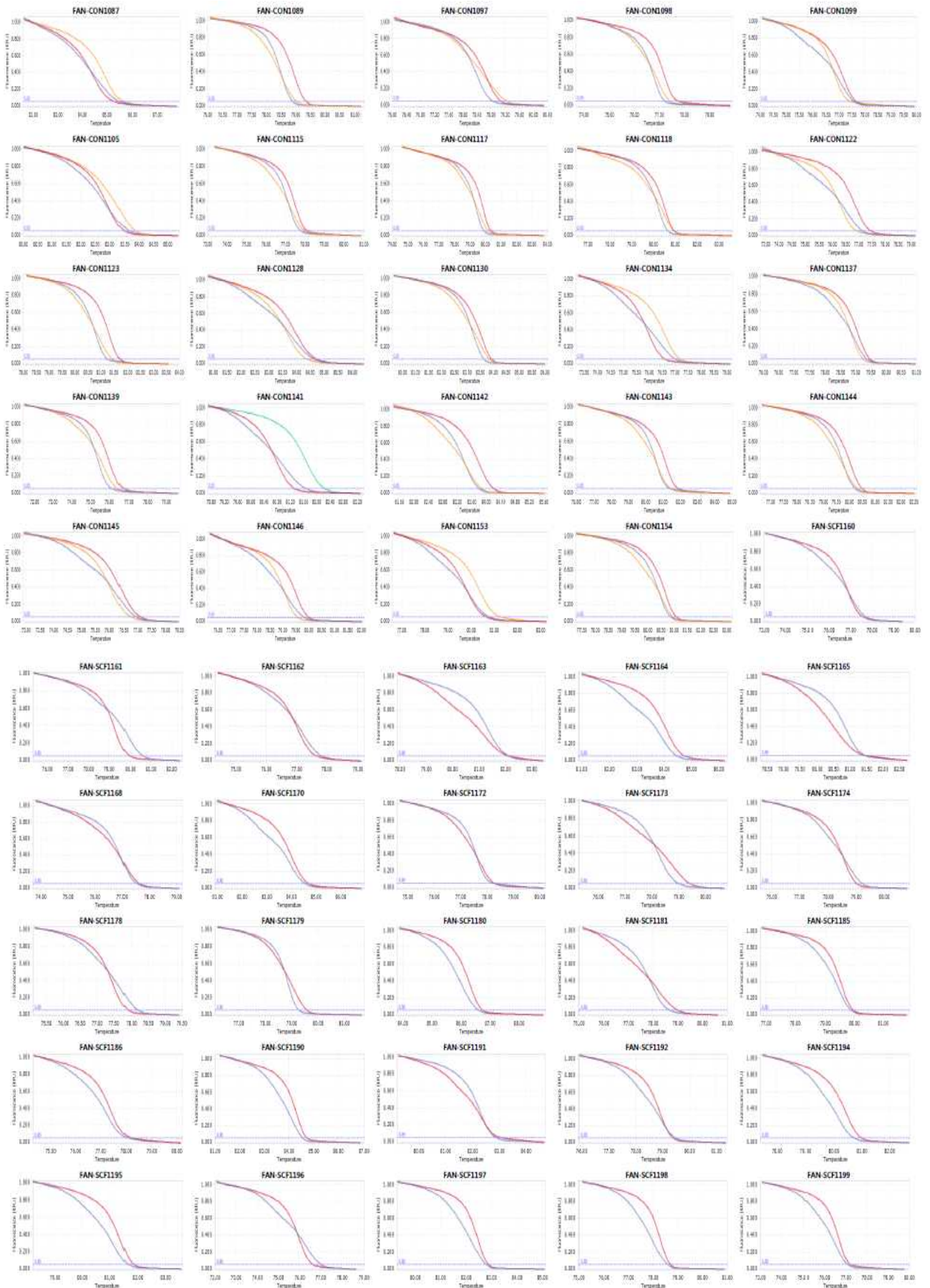


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

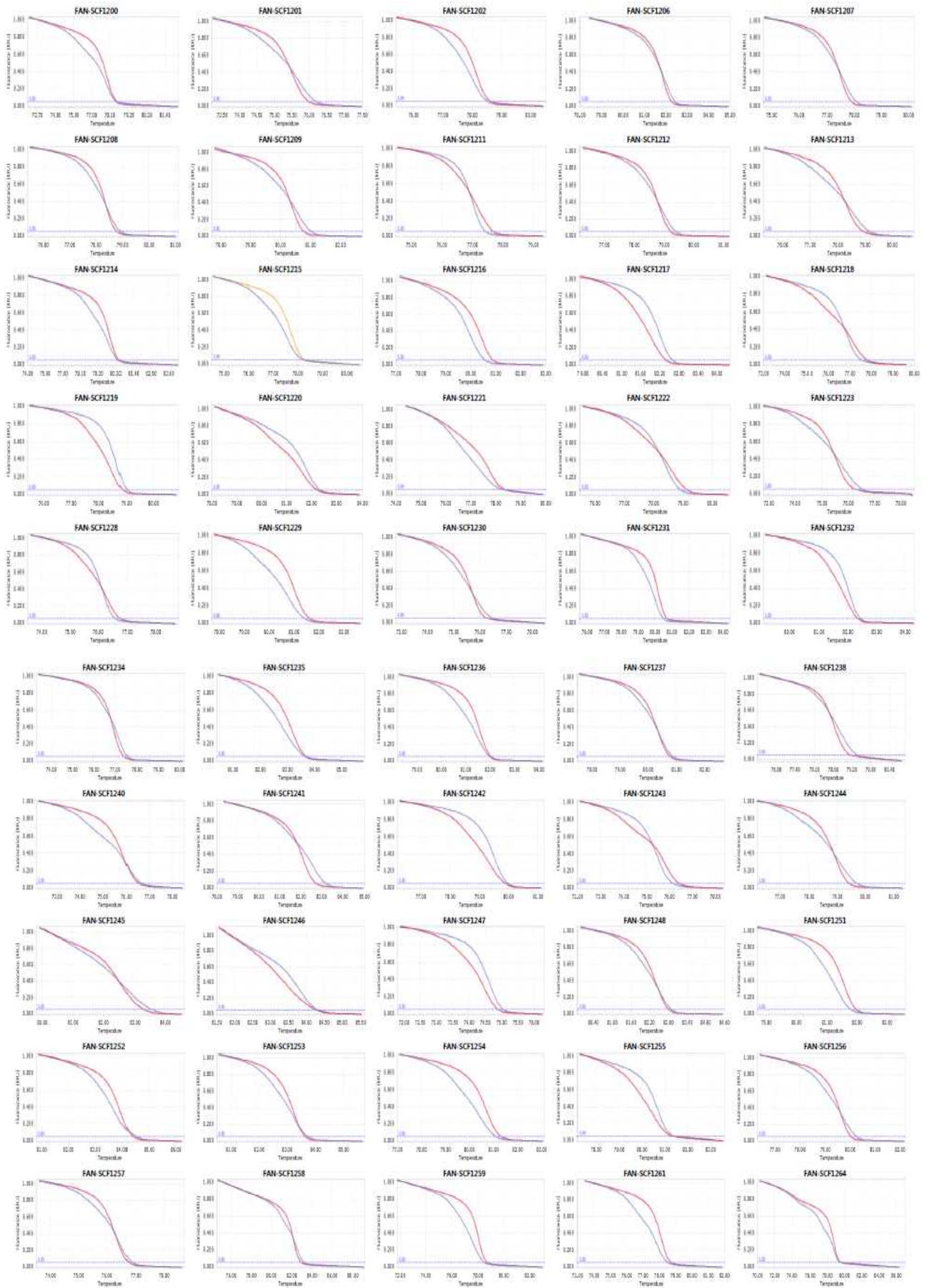


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

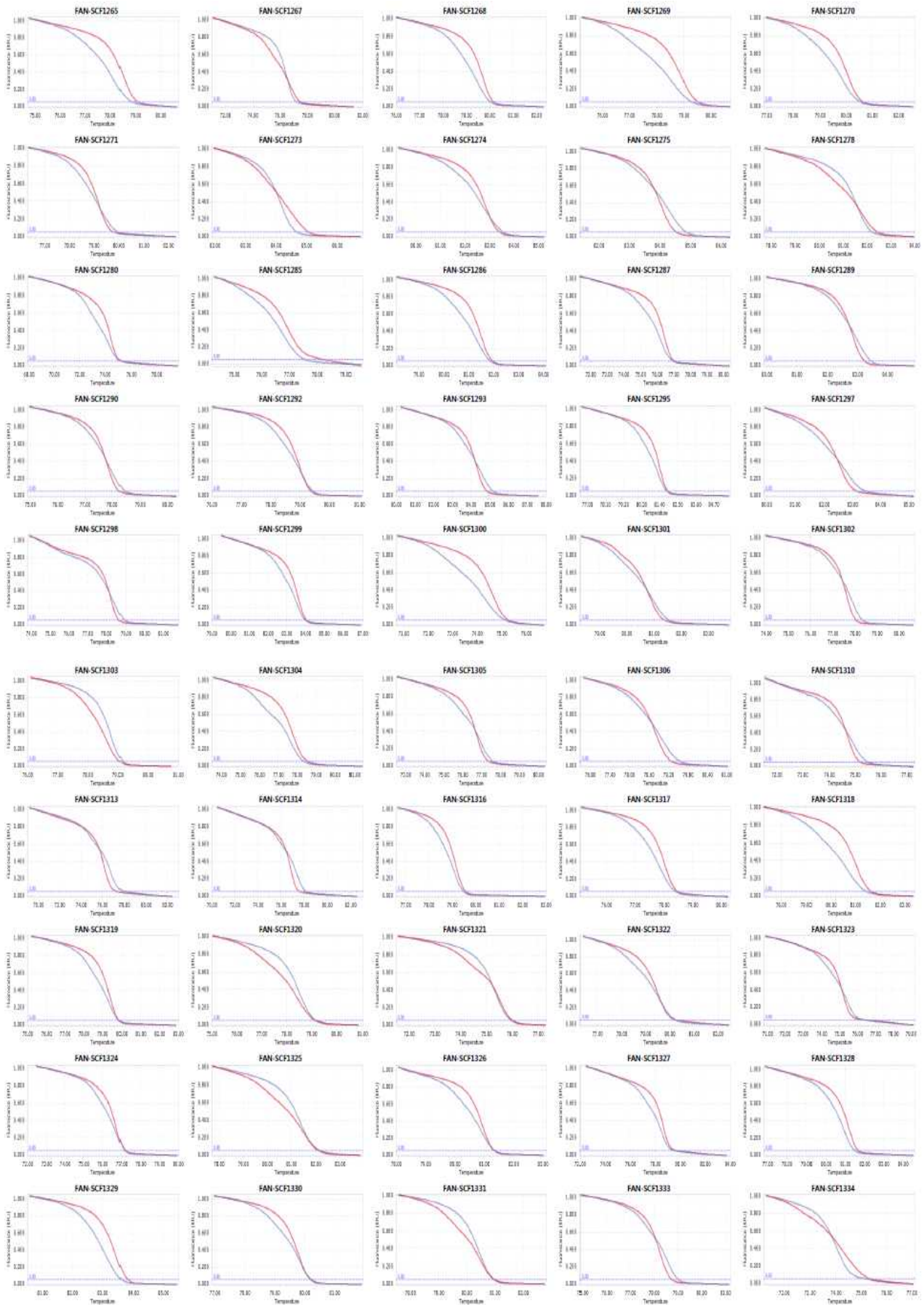


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

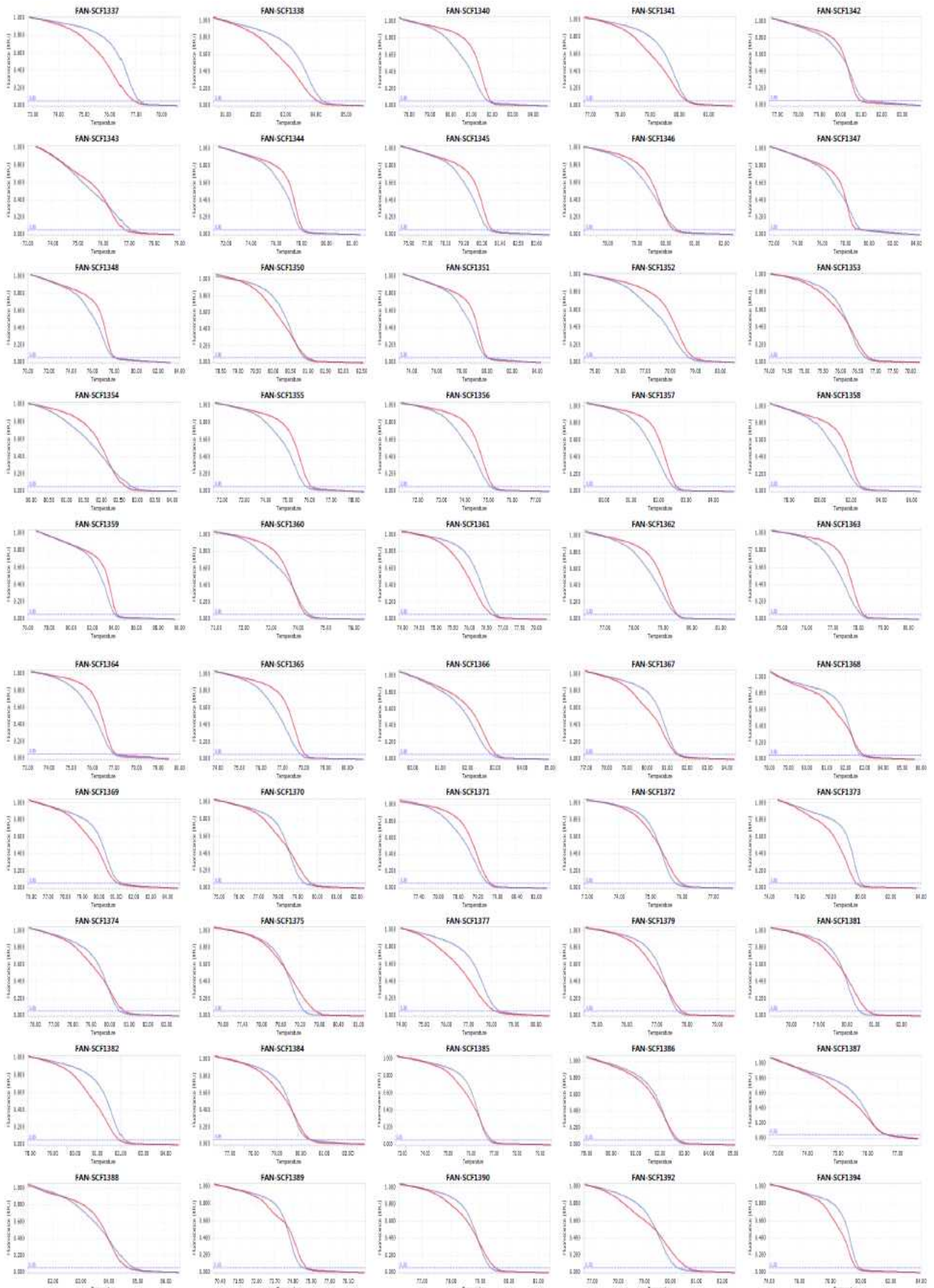


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

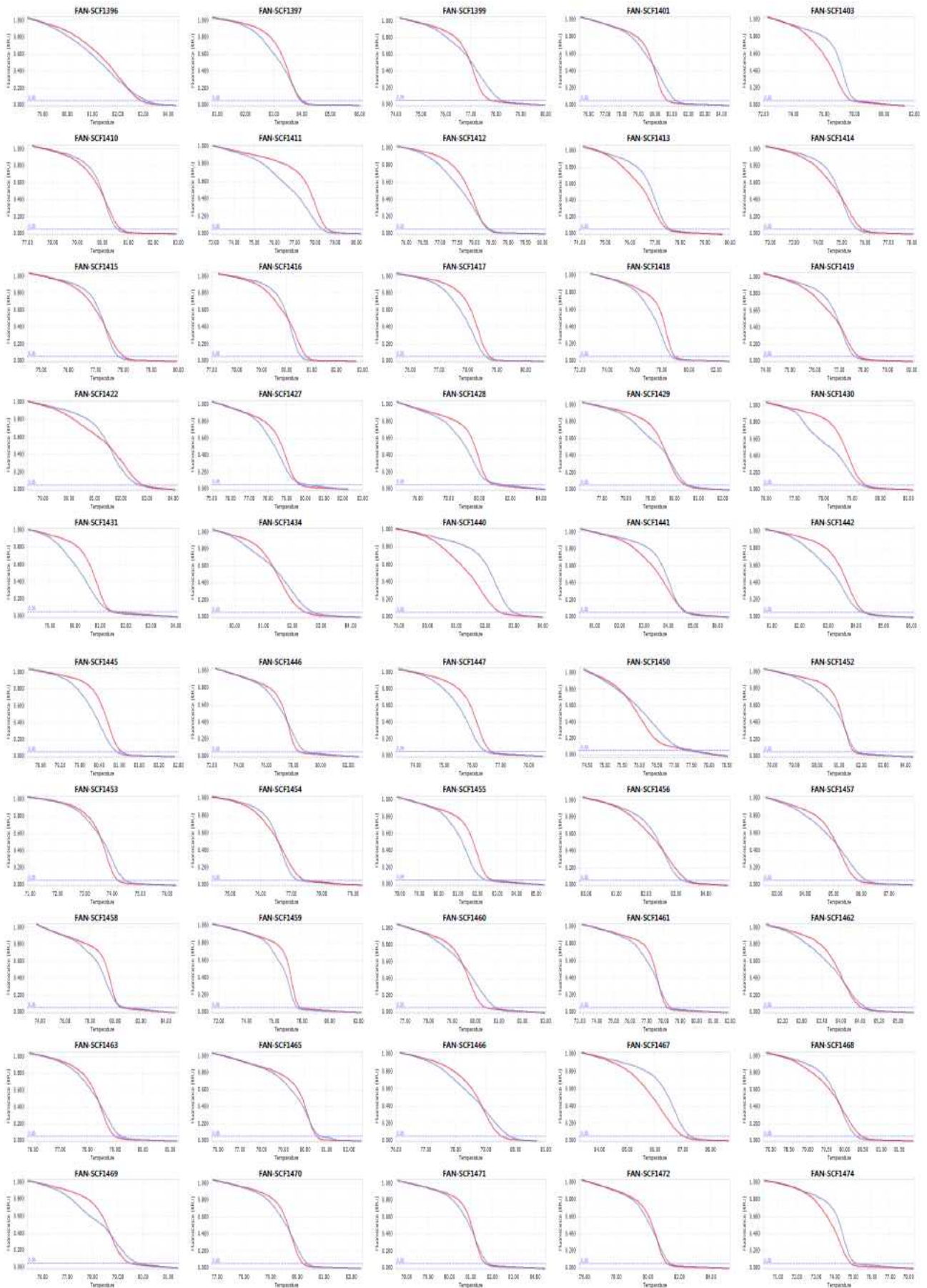


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

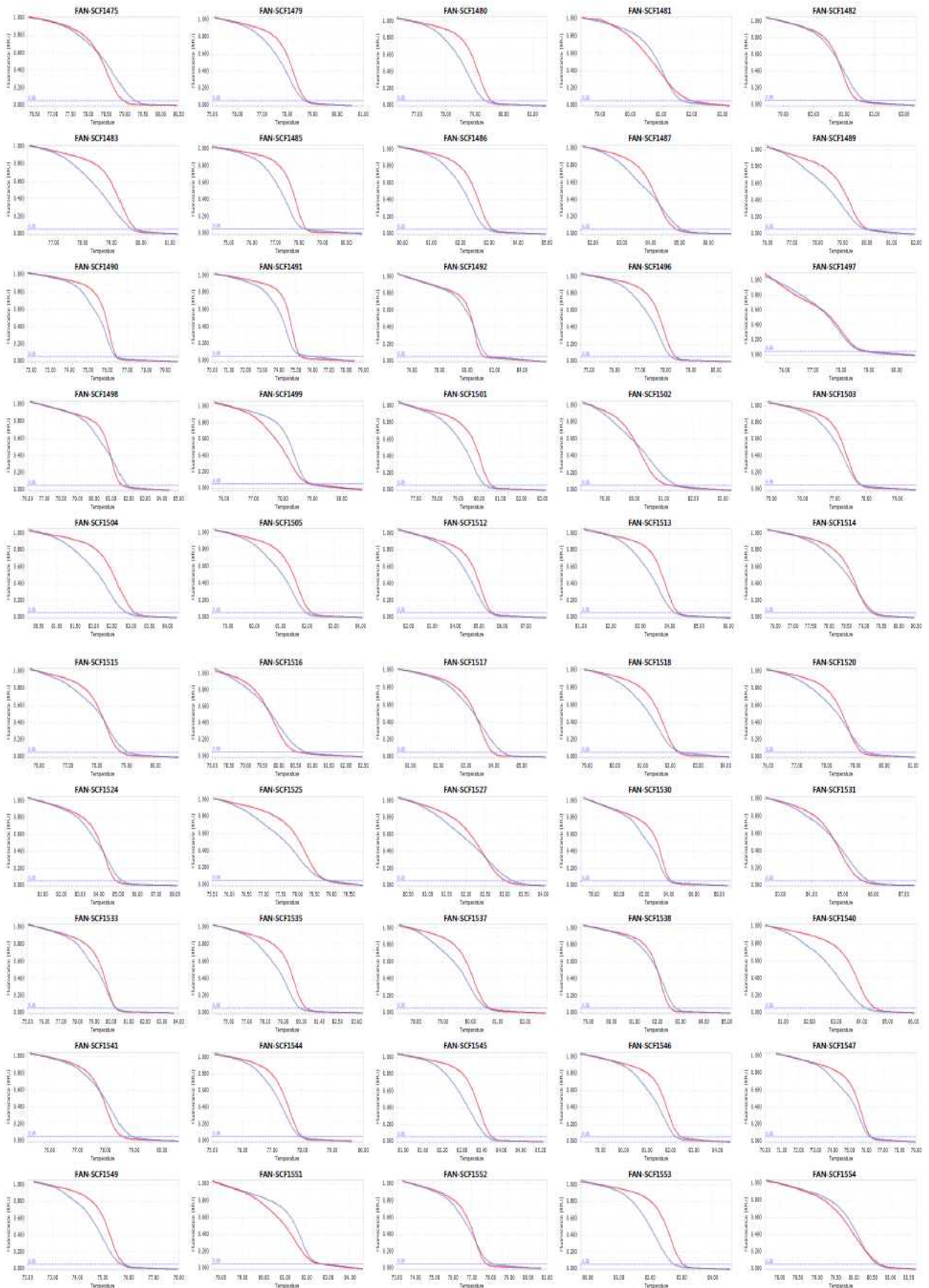


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

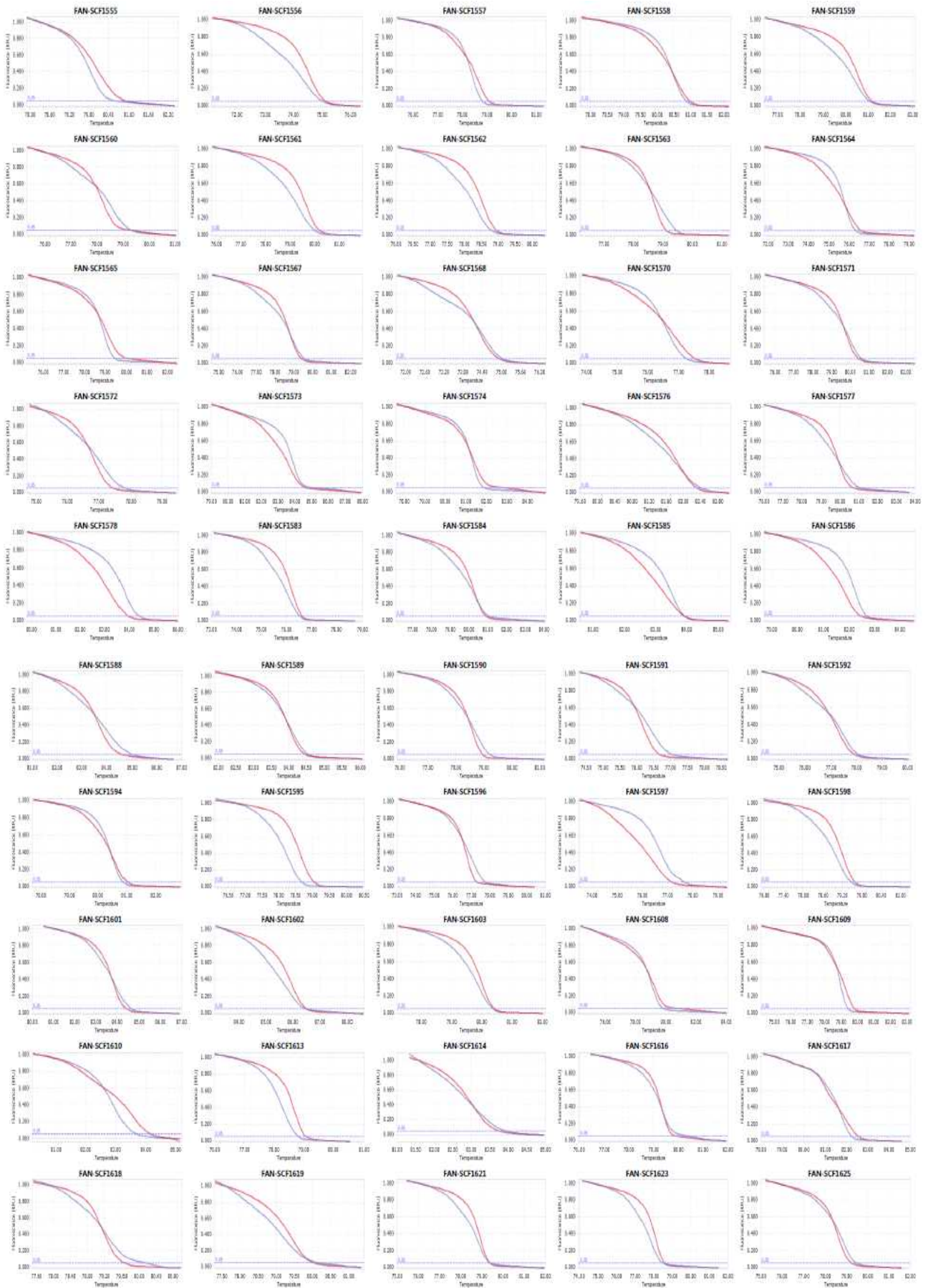


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

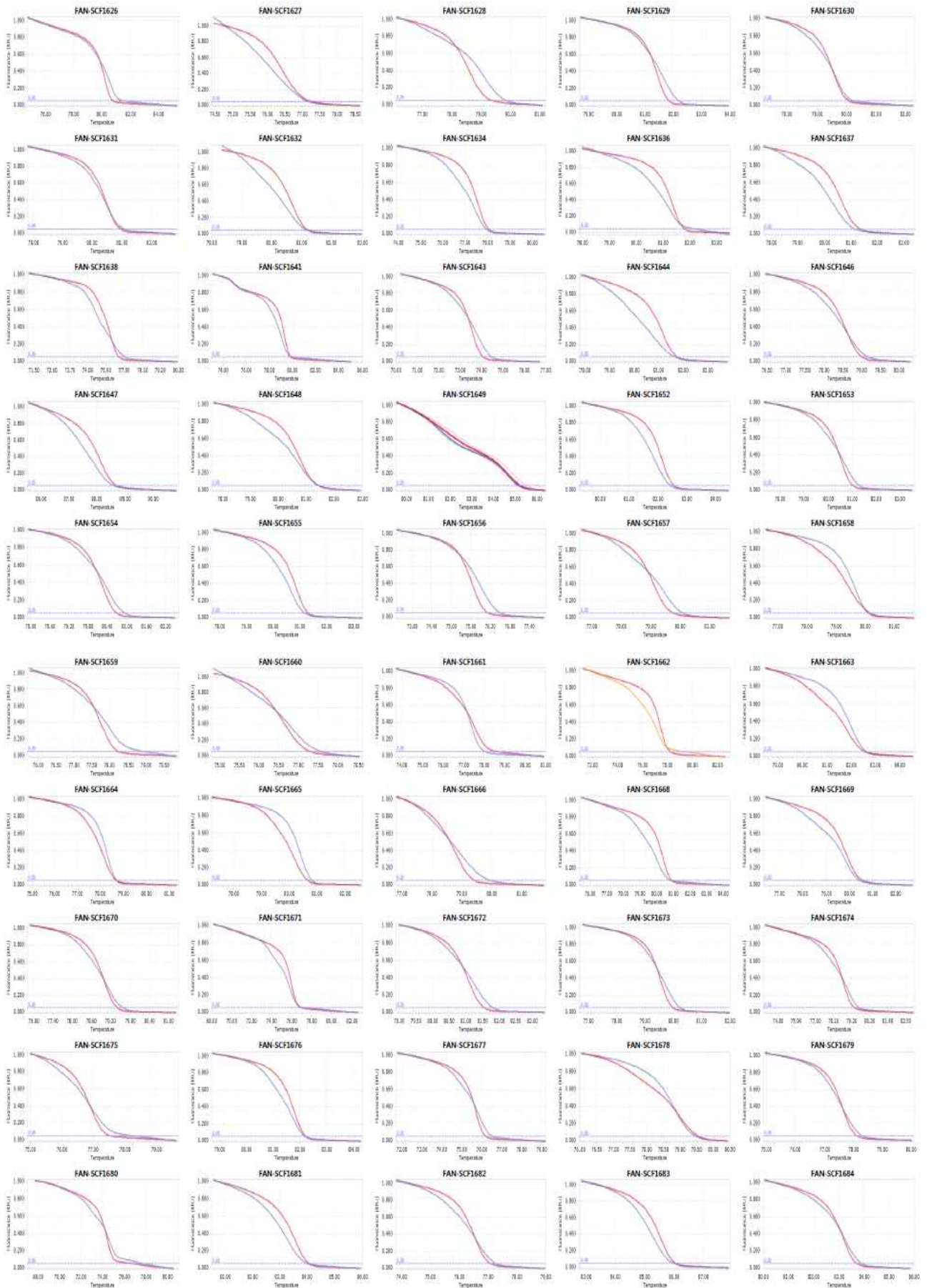


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

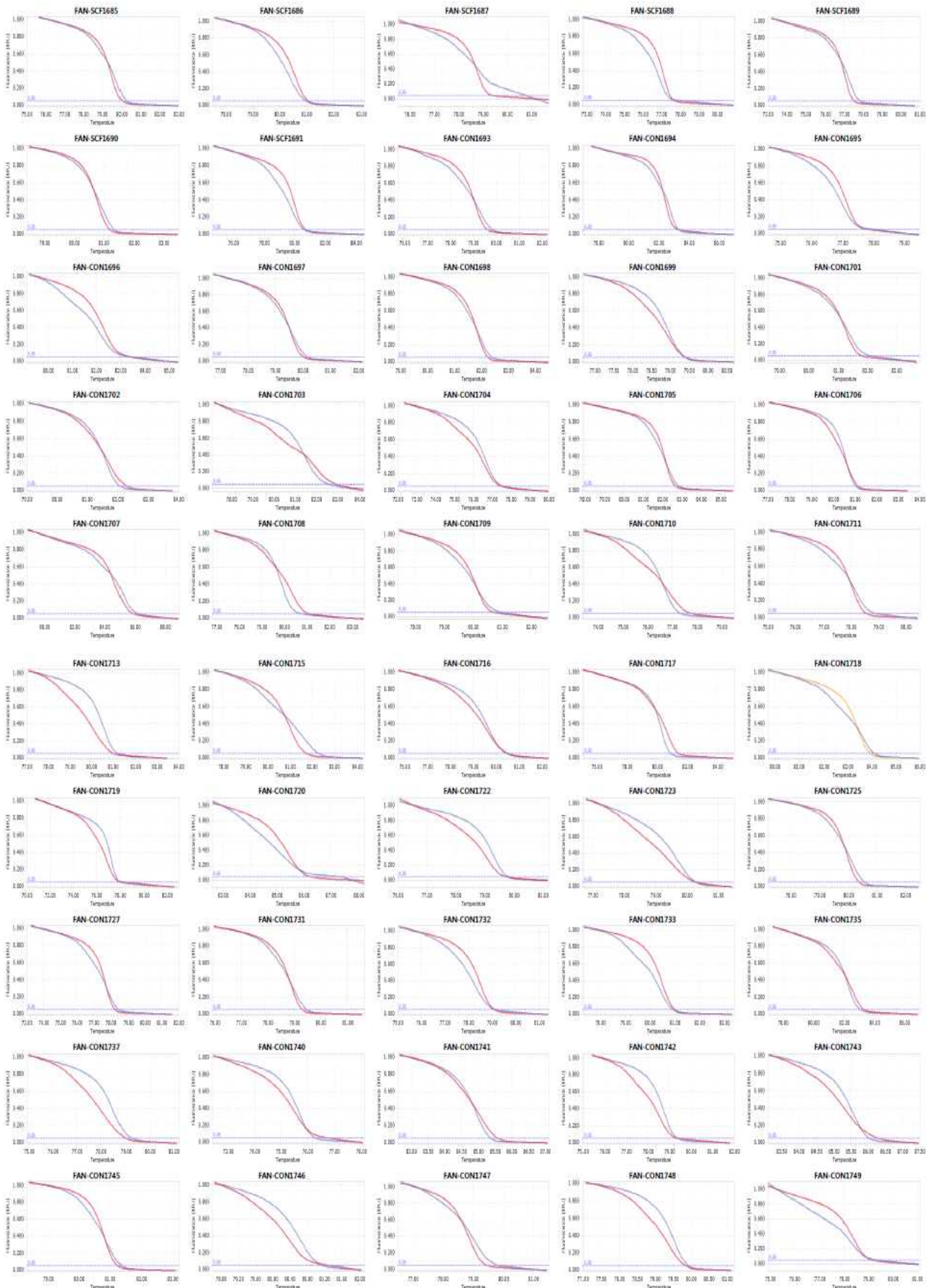


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

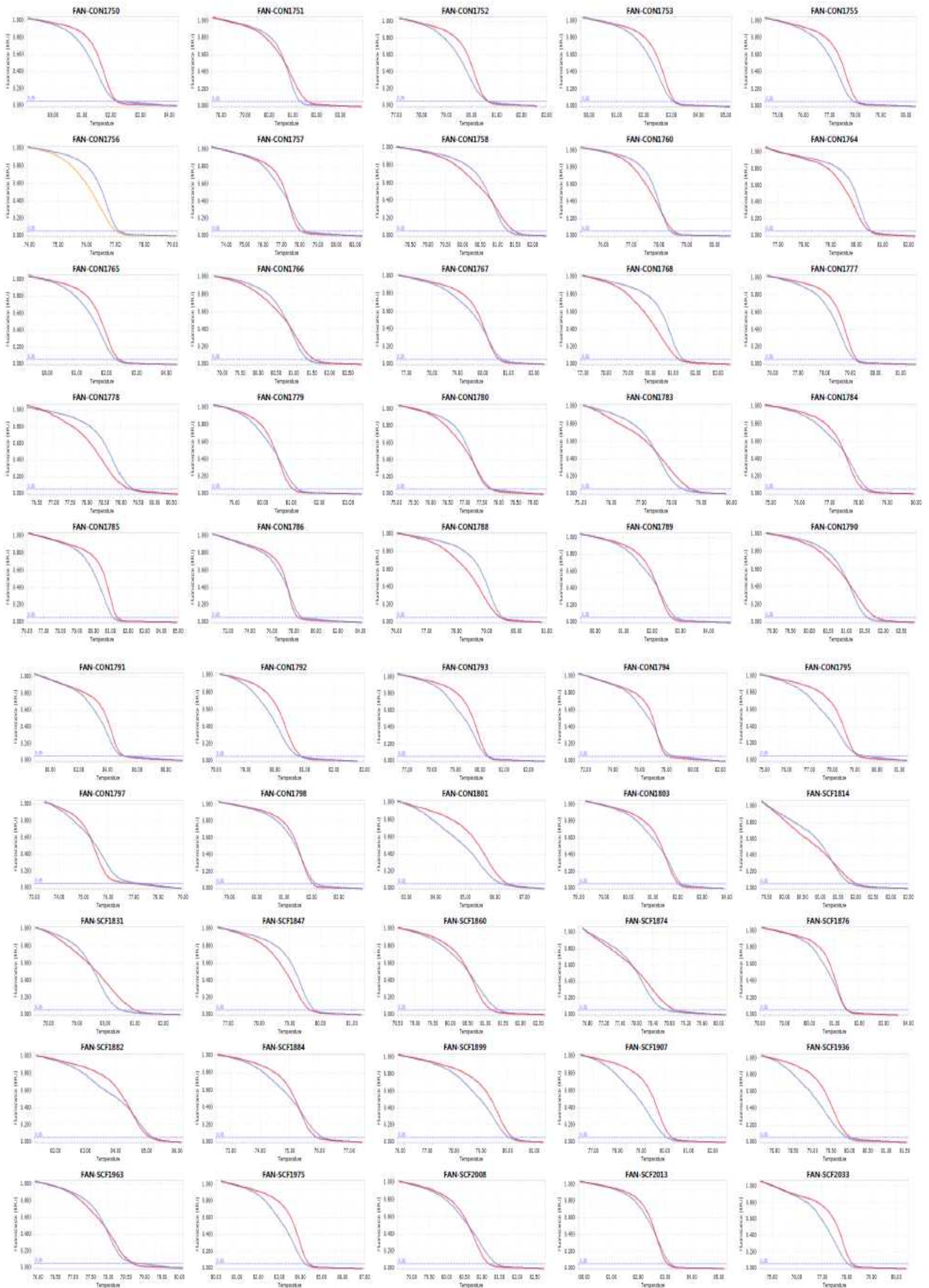


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).



그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

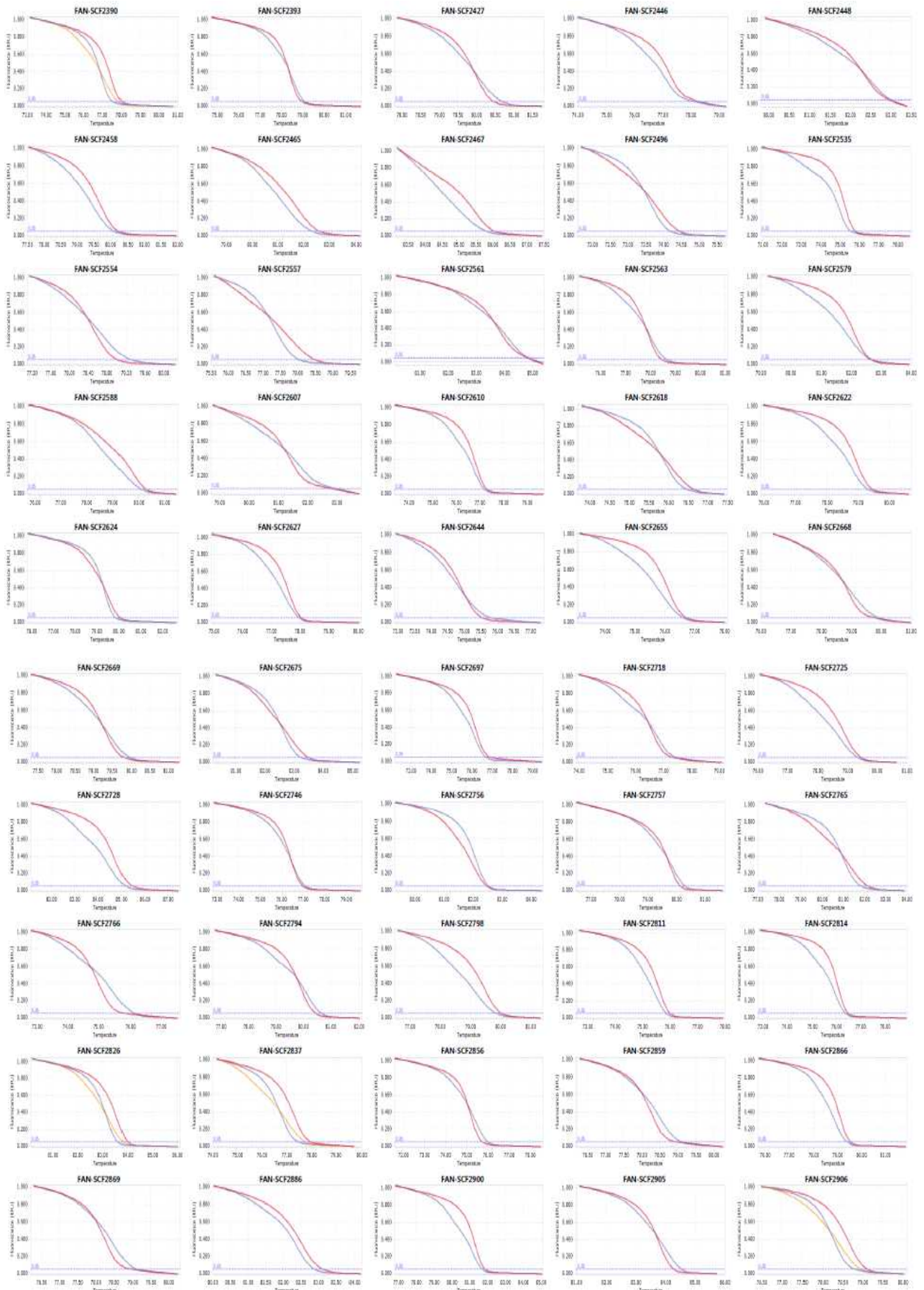


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

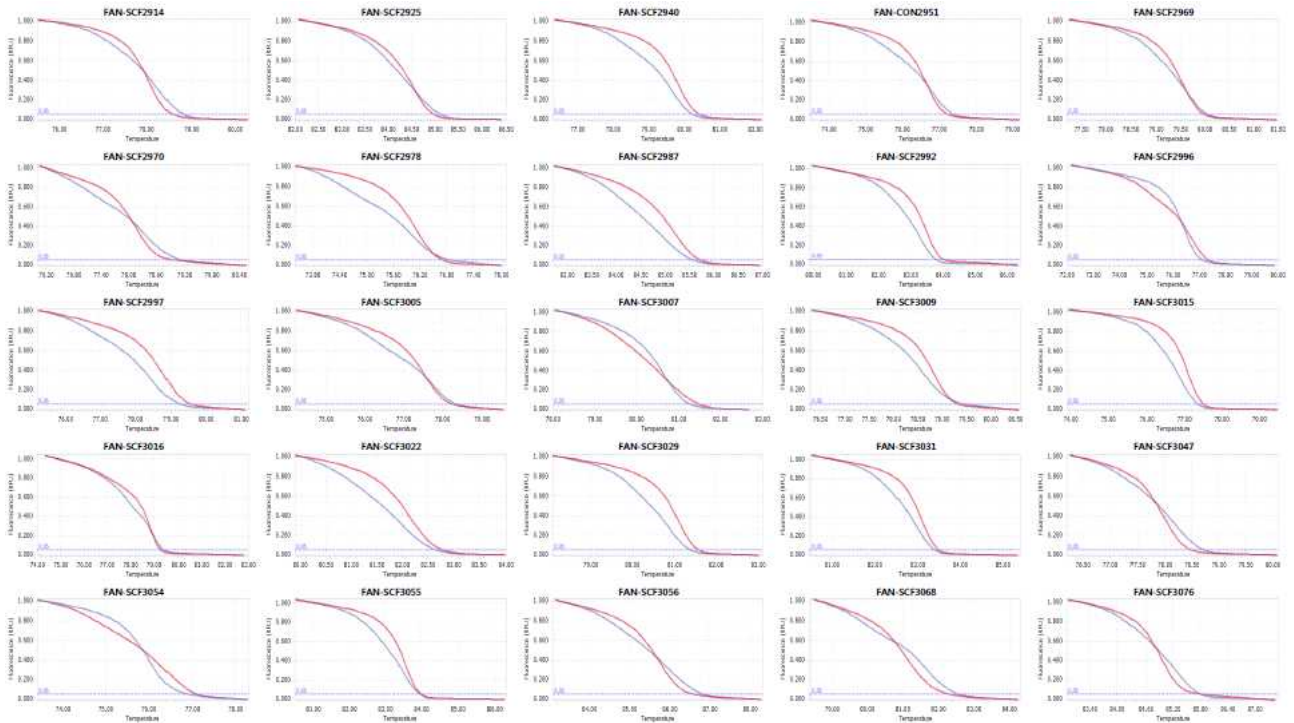


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

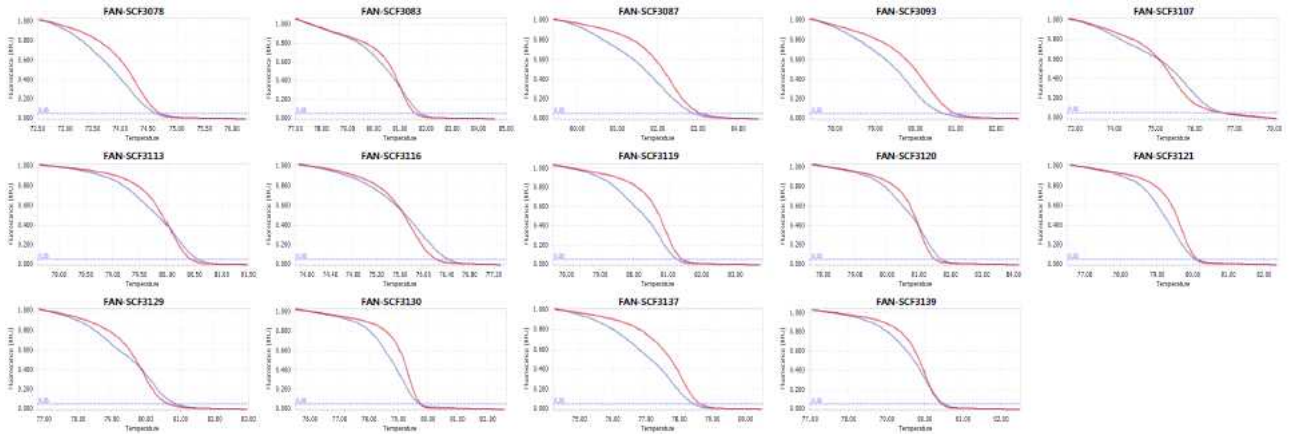


그림 3-11. 다형성이 있는 HRM 분자표지의 melting curve 사진(계속).

마. 8배체 딸기 유전자 지도 작성

JoinMap[®] 4.1 프로그램에서 ‘생가생가나’와 ‘설향’의 3가지 SNP type을 homo 대 hetero인 경우 <nn×np>로, hetero 대 homo인 경우 <lm×ll>로, hetero 대 hetero인 경우 <hk×hk>로 구분하여 지도를 작성하였다. 개발된 800개의 HRM 분자표지 중 632개의 HRM 분자표지와 HRM으로 분석이 가능한 22개의 SSR 분자표지가 딸기 유전자 연관지도 상에 위치하였다(표 3-15, 그림 13-2). 총 연관거리는 1569.7 cM이었으며, 33개의 연관군으로 나타났다(표 3-15, 그림 3-12).

바. 2배체 *F. vesca* genome에 blast 분석을 통하여 염색체 번호 분석

Strawberry Garden 홈페이지(<http://strawberry-garden.kazusa.or.jp/>)에서 각각의 분자표지들의 amplicon sequence를 이용하여 blast를 실시하였다. 2배체인 *F. vesca* (*F.vesca_v2.0.a1*)의 유전체와 비교하여 염색체 번호를 예측하였으며, 이를 이용하여 연관군을 분류하였다.

표 3-15. 8배체 딸기 연관 유전자 지도 작성 시 사용된 HRM 분자표지 정보 및 *F. vesca* genome에서의 위치.

Marker name	<i>F. x ananassa</i>		Forward primer	Reverse primer	<i>F. vesca</i> Chr.	<i>F. vesca</i> position
	LG	Position				
FAN-SCF1483	1A	0.00	ACCAGCTATGTTACTTGTTTGCA	ACGAGAAAAGGTAAGCGGCA	1	1066770-1067011
FAN-CON1803	1A	0.72	TCGGAAGGAGATATGCCCGA	ACCTTGTGCCTTTTAGCGG	1	9105787-9105827
FAN-SCF1384	1A	4.96	ACCTAGCTTCCAATCCAACCT	GCAGTCCAGCCACCTGATTA	3	18602387-18602527
FAN-SCF1267	1A	10.83	TGGTTTCTATGCATCACGGT	AGTTCTCCAATATGAACAAGGAA	1	4235164-4235324
FAN-SCF1472	1A	14.15	ACCAGCATAACACGCGAGAA	GTGCACCATGTTGTCCTTA	1	4631026-4631406
FAN-SCF1616	1A	24.53	GGAGATGAAATGTTGTTTCGCG	TCTACCATGCCATGACAATCA	1	7253446-7253664
FAN-SCF1608	1A	26.35	ACTGTTCTCTCAGACTCAAGCA	ACCTACACTTTACAAATACGATCG	1	8466573-8466620
FAN-SCF1609	1A	26.42	GCCCCCTCAGTTATCTTCCT	ACACCACAAAAGTTCAATGACGA	1	8468508-8468581
FAN-SCF1610	1A	26.45	TGAAGATGCATCGCCGTGAT	AACCCGATCACCCAGGTTTC	1	8471928-8472073
FAN-SCF1682	1A	26.75	CCGTCTGTGACACAGTCCAA	ACCTAAACAAATTTTCGAAAAGGAA	1	6606580-6606662
FAN-SCF1565	1A	29.85	TGAGTATGCAAGCGAGGTGT	TTGAAGTGTCTCGAATTAGC	1	9735510-9735680
FAN-CON1706	1A	34.00	AGTGCTTTGTTCTCAATTGGCA	GCATGTGTAAGGTGTAGCAGC	1	13305185-13305227
FAN-CON1715	1A	41.82	ACGTACTGTACCTCCCCCTC	GCTTTGAATACGGATCAGTTGGC	1	14364713-14364733
FAN-SCF1491	1A	48.72	TGCATATCAGCAAATGAATGAACT	ACTTCGAATGTCAAATTTCAAACA	7	18726614-18726927
FAN-SCF1628	1A	54.82	TCGGAGGCTGTAGTTCCTGA	TGTGTCATGGGTACTTTTCAGC	-	-
FAN-SCF1486	1A	57.93	ATGAATCCACCCCGGAAAC	CAGGTCACCTTCTCCGTGTA	5	25313668-25313979
FAN-SCF1351	1A	60.41	TCTTCATGTCATTGCCAGACA	TCGATGCTGCCAAAGTCTTT	5	306174-306193
FAN-SCF1353	1A	60.42	TGATCAATGTTCCCGACCACT	GAGAACAAGAAAATGAAAGGCA	4	652664-652741
FAN-SCF1352	1A	60.44	AGTTGGGGATTCCGCTCAAG	CTTGCTACACAGAATTCGCCA	4	18470159-18470178
FAES0011-1A	1A	61.18	GGAGGCTTTCCGTTTGAGTA	GAGGGCGAGAGCTTCAAAC	-	-
FAN-SCF1265	1-1	0.000	TTTGAACCTGATAACCCC	TGTCTCTGTTTCGTAAGACCA	5	19338634-19338884
FAN-SCF1558	1-1	4.162	GCAGAGCCATTGGTTGTTGG	TGGATTTGGGGCAAAGGAA	-	-
FAN-SCF1264	1-1	5.356	GGTTAAGCAAGCCATTTGAATCT	TCACCAGTTCGACTGCTCTT	-	-
FAN-SCF1559	1-1	5.368	TCCTCTCTGGAACATGCCA	TGCCACAACAGGGATGTCAA	5	19340932-19341337
FAN-SCF1653	1-1	5.368	CCCTTCACTCGGGTTCACAA	AGCAGGTTTGTAGTCTTAATTTCCA	1	1356321-1356602
FAN-CON1758	1-1	5.583	ACCCATGGTGGAGGAAGACT	TGATATCGCAGACAGCAAGACA	5	193334337-19334690
FAN-SCF1557	1-1	6.174	GGCCGAATTGCTCATCTATGC	AGCAAGATCCTAACACTAAAAGGA	7	12733991-12734018
FAN-SCF1533	1-1	6.887	TCCAACCACATTGAGCACTCA	CGCATTGCATACACTCCGTC	1	1829639-1829953
FAN-SCF1208	1-1	13.262	TGCAGATCGAGTAGTACTAGCT	TGCTGCAGGGTTAGTATGCT	1	3620364-3620763
FAN-SCF1596	1-1	15.220	ACTCACTGCAACATTTCGCT	CCAACATGGAAGTTGCAAAAACC	1	3926865-3927187
FAN-SCF1447	1-1	16.081	AGCATTATTGGCTGGTTGT	GCTAGTGTCTAGTGTGACCA	1	4557328-4557727
FAN-SCF1480	1-1	16.486	TGCATGACTCTATTCAACAGTCT	GCAGACTAGAACAACACAGGC	1	4581430-4581780
FAN-SCF1354	1-1	17.156	ACCTGAAAGGCTTTTGAGTCCA	GTCAAAATGTTGCTGAGCCT	1	4465691-4466089
FAN-SCF1268	1-1	17.997	TGACACACACTACTAGAAAAGACA	AGGCTGAACGACGTCATACA	1	5333819-5334206
FAN-SCF1399	1-1	22.289	ATGTGCTTCACTGCTGCTTG	ACTTCAGATTAGCAGCTATTTTCC	1	5757217-5757616
FAN-SCF1847	1-1	25.306	GTTACTCACAAAAGAAGCTTT	TTTCAGAGGCTTGCAGGGTT	1	3322125-3322526
FAN-SCF1350	1-1	35.656	TGCCAAGTATCTAGCAAGAGC	AGTAACCGATCTCTTGGGTT	1	11410865-11411264
FAN-SCF1485	1-1	46.375	ACTTAAACCAACTAGATCGCCT	ACCGAAAAATTCCTTACCCT	1	10745862-10746261
FAN-CON3029	1-1	47.559	TCTGAGAGGAGGAACAACCTGC	TGAAATTAAGGCCACTCATCC	1	7717051-7717440
FAN-SCF1418	1-1	48.668	ATGACCTGCCTCAGTTGCTT	CTCTTAACAAACAATGGACGACA	1	11716979-11717151
FAN-CON1732	1-1	51.619	TGGCTTGTACTGCTCAGG	ATCTCTCTCCCTGCAGACAT	1	18290852-18291225
FAN-SCF1535	1-1	51.931	GACAGCATCTCACGAATAGGC	GGTGAATCGGCTAAAGAGTTGG	1	11837275-11837673
FAN-SCF1568	1-1	52.107	TCACGAAATATTATACCGTCATCT	TTGAGAGGTAGGGTGAAGTGA	1	18123154-18123542
FAN-SCF1547	1-1	52.886	ACCTTTTGGATCTTCTTAACCA	AGCCTCTTCAATATCCAGTTTGA	1	12377873-12378269
FAN-SCF1814	1-1	54.369	GTATTTTCTTGCGCCGCCA	AGCTGAACGATTTGATGCGG	1	10879761-10880146
FAN-SCF1679	1-1	54.881	GGCCAAGGCAGCTGTAAGAT	TGCCAAGAACAAACAACTGT	1	16976433-16976832
FAN-SCF917	1-1	57.165	ACTTGGACCTACCCCTACCC	GACAGGTTAGTGGAAATGGCCA	1	17493100-17493499
FAN-CON2970	1-1	59.231	AGGGGAAGCAGTTCATATGGT	TCTTGAATGCTGGGTCCA	1	11965217-11965579
FAN-SCF1229	1-1	60.555	CCAAAAGAGTTGATGCAGGCG	TGCTTGACGACATTTCTGTGG	1	19055307-19055706
FAN-CON3078	1-1	63.843	ACACATAACGTTTTGGTGATGT	GGGTAGAATGTGATGACCTGT	1	21984981-21985147

FAN-SCF1502	1-1	64.834	GCGCCATCCTTCCAATGTA	TCAGAATTCTTGTCACACTC	1	14650931-14651330
FAN-SCF98	1-1	65.765	CAGCAGGAGGTTACTCTGGC	AGCAAGTTAGTAACGCACCT	1	18718021-18718404
FAN-SCF2052	1-1	68.602	TGCTGTCCCAATTTGCCTGA	TCTCGTTTGTGACGGTGCTT	1	8794937-8795229
FAN-SCF2798	1-1	68.619	ACCACATTTTTTCGAGTGCCA	TTCTTGGGGACGAACAAGG	1	8831691-8832098
FAN-SCF2467	1-1	70.498	TGGTGCTTGATGTCGATGCT	GGACATTGGCTCCTCTGCTT	1	13947462-13947807
FAN-CON3005	1-1	70.696	TGTCTCCCAAAAACATTTGA	AATTGTGAATGAAGCGCGCA	1	14128591-14128868
FAN-SCF2213	1-1	70.827	GCTGCCCAAAAATTTCTTGA	TGTCTACATGGGATGTAATAACCA	1	17666022-17666425
FAN-SCF2765	1-1	70.827	ATAAAGCGATGGACTTGGGCT	CGATTTTGAACCTTGCCCA	1	13954936-13954983
FAN-SCF2925	1-1	71.677	CGTCGATGACAAAGACCCCA	CCCAAAGATGCCAGCAGAGA	1	13627982-13628381
FAN-SCF2579	1-1	71.855	AGGTGTTTGAGGCTTTTGA	TGAGGAAGAAGTGGCAGCAG	1	21900755-21901154
FAN-SCF2008	1-1	71.920	TGGTTGTTGATTTGGTTGGTGC	GGGCTTCCTTTCCGTGTTTG	1	22153550-22153750
FAN-SCF2236	1-1	71.971	CATGTGAATATGCTCTCCACT	GCCCTTGTGTGATTTGGCA	3	10828730-10829107
FAN-SCF1860	1-1	72.041	GGTACTCAGGTTTGCCTGA	CCAAGTCAACAAACAGGC	7	1391464-1391547
FAN-SCF2757	1-1	72.188	TCCAGCATGACCACTTAGCA	TGCAGCAAGGTACCTCTGTT	1	9036127-9036526
FAN-SCF2869	1-1	72.225	AGGTAACACAATTTGCAACTGA	GTTTGTGGCAATCCGGCTT	2	11689623-11690018
FAN-SCF2056	1-1	72.486	TGAACGACTTTGAGAATGTGGC	CGCAATATGGAGTGGTTGCAG	1	22514427-22514826
FAN-CON3107	1-1	72.776	GTGCTCAGAGATGACTCATGGT	ATATTCAAGCAACCCAGAATCA	1	22172119-22172518
FAN-SCF2268	1-1	73.149	AAACCGTCGTTCACTGTTC	CAGAAGGGCATGACGGGAAT	3	23471390-23471423
FAN-SCF2241	1-1	79.328	GGGCAATCTGATGTGGGTGA	ACATCTGAACCCCAATCCACC	1	19825769-19826170
FAN-SCF1248	1-2	0.000	CTTCCCAAGGCTGGACAT	CACCTCCACACAGCCTCACT	1	15796556-15796955
FAN-SCF2224	1-2	20.800	TTCAGCAGAAACCGTACGA	GAAGCGATTAAAGAGAGCCG	1	6989896-6990150
FAN-CON1788	1-2	30.671	GCTATGAAGCTTGCACAGAT	AGCCTCTCCACGTTATCACA	1	14754249-14754641
FAN-SCF1572	1-2	31.787	TGAAAGACTACGAAATGCCA	TGCCATGATGTTGCAATGA	4	12681583-12681602
FAN-CON3016	1-2	40.035	TGGTCCATCTACAGCATGAGC	TCGTTGAGACATGCACTTCA	1	18028015-18028414
FAN-SCF2328	1-2	47.540	AAGGTACCATGTCACAACGT	GAGTGACTGAGTCGATTCTGT	1	18512597-18512996
FAN-SCF375	1-2	47.767	AGGACCAAAATCAATGAAAGTAACT	TCCTTTGGATCTAGCTTTGTAGT	1	12345265-12345567
FAN-SCF153	1-2	51.388	CTCAAACTTTGACTTATAATCGGT	TGAGCACTAGACAAGTCGCT	1	11800003-11800291
FAN-SCF1337	1-3	0.000	AGGAATAGCATAGCATCAGC	GGTACCATAGAATTCATTCCT	1	8093321-8093654
FAN-SCF1165	1-3	15.004	ACTTCTGAAAGTGACGGTCCA	TCAGCGATGGATGTTTGGAAC	1	508804-509203
FAN-SCF1192	1-3	38.650	GTGTTAGAAAGTGAATTAGGTAC	ACGCTGTGATAACTGCTAGTCT	5	22163741-22164136
FAN-SCF1191	1-3	40.743	AGTTGGACCGGGCTACTAT	GACGGAGGTGGAGAAATCCG	4	9797022-9797117
FAN-SCF1680	1-3	41.872	AGATGATGAGTTGCCAACTAAT	TTCAATTAAGAGAAAACCCGATC	1	8562486-8562695
FAN-SCF1434	1-3	42.655	GCGCACGCTACTACGAGATA	TGGAAAAAGGGTGCAGAGAA	1	8019624-8019861
FAN-SCF1338	1-3	43.127	ATAGTCATGACCCAGCCG	CGTCGTTTCCGAGAGTTGGT	1	9410676-9410903
FAN-SCF1660	1-3	43.200	ACTATGGTCTTTCATGCAACT	AGAAACATGATGTTGACAGTTGTG	1	8334191-8334603
FAN-SCF1585	1-3	43.207	CCCCTGAAGTCCCTCCATA	ACCTTGTCTGATTTCCACC	6	29762368-29762767
FAN-SCF1441	1-3	43.820	TACTAGGGTAAACGGCACCGA	TATGGCGCATACATCCCG	3	23138183-23138262
FAN-SCF1275	1-3	43.842	TATGATGCTGGGGAGTCCG	GTCCCTCAGGGATATCGAG	5	15967465-15967859
FAN-SCF1567	1-3	43.865	TCCGATTACAATCTTGAGGACTCC	CAAGGACATGGAAAAGAGACCGA	4	6486798-6486848
FAN-SCF1440	1-3	43.903	ACCGCGTGTATAAGACTGTCA	TGGGCGTACTGGTACTCTA	3	31813069-31813286
FAN-SCF1322	1-3	44.665	TTTGCACTTCTCCGGCATCT	CCGTCTGAAGTTTTTCCAGCA	1	9755949-9756294
FAN-SCF1643	1-3	46.657	AGTCTTTAGTACATAACGACGTGT	GCAATTTATAGTTGGAGTTGAGA	1	7239440-2349727
FAN-SCF1481	1-3	48.244	TCCTTCAACTGGTGTCTGTGT	TCAGGGTGCCCAATGTGTTT	1	9872599-9872709
FAN-SCF1413	1-3	60.489	ACCTTCTGTGTCTGATCTGTCA	TCTCATTCACCCCAAGTTTGT	1	15455779-15456174
FVES0148-2C	2A	0.00	TGTCAACTAATGTGACCAACA	TGCTAGGTAACAACATAGAGCA	-	-
FAN-SCF1	2A	2.34	GATACAGACAGGTTTGTGCGC	TATGGTCTCGCAGAAAGCCAC	2	10333513-10333912
FAN-CON1089	2A	6.92	GGCACAACCTGTTTGAAGTTT	AGTCCATTCTGCTCCAGTCT	2	3613082-3613418
FAN-CON1105	2A	10.84	CAGTAGCTTTGGTGGGCACT	TCCAGCTTGTTTTCCAGGA	2	10339151-10339546
FAN-SCF154	2A	11.20	GCACAGTTTTTGGTGCATGT	ACACGACACGACAACACGTA	2	10167626-10168044
FAN-SCF559	2A	11.58	TCGTACCAATATGTGTGGTCA	AAGGAAATGGCTGCAAACCT	2	10088172-10088571
FAN-SCF1358	2A	11.81	TGGAGTTTTGAGACTTGGCT	ACCCGAGAACAAGCCACATT	2	3339860-3340263
FAES0465-2A	2A	14.89	TCAAGTTGATCAGTTGTTACCGA	ACGGTGTAAATGTTGGGGT	-	-
FAN-SCF2075	2A	19.73	ATCACTTTTGGCGCTCTCCA	ATCACAAAAGAAGCGCGCTGA	7	9319552-9319951
FAN-SCF369	2A	22.58	ACAGAAAAGGTATGCCAGA	GTGAATGCACAGGAATTTTCAACT	2	14150750-14151150
FVES2200-2A	2A	28.39	CGTCCGGGAAAATGCTTGAC	TGGGATGTTAGTTGGACTGA	-	-
FAN-SCF1185	2A	31.19	TCGACAAGCCTTCACTTCACT	TCGGATGCAAAATGCTTTAGC	2	18622180-18622579
FVES2170-2A	2A	31.57	TCTTCATTTTTCATGCAACGCTGA	ACGTTGCAAAATTCATTGACCA	-	-
FAN-SCF1218	2A	33.58	TCCCAAAGTTGTCGCTCTG	CGAGTTGAGTGAAGGGGAACA	2	19255065-19255463
FAN-SCF1172	2A	34.06	CATTGTTGCCGCAGTATCC	GTTGGTATGGCTGGAGGAGG	2	19115962-19116361
FAN-SCF1197	2A	34.85	GCTCGAACAATGCCTGAACT	ACAATGTGCCGGCAAGAATG	2	18246564-18246971
FAN-SCF1219	2A	35.79	TCACACGCAAGCTGAGCTAA	ACGTGGTCTTTTATCCAACCA	2	19254959-19255357
FAN-SCF1161	2A	35.97	ACAACAGCCGAGTACTTGAGG	ACATGGAAGTCTTCTCATCGA	2	18257628-18258041

FAN-SCF1196	2A	36.08	ACTGCTTCGTTTCACAACACA	ATGACCTTCGCTTGCAAGG	2	18246242-18246640
FAN-CON1707	2A	37.55	ACCCAATTCAAGGACCTGCA	TCACCATTACGCATTTACACGA	2	18425960-18426311
FAN-SCF1468	2A	37.58	ACTCGACAATCTGTGGTGGT	TCATGCCCTTAATCGCCCTT	2	18538873-18539271
FAN-SCF1280	2A	37.99	AAGAAAAGACCCACCCACA	ATGGAATCAAAACTGTGTTCTGT	2	19092250-19092577
FAN-SCF1372	2A	38.23	AGCCATGAGTTCTCAATCACTGT	CACGTA AAAACCCCGAAACCC	2	19215530-19215691
FAN-SCF1415	2A	38.58	AGCTTCTGAGTACGAAATGCA	ACAACGGATCTTAAAAGAAGGCA	2	18901493-18901892
FAN-SCF1537	2A	39.50	AGCAACCCGAGAAACCTTGT	TGGAGAAGCCTTTTTAATCAAGTG	2	19482764-19483163
FAN-SCF1538	2A	40.06	GTACAGGGGTAACCGCCTA	CTGGGAGACTGGGATGTTTGA	2	19482854-19483253
FAN-SCF1453	2A	40.66	CAAGGTTCTCACACCCACTCA	AAGCTTGGCTGAAGTTCCTT	2	19571916-19572323
FAN-SCF1454	2A	42.72	TGCCATACTAAAAGTGATCATGG	TGTTCTGGAGCTTTCATCCA	2	19573980-19574378
FAN-SCF89	2A	45.95	GAGGTTATAAGTTCAAACCTCACT	CCCGCTTATTTGTGCAAGCC	2	21320143-21320464
FAN-CON1786	2A	47.10	GGAAGTTGTTGCAATCATTTTCT	GGTGCATAAAAACGGCATAGT	2	21511223-21511622
FAN-SCF359	2A	47.45	ACGTTTGCAGGAAATGACA	TACAGGTGCCGATTGTACG	2	20767369-20767760
FAN-SCF804	2A	47.68	AGGCCATCATTGCCTAACCA	TGTCAATTTCCCGCAAACGT	2	21257000-21257326
FAN-SCF216	2A	47.88	TGTTTATAGGAGTAGGCTTGCT	TGTATCCACCCGTTACCACG	2	21093928-21094332
FAN-CON1144	2A	48.39	CTTCTCGGGGATCACATGCA	ACACGAAATGATGTGTCATGT	2	21747548-21747947
FAN-SCF782	2A	48.82	AGATGACTTGGTTTAGGCTTGA	ACGGTAAAACCTGAAACTATGTTGT	2	21709041-21709329
FAN-SCF178	2A	49.16	CTGCTGGAGCTCTTGAGTAGG	TCACCTTAGAGCCATCAGGACT	2	21361719-21362108
FAN-SCF5	2A	49.77	ATTGCTTTTGCCCTAGCT	CAAGGGCCTAGCAGGATGAC	2	21507575-21507885
FAN-SCF385	2A	50.65	TCGATCAGTAGTATTGTGCTCA	TCTGAACTAGGTTTATCTTCACT	2	21702155-21702552
FAN-SCF1212	2A	52.19	GAAGAGACGGTTCATCGCCAT	TGTTACATCACTCTCATGCAGT	2	23963917-23964316
FAN-SCF1541	2A	53.71	AGGTTGGTCAAGTCAGTAAGGT	AAAAACCCAGTGCATCCCTCA	2	23919665-23920065
FAES0065-2A	2A	54.02	GCTCGAACAATGCCTGAACT	ACAATGTGCCGGAAGAATG	-	-
FAN-SCF1462	2A	54.78	TGGGGTCAATGAGGTAGCTT	ACAGAGTTCATATTCGTTTGATTT	2	23942849-23942955
FAN-SCF1482	2A	56.76	AGGGATGCATATGGATCAGTGA	ACCTTACTGACTTGACCAACCT	2	25180178-25180535
FAN-SCF1347	2A	56.99	TCTTCATTTTCATGTCAAACGTGA	ACGTTGCAAATTCATTGACCA	2	24255200-24255599
FAN-SCF1641	2A	56.99	TACCGTACGTACAGCTCCGA	GCAAAGACTACCCATGGCCA	2	24954679-24954923
FAN-SCF1586	2A	57.02	CGTCCGGGAAAATGCTTACG	TGGGATGTTAGGTGGACTGA	2	24449813-24450212
FAN-SCF1584	2A	57.02	TCAAAGTTCACGTTTACAGTGTC	TGCATCTCACCTTCTCAACT	2	24457378-24457777
FAN-SCF1273	2A	57.11	TTGCAGAGCTGTTGTTCCG	CGGAGCCGAGATCACCAATT	2	24463135-24463534
FAN-SCF1231	2A	57.21	ACGGTGTTAATTGTTGGGGT	TGGAGTTTTGAGACTTGGCT	2	24343046-24343397
FAN-SCF1232	2A	57.80	GTGGGAGAGACCATTGGTACC	AGAATAATACGAACCCTAGCCACA	2	24344853-24345259
FAN-SCF1257	2A	61.02	GCAAATGAGTACAGTGACCGA	CCTTGGGTTTGCCTGTAGAA	2	23960493-23940887
FAN-SCF229	2A	64.18	TGCCAGCGAATGAGTAGCAG	ACTGCTTATTTGCTTTGGCCA	2	27529617-27529951
FAN-SCF1170	2A	66.50	GCGATGACCAATTTTCGGG	GCCACATCTGCACATATGCC	2	23936102-23936501
FVES0224-2A	2A	71.39	GGCACAACCTGTTGAGTTT	AGTCCATTCTGCTCCAGTCT	-	-
FVES2866-2A	2A	72.40	GATACAGACAGTTTGTGCGC	TATGCTCTCGCAGAGCCAC	-	-
FAN-SCF1201	2A	74.92	TGTCAACTAATGTGACAAAACA	TGCTAGGTAACAACATAGAGCA	2	28468417-28458816
FAN-SCF1366	2D	0.00	TGCCCTTTCTTAGAATCTCCT	AAACCAATCCGGCAAATGGC	2	24274606-24275014
FAN-SCF529	2D	9.32	GTGCGACGCTGGTAAAACAA	TGCTGACCAATGAGAGAACTCA	2	25654186-25654313
FAN-SCF627	2D	18.65	GGCCACATACGGGACCTATC	GCCCCGTTGAGAAATTAGTCT	7	22524923-22525156
FAN-CON1098	2D	21.82	TGGTCACCTGAAGCTTCTCA	ACTGCTACCCAAATGTGAACCA	2	28878725-28878784
FATS0033-2D	2D	36.72	TACATGCAAACCTGCCTCCAG	ACGCCAGACTTACTGGTGT	-	-
FAN-SCF1214	2-1	0.00	ACTGCCTTAAAGAAGCATGAGA	AGGTGTCGAATTTGCTTGATCA	2	21381273-21381564
FAN-CON1049	2-1	0.53	AGAGCACCAGCCATGAATC	TTTCTACCAGACACAGGCA	Un	738289-738585
FAN-SCF1503	2-1	6.88	ACCAGAACAAGCATCAAGAA	AGGGAAACTTAAACATTGGCT	2	16117196-16117321
FAN-SCF1488	2-1	7.69	GGTCAGGAGTGTGCATGGT	CCATCACTAGGCCTGGGTA	2	16129775-16130174
FAN-SCF1504	2-1	7.85	GCCACCTATTGGTACGAGAG	TGATCCAGCCTTGAATCCGG	2	16116390-16116789
FAN-SCF1649	2-1	7.86	GTGTTCTTTTGGCGCATGC	ATCCGCTAAGACCTCATGG	4	5345160-5345290
FAN-SCF1301	2-1	8.67	ACATACGATCTTCCCAACCT	ACTGCTGCCAACTACCATCA	2	17466569-17466978
FAN-SCF1292	2-1	9.52	AGCTAGTTTGTGTCAGAAATCA	GCATCTTTGAGGTCGATCCT	4	24655913-24656017
FAN-SCF1460	2-1	10.92	TCCACTTCTTCATGGTCTCAC	GGAGTACGAGCTGACACTGT	2	16298407-16298801
FAN-SCF1240	2-1	11.03	GCTTGTGATGTTATGTTTGTAGTC	ATCAGCATGGTCTTGTACT	2	16270721-16271119
FAN-SCF1389	2-1	11.12	ACCAAGAGAGTTCCAATATTACA	AAGCTCCGAGTGTGTTCA	2	16291588-16291843
FAN-SCF1388	2-1	11.12	TGGTCCGATGGTGATTTTCG	CAAAGCCCTGCCTCGTCTAT	-	-
FAN-SCF1459	2-1	11.13	GGGGAAGTAACTAAAACCC	ACCCGTTGGTGTCTTGTATC	2	16298579-16298735
FAN-SCF1458	2-1	11.86	AGTCTGATCTGGCCGATTC	ATGGCTTATGGCTGCTACCC	2	115645-1315770
FAN-SCF1245	2-1	14.79	AGTCCAGAAAATAGAGTGAAGACT	CATTGACCTAGCACCCCTG	3	27348957-27349099
FAN-SCF1241	2-1	23.06	TCGGCATTTTGGACTCTGA	GCCTTGAATGTCGATGGAGG	2	13298688-13298848
FAN-SCF1179	2-1	27.37	TGCCATAACTGAACCTTCTGCA	AGTCCAAAAAGCCACAGTGA	2	4402909-4402928
FAN-SCF1190	2-1	29.00	CTTCTCACGATGTTGGGCG	GCCCCGTGAAGATGGATAGG	2	4456860-4457244

FAN-CON1084	2-1	32.39	ATGTGGAGGCGGAGACAAAG	CGACACCTAAACTGGGTCGA	2	10793558-10793679
FAN-CON1766	2-1	34.93	TAGCCCCAAGTGCAGTAAC	TCACAGCAATGGTCGTGAGC	Un	554210-554375
FAN-CON1017	2-1	38.81	TCCAATGACGATCAGTTACAAT	GGAATGGCCGGATCCATGAT	7	15557644-15557939
FAN-SCF1625	2-1	39.37	ACGGCGGCGGATATGTTAAT	GGTGCAAGTTTGAGTACCC	2	908349-908480
FAN-SCF1626	2-1	40.41	TTGGGTACTCAAACCTTGCCA	AGGGTGTACAATCTACCATGT	2	908349-908486
FAN-SCF1324	2-1	41.41	TCGCTTCTCTAATCTGAGATGA	GTGTGCTAGGGTTGCCTAT	2	5495166-5495565
FAN-SCF2458	2-2	0.00	AGGTACTCTGAACCCCAAGA	TGGATTGTATTGCAGGTTGTGT	1	13560070-13560380
FAN-SCF896	2-2	19.78	ATCTGAAGAGGCAAGCAGGG	CCAAGTATCTGCTCCTCCG	2	21512966-21513328
FAN-SCF520	2-2	22.22	TGAGGATGTGCAACGTCTCA	TCGGGTTTCCAGATGTCGAC	2	19491481-19491897
FAN-CON1784	2-3	0.00	GGGATTGTGGGTGCAAAATA	CGTGATCAAATTTGGGCCA	2	3872613-3872800
FAN-CON1801	2-3	3.01	TGGGAATCTTCGAGCCTTT	TCATAGGGGAAGCGCAACT	2	10629820-10630199
FAN-SCF458	2-3	3.51	TGAGTTTTCCGCTAATTCAT	CCTTAACATCCGGTCGGCTT	2	3725132-3725214
FAN-SCF1461	2-3	3.65	TCACAAGCAATGGGATGAACA	GGACCCAAGAGGAGCAATCA	2	7863197-7863480
FAN-CON1742	2-3	3.75	AGCAGATGGATCCTTACTTCCT	TCGTGTCGTTTACGTGTCGA	-	-
FAN-SCF1390	2-3	4.38	ACCTAGTTTGAGTATCTGGCA	CGTCCACAAGTAGTAGCT	2	8619892-8620184
FAN-CON1696	2-3	5.70	TGCATCCGCTTCGAGATTGA	AACTGCTCGCATCACACTCA	2	3871989-3872160
FAN-SCF10	2-3	7.57	AGGACCACCTAATGCAAAGG	TGGATTGGGCTGACTTTTGT	2	10258308-10258711
FAN-SCF1160	3A	0.000	ATCGTTAGTGTTTTCAGGTAGGGA	AACCAAGATTACAATCATGAGAGA	3	25871619-25872020
FAN-SCF1396	3A	2.501	GCTGACTGGCGAGAATGAGA	CACGGTCTTGTTTAGGGTT	3	24012983-24013382
FAN-SCF1546	3A	3.724	ATCCAGCTTATCTCCGGCGA	GAGCGTCTTAGTCGACCGAA	3	25819932-25820267
FAN-SCF1316	3A	4.052	TCAAAGCAGAGGCGAGACATGA	TGCAACCATGATGAAACACCG	3	25555501-25555900
FAN-SCF1690	3A	4.630	CTCTCCAGTCCATCCCATGC	CCATCCGTGACTCCAAGCTT	3	25469185-25469584
FAN-SCF1317	3A	4.633	ACCTCTTCTTTTCTCTGCCT	TGTGCTTGATGAACTTGCT	3	25556872-25557271
FAN-SCF1431	3A	4.638	AGGTGAGTGTATTTTGGATTTGA	TTCAAGCAGTACCAAGA	3	25864687-25865088
FAN-SCF1429	3A	4.679	ATACTTTGGAGACGACTCT	CCCTCTTCGGGTTGGTCAT	3	25866698-25867097
FAN-SCF1430	3A	4.688	TCCAGGTGTGGTTGTTACCT	CTCAAAAATCCAAAATACACTCACC	3	25864727-25865116
FAN-SCF1254	3A	4.706	GATGGCTTGGGCTACCTCAA	GGTTTCTGCAAGGCAGTGG	3	26006390-26006789
FAN-SCF1318	3A	4.726	GCAGCAACTCGGAACTGGAT	CCTGAAAACCCGGTCACATT	3	25563685-25564083
FAN-SCF1671	3A	4.729	AGCTAGGGTGCCTATTAACAACT	TGCGGATTTAACACATATTTTACA	3	25754119-25754478
FAN-SCF1428	3A	5.077	TGGTGGACACACTGCTTTGT	AGAGTCCGTCTCCAAGTAT	3	25866741-25867140
FAN-SCF1305	3A	5.691	TCACCTATTCTCAACCGCT	TGTTGAGTATTTAGGCTCTCTCCA	4	17193176-17193265
FAN-SCF1234	3A	5.699	CCTGATGGAAGGTTTACTTCTGC	AGCTCATGGTTTGTTTAGCTTCA	3	26118083-26118481
FAN-SCF1235	3A	5.748	TTCTATGGCCTCAAGCAGCC	CGAATGTCTGCACCCCTGAA	3	26117823-26118059
FAN-SCF1236	3A	5.749	TGGAACATGACCATGGGAGAC	AAGCTCTGGAACACAGGTTCT	3	26115173-26115572
FAN-SCF1237	3A	7.340	TCAAATTGGGCCTTCGACCA	GCATCTGCTGAGAACCCCAT	3	26110343-26110736
FAN-SCF1238	3A	7.640	GGGGTCTCAGCAGATGCAT	TCCGTTGTGCTTTGGGGAAA	3	26110236-26110635
FAN-SCF924	3A	9.464	TCTGTGCGACAGTCTAAATGG	TGAACCCCTTCTACTGCAAAACT	3	16134694-16135091
FAN-CON1085	3A	9.983	GGACCTTGCTTCCATGGAA	GGTTCTGAAACAAGATCCCG	3	15926347-15926746
FAN-SCF287	3A	10.149	TGCATGTGCCGTTTTCACAG	ACCAATGAAACCAGAACCT	3	16140230-16140639
FAN-SCF793	3A	10.750	CCCACCGAGCCCTTAAAT	CGTCTGTCCCTATGTCGAGT	3	23487528-23487821
FAN-SCF1655	3A	10.921	TGCAGCTTAGACCAAGAAAGG	ACAACAAGCAAGATTCGGAAACT	3	16135786-16134185
FAN-SCF1469	3A	11.296	TCACCAATTACCATCTCGGA	GGTCCCAAGACTCCAAGAG	3	17710156-17710554
FAN-CON1141	3A	12.211	ACGATTTCGACGCTTTCGAT	ATTGGAGGAGGAGCATGCTT	3	15482868-15483267
FAN-CON1063	3A	12.617	TCAGAAGAAATATAGCGTGGGT	AAGAATCCCACTCCAACAGCT	3	22688348-22688574
FAN-SCF587	3A	13.226	GTCTGCAAAAGCAGGCAAGT	AGTCGTTGGATTTTTCTTTAGGA	3	31471188-31471587
FAN-SCF915	3A	13.274	CGCGCAATTGATGAAGGAG	TCGAGCCTGTATGGTCATG	3	31438822-31439221
FAN-SCF1975	3A	15.291	ACCTGAATTTGGTCGGCACT	GGAGGAGGTGGTTGTTCTCC	3	13149010-13147409
FAN-CON3009	3A	17.110	TGTCTAGGCTGTGGATGAAGTC	TGTGAGCCATATCTGCCAA	3	21438952-21439334
FAN-SCF2554	3A	17.128	GGTTGGGTAATGTCTCGTGGA	TACAAGAAGGTCGAACGCC	3	21101553-21101952
FAN-SCF2607	3A	17.850	GTGGACGGGTACCCAAGAG	GTCAACCCACAAGCGGATTG	3	20612232-20612631
FAN-CON2992	3A	18.500	AAGAATGAGGCGGAGTTGGT	TCAATCATCGAAAGCGCTCT	3	21427428-21427795
FAN-SCF2277	3A	19.398	GTGTTTATGCCGCAAAATCA	CTAAACCTAGGCTCGTGGC	3	13942167-13942580
FAN-SCF2072	3A	21.028	ATGAGGCATGCATCAGGTGG	ACCCCATACATGATTGATCCA	3	11894921-11895320
FAN-CON3121	3A	22.322	GTGGACTGAGAGCCACCAAT	TGAGGTTGTCTGTTTCTGGAGA	3	18363887-18364286
FAN-SCF1884	3A	23.438	GGGATCTTGTTCAAATCAGTTCC	TGTGGAGACATAGACCTGGT	3	19173896-19174291
FAN-SCF2078	3A	24.476	TGTGTTCTTCTTGTAAAGGCA	TGCCAGAGATTTCAACTTCCA	5	1622501-1622520
FAN-CON2951	3A	25.726	TGTGGAAGCTTACAAAAGAACAG	TCCGTTTGCCTCAAGTATCA	3	10117086-10117485
FAN-SCF2181	3A	26.228	TGTGGAAGCTTACAAAAGAACAG	TCCGTTTGCCTCAAGTATCA	3	10117086-10117485
FAN-SCF2588	3A	30.015	TGGAAGAAGGTTGCTGGTT	TTTCAGCAAAAGATGAGGCA	3	7350314-7350713
FAN-SCF871	3A	31.599	TGTGTGACTTCTGTATGTTC	CCAGGAACCTGTTGAGGAAAGC	3	9173551-9173871
FAN-SCF767	3A	34.294	ACATGTTTCTGTGTCAGTTGGT	CCCTTCCGCTGATCTCTGTC	3	7351198-7351590

FAN-CON1779	3A	36.886	AACACGACTCTGGGTTTGGT	GGACAAGTCAACGTCCCA	3	8019693-8020093
FAN-SCF97	3A	37.146	TCCTTTGACATGATTGCCACG	AGTCAATGTCAACCTCCACTGG	3	6958967-6959366
FAN-CON1118	3A	38.235	GCATTTGCTTTCAAGAGCGC	GGTAAGTTTGTCTGCAGG	3	7052910-7053309
FAES0319-3A	3A	40.401	AGGGGAGGCCTCACTTAGAG	TATCCATGAGATCCCAGCCT	-	-
FAN-SCF1412	3A	41.069	TTCTCAGGGAATTGGCAACT	AGTTCTTGGTTTTGTTGTGTCCA	3	19851160-19891559
FAN-CON1725	3A	42.253	GCCAACCTTGTGAACTGGGT	GGCTTTGTTGTTGCAGATGC	3	7540572-7540882
FAN-CON1711	3A	51.031	TGAAATTTGCTTTGTGACCT	TCAGCTGCATGGTTGAGTGA	3	3872706-3876056
FAN-SCF259	3A	57.986	TGGGGTTGCACCTGAACAGT	CGCTTCTTGTCTCAACGGT	3	117480-117879
FAN-CON2997	3A	59.199	TCCTTGATTTAATTTGCAAGT	ACCCAAATCCCAATGCAT	7	14719126-14719148
FAN-SCF1168	3A	63.011	TGACAAGTTCTTGCATGACACA	AGCCAGGCTAATTACCTAAGCT	3	2487581-2487900
FAN-CON3137	3A	67.243	CAGTCTTCAATCCTCCACCAGT	CCACCAATATTGCTTTCATACGGT	3	13893182-13893208
FAN-SCF2905	3A	68.596	TCCGCCATTGATCATGAACT	TCTTGACCTGTGCGCAACC	3	12060205-12060599
FAN-CON3056	3A	73.256	GCTCACCTGCCAAAGTCTCT	TCCTCTCAAAAAGTCGCGCT	3	20374117-20374158
FAN-SCF2859	3A	74.443	TGCAGAATGATGTAATGCCCT	TGTAAACTCTTGAGCTGGCTC	3	19750647-19750702
FAN-SCF1162	3A	85.792	TCCGGCTTATTTGGTGAAGACT	GAGCCAATCAGTCAATCACACA	7	14002188-14002310
FAN-CON984	3A	88.998	AGGAATCATACATTAGTTTCTCT	TGCTTAGGGAAGTCAAATCCT	3	5608121-5608363
FAN-SCF55	3A	89.546	AGGTTGGCCTTGAATCGA	GACCAGTCCGAACCTCTTGA	3	5867946-5868345
FAN-SCF1544	3A	91.645	AAGTCTTCCGCATTTTCTCT	CATCACACCTGTAAGCAAGT	3	2312529-2312926
FAN-SCF1545	3A	91.659	GACCACCCTCAAGCTCTCTG	TGCCGAGTGACCTCAAATCA	3	2309508-2309798
FAN-SCF1419	3A	92.335	GTTGATGCACACTAGAAATTTCT	CATTTGTCCCAAGCGCATCA	3	2573181-2573248
FAN-SCF1319	3A	93.449	ACGTGCAACTTGATTCTGAGA	GCAACAACATCGTCTTCTT	3	302561-302846
FAN-SCF1180	3A	99.646	AGTGGGAGAGACTCGTCGAT	TCAAGTCCAAGTCCGTCGAC	3	5637056-5637408
FAN-SCF11	3A	102.396	GCTTCCAGAACCCTGAAGCT	AGTCAGGCTGTTGGGTAAGG	7	14002188-14002310
FAN-SCF2496	3A	110.311	TGTTTTCCATTTGATCTGCTCTGT	GAAAACCTATTTCTCATGCATGT	1	2350471-2350649
FVES2387-3B	3B	0.000	GGTCAAGTAGGCAGGAACA	GCAGGGCTGAAGTATAGTGC	-	-
FVES2103-3B	3B	7.771	GCTCTTTCCTTTGGCTGAGA	ACAGCTCCAGCTTTCATGT	-	-
FVES3750-3B	3B	15.547	AGCTCTGAAGCGCTCTATGC	TCAGGGTCCAACCTTCTCTG	-	-
FAN-SCF1831	3-1	0.000	AGTCCCAGGTACAATCCCTCA	TCACAAATCCAGCACACTGC	3	9377159-9377414
FAN-SCF2133	3-1	9.289	TGTTGTCTACACTAACGGTTACA	TGTCTGACTCTTGTGTCTCG	3	20488759-20489153
FAN-SCF843	3-1	12.503	GGAAACCAGGGCGAGAAGAC	GTGTTGGCGTCGGTTGAGTG	3	12905789-12906085
FAN-SCF1876	3-1	15.223	AGGGAGAGCCATGGGGTTAT	TGTCGTCAAAGCCCCAATGA	3	21626532-21626903
FAN-SCF2718	3-1	19.626	CACCAACACACGATTAAGCA	TCATTGAGTCTATGGCAAGACA	3	16575243-16575518
FAN-SCF2220	3-1	19.671	TCCAACATCGATGGAAGGTA	TGTCATGTTAGCATCTGTAGT	3	17264436-17264681
FAN-CON3129	3-1	28.263	AACATTTGGGTTTGTGCGCC	GTCACATTTGTTCCGAGGTCT	7	10195419-10195705
FAN-SCF252	3-1	34.639	ACATGTCAAACGGTGAAAGCA	TATGCGAGCGAGTAGATGC	3	24661969-24662295
FAN-SCF593	3-1	38.200	CCACTGCTGGAAGCCGAAAC	AGGATGGAATTTATCGCCCGA	4	7028979-7039083
FAN-CON1130	3-1	39.430	GCAGGTGGATGTCGGATTCA	GATTTGACGATCGGCCAAGC	5	16155482-16155766
FAN-SCF1457	3-1	39.751	TCAACAAGAGAGATGCCGCA	TGCAATGAAGGATGGTGCC	3	25239440-25239830
FAN-CON1795	3-1	39.760	TCGCAATGCAGATTTCTGTCC	TGAAGTAGCCTTTGATGACT	3	25251695-25252093
FAN-CON1154	3-1	40.561	GCTGAGTCCCTCGCATGTTA	ACATCACTTCAGCTGCACCA	5	16151073-16151358
FAN-SCF1631	3-1	48.033	GCATGCACTACAGTACTCGA	GATTCAGTTGAGCTGACTACT	3	32599101-32599182
FAN-SCF1571	3-1	49.785	CAAGCCAAAATGTTGCACCT	AAGGTTGTGCAATTCATCA	3	32314300-32314694
FAN-SCF1683	3-1	50.685	CCACGGGCCACTTTTCTCTT	CCTCATTTAACGACGCGCTG	2	20905903-20906055
FAN-SCF1357	3-1	50.693	AATCTTGGGCAATCGTTCCG	TCAACTGAATCGGCCACTTT	3	31195471-31195828
FAN-SCF1414	3-1	50.764	TGGGTCAAATTTTATGTGTTTCGT	CTCCTCGGCACCTCTTATT	3	31207361-31207591
FAN-SCF2622	3-2	0.000	GAAGAAGGGTGGCGTACAGAT	TGGGCAATCTATCTGGGTGG	3	904192-9042177
FAN-SCF2728	3-2	2.599	CCTTGCTTAAAGAACGACCGC	AGATGCCTAGACCGTTTGTTCG	3	9462245-9462390
FAN-SCF2446	3-2	11.827	CCCCGTACTTGAGCGAACAA	GCAGGGCCTCATAAACCTCA	3	18843080-18843476
FAN-SCF2697	3-2	13.841	CTGGATCGTACCTGCACTC	TTAGGAGGGTCTTCCGTGA	5	22983779-22984197
FAN-SCF2465	3-2	18.918	AAATTTCTCTGCGCATTCGG	TCTGATTTCTGTGGTTTAGCA	3	12134241-12134242
FAN-SCF2610	3-2	24.101	CCAGGCCATCTGAGAAGCAT	CGTATCCGCGTGTATCCGAG	3	13255257-13255511
FAN-SCF2856	3-2	29.064	ACTGGCTGAAAATGAAAGCA	TCCCATATCCATGCCAGTTGG	5	21583856-21583959
FAN-SCF367	3-2	30.437	ATCTAACGCTGCCCTTCTCTT	AGTGAAGGTCTCTGGTCTGA	3	29119775-29119894
FAN-SCF2093	3-2	31.797	GGTGCAATCCAATGAGCAGG	ACTCAGGCTCGGTAGACCAT	3	22262073-22262299
FAN-SCF66	3-2	32.361	GAGCAAGAAATGGTGGCACC	TTACGCAACACCACAAGGA	3	29379153-29379406
FAN-SCF905	3-2	39.158	GGAGGGCTGTTCTTCACTGG	TCTTACGCAAGTGCAGTCTG	3	22549713-22549953
FAN-CON1741	3-2	39.943	TCCCAGCGCTTCAATCCTTT	CGTTTGGATACGCTCTGGGG	6	27059228-27059251
FAN-CON1076	3-2	40.485	GCCCAGCCCTAAAACAAGC	TCCGTTTTCATCGAGAACCA	3	22549227-22549626
FAN-SCF1392	3-2	40.910	CAGGAGGAAGCTCATGTGGG	TGTGATGGAACCTAAAAGCTCT	3	26901075-26901486
FAN-SCF1403	3-2	40.993	ACCAAACGTGCCCAAGAGAT	TGCATATTTAAGAGGTAGTGCA	3	25461335-25461672
FAN-SCF1401	3-2	40.997	CCACGTGGGGTCGTCAATTT	ACCAATTTGATACCTCAATTCTCA	3	25462175-25462407

FAN-SCF1619	3-2	42.006	CTCAACCTAACGCTGGGAGG	ACAACACACACCCTTAAGGACT	3	26861964-26862362
FAN-SCF362	3-2	42.646	CGAATCTTACCAACATTGATTGGA	TCTCAGAGACTAATCTGTGCC	2	6880598-6880965
FAN-SCF1164	3-2	45.328	TGAGTCCCGTGCAGATATGC	GGCGGGAGGTGGGGTATATA	3	31441469-31441605
FAN-SCF1163	3-2	46.055	CATTGGGCACATGCTTAGGC	TGAAACCAGCGTGAACCTCC	3	31441469-31441606
FAN-SCF1209	3-2	46.796	TCAAGATCTGGTGAGGGGAA	TGGTGCCGATATGTAAGAGA	3	24085198-24085384
FAN-CON1086	4C	0.000	AGGCCAACTGAACCATCGTC	TTTGTGGGATCTCGCGAGTT	4	7766986-7767122
FAN-SCF2669	4C	10.129	GCTGCTTGCCGGAATTTCTC	TGTTGTGTGCTACTACGTGGA	3	28441511-28441911
FAN-SCF294	4C	22.299	GTGCCTTCAAGGAGCTGGAT	CCCTGCCATAAATTGTTAAATGCA	4	22202764-22203163
FAN-SCF163	4C	22.844	GGTTCGCTATGGCTAGTCC	AGCTCAAGTTGTGGGTCCA	4	22363717-22364056
FAN-SCF231	4C	23.090	ACTGCTTTCTCTGTGGTTT	AGAGCTATACAACACTGAGTCT	4	22008076-22008475
FAN-SCF402	4C	23.522	GCACGCCTCCTCAGTTACAT	CGAGCTGACGTTTAAAGTCCA	4	22640567-22640947
FAN-SCF345	4C	24.286	AAGGGGACGGTACAGTACT	GGTGCCATCCATTGAGGCTA	4	22292764-22293102
FAN-SCF909	4C	26.575	ACCCCTAACTAAGTCATCACCG	CCTTGTGGGCTCGGGCTAA	6	21985116-21985169
FAN-SCF945	4C	27.976	TGCTGCACATTGTTCACTCT	TGTTTATTCACTGTTTATCAGATG	4	23040342-23040504
FAN-SCF578	4C	29.845	GCTATTACAGGGGTAAGCA	GCTTAGTGCAAAAATGCAGCC	4	25972133-25972532
FAN-SCF637	4C	30.395	ACTAGGAGGAAGGGCCCTTT	ACACCAAGATCAGCATCATCA	4	26476579-26476858
FAN-SCF824	4C	30.813	TTCCCTATATATGTTCCCATGCA	ATGCGCACCCAGGCTTAG	4	24568435-24568834
FAN-SCF309	4C	31.459	CCAATAAAACTTGCGGCGGT	TGGTGGGTGCAATTGATTG	4	24851133-24851532
FAN-SCF377	4C	31.794	GCTGATGAAACATAGTAATCCGA	TCCGACAAAATGGATATTTTCT	4	26910570-26910801
FAN-SCF719	4C	32.215	AGCCTCCCAGCCTAACAGTA	CATGATTCAATGACGCGGCC	4	26613015-26613412
FAN-SCF399	4C	32.215	ACCTCTCAAATGTGGTTCTCA	CCCTTAGGACCTTCTGATGC	4	26707960-26708303
FAN-SCF405	4C	32.238	TCCACAAGAACCTAAAAGCAT	GGTGAAGGTAATGAAAAATCTGT	4	26145596-26145936
FAN-SCF468	4C	32.260	ACCAAAATCATAAGCAAACCAGA	TCAGAAGGAAGCTTCTAGAGCA	4	26624055-26624454
FAN-SCF956	4C	32.569	ACCAAAATCATAAGCAAACCAGA	TCAGAAGGAAGCTTCTAGAGCA	4	26624055-26624454
FAN-CON1146	4C	32.741	ACTCTTAGCTAAATGGTCTTGCT	ACCCTATATTGCAAGAACACCT	4	24693600-24693962
FAN-SCF39	4C	32.927	AGTCCCAAAGCCTGAAACCA	CCAGGTATTGGTCAAGTTGCT	4	25186628-25187027
FAN-SCF6	4C	33.135	CATGGCAGGCTAGCTTCGAT	TGGACCGACTTCCCTAACAG	4	26359016-26359415
FAN-SCF131	4C	33.244	ACAATCAAACGTGAGGGGCT	CCAACGATGAATGTGAAGAACAGA	4	25687752-25688153
FAN-SCF607	4C	34.960	CTCGTGAAATTAGCATCCGTCA	TCTCTATGCACACTGACAACCA	4	24082358-24082757
FVES2143-4C	4C	41.378	GCTCAAGAGCATAAACCCTTTT	TGGAATGGAACCCATGATT	-	-
FAN-SCF1367	4-1	0.000	TGCACAGCCCTAACATAGG	TGGGTACAGAAATGCATCGAGT	4	13901505-13901874
FAN-SCF1369	4-1	1.982	ACCAAGTCCATAGAGCTTGCT	AGGTGGCTCACAAAATGTCGA	4	7475259-7475539
FAN-SCF203	4-1	2.881	ATTTGGGAACCTGTGACCAC	AGAAAATGATGGCGCTCAACA	3	8554786-8554880
FAN-SCF1496	4-1	6.577	GCCCAGAGGAGAAACATTTT	GGGACAAGAGTTTTACTTAGTGT	3	12497811-12497972
FAN-SCF1638	4-1	8.699	ACGTTTGGGCTATGTTGCTG	CCAACAATCTCGTAAACGTAAGGA	-	-
FAN-SCF1220	4-1	9.287	AGCTCAGATCAGAAAAGAACCTGA	AGGTTTTTCCCAAATCTACGTCT	4	9578047-9548197
FAN-SCF1181	4-1	9.503	GCATCAAAGCTCTCTGCA	TGGTGCAACAAACCCTTTGC	4	1487186-1487581
FAN-SCF1963	4-1	9.936	AGATTCAATTTTCTGCAAAATACC	TCCAAAATCGGAATCCGGA	4	4513784-4513824
FAN-SCF1499	4-1	10.535	ACACAAAGGTAATGCAACGTGT	TGTCAACTGACTGGATTTTCA	5	27655833-27656161
FAN-SCF1286	4-1	10.871	TGAAAGACAACGAAACTACCA	TGTTAAGGTCGTACCTTGAGT	4	1760491-1760603
FAN-SCF1678	4-1	11.308	TCTTTGGGCTTGAAGGCTCA	GCAGTTCGAAAGGAGTTGTC	-	-
FAN-SCF1590	4-1	11.569	TGAATGTGATGGCTATGACACA	CTCACGTGCACCCTTTTCTT	3	14722233-14722632
FAN-SCF1614	4-1	11.570	AGAGGGCAGGCTCTTTTAT	GCTTGGAGGGGAAAGAGAGT	4	4516205-4516260
FAN-SCF1422	4-1	11.845	AGGGTTCCAAAGACGGCTTTT	TGCCCCGCAACATTTCTTTG	4	5165229-5165380
FAN-CON1755	4-1	11.862	GTTGATGAGGGTAGGCCGAC	GCTTAAAGAGCCTCGAACCTCA	2	12803284-12803320
FAN-SCF1397	4-1	11.902	CCCGAGGCTCGAGTGATATC	TGCGAAATGGAATTTAAGCTGAGT	4	3650666-3650734
FAN-SCF1552	4-1	11.934	CCACTGCCGTCAGTGGTTAA	CAAAACCATGTCTCAGCGCG	4	9483769-9483830
FAN-SCF1687	4-1	11.950	TCCAATTCCTAACAGCCTAGC	TGAATGTATTGATATCAGTCAGA	4	2764170-2764465
FAN-SCF1377	4-1	11.953	TGGGGGTTAAAAGTCAATGAGGA	GAGAGATTCTGTGCTCTCCA	7	9413660-9413889
FAN-SCF1675	4-1	11.957	ATTACCAAGATAGAGCTATTTCT	TGGGAATGCCGAATACATGGA	4	3182853-3183256
FAN-SCF1379	4-1	12.864	TATCTTAGGATAGCCGGAACGC	ACATCACTCAATAGAAGAGGGGA	4	1618588-1618818
FAN-SCF1627	4-1	13.920	TGCTTCACTTGATCAATACCTT	AATAGACTTCACTTGAGCAA	4	4552312-4552702
FAN-SCF1487	4-1	13.962	ATCTACCCGAATCCAGGGA	AAAAATGGTGAAGTCAAAGGAAAGA	4	8141215-8141539
FAN-SCF1278	4-1	15.957	GATCGTGGGTTCTAGAGGGC	CCGTGCAAAAACACTGATCC	4	8180867-8181243
FAN-SCF129	4-1	17.031	AATACGACGGCAAAGAGGCT	TTCGATCATGGCCACCGAAA	4	11224954-11225216
FAN-SCF1186	4-1	20.935	TGGGATACAAGTTCGTAACA	AGTGAGGCTGATTTAGAGTTCCA	5	14764214-14764422
FAN-CON1071	4-1	39.116	CGTGAATGCTTCCCTTACA	TATGCTGCACATGGACGAGG	6	15826164-15826191
FAN-CON1087	4-1	45.140	TGCAGATGTTGACTCTGGCT	TTTTTACGTCCCGGACTGA	4	32415681-32415732
FAN-SCF290	4-1	46.067	TTCACCTAAAAATTCGTGTGT	ACTTCTTACACTGACAAAACCTCGA	4	32269269-32269656
FAN-SCF746	4-1	53.949	TGGGCCCGCTGTTAAACAT	GGGTGCTCTCCATGTGAAGT	4	28503790-28504115
FAN-SCF1373	4-1	59.297	AGCAATGGTCGCTCTCAGT	AGACTGGCATTGATGGGAC	4	25406618-25406825

FAN-SCF1516	4-1	60.671	TCTCAGAACCTCAGTCTCCACT	TTGACCACCGAATTCGCCACC	-	-
FAN-CON1143	4-1	64.137	TGGTAGCCTTCCCAATGCAG	ATAAGCCACCCCGAGTTG	5	11569758-11570157
FAN-SCF168	4-1	65.408	AGATGATGAGTTGCCAACTAAT	TTCAATTAGAGAAAAACCGATC	1	8562486-852695
FAN-CON1123	4-1	67.296	TGTGGAGAAGTTCTAAGAATCCCG	CGATCAAAGATGAAACCTAATTCC	6	1903611-1903648
FAN-SCF965	4-1	68.431	TGTGGAGAAGTTCTAAGAATCCCG	CGATCAAAGATGAAACCTAATTCC	6	1903611-1903648
FAN-CON1056	4-1	70.037	AGTGATTGGGCTGCATCAAA	GCTAGGTACAGTTGCCCTGG	4	21935175-21935548
FAN-SCF2101	4-1	80.345	TACATGAACCAACTCCGCC	GTTGCCCGAAATGAGCTGAC	5	2471136-2471237
FAN-SCF2222	4-1	87.627	GTAACATCGACGAGCTTCTGC	ACCAACTAAGAGAAATGTTTGCT	7	1938947-1939104
FAN-SCF126	4-1	95.961	TCAACAGTTCAACACACTGA	TGTAAGCACTAGAACACTGGA	4	1265833-1266095
FAN-SCF164	4-1	95.979	TGCAGGCAATGGATCGTCAT	TCATTTGCAATGAAGCATCGCT	4	1524501-1524913
FAN-SCF390	4-1	97.650	TCTAGGGTTTGAGGACGCAA	GCATACAATTGGCACGTCCG	4	1770856-1771285
FAN-SCF383	4-1	98.452	CCGTCTCCCATCACTCTCT	GGCGACTCAAGAGTTACCGA	3	11683723-11683764
FAN-SCF1331	4-1	100.720	TGGACACCAGAAGAGCAGAA	GGCAATGCCCTCCTCAGTAT	4	3650029-3650430
FAN-SCF1361	4-1	103.314	TGTTTACACTTGCTTGGCTT	ACCTTCCACTTATCCACTTTGA	4	5053483-5053601
FAN-SCF516	4-2	0.00	TAATCAGACCGCTCCCTCCT	TATGGAGCCCATAGCCAGGT	4	28252096-28252225
FAN-SCF197	4-2	1.58	CATCAAAGAGGGGTCGGCT	ACAGTAACCCATGCGATACAGT	1	21455604-21455985
FAN-SCF286	4-2	5.76	TGGACGTATGCTGGAGCCTA	GGAGTACTCAGTGCAGCCTG	4	24247781-24248036
FAN-SCF1471	4-2	6.99	TTTGCTCAAGCTGTGTTGGC	GTCGAACTTGTCCTTTTTGCA	4	23953278-23953673
FAN-SCF553	4-2	8.05	TGGTCATTTCACTGTGAATTGT	ACCTTCAAAACAGAAAGTTGACA	4	23988922-23989203
FAN-SCF423	4-2	12.29	ATGGGTGCTGCGTGCTAGCA	CGTTCTCCAGGATCCTAATCC	7	257891-257922
FAN-CON1702	4-2	25.89	TAATGCTGCCAGTCTCACC	ACCTCATCCATTCTACAGGTTAGG	4	13950878-13951058
FAN-SCF1256	5A	0.00	ACCTTGGAAATGAGCTGACGT	ACCCCTTTGAATGATTATGATGA	5	1087473-1087809
FAN-SCF260	5A	1.56	CCCGTACCAGAAAAACCTT	ACCCAAGTTTCCCTTTAGTCTCA	4	7824600-7824896
FAN-CON1015	5A	1.91	TCATTCATCTAGCGAACCTGA	AGTTTGTGTGAGTCGAACTC	5	1708322-1708548
FVES1802-5A	5A	4.03	ATGGTGAATTTGACATTCGTTT	ACCCCAAACCTAACCTCCCT	-	-
FAN-SCF480	5A	5.52	TGATACATGAGGTGGTTCCGA	TGGTAGGATCTTTGAAGACGT	5	2964486-2964724
FAN-SCF1555	5A	5.95	CTATCAGTCCCGACGAGCTG	TCAACTCTCTCTCCTCCTCC	5	4463520-4463919
FAN-SCF63	5A	7.70	GGTCGCTACTTACTCGGCTT	CACTGTAGAGCCCTCCACAT	5	3514433-3514707
FAN-SCF1452	5A	9.57	GGGTGATACTCTTCAAGGCACA	ACGGTTTTGATGTTGTTTGAA	5	4489424-4489713
FAN-CON1765	5A	9.65	AGGGCTTGACGTCGAATGAG	ACACAAGTCTTCCGATGGAG	5	4307360-4307727
FAN-SCF1556	5A	9.77	ACAGCTTTTCCGTCATCAA	GGCCGAATTGCTCATCTATGC	5	4462542-4462938
FAN-SCF1601	5A	10.78	TCGGCAAAATCTGATATGTCGT	GCCACATGAGTTTCACTTAACACA	5	4598326-4598575
FAN-SCF227	5A	16.15	GCCCTCTGTCAGTCATGAAGT	TGTTGGTGCAAGTCAAGAA	6	24587240-24587632
FAN-SCF1410	5A	18.34	GCCTCAACTGGGCCTCAAAA	ACGAGGTCCAGAGGTTTTGG	5	7805375-7805702
FAN-SCF698	5A	18.89	CCTTTGGGCCCATGACTTG	GGTGTGATTAATCGGCCCGA	6	4563039-4563335
FAN-SCF1320	5A	20.44	CAAGAGGCAGTTCTCTGGT	GACTCCACAAAGCCTGGTCA	5	8673822-8674221
FAN-SCF1299	5A	21.01	GGCATTGAGAAAAAGCGGCA	CTTCACTGCTCTCCGAGACA	5	7081721-7082112
FAN-CON1722	5A	21.04	ATGACCTGATTGTCGAGCC	AGCAAATGGATTGTTCTCGGA	5	6078048-6078394
FAN-CON1069	5A	21.22	ACTTTGGTCCCTTGCTCTCC	CCTTGAGCCACTAACCTTGC	5	5735911-5736310
FAN-CON1060	5A	22.14	AGCAATTTGACCTAGGTCC	ATCTGATGCACGATTTGGC	5	7113976-7114375
FAN-SCF1623	5A	22.15	TGCAATCTTTTCCAGTCGGAGA	TGGGAAGTTCCTGACAATGGAG	5	6732500-6732898
FAN-SCF1688	5A	22.16	TGCTGCTGTAATTAGTTTTCTG	AACATCCGACTCACAACCTCA	5	7059511-7059910
FAN-SCF1467	5A	22.20	AAGCAAGAGAGGTGTGGTGG	TCTGCTCAACATCACCGGTC	5	7155395-7155794
FAN-CON1793	5A	22.22	TTGTCTCTTAATCAAATGATTGT	ACAGTATATCTCCACATGT	5	7172734-7173133
FAN-SCF1244	5A	22.76	GCTATGTAGCTTGGTCTGAACT	TCGGGACAAAAACTTGGACAC	5	5462934-5463333
FAN-SCF1341	5A	25.26	TCCTATGCTTGGAGGAGCCT	TTTAAACGTGTATGGGCGCG	5	9274286-9274620
FAN-SCF378	5A	27.64	TTGTTGCAATTCGTTTACCCT	AGTGAGTGGTCTGGTGATTACT	5	9274286-9274540
FAN-CON1066	5A	28.76	GCCGAAAACCGTGGTTTGAG	ACCGTGCTTGTGTACTCGT	5	8945836-8946223
FVES1392-5A	5A	32.63	GCCTCAACTGGGCCTCAAAA	ACGAGGTCCAGAGGTTTTGG	-	-
FAN-CON3054	5A	32.90	TGGAATCAATGGGACGTCCCTC	ACTCGGCCTCACACCAGATC	5	10283772-10284171
FAN-CON3015	5A	36.54	ATATGCCATCCTTGGTCCG	CTGGAGAGCTCGGCAATAG	5	10891387-10891732
FVES2911-5A	5A	38.32	TCGTTCTCATCTCCACACA	ACAGCTTTTCCGTCATCAA	-	-
FATS0011-5A	5A	47.14	AGGGCTTGACGTCGAATGAG	ACACAAGTCTTCCGATGGAG	-	-
FAN-CON1746	5A	48.14	TTGGGCCACTCGTCAGTTTT	TTGGCGGGAATCAAACCTGG	5	19058131-19058367
FAN-SCF1664	5A	54.23	GTTCTGATTGCTAGCATCTGCA	TCCTGATGCGCTACTCTTGT	5	19417205-19417604
FAN-SCF1681	5A	54.23	AGTGTGTTAACATTTTCTGTTT	CCAAGTCTCCCGAGATGCAC	5	18945707-18946106
FAN-SCF1323	5A	55.32	AGGATAACAATCTGTAGTGGGGA	TCACCTTAGCCCTCAGCAAA	5	17071448-17071491
FAN-SCF1427	5A	55.35	ATGGTGAATTTGACATTCGTTT	ACCCCAAACCTAACCTCCT	5	16969398-16969797
FAN-SCF1659	5A	56.32	AGATTGTTGGACGCCCTAGTC	TCCTCATCAGATAAGGTGTGCA	5	17393856-17394258
FAN-SCF1386	5A	57.53	CATGTTGTACGGAAGCGGCC	CCGTTCTTATCGAGTGGCT	5	18286650-18287049
FAN-SCF1385	5A	57.54	TGACCTTTATATCTGCAGTTGA	CCGCTTTCTGTCAAGCA	5	18285855-18286254

FAN-SCF2624	5-1	0.00	AGGCAAGTGGAAAGACTTTC	TGCGTGCAATTCAGTGATGGA	5	248582-248629
FAN-SCF2393	5-1	2.37	ACCGAGGGAACGTTTTGGTT	ACAGGTGACGCTATTAAGC	5	388639-388795
FAN-SCF2228	5-1	16.80	TGAACGATCGCTGTGAGTGA	CCTCTTTGGCTCCACGATGT	5	1848342-1848719
FAN-SCF730	5-1	30.64	ACCGGGTAACTTTGTTGGCA	ACTCACCAATATCCGATGTGGT	2	10795366-10795437
FAN-CON1134	5-1	32.33	ATCTGAGTTTTAATTCTCATGC	TGGTATTGTACAAGGAAAGAGAGG	7	2111414-2111539
FAN-CON1145	5-1	33.33	TGGAAGCACTAGCCTTTGTCA	GCAAAAGGAAAGAAATAACGTGGG	5	8070408-8070518
FAN-CON1115	5-1	50.20	TCATTTCCCTGGCAGCTACTGA	TCAGAAACCAAACTAGCCAAT	5	11182526-11182760
FAN-CON1720	5-1	52.87	TTATCCAACCAGCCCAACA	ACTCCTCTCTCATTTCGTCTGA	5	17163810-17164083
FAN-SCF1668	5-1	52.87	TCCTTCTTTGTTGTCTCATGCT	AACACCAAGCCCTCGTACT	6	12923444-12923464
FAN-CON1701	5-1	52.88	AGCATAGGGGATTAGGGGCA	AGAGCCTTCTTTCCGTGCA	5	19108939-19109258
FAN-SCF756	5-1	55.61	GCTACTGCATTTTAGCACTTTGC	TTGATAAACCACTTATAACGCG	5	24691171-24691218
FAN-CON3116	5-1	66.15	AGGACTTCCCATGATTGCGA	TGTTTGATTTCATGTTCCAGTGACA	5	28487605-28487913
FAN-SCF2655	5-1	66.20	TCACCATTTCAGTGTCAATGAGA	AGGAGATCAGCTCATCAAGTGT	5	2765954-27659616
FAN-SCF2145	5-1	77.08	AAGGAAGCGCAGTCACCTAC	TGGAGAGATTTGAATGCCAGT	7	11557987-11558042
FAN-CON1752	5-2	0.00	ACACTACCAAGCGCATTTCATG	TTGTCTCTACGACGTGGCTG	5	1901504-1901540
FAN-SCF1228	5-2	19.64	ACACCACATATGAAATGCGGA	ACGAAATTTGTAACAATCATGTCT	5	8990105-8990495
FAN-SCF1371	5-2	24.40	CCCTCAAATGACACGAACTGG	TCTTCCAAGTCTTCTGATGCA	2	14263558-14263577
FAN-SCF1644	5-2	41.45	ACCTTCAATTTGGAGTTGGT	GCTTCAGAAAGATGGCTCAGC	5	19435170-19435410
FAN-SCF1479	5-2	47.45	AGATCGAGGATTGTTCTTGCT	TGGAACATATGAACCCGAACGT	5	14161870-14161969
FAN-CON1698	5-2	47.49	TTCTGGTGGAAAGCGACTGT	CGTCCGGTCTCGAAACACTT	-	-
FAN-SCF1520	5-2	52.46	GGACTCATCCAGCCTACACA	TGTTGCTTGCTTTGCATGGT	3	23538748-23538852
FAN-SCF1432	5-2	58.85	TGATAGAATCGGTTCCCATGCC	TCCCTTTAGTAAGTGAACCCGA	6	10073486-10073511
FAN-CON1703	5-2	58.89	AGGAATTGGATAGGACTAGTTCA	TGGCACAAGTCCCTCATT	3	20784549-20784720
FAN-CON1697	5-2	60.95	ATGTGGCAGTCATCGGTTT	AAGGAGCTGCAGCAATGTTG	5	21278889-21279064
FAN-CON1737	5-2	63.80	CTCTGGCCCTGATTTGGTGT	ACAACCCCAACATATAGATGCT	5	22385458-22385855
FAN-SCF1211	5-2	65.38	GACGTGAACCGGATGTGAGA	AAGGAGTAAACAAGGAGAAAAC	5	23632365-23632561
FAN-SCF1382	5-2	72.43	CCCAAGATCTGCCACTCCTC	GCCCACTTCTTAGCCCTAA	5	29105545-29105717
FAN-SCF1206	5-2	76.10	CAGGGGATTTGGGCACGTAA	CTCCTCCAGGCCTGCAAAA	5	28768993-28769392
FAN-SCF1936	5-3	0.00	TGGGAAACATTGAGCTTCTCCA	AGCCAAGGAATACCAGTTCA	5	27668366-27668742
FAN-CON3120	5-3	1.28	TGCCCTTCGTTCTTGATAGTCA	AGCAAAGACCTCAAGCAGCT	5	27899317-27899416
FAN-SCF2210	5-3	1.64	CATCTCGAGTCTCCTCCGCC	GAGACCGGTGAGGGACAATG	5	28098669-28098766
FAN-SCF2100	5-3	2.77	TCACTTCACTTCTCAGTTGT	AGCCCAAGTATTCAAAGTTGTGC	5	28051187-25081471
FAN-CON3139	5-3	5.21	GGCAGTGGTTTTTGCTGTCC	CCCCATCAGCTTGATCAACCA	5	19101117-1910508
FAN-CON1718	6A	0.00	GGAATACCGAGACTCGTCACT	ACGACAATCCTAATCAATCCACTG	2	23509599-23509969
FAN-SCF858	6A	9.38	TCGAAATTCACACGAAGAAGA	TTGGACTATACTCTGCAATACTG	6	4581492-4581890
FAN-SCF338	6A	17.63	AGGGTGTGGAATATCATCACTCA	ATGGGCCTTTGTACCCGGTTT	6	7114971-7115361
FVES2555-6A	6A	17.80	TGAGGATAAGCCATCAAGGAAGA	CCAAAAATCTTGCTTGGTTGC	-	-
FAN-SCF735	6A	18.85	TGACATAGAGCTGCTAGGTAGA	TGTTTCTTCACTCTGCCAAC	6	7158469-7158868
FAN-CON1046	6A	31.07	TGAAGTGTGCAATCCTGGT	AACGGTGGCTAGATTTGGG	6	10237152-10237439
FAN-SCF246	6A	32.15	ACCCTGCCTCCTGTCAAAC	CACGGCTATACCCAAAGAGCT	6	10601014-10601413
FAN-SCF165	6A	33.18	ACCAGACTACCACTGTGCCA	AAGCAGGTGCGACAACTACC	6	14765076-14765398
FAN-SCF436	6A	33.89	TTCTTGACGGCAGACCAATGC	GGTGCAGTGGGTTTCT	6	14629000-14629399
FAN-SCF715	6A	36.28	GCACCTTTACTCGACTTCGGA	CCCAGTATCCTACCTTGAACCA	6	14511815-14512028
FAC-SCF1194	6A	36.66	CAGGAGGGACTGGAAAGACA	TGTGTTGTCATCCCACTAAGCA	6	565282-565681
FAC-SCF1195	6A	36.70	GTGCTACCGCTGAGGACAAT	CTAACATCCTCTGGGCGTG	6	565586-565908
FAN-SCF438	6A	38.49	ATCCATCAAGGTGCCAACTC	TGGGTGCTGACTTTAGAGCC	6	13401292-13401547
FAN-SCF1411	6A	43.10	TTTCGCTTCCAAGTACCAAC	AGTTTGTCAAATCTCACCTCC	6	20001510-20001840
FAN-SCF389	6A	43.76	TACACCGACAGGAGGTTGA	TTGATCCGAGCGAGCTTACC	6	21995951-21996362
FAN-SCF1365	6A	44.21	CCGAAACATGGTCCGATCCGT	CCCAACCTTGCTGCTATTGC	6	20575544-20575943
FAN-SCF1327	6A	44.22	TCGGTCTCAAGTTTGACGGT	ACAGCTTACTCTTGAAACCC	6	20853694-20854093
FAN-SCF1313	6A	44.28	TCGTTGGAACCTCAGGTTGG	AGGGATATTGATGATATTGTTGCA	6	15327400-15327796
FAN-SCF1603	6A	45.02	GCTCCAGCTTTAGAACTAGC	AACTTCAGCACACCACGACA	6	21340868-21341267
FAN-SCF1334	6A	45.43	ATGGGCTCCAGCTCTAGTCA	AGAGAGAGTTCAAAGAGGGGT	6	21760160-21760559
FAN-SCF1333	6A	45.43	GCGTAATATATGAAAACCGGCT	TGGCAACAGAAGTACCCTCT	6	21759583-21759994
FAN-SCF1269	6A	45.43	CCCATACGCGTGGCTTCAAT	ACTTATCCTCTTCTTGATGTGGG	6	21492525-21492807
FAN-SCF1270	6A	45.50	TTGGCTCTTTGAAATATTGGGGT	ACTCATCAACTACTGTCAACA	6	21777439-21777838
FAN-SCF1551	6A	45.51	TTTGGTTTGGAGGCTGAGGC	CAAGCTCCCTACACAGCA	6	21679272-21679671
FAN-SCF1300	6A	46.04	AGCTACGCCCTTGATAGCAA	TCCTCTGCTGTTTGGTTCGAT	6	12861428-12861812
FAN-CON1153	6A	46.22	ACAATCAACTCCAAAGAGGTGCA	ACCATCCTCAGTCTTGGGAT	6	21433559-21433813
FAN-SCF58	6A	47.02	CGTGTCTCGTGCAAAGCAA	AGGGCCCTCTATTACAATTCCA	6	28474684-28474954
FAN-SCF83	6A	47.05	TGGCAAGCTAGATAGAATTTGT	CGTTTCAAATTTAATGAAATGCT	6	23220621-23221030

FAN-SCF115	6A	47.07	GTTTTCTGGCGAACTGCTCA	TGTTTCGAAACCGATGATTGACA	4	6128407-6128426
FAN-SCF135	6A	47.20	GGCCAAGAGACATGATTTTCTGG	ACCCGACAACTCAAAATCAA	6	21563283-21563682
FAN-SCF238	6A	47.29	GCTGAGAATTGAAATTCGCTCC	AGAAAGGAAAGGGGGCCATG	-	-
FAN-SCF450	6A	47.31	CAGATAATACGATTGTAGACGACA	ACCTGTAAGAGCATCTGCCAC	6	22164873-22165272
FAN-SCF166	6A	47.51	TCTAGCGCAATCTGCACCAA	TCAATGAAACGTACGGCGGT	6	22152785-22153184
FAN-SCF105	6A	47.56	ACGTGGAAGAGAGAGTGAGGA	ACACTTCCACTTTAACATTCCACA	6	21410739-21411138
FAN-SCF59	6A	47.56	TTCCCAGATCACTCTGCTGA	GGGTTGTTAAGGTATAGTACTTGG	2	13623705-13624099
FAN-SCF185	6A	47.57	ACTCAGCAATCGATCTGGTGT	GAGAGAGAGCACTGACCAGC	6	21786636-21787035
FAN-SCF51	6A	47.73	TCCCAGACGGCCAGAGAATA	GGATGATTCGGTTGTGTGG	6	22330843-22331242
FAN-SCF215	6A	47.87	TGAAGGAAGAGGGAAGTGT	TGGTTTAGGGTGTTTAGGGGT	6	14779262-14779551
FAN-SCF437	6A	48.02	ACCAATTTATCGAAACTTCACCGA	TCGATCAAAGACTTGCTATCGA	6	22909018-22909416
FAN-SCF173	6A	48.81	GCACAAAATATTGCTGATTAGGCA	TGCAGTTTCTTATATGTTTACGG	6	23136813-23137047
FAN-SCF388	6A	50.11	TGAGGAGTAGGAGCTGTCCA	TTAGCTAAGCAGGGTTGGCG	6	24286158-24286551
FAN-SCF833	6A	53.96	CTAGCCTGGTCAACCGACTC	TCCCATTAGTGTGGTTTAGCGA	6	25589098-25589497
FAN-SCF1290	6A	56.24	TGCGACAGGATAATCATGACGT	ACCCCTACTCCATCATCCCC	6	20202559-20202954
FAN-CON1749	6A	64.59	TGAGGATAAGCCATCAAGGAAGA	CCAAAAATCTTGCTTTGGTTGC	6	28127326-28127724
FAN-SCF108	6A	65.08	TGCATACATTTCTGTGCGA	CCAGGTAACGATAAGGGCCC	6	21857853-21858262
FAN-SCF418	6A	66.76	AGAATCTAGACTGATGGATCGT	ACCGACGTAATAACAACCA	6	31347505-31347862
FAN-SCF420	6A	74.76	TGATCAGTTTTCTCCCACTG	CTACCAAAGGTACCGGAGGC	6	30689884-30690283
FAN-SCF1554	6D	0.000	TACAGTCCCGATGCCTACA	GAACAACCCGACACATGTTGA	6	34478285-34478570
FAN-SCF1198	6D	3.934	GAAATTCACAATGAATGAGTCTGA	GTGCCATATCCTCCTTTCCCT	6	34893888-34893489
FVES3441-6D	6D	6.192	CTACATCTGCAATCCGAGCA	TCCTCCTGATCATCTTTTCG	-	-
FAN-CON1792	6D	8.707	TGATAGCGAAGACCAATGCA	ACGCCTCCATCTTTTGCCTT	6	34322399-34322798
FAN-CON1756	6D	8.720	GGACATCCTCAATCGTGGTGT	AGGCATTAAGGAGTGCATTGT	6	34325879-34326278
FAN-SCF1289	6D	9.652	TCCGTCCGTCTCTCTTCT	TTCTGTTGATCCAGGGCCAC	6	35118396-35118596
FAN-SCF1527	6D	9.871	CGGTTGTTTGGCATTGATCA	GAAAGCAAGCAACCATGGCA	6	35295448-35295842
FAN-SCF1450	6D	12.059	AGGCAACAGAAATGTAAGTAGT	TTTCAAGGGAGTCTCGAAACCA	6	36505748-36506133
FAN-SCF1574	6D	14.001	TCAACTTTGGGTGCCGAACT	AGAGTGCCTTTCAGTGCAT	6	37177690-37177950
FAN-SCF1242	6D	14.309	TGCGGGTTGTAAGAAAGAGCT	CTCATCCCAATCAGCTGCCA	6	37179672-37180074
FAN-SCF1573	6D	14.339	ACTCTCTGGACTCAGTGGCT	TACCTCCTCCAAGTGCAGGT	6	37177140-37177537
FAN-SCF1634	6D	17.486	GCGATGATGGTTATTAGATGAGCG	AGCTGATGGCAGTTAAGAACT	6	37994638-37994904
FAN-CON1798	6D	17.516	TGAGCCACTCCAAGTCAAT	ATTGGCTTTTGTGCTGACCG	6	37802844-37803243
FAN-SCF1583	6D	19.046	GAGATAAAGTGTGTTATACATGCA	AGGAGACCAGATGAAAAGGAACA	6	38535396-38535795
FAN-SCF1360	6-1	0.000	CACCAAAGGTTAATGAGCATAA	ACGAGACTCAAAAATTACGAAACA	6	3537653-3537705
FAN-SCF443	6-1	19.175	TCACAACGCTTGTCAAAGGC	ACCAGAAAGAGTATCCTCGTCT	-	-
FAN-SCF172	6-1	21.294	TTGAGGCTCATTGACAACGT	TGAGGGAGAGAGATAGAGGTGC	6	3493659-3493907
FAN-SCF1217	6-1	22.195	CGGCCATGATGATAGGCCAT	CGAGTTGTATACCCGCCTCC	Un	363040-363347
FAN-SCF316	6-1	23.184	ACAGCCTCAATCAGCTGCTT	TAAGTTTGGCGGATGATCCT	6	2504998-2505390
FAN-SCF1602	6-1	25.847	TCGGACGAGACTTTGTGGTG	ACCAACCTCAGTCCACTC	1	9453624-9453661
FAN-SCF1456	6-1	25.865	TGATGGATCCAAGCTGAGGC	TGTCAACCGAGACATGCATGA	6	3884057-3884290
FAN-SCF1362	6-1	28.025	ACCGATAAAATAAGCTAAGGTGA	GGATTCGTCTAGCCTTAGTCG	6	4902552-4902668
FAN-SCF1465	6-1	28.773	TTCGTGCGTCCGCTTATCCAT	GCAAAATGATCCTCACAGGGG	4	23081221-23081247
FAN-SCF1446	6-1	29.941	GGAGGAGTCAATACACTTGCTG	GTACTTCGGTACTTCTCCATATTG	6	6352395-6352739
FAN-SCF1251	6-1	30.385	TGATGAACGTGATCTCACCCA	ACACTATACTATATGCTAGCCTCA	6	6350232-6350402
FAN-SCF1636	6-1	30.398	CGTTTGGTGCCTGGATTTGA	GCAAAAACAGAAATTTCCGCT	5	19767685-19767758
FAN-SCF1297	6-1	31.380	TGAGGGATCGGGTAGAACC	GCTCTATTGTACTCGGGTTCGT	6	6090294-6090652
FAN-SCF1298	6-1	31.647	GCTAGAGAGCCACCTACTTC	TGGTATTGATGTTTTAGCCT	6	6090530-6090652
FAN-SCF769	6-1	38.118	CCGAAGAGATGAGCAACGGT	GGGACTTGATATTGCGCG	6	9394367-9394762
FAN-SCF656	6-1	39.775	ACATATCGCTGCTGGACCAC	AGCTAGCAACTCCGACCAA	6	10822978-10823285
FAN-SCF569	6-1	40.908	TGACTTTTCTGCTCATGTTGCA	GACCGAAACGTATCCATAAATAAA	6	10946444-10946849
FAN-SCF119	6-1	41.402	CCATCATTTTACAAACGCTACACA	ACGTGATCTTGAACGGGAA	6	11132414-11132696
FAN-SCF570	6-1	43.235	ACGAAAGTGGAGGTGCTCTG	TGAGCGAGATGAAAACGTCCG	3	5315532-5315808
FAN-CON1062	6-1	48.617	ACACCAGATATGCAACCACT	ATTTCAAATGGGCCGGGTCA	6	14238062-14238401
FAN-SCF273	6-1	48.759	TCTCAAACGCTTTGACGCCT	TGAGTGCTATTGTGGCGACT	6	18744174-18744235
FAN-SCF183	6-1	49.195	ACCATCGACGATGAGGAAGC	CGGGATGCTGGTCATACTT	3	31695069-31695130
FAN-SCF69	6-1	53.417	AGCGGTCCATTGACTCAACA	TGTTGTAAGCTTTGTCGGGA	6	14700987-14701320
FAN-CON1705	6-1	54.689	CGAGAAGTCAAGGCATCCA	TGGTTGATTCATAAGCATGCCT	-	-
FAN-CON1016	6-1	72.293	AGGGAATGGAGGTATAAGAGTT	CCTTTCTGGTAGCAGCCTTACT	6	26052420-26052541
FAN-SCF807	6-1	77.280	TGCAATAAAGCAAAGTTCAAAAAT	AGTTCTTTTGTCTCGTACACT	6	28062711-28062898
FAN-CON1693	6-1	86.828	ATCCCAGCAGTACCCAAAAGC	GTGATCTGCTTACATGGGGT	6	32591946-32592306
FAN-SCF605	6-1	90.657	TGCCCTCCTCTCGTTTTTTC	TGACTTCGAACTTGACCTCCA	6	18216050-18216445

FAN-SCF1295	6-1	92.153	GAGCCACACCCTGCAAACTT	GTCAACTAGCTAGGCAGGGC	6	35660136-35660434
FAN-CON1733	6-1	97.368	CCTCCAGAACACATACTCTGCA	GCTTTTGGCTTGTGCCATCA	6	33023692-33023884
FAN-SCF289	6-2	0.000	ACCCTGAAATGGTTAACGTGGT	GCCATATGCCTTACTCATATCT	6	20589193-20589212
FAN-SCF263	6-2	21.659	TGTTTAAACGGATCATAAATGCAT	GTCATTTCGGACTCGGTACA	6	12241307-12241731
FAN-SCF760	6-2	26.564	CAATGACCCTCACTCACCCC	ACCCTACACCATGATCCTCCA	6	9911049-9911186
FAN-SCF483	6-2	27.980	GGGCATTGGGATCTCAGCTT	CGTCGCCTAGTGACAAGGAA	6	9565771-9566099
FAN-SCF112	6-2	30.400	TGTAGGAGACAAACGCTAGTGA	TGAGTAGCAGCAGACTGTAACA	6	11944125-11944534
FAN-SCF34	6-2	30.646	ATTTGAAACGCGTGGATCGAG	GTCTCCAGCACCACCAGGAA	2	1358158-1358239
FAN-SCF84	6-2	31.585	CTTGAGGCGGACGATCTGTT	AGATTCGCCATCCCGCATC	3	1653607-1653678
FAN-SCF548	6-2	34.229	CCTGGGGTGTCAACTAGGC	ATCTGCCGTGTGATGCAAGA	5	10208591-10208636
FAN-SCF2886	6-2	35.964	ACACGAAGAGATCCGTGCAA	ATGTCTAACTGGGCGTCCG	3	14405075-14405171
FAN-SCF2448	6-2	37.401	GGAACCTCACAGTCCGACGG	GTCGATGGCTGTCAAGGTCA	1	23090058-23090058
FAN-SCF2082	6-2	40.191	GTTTGGGCTCTTCGGTGAAG	GTTAGCAACGCTTGGTTTGC	7	10920498-10920836
FAN-CON1743	6-2	44.241	CGAAAACCAATGCCTCAAACG	TCTGGTTTTGGCGCTGTAT	6	7183127-7183469
FAN-SCF2299	6-2	45.943	ACATTTCTGACCATTTTTTCGCT	GCATGGCCACAGAAAAAGG	5	20103683-20104055
FAN-SCF2247	6-2	48.946	CGGTGGTGATTTTCGCTCCTA	TCCCTTACCAAACTACCCCT	7	1587415-1587528
FAN-CON1099	6-2	55.227	AGGAGAAGGAATGGATCACA	AGGTTCTTTCTTGACTGGCA	6	28740651-28740822
FAN-SCF88	6-2	58.334	TCATACTTGTGCTGTAGTCACA	GGGTCTGTTTGTGGTTGGG	6	30325226-30325429
FAN-SCF847	6-2	64.088	GGAGCTTCTTTATTTTACTCGCA	TGCAAAATCCGGACAGCAAC	6	32014064-32014193
FAN-SCF846	6-2	72.011	TGTCAGACACAAGTTAGCTTTTGA	AATCACGGTCCAACACTCGT	6	35292089-35292279
FAN-SCF1657	6-2	74.504	ACCTCATCACAAAATTTGTCGA	TGCGCCTGAGATATTCGAT	6	3848395-3848804
FAN-SCF326	6-2	75.058	TGGTTTTTTCGCATTTTGTGGT	GGGAGCGTTGAAGAACACA	6	2118937-2119014
FAN-SCF279	6-2	75.395	CCACCTGGGGGTTGAAAGTA	CCGCTTTGCATAACTTTCCGT	2	15447700-15447757
FAN-SCF1285	6-2	75.530	AGTGCAGCAGACAAACCACA	TCAGTTTGAAGCCAGCTT	4	18194899-18195290
FAN-SCF434	6-2	76.794	ACGTTGGTTTCTAAGGGTGT	CGATCACAGGTCCTGAGAGA	6	35969226-35969306
FAN-SCF623	6-2	77.830	GATAACCGGCTGAAATGTGG	GAGCTGTCTGCTGGTACGT	3	25284798-25284881
FAN-CON1760	6-2	79.687	GCACATTATGAATGCATCAAAGC	AGATCACCAGTTAGCTCAAAC	4	21948607-21948703
FAN-SCF1514	6-2	79.738	TGATGGGTCGTAAGCAAAGA	CCACGATGCATTTGGTTTGC	5	12854746-12854836
FAN-SCF1652	6-2	79.749	TGTGTACGCAACGATGACCG	TGCATAAACTTGGGCCGCTA	5	28510916-28510950
FAN-SCF1673	6-2	79.756	ACAGTGTCCGACAGTTACTG	TGGGCTTAGGCAATGCTTT	6	993801-993875
FAN-SCF1674	6-2	80.270	ACTCTTTTCTCCAACAAGTCTT	CCGAGCAAACACAAGTCTTCG	6	2690787-2691068
FAN-SCF1364	6-2	80.271	GGGTGGTAAAAGTGAAATCTACT	ACCGAACGAGTGAAAAGGGT	6	1992435-1992628
FAN-CON1794	6-2	80.274	AGGCATCAATATGTAGGACA	TGCACATCCAATGATAAACCGA	6	2820286-2820468
FAN-SCF1346	6-2	81.510	TAGCAGAGACTCGTACAAA	AGTTTGGCGGAGGATTTGGT	6	1353975-1354126
FAN-SCF1515	6-2	81.937	TCATTTTCTCACTGGCAAGAGC	TGTA AACCCGACTGTGAACGA	5	12854522-12854580
FAN-SCF1173	6-2	85.500	GTGTTCTAGTGTCAAATCTTCGA	TCCTCACCCTTACCGTCTCC	7	1168517-1168536
FAN-CON1137	6-3	0.000	TCACCTGGAAATTCAGAGGA	TGCCAAAGGTCGAAAATGCG	6	13012521-13012836
FAN-CON1142	6-3	4.177	AGTTCATCCGAAGCTGTGCA	ACTGGATATACCCGCGATGT	6	12579743-12579956
FAN-CON1748	6-3	6.365	CCACTGAGAGAGAGCAGCAG	CCGCAGAAATTCCTTTTCGT	6	21092718-21093022
FAN-SCF1498	6-3	7.974	GAGCATATCCCGACTCCT	TTGTCGAGCTTCCATCGG	-	-
FAN-SCF1617	6-3	8.547	AGATCAATTTTCTGGACTGGA	ACTGTTACGGTCCGTATTCTGT	6	24566434-24566579
FAN-SCF1497	6-3	9.386	AGCTTTCGTTTAAATGGAGGCA	CTGCCACTACTCCTCACACC	-	-
FAN-CON1039	6-3	11.422	GAGATGAGGATGCAGGCCAA	TGCTCACTCTATCGATGGGA	6	20401011-20401336
FAN-CON1694	6-3	36.072	CAGCTCGTGAGTGAGTGACA	GCCGAGTCCGATGCTGATAA	6	34599157-34599445
FAN-SCF2188	7A	0.000	TTGTTGCCTTGCTCGAGAGG	TGGCCCTGACTCATGGGTA	7	2300810-2301209
FAN-SCF2900	7A	12.652	GGCAGACTTTCCAGCCAAT	GGAGAGAGAGGTAGCACAAAGC	7	1672845-1673121
FAN-CON3031	7A	12.821	TGTGACGACGATCTTTCTTCTG	GGCGAAGTCGAAAGCGTTTT	7	1670383-1670786
FAN-CON3055	7A	14.744	TCACCCCAAATTCAAAAGG	TGCCAATCTGAGGAGTCCA	7	1446720-1447119
FAN-SCF2866	7A	18.941	GAGAGTTCGAGTCAGTGCTA	TCGCGTAGTTGTCTTACCT	7	3501606-3502005
FAN-SCF1632	7A	27.119	CGAGACCCACATGCATGTCA	TGTACGTTGTTAAGGACTCCA	7	3565447-3565787
FAN-CON1032	7A	29.440	TCAGTGCCTGCTGATCGTTT	TCCAACACCAGCTTTGTCTGA	7	6515448-6515725
FAN-CON1699	7A	29.534	TTGATTTAGGAAATAAGGGACTGC	TTTCAGATGCATGCAATGATG	7	2562888-2563268
FAN-CON1716	7A	30.158	TGAAGGAAATGTCAAATACAAAGG	AGCACCGTATATGTGTTGGT	7	1614549-1614940
FAN-SCF2557	7A	30.209	GGAACCAAGTGCCTGATAATGC	TGCCAAAGGAACATTTGGGT	7	9493591-9493954
FAN-SCF14	7A	31.184	ACTATTGGATTAGTGCCATACCA	AGCTACCATGACTAGCTACTTCC	2	11289091-11289202
FAN-SCF625	7A	34.634	CTACTGCCACAACTCGGTG	CCAATGGCTACAATCTGCGG	7	8259563-8259843
FAN-SCF2326	7A	38.197	TGCCACAATTTGCAACTCCG	TGGATTCATGGACATAGGTGGAG	7	10674721-106774969
FAN-SCF1216	7A	38.639	AAAGGACCAAGACTTTCCTTAA	GAGAGAAACCGAACCACTGGG	7	9715428-9715814
FAN-SCF1598	7A	43.558	AGGGAAGAGATTCGTAGGGCT	ATCACCAACCCACCAAAAGTC	7	8530250-8530644
FVES3534-7A	7A	47.075	AAAGGACCAAGACTTTCCTTAA	GAGAGAACCGAACCACTGGG	-	-
FAN-SCF1907	7A	50.140	AGAGCAGATCTGGGTCGAT	CCTTGAGGCTCAGCTTGACA	7	17339380-17339779

FAN-SCF33	7A	50.459	ACGAAACTGGCTCTGCTAGG	ACCCCAACAATTCGAAGCA	7	16926268-16926609
FAN-SCF1243	7A	53.526	CCTCCCTAGCCTCCATCTCA	CTCGATCATCACCTTGGTCCA	7	18909007-18909297
FAN-SCF1594	7A	53.544	ACTACGTAAGAGATGGTTTCGA	ACACGTAGTCATGGAATTCCT	7	18319774-18320070
FAN-CON1723	7A	54.680	GCTTAAACATGACTACGAGCACA	AATTTTCAAGGACCCCGGCC	7	19059681-19059981
FAN-SCF628	7A	55.040	TGGCCGATTCCTGAGAAGTT	GCACCTACATGGACCAGCA	7	18739336-18739649
FAN-CON1750	7A	55.709	TCGTAAAGTGTATGATTCTCTCCA	GTGTGTTAAATTTATGTCGTACCA	7	19407366-19407765
FAN-SCF787	7A	55.808	TGGCCATTTTGTAGCTGCCT	GGAGAAAGTCCAAACCCTGTCT	7	19252004-19252325
FAN-SCF1665	7A	56.741	TGCAATTGAACGGTAAGTAGAAGC	GAAAGACCATCCGGAAGACA	7	20390519-20390788
FAN-CON1764	7A	56.744	GCGGAGTTCGAAGCTGAGAA	AAAAGCAGGACGGGTTCTCC	7	20983723-20984067
FAN-SCF1202	7A	58.328	TGTGTCAGGTTGGATGGCAA	TCTTCCGAGTGAAGTGTGCA	7	20938470-20938869
FAN-SCF1629	7A	60.316	AGTCGGATTCTCATCTGCGA	CCACGAAGATGCAACAACCC	6	36227570-36227612
FAN-SCF1637	7A	62.514	GCTGCACAGGGGTTGTATA	TGGATTCTCAAACCCGCA	7	22218991-22219324
FAN-CON1128	7-1	0.000	TCGACATAGTGAACGGTGCC	CAATGGATTTGCGGCACCA	7	423374-423768
FAN-CON1053	7-1	0.955	GCTGCAACAAAATGGCTTCC	AGGAGACTTAAGGTATTGATCGA	7	344631-344903
FAN-CON1059	7-1	2.202	CCTAGCTCGGCAATCAGAGG	TGCAGTCAGGACAGTTGAG	6	30104705-30104918
FAN-CON1097	7-1	12.051	ACGTTGACGCGTAATTTGGA	TGCAGTTGGTGAATGTTGA	7	6499804-6500187
FAN-SCF474	7-1	15.297	TCGTGGGCTTAAGTTCTCAAGA	CTCGCAAGAGTATTCTCCA	-	-
FAN-CON1122	7-1	16.493	AGGACTTCTTTGATAGTACCGACA	TCTTCCAACCCACAAGCAA	7	7598690-7599115
FAN-SCF145	7-1	18.550	GCAATTTCTAGAGAGGCAAGCA	TGCTTTTAAAGACAGAGAAGACA	7	5750781-5750840
FAN-CON1073	7-1	26.946	ACCCGTGAAACAATAGGGAAC	AAAGCGATATACATAACATGCACC	7	11248187-11248367
FAN-SCF961	7-1	28.072	TGTGCGAATTTAATTTCCACACA	GAGGAAGCATGAGCATCGGA	1	2921830-2921960
FAN-SCF139	7-1	31.922	TGCAACTCAACCAAGCCAGA	AGTTTCACTTTGTAGCCACTGA	7	12594627-12594928
FAN-SCF2675	7-1	36.823	TGATGAAACGGGTGAGAGGC	CGGGGTTTACCGTCACTTT	1	1525420-1525553
FAN-CON2996	7-1	41.017	TCTTCACTAGTAGCTGAGCTGT	GGAACACAGTTACACAGAACCT	7	15790606-15790990
FAN-CON3047	7-1	43.447	TCACTTCTCACTCGTCACA	TGAAGGTGCACTTAGCTCTG	7	16363277-16363675
FAN-SCF2814	7-1	47.850	GTGAGAGGTAGAATGGTGTGCA	TGGAAATGAAACCAGATTAATGG	7	19266946-19267291
FAN-CON3007	7-2	0.000	ACTAGTTGGATAGTACTCAGAGA	AGAGGCACTGTTCCCAACTG	7	3831277-3831470
FAN-CON3119	7-2	2.418	TGGTCCGATGTTCCGAAATCT	ACACCAAGCGGTATCGAACA	7	3250333-3250713
FAN-CON1065	7-2	4.498	TGAAACCTTCAACAATCCAAAACA	TCATCGTAAAAGATGTGAAGCCC	7	2552012-2552209
FAN-CON3083	7-2	7.772	TCAAACCAAGGAAAGCAAACA	TCCATGATCAGATGCATGCTCA	5	10239029-10239281
FAN-CON2978	7-2	23.004	ACTCATAGCGTAATGATCGAGA	TGCTTAAACGACACACAACGAC	7	13064366-13064477
FAN-CON1025	7-3	0.000	TGAACGGAAACTCTTACGT	TGGACCAATCAAACACACA	7	21504945-21505040
FAN-SCF78	7-3	6.292	GACCATTGCTCGCGGATAGT	ACAGCACGTTCTGAGTTGAT	7	23293212-23293479
RPCHRM12	7-3	17.008	GCACACAGGAATATACTCGGTAA	GCTAGCACATCATATTTGTTGCAT	-	-
FAN-SCF1178	Un-1	0.00	ACTTCGGGTACAATGGCTTCT	TCGAGGCTTGATGAAGAACCT	3	25395876-25396034
FAN-SCF1223	Un-1	3.73	AGCAGGTTATGAAAGCAATGGA	ACGTCCCTAATACTCTTCCTCGA	5	6328888-6329017
FAN-SCF1343	Un-1	8.87	AGGAGTAGGTCAAAGATTTTCATCA	TGCATTGTAATCGTCTCACTC	3	25302425-25302577
FAN-SCF1344	Un-1	8.87	GTGAGTGAGACGATTAACAATGCA	ACACACCGTATGGCAAACCTCT	3	25302394-25302577
FAN-CON1717	Un-1	9.80	CACCACATGTGCCTCCAATG	AAGAAGAAATGGGACCTGC	4	14928492-14928580
FAN-CON1719	Un-1	9.81	TCCTCAAATGTACAAAATCCC	GCCTCTGGGATCAATTTCTGC	3	18021897-18022252
FAN-SCF2561	Un-1	15.02	GATGAGTTGGTGCCAATCGG	CCAAGCCGCGAGTTCTCTA	3	10564713-10564892
FAN-SCF1882	Un-1	16.63	TTGTTCTCTCGAGGTCCTGC	TTGTCGGCTATAITCCCGCC	3	32867110-32867517
FAN-SCF76	Un-1	16.77	GGATGAGAGGAACCGAGGGA	TTGAGATCTCGACCCGTTCC	7	7221386-7221749
FAN-SCF743	Un-1	17.89	GCTCCAGCTTAGTCCATGCA	GCCTGAAGAAAACACACCGG	4	15153915-15154307
FAN-SCF1540	Un-1	19.04	GCCCTCACCGTCTTCTCAAC	GTGAGGTTGAATGGGCAGA	4	15153736-15153887
FAN-SCF1394	Un-2	0.00	ATCCGTTCCCCCTCCTCATT	CATGGTCCGTTCCGGTTTCT	5	28592939-28593341
FAN-SCF1530	Un-2	1.10	AAGCTCAAGGATCAAGGGGC	CATCCGAGGGTCCCTATCT	4	11949968-11950024
FAN-SCF1531	Un-2	2.02	AGATAGGGACCTCGGGATG	GGAGTTTCTGCCATGGGTG	6	19159779-19159883
FAN-SCF1475	Un-2	7.06	AGTTCGTAAGAGGCTGTCA	CCACATAAGCCCAATAGCTCT	6	6128202-6128320
FAN-SCF1252	Un-3	0.00	TCCTTCTTGTCTGCTACGC	TGTCGCCATCAGCCAAAGAT	3	20932292-20932315
FAN-SCF1310	Un-3	0.45	TTTGGCATATAAGGGTTATCTCA	ACACGGACAACAATAAGGACTGA	7	2682418-2682456
FAN-SCF1253	Un-3	0.47	GGGAGGTTAAGCTCGAGTGG	AACCTCGATTGTCGTCGTCC	3	25606759-25606794
FAN-SCF1387	Un-3	0.62	TTTGTGTAACATCATGGTGGTT	GCTTGTAGGACACACATCATGA	4	20798292-20798501
FAN-CON1790	Un-3	0.63	TGCTGAAAGGTCCTCTCTG	TGGGAATGGTGAAGTCTTCTGT	2	25065404-25065476
FAN-CON1789	Un-3	0.63	GCAGCTACTGATGTCTTGC	TGCTGATAGAGAGCCGATGG	2	25061956-25062279
FAN-SCF1670	Un-3	3.76	AGACCCTGCACAACCTATGC	GGGAAAGCGGATGTACACAA	7	398706-399035

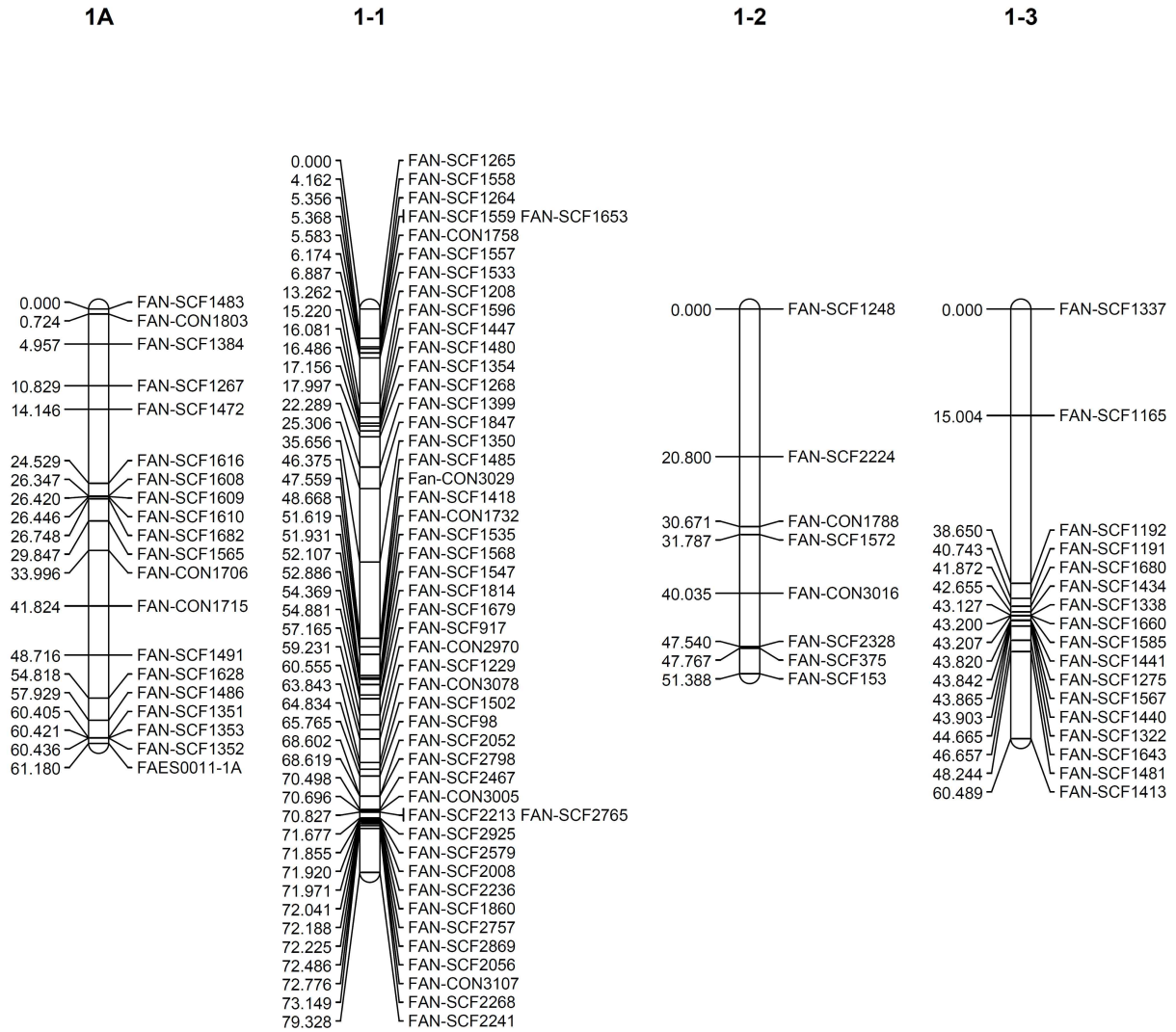


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도.

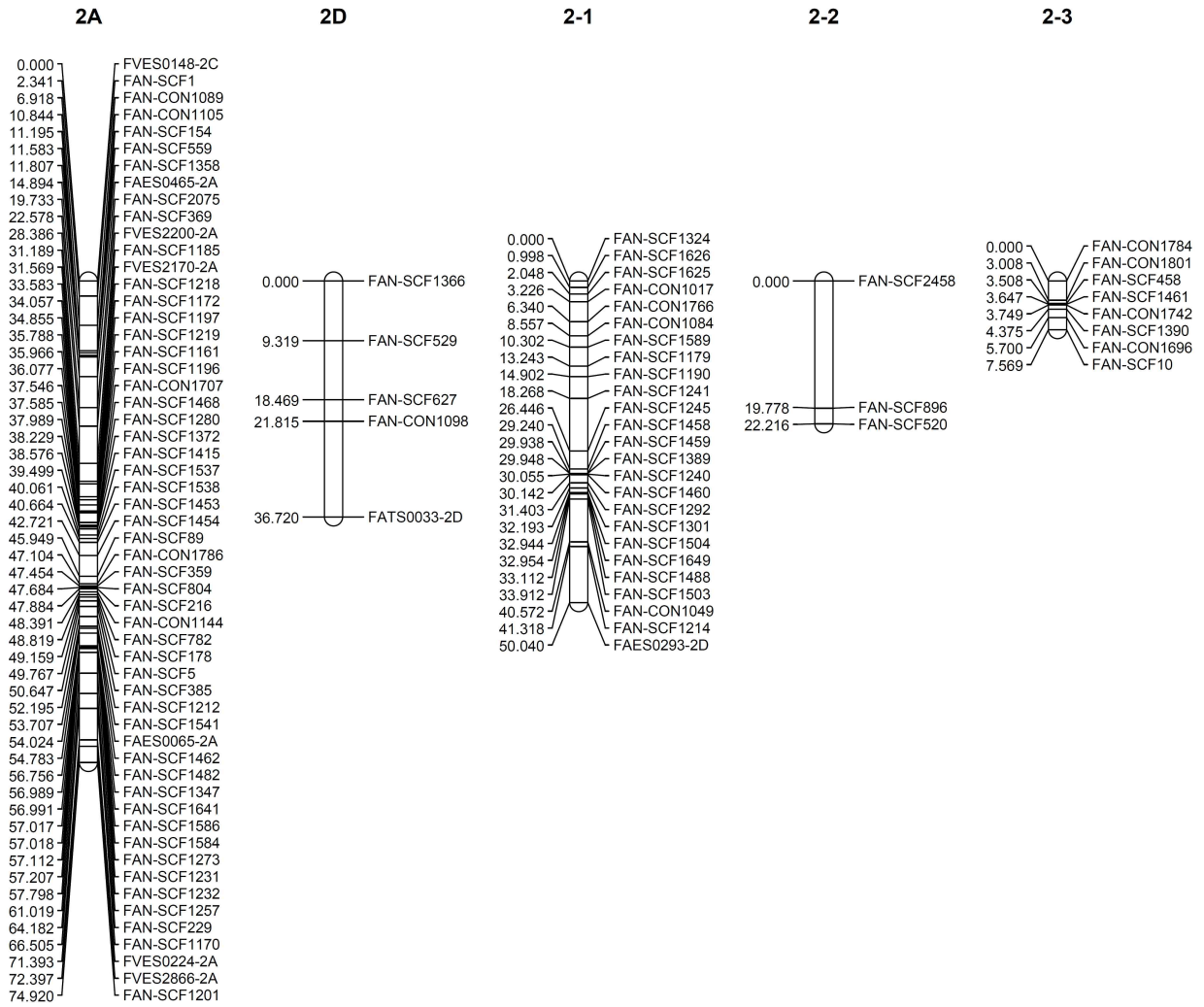


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

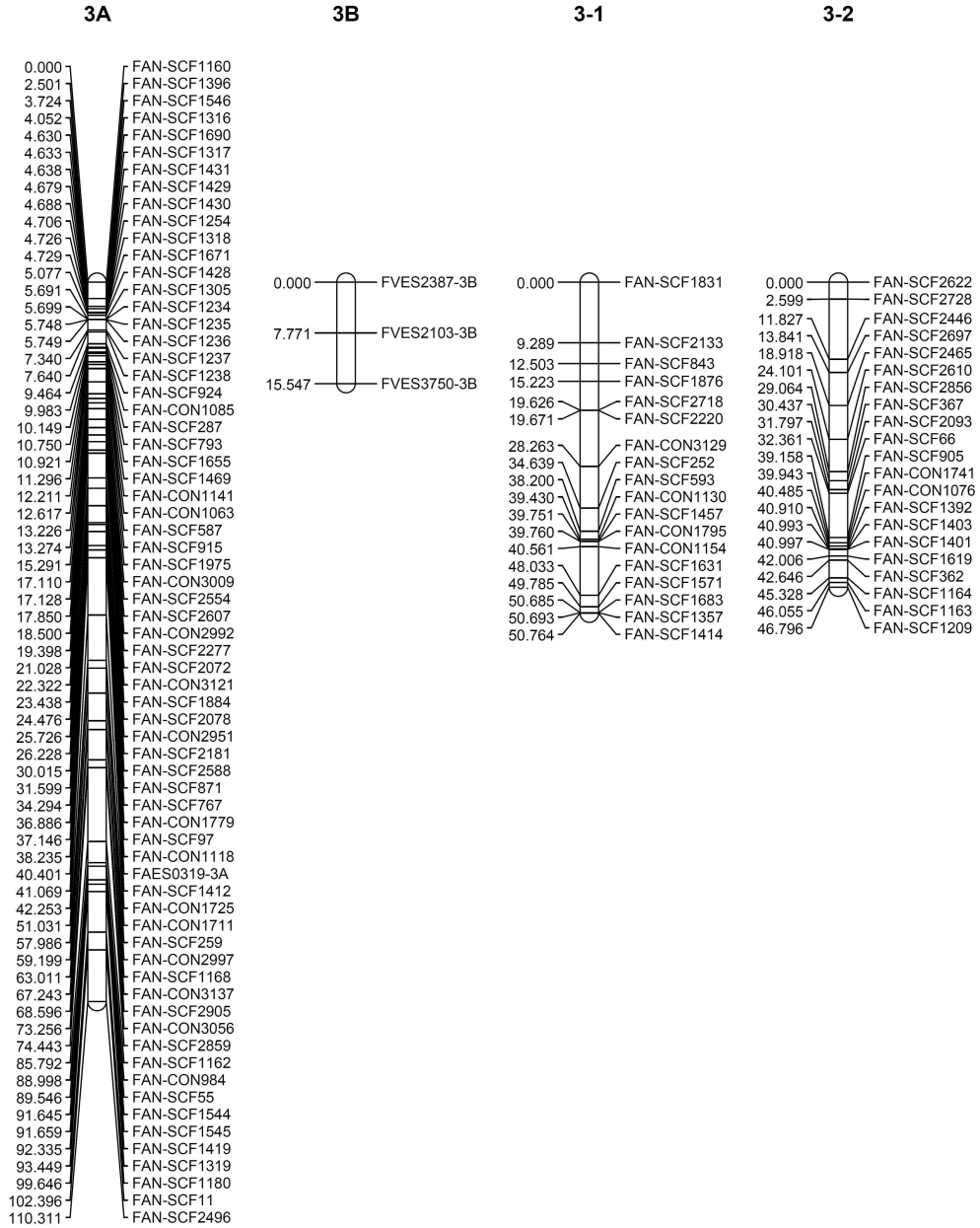


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

4C

4-1

4-3

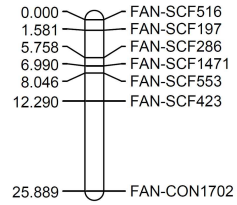
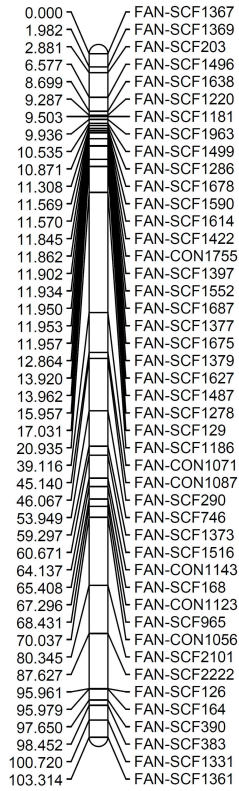
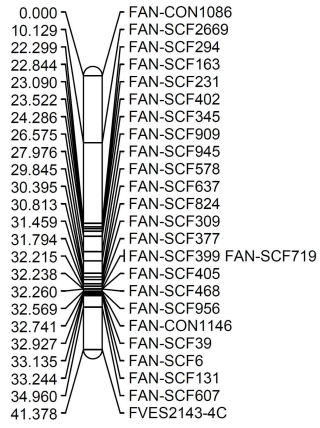


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

5A

5-1

5-2

5-3

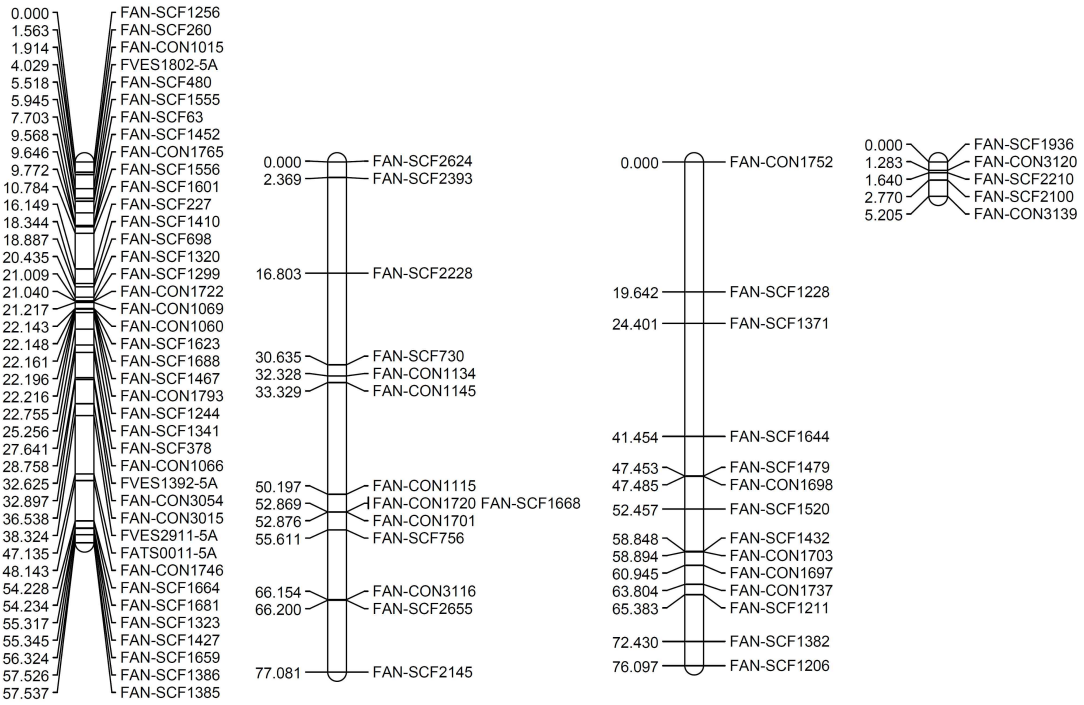


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

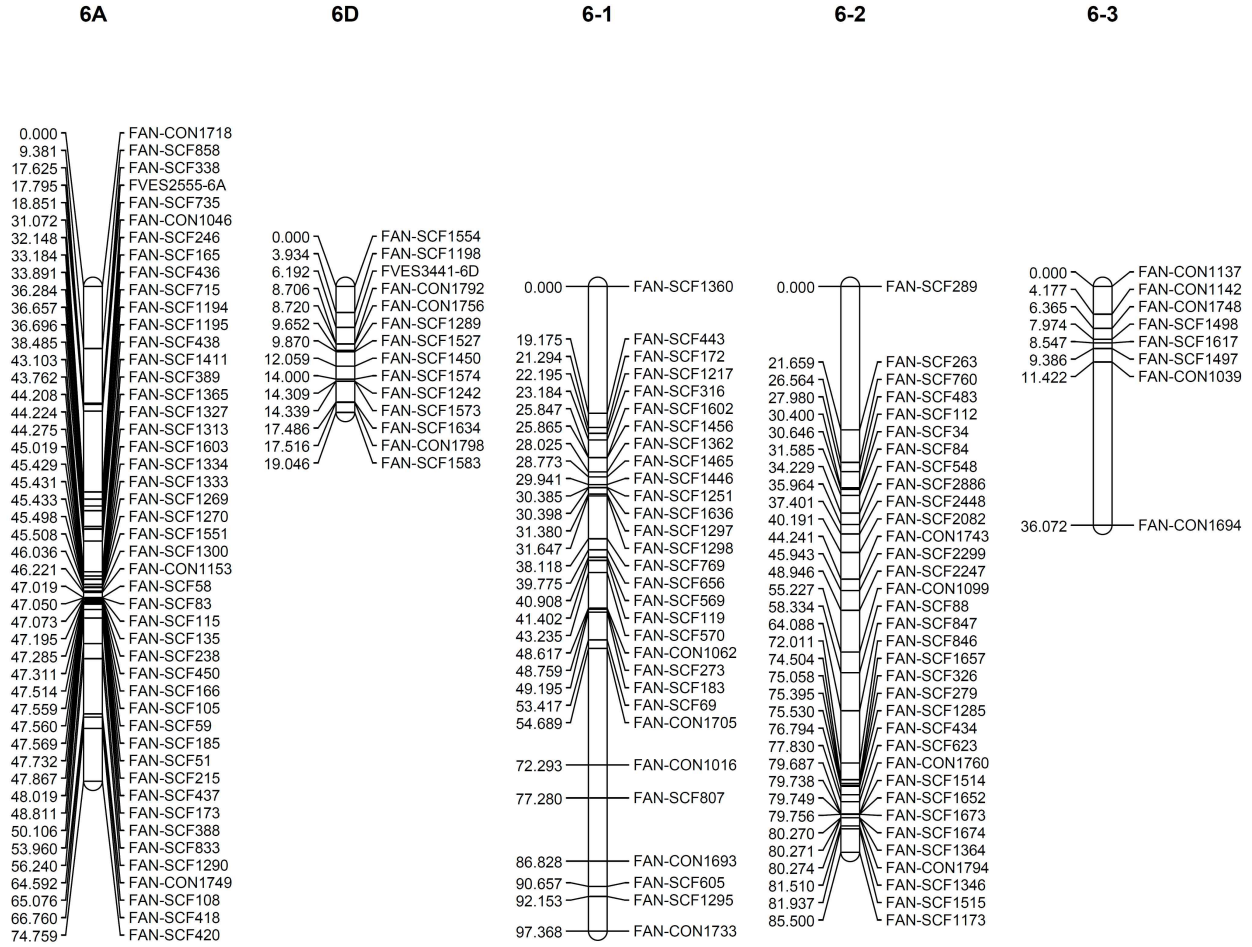


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

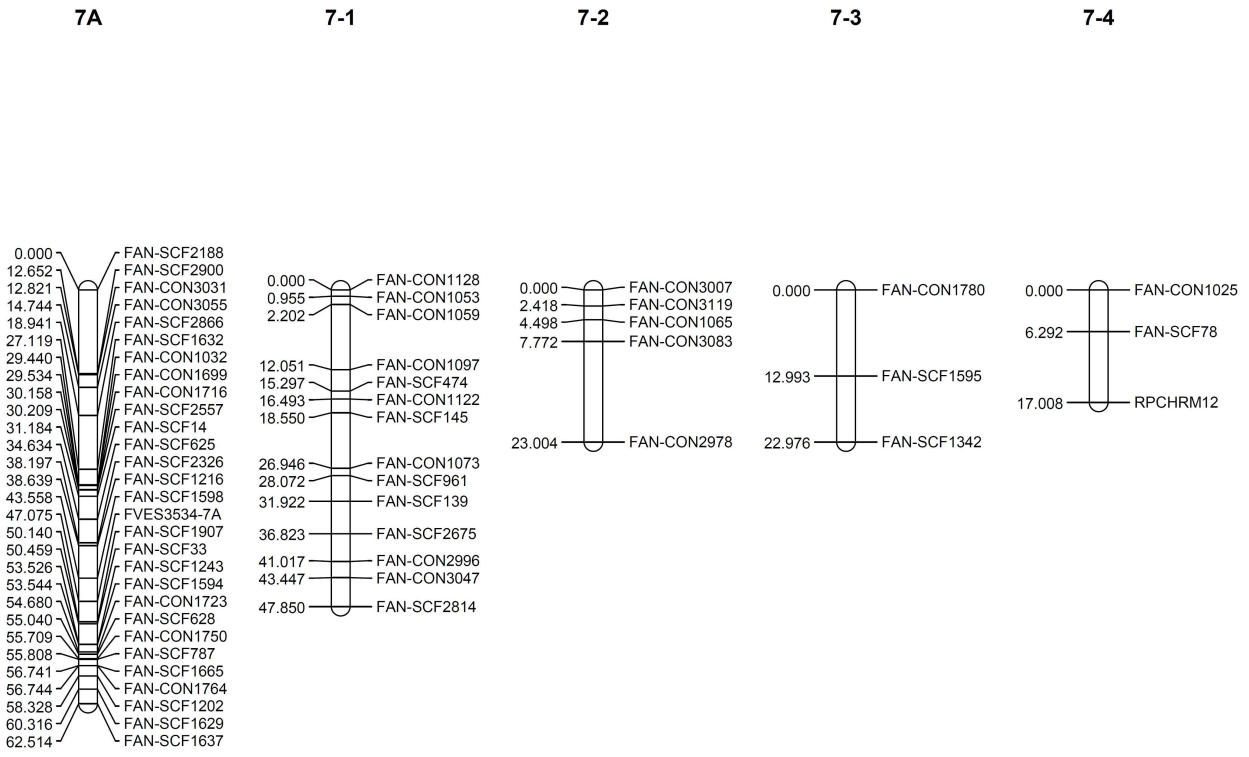


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

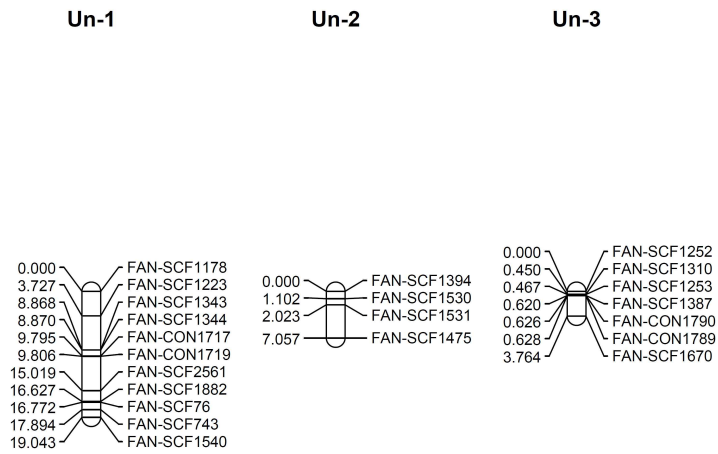


그림 3-12. 8배체 딸기의 유전자 연관 지도(계속).

사. 개발한 SNP 분자표지 활용

- 딸기 고정계통 homozygosity 확인

개발한 SNP 분자표지를 이용하여 국내 일대잡종 품종인 ‘씨베리’의 교배모본인 ‘원교3115호’와 화분친인 ‘원교3116호’의 homozygosity를 확인하였다(Jeong et al. 2015a). ‘원교3115호’는 일본 품종인 ‘Benihoppe’에서 유래한 자식계통이며, ‘원교3116호’는 일본 품종 ‘Toyonoka’에서 유래한 자식계통이다(Jeong et al. 2015b). 3가지 SNP type 중 ‘설향’이 hetero인 <lm×ll>과 <hk×hk> 2 type의 SNP 분자표지를 이용하였다. 120개의 SNP 분자표지에 대하여 HRM 분석을 한 결과 ‘설향’의 경우 100% heterozygous하게 나왔으며, ‘Benihoppe’의 경우 homozygosity와 heterozygosity가 각각 45.8%, 54.2%, ‘Toyonoka’의 경우 homozygosity와 heterozygosity가 각각 30.3%, 69.7%로 나왔다. ‘씨베리’의 교배모본으로 사용된 ‘원교3115호’와 ‘원교3116호’의 경우 모두 homozygosity가 95.0%, heterozygosity는 5.0%로 나타났다(표 3-16).

표 3-16. 개발된 HRM 분자표지를 이용한 딸기 품종 및 고정계통의 homozygosity 분석.

	Sulhyang	Benihoppe	Wongyo3115	Toyonoka	Wongyo3116
No. of heterozygous (H)	120	65	6	83	6
No. of homozygous (U)	0	34	74	22	75
No. of homozygous (D)	0	21	40	14	39
Heterozygosity (%)	100	54.2	5	69.7	5
Homozygosity (%)	0	45.8	95	30.3	95

- 딸기 유전자원 유연관계 분석

본 실험에서 개발한 SNP 분자표지 중 28개의 SNP 분자표지를 이용하여 국내외 품종 62개의 딸기 유전자원의 유전적 유사도를 분석하였다(그림 3-13). 총 3 그룹으로 나누어졌으며 Group I, II, III 각각 40, 6, 16개의 유전자원이 포함되어 있었다. Group I은 I-1과 I-2로 나눌 수 있었으며, 최종적으로 6개의 sub-group (I-1-1A, I-1-1B, I-1-2A, I-1-2B, I-2-1, I-2-1 및 I-2-2)로 나눌 수 있었다. Group II의 경우 3종의 국내 품종과 3종의 미국 품종이 포함되어 있었다. Group III의 경우 크게 III-1과 III-2로 나눌 수 있으며, III-1의 경우 2개의 sub-group (III-1-1, III-1-2)으로 나눌 수 있다. III-1-1의 경우 6종의 국내 유전자원과 1종의 일본 유전자원을 포함하였으며, 대부분 ‘Akihime’ 또는 ‘설향’을 교배모본으로 사용된 품종들이었다. III-1-2의 경우 4종의 일본 유전자원과 미국 유전자원 1종이 포함되어 있었으며 III-2의 경우 4종의 미국 유전자원과 유럽계통 1종이 포함되어 있었다.

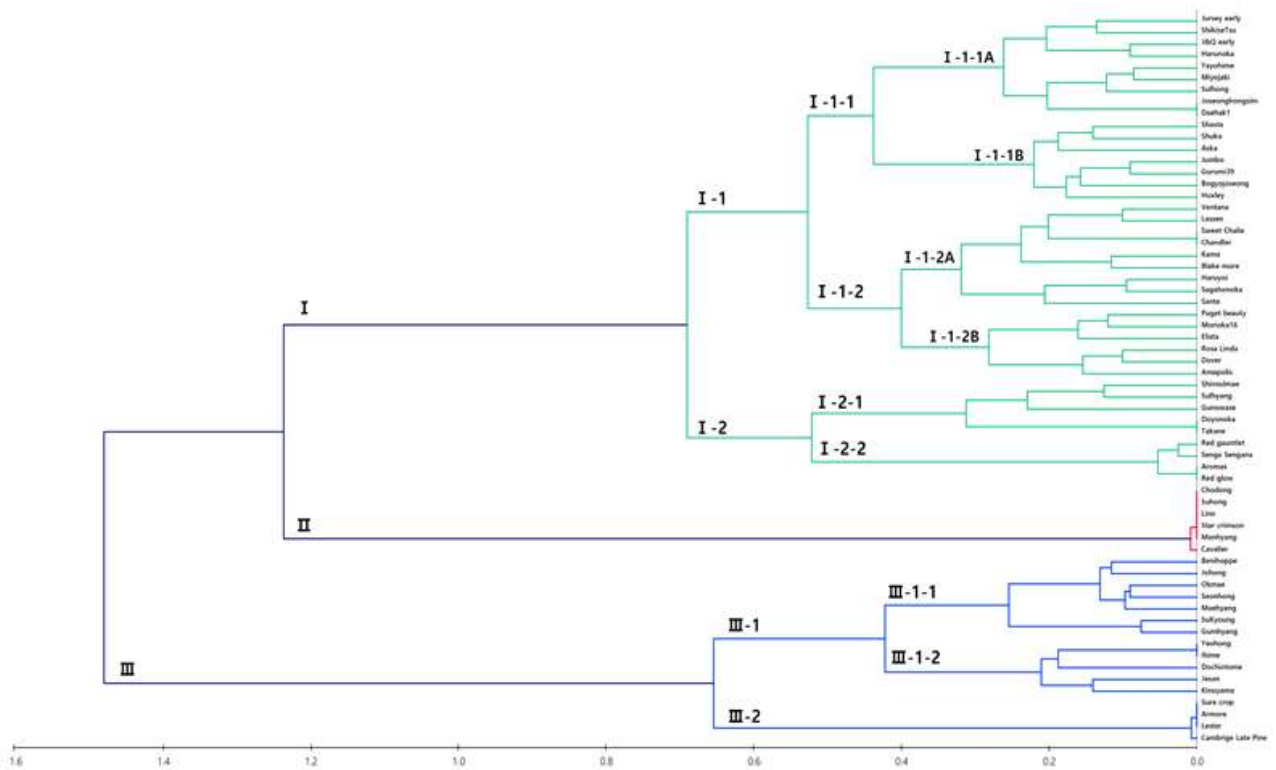


그림 3-13. 개발된 HRM 분자표지를 이용한 62개의 딸기 품종 및 유전자원의 유연관계 분석.

12. 딸기 역병 저항성 유전분석

1) 설향과 생가생가나의 F₁ 분리집단 79개체 중 병 지수(DI)<1이 3개체, 1≤DI<2이 32개체, 2≤DI<3이 41개체, 3≤DI이 3개체였다(그림 3-14). Nagano et al. (2017) 연구에 따르면 8배체 딸기를 자가수정시킬 경우 딸기의 유전자형이 heterozygous하기 때문에 다양한 분리비가 나타날 수 있다고 하였다. 따라서 본 실험에서는 F₁ 분리집단 접종 결과를 이용하여 멘델의 법칙의 여러 가지 기대 분리비에 맞는지 확인하고자 하였다. 그 결과 기대 분리비가 1:1과 7:9일 때 chi-square test 결과를 통과하였다(표 3-14). 이 결과를 바탕으로 예상한 결과 여러 상호작용에 의한 양적유전자좌에 의해 딸기 역병 연관 저항성이 조절된다고 판단하였다.

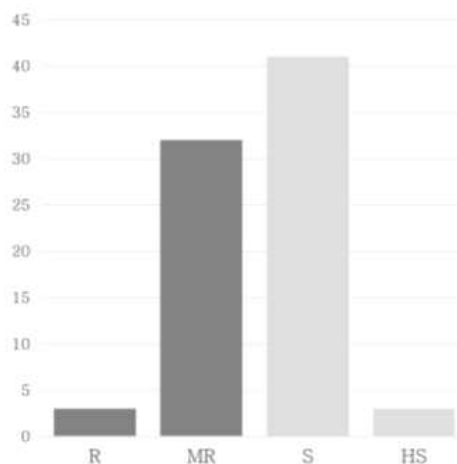


그림 3-14. 설향과 생가생가나를 교배한 F₁ 분리집단에서 딸기 역병 저항성의 분리.

표 3-17. 설향과 생가생가나를 교배한 F₁ 분리집단에서 딸기 역병 저항성 chi-square 검정 결과.

Population	Number of plants			Expected ratio	Chi-square	Probability
	Resistance	Susceptibility	Total			
Sulhyang × Senga-sengana F ₁	35	44	79	1:1	1.0253	0.311
				7:9	0.0082	0.928

13. 딸기 역병 저항성 QTL 분석

1) 8배체 딸기에서 역병균(*Phytophthora cactorum* ‘PC151111’)에 대한 저항성 QTL 분석
 8배체 딸기 유전자 지도 작성에 사용된 집단을 이용하여 QTL 분석을 실시하였다. 79개체 중 병 지수(DI)<1이 3개체, 1≤DI<2이 32개체, 2≤DI<3이 41개체, 3≤DI이 3개체였다. QTL 분석을 위해 Windows QTL Cartographer ver.2.5 소프트웨어 프로그램을 사용하였으며, 딸기 역병 저항성에 대한 각각의 마커 당 연관성을 평가하기 위해 CIM (composite interval mapping)을 수행하였다. Genome-wide LOD threshold score (p>0.05)를 계산하기 위해 1000번의 permutation test를 수행하였다. 1000번의 permutation test 결과 genome-wide LOD score은 3.2으로 나타났으며, CIM 분석 결과 LG3-2와 LG6A에 LOD score가 각각 4.22와 3.21로 2개의 QTL이 탐색되었다(그림 3-15). 또한 LG3-2에서 탐색된 *qPC3.2*의 경우 2.00 cM, LG6A에서 탐색된 *qPC6A*의 경우 30.85 cM에 위치하였다(그림 3-16). 두 QTL 모두 역병 저항성 형질에 대해 탐색되었지만 형질에 대한 표현형 변이의 백분율(R^2 value)을 볼 때 *qPC3.2*와 *qPC6A*는 각각 4.2%와 2.1%로 낮았다(표 18). 본 실험에서 주동 QTL은 확인할 수 없었지만 2.1%와 4.2%의 미동 QTLs를 확인할 수 있었다. 또한 2배체 *F. vesca*에서 *Phytophthora cactorum* 저항성 QTL을 분석한 결과 chromosome 6에 해당하는 LG6에서 주동 QTL이 탐색되었으며(Davik et al. 2015), 본 실험에서도 LG6A의 경우 *F. vesca* reference genome에 blast한 결과 chromosome 6인 것으로 예상되므로 비슷한 위치의 QTL인지 확인해 볼 필요가 있다(표 3-18).

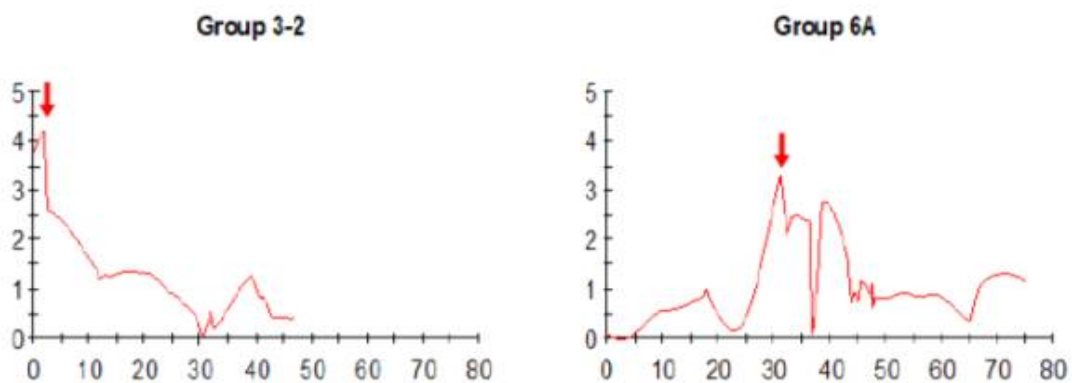


그림 3-15. 딸기 역병 저항성에 연관된 2개 QTLs(*qPC3.2*와 *qPC6A*)의 LOD 그래프.

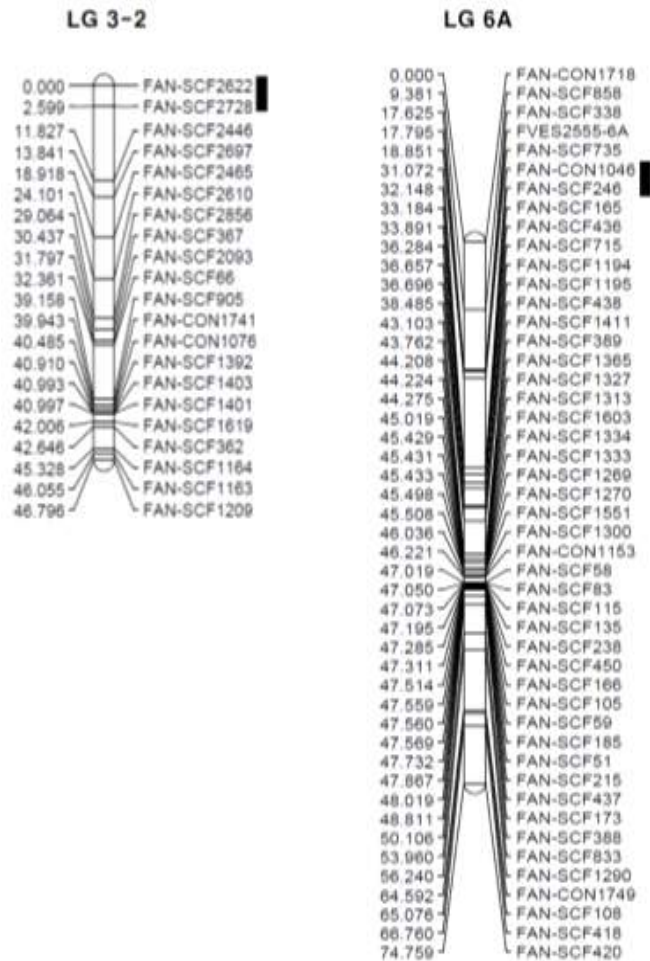


그림 3-16. 딸기 역병 저항성에 연관된 2개 QTLs($qPC3.2$ 와 $qPC6A$)의 연관군에서의 위치 및 연관 분자표지.

표 3-18. 딸기 역병 저항성에 연관된 2개 QTLs($qPC3.2$ 와 $qPC6A$)의 상세 정보.

QTL	Linkage group	Flanking marker	Map position (cM)	R^2	LOD score	LOD threshold
$qPC3.2$	3-2	FAN-SCF2622 - FAN-SCF2728	2.00	0.042	4.22	3.20
$qPC6A$	6A	FAN-CON1046 - FAN-SCF246	30.85	0.021	3.21	3.20

14. 딸기 탄저병 저항성 SCAR 분자표지 개발

- 딸기 탄저병은 주로 육묘기에 발생하여 문제가 되는 주요 병해로서 국내에 재배되고 있는 딸기 품종 ‘Seolhayang’ (설향), ‘Maehayang’ (매향), ‘Akihime’ (장희), ‘Redpearl’ (옥보) 등이 모두 감수성이어서, 딸기 탄저병 저항성 품종 육성은 절실한 실정이다. 따라서 탄저병 관련 분자표지개발은 조기에 우수한 품종을 육성하는데 매우 중요한 역할을 할 것이며, 이를 위하여 mapping 등에 이용할 유전집단 육성과 탄저병 저항성 분자표지 개발 연구를 수행하였다.

- Heterozygous한 딸기의 유전자 지도 작성은 F₁ 분리집단을 이용하는 pseudotestcross mapping 방법을 이용하여 모본 부분의 순계작성 및 순계분리집단 작성 기간을 거치지 않고 작성할 수 있다. 이렇게 딸기 탄저병 저항성 마커개발 및 mapping에 이용할 목적으로 2015년도에 육묘하고 저온 처리한 ‘Hokowase’ (보교조생), ‘Akihime’ (장희), ‘Maehayang’ (매향)을 이용하여 2016년 1월에 탄저병 저항성 품종인 ‘Hokowase’ 을 모본으로 ‘Akihime’ 와 ‘Maehayang’ 을 각각 부분으로 하여 2조합을 교배하였다(그림 4-1). 각 조합별로 채종한 종자는 과중상에 2016년 3월에 과중하여 발아한 F₁ 유식물체(그림 4-2)를 육묘하여 조합별 실생묘를 각각 8cm 이색포트에 가식하였다. 이후 ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ 430개체, ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’ 230개체를 육묘하여 30cm 화분에 정식하였다(그림 4-3). 이들은 각 개체별로 런너를 이용하여 20주 이상 증식하여(그림 4-4) 실험에 이용하고 유지하고 있다(그림 4-5).



그림 4-1. ‘Hokowase’ 와 ‘Akihime’ 및 ‘Maehayang’ 의 교배



그림 4-2. 과중상에서 발아한 딸기 F₁ 유식물체



그림 4-3. 개체별 딸기 F₁ 실생묘(좌: ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ , 우: ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’)



그림 4-4. 런너를 이용한 실생묘 F₁ 유전집단의 개체별 증식(좌: ‘Hokowase’ x ‘Akihime’, 우: ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’)



그림 4-5. 유지중인 F₁ 유전집단

- 딸기 탄저병 연관 분자표지를 개발하기 위하여 유전집단의 각 개체별 탄저병 이병지수와 DNA 다형성을 조사한 유전집단은 ‘Akihime’ x ‘Hokowase’ 의 F₁S₁ 분리집단 160개체와 ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ F₁ 분리집단 430개체이었다.

- ‘Akihime’ x ‘Hokowase’ 의 F₁S₁ 분리집단 160개체는 2013년부터 2015년까지 육성된 유전집단으로 탄저병균 접종은 논산딸기시험장에서 보관 중인 CGF100713균주(Nam 등, 2013)를 이용하여 5×10⁵conidia/ml 농도로 포자현탁액을 만들고 주당 1ml씩 분무 접종하였다. 접종상은 완전하게 밀폐하여 과습 상태로 3일 동안 처리한 후 재배상으로 옮기고, 접종 42일 후에 탄저병 이병정도를 조사하였다.

- 또한 2016년도부터 육성하기 시작한 2가지 유전집단(‘Hokowase’ x ‘Akihime’ 430주, ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’ 230주)의 탄저병 이병지수 조사를 위하여 런너 증식묘를 개체(실생묘)별 4주씩 2반복으로 탄저병균을 접종하였다. 사용한 탄저병원균은 논산 딸기시험장에서 보관 중인 CGF160604를 1×10⁶conidia/ml로 조절하여 비닐하우스내에서 분무기로 살포한 다음 3일간은 비닐로 덮어 포화습도를 유지하였고, 20일 이후 10일 간격으로 나타나는 병징을 4회 조사하였다.

- 탄저병 접종 20일 후부터 다양한 병징(그림 4-6)이 나타나기 시작하였으며, 이병지수 판정 기준은 잎과 엽병(잎자루)에 아무런 병징이 없거나, 잎에 반점이 생겼어도 엽병(잎자루)에 병징이 없는 경우는 0, 병징이 엽병에 생긴 비율에 따라 구분, 엽수의 50% 이하면 1, 50% 이상이면 2, 토양에 물기가 있음에도 시들어 있으며 크라운부위가 상한 경우는 3, 잎이 거의 남아있지 않거나 식물체가 고사된 경우는 4로 하였다(그림 4-7).

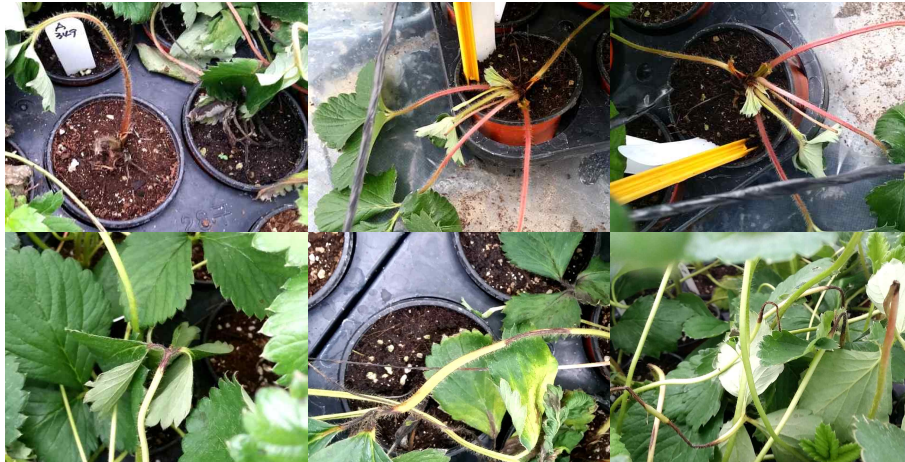


그림 4-6. 탄저병 접종 후 나타나는 여러 가지 증상



그림 4-7. 탄저병균 접종에 의한 이병지수(disease index, D.I.) 판정 기준

- 탄저병에 감수성인 ‘Akihime’ 와 저항성인 ‘Hokowase’ 을 교배하여 F₁을 만들고, 이를 다시 selfing하여 육성한 F₁S₁ seedling 160개체에 탄저병원균을 접종하고 42일 후에 이병지수를 조사한 결과는 그림 8와 같다.

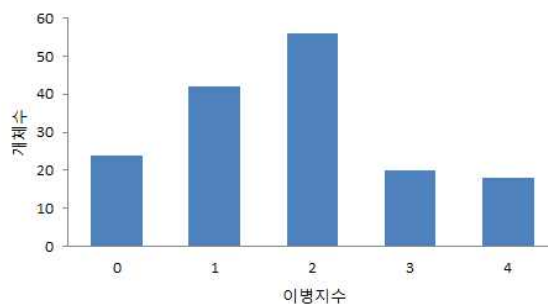


그림 4-8. 탄저병원균 접종 42일 후의 이병지수 분포

- F₁S₁ 160개체 중 이병지수가 2인 개체가 56개로 가장 많았으며, 이병지수 0으로 발병되지 않은 개체는 26개, 이병지수 4로 고사된 개체는 18개였다. 이와 같이 조사된 탄저병 이병지수는 DNA 다형성 분석 결과와 함께 마커개발에 이용하였다.

- F₁ 분리집단의 탄저병원균 접종 50일 후 이병지수 조사 결과(그림 4-9), ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ 집단은 비교적 정규분포에 가까웠으나 ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’ 집단은 이병지수가 1쪽으로 치우치는 경향을 보였다. 이런 경향을 참고하여 마커개발 실험에는 ‘보교조생’ / ‘아끼히메’ 집단을 먼저 사용하였다.

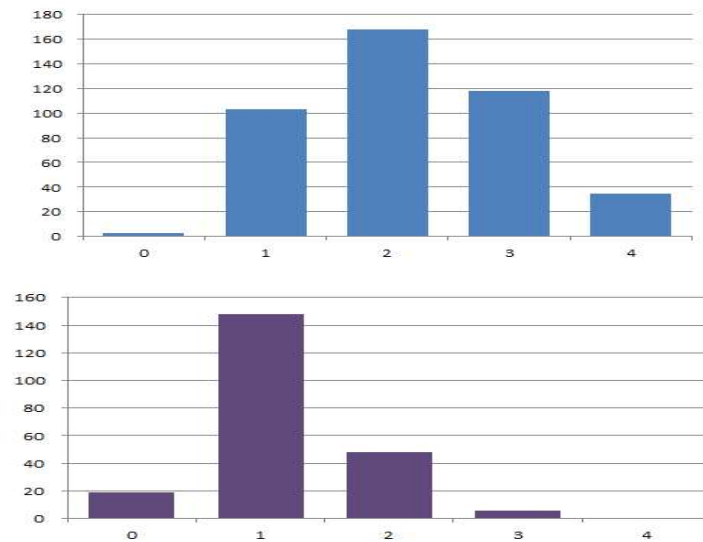


그림 4-9. 탄저병원균 접종 50일 후 유전집단의 이병지수 분포(위 ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ , 아래 ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’)

- 마커개발에 이용하기 위한 DNA는 딸기 잎을 재료로 CTAB법을 이용하여 200ng/ul 이상의 농도와 고순도의 genomic DNA를, 추출하고 이를 50ng/μ로 희석한 다음 랜덤프라이머(오페론 프라이머)나 NBS-LRR 유래 프라이머를 이용하여 genotyping 에 이용하였다. 랜덤 프라이머를 이용한 RAPD는 genomic DAN 100ng과 0.5U taq polymerase, 10pM random primer를 포함하여 반응용액을 10μ로 하여, Skroch and Nienhuis(1995) 방법에 따라 수행하였으며, NBS-LRR 유래 프라이머를 이용할 경우에는 반응용액을 20μ로 하여 taq polymerase 제조사의 매뉴얼에 따라 PCR을 수행하였으며, 0.5X TBE 버퍼에서 1.5% agrose gel을 이용하여 전기영동한 다음 다형성을 조사하였다.

- F_{1S1} 유전집단 개체별 DNA 다형성을 분석하기 위하여 먼저 모·부분인 ‘Akihime’ 와 ‘Hokowase’ 의 DNA와 랜덤 프라이머(Operon Co.) 920개를 이용하여 프라이머 후보군을 선발하였다. PCR 및 전기영동 수행 후 결과는 그림 10에서 보는 것처럼 다양한 패턴을 보였는데, 랜덤 프라이머 O17의 경우처럼 전혀 반응하지 않는 경우도 있었으나, 상당수가 모·부분간의 차이를 보여 총 98개의 프라이머를 다형성 분석 프라이머 후보군으로 선발하였다.

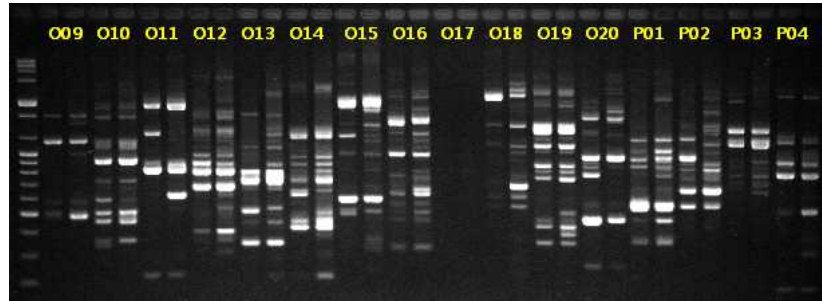


그림 4-10. 랜덤프라이머를 이용한 딸기 ‘Akihime’ 와 ‘Hokowase’ 의 PCR 반응 예(좌측 lane은 size marker이며, 사용한 랜덤프라이머는 O09~P04이고 각 프라이머 별로 ‘Akihime’ , ‘Hokowase’ 순서임)

- F₁S₁ 160개체를 이용하여 개체별 DNA 다형성을 후보군으로 선발된 A20 등 총 98개의 랜덤프라이머로 DNA 다형성을 분석하였다(그림 4-11 참조). F₁S₁ 유전집단 개체별 DNA 다형성을 분석 결과, 98개의 랜덤프라이머로 부터 다형성을 보이는 마커가 133개로, 프라이머 하나에서 평균 1.4개의 다형성마커가 검출되었다. 이와 같이 검출된 다형성마커들은 실제 관찰치의 분리비가 3:1로 이루어진 것을 마커 후보군으로 선발하였다. 이렇게 마커 후보군으로 선발된 41개에 대하여, simple linear regression 분석을 통하여 P value가 0.05 이하인 8종을 최종 RAPD마커로 선발하였다(표4-1).

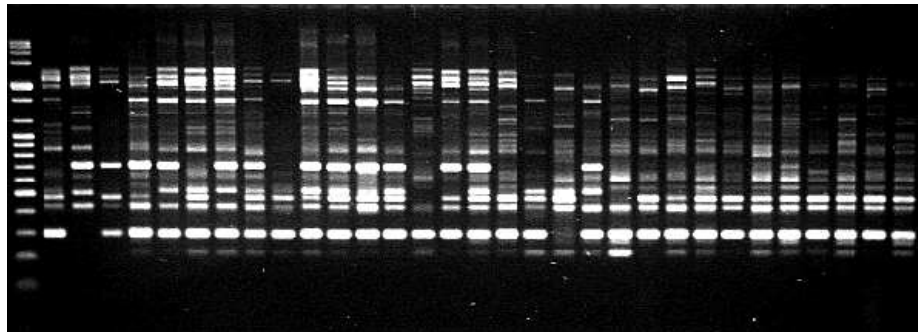


그림 4-11. 오페론 프라이머 D01을 이용한 딸기 F₂ 개체의 유전적 다형성 분석 예(좌측 lane 부터 size marker, ‘Akihime’ , ‘Hokowase’ , 이후부터는 F₁S₁ 개체)

표 4-1. 딸기 ‘Akihime’ x ‘Hokowase’ F₁S₁ 유전집단을 이용한 탄저병 저항성 관련 마커 선발 수

사용한 프라이머 수	총 다형성 마커	마커 후보군 수	최종 선발마커 수
98 개	133개	41개	8개

- F₁S₁ 유전집단을 이용하여 탄저병 저항성 RAPD마커로 선발된 마커의 특성은 표 2에서 보는 바와 같다. 딸기 탄저병에 저항성마커로 선발된 8종의 다형성 밴드 크기는 M1가 6000bp로 가장 작았으며 M24가 2,300bp로 가장 컸다.

표 4-2. 딸기 ‘Akihime’ x ‘Hokowase’ F₁S₁ 유전집단을 이용한 탄저병 저항성 RAPD 마커 특성

랜덤프라임어	다형성 밴드 크기(bp)	P ^z
A20	600	0.042
C02	750	0.014
M09	1,600	0.021
Q07	450	0.14
R16	1,100	0.003
AE09	2,300	0.018
AR17	800	0.18
AS14	1,400	0.012

^z Simple linear regression P value

- F₁ 430개체를 이용하여 후보군으로 선발된 A01 등 총 126개의 랜덤프라임어로 DNA 다형성을 분석한 결과는 표 4-3과 같다. ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ F₁ 유전집단 개체별 DNA 다형성을 분석 결과, 125개의 랜덤프라임어로 부터 다형성을 보이는 마커가 233개로, 프라이머 하나에서 평균 1.8개의 다형성마커가 검출되었었으며, 이중 실제 관찰치의 분리비가 1:1로 이루어진 다형성마커들을 마커 후보군으로 선발하였다. ‘Hokowase’ 에서 유래된 것이 51개, ‘Akihime’ 에서 유래된 것이 34종으로 총 85개가 선발되었으며, 이렇게 마커 후보군으로 선발된 것 중에서 탄저병에 저항성인 ‘Hokowase’ 에서 유래된 것 51종을 대상으로 simple linear regression 분석을 통하여 P value가 0.05 이하인 것 14종을 RAPD마커로 선발하였다. 선발된 RAPD 마커의 특성은 표 4-4와 같은데, 다형성 밴드의 크기는 400~2,500bp로 다양하였다.

표 4-3. 딸기 ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ F₁ 유전집단을 이용한 탄저병 저항성 관련 마커 선발 수

사용한 프라이머 수	총 다형성 마커	마커 후보군 수	최종 선발마커 수
125 개	233개	85개	14개

표 4-4. 딸기 ‘Hokowase’ x ‘Akihime’ F₁ 유전집단을 이용한 탄저병 저항성 RAPD 마커 특성

랜덤프라미머	다형성 밴드 크기(bp)	P ^z
A15	715	0.009
J18	710	0.043
K19	400	0.000
M09	670	0.023
N05	1,210	0.010
R16	780	0.009
X03	550	0.027
Y14	1,400	0.000
AB05	630	0.009
AD12	850	0.000
AE09	2,300	0.003
AF04	500	0.000
AJ05	1,100	0.000
AP06	2,500	0.008

^z Simple linear regression P value

- Williams 등(1990) 및 Welsh and McClelland(1990)에 의하여 보고된 RAPD(random amplified polymorphic DNAs) 분석방법은 매우 적은양의 DNA로 저비용으로 신속하게 유전적 다형성을 분석할 수 있는 효과적인 방법이나, 재현성이 떨어진다는 논란도 있어 필요시에는 RAPD 마커부위를 이용하여 보다 정확하고 단순하게 밴드의 유무로 판단할 수 있는 SCAR(Sequence characterized amplified region) 마커로의 전환도 가능하다.

- 탄저병 저항성 여부 판단의 기준은 육종가 마다 다를 수 있으나 이병지수가 1정도이면 실제 재배에서 큰 문제가 없는 것으로 판단된다. 따라서 탄저병 저항성 마커 개발에는 ‘Albion’ 품종을 저항성의 기준으로 정하고, 상대적으로 이병지수가 ‘Albion’ 과 같거나 이하인 품종 혹은 계통을 저항성으로 판단하였다(표 4-5 참조).

표 4-5. 몇가지 딸기 품종의 탄저병 이병지수(Jang, 2014)

품종	Hokowase	Sweet Charlie	Manhayang	Suhong	Festival	Albion	Redpearl	Tochiotome	Seolhayang	Akihime	Keumhayang	Ssanta	Maehayang, Daewang
D.I.	0	0.17	0.33	0.42	0.50	1.17	2.46	2.83	2.96	3.13	3.25	3.50	3.92

- 본 연구에서도 선발한 탄저병 저항성 관련 RAPD마커를 SCAR 마커로 전환하였다. 각 각의 RAPD 마커 부위를 이용하여 염기서열을 분석하고 프라이머를 디자인하여 ‘Albion’ 수준의 저항성 판정여부를 검토한 결과, 그림 4-12, 4-13과 표 4-6과 같은 SCAR 마커를 개발하고, 개발한 SCAR 마커를 재배품종에 적용시킨 결과 CNSA1은 그림 4-14와 같이 저항성 품종인

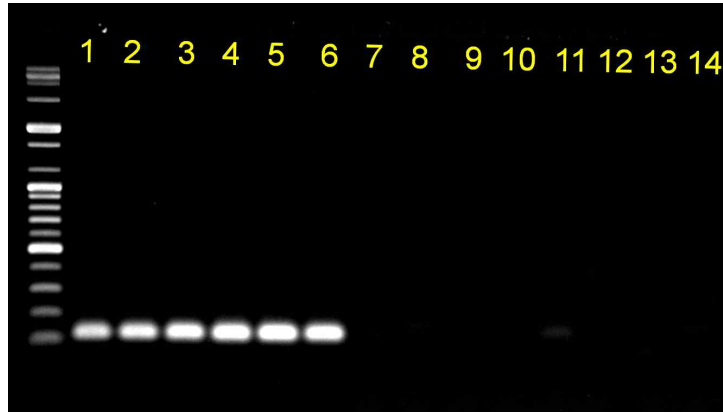


그림 4-15. CNSA2 마커 전기영동 결과(lane 1: Hokowase, 2: Sweet Charlie, 3: Manhayang, 4: Suhong, 5: Festival, 6: Albion, 7: Redpearl, 8: Tochiotome, 9: Seolhayang, 10: Akihime, 11: Keumhayang, 12: Ssanta, 13: Maehayang, 14: Daewang)

- 유전집단의 다형성 분석과 이병지수를 이용한 마커의 개발 방법 이외에 NBS-LRR (nucleotide-binding site leucine-rich repeat)의 이용 가능성을 검토하고자 주로NBS-LRR 관련 16R1-19 등 14개 프라이머(Deng 등, 2000)도 이용하여 탄저병 저항성 품종 ‘Hokowase’ 과 감수성 품종 ‘Akihime’ 를 이용하여 다형성을 분석하고 탄저병 연관 마커를 탐색하였으나 유의성 있게 연관된 마커는 찾지 못하였다. 이중 Pt6, 11P31, 16R1-13, 16R1-19의 일부 PCR product를 염기서열을 분석하였으며, 이 결과는 추후 탄저병 저항성 관련된 마커를 개발하는데 이용할 예정이다.

15. 딸기 유전자원 수집 및 SNP 기반 품종식별마커 개발

1) 딸기 유전자원 수집

- 세계성 관련 유전자원 수집 : 중일성 딸기 품종 유전자원 수집

San Andreas, Albion, Seascape, Aromas, Diamante등은 중일성 딸기품종으로 알려져 있다.

- 당관련 유전자원 수집

고당도 딸기 품종 : 설향, 매향

저당도 딸기 품종 : 스위트찰리, 페스티발

표 5-1. 중일성 딸기 품종.

Cultivar	Release	Pedigree	비고
Hecker	1979	Cal 65.65-601 x Cal 66.96-101	
Tribute	1981	EB 18 (MdUS 3082 x Cal 65.65-601) x MdUS 4258 (MdUS 2713 x MdUS 3364)	
Tristar	1981	EB18 (MdUS 3082 x Cal 65.65-601) x MdUS 4258 (MdUS 2713 x MdUS 3364)	
Seascape	1991	Selva x Douglas	
Aromas	-	Cal 87.112-6 x Cal 88.270-1	
Diamante	1991	Cal 87.112-6 × Cal 88.270-1	
Evie2	2006	Everglade × J92D12	
Albion	2006	Diamante x Cal 94.16-1	
Monterey	2009	Albion x Cal 97.85-6	
San Andreas	2009	Albion x Cal 97.86-1	
Portola	2009	Cal 97.93-7 x Cal 97.209-1	
Alinta	-	-	
Mara Des Bois	-	-	

2) SNP 기반 품종식별마커 개발

현재까지 개발된 품종식별마커는 SSR (Simple sequecne repeat)기반이 주를 이루고 있었다. 본 연구에서 개발한 SNP (Single nucleotide polymorphism) 기반 품종식별마커는 수집자원의 품종 구별용으로 이용 가능할 것으로 생각된다.

본 연구에 사용한 SNP는 Sargent ea al (2015), Bassil et al (2015)등이 보고한 SNP 정보와 Kazusa DNA research Institute에서 Reikou S1에서 분석한 SNP의 공통된 414개의 SNP정보를 기반으로 실험을 진행하였다.

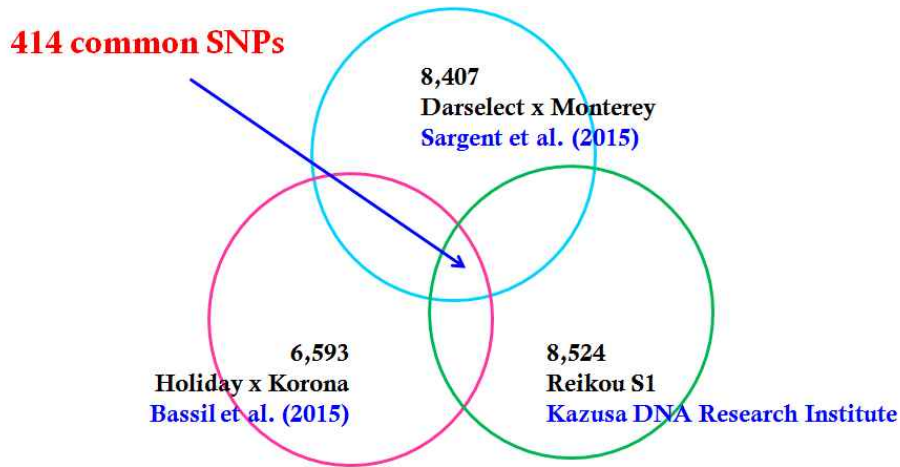


그림 5-1. 본 연구에 사용한 SNP정보.

414개의 SNP 정보를 이용하여 24개의 안정적인 SNP 마커를 선발하였으며, 이 24개의 SNP마커는 이배체에서와 같이 XX, XY, YY type만이 존재하는 SNP로 선발하였다. 클러스터 플롯은 Fluidigm genotyping software를 사용하여 대립염기 X를 X축으로 하고(SNP type-FAM) 대립염기 Y를 Y축으로 하여(SNP type-HEX) 생성되었다. 24개의 Assays로부터 각각 110 품종에 대한 결과는 아래 그림 5-2와 같다.

모든 24개의 Assays는 대립염기 특이적인 PHR(Poly High Resolution) 클래스 마커로 정확하게 클러스터링 되었다. 또한, 24개의 Assays는 *F. vesca* genome v2.0.al. 상에서 서열을 BLAST 하여 7번 염색체를 제외한 모든 염색체에 분포하고 있음을 확인하였다(그림 5-3).

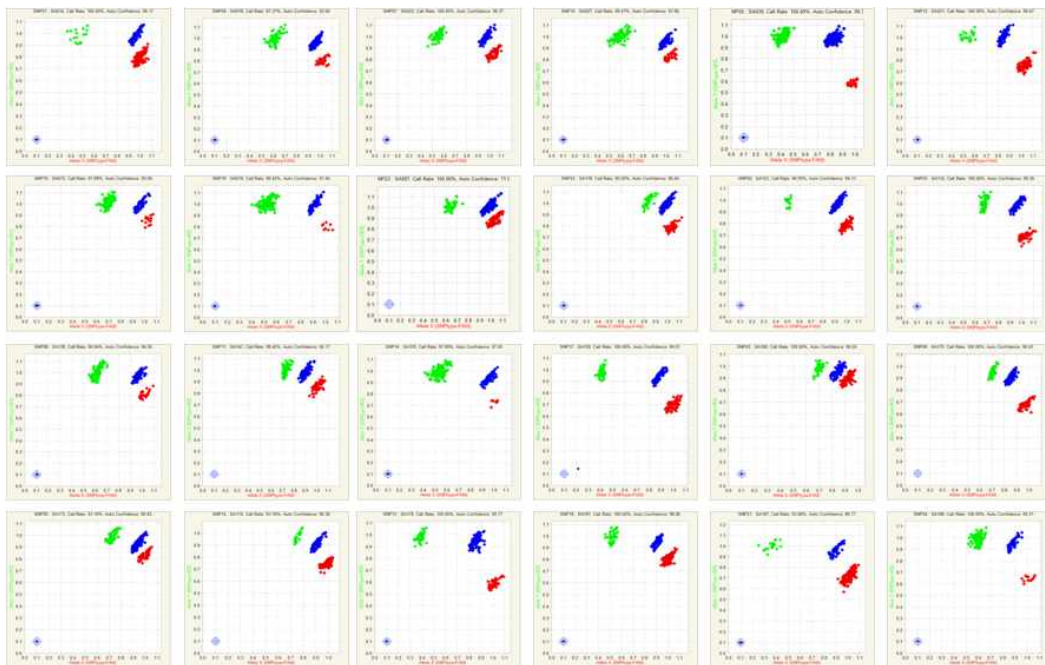


그림 5-2. 선발된 24개 SNP 마커의 Fluidigm EP1 system에서의 plotting.

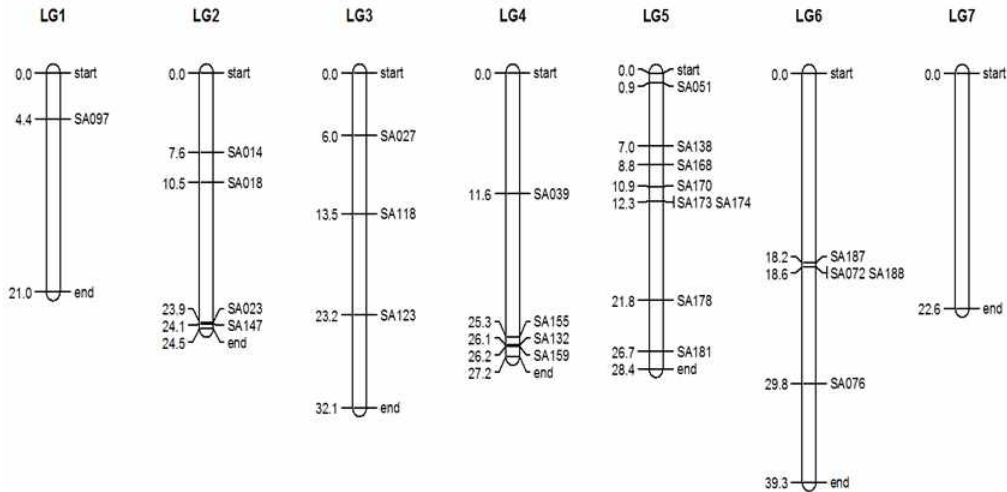


그림 5-3. Assay에 대한 염색체 Mapping. 오른쪽에는 Affy SNP ID(Sargent et al, 2016)를 표기하였으며, 왼쪽에는 물리적인 위치를 Mb 단위로 표기하였음.

유전자형을 비교하기 위해 각각의 품종들에 대하여 대립염기가 매치되는 경우 1, 매치되지 않는 경우 0으로 점수를 매겼다. 예를 들어, 죽향의 경우 비교하였을 때 동일 품종이므로 24개의 Assays의 점수는 24 이었다. 또한, 담향과 비교하였을 때 15로 15개의 Assay는 대립염기가 매치되었으나, 9 Assay에서는 매치되지 않아 죽향과 담향은 서로 다른 품종임을 구분할 수 있었다(그림 5-4). 24 Assay로 구분할 수 있는 110 품종들의 정보는 아래 표2와 같다. 개발된 24개의 SNP 분자마커와 Fluidigm EP1 system 기술은 새로운 딸기유전자원 수집 및 국내·외 딸기 품종에 대한 검정 기술로 유용하게 사용될 것이다.

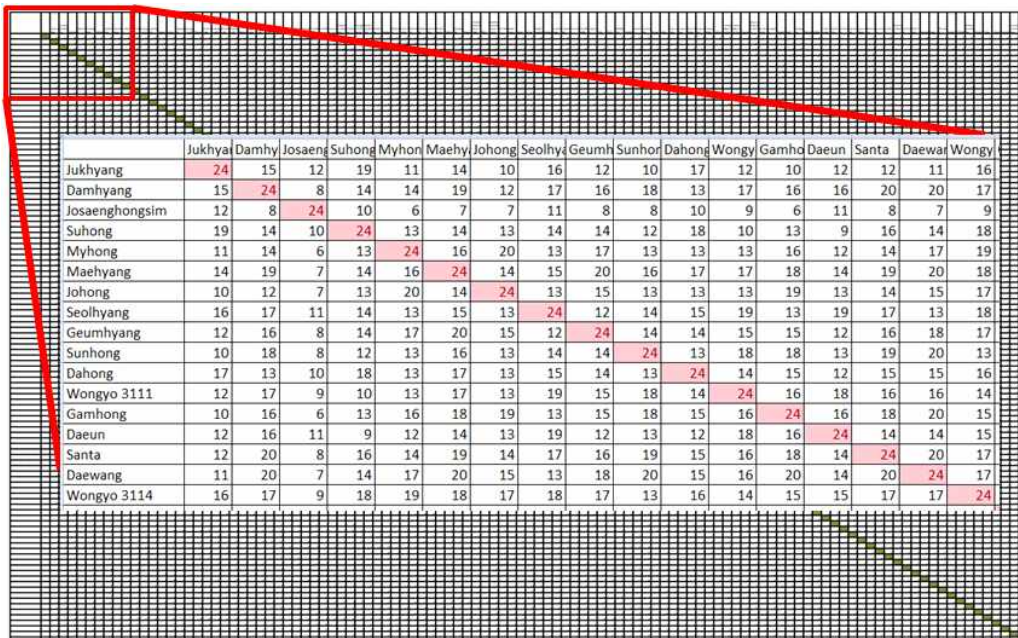


그림 5-4. SNP 분자마커의 Assay에 대한 서로 다른 딸기 110 품종 간의 비교분석.

표 5-2. 국내·외 110개 딸기 품종 목록.

S. No	Cultivar Name	Origin	Source Institution	S. No	Cultivar Name	Origin	Source Institution	S. No	Cultivar Name	Origin	Source Institution
1	Jukhyang	KOR	담양군농업기술센터	38	Yeobong	JPN	원예원	75	Pink paened	USA	원예원
2	Damhyang	KOR	담양군농업기술센터	39	Asuka	JPN	원예원	76	Dahoe	USA	원예원
3	Josaenghongsim	KOR	원예원	40	Akihime	JPN	원예원	77	Cambridge Favorite	GBR	원예원
4	Suhong	KOR	원예원	41	Tochiotome	JPN	원예원	78	Cambridge Late Pine	GBR	원예원
5	Myhong	KOR	원예원	42	Akanekko	JPN	원예원	79	Doutch	-	원예원
6	Maehyang	KOR	논산딸기시험장	43	Red pearl	JPN	원예원	80	Jonson & quotes early	-	원예원
7	Johong	KOR	원예원	44	Sachinoka	JPN	원예원	81	Jersey early	-	원예원
8	Seolhyang	KOR	논산딸기시험장	45	Asuka wave	JPN	원예원	82	Anapolis	CAN	원예원
9	Geumhyang	KOR	원예원	46	Raihou	-	원예원	83	Malah	ISR	원예원
10	Sunhong	KOR	원예원	47	kitaeakubo	JPN	원예원	84	Yael	ISR	원예원
11	Dahong	KOR	원예원	48	'A' cultivar	JPN	원예원	85	Zeangana	RUS	원예원
12	Wongyo 3111	KOR	원예원	49	Chodaerip super jambo	JPN	원예원	86	Belrubi	-	원예원
13	Gamhong	KOR	원예원	50	Alps	NLD	원예원	87	Sebila	-	원예원
14	Daeun	KOR	원예원	51	Jambo (Jumbo) pure berry	JPN	원예원	88	Camiroreal	USA	원예원
15	Santa	KOR	원예원	52	AC1466	USA	원예원	89	Diamante	USA	원예원
16	Daewang	KOR	원예원	53	Blake more	USA	원예원	90	Ventana	USA	원예원
17	Wongyo 3114	KOR	원예원	54	Jasan	-	원예원	91	Darselect	FRA	원예원
18	Okmae	KOR	원예원	55	Jaspa	-	원예원	92	Beaver Ruby	-	원예원
19	Sinseolmae	-	원예원	56	Puget beauty	USA	원예원	93	Benizuru	-	원예원
20	Hokowase	JPN	원예원	57	Dunlap	USA	원예원	94	Jucunda	USA	원예원
21	Morioka 16	JPN	원예원	58	Guards man	CAN	원예원	95	Kaoling	-	원예원
22	Morioka 18	JPN	원예원	59	Columbia	USA	원예원	96	Marsyalakaya	-	원예원
23	Takane	-	원예원	60	Aromas	USA	원예원	97	Primella	-	원예원
24	Sagahonoka	JPN	원예원	61	Florida belle	USA	원예원	98	Red Cross	-	원예원
25	Kurume 38	JPN	원예원	62	Cascade	USA	원예원	99	Sunrise	-	원예원
26	Kurume 39	JPN	원예원	63	Erie	USA	원예원	100	Tago	USA	원예원
27	Kurume 49	JPN	원예원	64	Elista	NLE	원예원	101	The Sun	-	원예원
28	Kurume 103	JPN	원예원	65	Mildland	USA	원예원	102	Gigana	-	원예원
29	Sikisecheu	JPN	원예원	66	Huxley	USA	원예원	103	ArKing	-	원예원
30	Haruyoi	JPN	원예원	67	Sparkie	USA	원예원	104	British Sovereign	-	원예원
31	Himeiku	JPN	원예원	68	Honeoye	USA	원예원	105	Empire	-	원예원
32	Koufuku	JPN	원예원	69	Dover	USA	원예원	106	Freja	-	원예원
33	Syunsou	JPN	원예원	70	Selva	USA	원예원	107	Fresno	-	원예원
34	Eyeberry (busan)	JPN	원예원	71	Rosa Linda	USA	원예원	108	Garnet	-	원예원
35	Toyonoka	JPN	원예원	72	Camamosa	USA	원예원	109	Governor Simcoe	-	원예원
36	Jeongbo (Sistakara)	JPN	원예원	73	Oso Grande	USA	원예원	110	Grenadier	-	원예원
37	Yeohong (Reiko)	JPN	원예원	74	Seascape	USA	원예원				

3) 딸기 유전자원 특성분석 (당도, 사계성등)

고당도 딸기 품종으로 알려진 설향, 매향은 9.1 Brix에서 12.0 Brix까지 분포하였으며, 저당도 딸기 품종으로 알려진 스위트찰리, 페스티발은 4.0 Brix에서 8.7 Brix까지 분포하였다.

표 5-3. 딸기 주요품종의 당도.

Cultivar	Brix	조사년월	조사장소, Reference
Selhyang	12.8	2009	Kim et al. (2009)
	9.1	2016.03	논산딸기시험장
	10.1	2016.05	순천대학교
Maehyang	12.7	2009	Kim et al. (2009)
	9.1	2016.03	논산딸기시험장
	10.9	2016.05	순천대학교
Sweetcharlie	6.4	2009	Kim et al. (2009)
	4.3	2016.03	논산딸기시험장
	7.9	2016.05	순천대학교
Albion	8.1	2016.03	논산딸기시험장
	8.2	2016.04	순천대학교
Festival	6.1	2016.03	논산딸기시험장
	8.7	2016.04	순천대학교
Gwanha	6.1	2016.03	논산딸기시험장
	8.4	2016.04	순천대학교

16. 딸기 사계성 관련 TFL 유전자 동정

개화에 있어 일장 조건에 따라 식물은 단일성식물(Short-day plant, SDP), 장일성식물(Long-day plant, LDP), 중일성식물(Day-neutral plants, DNP) 이렇게 크게 3가지로 구분할 수 있다. 특히, DNP는 한계일장이 없으며 온도조건 및 생육조건이 충족되면 지속적으로 개화하는 식물을 말한다. 토마토와 같은 경우 시설 내에서 재배 시 일장에 관계없이 온도와 양수분의 조건이 만족되는 한 자라면서 계속적으로 개화하고 열매를 맺는다. 현재 가장 많이 재배되고 있는 설향, 죽향등의 딸기품종은 단일조건하에서 개화가 촉진되는 품종들이므로 일장에 관계없이 꽃이 피는 중일성 딸기품종의 육성은 딸기 생산에 큰 변화를 가져올 것이라 생각된다. 또한 현재 장일성 딸기 품종과 중일성 딸기 품종의 구분이 모호한 부분이 있어 이러한 구분 또한 딸기 품종 개발에 있어 중요한 요소일 것이다.

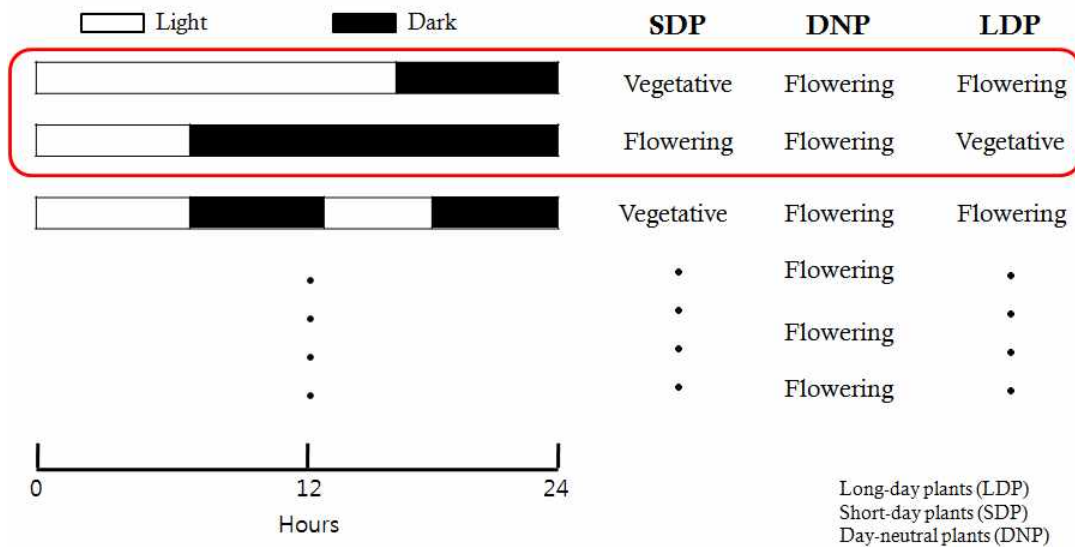


그림 5-5. 식물에서 광주기에 따른 SDP, DNP, LDP의 구분.

1) 딸기 사계성 관련 TFL 유전자 동정 및 분자마커 탐색

- 기 보고된 문헌자료에서 TFL1 유전자와 사계성 관련 확인

Castro et al. (2015)은 딸기품종에서 genetic mapping을 통해 중일성에 관련된 한 개의 주요 QTL이 존재할 것이라고 발표하였고, Hanano and Goto (2011), Kiskela et al. (2016), Rantanen et al. (2015)등 많은 논문에서 TFL1 유전자와 중일성과의 관계를 설명하고 있다. 따라서 본 연구에서는 TFL1 유전자에서의 염기서열의 다양성을 분석하여 중일성 딸기 품종을 구별할 수 있는 마커를 개발하고자 하였다.

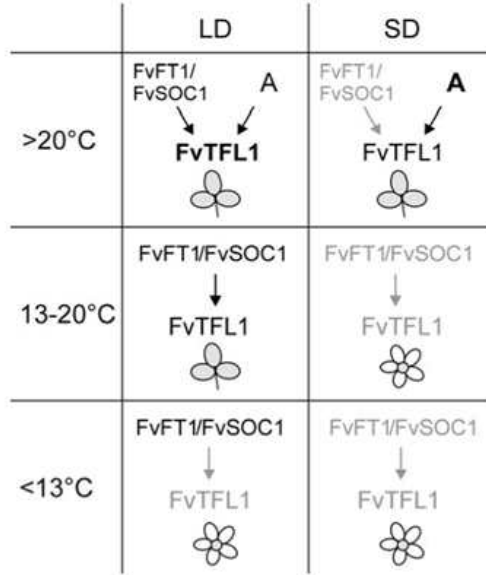


그림 5-6. 개화에 대한 일장과 온도 관련 모식도. Rantanen et al. (2015)

몇몇 주요품종에서 TFL1 유전자 염기서열을 비교 분석한 결과 다양한 다형성이 관찰되었다. 또한 같은 품종 내에서도 다형성이 관찰되었다. 이러한 현상은 일반적인 딸기품종들이 8배 체이기 때문으로 판단된다.

```

Maehyang-9      ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Anablanka-67   ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Diamante-1     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
alblion-1      ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
SanAndres-3    ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Maehyang-1     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
SweetCharlie-4 Guanha-2       ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Anablanka-62   ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Maehyang-10    ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
SanAndres-1    ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Guanha-1       ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
SweetCharlie-7 Anablanka-69  ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Damhyang-2     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Damhyang-1     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Damhyang-8     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Diamante-2     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
alblion-2      ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
SweetCharlie-1 SanAndres-9   ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
FvTFL1         ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Maehyang-4     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Sweet          ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Anablanka-66   ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
Maehyang-6     ATGGCAAGAAATGTCGACCTCTAGCTGTTGSAAGAGTCATAGGAGA TGTCTTGATTCC
*****

Maehyang-9      TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Anablanka-67   TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Diamante-1     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
alblion-1      TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
SanAndres-3    TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Maehyang-1     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
SweetCharlie-4 Guanha-2       TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Anablanka-62   TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Maehyang-10    TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
SanAndres-1    TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Guanha-1       TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
SweetCharlie-7 Anablanka-69  TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Damhyang-2     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Damhyang-1     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Damhyang-8     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Diamante-2     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
alblion-2      TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
SweetCharlie-1 Guanha-1       TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
SanAndres-9   TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
FvTFL1         TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Maehyang-4     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Sweet          TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Anablanka-66   TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
Maehyang-6     TTCACCCCAACTACAAAAATGATGTCACTTACACACCCAAAGCTCGCTGCAATGGACAI
*****

```



```

Maehyang-9 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Anablanka-67 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Diamante-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
albion-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
SanAndres-3 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Maehyang-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
SweetCharlie-4 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Guanha-2 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Anablanka-62 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Maehyang-10 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
SanAndres-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Guanha-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
SweetCharlie-7 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Anablanka-69 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Damhyang-2 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Damhyang-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Diamante-2 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
albion-2 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
SweetCharlie-1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
SanAndres-9 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
FvTFL1 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Maehyang-4 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Sweet TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Anablanka-66 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
Maehyang-6 TTTGTTCTCTCATGCAAAAACGAAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTCAAGGGATCAC
*****

```

```

Maehyang-9 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Anablanka-67 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Diamante-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
albion-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
SanAndres-3 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Maehyang-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
SweetCharlie-4 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Guanha-2 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Anablanka-62 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Maehyang-10 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
SanAndres-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Guanha-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
SweetCharlie-7 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Anablanka-69 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Damhyang-2 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Damhyang-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Diamante-2 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
albion-2 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
SweetCharlie-1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
SanAndres-9 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
FvTFL1 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Maehyang-4 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Sweet TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Anablanka-66 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
Maehyang-6 TTCACACCCGAACCTTGCAGCGAAAACGAOCTTGGTATTCCTGTGCTGCGGTTTAC
*****

```

```

Maehyang-9 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Anablanka-67 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Diamante-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
albion-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
SanAndres-3 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Maehyang-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
SweetCharlie-4 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Guanha-2 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Anablanka-62 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Maehyang-10 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
SanAndres-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Guanha-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
SweetCharlie-7 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Anablanka-69 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Damhyang-2 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Damhyang-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Diamante-2 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
albion-2 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
SweetCharlie-1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
SanAndres-9 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
FvTFL1 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Maehyang-4 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Sweet TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Anablanka-66 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
Maehyang-6 TTCAAATGCACAGAGAGAAAACGCGCAGCRAAGAAGACGCTAG
*****

```

그림 5-7. 딸기 주요품종의 TFL1 유전의 염기서열 분석.

분석된 염기서열을 바탕으로 HRM을 수행하여 몇 개의 다형성을 비교 분석해 보았다. 그 결과 그림에서 보듯이 실험에 사용한 모든 품종이 Heterozygous type으로 존재하였지만 한 가지 type이 Heterozygous type이 아닌 경우도 있었다. 이러한 현상은 8배체 딸기의 특징으로 설명할 수 있으며, 경우에 따라서는 중일성 딸기 품종을 확인할 수 있는 SNP가 있어도 HRM방법으로 확인 불가능할 수도 있을 것이다. 따라서 8배체 딸기에서 다형성을 확인할 수 있는 새로운 방법의 모색이 필요할 것으로 판단되며, 다형성 확인 방법 뿐 아니라 양적 분석이 가능한 방법 또한 필요할 것으로 판단된다.

```

Albion-3          TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTGCTTACAAACAACAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
reference        TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCTCTTACAACAGCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Albion-1         TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Festival_2      TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Seolhyang_1     TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Albion-2         TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Festival_1      TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Albion-6        TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Albion-4        TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Festival_5      TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Albion-5        TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
Seolhyang_2     TTCACCCCAACACACAAAATGATTGTCACTTACAACACCAAGCTCGTCTGCAATGGACAT
*****

```

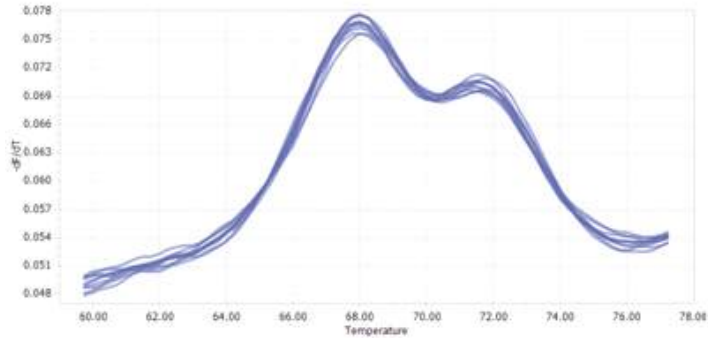


그림 5-8. 알비온, 설향, 페스티벌 사이의 다형성 위치를 HRM을 수행한 결과.

```

Albion-3          GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
reference        GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Albion-1         GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Festival_2      GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Seolhyang_1     GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Albion-2         GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Festival_1      GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Albion-6        GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Albion-4        GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Festival_5      GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Albion-5        GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
Seolhyang_2     GAAGGCAGTCGGTGAACCCGCCCTTCCTTAAGGATCACTTCAACACCCGAACCTTCGCAG
*****

```

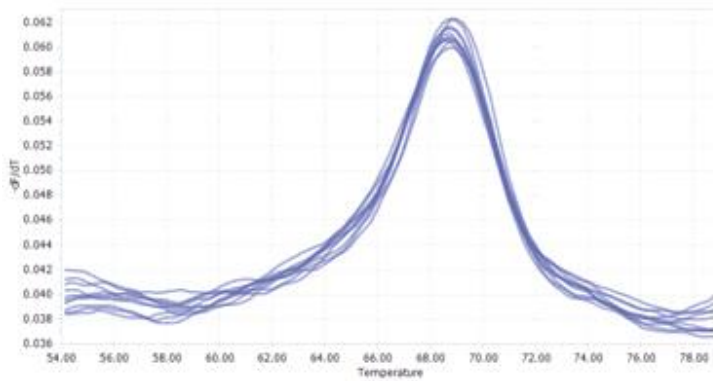


그림 5-9. 알비온, 설향, 페스티벌 사이의 다형성 위치를 HRM을 수행한 결과.

17. 딸기의 당도 및 사계성 QTL 분석을 위한 F1 분리집단 육성 및 표현형 조사

1) 교배조합 및 F1 분리집단의 생육특성

당도 및 사계성 연관 분자표지 개발을 위해 선발된 고당도 품종 (설향, 매향)과 저당도 품종(페스티벌, 스위트찰리)을 교배하여 F1 분리집단 125개체의 실생묘를 획득하였으며, 정식하였다. 또한 중일성(알비온), 사계성(관하) 품종과 일계성 품종(설향, 매향)을 교배하여 F1 분리집단 80개체의 실생묘를 획득하여 2016년 11월 26일에 정식하였다. 각 조합별 10개체에 대한 생육특성을 조사한 결과 엽장 및 엽수는 별 차이를 나타내지 않았지만, 화수에서 일계성 조합이 사계성 조합보다 화수의 전개가 더 빨리 되었다.

표 5-4. 당도 및 사계성 분자마커 개발을 위한 교배조합 및 F1 분리집단 개체

Crossing cultivars	Description 1	Description 2	F1 Population
C1(Maehyang x Sweet Charlie)	일계x일계	고당x저당	32
C2(Selhyang x Gwanha)	일계x사계	고당x저당	24
C3(Maehyang x Albion)	일계x중일	고당x저당	56
C4(Maehyang x Festival)	일계x일계	고당x저당	93



그림 5-10. 당도 및 사계성 F1 분리집단

표 5-5. 교배조합별 생육특성(2017. 5. 12 조사)

처리	초장 (cm)	엽병장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수 (ea)	관부 굵기 (mm)	엽록소 (SCDSV)	화수 (ea)	화경장 (cm)	첫개 화일 (월.일)	첫수 화일 (월.일)
C1	25.4	15.2	9.6	8.0	5.8	13.6	42.2	10.3	23.6	4.18	5.12
C2	21.7	12.6	8.5	7.6	6.1	13.0	41.4	8.3	22.9	3.25	4.24
C3	27.0	16.6	9.3	8.1	4.5	12.6	41.3	7.4	20.2	4.18	5.12
C4	24.2	17.3	9.8	8.1	6.1	15.4	43.4	9.2	23.3	3.25	4.24

※정식:2016.11.17.

2) 딸기 유전자원 특성분석

2009년부터 2017년까지 딸기 6품종에 대한 당도를 조사한 결과로써, 고당도 딸기 품종으로 알려진 설향, 매향은 8.8Brix에서 12.8Brix까지 분포하였으며, 저당도 딸기 품종으로 알려진 스위트찰리, 페스티발은 4.3Brix에서 8.7Brix까지 분포하였다.

표 5-6. 딸기 주요품종의 당도

Cultivar	Brix	조사년월	조사장소, Reference
Seolhyang	12.8	2009	Kim et al. (2009)
	9.1	2016.03	논산딸기시험장
	10.1	2016.05	순천대학교
	8.8	2017.1.12	담양군농업기술센터
Maehyang	12.7	2009	Kim et al. (2009)
	9.1	2016.03	논산딸기시험장
	10.9	2016.05	순천대학교
	9.8	2017.1.12	담양군농업기술센터
SweetCharlie	6.4	2009	Kim et al. (2009)
	4.3	2016.03	논산딸기시험장
	7.9	2016.05	순천대학교
	8.1	2017.1.12	담양군농업기술센터
Festival	6.1	2016.03	논산딸기시험장
	8.7	2016.04	순천대학교
	7.4	2017.1.12	담양군농업기술센터
Albion	8.1	2016.03	논산딸기시험장
	8.2	2016.04	순천대학교
	8.0	2017.1.12	담양군농업기술센터
Gwanha	6.1	2016.03	논산딸기시험장
	8.4	2016.04	순천대학교

3) 과실특성(2017. 4. 24~6. 2)

4개의 F1 분리집단 중에서 고당도(매향)×저당도(페스티발) 교배조합의 F1 분리집단에서 개체간 당도의 표현형이 다양하게 나타났다. 다른 세 교배조합 역시 고당도×저당도의 교배조합으로 구성된 F1 분리집단이지만 개체간 당도의 차이가 많이 나타나지 않았다. 특히 사계성의 교배조합의 F1 개체간 당도의 차이는 거의 나타나지 않았다. 다음으로 고당도(매향)×저당도(페스티발) 교배조합 F1 분리집단의 분리비를 살펴본 결과, Brix 5이하:6:7:8:9:10이상=8:13:24:18:7:5로 분리되었다. 결과적으로 F1 분리집단에서 당도의 차이를 나타내고 있는 고당도(매향)×저당도(페스티발) 교배조합 F1개체의 당도 표현형을 활용하여 QTL map을 작성에 이용하였다.

표 5-7. 당도 관련 교배조합 (매향(고당도)×페스티발(저당도)) F1 개체의 과실특성

개체번호	과장(mm)	과폭(mm)	과중(g)	경도	당도(°Bx)	산도(%)
				(g/φ5mm)		
2	39.79	35.99	19.13	259.65	7.35	0.62
3	35.08	34.56	16.35	178.30	9.05	0.68
8	40.49	36.92	23.63	-	6.70	0.57
9	42.33	35.86	21.58	203.14	6.52	0.53
10	37.94	29.60	13.95	216.10	8.30	0.61
12	50.76	31.54	20.67	182.65	8.13	0.74
13	43.50	32.34	16.95	281.00	7.85	0.55
14	47.33	38.54	25.28	191.45	9.10	0.58
15	41.84	41.30	27.63	197.20	8.35	0.58
16	46.04	32.86	19.85	155.20	5.70	0.61
17	52.89	38.44	30.90	179.40	6.70	0.52
18	45.26	31.24	18.03	199.58	7.58	0.56
20	50.47	34.29	23.42	199.13	7.10	0.60
21	47.06	36.74	22.15	191.95	7.05	0.58
23	40.25	31.81	15.55	269.30	8.90	1.07
25	43.98	34.20	21.50	338.90	5.80	0.52
26	38.71	36.40	18.00	209.10	9.70	0.60
27	41.04	32.49	16.15	211.63	8.23	0.61
28	49.62	32.03	18.80	210.30	6.50	0.56
29	41.92	34.45	8.65	264.60	-	-
30	39.43	28.24	15.71	246.08	7.83	0.50
31	40.68	34.39	17.05	116.50	6.20	0.46
32	54.90	34.38	24.75	221.80	6.30	0.58
33	53.59	40.29	32.35	172.35	6.40	0.50
34	42.24	32.31	18.43	224.05	7.80	0.52
35	47.44	39.35	27.95	-	7.90	0.50
36	44.84	39.64	25.65	240.75	7.20	0.49
37	37.35	26.42	10.45	-	6.70	0.73
38	39.78	35.08	13.68	220.65	6.55	0.63
40	40.22	36.80	22.53	222.98	7.70	0.54
41	40.63	34.84	18.65	173.10	7.70	0.61

42	44.02	35.86	21.68	140.85	5.05	0.50
44	42.60	31.95	16.73	168.95	5.80	0.47
45	47.46	31.62	17.38	156.55	7.65	0.68
46	46.00	33.44	21.53	203.15	7.30	0.53
47	42.47	34.55	16.80	201.90	13.10	0.61
48	45.45	35.58	23.85	233.90	8.30	0.69
49	42.45	31.57	20.57	174.95	5.25	0.60
50	33.81	33.18	14.75	184.60	9.03	0.70
51	57.13	35.13	25.65	190.40	10.80	0.55
52	39.76	30.53	13.80	219.65	8.07	0.53
54	51.92	40.45	30.30	125.70	5.70	0.54
55	44.28	26.36	13.90	346.60	8.35	0.50
56	41.50	32.36	17.93	279.10	6.35	0.63
57	47.84	38.47	28.50	—	4.90	0.49
58	77.66	70.14	33.75	249.30	8.70	1.24
59	41.04	24.28	10.98	175.37	7.83	0.58
60	51.62	35.95	24.16	200.45	8.28	0.57
61	52.51	27.53	18.78	201.17	7.07	0.58
62	52.27	27.58	16.63	215.95	7.60	0.70
63	52.02	42.83	37.49	213.20	6.23	0.50
64	45.50	42.44	32.98	—	8.30	0.58
65	42.96	36.61	19.85	205.30	8.40	0.66
66	44.48	31.82	16.95	214.07	8.63	0.73
67	57.59	37.39	29.85	201.15	7.90	0.59
68	41.99	34.50	21.23	99.25	7.00	0.52
69	45.05	31.38	17.49	171.73	9.50	0.63
70	40.04	37.47	23.45	167.37	7.83	0.60
71	58.05	34.48	23.23	253.25	8.47	0.68
72	50.33	24.08	12.68	118.30	10.20	0.57
73	40.71	33.09	17.98	213.60	8.03	0.70
74	37.29	30.92	14.35	206.90	7.60	0.50
75	52.52	33.07	22.25	200.65	6.27	0.55
76	41.55	33.22	18.05	231.85	7.05	0.70
77	49.48	46.42	34.95	124.70	8.30	0.51
79	53.69	38.65	34.80	187.85	6.98	0.53
80	43.11	34.59	22.35	—	7.50	0.68
81	46.97	30.58	17.13	219.70	8.25	0.55
82	43.05	30.54	16.88	151.20	9.75	0.59
84	35.70	32.78	16.12	197.50	5.95	0.51
86	53.50	38.10	28.43	271.65	7.30	0.60
87	48.11	38.77	26.75	159.45	7.40	0.55
88	38.09	26.05	11.50	—	10.05	0.72
89	46.19	39.43	24.10	234.70	11.20	0.53
90	55.60	32.57	22.10	224.97	9.43	0.62
91	50.70	34.88	24.28	137.25	8.35	0.52
평균	45.70	34.69	21.05	203.64	7.73	0.60

표 5-8. 당도 관련 교배조합(매향(고당도)×스위트찰리(저당도)) F1 개체의 과실특성

개체번호	과장(mm)	과폭(mm)	과중(g)	경도	당도(°Bx)	산도(%)
				(g/φ5mm)		
3	33.85	30.72	12.40	249.30	10.80	0.69
5	33.85	30.72	12.40	249.30	10.80	0.69
6	25.90	28.33	5.75	411.90	—	—
7	31.20	29.92	10.18	303.50	10.80	0.69
9	40.84	31.66	15.45	140.70	11.40	0.68
12	36.02	30.79	12.82	222.10	11.10	0.69
16	42.00	31.56	16.50	163.40	10.50	0.71
17	39.01	31.18	14.66	192.75	10.80	0.70
18	40.51	31.37	15.58	178.08	10.65	0.70
19	39.76	31.27	15.12	185.41	10.73	0.70
21	43.98	32.72	16.50	230.20	12.20	0.51
22	28.00	29.27	8.15	208.60	—	—
23	35.99	31.00	12.33	219.40	12.20	0.51
24	32.00	30.13	10.24	214.00	12.20	0.51
25	48.41	30.00	17.70	184.20	9.80	0.48
27	34.06	33.13	13.50	178.50	10.80	0.57
28	41.24	31.57	15.60	181.35	10.30	0.53
29	37.65	32.35	14.55	179.93	10.55	0.55
30	37.65	32.35	14.55	179.93	10.55	0.55
31	37.65	32.35	14.55	179.93	10.55	0.55
32	37.65	32.35	14.55	179.93	10.55	0.55
평균	37.01	31.18	13.48	211.07	10.91	0.61

표 5-9. 사계성 관련 교배조합 (매향(일계성, 고당도)×알비온(중일성, 저당도)) F1 개체의 과실 특성

개체번호	과장(mm)	과폭(mm)	과중(g)	경도	당도(°Bx)	산도(%)
				(g/φ5mm)		
4	42.75	34.67	17.01	162.70	8.80	0.61
5	41.10	34.51	15.83	152.05	8.65	0.62
6	41.92	34.59	16.42	157.38	8.73	0.62
7	41.30	34.53	15.98	153.38	8.67	0.62
9	41.44	34.54	16.08	154.27	8.68	0.62
10	41.37	34.54	16.03	153.83	8.68	0.62
11	43.00	30.25	14.55	228.10	8.40	0.66
13	41.37	34.54	16.03	153.83	8.68	0.62
14	49.43	38.37	27.40	124.40	9.10	0.71
15	41.54	31.91	16.05	—	9.30	0.68
20	59.97	37.34	28.15	245.80	9.70	0.71
26	50.31	35.87	23.87	185.10	9.37	0.70
27	55.14	36.61	26.01	215.45	9.53	0.71
33	52.73	36.24	24.94	200.28	9.45	0.70
34	55.46	42.13	38.00	164.30	8.50	0.57
36	54.09	39.19	31.47	182.29	8.98	0.64
42	37.19	35.55	16.85	—	11.60	0.61
49	41.26	31.92	16.80	—	—	0.74
평균	46.19	35.40	20.97	175.54	9.11	0.65

표 5-10. 사계성 관련 교배조합 (설향(일계성, 고당도)×관하(사계성, 저당도)) F1 개체의 과실 특성

개체번호	과장(mm)	과폭(mm)	과중(g)	경도	당도(°Bx)	산도(%)
				(g/φ5mm)		
3	37.65	32.35	14.55	179.93	10.55	0.55
5	52.30	38.18	22.85	207.70	8.60	0.53
9	39.82	31.79	15.90	160.30	9.60	0.62
10	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
12	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
13	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
15	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
18	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
21	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
22	46.06	34.99	19.38	184.00	9.10	0.58
23	39.44	34.35	14.65	141.40	8.50	0.64
평균	44.69	34.69	18.51	179.76	9.18	0.58

4) 사계성 관련 표현형 조사

딸기의 사계성 품종은 일장에 관계없이 화아분화를 하기 때문에, 여름철에도 화아가 생성되어 딸기를 생산하게 되므로, 6월달 장일조건에서 개화된 개체수를 조사한 결과 매향(일계)×알비온(중일) 교배조합의 F1 개체간에 분리가 일어났다. 사계성 관련 QTL 작성을 위해 표현형 조사가 수행하였다.

표 5-11. 사계성 관련 교배조합의 F1 개체별 개화조사

조사시기	4월25일	6월2일		
개화번호	1개화개체	1개화개체	2개화개체	3개화개체
설향(일계)× 관하(사계)	2,18,21,22,23	3,4,5,7,9,10,11,12, 13,14,15,16,17,18, 20,21,22,23,24,30	3,9,10,12,13,15, 18,21,22,23,24,	3,10,12,21
매향(일계)× 알비온(중일)	7	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10, 11,12,13,14,15,16, 17,18,20,21,22,24, 25,26,27,28,30,31, 32,33,34,36,37,38, 39,40, 41,42,43,44,47,48, 50,51,52,53,55,56	1,4,5,6,7,9,10, 11,12,13,14,15, 16,21,25,26,27, 32,33,34,36,37, 41,42,50,52	6,7,9

18. 딸기의 당도 관련 분자표지 개발을 위한 당도 관련 유전자의 발현분석 및 후보유전자 선발

1) HPLC를 이용한 고당도 딸기품종과 저당도 딸기품종의 당 함량 분석

당도관련 딸기품종(고당도(매향, 설향), 저당도(페스티발, 스위트찰리))에 대해 HPLC를 이용하여 딸기과실의 당함량을 분석한 결과, 고당도 품종인 매향은 Fructose, Glucose가 2.41g, 2.01g으로 설향보다 적었지만 Sucrose가 7.8g로 가장 많이 함유하고 있었다. 설향은 Frutos, Glucose, sucrose가 4-5g으로 다른 품종에 비해 Frutos와 Glucose를 많이 함유하고 있었다. 하지만 저당도 품종인 페스티발, 스위트찰리는 Fructose, Glucose, Sucrose 모두가 대체로 낮았고, Maltose는 검출되지 않았다. 4품종간 총 당함량을 비교해 본 결과, 고당도 품종이 저당도 품종보다 2~3배이상을 함유하고 있었다. 또한 Sucrose가 당도에 매우 중요하게 관여하고 있음을 알 수 있었다.

표 5-12. HPLC를 이용한 딸기 품종의 당 함량 분석

Cultivars	Sugars content in g/100g				Total
	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	
Maehyang	2.41	2.01	7.80	0.007752	12.23
Seolhyang	4.22	4.30	5.22	0.358124	14.10
Albion	2.31	2.05	2.86	0.235385	7.46
Sandress	1.48	1.30	2.05	0.177502	5.01
Gwanha	3.10	3.18	1.49	Not detected	7.77
Festival	2.39	2.07	0.59	Not detected	5.05
Sweetcharlie	2.07	1.95	0.76	Not detected	4.78

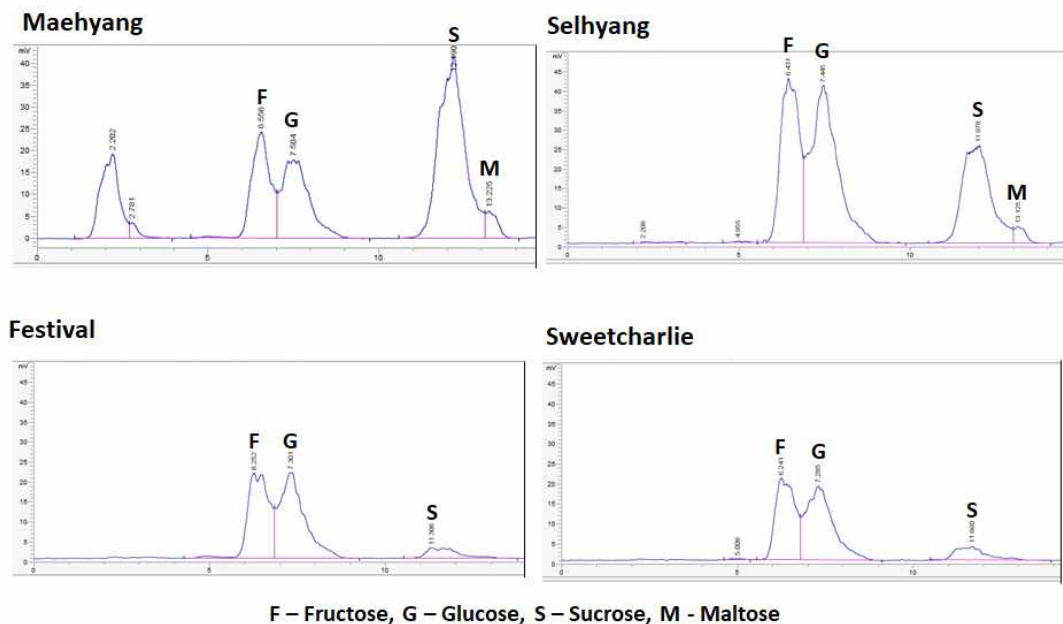


그림 5-11. 당도 관련 딸기 4품종의 HPLC 크로마토그래픽.

2) RT-PCR를 이용한 딸기의 당 관련 유전자 발현분석 및 후보 유전자 선발

재배되고 있는 딸기는 *Fragaria ananassa*로 *Fragaria* 속간에 교잡을 통하여 품종을 만들고 있다. 당도는 딸기 육종목표의 매우 중요한 하나의 Factor이고 품질을 결정하는 역할을 한다. 당과 유기산 함량은 품종간에 차이가 있으며, 당 성분 중 Fructose, Glucose, Sucrose가 99%이상을 차지하고 있다. 그래서 딸기의 유전체정보를 이용하여 당도 관련 유전자를 116개를 수집하였으며, 단백질 도메인 분석을 통하여 61개의 유전자(Fructose 6, Glucose 17, Sucrose 23, Sugar 15)를 선발하였다. 또한 당도 관련해서 수집한 고당도 품종(매향, 설향)과 저당도 품종(페스티벌, 스위트찰리)으로부터 RNA 추출 후 cDNA를 합성하였으며, Avian Myeloblastosis Virus (AMV) one-step RT-PCR kit와 당도 관련 유전자 특이적인 primer를 이용하여 RT-PCR을 수행 후 분석하였다.

표 5-13. 딸기의 유전체로부터 당관련 유전자 및 단백질 도메인 분석

Fructose-related genes				
Name	Hit type	From	To	Name
FaFru1	superfamily	3	143	PFK superfamily
FaFru2	superfamily	264	568	ICL_KPHMT superfamily
FaFru3	superfamily	1	288	GlmS superfamily
FaFru4	superfamily	72	462	FIG superfamily
FaFru5	superfamily	8	429	PFK superfamily
FaFru6	specific	3	350	PLN02455

Glucose-related genes				
Name	Hit type	From	To	Name
FaGlu1	superfamily	143	536	G6PD_C superfamily
FaGlu2	specific	1	475	PLN02353
FaGlu3	specific	98	387	TPT
FaGlu4	specific	1	473	PLN02353
FaGlu5	specific	90	526	PLN02241
FaGlu6	superfamily	1	595	G6PD_C superfamily
FaGlu7	specific	106	485	Sugar_tr
FaGlu8	specific	1	576	PLN02649
FaGlu9	specific	85	521	PLN02241
FaGlu10	superfamily	314	804	G6PD_C superfamily
	superfamily	1	300	PLN02193 superfamily
FaGlu11	superfamily	1	584	G6PD_C superfamily
FaGlu12	specific	1	473	PLN02353
FaGlu13	superfamily	1	342	Sugar_tr superfamily
FaGlu14	superfamily	5	352	Glyco_tranf_GTA_type superfamily
FaGlu15	specific	1	346	PLN02240
FaGlu16	superfamily	1	226	NADB_Rossmann superfamily

Sucrose-related genes				
Name	Hit type	From	To	Name
FaSuc1	specific	1	756	PLN02355
FaSuc2	superfamily	70	589	GPH_sucrose superfamily
FaSuc3	superfamily	1	833	PLN00142 superfamily
FaSuc4	superfamily	2	322	PLN00142 superfamily
FaSuc5	superfamily	9	247	GPH_sucrose superfamily
FaSuc6	superfamily	1	441	PLN00142 superfamily
FaSuc7	superfamily	112	996	PLN00142 superfamily
FaSuc8	specific	1	806	PLN00142
FaSuc9	superfamily	13	483	GPH_sucrose superfamily
FaSuc10	superfamily	13	316	GPH_sucrose superfamily
FaSuc11	superfamily	1	725	AmyAc_family superfamily
FaSuc12	superfamily	1	111	GPH_sucrose superfamily

FaSuc13	superfamily	144	873	AmyAc_family superfamily
FaSuc14	superfamily	819	1788	PLN00142 superfamily
	superfamily	91	759	Pnp superfamily
FaSuc15	superfamily	1	992	PLN00142 superfamily
FaSuc16	specific	2	797	PLN00142
FaSuc17	superfamily	1	189	AmyAc_family superfamily
FaSuc18	superfamily	590	1051	GPH_sucrose superfamily
	superfamily	403	558	PKc_like superfamily
	specific	211	295	PAN_AP_plant
	specific	8	47	B_lectin
	superfamily	138	196	S_locus_glycop superfamily

Sugar-related genes

Name	Hit type	From	To	Name
FaSug1	superfamily	3	322	Sugar_tr superfamily
FaSug2	specific	29	461	Sugar_tr
FaSug3	superfamily	6	291	Sugar_tr superfamily
FaSug4	specific	52	476	Sugar_tr
FaSug5	specific	10	572	PLN02830
FaSug6	specific	30	450	Sugar_tr
FaSug7	specific	26	488	Sugar_tr
FaSug8	specific	28	495	Sugar_tr
FaSug9	superfamily	9	413	Sugar_tr superfamily
FaSug10	superfamily	1	117	Sugar_tr superfamily
FaSug11	superfamily	27	367	Sugar_tr superfamily
FaSug12	specific	28	489	Sugar_tr
FaSug13	specific	9	439	Sugar_tr
FaSug14	specific	26	488	Sugar_tr
FaSug15	specific	27	460	Sugar_tr

선발된 61개의 당도 관련 유전자의 발현 양상을 real-time PCR을 이용하여 분석한 결과, Fructose 유전자 중 FaFru2, Glucose 유전자 중 FaGlu8, Sucrose 유전자 중 FaSuc11 등 3개의 유전자가 당도에 관여하였다. 특히 Sucrose의 FaSuc11 유전자의 발현양상은 고당도 품종과 저당도 품종의 Sucrose HPLC data와 일치하였다. 이러한 unigene 데이터 정보는 딸기 품종의 당도관련 유전자를 동정하고, 딸기의 유전적 조작을 하는데 유용한 자원으로 이용 가능하다. 또한, 선발된 당도 관련 후보유전자는 당도 관련 분자표지개발에 활용가능하다.

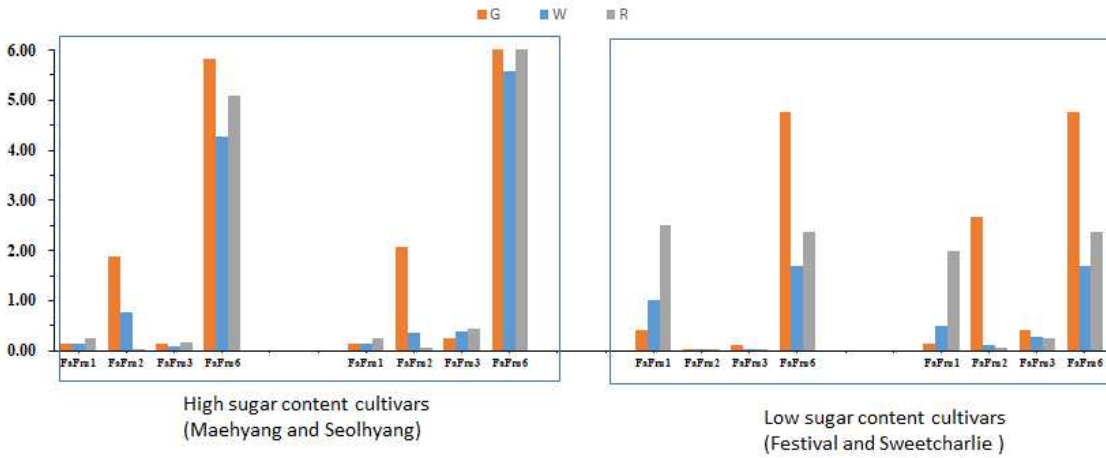


그림 5-12. 당도 관련 딸기 품종의 Fructose 관련 유전자의 발현양상.
G: Green stage, W: White stage, R: Ripened stage

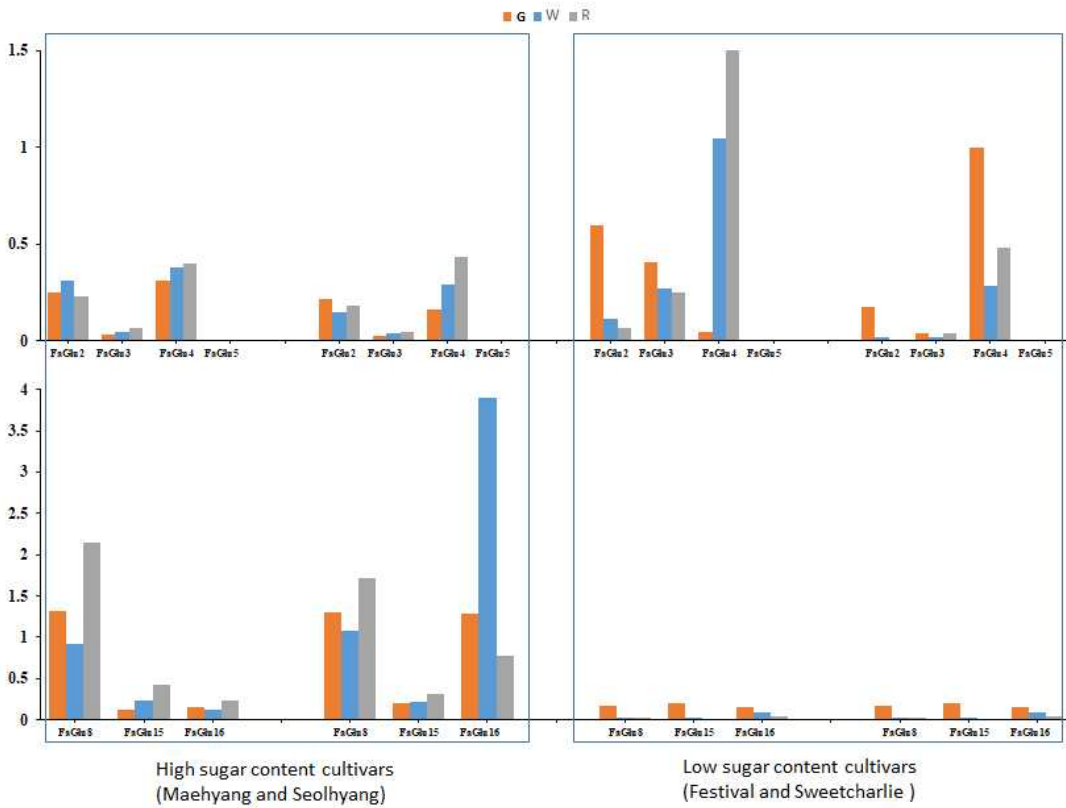


그림 5-13. 당도 관련 딸기 품종의 Glucose 관련 유전자의 발현양상.
G: Green stage, W: White stage, R: Ripened stage

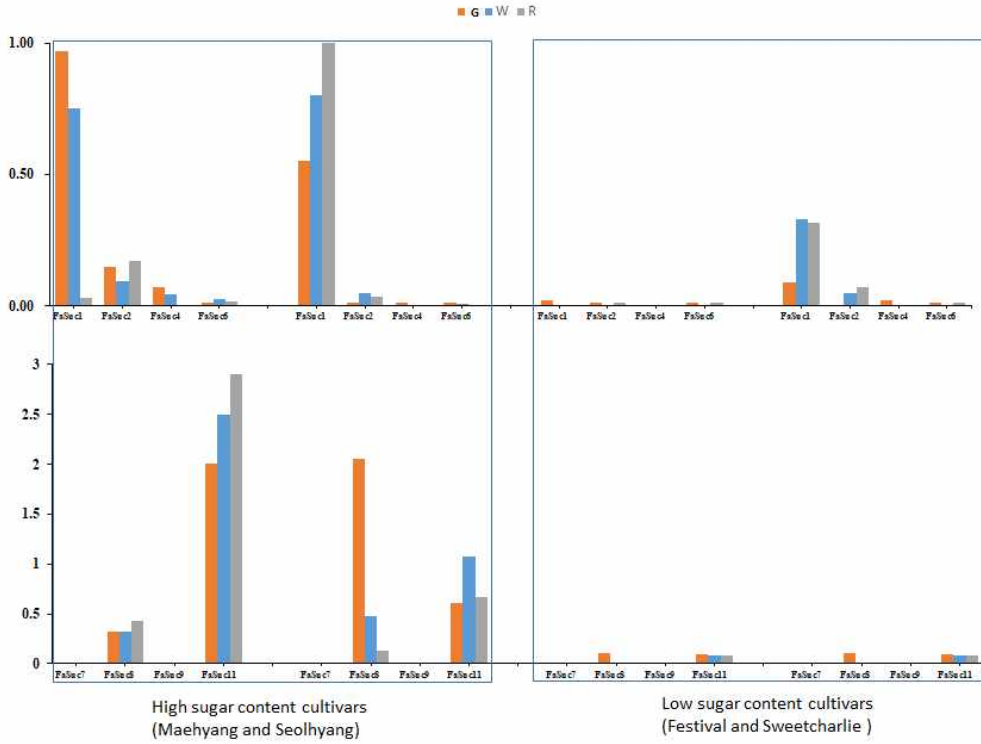


그림 5-14. 당도 관련 딸기 품종의 Sucrose 관련 유전자의 발현양상.
G: Green stage, W: White stage, R: Ripened stage

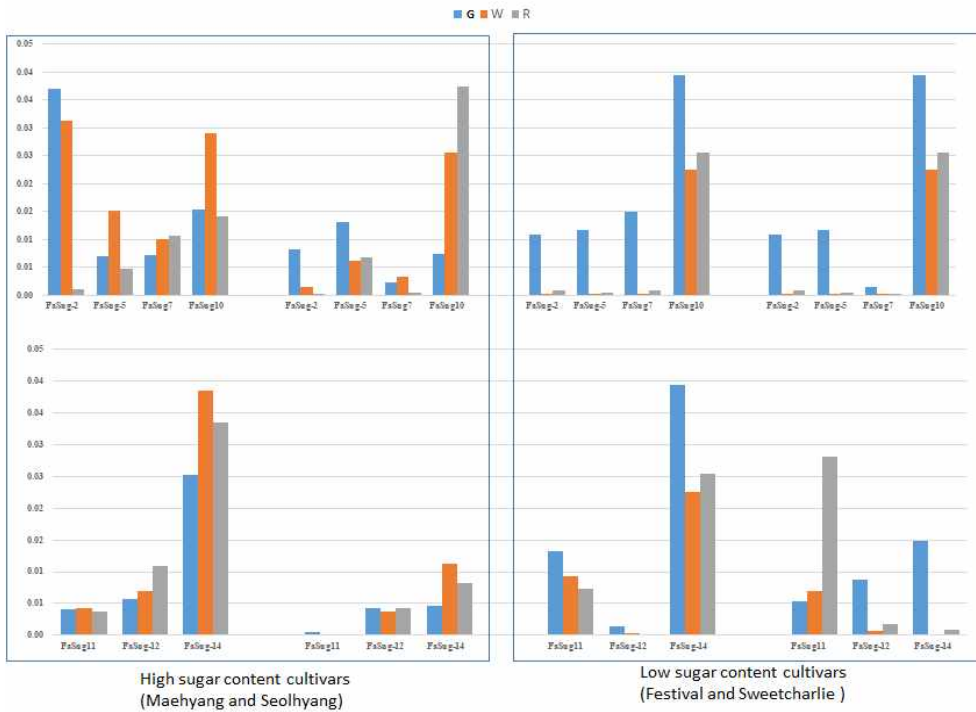


그림 5-15. 당도 관련 딸기 품종의 Sugar 관련 유전자의 발현양상.
G: Green stage, W: White stage, R: Ripened stage

19. 기존의 보고된 분자 표지를 이용한 당도 및 사계성 품종 검증 및 분자표지 선발

1) 딸기 고당도 및 사계성관련 분자마커 탐색

기존 보고된 문헌 자료에서 당도 및 사계성 관련 분자표지를 각각 7개 (Fructose 관련 3개, Sugar 관련 4개), 3개를 획득하였다. 마커타입을 살펴보면 당도관련 마커는 SSR(Simple Sequence Repeat), CAPS(Cleavage amplified polymorphic sequence)로 공우성 마커이며, 우성과 열성 모두 PCR 증폭 단편을 얻게 된다. 하지만 사계성 마커는 SCAR(Sequence Characterized Amplified Region)로 우성마커이므로 우성 한쪽만 PCR 증폭 단편을 얻게 된다.

표 5-14. 당도 및 사계성 관련 분자표지 및 특성

Trait	Marker name	Marker Type
Fructose	F01-134	SSR
	F02-723	CAPS
	F03-022	CAPS
Sugar	S07-07	SSR
	S08-701	CAPS
	S09-038	-
	S10-146	-
Seasonal flowering locus	SFL-04-1	SCAR
	SFL-05-2	SCAR
	SFL-06-3	SCAR

2) 딸기 당도 및 사계성관련 분자표지 선발

당도 관련 7개의 분자표지를 이용하여 딸기 8품종(고당도: 매향, 설향, 담향, 죽향, 저당도: 페스티발, 스위트찰리, 관하, 알비온)에 대해 PCR 증폭 및 제한효소 처리한 후 Agarose gel 전기영동 분석을 하였지만 고당도 품종과 저당도 품종간의 차이를 구별할 수 없었다. 하지만, QIAxcel를 이용해 분석한 결과, F03-022와 S08-701의 분자표지에서 고당도 품종(매향, 담향)과 저당도 품종(페스티발, 알비온)간에 증폭된 단편의 차이를 확인할 수 있었다. 나머지 분자표지에서는 품종간의 차이를 구별할 수 없었다.

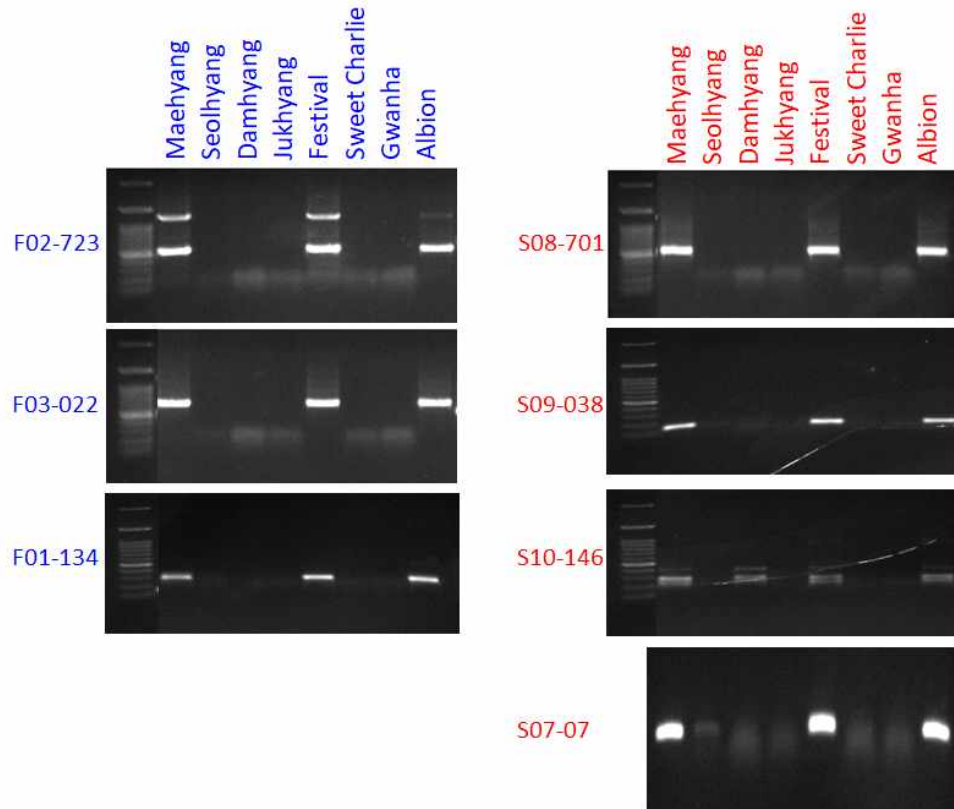


그림 5-16. 당도관련 분자표지를 이용한 고당도 품종(매향, 설향, 담향, 죽향)과 저당도 품종(페스티벌, 스위트찰리, 관하, 알비온)의 PCR 증폭 후 Agarose gel 전기영동 단편패턴.

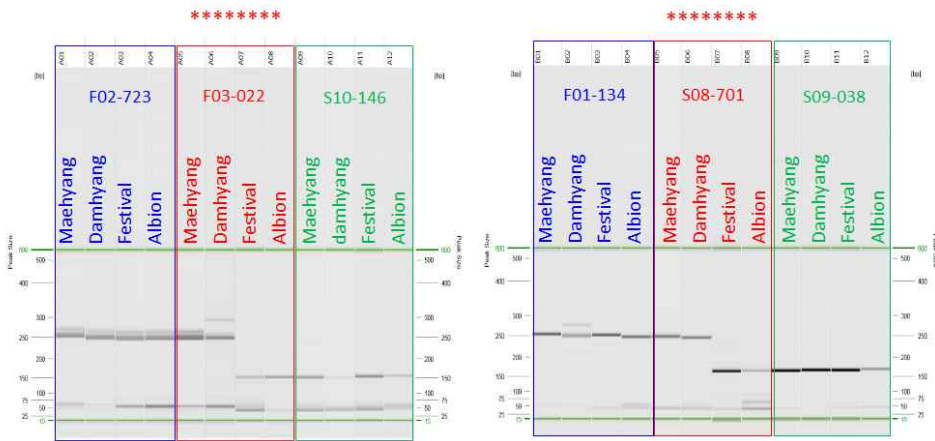


그림 5-16. 당도관련 분자표지를 이용한 고당도 품종(매향, 담향)과 저당도 품종(페스티벌, 알비온)의 PCR 증폭 후 QIAxcel분석 단편패턴.

또한 사계성에 관련해서 3개의 분자표지를 이용하여 4품종(일계성: 매향, 설향, 사계성: 관하, 중일성: 알비온)에 대해 PCR 증폭 후 Agarose gel 전기영동 분석한 결과, SFL-04-1, SFL-05-2마커에서 중일성 품종인 알비온에서 사계성 특유의 단편이 증폭되었다. 하지만 일계성인 매향과 설향에서는 사계성 특유의 단편이 증폭되지 않았다. 또한 사계성 품종인 관하에서도 사계성 특유의 단편이 증폭 되지 않았기 때문에 사계성 관련 분자표지에 대해 보완 후 재검토가 필요할 것 같다.

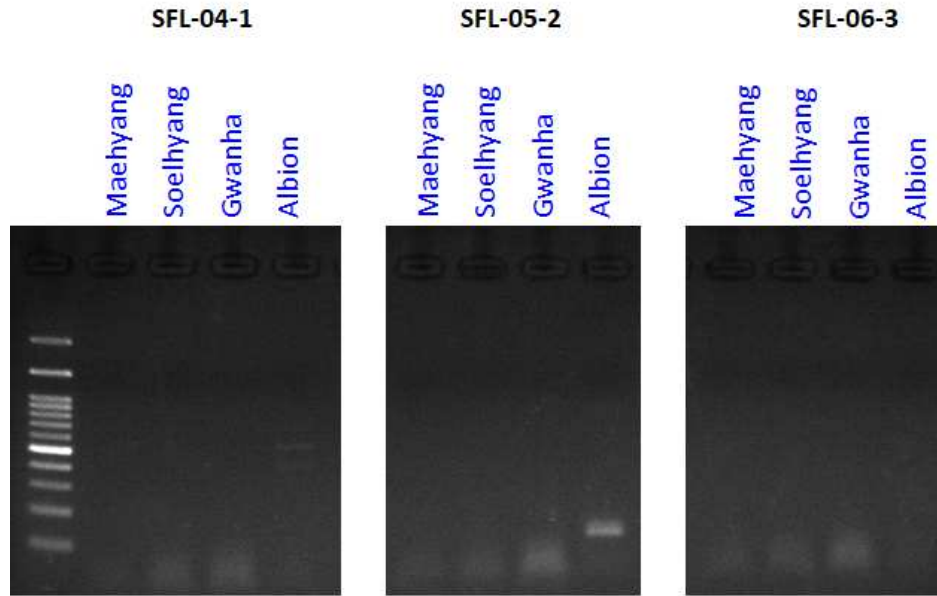


그림 5-17. 사계성 관련 분자표지를 이용한 일계성 품종(매향, 설향), 사계성 품종(관하), 중일성 품종(알비온)의 PCR 증폭 후 Agarose gel 전기영동 단편패턴.

20. 고당도 딸기품종의 과실색깔을 결정하는 안토시아닌 합성유전자의 발현양상과 당도의 연관성

1) 딸기 재배 품종 및 과실 발달 단계에 따른 총 안토시아닌(anthocyanin) 함량

일반적으로 총 안토시아닌 함량은 과실 발달 단계에 따라 현저히 ($p < 0.01$) 다양했으며, 딸기 품종 설향(Soelhyang), 매향(Maehyang), 토크(Tokun)에서 안토시아닌 함량은 익은 과실에서 높게 나타났으며, 녹색과 흰색 과실 순이었다. 흰색 단계에서 총 안토시아닌 함량은 일반적으로 감소하였으며, 녹색 단계와 익은 단계 사이의 덜 착색된 전이 단계가 관찰되었다. 특히, 매향 과 설향의 익은 과실과 안토시아닌 추출물의 튜브에서 육안으로 관찰된 총 안토시아닌 함량은 토크의 익은 과실에 비해 ~6, 5배 더 높았다.

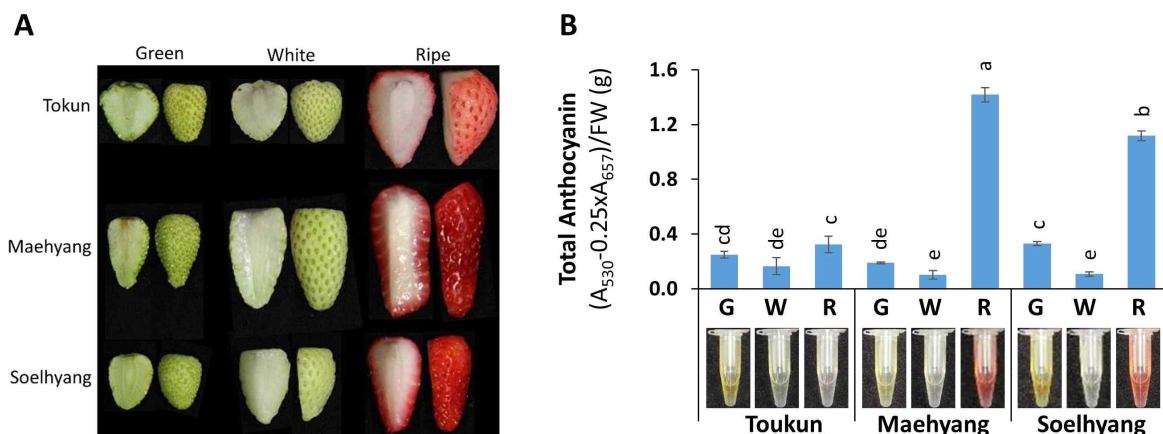


그림 5-18. 딸기 품종 토크(Tokun), 매향(Maehyang) 및 설향(Soelhyang)의 과실 발달 단계 (A)

및 총 안토시아닌 함량.

데이터는 평균 \pm SD로 나타냈음 ($n = 3$). 총 anthocyanin 함량의 통계적 유의 차이는 Tukey의 pairwise 비교에 따라 다른 문자로 표시함. G. Green, W. White, R. Ripe.

2) 총 안토시아닌 합성 관련 유전자의 발현분석

안토시아닌은 구조 유전자를 통해 전사 수준에서 조절되는 phenylpropanoid/flavonoid (F/P) 경로의 최종 단계의 대사 산물이며, 안토시아닌합성에 관여하는 전사조절 유전자 및 생합성 경로 유전자의 잠재적 상호작용을 확인하는 것은 딸기의 형질개선을 위한 새로운 단서를 제공할 수 있다. 딸기 3 품종(토군, 매향, 설향)의 3 가지 발달 단계와 안토시아닌 전사관련 유전자 및 생합성 유전자의 발현을 분석했다. 그 결과, 전사조절관련 유전자 중 Positive 조절인자인 FaMYB10 외에; FaMYB5, FabHLH3 및 FabHLH3-delta는 잠재적인 Positive 조절인자로 작용하였으며, FaMYB11, FaMYB9, FabHLH33 및 FaWD44-1은 높은 안토시아닌 품종에서 안토시아닌 생합성의 잠재적인 Negative 조절인자로서 작용하였다. 초기 안토시아닌 생합성관련 유전자내에서는 Fa4CL7, FaF3H, FaCHI1, FaCHI3, FaCHS 유전자가 총 안토시아닌 함량이 높은 매향과 설향 품종의 익은 과실에서 높은 발현을 나타냈으며, 후기 생합성 관련 유전자내에서는 FaDFR4-3, FaLDOX, FaUFGT2가 높은 발현을 보였다. 또한 다변량 분석 결과 총 안토시아닌과 이들 유전자의 연관성이 밝혀졌으며, 안토시아닌 생합성 경로를 따라 주요 유전자의 발현이 점차 증가함에 따라 안토시아닌의 최종 축적이 증가했다.

당(외인성 및 내인성)은 안토시아닌 생합성 유전자의 발현에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며(Das et al., 2012), 애기 장대에서는 묘목이 설탕 함유 배지에서 재배 될 때 자엽 또는 잎에서 안토시아닌 생산이 증가하였다(Ohto et al., 2001). 따라서 안토시아닌관련 유전자의 발현은 당 관련 유전자의 발현에 대한 단서를 제공할 수 있다.

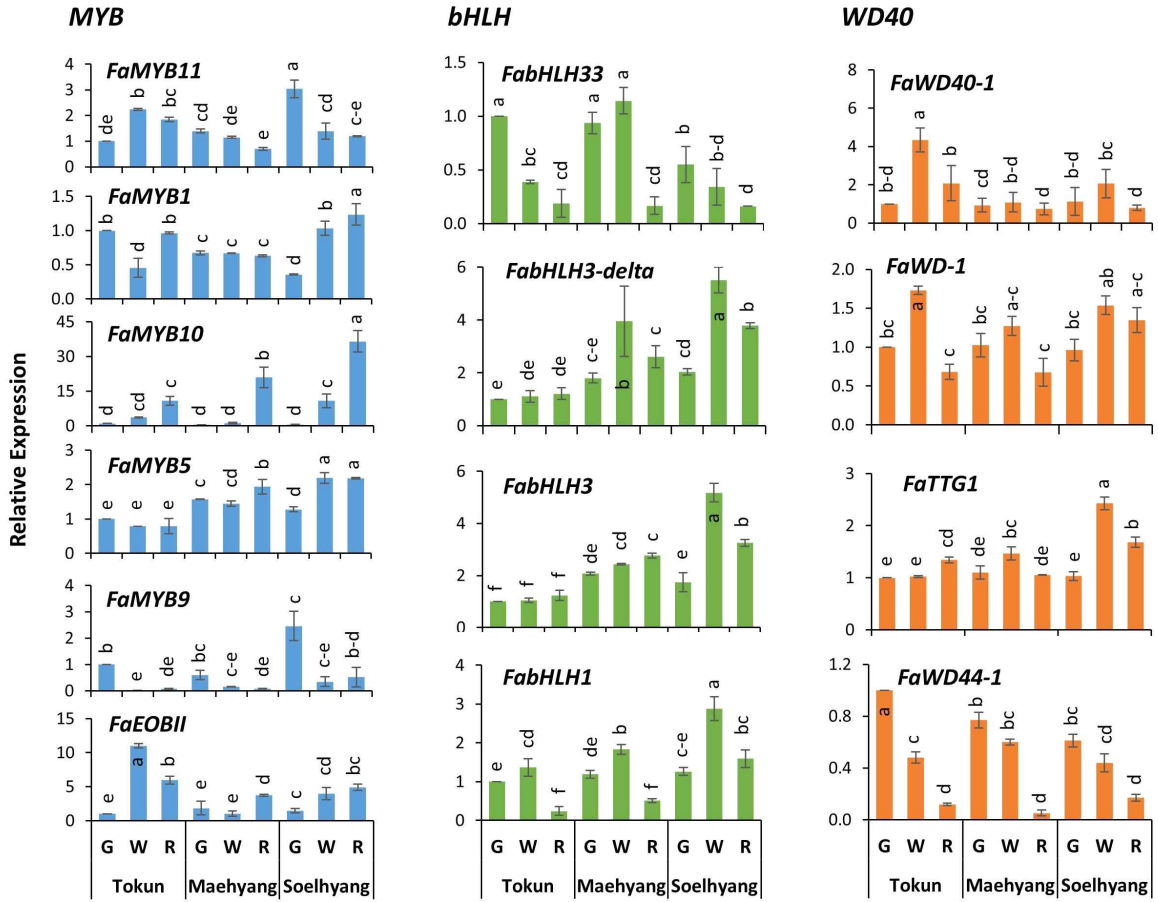
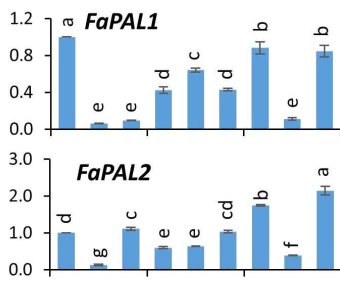
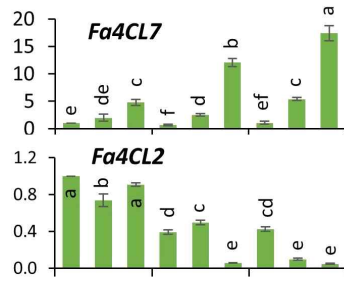


그림 5-19. 딸기품종 과실의 발달 단계 녹색, 흰색 및 익은 과실에 대한 Real-time PCR을 이용한 안토시아닌의 생합성에 관여하는 조절 유전자의 발현 분석. G. Green, W. White, R. Ripe.

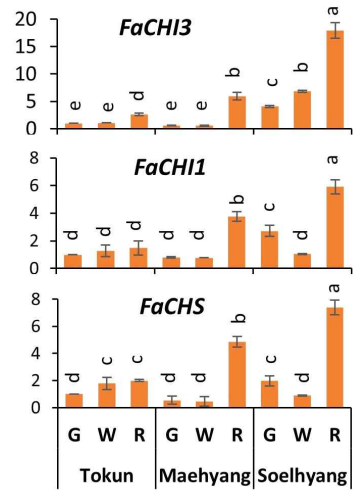
Phenylalanine



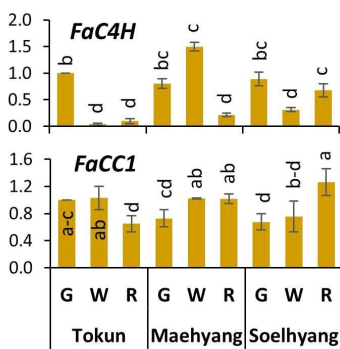
Coumaroyl-CoA



Chalcone



Cinnamic acid



Flavanone

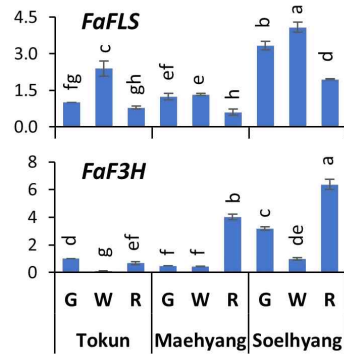
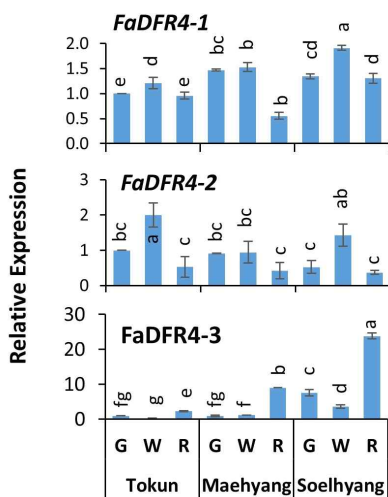
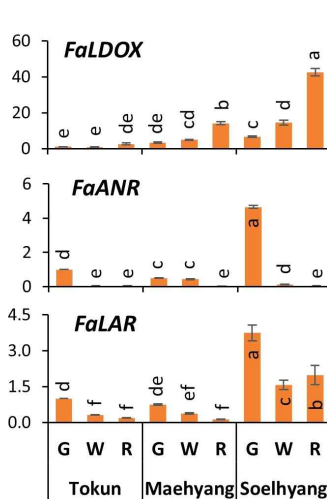


그림 5-20. 딸기품종 과실의 발달 단계 녹색, 흰색 및 익은 과실에 대한 Real-time PCR을 이용한 안토시아닌의 생합성 경로에서 초기에 관여 하는 유전자의 발현 분석. G. Green, W. White, R. Ripe.

Dihydroflavonol



Leucoanthocyanidin



Anthocyanidin

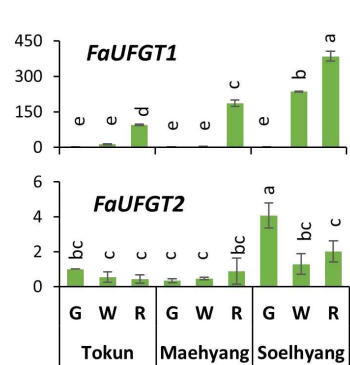


그림 5-21. 딸기품종 과실의 발달 단계 녹색, 흰색 및 익은 과실에 대한 Real-time PCR을 이용한 안토시아닌의 생합성 경로에서 후기에 관여 하는 유전자의 발현 분석. G. Green, W. White, R. Ripe.

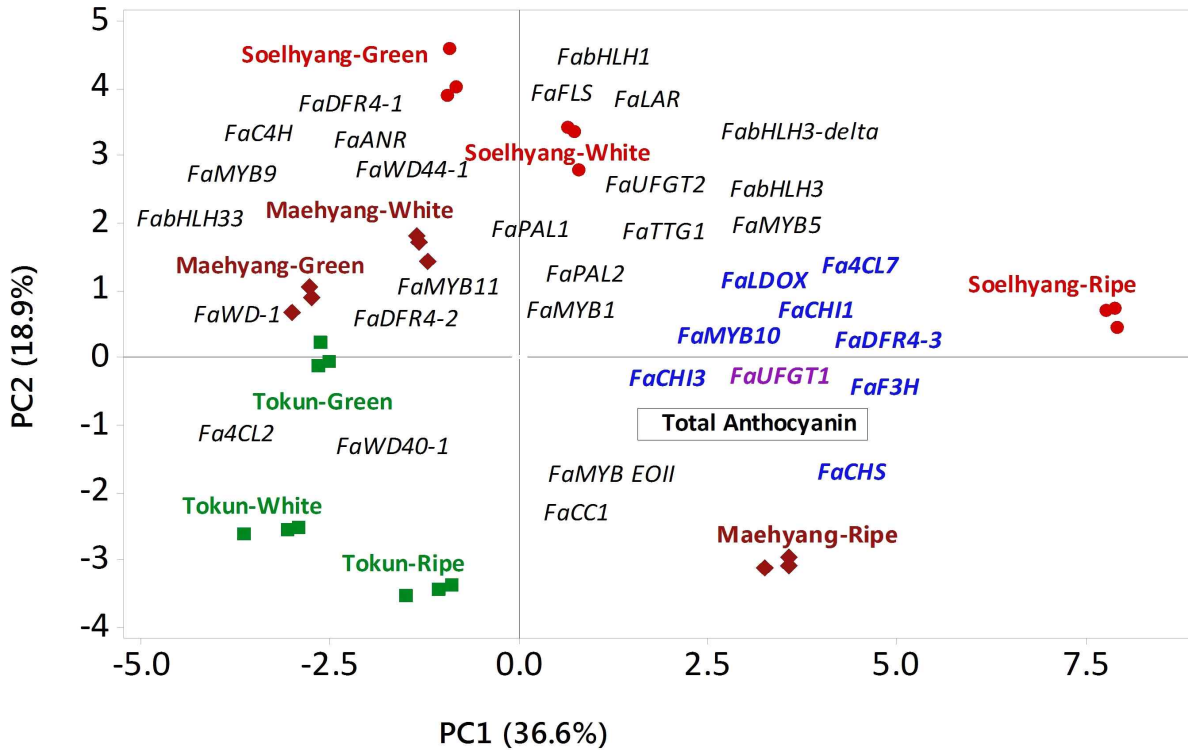


그림 5-22. 주성분 분석 (PCA)에 의해 결정된 딸기 과실의 발단단계(녹색, 흰색 및 익은 열매)와 안토시아닌 전사조절 및 생합성 유전자 간의 연관성을 보여주는 Biplot.

21. 당도 및 사계성 관련 분자표지 개발을 위한 교배조합의 품종 및 F1 분리집단의 NGS(Next Generation Sequencing) 분석

1) NGS 분석을 위한 재료 준비

당도 관련 분자표지를 개발하기 위해 고당도 품종(매향)과 저당도 품종(페스티발)의 교배에 의해 얻어진 F1 분리집단 43개체와 사계성 분자표지 개발을 위한 일계성 품종(매향)과 중일성 품종(알비온)의 교배에 의해 얻어진 F1 분리집단 44개체를 선발하여 genomic DNA를 DNeasy plant mini kit(Quiagen, Germany)를 이용하여 추출하였으며, Agarose gel을 사용하여 추출된 DNA를 확인 하였다. 그리고 NanoDrop 2000을 이용하여 총 96샘플의 DNA 농도를 25ng/ul이상으로 정량하여, NGS 분석을 수행하였다.

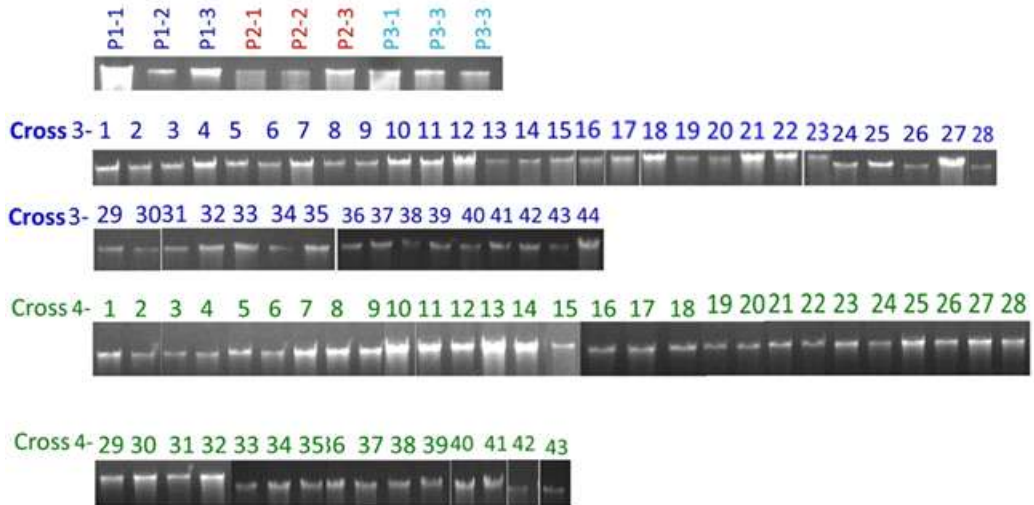
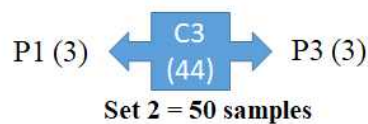
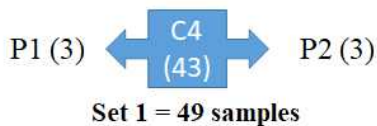


그림 5-23. 당도 및 사계성 교배조합에 사용한 품종 및 F1 분리집단의 게놈 DNA 추출 및 Agarose gel 전기영동 분석. P1: 매향, P2: 페스티발, P3: 알비온, Cross3(C3:매향×알비온), Cross4(C4: 매향×페스티발)

표 5-15. RAD-sequencing을 위한 당도 및 사계성 교배조합의 품종, F1 개체 리스트 및 추출한 gDNA 농도

SL	Sample I D	Conc. (n g/μL)	Vol (μL)	SL	Sample I D	Conc. (n g/μL)	Vol (μL)	SL	Sample I D	Conc. (n g/μL)	Vol (μL)	SL	Sample I D	Conc. (n g/μL)	Vol (μL)
1	P1-1	192.35	30	26	C4-20	41.34	30	1	P1-1	192.35	30	26	C3-20	33.49	30
2	P1-2	25.90	30	27	C4-21	47.36	30	2	P1-2	25.90	30	27	C3-21	66.16	30
3	P1-3	47.85	30	28	C4-22	23.32	30	3	P1-3	47.85	30	28	C3-22	46.49	30
4	P2-1	35.00	30	29	C4-23	47.6	30	4	P3-1	145.63	30	29	C3-23	31.39	30
5	P2-2	36.27	30	30	C4-24	24.42	30	5	P3-2	59.12	30	30	C3-24	35.92	30
6	P2-3	52.99	30	31	C4-25	41.34	30	6	P3-3	44.47	30	31	C3-25	50.85	30
7	C4-1	42.89	30	32	C4-26	37.26	30	7	C3-1	105.8	30	32	C3-26	54.3	30
8	C4-2	37.14	30	33	C4-27	53.12	30	8	C3-2	81.9	30	33	C3-27	73.39	30
9	C4-3	27.86	30	34	C4-28	135.36	30	9	C3-3	44.01	30	34	C3-28	59.44	30
10	C4-4	29.55	30	35	C4-29	54.2	30	10	C3-4	47.69	30	35	C3-29	46.67	30
11	C4-5	37.44	30	36	C4-30	52.33	30	11	C3-5	43.21	30	36	C3-30	33.67	30
12	C4-6	37.63	30	37	C4-31	37.41	30	12	C3-6	59.71	30	37	C3-31	24.28	30
13	C4-7	77.21	30	38	C4-32	52.71	30	13	C3-7	84.2	30	38	C3-32	29.87	30
14	C4-8	60.7	30	39	C4-33	54.71	30	14	C3-8	21.47	30	39	C3-33	51.23	30
15	C4-9	59.26	30	40	C4-34	60.6	30	15	C3-9	32.36	30	40	C3-34	71.2	30
16	C4-10	80.53	30	41	C4-35	67.05	30	16	C3-10	82.75	30	41	C3-35	46.08	30
17	C4-11	63.11	30	42	C4-36	67.11	30	17	C3-11	79.46	30	42	C3-36	33.73	30
18	C4-12	57.26	30	43	C4-37	66.7	30	18	C3-12	90.47	30	43	C3-37	56.41	30
19	C4-13	94.57	30	44	C4-38	63.95	30	19	C3-13	40.56	30	44	C3-38	65.82	30
20	C4-14	68.86	30	45	C4-39	69.03	30	20	C3-14	57.58	30	45	C3-39	58.06	30
21	C4-15	59.35	30	46	C4-40	72.56	30	21	C3-15	92.84	30	46	C3-40	61.34	30
22	C4-16	50.77	30	47	C4-41	78.42	30	22	C3-16	25.5	30	47	C3-41	67.71	30
23	C4-17	55.17	30	48	C4-42	87.77	30	23	C3-17	42.78	30	48	C3-42	64.81	30
24	C4-18	34.57	30	49	C4-43	60.59	30	24	C3-18	51.68	30	49	C3-43	65.85	30
25	C4-19	35.13	30					25	C3-19	29.1	30	50	C3-44	94.23	30



(Set 1: 당도 관련 교배조합 매향(P1)×페스티발(P2), F1 분리집단(C4-1~C4-43) Set 2: 사계성 관련 교배조합 매향(P1)×알비온(P3), F1 분리집단(C3-1~ C3-44))

2) 교배조합 및 F1 분리집단의 RAD-sequencing 분석

당도 및 사계성 관련 3품종과 각각의 F1 분리집단 43개체와 44개체를 이용하여 RAD-sequencing 분석을 수행하였다. 총 96샘플에 대해 각 샘플당 평균 1,287,014 raw reads 획득하였다. 그리고 딸기의 reference genome 염기서열(FAN_r1.1)에 genome Mapping한 결과, 평균 80.5% Alignment reads를 얻을 수 있었다. 또한 각 샘플들의 Raw reads와 mapping된 reference genome reads 수를 보다 쉽게 확인하기 위해 막대그래프로 나타내었다. 하지만 Fa-C3-35개체의 raw reads가 201,946으로 매우 적게 얻어졌으며, 이것에 대해서는 재검토 중에 있다. 그리고 당도관련 교배조합인 P1 : MaeHyang, P2 : Festival, F1(MaeHyang×Festival): C4-1 ~ 43사이에서 차이를 나타내는 13,181 SNPs(MFF1)를 검출하였으며, 사계성 관련 교배조합인 P1 : MaeHyang, P3 : Albion, F1(MaeHyang×Albion): C3-1 ~ 44 간에 차이를 나타내는 12,698 SNPs(MAF1)를 검출하였다.

표 5-16. RAD-sequencing의해 얻어진 Raw reads 및 딸기의 Reference 게놈에 mapping 후 alignment 비율

Samples	Raw reads	Mapped to reference genome	Alignment rate	Samples	Raw reads	Mapped to reference genome	Alignment rate
Fa-P1-01	1296564	1054749	81.35%	Fa-P1-01	1296564	1054749	81.35%
Fa-P1-02	1045339	849047	81.22%	Fa-P1-02	1045339	849047	81.22%
Fa-P1-03	1083038	888488	82.04%	Fa-P1-03	1083038	888488	82.04%
Fa-P2-01	1133327	923830	81.51%	Fa-P3-01	1131230	910800	80.51%
Fa-P2-02	1177768	926946	78.70%	Fa-P3-02	1115965	898010	80.47%
Fa-P2-03	1061738	835321	78.67%	Fa-P3-03	1286735	1040513	80.86%
Fa-C4-01	1220140	1002511	82.16%	Fa-C3-01	1399154	1109121	79.27%
Fa-C4-02	1437623	1170265	81.40%	Fa-C3-02	1365105	1070043	78.39%
Fa-C4-03	1509741	1216193	80.56%	Fa-C3-03	1135981	885673	77.97%
Fa-C4-04	1383596	1138761	82.30%	Fa-C3-04	1278302	1003386	78.49%
Fa-C4-05	1202773	962834	80.05%	Fa-C3-05	1204499	944697	78.43%
Fa-C4-06	1630530	1341405	82.27%	Fa-C3-06	1284892	985994	76.74%
Fa-C4-07	1278733	1036558	81.06%	Fa-C3-07	1246873	997181	79.97%
Fa-C4-08	1443281	1183392	81.99%	Fa-C3-08	1409763	1097310	77.84%
Fa-C4-09	1201986	986221	82.05%	Fa-C3-09	1486207	1195817	80.46%
Fa-C4-10	1580595	1270541	80.38%	Fa-C3-10	1292408	1017787	78.75%
Fa-C4-11	1591200	1304237	81.97%	Fa-C3-11	1252033	1011235	80.77%
Fa-C4-12	1481231	1192889	80.53%	Fa-C3-12	1333430	1055445	79.15%
Fa-C4-13	1348529	1089004	80.75%	Fa-C3-13	1240386	986484	79.53%
Fa-C4-14	1222582	996931	81.54%	Fa-C3-14	1380659	1074560	77.83%
Fa-C4-15	1371300	1082129	78.91%	Fa-C3-15	1378650	1089787	79.05%
Fa-C4-16	1427461	1129354	79.12%	Fa-C3-16	1418770	1141098	80.43%
Fa-C4-17	1200889	950978	79.19%	Fa-C3-17	1301830	1068758	82.10%
Fa-C4-18	1407110	1118682	79.50%	Fa-C3-18	1216844	984157	80.88%
Fa-C4-19	1462477	1158363	79.21%	Fa-C3-19	1081472	860030	79.52%
Fa-C4-20	1323206	1027863	77.68%	Fa-C3-20	1246082	1015737	81.51%
Fa-C4-21	1310864	1024055	78.12%	Fa-C3-21	1195963	971053	81.19%
Fa-C4-22	1305965	1024909	78.48%	Fa-C3-22	1255280	1003577	79.95%
Fa-C4-23	1705499	1395526	81.83%	Fa-C3-23	1297045	1031345	79.51%
Fa-C4-24	1363052	1103519	80.96%	Fa-C3-24	1348010	1097647	81.43%
Fa-C4-25	1198710	971642	81.06%	Fa-C3-25	1050707	855287	81.40%
Fa-C4-26	1490140	1181322	79.28%	Fa-C3-26	1209866	988830	81.73%
Fa-C4-27	1376745	1122867	81.56%	Fa-C3-27	1218448	979603	80.40%
Fa-C4-28	1347665	1098884	81.54%	Fa-C3-28	966092	784834	81.24%
Fa-C4-29	1306227	1067920	81.76%	Fa-C3-29	1017447	830070	81.58%
Fa-C4-30	1426610	1160198	81.33%	Fa-C3-30	1080462	846152	78.31%
Fa-C4-31	1433752	1127310	78.63%	Fa-C3-31	1344287	1083922	80.63%
Fa-C4-32	1424381	1171755	82.26%	Fa-C3-32	1384617	1126602	81.37%
Fa-C4-33	1303810	1073869	82.36%	Fa-C3-33	1282480	1053553	82.15%
Fa-C4-34	1644281	1358816	82.64%	Fa-C3-34	1131816	926822	81.89%
Fa-C4-35	1603710	1306133	81.44%	Fa-C3-35	201946	166244	82.32%
Fa-C4-36	1264339	1036887	82.01%	Fa-C3-36	1232558	978754	79.41%
Fa-C4-37	1064057	873693	82.11%	Fa-C3-37	1024516	814019	79.45%
Fa-C4-38	1296193	1065662	82.21%	Fa-C3-38	1239366	973652	78.56%
Fa-C4-39	1442452	1174070	81.39%	Fa-C3-39	1370492	1102847	80.47%
Fa-C4-40	1311187	1060970	80.92%	Fa-C3-40	1497566	1194989	79.80%
Fa-C4-41	1318603	1069558	81.11%	Fa-C3-41	1124430	910441	80.97%
Fa-C4-42	1115182	910045	81.61%	Fa-C3-42	1417391	1162146	81.99%
Fa-C4-43	1339383	1094268	81.70%	Fa-C3-43	1087215	870305	80.05%
				Fa-C3-44	1175163	959799	81.67%

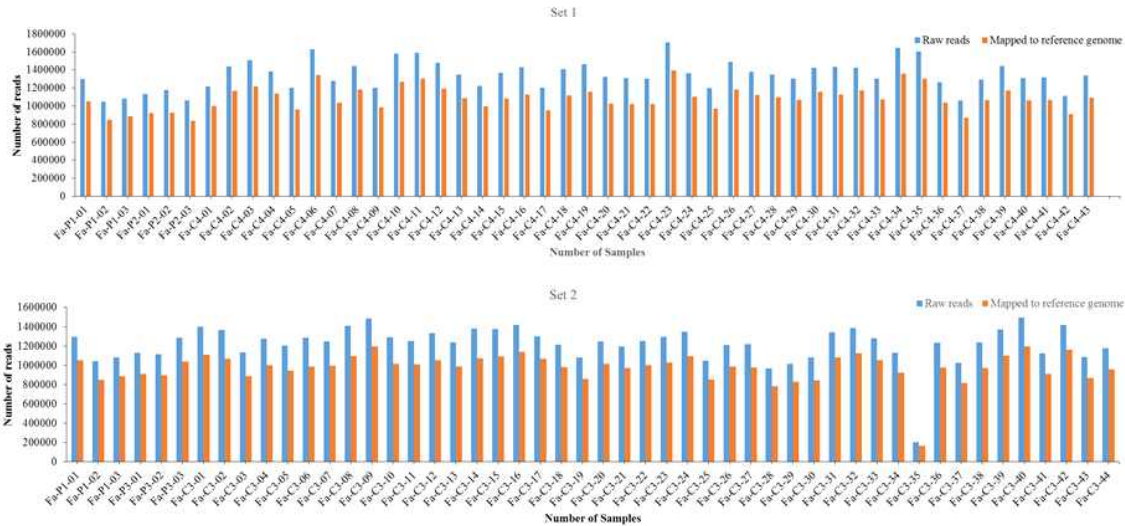


그림 5-24. 각 딸기 샘플별 수집된 NGS 염기서열 데이터의 분포도.

(Set 1: 당도 관련 교배조합 매향(P1)×페스티벌(P2), F1 분리집단(C4-1~C4-43) Set 2: 사계성 관련 교배조합 매향(P1)×알비온(P3), F1 분리집단(C3-1~ C3-44))

22. 딸기의 사계성, 당도 및 과실형질 관련 유전자 연관지도 작성 및 QTL map 작성 후 분자마커 선발

1) 사계성 관련 유전자 연관지도 작성 및 QTL map 작성 후 분자마커선발

대용량 게놈 시퀀싱 기술은 8배체인 재배 딸기의 복잡한 게놈 유전자 해석을 보다 쉽게 할수 있게 되었다. double digest restriction-associated DNA (ddRAD) 시퀀싱 기술을 사용하여 매향 (일계성 품종) × 알비온 (중성 품종)의 교배 개체들의 서열을 결정하였으며, 978,968 개의 read를 얻었다. 그 중 80.2%가 딸기 reference 게놈에 정렬되었으며, 13,181개의 높은 고품질의 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)을 얻었다. 총 3,051개의 SNP는 F₁에서 중요한 Mendelian 분리를 보였으며, 그 중 1,268개가 평균 표지 밀도가 0.48locus/cM 인 총 2,581.57cM의 46개 Linkage Group(LG)이 성공적으로 맵핑되었다. 46 LG은 *Fragaria vesca* 게놈의 염기서열 태그와 비교분석한 결과, *Fragaria × ananassa*의 28 염색체를 지정할 수 있었다. 또한 CIM 및 MLM방법을 이용하여 QTL분석한 결과, LOD값이 3.5-7.24로 런너생산(사계성)에 관여하는 7개 QTL(qRU-5D, qRU-3D1, qRU-1D2, qRU-4D, qRU-4C, qRU-5C and qRU-2D2)을 동정하였으며, 이는 런너생산의 표현형의 다형성이 38~22%로 복수유전자에 의해 조절되는 것을 나타낸다. 그리고 각각의 QTL에 관여하는 5개의 SNP 분자마커(FAN3787, FAN3556, FAN1459, FAN457, FAN2967)를 선발하였다. 이렇게 동정된 QTL은 딸기의 식물 분화에 대한 이해를 향상시켜줄 것이며, 선발된 SNP 분자마커는 다른 딸기 품종선발 육종에도 사용이 가능할 것이다.

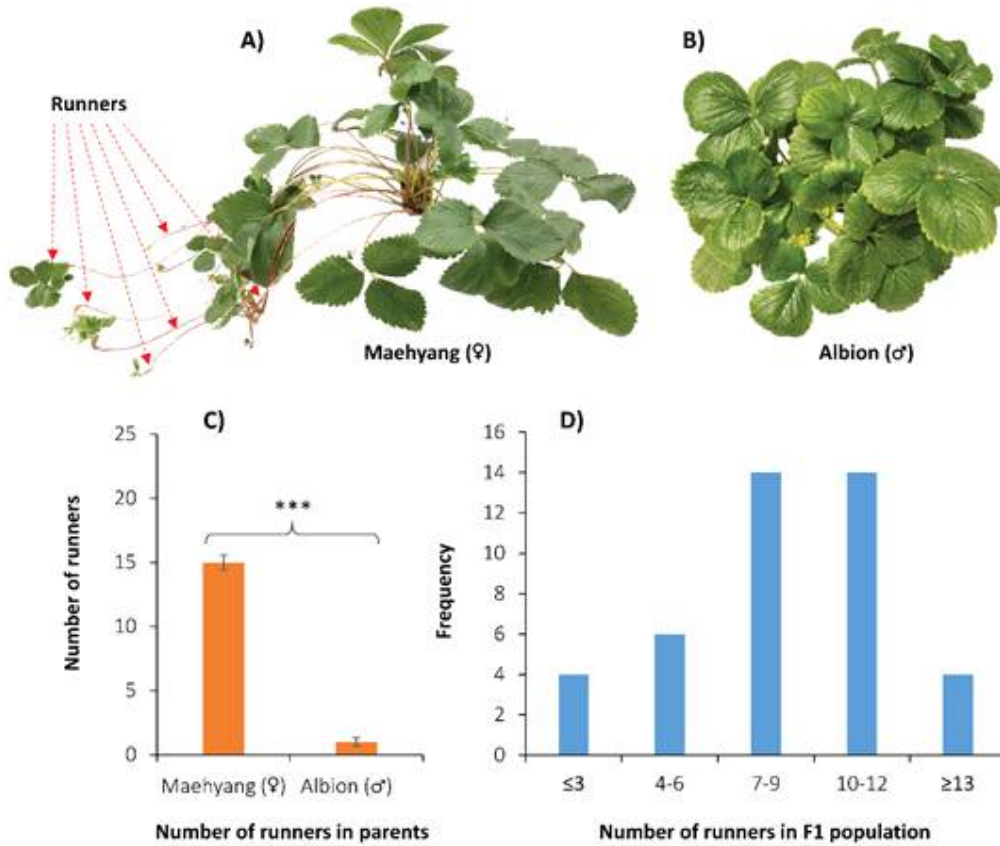


그림 5-25. 일계성 매향(A)과 중일성 알비온(B)의 런너발생 모습. 교배양친(C)과 F1 집단(D)의 총 런너수 및 분포. 그림 C에서 평균 \pm SE ($n = 5$)와 별표 (***)로 나타냈으며, 데이터는 성장기가 끝날 때 총 런너 수에 대한 두 양친간의 유의차이를 Student's T-테스트하였음.

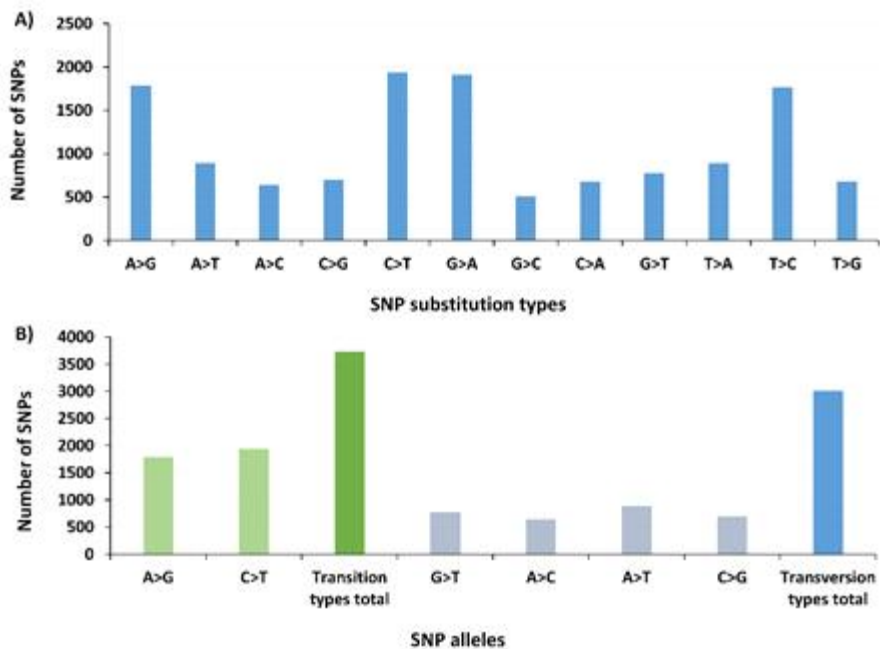


그림 5-26. 딸기 교배양친(매향 × 알비온) 및 F1 개체의 ddRAD 시퀀싱으로 확인된 SNP의 분포 유형 (A) 및 전환 / 전환률 (B).

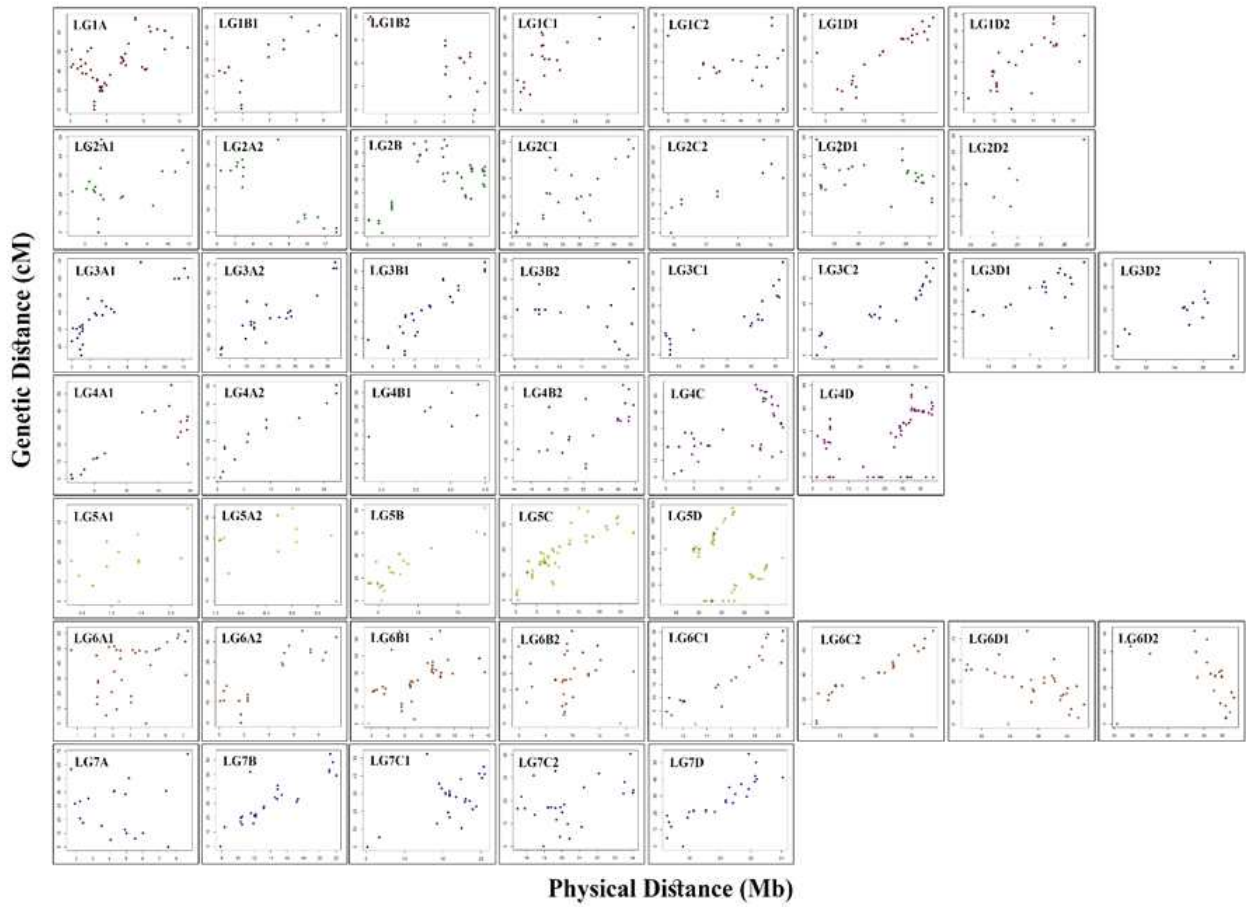


그림 5-27. 딸기에서 유전자 염기서열 정보가 밝혀진 *F. vesca* 게놈 (v4.0.a1)에 사계성관련 연관지도상에 있는 SNP의 물리적 위치(Mb)와 유전적 위치(cM)를 비교 정렬하여 나타낸 Marey 지도.

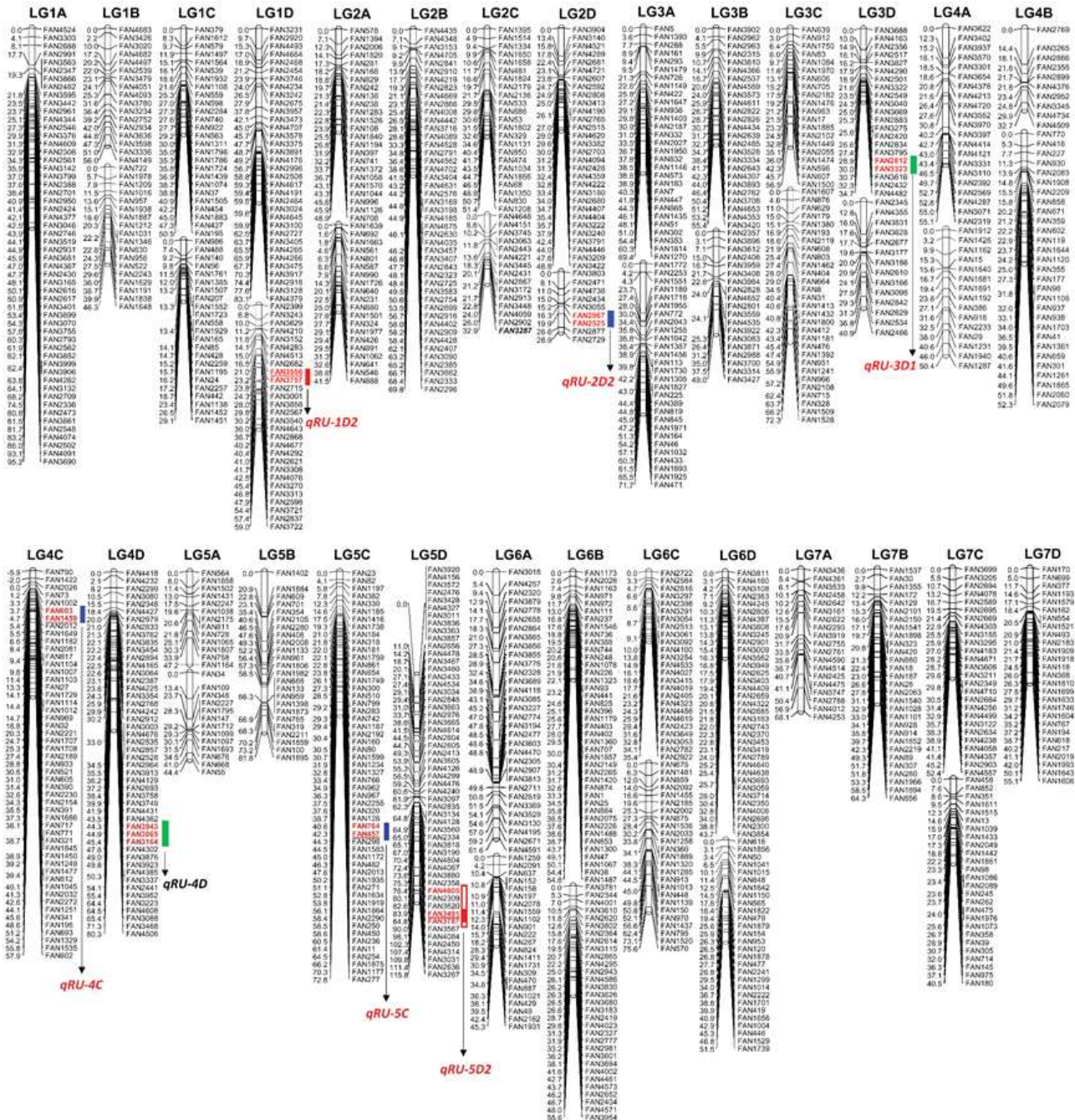


그림 5-28. 매향 × 알비온의 F1집단으로부터 얻어진 1,268 SNP 마커를 이용하여 *Fragaria x ananassa*의 Linkage map을 작성함. 유전적 거리는 왼쪽에 centi-Morgans (cM)으로 표시함. 녹색, 청색 및 적색 막대는 CIM 방법 및 다중 레직 방법 (mrMLM, FASTmrMLM, pLARmE 및 ISIS EM-BLASSO)에 의해 검출된 QTL을 각각 나타냄.

표 5-17. 당도관련 교배조합 (매향 x 알비온) F1집단의 사계성에 대한 QTL정보 및 SNP 분자마커

QTL name	Linkage Group	Marker	Genetic distance (cM)	<i>Fragaria x ananassa</i> genome ID	<i>F. vesca</i> Physical position (bp)	Threshold LOD	LOD	Additive Effect	R ²
<i>qRU-5D</i>	LG5D	FAN4605-FAN3787	83.88-84.81	FAN_iscf00235992.1- FAN_iscf00019356.1	Fvb5:23272711- 23422418	2.7	7.24	-9.79	0.38
<i>qRU-3D1</i>	LG3D1	FAN2812-FAN3323	28.9-30.04	FAN_iscf00310724.1- FAN_iscf00161563.1	Fvb3:37021445- 37232303	2.9	7.15	-8.14	0.36
<i>qRU-1D2</i>	LG1D2	FAN3556-FAN3757	20.99-23.23	FAN_iscf00315119.1- FAN_iscf00003334.1	Fvb1:9879715-9 988189	2.9	5.54	-8.54	0.37
<i>qRU-4D</i>	LG4D	FAN3943-FAN3164	43.51-45.28	FAN_iscf00171554.1- FAN_iscf00369931.1	Fvb4:23126333- 24533627	2.9	3.5	-5.12	0.22
<i>qRU-4C</i>	LG4C	FAN603-FAN1459	3.74-4.73	FAN_iscf00089616.1- FAN_iscf00083346.1	Fvb2:16350821- 17032825	2.8	4.11	3.663	0.32
<i>qRU-5C</i>	LG4C	FAN764-FAN457	40.58-42.31	FAN_iscf00280849.1- FAN_iscf00206802.1	Fvb5:8718088-1 0445687	2.7	3.97	3.182	0.24
<i>qRU-2D2</i>	LG2D2	FAN2967-FAN2525	16.31-19.90	FAN_iscf00134314.1- FAN_iscf00342145.1	Fvb2:23649400- 23980136	2.8	3.96	-4.37	0.28

2) ddRAD-seq 유래의 SNP를 기반으로 한 8배체 딸기(*Fragaria × ananassa*)의 고밀도 연관지도 제작과 과일특성(당도, 과중, 과경, 과폭)에 대한 QTL 동정 및 분자마커 선발

고당도 딸기 품종 ‘매향’ 과 저당도 딸기 품종 ‘페스티발’, 그리고 교배 육종하여 얻어진 F1 집단으로부터 double digest restriction-associated DNA (ddRAD) sequencing 기술을 이용하여 26,655,685 개의 reading을 얻었고, 그 중 80.8%는 strawberry reference genome에 정렬되어 12,698 개의 고품질 SNP를 획득하였다. 총 3,266개의 SNP는 F1에서 중요한 멘델의 분리를 보였으며, 그 중 1,553개를 이용하여 총 2937.93 cM의 53개 Linkage Groups(LG)가 성공적으로 매핑되었다. LG는 *F. vesca* 게놈에 서열 태그를 위치시킴으로써 8배체의 딸기(*Fragaria × ananassa*)의 28 염색체로 결정하였다. 또한, 과경과 과폭에 대해 각각 6개의 QTL(과경: qFL-3B1, qFL-4A2, qFL-5C2, qFL-6C1, qFL-7A1, qFL-7C1, 과폭: qFD-1B2.1, qFD-1B2.2, qFD-2B, qFD-2D1, qFD-4B, qFD-4C2,), 과중과 당도에 대해 각각 4개의 QTL(과중: qFW-1B2.1, qFW-1B2.2, qFW-4B, qFW-6A2,, 당도: qSSC-1A2, qSSC-2B, qSSC-5A2.1, qSSC-5A2.2)이 동정되었다. 동정된 QTL은 24~35%, 21~42%, 24~54% 및 23~50%의 표현형과의 변이를 나타냈으며, 각각의 형질에 대해 복수의 유전자에 의해 조절되는 것을 의미한다. 또한 당도에 관련된 4개의 QTL로부터 고당도와 저당도를 선발할 수 있는 3개의 SNP분자마커 (MF518, MF1321, MF3696)를 선발하였다. 선발된 마커는 새로운 고당도 품종육성을 위한 육종 연관 단축 및 육종효율 증대에 기여할 것으로 기대된다.

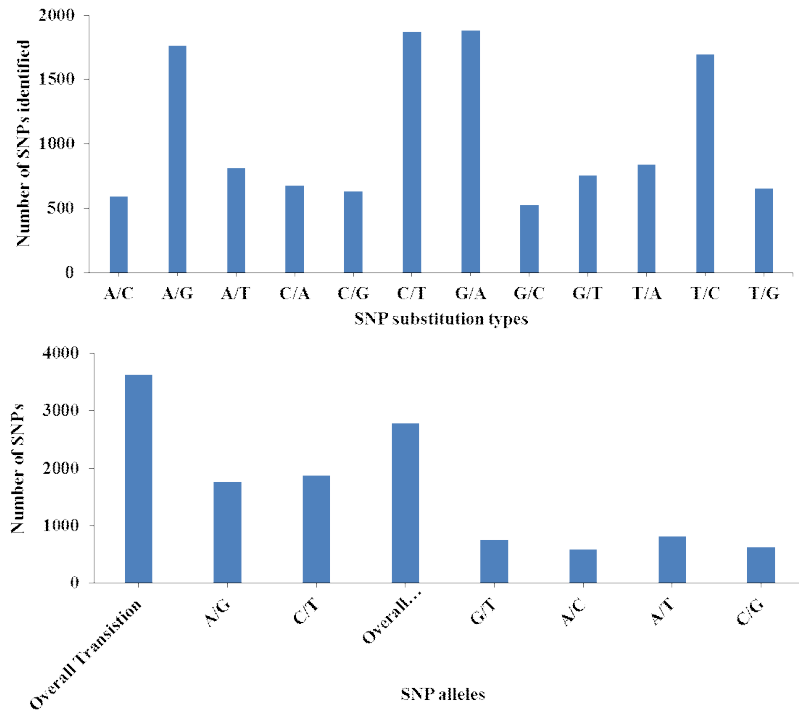


그림 5-29. 딸기 교배양친 (매향 × 페스티발) 및 F1 개체의 ddRAD 시퀀싱으로 확인 된 SNP 의 분포 유형 (A) 및 전환 / 전환률 (B).

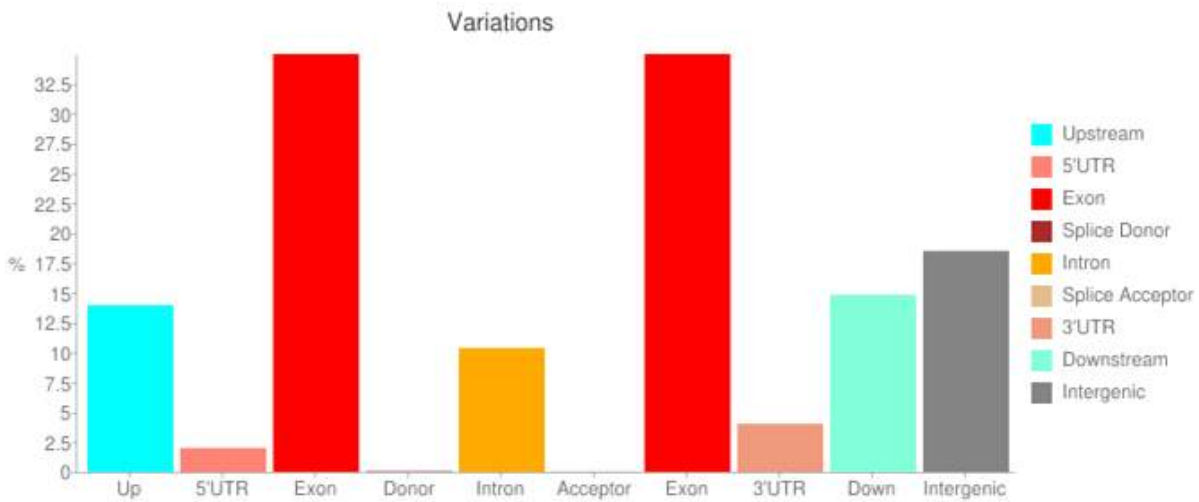


그림 5-30. ddRAD 시퀀싱에 의해 얻어진 SNP의 게놈 영역별(Upstream, 5UTR, Exon, Donor, Intron, Acceptor, 3UTR, Downstream, Intergenic) 분포도.

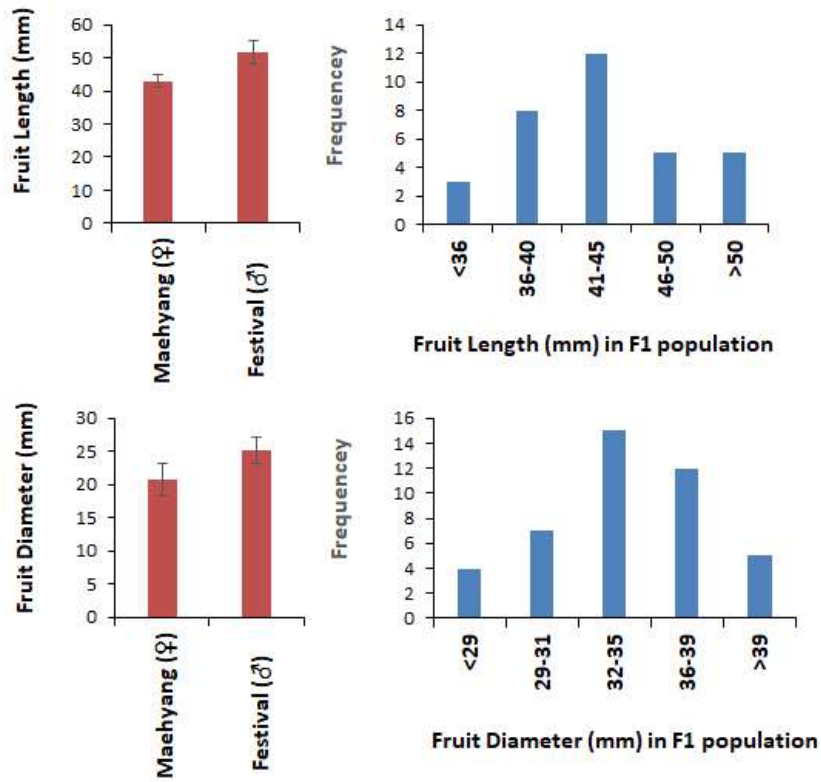


그림 5-31. 딸기의 교배양친 (매향, 페스티벌)과 F1 집단의 과경 및 과폭에 대한 빈도분포.

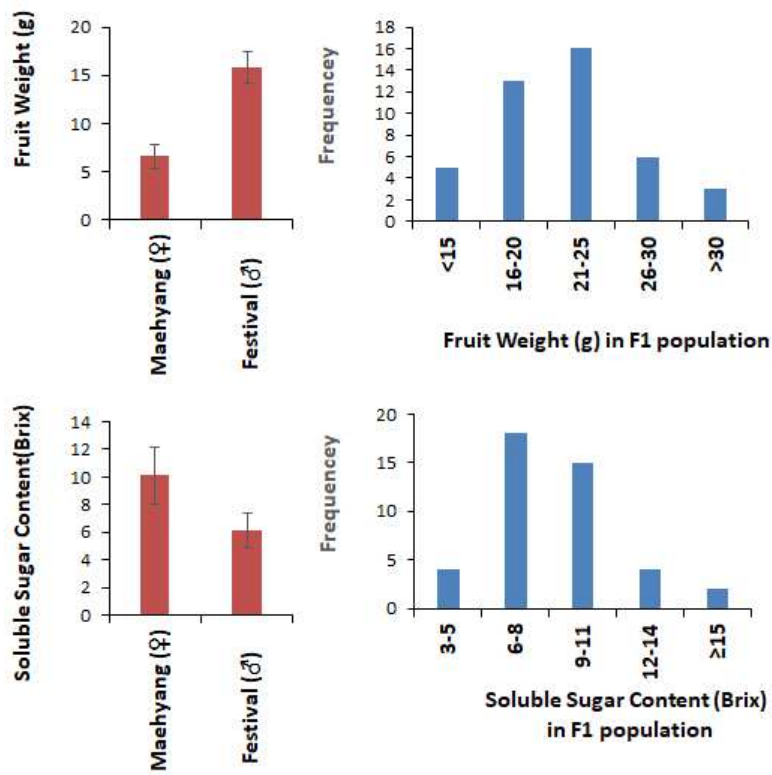


그림 5-32. 딸기의 교배양친 (매향, 페스티벌)과 F1 집단의 과중 및 당도에 대한 빈도분포.

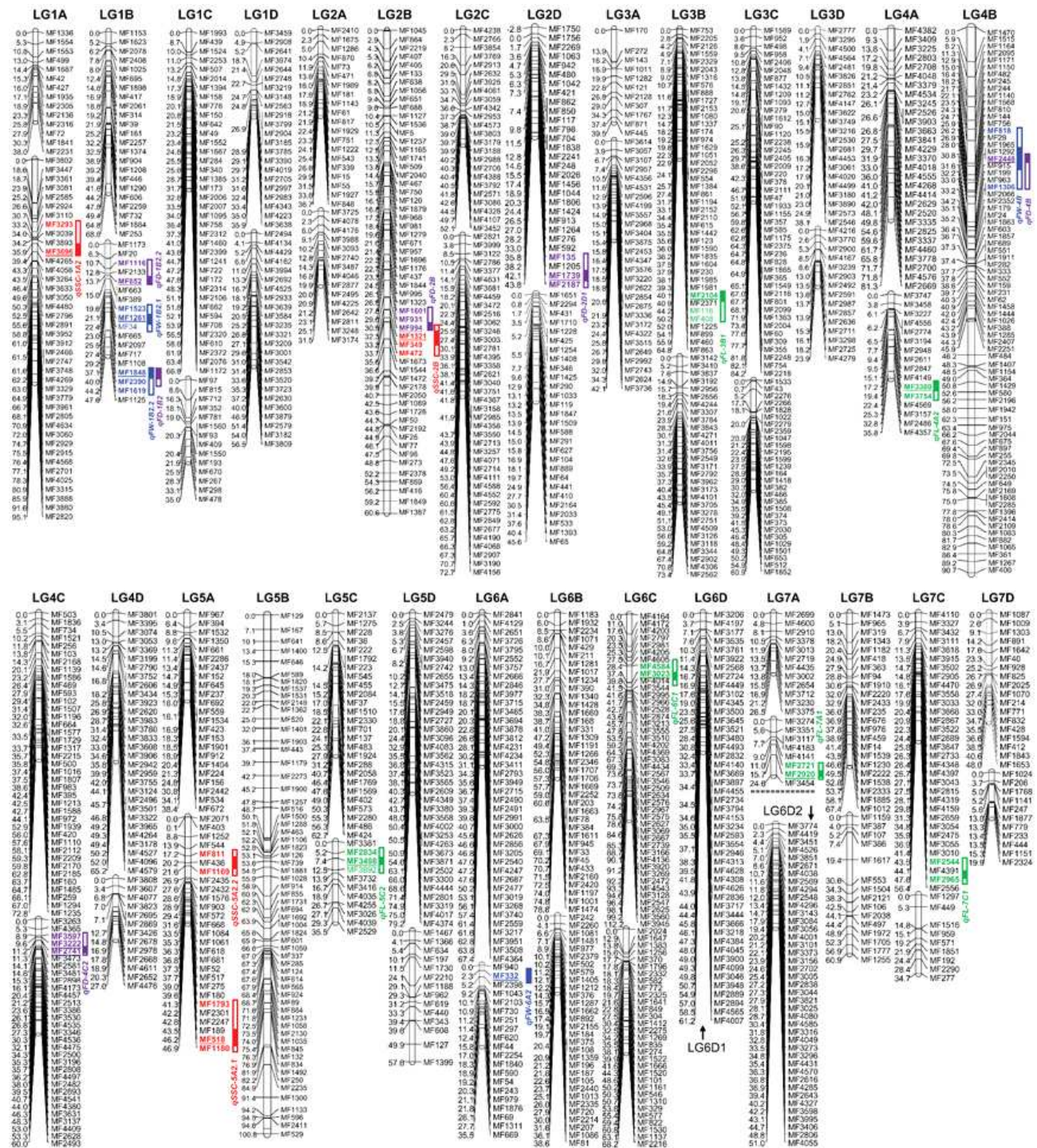


그림 5-33. 8배체 딸기(*Fragaria × ananassa*) 품종 매향(고당도 품종)과 페스티발(저당도 품종) 및 교배조합에 의해 얻어진 F1 집단 유래의 1,553 SNP 마커를 이용하여 작성한 연관지도. 유전적 거리는 왼쪽에 centi-Morgans (cM)로 나타냄. 녹색, 보라색, 파란색 및 빨간색 막대 (오른쪽)는 딸기 과경(qFL), 파복(qFD), 과중(qFW) 및 가용성 당 함량(qSSC)에 대해 식별된 QTL을 나타냄.

표 5-18. 당도관련 교배조합 (매향 × 페스티벌) F1집단의 당도, 과경, 과폭 및 과중에 대한 QTL정보 및 SNP 분자마커

QTL name	Linkage group	Marker	Genetic distance (cM)	LOD threshold	LOD Max	Additive effect	R ²	<i>Fragaria x ananassa</i> genome ID	<i>F. vesca</i> Physical position (bp)
Fruit length									
<i>qFL-6C1</i>	LG6C1	MF3023-MF2522	37.26-40.66	2.3	10.58	-15.9	0.24	FAN_iscf00104879.1-F AN_iscf00160810.1	Fvb6:27319197-3 2065711
<i>qFL-7C1</i>	LG7C1	MF2965-MF2544	43.5-47.6	2	9.96	10.51	0.28	FAN_iscf00037535.1	Fvb7:15883769-1 5884248
<i>qFL-3B1</i>	LG3B1	MF2104-MF408	40.077-50.223	2.1	8	-17.5	0.31	FAN_icon19954809.1-F FAN_icon20106825.1	Fvb3:11547492-1 7768445
<i>qFL-4A2</i>	LG4A2	MF3389-MF3754	17.194-19.368	2.2	5.09	19.03	0.35	FAN_icon19840611.1-F FAN_iscf00160711.1	Fvb4:12462307-1 4470294
<i>qFL-5C2</i>	LG5C2	MF3498-MF2834	5.219-7.428	2.1	4.52	-8.21	0.26	FAN_iscf00088923.1-F AN_iscf00331071.1	Fvb5:17328674-1 9385376
<i>qFL-7A1</i>	LG7A1	MF2721-MF2920	11.018-15.691	2	4.3	-10.6	0.31	FAN_icon19998173.1-F FAN_iscf00042116.1	Fvb7:1443298-15 126833
Fruit diameter									
<i>qFD-4C2</i>	LG4C2	MF2741-MF3597	8.853-11.178	1.7	7.9	-31.7	0.42	FAN_iscf00078828.1-F AN_iscf00051427.1	Fvb4:29118956-3 2204721
<i>qFD-2B</i>	LG2B	MF1601-MF994	27.815-30.857	1.6	3.35	9.065	0.16	FAN_iscf00275054.1-F AN_iscf00135334.1	Fvb2:8447300-90 35947
<i>qFD-1B2</i>	LG1B2	MF1848-MF2390	37.096-39.95	1.7	3.94	16.98	0.36	FAN_iscf00346482.1-F AN_iscf00019693.1	Fvb1:4034171-42 07114
<i>qFD-4B</i>	LG4B	MF2448-MF1306	30.84-33.173	1.7	3.38	-7.56	0.21	FAN_icon20620372.1-F FAN_iscf00244831.1	Fvb4:26221362-2 7478921
Fruit weight									
<i>qFW-1B2.1</i>	LG1B2	MF34-MF1261-MF1523	19.6-22.4	2.8	8.37	-12.3	0.54	FAN_iscf00128046.1-F AN_iscf00150808.1	Fvb1:4331273-48 93189
<i>qFW-1B2.2</i>	LG1B2	MF1848-F1619	37.1-44.2	2.8	4.8	8.617	0.24	FAN_iscf00290643.1-F AN_iscf00346482.1	Fvb1:1673692-40 34810
<i>qFW-4B</i>	LG4B	MF818-MF1306	26.2-33.17	2.7	4.3	-7.02	0.3	FAN_iscf00244831.1-F AN_iscf00345769.1	Fvb4:24382100-3 0792729
<i>qFW-6A2</i>	LG6A2	MF332	2.32	2.8	4.07	-8.07	0.24	FAN_iscf00266073.1	Fvb6:7840894-78 41866
Fruit soluble sugar content									
<i>qSSC-5A2.1</i>	LG5A2	MF1180-MF518	41.29-46.90	2.7	7.34	3.328	0.5	FAN_icon20112375.1-F FAN_iscf00158336.1	Fvb5:3029884-84 92943
<i>qSSC-2B</i>	LG2B	MF994-MF1321-MF472	30.86-33.74	2.6	4.6	4.244	0.41	FAN_iscf00135334.1-F AN_iscf00049825.1	Fvb2: 4096188-90 35947
<i>qSSC-5A2.2</i>	LG5A2	MF811-MF1169	17.17-21.58	2.7	4.29	2.169	0.23	FAN_iscf00290095.1-F AN_icon19417585.1	Fvb5: 9084155-91 8334
<i>qSSC-1A2</i>	LG1A2	MF3293-MF3696	33.20-35.87	2.6	3	-2.03	0.25	FAN_iscf00100711.1-F AN_icon20112107.1	Fvb1:7154055-76 45022

23. 딸기 유전자원 160점의 유전적 변이 분석

1) 딸기의 유전적 변이 및 품종을 구별하기 위하여 기존에 보고된 다양한 SSR 마커를 이용하여 DNA polymorphism을 조사하였다. 실험에 사용된 딸기는 국내에서 육성된 10개 품종, 유럽 품종 8개, 캐나다 품종 1개, 중국 품종 1개, 뉴질랜드 품종 1개 및 기원을 알 수 없는 유전자원 등을 포함하여 총 160개 유전자원을 이용하였다 (표 5-19). SSR 마커는 Govan et al. (2008)이 발표한 마커 9개, Chambers et al. (2013)이 발표한 마커 6개와 Isobe et al. (2013)이 발표한 마커 1개를 이용하여 PCR 후 피크 분석을 수행하였다 (표 5-20).

표 5-19. 유전적 변이 분석에 이용한 딸기 유전자원 160개 목록

No.	Name	Parentage	Status
1	Busan No.1101	unknown	cultivar
2	Chodong	Harunoka x Yachio	cultivar
3	Daehak1	unknown	cultivar
4	Daemun	Akihime x Redpearl	cultivar
5	Daewang ^b	Maehyang x Wonkyo3111	cultivar
6	Daewang ^b	Maehyang x Wonkyo3111	cultivar
7	Dahong	Sachinoka x Maehyang	cultivar
8	Danmi	Maehyang x Amaou	cultivar
9	Geumhyang	Akihime x Tochiotome	cultivar
10	Johong	Nyoho x Akihime	cultivar
11	Maehyang	Tochinomine x Akihime	cultivar
12	Manhyang	Nyoho x Akanekko	cultivar
13	Mihong	Toyonoka x Reiko	cultivar
14	NS970524	unknown	line
15	Okmae	Toyonoka x Maehyang	cultivar
16	Seolhyang	Akihime x Redpearl	cultivar
17	Suhong	Hokowase x Harunoka	cultivar
18	Sulhong	Suhong x Toyonoka	cultivar
19	Wildstrawberry1	unknown	wild
20	Wildstrawberry2	unknown	wild
21	Wonkyo3111	Open pollinated of Benihoppe	line
22	Aiberry	unknown	cultivar
23	Aihime	unknown	cultivar
24	Akanekko	Aiberry x Hokowase	cultivar
25	Akasyanomitsuko	Nyoho x Kunowase	cultivar
26	Akihime	Kunowase x Nyoho	cultivar
27	Alps	unknown	cultivar
28	Amaou	Fukuoka S6	cultivar
29	Aska	unknown	cultivar
30	Asuka wave	[Uzushio × {(Kurume Sokusei-3 × Hokowase) × (Donner × Hokowase)}] × [(Kurume Sokusei-3 × Hokowase) × {Donner × (Kobe-1 × Hokowase)}]	cultivar
31	Bbiaberry	unknown	cultivar
32	Benihoppe	Akihime x Sachinoka	cultivar
33	Chiduru	[(Donner-s)-s x (Harunoka-s)-s]-s x Harunoka-s	cultivar

34	Terunoka	Hokowase x Donner	cultivar
35	Everberry	Oishi-Sikinary x Haruyoi	cultivar
36	Goryeong	Takane Haikara x Donner	cultivar
37	Guardian	NC-1768 [Fairpeake x (Aberdeen x Redheart)] x Tennessee Beauty x Surecrop	cultivar
38	Harunoka	Kurume103 x Donner	cultivar
39	Haruyoi	Hokowase x Harunoka	cultivar
40	Hongbok	Kohuku	cultivar
41	Houkouwase ^c	Kogyoku(Fairfax self seedling) x Tahoe	cultivar
42	Houkouwase ^c	Kogyoku(Fairfax self seedling) x Tahoe	cultivar
43	Jumbo	unknown	cultivar
44	Jumbopureberry	unknown	cultivar
45	Kunowase	unknown	cultivar
46	Kurume39	unknown	line
47	Kurume52	unknown	line
48	Myongbo	Meiho derived	cultivar
49	Nyoho	Kei210 x Reiko	cultivar
50	Pechika ^d	unknown	cultivar
51	Pechika ^d	unknown	cultivar
52	Redpearl	Aiberry x Toyonoka	cultivar
53	Regina	Amerikanischer Samling II (Geneva) x Deutsch Evern	cultivar
54	Reiko	Fukuba x Harunoka	cultivar
55	Reiyu	unknown	cultivar
56	Rockyhara	unknown	cultivar
57	Sachinoka	Toyonoka x Aiberry	cultivar
58	Sagahonoka	unknown	cultivar
59	Shinyurbong	unknown	cultivar
60	Summerberry	Kahou x Reiko	cultivar
61	Sungkang17	Morioka17	line
62	Sungkang19	Morioka19	line
63	Syuko	Shizutakara x Haruyoi	cultivar
64	Tochinomine	(Florida69-266 x Reiko) x Nyoho	cultivar
65	Tochiotome	Kurume49 x Tochinomine	cultivar
66	Toyonoka	Himiko x Harunoka	cultivar
67	Wonyuk	Himiko derived	cultivar
68	Aiberry(ARS)	unknown	cultivar
69	Armored	Blakemore x Aroma	cultivar
70	Berry star ^e	unknown	cultivar
71	Berry star ^e	unknown	cultivar
72	Berry star ^e	Missionary x Howard 17	cultivar
73	Black more	Douglas x Cal 85.218-605	cultivar
74	Cardinal	Earlibelle x ARK 5063	cultivar
75	Cascade	Shasta x Northwest	cultivar
76	Cats Kill	unknown	cultivar
77	Columbia	WA 157 x WA 175	cultivar
78	Comet	Earlibelle x ARK 5063	cultivar
79	Cyclone	unknown	cultivar

80	Dabreak	unknown	cultivar
81	Diamante	Cal. 87112-6 × Cal. 88270-1	cultivar
82	Donner	CAL 222 x CAL 145.52	cultivar
83	Earlibrite ^f	Rosalinda x FL 90-38	cultivar
84	Earlibrite ^f	Rosalinda x FL 90-38	cultivar
85	Erie star	unknown	cultivar
86	Flamenco	Evita x EMR077	cultivar
87	Floridabelle	Sequoia x Earlibelle	cultivar
88	Huxley	unknown	cultivar
89	Juspa	unknown	cultivar
90	Klondike	unknown	cultivar
91	Lassen	Blakemore x (Marshall x Fendalcinno) x Nich Ohmer x (Royal Sovereign x Howard 17) x (Marshall x Fendalcinno)	cultivar
92	Linn	MDUS 3184 x ORUS 2414	cultivar
93	Mingoi	unknown	cultivar
94	Missionary	unknown	cultivar
95	NewYork884	unknown	cultivar
96	North west	unknown	cultivar
97	NY1406	unknown	line
98	Pink paend	unknown	wild relatives
99	Premier	unknown	cultivar
100	Redgauntlet	New Jersey 1051 x Auchincruive Climax	cultivar
101	Red glow	Fairland x Tennessee Shipper	cultivar
102	Red rich	unknown	cultivar
103	Sari	unknown	cultivar
104	Shasta	Marshall x Howard 17	cultivar
105	Sweet charlie	FL 80-456 x Pajaro	cultivar
106	Dahoe	unknown	cultivar
107	Victoria	unknown	cultivar
108	Bolero	LA0988 x Selva	cultivar
109	Dyd Babi	unknown	cultivar
110	Jonson's Early	unknown	cultivar
111	Jersey belle	(Lupton x Aberdeen) x Fairfax x (Pathfinder x Fairfax)	cultivar
112	Cavalier	Valentine (Howard 17 x Vanguard) x Sparkle	cultivar
113	Guards man	Claribel x Sparkle	cultivar
114	Micmac	Tioga x Guardsman S1	cultivar
115	Nowang ^g	unknown	cultivar
116	Nowang ^g	unknown	cultivar
117	Tamar	Osogrande x Dorit	cultivar
118	Chunseong	unknown	cultivar
119	Gilgyung53	unknown	line
120	Sengagigana	unknown	cultivar
121	Senga Sengana	Markee x Sieger	cultivar
122	Elsanta	Gorella x Holiday	cultivar
123	Sarian	unknown	cultivar

124	Bukaj	unknown	cultivar
125	Kama	Sengasengana x Cavlier	cultivar
126	Favette	(Souvenir des Halles x Regina) x (Pocahontas x Aliso)	cultivar
127	Toteuklip	unknown	cultivar
128	Chiloensis	unknown	cultivar
129	FragariaWild	unknown	wild
130	Jasan	unknown	cultivar
131	CropStation	unknown	
132	JirisanWild	unknown	
133	Sakyejul	Shikisetzu Unpulished	
134	Ssanta	Maehyang x Seolhyang	
135	Sukhyang	Seolhyang x Maehyang	
136	Elan	Fern x Rapella	
137	NewZealand	unknown	
138	Caminoreal	Cal 89.2307 x Cal 90.2533	
139	Festival	Rosalinda x Osogrande	
140	Florida	unknown	
141	FragariaMinnesota	unknown	
142	Ventana	Cal 93.170-606 x Cal 92.35-601	
143	Bious	unknown	
144	EMC	unknown	
145	IslandWild	unknown	
146	Jepter	unknown	
147	Naoami	unknown	
148	Niigata	unknown	
149	No0241	unknown	
150	No04113	unknown	
151	No06155	unknown	
152	No06172	unknown	
153	No06182	unknown	
154	No06183 ⁱ	unknown	
155	No06183 ⁱ	unknown	
156	No0636	unknown	
157	No0641	unknown	
158	No0643	unknown	
159	UC1	unknown	
160	Wildstrawberry3	unknown	

표 5-20. Genotyping에 사용한 16종류의 SSR 마커 정보

SSR	Primer sequences	References
FG1a/b	Forward : TGGTTTGGCCGGTAGCAAATAGCAGCA Reverse : TGACACACACTCTCTCTGTCTGATCCCT	Chambers et al., 2013, Mol Breeding
FG2a/b	Forward : TGAAGTGGTCCATCGGTGCTGAAA Reverse : TGATCACACAATACGCATTACCAAGCCT	Chambers et al., 2013, Mol Breeding
FG7a/b	Forward : GCAGTGCTACATCGACTCAGGTCCAA Reverse : ACCAAGGAAGTGCCGAAGTGGGTTT	Chambers et al., 2013, Mol Breeding
FG7c/d	Forward : AGGTGTCCAAAGAGGGTTGCTGTAGA Reverse : TCCCTCTCCCAATAACCCTTTGCTTC	Chambers et al., 2013, Mol Breeding

FG7e/f	Forward : ACGGTGCCGAGATGCCTGATTACT Reverse : GCTGATCTCCACTTCCTCTCCTATCACCA	Chambers et al., 2013, Mol Breeding
UFFa3D11a/b	Forward : GCCTTGATGTCTCGTTGAGTAG Reverse : TACCTTCTGCATTACCATGAC	Chambers et al., 2013, Mol Breeding
ARSFL11	Forward : GCGAAGCATAACTGGCAGTATCTG Reverse : GCGGCCTAGGTGATCTTGA	Govan et al., 2008, Mol Breeding
ChFaM-023	Forward : AGGAGAAGACCGGCTGTGTA Reverse : TGCCTATAGCTGTGGCTGTG	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFn121	Forward : GGTCCCTAAGTCCATCATGC Reverse : GAGTGGATGCAAACATGAGC	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFn170	Forward : CAGTTTGCCCAACAACAAGG Reverse : TTGATGGCAACAAATCACG	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFn181	Forward : CCAAATTCAAATTCCTCTTTCC Reverse : GCCGAAAACTCAAACATACCC	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFn182	Forward : GCAACAAAGGAGGTTAGAGTCG Reverse : TGGTGAGTGCTCATTGTTCC	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFv104	Forward : TGGAAACATTCTTACATAGCCAAA Reverse : CAGACGAGTCCTTCATGTGC	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFvi136	Forward : GAGCCTGCTACGCTTTTCTATG Reverse : CCTCTGATTTCGATGATTTGCT	Govan et al., 2008, Mol Breeding
EMFvi166	Forward : ACCGACAGCTGAGTTAGAGGAG Reverse : AGTCATAGGACCCCACTTCAAA	Govan et al., 2008, Mol Breeding
FVES3274	Forward : GCACCCGAGTATTGTGAGGT Reverse : ATCCATCGAAGCGTTTGT	Isobe et al., 2013, DNA Res

Genotyping을 위한 SSR 마커를 선발하기 위하여 딸기 유전자원 24개를 이용하여 PCR을 수행한 결과, 16개 SSR 마커 중 8개 SSR 마커는 밴드 사이즈 구별이 어려웠고, 3개의 SSR 마커는 polymorphic함이 다양하지 않아 제외하였다 (그림 5-34). 따라서 증폭된 밴드 패턴이 뚜렷하고 재현성이 높은 Chambers et al. (2013)이 보고한 5종류의 SSR 마커를 이용하여 160개 딸기 유전자원의 유전적 다양성을 조사하였다.

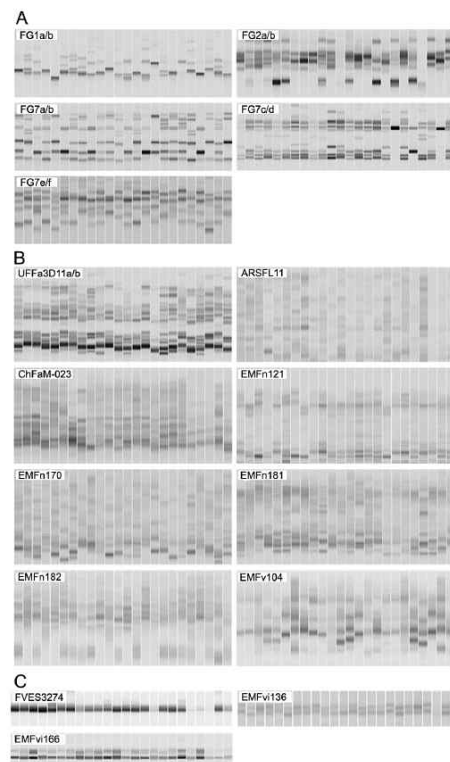


그림 5-34. 딸기 유전자원 24점에서 16종류의 SSR 마커를 이용하여 수행한 PCR 결과

선발된 5개의 SSR 마커를 160개 유전자원에 적용한 결과 총 60개의 대립인자가 확인되었고 (FG1a/b 마커 12개, FG2a/b 마커 8개, FG7a/b 마커 13개, FG7c/d 마커 19개 및 FG7e/f 마커 8개), FG1a/b 마커는 123bp-167bp 사이에서 피크를 보였으며 총 12개 피크로 27개 품종을 구별할 수 있었다. FG2a/b 마커는 298bp-362bp 사이에서 피크를 보였으며 총 8개의 피크로 54개 품종을 판별, FG7a/b 마커는 153bp-240bp 사이에서 피크를 보였으며 총 13개 피크로 26개 품종을 구별할 수 있었다. FG7c/d 마커는 236bp-396bp 사이에서 피크를 보였으며 총 19개 피크로 46품종을 판별, FG7e/f 마커는 472bp-599bp 사이에서 피크를 보였으며 총 8개 피크로 17품종을 판별할 수 있었다 (표 5-21).

표 5-21. 선발된 5개 SSR 마커로 분석한 160개 유전자원의 유전적 다양성 분석 결과

SSR ^a	No. of peaks scored	No. of rare alleles ^b	Peak ranges observed (bp)	No. of unique genotypes detected
FG1a/b	12	5	123-167	27
FG2a/b	8	1	298-362	54
FG7a/b	13	5	153-240	26
FG7c/d	19	7	236-396	46
FG7e/f	8	3	472-599	17

^a Chambers et al., 2013, Mol Breeding

^b Alleles with frequency lower than 0.1

선발된 5개의 SSR 마커를 이용하여 생성된 60개의 대립인자를 기반으로 160개 유전자원에 대한 유전적 유연관계를 조사하여 dendrogram을 작성한 결과, 국내외 육성 딸기 유전자원의 전체 유사도 지수 0.006에서 1의 범위로 나타났다 (그림 5-35).

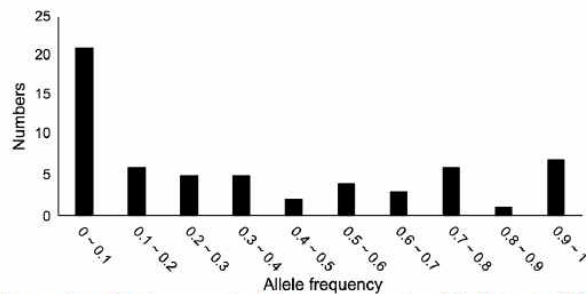


그림 5-35. 딸기 유전자원 160점에서 관찰된 allele frequencies

유전적 다양성을 분석한 결과 실험에 사용한 160개 딸기 유전자원 중 155개의 유전자원이 구별 가능하였고, 이들은 크게 5개 그룹으로 나뉘었다. 그룹 1은 2배체 딸기 *F. vesca*에 속하는 유전자원 2점과 새로운 유전자원이 포함되었고, 그룹 2는 영국에서 수집한 유전자원 1개가 포함되었다. 그룹 3은 영국에서 수집한 유전자원 8개, 일본 품종 5개, 우리나라 품종 3개, 유럽 품종 3개 및 중국 품종 1개와 기원을 알 수 없는 유전자원 6개가 포함되었다. 그룹 4에는 영국품종 17개, 일본품종 13개, 우리나라 품종 11개, 유럽 품종 4개, 캐나다 품종 1개, 중국 품종 1개 및 뉴질랜드 품종 1개와 기원을 알 수 없는 유전자원 6개가 포함되었으며, 그룹 5에는 69개의 *F. x ananassa* 유전자원이 속하였다. 따라서 본 실험에 사용한 160개의 유전자원에 대하여 5개의 SSR 마커를 이용하여 분석할 경우 품종 구별이 가능할 것으로 판단된다 (그림 5-36).

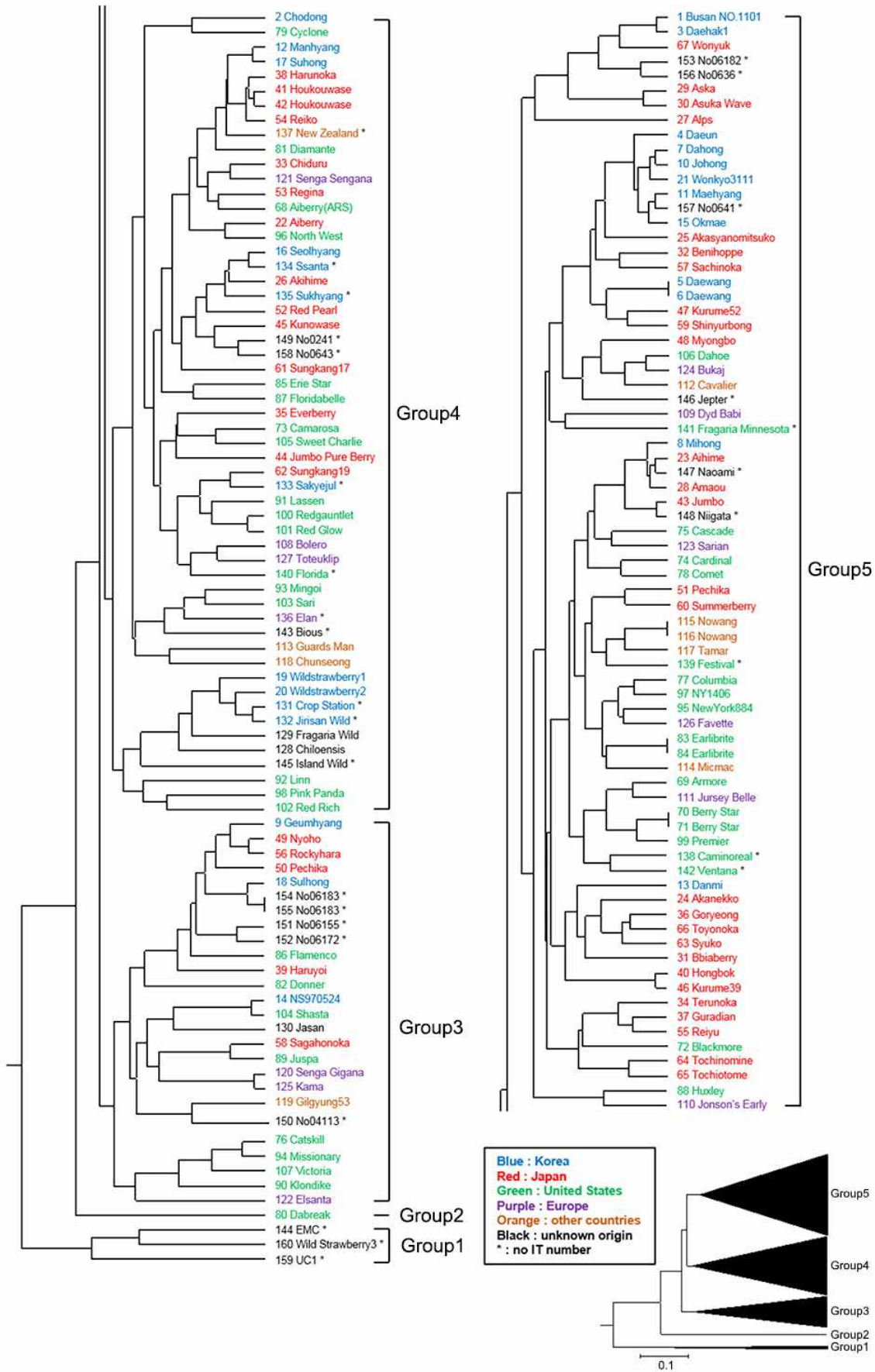


그림 5-36. SSR 마커를 기반으로 분석된 딸기 유전자원 160점의 근연관계

4절. 과제별 결과 종합 분석 결론

- 딸기 육종소재의 주요 형질 원예적 특성 분석 및 데이터베이스 구축
 - 국내 보유 딸기 육종 소재 164점을 충남농업기술원 논산딸기시험장에서 분양 받아 증식하여 주요 목표 형질 및 원예적 특성을 조사하고 (과중, 엽형, 초형, 과형, 경도, 당도 및 산도), 각 형질별 육종 소재를 분류
 - 딸기 육종 소재 164점의 형질 조사 결과를 Breeding Information Management System (BIMS, <https://www.rosaceae.org/bims>)을 이용하여 데이터베이스화하여, 전체 표현형 결과뿐만 아니라 원하는 traits만 선택해서 결과를 나열할 수 있도록 하였음
- 딸기 유전체 정보 수집 및 분석
 - 딸기 유전체 reference인 *Fragaria vesca* (2배체)를 포함하여 8배체인 *F. x ananassa*와 *F. iinumae* (71 Gb), *F. nipponica* (72 Gb), *F. nubicola* (74 Gb) 및 *F. orientalis* (75 Gb) 4개의 다른 야생종의 genome assembly 정보, CDS 정보, protein 정보, unigene 정보 및 EST 데이터 등 관련 유전체 정보를 수집함
 - 수집 정보 분석 및 가공
- 딸기 유전체 정보 기반 분자마커 대량 발굴
 - 사계성 형질과 관련하여 개화유전자 *FaFT2*와 *FaCKX1*의 염기서열을 분석하여 총 84개 SNP를 발굴하였고 (*FaFT2* SNP 179개, *FaCKX1* SNP 36개), HRM을 통해 사계성과 일계성을 구별할 수 있는 SNP 마커 2개를 선발함
 - 고당도 (설향, 매향, 금실, 아랍)와 저당도 (Missionary, Camonoreal, Jansan, 포톨라) 유전자원 선발 후 HPLC-ELSD를 이용하여 당도분석 및 당 합성 관련 유전자 18개의 발현을 분석함
 - 탄저병 저항성 관련 유전자원 ‘보교조생’, ‘매향’, ‘아키히메’의 transcriptome 분석을 통하여 탄저병 저항성 특이적으로 발현하는 유전자군을 대량으로 발굴
 - 탄저병 저항성 관련 유전집단 2개 (‘보교조생’ X ‘매향’, ‘보교조생’ X ‘아키히메’)를 이용하여 유전자지도 작성 후 탄저병 저항성 관련 QTL분석 및 SNP 마커 1개 개발 (3협동과제와 협력)
- 본 연구는 최초로 고정계통을 활용하여 8배체 딸기의 F2 집단을 구축, 분자마커 개발을 시도한 것에 의의가 있으며 GBS를 통한 SNP 선발이 유용한 방법임을 확인하였음
- 향후 8배체 딸기의 표준유전체 정보가 정밀해짐에 따라 더욱 신속한 마커 개발이 가능해질 것으로 예상됨
- 경도 형질의 경우 환경의 매우 민감하게 변화되는 특징을 가지고 있기에 최소 5년 정도의 반복 실험을 통해 매해 기상환경 변화 등에 따른 오차를 줄여 표현형 결과를 확보하는 것이 신뢰도 있는 SNP 발굴에 중요함
- 딸기 역병 저항성 검정법 확립
 - 논산딸기시험장으로부터 딸기 역병균(*P. cactorum* isolate ‘PC151111’)을 분양 받아 저항성 검정 방법을 확립함
 - 딸기 관부(crown) 부분에 상처를 낸 다음 딸기 역병균인 *P. cactorum* isolate ‘PC151111’ 유주자 현탁액을 주당 10 mL씩 토양 관주를 통해 접종함
 - 접종 후 병이 잘 발생할 수 있는 환경 조건으로 유지하여 3주 후 이병률을 조사함
 - 이병률은 0-4 단계로 나뉘어 조사, DK1를 저항성(R), $1 \leq DK2$ 를 중도 저항성(MR), $2 \leq DK3$ 를 이병성(S), $3 \leq DI$ 을 높은 이병성(HS)으로 조사함

- 딸기 유전자원의 역병 저항성 검정
 - 총 104종의 유전자원을 충남농업기술원 논산딸기시험장에서 분양 받아 딸기 역병균인 *P. cactorum*에 대한 저항성을 검정함
 - 그 결과 평균 이병률 지수(DI)는 0.78에서 3.78까지 다양하게 나타남
 - 저항성 품종은 2종, 중도저항성 품종은 27종, 이병성 품종은 42종, 높은 이병성 품종 33종으로 나타남
 - 가장 높은 저항성을 보인 품종은 일본 품종인 ‘Pechika’ 와 ‘Kaorino’
 - 가장 높은 이병성을 보인 품종은 국내 품종인 ‘킹스베리’
 - 딸기 역병 저항성 품종 육성 시 교배모본 선발에 유용한 자료로 활용 가능함
- HRM 마커 개발을 통한 8배체 딸기 유전자지도 작성
 - ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 를 교배모본으로 사용하여 최종적으로 97개체로 구성된 F₁ 분리집단을 육성함
 - 양친과 97개의 F₁ 분리집단의 DNA를 추출하여 유전자지도 작성에 사용함
 - 분리집단의 양친인 ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 의 DNA를 이용하여 NGS 분석 수행함
 - ‘설향’ 과 ‘생가생가나’ 는 각각 표준유전체의 530Mbp와 534Mbp로 약 76%를 커버함
 - Mapping된 염기서열을 이용하여 양친간의 SNP를 탐색함(총 421,480개의 SNP가 대량으로 탐색됨)
 - SNP 중 non-paralog SNP는 20,848개였으며, 이 중 12,720개의 SNP를 최종적으로 선발함
 - HRM용 프라이머로 SNP는 10,267개, 추천된 HRM 분석용 프라이머는 3,144개
 - 이 중 1,857개의 프라이머를 SNP 분자표지 개발에 사용, HRM 분석 결과 800개만이 실제로 다형성을 보임
 - 이를 이용하여 유전자지도를 작성, 632개의 SNP-HRM 분자표지가 연관지도 상에 위치함
 - 연관 거리는 1569.7 cM, 33개의 연관군으로 구성됨
 - 개발된 SNP 분자표지를 이용하여 딸기 육성계통의 homozygosity를 확인함
 - 딸기 유전자원 간 유연관계 분석에 개발된 HRM 분자표지를 사용함
 - 본 연구를 통해 개발된 SNP 분자표지의 경우 HRM 분석 방법으로 쉽게 분석할 수 있음
 - 딸기 육종 시 딸기 유전자원을 분류할 수 있을 뿐 아니라 유전적 다양성을 확인하는데 유용하게 이용할 수 있음
- 딸기 역병 저항성 유전분석
 - 97개의 F₁ 분리집단 중 79개의 F₁ 분리집단을 사용
 - 표현형 조사 결과 79개체 중 저항성 3개체, 중도저항성 32개체, 이병성 42개체, 높은 이병성 3개체
- 딸기 역병 저항성 QTL 탐색
 - 작성된 연관 유전자지도의 분자표지의 scoring 데이터를 유전자형(genotype)으로 사용함
 - 접종한 F₁ 분리집단의 이병률 데이터를 표현형(phenotype)으로 사용함
 - QTL 분석 중 CIM 분석을 수행함
 - 2개의 미동 QTLs(*qPC3.1* 및 *qPC6A*)이 탐색됨
 - 그러나 두 QTL 모두 표현형 변이(R^2 value)가 10%를 넘지 못함
 - 딸기 역병 QTL 분석을 통해 양적 형질인 것을 확인함
- 탄저병은 식물체에서 특별한 증상이 없이 잠재감염 상태로 존재하였다가 발병에 유리한 환경조건이 되면 발생하기 때문에 잠재 감염주를 조기 진단하거나 살균제 처리 등 노력과 비

용이 많이 소요되므로 탄저병 저항성 품종을 육성하여 재배하는 것이 필요하다. 국내 딸기에서 발생하는 탄저병은 잎과 엽병, 런너, 크라운에 발생하는 탄저병균 *Colletotrichum gloeosporioides* 와 과실에 발생하는 탄저병균 *C. acutatum* 이 보고되었으나, 최근에 국내에서 발생하는 탄저병균은 type 균주에 대한 재정립과 함께 분자 분류학적 분석을 통해 국내 딸기에 발생하는 *C. gloeosporioides* 는 *C. fructicola* 로 재평가되었다.

- 국외에서는 국내에서 주로 문제되는 병원균과는 다른 종류인 *Colletotrichum acutatum* 에 대한 저항성을 갖는 SCAR 마커가 개발되었고(Lerceteau-Kohler 등 2005), 유전양식에 관한 연구도 이루어진 바 있으나(Denoyes 등 2005) 국내에서 주로 발병되는 *C. fructicola* 에 대한 연구는 거의 없는 형편이다. 탄저병 저항성 유전양식에 관하여 연구자마다 서로 다른 결과를 보고하고 있으므로(Ballington 등 2002, Okimura 등 2004, Denoyes 등 2005, Mori and Kitamura 2010) 탄저병 저항성 품종 육성을 위해서는 탄저병 저항성 관련 마커개발 연구 뿐 만 아니라 유전양식에 관한 지속적인 연구가 필요하다.
- 딸기 탄저병은 주로 육묘기에 발생하여 문제가 되는 주요 병해로서 국내에 재배되고 있는 딸기 품종 ‘Seolhayang’, ‘Akihime’, ‘Redpearl’ 등이 모두 감수성이며, 특히 내수 품종의 대부분을 ‘Seolhayang’ 이 차지하여 발병시에는 그 피해가 매우 심각하다. 따라서 딸기 탄저병 저항성 품종 육성은 절실하며, 관련 분자표지개발은 조기에 우수한 품종을 육성하는데 매우 중요한 역할을 할 것이다.
- 탄저병 저항성 여부 판단의 기준은 육종가마다 다를 수 있으나 이병지수가 1정도이면 실제 재배에서 큰 문제가 없는 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서는 탄저병 저항성 마커 개발에는 ‘Albion’ 품종을 저항성의 기준으로 정하고, 상대적으로 이병지수가 ‘Albion’ 과 같거나 이하인 품종 혹은 계통을 선발할 수 있는 마커를 개발하였으며, 이 개발 마커는 실제육종에 이용하고 있다.
- 또한 품종 육종에 사용될 마커를 개발하기 위해서는 필수적으로 관련 유전집단의 육성이 필요하며, 이 유전집단의 육성에는 많은 시간과 노력이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서 육성한 2개의 유전집단은 추후 연구에 활용될 수 있을 것이다.
- 수집한 딸기유전자원들을 이용하여 수출용 딸기품종 육성 및 고품질 딸기 육성(고경도, 고당도, 사계성, 탄저병저항성, 흰가루병저항성 등)을 위한 새로운 교배조합을 작성할 수 있음
- 딸기유전자원 식별을 위해 최근에 개발된 EP-1 Fluidigm system을 구축하였으며, 24개의 SNP 분자마커를 이용한 국내외 110개의 딸기품종 식별에 대해 특허 출원 및 등록을 하였음. 등록된 기술을 활용하여 국내 품종의 유출을 보호할 수 있으며, 로열티에 대한 분쟁을 해소하는데 사용가능 함
- 당도와 사계성의 연관지도 작성 및 QTL 분석을 통해 선발된 SNP 분자마커는 수출용 고당도 및 사계성 품종 육종현장에서 효과적으로 우량계통을 선발할 수 있으며 육종연한 단축에 기여함
- NGS법인 ddRAD-seq 기술을 이용하여 1,287,014 raw read의 데이터 수집 후 25,879 SNP 정보를 연구기관과 공유함으로 새로운 형질에 대한 유전자 연관지도 작성 및 분자마커개발에 활용 가능함
- 유용유전자 동정, 전사조절 유전자 및 생합성 관련유전자를 통한 신호전달 메커니즘을 이해를 통한 식물자원경제시대에 유용유전자원 발굴 및 신품종 육성 경쟁력 강화

3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

1절. 목표

- 딸기 육종 소재의 주요 목표 형질 및 원예적 특성 탐색, 분류 및 데이터베이스 화
- 딸기 유전체 정보 수집, 통합 분석
- 딸기 유전체 정보 기반 분자마커 대량 발굴
- 딸기 경도 관련 유전자원 탐색 및 경도 정밀검정법 개발
- 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F1 조합 선발 및 F2 조합작성
- 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 SNP 분자표지 개발
- 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 경도 연관 분자표지 개발
- 개발한 딸기 고경도 연관 분자표지의 실용성 검증
- 딸기 역병 저항성 유전분석
- 딸기 역병 저항성 연관 분자표지 개발
- 딸기 탄저병 저항성 검정법 확립
- 딸기 탄저병 저항성 연관 분자표지 개발
- 딸기 고당도 사계성 관련 소재 개발
- 딸기 고당도 분자 마커 개발
- 딸기 사계성 분자 마커 개발

2절. 목표 달성여부

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
○ 딸기 육종 소재의 주요 목표 형질 및 원예적 특성 탐색, 분류 및 데이터베이스 화	30	30	- 164 계통의 runner 확보 후 증식시켜 표현형 분석을 완료함 - 각 형질별 육종 소재를 분류 후 경도, 당도, 과중, 과형 및 당산도의 교배조합 작성용 유전자원 선발하여 목표를 달성함 - 딸기 육종 소재 164점의 형질 조사 결과를 Breeding Information Management System (BIMS, https://www.rosaceae.org/bims)을 이용하여 데이터베이스화하여, 전체 표현형 결과뿐만 아니라 원하는 traits만 선택해서 결과를 나열할 수 있도록 하였음
○ 딸기 유전체 정보 수집, 통합 분석	20	20	- 딸기 유전체 reference인 <i>Fragaria vesca</i> (2배체)를 포함하여 8배체인 <i>F. x ananassa</i> 와 <i>F. iinumae</i> (71 Gb), <i>F. nipponica</i> (72 Gb), <i>F. nubicola</i> (74 Gb) 및 <i>F. orientalis</i> (75 Gb) 4개의 다른 야생종의 genome assembly 정보, CDS 정보, protein 정보, unigene 정보 및 EST 데이터 등 관련 유전체 정보를 수집함
○ 딸기 유전체 정보 기반 분자마커 대량 발굴	50	50	- 사계성 형질과 관련하여 개화유전자 FaFT2와 FaCKX1의 염기서열을 분석하여 총 84개 SNP를 발굴하였고 (FaFT2 SNP 179개, FaCKX1 SNP 36개), HRM을 통해 사계성과 일계성을 구별할 수 있는 SNP 마커 2개를 선발함

			<ul style="list-style-type: none"> - 고당도 (설향, 매향, 금실, 아람)와 저당도 (Missionary, Camonoreal, Jansan, 포틀라) 유전자원 선발 후 HPLC-ELSD를 이용하여 당도 분석 및 당 합성 관련 유전자 18개의 발현을 분석함 - 탄저병 저항성 관련 유전자원 ‘보교조생’, ‘매향’, ‘아키히메’의 transcriptome 분석을 통하여 탄저병 저항성 특이적으로 발현하는 유전자군을 대량으로 발굴 - 탄저병 저항성 관련 유전집단 2개 (‘보교조생’ X ‘매향’, ‘보교조생’ X ‘아키히메’)를 이용하여 유전자지도 작성 후 탄저병 저항성 관련 QTL분석 및 SNP 마커 1개 개발 (3협동과제와 협력)
합계	100	100	

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
<ul style="list-style-type: none"> ○ 딸기 경도 관련 유전자원 탐색 및 경도 정밀검정법 개발 ○ 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F1 조합 선발 및 F2 조합작성 	30	30	<ul style="list-style-type: none"> - 8배체 딸기 원예원 육성 고정계통의 경도 관련 특성 조사 및 재료 선발 - 유전분석이 용이한 경도검정 조건 확립: 간이 경도계와 고정경도계의 비교 실험을 통해 집단 분석에 적합한 기기 및 방법 선택 - 고경도 고정계통과 저경도 고정계통 간의 교배를 통해 F₁ 조합 선발 - F₁ 식물체의 자식을 통해 분자표지 개발을 위한 F₂ 분리집단 중자 확보
<ul style="list-style-type: none"> ○ 딸기 고경도 연관 분자표지 개발용 F2 분리집단 육성 ○ 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 SNP 분자표지 개발 	35	35	<ul style="list-style-type: none"> - 2017년 2월 21부터 4월 4일까지 색, 모양, 수량, 경도 등의 전반적인 특성조사를 진행 - 총 89개의 딸기 계통에 대하여 GBS(genotyping by sequencing) 방법으로 염기서열 분석 - GBS를 통해 평균 87,435,765 read가 확보되었으며 http://strawberry-garden.kazusa.or.jp/에서 확보한 <i>Fragaria</i> x <i>ananassa</i> (FANhybrid_r1.2) 레퍼런스 정보를 확보하여 SNP 선발에 활용 - 2차 필터링한 20,923개 SNP 중에서 딸기 레퍼런스 데이터베이스의 스캐폴드 당 1개씩 퀄리티가 가장 높고 diallelic인 SNP 2,863개 선발하여 딸기 유연관계 계통도(표 7)를 그렸으며 (DARwin software (http://darwin.cirad.fr) version 6 사용), population 분석 - GBS를 통해 선발한 SNP가 딸기 유연관계 분석을 효과적으로 함으로써 이러한 SNP 분석 전략이 딸기 마커 개발에 효율적임을 확인
<ul style="list-style-type: none"> ○ 딸기 고경도/저경도 고정계통조합을 이용한 경도 연관 분자표지 개발 ○ 개발한 딸기 고경도 연관 분자표지의 실용성 검증 	35	35	<ul style="list-style-type: none"> - 8배체 딸기 자식 고정계통 2개에 대하여 GBS 분석을 진행하였음 - 8배체 reference를 이용한 경우, SNP가 subgenome 특이적이어야 연관 그룹을 효과적으로 탐색할 수 있으며 이

			<p>를 위해 Nagano et al. (2017)이 제시하였듯, [부 : 모 : heterozygous = 1 : 1 : 2] 의 분리비를 보이는 SNP를 선발하여 연관 지도 제작에 사용함</p> <ul style="list-style-type: none"> - 두 reference를 활용해 얻은 두 가지 SNP 세트를 통해 연관 지도 제작을 시도함. - 2배체 reference를 이용한 SNP set는 하나의 염색체에서 여러 개의 연관 그룹으로 나뉘지는 경향이 보여 연관 지도 제작에 적합하지 않은 것으로 판단되었고 8배체 reference를 이용해 얻은 SNP set를 이용함. - 연관 그룹의 threshold는 LOD score 2, 그룹간 거리 30cM으로 설정함. - Carthagene 분석 결과 25개의 연관 그룹을 얻었음 - 8배체 reference를 이용한 경우, [부 : 모 : heterozygous = 1 : 1 : 2] 의 분리비를 적용하여 필터링하면 SNP이 70개로 줄어들어 연관 지도 제작에 적합하지 않다고 판단됨. - 2배체 reference를 이용한 경우, 부모와 F1에서 다형성이 나타났으나 F2 집단에서 다형성이 발견되지 않은 SNP는 제거하였으며, 총 214개의 SNP를 선발하여 연관 지도 제작에 사용함. - 연관 그룹의 threshold는 LOD score 2, 그룹간 거리 30cM으로 설정함. - 결과적으로, 2배체 딸기의 7개 염색체에 대응하는 7개의 연관 그룹을 얻었음 - LOD 값 분석 및 유효한 SNP/Indel 선발 : 2개의 F2 집단 중 딸기 8배체 reference에 mapping이 된 T137(147개 개체)에 대해 경도 관련 QTL 분석 - Permutation test 결과 genome wide LOD 값은 5.0였으며 제일 큰 LOD 값은 2.27로 LG5 번에 23,133bp 부근에 위치하였음 - 확인된 가까운 SNP 마커는 icon00022208_a.1 스캐폴드 마커로 확인되었음
합계	100	100	

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
○ 딸기 역병 저항성 검정법 확립	10	10	- 딸기 역병 균주(<i>Phytophthora cactorum</i> 'PC151111')을 이용하여 딸기 역병 저항성 검정법 확립함
○ 딸기 유전자원의 역병 저항성 검정	20	20	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 딸기 유전자원뿐만 아니라 국외 딸기 유전자원을 포함하여 총 104 품종에 대해서 역병 저항성 검정 실시함 - 한 품종 당 3반복씩 역병 저항성 검정을 실시하여 저항성 및 이병성 품종 분류함 - 균 증식하는데 시간이 많이 소모되었으나 국내에서 발병한 역병균이라는 것에 의미가 있음 - 많은 딸기 유전자원을 이용하여 딸기 역병 저항성 유전 분석을 실시한 것은 본 연구가 처음임
○ HRM 마커 개발을 통한 8배체 딸기 유전자지도 작성	40	40	<ul style="list-style-type: none"> - '설향', '생가생가나' 품종을 교배모본으로 사용하여 NGS 분석 실시 - '설향', '생가생가나' 품종을 교배하여 F₁ 분리집단을 작성함

			<ul style="list-style-type: none"> - 집단을 작성하는데 연구 시간이 오래 걸릴 것으로 예상되어 기존에 보고된 논문을 기반으로 유전분석과 동시에 진행함 - NGS 분석을 통해 대량의 SNP를 탐색하였으며, 이를 이용하여 HRM 분석을 실시 - 총 1,857개의 SNP를 HRM 분석을 실시하였으며, 이 중 800개만이 다형성을 보임 - 하나의 SNP 분자표지에 대해 HRM 분석을 실시하여야 하므로 시간이 많이 소요됨 - 본 실험에서 개발한 SNP의 경우 딸기 육종 시 바로 쓸 수 있다는 장점이 있음 - 800개의 SNP 중 632개의 SNP를 이용하여 딸기 연관 유전자 지도 작성함 - 완벽하게 8배체 딸기 유전자 지도를 작성하진 못하였으나 현재까지 보고된 딸기 유전자 지도와 비교해 보았을 때 non-paralog SNP를 이용한 유전자 지도라는 것의 큰 장점이 있음
○ 딸기 역병 저항성 유전분석	5	5	<ul style="list-style-type: none"> - 딸기 역병균을 이용하여 한 개체당 3반복씩 실험하여 집단 내 역병 저항성 검정을 실시함 - 저항성 3개체, 중도저항성 32개체, 이병성 42개체, 높은 이병성 3개체로 분리함
○ 딸기 역병 저항성 QTL 탐색	15	15	<ul style="list-style-type: none"> - QTL 분석을 실시하였으나 major QTL은 탐색되지 않고 2개의 minor QTLs(<i>qPC3.1</i> 및 <i>qPC6A</i>)이 탐색됨 - 다배체 작물의 경우 QTL 탐색이 쉽지 않음
○ 딸기 역병 연관 분자표지 개발	10	10	<ul style="list-style-type: none"> - Minor QTLs(<i>qPC3.1</i> 및 <i>qPC6A</i>)에 연관된 분자표지 개발함
합계	100	100	

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
○ Mapping 용 유전집단 육성	50	50	<ul style="list-style-type: none"> - ‘Hokowase’ x ‘Akihime’, ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’ 채종 후 실생묘 육성 - 런너이용 증식, 개배별 탄저병원균 접종 후 이병지수 조사 실생묘 육성
○ 탄저병 저항성 분자표지 개발	50	50	<ul style="list-style-type: none"> - 다형성 분석, RAPD 머커 개발 및 SCAR 마커 전환 - 유전집단 다형성 분석
합계	100	100	

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
○ 유전자원 수집	5	5	<ul style="list-style-type: none"> - 당도관련 6점, 사계성관련 2점의 유전자원을 확보함
○ 딸기 유전자원 특성 분석	10	10	<ul style="list-style-type: none"> - 딸기 유전자원의 특성분석 및 유전자원을 식별할 수 있는 SNP분자마커개발 및 Fluidigm EP1 system 개발
○ 당도 및 사계성 관련 소재의 전사체 자료 생성 및 분석	10	10	<ul style="list-style-type: none"> - 딸기의 주요 유전자원으로부터 사계성관련 TFL1 유전자의 염기서열을 결정하고, 4개의 HRM 분자마커개발함 - 당도 및 색깔에 관련된 유전자발현분석을 통

			한 후보유전자 선발함
○ 딸기 당도 및 사계성 연관 분자표지 개발용 F1 분리집단 육성	10	10	- 당도 및 사계성 관련 4개 조합(매향×알비온, 설향×관하, 매향×페스티발, 매향×스위트칼리)을 작성하고 F1집단을 육성함
○ 딸기 당도 및 사계성 관련 유전분석 및 유전자 연관지도 작성	30	30	- NGS기술 중 ddRAD-seq을 이용하여 사계성 및 당도의 교배양친 및 F1집단 총 96샘플에 대해 각 샘플당 평균 1,287,014 raw reads 획득함 - 1,553 SNP 분자마커를 이용하여 사계성 관련 유전자 연관지도 53개를 작성하였으며, 1,268 SNP 분자마커를 이용하여 사계성 관련 유전자 연관지도 46개를 작성함
○ 딸기 당도 및 사계성 연관 QTL분석 및 분자표지 개발	20	20	- 유전자 연관지도와 교배조합 및 F1집단의 표현형분석을 통하여 당도 및 사계성관련 QTL을 동정하였으며, QTL에 위치한 당도 및 사계성 관련 SNP분자마커를 선발함
○ 확인된 분자표지의 적용성 검증	10	10	- 24개 SNP 분자마커를 활용하여 딸기 110품종을 식별함. - 분자표지를 이용한 당도 및 사계성 품종간의 Validation 검증 결과 당도 관련 유용 분자표지 2 set (F03-022, S08-701)을 선발함 - 당도 및 사계성 관련 SNP 분자마커를 활용한 교배 양친과 F1 집단(152개체)의 유전자형 분석 및 QTL 분석을 통한 당도 및 사계성 특이적인 SNP 분자마커 선발
○ 새롭게 확인된 전사체, 유전체, 유전자, QTL 정보 공유	5	5	- 개발된 유전체, 유전자지도, SNP정보에 대한 data 베이스를 1세부와 공유함
합계	100	100	

3절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책

- 딸기 고정계통을 활용하여 성공적으로 F2 집단을 구축하고 GBS (genotyping by sequencing) 기술을 통한 SNP 발굴을 시도하여 마커를 개발하였으나 각각의 SNP의 유효성을 검증하기에는 연구기간이 짧은 한계가 있었으며 표준유전체 구축이 미흡한 상황인 만큼 딸기 레퍼런스가 확보되면 SNP 연구의 정확성이 높아질 것으로 기대됨
- 경도 연관 SNP가 실제 육종 재료에 대해 어느 정도의 효용성을 보이는지에 대한 연구가 추가적으로 필요하나 아직 딸기에서 고경도 및 저경도에 대한 기준이 전혀 확립이 안된 만큼 정밀한 연구설계의 한계가 컸으며 이에 대한 육종가들과의 합의가 필요함
- 딸기는 allo-ploid 작물로 유전체가 매우 복잡하기 때문에 완벽하게 유전자 지도가 작성되지 못함
- 아직까지도 딸기 유전체 분석이 완벽하게 된 연구 논문이 없음
- 저항성 품종으로 알려진 ‘생가생가나’가 본 연구에서는 이병성으로 나와 major QTL이 탐색되지 않은 것으로 보임
- 본 과제 기간이 짧고 집단 작성에 많은 시간이 소요되어 연구 목표에 미흡한 결과를 달성
- 다른 연구 또는 차후 연구에서 좀 더 완벽하고 촘촘하게 유전자 지도를 작성할 필요 있음
- 본 연구에서 나온 결과를 토대로 새로운 저항성 품종과 이병성 품종을 이용하여 집단을 작성하여 major QTL을 찾을 필요 있음

4장. 연구결과의 활용 계획 등

1절. 연구성과의 활용 분야 및 활용 방안 (타 연구에의 응용 포함)

- 딸기 품종 육성에 관한 제반 기술 축적으로 육종 체계 확립 및 우수 신품종 육성 가속화
 - 조기선발 및 정밀 육종 가능
 - 육종연한 단축을 통한 신품종 개발 비용 절감
 - 다양한 목표의 육종이 신속하게 가능하여 품종의 국제 경쟁력 강화
- 개발 분자표지를 이용한 지적 재산권 확보
- 분자표지를 이용한 딸기 고품질 품종 육성으로 수출 시장 확대, 국제 경쟁력 확대
 - 고품질 딸기 육성 비용 절감을 통한 가격 경쟁력 및 부가가치 창출
 - 각 시장 맞춤형 품종 개발을 통한 수출 시장의 확대
- 본 연구에서 활용한 딸기 고정계통 및 집단, SNP 등은 향후 정밀한 딸기 유전자 지도 작성 등에 활용하여 표준유전체 구축 및 정밀한 마커 개발 틀로 활용할 예정
- 딸기 색 등 다양한 목표 형질 대응하기 위해 본 연구를 바탕으로 핵심 딸기 집단 구축을 계획 중에 있음
- 딸기 역병 저항성 육종 소재 선발
 - 딸기 품종 및 유전자원에 대해 역병을 접종한 결과를 토대로 딸기 역병 저항성 신품종 육성 시 교배모본 선택에 중요한 기초 자료로 사용될 수 있음
 - 딸기의 경우 교배모본으로 사용하는 품종과 유전자원이 한정되어 있어 본 연구에서 개발된 HRM 분자표지를 이용하여 딸기 유전자원 유연관계를 분석한 결과를 바탕으로 육종 소재 선택 시 이를 고려하여 교배모본을 선택할 수 있는 기초 자료로 사용될 수 있음
- 딸기 형질 연관 분자표지 개발
 - 본 연구에서 개발한 HRM(SNP) 분자표지는 형질과 연관되어 있는 분자표지일 경우 바로 형질 연관 분자표지로 사용할 수 있다는 큰 장점이 있음
 - 딸기 주요 형질 QTL 분석을 통해 형질 연관 분자표지를 개발하는데 이용할 수 있음
- 개발된 마커는 딸기 신품종 육성에 활용
- ‘Hokowase’ x ‘Akihime’, ‘Hokowase’ x ‘Maehayang’ F1 유전집단은 다른 마커 개발에 이용
- 수집된 딸기 유전자원 및 고당도 및 사계성 육성계통은 담양농업기술센터에서 지속적으로 보존하면서 우량품종 육성에 활용될 것임
- 교배조합에서 육성된 고당도 및 사계성 계통을 이용할 경우 연구종료 후에도 산업화가 가능하며, 베트남 등 아시아 수출용 고품질 딸기 품종 육성을 통한 수출증대가 기대됨
- 당도 및 안토시아닌 합성 관련된 유전자 동정 및 발현분석은 고당도 딸기품종 육성에 기초 자료로 활용 가능함

2절. 추가 연구의 필요성

- 딸기의 유용형질 보유 품종별, 처리별 유전체 및 전사체 정보 생산 결과를 데이터베이스에 탑재하여 public 유전체 정보와 통합 분석된 딸기의 표준 유전자 세트를 구축하고, 구축된 유전자 세트 기반의 유전자 search 시스템을 구현할 필요가 있음
- 각 협동과제에서 개발된 마커 정보를 통합 탑재하여, web interface 형태의 육종가를 위한 마커 개발 시스템을 만들 필요가 있음. 또한 육종가와 연구자의 검정을 거쳐 데이터베이스를 보완해야 함
- 경도 형질의 경우 환경의 매우 민감하게 변화되는 특징을 가지고 있기에 최소 5년 정도의 반복 실험을 통해 매해 기상환경 변화 등에 따른 오차를 줄여 표현형 결과를 확보하는 것이 신뢰도 있는 SNP 발굴에 중요함
- 2012년 이후 국제신품종보호연맹(UPOV)규정에 따라 딸기 품종 보호권을 부여하게 되면서 외국 품종 재배 시 로열티를 지불해야 하는 경제적 부담이 발생하였다. 이에 따라 다양한 국내 품종이 육성되고 있으며, 2005년 9.2%에 불과하던 국산 품종 재배비율이 2013년 78.0%로 증가하였다. 딸기 총생산액은 2006년 7,500억에서 2016년 1조 3천억원 이상으로 해마다 증가하고 있으며, 전체 채소생산액의 11.6%를 점유하고 있다. 또한 2018년 기준 한국농수산식품유통공사 통계에 따르면 딸기 신선과일 수출액이 2011년도 약 205억원에서 2017년도 약 457억원으로 2배 이상 증가하였다. 세계적으로 딸기가 중요한 과채류 작물로 평가되고 있지만 아직까지도 딸기의 유전체 분석은 다른 작물에 비해 걸음마 수준이다. 따라서 추가 연구를 통해 딸기 유전체 해독 및 유전자 지도 작성이 필요하며 더 나아가 실제 육종에 사용할 수 있는 형질 연관 분자표지 개발도 필요하다.
- 유전집단 육성에 많은 시간이 소요되어(2년) 실질적임 마커 개발 기간이 짧았으며, 육성된 유전집단을 활용하여 좀 더 다양한 마커개발이 필요함

3절. 기업화 추진방안 및 기술이전

- 본 연구에서 개발된 HRM 분자표지 및 역병 저항성 QTL 연관 분자표지는 유용하게 사용할 기관에 기술이전을 수행할 예정임

붙임. 참고문헌

- Ballington JR, Shuman JL, and Hokanson AC. 2002. Breeding strawberry(*Fragaria* × *ananassa*.) for resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. Acta Hort. 567: 89-92
- Bassil NV, Davis TM, Zhang H, Ficklin S, Mittmann M, Webster T, Mahoney L, Wood D, Alperin ES, Rosyara UR, Putten HK, Monfort A, Sargent DJ, Amaya I, Denoyes B, Bianco L, van Dijk T, Pirani A, Iezzoni A, Main D, Peace C, Yang Y, Whitaker V, Verma S, Bellon L, Brew F, Herrera R, van de Weg E (2015) Development and preliminary evaluation of a 90K Axiom® SNP array for the allo-octoploid cultivated strawberry *Fragaria* × *ananassa*. BMC Genomics 16: 155.
- Browne G, Becherer H, McLaughlin S, Fennimore S, Duniwas J, Martin F, Ajwa H, Winterbottom C, Guererro L (2003) Integrated management of *Phytophthora* on strawberry without methyl bromide. Proceedings Ann Inter Res Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, November 3-6, San Diego, CA, USA. 128:1-2 (abstract). <http://www.mbao.org>.
- Cox MP, Peterson DA, Biggs PJ (2010) SolexaQA: At-a-glance quality assessment of Illumina second-generation sequencing data. BMC Bioinformatics 11: 485.
- Das PK, Shin DH, Choi SB, Park YI. (2012) Sugar-hormone cross-talk in anthocyanin biosynthesis. Molecules and cells, 34(6):501-507.
- Davik J, Eikemo H, Brurberg MB, Sargent DJ (2015) Mapping of the *RPC-1* locus for *Phytophthora cactorum* resistance in *Fragaria vesca*. Mol Breeding 35: 211-221.
- Deng Z, Huang S, Ling P, Chen C, Yu C, Weber CA, Moore GA, Gmitter Jr FG. 2000. Cloning and characterization of NBS-LRR class resistance-gene candidate sequence in citrus. Theor Appl Genet. 101: 814-822
- Denoyes-Rothan B, Guerin G, Lerceteau-Kohler E and Risser G. 2005. Inheritance of resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Fragaria* × *ananassa*. Phytopathology 95: 405-412.
- Eikemo H, Brurberg MB, Davik J (2010) Resistance to *Phytophthora cactorum* in diploid *Fragaria* species. HortScience 45: 193-197.
- Eikemo H, Stensvand A (2015) Resistance of strawberry genotypes to leather rot and crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. Eur J Plant Pathol 143: 407-413.
- Eikemo H, Stensvand A, Davik J, Tronsmo AM (2003) Resistance to crown rot (*Phytophthora cactorum*) in strawberry cultivars and in offspring from crosses between cultivars differing in susceptibility to the disease. Ann Appl Biol 142: 83-89.
- Eikemo H, Stensvand A, Tronsmo AM (2000) Evaluation of methods of screening strawberry cultivars for resistance to crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. Ann Appl Biol 137: 237-244.
- Ge AJ, Han J, Li XD, Zhao MZ, Liu H, Dong QH, Fang JG (2013) Characterization of SNPs in strawberry cultivars in China. Genet. Mol. Res. 12: 639-645.
- Grattapaglia D, Sederoff R (1994) Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers. Genetics 137:

1121-1137.

- Hirakawa H, Shirasawa K, Kosugi S, Tashiro K, Nakayama S, Yamada M, Kohara M, Watanabe A, Kishida Y, Fujishiro T, Tsuruoka H, Minami C, Sasamoto S, Kato M, Nanri K, Komaki A, Yanagi T, Guoxin Q, Maeda F, Ishikawa M, Kuhara S, Sato S, Tabata S, Isobe N (2014) Dissection of the octoploid strawberry genome by deep sequencing of the genomes of *Fragaria* species. *DNA Res.* 21: 169-181.
- Jang WS. 2014. Evaluation of germplasm and inheritance of agronomic traits in strawberry. PhD Diss., Chungnam National Univ., Daejeon, Korea.
- Jeong HJ, Lee SH, Cho IW, Rho IR (2015) Breeding of 'Seeberry' F1 Hybrid Strawberry. *Korean J Horticult* 7
- Jeong HJ, Lee SH, Cho IW, Rho IR (2015a) Breeding of inbred lines 'Wongyo 3115' and 'Wongyo 3116' in strawberry. *Kor J Sci Technol* 33:443-447.
- Jeong HJ, Lee SH, Cho IW, Rho IR (2015b) Breeding of 'Seeberry' F₁ hybrid strawberry. *Kor J Horticulture Technol* 33:448-452.
- Kim JE, Oh SK, Lee JH, Lee BM, Jo SH (2014) Genome-wide SNP calling using next generation sequencing data in tomato. *Mol. Cells* 37: 36-42.
- Lee J, Park SJ, Do JW, Han JH, Choi D, Yoon JB (2013) Development of a genetic map of chili pepper using single nucleotide polymorphism markers generated from next generation resequencing of parents. *Hortic Sci Technol* 31: 473-482.
- Lee YR, Jang WS, Nam MH, Lee J (2018) Screening of resistance to crown rot caused by *Phytophthora cactorum* through bioassay analysis in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Korean J Breed Sci* 50: 203-210
- Lee YR, Lee J (2017) A genetic linkage map of allo-octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) using SNP markers. *Korean J Breed Sci* 49: 119-128.
- Lerceteau-Kohler E, Guerin EG, and Denoyes-Rothan EB. 2005. Identification of SCAR markers linked to Rca2 anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm. *Theor Appl Genet.* 111: 862-870
- Li H, Durbin R (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25: 1754-1760.
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R, 1000 Genome Project Data Processing Subgroup (2009) The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25: 2078-2079.
- Mangandi J, Verma S, Osorio L, Peters NA, van de Weg E, Whitaker VM (2017) Pedigree-based analysis in a multiparental population of octoploid strawberry reveals QTL alleles conferring resistance to *Phytophthora cactorum*. *Genes Genomes Genetics* 7: 1707-1719.
- Mori T, and Kitamura H. 2010. Development of a method of evaluating anthracnose resistance by progeny tests using self established seedling in strawberry. *Hort. Res.(Japan)*. 9: 137-141
- Nagano S, Shirasawa K, Hirakawa H, Maeda F, Ishikawa M, Isobe SN (2017) Discrimination of candidate subgenome-specific loci by linkage map construction with an S1 population of

- octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). BMC Genomics 18:374-383.
- Nam MH, Nam YK, Kim TI, Kim HS, Jang WS, Lee WG, Lee IH, Kang HK, Park YJ, Choi JM, Hwang KS (2009) Easy to learn to see strawberry diseases and pests. Nonsan Strawberry Experiment Station, Nonsan, South Korea p 73-77 (in Korean).
- Nam MH, Park MS, Lee HD and Yu SH. 2013. Taxonomic re-evaluation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from strawberry in Korea. Plant Pathology 29: 317-322.
- Ohto M, Onai K, Furukawa Y, Aoki E, Araki T, Nakamura K. (2001) Effects of sugar on vegetative development and floral transition in Arabidopsis. Plant Physiol. 127:252-261.
- Okimura M, Noguchi Y, Mochizuki T, Sone K, and Kitadani E. 2004. Breeding 'Strawberry parental line Nou-2 with anthracnose resistance. Hort. Res(Japan). 3(3): 257-260
- Rantanen M, Kurokura T, Jiang P, Mouhu K, Hytönen T. (2015) Strawberry homologue of terminal flower1 integrates photoperiod and temperature signals to inhibit flowering. Plant J. 82(1):163-7.
- Rho IR, Woo JG, Jeong HJ, Jeon HY, Lee CH (2012) Characteristics of F1 hybrids and inbred lines in 16 octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne). Plant Breed 131:550-554 17
- Sargent DJ, Yang Y, Surbanovski N, Biance L, Buti M, Velasco R, Giongo L, Davis TM (2016) HaploSNP affinities and linkage map positions illuminate subgenome composition in the octoploid, cultivated strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). Plant Sci 242: 140-150.
- Schafleitner S, Bonnet A, Peddeprat N, Rocca D, Chartier P, Denoyes B (2013) Genetic variation of resistance of the cultivated strawberry to crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. J Berry Res 3: 79-91.
- Shaw DV, Hansen J, Browne GT, Shaw SM (2008) Components of genetic variation for resistance of strawberry to *Phytophthora cactorum* estimated using segregating seeding populations and their parent genotypes. Plant Pathol 57: 210-215.
- Skroch P. and Nienhuis J. 1995. Qualitative and quantitative characterization of RAPD variation among snap bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. Theor. Appl. Genet. 91:1078-1085.
- Welsh J. and McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18:7213-7218.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, and Tingey SV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18:6531-6535.
- Wittwer CT, Reed GH, Gundry CN, Vandersteen JG, Pryor RJ (2003) High-resolution