

316033-04

농생명기술개발사업 제4차 년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003147-01

무 시들음병 예찰시스템 구축 및 시들음병 저항성 고품질 무 산업화 기술개발 최종보고서
농림식품기술기획평가원

무 시들음병 예찰시스템 구축 및 시들음병 저항성 고품질 무 산업화 기술개발 최종보고서

(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)

2020. 07. 06.

주관연구기관 / 세종대학교 산학협력단
세부연구기관 / 세종대학교 산학협력단
협동연구기관 / 농우바이오
위탁연구기관 / 조앤김지노믹스

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

‘무 시들음병 예찰시스템 구축 및 시들음병 저항성 고품질 무 산업화 기술개발’ (개발
기간 : 2016. 05. 19 ~ 2019. 12. 31)과제의 최종보고서 10부를 제출합니다.

2020. 07. 06.

주관연구기관명: 세종대학교 산학협력단 (대표자) 백성욱
세부연구기관명: 세종대학교 산학협력단 (대표자) 백성욱
협동연구기관명: 농우바이오 (대표자) 이병환
위탁참여기관명: 조앤김지노믹스 (대표자) 조서애



주관연구책임자 : 박 한 용
세부연구책임자 : 문 현 준
협동연구책임자 : 이 장 하
참여기관책임자 : 조 서 애

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에
동의 합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	316033-04	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.05.19. ~ 2019.12..31	단 계 구 분	(4)/ (4)
연 구 사 업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농생명산업기술개발사업			
연 구 과 제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	무 시들음병 예찰시스템 구축 및 시들음병 저항성 고품질 무 산업화 기술개발			
연 구 책 임 자	박한용	해당단계 참여연구원 수	총: 36 명 내부: 30 명 외부: 6 명	해당단계 연구개발비	정부:400,000천원 민간: 50,000천원 계:450,000천 원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 52 명 내부: 43 명 외부: 9 명	총 연구개발비	정부:1,470,000 천원 민간:190,000천원 계:1,660,000천 원
연구기관명 및 소 속 부 서 명	세종대학교 산학협력단			참여기업명 농우바이오	
국제공동연구 위 탁 연 구	상대국명: 연구기관명: 조앤김지노믹스			상대국 연구기관명: 연구책임자: 조서애	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반등급 「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음				

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고 서 원문	연구시 설·장비	기술요 약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	4 (비 SCI) 8(SCI)	(출원 6) 7588 (등록 2)	한글						48267		
									-		
									48269		
									48502		
									-		
									48504		
									48811		
									48812		
									48472		
									-		
									48474		

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약	보고서 면수
<ul style="list-style-type: none"> - 지식재산권 : 특허(품종)출원 6건, 품종등록 3건 - 무 시들음병 영상 데이터베이스 구축 및 영상 처리·분석, 인공 지능 기술 개발 - 무인기 하드웨어, 영상 처리 소프트웨어 기술 활용 영상 품질 안정화 기술 개발 - 시들음병 판별용 표준 품종 개발 (강 저항성 2품종, 중도 저항성 2품종, 이병성 2품종) - 무 GWAS용 유전지도 작성 및 주요 유전자 발굴 - 무 시들음병 관련 마커선발 및 우수 육종 목표 양적 형질 유전자위 발굴 - 무 유전체 정보 활용 분자육종 시스템 개발 - 논문: 12건 (SCI 8건, 비SCI 4건) - 학술발표: 10건 (국내 6건, 국외 4건) - 사업화제품화 1건, 매출액 178.46백만원 - 고용창출 : 4명 - 정책활용홍보 : 9건(홍보 2건, 전시회 7건) - 인력양성연구인력 활용/양성 : 석사 4명, 학사 1명, 기타 3명 - 기술실시 : 기술이전 3건, 기술료 3건 (15.4백만원) - 교육지도 : 5건 - 유전자원 기탁 : 11건 	<p>271</p>

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ 연구 목적</p> <p>무는 국내 채소 재배면적의 10%를 차지하며, 종자수출액 1위를 점유하는 만큼 경제적 가치가 매우 큰 원예작물이다. 현재 강원도 등 무 대형산지에서는 시들음병의 발생이 큰 문제가 되고 있다. 무 시들음병은 일단 발생하면 방제가 어려워, 저항성 품종의 개발 및 확산방지를 위한 예찰이 매우 중요하다. 본 연구에서는 국내 무 재배산지 내 시들음병의 피해경감 및 확산방지를 위하여 다음 세 가지 목표에 대해 연구를 수행하고자 한다.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내용 무 시들음병 저항성 고품질 F₁ 품종의 육성 및 산업화 - 무 시들음병 분자유종시스템 및 저항성 검정 표준화 시스템개발 - 무 시들음병 발생과 확산 탐지를 위한 ICT기반 예찰 시스템 개발 <p>○ 연구 내용</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 국내용 무 시들음병 저항성 고품질 F₁ 품종의 육성 및 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 육성계통의 시들음병 저항성에 대한 특성검정을 실시 - 우수 육성계통의 원종 증식, 교배조합 작성, 재배시험, F₁ 채종시험을 실시하고, 우수품종의 농가보급 - 산지 내 시들음병 확산방지를 위하여 농기계 소독법 및 윤작재배법을 개발 및 도입 2. 무 육종효율의 고도화를 실현하기 위하여 분자유종시스템 확립 <ul style="list-style-type: none"> - GBS (Genotyping By Sequencing) 방법을 활용한 SNP 발굴 및 핵심 집단의 유전형과 표현형 간의 연관분석을 실시. 시들음병 저항성 및 주요 형질 관련 분자마커의 개발 - 계통 및 중간모본 육성, F₁종자의 순도검정, 저항성 및 특성검정에 분자마커를 적극 활용하여, 무 유전체 기반 육종 시스템 (GAB:genomics assisted breeding) 확립 3. 무 시들음병 검정 표준화 시스템의 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 국내 주요 무재배지의 시들음병 균주를 수집 분석하고 국립농업 유전자원센터에 균주 기탁
----------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 시판품종의 저항성 정도를 확인하고 표준품종을 선정 - 핵심 집단 및 수집 유전자원에 대해서 병저항성 검정을 실시 - 저항성 유전자원을 선발하여 육종 소재로 이용 <p>4. 무 시들음병 발생과 확산 방지를 위한 ICT기반 예찰 시스템 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 무 시들음병 발생 및 확산 방지를 위한 영상 데이터베이스 구축 - 영상 전처리 기술(PCA, MSC)을 이용한 근적외선 영상의 임의적 변동성을 최소화함 - 엠티소 함량 측정에 유용한 근적외선 영상 스펙트럼 특징을 추출 - 추출된 영상과 인공지능 기술인 Neural network (or deep learning)을 이용하여 무 잎 엠티소 함량 예측을 위한 알고리즘을 개발 및 구현 - 영상 분석·처리 기술(Wavelet, LBP)과 SVM(Support Vector Machine)을 활용 무 시들음병 탐지 기술을 개발 - 시간대별, 주별, 월별 확보된 동일 무 재배지 영상 데이터의 공간적 시계열적 분석을 수행하고 무 시들음병 발생 특성 파악 - Edge detection 기술을 활용하여 무 시들음병 확산 경로와 특성 분석 수행 - 무인기 기술 향상과 확률적(Bayesian) 모델링을 통해 영상 품질 안정화 기술 구현
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 지식재산권 : 특허(품종)출원 6건, 품종등록 3건 ○ 시들음병 판별용 표준 품종 선발(강: 2품종, 중:2품종, 약:2품종) ○ 논문/학술발표 : 국내외 논문(SCI, 비SCI): 12건(SCI 8건, 비SCI 4건), 국내외 학술발표: 10건(국내 6건, 국외 4건) ○ 사업화제품화 : 1건, 매출액 : 178.46백만원, 고용창출 : 4명 ○ 정책활용홍보 :9건(홍보 2건, 전시회 7건) ○ 인력양성연구인력 활용/양성: 석사 4명, 학사 1명, 기타 3명 ○ 기술실시: 기술이전 : 3건, 기술료 : 3건(15.4백만원) ○ 교육지도: 5건 ○ 기타: 유전자원 기탁 : 11건
연구개발성과의	<ul style="list-style-type: none"> ○ 무 시들음병 저항성 우수 품종을 개발하여 국내 재배농가의 피해 경감에 기여한다.

<p>활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 윤작을 통해 시들음병의 발병정도가 낮아짐을 확인함으로써 시들음병의 확산방지에 기여한다 ○ 분자유종기술의 도입으로 무 품종 육종 기술의 효율성 제고한다. ○ 시들음병 관별용 표준 품종 선발(강: 2품종, 중:2품종, 약:2품종)로 무 시들음병 선발시 표준 자료로 제공 ○ 표준화 검정 시스템을 도입으로 저항성 육종효율이 증가한다. ○ 무 시들음병 조기 탐지 체계를 구축한다. ○ 확산 예측도를 제작하여 무 시들음병의 확산을 예방한다. ○ 무 시들음병에 대한 정확한 정보를 제공하여 예방과 관리에 기여한다. ○ 전국에서 수집한 무 시들음병 균주를 기탁함으로써 무 시들음병의 연구발전에 기여한다. ○ 저항성 품종의 공급으로 농가소득 및 무 수급 안정화에 기여한다. ○ 무 뿐만아니라 주요 작물과 산림 자원 병해충 예찰 및 관리 시스템에 활용한다. 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>무 시들음병</p>	<p>예찰시스템</p>	<p>무인기</p>	<p>F1 품종</p>	<p>분자유종시스템</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Fusarium wilt of radish</p>	<p>Forecasting system</p>	<p>UAV</p>	<p>F1 cultivar</p>	<p>Molecular breeding system</p>

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	1
2. 연구수행 내용 및 결과	9
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	250
4. 연구결과의 활용 계획 등	253
붙임. 참고 문헌	254

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

- 가. 국내용 무 시들음병 저항성 고품질 F1 품종의 육성 및 분자유종 시스템 개발
- 나. 무 시들음병 저항성 검정 표준화 시스템 개발 및 품종 산업화
- 다. 무 시들음병 발생과 확산 탐지를 위한 ICT기반 예찰 시스템 개발

1-2. 연구개발의 필요성

○ 국내 무 재배 현황

- 무는 우리나라 채소 재배 면적 중 약 10%를 차지하고, 종자 생산량 및 수출량은 각각 155톤, 291톤으로 1위를 차지하고 있다.
- 국내 매출액과 수출액은 4.5백억원, 8.8백만 불로 각 2위를 차지하고 있다.

○ 무 포장 재배 병해 발생 현황

- 무 시들음병은 방제가 매우 어려우며 특히 연작지에서 심각한 문제가 되고 있다. 시들음병이 발생하면 무 재배면적과 생산량이 급감할 수 있어, 채소 시장의 큰 불안 요소이다.
- 일본에서는 1960년대 시들음병 대발생으로 무 재배 산지가 붕괴되었다. 이후 저항성 품종 도입 및 윤작법 도입으로 산지가 다시 안정화되었다.

가. 기술적인 측면

○ ICT기반 무 시들음병 상시 예찰 및 경보 시스템 개발 필요성

- 무 시들음병 발생 시 대형 산지에서의 방제에 많은 노동력과 시간이 소요된다.
- ICT기반 무인기 활용 영상 확보 및 분석을 통한 예찰 시스템의 자동화가 필요하다.
- 상시 예찰과 자동화로 조기 탐지·방제 및 비용 절감을 이룰 수 있다.
- ICT기반 예찰 시스템 활용으로, 무 시들음병의 발생 및 확산의 종합적인 관리 및 대응이 가능하다.

○ 무 시들음병 영상 처리 및 분석, 인공지능 기술 정밀 탐지 기술 개발 필요성

- 무인기 운용 시 다양한 환경적 변수 요인이 존재한다.
- 무 생육상태와 재배지 환경에 따른 영상 변동성이 존재한다.

- ICT기반 영상 품질의 안정화를 통해 임의 변동성 요인을 최소화할 수 있다.
- ICT기반 영상 처리·분석 및 인공 지능 기술을 활용하여 무 시들음병 탐지가 가능하다.

○ ICT 기반 농업용 무인기를 활용한 예찰시스템의 필요성

- 작물의 상태를 공중에서 획득된 고해상도의 다양한 스펙트럼의 영상정보를 통하여, 육안으로 확인하기 힘든 농작물의 과중면적과 생산량 병해충 등을 사전에 정밀히 탐지 및 예측하여 국가 농식품 수급과 가격 안정에 기여할 수 있다.
- 다양한 센서가 탑재된 무인기를 통하여 획득한 광범위한 면적의 multi-spectral 영상 데이터 (가시광선, 근적외선 등)를 기반으로 병해를 조기에 탐지 가능한 예찰시스템의 구축을 통한 농업생산력을 획기적으로 높일 수 있다.
- 농촌인력 부족으로 예찰이 불가능한 광범위한 면적의 정기적인 (월별/일별/시간별) 영상 데이터 획득이 가능하며, time-series animation 등의 기능을 통하여 작물의 변화 및 병충해 문제가 발생한 지점을 탐지하여 개선된 작물관리 시스템의 운영을 가능하게 한다.

○ 대면적의 무 재배지를 농가에서 주기적으로 시찰하여 시들음병 발생여부를 확인하는 것은 물리적으로 제약이 크다. 이에 드론 등 첨단 ICT기술을 이용하여 관측을 자동화하고, 시들음병 발생 및 확산을 예측할 수 있는 시스템의 구축의 필요하다.

○ 무 시들음병의 경우 토양이 일단 오염이 되면 방제가 불가하여, 운작재배 혹은 재배포장의 이동 등이 불가피하나 소규모 경작자에게는 부담이 매우 큰 실정이다. 이에 오염토양에서 무 재배를 지속하기 위해서는 시들음병에 강한 저항성을 보이는 품종을 육성 할 필요가 있다.

○ 현재, 국내 재배현장에는 무 시들음병 확산 방지 기술이 확립되어 있지 않다. 포장에서 발병 식물체를 발견하더라도 제약없이 농로를 통행하고 공용트랙터를 사용하기 때문에, 농기구나 장화에 오염토양이 묻어 주변 밭으로 쉽게 이동하게 되어 발병지역이 점차 확산되고 있는 실정이다.

○ 농로통행제한, 농기구 소독, 운작을 통해 병원균의 밀도를 낮추는 등 시들음병 발생에 따른 농가의 대응매뉴얼을 구축하여, 산지 내 시들음병의 확산을 예방할 수 있을 것으로 예상된다.

- 무를 기존의 전통육종방식으로 선발과 계통고정을 반복하여 재배시험을 통해 신 품종을 육성 하는 데는 약 6-10년의 시간이 소요된다. 국내산지에는 이미 시들 음병이 만연하고 있어, 좀 더 빠르고 효과적인 시들음병 저항성 품종 육성기술 이 개발되어야 한다.
- 유전체 정보를 활용한 분자 육종기술을 활용하여 초기 선발기간을 단축하고, 시 들음병 저항성 검정체계를 확립하여 재배시험에 앞서 저항성을 테스트함으로써, 육종기간을 약 3-4년 이내로 대폭 단축할 수 있을 것으로 예상된다.
- 국내의 무 전통육종기술은 세계적 수준으로, F1 품종의 육성, MS계통을 이용한 고순도 종자채종법, 연중 재배기술은 잘 정착되어 상용화되어 있다. 그러나 무는 채종의 어려움 등으로, 같은 십자화과 작물 배추 등에 비해 유전학적 연구 및 분자마커의 활용 등은 매우 뒤쳐져 있다.
- 국내 무 육종에 사용되고 있는 계통은 유전적거리가 매우 가깝고, 표현형적 특 성도 비슷하여 병 발생에 매우 취약하며, 다양한 품종을 육성하는데도 한계가 있다. 외래유전자원과 유용야생자원을 수집하고, 특성검정을 통해 유용형질을 발 굴하여, 이들 자원을 새로운 육종재료로 적극 활용할 필요성이 있다.
- 무는 부피와 중량이 매우 큰 것에 비하여 단가가 낮아, 해외 수입 농산물로 대체하 기에 어려움이 큰 작물이다. 국내용 무는 주변 일본 및 중국의 무와 맛과 형태에서 큰 차이가 있다. 이에 안정적 주년공급을 위해 품종의 다양화 및 병저항성 품종의 개발이 매우 필요하다.
- 현재 품종육성은 교배 및 표현형 선발에 기반 한 전통적인 육종법에서 탈피하 여, 유전체, 오믹스 등의 다양한 정보를 활용한 분자 육종법을 적극 도입하고 있는 상황이다.
- 국내에서도 무 표준유전체 해독 연구가 차세대바이오그린21 사업의 지원을 받 아, 차세대유전체 해독기술(NGS)을 이용하여 수행되었다. 일본과 미국에서도 무 표준유전체 해독 연구가 완성되어 2014년 논문으로 발표 되었다.
- 유전체 정보를 활용한 분자육종 기술 개발 시 최소한의 유전자원으로 최대한의

유전적인 다양성을 확보할 핵심집단(core collection)의 구축이 필수적이다. 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터는 무 자원을 2,517 점을 보유하고 있으며, 본 연구실이 856점의 자원을 분양받아 특성 평가 실시한 결과 상당수가 고정계통이 아닌 것으로 나타났다.

- 국내의 국가기관에서는 무 유전자원 특성조사가 체계적으로 이루어지지 않아 수집유전자원을 유전육종연구 또는 육종 재료로서 바로 이용하는데 한계가 있다. 수집 유용유전자원의 신규 육종소재로의 개발을 위해 체계적 관리 및 평가가 필요하다.

나. 경제·산업적 측면

- 무는 2015년 현재 국내종자 시장의 약 17%, 수출용 종자시장의 30%를 차지하고 있는 중요한 작물이다. 작물별로는 채소종자 국내 생산량 중 46.8% (127,682 kg)를 차지하는 주요 작물이다.
- 국내의 종묘회사는 다국적 기업에 비하여 재력이나 조직의 규모는 작으나, 국내 시장에 대한 이해도가 높고, 그간에 축적된 신뢰관계를 바탕으로 품종전과력은 앞선다. 한국인의 인내, 정확한 판단력 및 추진력으로 육종을 진행하면 충분히 승산이 있다고 보며, 국내 동업계 뿐만 아니라 타 업계에도 많은 귀감이 되고, 한국 경제 산업을 살리는데 공헌할 것이다.
- 우리나라 채소류 전체 종자 시장은 300~1,500억 원으로 추정되고 있으며, 일본의 무 종자 시장규모는 7500만 달러로 예측되고 있다. 국내 종묘업계에서 일본에 수출하는 물량은 연간 200,000리터, 약 500만~1000만 달러에 이른다.
- 농우바이오에서는 일본 수출용 무 품종을 개발하여 20년 전부터 일본에 수출해 왔으며, 점차 해외 수출량이 증대되고 있다.

다. 사회·문화적 측면

- 국내 무는 용도별로는 김장무, 깍두기 무, 생식용 무, 그리고 크기별로 소형무, 중형무, 대형무, 가공용무 등으로 구분된다. 김치문화는 우리 고유의 식문화로, 소금에 절인 무를 발표 시킨 후 식용하며, 우수한 맛과 저작감을 목표형질로 무 품종이 개발되어왔다.

- 크기와 용도에 따라 작형이 세분화 되어있으며, 연중 주년재배 되고 있고, 최근 각종 병충해 발생의 증가에 따라 화학비료 사용량이 증가되고 있는 추세이다.

1-3. 연구개발 범위

가. 신규 F1 품종의 원종 증식, F1 생산 및 농가보급

- 육성계통의 시들음병 저항성에 대한 특성검정
- 우수 육성계통의 원종 증식, 교배조합 작성, 재배시험 및 F1 채종시험
- 육성 품종의 상업화 및 농가보급

나. 유용 유전자원의 발굴

- 유전자원의 수집, 핵심집단 개선 및 세대진전
- 시들음병 접종 및 저항성 유전자원의 선발과 계통육성
- 내병성 육종 소재의 발굴

다. 무 시들음병 확산방지 시스템의 개발

- 소독약제 및 소독방법이 무 시들음병 발병에 미치는 영향 조사
- 운작재배법이 무 시들음병 발병에 미치는 영향 조사

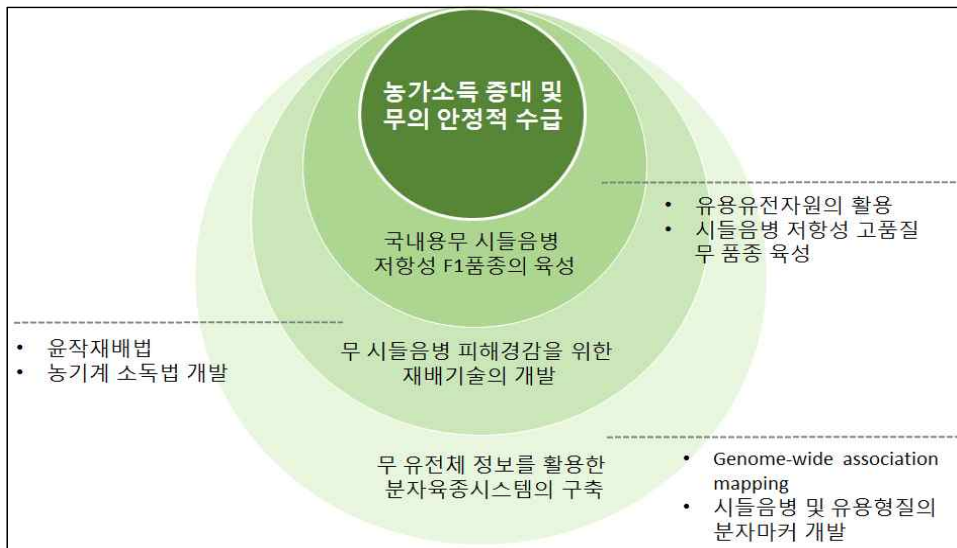


그림 1. 무 시들음병 저항성 품종 육성 및 분자유종 시스템 개발



그림 3. 주요 무 재배지 시들음병 균주 수집 및 분석, 검정 표준화 시스템 개발

바. 무 시들음병 저항성 검정 표준화 시스템 개발

- 국내 재배산지의 시들음병 균주 수집 및 분석
- 국립 농업유전자원센터에 시들음병 균주 기탁
- 시들음병 시험 균주 및 판별품종 표준화
- 국내 시판품종의 저항성 검정 실시

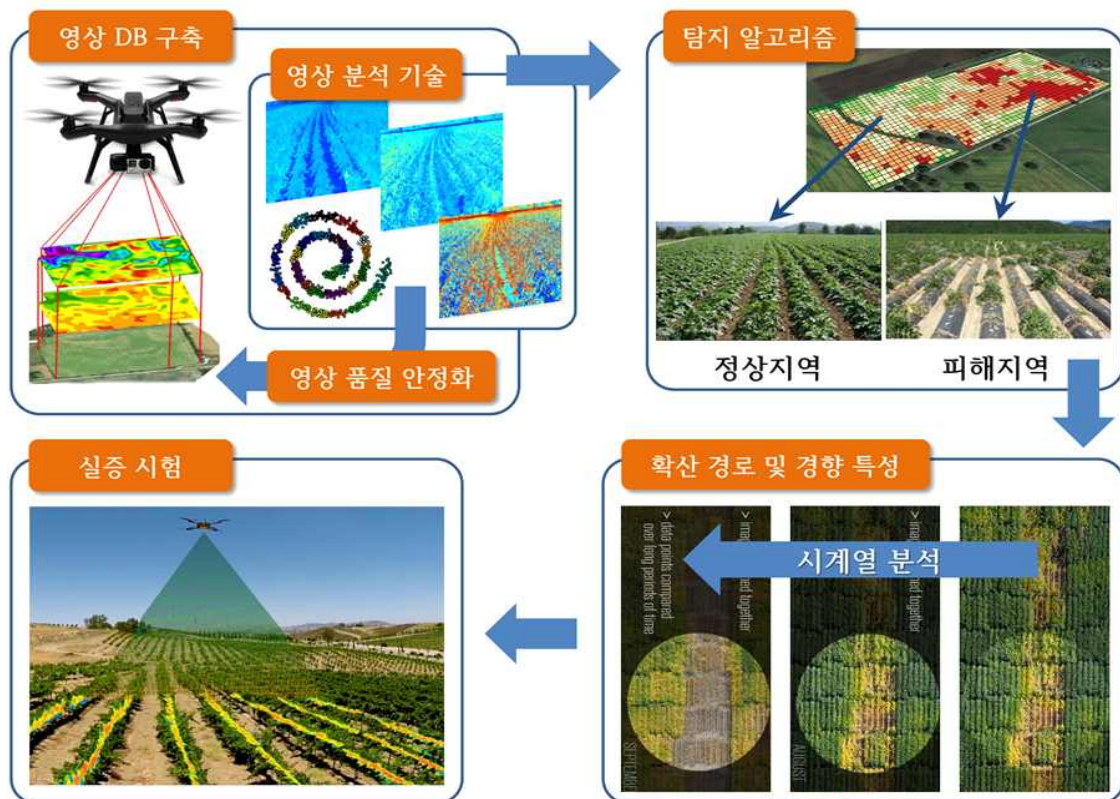


그림 4. ICT 기반 무 시들음병 예찰 및 영상분석 시스템 개발

사. ICT 기반 무 시들음병 탐지 기술

- 무 재배지 영상의 획득 및 데이터베이스 구축, 영상 처리 및 분석, 인공지능 기술 활용 무 시들음병 피해 지역을 탐지함
- 무 시들음병 피해 개체의 특성을 파악하고 학습하기 위한 학습 부분과 피해 지역 판별을 위한 예측 부분으로 구성

아. 근적외선 센서 영상 이용 무 잎엽록소함량 측정 영상 처리 기술

- 적외선 분광 영상 특징을 이용 무 잎 엽록소함량을 측정하고 무 시들음병 피해 개체 판별에 활용함
- 적외선 분광 영상 특징 분석 부분과 엽록소함량 측정 부분으로 구성

자. 무 시들음병 확산 경로 및 경향 분석 기술

- 시간별, 주별, 월별 무 재배지 영상 데이터 활용 시계열 분석을 통한 무 시들음병의 확산 경로와 경향 특성 파악. 무 시들음병 피해 개체 영역화를 위한 영상 처리 부분과 시계열적 추이 분석을 위한 부분으로 구성

차. 무인기 운용 시 영상 품질 안정화 기술

- 무인기 운용 시 환경적 변화요인으로 인한 영상 품질의 저하와 변동성을 개선하기 위해 영상 품질을 실시간으로 판별함
- 고 품질의 영상의 특성을 파악하기 위한 학습 부분과 확률적 모델링을 이용한 영상 품질을 판별 부분으로 구성

2. 연구수행 내용 및 결과

[1세부] 세종대학교

가. 1년차 (2016년)

(1) 개발 목표

- 무 시들음병 저항성 품종 육종, 재배시험 및 시교시험
- 시들음병 확산방지 시스템 개발
- 무 유전체 정보 활용 분자유종 시스템 개발

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 계통 육성 및 품종 육종

- ① 시들음병 집중 시험을 통한 국내용 우수 계통 (1계통) 및 중간모본 선발 (F2-F5 50계통)
- ② 기육성 계통 및 새롭게 작성된 계통을 이용한 교배조합 작성 (50조합) 및 재배시험
 - 시험재료: : 무
 - 실험방법:
 - ㉠ 계통 육성을 위한 파종: 계통육성을 위해서 계통 및 중간 분리계통의 종자를 20립씩 꺼내, 봄과 가을에 노지 파종으로 재배 시험을 실시
 - ㉡ 개체선발: 파종 후 60 ~ 70일 후 무를 수확하고 우수한 특성을 보여주는 계통을 개체별로 선발한다.
 - ㉢ 주요 조사항목 : 바람들이, 추대, 근피, 엽장, 엽중, 근중, 근장, 뿌리 맺힘 등
 - ㉣ 종자증식: 선발 된 개체는 종자 증식용 하우스에 정식하고, 저온 처리 및 가운을 하여 종자를 증식하고, 수확의 후대 고정을 통하여 교배모본으로 선발한다.
 - ㉤ 인공교배 준비: 선발된 우수계통 중, 추대가 늦은 계통은 10월 말에, 추대가 빠른 품종은 12월 말 ~ 1월 중 파종하여 저온 처리를 한 후 교배하우스에 정식한다.
 - ㉥ 인공교배 및 종자채취: 우수 계통 간 혹은 미숙모본과 교배 조합을 작성하고, 인공교배를 실시한 후, 약 45일 경에 종자를 채취하고 건조 시킨다.
 - ㉦ 조합능력 검정: 조합 작성 능력을 검정한 후 조합 임성이 우수한 조합을 포장 재배시험 종자로 사용 한다.

(나) 재배시험 및 시교시험

- ① 경기도 이천 재배시험 : 30조합
- ② 제주도 및 강원도 재배시험 : 10조합
- ③ 예비 시교 시험(강원도 및 제주도): 1품종
- ④ 품종보호출원 : 1품종

- 실험재료: : 무
- 실험방법:
 - ㉠ 재배양식: 노지재배
 - ㉡ 파종시기: 4월 초순/8월 하순
 - ㉢ 파종방법: 성능이 우수한 조합을 선발하여 품종별로, 구당 2립씩 28립 2반복 파종을 함
 - ㉣ 재식거리: 60 × 25cm
 - ㉤ 시비량: 관행시비 1회 (10a당 질소 16kg, 인산 6-12kg, 칼리 16kg), 추비 1회
 - ㉥ 1차 선발: 경기도 이천소재 육종연구소
 - ㉦ 2차 선발: 시들음병 발생지역 (강원도 정선 및 홍천)
 - ㉧ 3차 대량시교
 - ㉨ 조사: 파종 후 약 60일 경에 무를 수확하여 조사
 - ㉩ 조사항목: 배축 안토시아닌의 유무, 무 근형, 무 근장, 무 근중, 무 근미 맺힘, 무 근경, 무 엽의 형태, 엽장, 엽수, 엽중, 무 상부색, 무 육색, 무 바람들이, 무 비대, 무 잎의 털의 유무, 무 공동
 - ㉪ 시교시험: 1차 선발 품종을 대상으로 시험용 종자를 대량 생산 후 농가 실증시험 실시
 - ㉫ 우수 품종을 품종보호출원 신청
 - ㉬ 품종보호출원 된 품종을 협동기관인 농우바이오에 기술이전 하여 품종의 상용화

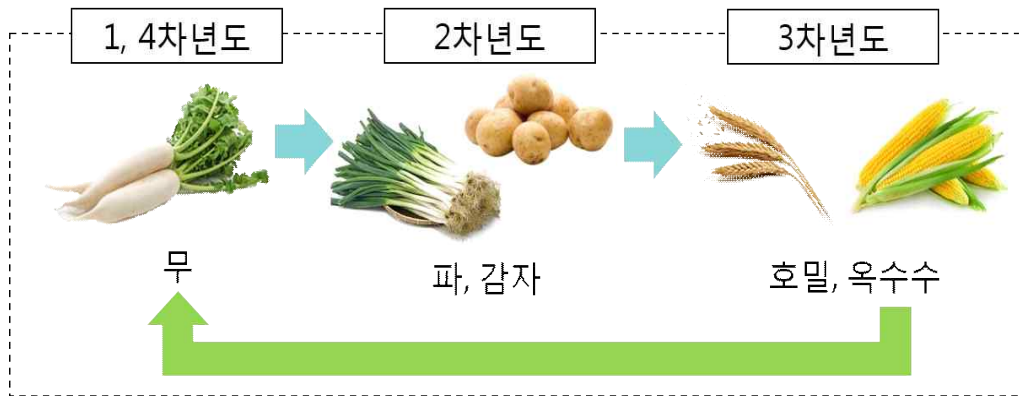
(다) 시들음병 확산방지 시스템 개발

- ① 소독 약제의 농도에 따른 농기계 소독 효과 : 약제 농도에 따른 시들음병 균주 농도 활력 실험
 - 시험 지역: 세종대학교 내 연구소
 - 시험 계획: 치아염소산나트륨 (락스) 소독처리 후 시들음병의 균주 활력 변화를 조사함
 - ㉠ 화학약제(베노밀), 치아염소산나트륨 100배, 500배, 1000배 희석 후 사용
 - ㉡ 균주를 감자한천배지(PDA)에 치상하여 균주의 활력을 조사
 - ㉢ 균주활성저하에 가장 효과적인 소독액 농도를 조사
 - 시험 방법:
 - ㉣ 병원균: 무 시들음병 병원균에 대한 생장억제 효과를 검정하기 위해 농우바이오에서 분리한 병원균을 받아 이용
 - ㉤ 배양조건: 실험에 사용한 균주는 감자한천배지(PDA)에 접종하여 25℃에서 10일간 배양 후 접종원으로 사용
 - ㉥ 균사생장억제 효과의 검정: 평판배지 위에 상멸균수, 락스 100배, 500배, 1000배, 베노밀(농약)을 희석하여 90×15mm petri dish에 분주. 각 제제에 paper disk를 1분간 침지 후 감자한천배지에 치상하고, 배양한 균주의 선단 부위를

5mm cork borer를 이용하여 자른 다음 각 제제 옆에 치상함. 실험은 각각의 제제 당 3반복으로 실시하고, 25℃에서 7일 경과 후 균사를 관찰.



- ② 운작 재배시험 : 시들음병 이병 포장 선정, 메밀, 호밀, 감자, 옥수수 등 작물 운작 시험
- 시험 지역 * : 경기도 이천 또는 강원도 홍천 무 재배포장
 - 시험 방법 : 시들음병이 만연된 포장을 선정, 다음과 같이 운작재배를 실시



처리구명	1년차	2년차	3년차	4년차
1. 파운작	무	파	파	무
2. 감자운작	무	감자	감자	무
3. 파+감자운작	무	파	감자	무
4. 감자+호밀운작	무	감자	호밀	무
5. 연작 (대조구)	무	무	무	무

- ㉠ 각 처리구간의 재배관리는 각 작목에 맞게 시행하며, 각 구간의 토양 이동 및 혼합은 없도록하며, 멀칭재배를 실시
- ㉡ 조사방법: 임의로 약 20주의 근부를 절단하여, 도관부의 갈변유무를 조사

㉔ 윤작 재배에 따른 병 발생 감소율, 품질 및 수량변화를 조사

* 강원도 농민을 대상으로 설문 조사를 실시하여, 위 네 개 처리구 중 유효한 처리구를 한구 선택하여 시험 예정

* 시험지역은 위 두 곳 중 시들음병 시험에 적합한 지역을 선택 후 시험 예정

(라) 분자마커개발을 위한 유전자원의 수집, 집단육성 및 세대진전

① GWAS용 핵심집단 (시들음병 저항성 포함 225계통, 중간 모본 및 고정 계통)

② 시들음병 분자마커 개발을 위한 계통 육성 및 중간 모본 육성

③ GWAS 발굴 유용 유전자 연관마커의 검증을 위한 분리 집단 육성

④ 무 시들음병 저항성 집단 육성

: F₂ 종자를 얻기 위해 F₁ 종자 파종

: 증식 중인 F₂ 식물체로부터 DNA 추출용 잎 샘플 채취

(3) 연구결과

(가) 계통 육성 및 품종 육성

무 시들음병 저항성 백육색 무 품종 개발을 위해 양친선발을 위한 계통과 F₁ 조합 선발을 위해 경기도 이천에서 2016년 8월 29일 가을 포장 재배시험을 실시하였다. 성능이 우수하게 선발된 계통을 이용 교배 조합을 작성하고 모본은 250계통을 파구당 20립 1반복, F₁ 선발을 위해서는 봄무 조합 80조합과 여름무 조합 50조합을 파종하여 조사를 실시하였다. F₁은 파구당 28립씩 2반복으로 하여 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고 시비량은 관행의 방법으로 실시하였다(그림 5).



그림 5. 무 시들음병 계통 선발을 위한 노지포장 재배시험 (경기도 이천)

2016년 11월초 가을무 재배시험 조사결과 원예적 형질이 우수한 F₅~F₇ 세대의 모본 20개 계통을 선발하였다 (그림 6). 2016년 8월 28일 연구소 노지포장에 우수 계통 육성을 위해 F₁~F₅ 세대의 중간 고정 계통의 종자를 파종하여 150개체를 선발 하고, 증식용 하우스에 정식하였다(그림 7). 선발된 모

본 계통은 시들음병 저항성 정도를 테스트하기 위해, 2017년 가을 집중시험을 실시하였다.



그림 6. 무 시들음병 저항성 우수 계통 선발



그림 7. 무 시들음병 저항성 개체선발

(나) 재배시험 및 시교시험

F₁ 조합선발시험에서는 원예적 형질이 뛰어난 10조합을 선발 하였다(그림 8). 선발된 조합은 2017년 시교를 생산하고 강원도 및 전라도 등 무 재배현지에서 시교시험을 실시중에 있으며, 시들음병 접종시험을 실시하였다(2017년 가을).

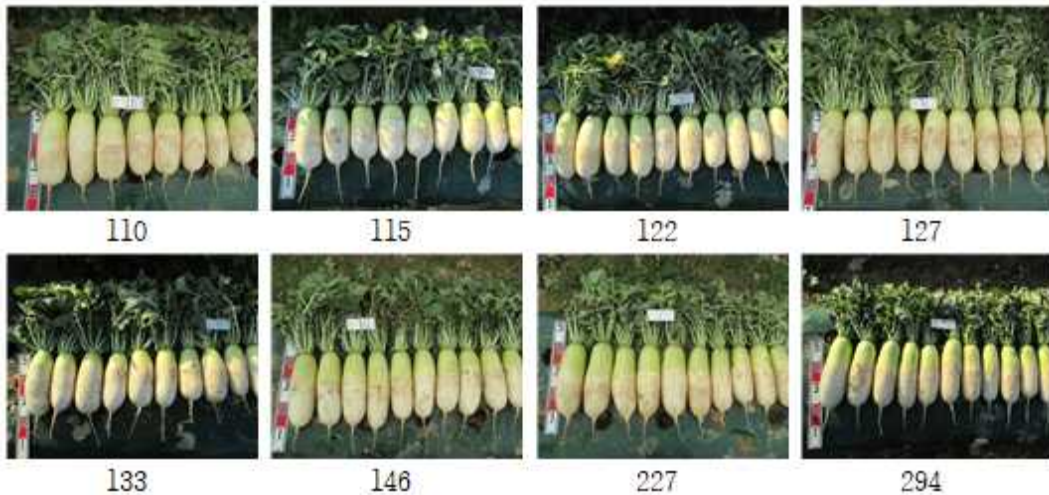


그림 8. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 수확 및 조사

(다) 시들음병 확산방지 시스템 개발

① 시들음병 저항성 검정시험

무 시들음병 병원균 (*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)은 한국의 강원도 정선임계, 홍천내면 전북 고창 무 시들음병 발병포장서 발병한 무 뿌리조직의 병반에서 채취하였다. 세종대학교 연구소 내 하우스에서 육묘용 상토를 담은 트레이에 무 종자를 계통별로 각 30립씩 줄 파종하였다. 발아율을 높이기 위해, 온습도 및 일장이 제어되는 인공 환경실 내에서 발아를 유도하였다. 발아 확인 후 트레이를 인공 환경실에서 자연광 유리 온실로 이동하였다. 수분관리에 주의하며 1주일간 육묘 후, 시들음병 접종 실험에 공시하였다.

접종원의 준비를 위해서, potato dextrose agar liquid medium에서 2주간 배양 후 콜로니에서 위황병 포자를 수집 후 현탁했다. 현탁액의 농도는 hemocytometer를 이용하여 10⁶ per mm² 가 되도록 조절하였다. 시들음병 접종은 묘의 뿌리 끝을 절단 후 종이컵에 담고, 균 현탁액을 10ml씩 분주하여 접종하는 방식으로 이루어졌다. 2016년 9월 13일, 무 60품종, GWAS 실험용 225계통 및 육종용 200계통에 접종하였다.

2016년 9월 22일, 트레이에서 육묘한 유묘를 채취하고, 뿌리를 가볍게 털어 뿌리표면에 묻은 배양토를 제거하였다. 균의 체내 감염을 용이하게 하기 위하여 주근 및 측근의 뿌리 끝 2-3cm를 손으로 잘라냈다. 미리 준비한 소형

종이컵에 유묘를 담고, 균주 현탁액을 각 10ml씩 분주하여 묘의 뿌리부분이 고르게 닿을수 있도록 컵을 흔들어 잘 섞은 후 5분간 침지하였다(그림 9). 접종 후, 25주의 묘를 50공 트레이에 계통별로 정식하고, 자연광 온실 내에서 재배하였다. 시들음병 저항성 개체 선발을 위해 접종 후 7일, 14일 및 21일에 저항성 정도를 조사하고 11월 13일 80계통에서 120개체를, 저항성 계통을 만들기 위해 F1 20품종에서 40개체를 선발하였다.



그림 9. 시들음병 저항성 F1 품종 수확 후 조사, 개체 및 계통 선발

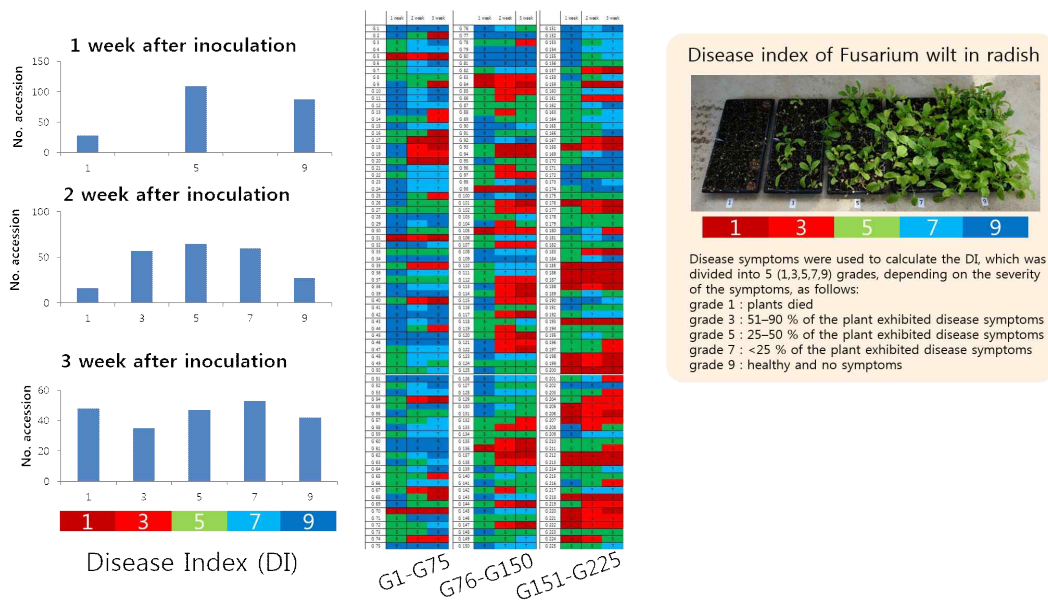


그림 10. 무 유전자원 225계통에 관한 시들음병 저항성 접종시험 결과

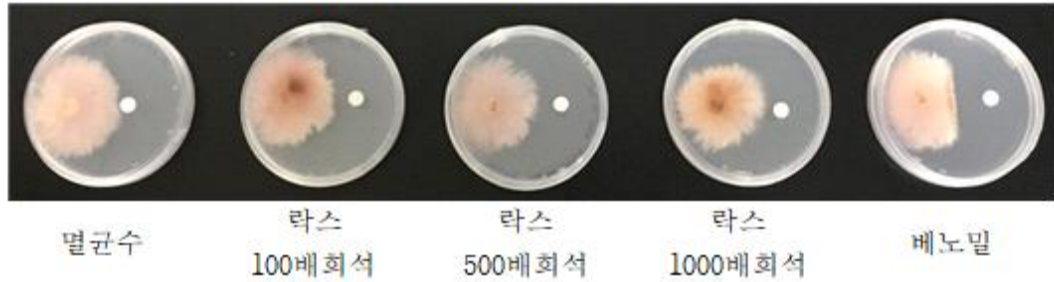
② 시들음병 확산방지 시스템 개발

- 방제방법 개발

시들음병 확산 방지 시스템을 연구하기 위해 1년차에서는 농약 및 락스를 사용한 병원균의 밀도를 조사하였다. 베노밀에서 균사 생장억제효과를 나타내었으며, 락스 100배, 500배에서는 베노밀에 비해 높은 균사 생장을 보였다. 멸균수 및 락스 1000배 희석은 동일한 결과를 보여 무 시들음병 생장억제에 효과를 보이지 않

았다. 베노밀의 경우 시들음병 확산방지에 도움이 될 것으로 기대된다. 농기구 및 농기계의 세척 및 소독에는 소독약이 대량으로 필요하고 폐기도 용이해야하는 점을 고려하여, 친환경 농약제재 중 시들음병 발생 억제효과가 있는 약제를 찾아볼 필요가 있다.

무시들음병 균주 (수집지역: 강원도 평창군 진부)



무시들음병 균주 (수집지역: 경기도 여주시 양귀리)

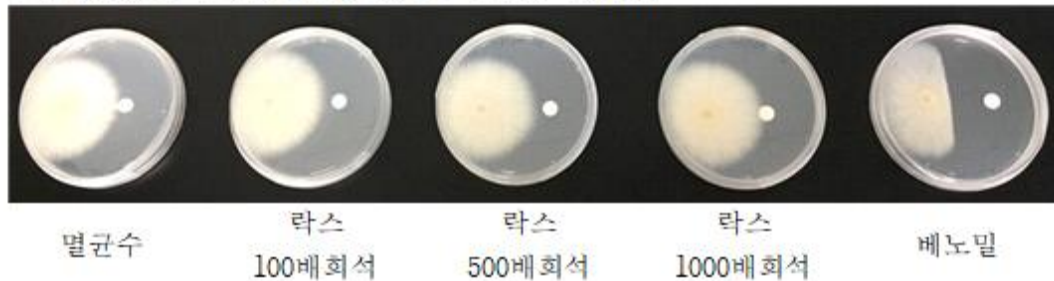


그림 11. 무 시들음병 균사생장 억제 효과 기내검정

③ 윤작 재배시험

무 시들음병 확산방지를 위한 윤작재배 시험에 앞서 강원도 농민을 대상으로 설문조사를 실시하였다(그림 12). 그 결과, 윤작재배 작물로 파, 감자, 호밀순으로 응답자가 많았다. 강원도 홍천에 무 시들음병 이병성 포장을 섭외하여 1년차 실험을 실시하였다. 실험결과 대부분의 무에서 시들음병이 만연함을 보여주었다(그림 13).

무 시들음병이 아주 심한 이천 연구소 포장에서의 윤작 실험을 실시하기 위해 2016년 봄 무를 파종하여 실험한 결과 시들음병이 많이 발생함을 확인하였고, 가을에 하우스의 반은 무를 파종하고 반은 파를 파종하여, 윤작재배시험을 실시하였다(그림 13).

나. 2년차 (2017년)

(1) 개발 목표

- 무인기 운용 및 영상 데이터베이스 확보 : 무 재배지에서의 무인기 운용 방안과 대지역 고화질 영상 데이터베이스 확보
- 무 시들음병 데이터베이스 구축: 무인기 운용 시 다양한 환경적 변화 요인을 감안하여 영상을 촬영하고 구축
- 무 시들음병 영상 데이터 분석: 무 시들음병 탐지에 유용한 영상 특징과 패턴을 찾음

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 계통 육성 및 품종 육성

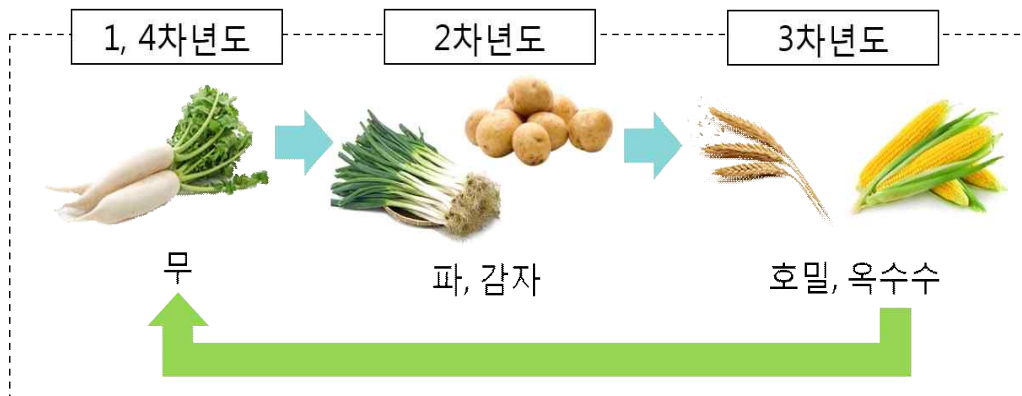
- ① 시들음병 접종 시험을 통한 국내용 우수 계통 (1계통) 및 중간모본 선발 (F₂~F₅ 50계통)
- ② 기육성 계통 및 새롭게 작성된 계통을 이용한 교배조합 작성 (90 조합)
- ③ 저항성 계통 유전자원센터 기탁 : 1계통

(나) 재배시험 및 시교시험

- ① 경기도 이천 재배시험 : 80조합
- ② 강원도 및 제주도 재배시험 : 15조합
- ③ 시교 예비 시험 (강원도 및 제주도): 1품종
- ④ 시교 시험 (강원도, 전라도 및 제주도) : 3품종

(다) 시들음병 확산방지 시스템 개발

- ① 소독 약제 종류에 따른 농기계 소독 : 약제 농도에 따른 포장 농도 시들음병 균주 농도 실험
- ② 윤작 재배시험 : 시들음병 이병 포장 선정, 메밀, 호밀 등 작물 윤작 시험
- ③ 윤작 재배에 따른 병 발생 감소율, 품질 및 수량변화를 조사



* 1차년도에 선발된 조합으로 윤작 재배시험 실시

(라) 분자마커개발을 위한 유전자원의 수집, 집단육성 및 세대진전

- ① 시들음병 분자마커 개발을 위한 계통 육성 및 중간 모본 육성
- ② GWAS 발굴 유용 유전자 연관마커의 검증을 위한 분리 집단 전개
- ③ 무 시들음병 저항성 신규 조합의 F₁ 1품종 육성
- ④ 무 시들음병 저항성 F₂ 집단 육성
 - : 시들음병 집단육성을 위한 1품종 F₂ 종자 획득
 - : 증식된 F₂ 종자(F₃ 식물체)를 이용한 유묘 시들음병 균주 접종시험
- ⑤ 무 유용 양적 유전자 시험용 F₂ 집단 육성 (1개 조합)

(마) 품종보호출원 및 기술이전

- ① 품종 보호출원 1품종
- ② 기술 이전 1품종

(3) 연구결과

(가) 계통 육성 및 F₁ 조합 선발

무 시들음병 저항성 무 품종 개발을 위해 양친선발을 위한 계통 재배시험, 및 F₁ 조합 선발을 위한 포장 재배 시험을 위해 2017년 4월 6일 경기도 이천에서 파종하였다. 계통 및 중간모본 계통, F₁ 선발을 위해 봄무 80조합과 여름무 50조합을 파종하였다. F₁은 파구당 28립씩 2반복으로 하여 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고 시비량은 관행의 방법으로 실시하였다.(그림 42). 계통 및 F₁ 조합 선발을 위한 생육조사를 2017년 6월 8일-18일까지 실시하였다.

가을 포장 재배시험을 위해 2017년 8월30일 계통을 파종하고, 8월 31일 F₁을 파종 하였다. 2016년에 성능이 우수하여 선발 된 중간모본과 계통을 이용하여 교배 조합을 작성하고, 증식된 종자 중 실험 가능한 조합을 최종 선발 한 300계통을 파구 당 20립 1반복 파종하였다. F₁ 선발을 위해서는 봄무

조합 80조합과 여름무 조합 50조합을 선발하여, 파종하였다. F₁ 은 파구당 28립씩 2반복, 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고, 시비량은 관행의 방법을 따라 실시하였다 (그림 14).



그림 14. 무 시들음병 봄 및 가을 노지포장 재배시험 (경기도 이천)

2017년 6월 8일-18일까지 봄무 및 여름무를 수확하여 생육조사를 실시하였다. 그 결과, 원예적 형질이 우수한 F₅-F₇ 세대의 모본 20계통을 선발하였다 (그림 15). 선발된 모본 계통에 대하여, 2017년 가을에 시들음병 저항성 집중 시험을 실시하였고, 현재 저항성 조사 중에 있다. 또, 우수 계통 육성을 위해 F₁-F₅ 세대의 중간 고정 계통을 연구소의 노지 포장에 봄에 파종하고, 그 중 150개체를 선발 하여 저온처리시설에서 관리하였다. 2017년 9월 4일 저온처리시설에서 식물체를 꺼내어 증식용 하우스에 정식하여 교배 중에 있다(그림 16,17). 또, 가을 선발을 위해서 2017년 8월 30일- 31일에 모본 및 F₁ 품종을 파종 하여 재배하였다.



그림 15. 무 시들음병 저항성 및 계통 선발



그림 16. 무 시들음병 저항성 개체선발



그림 17. 봄 선발 개체 저온처리

2017년 봄 F₁ 조합선발시험에서는 원예적 형질이 뛰어난 10조합을 선발 하였다(그림 18). 선발된 조합은 2017년 시교를 생산하고, 2018년 강원도 및 전라도 등 무 재배지에서 재배시험 및 시들음병 접종시험을 실시하였다.

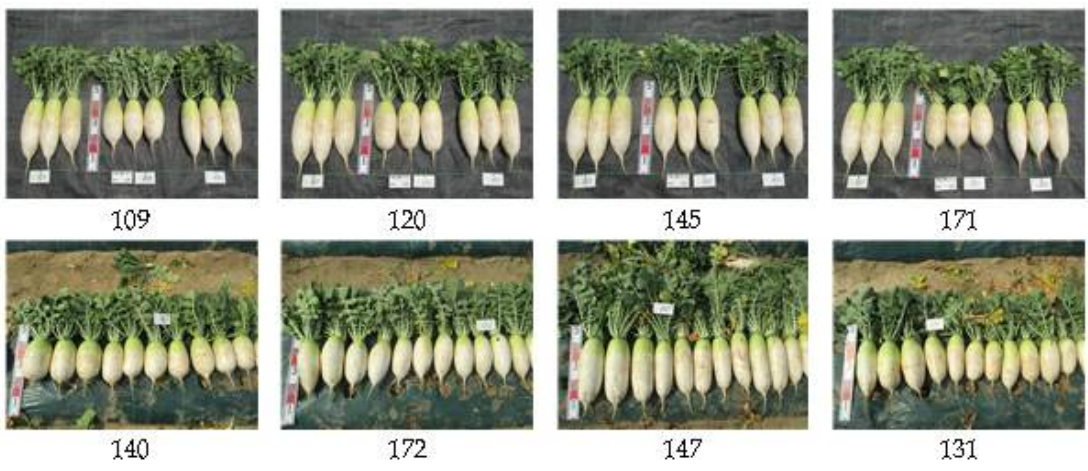


그림 18. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 수확 및 조사

2016년에 선발한 품종들의 성능을 평가하기 위하여, 제주도, 전라도 및 강원도 농가에서 현장 시교시험을 실시하였다(그림 19). 시교 시험 결과 위황병 저항성이 일부 있으면서 특성이 우수한 품종들을 선발하였고, 두 품종을 최종 선발하여 케이알 일일(KR 11) 및 케이알 478(KR 478)로 명명하고, 품종 보호출원을 실시하였다(그림 20).



그림 19. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 제주도 및 강원도 능가 현지 시교 시험

■ 식물인공물 보호법 시행규칙 제41조제1항			
품종보호 출원서			
접수번호	접수일	처리기간 10일	
출원인	성명 (한글) 세종대학교산학협력단 (영문) 주소 (한글) 세종대 21동 214동 214호 214동 214호 (영문) 지분 100	영년출원 (외국인은 국적) 전화번호 02-3408-4057	
대표인	성명 주소	영년출원 (외국인은 국적) 전화번호	
특성자	성명 (한글) 박민봉 외 1명 (영문) 주소 (한글) 세종대 21동 214동 214호 214동 214호 (영문)	영년출원 (외국인은 국적) 1962년 11월 15일 전화번호 02-3408-4376	
종류에 속하는 식물에 대한 식물명 <i>Raphanus sativus</i> L. (무)			
종류의 명칭 (한글) 케이알일일 (영문) KRI 11			
*식물인공물 보호법, 제41조제1항에 따른 주요한 주장	출원국명 대한민국	출원일 20171025	출원번호
출원인 특성 설명 (별지 사용)	출원서류	[o] 일부 [] 외일부	
출원특성 과잉의 설명 (별지 사용)			
*식물인공물 보호법, 제41조제1항 및 같은 법 시행규칙 제41조제1항의 규정에 따라 출원번호 출원을 합니다.			
			2017년 10월 25일 세종대학교산학협력단 (인)
국립종자원장 귀하		국립종자원장 귀하	
케이알 일일 보호출원서		케이알 사칠팔 보호출원서	

그림 20. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 보호출원

(나) 무 시들음병 저항성 계통육성 및 F₁ 조합 선발 집중 시험

무 시들음병 병원균 (*F. oxysporum* f. sp. *raphani*) 균주는 한국의 강원도 정선군 임계면, 홍천군 내면, 전라북도 고창군의 발병포장 무 뿌리조직의 병반에서 채취하였다. 세종대학교 연구소 내 하우스에서 육묘용 상토를 담은 트레이에 무 종자를 계통별로 각 30립씩 줄 파종하였다. 발아율을 높이기 위해, 온습도 및 일장이 제어되는 인공 환경실 내에서 발아를 유도하였다. 발아 확인 후 트레이를 인공 환경실에서 자연광 유리 온실로 이동하였다. 수분관리에 주의하며 1주일간 육묘 후, 시들음병 집중 실험에 공시하였다.

접종원의 준비를 위해서, potato dextrose agar liquid medium에서 2주간 배양 후 콜로니에서 위황병 포자를 수집 후 현탁했다. 현탁액의 농도는 hemocytometer를 이용하여 10^6 per mm^2 가 되도록 조절하였다. 시들음병 접종은 묘의 뿌리 끝을 절단 후 종이컵에 담고, 균 현탁액을 10ml씩 분주하여 접종하는 방식으로 이루어졌다. 2017년 9월 13일 F₁ 100품종, 무 시들음병 GWAS 실험용 F₃세대 145계통 및 육종용소재 200계통을 과종하였다.

2017년 9월 22일, 육묘한 유묘를 채취하고, 뿌리를 가볍게 털어 뿌리표면에 묻은 배양토를 제거하였다. 균의 체내 감염을 용이하게 하기 위하여 주근 및 측근의 뿌리 끝 2-3cm를 손으로 잘라냈다. 미리 준비한 소형 종이컵에 유묘를 담고, 균주 현탁액을 각 20ml씩 분주하여 묘의 뿌리부분이 고르게 닿을수 있도록 컵을 흔들어 잘 섞은 후 5분간 침지하였다(그림 21). 접종 후, 25주의 묘를 50공 트레이에 계통별로 정식하고, 자연광 온실 내에서 재배하였다. 시들음병 저항성 개체 선발을 위해 접종 후 10일 및 21일에 저항성 정도를 조사하였고 11월 중순경 개체 선발을 실시하였다.



그림 21. 시들음병 저항성 품종 육성을 위한 접종시험

(다) 시들음병 확산방지 시스템 개발

① 축분사용이 무 시들음병 방제에 미치는 영향에 관한 연구

축분사용이 무 시들음병 방제에 미치는 영향을 알아보기 위해, 상토에 축분을 혼합한 배지에서 접종실험을 실시하였다. 실험은 여주시 가남읍 본두리 소재 농우바이오 비닐하우스에서 진행되었다. 2017년 9월 21일에 과종하여 2017년 9월 28일에 접종한 후 시들음병 발생과 품종별 성장을 관찰하였다. 시들음병 저항성이 강하거나 약한 무 6개 품종(R-64, 명산무, 서호골드, 월드미농, 멧진맛동, 만사형통)을 공시하여 3반복 실험을 진행하였다. 이 실험에서 사용된 축분은 (이천시 장호원 지역)의 돈사, 우사에서 채취하였고 계분의 경우 경기도 평택지역의 양계장에서 채취하였다. 또한 수입계분의 경우 시중에서 구매하여 사용하였다 (자연유기, Tomita farm Co.). 대조구로는 시판상토 (바로커, 서울바이오)를 사용하였다. 각 축분은 시판상토와 질량비(w/w)로 1:9, 3:7의 비율로 혼합하여 사용하였다.

한 트레이 당 1kg (1 : 9 = 100g : 900g, 3 : 7 = 300g : 700g)의 축분 혼합 상토가 필요하기 때문에, 3반복용으로 각 배합 비율당 5kg(1 : 9 = 500g : 4500g, 3 : 7 = 1500g : 3500g)의 축분 혼합 상토를 준비하였다. 7일간 자란 6개 품종의 무 유묘를 50공 트레이에 25주씩 2품종 옮겨 심은 후 배양한 무 시들음병 배양균주를 접종하였다.











접종방법은 유묘를 종이컵에 옮긴 후 150ml 종이컵 가득부은 후, 5분간 침지하였다. 접종한 유묘를 트레이에 정식하고, 추가로 균배양액을 묘에 5ml(생수 병뚜껑)씩 셀마다 부어주었다. 상토 및 각 축분의 이화학적 특성(수분, pH, EC, C, 질소전량, 인산, 칼리, 칼륨, 석회, 고토 등)은 수원시 소재 농업기술실용화재단에서 분석의뢰 하였다.













그림 22. 시들음병 확산 방지를 위한 퇴비 실험

실험 결과: 공시재료인 무 F1품종 6종 (만사형통, 명산무, 서호골드, 멧진맛동, R-64, 월드미농)의 시들음병 저항성 정도는 명산무 > 월드미농 > R-64 > 서호월드 > 멧진맛동 = 만사형통 순으로 높게 나타났다. 축분 사용이 시들음병 발생에 미치는 영향을 살펴본 결과, 저항성 정도가 높은 품종 (명산무, R-64, 월드미농)에서는 돈분:상토를 1:9로 혼합한 처리구에서 식물체의 생육이 왕성해지고, 병 발생이 억제되는 효과를 보였다. 이병성 품종 (멧진맛동, 만사형통)에서는 대조구에 비해 뚜렷한 방제효과는 관찰되지 않았다. 축분:상토가 3:7 조합에서는 가스 발생이 심해 저항성품종에서도 제대로 생육이 이루어지지 않아 조사가 어려웠다. 이에, 1차 실험 후 결과를 바탕으로 1:9조합이 방제효과가 확인되어, 2차 실험을 위해 2017년 10월 16일 파종 후 육묘하였다.

가. 축분사용이 만사형통, 명산무의 시들음병 발생에 미치는 영향 조사

처리구	품종명: 만사형통/명산무		품종명: 만사형통/명산무
상토 (대조군) 접종		상토(대조군) 미접종	
우분:상토=1:9		우분:상토=3:7	
돈분:상토=1:9		돈분:상토=3:7	
계분:상토=1:9		계분:상토=3:7	
시관계분:상토 =1:9		시관계분:상토= 3:7	

나. 축분사용이 서호골드, 멧진맛동의 시들음병 발생에 미치는 영향 조사

처리구	품종명: 서호골드/멧진맛동		품종명: 서호골드/멧진맛동
상토 (대조군) 접종		상토 (대조군) 미접종	
우분:상토=1:9		우분:상토=3:7	
돈분:상토=1:9		돈분:상토=3:7	
계분:상토=1:9		계분:상토=3:7	
시판계분:상토 =1:9		시판계분:상토= 3:7	

다. 축분사용이 R-62, 월드미농의 시들음병 발생에 미치는 영향 조사

처리구	품종명: R-64 /월드미농	처리구	품종명: R-64 /월드미농
상토 (대조군) 접종		상토 (대조군) 미접종	
우분:상토=1:9		우분:상토=3:7	
돈분:상토=1:9		돈분:상토=3:7	
계분:상토=1:9		계분:상토=3:7	
시판계분:상토= =1:9		시판계분:상토= 3:7	

라. 축분사용이 무 F1품종의 시들음병 발생에 미치는 영향 조사 - Disease Index (DI)

DI = 1, healthy and no symptoms; DI = 2, chlorosis of lower leaves and slightly dwarfed; DI = 3, well-developed chlorosis symptoms, necrosis, and dwarfed; DI = 4, severe symptoms of chlorosis, necrosis, and defoliation; DI = 5, plant death.

처리구	품종	Disease Index (n=3)	처리구	품종	Disease Index (n=3)
Control (바로커)	명산무	1.0	우분 1:9	명산무	1.1
	만사형통무	5.0		만사형통무	5.0
	멋진맛동무	5.0		멋진맛동무	5.0
	서호골드무	3.1		서호골드무	4.8
	월드미농	1.9		월드미농	2.7
	R64	2.0		R64	2.8
돈분 1:9	명산무	1.0	돈분 3:7	명산무	1.0
	만사형통무	4.9		만사형통무	4.9
	멋진맛동무	5.0		멋진맛동무	5.0
	서호골드무	2.9		서호골드무	3.6
	월드미농	1.8		월드미농	1.8
	R64	2.4		R64	2.9
계분 1:9	명산무	1.0	계분 3:7	명산무	3.9
	만사형통무	5.0		만사형통무	4.4
	멋진맛동무	5.0		멋진맛동무	4.9
	서호골드무	3.0		서호골드무	4.9
	월드미농	2.3		월드미농	4.3
	R64	2.4		R64	4.4
수입계분 1:9	명산무	1.1	수입계분 3:7	명산무	5.0
	만사형통무	5.0		만사형통무	5.0
	멋진맛동무	5.0		멋진맛동무	5.0
	서호골드무	4.8		서호골드무	5.0
	월드미농	1.6		월드미농	5.0
	R64	3.2		R64	5.0

(라) 윤작 재배시험

포장에서 윤작 실험을 통한 무 시들음병의 활력을 조사하기 위해 2년차 계획(그림 23)과 같이 강원도 홍천에 무 시들음병 이병성 포장을 섭외하여 2년차 실험을 실시하였다(그림 24). 실험결과 대부분의 무에서 시들음병이 만연함을 보여주었다.

무 시들음병이 아주 심한 이천 연구소 포장에서의 윤작 실험을 실시하기 위해 2017년 봄 하우스의 반은 무를 파종하고 반은 옥수수를 파종, 윤작 실험을 실시하였다(그림 24). 2018년 3차년도 실험을 실시하였다.

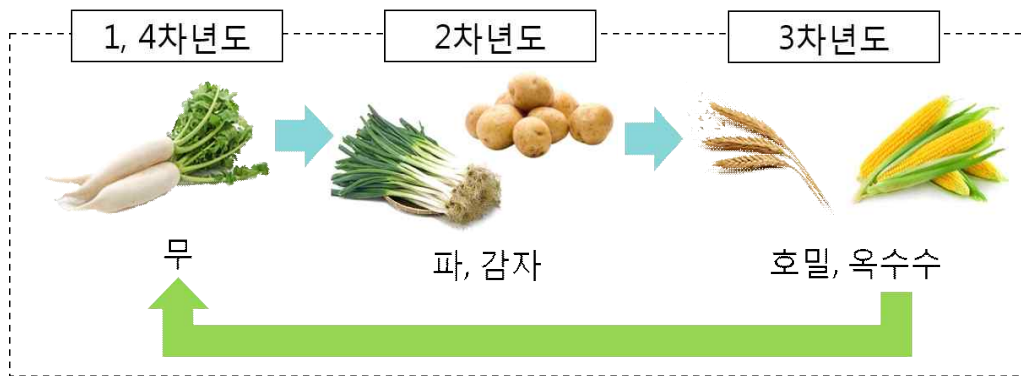


그림 23. 윤작실험 모식도



그림 24. 윤작실험을 위한 포장 재배시험

다. 3년차 (2018년)

(1) 개발 목표

- 무 시들음병 저항성 품종 육종, 재배시험 및 시교시험
- 시들음병 확산방지 시스템 개발
- 무 유전체 정보 활용 분자유종 시스템 개발

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 계통 육성 및 품종 육종

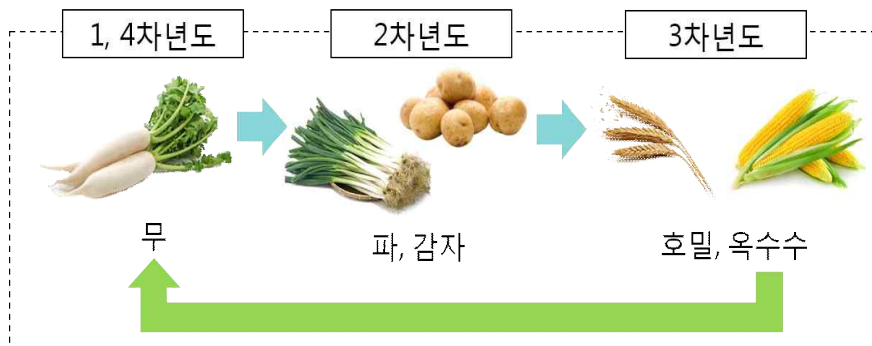
- ① 시들음병 접종 시험을 통한 국내용 우수 계통(1계통) 및 중간모본 선발 (F₂-F₅ 50계통)
- ② 기육성 계통 및 새롭게 작성된 계통을 이용한 교배조합 작성 (90 조합)
- ③ 저항성 계통 유전자원센터 기탁 : 저항성 1 계통

(나) 재배시험 및 시교시험

- ① 경기도 이천 재배시험 : 80조합
- ② 강원도 재배시험 : 20조합
- ③ 제주도 재배시험 : 10조합
- ④ 시교 시험(강원도, 전라도 및 제주도) : 3품종

(다) 시들음병 확산방지 시스템 개발

- ① 퇴비를 활용한 시들음병 방제효과 검증
: 우분, 돈분, 계분, 시판 계분등을 상토와 혼합하여 사용 시 유효 생장에 미치는 영향 검증
- ② 윤작 재배시험
: 시들음병 이병 포장 선정, 메밀, 호밀 등 작물 윤작 시험
- ③ 윤작 재배에 따른 병 발생 감소율, 품질 및 수량변화를 조사



(라) 무 시들음병 조기 판별 마커의 검증 및 육종용 유용 양적형질 연관 마커의 개발

- ① 무 시들음병 연관마커의 F₃집단 및 육종계통에서의 검증
: 2년차에 개발한 무 시들음병 조기판별마커 13개 SNPs의 검증
- ② 무 시들음병 육종계통에서의 균주 접종시험
: 육종 계통을 이용한 유묘 시들음병 균주 접종시험
- ③ 무 육종용 유용 양적형질 연관 마커개발
: 열근, 근장, 근경 등 무 형태 관련 마커 개발
: 조기추대 (early flowering)에 관련된 전사체 분석 및 eQTL분석
: 조추대와 만추대 유래 F₂집단에 관한 GBS분석 -> 추대관련 마커개발

(마) 품종보호출원 · 등록 및 기술이전

- ① 품종 보호출원 1품종
- ② 품종보호등록 1품종
- ③ 기술 이전 1품종

(3) 연구결과

(가) 계통 육성 및 F₁ 조합 선발

무 시들음병 저항성 무 품종 개발을 위해 양친선발을 위한 계통 재배시험, 및 F₁ 조합 선발을 위한 포장 재배 시험을 위해 2018년 4월 3일 경기도 이천 연구소 포장에 파종하였다. 계통 및 중간모본 계통, F₁ 선발을 위해 봄무 80 조합과 여름무 50조합을 파종하였다. 130cm 간격으로 이랑과 고랑을 만들고 F₁은 파구당 28립씩 2반복으로 하여 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고 시비량은 관행의 방법으로 실시하였다.(그림 25)

계통 및 F₁ 조합 선발을 위한 생육조사를 2018년 6월 4일~15일까지 실시하였다.

품종 비교시험을 위해 대비품종 5품종과 시교조합 20 품종을 품종당 100립씩 종자를 내고 60 x 25cm로 파종을 하였다. 조사는 2018년 6월8일 실시하였다. 봄시험재배에서는 여러번의 폭우와 시간당300mm가 넘는 폭우가 와 재배 시험이 원활하게 진행되지 않았으나 그중에 결과가 좋은 시교번호 724356과 532166품종을 선발하였고 2019년 시험채종을 하여 확대시험을 실시할 예정이다.

가을 포장 재배시험은 지속적인 강우로 인해 포장준비가 늦었고 이로 인해 파종시기보다 약 10일 정도 늦어진 2018년 9월 7일 F₁ 을 파종하고, 9월11일 계통을 파종 하였다. 우수한 품종을 선발하기 위해 품종 비교시험 포장에서는 2016년~2017년에 성능이 우수하여 선발 된 시교조합을 선발, 증식된 종

자 중 실험 가능한 조합을 최종 선발 하여 30조합을 파구 당 100립 1반복 파종하였다. 계통 선발을 위해 F₂~F₅ 세대 120계통을 파종하였다. F₁ 선발을 위해서는 봄무 조합 80조합과 여름무 조합 60조합을 선발하여, 파종하였다. F₁은 파구당 28립씩 2반복, 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고, 시비량은 관행의 방법을 따라 실시하였다 (그림 25).



그림 25. 무 시들음병 본 노지포장 재배시험 (경기도이천)

2018년 6월 4일~15일까지 봄무 및 여름무용 계통을 수확하고 생육조사를 실시하였다. 4~5월 침수 피해로 인해 뿌리의 대부분이 고사하였고 그중 살아남아 원예적 형질이 우수한 F₅-F₇ 세대의 모본 2계통을 선발하였다. 선발된 2개의 모본 계통과 2017년에 선발된 계통을 2018년 가을에 시들음병 저항성 접종시험을 실시하였고, 현재 저항성 조사 중에 있다. 또, 우수 계통 육성을 위해 F₁-F₅ 세대의 중간 고정 계통을 연구소의 노지 포장에 봄에 파종하고, 그 중 5개체를 선발 하여 저온처리시설에서 관리하였다. 봄 침수 피해로 생육이 부진하여 2018년 가을 재배시험에 다시 봄과 여름용 계통을 육성 하기 위해 2018년 9월 7일- 11일에 모본 및 F₁ 품종을 파종 하여 재배 중에 있다 (그림 26).



그림 26. 무 시들음병 가을 노지포장 재배시험 (경기도 이천)

(나) 재배시험 및 시교시험

봄무 선발을 위해 시들음병이 심한 고창 및 영암 지역과 강원도 지역에 재배시험 및 시교 시험을 실시하였다. 전라도 고창 지역에 2018년 3월 7일 터널 파종을 하고 6월 15일 수확하여(그림 27) 특성이 우수한 것을 확인 하였다. 여름무 선발을 위해 1차 파종은 강원도 홍천내면에서 2018년 6월 21일 파종하고 9월 18일 조사하였다(그림 28). 이중 위황병이 강한 2품종은 2019년 시제품 생산을 하여 확대 시교시험을 실시할 예정이다. 강원도 2차 파종시험은 홍천내면지역에서 2모작으로 2018년 7월 19일 파종하고 10월 17일 조사를 실시하였다. 이중 3품종을 선발하여(그림 28) 2019년 시교용 종자를 생산하고 위황병이 심한 지역에 시험재배를 실시할 예정이다.



그림 27. 무 시들음병 시교 재배시험 (전라도 고창)



그림 28. 무 시들음병 교배조합 재배시험 (강원도 홍천)

2016~2017년에 선발한 품종들의 성능을 평가하기 위하여, 제주도, 전라도 및 강원도 농가에서 현장 시교시험을 실시하였다(그림 29). 시교 시험 결과 위황병 저항성이 일부 있으면서 특성이 우수한 품종들을 선발하였고, 두 품종을 최종 선발하여 케이알 일사(KR 14) 및 케이알 391(KR 391)로 명명하고, 품종 보호출원을 실시하였다(그림 30). 이중 케이알 일사는 기술이전되었고 케이알 삼구일을 기술이전을 실시할 예정이다



그림 29. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 제주도 및 강원도 농가 현지 시교 시험

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.	
담당자: 양지혜 전화: 054) 912-0113 FAX: 054) 912-0210	
인터넷 홈페이지: www.need.go.kr	
396600	경상북도 김천시 혁신8로 119

민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.	
담당자: 송수연 전화: 054) 912-0115 FAX: 054) 912-0210	
인터넷 홈페이지: www.need.go.kr	
396600	경상북도 김천시 혁신8로 119

품종보호출원번호 통지서	
출원일자: 2018. 8.17	품종보호 출원번호: 출원 2018 - 426
	품종명칭 출원번호: 명칭 2018 - 956

작 품 명: 무
 품종 명칭: 케이팝삼구실
 출 원 인: 세종대학교산학협력단
 주 소: 서울 광진구 군자동, 세종대학교 김원관 216호 산학협력단

2018년08월17일

품종보호출원번호 통지서	
출원일자: 2018.12.18	품종보호 출원번호: 출원 2018 - 690
	품종명칭 출원번호: 명칭 2018 - 1716

작 품 명: 무
 품종 명칭: 케이팝이사람
 출 원 인: 세종대학교산학협력단
 주 소: 서울 광진구 군자동, 세종대학교 김원관 216호 산학협력단

2018년12월18일

국립종자원장


국립종자원장 

그림 30. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 보호출원

(다) 무 시들음병 저항성 계통육성 및 F₁ 조합 선발 집중 시험

무 시들음병 병원균 (*F. oxysporum* f. sp. *raphani*) 균주는 한국의 강원도 정선군 임계면, 홍천군 내면, 전라북도 고창군의 발병포장 무 뿌리조직의 병반에서 채취하였다. 세종대학교 연구소 내 하우스에서 육묘용 상토를 담은 트레이에 무 종자를 계통별로 각 30립씩 줄 파종하였다. 발아율을 높이기 위해, 온습도 및 일장이 제어되는 인공 환경실 내에서 발아를 유도하였다. 발아 확인 후 트레이를 인공 환경실에서 자연광 유리 온실로 이동하였다. 수분관리에 주의하며 1주일간 육묘 후, 시들음병 접종 실험에 공시하였다.

접종원의 준비를 위해서, potato dextrose agar liquid medium에서 2주간 배양 후 콜로니에서 위황병 포자를 수집 후 현탁했다. 현탁액의 농도는 hemocytometer를 이용하여 10⁶ per mm² 가 되도록 조절하였다. 시들음병 접종은 묘의 뿌리 끝을 절단 후 종이컵에 담고, 균 현탁액을 10ml씩 분주하여 접종하는 방식으로 이루어졌다. 2018년 9월 12일 F₁ 20품종, F_{3~5}세대 80 계통 및 육종용소재 10계통을 파종하였다.

2018년 9월 20일, 육묘한 유묘를 채취하고, 뿌리를 가볍게 털어 뿌리표면에 묻은 배양토를 제거하였다. 균의 체내 감염을 용이하게 하기 위하여 주근 및 측근의 뿌리 끝 2-3cm를 손으로 잘라냈다. 미리 준비한 소형 종이컵에 유묘를 담고, 균주 현탁액을 각 20ml씩 분주하여 묘의 뿌리부분이 고르게 닿을수 있도록 컵을 흔들어 잘 섞은 후 5분간 침지하였다(그림 31). 접종 후, 25주의

묘를 50공 트레이에 계통별로 정식하고, 자연광 온실 내에서 재배하였다. 시들음병 저항성 개체 선발을 위해 접종 후 9월27일, 10월 2일 및 10일에 저항성 정도를 조사하였고(표 1., 그림 32) 11월 초순경 개체 선발을 실시할 예정이다.



그림 31. 시들음병 저항성 품종 육성을 위한 접종시험

표 1. 시들음병 접종 결과조사

BN	품종명	1차조사 (10.01)	2차조사 (10.11)	3차조사 (10.17)	BN	품종명	1차조사 (10.01)	2차조사 (10.11)	3차조사 (10.17)
12	334167	3	3	1	1226	14 KES	5	7	7
15	334360	5	9	9	1227	15 KES	5	5	3
16	334371	7	9	9	1228	15 KES	3	5	3
17	343390	7	9	9	1230	15 KES	5	5	3
20	514121	5	7	9	1237	15 KES	9	7	3
26	433270	3	3	3	1242	16 KES	3	5	5
55	414014	7	9	9	1250	16 KES	5	3	1
221	414008 re	5	5	5	1255	16 KES	3	5	1
234	Sembak	3	5	5	1260	16 KES	7	7	5
243	246	7	9	9	2007	박달류	7	7	7
245	334170	5	7	5	2015	박달류	7	7	5
245	334417	1	3	3	2036	박달류	5	5	3
255	712276	3	7	7	2043	뉴(석)	5	3	3
261	342339	5	7	7	2047	3209 부	5	7	5
267	9980	3	3	3	2073	일품 1	3	3	1
268	9980	3	3	1	2077	장원 2호	7	9	9
269	9980	5	3	3	2079	로판류	5	3	3
276	Obak	5	5	3	2082	로판류	5	5	5
285	423247	7	7	9	2083	명산로계	1	1	1
401	R 64	3	1	1	2084	명산부계	5	5	1
404	611351	1	1	1	2127	Sembak	7	7	7
414	61475	1	1	3	2139	Obak	7	9	9
430	5653	3	3	3	2141	Obak	5	5	3
435	711790	5	5	7	2144	Obak	7	7	5
445	711555	7	7	7	2145	Obak	7	9	9
454	314053 re	5	7	7	2155	Taechung	3	5	3
453	611397	1	5	5	2157	Jinbak	3	3	3
493	511557	3	7	7	2158	YTC	5	7	5
496	561204	3	5	5	2190	단추	5	9	7
503	611400	3	5	5	2223	용현	5	5	5
511	S 611904	7	9	9	2224	용현	5	7	5
1001	OH	9	9	9	2226	용현	5	5	3
1015	QHL	5	5	7	2227	용현	5	5	3
1089	246	7	7	7	2295	CH	7	9	7
1072	246	7	7	7	2299	CH	5	7	5
1074	246	7	9	9	2300	CH	3	7	5
1076	9980	3	3	5	2301	후미町	5	7	7
1077	9980	5	3	5	2302	Obak	7	7	5
1075	9980	3	3	5	2303	후미町	3	7	7
1050	9980	3	5	5	2323	장원	1	1	1
1051	9980	3	5	5	2555	Obak	5	7	5
1053	9980	3	3	3	2564	장원류	5	5	3
1091	Sembak	7	7	7	2567	YTY	3	1	1
1105	76	5	7	7	2573	후미町	3	1	1
1105	9505	7	9	9	2575	후미町	1	1	1
1133	Oai	7	7	7	2576	후미町	1	1	1
1164	121	7	7	7	2577	후미町	3	3	3
1221	14 KES	5	7	7					



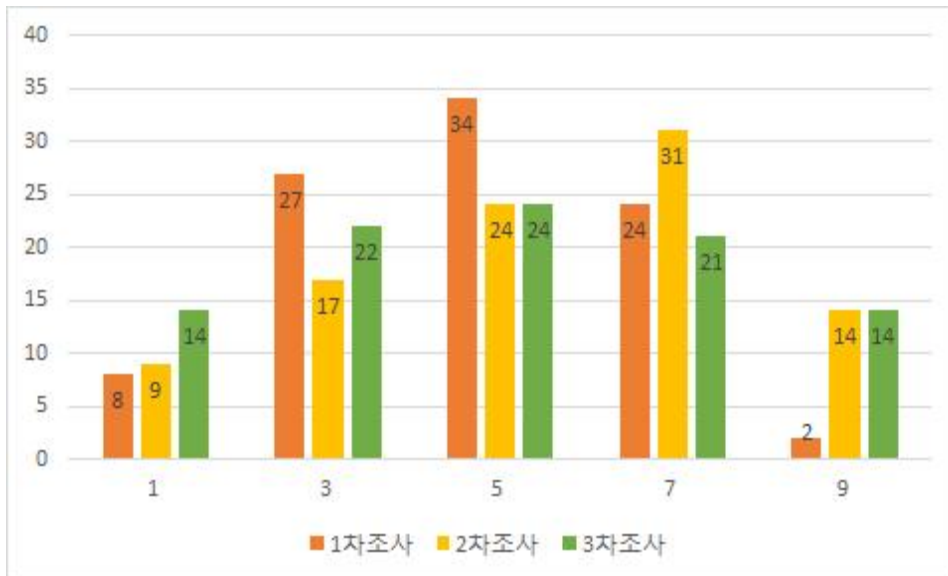


그림 32. 시들음병 집중 결과조사

(라) 시들음병 확산방지 시스템 개발

1) 윤작 재배시험

포장에서 윤작 실험을 통한 무 시들음병의 활력을 조사하기 위해 2년차 실험을 실시한 동일 지역인 강원도 홍천내면 무 시들음병이 심한 이병성 포장을 제외하여 3년차 실험을 실시하였다(그림 33). 실험결과 대부분의 무에서 시들음병이 만연함을 보여주었고 그중 시들음병이 강한 품종이 2품종 선발 되었다.

무 시들음병이 아주 심한 이천 연구소 포장에서의 윤작 실험을 실시하였다. 하우스를 철거할 예정이어서 2017년 가을 하우스의 반은 무를 파종하고 반은 파를 파종하여 윤작 시험을 실시하였고 2018년 봄에 윤작 시험한 포장과 계속해서 무를 파종한 포장과 비교 실험을 실시하였다(그림 33). 시들음병이 강한 1품종(478), 약한 품종인 관동과 일본용 8637 품종을 3반복으로 시험 하였다. 그 결과 감자, 옥수수 및 파로 윤작 시험을 실시한 포장과 계속해서 무를 심은 포장에서 심한 차이를 보여주지 않았으나 윤작 시험을 한 포장에서 생육이 좀더 잘되었고(그림 34), 계속해서 무를 심은 곳에서는 미미하게 병징이 나타났으나 윤작시험을 한곳에서는 병징이 나타나지 않은 것으로 보아 윤작시험이 무 시들음병 확산 방지에 효과가 있을 것으로 사료 된다.



그림 33. 윤작 실험을 위한 포장재배 실험



그림 34. 윤작재배포장과 연속해서 무를 심은 포장 비교 실험.

(마) 무 시들음병 조기 판별 마커의 검증 및 육종용 유용 양적형질 연관 마커의 개발

본과제의 최종목표인 유전체 기반 육종 시스템 개발을 위하여 기 발굴된 유용형질 연관 SNP 마커의 효율적인 분석을 위해 DNA array, 플로이다임, open array 등 여러 플랫폼을 비교한 결과 amplicon sequencing 플랫폼이

육종상황에 샘플당 400여 SNP의 genotyping에 가장 효율적이라는 결론을 도출하고 무유전체 육종 ampli-seq 플랫폼 개발을 위해 본 과제에서 기 발굴된 유용형질 연관 SNP 마커를 압축하여 400여개 내외의 마커를 선발하기 위한 작업을 수행하고 있다.

형질	분석 모델	SNP 위치	P value	Major	Minor
Leaf Number	K model	5:39361868	5.82E-07	A	T
Leaf Weight	K model	5:947341	7.97E-07	G	T
Length of Silique (mm)	K model (transformed)	1:23718022	9.55E-07	T	G
		3:26877154	1.10E-06	A	G
		9:5179386	1.16E-06	C	G
		9:6055887	2.98E-07	A	G
		9:37198378	1.13E-06	G	T
		9:38179095	1.38E-06	G	A
Root Diameter (cm)	K model	2:31961173	3.13E-07	T	C
		3:13109017	5.96E-07	C	A
		5:6114368	4.58E-07	A	T
		5:10198519	2.97E-07	A	G
		5:16600595	4.05E-07	A	C
		5:16741995	1.93E-07	A	G
		5:24203377	8.76E-08	A	C
		5:41871555	1.16E-06	A	G
		5:44098840	5.46E-07	C	A
		6:164947	1.33E-07	A	C
		6:487067	6.38E-07	G	C
		6:487181	3.23E-07	G	T
		6:487182	2.92E-07	A	T
		6:1057607	4.80E-07	C	T
		6:1665124	1.23E-06	T	C
		6:1671653	9.93E-07	C	T
		6:1671661	9.93E-07	C	G
		6:1671689	7.90E-07	T	G
		6:1671697	7.90E-07	A	G
		6:1671747	9.93E-07	T	C
		6:1671771	9.93E-07	A	G
		6:1671772	9.93E-07	A	C
		6:2069353	4.04E-08	T	G
		6:2331401	5.77E-09	G	A
		6:4136849	4.69E-07	T	C
		6:4257698	4.26E-07	G	A
		6:4257711	4.26E-07	T	A
		6:5942825	2.28E-07	G	T
		6:8112387	1.70E-08	C	A
		6:8396000	6.31E-07	C	G
6:9245967	7.02E-07	C	T		
6:11901498	1.69E-07	T	A		

		6:13623179	1.28E-06	A	T
		6:15561725	1.98E-07	A	G
		6:41773669	1.05E-07	T	G
		6:43122826	7.02E-07	T	C
		6:43129679	3.95E-07	A	C
		6:43129719	3.95E-07	G	T
		6:46403082	6.35E-07	A	G
		6:46642935	1.47E-06	T	C
		6:48274559	2.96E-07	G	A
		6:48367686	1.06E-07	C	A
		6:48880537	5.04E-07	G	C
		6:49860975	6.81E-07	G	T
		6:50450300	3.98E-07	C	T
		6:50450301	6.99E-08	G	A
		6:52104133	5.56E-07	G	A
		6:52857046	2.46E-07	G	T
		6:52862529	1.19E-06	G	A
		8:888662	5.57E-07	G	A
		8:20012694	7.87E-09	T	G
		8:27150455	3.09E-07	T	C
Root Length (cm)	K model	6:49861002	4.56E-07	T	C
Total Number of Silique	K model (transformed)	2:27120657	1.41E-06	G	C
		9:3642288	7.69E-07	G	A
		9:3642297	7.42E-07	A	G
		9:3642330	7.42E-07	A	T
Bloom day	QK model	2:36788238	8.00E-07	G	A
Root Weight (g)	QK model	1:8845750	1.72E-08	G	A
		1:9220888	1.05E-08	A	C
		1:10596039	6.34E-09	G	A
		1:10596059	6.34E-09	T	G
		1:13367564	1.02E-06	C	T
		1:13367576	1.02E-06	C	T
		1:13367582	1.02E-06	G	A
		1:19461215	2.23E-08	T	G
		1:19461216	2.23E-08	T	C
		2:17475783	1.32E-08	G	C
		2:17475810	1.32E-08	A	C
		2:19611085	1.56E-08	G	A
		2:19611139	1.39E-08	C	T
		2:20422417	9.91E-08	G	A
		2:33356477	2.44E-08	A	G
		3:19201266	9.04E-08	G	T
		3:19201310	9.99E-08	T	G
		3:19201316	9.99E-08	T	G
		3:19201351	5.80E-08	G	C
		8:8550422	6.00E-09	C	A
8:10168160	2.25E-08	A	T		
8:11234644	2.91E-08	C	G		
8:11234707	2.91E-08	G	A		

		8:14839673	2.53E-08	C	G
		8:14839674	2.53E-08	C	A
		9:30758255	2.23E-08	G	A
		9:30758406	2.09E-08	G	T
		9:31254128	6.65E-09	G	C
		9:31254245	6.65E-09	C	A
		9:31254280	6.65E-09	A	G
		9:31254284	6.65E-09	C	A
		9:37763504	1.87E-08	G	T
Number of seeds	Q model	9:3642297	3.56E-07	A	G
		9:3642330	3.56E-07	A	T

(바) 품종보호출원 · 등록 및 기술이전

품종 보호출원은 1품종이었으나 2품종을 출원하였다. 품종등록은 1차년도에 보호출원한 케이알 일사 품종이 특허 등록예정 중에 있다. 기술이전은 케이알 일일 품종을 기술이전 하였다.

라. 4년차 (2019년)

(1) 개발 목표

- 무 시들음병 저항성 품종 육종, 재배시험 및 시교시험
- 시들음병 확산방지 시스템 개발
- 무 유전체 정보 활용 분자유종 시스템 개발

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 계통 육성 및 품종 육종

- 시들음병 접종 시험을 통한 국내용 우수 계통 (1계통) 및 중간모본 선발 (F_2 ~ F_5 50계통)
- 기육성 계통 및 새롭게 작성된 계통을 이용한 교배조합 작성 (90 조합)
- 저항성 계통 유전자원센터 기탁 : 저항성 1 계통

(나) 재배시험 및 시교시험

- 경기도 이천 재배시험 : 80조합
- 강원도 재배시험 : 30조합
- 제주도 재배시험 : 10조합
- 시교 시험 (강원도, 전라도 및 제주도) : 3품종

(다) 시들음병 확산방지 시스템 개발

- 소독 약제 종류에 따른 농기계 소독
: 약제 농도에 따른 포장 농도 시들음병 균주 농도 실험
- 윤작 재배시험
: 시들음병 이병 포장 선정, 메밀, 호밀 등 작물 윤작 시험
- 윤작 재배에 따른 병 발생 감소율, 품질 및 수량변화를 조사

(라) 분자마커개발을 위한 유전자원의 수집, 집단육성 및 세대진전

- 무 유전체 기반 육종 시스템 검증
- 시들음병 저항성 품종 개발에 분자마커 적용
- 무 품종 식별 마커 검증

(마) 품종보호출원 · 등록 및 기술이전

- 품종 보호출원 1품종
- 품종 등록 2품종
- 연작의 피해와 윤작의 유의성을 검토

(3) 연구결과

(가) 계통 육성 및 품종 육성

- 시들음병 접종 시험을 통한 국내용 우수 계통 (1계통) 및 중간모본 선발 ($F_2 \sim F_5$ 50계통)
- 기육성 계통 및 새롭게 작성된 계통을 이용한 교배조합 작성 (90 조합)

우수계통 및 중간모본($F_2 \sim F_5$ 50계통) 선발을 위해 전년도에 선발한 개체들을 증식용 하우스에 정식하고 육묘를 하였다. 12월부터 3월 까지 하우스 내에서 수막을 이용한 자연 저온 처리를 하고 추대가 된 뒤 4월 초부터 6월 중순까지 교배를 하고 종자를 증식 하였다(그림 35). 새로운 교배 조합을 작성하기 위해 2018년 11월 5일에 만추대를 파종하고, 2018년 12월 10일에 중간 추대를 나타나는 계통을 파종 하였다. 2018년 11월부터 2019년 2월 28일 까지 육묘를 한 후 교배 하우스에 정식을 하고 추대를 유발 시켜 3월부터 6월 중순 까지 교배를 실시하고 종자를 증식 하였다(그림 35).



그림 35. 개체 선발, 교배 미숙모본 교배 및 종자증식

(나) 재배시험 및 시교시험

무 시들음병 저항성 무 품종 개발을 위해 양친선발을 위한 계통 재배시험, 및 F_1 조합 선발을 위한 포장 재배 시험을 위해 2019년 4월 6일 경기도 여주 동오종묘 연구소 포장에 파종하였다. 계통 및 중간모본 계통, F_1 선발을 위해 봄무 60조합과 여름무 60조합을 파종하였다. 목색 타공(지름 5cm)멀칭 비닐을 130cm 간격으로 이랑과 고랑을 만들고멀칭을 하였다. F_1 은 파구당 28립씩 2반복으로 하여 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고 시비량은 관행의 방법으로 실시하였다(그림 36).

계통 및 F_1 조합 선발을 위한 생육조사를 2019년 5월 29일~6월 14일까지 실시하였다.

품종 비교시험을 위해 대비품종 5품종과 시교조합 20 품종을 품종당 100립씩 종자를 내고 60 x 25cm로 파종을 하였다. 조사는 2019년 6월7일 실시하였

다. 봄시험 재배에서는 여러번의 폭우와 시간당300mm가 넘는 폭우가 와 재배시험이 원활하게 진행되지 않았으나 그중에 결과가 좋은 시교번호 514723과 334360품종을 선발하였고 2020년 재시험 후 결과가 좋으면 확대시험을 진행할 예정이다



그림 36. 경기도 이천 봄 노지재배시험

가을 포장 재배시험은 지속적인 비로 인해 포장준비를 할 수 없어 하우스에 비닐을 벗겨내고 노지로 파종 하였다. 2019년 8월 31일 F1을 파종하고, 9월 2일 계통을 파종 하였다. 우수한 품종을 선발하기 위해 품종 비교시험 포장에서는 2016년~2018년에 성능이 우수하여 선발 된 시교조합을 선발, 증식된 종자 중 실험 가능한 조합을 최종 선발 하여 30조합을 파구 당 100립 1반복 파종하였다. 계통 선발을 위해 F₂~F₅ 세대 150계통을 파종하였다. F₁ 선발을 위해서는 봄무 조합 80조합과 여름무 조합 60조합을 선발하여, 파종하였다. F₁ 은 파구당 28립씩 2반복, 재식거리 60 x 25cm로 파종을 실시하였고, 시비량은 관행의 방법을 따라 실시하였다 (그림 37).



그림 37. 무 시들음병 가을 노지포장 재배시험 (경기도 이천)

위황 병이 심한 지역에 여름무 선발을 위해 1차 파종은 강원도 홍천내면에서 2019년 6월 21일 F₁ 조합 55품종을 파종하고 관행적으로 재배를 하고 9월 16일 조사하였다(그림 38). 강원도 2차 파종시험은 홍천내면지역에서 2모작으로 2018년 7월 23일 F₁ 조합 55품종을 파종하고 관행적으로 재배를 하여 10월 17일 조사하였다(그림 38). 2019년 여름을 가물고 병해충이 많아 재배에 어려움이 있었으나 최종 3품종을 선발하여(그림 38) 2020년 시교용 종자를 생산하고 위황병이 심한 지역에 시험재배를 실시할 예정이다.



그림 38. 무 시들음병 저항성 노지 재배시험(강원도 홍천)

2016~2017년에 선발한 품종들의 성능을 평가하기 위하여, 제주도, 전라도 및 강원도 농가에서 현장 시교시험을 실시하였다(그림 39). 시교 시험 결과 위황병 저항성이 일부 있으면서 특성이 우수한 품종들을 선발하였고, 1 품종을 최종 선발하여 케이알 공육삼(KR 063)으로 명명하고, 품종 보호출원을 실시하였다(그림 40).



그림 39. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 제주도 및 강원도 농가 현지 시교 시험

민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.	
담당자: 송수연	전화: (054) 912-0113 FAX: (054) 912-0210
인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr	
3 9 6 6 0	경상북도 김천시 혁신8로 119

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2019.12.31.	품종보호 출원번호: 출원 2019 - 642
	품종명칭 출원번호: 명칭 2019 - 1606

작 물 명: 무
 품종 명칭: 케이알공육삼
 출 원 인: 세종대학교산학협력단
 주 소: 서울 광진구 군자동, 세종대학교 집현관 216호 산학협력단

2019년12월31일


국 립 종 자 원 

그림 40. 무 시들음병 저항성 F₁ 품종 보호출원

(다) 무 시들음병 저항성 계통육성 및 F₁ 조합 선발 접종 시험

무 시들음병 병원균 (*F. oxysporum* f. sp. *raphani*) 균주는 한국의 강원도 정선군 임계면, 홍천군 내면, 전라북도 고창군의 발병포장 무 뿌리조직의 병반에서 채취하였다. 세종대학교 연구소 내 하우스에서 육묘용 상토를 담은 트레이에 무 종자를 계통별로 각 30립씩 줄 파종하였다. 발아율을 높이기 위해, 온습도 및 일장이 제어되는 인공 환경실 내에서 발아를 유도하였다. 발아 확인 후 트레이를 인공 환경실에서 자연광 유리 온실로 이동하였다. 수분관리에 주의하며 1주일간 육묘 후, 시들음병 접종 실험에 공시하였다.

접종원의 준비를 위해서, potato dextrose agar liquid medium에서 2주간 배양 후 콜로니에서 위황병 포자를 수집 후 현탁했다. 현탁액의 농도는 hemocytometer를 이용하여 10⁶ per mm² 가 되도록 조절하였다. 시들음병 접종은 묘의 뿌리 끝을 절단 후 종이컵에 담고, 균 현탁액을 10ml씩 분주하여 접종하는 방식으로 이루어졌다. 2019년 9월 12일 F₁ 37품종, F₅~F₇세대 28계통을 파종하였다.

2019년 9월 16일, 육묘한 유묘를 채취하고, 뿌리를 가볍게 털어 뿌리표면에 묻은 배양토를 제거하였다. 균의 체내 감염을 용이하게 하기 위하여 주근 및 측근의 뿌리 끝 2-3cm를 손으로 잘라냈다. 미리 준비한 소형 종이컵에 유묘를 담고, 균주 현탁액을 각 20ml씩 분주하여 묘의 뿌리부분이 고르게 닿을수 있도록 컵을 흔들어 잘 섞은 후 5분간 침지하였다(그림 41). 접종 후, 25주의

묘를 50공 트레이에 계통별로 정식하고, 자연광 온실 내에서 재배하였다. 시들음병 저항성 개체 선발을 위해 접종 후 9월27일, 10월 2일 및 10일에 저항성 정도를 조사하였고(표 2)11월 3일 시들음 병이 강한 개체 20개를 선발하고 포트에 정식하여 저온 처리 중에 있으며 2020년 종자를 증식할 예정이다.



그림 41. 들음병 저항성 품종 육성을 위한 접종 및 개체 선발

- 시들음병 확산방지 시스템 개발

시들음병 확산 방지를 위해 윤작 시험을 실시 하였다. 강원도 홍천내면 자운리 무 재배포장 중 시들음병이 가장 심한 포장을 선정하여 한포장은 매년 무를 재배하였고 한포장은 상추(1년차) → 호박+ 상추(2년차) → 호박 (3년차) → 호박(4년차)을 재배하여 무 시들음병 확산 정도를 시험 하였다. 동일한 11개 F1 무품종의 비교시험(그림 42, 43)에서 무를 연속해서 심은 포장은 병이 발생하였으나 윤작을 한포장에서는 병의 발생이 현저히 줄어들고 있음을 확인할 수 있었다.

표 2. 시들음병 저항성 품종 대장

전체	품종명	시들음병 정도 (1강 ~ 9 약)
7	514756	3
50	814086모	3
202	관동	7
210	탑동무	7
224	724435 모	5
267	9960	5
271	9960	5
328	만추대풍	7
329	청황	7
405	YR 鐵人	3
414	61478	3



그림 42. 운작실험을 통한 무 시들음병 확산 정도 및 저항성 정도 실험(파종 6월 21일, 조사 7월 23일)

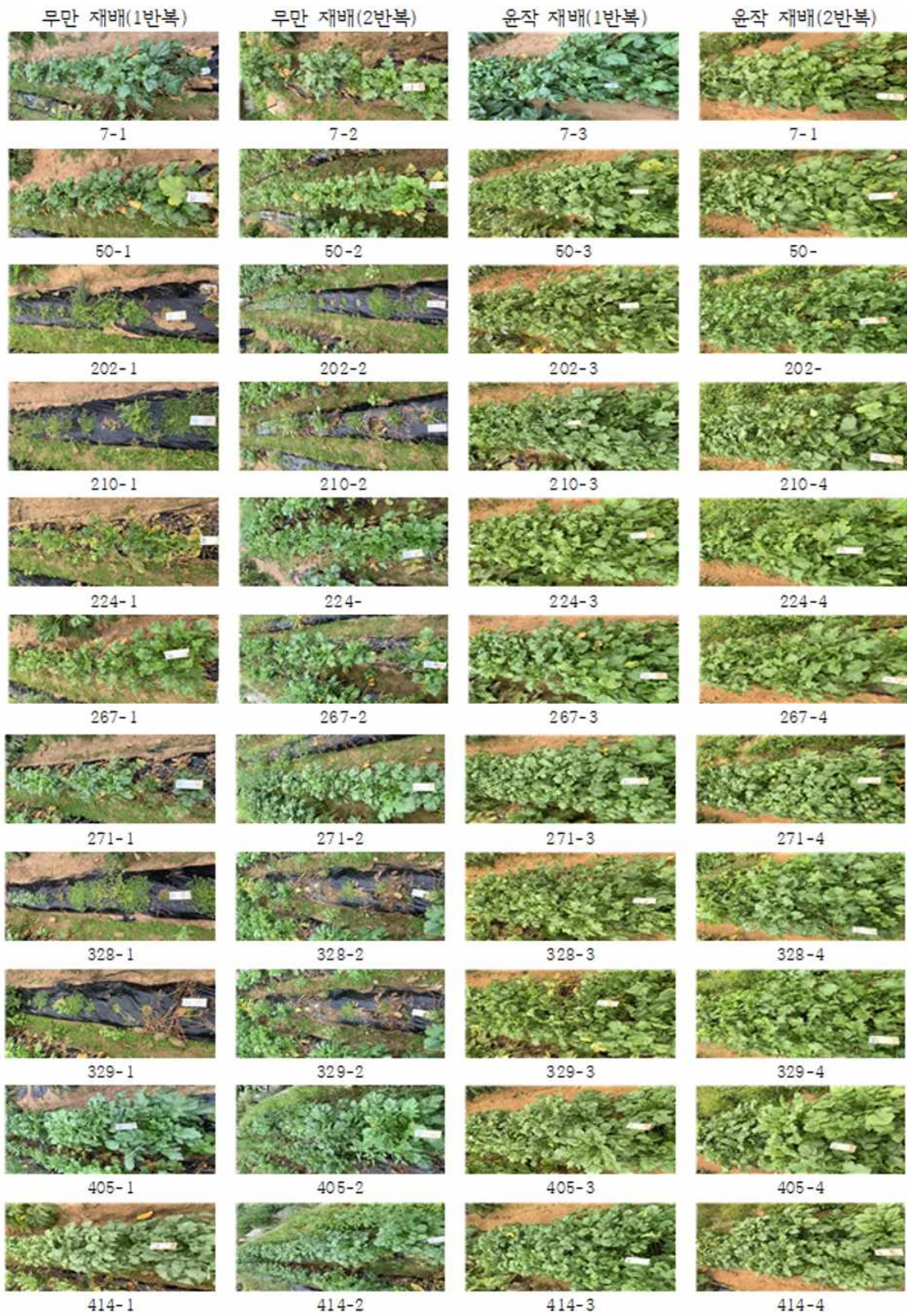
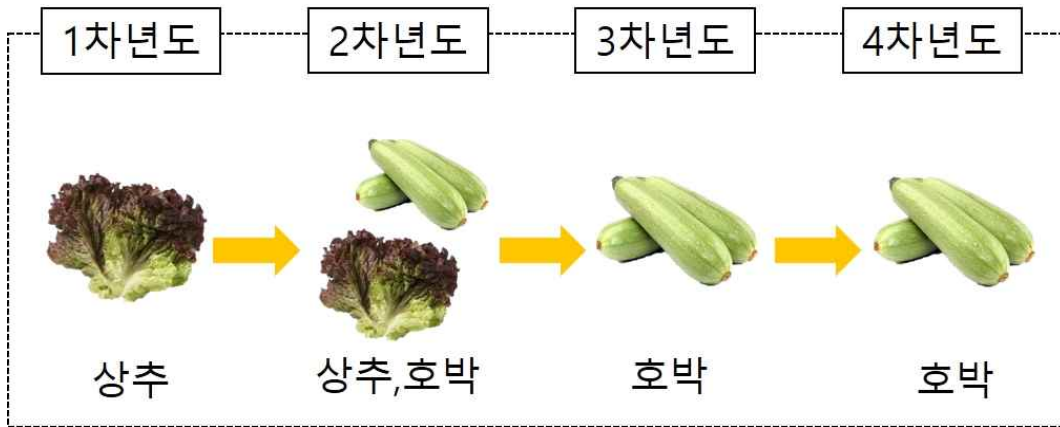


그림 43. 윤작실험을 통한 무 시들음병 확산 정도 및 저항성 정도 실험(파종 6월 21일, 조사 9월 3일)



이러한 결과를 볼 때 현재 강원도에서 심각하게 발생하고 있는 무 시들음병을 윤작 재배를 통해서도 시들음병의 확산을 억제 할수 있을 뿐 아니라 병의 발병정도를 낮출 수 있음을 확인하였다.

(라) 분자마커개발을 위한 유전자원의 수집, 집단육성 및 세대진전

분자 마커 개발을 위해 시들음병마커 개발을 위해 저항성 정도가 강인 것과 약한것의 F2 종자를 150개 개체에서 종자를 획득하여 파종 한 후 샘플을 채취하여 마커 개발을 위해 DNA 샘플을 채취하여 분석 기관에 의뢰 하였다.

(바) 품종보호출원 · 등록 및 기술이전

품종 보호출원은 1품종을 출원하였고(케이알 공육삼) 품종등록은 1차년도에 보호출원한 케이알 일일, 케이알 일사 품종이 특허 등록되었다.



그림 44. 무 시들음병 저항성 F1 품종출원 및 등록

[2세부] 세종대학교

가. 1년차 (2016년)

(1) 개발 목표

- 무인기 운용 및 영상 데이터베이스 확보 : 무 재배지에서의 무인기 운용 방안과 대지역 고화질 영상 데이터베이스 확보
- 무 시들음병 데이터베이스 구축: 무인기 운용 시 다양한 환경적 변화 요인을 감안하여 영상을 촬영하고 구축
- 무 시들음병 영상 데이터 분석: 무 시들음병 탐지에 유용한 영상 특징과 패턴을 찾음

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 무인기 운용 및 영상 확보 매뉴얼 작성

- ① 실제 무 재배지에서의 무인기 운용 및 테스트 영상 확보
- ② 카메라 촬영 설정 최적화
- ③ 무인기 운용 시 개선 사항 파악과 대응책 강구
- ④ 무 재배지 환경에 적합한 무인기 운용과 영상 확보에 관한 세부 방안 마련

(나) 무 시들음병 영상 데이터 확보 및 데이터베이스 구축

- ① 무 재배지의 주기적인 영상 데이터베이스 확보 (일출 ~ 일몰)
- ② 무 시들음병의 초기 발생부터 확산 양상까지 (주 단위, 월 단위) 총체적인 영상 데이터 수집
- ③ 무인기 활용 무 재배 대형산지 RGB 영상 데이터 확보
- ④ 무인기 사용 시 다양한 환경 변화 요인이 존재
- ⑤ 무인기 활용 해상도/촬영 각도/날씨 변화에 따른 다양한 무 재배지 RGB 영상 데이터 확보
- ⑥ 발육 상태에 따른 정상 무와 무 시들음병 피해 개체의 근적외선 영상 데이터 확보

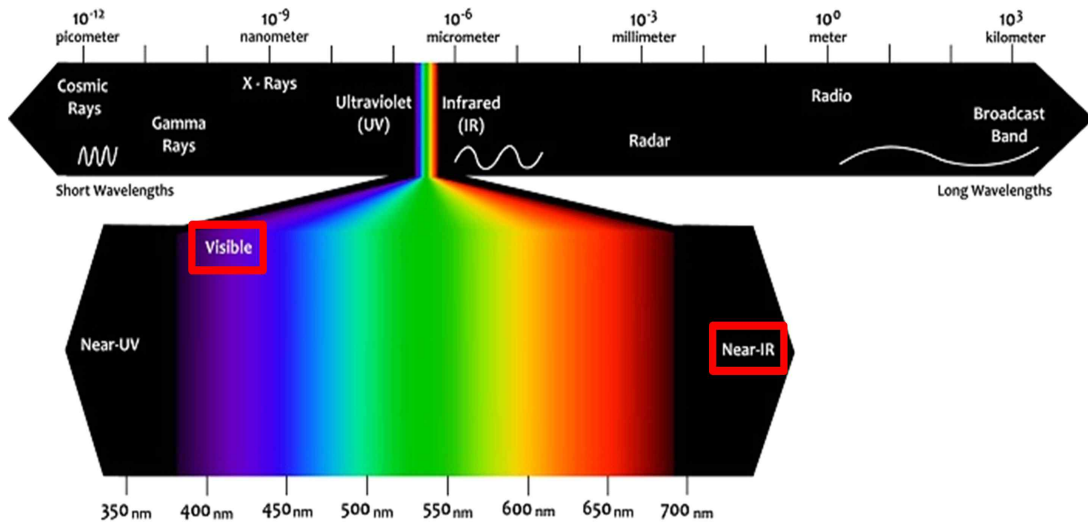


그림 45. 영상 획득 범위: 가시광선, 근적외선

(다) 무 시들음병 영상 데이터 분석 기술 개발 (색상(분광), 색상 공간, 카메라 사양)

- ① 무 시들음병에 특화된 영상 특성 파악
- ② 히스토그램 평활화와 La^*b^* 색상 공간 변환을 적용 보다 안정된 영상 데이터 확보
- ③ Wavelet 기반 무 시들음병 피해 개체 RGB 영상 특징 추출 알고리즘 연구
- ④ LBP(local binary pattern) 기반 무 시들음병 피해 개체 RGB 영상 특징 추출 알고리즘 연구
- ⑤ Frequent 패턴 데이터 마이닝 기술을 활용한 다중 영상 특징 융합 기술 연구
- ⑥ 실험실 재배 정상 무와 무 시들음병 피해 개체의 분광 영상 비교 및 분석
- ⑦ 무 시들음병 피해 개체의 분광 영상 특징 추출 알고리즘 연구
- ⑧ 무 엽록소 함량 측정 타당성 검토

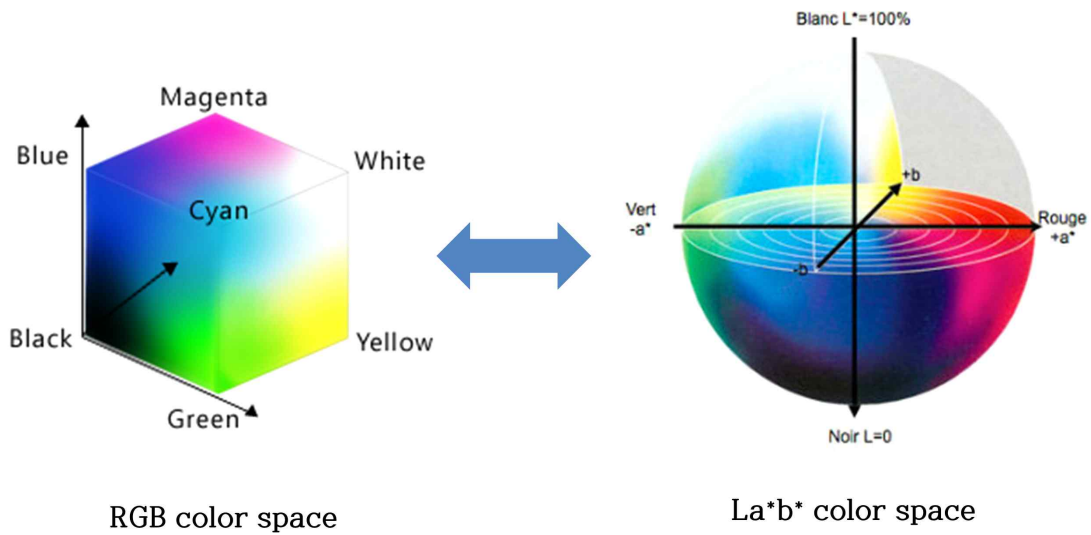


그림 46. 색상 공간 변환: RGB→La*b*

(3) 연구결과

(가) 히스토그램 평활화

히스토그램 평활화는 영상의 품질을 개선하기 위한 방법으로 사용된다. 촬영한 영상의 일부분이 너무 어둡거나 밝아 확인이 어려운 경우, 히스토그램 평활화를 통해 원본 영상의 히스토그램과 개략적인 모습은 비슷하면서 명암도 분포는 좀 더 균일화하게 작업하여 명암 대비가 향상된 이미지를 얻을 수 있다. 히스토그램 평활화는 다음의 수식을 통해 계산된다.

$$l_{out} = T(l_{in}) = \text{round}(c(l_{in}) \times (L - 1))$$

$$\text{이때, } c(l_{in}) = \sum_{l=0}^{l_{in}} \hat{h}(l)$$

$c(\cdot)$ 는 누적 히스토그램이고, $\text{round}(\cdot)$ 은 반올림 연산이다. $T(\cdot)$ 는 입력 영상 f 의 명암값 l_{in} 을 출력영상 g 의 명암값 l_{out} 으로 변환하는 매핑함수이다. 아래의 그림은 히스토그램 평활화 전 후의 이미지와 히스토그램 분포를 보여준다. 기존의 이미지는 히스토그램의 분포가 균일하지 않아 이미지를 식별하는 것이 힘들었지만, 히스토그램 평활화를 통하여 명암 대비가 원본 영상보다 향상되었고 더욱 선명한 이미지를 얻을 수 있게 되었다.

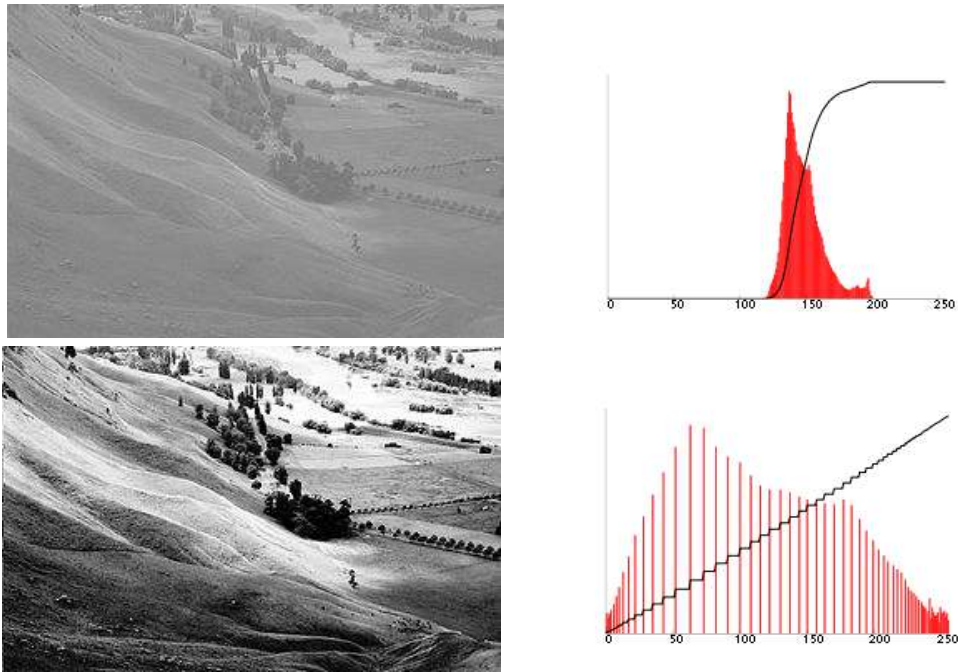


그림 47. 히스토그램 평활화 결과 영상

(나) La^*b^*

Lab 색상 공간은 인간 시각의 길항 이론에 의거하여, CIE XYZ 색 공간을 비선형 변환하여 만들어진 색상 공간이다. La^*b^* 색상 공간에서 L^* 값은 밝기를 나타낸다($L^* = 0$ 이면 검은색, $L^* = 100$ 이면 흰색). a^* 는 빨강과 초록 중 어느 쪽으로 치우쳤는지를 나타내고(a^* 이 음수이면 초록에 치우친 색깔이며, 양수이면 빨강/보라 쪽으로 치우친 색깔이다) b^* 은 노랑과 파랑을 나타낸다(b^* 가 음수이면 파랑 양수이면 노랑).

Lab 색 공간의 가장 큰 장점은 RGB나 CMYK와 달리 매체에 독립적이라는 것이다. 디스플레이 장비나 인쇄 매체에 따라 색이 달라지는 색상 공간과 달리 La^*b^* 색상 공간은 인간의 시각에 대한 연구를 바탕으로 정의 되었다. 특히 휘도축인 L 값은 인간이 느끼는 밝기에 대응하도록 설계되었다.

(다) Wavelet

wavelet 변환은 영상의 데이터를 다른 주파수 성분들로 분해하고, 각 스케일에 해당하는 해상도 성분들을 알 수 있게 하는 처리이다. 아래의 그림은 wavelet 기저함수를 나타낸 것이다. wavelet 변환은 입력 신호의 특성에 맞춰 시간 영역에서 높은 해상도를 잘 분석할 수 있도록 너비가 넓고 입력 신호의 특성에 맞춰 시간 영역에서 높은 해상도를 잘 분석할 수 있도록 높이도 넓다.

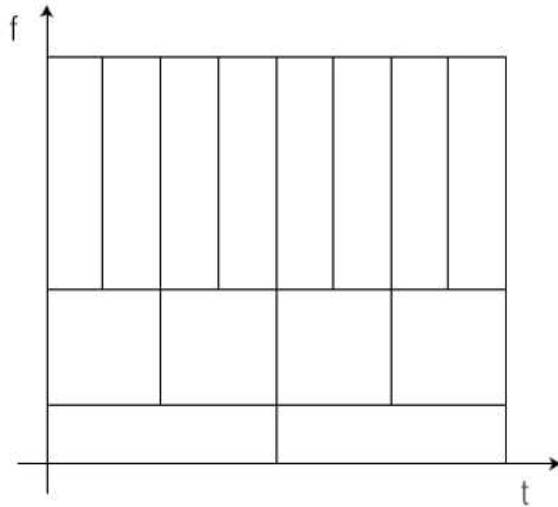


그림 48. wavelet 기저함수

wavelet 변환에서는 신호에 주파수 정보와 공간과 시간 정보가 동시에 들어있다. 때문에 세밀한 부분까지 분석할 수 있고 높은 압축률에 비해 영상의 손실이 적다는 장점이 있다.

wavelet 변환의 기저함수를 형성하는 wavelet 함수는 wavelet 크기를 결정하는 압축 시간 축으로의 이동에 관계되는 전이 계수로 구성된 함수의 집합체로, 아래와 같이 수학적으로 표현 할 수 있다.

$$\psi_{a,b}(t) = a^{-\frac{1}{2}} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right), a = a_1 a_2 \dots a_n - 1$$

여기서 a는 압축 계수이고 b는 전이 계수이다.

따라서 연속 시간 $f(t)$ 의 wavelet 변환 정의는 다음과 같다.

$$F(\tau, s) = \frac{1}{\sqrt{s}} \int f(t) \psi\left(\frac{t-\tau}{s}\right) dt$$

이산 wavelet 변환의 정의는 다음과 같다.

$$f(t) = \sum_{j \in \mathbb{Z}} c_{0,j} \phi_{0,j}(t) + \sum_{k \geq 0} \sum_{j \in \mathbb{Z}} d_{k,j} \psi_{k,j}(t)$$

여기서 왼쪽의 수식은 $f(t)$ 의 저해상도를, 오른쪽의 수식은 $f(t)$ 의 고해상도를 나타낸다.

(다) LBP

LBP(Local Binary Pattern)는 주변 영역의 밝기 분포 정보를 이용하여 그레이 영상의 텍스처를 표현한다. 이미지 I 에서 중앙의 픽셀 값이 c 라면 LBP는 반지

림 R영역 내부에 있는 영역들 $p(p=0, \dots, P-1)$ 의 픽셀 값에 의해 다음과 같이 계산하여 이진 패턴을 생성한다.

$$LBP_{P,R} = \sum_{p=0}^{P-1} s(g_p - g_c) 2^p$$

$$s(x) = \begin{cases} 1, & \text{if } x \geq 0 \\ 0, & \text{if } x < 0 \end{cases}$$

g_c 와 g_p 는 각각 그레이 영상의 중앙 픽셀 값과 주변 영역의 픽셀 값을 나타낸다. 주변 영역 픽셀의 위치는 다음과 같이 계산되고 보간법에 의해 측정된다.

$$R \cos\left(\frac{2\pi p}{P}\right), -R \sin\left(\frac{2\pi p}{P}\right)$$

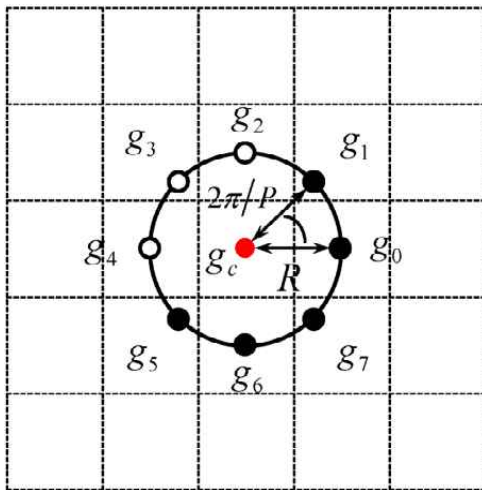
LBP 특징은 오로지 그레이 영상의 픽셀 값의 차이에 의존하기 때문에 영상의 크기 변화에도 이진 패턴은 변하지 않는다. 또한 이미지를 회전 하는 경우 중앙 픽셀 값 주변으로 회전이 일어난다. 그러나 회전에 의해 변경된 이진 패턴은 원래의 이진 패턴에서 비트를 이동하여 생성 할 수 있다. 회전에 의해 변하지 않는 이진 패턴은 다음과 같이 계산 할 수 있다.

$$LBP_{P,R}^{riu2} = \min \{ROR(LBP_{P,R}, i) | i = 0, 1, \dots, P - 1\}$$

$ROR(x, i)$ 는 원형의 비트단위 이동 연산자이다. 비트 변화의 수를 제한한 ‘uniform’ 패턴은 다음과 같이 정의된다.

$$LBP_{P,R}^{riu2} = \begin{cases} \sum_{p=0}^{P-1} s(g_p - g_c), & \text{if } U(LBP_{P,R}) \leq 2 \\ P + 1, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (4)$$

$$U(LBP_{P,R}) = |s(g_{P-1} - g_c) - s(g_0 - g_c)| + \sum_{p=1}^{P-1} |s(g_p - g_c) - s(g_{p-1} - g_c)|.$$



- $LBP_{8,1} =$
 $s(g_0 - g_c)2^0 + s(g_1 - g_c)2^1 +$
 $s(g_2 - g_c)2^2 + s(g_3 - g_c)2^3 +$
 $s(g_4 - g_c)2^4 + s(g_5 - g_c)2^5 +$
 $s(g_6 - g_c)2^6 + s(g_7 - g_c)2^7 =$
 $00011100_2 = 28$
- $LBP_{8,1}^{ri} = 00000111_2 = 7$
- $LBP_{8,1}^{riu2} = 3$

그림 49. LBP 계산과정

(3) 연구결과

① 무 재배지역 영상 데이터베이스 확보

장호원, 홍천, 정선, 무 재배지역을 드론을 이용하여 촬영하였으며 촬영 높이, RGB, UV 필터를 이용하였으며 재배지 면적, 자연광 등 다양한 요소를 고려하여 데이터베이스를 구축하였다. 또한 농우바이오의 실험실 재배 무의 영상을 추가로 확보하여 향후 시들음 병 분석에 활용할 수 있도록 추가적인 데이터베이스를 구축하였다. 아래의 표는 1차년도 연구에서 구축한 데이터베이스의 현황을 보여준다.

촬영일자	촬영지	촬영 높이	RGB 영상	UV필터 영상
16.06.03	장호원	5m ,7m 10m, 20m	118 장	N/A
16.07.20	정선	5m ,7m 10m	407 장	N/A
16.09.02	홍천	5m ,7m 10m	321 장	248 장
16.09.21	장호원 - 재배지	20m	147 장	105 장
16.09.21	장호원 - 실험실	N/A	13 장	14 장
16.09.30	장호원 -신젠타	N/A	523 장 (DSLR)	N/A
16.09.30	장호원- 농우바이오	N/A	83 장 (DSLR)	N/A
합계			1612 장	167 장

아래의 그림은 높이, 필터에 따른 데이터베이스 예시이다.



그림 50. RGB 영상 (5m 촬영)



그림 51 RGB 영상 (20m 촬영)



그림 52. 실험실 무 재배지 촬영



그림 53. UV 영상 (10m 촬영)

② 무 시들음병 데이터베이스 구축

무 재배지역에서 발생한 무 시들음 병의 특징을 추출하기 위하여 시들음 병 단계에 따른 데이터베이스를 구축하였다. 시들음 병 단계는 초기, 중기, 후기로 나뉘며 전문가의 검토를 받아 데이터베이스를 구축하였다. 아래의 표는 구축한 무 시들음 병 데이터베이스 현황이다.

정상 무	초기 시들음 병 무	중기 시들음 병 무	후기 시들음 병 무
923 장	578 장	284 장	316 장

아래의 그림들은 시들음 병 정도에 따라 구축한 데이터베이스의 예시이다.



그림 54. 정상 무 예시



그림 55. 초기 시들음 병 무 예시



그림 56. 중기 시들음 병 무 예시



그림 57. 후기 시들음 병 무 예시

③ 무 재배지역 및 시들음 병 영상 데이터 분석

- 무 재배지역 영상 데이터 분석

무 재배지역에서 무/땅/포장 영역을 분류하기 위하여 재배지의 색상 공간에 따른 특징을 분석하였다. 아래의 그림은 색상 공간 변화에 따른 무 재배지 영상으로 RGB, HSV, $L^*a^*b^*$ 순으로 나타내었다. 무 재배지 영역에서 무/땅/포장 영역을 분류하기 위해 영역에 따른 색상 공간 및 질감 특징을 추출하였다.

무 재배지역에서 무/땅/포장 영역을 분석하기 위해 각각 606장, 591장, 527장의 이미지를 사용하였다.

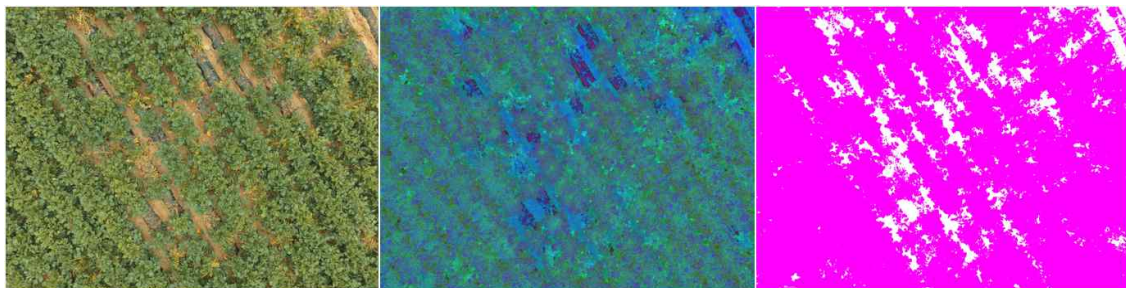


그림 58. 색상 공간 변화에 따른 무 재배지 영상 (RGB, HSV, $L^*a^*b^*$ 순)

추출된 특징 중 유효한 특징을 선택하기 위해 Wilcoxon rank - sum Text, Adopting out-of-bag(OOB) scheme을 적용하여 각 영역의 유효한 특징을 선택하였다. 최종적으로 선택된 특징들을 이용하여 머신러닝 알고리즘 중 Random Forest 모델을 학습하여 무/땅/포장 영역을 분류하였다. 아래의 그림은 무 재배지역 영상 분석과정을 보여준다.

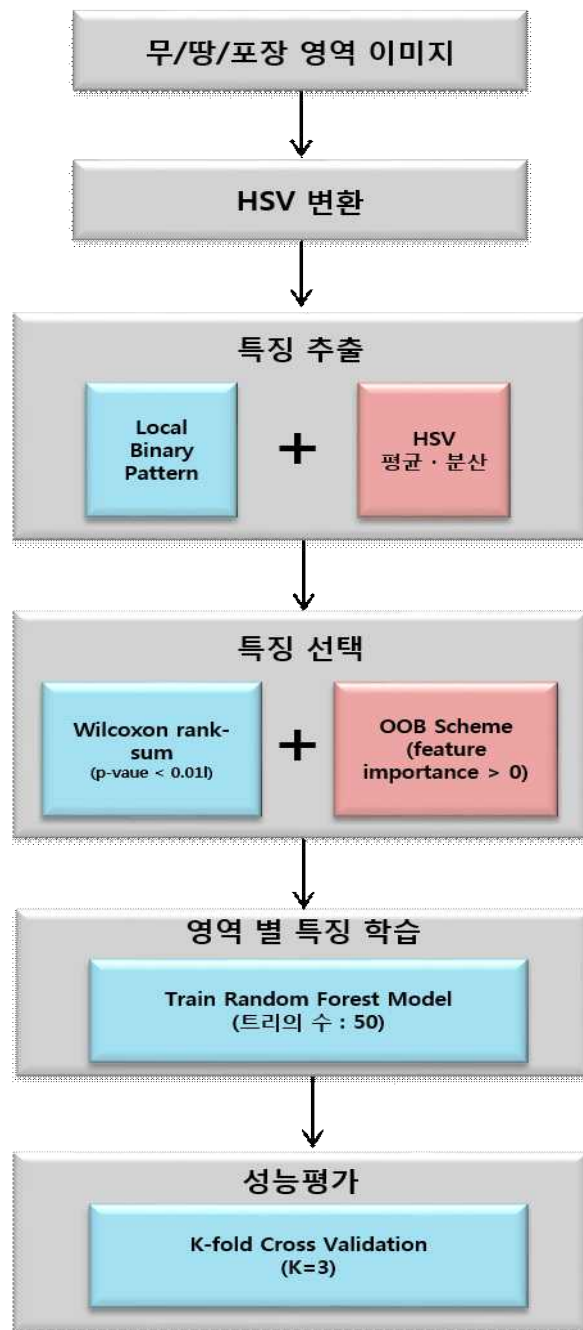
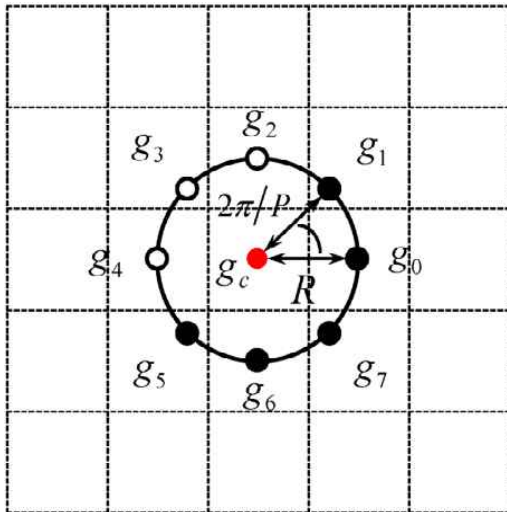


그림 59. 무 재배지역 영상 분석과정

- 무 재배지 영역 특징 추출 및 선택

무 재배지의 영역들을 분석하기 위해 RGB 색상 공간에서 HSV(색조, 채도, 값) 색상 공간으로 변환하여 픽셀 및 질감 특징을 추출한다. 픽셀 값 특징은 평균 및 표준편차를 이용하여 특징을 추출하였고 Local Binary Pattern(LBP) 분석을 통해 질감특징을 추출하였다.

LBP 기반의 질감 특징 분석 방법은 분석속도가 빠르며 크기, 회전, 조명변화에 강인하다는 장점이 있어 무 재배지 영역분석에 적합하다. 아래의 그림은 LBP 특징의 계산 과정을 보여준다.



- $LBP_{8,1} = s(g_0 - g_c)2^0 + s(g_1 - g_c)2^1 + s(g_2 - g_c)2^2 + s(g_3 - g_c)2^3 + s(g_4 - g_c)2^4 + s(g_5 - g_c)2^5 + s(g_6 - g_c)2^6 + s(g_7 - g_c)2^7 = 00011100_2 = 28$
- $LBP_{8,1}^{ri} = 00000111_2 = 7$
- $LBP_{8,1}^{riu2} = 3$

그림 60. LBP 계산과정

이처럼 픽셀 값 및 질감 특징에 기반하여 무 재배지 영역에 따른 특징을 추출하였으며 약 70만개의 특징이 추출되었다. 하지만 70만개의 특징을 모두 사용하게 되면 분석의 정확도가 떨어지므로 유효한 특징을 선택해서 사용해야 할 필요성이 있다. 유효한 특징을 선택하기 위해서 Wilcoxon rank - sum Text, Adopting out-of-bag(OOB) scheme을 적용하였고 약 3000개의 주요한 특징을 선택하여 영역에 따른 특징을 분석하였다.

- 무 재배지 영역 분류 및 결과

앞서 추출한 주요한 특징을 이용하여 기계학습 기반의 알고리즘인 Random Forest 모델을 학습하였고 무 재배지 영역을 분류하였다. 또한 학습한 Random Forest 모델의 성능을 평가하기 위해 K-fold cross validation을 통해 학습된 Random Forest 모델의 성능을 평가하였다.

Random Forests 모델의 학습을 위해 50개의 트리를 사용하였으며 검증에 사용된 K-fold cross validation은 k=3으로 설정하여 성능을 평가하였다. 아래의 표는 무/땅/포장 영역의 분류 결과를 나타낸다. 각각 95% 이상의 정확성을 보이는 것으로 확인되었다.

Class/ Prediction	무	땅	포장
무	98.9%	0.3%	0.8%
땅	1.9%	95.8%	2.4%
포장	0.0%	3.4%	96.6%

- 시들음 병 영상 데이터 분석

무 재배지역에서 발생한 무 시들음 병의 특징을 분석하기 위해 기계학습 기반의 알고리즘과 딥 러닝 기반의 알고리즘을 사용하였다. 기계학습 기반의 알고리즘은 앞서 무/땅/포장 영역을 분석하기 위해 사용된 동일한 알고리즘을 적용하였으며 딥 러닝 기반의 알고리즘은 Convolutional Neural Network 모델을 적용하여 무 시들음 병 영상을 분석하였다.

시들음 병을 분석하기 위하여 정상 무/ 시들음 병 무 각각 920장, 1177장의 이미지를 사용하였다. 시들음 병 분석은 정상 무/시들음 병 무 두 가지의 특징을 분석하였다. 무/땅/포장 영역 분석을 위해 사용한 동일한 기계학습 기반의 알고리즘을 적용한 결과 아래의 표와 같은 결과를 보였다. 무/땅/포장 영역 분류의 경우 모두 95%이상의 정확성을 보였지만 정상 무/시들음 병 무 분류의 경우 약 85%의 정확성을 보인다. 이는 시들음 병 분석을 위해 기계학습 기반의 알고리즘이 적절하지 않다는 것을 의미하며 개선이 필요하다는 것을 알 수 있다.

Class/ Prediction	정상	시들음 병
정상	85.4 %	14.6%
시들음 병	13.1%	86.9 %

- 딥 러닝 기반의 무 시들음 병 데이터 분석

딥 러닝 기반의 무 시들음 병의 특징을 추출하고 분류하기 위해 딥 러닝 기반의 Convolutional Neural Network(CNN) 모델을 사용하여 분석하였다. 아래의 그림은 시들음 병 분석에 사용된 CNN 모델이다.

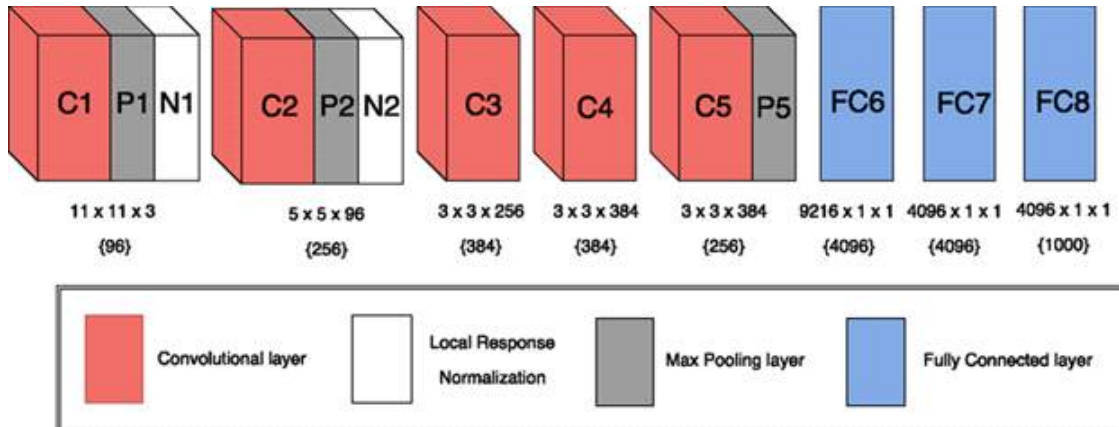


그림 61. Convolutional Neural Network 모델

정상 무/ 시들음 무 각각 920장, 1177장의 이미지를 사용하여 모델을 학습하였다. 또한 첫 번째 Convolution 단계에서 생성되는 Feature Map을 시각화 하여 학습에 사용되는 파라미터를 조정하여 최적의 성능을 보이도록 하였다.

아래의 그림은 정상 무/시들음 병 무 영상의 Feature Map을 시각화 한 결과이다. 붉은 색을 보일수록 강한 특징을 의미하며 정상 및 병 정도에 따라 활성화 되는 특징이 차이가 있음을 알 수 있다.

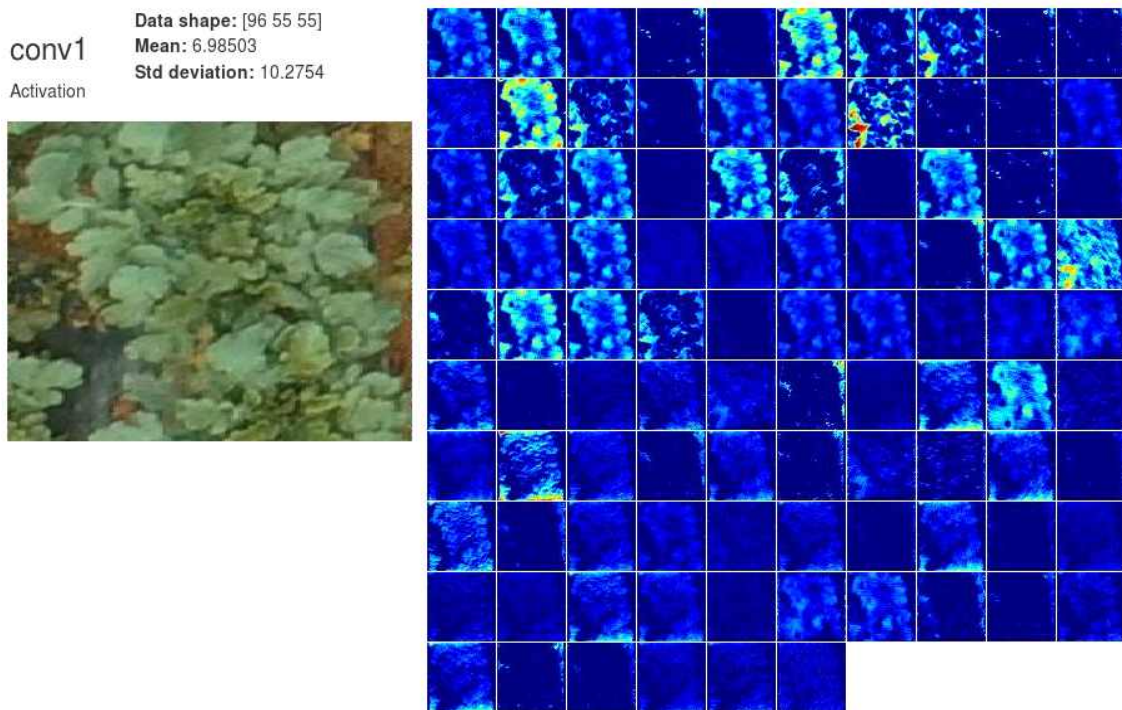


그림 62. 정상 무의 특징 시각화 결과

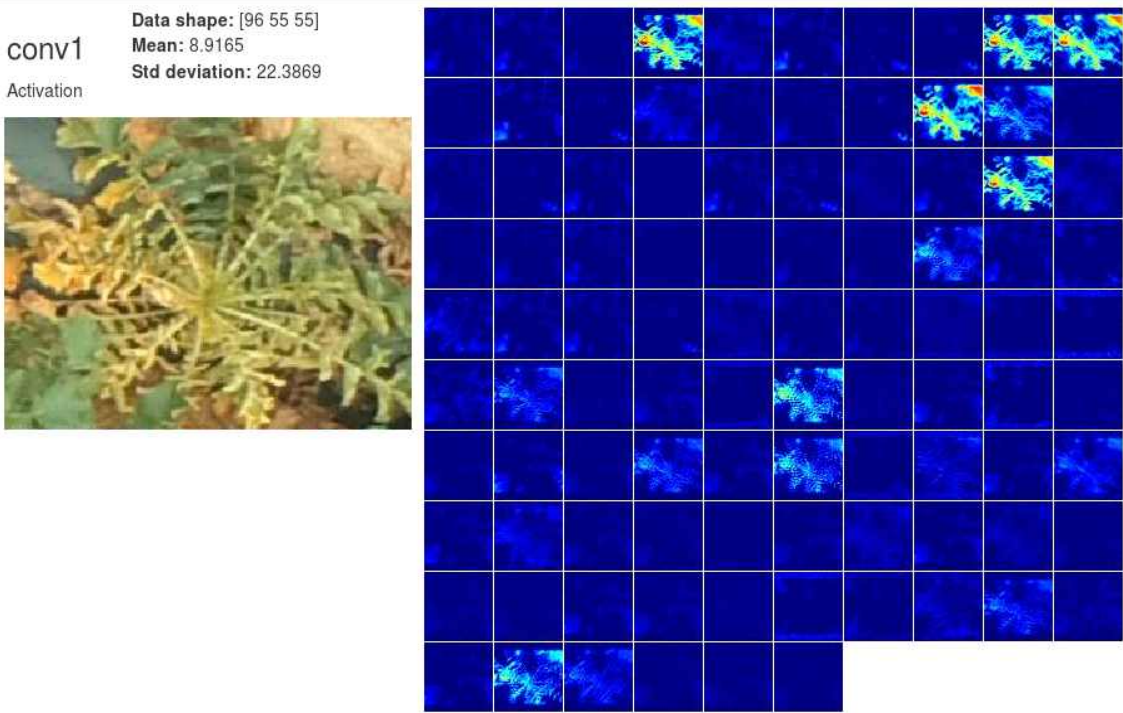


그림 63. 초기 시들음 병 무의 특징 시각화 결과

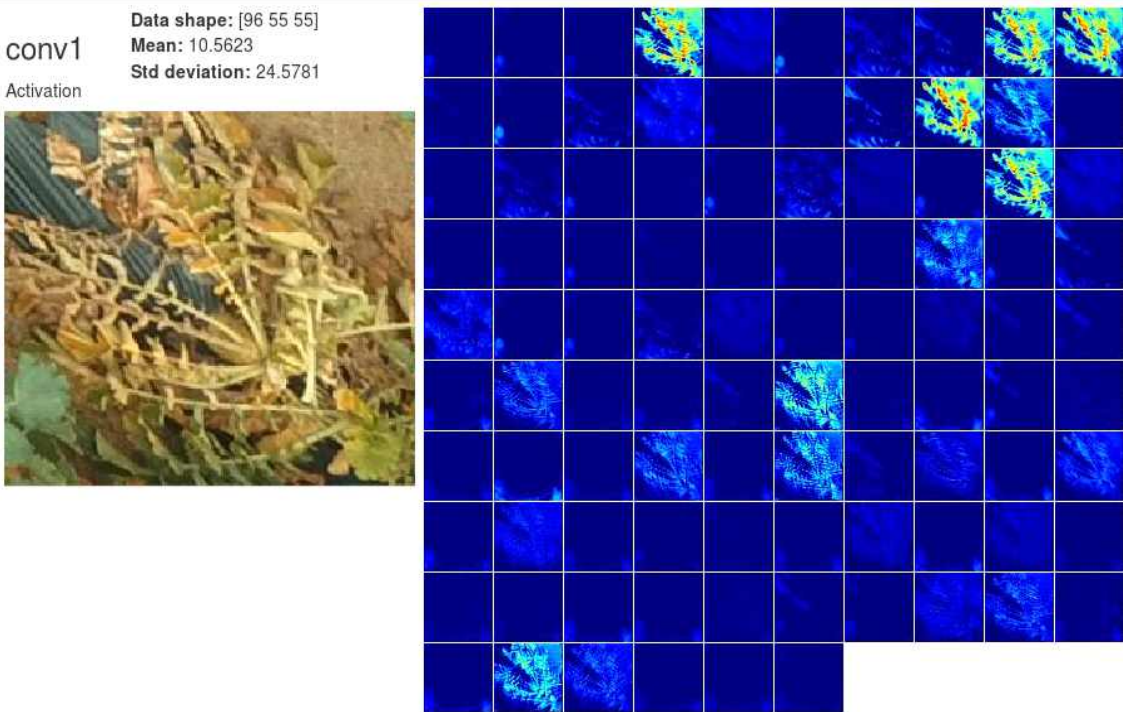


그림 64. 중기 시들음 병 무의 특징 시각화 결과

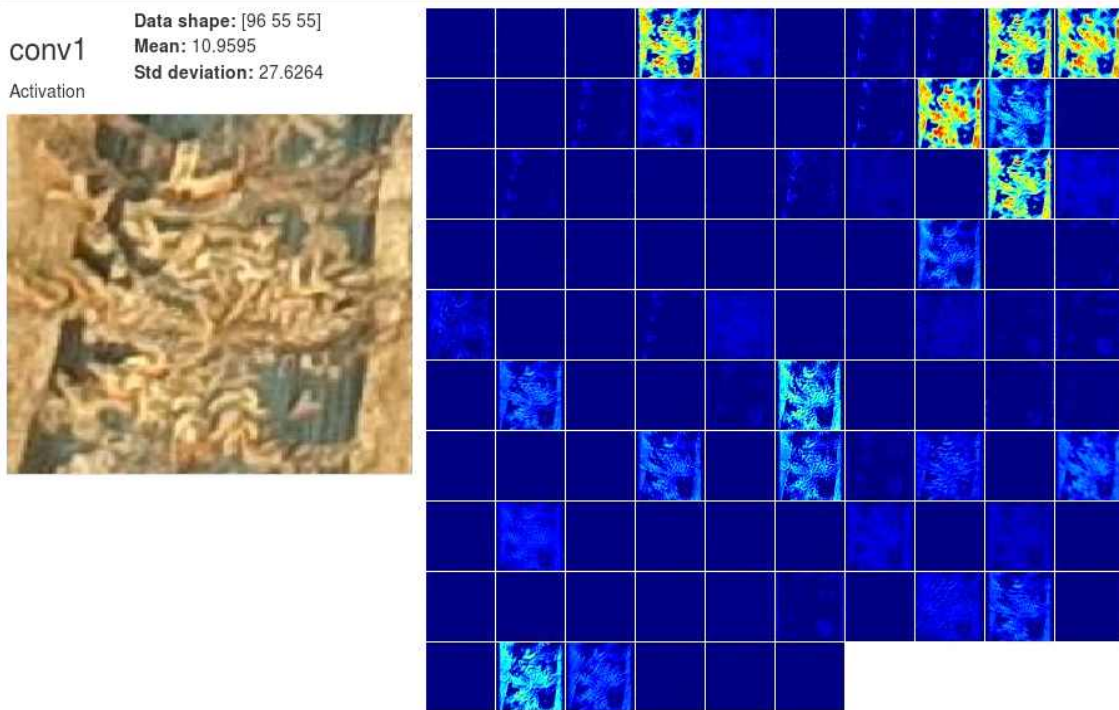


그림 65. 후기 시들음 병 무의 특징 시각화 결과

최종적으로 정상 무/시들음 병 무 분류 결과 아래의 표와 같은 결과를 얻었다. 이는 기계학습 기반의 분석방법 보다 각각 약 10%이상의 정확도가 향상된 것을 확인할 수 있었고, 딥 러닝 기반의 분석 방법이 시들음 병 분석에 더욱 적합하다는 것을 알 수 있다.

Class/ Prediction	정상	시들음 병
정상	94.1%	5.9%
시들음 병	0.7%	99.3%

나. 2년차 (2017년)

(1) 개발 목표

- 무인기 운용 및 영상 데이터베이스 확보 : 무 재배지에서의 무인기 운용 방안과 대지역 고화질 영상 데이터베이스 확보
- 무 시들음병 데이터베이스 구축: 무인기 운용 시 다양한 환경적 변화 요인을 감안하여 영상을 촬영하고 구축
- 무 시들음병 영상 데이터 분석: 무 시들음병 탐지에 유용한 영상 특징과 패턴을 찾음

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 가시광선 및 근 적외선(NDVI) 영상 데이터베이스 구축

(나) 무 시들음병 탐지 알고리즘 구현

- ① Neural Network 과 Deep Learning
- ② NDVI 수치 시각화
- ③ 딥 러닝을 이용한 무밭 이미지 영역화 테스트
- ④ 딥 러닝 모델

(3) 연구결과

(가) 가시광선 및 근 적외선(NDVI) 영상 데이터베이스 구축

제주도, 홍천, 장호원 지역 무 재배지와 실험실의 시들음 병 무 영상을 획득하였다.

RGB 카메라 드론과, NIR(근 적외선) 렌즈의 드론, UV 필터, DSLR 카메라 등 다양한 장비들로 영상을 획득 하였으며 그 결과는 아래 표와 같다.

촬영일자	촬영지	촬영 높이	RGB 영상	UV필터 영상	NIR 영상
2017-01-20	제주도	3m, 5m ,7m 10m, 20m	1266 장	N/A	857 장
2017-08-01	홍천	10m	1043장	N/A	743 장
2017-09-07	홍천	10m	1321 장	N/A	1053 장
2017-09-29	장호원	실험실	564 장	1044 장	1033 장
2017-10-10	장호원	실험실	703 장	1232 장	2118 장
합계			4897 장	2276 장	5804 장



그림 66. 근 적외선 렌즈로 획득한 무 재배지 영상 1

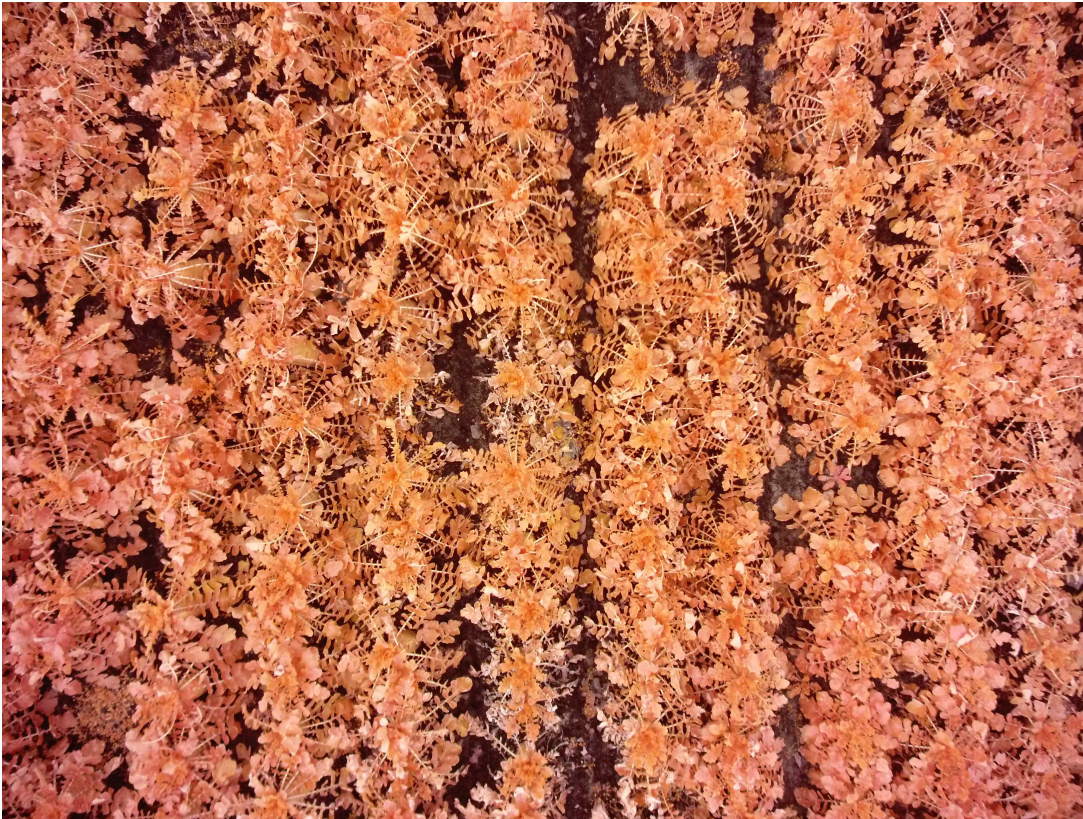


그림 67. 근 적외선 렌즈로 획득한 무 재배지 영상 2

(나) 무 시들음병 탐지 알고리즘 구현

딥 러닝 기반의 인공 신경망 모델을 구축하여 시들음 병 탐지 알고리즘 구현을 시도하였다.

- Neural Network 과 Deep Learning

인공 신경망은 생물학의 뇌 구조를 모방하여 수학적으로 모델링 한 것이다. 즉, 생물학적 신경세포의 정보처리 및 전달과정을 모방하여 구현한 것이다.

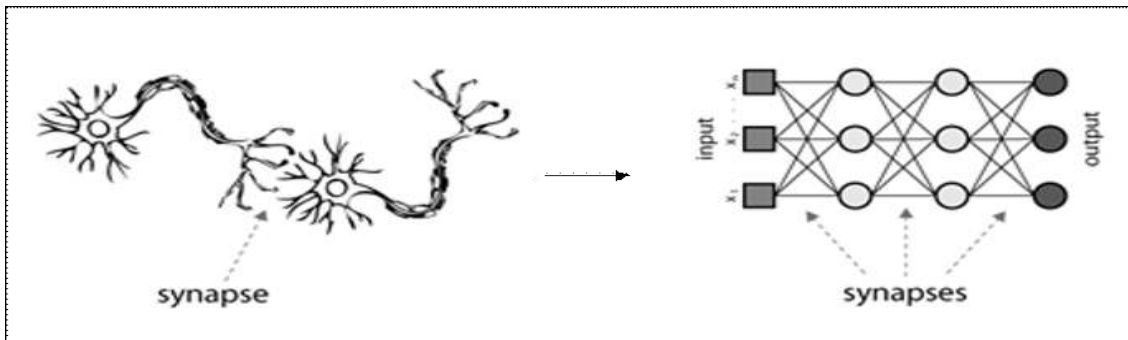


그림 68. 생물학적 신경망과 인공신경망

신경세포의 입력은 다수이고 출력은 하나이며, 여러 신경세포로부터 전달되어 온 신호들은 합산되어 출력한다. 합산된 값이 설정 값에 따라 출력신호를 생성하게 된다.

최근에 각광받고 있는 Deep Learning 연구분야에 주로 사용되는 Convolutional Neural Network (CNN) 은 동물의 시각 처리과정을 모방해 만든 Neocognitron이다. 기울기 기반 학습알고리즘을 성공적으로 적용함으로써 현실적인 문제에 널리 사용되기 시작했다.

CNN의 구조를 보여준다. CNN은 컨볼루션 계층, 특징 계층 그리고 분류 계층 등 세 가지 다른 종류의 계층으로 구성된다. 하위 및 중간 계층들은 컨볼루션 및 특징 통합 계층으로 교차적으로 구성되어 특징을 추출하고 추상화 한다.

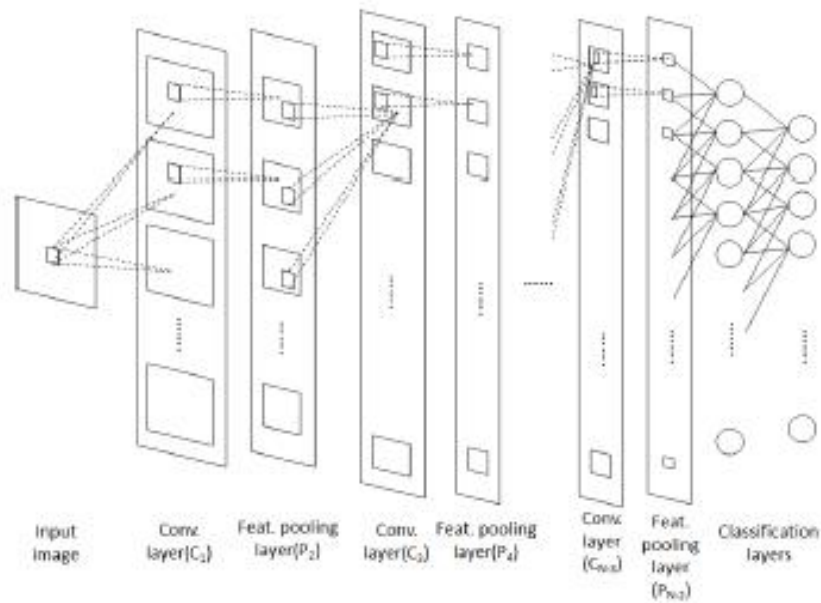


그림 69. CNN의 계층 구조

최상위 2~3개 계층은 분류 계층으로 구성되며, 선행 계층들이 추출한 고수준 특징으로부터 인식 결과를 도출한다.

CNN의 구조는 시각 인식을 모방하여 설계되었으므로 영상 인식에 매우 적합하다. 컨볼루션 계층은 2차원적인 특징을 학습하는데 효과적이며 최대치 톨함 계층은 특징벡터의 차원을 축소함으로써 계산량을 줄일 뿐 아니라, 특징이 추출된 위치의 작은 변화를 무시함으로써 입력 패턴의 형태 변이를 흡수한다. 따라서 CNN은 고수준 특징을 효과적으로 학습하면서도 형태 변이에도 강인하다는 장점이 있다.

- NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) 개요

- ㉠ 반사 된 가시 광선과 근적외선(Near-infrared)을 측정하여 식물의 건강 상태를 수치화
- ㉡ 식물 잎의 엽록소는 광합성을 위해 가시 광선 (0.4-0.7 im)을 흡수하고 근적외선 (0.7-0.1 im) 은 반사
- ㉢ 활성 식물 (건강한)은 많은 가시 광선을 흡수하고 근적외선의 많은 부분을 반사

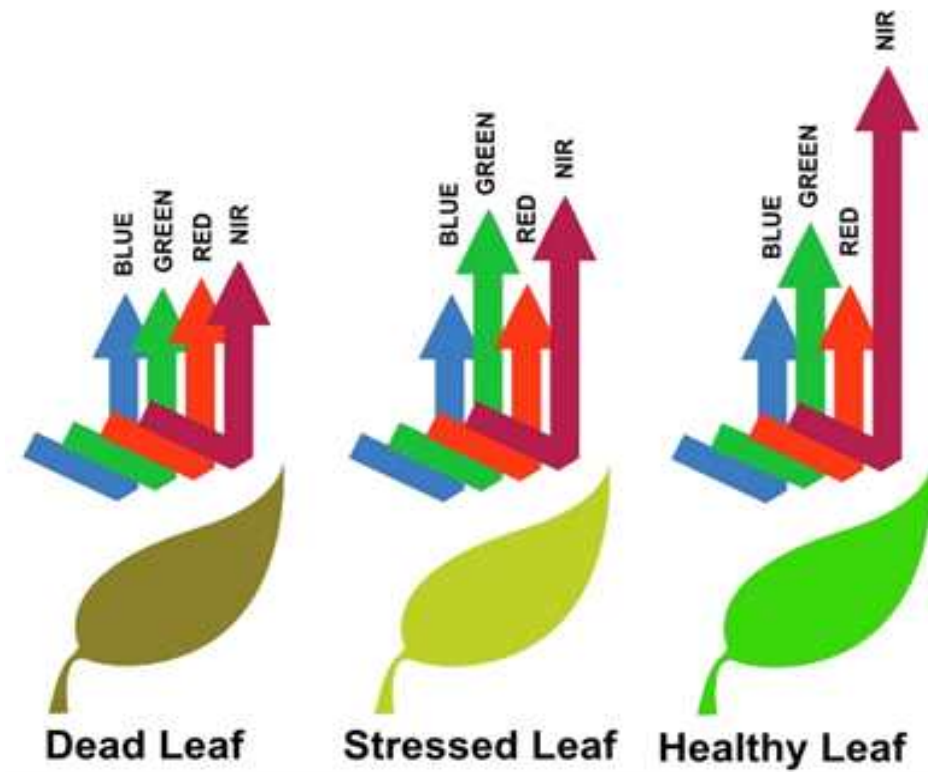


그림 70. 식물의 건강상태와 반사되는 광선

- NDVI 변환 공식

- ㉠ 반사된 적외선에서 가시 광선을 뺀 값을 합 한 값으로 나눔
- ㉡ 가시광선의 Red 값을 이용한 Red NDVI와 Blue 값을 이용한 Blue NDVI가 있음
- ㉢ 현재 보유 데이터는 Blue NDVI 값만 사용 가능

$$\text{NDVI}_{\text{red}} = \frac{(\text{NIR} - \text{RED})}{(\text{NIR} + \text{RED})}$$

$$\text{NDVI}_{\text{blue}} = \frac{(\text{NIR} - \text{BLUE})}{(\text{NIR} + \text{BLUE})}$$

그림 71. NDVI 공식

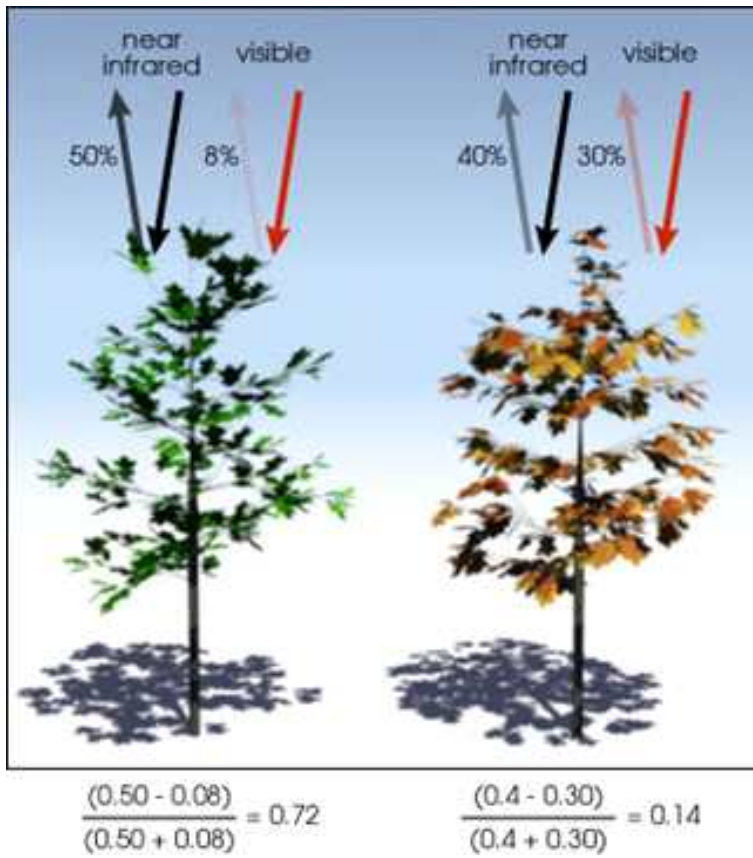


그림 72. NDVI 값 예시

- NDVI 카메라 개요

- ㉔ 근적외선 영상 획득을 위하여 근적외선 카메라가 부착된 드론 구비
- ㉕ 드론의 카메라는 NDVI-7 렌즈를 장착



그림 73. 드론의 근적외선
카메라

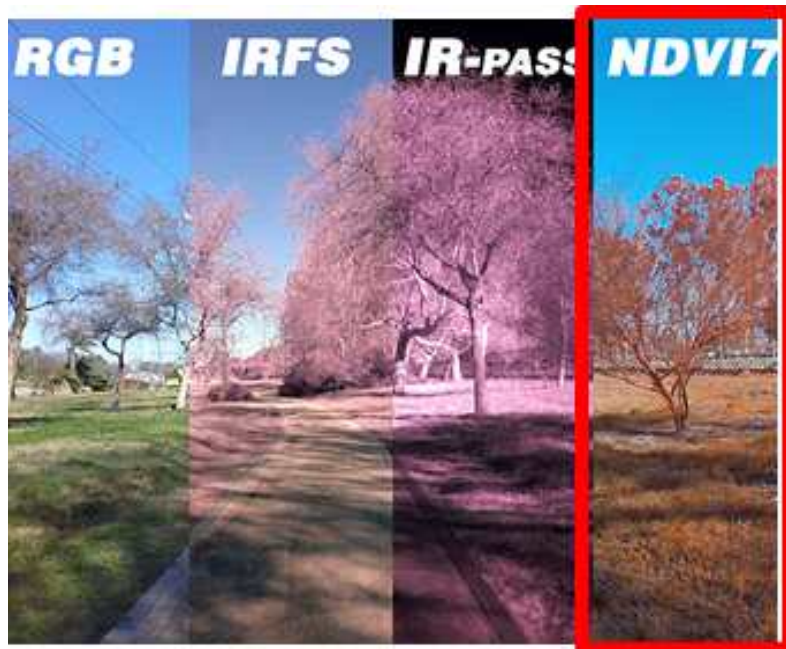


그림 74. 다양한 적외선 렌즈

- NDVI -7 렌즈 특징
 - ㉠ Blue/Green/NIR(680-800nm)
 - ㉡ 가시광선의 Red 값 대신 NIR 값 획득

Custom NDVI-7 Cameras

IRpro NDVI-7 (Blue/Green+NIR 680-800nm) better than (Red+NIR)

그림 75. NDVI7 렌즈의 범위

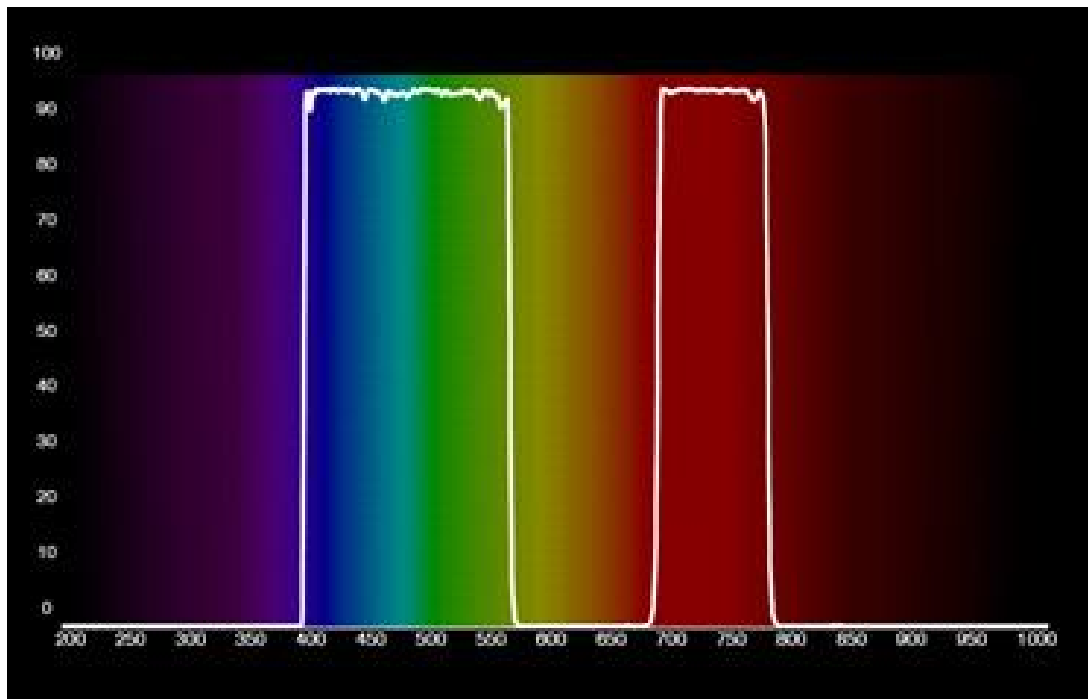
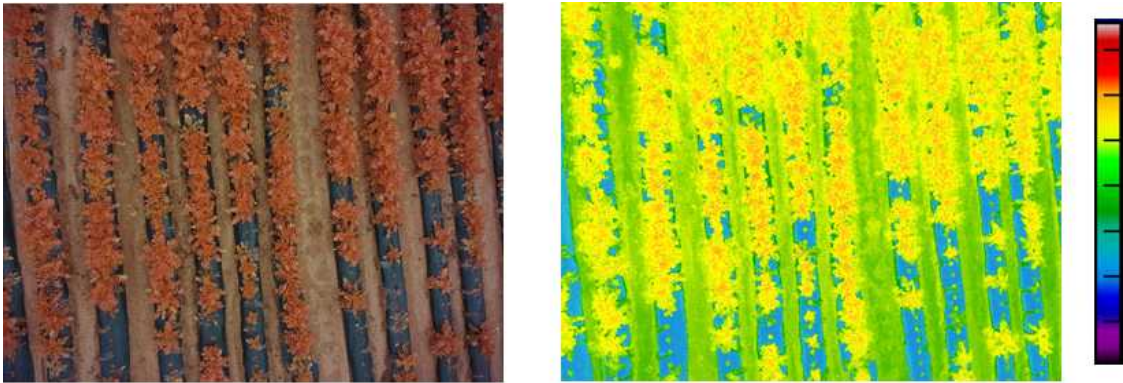


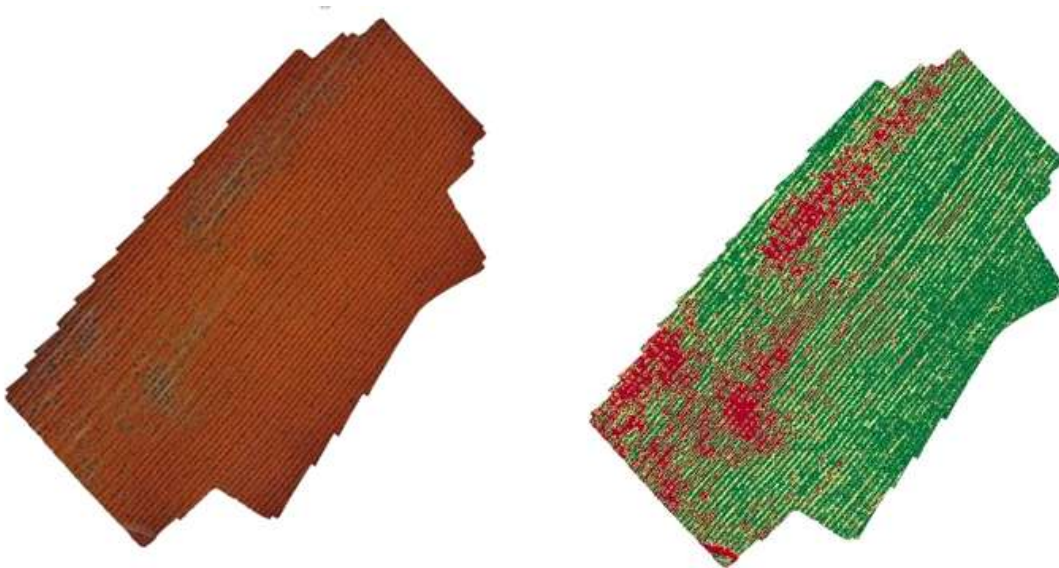
그림 76. NDVI7 렌즈의 범위 그래프

- NDVI 수치 시각화

- ㉠ NDVI 수치를 시각화를 지원하는 웹 서비스들 존재
- ㉡ Infragram : 하나의 이미지를 시각화
- ㉢ Drone Deploy : 여러 이미지를 병합하여 시각화



Infragram 시각화 예



Drone Deploy 시각화(NDVI) 예

- 딥 러닝을 이용한 무밭 이미지 영역화 테스트

㉠ 데이터 세트

RGB

3000 x 4000 가시광선 영역 이미지 11개

212 x 212(U-Net 지원하는 사이즈) 크기로 자른 이미지

Training set 2308개/Test set 256 개

NIR

3000 x 4000 NDVI 이미지 1장

회전 및 무작위 자르기로 데이터 확대 이후 212x212 크기로 자름

Training set 3400개/ Test set 200 개

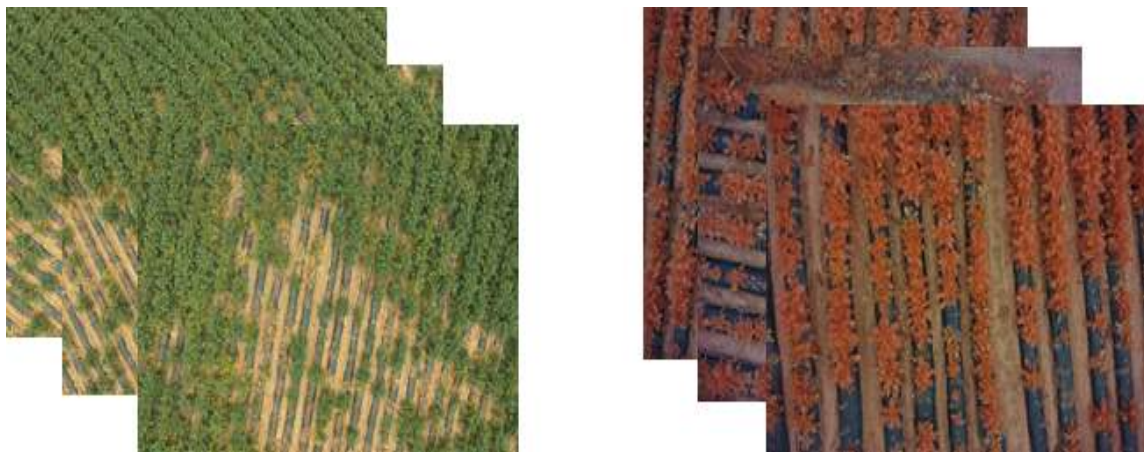


그림 77. 테스트에 사용된 영상

- 딥 러닝 모델

U-net (영역화용 CNN 모델)

19개의 컨볼루션 레이어, 4개의 최대 풀링 레이어, 4개의 상향 컨볼루션 레이어로 구성

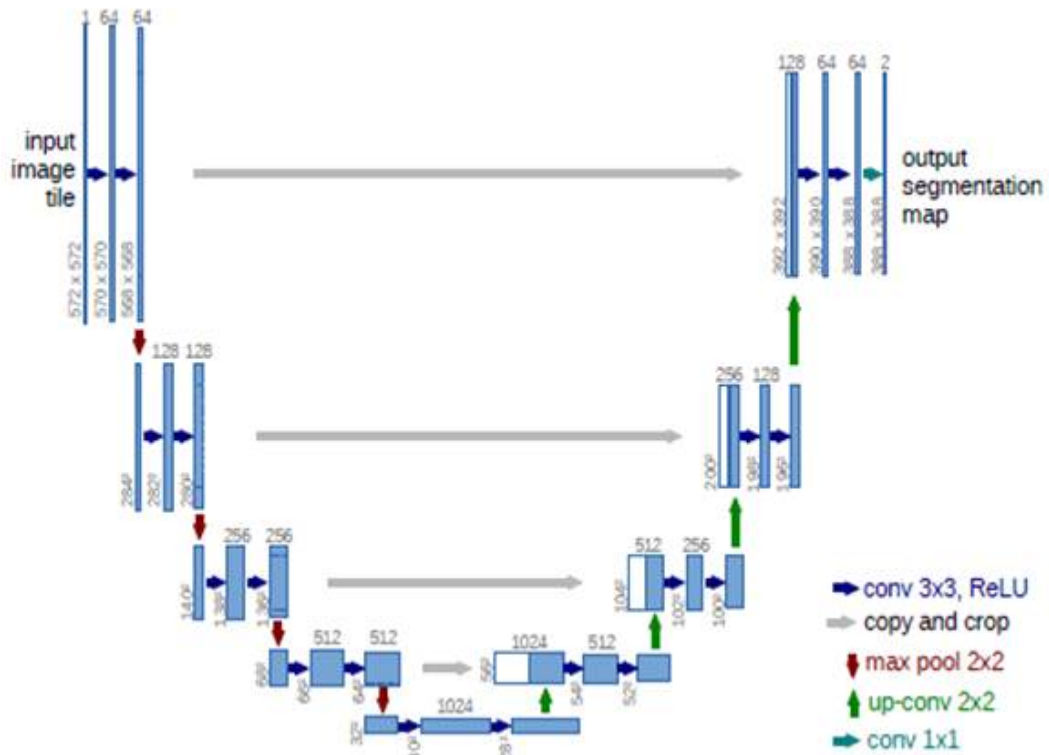
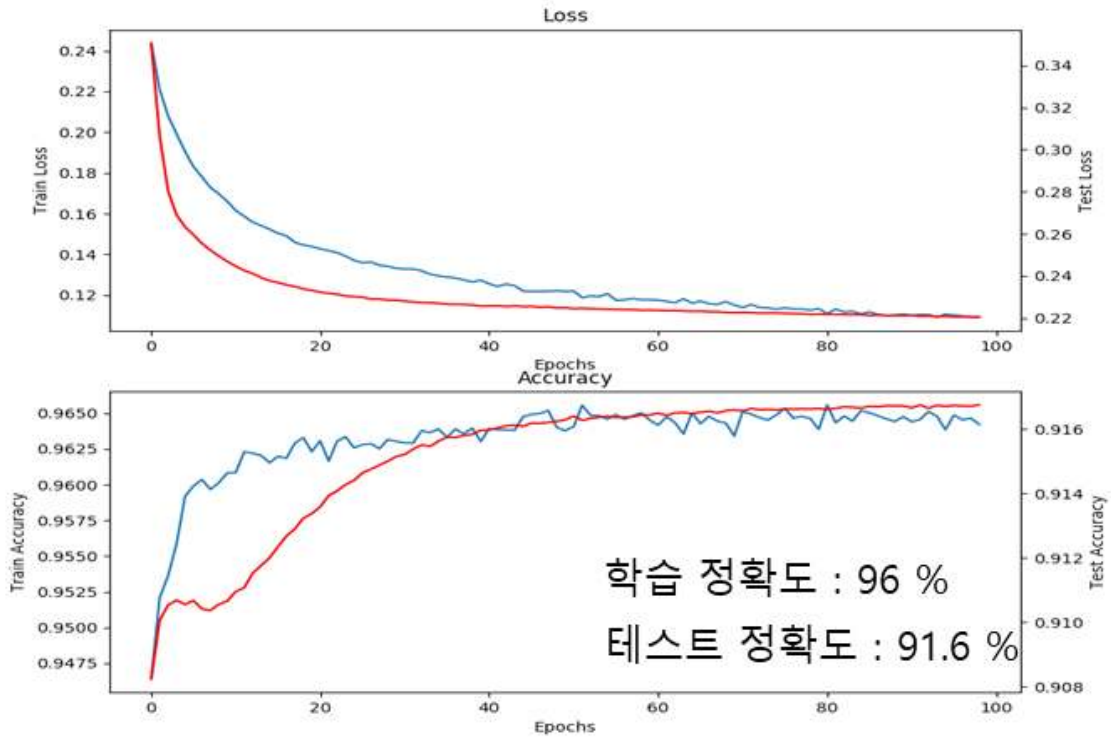
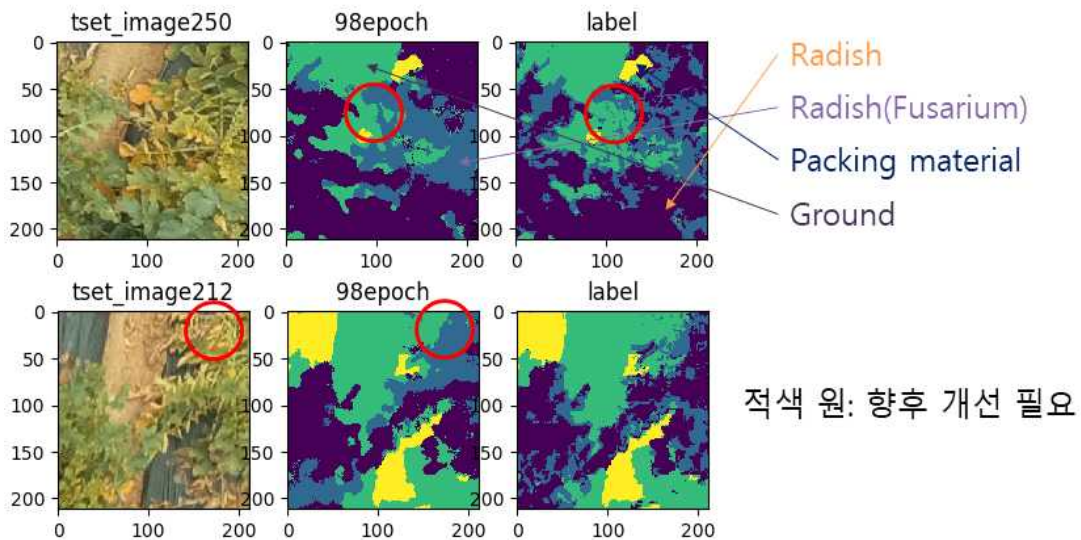


그림 78. U-Net 구조

- 가시광선 영역 이미지 영역화 결과

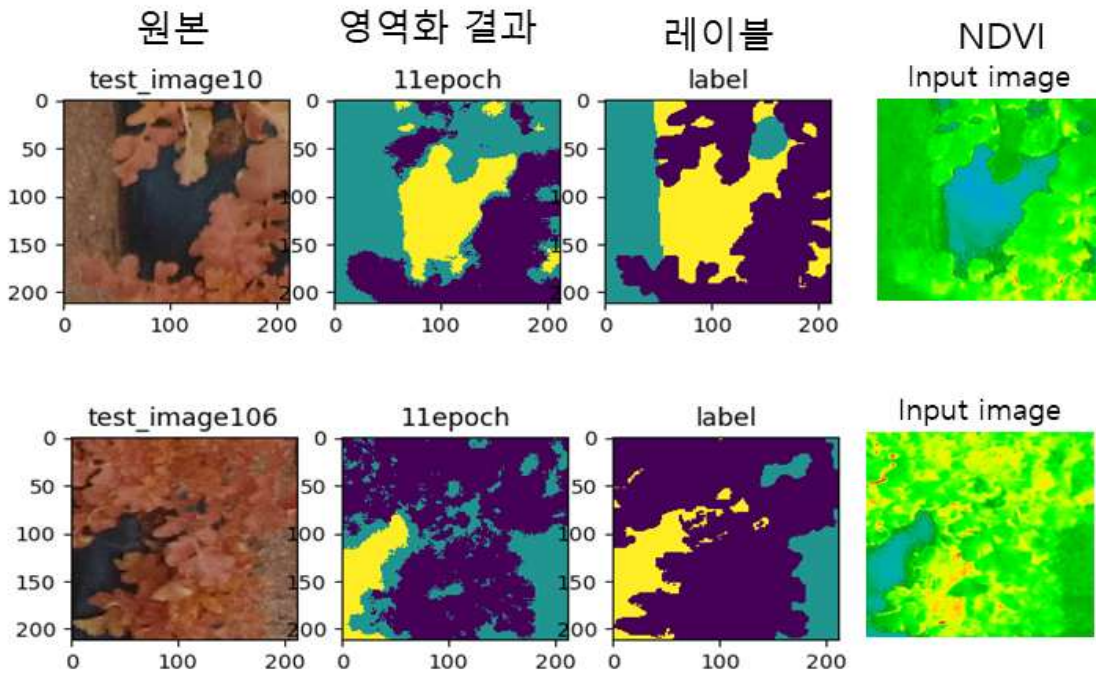
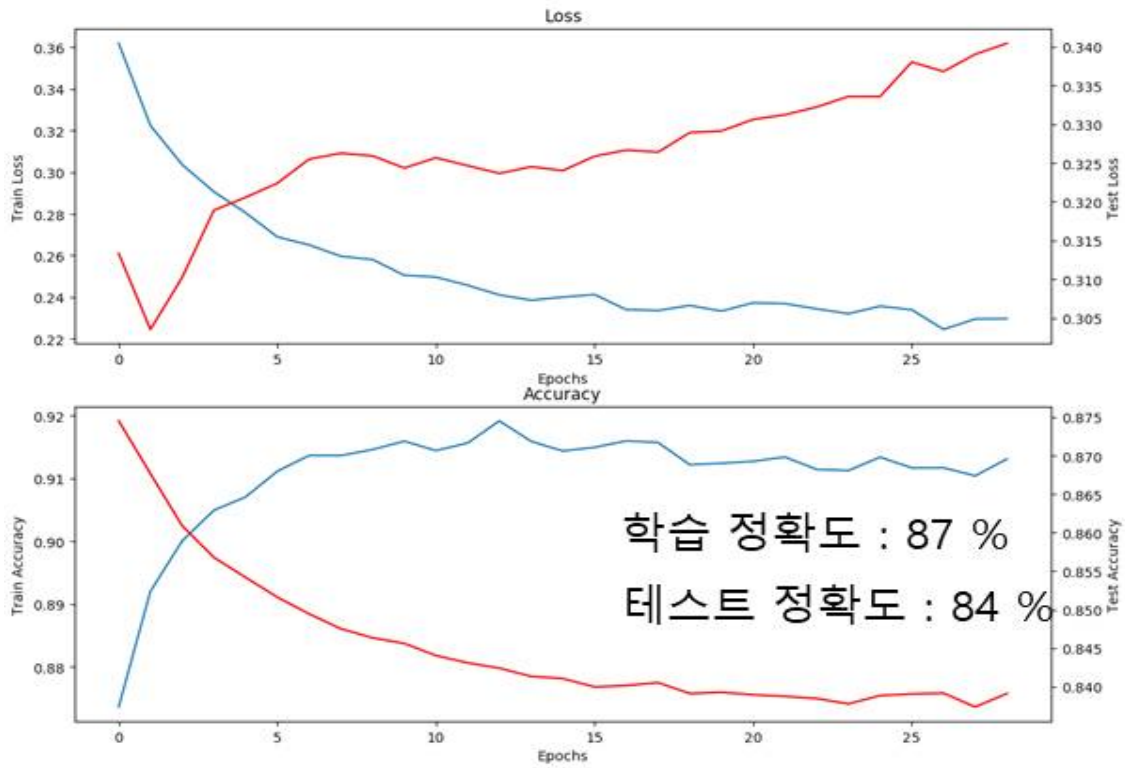


원본 영역화 결과 레이블



시들은 무와 땅의 영상 정보가 유사함 :
분류를 위한 다양한 알고리즘 적용 및 테스트 필요

- NDVI 이미지 영역화 결과



데이터 세트의 레이블링 문제 : 인식을 저하
 데이터 세트 점검 및 추가 학습용 데이터 필요

다. 3년차 (2018년)

(1) 개발 목표

- 무인기 운용 및 영상 데이터베이스 확보 : 무 재배지에서의 무인기 운용 방안과 대지역 고화질 영상 데이터베이스 확보
- 무 시들음병 데이터베이스 구축: 무인기 운용 시 다양한 환경적 변화 요인을 감안하여 영상을 촬영하고 구축
- 무 시들음병 영상 데이터 분석: 무 시들음병 탐지에 유용한 영상 특징과 패턴을 찾음

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 무 시들음병 데이터 추가 확보

(나) SURF 알고리즘을 활용한 영상 스티칭 기술 연구

- SURF 알고리즘

(다) 무 시들음병 탐지 알고리즘 연구

① 슈퍼픽셀 기반의 딥러닝을 활용한 무발 영역 분류 및 시들음병 탐지 연구

- 슈퍼픽셀(Superpixels) 알고리즘

㉠ SLIC Algorithm

㉡ Distance measure

㉢ 무 발 영상에서 슈퍼픽셀 알고리즘 적용

- 슈퍼픽셀 기반의 딥러닝 분류 모델 테스트

㉣ 데이터 셋

㉤ 딥러닝 모델 테스트

② HSV 색상영역 기반 K-Means 알고리즘을 활용한 무 시들음병 영역 추출 시스템 및 추출

- HSV 기반 영역 추출 소프트웨어 구현

- K-Means 알고리즘을 활용한 무 시들음병 추출

㉦ k-means 알고리즘

㉧ 시들음병 예상 지역에 k-means 알고리즘 적용

(3) 연구결과

(가) 무 시들음병 데이터 추가 확보

시들음병 탐지 및 분석 연구를 위하여 강원도 홍천의 무 재배지역을 드론을 이용하여 촬영하였다. 5m 높이로 RGB와 NDVI 카메라를 활용하였으며 재배지 면적, 자연광 등 다양한 요소를 고려하여 데이터베이스를 구축하였다.



그림 79. 드론을 이용한 무 재배치 촬영 모습



그림 80. 드론으로 촬영한 무 재배지

촬영일자	촬영지	촬영 높이	RGB 영상	NDVI 영상
18.09.18	홍천	5m	781	279

(나) SURF 알고리즘을 활용한 영상 스티칭 기술 연구

드론으로 촬영한 국부적인 무 재배지 영상을 하나의 대면적으로 구현하였다. 무 재배지를 한 장의 대면적 영상으로 분석 및 시들음병을 탐지 할 수 있는 환경을 제공하며, 이러한 대면적의 시계열 데이터를 축적하면 병의 진행 방향까지 분석 가능할 것이다. 영상 정합은 OpenCV 라이브러리의 SURF(Speeded-Up Robust Features) 알고리즘을 사용하여 구현하였다.

- SURF 알고리즘

SURF 알고리즘은 2006년 Bay, H., Tuytelaars, T. 및 Van Gool, L이 “SURF : Speeded Up Robust Features” 라는 논문을 발표했다. 이 알고리즘은 SIFT(Scale-invariant feature transform)의 빠른 버전이다.

㉞ 스케일 공간 근사

SIFT에서 Lowe는 스케일 공간을 찾기 위해 Gaussian의 차이와 함께 Laplacian of Gaussian을 근사했다. SURF는 박스 필터로 LoG를 근사한다. 아래 이미지는 그러한 근사 값을 보여준다. 이 근사법의 이점은 적분 이미지를 사용하여 상자 필터를 사용한 회선을 쉽게 계산할 수 있다는 것이다. 그리고 서로 다른 규모로 병렬적으로 수행 될 수 있다. 또한 SURF는 스케일과 위치 모두에 대해 헤센 행렬(Hessian Matrix)의 행렬식에 의존한다.

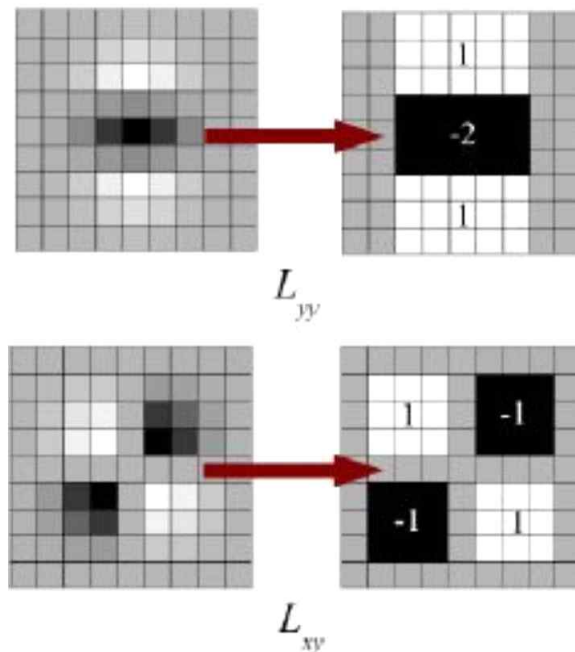


그림 81. SIFT(위)와 SURF(아래)의 스케일 공간 탐지 방법 차이

㉔ 방향 지정

방향 지정의 경우 SURF는 크기가 6인 인접에 대해 수평 및 수직 방향으로 웨이블릿 응답을 사용한다. 적절한 가이아스 웨이트도 적용된다. 그 결과로 아래 그림과 같이 공간이 그려진다. 효과적인 방향은 각도 60°의 슬라이딩 방향 윈도우 내에서 모든 응답의 합을 계산하여 추정하는 것이다. 주요한 것은 웨이블릿 응답은 어떤 스케일에서도 매우 쉽게 적분 이미지를 사용하여 찾을 수 있다는 것이다. 많은 응용 프로그램에서 회전 불변 값이 필요하지 않으므로 방향을 찾을 필요가 없으므로 처리 속도가 빨라진다.

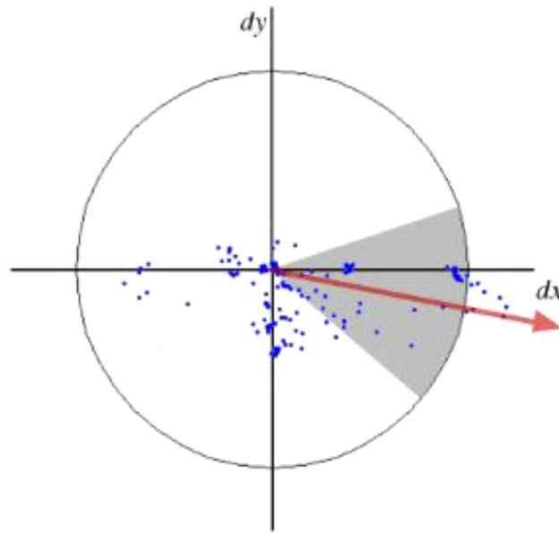


그림 82. SURF 방향 지정 범위

속도 향상을 위해 SURF는 수평 및 수직 방향으로 Wavelet 응답을 사용한다. 20sX20s 크기의 이웃은 s 크기 인 키 포인트를 중심으로 계산되고, 그것은 4x4 subregions로 나뉜다. 각 하위 영역에 대해 수평 및 수직 Wavelet 응답이 취해지고 벡터가 이와 같이 형성 된다.

$$v = (\sum d_x, \sum d_y, \sum |d_x|, \sum |d_y|) \quad \text{수식 (1)}$$

이것은 벡터로 표현 될 때 총 64차원의 SURF 피쳐 설명자를 제공한다. 차원을 낮추고 계산 속도와 일치 속도는 높아지지만 기능의 차별성을 향상시킨다.

좀 더 명확한 구별을 위해, SURF feature descriptor는 확장 된 128차원 버전을 가진다. d_x 와 $|d_x|$ 의 합계는 $d_y < 0$ 과 $|d_y|$ 에 대해 별도로 계산되며, d_y 와 $|d_y|$ 의 합은 d_x 와 분할되어 특징의 수를 두 배로 증가시킨다. OpenCV는 64-dim 및 128-dim 각각에 대해 0과 1로 확장된 플래그 값을 설정하여 두 가지 모두를 지원한다.

㉔ Laplacian 사인

SURF의 또 다른 중요한 개선점은 기본 관심 지점에 Laplacian 사인을 사용하는 것이다. 이미 탐지 중에 계산되기 때문에 계산 비용을 추가하지 않는다. 라플라시안 (Laplacian)의 표지판은 어두운 배경의 밝은 얼룩을 반대의 상황과 구별한다. 매칭 단계에서, 우리는 같은 유형의 콘트라스트 (아래 그림 참조)가 있는 경우에만 피쳐를 비교한다. 이 최소한의 정보만으로도 설명자의 성능을 저하시키지 않고도 더 빨리 일치시킬 수 있다.

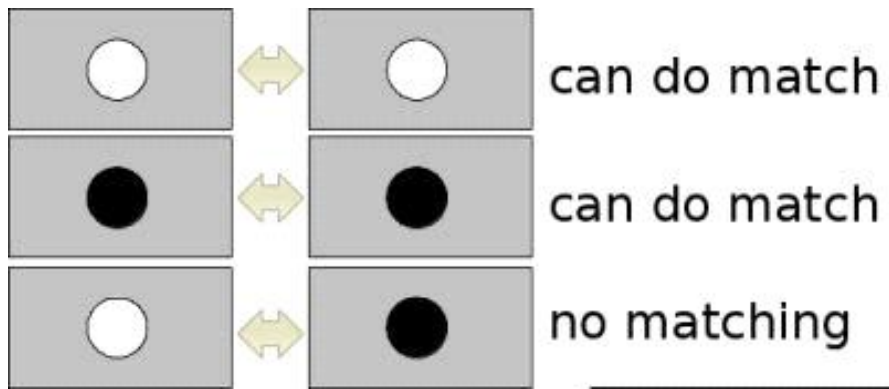


그림 83. Laplacian 사인 활용

- SURF 알고리즘을 활용한 무 재배지 영상 정합

아래는 SURF 알고리즘을 사용하여 10장의 국부적 영상을 한 개의 대면적으로 정합한 영상이며 차후 보유한 이미지들을 활용하여 대면적에서 시들음병 탐지를 진행할 것이다.

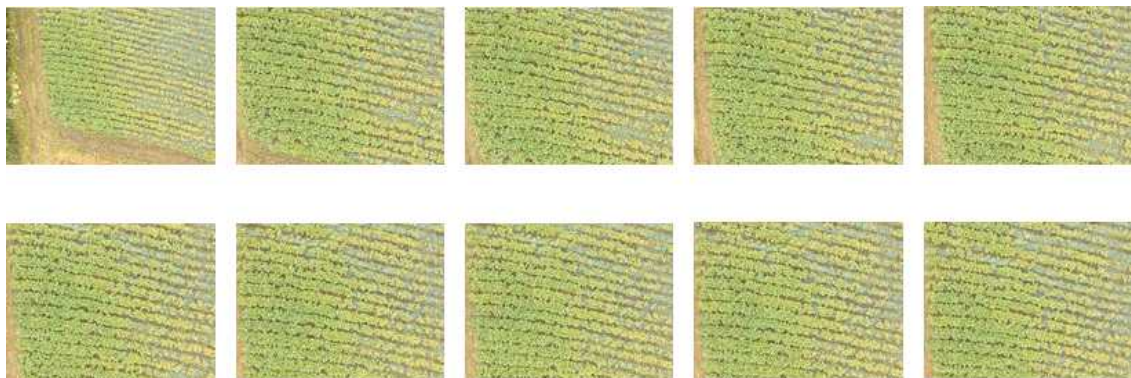


그림 84. 영상 정합에 사용된 국부적인 무 재배지 영상



그림 85. 성공적으로 수행된 정합 영상

(다) 무 시들음병 탐지 알고리즘 연구

- ① 슈퍼픽셀 기반의 딥러닝을 활용한 무밭 영역 분류 및 시들음병 탐지 연구
 인공지능을 활용한 분류 모델의 단점중 하나인 레이블링에 소요되는 시간을 감소하기 위하여 슈퍼픽셀(Superpixels) 알고리즘을 기반의 연구를 진행하였다. 슈퍼픽셀 알고리즘은 영상을 국소적으로 클러스터링하여 영역경계를 추출한다. 그렇게 나누어진 일정 영역을 하나의 특징으로 하여, 딥러닝 모듈로 분류하여였다.

- 슈퍼픽셀(Superpixels) 알고리즘

슈퍼픽셀은 영상분할 및 Object Tracking 분야에서 자주 사용되는 방법이다. 영상분할은 입력영상으로부터 물체에 해당하는 영역을 추출하는 과정으로 영상해석을 위한 필수적인 단계라고 할 수 있다. 이러한 영상분할을 하기 위한 접근방법으로는 화소기반(pixel-based), 영역기반(Area-based), 에지기반(edge-based) 분할방법으로 크게 나눌 수 있다.

슈퍼픽셀을 이용하여 원 영상에서특성이 비슷한 화소들을 묶음으로 표현할 수 있다. 슈퍼픽셀은 원영상을 특징이 비슷한 작은 균일한 영역으로 잘게 나누고 이 작은 영역들을 기본단위로 하여 영상처리를 하는데, 여기서 작게 나누어 진 균일영역을 슈퍼픽셀이라고 한다. 슈퍼픽셀은 밀집성(Compactness), 경계일치도(Boundary precision/recall), 과소분할(under segmentation)의 최소화, 균일성(uniformity) 등의 특징이 요구된다.

주의해야할 점은 슈퍼픽셀의 경계와 원영상에 있는 경계가 일치하지 않는

다면 슈퍼픽셀로부터 영상분할 후 물체를 인식할 때 정확한 경계를 검출할 수 없기 때문에 분할 후의 영상처리과정에 큰 영향을 미치게 된다.

슈퍼픽셀을 구하는 방법에 따라 그래프 기반 방법과 기울기 기반 방법이 있다. 기울기 기반 방법 중에는 Mean Shift, Turbopixel, Quick Shift, SLIC(simple linear iterative clustering) 등이 있다. 이는 영상의 기울기 값을 구하고 이를 기초로 하여 초기화소(Seed)를 정하고 각 화소에 대해 초기화소와의 유클리드 거리를 계산하여 성질이 비슷한 작은 영역으로 나누어 슈퍼픽셀을 구하는 방법이다. 잠깐 말하자면 SLIC 방법은 (L, a^*, b^*, x, y) 의 5차원 특징공간에서 슈퍼픽셀을 구하는 방법으로 복잡도가 $O(N)$ 로 상대적으로 고속 알고리즘이다.

㉔ SLIC Algorithm

가장 최근에 연구된 슈퍼픽셀 알고리즘이다. Radhakrishna Achanta의 SLIC (Simple linear iterative clustering) 방법은 k-means clustering 방법을 슈퍼픽셀 문제로 변형한 방법이다.

먼저 이미지 공간에서 k개의 클러스터 중심을 초기화하도록 하자. k는 유일하게 사용되는 파라미터로 생성할 슈퍼픽셀의 수를 나타낸다. 생성된 슈퍼픽셀은 가로 세로가 비슷한 크기를 갖게 되므로 각 슈퍼픽셀의 간격은 $S = \sqrt{N/k}$ 으로 계산할 수 있다. 따라서 클러스터 중심 $C_i = [l_i, a_i, b_i, x_i, y_i]$ 는 일정한 간격 S를 갖는 격자무늬의 위치와 CIELAB 공간에서의 픽셀 값으로 초기화한다. 그 뒤에 각 클러스터 중심에서 그래디언트가 가장 작은 위치로 중심을 이동시켜준다. 이것은 노이즈 때문에 슈퍼픽셀의 중심이 에지에 붙어있는 것을 방지하고자 함이다.

이미지의 모든 픽셀에 대하여, 그 픽셀에 영향을 끼칠 수 있는 클러스터 중 가장 거리가 가까운 클러스터로 레이블링을 한다. 이때 영향을 끼칠 수 있는 클러스터는 그 픽셀로부터 그 중심의 위치가 S 이내의 것들이다. 따라서 필요한 몇개의 클러스터만 계산하면 된다는 점이 k-means에 비해 속도가 향상될 수 있는 키포인트이다.

모든 픽셀들이 레이블이 할당되면, k-means에서와 같이 클러스터 i에 할당된 모든 픽셀들을 평균하여 새로운 클러스터 중심 $[labxy]^T$ 를 계산하여 갱신한다. 그리고 새로운 중심과 이전의 중심과의 L2 norm, E를 residual error로 정의한다.

위의 레이블링 할당과 갱신 단계를 반복하며 E가 수렴할 때까지 반복하도록 한다. 이를 10회 정도 반복하면 신뢰할만한 결과를 얻을 수 있다. 마지막으로 연결되지 못하고 동떨어진 픽셀을 근처 가까운 픽셀로 연결시켜주어 작업을 마무리한다.

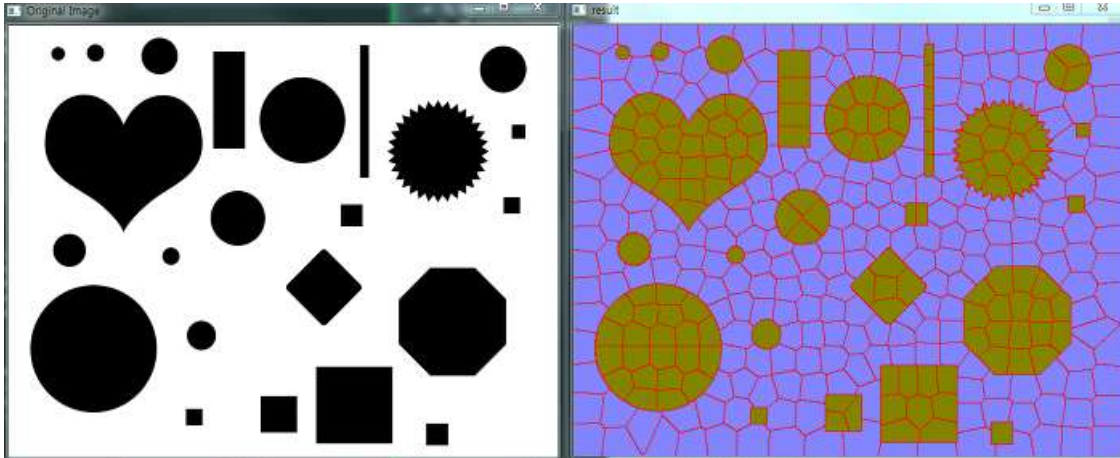


그림 86. 슈퍼픽셀을 이용한 객체 인식 예

④ Distance measure

클러스터와 픽셀의 거리 D 는 CIELAB 컬러 공간에서의 l, a, b 와 픽셀 위치의 x, y 를 사용한다. 하지만 픽셀 위치 차이는 이미지 크기에 영향을 받으므로 컬러 공간과의 스케일 차이가 발생한다. 따라서 두 가지를 통합하기 위해 가중치를 사용한다.

d_c 를 컬러 공간의 L2 norm, d_s 를 위치 공간에서의 L2 norm이라고 하고, D' 는,

$$D' = \sqrt{\left(\frac{dc}{Nc}\right)^2 + \left(\frac{ds}{S}\right)^2}$$

로 정의하여보자. 이 때, $N_s = S$ 이고, N_c 는 컬러 공간에서 가장 큰 거리이지만 이는 클러스터나 이미지마다 매우 다른 양상을 가진다. 따라서 위의 식을 변형하여,

$$D = \sqrt{d_c^2 + \left(\frac{ds}{S}\right)^2 m^2}$$

으로 정의하여, 컬러와 지역 거리 사이의 중요도의 비로 나타내도록 하자. 따라서 m 이 크다면 지역성이 강조되어 슈퍼픽셀은 compact해질 것이고, m 이 작으면 이미지 경계에 더 붙는 경향을 보일 것이다.

- 무 발 영상에서 슈퍼픽셀 알고리즘 적용

드론으로 획득한 강원도 지방의 무 재배지 영상에서 슈퍼픽셀 알고리즘을 적용하여 하였다.

영역화할 슈퍼픽셀 개수를 1000, 5000, 10000개로 적용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

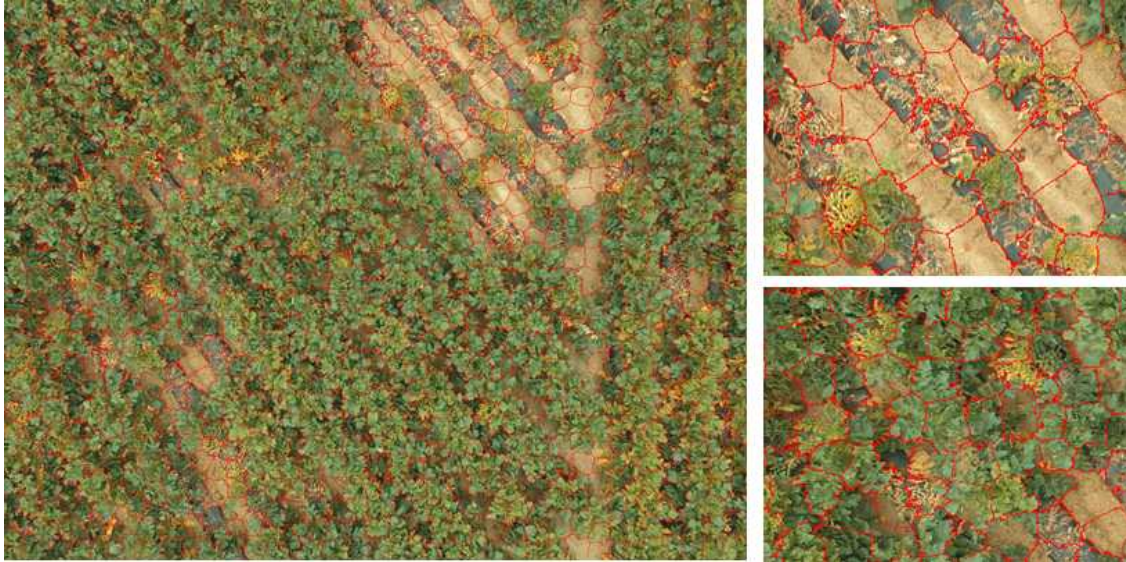


그림 87. 슈퍼픽셀 1000개 적용결과

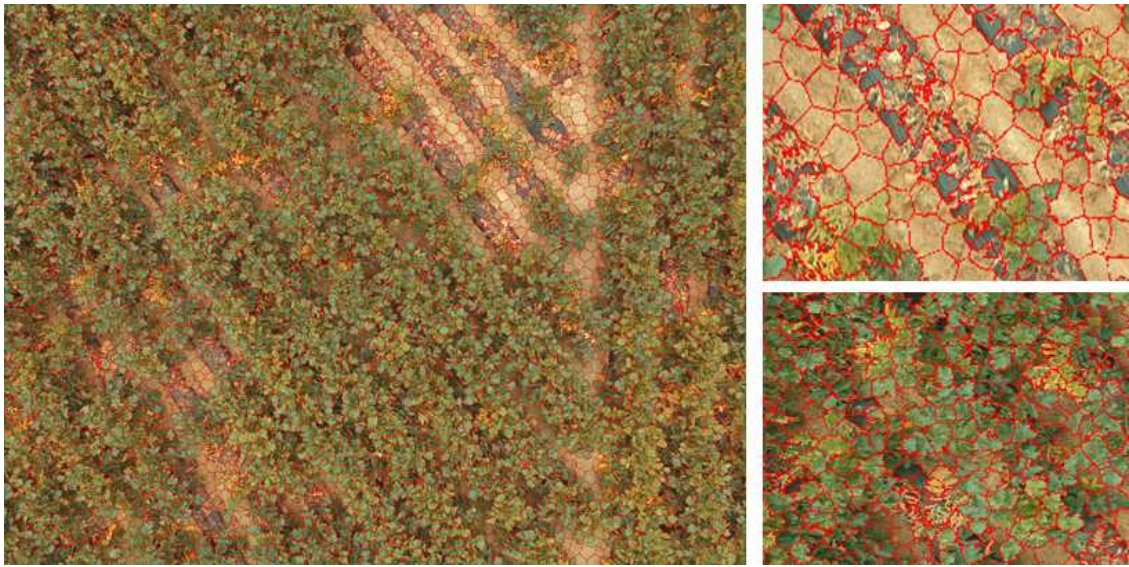


그림 88. 슈퍼픽셀 5000개 적용결과

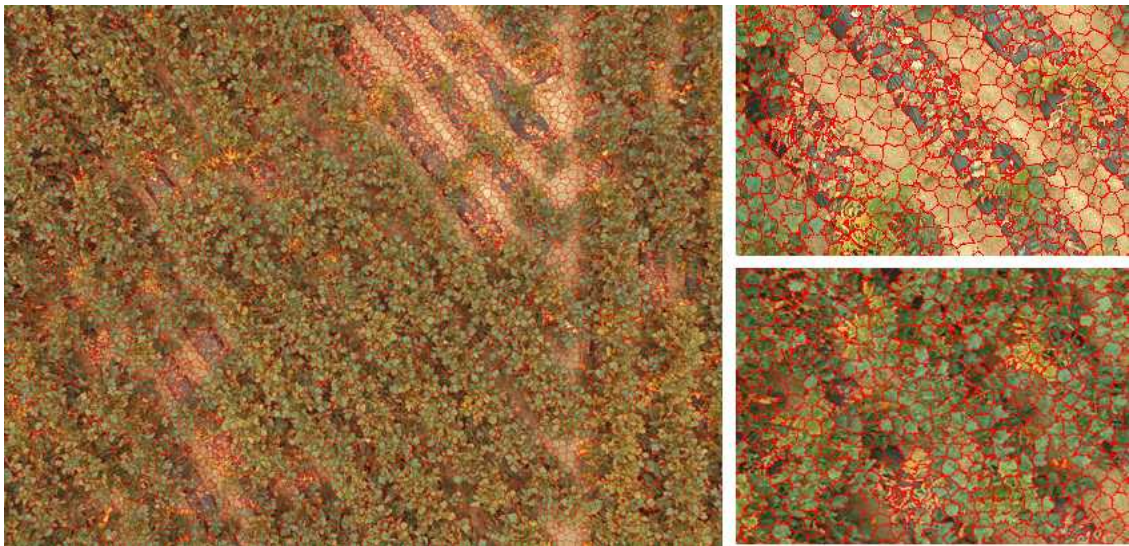


그림 89. 슈퍼픽셀 10000개 적용결과

- 슈퍼픽셀 기반의 딥러닝 분류 모델 테스트

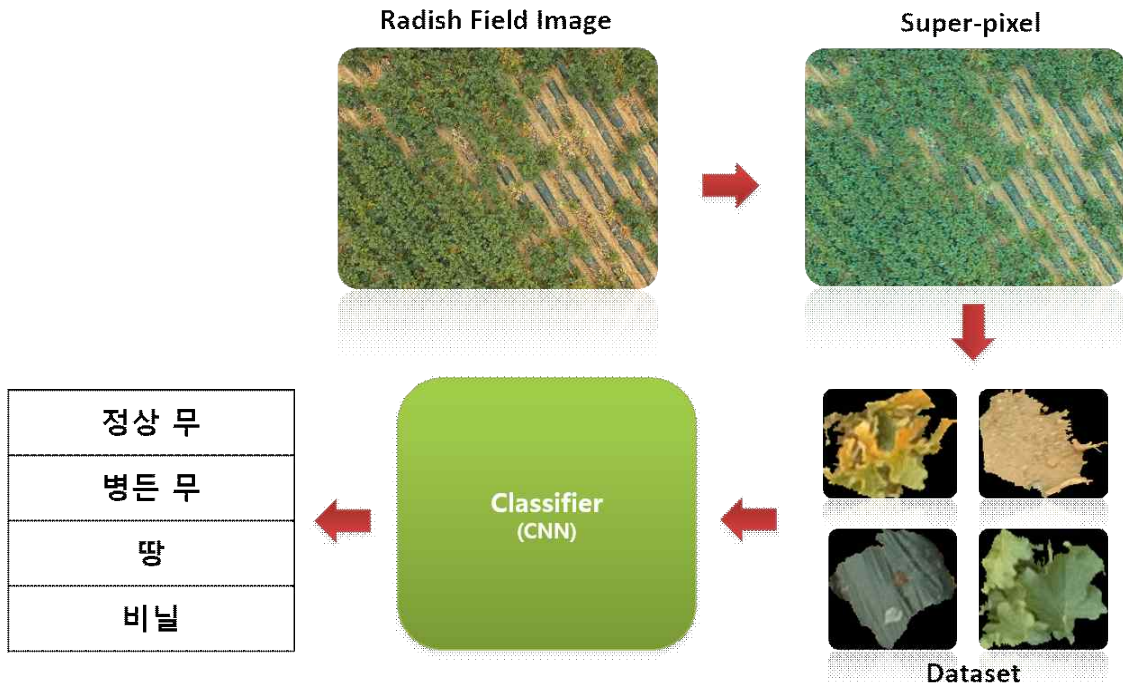


그림 90. 슈퍼픽셀 기반 딥러닝 분류 모델 시스템 구조도

㉞ 데이터 셋

슈퍼픽셀 알고리즘으로 4000x3000 크기의 무 재배지 영상을 국소적 영역화한 것을 특징으로 하나의 데이터로 사용하였다. 추출한 데이터들은 정상 무, 병든 무, 땅, 비닐 4개의 클래스 레이블링 하였다.



그림 91. 슈퍼픽셀 적용한 영상에서 4가지 클래스 추출

각 클래스별 추출 예시는 다음과 같다.



그림 92. 슈퍼픽셀로 추출한 정상 무 데이터 셋

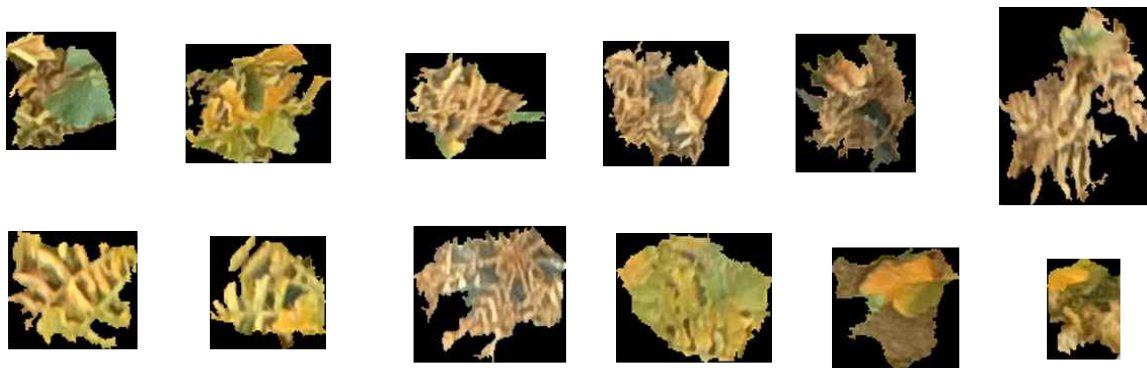


그림 93. 슈퍼픽셀로 추출한 병든 무 데이터 셋

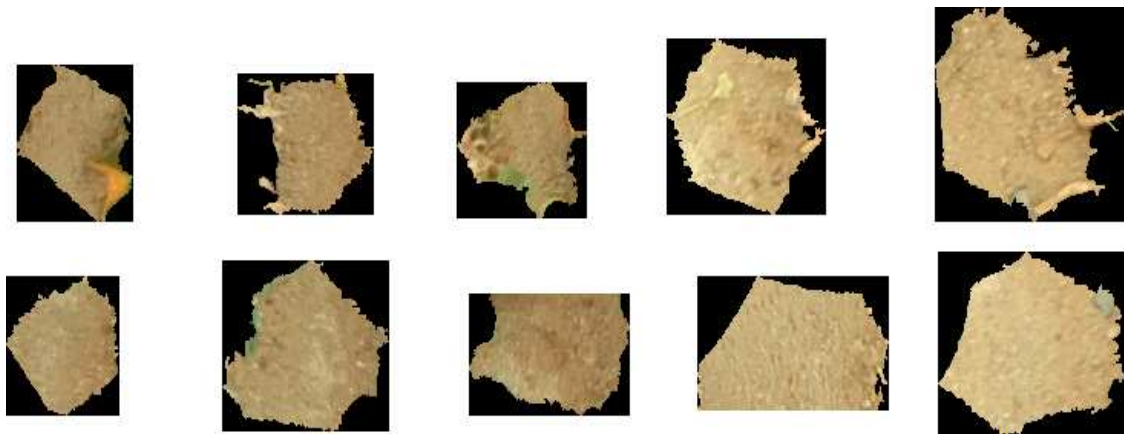


그림 94. 슈퍼픽셀로 추출한 땅 데이터 셋



그림 95. 슈퍼픽셀로 추출한 비닐 데이터 셋

㉔ 딥러닝 모델 테스트

슈퍼픽셀을 활용하여 추출한 데이터셋을 활용하여 딥러닝 모델을 통해 분류해 보았다.

사용한 딥러닝 모델은 AlexNet을 사용하였으며 학습에 사용된 데이터 숫자는 다음 표와 같으며, 테스트에는 각 클래스당 20개의 데이터를 사용하였다.

표 4. 딥러닝 모델 학습의 사용된 데이터 셋

클래스	개수
정상 무	1642
병든 무	472
땅	513
비닐	310

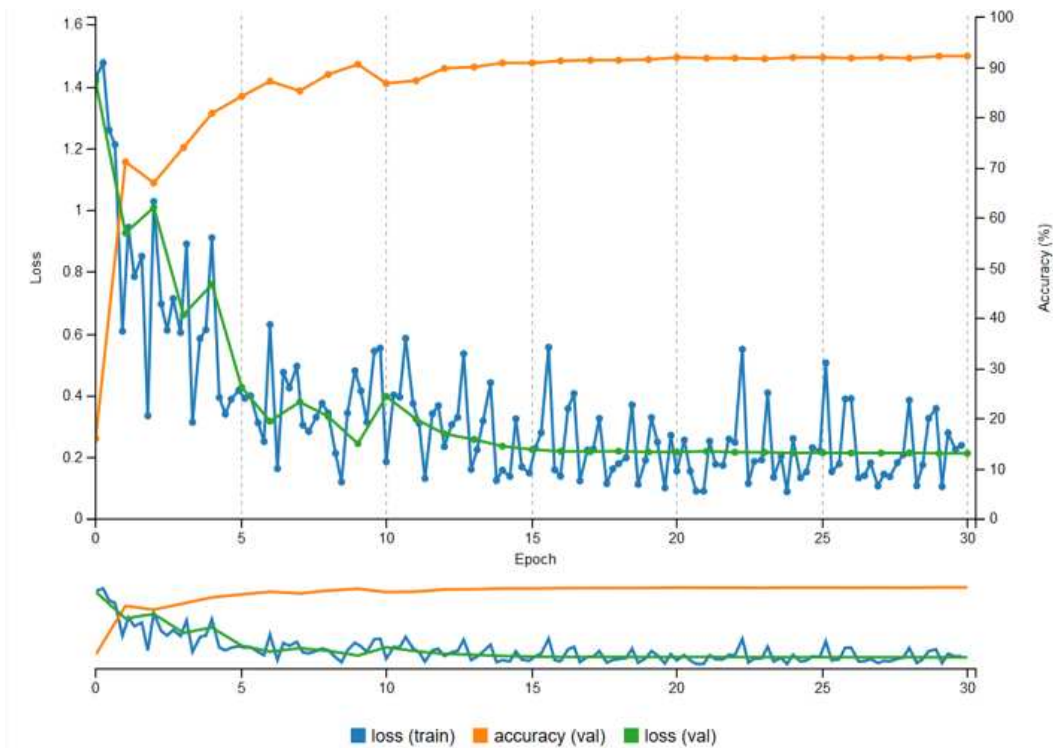


그림 96. 딥러닝 모델 학습 결과(AlexNet)

AlexNet을 사용하여 학습을 하였으며 학습 과정에서 분류 정확도는 92.25%였다. 데이터셋의 수가 증가 하면 분류 정확도 역시 개선 가능하다.

다음 표는 학습된 모델에 각 클래스당 20개의 데이터로 분류 테스트를 한 결과이다.

분류 정확도는 평균 97.5%를 보였다.

클래스	정상 무	병든 무	땅	비닐	정확도
정상 무	20	0	0	0	100%
병든 무	2	18	0	0	90%
땅	0	0	20	0	100%
비닐	0	0	0	20	100%

㉔ 결론

슈퍼픽셀 알고리즘을 활용하여 딥러닝 모듈 사용시 고질적인 문제였던 학습데이터 레이블링에 소요되는 시간을 현저히 단축 시켰으며, 학습 및 분류 속도에서도 개선되었으며, 학습 및 테스트 결과에서도 신뢰할만한 수준의 정확도를 보였다. 이러한 결과는 슈퍼픽셀 기반의 분류 모듈이 무 시들음병 탐지 연구에 효과적으로 활용 할 수 있다는 것을 보인다.

② HSV 색상영역 기반 K-Means 알고리즘을 활용한 무 시들음병 영역 추출 시스템 및 추출

- HSV 기반 영역 추출 소프트웨어 구현

입력한 영상에서 HSV값으로 최대/최소 경계를 지정하여 특정한 범위의 값을 가진 공간을 추출하는 소프트웨어를 구현하였다. 이 소프트웨어는 일정한 범위의 값을 가지고 있는 정상무/땅/비닐 영역의 경계값을 조절하여 추출하고, 남은 영역과 원본 영상의 차를 구하여 최종적으로 시들음병이 발생한 무 영역의 위치를 획득 할 수 있게 한다.

정통적인 영상처리 기법을 활용하여 RGB 색상 영역의 이미지를 HSV로 변경한 후 형태학 처리를 통하여 영역의 경계를 명확하여 추출 하였다.



그림 97. HSV기반 영역 추출 소프트웨어 시스템 흐름도

소프트웨어의 사용 방법은 영상을 입력한 후 소프트웨어 하단의 슬라이드 바를 조절하여 HSV 임계값을 설정한다. 임계값에 해당되는 영역은 실시간으로 계산되어 오른쪽 창에서 확인 가능하다. 다음 그림은 정상 무 영역을 추출하는 장면이며, 같은 방식으로 땅, 비밀 영역을 추출한다.



그림 98. 슬라이드 바를 조절하여 정상 무 영역 선택

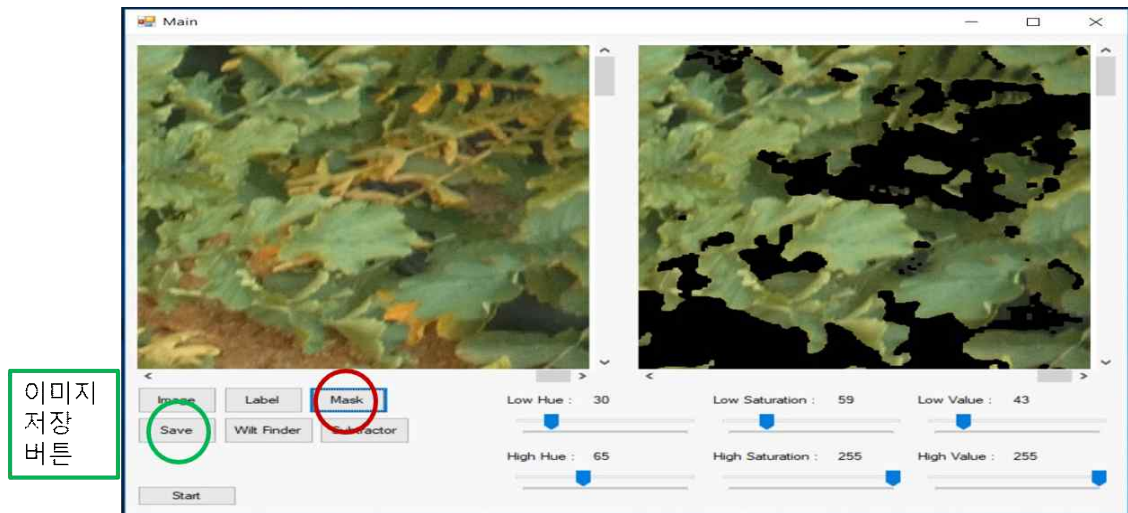
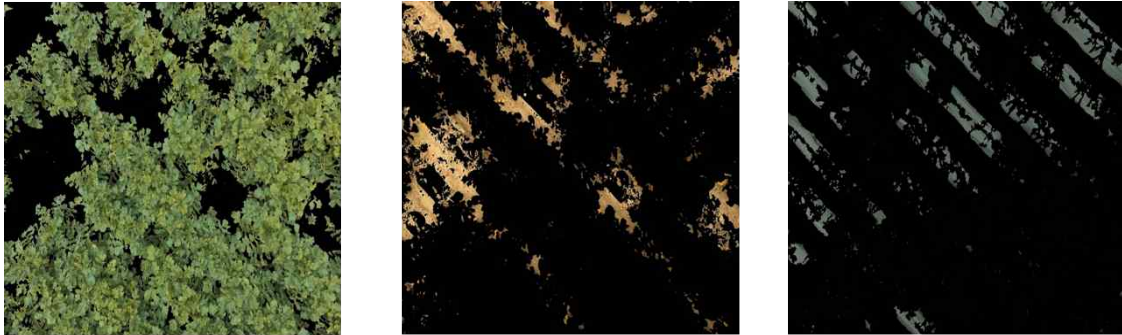


그림 99. 추출된 정상 무 영역

다음 그림은 소프트웨어를 사용하여 추출한 정상 무, 땅, 비닐 영역이다.



정상 무 영역

땅 영역

포장 영역

그림 100. 소프트웨어를 활용하여 추출한 각 영역

각 영역을 추출한 후 원본 영상과 차 연산 하여 남은 영역을 시들음병 예상 지역으로 추측하여 추출 한다. 구현한 소프트웨어에서 이러한 연산도 가능하도록 구현하였다.



그림 101. 다른 세 영역을 입력하여 시들음병 예상 지역을 추출

다음 그림은 최종적으로 추출된 시들음병 영역이다. 추출 결과의 정확도를 올리기 위하여 소프트웨어를 통해 획득한 시들음병 예상지역 영상을 K-Means 알고리즘을 적용하여 한 번 더 분석하였다.



그림 102. 구현한 소프트웨어를 사용하여 추출한 시들음병 영역

- K-Means 알고리즘을 활용한 무 시들음병 추출

㉞ k-means 알고리즘

k-means 알고리즘(K-means algorithm)은 주어진 데이터를 k개의 클러스터로 묶는 알고리즘으로, 각 클러스터와 거리 차이의 분산을 최소화하는 방식으로 동작한다. 이 알고리즘은 자율 학습의 일종으로, 레이블이 달려 있지 않은 입력 데이터에 레이블을 달아주는 역할을 수행한다. k-means 클러스터링 알고리즘은 클러스터링 방법 중 분할법에 속한다. 분할법은 주어진 데이터를 여러 파티션 (그룹) 으로 나누는 방법이다. 예를 들어 n개의 데이터 오브젝트를 입력받았다고 가정하자. 이 때 분할법은 입력 데이터를 n보다 작거나 같은 k개의 그룹으로 나누는데, 이 때 각 군집은 클러스터를 형성하게 된다. 다시 말해, 데이터를 한 개 이상의 데이터 오브젝트로 구성된 k개의 그룹으로 나누는 것이다. 이 때 그룹을 나누는 과정은 거리 기반의 그룹간 비유사도 (dissimilarity) 와 같은 비용 함수 (cost function) 을 최소화하는 방식으로 이루어지며, 이 과정에서 같은 그룹 내 데이터 오브젝트끼리의 유사도는 k-means 알고리즘(K-means algorithm)은 주어진 데이터를 k개의 클러스터중

가하고, 다른 그룹에 있는 데이터 오브젝트와의 유사도는 감소하게 된다. k-평균 알고리즘은 각 그룹의 중심 (centroid)과 그룹 내의 데이터 오브젝트와의 거리의 제곱합을 비용 함수로 정하고, 이 함수값을 최소화하는 방향으로 각 데이터 오브젝트의 소속 그룹을 업데이트 해 줌으로써 클러스터링을 수행하게 된다.

㉔ 시들음병 예상 지역에 k-means 알고리즘 적용

아래 그림은 소프트웨어를 통해 추출한 시들음병 예상 지역이다. 비교적 색상값이 가까운 땅 영역의 일부가 같이 추출 된 것이 보인다. 이 영상에 k 값을 10과 20으로 두고 알고리즘을 적용시켰다.



그림 103. 소프트웨어로 추출한 시들음병 예상 지역

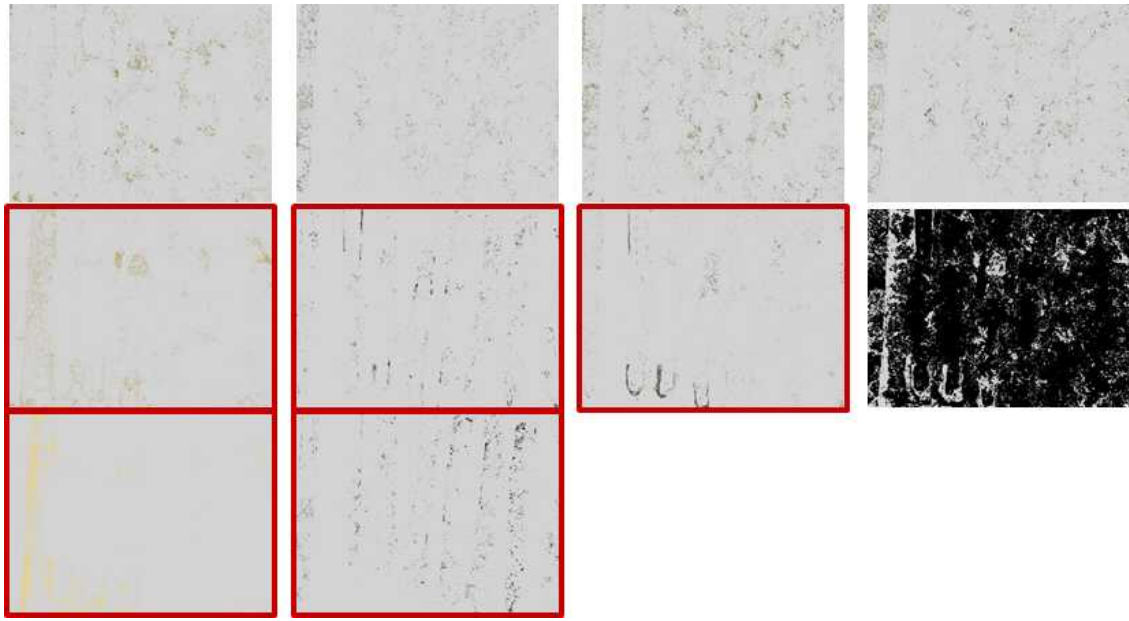


그림 104. k-means 알고리즘 적용 결과 (k=10)

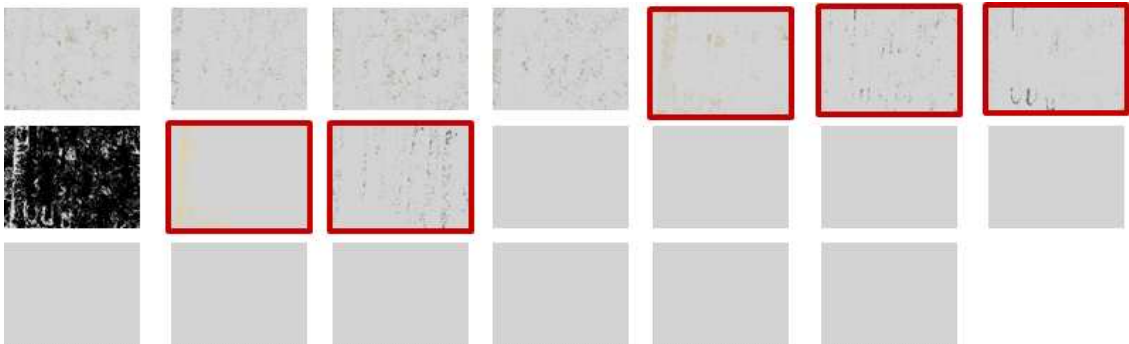


그림 105. k-means 알고리즘 적용 결과 (k=20)

적용 결과 k=20일시 픽셀이 없는 무의미한 클러스터링 결과가 다수 생성되어 k=10의 결과에서 시들음병 탐지를 진행하였다. 위 그림에서 빨간 박스는 땅 영역으로 추정되는 군집들이므로 이를 제외시킨 나머지 군집들을 이용하여 최종적으로 시들음병 영역을 추출하였다. 그 결과는 다음 그림과 같으며 유의미한 결과를 도출 하였다.

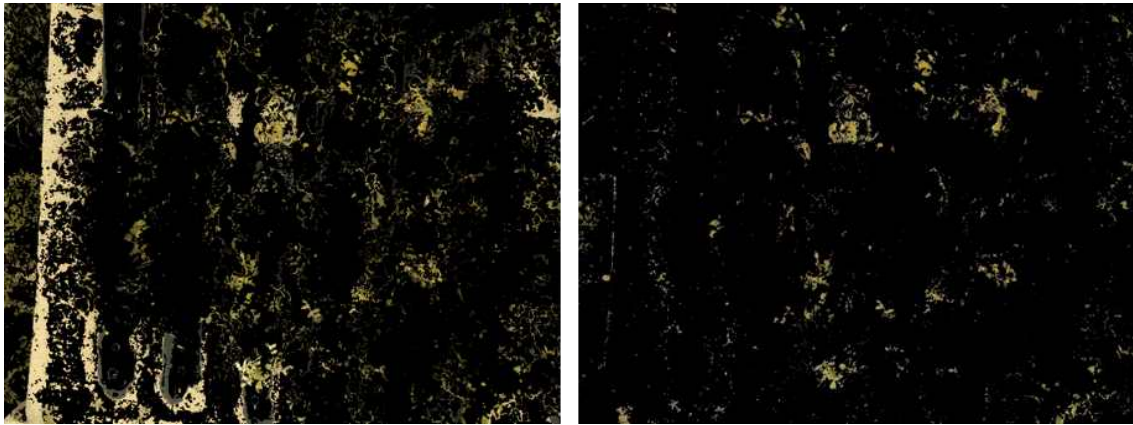


그림 106. k-means 알고리즘 적용 후 시들음병 영역

㊤ 결론

HSV 색상 영역 값과 k-means 클러스터링 알고리즘을 사용하여 레이블링 과정 없이 임계값 설정만으로 시들음병 영역을 도출해 내었다. 이 시스템은 아직 초기 단계이기에 정확도 측면에서 추가적인 검증이 필요하나, 레이블링 과정을 없다는 큰 이점이 존재한다. 즉 효과적인 시들음병 탐지 시스템 구축에 많은 시간 단축이 가능하다는 것을 뜻하며, 다른 분야의 분류 및 탐지가 필요한 영역에서도 실용적으로 활용 가능성이 있다는 것이다. 향후에 구현한 소프트웨어에 k-means 알고리즘 기능을 추가하여 영역 탐지 기능을 강화하여 더욱 강력한 성능의 소프트웨어로 발전할 수 있을 것이다.

라. 4년차 (2019년)

(1) 개발 목표

- 무인기 운용 및 영상 데이터베이스 확보 : 무 재배지에서의 무인기 운용 방안과 대지역 고화질 영상 데이터베이스 확보
- 무 시들음병 데이터베이스 구축: 무인기 운용 시 다양한 환경적 변화 요인을 감안하여 영상을 촬영하고 구축
- 무 시들음병 영상 데이터 분석: 무 시들음병 탐지에 유용한 영상 특징과 패턴을 찾음

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 데이터 셋

(나) 시들 병 분류 프레임워크

- ① RGB 데이터 셋 사용한 무 시들 감지
- ② Mosaicking 기술 (stitching 기술)
- ③ RadRGB 프레임워크의 세부화 실행
- ④ 시들 영역 세그멘테이션
- ⑤ CNN 모델 설명
 - ㉠ Layer activation
 - ㉡ Class activation maps (CAM)
 - ㉢ Saliency maps
- ⑥ 질병 심각도 분석

(다) NIR 데이터 셋을 이용한 무 시들 병 감지

(3) 연구결과

(가) 데이터 셋

2019년에 수집한 전체적인 이미지의 세부사항들을 서술한다. 테이블 1은 평택, 세종대학교(평일 5일)에서 수집한 이미지들을 보여준다.

표 5. 2019년 각 지역에서 수집한 이미지의 수

Location	Date	Images (4000x3000)	
		RGB	NIR
Sejong University	10/15	55	59
	10/18	57	59
	10/22	60	59
	10/25	60	59
	10/29	56	56
Pyoengtaek	07/04	10	30
	07/19	27	30
	09/03	10	28
Total images		335	280

그림 107은 2019년 10월에 세종대학교에서 2주 동안 무 시들음 병의 발생을 모니터링한 일부 이미지들이다. 10월 15일에 획득한 이미지와 10월 29일에 발생한 이미지를 비교하면 분명하게 시들음 병의 발생을 관찰할 수 있다.

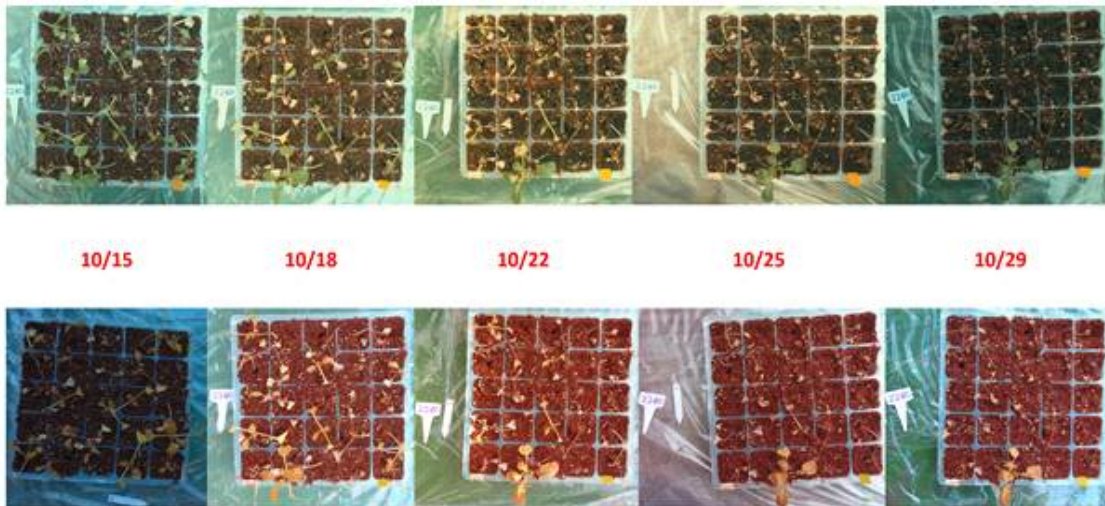


그림 107. 세종대학교에서 획득한 RGB와 NIR 이미지들의 샘플



그림 108. 2019년 평택에서 획득한 RGB와 NIR 이미지들의 샘플

(나) 시들음 병 분류 프레임워크

그림 109은 Fusarium wilt 질병 식별 프레임 워크의 전체적인 구조를 설명한다. RGB mosaic 이미지들과 NIR mosaic 이미지들의 두 가지 프로세스를 적용한다. 1) RGB 데이터 셋의 경우, 모자이크 알고리즘은 mosaic 이미지들 안에 다중 이미지들을 결합하여 수행된다. 그 후에, 무 지역은 주요 ROI이므로 특별한 부분으로 이미지를 분할하기 위해 Superpixel 분할 접근 방식을 사용하였다. 그런 다음, RGB-A 데이터 셋으로부터 다중 레벨들의 특징을 추출하기 위해 몇몇 convolutional 레이어들을 포함하고 있는 CNN 모델(RadRGB)을 제안한다. 훈련 과정 후에, RadRGB를 사용하여 Superpixel 세그먼테이션 프로세스로부터 무 세그먼트만 분리한다. 마지막으로, 무의 상태에 따라서 건강하고, 가벼운 질병, 심한 질병으로 분류하기 위해 질병의 민감도를 평가하였다. 2) NIR 데이터 셋의 경우, NIR 이미지를 사용하여 NDVI 인덱스를 계산하여 무의 시들음 질병을 탐지했다.

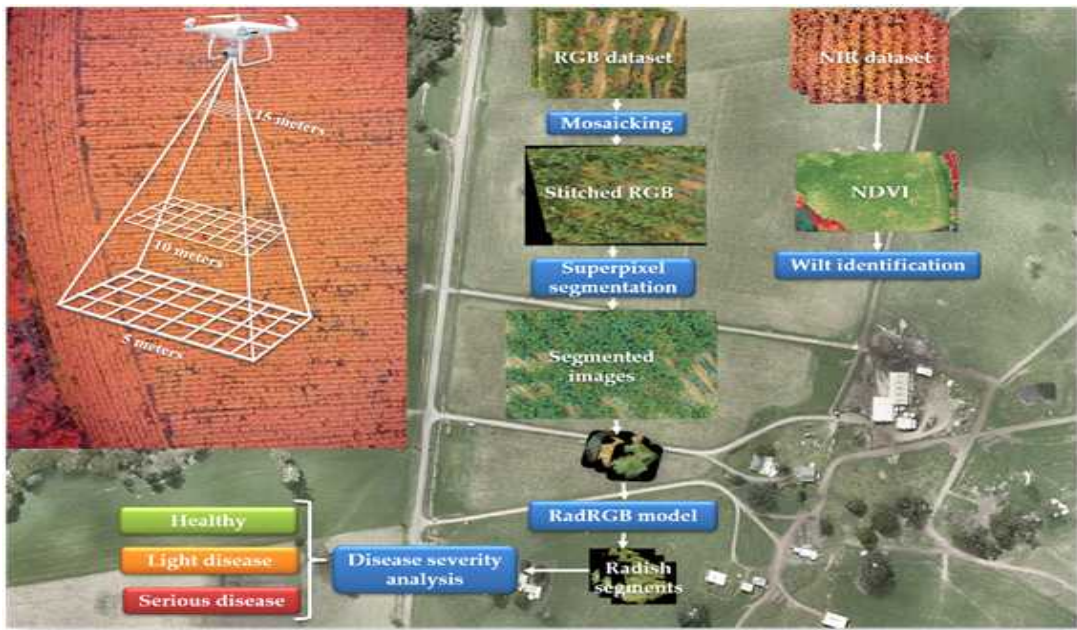


그림 109. 무밭에 대한 Fusarium Wilt 식별 시스템. 2개의 UAV를 사용하여 3개의 다른 고도(5미터, 10미터, 15미터)에서 RGB 및 NIR 이미지를 캡처했다. 그 후, RGB 및 NIR 이미지 2개의 특별한 서버 프로세서가 적용됨

① RGB 데이터 셋 사용한 무 시늬 감지

RGB 이미지에서 구현된 전체적인 실험에 대해 설명한다. 실험에서 (1) stitching 알고리즘의 상세 구현, (2)에서는 superpixel 알고리즘의 상세한 구현, (3) 제안된 딥 러닝 기반 RadRGB 모델의 상세한 설명, (4) 질병 심각성 분석을 포함하고 있다.

stitching 프로세스 후, stitching된 이미지들은 superpixel 접근 방법을 사용하여 특징적인 세그먼트로 세그먼트화 하였다. 둘째, 수동으로 처리된 RGB-A 데이터 셋은 convolutional 레이어들에 의해 추상적인 특징을 추출하기 위해 RadRGB 제안된 시스템으로 반영하였다. 마지막으로 softmax 기능은 세그먼트 영역을 무, 토양 또는 plastic mulch 세그먼트로 분류하기 위해 훈련되어졌다. 우리는 다중 이미지 프로세싱을 사용함으로써 건강, 가벼운 질병, 그리고 심각한 질병으로 무 세그먼트 카테고리 분류를 시도하였다.

② Mosaicking 기술 (stitching 기술)

일반적인 이미지 **stitching** 알고리즘에는 몇 가지 중요한 단계가 있다. 첫 번째, 입력 이미지에서 핵심 포인트를 확인한 다음 부분적으로 변하지 않는 디스크립터를 추출하고 이미지들 사이에서 매칭 된다. 그 후, random sample consensus(RANSAC)와 같은 호모그래픽 추측 알고리즘들은 매칭된 특징 벡터들을 사용하는 homography 매트릭스로 구성하여 활용되어 진다. 마지막으로,

호모그래픽 매트릭스는 warping mosaic 이미지를 생성하기 위해 warping 변환 기술로 구성한다. 이 논문에서는[1]에서 Brown에서 제안된 stitching 알고리즘을 사용하여 RGB 데이터 셋에 대한 mosaic 프로세스를 사용했고 이것은 그림 110에서 볼 수 있다.

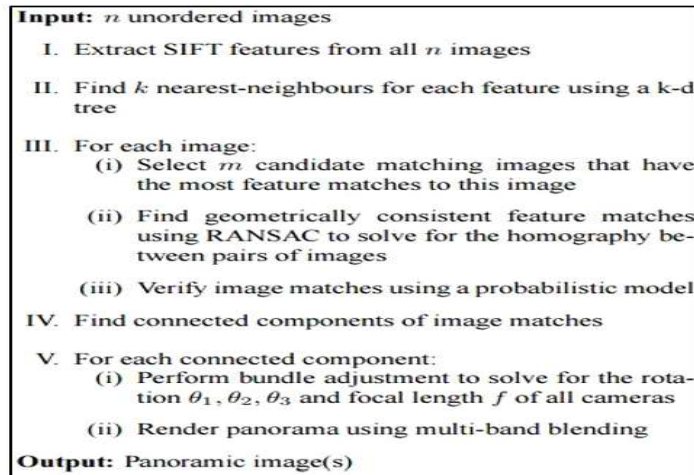


그림 110. 자동 panorama stitching 알고리즘의 입력, 출력 및 단계별 절차

파이썬 버전 3.5와 OpenCV 라이브 버전 2.7을 사용하여 RGB와 NIR 데이터 셋에 제안된 이미지 stitching 기술을 구현했다. RGB의 데이터 셋에서 3m의 고도에서 13개의 이미지와 크기가 8,404 x 3,567 (그림 111)인 stitching된 이미지를 선택하였고, 반면에 15m의 고도에서 34개개의 이미지가 stitching된 NIR 이미지를 생성하는데 사용되었다. 크기는 9,933x6,149 (그림 112)이다.



그림 111. 고도 3 미터에서 13 개의 RGB 이미지에 대한 stitching 결과 (이미지 크기는 8,404 x 3,567)

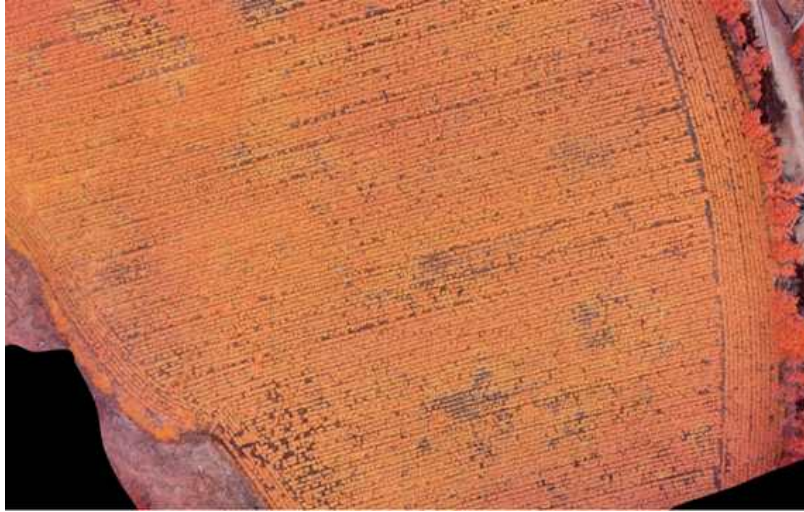


그림 112. 고도 15 미터에서 34 개의 NIR 이미지에 대한 stitching 결과 (이미지 크기는 9,933 x 6,149)

생성된 stitching된 이미지들은 stitching 위치가 정확할 뿐만 아니라 미학적으로도 만족스러웠다. 하지만 OpenCV 이미지 stitching 클래스 사용의 가장 큰 문제점 중 하나는 결과 homography 행렬 자체를 포함하여 내부 계산의 많은 부분을 추상화 하고 있다는 것이다.

③ 시뮬 영역 세그먼테이션

Linear spectral clustering (LSC)은 [2]에서 제안된 superpixel 알고리즘으로, 입력 이미지에서 중요한 특징을 두드러지게 추출하고 선형 공간에서 수행하여 높은 메모리 효율성을 달성할 수 있다. 이미지의 최대 픽셀이 N 인 경우, 특징 매핑의 복잡도는 $O(N)$ 이며 이는 이전 superpixel 보다 더 단순하다. LSC 알고리즘에서 모든 픽셀들은 10-차원 특징 공간에서 한 지점으로 연결되어 있다. 다음으로 K-means와 같은 weighted clustering 알고리즘은 분할 프로세스로 사용되고 있다. 10-차원 특징 공간에서 클러스터링 알고리즘의 수행 덕분에 초기 픽셀 공간에서 일반화된 부분, 비 지역화 정보들은 완전하게 보존된다. 결과적으로 LSC 알고리즘은 계산의 복잡성, 메모리 효율성 그리고 이미지의 부분적 특징을 보존할 수 있다. 결과 LSC는 이전의 최신의 superpixel 세그먼트 방법에 비해 우수하다는 것을 보여준다. LCL 방법의 자세한 설명은 그림 7에서 표현하고 있다. 두 가지 중요한 파라미터들은 r_c 와 superpixel 수 K 를 포함하고 중요하게 선택해야 한다. r_c 값이 높을수록 모양 규칙성이 더 높은 superpixel을 만드는 쪽으로 편향되는 반면, r_c 가 작을수록 경계를 지키는 것에 더 좋다.

```

1: Map each point  $\mathbf{p} = (l_{\mathbf{p}}, \alpha_{\mathbf{p}}, \beta_{\mathbf{p}}, x_{\mathbf{p}}, y_{\mathbf{p}})$  to a ten dimensional vector  $\phi(\mathbf{p})$  in the feature space.
2: Sampling  $K$  seeds over the image uniformly at fixed horizontal and vertical intervals  $v_x$  and  $v_y$ .
3: Move each seed to its lowest gradient neighbor in the  $3 \times 3$  neighborhood.
4: Initialize weighted mean  $m_k$  and search center  $c_k$  of each cluster using the corresponding seed.
5: Set label  $L(\mathbf{p}) = 0$  for each point  $\mathbf{p}$ .
6: Set distance  $D(\mathbf{p}) = \infty$  for each point  $\mathbf{p}$ .
7: repeat
8:   for each weighted means  $m_k$  and search center  $c_k$ 
9:     do
10:      for point  $\mathbf{p}$  in the  $\tau v_x \times \tau v_y$  neighborhood of  $c_k$  in the image plane do
11:         $D =$  Euclidean distance between  $\phi(\mathbf{p})$  and  $m_k$  in the feature space.
12:        if  $D < d(\mathbf{p})$  then
13:           $d(\mathbf{p}) = D$ 
14:           $L(\mathbf{p}) = k$ 
15:        end if
16:      end for
17:    end for
18:    Update weighted means and search centers for all clusters.
19: until weighted means of  $K$  cluster converge.
20: Merge small superpixels to their neighbors.

```

그림 113. superpixel 알고리즘의 입력, 출력 및 단계별 절차

우리는 LSC superpixel 알고리즘을 구현하였고 기존의 논문[2]에 설명되어 있다. r_c 비율 측면은 논문에서 0.075로 설정되어 있지만 superpixel 수는 500, 1000, 2000으로 할당되었다. 이유는 stitching된 이미지는 기존 논문에서 기록된 이미지 사이즈와 비교해서 더 크기 때문이다.

그림 114은 다른 수의 superpixel 파라미터들이 적용되었을 때 superpixel 세그먼트 결과를 보여준다. superpixel의 수의 매개변수가 500인 경우 토양과 심각한 시뮬 병 영역이 같이 그룹화 되는 경향이 있는데 이 영역은 약간의 색상 차이가 있기 때문이다. 이와 같은 경우는 그림 8(c1)에서 볼 수 있다. 그러나 superpixel의 매개변수의 수가 더 높으면(1000 또는 2000), superpixel 분할 알고리즘은 토양 영역과 심각한 시뮬 병 영역이 그림 8(c2)과 그림 8(c3)와 같이 서로 다른 superpixel로 분할되기 때문에 분할 프로세스가 더 잘 수행된다. 결과적으로 superpixel 세그먼트를 추출하기 위해 2000과 같은 K를 적용하였다. 그런 다음 64 x 64 고정된 윈도우 사이즈를 적용하여 총 7,336개

의 세그먼트를 추출하였다. 이 세그먼트는 제안된 딥 러닝 모델의 입력으로 무 세그먼트만 필터링을 위해 사용하였다.

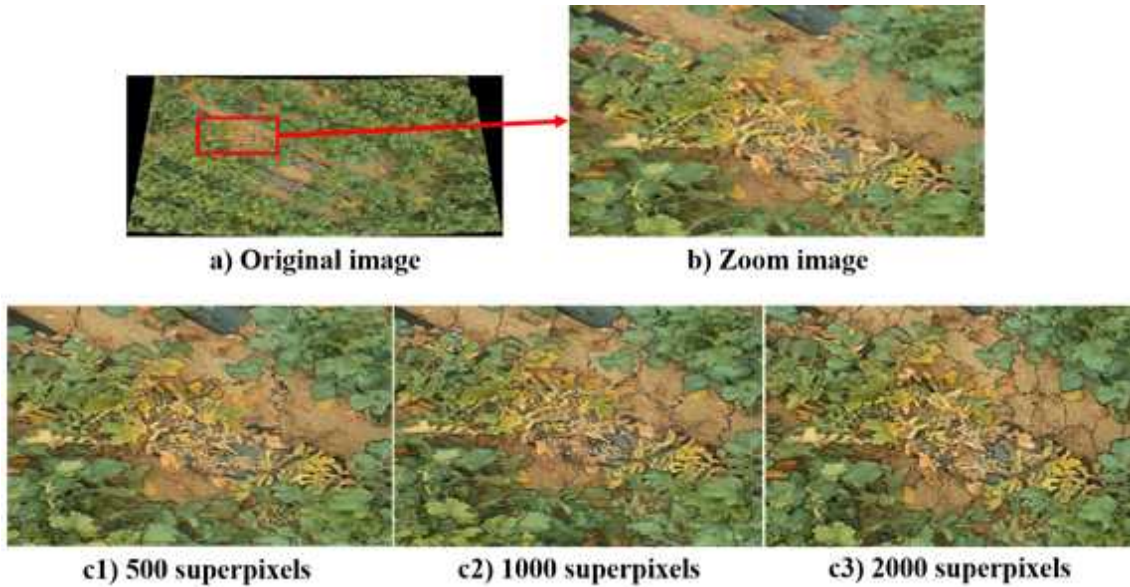


그림 114. 다른 superpixel 값을 가진 superpixel 분할한다. 우리는 원본 이미지 (a)에서 특정 시늬 영역 (b)를 확대한다. 그 후, 슈퍼 픽셀 분할은 (c1) 500 superpixel, (c2) 1000 superpixel 및 (c3) 2000 superpixel을 포함하는 상이한 수의 superpixel을 갖는 확대 이미지에 적용된다.

④ RadRGB 프레임워크의 세부화 실행

적절한 CNN 아키텍처를 결정해야 하며 현실적인 점에 크게 의존한다. 이전 연구 평가를 기반으로 64 X 64의 입력 크기와 5개의 convolutional 레이어가 포함된 CNN을 선택하였다. 그런 다음 각 레이어에 적합한 커널 크기를 선택하여 64 x 64의 입력 이미지를 1 x 3의 결과에 매핑한다. 각 convolutional 레이어에는 적합한 커널 크기가 필요하므로 매개 변수의 흐름을 효과적으로 관리할 수 있다. 그림 9는 입력크기, 커널 크기 및 출력 크기를 보여주는 제안된 CNN 모델의 전체 아키텍처를 보여준다. 일반적으로 RadRGB 모델은 64 x 64 이미지들의 입력으로 받고 입력은 5개의 convolutional 레이어(c1~c5), 3개의 풀링 레이어들(M1~M3), 그리고 2개의 고밀도 레이어로 넣는다. 최대 풀링 레이어는 특징 맵의 공간 크기와 과적합 문제를 줄이기 위해 적용된다. 마지막 고밀도 층의 출력은 무, plastic mulch 또는 토양이다[3].

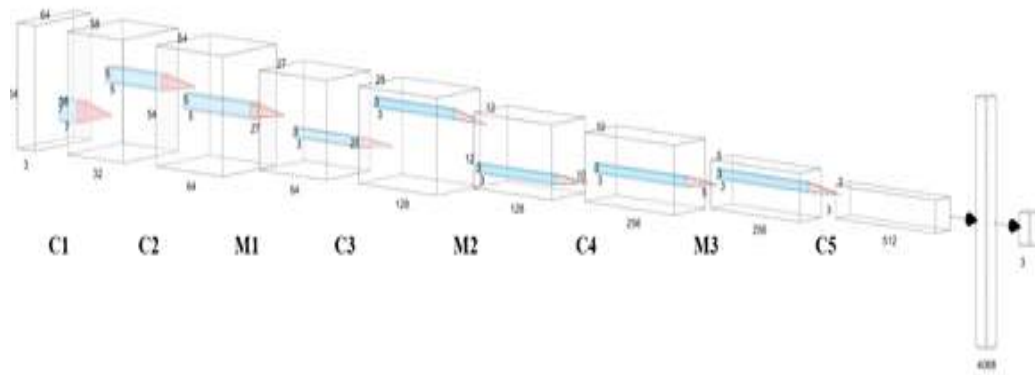


그림 115. 64 x 64의 입력 이미지, 5 개의 convolutional 레이어, 3 개의 최대 풀링 레이어 및 3 개의 출력 클래스 (C는 convolutional 레이어를 나타내고 M은 최대 풀링 레이어를 나타냄)의 세부 구성을 포함하는 RadRGB 아키텍처

표 6. 제안된 RadRGB 아키텍처에 대한 포괄적인 설명

RadRGB		
Name	Structure	(widths, heights, channels)
Input		64x64
Convolution_1	7x7	(58, 58, 32)
Convolution_2	5x5	(54, 54, 64)
Maxpool_1	2x2	(27, 27, 64)
Dropout_1	Probability: 0.2	
Convolution_3	3x3	(25, 25, 128)
Maxpool_2	2x2	(12, 12, 128)
Dropout_2	Probability: 0.2	
Convolution_4	3x3	(10, 10, 256)
Maxpool_3	2x2	(5, 5, 256)
Dropout_3	Probability: 0.2	
Convolution_5	3x3	(3, 3, 512)
BatchNorm		(3, 3, 512)
Dropout_4	Probability: 0.5	
Flatten		(4068)
Dense		(3)

분류 단계의 끝에서, 분류된 무 영역의 목록이 추출되어 질병 심각도 분류 프로세스의 입력으로 사용된다.

무 영역에서 서로 다른 영역을 구별하기 위해 제안된 딥 러닝 모델을 학습

하기 위해 RGB-A 데이터 세트를 85/15의 분할 비율로 두 개의 하위 집합으로 분할한다. 첫 번째 하위 집합은 학습 데이터 집합(1,445 이미지)으로 사용되었지만 두 번째 하위 집합은 테스트 목적으로 생성되었다 (255 이미지). 학습 데이터 셋과 테스트 데이터 셋의 자세한 분리는 표 7에 설명되었다.

표 7. 트레이닝 세트의 각 클래스 (무, 토양 및 plastic mulch)의 이미지 수

Class	Training set Subset	Testing set
Radish	510	90
Soil	493	87
Plastic mulch	442	78
Total	1445	255

그런 다음 훈련 세트에서 4점의 교차검증(Four-fold cross-validation)은 구현되었고 이 데이터 셋은 랜덤하게 데이터 세트를 4개의 서브 셋으로 나누었다. 모델의 성능을 4번 검사하고 각각 겹에 대한 훈련 데이터로 3개의 서브 셋을 사용했다. 나머지 서브 셋은 테스트 목적으로 사용되었다. 그 후 훈련 데이터로 사용된 3개의 서브 셋이 2개의 서브 셋으로 더 분류되고 트레이닝 데이터의 80%가 제안된 모델에 공급되어 네트워크 가중치를 최적화하고, 데이터의 20%가 검증 데이터 셋으로 활용되어 최적화 파라미터들을 결정하였다.

NVIDIA 딥러닝 GPU 훈련 시스템 톨박스는 CNN 훈련을 위해 사용되었다. 사전 설치된 Ubuntu 16.04 및 Intel Core i7-5930K CPU, 64GB DDR4 및 4 개의 Titan X 12GB GPU가 있다(각 GPU에는 3,072 개의 CUDA 코어가 있음). 모든 프로그래밍은 Python 언어로 구현된 다음 Tensorflow 딥 러닝 라이브러리를 적용하여 모델을 구성하고 검증했다. 모델은 30 epoch를 통해 훈련되었고, 배치 크기(batch size)는 32 였고 처음 두 드롭 아웃 정규화는 0.2로 설정되었고 세 번째 드롭 아웃 정규화는 0.5 였다. Adam 최적화 함수의 학습률은 0.001, beta_1은 0.9, beta_2는 0.999, epsilon은 1e-08이다.

그림 116은 정확도가 80 %로 급격히 증가한 반면, 처음 5 개의 epoch 동안 손실은 35 %로 크게 감소했음을 보여준다. 훈련 정확도 및 유효성 검사 정확도는 꾸준히 증가하고 나머지 훈련 프로세스에서 약 86 %로 안정화된다. 대조적으로, 훈련 및 검증 프로세스의 손실은 약간 감소하고 30 %로 낮았다. 이러한 겹들 중에 4 겹은 모형의 견고성 및 검증 정확도와 관련하여 최상의 결과를 얻었다.

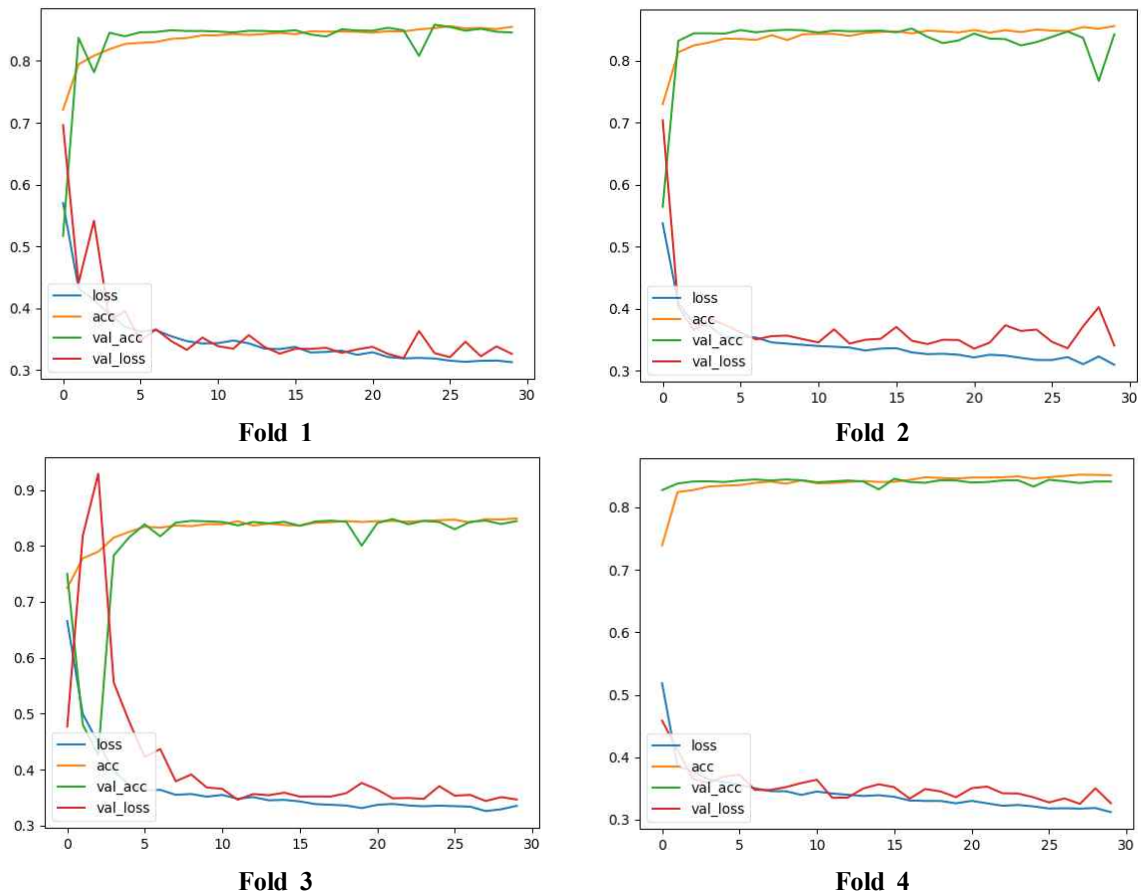


그림 116. 30 epoch에 대한 각 접기의 RadRGB 모델 결과

표 8은 RGB-A 테스트 데이터 세트에 대한 혼동 행렬 결과를 보고하여 무 영역에서 구별되는 영역을 식별하는 RadRGB 모델의 성능을 조사한다. CNN 모델은 무 클래스와 plastic mulch 클래스 모두에서 96 %의 최고 정확도로 무 필드에서 3 가지 유형의 영역을 올바르게 인식했다.

표 8. 제안된 딥 러닝 모델을 사용한 RGB-A 테스트 데이터 세트의 혼동 행렬

Predict \ Ground truth	Radish	Soil	Plastic mulch
	Radish	87	3
Soil	1	84	2
Plastic mulch	2	0	75
Accuracy (%)	96.6	96.5	96.1

⑤ CNN 모델 설명

CNN 모델이 클래스를 식별하고 인식하는 방법을 보여주기 위해 레이어 활성화, CAM (Class Activation Map) [4] 및 Saliency Maps [5]를 포함한 세 가지 시각화 방법이 되었다. 이 방법은 keras-vis 라이브러리 [6]를 사용하여 구현되었으며, 훈련된 keras 신경망 모델을 시각화하고 디버깅하기 위한 고급 툴킷이다.

㉞ Layer activation

중간 활성화는 연속 레이어가 입력을 어떻게 변환하는지 이해하는데 유용하다. 따라서 이 섹션에서는 CNN의 중간 활성화를 시각화하여 모델이 여러 convolutional 레이어를 통해 이미지에서 모양 및 색상과 같은 특정 추상 기능을 학습하는 방법을 보여주었다. 모델이 감지한 추상 기능은 시각적 개념의 표현이므로 시각화하기가 쉽다. 중간 활성화 시각화는 네트워크에서 여러 convolutional 레이어의 결과인 기능 맵을 표시하여 수행된다. 각 채널은 상대적으로 독립적인 기능을 인코딩하므로 이러한 기능 맵을 시각화하는 올바른 방법은 모든 채널의 내용을 2D 이미지로 독립적으로 구분하는 것이다.

그림 117은 입력 시뿔 이미지의 첫 번째 및 마지막 convolutional 레이어에 대한 중간 활성화의 시각화를 보여준다.

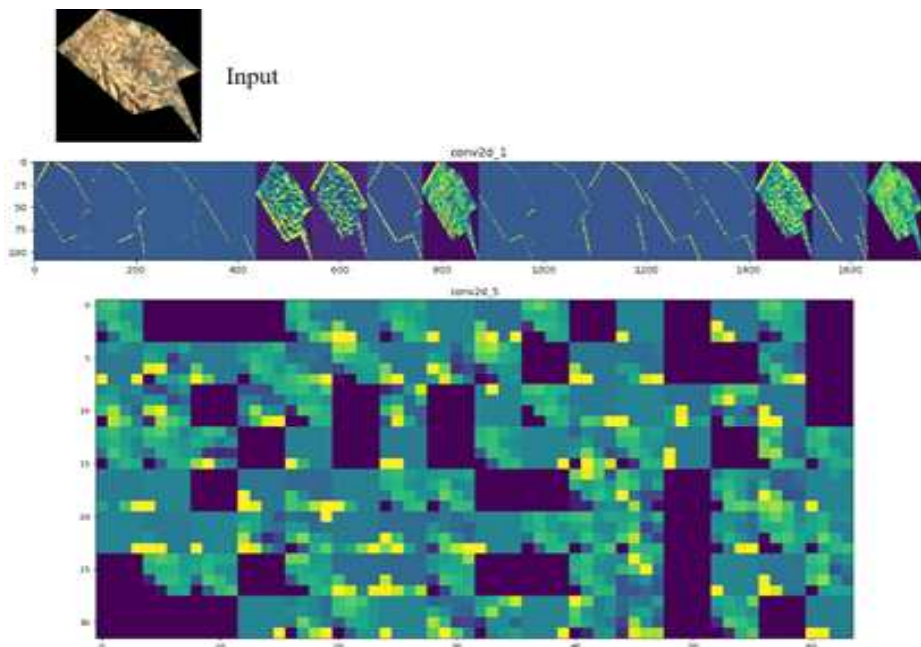


그림 117. 시뿔 이미지 입력을 위해 첫 번째 convolutional 레이어 (convolution_1)의 16 개 중간 활성화 및 마지막 convolutional 레이어 (convolution_5)의 128 개 중간 활성화

우리는 첫 번째 레이어가 여전히 입력의 전체 모양을 유지한다는 것을 분명히 알 수 있다. 입력 이미지의 외부 경계에 초점을 맞추고 초기 사진에 있는 거의 모든 정보가 유지된다. 그러나 네트워크가 더 깊을 때 활성화는 보다 추상적이고 시각적으로 해석하기가 어렵다. 단일 테두리, 모서리, 색상 및 각도와 같은 고급 개념을 학습하기 시작한다. 표현이 높을수록 이미지의 시각적 내용에 대한 정보가 적고 이미지 클래스와 관련된 정보가 점점 많아진다.

④ Class activation maps (CAM)

CAM을 사용하면 모델이 특정 클래스를 결정할 때 이미지의 어떤 영역이 관련성이 있는지 모니터링 할 수 있다. 그림 118은 CAM을 통해 입력 이미지에 대한 특정 클래스를 예측할 때 올바른 영역에 초점을 맞춘 모델을 보여준다.

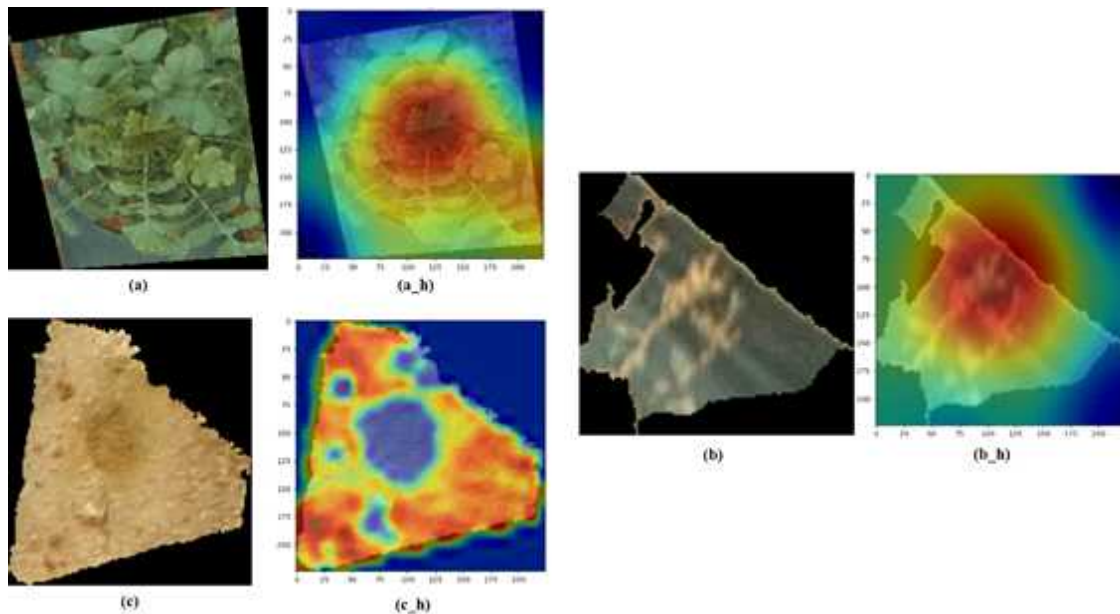


그림 118. 다른 클래스의 3 개 샘플 CAM. (a) 무, (b) mulching 필름, (c) 지면

④ Saliency maps

입력 이미지에 대한 출력 클래스의 기울기를 계산한다. Saliency 맵은 출력 이미지 값이 입력 이미지 픽셀의 작은 변화에 어떻게 반응하는지 보여준다. 그림 119에 표시된 것처럼 기울기의 모든 양수 값은 해당 픽셀을 조금만 변경하면 특정 클래스 값이 증가함을 나타낸다. 결과적으로 이러한 기울기는 모델의 일부 직관을 제공한다.

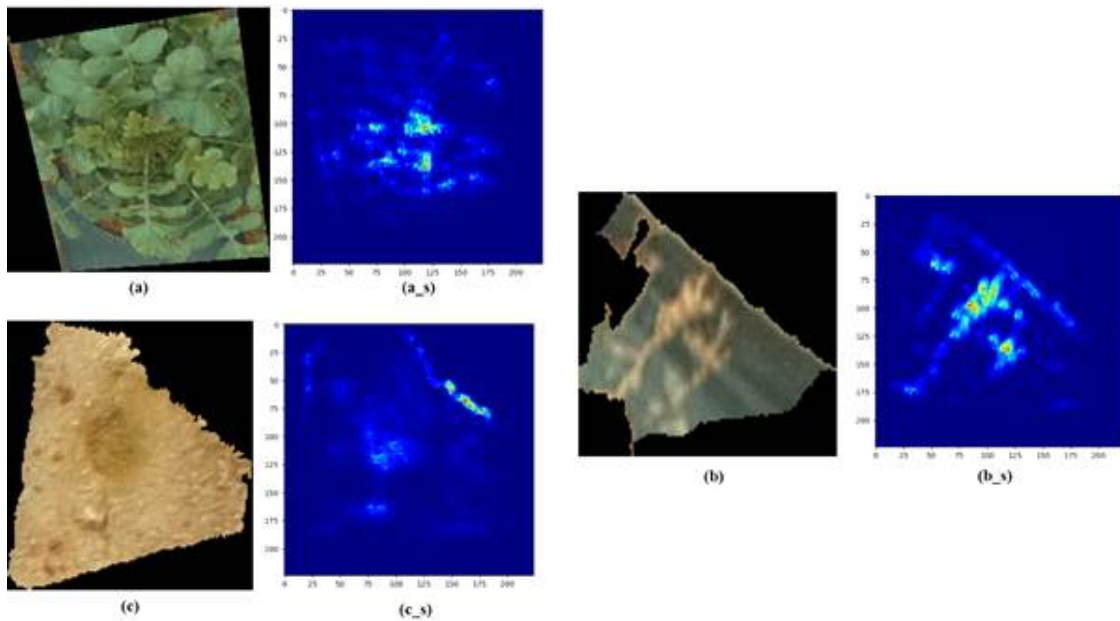


그림 119. 다른 클래스의 4 개 샘플에 대한 Saliency 맵 (a) 무, (b) 멀칭 필름 및 (c)지면

⑥ 질병 심각도 분석

색 공간 변환 및 임계값은 이 섹션에서 사용되는 이미지 전처리의 두 가지 기본 프로세스이다. 모든 입력 이미지는 RGB에 비해 RGB에서 HSV로 변환되었으며, HSV는 이미지 강도와 색상 정보를 구분합니다. 따라서 HSV 색 공간에서 추출된 이미지 디스크립터는 일관되지 않은 조명이나 그림자 제거에 효과적이다[7].

시들 심각도 분석 절차가 수행되기 전에, 우리는 HSV 이미지 (슈퍼 픽셀 분할 프로세스의 결과)에서 블랙 픽셀의 수를 세고 알고리즘 1에 도시된 시들 심각도 분석의 계산에서 생략했다.

Algorithm 1: Wilt severity analysis

```

0: Initialize count_seg_black, count_white equals to 0 and total_pixel equals to
total number of pixels in img;
1: for in img do
2:   if equals to 0 then
3:     1
4:   end if
5: end for
6: adaptiveThreshold(img, blockSize, C)
7: for in bin_img do
8:   if equals to 255 then
9:
10:  end if
11: end for

```

$$12: \text{ healthy_rate} = \frac{\text{count_white}}{\text{total_pixel} - \text{count_seg_black}} * 100$$

알고리즘 1의 적응 임계 값 프로세스는 다음과 같이 설명됩니다.

$$\text{des}(x,y) = \begin{cases} 0, & \text{if } \text{src}(x,y) > T(x,y) \\ 255, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (1)$$

des(x, y)는 이진 이미지의 x, y 위치에 있는 픽셀이고 src(x, y)는 소스 이미지의 x, y 위치에 있는 픽셀이다. 임계 값 T(x, y)는 src(x, y)에서 C를 뺀 (block_Size by block_Size) 이웃의 가중 합 (가우스 교차 상관)이다. block_Size는 임계값을 계산하는 데 적용되는 픽셀 인접 크기이다. des(x, y) 및 C의 값은 가중 평균에서 뺀 상수이다.

이진 이미지를 사용하여 질병의 위험성을 분석할 수 있다. 임계값 처리 후, 검은 색 영역은 황갈색 무를 나타내고, 흰색 픽셀은 건강한 녹색 무를 나타낸다. 시들음 병의 마지막 단계에서 무는 질병의 초기 단계에서 건강한 무 또는 감염된 무보다 더 많은 검은 부분을 가진다[8]. 결과적으로 언급된 특성은 임계 값 프로세스에 적용되어 그림 120와 같이 각 입력 이미지를 심한 질병, 가벼운 질병 또는 심각한 질병으로 분류한다. 흰색 픽셀이 전체 이미지의 90 % 이상을 차지할 경우, 전체 필드의 10 % 미만을 차지할 때 시들 픽셀이 중요하지 않기 때문에 건강한 무로 분류된다. 흰색 픽셀의 백분율이 60 %에서 90 % 사이 인 경우 이미지는 빛의 질병 영역으로 분류된다. 마지막으로 흰색 부분이 60 % 미만을 차지하면 이미지는 심각한 질병으로 분류된다.

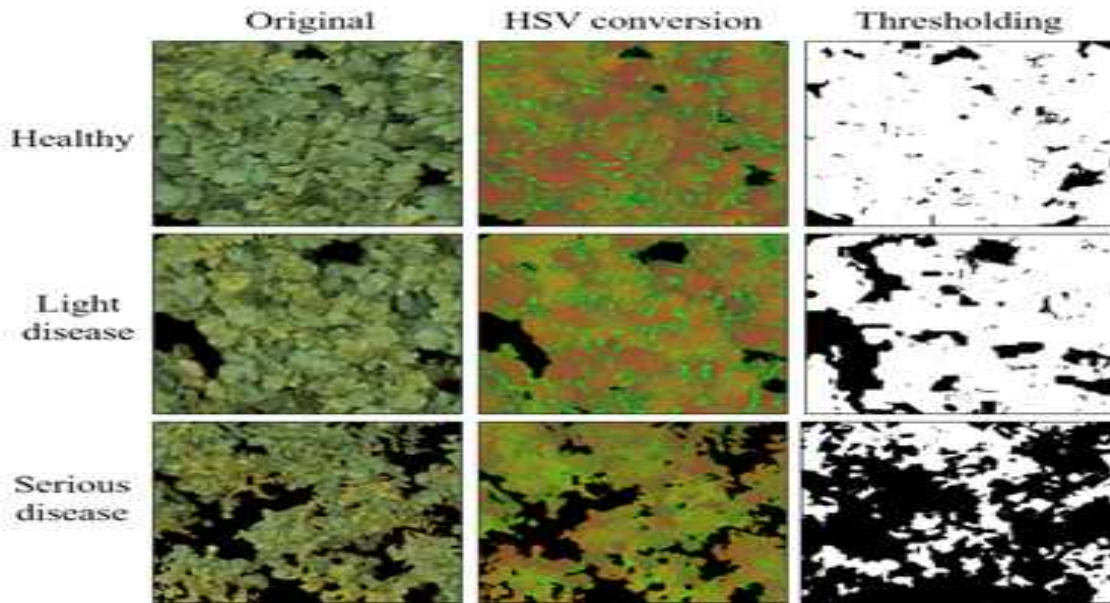


그림 120. 각 64x64 무 이미지 (첫 번째 열)를 HSV 색 공간 (두 번째 열)으로 변환한 다음 임계 값 프로세스 (세 번째 열)를 수행하여 질병 심각도를 건강 (첫 번째 행), 가벼운 질병으로 분류합니다. (두 번째 줄) 또는 심각한 질병 (세 번째 줄)

(다) NIR 데이터 셋을 이용한 무 시들 병 감지

이 섹션은 RGB 데이터 셋의 RadRGB 모델과는 다른 접근법 인 NIR 데이터 셋을 기반으로 NDVI 값을 계산하여 무 밭에서 시들 병을 감지한다.

우리는 다중 스펙트럼 이미지를 사용하여 NDVI를 계산하기 위해 이전 연구를 따랐다 [9] [10]. 스펙트럼 데이터에서 적색 채널 (600-700nm)과 NIR 채널 (700-900nm)은 NDVI를 계산하는 주요 변수였다. 녹색의 조밀 한 초목은 녹색 분자의 출현으로 인해 적색광 (R)을 강하게 흡수하는 반면, 잎의 세포벽은 NIR 채널에 속하는 빛을 크게 반사한다. NDVI는 R 및 NIR 채널을 정상화하여 식물의 건강 상태를 나타내는 새로운 신호를 제공한다[9].

NDVI의 방정식은 다음과 같습니다.

$$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R) \quad (2)$$

NDVI는 정규화 방법을 기반으로 계산되므로 값 범위는 0에서 1까지이다. 또한 인덱스는 녹색 식물에 잘 반응하며 식물이 적은 지역에서도 작동할 수 있다. NDVI 값은 일반적으로 식물 평가를 구현하는 연구에서 사용되며, canopy photosynthesis 과 leaf area index (LAI) 모두와 관련이 있는 것으로 입증되었다[11].

NDVI는 토양 배경에 매우 민감하여 캡처 된 이미지에 노이즈가 발생한다.

작물 건강 모니터링과 같은 농업 응용 분야의 경우, 토양 영역이 대부분의 작물을 차지하기 때문에 특히 작물이 개발 초기 단계에 있을 때 데이터 수집 프로세스 후 토양 배경의 영향을 제거하거나 줄이는 것이 중요하다. 농작물이 자라면서 대부분의 토양을 덮음에 따라 농경지에서 수집된 데이터에 대한 토양 배경의 영향은 미미한 수준으로 상당히 감소했다. UAV로 얻은 고해상도 및 낮은 고도 이미지에서 각 식물을 쉽게 감지하여 토양을 배제할 수 있다. 그럼에도 불구하고 저해상도로 감지된 이미지에서 토양 영역을 제거하는 것은 어려운 일이다. 각 픽셀은 식물의 반사율과 주변 토양 배경에 의해 영향을 받기 때문이다.

처음에 Richardson과 Wiegand [12]는 토양 라인 특성을 조사하여 식물과 토양 배경을 구별하기 위해 SAVI (variant frequency identification)에 대한 통계 알고리즘이라는 방법을 도입했다. 이것은 NIR과 R 채널 사이의 토양 스펙트럼 반사율 값의 2차원 공간에 대한 선형 연관으로 간주된다. 결과적으로 환경으로부터의 방대한 양의 토양 스펙트럼 데이터에 대한 포괄적인 설명으로 판단할 수 있다. Rondeaux et al. [13] SAVI의 토양 조정 변수를 수정하여 OSAVI라고 하는 개선된 식생 지수를 만들었다. 이는 저밀도 및 고밀도 식생 지역에서 토양 배경의 소음을 줄였다.

다음과 같이 계산된다.

$$OSAVI = (NIR - R) / (NIR + R + 0.16) \quad (3)$$

그림 122는 3가지 상태 (건강, 초기 질병 및 말기 질병)에서 무의 원래 NIR 이미지에서 나온 3개의 NDVI 이미지를 보여준다. 세 경우의 무의 NDVI 값은 항상 0을 초과했으며, 그림 122 (a)의 NDVI 값은 0.7에서 1 사이였으며 이는 건강한 잎의 가능한 가장 높은 밀도를 나타낸다. 무가 Fusarium wilt 질병에 감염되었을 때 잎의 색이 변하기 시작하여 0.45에서 0.7 미만으로 NDVI 값이 낮아지는 반면, NDVI 값은 후기 질환의 경우 대부분 0.45 아래로 감소했다.

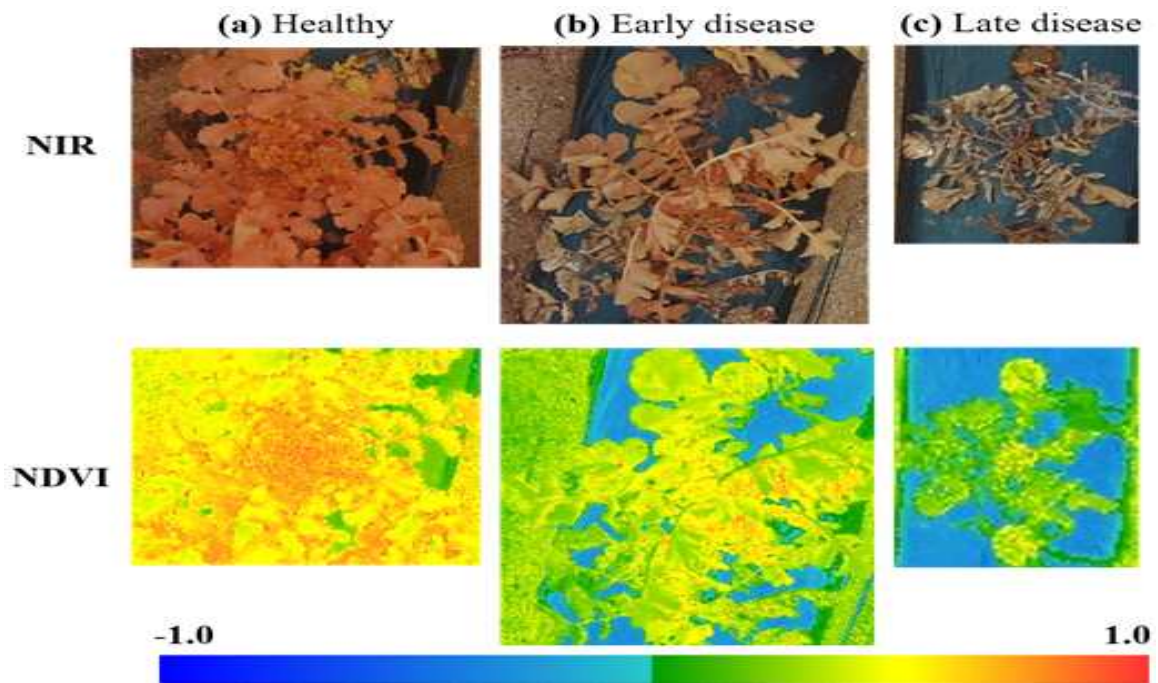


그림 122. (a) 건강, (b) 조기 질환 및 (c) 후기 질환을 포함하는 다른 상태의 무에 대한 3 개의 해당 NDVI 맵의 구별

이 연구에 사용된 NIR 데이터 세트에는 두 개의 영역이 있는데, 하나의 영역은 건강한 무 영역이었으며 다른 필드는 농부들이 Fusarium wilt 질병의 초기 증상을 보이는 것으로 보고되었다. 우리는 건강한 들판에서 무를 10 개, 감염된 들판에서 10 개의 무를 골랐고, 드론은 질병이 더 심각해졌을 때 NDVI 지표를 확인하기 위해 두 개의 서로 다른 시간 (01/12/18 및 01/28/18)에 각 지점마다 하나의 이미지를 캡처하는데 사용되었다. 따라서 NDVI 값은 각각의 관찰 날짜로부터 수집된 총 20개의 이미지에 대해 계산하였다.

그림 123은 2018 년 1월 12일과 28일에 시들음 병에 감염된 무밭에서 채취한 10 개의 무 샘플과 10 개의 무 샘플의 NDVI 값을 보여준다. 2018년 1월 12일, 건강 분야의 샘플에 대해 가장 높은 NDVI 값을 기록하였다. Fusarium wilt 질환에 감염된 현장의 샘플에 대해서는 낮은 NDVI 값이 발생했다. 시들음 병에 감염된 영역에 대해 16 일 후에 획득 한 NDVI 값은 느리게 퍼지고 잎자루의 혈관 요소를 악화시키기 때문에 NDVI 값이 훨씬 더 낮았으며 식물의 발달이 멈춘 것을 알 수 있었다.

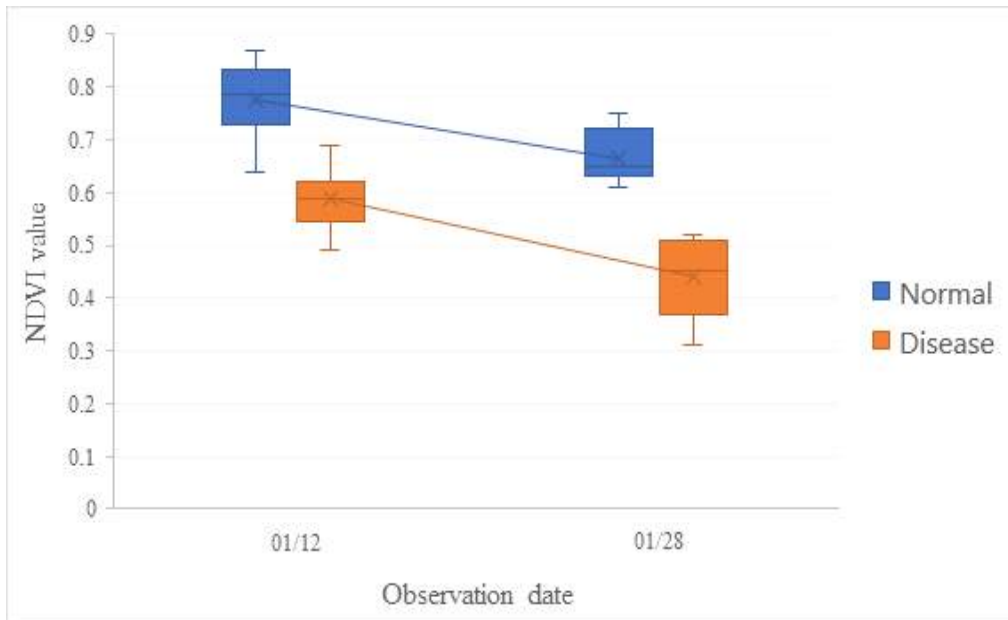


그림 123. 1 월 12 일과 1 월 28 일에 NDVI 값과 Fusarium wilt 질병의 상관관계를 보여주는 Boxplot. 그래프는 NDVI의 음성 경향을 나타내며, 건강한 무에서는 더 높은 값을, 시들음 병으로 감염된 무에서는 더 낮은 값을 가지며, WIVI 질환의 후기 상태에서 무에 대해 기록된 최저 NDVI 값을 갖는다.

무가 죽으면 그 지역의 토양이 드러난다. 따라서 OSAVI 지수는 토양이 캐노피를 통해 보이는 곳 (심각한 질병)과 NDVI가 포화되는 곳 (건강한 무)을 탐지하기 위해 적용될 수 있다. 그림 124을 기반으로 심각한 질병의 영향을 받는 무의 일부를 분리할 수 있다.

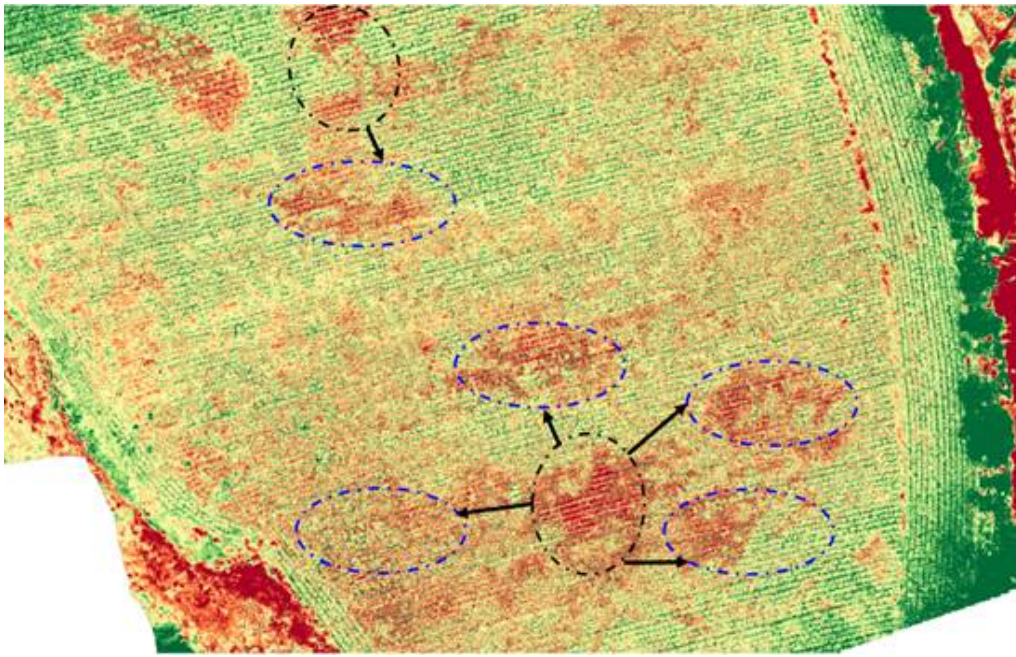


그림 124. 시들어 질 수 있는 질병의 원래 부위 (검은 색 동그라미)와 질병의 확장 가능한 부위 (파란색 동그라미)을 강조하는 무밭 OSAVI 맵의 상세도

높은 반사율 값을 생성하는 흩어진 무 또는 마른 토양이 있는 영역은 이미 지 센서를 비활성화하거나 무 덮개 및 바이오매스(biomass)의 바이어스 된 추정치를 추가할 수 있습니다. OSAVI 지수는 토양 반사율로 인해 더 큰 변동성을 수용할 수 있다. NDVI가 여러 초목 유형의 지역에서 적용 범위와 바이오매스를 결정하는 데 여전히 적용되지만 모래 토양 지역에서의 성능은 OSAVI에 비해 좋지 않다.

[1협동] 농우바이오

가. 1년차 (2016년)

(1) 개발 목표

- 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정
 - 강원도 홍천내면, 정선 임계 등 여러 지역 무 시들음병 균주 수집 : 10점
 - 수집된 균주의 병원성 검정 : 10점
 - 대표균주의 선정 및 시퀀싱을 통한 균주 분석 : 연 1점(3년간 총 3점 목표)
- 병점종 시험을 위한 최적의 접종 조건(온도 및 농도)을 선정
- 무 F₁ 및 계통 접종 시험
 - F₁ 및 계통 80점 2반복 2회
- 검정된 유전자원의 국립유전자원센터 기탁
 - 분리 검정된 시들음병 균주의 기탁 : 3점

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

① 재료 및 방법

- 균주 수집 : 무 시들음병 발병지역(전국)
- 병원성 검정 시험 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- 시험 방법
 - ㉠ 수집된 병원체에서 균주를 분리함
 - ㉡ 분리된 균주를 배양하여 접종 시험을 실시함
 - ㉢ 선정된 최적의 조건으로 관리하여 병 발생 관찰 및 조사
- 활용 방안
 - : 검정된 병원성균주를 유전자원센터에 기탁하여 관련 시험 수행 기관에 공개

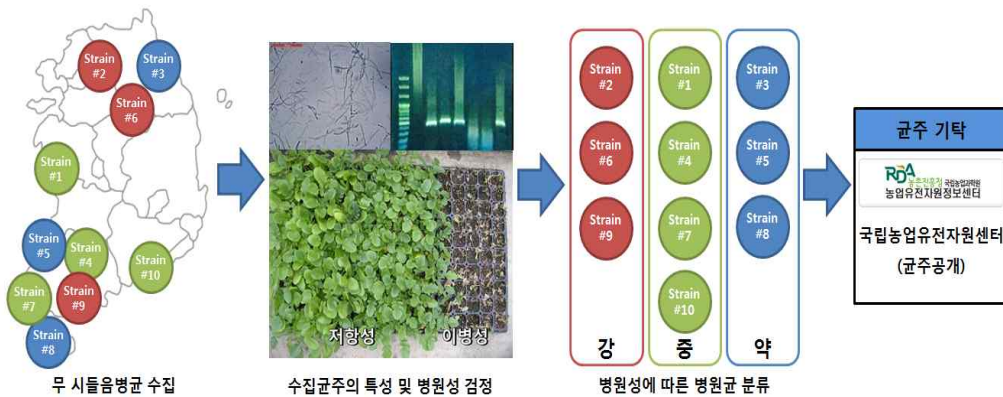


그림 125. 무 시들음병 수집, 분석 및 활용 모식도

(나) 병접종 시험을 위한 최적의 접종 조건(온도 및 농도)을 선정 무 F1 및 계통 접종 시험

- 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀

- 시험 방법

- ㉓ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- ㉔ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C 에서 5일간 진탕배양
- ㉕ 최적 접종농도 선정을 위한 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^4 spore/ml, 1×10^5 spore/ml, 1×10^6 spore/ml, 1×10^7 spore/ml 농도로 준비
- ㉖ 원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주



그림 126. 무 시들음병 접종

- ㉗ 최적 온도 선정을 위한 환경관리 : 접종 후 20°C, 25°C, 30°C 의 조건으로 관리
- ㉘ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정 및 각 환경별 최적 접종 조건 선정
- ㉙ 선정된 최적의 접종 환경을 기준으로 무 F₁ 및 계통에 대한 접종시험 수행

(다) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- 균주 수집 : 무 시들음병 발병지역(전국)
- 병원성 검정 시험 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- 시험 방법
 - ㉚ 수집된 병원체에서 균주를 분리함
 - ㉛ 분리된 균주를 배양하여 접종 시험을 실시함

- ㉔ 선정된 최적의 조건으로 관리하여 병 발생 관찰 및 조사
- 활용 방안
- ㉕ 검정된 병원성균주를 유전자원센터에 기탁하여 관련 시험 수행 기관에 공개

(라) 시들음병 판별 표준 품종 선정

- 재료 : 수집된 국내외 F₁ 품종
- 접종시험 : 수집된 국내외 F₁ 품종을 대상으로 2반복 3회 반복 접종시험 실시하여 표준품종을 선정함
- 표준 품종 판별
 - ㉖ 기 확보된 균주를 활용하여 저항성 품종, 중도저항성 품종, 이병성 품종을 선정
 - ㉗ 실험결과 확정된 품종을 공시하였음

(3) 연구결과

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- ① 균주 수집 : 2016년 6월 전북 고창, 강원 정선을 포함한 다양한 지역의 17개 균주를 수집
- ② 병원성 검정
 - 과종 : 육묘상에 무 종자를 과종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - 접종 : 1×10⁶spores/ml 농도로 맞춰진 병원균 현탁액에 유묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- ③ 조사 : 접종 후 14일에서 20일 사이 조사를 하였으며, 조사방법은 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사 5단계로 하였으며 1.0~2.0는 저항성, 2.1~3.0은 중도저항성 3.1 이상은 이병성으로 조사를 함.
- ④ 결과요약
 - 17개 균주중 16개 균주에서 병원성을 확인하였으며, 1개 균주는 병원성이 없었음.
 - 시험한 품종에서는 레이스 정도의 변이는 보이지 않았으나 약간의 병원성 차이는 있었음.
 - 3개 균주를 유전자원센터에 기탁을 하였음
 - 4개 균주는 시퀀싱 분석을 하였음 이를 토대로 DNA를 통한 균주 동정을 시도해 보고자 함.



그림 127. 지역별 수집된 무 시들음병균을 이용한 접종시험 전경 및 시험구

(나) 병접종 시험을 위한 최적의 접종 농도 선정

① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀

② 시험 방법

- 과종 : 육묘상에 무 종자를 과종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
- 최적 접종농도 선정을 위한 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁴spore/ml, 1×10⁵spore/ml, 1×10⁶spore/ml, 1×10⁷spore/ml 농도로 준비
- 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- 조사 : 접종 후 14일에서 20일 사이 조사를 하였으며, 조사방법은 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매이상 5. 고사 5단계로 하였음.
- 결과요약
 - ㉠ 4가지 농도로 시험을 실시하였으며, 농도가 높은 순으로 병 발생이 나타났음.
 - ㉡ 1×10⁶, 1×10⁷spore/ml은 병발생이 비슷하게 나타나고, 이병성과 저항성의 구분이 확연하게 차이가 나 균배양이 쉬운 1×10⁶spore/ml으로 시험하는 것이 좋을 것으로 사료됨.
 - ㉢ 계통 및 개체선발을 시험할 경우 에러 등이 발생할 가능성이 있어 높은 농도인1×10⁶spore/ml로 시험하는 것이 좋을 것으로 사료되며, F1의 경우는 저항성 정도가 낮은 것도 시험하는 경우가 있어 낮은 농도인 1×10⁵spore/ml으로 시험하는 것이 좋을 것으로 사료됨.



그림 128. 농도별 접종시험을 통해 선발된 $1 \times 10^6 \text{spore/ml}$ 처리구

(다) 병접종 시험을 위한 최적의 접종 온도 선정

① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀

② 시험 방법

- 과종 : 육묘상에 무 종자를 과종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C 에서 5일간 진탕배양
- 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 $1 \times 10^6 \text{spore/ml}$ 농도로 준비
- 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- 조사 : 접종 후 14일에서 20일 사이 조사를 하였으며, 조사방법은 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상, 5. 고사 5단계로 하였음.
- 결과요약
 - ㉠ 온도 제어가 되는 생육상에서 20°C , 25°C , 30°C 로 설정하여 시험을 실시하였음.
 - ㉡ 생육상의 광이 약한 관계로 약간의 웃자람이 있었음.
 - ㉢ 온도 시험 중 가장 적정한 온도는 25°C 로 나타났음.
 - ㉣ 30°C 는 무 성장온도와 맞지 않고 병 발생수준이 25°C 보다 약하게 나

왔으며, 20℃는 무 생장온도는 적합한 편이나 균의 활성이 떨어져 병발
생이 낮은 수준이었음.

(라) 무 F₁ 및 계통 접종 시험

① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀

② 시험 방법

- 과종 : 육묘상에 무 종자를 과종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진
탕배양
- 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
- 병원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱
트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
- 결과 : 세종대학교 무 F₁ 67 품종 및 조합을 시험한 결과 4점에서 저항성
을 나타내었으며 1점에서 중도저항성이 나타나는 것을 확인하였다. 또한
농우바이오 육성 68 계통에 대한 무 시들음병 접종시험 결과 저항성 수준
으로 나타나는 414개체를 저항성 품종육성 소재로의 활용을 위해 선발하
였다.

표 9. 세종대학교 무 F₁을 이용한 무 시들음병 접종 시험 결과

BN	품종명	접종 주수	이병지수					AVR.
			1	2	3	4	5	
1	삼박자	25	2			2	21	4.60
2	관동	21					21	5.00
3	3008A	25					25	5.00
4	13.8033	25	11	3	5	3	3	2.36
5	시교 204	25		1			24	4.88
6	시교 203	25	1		1		23	4.76
7	시교 198	25			1		24	4.92
8	시교 205	25					25	5.00
9	시교 1	25					25	5.00
10	13.8298	25					25	5.00
11	14.9310	25					25	5.00
12	14.9267	25	1				24	4.84
13	13.8298	25					25	5.00
14	14.9281	25	3			3	19	4.40
15	13.8054	25	18	2	1	2	2	1.72
16	시교 123	25	1		1		23	4.76
17	시교 145	25					25	5.00
18	시교 146	25					25	5.00
19	14.9204	25	2		1	2	20	4.52
20	시교2	25					25	5.00

21	13.8160	25					25	5.00
22	시교 24	25	2				23	4.68
23	시교 25	25					25	5.00
24	시교 30	25	2			1	22	4.64
25	시교 31	25	3		1		21	4.44
26	시교 103	24	10	2	1	1	10	2.96
27	시교 104	25	5	2	1	4	13	3.72
28	시교 106	25	1		1		23	4.76
29	시교 109	25	24	1				1.04
30	시교 110	25	6	3	3	3	10	3.32
31	시교 111	25	2		1	1	21	4.56
32	시교 112	25	5	1	2	1	16	3.88
33	13.8033	25	19	1	2		3	1.68
34	삼박자	26	1	1		1	23	4.69
35	관동	25					25	5.00
36	3008A	25					25	5.00
37	ORK-11	25	1				24	4.84
38	14.9187	23			1		22	4.91
39	시교 196	25					25	5.00
40	15.7078	25					25	5.00
41	시교 200	25	6	2		2	15	3.72
42	시교 199	25	3	1		4	17	4.24
43	14.9173	25					25	5.00
44	15.7081	25	3				22	4.52
45	성모 70	25	2	1	1	1	20	4.44
46	14.9246	25					25	5.00
47	14.9243	25					25	5.00
48	14.9244	25					25	5.00
49	성모 50	22	3	2			17	4.18
50	14.9337	25					25	5.00
51	성모 72	25	3			2	20	4.44
52	성모 48	25	2		1		22	4.60
53	만사형통	25					25	5.00
54	청정교원무	25					25	5.00
55	겨울대찬	25	6	1			18	3.92
56	월동찬미	25		1	1		23	4.80
57	14.9096	25					25	5.00
58	14.9285	25					25	5.00
59	14.9193	25					25	5.00
60	14.9311	25					25	5.00
61	14.9240	25		1			24	4.88
62	시교 70	25				1	24	4.96
63	시교 71	25	4		1	1	19	4.24
64	시교 72	25	4			2	19	4.28
65	15.7379	25					25	5.00
66	14.9192	20	3	1		2	14	4.15
67	14.9354	25					25	5.00
68	백옥무	25					25	5.00
69	월드미농무	50	7	3	1	4	35	4.14



그림 129. 세종대학교 F₁ 무 시들음병 접종 시험 포장 전경

표 10. 농우바이오 육성 계통에 대한 무 시들음병 접종시험 결과

BN	접종 주수	이병지수						선발주수
		1	2	3	4	5	AVR.	
8198	25	13	1	4	4	3	2.3	13
8199	25	10			5	10	3.2	10
8200	25	6		1		18	4.0	6
8201	25	9	1	2	1	12	3.2	9
8202	25	8	2		5	10	3.3	8
8203	25	15	2	2	1	5	2.2	15
8204	25	2	2			21	4.4	4
8205	25	2	2			21	4.4	7
8206	25	9	2	2	2	10	3.1	9
8207	25	5	2	5		13	3.6	7
8208	25	9	2	2	2	10	3.1	9
8209	25	10	1		1	13	3.2	3
8210	25	6	1		1	13	3.1	2
8211	25	1		2		22	4.7	1
8213	25	1				24	4.8	1
8214	25	1				24	4.8	1
8217	25		2			23	4.8	2
8219	25	4		3	1	17	4.1	4
8220	25	3		1	1	20	4.4	3
8221	25		1	1	1	22	4.8	0
8222	25					25	5.0	0
8223	25	5	2	1	2	15	3.8	7
8225	25				1	24	5.0	0
8226	25			1	2	22	4.8	0
8227	25					25	5.0	
8230	25			1		24	4.9	0
8231	25					25	5.0	0
8236	25	1		2	2	20	4.6	1
8237	25		2		1	22	4.7	2

8239	25	2				23	4.7	2
8241	25	1				24	4.8	1
8242	25		1	2	1	21	4.7	1
8243	25		1		3	21	4.8	1
8247	25	1		1		23	4.8	1
8248	25	3			1	21	4.5	3
8249	25		1		1	23	4.8	0
8254	25	9		3		13	3.3	9
8255	25	14	4	3		4	2.0	14
8256	25	12	2	2	2	7	2.6	12
8257	25	4			4	17	4.2	4
8258	25	11	4	1	2	7	2.6	11
8259	25	7	2	4	2	10	3.2	7
8260	25	1	1	1		22	4.6	1
8261	25	3	4		3	15	3.9	7
8262	25	21	3		1		1.2	21
8263	25	13	5		2	5	2.2	13
8264	25	2		2	3	18	4.4	2
8265	25	8	2	2	6		1.7	8
8266	25	7	5	2	1	10	3.1	7
8267	25	11	4	2	3	5	2.5	11
8268	25	2	5	2		18	4.3	7
8269	25	1	1			23	4.7	2
8270	25	11	2	1	1	10	2.9	11
8271	25	16	3	2	2	2	1.8	16
8272	25	3	1	1	1	19	4.3	4
8273	25		1		1	23	4.8	0
8274	25	17	2	4	2		1.6	17
8275	25	12	1		1		0.7	12
8276	25	1	1	3	1	19	4.4	2
8277	25		2	1	2	20	4.6	0
8278	25	19	1	1	4		1.6	19
8279	25	18	1	1	2	3	1.8	18
8280	25	2			5	18	4.5	2
8281	25	4	2	2	3	12	3.4	6
8282	25	16	2	2	1	4	2.0	16
8283	25	15	3	2	2	3	2.0	15
8284	25	7	4		8	6	3.1	7

(마) 시들음병 관별 표준 품종 선정

① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀

② 시험 방법

- 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
- 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비

- 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
- 결과 : 시판품종 134점을 시험한 결과 저항성(1.0~2.0)은 BN4, 98, 106, 125, 131등 5점이 중도저항성(2.1~3.0)은 BN 3, 4, 27, 29, 44, 52, 62, 79, 106, 107, 110, 113이며 나머지는 이병성으로 나타남. 판별품종은 시험결과와 관련 논문 등을 토대로 저항성(1.0~2.0)은 명산, R64를, 중도저항성(2.1~3.0)은 서호골드와 월드미농을, 중도보다 약한 내성(3.1~4.0)은 삼박자와 슈퍼길조, 이병성은 관동여름과 멧진맛동으로 나타나 계속적인 시험으로 추후 정하고자 함.

표 11. 무 시들음병 판별품종 선정을 위한 시판품종 접종시험

BN	품종명	6월 20일 시험성적		9월 29일 시험성적	
		접종 주수	이병지수	접종 주수	이병지수
1	국보	25	3.8	25	3.2
2	멧진맛갈무	25	4.2	25	4.7
3	서호골드	25	3.5	25	1.5
4	서호무	25	3.9	25	1.8
5	강호골드	25	4.4	25	4.4
6	싱싱무	25	4.2	25	4.5
7	청운	25	3.4	25	3.2
8	청복	25	5.0	25	4.4
9	청운플러스	25	4.7	25	3.8
10	금수강산	25	4.1	25	4.0
11	장군무	25	5.0	25	5.0
12	신세계	23	4.9	25	5.0
13	설중매무	25	4.4	25	3.2
14	TS-1	25	3.4	25	3.5
15	보르도무	25	4.6	25	4.9
16	대동무	25	5.0	25	5.0
17	장원	25	3.4	25	3.1
18	만풍	25	5.0	25	4.6
19	신고소	25	4.8	25	4.9
20	신소송	25	5.0	25	4.8
21	설원청자	25	5.0	25	4.7
22	송광	25	2.8	25	3.8
23	가을일품	25	3.6	25	4.3
24	설란일품	25	4.9	25	4.7
25	소고무	25	4.6	25	4.5
26	소송무	25	5.0	25	5.0
27	진광무	25	3.6	25	2.0
28	초월무	25	4.7	25	2.8
29	삼복다발	25	2.0	25	3.2

30	서광다발무	25	4.5	25	5.0
31	황금다발	25	4.5	25	3.7
32	탑그린	25	4.8	25	5.0
33	대들보	25	4.6	25	4.5
34	청대봄	25	4.6	25	5.0
35	생그린봄무	25	4.2	25	2.8
36	신생	25	4.6	25	3.3
37	대한	25	4.9	25	4.8
38	감동무	25	4.2	25	2.6
39	늘푸른봄무	25	4.9	25	4.8
40	백광	25	5.0	25	5.0
41	삼박자	25	4.9	25	2.8
42	상감무	25	4.8	25	2.4
43	속성대형봄	25	4.8	25	5.0
44	신청일품무	25	4.4	25	1.4
45	청일품무	17	2.0	16	1.1
46	맛추임봄	25	4.9	25	5.0
47	새푸른봄	25	5.0	25	5.0
48	어깨동무	25	5.0	25	4.9
49	하우스마춤봄	25	4.9	25	2.5
50	대복봄	25	5.0	25	4.9
51	YR신청장군	25	5.0	25	4.9
52	봄미인	25	3.0	25	1.2
53	전무후무	25	4.9	25	4.9
54	청록플러스무	25	5.0	25	5.0
55	평정	25	4.8	25	5.0
56	조생맛동	25	4.7	25	3.6
57	만사형통	25	4.9	25	5.0
58	멋진맛동무	25	5.0	25	5.0
59	슈퍼길조	25	4.3	25	2.6
60	강동	25	5.0	25	5.0
61	대지월동	25	4.1	25	2.1
62	신대지	25	4.1	25	1.9
63	관운	25	3.3	35	3.0
64	관동	25	5.0	25	5.0
65	탑스런	25	5.0	25	5.0
66	누비라(시험용)	25	5.0	25	5.0
67	신기원	25	5.0	25	5.0
68	청해무	25	5.0	25	5.0
69	만추대청	25	5.0	25	5.0
70	강추무	25	5.0	25	5.0
71	태청	25	4.4	25	2.6
72	대평무	25	5.0	25	5.0
73	탑동무	25	4.8	25	5.0
74	탐나고원	25	5.0	25	4.8
75	GS제주	25	4.5	25	4.6
76	YR오래	25	5.0	25	5.0
77	미금	25	5.0	25	3.0
78	이엑스미노	25	5.0	25	4.9
79	슈퍼모델	25	2.6	25	2.4

80	장녹수단무지	25	3.8	25	2.6
81	스프링스타	25	2.8	20	1.8
82	아이피미노	25	5.0	25	4.4
83	초비	25	4.4	25	4.1
84	금봉	25	4.8	25	4.9
85	선춘무	25	4.3	25	3.8
86	소춘	25	3.9	25	4.1
87	기찬	25	4.9	25	5.0
88	여름달랑	25	5.0	25	5.0
89	청치미	25	3.7	25	4.2
90	올봄알타리	25	3.8	25	3.6
91	초봄알타리	25	4.6	25	4.3
92	신남강알타리무	25	4.6	25	4.7
93	금초롱	25	4.8	25	4.3
94	대양1호	25	4.2	25	3.1
95	새롬무	25	4.9	25	4.6
96	백옥단침	25	4.9	25	4.0
97	개걸	25	4.9	25	4.9
98	YR명품열	19	2.1	25	2.0
99	동풍열	25	4.9	25	5.0
100	신만복	25	4.8	25	4.0
101	신만복열무	25	4.5	25	3.8
102	왕중왕열(시험용)	25	5.0	25	5.0
103	파워흑광	25	4.9	25	4.3
104	흑광열	25	4.8	25	4.7
105	흑단열무Ⅱ	21	3.2	25	2.0
106	TROPIC IVORY	25	1.4	25	1.1
107	R67	25	3.9	25	1.8
108	S50140	25	4.9	25	4.8
109	에이치씨-4	24	4.8	25	4.1
110	에이치알엔666	23	3.1	25	1.4
111	여름마지매	25	3.8	25	2.1
112	장형봄무	25	4.8	25	5.0
113	지알-26	25	4.0	25	1.6
114	지알-28	25	4.0	25	2.1
115	디알에이씨0813	25	3.9	23	2.5
116	R64	25	3.5	25	1.3
117	적환20일무	24	2.1	25	2.6
118	나쁘쁘까사	25	4.8	25	4.4
119	후유미네	25	4.9	25	5.0
120	후쿠텐카	25	3.6	23	1.7
121	R-55	25	4.8	25	3.4
122	R-116	25	5.0	25	4.5
123	NO.50140	25	5.0	25	2.9
124	NO.51964	25	4.9	25	4.4
125	ORK-041002	25	3.0	25	1.1
126	ORK-22406	25	4.8	25	4.2

127	ORK-22643	25	4.8	25	3.4
128	장원열무	25	4.2	25	2.3
129	선봉알타리	25	4.6	25	4.0
130	맛깔열무	25	5.0	25	5.0
131	명산무	25	1.6	25	1.0
132	무시로열무	25	5.0	25	5.0
133	빛고을알타리	25	4.6	25	4.1
134	참맛알타리	25	4.6	25	3.3
135	백옥	25	5.0	25	4.4
136	512	25	4.7	0	



그림 130. 무시들음병 판별품종 선정을 위한 시판품종 집중시험 전경

(바) 농가 실증 시험

- ① 일 시 : 2016년 9월 28일
- ② 장 소 : 강원도 홍천군 내면
- ③ 참석자 : 허건 연구원, 장민석 팀장, 최종현 팀장
- ④ 경중 개요
 - 파 중 일 : 2016년 07월 10일
 - 수 확 일 : 2016년 10월 10일 예정
 - 조 사 일 : 2016년 09월 28일
 - 재배환경 : 해발 600M, 노지 재배

(사) 주요 내용

① 시범포 운영 목적

- 세종대학교 박한용 교수 무 신조합 시험 및 선발
- 신품종 개발을 위해 박한용 교수의 신조합을 별도 포장에서 시범포를 운영함

② 시범포 운영 현황

- 재 배 자 : 김재만 (홍천군 내면)
- 재배면적 : 100평
- 시교조합 : 12개 조합
- 대 비 종 : 청황무

(아) 결 론

- 전년도 및 금년도 2년간 박한용 교수의 신조합 12개 조합을 고랭지 단지권에 시범포를 조성하여 전반적인 생육상태 및 작황정도를 파악하였다.
- 무 육성 연구원 동행 작황조사 결과 현재 고랭지 단지권에서 선호하는 품종의 특성이 아니며 시장주도하는 여름무 타입의 품종이 아닌 것으로 판단되었다.



그림 131. 강원도 홍천군 내면 무 시교 농가실증 시험 전경

나. 2년차 (2017년)

(1) 개발 목표

- 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정
 - 강원도 홍천내면, 정선 임계 등 여러 지역 무 시들음병 균주 수집 : 10점
 - 수집된 균주의 병원성 검정 : 10점
 - 대표균주의 선정 및 시퀀싱을 통한 균주 분석 : 연 1점(3년간 총 3점 목표)
- 병점중 시험을 위한 최적의 접종 조건(온도 및 농도)을 선정
- 무 F₁ 및 계통 접종 시험
 - F₁ 및 계통 80점 2반복 2회
- 검정된 유전자원의 국립유전자원센터 기탁
 - 분리 검정된 시들음병 균주의 기탁 : 3점

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- ① 균주 수집 : 무 시들음병 발병지역(전국)
- ② 병원성 검정 시험 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ③ 시험 방법
 - ㉠ 수집된 병원체에서 균주를 분리함
 - ㉡ 분리된 균주를 배양하여 접종 시험을 실시함
 - ㉢ 선정된 최적의 조건으로 관리하여 병 발생 관찰 및 조사
- ④ 활용 방안
 - ㉠ 검정된 병원성균주를 유전자원센터에 기탁하여 관련 시험 수행 기관에 공개

(나) 시들음병 판별 표준 품종 선정

- ① 재료 : 수집된 국내외 F₁ 품종
- ② 접종시험 : 수집된 국내외 F₁ 품종을 대상으로 접종시험을 수행하여 표준품종 선정
- ③ 표준 품종 판별
 - ㉠ 기 확보된 균주를 활용하여 저항성 품종, 중도저항성 품종, 이병성 품종을 선정

(다) 무 F₁ 및 계통 접종 시험

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법

- ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
- ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^6 spore/ml 농도로 준비
- ㉣ 병원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정

(마) 무 시들음병 저항성 품종의 농가 실증시험

- ① 시험 지역 : 강원도 평창 황계지역
- ② 시험 내용 : 세종대학교 육성 품종을 이용한 농가 실증시험 수행

(3) 연구결과

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- ① 균주 수집 : 2017년 경기 충주, 강원 정선 등 5개 지역의 10개 균주를 수집
- ② 병원성 검정
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕 배양
 - ㉢ 접종 : 1×10^6 spores/ml 농도로 맞춰진 병원균 현탁액에 육묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉣ 조사 : 접종 후 14일에서 20일 사이 조사를 하였으며, 조사방법은 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사 5단계로 하였으며 1.0~2.0는 저항성, 2.1~3.0은 중도저항성 3.1 이상은 이병성으로 조사를 함
 - ㉤ 결과요약
 - ㉠ 10개 균주에서 모두 병원성이 확인되었으며 분리된 균주별로 병원성의 차이가 확인됨
 - ㉡ 병원성의 차이는 존재하였으나 품종별 이병성, 저항성 구분이 비슷한 양상으로 진행됨
 - ㉢ 3개 균주를 유전자원센터에 11월 중 기탁
 - ㉣ 5개 균주는 시퀀싱 분석을 수행 예정이며 현재 해당 균주 5종 단포자 분리

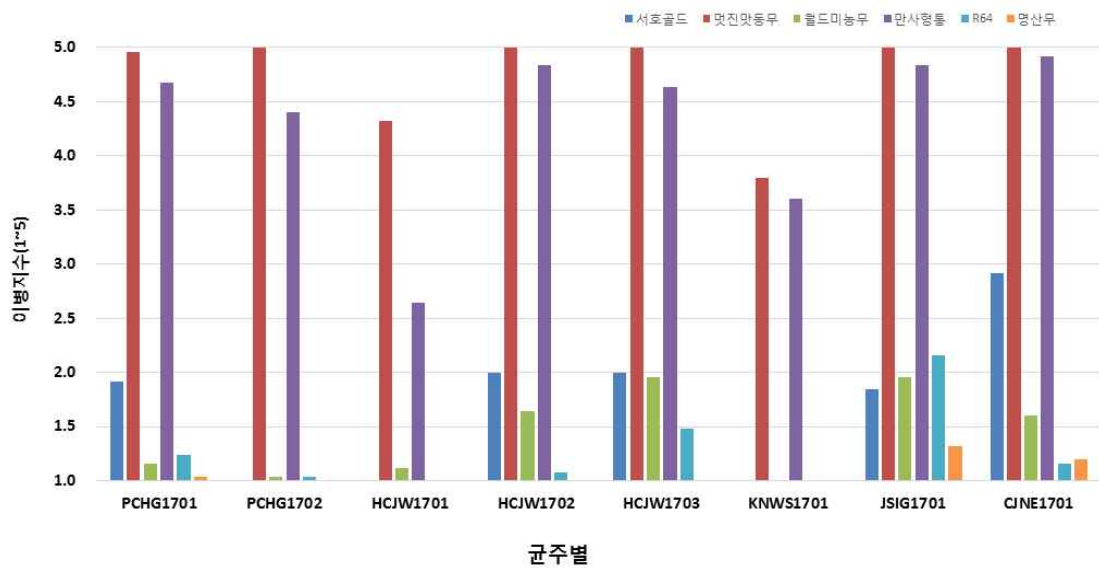


그림 132. 지역별 수집군주의 무 시들음병 접종시험 결과

(나) 무 시판품종에 대한 무 시들음병 접종시험 및 판별품종 선정

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 과종 : 육묘상에 무 종자를 과종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C 에서 5일간 진탕 배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^6 spore/ml 농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉥ 결과 : 시판 품종 및 도입 F₁ 품종 135종에 대하여 무 시들음병을 2회에 걸쳐 접종한 결과, R64, 명산무 등 11개 품종에서 2회 모두 이병지수 2 이하의 저항성을 나타내었으며, 서호골드무, 청운무 등 14개 품종에서 이병지수 2~3 정도를 나타내어 중도저항성으로 확인되었다. 각 시험간의 시험 시기별 온도차에 의한 약간의 편차가 발생하였으나 전체적인 발병양상은 동일하게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 위 결과 및 2016년 시판품종 136종에 대한 시들음병 접종 결과를 종합하여 볼때 병발생의 양상이 명확히 구분되는 품종인 명산무, R64를 저항성 판별품종, 서호골드무와 이전 시험에서 중도저항성으로 나타난 월드미농무를 중도저항성, 멧진맛동무와 만사형통무를 이병성 품종으로 1차적으로 선발하였다.

표 12. 무 시들음병 시판품종 접종시험(2017년)

BN	품 종 명	1차 시험		2차 시험	
		접종주수	이병지수(1~5)	접종주수	이병지수(1~5)
1	국보	25	2.0	25	5.0
2	멋진맛갈무	25	3.0	25	4.8
3	서호골드	25	1.6	25	2.2
4	서호무	25	1.4	25	2.8
5	강호골드	25	2.2	25	4.7
6	상싱무	23	1.3	25	4.1
7	청운	25	1.1	25	2.2
8	청복	25	3.4	25	4.6
9	청운플러스	25	2.3	25	4.3
10	금수강산	20	1.9	25	3.6
11	장군무	25	5.0	25	5.0
12	신세계	19	3.2	25	4.6
13	설중매무	25	2.8	25	4.4
14	TS-1	25	2.8	25	3.8
15	보르도무	22	2.6	22	3.9
16	대동무	25	4.6	25	5.0
17	장원	25	2.2	25	3.8
18	만풍	25	3.7	25	4.8
19	신고소	25	4.0	25	4.8
20	신소승	25	3.8	25	4.9
21	설원청자	24	2.9	25	4.2
22	송광	25	2.6	25	3.7
23	가을일품	25	2.2	25	4.0
24	설란일품	23	4.3	25	4.9
25	소고무	25	4.8	25	4.9
26	소승무	25	4.7	25	5.0
27	진광무	25	2.1	25	4.0
28	초월무	25	1.8	25	3.1
29	삼복다발	22	1.8	25	2.5
30	서광다발무	25	2.1	25	4.5
31	황금다발	23	1.9	25	4.3
32	탑그린	25	4.6	25	4.9
33	대들보	25	3.0	25	4.9
34	청대봄	16	4.5	25	4.7
35	생그린봄무	25	1.8	25	3.5

BN	품종명	1차 시험		2차 시험	
		접종주수	이병지수(1~5)	접종주수	이병지수(1~5)
36	신생	25	2.1	25	4.3
37	대한	25	4.3	25	5.0
38	감동무	25	1.5	25	4.2
39	늘푸른봄무	22	3.6	22	4.9
40	백광	25	4.6	25	5.0
41	삼박자	25	2.6	25	4.5
42	상감무	25	2.0	25	4.5
43	속성대형봄	25	3.9	25	5.0
44	신청일품무	25	1.4	25	3.2
45	청일품무	8	1.4	25	1.4
46	맛추임봄	25	4.8	25	5.0
47	새푸른봄	25	5.0	25	5.0
48	어깨동무	25	4.4	25	5.0
49	하우스마춤봄	25	2.5	25	4.4
50	대복봄	25	5.0	25	5.0
51	YR신청장군	23	4.5	25	4.9
52	봄미인	25	1.2	25	3.0
53	전무후무	25	3.6	25	4.7
54	청록플러스무	25	4.9	25	4.9
55	평정	25	4.6	25	5.0
56	조생맛동	25	2.5	25	4.1
57	만사형통	25	4.8	25	4.9
58	멋진맛동무	19	3.7	25	4.9
59	슈퍼길조	23	1.2	25	3.7
60	강동	20	4.8	25	5.0
61	대지월동	21	2.0	25	1.9
62	신대지	25	1.5	25	2.8
63	관운	25	1.8	25	2.0
64	관동	25	4.9	25	4.8
65	탐스런	25	5.0	25	5.0
66	누비라(시험용)	25	5.0	25	5.0
67	신기원	23	4.9	25	4.9
68	청해무	25	5.0	25	4.9
69	만추대청	25	4.9	25	5.0
70	강추무	25	4.7	25	4.9
71	태청	25	2.4	25	2.4

BN	품 종 명	1차 시험		2차 시험	
		접종주수	이병지수(1~5)	접종주수	이병지수(1~5)
72	대평무	25	4.8	25	5.0
73	탑동무	25	4.7	25	5.0
74	탐나고원	17	3.5	25	5.0
75	GS제주	25	2.8	25	4.0
76	YR오래	20	3.8	25	4.9
77	미금	25	3.8	25	4.1
78	이엑스미노	25	4.7	25	4.6
79	슈퍼모델	15	1.1	25	2.0
80	장녹수단무지	25	3.0	25	3.2
81	스프링스타	17	1.2	22	1.4
82	아이피미노	25	4.6	25	4.4
83	초비	17	1.2	20	2.6
84	금봉	25	3.3	25	4.1
85	선춘무	25	2.3	25	3.4
86	소춘	25	3.2	25	3.3
87	기찬	25	5.0	25	4.8
88	여름달랑	25	3.3	25	4.6
89	청치미	25	4.1	25	3.9
90	올봄알타리	25	4.2	25	3.6
91	초봄알타리	25	4.2	25	4.6
92	신남강알타리무	25	4.5	25	4.9
93	금초롱	22	4.8	22	4.6
94	대양1호	25	4.2	25	3.6
95	새롬무	25	5.0	25	5.0
96	백옥단침	25	4.1	25	3.8
97	계걸	25	4.9	25	4.7
98	YR명품열	21	2.2	25	2.5
99	동풍열	25	4.8	25	4.8
100	신만복	24	2.0	25	4.1
101	신만복열무	25	3.7	25	4.4
102	왕중왕열(시험용)	23	5.0	23	5.0
103	파워흑광	16	3.9	20	4.8
104	흑광열	25	4.2	25	4.8
105	흑단열무 II	25	1.4	25	2.7
106	TROPIC IVORY	25	1.1	25	1.0
107	R67	25	1.9	25	2.5

BN	품 종 명	1차 시험		2차 시험	
		접종주수	이병지수(1~5)	접종주수	이병지수(1~5)
108	S50140	23	3.1	25	4.5
109	에이치씨-4	25	4.1	25	4.5
110	에이치알엔666	25	2.6	25	2.1
111	여름마지매	25	1.6	25	2.9
112	장형봄무	25	3.3	25	4.3
113	지알-26	25	2.6	25	1.9
114	지알-28	25	1.9	25	4.0
115	디알에이씨0813	12	2.7	10	3.3
116	R64	25	1.5	25	1.5
117	적환20일무	25	2.2	25	1.4
118	나쓰쓰까사	22	3.5	22	4.1
119	후유미네	18	5.0	20	5.0
120	후쿠텐카	8	1.4	10	1.8
121	R-55	25	4.4	25	3.3
122	R-116	25	4.9	25	4.9
123	NO.50140	25	4.2	25	4.6
124	NO.51964	25	4.5	25	4.9
125	ORK-041002	25	2.5	25	1.4
126	ORK-22406	25	3.7	25	4.7
127	ORK-22643	25	4.1	25	4.7
128	장원열무	25	3.8	25	4.2
129	선봉알타리	25	4.7	25	4.2
130	맛깔열무	25	4.7	25	5.0
131	명산무	25	1.0	25	1.6
132	무시로열무	25	5.0	25	5.0
133	빛고을알타리	25	4.5	25	4.4
134	참맛알타리	25	3.2	25	4.2
135	삼박자	30	1.6	30	4.0

*1차 시험 파종 2017. 5. 4, 접종 5. 9, 조사 5. 29; 2차 파종 5. 26, 접종 6. 1, 조사 6. 20

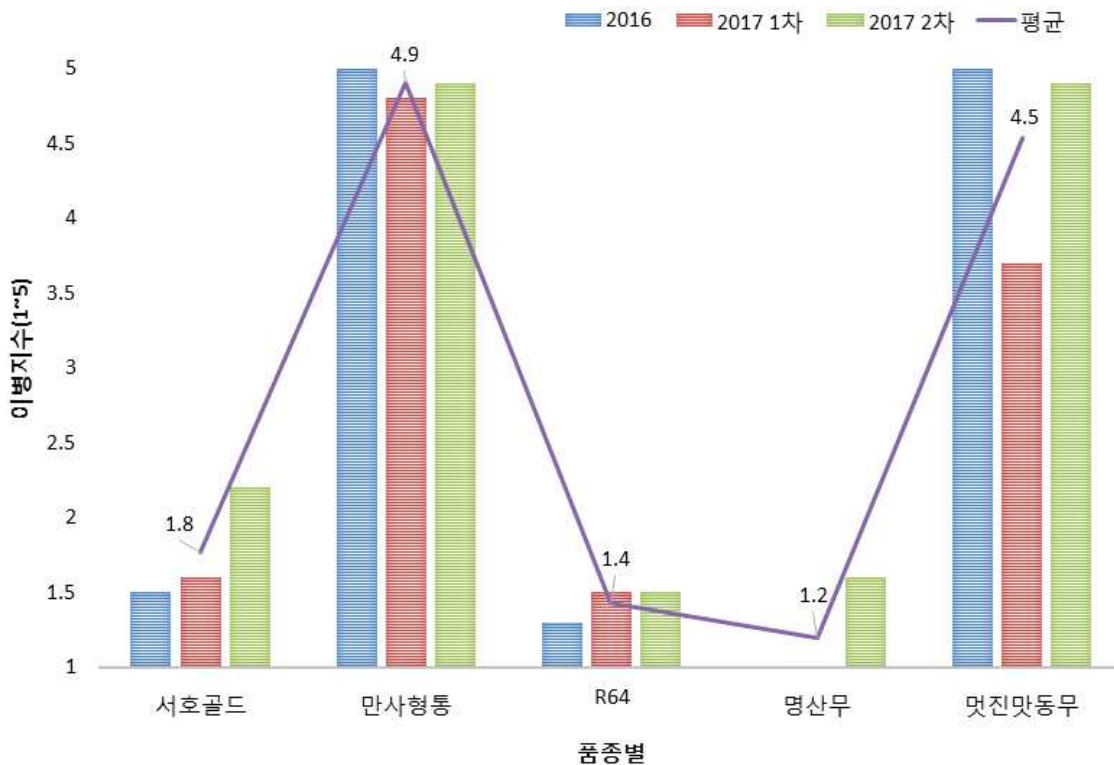


그림 133. 무 시들음병 판별품종으로 1차 선발된 품종들의 무 시들음병 접종 결과

(다) 세종대학교 육성 F₁ 조합에 대한 무 시들음병 접종 결과

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉥ 결과 : 세종대학교 무 F₁ 67 품종 및 조합을 시험한 결과 4점에서 저항성을 나타내었으며 1점에서 중도저항성이 나타나는 것을 확인하였다.

표 13. 세종대학교 육성 조합에 대한 무 시들음병 접종시험 결과

BN	품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)	BN	품종명	접종 주수	이병지 수 (1~5)
1	11	25	4.8	26	274	25	5.0
2	25	20	4.0	27	284	25	5.0
3	45	25	3.8	28	286	25	5.0
4	50	25	4.6	29	291	25	5.0
5	51	25	4.0	30	375	25	3.7
6	53	25	3.6	31	381	25	4.6
7	55	25	5.0	32	385	25	5.0
8	56	25	5.0	33	389	25	4.7
9	67	25	4.9	34	397	25	5.0
10	74	25	5.0	35	415	25	5.0
11	76	25	5.0	36	418	25	5.0
12	82	25	5.0	37	426	25	5.0
13	83	25	3.6	38	435	25	5.0
14	100	25	5.0	39	464	25	4.3
15	118	25	5.0	40	489	20	5.0
16	120	25	4.8	41	497	25	4.1
17	121	25	4.9	42	508	25	1.1
18	223	25	5.0	43	515	24	2.8
19	228	25	4.9	44	524	25	4.9
20	231	25	5.0	45	528	25	4.2
21	245	25	1.0	46	529	25	3.6
22	249	5	3.8	47	533	25	5.0
23	263	25	4.2	48	573	25	3.1
24	264	25	5.0	49	815	25	1.8
25	268	25	4.8				

*과중 2017. 9. 21, 접종 9. 28, 조사 10. 10

(라) 농우바이오 춘계 육성 F₁ 조합에 대한 무 시들음병 접종 결과

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉓ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉔ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉕ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
 - ㉖ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉗ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉘ 결과 : 농우바이오 육성 65 조합에 대한 무 시들음병 접종시험 결과 저항성으로 17조합이 나타나, 성능검정을 통해 품질을 확인하고자 함.

표 14. 농우바이오 육성 F₁ 조합에 대한 무 시들음병 접종시험 결과

BN	품종명	접종수	이병지수 (1~5)	BN	품종명	접종수	이병지수 (1~5)
1	NWR001	25	3.4	43	NWR043	25	3.4
2	NWR002	25	5.0	44	NWR044	25	1.8
3	NWR003	25	4.1	45	NWR045	25	1.7
4	NWR004	25	2.6	46	NWR046	25	2.1
5	NWR005	25	4.7	47	NWR047	25	1.8
6	NWR006	25	4.9	48	NWR048	25	1.4
7	NWR007	25	4.9	49	NWR049	25	1.2
8	NWR008	25	5.0	50	NWR050	25	5.0
9	NWR009	25	5.0	51	NWR051	25	5.0
10	NWR010	25	5.0	52	NWR052	25	3.6
11	NWR011	25	4.4	53	NWR053	25	4.1
12	NWR012	23	3.4	54	NWR054	25	3.2
13	NWR013		미발아	55	NWR055	25	5.0
14	NWR014	25	4.1	56	NWR056	25	3.1
15	NWR015	25	5.0	57	NWR057	25	1.8
16	NWR016	21	4.4	58	NWR058	25	2.9
17	NWR017	25	4.7	59	NWR059	25	2.8
18	NWR018	25	3.4	60	NWR060	25	5.0
19	NWR019	25	2.0	61	NWR061		미발아
20	NWR020	25	3.5	62	NWR062	25	1.2
21	NWR021	25	4.7	63	NWR063	25	1.9
22	NWR022	25	5.0	64	NWR064	25	1.4

23	NWR023	25	4.9	65	NWR065	25	2.0
24	NWR024	25	2.2	66	NWR066	25	3.0
25	NWR025	25	5.0	67	NWR067	15	3.0
26	NWR026	25	1.1	68	NWR068	14	2.8
27	NWR027	25	1.5	69	NWR069	24	4.7
28	NWR028	25	1.6	70	NWR070	25	1.1
29	NWR029	25	4.9	71	NWR071	25	1.2
30	NWR030	25	4.8	72	NWR072	25	4.3
31	NWR031	25	1.0	73	NWR073	25	5.0
32	NWR032	25	4.7	74	NWR074	25	4.9
33	NWR033	25	5.0	75	NWR075	25	3.9
34	NWR034	25	4.0	76	NWR076	25	3.7
35	NWR035	25	3.7	77	NWR077	25	3.2
36	NWR036	25	2.3	78	NWR078	25	3.8
37	NWR037	25	2.7	79	NWR079	25	1.7
38	NWR038	25	4.9	80	NWR080	25	1.9
39	NWR039	25	1.5	81	NWR081	25	4.2
40	NWR040	25	4.0	82	NWR082	25	3.2
41	NWR041	25	1.8	83	NWR083	30	2.5
42	NWR042	25	4.8				

*파종 2017. 4. 14, 접종 4. 21, 조사 5. 8

(마) 농우바이오 춘계 육성 계통에 대한 무 시들음병 접종 결과

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^6 spore/ml 농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉥ 결과 : 농우바이오 육성 227점 계통에 대한 무 시들음병 접종시험 결과 저항성 개체 414개체를 선발하여 후대 종자를 받고자 함.

표 15. 농우바이오 육성 계통에 대한 무 시들음병 접종시험 결과

BN	품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)	선발 주수	BN	품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)	선발 주수
1	701	50	3.9	8	39	739	50	4.5	2
2	702	50	3.8	8	40	740	50	4.4	3
3	703	50	3.7	10	41	741	50	4.8	
4	704	50	3.5	10	42	742	50	4.3	2
5	705	49	3.6	10	43	743	50	4.4	4
6	706	50	4.2	5	44	744	50	4.4	3
7	707	50	3.3	12	45	745	50	4.5	2
8	708	50	3.8	8	46	746	50	4.5	4
9	709	50	3.6	10	47	747	50	4.4	4
10	710	50	3.6	10	48	748	50	4.6	4
11	711	50	3.4	8	49	749	50	4.3	3
12	712	50	4.0	6	50	750	50	4.3	3
13	713	50	3.8	8	51	751	50	4.3	6
14	714	50	4.1	6	52	752	50	4.6	2
15	715	45	3.4	11	53	753	50	4.5	3
16	716	50	2.3	24	54	754	50	4.4	5
17	717	50	3.8	9	55	755	50	4.6	2
18	718	50	3.5	10	56	756	50	4.6	1
19	719	50	4.2	6	57	757	50	4.1	6
20	720	50	3.8	10	58	758	50	4.0	5
21	721	50	3.7	10	59	759	50	4.6	2
22	722	50	3.7	8	60	760	50	4.4	5
23	723	50	4.1	7	61	761	50	3.8	10
24	724	50	3.3	12	62	762	50	3.9	7
25	725	50	4.2	3	63	763	50	3.8	8
26	726	50	3.6	13	64	764	50	4.4	2
27	727	50	3.6	6	65	765	50	4.1	6
28	728	50	4.1	6	66	766	50	4.3	4
29	729	50	4.4	3	67	767	50	4.3	5
30	730	50	4.3	3	68	768	50	4.3	5
31	731	50	5.0		69	769	50	4.3	2
32	732	50	4.9		70	770	50	3.8	8
33	733	50	4.9	1	71	771	50	4.2	5
34	734	50	4.7	2	72	772	50	4.5	3
35	735	50	4.5	1	73	773	50	4.3	5
36	736	50	4.2	5	74	774	50	4.1	5
37	737	50	4.6	1	75	775	50	4.5	2
38	738	50	4.5	3	76	776	50	3.9	6

BN	품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)	선발 주수	BN	품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)	선발 주수
77	777	50	3.7	2	117	817	50	3.1	13
78	778	50	4.8	-	118	818	44	3.6	9
79	779	50	5.0	-	119	819	50	2.8	16
80	780	50	5.0	-	120	820	50	3.6	10
81	781	50	5.0	-	121	821	50	3.5	14
82	782	50	5.0	-	122	822	50	3.2	14
83	783	50	3.8	7	123	823	47	3.6	8
84	784	45	2.0	32	124	824	46	3.3	11
85	785	50	2.8	17	125	825	49	3.5	12
86	786	50	2.2	28	126	826	50	3.5	13
87	787	50	3.4	12	127	827	50	3.9	9
88	788	50	2.5	23	128	828	50	4.0	10
89	789	50	3.1	16	129	829	50	3.5	6
90	790	50	2.6	23	130	830	49	3.2	14
91	791	50	3.4	13	131	831	40	3.3	13
92	792	47	1.7	36	132	832	48	3.1	18
93	793	50	2.8	19	133	833	50	3.4	13
94	794	50	1.8	33	134	834	50	3.6	12
95	795	50	3.3	15	135	835	50	3.9	7
96	796	50	2.4	22	136	836	50	2.6	21
97	797	50	3.1	13	137	837	48	3.3	15
98	798	44	2.6	22	138	838	50	2.7	24
99	799	50	3.2	11	139	839	50	1.9	35
100	800	50	2.0	29	140	840	50	1.7	35
101	801	50	3.4	14	141	841	50	2.4	27
102	802	50	2.4	26	142	842	50	1.8	35
103	803	50	3.8	4	143	843	50	2.5	22
104	804	50	2.5	23	144	844	50	2.1	30
105	805	49	3.5	12	145	845	50	2.3	29
106	806	50	2.5	27	146	846	50	2.8	19
107	807	48	1.7	24	147	847	50	2.8	22
108	808	50	3.1	22	148	848	50	2.3	27
109	809	50	3.1	12	149	849	50	3.0	18
110	810	50	2.0	31	150	850	50	2.6	22
111	811	50	3.5	8	151	851	50	2.7	20
112	812	50	4.0	11	152	852	50	2.4	26
113	813	50	3.8	8	153	853	49	3.2	11
114	814	50	3.7	12	154	854	50	2.4	22
115	815	50	3.8	8	155	855	46	3.5	8
116	816	50	3.7	11	156	856	50	2.4	23

BN	품종명	접종주수	이병지수 (1~5)	선발주수	BN	품종명	접종주수	이병지수 (1~5)	선발주수
157	857	50	3.4	9	197	897	50	3.4	13
158	858	50	2.8	19	198	898	50	3.1	17
159	859	50	3.7	5	199	899	50	2.9	18
160	860	50	3.3	12	200	900	50	2.6	23
161	861	49	3.7	8	201	901	50	2.5	24
162	862	50	3.3	12	202	902	50	2.6	20
163	863	50	3.4	11	203	903	50	2.1	30
164	864	50	3.3	12	204	904	48	1.8	35
165	865	50	4.1	6	205	905	50	3.2	10
166	866	50	3.2	17	206	906	50	1.9	32
167	867	50	4.0	5	207	907	50	3.0	18
168	868	50	3.3	14	208	908	50	1.8	35
169	869	50	2.2	27	209	909	51	3.4	15
170	870	50	2.0	30	210	910	52	2.2	29
171	871	50	2.9	21	211	911	53	3.0	15
172	872	50	2.1	32	212	912	54	1.9	29
173	873	50	2.9	21	213	913	55	3.5	7
174	874	50	2.4	27	214	914	56	2.0	29
175	875	50	3.3	13	215	915	57	3.8	3
176	876	50	2.1	31	216	916	58	2.2	24
177	877	50	1.8	29	217	917	49	4.3	3
178	878	50	2.2	29	218	918	50	2.5	26
179	879	50	2.8	16	219	919	50	4.2	4
180	880	50	2.1	32	220	920	50	4.2	5
181	881	50	2.7	21	221	921	50	4.0	7
182	882	50	2.5	22	222	922	50	3.7	6
183	883	50	2.8	23	223	923	50	3.4	13
184	884	50	2.8	23	224	924	50	3.5	10
185	885	50	3.0	21	225	925	50	4.1	5
186	886	50	2.8	24	226	926	50	3.6	12
187	887	50	3.5	14	227	927	50	3.9	8
188	888	50	3.0	19					
189	889	50	3.4	13					
190	890	50	2.7	24					
191	891	50	3.5	11					
192	892	50	3.2	15					
193	893	50	2.8	15					
194	894	50	2.5	25					
195	895	50	3.5	11					
196	896	50	2.6	22					

(바) 농우바이오 추계 육성 계통 및 F₁에 대한 무 시들음병 접종 결과

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉗ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉘ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
 - ㉙ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비, 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉚ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉛ 결과 : 농우바이오 계통 36점 중 저항성 개체 320주를 선발하여 후대를 채종하고자 하며, 46 F₁ 품종 및 조합을 시험한 결과 4점에서 저항성을 나타내었음.

표 16. 농우바이오 육성계통에 대한 무시들음병 접종 시험 결과

BN	육성계통			BN	F ₁ 조합 및 시관종		
	품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)		품종명	접종 주수	이병지수 (1~5)
1	701	50	1.1	1	NWR1001	25	2.5
2	702	50	1.4	2	NWR1002	25	3.9
3	703	50	1.2	3	NWR1003	25	5.0
4	704	50	1.0	4	NWR1004	25	4.9
5	705	50	1.4	5	NWR1005	25	4.7
6	706	50	1.2	6	NWR1006	25	5.0
7	707	54	1.6	7	NWR1007	25	2.8
8	708	45	1.8	8	NWR1008	25	3.1
9	709	50	1.3	9	NWR1009	25	1.4
10	710	51	1.3	10	NWR1010	25	3.0
11	711	50	1.2	11	NWR1011	25	4.2
12	712	50	1.2	12	NWR1012	25	5.0
13	713	50	1.3	13	NWR1013	25	4.5
14	714	50	2.4	14	NWR1014	25	4.0
15	715	50	1.3	15	NWR1015	25	5.0
16	716	50	1.7	16	NWR1016	25	5.0
17	717	50	1.4	17	NWR1017	25	2.9
18	718	50	2.1	18	NWR1018	25	4.9
19	719	50	3.4	19	NWR1019	24	4.3
20	720	50	4.4	20	NWR1020	25	1.8
21	721	50	4.2	21	NWR1021	25	1.1

22	722	50	4.2	22	NWR1022	25	2.3
23	723	50	4.2	23	NWR1023	25	1.5
24	724	50	4.3	24	NWR1024	25	5.0
25	725	50	3.2	25	NWR1025	25	4.5
26	726	50	2.7	26	NWR1026	25	5.0
27	727	50	2.3	27	NWR1027	25	5.0
28	728	50	3.0	28	NWR1028	25	4.8
29	729	50	3.3	29	NWR1029	25	3.8
30	730	50	2.5	30	NWR1030	25	4.9
31	731	50	1.2	31	NWR1031	25	4.6
32	732	50	1.6	32	NWR1032	25	2.9
33	733	49	1.0	33	NWR1033	25	3.6
34	734	50	1.1	34	NWR1034	25	3.2
35	735	50	1.0	35	NWR1035	25	3.6
36	736	50	1.2	36	NWR1036	25	2.8
				37	NWR1037	25	4.6
				38	NWR1038	25	4.2
				39	NWR1039	25	3.1
				40	NWR1040	25	3.4
				41	NWR1041	50	5.0
				42	NWR1042	50	1.2
				43	NWR1043	50	5.0
				44	NWR1044	47	3.3
				45	NWR1045	50	2.2
				46	NWR1046	50	4.6

*과중 2017. 9. 5, 접중 9. 11, 조사 9. 27

(사) 농가 실증 시험

- ① 일 시 : 2017년 8월 22일
- ② 장 소 : 강원도 평창군 횡계면
 - 참석자 : 허건 연구원, 장민석 부장, 김재익 차장
 - 경중 개요
 - ㉠ 과 중 일 : 2017년 6월 26일
 - ㉡ 수 확 일 : 2017년 9월 10일
 - ㉢ 조 사 일 : 2017년 9월 7일
 - ㉣ 재배환경 : 해발 700M, 노지 재배
- ③ 주요 내용
 - 시범포 운영 목적
 - ㉠ 무 신조합 시험 및 선발
 - 시범포 운영 현황

- ㉠ 재배면적 : 200평
- ㉡ 시교조합 : 12개 조합
- ㉢ 대 비 종 : 관동여름무

(아) 교육지도 2건 :

- ① 2017년 9월 29일 중원종묘, 미라클종묘 병 무 시들음병 접종법 교육



- ② 홍천내면 농가지도



(자) 홍보전시 2건

① 강원도 평창 2017년 9월



② 강원도 홍천내면

(차) 결 론

- 세종대학교 신조합 1개 및 농우바이오 육성 신조합 12개를 고랭지 단지권에 시범포를 조성하여 전반적인 생육상태 및 작황 정도를 파악하였다.
- 황계지역 시범포는 위황병이 심한 곳으로 공시된 조합들은 대비중인 관동여름무에 비해 확실히 병의 발생은 적었으나 세종대학교 육성 조합의 경우 병이 다소 발생하여 여름무로는 선발되지 않았다.



그림 134. 강원도 황계면 무 시교 농가실증 시험 전경

다. 3년차 (2018년)

(1) 개발 목표

- 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정
 - 강원도 홍천내면, 정선 임계 등 여러 지역 무 시들음병 균주 수집 : 10점
 - 수집된 균주의 병원성 검정 : 10점
 - 대표균주의 선정 및 시퀀싱을 통한 균주 분석 : 연 1점(3년간 총 3점 목표)
- 병점중 시험을 위한 최적의 접종 조건(온도 및 농도)을 선정
- 무 F₁ 및 계통 접종 시험
 - F₁ 및 계통 80점 2반복 2회
- 검정된 유전자원의 국립유전자원센터 기탁
 - 분리 검정된 시들음병 균주의 기탁 : 3점

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- ① 균주 수집 : 무 시들음병 발병지역(전국)
- ② 병원성 검정 시험 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ③ 시험 방법
 - ㉠ 수집된 병원체에서 균주를 분리함
 - ㉡ 분리된 균주를 배양하여 접종 시험을 실시함
 - ㉢ 선정된 최적의 조건으로 관리하여 병 발생 관찰 및 조사
- ④ 활용 방안
 - ㉠ 검정된 병원성균주를 유전자원센터에 기탁하여 관련 시험 수행 기관에 공개

(나) 세종대학교 육성 무 F₁ 및 계통 접종 시험

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정

(다) 농우바이오 육성 무 F₁ 및 계통 접종 시험

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정

(라) 세종대학교 육성 무 도입 및 매출

- ① 세종대학교 육성 무 도입
- ② 2018년도 판매 및 매출 발생

(마) 수집 유전자원의 국립농업유전자원센터 기탁

(3) 연구결과

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- 균주 수집 : 2018년 강원 강릉, 정선, 평창, 홍천 등 4개 지역의 10개 균주를 수집하여 병원성 검정을 수행하였음
- 병원성 검정
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종 : 1×10⁶spores/ml 농도로 맞춰진 병원균 현탁액에 유묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉣ 조사 : 접종 후 14일에서 20일 사이 조사를 하였으며, 조사방법은 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사 5단계로 하였으며 1.0~2.0는 저항성, 2.1~3.0은 중도저항성 3.1 이상은 이병성으로 조사를 함.
 - ㉤ 결과요약
 - ㉠ 분리한 10개 균주 중 For-PCYP균주는 접종 결과 병원성이 없었음.
 - ㉡ 그 외 9개 균주에서는 병원성이 발견되었으며 균주가 병원성의 차이도 나타냄.

- ㉔ For-JSIK3-18-04, For-WSSH18 균주에서 월드미농, 서호골드에서 다소 높은 병원성을 나타냄.
- ㉕ 병원성이 구분되는 균주를 중심으로 추가 병원성 검정을 수행하여 차기년도 기탁예정



그림 135. 진탕배양 후 형성된 무 시들음병 희석 전 소형포자

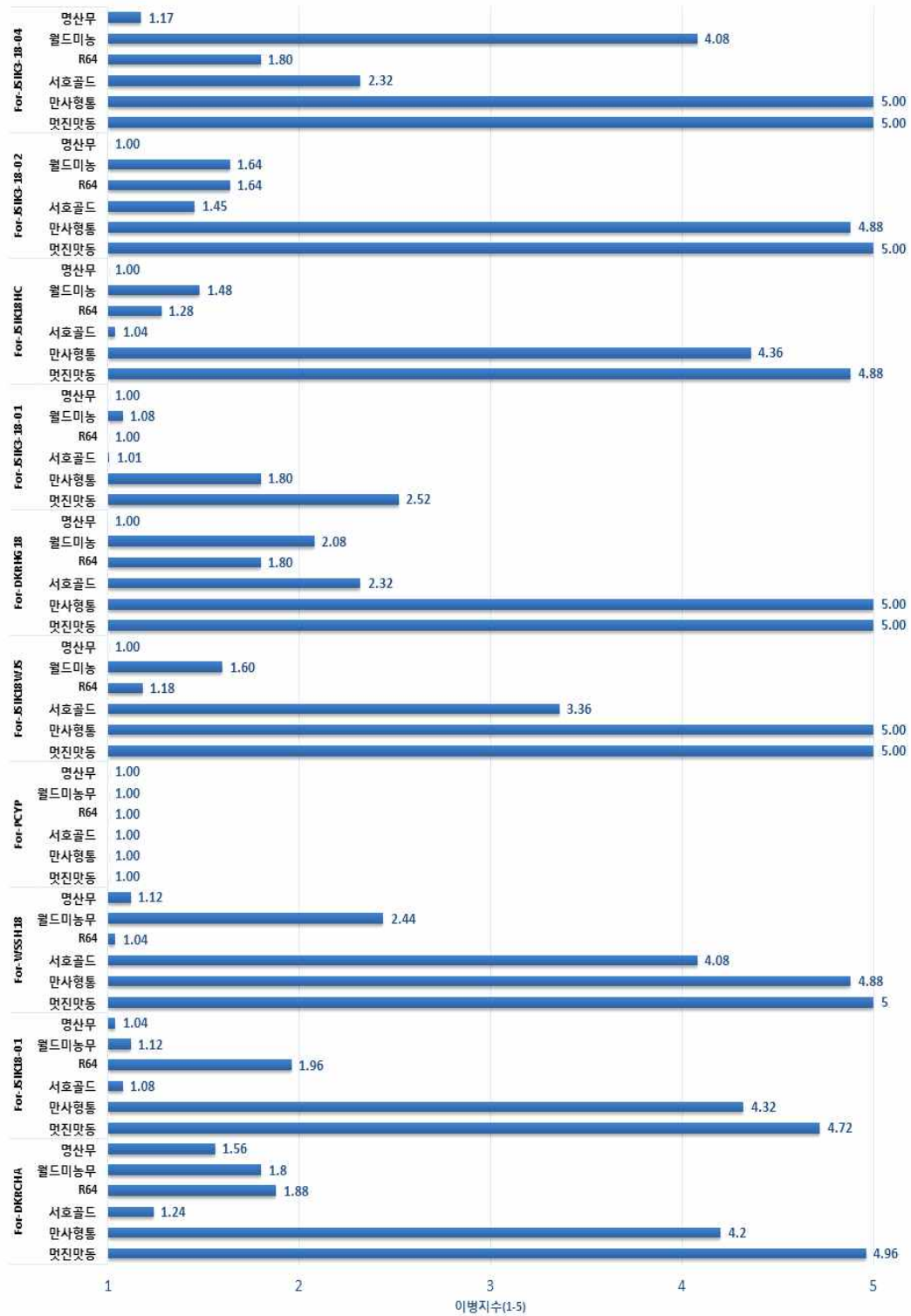


그림 136. 2018년 신규 분리 무 시들음병균 10종의 병원성 검정 결과

(나) 세종대학교 육성 F₁ 조합에 대한 무 시들음병 접종 결과

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spores/ml농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉥ 결과 : 세종대학교 무 F₁ 67 품종 및 조합을 시험한 결과 10점에서 이병지수 2 이하의 높은 저항성을 나타내었으며 5품종에서 이병지수 2~3 정도로 나타나 중도저항성 수준을 나타내었음.

표 15. 세종대학교 육성품종 무 시들음병 접종결과

품종명	이병지수(반복 1)						이병지수(반복 2)						2반복 평균
	1	2	3	4	5	Avr.	1	2	3	4	5	Avr.	
#1	16	3	5	1	-	1.6	14	3	7	1	-	1.8	1.7
#2	20	2	1	-	2	1.5	18	2	2	2	1	1.6	1.6
#3	20	-	2	2	1	1.6	23	2	-	-	-	1.1	1.3
#4	16	1	4	1	3	2.0	19	2	2	1	1	1.5	1.7
#5	21	2	-	-	2	1.4	17	3	-	3	2	1.8	1.6
#6	21	1	2	1	-	1.3	21	-	4	-	-	1.3	1.3
#7	23	-	-	1	1	1.3	24	-	1	-	-	1.1	1.2
#8	2	7	5	5	6	3.2	4	4	3	10	4	3.2	3.2
#9	10	4	3	5	3	2.5	8	4	3	6	4	2.8	2.6
#10	5	4	5	3	8	3.2	15	4	2	2	1	1.8	2.5
#11	24	1	-	-	-	1.0	22	1	1	-	1	1.3	1.2
#12	6	5	5	5	4	2.8	11	3	3	5	3	2.4	2.6
#13	-	1	1	6	17	4.6	-	-	1	4	20	4.8	4.7
#14	3	2	3	2	9	3.6	1	1	5	4	9	4.0	3.8
#15	21	1	1	1	1	1.4	21	1	1	1	1	1.4	1.4
#16	23	2	-	-	-	1.1	14	5	3	1	2	1.9	1.5
#17	12	3	3	1	4	2.2	11	7	3	3	1	2.0	2.1
#18	5	5	5	5	5	3.0	2	5	4	5	11	3.7	3.3
#19	2	1	1	13	8	4.0	-	2	5	8	10	4.0	4.0
#20	10	2	2	4	7	2.8	5	3	4	4	9	3.4	3.1
#21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#22	13	3	5	1	2	2.0	11	4	5	1	3	2.2	2.1
명산무	24	-	-	-	-	1.0							
만사형통무	-	1	-	4	20	4.7							
월드미농무	18	3	2	2	-	1.5							
R64	23	1	1	-	-	1.1							
멋진맛동무	-	-		6	19	4.8							
서호골드무	11	4	5	2	3	2.3							

* 과중 : 2018. 5. 17 접종 : 2018. 5. 23 조사 : 2018. 6. 4

(다) 농우바이오 육성 F₁ 조합에 대한 무 시들음병 접종 시험

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spores/ml농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉥ 결과 : 농우바이오 육성 65 조합에 대한 무 시들음병 접종시험 결과 32종의 계통에서 이병지수 1~2 사이로 나타나 높은 수준의 내병성을 나타냄.

표 16. 농우바이오 육성품종에 대한 무 시들음병 접종시험 결과

품 종 명	이병지수 (1~5)	품 종 명	이병지수 (1~5)	품 종 명	이병지수 (1~5)
신청일	1.0	1706	1.5	BN92	3.7
늘생	1.0	1801	1.0	BN93	3.7
감탄	2.7	1802	1.2	BN94	3.2
스타일봄	1.2	1803	1.2	BN95	3.3
1808	1.8	1804	1.4	BN96	4.3
1809	1.0	1801	1.9	BN97	3.7
NR-335	1.0	1802	1.3	BN98	3.5
춘안	1.1	1803	1.9	BN99	3.6
사쿠라노토					
지테	1.1	1804	1.1	BN100	4.2
나즈쯔바사	1.4	1805	1.6	BN101	4.4
나즈츄카사	2.3	1806	3.2	BN104	2.2
나즈노카미	1.4	1807	2.0	BN105	1.9
후쿠호미레	1.2	1808	2.2	1710	2.8
7131	4.9	1619	1.1	1701	1.1
7166	1.4	1717	3.2	1703	1.0
7012	1.1	1814	1.4	1707	1.8
4238	1.3	1815	1.3	1709	2.0
1606	1.9	1816	1.0	1719	1.2
1609	3.1	관동여름	2.8	1720	1.0
7258	1.0	청황	2.8	1727	1.2
1701	1.7	만사형통	2.0	1728	-
1707	1.1	청정고원	3.9	1803	1.2
1708	1.1	슈퍼길조	1.0	1806	1.0
1702	1.2	BN90	3.6	1807	1.0
1704	1.4	BN91	3.8		

(라) 세종대학교 육성 무 도입 및 매출

① 세종대학교 육성 무 도입

- ㉠ 세종대학교 박한용 교수팀 육성품종 ‘케이알일사’에 대한 품종실시 계약 체결
- ㉡ 기술료 : 7,200천원
- ㉢ 기술실시일 : 2018년 2월 27일
- ㉣ 생산판매신고 및 품종명칭등록출원
- ㉤ 등록 품종명 : 감탄무

품종명칭
 품종명칭 현황을 메뉴선택 또는 단어입력만으로 쉽게 검색하실 수 있으며 도표를 통해서도 한눈에 보실 수 있습니다.

▶ 품종명칭 등록출원공고

출원공고일자	2018.02.15	출원공고번호	명칭 2018-303
출원일자	2018.01.19	출원번호	명칭 2018-128
출원인	농업회사법인 (주)농우바이오(최유현)		
작물명	무	심사관	이원석
품종명	감탄(GAM TAN)		

▶ 품종명칭 등록

등록일자	2018.03.20	등록번호	제02-0001-1608호
------	------------	------	----------------

▶ 생산·판매신고 등록현황

필증번호	작물명	품종명	신고인	상태
02-0001-2018-5	무	감탄	농업회사법인 (주)농우바이오 최유현	

1


목록

그림 137. 세종대학교 육성 도입 무 품종명칭등록출원공고 및 생산판매신고 등록현황 캡처(국립종자원)

② 2018년도 감탄무 판매 및 매출 발생

- ㉠ 감탄무 매출 실적 : 1,674천원
- ㉡ 감탄무 매출량 : 186봉

농림축산식품연구개발과제 사업화실적 확인서

과제명		무 시들음병 저항성 김정 표준화시스템 개발 및 품종 산업화						
주관연구기관		세종대학교산학협력단		참여기관		㈜농우바이오		
책임자		허 남 한		연구기간		2016년 05월 ~ 2019년 12월(총 4년)		
정부출연금		190,000천원	기업부담금	190,000천원	총계	380,000천원		
기술이전명		케이알일사 품종실시계약		기술실시대상기관		㈜농우바이오		
기술료		7,200천원		기술실시일		2018.02.27		
구 분		기술실시 업체 결산액 (단위: 백만원) * 최근연도 결산보고서에 의해 작성		해당기술을 통한 사업화 실적				
실 적	자산 총계	229,440.6		제품건수		1		
	자본 총계	171,365.5						
	부채 총계	58,075.1		기술개발성과활용 총 매출액 (국내매출액 + 해외수출액)		1,674,000		
	매출액 총계	87,588.9						
제품별 실적								
구 분	제품명	제품사진	제품출시일	매출액 (백만원)		해당기술의 매출액 기여율 (%)	원산지	품질 인증 여부
1	감탄무		2018.02.27	국내	17	0.06% (국내 6월 기준)	한국	-
				해외				
2				국내				
				해외				
3				국내				
				해외				
* 첨부 : 매출액 확인이 가능한 자료(세금계산서, 매출원장 등)								

2018년 09월 18일
연구책임자 : 허 남 한 (서명 또는 인)

그림 138. 세종대학교 도입 무 사업화실적 확인서

(마) 수집 유전자원의 국립농업유전자원센터 기탁

- 국립농업유전자원센터에 병원성 검정이 완료된 무 시들음병균 3종을 보존 신청
- 대상 균주 : For-JSIK, For-WSSH, For-DKR-Chah
- KACC등록번호 : For-JSIK(KACC 48502), For-WSSH(KACC 48503), For-DKR-Chah(KACC 48504)

KACC 등록번호 고지서					KACC 등록번호 고지서					KACC 등록번호 고지서							
Korean Agricultural Culture Collection (KACC) 농업미생물은행 국립농업유전자원센터 국립농업유전자원센터 연구원 이서연 농성영로 166 Tel. 063-238-3025, Fax. 063-238-3845. Homepage: http://genbank.ada.go.kr, e-mail:kacc@korea.kr					Korean Agricultural Culture Collection (KACC) 농업미생물은행 국립농업유전자원센터 국립농업유전자원센터 연구원 이서연 농성영로 166 Tel. 063-238-3025, Fax. 063-238-3845. Homepage: http://genbank.ada.go.kr, e-mail:kacc@korea.kr					Korean Agricultural Culture Collection (KACC) 농업미생물은행 국립농업유전자원센터 국립농업유전자원센터 연구원 이서연 농성영로 166 Tel. 063-238-3025, Fax. 063-238-3845. Homepage: http://genbank.ada.go.kr, e-mail:kacc@korea.kr							
도입번호 : F19-13 도입일자 : 2018-08-16 송부일자 : 2018-08-30					도입번호 : F19-13 도입일자 : 2018-08-16 송부일자 : 2018-08-30					도입번호 : F19-13 도입일자 : 2018-08-16 송부일자 : 2018-08-30							
허 남 한 귀하 농업미생물은행(KACC)에 균주를 기탁해 주셔서 감사드립니다. 귀하께서 기탁하신 균주는 최신의 보존방법으로 아래와 같이 보존되었음을 알려드립니다. 장기보존된 균주에 대하여 새롭게 생성된 정보는 지속적으로 추가될 예정이나 변경 또는 추가사항이 있을 시에는 연락을 당부드립니다. 기탁하신 균주가 안정적으로 보존되어 많은 연구자들에게 이용될 수 있도록 노력하겠습니다.					허 남 한 귀하 농업미생물은행(KACC)에 균주를 기탁해 주셔서 감사드립니다. 귀하께서 기탁하신 균주는 최신의 보존방법으로 아래와 같이 보존되었음을 알려드립니다. 장기보존된 균주에 대하여 새롭게 생성된 정보는 지속적으로 추가될 예정이나 변경 또는 추가사항이 있을 시에는 연락을 당부드립니다. 기탁하신 균주가 안정적으로 보존되어 많은 연구자들에게 이용될 수 있도록 노력하겠습니다.					허 남 한 귀하 농업미생물은행(KACC)에 균주를 기탁해 주셔서 감사드립니다. 귀하께서 기탁하신 균주는 최신의 보존방법으로 아래와 같이 보존되었음을 알려드립니다. 장기보존된 균주에 대하여 새롭게 생성된 정보는 지속적으로 추가될 예정이나 변경 또는 추가사항이 있을 시에는 연락을 당부드립니다. 기탁하신 균주가 안정적으로 보존되어 많은 연구자들에게 이용될 수 있도록 노력하겠습니다.							
----- 아 래 -----					----- 아 래 -----					----- 아 래 -----							
번호	학명	기탁시 번호	KACC 번호	보존방법	비고	번호	학명	기탁시 번호	KACC 번호	보존방법	비고	번호	학명	기탁시 번호	KACC 번호	보존방법	비고
1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	For-JSIK	48502	LN, DF, MO		1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	For-WSSH	48503	LN, DF, MO		1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	For-DKR-Chah	48504	LN, DF, MO	
<small>* LN:울결건조보존, LN:액체질소보존, DF:저온냉동고보존(80°C), MO:공유 보존 * 무시들음병 저항성 감정 표준화시스템 개발 및 유통산업화(과제번호: 31633-04-1-HD040) 성과물</small>																	
농업미생물은행(KACC) 진균 큐레이터 이승수 박사					농업미생물은행(KACC) 진균 큐레이터 이승수 박사					농업미생물은행(KACC) 진균 큐레이터 이승수 박사							

그림 139. 국립유전자원센터 기탁 균주 등록번호 고지서

(바) 홍보전시

- ① 무 종자 전시
 - ㉠ 장소 : 서울 코엑스 몰
 - ㉡ 일자 : 2018. 7. 18
 - ㉢ 내용 : 귀농귀촌 설명회 개최
 - ㉠ 귀농.귀촌 희망자를 위한 귀농 관련 내용 전시
 - ㉡ 농우바이오 부스 무 종자 전시
 - ㉢ 텃밭에 심을 수 있는 것, 판매가 가능한 품종 식재 등 설명
 - ㉣ 참석인원 : 농우바이오 서성진, 허남한의외 일반 대중



그림 140. 귀농귀촌 설명회 농우바이오 전시 부스 및 설명회 전경

② 중국 무 품종 현장평가

㉠ 장소 : 중국 하북성 장가구

㉡ 일자 : 2018. 7. 26

㉢ 내용 : 국내에서 만든 육성조합 평가 및 품종 홍보 전시

㉣ a 중국 장가구 지역은 해발 1,400m 정도의 고랭지 무 재배 지역임

㉣ b 주로 백피계 무가 심겨지고 있는 지역임.

㉣ c 농우바이오 16개 조합 및 대비종을 포장에 심고 현장 평가를 함.

㉣ 참석인원 : 세종대학교 박한용 교수, 농우바이오 허남한, 허건, 중국 세 농종묘 최중현부장의 4명, 현지 딜러등 6명



그림 141. 중국 하북성 장가구 무 품종 현장 평가

③ 무 종자/품종 전시

㉠ 장소 : 전북 김제 민간육종연구단지 일원

㉡ 일자 : 2018. 10. 23 ~ 23

㉢ 내용 : 국제종자박람회 2018

㉣ a 종자 기업이 개발한 다양한 채소 품종 및 농업기술실용화재단이 보급하는 발작물, 국내외 특이 유전자원 식물 전시

㉣ b 우수 품종, 우수 농자재, 농기계 등 제품 전시 및 설명

㉣ c 종자를 템로 한 다양한 체험 프로그램 운영

㉣ 참석인원 : 농우바이오 서성진, 허남한, 김준호 외 일반 대중



그림 142. 김제 국제종자박람회 2018 종자 및 품종전시

④ 무 시들음병 교육/지도

㉠ 장소 : 경기도 여주시 능서면 광대리

㉡ 일자 : 2018. 10. 13

㉢ 내용 : 무 시들음병 예방 및 진단 교육 지도

㉣ a) 능서면 광대리 이장에게 무 시들음병 예방 및 진단 방법 교육

㉤ b) 무 시들음병 내병성 품종의 필요성 교육

㉥ 참석인원 : 이성수(광대리 이장), 허남한



그림 143. 무 시들음병 재배자 교육

라. 4년차 (2019년)

(1) 개발 목표

- 수집균주의 병원성 검정 및 분석
- 무 시들음병에 대한 F₁ 검정 시스템 개발
- 수집된 균주의 유전자원센터 기탁
- 무 시들음병 저항성 품종 산업화

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 수집균주의 병원성 검정 및 분석

- ① 균주 수집 : 무 시들음병 발병지역(전국)
- ② 병원성 검정 시험 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ③ 시험 방법
 - ㉠ 수집된 병원체에서 균주를 분리함
 - ㉡ 분리된 균주를 배양하여 접종 시험을 실시함
 - ㉢ 선정된 최적의 조건으로 관리하여 병 발생 관찰 및 조사
- ④ 활용 방안
 - ㉠ 검정된 병원성균주를 유전자원센터에 기탁하여 관련 시험 수행 기관에 공개

(나) 무 시들음병에 대한 F₁ 검정 시스템 개발

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
 - ㉣ 병원균 접종: 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉤ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정

(다) 수집된 균주의 유전자원센터 기탁

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 시험 방법
 - ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간

진탕배양

- ㉔ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^6 spore/ml 농도로 준비
- ㉕ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- ㉖ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정

(라) 무 시들음병 저항성 품종 산업화

- ① 세종대학교 육성 무 도입
- ② 2018년도 판매 및 매출 발생

(마) 수집 유전자원의 국립농업유전자원센터 기탁

(3) 연구결과

(가) 재배지별 시들음병 수집 및 병원성 검정

- ① 균주 수집 : 강원 강릉(For-19JW2, For19WSDK) 2균주, 이천(For-ICSG) 지역에서 1개 균주 등 총 3종의 균주 수집
- ② 수집균주의 병원성 검정
 - ㉗ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉘ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
 - ㉙ 접종 : 1×10^6 spores/ml 농도로 맞춰진 병원균 현탁액에 유묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉚ 조사 : 접종 후 14일에서 20일 사이 조사를 하였으며, 조사방법은 1 무 병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사 5단계로 하였으며 1.0~2.0는 저항성, 2.1~3.0은 중도저항성 3.1 이상은 이병성으로 조사를 함.
- ㉛ 결과 요약
 - ㉜ 기존 사용중인 For-Jinbu2 균주와 신규 분리한 3개 균주를 무에 접종하여 비교한 결과 전체적으로 병원성은 높은 수준이었으나 For-Jinbu2가 가장 병원성이 강하였으며, 그다음으로 For-WSDK, For-19JW2, For-ICSG순이었다.
 - ㉝ 시험결과 For-Jinbu2와 발병양상이 거의 유사한 For-WSDK균주의 경우 무시들음병에 강한 저항성을 나타내는 자원 및 품종선발을 위해 적합한 균주로 판단됨.
 - ㉞ For-ICSG균주의 경우 비교적 낮은 병원성으로 중간저항 또는 강한저항성 사이의 품종육성을 위해 적합한 균주로 생각됨.

표 17. 2019년 신규 분리 무 시들음병균 3종 및 기존균주의 병원성 검정 결과 비교

품 종 명	병원균	접종 주수	이병지수					Avr.
			1	2	3	4	5	
명산무	For-19JW2	25	25					1.00
만사형통무		25					25	5.00
월드미농무		25	24		1			1.08
R-64		25	21	4				1.16
멋진맛동무		25		1			24	4.88
서호골드무		25	5	16	4			1.96
TROPIC IVORY		25	22		2		1	1.32
명산무	WSDK	25	21		3		1	1.40
만사형통무		25					25	5.00
월드미농무		25	22	3				1.12
R-64		25	23	2				1.08
멋진맛동무		25					25	5.00
서호골드무		25	1	2	16	3	3	3.20
TROPIC IVORY		25	22	2	1			1.16
명산무	For-ICSG	25	23	2				1.08
만사형통무		25			4	16	5	4.04
월드미농무		25	18	7				1.28
R-64		25	23	2				1.08
멋진맛동무		25			1		24	4.92
서호골드무		25	4	14	7			2.12
TROPIC IVORY		25	22	2	1			1.16
명산무	For-Jinbu2	25	22		3			1.24
만사형통무		25					25	5.00
월드미농무		25	20	2	3			1.32
R-64		25	20	2	3			1.32
멋진맛동무		25					25	5.00
서호골드무		25	1	3	14	3	4	3.24
TROPIC IVORY		24	23	1				1.04

*이병지수 : 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사



그림 144. 신규 분리 무 시들음병균의 병원성 검정결과

(나) 무 시들음병에 대한 F₁ 검정 시스템 개발

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 접종방법에 따른 병원성 비교
 - ㉗ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉘ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
 - ㉙ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spore/ml농도로 준비
 - ㉚ 병원균 접종: 접종법을 달리하여 기존 사용방법인 침지 및 관주를 이용한 접종과 관주만을 이용한 접종법을 비교. 기존 접종법인 침지 및 관주는 육묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주하였고, 관주는 각 개체별 병원균 현탁액을 10ml씩 관주하여 접종하였음.
 - ㉛ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉜ 결과요약
 - ㉠ 기존 접종법과 관주만을 이용하여 접종시험을 수행한 결과 관주만을 이용하였을 경우 병원성이 전체적으로 매우 낮게 나타남. 특히 병원성이 강한 것으로 증명하였던 접종원 For-Jinbu2에서 서호골드무의 경우 기존에는 3~3.5 전후의 중간수준을 나타내었으나 관주접종만을 수행한 경우 병발생이 거의 일어나지 않았음.
 - ㉡ 무 시들음병은 뿌리의 상처를 통해 병원균의 흡수능이 증가하는 것으로 판단됨.

- ㉔ 기존의 시험법인 침지 및 관주를 이용한 방법이 보다 강력한 접종결과를 얻을 수 있을 것으로 판단됨.

표 18. 접종법에 따른 병원성 검정 결과

품 종 명	접종방법	접종 주수	침지+관주접종 이병지수					Avr.
			1	2	3	4	5	
명산무	침지+관주	25	22		3			1.24
만사형통무		25					25	5.00
월드미농무		25	20	2	3			1.32
R-64		25	20	2	3			1.32
멋진맛동무		25					25	5.00
서호골드무		25	1	3	14	3	4	3.24
TROPIC IVORY		24	23	1				1.04
명산무	관주	25	25					1.00
만사형통무		25		4	15	4	2	3.16
월드미농무		25	25					1.00
R-64		25	25					1.00
멋진맛동무		24		2	11	1	10	3.79
서호골드무		25	22	3				1.12
TROPIC IVORY		25	25					1.00

*이병지수 : 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사

③ 접종농도에 따른 병원성 비교

- ㉑ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- ㉒ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
- ㉓ 접종원 준비: 병원균을 1×10^7 spores/ml, 1×10^6 spores/ml, 1×10^5 spores/ml, 1×10^0 spores/ml의 농도로 각각 희석하여 준비
- ㉔ 병원균 접종: 병원균 현탁액에 유묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주. 처리구 당 3반복 접종
- ㉕ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
- ㉖ 결과요약
 - ㉗ 병원균을 농도별로 희석하여 병원성 검정을 수행한 결과 1×10^7 spores/ml과 1×10^0 spores/ml의 농도에서는 병원성에 큰 차이가 없었음. 월드미농의 경우 오히려 1×10^6 spores/ml에서 병원성이

다소 높게 나타남

- ㉞ 1×10^5 spores/ml부터 그 이하의 농도로 갈수록 눈에 띄게 병원성이 하락하는 것을 확인함. 서호골드무의 경우 이병지수가 평균 3~3.5 수준으로 나타내어 왔으나 낮은 농도에서 강한 저항성을 나타내는 것으로 보아 병원성 검정에 적합하지 않을 것으로 판단됨.

표 19. 병원균 농도에 따른 병원성 검정결과

품종명	1×10^7 spores/ml				1×10^6 spores/ml				1×10^5 spores/ml				1×10^4 spores/ml			
	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Avr.	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Avr.	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Avr.	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Avr.
명산무	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
만사형통	4.9	5.0	4.9	4.9	5.0	5.0	4.7	4.9	4.4	4.4	4.6	4.5	1.6	2.0	1.7	1.8
멋진맛통	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	3.2	2.6	2.6	2.8
월드마농	1.8	1.3	1.6	1.6	2.0	2.0	1.9	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
서호골드	1.8	2.9	2.0	2.2	4.2	1.9	2.9	3.0	1.1	1.1	1.1	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0

*이병지수 : 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사

④ 접종온도에 따른 병원성 비교

- ㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
- ㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간 진탕배양
- ㉢ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^6 spore/ml 농도로 준비
- ㉣ 병원균 접종: 병원균 현탁액에 육묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주. 처리구 당 3반복 접종하여 온도별로 관리하여 결과 확인
- ㉤ 온도조건 : 30°C 생육상 온도고정, 25°C 생육상 온도고정, 15~25°C의 야간/주간 하우스 조건, 13~22°C의 야간/주간 하우스 조건
- ㉥ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
- ㉦ 결과 요약
 - ㉠ 온도별로 무 시들음병을 접종하여 관리한 뒤 조사한 결과, 30°C 고온에서는 오히려 병원성이 상대적으로 낮게 나타난 것을 확인할 수 있었으며 25°C 생육상에서 기존 결과와 가장 유사한 결과를 얻을 수 있었음.
 - ㉡ 하우스 조건에서는 15~25°C의 조건으로 관리하는 것이 가장 효율적인 검정 결과를 획득할 수 있었음.
 - ㉢ 생육상의 경우 시험결과는 가장 정확하게 획득할 수 있었으나 대량검정을 위해서는 생육상의 규모가 매우 커야하며, 설비비용이 고가여서 시험이 어려운 경우가 많음.

- ㉔ 비교적 관리가 용이하고 비용이 적게 드는 하우스 조건에서 15~25℃ 수준을 유지하며 시험하는 것이 가장 효과적인 방법으로 판단됨.

표 20. 접종 온도별 병원성 검정 결과

품 종 명	30℃ in growth chamber				25℃ in growth chamber				15~25℃ in green house				13~22℃ in green house			
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Avr.	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Avr.	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Avr.	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Avr.
명산무	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	1.4	1.1	1.3	1.6	1.8	1.8	1.8	1.2	1.1	1.1	1.1
만사형통	1.5	1.2	1.2	1.3	1.9	2.6	2.2	2.2	1.8	1.8	2.2	2.0	1.0	1.3	1.1	1.2
멋진맛동	5.0	4.6	5.0	4.9	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.9	5.0	4.1	4.5	4.9	4.5
월드미농	1.9	2.0	1.9	1.9	1.9	2.0	2.7	2.2	2.1	1.9	3.0	2.3	1.0	1.2	1.3	1.1
서호골드	2.4	1.4	1.3	1.7	3.4	2.5	2.8	2.9	4.3	4.2	4.4	4.3	3.3	3.3	2.6	3.1

*이병지수 : 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사

⑤ 검정시스템의 확립

- ㉕ 위의 결과를 토대로 무 시들음병 대량검정을 위한 조건으로 침지 및 관주접종하는 방법으로 병원균의 농도는 1×10^6 spores/ml, 접종 후 관리하는 하우스 조건으로 15~25℃에서 수행하는 것이 가장 효율적인 검정 방법이라 판단됨.

(다) 세종대학교 무 시들음병 검정 시험

- ① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀
- ② 세종대 육성 품종에 대한 병원성 검정
 - ㉕ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육
 - ㉖ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25℃에서 5일간 진탕배양
 - ㉗ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10^6 spore/ml 농도로 준비
 - ㉘ 병원균 접종: 병원균 현탁액에 유묘의 뿌리를 침지한 후 준비된 플라스틱 50구 트레이에 이식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
 - ㉙ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
 - ㉚ 결과 요약
 - ㉛ 세종대학교에서 육성중인 품종에 대한 병원성검정 결과 35, 37품종에서 매우 강한저항성을 나타내었으며, 4, 16, 26품종에서도 높은 저항성을 나타내는 것을 확인함.

표 21. 2019년 세종대학교 육성품종 무 시들음병 접종결과

품종명	반복 1						반복 2						반복평균
	1	2	3	4	5	이병지수	1	2	3	4	5	이병지수	
1				4	21	4.8				5	20	4.8	4.8
2					25	5.0					25	5.0	5.0
3	3	10	6	3	2	2.6	2	9	12	1	1	2.6	2.6
4	15	7	3			1.5	6	9	6	4		2.3	1.9
5	14	6	4		1	1.7	6	6	11	1	1	2.4	2.1
6	6	7	6	1	5	2.7	1	4	13	1	6	3.3	3.0
7	9	8	5	2	1	2.1	2	7	12		4	2.9	2.5
8	3	4	5	2	11	3.6	4	4	9		8	3.2	3.4
9	4	10	6	3	2	2.6	2	6	11	3	3	3.0	2.8
10	8	10	6	1		2.0	10	6	3	1	5	2.4	2.2
11	6	10	7		1	2.2	4	3	11	1	5	3.0	2.6
12	8	7	4		5	2.5	8	8	5	3	1	2.2	2.3
13	2	9	5	1	2	2.6		3	5		5	3.5	3.1
14	7	5	5		8	2.9	3	3	10		8	3.3	3.1
15		5	12	3	2	3.1		4	10		3	3.1	3.1
16	17	3				1.2	7	5	2		1	1.9	1.5
17	2	1	3	1	18	4.3	5	11	4		4	2.5	3.4
18	2	10	7	2	4	2.8	1	5	4	2	13	3.8	3.3
19	5	6	4	2	8	3.1	3	8	4		9	3.2	3.1
20	4	8	9		2	2.5	2	4	10	1	5	3.1	2.8
21	2	11	10		2	2.6			5	3	14	4.4	3.5
22	5	9	6	3	2	2.5	2	5	7	2	9	3.4	3.0
23	23	2				1.1	4	6	8	4	3	2.8	2.0
24	10	8	4	1	2	2.1	3	4	7	1	6	3.1	2.6
25	12	6	2			1.5	3	9	5		3	2.6	2.0
26	24		1			1.1	7	9	5	2	1	2.2	1.6
27			1		24	4.9					25	5.0	5.0
28					23	5.0			2		23	4.8	4.9
29	2	9	9	1	3	2.8		3	4		18	4.3	3.5
30	7	6	8		4	2.5	1	6	9	2	7	3.3	2.9
31		3	6	2	14	4.1		8	2	2	13	3.8	3.9
32		8	5	5	7	3.4			7	3	15	4.3	3.9
33		1	3	1	16	4.5		2	1	1	17	4.6	4.5
34		16	9			2.4		2	4	3	16	4.3	3.3
35	25					1.0	23	2				1.1	1.0
36	7	6	4		8	2.8	15	4	4	2		1.7	2.3
37	25					1.0	20	2	2	1		1.4	1.2
명산무	25					1.0							
R-64	25					1.0							
월드미농	13	8	4			1.6							
만사형통				1	24	5.0							
멋진맛동			1	3	21	4.8							
서호골드	13	12				1.5							

*이병지수 : 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사



그림 145. 세종대학교 무 육성품종에 대한 시들음병 접종 결과

(라) 농우바이오 육성 F₁ 조합에 대한 무 시들음병 접종 시험

① 시험 지역 : 경기도 여주 농우바이오 병리연구팀

② 시험 방법

㉠ 파종 : 육묘상에 무 종자를 파종하여 접종시까지 약 10일간 생육

㉡ 병원균 배양 : 병원균(*F. oxysporum* f. sp. *raphani*)를 25°C에서 5일간

진탕배양

- ㉔ 접종원 준비: 배양된 병원균 현탁액을 1×10⁶spores/ml농도로 준비
- ㉕ 병원균 접종: 유묘의 뿌리를 병원균 현탁액에 침지한 후 준비된 플라스틱 트레이에 가식하고 각 pot에 병원균 현탁액 10ml씩 관주
- ㉖ 조사 : 달관조사를 통하여 이병지수(1~5)로 측정
- ㉗ 결과 : 농우바이오 육성 57 조합에 대한 무 시들음병 접종시험 결과 120, 121, 122, 132, 135, 139, 155품종에서 이병지수 1.5 이하의 매우 우수한 저항성을 나타내었다.

표 22. 농우바이오 육성품종에 대한 무 시들음병 접종시험 결과

품 종 명	이병지수						품 종 명	이병지수					
	1	2	3	4	5	Avr.		1	2	3	4	5	Avr.
101					25	5.0	134	8	17				1.7
102				5	20	4.8	135	17	8				1.3
103				2	23	4.9	136	6	17	1		1	1.9
104			2	4	19	4.7	137	4	10	9		2	2.4
105					25	5.0	138	8	15	2			1.8
106		5	5	5	10	3.8	139	17	8				1.3
107	11	8	6			1.8	140				4	21	4.8
108	8	10	4	3		2.1	141		2	2	3	18	4.5
109	6	12	4	2	1	2.2	142			4	8	13	4.4
110	3	9	5	3	5	2.9	143		2	5	13	5	3.8
111		10	11	4		2.8	144			2	1	22	4.8
112			4	3	18	4.6	145		1	2	3	19	4.6
113		12	10	2	1	2.7	146		2	7	9	7	3.8
114				1	24	5.0	147		1	4	9	11	4.2
115	9	14	2			1.7	148		7	7	5	6	3.4
116	8	13	4			1.8	149	7	13	5			1.9
117	13	12				1.5	150		12	8	2	3	2.8
118	5	16	4			2.0	151		12	9	3	1	2.7
119	3	17	5			2.1	152	2	14	5	1	3	2.6
120	19	6				1.2	153		8	15	1	1	2.8
121	18	7				1.3	154		3	3	4	15	4.2
122	17	8				1.3	155	13	11	1			1.5
123	3	19	3			2.0	156	3	4	12	2	4	3.0
124				7	18	4.7	157			4	2	19	4.6
125					25	5.0	청정고원			1	3	21	4.8
126		7	10	4	4	3.2	서호골드	15	10				1.4
127		2	11	6	6	3.6	RK1619	12	13				1.5
128		1	1	7	16	4.5	명산무	15	10				1.4
129		14	10	1		2.5	만사형통무			3	4	18	4.6
130				1	24	5.0	R-64	15	9		1		1.5
131	3	19	3			2.0	월드미농무	9	16				1.6
132	13	11	1			1.5	멋진맛동무					25	5.0

*이병지수 : 1 무병징, 2 떡잎과 본엽 1매에서 약간의 병징, 3. 본엽 2매에서 병징 4. 본엽 2매 이상 5. 고사


(마) 세종대학교 육성 무 도입 및 매출

① 2019년도(2020년 6월까지) 감탄무 판매 및 매출 발생

㉞ 감탄무 매출 실적 : 161,720천원(전년 실적 포함 누계 : 178,460천원)

㉟ 감탄무 매출량 : 557봉

농림축산식품연구개발과제 사업화실적 확인서

과제명	무 시들음병 저항성 검정 표준화시스템 개발 및 품종 산업화						
주관연구기관	세종대학교산학협력단	참여기관	㈜농우바이오				
책임자	허 남 환	연구기간	2016년 05월 ~ 2019년 12월(총 4년)				
정부출연금	190,000천원	기업부담금	190,000천원				
기술이전명	케이알일사 품종실시계약	기술실시대상기관	㈜농우바이오				
기술료	7,200천원	기술실시일	2018.02.27				
구 분	기술실시 업체 선정의 (단위 백만원) * 최근년도 결산보고서에 의해 작성						
구분	253,158	계정구분	1				
자산 총계	224,151	기술개발비용 총액(천원)	59,000,000				
부채 총계	29,004	(국비지원액 + 연구수입액)					
매출액 총계	79,957						
제품별 실적							
구분	제품명	제품사진	제품출시일	매출액 (백만원)	해당기술의 매출액 기여율 (%)	원산지	품질 인증 여부
1	감탄무		2018.02.27	국내 59 해외	100%	한국	-
2				국내 해외			
3				국내 해외			

* 첨부 : 매출액 확인이 가능한 자료(세금계산서, 매출원장 등)

2019년 06월 12일
연구책임자 : 허 남 환 (서명 또는 인)

농림축산식품연구개발과제 사업화실적 확인서

과제명	무 시들음병 저항성 검정 표준화시스템 개발 및 품종 산업화						
주관연구기관	세종대학교산학협력단	참여기관	㈜농우바이오				
책임자	허 남 환	연구기간	2016년 05월 ~ 2019년 12월(총 4년)				
정부출연금	190,000천원	기업부담금	190,000천원				
기술이전명	케이알일사 품종실시계약	기술실시대상기관	㈜농우바이오				
기술료	7,200천원	기술실시일	2018.02.27				
구 분	기술실시 업체 선정의 (단위 백만원) * 최근년도 결산보고서에 의해 작성						
구분	253,158	계정구분	1				
자산 총계	224,151	기술개발비용 총액(천원)	59,000,000				
부채 총계	29,004	(국비지원액 + 연구수입액)					
매출액 총계	79,957						
제품별 실적							
구분	제품명	제품사진	제품출시일	매출액 (백만원)	해당기술의 매출액 기여율 (%)	원산지	품질 인증 여부
1	감탄무		2018.02.27	국내 59 해외	100%	한국	-
2				국내 해외			
3				국내 해외			

2020년 06월 14일
연구책임자 : 허 남 환 (서명 또는 인)

그림 146. 세종대학교 도입 무 사업화실적 확인서

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	1.78 억원	
			향후 3년간 매출	1.275억원	
		관련제품	개발후 현재까지	- 억원	
			향후 3년간 매출	- 억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 약 1.0% 국외 : - %	
			향후 3년간 매출	국내 : 약 1.6% 국외 : - %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : - % 국외 : - %	
			향후 3년간 매출	국내 : - % 국외 : - %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			- 위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			- 위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3			
	소요예산(백만원)	(기술료) 7.2백만원			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		0.75	1.275	1.5	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	약 1.0%	약 1.6%	약 1.9%
국외					
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획				
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	-	-	-	
	수 출	-	-	-	

(바) 수집 유전자원의 국립농업유전자원센터 기탁

- ① 국립농업유전자원센터에 병원성 검정이 완료된 무 시들음병균 2종에 대해 보존신청
- ② 대상 균주 : For-19JW2, For-ICSG 2건
- ③ 진행상황 : 2개 균주 기탁완료 및 KACC등록번호 발급 완료
- ④ For-ICSG : KACC 48811

㉗ For-19JW2 : KACC 48812

④ 최종목표 12건 중 11건 기탁 완료

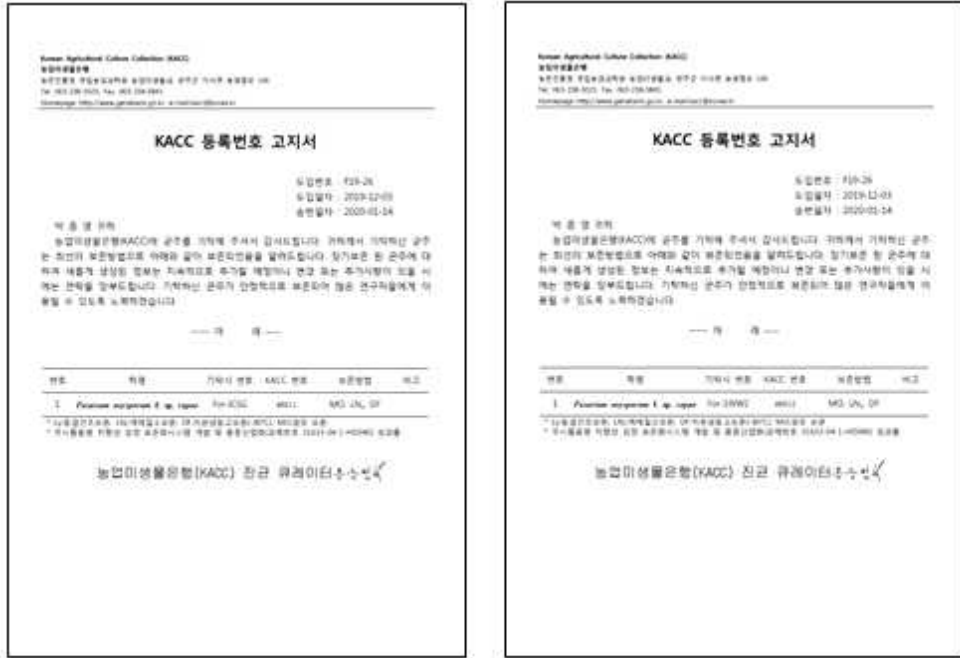


그림 147. 무시들음병 2균주 기탁 KACC 등록번호 고지서

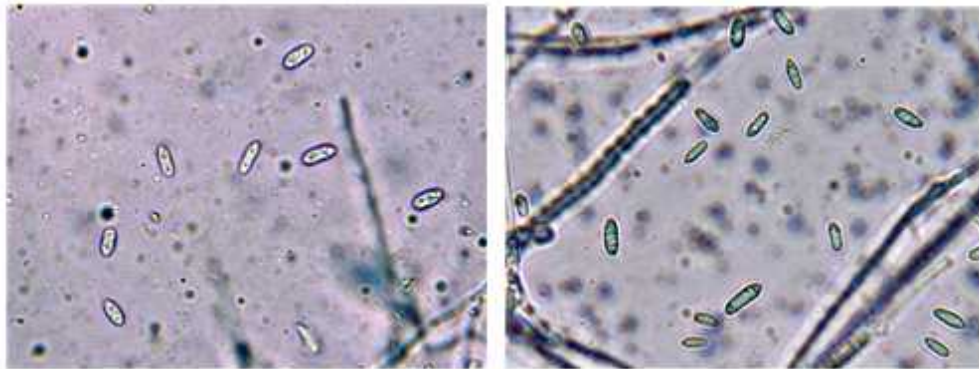


그림 148. 무 시들음병 2개 균주의 소형 포자형태(X400) 좌 : For-ICSG, 우 : For-19JW2

(사) 홍보전시

① 2019 농업기술박람회

- ㉠ 장소 : 서울 양재동 AT센터
- ㉡ 일자 : 2019. 6. 19 ~ 22
- ㉢ 내용 : 농촌진흥청 주최 농업의 미래 가치 국민공감 박람회
- ㉣ 미래를 여는 스마트 농업기술로 드론 재배기술, 생육측정 센서, 기상재해 조기경보 서비스 등 미래 스마트 농업기술 소개
 - ㉤ 농업기술원의 신품종 전시
 - ㉥ 농우바이오 육성 무 외 다양한 품종 전시
- ㉦ 참석인원 : 농우바이오 박종영 등 농우바이오 마케팅 직원 3명



그림 149. 2019 농업기술 박람회 농우바이오 전시 부스 및 설명회 전경

② 강원도 무 전시

- ㉠ 장소 : 강원도 평창군 횡계면
- ㉡ 일자 : 2019. 9. 3
- ㉢ 내용 : 여름 무 전시 및 평가
 - ㉤ 강원도 평창 횡계 무 시험재배 및 전시
 - ㉥ 무 시들음병 내병성 품종 및 일반 품종 전시
- ㉦ 참석인원 : 농우바이오 허건, 황도연, 최순호 등 직원 6명



그림 150. 강원도 여름 무 전시 및 현장 평가

[위탁] 조엔김지노믹스

가. 1년차 (2016년)

(1) 개발 목표

- 무 GWAS 방법 최적화
- 시들음병 및 7개 주요형질에 대한 GWAS 및 QTL 분석
- 시들음병 저항성 및 이병성 자원에 대한 접종 전후 10일간 샘플에 대한 RNA-seq 분석 수행
- 샘플 별 유전자 발현패턴 차원축소 (MDS plot)

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 무 계놈 특성에 맞는 GBS 방법을 최적화

- DNA quality 및 농도 확인을 위한 QC 분석
- GBS library 제작
- Sequencing

(나) 무 GBS를 위한 레퍼런스 선발

(다) GBS 데이터 분석 파이프라인 확립

- Demultiplexing
- Demultiplexing GBS raw data
- Variant calling
- After filtering variants

(라) Association analysis

- Population Stratification
- Ordered Logistic Regression 적용
- Common loci

(3) 연구결과

(가) 무 계놈 특성에 맞는 GBS 방법을 최적화

① DNA quality 및 농도 확인을 위한 QC 분석

- Sample QC results (Picogreen assay)

GBS는 DNA의 양과 질이 중요한 요소이며, 이를 위한 정확한 DNA 정량을 위해 picogreen 정량을 수행하였다.

Sample ID	OD (Picogreen)	Concentration
G001	45913	100.49
G002	42122	92.19
G003	44047	96.40
G004	36198	79.22
G005	43800	95.86
G006	31356	68.61
G007	35716	78.16
G008	46119	100.94
G009	45234	99.00
G010	32805	71.79
G011	45711	100.05
G012	46079	100.85
G013	44506	97.41
G014	36432	79.73
G015	30551	66.85
G016	27170	59.45
G017	21282	46.55
G018	33901	74.19
G019	37680	82.90
G020	38796	84.90
G021	44948	98.38
G022	41827	91.54
G023	41584	91.01
G024	30853	67.51
G025	41924	91.75
G026	39248	85.89
G027	46939	102.74
G028	31239	68.36
G029	42230	92.42
G030	23373	51.13
G031	18103	39.59
G032	28031	61.33
G033	31119	68.09
G034	38734	84.77
G035	18805	41.13
G036	17720	38.76
G037	37201	81.41
G038	22159	48.48
G039	33350	72.98
G040	43648	95.53
G041	34555	75.62
G042	45343	99.24
G043	25540	55.88

Sample ID	OD (Picogreen)	Concentration
G044	35536	77.77
G045	20830	45.57
G046	24386	53.35
G047	30625	67.01
G048	28421	62.19
G049	28112	61.51
G050	22045	48.23
G051	42729	93.52
G052	44137	96.60
G053	22638	49.52
G054	46386	101.52
G055	16512	36.11
G056	14045	30.71
G057	18359	40.15
G058	35154	76.93
G059	36121	79.05
G060	34664	75.86
G061	36288	79.41
G062	27561	60.30
G063	40495	88.63
G064	28996	63.45
G065	44272	96.90
G066	47065	103.01
G067	34797	76.15
G068	46417	101.59
G069	36706	80.33
G070	46271	101.27
G071	45157	98.83
G072	37260	81.54
G073	39873	87.26
G074	41079	89.90
G075	26268	57.47
G076	32954	72.11
G077	42488	92.99
G078	38600	84.48
G079	25075	54.86
G080	40951	89.62
G081	30127	65.92
G082	32204	70.47
G083	36937	80.83
G084	23832	52.14
G085	35831	78.41
G086	24070	52.66

Sample ID	OD (Picogreen)	Concentration
G087	27121	59.34
G088	26375	57.71
G089	40172	87.92
G090	21695	47.46
G091	22639	49.53
G092	39623	86.72
G093	33094	72.42
G094	38267	83.75
G095	36634	80.17
G096	23534	51.49
G097	36927	81.53
G098	38113	84.14
G099	35584	78.58
G100	20943	46.35
G101	36225	79.99
G102	26370	58.29
G103	33153	73.22
G104	40505	89.41
G105	32699	72.22
G106	10946	24.34
G107	46341	102.25
G108	36101	79.71
G109	35068	77.44
G110	9138	20.36
G111	31715	70.06
G112	37133	81.98
G113	29166	64.45
G114	42440	93.67
G115	45458	100.31
G116	27607	61.02
G117	24630	54.46
G118	32858	72.57
G119	43053	95.02
G120	30311	66.97
G121	24980	55.23
G122	32436	71.65
G123	39272	86.69
G124	34282	75.71
G125	24360	53.87
G126	36747	81.14
G127	31017	68.52
G128	17725	39.26
G129	22144	48.99

Sample ID	OD (Picogreen)	Concentration
G130	33217	73.36
G131	45816	101.10
G132	40612	90.08
G133	37639	83.10
G134	33465	73.91
G135	43022	94.95
G136	32913	72.70
G137	19270	42.66
G138	41882	92.44
G139	42233	93.21
G140	42567	93.95
G141	37326	82.41
G142	32566	71.93
G143	38666	85.36
G144	32877	72.62
G145	38336	84.63
G146	39565	87.34
G147	26832	59.31
G148	26810	59.26
G149	41928	92.54
G150	27616	61.04
G151	28457	62.89
G152	47470	104.74
G153	32558	71.91
G154	42357	93.48
G155	26329	58.20
G156	41488	91.57
G157	26916	59.49
G158	31036	68.56
G159	44308	97.78
G160	32931	72.74
G161	31472	69.52
G162	33519	74.03
G163	39794	87.84
G164	46741	103.13
G165	34854	76.97
G166	29143	64.40
G167	45902	101.29
G168	44710	98.66
G169	37959	83.80
G170	42434	93.65
G171	18742	41.50
G172	23730	52.48
G173	24256	53.64

Sample ID	OD (Picogreen)	Concentration
G174	22066	48.82
G175	21606	47.81
G176	24836	54.92
G177	20947	46.35
G178	35337	78.03
G179	29295	64.73
G180	32256	71.25
G181	21018	46.51
G182	21581	47.75
G183	19914	44.08
G184	22901	50.66
G185	29816	65.88
G186	42061	92.83
G187	15235	33.78
G188	23096	51.09
G189	26085	57.67
G190	42077	92.87
G191	23497	51.97
G192	22772	50.37
G193	34723	76.68
G194	36415	80.40
G195	23543	52.07
G196	19266	42.65
G197	44852	98.98
G198	41626	91.88
G199	37554	82.91
G200	22829	50.50

Sample ID	OD (Picogreen)	Concentration
G201	35738	78.91
G202	41461	91.51
G203	39487	87.17
G204	18362	40.66
G205	30767	67.97
G206	33753	74.54
G207	32827	72.51
G208	32577	71.96
G209	35853	79.17
G210	26006	57.49
G211	30653	67.72
G212	41080	90.67
G213	24388	53.93
G214	25251	55.83
G215	39650	87.53
G216	40250	88.85
G217	45330	100.03
G218	22974	50.82
G219	33193	73.31
G220	25460	56.29
G221	26692	59.00
G222	32829	72.51
G223	42879	94.63
G224	20782	45.99
G225	12831	28.49
G226	30854	68.16
G227	22974	50.82

② GBS library 제작

총 227개의 샘플을 3차에 걸쳐 라이브러리를 제조 하였다

Library preparation reagent

- 샘플 DNA 각 250ng
- Restriction Enzyme : ApeKI (NEB Cat# R0643L)
- T4 DNA Ligase (NEB Cat# M0202)
- Accupower pfu PCR Premix (Bioneer Cat# K2025)
- QIAquick PCR Purification Kit(Qiagen Cat# 28106)

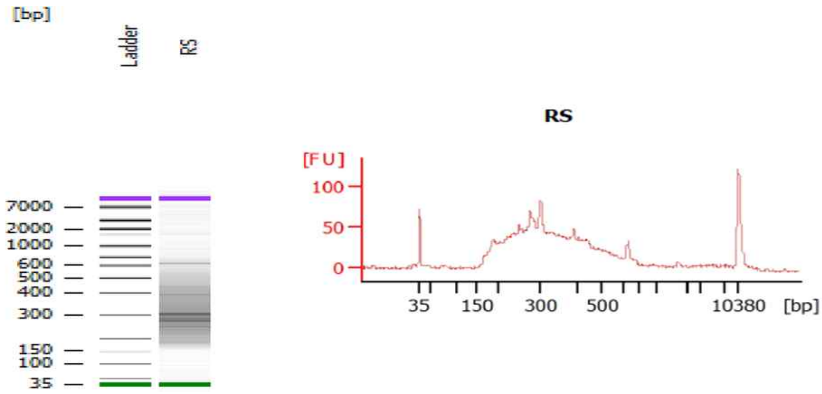
제작된 각 라이브러리의 확인을 위해 bioanalyzer 분석을 수행하였으며, 각 라이브러리가 문제없이 제조되었음을 확인하였다.

<1차>

- sample QC results:

No.	Sample ID.	Peak table			Region table					
		Size (bp)	Conc. (pg/ul)	Molarity (pmol/l)	From (bp)	To (bp)	Average Size	CONC. (ng/ul)	Volume (ul)	Amount (ng)
1	RS				100.0	1000.0	352.0	17.5	69.0	1205.9

- Electropherogram Summary:

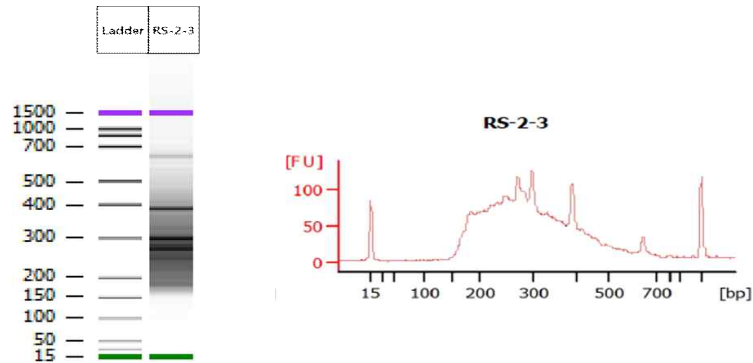


<2차>

- sample QC results:

No.	Sample ID.	Peak table			Region table					
		Size (bp)	Conc. (pg/ul)	Molarity (pmol/l)	From (bp)	To (bp)	Average Size	CONC. (ng/ul)	Volume (ul)	Amount (ng)
1	RS-2-3				145.0	913.0	323.0	72.2	60.0	4332.0

- Electropherogram Summary:

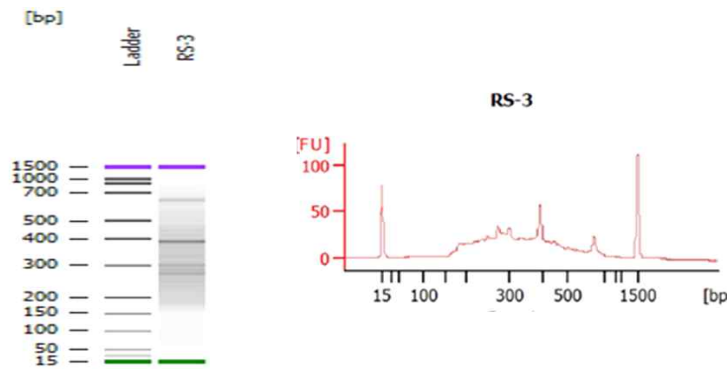


<3차>

- sample QC results:

No.	Sample ID.	Peak table			Region table					
		Size (bp)	Conc. (pg/ul)	Molarity (pmol/l)	From (bp)	To (bp)	Average Size	CONC. (ng/ul)	Volume (ul)	Amount (ng)
1	RS-3				150	843	361	26.29	80.0	2103.2

- Electropherogram Summary:



③ Sequencing

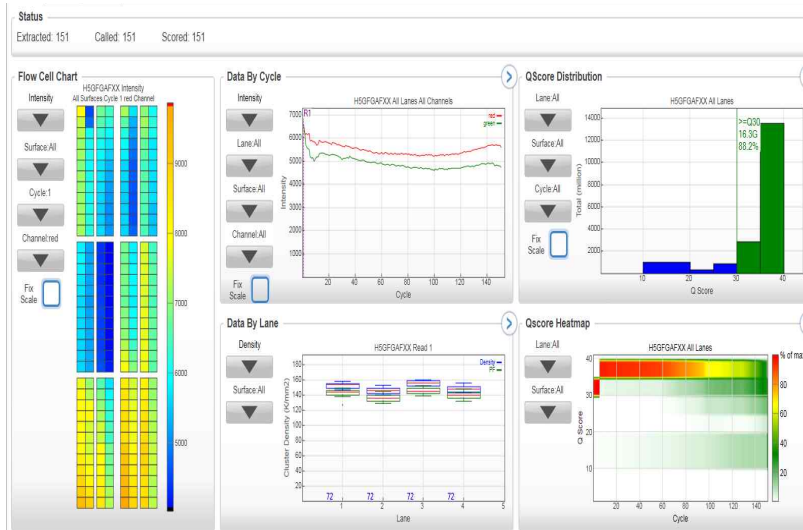
제조한 GBS 라이브러리를 3차에 걸쳐 illumina NextSeq500를 이용하여 150bp single-end 모드로 각 20Gb 시퀀싱을 수행하였다

NextSeq500 Running information

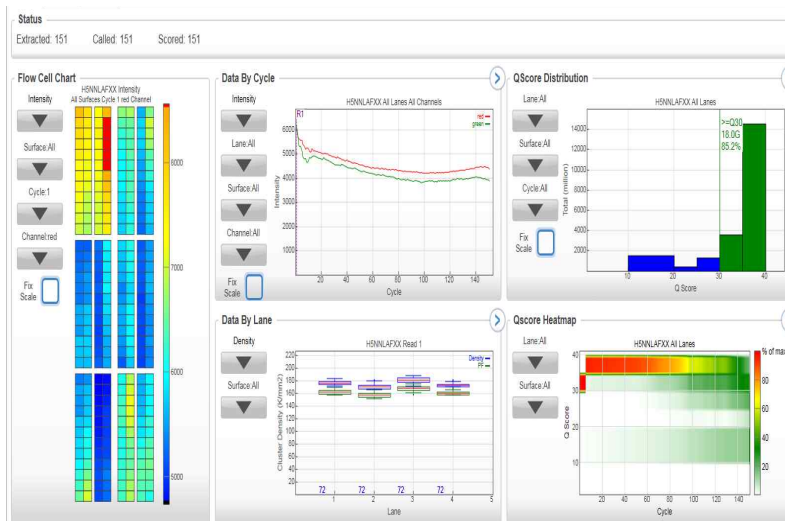
System Name	Maker	Catalog #
NextSeq 500 Sequencing System	illumina	SY-415-1001

Output Kit Name	Maker	Catalog #
NextSeq 500 High Output kit v2 (150 cycles)	illumina	FC-404-2002

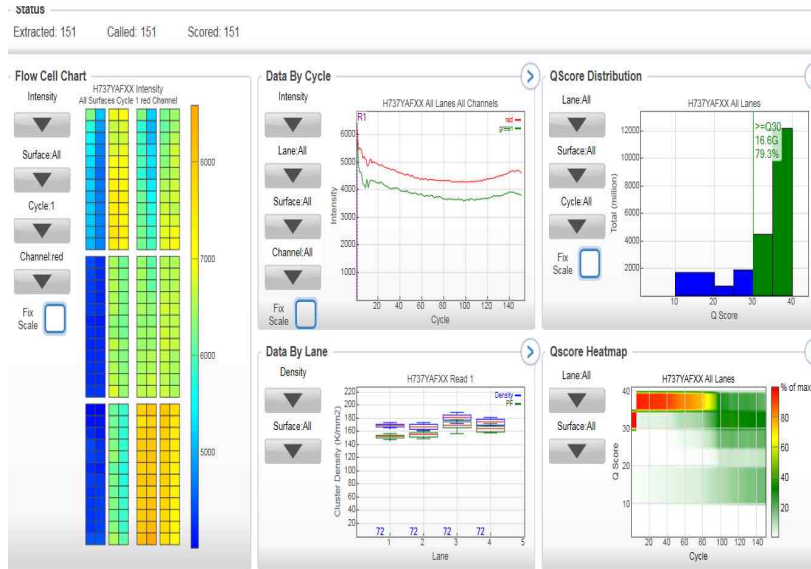
Run Summary (1차 Sequencing 결과)



Run Summary (2차 Sequencing 결과)



Run Summary (3차 Sequencing 결과)



(나) 무 GBS를 위한 레퍼런스 선발

무 GBS를 위한 레퍼런스 선발을 위해 현재 발표된 3종의 무 레퍼런스 게놈에 대한 리드맵핑 테스트를 진행하였다. 생산된 95개 샘플의 GBS데이터를 각 레퍼런스 게놈에 맵핑하였을시 도쿄 대학의 레퍼런스가 79%로 가장 높았으며 나머지 둘은 74% 정도의 결과를 보였다. 셋 중 한국 레퍼런스만이 pseudo-molecule 수준에 도달했고 맵핑결과의 차이가 크지않으므로 한국 레퍼런스를 GBS용 레퍼런스로 선발하였다

	KOREA	Dokyo	Dohoku
overall alignment rate	74.31%	79.04%	74.18%
genome coverage	98%	63%	75.90%
genome status	reference	draft	draft

(다) GBS 데이터 분석 파이프라인 확립

* GBS pipeline

- ① merged된 sample의 demultiplexing을 진행 (GBSX)
- ② sample에 대한 quality check (FASTQC)
- ③ sample을 reference에 alignment (Bowtie2)
- ④ 제대로 mapping되지 않은 부분을 realignment (GATK)
- ⑤ Variant Calling을 하여 SNP 및 INDEL을 획득하고 여러 정보 추출 (GATK)
- ⑥ marker들에 관해 missing rate >20% 및 MAF <0.05 기준으로 filtering

(plink)

- ⑦ Missing data에 대한 보정 (Beagle)
- ⑧ Association분석을 위해 다양한 통계분석: population structure stratification (STRUCTURE), Ordered logistic regression (R package)

① Demultiplexing

GBS sequencing NGS data

GBS sequencing raw 파일은 sequence 및 이에 상응하는 quality를 나타내는 fastq형식의 압축 파일이다.

Index	Raw data
1	RS_S1_L001_R1_001.fastq.gz
2	RS_S1_L002_R1_001.fastq.gz
3	RS_S1_L003_R1_001.fastq.gz
4	RS_S1_L004_R1_001.fastq.gz
5	RS_2-3_S1_L001_R1_001.fastq.gz
6	RS_2-3_S1_L002_R1_001.fastq.gz
7	RS_2-3_S1_L003_R1_001.fastq.gz
8	RS_2-3_S1_L004_R1_001.fastq.gz
9	RS3_BOS1_S1_L001_R1_001.fastq.gz
10	RS3_BOS1_S1_L002_R1_001.fastq.gz
11	RS3_BOS1_S1_L003_R1_001.fastq.gz
12	RS3_BOS1_S1_L004_R1_001.fastq.gz

② Demultiplexing GBS raw data

GBS raw data는 여러 sample이 multiplexing 상태의 sequencing 파일이므로 각 sample별 data를 얻기 위해 demultiplexing 작업을 수행하였고 결과는 다음의 테이블

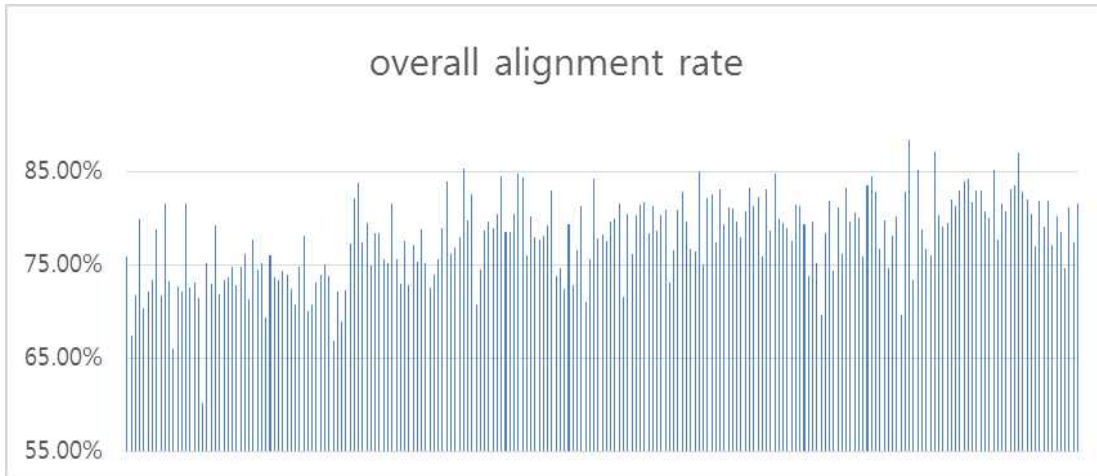
sampleID	Read count	sampleID	Read count	sampleID	Read count	sampleID	Read count
G01	1,032,528	G26	1,087,071	G51	1,894,418	G76	1,482,078
G02	1,439,041	G27	1,275,679	G52	1,628,561	G77	1,610,893
G03	907,179	G28	1,258,904	G53	1,487,515	G78	1,417,256
G04	940,366	G29	1,475,057	G54	1,695,847	G79	850,320
G05	1,197,591	G30	1,073,846	G55	2,527,601	G80	1,512,833
G06	1,630,114	G31	1,877,380	G56	1,702,969	G81	2,627,799
G07	1,345,478	G32	1,647,923	G57	1,127,358	G82	2,266,742
G08	1,838,357	G33	1,568,431	G58	1,703,089	G83	1,560,708
G09	1,253,603	G34	1,134,154	G59	810,079	G84	1,305,235
G10	2,858,184	G35	1,021,285	G60	1,821,273	G85	940,602
G11	1,605,027	G36	1,186,093	G61	1,681,393	G86	1,858,233
G12	2,069,106	G37	2,212,731	G62	1,283,224	G87	1,130,534
G13	817,549	G38	1,283,002	G63	2,334,487	G88	988,773
G14	1,397,575	G39	1,913,000	G64	2,567,614	G89	2,742,038
G15	1,384,779	G40	1,184,769	G65	1,851,624	G90	2,826,628
G16	1,565,536	G41	1,486,605	G66	2,523,780	G91	1,271,987
G17	1,622,564	G42	1,338,631	G67	2,296,465	G92	1,197,921
G18	908,676	G43	2,071,636	G68	1,338,974	G93	2,150,147
G19	1,767,610	G44	1,730,567	G69	2,081,905	G94	2,328,919
G20	1,331,674	G45	1,325,321	G70	1,161,814	G95	2,215,369
G21	1,417,483	G46	853,448	G71	1,879,900	G96	885,729
G22	1,823,924	G47	1,185,489	G72	1,102,649	G97	2,367,880
G23	1,043,816	G48	808,155	G73	1,469,910	G98	2,311,947
G24	1,354,134	G49	1,033,607	G74	1,467,990	G99	1,744,878
G25	1,154,960	G50	1,047,088	G75	1,053,201	G100	966,599

sampleID	Read count	sampleID	Read count	sampleID	Read count	sampleID	Read count
G101	2,895,735	G133	1,587,747	G165	1,627,741	G197	955,988
G102	2,656,258	G134	812,383	G166	1,070,841	G198	1,461,530
G103	1,611,959	G135	2,457,411	G167	2,013,172	G199	989,049
G104	1,662,472	G136	1,861,788	G168	1,676,456	G200	756,875
G105	1,019,305	G137	1,830,936	G169	1,300,033	G201	1,690,830
G106	3,622,994	G138	999,474	G170	2,094,076	G202	2,769,506
G107	2,192,147	G139	3,451,105	G171	812,541	G203	1,902,229
G108	2,946,778	G140	1,070,695	G172	1,351,311	G204	1,634,267
G109	1,224,711	G141	1,442,825	G173	1,839,768	G205	1,594,562
G110	2,267,302	G142	906,608	G174	3,433,051	G206	2,222,471
G111	1,413,138	G143	1,785,366	G175	1,113,292	G207	1,102,064
G112	1,404,893	G144	1,363,442	G176	1,736,134	G208	1,076,231
G113	1,374,428	G145	1,148,290	G177	1,312,893	G209	1,815,904
G114	844,319	G146	1,342,277	G178	2,123,430	G210	1,706,573
G115	1,315,200	G147	949,635	G179	1,982,960	G211	2,327,846
G116	2,069,587	G148	872,408	G180	975,940	G212	2,414,044
G117	1,797,230	G149	1,167,658	G181	857,696	G213	2,050,782
G118	3,345,531	G150	1,014,430	G182	880,752	G214	1,769,340
G119	1,042,611	G151	969,196	G183	1,254,433	G215	1,293,636
G120	1,570,185	G152	1,339,833	G184	1,652,420	G216	1,397,924
G121	2,246,569	G153	1,189,533	G185	1,533,834	G217	1,878,572
G122	1,491,121	G154	2,228,771	G186	1,188,857	G218	1,788,328
G123	2,984,067	G155	1,558,981	G187	2,055,251	G219	2,168,091
G124	1,374,940	G156	885,435	G188	916,163	G220	1,560,436
G125	1,212,938	G157	1,119,186	G189	1,592,583	G221	1,840,919
G126	3,080,814	G158	1,165,958	G190	1,201,010	G222	2,172,160
G127	1,476,339	G159	1,456,382	G191	960,879	G223	1,151,848
G128	3,550,686	G160	1,745,827	G192	1,262,795	G224	1,628,508
G129	1,503,428	G161	979,384	G193	1,767,421	G225	1,535,716
G130	1,963,453	G162	955,651	G194	2,560,064	G226	2,592,173
G131	1,445,038	G163	1,287,024	G195	1,055,147	G227	1,656,508
G132	1,642,572	G164	1,095,651	G196	1,297,174	undetermined	6,867,933

③ Variant calling

mapping rate

Undetermined read를 제외한 sample별 read정보(fastq파일)를 이용하여 Bowtie2 프로그램을 이용하여 mapping과정을 수행하였다. 그래프와 표는 read가 reference에 mapping이 얼마나 되었는지를 나타내며, 전반적으로 75%대의 맵핑 결과를 보였다



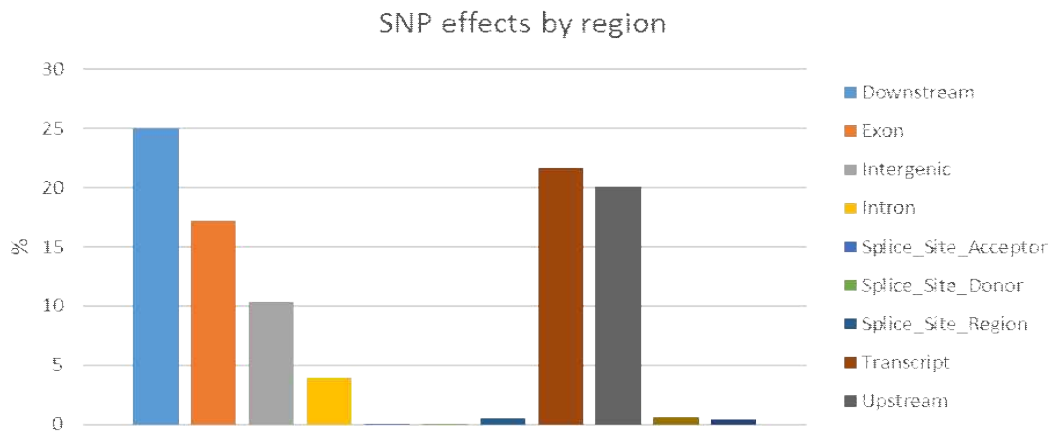
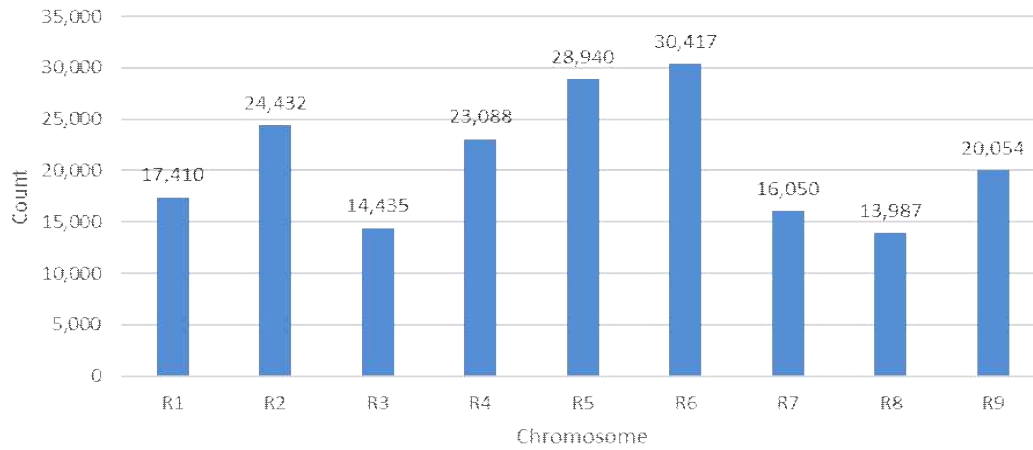
	aligned 1 time	aligned >1 times	alignment rate		aligned 1 time	aligned >1 times	alignment rate
G01	433000(41.94%)	350096(33.91%)	75.84%	G36	468940(39.54%)	403821(34.05%)	73.58%
G02	517139(35.94%)	451762(31.39%)	67.33%	G37	855722(38.67%)	767775(34.70%)	73.37%
G03	361562(39.86%)	288575(31.81%)	71.67%	G38	524208(40.86%)	428772(33.42%)	74.28%
G04	397320(42.25%)	353594(37.60%)	79.85%	G39	784857(41.03%)	628572(32.86%)	73.89%
G05	470998(39.33%)	370806(30.96%)	70.29%	G40	454579(38.37%)	402497(33.97%)	72.34%
G06	661477(40.58%)	514668(31.57%)	72.15%	G41	552022(37.13%)	498263(33.52%)	70.65%
G07	537807(39.97%)	449904(33.44%)	73.41%	G42	553401(41.34%)	447169(33.40%)	74.75%
G08	718030(39.06%)	729459(39.68%)	78.74%	G43	738400(35.64%)	877427(42.35%)	78.00%
G09	515584(41.13%)	383603(30.60%)	71.73%	G44	667574(38.58%)	543355(31.40%)	69.97%
G10	1290992(45.17%)	1038375(36.33%)	81.50%	G45	528908(39.91%)	408427(30.82%)	70.73%
G11	614332(38.28%)	560771(34.94%)	73.21%	G46	346806(40.64%)	277069(32.46%)	73.10%
G12	770821(37.25%)	595848(28.80%)	66.05%	G47	471243(39.75%)	404745(34.14%)	73.89%
G13	324201(39.66%)	270003(33.03%)	72.68%	G48	330777(40.93%)	275447(34.08%)	75.01%
G14	547609(39.18%)	459118(32.85%)	72.03%	G49	404945(39.18%)	357870(34.62%)	73.80%
G15	602843(43.53%)	525869(37.97%)	81.51%	G50	372683(35.59%)	326362(31.17%)	66.76%
G16	630585(40.28%)	505713(32.30%)	72.58%	G51	721014(38.06%)	644365(34.01%)	72.07%
G17	652241(40.20%)	533791(32.90%)	73.10%	G52	629907(38.68%)	491290(30.17%)	68.85%
G18	362095(39.85%)	286720(31.55%)	71.40%	G53	591210(39.74%)	483694(32.52%)	72.26%
G19	567553(32.11%)	494640(27.98%)	60.09%	G54	694555(40.96%)	615830(36.31%)	77.27%
G20	540043(40.55%)	460512(34.58%)	75.14%	G55	877415(34.71%)	1198971(47.44%)	82.15%
G21	604818(42.67%)	429750(30.32%)	72.99%	G56	659140(38.71%)	767016(45.04%)	83.75%
G22	831932(45.61%)	612750(33.60%)	79.21%	G57	468454(41.55%)	403860(35.82%)	77.38%
G23	433545(41.53%)	315345(30.21%)	71.75%	G58	706042(41.46%)	647327(38.01%)	79.47%
G24	584519(43.17%)	408166(30.14%)	73.31%	G59	332367(41.03%)	274062(33.83%)	74.86%
G25	503303(43.58%)	346934(30.04%)	73.62%	G60	743765(40.84%)	683668(37.54%)	78.38%
G26	467448(43.00%)	344845(31.72%)	74.72%	G61	701890(41.74%)	616260(36.65%)	78.40%
G27	548238(42.98%)	380333(29.81%)	72.79%	G62	531098(41.39%)	438240(34.15%)	75.54%
G28	539691(42.87%)	401677(31.91%)	74.78%	G63	965439(41.36%)	789485(33.82%)	75.17%
G29	567735(38.49%)	555289(37.65%)	76.13%	G64	932071(36.30%)	1160100(45.18%)	81.48%
G30	432462(40.27%)	332112(30.93%)	71.20%	G65	796067(42.99%)	603572(32.60%)	75.59%
G31	666186(35.48%)	792131(42.19%)	77.68%	G66	979270(38.80%)	862921(34.19%)	72.99%
G32	708315(42.98%)	519038(31.50%)	74.48%	G67	908342(39.52%)	873686(38.01%)	77.53%
G33	529168(33.74%)	650424(41.47%)	75.21%	G68	523149(39.07%)	450913(33.68%)	72.75%
G34	439538(38.75%)	345989(30.51%)	69.26%	G69	815224(39.16%)	788806(37.89%)	77.05%
G35	429732(42.08%)	346812(33.96%)	76.04%	G70	453815(39.06%)	420815(36.22%)	75.28%

	aligned 1 time	aligned >1 times	alignment rate		aligned 1 time	aligned >1 times	alignment rate
G71	786555(41.84%)	694577(36.95%)	78.79%	G111	498683(35.29%)	570041(40.34%)	75.63%
G72	458066(41.54%)	371045(33.65%)	75.19%	G112	567654(40.41%)	614198(43.72%)	84.12%
G73	560805(38.15%)	506055(34.43%)	72.58%	G113	493840(35.93%)	576099(41.92%)	77.85%
G74	564042(38.42%)	521399(35.52%)	73.94%	G114	333582(39.51%)	326808(38.71%)	78.22%
G75	420732(39.95%)	375389(35.64%)	75.59%	G115	483896(36.79%)	536325(40.78%)	77.57%
G76	623811(42.09%)	545437(36.80%)	78.89%	G116	783271(37.85%)	865285(41.81%)	79.66%
G77	528181(32.79%)	823305(51.11%)	83.90%	G117	655939(36.50%)	778532(43.32%)	79.82%
G78	574751(40.55%)	504410(35.59%)	76.14%	G118	1221249(36.50%)	1506640(45.03%)	81.54%
G79	335443(39.45%)	317577(37.35%)	76.80%	G119	392740(37.67%)	353780(33.93%)	71.60%
G80	634191(41.92%)	545721(36.07%)	77.99%	G120	592635(37.74%)	670136(42.68%)	80.42%
G81	948242(36.09%)	1294706(49.27%)	85.35%	G121	852463(37.95%)	857316(38.16%)	76.11%
G82	771515(34.04%)	1034744(45.65%)	79.69%	G122	548390(36.78%)	648521(43.49%)	80.27%
G83	583711(37.40%)	703199(45.06%)	82.46%	G123	1142603(38.29%)	1285466(43.08%)	81.37%
G84	520276(39.86%)	402081(30.81%)	70.67%	G124	522152(37.98%)	601067(43.72%)	81.69%
G85	382895(40.71%)	317120(33.71%)	74.42%	G125	436714(36.00%)	513000(42.29%)	78.30%
G86	691993(37.24%)	769755(41.42%)	78.66%	G126	1167161(37.88%)	1337263(43.41%)	81.29%
G87	498067(44.06%)	401338(35.50%)	79.56%	G127	571731(38.73%)	590004(39.96%)	78.69%
G88	420830(42.56%)	359774(36.39%)	78.95%	G128	1316209(37.07%)	1536695(43.28%)	80.35%
G89	976596(35.62%)	1229601(44.84%)	80.46%	G129	584204(38.86%)	631404(42.00%)	80.86%
G90	1000455(35.39%)	1388580(49.12%)	84.52%	G130	693775(35.33%)	739480(37.66%)	73.00%
G91	458608(36.05%)	540266(42.47%)	78.53%	G131	579888(40.13%)	525963(36.40%)	76.53%
G92	529719(44.22%)	409925(34.22%)	78.44%	G132	631582(38.45%)	695967(42.37%)	80.82%
G93	755114(35.12%)	974254(45.31%)	80.43%	G133	572733(36.07%)	741323(46.69%)	82.76%
G94	890904(38.25%)	1081299(46.43%)	84.68%	G134	322029(39.64%)	324025(39.89%)	79.53%
G95	760846(34.34%)	1106169(49.93%)	84.28%	G135	906472(36.89%)	977225(39.77%)	76.65%
G96	369223(41.69%)	303347(34.25%)	75.93%	G136	633638(34.03%)	789104(42.38%)	76.42%
G97	874468(36.93%)	1023376(43.22%)	80.15%	G137	631622(34.50%)	923823(50.46%)	84.95%
G98	814645(35.24%)	988357(42.75%)	77.99%	G138	358101(35.83%)	391707(39.19%)	75.02%
G99	672582(38.55%)	682531(39.12%)	77.66%	G139	1187355(34.41%)	1645891(47.69%)	82.10%
G100	355387(36.77%)	398842(41.26%)	78.03%	G140	437967(40.90%)	445983(41.65%)	82.56%
G101	1109725(38.32%)	1181647(40.81%)	79.13%	G141	499430(34.61%)	617017(42.76%)	77.38%
G102	1039433(39.13%)	1163596(43.81%)	82.94%	G142	347074(38.28%)	405415(44.72%)	83.00%
G103	589688(36.58%)	600381(37.25%)	73.83%	G143	615959(34.50%)	800582(44.84%)	79.34%
G104	599652(36.07%)	640724(38.54%)	74.61%	G144	478240(35.08%)	627858(46.05%)	81.13%
G105	363771(35.69%)	373668(36.66%)	72.35%	G145	472126(41.12%)	457605(39.85%)	80.97%
G106	1386615(38.27%)	1486241(41.02%)	79.30%	G146	464599(34.61%)	604122(45.01%)	79.62%
G107	794085(36.22%)	802694(36.62%)	72.84%	G147	355175(37.40%)	385445(40.59%)	77.99%
G108	1164163(39.51%)	1089601(36.98%)	76.48%	G148	344535(39.49%)	359614(41.22%)	80.71%
G109	471483(38.50%)	523811(42.77%)	81.27%	G149	459932(39.39%)	511996(43.85%)	83.24%
G110	822467(36.28%)	787701(34.74%)	71.02%	G150	370377(36.51%)	453836(44.74%)	81.25%

	aligned 1 time	aligned >1 times	alignment rate		aligned 1 time	aligned >1 times	alignment rate
G151	377436(38.94%)	419424(43.28%)	82.22%	G190	497616(41.43%)	448415(37.34%)	78.77%
G152	521085(38.89%)	495676(37.00%)	75.89%	G191	368853(38.39%)	368144(38.31%)	76.70%
G153	472112(39.69%)	516118(43.39%)	83.08%	G192	474722(37.59%)	485620(38.46%)	76.05%
G154	743037(33.34%)	1009807(45.31%)	78.65%	G193	615133(34.80%)	923447(52.25%)	87.05%
G155	546678(35.07%)	775189(49.72%)	84.79%	G194	938692(36.67%)	1117255(43.64%)	80.31%
G156	324612(36.66%)	382748(43.23%)	79.89%	G195	416149(39.44%)	417811(39.60%)	79.04%
G157	428841(38.32%)	459757(41.08%)	79.40%	G196	467131(36.01%)	563613(43.45%)	79.46%
G158	414566(35.56%)	504785(43.29%)	78.85%	G197	366475(38.33%)	417442(43.67%)	82.00%
G159	558144(38.32%)	569802(39.12%)	77.45%	G198	517258(35.39%)	670112(45.85%)	81.24%
G160	732675(41.97%)	688430(39.43%)	81.40%	G199	341605(34.54%)	479191(48.45%)	82.99%
G161	374759(38.26%)	420896(42.98%)	81.24%	G200	264428(34.94%)	370207(48.91%)	83.85%
G162	353672(37.01%)	404742(42.35%)	79.36%	G201	591195(34.96%)	831149(49.16%)	84.12%
G163	456862(35.50%)	491897(38.22%)	73.72%	G202	966021(34.88%)	1295576(46.78%)	81.66%
G164	379938(34.68%)	492564(44.96%)	79.63%	G203	721394(37.92%)	855531(44.98%)	82.90%
G165	595199(36.57%)	629158(38.65%)	75.22%	G204	637482(39.01%)	717427(43.90%)	82.91%
G166	372212(34.76%)	373749(34.90%)	69.66%	G205	594798(37.30%)	692838(43.45%)	80.75%
G167	792499(39.37%)	785743(39.03%)	78.40%	G206	857247(38.57%)	920462(41.42%)	79.99%
G168	733742(43.77%)	637042(38.00%)	81.77%	G207	400243(36.32%)	538264(48.84%)	85.16%
G169	472812(36.37%)	493602(37.97%)	74.34%	G208	397852(36.97%)	438540(40.75%)	77.71%
G170	746782(35.66%)	951354(45.43%)	81.09%	G209	633245(34.87%)	847833(46.69%)	81.56%
G171	291575(35.88%)	326926(40.24%)	76.12%	G210	600535(35.19%)	777777(45.58%)	80.76%
G172	564224(41.75%)	560761(41.50%)	83.25%	G211	908952(39.05%)	1026025(44.08%)	83.12%
G173	666617(36.23%)	797670(43.36%)	79.59%	G212	889629(36.85%)	1125336(46.62%)	83.47%
G174	1332530(38.81%)	1432176(41.72%)	80.53%	G213	759917(37.05%)	1024246(49.94%)	87.00%
G175	423259(38.02%)	466930(41.94%)	79.96%	G214	588813(33.28%)	875150(49.46%)	82.74%
G176	708667(40.82%)	607397(34.99%)	75.80%	G215	447801(34.62%)	611610(47.28%)	81.89%
G177	461482(35.15%)	634246(48.31%)	83.46%	G216	515301(36.86%)	608735(43.55%)	80.41%
G178	809466(38.12%)	982622(46.28%)	84.40%	G217	710099(37.80%)	735291(39.14%)	76.94%
G179	727995(36.71%)	914134(46.10%)	82.81%	G218	647642(36.21%)	815439(45.60%)	81.81%
G180	367548(37.66%)	381238(39.06%)	76.72%	G219	767360(35.39%)	945454(43.61%)	79.00%
G181	334776(39.03%)	349468(40.74%)	79.78%	G220	597020(38.26%)	679435(43.54%)	81.80%
G182	326763(37.10%)	329808(37.45%)	74.55%	G221	551835(29.98%)	866532(47.07%)	77.05%
G183	479499(38.22%)	499000(39.78%)	78.00%	G222	802415(36.94%)	938551(43.21%)	80.15%
G184	668229(40.44%)	656823(39.75%)	80.19%	G223	392695(34.09%)	511859(44.44%)	78.53%
G185	520578(33.94%)	546171(35.61%)	69.55%	G224	513388(31.53%)	701782(43.09%)	74.62%
G186	437273(36.78%)	547265(46.03%)	82.81%	G225	577466(37.60%)	668987(43.56%)	81.16%
G187	733779(35.70%)	1082410(52.67%)	88.37%	G226	903291(34.85%)	1102442(42.53%)	77.38%
G188	343286(37.47%)	329212(35.93%)	73.40%	G227	619645(37.41%)	731510(44.16%)	81.57%
G189	596299(37.44%)	760562(47.76%)	85.20%				

④ Variant calling

GATK 프로그램을 이용하여 multisample calling 수행하였다 (Total 188,813 개 SNP). 각 chromosome 별 raw SNP와 유전자 부위별 결과는 다음과 같다.

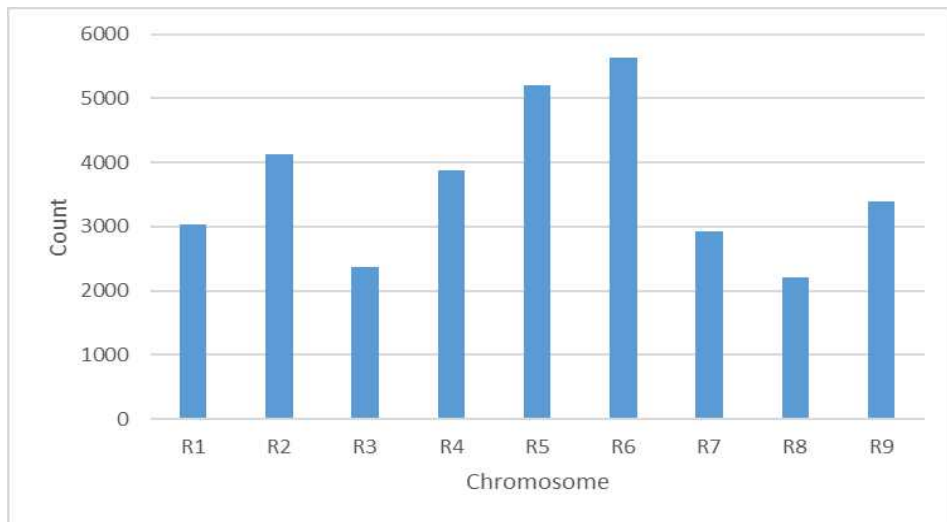


⑤ After filtering variants

calling한 snp들에서 MAF(minor allele frequency)가 0.05 미만, missing된 genotype이 전체 sample에서 20% 이상인 것들은 제거하였다.

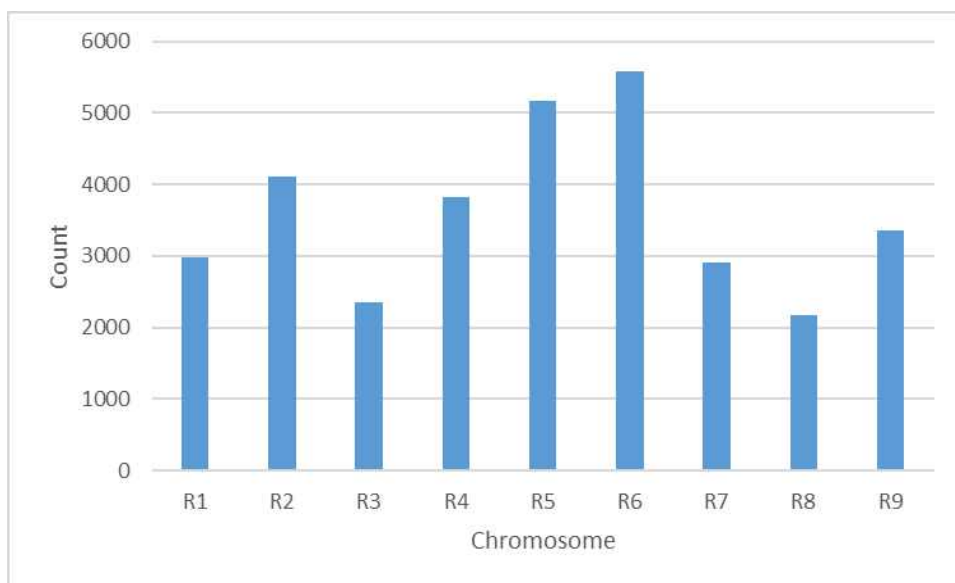
- 2015 data

2015년도 Phenotype 분석을 진행한 225 sample의 variant 가운데 위의 필터링 옵션을 적용하여 32,751개의 variant를 확보하였다.



- 2016 data

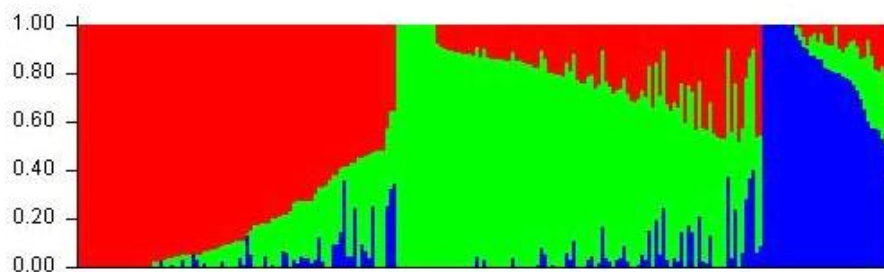
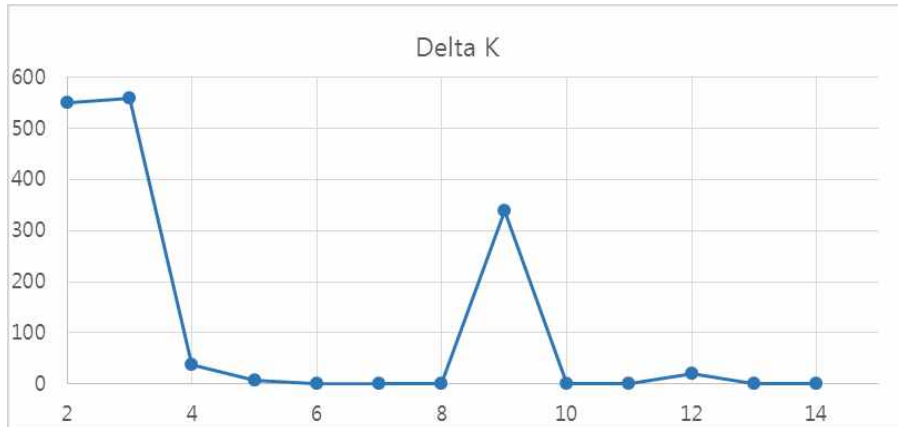
2016년도 Phenotype 분석을 진행한 225 sample의 variant 가운데 위의 필터링 옵션을 적용하여 32,442개의 variant를 확보하였다.



(라) Association analysis

① Population Stratification

무 227sample간의 population stratification정도를 STRUCTURE 프로그램에서 Burnin period 5000에 MCMC replication 50000으로 각 K별로 5번 반복적으로 분석하였다. 분석 후 나온 delta K 변화 그래프를 토대로 K가 3일 때 데이터 내 population을 가장 잘 구분할 수 있음을 확인하였다.



② Ordered Logistic Regression 적용

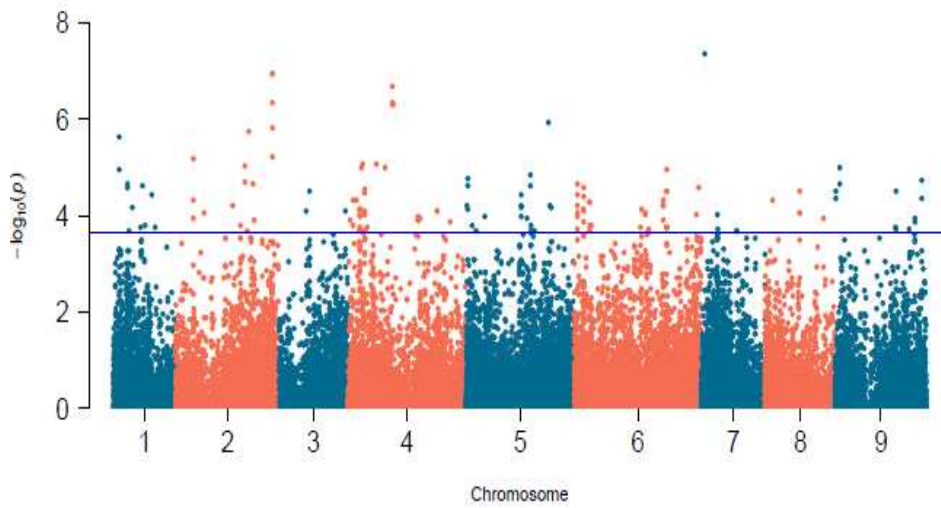
시들음병 저항성 관련 표현형은 Categorical variable이므로 Continuous variable일 경우 통상적으로 사용하는 linear model과는 다른 모델인 Ordered logistic regression 모델을 적용하여 분석하였다. 크게 2015년도, 2016년도 이차년도에 걸쳐 무 시들음 표현형에 대한 조사를 하였고 각각의 년도에서 병 접종 후 2주차 및 3주차에 시들음의 정도를 조사를 하였다. 조사한 표현형 데이터를 토대로 genotype과의 관계를 분석하였다. Naive 모델의 경우에는 phenotype과 genotype간의 관계를 아무 보정 없이 나타내었고 Q 모델의 경우 population covariate을 이용하여 모델을 보정한 결과이며, 유의미한 pvalue threshold는 FDR 0.05를 기준으로 분석하였다.

2015년도 병 접종 2주 후 Q모델에서 97개의 유의미한 loci를 얻었고 3주 후 Q모델에서 80개의 loci를 얻었습니다. 똑같은 방식으로 2016년도에는 각각 137개, 232개의 loci를 확인하였다.

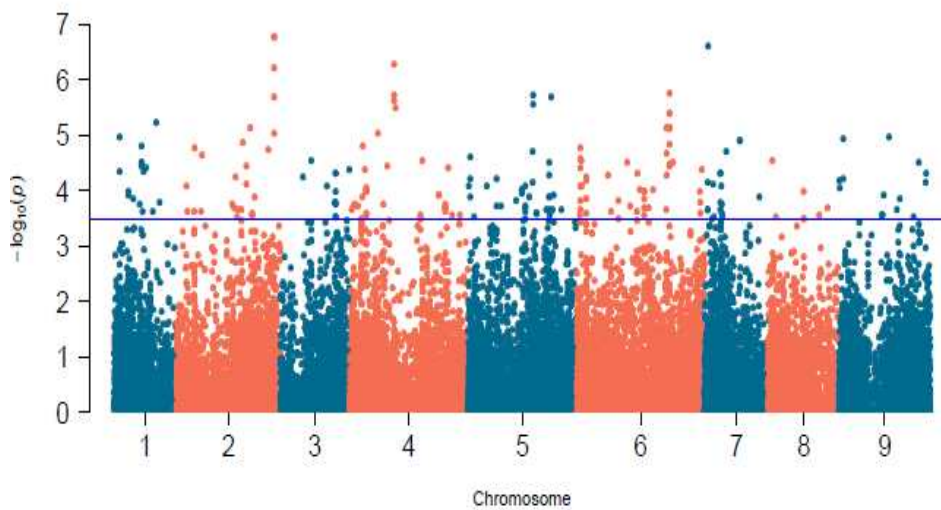
- 2015 data

㉔ 병 접종 2주 후 조사

Naïve

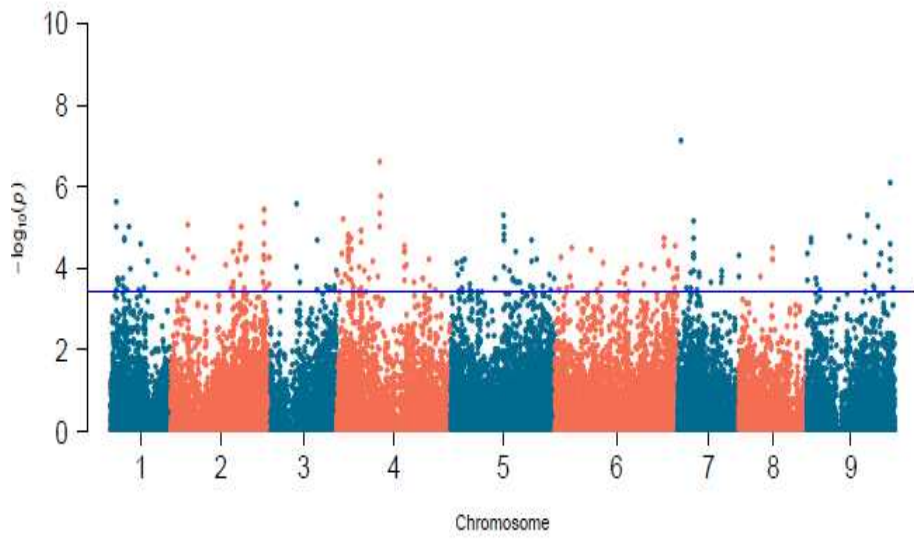


Q

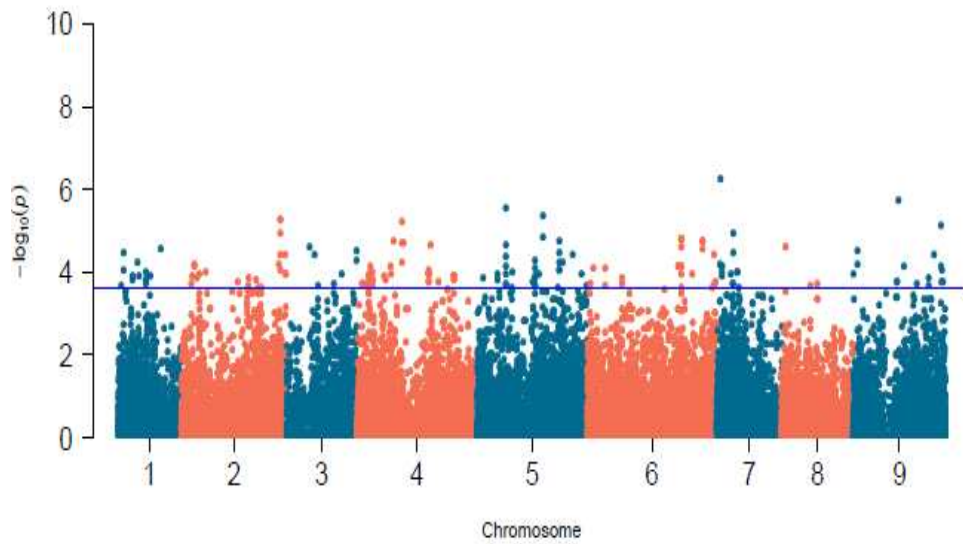


㉔ 병 접종 3주 후 조사

Naïve



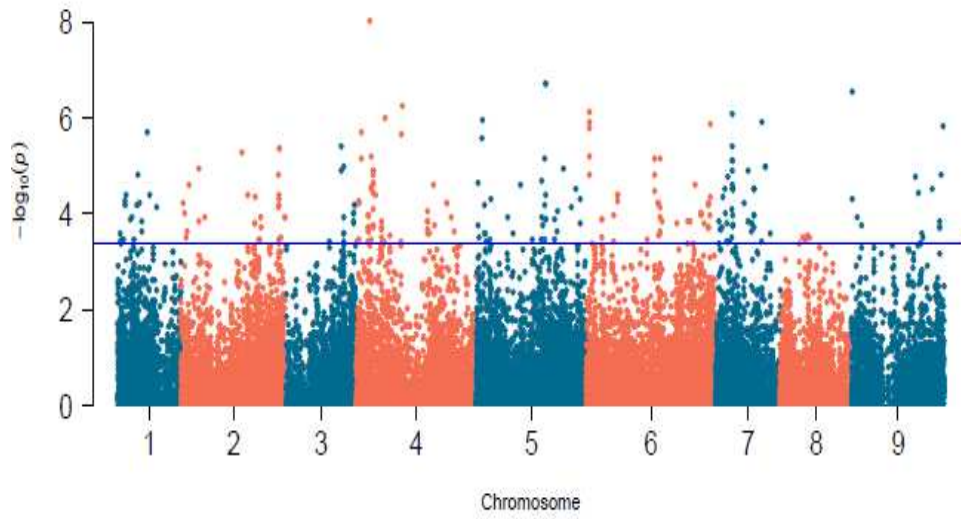
Q



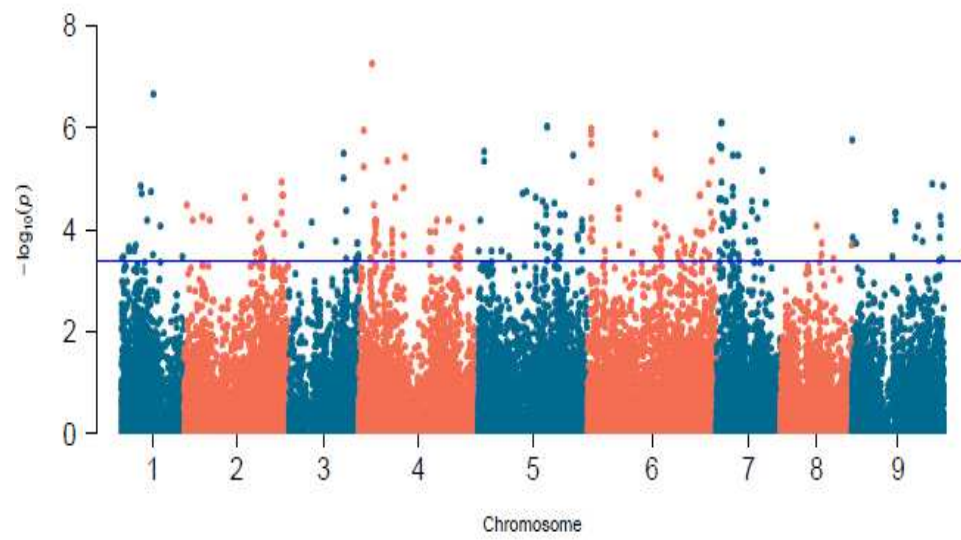
- 2016 data

㉚ 병 접촉 2주 후 조사

Naïve

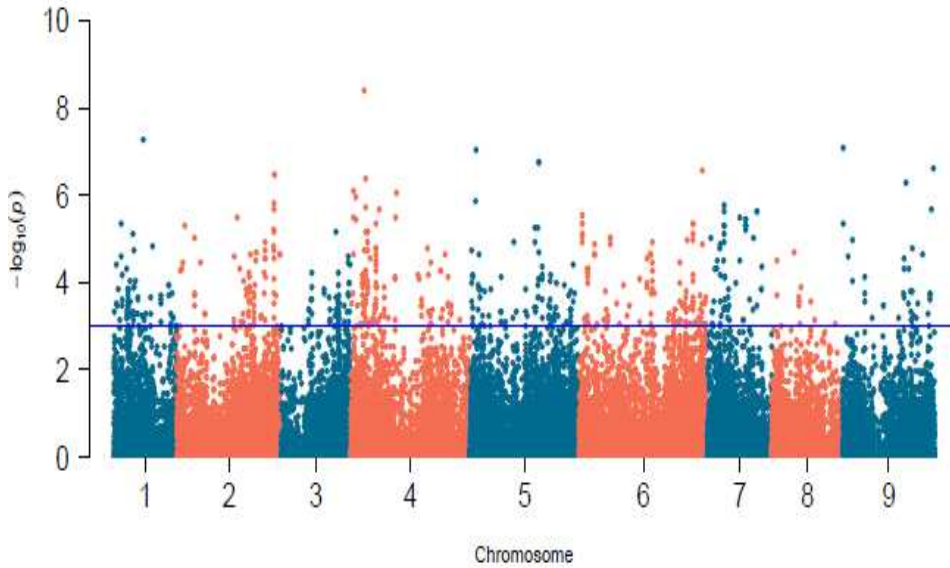


Q

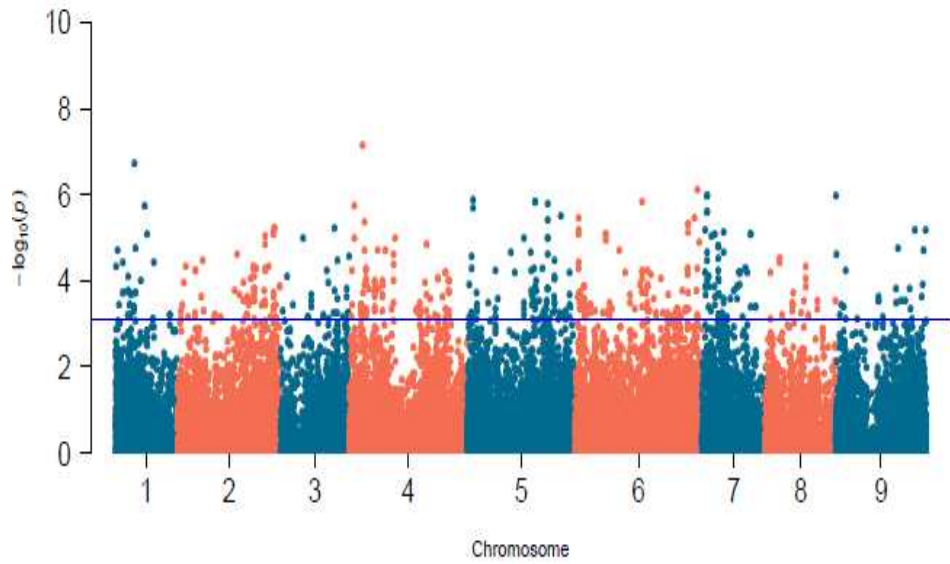


㉔ 병 접종 3주 후 조사

Naïve



Q



③ Common loci

2015년도 병 접종 후 2주차, 3주차에서 유의미하게 나온 loci 및 2016년도 병 접종 후 2주차, 3주차에서 유의미하게 나온 loci 총 4case에서 공통으로 보이는 19 loci를 분리하였다. 이 중에는 식물의 병저항성과 관련된 LRR 유전자 및 전사인자등이 다수 포함되어있으며 2차년도의 분리집단 검증에 있어 주요한 후보 마커이다.

GeneID	Product
Rs148230	pyridoxine biosynthesis protein
Rs498780	tir-nbs-lrr class disease resistance protein
Rs180900	at5g46290 mpl12_7
Rs345180	leucine-rich repeat receptor-like protein kinase
Rs181890	transcription elongation factor 1
Rs223390	neutral invertase
Rs171090	wrky dna-binding protein 18 [BLAST2GO]
Rs364450	molecular_function unknown [AT2G46000]
Rs474840	uncharacterized protein l728-like
Rs014470	protein brassinazole-resistant 2
Rs136670	ring u-box domain-containing protein
Rs388690	carboxyphosphoenolpyruvate mutase
Rs118240	beta-galactosidase 8
Rs362740	kinase family protein
Rs448450	major facilitator superfamily protein
Rs267700	transcription factor ilr3
Rs160720	pentatricopeptide repeat-containing protein
Rs045120	1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase-like protein
Rs450820	sugar transport protein 14-like

나. 2년차 (2017년)

(1) 개발 목표

- 무 GWAS 방법 최적화
- 시들음병 및 7개 주요형질에 대한 GWAS 및 QTL 분석
- 시들음병 저항성 및 이병성 자원에 대한 접종 전후 10일간 샘플에 대한 RNA-seq 분석 수행
- 샘플 별 유전자 발현패턴 차원축소 (MDS plot)

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 양적형질 유전자위 발굴

- ① Standalone TASSEL v5.0과 R을 사용한 GWA분석
- ② 표현형 데이터의 log transformation
- ③ 각 형질별 최적 association 분석 조건 시험
 - ㉠ Naive 모델
 - ㉡ Q(structure) 모델
 - ㉢ K(kinship) 모델
 - ㉣ QK(structure+kinship) 모델

(나) 시들음병 저항성 유전자위 발굴

(다) 무 시들음병 선발 집단 GBS

- ① DNA quality 및 농도 확인을 위한 QC 분석
- ② GBS library 제작
- ③ Sequencing

(3) 연구결과

(가) 양적형질 유전자위 발굴

2016년 GBS결과를 이용하여 근장, 근경, 엽장, 엽수, 근중, 엽중, 익엽수, 화경, 줄기길이, 줄기두께, 꼬투리수, 꼬투리당 종자수, 꼬투리 길이, 개화기등의 양적 형질에 대한 GWAS 분석

- 분석 방법

Standalone TASSEL v5.0과 R을 사용한 GWA분석

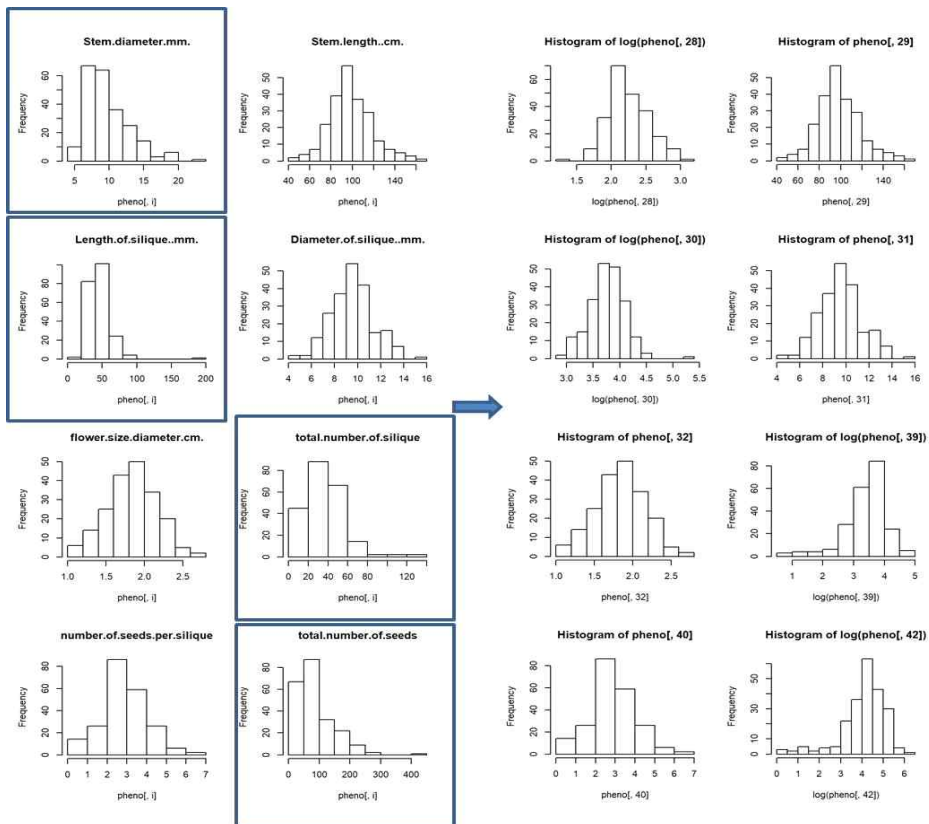
- ㉠ kinship (K) matrix was estimated based on familial relatedness between lines in an identical-by-state (IBS) matrix
- ㉡ Skewed distributions were somewhat adjusted with log transformation

using R

- ㉔ GLM과 MLM models were tested for all phenotypes to attest which model best fits each phenotype.
- ㉕ Significant p-values are chosen based on Bonferroni or FDR (B-H)
- ㉖ Graphs and illustrations were drawn using R

- 표현형 데이터의 log transformation

정규분포를 보이지 않는 형질들에 대한 log transformation 수행



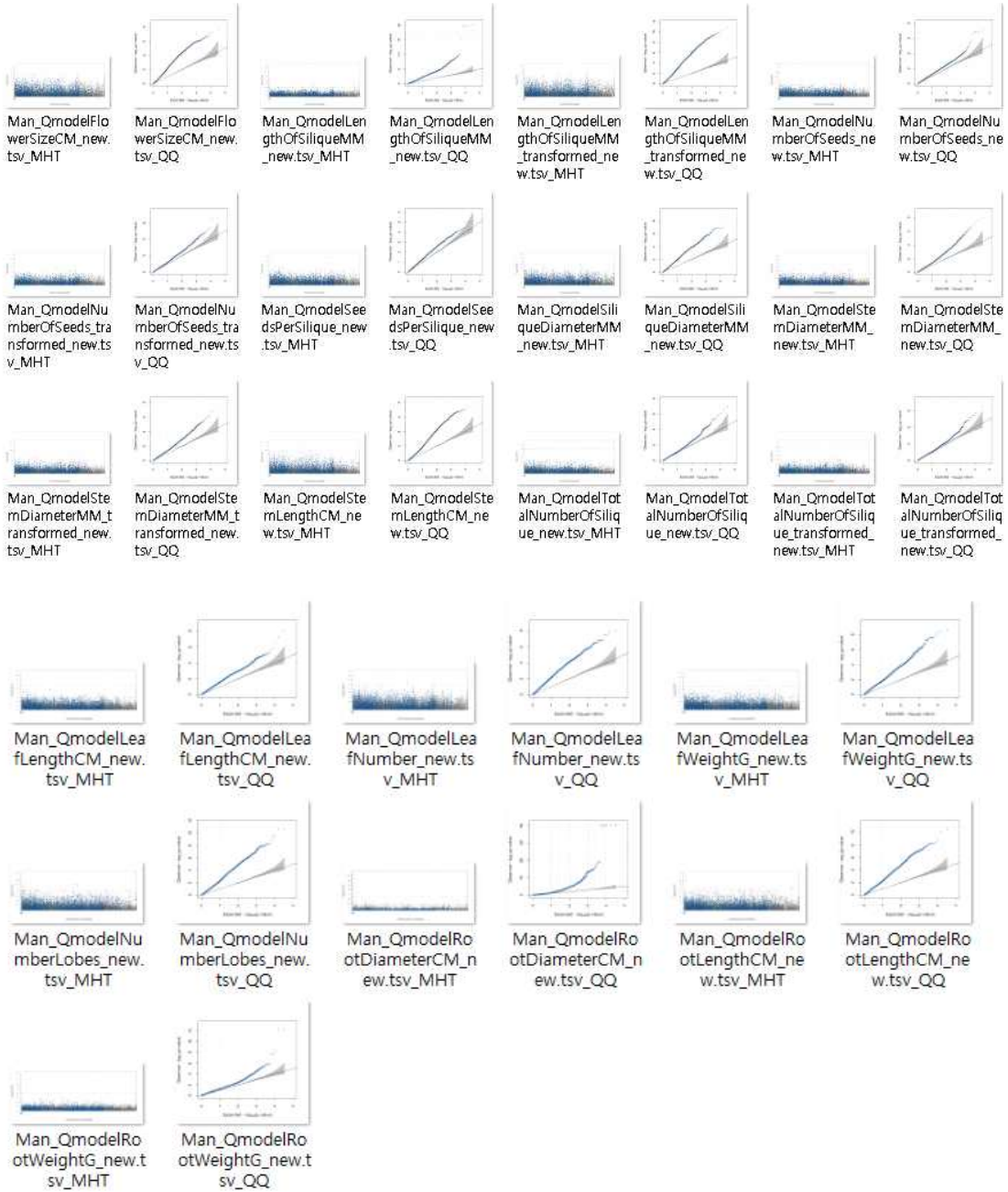
- 각 형질별 최적 association 분석 조건 시험

각 형질데이터별로 Naive, Q, K, QK 4가지 모델을 적용 최적 모델 탐색

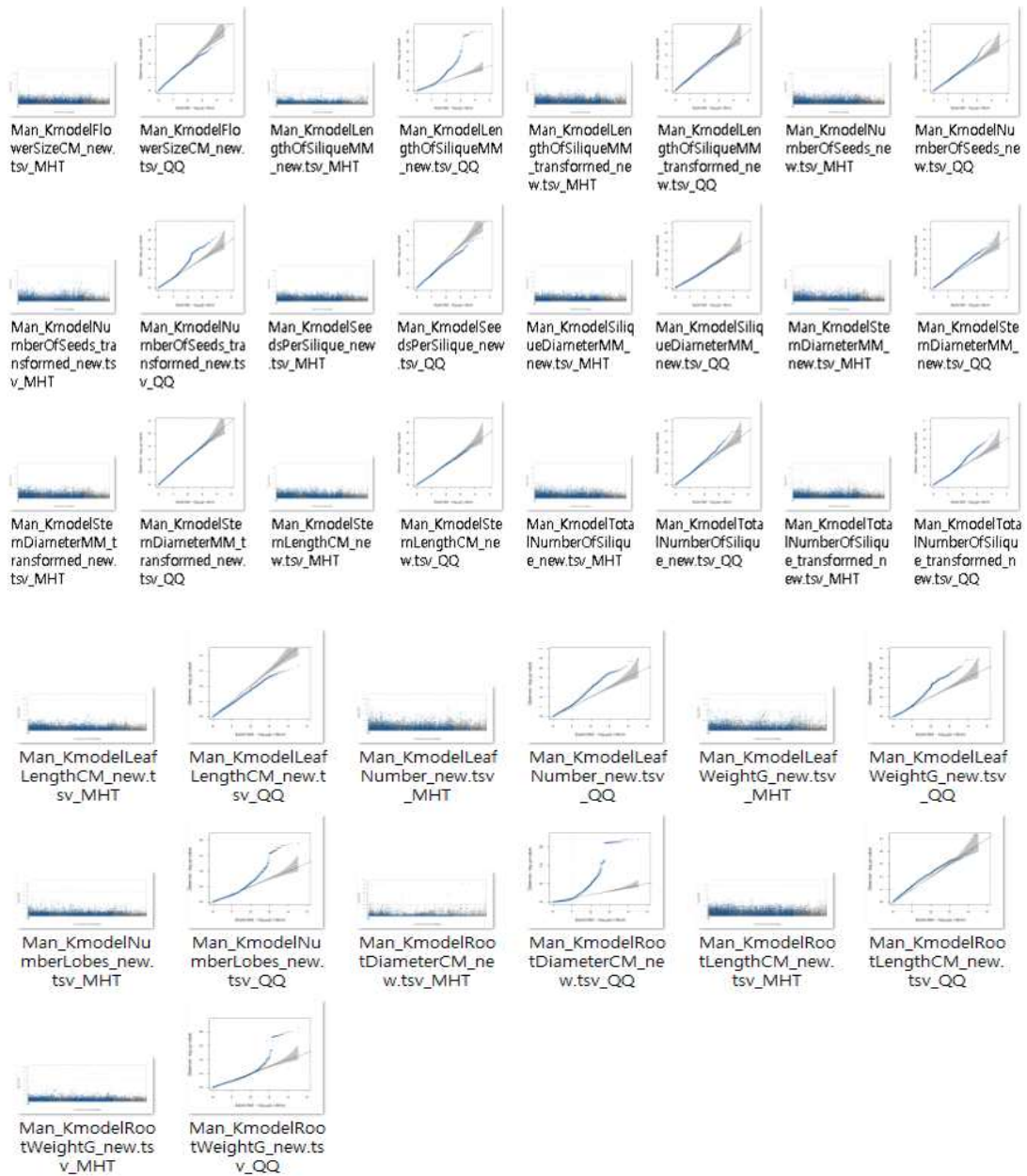
㉞ Naive 모델



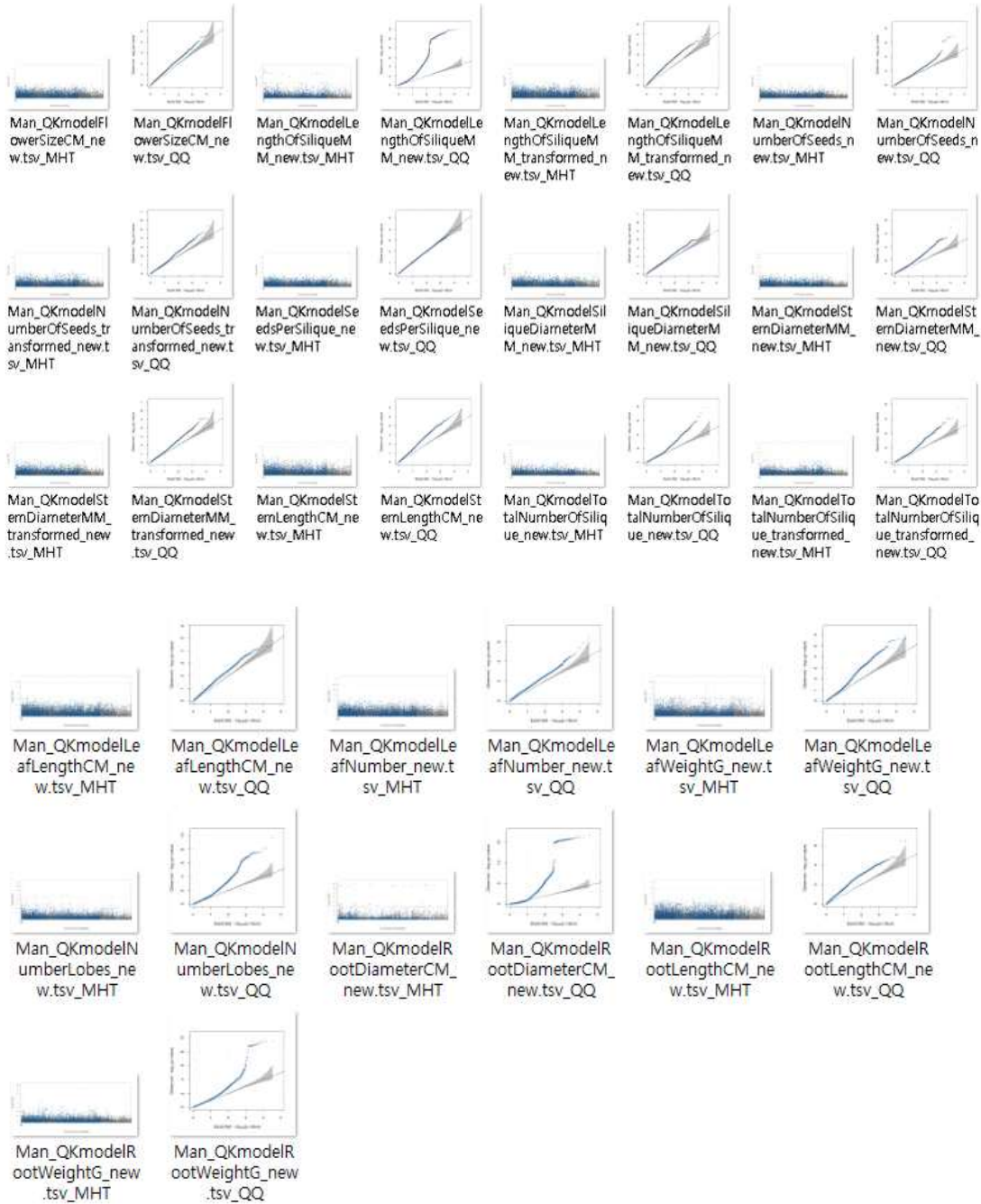
⊕ Q(structure) 모델



⊕ K(kinship) 모델



㉔ QK(structure+kinship) 모델



- GWAS 최적화 결과고찰

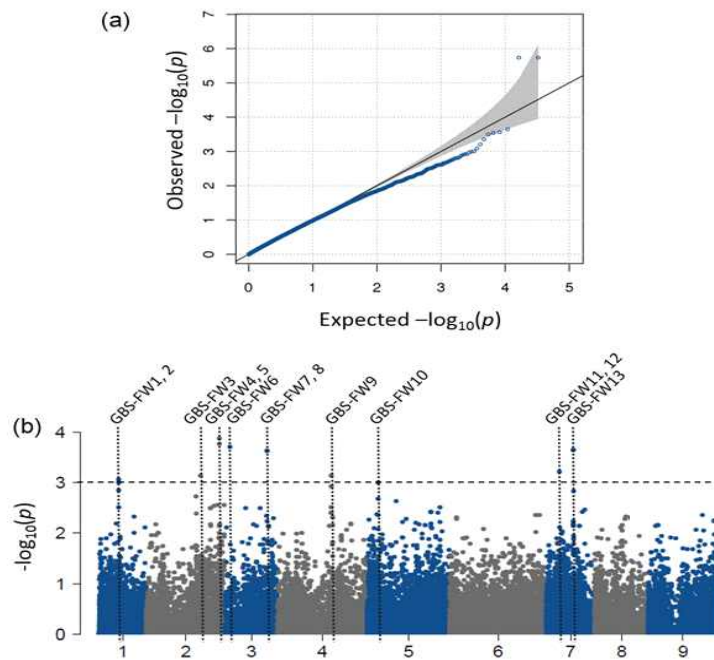
㉔ Model과 Transformation 유무에 따라 Manhattan Plot과 QQ Plot의 변화를 찾아 볼 수 있다.

㉕ Naive 와 Q 모델 결과에는 예는 큰 차이가 없음을 확인.

- ㉔ 형질별로 QK 모델을 사용할 phenotype과 Naive, Q model 그리고 K model을 비교하여 모형을 선택 필요
- ㉕ 모형 비교시 QQ-plot의 형태와 manhattan plot의 snp들이 LD형태를 띄우는지 확인함
- ㉖ 형질별 모형에 따라 GWAS 결과에 대한 significant marker를 선발하고 David GO analysis를 토하여 annotation 예정.

(나) 시들음병 저항성 유전자위 발굴

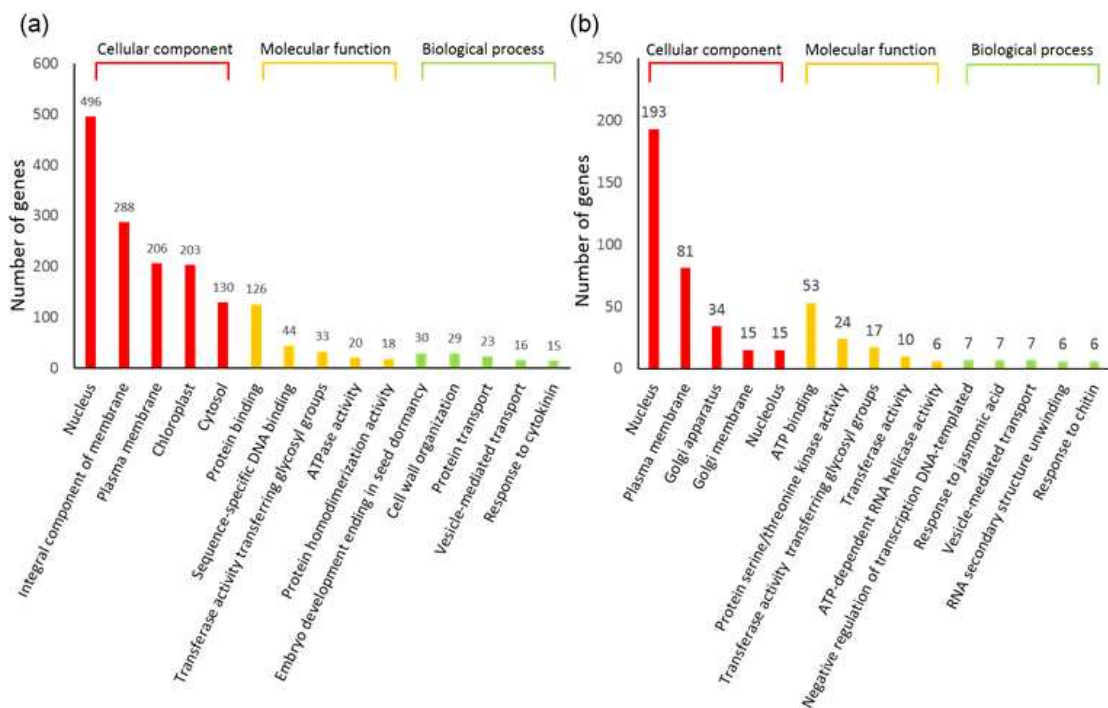
2016년도 GWAS 결과를 년도보정을 추가하여 최적화하여 13개 유전자좌를 발굴하였다.



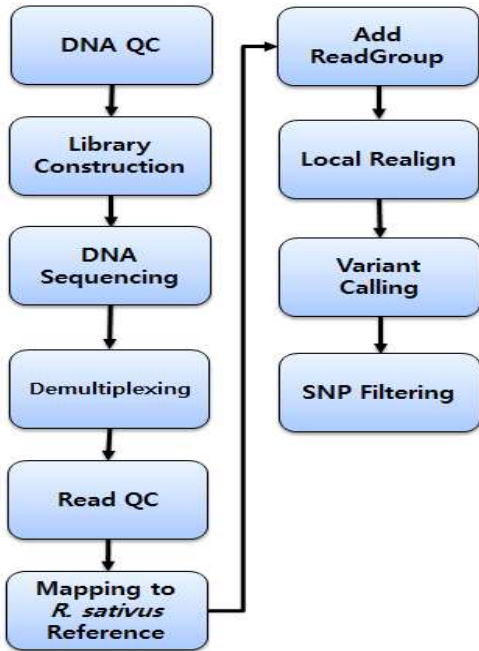
이들 13개 유전자좌는 6개 염색체에 걸쳐 8개 유전자에 분포한다.

Gene	SNP	Chromosome	Encoding	p Value
Rs019110	GBS-FW1, GBS-FW2	1	formin 8 protein	8.69E-04, 9.91E-04
Rs065080	GBS-FW3	2	WD40 repeat-like superfamily protein	7.33E-04
Rs045840	GBS-FW4, GBS-FW5	2	Sec23/Sec24 protein transport family protein	1.33E-04, 1.67E-04
Rs116800	GBS-FW6	3	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein	1.96E-04
	GBS-FW7	3	unknown	2.30E-04
	GBS-FW8	3	unknown	2.30E-04
Rs191190	GBS-FW9	4	ABL interactor-like protein 4	7.25E-04
Rs229140	GBS-FW10	5	kinase family protein	9.92E-04
Rs382210	GBS-FW11, GBS-FW12	7	PLC-like phosphodiesterase superfamily protein	2.24E-04
Rs392970	GBS-FW13	7	movement protein binding protein 2C	6.02E-04

발굴한 각 유전자좌의 225kb 영역에서 후보유전자를 추출하고 이들유전자의 기능을 추정하기위하여 GO분석을 수행하였다.



(다) 무 시들음병 선발 집단 GBS



- DNA quality 및 농도 확인을 위한 QC 분석

⑦ Sample QC results (Picogreen assay)

- OD측정 : Dropsense96 (Trinean)
- Quality check : Gel electrophoresis
- 형광정량 : Picogreen (Invitrogen)

No.	Sample ID	Absorbance			Fluorescence (Picogreen)	
		A260/280	A260/230	Con. (ng/ul)	RFU	Con. (ng/ul)
1	MK001	1.900	2.083	258.451	21882	46.119
2	MK002	1.984	2.314	421.522	22713	46.846
3	MK003	1.989	1.934	180.889	14296	30.060
4	MK004	1.990	2.239	315.273	21442	45.005
5	MK005	1.986	1.833	125.132	10815	22.778
6	MK008	1.990	1.870	147.839	10457	21.912
7	MK009	1.996	1.955	172.737	16279	34.371
8	MK011	1.979	1.687	96.087	9785	20.645
9	MK012	1.981	2.244	291.741	18070	37.782
10	MK013	1.998	2.300	363.706	16821	34.461

11	MK014	1.984	1.979	178.849	10248	21.337
12	MK015	1.969	1.962	179.322	20988	44.503
13	MK017	1.980	1.845	137.385	15061	31.886
14	MK019	1.940	2.295	350.396	21611	45.284
15	MK022	1.978	2.314	356.460	14952	30.897
16	MK023	1.997	2.123	247.814	15447	32.291
17	MK024	2.002	2.240	372.003	22508	46.469
18	MK025	1.947	1.940	172.856	13559	28.500
19	MK026	1.959	1.798	120.434	11972	25.292
20	MK028	2.023	1.809	150.931	9116	19.007
21	MK029	1.973	2.255	367.370	28221	58.988
22	MK030	2.003	1.890	142.889	11530	24.248
23	MK031	1.970	1.949	149.024	11034	23.154
24	MK032	1.984	2.365	355.434	41361	87.400
25	MK033	1.990	2.299	294.512	13643	28.298
26	MK034	1.982	2.303	320.445	20122	41.505
27	MK038	2.004	2.314	367.488	22735	47.158
28	MK040	1.995	1.989	149.508	13344	28.142
29	MK041	1.997	2.256	315.380	14689	30.413
30	MK042	1.937	2.209	283.419	23395	49.301

No.	Sample ID	Absorbance			Fluorescence (Picogreen)	
		A260/280	A260/230	Con. (ng/ul)	RFU	Con. (ng/ul)
31	MK043	1.966	2.071	169.318	20168	42.776
32	MK044	1.994	2.412	342.925	22427	46.625
33	MK045	1.960	1.883	162.866	14558	30.692
34	MK046	1.970	2.164	449.642	28437	59.038
35	MK047	1.954	2.027	267.660	17463	36.544
36	MK048	1.971	1.921	217.739	13484	28.155
37	MK050	1.973	2.207	279.467	22248	46.867
38	MK051	1.956	2.280	412.943	24770	51.333
39	MK052	1.972	2.067	221.587	13698	28.608
40	MK053	1.986	2.332	332.298	25021	52.292
41	MK055	1.975	1.802	127.674	11211	23.621
42	MK056	1.981	2.353	368.512	20451	42.243
43	MK057	1.977	2.324	314.734	25327	53.048
44	MK058	1.988	2.245	358.915	18015	37.438
45	MK059	1.962	1.601	73.852	9083	19.131
46	MK060	1.991	2.296	305.981	19258	40.003

47	MK061	1.977	2.088	185.848	22300	47.307
48	MK062	1.990	2.171	292.378	18609	38.915
49	MK063	1.977	2.325	430.422	24631	50.931
50	MK064	1.994	2.227	421.727	20682	42.457
51	MK067	1.988	1.968	300.784	13399	27.644
52	MK068	1.971	2.141	385.720	21563	44.576
53	MK069	1.965	1.972	205.273	15241	31.994
54	MK070	1.970	2.031	251.800	14326	29.838
55	MK071	1.979	2.374	283.260	16611	34.389
56	MK073	1.979	2.170	319.491	17791	37.096
57	MK074	1.992	2.158	462.581	20777	43.037
58	MK076	1.972	2.030	297.741	19798	41.485
59	MK077	1.990	1.677	119.918	9157	19.224
60	MK078	1.987	2.301	346.526	18387	37.891

No.	Sample ID	Absorbance			Fluorescence (Picogreen)	
		A260/280	A260/230	Con. (ng/ul)	RFU	Con. (ng/ul)
61	MK079	1.986	2.299	311.246	15866	33.022
62	MK080	2.007	1.688	110.716	12363	26.177
63	MK081	1.990	2.266	269.930	13178	27.374
64	MK083	1.999	2.319	255.551	13269	27.600
65	MK084	1.944	1.888	210.812	25450	53.998
66	MK085	1.947	2.169	389.400	25223	52.865
67	MK086	1.971	2.258	313.891	25455	53.336
68	MK087	1.988	2.227	451.214	23552	48.546
69	MK089	1.975	2.058	200.939	13246	27.714
70	MK091	1.979	2.284	319.490	17793	36.774
71	MK092	1.995	1.910	123.480	13458	28.487
72	MK093	1.981	2.190	315.566	13447	27.726

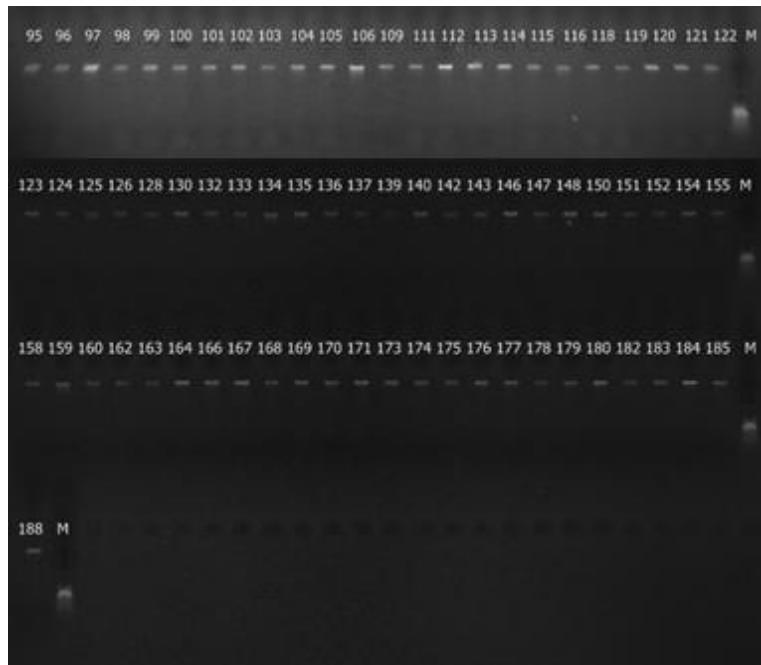
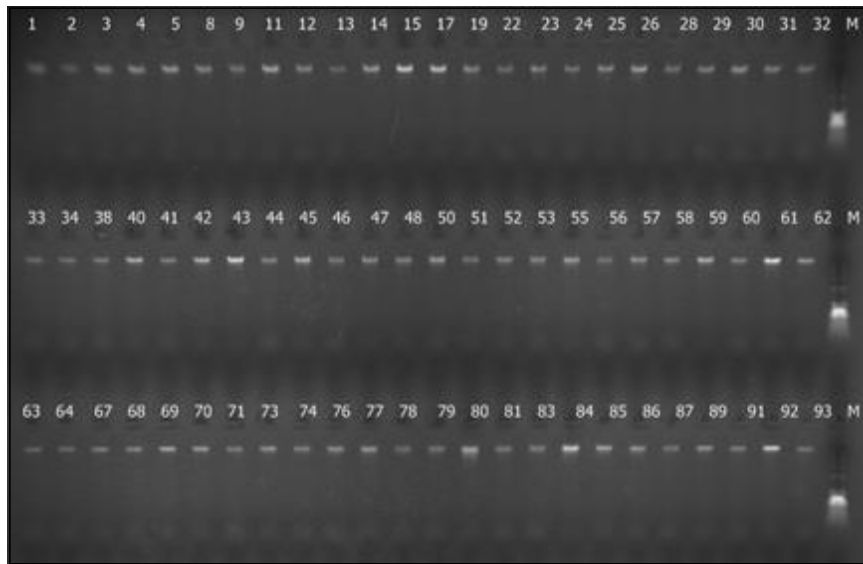
No.	Sample ID	Absorbance			Fluorescence (Picogreen)	
		A260/280	A260/230	Con. (ng/ul)	RFU	Con. (ng/ul)
73	MK095	1.976	2.022	223.508	17237	36.237
74	MK096	1.948	1.892	195.062	19687	41.630
75	MK097	1.977	2.228	481.198	28252	58.521
76	MK098	1.989	2.333	274.105	14969	30.873
77	MK099	1.997	2.141	268.487	12672	26.227
78	MK100	1.980	2.179	304.261	13000	26.806

79	MK101	1.969	2.317	312.889	16169	33.289
80	MK102	1.977	2.022	135.477	12802	27.024
81	MK103	1.982	2.331	376.007	30609	64.138
82	MK104	1.989	2.303	305.451	15450	32.135
83	MK105	1.964	1.487	77.252	13509	28.678
84	MK106	1.976	2.291	365.405	20413	42.178
85	MK109	1.980	2.264	298.620	17229	36.000
86	MK111	1.958	2.333	361.721	25592	53.367
87	MK112	1.991	2.412	386.659	27878	58.156
88	MK113	1.984	2.202	264.337	17987	37.706
89	MK114	1.998	2.185	299.540	13170	26.915
90	MK115	1.965	1.388	79.394	8614	18.119
91	MK116	1.980	2.213	314.734	20914	43.840
92	MK118	2.000	1.714	108.815	12375	26.213
93	MK119	2.000	1.109	31.698	6037	12.561
94	MK120	1.991	2.451	391.675	23339	48.315
95	MK121	1.982	2.034	154.522	18004	38.166
96	MK122	1.997	1.552	65.537	10132	21.394
97	MK123	1.965	2.034	205.166	15779	33.162
98	MK124	1.980	2.303	415.570	23816	49.457
99	MK125	1.974	1.970	297.939	13533	27.966
100	MK126	1.977	2.303	342.967	21502	44.648
101	MK128	1.983	2.354	392.269	20121	41.387
102	MK130	2.000	1.644	91.565	8802	18.525

No.	Sample ID	Absorbance			Fluorescence (Picogreen)	
		A260/280	A260/230	Con. (ng/ul)	RFU	Con. (ng/ul)
103	MK132	1.979	2.256	318.269	21694	45.509
104	MK133	1.965	2.346	361.321	25868	53.956
105	MK134	2.000	1.606	84.580	9686	20.432
106	MK135	2.000	1.971	172.255	18757	39.719
107	MK136	1.962	2.223	304.811	25129	52.682
108	MK137	1.992	2.260	252.046	15304	32.003
109	MK139	1.997	2.222	258.402	10660	21.962
110	MK140	1.980	2.300	347.462	38100	80.410
111	MK142	2.017	2.308	332.889	17823	36.749
112	MK143	1.995	2.209	227.699	13997	29.264

113	MK146	1.961	2.181	352.599	54482	115.740
114	MK147	1.958	2.233	388.784	28944	60.453
115	MK148	1.963	2.115	368.554	46833	99.147
116	MK150	1.968	1.841	144.260	12287	25.875
117	MK151	2.001	2.204	271.402	13307	27.579
118	MK152	1.982	2.319	362.832	19740	40.741
119	MK154	2.000	1.962	168.361	13073	27.474
120	MK155	2.010	2.282	297.595	19713	41.038
121	MK158	1.963	2.337	307.543	21473	44.782
122	MK159	1.948	2.145	296.207	23788	50.101
123	MK160	1.982	2.266	299.242	18497	38.406
124	MK162	1.981	1.870	239.254	14135	29.385
125	MK163	1.983	2.416	386.579	22548	46.418
126	MK164	1.975	1.827	111.525	12105	25.621
127	MK166	1.989	1.608	73.909	10422	22.019
128	MK167	1.973	2.042	197.061	21687	45.944
129	MK168	1.919	1.782	213.790	12304	25.614
130	MK169	1.879	1.652	245.722	20124	42.360
131	MK170	1.993	1.157	59.979	8783	18.484
132	MK171	1.934	1.548	114.748	11828	25.000

No.	Sample ID	Absorbance			Fluorescence (Picogreen)	
		A260/280	A260/230	Con. (ng/ul)	RFU	Con. (ng/ul)
133	MK173	1.968	1.691	135.717	12039	25.365
134	MK174	1.941	1.744	192.798	11506	23.977
135	MK175	1.936	2.402	380.655	32500	67.356
136	MK176	1.963	2.325	425.358	42078	88.605
137	MK177	2.009	1.442	89.094	10227	21.598
138	MK178	1.982	2.300	390.296	23374	48.428
139	MK179	1.989	2.238	422.976	34203	71.368
140	MK180	1.973	1.862	133.392	13434	28.395
141	MK182	1.972	2.306	368.224	21065	43.561
142	MK183	1.981	2.405	384.593	26094	54.333
143	MK184	1.962	1.915	166.971	21496	45.644
144	MK185	1.972	1.971	178.596	11022	23.008
145	MK188	1.981	1.966	146.233	12363	26.034



- GBS library 제작

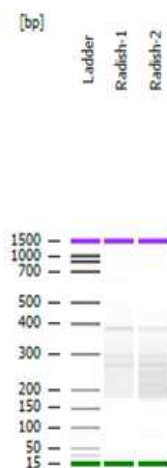
총 145개의 샘플을 2차에 걸쳐 라이브러리를 제조 하였다

Library preparation reagent

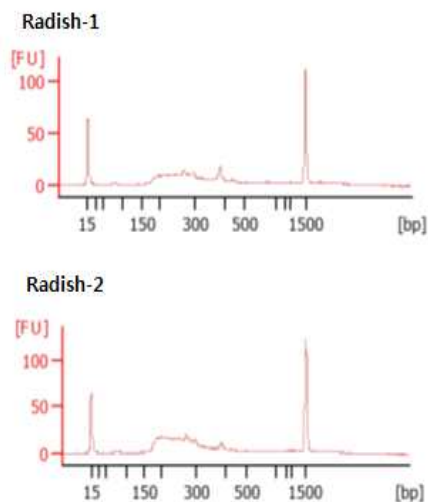
- ㉠ 샘플 DNA 각 250ng
- ㉡ Restriction Enzyme : ApeKI (NEB Cat# R0643L)
- ㉢ T4 DNA Ligase (NEB Cat# M0202)
- ㉣ Accupower pfu PCR Premix (Bioneer Cat# K2025)
- ㉤ QIAquick PCR Purification Kit(Qiagen Cat# 28106)

제작된 각 라이브러리의 확인을 위해 bioanalyzer 분석을 수행하였으며, 각 라이브러리가 문제없이 제조되었음을 확인하였다.

▪ Gel electrophoresis image:



▪ Electropherogram Summary:

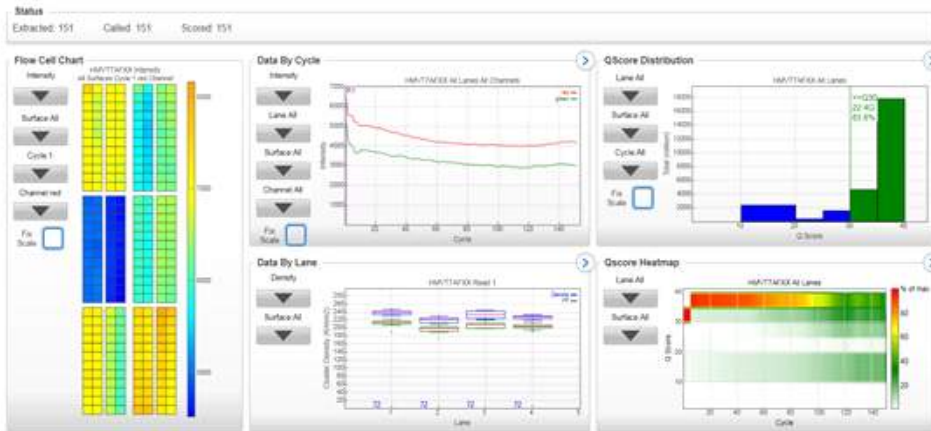


No.	Sample ID.	OD (Trinean)			Region table					
		Conc. (ng/ul)	A260 /280	A260 /230	From (bp)	To (bp)	Average Size (bp)	Conc. (ng/ul)	Volume (ul)	Amount (ng)
1	Radish-1	51.92	1.76	0.97	150	700	324	9.72	60	583.20
2	Radish-2	54.13	1.82	1.17	150	700	298	11.30	60	678.00

- Sequencing

제조한 GBS 라이브러리를 3차에 걸쳐 illumina NextSeq500를 이용하여 150bp single-end 모드로 각 20Gb 시퀀싱을 수행하였다

Radish-1



Radish-2



㉞ Demultiplexing

㉞ Demultiplexing GBS raw data

GBS raw data는 여러 sample이 multiplexing 상태의 sequencing 파일이므로 각 sample별 data를 얻기 위해 demultiplexing 작업을 수행하였고 결과는 다음의 테이블과 같다.

Sample ID	Read Count	Base Count (bp)	Sample ID	Read Count	Base Count (bp)
MK001	2,891,732	436,651,532	MK038	2,664,958	402,408,658
MK002	3,339,318	504,237,018	MK040	2,703,979	408,300,829
MK003	2,437,831	368,112,481	MK041	2,516,814	380,038,914
MK004	1,806,926	272,845,826	MK042	2,580,166	389,605,066
MK005	1,725,720	260,583,720	MK043	1,995,097	301,259,647
MK008	2,211,496	333,935,896	MK044	2,630,131	397,149,781
MK009	2,404,736	363,115,136	MK045	2,600,968	392,746,168
MK011	1,675,255	252,963,505	MK046	3,309,249	499,696,599
MK012	2,436,860	367,965,860	MK047	2,207,518	333,335,218
MK013	3,187,830	481,362,330	MK048	2,452,016	370,254,416
MK014	2,220,856	335,349,256	MK050	2,755,182	416,032,482
MK015	2,648,550	399,931,050	MK051	2,104,825	317,828,575
MK017	2,295,118	346,562,818	MK052	2,316,840	349,842,840
MK019	2,490,174	376,016,274	MK053	2,265,581	342,102,731
MK022	1,771,279	267,463,129	MK055	2,845,187	429,623,237
MK023	2,034,121	307,152,271	MK056	2,773,972	418,869,772
MK024	3,300,284	498,342,884	MK057	3,030,275	457,571,525
MK025	2,289,930	345,779,430	MK058	2,864,157	432,487,707
MK026	3,337,430	503,951,930	MK059	2,590,127	391,109,177
MK028	2,741,977	414,038,527	MK060	1,996,081	301,408,231
MK029	2,342,288	353,685,488	MK061	2,393,867	361,473,917
MK030	2,796,349	422,248,699	MK062	2,001,488	302,224,688
MK031	1,883,792	284,452,592	MK063	3,468,436	523,733,836
MK032	1,820,062	274,829,362	MK064	3,241,434	489,456,534
MK033	4,076,446	615,543,346	MK067	2,145,504	323,971,104
MK034	2,301,307	347,497,357	MK068	2,012,866	303,942,766

Sample ID	Read Count	Base Count (bp)	Sample ID	Read Count	Base Count (bp)
MK069	2,626,887	396,659,937	MK101	2,447,099	369,511,949
MK070	2,664,607	402,355,657	MK102	1,978,395	298,737,645
MK071	1,556,161	234,980,311	MK103	2,483,950	375,076,450
MK073	2,397,917	362,085,467	MK104	3,143,273	474,634,223
MK074	2,416,402	364,876,702	MK105	2,528,486	381,801,386
MK076	2,572,259	388,411,109	MK106	2,512,822	379,436,122
MK077	1,966,521	296,944,671	MK109	2,417,481	365,039,631
MK078	2,885,790	435,754,290	MK111	2,742,385	414,100,135
MK079	1,674,386	252,832,286	MK112	1,832,611	276,724,261
MK080	2,019,076	304,880,476	MK113	2,280,034	344,285,134
MK081	2,168,509	327,444,859	MK114	3,016,341	455,467,491
MK083	1,777,136	268,347,536	MK115	1,951,401	294,661,551
MK084	1,498,180	226,225,180	MK116	2,942,979	444,389,829
MK085	2,785,464	420,605,064	MK118	2,558,118	386,275,818
MK086	1,697,933	256,387,883	MK119	2,411,556	364,144,956
MK087	1,533,637	231,579,187	MK120	2,950,447	445,517,497
MK089	1,311,935	198,102,185	MK121	2,167,891	327,351,541
MK091	1,287,577	194,424,127	MK122	1,955,652	295,303,452
MK092	1,512,559	228,396,409	MK123	3,973,038	599,928,738
MK093	1,341,615	202,583,865	MK124	2,328,164	351,552,764
MK095	2,800,119	422,817,969	MK125	2,476,122	373,894,422
MK096	2,832,488	427,705,688	MK126	2,714,230	409,848,730
MK097	2,643,139	399,113,989	MK128	2,526,815	381,549,065
MK098	1,849,233	279,234,183	MK130	3,059,699	462,014,549
MK099	1,964,663	296,664,113	MK132	2,291,999	346,091,849
MK100	2,337,654	352,985,754	MK133	2,618,906	395,454,806

Sample ID	Read Count	Base Count (bp)	Sample ID	Read Count	Base Count (bp)
MK134	2,502,295	377,846,545	MK170	1,964,309	296,610,659
MK135	3,002,064	453,311,664	MK171	2,877,165	434,451,915
MK136	2,152,010	324,953,510	MK173	1,812,982	273,760,282
MK137	2,438,305	368,184,055	MK174	2,140,370	323,195,870
MK139	2,718,135	410,438,385	MK175	2,308,378	348,565,078
MK140	1,966,178	296,892,878	MK176	1,771,614	267,513,714
MK142	2,048,441	309,314,591	MK177	2,224,498	335,899,198
MK143	2,264,536	341,944,936	MK178	3,361,626	507,605,526
MK146	2,939,959	443,933,809	MK179	2,332,362	352,186,662
MK147	2,552,825	385,476,575	MK180	2,581,798	389,851,498
MK148	3,069,870	463,550,370	MK182	2,046,313	308,993,263
MK150	2,569,823	388,043,273	MK183	2,124,437	320,789,987
MK151	2,341,365	353,546,115	MK184	2,449,721	369,907,871
MK152	2,159,827	326,133,877	MK185	2,412,158	364,235,858
MK154	2,413,093	364,377,043	MK188	2,071,186	312,749,086
MK155	1,794,112	270,910,912			
MK158	3,542,303	534,887,753	Undetermined	8,556,472 (2.4%)	
MK159	3,107,248	469,194,448			
MK160	2,078,394	313,837,494			
MK162	2,232,710	337,139,210			
MK163	2,520,325	380,569,075			
MK164	3,003,429	453,517,779			
MK166	1,664,670	251,365,170			
MK167	2,443,883	369,026,333			
MK168	2,272,329	343,121,679			
MK169	2,866,826	432,890,726			

㊦ Variant calling

mapping rate

Undetermined read를 제외한 sample별 read정보(fastq파일)를 이용하여 Bowtie2 프로그램을 이용하여 mapping과정을 수행하였다. 그래프와 표는 read가 reference에 mapping이 얼마나 되었는지를 나타내며, 전반적으로 75% 대의 맵핑 결과를 보였다

Sample	Total Reads	Reads Mapped	% Mapped	Sample	Total Reads	Reads Mapped	% Mapped
MK001	2,361,958	1,899,486	80.42	MK038	2,167,304	1,722,169	79.46
MK002	2,739,704	2,152,935	78.58	MK040	2,201,665	1,751,626	79.56
MK003	2,011,453	1,660,020	82.53	MK041	2,045,614	1,617,412	79.07
MK004	1,485,369	1,199,240	80.74	MK042	2,117,912	1,721,111	81.26
MK005	1,431,517	1,182,731	82.62	MK043	1,631,049	1,343,607	82.38
MK008	1,830,340	1,506,821	82.32	MK044	2,138,695	1,691,561	79.09
MK009	1,964,439	1,595,673	81.23	MK045	2,123,581	1,707,842	80.42
MK011	1,389,233	1,167,566	84.04	MK046	2,709,474	2,170,445	80.11
MK012	2,001,308	1,577,185	78.81	MK047	1,803,955	1,457,551	80.8
MK013	2,599,771	2,063,936	79.39	MK048	1,999,974	1,610,466	80.52
MK014	1,842,130	1,486,961	80.72	MK050	2,246,743	1,765,536	78.58
MK015	2,176,390	1,798,389	82.63	MK051	1,702,768	1,362,257	80
MK017	1,895,482	1,553,900	81.98	MK052	1,899,906	1,515,305	79.76
MK019	2,015,155	1,525,207	75.69	MK053	1,837,383	1,445,047	78.65
MK022	1,452,237	1,168,143	80.44	MK055	2,330,169	1,885,114	80.9
MK023	1,678,569	1,330,532	79.27	MK056	2,250,456	1,782,272	79.2
MK024	2,705,124	2,135,347	78.94	MK057	2,475,723	1,958,198	79.1
MK025	1,884,291	1,565,790	83.1	MK058	2,312,832	1,794,034	77.57
MK026	2,740,794	2,226,934	81.25	MK059	2,119,030	1,721,197	81.23
MK028	2,262,504	1,812,160	80.1	MK060	1,593,358	1,265,812	79.44
MK029	1,913,382	1,526,743	79.79	MK061	1,943,092	1,561,493	80.36
MK030	2,291,897	1,885,296	82.26	MK062	1,631,998	1,290,366	79.07
MK031	1,549,705	1,277,278	82.42	MK063	2,820,541	2,248,101	79.7
MK032	1,469,056	1,171,985	79.78	MK064	2,632,878	2,061,701	78.31
MK033	3,323,867	2,612,229	78.59	MK067	1,760,644	1,432,862	81.38
MK034	1,893,226	1,533,994	81.03	MK068	1,628,506	1,281,563	78.7

Sample	Total Reads	Reads Mapped	% Mapped	Sample	Total Reads	Reads Mapped	% Mapped
MK069	2,147,281	1,759,387	81.94	MK101	1,807,024	1,378,120	76.26
MK070	2,179,832	1,713,157	78.59	MK102	1,476,571	1,168,084	79.11
MK071	1,264,594	1,015,020	80.26	MK103	1,835,525	1,409,925	76.81
MK073	1,970,316	1,599,467	81.18	MK104	2,332,064	1,781,579	76.39
MK074	1,962,217	1,613,504	82.23	MK105	1,916,940	1,617,819	84.4
MK076	2,090,649	1,682,658	80.48	MK106	1,861,794	1,438,702	77.28
MK077	1,599,997	1,282,268	80.14	MK109	1,782,138	1,389,975	77.99
MK078	2,351,359	1,882,858	80.08	MK111	2,027,427	1,547,451	76.33
MK079	1,359,040	1,084,063	79.77	MK112	1,353,045	1,022,258	75.55
MK080	1,647,469	1,356,228	82.32	MK113	1,690,869	1,301,191	76.95
MK081	1,743,756	1,372,945	78.73	MK114	2,249,948	1,747,820	77.68
MK083	1,425,844	1,122,377	78.72	MK115	1,464,705	1,169,198	79.82
MK084	1,209,989	989,685	81.79	MK116	2,175,017	1,661,288	76.38
MK085	2,246,792	1,772,862	78.91	MK118	1,885,724	1,449,757	76.88
MK086	1,378,438	1,112,372	80.7	MK119	1,829,118	1,510,385	82.57
MK087	1,252,161	1,007,742	80.48	MK120	2,181,683	1,636,039	74.99
MK089	1,070,968	840,080	78.44	MK121	1,622,469	1,282,060	79.02
MK091	1,043,266	825,017	79.08	MK122	1,492,875	1,221,013	81.79
MK092	1,232,549	984,183	79.85	MK123	2,941,660	2,277,586	77.43
MK093	1,076,823	853,206	79.23	MK124	1,730,005	1,309,943	75.72
MK095	2,036,101	1,516,255	74.47	MK125	1,851,083	1,448,950	78.28
MK096	2,095,359	1,608,400	76.76	MK126	2,009,023	1,569,578	78.13
MK097	1,935,356	1,484,203	76.69	MK128	1,878,364	1,469,017	78.21
MK098	1,357,954	1,041,621	76.71	MK130	2,278,544	1,753,614	76.96
MK099	1,451,511	1,108,204	76.35	MK132	1,705,944	1,317,097	77.21
MK100	1,733,577	1,321,897	76.25	MK133	1,931,298	1,490,814	77.19

Sample	Total Reads	Reads Mapped	% Mapped	Sample	Total Reads	Reads Mapped	% Mapped
MK134	1,858,727	1,465,936	78.87	MK170	1,477,938	1,184,190	80.12
MK135	2,226,730	1,747,463	78.48	MK171	2,143,366	1,697,889	79.22
MK136	1,581,509	1,230,096	77.78	MK173	1,330,141	1,032,463	77.62
MK137	1,793,209	1,388,818	77.45	MK174	1,587,791	1,252,378	78.88
MK139	2,029,924	1,559,724	76.84	MK175	1,700,978	1,294,595	76.11
MK140	1,442,200	1,119,294	77.61	MK176	1,297,254	983,815	75.84
MK142	1,532,493	1,183,794	77.25	MK177	1,625,569	1,253,740	77.13
MK143	1,698,785	1,321,049	77.76	MK178	2,458,533	1,862,320	75.75
MK146	2,172,358	1,695,882	78.07	MK179	1,714,713	1,315,476	76.72
MK147	1,871,059	1,433,173	76.6	MK180	1,932,408	1,546,985	80.05
MK148	2,288,368	1,832,584	80.08	MK182	1,499,767	1,130,007	75.35
MK150	1,908,074	1,491,831	78.19	MK183	1,564,113	1,195,065	76.41
MK151	1,728,067	1,349,093	78.07	MK184	1,847,096	1,483,152	80.3
MK152	1,557,079	1,185,468	76.13	MK185	1,785,215	1,394,953	78.14
MK154	1,808,717	1,413,509	78.15	MK188	1,526,923	1,190,011	77.94
MK155	1,319,184	999,964	75.8				
MK158	2,619,003	2,031,771	77.58				
MK159	2,305,252	1,779,065	77.17				
MK160	1,528,743	1,189,426	77.8				
MK162	1,615,055	1,186,343	73.46				
MK163	1,853,843	1,425,580	76.9				
MK164	2,259,981	1,817,686	80.43				
MK166	1,255,491	1,003,328	79.92				
MK167	1,833,724	1,490,271	81.27				
MK168	1,671,362	1,311,239	78.45				
MK169	2,136,899	1,702,162	79.66				

㉔ Variant calling

GATK HaplotypeCaller를 통해 variant를 얻은 뒤, GATK 필터링, biallele 필터

터링 등을 통해 최종 SNP과 INDEL을 얻음

Statistics for SNPs

Raw variants (SNP+INDEL) called	SNPs from raw variants	GATK quality filtering	Biallele filtering	Final SNPs
261,769	233,951	-115,345	-199	118,407

* GATK filtering option : $MQ0 \geq 4 \ \&\& \ ((MQ0 / (1.0 * DP)) > 0.1)$, $QUAL < 30$, $QD < 5.0$, $FS > 200.0$

Statistics for INDELs

Raw variants (SNP+INDEL) called	INDELs from raw variants	GATK quality filtering	Final INDELs
261,769	19,823	-674	19,149

* GATK filtering option : $MQ0 \geq 4 \ \&\& \ ((MQ0 / (1.0 * DP)) > 0.1)$, $QUAL < 30$, $QD < 5.0$, $FS > 200.0$

다. 3년차 (2018년)

(1) 개발 목표

- 무 GWAS 방법 최적화
- 시들음병 및 7개 주요형질에 대한 GWAS 및 QTL 분석
- 시들음병 저항성 및 이병성 자원에 대한 접종 전후 10일간 샘플에 대한 RNA-seq 분석 수행
- 샘플 별 유전자 발현패턴 차원축소 (MDS plot)

(2) 개발 내용 및 범위

(가) 무 GWAS 방법 최적화

(나) 시들음병 및 7개 주요형질에 대한 GWAS 및 QTL 분석

- ① 시들음병
- ② 잎길이
- ③ 잎수
- ④ 잎무게
- ⑤ 뿌리두께
- ⑥ 뿌리길이
- ⑦ 청수
- ⑧ 뿌리무게
- ⑨ 개화기
- ⑩ 꼬투리 길이, 수, 두께
- ⑪ 줄기두께, 종자수, 꼬투리당 종자수

(다) 시들음병 저항성 및 이병성 자원에 대한 접종 전후 10일간 샘플에 대한 RNA-seq 분석 수행

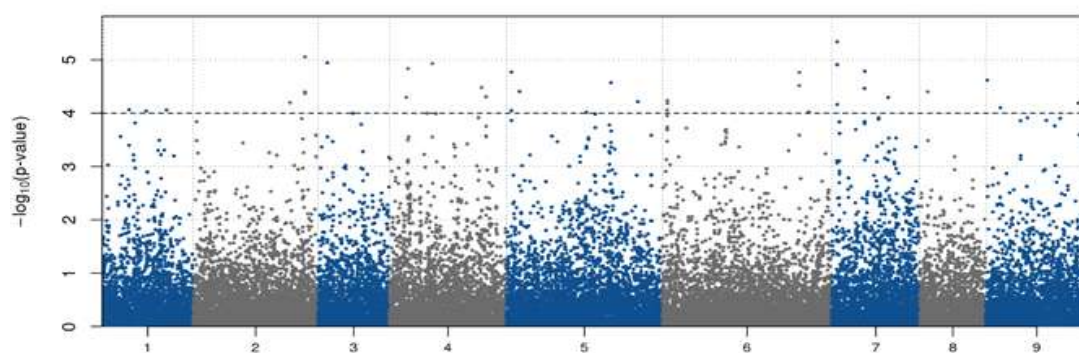
(라) 샘플 별 유전자 발현패턴 차원축소 (MDS plot)

(3) 연구결과

(가) 무 GWAS 방법 최적화

전년도에 Standalone TASSEL v5.0과 R을 사용한 GWA분석시 사용된 kinship (K) matrix인 identical-by-state (IBS) matrix를 Dominance_Centered_identical-by-state (IBS) matrix로 변경

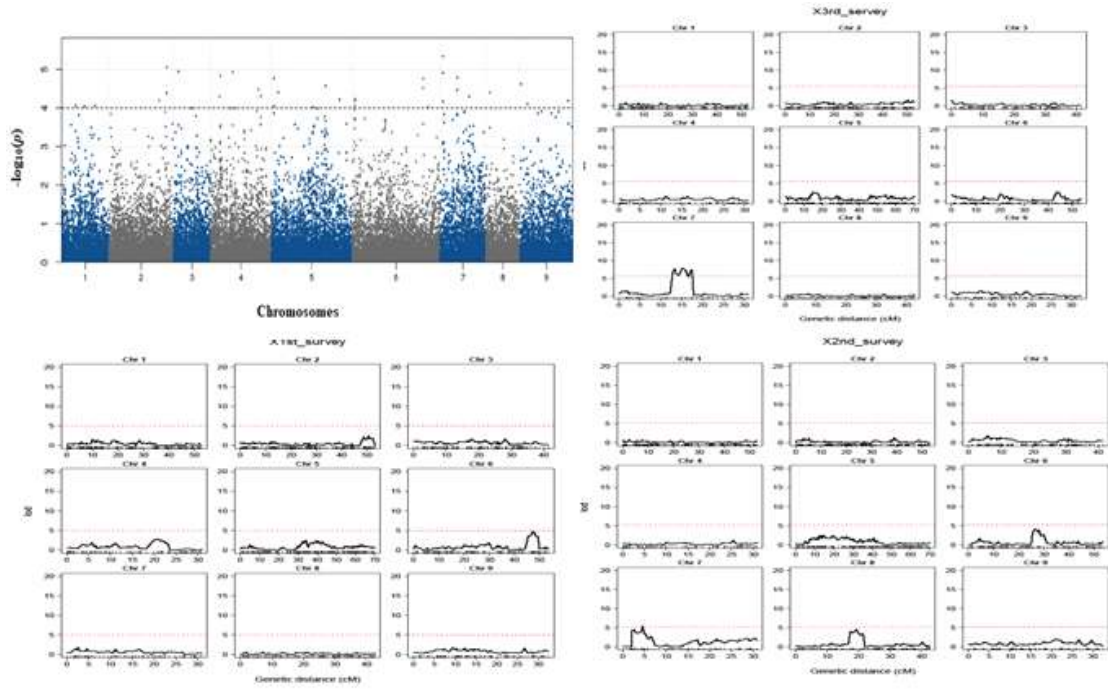
20개의 시들음병 저항성 유전자위 확인, 발굴된 다수의 유전자위가 식물 병저항성과 관련된 유전자이다.



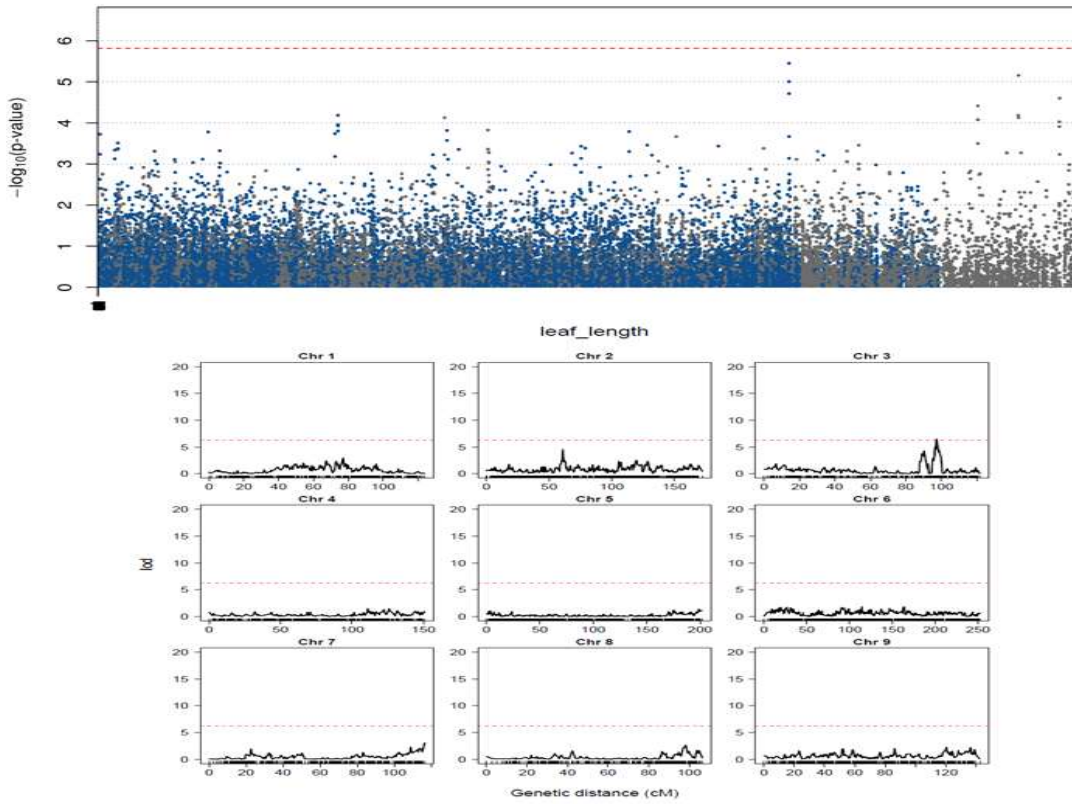
Chromosomal Coordinates				
Gene	SNP	Chromosome	Encoding	p-Value
Rs014470	GBS-FW1	1	Brassinosteroid signalling positive regulator (BZR1) family protein	9.13E-05
Rs045120	GBS-FW2 GBS-FW3 GBS-FW4 GBS-FW5 GBS-FW6	2	1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinases	8.80E-06, 3.98E-05, 4.25E-05
Rs118240	GBS-FW7	3	beta-galactosidase 8	1.13E-05
Rs173640	GBS-FW8	4	myb domain protein 121	1.17E-05
Rs204510	GBS-FW9	4	acyl-n-acyltransferase with ring five phd-type zinc finger domain-containing protein	3.30E-05
Rs207880	GBS-FW10 GBS-FW11 GBS-FW12 GBS-FW13	4	transcription factor bhlh51	4.92E-05
Rs160720	GBS-FW14	4	pentatricopeptide repeat-containing protein	1.46E-05
Rs223390	GBS-FW15	5	neutral invertase	3.91E-05
Rs267700	GBS-FW16	5	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein	2.68E-05
Rs277800	GBS-FW17	5	unknown function	6.09E-05
Rs220650	GBS-FW18 GBS-FW19	5	homeobox-leucine zipper protein hdg8	1.69E-05, 8.91E-05
Rs357270	GBS-FW20 GBS-FW21 GBS-FW22	6	unknown function	1.72E-05, 3.05E-05
Rs360300	GBS-FW23	6	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein	9.48E-05
Rs384720	GBS-FW24	7	subtilase family protein	5.07E-05
Rs404770	GBS-FW25 GBS-FW26 GBS-FW27 GBS-FW28	7	glycosyltransferase family protein	4.60E-06, 1.23E-05, 6.85E-05
Rs393590	GBS-FW29 GBS-FW30	7	Vacuolar sorting protein 9 (VPS9) domain	1.64E-05, 3.42E-05
Rs410280	GBS-FW31	8	ankyrin repeat family protein	3.96E-05
Rs448450	GBS-FW32	9	major facilitator superfamily protein	2.41E-05
Rs498780	GBS-FW33	9	tir-nbs-lrr class disease resistance protein	6.49E-05
Rs454240	GBS-FW34	9	RNA polymerase II transcription elongation factor	7.91E-05

(나) 시들음병 및 7개 주요형질에 대한 GWAS 및 QTL 분석

① 시들음병

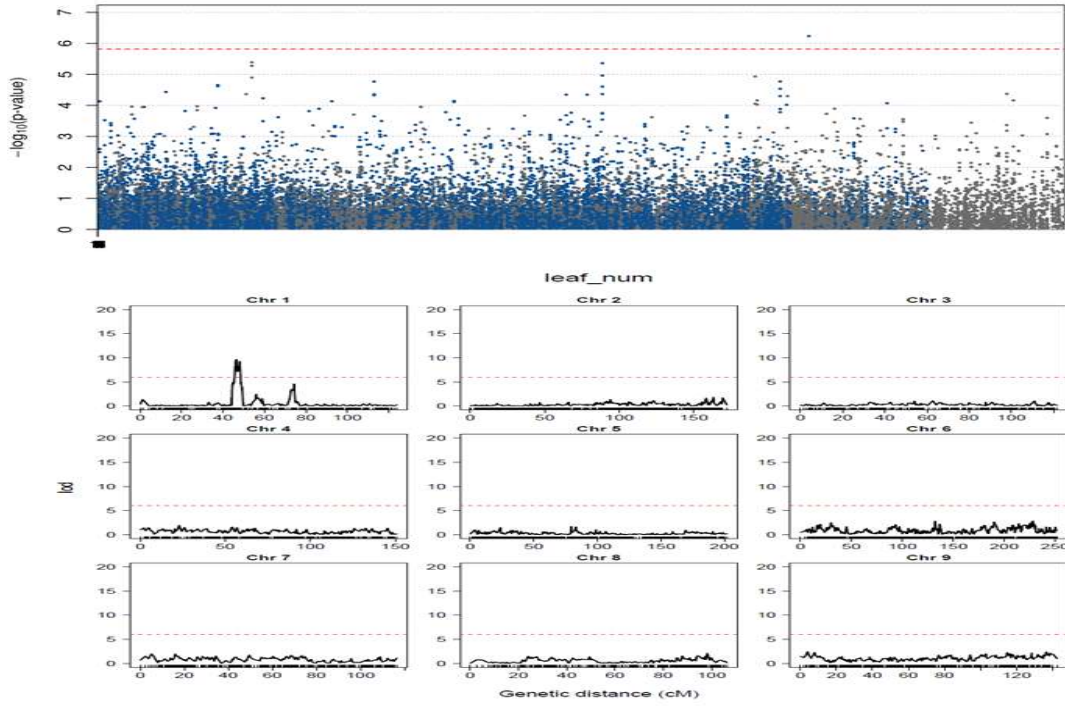


② 잎길이



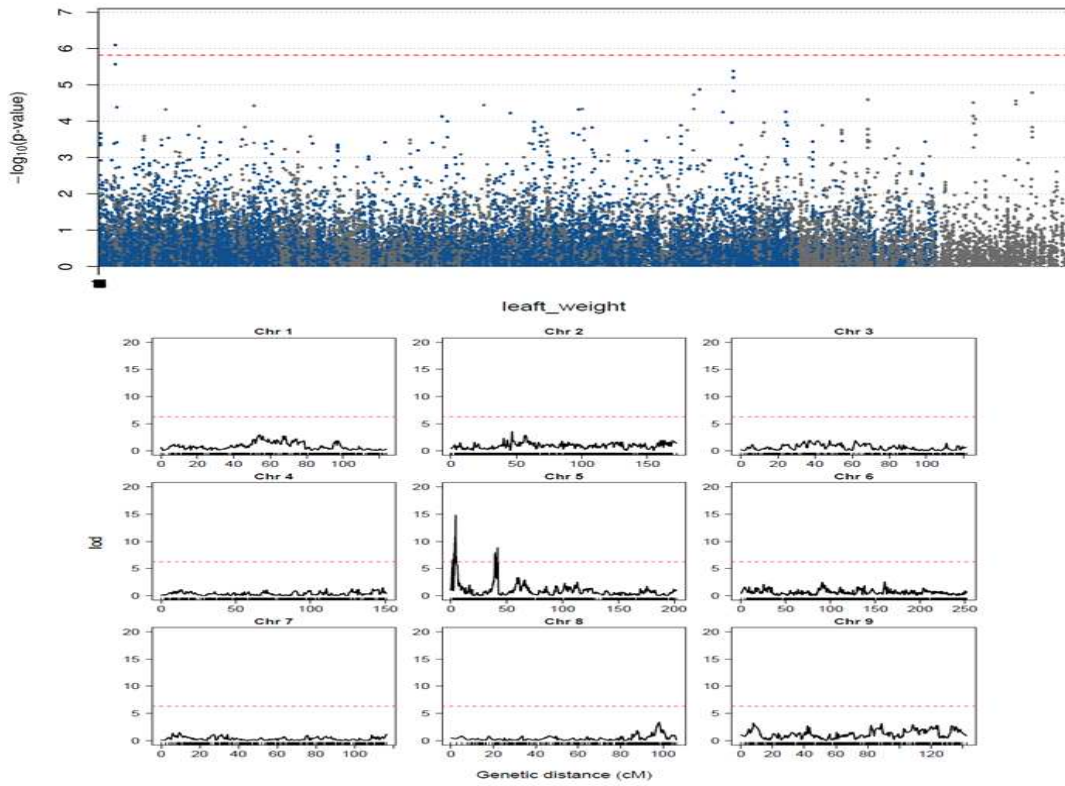
③ 잎수

잎 수



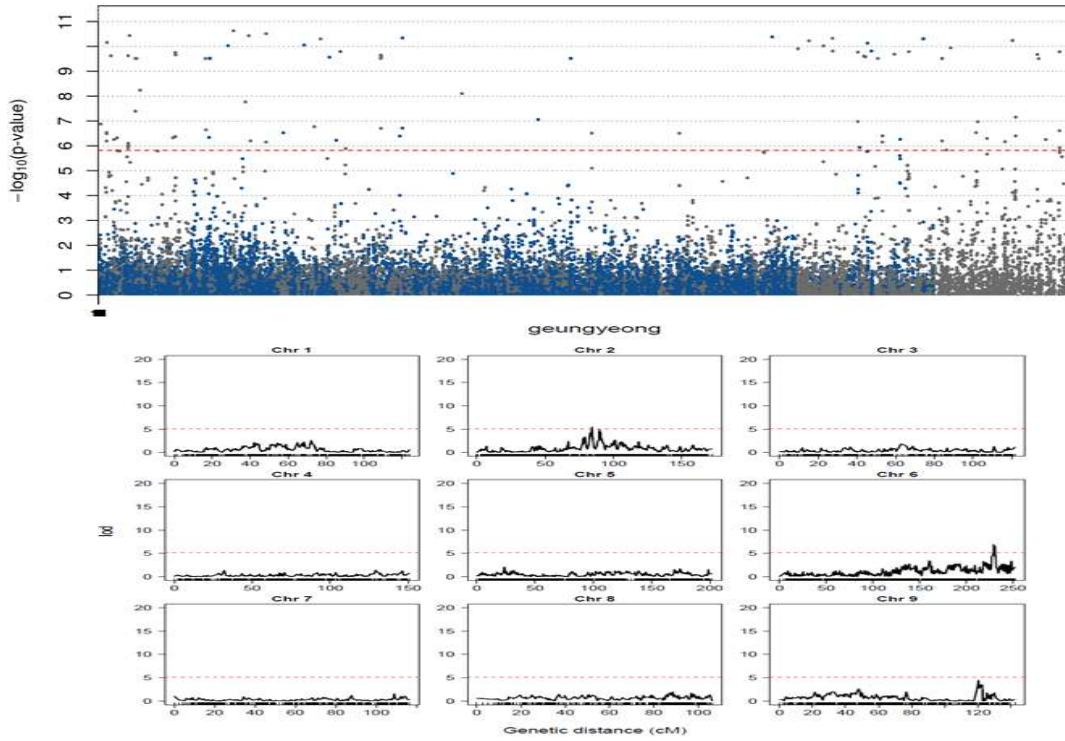
④ 잎무게

잎 무게



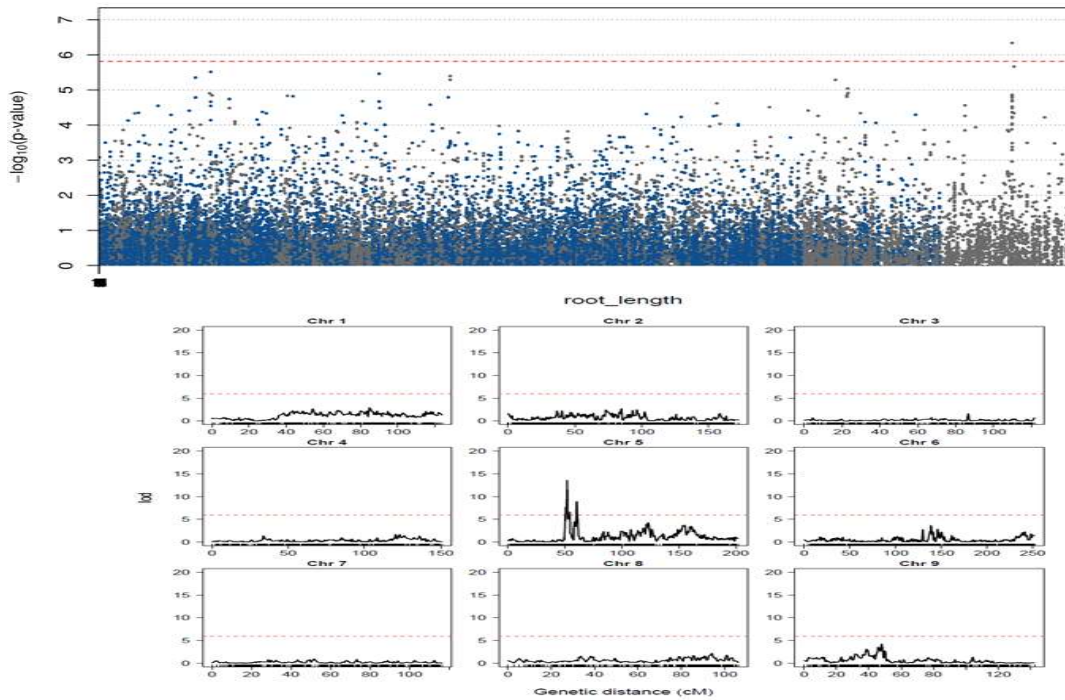
⑤ 뿌리두께

뿌리두께

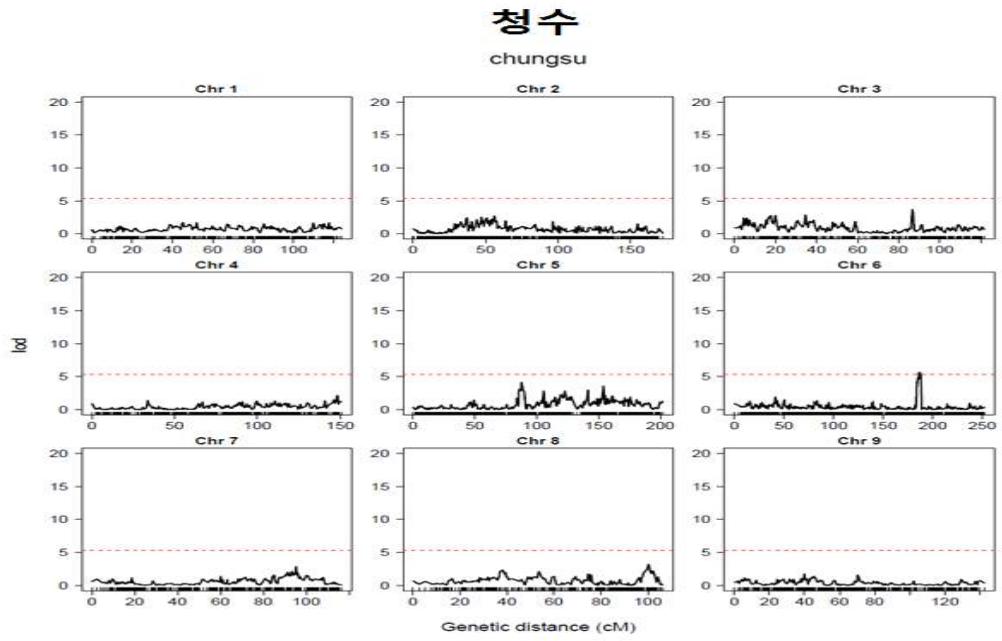


⑥ 뿌리길이

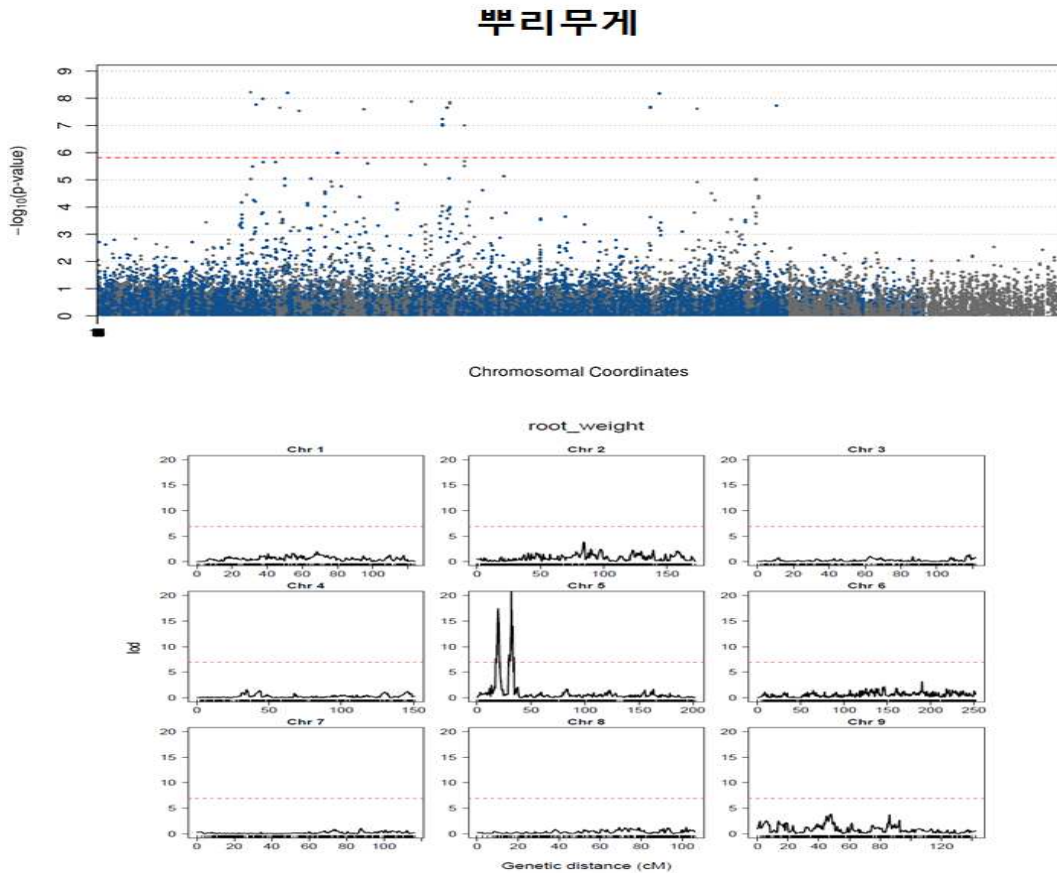
뿌리길이



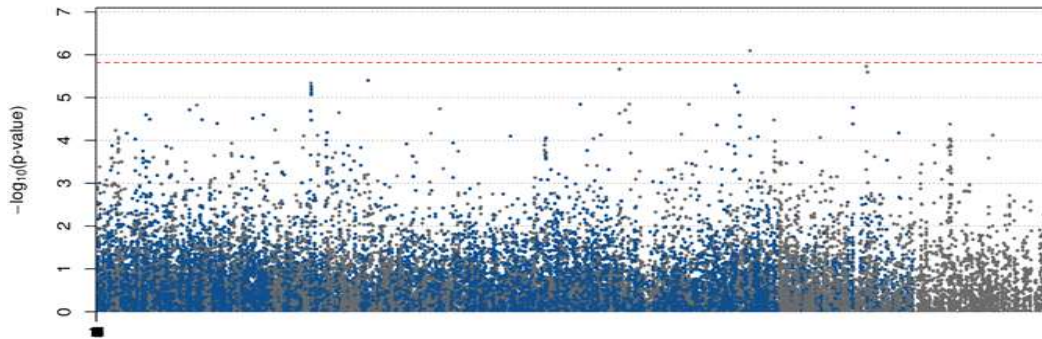
⑦ 청수



⑧ 뿌리무게

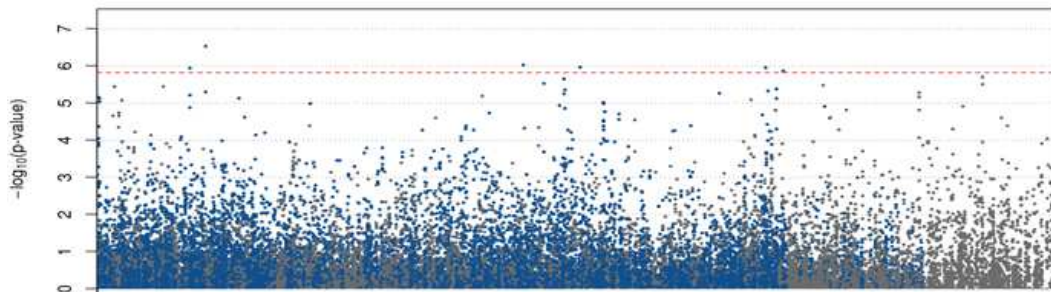


⑨ 개화기

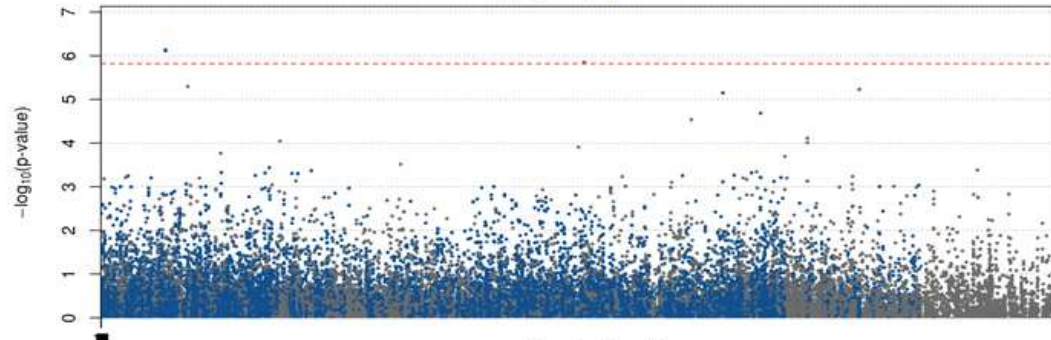


⑩ 꼬투리 길이, 수, 두께

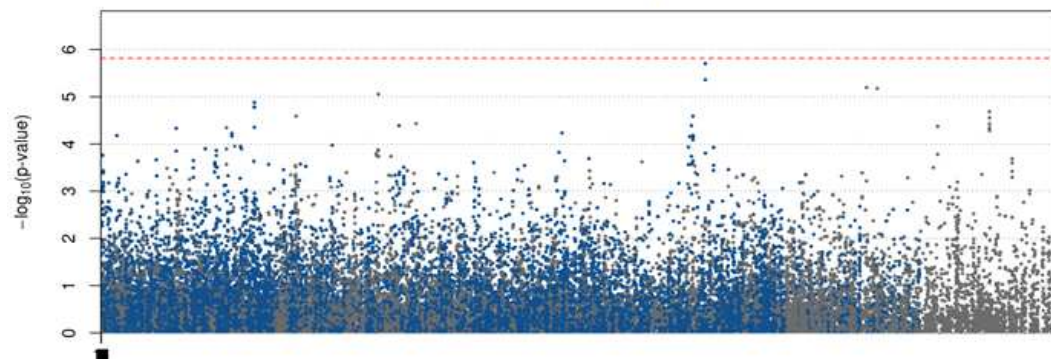
꼬투리길이



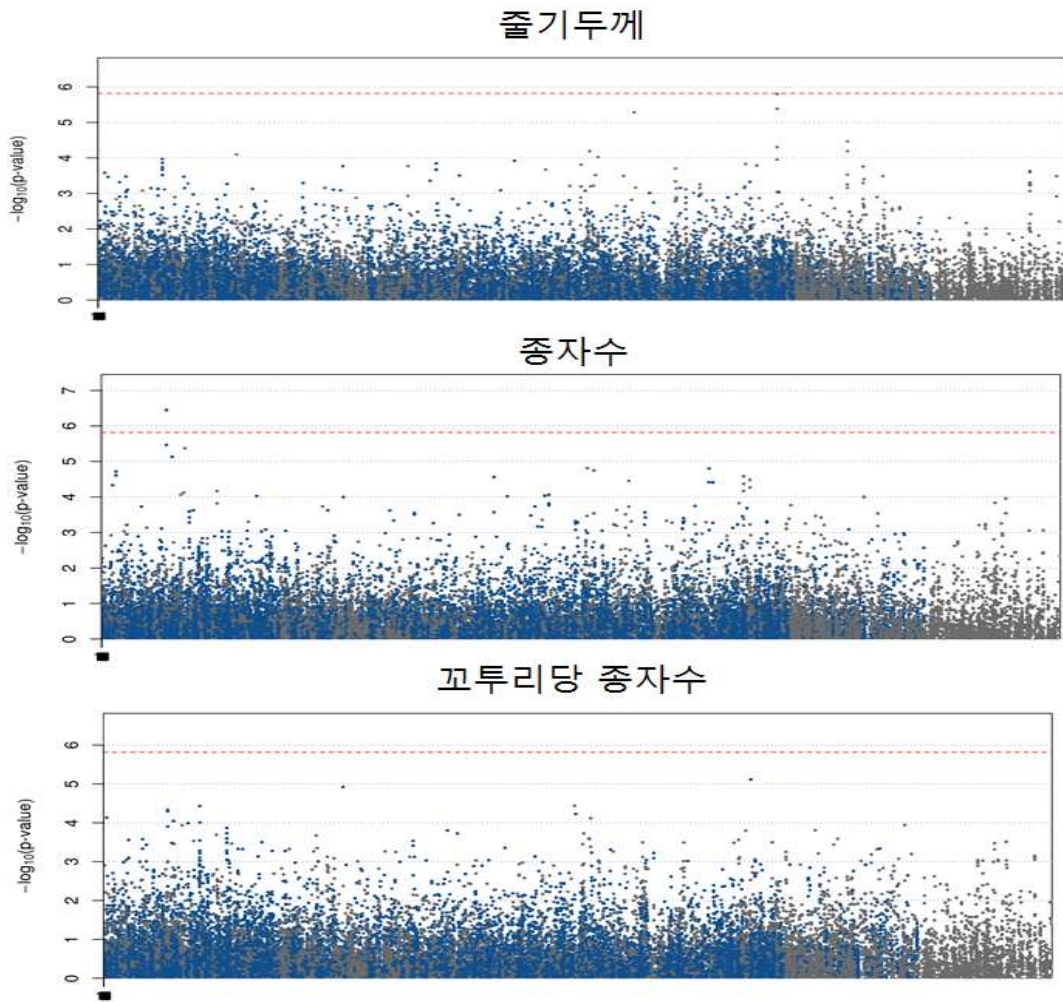
꼬투리수



꼬투리두께

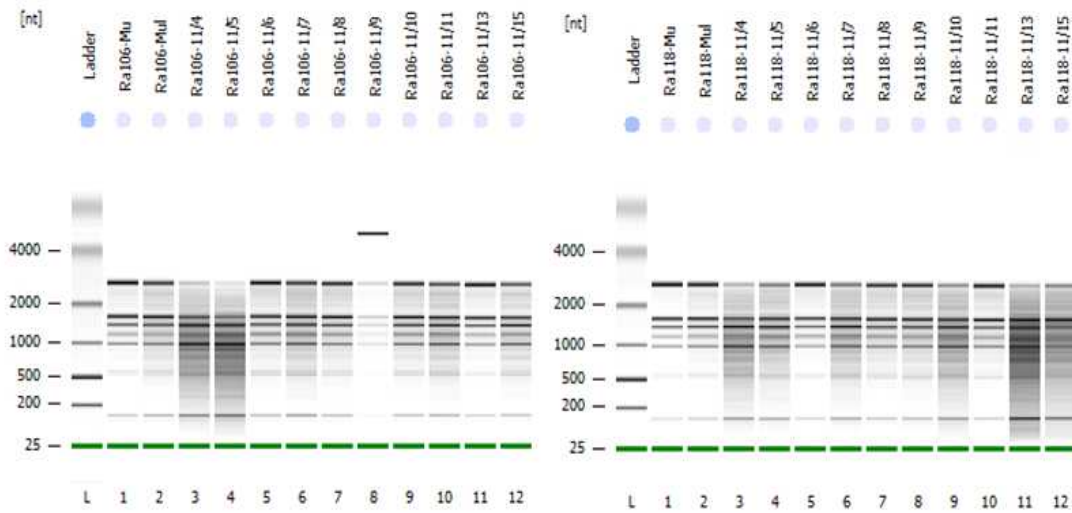


② 줄기두께, 종자수, 꼬투리당 종자수



(다) 시들음병 저항성 및 이병성 자원에 대한 접종 전후 10일간 샘플에 대한 RNA-seq 분석 수행

전년도 병저항성 분석 결과에서 각각 저항성과 이병성을 보인 두자원을 선발하여 각각 시들음병원균 접종 전후 10일간 12 샘플 RNA 추출



각 9샘플 씩을 선발하여 RNA-seq 분석을 수행 (무처리, Mock, 1일, 2일, 3일, 4일, 7일, 10, 15일)

④ Raw data 생산 정보

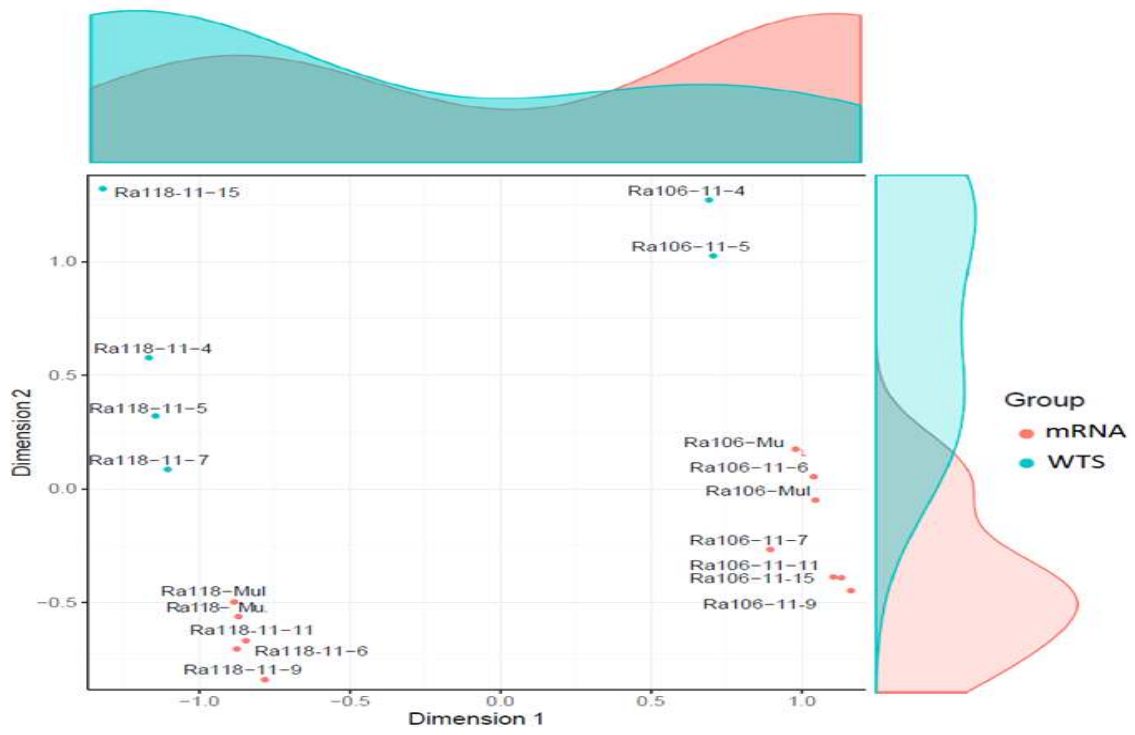
Sample Name	ReadLength	TotalBase	ReadCount	GC	Q20Ratio	Q30Ratio
Ra118-11-9	76	1,252,589,744	16,481,444	48	0.99997	0.954
Ra118-Mul	76	1,457,615,628	19,179,153	48	0.99998	0.959
Ra106-11-5	76	2,491,367,628	32,781,153	44	0.99998	0.962
Ra106-11-6	76	1,098,717,028	14,456,803	48	0.99736	0.943
Ra106-Mul	76	1,382,720,060	18,193,685	48	0.99998	0.958
Ra106-11-7	76	1,430,130,684	18,817,509	48	0.99997	0.958
Ra106-Mu	76	1,494,702,412	19,667,137	48	0.99996	0.958
Ra118-Mu	76	1,325,727,508	17,443,783	48	0.99996	0.958
Ra118-11-7	76	2,366,094,396	31,132,821	43	0.99994	0.96
Ra118-11-6	76	1,401,061,672	18,435,022	48	0.99998	0.96
Ra118-11-5	76	2,415,501,692	31,782,917	43	0.99995	0.96
Ra118-11-4	76	2,301,371,884	30,281,209	44	0.99995	0.961
Ra106-11-9	76	1,376,375,656	18,110,206	48	0.99998	0.96
Ra106-11-4	76	2,567,595,704	33,784,154	43	0.99995	0.961
Ra118-11-11	76	1,441,276,312	18,964,162	48	0.99998	0.959
Ra106-11-11	76	1,461,619,612	19,231,837	48	0.99996	0.958
Ra118-11-15	76	2,238,522,696	29,454,246	45	0.99995	0.96
Ra106-11-15	76	1,389,015,216	18,276,516	48	0.99995	0.958

㉔ Reads alignment - HISAT 결과

Sample Name	Overall Alignment Rate	Concordant Zero	Concordant PairAlignment	Multiple Alignment
Ra106-11-6	92.05%	0	77.76%	9.55%
Ra118-11-9	93.41%	0	78.94%	10.30%
Ra118-Mul	93.57%	0	79.42%	10.11%
Ra106-11-4	43.15%	1	31.09%	4.02%
Ra106-11-5	46.61%	1	34.48%	4.51%
Ra106-Mul	92.73%	0	78.11%	10.04%
Ra106-11-7	91.90%	0	76.14%	10.71%
Ra106-11-9	92.86%	0	78.03%	10.21%
Ra118-Mu	93.65%	0	79.27%	10.12%
Ra118-11-7	47.14%	1	34.89%	4.46%
Ra118-11-6	93.60%	0	79.26%	10.21%
Ra118-11-5	48.07%	1	35.91%	4.58%
Ra118-11-4	47.86%	1	35.48%	4.61%
Ra106-Mu	92.87%	0	78.33%	10.07%
Ra118-11-11	93.60%	0	79.12%	10.22%
Ra106-11-11	92.92%	0	78.14%	10.19%
Ra118-11-15	64.29%	0	51.51%	6.74%
Ra106-11-15	92.90%	0	78.15%	10.26%

(라) 샘플 별 유전자 발현패턴 차원축소 (MDS plot)

RNA-seq data의 분석을 위하여 전체 데이터 특성과약을 위하여 MDS plot을 생성한 결과 RNA 샘플 상태에 따라 mRNA seq을 수행한 샘플과 Whole Transcriptome Sequencing (WTS)을 수행한 샘플로 나뉘는 결과를 보임, 데이터 보정을 수행하여 이후 분석을 수행할 예정임



라. 4년차 (2019년)

(1) 개발 목표

- 무 유전체 기반 육종 시스템의 육종 프로그램에 적용
- 유전체 기반 육종 시스템의 선발 효율 검증

(2) 개발 내용 및 범위

- (가) 개발된 무 유전체 기반 육종 시스템의 육종 프로그램에 적용
- (나) 유전체 기반 육종 시스템의 선발 효율 검증

(3) 연구결과

- (가) 개발된 무 유전체 기반 육종 시스템의 육종 프로그램에 적용

3차년도에 선발된 시들음병 및 14개 양적형질 연관 Ampli-seq 용 마커 1700개 중 무 선발에 유용한 형질인 개화일, 시들음병저항성, 근장, 근경, 근중 및 엽중 에 대한 SNP 마커 109개를 amp-seq 용으로 선발하고 하였다(표). 또한 background selection을 위하여 총 300개의 SNP 마커를 선발하고 그중 100개를 우선 본과제 신품종 개발에 이용된 중간모본 58라인 에 대하여 illumina사의 i-SEQ100을 이용하여 genotyping을 수행하였다(표 23, 24, 그림 151).

표 23. amp-seq 분석용으로 선발된 Marker

No	Marker	Trait	Chr	Pos	p-value	# of detected primer
1	GRI-01	Root length	1	3960125	1.60E-04	58/58
2	GFr-02	Fusarium resistance	1	8001479	9.13E-05	58/58
3	GRI-03	Root length	1	14572774	9.10E-05	58/58
4	GRI-04	Root length	1	15649922	2.11E-04	58/58
5	GRd-05	R o o t diameter	1	16257891	3.83E-04	58/58
6	GRI-06	Root length	1	18109263	2.63E-05	58/58
7	GRd-07	R o o t diameter	1	21429570	3.12E-04	58/58
8	Grd-08	R o o t diameter	1	25869974	3.75E-05	58/58
9	GRI-09	Root length	2	10313014	1.47E-05	58/58
10	GRd-10	R o o t diameter	2	31961173	3.13E-07	51/58
11	GRI-11	Root length	2	33733740	5.36E-05	56/58
12	GBd-12	Bloom day	2	38132518	3.34E-05	44/58

13	GRI-13	Root length	2	39641602	2.33E-04	58/58
14	GRd-14	R o o t diameter	2	40575751	1.39E-05	58/58
15	GBd-15	Bloom day	2	40733947	8.58E-05	58/58
16	GFr-16	F u s a r i u m resistance	3	9521823	1.13E-05	58/58
17	GRI-17	Root length	4	5140253	1.19E-04	58/58
18	GFr-18	F u s a r i u m resistance	4	6467229	1.46E-05	58/58
19	GRI-19	Root length	4	11510946	2.15E-04	58/58
20	GFr-20	F u s a r i u m resistance	4	14103942	1.17E-05	51/58
21	GRI-21	Root length	4	14410994	2.09E-05	0/58
22	GRd-22	R o o t diameter	4	21224889	6.33E-05	58/58
23	GRI-23	Root length	4	33741892	2.40E-05	58/58
24	GRI-24	Root length	4	36678669	2.19E-04	58/58
25	GFr-25	F u s a r i u m resistance	4	38574294	3.30E-05	46/58
26	GRI-26	Root length	4	41579723	4.57E-05	55/58
27	GFr-27	F u s a r i u m resistance	5	824738	1.69E-05	58/58
28	GFr-28	F u s a r i u m resistance	5	825436	8.91E-05	58/58
29	GBd-29	Bloom day	5	2221788	9.31E-05	58/58
30	GFr-30	F u s a r i u m resistance	5	2548288	3.91E-05	58/58
31	GRd-31	R o o t diameter	5	10198519	2.97E-07	58/58
32	GFr-32	F u s a r i u m resistance	5	34137688	2.68E-05	58/58
33	GFr-33	F u s a r i u m resistance	5	39670163	6.09E-05	58/58
34	GRI-34	Root length	5	41833598	8.18E-05	56/58
35	GRI-35	Root length	5	42421285	8.66E-05	58/58
36	GRd-36	R o o t diameter	5	42497293	4.35E-04	58/58
37	GRd-37	R o o t diameter	5	44386299	5.14E-05	45/58
38	GRd-38	R o o t diameter	6	462769	7.42E-05	58/58
39	GRd-39	R o o t diameter	6	13596396	1.35E-05	58/58
40	GRd-40	R o o t diameter	6	13623179	1.28E-06	58/58
41	GRd-41	R o o t diameter	6	14159550	2.09E-04	58/58
42	GRd-42	R o o t diameter	6	46642935	1.47E-06	58/58
43	GRd-43	R o o t diameter	6	47550282	1.68E-05	27/58
44	GFr-44	F u s a r i u m resistance	6	49696836	9.48E-05	58/58
45	GRI-45	Root length	6	49851243	9.80E-05	58/58
46	GRd-46	R o o t diameter	6	50450465	6.21E-05	55/58

		diameter				
47	GRd-47	R o o t diameter	6	52857046	2.46E-07	58/58
48	GRd-48	R o o t diameter	6	52862499	1.88E-06	58/58
49	GRd-49	R o o t diameter	6	53086784	3.33E-05	58/58
50	GFr-50	Fusarium resistance	7	1434670	6.85E-05	58/58
51	GRI-51	Root length	7	4173734	1.34E-04	58/58
52	GFr-52	Fusarium resistance	7	6987177	3.42E-05	58/58
53	GFr-53	Fusarium resistance	7	6987579	1.64E-05	58/58
54	GFr-54	Fusarium resistance	7	11871666	5.07E-05	58/58
55	GRI-55	Root length	7	15172167	1.38E-04	58/58
56	GRI-56	Root length	7	15356093	3.27E-05	57/58
57	GBd-57	Bloom day	8	1122786	9.23E-05	58/58
58	GRd-58	R o o t diameter	8	1777428	4.61E-06	58/58
59	GFr-59	Fusarium resistance	8	2129514	3.96E-05	35/58
60	GRd-60	R o o t diameter	8	3290555	1.62E-06	57/58
61	GRI-61	Root length	8	6066282	1.24E-05	58/58
62	GRI-62	Root length	8	25610083	1.51E-04	58/58
63	GRd-63	R o o t diameter	8	28422409	3.29E-04	58/58
64	GFr-64	Fusarium resistance	9	204910	2.41E-05	58/58
65	GFr-65	Fusarium resistance	9	3971141	7.91E-05	58/58
66	GLw-66	L e a f weight	9	34823204	4.17E-06	0/58
67	GRI-67	Root length	9	34910427	9.52E-05	58/58
68	GFr-68	Fusarium resistance	9	36512482	6.49E-05	53/58
69	GRI-69	Root length	1	6126951	2.17E-05	30/58
70	GRI-69	Root length	1	6127013	7.26E-05	30/58
71	GRI-69	Root length	1	6127072	2.84E-05	30/58
72	GRI-69	Root length	1	6127083	3.05E-06	30/58
73	GRw-70	R o o t weight	1	13367564	1.02E-06	58/58
74	GRw-70	R o o t weight	1	13367576	1.02E-06	58/58
75	GRw-70	R o o t weight	1	13367582	1.02E-06	58/58
76	GRI-71	Root length	1	15627263	9.81E-05	43/58
77	GRI-71	Root length	1	15627270	9.81E-05	43/58
78	GRw-72	R o o t weight	2	17475783	1.32E-08	58/58
79	GRw-72	R o o t weight	2	17475810	1.32E-08	58/58
80	GRd-73	R o o t	2	32702920	1.96E-04	58/58

81	GRd-73	diameter R o o t diameter	2	32702947	1.56E-04	58/58
82	GFr-74	F u s a r i u m resistance	2	41096883	8.75E-06	52/58
83	GFr-74	F u s a r i u m resistance	2	41096959	8.75E-06	52/58
84	GFr-75	F u s a r i u m resistance	2	41097093	3.98E-05	0/58
85	GFr-75	F u s a r i u m resistance	2	41097103	4.25E-05	0/58
86	GFr-75	F u s a r i u m resistance	2	41097111	4.25E-05	0/58
87	GRI-76	Root length	5	28445704	2.22E-04	58/58
88	GRI-76	Root length	5	28445707	2.22E-04	58/58
89	GFr-77	F u s a r i u m resistance	4	40395866	4.92E-05	58/58
90	GFr-77	F u s a r i u m resistance	4	40395879	4.92E-05	58/58
91	GFr-77	F u s a r i u m resistance	4	40395905	4.92E-05	58/58
92	GFr-77	F u s a r i u m resistance	4	40395920	4.92E-05	58/58
93	GFr-82	F u s a r i u m resistance	7	1433148	1.23E-05	58/58
94	GFr-82	F u s a r i u m resistance	7	1433172	4.59E-06	58/58
95	GFr-82	F u s a r i u m resistance	7	1433201	1.23E-05	58/58
96	GRd-78	R o o t diameter	6	617439	1.61E-05	53/58
97	GRd-78	R o o t diameter	6	617442	1.74E-05	53/58
98	GRd-78	R o o t diameter	6	617463	1.69E-05	53/58
99	GRd-78	R o o t diameter	6	617464	1.15E-05	53/58
100	GRd-79	R o o t diameter	6	1057607	4.80E-07	25/58
101	GRd-79	R o o t diameter	6	1057638	1.57E-06	25/58
102	GBd-80	Bloom day	6	1278201	8.49E-05	0/58
103	GBd-80	Bloom day	6	1278230	5.84E-05	0/58
104	GLw-85	L e a f weight	9	34823091	6.29E-06	0/58
105	GLw-85	L e a f weight	9	34823103	6.29E-06	0/58
106	GRd-83	R o o t diameter	8	3539120	2.33E-04	58/58
107	GRd-83	R o o t diameter	8	3539195	2.33E-04	58/58
108	GRw-84	R o o t weight	8	14839673	2.53E-08	58/58
109	GRw-84	Root weight	8	14839674	2.53E-08	58/58

표 24. 선발된 GWAS SNP marker

	Sample	Bloom day		Fusarium resistance		Leaf weight(g)		Root diameter(cm)		Root length(cm)		Root weight(g)	
		Bd_phe no	Bd_marke r (total 6)	Fr_phe no	Fr_marke r (total 31)	Lw_phe no	Lw_marke r (total 3)	Rd_phe no	Rd_marke r (total 32)	Rl_phe no	Rl_marke r (total 30)	Rw_phe no	Rw_marke r (total 7)
1	G154	105	1	3	9	100.0	0	13.8	16	9.7	13	166.7	5
2	G155	105	4	2	12	1100.0	0	4.7	17	15.7	13	333.3	2
3	G156	151	2	5	13	200.0	0	4.3	12	16.0	15	166.7	2
4	G157	180	1	2	3	100.0	0	6.4	10	26.0	8	666.7	2
5	G163	152	3	5	5	466.7	0	6.9	15	16.7	9	666.7	2
6	G164	139	2	6	5	200.0	0	7.5	10	16.0	11	566.7	2
7	G165	153	2	6	11	200.0	0	7.5	8	19.0	10	700.0	2
8	G166	153	1	7	9	433.3	0	6.7	12	21.7	7	666.7	2
9	G167	150	1	1	16	1066.7	0	7.3	8	14.0	9	500.0	4
10	G168	160	3	2	0	366.7	0	7.0	12	24.7	10	733.3	2
11	G169	150	1	5	4	583.3	0	6.3	7	14.7	10	366.7	2
12	G170	129	2	6	15	100.0	0	3.9	12	19.0	15	200.0	2
13	G171	173	4	5	5	233.3	0	7.7	15	20.7	11	700.0	2
14	G172	174	2	3	9	50.0	0	5.7	9	23.0	7	300.0	2
15	G173	139	3	4	7	600.0	0	8.2	10	28.0	8	833.3	2
16	G174	118	3	9	18	233.3	0	6.1	5	26.0	12	400.0	2
17	G175	170	3	2	1	133.3	0	6.0	4	20.0	9	200.0	5
18	G176	125	3	4	2	150.0	0	4.9	5	8.0	9	100.0	5
19	G177	145	1	2	3	1066.7	0	7.4	8	18.7	5	800.0	2
20	G178	117	3	8	18	50.0	0	5.4	9	29.0	10	633.3	2
21	G179	139	3	8	15	100.0	0	7.0	5	37.0	6	983.3	5
22	G180	114	3	6	14	266.7	0	7.2	9	28.7	5	966.7	2
23	G181	NA	3	NA	17	125.0	0	8.0	7	27.0	8	875.0	2
24	G182	NA	0	NA	13	NA	0	NA	12	NA	10	NA	4
25	G183	173	2	4	6	300.0	0	6.3	13	28.7	10	66.7	2
26	G184	NA	0	NA	9	NA	0	NA	9	NA	8	NA	2
27	G185	217	0	1	10	50.0	0	2.8	7	18.0	9	50.0	2
28	G186	NA	2	NA	8	NA	0	NA	14	NA	6	NA	4
29	G187	NA	2	NA	7	NA	0	NA	14	NA	6	NA	2
30	G188	NA	1	NA	8	NA	0	NA	4	NA	7	NA	2
31	G189	NA	0	NA	10	NA	0	NA	10	NA	8	NA	2
32	G190	198	0	8	11	NA	0	NA	10	NA	8	NA	2
33	G191	155	0	8	15	133.3	0	4.2	5	34.0	8	400.0	4
34	G192	160	0	NA	15	266.7	0	5.0	5	35.3	8	600.0	4

35	G193	143	3	2	4	NA	0	NA	16	NA	7	NA	4
36	G194	150	1	4	4	600.0	0	6.2	11	31.0	6	400.0	4
37	G195	157	2	7	8	NA	0	NA	17	NA	8	NA	4
38	G196	135	2	6	8	266.7	0	6.5	14	34.3	9	900.0	4
39	G197	208	1	4	11	175.0	0	5.0	7	31.0	8	400.0	2
40	G198	157	3	1	3	933.3	0	7.8	13	21.0	8	700.0	4
41	G199	151	1	1	4	266.7	0	6.4	13	27.7	9	966.7	4
42	G200	182	2	1	17	125.0	0	4.4	8	16.0	10	150.0	2
43	G201	198	2	1	17	250.0	0	8.5	8	10.0	10	150.0	2
44	G202	150	1	9	16	250.0	0	6.6	9	24.7	9	433.3	2
45	G203	154	2	7	9	266.7	0	10.2	8	14.0	12	900.0	5
46	G204	161	2	7	2	275.0	0	8.4	15	10.5	13	400.0	5
47	G205	160	1	1	0	333.3	0	10.3	12	13.0	13	750.0	5
48	G206	173	1	3	2	250.0	0	6.7	15	18.0	11	566.7	2
49	G207	NA	1	6	6	33.3	0	6.0	14	12.0	8	233.3	2
50	G208	185	1	5	4	100.0	0	6.7	12	15.0	9	366.7	2
51	G209	NA	0	NA	2	50.0	0	4.2	15	13.0	10	100.0	2
52	G210	154	2	8	3	300.0	0	7.4	15	12.0	11	300.0	2
53	G211	157	1	5	2	333.3	0	7.8	14	12.3	13	583.3	5
54	G212	153	3	2	2	33.3	0	13.4	5	26.0	10	400.0	3
55	G213	157	1	1	1	NA	0	3.3	14	5.0	14	50.0	5
56	G214	160	0	4	5	NA	0	NA	14	NA	9	NA	5
57	G215	165	0	6	6	NA	0	NA	14	NA	10	NA	5
58	G216	NA	2	NA	6	NA	0	NA	15	NA	12	NA	7

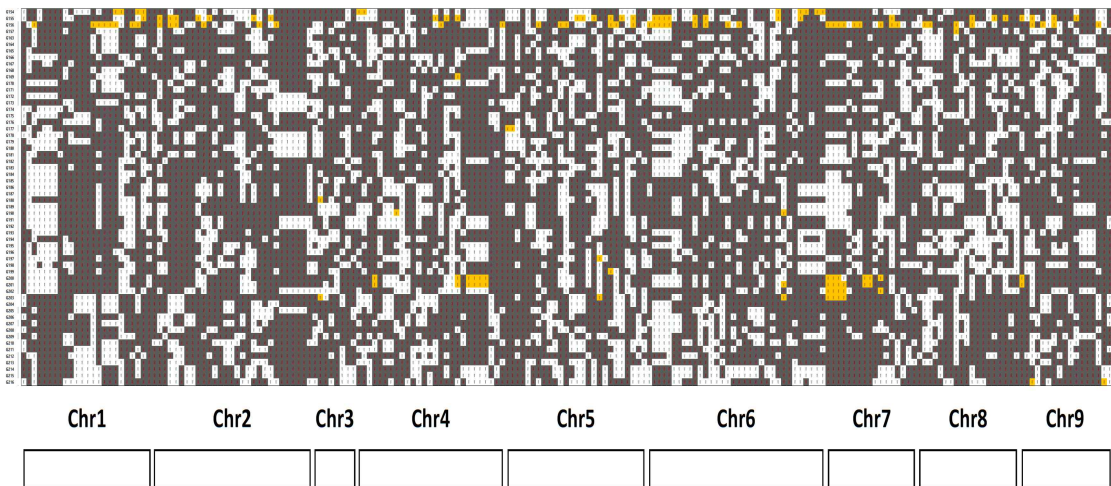


그림 151. 중간 모본 58라인의 선발 마커 하플로타입

(나) 유전체 기반 육종 시스템의 선발 효율 검증

선발한 background selection 마커의 최적화를 위하여 국내 시판 FF₁ 품종에 대한 테스트를 수행하였다. 1차로 38개 품종에 대하여 100개 SNP 마커에 대한 Ampli-seq 결과를 얻었다.

100개 마커에 대하여는 iSEQ 100 한셀로 충분한 데이터가 획득되었으나, 국내 사용 품종들의 유전적인 유사성과 다양성 부족으로 background selection에는 추가적인 마커 사용 필요할 것으로 판단되며 추가적인 SNP 마커의 사용이 가능할 것으로 판단된다.

표 25. background selection 마커의 국내 시판 FF₁ 품종 테스트

	품종명	용도별 구분 (대형, 소형, 단무지, 열무..)	usage	Varieties	Market class	Origin	Seed company	재배지별 구분 (한국, 일본, 중국...)	
종 301	국보	대형무	p1	Gukbo	Big radish	Korea	Kwonnon g Seed	한국무	p1
종 302	멋진맛깎무	대형무	p1	Meotjinm atkkal	Big radish	Korea	Nongwoo Bio	한국무	p1
종 303	서호골드	대형무	p1	Seohogold	Big radish	Korea	Nongwoo Bio	한국무	p1
종 304	서호무	대형무	p1	Seoho	Big radish	Korea	Nongwoo Bio	한국무	p1
종 305	강호골드	대형무	p1	Ganghogoldeu	Big radish	Korea	NH Seed	한국무	p1
종 306	싱싱무	대형무	p1	Singsingmu	Big radish	Korea	NH Seed	한국무	p1
종 307	청운	대형무	p1	Cheongun	Big radish	Korea	Monsanto Korea	한국무	p1
종 308	청복	대형무	p1	Chungbok	Big radish	Korea	Monsanto Korea	한국무	p1
종 309	청운플러스	대형무	p1	Cheongwoonplus	Big radish	Korea	Monsanto Korea	한국무	p1
종 310	금수강산	대형무	p1	Gumsukangsan	Big radish	Korea	Sakata Korea	한국무	p1
종 311	장군무	대형무	p1	Janggun	Big radish	Korea	Sakata Korea	한국무	p1
종 312	한아름	대형무		Hanareum				한국무	
종 313	신세계	대형무	p1	Shinsegye	Big radish	Korea	Sakata Korea	한국무	p1
종 314	설종매무	대형무	p1	Seoljungmae	Big radish	Korea	Samsung Seed	한국무	p1
종 315	TS-1	대형무	p1	TS-1	Big radish	Korea	Syngenta Korea	한국무	p1
종 316	보르도무	대형무	p1	Bordeaux	Big radish	Korea	Syngenta Korea	한국무	p1
종 317	대동무	대형무	p1	Daedong	Big radish	Korea	Syngenta Korea	한국무	p1
종 318	장원	대형무	p1	Jangwon	Big radish	Korea	Syngenta Korea	한국무	p1
종 319	원교 10028 호	대형무	p	Wonkyo 10028ho				한국무	p
종 320	원교 10029 호	대형무	p	Wonkyo 10029ho				한국무	p
종 321	원교 10030 호	대형무	p	Wonkyo 10030ho				한국무	p
종 322	원교 10031 호	대형무	p	Wonkyo 10031ho				한국무	p
종 323	원교 10033 호	대형무	p	Wonkyo				한국무	p

				10033ho					
종 324	원교 10034 호	대형무	p	Wonkyo 10034ho				한국무	p
종 325	원교 10035 호	대형무	p	Wonkyo 10035ho				한국무	p
종 326	원교 10036 호	대형무		Wonkyo 10036ho				한국무	
종 327	만풍	대형무	p1	Man poong	Big radish	Korea	NIHHS	한국무	p1
종 328	신소고	소형무	p1	Sinsogo	Small radish	Korea	Jungwon Seed	한국무	p1
종 329	신소승	소형무	p1	Sinsoseung	Small radish	Korea	Jungwon Seed	한국무	p1
종 330	설원청자	대형무	p1	Seolwon Cheongja	Big radish	Korea	Jinheung Seed	한국무	p1
종 331	송광	대형무	p1	Song Gwang	Big radish	Korea	Jinheung Seed	한국무	p1
종 332	가을일품	대형무	p1	Gaeurilpum	Big radish	Korea	Chungwon Seed	한국무	p1
종 333	설란일품	대형무	p1	Seollanilpum	Big radish	Korea	Chungwon Seed	한국무	p1
종 334	소고무	소형무	p2	Sogo	Small radish	Korea	Chungwon Seed	한국무	p1
종 335	소승무	소형무	p2	Soseung	Small radish	Korea	Chungwon Seed	한국무	p1
종 336	진광무	대형무	p1	Jingwang	Big radish	Korea	Hyeondae Seed	한국무	p1
종 337	초월무	대형무	p1	Chowol	Big radish	Korea	PPS	한국무	p1
종 338	삼복다발	대형무	p5	Sambokdabal	Big radish	Korea	Nongwoo Bio	한국무	p1

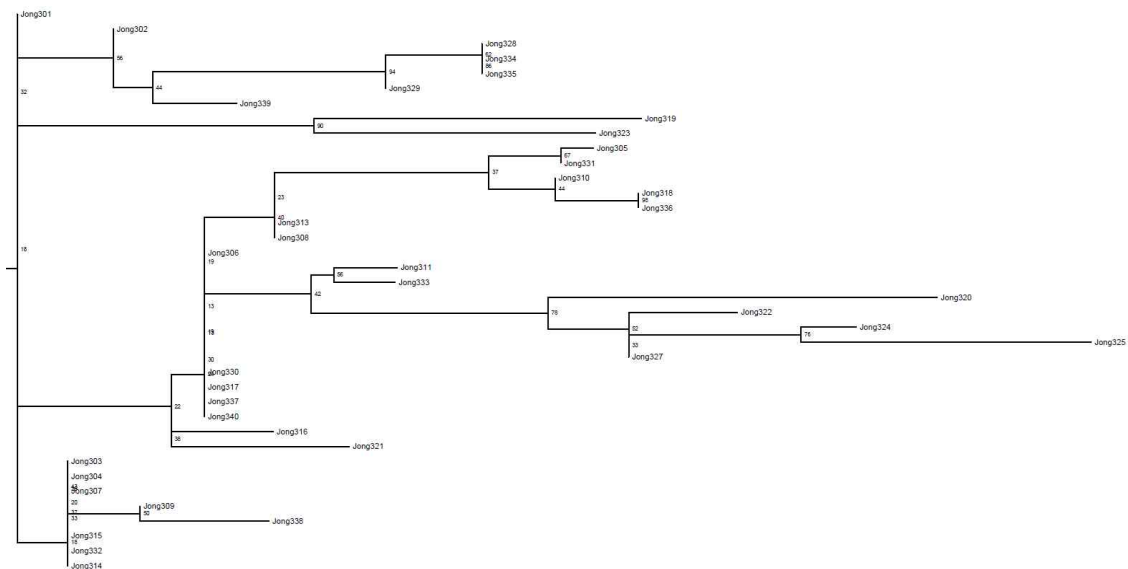


그림 152. Ampli-seq 결과를 이용한 F₁ 시판 품종의 계통수 구분

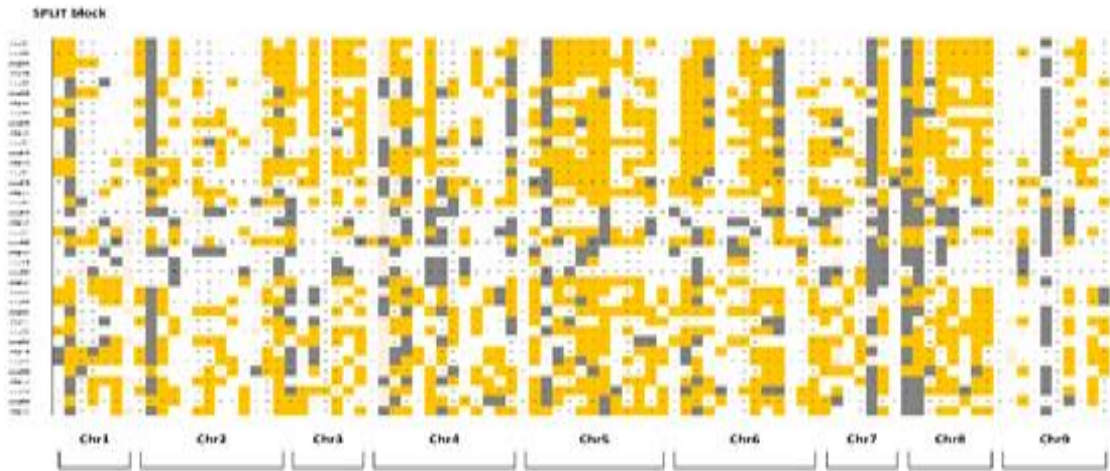


그림 153. SNP 마커를 이용한 국내 시판 품종의 haplotype, hetero loci는 노란색으로 표시됨

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

(단위 : 건수, 백만원)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표										
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과		교 육 지 도	인 력 양 성	정책 활용· 홍보		기 타 (타 연 구 활 용 등)			
	(특 허 출 원)	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문				학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시		
												SCI	비 SCI								
최종 목표	6	1	2	3	2	5	202.5		4			4	4	7	3	5	2	8	12		
1차년 도	1								1					2		1			3		
1차년 도 성과												1	3		2						
2차년 도	2				1		1	0		1				1	2	1	1		3	3	
2차년 도 성과	3				1	7.2								2	2	2			3	3	
3차년 도	2		1	1	1	2	52.5		1					1	1	2		2	1	2	3
3차년 도 성과	2				1	1	16.74		2					4	1	5	1	2		4	3
4차년 도	1	1	1	1	1	2	150		1					2	1	1	2	1	1	3	3
4차년 도 성과	1		3		7.2		161.72		2					1	1		2	2		2	5
소 계	5	1	2	3	2	5	202.5		4			4	4	7	3	5	2	8	12		
성과 소 계	6	0	3	3	15.4	1	178.46		4			8	4	10	5	8	0	9	11		
달성 도(%)	120	0	150	100	770	20	88		100			200	100	143	167	160	0	113	92		

* 단계별 연구성과 목표는 향후 중간/최종/추적평가 등의 정량적 평가지표로 활용됨

** 연구성과는 연구개발계획에 맞춰 도출하고 예시와 같이 작성

3-2. 목표 달성여부

- 품종 보호출원 및 등록 : 품종 보호출원 6건으로 목표를 초과달성 하였고, 품종등록을 2건하여 목표를 달성 하였음
- 기술이전 : 3건의 기술이전을 실시하여 목표를 달성하였음, 농우종묘에 기술이전된 감탄무는 시장 평가가 좋아 목표달성을 상회하여 달성할 것으로 판단됨. 이를 통해 연간 약 4천만원 정도의 기술료가 발생할 것으로 예상됨.

- 윤작 실험을 통한 병의 확산억제 : 병이 심한 포장을 선발하여 4년간의 윤작 실험을 통해 윤작재배를 한 포장에서는 병의 발생이 아주 미미하게 나타났고, 윤작을 하지않고 무만 재배한 포장에서는 무 시들음병이 심하게 발생하는 것을 확인 하여 윤작을 통해 어느정도 병을 줄일 수 있음을 확인 하였다.
- 농민 교육 및 홍보 : 6차례의 농민 교육을 통해 무의 병해충 경감 및 수량증가에 기여하였다.
- 무 시들음병 저항성 계통 선발 : 본과제를 통하여 무 시들음병 중간 모본과 계통의 고정화를 통하여 시들음병에 저항성을 가지는 F1 품종을 육성하여 농가소득 증가에 기여 할 수 있을 것으로 판단 됨
- ICT 기반 무 시들음병 탐지 기술: 무 재배지 영상의 획득 및 데이터베이스 구축, 영상 처리 및 분석, 인공 지능 기술 활용 무 시들음병 피해 지역을 탐지함. 무 시들음병 피해 개체의 특성을 파악하고 학습하기 위한 학습 부분과 피해 지역 판별을 위한 예측 부분으로 구성.
- 근적외선 센서 영상 이용 무 잎 엽록소함량 측정 영상 처리 기술: 적외선 분광 영상 특징을 이용 무 잎 엽록소함량을 측정하고 무 시들음병 피해 개체 판별에 활용함. 적외선 분광 영상 특징 분석 부분과 엽록소함량 측정 부분으로 구성.
- 무 시들음병 확산 경로 및 경향 분석 기술: 시간별, 주별, 월별 무 재배지 영상 데이터 활용 시계열 분석을 통한 무 시들음병의 확산 경로와 경향 특성 파악. 무 시들음병 피해 개체 영역화를 위한 영상 처리 부분과 시계열적 추이 분석을 위한 부분으로 구성.
- 무인기 운용 시 영상 품질 안정화 기술: 무인기 운용 시 환경적 변화요인으로 인한 영상 품질의 저하와 변동성을 개선하기 위해 영상 품질을 실시간으로 판별함. 고 품질의 영상의 특성을 파악하기 위한 학습 부분과 확률적 모델링을 이용한 영상 품질을 판별 부분으로 구성.
- 매출액은 3차 년도부터 매출이 발생하여 연도별 매출액이 상승하고 있어 종료 4차 년도까지 목표달성이 가능할 것으로 판단됨.
- 교육지도는 목표량 총 2건 중 3건을 완료하여 등록하였음.
- 홍보전시는 총 6건의 목표 중 7건을 수행하여 목표달성 하였음.
- 기타(타연구활용)는 균주기탁 12건을 목표로 설정하였으나, 2019년도 2개 균주에 대한 기탁절차가 완료되어 최종 11개 병원균 균주를 기탁함.
- 무 핵심집단 검증과 GBS방법의 최적화를 시켜 무 핵심집단의 GBS를 시행하고 발굴 SNP 및 무 시들음병 저항성 등 표현형정보를 이용한 Association mapping달성
- 무 참조유전체의 고도화하고 시들음병 저항성 및 우수 육종 목표 양적 형질 유전자위 발굴, GWAS 발굴 유용 유전자 검증 집단 GBS, 무 시들음병 저항성 집단, 무 유용 양적 유전자 시험집단 GBS 달성
- 무 시들음병 조기관별 마커 선발 및 선발 검정, 주요 육종 형질

association 마커 선정 및 선발 검정 전사체 분석 및 eQTL 분석, 선발 마커를 종합한 유전체 기반 육종 시스템 개발 달성

- 개발된 무 유전체 기반 육종 시스템의 육종 프로그램에 적용 유전체 기반 육종 시스템의 선발 효율 검증, 개발 신품종에 대한 SNP 기반 품종구분 시스템 구축은 미달, 본 과제 개발 품종 특이적 분자표지 선발은 미달

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 정책제안 2건이 미달성 되었으나 강원도 농업기술원에서 정책제안을 받아 들이기로 하였으나 절차상 시간이 걸려 과제 종료후에도 정책제안과 관련된 연구사항을 지속적으로 하기로 논의됨
- 매출액 달성은 종료 4차년도 까지 달성에 무리가 없을 것으로 판단됨.
- 무 시들음병의 경우 강원지역에 주로 집중되어 균주간 차별성이 있는 것을 발견하기가 어렵고, 이미 많은 양의 병원균 균주가 등록되어 유전자원센터 기탁과정에서 걸러지는 경우가 많음. 2019년도 3개의 균주 기탁을 유전자원센터에 요청하였으나 차별성이 부족한 1개 균주가 제외됨. 균주의 지역분포나 병원성 정도를 보아 주요 발생지에서의 균주종류가 충분하고 병원성 또한 중~강 정도의 다양성이 확보되어 11개 무 시들음병 균주의 등록으로 충분할 것이라 사료됨.
- 본 과제 개발 품종에 대한 분자표지 및 품종구분 시스템의 경우 SNP 마커의 발굴, genotyping 시스템의 개발등은 완료되었으나, 개발 품종의 품종 등록 등 절차에 따라 현 시점에는 아직 적용이 되지 않았다. 개발 품종의 등록 및 시판 절차가 완료 되는대로 적용할 예정이다.

4. 연구결과의 활용 계획 등

- 무 시들음병 판별용 품종을 확립함으로써 국내 다른종묘 회사들에게 무 시들음병 저항성 품종의 개발에 도움을 줄 수 있음
- 무 시들음병 F1 품종을 개발함으로써 안정적인 무 재배가 가능해 농가소득 증대 및 무 수급화의 안정화에 기여 할 수 있음
- 윤작 재배의 확립으로 무 시들음병 저감에 대해 도 농업기술원과 협력하여 농가 홍보 및 교육에 활용할 수 있음
- ICT기반 무 시들음병 상시 예찰 및 경보 시스템 개발
 - 무 시들음병 발생 시 대형 산지에서의 방제에 많은 노동력과 시간이 소요 됨
 - ICT기반 무인기 활용 영상 확보 및 분석을 통한 예찰 시스템의 자동화
 - 상시 예찰과 자동화로 조기 탐지·방제 및 비용 절감을 이룰 수 있음
 - ICT기반 예찰 시스템 활용 무 시들음병의 발생 및 확산 특성을 파악하여 종합적인 관리 및 대응 계획을 마련할 수 있음
- 무 시들음병 영상 처리 및 분석, 인공지능 기술 정밀 탐지 기술 개발
 - 무인기 운용 시 다양한 환경적 변수 요인이 존재함
 - 무 생육상태와 재배지 환경에 따른 영상 변동성이 존재함
 - ICT기반 영상 품질의 안정화를 통해 임의 변동성 요인을 최소화할 수 있음
 - 최신 영상 처리·분석 및 인공 지능 기술 활용 ICT기반 무 시들음병 정밀한 탐지를 이룰 수 있음
 - 기탁한 균주는 즉시 공개되어 무시들음병 시험에 필요한 연구기관, 기업 등에서 바로 활용할 수 있음.
 - 보고서 공개 후 작성된 내용의 무시들음병 검정방법을 활용하여 각 기관에서 사용할 수 있게 할 예정
 - 본 과제에서 개발한 무 육종 시스템은 amp-seq 기반 유전자 패널 시스템으로써, 시들음벼를 비롯한 무 육종에 주요한 양적형질 및 background selection 에 필요한 마커를 포함하므로 경제적이고 효율적인 무 분자유종을 가능하게 한다. 현 개발 시스템의 검증 및 보완 후 제품화 하여 국내 종묘 회사에 기술 또는 제품의 판매를 추진할 예정이다.

붙임. 참고문헌

- [1] Brown, M. and Lowe, D.G., 2007. Automatic panoramic image stitching using invariant features. *International journal of computer vision*, 74(1), pp.59-73.
- [2] Li, Z. and Chen, J., 2015. Superpixel segmentation using linear spectral clustering. In *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition* (pp. 1356-1363).
- [3] Li, Y. and Yuan, Y., 2017. Convergence analysis of two-layer neural networks with relu activation. In *Advances in Neural Information Processing Systems* (pp. 597-607).
- [4] Charuchinda, P., Kasetkasem, T., Kumazawa, I. and Chanwimaluang, T., 2019, March. On Building Detection Using the Class Activation Map: Case Study on a Landsat8 Image. In *2019 10th International Conference of Information and Communication Technology for Embedded Systems (IC-ICTES)* (pp. 1-4). IEEE.
- [5] Simonyan, K., Vedaldi, A. and Zisserman, A., 2013. Deep inside convolutional networks: Visualising image classification models and saliency maps. arXiv preprint arXiv:1312.6034.
- [6] Alber, M., Lopuschkin, S., Seegerer, P., Hägele, M., Schütt, K.T., Montavon, G., Samek, W., Müller, K.R., Dähne, S. and Kindermans, P.J., 2019. iNNvestigate neural networks!. *Journal of Machine Learning Research*, 20(93), pp.1-8.
- [7] Huang, Y., Reddy, K.N., Fletcher, R.S. and Pennington, D., 2018. UAV low-altitude remote sensing for precision weed management. *Weed technology*, 32(1), pp.2-6.
- [8] Khirade, S.D. and Patil, A.B., 2015, February. Plant disease detection using image processing. In *2015 International conference on computing communication control and automation* (pp. 768-771). IEEE.
- [9] Gandhi, G.M., Parthiban, S., Thummalu, N. and Christy, A., 2015. NDVI: vegetation change detection using remote sensing and GIS—a case study of Vellore District. *Procedia Computer Science*, 57, pp.1199-1210.
- [10] Albetis, J., Duthoit, S., Guttler, F., Jacquin, A., Goulard, M., Poilvé, H., Féret,

- J.B. and Dedieu, G., 2017. Detection of Flavescence dorée grapevine disease using unmanned aerial vehicle (UAV) multispectral imagery. *Remote Sensing*, 9(4), p.308.
- [11] Yang, H., Yang, X., Heskell, M., Sun, S. and Tang, J., 2017. Seasonal variations of leaf and canopy properties tracked by ground-based NDVI imagery in a temperate forest. *Scientific reports*, 7(1), p.1267.
- [12] Richardson, A.J. and Everitt, J.H., 1992. Using spectral vegetation indices to estimate rangeland productivity. *Geocarto International*, 7(1), pp.63-69.
- [13] Rondeaux, G., Steven, M. and Baret, F., 1996. Optimization of soil-adjusted vegetation indices. *Remote sensing of environment*, 55(2), pp.95-107.
- [14] Lee, J. H., Jang, K. S., Choi, Y. H., Kim, H., and Choi, G. J., 2016. Development of an Efficient Mass-screening Method for Testing the Resistance of Radish to *Fusarium* Wilt. *Res. Plant Dis.* 22(3): 152-157.
- [15] Baik, S. Y., Kim, J. C., Jang, K. S., Choi, Y. H. and Choi, G. J., 2010. Development of Effective Screening Method and Evaluation of Radish Cultivars for Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. *Res. Plant Dis.* 16(2): 148-152.
- [16] Ra, S. D., Kim, K. J., Lee, S. P., Eum, S. H., Lee, Y. S. 2001. Occurrence of *Fusarium* wilt of radish and analyses of genetic relationships between *F. oxysporum* f. sp. *raphani* and other *Fusarium* species. *J. Agr. Sci.* Vol. 12:104-114
- [17] De Donato M, Peters SO, Mitchell SE, Hussain T, Imumorin IG: Genotyping-by-sequencing (GBS): a novel, efficient and cost-effective genotyping method for cattle using next-generation sequencing. *PLoS One* 2013, 8(5):e62137.
- [18] Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE: A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one* 2011, 6(5):e19379.
- [19] Herten K, Hestand MS, Vermeesch JR, Van Houdt JK: GBSX: a toolkit for experimental design and demultiplexing genotyping by sequencing experiments. *BMC bioinformatics* 2015, 16(1):1.
- [20] Langmead B, Salzberg SL: Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature*

methods 2012, 9(4):357-359.

[21] McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M: The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research* 2010, 20(9):1297-1303.

[22] Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers CA, Banks E, DePristo MA, Handsaker RE, Lunter G, Marth GT, Sherry ST: The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 2011, 27(15):2156-2158.

[23] Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, De Bakker PI, Daly MJ: PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics* 2007, 81(3):559-575.

[24] Browning BL, Browning SR: Genotype imputation with millions of reference samples. *The American Journal of Human Genetics* 2016, 98(1):116-126.

[25] Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 2000, 155(2):945-959.

[26] Zheng X, Zheng MX: Package ‘SNPRelate’ . 2013.

[27] Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES: TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 2007, 23(19):2633-2635.

[28] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA: Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature protocols* 2009, 4(1):44.

[29] Campbell NR, Harmon SA, and Narum SR. (2015), Genotyping-in-Thousands by sequencing (GT-seq): A cost effective SNP genotyping method based on custom amplicon sequencing. *Mol Ecol Resour* 2015 15: 855-867

[30] Sato M, Hosoya S, Yoshikawa S, et al. A highly flexible and repeatable genotyping method for aquaculture studies based on target amplicon sequencing using next-generation sequencing technology. *Sci Rep* 9, 6904 (2019)

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	무 시들음병 저항성 품종 육성 및 분자육종시스템 개발 Development of Fusarium ilt-resistant cultivars using molecular breeding system in radish				
주관연구기관	세종대학교		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 세종대학교	
참 여 기 업	농우바이오 조앤김지노믹스		(성명) 박 한 용		
총연구개발비 (1,660,000천원)	계		총 연 구 기 간	2016. 05. ~ 2019. 12.(3년 8개월)	
	정부출연 연구개발비	1,470,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	52
	기업부담금	190,000		내부인원	43
	연구기관부 담금			외부인원	9
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 품종 보호출원된 품종을 기술이전하여 산업화 하였고 추가로 보호출원된 품종들도 기술이전하여 산업화를 할 예정이다 - 무 시들음병 판별용 품종을 확립함으로써 국내 다른종묘 회사들에게 무 시들음병 저항성 품종의 개발에 도움을 줄 수 있음 - 무 시들음병 F1 품종을 개발함으로써 안정적인 무 재배가 가능해 농가소득 증대 및 무 수급화의 안정화에 기여 할 수 있음 - 윤작 재배의 확립으로 무 시들음병 저감에 대해 도 농업기술원과 협력하여 농가 홍보 및 교육에 활용할 수 있음 - ICT기반 무 시들음병 예찰 시스템 개발-UAV 이미지를 다양한 고도 및 영상 데이터베이스를 구성하고 제안된 딥러닝 기술을 적용하여 무 시들음병 판별기술 개발(영상 데이터베이스 구축, 영상분석 및 특징추출, 탐지 알고리즘 및 최적화) - 제품화에 있어서, 감탄무를 제외한 추가 무 품종은 선발되지 않아 1건으로 실적이 미흡하나 종료 4차 년도까지 매출목표를 달성하는데 무리가 없을 것으로 판단됨. - 매출액은 3차 년도부터 매출이 발생하여 연도별 매출액이 상승하고 있어 종료 4차 년도까지 목표달성이 가능할 것으로 판단됨. 2018년도 매출 16,740천원, 2019년도(2020년도) 매출 161,720천원 등 총 매출 178,460천원 달성 중. - 교육지도는 목표량 총 2건 중 3건을 완료하여 등록하였음. - 홍보전시는 총 6건의 목표 중 7건을 수행하여 목표달성 하였음. 					

- 기타(타연구활용)는 균주기탁 12건을 목표로 설정하였으나, 2019년도 2개 균주에 대한 기탁절차가 완료되어 최종 12개 균주 중 11개 균주의 기탁이 가능할 것으로 판단됨.

- 무 유전체 기반 육종 시스템 개발을 목표로 하여 무 GWAS용 유전지도 작성 및 주요 유전자 발굴 하였으며, 무 시들음병 관련 마커선발 및 우수 육종 목표 양적 형질 유전자위 발굴 하고 무 유전체 정보 활용 분자유종 시스템 개발 하였다. 또한 개발된 무 유전체 기반 육종 시스템 확립 및 적용을 시도 하였다.

○ 연구내용 및 결과

- 품종 보호출원 및 등록 : 품종 보호출원 6건으로 목표를 달성 하였고, 품종등록을 3건하여 목표를 달성 하였음

- 기술이전 : 2건의 기술이전을 실시하여 목표를 달성하였음, 농우종묘에 기술이전된 감탄무는 시장 평가가 좋아 목표달성을 상회하여 달성할 것으로 판단됨. 이를 통해 연간 약 4천만원 정도의 기술료가 발생할 것으로 예상됨.

- 윤작 실험을 통한 병의 확산억제 : 병이 심한 포장을 선발하여 4년간의 윤작 실험을 통해 윤작재배를 한 포장에서는 병의 발생이 아주 미미하게 나타났고, 윤작을 하지않고 무만 재배한 포장에서는 무 시들음병이 심하게 발생하는 것을 확인 하여 윤작을 통해 어느정도 병을 줄일 수 있음을 확인 하였다.

- 농민 교육 및 홍보 : 6차례의 농민 교육을 통해 무의 병해충 경감 및 수량증가에 기여하였다.

- 무 시들음병 저항성 계통 선발 : 본과제를 통하여 무 시들음병 중간 모본과 계통의 고정화를 통하여 시들음병에 저항성을 가지는 F1 품종을 육성하여 농가소득 증가에 기여 할 수 있을 것으로 판단 됨

- 드론을 활용한 시들음병 무재배지 데이터 확보 - 유형별 무 재배지 데이터베이스 구축

- SURF 알고리즘을 활용한 영상 정합 기술 연구 - 대면적 정합 이미지 획득

- 무 시들음병 탐지 알고리즘 연구

- 슈퍼픽셀 기법을 적용한 이미지를 활용한 영역 분류 및 시들음 병 탐지

- HSV 기반 영상 영역 추출 소프트웨어 구현

- KMeans 알고리즘을 활용한 무 시들음병 영역 추출 시스템 및 추출

- 주요 무 재배지에서 12개의 시들음병균을 수집하여 이를 이용한 병원성 검정을 수행한 다음 그 중 For-19JW2균주 등 11개 균주를 유전자원센터에 기탁.

- 국내외 시판종에 대해 접종시험을 수행하여 시들음병에 대한 저항성, 감수성 품종들을 선정하였으며 그 중, 명산무는 균주의 종류와 관계없이 매우 높은 저항성 수준을 나타내었으며 R64, 월드미농무 품종에서도 높은 수준의 저항성을 나타내었다. 서호골드무의 경우 균주간의 병원성 차이는 일부 있었으나 중간수준의 저항성을 나타내는 것을 확인하여 무시들음병 판별품종으로 유용하게 활용이 가능할 것으로 판단됨.

- 병원성 검정 표준화시스템 구축을 위해서 병원균의 농도 및 온도별 접종시험, 관주 및 침지방법 비교 시험 결과, 병원균의 농도가 1×10^6 spores/ml 이상일 때, 가장 변별력이 있는 결과를 보여주었으며 접종온도는 하우스 조건으로 15~25°C에서 병원균 현탁액에 20분간 침지 후 가식하는 방법이 가장 효과적이었음.

-효율적인 무 분자유종 시스템의 구축을 위하여 GWAS를 기반으로 시들음병을 비롯한 무 육종에 주요한 양적형질 및 background selection 에 필요한 마커를 선발하고, 이의 정밀하고 경제적인 이용을 위하여 NGS기반 amp-seq 기반 유전자 패널 시스템을 개발함. 본 시스템은 현재 이용되는 PCR 기반 시스템보다 선진적인 식물 육종 분자마커 시스템이며 경제

적이고 효율적인 무 분자유종을 가능하게 함.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 윤작 재배의 확립으로 무 시들음병 저감에 대해 도 농업기술원과 협력하여 농가 홍보 및 교육에 활용할 수 있음
- 확산 경로 및 경향 특성 분석을 기반으로 한 예찰 시스템 실증 시험을 통한 현장적용
- 시간별(주별, 월별)무 재배지 영상 데이터 활용, 확산 경로 및 경향 파악을 통한 인식률 고도화
- 특정 재배지의 정기적인 시계열 영상 획득을 통한 인공지능 연구에 필요한 빅데이터 구축
- 무인기 운용, 대면적 영상 확보 및 분석을 통한 ICT 기술의 예찰시스템 적용 및 실용화
- 환경 변화에 따른 다양한 시나리오 점검 및 탐지 성능 평가기술 활용
- 무 시들음병 상시 예찰 시스템, 경보 시스템의 실용화 타당성 검증
- 기탁한 균주는 즉시 공개, 무시들음병 시험에 필요한 연구기관, 기업 등에서 바로 활용할 수 있음.
- 보고서 공개 후 작성된 내용의 무시들음병 검정방법을 활용하여 각 기관에서 사용가능.
- 본 연구과제에서 개발된 amp-seq 패널 무 육종 시스템 은 추가적인 검증 및 보완과정을 거쳐 특허출원 후 제품화 하여 종묘회사 및 연구기관과 본 시스템의 이용에 관한 계약을 진행할 예정이며, 협의에 따라 상용화 방식을 결정하고 기술 또는 제품의 판매를 추진할 예정이다.

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	316033-04-4		
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농생명산업기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	유전체 정보 기반 분자유종시스템 구축 지원			과제유형	(개발)
연구기관	세종대학교 산학협력단			연구책임자	박한용
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2016. 5. ~ 2016. 12.	270,000	40,000	310,000
	2차연도	2017. 1. ~ 2017. 12.	400,000	50,000	450,000
	3차연도	2018. 1. ~ 2018. 12.	400,000	50,000	450,000
	4차연도	2019. . ~ 2019. 12.	400,000	50,000	450,000
	계		1,470,000	190,000	1,660,000
	참여기업	농우바이오(협동기관), 조앤김지노믹스(위탁기관)			
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2020. 7. 6

3. 평가자(연구책임자) : 박한용

소속	직위	성명
세종대학교	교수	박한용

4. 평가자(연구책임자) 확인 : 박 한 용

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확 약	박 한 용
-----	-------

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주 우수, **우수**, 보통, 미흡, 불량)

- 무 시들음병 판별용(강 2품종): 중2품종 : 약2품종) 표준 품종 개발
- 무 시들음병 탐지율: 98% 정확성
- 무 잎엽록소 함량 예측율: 98% 정확성
- 무인기 기반 대면적 촬영 영상의 품질 판별률 : 95% 정확성
- 처리속도 : 무 재배지 영상 데이터에 대한 5건/초 이상의 탐지속도
- 처리대상크기 : 무인기에서 촬영한 전체 무 재배지 고 해상도 DB의 영상분석 실시간 처리 가능
- 무시들음병 병원성의 구분을 위한 판별품종의 선정 완료
- 침지접종과 관주접종을 혼합한 검정방법의 표준화
- 무시들음병 저항성 검정 수행을 통하여 육성중인 품종의 저항성 수준 검정
- 주요 무 재배지에서 분리한 무시들음병균 11개 유전자원 기탁
- ‘감탄무’ 사업화 및 매출 178,460천원 및 과제종료 4차년도 까지 목표달성 긍정적
- 본 과제의 연구결과는 효율적인 무 분자유종 시스템의 구축을 위하여 GWAS를 기반으로 유용형질 선발 마커를 선발하고 이의 정밀하고 경제적인 이용을 위하여 NGS기반 Ampli-seq 패널을 개발 이용하는 것으로 현재 이용되는 PCR 기반 시스템보다 선진적인 식물 육종 분자마커 시스템이다.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (**아주 우수**, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 무 시들음병 판별용 품종을 확립함으로써 국내 다른종묘 회사들에게 무 시들음병 저항성 품종의 개발에 도움을 줄 수 있음
- 무 시들음병 F1 품종을 개발함으로써 안정적인 무 재배가 가능해 농가소득 증대 및 무 수급화의 안정화에 기여 할 수 있음
- 무 시들음병 영상 데이터베이스 구축
- 무 시들음병 영상 처리·분석, 인공 지능 기술 개발
- 무인기 하드웨어, 영상 처리 소프트웨어 기술 활용 영상 품질 안정화 기술 개발
- ICT기반 예찰 하드웨어/소프트웨어 시스템 최적화
- 무시들음병 판별품종 선정 및 검정방법의 표준화를 통하여 연구기관별 검정결과의 통일성 기대
- 무시들음병 저항성 검정 수행을 통한 저항성 품종의 확대 기대

- 본 연구과제에서 개발된 amp-seq 패널 기반 분자유종 시스템은 현재까지 국내에서 상용화된바가 없으며, 기존 마커 시스템 대비 효율성이 알려진다면 식물분자유종 전 분야에 이용가능성이 크다.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주 우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 윤작 재배의 확립으로 무 시들음병 저감에 대해 도 농업기술원과 협력하여 농가 홍보 및 교육에 활용할 수 있음
- ICT 기반 무 시들음병의 무인기 및 영상분석 활용 조기 탐지 기술 활용가능
- 인공지능 기반 영상 스펙트럼의 엽록소함량 분석 기술 활용가능
- 무 시들음병 상시 예찰 시스템 구축 및 확산예측 기술 활용가능
- 무인기 기반 대면적 촬영 및 영상 품질 안정화 기술 활용가능
- 균주기탁 및 공개를 통하여 무시들음병 연구기관들에 병원균 제공 가능
- 무시들음병 검정방법 및 판별품종 정보제공을 통하여 무시들음병 연구기관별 저항성 검정 결과 통일성 기대
- 본 연구과제에서 개발된 amp-seq 패널은 추가적인 검증 및 보완과정을 거쳐 특허출원과 함께 무 육종을 수행하는 종묘회사 및 연구기관과 이용에 관한 계약을 추진할 예정이다.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주 우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 품종 보호 출원(6품종) 및 등록(2품종)을 하여 농가에 보급함으로써 농가소득 증대에 기여하는 등 전반적으로 과제를 성실히 수행 하였음
- ICT 기반 무 시들음병의 무인기 및 영상분석 활용 조기 탐지 기술을 개발 하는 등 향후 스마트팜 농업 등 IT 기반 연구의 기초를 확립 하였음
- 연구개발을 계획대비 성실하게 수행하였으며 균주기탁 92% 완료, 검정방법 표준화 제시 완료하였음
- 매출목표 202,500천원 중 과제종료 시점 178,460천원의 매출이 발생하였으며 판매추이 등을 고려할 때, 종료 4차년도 까지 목표매출 달성 가능할 것으로 판단됨.
- 계획된 연구 과제를 성실하게 수행하였으며, 4차년도의 개발품종 구분마커 개발 등의 미비사항은 신품종 등록과정에 따른 연구재료 수급의 문제이므로 이후 성실히 마무리할 예정이다.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주 우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 연구개발 성과는 논문 및 인력양성 부분에서 목표대비 초과달성 하였음
- 논문과 특허등 개발성과는 제품화전 완벽한 보완이 필요함으로 이에 대한 검증 및 상용화에 필요한 과정을 조만간 완료한 후 추진 할 예정이다.

II. 연구목표 달성도

1세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
시들음병 저항성 계통 육성	20	100	시들음병 저항성 계통 육성
무 유전체 기반 육종 시스템 확립	10	60	무 유전체 기반 육종 기반 시스템 확립중에 있음
근미 맺힘이 좋고 비대가 빠른 시들음병 저항성 F1 품종 육성	15	100	비대가 좋은 시들음병 저항성 F1 품종 육성
바람들이가 늦고 추대가 늦은 시들음병 저항성 F1 품종 육성	15	100	추대가 늦은 시들음병 저항성 F1 품종 육성
품종의 고순도와 소재 보호를 위한 시들음병 저항성 MS 품종 육성	15	100	MS 계통 육성을 완료 하였음
품종 기술 이전을 통한 종자매출 2억 달성	15	100	기술이전된 무 품종은 봄무 품종이므로 2020년 봄 매출 이 약 2억원으로 75백만원 추가 달성예정임
시들음병 확산방지 시스템 개발	10	100	윤작 실험을 통하여 시들음병 확산을 방지할 수 있음을 확인 하였음
합계	100점	94.2	

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
무 시들음병 영상 데이터베이스 구축	25	100	가시광선 / 근적외선 DB 구축
무 시들음병 영상 처리·분석, 인공지능 기술 개발	25	100	AI / Deep Learning 기술 개발
무인기 하드웨어, 영상 처리 소프트웨어 기술 활용 영상 품질 안정화 기술 개발	20	100	무인기 영상품질 안정화 기술 개발
ICT기반 예찰 하드웨어/소프트웨어 시스템 최적화	20	100	예찰 시스템 최적화 기술 개발
ICT기반 예찰 시스템 현장 적용성 평가	10	100	예찰 시스템 현장 적용성 평가
합계	100점	100	

협동연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
수집균주의 병원성 검정 및 분석	25	100	수집균주의 병원성 검정 완료
무 시들음병에 대한 F1 검정 시스템 개발	25	100	무시들음병 F1검정 시스템 개발 완료
수집된 균주의 유전자원센터 기탁	30	91.6	균주기탁 12건 목표 중 11건 완료
무 시들음병 저항성 품종 산업화	20	100	품종산업화 1건 수행
합계	100점	97.9	

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
무 GWAS용 유전지도 작성 및 주요 유전자 발굴	25	100	유전자지도 및 유전자 발굴 완료
무 시들음병 관련 마커선발 및 우수 육종 목표 양적 형질 유전자위 발굴	25	100	마커선발 및 양적형질 유전자 발굴 완료
무 유전체 정보 활용 분자유종 시스템 개발	25	100	분자 육종 시스템 개발 완료
무 유전체 기반 육종 시스템 확립 및 적용	25	80	육종 시스템 적용과정에서 추가적인 재료 및 시간소용
합계	100점	95	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

<p>○ 한국용 무 시들음병 저항성 표준품종 선발하여 각 종묘회사들이 시들음병 품종 개발시 비교할 수 있는 품종을 제공함</p> <p>○ 운작 실험을 통한 병의 확산억제 : 병이 심한 포장을 선발하여 4년간의 운작 실험을 통해 운작재배를 한 포장에서는 병의 발생이 아주 미미하게 나타났고, 운작을 하지않고 무만 재배한 포장에서는 무 시들음병이 심하게 발생하는 것을 확인 하여 운작을 통해 어느정도 병을 줄일 수 있음을 확인 하였다.</p> <p>○ 본 연구를 통하여 드론을 이용한 ICT 인공지능을 기반의 융합기술을 개발하여 농업과 4차 산업혁명 기술에 접목하는 국내 최초의 연구를 수행하였으며 향후 관련 산업분야에 적용가능한 기반기술로 활용 가능하다.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 무 시들음병 탐지 기능 - 무 잎 엽록소함량 측정 기능

- 무인기 영상 품질 판별 기능
- GPS 정보, 영상 정보 활용 영상 정합 기능
- 무인기 기반 대면적 촬영 및 영상분석 기능
- 무 시들음병 확산 경로 및 경향 분석 기능

○ 창의성·혁신성

무 시들음병 탐지 및 확산 예측을 위한 예찰 시스템이 부재하여 효율적인 상시예찰 및 방제가 불가능하였다. 본 연구과제에서는 최신 영상 처리·분석, 데이터 마이닝·인공 지능 기술, 무인기 영상 품질 안정화 기술을 개발 및 구현하여 ICT기반 정밀 예찰시스템 기술을 개발하였다.

- 영상 처리 시스템 모듈화: 예찰 시스템은 크게 학습 모듈과 예측 모듈로 이원화 된다. 학습 모듈은 영상 데이터를 처리 및 분석하여 최적의 탐지 알고리즘을 설계 및 구현하는데 활용된다. 예측 모듈은 실제 무인기에 구현될 부분으로 무인기 환경에 맞춰 경량화·최적화되어 신속 정확한 탐지를 하는데 활용된다. 이러한 예측 시스템의 이원화는 지속적인 탐지 알고리즘의 성능 개선을 용이하게 하고 다른 분야로의 이식성·활용 가능성을 높이는 연구를 수행하였다

- 데이터 마이닝·인공 지능 기술 기반 탐지 알고리즘 및 예찰 시스템 개발: 실외에서 촬영된 무 재배지와 무 시들음병 피해 개체의 영상 데이터는 촬영 각도/환경/날씨 변화 등 다양한 요소들에 의해 영향을 받는다. 기존 유사 연구는 주로 실내 영상 데이터를 기반으로 수행되어 이러한 다양한 환경적 변화요인들에 대한 대처 능력이 현저히 떨어진다. 본 연구과제에서는 이러한 변화 요인들의 영향을 최소화하고 안정적이고 정확한 탐지 성능 확보를 위해 최신의 데이터 마이닝 기술과 인공 지능 기술을 융합하여 탐지 알고리즘을 개발 및 구현한다. 데이터 마이닝 기술은 추출된 영상 특징들 중에서 무 시들음 병 탐지에 유용한 영상 특징을 파악하는 역할을 수행한다. 인공 지능 기술은 영상 특징들의 패턴을 인식하고 학습하여 최적의 고성능 탐지 알고리즘을 구현하는 역할을 수행하였다.

- 무인기 영상 품질 안정화 기술: 무인기 운용 시 다양한 환경적 변화 요인으로 인해 촬영된 영상의 품질이 일정하지 않아 예찰 시스템의 성능을 저하 시킬 수 있다. 기존 유사 연구는 무인기의 내구성·내환경성 강화와 제어 기술 향상, 카메라 안정화를 통해 영상 품질을 높이고자 했다. 본 연구과제에서는 무인기의 내구성·내환경성 강화, 제어 기술 향상, 카메라 안정화를 위한 기술을 개발하는 한편, 촬영된 영상의 품질을 판별하는 인공지능 기술을 개발하여 ICT 기반 예찰 시스템 성능 향상에 기여하였다.

○ 제품화에 있어서, 감탄무를 제외한 추가 무 품종은 선발되지 않아 1건으로 실적이 미흡하나 종료 4차 년도까지 매출목표를 달성하는데 무리가 없을 것으로 판단됨.

- 매출액은 3차 년도부터 매출이 발생하여 연도별 매출액이 상승하고 있어 종료 4차 년도까지 목표달성이 가능할 것으로 판단됨. 2018년도 매출 16,740천원, 2019년도 매출 161,720천원 등 총 매출 178,460천원 달성 중.

○ 주요 무 재배지에서 12개의 시들음병균을 수집하여 이를 이용한 병원성 검정을 수행한 다음 그 중 For-19JW2균주 등 11개 균주를 유전자원센터에 기탁.

○ 국내외 시판종에 대해 접종시험을 수행하여 시들음병에 대한 저항성, 감수성 품종들을 선정하였으며 그 중, 명산무는 균주의 종류와 관계없이 매우 높은 저항성 수준을 나타내었으며 R64, 월드미농무 품종에서도 높은 수준의 저항성을 나타내었다. 서호골드무의 경우 균주간의 병원성 차이는 일부 있었으나 중간수준의 저항성을 나타내는 것을 확인하여 무시들음병 판별

품종으로 유용하게 활용이 가능할 것으로 판단됨.

○ 병원성 검정 표준화시스템 구축을 위해서 병원균의 농도 및 온도별 접종시험, 관주 및 침지방법 비교 시험 결과, 병원균의 농도가 1×10^6 spores/ml 이상일 때, 가장 변별력이 있는 결과를 보여주었으며 접종온도는 하우스 조건으로 15~25°C 에서 병원균 현탁액에 20분간 침지 후 가식하는 방법이 가장 효과적이었음.

○ 교육지도는 목표량 총 2건 중 3건을 완료하여 등록하였음.

○ 홍보전시는 총 6건의 목표 중 7건을 수행하여 목표달성 하였음.

○ 개발된 NGS 이용 Ampli-seq 패널을 이용한 무 분자유종 시스템을 개발하였으며 상용화를 보완과 제품화가 필요하다.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

○핵심 기술

- ICT 기반 무 시들음병의 무인기 및 영상분석 활용 조기 탐지 기술 개발
- 인공지능 기반 영상 스펙트럼의 엽록소함량 분석 기술 개발
- 무 시들음병 상시 예찰 시스템 구축 및 확산예측 기술 개발
- 무인기 기반 대면적 촬영 및 영상 품질 안정화 기술 개발

○주요 성능치

- 무 시들음병 탐지율: 98% 정확성
- 무 잎 엽록소 함량 예측율: 98% 정확성
- 무인기 기반 대면적 촬영 영상의 품질 판별률 : 95% 정확성
- 처리속도 : 무 재배지 영상 데이터에 대한 5건/초 이상의 탐지속도
- 처리대상크기 : 무인기에서 촬영한 전체 무 재배지 고 해상도 DB의 영상분석 실시간 처리 가능

○ 본 연구 과제의 수행을 통하여 논문 및 학술 발표, 전문 인력 양성의 성과목표를 초과달성하였다. 학술 발표와 논문 분야는 ICT기반 예찰 시스템의 소프트웨어/하드웨어 기술을 포함하였다. 배출된 전문 인력은 ICT기반 예찰 시스템에 특화되어 관련 산업 발전에 기여할 것이다.

○ Ampli-seq 패널을 이용한 무 분자유종 시스템의 제품화 및 상용화에는 추가적인 시간이 소요됨

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

○ 윤작 재배의 확립으로 무 시들음병 저감에 대해 농업기술원 등 정부 연구기관에서 농가 홍보 및 교육에 활용하여 시들음병 저감 및 재배 안정화에 기여

○ 향후 본 연구를 통해 개발된 ICT 기술을 기반으로 스마트팜 등의 첨단분야에 활용 가능함

- 확산 경로 및 경향 특성 분석을 기반으로 한 예찰 시스템 실증 시험을 통한 현장적용
- 시간별(주별, 월별)무 재배지 영상 데이터 활용, 확산 경로 및 경향 파악을 통한 인식률 고도화

- 특정 재배지의 정기적인 시계열 영상 획득을 통한 인공지능 연구에 필요한 빅데이터 구축
 - 무인기 운용, 대면적 영상 확보 및 분석을 통한 ICT 기술의 예찰시스템 적용 및 실용화
 - 환경 변화에 따른 다양한 시나리오 점검 및 탐지 성능 평가기술 활용
 - 무 시들음병 상시 예찰 시스템, 경보 시스템의 실용화 타당성 검증
- 적용범위(또는 서비스)
- 주요 작물, 산림 자원 병해충 상시 예찰 시스템: 주요 작물(배추, 양파, 마늘 등)과 산림자원(소나무 재선충병, 참나무 시들음병, 솔잎혹파리 등)에 대한 유사 병해충 피해 예찰시스템에 활용 가능.
 - 주요 작물과 산림 자원의 종합 관리 모니터링 시스템: 주요 작물과 산림 자원의 생육상태, 생육환경 및 수량 예측 등 포괄적인 작물과 산림 자원의 원격 관리 및 모니터링 시스템 개발에 활용 가능.
 - 엽록소함량 측정 기술: 주요 작물(벼, 옥수수 등)의 엽록소 함량 측정에 활용하여 작물의 병해충 예찰뿐만 아니라 작물의 영양상태 모니터링 및 수확 시기 결정에 활용 가능
- 기탁한 균주는 즉시 공개, 무시들음병 시험에 필요한 연구기관, 기업 등에서 바로 활용할 수 있음.
- 보고서 공개 후 작성된 내용의 무시들음병 검정방법을 활용하여 각 기관에서 사용가능.
- Ampli-seq 패널을 이용한 무 분자유종 시스템의 제품화 후 종묘회사 및 연구기관과 본 시스템의 이용에 관한 계약을 진행할 예정이며, 협의에 따라 상용화 방식을 결정할 예정

IV. 보안성 검토

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

본 연구과제에서 개발된 무 분자유종 시스템은 사용화 계획이 있으므로 과제 보고서에 포함된 마커 정보 및 결과들은 특허 등록 및 상용화전까지 일정기간동안 보안이 필요함

2. 연구기관 자체의 검토결과

	중출원	허등록	중등록	수	술료	품화	출액	출액	용창출	자유치		SCI	비SCI	문평균IF	술발표		책활용	보전시	구활용등)	
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건		건	명	건	건		
가중치																				
최종목표	5	1	2	3	2	5	20 2.5		4			4	4		7	3	5	2	8	12
연구기간내 달성실적	6		3	3	15.4	1	17 8.4 6		4			8	4		10	5	8	0	9	11
달성율(%)	120	0	150	100	770	20	88		100			200	100		143	167	160	0	113	92

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	한국용 무 시들음병 저항성 표준품종 선발
②	NGS 이용 Ampli-seq 패널을 이용한 무 분자유종 시스템

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화흡수	외국기술 개선개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√						√		
②의 기술	√					√	√			
.										
.										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	시들음병 접종시 기준을 삼을 수 있는 판별용 표준품종 공급
②의 기술	Ampli-seq 패널을 이용한 무 분자유종 시스템을 종묘회사 및 연구기관에 판매

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치																			
최종목표																			
연구기간내 달성실적																			
연구종료후 성과창출 계획			<u>1</u>								<u>1</u>								

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 결정 <input type="checkbox"/> 기타 ()	<input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권	<input type="checkbox"/> 협의
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성

2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리

통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리

- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기

뒷면지

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.