

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( ), 발간등록번호( O )

농생명산업기술개발사업 2020년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003146-01

**박과작물 육종지원을 위한 내병성 유전자마커  
개발 및 적용 연구**

최종보고서

2020. 07. 03.

주관연구기관 / 세종대학교  
제1협동연구기관 / (주)농우바이오  
제2협동연구기관 / 아시아종묘(주)

**농 립 축 산 식 품 부**

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제 출 문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “박과작물 육종지원을 위한 내병성 유전자마커 개발 및 적용 연구”(개발기간 : 2016. 08. 01 ~ 2019. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 07. 03.

주관연구기관명 : 세종대학교산학협력단    백 성 욱



제1협동연구기관명 : (주)농우바이오    이 병 각



제1협동연구기관명 : 아시아종묘(주)    류 경 오



주관연구책임자                    : 황성빈  
제1협동연구책임자                : 이재용  
제2협동연구책임자                : 김태윤

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 최종보고서 열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	316087-4	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.01.01 ~ 2019.12.31	단 계 구 분	(4)/(4)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농생명산업기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	박과작물 육종지원을 위한 내병성 유전자마커 개발 및 적용 연구			
연구책임자	황성빈	해당단계 참여연구원 수	총: 45명 내부: 35명 외부: 10명	해당단계 연구개발비	정부:300,000천원 민간:100,000천원 계:400,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 126명 내부: 100명 외부: 26명	총 연구개발비	정부:1,000,000천원 민간: 334,000천원 계:1,334,000천원
연구기관명 및 소속부서명	세종대학교/바이오산업자원공학과			참여기업명 농우바이오(주) 농업회사법인 아시아종묘(주)	
국제공동연구	상대국명: 해당없음			상대국 연구기관명: 해당없음	
위탁연구	연구기관명: 해당없음			연구책임자: 해당없음	
연구개발성과의 보안등급 및 사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 따른 일반과제				

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)	보고서 면수
1. 박과작물 통합 육종지원 시스템 구축.....	22
1) 병리검정 시스템 (5종 병원체 대상의 유묘 검정/ 포장 검정)	
2) 유전자원 특성 평가 DB	
3) 유전체 DB	
4) 분자마커 DB	
5) 병 저항성 분자마커 5종 개발	
2. 박과작물 통합 육종지원 시스템 현장 적용.....	89
1) 박과작물 육종 기간 단축	
2) 내병성, 고품질 품종 시장 출시	
3) 품종보호 출원 9종(오이 3, 호박 4, 멜론 2)	
3. 학술성과 등.....	138
1) SCI 논문 15편	
2) 비SCI 논문 2편	
3) 학술발표 31건	
4) 인력양성 13건	
5) 홍보전시 5건	

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>□연구개발 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 박과작물(오이, 호박) 첨단 분자유종 시스템 개발을 통한 품종 육성 기간 단축             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 4대 박과작물(오이, 호박, 멜론, 참외) 품종자원 특성 DB 구축</li> <li>- 박과작물 병리검정 시스템 구축(5종) 및 내병성 분자마커 개발(5종)</li> <li>- 분자 육종 시스템 현장 적용을 통한 품종보호 출원(10종) 및 등록(2종) 실시</li> </ul> </li> </ul> <p>□연구개발 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 박과작물(오이, 호박, 멜론, 참외) 육종지원 DB 구축             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 육종 계통 대상의 덩굴쪓김병, 흰가루병, 노균병, CMV, CGMMV 특성 평가 및 DB구축</li> <li>- 주요 내병성 육종 계통(오이, 멜론, 호박)에 대한 유전체 분석 및 DB 구축</li> <li>- 주요 내병성 육종 계통(오이, 멜론, 호박)에 대한 분자마커 DB 구축</li> </ul> </li> <li>○ 분자 병리검정 시스템 확립(덩굴쪓김병, 흰가루병, 노균병, CMV, CGMMV)             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 유묘 실내 검정 시스템 구축</li> <li>- 병원체 감염에 대한 양적 판별 기술 개발</li> <li>- 포장 병리검정 시스템 (덩굴쪓김병, 흰가루병, 노균병, CMV, CGMMV) 구축</li> </ul> </li> <li>○ 내병성 연관 분자마커 개발             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 오이 대상의 흰가루병, 노균병, CMV 저항성 분자마커 개발</li> <li>- 호박 대상의 흰가루병, 덩굴쪓김병 저항성 분자마커 개발</li> <li>- 멜론 대상의 CMV, CGMMV 저항성 분자마커 개발</li> </ul> </li> <li>○ 품종 육성             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 분자마커/병리 검정을 이용한 세대 단축 및 선발압 증가를 통한 우수 계통 육성</li> <li>- 농가 조합 검정을 통한 품종 보호 출원</li> </ul> </li> </ul>
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 박과작물 통합 육종지원 시스템 구축             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 병리검정 시스템 (5종 병원체 대상의 유묘 검정/ 포장 검정)</li> <li>- 유전자원 특성 평가 DB</li> <li>- 유전체 DB</li> <li>- 분자마커 DB</li> <li>- 병 저항성 분자마커 5종 개발</li> </ul> </li> <li>○ 박과작물 통합 육종지원 시스템 현장 적용             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 박과작물 육종 기간 단축</li> <li>- 내병성, 고품질 품종 시장 출시</li> <li>- 품종보호 출원 9종(오이3, 호박 4, 멜론 2)</li> </ul> </li> <li>○ 학술성과             <ul style="list-style-type: none"> <li>- SCI 논문 15편</li> <li>- 비SCI 논문 2편</li> <li>- 학술발표 31건</li> <li>- 인력양성 13건</li> <li>- 홍보전시 5건</li> </ul> </li> </ul>

<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 분자마커이용선발(MAS: Marker Assisted Selection) 시스템을 구축하여 병저항성선발 효율 향상 및 비용절감을 통한 복합 병저항성 품종 육성이 가능함</li> <li>○ 효율적인 병저항성 관련 분자표지 마커 개발을 통해서 기존의 고비용 포장병리 검정을 대체하고 품질이 안정된 우량종자를 보급할 수 있는 기반을 마련될 것임</li> <li>○ 본 연구가 성공적으로 수행되면 다수의 우수 육성재료의 확보가 가능하여 금후의 품종 육성에 크게 기여할 것임</li> <li>○ 내병성 품종 개발에 의한 효율적 방제(저 농약)와 친환경 박과작물 생산으로 병 방제에 의한 환경오염을 최소화하고 농가 경영비용을 최소화 함</li> <li>○ 국내 기상환경과 재배 작형에 맞는 품종 개발로 재배 안정성을 확보함으로써, 수입종자를 국내 개발 종자로 대체하는 효과가 발생</li> <li>○ 효율적인 품종 개발을 통한 저렴한 종자보급으로 인해 국내 박과작물 재배 농가의 종자 구입비용 절감</li> <li>○ 품종육성 기간의 단축 및 비용의 절감으로 인한 종자 업체 수출 경쟁력 제고</li> </ul>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>병저항성</p>	<p>분자유종</p>	<p>분자마커</p>	<p>박과</p>	<p>병리검정</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>disease-resistance</p>	<p>molecular breeding</p>	<p>molecular marker</p>	<p>cucurbitaceae</p>	<p>disease evaluation</p>

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	7
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	22
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	142
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	158
붙임. 참고 문헌 .....	161

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목표

### 가. 최종목표

산업체의 품종육성기간 단축을 위해 박과작물 첨단 분자유종 시스템 구축 및 현장 지원 시스템 구축

### 나. 세부목표

- 1) 박과작물(오이, 호박, 멜론, 참외) 자원 특성 DB 구축
- 2) 박과작물 주요 병에 대한 병리검정 시스템 4종 구축
- 3) 박과작물 내병성 연관 분자마커 5종 개발 및 MAS 시스템 구축
- 4) 분자 육종 시스템 현장 적용을 통한 품종보호 출원(10종) 및 등록(2종) 실시

### 다. 기관별, 연차별 세부목표

#### 1) 세종대학교

- 박과작물 주요 병에 대한 병리검정 시스템 구축
  - 노균병/흰가루병/덩굴썩음병 저항성 검정 균주 확보
  - 오이에서 노균병 유묘검정 시스템 확립
  - 오이에서 흰가루병 유묘검정 시스템 확립
  - 오이에서 덩굴썩음병 유묘검정 시스템 확립
- 박과작물 내병성 연관 분자마커 개발 및 MAS 시스템 구축
  - <1차년도>
    - 오이 노균병/흰가루병/CMV 매핑용 집단 육성
    - 호박 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발용 매핑 집단 육성
    - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발용 매핑 집단 육성
    - R gene 기반의 내병성 분자마커 개발
  - <2차년도>
    - 오이 노균병/흰가루병/CMV QTL 매핑
    - 오이 CMV GWAS 분석
    - 호박 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발용 매핑 집단 육성
    - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발용 매핑 집단 육성
    - R gene 기반의 내병성 분자마커 개발
  - <3차년도>
    - 오이 노균병/흰가루병/CMV 저항성 locus 발굴
    - 호박 흰가루병 저항성 QTL mapping
    - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 QTL mapping
    - R gene 기반의 내병성 분자마커 개발
  - <4차년도>
    - 오이 노균병/흰가루병/CMV 저항성 연관 분자마커 개발
    - 호박흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발
    - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발



- R gene 기반의 내병성 분자마커 개발

2) 제 1 협동연구기관: (주)농우바이오 - 분자마커를 활용한 CMV/CGMMV 저항성 품종 육성

- CMV 및 CGMMV 저항성 유전자원 확보 및 병원균 분리 동정
- 유묘 검정 시스템 확립 및 내병성 분자마커를 이용한 계통 선발
- 유묘 검정 및 내병성 분자마커를 이용한 계통 선발
- 선발 개체에 대한 포장 병리검정 시스템 구축
- 내병성 분자마커를 이용한 품종 육성

3) 제 2 협동연구기관: 농업회사법인 아시아종묘(주) - 분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 호박 품종 육성

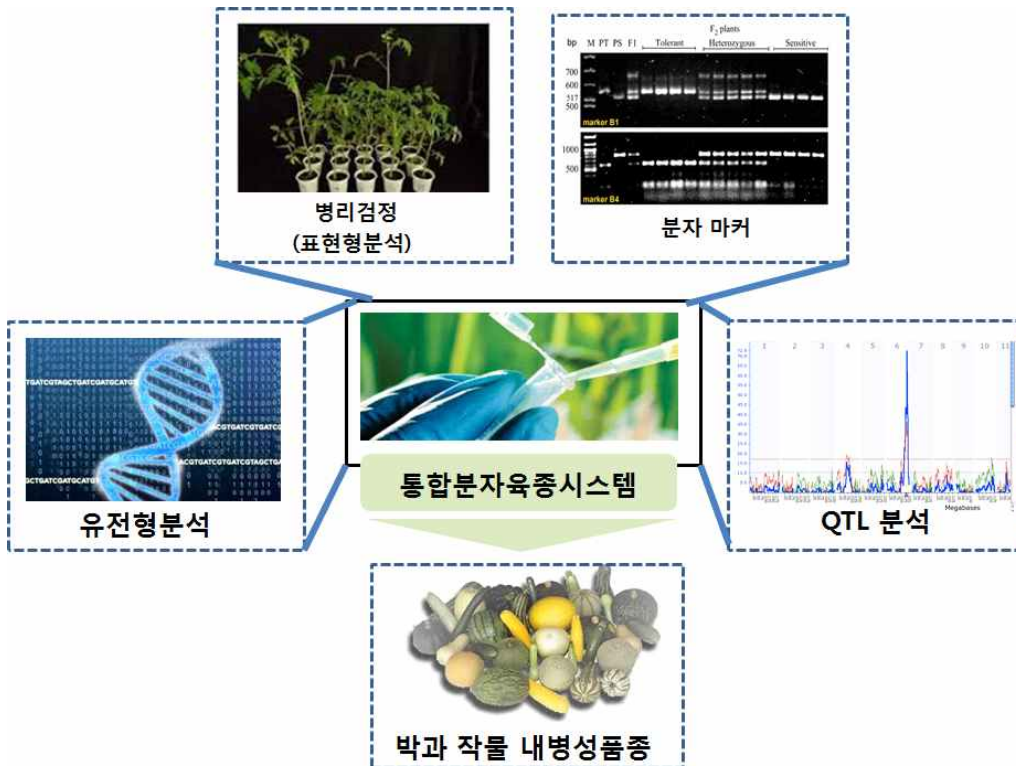
- 호박 유전자원의 수집 및 특성조사
- 호박 유전자원의 수집 및 특성조사
- 내병성 계통의 선발 과 유전자원 및 품종등록
- 분자마커를 이용한 우수한 형질의 흰가루 내병성 품종육성

## 1-2. 연구개발의 필요성

### 가. 연구개발 개요:

효율적인 내병성 박과작물(오이, 호박, 멜론) 품종 육성을 위한 기반 기술을 개발하고자 함. 특히 유전체 분석, 병리검정, QTL mapping, 분자마커 관련 기술을 통합적으로 연계한 통합 육종 시스템을 개발함과 동시에 육종 현장에 직접 적용시켜서 박과작물 품종 육성 기간을 단축시키고자함.

<통합 육종 시스템 개념도>



### 나. 핵심기술:

#### 1) 병리 검정 기술 :

본 과제에서 목표로 하는 5대 병들은 박과작물 생산성을 심각하게 위협하는 박과작물 주요병임. 이들 병들에 대한 병리검정 시스템이 미흡한 상황이고, 특히 육종회사 자체적의 병리검정이 미흡한 수준임. 따라서 본 과제에서는 유묘 상태에서의 실내검정 시스템과 포장 병리검정 시스템을 동시에 개발하여 유묘 상태에 검정을 실시해서 저항성 개체를 선발 한 후에 후기에 다시 포장 병리 검정을 실시해서 최종적으로 저항성 개체를 선발하는 전략을 추진함

#### 2) 유전체 기반 분자마커 개발 :

전통적인 내병성 분자마커 개발 법은 매핑 집단육성, 다형성 마커 분석, 다형성 마커를 매핑 집단에 적용한 후 연계 되는 연관 지도 분석을 통한 내병성 연관 영역을 통해 분자마커를 확보하게 됨. 따라서 통상적으로 5년 이상의 긴 연구 기간이 필요한 작업임. 하지만 본 연구팀은 선행 연구 결과를 충분히 활용하여 조기에(2~3년) 내병성 마커를 개발하고, NGS (유전체 서열 분석)를 적용한 다양한 첨단 분자마커 개발 기술(GBS, SNP-seq, GWAS 등) 등을 병합 적용하여 분자마커 개발에 걸리는 시간을 최대한 단축시키고자 함

#### 3) 범용 분자마커/적용 기술 :

분자마커는 개발에 사용된 유전자원과 유전형이 달라지면 다양한 육종 현장에서의 범용적인

적용이 불가능한 단점이 존재함. 따라서 본 과제에서는 국내 박과작물 육종에 범용적인 적용이 가능하도록 개발 초기부터 국내 육종현장에서 범용으로 사용되는 육종 계통을 활용하여 현장 적용성이 높은 분자마커를 개발하는 전략을 추진함

#### 4) QTL 분석 기술 :

본 과제가 목표로 하는 병에 대한 저항성 기작은 모두 QTL(두 개 이상의 저항성 유전자에 의해 저항성 유도)로 알려져 있음. QTL mapping은 단일 유전자 mapping 보다는 훨씬 시간이 오래 걸리고, 고도의 기술이 필요함. 특히 본 과제에서 목표로 하는 5대 병원체는 안정적인 병검정 시스템이 미비하므로, 내병성 마커 개발에 장시간의 시간과 기술적인 난이도가 높은 상황임. 따라서 본 연구팀은 GWAS 나 SNP\_seq 기법 들을 적용하여 내병성 연관 locus를 조기에 선별한 후에 이들 영역에 대한 재조합 개체를 선별함. 이들 개체를 이용하여 여교배(backcross) 매핑 집단을 만들어서 고밀도 QTL 매핑을 실시해서 병저항성 후보 유전자를 선별함. 즉 병저항성 후보 유전자를 선별할 정도의 고밀도 QTL map 작성이 가능한 다양한 유전체 활용 매핑 기술을 개발 적용하는 것이 핵심 전략임

### 1-3. 연구개발 대상의 국내·외 현황

#### 가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

##### 1) 기술수준 현황

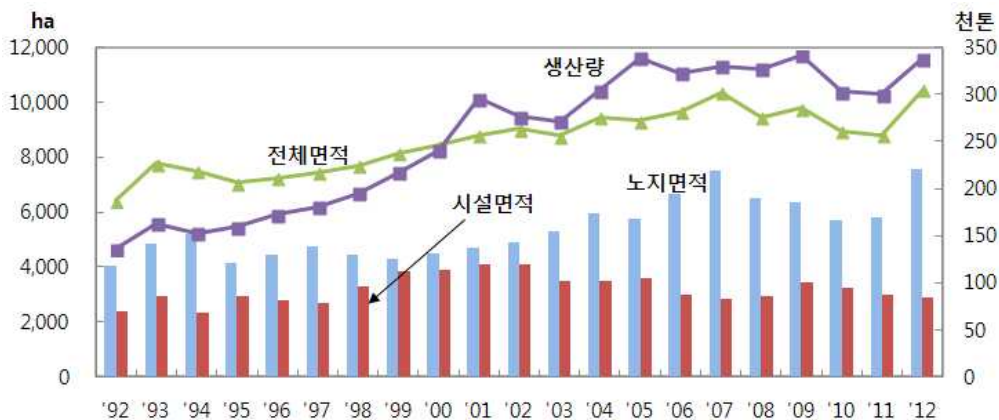
- 수박이 GSP 연구 품목으로 선정되어서 육종 기술 개발 작업이 진행 중임.
- 바이오그린 사업에서 참외 작물을 대상으로 유전체 분석 작업과 육종 기술 개발 연구가 진행 중임
  - 2016년 국내 참외 재래종과 육종계통의 NGS-기반 transcriptome 분석이 수행됨.
- 하지만 수박, 참외를 제외한 오이, 멜론, 호박에 대한 체계적인 연구지원은 미비한 수준이고, 개별적인 연구가 일부 진행 중임
  - 오이 : 세종대, 동부한농 연구팀을 중심으로 내병성 분자마커 개발 작업이 진행되었거나, 진행 중임
  - 수박 : 중앙대, 부산대 연구팀을 중심으로 분자마커 개발 작업이 진행 중임
  - 채소 작물 전반적으로 육종회사는 품종 육성에만 치중하고, 관련된 분자마커 개발은 대학교 연구팀을 중심으로 협업 관계가 이루어지는 방식으로 연구가 진행됨. 따라서 박과 작물에 대한 연구 지원 부족으로 다양한 분자유종학적인 기술 지원 없이 전통적인 방식으로 육종이 이루어지는 관계로 국외적인 경쟁력이 부족한 상황임.
- “내병성 작물육종을 위한 병리검정 지원” 이라는 과제 수행을 통해서 아래의 병리 검정 기술 개발이 이루어졌다고 보고되어 있음. 하지만 관련 기술들이 개별 육종 회사에 까지 공급되지 못한 상황이고, 육종회사들이 분석하고자 하는 샘플을 과제 수행기관에 의뢰해서 결과를 통보받는 식으로 병리 검정이 진행 중임. 따라서 육종회사가 원하는 수준의 병리 검정을 지원하는 것이 비용, 기간, 인력 등의 문제로 인해 요원한 상황이므로 실제 육종회사가 내병성 박과 작물 육종을 진행하기 위해서는 회사 자체에 in-house 되는 기술 개발을 목표로 할 필요가 있음.
  - 오이/멜론/호박: 흰가루병 in vivo screening
  - 오이/수박/멜론: 탄저병 in vivo screening
  - 오이/멜론: 덩굴쪼김병 in vivo screening
  - 오이: CMV in vivo screening

- 박과 작물: SqMV, CGMMV, WMV2, ZYMV in vivo screening
- 오이/멜론/수박: 흰가루병, 뿌리혹 선충병 포장 검정
- 가지과 바이러스병(PVX, PVY, TSWV, PepMoV, TMGMV, TMV, CGM-P0, CMV-P1) 포장 검정
- 단호박의 경우 알려진 분자마커는 거의 없고 특히 실용적인 특성과 연관된 분자마커는 전혀 개발되어 있지 않음. 작물 특성상 재배기간이 길고 재배면적이 많이 소요되어 기존의 연구자들로부터 소외당한 작물인데 이는 반대로 분자마커, 유전자 지도 등을 활용한 신속하고 효율적인 육종체계가 확립되면 그 활용도는 매우 크다고 할 수 있음.
- 흰가루병은 국내의 단호박 재배가 노지위주에서 시설재배위주로 급격히 변화하는 과정에서 고온 및 건조 환경에서 재배가 이루어지므로 점차 확산되고 있는 추세이나 관련연구는 대부분 방제방법에 집중되고 있음.
- 단호박의 흰가루병은 주로 예방차원에서 방제가 이루어지지만, 한번 발병하면 확산을 막기가 매우 어려워 수량과 품질의 저하를 초래하고 심지어는 폐농하기도 하는 등의 이유로 매우 중요한 병으로 인식되고 있으나 아직까지 내병성 품종이 개발되지는 못하고 있음.
- 병 저항성을 가진 유전자원을 가지고 있는 곳이 거의 없는 실정임.
- 일부 국내의 종자 회사에서 병 저항성 품종육성을 위해 스크리닝을 하고 있음
- 박과 작물은 종류가 다양하여 한 작물에 대해 여러 가지의 병 저항성 스크리닝이 어려움.
- 국책연구기관 및 대학교에서 연구가 활발히 진행되고 있으나 종자회사와의 연대가 잘 이루어지지 않음.
- 병 저항성 스크리닝 방법도 제각각이어서 표준화가 필요한 실정임.
- 분자마커를 이용한 내병성 품종의 육성은 극소수의 종자회사만이 하고 있음.
- 개발된 분자마커를 활용할 인력 및 장비를 보유한 회사가 적음.
- 멜론에 병을 일으키는 바이러스에 저항성을 가진 유전자원을 가지고 있는 곳이 거의 없는 실정임.
- 일부 국내의 종자 회사에서 병 저항성 품종육성을 위해 스크리닝을 하고 있지만 박과 작물은 종류가 다양하여 병 저항성 스크리닝이 어려움.

## 2) 시장 현황

- 국내 오이 생산량은 2000년에 약 45만톤(재배면적 7,269 ha)이었으나 이후 2013년까지 지속적으로 감소하다가 2014년부터 증가하고 있는 추세임. 2014년도에 4,143 ha 재배면적에서 27만 톤 이상이 생산되었음
- 최근 5년간 도매시장(가락시장)의 오이 반입량은 10만 톤 수준을 유지하고 있는데 백다다기 오이가 전체의 80%를 차지하며, 취청오이는 지속적인 재배면적 감소로 반입비중이 줄고 있음.
- 2000년도 9.5kg에 달하였던 오이의 1인당 연간 소비량은 2015년도에 5.3kg으로 감소함.
- 오이의 수입은 2010년 2만 톤까지 증가하였으나 이후 증감을 반복하고 있으며 중국과 미국이 주요 수입국임. 최근에는 베트남에서의 수입이 증가하고 있음.
- 2015년 오이 종자의 국내 총 매출액은 66억 이상으로 2014년에 비해 10% 증가함.
- 호박의 경우, 2003년부터 수요 증대로 재배면적이 2007년까지 지속적으로 증가하였다가 이후 증감을 거듭함. 2014년 재배면적은 9,659 ha로 2003년에 비해 약 10% 증가함.
- 호박의 생산량은 2000년 24만 톤에서 2014년 34만 톤 이상으로 약 44% 증가하였음.
- 호박 노지재배면적은 2000년에 4,516 ha로 시설재배면적과 크게 차이가 나지 않았으나 단호박 수요 확대로 2014년에 6,504 ha까지 증가하여 시설재배면적 3,155 ha보다 2배 이상 높음.

- 호박 노지면적은 강원·충청지역을 중심으로 증가하고 있는 추세이며 시설면적은 시설단지화가 되어 있는 일부 지역에서는 재배규모가 확대되나 총 시설면적은 지속적으로 감소하고 있는 추세임.
- 단호박 재배면적은 최근 지속적으로 증가하고 있는 추세이다. 2005년 재배면적은 621 ha이며 2011년은 전년보다 7% 증가한 1,894 ha임.
- 호박의 수출입은 단호박 위주로 이루어지고 있으며 2012년 단호박 수출량은 전년보다 크게 증가한 1,211톤이다. 주로 일본으로 수출되며 미니단호박 등 품종이 개량된 단호박을 중심으로 수출이 증가하고 있음.
- 단호박의 수출량은 증가세에 있는데 2015년 2,130톤으로 평년보다 2배 이상 신장하였음. 하지만 수입이 수출보다 11배 이상 높은 무역수지 적자 구조임.
- 국내 호박 종자시장은 2015년에 94억 규모로 2014년에 비해 약 24% 증가하였음.
- 참외의 재배면적과 생산량은 지속적으로 감소하는 추세인데 재배면적은 2000년 10,203 ha에서 2014년 5,485ha, 생산량은 33만 톤에서 최근 17~18만 톤으로 크게 감소함.
- 소비자들이 선호하는 참외는 향기와 색깔이 선명한 중과로 이러한 품종을 육성하는 것이 요구됨.
- 참외 종자시장은 최근 5년간 증감을 거듭하고 있는데 2015년에는 약 48억 규모로 2014년 56억에 비해 감소함.
- 오이, 수박, 참외 등 박과작물의 1인당 연간소비량은 2000년 이후 감소하는 추세인 반면 호박은 증가하고 있음.



호박 재배면적과 생산량 (자료: 통계청).

- 멜론은 세계종자시장에서 박과작물 중 오이 다음으로 큰 비중을 차지하고 있으며, 국내 멜론 종자시장의 규모는 약 38억 원으로 연평균 7.7% 성장하고 있다(2010년 기준). 또한 국민의 생활수준 향상이 소비증가와 가격상승으로 이어지면서 국내 멜론은 2014년에 1,470ha, 생산량 4.6만 톤, 생산액 386억 원으로 2000년 대비 재배면적 2.6배, 생산량 2.5배 증가하였다. 더욱이 멜론은 일본, 대만 등으로 수출하고 있으며 물량은 2010년 기준 2,028톤으로 파프리카, 딸기, 토마토등과 함께 원예작물 중 4대 수출 작목으로 그 중요성이 점차 증가하고 있다.
- 멜론은 재배기간이 짧아 남부 시설재배 지역에서는 3작기 이상의 연중생산이 가능하고, 수박이나 참외보다 노동력이 적게 들며, 고온기에도 재배가 가능하여 딸기 후작으로 재배되는 등 틈새작목으로 주목받고 있다. 그러나 멜론 주산지에서는 연작장해, 각종 바이러스와 진균병 등의 피해가 확산됨에 따라 저 품질 멜론이 출하되어 품질에 대한 소비자의 불신을 초래하였다. 따라서 친환경 안정생산을 위한 병저항성 품종육성이 요구되고 있다. (자료 :

## 나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

### 1) 기술수준 현황

- 주요 박과작물에 대한 유전체 정보가 공개되어 있음.
  - 오이(2009년), 멜론(2012년), 수박(2013년), 호박(2016년) 표준유전체 해독
- 수집된 유전자원 대상의 다양한 유전체 연구가 진행 중임.
  - 미국 USDA 박과작물 유전자원 수집 현황 (오이 1,314점, 멜론 2,043점, 수박 1,311점, 호박 1,580점)
  - 수집된 자원 대상의 특성 평가 자료를 USDA에서 공개 운영하고 있음
  - 작목별로 1,000~1,500 자원 대상의 유전적 다형성 분석 작업을 Cornell 과 MSU 중심으로 진행 중임
- 오이 주요 형질에 대한 QTL 및 GWAS 연구가 활발히 이루어지고 있으며 2013년에 핵심집단(n=115)의 re-sequencing이 수행되어졌음.
- 미국 CucCAP(유전체 기술을 적용한 박과작물 병저항성 품종 육성) 프로그램이 2016년에 시작함.
  - 수박, 오이, 멜론, 호박 병저항성 품종 육성을 위한 유전체 기술 개발이 목적임
- Mildew Resistance Locus O (MLO)
  - 애기장대, 보리, 토마토에서 MLO gene family가 '흰가루병 감수성'과 관련이 있다는 보고가 있음.
  - '9930' 품종 오이의 전체 유전체 염기서열분석을 통해 오이에는 14개(*CsMLO01*-*CsMLO14*)의 MLO family가 존재하는 것을 확인하였음 (Zhou SJ et, al. 2014).
  - 오이에서 *CsMLO01*이 자연적으로 돌연변이 된 loss-of-function mutant가 발견되었고 이 돌연변이가 흰가루병에 대해서 저항성을 가지는 것을 확인하였음 (Jingtao Nie et, al. 2015).
  - 밀에서 MLO homoeoalleles 세 개를 TALEN과 CAS9으로 knock out시켰을 때 powdery mildew에 저항성을 가지는 밀을 생산하였고 다음세대에서도 광범위한 저항성을 가지는 것을 확인하였음 (Yanpeng Wang et, al. 2014).
- 단호박 분자마커가 개발되어 실용적으로 사용되는 사례는 아직 보고되지 않고 일부 연구자들이 유전자지도작성에 대한 연구를 하고 있으나 체계적이고 지속적인 연구 성과가 도출되고 있지 못하여 국내의 상황과 크게 다르지 않음.
- 흰가루병은 건조한 환경에서 재배하는 경우 많이 발생하고 서양의 경우 *Erysiphe cichoracearum*, 동양에서는 *Sphaerotheca fuliginea*가 주로 주요한 발병원으로 알려져 있으나 다양한 Race 분화, 접종원 보존의 어려움, 접종선발의 어려움 등으로 인해 아직까지 내병성 품종은 보고되어 있지 않음.
- 미국 및 유럽에서는 박과 작물의 병에 대한 연구가 많이 이루어짐.
- 아시아권에서는 인도와 일본에서 많은 연구가 되어 있음.
- 국내와는 다르게 복합내병성을 가진 품종들이 출시되고 있음.
- 병 저항성 유전자원을 많이 보유하여 육종에 많은 도움이 되고 있음.
- 병 관련 분자마커의 개발이 많이 이루어져 있고, 이를 육종 계통 선발이나 품종 육성에 이용하고 있음.

### 2) 시장 현황

- 전 세계 오이 생산량은 2000년 3천8백만 톤에서 2013년 7천1백만 톤으로 크게 증가하였고

아시아가 전체 생산량의 84.3%를 차지함. 세계 1위 생산국인 중국은 2013년에 3천7백만 톤 이상을 생산함.

- 호박은 2000년에 전 세계에서 1천7백만 톤이 생산되었으나 이후 크게 증가하여 2013년에 2천3백만 톤 이상이 생산됨. 전체 생산량 중 아시아가 차지하는 비중은 62.4%이고 중국의 생산량이 가장 많은데 약 6백만 톤을 생산.
- 멜론의 경우, 2000년 이후 꾸준히 증가하여 2013년 전 세계에서 2천9백만 톤이 생산되었고 아시아의 생산량은 전체 생산량의 72%를 차지함. 오이, 호박과 마찬가지로 중국이 1천3백만 톤을 생산하여 세계 1위 생산국임.
- 전 세계 과채류 종자시장 규모는 오이가 3,800억 원, 멜론은 3,300억 원으로 토마토, 양파 다음으로 높은 비중을 차지하고 있음.
- 미국 박과작물( 수박, 멜론, 오이, 호박) 시장은 연간 16억 5천불 (산지 가격 기준) 정도로 추정됨.
- 박과 작물 재배자, 유통업자, 가공업자 등이 공통으로 느끼는 점은 병에 의한 생산량 손실이 크고, 병저항성 품종 육성이 가장 시급히 추진되어야 할 사항임.
  - 병 발생이 생산량과 품질에 큰 영향을 미침
  - 병해충 방제를 위한 노동력 및 비용이 많이 듦
  - 농약 살포에 따른 환경 유해성이 늘어남
  - 포장이나 유통 과정에서의 병 발생에 의한 손실이 발생함
- 멜론의 주요 생산국은 중국, 이란, 터키, 스페인, 미국, 멕시코 등으로 그 중 중국, 이란, 터키 3개국이 세계 전체생산의 46%를 차지하고 있다. 중국, 이란, 멕시코 등은 재배면적의 증가와 함께 지속적인 생산량의 증가를 보이고 있으며 반면 미국, 스페인, 루마니아는 감소추세임.
- 일본은 농가의 고령화에 의한 노동력 부족과 유가 상승으로 인한 재배 축소 및 작목전환의 영향으로 재배면적과 생산량이 지속적으로 감소하고 있다. 2006년 재배 면적과 생산량은 각각 9,830ha, 261.6천 톤으로 6년 전에 비하여 각각 29%와 32% 감소하였다. 앞으로 생산량은 조금씩 감소하고, 수입은 다소 증가될 전망이다.
- 미국은 멜론 재배면적이 4.5~5만ha이고 생산량은 120만 톤 내외이다. 전체의 약 80%가 캔탈로프 멜론이며 20%가 허니듀 멜론이다. 최대 산지는 캘리포니아(전체의 60%)이며, 아리조나(26%), 텍사스(5%) 순으로 재배되고 있음.
- 중국은 재배면적이 '05년 현재 약 339천 ha이고 생산량은 8,826천 톤이다. 재배지역은 크게 화북, 동북, 화동, 화중, 화남, 서남, 서북 등 7개 지역으로 구분되며, 그 중 동북지역의 흑룡강과 길림, 화동지역의 산둥, 화중지역의 하남, 서북지역의 신강 등이 최대 산지이며 이 5개 지역의 재배면적이 전국의 약 53%를 차지한다. 서북부에 위치한 신강지방에서 생산되는 멜론이 가장 유명하며, 주로 건조한 모래땅에서 생산되며 육질이 단단하고 당도가 높아 홍콩으로 수출된다. 중국의 멜론은 껍질이 얇으며 가격이 비싼 편이다. 반면 두꺼운 멜론은 장거리 수송에 적합하고 과일이 크다. 얇은 멜론은 주로 동부지역에서 생산되는 여름철 대표적 과실이며 재배면적의 대부분을 차지함. (자료 : 농진청)

#### 1-4. 연구개발의 중요성

- 글로벌 브랜드 수준의 박과작물 품종 개발은 한정된 내수시장에서 탈피하여 거대 해외시장인 중국, 인도 등 새로운 시장을 개척하여 국내 종자산업의 활성화에 기여하고 궁극적으로

종자산업 전반에 걸친 국가 경쟁력이 향상됨.

- 매년 8~10% 씩 성장하고 있는 종자시장 규모와 식량 자원 소비 측면에서 병해충으로 인한 생산량 감축은 채소시장 뿐만 아니라 시장 경제 규모에 큰 걸림돌로 작용하고 있음.
- 오이, 호박, 멜론(참외)는 한국인이 즐겨 찾는 박과작물로 많은 종묘회사들이 우수한 품종을 개발하기 위해서 많은 인력 및 자본을 투입하고 있음. 그러나 현재까지 품종육성은 대부분 과실의 형태나 수확량의 증대에 중점을 두고 있으며 일부 종자회사에서 병저항성 품종이 개발되어 판매가 되고 있으나, 복합내병성을 가진 품종 개발이 요구됨.
- 복합내병성 품종의 육성은 최근 잦아진 이상기온, 집중호우 등 기상변화에 따른 박과작물 병 발생에 대응하고 농약의 사용량 감소를 유도해 친환경 농업 기반을 확립할 수 있고 또한 생산성 향상 및 생산비 절감효과를 가져옴.
- 곰팡이에 의한 흰가루병(powdery mildew), 노균병(downy mildew), 덩굴쪄김병(Fusarium wilt) 과 바이러스에 의한 cucumber mosaic virus(CMV) 및 cucumber green mottle mosaic virus(CGMMV) 병은 오이, 호박, 멜론에서 발생하여 많은 피해를 주고 있어 이에 대한 효과적인 방제가 필요함.
- 흰가루병과 노균병은 노지 재배는 물론 시설 재배에서도 발병하는데 그 증상으로 초세가 약해지고, 과실의 착생과 비대가 불량해져 수확량 감소를 가져와 재배농가에 많은 피해를 줌.
- 흰가루병의 병반 면적율이 20%일 때 경제적 손실이 시작되고 병반 면적율이 50%이상일 때 수량이 35% 감소됨. 특히 시설 재배의 경우 고온 다습 후 건조 등이 병원균의 생리생태에 적합하여 방제를 소홀히 할 경우 수확을 하지 못할 정도로 피해가 큼.
- 덩굴쪄김병(Fusarium wilt)은 고온다습한 조건에서 발생하는데 유포기에 잘록증상으로 나타나며, 생육기에는 식물체 전체가 시들음 증상을 나타내는데 증상을 보인 지 3~5일이 지나면 회복이 어렵고 식물체가 죽음.
- 유기합성 농약의 다량 사용에 의한 농업 생태계의 오염과 친환경 농업에 관한 사회적 관심의 증가로 인해 잔류 농약에 의한 피해가 우려되고 있음. 따라서 친환경 병방제를 위해 저항성 품종의 개발이 필수적임.
- 내병성 육종에서 병리검정이 차지하는 비중이 큼. 특히 박과작물에서 문제가 되고 있는 덩굴쪄김병, 흰가루병, 노균병 등 주요 병에 대한 효율적인 병리검정 시스템이 아직 부족하여 비용이 적게 들고, 검정 방법이 용이하고, 안정적으로 병 발생 저항성 유무를 검증할 시스템 구축이 필수적임.
- 박과작물의 경우 농가에서는 시설 재배를 하지만 덩굴로 크게 자라는 특성상 포장검정에는 많은 노동력과 시간이 소요됨.
- 포장저항성 검정의 경우 많은 시간과 공간이 요구되는 문제점으로 대량의 품종을 검정하는데 그 실효성이 낮음
- 특히 일 년에 수행할 수 있는 포장검정의 횟수는 극히 제한적인데 이는 후기세대에 대한 단순한 이병판별에는 큰 문제가 없으나 초기 세대의 검정과 선발을 통한 계통 육성에는 많은 어려움이 있음
- 저항성 검정에는 적합한 표준 균주를 선발하고 검정에 적합한 접종 농도, 생육 시기, 생육 조건 등을 조절해야 하는 어려움이 있으나 포장 검정에서는 이런 부분들이 효율적으로 관리되기 어려운 실정
- 일부 유포 검정에서 사용되고 있는 토양관주법이나 뿌리 침지법은 자연 포장에서 발병하는 방식과 가장 유사하기는 하나 발병의 균일성이 낮아 표준편차가 크게 발생하는 등의 단점



- 이 있어 개발된 유묘검정법이라고 하더라도 간단하고 효율적인 접종 방법을 이용한 대량 유묘 검정 방법의 확립을 위한 많은 보완 연구가 필요한 것이 사실임
- 특히 활물기생을 하는 일부 병원균 (본 과제의 노균병과 흰가루병)의 경우 효율적인 병원균의 접종 및 유지 등이 어렵고 복합감염이나 레이스의 변이등을 통한 검정결과의 제현성에도 문제가 발생할 수 있음.
  - 육종 라인 선발들의 연구에서는 기내에서 환경의 영향을 받지 않고 비교적 단시간 내에 해당병에 대한 저항성을 검정할 수 있는 방법을 개발하는 것이 필요.
  - 효율적인 병리검정 시스템 구축은 병저항성 자원 선발을 용이하게 하여 육종가가 사용할 자원의 pool을 넓혀주는 효과를 기대할 수 있음.
  - Marker-assisted selection (MAS)기술은 목표형질을 DNA 유전자형을 기반으로 선발함으로써 전통육종의 단점을 보완하고 우량개체의 선발효율을 극대화시킴과 동시에 육종연한과 투자비용을 현저히 감소시키므로 종자산업계에서 상위 경쟁력 확보를 위해서는 필수적인 기술로 인식되고 있음.
  - 여교잡 육종 시 분자마커를 이용한 background selection 또한 여교잡 세대별 반복친 계능의 회복율이 높은 개체를 유묘기에 효율적으로 선발함으로써 세대단축뿐 아니라 노동력, 공간 등을 크게 절감할 수 있음.
  - 이러한 분자표지 육종의 중요성과 필요성에 대한 인식이 날로 증가하고 있으며, 몬산토, 신젠텐과 같은 거대 다국적 기업 및 국내 선도기업들은 많은 R&D 예산을 분자표지 개발에 투자하고 있음.
  - 신품종의 life-cycle이 과거 10년에서 3~4년으로 크게 짧아짐에 따라 다국적기업을 중심으로 육종의 효율성을 높이고 품종개발 소요기간을 단축하기 위한 분자마커개발, 유전자지도 작성 등에 대한 투자를 시작하였지만, 타 작물에 비해 매우 뒤쳐진 상황임.
  - 분자마커를 이용한 육성기술은 현재 시도단계에 있으나 육성의 효율성, 비용 등을 감안한다면 시급히 정착시켜야 기술로 생각됨.
  - 유전자 변형 작물에 대한 농가 및 소비자의 불신이 점차 확대 되어가고 있는 상황에서 항생제 마커가 없는 유전자 조작기술인 CRISPR/CAS9 system은 이러한 불신 해소와 안정적인 품종개발에 효과적인 방법임.
  - Mildew resistance locus o (MLO) gene family가 흰가루병 감수성과 관련이 있다는 보고가 있고 오이의 전체 유전체 염기서열분석을 통해 오이에는 14개(*CsMLO1*-*CsMLO14*)의 MLO family가 존재하는 것을 확인하였음. *CsMLO1* 유전자가 mutation된 돌연변이 오이는 흰가루병에 대해 저항성을 보임. 따라서 CRISPR/CAS9 sgRNA system을 이용한 MLO gene family의 변이 개체는 흰가루병에 저항성을 가질 것으로 기대됨.
  - *EDR1* 유전자 (AT1G08720)는 식물 호르몬인 salicylic acid pathway에 negative regulator로 작용하는데 애기장대 knock-out mutant는 흰가루병에 야생형에 비해 강한 저항성을 보임. 또한, EDR1은 R gene인 *RPW8*의 발현을 negative하게 조절함.
  - *RPW8*은 흰가루병 뿐만 아니라 노균병, CMV (cucumber mosaic virus) 저항성에도 관여함. 따라서 오이의 *EDR1* 유전자를 knock-out 시켜 흰가루병, 노균병, CMV의 저항성 개체를 개발할 수 있을 것으로 기대됨.
  - 파이토알렉신 (phytoalexins)은 식물이 공격을 당할 때 생성되는 항균성 화합물로 병원균의 침입을 억제하는 것으로 알려져 있음. 애기장대 *WRKY18*, *WRKY40* 유전자 double knock-out mutant는 파이토알렉신인 camalexin와 indole-glucosinolate 4MI3G의 함량이 야생형에 비해 높게 형성되어 흰가루병에 저항성을 보임.

## 1-5. 연구개발 범위

### 가. 박과작물 주요 병에 대한 병리검정 시스템 구축

#### 1) 1차년도

- 오이에서 발생하는 흰가루병은 우리나라의 경우 진균 *Podosphaera xanthii*가 가장 흔하게 발병
- 노균병의 경우 진균인 *Pseudoperonospora cubensis*에 의해서 발병
- 덩굴쪄김병은 진균류인 *Fusarium oxysporum*에 의해서 전 세계적으로 발병
- 포장에서 발병한 오이 흰가루병 균주 (*P. xanthii*)와 노균병 균주 (*P. cubensis*), 덩굴쪄김병 균주 (*F. oxysporum*)를 확보하여 각각의 gDNA를 분리하고 rDNA-internal transcribe spaces (ITS) 부위의 염기서열을 분석하여 균주 동정 실시
- *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*의 경우 KCTC 생물자원센터에서 검색이 되는 자원은 자원번호 6084와 자원번호 6076으로 모두 분양을 받아 실험 내용에 포함
- 자원번호 6084와 6076 역시 internal transcribe spaces (ITS) 영역을 universal primer를 이용하여 PCR 증폭을 한 후 염기서열 분석을 수행

#### 2) 2차년도

- 유묘 검정에 사용될 오이는 국내 유전자원센터 및 협동과제에서 제공받을 유전자원 및 육종계통을 사용
- 노균병의 발병 시 온도와 습도가 발병 및 확산에 결정적인 역할을 하므로 유묘 검정을 위한 시스템 확립을 위해 최우선 고려
- 노균병 접종 방법과 저항성 판별 기준을 확립하여 재현성 높은 검정 시스템 구축

#### 3) 3차년도

- 국내 유전자원센터 및 협동과제에서 저항성 검정에 사용될 오이 자원 제공
- 오이의 흰가루병의 경우 생육시기나, 재배시기, 재배온도 등에 저항성 이병성이 많은 차이를 보이는 것으로 보고, 따라서 계절별로 온실 조건을 고려하여 저항성 검정을 실시
- 정량적 판별이 가능한 흰가루병 저항성 판별 기준 확립을 통해 효율적인 병리검정 시스템 구축

#### 4) 4차년도

- 국내 유전자원센터 및 협동연구 기관을 통해 저항성 검정에 사용될 오이 자원 확보
- 일부 대목 품종의 경우 높은 덩굴쪄김병 저항성이 보고된바 대조군으로 사용하여 신뢰성 확보
- 덩굴쪄김병 접종원 준비 방법과 접종 포자 농도 결정
- 발병조사 방법을 확립하여 재현성과 신뢰도가 높은 검정 방법 확립

### 나. 박과작물 내병성 연관 분자마커 개발 및 MAS 시스템 구축

#### 1) 1차년도

- 오이 노균병 저항성 분자마커 개발
  - 오이 노균병 저항성 BC2F2 매핑 집단 매핑
  - BC2F2 집단 대상의 SNP\_seq 기반의 QTL mapping 실시
- 오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발
  - 오이 흰가루병 저항성 F2 매핑 집단 육성

- SNP\_seq 기법을 적용한 흰가루병 저항성 QTL mapping 실시
- 흰가루병 이병성 개체와의 back-cross 를 통한 BC1F1 개체 육성
- 오이 CMV 저항성 분자마커 개발
  - 오이 유전자원 대상의 CMV 병 지수 검정
  - 오이 CMV 이병성/저항성 자원 선발 (100 자원 이상) 및 Genotyping By Sequencing(GBS) 분석 실시
- 호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발
  - 호박 흰가루병 저항성 F2, 매핑 집단 육성
- 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발
  - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 F2, 매핑 집단 육성
- 오이, 호박, 멜론의 게놈 데이터베이스에서 병저항성 R gene 수집
  - 박과 R gene 간의 염기서열의 다양성 분석
- 2) 2차년도
  - 오이 노균병 저항성 분자마커 개발
    - BC2F2 집단 기반의 QTL mapping 결과 분석
    - 노균병 저항성 locus identification
    - 노균병 저항성 조절 가능 염색체 위치 규명 (최소화된 영역 규명)
  - 오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발
    - 흰가루병 이병성 개체와의 back-cross 를 통한 BC1F2 집단 육성
    - SNP\_seq 기법을 BC1F2 집단에 적용해서 QTL mapping 실시
    - 흰가루병 이병성 개체와의 back-cross 를 통한 BC2F1 개체 육성
  - 오이 CMV 저항성 분자마커 개발
    - GBS 데이터와 형질 데이터를 연동한 GWAS(genome wide association mapping) 분석 실시
    - CMV 저항성 locus 선발 및 분석
    - 저항성 계통 과 이병성 계통간의 교배를 통한 F1 개체 육성
  - 호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발
    - 호박 흰가루병 저항성 BC 매핑 집단 육성
    - 매핑 집단의 흰가루병 저항성 1차 조사
    - 유전체 분석을 통한 genome-wide SNP 발굴 및 유전자형 분석
  - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발
    - 멜론 CMV/CGMMV BC 매핑 집단 육성
    - 매핑 집단의 CMV/CGMMV 저항성 1차 조사
    - 유전체 분석을 통한 genome-wide SNP 발굴 및 유전자형 분석
  - 오이, 호박, 멜론의 병저항성 R gene 선별 마커 개발
    - 박과의 R gene의 종류를 선별 할 수 있는 분자 마커 제작
    - 박과 저항성과 감수성 집단의 개체간 R gene의 차이 검정
- 3) 3차년도
  - 오이 노균병 저항성 분자마커 개발
    - 노균병 저항성 QTL영역에서의 염기서열 비교 분석 (저항성/이병성 계통 간)
    - 다양한 노균병 저항성/이병성 계통간 최소화된 QTL 영역에서의 다형성 서열 분석
    - 확보된 다형성 서열의 노균병 저항성/이병성 계통으로의 확대 적용
    - 오이 노균병 저항성 후보 유전자 선발 통한 분자마커 개발 및 현장 적용

- 오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발
  - 흰가루병 이병성 개체와의 back-cross 를 통한 BC2F2 집단 육성
  - BC2F2 집단 대상의 SNP\_seq 적용한 QTL mapping 실시
  - 흰가루병 이병성 locus 선발
- 오이 CMV 저항성 분자마커 개발
  - GWAS 분석을 통한 QTL 영역 선발 및 분석
  - QTL 영역 계통별/F1 개체별 genotyping을 통한 저항성/이병성 계통 선발
  - 선발된 계통/F1들 간의 Backcross 실시를 통한 BC1F1 개체 육성
  - BC1F2 집단 육성 및 QTL mapping 실시
- 호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발
  - 매핑 집단의 흰가루병 저항성 2차 조사
  - QTL mapping을 통한 흰가루병 저항성 유전자 발굴
  - Marker-assisted selection(MAS)을 위한 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발
  - 여교배 육종의 background selection을 위한 분자마커 개발
- 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발
  - 매핑 집단의 CMV/CGMMV 저항성 2차 조사
  - QTL mapping을 통한 CMV/CGMMV 저항성 유전자 발굴
  - Marker-assisted selection(MAS)을 위한 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발
  - 여교배 육종의 background selection을 위한 분자마커 개발
- 오이, 호박, 멜론의 병저항성 R gene 기반 분자 마커 개발
  - 박과의 저항성과 이병성 개체간의 R gene의 SNP 이용 분자 마커 제작 및 검정
- 4) 4차년도
  - 오이 노균병 저항성 분자마커 개발
    - 노균병 저항성 QTL영역에서의 염기서열 비교 분석 (저항성/이병성 계통 간)
    - 다양한 노균병 저항성/이병성 계통간 최소화된 QTL 영역에서의 다형성 서열 분석
    - 확보된 다형성 서열의 노균병 저항성/이병성 계통으로의 확대 적용
    - 오이 노균병 저항성 후보 유전자 선발
  - 오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발
    - BC2F2 집단을 활용한 흰가루병 저항성 locus 선발 (최소화된 영역)
    - 흰가루병 저항성 QTL영역에서의 염기서열 비교 분석 (저항성/이병성 계통 간)
    - 오이 흰가루병 저항성 후보 유전자 선발통한 분자마커 개발 및 현장 적용
  - 오이 CMV 저항성 분자마커 개발
    - BC1F2 집단 육성 및 QTL mapping 실시
    - mapping 을 통한 저항성 locus 및 locus 영역 내 염기서열 분석을 통한 다형성 서열 확보
    - 확보된 다형성 서열의 노균병 저항성/이병성 계통으로의 확대 적용
    - 오이 CMV 저항성 후보 유전자 선발을 통한 분자마커 개발 및 현장 적용
  - 호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발
    - 육종계통 및 품종을 대상으로 흰가루병 저항성 연관 분자표지의 현장 적용성 검정
    - 여교배 육종의 background selection을 위한 분자마커 현장 적용성 검정
  - 멜론 CMV/CGMMV 저항성 분자마커 개발
    - 육종계통 및 품종을 대상으로 CMV/CGMMV 저항성 연관 분자표지의 현장 적용성 검정
    - 여교배 육종의 background selection을 위한 분자마커 현장 적용성 검정

○ 오이, 호박, 멜론의 병저항성 R gene 기반 분자 마커 개발

- 오이 노균병, 흰가루병, CMV, CGMMV의 저항성 선발에 R gene 기반 분자 마커 검정

다. 제 1 협동 연구기관: (주)농우바이오 - 분자마커를 활용한 CMV/CGMMV 저항성 품종 육성

1) 1차년도

- CMV 및 CGMMV에 저항성을 가지는 유전자원을 국내(농진청, 농협종묘) 및 국외의 연구기관을 통해 확보함.
- 농가에서 발병하는 CMV와 CGMMV를 지역별 및 시기별로 수집하여 분리 동정을 실시하고, 동정된 바이러스를 ELISA 및 PCR을 이용하여 확인함.
- 확인된 바이러스가 실제로 병원성을 가지는지에 대해 기주식물을 이용하여 발병을 확인함.

2) 2차년도

- 1차년도에 확보한 유전자원의 특성을 평가하여 내병성 유전자원으로 사용 가능한지를 확인함.
- 멜론에 발병하는 CMV 및 CGMMV에 대한 저항성 검정 시스템을 확립.
- 농협종묘가 보유하고 있는 육종 재료와 타 기관에서 분양받은 재료를 이용하여 CMV 및 CGMMV에 저항성을 가지는 계통을 찾기 위하여 유묘 검정 및 분자마커를 이용한 내병성 계통 선발

3) 3차년도

- CMV 및 CGMMV에 저항성을 가지는 재료를 찾기 위하여 유묘 검정을 실시함.
- 개발된 내병성 분자마커를 이용하여 농협종묘가 보유한 계통에 활용이 가능한지를 확인하고, 이를 내병성 육종 재료로 사용함.
- 내병성 연관 분자마커를 육종 계통 선발에 활용하여 MAS(marker-assisted selection)를 적용 가능한지를 검정.
- 유묘 병리검정으로 얻어진 계통에 대해서 포장에서의 병리 검정을 실시함.
- 포장에서 CMV 및 CGMMV에 대한 저항성 검정 시스템을 확립.
- 유묘 병리검정결과와 포장 병리검정결과를 비교하여 상관관계를 분석함.

4) 4차년도

- 분자마커로 선발한 개체에 대한 실제적인 병 검정을 통해서 분자마커와 실제 발병과의 상관관계를 분석함.
- 내병성 분자마커를 이용하여 선발된 계통을 이용한 품종 육성.
- 마커를 활용하여 개발된 품종에 대해서 과제 종료 후라도 품종 보호출연 및 품종 등록하여 사업화.

라. 제 2 협동 연구기관: 농업회사법인 아시아종묘(주) - 분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 호박 품종 육성

1) 1차년도

- 기 수집된 호박 유전자원 110계통과 이들을 통한 녹색과피계열 134조합, 과피 적색계열 7조합, 과피 회색계열 48조합의 특성과 내병성과 이병성의 집단을 선발.

2) 2차년도

- 세대 진전을 통한 우수형질의 고정
- 고정계통을 이용한 조합의 작성
- 분자마커를 활용한 계통선발과 포장 병리검정

3) 3차년도

- 조합의 포장 병리 검정을 통한 우수조합(내병성)의 선발
- 흰가루병 저항성 품종의 등록

4) 4차년도

- 분자마커를 활용한 계통선발과 내병성 품종의 육성 등록

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 흰가루병 분자 병리검정 시스템 확립

#### 가. 식물 및 병원균

##### 1) 식물 재료

○ 국내에서 발병하는 흰가루병의 원인균으로 보고된 *Podosphaera xanthii* 의 race 판별을 위하여 NPGS (National Plant Germplasm System)로부터 멜론의 판별 계통 4가지 (Top mark, PMR 45, PMR 6, MR-1) seeds를 분양 받음



그림 1. National Plant Germplasm System (NPGS)

○ *P. xanthii* 의 접종을 위한 식물의 유묘 재배지와 식물의 지속적인 씨앗 확보를 위한 채종지 확보.

- 곤지암 농장: 곤지암에 위치한 세종대 농장에서 분양 받은 race 판별 멜론 계통 4가지를 지속적으로 재배하여 실험을 위한 seed를 확보하였음.
- 세종대 온실과 growth chamber: *P. xanthii* race 판별하기 위한 접종 목적으로 chamber에서 키웠음.



그림 2. 접종 시험을 위한 멜론 (Chamber)



그림 3. 씨앗 확보를 위한 멜론 (곤지암)

##### 2) 병원균 재료

○ 김제, 곤지암, 서울, 밀양, 여주 및 이천 등의 지역에서 흰가루병에 걸린 오이 잎 확보함.

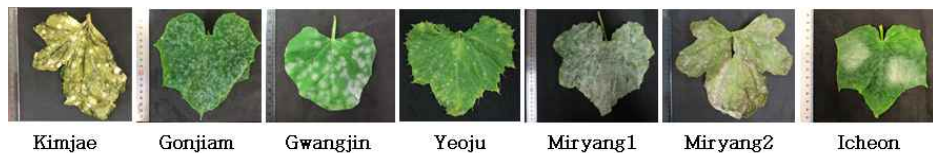
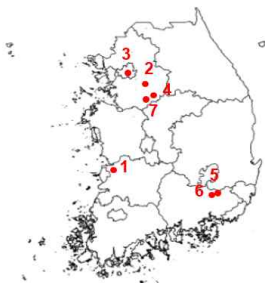


그림 4. 수집한 김제, 곤지암, 서울 광진구, 여주, 밀양 및 이천 지역의 흰가루병 잎 사진

나. 흰가루병원균의 확인

1) 형태학적 관찰

- 광학현미경을 통하여 흰가루병원균의 발아관 형태와 포자의 모양을 확인하여 *P. xanthii* 와 동일한 형태를 가짐을 확인함.

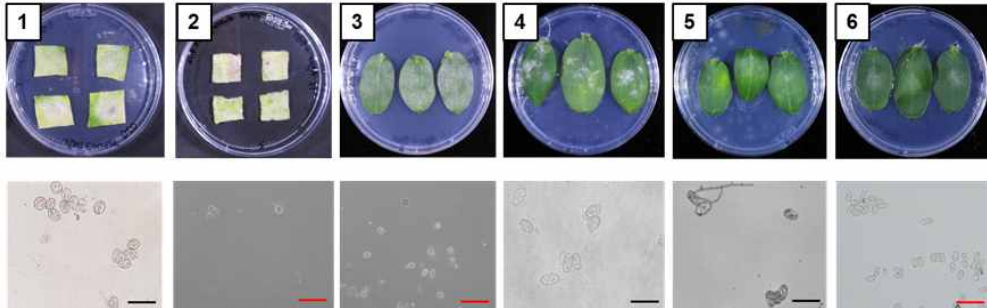


그림 5. 수집한 김제, 곤지암, 서울, 밀양 및 이천 지역의 흰가루병 순수분리와 형태학적 특징

2) 염기 서열 분석

- 염기 서열 분석을 통하여 수집한 흰가루병원균이 *P. xanthii*의 여러 가지 보존된 염기 서열들과 일치하는 것을 확인함.

- 김제, 곤지암, 서울 광진구, 밀양 및 이천 지역에서 수집한 흰가루병원균의 ITS 영역의 서열이 *P. xanthii*의 ITS 영역 (Accession no. KJ698669.1)의 염기 서열과 100% 일치함.
- 서울 광진구와 밀양 지역에서 수집한 흰가루병원균이 *P. xanthii*의 ITS 영역 이외에도 *CSI* (Accession no. KJ698665.1), *EF1* (Accession no. KJ698666.1), 그리고 *mtSSU* (Accession no. KJ698668.1)영역에서 100%로 염기 서열이 일치함.

```

80  G A T A A G T A A T G T G A A T T G C A G A A T T T A G T G A A T C A T C G A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C C C K1170723 ITS
161  G A T A A G T A A T G T G A A T T G C A G A A T T T A G T G A A T C A T C G A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C C C GO170710 ITS
170  G A T A A G T A A T G T G A A T T G C A G A A T T T A G T G A A T C A T C G A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C C C GW180328 ITS
181  G A T A A G T A A T G T G A A T T G C A G A A T T T A G T G A A T C A T C G A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C C C MI180427 ITS
374  G A T A A G T A A T G T G A A T T G C A G A A T T T A G T G A A T C A T C G A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C C C IC190611 ITS
385  G A T A A G T A A T G T G A A T T G C A G A A T T T A G T G A A T C A T C G A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C C C KJ698669.1

145  G G C A T T C C G A G G G C A T G C C T G T T C G A G C G T C A G A A C A C C C C C T C A A G C C T A G C T T G G T C T T G G G G K1170723 ITS
226  G G C A T T C C G A G G G C A T G C C T G T T C G A G C G T C A G A A C A C C C C C T C A A G C C T A G C T T G G T C T T G G G G GO170710 ITS
235  G G C A T T C C G A G G G C A T G C C T G T T C G A G C G T C A G A A C A C C C C C T C A A G C C T A G C T T G G T C T T G G G G GW180328 ITS
246  G G C A T T C C G A G G G C A T G C C T G T T C G A G C G T C A G A A C A C C C C C T C A A G C C T A G C T T G G T C T T G G G G MI180427 ITS
439  G G C A T T C C G A G G G C A T G C C T G T T C G A G C G T C A G A A C A C C C C C T C A A G C C T A G C T T G G T C T T G G G G IC190611 ITS
450  G G C A T T C C G A G G G C A T G C C T G T T C G A G C G T C A G A A C A C C C C C T C A A G C C T A G C T T G G T C T T G G G G KJ698669.1

210  C T C G C C G G C T C G G C G C C C C T A A A C G C A G T G G C G G T G C T G G T G T G C T C T C C G C G T A G T C A T G T A T K1170723 ITS
291  C T C G C C G G C T C G G C G C C C C T A A A C G C A G T G G C G G T G C T G G T G T G C T C T C C G C G T A G T C A T G T A T GO170710 ITS
300  C T C G C C G G C T C G G C G C C C C T A A A C G C A G T G G C G G T G C T G G T G T G C T C T C C G C G T A G T C A T G T A T GW180328 ITS
311  C T C G C C G G C T C G G C G C C C C T A A A C G C A G T G G C G G T G C T G G T G T G C T C T C C G C G T A G T C A T G T A T MI180427 ITS
504  C T C G C C G G C T C G G C G C C C C T A A A C G C A G T G G C G G T G C T G G T G T G C T C T C C G C G T A G T C A T G T A T IC190611 ITS
515  C T C G C C G G C T C G G C G C C C C T A A A C G C A G T G G C G G T G C T G G T G T G C T C T C C G C G T A G T C A T G T A T KJ698669.1

275  C T C G C G A C A G A G T G G C G A C G G C A C C C G C C A G A A C C C C A G T C T T T G G A T G A C C T C G G A T C A G G T A G K1170723 ITS
356  C T C G C G A C A G A G T G G C G A C G G C A C C C G C C A G A A C C C C A G T C T T T G G A T G A C C T C G G A T C A G G T A G GO170710 ITS
365  C T C G C G A C A G A G T G G C G A C G G C A C C C G C C A G A A C C C C A G T C T T T G G A T G A C C T C G G A T C A G G T A G GW180328 ITS
376  C T C G C G A C A G A G T G G C G A C G G C A C C C G C C A G A A C C C C A G T C T T T G G A T G A C C T C G G A T C A G G T A G MI180427 ITS
569  C T C G C G A C A G A G T G G C G A C G G C A C C C G C C A G A A C C C C A G T C T T T G G A T G A C C T C G G A T C A G G T A G IC190611 ITS
580  C T C G C G A C A G A G T G G C G A C G G C A C C C G C C A G A A C C C C A G T C T T T G G A T G A C C T C G G A T C A G G T A G KJ698669.1

340  G G A T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A A G C G G A G G A A A A G A A A C C A A C A G G G A T T A C C T C A G K1170723 ITS
421  G G A T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A A G C G G A G G A A A A G A A A C C A A C A G G G A T T A C C T C A G GO170710 ITS
430  G G A T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A A G C G G A G G A A A A G A A A C C C A A C A G G G A T T A C C T C A G GW180328 ITS
441  G G A T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A A G C G G A G G A A A A G A A A C C C A A C A G G G A T T A C C T C A G MI180427 ITS
634  G G A T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A A G C G G A G G A A A A G A A A C C A A C A G G G A T T A C C T C A G IC190611 ITS
645  G G A T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A A G C G G A G G A A A A G A A A C C A A C A G G G A T T A C C T C A G KJ698669.1
    
```

그림 6. K1170723 isolate, GO170710 isolate, GW180328 isolate, MI180427 isolate와 IC190611 isolate의 ITS 영역을 증폭, *P. xanthii* (Accession no. KJ698669.1)와 염기서열이 100% 일치.



268 326 148	GGTGGGAAAGAACCTACTGAATCCTCTGGTAGCAACCCCAAATTTTGAATATAAAATAGTAACAT GGTGGGAAAGAACCTACTGAATCCTCTGGTAGCAACCCCAAATTTTGAATATAAAATAGTAACAT GGTGGGAAAGAACCTACTGAATCCTCTGGTAGCAACCCCAAATTTTGAATATAAAATAGTAACAT	GW180328 CS1 MI180427 CS1 KJ698665.1
333 391 213	TCTCGATAAACCTCTAGAGTCTGCTTTTGGATTATTTTCGGTTTGGCCCGGTGCATTTCTCGGCAT TCTCGATAAACCTCTAGAGTCTGCTTTTGGATTATTTTCGGTTTGGCCCGGTGCATTTCTCGGCAT TCTCGATAAACCTCTAGAGTCTGCTTTTGGATTATTTTCGGTTTGGCCCGGTGCATTTCTCGGCAT	GW180328 CS1 MI180427 CS1 KJ698665.1
398 456 278	ATCGCTATGTGGCCTTGCAAAATGATAAAGCCGGAAATGGGCCTTTGGAGAAATATTTTGTGGA ATCGCTATGTGGCCTTGCAAAATGATAAAGCCGGAAATGGGCCTTTGGAGAAATATTTTGTGGA ATCGCTATGTGGCCTTGCAAAATGATAAAGCCGGAAATGGGCCTTTGGAGAAATATTTTGTGGA	GW180328 CS1 MI180427 CS1 KJ698665.1
463 521 343	GAAAAAGATGCACGGCGCAAATGCTGGTATTTTACTGCTAACATGTATTTAGCAGAGGATCGAAT GAAAAAGATGCACGGCGCAAATGCTGGTATTTTACTGCTAACATGTATTTAGCAGAGGATCGAAT GAAAAAGATGCACGGCGCAAATGCTGGTATTTTACTGCTAACATGTATTTAGCAGAGGATCGAAT	GW180328 CS1 MI180427 CS1 KJ698665.1
528 586 408	CCTTTGCTTCGAGCTGGTCTCGAAAAGGAAGTGCACCTGGATTCTTCAATACGTCAAATCGGCCA CCTTTGCTTCGAGCTGGTCTCGAAAAGGAAGTGCACCTGGATTCTTCAATACGTCAAATCGGCCA CCTTTGCTTCGAGCTGGTCTCGAAAAGGAAGTGCACCTGGATTCTTCAATACGTCAAATCGGCCA	GW180328 CS1 MI180427 CS1 KJ698665.1

그림 7. GW180328 isolate와 MI180427 isolate의 *CSI* 영역을 증폭, *P. xanthii* (Accession no. KJ698665.1)와 염기서열이 100% 일치.

183 179 259	AATCCAAAGACTGTTGCTTTTCGTTCCCTATCTCTGGATTAAATGGTGATAAATATGATTGACAACTC AATCCAAAGACTGTTGCTTTTCGTTCCCTATCTCTGGATTAAATGGTGATAAATATGATTGACAACTC AATCCAAAGACTGTTGCTTTTCGTTCCCTATCTCTGGATTAAATGGTGATAAATATGATTGACAACTC	GW180328 EF1 MI180427 EF1 KJ698666.1
248 244 324	CACCAACTGCCCATGGTATAAGGGGTGGGAAAAGAGAGACCAAGGCCGGAAAATCTACTGGAAAGA CACCAACTGCCCATGGTATAAGGGGTGGGAAAAGAGAGACCAAGGCCGGAAAATCTACTGGAAAGA CACCAACTGCCCATGGTATAAGGGGTGGGAAAAGAGAGACCAAGGCCGGAAAATCTACTGGAAAGA	GW180328 EF1 MI180427 EF1 KJ698666.1
313 309 389	CTCTCCTCGAGGCGATTGACTCCATTGACCCCTCCATCTCGCCCTACCGGATAAGCCTCTTCGTCTC CTCTCCTCGAGGCGATTGACTCCATTGACCCCTCCATCTCGCCCTACCGGATAAGCCTCTTCGTCTC CTCTCCTCGAGGCGATTGACTCCATTGACCCCTCCATCTCGCCCTACCGGATAAGCCTCTTCGTCTC	GW180328 EF1 MI180427 EF1 KJ698666.1
378 374 454	CCTCTCCAGGATGTTTACAAGATCGGAGGTATTGGCACGGTTTCCTGTGGTTCGTGTTGAAACTGG CCTCTCCAGGATGTTTACAAGATCGGAGGTATTGGCACGGTTTCCTGTGGTTCGTGTTGAAACTGG CCTCTCCAGGATGTTTACAAGATCGGAGGTATTGGCACGGTTTCCTGTGGTTCGTGTTGAAACTGG	GW180328 EF1 MI180427 EF1 KJ698666.1

그림 8. GW180328 isolate와 MI180427 isolate의 *EF1* 영역을 증폭, *P. xanthii* (Accession no. KJ698666.1)와 염기서열이 100% 일치.

39 37 64	TACCTAGACGGTAAAAATCGTCTTTTATCGACAAAGCAAGATACGATTATACTAGAGTTATATA TACCTAGACGGTAAAAATCGTCTTTTATCGACAAAGCAAGATACGATTATACTAGAGTTATATA TACCTAGACGGTAAAAATCGTCTTTTATCGACAAAGCAAGATACGATTATACTAGAGTTATATA	GW180328 mtSSU MI180427 mtSSU KJ698668.1
104 102 129	TAAAGGAGGTGAGTATTTATGGAGTGGGAGAGTTGAAAATTTGTTTCATACCATAAAGGACTGGTAAAG TAAAGGAGGTGAGTATTTATGGAGTGGGAGAGTTGAAAATTTGTTTCATACCATAAAGGACTGGTAAAG TAAAGGAGGTGAGTATTTATGGAGTGGGAGAGTTGAAAATTTGTTTCATACCATAAAGGACTGGTAAAG	GW180328 mtSSU MI180427 mtSSU KJ698668.1
169 167 194	GCGAAAAGCAACCTTTTATGTAAATAACTGACGTTGAGGGACGAAGGCTCGGGTAGCGAACA GCGAAAAGCAACCTTTTATGTAAATAACTGACGTTGAGGGACGAAGGCTCGGGTAGCGAACA GCGAAAAGCAACCTTTTATGTAAATAACTGACGTTGAGGGACGAAGGCTCGGGTAGCGAACA	GW180328 mtSSU MI180427 mtSSU KJ698668.1

그림 9. GW180328 isolate와 MI180427 isolate의 *mtSSU* 영역을 증폭, *P. xanthii* (Accession no. KJ698668.1)와 염기서열이 100% 일치.

- 염기서열 분석을 통한 *P. xanthii*의 race 판별은 불가능
  - 확보된 KI170723 isolate, GO170710 isolate, GW180328 isolate, MI180427 isolate와 IC190611 isolate의 gDNA에서 Internal transcribed spacer (ITS) 영역을 포함하여 총 8개의 housekeeping loci의 sequence polymorphisms을 조사하였으나 NCBI에 올라온 모든 *P. xanthii* 염기 서열과 어떠한 차이도 발견할 수 없었음.
  - 유럽과 미국 포함한 7개국의 92개의 isolates에서 8개의 housekeeping loci의 sequence polymorphisms이 전혀 존재하지 않았다는 논문 결과와 일치함 (Pirondi et al., 2015)
- 수집한 흰가루병균이 모두 *P. xanthii*임을 확인한 후에 실험을 진행하였음.

다. 접종 시험

- 1) 효율적인 접종 방법 확립
- 활물기생체인 *P. xanthii* 특성에 따라 효율적인 증식 및 유지를 위한 접종 방법의 확립이 필요함.
  - 여러 가지 접종 방법들을 이용하여 흰가루병의 증식량, 오염도 및 재현 가능성을 기준으로 하여 가장 효율적인 접종 방법을 확립함.

- Dropping method: 발병이 잘 되고 재현이 가능하였으나 흰가루병균의 증식량이 적어 접종 시험에 이용하기에 적절하지 않았음.
- Spraying method : dropping 방법보다 흰가루병균의 증식량이 많았으나 잎 표면의 현탁액을 말리는데 시간이 오래 걸리고 일부의 leaf disk에서만 발병하여 재현성이 떨어지는 단점이 있었음.
- Dusting method :노지에서 채취해온 흰가루병 잎의 포자를 직접 붓으로 문혀 털어주기 때문에 흰가루병 이외의 다른 병을 일으키는 병원균의 유입으로 오염이 심각하였음.
- Disk-to-disk method : 이 방법은 노지에서 채취한 잎 그대로를 이용하기 때문에 실험 방법이 복잡하지 않고 간편하다. 또한, 다른 접종 방법들과 비교했을 때 가장 높은 발병도와 재현성을 나타내고 오염이 없는 순수한 흰가루병의 증식량이 많아 병 저항성 검정에 이용하기에 적절한 접종 방법이었음.

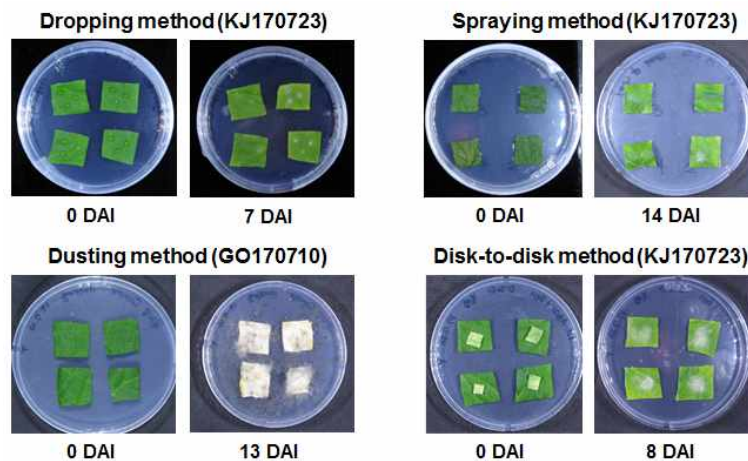


그림 10. 흰가루병의 유지를 위한 Dropping 방법, Spraying 방법, Dusting 방법, Disk-to-disk 방법 비교 분석.

### 2) Disk-to-disk 접종 방법 set up

- Disk-to-disk 접종 방법을 여러 지역에서 채집한 흰가루병균의 증식 및 유지에 이용하였음.
- Lee (2004)에 따르면 박과작물에서 떡잎이 본엽보다 더 감수성이라는 보고에 따라 흰가루병의 높은 증식량을 위해 떡잎을 이용하였음.

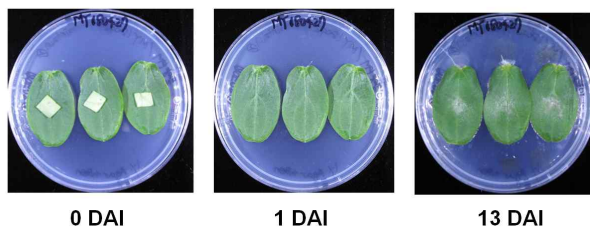


그림 11. Disk-to-disk 접종 방법 확립과 disk-to-disk 방법을 이용한 흰가루병의 순수 분리과 유지.

### 3) Whole plant inoculation set up

- 저농도( $3.0 \times 10^4$  cell/ml)에 비해 고농도( $6.0 \times 10^5$  cell/ml)는 2주 뒤 흰가루병이 잎 전체에 퍼진 것을 확인하였음. Race 판별하기 위한 목적으로 저농도와 고농도가 모두 사용 가능할 것으로 생각됨.

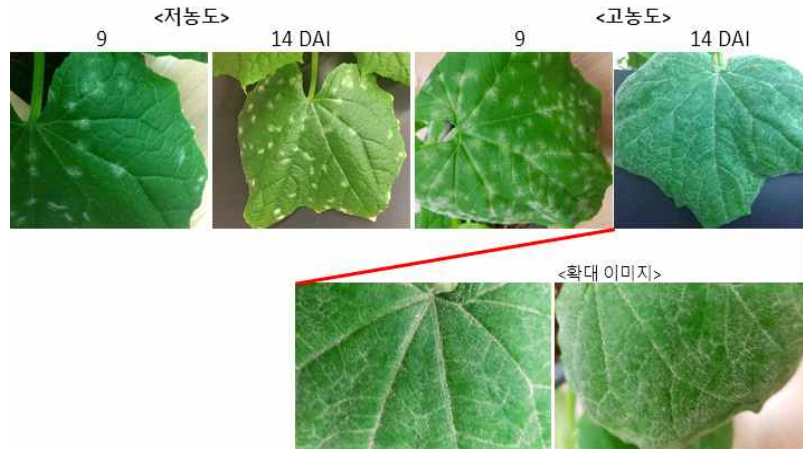


그림 12. *P. xanthii* 접종 후 9일차와 14일차에 앞에서 관찰되는 흰가루병징

- 오이 (조은 백다다기) 2엽기 단계에서  $3.0 \times 10^6$ 으로 spore 농도를 맞춘 suspension을 spray method로 약 10회 분사하여 1주 뒤 발병 확인이 가능하며 spore는 접종 12일 후 관찰이 가능함.

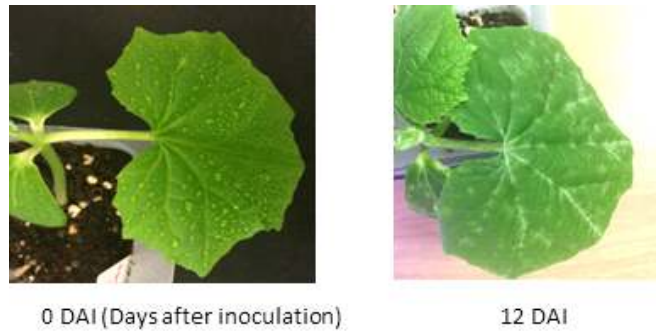


그림 13. 오이 (조은 백다다기) 2엽기 단계에서 접종 결과

라. *P. xanthii* 의 race 판별

1) Race 판별

- 멜론의 판별 계통 4가지에 대한 *P. xanthii* race별 저항성, 감수성 여부는 아래의 표와 같음.

표1. 멜론 품종별 *P. xanthii* race 1, 2, 3의 저항성 감수성 여부

	Top mark	PMR45	PMR6	MR-1
Race 1	Susceptible (S)	Resistance (R)	R	R
Race 2	S	S	R	R
Race 3	S	S	S	R

- 흰가루병의 저항성 정도를 수치화 검정하기 위해 image J 소프트웨어를 사용하였으며 잎 절편의 면적은 “Color threshold” 기능을 사용하였음 (<https://imagej.nih.gov/ij/>) (Ben-David et al., 2018).
- 흰가루병의 발병 정도는 잎 절편 면적 중에 차지하는 흰가루병의 면적을 계산하였음.

2) MI180427 isolate의 판별

- MI180427 isolate의 race를 규명하기 위하여 멜론 관별기주인 ‘Topmark’, ‘PMR 45’, ‘PMR 6’ 및 ‘MR-1’를 사용하여 분리한 *P. xanthii*의 race를 조사하였음.
- 저항성 검정 결과, ‘Top mark’에서는 34.0%로 감수성 (susceptible, S)을 보였으며, ‘PMR 45’에서 1.62%, ‘PMR 6’에서 0.58% 그리고 ‘MR-1’에서 0.27%의 발병도로 저항성 (resistance, R)을 나타내었음.
- MI180427 isolate의 race는 race 1으로 최종 판별하였음.

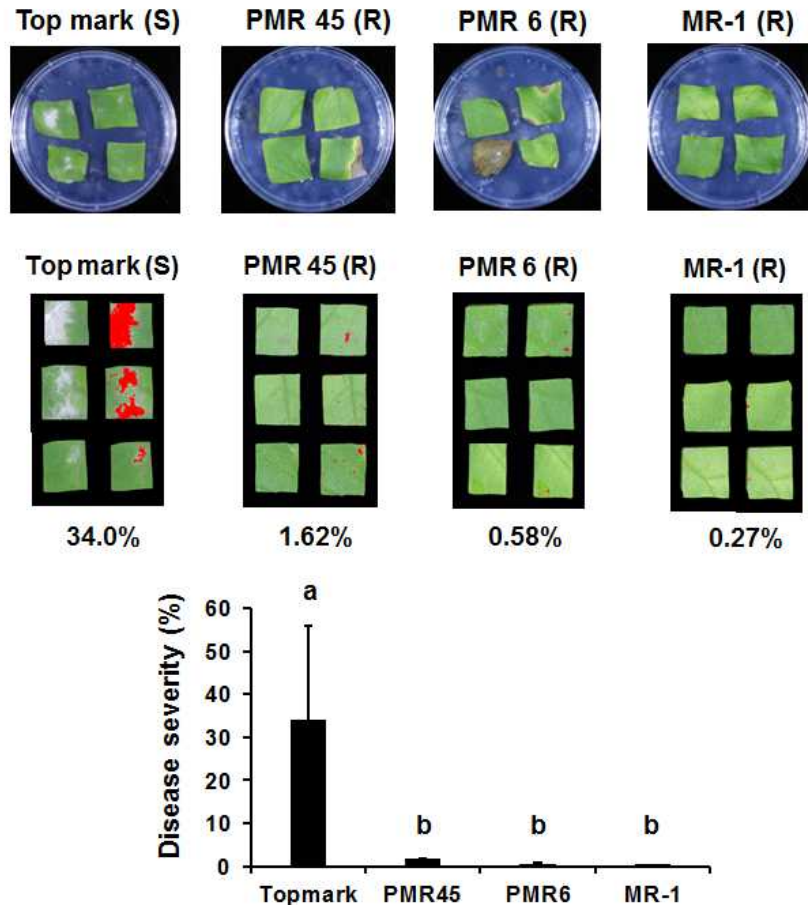


그림 14. 4가지 멜론 기주식물을 이용한 MI180427 isolate의 race 판별 결과

### 3) IC190611 isolate의 판별

- IC190611 isolate의 race를 규명하기 위하여 멜론 관별기주인 ‘Topmark’, ‘PMR 45’, ‘PMR 6’ 및 ‘MR-1’를 사용하여 분리한 *P. xanthii*의 race를 조사하였음.
- 저항성 검정 결과, ‘Top mark’에서 36.1% (S), ‘PMR 45’에서 1.07% (R), ‘PMR 6’에서 2.26% (R) 그리고 ‘MR-1’에서 0.71% (R)의 발병도를 나타내었음.
- IC190611 isolate의 race는 race 1으로 최종 판별하였음.

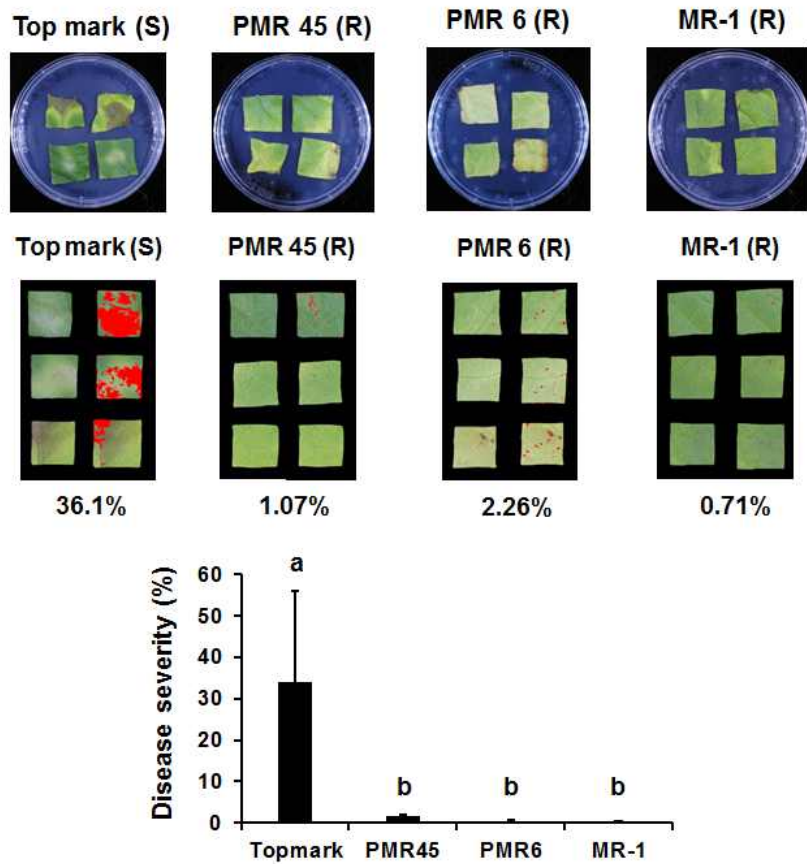


그림 15. 4가지 멜론 기주식물을 이용한 IC190611 isolate의 race 판별 결과

4) GW180328 isolate의 판별

- GW180328 isolate의 race를 규명하기 위하여 멜론 판별기주인 ‘Topmark’, ‘PMR 45’, ‘PMR 6’ 및 ‘MR-1’를 사용하여 분리한 *P. xanthii*의 race를 조사하였음.
- 저항성 검정 결과, ‘Top mark’에서 61.45% (S), ‘PMR 45’에서 21.55% (S), ‘PMR 6’에서 1.54% (R) 그리고 ‘MR-1’에서 10.10% (IR)의 발병도를 나타내었음.

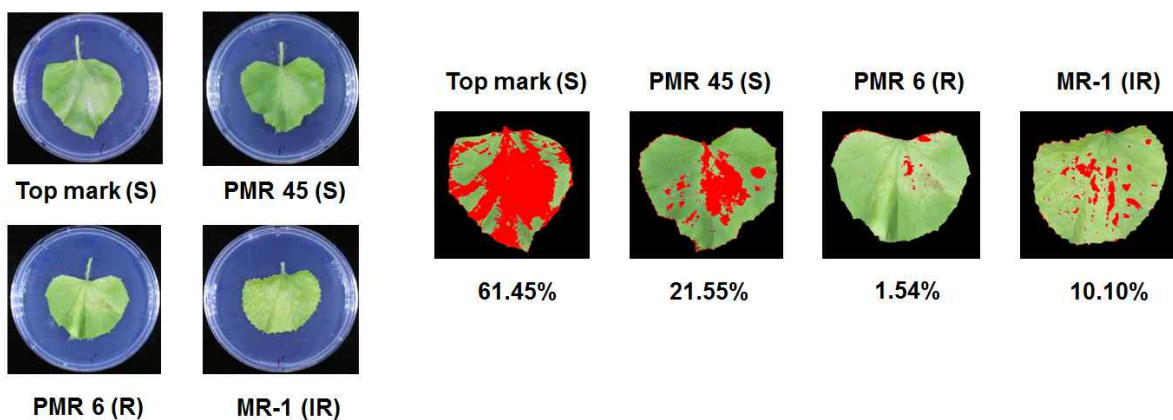


그림 16. 4가지 멜론 기주식물을 이용한 GW180328 isolate의 race 판별 결과

- 기존에 국내에서 보고된 자료에 따르면 국내의 경우 race 1이 우점하고 있다고 보고 되어

있으며 현재까지 연구 보고된 바에 따르면 멜론의 MR-1 resistance가 깨진 예는 거의 없었음.

- 본 과제의 연구에서 사용하고 있는 판별 방법 이외의 몇몇 판별 방법이 보고되어 있는데 그 중 Race O, N5 (Kim et al., 2015)과 Race 2WF (Zhang et al., 2011)이 MR-1에 대해서 IR를 보여준다는 보고가 있었음.
- 추가적으로 12가지의 멜론 기주 식물 (‘IranH01’, ‘Top mark’, ‘TGR 1551’, ‘PMR 6’, ‘PMR 5’, ‘MR-1’, ‘Edisto 47’, ‘PI 414723’, ‘PI 124111’, ‘PI 124112’, ‘PI 315410’ 및 ‘PI 313470’)의 떡잎을 이용하여 GW180328 isolate의 race를 판별하였음.

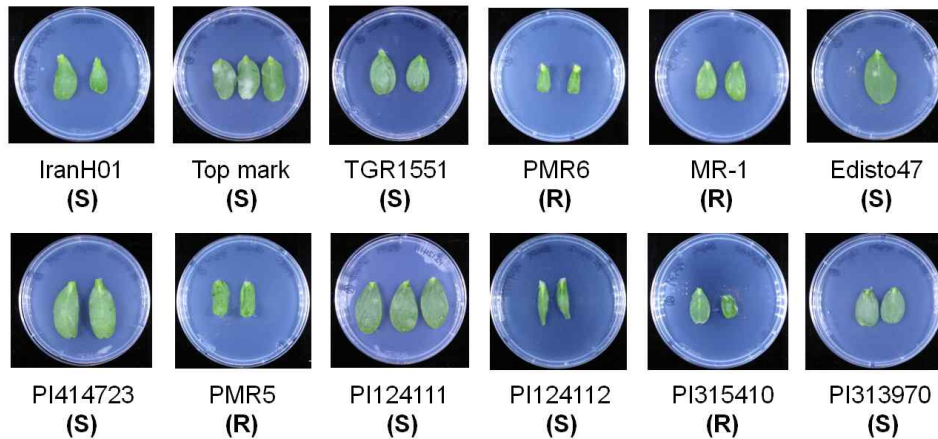


그림 17. 12가지 멜론 기주식물의 떡잎을 이용한 GW180328 isolate의 race 판별 결과

- Kooistra (1968)는 떡잎에서 흰가루병에 대한 저항성 반응은 본엽에서의 저항성과 반드시 일치하지는 않는다고 보고하였으며, Lee (2004)는 박과작물에서 떡잎이 본엽보다 더 감수성이기 때문에 흰가루병균의 race를 판별할 때에는 본엽의 절편을 이용하여 내병성 검정을 해야 한다고 보고한바 있음.
- 추가적으로, 11가지의 멜론 기주 식물 (‘Top mark’, ‘TGR 1551’, ‘PMR 6’, ‘PMR 5’, ‘MR-1’, ‘Edisto 47’, ‘PI 414723’, ‘PI 124111’, ‘PI 124112’, ‘PI 315410’ 및 ‘PI 313470’)의 본엽을 이용하여 GW180328 isolate의 race를 판별하였음.

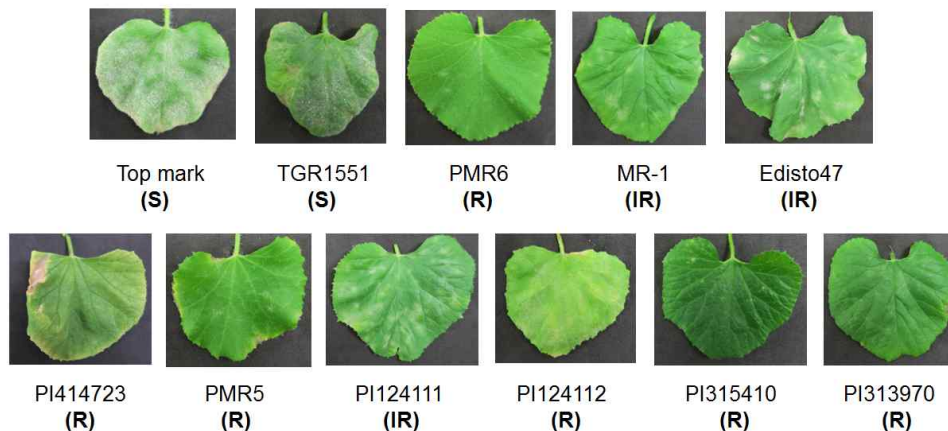


그림 18. 12가지 멜론 기주식물의 떡잎을 이용한 GW180328 isolate의 race 판별 결과

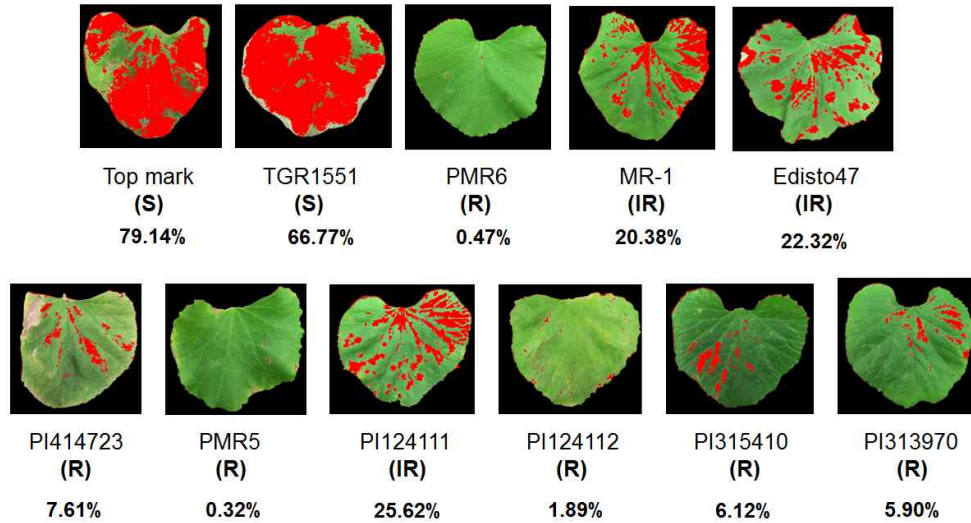


그림 19. 11가지 멜론 기주식물의 본엽을 이용한 GW180328 isolate의 race 수치화 검정

- 이중 중국에서 보고된 Race 2WF의 경우 곤지암 isolate와 모든 멜론 판별기주의 저항성/감수성 여부가 동일함.
- 현재 국내에 발병하고 있는 *P. xanthii*중 곤지암에서 지속적으로 발병하고 있는 것은 Race O, N5, 2WF 중 하나 이거나 유사 race일 가능성은 높으나 기존에 보고된 것 같은 race 1은 아닌 것으로 판단됨.

표 2. GW180328 isolate의 race 판별 결과 race 2WF와 일치

<i>P. xanthii</i> races	Differential Melon cultivars									
	Top mark	PMR 45	PMR 6	MR-1	PMR5	IranH01	Edisto47	PI414723	PI124111	PI124112
2WF	S	S	R	IR	R	S	R	R	IR	R
GW180328	S	S	R	IR	R	S	R	R	IR	R

S: Susceptible, R: Resistance, and IR: Intermediate resistance.

5) GO170710 isolate의 판별

- 곤지암에서 자연적으로 발병된 Powdery mildew 의 race판별을 하기 위해 4가지 멜론 line들의 symptom을 비교하였는데, PMR 6에서는 병징이 보이지 않았고, Top mark와 PMR 45에서는 강한 병징, 그리고 MR-1에서는 약한 병징 (intermediate resistance, IR)을 보였음.

표 3. 곤지암 isolate의 race 판별 기주 접종 결과

	Top mark	PMR45	PMR6	MR-1
Race 1	Susceptible (S)	Resistance (R)	R	R
Race 2	S	S	R	R
Race 3	S	S	S	R
GO170710 isolate	S	S	R	Intermediate Resistance (IR)

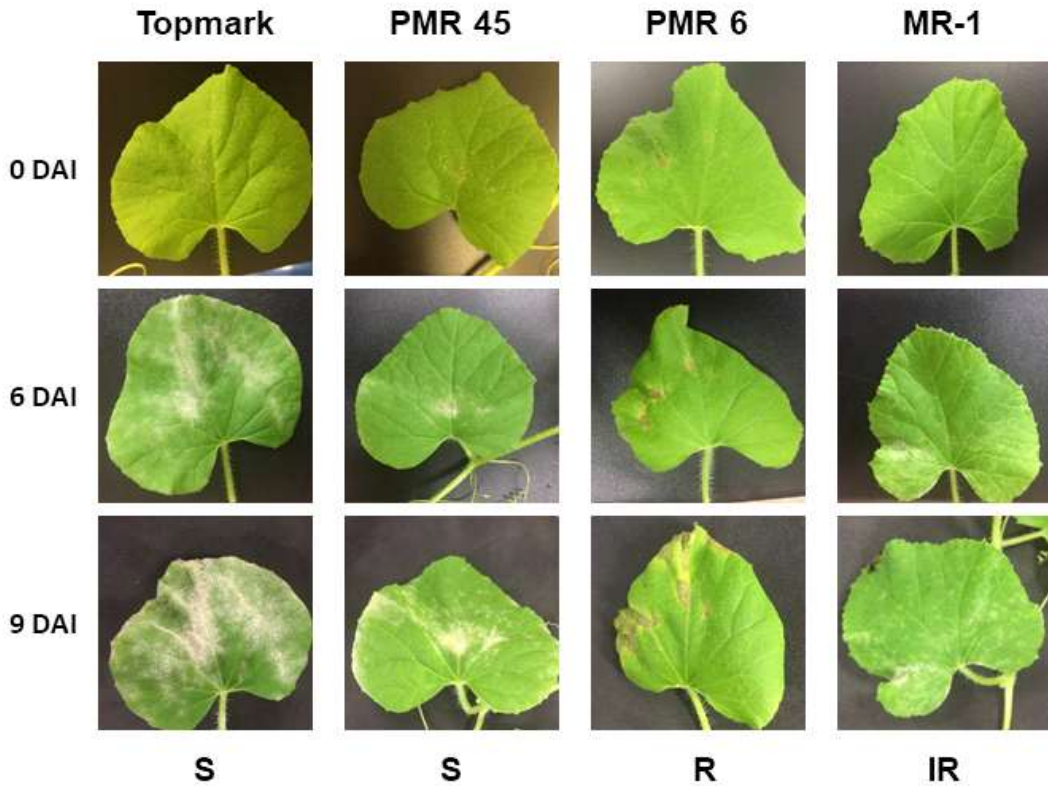


그림 20. 4가지의 멜론 기주 식물을 이용한 끈지암 isolate의 race 판별 기주 접종 결과

표 4. 수집한 지역별 흰가루병 isolate의 4가지 멜론 품종을 이용한 race 판별 결과

	Top mark	PMR45	PMR6	MR-1
Race 1	Susceptible (S)	Resistance (R)	R	R
Race 2	S	S	R	R
Race 3	S	S	S	R
Race 2WF	S	S	R	Intermediate Resistance (IR)
끈지암 isolate	S	S	R	IR
광진 isolate	S	S	R	IR
밀양 1 isolate	S	R	R	R
이천 isolate	S	R	R	R

표 5. 수집한 지역별 흰가루병 isolate의 pure culture 와 race 판별 상황

Isolate	Area	Pure-culture	Race
KJ170723	Kimjae	Done	1
GO170710	Gonjam	Done	2WF
GW180324	Gwangjin	Done	2WF
MI180427	Miryang1	Done	1
YE180427	Yeoju	-	-
MY180628	Miryang2	-	-
Icheon190611	Icheon	Done	1



표 6. Gwang jin isolate (GW180324)의 race 판별 기주 (14종) 접종 결과

별 본 품종	Podospaera xanthii race																																							
	0	1	1j	1Sp	1M	1V	1Sj	1S	1Ti	1Tu	2F	2Z	2S	2a	2b	2U	3	3.5	4	5	S	4.5	N1	N3	N2	N4	N5	6	F	G	H	P6	S	SD	A	O	2W	광진		
Top mark	R	S	S			S	S	S			S		S			S	S		S	S	S						S							S	S				S	S
PMR45	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S			S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R		S	S	S	S	S	S	S	S	R	S		S	S
PMR6		R												R	R						S													S	S				R	R
MR-1		R															S			S							IR	S	R	S	R				R	IR		R	R	
PMR5	R		R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R			R	S	S	R	R	S	S						R	S	S	S	R	S	S				R	R	
IranH01	S		S			S	S	S			S	S	S			S			S	S								S	S	S								S	S	
Edisto47	R		R			R	R	R	R	R	R	R	R			S	R	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	IR	
PI414723	R		R			R	R	R	R	R	R	R	S			S	R	R	R	R	S	IR	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S		R	R
PI124111	R		R	R	R	R	R	R					R			R	R	S	R	R														S	S				R	IR
PI124112	R		R	R		R	R	R	R	R	R	R	R			R	R	S	R	R	S						R	S	S	S	R	R	S						R	R
PI313970						R	R	R					R			R	R			R	R							S												S
PI315410																																								R
Ames18738																																								S
TGR1551																																								S
엡스마운틴 PMR																																								S

S: Susceptible, R: Resistance, IR: Intermediate resistance

## 2-2. 오이 내병성 연관 분자마커 개발 및 MAS 시스템 구축

### 가. 오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발

#### 1) 오이 흰가루병 저항성/ 이병성 개체 간의 유전체 서열 확보를 통한 다형성 서열 분석

##### ○ 오이 흰가루병 저항성 개체와 이병성 개체의 유전체 서열 분석

- 흰가루병 저항성 마커 개발을 위해서 제일 선행되어야 할 것이 흰가루병 저항성과 감수성 개체 간에 염기서열상의 다형성을 확보하는 것이다. 흰가루병 감수성과 저항성 개체 간에 다형성을 보이는 분자마커를 선발 하는 방법은 다양한데, 본 연구에서는 유전체 서열을 바탕으로 다형성 마커를 선발하는 전략을 추구하였다. 먼저 흰가루병에 대해서 저항성을 보이는 개체와 이병성을 보이는 개체를 선발 한 후 이들 개체를 대상으로 전체 유전체 염기서열 분석 작업을 실시하였다. 그 결과로 오이 유전체 크기의 30 배 정도에 해당하는 서열을 최종 확보하였다.

- 이렇게 확보된 유전체 서열을 chinese long 9930 서열(오이 표준 유전체)을 template 로 활용하여 오이 표준 유전체에 바탕을 둔 7개 염색체에 해당하는 오이 흰가루병 저항성과 이병성 유래의 pseudomolecule 서열을 확보하였고 이들 두 서열을 바탕으로 다형성 서열을 확보하였고 추후 이들 서열을 기반으로 F2 mapping 집단을 대상으로 한 genotyping 분석을 실시할 계획임.

- 문헌 검색을 통해서 다양한 오이 육종 소재(중국 자원) 간에 다형성이 많이 관찰되는 900여개의 SSR 마커 정보를 논문을 통해서 확보하고, SSR 마커에 대한 프라이머 조합을 확보하여 2차년도 genotyping 분석에 활용할 계획이고, 이들을 대상으로 흰가루병 저항성과 이병성 개체간의 다형성 마커 선발을 진행 중이다(그림 21).



그림 21. 흰가루병 저항성/ 감수성 개체 간에 다형성을 보이는 SSR 마커 (예)

#### 2) 오이 흰가루병 매핑 집단 육성

##### ○ 오이 흰가루병 저항성/감수성 계통 선발

- 먼저 실내에서 흰가루병에 대한 오이 식물체의 반응을 검정하기 위해서, 오이 유묘를 대상으로 흰가루병 실내 스크리닝 시스템을 확립하였다 (그림 22).

- USDA GRIN에서 분양받은 14 계통과 국내 육종회사에서 사용하는 육종 계통을 대상으로 유묘 병저항성 선발을 실시하여 흰가루병에 대해서 저항성을 보이는 4계통을 선발하였다 (그림 23).

- 이후, 실내 유묘 검정에 선발된 계통을 대상으로 포장 선발을 실시하였다 (그림 24).

- 최종적으로 국내 품종 육성에 사용되는 S6 (감수성, DI-5) 과 S7 (저항성, DI-1) 개체로 교배를 실시하여 F<sub>1</sub> 개체를 확보하였다. F<sub>1</sub> 개체의 흰가루병에 대한 반응은 감수성과 저항성

중간 정도의 반응 (DI-4) 을 보이므로 열성 유전자에 의한 저항성 반응이 나타나는 것으로 파악된다. 그리고 정역교배(reciprocal crossing) 를 통한 F<sub>1</sub> 간의 차이가 발견되지 않으므로 핵 유래의 유전자에 의해서 흰가루병 저항성이 유도됨을 확인하였다.

- F<sub>1</sub> 을 자가 수정을 실시하여 F<sub>2</sub> 종자를 확보하였고 이를 포장에 파종하여 F<sub>2</sub> 매핑 집단을 재배하는 중이다.



그림 22. 오이 유묘 실내 검정 시스템



그림 23. 오이 흰가루병 저항성 계통 선발



그림 24. 오이 흰가루병 포장 검정을 통한 저항성 계통 선발

○ 오이 F<sub>2</sub> 매핑 집단 표현형 검정

- 포장에서 재배중인 F<sub>2</sub>집단을 대상으로 흰가루병에대한 반응을 검정하였다(그림 25, 표 7).



그림 25. F<sub>2</sub> 매평 집단 포장 흰가루병 검정 : 전형적인 흰가루병징으로 잎, 엽병, 심할 경우 줄기에도 발병하여 흰색을 띠는 분말 모양의 병징을 나타냄

표 7. F<sub>2</sub> 매평 집단 132 개체에 대한 포장 흰가루병 검정 결과

계통	DI (Jun 29)	DI (Jul 1)	비고	계통	DI (Jun 29)	DI (Jul 1)	비고	계통	DI (Jun 29)	DI (Jul 1)	비고	계통	DI (Jun 29)	DI (Jul 1)	비고	계통	DI (Jun 29)	DI (Jul 1)	비고
R	0	0		F2-18	5	2		F2-47	4	4		F2-76	5	4		F2-105	5	5	
S	6	6		F2-19	0	0		F2-48	1	4		F2-77	3	5		F2-106	0	1	
F1-1	1	3		F2-20	3	4		F2-49	4	4		F2-78	6	5		F2-107	3	2	
F1-2	1	3		F2-21	5	3		F2-50	6	5	Small	F2-79	6	5		F2-108	5	6	Small
F1-3	1	3		F2-22	5	2		F2-51	4	1		F2-80	6	4		F2-109	1	2	
F1-4	3	3		F2-23	3	1		F2-52	4	3		F2-81	6	3		F2-110	1	0	
F1-5	2	3		F2-24	5	5		F2-53	5	5		F2-82	4	1		F2-111	6	6	
F1-6	3	3		F2-25	3	5		F2-54	1	4		F2-83	6	2		F2-112	5	6	
F1-7	1	3		F2-26	5	6		F2-55	4	5		F2-84	6	2		F2-113	5	6	
F1-8	3	4		F2-27	5	5		F2-56	4	1		F2-85	6	2		F2-114	0	3	
F1-9	3	3		F2-28	6	5		F2-57	4	5		F2-86	5	5		F2-115	3	3	Small
F1-10	3	3		F2-29	5	3		F2-58	3	5		F2-87	0	0		F2-116	1	2	
F2-1	1	2		F2-30	4	5		F2-59	5	4		F2-88	3	3		F2-117	3	6	
F2-2	0	0		F2-31	5	5		F2-60	5	5		F2-89	3	3		F2-118	5	6	
F2-3	1	5	Small	F2-32	5	3		F2-61	4	4		F2-90	4	3		F2-119	3	3	
F2-4	1	4		F2-33	5	5		F2-62	3	4		F2-91	4	3		F2-120	4	4	
F2-5	1	5		F2-34	6	5	Small	F2-63	5	5		F2-92	3	2		F2-121	6	6	
F2-6	2	3		F2-35	1	4		F2-64	3	1		F2-93	5	3		F2-122	1	1	
F2-7	1	3		F2-36	3	5		F2-65	4	1		F2-94	5	5		F2-123	2	2	
F2-8	2	4		F2-37	3	2		F2-66	5	3		F2-95	3	2		F2-124	6	5	
F2-9	4	3		F2-38	2	2		F2-67	3	3		F2-96	3	3		F2-125	2	4	
F2-10	5	4	Small	F2-39	1	2		F2-68	2	1	Small	F2-97	1	2		F2-126	6	5	
F2-11	0	0		F2-40	4	5		F2-69	5	5		F2-98	3	3		F2-127	6	6	
F2-12	4	5		F2-41	1	4		F2-70	5	6		F2-99	1	2		F2-128	5	3	
F2-13	3	4		F2-42	3	3		F2-71	6	3		F2-100	1	2	Small	F2-129	4	4	
F2-14	1	5		F2-43	4	1		F2-72	5	5		F2-101	1	1	Small	F2-130	1	1	
F2-15	3	5		F2-44	2	1		F2-73	1	4		F2-102	1	1	Small	F2-131	4	5	
F2-16	5	6		F2-45	4	1		F2-74	0	4		F2-103	2	2	Small	F2-132	2	3	

### 3) SNP\_seq 기반의 QTL mapping 실시

○ S7(저항성) / S6(이병성) 집단의 표현형 분석 (1차년도 결과)을 활용하여 강한 저항성과 이병

성을 보이는 개체를 10개씩 선발하였다.

- 선발된 개체에서 DNA를 분리한 후 10개체의 DNA를 pooling 하여 Resequencing 을 실시하여 4개의 유전체 서열을 확보하였다
    - 모계 오이 유전체 서열
    - 부계 오이 유전체 서열
    - 저항성 F<sub>2</sub> 오이 pool 유전체 서열
    - 이병성 F<sub>2</sub> 오이 pool 유전체 서열
  - 저항성과 이병성 F<sub>2</sub> 개체들의 pool 유래의 서열 간에 차이를 보이는 SNP를 선발하였다.
  - 이렇게 선발된 SNP 서열과 표현형 데이터를 Mapmaker 라는 소프트웨어를 이용하여 QTL mapping을 실시하였다.
- 4) 흰가루 저항성 유전자좌(PM resistance locus) 분석
- QTL mapping 분석 결과 흰가루병 저항성을 조절하는 2개의 유전자좌 영역 (Pm1.1 과 Pm5.1) 을 확인하였다.

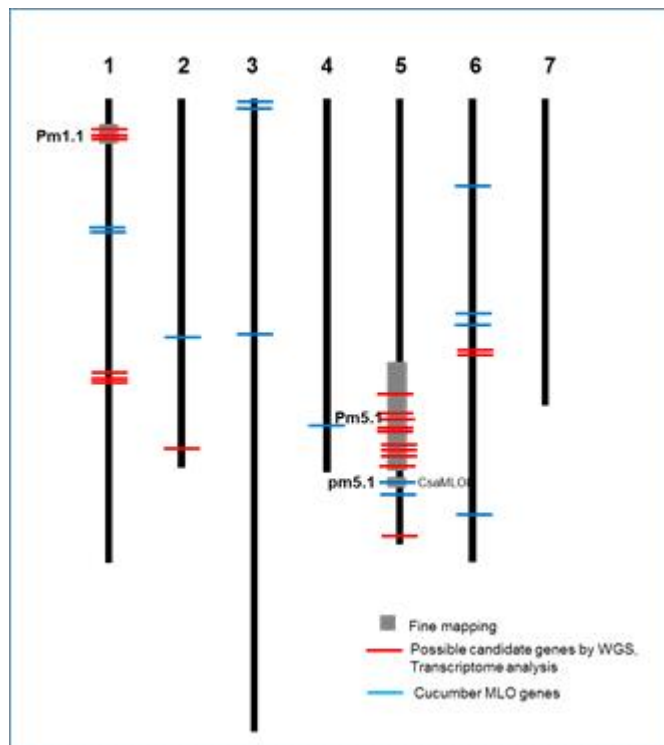


그림 26. 본 과제의 QTL 분석 결과로 밝혀진 흰가루병 저항성 유전자좌와 기존 문헌에 나타난 후보 저항성 유전자들의 분포 양상

- 본 과제 수행을 통해서 밝혀진 Pm1.1과 Pm5.1 영역이 다른 연구진들이 다른 저항성 자원을 활용한 기존의 연구 결과와 상당히 일치하는 경향을 보였다. 즉 기존의 흰가루병 저항성 영역으로 알려진 저항성 유전자좌와 유사한 영역이 본 과제 수행을 통해서도 밝혀졌다.
- 본 과제 수행을 통해서 발견된 저항성 유전자좌 영역을 대상으로 이병성/저항성 개체간의 서열을 비교 분석하여 다형성 서열에 기반 한 후보 PMR(흰가루병 저항성) 마커를 개발하였다.
  - Pm1.1 는 41.1 kb 정도를 차지하며, 8개의 유전자가 존재하는 것으로 파악이 됨. 이들 영역에서의 이병성과 저항성 개체간의 서열을 비교 분석 한 결과 2 개의 유전자 (RLK, receptor-like kinase) 간에 다형성 서열이 발견되고, 이중 하나의 RLK 유전자 서열에 기반

한 마커를 아래와 같이 개발하였다.

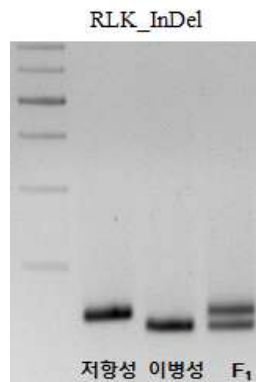


그림 27. Pm1.1 유전자좌에서 도출한 마커

- Pm5.1 는 Pm1.1 보다는 폭넓은 영역을 차지하고 있고, 이들 영역에서의 이병성과 저항성 개체간의 서열을 비교 분석 한 결과 5 개의 마커(Pm-InDel1698, Pm\_InDel1867, Pm\_InDel2266, Pm\_InDel606310, Pm\_InDel2417) 를 아래와 같이 개발하였다.

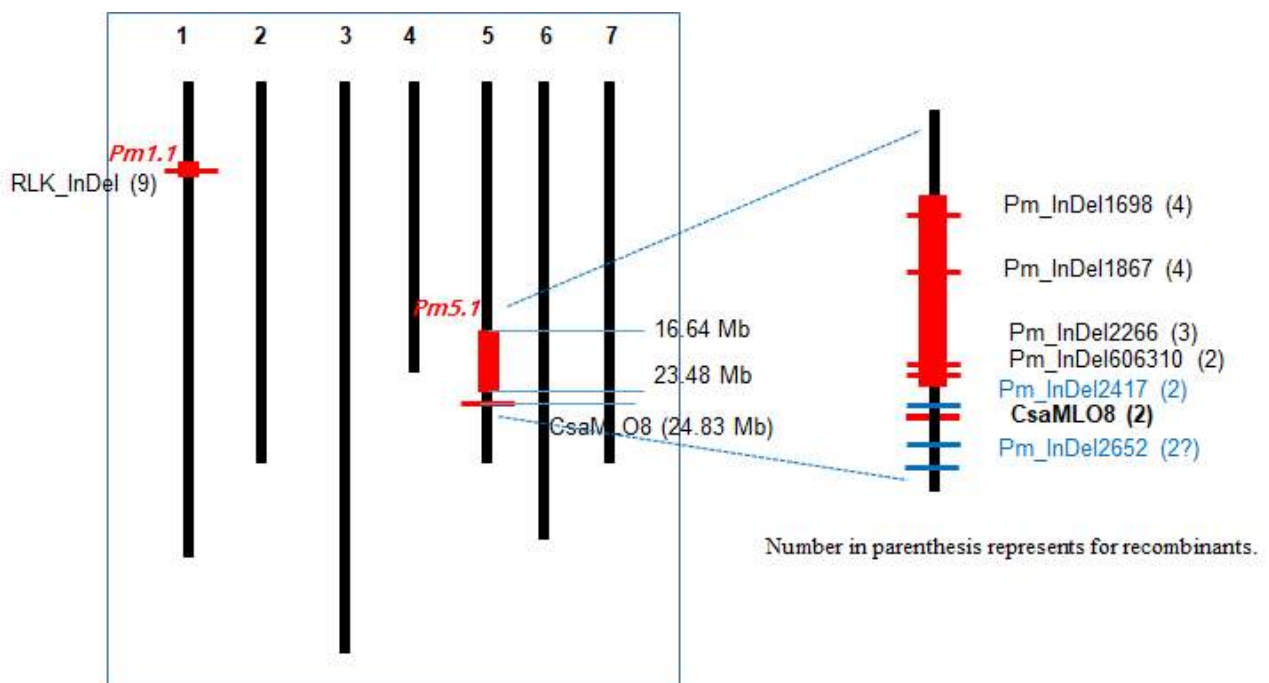


그림 28. Pm1.1과 Pm5.1 영역에서 도출된 마커를 이용한 표현형 유전형 비교 분석 결과. Pm5.1 영역이 흰가루병 저항성에 중요한 역할을 할 것으로 예상됨. 괄호안의 숫자는 표현형과 유전형 불일치 비율

- 상기처럼 선발된 후보 PMR 마커를 50개의 F<sub>2</sub> 개체에 적용하여 표현형과 유전형을 비교 분석하여 아래 그림과 같은 결과를 얻었다.
  - Pm1.1 영역의 RLK\_InDel 마커는 F<sub>2</sub> 개체 대상의 유전형과 표현형 비교가 18% (9/50) 정도 불일치하는 결과를 보였다.
  - 하지만 Pm5.1 영역의 후보 마커들은 F<sub>2</sub> 개체 대상의 유전형과 표현형 비교가 4 ~ 8% (2/50 ~ 4/50) 정도 불일치하는 결과를 보였다.

- Pm5.1 아래 영역 근처에 흰가루병 저항성에 관여한다고 잘 알려진 MLO 유전자가 존재하는 것을 발견하였다 (Berg et al., 2015; Nie et al., 2015, 그림 28).
- *CsaMLO8* 유래의 마커를 기반으로, 유전형과 표현형을 비교 분석한 결과 4% (2/50) 정도 불일치하는 결과를 보였다 (그림 28).



그림 29. Pm5.1 유전자좌에서 도출한 *CsaMLO8* 유래의 흰가루병 저항성 개체 선발 마커

5) 흰가루 저항성(PM resistance) 자원 선발용 마커 개발

○ *CsaMLO8* 기반 PMR 마커 개발

- Pm5.1 영역에서 개발된 후보 마커와 *CsaMLO8* 기반 마커를 대상으로 F<sub>2</sub> 집단에 적용한 결과 *CsaMLO8* 기반 마커의 정확도가 제일 높았다.

표 8. PMR 후보 마커를 이용한 표현형 유전형 비교 분석 결과

Pm_InDel606310		표현형(DI, Disease Index)		
		R(저항성)	M(중도저항성)	S(이병성)
유전형	R(저항성)	22		2
	r(이병성)	2	4	14
	Rr(hetero)	2	28	28
		26	32	44

CsaMLO8		표현형(DI, Disease Index)		
		R(저항성)	M(중도저항성)	S(이병성)
유전형	R(저항성)	24		1
	r(이병성)	1	6	13
	Rr(hetero)	1	26	30
		26	32	44

Pm-InDel1698		표현형(DI, Disease Index)		
		R(저항성)	M(중도저항성)	S(이병성)
유전형	R(저항성)	18		5
	r(이병성)	4	10	12
	Rr(hetero)	4	22	27
		26	32	44

○ *CsaMLO8* 서열 분석

- 흰가루병 저항성(S7)과 이병성(S6) 개체를 대상으로 *CsaMLO8* 서열이 기존에 발표된 서열

과 유사한지 여부를 관찰한 결과 S7 유래의 저항성은 기존 논문에 나타난 것과 동일한 서열, 즉 1449 bp 염기서열이 11번째 exon 영역에 삽입됨으로 저항성이 유도되는 것으로 밝혀졌다 (그림 30).



그림 30. 흰가루병 저항성 오이(S7) 에서 발견된 *CsaMLO8* 유전자 11번째 엑손에의 1449 bp 삽입 서열

○ *CsaMLO8* 유래 PMR 마커 개발

- 1.45 kb 서열의 삽입 여부를 확인 할 수 있는 프라이머를 제작하였다.

(*CsaMLO8*-For: 5' -TATGGCTGCCTTTCATCTCCT-3' , *CsaMLO8*-Rev: 5' -TCCAAGCAAAG AAGGCAAGC-3' , 그림 31)

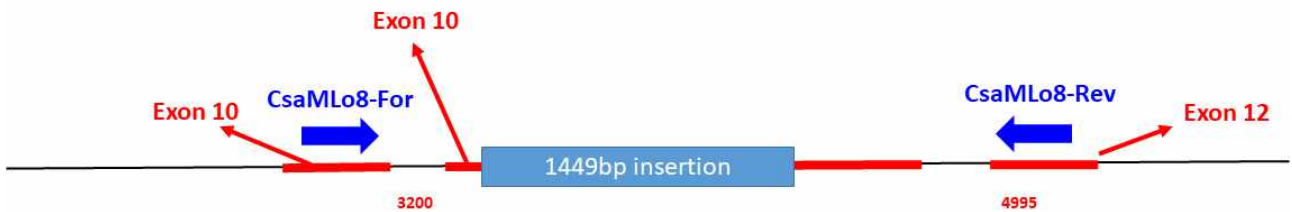


그림 31. *CsaMLO8* 마커

- 제작된 프라이머를 이용하여 PCR을 실시하여 저항성과 이병성 오이에서 각 1,854 bp 와 405 bp 밴드를 확인하였고 육종 계통에 적용한 결과 아래 그림처럼, 표현형 결과와 유사한 결과를 보임을 확인하였다 (그림 32).

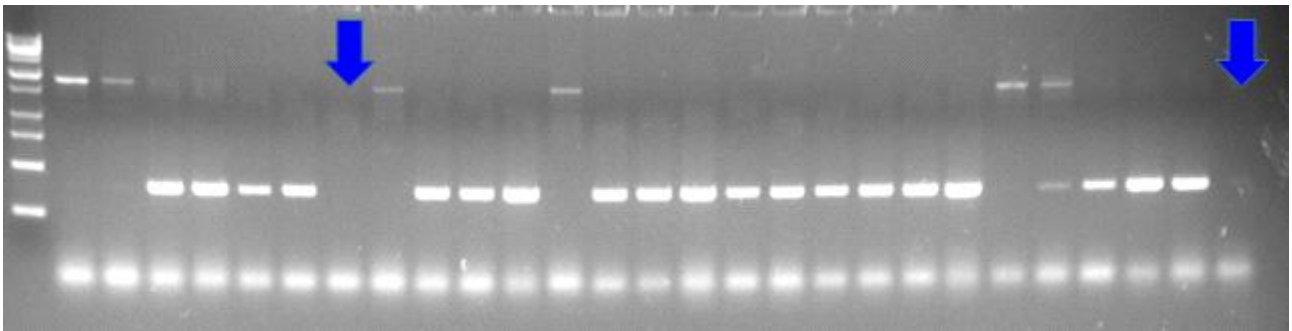


그림 32. *CsaMLO8* 마커를 활용한 육종 계통 스크리닝 결과

○ *CsaMLO8* 기반 PMR 마커의 육종 자원에서의 적용

- 다만, 일부 계통들에는 이들 마커를 이용한 PCR 결과 amplicon 이 증폭되지 않는 결과와, 표현형이 불일치되는 결과를 확인하였다 (그림 32). *CsaMLO8* 서열을 분석한 결과 *CsaMLO8*-Rev 프라이머가 제작된 12번째 엑손 서열에서 기존 논문이 발견하지 못한 두 가지 종류의 deletion 이 흰가루병 저항성 오이에서 발견되었다 (그림 33).





그림 33. 저항성과 이병성 개체간에 다형성 서열을 보이는 *CsaMLO8* 12번 엑손

- 따라서 이병성과 저항성 오이 간이 다형성 서열이 발견되지 않는 13번 엑손 영역에서 *CsaMLO8*-Rev2 프라이머 (5'-ATATCTTCAACTCGCTGATGGAAACAA-3', 그림 34) 를 제작하여 *CsaMLO8*-For 프라이머와 PCR 반응을 실시한 결과 기존 프라이머 조합 (*CsaMLO8*-For/*CsaMLO8*-Rev) 에서는 증폭되지 않던 밴드가 발견되었고, 기존에 판별되지 않던 저항성 자원이 일부 발견되었다.



그림 34. *CsaMLO8* 마커 정보

- 최종적으로 *CsaMLO8* 유래 PMR 마커를 380점의 육종 계통에 적용하여 아래와 같은 결과를 얻었다 (표 9): 13.4% 의 불일치 (증폭이 되지 않은 67 계통 제외)가 보였다. 한 가지 특이적인 사항은 표현형과 유전형이 불일치하는 대부분의 계통은 계통이 고정되어 완전히 이루어지지 않은 자가 수정 3, 4, 5 세대에서 주로 발견되고, 거의 고정된 계통 (6, 7, 8 세대) 에서는 표현형과 대부분 일치하는 경향을 보였다. 따라서 향후 계통 고정을 해나가면서 표현형과의 불일치도를 지속적으로 관찰할 필요가 있을 것으로 판단된다.

표 9. 육종 계통을 대상으로한 표현형과 유전형(*CsaMLO8* 유래 마커) 비교 분석 결과

계통	유전형	표현형	세대	계통	유전형	표현형	세대
1	S	S	8	191	S	S	5
2	S	S	9	192	S	S	5
3	S	S	9	193	S	S	5
4	S	S	9	194	S	S	5
5	S	S	9	195	S	R	6
6	S	S	5	196	S	R	6
7	S	S	5	197	S	R	4
8	S	S	5	198	R	R	4
9	S	S	5	199	No-Band	R	4
10	S	S	5	200	R	R	4
11	S	S	5	201	R	R	4
12	S	S	5	202	R	R	4
13	S	S	5	203	No-Band	R	4
14	S	S	5	204	R	R	4
15	S	S	9	205	S	R	4
16	S	S	9	206	S	R	4
17	S	S	9	207	No-Band	S	4
18	S	S	9	208	R	R	4
19	S	S	5	209	S	R	4
20	S	S	5	210	No-Band	R	4
21	S	S	5	211	R	R	4
22	S	S	5	212	S	R	4
23	S	S	5	213	R	R	4
24	S	S	5	214	R	R	4
25	S	S	5	215	S	R	4
26	S	S	5	216	R	R	4
27	S	S	7	217	R	R	4
28	S	S	7	218	No-Band	R	4
29	S	S	7	219	S	R	4
30	S	S	P	220	S	S	3
31	S	S	8	221	R	R	3
32	S	S	8	222	R	R	3
33	S	S	8	223	S	IR	3
34	S	S	8	224	S	S	3
35	S	S	9	225	S	IR	3
36	S	S	5	226	R	R	3
37	S	S	5	227	No-Band	R	3
38	S	S	5	228	R	R	3
39	S	S	5	229	S	R	3
40	S	S	5	230	R	R	3
41	S	S	5	231	R	R	3
42	S	S	5	232	R	R	3
43	S	S	9	233	R	R	3
44	S	S	5	234	S	R	3
45	S	S	7	235	S	R	3
46	S	S	6	236	R	R	3
47	S	S	6	237	R	R	3
48	S	S	6	238	R	R	3
49	S	S	6	239	R	R	3
50	S	S	6	240	R	R	3
51	S	S	5	241	S	R	3
52	S	S	5	242	R	R	3
53	S	S	5	340	S	R	9
54	S	S	6	341	S	R	9
55	S	S	6	342	S	S	P
56	S	S	6	343	S	S	8

57	S	S	6	344	No-Band	R	4
58	S	S	6	345	R	R	4
59	S	S	6	346	R	R	4
60	S	S	6	347	R	R	4
61	S	S	6	348	R	R	4
62	No-Band	R	8	349	R	R	4
63	No-Band	R	8	350	R	R	4
64	No-Band	R	7	351	S	S	P
65	No-Band	R	7	352	S	S	P
66	No-Band	R	9	353	S	S	9
67	No-Band	R	9	354	R	R	8
68	S	IR	7	355	No-Band	R	9
69	No-Band	R	6	356	S	S	9
70	No-Band	R	6	357	S	S	9
71	No-Band	R	6	358	S	S	9
72	R	R	6	359	S	S	9
73	No-Band	R	6	360	S	S	9
74	No-Band	R	6	361	S	S	4
75	No-Band	R	6	362	S	S	4
76	No-Band	R	6	363	S	S	4
77	No-Band	R	6	364	S	S	4
78	No-Band	R	6	365	S	S	4
79	No-Band	R	6	366	S	S	4
80	No-Band	R	6	367	S	S	4
81	No-Band	R	6	368	S	S	4
82	No-Band	R	6	369	S	S	4
83	No-Band	R	6	370	S	S	4
84	No-Band	R	6	371	S	S	4
85	No-Band	R	6	372	S	S	4
86	R	R	6	373	S	S	4
87	No-Band	R	6	374	S	S	4
88	R	R	6	375	S	S	4
89	No-Band	R	6	376	S	S	4
90	No-Band	R	6	377	R	R	4
91	No-Band	R	6	378	R	R	4
92	R	R	6	379	R	R	4
93	No-Band	R	6	380	R	R	4
94	No-Band	R	6	381	R	R	3
95	No-Band	R	6	382	No-Band	R	3
96	No-Band	R	6	383	R	R	3
97	No-Band	R	6	384	R	R	3
98	No-Band	R	6	385	R	R	3
99	No-Band	R	6	386	R	R	3
100	No-Band	R	6	387	R	R	2
<b>101</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>5</b>	388	R	R	1
<b>102</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>5</b>	<b>389</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
<b>103</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>5</b>	390	R	R	4
104	No-Band	R	5	391	R	R	4
105	No-Band	R	5	392	R	R	4
106	R	R	5	393	R	R	4
107	No-Band	R	5	<b>394</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
108	No-Band	R	5	395	R	R	4
109	No-Band	R	5	<b>396</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
110	No-Band	R	5	397	R	R	4
111	R	R	5	<b>398</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
112	R	R	5	399	No-Band	R	4
113	No-Band	R	5	400	R	R	4
114	R	R	5	401	R	R	4

115	R	R	5	402	No-Band	R	4
116	R	R	5	403	No-Band	R	4
117	R	R	5	404	R	R	4
118	No-Band	R	5	405	R	R	4
119	R	R	5	406	S	S	4
120	No-Band	R	5	407	R	R	4
121	R	R	5	408	R	R	4
122	R	R	5	409	R	R	4
123	R	R	5	410	No-Band	R	4
124	R	R	5	411	No-Band	R	4
125	R	R	5	412	No-Band	R	4
126	R	R	5	413	R	R	4
127	No-Band	R	4	414	R	R	4
128	R	R	4	415	R	R	4
129	R	R	4	416	R	R	4
130	R	R	4	417	R	S	3
131	R	R	4	418	S	S	3
132	No-Band	R	4	419	S	S	3
133	R	R	4	420	R	S	3
134	S	S	4	421	R	R	3
135	S	S	4	422	S	S	3
136	S	S	4	423	R	R	3
137	S	S	4	424	S	R	3
138	S	S	4	425	S	R	3
139	S	S	4	426	S	S	3
140	S	S	4	427	S	S	3
141	S	S	4	428	S	S	3
142	S	S	4	429	R	S	3
143	S	S	4	430	R	S	3
144	No-Band	S	4	431	R	S	3
145	S	S	4	432	S	S	3
146	S	S	4	433	S	S	3
147	S	S	4	434	S	S	3
148	S	S	4	435	S	S	3
149	S	S	4	436	No-Band	S	3
150	S	S	4	437	R	S	3
151	S	S	4	438	S	S	3
152	S	S	4	439	S	S	3
153	S	S	4	440	S	S	3
154	S	S	4	441	S	S	3
155	S	S	4	442	R	S	3
156	No-Band	S	4	443	S	S	3
157	S	S	4	444	S	R	3
158	S	S	4	445	S	S	3
159	S	S	4	446	S	S	3
160	S	S	4	447	S	S	3
161	S	S	4	448	S	S	3
162	S	S	4	449	S	S	3
163	S	S	4	450	S	S	3
164	S	S	4	451	S	S	3
165	S	S	4	452	R	S	3
166	S	S	4	453	R	S	3
167	No-Band	S	4	454	S	S	3
168	S	S	4	455	S	S	3
169	S	S	4	456	S	S	3
170	S	S	4	457	S	S	3
171	S	S	4	458	S	S	3
172	S	S	4	459	R	S	3

173	S	S	4	460	S	S	3
174	S	S	4	461	S	S	3
175	S	S	4	462	S	S	3
176	S	S	4	463	S	R	3
177	S	S	4	464	S	S	3
178	No-Band	S	4	465	R	S	3
179	S	S	4	466	S	S	3
180	S	S	4	467	S	S	3
181	S	S	4	468	R	S	3
182	S	S	4	469	S	S	3
183	S	S	4	470	S	S	3
184	S	S	4	471	S	R	3
185	S	S	5	472	R	R	3
186	S	S	5	473	S	S	3
187	S	S	5	474	S	S	3
188	S	S	5	475	No-Band	S	3
189	S	S	5	476	S	S	P
190	S	S	5	477	No-Band	R	P

- 하지만 본 과제에서 개발된 *CsaMLO* 유래 마커로 증폭이 되지 않는 육종 계통과 표현형과 일치하지 않는 육종 계통이 여전히 존재하고 있다. 이러한 저항성 계통은 아마 *MLO* 유전자 변이 의한 저항성 획득이 아니라, 다른 저항성 유전자에 의해 저항성이 획득된 것으로 보이므로 이들 자원을 활용하여 신규 마커를 개발하는 일을 추가적으로 진행하였다.

6) 흰가루 저항성(PM resistance) 신규 마커 개발

- 신규 저항성(*CsaMLO8* 마커 검정 결과로 추정함) 자원을 활용하여 매핑 집단을 육성하였다.
  - 동부한농(팜한농) 에서 F<sub>2</sub> 종자를 제공받았다.
  - F<sub>2</sub> 종자를 발아를 시킨 후, 유묘 상태에서 아래 그림 (그림 35) 처럼 실내에서 유묘 접종을 실시해서 유전력 분석을 실시하였다.

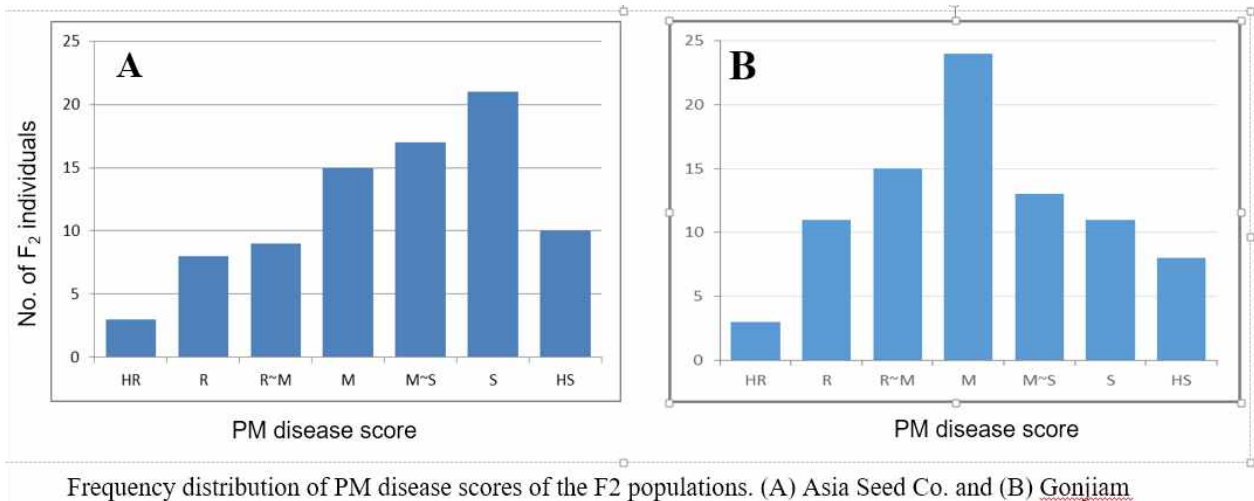


그림 35. DB\_PM\_F<sub>2</sub> 집단 대상의 실내 유묘 검정

- 이와 병행하여, F<sub>2</sub> 집단을 2 지역 (경기 이천 아시아종묘 포장과 경기도 광주 곤지암 세종대학교 실험포장에서 아래처럼 재배 (그림 36) 해서 포장 저항성 검정을 실시하고 유전력 분석을 실시하였다.
- 유전력 분석 결과 실내 검정과 곤지암 포장에서는 정규 분포 양상을 보이고, 아시아 종묘 포장에서는 정규분포에서 약간 벗어나서 이병성 개체가 다수 분포하는 양상을 보였다 (그림 37).
- 통계 분석 결과도 흰가루병 저항성이 다수의 유전자가 관여하는 양적 형질로 밝혀졌다.



그림 36. DB\_PM\_F<sub>2</sub> 집단 대상의 포장 저항성 검정



Frequency distribution of PM disease scores of the F<sub>2</sub> populations. (A) Asia Seed Co. and (B) Gonjiam

그림 37. DB\_PM\_F<sub>2</sub> 집단 유전력 분석. A, 아시아종묘 포장 검정 결과. B, 곤지암 포장 검정 결과

- 흰가루병 저항성 영역으로 알려진 Pm1.1 과 Pm5.1에서 선발된 기존 마커가 이번 집단 (DB\_PM\_F<sub>2</sub>) 에도 적용하는지를 확인하기 위하여 테스트한 결과 아래와 같은 결과를 얻었다.
  - DB\_PM\_F<sub>2</sub> 매핑 집단 개발된 사용된 모/부계 계통 간에 다형성 서열이 이들 마커에서 대부분 발견되지 않았다 (그림 38).
  - 그리고 일부 다형성 서열을 보이는 마커들도 F<sub>2</sub> 매핑 집단의 개체에 적용할 경우 표현형과 일치하지 않는 결과를 보였다. 이는 Pm1.1 과 Pm5.1에서 선발된 기존 마커가 DB\_PM\_F<sub>2</sub> 집단에는 적용되지 않는다는 것을 의미하고, 새롭게 mapping을 실시해서 저항성 유전자좌를 규명해야 한다는 것을 의미한다.

QTL/Gene	Marker	Polymorphism
		PM (Dongbu)
<b>Pm1.1</b>	RLK_InDel	○
	RLK_CAPS	○
	SSR619	○
	SSR635	×
<b>Pm5.1</b>	Pm5-InDel1698	○
	Pm5-InDel1867	×
	Pm5-InDel2266	×
	Pm5-InDel606310	×
	Pm5-InDel2417	×
	Pm5-InDel2652	×
<b>pm5.1</b>	CsaMLO8	×

○ Polymorphism available  
× No polymorphism

그림 38. Pm1.1 과 Pm5.1에서 선발된 기존 마커를 DB\_PM\_F<sub>2</sub> 집단에 적용한 결과

- F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> 집단 흰가루병 스크리닝을 실시하였다.
  - DB\_PM\_F<sub>2</sub> 와 F<sub>3</sub> 후대검정 (progeny test) 을 실시하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

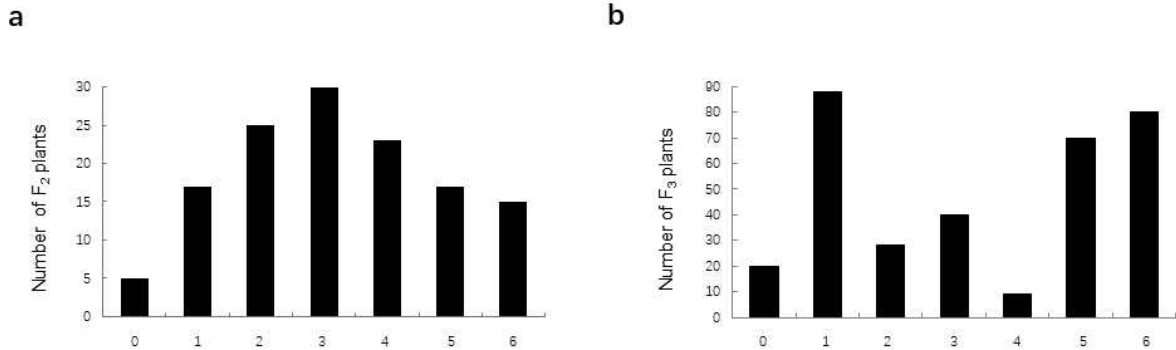


그림 39. F<sub>2</sub> (a) and F<sub>3</sub> (b) 개체에 대한 흰가루병에 대한 저항성 정도의 분포

- DB\_PM\_F<sub>2</sub> 집단을 대상으로 한 SNP\_seq 기반의 QTL mapping 실시
- PMR(저항성) / PMS(이병성) 집단의 표현형 분석을 활용하여 강한 저항성과 이병성을 보이는 개체를 15개씩 선발하였다.
  - 선발된 개체에서 DNA를 분리한 후 15개체의 DNA를 pooling 하여 Resequencing 을 실시하여 4개의 유전체 서열을 확보하였다
    - 모계 오이 유전체 서열, 부계 오이 유전체 서열, 저항성 F<sub>2</sub> 오이 pool 유전체 서열, 이병성 F<sub>2</sub> 오이 pool 유전체 서열

표 10. QTL-seq sequencing 결과

Sample	No. of bulked lines	No. of raw reads	No. of clean reads (% <sup>a</sup> )	No. of mapped reads (% <sup>b</sup> )	Genome coverage <sup>c</sup> (% <sup>d</sup> )
PM-R	–	237,575,528	224,236,490 (94.39)	150,443,813 (87.87)	98.92
PM-S	–	202,477,822	190,888,534 (94.28)	104,432,302 (61.75)	98.61
PMR-F <sub>2</sub>	15	294,145,720	284,372,244 (96.68)	182,473,465 (89.03)	99.05
PMS-F <sub>2</sub>	15	248,858,030	232,971,186 (93.62)	162,018,937 (89.35)	99

<sup>a</sup> Percentage represents the ratio of number of filtered reads from number of raw reads.

<sup>b</sup> Percentage represents the ratio of number of mapped reads from number of raw reads.

<sup>c</sup> Genome of Gy14 cucumber was used in this study as cucumber reference genome.

<sup>d</sup> Percentage represents the ratio of total length of mapped sequences from total cucumber genome.

- 저항성과 이병성 F<sub>2</sub> 개체들의 pool 유래의 서열 간에 차이를 보이는 SNP를 선발하였다.
- 이렇게 선발된 SNP 서열과 표현형 데이터를 Mapmaker 라는 소프트웨어를 이용하여 QTL mapping을 실시하여 5번과 6 염색체 흰가루병 저항성 유전자좌가 존재한다는 결과를 확보하였다 (그림 40).

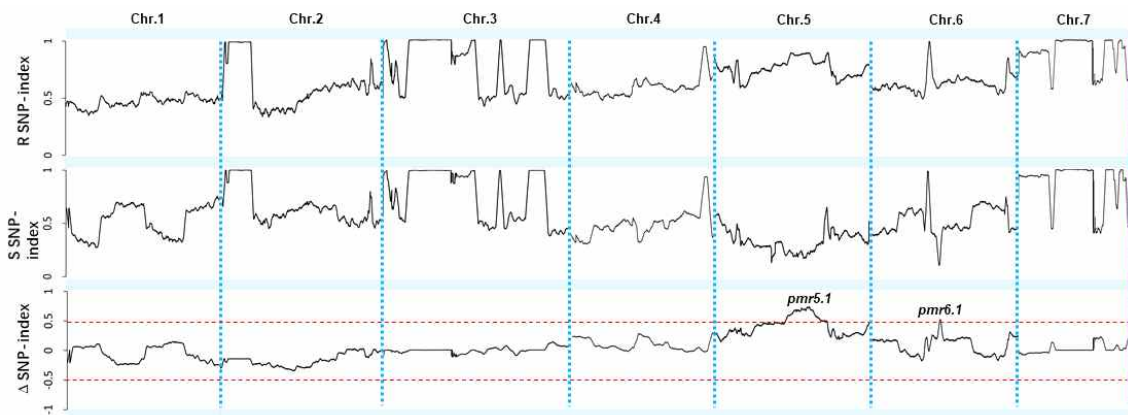


그림 40. SNP-index graphs of R-bulk (a), S-bulk (b) and  $\Delta$  (SNP-index) graph (c) from QTL-seq analysis of F<sub>2</sub> population. X-axis represents the position of seven chromosomes, and Y-axis represents the SNP-index. SNP-index was calculated based on 2 Mb interval with a 10-kb sliding window. The  $\Delta$  (SNP-index) graph (c) was plotted with statistical confidence interval under the null hypothesis of no QTLs ( $P < 0.05$ ). Two candidate QTLs, *pmr5.1* and *pmr6.1*, were defined using the criteria of SNP-index near to 1 and 0 in R-bulk (a) and S-bulk (b), respectively

- 5번과 6번 염색체를 대상으로 상세한 분석을 실시하여 흰가루병 저항성을 조절하는 주요 인자들이 존재하는 영역을 아래 그림처럼 확인하였다 (그림 41, 표 11).



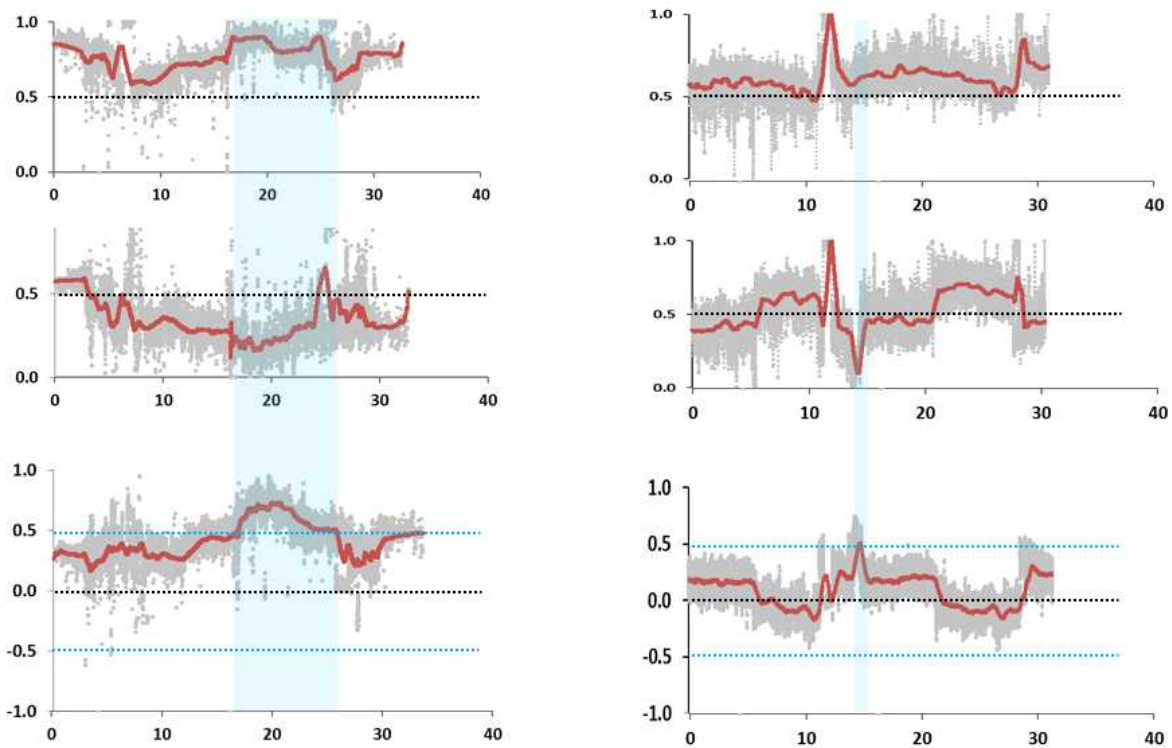


그림 41. Identification and validation of two candidate QTLs in chromosomes 5 (a) and 6 (b) using F2 population. SNP-index graphs of R-bulk (top), S-bulk (next to the top) and  $\Delta$  (SNP-index) graph (next to the bottom) with statistical confidence intervals under the null hypothesis of no QTLs ( $P < 0.05$ ) from QTL-seq analysis. The significant genomic regions are highlighted in shaded color.

표 11. QTL-seq sequencing을 통해 나타난 흰가루병 저항성 영역

QTL	Position interval (Mb) <sup>a</sup>	Average $\Delta$ SNP-index <sup>b</sup>	Source of allele <sup>c</sup>	QTL interval		Associated marker	LOD score	Phenotypic variation (%)
				Left border marker (Mb) <sup>d</sup>	Right border marker (Mb) <sup>d</sup>			
<i>pmr5.1</i>	16.35–24.99	0.73	PM-R	PM5-13.16	dPM5-26.04	PM5-23.1	11	30
<i>pmr6.1</i>	11.83–12.24	0.5	PM-R	PM6-11.83	C-PM6_14.9	dPM6-12.08	3.2	11

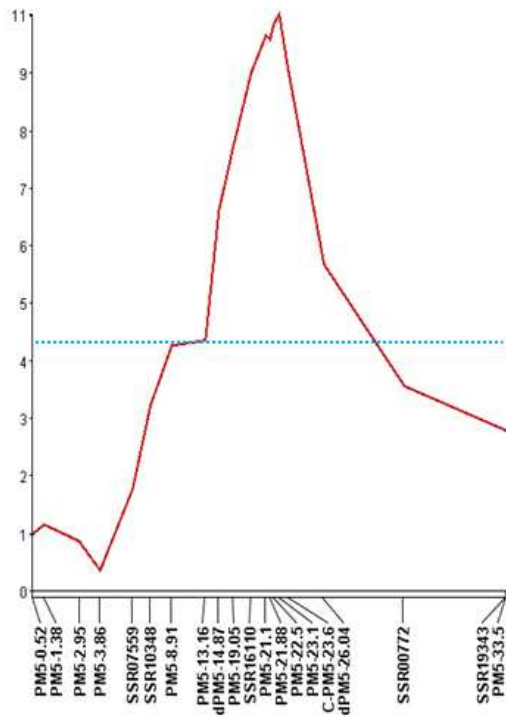
a Position of each QTL was represented by physical map position of Gy14 genome

b Average  $\Delta$  SNP-index was calculated based on 2-Mb interval with a 10-kb sliding window

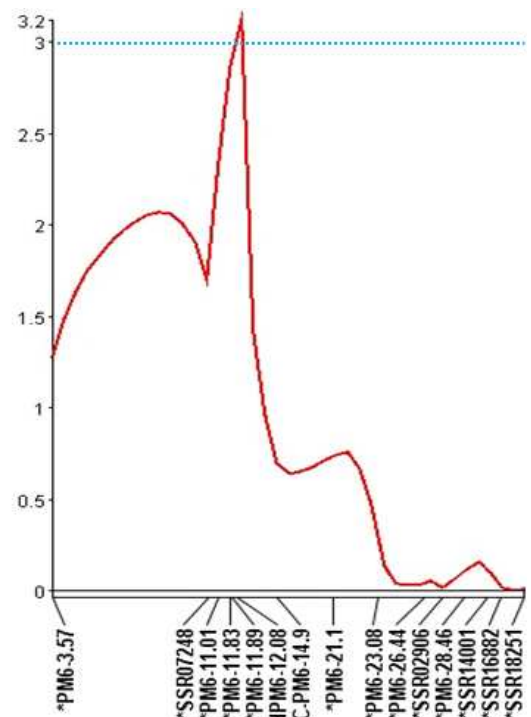
c Source of allele represents the parental allele contributes to PM-R

d QTL interval identified by combing QTL-seq and classical QTL analysis and numbers in parentheses are the physical map positions of the corresponding markers on the Gy14 genome

○ 이와 더불어서 본 연구진이 확보하고 있는 SSR 마커와 NGS 데이터로부터 개발된 SNP 마커를 활용하여 5번과 6번 염색체에 대한 classical QTL 분석을 실시하여 아래와 같은 결과를 확보하였다 (그림 42, 표 12, 13).



Chr. 5



Chr. 6

그림 42. SNP-seq, QTL-seq 을 통해 나온 결과를 Classical QTL 분석을 통해서 PMR locus를 재확인하였다. 푸른색으로 표시된 점선은  $p < 0.01$  를 나타낸다.

표 12. 5번 염색체 classical QTL 분석에 사용된 마커 정보

Chr.	QTL region (Mb)	Marker	Position in 9930 (Mb)	Position in 9931 v3 (bp)	Position in GY14 (bp)	Mapping
Chr. 5		Pm5_3.8	3.8	522706	516,019	yes
		Pm5_4.7	4.7	1382697	1,376,629	yes
		Pm5_6.27	6.27	2958068	2,952,947	yes
		Pm5_7.17	7.17	3846808	3,857,174	yes
		356	9.35	6202303	6,055,609	yes
		372	10.1	6952837	6,827,025	yes
		pm5_0.3	0.3	7732189	7,665,461	yes
		Pm5.2_12.05	12.05	9716109	8,910,209	yes
		Pm5_2.4	2.4	13185943	13,164,190	yes
		dPm5_3.2	3.2	14262050	14,873,964	yes
		dPM5-17.67	17.67	15524278	17,665,840	yes
		599	15.37	18927447	20,837,807	yes
	5.1	pm5_16.3	16.3	19957121	21,876,501	yes
		pm5_17.2	17.2	20935665	22,886,552	yes
		dPm5_20.4	20.385,840	24091439	26,037,218	yes
		83	22.14	25861982	27,819,449	yes
		735	27.49	31383639	33,209,481	yes
		Pm5_27.8	27.8	31674687	33,502,238	yes

표 13. 6번 염색체 classical QTL 분석에 사용된 마커 정보

Chr.	QTL region (Mb)	Marker	Position in 9930 (Mb)	Position in GY14 (Mb)	Mapping
Chr. 6		*Pm6-0.81	0.81	0.82	yes
		*Pm6-3.53	3.53	3.57	yes
		*Pm6-617	9.63	9.73	yes
		*Pm6-341	10.781,591	10,893,228	yes
	6.1	*Pm6-11.67	11.67	11.83	yes
		*C-Pm6-14.1	14.123,227	14,900,040	yes
		*Pm6-18.08	18.08	21.1	yes
		*Pm6-20.05	20.05	23.08	yes
		*Pm6-23.17	23.17	26.44	yes
		*Pm6-174	24.22	27.49	yes
		*Pm6-25.14	25.14	28.46	yes
		*Pm6-496	26.97	30.29	yes
		*Pm6-636	27.43	30.75	yes
		*Pm6-691	28.19	31.51	yes

○ 상기의 결과를 정리하면 아래와 같이 표시할 수 있다 (표 14).

표 14. QTL-seq 과 classical QTL 분석에 의한 흰가루병 저항성 영역

QTL	Method	Position interval (Mb)	Final QTL interval (Mb)
<i>pm5.1</i>	QTL-seq	16,356,256 – 24,993,896	16,356,256 – 24,993,896
	Classical QTL	13,164,190 – 27,819,449	
<i>pm6.1</i>	QTL-seq	11,017,651 – 12,428,465	11,017,651 – 12,428,465
	Classical QTL	11,005,246 – 14,900,040	

8) PMR 선발 마커 개발

○ PMR 선발 마커를 개발하기 위해서 상기에서 선발된 PMR 영역을 대상으로 추가적인 마커와 F<sub>2</sub> 개체를 적용하여 PMR 영역을 축소하였다 (그림 43).

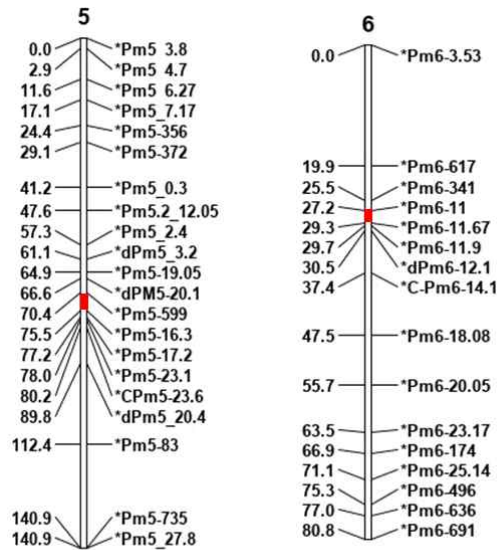


그림 43. 5번과 6번 염색체에 PMR locus (흰가루병 저항성 영역)를 표시한 결과. 왼쪽의 숫자는 Physical distance (Mb)를 나타내고, 사용된 마커들은 오른쪽 표시됨. 붉은색으로 표시된 영역은 PMR locus 를 나타낸다.

- 상기에서 확보된 흰가루병 저항성 영역에서 PMR 과 PMS 서열 간의 다형성을 분석하였다.
  - 먼저, 상기 영역에 존재하는 유전자 (exon 과 intron) 서열을 PMR(저항성) 과 PMS(이병성) 서열로 부터 다운로드 하였다.
  - PMR(저항성) 과 PMS(이병성) 서열 간에 다형성을 보이는 유전자를 아래와 같이 선별하였다 (표 15, 16).

표 15. 흰가루병 저항성 영역에 존재하는 유전자상의 다형성 서열 분석 결과

QTL	다형성	변이 타입	
		Nonsynonymous	Nonsense
pm5.1		37 genes	11 genes
pm6.1		28 genes	3 genes

표 16. 흰가루병 저항성 영역에서 다형성을 보이는 유전자 이름과 다형성 타입

Gene ID	SNPs polymorphism	Indel polymorphism	Mutation (PMR/PMS)	description
<i>CsGy6G012660.1</i>	1 in exon	no	nonsynonymous	Poly [ADP-ribose] polymerase
<i>CsGy6G012840.1</i>	1 in exon	no	nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy6G013000.1</i>	1 in exon	3 in exon	nonsynonymous	Unknown Protein
<i>CsGy5G012670.1</i>	1 in exon	no	Nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy5G013460.1</i>	1 in exon	no	Nonsense mutation	ATP synthase subunit alpha
<i>CsGy5G013800.1</i>	1 in exon	no	Nonsynonymous	Eukaryotic aspartyl protease family protein
<i>CsGy6G013470.1</i>	1 in exon	no	nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy6G015000.1</i>	1 in exon	no	nonsynonymous	polyadenylate-binding protein RBP47
<i>CsGy6G015570.1</i>	1 in exon	no	nonsynonymous	E3 ubiquitin-protein ligase ATL42-like
<i>CsGy5G012710.1</i>	1 in exon, many in intron	no	Nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy6G013800.1</i>	13 in exon	no	nonsense	protein YeeZ isoform X2

<i>CsGy6G013750.1</i>	15 in exon	no	nonsynonymous	ABC transporter G family member 31
<i>CsGy6G013300.1</i>	2 in 5'UTR, 1 in 3'UTR, 1 in exon, and many in intron	2 in intron	nonsynonymous	Integrin-linked protein kinase family
<i>CsGy6G013330.1</i>	2 in 5'UTR, 13 in intron, 8 in exon, and in 3'UTR	1 in 5'UTR and 1 in 3'UTR	nonsynonymous	Elongation factor 2
<i>CsGy6G014500.1</i>	2 in exon and 9 in intron	no	nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy6G014820.1</i>	2 in intron and 1 exon	no	nonsynonymous	Unknown Protein
<i>CsGy6G013290.1</i>	2 in intron, 2 in exon, and 5 in 5'UTR	1 in 5'UTR	nonsynonymous	Elongation factor 2
<i>CsGy6G013240.1</i>	3 in 3'UTR, 7 in 5'UTR, 4 in exon, and many in intron	1 in 3'UTR, 1 in 5'UTR, and 7 in intron	nonsynonymous	Ubiquinone biosynthesis O-methyltransferase, mitochondrial
<i>CsGy6G013350.1</i>	3 in 3'UTR, many in intron, and 2 in exon	1 in exon and many in intron	nonsynonymous	MADS-box transcription factor 3
<i>CsGy6G013270.1</i>	3 in 3'UTR, many in intron, and 5 in exon	1 in 3'UTR, 1 in 5'UTR, and 3 in intron	nonsynonymous	Serine/threonine-protein phosphatase 5
<i>CsGy6G012980.1</i>	3 in 5'UTR, 4 in 3'UTR, many in intron, and 17 in exon	3 in intron	nonsynonymous	G1/S-specific cyclin-E protein
<i>CsGy5G014620.1</i>	3 in exon	2 in exon	Nonsynonymous	Structural constituent of ribosome, putative
<i>CsGy6G012960.1</i>	3 in exon and many in intron	many in intron	nonsynonymous	probable transcription factor KAN2 isoform X2
<i>CsGy6G013370.1</i>	3 in exon, 1 in intron, and 1 in 5'UTR	1 in 5'UTR	nonsynonymous	protodermal factor 1-like
<i>CsGy5G014630.1</i>	3 in exon, 3'utr, many in intron	no	Nonsynonymous	putative leucine-rich repeat-containing protein DDB_G0290503 isoform X1
<i>CsGy6G013040.1</i>	3 in intron and 1 in exon	1 in exon	nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy6G013460.1</i>	3 in intron and 1 in exon	no	nonsynonymous	Mitochondrial carrier protein
<i>CsGy5G015670.1</i>	3'utr, exon, intron	no	Nonsynonymous	rRNA-processing protein UTP23 homolog
<i>CsGy6G012880.1</i>	4 in exon	1 in exon	nonsynonymous	DNA ligase 1
<i>CsGy5G013450.1</i>	4 in exon	1 in intron	Nonsense mutation	Uncharacterized protein
<i>CsGy6G013380.1</i>	4 in exon	no	nonsynonymous	peroxisomal and mitochondrial division factor 2
<i>CsGy6G012800.1</i>	4 in exon and 5 in intron	many in intron and exon	nonsynonymous	Unknown Protein
<i>CsGy5G016450.1</i>	5'utr, 3'utr	intron, 3'utr	Nonsynonymous	RNA recognition motif
<i>CsGy6G015360.1</i>	8 in intron and 1 in exon	no	nonsynonymous	rRNA adenine N(6)-methyltransferase
<i>CsGy5G013960.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Unknown Protein
<i>CsGy5G014720.1</i>	exon	intron	Nonsynonymous	nudix hydrolase 18, mitochondrial-like
<i>CsGy5G015580.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Aspartokinase
<i>CsGy5G015660.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase RPK2
<i>CsGy5G015880.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Ankyrin repeat family protein
<i>CsGy5G016220.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Hydrolase, hydrolyzing O-glycosyl compounds, putative
<i>CsGy5G016230.1</i>	exon	intron	Nonsynonymous	major extracellular endoglucanase-like
<i>CsGy5G016260.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Hydrolase, hydrolyzing O-glycosyl compounds, putative
<i>CsGy5G016270.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	major extracellular endoglucanase-like
<i>CsGy5G016300.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	major extracellular endoglucanase-like
<i>CsGy5G016340.1</i>	exon	exon	Nonsense mutation	major extracellular endoglucanase-like
<i>CsGy5G016350.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy5G016440.1</i>	exon	intron	Nonsynonymous	Uncharacterized protein
<i>CsGy5G016460.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Unknown Protein
<i>CsGy5G016620.1</i>	exon	no	Nonsense mutation	Elongation factor 1-alpha
<i>CsGy5G016630.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Elongation factor 1-alpha
<i>CsGy5G016790.1</i>	exon	no	Nonsynonymous	Putative sucrose-phosphate synthase 2

<i>CsGy5G017310.1</i>	exon	no	Nonsense mutation	Uncharacterized protein
<i>CsGy5G018400.1</i>	exon	exon,intron	Nonsense mutation	Kinesin-like protein
<i>CsGy5G015780.1</i>	exon	no	Nonsense mutation	exopolygalacturonase-like
<i>CsGy5G015450.1</i>	exon, 3'utr	intron	Nonsynonymous	xanthoxin dehydrogenase
<i>CsGy5G015650.1</i>	exon, 3'utr	intron, 3'utr	Nonsynonymous	Nuclear factor kappa-B-binding protein, putative
<i>CsGy5G016430.1</i>	exon, 3'utr, intron	3'utr	Nonsynonymous	RNA-binding family protein, putative isoform 1
<i>CsGy5G016540.1</i>	exon, 3'utr, intron	intron	Nonsynonymous	Pseudouridine synthase family protein
<i>CsGy5G014280.1</i>	exon, intron	exon	Nonsense mutation	aspartyl protease family protein 1-like
<i>CsGy5G015510.1</i>	exon, intron	intron	Nonsynonymous	Uridine 5'-monophosphate synthase/orotate phosphoribosyltransferase
<i>CsGy5G016200.1</i>	exon, intron	no	Nonsynonymous	Cystatin
<i>CsGy5G016210.1</i>	exon, intron	intron	Nonsynonymous	endoglucanase-like
<i>CsGy5G016250.1</i>	exon, intron	no	Nonsynonymous	Glycoside hydrolase
<i>CsGy5G016280.1</i>	exon, intron	no	Nonsynonymous	endoglucanase-like
<i>CsGy5G016310.1</i>	exon, intron	intron	Nonsynonymous	endoglucanase-like
<i>CsGy5G016320.1</i>	exon, intron	intron	Nonsynonymous	major extracellular endoglucanase-like
<i>CsGy5G016330.1</i>	exon, intron	intron	Nonsynonymous	endoglucanase-like
<i>CsGy5G016530.1</i>	exon, intron	intron	Nonsynonymous	Nuclear receptor corepressor 1
<i>CsGy5G016490.1</i>	exon, intron, 5'utr	no	Nonsynonymous	zinc knuckle (CCHC-type) family protein
<i>CsGy5G013040.1</i>	exon/ intron	exon	Nonsense mutation	DNA topoisomerase 2-binding protein 1 isoform X3
<i>CsGy5G013070.1</i>	intron	exon	Nonsense mutation	DNA topoisomerase 2-binding protein 1 isoform X3
<i>CsGy5G016560.1</i>	intron	exon	Nonsense mutation	general transcription factor IIF subunit 2
<i>CsGy6G015810.1</i>	many in exon	no	nonsynonymous	Elongation factor 1-alpha
<i>CsGy6G013020.1</i>	many in intron and 2 in exon	1 in intron and 1 in 5'UTR	nonsynonymous	Tyrosine-protein phosphatase
<i>CsGy6G015410.1</i>	many in intron and 4 in exon	no	nonsynonymous	Peptide chain release factor 1
<i>CsGy6G015420.1</i>	many in intron and many in exon	mant in intron	nonsynonymous	Unknown Protein
<i>CsGy6G015610.1</i>	many in intron and many in exon	2 in exon	nonsynonymous	Replicase polyprotein
<i>CsGy6G015450.1</i>	many in intron, many in exon, and many in 5'UTR	2 in exon, 1 in intron, and 5 in 5'UTR	nonsense	Unknown Protein
<i>CsGy5G017900.1</i>	no	exon	Nonsynonymous	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g40400

○ 상기에서 선발된 유전자를 흰가루병 저항성을 보이는 Gy14 서열에서도 동일한 다형성을 보이는지 여부를 확인하여 아래와 같은 결과를 확보하였다. (표 17). 5번 염색체 상에 15개의 유전자와 6번 염색체 상에 8개의 다형성 서열을 보이는 유전자가 최종적으로 선발되었다.

표 17. Gy14,PMR/PMS 간에 공통적으로 다형성을 보이는 유전자 이름과 다형성 타입

QTL	Gene ID	Position	Mutation (PMR/PMS)	Mutation (GY14,PMR/PMS)	description
pm5.1	<i>CsGy5G013040.1</i>	16607933 .. 16610494 (+)	Nonsense	Nonsense	DNA topoisomerase 2-binding protein 1 isoform X3
pm5.1	<i>CsGy5G013070.1</i>	16659169 .. 16669333 (+)	Nonsense	Nonsense	DNA topoisomerase 2-binding protein 1 isoform X3
pm5.1	<i>CsGy5G013450.1</i>	17415697 .. 17417431 (+)	Nonsense	Nonsense	Uncharacterized protein
pm5.1	<i>CsGy5G013460.1</i>	17417920 .. 17418804 (-)	Nonsense	Nonsense	ATP synthase subunit alpha

pm5.1	<i>CsGy5G014280.1</i>	19584585 .. 19592734 (-)	Nonsense	Nonsense	aspartyl protease family protein 1-like
pm5.1	<i>CsGy5G015780.1</i>	22018701 .. 22020215 (+)	Nonsense	Nonsense	exopolysaccharonase-like
pm5.1	<i>CsGy5G016340.1</i>	22628753 .. 22631151 (+)	Nonsense	Nonsense	major extracellular endoglucanase-like
pm5.1	<i>CsGy5G016430.1</i>	22750171 .. 22758717 (-)	Nonsynonymous	Nonsynonymous	RNA-binding family protein, putative isoform 1
pm5.1	<i>CsGy5G016450.1</i>	22773690 .. 22781601 (-)	Nonsynonymous	Nonsynonymous	RNA recognition motif
pm5.1	<i>CsGy5G016490.1</i>	22813351 .. 22837335 (-)	Nonsynonymous	Nonsynonymous	zinc knuckle (CCHC-type) family protein
pm5.1	<i>CsGy5G016560.1</i>	22929070 .. 22938826 (-)	Nonsense	Synonymous	general transcription factor IIF subunit 2
pm5.1	<i>CsGy5G016620.1</i>	23026471 .. 23027908 (-)	Nonsense	Nonsynonymous	Elongation factor 1-alpha
pm5.1	<i>CsGy5G017310.1</i>	23675519 .. 23676680 (+)	Nonsense	Nonsense	Uncharacterized protein
pm5.1	<i>CsGy5G018400.1</i>	24717046 .. 24726780 (-)	Nonsense	no	Kinesin-like protein
pm5.1	<i>CsGy5G015660.1</i>	21851875 .. 21855000 (-)	Nonsynonymous	Nonsynonymous	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase RPK2
pm6.1	<i>CsGy6G012810.1</i>	11022364 .. 11032938 (-)	nonsynonymous	nonsynonymous	Protein kinase, putative
pm6.1	<i>CsGy6G012820.1</i>	11044921 .. 11047346 (+)	nonsense	nonsense	E3 ubiquitin-protein ligase ATL42-like [Momordica charantia]
pm6.1	<i>CsGy6G013010.1</i>	11288415 .. 11289985 (+)	nonsynonymous	nonsynonymous	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase
pm6.1	<i>CsGy6G013210.1</i>	11609321 .. 11610575 (-)	nonsynonymous	nonsynonymous	heat stress transcription factor A-4c-like
pm6.1	<i>CsGy6G013270.1</i>	11677252 .. 11687861 (-)	nonsynonymous	nonsynonymous	Serine/threonine-protein phosphatase 5
pm6.1	<i>CsGy6G013300.1</i>	11725998 .. 11732926 (+)	nonsynonymous	nonsynonymous	Integrin-linked protein kinase family
pm6.1	<i>CsGy6G013350.1</i>	11789348 .. 11797853 (+)	nonsynonymous	nonsense	MADS-box transcription factor 3
pm6.1	<i>CsGy6G013800.1</i>	12261494 .. 12262167 (+)	nonsense	nonsense	protein YeeZ isoform X2

○ 이들 23개의 유전자를 대상으로 프라이머를 제작하였다 (표 18).

표 18. 선발된 유전자와 제작된 Forward, Reverse 프라이머 서열

유전자	Forward 프라이머 서열	Reverse 프라이머 서열
<i>CsGy5G013040.1</i>	ACTGGCTGCGACAAAGTGT	TCGGCTACGGTGGTTTTTGA
<i>CsGy5G013070.1</i>	GGAAAGACTGGCTGCGACAA	TCAGCCCATCTGGATCCGT
<i>CsGy5G013450.1</i>	GGCGTATCCACGACCAAAA	GCCCAACCTATGCACACCTC
<i>CsGy5G013460.1</i>	TCCATCAGTTGTGTCGGTAGTTC	GTCGCAGCATCAAGGTCTGA
<i>CsGy5G014280.1</i>	TGTTGGGCACTGAAAGCGAT	TGGAGAGAAATGTCTACCCATAGC
<i>CsGy5G015780.1</i>	CTGCGCCACAAGATAGTCCC	TGCTGACTACCATCTCCGAGT
<i>CsGy5G016340.1</i>	CCTTTGAATGTTGGCACCTT	GAATCGTTTTTCAGCATCGT
<i>CsGy5G016560.1</i>	GCCAGTCAGAAGTTTGCCCA	CCACGCTCCTTTCTCAACCG
<i>CsGy5G016620.1</i>	AGGCCATCTGACAAACCCCT	ATGCCAGTTTCAACACGACCC
<i>CsGy5G017310.1</i>	GGTCGGTCCCGTGTAAAGTG	TCAAACCTGAACCTGCCATGGC
<i>CsGy5G018400.1</i>	CAACTGCTGGTTTGCCAGGT	CACAGATGCCACAGCAGCAT
<i>CsGy5G015660.1</i>	TTTCGACGAGATTCGAACA	GGCTTTATCCGAGACCCGAC
<i>CsGy5G016430.1</i>	TGGAGCAGATTAGGAAGCTCA	GGCATACGTCGATCCAGAGC
<i>CsGy5G016450.1</i>	CTTCGAGTCCGCTCGCAAT	GTTCTTGTGGCTTCACTGGCT
<i>CsGy5G016490.1</i>	CTCCAACCGGAATCTTGCT	CACTCCCATCATGAGCTCGC
<i>CsGy6G012810.1</i>	GGGGCTACTGGGTGTGTAGA	CACAGGAGTCGTTTTTCAGCA
<i>CsGy6G012820.1</i>	AGAACGCAAGGCTCATCTG	CACGGTGCTTTCTTCGTGTA
<i>CsGy6G013010.1</i>	AGCACTTTCTTCTCCGTCA	GGTTCAGATTTTCGACAGGC

<i>CsGy6G013210.1</i>	CGATCGAGAACAATGGGAAT	TAGCTGGGATTGGAGATTGG
<i>CsGy6G013270.1</i>	GGTAGCGCACTAGAGGATGC	TCTGGATGGTGCAGGATCA
<i>CsGy6G013300.1</i>	AACTTTCGCGAGTGCTTCAT	CCCGCAGTATGTTTGAAGGT
<i>CsGy6G013350.1</i>	GTCTTGAGGGCAGATTGGA	TATTGCCCTCCCACACTCTC
<i>CsGy6G013800.1</i>	GCTTGGCTGTTAGCTCTTGG	CAAGTTGTGACAGCCCTTT

○ 흰가루병 저항성/이병성 개체에 흰가루병을 접종 한 후 시간대 별로 RNA를 추출하였다. 이후 cDNA를 합성 한 후 RT-PCR 반응을 실시하여 저항성과 이병성 개체 간에 병 접종 후 선발된 유전자의 발현을 분석하였다 (그림 44).

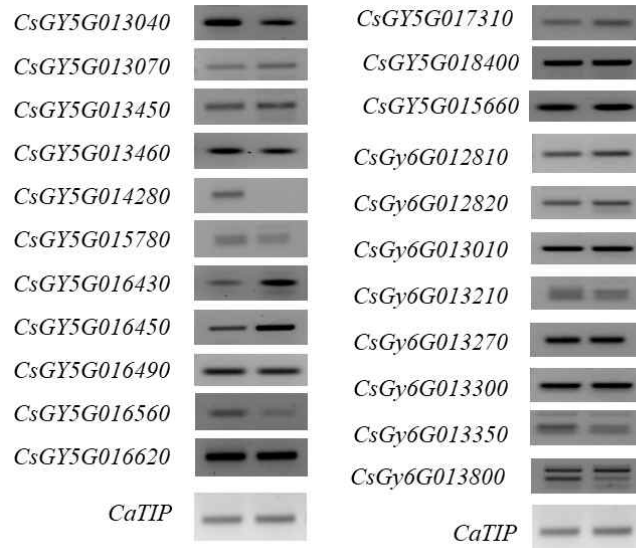


그림 44. 흰가루병 저항성과 이병성 개체 간에 병 접종 후 선발된 유전자들의 발현 분석.

○ 상기에서 발현 차이를 보이는 유전자를 1차 선발 한 후, 흰가루병 접종 후 시간대 별로 발현이 어떻게 변화되는 지를 관찰하였다 (그림 45).

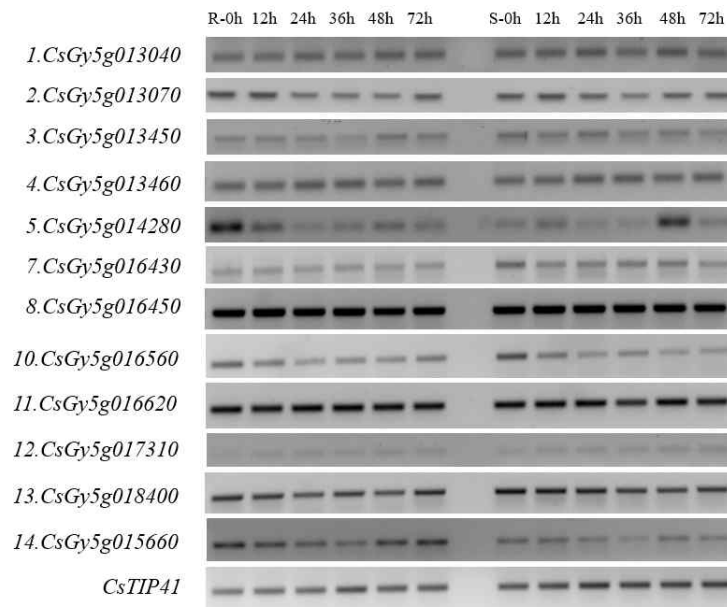


그림 45. 흰가루병 접종 후 저항성과 이병성 개체 간의 시간대별 발현 양상 분석



○ 최종적으로 3개의 유전자가 흰가루병 저항성과 이병성 개체간에 서열 차이를 보이면서, 실제 병원체가 침입할 경우 저항성 개체에서만 특이적으로 발현되는 패턴을 보였다 (그림 46). 이 결과는 이들 유전자가 흰가루병 저항성에 중요한 역할을 하고 있다는 것을 의미한다고 할 수 있을 것이다 .

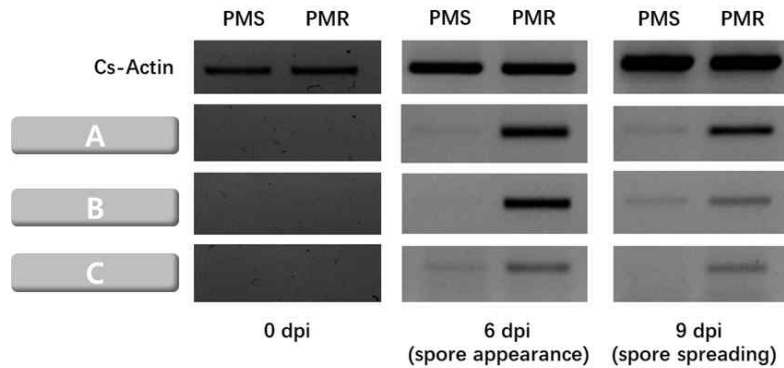


그림 46. 흰가루병 접종 후 저항성과 이병성 개체 간의 시간대별 발현 양상 분석

- 따라서, 이들 유전자에서 저항성/이병성 개체 간에 서열 차이를 보이는 다형성에 기반한 SCAR 마커를 아래처럼 제작하였다 (그림 47, 표 19).

표 19. SCAR 마커 전환을 위한 PCR 프라이머와 제한효소 정보

Marker ID	gene ID	For 서열	Rev 서열	Restriction Enzyme
A	A	특허 출원 전이라서 정보 비공개	특허 출원 전이라서 정보 비공개	<i>HinfI</i>
B	B	특허 출원 전이라서 정보 비공개	특허 출원 전이라서 정보 비공개	<i>MboI</i>
C	C	특허 출원 전이라서 정보 비공개	특허 출원 전이라서 정보 비공개	<i>DraI</i>

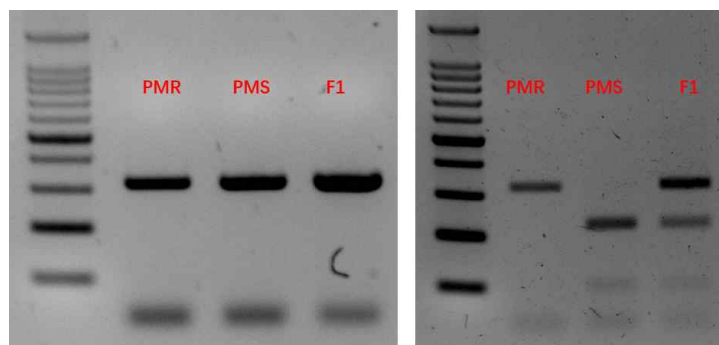


그림 47. A-SCAR 마커

- 상기에서 제작된 SCAR 마커를 F2 개체에 적용하여 마커로의 활용 여부를 검정하여 아래 그림처럼 표현형과 상당한 수준으로 일치하는 결과를 확보하였다 (그림 48).

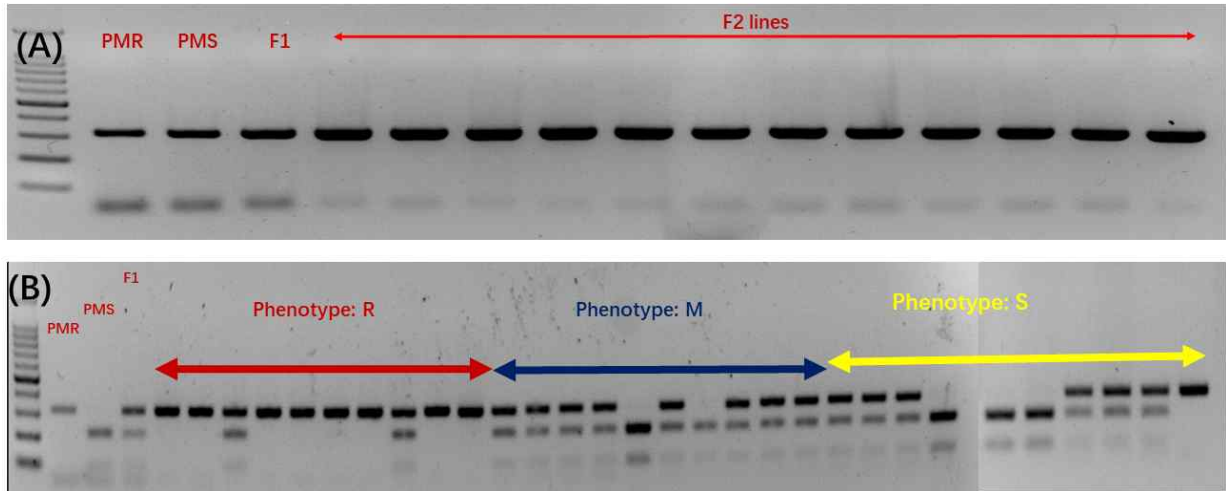


그림 48. F2 집단 개체들을 대상으로 한 A-SCAR 마커의 적용성 검정. 상기 30개 라인 (10개 -저항성, 10개-중도 저항성, 10개-이병성) 대상으로 표현형과 유전형을 비교 분석한 결과. (A) A 유전자 유래의 SNP 근처에서 제작된 프라이머로 증폭된 사진. (B) Hinf1으로 효소 반응을 실시한 후 유전형 분석 결과. 위에 밴드는 저항성, 아래 밴드는 이병성을 나타내고 heterozygote 상태는 두 개의 밴드로 표시됨

- 기존의 MLO 기반 마커로 흰가루병 저항성 유무를 확인 할 수 없었던 동오시드 육종 자원에 상기의 마커를 적용하여 아래와 같은 결과를 확보하였다 (그림 49, 표 20).

- 기 개발된 MLO 마커로 PCR 밴드가 증폭되지 않았던 67개 자원의 경우 전부 PCR 밴드가 증폭되었고, SCAR 마커로 전환해서 검정한 결과 검정된 67개 자원 중에서 12개 라인 (18 %) 정도만 불일치하고, 나머지 82 % 정도는 일치하는 결과를 확보하였다. 이러한 결과는 신규 개발된 마커 (A-SCAR) 가 MLO 마커로 검정 할 수 없는 자원에 적용이 가능함을 의미한다.

- 다만 현재에도 불일치하는 자원이 발견되므로, 전체 380 계통 육성에 사용된 저항성 자원의 유래를 역 추적하는 일을 진행 중이고, 계통 육성에 사용된 저항성 자원을 역 추적하다보면 MLO 마커와 A-SCAR 마커로 적용이 가능한 저항성 자원과 적용이 불가능한 저항성 자원이 밝혀질 것으로 기대된다.

- 결론적으로, 본 과제를 통해서 개발된 *CaMLO8* 기반의 마커와 A-SCAR 마커를 병행 적용하면 현재 육종회사에서 사용되는 육종 계통에 대해서 흰가루병 저항성 자원 선별이 가능하다고 판단된다. 다만 현재 본 마커들이 적용되지 않는 15% 내외의 자원들에 대해서는 저항성 자원의 유래를 명확히 규명해서 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

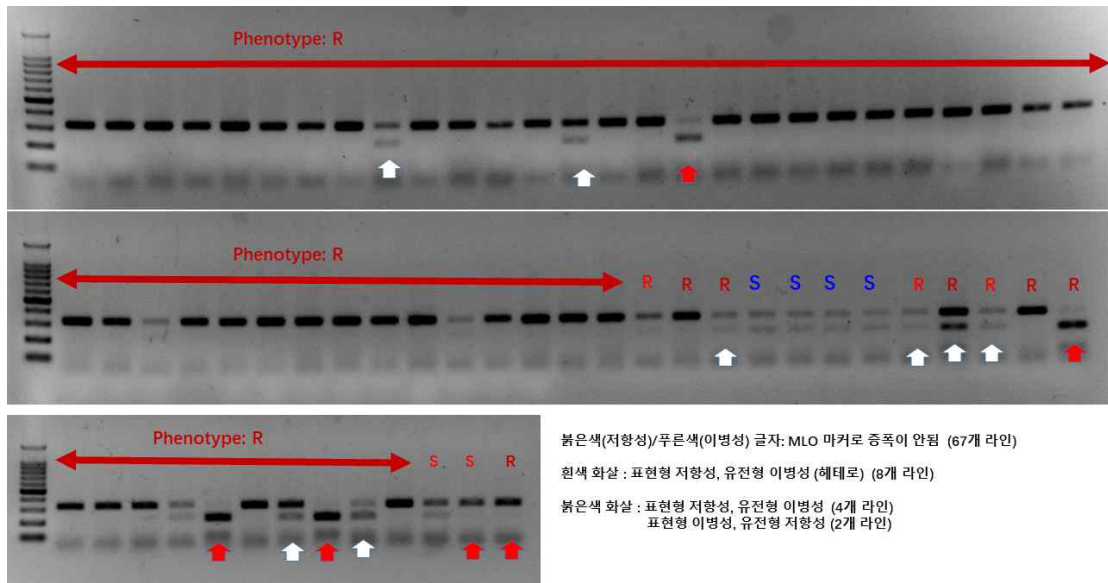


그림 49. MLO 기반의 마커로 증폭이 되지 않았던 67 계통을 A 마커로 유전형 분석을 실시한 결과

표 20. 육종 계통을 대상으로한 표현형과 유전형( A-SCAR 유래 마커) 비교 분석 결과

계통	유전형	표현형	세대	계통	유전형	표현형	세대
62	R	R	8	104	R	R	5
63	R	R	8	105	R	R	5
64	R	R	7	107	R	R	5
65	R	R	7	108	R	R	5
66	R	R	9	109	R	R	5
67	R	R	9	110	R	R	5
69	R	R	6	113	R	R	5
70	R	R	6	118	R	R	5
<b>71</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>6</b>	120	R	R	5
73	R	R	6	127	R	R	4
74	R	R	6	<b>132</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
75	R	R	6	144	S(H)	S	4
76	R	R	6	156	S(H)	S	4
<b>77</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>6</b>	167	S(H)	S	4
78	R	R	6	178	S(H)	S	4
79	R	R	6	<b>199</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
<b>80</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>6</b>	<b>203</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
81	R	R	6	207	H	S	4
82	R	R	6	210	R	R	4
83	R	R	6	<b>218</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
84	R	R	6	227	R	R	3
85	R	R	6	344	R	R	4
87	R	R	6	355	R	R	9
89	R	R	6	382	R	R	3
90	R	R	6	<b>399</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
91	R	R	6	402	R	R	4
93	R	R	6	<b>403</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
94	R	R	6	<b>410</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
95	R	R	6	<b>411</b>	<b>H</b>	<b>R</b>	<b>4</b>
96	R	R	6	412	R	R	4
97	R	R	6	436	H	S	3
98	R	R	6	<b>475</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>3</b>
99	R	R	6	477	R	R	P
100	R	R	6				

나. 오이 노균병 저항성 (DM) 마커 개발

1) 노균병 저항성(Downy Mildew Resistance, DMR) 연관 마커를 개발하기 위한 fine mapping 용 RIL 집단 육성

○ 기존의 DM 저항성 유전자좌 (dm2.1, dm2.2, dm5.1) 영역이 hetero 한 F<sub>2</sub> 개체를 아래 그림처럼 선발하였다 (그림 50).

Recombinant	DM2-05748	DM2-12573	DM2-00684	DM2-00204	DM-482	dm2-6	dm2-7	dm2-CAPs3	DM2-460	dm2-8	dm2-CAPs4	dm2-CAPs5	DM2-22203	DM2-429	DM2-865	DM2-641	dm2-1	DM2-423	DM2-841	dm2-2	DM2-767	dm2-4	DM2-01253	dm2-5	DM2-447	DM2-592	DM5-14247	DM5-22469	DM5-425	DM5-541	dm5-1	dm5-CAPs1	DM5-396	DM5-773	DM5-713	dm5-CAPs3	dm5-CAPs4	DM5-589	dm5-CAPs7	DM5-585	DM5-598	DM5-14180	DM5-981	DM5-139	DM5-03514	DM5-02895	D1	TargetQTL			
R	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	1	
S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	8	
F <sub>1</sub>	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	8	
DMF <sub>-</sub> 83	H	H	H	H	H	H	H	H	A	A	H	H	H	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	6	dm2.1	
DMF <sub>-</sub> 50	B	B	B	B	B	B	B	B	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	5	dm2.2
DMF <sub>-</sub> 143	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	6	dm5.1	

그림 50. 육성중인 RIL 라인 세대 진전 결과. R-저항성 표현형, S-이병성 표현형, F<sub>1</sub>-교잡, A-저항성 유전형, B-이병성 유전형, H-교잡, 유전형, D1 : 1-6 scale, 1-가장 저항성, 6-가장 이병성

○ 지속적인 자가 수정을 실시해서 F<sub>7</sub> (F<sub>8</sub>) 세대를 확보하였다 (그림 51).

○ 자가 수정을 통해서 수확된 종자를 과중하여 확보된 세대 (F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>) 별로 표현형/유전형 분석을 병행 실시하여 RIL 집단 육성에 적합한 개체를 선발하여 자가 수정을 통해서 세대 진전을 F<sub>7</sub> (F<sub>8</sub>) 세대까지 진행하였다.



그림 51. 포장에서 재배, 세대진전 중인 RIL 개체들

○ 확보된 RIL 라인에 대한 표현형 분석을 실시하여 아래와 같은 결과를 확보하였다 (그림 52).

- dm2.1 영역 fine mapping 용도: F<sub>7</sub> 120 개체를 포장에서 재배하여 이들에 대한 표현형 분석을 실시하였다.

- dm2.2 영역 fine mapping 용도: F<sub>7</sub> 140 개체를 포장에서 재배하여 이들에 대한 표현형 분석을 실시하였다.

- dm5.1 영역 fine mapping 용도: F<sub>7</sub> 120 개체를 포장에서 재배하여 이들에 대한 표현형 분석을 실시하였다.

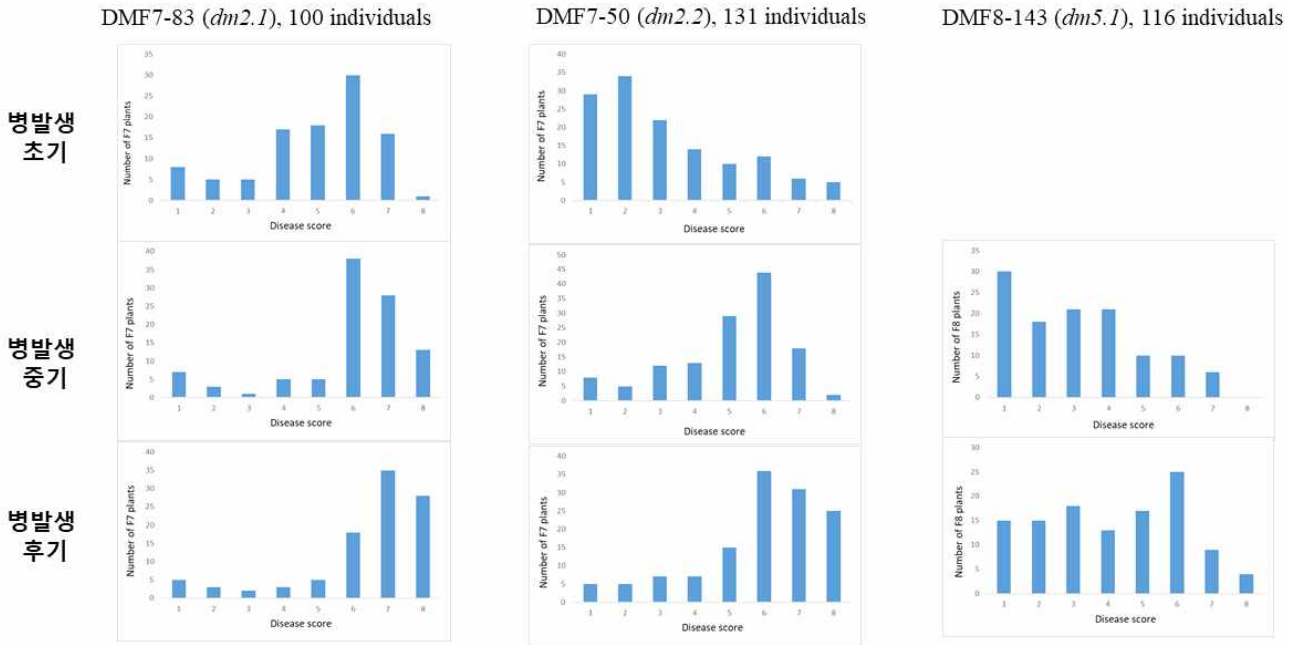


그림 52. 육성중인 RIL (F<sub>7</sub>) 라인에 대한 표현형 분석 결과. 재배 초기, 중기, 후기로 나누어서 병지수 검정 실시. Disease Index는 1-8 scale 로 실시, 1-가장 저항성, 8-가장 이병성

- 고밀도 QTL 분석을 통한 노균병 저항성 유전자 선발과 마커 개발
  - 현재 *dm2.1*, *dm2.2*, *dm5.1* 영역에 대한 F<sub>7</sub> 집단에서 표현형 분석 결과 강한 저항성과 이병성을 보이는 개체를 10 개체씩 선발하여 DNA를 추출하여 pooling 하였다.
  - 확보된 DNA를 바탕으로 추후 QTL-seq 분석을 실시할 계획이다.
- 2) 노균병 저항성(Downy Mildew Resistance, DMR) 연관 마커를 개발하기 위한 fine mapping 용 NIL 집단 육성
- 기존의 DM 저항성 유전자좌 (*dm2.1*, *dm2.2*, *dm5.1*) 영역이 hetero 한 F<sub>2</sub> 개체를 선발하였다.
- 이렇게 선발된 F<sub>2</sub> 개체를 이병성 부모 개체 (DM-S) 에다 지속적으로 Backcross (여교배)를 진행하여 세대 진전을 실시하여 현재 아래에 나타나는 것처럼, 고밀도 QTL 분석할 수준의 개체를 확보하였다 (그림 53, 54).



그림 53. 포장에서 재배, 세대진전 중인 NIL 개체들



## 2-3. 호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발 및 MAS 시스템 구축

### 가. 호박 흰가루병(PM) 저항성 분자마커 개발 연구

#### 1) 비교유전체학적 방법으로 호박 흰가루병 저항성 유전자 발굴

- Cucurbit Genomics Database(<http://cucurbitgenomics.org>) 및 논문 검색을 통해 멜론, 오이, 수박의 MLO(Mildew Locus O) 유전자의 염기서열 확보.
- 멜론에서 흰가루병 저항성 유전자로 알려진 MLO(Genbank ID FJ713541, FJ713543) 및 APX(Genbank ID EF693949)의 염기서열을 확보하여 폐포계 호박(*Cucurbita pepo*)를 포함하여 다른 박과작물의 이종상동성(orthologous) 유전자들을 탐색 (표 21).
- 이러한 이종상동성 유전자들 서열을 비교분석하여 보존적(conserved) 영역을 대상으로 degenerate primers 제작하였고 호박 공시재료 6점을 대상으로 목표 유전자 영역을 PCR 증폭을 하였으나 비특이적 증폭이 일어남.
- 동양계(애호박, *C. moschata*)와 서양계 호박(단호박, *C. maxima*)의 표준유전체 염기서열 정보를 이용하여 멜론 MLO에 대한 이종상동성 유전자들을 발굴하고 다른 MLO 유전자들과 유연관계를 분석하였음 (그림 56).
- 이러한 결과들을 바탕으로 서양계 호박에서 흰가루병 저항성 MLO 후보유전자인 *CmaMLO1* 를 4번 염색체에서 발굴함. 이 유전자의 전체 서열길이가 4.790 kb 이며 이 중 coding 서열은 1,716 bp로 15개의 exon들로 구성되어 있음 (표 22). 단백질은 571개의 아미노산으로 되어 있음.
- *CmaMLO1* 유전자와 더불어 *C. maxoma*의 NBS-LRR 유전자들을 검색하여 3번 염색체에서 하나의 후보 유전자(*CmaRI*) 를 발굴하였음. 이 유전자의 coding 서열은 2,442 bp이며 단백질은 813개의 아미노산으로 구성됨 (표 21).

표 21. 멜론 흰가루병 저항성 유전자 및 다른 박과작물(오이, 수박, 호박)의 이종상동성 유전자

Gene	Melon		Cucumber ortholog	Watermelon ortholog	Pumpkin ortholog
	NCBI Genbank <sup>1</sup>	MELONOMICS <sup>2</sup>	Icugi <sup>3</sup>	Icugi	Cucurbigene <sup>4</sup>
<b>APX</b>	<b>EF693949</b> (mRNA, complete CDS, 1047bp)	<b>MELO3C020719</b> (Full length genomic DNA, 2547bp)	<b>Csa1M479610</b> (Full length genomic DNA, 2699bp)	<b>Cla008291</b> (Full length genomic DNA, 8413bp)	<b>CUTC000548</b> (Unigene, 1018bp)
<b>MLO2</b>	<b>FJ713541</b> (mRNA, complete CDS, 1713bp)	<b>MELO3C012438</b> (Full length genomic DNA, 4598bp)	<b>Csa5M623470</b> (Full length genomic DNA, 4049bp)	<b>Cla20573</b> (Full length genomic DNA, 4094bp)	<b>CUTC037196</b> (Unigene, 531bp )
<b>MLO3</b>	<b>FJ713543</b> (mRNA, partial CDS, 1464bp)	<b>MELO3C007979</b> (Full length genomic DNA, 4594bp)	<b>Csa6M509690</b> (Full length genomic DNA, 5336bp)	<b>Cla014358</b> (Full length genomic DNA, 4612bp)	<b>CUTC015551</b> (Unigene, 792bp)

<sup>1</sup><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; <sup>2</sup><https://melonomics.net/>;

<sup>3</sup><http://icugi.org/cgi-bin/ICuGI/index.cgi>; <sup>4</sup> <https://cucurbigene.upv.es/>

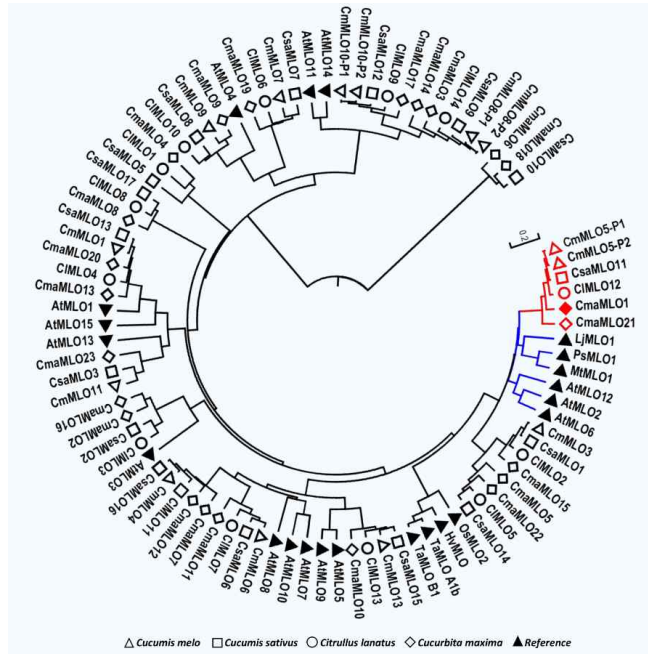


그림 56. UPGMA(Unweighted Pair Group Mean Algorithm) 기반의 식물종에서 알려진 MLO 유전자의 유전적 유연관계.

표 22. *in silico* 분석으로 발굴한 호박의 흰가루병 저항성 유전자

ICUGI Accession No.	Description	Full-length Genomic Sequence	Coding Sequence	Amino Acid Sequence
Ch04G013590	MLO gene	4,790 bp	1,716 bp (15 exons)	571 aa
Ch03G009940	NBS-LRR gene	2,753 bp	2,442 bp (5 exons)	813 aa

2) 호박 흰가루병 저항성 판별 분자표지 개발

○ *C. maxima* 의 표준유전체를 이용하여 발굴한 *CmaMLO1* 및 *CmaR1* 유전자의 염기서열을 분석하기 위해 PCR 프라이머를 제작함. *CmaMLO1* 유전자는 15개 exon 모두를 분석할 수 있게 총 3개의 프라이머 세트를 제작하였으며, *CmaR1* 유전자는 5개의 프라이머 세트를 제작함 (그림 57).

(A)



(B)

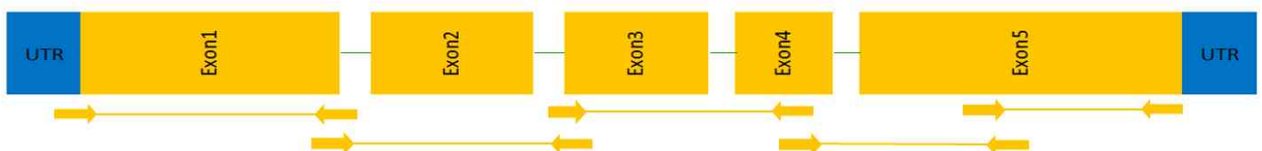


그림 57. 흰가루병 저항성 유전자 *CmaMLO1*(A)과 *CmaR1*(B)의 염기서열 분석을 위해 제작된 PCR 프라이머 세트.



- 저항성 공시품종(Addang PMR과 Top08)과 이병성 공시품종(BN09-03과 BN09-06)을 이용하여 각 유전자의 프라이머 세트에 해당영역을 증폭한 후 염기서열을 Sanger 방법으로 분석함 (표 23).
- 공시품종들의 염기서열을 분석한 결과, *CmaMLO1* 유전자에서는 14개의 염기서열변이(13개 SNPs 및 1개 InDel)을 발굴함. 이러한 변이 중 7개의 SNP은 아미노산 서열을 변화시키는 non-synonymous이며 1개의 3 bp InDel은 frame shift 변이를 유발시켜 저항성과 이병성을 구별하는 분자표지 개발에 유용하게 활용될 수 있음 (표 24, 그림 58).
- *CmaMLO1* 유전자의 7개 non-synonymous SNP들 중 15번째 엑손에 존재하는 SNP을 대상으로 CAPS1 마커를 개발하였고 염기서열분석에 사용했던 4개의 이병성 및 저항성 공시품종들을 포함하여 총 27개의 육종계통 및 품종들을 대상으로 유전자형 분석을 수행하여 검증함 (표 24).

**표 23. 흰가루병 저항성 유전자 염기서열분석 및 마커 개발에 사용된 호박 공시품종**

No	Accession*	Class	PM resistance**	No	Accession	Class	PM resistance
1	13-C	F1	S	15	BN09-59	Inbred	S
2	BN09-23	Inbred	S	16	BN09-61-1	Inbred	S
3	BN09-20	Inbred	S	17	BN09-112-1	Inbred	Unknown
4	1-H	F1	S	18	BN09-470	Inbred	S
5	<b>BN09-03</b>	Inbred	S	19	CHARISMA	F1	R
6	<b>BN09-06</b>	Inbred	S	20	JWS 6823	F1	R
7	33-B	F1	S	21	BN09-11	Inbred	S
8	BN09-02	Inbred	S	22	BN09-25	Inbred	S
9	BN09-05	Inbred	S	23	BN09-370	Inbred	MR
10	<b>Addang PMR</b>	F1	R	24	METRO	F1	R
11	<b>Top08</b>	Inbred	R	25	NEW RACER PMR	F1	R
12	BN09-17	Inbred	S	26	SJ-1	Unknown	S
13	BN09-21	Inbred	S	27	PI 169404	Unknown	MR
14	BN09-24	Inbred	S				

\*Susceptible and resistant varieties used for sequencing are indicated by bold

\*\*PM = Powdery Mildew, S = Susceptible, R = Resistance, MR = Moderate resistance

**표 24. *CmaMLO1*의 저항성과 이병성 대립유전자에서 발굴된 non-synonymous SNPs 및 InDels**

No.	Position	Type of variation	Susceptible allele	Resistant allele	Amino acid change	RE for CAPS
1	Exon 11	SNP	A	G	R → G	
2	Exon 13	SNP	G	A	V → I	
3	Exon 14	SNP	G	A	V → I	
4	Exon 15	SNP	A	C	Q → H	
5	Exon 15	InDel	-	TCT	-	
6	Exon 15	SNP	A	G	S → G	NcoI (CAPS1)
7	Exon 15	SNP	A	T	Q → L	
8	Exon 15	SNP	C	T	A → V	

RE = Restriction enzyme

Susceptible Allele	MADCGTEQRTLEDTSTWAVAVVCFLLVVISIFIEHVIHLTGKWLEKKHKPALVEALEKVKAEMLLLGFISLLLTIGQDAVTQ
Resistant Allele	MADCGTEQRTLEDTSTWAVAVVCFLLVVISIFIEHVIHLTGKWLEKKHKPALVEALEKVKAEMLLLGFISLLLTIGQDAVTQ *****
Susceptible Allele	ICVSKELAATWLPCAAR <b>G</b> KEG <b>A</b> KVTKNSRLKLEFLDPDYGSRRILASKGDDACAKKGQLAFVSAYGIHQHLHIFIVLAVFH
Resistant Allele	ICVSKELAATWLPCAAR <b>V</b> KEG <b>V</b> KVTKNSRLKLEFLDPDYGSRRILASKGDDACAKKGQLAFVSAYGIHQHLHIFIVLAVFH *****
Susceptible Allele	ILYCITILALGRTKMSKWKAWEDETKTIEYQYYNDPARFRFARDTTFGRRHLSFWSRTPISLWIVCFRQFFRSVTKVDYMT
Resistant Allele	ILYCITILALGRTKMSKWKAWEDETKTIEYQYYNDPARFRFARDTTFGRRHLSFWSRTPISLWIVCFRQFFRSVTKVDYMT *****
Susceptible Allele	LRHGFIVAHLPFGSEVKFDFHKYISRSLEDDFKVVVGISPAMWIFAVFLILTNTNGWYSYLWMPFISLIIILLVGTKLQVII
Resistant Allele	LRHGFIVAHLPFGSEVKFDFHKYISRSLEDDFKVVVGISPAMWIFAVFLILTNTNGWYSYLWMPFISLIIILLVGTKLQVII *****
Susceptible Allele	TEMGLTIQERGHVVKGVPTVQPRDDLFWFRPQLLFLIHFLVFTNAFQLAFFAWTSYAFKWRACFH <b>K</b> RVED <b>I</b> VIRLLMGVI
Resistant Allele	TEMGLTIQERGHVVKGVPTVQPRDDLFWFRPQLLFLIHFLVFTNAFQLAFFAWTSYAFKWRACFH <b>Q</b> RVED <b>T</b> VIRLLMGVI *****
Susceptible Allele	IHVLSYGTLPYALVTQMGSNMRPTIFNDRVASALKNWHHNAKNTKHPHPDSTSPFSSRPTTPTHGMSPIHLLHKQQQS
Resistant Allele	IHVLSYGTLPYALVTQMGSNMRPTIFNDRVASALKNWHHNAKNTKHPHPDSTSPFSSRPTTPTHGMSPIHLLHKQQQS *****
Susceptible Allele	STSPRLSDGEPDRWDIEEMPPSHSSRAHDHQELEHVSNTREQEMTV <b>K</b> QSSSETGSTTRPARAQHEITKSPSDFSAK
Resistant Allele	STSPRLSDGEPDRWDIEEMPPSHSSRAHDHQELEHVSNTREQEMTV <b>Q</b> QSSSETGSTTRPARAQHEITKSPSDFSAK *****

그림 58. *CmaMLO1*의 저항성 및 이병성 대립유전자의 아미노산 서열 비교분석. “\*“ 는 저항성과 이병성 간 동일한 아미노산을 의미하고 변이를 보여주는 아미노산 서열은 굵은 글씨체로 나타냄.

- 개발된 CAPS1 마커(PpmCAPS1)의 검증을 위해 저항성 품종 6개를 포함한 27개의 공시품종 (표 23)의 유전자형 분석을 수행함. 이병성 품종들은 모두 이병성 대립유전자들을 가지고 있었으며 저항성 공시품종의 경우 6개 중 4개는 저항성 대립유전자를 보여주었고 나머지 2개는 이병성 대립유전자를 가지고 있었음 (그림 59).
- *CmaMLO1*의 이병성 대립유전자를 가지고 있는 2개의 저항성 공시품종은 *CmaMLO1*가 아닌 다른 유전자로 흰가루병 저항성이 발현될 것으로 생각됨.

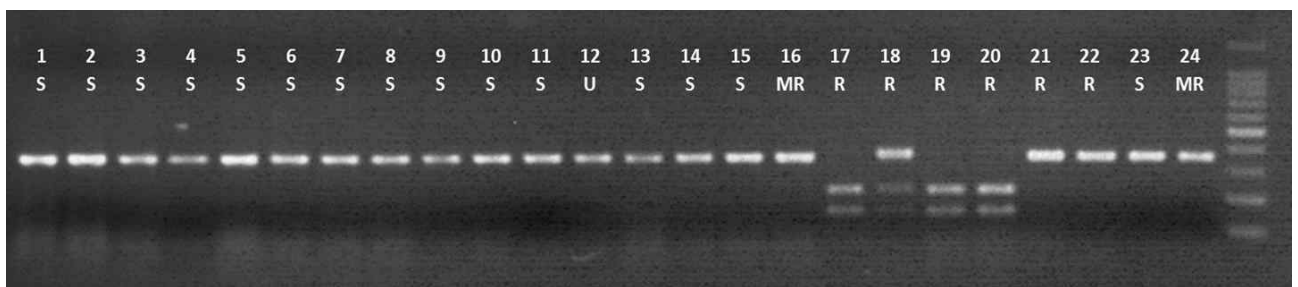


그림 59. *CmaMLO1* 유전자의 15번째 exon의 non-synonymous SNP을 기반으로 개발된 PpmCAPS1 마커 검증을 위해 사용된 27개 공시품종 중 24개 공시품종의 유전자형 분석 결과.

- *CmaMLO1* 유전자 이외의 저항성 유전자를 발굴하기 위해 표준유전체를 이용한 *in silico* 분석을 수행하였고 염색체 3, 5, 7번에서 세 개의 후보유전자를 동정함. 이들의 염기서열을 Sanger 방법으로 분석하여 3번 염색체에 존재하는 NBS-LRR 유전자(*CmaR1*)에서 저항성 (Addang PMR과 Top08)과 이병성(BN09-03과 BN09-06) 간 염기서열변이를 발견하여 분자표지 개발을 위한 연구를 수행함.

- *CmaMLO1* 유전자와 같은 방법으로 저항성과 이병성 공시품종에서 5개의 프라이머 세트로 *CmaR1* 유전자 영역을 증폭하고 염기서열분석을 분석한 결과, 세 개의 엑손(3, 4, 5번)에서 14개의 non-synonymous SNP들을 발견하였으며 이 중 하나를 이용하여 CAPS2(PpmCAPS2) 마커를 개발함 (표 25).

**표 25. *CmaR1*의 저항성과 이병성 대립유전자에서 발굴된 non-synonymous SNPs**

No.	Position	Type of variation	Susceptible allele	Resistant allele	Amino acid change	RE for CAPS
1	Exon3	SNP	G	A	R → K	BstUI (CAPS2)
2	Exon3	SNP	T	C	M → T	
3	Exon3	SNP	A	G	K → E	
4	Exon3	SNP	C	T	P → S	
5	Exon3	SNP	A	G	Q → R	
6	Exon4	SNP	A	G	K → E	
7	Exon4	SNP	A	G	K → E	
8	Exon5	SNP	C	G	H → D	
9	Exon5	SNP	C	A	T → N	
10	Exon5	SNP	C	A	L → M	
11	Exon5	SNP	G	C	K → N	
12	Exon5	SNP	T	C	I → T	
13	Exon5	SNP	C	C	Q → E	
14	Exon5	SNP	A	G	Q → R	

RE = Restriction enzyme

- PpmCAPS2 마커를 검증하기 위해 27개의 공시품종의 유전자형을 분석한 결과, 6개의 저항성 공시품종 모두에서 이병성과 구별되는 대립유전자를 확인할 수 있었음 (그림 60). 이러한 결과는 *CmaMLO1* 유전자에 대해 이병성 대립유전자를 가지고 있었던 2개의 저항성 품종이 다른 유전자에 의해 저항성이 조절된다는 가정을 뒷받침함.

Susceptible Allele MAAELVGGAAALGAVVGELFKAVLDLGERAINFNFPVKDISSKLNAITPLVKQIDELNEYLDISREETERLRGLMDEGKRLLLQ  
 Resistant Allele MAAELVGGAAALGAVVGELFKAVLDLGERAINFNFPVKDISSKLNAITPLVKQIDELNEYLDISREETERLRGLMDEGKRLLLQ  
 \*\*\*\*\*

Resistant Allele CGGVKLGNLNLYLKKPFYTTQKLRDLDSALRSFMDVLLQMGDRDQKKNLKMNMQMEIICRLDNRGGSSKAMDIVPPCLVPQLR  
 Susceptible Allele CGGVKLGNLNLYLKKPFYTTQKLRDLDSALRSFMDVLLQMGDRDQKKNLKMNMQMEIICRLDNRGGSSKAMDIVPPCLVPQLR  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele EQTVGLQKPVKELKLLKNGAQMVVVTAPGGCGKTTLALKLCHDKEIKDIFQGKILFVVVSRNPDWKLIFKNIIESLRGIQL  
 Resistant Allele EQTVGLQKPVKELKLLKNGAQMVVVTAPGGCGKTTLALKLCHDKEIKDIFQGKILFVVVSRNPDWKLIFKNIIESLRGIQL  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele PDSQNDERAFICYLELWLKQAAQNHPVLIVLDDVWNGPEAEGLLDKLFQLPHCKILVTSRFSFPRFSESYHLEPLNHENAIKLL  
 Resistant Allele PDSQNDERAFICYLELWLKQAAQNHPVLIVLDDVWNGPEAEGLLDKLFQLPHCKILVTSRFSFPRFSESYHLEPLNHENAIKLL  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele LLAASLEKESKLPDEETIKKIIGGCRRRLPLALKVIGTSLSRRFMSVWVKVTRNMSRSGSIFDSEKELLECLQSSLELDDK  
 Resistant Allele LLAASLEKESKLPDEETIKKIIGGCRRRLPLALKVIGTSLSRRFMSVWVKVTRNMSRSGSIFDSEKELLECLQSSLELDDK  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele MVIKESFMDLGSFRKNQRI PASTFIDICRVLYE QDETEAMATLDELFSRSLVNSVTTRKYGYDDEFYEQYWFTQHDILRDL  
 Resistant Allele MVIKESFMDLGSFRKNQRI PASTFIDICRVLYE RDETEAMATLDELFSRSLVNSVTTRKYGYDDEFYEQYWFTQHDILRDL  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele AIHLMNLEPIEQQRKRLFLDINGNDVPEWVHVEKHPNSARLISITTDERFSSSWPHMEASKVEVLILNIHSRTYTLPGFLK  
 Resistant Allele AIHLMNLEPIEQQRKRLFLDINGNDVPEWVHVEKHPNSARLISITTDERFSSSWPHMEASKVEVLILNIHSRTYTLPGFLM  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele RMILKLVLIISNFDSFPTEMTSEDNQLNCLPSLEQTRFERISVPLFSNPNQKPLINLQKISFFMCKFGQTKIWDSPNMLE  
 Resistant Allele RMILKLVLIISNFDSFPTEMTSEDNQLNCLPSLEQTRFERISVPLFSNPNQKPLINLQKISFFMCKFGQTKIWDSPNMLE  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele ISVDFCKDLSAIPKGVCEIVRLQKLSITNCHGLCSLPEDIGKLINLRTLRLRSCHLEELPESTTKLRGLVVLDISNCVGVAK  
 Resistant Allele ISVDFCKDLSAIPKGVCEIVRLQKLSITNCHGLCSLPEDIGKLINLRTLRLRSCHLEELPESTTKLRGLVVLDISNCVGVAK  
 \*\*\*\*\*

Susceptible Allele LPEKIGELHDLEKVDMRNCSSLRKPLSIKHLKLLKLLCDGEIAEWLKTATPHLAKQVKVHQEEANLEWLGL  
 Resistant Allele LPEKIGELHDLEKVDMRNCSSLRKPLSIKHLKLLKLLCDGEIAEWLKTATPHLAKQVKVHQEEANLEWLGL  
 \*\*\*\*\*

그림 60. *CmaRI*의 저항성 및 이병성 대립유전자의 아미노산 서열 비교분석. "\*" 는 저항성과 이 병성 간 동일한 아미노산을 의미하고 변이를 보여주는 아미노산 서열은 굵은 글씨체로 나타냄.

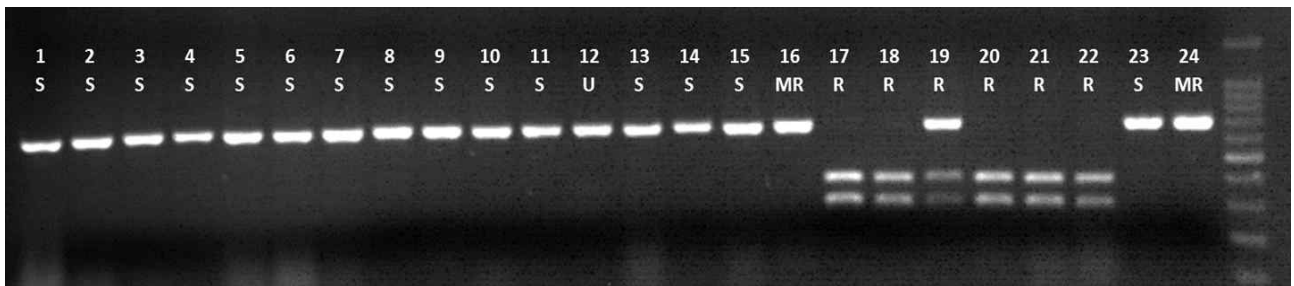


그림 61. *CmaRI* 유전자의 3번째 exon의 non-synonymous SNP을 기반으로 개발된 PpmCAPS2 마커 검증에 사용된 27개 공시품종 중 24개 공시품종의 유전자형 분석 결과.

○ 본 연구에서 개발된 PpmCAPS1과 2 마커는 향후 흰가루병 저항성 판별 분자표지로 육종현 장에서 marker-assisted selection에 활용될 것으로 기대됨.

3) 호박 background selection을 위한 마커세트 개발

○ 차세대염기서열분석(NGS) 기반의 genotyping by sequencing 분석으로 발굴된 호박의 genome-wide SNP 마커들의 polymorphic information content (PIC) 값을 계산하여 PIC 값이 높은 마커 500개를 1차로 선발함. 이들의 염색체 위치를 고려하여 최종적으로 여교배 육종 의 background selection을 위한 96개의 마커 세트를 선발함.

○ 이러한 96개 마커는 호박 20개의 염색체 전체에 분포되어 있으며 각 염색체에서 3-8개 마

커들을 선발하였음 (그림 62).

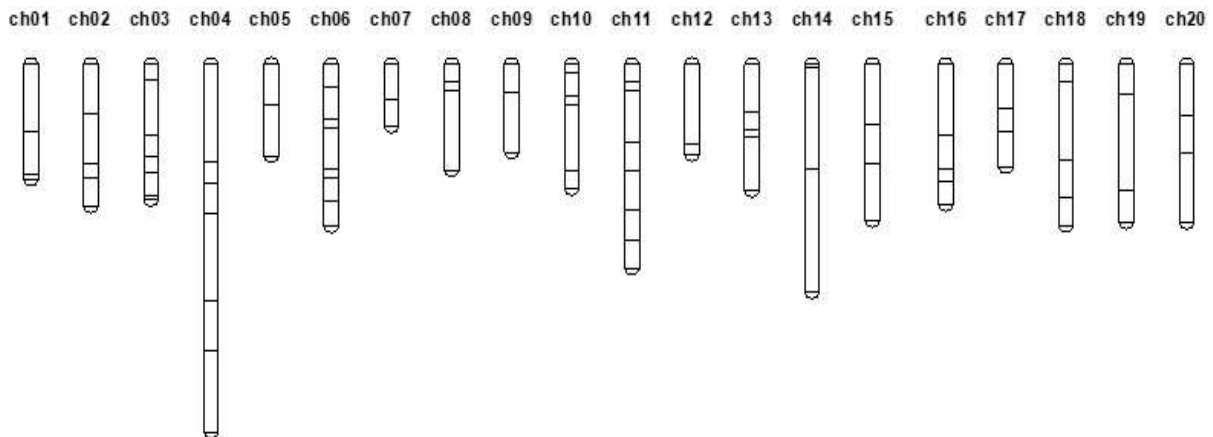


그림 62. 호박 여교배 육종의 background selection을 위해 선발된 96 SNP 마커의 염색체상 위치

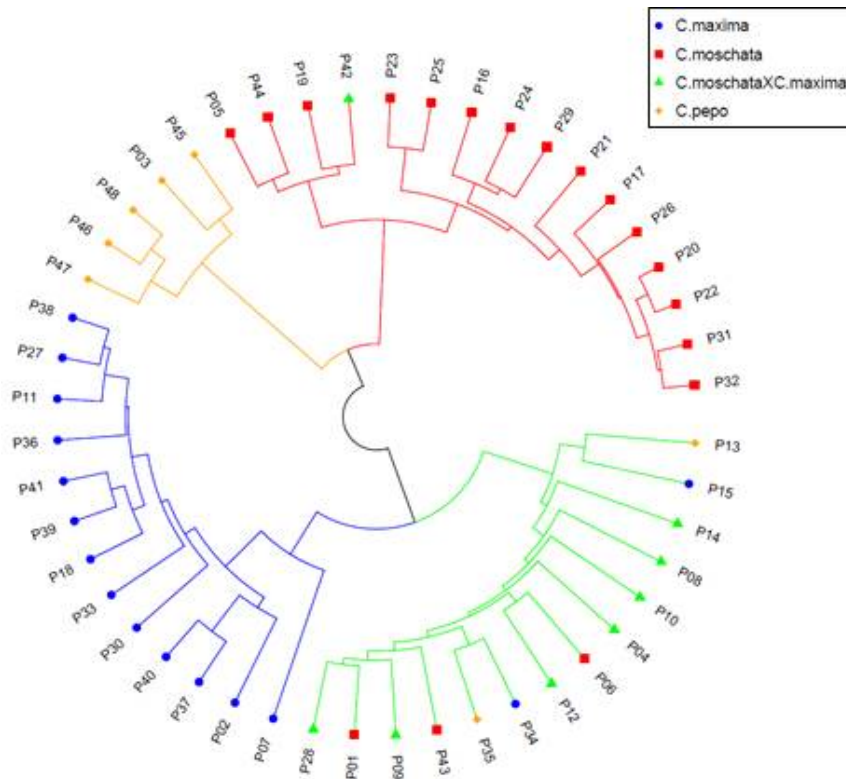


그림 63. 국내에서 육성된 48개 주요 호박 F<sub>1</sub> 품종의 96개 SNP 마커 유전자형에 의한 구별성

- 96개 SNP 마커 세트를 검증하기 위해 국내에서 육성되어 이용되고 있는 호박 F<sub>1</sub> 품종 48개(*C. maxima* 15개, *C. moschata* 18개, *C. pepo* 7개, *C. moschata* x *C. maxima* 8개)를 대상으로 유전자형 분석을 수행함.
- 유전자형 데이터를 바탕으로 품종간 유전거리를 측정된 결과 모든 호박 품종들을 구분하였고 또한 세 개의 호박 종들을 효과적으로 구별함 (그림 63).
- 이러한 결과는 96개의 SNP 마커 세트가 국내 육종현장에서 여교배 육종에 사용되는 다양한 부모친들에 대해 활용될 수 있다는 것을 의미하여 수출경쟁력 있는 신품종 육종의 효율을 증진시킬 수 있을 것으로 기대됨.

## 2-4. 멜론 흰가루병(PM) 저항성 분자마커 개발 연구

### 가. 연구개발 추진전략 및 방법

#### 1) 연구개발 추진 전략

- 박과의 유전체 데이터베이스를 활용하여 기존에 보고되어 알려진 흰가루병 (PM)저항성과 관련된 MLO 유전자를 대상으로 하여 분자 마커 개발을 수행하였다 (그림 64).
- 흰가루병 저항성과 관련된 유전자 (MLO, Protein kinase, R gene 등)들을 대상을 현재 재배 중인 흰가루병 저항성 계통과 감수성 계통간의 후보 유전자들을 분리하여 이들 유전자간의 염기서열을 분석하여 염기서열간의 insertion, deletion 또는 SNP를 이용하여 분자마커를 개발 하였다.
- 멜론 흰가루병 저항성 자원을 이용하여 흰가루병 저항성과 관련된 유전자 위치를 탐색하고 연관 분자마커를 개발하였다 (그림 64).

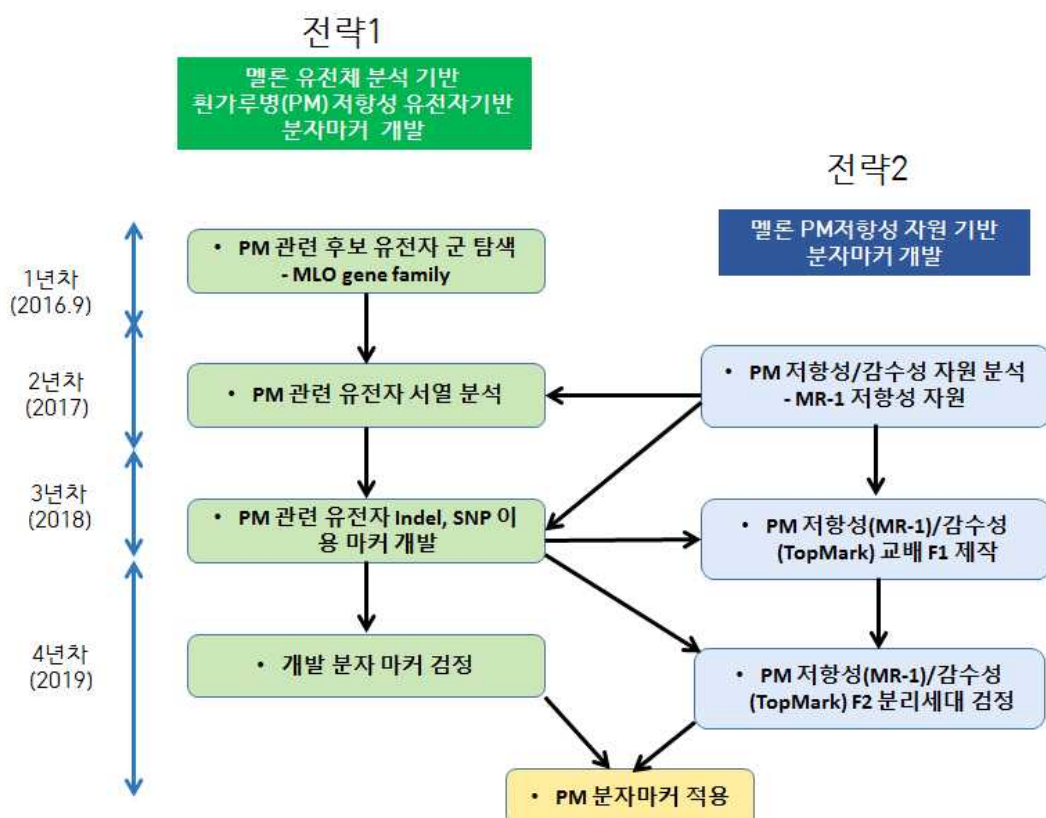


그림 64. 멜론 흰가루병저항성 분자마커 개발 수행을 위한 년차별 전략. PM 저항성 유전자와 저항성 자원 기반을 활용한 2가지 전략을 사용하였다.

#### 2) 연구개발 방법

- 멜론 흰가루병 감수성 유전자인 MLO 유전자의 정보 분석  
기존에 보고된 논문과 유전자데이터 베이스 <https://melonomics.net/>과 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>를 분석하여 흰가루병 저항성과 관련있는 MLO 유전자 16개의 염기 서열 정보를 아래와 같이 획득함.
- 유전자 클로닝 및 염기서열 분석  
Genomic DNA 염기서열을 정보를 이용하여 DNA 단편을 pGEM-T 벡터에 클로닝한 후 Sanger DNA sequencing 방법으로 염기서열을 분석하였다. 단백질서열을 함유하고 있는

cDNA는 식물의 잎으로 부터 total RNA를 분리한 후 full-length를 커버하는 N-terminal과 C-terminal primers를 제작하고 이 primer를 이용하여 합성된 total cDNA에 PCR한 후 pGEM-T 벡터에 클로닝한 후 염기서열을 결정한 후 분석 하였다.

○ 단백질서열 분석

클로닝된 유전자의 단백질 서열은 ClustalW 방법으로 DNASTAR MegAlign (Ver.8.1.4)을 사용하여 자원 간 비교 분석을 수행하였다. 유전자의 구조는 TOPCONS 웹 사이트 (<http://topcons.cbr.su.se/>)에 의해 예측되었다.

○ 멜론 MR-1 계통 후대 분석

흰가루병 저항성 MR-1 자원과 감수성 자원인 TopMark를 교배 하여 F1 세대를 얻은 후 F1를 자가수정하여 F2 분리 세대를 확보 하였다. F2 분리세대 300 라인을 농협 포장에서 전개 하여 포장에서 자원 발생하는 흰가루병에 대해 저항성과 감수성 검정을 하였다. F1 hybrid와 F2 분리세대의 잎에서 DNA를 분리하여 PCR 분석을 통해 유전형을 분석하였다.

○ 멜론 흰가루병저항성 관련 유전자 SNP를 활용한 dCAPS 마커디자인

흰가루병 저항성 계통과 감수성 계통간의 유전자 서열을 분석 비교 후 염기서열에 차이를 보이는 부분에 대한 파이젠의 maker develop 프로그램 (<http://www.phyzen.com/MajerDev/>)을 이용하여 dCAPS 마커를 제작하여 적용하였다.

나. 연구개발 내용

1) 멜론에서 흰가루병 감수성 유전자인 MLO 유전자 분석을 통한 흰가루병 저항성 분자 마커 개발

○ 멜론의 레퍼런스 유전체인 *Cucumis melo* DHL92의 데이터 이용하여 분석 수행하였다. 그 결과 총 16개의 MLO 유전자를 선별할 수 있었다. 이 들 MLO 유전자를 기본에 보고된 다른 식물종의 genomic DNA와 mRNA를 정보를 분석하여 멜론에서 분리한 각각의 MLO 유전자들을 명칭을 정하였다 (표 26).

○ 본 연구에서 분리한 총 16개의 멜론 MLO 유전자중 흰가루병과 연관된 MLO를 탐색하고자 기존에 보고된 다른 식물종의 MLO 유전자들과 단백질 수준에서 상동성 분석을 수행한 후 계통 분석을 수행하였다, 그 결과 총 6개의 그룹 (clade)로 멜론 MLO를 구분 할 수 있었다. 그 그룹 중에 Clade 5에 해당하는 *CmMLO5*, *CmMLO12*, *CmMLO3*에 해당하는 3개의 유전자가 흰가루병 저항성과 관련된 유전자 그룹에 속하였다 (그림 65).

표 26. 멜론에서 분리한 16종의 MLO 유전자들의 유전체 특성 분석

유전자명 <sup>a</sup>	Genomic DNA scaffold <sup>b</sup>	transcripts <sup>c</sup>	CDS (크기) <sup>d</sup>
<i>CmMLO 01</i>	scaffold00052 (3,846bp)	LOC103499008	1,551bp
<i>CmMLO 02</i>	CM3.5_scaffold00004 (1,024bp)	MELO3C005038T1	588bp
<i>CmMLO 03</i>	CM3.5_scaffold00004 (7,144bp)	MELO3C005044T1	1,743bp
<i>CmMLO 04</i>	CM3.5_scaffold00007 (4,593bp)	MELO3C007979T1	1,749bp
<i>CmMLO 05</i>	CM3.5_scaffold00016 (4,597bp)	MELO3C012438T1 MELO3C012438T2	1,713bp 1,677bp
<i>CmMLO 06</i>	CM3.5_scaffold00021 (3,895bp)	MELO3C013709T1	1,719bp

<i>CmMLO 07</i>	CM3.5_scaffold00021 (4,701bp)	MELO3C013761T1	1,625bp
<i>CmMLO 08</i>	CM3.5_scaffold00029 (7,428bp)	MELO3C016709T1 MELO3C016709T2	1,506bp 1,683bp
<i>CmMLO 09</i>	CM3.5_scaffold00038 (7,964bp)	MELO3C019435T1	1,671bp
<i>CmMLO 10</i>	CM3.5_scaffold00048 (7,775bp)	MELO3C021515T1 MELO3C021515T2	1,662bp 1,752bp
<i>CmMLO 11</i>	CM3.5_scaffold00059 (4,970bp)	MELO3C023219T1	1,398bp
<i>CmMLO 12</i>	CM3.5_scaffold00082 (4,049bp)	MELO3C025761T1	1,314bp
<i>CmMLO 13</i>	CM3.5_scaffold00096 (4,203bp)	MELO3C026525T1	1,629bp
<i>CmMLO 14</i>	CM3.5_scaffold00082 (719bp)	MELO3C025760T1	471bp
<i>CmMLO 15</i>	CM3.5_scaffold00004 (469bp)	MELO3C005037T1	441bp
<i>CmMLO 16</i>	CM3.5_scaffold00007 (1,649bp)	MELO3C007252T1	450bp

<sup>(a)</sup> 16개 MLO 유전자의 명칭

<sup>(b)</sup> genomic 스케폴드

<sup>(c)</sup> 전사체 명칭, *CmMLO 05*와 *CmMLO08*, *CmMLO11*의 3개 유전자에서는 각각 2개 전사체가 발견됨

<sup>(d)</sup> 단백질을 coding하는 영역의 염기서열 크기



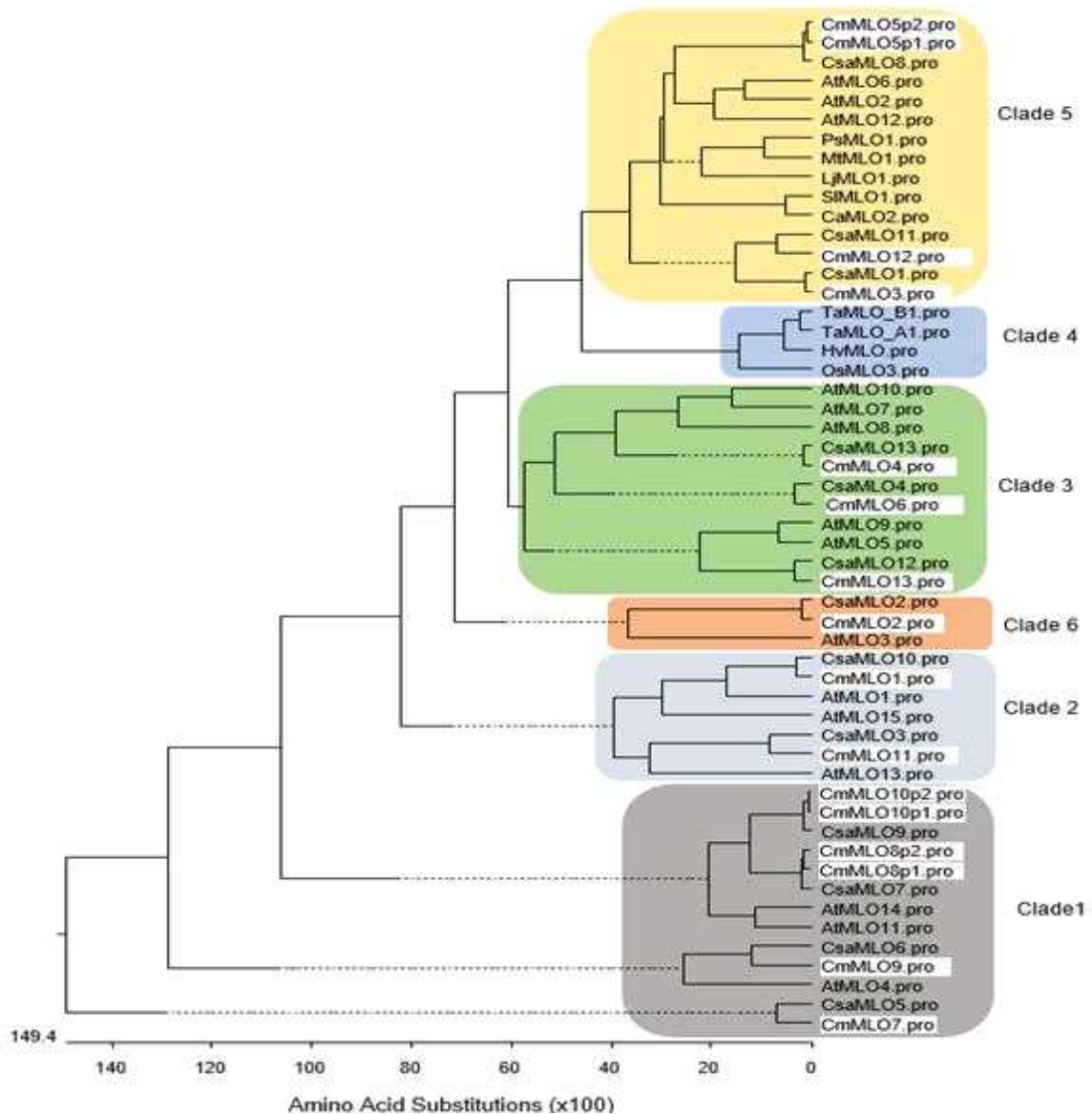


그림 65. 본 연구에서 분리한 16개의 멜론 MLO와 다른 식물종에서 보고된 MLO 유전자 단백질 서열간의 계통 분석.

○ 최근에 오이에서 흰가루병 저항성 유전자와 관련이 있는 *CsaMLO8* (*Csa5M623470\_S6*)가 발견되어 보고되었다. 본 연구에서는 오이의 *CaMLO8*과 유사한 서열을 갖는 멜론 *CmMLO5*를 발견하였다. 단백질 계통도 분석과 아미노산 상동성 서열 분석 결과 멜론 *CmMLO5*은 오이 *CasMLO8*과 상동성이 90% 이상을 보여 흰가루병 저항성과 관련이 있음을 시사하고 있다 (그림 66).

```

CsaMLO8 . pro MABCGTBQRTLEDTS'WAVAVVCFVLVVISIFIEHVIIHLTGKWLKREKHPALVEALEKVKAEMLLGFISLLLTIGQDAV 80
CmMLO5T1 . pro MABCGTBQRTLEDTS'WAVAVVCFVLVVISIFIEHVIIHLTGKWLKREKHPALVEALEKVKAEMLLGFISLLLTIVGQDAV 80
CmMLO5T2 . pro MABCGTBQRTLEDTS'WAVAVVCFVLVVISIFIEHVIIHLTGKWLKREKHPALVEALEKVKAEMLLGFISLLLTIVGQDAV 80

CsaMLO8 . pro TQICVSKELAATWLPAAARAKIGVKVAKNSRLRLLEFLDPDYGSRRILASKGDDACAKRGQLAFVSAIGHQLHIFIFVL 160
CmMLO5T1 . pro TQICVSKELAATWLPAAARAKAGVKVAKNSRLRLLEFLDPDYGSRRILASKGDDACAKRGQLAFVSAIGHQLHIFIFVL 160
CmMLO5T2 . pro TQICVSKELAATWLPAAARAKAGVKVAKNSRLRLLEFLDPDYGSRRILASKGDDACAKRGQLAFVSAIGHQLHIFIFVL 160

CsaMLO8 . pro AVFHVLYCIITLAFGR'FKMSKWKAWEDETKTI'EQYYNDPARFRFARDT'FGRRHLSFWSRTPISLWIVCFRQFPGSVTI 240
CmMLO5T1 . pro AVFHVLYCIITLAFGR'FKMSKWKAWEDETKTI'EQYYNDPARFRFARDT'FGRRHLSFWSRTPISLWIVCFRQFPGSVTI 240
CmMLO5T2 . pro AVFHVLYCIITLAFGR'FKMSKWKAWEDETKTI'EQYYNDPARFRFARDT'FGRRHLSFWSRTPISLWIVCFRQFPGSVTI 240

CsaMLO8 . pro KVDYMTLRHGFI'VAHLAPGSEVKFDFHFKYISRSLEDDFKVVGIS'PAMWLF'AVL'FIL'TNTNGWYSYLWLPFISLFIILLV 320
CmMLO5T1 . pro KVDYMTLRHGFI'VAHLAPGSEVKFDFHFKYISRSLEDDFKVVGIS'PAMWLF'AVL'FIL'TNTNGWYSYLWLPFISLFIILLV 320
CmMLO5T2 . pro K-----AHLAPGSEVKFDFHFKYISRSLEDDFKVVGIS'PAMWLF'AVL'FIL'TNTNGWYSYLWLPFISLFIILLV 308

CsaMLO8 . pro GTKLVHVIIT'HMGLTI'QERGHVVKGV'PVVQ'PRDDL'FWFGR'PQLIL'FLIHFVLFMNAFQLAFFAWTTYAFKMGCFHQRIED 400
CmMLO5T1 . pro GTKLVHVIIT'HMGLTI'QERGHVVKGV'PVVQ'PRDDL'FWFGR'PQLIL'FLIHFVLFMNAFQLAFFAWTTYAFKMGCFHQRIED 400
CmMLO5T2 . pro GTKLVHVIIT'HMGLTI'QERGHVVKGV'PVVQ'PRDDL'FWFGR'PQLIL'FLIHFVLFMNAFQLAFFAWTTYAFKMGCFHQRIED 388

CsaMLO8 . pro IATIRLSMGVITQVLC'SYVTL'PLYALVTQMG'SNMRPTIF'NDRVAT'ALKNWHHS'AKKNMKQHRNPDS'TSPFSSRPTTP'PTHGM 480
CmMLO5T1 . pro IATIRLSMGVITQVLC'SYVTL'PLYALVTQMG'SNMRPTIF'NDRVAT'ALKNWHHS'AKKNMKQHRNPDS'TSPFSSRPTTP'PTHGM 480
CmMLO5T2 . pro IATIRLSMGVITQVLC'SYVTL'PLYALVTQMG'SNMRPTIF'NDRVAT'ALKNWHHS'AKKNMKQHRNPDS'TSPFSSRPTTP'PTHGM 468

CsaMLO8 . pro SPIHLLHKHQHGSTS'PRLSDAEPDQWEELPPSSHHNRA--HDN-ODQOQOSETS--REQEMTVQRPSSSETGSI'IRPARPH 560
CmMLO5T1 . pro SPIHLLHKHQHGSTS'PRLSDAEPDQWEELPPSSHHNRA--HDN-ODQOQOSETS--REQEMTVQRPSSSETGSI'IRPARPH 556
CmMLO5T2 . pro SPIHLLHKHQHGSTS'PRLSDAEPDQWEELPPSSHHNRA--HDN-ODQOQOSETS--REQEMTVQRPSSSETGSI'IRPARPH 544

CsaMLO8 . pro QEITRSPSDFSAK. 575
CmMLO5T1 . pro QEITRSPSDFSAK. 571
CmMLO5T2 . pro QEITRSPSDFSAK. 559

```

그림 66. 오이 흰가루병 저항성 관련 유전자인 *CsaMLO8*과 메론 *CmMLO5*의 2종 (*CmMLO5T1* and *CmMLO5T2*)의 단백질서열 상동성 비교

2) 흰가루병 저항성 멜론 계통 (농협 종묘의 15계통)에 대한 흰가루병 저항성 검정

- 농협종묘로부터 분양 받은 15개의 흰가루병 저항성 계통과 MLO 유전자간의 연관관계를 조사하였다. 흰가루병에 대한 저항성 정도는 강한 것부터 감수성인 것을 수치로 1-5까지 표시하였다. 흰가루병 저항성의 부모는 A, B, C, D, F 5계통으로부터 유래 되었다.

표 27. 농협종묘가 보유하고 있는 15계통의 흰가루병 저항성 멜론 계통에 대한 흰가루병 저항성 정도 및 유래된 부모 라인

흰가루병 감수성 멜론 계통	흰가루병 저항성 수치 <sup>a</sup>	흰가루병 저항성 멜론 계통	흰가루병 저항성 수치 <sup>a</sup>	유전자원 유래 라인
S1	5	R1	1.3	A
S2	5	R2	1.1	A
S3	5	R3	1	B
S4	5	R4	1.2	B
S5	5	R5	1	C
S6	5	R6	1	B
S7	5	R7	1	A
S8	5	R8	1	B
S9	5	R9	1	B
S10	5	R10	1	D
S11	5	R11	1	D
S12	5	R12	1	E
S13	5	R13	1	A,B
S14	5	R14	1	A,D
S15	5	R15	1	F

<sup>a</sup> 병저항성 정도는 저항성이 강한 수준에 따라 1-5로 표시함. 흰가루병 저항성 유래 자원에 따라 A-F로 표시함

3) 흰가루병 저항성관련 멜론 계통 MLO 유전자 및 전사체 서열 비교 분석

- 멜론 MLO 유전자 기반 흰가루병 저항성 분자마커 개발을 위한 흰가루병 저항성 계통과 감수성 계통간의 *CmMLO5*, *CmMLO12*, 그리고 *CmMLO3* 유전자 비교 분석을 수행하였다.
- 흰가루병 감수성 15계통과 저항성 15계통에 대해 *CmMLO5* 유전자간에 indel 또는 detetion 의한 변화로 인하여 흰가루병에 저항성을 보이는지 확인하기 위해 PCR분석을 통해 *CmMLO5* genomic 유전자 전 부위에 대해 4개의 영역으로 PCR하여 크기를 분석한 결과 감수성과 저항성간에 큰 차이를 확인 할 수 없었다 (그림 67). 이결과는 본 연구에 사용한 저항성 계통은 *CmMLO5*유전자에 transposon에 의한 insertion 또는 deletion이 없음을 확인하였다.

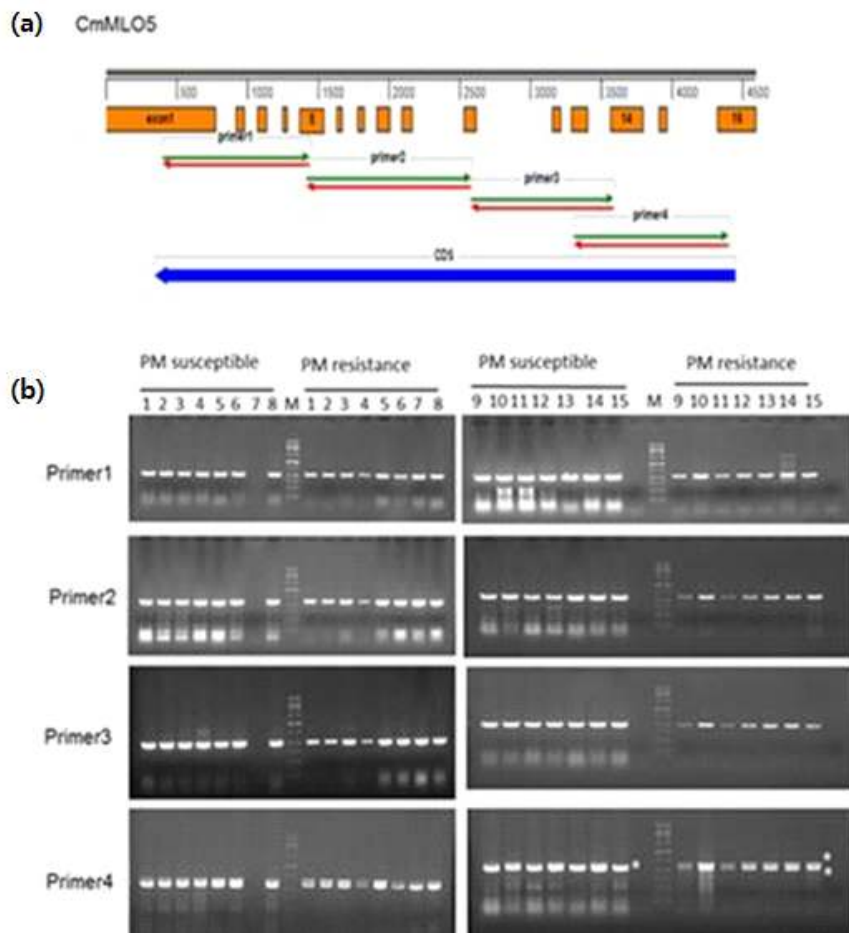


그림 67. 멜론 *CmMLO5* genomic DNA 구조와 15개 각각의 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 PCR product 크기 비교 (a) 멜론 *CmMLO5* genomic DNA 구조와 4개의 영역에 대한 PCR primer 위치 (b) 15개 흰가루병 감수성 계통과 저항성 계통간의 *CmMLO5* 유전자 영역별 PCR 분석

- *CmMLO3* 유전자 역시 transposon에 의한 삽입과 결실로 흰가루병에 저항성을 나타낼 수 있기 때문에 *CmMLO3* 계통 유전자를 7개의 영역으로 나누어 감수성과 저항성 계통간에 PCR 밴드 크기 차이를 분석 하였다. 그 결과 저항성 계통에 transposon에 의한 insertion 또는 deletion이 없음을 하였다 (그림 68). 저항성 계통은 *CmMLO5*유전자에 transposon에 의한 insertion 또는 deletion이 없음을 확인하였다. 이 결과는 본 연구에서 사용한 멜론 흰가루병

저항성 계통은 *CmMLO3* 유전자의 돌연변이와는 상관이 없음을 제시하였다.

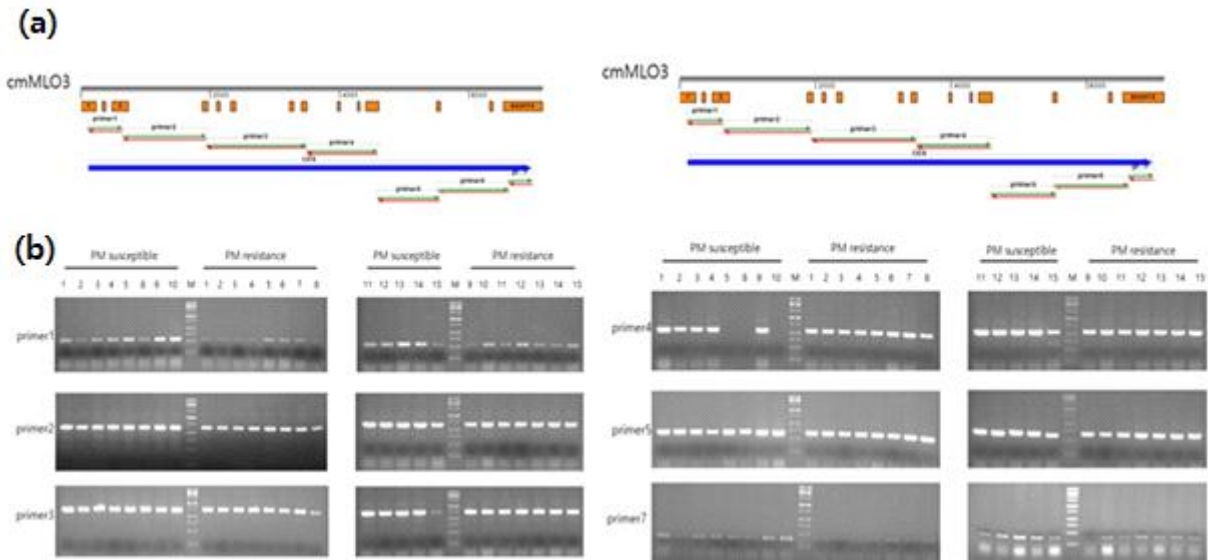


그림 68. 멜론 *CmMLO5* genomic DNA 구조와 15개 각각의 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 PCR product 크기 비교 (a) 멜론 *CmMLO5* genomic DNA 구조와 4개의 영역에 대한 PCR primer 위치 (b) 15개 흰가루병 감수성 계통과 저항성 계통간의 *CmMLO5* 유전자 영역별 PCR 분석

○ *CmMLO12* 계놈 유전자를 3개의 영역으로 나누어 감수성과 저항성 계통간에 PCR 밴드 크기 차이를 분석한 결과 차이를 보이지 않아 저항성 계통에 transposon에 의한 insertion 또는 deletion이 없음을 확인함 (그림 69).

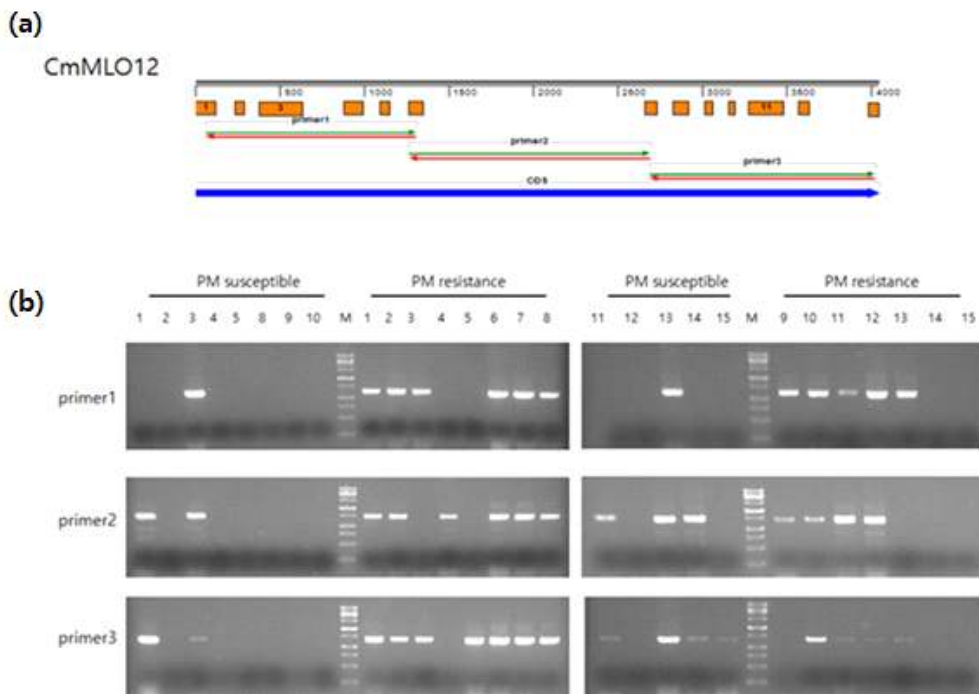


그림 69. 멜론 *CmMLO12* 계놈 유전자에 대한 흰가루병 저항성과 감수성 계통간의 DNA 크기 분석

- 흰가루병 저항성과 감수성 멜론 계통간에 *CmMLO5*, *CmMLO3*, *CmMLO12* 유전자의 전사체 염기서열을 비교 분석 하였다. 감수성과 저항성 계통간에 3종의 MLO 유전자에서 Genomic DNA에 transposon에 의한 insertion과 deletion이 없음이 확인되어 유전자를 코딩하는 mRNA 수준에서 감수성과 저항성간의 MLO 유전자의 변이를 조사 하고자 S1과 S2 감수성 두계통과 8계통의 저항성 계통간의 *CmMLO5* 유전자에 대한 cDNA (1,713 bp)를 클로닝하여 염기서열을 비교 분석 하였다 (그림 70).

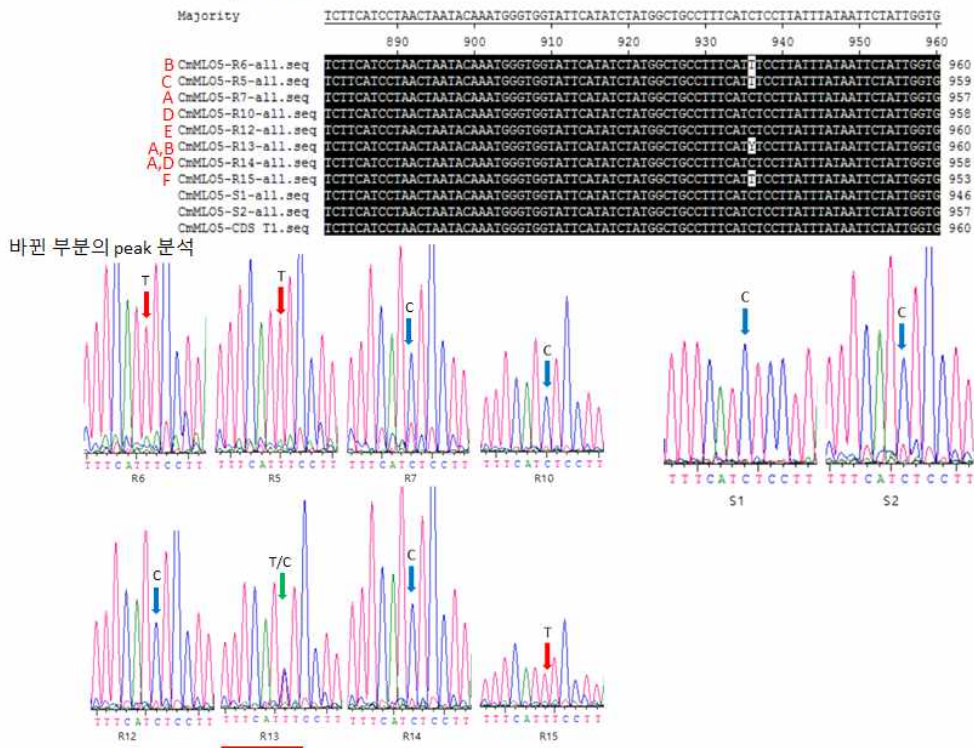


그림 70. 멜론 흰가루병 감수성 2계통 (S1, S2)와 저항성 8계통 (R#)간의 *CmMLO5*의 전사체를 RT-PCR로 분석함.

- *CmMLO5* full-length cDNA를 감수성과 저항성으로부터 분리하여 염기서열을 분석하였다. 그 결과 일부 저항성 계통에서는 감수성과 비교하여 3군데에서 염기서열의 변화가 있었다 (그림 71).

CmMLO5에서 3개의 SNP 차이가 보인다.

1) reference sequence CmMLO5-CDS T1의 936 C→T

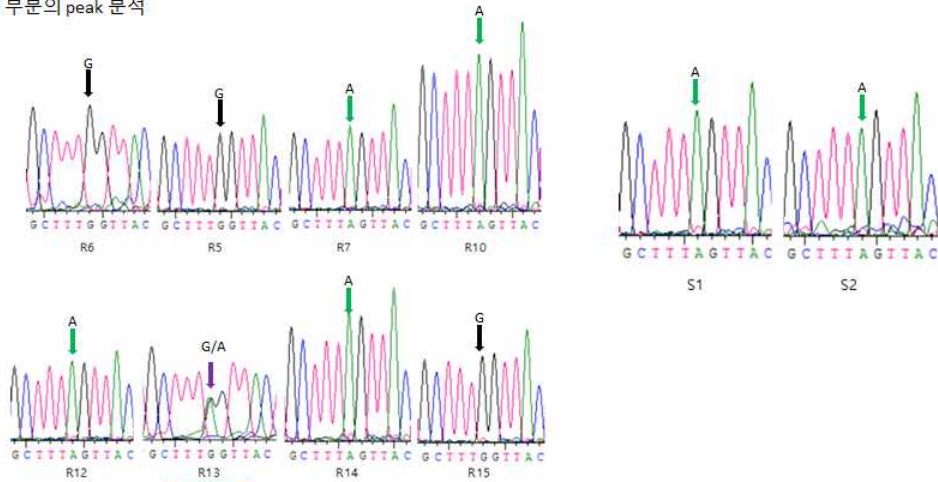


2) reference sequence CmMLO5-CDS T1의 1275 G→A

```

Majority      ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC
              1210    1220    1230    1240    1250    1260    1270    1280
CmMLO5-R6-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1280
CmMLO5-R5-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1279
CmMLO5-R7-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1277
CmMLO5-R10-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1278
CmMLO5-R12-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1280
CmMLO5-R13-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1280
CmMLO5-R14-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1278
CmMLO5-R15-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1273
CmMLO5-S1-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1266
CmMLO5-S2-all.seq ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1277
CmMLO5-CDS T1.seq  ATTGCCATCAGACTCTCAATGGGGGTTATCATACAAGTTCCTCGAGTTATGTCACACTCCCACCTCTAIGCTTTAGTTAC 1280
  
```

바뀐 부분의 peak 분석



3) reference sequence CmMLO5-CDS T1의 1514 A→G (protein sequence Q→R)

```

Majority      TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA
              1450    1460    1470    1480    1490    1500    1510    1520
CmMLO5-R6-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1520
CmMLO5-R5-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1519
CmMLO5-R7-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1517
CmMLO5-R10-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1518
CmMLO5-R12-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1520
CmMLO5-R13-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1520
CmMLO5-R14-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1518
CmMLO5-R15-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1513
CmMLO5-S1-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1506
CmMLO5-S2-all.seq TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1517
CmMLO5-CDS T1.seq  TCTCCTATTCACTTCTGCACAACATCAGCATGGCAGCAGCATCTCCAGGCTATCCGATGCCGAACCCGATCAGTGGGA 1520
  
```

바뀐 부분의 peak 분석

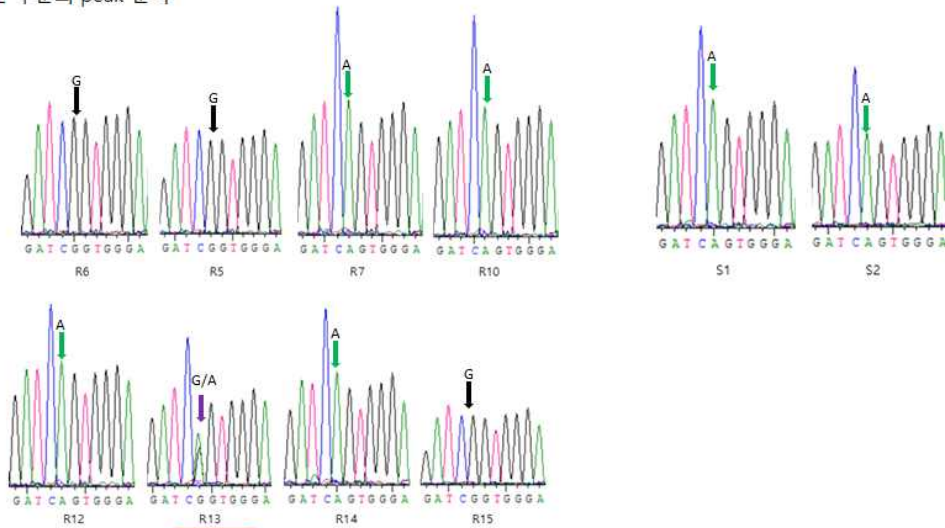


그림 71. 멜론 *CmMLO5* 유전자의 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 전사체 염기서열 분석 비교. 전체 전사체 유전자중 3곳에서 일부 저항성계통과 감수성 계통간에 SNP를 보이고 있다.

- *CmMLO5*의 전사체를 단백질 서열로 전환하여 흰가루병 저항성과 감수성 계통간에 비교한 결과 일부 저항성 계통과 감수성계통간에 1곳에서 아미노산의 차이를 보였다 (그림 72).
- 결론적으로 멜론 *CmMLO5* 유전자는 3개의 SNP를 갖는 2종의 alleles (1 aa 차이)가 존재함을 확인함. 흰가루병 감수성의 *CmMLO5*의 C-terminal 도메인영역의 아미노산은 비극성인 글루타민 (Q)이나 일부 저항성 계통은 양이온을 갖는 아르기닌 (R)로 치환되어 있었다 (그림 73). 본 연구팀에서 확보한 멜론 계통인 R6, R5, R13, R15 계통의 흰가루병 저항성 원인이 *CmMLO5* C-terminal 도메인의 아르기닌 치환에 의한 것인지에 대한 차후 정밀 연구가 필요하다.

### 흰가루병 감수성과 저항성 계통에서 CmMLO5 단백질 비교 분석



그림 72. 흰가루병 감수성 계통과 저항성 계통간의 *CmMLO5* 단백질간의 아미노산서열 비교 분석

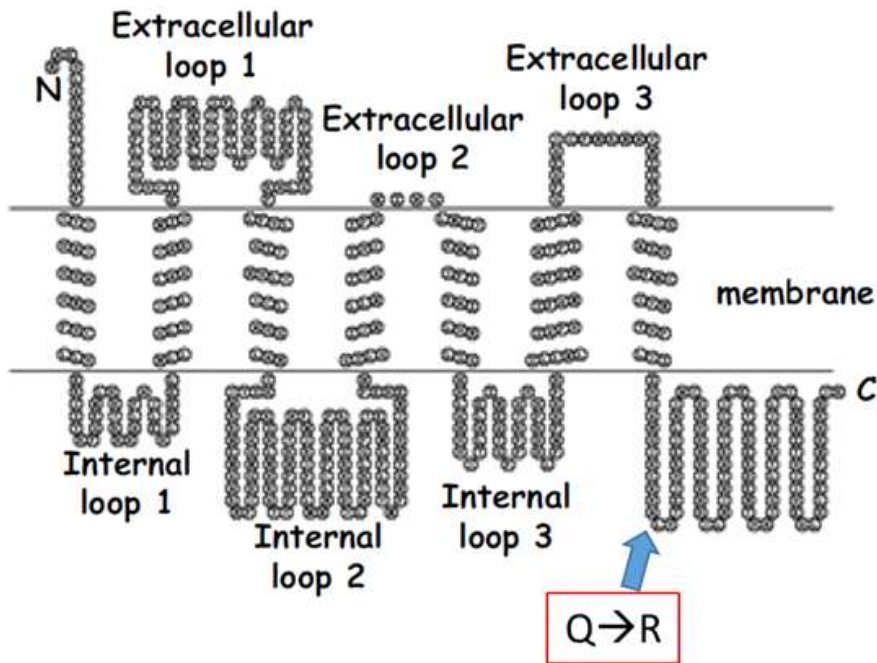


그림 73. 멜론 *CmMLO5*의 단백질 구조와 흰가루병 저항성과 감수성 계통에서의 C-terminal 아미노산 서열 차이 비교

4) 흰가루병 저항성 멜론 라인 확보 및 기존 저항성라인을 이용한 흰가루병 저항성 마커 개발

○ 미농무성 (USDA)으로부터 멜론 흰가루병 저항성라인 확보

-흰가루병 저항성으로 판명된 14개 유전자원과 2개 감수성 라인을 확보하여 연구를 진행함 (표 27)

표 27. 다양한 유전자에 의한 흰가루병 저항성을 나타내는 멜론 유전자원을 확보함

흰가루병 검정	멜론 명칭	멜론 USDA ID	실험에서 표시 명칭
감수성	IranH		S1
감수성	Top Mark	NSL30032	S2
저항성	Edisto47	NSL34600	R1
저항성	PMR5	Ames26809	R2
저항성	PMR6	Ames26810	R3
저항성	MR-1	Ames8578	R4
저항성	TGR1551	PI482420	R5
저항성	VIR5682	PI313970	R6
저항성	2563	PI124111	R7
저항성	2564	PI124112	R8
저항성	VIR5682	PI315410	R9
저항성	PMR45	NSL113039	R10
저항성	PMR45	Ames26811	R11
저항성	LJ90234	PI414723	R12
저항성	D2 Resistant	Ames18738	R13

○ 멜론 흰가루병 저항성 MR-1 특이 분자마커 개발

- MR-1 흰가루병 저항성 특이 판별 마커 1건을 개발 하였다. 기존에 보고된 MR-1 흰가루병 저항성 주요 양적형질 유전자인(major QTL) BPm12.1 (그림 74)과 연관관계에 있는 CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 마커 BSA12-LI3ECOR1과 BSA12-LI4HINF1를 사용하여 다양한 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 PCR product를 분석하였다.

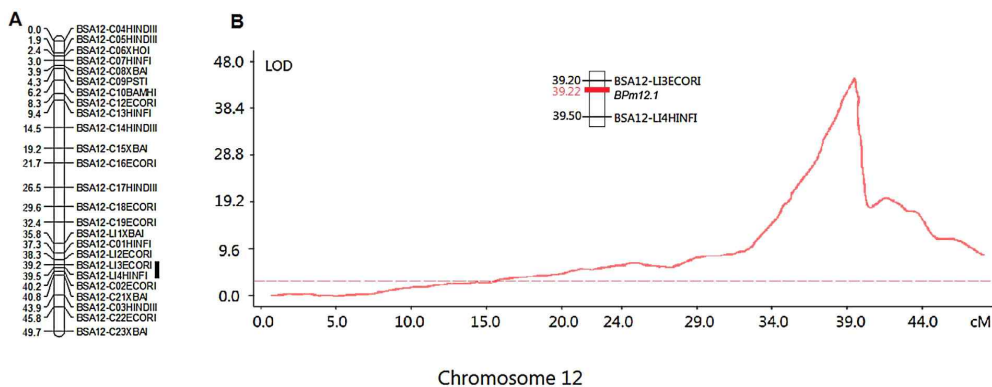


그림 74. MR-1 흰가루병 저항성 주요 양적형질 유전자좌 (major) QTL. 흰가루병 저항성 관련 주요 양적형질이 CAPS 마커 BSA12-LI3ECOR1과 BSA12-LI4HINF1 사이에 존재한다.

- MR-1 흰가루병 저항성 주요 양적형질(major QTL) 연관된 CAPS 마커인



BSA12-LI3ECOR1과 BSA12-LI4HINFI에 대한 각각의 PCR 프라이머를 사용하여 2개의 흰가루병 감수성 계통인 Iran H (S1), TopMark (S2), 13개의 흰가루병 저항성 계통인 Edisto47 (R1), PMR5 (R2), OMR6 (T3), MR-1(R4), TGR1551 (R5), VIR5682(R6), 2563 (R7), 2564(PI315410;R8), VIR5682(R9), PMR45 (NSL113039;R10), PMR45 (Ames26811;R11), LJ90234 (R12), D-2 Resistant (R13) 에 대하여 genomic DNA PCR 분석 결과 BSA12-LI4HINFI CAPS 마커 간에는 MR-1 특이 다형성을 보이지 않았다 (그림 75).

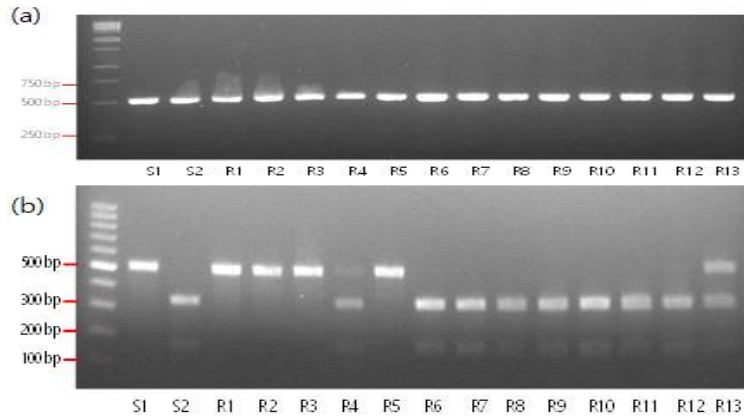


그림 75. BSA12-LI4HINFI CAPS 마커를 이용하여 멜론 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 MR-1 특이적인 다형성을 분석. (A) PCR product (B) PCR product를 *HinFI* 제한효소로 처리한 양상.

- 이에 반해 BSA12-LI3ECOR1 마커의 PCR product에서는 MR-1 특이 다형성을 찾을 수 있었다 (그림76). PCR product 크기를 관찰한 결과 MR-1 (R4)와 2563(R7) 에서 다른 감수성과 저항성 계통간에 차이를 보이게 약간 작은 PCR product를 보였다 (그림 76A). PCR product를 *EcoRI* 제한효소로 자른 결과 보다 명확하게 첫 번째 밴드의 크기가 다른 흰가루병 감수성과 저항성 계통보다 작음을 보였다(그림 76B). MR-1 (R4)계통은 2563(R7) 계통의 후손이기 때문에 R4과 R7은 같은 양상을 보였다. 이 결과는 BSA12-LI3ECOR1 마커가 MR-1 특이 마커로 사용될 수 있음을 제시하여 주었다.

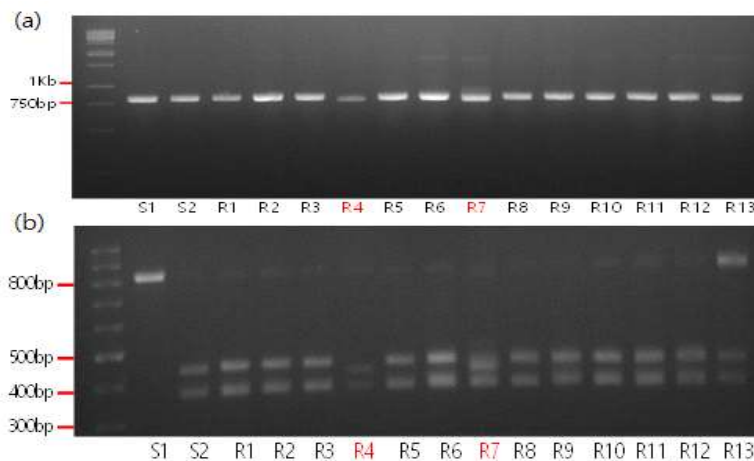


그림 76. BSA12-LI3ECOR1 CAPS 마커를 이용하여 멜론 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 MR-1 특이적인 다형성을 분석. (A) PCR product (B) PCR product를 *EcoRI* 제한효소로 처리한 양상

- BSA12-LI3ECOR1 마커의 PCR product의 크기가 MR1(R4) 계통에서만 특이적으로 작게 나오는 이유를 규명하기 위해 흰가루병 감수성과 저항성 계통의 모든 PCR product의 염기서열을 분석한 결과 MR-1 계통에서만 120nt 위치에서 9개의 염기, 250nt 위치에서 20 개의 염기가 결실(deletion)되어 있음을 발견하였다 (그림 77).

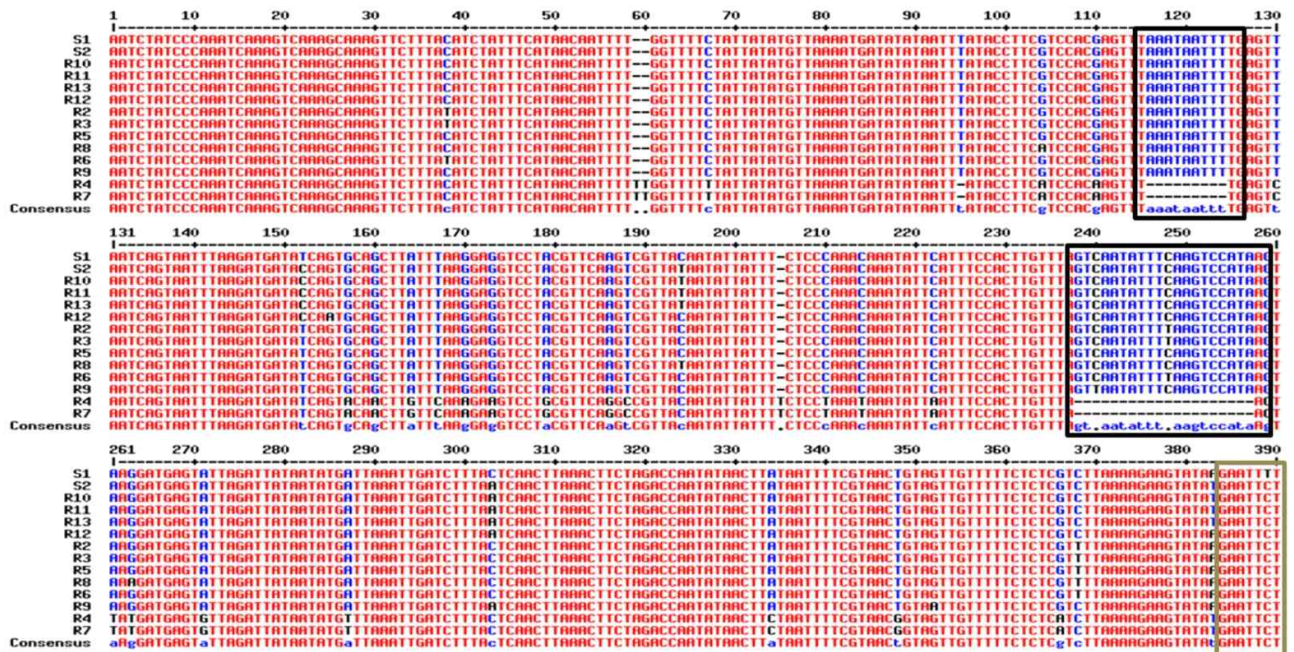


그림 77. 멜론 흰가루병 저항성 과 감수성 계통간의 BSA12-LI3ECOR1 마커의 PCR product의 염기서열 비교 분석

- BSA12-LI3ECOR1 마커의 PCR product의 염기서열을 이용하여 MR-1 흰가루병 저항성을 판별할 수 있는 MR-1 특이 PCR RAPD 마커 (MR1 RAPDm-1; 표2)를 작성하였고 이 PCR 마커를 이용하여 2종의 흰가루병 감수성 멜론과 12종의 흰가루병 저항성 멜론자원 간에 이 마커를 이용하여 분석한 결과 MR-1 저항성에만 특이적임을 확인하였다 (그림 78). MR-1 저항성은 303bp의 PCR 밴드를 나타내는 반면, 감수성은 330bp를 나타낸다.

표 27. MR-1 특이 PCR 마커 프라이머 염기서열 정보

MR1 RAPD-m1	Forward	Reverse	감수성(bp)	저항성(bp)
MR-1 마커	5'-AATCTATCCCAAATCAAAGTC -3'	5'-AAGTTATATTGGTCTAGAAGT TT-3'	330	303

-MR-1 흰가루병 저항성과 연관된 MR-1 PCR 마커를 본 연구를 통해 개발하였다. 이 마커는 PCR를 통해 간단히 MR-1과 관련된 흰가루병 저항성을 판별할 수 있을 것으로 판단된다. MR-1 PCR 마커와 흰가루병 저항성과 상관관계를 조사하기 위하여 흰가루병 감수성 계통인 TopMark와 저항성인 MR-1계통간 교배한 후대란 F1과 F2세대에 대한 MR-1 PCR 마커의 유전형과 흰가루병 저항성 표현형 분석을 수행 하였다.

○ MR-1(흰가루병 저항성)과 Topmark (감수성)간의 교배 후대 병검정 및 MR-1 PCR 마커 검정

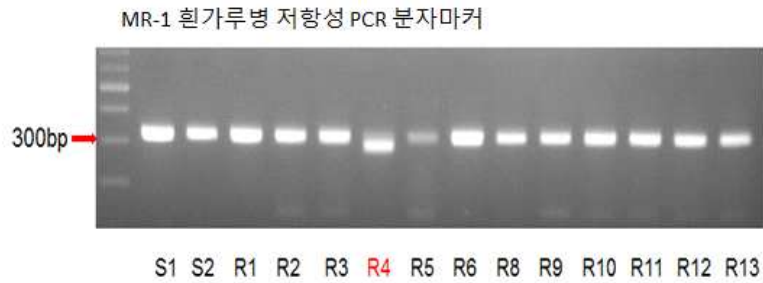


그림 78. 멜론 MR-1 흰가루병 저항성 특이적인 PCR 마커에 대한 흰가루병 감수성과 저항성 계통간의 PCR 분석. MR-1 흰가루병 저항성 계통 (R4)에서만 크기가 작은 PCR product가 증폭 됨

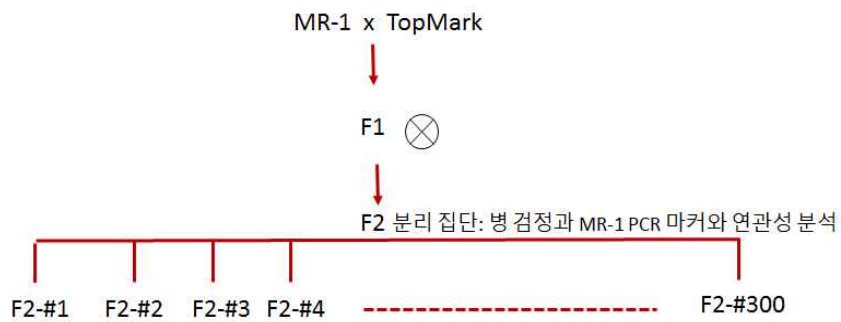


그림 79. 본 과제에서 개발한 MR-1 흰가루병 저항성 PCR 마커와 흰가루병 저항성 연관 분석

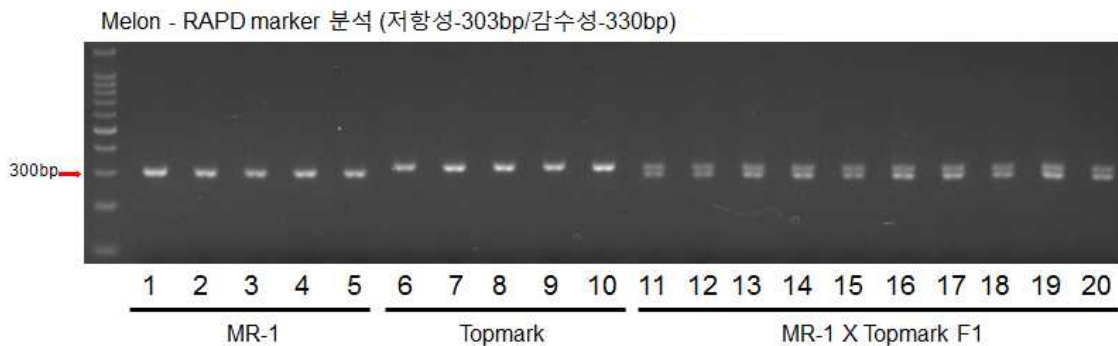


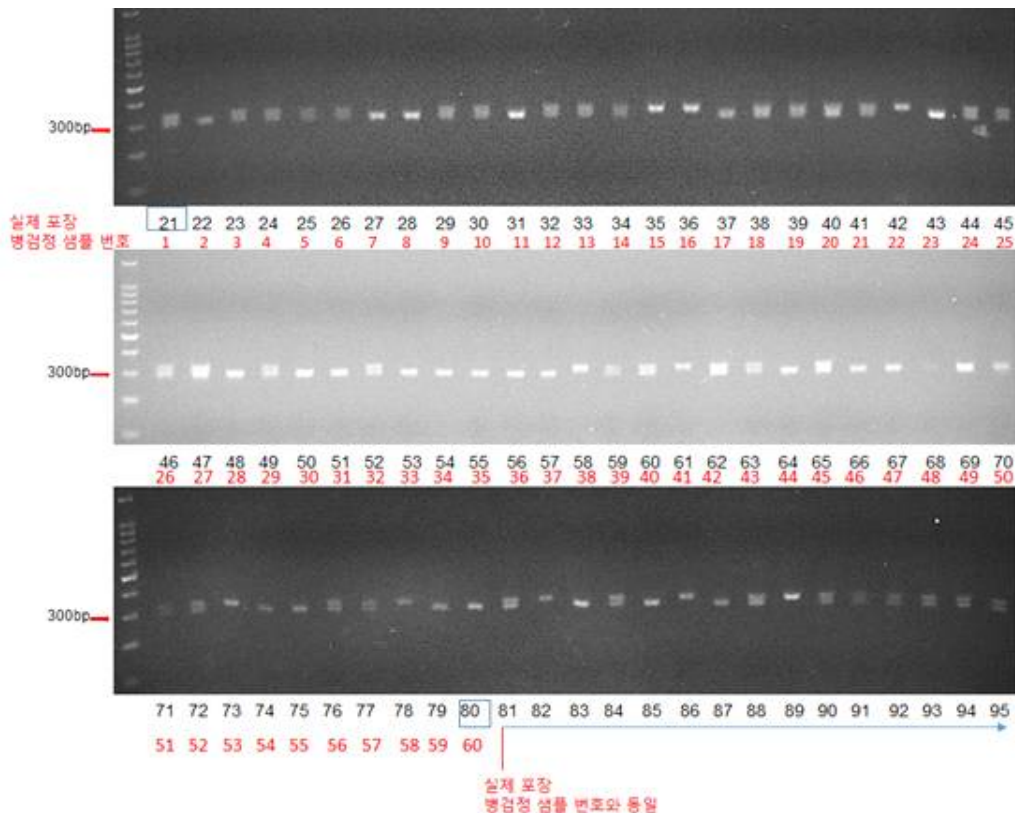
그림 80. MR-1 저항성 PCR 마커에 의한 MR-1(PM 저항성, 303bp), Topmark (PM 감수성, 330bp), 그리고 이들 간의 교배된 F1 세대의 genotyping 결과. 사이즈 작은 PCR band MR-1 저항성, 사이즈 큰 band는 감수성

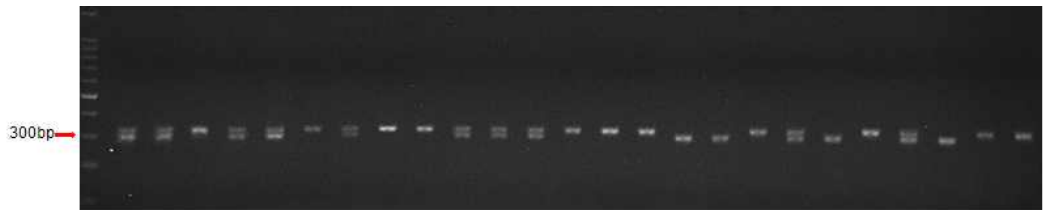
- 흰가루병 저항성 MR-1계통과 감수성 계통인 Topmark와 교배한 F1 세대에 대해 MR-1 PCR 마커를 이용하여 유전형과 흰가루병에 대한 저항성을 검정한 결과 MR-1 PCR 마커 저항성 계통과 감수성을 구별할 수 있었다 (그림 80). PCR 저항성 밴드와 감수성 밴드를 가지고 있는 heterozygous 유전형을 갖는 F1은 흰가루병에 대해 중도 저항성을 나타내었다 (그림 81).

BN	NO	발병도	BN	NO	발병도	BN	NO	발병도
1 (MR-1)	1	1	2 (TopMark)	1	5	3 (F1)	1	2
	2	1		2	5		2	3
	3	1		3	5		3	3
	4	1		4	5		4	3
	5	1		5	5		5	3
	6	1		6	5		6	4
	7	1		7	5		7	4
	8	1		8	5		8	4
	9	1		9	5		9	4
	10	1		10	5		10	2
	11	1		11	5		11	3
	12	1		12	5		12	4
	13	1		13	5		13	3
	14	1		14	5		14	2
	15	1		15	5		15	3
	16	1		16	5		16	3
	17	1		17	5		17	3
	18	1		18	5		18	3
	19	1		19	5		19	3
	20	1		20	5		20	3

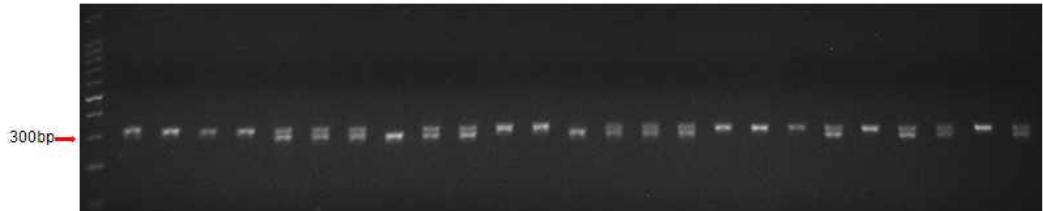
그림 81. MR-1, Topmak, 그리고 이들간 교배된 F1의 흰가루병 발생 검정. MR-1은 흰가루병에 저항성, Topmark는 감수성. F1은 중도 저항성을 보임

- MR-1과 Topmark 교배 한 300개의 F2 분리 개체에 대한 유전형과 흰가루병 저항성 표현형에 대한 연관분석을 수행한 결과 본 연구에서 개발한 MR-1 PCR 마커가 MR-1 유래 흰가루병 저항성 판별 마커로 유의성이 있음을 확인하였다 (그림 82, 그림 83)





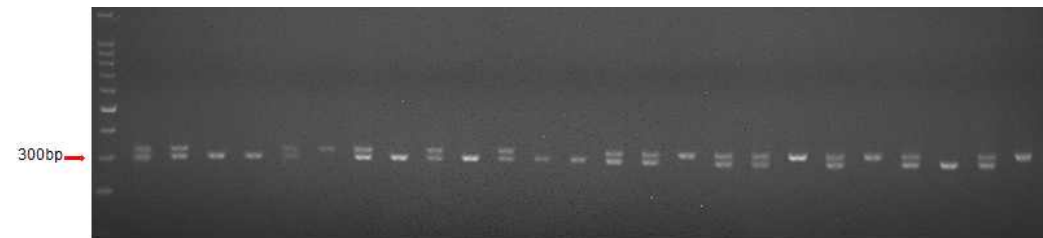
96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120



121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145



146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170



196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220



221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245



246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270

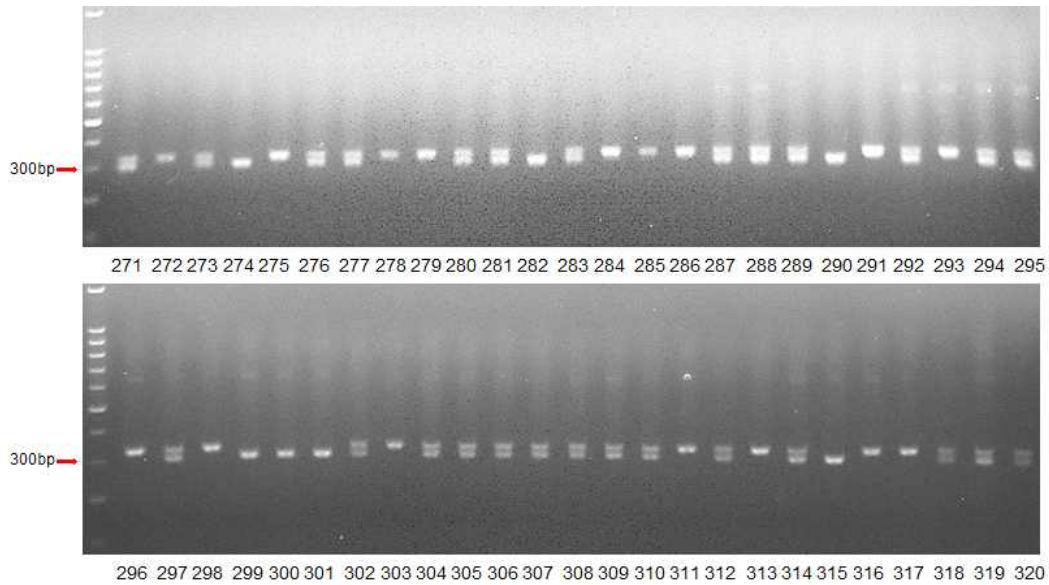


그림 82. MR-1xTopmak 300개 F2의 genotyping 결과

F2 개체 번호	F2 분리세대	유전형	PM 저항성
56	F2	R	1
66	F2	R	1
70	F2	R	1
77	F2	H	1
79	F2	R	1
83	F2	R	1
84	F2	H	1
133	F2	R	1
170	F2	H	1
228	F2	R	1
229	F2	R	1
235	F2	H	1
244	F2	R	1
256	F2	R	1
261	F2	H	1
267	F2	H	1
299	F2	R	1
300	F2	R	1
307	F2	H	1

그림 83. MR-1 x Topmak 300개 F2의 genotyping과 흰가루병 검정과 상관 관계 분석.

- F2 집단에서 MR-1 PCR 마커로 homozygous을 갖는 유전형 (R형)에서는 모두 100% 흰가루병에 대해 저항성을 보였다, 그리도 MR-1 감수성 homozygous 유전형을 갖는 (S형)은 모두 흰가루병에 감수성을 보였다. 이 결과는 MR-1 PCR 마커가 MR-1 유래 흰가루병 저항성과 상관관계가 있음을 나타낸다. MR-1 heterozygous는 중도 저항성을 나타냈으며 일부 F2 계

통인 #77, #84, #170, #235, #261, #267, #307에서는 MR-1 homozygous 계통과 동일한 강한 저항성을 보였다. 이것은 MR-1 PCR 마커와 연관되어 있는 흰가루병 저항성 유전자가 recombination된 결과로 추정된다. 이 recombinant 영역을 정밀히 분석하면 MR-1 흰가루병 저항성 유전자를 발견할 수 있을 것으로 생각된다.

○ MR-1 PCR 마커 영역에 대한 흰가루병 저항성 후보 유전자를 기반으로 한 특이 판별 마커 개발

- 본 연구에서 개발한 MR-1 PCR 마커가 존재하는 영역에 해당하는 2개의 CAPS 마커인 BSA12-LI3ECOR1과 BSA12-LI4HINF1 사이에 존재하는 MR-1 흰가루병 저항성 주요 양적형질 (major QTL) 멜론 흰가루병 저항성 (MR-1) 유전자 좌 영역 78kb 에 존재하는 12개의 유전자들에 대한 reference 멜론 genome의 염기서열을 분석하였다 (그림 84).

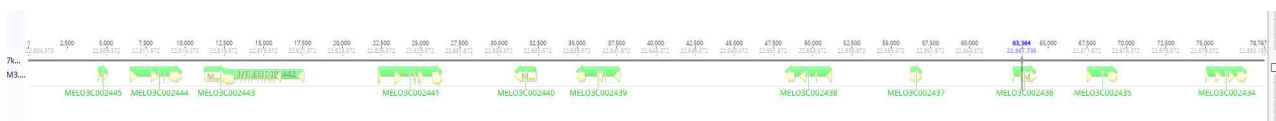


그림 84. MR-1 멜론 흰가루병 저항성 (MR-1) 관련 78kb 유전체 영역 분석

- MR-1 저항성 계통과 TopMark 감수성 계통간의 78kb 영역의 12개 유전자에 대한 cDNA 와 genomic DNA 염기서열을 분석하여 염기서열상에 차이가 있는지를 확인하였다 (그림 84, 표 28). MR-1 저항성과 TopMark감수성 계통간의 흰가루병 저항성 78kb영역에 존재하는 12개 유전자의 염기서열 비교 분석 결과 내용을 표 28에 간단히 요약 하였다.

표 28. 멜론 PM 저항성 78 kb영역에 존재하는 12개 유전자에 대한 저항성과 감수성간의 SNP 분석

Gene ID	cDNA size	The number of cDNA SNPs <sup>1)</sup>	The number of changed Protein sequences.	Genomic size	Unique restriction enzyme site	Digest length polymorphism (bp)	length polymorphism <sup>2)</sup>
Melo3C002434 Ankyrin repeat family protein	1845bp	14	5	2630bp	EcoRI	394/2160	X
Melo3C002435 Putative retroelement pol polyprotein	660bp	2	1	2005bp	HindIII	86/597/946	o
Melo3C002436 Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH] FabI	1059bp	-	-	1561bp	-	-	X
Melo3C002437 CBL-interacting serine/threonine-protein kinase 12	441bp	0	0	776bp	-	-	X
Melo3C002438 Ankyrin repeat family protein	1767bp	-	-	3039bp	XbaI	988/1621	o
Melo3C002439 Ankyrin repeat family protein, putative	1701bp	-	-	2860bp	XbaI	906/1954	X
Melo3C002440 DUF4283 domain protein	1449bp	-	-	1449bp	-	-	X
Melo3C002441 Ankyrin repeat family protein	1944bp	16	11	4177bp	-	-	X
Melo3C002442 Aspartic proteinase	1545bp	6	2	5357bp	XbaI	814/2320	X
Melo3C002443 Putative F-box protein	1311bp	6	3	1502bp	-	-	X
Melo3C002444 Aminomethyltransferase	1224bp	4	2	3400bp	HindIII	318/1422	X
Melo3C002445 Ubiquitin-specific protease family C19-related protein	657bp	-	-	684bp	-	-	X
<b>Total</b>		<b>48</b>	<b>24</b>				

1) 총 12개 gene중 5개 gene(2436.2438.2439.2440.2445)을 제외한 7개 gene에 대한 cDNA 염기서열 분석 완료 및 비교

2) 총 12개 gene중 2개 gene(2441.2445)을 제외한 10개 gene에 대한 gDNA상의 polymorphism 확인

- 흰가루병 저항성 MR-1과 감수성 TopMark간에 12개 유전자간의 mRNA와 genomic DNA를

클로닝한 후 염기서열을 결정하여 비교 분석하였으나 12개 유전자중 TopMark 감수성에서 염기서열이 돌연변이 되어 기능을 상실한 유전자는 발견 못하였다. 그 외 저항성과 감수성 간에 어느 정도의 SNP는 보였으나 이 차이가 저항성과 감수성의 차이를 나타내는지는 확인 할 수 없었다 (표 28).

- 총 12개 유전자중 7개 유전자에 대해 MR-1과 TopMark에서 cDNA를 제작하여 염기서열을 비교 분석 하여 SNP (single nucleotide polymorphism)를 분석하고 dCAPS (designed cleaved amplified polymorphic sequence)마커를 제작하여 MR-1과 TopMark간에 차이를 보이는지를 분석하였으나 성공하지 못하였다.

- cDNA의 SNP의 차이를 통한 마커개발이 어렵게 되어 12개 유전자간에 genomic DNA의 PCR product를 제한효소로 잘라 저항성인 MR-1과 감수성인 TopMark간에 차이를 구별 할 수 있는 2개의 유전자를 선별하였다 (그림 85, 86).

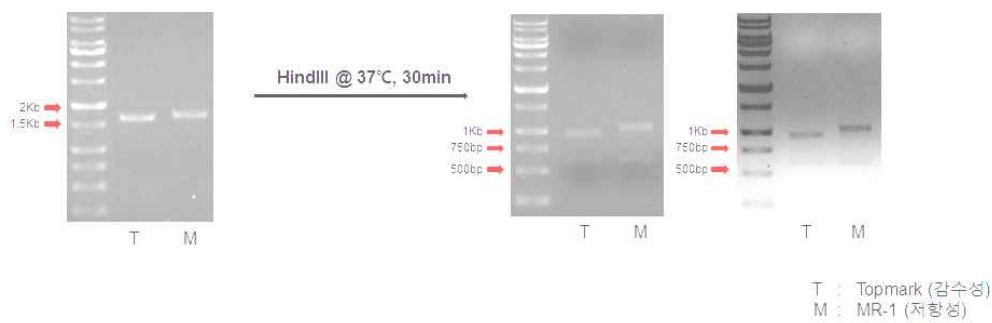


그림 85. MR-1 흰가루병 저항성 연관 유전자인 Melo3C002435(Putative retroelement pol polyprotein)에서 MR-1과 TopMark사이에서 차이가 확인됨.

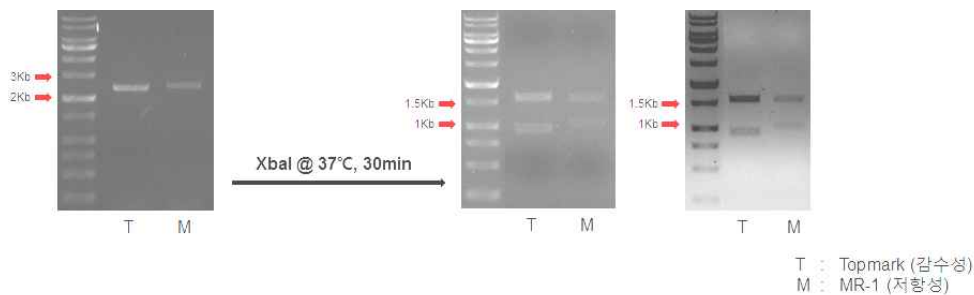


그림 86. MR-1 흰가루병 저항성 연관 유전자인 Melo3C002438 (Ankyrin repeat family protein)에서 MR-1과 TopMark사이에서 차이가 확인됨.

- 저항성 MR-1과 감수성 TopMark 간에 genomic DNA간의 PCR 차이를 보이는 2개 유전자, Melo3C002435(Putative retroelement pol polyprotein)과 Melo3C002438 (Ankyrin repeat family protein)를 발견하여 분자마커로 개발 중에 있다..

○ 다양한 멜론과 참외 품종에 대한 MR-1 PCR 마커 genotyping 분석

- 현재 국내에서 재배되고 있는 멜론 육종 자원과 품종에 대해 MR-1 PCR 마커를 적용하여 분석 하였다. 그 결과 Doral 만 MR-1에서 유래 된 것으로 판명되었다 (그림 87).



B.N	품종명	교배번호	흰가루병 race	Genotype
1	Waller	FM1704	Px1	S
2	CNUS 625	FM-1901	Px1	S
3	Ideal	FM1206	Px1, 2	S
4	AMAL M-35	FM1260	Px1, 2	S
5	Tonga	FM1749	Px1, 2	S
6	Orogal	FM-1806	Px1, 2	S
7	Doral	FM-1811	Px1, 5	Hetero
8	Credo	FM1422	px1, 2, 5	S
9	Kirene	FM-1805	px1, 2, 5	S
10	Magenta	FM-1808	px1, 2, 5	S
11	Alonso	FM-1809	px1, 2, 5	S
12	Paredes	FM-1810	px1, 2, 5	S
13	Wifak(종자없음)	FM1726	px1, 2, 3, 5	S
14	킹덤	M-1802	국내 멜론 race 미표기	S
15	얼스텔런트	M-1805	국내 멜론 race 미표기	S
16	프라하	M-1808	국내 멜론 race 미표기	S
17	PMR달고나	M-1815	국내 멜론 race 미표기	S
18	PMR글리킹	M-1908	국내 멜론 race 미표기	S
19	PMR글로리	M-1907	국내 멜론 race 미표기	S
20	얼스모하비	M-1912	국내 멜론 race 미표기	S
21	얼스바카스	M-1913	국내 멜론 race 미표기	S
22	얼스전천후	M-1914	국내 멜론 race 미표기	S
23	얼스제우스	M-1903	이병성	S
24	얼스글로리	M-1708	이병성	S
25	탱큐	M-1801	이병성	S
26	얼스프렌드	M-1705	이병성	S
27	조은대	O-1601	국내 참외 race 미표기	S
28	오복플러스꿀	O-1819	국내 참외 race 미표기	S
29	참미소꿀	O-1804	참외, 이병성	S

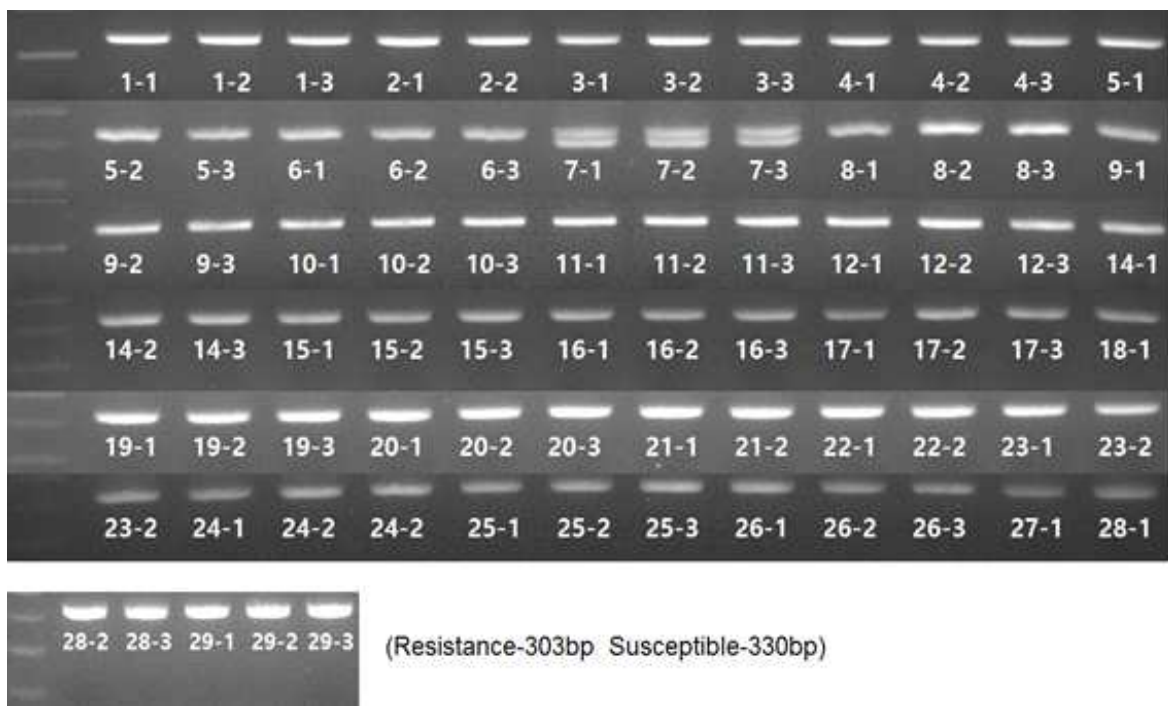


그림 87. MR-1 PCR 마커 활용 29개 멜론과 참외 품종 genotyping

2-5. 분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 멜론 품종육성

가. 1~2차년도 연구내용

1) 저항성 유전자원의 특성평가

○ 저항성 유전자원의 확보

표 29. 멜론 저항성 유전자원

Melon name(Resistance)	Melon ID	확보(세종대 김현욱)
PMR-45	NSL 112039	✓
PMR-45	Ames 26811	✓
PMR-5	Ames 26809	✓
PMR-6	Ames 26810	✓
TGR 1551	PI 482420	✓
MR-1	Ames 8578	✓
Edisto 47	NSL 34600	✓
LJ 90234	PI 414723	✓
2564	PI 124112	✓
2563	PI 124111	✓
VIR 5682	PI 313970	✓
VIR 5682	PI 315410	✓
D-2 Resistant(New)	Ames 18738	✓

표 30. 멜론 감수성 유전자원

Melon name(Susceptible)	Melon ID	확보(세종대 김현욱)
Top Mark	NSL 30032	✓
Iran H	진홍청 IT270994	✓

- 농우바이오에서는 미국의 유전자원센터에서 저항성 (표 29) 및 감수성 (표 30) 유전자원을 확보하였으며 각각의 유전자원을 정식하여 selfing 하였고 이를 이용하여 멜론의 흰가루병 race를 확인하는데 사용하였다. 또한 저항성 유전자원인 MR-1과 Top Mark를 교배하여 F1 종자를 얻었다.

○ 저항성 계통 집단 매핑

농우바이오에서는 저항성 및 감수성을 교배하여 만든 F1을 다시 selfing하여 F2 집단을 만들고 이를 흰가루병 저항성 마커를 개발하는데 이용하였다.

○ 흰가루병 포장 병리 검정

- 저항성 유전자원의 포장병리검정



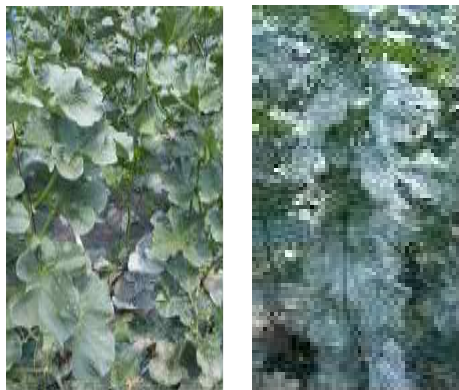
그림 88. 저항성 유전자원의 포장 병리검정



그림 89. 감수성 유전자원의 포장 병리검정

- 미국 유전자원센터에서 분양받은 저항성 및 감수성 유전자원에 대한 포장 병리검정을 실시하였으며 그림 89, 90과 같이 저항성 및 감수성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 일부 유전자원에서는 유전자원이 고정되어 있지 않고 분리가 되는 것을 포장병리 검정을 통해서 알 수 있었다. 이렇게 분리되는 유전자원에 대해서는 본 연구에서는 사용하지 않고 고정된 유전자원을 사용하여 육성재료로 사용을 하였다.

2) 저항성 계통의 포장 병리검정



<저항성 계통>

<감수성 계통>

그림 90. 저항성 계통의 포장 병리검정

- 그림 90에서와 같이 농우바이오가 기 보유하고 있던 저항성 및 감수성 계통들에 대한 포

장 병리검정을 수행하였으며 총 100계통 중 30여개의 저항성 계통을 선발하여 멜론의 교배 조합에 사용할 재료를 확보하였다.

3) F1 조합의 포장병리검정

- 50여개의 F1 조합에 대한 포장병리검정을 실시하였고, 그 중 10개의 조합을 선발하였음.

나. 3차년도 연구내용

1) 우수조합(F1) 선발 및 특성조사

○ 멜론 성능검정

- 춘계 : 농우바이오는 멜론 품종을 개발하기 위해 매년 2번의 연구소 및 농가 실증시험을 통한 멜론 성능검정을 실시하고 있다. 춘계에 흰가루병 저항성 및 특성이 우수한 계통을 이용하여 교배조합을 작성하였으며, 그림 91에서와 같이 흰가루병 저항성을 가지며 특성이 우수한 잡네트 멜론 1조합 ME10-0022(18MK339) 선발하여 시교사업을 거친 후 흰가루병 저항성 품종으로 출시 할 예정이다.



선발 조합 특성						
품종(조합)	과중 (g)	과장 (cm)	과경 (cm)	과육부 (cm)	과흔부 (cm)	당도 (Brix)
알스글로리	2,120	15.3	15.1	3.9	2.5	15.5
ME10-0021	2,540	16.3	16.7	4.9	2.4	14.5
평균	2,060	15.6	15.3	4.6	2.2	15.5
ME10-0022	2,070	15.0	16.0	4.7	2.5	16.0



그림 91. 춘계 멜론 성능검정

- 하계 : 춘계와 마찬가지로 흰가루병 저항성 및 특성이 우수한 계통을 이용하여 교배조합을 작성하였으며, 그 중에서 흰가루병 저항성을 가지며 특성이 우수한 알스계 멜론 2 조합 ME10-0007(17MK1317), ME10-0027(18MK1326) (그림 92) 선발하여 시교사업을 거치고 작황이 우수함을 확인한 후에 품종으로 출시를 할 예정이다.



선발조합특성						
품종(조합)	과중 (g)	과장 (cm)	과경 (cm)	과육부 (cm)	화흔부 (cm)	당도 (Brix)
ME10-0007	2,650	17.8	17.4	4.7	2.2	14.2
PMR달고나	2,260	15.6	16.5	4.9	2.4	14.5
ME10-0027	2,170	16.8	16.0	4.1	2.1	14.0
얼스뽀빠이	2,080	15.7	15.8	4.1	1.9	14.0



그림 92. 하계 멜론 성능검정

2) 흰가루병 저항성 및 감수성 계통의 세대진전

○ 계통확보

- 기 수집된 흰가루병 저항성 계통 (BN278~BN288)과 흰가루병 감수성 계통 (BN289, BN290)에 대한 세대진전을 통하여 많은 양의 종자를 확보하였으며 이를 이용하여 흰가루병 저항성 계통을 만들 수 있는 토대를 확보하였다. (표 31, 그림 93)
- 흰가루병 저항성 마커개발을 위하여 MR-1과 TopMark-1, Edisto 47과 TopMark-1을 교배한 F1조합의 특성을 조사하였다. (표 32)

표 31. 흰가루병 저항성 및 감수성 계통의 세대진전

BN	계통명	초세	초형	과형	비고
278	PMR-45	중	중소	타원	
279	PMR-5	중약	중소	구	
280	PMR-6	중강	중	고구	
281	MR-1	중	중	편구	
282	Edisto 47	중강	중대	타원	
283	LJ 90234	중	중대	장타원	
284	2564	중약	중	장타원	
285	2563	중약	중대	타원	과형분리(타원 or 구형)
286	VIR 5682	중	중대	장타원	착과 어려움(대부분 손만착과)
287	VIR 5682	중약	중	타원	착과 어려움(대부분 손만착과)
288	D-2 Resistant(New)	중	중	구	
289	TopMark	중	중	고구	이병성계통
290	Iran H	중	중대	타원	이병성계통

표 32. MR-1 × Topmark 조합과 Edisto47 × Topmark 조합 F1 특성

BN	계통명	초세	초형	과형	비고
291	MR-1×Topmark	중	중	고구	
292	Edisto47×Topmark	중	중	타원	



Edisto 47

MR-1

2564

2563

VIR 5682

그림 93. 흰가루병 저항성 및 감수성 계통의 세대진전

3) 흰가루병 저항성 F2, BC 매핑 집단 육성

○ 판별품종을 이용한 흰가루병 race 판별

- 농우바이오 병리연구팀이 위치한 여주시 가남읍 본두리 농장에서 발병하는 흰가루병의 race를 판별하기 위해서 4가지 판별품종(TopMark, MR-1, PMR-6, PMR-45)을 심어서 확인한 결과, TopMark와 PMR-45에서 흰가루병이 발병하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과로 본두리 농장의 흰가루병은 race2에 의한 것으로 판명되었다. (표 33, 그림 94)

표 33. 흰가루병 race 판별

	TopMark	MR-1	PMR-6	PMR-45
흰가루병 발병	○	X	X	○



MR-1

TopMark

PMR-45

PMR-6

그림 94. 판별품종을 이용한 race 판별



그림 95. F2 집단 의 전개

○ 흰가루병 저항성 F2 집단 매핑

- 흰가루병 저항성 F2 집단의 전개 : MR-1, TopMark, MR-1×TopMark F1 및 MR-1×TopMark F2 집단을 포장에 전개하여 각 개체별로 샘플링을 하였으며 흰가루병 발병 또한 조사하였다. MR-1, TopMark, MR-1×TopMark F1은 각 20개체를 정식하였고 (표 34) MR-1×TopMark F2집단은 400개체를 정식하여 실험에 이용하였다(그림 95, 표 35). 발병도는 1(저항)에서 5(감수)로 표기하였다.

표 34. MR-1, TopMark 및 MR-1×TopMark F1의 발병조사

BN	NO	발병도	BN	NO	발병도	BN	NO	발병도
MR-1	1	1	F1	1	2	TopMark	1	5
	2	1		2	3		2	5
	3	1		3	3		3	5
	4	1		4	3		4	5
	5	1		5	3		5	5
	6	1		6	4		6	5
	7	1		7	4		7	5
	8	1		8	4		8	5
	9	1		9	4		9	5
	10	1		10	2		10	5
	11	1		11	3		11	5
	12	1		12	4		12	5
	13	1		13	3		13	5
	14	1		14	2		14	5
	15	1		15	3		15	5
	16	1		16	3		16	5
	17	1		17	3		17	5
	18	1		18	3		18	5
	19	1		19	3		19	5
	20	1		20	3		20	5

표 35. MR-1×TopMark F2의 발병조사

No	발병도	No	발병도	No	발병도	No	발병도	No	발병도	No	발병도	No	발병도	No	발병도
1	2	51	5	101	5	151	5	201	5	251	3	301	2	351	4
2	2	52	5	102	5	152	5	202	4	252	5	302	3	352	5
3	2	53	4	103	3	153	5	203	3	253	3	303	5	353	4
4	5	54	3	104	3	154	5	204	3	254	2	304	3	354	1
5	3	55	2	105	4	155	2	205	3	255	2	305	3	355	1
6	5	56	2	106	3	156	4	206	5	256	1	306	4	356	5
7	3	57	1	107	4	157	5	207	4	257	5	307	1	357	5
8	5	58	5	108	4	158	5	208	2	258	5	308	4	358	2
9	4	59	1	109	5	159	3	209	2	259	5	309	4	359	4
10	5	60	2	110	4	160	5	210	5	260	5	310	2	360	3
11	3	61	5	111	3	161	5	211	5	261	1	311	5	361	1
12	5	62	3	112	3	162	5	212	4	262	5	312	5	362	5
13	5	63	3	113	3	163	5	213	5	263	2	313	4	363	1
14	5	64	3	114	3	164	3	214	5	264	2	314	3	364	2
15	4	65	4	115	2	165	5	215	3	265	3	315	2	365	2
16	5	66	5	116	5	166	5	216	5	266	3	316	5	366	1
17	3	67	4	117	2	167	5	217	4	267	1	317	5	367	3
18	5	68	3	118	2	168	4	218	3	268	3	318	3	368	3
19	5	69	5	119	5	169	4	219	2	269	5	319	4	369	1
20	3	70	5	120	4	170	1	220	5	270	5	320	4	370	2
21	3	71	3	121	2	171	2	221	5	271	3	321	5	371	2
22	4	72	2	122	5	172	5	222	4	272	4	322	5	372	1
23	2	73	5	123	5	173	3	223	3	273	3	323	3	373	4
24	4	74	2	124	3	174	5	224	3	274	4	324	1	374	4
25	2	75	5	125	5	175	5	225	5	275	5	325	3	375	2
26	3	76	2	126	5	176	5	226	5	276	5	326	5	376	5
27	5	77	5	127	5	177	5	227	3	277	5	327	5	377	4
28	3	78	4	128	2	178	5	228	1	278	5	328	2	378	4
29	3	79	2	129	5	179	5	229	1	279	5	329	3	379	4
30	2	80	2	130	2	180	4	230	5	280	5	330	5	380	1
31	3	81	3	131	5	181	5	231	3	281	4	331	1	381	1
32	5	82	5	132	5	182	4	232	5	282	3	332	1	382	2
33	4	83	1	133	1	183	4	233	5	283	4	333	4	383	5
34	2	84	1	134	4	184	5	234	3	284	5	334	3	384	2
35	4	85	2	135	5	185	3	235	1	285	5	335	4	385	3
36	1	86	5	136	4	186	2	236	2	286	5	336	1	386	3
37	2	87	2	137	4	187	2	237	5	287	2	337	3	387	2
38	5	88	2	138	5	188	5	238	3	288	3	338	5		
39	2	89	4	139	5	189	5	239	5	289	3	339	5		
40	3	90	4	140	5	190	4	240	5	290	2	340	2		
41	2	91	5	141	4	191	3	241	4	291	5	341	3		
42	3	92	2	142	5	192	5	242	5	292	5	342	3		
43	3	93	5	143	4	193	5	243	5	293	5	343	4		
44	2	94	5	144	5	194	4	244	1	294	5	344	5		
45	3	95	5	145	4	195	5	245	5	295	3	345	3		
46	1	96	4	146	5	196	5	246	4	296	5	346	1		
47	2	97	4	147	5	197	4	247	3	297	3	347	2		
48	3	98	5	148	4	198	5	248	3	298	4	348	2		
49	3	99	3	149	5	199	4	249	5	299	1	349	1		
50	1	100	5	150	2	200	3	250	5	300	1	350	2		

4) 내병성 분자마커를 이용한 계통 선발


○ 내병성 분자마커를 이용한 계통 선발

- 본 과제를 수행하는 동안 개발된 내병성 분자마커는 아직 적용하기가 어려워 농우바이오가 이전에 자체 개발한 분자마커를 이용하여 계통을 선발하고 조합을 작성하였다.
- 춘계 및 하계 2회에 걸쳐 계통 및 조합선발을 수행하였고, 그 중에서 흰가루병에 저항성을 가지며 우수한 특성을 가진 엘리트 계통 및 조합을 선발하였다.



5) 흰가루병 저항성 멜론 품종 등록

- 농우바이오에서는 국내 내수용 멜론 및 해외 수출용 멜론 품종을 개발하고 있다. 본 연구를 통해 흰가루병 저항성 멜론을 개발하였으며 그 중에서 화이트듀와 농우클레오를 국립종자원에 흰가루병 저항성 멜론으로 품종 출원하였다 (그림 96).

<b>민원인을 가족같이, 민원을 내일같이</b>	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 이광홍 전화: (064) 912-0116 FAX: (064) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr 89860 경상북도 김천시 혁신8로 119	
<b>품종보호출원번호 통지서</b>	
출원일자: 2018.10.1	품종보호 출원번호: 출원 2018 - 471 품종명칭 출원번호: 명칭 2018 - 1209
각 물 명: 멜론 품종 명칭: 농우클레오 출 원 인: 농업회사법인 (주)농우바이오 주 소: 경기도 수원시 영통구 셀트럴타운로, 114-8	
2018년10월01일	
국립종자원 	


<b>민원인을 가족같이, 민원을 내일같이</b>	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 이광홍 전화: (064) 912-0116 FAX: (064) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr 89860 경상북도 김천시 혁신8로 119	
<b>품종보호출원번호 통지서</b>	
출원일자: 2018.10.1	품종보호 출원번호: 출원 2018 - 472 품종명칭 출원번호: 명칭 2018 - 1210
각 물 명: 멜론 품종 명칭: 화이트듀 출 원 인: 농업회사법인 (주)농우바이오 주 소: 경기도 수원시 영통구 셀트럴타운로, 114-8	
2018년10월01일	
국립종자원 	

그림 96. 흰가루병 저항성 멜론 품종 출원

다. 4차년도 연구내용

1) 멜론 흰가루병 race 판별

○ 남부연구소(밀양) 수집균주의 race 판별



	<i>Podosphaera xanthii</i> ( <i>Sphaerotheca fuliginea</i> )					<i>Golovinomyces cichoracearum</i> ( <i>Erysiphe cichoracearum</i> )
	race 1	race 2	race 3	race 5	Race 3-5	race 1
Vedrantais	S	S	S	S	S	S
Nantais	S	S	S	S	S	R
PMR 45	R	S	S	S	S	S
Edisto 47, WMR 29	R	R	R	S	S	S
PI 124112, 90625	R	R	R	R	R	R
PMR 5	R	R	S	R	S	R
PI 414723	R	R	IR	R	R/IR	R

그림 97. UPOV 기준 흰가루병 race

- 농우바이오 남부 연구소(밀양)의 멜론에 발병하는 흰가루 병원균을 수집하여 그림 97에 있는 흰가루병 판별품종에 접종실험을 수행하였다. 검정 결과 PMR 45, Edisto 47, PI 124112 및 PI 414723에서는 발병하지 않았고 TopMark (Vedrantais 대체 품종)에서만 발병하는 것으로 보아 남부 연구소 흰가루병은 UPOV 기준으로 race1임을 알 수 있었다.

○ 남부연구소 자체적 흰가루병 race 판별

표 36. 남부연구소 포장 race 판별

<i>Podosphaera xanthii</i> ( <i>Sphaerotheca fuliginea</i> )						발병유무	발병정도 1(매우약함)~ 9(매우심함)
Variety	race 1	race 2	race 3	race 5	race 3-5		
Topmark	S	S	S	S	S	발병	9
IranH	S	S	S	S	S	발병	9
PMR45	R	S	S	S	S	발병	5
Edisto 47	R	R	R	S	S	?	3
PMR5	R	R	S	R	S	발병안함	0
PMR6	R	R	S	R	S	발병안함	0
LJ90234	R	R	IR	R	IR	발병	5
VIR5682	?	?	?	?	?	발병안함	0
2563	?	?	?	?	?	?	2
2564	R	R	R	R	R	?	2
D-2Resistant	?	?	?	?	?	발병	7
MR-1	R	R	R	R	R	발병안함	0
JD x Edisto47	R	RS	RS	S	S	발병	5

-농우바이오 남부 연구소 내의 포장에서 발병하는 흰가루병 race를 판별하기 위해서 UPOV 기준의 판별품종을 정식하여 흰가루병 race를 판별하였다. 조사 시기 및 발병정도의 차이가 많이 나타났으며 그러한 현상으로 포장에서는 판별기주로 판별하기 어려운 현상이 나타났다. 또한 흰가루병 race가 한 종류가 아닌 여러 종류의 race가 분포하고 있는 것처럼 보이는 현상이 나타났다 (표 36).

2) 멜론 성능검정

○ 농가에서의 흰가루병 저항성 품종(또는 조합)의 실증시험



그림 98. 전남지역 멜론 농가 실증시험

- 전남 지역 5개의 농가를 대상으로 자사에서 개발한 멜론의 성능검정을 수행하기 위해 포장을 임대하여 조합들을 정식하였고 재배 시기별로 농가를 방문하여 대비품종과 비교 관찰하여 우수한 조합을 선발하였다. 또한 각 지역별로 3개 이상의 농가를 대상으로 시기별로 성능검정을 수행하고 있다.(그림 98)

○ 연구소의 흰가루병 저항성 품종(또는 조합)의 성능 검정

표 37. 2019년 여름네트멜론 성능검정

BN	품종명	과장(cm)	과경(cm)	과육부(cm)	화흔부(cm)	당도(Brix)
1312	PMR로리킹	16.0	17.0	5.0	1.2	14.5
1313	PMR달고나	16.5	16.3	5.0	1.5	13.5
1314	얼스피카소	17.8	17.2	4.2	1.3	13.0
1324		15.7	16.6	4.5	2.0	14.5
1327		16.9	16.3	4.2	1.7	13.5

파종 19.06.03  
정식 19.06.19  
수확 19.09.09

- 남부연구소에서 2019년 여름 자사에서 개발한 멜론의 성능검정을 수행하였다 (표 37, 그림 99). 현재 판매되고 있는 품종들과 비교하여 당도 및 품질이 우수한 2개의 조합인 BN1324 및 BN1327 두 조합을 선발하였다. 이를 포함하여 기존에 선발된 흰가루병 저항성을 가지는 조합들을 2020년에 시교를 수행한 후 품종화 할 계획이다.



그림 99. 하계 네트멜론 성능검정

2-6. 흰가루병 저항성 단호박 품종육성

가. 단호박 유전자원의 수집 및 특성 평가

1) 단호박 흰가루병 및 바이러스 저항성 유전자원의 수집

흰가루병에 대한 저항성 및 감수성 단호박 유전자원을 선별하기 위해 국내 및 해외 등지(중국, 일본, 인도)에서 유전자원 94계통 혹은 품종을 수집하였다. 국내 28계통(품종), 일본 및 인도지역에서 66계통(품종)을 수집하였다(표 38, 그림 100).

표 38. 국내·외 4년간 수집한 단호박 유전자원

순번	도입번호	수집처	수집량	순번	도입번호	수집처	수집량
1	71201	한국	50립	54	71247	인도	50립
2	71202	한국	50립	55	71248	인도	50립
3	71203	한국	50립	56	71249	일본	50립
4	71204	한국	50립	57	81도001	한국	50립
5	71205	한국	50립	58	81도002	한국	50립
6	71206	한국	50립	59	81도003	한국	50립
7	71207	한국	50립	60	81도004	중국	26립
8	71208	한국	50립	61	81도005	중국	22립
9	71209	한국	50립	62	81도006	중국	11립
10	71210	한국	50립	63	81도007	중국	26립
11	71211	한국	50립	64	81도008	중국	8립
12	71212	한국	50립	65	81도009	중국	7립
13	71213	한국	50립	66	81도010	중국	14립
14	71214	한국	50립	67	81도011	중국	15립
15	71215	한국	50립	68	81도012	중국	13립
16	71216	한국	50립	69	81도013	중국	10립
17	71217	한국	50립	70	81도014	중국	9립
18	71218	한국	50립	71	81도015	중국	7립
19	71219	한국	50립	72	81도016	중국	10립
26	71220	인도	50립	73	81도017	중국	11립
27	71221	인도	50립	74	81도018	중국	9립
28	71222	일본	50립	75	81도019	중국	18립
29	71223	일본	50립	76	81도020	중국	10립
30	71224	일본	50립	77	81도021	중국	9립
31	71225	인도	50립	78	81도022	중국	9립
32	71246	인도	50립	79	81도023	중국	12립
33	71226	인도	50립	80	81도024	중국	6립
34	71227	인도	50립	81	81도025	중국	8립
35	71228	인도	50립	82	81도026	중국	16립
36	71229	인도	50립	83	81도027	한국	50립
37	71230	인도	50립	84	81도028	한국	50립
38	71231	인도	50립	85	81도029	베트남	1팩
39	71232	인도	50립	86	81도030	한국	50립
40	71233	일본	50립	87	81도031	중국	1팩
41	71234	인도	50립	88	81도032	중국	1팩
42	71235	인도	50립	89	81도033	중국	1팩
43	71236	인도	50립	90	81도034	한국	50립
44	71237	인도	50립	91	81도035	중국	1팩
45	71238	인도	50립	92	81도036	중국	1팩
46	71239	인도	50립	93	81도037	중국	1팩

47	71240	인도	50립	94	81도038	중국	1팩
48	71241	인도	50립	95	81도039	중국	1팩
49	71242	인도	50립	96	81도040	중국	1팩
50	71243	인도	50립	97	81도041	중국	1팩
51	71244	인도	50립	98	81도042	한국	50립
52	71245	인도	50립	99	81도043	한국	50립
53	71246	인도	50립	100	81도044	인도	50립



그림 100. 국내·외 4년간 수집한 단호박 유전자원 외관 사진(계속)



그림 100. 국내·외 4년간 수집한 단호박 유전자원 외관 사진(계속)

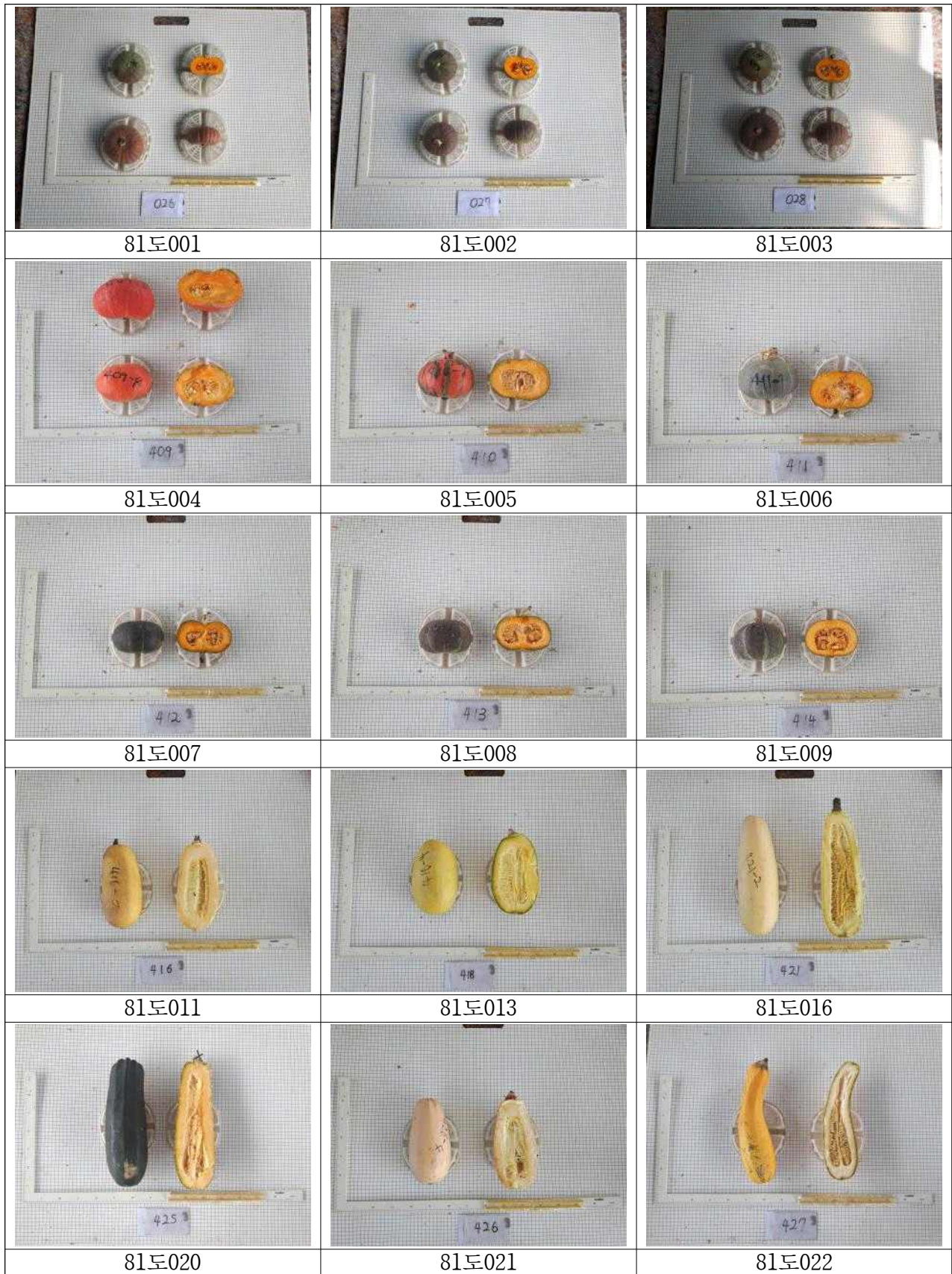


그림 100. 국내·외 4년간 수집한 단호박 유전자원 외관 사진(계속)



그림 100. 국내·외 4년간 수집한 단호박 유전자원 외관 사진(계속)





그림 100. 국내·외 4년간 수집한 단호박 유전자원 외관 사진

2) 유전자원 생육 및 과실 특성 평가

○ 1차년도 유전자원

- 수집한 유전자원 내 흰가루병에 대한 감응성을 판별하여 최종적으로는 흰가루병 저항성 유전자원을 선발하고 이를 품종 육성에 활용하고자 하였다. 또한 수집한 유전자원의 내병성 뿐만아니라 소비자 기호도를 고려하기 위한 원예적 형질과 생육특성을 조사하고자 하였다. 따라서 1차년도에 수집한 유전자원 50계통을 포함한 단호박 54계통과 대목 70계통을 2차년도에 당사가 소유하고 있는 인도지사의 농장에서 재배하여 생육 조사 및 원예적 형질 특성을 조사하였다(표 39, 40, 41, 42). 2017년 4월 17일에 32공 트레이에 각각 16립씩 과중한 후 2017년 5월 8일에 재식간격 40cm 하여 각 10주씩 정식하였다. 병충해 방제와 일반관리는 호박 표준 재배법에 준하여 관리하였으며 교배는 2017년 6월 12일부터 6월 30일까지 3주간 하였으며, 수확은 교배 후 약 45~60일경에 하였다. 생육조사는 과경, 과고, 과육색, 과피색, 과중, 과형 등의 특성을 확인하였다(그림 101).



유전자원 분리 및 선발 (김제)



세대 진전을 통한 재료 육성 (인도)

그림 101. 단호박 및 대목 재배특성평가

표 39. 단호박 계통의 원예적 특성

순번	순화고정	떡잎		배추		과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	분질도	당도(brix)	특성 및 기록사항
		크기 (mm)	색깔	두께 (mm)	길이 (mm)										
1	71011	25	녹색	25	16	녹색	편원형	750	70	130	30	농황색	중	12	
2	71012	4	녹색	32	35	녹색	편원형	1500	110	160	35	농황색	중	12	
3	71013	35	녹색	29	37	녹색	편원형	1300	100	165	30	황색	중	9	
4	71014	45	녹색	36	24	녹색	편원형	1000	85	145	20	농황색	강	12	
5	71015	55	녹색	40	40	녹색	편원형	1500	100	175	20	농황색	중	6.3	
6	71016	45	녹색	41	35	적색	편원형	2500	110	200	30	농황색	중	8.5	
7	71017	64	녹색	58	46	녹색	편구형	1750	113	172	26	농황색	강	14.3	
8	71018	63	녹색	52	50	녹색	편원형	750	85	125	22	황색	중	10	
9	71019	67	녹색	58	37	녹색	편원형	750	100	134	19	농황색	중	12	
10	71020	52	녹색	50	52	녹색	편원형	250	55	98	13	농황색	강	15.5	
11	71022	65	녹색	64	49	회색	편원형	500	85	113	16	농황색	중	8	
12	71023	64	녹색	78	33	녹색	편구형	750	90	124	22	농황색	중	9.5	
13	71024	55	녹색	62	46	녹색	편원형	750	90	138	17	농황색	중	7.5	
14	71026	52	녹색	40	35	녹색	편원형	250	45	80	20	농황색	중	13.0	
15	71027	57	녹색	50	43	녹색	편원형	250	55	90	10	농황색	중	5	
16	71028	52	녹색	56	30	녹색	편원형	750	73	115	22	농황색	강	12	
17	71029	52	녹색	54	45	녹색	편원형	700	90	117	17	농황색	중	10	
18	71030	65	녹색	50	56	회색	편원형	250	80	84	10	황색	중	5	
19	71031	78	녹색	64	55	녹색	편구형	200	80	65	16	황색	중	11	
20	71032	57	녹색	59	50	녹색	편원형	750	85	140	25	농황색	중	12	
21	71033	55	녹색	61	45	회색	편원형	500	90	102	16	농황색	중	8.9	
22	71036	47	녹색	49	40	녹색	편원형	750	55	139	21	농황색	강	12.5	
23	71037	35	녹색	33	42	녹색	편구형	600	55	134	17	황색	중	11	
24	71038	55	녹색	56	47	녹색	편구형	1000	90	140	23	농황색	중	6	
25	71039	55	녹색	34	33	녹색	편원형	1200	100	150	26	황색	중	13.5	
26	71040	63	녹색	55	50	회색	편원형	750	100	130	25	농황색	강	10	
27	71041	48	녹색	55	50	녹색	편원형	750	82	127	21	농황색	강	15	
28	71042	55	녹색	55	35	회색	편구형	500	80	118	19	황색	중	14.1	
29	71043	68	녹색	59	52	녹색	편원형	250	92	83	21	농황색	중	9.9	
30	71044	52	녹색	64	30	녹색	편원형	1100	98	151	19	농황색	중	8.5	

순번	순화고정	떡잎		배축		과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	분질도	당도(brix)	특성 및 기록사항
		크기(mm)	색깔	두께(mm)	길이(mm)										
31	71045	57	녹색	44	50	녹색	편원형	1250	90	161	23	농황색	중	7.5	
32	71046	72	녹색	66	40	회색	편원형	2400	130	193	21	농황색	중	6	
33	71047	58	녹색	52	44	녹색	편구형	750	120	153	35	황색	강	7.5	
34	71048	58	녹색	46	38	적색	편구형	2200	130	182	24	황색	중	6	
35	71049	47	녹색	46	20	녹색	편원형	1750	115	180	25	농황색	중	8	
36	71050	63	녹색	60	28	녹색	편원형	1250	100	152	30	농황색	중	7.2	
37	71051	74	녹색	61	21	녹색	편구형	1250	130	155	20	황색	강	10	
38	71052	45	녹색	35	20	녹색	편원형	500	50	122	23	농황색	중	12	
39	71053	65	녹색	49	38	녹색	편구형	200	35	70	10	농황색	중	10	
40	71054	64	녹색	54	37	회색	편구형	1600	115	175	32	황색	강	13	

표 40. 단호박 계통의 원예적 형질(인도 시험)

순번	순화고정	떡잎		배축		과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	분질도	당도(brix)	특성 및 기록사항
		크기(mm)	색깔	두께(mm)	길이(mm)										
41	71055	56	녹색	60	45	녹색	편구형	1250	95	162	23	황색	중	7	
42	71056	56	녹색	46	30	녹색	편원형	1600	110	180	16	농황색	중	10	
43	71057	75	녹색	60	34	녹색	편원형	500	75	124	21	농황색	강	12	
44	71058	72	녹색	60	40	녹색	편구형	1750	70	170	26	황색	중	11	
45	71059	55	녹색	60	30	회색	편원형	250	80	84	19	농황색	중	10	
46	71063	55	녹색	59	35	녹색	편원형	1000	90	150	30	농황색	중	8.5	
47	71064	64	녹색	53	28	녹색	편원형	1000	161	122	20	황색	중	7	
48	71065	56	녹색	54	57	녹색	편원형	750	85	140	20	농황색	중	9	
49	71066	49	녹색	47	36	회색	편구형	750	115	127	12	농황색	중	7	
50	71067	74	녹색	72	75	녹색	고구형	1500	160	135	25	농황색	강	13.2	
51	71069	90	녹색	64	33	녹색	편원형	500	80	122	16	농황색	강	9.5	
52	71073	45	녹색	29	20	녹색	편원형	200	60	82	15	농황색	중	12.2	
53	71074	60	녹색	41	35	녹색	편원형	500	85	124	11	농황색	중	14	
54	71075	52	녹색	50	40	회색	편구형	600	70	128	20	황색	중	10	
55	71076	62	녹색	45	47	녹색	편원형	700	81	131	19	황색	강	11	
56	71077	42	녹색	44	47	녹색	편원형	1000	95	148	20	황색	중	16	
57	71078	57	녹색	46	51	녹색	편원형	1500	121	153	31	농황색	중	11	

58	71079	72	녹색	58	47	회색	편구형	500	80	118	20	농황색	중	10	
59	71080	70	녹색	47	24	녹색	편원형	1500	120	175	26	농황색	중	8	
60	71081	64	녹색	50	32	녹색	편원형	1250	100	155	22	황색	강	12	
61	71082	74	녹색	65	31	녹색	편구형	1500	125	158	24	농황색	중	7.5	
62	71083	47	녹색	43	29	녹색	편구형	2250	140	185	35	농황색	중	9	
63	71084	45	녹색	34	27	회색	편구형	1500	115	162	30	황색	중	9	
64	71085	60	녹색	63	28	회색	편원형	2000	125	175	40	농황색	중	8.2	
65	71086	48	녹색	47	25	녹색	편원형	1250	90	167	24	농황색	강	11.8	
66	71088	51	녹색	39	32	녹색	편구형	750	85	122	23	농황색	중	10	
67	71089	52	녹색	36	34	회색	고구형	250	60	95	12	황색	중	8	
68	71090	50	녹색	40	31	회색	편원형	200	55	80	11	농황색	중	11.2	
69	71091	62	녹색	65	47	녹색	편원형	250	65	110	19	농황색	강	15	
70	71092	49	녹색	49	45	회색	편원형	400	52	103	14	농황색	중	11	
71	71093	53	녹색	45	40	녹색	편원형	1000	78	155	35	황색	중	9	
72	71094	52	녹색	52	35	회색	편구형	250	65	98	16	농황색	중	10.2	
73	71095	59	녹색	51	44	녹색	편원형	800	82	146	36	농황색	중	15.8	
74	71097	70	녹색	68	57	녹색	편원형	800	104	132	20	농황색	중	8	
75	71099	61	녹색	38	23	녹색	편원형	750	80	140	20	황색	중	13	
76	71100	55	녹색	50	50	녹색	편구형	750	93	132	21	농황색	중	13	
77	71101	63	녹색	67	55	회색	편원형	1750	116	176	25	농황색	중	9	
78	71102	63	녹색	70	37	회색	편구형	1000	100	141	27	농황색	강	6	
79	71103	71	녹색	48	27	녹색	편원형	2000	124	200	19	황색	중	8	
80	71104	61	녹색	40	55	녹색	편원형	1750	135	165	23	농황색	중	9	
81	71106	73	녹색	57	46	녹색	편구형	2100	115	175	21	농황색	강	10	
82	71107	74	녹색	71	52	녹색	편구형	250	40	103	15	농황색	중	13	
83	71108	68	녹색	66	55	회색	편원형	800	80	141	17	농황색	중	12	
84	71109	65	녹색	59	50	녹색	편원형	600	62	136	16	황색	중	16	
85	71110	59	녹색	61	68	녹색	편원형	900	88	141	21	농황색	강	8.5	
86	71111	68	녹색	65	31	회색	편구형	1000	110	140	24	황색	강	12	
87	71112	70	녹색	63	27	녹색	편구형	1500	140	176	26	농황색	중	7	
88	71113	58	녹색	76	52	녹색	편원형	600	103	110	20	농황색	중	7	
89	71114	65	녹색	34	55	녹색	편원형	200	50	68	14	농황색	중	7	

표 41. 대목 계통의 원예적 특성

순번	순화고정	떡잎		배축		과피색	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색
		크기 (mm)	색깔	두께 (mm)	길이 (mm)						
1	71511	40	녹색	2.4	20	황색	1700	160	150	150	황색
2	71512	60	녹색	13	33	황색	3000	220	160	250	농황색
3	71513	42	녹색	23	26	황색	1200	180	160	120	황색
4	71514	35	녹색	20	25	녹색	2000	230	120	150	황색
5	71515	52	녹색	23	25	회색	1200	110	130	150	황색
6	71516	35	녹색	26	23	황색	750	90	120	30	농황색
7	71517	55	녹색	29	32	녹색	2750	120	200	40	농황색
8	71518	50	녹색	30	27	녹색	1500	100	160	40	황색
9	71519	40	녹색	28	22	황색	1700	80	170	45	황색
10	71520	40	녹색	29	30	회색	1500	240	120	30	황색
11	71522	45	녹색	27	39	녹색	2200	110	190	30	황색
12	71523	45	녹색	21	33	녹색	1000	130	120	30	농황색
13	71524	55	녹색	36	35	황색	750	135	125	20	황색
14	71525	50	녹색	24	30	회색	1300	100	150	30	황색
15	71526	50	녹색	33	35	회색	1600	240	130	30	농황색
16	71529	5	녹색	43	32	녹색	3000	190	200	40	황색
17	71533	35	녹색	37	33	녹색	2000	130	175	30	황색
18	71535	45	녹색	30	34	황색	1500	90	160	25	황색
19	71536	50	녹색	44	26	황색	2500	200	180	25	농황색
20	71538	55	녹색	37	20	녹색	4700	200	240	40	농황색
21	71539	40	녹색	39	33	황색	3500	160	210	35	황색
22	71540	40	녹색	40	27	황색	4500	210	220	30	황색
23	71541	40	녹색	40	25	녹색	5500	165	250	30	황색
24	71543	30	녹색	33	26	녹색	3000	190	220	35	황색
25	71545	40	녹색	27	15	회색	2000	210	170	30	농황색
26	71546	30	녹색	32	12	회색	1700	130	160	30	농황색
27	71547	50	녹색	30	25	녹색	2000	200	170	20	황색
28	71549	40	녹색	33	27	녹색	2000	200	160	20	황색
29	71551	40	녹색	43	31	녹색	5000	190	220	40	황색
30	71552	45	녹색	33	21	녹색	4000	150	210	30	황색
31	71553	35	녹색	43	14	녹색	7250	280	240	40	농황색
32	71555	35	녹색	32	31	녹색	1500	240	110	20	황색
33	71556	34	녹색	31	26	녹색	2500	135	190	30	황색

34	71557	40	녹색	31	17	황색	1300	170	140	20	황색
35	71558	50	녹색	52	27	황색	900	95	120	30	농황색
36	71559	25	녹색	29	22	녹색	1700	160	150	25	농황색
37	71560	40	녹색	33	18	녹색	7100	320	220	40	황색
38	71561	45	녹색	33	25	녹색	6600	190	260	60	황색
39	71562	45	녹색	45	33	녹색	5700	210	210	65	황색
40	71563	45	녹색	34	16	녹색	2000	160	170	40	황색
41	71564	40	녹색	36	24	녹색	1600	95	100	35	황색
42	71565	35	녹색	33	29	녹색	2500	190	210	20	농황색
43	71566	30	녹색	31	20	녹색	2500	190	140	30	황색
44	71567	30	녹색	33	20	황색	2100	110	190	30	농황색
45	71569	45	녹색	20	31	회색	1500	110	160	30	황색
46	71570	30	녹색	26	31	황색	2000	150	160	30	농황색
47	71571	35	녹색	22	29	회색	2100	120	170	40	황색
48	71572	35	녹색	21	30	녹색	1100	80	130	25	황색
49	71574	50	녹색	27	31	녹색	2200	70	180	40	농황색
50	71575	50	녹색	34	26	녹색	2500	110	210	30	농황색

표 42. 대목 계통의 원예적 특성(인도 시험)

순번	순화고정	떡잎		배축		과피색	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색
		크기 (mm)	색깔	두께 (mm)	길이 (mm)						
51	71576	55	녹색	36	27	녹색	5000	150	240	50	농황색
52	71577	45	녹색	41	18	녹색	3400	110	210	35	황색
53	71578	35	녹색	37	21	황색	3800	130	130	50	황색
54	71579	55	녹색	37	18	회색	2800	110	200	30	황색
55	71580	40	녹색	32	16	황색	2500	180	140	40	농황색
56	71581	40	녹색	33	21	녹색	4000	140	230	30	황색
57	71582	60	녹색	37	18	녹색	4500	180	240	50	황색
58	71583	50	녹색	35	35	녹색	3000	170	210	30	농황색
59	71584	40	녹색	31	24	녹색	1700	240	100	20	황색
60	71585	40	녹색	35	31	녹색	1600	270	110	60	황색
61	71586	45	녹색	31	30	황색	3500	170	200	30	농황색
62	71587	40	녹색	33	25	황색	4400	200	240	20	농황색
63	71589	35	녹색	34	26	회색	1700	150	160	25	황색
64	71590	43	녹색	36	27	회색	4000	370	160	30	황색
65	71591	45	녹색	37	16	황색	3700	240	180	20	황색
66	71592	40	녹색	29	22	황색	4500	220	230	30	황색

67	71593	30	녹색	36	20	황색	4200	170	220	20	농황색
68	71595	50	녹색	38	31	녹색	2700	160	180	30	농황색
69	71596	40	녹색	30	27	녹색	4500	180	210	40	황색
70	71597	35	녹색	32	13	황색	2700	130	180	25	황색
71	71599	35	녹색	32	23	황색	1900	130	180	45	황색
72	71600	30	녹색	28	24	녹색	3000	190	180	30	농황색
73	71601	45	녹색	38	23	녹색	2500	160	180	20	농황색
74	71602	30	녹색	38	18	녹색	3500	200	190	25	황색
75	71603	60	녹색	46	30	황색	1600	140	150	30	황색
76	71604	30	녹색	37	23	회색	3000	130	210	30	황색
77	71606	22	녹색	34	12	회색	600	60	125	20	농황색
78	71607	25	녹색	37	10	황색	1200	100	150	20	황색
79	71608	30	녹색	32	15	회색	1600	110	160	20	황색
80	71610	45	녹색	32	13	회색	2700	85	200	25	황색
81	71611	40	녹색	32	23	녹색	1700	110	180	30	농황색
82	71612	43	녹색	32	23	녹색	1300	120	150	20	농황색
83	71613	30	녹색	30	24	황색	1300	170	150	20	농황색
84	71614	30	녹색	32	9	황색	800	140	120	25	농황색
85	71615	40	녹색	29	15	회색	1400	165	140	35	농황색
86	71617	53	녹색	36	19	회색	2500	145	210	30	황색
87	71618	60	녹색	40	29	황색	2500	130	210	30	황색
88	71620	35	녹색	34	23	녹색	2400	150	175	30	황색
89	71621	45	녹색	35	27	녹색	1800	200	130	30	황색
90	71622	50	녹색	28	21	녹색	2200	140	165	35	황색
91	71625	55	녹색	36	10	황색	3000	105	215	4	황색
92	71628	50	녹색	33	30	황색	1600	200	140	30	황색
93	71629	45	녹색	35	25	녹색	1500	205	140	20	황색
94	71631	30	녹색	31	20	녹색	700	65	130	20	황색
95	71632	45	녹색	32	16	황색	600	90	125	20	농황색
96	71633	50	녹색	32	7	황색	2400	140	195	30	농황색
97	71634	35	녹색	30	12	황색	1200	120	130	20	농황색
98	71635	45	녹색	32	30	황색	1700	140	160	20	황색



순번	순화고정	떡잎		배축		과피색	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색
		크기(mm)	색깔	두께(mm)	길이(mm)						
99	71637	45	녹색	35	20	황색	1400	85	170	20	황색
100	71638	55	녹색	37	22	녹색	300	75	130	30	농황색
101	71639	45	녹색	37	10	황색	1200	90	140	20	황색
102	71640	50	녹색	40	22	회색	3200	135	220	30	황색
103	71641	45	녹색	35	30	녹색	2900	110	200	20	황색
104	71642	40	녹색	34	19	황색	3400	190	200	25	농황색
105	71643	50	녹색	35	17	녹색	2100	120	170	20	황색
106	71646	50	녹색	35	27	녹색	2000	170	160	30	황색
107	71647	70	녹색	40	25	황색	5000	110	290	35	농황색
108	71648	45	녹색	32	19	녹색	1000	135	125	20	황색
109	71649	40	녹색	26	20	황색	1700	100	170	30	황색

- 수집재료 50계통/품종과 기존에 보유하고 있는 호박 유전자원은 원예적 형질은 국립종자원 호박 조사기준에 준하여 조사하였다. 호박의 품질에 영향을 미치는 요소에는 내병성도 중요하지만 소비자 기호에 따라 과형과 과중, 과피색, 과육색 등이 중요 요인이라 할 수 있다. 또한 당도가 높을수록 식미가 우수한 것으로 인정되며 호박을 찢을 때 분질도가 높을수록 맛이 있다고 평가한다. 수집된 유전자원 및 단호박/대목 계통을 포장에 정식 및 재배를 하였다. 그 중에 수입한 유전자원 19계통/품종, 단호박 15계통 및 대목 31계통을 제외한 계통/품종들을 생육조사 하였다. 유전자원은 대체적으로 과피색은 적색, 황색, 회색 및 녹색으로 나타났으며 과형은 편원형과 편고구형이 주로 나타났다. 과육색은 농황색 및 황색으로 보여지고 과실의 크기가 소과종으로부터 대과종으로 다양하게 나타났다. 그 중에 원예적 특성 및 순도가 좋은 71011, 71012, 71014, 71050, 71052, 71083, 71085, 71089, 71092, 및 71107의 10계통을 선발하였다. 이러한 계통들은 단호박 조합작성에 유용하게 쓰일 것으로 사료되며 또한 선발된 계통들의 내병성 여부를 좀 더 조사해야 할 것으로 생각된다. 또한 조합작성을 한 계통들을 재배해서 원예적 특성을 3차년도에 확인하였다.

○ 2차년도 유전자원

- 2017년도에 선발한 단호박 40계통, 대목 50계통에 대한 세대진전 및 원예적 형질 특성 조사를 당사가 소유하고 있는 인도육종농장에서 수행하였다. 추가적으로 국내에서는 유전자원의 채종종자 및 수집된 유전자원 종자 단호박 114계통, 대목 60계통을 과종 및 재배하여 생육조사를 실시하였다. 2018년 4월 12일에 32공 트레이에 각각 16립씩 과종한 후 2018년 5월 21일에 재식간격은 40cm 하여 각 10주씩 정식하였다. 병충해 방제와 일반관리는 호박 표준 재배법에 준하여 관리하였으며 교배는 2018년 6월 22일부터 7월 13일까지 3주간 하였으며, 수확은 교배 후 약 45~60일경에 하였다. 생육조사는 과경, 과고, 과육색, 과피색, 과중, 과형 등의 특성을 확인하였다 (그림 102).

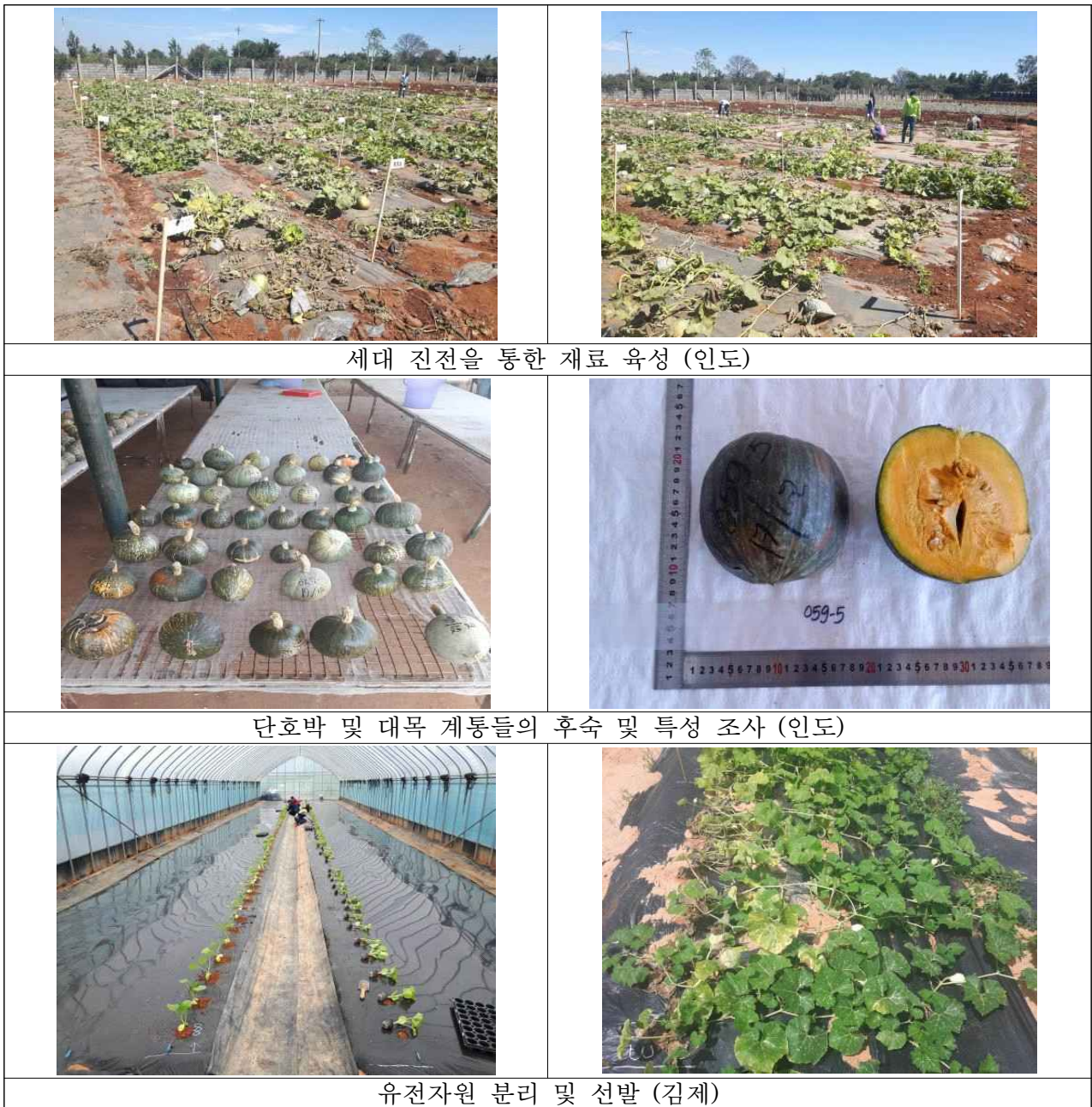


그림 102. 단호박 및 대목 재배특성평가

표 43. 단호박 계통의 원예적 특성(인도 시험)

순번	순화고정	과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	특성 및 기록사항
1	72055	녹색	편원형	1440	145	155	27	농황색	
2	72059-3	녹색	편원형	1040	100	140	25	농황색	
3	72059-5	녹색	편원형	1610	115	160	25	황색	
4	72060	녹색	편원형	1770	210	140	25	농황색	
5	72061-1	녹색	편원형	1080	100	145	25	농황색	
6	72061-5	녹색	편원형	1000	90	145	25	농황색	
7	72062	녹색	편원형	1380	115	150	30	황색	
8	72063	녹색	편원형	1230	165	125	25	농황색	
9	72064-1	녹색	편원형	1450	95	170	25	농황색	
10	72064-5	녹색	편원형	0750	100	135	20	농황색	
11	72065-2	녹색	편원형	1360	95	160	25	농황색	
12	72065-7	녹색	편원형	1760	125	155	20	황색	
13	72067	녹색	편원형	450	135	155	20	농황색	
14	72068-9	녹색	편원형	1280	85	153	24	황색	
15	72069	녹색	편원형	1870	130	170	30	황색	
16	72070-2	녹색	편원형	1290	110	145	33	황색	
17	72070-8	녹색	편원형	730	85	130	25	농황색	
18	72071-4	녹색	편원형	770	80	130	20	농황색	
19	72071-6	녹색	편원형	950	95	135	23	농황색	
20	72072-3	녹색	편원형	820	90	130	35	황색	
21	72072-8	녹색	편원형	570	80	115	25	농황색	
22	72072-9	녹색	편원형	1090	95	143	30	농황색	
23	72073-1	녹색	편원형	1240	105	155	20	황색	
24	72073-10	녹색	편원형	970	100	140	25	농황색	
25	72074	녹색	편원형	1660	160	165	35	농황색	
26	72077	녹색	편원형	1010	110	135	30	농황색	
27	72079-1	녹색	편원형	770	75	130	20	황색	
28	72079-6	녹색	편원형	650	80	120	20	농황색	
29	72080-6	녹색	편원형	1730	115	165	30	농황색	
30	72081	녹색	편원형	1840	120	170	40	황색	
31	72082	녹색	편원형	2400	135	190	35	농황색	
32	72083-2	녹색	편원형	1300	100	155	30	농황색	
33	72083-3	녹색	편원형	870	90	135	25	농황색	

34	72085	녹색	편원형	520	70	113	20	황색	
35	72086	녹색	편원형	2040	135	175	30	농황색	
36	72087-4	녹색	편원형	1350	115	145	20	농황색	
37	72087-7	녹색	편원형	1080	110	140	20	농황색	
38	72090	녹색	편원형	730	125	115	15	황색	
39	72091-1	녹색	편원형	960	70	140	20	농황색	
40	72091-4	녹색	편원형	540	55	115	25	농황색	

표 44. 대목 계통의 원예적 특성(인도 시험)

순번	순화고정	과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	특성 및 기록사항
41	72002	녹색	편원형	3070	260	165	30	황색	
42	72006	녹색	편원형	280	77	83	13	농황색	
43	72008	녹색	편원형	2130	125	190	30	황색	
44	72012	노랑색	편원형	1430	138	160	30	황색	내서성
45	72014	녹색	편원형	770	140	120	20	농황색	
46	72016	노랑색	편원형	800	200	92	24	황색	
47	72017	녹색	편원형	1,570	136	162	25	황색	
48	72018	녹색	편원형	240	75	92	11	농황색	
49	72019	녹색	편원형	260	80	85	20	황색	
50	72020	녹색	편원형	1880	95	185	20	황색	
51	72021-6	녹색	편원형	1970	130	190	22	농황색	
52	72021-10	녹색	편원형	3510	170	240	31	황색	
53	72022	노랑색	편원형	950	130	125	25	농황색	
54	72023	노랑색	편원형	1940	140	180	30	황색	내서성
55	72026	녹색	편원형	740	110	115	30	황색	
56	72028-2	녹색/노랑색	편원형	940	100	140	25	황색	
57	72028-9	녹색	편원형	1110	100	145	30	농황색	
58	72029-1	녹색	편원형	1210	160	120	25	황색	
59	72029-8	녹색/노랑색	편원형	1590	175	140	30	농황색	
60	72030	노랑색	편원형	890	135	97	30	황색	
61	72032	녹색	편원형	780	95	140	20	황색	
62	72034	노랑색	편원형	830	140	117	27	농황색	
63	72035	녹색	편원형	1110	150	135	25	황색	
64	72036	노랑색	편원형	450	65	115	25	농황색	
65	72037	녹색	편원형	360	75	110	15	농황색	

66	72038	녹색	편원형	1970	120	190	30	농황색	
67	72039	녹색	편원형	870	100	140	30	황색	
68	72040	녹색	편원형	1410	125	170	25	농황색	
69	72041	녹색	편원형	1140	120	150	25	농황색	
70	72042	노랑색	편원형	1300	95	165	25	황색	
71	72043	노랑색	편원형	780	80	130	35	농황색	내서성
72	72044-2	노랑색	편원형	660	80	125	30	농황색	
73	72044-8	노랑색	편원형	740	80	125	20	농황색	
74	72045	녹색	편원형	2480	115	220	35	황색	
75	72046-2	녹색	편원형	1300	115	165	25	황색	
76	72046-5	녹색	편원형	1250	105	160	20	황색	
77	72048-1	녹색	편원형	720	102	130	25	농황색	
78	72048-2	녹색	편원형	830	100	130	25	황색	
79	72050	녹색/노랑색	편원형	1610	150	145	27	황색	
81	72051-11	녹색	편원형	2090	132	180	30	황색	

표 45. 수집한 유전자원의 원예적 특성

순번	순화고정	과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	분질도	당도(brix)	특성 및 기록사항
1	81도001	회색	편원형	500	48	105	20	농황색	강	20	
2	81도002	회색	편원형	475	70	104	17	농황색	강	23	
3	81도003	회색	편원형	450	65	105	18	농황색	강	19.6	
4	81도004	주황색	편구형	150	85	160	32	농황색	약	11.8	
5	81도005	주황색	편구형	850	96	152	27	황색	약	7.1	
6	81도006	회색	편구형	1115	92	156	27	황색	중	5.8	
7	81도007	녹색	편원형	850	72	143	22	농황색	중	8.4	
8	81도008	녹색	편원형	850	88	145	19	황색	약	5.2	
9	81도009	녹색	편원형	1200	92	161	26	황색	중	7.6	
10	81도011	노랑색	장타원형	1500	237	114	23	연한노랑색	약	2.0	흰가루병 감수성
11	81도013	노랑색	장타원형	1500	204	122	19	연한노랑색	약	2.5	흰가루병 감수성
12	81도016	살색	장타원형	2000	350	110	24	연한노랑색	약	3.2	흰가루병 감수성
13	81도020	녹색	장타원형	1750	330	104	29	연한노랑색	약	2.1	흰가루병 감수성
14	81도021	살색	장타원형	1250	225	104	24	연한노랑색	약	3.4	흰가루병 감수성
15	81도022	노랑색	장타원형	1900	350	96	24	연한노랑색	약	4.4	흰가루병 감수성
16	81도023	노랑색	장타원형	1450	370	89	23	연한노랑색	약	3.5	흰가루병 감수성
17	81도024	노랑색	장타원형	1500	300	95	20	연한노랑색	약	1.8	흰가루병 감수성
18	81도025	노랑색	장타원형	1300	320	95	12	연한노랑색	약	3.1	흰가루병 감수성

19	81도027	녹색	편원형	850	88	143	25	황색	중	7.5	흰가루병 감수성
20	81도028	녹색	편원형	750	81	142	32	황색	중	7.2	흰가루병 감수성
21	81도029	진한 살색	버티넛	1200	220	112	92	주황색	중	18.8	
22	81도030	녹색	편원형	800	71	149	22	황색	중	7.2	
23	81도031	녹색	편원형	700	85	124	19	황색	중	10.8	
24	81도032	녹색	편원형	1400	110	162	29	황색	약	4.6	
25	81도033	녹색	편구형	800	80	137	21	황색	강	14.4	
26	81도034	녹색	편원형	750	71	141	26	황색	강	10.7	
27	81도035	녹색	팽이형	450	118	88	16	황색	약	8.3	
28	81도036	녹색	편원형	750	62	146	26	농황색	중	10.8	
29	81도037	녹색	편원형	1450	100	174	28	황색	중	11.6	흰가루병 감수성
30	81도039	녹색	편원형	550	48	122	17	황색	중	11.5	흰가루병 감수성
31	81도040	녹색	편원형	1500	102	174	25	황색	중	10.0	흰가루병 감수성
32	81도041	녹색	편원형	700	62	137	28	황색	중	11.2	흰가루병 감수성
33	81도042	녹색	편원형	1000	91	146	24	황색	중	6.8	
34	81도044	살색	버티넛	900	82	92	76	주황색	중	11.4	

표 46. 단호박 계통의 원예적 특성

순번	순화고정	떡잎		배추		과피색	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	분질도	당도(brix)	특성 및 기록사항
		크기(mm)	색깔	두께(mm)	길이(mm)										
1	81502	55	녹색	36	17	녹색	편원형	750	89	137	26	주황색	약	7.7	
2	81504	55	녹색	38	17	녹색	편원형	750	116	127	15	주황색	약	7.0	
3	81507	60	녹색	40	20	회색	고구형	550	111	114	17	황색	강	10.2	
4	81508	55	녹색	47	17	녹색	편원형	400	72	107	14	황색	약	7.8	
5	81509	45	녹색	43	30	녹색	편원형	550	80	129	14	황색	중	7.4	
6	81510	50	녹색	41	25	회색	럭비공형	600	141	104	16	황색	중	7.4	
7	81511	25	녹색	26	12	녹색	편원형	1400	82	152	32	주황색	약	9.7	
8	81512	25	녹색	20	15	녹색	편원형	850	78	141	19	황색	강	13.2	
9	81513	30	녹색	24	16	회색	편원형	1100	128	151	25	황색	강	12.1	
10	81514	25	녹색	24	24	녹색	팽이형	700	117	116	18	주황색	강	9.5	
11	81515	25	녹색	25	28	녹색	편원형	1050	88	166	19	황색	약	8.7	
12	81516	45	녹색	36	10	녹색	편원형	1000	86	155	22	황색	강	8.0	
13	81518	50	녹색	22	15	녹색	편원형	1100	112	161	19	황색	강	11.5	
14	81519	51	녹색	35	12	녹색	편원형	300	55	97	14	주황색	강	11.1	
15	81520	45	녹색	34	49	회색	고구형	1250	124	161	18	황색	약	7.8	
16	81522	35	녹색	21	35	녹색	편원형	950	74	146	18	황색	강	9.2	

17	81523	20	녹색	20	22	녹색	편원형	1150	105	157	17	황색	약	6.5	
18	81524	35	녹색	24	20	녹색	편원형	750	96	117	16	황색	강	13.9	
19	81525	30	녹색	24	15	녹색	편원형	750	88	127	18	황색	중	9.9	
20	81526	35	녹색	25	17	녹색	편원형	750	101	136	22	황색	약	11.7	
21	81527	45	녹색	40	20	녹색	편원형	1050	100	150	21	황색	중	11.1	
22	81528	45	녹색	38	22	녹색	편원형	1000	83	151	28	황색	중	8.5	
23	81530	40	녹색	38	28	녹색	편원형	800	84	140	22	황색	강	7.3	
24	81531	50	녹색	33	24	회색	고구형	550	92	115	13	황색	강	12.6	
25	81532	50	녹색	41	25	녹색	편원형	400	94	108	9	황색	중	10.5	
26	81533	52	녹색	42	30	녹색	편원형	2850	176	205	32	황색	약	3.9	
27	81536	45	녹색	28	20	녹색	편원형	500	64	108	22	주황색	중	12.5	
28	81537	45	녹색	36	16	녹색	편원형	550	82	122	25	주황색	약	9.6	
29	81538	43	녹색	33	21	회색	편구형	1650	94	184	25	황색	강	8.3	
30	81539	20	녹색	20	18	회색	편구형	2250	118	195	28	황색	약	5.9	
31	81540	25	녹색	25	22	회색	편원형	350	91	92	14	황색	약	13.4	
32	81541	24	녹색	27	25	회색	고구형	750	89	125	25	황색	중	6.9	
33	81542	45	녹색	33	35	회색	편원형	1000	103	139	26	황색	약	7.8	
34	81544	48	녹색	37	33	녹색	편원형	250	48	91	14	주황색	강	17.1	
35	81546	55	녹색	36	17	녹색	편원형	800	93	152	22	황색	중	5.2	
36	81548	55	녹색	42	20	녹색	편원형	1250	106	160	23	황색	중	8.7	
37	81549	60	녹색	38	22	회색	편원형	750	116	135	23	황색	강	9.0	
38	81550	55	녹색	45	25	회색	편원형	1450	112	154	25	황색	중	9.0	
39	81551	60	녹색	47	20	회색	편원형	1150	108	151	21	황색	약	10.1	
40	81552	55	녹색	51	27	회색	편원형	500	47	110	21	황색	강	11.7	
41	81553	55	녹색	50	29	회색	편원형	800	84	138	25	황색	강	17.8	
42	81554	54	녹색	46	31	녹색	편원형	1100	81	154	21	황색	중	7.3	
43	81557	58	녹색	43	42	회색	편원형	800	97	140	24	황색	중	9.6	
44	81558	55	녹색	44	41	회색	편원형	700	87	128	22	황색	중	8.9	
45	81559	45	녹색	30	21	회색	편원형	950	100	140	21	황색	중	9.9	
46	81560	46	녹색	35	16	회색	편원형	850	90	137	29	황색	약	7.9	
47	81562	50	녹색	31	31	녹색	편원형	1100	90	155	21	황색	약	10.3	
48	81563	42	녹색	37	21	녹색	편원형	900	85	140	21	황색	약	7.8	
49	81564	50	녹색	29	26	녹색	편원형	1000	89	143	23	황색	중	8.8	
50	81566	52	녹색	37	25	회색	고구형	1400	105	156	19	황색	약	5.6	
51	81567	57	녹색	45	31	회색	고구형	1250	122	150	22	황색	약	6.9	
52	81568	55	녹색	34	42	녹색	편원형	850	86	141	21	황색	중	12.8	
53	81569	45	녹색	41	33	녹색	편원형	800	55	135	24	황색	중	12.0	
54	81570	43	녹색	35	28	녹색	편원형	850	85	137	28	황색	약	8.2	

표 47. 대목 계통의 원예적 특성

순번	순화고정	떡잎		배축		과피색	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육두께(mm)	과육색	특성 및 기록사항
		크기 (mm)	색깔	두께 (mm)	길이 (mm)							
1	81801	45	녹색	29	12	녹색	1800	126	186	26	황색	
2	81802	42	녹색	34	30	녹색	1200	208	134	30	황색	
3	81803	40	녹색	28	27	녹색	1100	200	130	21	황색	
4	81804	35	녹색	30	25	녹색	1500	125	157	30	황색	
5	81806	50	녹색	30	17	녹색	1300	155	156	20	황색	내서성
6	81808	42	녹색	31	30	녹색	1300	105	160	25	황색	
7	81809	55	녹색	32	12	녹색	450	85	107	15	황색	
8	81812	54	녹색	35	15	주황색	900	111	140	25	주황색	
9	81814	51	녹색	34	14	녹색	1300	180	152	28	황색	
10	81818	50	녹색	31	26	주황색	700	85	127	14	황색	
11	81820	50	녹색	31	21	살색	1900	82	183	26	황색	
12	81821	45	녹색	35	19	녹색	1750	122	184	29	황색	
13	81822	50	녹색	31	28	녹색	2150	122	204	20	황색	
14	81823	45	녹색	33	23	주황색	1200	178	155	22	황색	
15	81824	55	녹색	35	19	녹색	1750	124	185	29	황색	
16	81825	61	녹색	36	34	녹색	850	107	141	21	황색	
17	81827	51	녹색	31	30	녹색	800	87	156	22	황색	
18	81829	41	녹색	33	30	살색	1250	111	155	20	황색	
19	81830	50	녹색	32	24	살색	900	92	142	17	황색	내서성
20	81831	53	녹색	26	25	살색	1000	180	118	17	황색	
21	81832	45	녹색	25	32	살색	1500	134	154	30	황색	
22	81834	35	녹색	21	28	녹색	1000	95	149	26	황색	
23	81836	45	녹색	30	19	녹색	600	140	116	18	황색	
24	81838	35	녹색	34	16	녹색	800	172	120	18	황색	
25	81839	25	녹색	34	32	녹색	600	58	140	18	황색	
26	81840	40	녹색	25	24	회색	350	77	111	16	황색	
27	81841	45	녹색	27	21	녹색	850	70	144	22	황색	
28	81842	42	녹색	34	28	녹색	1400	116	154	22	황색	
29	81843	46	녹색	41	31	녹색	1100	114	145	20	황색	
30	81844	41	녹색	21	20	녹색	2650	170	193	25	황색	
31	81845	52	녹색	38	41	녹색	2050	160	190	26	황색	
32	81846	53	녹색	35	20	주황색	700	77	134	22	황색	
33	81847	32	녹색	21	30	주황색	450	66	112	14	황색	
34	81848	43	녹색	32	21	주황색	600	74	126	25	황색	
35	81849	32	녹색	41	20	주황색	650	68	129	22	황색	



36	81850	37	녹색	23	31	녹색	1500	112	172	21	황색	
37	81851	36	녹색	25	28	녹색	1450	94	192	48	황색	내서성
38	81853	35	녹색	21	19	녹색	900	109	134	22	황색	
39	81854	41	녹색	32	26	녹색	2700	104	134	29	황색	
40	81856	46	녹색	35	34	녹색	2500	205	170	34	황색	
41	81857	50	녹색	30	32	녹색	1450	116	175	29	황색	
42	81858	25	녹색	30	38	살색	1200	1850	120	20	황색	
43	81859	34	녹색	28	21	살색	1200	1850	124	21	황색	
44	81860	23	녹색	41	32	녹색	1050	97	170	24	황색	

- 단호박 유전자원 원예적 형질은 국립종자원 호박 조사기준에 준하여 조사하였다(표 43, 44, 45, 46, 47). 2017년 10월 인도육종농장에서 단호박 및 대목 생육조사를 한 결과 내서성에 강한 72044, 72054, 72071 3계통을 선발하였다. 고온 및 건조에 강한 식물체는 흰가루병 발병이 현저히 낮다고 판단하여 선발하였다. 2018년 수집재료 44계통/품종과 기존에 보유하고 있는 호박 유전자원을 육안으로 이병성 검정 결과 흰가루병 감수성을 지니고 있는 결과가 나왔다. 호박의 품질에 영향을 미치는 요소에는 내병성도 중요하지만 소비자 기호에 따라 과형과 과중, 과피색, 과육색 등이 중요 요인이라 할 수 있다. 또한 당도가 높을수록 식미가 우수한 것으로 인정되며 호박을 찢을 때 분질도가 높을수록 맛이 있다고 평가한다. 그 중에 수입한 유전자원 10계통/품종, 단호박 16계통 및 대목 16계통을 제외한 계통/품종들을 생육조사 하였다. 유전자원은 대체적으로 과피색은 적색, 황색, 회색 및 녹색으로 나타났으며 과형은 편원형과 편고구형이 주로 나타났다. 과육색은 농황색 및 황색으로 보여지고 과실의 크기가 소과종으로부터 대과종으로 다양하게 나타났다. 그 중에 원예적 특성 및 순도가 좋은 132계통을 선발하였다. 선발 계통들은 단호박 조합작성에 활용하기 위한 내병성 검정 및 조합계통의 원예적형질 특성을 추가적으로 조사하였다.

### 3) 유전자원의 내병성 및 이병성 특성 평가

#### ○ 흰가루병원균 수집 및 분리·동정

- 흰가루병(*Sphaerotheca fuliginea*)은 호박 재배 시 가장 중요한 병의 하나이고, 시설이나 노지재배에서 잎에 흔히 발생하며 일조부족, 고온, 환기불량, 밀식 재배 및 질소 비료 과용 등으로 포장 전체에 생기며 시설 재배지의 경우 고온 다습 후 건조 등이 병원균의 번리생리생태에 적합하여 방제를 소홀히 할 경우 수확을 하지 못할 정도로 피해가 크다. 또한 호박뿐만 아니라 오이, 참외, 멜론 등 다른 박과채소 작물에서도 발생하며 방제는 주로 농약을 이용한 화학적 방제를 하고 있으나 약제 저항성균의 출현 및 농약으로 인한 환경오염문제 등으로 많은 어려움이 있다. 흰가루병에 감염되면 작물은 초세가 매우 약화되어 생산력이 크게 떨어지며, 마침내 잎이 고사할 뿐만 아니라 생산물의 품질도 떨어지게 된다. 흰가루병의 병징은 어떤 식물에서나 모두 비슷한 특징을 가지고 있기 때문에 진단하기도 쉽다. 처음에는 잎 표면에 흰색의 작은 반점이 군데군데 나타나다 이것이 차츰 확대되어 잎 전체에 밀가루를 뿌려 놓은 것 같이 하얀 가루 모양의 곰팡이로 뒤덮이게 된다. 시간이 지나면서 색깔이 담갈색으로 되고 마침내 잎이 차츰 갈색으로 변하면서 말라죽게 된다.

- 단호박에서 병 저항성 품종의 개발이 미흡한 것은 *Cucurbita* 속의 재배종 중에 활용 가능한 저항성 유전자원이 없기 때문이다. 대부분의 재배종에서 발견되는 병 저항성 수준은 낮은 편이다. 흰가루병의 race 별로 많이 다양하기 때문에 품종을 육성하는데 어려움을 가지고 있다. 따라서 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성을 위하여 본 연구에 필요한 흰가루병원균을 단호박 잎에서 직접 수집하였다(그림 103).



그림 103. 단호박 잎의 흰가루병원균 수집

#### ○ 내병성 계통 선발

- 2차년도 : 2017년 2월 1일 흰가루병 저항성 검정을 하기 위해서 이전에 병리검정 결과 이병성 및 저항성으로 확인된 14-09-04 외 7계통을 종자 50립씩 준비해서 세종대학교에 병리검정에 의뢰하였다(표 48). 유전집단에 대한 NGS (Next generation sequence)를 통해 검정한 결과 환경적 요인에 의한 중도저항성으로 나타났으며 분자생물학적인 저항성 표현형이 발현되지 않았다.

표 48. 단호박 유전자원 내역

순번	도입번호	저항성/이병성	수집량
1	14-09-04	S	50립
2	09-06B	S	50립
3	09-21A	R	50립
4	09-22A	R	50립
5	6302	S	50립
6	6366	S	50립
7	6378	R	50립
8	6379	R	50립

- 2017년 5월 25일 김제 시험 포장에서 흰가루병 저항성 검정을 하기 위해서 기존에 보유하고 있는 유전자원인 13-C, BN09-23, BN09-20, 1-H, BN09-03, BN-09-06, 33-B, BN09-02, BN09-05 및 44-B, TOP08, 아땅PMR를 각 10립씩 과종하였다. 본엽이 3~4매일 때 흰가루병에 나타나 있는 멜론하우스에 넣고 발병을 유도하였다 (그림 104). 2차 접종을 실시하기 위해서 2017년 5월 23일에 44계통을 5립씩 과종 후 본엽이 5~6매 전개되었을 때 실시하였다. 2017년 6월 7일에 정식을 하였으며 정식 후 5일 후에 접종을 하였다. 접종방법은 흰가루병을 가진 식물체를 수집을 하고 자연적으로 흰가루병 발병을 유도하였다. 흰가루병 저항성 평가는 접종 후 약 10일 간격으로 세 번 조사하였다 (표 49).

- 흰가루병 발병 평가는 엽면적에 대한 흰가루병 발생면적의 정도를 나타내는 병반면적을 따라 5단계로 조사하였다. 즉 병징이 전혀 관찰 되지 않았을 때는 발병도 1로, 병반면적이 1~9%미만일 때를 2로, 10~30% 일 때 5로, 31~50% 일 때 7로, 51% 이상일 때는 9로 평가하였다. 발병도 3미만을 나타내는 호박을 저항성으로, 발병도 3보다 크고 5보다 작을 때를 중도 저항성. 발병도가 5이상일 때를 감수성으로 판단하였다.



그림 104. 흰가루병 접종재료

표 49. 흰가루병 이병성 검정

접종 : 2017. 6. 12      파종 : 2017. 5. 23      1차 : 2017. 6. 17 (정식후 10일)  
 정식후 5일 접종 (본엽5~6매)      정식 : 2017. 6. 7      2차 : 2017. 6. 26 (정식후 18일)  
 3차 : 2017. 7. 05 (정식후 26일)

감염지수 : 1(0%), 3(1~9%), 5(10~30%), 7(31~50%), 9(51~100%)

No.	로트	주수	*유묘 기 이병 주(떡 잎 및 본엽 감염)	**유 묘기 이병 주 (떡잎 감염)	**1	1-1	2	2-1	3	3-1	4	4-1	5	5-1	6	6-1	7	7-1	8	8-1	9	9-1	10	10-1	11	11-1	12	12-1	13	13-1	14	14-1	15	15-1	16	16-1	17	17-1			
1	BNC 9-02	8	1	1	1/6	7/8	0/3	0/3	2/4	4/6	1/4	5/7	2/5	5/7	1/4	4/6	0	0	2/5	5/9																					
		감염율			16.7	87.5	0	0	50	66.7	25	71.4	40	71.4	25	66.7	0	0	40	55.6																					
		감염지수			5	9	1	1	7	9	5	9	7	9	5	9	0	0	7	9																					
2	BNC 9-03	13	3	6	1/6	7/1 2	1/6	5/7	2/6	7/1 2	1/6	6/1 4	1/6	10/ 14	0	0	3/5	7/8	1/5	4/7	1/5	8/1 1	1/6	7/9	2/5	6/9	2/6	6/1 1	2/6	6/1 1											
		감염율			16.7	58.3	16.7	71.4	33.3	58.3	16.7	42.8	16.7	71.4	0	0	60	87.5	20	57.1	20	72.7	16.7	77.8	40	66.7	33.3	54.5	33.3	54.5											
		감염지수			5	9	5	9	7	9	5	7	5	9	0	0	9	9	5	9	5	9	9	5	9	7	9	7	9	7	9										
3	BNC 9-04	12	3	10	0/5	4/8	1/5	8/8	1/5	6/8	1/6	7/1 0	1/4	4/1 0	1/7	4/7	2/6	6/9	3/7	10/ 13	3/6	7/1 0	2/6	5/8	2/4	7/9	2/6	6/1 1													
		감염율			0	50	20	100	20	75	16.7	70	25	40	14.3	57.1	33.3	66.7	42.9	76.9	50	70	33.3	62.5	50	77.8	33.3	54.5													
		감염지수			1	7	5	9	5	9	5	9	5	7	5	9	7	9	7	9	7	9	7	9	7	9	7	9	7	9											
4	BNC 9-06	8	2	2	2/6	5/7	1/6	3/1 0	2/5	5/8	3/5	8/9	3/6	5/1 0	2/6	4/8	2/4	6/1 2	3/6	7/1 2																					
		감염율			33.3	71.4	16.7	30	40	62.5	60	88.9	50	50	33.3	50	50	50	50	58.3																					
		감염지수			7	9	5	5	7	9	9	9	7	7	7	7	7	7	7	7	9																				
5	BNC 9-21	11	1	1	1/6	5/9	3/6	4/9	1/6	5/1 0	2/6	7/8	2/6	5/9	1/5	4/7	1/5	3/9	2/5	5/9	1/4	2/7	0/3	3/5	0/2	0/4															
		감염율			16.7	55.6	50	44.4	16.7	50	33.3	87.5	33.3	55.6	20	57.1	20	33.3	40	55.6	25	28.6	0	60	0	0															
		감염지수			5	9	7	7	5	7	7	9	7	9	5	9	5	7	7	9	5	5	1	9	1	1															

참여지수 : 1(0%), 3(1~9%), 5(10~30%), 7(31~50%), 9(51~100%)

No.	로트	주수	*유묘 기 이병 주(떡 잎 및 본엽 참여)	**유 묘기 이병 주 (떡잎 참여)	**1	1-1	2	2-1	3	3-1	4	4-1	5	5-1	6	6-1	7	7-1	8	8-1	9	9-1	10	10-1	11	11-1	12	12-1	13	13-1	14	14-1	15	15-1	16	16-1	17	17-1			
6	BNC 9-22	9	2	4	2/5	6/9	2/6	5/8	1/5	3/9	1/5	4/7	1/5	3/7	1/5	3/8	2/6	4/10	1/4	2/6	0/4	2/7																			
참여율					40	66.7	33.3	62.5	20	33.3	20	57.1	20	42.8	20	37.5	33.3	40	25	33.3	0	28.5																			
참여지수					7	9	7	9	5	7	5	9	5	7	5	7	7	7	7	5	7	1	5																		
7	BNC 9-23	11	2	5	0/4	2/6	0/4	2/6	1/5	0/10	0	0	1/5	4/8	1/6	3/9	1/6	3/11	0/5	4/9	0/5	2/6	1/4	1/5	0	0															
참여율					0	33.3	0	33.3	20	0	0	0	20	50	16.7	33.3	16.7	27.3	0	44.4	0	33.3	25	20	0	0															
참여지수					1	7	1	7	5	1	0	0	5	7	5	7	5	5	1	7	1	7	5	5	0	0															
8	SQ0 7-C 3	12	0	0	0/4	6/8	0/4	4/10	1/6	4/10	2/5	4/11	1/6	4/7	1/6	4/11	0/5	5/11	1/6	4/11	2/7	2/9	0/5	0	0	0	0	1/4	1/6												
참여율					0	75	0	40	16.7	40	40	36.4	16.7	57.1	16.7	36.4	0	45.5	16.7	36.4	28.6	22.2	0	0	0	0	0	0	0	25	16.7										
참여지수					1	9	1	7	5	7	7	7	5	9	5	7	1	7	5	7	5	5	5	1	0	0	0	0	5	5											
9	SQ0 7-C 60	7	0	0	1/6	4/8	2/5	3/9	0/4	2/7	0/6	2/8	0/7	2/8	0	0	0	0																							
참여율					16.7	50	40	33.3	0	28.6	0	25	0	25	0	0	0	0	0																						
참여지수					5	7	7	5	1	5	1	5	1	5	0	0	0	0	0																						
10	TOP 08	17	0	0	0/3	0/5	0/3	0/6	0/2	0/2	0/2	0/6	0/4	0/8	0/4	0/8	0	0/9	0/2	0/8	0/3	0/8	0/2	0/9	0/4	0/7	0/3	0/15	0/4	0/7	0/3	0/9	0/3	0/7	0/4	0/9	0/3	0/8			
참여율					0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
참여지수					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

- 단호박 흰가루병은 접종 10일경부터 잎 표면에 흰가루 병반이 나타났다. 초기에는 잎 표면에 작은 병반을 형성하다가 시간이 경과되면서 잎 표면 전체를 덮었다. 저항성 검정 초기에는 중도저항성을 보였으나 이후 생육이 저조하여 대부분의 계통에서 이병성을 보였다. 하지만 동일한 생육 조건 내에서도 TOP08, 아땅PMR는 조사 기간 내 조사된 감염지수 1을 유지하여 흰가루병 저항성 계통으로 정의하였다. 그리고 내병성 검정이 완료된 계통에 대해서는 포장시험을 수행하였다. 이를 토대로 흰가루병 저항성 1계통(품종)을 선발하여 분자마커 개발에 시험계통으로 사용할 것이다.

- 3차년도 : 2018년 4월 2일 흰가루병 저항성 검정을 하기 위해서 기존에 보유하고 있는 유전자원 24계통을 각 8립씩 파종하였다 (표 50). 흰가루병 접종시기는 정식후 한달 뒤에 흰가루병을 가진 식물체를 수집하여 자연적으로 흰가루병 발병을 유도하였다. 2018년 7월 4일 추가로 흰가루병 내병성 검정을 하기 위해서 BN09-17\*18 F2 분리집단 128립을 파종 한 후 (본엽 2~3매)에 트레이에서 접종하였다. 흰가루병 접종 병원균은 김제연구소에서 수집한 것을 사용하였다. 수집한 균주를 붓으로 이용하여 접종하였다. 접종후 1주일 뒤 흰가루병 2차 접종을 하였다. 흰가루병 발병 평가는 엽면적에 대한 흰가루병 발생면적의 정도를 나타내는 병반면적율에 따라 5단계로 조사하였다. 즉 병징이 전혀 관찰 되지 않았을 때는 발병도 1로, 병반면적율이 1~9%미만일 때를 2로, 10~30% 일 때 5로, 31~50% 일 때 7로, 51% 이상일 때는 9로 평가하였다. 발병도 3미만을 나타내는 호박을 저항성으로, 발병도 3보다 크고 5보다 작을 때를 중도 저항성. 발병도가 5이상일 때를 감수성으로 판단하였다(그림 105, 표 51).

- 내병성 검정 초기엔 대부분의 계통에서 저항성을 보였으나 생육이 저조하고 다습할 때 흰가루 병반이 발생하였다. 그 중에서 81078, 81082은 다른 식물체 비해서 중도저항성을 보였다. 해당 계통을 선발하여 흰가루병 내병성 육성을 위한 분자마커 개발에 식물자원으로 활용할 계획이다. 흰가루병 이병성 확인 후 BN09-17\*18 F2 분리집단을 흰가루병 접종하였으나 병반이 발생하지 않았다. 내병성 검정이 완료된 계통들은 포장에서 2차 검정을 실시할 계획이다.



1차 재배시험검정



2차 유묘검정 (F2 분리집단)

그림 105. 흰가루병 내병성 검정

표 50. 단호박 유전자원 내역

순번	품종/계통	저항성/이병성	정식
1	81060	R	8립
2	81061	S	8립
3	81062	R	8립
4	81063	R	8립
5	81064	R	8립
6	81065	R	8립
7	81066	R	8립
8	81067	R	8립
9	81068	R	8립
10	81069	S	8립
11	81070	R	8립
12	81071	R	8립
13	81072	R	8립
14	81073	S	8립
15	81074	R	8립
16	81075	R	8립
17	81076	S	8립
18	81077	R	8립
19	81078	R	8립
20	81079	S	8립
21	81080	R	8립
22	81081	R	8립
23	81082	S	8립
24	81083	R	8립

표 51. 흰가루병 이병성 검정

접종 : 2018.05.25.(정식 후 30일)

파종 : 2018.04.02

정식 : 2018.04.25

조사 : 2018.07.05

감염지수 : 0(고사), 1(0%), 3(1~9%), 5(10~30%), 7(31~50%), 9(51~100%)

BN	품종 및 계통	주 수	떡잎감염	1	2	3	4	5	6	7	8
81060	아땅PMR F1	7	N	1/11	1/15	1/17	2/24	2/28	1/19	1/15	
			감염율	9.1	6.7	5.8	8.3	7.1	5.7	6.7	
			감염지수	3	3	3	3	3	3	3	
81061	top08	7	N	11/18	11/20	1/16	1/17	2/26	2/13	1/8	
			감염율	61.1	55	6.25	5.9	7.7	15.4	12.5	
			감염지수	9	9	3	3	3	5	5	
81062	CHRISMA F1	7	N	1/14	1/19	2/27	2/21	1/16	1/12	1/16	
			감염율	7.1	5.2	7.4	9.5	6.25	8.3	6.25	
			감염지수	3	3	3	3	3	3	3	
81063	METRO F1	7	N	2/29	2/27	6/23	9/19	2/24	2/13	2/26	
			감염율	6.8	7.4	26.1	47.4	7.4	15.4	7.6	
			감염지수	3	3	5	7	3	5	3	
81064	JWS 6823 F1	7	N	2/10	1/15	2/25	1/17	2/23	1/11	1/19	
			감염율	20	6.6	8	5.8	8.6	9	5.2	
			감염지수	5	3	3	3	3	3	3	
81065	NEW RACER PLUS PMR F1	7	N	10/23	1/18	1/17	1/17	2/8	1/12	1/11	
			감염율	43.5	5.5	5.8	5.8	25	8.3	9.0	
			감염지수	7	3	3	3	5	3	3	
81066	RIVAL F1	7	N	2/22	9/17	13/21	2/23	3/10	9/20	2/24	
			감염율	9.1	52.9	61.9	8.6	30	45	8.3	
			감염지수	3	9	9	3	5	7	3	
81067	09-112-1	6	N	9/16	9/20	17/26	7/16	2/22	2/28		
			감염율	56.3	45	65.4	43.7	9.1	7.1		
			감염지수	9	7	9	7	3	3		
81068	BN09-20	7	N	10/19	18/29	4/11	2/12	3/8	3/10		
			감염율	52.6	62	36	16.7	37.5	30		
			감염지수	9	9	7	5	7	5	3	
81069	BN09-59	7	N	0/13	1/16	1/14	2/25	2/21	1/13	1/16	
			감염율	0	6.25	7.1	8	9.5	7.6	6.25	
			감염지수	0	3	3	3	3	3	3	
81070	9-C	7	N	8/17	5/10	2/22	2/29	1/13	1/14	2/28	
			감염율	47	50	9.1	6.9	7.7	7.1	7.1	



		감염지수	7	7	3	3	3	3	3		
81071	BN09-23	7	N	0/12	0/15	0/14	0/16	8/17	0/17	1/17	
		감염율		0	0	0	0	47	0	5.8	
		감염지수		0	0	0	0	7	0	3	
81072	13-C	8	N	2/10	4/10	5/18	12/22	22/32	3/11	1/19	1/16
		감염율		20	40	27.8	54.5	68.8	27.3	5.2	6.25
		감염지수		5	7	5	9	9	5	3	3
81073	BN09-24	8	N	2/22	2/25	1/17	1/14	1/18	0/9	3/10	0/8
		감염율		9.1	8	5.8	7.1	5.5	0	30	0
		감염지수		3	3	3	3	3	0	5	0
81074	9-E-2	7	N	8/17	5/10	12/25	4/10	6/18	9/22	3/9	
		감염율		47	50	48	40	33.3	40.9	33.3	
		감염지수		7	7	7	7	7	7	7	
81075	12-D-1	7	N	7/18	2/10	0/18	5/18	1/8	2/26	0/14	
		감염율		38.9	20	0	27.8	12.5	7.6	0	
		감염지수		7	5	0	5	5	3	0	
81076	BN09-21	8	N	0/17	9/19	2/29	2/24	3/12	20/26	9/18	2/10
		감염율		0	47/4	6.8	8.3	25	76.9	50	20
		감염지수		0	7	3	3	5	9	7	5
81077	8-A-2	5	N	0/16	15/25	4/11	8/18	9/16			
		감염율		0	60	36.4	44.4	56.3			
		감염지수		0	9	7	7	9			
81078	BN09-03	8	N	1/17	2/21	2/27	1/11	1/18	1/16	2/24	2/25
		감염율		5.8	9.5	7.4	9	5.5	6.25	8.3	8
		감염지수		3	3	3	3	3	3	3	3
81079	BN09-06	8	N	1/10	2/13	3/10	3/11	2/8	2/13	2/10	2/13
		감염율		10	15.4	30	27.3	25	15.4	20	15.4
		감염지수		5	5	5	5	5	5	5	5
81080	33-B	8	N	1/15	1/18	2/24	1/16	2/25	2/29	2/23	2/8
		감염율		6.7	5.5	8.3	6.25	8	6.9	8.6	25
		감염지수		3	3	3	3	3	3	3	5
81081	BN09-02	8	N	5/18	1/19	1/17	1/15	2/28	2/27	1/14	1/11
		감염율		27.8	5.2	5.8	6.6	7.1	7.4	7.1	9.1
		감염지수		5	3	3	3	3	3	3	3
81082	BN09-05	7	N	2/23	2/24	2/29	1/13	1/15	2/21	1/19	2/24
		감염율		8.6	8.3	6.8	7.6	6.7	9.5	5.2	8.3
		감염지수		3	3	3	3	3	3	3	3
81083	44-B	7	N	2/22	1/13	2/26	1/18	2/26	1/16	1/13	1/19
		감염율		9.1	7.7	7.6	5.5	7.6	6.25	7.7	5.2
		감염지수		3	3	3	3	3	3	3	3

- 4차년도 : 흰가루병 발병 확인을 위해 단호박 계통별 재배기에 흰가루 병원균(Race I)에 대한 병반율을 조사하였다.



그림 106. 흰가루병 발병 확인 및 조사

표 52. 재배기 검정의 흰가루병원균(Race I)에 대한 병반율

NO	품종명 /계통명	발병도(%)					평균 (%)	반응	비고
		1	2	3	4	5			
1	Topmark	88	95	85	89	87	89	S	레이스판별품종
2	PMR 45	7	3	9	3	2	5	R	레이스판별품종
3	PMR 6	9	5	4	5	6	6	R	레이스판별품종
4	MR-1	4	7	5	7	8	6	R	레이스판별품종
5	신토좌(품종)	38	41	31	39	26	35	S	
6	미니강1호	24	19	18	27	19	21	MR	포장 조사시
7	보우짱	33	29	21	37	21	28	S	
8	만냥	25	22	26	20	21	23	MR	
9	아지지망골드	22	13	9	40	40	25	MR	
10	아지헤이	25	25	20	30	33	27	S	
11	아시아들밤	8	7	5	7	6	7	R	포장 조사시 저항성으로 나타남
12	아지구리	19	15	21	30	24	22	MR	
13	구리지망	55	48	41	49	47	48	S	
14	아땅PMR	8	7	5	7	6	7	R	포장 조사시 저항성으로 나타남
15	BN09-65-2	15	24	25	26	33	25	MR	

※ S: susceptible, MR: morderately resistant, R: resistant, - : 개체 도태

나. 흰가루병 저항성 및 감수성 계통간의 유전집단 육성

- 1) 단호박 흰가루병 접종법 확립: 결과 없음
- 2) 저항성 및 감수성 유전집단 선발

○ 유전집단 육성

- 내병성 검정을 통해 선발된 계통 및 품종을 중심으로 유전자원 집단을 선발하였고 이를 활용하여 흰가루병 저항성 유전조합을 작성하여 검정하였다. 선행연구에서 선발한 우수 고정계통 중 10계통을 대상으로 조합능력 검정을 위한 조합 12개를 작성하였다. 작성된 조합에서 수집한 F1 및 계통의 유전자원은 자가수분을 통해 분리 및 순화고정을 유도하였고 우

수한 조합작성의 원종으로 사용하여 조합작성을 2반복 실시하였다. 2018년 2월 27일 32공 트레이에 16립씩 과중한 후 균일하게 자란 모종을 2018년 3월 22일 주간 간격을 40cm로 하여 정식하였다. 교배는 2018년 4월 22일부터 5월 11일까지 약 2주간 하였으며, 수확은 2018년 6월 30일에 하였으며, 탈종 및 생육조사는 2018년 7월 20일부터 생육특성을 조사하였다. 2018년 4월 12일에 32공 트레이에 각각 16립씩 과중한 후 2017년 5월 21일에 재식간격 40cm 하여 각 8주씩 정식하였다. 2018년 6월 22일부터 7월 13일까지 3주간 하였으며, 수확은 교배 후 약 45~60일경에 하였다. 생육조사 항목은 과피색, 과형, 과중(g), 과고(cm), 과폭(cm), 과육 두께(cm), 과육색, 분질도, 당도(brix), 기타 특성을 조사하였다(표 53). 유전자원은 대체적으로 과피색은 회색 및 녹색으로 나타났으며 과형은 편원형과 편고구형이 주로 나타났다. 과육색은 황색으로 보이고 과실의 크기가 소과종으로부터 대과종으로 다양하게 나타났다. 차년도에는 우수한 계통을 선발하고 조합작성을 하여 조합능력 검정을 통해서 선발할 것이고 지역적응성 시험을 할 예정이다.

표 53. 선발한 우수 계통의 조합 작성

순번	모계조합	부계조합	과형	과중(g)	과고(mm)	과폭(mm)	과육 두께(mm)	과육색	과피색	분질도	당도(brix)	특성
1	71083-1	71085-5	편고구형	1000	101	142	25	황색	녹색	중	14	
2	71085-5	71083-1	편고구형	1100	120	140	25	황색	녹색	중	11	
3	72085-1	6380	편원형	700	69	131	18	황색	녹색	강	12.3	
4	72091-4	6380	편원형	600	45	126	26	황색	녹색	강	15.8	
5	71052-1	6880	편원형	300	72	86	16	황색	녹색	중	15.0	
6	6380	72091-4	편원형	550	61	124	22	황색	녹색	강	18.1	
7	6380	72085-1	편원형	300	58	97	14	황색	녹색	중	16.7	
8	6383	72097-1	편원형	200	44	85	13	황색	녹색	강	23.3	
9	72086-3	72087-7	편고구형	1050	116	123	21	황색	회색	중	10.0	
10	72086-3	72087-4	편고구형	750	111	117	17	황색	회색	중	7.6	
11	72087-7	72086-3	편고구형	750	72	133	25	황색	회색	중	12.1	
12	72087-4	72086-3	편고구형	700	97	119	15	황색	회색	중	9.5	

다. 내병성 연관 분자마커를 활용한 단호박 품종 육성

- 1) 분자마커 기반 내병성 계통 선발
- 2) 선발계통의 포장 내 병리검정

라. 품종 등록 및 보호출원

1) 단호박


① ASQ18-131

민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이  
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.  
 담당자: 송수연 전화 : (064) 912-0113 FAX : (064) 912-0210  
 인터넷 홈페이지 : www.seed.go.kr  
 3 9 6 6 0 경상북도 김천시 혁신8로 119

**품종보호출원번호 통지서**  
 출원일자 : 2018.10.30. 품종보호 출원번호 : 출원 2018 - 693  
 품종명칭 출원번호 : 명칭 2018 - 1448

작 물 명 : 호박(서양계)  
 품종 명칭 : 에이에스큐18-131  
 출 원 인 : 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소 : 서울시 송파구 송파대로 167, B동 615호(문정동, 테라타워)

2018년10월30일

국 립 종 자 원 

[출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]

- 발아력과 발아세가 균일하다
- 초기 생육이 왕성하다
- 덩굴성 식물이다
- 당도 및 분질도가 높다
- 암꽃이 안정적으로 착생한다
- 가식 부위가 많다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진

② 스위트그레이

민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이  
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.  
 담당자: 송수연 전화 : (064) 912-0113 FAX : (064) 912-0210  
 인터넷 홈페이지 : www.seed.go.kr  
 39660 경상북도 김천시 혁신8로 119

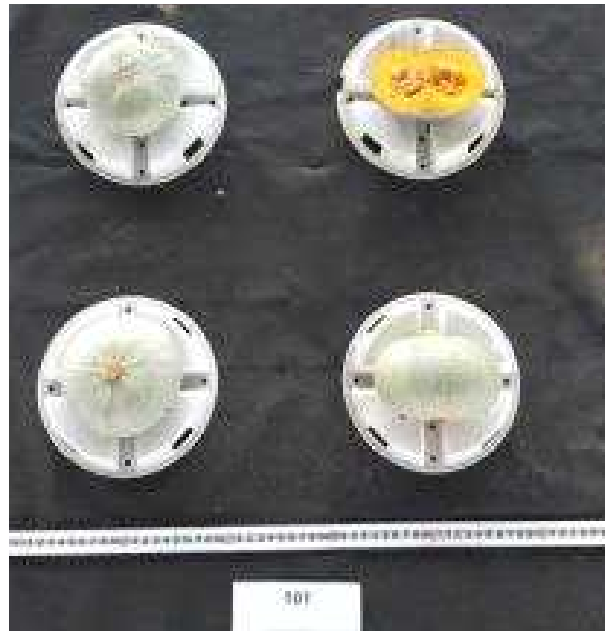
**품종보호출원번호 통지서**  
 출원일자 : 2018.10.30. 품종보호 출원번호 : 출원 2018 - 692  
 품종명칭 출원번호 : 명칭 2018 - 1447

작 물 명 : 호박(서양계)  
 품종 명칭 : 스위트그레이  
 출 원 인 : 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소 : 서울시 송파구 송파대로 167, B동 615호(문경동, 테라타워)

2018년10월30일

국 립 종 자 원 

- [출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]
- 발아력과 발아세가 균일하다
  - 초기 생육이 왕성하다
  - 절간이 짧고 절성이 좋아 수확량이 많다
  - 암꽃이 안정적으로 착생한다
  - 후기의 초세 쇠퇴가 완만하다
  - 잎이 소엽이다
  - 과골이 약간 있다
  - 과피에 잔줄이 없다
  - 과피색이 회색이다
  - 당도와 분질도가 높다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진

③ 만방


민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이  
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.  
 담당자: 송수연 전화: (064) 912-0113 FAX: (064) 912-0210  
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr  
 89660 경상북도 김천시 혁신8로 119

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2019. 2. 1.	품종보호 출원번호: 출원 2019 - 65
	품종명칭 출원번호: 명칭 2019 - 184

작 물 명 : 호박(서양계)  
 품종 명칭 : 만방  
 출 원 인 : 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소 : 서울시 송파구 송파대로 167, B동 615호(문경동, 테라타워)

2019년02월01일

국립종자원 

[출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]

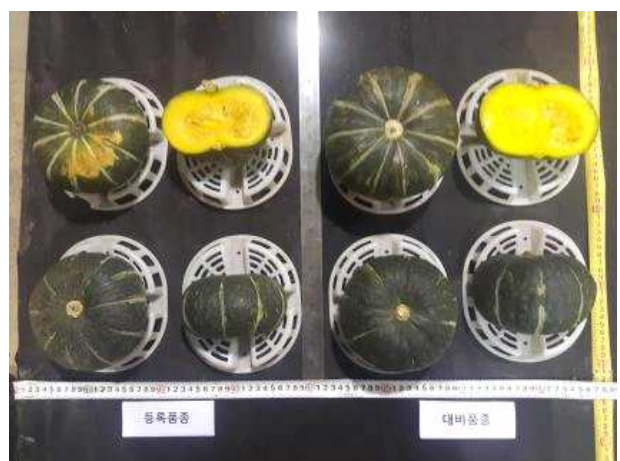
- 발아력과 발아세가 균일하다
- 초기 생육이 왕성하다
- 반덩굴성 식물이다
- 당도 및 분질도가 높다
- 암꽃이 안정적으로 착생한다
- 가식 부위가 많다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진

④ 미쓰남

민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이  
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.  
 담당자: 송수연 전화 : (064) 912-0113 FAX : (064) 912-0210  
 인터넷 홈페이지 : www.seed.go.kr  
 39660 경상북도 김천시 혁신8로 119

**품종보호출원번호 통지서**  
 출원일자 : 2019. 2. 1. 품종보호 출원번호 : 출원 2019 - 64  
 품종명칭 출원번호 : 명칭 2019 - 183

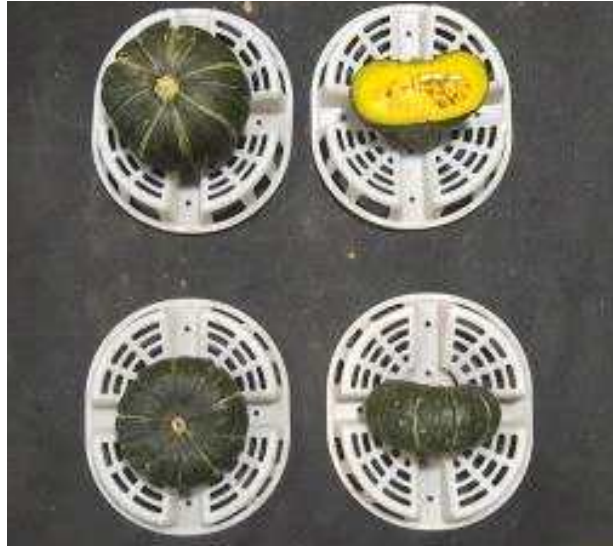
작 물 명 : 호박(서양계)  
 품종 명칭 : 미쓰남  
 출 원 인 : 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소 : 서울시 송파구 송파대로 167, B동 616호(문정동, 테라타워)

2019년02월01일

국립종자원 

[출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]

- 발아력과 발아세가 균일하다
- 초기 생육이 왕성하다
- 절간이 짧고 절성이 좋아 수확량이 많다
- 암꽃이 안정적으로 착생한다
- 후기의 초세 쇠퇴가 완만하다
- 잎이 소엽이다
- 과골이 있다
- 과피색이 녹색이다
- 당도와 불질도가 높다
- 조기에 수확이 가능하다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진

2) 오이

① 바카


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	
39660	경상북도 김천시 혁신8로 119

**품종보호출원번호 통지서**

출원일자 : 2019.10. 7.	품종보호 출원번호 : 출원 2019 - 472 품종명칭 출원번호 : 명칭 2019 - 1180
--------------------	---

작 물 명 : 오이  
 품종 명칭 : 바카  
 출 원 인 : 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소 : 서울시 송파구 송파대로 167, B동 515호(문정동, 테라타워)

2019년10월07일

국 립 종 자 원 

[출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]

- 잎몸 길이 출원품종은 짧으며, 대조품종은 중간
- 잎몸의 정부의 엽절선단의 모양은 출원품종은 직각, 대조품종은 뒤틀
- 잎몸의 녹색의 강도는 출원품종은 중간, 대조품종은 길다
- 잎몸 요철은 출원품종은 약하며, 대조품종은 중간
- 마디당 암꽃수는 출원품종은 주로 2~3개, 대조품종은 주로 1~2개
- 과실의 길이는 출원품종은 짧으며, 대조품종은 중간이다
- 과실의 직경은 출원품종은 작으며, 대조품종은 중간이다
- 과실직경에 대한 심의 직경은 출원품종은 작으며, 대조품종은 중간이다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진



② 바카스


민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이  
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.  
 담당자: 송수연 전화 : (064) 912-0113 FAX : (064) 912-0210  
 인터넷 홈페이지 : www.seed.go.kr  
 3 9 6 6 0 경상북도 김천시 혁신8로 119

품종보호출원번호 통지서

출원일자 : 2019.10. 7.	품종보호 출원번호 : 출원 2019 - 471
	품종명칭 출원번호 : 명칭 2019 - 1169

작 물 명 : 오이  
 품종 명칭 : 바카스  
 출 원 인 : 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소 : 서울시 송파구 송파대로 167, B동 615호(문정동, 테라타워)

2019년10월07일

국립종자원 

[출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]

- 잎몸의 자세는 출원품종은 상향이며, 대조품종은 수평이다
- 잎몸의 정부는 엽절선단의 모양은 출원품종은 직각, 대조품종은 뒤틀다
- 잎몸의 녹색의 강도는 출원품종은 중간이며, 대조품종은 짙다
- 잎몸 요철은 출원품종은 약하며, 대조품종은 중간이다
- 암꽃 발달시기는 출원품종은 중간보다 빠르며, 대조품종은 중간이다
- 마디당 암꽃수는 출원품종은 주로 2~3개이며, 대조품종은 주로 1~2개이다
- 과실의 길이는 출원품종은 짧으며, 대조품종은 중간이다
- 과실의 직경은 출원품종은 중간보다 작으며, 대조품종은 중간이다
- 과실자루의 길이는 출원품종은 중간보다 짧으며, 대조품종은 중간이다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진

③ 바카시아

<b>민원인을 가족같이, 민원을 내 일같이</b>	
통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다. 담당자: 송수연 전화: (064) 912-0113 FAX: (064) 912-0210 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr	
39660	경상북도 김천시 혁신8로 119

**품종보호출원번호 통지서**

출원일자: 2019.10. 7.	품종보호 출원번호: 출원 2019 - 470 품종명칭 출원번호: 명칭 2019 - 1168
-------------------	---

작 물 명: 오이  
 품종 명칭: 바카시아  
 출 원 인: 농업회사법인 아시아종묘(주)  
 주 소: 서울시 송파구 송파대로 167, B동 616호(문정동, 테라타워)

2019년10월07일

국 립 종 자 원 

**[출원 품종이 대조품종과 구별되는 특성]**

- 잎몸의 길이는 출원품종은 짧으며, 대조품종은 중간이다
- 잎몸의 정부의 엽절선단의 모양은 출원품종은 직각이며, 대조품종은 뿔뿔하다
- 잎몸의 녹색의 강도는 출원품종은 중간이며, 대조품종은 짙다
- 잎몸 요철은 출원품종은 약하며, 대조품종은 중간이다
- 암꽃 발달시기는 출원품종은 중간보다 빠르며, 대조품종은 중간이다
- 마디당 암꽃수는 출원품종은 주로 2~3개이며, 대조품종은 주로 1~2개이다
- 과실의 길이는 출원품종은 짧으며, 대조품종은 중간이다
- 과실의 직경은 출원품종은 중간보다 작으며, 대조품종은 중간이다
- 과실직경에 대한 심의 직경은 출원품종은 작으며, 대조품종은 중간이다



출원품종 사진



출원품종 전경



대조/출원 품종 사진

2-7. 연구개발 성과

가. 사업화지표

1) 사업화지표

○ 사업화성과 및 매출실적(농우바이오)

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발 후 현재까지	3억원	
			향후 3년간 매출	6억원	
		관련제품	개발 후 현재까지	억원	
			향후 3년간 매출	억원	
	시장 점유율	개발제품	개발 후 현재까지	국내 : 6% 국외 : 0.05%	
			향후 3년간 매출	국내 : 10% 국외 : 0.07%	
		관련제품	개발 후 현재까지	국내 : % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			15위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			12위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세 부 항 목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	2014년~2019년(5년)			
	소요예산(백만원)	500			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		3	6	10	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	6	10	12
국외		0.05	0.07	0.09	
	향후 관련기술, 제품을 응용한 다 모델, 제품 개발계획	새로운 타입의 흰가루병 저항성 제품의 지속적 출시			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수 출	1.4	2.5	4	

2) 품종출원

번호	출원연도	출원명	출원인	출원국	출원번호
1	2018.10.01	품종보호출원 농우클레오	농업회사법인(주) 농우바이오	대한민국	출원 2018-471
2	2018.10.01	품종보호출원 화이트듀	농업회사법인(주) 농우바이오	대한민국	출원 2018-472
3	2018.10.30	품종보호출원 ASQ18-131	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2018-592
4	2018.10.30	품종보호출원 스위트그레이	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2018-593
5	2019.02	품종보호출원 만방	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2019-65
6	2019.02	품종보호출원 미쓰남	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2019-64
7	2019.10.07	품종보호출원 바카시아	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2019-470
8	2019.10.07	품종보호출원 바카스	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2019-471
9	2019.10.07	품종보호출원 바카	아시아종묘(주)	대한민국	출원 2019-472

나. 연구기반지표

1) 학술성과

○ SCI/비SCI논문

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부(SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Vegetable oil production in vegetative plant tissues	Plant Biotechnol Rep	이경렬/ 김현욱	DOI 10.1007/s11816-017-0460-9	일본	일본	SCI	2017.10.30	
2	Overexpression of Rice Auxilin-Like Protein, XB21, Induces Necrotic Lesions, up-Regulates Endocytosis-Related Genes, and Confers Enhanced Resistance to Xanthomonas oryzae pv. oryzae	Rice	박창진	10(1)	미국	SPRINGER	SCI	2017 Dec. /Epub 2017 Jun 2.	ISSN: 1939-8425 doi: 10.1186/s12266-017-0166-1
3	Genome-wide identification and description of <i>MLO</i> family genes in pumpkin ( <i>Cucurbita maxima</i> Duch.)	Horticulture, Environment, and Biotechnology	Khin Thanda Win, Chunying Zhang, Sanghyeob Lee	59	대한민국	한국원예학회	SCI	2018.04.30	
4	The MYB96 Transcription Factor Regulates Triacylglycerol Accumulation by Activating DGAT1 and PDAT1 Expression in Arabidopsis Seeds.	Plant And Cell Physiology	김현욱	59(7) 1432-1442	일본	일본	SCI	2018.7	
5	Genome-Wide Identification and Expression Analyses of the Fibrillin Family Genes Suggest Their Involvement in Photoprotection in Cucumber	Plants	김현욱	7, 50; doi:10.3390/plants7030050	스와질랜드	스와질랜드	비SCI	2018.9	
6	Oral Administration of Camelina Oil Effects on Body Weight and Serum Lipid of Mice	Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal	이상협	34(1): 10-14	대한민국	Korean Society for Biotechnology and Bioengineering	비SCI	2019.1.25	ISSN 1225-7117
7	Characterization of a novel antibacterial N-acyl amino acid synthase from soil	Journal of Biotechnology	김동관	(294) 19-25	NETHERLANDS	ELSEVIER SCIENCE	SCIE	2019.2.13	ISSN: 0168-1656

	metagenome								
8	Expression of the Tobacco Non-symbiotic Class 1 Hemoglobin Gene Hb1 Reduces Cadmium Levels by Modulating Cd Transporter Expression Through Decreasing Nitric Oxide and ROS Level in Arabidopsis	Frontiers in Plant Science	황성빈	(10) Article 201	SWITZERLAND	FRONTIERS MEDIA	SCI	2019.2.2	ISSN: 1664-462X
9	Effect of a peroxyacetic acid mixture as green chemical on rice bacterial and fungal pathogens	Journal of Plant Pathology	박창진	1-9	Italy	Springer	SCI	2019.2.2	ISSN: 1125-4653
10	Development of a Core Set of SSR Markers for Cultivar Identification and Seed Purity Tests in Oriental Melon ( <i>Cucumis melo</i> L. var. <i>makuwa</i> )	Horticultural Science and Technology	심성철	37권 1호	한국	한국원예학회	SCI	2019.3	ISSN 1226-8763
11	Development of bisphenol A (BPA)-sensing indicator <i>Arabidopsis thaliana</i> which synthesizes anthocyanin in response to BPA in leaves	ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY	황성빈	170 (627-634)	ENGLAND	ACADEMIC PRESS INC ELSEVIER SCIENCE	SCIE	2019.4.15	ISSN: 0147-6513
12	Role of the INDETERMINATE DOMAIN Genes in Plants	International Journal of Molecular Sciences	김현욱	(20) 2286	SWITZERLAND	MDPI	SCI	2019.5.09	기여율 30% ISSN 1422-0067
13	Fatty acid composition and oil content of seeds from perilla ( <i>Perilla frutescens</i> (L.) var. <i>frutescens</i> ) germplasm of Republic of Korea	Genetic Resources and Crop Evolution	김현욱	DOI:10.1007/s10722-019-00803-8	NETHERLANDS	Springer	SCI	2019.7.01	ISSN 0925-5109
14	Overexpression of tobacco UBQ2 increases Cd tolerance by decreasing Cd accumulation and oxidative stress in tobacco and Arabidopsis	Environmental and Experimental Botany	황성빈	166 (10835)	ENGLAND	PERGAMON-ELSEVIER SCIENCE LTD	SCI	2019.7.05	ISSN: 0098-8472
15	Two Types of Mutations in the R2R3-MYB HEUKCHIM Gene have the Same Function in Cucumber Spine Color Development and can be used as Good Signatures for Cucumber Domestication	planta	이상협	DOI: 10.1007/s00425-019-03244-w	GERMANY	SPRINGER	SCI	2019.7.22	ISSN: 0032-0935
16	A Convenient Plant-Based Detection System to Monitor Androgenic Compound in the Environment	Plants (Basel)	황성빈	266 1-10	SWITZERLAND	MDPI	SCIE	2019.8.5	ISSN: 2223-7747
17	The mechanism of root growth inhibition by the endocrine disruptor bisphenol A (BPA)	Environmental Pollution	황성빈	257 113516	ENGLAND	ELSEVIER SCIENCE	SCIE	2019.11.04	ISSN: 0269-7491

○ 학술발표

- 2019.08.03. San Jose, USA. 2019 ASPB international Conference, Epigenetic down-regulation of As(III) importer NIP3;1 by VIM1 in *Arabidopsis*. 황성빈 외 30건

2) 인력양성

○ 박사 - 2019, 장춘영 외 1명

○ 석사 - 2019, 김인영 외 6명

○ 학사 - 2019, 권오규 외 3명

3) 홍보전시

○ 2018.10.24. ‘제2회 국제종자박람회’ 성료-국내산 품종 우수성 알리고 종자기업 수출 확대 지원

- 홍보부스가 설치된 산업관 내에서 ‘농우바이오’ 직원이 수출 품목 ‘GIRO’의 우수성을 설명. <http://www.aflnews.co.kr/news/articleView.html?idxno=149552>

○ 2018.10.24. ‘제2회 국제종자박람회’ 성료-국내산 품종 우수성 알리고 종자기업 수출 확대 지원

- 국내 종자기업 ‘아시아종묘’의 직원이 주력 멜론 종자인 ‘아시아파파야’, ‘유자멜론’ 등을 선보이고 있다. <http://www.aflnews.co.kr/news/articleView.html?idxno=149552>

○ 2019.09.26. 2019 GSP성과발표회, 흰가루병 저항성 단호박 품종의 육성 홍보

○ 2019.10.16. 2019 국제종자박람회, 오이 내병성 계통 육성 홍보.

○ 2019.10.17. 2019 국제종자박람회, 흰가루병 저항성 수출용 멜론 3품종 전시 홍보.

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	
1차년도 (2016)	박과작물 병리검정 시스템 구축	박과작물 흰가루병에 대한 병리검정 시스템 구축	오이에 발생하는 흰가루병균을 확보하여 원인균 진단을 위한 1) 병증 조사, 2) Morphology 조사, 3) 분자생물학적 조사를 수행하였음.	- 오이 유포기와 성체에 발병한 흰가루병의 병증을 육안과 현미경으로 분석. <i>Conidiophore</i> , <i>Conidia</i> , <i>Hyphae</i> 에 대한 현미경적인 이미지 확보하였음. <i>Podospaera xanthii</i> specific primer를 이용하여 amplicon을 확보, sequence 분석을 통하여 <i>Podospaera xanthii</i> 입을 최종 확인.	
	박과작물 내병성 연관 분자마커 개발 및 MAS 시스템 구축	오이 F2 매핑 집단 육성	오이 흰가루병 이병성과 저항성 개체간의 교배를 통한 F1 개체를 대상으로 자가수정을 실시하여 F2 종자 확보 F2 종자를 파종하여 흰가루병 저항성 여부를 검정 중임	- F2 seed 확보 - F2 mapping 집단육성 50개체 포장 흰가루병 저항성 검정작업 진행	
		오이 QTL mapping 실시	F2 mapping 집단 150 개체를 대상으로 한 병지수 (표현형) 검정 실시 (총 3회 중 1회 실시) 병지수 검정 3회 완료 후 SNP-seq 염기서열 분석 진행 예정	- F2 mapping 개체 발달 단계에 따른 병지수 검정 3회 중 1회 (초기) 실시	
		오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발	오이 유전체 서열 확보	오이 저항성, 이병성 개체간의 교배를 통한 F1 개체 육성	- 흰가루병 이병성/저항성 개체 서열 분석을 통해 다형성 마커 확보
			개발된 F1 개체의 자가수정을 통한 F2 mapping 집단 육성 QTL 분석용 F2 매핑 집단의 표현형 분석 실시	- QTL mapping용 F2 집단육성 - F2 매핑 집단 개체 육묘 대상의 흰가루병지수(DI) 검정	
		호박 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발용 매핑 집단 육성	- F2 매핑집단 육성을 위해 선행 연구에서 선발된 저항성(BN09-02, BN09-03, BN09-23) 및 이병성(BN09-05, BN09-06, BN09-20) 계통을 교배	- ‘BN09-02 x BN09-05’, ‘BN09-03 x BN09-06’, BN09-23 x BN09-20’ 3개의 교배조합으로부터 F1개체 생산 및 selfing.	
		멜론 흰가루병 저항성관련 유전자 탐색	멜론 유전체를 분석하여 멜론 흰가루병 저항성관련 유전자인 MLO 유전자 16개, cysteine-rich receptor-like kinase 15, NB-ARC domain, NB-ARC-LRR 유전자의 염기서열을 분석	- 멜론 유전체 분석을 통하여 흰가루병(PM) 저항성과 관련된 총 4개의 후보 유전자, [열성유전자 2개: CmMLO5, Cmcys-RLK10, 우성유전자 2개: CmRGA3, CmRGA4]를 발굴	
	박과작물 육종지원을 위한 내병성 멜론 품종개발 연구	흰가루병 저항성 유전자원 확보 및 특성조사	흰가루병에 저항성을 가지는 유전자원을 확보	- 저항성 유전자원을 다량 확보	
			흰가루병에 저항성을 가지는 계통에 대한 집단 특성을 조사	- 흰가루병 저항성 계통을 포장병리검정을 이용하여 선발하였으며 그 특성에 따른 교배조합을 작성	
	분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집	- 국내 6품종, 국외 3품종 수집	
유전자원 특성 평가			하우스재배를 통한 특성평가	- 우수계통 선발 및 조합작성 (6조합 작성)	
흰가루 저항성 품종의 개발			흰가루 저항성 및 감수성 계통간의 유전집단 선발	- 우수조합 3계통 선발	

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	
2차년도 (2017)	분자 병리검정 시스템 확립	흰가루병 분리동정 및 유모검정 시스템 확립	흰가루병의 원인균으로 보고된 <i>Podosphaera xanthii</i> 의 race 판별.	- NPGS로부터 멜론의 판별 계통 4가지 seeds를 분양 받음	
			<i>P. xanthii</i> 의 집중을 위한 식물의 유묘 재배지 및 채종지 확보.	- Seed의 지속적 확보 및 집중을 위한 곤지암 농장과 세종대 온실 및 growth chamber를 확보	
			<i>P. xanthii</i> 의 확인 및 지속적 확보.	- 지역별 흰가루병 걸린 오이를 확보하여 현미경과 염기서열로 확인 및 지속적으로 흰가루병 유지 중	
			염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 가능성 확인.	- 염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 불가능	
			Whole plant inoculation method set up.	- 오이 유묘에 대한 흰가루병 접종 방법 set-up 하고, 멜론 판별 계통 4가지 유묘에 집중하여 <i>P. xanthii</i> 의 race를 판별하였음.	
	분자마커 개발 및 MAS 구축	오이 흰가루병 저항성(PM) 분자마커 개발	SNP_seq을 이용한 QTL mapping 실시	- 흰가루병 저항성 유전자좌(locus)를 확인함 ( <i>Pm1.1</i> , <i>Pm5.1</i> )	
			흰가루병 저항성(PM) 분자마커 개발	- PM 유전자좌 분석	
				- 유전자좌 분석을 통한 분자마커 개발 In/Del 마커 1종 개발	
				- 오이 육종 프로그램에 적용 가시오이 품종 육성에 부적합	
			신규 mapping 집단 육성 (가시오이계, DB_PM_2 집단)	- 신규 집단 육성, 유전력 분석 <i>Pm1.1</i> , <i>Pm5.1</i> 마커 적용 : 불일치	
			DB_PM_2 집단 대상의 QTL mapping 실시	- 표현형 분석 1차 경기도 이천 포장 2차 광주 곤지암 포장	
				- F3 progeny test (후대 검정) 1차 실내 검정 2차 광주 곤지암 포장	
			SNP-seq analysis	- R/S (저항성/이병성) 개체간 다형성 서열 확보	
			오이 노균병 저항성 (DM) 분자마커 개발	연관 마커 개발용 RIL (recombinant inbreed line) 육성	- fine mapping of DM 유전자좌 ( <i>dm2.1</i> , <i>dm2.2</i> and <i>dm5.1</i> ) <i>dm2.1</i> , <i>dm2.2</i> , <i>dm5.1</i> : F <sub>5</sub> generation
				연관 마커 개발용 NIL (near isogenic line) 육성	- fine mapping of DM 유전자좌 ( <i>dm2.1</i> , <i>dm2.2</i> and <i>dm5.1</i> ) <i>dm2.1</i> : BC <sub>1</sub> F <sub>2</sub> generation <i>m2.2</i> and <i>dm5.1</i> : BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> generation
	Saturation map을 활용한 연관마커 개발	- <i>m2.1</i> , <i>dm2.2</i> , <i>dm5.1</i> 영역에서 SSR 마커를 개발하여 표현형과의 일치여부를 테스트 하였으나 연관마커로 사용하게는 부적합한 상황임.			
	호박 흰가루병 저항성 연관 마커 개발	호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발	호박 흰가루병 매핑 집단(F <sub>2</sub> , BC) 육성 및 저항성 1차 조사	- 1차년도에서 생산된 F <sub>1</sub> 개체들 로부터 F <sub>2</sub> 매핑 집단 육성 - 매핑집단의 저항성 평가를 위해 1차 포장실험을 수행.	
			호박 흰가루병 저항성 연관 마커 개발	- 박과작물 유전체정보 DB 검색을 통해 멜론, 오이, 수박의 MLO(Mildew Locus O) 유전자의 염기서열 확보. - 동양계( <i>C. moschata</i> )와 서양계 호박( <i>C. maxima</i> )에서 멜론 MLO의 이종상동성 유전자 발굴 및 유연관계분석. -서양계 호박에서 흰가루병 저항성 후보유전자 <i>CmaMLO1</i> (4.79 kb)을 발굴하고 저항성과 이병성 공시재료의 염기서열을 분석함.	



				- 염기서열 분석결과 아미노산 서열을 변형시키는 5개의 non- synonymous SNP들을 발굴함.
멜론/참외 흰가루병 매핑집단(F2, BC) 육성 및 SNP 발굴, 유전자형 분석	흰가루병 저항성 후보유전자 기반 멜론 흰가루병 저항성 판별분자 마커 개발	멜론 흰가루병 저항성 계통과 감수성 계통간의 MLO 유전자간의 차이 분석		- 협동과제 기관인 농협종묘에서 분양 받은 흰가루병저항성 멜론 15계통을 대상으로 흰가루병 저항성에 관련된 MLO 유전자인 CmMLO5, CmLMO3, CmMLO12 유전자간에 차이를 보이는지를 게놈 유전자와 mRNA 수준에서 분석한 결과 염기서열에서 저항성과 감수성 계통간에 MLO 유전자간의 차이를 발견할 수 없었다.
		멜론 흰가루병 저항성 MR-1 유전자 탐색 분자마커 개발 및 MR-1 후보 유전자 분석		- 기존에 보고된 MR-1 연관 Caps마커를 정밀분석하였다. - MR-1저항성에 관련된 7개의 후보 유전자중 3개 유전자를 감수성과 저항성라인에서 분리하여 염기서열을 비교 분석한결과 1개의 유전자에서 차이를 보였다.
		멜론 흰가루병 저항성 Eisto47 후보 유전자 탐색		- Edisto47의 2개 후보유전자 MEL03C01535 와 MEO3C015354 의 클로닝을 시도하였다.
박과작물 육종지원을 위한 내병성 멜론 품종개발 연구	저항성 유전자원의 특성평가	저항성 유전자원의 selfing 및 F1조합 작성		- 저항성 유전자원 13종 및 감수성 2종에 대한 특성 평가 - 저항성 유전자원의 selfing 및 F1조합 작성
	저항성 계통 집단 매핑	저항성 계통의 selfing을 통한 F2 집단을 만들		- 1차년도에 확인한 저항성 계통의 selfing 및 F2 집단을 만들
	흰가루병 포장 병리 검정	저항성 유전자원 및 계통의 포장 병리검정		- 저항성 유전자원의 포장 병리검정 - 저항성 계통의 포장 병리검정 - F1 조합의 포장 병리검정
분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	호박 유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집		- 국내 19품종 수집 및 해외 30계통/품종 수집
	유전자원 특성 평가	하우스 및 노지재배를 통한 원예적 형질 평가 (국립종자원 호박 특성조사요령 준용)		- 10계통을 선발 및 고정
	흰가루병원균 수집 및 분리 동정	지역내 흰가루병원균을 수집		- 흰가루병원균을 분리 동정 및 기주식물을 이용한 발병 확인
	내병성 계통 선발	흰가루집종 및 저항성 계통 선발		- 저항성 3계통 선발 (중도저항성)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차년도 (2018)	분자 병리검정 시스템 확립	흰가루병 분리동정 및 유모검정 시스템 확립	흰가루병의 원인균으로 보고된 <i>Podosphaera xanthii</i> 의 race 판별.	- NPGS로부터 멜론의 판별 계통 4가지 seeds를 분양 받음
			<i>P. xanthii</i> 의 접종을 위한 식물의 유묘 재배지 및 채종지 확보.	- Seed의 지속적 확보 및 접종을 위한 곤지암 농장과 세종대 온실 및 growth chamber를 확보
			<i>P. xanthii</i> 의 확인 및 지속적 확보.	- 지역별 흰가루병 걸린 오이를 확보하여 현미경과 염기서열로 확인 및 지속적으로 흰가루병 유지 중
			염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 가능성 확인.	- 염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 불가능
			Whole plant inoculation method set up.	- 오이 유묘에 대한 흰가루병 접종 방법 set-up 하고, 멜론 판별 계통 4가지 유묘에 접종하여 <i>P. xanthii</i> 의 race를 판별하였음.
	유묘 검정 시스템 확립	4가지 멜론 race 판별 기주 (Top mark, PMR 45, PMR 6, MR-1) 14종의 추가 멜론 확보, 유묘 검정 시스템에 사용 Inoculation 결과 수치화 분석	- 유묘 검정과 활물 기생성인 흰가루병원균의 유지를 위하여 disk-to disk 방법 개발	- 정량화 분석 방법 확립
			신규 집단에 대한 F <sub>3</sub> progeny test	- 흰가루병에 대한 포장 저항성이 강하고, 약한 F <sub>2</sub> 개체(15 개체) 선발
	오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발	QTL mapping 을 통한 저항성 유전자좌 확인	QTL_Seq 분석 실시	- 흰가루병 저항성 pool, 이병성 pool, 부계, 모계를 대상으로 re-sequencing 실시 - QTL 분석 결과 4번, 5번, 6번 염색체상의 흰가루병 저항성 영역 확인
			상기의 QTL영역에 대한 saturation mapiing을 위한 다형성 마커 선발	- 흰가루병 저항성 영역에 대한 saturation map 작성을 위한 다형성 마커 확보
	오이 노균병 저항성 마커개발	RIL 계통 육성	3개의 노균병 저항성 영역 ( <i>dm2-1</i> , <i>dm2-2</i> , <i>dm5-1</i> ) 대상의 F <sub>7</sub> 집단 육성	- <i>dm2-1</i> : 120 개체 육성 (DMF <sub>7</sub> -143) - <i>dm2-2</i> : 120 개체 육성 (DMF <sub>7</sub> -83) - <i>dm5-1</i> : 120 개체 육성 (DMF <sub>7</sub> -50)
			육성 집단에 대한 표현형 분석	- 노균병에 대한 병지수 데이터 확보
		NIL 계통 육성	3 개의 노균병 저항성 영역 ( <i>dm2-1</i> , <i>dm2-2</i> , <i>dm5-1</i> ) 대상의 여교배 집단 육성	- <i>dm2-1</i> : 18DMBC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (48) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm2-2</i> : 18DMBC <sub>4</sub> F <sub>1</sub> (103) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm5-1</i> : 18DMBC <sub>4</sub> F <sub>1</sub> (22) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm2-1</i> & <i>dm5-1</i> : 18DMBC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (4) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm2-2</i> & <i>dm5-1</i> : 18DMBC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (11) 육성 - 15개체 파종
NIL 계통에 대한 표현형 분석			- 노균병에 대한 병지수 데이터 확보	
호박 흰가루병 저항성 QTL mapping	호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발	매핑 집단의 흰가루병 저항성 2차 조사 및 저항성 유전자 발굴	- 매핑집단의 저항성 평가를 위해 2차 포장실험을 수행하였으나 이상 고온으로 신뢰성 있는 데이터를 확보하지 못함. - QTL mapping 대신에 <i>in silico</i> 분석을 수행하여 3, 5, 7번 염색체에서 세 개의 흰가루병 저항성 후보유전자를 동정함. - 이러한 유전자들의 염기서열을 Sanger 방법으로 분석하여 3번 염색체에 존재하는 NBS-LRR	

			<p>유전자(<i>CmaRI</i>)에서 이병성과 저항성 공시재료 간 염기서열변이를 발견.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2차년도에 발굴한 <i>CmaMLO1</i> 유전자에 대해 추가적인 저항성 품종(Addang PMR과 Top08)의 염기서열분석을 수행하여 14개의 신규변이들(13 SNPs 및 1 InDel) 을 발굴함.</li> <li>- 7개의 non-synonymous SNP 중 15번째 엑손에 존재하는 SNP 을 대상으로 PpmCAPS1 마커를 개발.</li> <li>- <i>CmaRI</i> 유전자의 3, 4, 5번 엑손들에서 14개의 non- synonymous SNP들을 발견하였으며 이 중 하나를 이용하여 PpmCAPS2 마커를 개발함.</li> </ul>
		<p>Marker-assisted selection(MAS)을 위한 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발</p>	
<p>멜론/참외 흰가루병 매핑집단(F2, BC) 육성 및 SNP 발굴, 유전자형 분석</p>	<p>흰가루병 저항성 후보유전자 기반 멜론 흰가루병 저항성 판별분자 마커 개발</p>	<p>멜론 흰가루병 저항성 MR-1특이 분자마커 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- MR-1 흰가루병 저항성 특이 판별 RAPD 분자마커 1건을 개발 함</li> </ul>
		<p>MR-1 흰가루병 저항성 후보 유전자를 기반으로 한 특이 판별 마커 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 후보 유전자를 기반으로 하여 MR-1 흰가루병 저항성 특이 다형성 (polymorphism)을 보이는 2개 유전자를 확보함</li> </ul>
<p>박과작물 육종지원을 위한 내병성 멜론 품종개발 연구</p>	<p>우수조합(F1) 선발 및 특성조사</p>	<p>흰가루병 저항성 조합 선발 및 특성조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 저항성 네트워크 및 잡네트워크 조합선발</li> <li>- 우수조합의 특성평가</li> <li>- F1 조합의 포장 병리검정</li> </ul>
	<p>흰가루병 저항성 F2, BC 매핑 집단 육성</p>	<p>흰가루병 저항성 F2 집단의 전개 및 저항성 검정</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 저항성 F2 집단을 전개하여 포장 저항성 검정</li> </ul>
	<p>내병성 분자마커를 이용한 계통 선발</p>	<p>기 개발된 분자마커를 이용한 계통선발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기 개발된 분자마커를 이용하여 계통을 선발</li> <li>- 실제 포장에서 흰가루병 저항성 검정</li> </ul>
<p>분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성</p>	<p>호박 유전자원 수집</p>	<p>국내 및 해외 유전자원 수집</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 품종 수집 및 해외 계통/품종 수집</li> </ul>
	<p>유전자원 특성 평가</p>	<p>하우스 및 노지재배를 통한 원예적 형질 평가 (국립중자원 호박 특성조사요령 준용)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 내병성 및 내재해성 특성을 가지는 3계통을 선발 및 고정</li> </ul>
	<p>내병성 계통 선발</p>	<p>흰가루병 접종 및 저항성 계통 선발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 저항성 계통 선발 (중도저항성)</li> </ul>
	<p>조합작성 및 조합검정</p>	<p>고정 계통 10계통을 이용하여 20조합 작성 및 조합검정</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 우수조합 선발 및 추후 지역적응성 시험 및 조합검정 할예정</li> </ul>
	<p>유전자원 및 계통 등록</p>	<p>지역적응성 완료후 계통등록</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2품종 품종보호출원</li> </ul>

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
4차년도 (2019)	분자 병리검정 시스템 확립	흰가루병 분리동정 및 유묘검정 시스템 확립	흰가루병의 원인균으로 보고된 <i>Podosphaera xanthii</i> 의 race 판별.	- NPGS로부터 멜론의 판별 계통 4가지 seeds를 분양 받음
			<i>P. xanthii</i> 의 접종을 위한 식물의 유묘 재배지 및 채종지 확보.	- Seed의 지속적 확보 및 접종을 위한 곤지암 농장과 세종대 온실 및 growth chamber를 확보
			<i>P. xanthii</i> 의 확인 및 지속적 확보.	- 지역별 흰가루병 걸린 오이를 확보하여 현미경과 염기서열로 확인 및 지속적으로 흰가루병 유지 중
			염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 가능성 확인.	- 염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 불가능
			Whole plant inoculation method set up.	- 오이 유묘에 대한 흰가루병 접종 방법 set-up 하고, 멜론 판별 계통 4가지 유묘에 접종하여 <i>P. xanthii</i> 의 race를 판별하였음.
	유묘 검정 시스템 확립	4가지 멜론 race 판별 기주 (Top mark, PMR 45, PMR 6, MR-1) 14종의 추가 멜론 확보, 유묘 검정 시스템에 사용 Inoculation 결과 수치화 분석	- 유묘 검정과 활물 기생성인 흰가루병 원균의 유지를 위하여 disk-to disk 방법 개발	
			- 정량화 분석 방법 확립	
			- 다형성 마커를 활용한 classical mapping 을 실시하여 저항성 영역 확인	
	오이 흰가루병 저항성 분자마 커 개발	QTL-Seq 분석을 통 한 PMR 저항성 개 체 선발용 마커 개 발	Saturation map 작성	- QTL-seq 과 classical mapping 결과를 병합 분석하여 오이 5번, 6번 염색체상의 흰가루병 저항성 영역 확인
			흰가루병 저항성 후보 유전자 선발	- 5번 염색체상의 저항성 영역에 존재하는 유전자 서열에서 다형성 서열을 보이는 유전자 48개 확보 - 6번 색체상의 저항성 영역에 존재하는 유전자 서열에서 다형성 서열을 보이는 유전자 31개 확보 - 확보된 유전자를 대상으로 흰가루병 침입시 저항성 자원/이병성 자원 간의 발현 차이 비교를 통해서 3개의 후보 유전자를 선발함 - 선발된 유전자를 대상으로 SCAR 마커를 개발하여 F2 개체를 대상으로 표현형/유전형 간의 상관 분석을 실시하여 최종적으로 하나의 SCAR 마커를 선발함
육종 계통에 의 적용성 검정			- 육종 계통(동오시드) 대상의 저항성 여부 검정을 실시하여 기존 MLO 기반의 마커로 검정이 불가능한 자원에서 80% 이상의 정확성을 보인다는 것을 확인함.	
오이 노균병 저 항성 마커개발	RIL 계통 육성	QTL-seq 분석을 위한 표현성 분석 및 샘플 확보	- <i>dm2-1</i> : 표현형 분석 실시를 통해 저항성과 이병성 pool을 확보함	
	NIL 계통 육성	3 개의 노균병 저항성 영역 ( <i>dm2-1</i> , <i>dm2-2</i> , <i>dm5-1</i> ) 대상의 여교배 집단 육성	- <i>dm2-1</i> : DMBC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> 육성 - <i>dm2-2</i> : DMBC <sub>4</sub> F <sub>2</sub> 육성 - <i>dm5-1</i> : DMBC <sub>4</sub> F <sub>2</sub> 육성 - <i>dm2-1</i> & <i>dm5-1</i> : DMBC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> 육성 - <i>dm2-1</i> & <i>dm2-2</i> : DMBC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> 육성	
호박 흰가루병 저항성 QTL mapping	호박 흰가루병 저항 성 분자마커 개발	육종계통 및 품종을 대상으로 흰가루병 저항성 연관 분자표지의 검정	- 27개의 육종계통 및 국내 상업용 F1 품종들을 대상으로 <i>CmaMLO1</i> 및 <i>CmaRI</i> 유전자 들로부터 개발된 두 개의 CAPS 마커들(CAPS 1과 2)로 유전자형 분석을 수행하여 흰가루병 저항성 판별 마커로써 활용가능성을 확인함.	

				<ul style="list-style-type: none"> <li>- 이러한 흰가루병 저항성 판별마커들은 협동기관의 육종현장에서 선발효율 증진을 위한 MAS에 활용될 예정이다.</li> <li>- 차세대염기서열분석방법으로 발굴된 호박 품종들의 genome-wide SNP 마커들의 polymorphic information content 기반으로 500개 마커를 1차로 선발함.</li> <li>- 이들의 염색체 위치를 고려하여 최종적으로 여교배 육종의 background selection을 위한 96개의 마커 세트를 선발함.</li> <li>- 이러한 마커는 호박 20개의 염색체 전체에 분포되어 있으며 각 염색체에서 3-8개 마커들이 존재함.</li> <li>- 국내에서 유통되고 있는 F1 품종 48개 (<i>C. maxima</i> 15개, <i>C. moschata</i> 18개, <i>C. pepo</i> 7개, <i>C. moschata</i> x <i>C. maxima</i> 8개)를 대상으로 유전자형 분석을 수행하여 background selection 마커 세트를 검증함.</li> </ul>
		여교배 육종의 background selection을 위한 분자마커 개발 및 검정		
멜론/참외 흰가루병 매핑집단 (F2, BC) 육성 및 SNP 발굴, 유전자형 분석	흰가루병 저항성 후보유전자 기반 멜론 흰가루병 저항성 관련 분자 마커 개발	멜론 흰가루병 저항성 MR-1특이 분자 마커 개발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 멜론 흰가루병 저항성 관련 유전자 탐색 및 MR-1 흰가루병 저항성 관련 PCR 분자 마커 개발 완료</li> </ul>
		MR-1 흰가루병 저항성 후보 유전자를 기반으로 한 특이 판별 마커 개발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 감수성 유전자인 TopMark F2분리세대 검정완료</li> <li>- 흰가루병 저항성관련 멜론 계통 MR-1유전자 F2분리세대 검정완료</li> <li>- 흰가루병 저항성 멜론 계통 (농협 종묘의 15계통)에 대한 흰가루병 저항성 검정</li> </ul>
박과작물 육종 지원을 위한 내병성 멜론 품종 개발 연구	멜론 포장 저항성 검정	저항성 유전자원 및 계통의 포장 병리 검정		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 저항성 유전자원의 포장 병리검정</li> <li>- 저항성 계통의 포장 병리검정</li> <li>- F1 조합의 포장 병리검정</li> </ul>
	내병성 분자마커를 이용한 품종 육성	기 개발된 분자마커를 이용한 계통선발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기 개발된 분자마커를 이용하여 계통을 선발</li> <li>- 실제 포장에서 흰가루병 저항성 검정</li> </ul>
	품종등록	흰가루병 저항성 멜론 품종등록		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 저항성 멜론 2품종 출원</li> </ul>
분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	호박 유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 품종 수집 및 해외 계통/품종 수집</li> </ul>
	유전자원 특성 평가	하우스 및 노지재배를 통한 원예적 형질 평가 (국립종자원 호박 특성조사요령 준용)		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 내병성 및 내재해성 특성을 가지는 3계통을 선발 및 고정</li> </ul>
	내병성 계통 선발	흰가루병 접종 및 저항성 계통 선발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 저항성 계통 선발 (중도저항성)</li> </ul>
	조합작성 및 조합검정	고정 계통 10계통을 이용하여 20조합작성 및 조합검정		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 우수조합 선발 및 추후 지역적응성 시험 및 조합검정 할예정</li> </ul>
	유전자원 및 계통 등록	지역적응성 완료후 계통등록		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 5품종 품종보호출원</li> </ul>

3-2. 목표 달성여부

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	달성도 (%)
1차년도 (2016)	박과작물 병리검정 시스템 구축	박과작물 흰가루병에 대한 병리검정 시스템 구축	오이에 발생하는 흰가루병균을 확보하여 원인균 진단을 위한 1) 병증 조사, 2) Morphology 조사, 3) 분자생물학적 조사를 수행하였음.	- 오이 유묘기와 성체에 발병한 흰가루병의 병증을 육안과 현미경으로 분석. <i>Conidiophore</i> , <i>Conidia</i> , <i>Hyphae</i> 에 대한 현미경적인 이미지 확보하였음. <i>Podosphaera xanthii</i> specific primer를 이용하여 amplicon을 확보, sequence 분석을 통하여 <i>Podosphaera xanthii</i> 임을 최종 확인.	100
			오이 F2 매핑 집단 육성	오이 흰가루병 이병성과 저항성 개체간의 교배를 통한 F1 개체를 대상으로 자가수정을 실시하여 F2 종자 확보 F2 종자를 파종하여 흰가루병 저항성 여부를 검정 중임	- F2 seed 확보 - F2 mapping 집단육성 50개체 포장 흰가루병 저항성 검정작업 진행
	박과작물 내병성 연관 분자마커 개발 및 MAS 시스템 구축	오이 QTL mapping 실시	F2 mapping 집단 150 개체를 대상으로 한 병지수 (표현형) 검정 실시 (총 3회 중 1회 실시) 병지수 검정 3회 완료 후 SNP-seq 염기서열 분석 진행 예정	- F2 mapping 개체 발달 단계에 따른 병지수 검정 3회 중 1회 (초기) 실시	100
			오이 유전체 서열 확보	- 흰가루병 이병성/저항성 개체 서열 분석을 통해 다형성 마커 확보	100
		오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발	오이 저항성, 이병성 개체간의 교배를 통한 F1 개체 육성 개발된 F1 개체의 자가수정을 통한 F2 mapping 집단 육성 QTL 분석용 F2 매핑 집단의 표현형 분석 실시	- QTL mapping용 F2 집단육성 - F2 매핑 집단 개체 유묘 대상의 흰가루병지수(DI) 검정	100
			호박 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발용 매핑 집단 육성	- F2 매핑집단 육성을 위해 선행 연구에서 선발된 저항성(BN09-02, BN09-03, BN09-23) 및 이병성(BN09-05, BN09-06, BN09-20) 계통을 교배	- ‘BN09-02 x BN09-05’ , ‘BN09-03 x BN09-06’ , BN09-23 x BN09-20’ 3개의 교배조합으로부터 F1개체 생산 및 selfing.
		멜론 흰가루병 저항성관련 유전자 탐색	멜론 유전체를 분석하여 멜론 흰가루병 저항성관련 유전자인 MLO 유전자 16개, cysteine-rich receptor-like kinase 15, NB-ARC domian, NB-ARC-LRR 유전자의 염기서열을 분석	- 멜론 유전체 분석을 통하여 흰가루병(PM) 저항성과 관련된 총 4개의 후보 유전자, [열성유전자 2개: CmMLO5, Cmcys-RLK10, 우성유전자 2개: CmRGA3, CmRGA4]를 발굴	100
		박과작물 육종지원을 위한 내병성 멜론 품종개발 연구	흰가루병 저항성 유전자원 확보 및 특성조사	흰가루병에 저항성을 가지는 유전자원을 확보	- 저항성 유전자원을 다량 확보
	흰가루병에 저항성을 가지는 계통에 대한 집단 특성을 조사			- 흰가루병 저항성 계통을 포장병리검정을 이용하여 선발하였으며 그 특성에 따른 교배조합을 작성	100
	분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집	- 국내 6품종, 국외 3품종 수집	100
			유전자원 특성 평가	하우스재배를 통한 특성평가	- 우수계통 선발 및 조합작성 (6조합 작성)
		흰가루 저항성 품종의 개발	흰가루 저항성 및 감수성 계통간의 유전집단 선발	- 우수조합 3계통 선발	100

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	달성도 (%)
2차년도 (2017)	분자 병리검정 시스템 확립	흰가루병 분리동정 및 유모검정 시스템 확립	흰가루병의 원인균으로 보고된 <i>Podosphaera xanthii</i> 의 race 판별.	- NPGS로부터 멜론의 판별 계통 4가지 seeds를 분양 받음	100
			<i>P. xanthii</i> 의 접종을 위한 식물의 유묘 재배지 및 채종지 확보.	- Seed의 지속적 확보 및 접종을 위한 곤지암 농장과 세종대 온실 및 growth chamber를 확보	100
			<i>P. xanthii</i> 의 확인 및 지속적 확보.	- 지역별 흰가루병 걸린 오이를 확보하여 현미경과 엽기서열로 확인 및 지속적으로 흰가루병 유지 중	100
			엽기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 가능성 확인.	- 엽기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 불가능	100
			Whole plant inoculation method set up.	- 오이 유묘에 대한 흰가루병 접종 방법 set-up 하고, 멜론 판별 계통 4가지 유묘에 접종하여 <i>P. xanthii</i> 의 race를 판별하였음.	100
	분자마커 개발 및 MAS 구축	오이 흰가루병 저항성(PM) 분자마커 개발	SNP_seq을 이용한 QTL mapping 실시	- 흰가루병 저항성 유전자좌(locus)를 확인함 ( <i>Pm1.1, Pm5.1</i> )	100
			흰가루병 저항성(PM) 분자마커 개발	- PM 유전자좌 분석	100
				- 유전자좌 분석을 통한 분자마커 개발 In/Del 마커 1종 개발	100
			신규 mapping 집단 육성 (가시오이계, DB_PM_2 집단)	- 오이 육종 프로그램에 적용 가시오이 품종 육성에 부적합	100
			DB_PM_2 집단 대상의 QTL mapping 실시	- 신규 집단 육성, 유전력 분석 <i>Pm1.1, Pm5.1</i> 마커 적용 : 불일치	100
		- 표현형 분석 1차 경기도 이천 포장 2차 광주 곤지암 포장		100	
		- F3 progeny test (후대 검정) 1차 실내 검정 2차 광주 곤지암 포장		100	
		SNP-seq analysis	- R/S (저항성/이병성) 개체간 다형성 서열 확보	100	
		오이 노균병 저항성 (DM) 분자마커 개발	연관 마커 개발용 RIL (recombinant inbreed line) 육성	- fine mapping of DM 유전자좌 ( <i>dm2.1, dm2.2</i> and <i>dm5.1</i> ) <i>dm2.1, dm2.2, dm5.1</i> : F <sub>5</sub> generation	100
			연관 마커 개발용 NIL (near isogenic line) 육성	- fine mapping of DM 유전자좌 ( <i>dm2.1, dm2.2</i> and <i>dm5.1</i> ) <i>dm2.1</i> : BC <sub>1</sub> F <sub>2</sub> generation <i>m2.2</i> and <i>dm5.1</i> : BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> generation	100
	Saturation map을 활용한 연관마커 개발		- <i>m2.1, dm2.2, dm5.1</i> 영역에서 SSR 마커를 개발하여 표현형과의 일치여부를 테스트 하였으나 연관마커로 사용하기에는 부적합한 상황임.		
	호박 흰가루병 저항성 연관 마커 개발	호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발	호박 흰가루병 매핑 집단(F2, BC) 육성 및 저항성 1차 조사	- 1차년도에서 생산된 F1 개체들로부터 F2 매핑 집단 육성 - 매핑집단의 저항성 평가를 위해 1차 포장실험을 수행.	100
			호박 흰가루병 저항성 연관 마커	- 박과작물 유전체정보 DB	100

			개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>검색을 통해 멜론, 오이, 수박의 MLO(Mildew Locus O) 유전자의 염기서열 확보.</li> <li>동양계(<i>C. moschata</i>)와 서양계 호박(<i>C. maxima</i>)에서 멜론 MLO의 이종상동성 유전자 발굴 및 유연관계분석.</li> <li>서양계 호박에서 흰가루병 저항성 후보유전자 <i>CmaMLO</i>(4.79 kb)을 발굴하고 저항성과 이병성 공시재료의 염기서열을 분석함.</li> <li>염기서열 분석결과 아미노산 서열을 변형시키는 5개의 non-synonymous SNP들을 발굴함.</li> </ul>	
멜론/참외 흰가루병 매핑집단(F2, BC) 육성 및 SNP 발굴, 유전자형 분석	흰가루병 저항성 후보유전자 기반 멜론 흰가루병 저항성 판별분자 마커 개발	멜론 흰가루병 저항성 계통과 감수성 계통간의 MLO 유전자간의 차이 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>협동과계 기관인 농협종묘에서 분양 받은 흰가루병저항성 멜론 15계통을 대상으로 흰가루병 저항성에 관련된 MLO 유전자인 CmMLO5, CmLMO3, CmMLO12 유전자간에 차이를 보이는지를 계놈 유전자와 mRNA 수준에서 분석한 결과 염기서열에서 저항성과 감수성 계통간에 MLO 유전자간의 차이를 발견할 수 없었다.</li> </ul>	100	
		멜론 흰가루병 저항성 MR-1 유전자 탐색 분자마커 개발 및 MR-1 후보 유전자 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>기존에 보고된 MR-1 연관 Caps마커를 정밀분석하였다.</li> <li>MR-1저항성에 관련된 7개의 후보 유전자중 3개 유전자를 감수성과 저항성라인에서 분리하여 염기서열을 비교 분석한결과 1개의 유전자에서 차이를 보였다.</li> </ul>	100	
		멜론 흰가루병 저항성 Eisto47 후보 유전자 탐색	<ul style="list-style-type: none"> <li>Edisto47의 2개 후보유전자 MEL03C01535와 MELO3C015354의 클로닝을 시도하였다.</li> </ul>	100	
박과작물 육종지원을 위한 내병성 멜론 품종개발 연구	저항성 유전자원의 특성평가	저항성 유전자원의 selfing 및 F1조합 작성	<ul style="list-style-type: none"> <li>저항성 유전자원 13종 및 감수성 2종에 대한 특성 평가</li> <li>저항성 유전자원의 selfing 및 F1조합 작성</li> </ul>	100	
	저항성 계통 집단 매핑	저항성 계통의 selfing을 통한 F2 집단을 만들	<ul style="list-style-type: none"> <li>1차년도에 확인한 저항성 계통의 selfing 및 F2 집단을 만들</li> </ul>	80	
	흰가루병 포장 병리 검정	저항성 유전자원 및 계통의 포장 병리검정	<ul style="list-style-type: none"> <li>저항성 유전자원의 포장 병리검정</li> <li>저항성 계통의 포장 병리검정</li> <li>F1 조합의 포장 병리검정</li> </ul>	100	
분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	호박 유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집	<ul style="list-style-type: none"> <li>국내 19품종 수집 및 해외 30계통/품종 수집</li> </ul>	100	
	유전자원 특성 평가	하우스 및 노지재배를 통한 원예적 형질 평가 (국립종자원 호박 특성조사요령 준용)	<ul style="list-style-type: none"> <li>10계통을 선발 및 고정</li> </ul>	100	
	흰가루병원균 수집 및 분리 동정	지역내 흰가루병원균을 수집	<ul style="list-style-type: none"> <li>흰가루병원균을 분리 동정 및 기주식물을 이용한 발병 확인</li> </ul>	100	
	내병성 계통 선발	흰가루접종 및 저항성 계통 선발	<ul style="list-style-type: none"> <li>저항성 3계통 선발 (중도저항성)</li> </ul>	100	



구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	달성도 (%)
3차년도 (2018)	분자 병리검정 시스템 확립	흰가루병 분리동정 및 유모검정 시스템 확립	흰가루병의 원인균으로 보고된 <i>Podosphaera xanthii</i> 의 race 판별.	- NPGS로부터 멜론의 판별 계통 4가지 seeds를 분양 받음	100
			<i>P. xanthii</i> 의 접종을 위한 식물의 유묘 재배지 및 채종지 확보.	- Seed의 지속적 확보 및 접종을 위한 곤지암 농장과 세세대 온실 및 growth chamber를 확보	100
			<i>P. xanthii</i> 의 확인 및 지속적 확보.	- 지역별 흰가루병 걸린 오이를 확보하여 현미경과 염기서열로 확인 및 지속적으로 흰가루병 유지 중	100
			염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 가능성 확인.	- 염기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 불가능	100
			Whole plant inoculation method set up.	- 오이 유묘에 대한 흰가루병 접종 방법 set-up 하고, 멜론 판별 계통 4가지 유묘에 접종하여 <i>P. xanthii</i> 의 race를 판별하였음.	100
		유묘 검정 시스템 확립	4가지 멜론 race 판별 기주 (Top mark, PMR 45, PMR 6, MR-1) 14종의 추가 멜론 확보, 유묘 검정 시스템에 사용 Inoculation 결과 수치화 분석	- 유묘 검정과 활물 기생성인 흰가루병원균의 유지를 위하여 disk-to disk 방법 개발 - 정량화 분석 방법 확립	100
	오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발	QTL mapping 을 통한 저항성 유전자좌 확인	신규 집단에 대한 F <sub>3</sub> progeny test	- 흰가루병에 대한 포장 저항성이 강하고, 약한 F <sub>2</sub> 개체(15 개체) 선발	100
			QTL_Seq 분석 실시	- 흰가루병 저항성 pool, 이병성 pool, 부계, 모계를 대상으로 re-sequencing 실시 - QTL 분석 결과 4번, 5번, 6번 염색체상의 흰가루병 저항성 영역 확인	100
			상기의 QTL영역에 대한 saturation mapping을 위한 다형성 마커 선발	- 흰가루병 저항성 영역에 대한 saturation map 작성을 위한 다형성 마커 확보	100
	오이 노균병 저항성 마커개발	RIL 계통 육성	3개의 노균병 저항성 영역 ( <i>dm2-1</i> , <i>dm2-2</i> , <i>dm5-1</i> ) 대상의 F <sub>7</sub> 집단 육성	- <i>dm2-1</i> : 120 개체 육성 (DMF <sub>7</sub> -143) - <i>dm2-2</i> : 120 개체 육성 (DMF <sub>7</sub> -83) - <i>dm5-1</i> : 120 개체 육성 (DMF <sub>7</sub> -50)	100
			육성 집단에 대한 표현형 분석	- 노균병에 대한 병지수 데이터 확보	100
		NIL 계통 육성	3 개의 노균병 저항성 영역 ( <i>dm2-1</i> , <i>dm2-2</i> , <i>dm5-1</i> ) 대상의 여교배 집단 육성	- <i>dm2-1</i> : 18DMBC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (48) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm2-2</i> : 18DMBC <sub>4</sub> F <sub>1</sub> (103) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm5-1</i> : 18DMBC <sub>4</sub> F <sub>1</sub> (22) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm2-1</i> & <i>dm5-1</i> : 18DMBC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (4) 육성 - 15개체 파종 - <i>dm2-2</i> & <i>dm5-1</i> : 18DMBC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (11) 육성 - 15개체 파종	100
			NIL 계통에 대한 표현형 분석	- 노균병에 대한 병지수 데이터 확보	100
	호박 흰가루병	호박 흰가루병	매핑 집단의 흰가루병 저항성 2차	- 매핑집단의 저항성 평가를 위해	100

저항성 QTL mapping	저항성 분자마커 개발	조사 및 저항성 유전자 발굴	<p>2차 포장실험을 수행하였으나 이상 고온으로 신뢰성 있는 데이터를 확보하지 못함.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- QTL mapping 대신에 <i>in silico</i> 분석을 수행하여 3, 5, 7번 염색체에서 세 개의 흰가루병 저항성 후보유전자를 동정함.</li> <li>- 이러한 유전자들의 염기서열을 Sanger 방법으로 분석하여 3번 염색체에 존재하는 NBS-LRR 유전자(<i>CmaRI</i>)에서 이병성과 저항성 공시재료 간 염기서열변이를 발견.</li> </ul>	
		Marker-assisted selection(MAS)을 위한 흰가루병 저항성 연관 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2차년도에 발굴한 <i>CmaMLO1</i> 유전자에 대해 추가적인 저항성 품종(Addang PMR과 Top08)의 염기서열분석을 수행하여 14개의 신규변이들(13 SNPs 및 1 InDel) 을 발굴함.</li> <li>- 7개의 non-synonymous SNP 중 15번째 엑손에 존재하는 SNP 을 대상으로 PpmCAPS1 마커를 개발.</li> <li>- <i>CmaRI</i> 유전자의 3, 4, 5번 엑손들에서 14개의 non-synonymous SNP들을 발견하였으며 이 중 하나를 이용하여 PpmCAPS2 마커를 개발함.</li> </ul>	100
멜론/참외 흰가루병 매핑집단(F2, BC) 육성 및 SNP 발굴, 유전자형 분석	흰가루병 저항성 후보유전자 기반 멜론 흰가루병 저항성 판별분자 마커 개발	멜론 흰가루병 저항성 MR-1특이 분자마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- MR-1 흰가루병 저항성 특이 판별 RAPD 분자마커 1건을 개발 함</li> </ul>	100
		MR-1 흰가루병 저항성 후보 유전자를 기반으로 한 특이 판별 마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 후보 유전자를 기반으로 하여 MR-1 흰가루병 저항성 특이 다형성 (polymorphism) 을 보이는 2개 유전자를 확보 함</li> </ul>	100
박과작물 육종지원을 위한 내병성 멜론 품종개발 연구	우수조합(F1) 선발 및 특성조사	흰가루병 저항성 조합 선발 및 특성조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 저항성 네트계 및 잡네트계 조합선발</li> <li>- 우수조합의 특성평가</li> <li>- F1 조합의 포장 병리검정</li> </ul>	100
	흰가루병 저항성 F2, BC 매핑 집단 육성	흰가루병 저항성 F2 집단의 전개 및 저항성 검정	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 저항성 F2 집단을 전개하여 포장 저항성 검정</li> </ul>	100
	내병성 분자마커를 이용한 계통 선발	기 개발된 분자마커를 이용한 계통선발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기 개발된 분자마커를 이용하여 계통을 선발</li> <li>- 실제 포장에서 흰가루병 저항성 검정</li> </ul>	85
분자마커를 활용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	호박 유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 품종 수집 및 해외 계통/품종 수집</li> </ul>	100
	유전자원 특성 평가	하우스 및 노지재배를 통한 원예적 형질 평가 (국립종자원 호박 특성조사요령 준용)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 내병성 및 내재해성 특성을 가지는 3계통을 선발 및 고정</li> </ul>	100
	내병성 계통 선발	흰가루병 집중 및 저항성 계통 선발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 저항성 계통 선발 (중도저항성)</li> </ul>	100
	조합작성 및 조합검정	고정 계통 10계통을 이용하여 20조합 작성 및 조합검정	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 우수조합 선발 및 추후 지역적응성 시험 및 조합검정 할예정</li> </ul>	100
	유전자원 및 계통 등록	지역적응성 완료후 계통등록	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2품종 품종보호출원</li> </ul>	100

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과	달성도 (%)
4차년도 (2019)	분자 병리검정 시스템 확립	흰가루병 분리동정 및 유묘검정 시스템 확립	흰가루병의 원인균으로 보고된 <i>Podosphaera xanthii</i> 의 race 판별.	- NPGS로부터 멜론의 판별 계통 4가지 seeds를 분양 받음	100
			<i>P. xanthii</i> 의 접종을 위한 식물의 유묘 재배지 및 채종지 확보.	- Seed의 지속적 확보 및 접종을 위한 곤지암 농장과 세종대 온실 및 growth chamber를 확보	100
			<i>P. xanthii</i> 의 확인 및 지속적 확보.	- 지역별 흰가루병 걸린 오이를 확보하여 현미경과 엽기서열로 확인 및 지속적으로 흰가루병 유지 중	100
			엽기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 가능성 확인.	- 엽기서열 분석을 통한 <i>P. xanthii</i> 의 race 판별 불가능	100
			Whole plant inoculation method set up.	- 오이 유묘에 대한 흰가루병 접종 방법 set-up 하고, 멜론 판별 계통 4가지 유묘에 접종하여 <i>P. xanthii</i> 의 race를 판별하였음.	100
		유묘 검정 시스템 확립	4가지 멜론 race 판별 기주 (Top mark, PMR 45, PMR 6, MR-1) 14종의 추가 멜론 확보, 유묘 검정 시스템에 사용 Inoculation 결과 수치화 분석	- 유묘 검정과 활물 기생성인 흰가루병원균의 유지를 위하여 disk-to disk 방법 개발 - 정량화 분석 방법 확립	100
	오이 흰가루병 저항성 분자마커 개발	QTL-Seq 분석을 통한 PMR 저항성 개체 선발용 마커 개발	Saturation map 작성	- 다형성 마커를 활용한 classical mapping 을 실시하여 저항성 영역 확인 - QTL-seq 과 classical mapping 결과를 병합 분석하여 오이 5번, 6번 염색체상의 흰가루병 저항성 영역 확인	100
			흰가루병 저항성 후보 유전자 선발	- 5번 염색체상의 저항성 영역에 존재하는 유전자 서열에서 다형성 서열을 보이는 유전자 48개 확보 - 6번 색체상의 저항성 영역에 존재하는 유전자 서열에서 다형성 서열을 보이는 유전자 31개 확보 - 확보된 유전자를 대상으로 흰가루병 침입시 저항성 자원/이병성 자원 간의 발현 차이 비교를 통해서 3개의 후보 유전자를 선발함 - 선발된 유전자를 대상으로 SCAR 마커를 개발하여 F2 개체를 대상으로 표현형/유전형 간의 상관 분석을 실시하여 최종적으로 하나의 SCAR 마커를 선발함	100
			육종 계통에 의 적용성 검정	- 육종 계통(동오시드) 대상의 저항성 여부 검정을 실시하여 기존 MLO 기반의 마커로 검정이 불가능한 자원에서 80% 이상의 정확성을 보인다는 것을 확인함.	100
	오이 노균병 저항성 마커개발	RIL 계통 육성	QTL-seq 분석을 위한 표현성 분석 및 샘플 확보	- <i>dm2-1</i> : 표현형 분석 실시를 통해 저항성과 이병성 pool을 확보함	100
		NIL 계통 육성	3 개의 노균병 저항성 영역	- <i>dm2-1</i> : DMBC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> 육성	100

			( <i>dm2-1</i> , <i>dm2-2</i> , <i>dm5-1</i> ) 대상의 여교배 집단 육성	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>dm2-2</i> : DMBC<sub>4</sub>F<sub>2</sub> 육성</li> <li>- <i>dm5-1</i> : DMBC<sub>4</sub>F<sub>2</sub> 육성</li> <li>- <i>dm2-1</i> &amp; <i>dm5-1</i> : DMBC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> 육성</li> <li>- <i>dm2-1</i> &amp; <i>dm2-2</i> : DMBC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> 육성</li> </ul>	
호박 흰가루병 저항성 QTL mapping	호박 흰가루병 저항성 분자마커 개발	육종계통 및 품종을 대상으로 흰가루병 저항성 연관 분자표지의 검정		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 27개의 육종계통 및 국내 상업용 F<sub>1</sub> 품종들을 대상으로 <i>CmaMLO1</i> 및 <i>CmaR1</i> 유전자들로부터 개발된 두 개의 CAPS 마커들(PpmCAPS1과 PpmCAP2)로 유전자형 분석을 수행하여 흰가루병 저항성 판별 마커로써 활용가능성을 확인함.</li> <li>- 이러한 흰가루병 저항성 판별마커들은 협동기관의 육종현장에서 선발효율 증진을 위한 MAS에 활용될 예정이다.</li> </ul>	100
		여교배 육종의 background selection을 위한 분자마커 개발 및 검정		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 차세대염기서열분석방법으로 발굴된 호박 품종들의 genome-wide SNP 마커들의 polymorphic information content 기반으로 500개 마커를 1차로 선발함.</li> <li>- 이들의 염색체 위치를 고려하여 최종적으로 여교배 육종의 background selection을 위한 96개의 마커 세트를 선발함.</li> <li>- 이러한 마커는 호박 20개의 염색체 전체에 분포되어 있으며 각 염색체에서 3-8개 마커들이 존재함.</li> <li>- 국내에서 유통되고 있는 F<sub>1</sub> 품종 48개(<i>C. maxima</i> 15개, <i>C. moschata</i> 18개, <i>C. pepo</i> 7개, <i>C. moschata</i> x <i>C. maxima</i> 8개)를 대상으로 유전자형 분석을 수행하여 background selection 마커 세트를 검증함.</li> </ul>	100
멜론/참외 흰가루병 매핑집단 (F <sub>2</sub> , BC) 육성 및 SNP 발굴, 유전자형 분석	흰가루병 저항성 후보유전자 기반 멜론 흰가루병 저항성 관련 분자 마커 개발	멜론 흰가루병 저항성 MR-1특이 분자마커 개발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 멜론 흰가루병 저항성 관련 유전자 탐색 및 MR-1 흰가루병 저항성 관련 PCR 분자 마커 개발 완료</li> </ul>	100
		MR-1 흰가루병 저항성 후보 유전자를 기반으로 한 특이 판별 마커 개발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 감수성 유전자인 TopMark F2분리세대 검정완료</li> <li>- 흰가루병 저항성관련 멜론 계통 MR-1유전자 F2분리세대 검정완료</li> <li>- 흰가루병 저항성 멜론 계통 (농협 종묘의 15계통)에 대한 흰가루병 저항성 검정</li> </ul>	100
박과작물 육종 지원을 위한 내병성 멜론 품종 개발 연구	멜론 포장 저항성 검정	저항성 유전자원 및 계통의 포장 병리검정		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 저항성 유전자원의 포장 병리검정</li> <li>- 저항성 계통의 포장 병리검정</li> <li>- F<sub>1</sub> 조합의 포장 병리검정</li> </ul>	100
	내병성 분자마커를 이용한 품종 육성	기 개발된 분자마커를 이용한 계통선발		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기 개발된 분자마커를 이용하여 계통을 선발</li> <li>- 실제 포장에서 흰가루병 저항성 검정</li> </ul>	100
	품종등록	흰가루병 저항성 멜론 품종등록		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흰가루병 저항성 멜론 2품종 출원</li> </ul>	100
분자마커를 활	호박 유전자원 수집	국내 및 해외 유전자원 수집		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 품종 수집 및 해외 계통/</li> </ul>	100

용한 흰가루병 저항성 단호박 품종 육성	유전자원 특성 평가	하우스 및 노지재배를 통한 원예적 형질 평가 (국립종자원 호박 특성조사요령 준용)	품종 수집 - 내병성 및 내재해성 특성을 가지는 3계통을 선발 및 고정	100
	내병성 계통 선발	흰가루병 접종 및 저항성 계통 선발	- 저항성 계통 선발 (중도저항성)	100
	조합작성 및 조합검정	고정 계통 10계통을 이용하여 20 조합 작성 및 조합검정	- 우수조합 선발 및 추후 지역적응성 시험 및 조합검정 할예정	100
	유전자원 및 계통 등록	지역적응성 완료 후 계통등록	- 5품종 품종보호출원	100

### 3-3. 정량적 목표 달성

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권		기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과		교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)		
	특허 등록	품종 출원	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출		투자유치	논문			학술 발표	정책 활용		홍보 전시	
												SCI							비SCI
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	명	건	건			
가중치																			
최종목표		10	2	2								12		21		12	4		
1차년도	목표													3					
	실적													4					
2차년도	목표													6					
	실적											2		13	1				
3차년도	목표		4											6			2		
	실적		4									2	1	8	3		2		
4차년도	목표		6											6			2		
	실적		5									11	1	6	9		3		
소계	목표		10											12		21	4		
	실적		9									15	2	31	13		5		
종료 1차년도																			
종료 2차년도																			
종료 3차년도			2	2															
종료 4차년도																			
종료																			

5차년도																		
소 계			2	2														
성과합계		9	2	2							15	2	31		13		5	

3-4. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

##### 4-1. 생산 계획

###### 가. 농우바이오

구분		(2020년) 개발 종료 후 1년	(2021년) 개발 종료 후 2년	(2022년) 개발 종료 후 3년
국 내	시장점유율(%)	5	6	8
	판매량(단위: 봉 )	5,000	10,000	15,000
	판매단가(원)	15,000	16,000	18,000
	국내매출액(백만원)	75	160	270
해 외	시장점유율(%)	0.01	0.015	0.03
	판매량(단위: 봉 )	10,000	20,000	50,000
	판매단가(\$)	20	25	30
	해외매출액(백만\$)	0.2	0.5	1.5
당사 생산능력1)		1,000	1,500	2,000

###### 나. 아시아종묘

구분		(2020년) 개발 종료 후 1년	(2021년) 개발 종료 후 2년	(2022년) 개발 종료 후 3년
국 내	시장점유율(%)	80	85	95
	판매량(단위: kg )	6,000	8,000	10,000
	판매단가(원)	300,000	350,000	400,000
	국내매출액(백만원)	1,800	2,800	4,000
해 외	시장점유율(%)	10	15	20
	판매량(단위: kg )	1,000	1,500	2,000
	판매단가(\$)	180	200	220
	해외매출액(백만\$)	0.18	0.30	0.44
당사 생산능력(단위 ton)		7	10	12

##### 4-2. 투자 계획

(단위 : 백만원)

###### 가. 아시아종묘

항목		(2020년) 개발 종료 후 1년	(2021년) 개발 종료 후 2년	(2022년) 개발 종료 후 3년
매출원가1)		50	40	35
판매관리비2)		50	60	70
자본적 지출	토지	200	300	400
	건물/구축물	300	600	800
	기계장치등			
자본적지출 합계		600	1,000	1,305

#### 4-3. 사업화 전략

##### 가. 농우바이오(주)

구분	구체적인 내용
형태/규모	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 상용화 형태 : 종자 판매</li> <li>○ 수요처 : 농민</li> <li>○ 예상 단가 : 50,000원/봉</li> <li>○ 개발 투입인력 및 기간 : 10명, 4년</li> </ul>
상용화 능력 및 자원보유	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 멜론 매출 국내 1위 기업</li> <li>○ 전국 영업망 확보</li> </ul>
상용화 계획 및 일정	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 2019년 2품종 판매 계획</li> <li>○ 2020년 1품종 판매 계획</li> </ul>

##### 나. 아시아종묘(주)

구분	구체적인 내용
형태/규모	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 상용화 형태 : 흰가루 내병성 호박품종 종자</li> <li>○ 수요처 : 국내 및 국외 호박 종자 시장</li> <li>○ 예상 단가 : 220,000/kg</li> <li>○ 개발 투입인력 및 기간 : 매년 4~5명의 영업직원으로 5~6년 정도 소요 예상되며 내병성 품종으로 대체가능</li> </ul>
상용화 능력 및 자원보유	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 오랜기간 동안 축적된 다양한 품종 및 계통을 보유</li> <li>○ 해외 채종포를 이용하여 세대 단축 및 추가생산을 확보하고 있다.</li> <li>○ 국내 및 해외 영업망을 통하여 신품종의 시장 진출이 용이하다</li> <li>○ 단호박 종자 판매 관련 축적된 노하우를 통한 영업 능력 보유</li> </ul>
상용화 계획 및 일정	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 흰가루 내병성 품종의 개발을 통해 품종등록과 동시에 해외 채종포에서의 빠른 생산으로 2020년부터 국내 영업망을 통한 품종판매</li> <li>○ 2021년 국내 판매와 동시에 해외 판매 개시</li> <li>○ 2022년 수입대체 및 수출 증대효과 기대</li> </ul>

#### 4-4. 사업화를 위한 비즈니스 모델(아시아종묘(주))

##### 가. BM 수립 배경

- 1) 호박 재배면적 계속 증가추세: 2015년도 1,187 ha, 생산량이 39만톤 전망 (한국농촌경제연구원 농업전망, 2016)
- 2) 국내 호박 종자시장: 2015년에 94억 규모, 2014년에 비해 약 24% 증가함 (한국종자협회, 2016)
- 3) 단호박의 수출량은 증가세에 있는데 2015년 2,130톤으로 평년보다 2배 이상 신장하였음. 하지만 수입이 수출보다 11배 이상 높은 무역수지 적자 구조임. 주요 수출국은 일본이며 수입국은 뉴질랜드임 (한국농촌경제연구원, 농업전망 2016)
- 4) 오이, 수박, 참외 등 박과작물의 1인당 연간소비량은 2000년 이후 감소하는 추세인 반면 호박은 증가하고 있음 (한국농촌경제연구원 농업전망, 2016) 나. BM 목표 및 핵심경쟁요인



나. BM

1) BM 목표

- 흰가루병 내병성 단호박 품종 개발을 통한 국내 및 해외 판매 증가
- 현 시장을 점유품종에서 내병성 품종으로 대체를 통한 생산량 및 수익증가

2) 핵심경쟁요인

- 흰가루병 내병성 품종의 경우 차별화된 경쟁력이 될 수 있다.
- 기존 품종을 대체하며, 흰가루병 내병성으로 인해 판매량이 증가한다.

다. 목표 시장 구조

1) 경쟁기업 현황

가) 경쟁기업 현황

- 흰가루 저항성 단호박 품종에 대한 연구와 개발이 지속적으로 이루어지고 있음
- 흰가루 내병성 품종의 수요가 늘고 있다.
- 국내기업 보다 다국적 기업의 개발 속도가 빠르다

나) 경쟁구조

- 흰가루 내병성 품종이 개발될 경우 새로운 시장 개척과 현 시장의 품종을 대체할 가능성 높아짐

2) 시장진입 장벽

- 기존 품종의 경우 내병성 관련 품종이 아니기 때문에 시장진입이 용이하다
- 아시아종묘의 경우 단호박 종자 판매 영업망이 구축되어 있어 시장진입이 용이하다

라. 수익 확보 전략

1) 주요 고객군

- 기존 단호박 생산 농가 및 종자 판매처가 모든 고객군이 된다.
- 단호박 농가의 증가로 인해 유사작물 판매농가가 단호박 판매 농가로 전환될 수 있다

2) BM의 수익창출 방안

- 국내 국외 판매되고 있는 단호박 종자를 대체함으로써 재배 농가의 수익을 높일 수 있다.
- 단호박 종자 생산 단가를 낮춤으로써 대량 판매를 통해 수익을 높일 수 있다.

## 붙임. 참고 문헌

- Appiano, M., Catalano, D., Santillan Martinez, M., Lotti, C., Zheng, Z., Visser, R.G., Ricciardi, L., Bai, Y. and Pavan, S. (2015) Monocot and dicot MLO powdery mildew susceptibility factors are functionally conserved in spite of the evolution of class-specific molecular features. *BMC Plant Biol* 15, 257.
- Ben-David, R., Dinour, A., Peleg, Z., and Fahima, T. (2018). Reciprocal Hosts' Responses to Powdery Mildew Isolates Originating from Domesticated Wheats and Their Wild Progenitor. *Front Plant Sci* 9, 75.
- Berg, J.A., Appiano, M., Bijsterbosch, G., Visser, R.G.F., Schouten, H.J. and Bai, Y. (2017) Functional characterization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) Clade V MLO genes. *BMC Plant Biol* 17, 80.
- Berg, J.A., Appiano, M., Santillán Martínez, M. et al. A transposable element insertion in the susceptibility gene CsaMLO8 results in hypocotyl resistance to powdery mildew in cucumber. *BMC Plant Biol* 15, 243 (2015) doi:10.1186/s12870-015-0635-x
- Berg, J.A., Appiano, M., Santillan Martinez, M., Hermans, F.W., Vriezen, W.H., Visser, R.G., Bai, Y. and Schouten, H.J. (2015) A transposable element insertion in the susceptibility gene CsaMLO8 results in hypocotyl resistance to powdery mildew in cucumber. *BMC Plant Biol* 15, 243.
- Bracuto, V., Appiano, M., Ricciardi, L., Gol, D., Visser, R.G.F., Bai, Y. and Pavan, S. (2017) Functional characterization of the powdery mildew susceptibility gene SmMLO1 in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Transgenic Res* 26, 323-330.
- Chen, Z., Hartmann, H.A., Wu, M.J., Friedman, E.J., Chen, J.G., Pulley, M., Schulze-Lefert, P., Panstruga, R. and Jones, A.M. (2006) Expression analysis of the AtMLO gene family encoding plant-specific seven-transmembrane domain proteins. *Plant Mol Biol* 60, 583-597.
- Cheng, H., Kun, W., Liu, D., Su, Y. and He, Q. (2012) Molecular cloning and expression analysis of CmMlo1 in melon. *Mol Biol Rep* 39, 1903-1907.
- Ellwood, S., Kamphuis, L., Pfaff, T., Oliver, R., Samac, D., Foster-Harnett, B. D., ... Rubiales, D. (2007). Inoculation and growth with foliar pathogenic fungi. In U. Mathesius, EP. Journet, & LW. Sumner (Eds.), *The Medicago Truncatula Handbook* (2 ed., pp. 14pp).
- Fanourakis, N.E. (1990). Screening procedures for powdery mildew resistance in the cucumber. *Acta Hort* 287, 147-154.
- Guo, W.L., Chen, B.H., Chen, X.J., Guo, Y.Y., Yang, H.L., Li, X.Z. and Wang, G.Y. (2018) Transcriptome profiling of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) leaves infected with powdery mildew. *PLoS One* 13, e0190175.
- Hong, Y.J., Hossain, M.R., Kim, H.T., Park, J.I. and Nou, I.S. (2018) Identification of Two New Races of *Podosphaera xanthii* Causing Powdery Mildew in Melon in South Korea. *Plant Pathol J* 34, 182-190.
- Hong, Y.J., Hossain, M.R., Kim, H.T., Park, J.I., and Nou, I.S. (2018). Identification of Two New Races of *Podosphaera xanthii* Causing Powdery Mildew in Melon in South Korea. *Plant Pathol J* 34, 182-190.
- Ingvaridsen, C.R., Massange-Sanchez, J.A., Borum, F., Uauy, C. and Gregersen, P.L. (2019) Development of mlo-based resistance in tetraploid wheat against wheat powdery mildew. *Theor Appl Genet* 132, 3009-3022.
- Iovieno, P., Andolfo, G., Schiavulli, A., Catalano, D., Ricciardi, L., Frusciante, L., Ercolano, M.R. and Pavan, S. (2015) Structure, evolution and functional inference on the Mildew Locus O (MLO) gene family in three cultivated Cucurbitaceae spp. *BMC Genomics* 16, 1112.

- Lee, J.H., Jang, K.S., Choi, Y.H., and Choi, G.J. (2014b). Resistance of Cucurbits to *Podosphaera xanthii* Race 1. *Korean Society for Horticultural Science* 32(5), 673-683.
- Lee, Y., Seo, J., Choi, K.J., Park, I., and Wang, W. (2004). Disease resistance test method of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fusca*) using a leaf disk assay *Res Plant Dis* 10(1), 78-81.
- Luo, M., Wang, Y.H., Frisch, D., Joobeur, T., Wing, R.A. and Dean, R.A. (2001) Melon bacterial artificial chromosome (BAC) library construction using improved methods and identification of clones linked to the locus conferring resistance to melon Fusarium wilt (Fom-2). *Genome* 44, 154-162.
- McCright, J.D. (2006). Melon powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. *J Amer Soc Hort Sci* 131, 59-65.
- Mercier, J., Muscara, M.J. and Davis, A.R. (2014) First Report of *Podosphaera xanthii* Race 1W Causing Powdery Mildew of Watermelon in California. *Plant Dis* 98, 158.
- Natarajan, S., Kim, H.T., Thamilarasan, S.K., Veerappan, K., Park, J.I. and Nou, I.S. (2016) Whole Genome Re-Sequencing and Characterization of Powdery Mildew Disease-Associated Allelic Variation in Melon. *PLoS One* 11, e0157524.
- Nie, J., Wang, Y., He, H., Guo, C., Zhu, W., Pan, J., ... Cai, R. (2015). Loss-of-Function Mutations in CsMLO1 Confer Durable Powdery Mildew Resistance in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Frontiers in Plant Science*, 6. doi:10.3389/fpls.2015.01155
- Pessina, S., Lenzi, L., Perazzolli, M., Campa, M., Dalla Costa, L., Urso, S., Vale, G., Salamini, F., Velasco, R. and Malnoy, M. (2016) Knockdown of MLO genes reduces susceptibility to powdery mildew in grapevine. *Hortic Res* 3, 16016.
- Rispail, N. and Rubiales, D. (2016) Genome-wide identification and comparison of legume MLO gene family. *Sci Rep* 6, 32673.
- Shen, Q., Zhao, J., Du, C., Xiang, Y., Cao, J. and Qin, X. (2012) Genome-scale identification of MLO domain-containing genes in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Genes Genet Syst* 87, 89-98.
- Wang, Y.H., Wu, D.H., Huang, J.H., Tsao, S.J., Hwu, K.K. and Lo, H.F. (2016) Mapping quantitative trait loci for fruit traits and powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo*). *Bot Stud* 57, 19.
- Yu, G., Chen, Q., Wang, X., Meng, X., Yu, Y., Fan, H. and Cui, N. (2019) Mildew Resistance Locus O Genes CsMLO1 and CsMLO2 Are Negative Modulators of the *Cucumis sativus* Defense Response to *Corynespora cassiicola*. *Int J Mol Sci* 20.
- Zhang, H., Guo, S., Gong, G., and Ren, Y. (2011). Sources of Resistance to Race 2WF Powdery Mildew in U.S. Watermelon Plant Introductions. *HortScience* 46(10), 1349-1352.
- Zheng, Z., Appiano, M., Pavan, S., Bracuto, V., Ricciardi, L., Visser, R.G., Wolters, A.M. and Bai, Y. (2016) Genome-Wide Study of the Tomato SIMLO Gene Family and Its Functional Characterization in Response to the Powdery Mildew Fungus *Oidium neolycopersici*. *Front Plant Sci* 7, 380.
- Zhou, S.J., Jing, Z. and Shi, J.L. (2013) Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the MLO gene family in *Cucumis sativus*. *Genet Mol Res* 12, 6565-6578.

<뒷면지>

주 의

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