

213006-05
-5-CGd00

가지과 채소 육종종신속육성및보급체계 확립

최종보고서

2022

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

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

Golden Seed 프로젝트 사업 2단계 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003928-01

가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립

2022. 3. 25.

프로젝트연구개발기관 / 국립원예특작과학원
세부프로젝트연구개발기관 / (주) 유니플랜텍

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립”(기간 : 2017. 1. 1. ~ 2021. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 3. 25.

프로젝트연구기관명 : 국립원예특작과학원 (대표자) 이 지 원 (인)



세부프로젝트연구기관명 : (주) 유니플랜텍 (대표자) 윤 여 중 (인)



프로젝트연구책임자 : 양 은 영
세부프로젝트연구책임자 : 윤 여 중

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	213006-05-5-C Gd00	해당단계 연구기간	2017.1.1.~ 2021.12.31.	단계구분	(2단계)/ (2단계)
연구사업명	단위사업	Golden Seed 프로젝트사업			
	사업명	GSP채소종자사업단			
프로젝트명	프로젝트명	가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립			
	세부프로젝트명	1세부 : 고추 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급 2세부 : 파프리카 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급			
프로젝트책임자	양은영	해당단계 참여연구원 수	총: 32명 내부: 27명 외부: 5명	해당단계 연구개발비	정부:716,000천원 민간:100,000천원 계:816,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 32명 내부: 27명 외부: 5명	총 연구개발비	정부:716,000천원 민간:100,000천원 계:816,000천원
연구기관명 및 소속부서명	국립원예특작과학원			참여기업명 유니플랜텍	
국제공동연구	해당없음				
위탁연구	해당없음				
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반과제				

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시 설·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호		10-22 42581, 10-19 60860									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

(1세부)

- 특허출원 및 등록 : 고추 shed 소포자 배양에 의해 얻어진 배로부터 2-step 재분화에 의한 소포자 유래 반수체 또는 배가반수체 식물체를 생산하는 방법 특허출원(10-2018-0165010) 및 등록(10-2242581호)
- DH line 개발 및 분양 : 민간육종회사 및 대학 7개소에서 의뢰한 29품종 대상 1,243점 분양

(2세부)

- 특허등록 : 조직배양 식물체의 대량순화 시설물 (10-1960860호)
- 자원분양 : 파프리카 소포자유래 식물체 종자149립
- DH line 분양
 - 파프리카 소포자유래 식물체 417점
 - 십자화과 배상체 순화 및 분양 4,590점
 - 대일국제종묘에 무 545개체, 배추 2,502개체 분양, 국립원예특작과학원에 무 156개체, 배추 389개체 분양, 충남대학교에 뿌리배추 58개체 분양, 한국종묘에 무*배추 22개체, 배추 770개체 분양, (주)코레곤에 배추 13개체 분양, 진흥종묘에 배추 135개체 분양

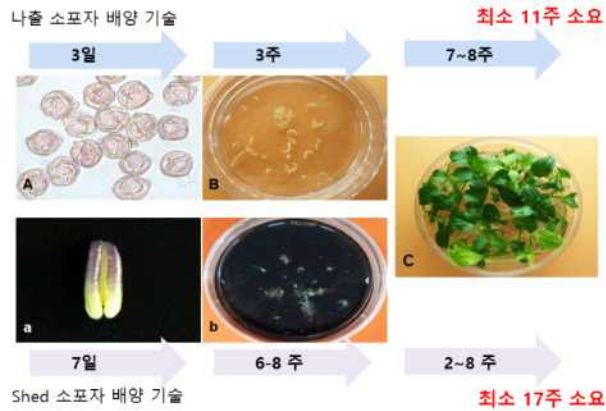
보고서 면수

154

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수출용 가지과 채소 품종육성 효율증진을 위한 소포자/약배양 기술 이용 우수 육종재료 개발 ○ 모식물체의 유전적, 생리적 특성에 따른 배양 효율증진 방법 연구 ○ 소포자 유래 배상체의 식물체 유기 및 조기 DH line 보급 ○ GSP 채소종자사업단 소포자 유래 배상체의 식물체 유기 및 순화를 통한 DH line 보급
<p>연구개발성과</p>	<p><1세부프로젝트></p> <p>1. 고추 나출 소포자 배양 효율 개선</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 모식물 관리는 저광도에서 단기간 재배하는 것이 좋음 ○ 전처리 온도 및 기간 구명 (32℃에서 3일간) ○ 배지 내 차콜농도는 농도가 높아질수록 배발생을 감소함 ○ 액체배양, 이층배양, 2-step 배양 중 품종에 따라 다른 반응 보여 품종에 따라 적합한 선택이 필요함 <p>2. 고추 shed 소포자 배양 효율 개선</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 전처리 온도 및 기간 구명 (9℃에서 7일간) ○ 저온처리 기간에 따른 배발생은 배발생 효율 및 정상자엽배 획득 측면에서 9일 처리가 가장 좋음 ○ 고체배지 종류 : NLN > 1/2NLN > NN > MS ○ 기아 전처리(maltose 농도)에 따른 배발생 효율 : 전처리배지 0%+추가배지4% > 전처리배지1%+추가배지3% > 전처리배지2%+추가배지 2% ○ 품종에 따른 배지 pH : 밀양재래 전처리배지 6.0 - 배양배지 6.0, 7QF4, 7QF9 전처리배지 8.0 - 배양배지 8.0 ○ 탄소원 종류는 sucrose, maltose간 차이 없음 ○ 탄소원(sucrose) 농도 : 밀양재래 6%, LV2319 4%, Long fruit 6,10% → 품종에 따라 다름 ○ 재분화조건 개선 <ul style="list-style-type: none"> - 재분화 단계를 2단계로 설정하고 배양 6주 된 소포자배를 90x20mm 용기에 1번 옮긴 후 2-4주 후 100x40mm에 옮겨 완전한 식물체로 발달시킬 수 있어 재분화 효율이 기존 3.3~9.8%에서 59.1~77.4% 로 평균 12.9배 향상 - 20주 이상 장기간 배양 시 반응이 없는 품종의 경우 재분화 배지로 이동하여 바로 명배양하거나 1주일간 암처리 후 명배양 할 경우 다수의 재분화 식물체를 획득할 수 있음

3. 고추 소포자 유래 반수체/배가반수체 생산 및 보급



- 나출/shed 소포자 배양 2 track 시스템 이용 민간회사 및 대학 의뢰 29품종 대상 5년간 1,243점의 식물체 획득 및 분양 완료
- 고추 소포자 유래 식물체의 육종 소재화를 위해 재분화 당대 및 후대 식물체의 주요 원예적 특성평가 및 D/B화 완료

<2세부프로젝트>

1. 파프리카 소포자 배양조건 확립

○ shed-소포자배양 조건 구명

- 배발생에 효과적인 기본배지(Nitsch) 구명
- 배발생율이 높은 품종(F2 발타사, F1나가노) 구명
- 배발생율을 높이기 위한 4°C저온처리 효과(봉오리 채집 후 저온 처리 하지 않는 것이 효과 좋음) 구명
- 배발생율을 높이기 위한 봉오리채집 시기(고온기)구명
- 정상적인 배발생율을 높이기 위한 모본의 세대 및 유전자형(Red형-발타사, 나가노) 구명
- 배발생율을 높이기 위한 호르몬처리(고체배지에 Zeatin 2.5uM, NAA 5uM) 구명
- 배발생효율을 높이기 위한 항산화제처리 농도(L-ascorbic acid 10ppm) 구명

○ 나출 소포자 배양조건 구명

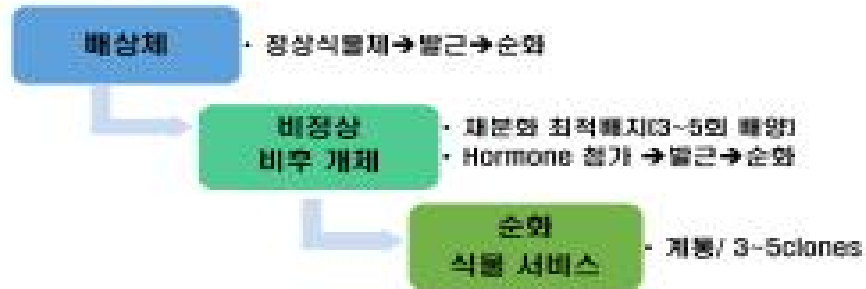
- 소포자 나출을 위해 적합한 container(30ml Microblender-Waring 1.0Liter 2speed Base, SS container, 30ml E8575)선발
- 나출 소포자 전처리 배양시 오염율을 줄이기 위한 항생제 종류 및 농도(Streptomycin 2ppm, Cefotaxime 3ppm)
- 배발생율을 높이기 위한 전처리 배지의 Mannitol농도(F1품종에서는 0.37M, F2품종에서는 0.4M)구명
- 배발생율을 높이기 위한 품종(F1 요리트)구명
- 배발생율을 높이기 위한 배양배지(NLN)에 첨가되는 탄소원(10% Sucrose)구명
- 배발생효율을 높이기 위한 호르몬처리(전처리시 L-ascorbic acid 1ppm) 구명

연구개발성과

2. 파프리카 유기 배상체의 식물체 분화 적정 배지구명

- 소포자유래 배상체 →1/2MS No hormone배지 →Callus화된 비정상 식물체 →1/2MS+Kinetin 0.2ppm배지
- 소포자유래 배상체 →1/2MS No hormone배지 →정상 식물체→1/2MS No hormone배지

3. 파프리카 소포자유래배로부터 정상식물체 유도



4. 파프리카 소포자 유래 DH line서비스

- 2017년도 전북농업기술원 파프리카 연구소에 67개체의 식물체분양
- 2018년도 전북농업기술원 파프리카 연구소에 188개체의 식물체 분양
- 2019년도 전북농업기술원 파프리카 연구소에 56개체의 식물체 분양
- 2020년도 삼성종묘에 종자 149립 분양
- 2021년도 전북농업기술원 파프리카 연구소에 106개체 식물체 분양

5. 십자화과 소포자 유래배 정상식물체유도

- 인수된 소포자유래 배상체로부터 정상식물 유도용 배지 개발 (MS+1ppm 6-benzylaminopurime+0.02ppm NAA)
- 십자화과 소포자 유래배상체로부터 정상식물체 유기 및 식물체 순화(고체배지 90*20mm petri-dish에 1/2MS No Hormone+2% sucrose→1주간격 1~2회 계대→비정상적인 식물들은 MBN(MS+1ppm BA+0.02ppm NAA)으로 옮겨 정상식물체로 유도→정상식물체로 유도된 것은 고체배지 90*90mm petri-dish(SPL) 1/2MS No Hormone으로 옮겨 발근유도→순화
- 순화용 Microponic-culture system 특허등록(10-1960860)

6. 십자화과 소포자유래 DH line 서비스

- 2017년도 대일바이오 배추 604개체 분양
- 2018년도 대일바이오 무 21개체, 배추
- 2019년도 대일바이오 배추 384개체, 한국종묘 배추 465개체, 국립원예특작과학원 무 156개체 분양
- 2020년도 코레곤 배추 13개체, 한국종묘 배추 305개체, 국립원예특작과학원 배추 227개체, 진흥종묘 배추 135개체, 대일국제종묘 배추 578개체/무 78개체 분양
- 2021년도 대일국제종묘 배추 676개체/무 446개체 분양

연구개발성과

<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 형질을 보유한 우수계통 개발로 유전적 다양성 증가 ○ 가지과 채소 약배양 기술이 가진 체세포 유래 2배체 획득의 단점을 보완, 배형성률을 높여 품종 육성연한을 단축하고 육종경비를 절감할 수 있음 ○ 목표로 하는 형질을 가진 DH 계통을 신속하게 획득하여 실제 품종육성 재료로 사용가능 ○ 독자적인 한국형 반수체 육종시스템 원천기술 확보 및 기술이전으로 국내 종자회사의 자립도 향상 및 연구기반 확립에 기여 ○ 소포자배양에서 유기된 DH line 확보 효율증대, 육종소재 이용 효율증대 ○ 국립종자원 국제종자 생명교육센터와 연계한 소포자 배양기술 교육 ○ DH line을 이용한 디지털 육종 시스템 활용기술 개발 후속과제 응모 ○ 소포자 배양기술 확대를 위한 기관 자체연구 기획 및 수행 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>고추</p>	<p>파프리카</p>	<p>배가반수체</p>	<p>소포자배양</p>	<p>배발생</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Hot pepper</p>	<p>Paprika</p>	<p>Doubled haploid</p>	<p>Microspore culture</p>	<p>Embryogenesis</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

〈 목 차 〉

제1장 연구개발과제의 개요	1
제1절 연구개발의 목적	1
제2절 연구개발의 필요성	1
1. 고추 및 파프리카 육종재료 개발의 필요성	1
2. 식물 반수체 배양기술 연구현황	2
3. 고추 및 파프리카 반수체 육종기술 문제점 및 해결방안	2
제3절 연구개발 범위	6
제2장 연구수행 내용 및 결과	9
제1절 고추 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급	9
1. 재료 및 방법	9
2. 소포자 배양 조건 확립	14
3. 소포자 유래 반수체 및 배가반수체 분석	35
4. 유용형질 및 외부 의뢰품종 소포자 유래 식물체 개발 및 분양	38
5. 소포자 유래 반수체 및 배가반수체 특성검정	49
6. 소포자 유래 배가반수체 후대 특성검정	64
7. 품종별 음성배우체 발달 양상 비교	73
8. 소포자 유래 반수체 및 배가반수체 생산 소요기간 비교	76
제2절 파프리카 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급	77
1. 배양 모본의 준비	77
2. 소포자 배양 조건	78
3. 소포자 배양 조건 확립	80
4. 소포자 배양을 통한 DH line 유기	93
5. 소포자 유래 배로부터 정상식물체 유도	95
6. 파프리카 소포자 유래 DH line 서비스	97
7. 십자화과 소포자 유래 배 정상식물체 유도 및 DH line 서비스	105
제3장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	122
제1절 목표	122
제2절 목표달성 여부	122
제4장 연구결과의 활용계획	127
제1절 특허, 논문, 제품 측면	127
1. 특허분석 측면	127
2. 논문분석 측면	127
3. 제품 및 시장분석 측면	127
붙임. 참고 문헌	129
<p><별첨 1> 연구개발보고서 초록 <별첨 2> 연구성과 활용계획서</p>	

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

본 과제는 수출용 고추, 파프리카를 중심으로 한 가지과 채소 품종육성 효율증진을 위해 소포자 및 약배양 기술을 이용하여 우수 육종재료 개발하기 위해 수행되었다. 이를 위해 모식물체의 유전적, 생리적 특성에 따른 배양 효율증진 방법을 연구하고 고추, 파프리카 소포자 유래 배상체로부터 식물체를 유기하고 조기에 DH line 보급하며 GSP 채소종자사업단 참여 기업 및 대학에서 의뢰한 고추, 파프리카 소포자 유래 재분화 식물체를 생산하고 십자화과 소포자 유래 배상체를 순화하여 민간기업에 보급하고자 하였다.

제2절 연구개발의 필요성

1. 고추 및 파프리카 육종재료 개발의 필요성

고추는 우리나라 채소종자 수출액의 약 25%(2021년 한국종자협회 자료)를 차지하여 우리나라 종자수출 비중이 가장 높은 채소작목이다. 건고추는 우리나라에서 1975년 이래 한동안 채소류 중 가장 넓은 재배면적을 차지하고 있었지만 2000년대 들어 지속적인 감소추세를 보이고 있다. 2021년의 재배면적은 33,373ha에서 92,756M/T의 건고추가 생산되었다. 노지에서 재배되는 건고추는 수확 시 노동력의 투입이 많은데, 농업·농촌의 고령화 문제와 농업 노동력 부족 문제, 그리고 전체적인 생산비 증가에 따른 농가의 부담 증가로 인해 재배면적이 감소하는 추세이다. 또한 건고추는 고온, 건조, 태풍, 폭우 등의 기후 요인에 따라 영향을 많이 받기 때문에 재배면적과 생산량이 해에 따라 많은 차이를 보인다. 풋고추의 재배면적은 비닐하우스 보급 확대 등으로 풋고추 재배기반이 마련됨에 따라 풋고추 재배면적이 크게 늘었으나, 최근에는 농가의 생산비 부담이 증가함에 따라 풋고추 재배면적이 감소하는 양상을 보이고 있다. 단수는 시설재배 체계 확립과 품종 개량 등으로 인해 증가했으나, '10년대에 들어서 재배면적이 감소함에 따라 단수도 소폭 감소하였다. 생산량은 '10년대 이전까지 꾸준히 증가했으나, '10년대 들어 전체적인 재배면적의 감소에 이어 생산량이 소폭 감소하였다. 2020년 재배면적은 4,387ha, 생산량은 183,348M/T으로 10a당 평균 수량은 4,179kg 수준이다.

우리나라는 고추 육종기술, 특히 옹성불임을 이용한 일대잡종 품종육성이나 내병성 품종육성에 있어서는 전 세계적으로 최고의 기술을 보유하고 있으나 유전자원의 변이 폭이 매우 제한적이기 때문에 형태적으로 유사한 품종들이 육성되어 보급되고 있다.

우리나라 파프리카 재배는 1990년대 중반부터 일본 수출품목으로 급속히 성장하여 2011년에는 경기, 강원, 경남 및 전남 등지에서 영농조합위주로 424ha의 면적에서 43,160여톤이 생산되었고, 이중 16,500톤을 수출하여 6,590만불의 수출실적을 달성하여 채소 작물 최고의 수출효과 품목으로 재배되었다. 2011년 이후 세계 경제침체와 함께 일본수출이 둔화되기 시작하였으나 2000년부터 2015년까지의 통계를 살펴보면 재배면적, 생산량, 수출량, 수출액 모두 증가한 것으로 나타났고, 2015년 총 재배면적은 2000년 대비 재배면적 707ha, 생산량 73,000여톤, 수출액 8,520만불로 모두 증가하는 경향을 보였다. 그 중에서 내수비중은 2000년 9%대비 2015년 60%까지 급격히 증가하는 경향을 보였다. 향후 국내 파프리카 시장은 꾸준한 재배면적과 내수시장 확대 및 수출이 확대될 것으로 기대된다.

전 세계 고추시장의 약 40%를 단고추가 차지하고, 북미, 유럽시장이 대부분차지하고, 아시아 시장은 매운 고추가 85%, 단고추가 약 13%, 단고추 재배면적이 해마다 증가, 파프리카를 포함하

는 단고추의 생산량은 스페인, 미국, 터키, 네덜란드, 멕시코 등이 전세계 파프리카 주요 생산국이다. 품종군 별로는 단고추 중 blocky type의 파프리카가 종자시장의 55% 가량을 차지하며 압도적으로 크며, lamuyo type 파프리카와 피망은 각각 24%, 21%를 차지하고 있다. 현재 파프리카 품종은 유럽 및 미국의 다국적 기업으로부터 전량 수입되고 있으며 ha당 종자구입비는 약 18,500천원으로 추정, 국내 파프리카 재배면적 434ha에 필요한 종자구입비는 약 83억으로 추정한다. 품종별 재배비율은 적색 품종이 62%, 황색31%, 주황색 7%, 적색품종에는 Veyron(Enza Aaden), 황색품종은 Coletti(Enza Zaden), 주황색은 Orange glory(세미니스)가 가장 높은 점유율을 보이고 있다. 이들 품종은 세계적으로 판매되는 우량품종이나 파프리카의 재배기술이 주로 겨울 작형에 맞춰져 있어 실제로 여름작형 농가에서는 적용하기 어려움이 있으며, 여름재배중 저일조, 고온, 다습 등의 지상환경 요인에 따른 수분관리의 어려움이 파프리카 고품질 다수확을 떨어뜨리는 요인이 되고 있어 다양한 작형 및 국내 환경에 적합한 품종의 개발이 필요하다.(GSP 파프리카 상세기획보고서).

수출시장 확대 및 종자수출액 증대를 추진하는 골든시드프로젝트의 목표 달성을 위해서는 수출시장별 우수한 형질을 가진 자원보유가 매우 중요하나 우리나라 고추 및 파프리카 육종시 활용되어 온 유전자원의 변이 폭은 매우 제한적이므로 반수체 육종법 활용을 이용한 다양한 계통개발은 빠른 기간 내에 육종소재 부족의 한계를 만회하며 다양화된 수출시장에 적합한 육종재료를 획득할 수 있는 전략이 될 수 있다.

2. 식물 반수체 배양기술 연구현황

반수체는 콜히친 등과 같은 방추사 생성억제제를 처리하여 단세포에 100%로 동형접합자인 배가반수체(Doubled haploid)를 용이하게 만들 수 있으므로 식물 육종에 매우 유용하게 이용될 수 있다. 반수체를 인위적으로 생산할 수 있는 방법으로 가장 널리 이용되고 있는 것은 약배양과 소포자 배양이다. 또한 소포자 및 약배양을 통하여 획득되는 배상체는 동형배수체 비율이 40~50%로(윤 등 1990) 그 이용률이 매우 높고, 배추과에서는 약배양은 이미 실용화되었고, 현재는 소포자 배양이 육종에 널리 이용되고 있다.



그림 1-1. 고추 약배양을 통한 식물체 획득

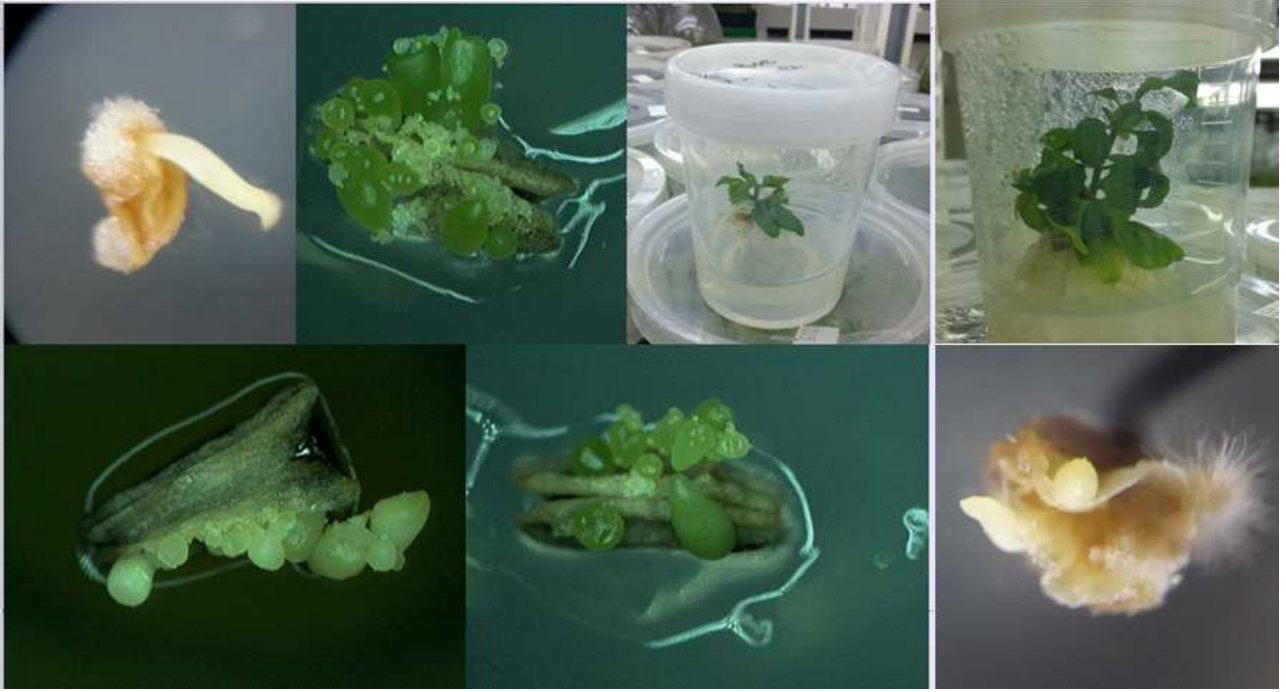


그림 1-2. 파프리카 약배양을 통한 식물체 획득

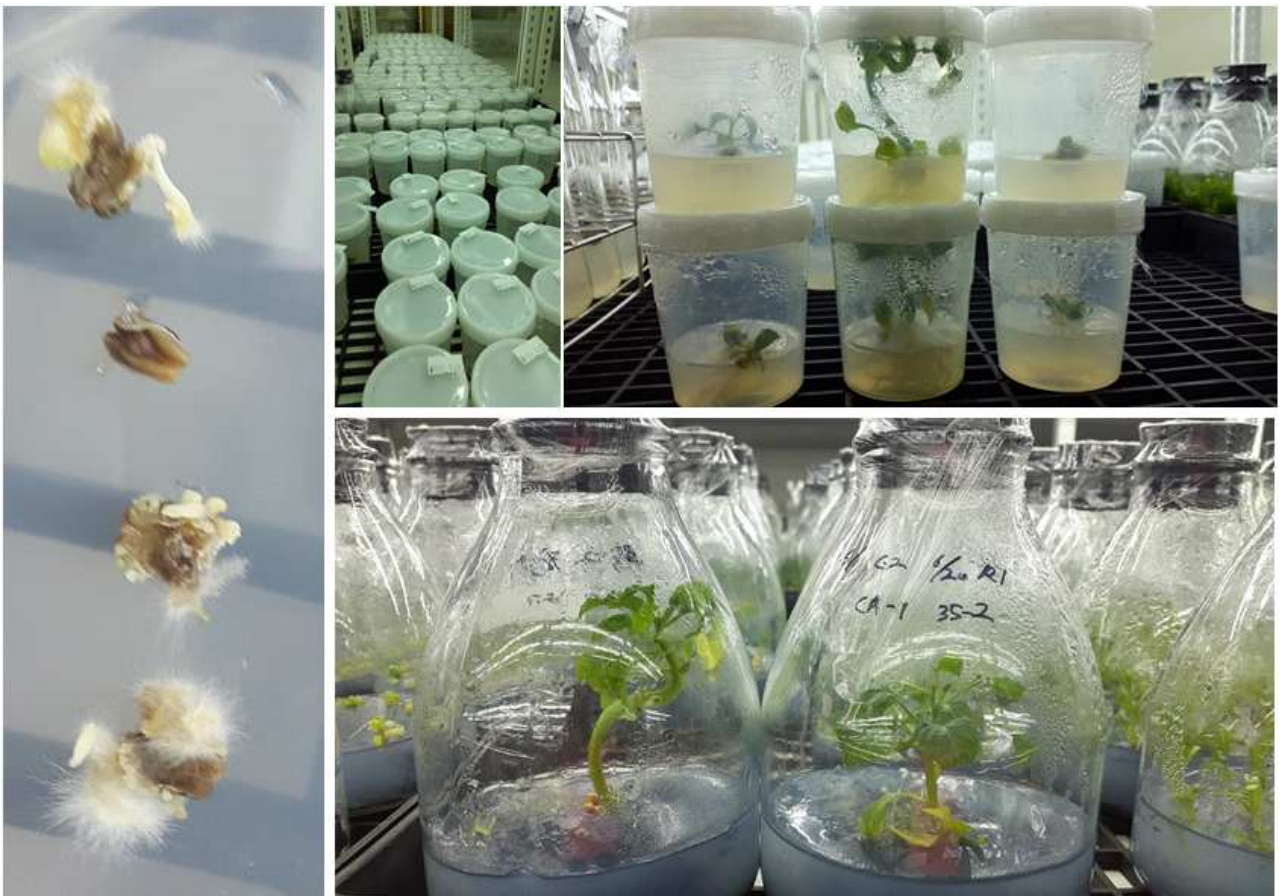


그림 1-3. 파프리카 약배양을 통한 식물체 획득



그림 1-44. 고추 약배양 유래 반수체(좌) 및 2배체(우)

소포자 배양은 다음과 같은 점에서 약배양에 비해 효율적이다.

- ① 약배양시에는 체세포조직인 약벽조직과 반수성 조직인 소포자가 혼재하므로 체세포 유래의 배와 소포자배가 섞일 가능성이 있으며, 약벽조직의 증식으로 소포자배 발생에 방해받을 우려가 있으나 소포자 배양 시에는 이와 같은 문제가 없음.
- ② 약배양 시에는 각기 다른 화분 유래의 callus가 발생할 가능성이 있어 식물체로 분화 시 chimeric plant가 생겨날 수 있으나, 소포자 배양의 경우에는 한 개의 소포자로부터 한 개의 배가 발달하기 때문에 이러한 문제를 피할 수 있음.
- ③ 약배양 시에는 약내의 화분발달이 비동조적으로 일어나서 적기의 소포자만이 포함된 약만을 배양하기가 어려우나 소포자 배양 시에는 농도구배원심분리에 의해 발달단계가 같은 적기의 소포자 집단을 만들 수 있음.
- ④ 약배양의 경우에는 배발생 효율이 낮는데 반해 소포자 배양 시에는 배발생 효율이 매우 높다. 유채의 경우에는 소포자 배양이 약배양에 비해 60배 이상의 배발생 효율이 높으며 (Swanson, 1990), 밀의 경우에는 소포자 배양을 통해 발생하는 배의 수가 10만개의 소포자 배양 시 1,350개의 배를 획득할 수 있음(Kunz et al. 2000).

이와 같은 장점에도 불구하고 나출 소포자만을 배양하여 배를 획득하기가 어려워 전 세계적으로 소포자 배양에 성공한 작물은 유채, 밀, 보리, 옥수수, 벼 등으로 그 종류가 매우 적은 것으로 보고되고 있다. 소포자 배양 시 배양 소포자 중 일부만이 배로 발달하고 대부분이 퇴화되므로 배양 소포자가 배로 발달하도록 적합한 조건을 만들어 주어야 하는데, 이를 위해서는 치상 전·후 온도전처리, 전처리 배지, plating density, 자방 또는 약과의 공동배양, inducer chemical 첨가 등의 효과를 밝히는 연구가 수행된 바 있다. 또한 소포자 유래의 배를 정상적인 자엽배로 발달시키기 위해서 적절한 배양 조건이 필요한데 이를 위해 배지의 조성, 당의 종류 및 농도, 배양 방법 등 영향을 밝히는 연구들이 이루어지고 있다.

소포자 유래 식물체는 대부분이 반수체이나 자연적으로 배가된 2배체도 출현하는데 육종이나 식물생명공학 분야에 응용하기 위해서는 배가반수체로의 발달이 매우 중요하기 때문에 콜히친과 같은 방추사형성 억제 물질을 처리하기도 한다. 유채의 경우에는 최대 70%, 고추의 경우에는 약 30%의 소포자 유래 식물체가 자연적인 배가반수체인 것으로 보고되고 있다.

소포자 유래의 배가 반수체는 당대에 형질을 고정할 수 있어 관행적으로 형질을 고정시키기 위해 수행되어 왔던 5~6회 혹은 그 이상의 자가수분 과정이 불필요하여 육종연한을 단축시킬 수 있다.

소포자는 반수성이므로 열성변이 이용이 가능하며, 선발단위가 반수성 배로 식물체수준에서 선발하는 기존 방법에 비해 시간과 비용을 절감할 수 있다. 또한 소포자 유래 식물체는 반수성 또는 배가반수성이므로 당대에 동형 접합자를 생산, 신속한 형질고정이 가능하여 도입 유전자의 고정이 단기간에 이루어지기 때문에 식물체 전체가 형질전환된 완전한 형질전환 식물체를 획득할 수 있다.

현재는 다수의 식물에서 반수체, 배가반수체 확보가 가능해지면서 육종, 형질전환, 배발생 연구 이외에도 기초 및 응용연구에 활용되며, 차세대 염기서열 분석기술(NGS, next generation sequencing)이 도입되면서 반수체, 배가반수체 육종은 그 중요성이 더욱 부각되고 있다.

주요작물의 유전체가 해독되고 있으나 반복서열이 많고, 염색체가 배수화되고 이형접합성을 보이는 식물은 구조유전체의 해독이 여전히 어려운 실정이어서 순계 재료를 확보하는 것이 게놈 프로젝트의 필수요소이기 때문에 고정된 계통과 집단이 필수적이며 이를 빠르게 구축하기 위해서는 배가반수체 기술이 더욱 중요시되고 있다.

국내에서 개발된 고추 소포자 배양기술은 목원대 김문자 교수팀이 처음 식물체 재분화에 성공한 것으로 보고되었으며(Park et al. 2005, Kim et al. 2006), 전처리 온도, 배지조성 및 조건, 기간, inducer chemical 처리, 재분화 환경조건 구명 등의 연구를 수행하였다.

국의 고추 소포자 배양관련 연구는 헝가리, 캐나다, 스페인 등을 중심으로 진행되고 있으며 배지별 식물체 획득 효율분석, 최적 성장조절제 조성, 온도처리 등에 대한 연구가 수행된 바 있으며 모식물체에 따른 소포자 배양 성공률 분석 관련 연구도 일부 수행된 바 있다. 또한 인도네시아에서 적기의 소포자가 포함된 약을 꽃봉오리로부터 적출하여 고체배지위에 치상 후 액체배지를 첨가하여 2층 배양을 시도하는 방법인 shed- microspore culture (이층배지를 이용한 약배양) 기술을 개발하여 실제 상업용 품종 육성에 활용 중이다.

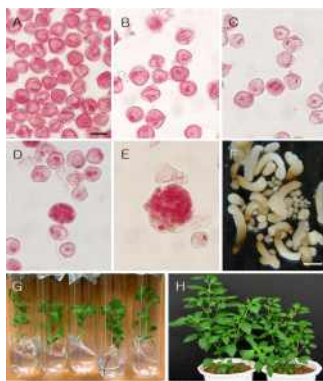


그림 1-5. 고추 소포자 배양 과정(Kim 등, 2006)



그림 1-6. 전처리 재료 및 배지 종류에 따른 소포자배 발생(Kim 등, 2010)

고추와 같은 가지과 채소인 피망(*Capsicum annuum* L.)은 1981년 Dumas De Vaulx등에 의하여 약배양에 성공한 보고가 있고, 1990년 윤 등에 의해 고추 약배양이 성공하였고, (주)농진종묘에서 고추 약배양 유래 식물체를 이용한 품종육성이 진행되었다. 파프리카는 2007년, 2010년, 2011년 김 등에 의해 고추 소포자 배양 결과가 보고되었다. 2012년 Csaba Lantos등에 의해 sweet pepper의 소포자 배양이 보고되었지만, 소포자 유래 DH line을 대량생산하여 육종에 이용했다는 연구결과는 아직까지 보고되고 있지 않다.

3. 고추 및 파프리카 반수체 육종기술 문제점 및 해결방안

고추 및 파프리카 반수체 획득을 위해 대부분 약배양 기술이 활용되고 있었으며 2017년 본 과제가 시작할 당시 소포자 배양은 아직 실용화되기 전 단계였다. 당시 소포자 배양이 실용화된 작물은 유채, 밀, 보리 등 소수의 식물에 국한되어 있으며 대부분의 식물에서는 소포자 배양에 성공하지 못하였거나 성공한 식물에서도 배발생 비율이 매우 낮은 것으로 보고되었다.

고추의 경우에는 Testillano 등 (1985)과 Regner 등 (1996)에 의해 소포자 배양이 성공한 이후 박 등 (2005), Kim 등 (2006)이 나출 소포자 배양을 시도하여 다수의 배와 식물체를 확보하였으며 나출 소포자 배양은 모든 작물에서 품종 간 차이가 큰 것으로 보고되고 있으나 Kim 등은 밀양재래 품종만을 대상으로 소포자 배양 연구를 수행하였다.

따라서 다양한 품종에서 반수체를 획득할 수 있는 안정적인 기술확립이 필요하며, 국내에서는 shed-microspore 배양을 통해 소포자 유래의 배와 식물체를 확보하였다는 보고가 없으므로 나출 소포자 배양 뿐만 아니라 shed-microspore 배양 방법을 확립하여 다양한 품종에서 육종재료를 확보하는 것이 반드시 필요하였다.

본 연구팀은 GPS 1단계 사업 수행결과 고추 소포자 배양 방법 확립을 위한 연구를 진행한 바 있으며 밀양재래 품종을 이용, 1개의 배양용기에서 95.6개의 소포자 유래의 배를 확보하였으며, 2층 배양을 시도하여 배양용기 1개 당 23.8개의 정상자엽배를 확보하였다. 확보한 정상 자엽 배는 재분화 배지에 옮겨 유식물체로 발달시켜 흡에서 순화 후 정식하여 다수의 식물체를 생산하고 반수체/배가반수체의 주요 원예적 특성을 조사하였다.

본 연구팀은 위와 같은 선행 연구결과를 기반으로 수출용 고추 및 파프리카 품종육성 시 우수 선발자원의 다양한 후대 계통을 단기에 육성할 수 있는 반수체 배양 기술을 확립하고 확립된 반수체 육종 시스템을 실제 품종육성 단계에 도입하고자 2단계 연구를 수행하였다.



그림 1-7. 국립원예특작과학원 개발 고추 소포자 유래 DH 계통(GSP 1단계)

제3절 연구개발 범위

<1세부 : 고추 육종재료 신속육성 및 보급체계 확립>

연구개발의 목표	연구개발의 범위
1. 고추 나출 소포자 배양 효율 개선	<ul style="list-style-type: none"> ○ 온실에서의 모식물 생육조건 확립 ○ 배양방법 및 품종별 나출 소포자 배양 효율 ○ 배지내 charcoal, 전처리 온도 및 기간 확인
2. 고추 shed-microspore 배양 효율 개선	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전처리 온도 효과, 저온처리기간별 배발생 효율 및 정상자엽배 획득률 확인 ○ 고체배지 종류, 전처리 및 추가배지 내 maltose 농도효과, 품종별 배지 pH 효과 ○ 탄소원 종류별 배양효과, 탄소원 농도 확인 ○ 배양방법 및 재분화방법 개선으로 재분화율 향상 ○ 품종에 따른 소포자 배양효율 및 응성배우체 발달 양상 비교
3. 고추 소포자 유래 반수체/배가반수체 생산 및 보급	<ul style="list-style-type: none"> ○ 내부보유 및 외부요청 재료 대상 소포자 배양실시 <ul style="list-style-type: none"> - 50점 이상 보급/1년 ○ 고추 소포자 유래 반수체/배가반수체 식물체 특성평가 ○ 고추 소포자 유래 배가반수체 후대 원예적 특성 평가

<2세부 : 파프리카 육종재료 신속육성 및 보급체계 확립>

연구개발의 목표	연구개발의 범위
1. 파프리카 나출 소포자 배양조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전처리 배지의 Mannitol농도가 배발생에 미치는 영향 ○ 품종이 배발생에 미치는 영향 ○ 배양배지에 Carbon source 첨가시 배발생에 미치는 영향 ○ Container에 따른 소포자 나출 효과 ○ 오염원제거 항생제 개발 ○ 항산화제 처리에 따른 배발생을 조사
2. 파프리카 Shed-소포자 배양조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> ○ 품종이 배발생에 미치는 영향 ○ 4℃ 저온처리가 배발생에 미치는 영향 ○ 모본의 세대가 배발생에 미치는 영향 ○ 과색이 배발생에 미치는 영향 ○ 호르몬 처리에 따른 배발생 효과 ○ 배양배지에 따른 배발생을 조사 ○ 항산화제 처리에 따른 배발생을 조사
3. 유도 소포자 유래 배로부터 정상식물체 확립을 위한 배양 Protocol개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 재분화 배양조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 분화배지(1/2MS)에 호르몬(BAP)첨가가 정상식물체 유기율에 미치는 영향 - 소포자 유래 ELS(비정상배)를 분화배지(1/2MS)에 호르몬 첨가(0.2, 0.5mg/L, Zeatin, Kinetin)가 정상식물체 재분화율에 미치는 영향 ○ 십자화과 순화조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 소포자유래 배상체를 정상식물체 유도배지에 이식하여 비정상개체의 조직을 치밀화 개체로 분화 및 multiple shoot를 유도함

	<ul style="list-style-type: none"> - 유도된 multiple shoot는 rooting배지에 이식하여 정상식물체로 유도 - 순화율을 높이기 위하여 1단계 대량순화장치(Microponic-culture system, 특허출원 10-2016-0168338)을 이용하여 지속적으로 air를 공급하면서 서서히 습도가 맞춰질 수 있는 조건으로 진행 ○ 십자화과 소포자유래배 정상식물체 재분화 조건 확립 - 배발생 즉시 1/2MS No hormone배지에 이식(90*20mm petri-dish)→ 7~10일 간격으로 정상식물체 유도까지 계대배양(2회~10회) - 배지: 1/2MS No hormone→MS+1ppm BA+0.02ppm NAA - 발근 및 정상식물체→1/2MS No hormone배지 이식
--	--

제2장 연구수행 내용 및 결과

제1절 고추 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급

1. 재료 및 방법

가. 식물 조직배양 및 배우체성 배발생

식물은 모든 기관 및 세포는 식물체로 발달할 수 있는 능력인 전형성능 (totipotency)을 가지고 있다. 식물체 모든 기관은 세포배양이 가능하며, 배양체로부터 완전한 식물체를 생산할 수 있다 (그림 2-1). 그러나 전체 기관 중 반수성 기관은 배우체성 기관이며, 웅성배우체성 기관인 화분, 자성배우체성 기관인 난세포 뿐이다 (그림 2-2). 본 연구팀은 웅성배우체성 기관을 재료로 하여 반수체 또는 배가반수체를 생산하고자 한다.

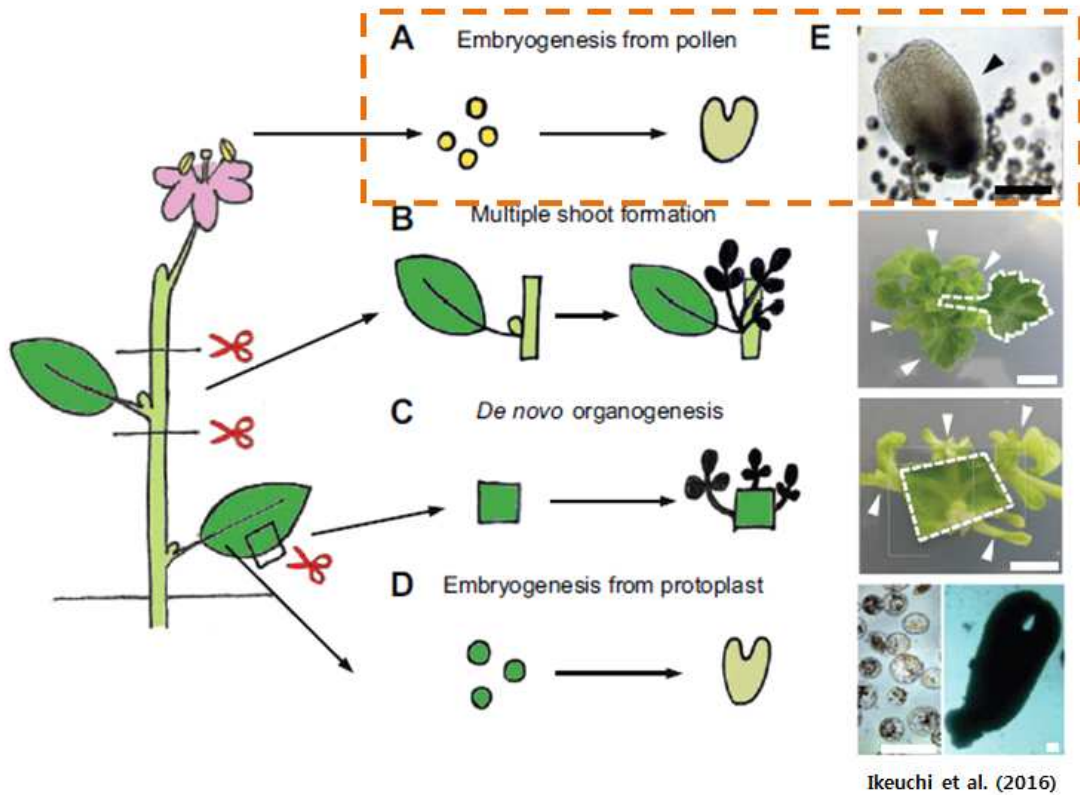


그림 2-1. 식물 조직배양 종류. A. 소포자배양, B. 액아배양, C. 기관배양, D. 체세포 배양

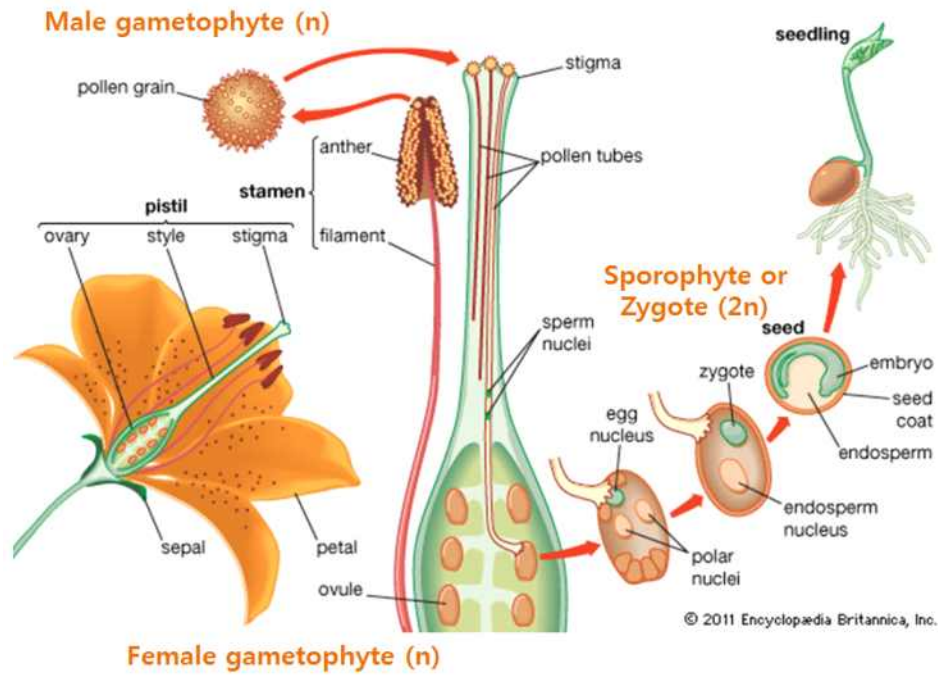


그림 2-2. 배우체성 기관. 웅성배우체와 자성배우체의 형태적 차이 및 반수체/배수체 구별

나. 웅성배발생

반수체/배가반수체를 개발하기 위해서는 미숙 화분 또는 난세포로부터 식물체를 재분화 하는 조직배양 기술을 필요로 한다. 웅성배우체 유래의 식물체를 생산하기 위해서는 약배양, shed-소포자 배양, 나출 소포자 배양이 있다 (그림 2-3). 약은 웅성배우체성 기관으로써 두꺼운 약벽조직이 배우체인 화분을 보호하고, 정상적인 기능을 가진 화분으로 발달시킨다. 자연 상태에서의 약은 소포자가 화분으로 완전하게 분화된 후 약벽이 열개되면서 화분이 밖으로 쏟아져 나오게 한다.

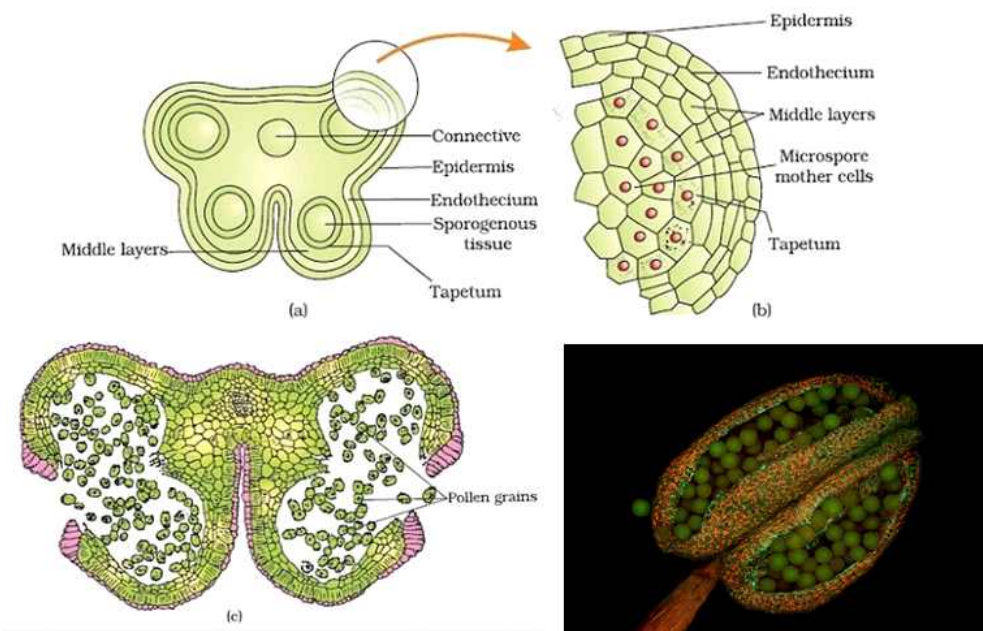


그림 2-3. 웅성배우체성 기관의 형태적 특성

약배양은 배양 적기의 세포자가 포함된 약을 고체배지에 치상하여 배양하는 방법으로 현재 고추의 반수체 개발 및 육종에 가장 널리 이용되고 있다. 세포자만을 배양하는 방법으로는 shed-세포자 배양과 나출 세포자 배양이 있다. shed-세포자 배양 방법은 약을 치상하여 배양 과정에서 약이 열 개되어 세포자가 배지로 터져 나와 배로 발달하는 방법이며, 나출 세포자 배양은 약으로부터 세포자를 물리적으로 분리 후 배양하는 방법이다 (그림 2-4).

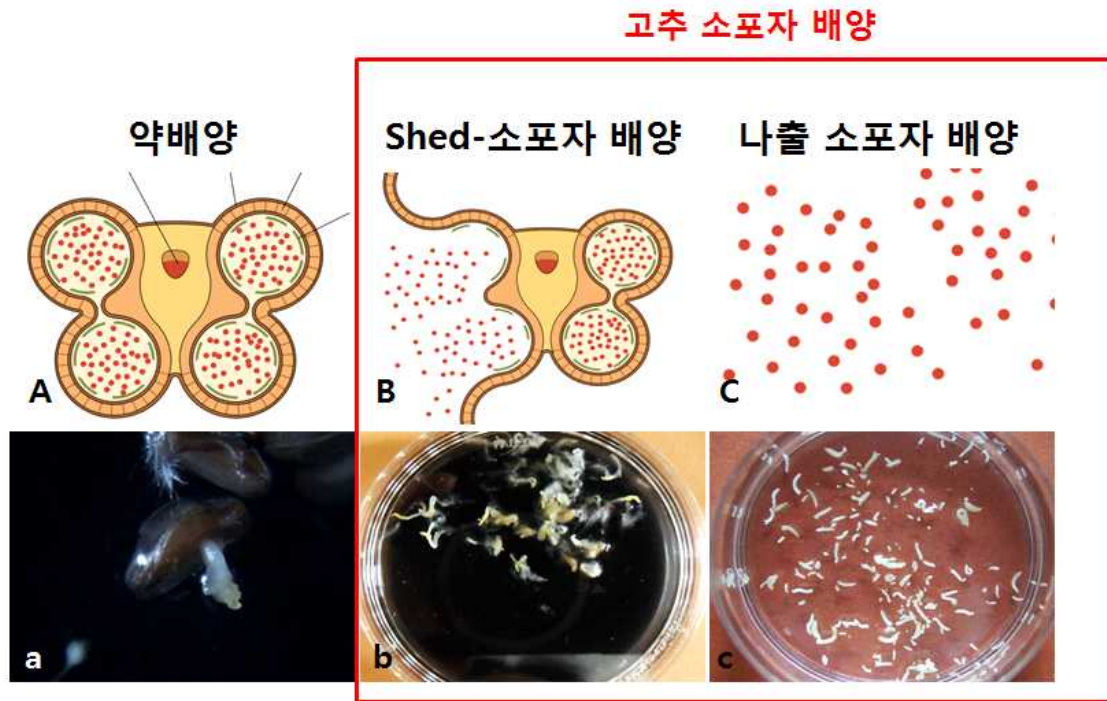


그림 2-4. 음성배우체 유래 세포자배 생산 A, a. 약배양, B, b. shed-세포자 배양, C, c. 나출 세포자 배양

약배양은 세포자가 약벽조직으로 둘러싸여있어 약벽으로부터 양분과 배발생에 유용한 물질을 공급받을 수 있는 장점이 있는 반면에 세포자 배발생 과정을 관찰 할 수 없고, 배지의 직접적인 효과를 구명할 수 없는 단점이 있다. 뿐만 아니라 약배양은 고체배지에 치상하여 배양하는 방법으로 배양기간이 긴 장점이 있다.

shed-세포자 배양은 약배양의 변형된 형태로 약을 나출하여 고체배지에 치상 후 액체배지를 분주하여 이층 배양하는 방법을 이용한다. 배양과정에서 약벽이 붕괴되면서 약이 액체배지로 터져나와 약벽으로부터 분리되어 배로 발달한다. 약배양에 비해 배발생 효율이 높고 배양기간을 단축시킬 수 있다.

나출 세포자 배양은 세포자만을 배양하는 방법으로 배지의 효과와 배발생 과정 추적 관찰이 가능한 장점을 가지고 있다. 고추의 나출 세포자 배양은 약배양, shed-세포자 배양에 비해 배발생 효율이 매우 높으며, 정상자엽배 발생 시기도 배양 3주로 매우 짧다.

다. 세포자 배양 방법

고추 세포자 유래 반수체/배가반수체 생산을 위해서 나출 세포자 배양과 shed-세포자 배양을

시도하였다. 배양 조건에 따른 소포자배 발생 경향을 확인하고 최적의 배양 조건을 확립하기 위해 시도하였다.

(1) 나출 소포자 배양

나출 소포자 배양은 꽃봉오리로부터 소포자를 물리적으로 분리하여 배양 하는 방법이다. 후기 1핵성 소포자~초기 2핵성 화분이 포함된 적기의 꽃봉오리를 2% sodium hypochlorite 용액에 10분간 침지 후 멸균수로 3회 수세하여 준비한다. 꽃봉오리를 blender cup에 30개를 넣고 10초간 2회 blending 한다. 갈아진 꽃봉오리를 체를 이용해 크기가 큰 체세포 조직을 제거한 후 원심분리하여 순수한 소포자만을 나출 하였다. 나출 한 소포자는 전처리 배지를 첨가하여 32℃에서 3일간 처리 후 배양배지로 옮겨 25℃에서 3주 동안 배양한다 (그림 2-5). 배양배지는 액체배지 만을 사용하는 액체배양 또는 액체배지와 이층배지를 동시에 사용하여 이층배양을 시도하였다. 배양 3주 후 발생한 배를 계수하여 결과조사하고, 정상자엽배는 재분화 배지에 옮겨 정상 식물체로 발달시킨다.

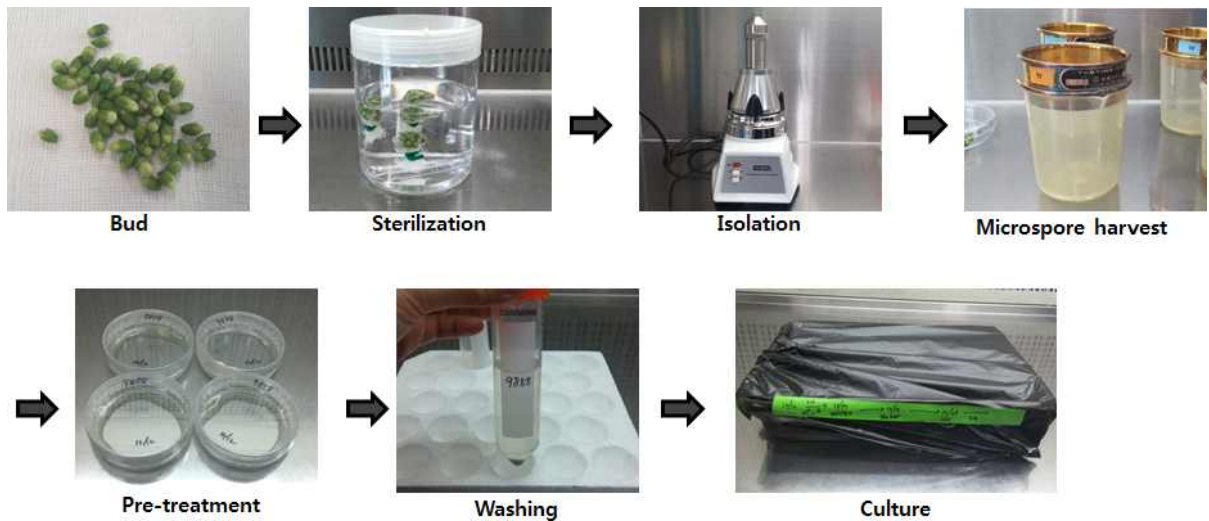


그림 2-5. 나출 소포자 배양 과정

(2) shed-소포자 배양

멸균 후 수세한 적기의 꽃봉오리로부터 약을 나출하여 고체배지에 치상 후 액체배지를 첨가하여 28℃에서 6~7 주 동안 배양 후 결과조사 한다 (그림 2-6). 배양한 배는 재분화 배지에 이식하여 소포자유래 식물체로 발달시킨다(그림 2-7). 배양효율 차이 검정을 위해 실시한 고추 약배양은 기존에 국립원예특작과학원 채소과에서 정립한 약배양 프로토콜을 기본으로 하여 수행하였다(그림 2-8).

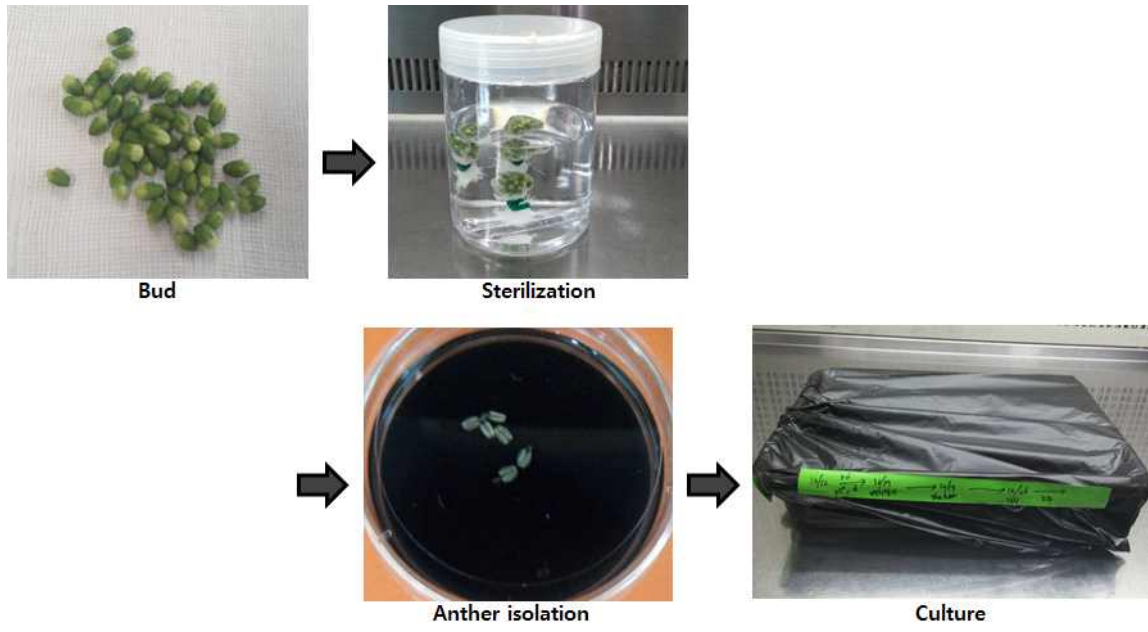


그림 2-6. shed-소포자 배양 방법

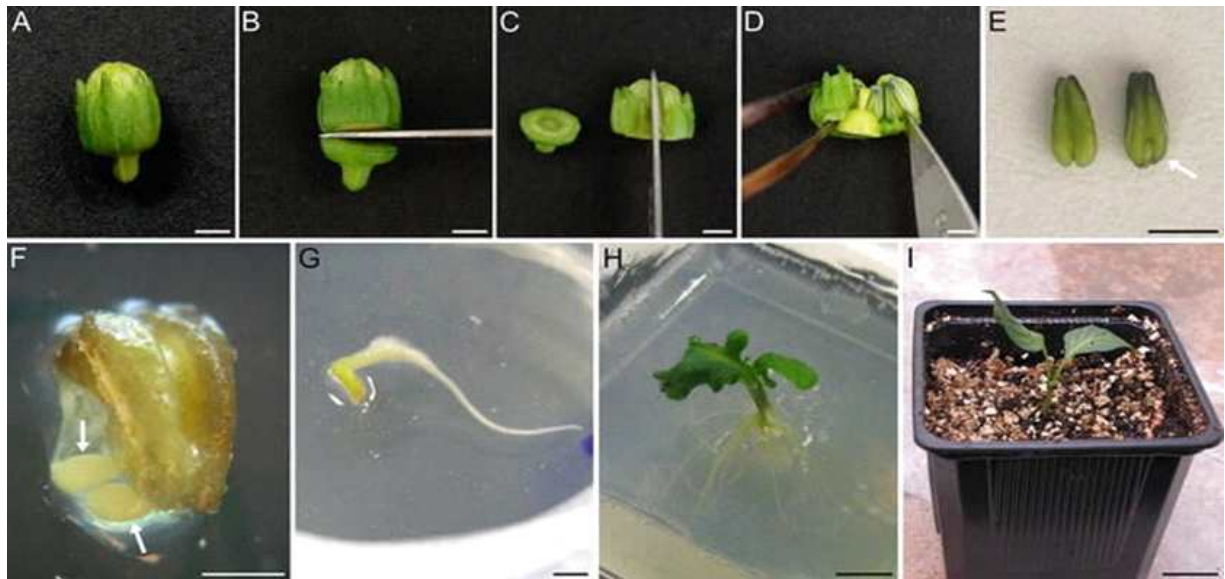


그림 2-7. 약 나출 및 소포자유래 식물체 생산 방법

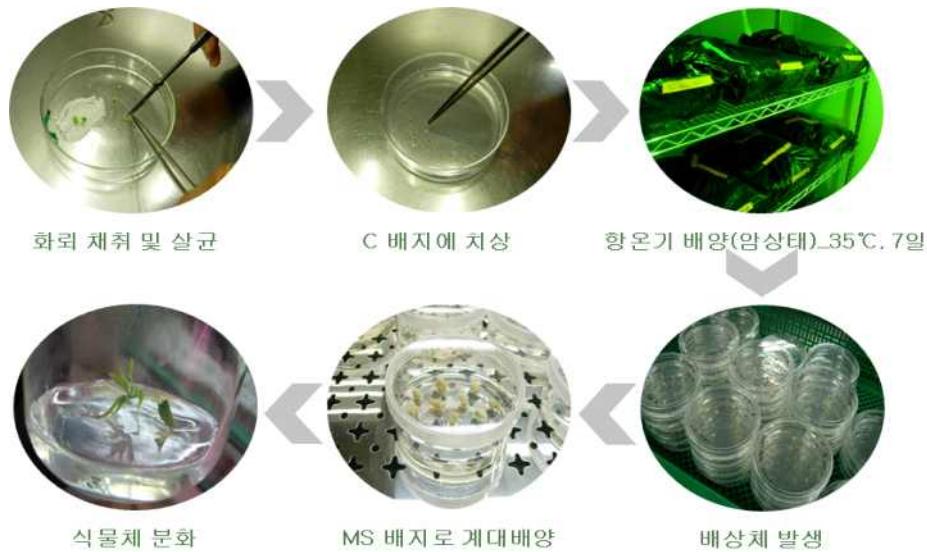


그림 2-8. 고추 약배양 체계도

2. 소포자 배양조건 확립

가. 나출 소포자 배양

(1) 나출 소포자 배양시 모식물의 생육조건이 소포자 배 발생 및 발달에 미치는 영향

나출 소포자배양을 통해서는 모식물의 생육조건 및 전처리, 배양 조건을 확립하기 위해서 실시하였다. 기존 고추 나출 소포자 배양 시에는 광도, 광주기, 온도 및 습도가 조절되는 생장실에서 모식물을 생육하였다 (Kim et al., 2008). 그러나 국립원예특작과학원은 식물 생장실이 구비되어있지 않아서 온실에서 모식물을 생육하여 재료를 취하였다. 온도, 습도 및 광주기를 조절할 수 없는 조건하에서 모식물의 시기와 광도를 조절함으로써 생육환경 내에서의 최적 생육조건을 구명하였다. 모식물의 생육 조건이 소포자 유래 배발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 저광도와 고광도 조건은 각각 $150 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $1,500\sim 2,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 으로 조절하였다. 기존 고추 나출 소포자 배양 시에는 광도, 광주기, 온도 및 습도가 조절되는 생장실에서 모식물을 생육하였다 (Kim et al., 2008). 그러나 국립원예특작과학원은 식물 생장실이 구비되어있지 않아서 온실에서 모식물을 생육하여 재료를 취하였다. 온도, 습도 및 광주기를 조절할 수 없는 조건 하에서 모식물의 시기와 광도를 조절함으로써 생육환경 내에서의 최적 생육조건을 구명하였다.

모식물 생육 광도를 조절하기 위해서 차광막을 설치하였고, 생육 기간에 따른 배발달을 조사하기 위해서는 파종 후 8-12주, 16주 이상 생육한 재료를 이용하여 나출 소포자 배양을 실시하였다. 모식물의 생육 광도와 기간이 소포자배 발생에 미치는 영향을 조사한 결과 모식물을 저광도에서 단기간 생육한 모식물에서 수확한 소포자를 액체배양하여 생산된 배의 총수는 115.7개로 저광도에서 장기간 생육한 경우보다 1.5배 이상 높았다 (표 2-1, 그림 2-9). 이층배양을 시도하여 자엽배의 발생을 확인한 경우 단기간 생육 시 정상자엽배의 발생이 2배 이상 높았다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 모식물의 생육기간은 짧을수록 소포자 배발생 및 자엽배 발생에 유리한 것으로 나타났다.

고광도에서 장기간 생육 시에는 꽃잎과 꽃받침을 비늘과 약의 착색 상태로는 소포자의 발달 정도를 예측할 수 없었다. 크기가 매우 작은 꽃봉오리에도 소포자 배양 적기를 지난 후기 2핵성

화분이 대부분이 포함되어 있어 배양을 시도할 수 없었다. 노화된 식물체로부터는 적기의 소포자만을 수확하는 것이 어렵고 배양 효율도 크게 감소하였다. 이러한 결과는 저광도에서 모식물을 생육하는 것이 소포자배의 유기 및 자엽배를 생산하기 위한 가장 적합한 것을 나타낸다.

표 2-1. 모식물 생육조건에 따른 고추 소포자유래 배 생산

Light condition - Donor plant age	Culture method	No. of embryos/plate			
		Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
High - Young		39.4±11.8	0.2±0.4	19.5±4.5	59.1±11.1
Low - Young	Liquid	85.5±9.8	0.0±0.0	30.2±7.8	115.7±11.6
Low - Old		53.1±9.7	1.7±1.8	20.8±5.5	75.6±11.0
High - Young	Double- layer	6.5±3.5	21.1±4.4	9.5±3.9	37.1±6.8
Low - Young		13.0±4.1	19.6±5.8	38.9±8.4	71.5±9.3
Low - Old		4.3±2.5	9.7±3.0	8.1±3.3	22.1±5.9

ELS indicates embryo-like structure

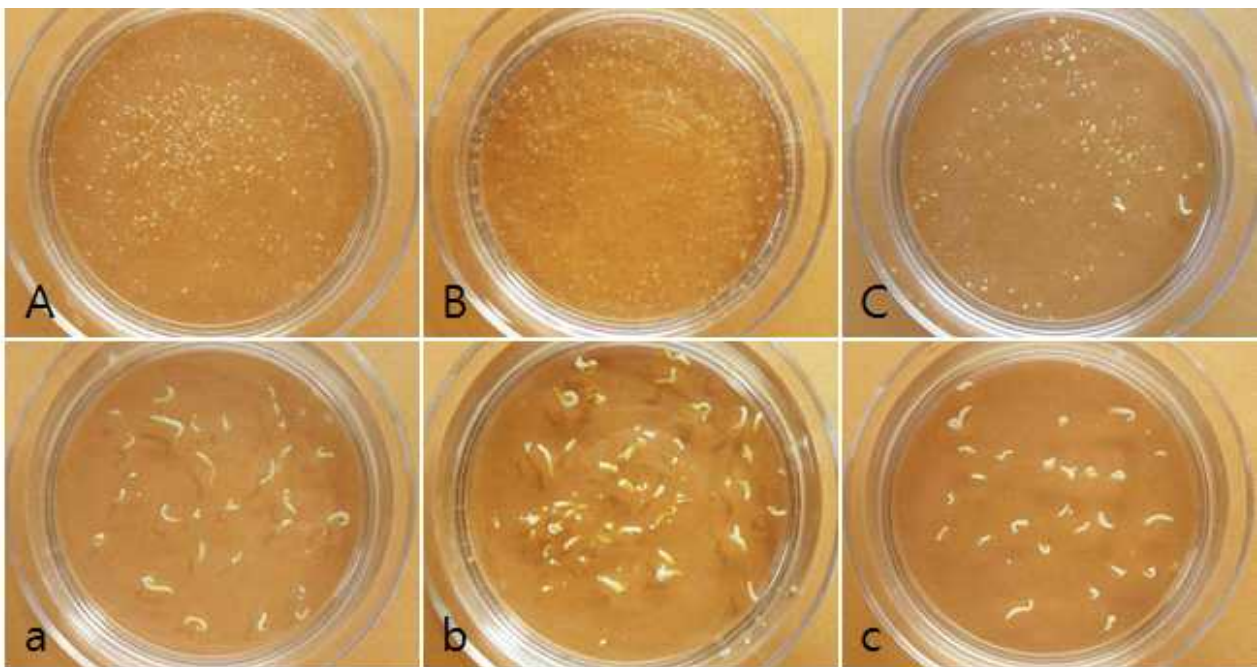


그림 2-9. 모식물 생육조건에 따른 소포자배 발생. A, a. 고광도-단기간, B, b. 저광도-장기간, C, c. 저광도-장기간. A-C. 액체배양, a-c. 이중배양

(2) 나출 소포자 배양 시 전처리 온도 및 기간이 소포자 배 발생에 미치는 영향 조사

최적의 전처리 조건 및 배양 조건을 확립하기 위해서 전처리 온도와 기간을 조사하였고, 각 조건에 배양은 액체 및 2층 배양을 시도하였다. 전처리 온도 및 기간이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 온도를 4℃, 32℃로 달리하고, 기간을 각각 2일, 3일로 달리한 후 배양을 실시하였다. 액체배양을 시도하여 배발생을 조사한 결과는 전처리 온도가 4℃일 때는 3일, 32℃일 경우에는 2일 처리 시 발생한 배의 총 수가 많았다 (표 2-2). 그중 32℃에서 2일 처리

시 배발생이 172.6개로 가장 많았다. 반면 이층배양을 시도한 후 배발달을 확인한 결과 32℃처리 시 자엽배발생 비율이 높았으며, 3일 처리 시 112.5개로 가장 많았다. 이와같은 결과를 종합하면 고추 나출 소포자배양에 적합한 전처리 조건은 32℃에서 3일 처리가 소포자 유래의 자엽배와 식물체를 가장 많이 확보 할 수 있는 방법으로 나타났다.

배양 조건이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 각각의 전처리를 시도한 후 액체배양과 이층배양을 시도하였다. 그 결과 모든 전처리 조건에서 액체배양 시 소포자 배의 총 수는 많았으며, 자엽배의 발생은 이층배양 시 많았다 (표 2-2). 이와 같은 결과로 미루어 보아 소포자 유래의 반수체/배가반수체 생산에 적합한 배양 방법은 이층배양으로 확인되었다.

표 2-2. 전처리 온도와 기간에 따른 소포자배 발생

Pre-treatment		Culture method	No. of embryos/plate			
Temp. (°C)	Period (days)		Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
4	2	L	65.8±12.0	0	35.0±4.3	100.8±14.9
		DL	0.2±0.4	0	3.6±1.5	3.8±1.3
	3	L	98.5±20.6	0	24.5±9.0	123.0±25.4
		DL	2.2±1.8	2.1±1.6	2.3±1.6	6.6±3.5
32	2	L	119.2±11.4	0	53.4±14.5	172.6±11.5
		DL	3.8±5.0	11.0±4.3	11.0±7.5	25.8±11.7
	3	L	74.3±17.6	0	21.7±5.7	96.0±20.8
		DL	0.8±1.0	12.5±4.3	6.8±1.9	20.2±5.0

ELS indicates embryo-like structure

(3) 나출 소포자 배양 시 오염원 제거 및 발생 가능성 감소 가능성 조사

나출 소포자 배양시 오염원 제거를 위해서 Timentin과 Rifampicin을 처리하여 소포자배 발생에 미치는 영향 및 오염원 제거 효과를 확인한 결과 항생제의 종류 및 농도에 상관없이 오염원 제거에 어려움이 있었다. Timentin 농도는 0, 50, 100, 200, 및 300 mg/L 각각의 timentin 농도에 rifampicin을 0, 10 20 mg/l로 첨가하여 실험한 결과 각 실험구에 따른 유의성 있는 차이를 찾을 수 없었다 (데이터 미제시).

나출 소포자 배양의 경우 30개의 꽃봉오리를 하나의 blender를 사용하여 소포자를 나출하기 때문에 1개의 꽃봉오리에 오염원이 존재하면 20개의 배양용기 모두에서 오염이 발생하게 된다. 또한 오염원의 존재 여부에 따라서 모든 배양용기가 오염 유,무가 판단될 뿐 오염 확률을 측정할 수 없게 된다. 이와같은 문제가 발생하므로 나출 소포자 배양 시에는 모식물 관리가 특히 중요하다. 고추는 꽃의 구조상 꽃잎 안으로 물이 흘러들어가기 용이하여 꽃봉오리 내부가 무균상태로 유지되기 힘들게 된다. 이러한 이유로 꽃봉오리에 물이 직접 닿지 않게 관수 시 주의를 기울여야 한다.

(4) Inducer chemical(2-HNA)이 소포자 배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사

나출 소포자 배양시 inducer chemical 처리가 소포자배 발생에 미치는 영향을 확인하기 위해 소포자배 유기에 가장 효과가 있는 것으로 알려진 2-hydroxynicotinic acid(2-HNA)를 0, 25, 50, 100 mg/L 농도별로 처리하여 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위한 실험을 실시하였다.

2-HNA 처리 농도에 따른 소포자 배 발생률은 시험구 오염으로 인해 배발생율을 조사하지 못했으나 2-HNA 50mg/L 처리구의 경우 일찍 배가 발생한 것을 확인하였다. 밀의 경우 2-HNA 처리시 배의 발생이 높으며, 녹색식물체가 높은 비율로 발생한다고 하였고, 또 8mg/L에서 40mg/L까지 농도 수준을 달리하여 첨가했을 때 25mg 첨가 시 배 발생이 높았다고 보고한 바 있다(Zheng et al. 2001).



그림 2-10. 2-HNA 농도별 나출 소포자 배양 실험 A: 0 mg/L (Control), B: 25 mg/L, C: 50 mg/L, D: 100 mg/L

(5) 품종에 따른 소포자 배 발생 및 재분화 효율 비교

기존 여러 연구결과에 따르면 품종에 따른 소포자배 발생 효율이 크게 나타난다고 알려져 있어 고추 소포자 배양 시 품종이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하고자 본 실험을 수행하였다.

나출 소포자 배양시 품종에 따른 배발생 효율 차이를 보기 위해 31, 33, 34, MK9, MK19, TB5, 19GP29, 18MC2, 18MC3, 18MC4, 18MC5, 18MC7, 18MC9, 18MC10, 18MC12, 18MC13, 18MC14, 18MC15, 18MC16 등 총 19 품종을 재료로 하여 각 품종간 소포자 배 발생 차이를 조사하였다.

3차년도에 19개의 품종을 대상으로 소포자 배양을 실시하였고 1개의 꽃봉오리에서 1개 이상의 배가 발생한 효율은 31, 18MC15, 18MC7 순으로 각각 44.4, 26.7, 17.2%로 높았으며, MK9, MK19는 배발생율이 각각 3.6, 6.0%로 매우 낮은 것을 확인하였다. 배양 재료로 사용한 19개 품종 중에서 31,33,34는 F3세대, 19GP29는 유전자원, 나머지 품종은 F₁ 조합이었다.

2차년도 시험결과 중 shed 소포자 배양 방법으로 소포자 유래 배를 유기하였을 때 고정종인 LV2319와 밀양재래 품종의 경우 배발생이 높은 것으로 나타났으며, F₁ 품종들에서는 배발생 경향이 전반적으로 낮게 나타났는데 나출 소포자 배양시에는 고정종 및 F₁ 품종에 따른 배발생율 발생 경향은 찾을 수 없었다. 향후 보다 다양한 품종을 대상으로 소포자 배양을 실시하여 유전자 고정 정도 및 품종 특성이 소포자배 발생에 미치는 영향 조사가 필요할 것으로 판단된다.



그림 2-11. 고추 소포자 배양시 품종에 따른 소포자 배발생 효율 비교

나. shed 소포자 배양

소포자 유래 다수의 배와 식물체를 생산하기 위해서 고추의 shed-소포자 배양을 시도하였다. shed-소포자 배양은 고체배지에 약을 치상하여 배양항하는 약배양이 개선된 방법으로 고체배지 위해 액체배지를 분주 후 배양하는 이층배양을 통해 소포자 유래 배를 생산하는 배양방법이다. shed-소포자 배양 방법을 통해서 약벽으로부터 분리된 소포자배를 확보하고 약벽의 유용한 효과는 기대할 수 있어 소포자유래 식물체를 확보하기 위한 방법으로 주목을 받고 있다. 그러나 shed-소포자 배양 방법은 약벽의 영향으로 인해서 소포자유래 배의 발생 및 발달에 미치는 배지의 영향, 전처리 및 배양 환경제어 및 재분화 어려움 등 많은 문제들을 해결해야만 한다.

(1) 고추 shed-소포자 배양 시 오염원 제거 방법 조사

오염원 제거 및 항생제가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 timentin과 rifampicin을 배지에 첨가하여 고추 shed-소포자 배양을 시도하였다. Timentin 농도는 0, 50, 100, 200, 및 300 mg/L에 rifampicin을 각각 0, 10 20 mg/L로 첨가하여 배양 한 결과 모든 처리에서 소포자 유래 배가 발생하는 것을 확인하였고, 발생한 소포자 배는 배축이 신장된 형태였다. 그러나 발생한 배의 수는 0.7~8.5개로 처리간 차이가 발생하였다. Timentin의 농도가 높을수록 배발생이 감소하는 경향을 보였으나 rifampicin의 농도에 따른 차이는 비교적 크지 않았다 (표 2-3).

표 2-3. 항생제 농도에 따른 오염원 제거 효율

Antibiotics		contamination %	Total Embryo (ea)
Tim (mg/L)	Rif (mg/L)		
0	0	-	5.3±1.5
	10	-	3.8±2.1
	20	25.0	3.5±3.0
50	0	-	1.5±1.0
	10	25.0	8.3±7.9
	20	12.5	6.8±4.7
100	0	25.0	5.0±3.0
	10	-	8.5±6.1
	20	-	2.0±1.8
200	0	-	3.3±2.5
	10	-	5.0±3.6
	20	37.5	5.3±4.4
300	0	-	2.3±2.2
	10	-	2.0±1.3
	20	25.0	0.7±0.6

항생제의 종류 및 농도에 따른 차이를 구별하기 위해서 오염 비율을 조사한 결과 처리 당 경향이 뚜렷하게 나타나지 않아 적절한 항생제 농도를 구명할 수 없었다. 이와 같은 결과는 실험한 항생제의 농도에서 오염원이 확실하게 제거 되지 않는 것을 의미하며, 실험에 사용된 꽃봉오리가 모두 오염된 상태가 아니었던 것으로 예상된다. 따라서 오염원의 밀도와 종류 및 오염원 존재 여부를 확인할 수 없어서 완전한 제거 및 항생제 종류와 농도에 따른 오염원 제거,

배발생 효율의 유의성을 검토할 수 없었다.

shed-소포자 배양 방법은 하나의 꽃봉오리에서 적출한 약을 하나의 배양용기에 치상하여 배양하는 방법으로 실험에 사용된 모든 꽃봉오리가 오염되지 않을 경우 배양 결과를 얻을 수 있는 특징이 있다. 나출 소포자 배양시에는 오염원의 존재 여부에 따라서 배양 결과의 성패가 결정되는데 반해 shed-소포자 배양 방법은 오염된 배양용기만 제거하면 연구결과를 도출하는 데 큰 문제가 없다. 그럼에도 불구하고 실험에 많은 시간이 소요되며, 특히 약을 적출하는데 오랜 시간이 필요하기 때문에 오염 확률을 낮추는 방법이 모색되어야만 한다. 현재까지의 방법은 나출 소포자 배양과 동일하게 모식물 생육 시 주의를 기울이고, 약을 적출할 때 세심한 주의를 기울여 오염 확률을 줄이는 방법 뿐이다.

(2) 고추 Shed-소포자 배양 시 전처리 온도에 따른 배발생 조사

웅성배우체성 배발달을 조포체성 발달로 변환시키기 위해서는 저온 및 고온 처리가 널리 이용되고 있다. 소포자배 발생에 적합한 전처리 온도를 구명하기 위해서 LV2319 품종을 재료로 하여 9℃, 32℃로 각각 온도를 달리하여 전처리한 후 28℃에서 6주 동안 배양 후 소포자 배발생 및 발달을 조사하였다. 그 결과 발생한 배의 총 수는 9℃에서 7일간 전처리한 경우 0.5~5.4개였으며, 32℃에서 3일간 전처리한 경우에는 0.2-1.7개였다 (표 2-4). 이와 같은 결과로 미루어보아 shed-소포자배양에 적합한 전처리는 고온처리 보다는 저온처리가 적합한 것으로 밝혀졌다.

또한 배지에 포함된 탄소원의 종류와 농도가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하였다. 고체배지는 NN 기본배지에 탄소원이 2% 첨가된 것을 사용하였고, 액체배지는 NN배지에 포함된 탄소원으로는 sucrose와 maltose를 사용하였고 각각 2, 4, 6, 8 및 10% 첨가하여 전처리와 배양을 시도하였다. 그 결과 저온전처리 시에는 maltose를 8% 농도로 사용한 경우 발생한 소포자배가 5.4개로 가장 많았으며, 전체적으로 maltose 사용 시 배발생 효율이 높았다 (표 2-4). 반면 32℃ 고온 전처리 한 경우에는 sucrose를 10% 사용한 경우 소포자배의 발생이 가장 많았으며, maltose를 사용한 경우에는 sucrose 처리에 비해 배발생 효율이 낮았다.

이와 같은 결과들을 미루어보아 shed-소포자 배양 시 적합한 전처리는 저온처리이며, 탄소원은 저온처리 시에는 maltose가 고온처리 시에는 sucrose가 적합한 것으로 나타났다. 본 실험은 LV2319 품종을 대상으로 시도하였으며, 향후 다양한 품종의 shed-소포자 배양을 시도하여 품종에 따른 전처리 조건과 탄소원의 종류 및 농도를 조사하여 품종에 따른 차이를 조사할 필요가 있다.

표 2-4. 고추 shed-소포자 배양 시 전처리 온도 및 탄소원이 소포자배 발생에 미치는 영향

Pre-treatment - culture Temp.	Carbone Source	Con. (%)	No. of embryos/plate			
			Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
9°C, 7d	Sucrose	2	-	-	0.8±0.6	0.8±0.6
		4	-	-	-	-
		6	-	-	1.0±1.0	1.0±1.0
		8	0.5±0.3	-	-	0.5±0.3
		10	-	-	-	-
	Maltose	2	-	-	0.5±0.4	0.5±0.4
		4	-	-	-	-
		6	-	-	1.0±1.0	1.0±1.0
		8	0.4±0.2	-	5.0±3.9	5.4±4.1
		10	-	-	0.5±0.3	0.5±0.3
32°C, 3d	Sucrose	2	0.7±0.5	-	1.0±0.8	1.7±1.3
		4	0.3±0.2	0.3±0.2	0.8±0.5	1.3±0.9
		6	0.3±0.2	-	1.3±1.0	1.6±1.2
		8	-	-	1.5±1.3	1.5±1.3
		10	-	-	3.2±1.9	3.2±1.9
	Maltose	2	0.3±0.2	-	1.5±1.0	1.7±1.2
		4	-	-	0.5±0.3	0.5±0.3
		6	-	-	0.2±0.2	0.2±0.2
		8	-	-	0.7±0.5	0.7±0.5
		10	-	-	0.3±0.2	0.3±0.2

ELS indicates embryo-like structure

(3) 고추 shed-소포자 배양 시 저온 전처리 기간이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사

전처리 기간이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 9°C에서 3, 5, 7, 8, 9 및 11일 동안 처리 후 28°C에서 6주 동안 배양 후 결과를 조사하였다. 본 실험은 하나종묘로부터 의뢰받은 TSWV 저항성 (F₂) 품종을 이용하였다.

저온처리 기간에 따른 배발생 효율을 조사한 결과 발생한 소포자배의 전체 수는 9일 처리 시 48.3개로 가장 많았으며, 자엽배의 수 또한 5.6개로 가장 많았다 (표 2-5). 그러나 소포자배 유기 효율은 8일 처리 시 60.0개로 가장 높았으며, 8일 이상 처리 시 배발생 효율이 높아지는 경향을 보였다. 이와 같은 결과로 미루어 향후 고추 shed-소포자배양 시 9°C에서 8일 이상 저온처리 하는 것이 적합한 것으로 나타났다.

표 2-5. 고추 shed-소포자 배양 시 저온처리 기간이 소포자배 발생에 미치는 영향

Pre-treat ment period (days)	Embryo induction %	No. of embryo/bud		No. of plantlet/bud	Plantlet (ea)
		Total	Cotyledonary		
3	27.0	12.2±12.0	3.7±3.1	1.3	13
5	25.0	12.7±10.6	1.3±1.0	0.3	2
7	18.6	8.0±4.6	0.8±0.5	0.1	1
8	60.0	9.4±7.1	1.3±1.0	0.6	12
9	37.5	48.3±30.4	5.6±4.1	1.3	12
11	47.4	6.4±3.6	0.3±0.2	-	-

(4) 고추 shed-소포자 배양 시 배지와 탄소원이 소포자배 발생에 미치는 영향 조사

shed-소포자배 발생 및 발달에 영향을 미치는 배지 종류 및 탄소원을 조사하기 위해 실험을 실시하였다. 배양배지의 조성이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 1/2NLN, NLN, NN 및 MS 배지를 사용하였으며, 이때 탄소원은 sucrose와 maltose 2%가 포함된 배지를 사용하였으며, 액체배지와 고체배지의 조성은 동일하였다. 밀양재래 품종을 이용하여 배양 후 6주차에 결과를 조사한 결과 NLN 배지를 기본배지로 사용한 경우 소포자배가 가장 많이 발생하였고, sucrose와 maltose를 사용한 경우 각각 6.5개, 5.8개의 소포자배가 발생하였다 (표 2-6). 소포자배의 발생 순서는 sucrose, maltose 모두 NLN, 1/2NLN, NN, MS 순이었다. 이와 같은 결과로 미루어보아 shed-소포자 배양에 적합한 기본배지는 NLN 배지인 것으로 나타났다.

표 2-6. 고추 shed-소포자 배양 시 배지와 탄소원이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향

Carbone source	Medium	No. of embryos/plate			
		Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
Sucrose	1/2NLN2	0.3±0.2	0.5±0.5	2.3±2.1	3.0±2.7
	NLN2	0.8±0.5	-	5.8±3.3	6.5±3.8
	NN2	-	0.7±0.5	2.2±0.4	2.8±1.0
	MS2	-	0.6±0.4	1.7±1.1	2.3±1.5
Maltose	1/2NLN2	-	0.3±0.2	3.2±2.3	3.5±2.5
	NLN2	-	0.5±0.3	5.3±4.2	5.8±4.5
	NN2	-	0.6±0.5	2.2±2.0	2.8±2.5
	MS2	-	0.3±0.2	2.0±1.7	2.3±1.9

(5) 고추 shed-소포자 배양 시 품종 및 액체배지의 sucrose 농도가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사

품종 및 액체배지 내 탄소원의 농도가 shed-소포자 배양 시 배발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하기 위해서 밀양재래, LV2319 및 Long fruit 등 3품종을 사용하였고, 액체 배지 내 sucrose 농도는 2, 4, 6, 8, 및 10%로 달리하여 처리하였다. 이때 전처리는 9℃에서 7일간 처리하였으며, 기본배지는 sucrose가 2% 포함된 NN배지를 이용하였다.

그 결과 밀양재래 품종의 경우 sucrose 6%에서 소포자배 발생이 6.4개로 가장 많았으며, long fruit의 경우에는 sucrose 10%에서 가장 많은 3.5개의 배가 발생하였다 (표 1-7). 반면 LV2319 품종은 오염이 많이 되어 sucrose 농도에 따른 차이를 확인할 수 없었다.

밀양재래, LV2319, 및 long fruit 총 3개 품종을 shed-소포자 배양 하여 품종에 따른 소포자배 발생 경향을 조사한 결과 소포자배는 LV2319, 밀양재래, long fruit 순으로 발생하였다 (표 2-7).

본 실험결과 shed-소포자 배양 시 품종에 따른 배발생 효율의 차이가 발생하며, 품종에 따라 적합한 sucrose 농도가 각각 다른 것을 확인하였다. 향후 더 많은 품종과 배발생에 영향을 미치는 요인을 대상으로 다양한 실험을 시도하여 소포자배 발생 및 발달에 미치는 요인을 검증하고 최적의 배양 조건을 확립하여야 한다. 지속적인 연구를 통해서 소포자 유래의 다수의 배와 식물체를 생산할 수 있는 배양방법이 확립되면 유용형질을 보유한 육종재료 확보 및 육종기간 단축을 통해 신품종 개발에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

표 2-7. 고추 shed-소포자 배양 시 품종 및 상층 액체배지 내 sucrose 농도가 소포자배 발생에 미치는 영향

Genotype	Liquid medium	No. of embryos/plate			
	sucrose con. (%)	Globular & heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	total
Milyang-jare	2	-	1.2±0.8	3.8±1.9	5.0±2.2
	4	0.3±0.2	0.4±0.2	1.4±1.0	2.1±1.4
	6	0.4±0.2	1.6±0.9	4.4±0.5	6.4±0.5
	8	-	2.0±2.0	1.8±1.5	3.8±1.9
	10	0.2±0.2	0.8±0.5	5.0±4.0	6.0±4.7
LV2319	2		contamination		
	4	-	1.0±0.8	9.7±8.3	10.7±9.1
	6	-	-	-	-
	8		contamination		
	10	-	-	3.5±2.1	3.5±2.1
Long fruit	2	0.5±0.3	0.3±0.2	1.8±1.5	2.5±2.0
	4	-	-	0.2±0.2	0.2±0.2
	6	0.3±0.2	-	3.0±3.0	3.3±3.2
	8	-	-	1.0±1.2	1.0±1.0
	10	0.5±0.3	0.5±0.4	2.5±2.0	3.5±2.7

(6) 배양방법에 따른 응성배우체 유래 배발생 조사

배양방법에 따른 응성배우체 유래 배발생 차이를 검증하기 위해 밀양재래 및 16NHC2 2품종을 대상으로 응성배우체 유래의 배 발생 시 널리 이용되고 있는 두가지 방법인 약배양 및 shed-소포자 배양(이층배지를 이용한 약배양)을 실시하여 배양방법에 따른 소포자 배 발생 및 발달을 조사하였다(표 2-8). 밀양재래와 16NHC2 품종을 이용하여 배양 방법 및 품종에 따른 차이를 비교한 결과 밀양재래 품종의 경우 1개 꽃봉오리로부터 배가 발달한 효율은 약배양 시 35%였으나 shed-소포자 배양시 9.5%로 차이가 매우 컸다. 발생한 소포자배의 총 수는 배발생 효율과는 반대의 결과를 보여 shed-소포자배양 시 배 발생이 6.3개로 높았다. 16NHC2의 경우 배가 발생하는 비율은 shed-소포자 배양시 23.3%였으나 배발생은 약배양시 3.4개로 shed-소포자배양보다 1.4개 이상 많았다.

본 연구결과 약배양과 shed-소포자 배양시 배발생 효율 및 발달은 품종에 따른 차이가 있으며, 추후 다수의 품종을 대상으로 추가적인 실험을 수행하여 소포자 배 발생에 적합한 배양방법을 조사할 필요가 있을 것으로 판단된다.

표 2-8. 배양방법에 따른 고추 소포자 유래 배 생산 효율 및 배발달

Genotype	Culture method	Embryo induction % (bud)	No. of embryos/plate			
			Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
Milyang-jare	Anther	35.0	0.2±0.7	0.3±0.5	4.5±6.6	5.9±0.8
	Shed	9.5	0.5±1.0	1.5±0.6	3.5±4.4	6.3±0.5
16NHC2	Anther	15.6	0.4±1.0	0.8±1.4	2.5±3.2	3.4±4.4
	Shed	23.3	0.4±1.5	0.0±0.2	1.6±1.2	2.0±2.4

(7) 고추 shed-소포자 배양 시 배지내 pH에 따른 배발생 효율 조사

Shed-소포자 배양 시 이용되는 배지의 pH는 일반적으로 5.8-6.0 이나 소포자배 발생 및 발달 시 적정 pH를 구명하고자 배지 내 pH에 따른 배발생 효율을 조사하였다. 밀양재래, 7QF4, 7QF9, 7QF36 및 7QF38 등 총 5품종을 대상으로 전처리 및 배양시 액체배지 내 pH를 4.0, 6.0, 8.0 3 수준으로 하여 9°C에서 7일간 처리 후 28°C에서 6주간 배양하였다. 이때 처리간 소포자배 발생 효율, 소포자 배 발생 및 발달차이를 조사하였다.

밀양재래와 고색소 품종인 7QF4, 7QF9, 7QF36, 7QF38 총 5종을 재료로 이용하였으며, 각 품종에 적합한 pH를 조사하였다. 밀양재래 품종의 경우 전처리 배지와 배양배지 모두 pH 6.0일 때 소포자배 발생 효율은 가장 높았으며, 발생된 배의 총 수 또한 가장 많았다. 7QF4, 7QF9 품종의 경우에는 소포자배 발생 효율 및 배의 총수 모두 전처리 배지로 pH 8.0을 사용하고, 배양배지의 pH를 4.0으로 조절하여 사용한 경우 높은 것으로 나타났다. 반면 7QF36, 7QF38 품종의 경우에는 각기 다른 경향을 나타내었다. 5가지 품종을 대상으로 비교한 결과 최적 pH가 각기 달랐으며 소포자배 발생효율 및 배발생 총 수 모두 품종에 따른 차이가 크게 나타난 것을 확인하였다.

표 2-9. 전처리 및 배양 시 배지 내 pH에 따른 배발생 효율 및 배발달 조사

Genotype	pH (pre-treatment + culture medium)	Embryo induction % (bud)	No. of embryos/plate			
			Globular - Heart	Torpedo - Cocyledonary	ELS	Total
Milyang-jare	6.0+6.0	86.7	0.2±0.6	0.7±0.7	2.2±1.7	3.0±2.3
	4.0+8.0	76.7	-	0.7±0.6	2.1±1.5	2.8±1.5
	8.0+4.0	60.0	0.1±0.5	0.6±0.6	2.3±1.6	2.9±1.8
7QF4	6.0+6.0	28.1	0.2±0.7	0.8±0.7	2.1±1.4	3.1±1.4
	4.0+8.0	71	0.4±0.8	0.2±1.7	2.5±1.7	3.0±2.0
	8.0+4.0	57.6	0.2±0.5	1.0±1.2	2.3±1.7	3.5±2.6
7QF9	6.0+6.0	-	-	-	-	-
	4.0+8.0	3.6	-	1	1	2
	8.0+4.0	16.7	0.4±0.9	0.8±1.3	2.2±1.1	3.4±2.3
7QF36	6.0+6.0	29.6	0.1±0.4	0.6±0.7	1.9±1.1	2.6±1.4
	4.0+8.0	26.1	-	0.5±0.8	2.0±1.1	2.5±1.5
	8.0+4.0	4.3	-	-	1	1
7QF38	6.0+6.0	4.3	-	-	1	1.0
	4.0+8.0	4.8	-	-	1	1
	8.0+4.0	0.0	-	-	-	-

(8) 고추 shed-소포자 배양 시 품종에 따른 배발생 효율 조사

기존 연구결과에 따르면 품종에 따른 소포자배 발생 효율이 크게 나타난다고 알려져 있어 고추 shed-소포자 배양 시 품종이 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향을 조사하고자 본 실험을 수행하였다. 1차년도에 shed 소포자 배양을 수행한 LV2319, 16NHC (관상용, 중간교잡, F1), 7QF4, 7QF9, 7QF36, 7QF38, 서울대, CV0274, CV0343, CV0353, ECO-1 및 ECO-2 총 12 품종의 배발생 효율을 고추 음성배우체 배양 시 대조품종인 밀양재래와 비교하였다(표 2-10).

그 결과 1개의 꽃봉오리에서 1개 이상의 배가 발생한 효율은 LV2319, ECO-1, 7QF4, 7QF9 순으로 각각 95.8, 92.6, 60.8, 48.0%로 높았으며, 이종간 F1 조합인 16NHC 품종의 경우 1개의 배도 발생하지 않았다. 반면 발생한 배의 총 수는 LV2319, ECO-1, 밀양재래, 7QF4 순으로 각각 24.8, 7.3, 6.3, 3.2개로 높았다. 배양 재료로 사용한 12개 품종 중에서 밀양재래와 LV2319 품종은 고정종이며, 나머지 품종은 F1조합이었다.

본 연구결과 고정종인 LV2319와 밀양재래 품종의 경우 배발생이 높은 것으로 나타났으며, F1 품종들에서는 배발생 경향이 전반적으로 낮게 나타났는데 이 결과로 미루어 보아 유전자의 상동성이 소포자배 발생에 영향을 미치는 것으로 예상할 수 있다. 그러나 12품종을 대상으로 소포자배 발생 효율만을 조사하였을 뿐 다양한 형질 및 세대에 따른 연구를 수행하지 못하였기 때문에 향후 계속된 연구를 통해서 유전자 고정 정도 및 품종 특성이 소포자배 발생에 미치는 영향 조사가 필요할 것으로 판단된다.

표 2-10. 고추 shed-소포자 배양 시 품종에 따른 배발생 효율 및 배발달 조사(1차년도)

Genotype	Embryo induction % (bud)	No. of embryos/plate			
		Globular - Heart	Torpedo - Cocyledonary	ELS	Total
Milyang-jare (control)	9.5	0.5±1.0	1.5±0.6	3.5±4.4	6.3±0.5
LV2319	95.8	1.5±2.4	1.5±2.4	22.0±22.0	24.8±24.0
7QF4	60.8	0.4±0.8	0.4±0.6	2.5±1.9	3.2±2.4
7QF9	48.0	-	-	1.0±0.0	1.0±0.0
7QF36	29.3	0.1±0.5	0.7±0.9	1.2±1.1	2.0±1.4
7QF38	9.1	-	0.6±1.1	1.1±0.9	1.7±1.3
SNU	24.2	-	0.3±0.5	1.0±0.8	1.4±0.7
CV0274	15.0	0.3±0.8	0.1±0.3	1.1±0.7	1.5±0.7
CV0343	3.3	-	0.3±0.6	1.0±1.0	1.3±0.6
CV0353	6.9	-	0.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
ECO-1	92.6	0.7±1.4	0.8±1.0	5.9±5.5	7.3±6.7
ECO-2	0.2	-	0.6±0.6	1.7±0.8	2.3±1.2
<i>C. annuum</i> x <i>C. frutescens</i> (16NHC)	-	-	-	-	-

4차년도에도 shed 소포자 배양시 품종에 따른 배발생 효율 차이를 보기 위해 19LT1, 19LT6, 19LT8, 19LT9, 19LT10, 19LT11, 20CV8, 20CV9, 20CV10, 20CV12, 20CV13, 20CV16, 20CV17, 20CV18, 20CV19, 20CV20, 19F1075, 19F2430, 19F1073, PB44, PB47, PB418F6300-1, PB418F6300-17, PB418F6301-10, CV0274, CV0353, CV0343, 31,32,33,34,35 등 시판품종, 육성계통, 외부의뢰품종 총 32 품종을 재료로 하여 각 품종 간 소포자 배 발생 차이를 조사하였다(그림 2-12).

1개의 꽃봉오리에서 1개 이상의 배가 발생한 효율은 PB44, PB418F6301-10, PB47, PB418F6300-1 순으로 각각 82.2, 69.3, 54.4, 54.0%로 높았으며 모두 고추와 육종에서 의뢰한 품종이었다. CV0353, 20CV17은 배발생율이 각각 0.7, 0.8%로 매우 낮은 것을 확인하였다(그림 1-12). 배양 재료로 사용한 32개 품종 중에서 PB44, PB47, PB418F6300-1, PB418F6300-17, PB418F6301-10은 F2세대, 31,32,33,34,35는 F3세대, LH2~11은 F4세대, 나머지 품종은 F1조합이었다.

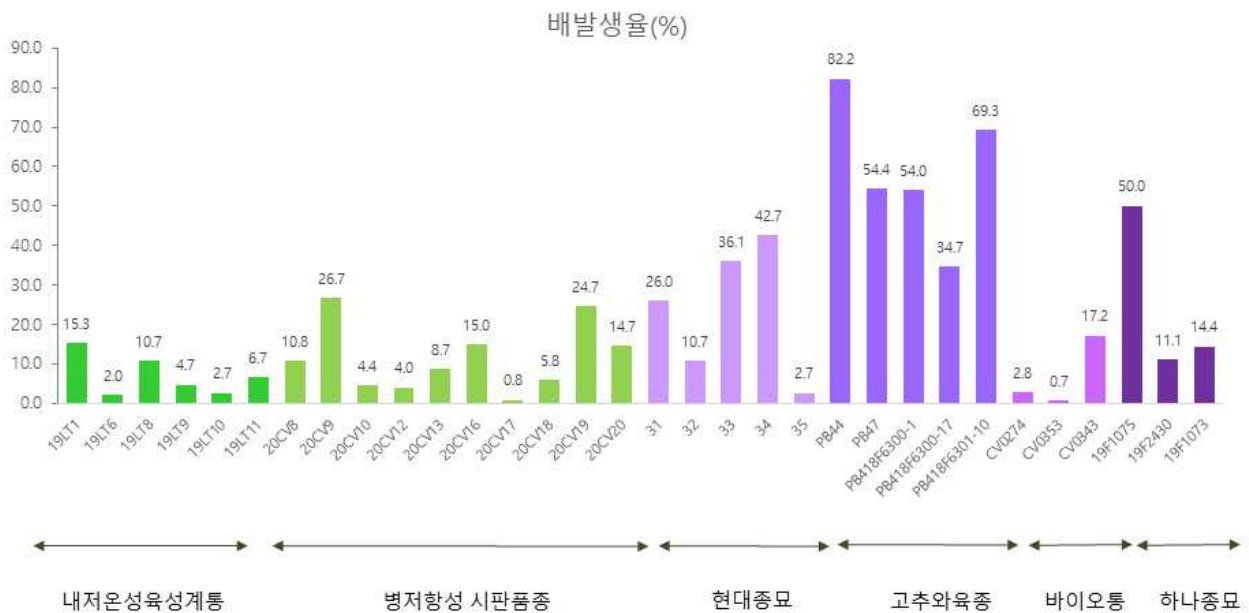


그림 2-12. 고추 shed 소포자 배양시 품종에 따른 소포자 배발생 효율 비교 (4차년도)

(9) Shed-소포자 배양 시 배발생 경향 조사

Shed-소포자 배양 시 배발생 경향 조사를 위해 shed-소포자 배양 후 배발생 경향을 조사하고 재분화 가능성을 검증하였다.

Shed 소포자 배양의 경우 6주 배양 후 발생된 소포자배는 배발생 효율이 그림 2-13과 같이 크게 차이가 난다. 이와 같은 경향은 나출 소포자 배양에서는 나타나지 않으며, 각각의 꽃봉오리로부터 약을 적출하여 배양하는 약배양, shed-소포자 배양에서만 나타나는 현상이다. 소포자배의 발생이 전혀 없는 것부터 100개 이상 발생하는 배양용기까지 다양하다. 이렇듯 배발생 효율이 크게 차이가 나면 결과조사가 어렵게 되고 처리 간 유의성을 평가하기 어려운 문제가 발생한다. 따라서 향후 연구는 일정하고 안정된 배발생 결과를 얻기 위해 배양방법을 개선하고 확립해 나가야 한다.

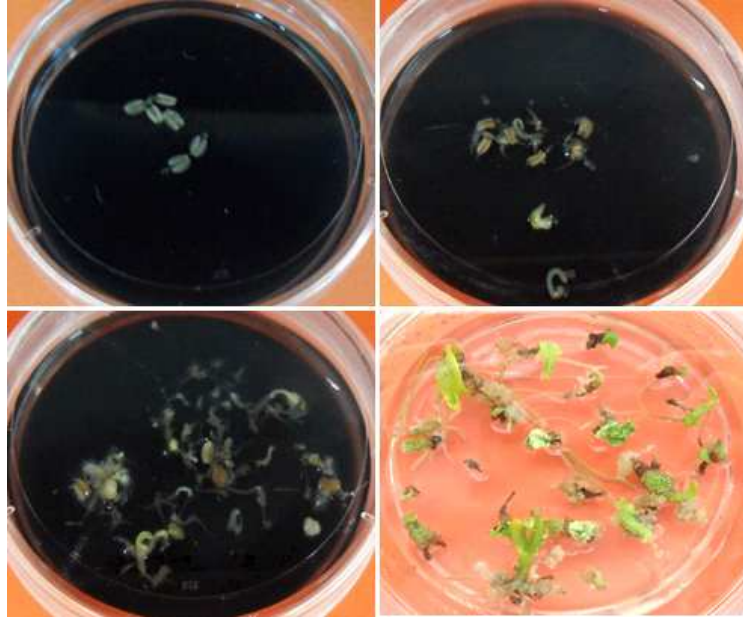


그림 2-13. 고추 shed-소포자 배양에 의한 소포자배 발생 및 재분화

또한 shed-소포자 배양에 의해 발생된 배로부터 정상 식물체로 재분화하는 과정에서 문제가 발생하였다. shed-소포자유래 배를 재분화 배지로 옮겨 배양 시 정상 식물체로 발달하지 못하고 캘러스가 발생하였다. 캘러스가 발생하며, 자엽이 전개되거나 본엽이 발달하는 정상적인 식물체 재분화 과정을 거치지 못하고 배가 비대해지면서 노화되는 현상이 반복되었다(그림 2-14).

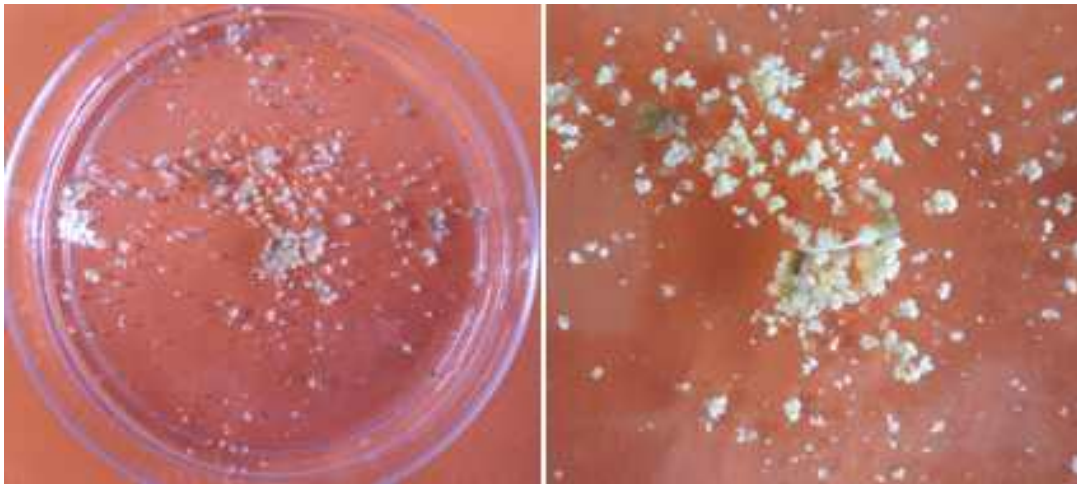


그림 2-14. 장기간 shed-소포자배양시 발생하는 callus 형태

캘러스가 발생하는 원인으로 약벽이 붕괴되면서 호르몬이 액체배지 내로 방출되면서 영향을 미치는 원인을 들 수 있다. 또 다른 원인으로는 6주의 긴 배양 기간 동안 유기된 소포자배가 장기간 액체배지에 놓여져 있으면서 재분화 능력을 잃어가는 것으로 예상된다. shed-소포자배양은 배양기간이 짧으면 배가 유기되지 않고, 장기간 배양 시에는 유기된 배가 재분화 능력을 잃어버리는 문제가 발생한다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 향후 배양 기간 단축을 위한 실험 방법이 개발되어야 하며, 유기된 배가 정상식물체로 발달하도록 재분화 방법이 필요하다.

Shed-소포자 배양에 의해 유기된 소포자배를 일반적인 재분화 용기 (100x40 mm)에 이식한

경우 대부분의 배가 식물체로 발달하지 못하고 고사하는 경우가 발생하였다(그림 2-15).

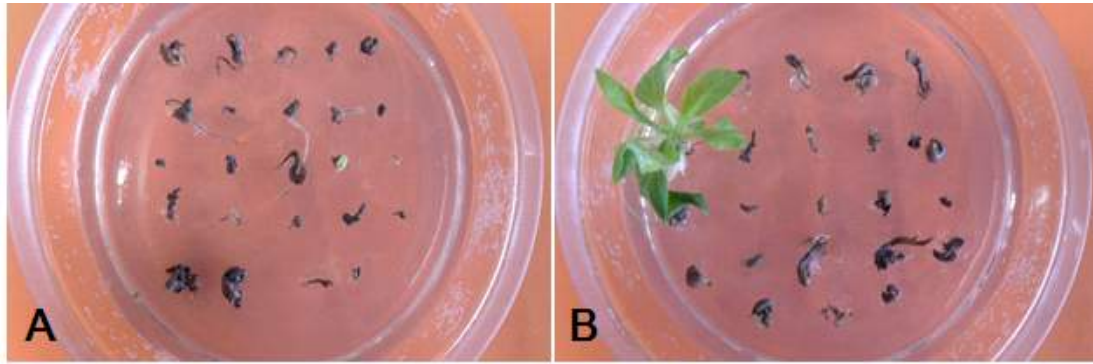


그림 2-15. 재분화 배지로 정상자엽배 이식 후 식물체 발달

소포자 배양 기간이 6주로 비교적 긴 shed-소포자배양은 액체배지에 오랜 시간 소포자 또는 소포자유래 배가 침지된 상태로 배양이 되기 때문에 재분화에 영향을 미칠 수 있다. Shed-소포자 배양 유래의 배를 정상 식물체로 재분화 시키기 위해서는 배양 용기 크기가 기존에 사용하던 100x40 mm 용기는 적합하지 않다. 6주 배양 후 발생한 소포자배를 100x20 mm 배양 용기에 옮긴 후 액체배지를 제거하고 2-3주 배양하여 자엽이 전개되거나 배가 기립된 배를 선발하여 100x40 mm 배양 용기에 옮겨 정상적인 식물체로 발달하도록 하였다. 이와 같은 방법을 통해 정상 식물체로의 발달이 가능하였다 (그림 2-16).

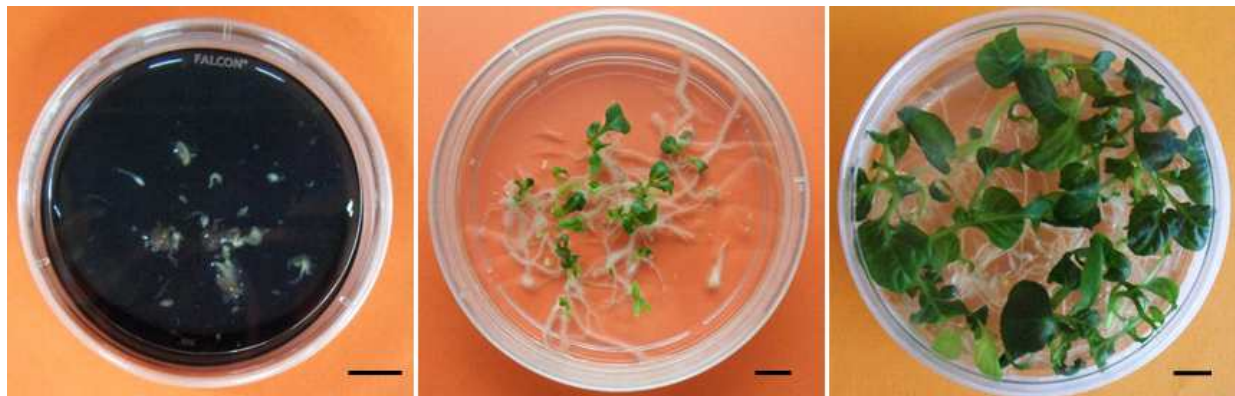


그림 2-16. 고추 shed-소포자 배양 후 2-step 재분화

배양 기간이 6주 이상이 되면서 결과조사 및 재분화에 어려움이 있었으나 2-step 재분화 방법을 통해서 정상식물체를 확보하는 것이 가능하게 되었다. 그러나 결과조사 3~6개월 후 배양 용기에서 다수의 배가 발생하는 것이 확인되었다. 이와 같은 경우에는 실험 결과 조사에는 포함시키지 못하지만 정상적인 식물체를 생산하여 육종에 응용하기에는 큰 문제는 없다. 따라서 매우 늦게 유기되는 소포자배는 실험 외적으로 식물체를 생산하기 위해 재분화 배지에 옮겨 정상 식물체로 발달시켰다. 이때도 오랜 기간 액체배지의 영향으로 재분화율이 감소되기 때문에 2-step 재분화 방법을 이용하였으며, 계대배양을 1회 더 실시하여 정상식물체로의 발달 효율을 높였다 (그림 2-17).



그림 2-17. 고추 shed-소포자 배양 시 배양 3~6개월 후 발생한 소포자배, 2-step 방법을 이용한 정상식물체 개발

shed-소포자배양에 의한 재분화 식물체 확보를 위해서는 직접적으로 식물체로 재분화하는 방법은 적절치 않은 것으로 판단되며, 재분화 단계를 2단계로 설정하고 배양 6주된 소포자배를 90x20 mm 용기에 1웁긴 후 2-4주 후 100x40 mm에 옮겨 완전한 식물체로 발달시킬 수 있다 (그림 2-18). 2-step 재분화 방법을 이용할 경우 shed-소포자배양을 통해서도 다수의 소포자유래 반수체와 배가반수체를 확보할 수 있을 것으로 기대된다.

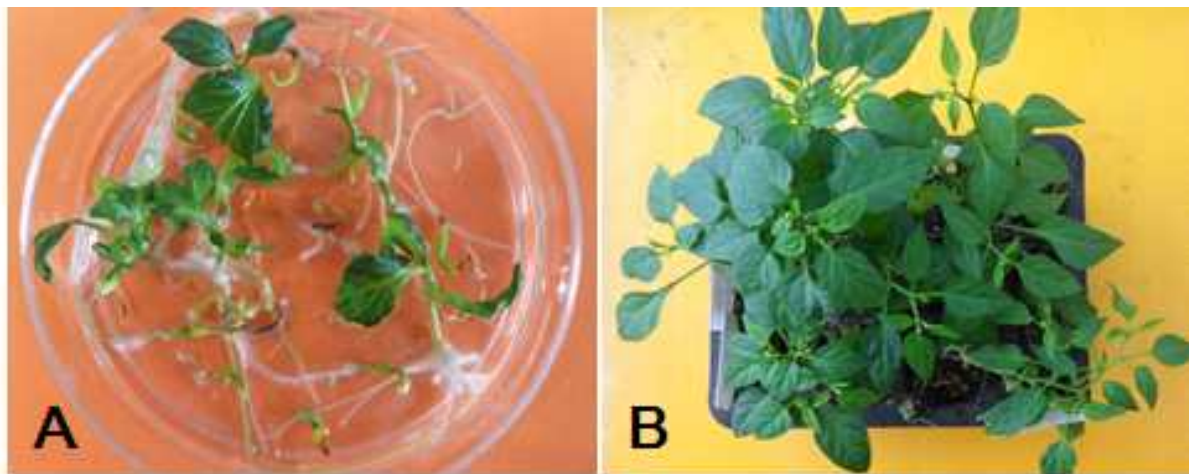


그림 2-18. 2-step 재분화 배양 방법을 통한 식물체 생산

(10) 고추 shed-소포자 배양 시 2-step 재분화 배양방법을 통한 식물체 생산 효율 증진

shed-소포자배양에 의해 유기된 소포자배를 일반적인 재분화 용기 (100x40 mm)에 이식한 경우 대부분의 배가 식물체로 발달하지 못하고 고사하는 경우가 발생하는 경우가 많다. 고추 shed-소포자 배양 시 배발생 경향을 조사한 결과 shed-소포자 배양방법을 이용할 경우 나출 소포자 배양과는 다르게 2-step 재분화 배양방법의 도입이 필요하다고 판단되어 HSM003과

HSM005 품종을 대상으로 배발생 후 기존의 방법대로 일반적인 재분화 용기(100x40 mm)에 이식하는 1-step방법과 재분화 단계를 2단계로 설정하고 배양 6주 된 소포자배를 90x20mm 용기에 1번 옮긴 후 2-4주 후 100x40mm에 옮기는 2-step 방법간 재분화율을 비교하였다.

2-step 재분화 배양방법을 통한 식물체 생산시 품종간 차이는 있었으나 HSM003, HSM005 두 품종 모두 재분화율이 매우 높아지는 것을 확인하였다(표 2-11, 그림 2-14). HSM003 품종의 경우 기존 재분화 배양방법 사용시 재분화율이 3.3%였으나 2-step 재분화 배양방법 사용시 59.1%로, HSM005 품종은 기존 재분화 배양방법 사용시 재분화율이 9.8%였으나 2-step 재분화 배양방법 사용시 77.4%로 재분화 효율이 크게 상승하였다.

표 2-11. 고추 shed-소포자 배양 시 재분화 배양방법에 따른 재분화율 차이

Genotype	Redifferentiation method	No. of Embryo	No. of Redifferentiated plantlet	Redifferentiation rate(%)
HSM003	1-step	26.7±4.9	1.0±1.7	3.3±5.8
	2-step	117.0±36.8	72.0±39.6	59.1±15.3
HSM005	1-step	27.3±0.6	2.7±0.6	9.8±2.3
	2-step	159.0±66.9	127.3±71.0	77.4±10.1

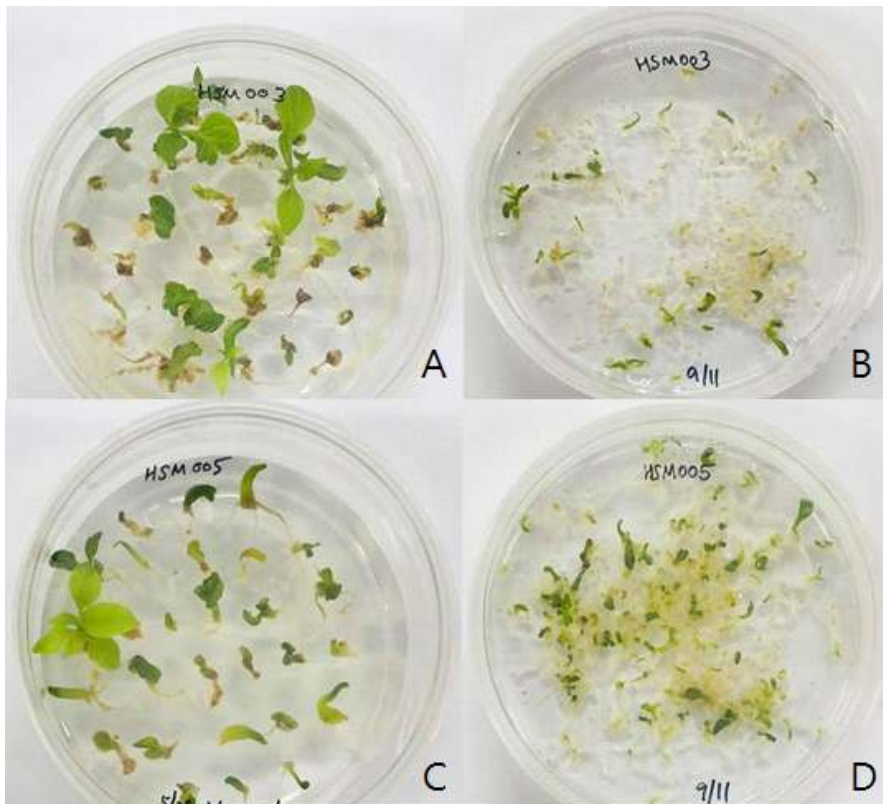


그림 2-14. 고추 shed-소포자 배양 시 재분화 배양방법에 따른 재분화율 차이. A: HSM003 기존 방법 재분화 배양, B: HSM003 2-Step 재분화 배양, C : HSM005 기존 방법 재분화 배양, D: HSM005 2-Step 재분화 배양

(11) 재분화 방법 개선을 통한 shed 소포자 배양 효율 증진

shed 소포자 배양은 배양기간이 나출 소포자 배양보다 다소 길어 빨리 반응하는 품종은 8주차에 조사가 가능하지만 품종마다 배발생 시기가 매우 다르고 24~30주까지 배양기간을 늘려도 배발생이 전혀 안 되는 경우가 많다. 배양기간이 길어질수록 배지 내 양분은 불균형해져 배발생 및 발달에 불리한 조건이 조성된다.

24주 이상 배양을 해도 배발생이 전혀 되지 않은 플레이트를 대상으로 약을 제거한 액체배지를 1/2MS 재분화 배지에 옮긴 후 1주일 암처리 한 결과 배발달이 시작되면서 4주후에는 재분화가 정상적으로 되는 것을 확인하였다(그림 2-15).

재분화 배지로 이동 후 암처리(1주일)

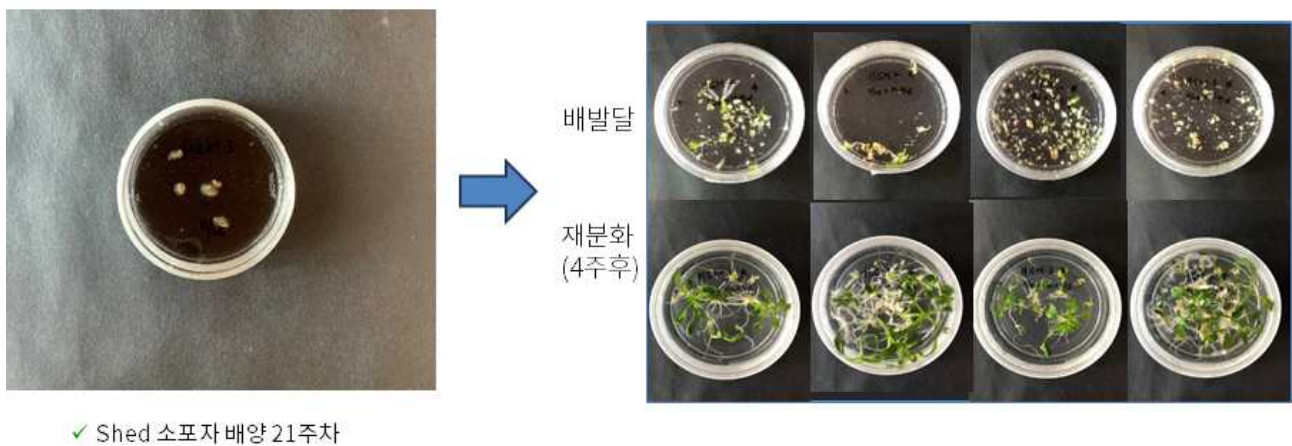


그림 2-15. shed 소포자 장기 배양 시 재분화 방법 개선

20CV19 품종을 대상으로 2021년 4월 15일 배양을 시작했을 때 6개월 후인 10월 16일에도 소포자 유래 배가 발생하지 않아 오래된 약을 제외한 액체배지를 재분화 배지에 옮긴 후 바로 명배양한 처리구와 재분화 배지에 옮긴 후 1주일간 암처리 후 명배양 한 처리구간 재분화 양상을 비교한 결과 직접 재분화시 평균 재분화 식물체는 12.6주, 순화완료 식물체는 7.1주였던 것에 비해 1주일 암처리 후 재분화했을 경우 평균 재분화 식물체는 25.3주, 순화완료 식물체는 13주로 재분화율은 2배 증가한 것으로 나타났다(표 2-12). 본 연구결과를 shed 소포자 배양시 배발생이 늦은 품종에 적용하면 기존 방법대로 배양할 경우 재분화 식물체를 전혀 얻지 못하는 품종에서 다수의 식물체를 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

표 2-12. 고추 shed 소포자 배양시 재분화 방법 개선에 따른 재분화 결과

처리구	배양기간(주)	플레이트(개)	재분화(주)	순화(주)
직접 재분화	26	2	13	9
		2	31	14
		2	31	18
		2	24	16
	합계	8	101	57
	평균		12.6	7.1
1주일 암처리 후 재분화	26	2	16	7
		1	66	32
		1	33	24
		1	36	20
	2	19	8	
	합계	7	170	91
	평균		25.3	13

* 품종 : 20CV19(바이러스 저항성 시관품종), 배양시작일 4월 15일, 재분화시작일 10월 16일

위의 결과를 토대로 shed 소포자 배양시 기존 배양방법으로는 배발생이 안되는 품종을 대상으로 재분화 방법을 개선한 결과 품종에 따라 다소 차이는 있었지만 다수의 재분화 식물체를 획득하였다(표 2-13, 그림 2-16).

표 2-13. 고추 shed 소포자 배양시 품종별 재분화 방법 개선에 따른 재분화 결과

구분	품종	재분화시기 (배양 시작후 주수)	재분화 (주)
내부(병저항성 품종)	20CV8	22	101
	20CV10	22	20
	20CV12	23	164
	20CV16	20	283
	20CV17	25	123
	20CV18	25	58
	20CV19	25	836
	20CV20	23	7
외부(하나종묘 의뢰)	19F1073	30	632
	19F2430	26	133



그림 2-16. 개선된 재분화 방법으로 생산한 고추 소포자 유래 식물체

(12) 고온 스트레스가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사

기존 shed 소포자 배양시 전처리 온도는 9℃, 전처리 기간은 7일로 하여 배양을 수행하고 있다. 현재 전처리 온도 및 기간보다 효율적인 온도 및 기간을 찾아보기 위해 25, 32, 36, 40℃로 각각 온도를 달리하고 각 온도 처리별 처리 기간을 3일, 7일로 하여 시험을 수행하였다. 그 결과 기존 전처리 조건인 9℃, 7일 처리구에 비해 대부분의 처리구에서 배 발생이 감소하였다(표 2-14). 그 중 9℃ 3일, 32℃ 3일, 36℃ 3일 처리구에서는 각각 플레이트당 배발생 수가 12.6, 13.8, 14.0개로 나타났고 7일간 처리한 시험구는 대부분 배발생 수가 매우 낮은 것을 확인하였다.

또한 처리구별 재분화는 7일 처리한 시험구에서는 재분화가 이루어지지 않았으며 기존 처리 조건인 9℃, 7일 처리구가 58.3%로 가장 높았고 그 다음은 36℃ 3일, 32℃ 3일, 25℃ 3일, 9℃ 3일 순으로 조사되었다(그림 2-17).

표 2-14. 고추 shed 소포자 배양 시 고온 전처리에 따른 배발생 효율 비교

Pre-treatment		No. of embryos/plate		
Temp. (℃)	Period (days)	Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	Total
9	3	9.2±10.8	3.8±2.9	12.6±12.8
	7	19.2±116	7.1±4.6	26.3±14.0
25	3	3.5±2.2	2.8±1.7	5.9±3.5
	7	-	-	-
32	3	9.6±8.0	5.0±3.5	13.8±4.9
	7	2.0±1.1	13.0±2.8	15.0±4.0
36	3	10.8±15.5	4.7±3.7	14.0±17.2
	7	3.0±0.8	7.5±9.2	9.0±11.3
40	3	4.0±2.3	2.0±1.0	6.0±4.0
	7	-	-	-

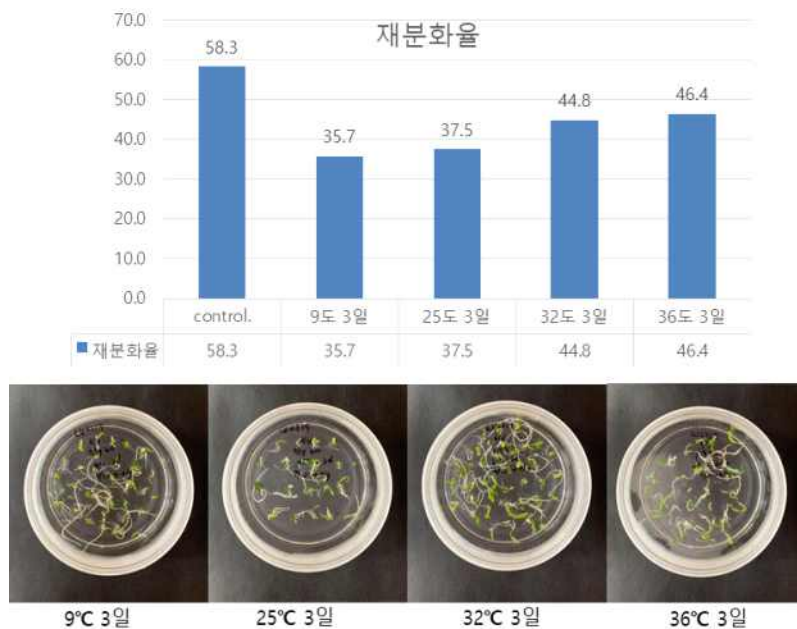


그림 2-17. 고추 shed 소포자 배양시 고온 전처리에 따른 재분화 효율 비교

(13) 기아 전처리가 소포자 배 발생에 미치는 영향 조사

담배, 밀, 보리 등에서 당을 포함하지 않은 기아배지를 사용할 경우 배 발생에 효과적이라는 기존 보고에 착안하여 고체배지에 당-기아처리를 한 경우, 첨가배지에 당 기아처리를 한 경우, 고체배지 및 첨가배지에 모두 당-기아처리를 한 경우 세가지 조건을 처리할 때 각 처리별 소포자 배 발생을 조사하였다. 현재 shed 소포자 배양시 maltose가 2% 포함된 NN 배지를 사용 중이다. 배지내 기아조건을 달리하여 현재 사용하는 배지 보다 효율적인 조건을 찾아보기 위해 maltose 농도를 각각 전처리배지 0% + 추가배지 4%, 전처리배지 1% + 추가배지 3%, 전처리배지2% + 추가배지2%(con) 3수준으로 처리한 후 소포자배 발생을 조사하였다. 배발생 조사결과 전체 배발생비율은 전처리배지 0%+추가배지 4% 처리가 총 배발생은 높았으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다(표 2-15). 배지 추가시 평균적으로 maltose 농도가 일정하면 배발생에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단되며, 향후 배지내 다양한 당 수준별 시험이 추가적으로 필요할 것으로 보인다.

표 2-15. 고추 shed 소포자 배양 시 배지 기아처리에 따른 배발생 효율 비교

Carbon starvation (maltose contents in medium)	No. of embryos/plate			
	Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
0%+4%	15.1±6.9	62.9±26.1	15.4±8.5	93.1±27.3
1%+3%	12.9±7.8	59.3±25.4	13.7±8.9	85.3±32.4
2%+2%(con)	9.5±6.1	60.5±31.8	13.2±13.3	82.9±40.2

ELS indicates embryo-like structure

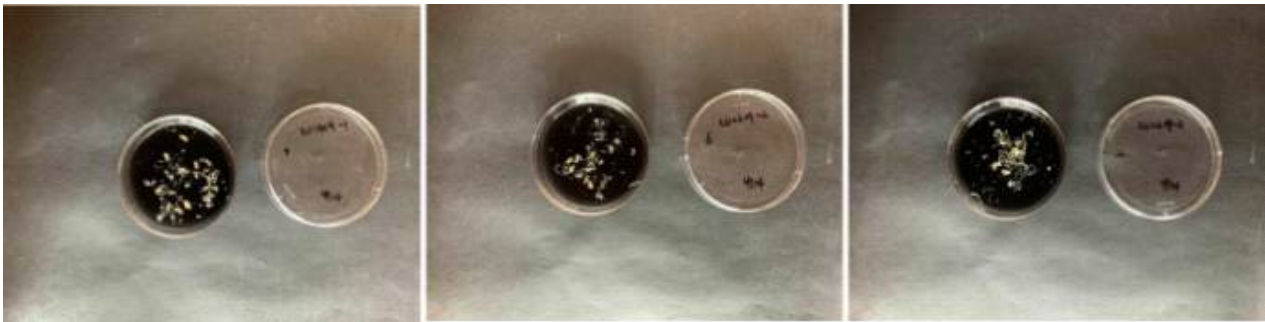


그림 2-18. 고추 shed 소포자 배양 시 배지 기아처리에 따른 배발생 효율 비교(좌 : 전처리배지 0%+추가배지 4%, 중 : 전처리배지 1%+추가배지 3%, 우 : 전처리배지2%+추가배지2%)

3. 소포자 유래 반수체 및 배가반수체 분석

고추 나출 소포자 유래의 반수체와 배가반수체의 원예적 특성을 조사하기 위해서 초장, 주간길이, 경장, 엽장, 엽폭, 화폭, 과장, 과폭 및 과형을 조사하였고, 종자결실 여부를 조사하기 위해서 열매를 수확하여 종자 유, 무를 확인하였다. 재분화된 식물체의 반수체 및 배가반수체 여부를 확인하기 위해 재분화 식물체의 어린잎을 대상으로 하여 Flow cytometer를 이용, 배수성을 검정하였다. 밀양재래와 LV2319 품종에서 각각 87개, 121개의 소포자 유래 식물체 총 208개체를 분석하여 반수체와 배가반수체를 구분하였다.

(가) 나출 소포자배양 유래 식물체 생육

2016년도에 나출 소포자배양을 통해서 생산된 재분화 식물체 208개체의 배수성 검증 및 원예적 특성분석을 위해 국립원예특작과학원 온실에서 생육하여 생육하였다 (그림 2-19).



그림 2-19. 고추 나출 소포자배양 유래 식물체의 순화 과정 및 온실 생육 모습

(나) 반수체/배가반수체의 원예적 특성 분석 및 배가반수체 생산 효율

열매가 붉은색으로 변하는 시기에 원예적 특성을 조사한 결과 식물체의 총길이는 큰 차이가 없었으나 주간길이(지체부에서 1차분지까지의 길이), 잎의 길이와 폭에서 큰 차이가 나타났다(표 2-16). 특히 열매의 길이와 폭은 큰 차이가 있었다. 반수체의 경우 수분이 이루어지지 않은 채 발생하는 과실의 모양(석과)을 보였으며 종자는 없었다. 반면, 배가반수체는 모식물과 동일한 크기와 모양의 열매를 수확하였으며, 종자 또한 정상적으로 발달하였다(그림 2-20).

배수성 분석 결과 자연적인 배가반수체 생산 효율은 밀양재래 품종의 경우 35.6%, LV2319 품종의 경우 72.7%로 품종 간 차이가 발생하였다.

표 2-16. 소포자유래 반수체/배가반수체의 생산 효율과 원예적 특성 분석

Genotype	Ploidy level	Rate (%)	Plant height (cm)	Clean stem height (cm)	Clean stem width (mm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Flower length (cm)	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)	Fruit shape
Milyang-jare	H	64.4	30.5±6.9	4.4±2.6	7.6±2.0	9.7±1.7	2.5±0.5	1.8±0.2	3.9±0.4	1.4±0.3	Circular, Cordate Moderately triangular
	DH	35.6	30.8±9.4	6.3±3.7	7.3±1.5	12.2±2.6	3.3±0.6	1.9±0.2	7.9±1.9	1.8±1.2	
LV2319	H	27.3	31.5±7.9	5.6±3.5	7.9±1.9	10.1±2.9	2.4±0.8	1.9±0.6	6.5±3.1	1.2±0.3	Circular, Cordate Narrowly triangular, Hornshaped
	DH	72.7	31.1±9.5	7.1±2.7	8.3±1.5	13.5±2.8	3.2±0.7	2.1±0.4	10.1±2.3	1.9±0.4	

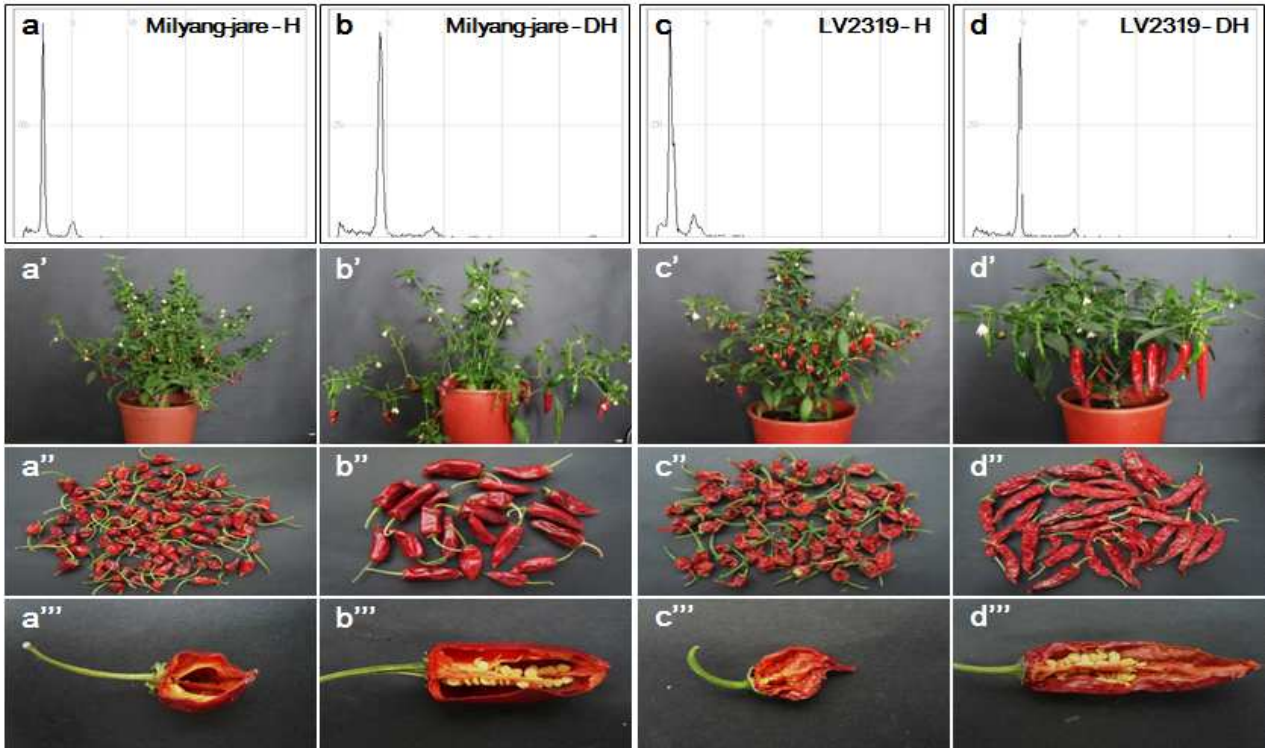


그림 2-20. 고추 소포자배양 유래 반수체와 배가반수체의 배수성 검증 결과. a-d. flow cytometry analysis, a'-d'. 소포자 유래 식물체, a''-b''. 열매 특성, a'''-b'''. 종자 결실. (a-b: 밀양재래, c-d: LV2319)

(다) Flow cytometry 분석을 통한 배수성 검증

Flow-cytometry 분석 결과 배가반수체는 모식물의 경향과 동일하게 나타났으며, 소포자유래 식물체를 분석하여 반수체와 배가반수체를 구분하였다. Flow-cytometry 분석과 원예적 특성을 통한 반수체와 배가반수체 분류는 완전하게 동일한 결과를 나타냈다. 원예적 특성 특히 과실의 형태와 종자 발달로 반수체와 배가반수체를 완전하게 구분해 낼 수 있었다 (그림 2-20).

또한 2018년 의뢰받은 3품종에서 유기한 재분화 식물체 33점을 대상으로 Flow-cytometry 분석을 통한 배수성 검정을 수행하였다(표 2-17). 삼성종묘 의뢰 31번 품종에서 획득한 11개체 중 반수체는 7개체, 배가반수체는 4개체로 전체 재분화 식물체 중 자연배가 반수체 비율은 36.4%였다(그림 2-21). 삼성종묘 의뢰 34번 품종에서 10개체중 반수체는 5개체, 배가반수체는 5개체로 전체 재분화 식물체 중 자연배가 반수체 비율은 50.0%였으며(그림 2-22), 현대종묘 의뢰 HSM001 품종에서 유기한 식물체 12개체 중 반수체는 9개체, 배가반수체는 3개체로 반수체 비율은 25.0%로 나타났다(그림 2-23). 품종에 따른 자연 배가반수체 획득비율은 다소 차이가 있는 것을 확인하였고, 다양한 품종에 대한 보다 많은 데이터 축적이 필요할 것으로 판단된다.

표 2-17. 품종에 따른 반수체 및 배가반수체 비율 분석

Genotype	No. of haploid plants(A)	No. of doubled haploid plants(B)	B/(A+B)*100
31	7	4	36.4
34	5	5	50.0
HSM001	9	3	25.0

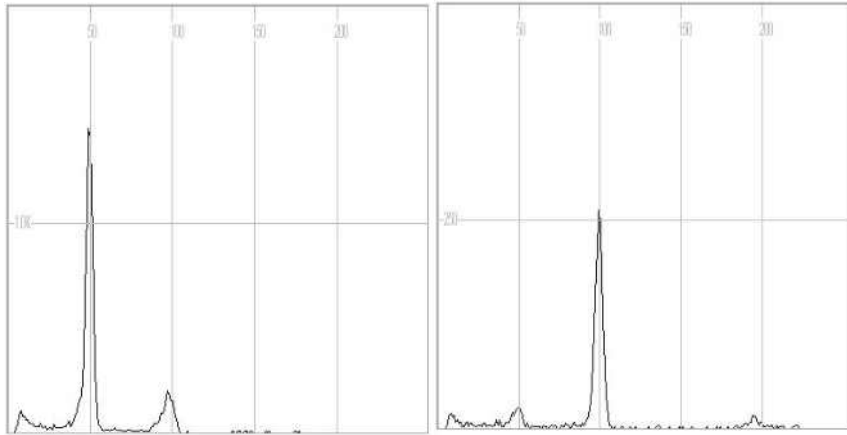


그림 2-21. 삼성종묘 31유래 식물체 배수성 검정. 좌 : 반수체(18NH-MR92), 우 : 배수체 (18NH-MR95)

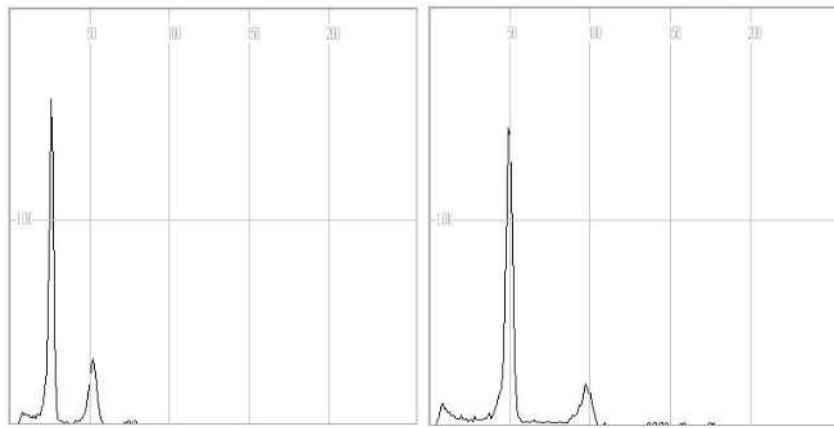


그림 2-22. 삼성종묘 34유래 식물체 배수성 검정. 좌 : 반수체(18NH-MR111), 우 : 배수체 (18NH-MR107)

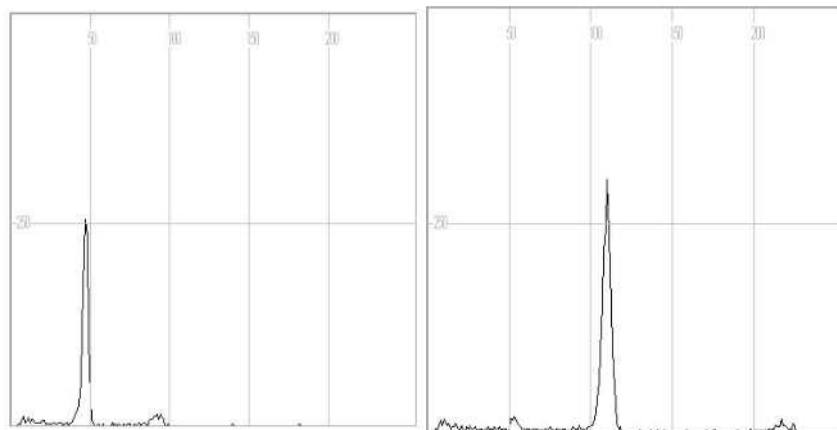


그림 2-23. 현대종묘 34유래 식물체 배수성 검정. 좌 : 반수체(18NH-MR120), 우 : 배수체 (18NH-MR123)

4. 유용형질 및 외부 의뢰품종 소포자유래 식물체 개발 및 분양

본 과제의 중요한 연구목표 중 하나는 GSP 채소종자사업단 과제에 참여하여 수출용 고추 품종을 개발하는 민간종묘회사 및 대학에서 의뢰하는 품종을 대상으로 하여 다양한 소포자유래 반수체 및 배가반수체를 개발하여 보급하는 것이다. 이를 위해 에코씨드, 바이오통, 현대종묘, 삼성종묘, 하나종묘 등에서 총 29개 품종을 의뢰받아 이를 모식물체로 하여 소포자 배양을 수행하였다. 또한 자체적으로 개발한 중간잡종 F₁ 조합 및 고색소 계통들을 대상으로도 소포자 배양을 수행하였다(표 2-18).

표 2-18. 원예원 자체 개발 유용형질 조합 및 외부 의뢰품종 목록

구분	내부/외부	의뢰기관	품종특성	품종명
1-2차년도 (2017-2018)	내부	국립원예특작과학원	고색소	7QF4 등 4품종
			관상용	16NHC (F1, 중간교잡)
	외부	서울대학교	역병/선충저항성	SNU2 (F1)
			바이러스복합저항성	BK17PE0001 (F1)
		에코씨드	중국수출용	Eco1 등 3품종
		바이오통	중국수출용	CV0274 등 3품종
하나종묘	TSWV저항성	TSWV 저항성 집단 (F2)		
3차년도 (2019)	내부	국립원예특작과학원	내재해성 선발자원	19HT1 등 12품종
			병저항성(시판종)	18MC2 등 11품종
	외부	에코씨드	병저항성	TB35 등 3품종
		국립농업과학원	병저항성	19GP28 등 2품종
		삼성종묘	우각초, F3세대	31 등 5품종
현대종묘	대과, 소엽, 중조생, 신미강	HSM001 등 5품종		
4차년도 (2020)	내부	국립원예특작과학원	내재해성 선발자원	19LT1 등 12품종
			병저항성(시판종)	18MC2 등 11품종
	외부	에코씨드	병저항성	TB35 등 3품종
		국립농업과학원	병저항성	19GP28 등 2품종
		삼성종묘	우각초, F3세대	31 등 5품종
		현대종묘	대과, 소엽, 중조생, 신미강	HSM001 등 5품종
		하나종묘	TSWV저항성, 탄저내병계	19F1073 등 3품종
		고추와육종	건고추용 육성계통	PB44 등 5품종
바이오통	중국 수출용	CV0274 등 3품종		
5차년도 (2021)	내부	국립원예특작과학원	내재해성 선발자원	21LT1 등 10품종
			병저항성 시판품종	20CV1 등 10품종
	외부	국립농업과학원	병저항성	19GP28 등 2품종
		삼성종묘	우각초, F5세대	31 등 5품종
		현대종묘	대과, 소엽, 중조생, 신미강 등	HSM001 등 5품종
		하나종묘	TSWV저항성, 탄저내병계	19F1073 등 3품종
		바이오통	중국 수출용	CV0274 등 3품종
		고추와육종	건고추용 육성계통	PB44 등 5품종

매년 초에 고추 소포자 배양 요청서와 종자 (또는 모종)를 제출하면 소포자 배양 후 식물체 상태 (순화 완료 또는 순화 단계)로 식물체를 분양하게 된다. 식물체 분양일에 인수증을 확인 후 소포자유래 식물체를 인수받게 된다 (그림 1-22).

소포자유래 식물체는 반수체/배가반수체 구별없이 계수하여 분양되며, 향후 생육시 원예적

특성 또는 열매, 종자 관찰을 통해서 반수체와 배가반수체를 구분할 수 있다. 확인 후 반수체는 콜히친이나 오리잘린과 같은 배수성 유도물질을 처리하여 배가반수체로 전환시켜 육종재료로 이용할 수 있다.

고추 소포자 배양 요청서

세부프로젝트명 : 선초형 품종 개발
 세부프로젝트기관 : 농업회사법인 ㈜하나종묘
 세부프로젝트 책임자 : 이윤직
 작물명 : 고추
 의뢰품종 내역

번호	품종명(자원명)	종자립/모종 수	품종특성	세대
1	16F0216	43	TSWV내병계	BC1F1
2	16F0597,16F0598	200	TSWV내병계	BC1F1
3	16F0599	100	TSWV내병계	BC1F1
4	16F0602,16F0603	177	TSWV내병계	BC1F1
5	16F0610	100	TSWV내병계	BC1F1

유의사항
 ① 1개 기관 및 기업체 당 연간 5 품종으로 제한합니다.
 ② 발아율이 높은 종자를 보내주세요 (요율 보내주셔도 무방합니다).
 ③ 시료의 평균 종자의 경우 10립, 오종의 경우 5개체가 필요합니다(1회에 5개체 생략). 회발수가 적거나 생육이 더딘 품종의 경우 종자를 더 요구할 수 있습니다.
 ④ 품종에 따라 배양효율이 다를 수 있습니다.
 ⑤ 반수체/배가반수체 구별없이 소포자유래 식물체를 분양합니다.
 ⑥ 기내식물체 분양을 원칙으로 하나 합의 후 순화식물체로도 분양이 가능합니다.
 ⑦ 품종특성과 세대 정보는 소포자배양 효율 등 연구결과 분석에 활용됩니다.

고추 소포자 유래 식물체 인수증

다음과 같이 소포자 배양으로 발생된 고추 식물체를 인수하였음을 확인합니다.

○ 관련 : 재소과-2656 (2015. 10. 21.)

○ 인수자
 성 명 : 김동암
 생 년 월 일 : 1974.6.16
 주 소 : 경기도 안성시 미양면 신두만곡로 331 ㈜하나종묘

김동암

전화번호 : 010-3367-1650

○ 고추 소포자 유래 식물체 분양목록

일련번호	리벨	작물명	비고
1	17NH-MR1	고추	TSWV 저항성 집단
2	17NH-MR2	고추	TSWV 저항성 집단
3	17NH-MR3	고추	TSWV 저항성 집단
4	17NH-MR4	고추	TSWV 저항성 집단
5	17NH-MR5	고추	TSWV 저항성 집단
6	17NH-MR6	고추	TSWV 저항성 집단
7	17NH-MR7	고추	TSWV 저항성 집단
8	17NH-MR8	고추	TSWV 저항성 집단
9	17NH-MR9	고추	TSWV 저항성 집단
10	17NH-MR10	고추	TSWV 저항성 집단
11	17NH-MR11	고추	TSWV 저항성 집단
12	17NH-MR12	고추	TSWV 저항성 집단
13	17NH-MR13	고추	TSWV 저항성 집단
14	17NH-MR14	고추	TSWV 저항성 집단
15	17NH-MR15	고추	TSWV 저항성 집단
16	17NH-MR16	고추	TSWV 저항성 집단
17	17NH-MR17	고추	TSWV 저항성 집단
18	17NH-MR18	고추	TSWV 저항성 집단
19	17NH-MR19	고추	TSWV 저항성 집단
20	17NH-MR20	고추	TSWV 저항성 집단
21	17NH-MR21	고추	TSWV 저항성 집단
22	17NH-MR22	고추	TSWV 저항성 집단
23	17NH-MR23	고추	TSWV 저항성 집단

그림 2-24. 고추 소포자 배양 요청서 및 소포자 유래 식물체 인수증

가. 하나종묘 TSWV 저항성 품종 개발을 위한 소포자유래 식물체 생산 및 분양

하나종묘에서 의뢰한 TSWV 저항성 품종(F₂)은 shed-소포자 배양을 통해 유기된 소포자 배로부터 식물체로 재분화시켰다(그림 2-25). 1차 61개체, 2차 68개체, 총 129개의 식물체가 2회에 걸쳐 분양완료 되었다.



그림 2-25. TSWV 저항성 품종 반수체/배가반수체 분양 현황

나. 중국 수출용 품종 개발을 위한 소포자유래 식물체 생산 및 분양

에코씨드에서 3종류의 품종의 소포자 배양을 의뢰받아 소포자 유래의 식물체를 확보하였다. Eco1 품종에서 91개체, Eco2 품종에서 14개체, Eco3 품종에서 1개체를 개발하여 분양하였다 (그림 2-26). 3개 품종은 모두 열매가 선초형이며, 상향으로 동일하나, 소포자 배양 효율은 Eco1 품종이 가장 높았으며 Eco3품종에서는 단 1개체만을 얻어 품종 간 큰 차이를 보였다.



그림 2-26. 에코씨드 의뢰 모식물 및 고추 소포자유래 식물체 순화, 재분화 현황

바이오통으로부터 CV0274, CV0343, CV0353 3 품종을 의뢰받아 나출 소포자 배양을 시도하였다. 바이오통의 의뢰품종들은 품종에 따른 표현형의 차이가 크고, 목적형질이 뚜렷한 특징이 있다(그림 2-27). 현재까지 CV0274 유래 5개체, CV0343 유래 5개체 총 10개체를 확보하여 분양완료하였으며 다른 기관의 의뢰 품종에 비해 소포자 배양 효율도 매우 낮았다.

에코씨드와 바이오통에서 의뢰한 6품종 모두 나출 소포자 배양을 시도하여 소포자배를 생산하였으나 품종에 따른 차이가 크며, 전체적으로 배발생 효율이 매우 낮다. 향후 품종 및 모식물의 특성이 소포자 배발생 효율에 미치는 영향을 조사하여 적합한 배양 방법을 모색해야 할 것으로 판단된다.



그림 2-27. 바이오통 의뢰 모식물의 형태적 차이 및 소포자유래 식물체

다. 서울대학교 복합바이러스 저항성 품종의 소포자유래 식물체 생산

복합바이러스 저항성 품종으로부터 35개의 소포자유래 식물체를 개발, 분양하였다 (그림 2-28). 복합바이러스 저항성 품종의 경우 shed-소포자 배양 시 소포자배의 발생이 전무 하였으며, 개발한 재분화 식물체는 모두 나출 소포자 배양을 통해서 생산되었다.

소포자배와 식물체를 생산하기 위해서 shed-소포자 배양과 나출 소포자 배양을 시도한 결과 소포자배 발생은 품종에 따라서 큰 차이를 보였다. 현재까지는 제한된 품종만을 대상으로 배양을 시도하여 유의적인 경향을 도출할 수는 없었으나 품종에 따라서 적합한 배양방법이 존재하는 것은 확인할 수 있었다. 향후 지속적인 연구를 통해서 품종 특성에 따른 배양방법 구축이 필요할 것으로 보인다.



그림 2-28. 서울대학교 복합바이러스 저항성 품종의 재분화 및 순화

라. 삼성종묘 의뢰 품종의 소포자유래 식물체 생산

2018년 삼성종묘에서 의뢰한 31, 32, 33, 34, 35 총 5품종(그림 2-29)에 대해 shed 소포자 배양을 수행하여 31번 유래 11개체, 32번 유래 1개체, 34번 유래 10개체, 35번 유래 3개체를 얻어 의뢰회사에 분양완료하였다(그림 2-30).



그림 2-29. 삼성종묘 의뢰 모식물의 형태적 차이



그림 2-30. 삼성종묘 의뢰 품종 유래 재분화 식물체(2018)

2019년에는 동일한 의뢰품종을 대상으로 소포자 배양을 수행하여 31번 유래 1개체, 32번 유래 4개체, 33번 유래 3개체, 34번 유래 17개체를 추가로 얻었으나(그림 2-31) 순화과정에서 문제가 있어 분양은 완료하지 못하였다.

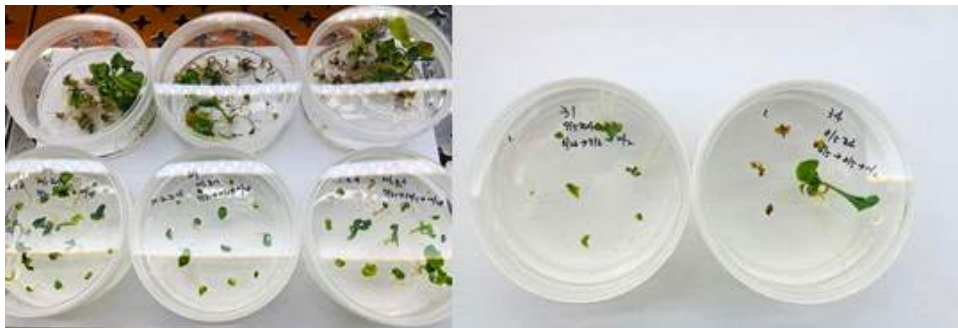


그림 2-31. 삼성종묘 의뢰 품종 유래 식물체 현황(2019)

마. 현대종묘 의뢰 품종의 소포자유래 식물체 생산

2018년 현대종묘에서 의뢰한 HSM001, HSM002, HSM003, HSM004, HSM005 등 총 5품종에 대해 shed 소포자 배양을 수행하여 2018년 HSM001 유래 12개체를 얻어 의뢰회사에 분양완료하였다(그림 2-32). 재분화 식물체를 획득한 HSM001은 대과종에 있어 작고 중조생이며 신미가 강한 특징을 지닌 품종이다. 2019년에는 HSM001 유래 10개체, HSM002 유래 24개체, HSM003 유래 11개체, HSM004 유래 174개체, HSM005 유래 103개체를 얻어 의뢰회사에 분양완료하였다(그림 2-33).

2021년 shed 소포자 배양 수행시 배가 발생하지 않는 페트리디쉬를 재분화배지로 옮겨 식물체 재분화 효율을 높였는데 이 방법을 현대종묘 의뢰 품종에 적용하여 1차로 233개체, 2차로 137개체의 소포자 유래 식물체를 획득하여 의뢰회사에 분양완료하였다(그림 2-34).



그림 2-32. 현대종묘 의뢰 품종 유래 재분화 식물체(2018)



그림 2-33. 현대종묘 의뢰 품종 유래 재분화 식물체(2019)



그림 2-34. 현대종묘 의뢰 품종 유래 재분화 식물체(2021)

바. 고추와 육종 의뢰 품종의 소포자 유래 식물체 생산

4차년도에 고추와 육종에서 의뢰한 PB44, PB47, PB18F6300-1, PB18F6300-17, PB18F6301-10 등 총 5품종에 대해 소포자 배양을 수행하여 PB44 유래 49개체, PB47 유래 24개체, PB18F6300-1 29개체, PB18F6300-17 6개체, PB18F6301-10 유래 52개체를 얻어 의뢰회사에 분양완료하였다(그림 2-35). 고추와 육종에서 의뢰한 품종은 대부분 배양효율이 높았으며 앞에서 언급한 바와 같이 PB44 품종은 배양효율이 82.2%로 소포자 배양을 수행했던 품종중 효율이 가장 높은 것으로 나타났다.

5차년도에도 동일한 품종을 대상으로 소포자 배양을 수행하여 PB44 유래 10개체, PB47 유래 4개체, PB18F6300-1 17개체, PB18F6300-17 10개체, PB18F6301-10 유래 43개체 등 총 84개체를 얻어 분양완료하였다(그림 2-35).



그림 2-35. 고추와 육종 의뢰 품종 유래 식물체 분양 현황 (2020~2021)

사. 소포자 유래 식물체 생산 및 분양 현황

내부 보유 자체자원 및 시판품종 80점으로부터 총 1,556개의 소포자 유래 식물체를 개발하였다. 또한 6개 기업체 및 1개 대학으로부터 의뢰받은 29개 품종으로부터 총 1,243개의 소포자 유래 식물체를 개발하였다.

표 2-19. 소포자유래 식물체 생산, 분양 현황(2017~2018)

No.	내부/ 외부	의뢰 기관	품종 특성	품종명	배양결과	
1	내부	원예특작과학원	고색소	7QF4	28	
2				7QF9	-	
3				7QF36	36	
4				7QF38	-	
5			관상용	16NHC (F ₁ , 종간교잡)	1	
6	외부	서울대학교	역병/선충저항성	SNU2 (F ₁)	2	
7			바이러스복합저항성	BK17PE0001 (F ₁)	35	
8		에코씨드	중국 수출용	Eco 1	91	
9				Eco 2	14	
10				Eco 3	1	
11		바이오통	중국 수출용	CV0274 (F ₁)	5	
12				CV0343 (F ₁)	5	
13				CV0353 (F ₁)	-	
14		하나종묘	TSWV 저항성	TSWV 저항성 조합 (F ₂)	129	
15		삼성종묘			31	11
16					32	1
17					33	-
18					34	10
19					35	3
20		현대종묘			HSM001	12
21					HSM002	-
22					HSM003	-
23					HSM004	-
24					HSM005	-

표 2-20. 소포자유래 식물체 생산, 분양 현황(2019)

No.	내부/ 외부	의뢰 기관	품종 특성	품종명	배양결과	
1	내부	국립원예특작과학원	선발자원(내재해성)	19HT1	2	
2				19HT2	3	
3				19HT3	10	
4				19HT4	-	
5				19HT5	-	
6				19HT6	-	
7				19HT7	1	
8				19HT8	8	
9				19HT9	4	
10				19HT10	5	
11				19HT11	21	
12				19HT12	1	
13			시판종(병저항성)	18MC2	34	
14				18MC3	27	
15				18MC4	21	
16				18MC7	62	
17				18MC9	35	
18				18MC10	42	
19				18MC12	45	
20				18MC13	18	
21				18MC14	20	
22				18MC15	42	
23				18MC16	4	
24				외부	에코시드	병저항성
25	mk9	-				
26	mk19	14				
27	국립농업과학원	병저항성	19GP28		3	
28			19GP38		-	
29	삼성종묘	우각초, F ₃ 세대	31		3	
30			32		4	
31			33		2	
32			34		19	
33			35		-	
34			현대종묘		대과, 소엽, 중조생, 신미강	HSM001
35	대과, 소엽, 조생, 신미강	HSM002				24
36	대과, 중조생, 신미강	HSM003				11
37	대과, 조생, 신미강	HSM004				174
38	대과, 조생, 신미강	HSM005				103
39						

표 2-21. 소포자 유래 식물체 생산, 분양 현황(2020)

No.	내부/ 외부	의뢰 기관	품종 특성	품종명	배양결과
1	내부	국립원예특작과학원	선발자원(내재해성)	19LT1	-
2				19LT2	-
3				19LT3	-
4				19LT4	-
5				19LT5	-
6				19LT6	1
7				19LT7	1
8				19LT8	10
9				19LT9	1
10				19LT10	1
11				19LT11	1
12				19LT12	-
13				시판종(병저항성)	18MC2
14			18MC3		2
15			18MC4		7
16			18MC7		9
17			18MC9		5
18			18MC10		9
19			18MC12		10
20			18MC13		6
21			18MC14		35
22			18MC15		12
23			18MC16		4
24			20CV8		32
25			20CV9		27
26			20CV10		1
27			20CV11		-
28			20CV12		-
29			20CV13		15
30			20CV16		11
31			20CV18		-
32			20CV19		30
33			20CV20		15
34			외부		에코시드
35	mk9	-			
36	mk19	16			
37	국립농업과학원	병저항성		19GP28	2
38				19GP38	-
39	삼성종묘	우각초, F3세대		31	6
40				32	2
41				33	27
42				34	16
43				35	-
44	하나종묘	TSWV내병계		19F1073	6
45		TSWV내병계	19F1075	28	
46		탄저내병계	19F2430	-	
47	고추와 육종	건고추용 육성계통	PB44	49	
48		건고추용 육성계통	PB47	24	
49		건고추용 육성계통	PB418F6300-1	29	
50		건고추용 육성계통	PB418F6300-17	6	
51		건고추용 육성계통	PB418F6301-10	52	
52	바이오통	중국 수출용	CV0274	-	
53		중국 수출용	CV0343	-	
54		중국 수출용	CV0353	32	
55					

표 2-22. 소포자 유래 식물체 생산 및 분양 현황(2021)

내부/외부	의뢰기관	품종 특성	품종명	배양결과	
내부	국립원예특작과학원	선발자원 (내재해성)	20LT1	-	
			20LT2	-	
			20LT3	-	
			20LT4	-	
			20LT5	-	
			20LT6	-	
			20LT7	1개체 순화완료	
			20LT8	2개체 순화완료	
			20LT9	1개체 순화완료	
			20LT10	-	
			시판종 (병저항성)	20CV8	125개체 재분화 + 122개체 순화중
				20CV9	67개체 순화중
				20CV10	175개체 재분화 + 104개체 순화중
				20CV13	76개체 순화중
				20CV16	275개체 재분화 + 123 순화중
				20CV17	175개체 재분화 + 12개체 순화중
				20CV18	75개체 재분화 + 56개체 순화중
				20CV19	975개체 재분화 + 200개체 순화중
				20CV20	25개체 재분화 + 75개체 순화중
				외부	에코시드
mk9	-				
mk19	7개체 순화완료				
국립농업과학원	병저항성	19GP28	-		
		19GP38	-		
현대종묘	대과, 소엽, 중조생, 신미강	HSM001	698개체 재분화 +154개체 순화완료		
		HSM002	300개체 재분화 + 81개체 순화완료		
		HSM003	142개체 재분화 + 45개체 순화완료		
		HSM004	413개체 재분화 + 82개체 순화완료		
		HSM005	322개체 재분화 + 133개체 순화완료		
하나종묘	TSWV내병계 탄저내병계	19F1073	725개체 재분화 + 25개체 순화완료		
		19F1075	175개체 재분화 + 47개체 순화완료		
		19F2430	150개체 재분화		
바이오통	중국 수출용	CV0274	-		
		CV0343	-		
		CV0353	21개체 순화완료		

표 2-23. 외부의뢰 소포자 유래 식물체 생산 및 분양 현황(2017~2021)

년도	의뢰기관	품종특성	품종명	분양 개수	합계
2017	하나종묘	병저항성	TSWV집단	129	
	에코씨드	중국수출용	eco1	31	
			eco2	1	
			eco3	1	
	서울대학교	바이러스복합저항성	BK17PE001	23	
바이오통	중국수출용	CV0343	5	190	
2018	바이오통	중국수출용	CV0274	5	
	삼성종묘	우각초, F3세대	31	11	
			32	1	
			34	10	
			35	3	
	서울대학교	바이러스복합저항성	BK17PE001	13	
	에코씨드	중국수출용	eco1	54	
			eco2	6	
			eco1	6	
			eco2	7	
현대종묘	대과,소엽,중조생,신미강 등	HSM001	12	128	
2019	현대종묘	대과,소엽,중조생,신미강 등	HSM001	10	
			HSM002	24	
			HSM003	11	
			HSM004	174	
			HSM005	103	322
2020	고추와육종	건고추용 육성계통	44BCB	49	
			47BCB	24	
			PB18F6300-1	29	
			PB18F6300-17	6	
			PB18F6301-10	50	158
2021	고추와육종	건고추용 육성계통	44BCB	10	
			47BCB	4	
			PB18F6300-1	17	
			PB18F6300-17	9	
			PB18F6301-10	43	
	현대종묘	대과,소엽,중조생,신미강 등	HSM001	135	
			HSM002	68	
			HSM003	37	
			HSM004	35	
HSM005				87	445
합계					1,243

5. 소포자 유래 반수체 및 배가반수체 특성검정

소포자 배양을 통해서 생산된 재분화 식물체의 배수성 검증 및 원예적 특성분석을 위해 국립원예특작과학원 온실에서 화분재배하여 주요 원예적 특성을 평가하였다(표 2-24, 2-25).

표 2-24. 외부기관 의뢰 품종 대상 소포자 유래 식물체의 원예적 특성 평가

	계통번호	초장 (cm)	경경 (mm)	과중 (g)	과장 (cm)	과폭 (mm)	ASTA	비고
예	TB35-1	22	13.2	0.7±0.1	1.6±0.3	11.1±1.4	207.7	H
	TB35-2	59	13.1	3.7±6.7	2.3±1.4	14.8±8.5	161.2	DH
코	TB35-4	63	14.8	5.3±6.2	2.9±1.2	19.9±8.4	77.4	H
	TB35-5	32	11.6	5.9±5.8	3.0±1.1	21.5±7.2	162.4	H
씨	TB35-6	17	11.2	7.8±5.2	3.5±0.9	24.8±4.2	198.8	H
	TB35-7	45	9.8	5.9±3.3	3.1±0.6	23.6±3.6	145.8	H
드	TB35-8	51	14.7	5.8±4.0	3.1±0.7	22.8±3.9	92.5	DH
	TB35-9	19	15.9	7.1±4.7	3.3±0.8	23.9±4.8	204.4	H
삼 성 종 묘	31-1	58	19.2	-	-	-	-	H
	32-1	63	14.3	7.8	2.3	24.4	59.53	H
	32-2	57	13.4	30.9±32.7	2.2±0.2	23.8±0.9	158.0	DH
	34-1	41	8.5	23.0±26.8	2.2±0.2	24.5±1.4	-	H
	34-2	16	8.2	18.3±23.8	2.2±0.2	23.7±2.0	102.5	H
	34-3	59	19.4	15.9±21.3	2.2±0.2	23.2±2.0	103.8	H
	34-4	49	13.2	18.5±20.9	2.7±1.3	24.8±4.7	106.8	DH
	34-5	52	16.2	11.8±8.1	3.0±1.2	25.5±4.7	104.3	H
	34-6	63	17.5	11.9±8.1	3.8±1.7	26.7±5.4	-	H
	34-7	50	13.0	13.1±7.1	3.8±1.5	27.3±4.8	-	DH
	34-8	52	13.5	13.0±7.2	4.0±1.4	26.8±5.6	-	H
34-9	43	12.7	11.1±6.7	3.7±1.5	25.4±5.3	200.8	H	
34-10	75	18.3	7.8±2.4	3.8±1.8	25.0±6.4	83.6	H	
34-11	67	16.3	8.1±3.3	2.8±0.4	21.7±4	-	H	

표 2-25. 병저항성 시판품종 대상 소포자 유래 식물체의 원예적 특성 평가

	계통번호	초장 (cm)	경경 (mm)	과중 (g)	과장 (cm)	과폭 (mm)	ASTA	비고
	18MC2-5	58	21.8	4.3±0.7	3±0.2	21.7±1.1	106.14	H
	18MC3-1	72	17.6	0.8±0.2	1.5±0.1	9.0±1.0	104.74	H
	18MC3-2	34	14.2	6±3.5	5.8±1.8	21.2±0.4	73.23	DH
	18MC4-1	77	15.3	0.6±0.1	1.3±0.1	7.3±1.1	112.48	H
	18MC4-2	63	15.2	1.4±0.9	1.6±0.5	10.8±1.5	118.56	H
	18MC4-3	82	9.7	6.8±3.3	2.6±0.4	16.7±1.6	86.87	H
	18MC4-4	85	11.7	6.3±4.3	5.7±1.6	18.2±2.3	114.31	DH
	18MC4-5	52	13.9	12.3±4.6	7.7±2.2	20.6±3.7	-	H
	18MC4-6	66	12.3	18.8±4.1	8.5±0.5	26.6±2.3	54.26	DH
	18MC4-7	102	12.1	0.9±0.2	1.4±0.2	11.7±0.8	149.06	H
	18MC5-1	34	12.8	14.4±3	8.2±1.1	24.0±1.9	112.24	DH
	18MC5-2	-	-	1.3±0.6	2.3±0.4	13.3±2.4	124.45	H
	18MC5-3	70	12.5	2.7±0.5	2.7±0.4	17.4±1.6	133.72	H
	18MC5-4	54	17.6	1.8±0.3	2.2±0.3	15.5±0.5	196.80	H
	18MC5-5	58	14.2	2.1±1	2.6±0.7	15.9±4.0	141.97	H
	18MC5-7	53	16.6	1.4±0.6	2±0.5	12.4±1.9	111.58	H

	18MC5-8	38	13.5	4.3±1.2	3±0.6	24.5±2.4	138.60	HH
	18MC5-9	63	12.6	1.6±0.3	2.3±0.1	13.2±1.9	113.65	H
	18MC5-10	37	12.9	16.6±5.5	10.1±1.4	23.3±1.7	105.83	DH
	18MC5-11	82	16.5	2.7±1.3	2.3±0.6	16.9±3.8	122.76	H
	18MC5-12	93	11.4	3.2±1.5	2.3±0.9	17.3±2.3	139.48	H
	18MC7-1	50	11	9.8±2.9	5.1±0.6	20.8±2.1	74.68	DH
	18MC7-3	69	12.9	1.3±1.4	1.8±0.3	11.4±1.5	169.47	H
	18MC7-4	73	17.9	5.7±3.7	2.8±0.5	17.0±1.5	119.58	H
	18MC7-5	92	9.4	0.8±0.3	1.6±0.6	11.2±2.4	123.76	H
	18MC8-1	75	12.1	4.9±0	3.2±0	18.8±0	131.86	H
	18MC9-1	60	15.2	1.3±0.4	2±0.4	13.2±2.5	174.50	H
	18MC9-2	74	12.6	0.9±0.3	2.1±0.5	10.8±1.5	177.56	H
	18MC9-5	68	9.5	0.3±0.1	1.1±0.3	7.8±0.9	112.25	H
	18MC10-1	120	10.6	2.8±0.8	2.3±0.5	17.1±1.2	89.90	H
	18MC10-2	106	16.4	0.6±0.1	2.1±0.4	13.0±2.6	-	H
	18MC10-3	85	12.4	14.8±8.6	7.7±1.4	23.6±4.4	59.35	DH
	18MC10-4	57	13.8	9.8±3.5	6.5±1.9	20.3±1.3	72.35	DH
	18MC10-5	66	13.7	18.1±6.6	8.3±1.4	23.5±3.3	161.21	DH
	18MC10-6	87	8	2.3±1.1	3±0.7	14.9±2.9	106.11	H
	18MC10-7	62	13.2	-	-	-	-	H
	18MC10-8	57	14.2	2.9±0.7	3.1±0.4	14.7±1.9	92.50	H
	18MC10-9	135	10.8	-	-	-	-	H
	18MC12-1	56	10.7	3.4±0.8	4.8±0.9	22.4±3.3	125.07	H
	18MC12-2	50	15.1	3.4±1.3	4.1±0.8	20.2±3.8	114.96	H
병	18MC12-3	102	19.1	3.5±1.1	4.4±0.4	21.1±1.6	99.77	H
저	18MC12-4	86	13	7.8±2.3	4.9±0.8	21.4±1.0	127.79	H
	18MC12-5	78	9.3	0.6±0.1	1.8±0.4	1.1±0.1	112.24	DH
	18MC12-6	70	12.8	-	-	-	-	H
항	18MC12-7	44	14.5	3.1±1.5	3.2±0.7	21.2±0.6	173.09	H
	18MC12-8	67	15.4	9.6±3.8	7.3±1.8	20.3±3.2	91.74	DH
성	18MC12-9	53	12.5	11.7±6.1	6.5±1.6	25.6±5.9	90.77	DH
	18MC13-1	61	14.6	7.2±1.9	3.4±0.5	26.7±2.6	69.78	H
시	18MC14-2	3	16.7	0.3±0.2	0.9±0.3	6.4±3.1	117.26	H
	18MC14-3	95	12.4	3.4±0.3	2.4±0.1	17.6±0.8	70.91	H
관	18MC14-4	67	23.3	4.1±0.3	3.7±0.4	17.1±1.2	86.06	H
	18MC14-5	90	12.9	2.6±0.3	2.8±0.7	15.9±1.5	113.86	H
품	18MC14-6	83	16.5	2.1±0.3	2.7±0.3	15.0±1.0	89.31	H
	18MC14-7	54	14.8	1±0.9	1.6±0.4	7.4±6.9	117.26	H
중	18MC14-9	109	12.5	0.7±0.3	1.3±0.1	10.5±2.1	130.87	H
	18MC14-10	107	17.3	1.3±0.4	1.8±0.3	12.1±2.2	86.84	H
	18MC14-11	71	19	1.1±0.2	1.7±0.2	11.2±1.0	104.63	H
	18MC14-12	82	11.5	-	-	-	-	H
	18MC14-13	83	13.1	1.7±0.4	2.7±0.3	12.9±1.7	80.21	H
	18MC14-14	65	11.2	1.2±0.2	2±0.1	11.7±0.8	91.39	H
	18MC14-15	75	11.9	9±10.4	5.7±4.0	17.5±4.3	64.65	DH
	18MC14-16	38	13.5	19.5±10.1	10.3±2.3	23.1±2.8	64.96	DH
	18MC14-18	85	13	1.9±0.8	2.4±0.3	16.2±1.5	91.16	H
	18MC14-19	53	18.5	-	-	-	-	H
	18MC14-20	65	10.2	1.4±	1.7±0	12.3±1.2	88.27	H
	18MC14-21	88	12.6	0.6±0.1	1.3±0.2	8.3±0.7	126.00	H

18MC14-22	72	11.5	1.5±0.2	2.6±0.2	12.9±1.0	-	H
18MC14-24	96	16	1.7±0.8	2.2±0.3	11.1±1.1	98.72	H
18MC14-25	94	17.5	2.1±1.1	2.5±0.6	16.3±3.6	92.33	H
18MC14-28	54	15.4	-	-	-	-	H
18MC14-29	68	13.8	0.6±0.3	1.2±0.2	9.5±1.7	81.68	H
18MC14-30	59	11.8	3±0.5	2.6±0.4	16.8±1.2	73.80	H
18MC14-31	65	17.9	3.1±0.6	3±0.2	17.2±2.0	77.66	H
18MC14-34	73	12.6	0.9±0.3	1.8±0.1	9.9±0.4	114.34	H
18MC15-2	67	10.4	1±0	2.9±0	12.5±0.3	43.52	H
18MC15-4	121	16.5	0.6±0.1	1±0.1	9.4±0.3	187.52	H
18MC15-5	61	11.4	1.9±0.5	2.1±0.3	16.2±1.4	80.87	H
18MC15-8	95	14.7	-	-	-	-	H
18MC15-9	50	13.2	12.8±3.4	7.6±1.0	23.0±1.4	129.58	DH
18MC15-11	95	12.6	-	-	-	-	H
18MC15-12	69	11.4	1.2±0.2	1.8±0.4	12.1±1.5	118.02	H
18MC16-1	65	15.5	0.5±0.2	0.8±0.1	6.7±1.2	124.54	H
18MC16-2	71	16.6	0.5±0	1±0	6.9±0.5	-	H

소포자 배양 유래 식물체 중 같은 모식물체로부터 획득한 반수체 및 배가반수체의 원예적 특성을 비교하였다(표 2-26).

표 2-26. 소포자 배양 유래 반수체 및 배가반수체 특성 비교

	계통번호	초장 (cm)	경경 (mm)	과중 (g)	과장 (cm)	과폭 (mm)	ASTA	비고
H	TB35-1	22	13.2	0.74±0.1	1.6±0.3	11.08±1.4	207.7	(에코시드) 병저항성
	32-1	63	14.3	7.8	2.3	24.4	59.53	(삼성종묘) 우각초, F3세대
	34-9	43	12.7	11.1±6.7	3.7±1.5	25.4±5.3	200.78	(삼성종묘) 우각초, F3세대
	18MC3-1	72	17.6	0.8±0.2	1.5±0.1	9.0±1.0	104.74	AR지존
	18MC4-3	82	9.7	6.8±3.3	2.6±0.4	16.7±1.6	86.87	AR탄저박사
	18MC5-2	-	-	1.3±0.6	2.3±0.4	13.3±2.4	124.45	AR최강탄
	18MC7-3	69	12.9	1.3±1.4	1.8±0.3	11.4±1.5	169.47	신호탄
	18MC10-7	62	13.2	-	-	-	-	타네강
	18MC12-3	102	19.1	3.5±1.1	4.4±0.4	21.1±1.6	99.77	에이스칼라
	18MC14-14	65	11.2	1.2±0.2	2.0±0.1	11.7±0.8	91.39	칼라짱
DH	18MC15-5	61	11.4	1.9±0.5	2.1±0.3	16.2±1.4	80.87	칼라킹
	TB35-2	59	13.1	3.7±6.7	2.3±1.4	14.8±8.5	161.2	(에코시드) 병저항성
	32-2	57	13.4	30.9±32.7	2.2±0.2	23.8±0.9	158.01	(삼성종묘) 우각초, F3세대
	34-4	49	13.2	18.5±20.9	2.7±1.3	24.8±4.7	106.76	(삼성종묘) 우각초, F3세대
	18MC3-2	34	14.2	6.0±3.5	5.8±1.8	21.2±0.4	73.23	AR지존
	18MC4-4	85	11.7	6.3±4.3	5.7±1.6	18.2±2.3	114.31	AR탄저박사
	18MC5-1	34	12.8	14.4±3	8.2±1.1	24.0±1.9	112.24	AR최강탄
	18MC7-1	50	11	9.8±2.9	5.1±0.6	20.8±2.1	74.68	신호탄
	18MC10-3	85	12.4	14.8±8.6	7.7±1.4	23.6±4.4	59.35	타네강
	18MC12-5	78	9.3	0.6±0.1	1.8±0.4	1.1±0.1	112.24	에이스칼라

18MC14-15	75	11.9	9.0±10.4	5.7±4.0	17.5±4.3	64.65	칼라짱
18MC15-9	50	13.2	12.8±3.4	7.6±1.0	23.0±1.4	129.58	칼라킹



TB35-1(H)

TB35-2(DH)

그림 2-36. TB35 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



32-1(H)

32-2(DH)

그림 2-37. 삼성종묘 32 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



34-9(H)

34-4(DH)

그림 2-38. 삼성종묘 34 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC3-1(H)

18MC3-2(DH)

그림 2-39. 병저항성 18MC3 (AR지존) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC4-3(H)



18MC4-4(DH)

그림 2-40. 병저항성 18MC4 (AR탄저박사) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC5-2(H)



18MC5-1(DH)

그림 2-41. 병저항성 18MC5 (AR최강탄) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC7-3(H)



18MC7-1(DH)

그림 2-42. 병저항성 18MC7 (신호탄) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC10-7(H)



18MC10-3(DH)

그림 2-43. 병저항성 18MC10 (타네강) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC12-3(H)



18MC12-5(DH)

그림 2-43. 병저항성 18MC12 (에이스칼라) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC14-14(H)



18MC14-15(DH)

그림 2-44. 병저항성 18MC14 (에이스칼라) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이



18MC15-5(H)



18MC15-9(DH)

그림 2-45. 병저항성 18MC15 (칼라킹) 유래 반수체 및 배가반수체 형태적 차이

2020~2021년에도 병저항성 시판종으로 대상으로 소포자 배양을 수행하여 다수의 식물체를 획득하였다. 2020년에는 모식물별 유래 반수체와 배가반수체 전체를 대상으로 원예적 특성을 조사하고 품종별 반수체 및 배가반수체 획득비율을 비교하였다. 전체 획득 식물체 중 배가반수체 비율은 모식물체의 종류에 따라 상이함을 확인하였으며 배가반수체는 후대 식물체 특성 검정을 위해 개체별로 종자를 채종하였다.

표 2-27. 병저항성 시판품종 20CV8 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채종량 (립)
20CV 8 1	40	4.5	10.3	6.6±0.6	3.7±0.2	-	4.6±0.2	13.8±1.1	2.8±0.4	n	-
20CV 8 1(2)	36	1.5	9.9	5.2±0.3	2.2±0.3	2.3±0.1	8.3±4.9	5.7±2.1	19.8±1.4	n	-
20CV 8 2	37.5	3	10	5.7±0.3	2.7±0.2	2.5±0.3	3.1±0.2	12.6±1.2	1.5±0.3	n	-
20CV 8 2(2)	39	13	10.4	5.2±0.5	2.0±0.1	1.8±0.3	9.2±2.0	8.1±0.8	17.9±2.1	2n	377
20CV 8 4	14	30	6.6	3.6±0.4	1.4±0.1	-	1.8±0.1	10.1±0.7	0.5±0.1	n	-
20CV 8 5	35.5	8	7.8	5.8±0.2	2.5±0.2	2.6±0.2	14.8±0	11.0±	20.7	2n	81
20CV 8 6	56	13.7	8.3	5.7±0.1	3.0±0.1	2.6±0.2	3.8±0.2	16.1±0.9	2.7±0.6	n	-
20CV 8 6(2)	24	7	5.5	4.5±0.1	1.2±0.2	-	9.8±4.4	8.0±1.3	17.3±2.9	2n	260
20CV 8 7	336	7	8	5.7±0.5	1.9±0.1	-	2.8±0.5	12.9±1.4	1.3±0.4	n	-
20CV 8 10	31	7	7.3	4.4±0.1	2.1±0.3	-	4.6±0.2	18.5±0.8	4.3±1.1	n	-
20CV 8 11	39	2	9	4.5±0.4	2.1±0.2	2.4±0.3	3.1±0.3	15.1±1.8	2.0±0.6	n	-
20CV 8 12	16	5	9.9	5.1±0.1	2.6±0.3	2.7±0.2	2.2±0.3	10.6±0.5	0.8±0.2	n	-
20CV 8 13	33	12.5	13.7	6.0±1.2	3.1±0.4	-	2.7±0.0	2.8±0.0	17.7±1.3	n	-
20CV 8 15	27.5	2	14.4	6.3±0.1	3.0±0.1	2.1±0.4	7.5±0.9	6.8±1.6	18.1±0.4	2n	87
20CV 8 16	35	12	10.8	7.5±0.4	4.3±0.3	-	5.3±0.9	18.1±1.2	5.1±1.3	n	-
20CV 8 18	41	11	13.3	8.0±0.4	3.1±0.1	2.6±0.4	5.2±0.4	12.9±1.4	2.5±0.6	n	-

20CV8

반수체



배수체



표 2-28. 병저항성 시판품종 20CV9 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채중량 (립)
20CV 9 1	36	6	7.7	4.7±0.5	2.0±0.1	-	4.0±0.8	11.5±0.9	1.9±0.7	n	-
20CV 9 2	35	3.4	5.7	5.2±0.3	2.5±0.2	-	3.8±0.4	11.3±1.1	1.6±0.7	n	-
20CV 9 3	74	13	12.2	4.7±0.3	2.1±0.1	-	1.4±0.4	2.2±0.3	13.7±1.7	n	-
20CV 9 4	25	5.7	9	6.9±0.5	2.5±0.2	-	2.9±0.3	12.7±1.1	1.6±0.2	n	-
20CV 9 5	34.3	5	13.2	6.4±0.3	3.3±0.3	-	19.8±5.5	10.3±2.8	21.3±3.1	2n	357
20CV 9 6	42	2.9	6.9	5.6±0.1	2.9±0.2	2.2±0.1	2.9±0.3	11.0±1.9	0.8±0.2	n	-
20CV 9 7	23.5	5.5	13.8	6.3±0.3	3.4±0.1	2.4±0.1	19.3±1.1	10.7±0.3	24.0±1.9	2n	384
20CV 9 8	19.5	10	7.5	5.8±0.3	2.7±0.2	2.8±0.4	13.4±2.9	8.7±0.8	20.4±1.2	2n	290
20CV 9 9	37.5	12	12.9	5.7±0.3	3.4±0.2	-	13.4±4.7	7.6±0.5	21.6±2.2	2n	208
20CV 9 10	40	10	8.3	6.9±0.2	3.1±0.1	-	2.0±0.1	8.9±0.9	0.4±0.1	n	-
20CV 9 11	39	10	11.3	4.4±0.4	2.2±0.3	1.9±0.3	3.1±0.1	13.0±0.2	1.7±0.3	n	-
20CV 9 13	41	10	7.7	6.9±0.2	3.5±0.2	1.8±0.1	3.9±0.2	11.1±1.0	1.7±0.4	n	-

20CV9

반수체



배수체



표 2-29. 병저항성 시판품종 20CV10 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채중량 (텀)
20CV 10 1	29	2.5	6.9	4.6±0.3	2.3±0.1	1.6±0.1	3.7±0.3	11.8±1.9	1.7±0.4	n	-
20CV 10 2	-	-	-	-	-	-	4.9±0.3	16.4±1.6	3.5±1.2	n	-
20CV 10 2(2)	62	6.5	17.1	6.2±0.3	2.9±0.1	2.6±0.2	11.2±3.5	7.5±2.8	17.3±1.8	2n	142
20CV 10 2(3)	23	2.7	13.2	6.8±0.4	3.3±0.1	-	19.1±7.6	9.9±1.6	21.5±4.5	2n	250
20CV 10 3	26	17	7.3	4.8±0.6	2.2±0.2	1.5±0.2	4.2±0.2	12.7±1.8	2.3±0.6	n	-

20CV10

반수체



배수체



표 2-30. 병저항성 시판품종 20CV13 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채중량 (립)
20CV 13 1	60	5	11.3	5.4±0.3	2.5±0.1	2.4	7.0±0.9	7.0±0.9	15.4±3.2	2n	185
20CV 13 2	29.3	5	8.9	6.9±0.3	3.2±0.1	2.2±0.1	0.9±0.7	2.1±0.2	12.2±1.4	n	-
20CV 13 3	20.5	5.5	8.6	6.3±0.3	2.7±0.1	2.4±0.1	3.9±2.0	7.9±1.3	14.7±0.9	2n	254
20CV 13 4	28	3.5	7.9	3.7±0.4	1.5±0.3	-	14.2±3.2	8.5±1.2	22.1±3.5	2n	323
20CV 13 5	43	1.5	7.7	5.6±1.0	2.2±0.3	-	2.9±0.3	11.8±1.1	1.2±0.1	n	-
20CV 13 6	58.5	12.5	13.5	6.5±0.5	2.9±0.1	2.5±0.1	12.7±2.5	9.5±1.8	17.5±1.8	2n	469
20CV 13 7	45	1	7.5	3.7±0.5	1.8±0.1	-	6.2±1.4	6.2±1.4	9.3±2.6	2n	152
20CV 13 8	64.5	7.5	11.4	5.9±0.2	2.0±0.1	2.6±0.1	4.1±1.2	4.6±1.3	14.7±1.1	2n	72
20CV 13 9	28.5	6.5	10	6.1±0.2	2.1±0.1	2.4±0.1	5.8±1.3	5.8±1.3	8.3±2.9	2n	75
20CV 13 10	20.5	7	8.8	7.3±0.3	2.8±0.1	2.5	10.3±2.4	8.0±1.1	17.9±1.1	2n	230

20CV13

반수체



배수체



표 2-31. 병저항성 시판품종 20CV16 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채종량 (립)
20CV 16 1	22	3.3	4.1	5.1±0.1	2.5±0.4	-	3.9±0.4	19.1±2.0	4.1±0.6	n	-
20CV 16 1(2)	51	9.4	10.4	6.0±0.1	2.7±0.3	2.2±0.1	2.9±0.9	4.0±0.4	15.1±1.3	n	-
20CV 16 2	40	4	6.8	8.2±0.2	3.7±0.4	-	5.8±0.4	25.7±3.5	10.6±2.8	n	-
20CV 16 3	62	14	8.9	5.0±0.5	2.4±0.1	-	3.1±0.5	17.4±0.7	3.2±1.2	n	-
20CV 16 3(2)	42	2.2	8.9	6.7±0.1	3.1±0.1	2.0	3.0±0.8	3.6±0.7	15.6±2.9	n	-
20CV 16 4	35	2.5	11	6.2±0.3	3.1±0.2	2.5±0.1	3.1±0.1	17.7±0.4	2.5±0.3	n	-
20CV 16 5	29	1	7.9	4.5±0.2	2.4±0.2	-	2.4±0.2	11.9±1.1	1.1±0.3	n	-
20CV 16 5(2)	52	16	10	7.7±0.1	3.4±0.2	2.1±0.3	13.3±4.5	9.7±1.8	18.6±1.9	2n	210
20CV 16 6	40.5	7	13.3	6.1±0.2	3.3±0.2	2.6±0.1	8.7±0.2	8.7±0.2	16.8±2.0	2n	368
20CV 16 6(2)	30	5.5	9.6	7.6±0.2	3.9±0.3	-	3.6±0.2	3.8±0.3	14.5±0.6	2n	368
20CV 16 7	35	2.5	14.5	6.3±0.8	2.3±0.2	-	3.7±0.2	14.9±1.9	2.7±0.6	n	-
20CV 16 8	74	19	17.9	6.8±0.2	3.5±0.5	2.3±0.2	2.6±0.1	10.0±2.8	1.0±0.3	n	-
20CV 16 8(2)	41	7.7	8.6	5.2±0.1	2.5±0.2	2.0	11.7±5.0	7.7±1.7	18.6±1.4	2n	166
20CV 16 9	52	2	10.3	6.1±1.0	2.5±0.5	-	3.5±0.3	14.0±1.8	2.2±0.2	n	-
20CV 16 9(2)	27	8	11.8	4.9±0.3	2.9±0.2	2.5±0.1	1.2±0.3	1.8±0.2	13.5±0.6	n	-
20CV 16 10	47	12	6.9	6.0±0.1	2.7±0.2	2.2	4.3±0.2	15.9±1.1	2.4±0.6	n	-
20CV 16 11	28	3.1	6.4	5.3±1.2	2.5±0.3	-	9.3±0.8	24.3±0.8	10.8±1.4	2n	353
20CV 16 12	31	3	12.6	5.2±0.4	2.4±0.3	-	3.3±0.5	16.1±1.6	2.1±0.6	n	-
20CV 16 15	53	10.5	8.2	5.7±0.3	2.9±0.1	-	12.2±2.2	12.2±2.2	21.1±1.5	2n	70
20CV 16 16	67	3	8.9	4.6±0.1	2.4±0.3	-	4.0±0.6	16.9±3.2	4.6±1.0	n	-
20CV 16 16	31	10	8.8	5.8±0.8	2.3±0.2	2.0	3.0±0.2	3.8±0.3	18.7±0.8	n	-
20CV 16 17	34	2.5	7.1	6.2±0.6	2.7±0.4	-	3.7±0.2	16.0±2.5	3.3±0.4	n	-
20CV 16 18	42	2	13.4	4.8±0.3	2.8±0.2	-	3.3±0.3	16.6±1.8	2.5±0.6	n	-
20CV 16 18(2)	41	6.5	10.7	6.8±0.4	2.9±0.1	-	2.1±0.5	3.0±0.5	13.3±0.6	n	-
20CV 16 19	39	5	7.6	5.3±0.6	2.5±0.2	-	14.9±2.9	9.1±0.2	20.6±0.8	2n	379
20CV 16 20	61	15	12.4	5.8±0.3	2.6±0.1	7.1±9.4	5.9±3.0	6.8±1.6	16.6±3.0	2n	91
20CV 16 21	28	6	9.6	6.9±0.2	3.5±0.0	2.1±0.5	3.1±0.3	16.8±1.8	2.2±0.6	n	-
20CV 16 22	45	10.5	8.4	6.5±0.5	3.3±0.2		4.5±0.4	16.5±1.3	4.4±0.9	n	-
20CV 16 23	33	6.5	9.4	6.6±0.3	3.6±0.3	1.9±0.1	3.3±0.6	15.9±3.3	3.1±1.8	n	-
20CV 16 24	88	19.5	9.5	7.9±0.1	3.9±0.2	2.4±0.2	11.0±4.9	9.3±2.2	17.8±2.0	2n	100
20CV 16 26	75	15	10.5	6.9±0.2	3.2±0.2	1.8±0.1	2.0±0.3	12.6±1.1	0.8±0.2	n	-
20CV 16 27	40	3	9.9	6.8±0.2	2.6±0.3	2.5±0.1	3.4±0.5	14.4±2.1	2.9±1.8	n	-
20CV 16 28	26.5	6	16	6.6±0.2	3.2±0.1	2.5±0.1	8.1±0.5	21.8±2.1	9.6±1.1	2n	156

20CV16

반수체



배수체



표 2-32. 병저항성 시관품종 20CV17 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채종량 (립)
20CV 17 2	47	4.0	7.9	6.4±0.3	2.5±0.1	2.6±0.2	10.2±5.7	6.5±1.6	17.5±3.9	2n	115
20CV 17 2(2)	31	2.0	10.0	7.1±0.5	3.7±0.1	2.5±0.1	14.9±2.2	7.9±1.3	19.3±2.5	n	-
20CV 17 3	27	5.5	10.5	6.5±0.3	3.3±0.2	2.4±0.1	2.9±0.2	11.6±1.1	1.2±0.2	n	-
20CV 17 4	30	7.0	9.6	6.7±0.3	3.0±0.1	1.9.0	4.2±0.4	13.6±1.0	2.5±1.2	n	-

20CV17

반수체



배수체



표 2-33. 병저항성 시판품종 20CV18 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채중량 (립)
20CV 18 1	70	2	10.1	4.8±0.3	2.1±0.1	-	2.1±1.0	3.1±1.0	12.1±2.0	n	-
20CV 18 2	35	4	9.8	5.3±0.2	2±0.1	-	1.3±0.3	2.1±0.4	12.1±1.4	n	-
20CV 18 3	48	4	9.4	4.7±0.1	2.2±0.3	-	0.9±0.4	2±0.4	10.8±2.2	n	-
20CV 18 4	37	4	7.4	3.9±0.2	1.9±0.2	-	2.7±0.4	4.3±0.6	14.6±1.3	n	-
20CV 18 5	48	14	7.4	5.7±0.1	2.6±0.1	3.1±0.4	8.9±0.6	7.1±1.2	16±0.5	2n	100
20CV 18 6	63	3	10.6	5.6±0.4	2.3±0.3	-	1.9±0.5	3.3±0.4	12.7±0.7	n	-
20CV 18 7	55.5	11	10.7	6.4±0.1	3.2±0.3	2.6±0.1	17.6±5.0	9.4±1.9	19±2.4	2n	297
20CV 18 10	73	5	9.3	5.7±0.4	2.2±0.4	-	1.8±0.8	2.8±0.6	12.6±1.4	n	-

표 2-34. 병저항성 시판품종 20CV19 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채중량 (립)
20CV 19 1	58	1.5	15.6	7.0±0.3	3.3±0.2	2.9±0.2	3.6±0.5	16.4±1.6	3.2±1.1	n	-
20CV 19 2	-	-	-	-	-	-	2.0±0.7	14.7±2.2	1.2±0.3	n	-
20CV 19 2(2)	58	2.0	8.6	5.4±0.2	2.3±0.2	-	1.9±0.3	4.0±0.9	14.1±1.2	n	-
20CV 19 2(3)	61	2.8	14	5.5±1.1	2.4±0.3	1.7±0.1	10.3±8.0	10.2±2.9	17.0±2.6	n	-
20CV 19 3	26	2.0	7.3	4.9±0.2	2.5±0.3	-	3.7±0.1	11.8±1.5	1.9±0.6	n	-
20CV 19 3(2)	38.5	15.0	9	4.3±0.6	2.1±0.3	1.8	4.6±1.1	4.0±0.4	16.7±2.5	n	-
20CV 19 4	41	6.0	6.4	4.7±0.6	2.5±0.0	-	3.0±0.4	12.5±1.4	1.4±0.3	n	-
20CV 19 5	52	3.5	12	5.5±0.1	2.8±0.5	-	2.3±1.1	2.8±0.7	13.7±1.3	n	-
20CV 19 6	45	6.5	7.7	6.1±0.1	3.2±0.2	-	4.0±0.4	20.1±0.1	5.5±0.1	n	-
20CV 19 7	53.5	1.0	9	5.9±0.2	2.5±0.1	2.7±0.1	7.3±1.1	17.7±2.0	7.3±1.5	n	-
20CV 19 8	34	9.0	8.5	6.6±0.1	3.4±0.5	-	2.9±0.3	11.0±1.6	1.2±0.2	n	-
20CV 19 8(2)	66	17.0	8.4	5.6±0.3	2.8±0.2	1.9±0.3	2.0±1.2	2.5±0.6	17.2±1.2	n	-
20CV 19 9	57	5.0	11.5	5.7±0.3	2.8±0.2	3.0±0.2	3.6±0.1	19.3±1.7	3.0±0.4	n	-
20CV 19 10	46	4.5	11.1	6.3±0.6	2.6±0.2	-	3.7±0.3	17.8±1.9	2.5±0.2	n	-
20CV 19 11	16	3.5	4.6	4.9±0.4	2.4±0.2	2.1±0.5	3.3±0.3	14.2±0.8	1.9±0.4	n	-
20CV 19 12	28	2.0	12.6	7.3±0.5	3.8±0.2	2.5	5.1±0.3	18.1±1.3	3.0±0.4	n	-
20CV 19 13	90	10.2	11.9	6.5±0.3	3.2±0.2	2.4±0.1	4.2±0.4	24.1±0.2	4.4±0.1	n	-
20CV 19 15	34.5	15.0	17.5	6.4±0.3	4.0±0.1	3.0	8.6±2.4	5.3±0.5	19.9±1.6	2n	73
20CV 19 16	68	19.0	10.6	8.7±0.3	3.8±0.3	2.2±0.2	5.9±0.2	25.9±3.4	8.4±0.8	n	-
20CV 19 17	41	15.0	11.8	6.4±0.2	3.6±0.3	2.2±0.2	7.8±5.8	7.4±1.9	18.5±2.9	2n	33
20CV 19 18	21.5	4.5	7.8	6.3±0.2	3.1±0.2	2.5	15.5±4.1	9.7±0.1	19.9±1.4	2n	150
20CV 19 20	39.5	9.0	9.4	6.3±0.1	3.4±0.3	2.2	5.9±4.8	8.4±1.3	20.7±1.1	2n	54
20CV 19 21	38	8.0	8.8	6.4±0.4	2.7±0.2	1.6±0.2	3.7±0.2	17.5±1.2	2.9±0.6	n	-
20CV 19 22	70	1.0	14.8	8.0±0.1	4.1±0.2	2.3±0.4	3.7±0.4	18.3±5.5	3.9±2.0	n	-
20CV 19 24	69	4.0	9.1	7.7±0.5	3.2±0.5	-	3.5±0.1	11.1±0.1	1.5±0.1	n	-
20CV 19 25	50	1.0	8.7	6.5±0.3	3.7±0.2	2.3±0.3	2.9±0.1	13.7±1.4	1.6±0.2	n	-
20CV 19 26	54	19.0	9	7.7±0.6	3.5±0.2	-	3.6±0.4	16.0±2.1	3.1±1.3	n	-
20CV 19 27	34	9.0	8.6	9.4±1.4	4.0±0.1	2.0±0.1	3.9±0.3	19.9±2.0	3.0±0.3	n	-

20CV19

반수체



배수체

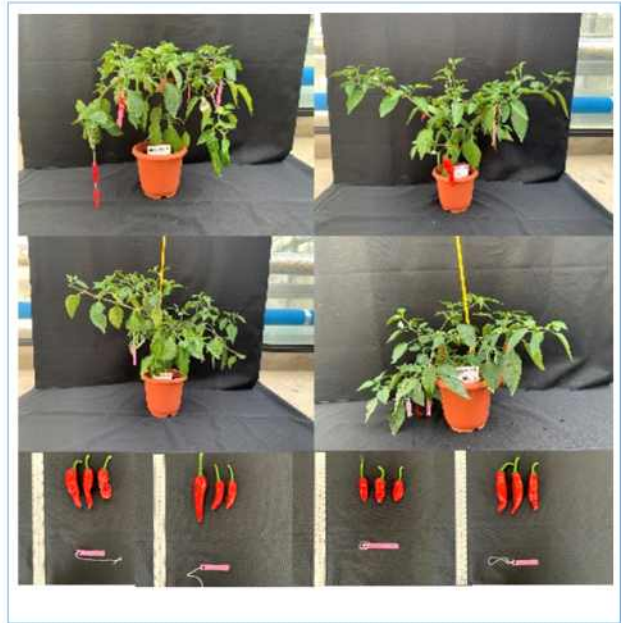


표 2-35. 병저항성 시판품종 20CV20 유래 반수체 및 배가반수체 주요 원예적 특성

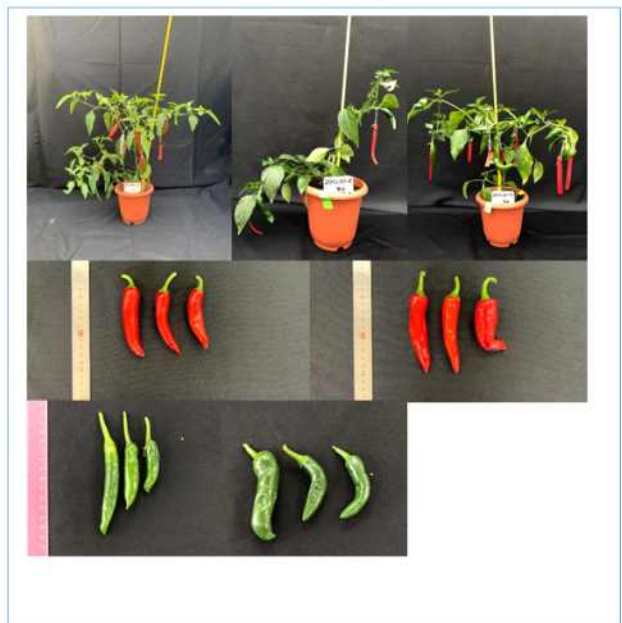
개체번호	초장 (cm)	주간 길이 (cm)	경경 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)	배수성	채중량 (립)
20CV 20 2	46	10	9.4	7.1±0.6	3.2±0.2	2.6±0.2	2.9±0.2	10.2±3.0	1.5±0.4	n	-
20CV 20 3	17	5	8.8	5.8±0.1	3.0±0.1	2.5±0.1	8.9±0.5	18.6±2.5	13.3±3.0	2n	151
20CV 20 6	35	3	8.3	7.2±0.3	2.6±0.2	3.4±0.2	14.8±1.8	8.6±3.3	19.7±3.0	2n	215
20CV 20 7	39.5	1	14.4	6.6±0.2	3.2±0.2	-	9.3±1.5	9.3±1.5	6.8±1.8	2n	359

20CV20

반수체



배수체



2020년부터 2021년 전반기까지는 품종별 소포자 유래 반수체와 배가반수체 비율을 조사하기 위해 획득한 전체 식물체를 대상으로 원예적 특성을 조사하였으나 전반적으로 반수체 비율이 높고 소포자 배양을 통해서 생산된 재분화 식물체 중 육종재료로 사용가능한 배가반수체만을 대상으로 국립원예특작과학원 온실에서 화분재배하고 주요 원예적 특성을 평가하였다(표 2-36).

표 2-36. 병저항성 시판 고추 품종 소포자 유래 배가반수체 주요 원예적 특성

개체번호	초장 (cm)	주간길이 (cm)	경경 (mm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	화폭 (cm)	과중 (cm)	과장 (cm)	과폭 (mm)	채중량 (g)	ASTA
20CV8-2	39	13	10.4	5.2	2.0	1.8	9.2	8.1	8.1	377	89.9
20CV8-5	35.5	8	7.8	5.8	2.5	2.6	20.7	14.8	11.0	81	67.7
20CV8-6	24	7	5.5	4.5	1.2	-	17.3	9.8	8.0	260	82.5
20CV8-15	27.5	2	14.4	6.3	3.0	2.1	18.1	7.5	6.8	87	86.1
20CV9-5	34.3	5	13.2	6.4	3.3	-	21.3	19.8	10.3	357	63.5
20CV9-7	23.5	5.5	13.8	6.3	3.4	2.4	24.0	19.3	10.7	384	71.9
20CV9-8	19.5	10	7.5	5.8	2.7	2.8	20.4	13.4	8.7	290	88.9
20CV9-9	37.5	12	12.9	5.7	3.4	-	21.6	13.4	7.6	208	98.0
20CV10-1	62	6.5	17.1	6.2	2.9	2.6	17.3	11.2	7.5	142	114.5
20CV10-2	23	2.7	13.2	6.8	3.3	-	21.5	19.1	9.9	250	76.6
20CV13-1	60	5	11.3	5.4	2.5	2.4	15.4	7.0	7.0	185	105.1
20CV13-3	20.5	5.5	8.6	6.3	2.7	2.4	14.7	3.9	7.9	254	106.1
20CV13-4	28	3.5	7.9	3.7	1.5	-	22.1	14.2	8.5	323	77.5
20CV13-6	58.5	12.5	13.5	6.5	2.9	2.5	17.5	12.7	9.5	469	97.5
20CV13-7	45	1	7.5	3.7	1.8	-	9.3	6.2	6.2	152	-
20CV13-8	64.5	7.5	11.4	5.9	2.0	2.6	45.6	4.1	4.6	72	93.1
20CV13-9	28.5	6.5	10	6.1	2.1	2.4	8.3	5.8	5.8	75	70.7
20CV13-10	20.5	7	8.8	7.3	2.8	2.5	17.9	10.3	8.0	230	59.8
20CV16-5	52	16	10	7.7	3.4	2.1	13.3	9.7	18.6	210	89.8
20CV16-6	40.5	7	13.3	6.1	3.3	2.6	8.7	8.7	16.8	368	106.3
20CV16-7	30	5.5	9.6	7.6	3.9	-	3.6	3.8	14.5	368	
20CV16-8	41	7.7	8.6	5.2	2.5	2.0	11.7	7.7	18.6	166	144.2
20CV16-11	28	3.1	6.4	5.3	2.5	-	9.3	24.3	10.8	353	138.5
20CV16-15	53	10.5	8.2	5.7	2.9	-	12.2	12.2	21.1	70	69.3
20CV16-19	39	5	7.6	5.3	2.5	-	14.9	9.1	20.6	379	92.5
20CV16-20	61	15	12.4	5.8	2.6	7.1	5.9	6.8	16.6	91	139.0
20CV16-24	88	19.5	9.5	7.9	3.9	2.4	11.0	9.3	17.8	100	84.5
20CV16-28	26.5	6	16	6.6	3.2	2.5	8.1	21.8	9.6	156	142.8
20CV17-2	47	4	7.9	6.4	2.5	2.6	10.2	6.5	17.5	115	85.1
20CV18-5	48	14	7.4	5.7	2.6	3.1	8.9	7.1	16.0	100	129.8
20CV18-7	55.5	11	10.7	6.4	3.2	2.6	17.6	9.4	19.0	297	105.0
20CV19-15	34.5	15	17.5	6.4	4.0	3.0	8.6	5.3	19.9	73	85.7
20CV19-17	41	15	11.8	6.4	3.6	2.2	7.8	7.4	18.5	33	90.5
20CV19-18	21.5	4.5	7.8	6.3	3.1	2.5	15.5	9.7	19.9	150	100.2
20CV19-20	39.5	9	9.4	6.3	3.4	2.2	5.9	8.4	20.7	54	104.2
20CV20-3	17	5	8.8	5.8	3.0	2.5	8.9	18.6	13.3	151	166.7
20CV20-6	35	3	8.3	7.2	2.6	3.4	14.8	8.6	19.7	215	183.5
20CV20-7	39.5	1	14.4	6.6	3.2	-	9.3	9.3	16.8	359	92.5

6. 소포자 유래 배가반수체 후대 특성검정

고추 소포자 유래의 배가반수체의 후대 특성 검정을 위해 2년차에 채종한 22계통의 종자를 2019년 4월 9일 원예원 채소과 육묘온실에 파종하여 5월 29일 원예원 채소과 노지포장에 8주, 비가림하우스에 4주씩 각각 단구제로 정식하였다(표 2-37). 농촌진흥청 고추 표준재배 방법에 의거하여 재배 후 주요 원예적 특성을 조사하였다.

고색소	파종립수	수출용	파종립수
7QF4-1	26	ECO1-2	12
7QF4-3	26	ECO1-3	12
7QF4-4	26	ECO1-5	12
7QF4-9	26	ECO2-2	12
7QF4-13	26		
7QF4-16	26		
7QF4-17	26		
7QF4-103	26		
7QF36-101	26		
7QF36-103	26		
7QF36-104	26		
7QF36-105	26		
7QF36-106	26		
7QF36-114	26		
7QF36-109	26		
7QF36-115	26		

노지 8주, 하우스 4주, 각각 단구제 정식
 파종 : 4월 9일
 정식 : 5월 29일



표 2-37. 2019년 소포자 유래 배가반수체 후대 특성검정 목록

고추 소포자 유래의 배가반수체의 후대 특성 검정을 위해 평가계통의 초장, 경경, 과실 특성, 고춧가루 색소(ASTA) 등 주요 원예적 특성을 평가하였다(표 2-38).

표 2-38. 소포자 유래 식물체 후대의 원예적 특성 평가(2019)

계통번호	초장(cm)	경경(mm)	과중(g)	과장(cm)	과폭(mm)	ASTA	비고
19MC 1	79.0±16.5	26.4±3.7	15.9±3.8	14.4±2.1	19.9±2.8	135.5±6.5	고색소 모식물
19MC 2	70.3±2.5	21.8±2.6	16.4±4.9	12.0±1.2	21.4±1.4	215.8±6.9	고색소 모식물
19MC 3	66.3±1.5	22.0±2.6	17.5±7.3	10.7±3.4	23.0±5.0	134.7±4.7	고색소 유래
19MC 4	69.7±1.5	24.5±1.7	13.4±3.4	11.8±2.1	19.2±2.5	197.2±2.6	고색소 유래
19MC 5	172.3±8.6	78.0±4.5	14.5±6.7	11.3±3.4	19.1±3.4	-	고색소 유래
19MC 6	184.7±22.7	24.8±1.1	12.0±2.0	10.1±1.2	19.8±1.9	163.3±1.7	고색소 유래
19MC 7	202.3±1.6	23.5±2.6	9.2±2.8	8.8±1.1	17.1±3.8	-	고색소 유래
19MC 8	184.0±3.6	25.3±3.3	13.5±3.1	11.4±1.7	19.6±3.9	173.5±2.6	고색소 유래
19MC 9	197.0±7.5	26.1±1.2	14.5±3.1	8.8±0.8	23.8±3.7	-	고색소 유래
19MC 10	160.0±5.0	23.9±1.1	16.2±5.2	9.6±1.8	24.1±3.7	193.0±2.0	고색소 유래
19MC 11	168.3±6.1	16.2±3.2	14.2±3.5	10.0±0.8	20.7±3.6	156.7±0.5	고색소 유래
19MC 12	184.0±5.6	25.8±2.5	15.9±2.2	13.0±9.7	23.9±2.5	154.1±1.8	고색소 유래
19MC 13	187.3±3.1	23.7±1.4	15.3±2.9	9.1±1.0	22.4±3.9	137.6±2.1	고색소 유래
19MC 14	156.0±15.1	17.1±2.2	18.9±5.8	11.4±1.2	21.1±3.6	144.5±0.5	고색소 유래
19MC 15	127.0±14.7	18.2±0.1	16.9±2.3	11.4±0.9	19.7±2.8	126.2±0.3	고색소 유래
19MC 16	128.7±9.1	16.6±5.0	26.5±6.8	12.1±1.1	24.8±3.5	173.2±0.5	고색소 유래
19MC 17	118.3±17.6	14.6±0.9	24.1±8.0	13.3±1.8	19.5±2.6	101.1±0.3	고색소 유래
19MC 18	176.3±10.0	26.6±1.1	18.3±5.3	9.9±1.8	23.9±.78	164.6±3.1	고색소 유래
19MC 19	164.3±3.8	25.9±2.8	14.0±2.7	15.2±1.4	14.2±2.0	157.9±0.3	수출용 유래
19MC 20	169.7±5.7	29.0±1.8	6.2±0.6	13.2±1.7	10.3±1.4	125.5±1.9	수출용 유래
19MC 21	164.3±4.0	25.5±1.4	5.7±0.8	13.2±0.8	8.6±0.9	200.3±1.1	수출용 유래
19MC 22	178.7±12.1	17.2±3.4	2.3±0.5	7.0±0.7	7.7±1.2	71.2±1.6	수출용 유래



그림 2-46. 소포자 유래 식물체 후대 재배사진

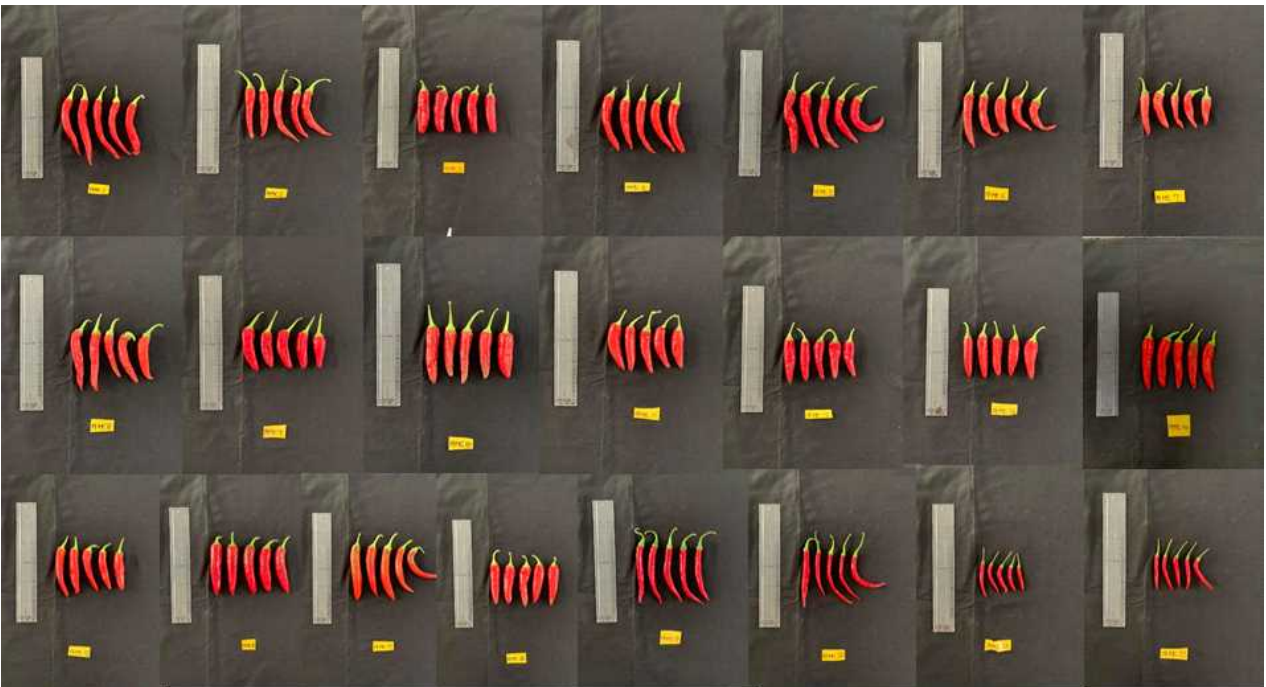


그림 2-47. 소포자 유래 식물체 후대 과실 특성

2021년에는 2020년 획득한 소포자 유래 배가반수체 후대 종자를 2021년 2월 22일 원예원 채소과 육묘온실에 파종하여 5월 6일 원예원 채소과 비가림하우스에 모식물체 5주, 모식물체 소포자 유래 후대 10주씩 각각 단구제로 정식하였다(그림 2-48). 농촌진흥청 고추 표준재배 방법에 의거하여 재배 후 주요 원예적 특성을 조사하였다.

				21MC 43	7		
21MC 14	10	21MC 28	10	21MC 42	10		
21MC 13	10	21MC 27	10	21MC 41	5	변외	11
21MC 12	10	21MC 26	5	21MC 40	10	21MC 55	10
21MC 11	10	21MC 25	10	21MC 39	10	21MC 54	10
21MC 10	10	21MC 24	10	21MC 38	1	21MC 53	10
21MC 9	10	21MC 23	10	21MC 37	5	21MC 52	1
21MC 8	10	21MC 22	10	21MC 36	10	21MC 51	10
21MC 7	4	21MC 21	5	21MC 35	10	21MC 50	10
21MC 6	10	21MC 20	10	21MC 34	5	21MC 49	10
21MC 5	5	21MC 19	5	21MC 33	10	21MC 48	10
21MC 4	10	21MC 18	10	21MC 32	10	21MC 47	10
21MC 3	10	21MC 17	10	21MC 31	10	21MC 46	10
21MC 2	10	21MC 16	5	21MC 30	10	21MC 45	10
21MC 1	5	21MC 15	10	21MC 29	5	21MC 44	10
1		2		3		4	

그림 2-48. 2021년 고추 소포자 유래 식물체 후대 검정을 위한 시험포장도

표 2-39. 고추 소포자 유래 식물체 후대의 원예적 특성 평가(2021)

품종	초장 (cm)	주간길이 (cm)	경경 (cm)	과장 (cm)	과폭 (cm)	과중 (g)
21MC1	106.6±5.2	22.8±2.8	17.6±1.4	13.8±7.4	11.1±1.7	19.1±5.2
21MC2	113.2±24.8	30.8±1.3	20.3±1.6	10.5±4.6	8.7±1.8	19.9±2.1
21MC3	98.6±5.5	24.6±1.6	17.2±0.7	12.5±2.1	10.1±0.4	19.6±1.6
21MC4	92.1±7.0	22.5±1.4	16.3±2.6	14.0±3.2	9.7±1	21.1±2.4
21MC5	108±16.5	22.2±0.8	14.9±3	17.8±1.1	12.4±0.9	21.8±1
21MC6	87.5±6.5	21.6±1.4	13.2±2.5	15.2±2.8	11.5±1.2	20.6±1.4
21MC7	94.5±4.4	21.5±2.1	13.6±0.3	17.2±6.4	11.7±1.1	19.5±2.7
21MC8	100.3±10	20.3±0.7	15.0±2.4	10.0±4	8.1±1.8	17.8±2.7
21MC9	119.5±10.9	23.4±2	15.7±2.7	16.9±3.2	10.8±1	25.4±2.8
21MC10	120.0±7.9	21.2±1.9	12.7±1.1	25.2±3.9	15.1±1.3	26.8±2
21MC11	88.9±31.8	19.0±2	10.5±1.1	13.8±3.2	10.1±1.2	24.7±2.5
21MC12	96.1±6.3	21.3±1.9	10.8±1.3	14.2±2.7	10.6±0.6	23.7±2.9
21MC13	109.5±107	20.1±19	11.6±11.1	18.1±2.9	13.8±0.9	26.4±3.3
21MC14	110.4±13	19.8±2.7	13.0±2.3	15.3±4	12.5±1	24.9±3.3
21MC15	84.0±87	10.8±28	10.7±11	21.8±6.7	13.5±1.8	23.3±3.2
21MC16	95.8±10.7	26.6±2.3	14.3±1.1	28.1±3	15.5±0.6	23.0±1.5
21MC17	88.3±9.3	19.8±2.1	12.3±3.2	21.4±2.5	11.5±1.7	22.5±1.6
21MC18	84.0±8.6	19.1±1.5	11.0±2.1	17.9±4.3	10.3±0.9	21.4±2.6
21MC19	99.6±4.9	25.0±1.6	14.1±1.2	24.9±6.2	14.0±2.1	21.5±2.6
21MC20	88.4±7.5	21.5±1.1	14.1±1.8	24.0±4	10.9±1.3	24.7±2.9
21MC21	108.2±11	21.2±1.1	13.7±3.3	13.8±1.8	11.5±0.5	19.0±2.1
21MC22	121.4±8.5	20.6±2.4	14.7±2.7	15.8±3.3	10.7±1.1	22.0±2.9
21MC23	122.8±8.4	22.4±1.3	14.9±1.3	16.9±3.6	10.9±0.6	22.2±2.8
21MC24	69.6±11.9	21.4±1.3	10.5±1.9	12.9±5	12.0±2	16.2±3.9
21MC25	89.1±10.5	25.6±2.8	11.1±1.3	12.7±3.6	10.5±1.4	20.2±2.4
21MC26	114.4±13.3	21.2±2.8	12.6±1.6	26.7±8.7	14.8±2	24.7±2.9
21MC27	104.6±16	25.0±2.1	15.3±3.8	33.9±6.9	14.1±0.9	25.6±2.2
21MC28	89.4±23.6	22.1±3.7	9.7±3.8	19.7±5.8	11.8±2.1	19.1±2.3
21MC29	96.8±103	26.8±24	13.9±10.9	32.2±5.6	17.4±1.3	22.9±1.5
21MC30	113.5±102	28.5±22	16.1±13.2	27.4±4.1	16.3±1.8	22.8±1.8
21MC31	96.0±11.6	24.5±2.5	15.3±1.8	20.7±2.2	14.6±1.3	20.3±0.8
21MC32	59.9±8.4	19.5±2.3	9.3±1.6	22.2±7.5	15.8±3.2	19.9±3.9
21MC33	73.4±14	25.3±3.7	11.0±2.8	16.9±7.5	11.8±3.4	18.3±4.4
21MC34	98.0±7.6	21.2±0.8	12.6±2.3	22.2±2.2	12.8±1.8	23.0±4.3
21MC35	80.5±7.5	18.6±6.9	11.8±1.8	17.5±2.8	10.4±0.8	26.1±2.3
21MC36	79.8±8.4	22.3±2.4	11.6±1.6	20.7±3.9	10.4±0.8	27.2±3.9
21MC37	111.6±7.8	20.2±1.3	15.3±2.4	13.9±1.7	12.3±1	15.9±1.3
21MC38	98	12	16.1	13.8	8.4	15.8
21MC39	98.3±10.5	19.1±2	14.6±2.5	10.5±1.6	9.8±1.5	13.8±0.8
21MC40	105.6±10.5	18.0±2.2	15.7±2.9	9.7±1.1	8.2±0.8	13.1±0.7
21MC41	91.4±17.7	20.4±6.7	13.5±2.4	11.6±2.1	4.2±0.6	27.5±3.2
21MC42	72.3±19.1	16.4±2.1	9.5±2.8	8.6±3.2	16.4±2.6	9.1±1.8
21MC43	75.0±9.0	15.0±1.7	11.7±2.8	11.5±4.1	20.9±2.1	9.6±1.2
21MC44	92.1±11.4	19.7±2.3	11.3±0.9	4.1±1.6	16.1±1.1	7.9±1.6
21MC45	105.4±16.1	19.1±2	11.8±1.9	7.6±2	17.9±1.6	10.0±1.9
21MC46	115.6±5.9	23.0±2.8	14.2±1.4	8.5±2.3	17.6±2.7	11.2±1.8
21MC47	105.0±9.1	21.0±1.9	17.5±1.6	2.9±0.6	3.9±0.5	12.9±0.7
21MC48	101.5±11	20.3±2.8	15.5±1.8	2.8±0.2	4.1±0.5	12.3±0.9

21MC49	96.9±4	23.3±1	15.6±0.9	2.5±0.5	3.9±0.5	12.2±0.8
21MC50	100.1±12.2	32.4±2.1	13.9±2.8	21.7±5.7	11.9±1.6	19.3±1.9
21MC51	66.9±15.9	20.9±2.7	11.0±2.8	36.0±11.5	13.0±1.9	28.3±5.2
21MC52	87	20	14	25.6	7.9	31.2
21MC53	106.9±8.6	32.6±1.6	15.8±1.4	18.1±2.8	9.9±1.1	23.9±2
21MC54	110.0±13.3	33.4±1.8	13.6±3.5	14.4±2.3	8.9±0.8	22.1±2
21MC55	72.4±11.6	15.6±2	13.8±2.7	5.2±1.3	4.3±0.5	17.9±1.7

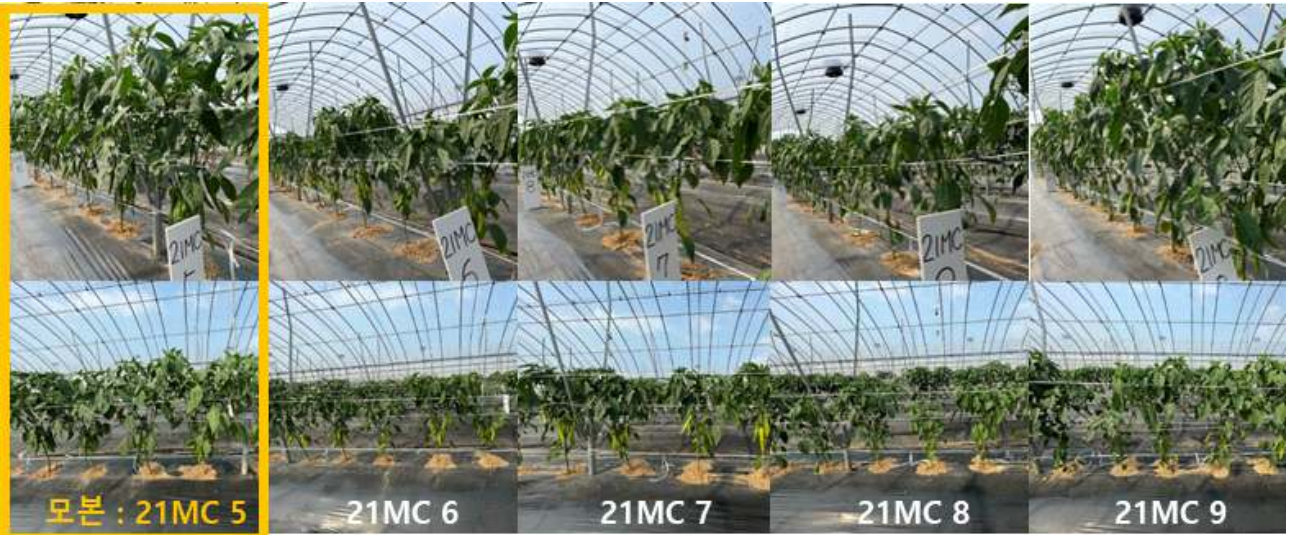










그림 2-49. 고추 소포자 유래 식물체 후대 포장재배(2021)

7. 품종별 응성배우체 발달 양상 비교

배양효율이 높은 품종(밀양재래)과 낮은 품종(19GP38)을 재료로 하여 복합광학현미경으로 응성배우체 발달단계를 비교하였다(그림 0,0). 일반적으로 화분모세포(Pollen mother cell)가 감수 분열후 4분자기(tetrad)를 거쳐 후기 1핵성 소포자~초기 2핵성 화분이 될 때가 소포자 배양을 적기라고 알려져 있다.

배양효율이 높은 밀양재래는 정상적인 화분모세포 형태를 갖추고 있으며 4분자기로 정상적인 감수분열이 진행된 것으로 보이나(그림 2-50), 배양효율이 낮았던 19GP38은 형태적으로 비정상적인 4분자기 대부분인 것으로 확인되었다(그림 2-51). 두 품종 모두 동일한 환경 하에서 재배관리 되었기 때문에 이는 19GP38 계통의 유전적인 특성으로 보이며 이러한 비정상적인 응성배우체 발달이 배양효율에 영향을 미치는 것으로 추정된다. 향후 보다 다양한 품종을 대상으로 응성배우체 발달과정에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

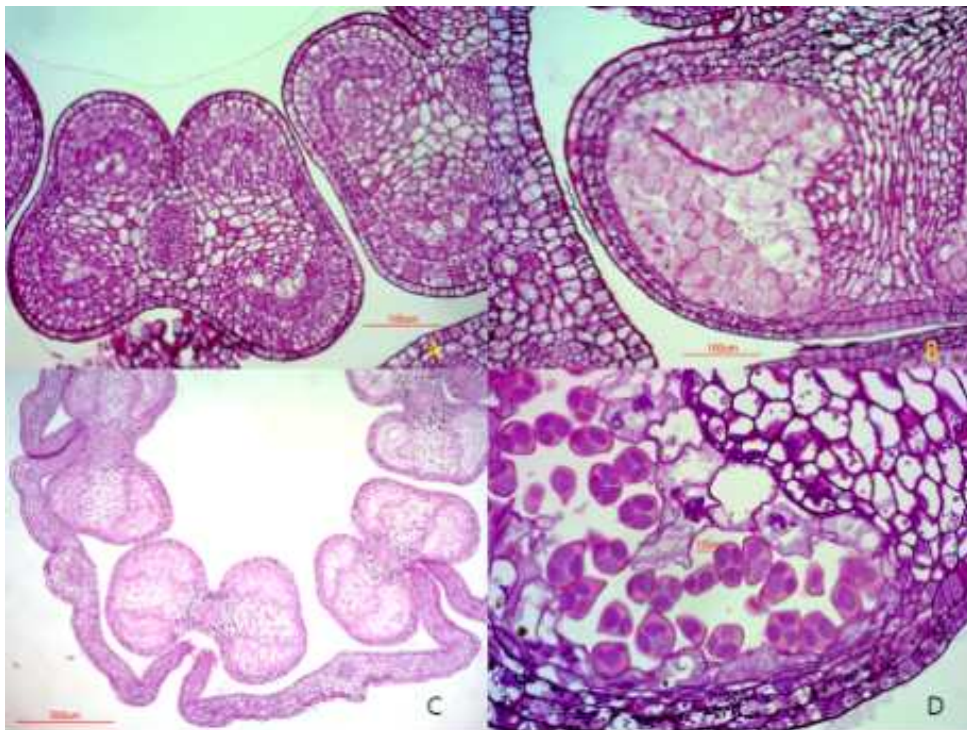


그림 2-50. 밀양재래 응성배우체 발달과정(A:화분모세포 분열, B: tetrad 전단계분열, C, D: tetrad)

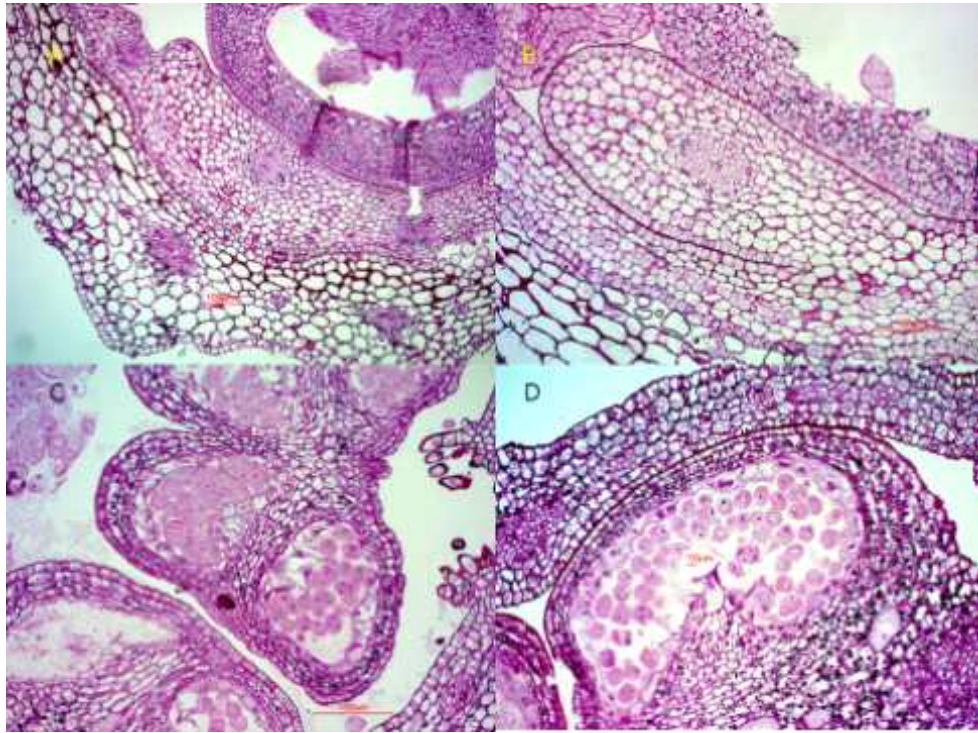


그림 2-51. 19GP38 응성배우체 발달과정(A, B:화분모세포 분열, C: tetrad 전단계분열, D: tetrad)

8. 소포자 유래 반수체 및 배가반수체 생산 소요기간 비교

본 연구팀은 소포자유래의 식물체 생산을 위해서 나출 소포자 배양과 shed-소포자 배양을 시도하였다. 두 방법은 기존에 상업육종에 널리 이용되고 있는 약배양에 비해 소포자유래 식물체를 생산기간을 크게 단축할 수 있는 방법이다. 약배양의 경우 최소 17주 만에 소포자유래 식물체를 확보할 수 있다 (그림 2-52).

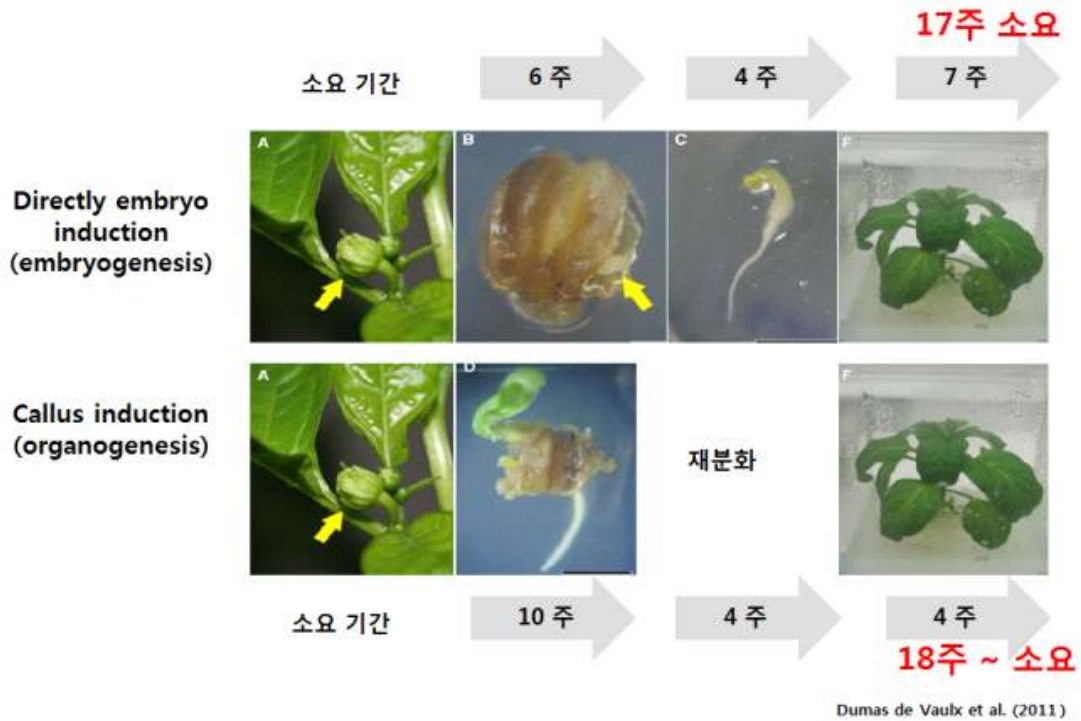


그림 2-52. 약배양유래 배발생 및 재분화 소요기간

나출 소포자 배양은 소포자배 발생에 3주, 재분화에 7~8주가 소요되어 재분화 식물체 개발 까지 최소 12주가 소요되어 현재까지 고추 웅성배우체 유래의 식물체를 가장 단기간에 확보할 수 있는 방법이다 (그림 2-53). 반면 shed-소포자배양의 경우 배발생에 6~8주, 재분화에 10주 이상 소요되어 소포자유래 식물체 생산에 최소 17주가 필요하다. 소포자 유래 식물체 확보 기간만을 계산하면 고추의 반수체/배가반수체를 확보하기 위해서는 나출 소포자 배양이 가장 적합한 것으로 생각된다. 그러나 고추의 소포자 배양은 매우 다양한 요인이 영향을 미치기 때문에 다양한 각도로 접근하여 각 품종에 맞는 최적의 방법을 선택하여야 한다.

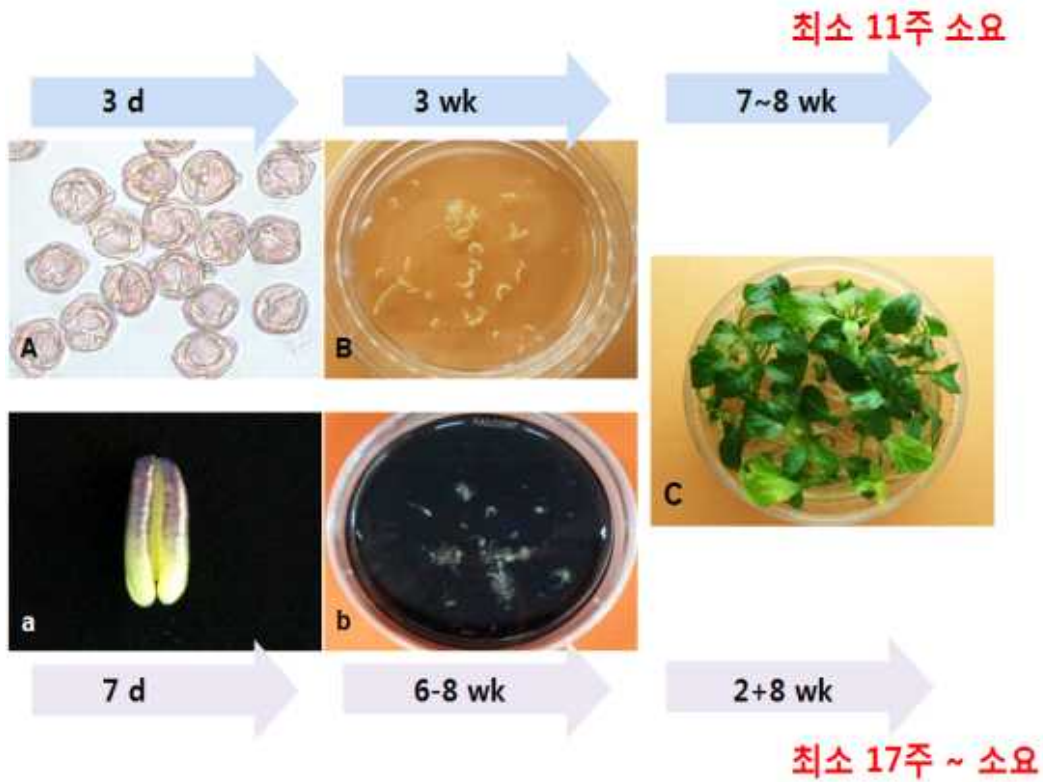


그림 2-53. 소포자 배양 배발생 및 재분화 소요기간

밀양재래 품종의 경우에는 나출 소포자 배양 시 소포자배 발생은 최대 172개, 정상자엽배는 최대 12개가 발생하나, shed-소포자 배양의 경우에는 소포자배 발생은 최대 6.5개, 정상자엽배는 최대 0.7개가 발생한다. 밀양재래 품종의 경우에는 나출 소포자 배양이 더 적합한 것으로 나타났다. 그러나 하나종묘의 TSWV 품종의 경우에는 shed-소포자 배양을 통해서 더 많은 소포자유래 식물체를 생산하였으며, 나출 소포자 배양을 통해서는 결과를 얻을 수 없었다. 이렇듯 고추의 응성배우체 유래의 배발생에 적합한 소포자 배양 방법은 어느 방법이라고 명확하게 결론을 내릴 수 없으나 다양한 품종 및 배양조건에 따른 연구결과를 축적하여 범용적으로 사용가능한 반수체 및 배가반수체 개발 방법을 정립하는 것이 본 과제 의 가장 큰 목표라고 할 수 있으며 이를 위한 추가적인 연구를 지속적으로 수행할 계획이다.

제2절 파프리카 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급

1. 배양모본의 준비

배양에 사용된 모식물은 전북농업기술원 과채류 시험장에서 분양받은 품종, 자체 선발계통, DH line 서비스를 위하여 의뢰받은 하나종묘 품종, 전북 농업기술원 파프리카 시험장 품종(나가노, 오렌지글로리, 요리트, 파브리스, 발타사, 팔코) 등을 이용하였다. 모든 실험의 대조 품종은 1차, 2차 실험에서 배 발생율과 정상식물체 유도율이 좋았던 요리트(F₁) 품종을 이용하였다. 종자는 3월에 파종하여 4월에 본사 식물소재개발연구소(김제)에 있는 온실에 정식하여 사용하였으며, 하나종묘 의뢰 품종은 5월에 식물체로 인수 받아 같은 곳에 정식하여 사용하였다. 전북 농업기술원 파프리카 시험장의 의뢰품종은 파프리카 시험장 재배온실에서 봉오리만을 채취하여 실험에 사용하였다. 재배는 피트모스 상토에 재배하였으며, 파프리카 배양액을 정식 30일 후부터 정기적으로 관수 하였으며, 온실의 온도는 최저 15℃, 최고 33℃를 유지하였다. 광은 30,000lux가 되게 하였고, 병충해 방제를 위하여 매주 정기적으로 약제를 살포하여 병충해 발생을 예방하며 모식물을 재배하였다(그림 2-54).



그림 2-54. 약배양/ Shed-microspore culture/나출 소포자배양에 이용된 계통 및 품종

표 2-40. 네덜란드 배양액 조성표

(1t 100배액기준)

	성분	4수염	10수염	비고
A액	질산칼슘 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100.3kg	91.8kg	
	질산칼륨 KNO_3	34.1kg	29.85kg	
	철(Fe-EDTA 13%)	0.6kg	0.6kg	
B액	질산칼륨 KNO_3	34.1kg	29.85kg	
	제1인산칼륨 KH_2PO_2	17.0kg	15.0kg	
	황산칼륨 K_2SO_2		4.4kg	
	황산마그네슘 $\text{MgSO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37.0kg	37.0kg	
	황산구리 $\text{CuSO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	18.9g	18.9g	
	붕산 H_3BO_3	185.2g	185.2g	
	황산망간(1수염) $\text{MnSO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	168.9g	168.9g	
	황산아연 $\text{ZnSO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	143.8g	143.8g	
몰리브덴암모늄 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8.8g	8.8g		

2. 소포자 배양 조건

가. 배양재료 채집

소포자 배양에서는 배발생 유도를 위한 적절한 시기의 꽃봉오리(약) 채취가 중요하다. 파프리카 안에서도 품종에 따라 높은 배발생 유도를 위한 약의 발달시기가 다양하다. 일반적으로 감수 분열기후 화분 4분자기를 지나고 1핵기 초부터 제 1화분 유사분열이 일어나기 직전, 혹은 3핵성 화분의 경우 제 2화분 유사분열 직전까지의 것을 사용하게 된다.(그림 2-55)

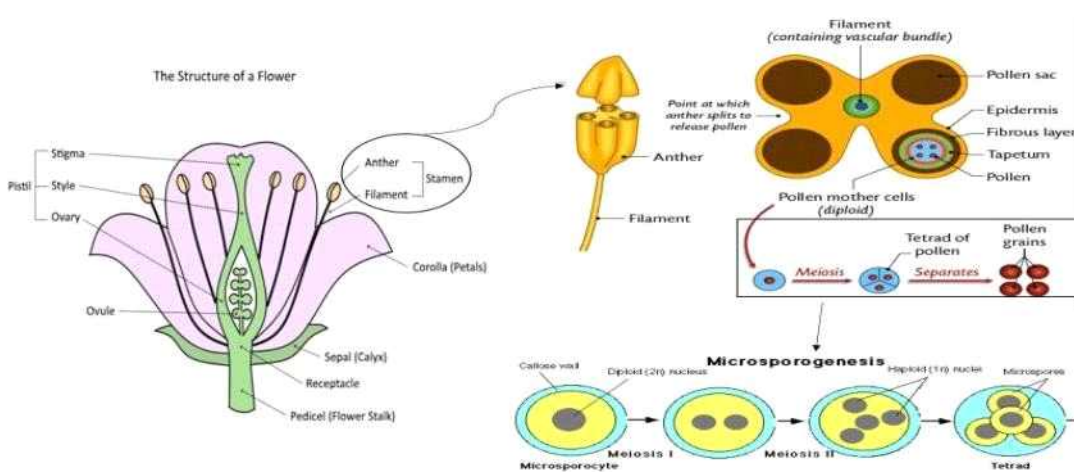


그림 2-55. 꽃의 구조 및 소포자 발달단계

고추는 약의 보라색 착색이 선명하여 1/2정도부터 3/4정도의 약을 선택하여 사용하면 되는 반면, 파프리카의 약은 시기가 경과되면서 진한 보라색으로 착색되는 것도 있지만, 같은 품종 안에서도 약의 초반과 같이 계속 아이보리색을 띄는 것도 있어 착색정도만 가지고서는 정확한 시기를 판단하기가 어렵다. 꽃봉오리를 채집할 때 품종별로 봉오리를 열어서 약의 색을 구분하고, 보라색 착색이 명확한 품종은 약이 1/2에서 2/3정도 보라색으로 착색된 것을 선택하였고, 약의 착색이 명확하지 않은 품종은 꽃잎과 꽃받침의 길이가 1:1에서 2:1정도의 봉오리를 이용

하였다(그림 2-56).

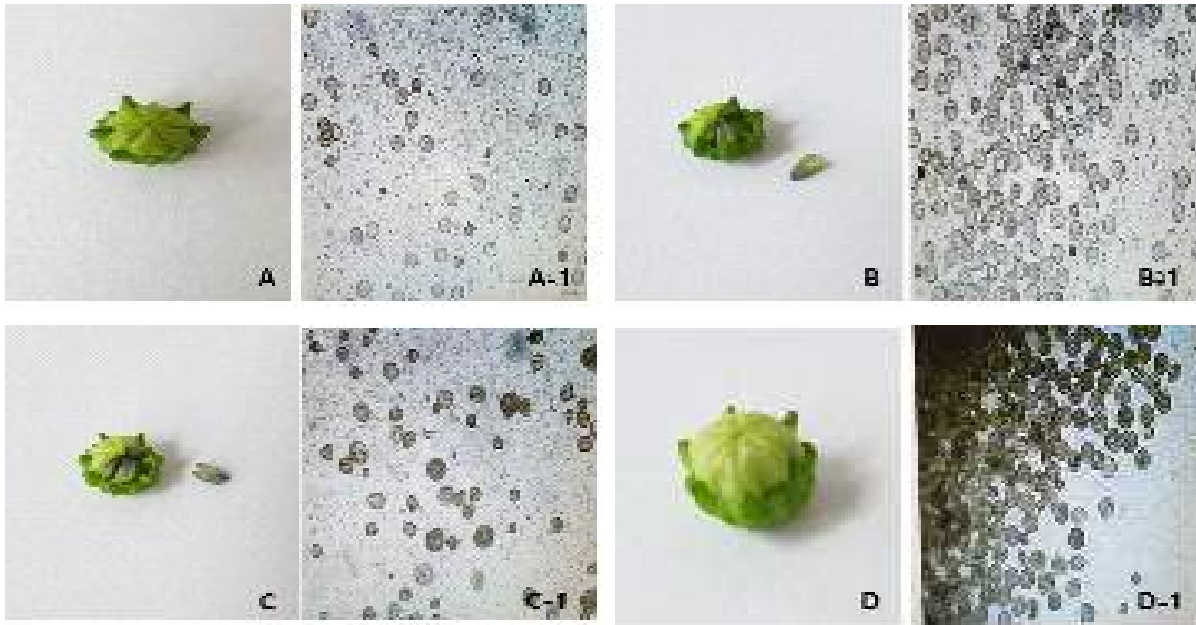


그림 2-56. 봉오리채집시기에 따른 소포자 발달단계 A: 꽃잎의 크기보다 꽃받침의 크기가 더 큰 봉오리 B, C: 꽃잎과 꽃받침이 같은 크기인 봉오리 D: 꽃잎의 크기가 꽃받침의 크기보다 큰 봉오리

나. 소포자 배양방법

세대 단축을 위한 반수체 육종 방법으로는 약배양, shed-microspore culture, 나출소포자 배양법이 있다. 약배양은 고체배지에 약을 치상하여 배양하는 방법으로 32°C 고온처리를 7일간 하여 약내에 있는 소포자에서 배가 발생하여 약벽을 뚫고 배가 발생한다. shed-microspore 배양은 약배양의 변형된 형태로 고체배지에 약을 치상한 후 액체배지를 첨가하여 사용하는 이층배양법이다. 9°C 저온처리를 7일간 하여 약속에 있는 소포자가 약벽이 붕괴되면서 액체배지로 터져 나오게 되어 배로 발달한다. 나출 소포자 배양은 소포자만을 배양하는 방법으로 약으로부터 소포자만을 취하여 액체배지에 배양하고 32°C에서 3일간 고온처리하여 배발생을 유도한다.

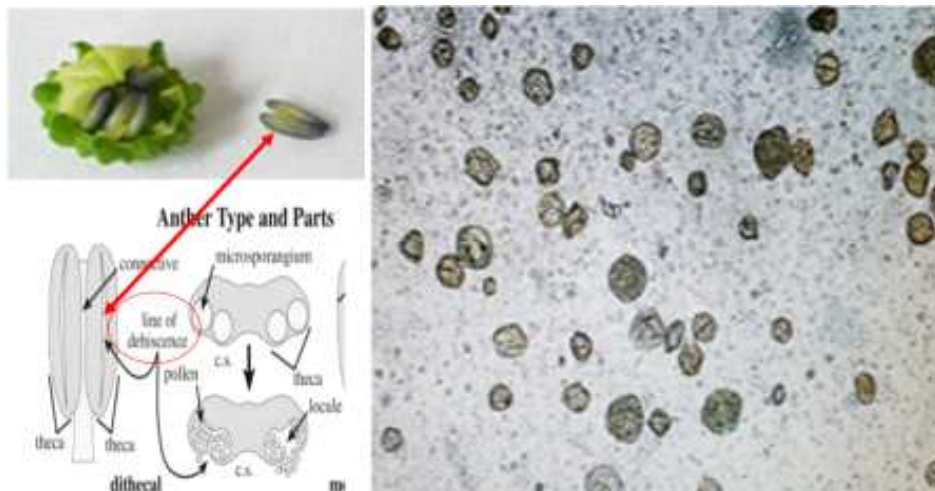


그림 2-57. 파프리카 약의 형태 및 소포자

(1) 약배양

약배양은 Dumas C배지를 기본배지로 사용하여, 90*15mm petri-dish에 3개의 봉오리에서 18~21개의 약을 적출하여 치상하였다. 치상 직후 32℃에서 7일간 고온처리를 하며, 25℃ 암상태에서 배 형성이 관찰될 때까지 배양하였다. 약배양 후 약 3주가 경과하면서 배발생이 관찰되었으며, 약 8주간 지속되었다.

(2) shed-microspore 배양

shed-microspore배양은 Nitsch medium을 기본배지로 사용하여 고체배지에는 2% maltose와 0.5% charcoal, 0.6% plant agar를 첨가하여 60*15mm petri-dish에 5ml씩 분주하였다. 액체배지는 charcoal과 plant agar를 뺀 나머지를 동일하게 하여 사용하였다. 약은 1bud/1plate를 기본으로 치상하였으며, 약 접종 후 9℃에서 7일간 저온처리하고, 28℃ 암배양하며 배발생을 관찰하였다. 배양 후 대략 9주가 지나면서 배발생이 관찰되었다.

(3) 나출 소포자 배양

나출 소포자 배양은 소포자를 인위적으로 약에서 분리하여 배양하는 방법으로 NLN medium을 기본배지로 사용하였다. 소포자 나출에 유용한 blender를 사용하여 고속으로 약에서 소포자를 분리하였으며, 32℃에서 3일간 전처리를 한 후 소포자만을 모아 25℃ 암배양하며 배발생을 관찰하였다. 전처리는 90*20mm petri-dish를 이용하여 배양하였으며, 전처리 후 centrifuge를 통해 불순물을 제거하고 소포자만을 모아 밀도가 1ml에 약 2×10^5 이 되게 조정하여 NLN medium에 당을 첨가하여 60*15mm petri-dish에 옮겨 25℃ 암배양 하면서 배발생을 관찰하였다. 배양 후 3주가 지나면 배발생이 관찰되었다.

본 실험은 파프리카 소포자배 유래 DH line 유기를 위하여 Shed-소포자 배양, 나출소포자 배양을 이용하여 여러 가지 조건들이 배발생에 미치는 영향을 조사하였다.



그림 2-58. 소포자 배양방법 A: 약배양 B: shed-microspore배양 C: 나출소포자 배양

3. 소포자 배양조건 확립

가. Shed-소포자배양

(1) 기본배지가 배발생에 미치는 영향

Shed-microspore 배양시 사용하는 기본배지 Nitsch medium을 대조구로 사용하여 B5, MS, NLN medium을 이용하여 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. Nitsch medium과 마찬가지로 B5, MS, NLN medium에 2% maltose와 0.5% charcoal, 0.6% plant agar를 첨가하여

고체배지를 만들어 60*15mm petri-dish에 5ml씩 분주하여 실험하였으며, 액체배지는 고체배지와 동일한 배지를 사용하여 2% maltose만 첨가한 후 filtering하여 냉장보관하면서 사용하였다.

실험 결과 대조구인 Nitsch medium과 실험구인 B5 medium, NLN medium에서 비슷한 비율로 배형성이 관찰되었으며, 다른 실험구인 MS medium에서는 배 형성이 관찰되지 않았다(표 2-41).

표 2-41. 기본배지에 따른 배발생율

Medium	Carbone source	No. of embryos/plate			
		Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
Nitsch (control)	2% Maltose	0.4±0.8	0.6±1.0	0.1±0.4	1.1±1.5
MS		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
B5		0.0±0.0	0.6±1.1	0.2±0.6	0.8±1.6
NLN		0.1±0.3	0.6±1.3	0.1±0.3	0.8±1.8

(2) 저온처리에 따른 배발생율

화뢰를 채취하여 배양 전 4°C 저온처리는 배발생에 영향을 미치는 요인으로 보고되어 있다. 본 실험에서는 총 412 plates (60x15 mm) 집중하여 4°C 1일 처리구가 17.8%의 plates가 배발생율을 보인 반면 무처리는 40.5%의 plates에서 배발생이 관찰되어, 무처리가 배발생 효율이 높은 것으로 관찰되었다(표 2-42). 이는 계절에 따라 영향을 미치는 것으로 생각된다.

표 2-42. 4°C 저온처리가 배발생에 미치는 영향

처리일수	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio(%)
0	232	94	40.5
1	180	32	17.8
Total	412	126	30.6



그림 2-59. Shed-microspore culture에서 발생된 embryos

위와 같은 내용을 보았을 때 저온처리를 하는 것은 배발생을 저해하는 것으로 생각된다. 이것을 적용하여 계절에 따른 배발생 효율을 실험한 결과 고온기와 저온기 배양(표 2-43)을 비교하였을 때, 모든 품종의 배발생율이 고온인 여름배양이 배발생율이 높은 것으로 관찰되었다(표 2-44). 배발생을 평균 또한 저온기 14.4%에 비해 고온기에 36.1%로 높았다.

표 2-43 배양모본의 온실재배 환경(2017년 1월~2018년 10월)

구분	기간	최저온습도		최고온습도		광도
		온도	습도	온도	습도	
저온기	10월~4월	14.3℃	34.3%	30.7℃	77.1%	30,000Lux이하
고온기	5월~9월	20.3℃	47.8%	33.7℃	87.6%	50,000Lux이상

표 2-44. 봉오리 채집계절이 배발생에 미치는 영향

품종 계절	No. of plate		Responded plates		Ratio(%)	
	저온기	고온기	저온기	고온기	저온기	고온기
발타사 (B2TS)	50	53	22	33	44.0	62.3
팔코 (P2TS)	188	212	16	49	8.5	23.1
요리트	78	76	16	34	20.5	44.7
오렌지 글로리	72	71	4	10	5.5	14.1
계	416	412	60	126	14.4	36.05

Shed-소포자 배양에서 품종에 따른 배발생율은 발타사 F₂ 집단에서 62.3%로 가장 높았고, F₁ 세대인 요리트 품종에서도 매우 높은 배발생을 관찰할 수 있었다(표 2-44). Shed-소포자 배양은 품종별 배양효율은 달랐으나, 배양한 품종 및 계통 모두에서 배발생이 가능하다는 아주 큰 장점을 가지고 있었다(표 2-44).

(3) 품종 및 유전형에 따른 배발생율 조사

Shed-소포자 배양에서 품종에 따른 배발생율은 발타사 F₂ 집단에서 가장 높았고, F₁ 요리트 품종에서도 매우 높은 배발생을 관찰할 수 있었다(표 2-45). Shed-소포자 배양은 배양한 6개 품종 및 계통 모두에서 배발생 효율은 달랐으나, 배발생을 유도할 수 있는 장점을 가지고 있는 것으로 생각되었다(표 2-45). 향후 배발생이 어려운 계통 및 품종은 shed 소포자배양으로 DH line을 확보할 수 있을 것으로 기대되었다. 그러나 나출 소포자배양(3~4주)이나 약배양(4~6주)에 비하여 배발생 기간이 매우 길다(4~5개월)는 단점도 도출되었다(표 2-46).

표 2-45. 유전자형(품종)에 따른 배발생율

Varieties	color	처리일수	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio(%)
발타사(B2TS)	Red	0	49	32	65.3
		1	4	1	25.0
팔코(P2TS)	Red&Yellow	0	98	34	34.6
		1	114	15	13.1
오렌지글로리	Orange	0	36	4	11.1
		1	35	6	17.1
요리트	Yellow	0	49	24	48.9
		1	27	10	37.0

표 2-46. 배양방법별 배발생 소요 기간 및 배발생율

Method of culture	Time of Androgenesis			Androgenesis ration(%)
	start	the peak	finish	
Anther culture	4 weeks	5 weeks	6 weeks	0~5%
Anther shed culture	16 weeks	18 weeks	20 weeks	11~65%
Isolated microspore cultue	3 weeks	4 weeks	5 weeks	0~80%

일반적으로 소포자 배양은 F₁이 배양효율이 높고, 세대가 진전될수록 배발생률이 낮다는 보고가 있었으나, F₂ 집단인 발타사는 매우 높은 배발생을 보여주었고(표 2-45), F₁ 조합인 요리트 품종에서도 높은 배발생을 관찰할 수 있었다. 결과적으로 종합해볼 때 유전자형에 따른 품종간 배발생율은 차이가 많았으나, F₁에서 29.9%, F₂에서 30.9%의 배발생을 보여, 본 실험 공시 품종의 세대간 배발생에는 차이는 미미한 것으로 관찰되었다(표 2-47).

표 2-47. 모본의 세대에 따른 배발생율

Generation	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio (%)
F ₁	147	44	29.9
F ₂	265	82	30.9
Total	412	126	30.6

일반적으로 약배양에서 Orange 계통품종에서 배발생 효율이 높은 것으로 보고되어 있으나, 본실험을 통한 shed 소포자 배양결과 Red>Yellow>Red & yellow>Orange의 순으로 배발생율이 높아 색상에 크게 영향받지 않는 것으로 관찰되었다 (표 2-48).

표 2-48. 유전자형(과색)에 따른 배발생율

Color	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio (%)
Red	53	33	62.3
Red & Yellow	212	49	23.1
Orange	71	10	14.1
Yellow	76	34	44.7
Total	412	126	30.6

(4) 호르몬이 배발생에 미치는 영향

호르몬이 배발생에 미치는 영향을 조사하기 위해 Nitsch medium을 기본배지로 하고 2% maltose를 첨가해 실험하였다. 대조구에는 호르몬을 첨가하지 않고 실험하였으며, Zeatin과 NAA호르몬을 하층부에 고체배지를 첨가한 실험1과 상층부인 액체배지에 Zeatin과 NAA호르몬을 첨가한 2, 3 실험구를 설정하여 비교 실험하였다(표 2-49).

표 2-49. 농도별 호르몬처리

호르몬 처리구	Solid/Base		Liquid/Top	
	Zeatin	NAA	Zeatin	NAA
Control	-	-	-	-
Test 1	0.879ppm (2.5uM)	0.931ppm (5uM)	-	-
Test 2	-	-	0.879ppm (2.5uM)	0.931ppm (5uM)
Test 3	-	-	0.5ppm (1.4uM)	0.5ppm (2.6uM)

실험결과 호르몬을 처리하지 않은 대조구에 비해 하층부인 고체배지에 Zeatin과 NAA를 처리한 실험구 1과 상층부인 액체배지에 Zeatin과 NAA를 처리한 실험구 2에서 배발생율이 높게 관찰되었다. 또한 호르몬 양을 0.5ppm처리한 것보다 Zeatin 0.879ppm, NAA 0.931ppm처리한 실험구에서 배발생율이 높았다. 하층부인 고체배지와 상층부인 액체배지에 호르몬을 첨가한 것을 비교해보면 하층부인 고체배지에 호르몬을 첨가한 것이 배발생이 높게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다. 결론적으로 Zeatin 호르몬은 0.879ppm, NAA 호르몬은 0.931ppm농도로 처리하는 것이 높은 배발생을 관찰할 수 있으며, 상층부인 액체배지보다 하층부인 고체배지에 호르몬을 처리하는 것이 더 효과적인 것으로 나타났다(표 2-50).

표 2-50. 호르몬처리에 따른 배발생율

Medium	Carbone source	Hormone	No. of embryos/plate			
			Globular& Heart	Torpedo& Cotyledonary	ELS	Total
Nitsch	2% Maltose	Control	0.4±0.8	0.6±1.0	0.1±0.4	1.1±1.5
		Test 1	1.6±3.6	1.7±3.0	4.0±8.5	7.4±14.9
		Test 2	0.3±0.5	1.0±1.0	1.6±4.0	2.9±4.0
		Test 3	0.1±0.4	0.2±0.6	0.0±0.0	0.4±0.9

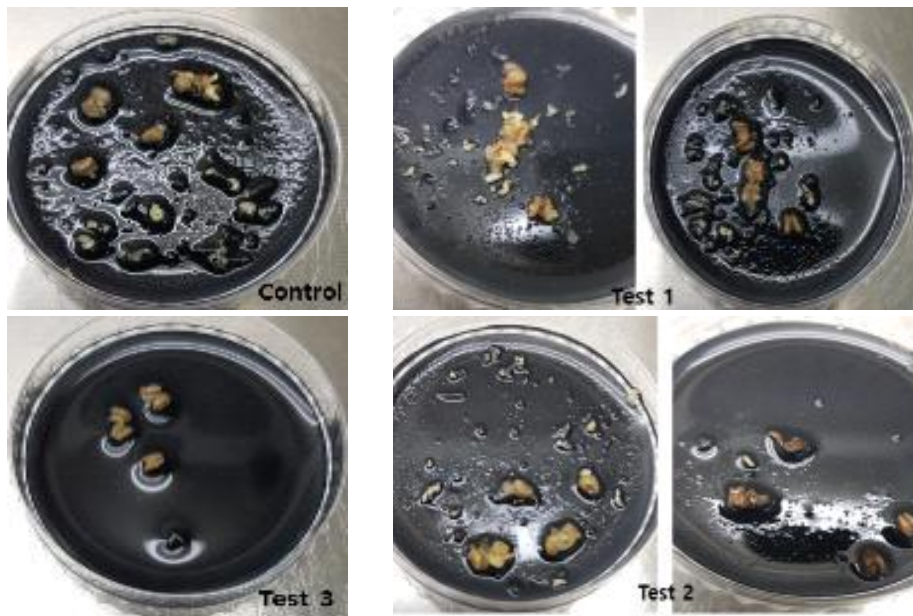


그림 2-60. Shed-microspore배양시 호르몬 처리가 배발생에 미치는 영향

(5) 항산화제(L-ascorbic acid)처리와 Cystein처리가 배발생에 미치는 영향 조사

효율적인 배발생을 위해 shed-소포자 배양에 L-ascorbic acid를 첨가하여 효과를 조사하였다. 기본배지를 Nitsch medium과 B5 medium으로 비교실험하였으며, 탄소원을 2% Maltose와 2% Sucrose로 처리하여 실험결과를 관찰하였다. L-ascorbic acid는 10ppm으로 각처리구에 첨가하여 28℃ 암배양 하면서 배형성을 관찰하였다. Sed-소포자 배양은 환경에 따라 빠르면 3주후부터 배형성이 관찰되지만, 최대 20주까지 배형성시기가 오래 걸린다. 시험결과 Nitsch medium에 2% Maltose를 첨가 L-ascorbic acid 10ppm을 처리한 실험구에서만 배형성이 관찰되고 있어, L-ascorbic acid처리가 배형성시기를 좀 더 빠르게 해주는 역할을 하는 것으로 예상된다(표 2-51).

표 2-51. L-ascorbic acid처리에 따른 배발생율

Medium	Carbone source	Hormone	No. of embryos/plate			
			Globular& Heart	Torpedo& Cotyledonary	ELS	Total
Nitsch	2% Maltose	Control	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		L-ascorbic acid 10ppm	0.6±1.3	0.4±0.9	5.0±11.2	6.0±13.4
	2% Sucrose	Control	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		L-ascorbic acid 10ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
B5	2% Maltose	Control	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		L-ascorbic acid 10ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	2% Sucrose	Control	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		L-ascorbic acid 10ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0



그림 2-61. L-ascorbic acid가 배발생에 미치는 영향 (좌 : control 우: L-ascorbic acid처리)

shed-소포자 배양은 환경에 따라 빠르면 3주후부터 배형성이 관찰되지만, 최대 20주까지 배형성시기가 오래 걸린다. L-ascorbic acid 20ppm처리구에서 Control과 비슷한 배형성율을 보였으며 정상배도 많이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다(표 2-52).

표 2-52. L-ascorbic acid첨가에 따른 배발생율 조사

Concentration (ppm)	No. of embryos/plate			
	Globular& heart	Torpedo& Cotyledonary	ELS ^a	Total
Control(0)	3.0±5.3	0.6±0.9	2.7±7.9	6.3±9.0
5	2.1±2.7	0.2±0.4	0.1±0.3	2.3±3.0
10	1.3±1.9	0.1±0.3	0.3±0.2	1.2±2.0
20	2.6±4.5	0.3±0.5	0.1±0.5	3.0±4.7
50	1.0±4.2	0.1±0.4	0.1±0.5	1.2±4.6
100	0.4±2.0	0.2±0.9	0.0±0.0	0.7±3.0

^a ELS: indicates embryo-like structure.

항산화제 Cystein첨가는 Control과 30ppm처리구에서 배발생율이 높게 관찰되었다(표 2-53). 나머지 처리구에서는 정상적인 배보다는 ELS형태의 비정상적인 배가 형성되어 정상식물체로 유기하기는 어려울 것이라 생각된다.

표 2-53. Cystein첨가에 따른 배발생율 조사

Concentration (ppm)	No. of embryos/plate			
	Globular& heart	Torpedo& Cotyledonary	ELS ^a	Total
Control(0)	3.0±5.3	0.6±0.9	2.7±7.9	6.3±9.0
10	0.7±1.6	0.1±0.5	0.2±2.3	1.0±2.3
20	1.3±3.9	0.6±1.5	1.0±2.9	2.8±6.7
30	3.8±1.8	0.1±0.2	1.1±3.4	4.9±11.0
50	2.3±3.0	1.1±1.2	0.2±0.7	3.5±3.6
100	1.6±3.7	0.8±1.4	0.6±2.2	3.0±5.5

^a ELS: indicates embryo-like structure.

나. 나출 소포자 배양

(1) 효율적인 소포자 획득을 위한 container선발

파프리카의 소포자 나출은 30ml Microblender(Waring 1.0Liter 2speed Base, SS container, 30ml E8575)를 이용하나, 고속회전 blender로 조여져 있는 나사가 풀리고, 한번 풀리면 고속회전의 압력에 의해 식물체 조직 및 배지가 블랜더 사이로 스며들면서 오염을 악화시키고 있다. 배양도구는 분해, 조립을 통한 세척과 멸균이 원활해야 하나, 한번 풀리고 나면 재조립하여도 지속적으로 풀림현상이 발생하는 등 전반적으로 분해, 조립, AS 등 이용이 쉽지 않았다. 또한 1회에 30개의 봉오리를 한꺼번에 갈기 때문에 하나의 약이라도 오염되어 있으면 전체가 오염되는 어려움이 있어, 현재 사용되는 Microblender의 30ml blender cup를 대체할 수

있는 간편한 container를 찾고자, 같은 회사 제품인 37ml container(Warning MC-1 mini container)와 37ml container와 막자사발을 혼합하여 소포자 나출 정도를 비교하였다(그림 2-9). 37ml container는 30ml container에 비하여 blending 날이 투박한 편으로 고추보다 약간 큰 파프리카에는 적당하였으나, 고추와 교배한 품종(9A01, 02)은 약간 가름한 편인 약이 날사이에 끼면서 blending이 충분하지 않아, 유봉을 병행하여 사용하였다. 30ml container, 50ml container, 50ml+유봉을 병행하였을 때 30ml container에 비하여 전반적으로 소포자 나출율이 낮았고, 유봉을 사용하여 한번 더 갈아주는 처리구는 다른 불순물이 함께 갈려 배양했을 때 Cluster를 많이 발생시켰다(그림 2-62). 파프리카 소포자 나출에 고속 microblender의 영향이 매우 크고, 나출 정도에 따라 배발생에 영향을 미치고 있어, 향후 나출 소포자 획득율을 높이면서 핸들링이 간편하며 오염을 방지할 수 있는 새로운 container를 찾고자 한다.

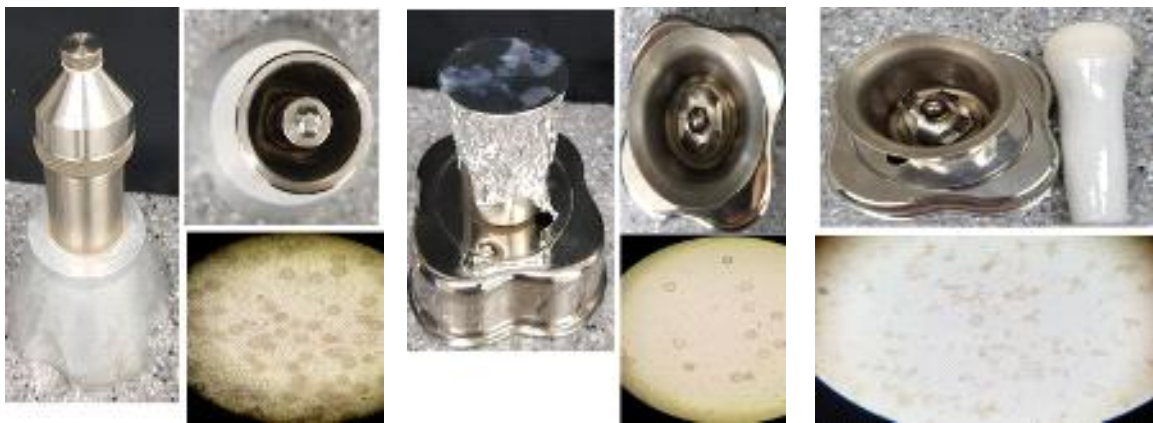


그림 2-62. Microspore 배양시 소포자 나출방법에 따른 소포자 획득 수율 및 배발생 좌:20ml container, 중: 30ml container, 우: 30ml container+유봉마쇄

(2) 항생제 종류 및 농도에 따른 오염원 제거 조사

파프리카 및 고추는 회뢰의 모양이 얇은 꽃잎이 맞닿은 형태로 대부분의 화뢰 내부가 오염되어 있다고 할 수 있다. 그러므로 약배양, shed-microspore culture, 나출 microspore culture 모두 오염이 매우 높게 발생되어 배양효율 향상을 위한 효과적인 오염원 제거 방법 개발이 필요하였다. 오염원 제거를 위하여 Bacteria제거에 유용한 항생제로써 Streptomycin, Rifampicin, Vancomycin, Cefotaxime을 농도별로 처리하여, 오염율을 낮추기 위한 최적 항생제를 선발하고자 하였다. 항생제 처리 방법은 전처리(32℃에서 3일)기간에 전처리 배지에 첨가하여 처리하였다. 처리한 항생제중 Vancomycin, Rifampicin은 처리 농도와 관계없이 100% 오염이 관찰되었고, Cefotaxime은 1, 2ppm 처리에서 80%의 매우 높은 오염이 확인되었으나, 3ppm 처리구는 오염이 관찰되지 않았고, 세균의 단백질 합성을 저해해서 세균농도를 줄여주는 Streptomycin의 경우, 1ppm 처리구에서 20%의 오염이 발생되었고, 2ppm 처리구는 100% 오염원을 제거할 수 있었다.

표 2-54. 항생제 종류 및 농도에 따른 오염원 제거 조사

Antibiotics	ppm(mg/L)	Contamination(%)	Antibiotics	ppm(mg/L)	Contamination(%)
Streptomycin	0	100	Rifampicin	0	100
	1	20		1	100
	2	0		2	100
	3	0		3	100
Vancomycin	0	100	Cefotaxime	0	100
	1	100		1	80
	2	100		2	80
	3	100		3	0

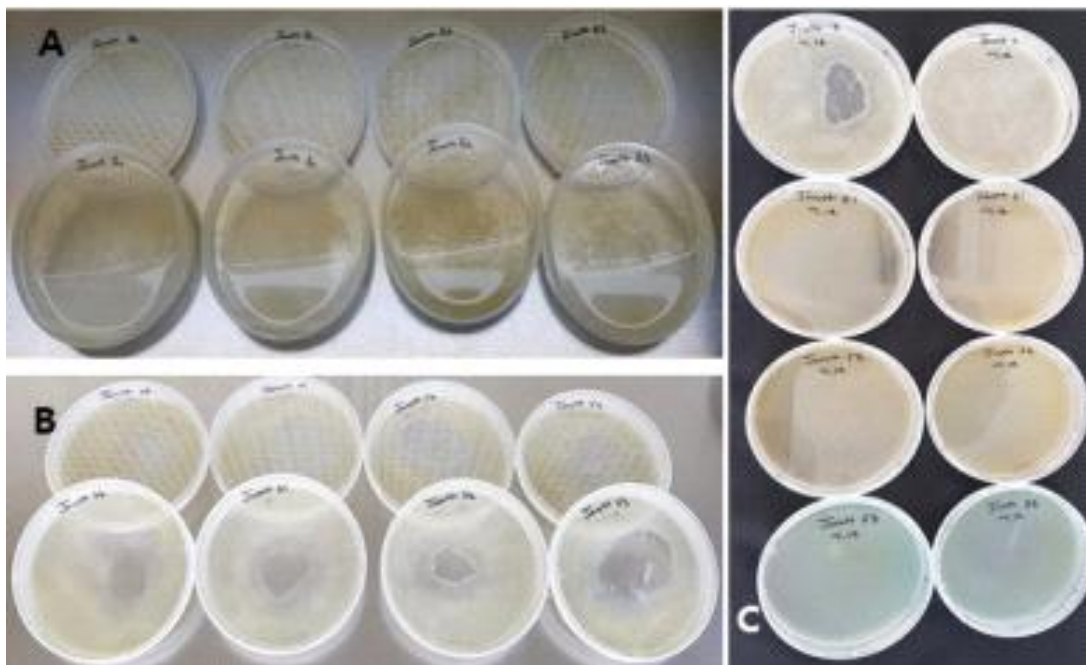


그림 2-63. 항생제 처리에 따른 오염원 제거효과 A: Rifampicin, B: Vancomycin, C: Streptomycin

(3) 전처리배지 Mannitol농도에 따른 배발생 효율

나출 소포자배양 방법 개발을 위하여 전처리배지의 Mannitol 농도가 배발생에 미치는 영향을 조사 하였다. Mannitol의 농도는 나출 소포자의 수집에 영향을 미치며, 삼투압조절의 역할을 수행하여 배발생에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 4가지 농도로 시험한 결과 요리트 품종은 0.37M 농도에서 배발생이 가장 높았고, 나가노 품종은 0.16 M에서 배발생이 높아, 0.37 M > 0.16 M > 0.05 M의 순으로 배발생이 높은 것으로 관찰되었다. 나가노 및 요리트 두품종 모두, 0.02 M 수준에서는 배발생이 관찰되지 않았다.(표 2-53) F₂세대인 FT13품종을 가지고 전처리 Mannitol농도를 0.37과 0.4M로 조절하여 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. 그러나, F₂세대인 FT13품종에서는 많은 배가 형성되지 않아 배가 형성된 plate수를 조사하였다. 0.37M과 0.4M Mannitol농도를 조사하였는데, 0.37M 처리구에서는 11.5%로 낮은 배형성율이 관찰되었고, 0.4M처리구에서는 33.3%로 0.37M 처리구보다는 높은

배형성율이 관찰되었다(표 2-54).

표 2-53. 전처리배지의 Mannitol농도에 따른 배발생율

Varieties	Mannitol	Average/plate			Total
		Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	
나가노	0.37M	5.2	3.0	1.8	50
	0.16M	2.3	3.3	3.3	73
	0.05M	2.0	0.5	1.0	25
	0.02M	0.0	0.0	0.0	0
요리트	0.37M	22.8	16.2	2.7	377
	0.02M	1.8	1.6	0.6	20

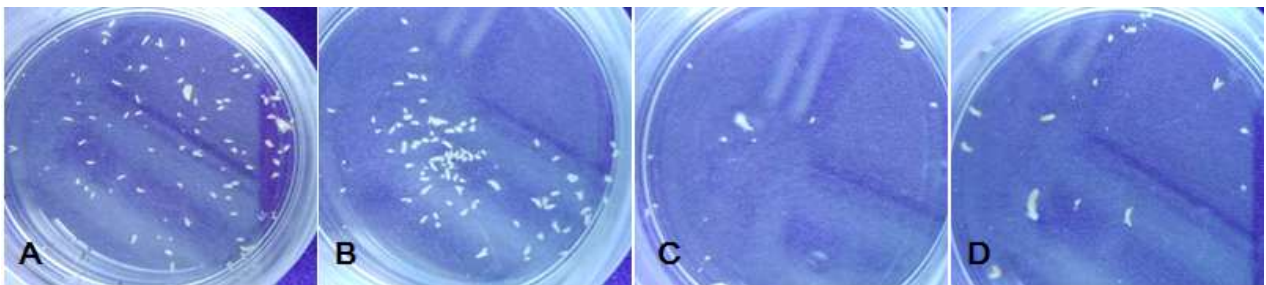


그림 2-64. Mannitol 농도에 따른 나출 소포자 배양에서 유래된 배상체 A, B. 0.37 M mannitol, C, D. 0.02 M mannitol

표 2-54. FT13 (F₂)품종에서 전처리시 Mannitol 농도가 배발생에 미치는 영향

Pretreatment Medium	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio(%)	No. of plants	Ratio(%)
NLN + 0.37M Mannitol	65	26	40	3	11.5
NLN + 0.4M Mannitol	30	18	60	6	33.3

(4) 탄소원에 따른 배발생율

Shed-소포자 배양에서와 같이 나출소포자 배양에서도 탄소원가 배발생에 미치는 영향을 구명하고자, shed-microspore culture에서 배발생율이 높았던 요리트 품종을 이용하여 실험하였다 (표 2-55). 각 처리별 30 plate을 접종하였을 때 sucrose 처리구에서 20 plate (66.7%)에서 배발생이 관찰되었고, maltose구에서는 9plates(30%)가 배발생이 관찰되었다. 배발생 형상은 sucrose 처리구에서 어뢰형 배와 자엽배까지 분화된 정상배 율이 plate당 31.7개로 높았고, 비정상배라 할 수 있는 ELS (embryo like structure) 발생율은 비교적 낮은 것으로 관찰되었다(그림 2-65). Maltose 첨가구는 배발생이 관찰된 plate수는 sucrose보다

낮았으나, plate당 총 배 발생수가 높았고, 비정상배라 할 수 있는 ELS 유기율이 높았다(표 2-55, 그림 2-65). F₂세대인 FT13품종에서는 배발생율이 현저히 낮아 배가 발생한 plate를 가지고 조사한 결과 Sucrose를 첨가한 처리구만 배가 발생하는 것을 관찰할 수 있었다(표 2-56).

표 2-55. 요리트(F₁) 품종 Carbon source 종류에 따른 배발생율

Carbon source 10%	Inoculated plate	Responded plate	Average			Total
			Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	
Sucrose	30	20	14.6	31.7	15.8	2,266
Maltose	30	9	6.4	16.5	45.8	1,379

표 2-56. FT13(F₂) 품종에서 탄소원이 배발생에 미치는 영향

Pretreatment Medium	Medium	Carbon source	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio(%)	No. of plants	Ratio(%)
NLN+0.37M Mannitol	NLN	10% Sucrose	65	26	40.0	3	11.5
		10% Maltose	65	17	26.2	0	0.0

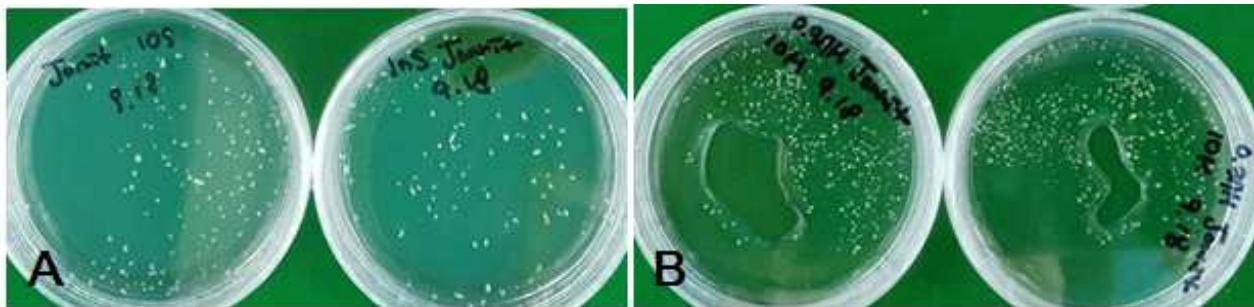


그림 2-65. 탄소원이 소포자유래 배발생에 미치는 영향. A. 10% sucrose, B. 10% Maltose

전처리시 Mannitol농도를 달리하는 것과 배양배지에 탄소원 첨가를 다르게 하여 배형성율을 조사한 결과를 종합해 보면 0.4M Mannitol을 이용하여 전처리를 하고, 10% Sucrose를 첨가한 배양배지를 사용하면 정상적인 배와 식물체를 좀 더 효율적으로 얻을 수 있을 것으로 예상된다(표 2-57).

표 2-57. 전처리 배지의 Mannitol농도와 배양배지 탄소원이 배발생에 미치는 영향

Pretreatment Medium	Medium	Carbon source(10%)	No. of plates	No. of embryo plates	Ratio(%)	No. of plants	Ratio(%)
NLN + 0.37M Mannitol	NLN	Sucrose	65	26	40.0	3	11.5
		Maltose	65	17	26.2	0	0.0
NLN + 0.4M Mannitol	NLN	Sucrose	30	18	60.0	6	33.3
		Maltose	30	7	23.3	0	0.0

(5) 유전자형(품종)에 따른 배발생율

나출 소포자 배양에서 유전자형(품종)이 배발생에 미치는 영향을 조사해본 결과 shed-소포자 배양과 같이 요리트에서 매우 높은 배발생이 관찰되었다.(표 2-58)

표 2-58. 유전자형(품종)에 따른 배발생율

Varieties	Average			Total embryos
	Globular&Heart	Torpedo&Cotyledonary	ELS	
나가노	5.2	3.0	1.8	50
요리트	22.8	16.2	2.7	377

(6) 호르몬 및 L-ascorbic acid 처리에 따른 배발생율 조사

나출 소포자 배양시 배발생율을 높이고자 호르몬처리를 하였는데, 나출소포자 배양은 32℃에서 3일간 암배양하는 전처리와 전처리 후 원심분리를 통해 소포자만을 모아 당을 첨가한 배지를 사용하여 25℃에서 암배양하는 두 가지 단계가 있어 호르몬을 전처리에 첨가하여 배발생율을 조사하는 것과 배양시에 첨가하여 배발생율을 조사하는 두 가지 방법을 실행하였다.

실험결과 전처리에 L-ascorbic acid 1 ppm을 처리한 실험구에서 배발생이 관찰되었다.(표 2-59) 당을 첨가하여 25℃에 암배양하는 배양에서는 L-ascorbic acid 1 ppm을 처리한 것이 모두 오염되어 전처리 과정에 처리하는 것이 오염률을 줄일 수 있고 배형성에도 도움이 되는 것으로 생각된다.

표 2-59. 호르몬처리에 따른 배발생율

Medium	Carbon source	Experimental stage	Hormone	No. of embryos			
				Globular&Heart	Torpedo&Cotyledonary	ELS	Total
NLN	-	Pretreatment 32℃ 3days	control	-	-	-	-
			L-ascorbic acid 1ppm	0.3±0.6	1.3±0.6	0.7±1.2	2.3±2.3
	10% Sucrose	Treatment 25℃	control	-	-	-	-
			L-ascorbic acid 1ppm	-	-	-	-

L-ascorbic acid을 0.1ppm처리 했을 때 ELS(embryo lije structure)형성이 없었으며 정상식 물체로 유도될 수 있는 Globular&Heart형 배와 Torpedo&Cotyledonary형 배가 대조구와 같은 수로 형성되거나 더 많이 형성된 것을 관찰할 수 있었다(표 2-60). 또한 L-ascorbic acid의 농도가 높아질수록 배형성이 저하되었다가 1ppm에서 다시 높은 배형성을 보인 것은 실험에 있어 농도를 희석할 때 오차가 있었는지 살펴봐야 할 것이다.

표 2-60. L-ascorbic acid처리에 따른 배발생율

Concentration(ppm)	No. of embryos/plate			
	Globular & Heart	Torpedo & Cotyledonary	ELS	Total
Control(0)	1.3±1.0	1.7±1.8	0.6±0.9	3.6±2.2
L-ascorbic acid 0.1	1.3±0.8	2.4±1.8	0.0±0.0	3.7±2.1
L-ascorbic acid 0.2	0.0±0.0	1.0±0.7	0.0±0.0	1.0±0.7
L-ascorbic acid 0.5	0.6±0.9	0.2±0.4	0.2±0.4	1.0±0.7
L-ascorbic acid 1	1.6±1.8	0.9±1.2	0.5±0.9	2.9±2.7
L-ascorbic acid 10	1.0±1.2	0.6±0.5	0.2±0.4	1.8±0.8

4. 소포자 배양을 통한 DH line유기

소포자 유래 배상체로부터 정상식물체 유기를 위하여 1/2MS배지를 기본배지로 이용하고 hormone free와 0.1 μM 6-benzylaminopurine 첨가가 식물체 유기에 미치는 영향을 조사하였다. 정상 식물체 유기율이 높았던, 발타사와 요리트는 두 처리구 모두에서 식물체 재분화율도 비슷하였다. 재분화율이 낮았던, 팔코, 나가노, 오렌지 글로리는 호르몬 첨가시 정상 식물체로의 발달이 적거나 식물체로 전혀 전환되지 않았다(표 2-61, 그림 2-66). 전체적으로 현재의 정상식물체 재분화율은 유기된 배상체의 수에 비하여 매우 낮은 수준으로 (22.2%, 표 2-61), 유도된 배상체로부터 정상 식물체 재분화율을 획기적으로 향상시킬 필요가 있는 것으로 판단된다.

표 2-61. 소포자유래 배상체로부터 식물체 분화에 식물생장호르몬처리에 따른 배발생율

Varieties	1/2MS			1/2MS+0.1 μM BA		
	Inoculated embryos	Induced plants	Ratio (%)	Inoculated embryos	Induced plants	Ratio (%)
발타사(B2TS)	41	13	31.7	24	5	20.8
팔코(P2TS)	49	7	14.2	36	2	5.5
나가노	13	2	15.3	10	0	0.0
요리트	29	8	27.5	25	7	28.0
오렌지글로리	3	0	0.0	3	0	0.0
Total	135	30	22.2	98	14	14.2

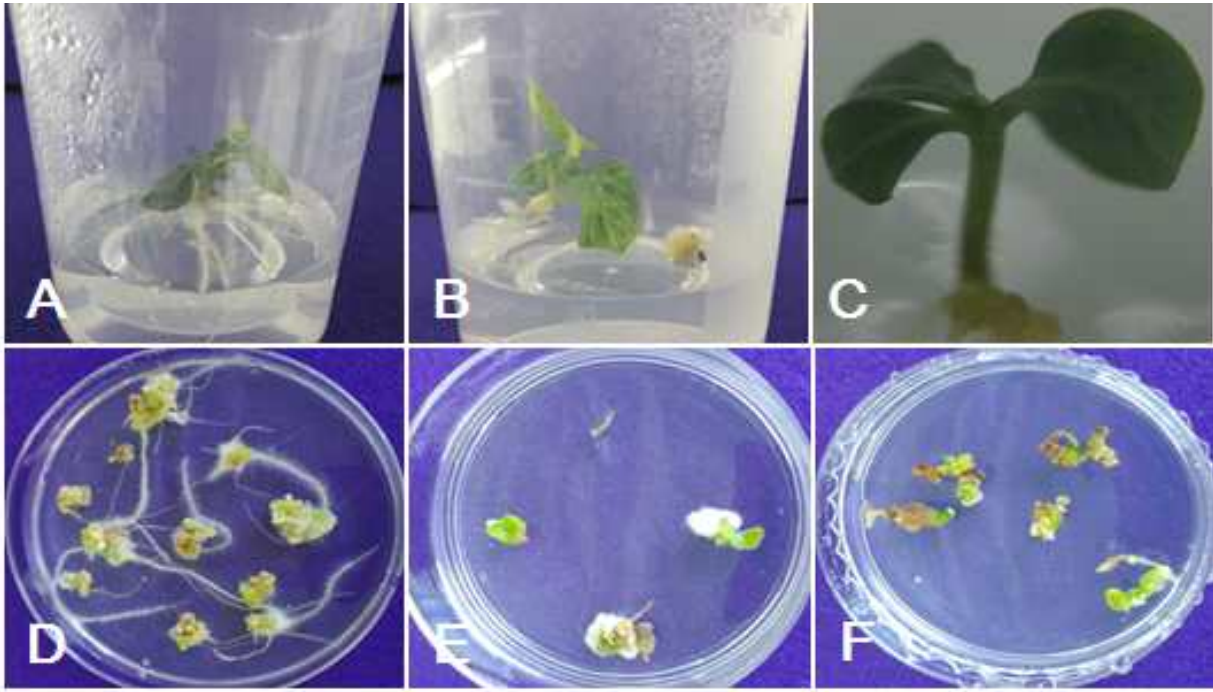


그림 2-66. 재분화 배지에 호르몬 처리 유무에 따른 식물체 분화. A-C. 1/2MS+0.4% phytagel, 60x90 mm, D-F 1/2MS+0.1 uM BAP+0.6%plant agar, 60x15mm

소포자배의 획득은, 정상적으로 발아까지 진행되는 정상배의 획득 뿐 아니라 다양한 시기의 배를 획득하게 되는데, 많은 수의 소포자배들은 어뢰형배로 발달하지 못하고 구형배나 심장형배에서 발달이 정지되었고, 비장상배 (ELS, embryo like structure)로 존재하는 경우가 빈번하게 발생된다. 이러한 ELS 대부분의 배는 정상적으로 배발달 단계인 구형배, 심장형배, 어뢰형배, 자엽배를 거쳐 성장하여 발달하여야 하는데, 이러한 정상적인 배발달 과정을 거치지 못하고 생육 정지, 퇴화, callus화 되었다. 그리하여 다량의 ELS의 정상적인 발아를 위하여 재분화 배지에 식물생장 호르몬의 종류와 농도를 기본배지 1/2MS에 Zeatin과 Kinetin을 첨가하여 실험하였다.

Zeatine 0.5 mg/L 첨가배지에서는 4.34%의 정상식물체가 유도되었으나, 0.2 mg/L 첨가 배지에서는 21 ELS를 접종하여 19.04%의 정상식물체를 얻을 수 있었고, Kinetin 처리구는 0.5 mg/L에서 16.7%의 식물체 분화를 확인할 수 있었고, 0.2 mg/L 첨가 배지에서는 17개의 ELS를 배양하여 6개의 정상식물체를 유도하여 35.29%의 정상식물체 유도를 관찰할 수 있었다 (표 2-62, 그림 2-67). 즉, 발생된 ELS의 정상배로 발달 및 발아에는 Zeatin 보다는 Kinetin이 효과적인 것으로 관찰되었고, 호르몬 농도는 0.5 mg/L보다는 0.2 mg/L이 효과적인 것으로 관찰되었다.

표 2-62. ELS로부터 식물체 유도에 식물생장호르몬의 종류 및 농도에 따른 배발생율

Medium	Hormone		Inoculated ELS	Induced plants	Ratio(%)
1/2MS	Zeatin	0.2mg/L	21	4	19.04
		0.5mg/L	23	1	4.34
	Kinetin	0.2mg/L	17	6	35.29
		0.5mg/L	24	4	16.66

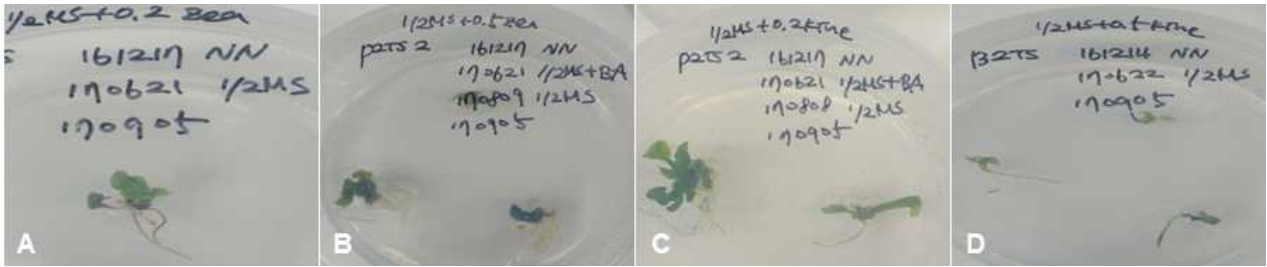


그림 2-67. 재분화 배지내 식물생장 호르몬의 농도 (A. Zeatin 0.2 mg/L, B. Zeatin 0.5 mg/L, C. Kinetin 0.2 mg/L, D. Kinetin 0.5 mg/L)

5. 소포자 유래배로부터 정상식물체 유도

소포자배양을 통한 배발생은 한 plate안에서라도 ELS(embryo like body)부터 구형 및 심장형 등 다양한 stage의 배가 관찰된다. shed-소포자배양을 통해 발생한 배는 심장형 및 구형일 때 식물체 유도 고체배지로 옮겨주면 정상식물체로 유도되는 확률이 높아진다. 하지만 관찰이 늦어져 배가 노화되면 정상식물체 유도 고체배지로 옮기더라도 callus화된 비정상 식물체가 많이 발생된다. 또한 식물체 유도 고체배지로 옮겨 정상식물체로 발달하더라도 배양용기에 따라 고사하는 경우가 발생한다. 나출 소포자 배양을 통해 얻은 배는 배발생 후 약 7일이 지나면 배 끝이 갈색으로 갈변되는 현상이 발견되고(그림 2-68), 이렇게 극성이 파괴되면서 사멸되거나 callus화되는 배들이 다수 관찰되었다.

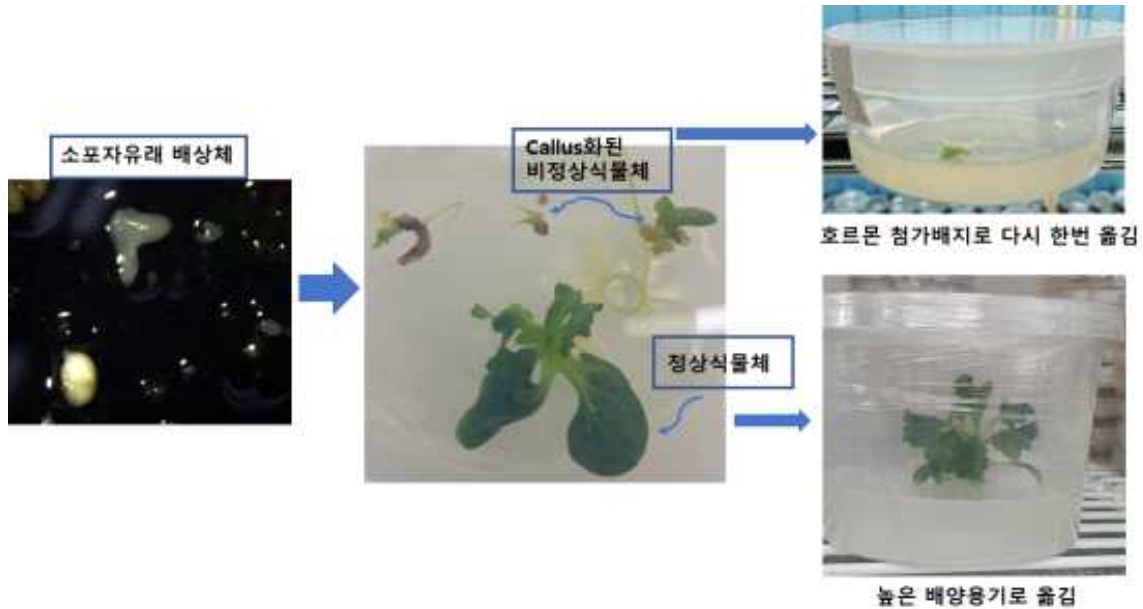


그림 2-68. shed-소포자 유래배로부터 정상식물체 유기 process

나출소포자 배양으로부터 얻은 배상체는 정상식물체 유도를 위하여 1/2MS 배지에 0.02ppm BA와 0.2ppm kinetin을 이용하여 이식하였을 때, kinetin 첨가 배지에서 정상식물체 유도율이 높았고 BA가 포함된 배지에서는 정상식물체로 발달되는 개체보다 callus화 되는 개체수가 많았으며, 한번 callus화 된 배는 Kinetin 배지로 옮겨도 정상식물체로 분화하지 못했다. 배 발생 배양방법에 따라 정상식물체 유도 processor가 달랐는데, Shed-소포자 배양에서 유래된 배는 배의 관찰이 용이한 90*40mm petri-dish에 1/2MS No hormone배지로 이식하였을 때 배가 Callus화 되지 않고 정상식물체로 유도율이 높았고, 비정상적인 비후개체는 1/2MS에 0.2ppm Kinetin이 첨가된 배지에 옮겨 정상식물체로 유도하였고, 3-5회 정도 반복해서 일주일 단위로 옮겨 정상식물체로 유도하였다. 나출 소포자 배양으로부터 유래된 배는 90*40mm petri-dish를 사용한 1/2MS 0.2ppm Kinetin배지에 옮겨 정상식물체를 유도하였다. 나출소포자유래 배는 배 이식 시기가 지연될 경우 급속노화가 이루어지거나 옮겨졌을 때 비후화 되는 경향을 보여 이식시기에 따라 배의 노화 혹은 극성 파괴가 이루어지는 것으로 판단된다. 이렇게 유도 배지에 옮겨 정상식물체로 유도되기까지 7-10일이 소요되며, 유도된 정상식물체는 순화실 및 온실에서 순화하였다.

◆ 정상식물체 유기 조건 : 배발생, 이식시기, 식물체 유기에 적합한 배지조건 구명

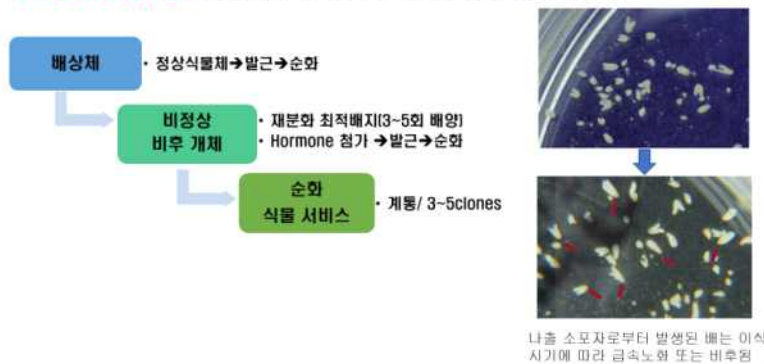


그림 2-69. 나출 소포자배양 배로부터 정상식물체 유기 process

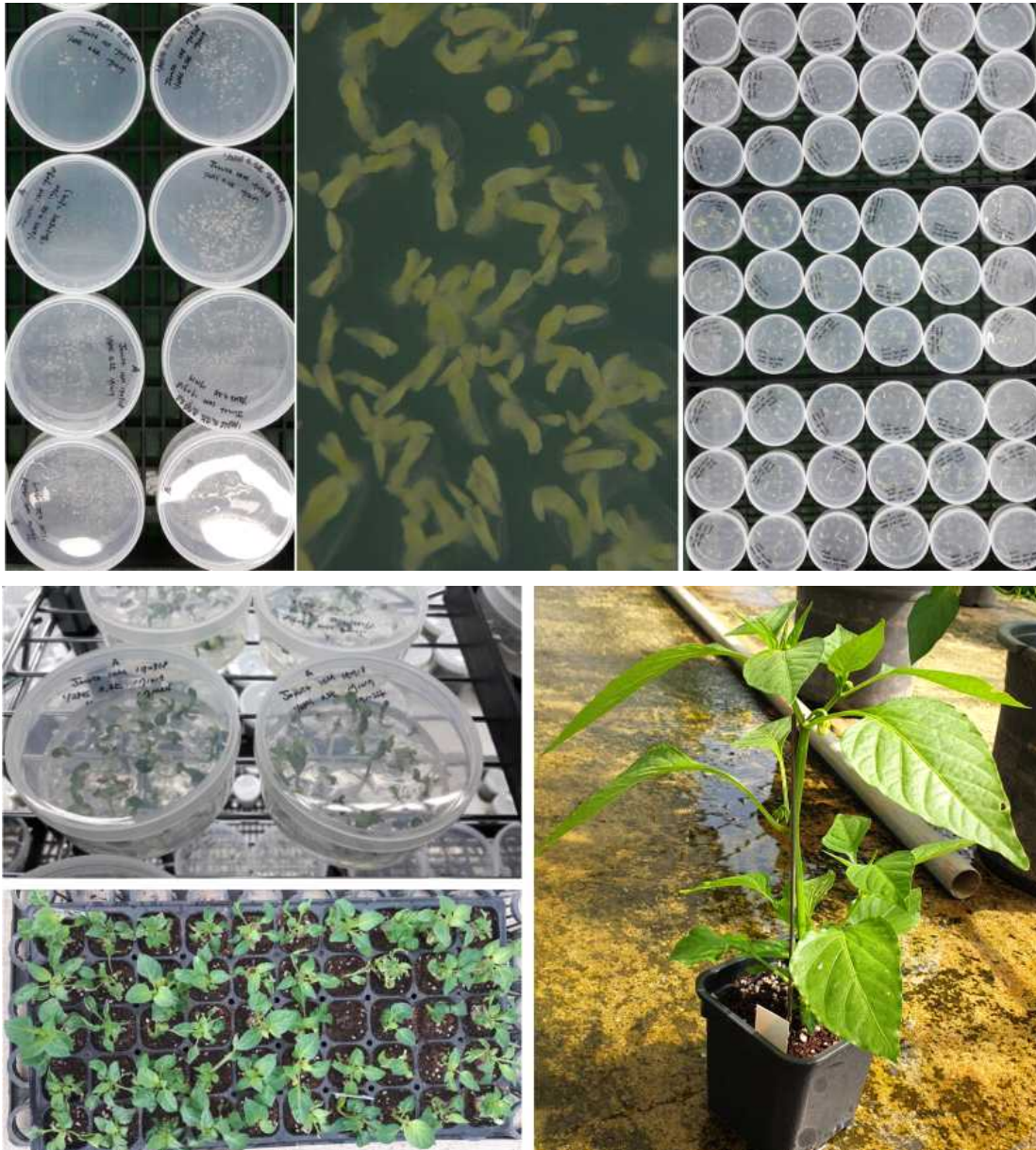


그림 2-70. 소포자 유래배로부터 정상식물체 유도 A: Microspore 배양으로부터 얻은 소포자 정상식물체 유도, B: 순화실에서 정상식물체 순화, C: 정상식물체 유도, D: 온실에서 정상식물체 순화

6. 파프리카 소포자 유래 DH line 서비스

가. 소포자유래 식물체 순화서비스

2017년도에는 4가지 F₁품종과 2가지 F₂ 계통을 이용하여 총 1,417개의 배상체를 획득하였다. 2017년 10월 23일 현재 순화 완료된 67개체를 전라북도농업기술원 과채류연구소에 분양하였다(표 2-63).

표 2-63. 파프리카 소포자 유래 식물체 개발 및 서비스

품종명	배상체수	재분화단계	인수계통		유기방법
			계통(ea)	식물체 (ea)	
나가노	148	13	9	9	- Shed-culture - Isolated-microspore
요리트	1,161	784	37	37	- Shed-culture - Isolated-microspore
파브리스	12	0	3	3	- Anther-culture
오렌지글로리	6	0	3	3	- Shed-culture
발타사(B2TS)	41	0	7	7	- Shed-culture
팔코(P2TS)	49	0	8	8	- Shed-culture
Total	1,417	797	67	67	

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 파프리카 품종명/ Shed-culture/ 나출 소포자 배양에 의하여 발생한 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	배상체수	재분화 단계	인수계통		유기방법
			계통수	식물체수	
나가노	148	13	9	9	Shed-culture Isolated-culture
요리트	1,161	784	16	16	Shed-culture Isolated-culture
파브리스	12	0	3	3	Anther-culture
오렌지글로리	6	0	3	3	Shed-culture
발타사(B2TS)	41	0	7	7	Shed-culture
팔코(P2TS)	49	0	8	8	Shed-culture
계	1,417	797	46	46	

2017년 10월 일

인수기관: **전라북도농업기술원 과채유명주소**
인수자: **박종숙**

농업회사법인 (주) 유니플랜텍 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추과 파프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	배상체수	재분화 단계	인수계통		유기방법
			계통수	식물체수	
나가노	148	13	9	9	Shed-culture Isolated-culture
요리트	1,161	784	16	16	Shed-culture Isolated-culture
파브리스	12	0	3	3	Anther-culture
오렌지글로리	6	0	3	3	Shed-culture
발타사(B2TS)	41	0	7	7	Shed-culture
팔코(P2TS)	49	0	8	8	Shed-culture
계			46	46	10월 30일 완료
요리트	1,161	784	21	21	Isolated-culture
계	1,417	797	46	67	12월 28일 완료

2017년 12월 28일

인수기관: **전라북도농업기술원**
인수자: **박종숙**

농업회사법인 (주) 유니플랜텍 귀하

그림 2-71. 2017년 파프리카 소포자유래 식물체 분양 인수증

2018년도에는 F₁세대이며 과색이 Yellow계열인 요리트품종에서 Shed/나출- 소포자배양을 통해 얻은 배로부터 정상식물체 적정배지에 옮겨 발달시키고, 발근, 순화한 175개체와 과색이 Orange계열의 오렌지글로리 품종에서 Shed-소포자 배양으로부터 얻은 소포자유래 식물체

1개체를 파프리카 연구소에 분양하였다. 또한 F2세대이며, TSWV저항성 품종인 발타사(B2TS) 4개체, 팔코(P2TS) 1개체를 Shed-소포자배 유래 식물체로 서비하였으며, 흰가루병 저항성인 F₂세대, FT13 7개체를 나출 소포자 배양을 통해 식물체를 얻어 순화하여 파프리카 연구소에 서비하였다(표 2-64, 그림 2-72).

표 2-64. 2018년 파프리카 소포자 유래식물체 개발 및 서비스

계통	품종명	인수계통		유기방법
		계통 (ea)	식물체 (ea)	
F1	요리트	175	175	- Shed & Isolated-microspore
	오렌지글로리	1	1	- Shed-culture
F2	발타사(B2TS)	4	4	- Shed-culture
	팔코(P2TS)	1	1	- Shed-culture
	FT13	7	7	- Isolated-microspore
Total		188	188	



소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추과 파프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개 체		유기방법
	계통수	식물체수	
모리드	74	74	Isolated-culture
오렌지글로리	1	1	Isolar-culture
발타(SIBT5)	4	4	Sheet-culture
발코(F275)	1	1	Sheet-culture
계	80	80	

2018년 01월 04 일

인수기관: *전라북도농업기술원 파프리카연구소*
 인수자: *유종욱*

농업회사법인 (주)유니플랜텍 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추과 파프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개 체		유기방법
	계통수	식물체수	
모리드	81	81	Isolated-culture
계	81	81	

2018년 01월 18 일

인수기관: *전라북도농업기술원 파프리카연구소*
 인수자: *유종욱*

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추과 파프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개 체		유기방법
	계통수	식물체수	
로리드	20	20	Isolated-culture
계	20	20	

2018년 02월 06 일

인수기관: *전라북도농업기술원 파프리카연구소*
 인수자: *유종욱*

농업회사법인 (주)유니플랜텍 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추과 파프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개 체		유기방법
	계통수	식물체수	
FT 13	7	7	Isolated-culture
계	7	7	

2018년 09월 06 일

인수기관: *전라북도농업기술원 파프리카연구소*
 인수자: *유종욱*

농업회사법인 (주)유니플랜텍 귀하

그림 2-72. 2018년 파프리카 소포자배양 식물체 및 인수증

2019년도에는 전북농업기술원 파프리카 연구소에서 의뢰받은 품종 중 Shed-소포자배양을 통해 얻은 8계통 46개체와 Microspore-culture를 통해 얻은 2계통의 10개 식물체를 분양 서비스하였다(표 2-65).

표 2-65. 2019년도 파프리카 소포자 유래배 DH line서비스

계통명	인수개체		유기방법	의뢰기관	인수일
	계통수	식물체수			
K1	4	4	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
K2	13	13	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
K9	2	2	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
Kna	16	16	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
Kma	5	5	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
Kbor	1	1	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
Ksi	3	3	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
K649	2	2	Shed-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
K13	5	5	Microspore-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
K14	5	5	Microspore-culture	전북농업기술원 과채류연구소	2019. 10.
Total	56	56			

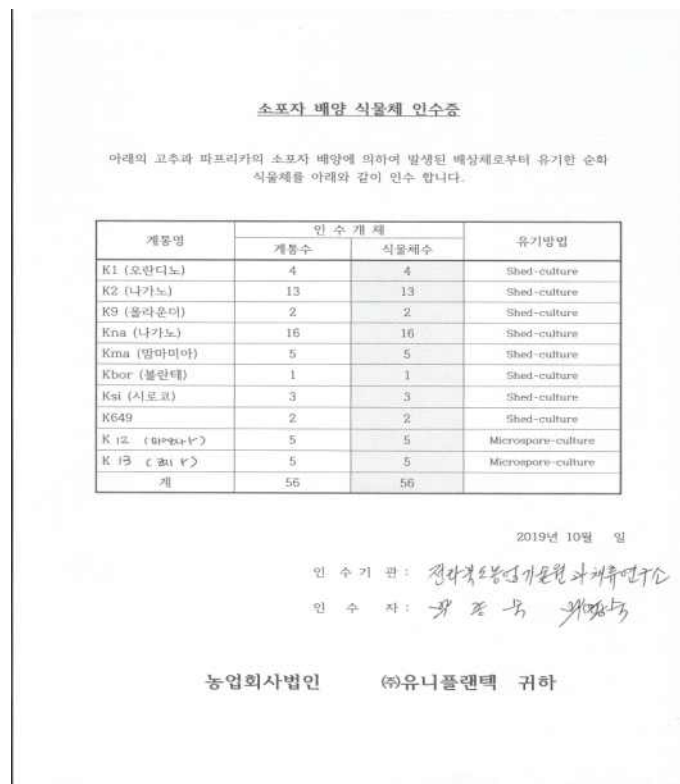


그림 2-73. 전라북도 농업기술원 과채류 연구소 파프리카 소포자유래배 정상식물체 인수증

2020년도에는 삼성종묘에서 의뢰받은 품종 중 S40품종을 약배양해서 얻은 소포자유래 식물체를 온실에서 키워 자가수정하여 얻은 149립의 종자를 서비스하였다.

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 기사와 파프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유기원
순화 식물체를 아래의 같이 인수 합니다.

계통명	인 수 개 체	유기방법
	DH line	
S40	149립	Anther culture
계	149	

2020년 11월 5일

인 수 기 관 : 삼성종묘

인 수 자 : 김태성 (인)

농업회사법인 (주)유니플랜텍 귀하

그림 2-74. 삼성종묘 파프리카 소포자유래배 DH line 서비스

2021년도에는 의뢰받은 전북농업기술원 파프리카 연구소 품종 중 Shed-소포자 배양을 통해 얻은 15품종에서 106계통 106개체를 서비스하였다(표 2-66).

표 2-66. 2021년도 파프리카 소포자 유래배 DH line 서비스

계통명	인수개체		유기방법	의뢰기관	인수일
	계통수	식물체수			
P1-4	28	28	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	4월, 5월, 6월, 7월
a1	2	2	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	7월
a3	16	16	shed-culture/ Microspore-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	6월, 7월, 8월, 11월
B20-1	6	6	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	6월, 7월, 8월, 11월
B59-1	3	3	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	7월, 8월, 11월
B59-2	5	5	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	7월
B22-0	1	1	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	8월
BY31-4	7	7	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	7월, 8월, 11월
W2-2	12	12	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	4월, 5월, 6월, 7월
W2-3	2	2	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	5월, 6월
W2-4	11	11	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	4월, 5월, 6월, 7월
JN	9	9	shed-culture/ Microspore-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	7월, 8월
04	1	1	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	6월
05	2	2	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	4월
06	1	1	shed-culture	전라북도 농업기술원 파프리카 연구소	4월
Total	106	106			

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
20WFT24	5	5	Shed-culture
2005	1	1	Shed-culture
계	6	6	

2021년 02월 18일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
2006	1	1	Shed-culture
2006	1	1	Shed-culture
20WFT22	4	5	Shed-culture
Pa14	9	5	Shed-culture
계	11	11	

2021년 04월 08일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
20WFT23	3	3	Shed-culture
20WFT23	1	1	Shed-culture
20WFT24	7	7	Shed-culture
Pa14	9	9	Shed-culture
계	15	15	

2021년 05월 21일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
20WFT22	3	3	Shed-culture
20WFT23	1	1	Shed-culture
20WFT24	2	2	Shed-culture
Pa14	3	2	Shed-culture
2004	1	1	Shed-culture
19BR201	1	1	Shed-culture
ARD3R	1	1	Microspore-culture
계	11	11	

2021년 06월 18일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
ARD3R	2	2	Shed-culture
ARD3R	1	1	Shed-culture
19BR201	2	2	Shed-culture
Pa14	6	6	Shed-culture
19BR201	2	2	Shed-culture
20WFT22	3	3	Shed-culture
19BY314	2	2	Shed-culture
19BY314	1	1	Shed-culture
자나	2	2	Shed-culture
자나	2	2	Microspore culture
ARD3R	3	3	Microspore culture
계	24	24	

2021년 7월 9일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
Pa14	8	8	Shed-culture
ARD3R	3	3	Microspore-culture
19BR201	1	1	Shed-culture
19BR392	2	2	Shed-culture
20WFT24	2	2	Shed-culture
19BY314	3	3	Shed/Microspore-culture
자나	3	3	Shed/Microspore culture
계	20	20	

2021년 7월 30일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
ARD3R	7	7	Shed/Microspore-culture
19BR391	1	1	Shed-culture
19BR201	1	1	Shed-culture
19BR220	1	1	Shed-culture
19BY314	2	2	Microspore culture
자나	2	2	Shed-culture
계	14	14	

2021년 8월 20일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 고추와 페프리카의 소포자 배양에 의하여 발생한 정상식물체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		유기방법
	계통수	식물체수	
ARD3R	1	1	Shed-culture
19BR351	1	1	Shed-culture
19BR201	2	2	Shed-culture
19BY314	1	1	Shed-culture
계	5	5	

2021년 11월 5일

인수기관: **전라북도 농업기술원 파프리카 연구소**
인수자: **박종우, 이영희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

그림 2-75. 전라북도 농업기술원 과채류 연구소 파프리카 소포자유래배 정상식물체 인수증 총 2단계 2017년 1월에서 2021년 12월까지 파프리카 소포자유래배 DH line 서비스는 33품종 418계통 417개의 식물체, 종자 149립을 서비스하였다.

나. 분양한 식물체 배수성 검정

2018년도에 분양한 식물체중 요리트 품종 145개를 배수성 검사하였다(전북농업기술원 파프리카 시험장). 검사는 화분발생, 식물체의 형태(공변세포크기, 초형, 식물체크기 등)로 1차 판단하였다. 배수성 분석기(Novocyte™ ACEA Bioscience, San Diego, USA)로 검사하였을 때, 반수체는 96개체, 65.5%로 반절이 넘는 개체가 반수체로 조사 되었고, 이수체는 7개체, 4.8%, 나머지 43개체, 29.7%가 배가 반수체로 조사되었다. 일반적으로 약배양 유래 배가 반수체 발생비율이 35~40%수준으로 알려져 있으나, 본실험의 요리트는 나출 소포자로부터 유도한 식물체로 반수체 비율이 상대적으로 높게 조사되어, 반수체 > 배가반수체 > 이수체 순으로 배수성이 조사되었다(표 2-67). 배수성검정에서 G1에서 peak가 높게 나타나는 것은 반수체(n), G2에서 peak가 나타나는 것은 배가반수체(2n), G2이상의 범위나 G1, G2모두에서 peak이 나타나는 것은 이수체(3×)로 구분하였다(그림 2-76).

표 2-67. 소포자유래 식물체 요리트(F₁)품종 배수성 검정

Donor plant	Number of plants	Haploid(n)		Doubled haploid (2n)		Heteroploid+Polyploid(3n ~)	
		Number	Ratio(%)	Number	Ratio(%)	Number	Ratio(%)
Jorrit (F ₁)	145	96	65.5	43	29.7	7	4.8

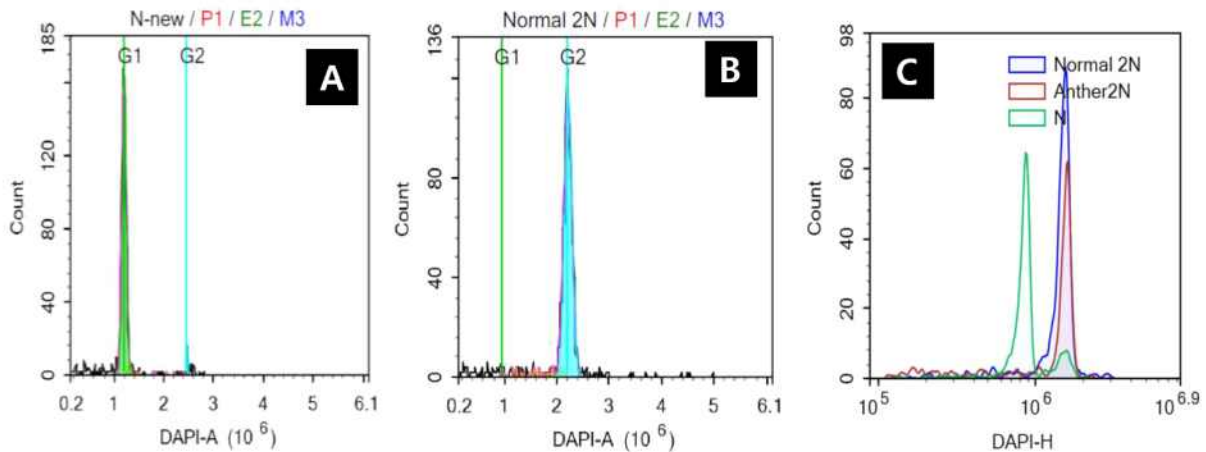


그림 2-76. 소포자 유래 식물체의 배수성 조사((Novocyte™ ACEA Bioscience, San Diego, USA)

7. 십자화과 소포자 유래배 정상식물체 유도 및 DH line 서비스

가. 인수된 소포자유래 배상체로부터 정상식물 유도용 배지개발

국내에서 배추과 약배양은 1980년 중반 성공하여 배발생 및 정상식물체 유기에 대해 보고되었다. 약배양의 고체배지에서 유기된 배상체는 배생장배지로 옮겼을 때, 종자가 발아 하듯 정상적인 배 발달단계를 거쳐 빠르게 건전 식물로 진행되었다. 또한 약간의 Cytokinin 처리로 쉽게 2차 체세포 배발생 및 다아체를 발생시킬 수 있어, 유기 계통의 클론복제가 쉽게 가능했다. 그러나 나출 소포자배양은 약배양과 달리 액체배지에서 배상체를 유기하고 유기된 배상체는 고체배지에 이식하기 전까지 고농도 당함유 액체배지에 빠져 있는 상태로 있게 된다. 이런 상

태의 배상체를 고체배지에 옮겼을 때, 정상적으로 빠르게 배성장 단계를 거쳐 건전식물로 성장하는 개체가 있는 반면(약 20~25%)(그림 2-24A), 배발달 단계로 진행하지 못하고, 생육이 정지되거나, 자엽(cotyledon)부분이 비정상적으로 비후되고 조직이 느슨해(그림 2-24B)지면서 빠르게 노화 및 퇴화되는 것을 관찰할 수 있었다(75~80%). 이러한 비후 개체는 조직이 부서지기 쉬운 상태였으며, 노화속도가 매우 빠른 특징을 가지고 있었다.

본 과제에서 배상체 유기는 배추8-1과제에서 진행되고, 유기된 배상체를 1차 고체배지에 옮긴 상태로 인수받아 정상식물체 유도 및 순화하여 기업에 서비스를 제공하게 된다. 그러나, 현재 소포자배양 배상체의 특징이 비정상적으로 발달되는 배상체의 비율이 매우 높고, 이러한 개체는 아주 빠르게 노화되는 특징이 있어, hormone free 1차 배지에 이식 후 배상체 인수가 늦어질수록 빠르게 노화가 진행되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러므로, 액체배지에서 발생된 배상체의 정상식물체 유기는, 고체배지에서 유기한 배상체와 생리학적, 형태적으로 매우 다른 내적 특징을 가지고 있어 다양한 각도로 배양환경, 배양방법, 적정배지 구멍 등이 종합적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다. 즉, 인수되는 배상체가 어떤 형태를 가지고 있다할 지라도, 정상적인 식물체로 유기할 수 있는 배양 protocol을 개발할 필요가 있어, 비후 퇴화한 조직으로부터 정상식물체 유도를 위한 최적배지 및 최적 배양시기에 대한 표준 매뉴얼을 개발하고자 하였다.



그림 2-77. 배추 소포자유래 배상체로부터 식물체 분화. A. 정상식물체, B. 비정상 식물체

2017년 분양받은 배추 소포자유래 배상체는 MS hormone free배지에 옮겨 바로 정상식물체로 발달되는 것이 있는 반면(약 20~25%), 비정상 비후 개체들은 정상적으로 배지의 양분의 흡수결과 나타나는 세포의 분열, 분화, 확대되지도 못하고 약간 성장하다 노화되는 경우가 발생되었다. 이러한 비후 조직을 정상식물체로 유도하기 위하여 MS배지에 1ppm 6-benzylaminopurime + 0.02ppm NAA Hormone을 첨가한 배지와 0.2ppm Kinetin배지와 1ppm 6-benzylaminopurime가 첨가된 3가지 배지에 옮겨 실험하였다. 그 결과 1ppm 6-benzylaminopurime+0.02ppm NAA Hormone처리구에서 다른 처리구보다 높게 정상식물체로 유도되는 것을 관찰할 수 있었다(표 2-68). 이 방법을 토대로 2018년에 분양 받은 배추 소포자유래배상체로부터 얻은 식물체(그림2-78 A)를 Hormone 배지로 옮겨 정상식물체를 유도하였고(그림2-78 B), 정상식물체로 유도된 식물은 발근배지로 옮겼다.

그러나 액체배양에서 유기된 배상체의 정상식물체 유기를 위해서는 적정배지 구멍과, 배양시기, 접종방법, 배양환경 등 총체적으로 구명되어야 할 것으로 사료된다. 현재 사용중인 호르몬도 높은 정상식물체 유도율을 보이지 않고 있어 좀 더 이상적인 적정배지가 개발되어야 할 것

으로 사료된다. 무 또한 2017년에 Hormone free배지에 이식하였을 때 낮은 정상 식물체 유도율을 보여 2018년에 Hormone을 이용한 정상식물체 유도 배지를 개발하고 있다(그림 2-26).

표 2-68. 배추 소포자유래 배상체를 비정상식물체에서 정상식물체로 유도하기 위한 배지개발

배지	Hormone처리	비정상식물체 (no. of plate)	정상식물체 (no. of plate)	Ratio (%)
MS	free	50	0	0
	1ppm 6-benzylaminopurime +0.02ppm NAA	105	36	34.2
	0.2ppm Kinetin	50	7	14
	1ppm 6-benzylaminopurime	50	10	20

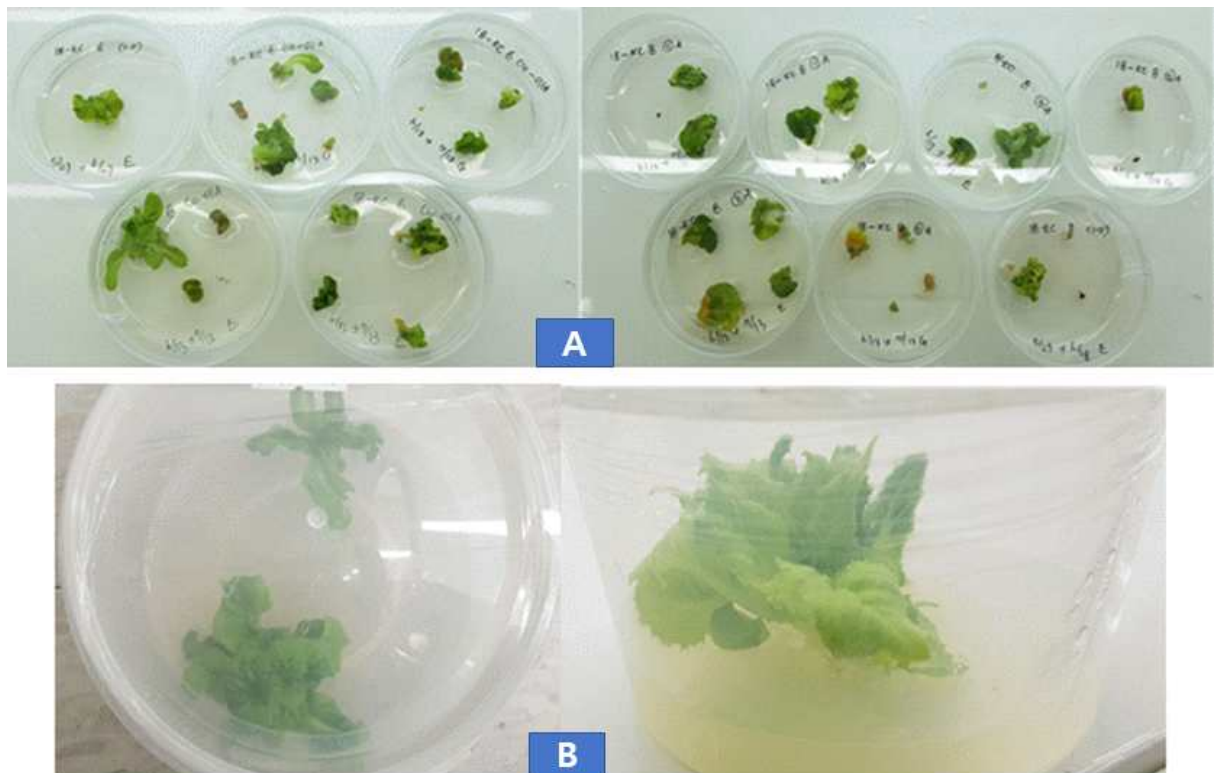


그림 2-78. 2018년 분양받은 배추 소포자유래 배상체로부터 식물체 분화. A. 분양받은 식물체, B. 정상식물체로 유도하여 배양 중

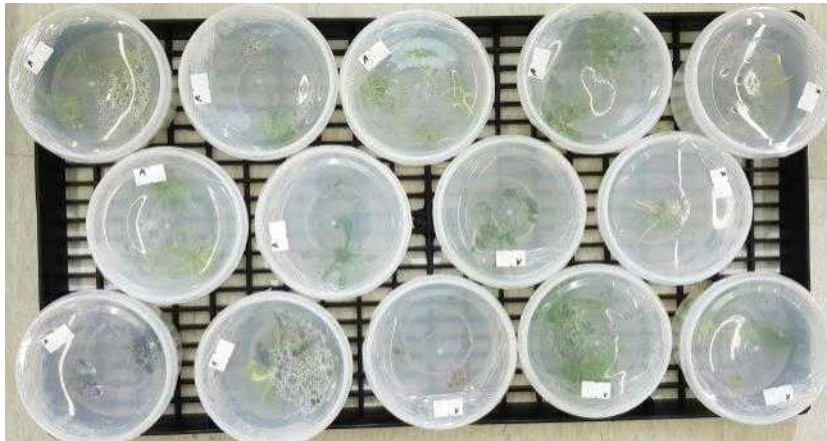


그림 2-79. 2018년 분양받은 무 소포자유래배상체로부터 비정상식물체를 정상식물체로 유도

나. 십자화과 소포자 유래배상체로부터 정상식물체 유기 및 식물체 순화

소포자 배양으로부터 발생된 배상체는 액체, 회전배양을 통하여 배발생을 유도하게 되고, 이 과정에서 배의 극성을 소실하는 경우가 발생되어 식물체 유도배지에 옮겼을 때 비정상 형태의 식물체가 다수 발생되고 있다. 배발생 후 계대배양 시기 또한 정상 식물체 유도에 커다란 영향을 미치고 있다. 즉, 배발생 관찰 후 계대배양 기간이 늦어짐에 따라서 급격히 갈변, 고사하는 경우가 종종 발생되고 있다. 이러한 고사현상은 품종에 따라 계통에 따라 다르게 나타나는 것으로 관찰되었다. 액체배양에서 발생된 배를 식물체 유도배지로 옮겼을 때 형태적 이상은, 비후화, 투명화, 세포의 스폰지화 등 다양한 형태의 비정상 세포로 발생되는 것을 관찰할 수 있었다. 정상식물체 유도율을 높이기 위해 배상체 발생이 관찰되면 즉시 식물체 유도용 고체배지에 90*20mm petri-dish 1/2MS no hormone, 2% sucrose 배지에 계대배양하고, 식물체 유도 초기는 1주 간격으로 1~2회 계대배양 하였으며, 배양기간 동안 투명화, 비후화, 세포의 스폰지화 등이 발견되면 바로 MBN(MS+1ppmBA+0.02ppm NAA)으로 옮겨 정상식물체로 유도하였다. 정상식물체로 유도된 것은 90*90mm petri-dish(SPL)로 옮겨 발근을 유도한 후 순화하였다(그림 2-80).

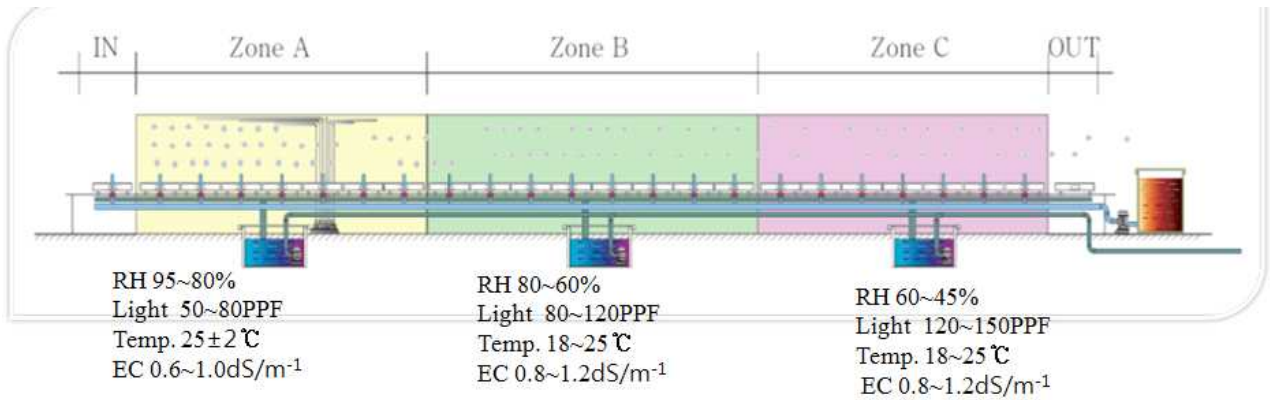


그림 2-80. 십자화과 소포자 유래배 정상식물체 유도 A: 인도받은 소포자 유래 배상체 B: 정상식물체 유도 및 정상식물체 발근유도 C: 순화실에서 정상식물체 순화 D: 온실에서 순화

매년마다 인수받은 배상체는 정상식물체보다 비정상개체가 많았다. 정상식물체 유도를 위하여 최적배지를 개발하여, 3~4회 계대배양을 실시하여 계통별 정상식물체를 유도하고, 유기된 multiple shoot는 rooting배지에 이식하여 발근하였다. 발근된 식물체는 순화율을 높이기 위하여 Microponic-culture system (특허출원 10-2016-0168338, 그림 2-81)을 이용하여 지속적으로 air을 공급하면서 서서히 습도를 낮춰주는 조건으로 순화하였다(그림 2-82).



그림 2-81. 대량순화장치의 원리를 이용한 십자화과 소포자유래식물체 순화



관인생략

출원번호통지서

출원일자 2016.12.12
 발명자 김시원(주) 공개심정(특) 창조번호(AFP16098)
 출원번호 10-2016-0168338(권수번호 1-1-2016-121390-00)
 출원인명칭 농림수산식품부 지식재산 유니버시티(1-2006-018005-5)
 대리인명칭 특허법인아우(9-2001-100005-9)
 발명자명칭 김여중 이문희
 발명처명칭 조직배양 식물체의 대량 순화 시설물

특허청장

<<안내>>

1. 귀하의 출원은 특허권이 정상적으로 권속되었으나, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 권속일로부터 2개월까지 통정된 납입수령서에 의해, 납부자번호를 기재하여 기재문 부제곡 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 * 납부자번호: (이)가(리)코(트) + 권속번호
3. 귀하의 주소, 연락처 또는 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고급정보 정보변경(경정, 경정 신고서)]을 제출하여 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 * 특허포털(patent.go.kr) 정보 > 국민서비스코너 > 특허법 시행규칙 별지 제3호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 영세서 또는 도면의 요청이 필요한 경우, 특허청장 이전 또는 특허 심사 기간 이내에 출원서에 요청한 영세서 또는 도면에 기재된 사항의 발취 원에 서 요청할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허 실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원장을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 * 제도 안내: <http://www.kipo.go.kr/특허/외국/PTA/언트도>
 * 우선권 인정기간: 특허 실용신안권 12개월, 상표 신고일로부터 6개월 이내
 * 외국특허상표의 출원비용 기준은 무한년전에 무상출원승인 시, 출원인이 인정대상이면, 우선권보유권 18개월 이내에 외국특허상표에 [전자교정신청서(PPO)180]를 제출하거나 무한년전에 무상출원승인을 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실은 특허에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따른 처벌을 받을 수 있습니다.
 * 특허출원 10-2010-0000000, 상표출원번호 40-2010-0000000
7. 출원인이 특허출원절차에서 특별한 명명용 사용지(기호)가 명확하게 공개하지 않은 경우, 특허법 제63조에 따라 심사단계에서 특허출원명칭이나 특허법 제133조에 따라 특허이후에 특허출원사용지 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통정된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

그림 2-82 조직배양 및 소포자 유래 식물체의 대량순화를 위한 마이크로포닉 순화시스템 (Microponic Acclimatization System)을 사용하여 순화

다. 십자화과 소포자 유래 DH line 서비스

2017년 인수받은 배상체는 정상식물체보다 비정상개체가 많았다. 정상식물체 유도를 위하여 최적배지를 개발하여, 현재 3~4회 계대배양을 실시하여 계통별 multiple shoot를 유도 하였고, 유기된 multiple shoot는 rooting 배지에 이식하여 정상식물체로 유도하였다. 유도된 식물체의 순화율을 높이기 위하여 대량순화장치 (microponic-culture system, 특허출원 10-2016-0168338)을 이용하여 지속적으로 air를 공급하면서 서서히 습도를 낮춰주는 조건으로 순화하였다. 2017년 10월 23일 350개체를 대일바이오종묘에 제공하였고 (표 2-32), 최적배지를 이용한 재분화 단계가 779계통을 진행 중에 있고, 2017년 12월 배추 254계통을

더 분양하여 총 604계통을 분양하였다.

표 2-69. 2017년 십자화과 소포자유래 식물체 분화 및 순화식물체 분양(배추)

Strain	인수개체		비고
	No. of strain	No. of plant	
17-MK-10	9	9	배추
17-MK-11	164	164	"
17-MK-12	97	97	"
17-MK-13	76	76	"
17-MK-14	7	7	"
17-MK-16	0	0	"
17-MK-17	6	6	"
17-MK-18	112	112	"
17-MK-19	133	133	"
Total	604	604	"

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배추과 채소(배추)의 소포자 배양에 의하여 발생한 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	배상체수	재분화 단계	인수개체		비고
			계통수	식물체수	
17-MK-10	129	25	3	3	
17-MK-11	617	33	115	115	
17-MK-12	810	126	65	65	
17-MK-13	424	234	13	13	
17-MK-14	4	0	3	3	
17-MK-16	4	0	0	0	
17-MK-17	200	121	8	8	
17-MK-18	300	82	55	55	
17-MK-19	534	158	88	88	
	3,022	779	350	350	

2017년 10월 일

인수기관: *대일바이오 (인)*
인수자: *안홍희 (인)*

농업회사법인 (주) 유니플랜텍 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배추과 채소(배추)의 소포자 배양에 의하여 발생한 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	식물체 인수			비고
	10월	12월	합계	
17-MK-10	4	5	9	배추
17-MK-11	94	110	164	"
17-MK-12	68	29	97	"
17-MK-13	36	40	76	"
17-MK-14	5	2	7	"
17-MK-16	0	0	0	"
17-MK-17	6	0	6	"
17-MK-18	83	30	112	"
17-MK-19	95	38	133	"
합계	350	254	604	

2017년 12월 22일

인수기관: *대일바이오 (인)*
인수자: *안홍희 (인)*

농업회사법인 (주) 유니플랜텍 귀하

그림 2-83. 2017년도 소포자 유래 식물체 서비스(대일바이오 종묘)

2018년도 배상체유래 식물체 서비스는 배추8-1과제로부터 2018년 8월 9일 배추 216 배상체, 무 79 배상체를 8월 9일과 16일에 인수하였다. 현재 정상식물체 배양중이며, 현재까지 107개체를 분양하였고, 정상식물체 유도 및 순화대기중인 식물이 483개체이며 이중 153를 기내 배양묘로 2차 분양하였다. 또한 조기에 인수한 1,133개의 뿌리배추, 키큰배추, 태봉배추 계통

배상체로 부터 58개체를 충남대학교에 분양했으며, 8월 인수한 무 배상체유래 162개체는 국립 원예 특작과학원에 분양하였다. 2018년도 1차 배상체 인수 시기가 8월로 늦어지면서 순화까지 시간이 촉박하여 일부 식물체는 기내배양묘로 분양하였고 또한 대일바이오종묘에 무 21개체와 한국종묘에 22개체의 무*배추 순화식물체를 분양하여 2018년도 총 523체를 분양하였다(표 2-70).

표 2-70. 2018년 십자화과 소포자유래 정상식물체 서비스(배추,무, 무*배추)

계통	인수개체		비고
	계통수	식물체수	
18-KC-6외	114	107	대일종묘2차
18-SG-14외	82	162	원예특작
뿌리배추외	58	58	충남대학교
18-KC-7외	114	153	대일종묘3차
17-ML-1	1	21	대일종묘1차
P196*D205-13외	10	22	한국종묘
Total	379	523	

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배추와 채소(배추)의 소포자 배양에 의하여 발생된 배상체로부터 유기한 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	배상체수	재분화단계	인수개체		INVITRO
			계통수	식물체수	
18-KC-6	15	14	12	10	36
18-KC-7	1	1	1	0	1
18-KC-8	17	15	12	10	46
18-KC-9	8	7	7	7	29
18-KC-10	2	2	2	2	12
18-KC-11	3	3	1	0	6
18-KC-12	5	5	2	2	11
18-KC-13	4	4	1	0	2
18-KC-14	11	11	7	7	29
18-KC-15	78	77	25	25	116
18-KC-21	23	23	15	15	72
18-KC-24	49	41	29	29	123
계	216	203	114	107	483

2018년 10월 일

인수기관: 대일바이오종묘(주)
인수자: 안은희

농업회사법인 (주) 유니플랜텍 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배추와 채소(무)의 소포자 배양에 의하여 발생된 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	식물체			비고
	인수원료	인수예정(12월중)	합계	
17-ML-1	0	21	21	무
17-ML-5	0	0	0	-
합계	0	21	21	

2018년 01월 일

인수기관: 대일바이오종묘
인수자: 이두원

그림 2-84. 2018년도 소포자유래 식물체 서비스(대일바이오 종묘)

2019년도에는 십자화과 소포자 유래 배를 정상식물체로 유도하여 대일국제종묘에 배추 102계통 384개 식물체를 분양하였고, 한국종묘에는 배추 174계통 465개의 정상식물체를 분양하였으며, 국립원예특작과학원은 무 48계통 156개의 식물체를 분양하였으며, 총 무와 배추 324계통 1,005개의 식물체를 분양하였다(표 2-71).

표 2-71. 2019년 십자화과 소포자유래 정상식물체 서비스(배추.무)

품종명	식물체 분양		비고	의뢰기관	인수일
	계통수	식물체수			
18-KC12	2	24	배추	대일바이오	2019. 02
18-KC15	7	46	배추	대일바이오	2019. 02
18-KC12	12	12	배추	대일바이오	2019. 03
18-KC15	7	26	배추	대일바이오	2019. 03
18-KC28	1	1	무	대일바이오	2019. 10
18-KC33	1	4	무	대일바이오	2019. 10
18-KC34	1	2	무	대일바이오	2019. 10
18-KC35	1	3	무	대일바이오	2019. 10
18-KC44	1	1	무	대일바이오	2019. 10
19-KD8	6	12	무	대일바이오	2019. 10
19-KD9	1	1	무	대일바이오	2019. 10
19-KD14	1	7	무	대일바이오	2019. 10
19-KD18	1	3	무	대일바이오	2019. 10
19-KD21(=KD33)	4	13	무	대일바이오	2019. 10
DB	2	10	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC46	1	2	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC49	10	30	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC50	13	46	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC51	2	3	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC52	7	30	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC53	3	16	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC54	15	73	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC55	1	3	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC57	1	12	배추	대일바이오	2019. 10
18-KC58	1	4	배추	대일바이오	2019. 10
19-KD24	2	5	배추	한국종묘	2019. 09
19-KD25	15	42	배추	한국종묘	2019. 09
19-KD27	59	159	배추	한국종묘	2019. 09
19-KD28	6	14	배추	한국종묘	2019. 09
19-KD29	48	129	배추	한국종묘	2019. 09
19-KD30	2	4	배추	한국종묘	2019. 09
19-KD31	42	112	배추	한국종묘	2019. 09
18-SG14	2	2	무	국립원예특작과학원	2019. 02
18-SG43	1	9	무	국립원예특작과학원	2019. 02

17-FFD106	11	60	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-FFD111	2	12	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-FFD102	5	6	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-FFD121	3	17	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-FFD129	12	20	무	국립원예특작과학원	2019. 02, 04
17-TB5	2	16	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-TB21	3	7	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-TB25	5	5	무	국립원예특작과학원	2019. 02
17-TB11	2	2	무	국립원예특작과학원	2019. 04
Total	324	1,005			

소포자 대양 식물체 인수증

이래의 예후의 재료의 소포자 대양에 의하여 발생한 세균체로부터의 유기인 순의 식물체를
이래의 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기 타
	계통수	식물체수	
18-RC12	2	24	제외
18-RC15	3	46	제외
계	5	70	

2019년 02월 11 일

인수자: 김기영
인수처: 안동농업기술원

농업회사법인 (주)유니플렉스 귀하

소포자 대양 식물체 인수증

이래의 예후의 재료의 소포자 대양에 의하여 발생한 세균체로부터의 유기인 순의 식물체를
이래의 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기 타
	계통수	식물체수	
18-RC12	12	12	제외
18-RC15	7	26	제외
계	19	38	

2019년 02월 26 일

인수자: 김기영
인수처: 안동농업기술원

농업회사법인 (주)유니플렉스 귀하

그림 2-85. 2019년도 대일바이오 소포자 유래 DH line 서비스 인수증

소포자 배양 식물체 인수증

이래의 배주와 채소의 소포자 배양에 의하여 발생한 해당세포부터 유기된 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
17-TB11	2	2	무
17-FFD 106	4	7	무
17-FFD 122	3	3	무
17-FFD 129	2	2	무
계	11	14	

2019년 4월 19일

인수기관: 국립원예특작과학원
인수자: 박승희

농업회사법인 ㈜유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

이래의 배주와 채소의 소포자 배양에 의하여 발생한 해당세포부터 유기된 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
18-90 14	2	2	무
18-90 43	1	8	무
17-FFD 106	7	53	무
17-FFD 113	2	12	무
17-FFD 112	2	3	무
17-FFD 121	3	17	무
17-FFD 129	10	18	무
17-TB 5	2	16	무
17-TB 21	3	7	무
17-TB 25	3	5	무
계	51	166	

19년 4월 29일

인수기관: (주)
인수자: 박수현

농업회사법인 ㈜유니플랜트 귀하

그림 2-86. 2019년도 국립원예특작과학원 소포자 유래 DH line 서비스 인수증

소포자 배양 식물체 인수증

이래의 배주와 채소의 소포자 배양에 의하여 발생한 해당세포부터 유기된 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-KD4	2	2	배우
19-KD25	15	42	배우
19-KD27	89	250	배우
19-KD28	9	14	배우
19-KD9	68	120	배우
19-KD36	2	4	배우
19-KD31	42	112	배우
계	174	466	

2019년 9월 14일

인수기관: 한국종묘(주)
인수자: 장현준

농업회사법인 ㈜유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

이래의 배주와 채소의 소포자 배양에 의하여 발생한 해당세포부터 유기된 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-KD38	1	1	무
19-KD3	1	4	무
19-KD4	1	3	무
19-KD3A	1	3	무
19-KD4A	1	1	무
19-KD8	6	12	무
19-KD9	1	1	무
19-KD14	1	1	무
19-KD18	1	5	무
19-KD23-KD23B	4	53	무
DB	2	30	배우
19-KC40	1	1	배우
19-KC49	30	30	배우
19-KC30	13	46	배우
19-KC31	3	1	배우
19-KC32	7	30	배우
19-KC33	3	18	배우
19-KC34	15	73	배우
19-KC35	1	2	배우
19-KC37	1	12	배우
19-KC38	1	4	배우
계	74	270	

2019년 10월 29일

인수기관: 대일바이오
인수자: 안원희

농업회사법인 ㈜유니플랜트 귀하

그림 2-87. 2019년도 한국종묘/대일바이오 소포자 유래 DH line 서비스 인수증



그림 2-88. 2019년도 의뢰기관에 DH line 서비스한 식물들

2020년도에는 십자화과 소포자 유래 배를 정상식물체로 유도하여 (주)코레곤에 배추 7계통 13개체 식물체를 분양하고, 한국종묘에는 78계통 305개체의 식물체를 분양하였으며, 국립원예특작과학원에는 55계통 227개체의 식물체를 분양하였다. 또한 진흥종묘에 11계통 135개체의 식물체를 분양하였으며 대일국제종묘에는 배추 113계통 578개체, 무 11계통 78개체의 식물체를 분양하였다(표 2-72) 총 4개의 기관에 무와 배추 1,336개체를 분양하였다.

표 2-72. 2020년 십자화과 소포자유래 정상식물체 서비스(배추, 무)

계통명	인수개체		비고	의뢰기관	인수일
	계통수	식물체수			
19-KD1	2	4	배추	코레곤	2020. 01

19-KD3	5	9	배추	코레곤	2020. 01
19-KD27	74	298	배추	한국종묘	2020. 01
19-KD30	2	5	배추	한국종묘	2020. 01
19-KD31	2	2	배추	한국종묘	2020. 01
19-PM1	18	74	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-PM7	1	4	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-PM9	18	68	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-PM10	2	12	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-PM14	2	5	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-FQ76	8	32	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-FQ79	2	10	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-FQ85	4	22	배추	국립원예특작과학원	2020. 11
19-KD43	4	22	배추	진흥종묘	2020. 11
JH11-1	3	24	배추	진흥종묘	2020. 11
JH11-2	4	89	배추	진흥종묘	2020. 11
19-KD21	3	12	배추	대일국제종묘	2020. 1
19-KD7	1	6	무	대일국제종묘	2020. 1
19-KD9	3	14	무	대일국제종묘	2020. 1
19-KD12	2	10	무	대일국제종묘	2020. 1
19-KD14	5	48	무	대일국제종묘	2020. 1
20-KD1	26	148	배추	대일국제종묘	2020. 11
20-KD6	26	138	배추	대일국제종묘	2020. 11
20-KD5	6	24	배추	대일국제종묘	2020. 11
20-KD8	3	18	배추	대일국제종묘	2020. 11
20-KD7	49	238	배추	대일국제종묘	2020. 11
계	275	1,336			

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배후과 재조합 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-KD1	2	4	배우
19-KD8	5	8	배우
계	7	12	

2020년 1월 3일

인수기관: **진흥종묘**
인수자: **김광현**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배후과 재조합 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-KD7	7	288	배우
19-KD6	8	6	배우
19-KD3	2	2	배우
계	17	396	

2020년 1월 3일

인수기관: **한국종묘(주)**
인수자: **김광현**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배후과 재조합 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-PM1	18	74	배우
19-PM7	1	4	배우
19-PM9	18	68	배우
19-PM10	2	12	배우
19-PM14	2	5	배우
19-FQ16	8	32	배우
19-FQ19	2	10	배우
19-FQ85	4	22	배우
계	55	227	

2020년 11월 3일

인수기관: **국립원예특작과학원**
인수자: **박수영**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

그림 2-89. 2020년도 코레콘/한국종묘/국립원예특작과학원 소포자유래 DH line 서비스 인수증

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배후과 재조합 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-KD43	4	22	배우
BH11-1	3	24	배우
BH11-2	4	28	배우
계	11	74	

2020년 11월 3일

인수기관: **진흥종묘**
인수자: **산화현**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배후과 재조합 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
20-KD1	26	148	배우
20-KD6	26	138	배우
20-KD5	8	24	배우
20-KD8	3	18	배우
20-KD7	48	238	배우
계	110	566	

2020년 11월 3일

인수기관: **대일국제종묘**
인수자: **산호희**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배후과 재조합 소포자 배양에 의하여 발생한 배양체로부터 유래한 순화 식물체를 아래에 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개체		기타
	계통수	식물체수	
19-KD31	3	12	배우
19-KD7	1	6	배우
19-KD9	3	14	배우
19-KD12	3	18	배우
19-KD14	5	48	배우
계	14	98	

2020년 1월 3일

인수기관: **진흥종묘**
인수자: **김광현**

농업회사법인 (주)유니플랜트 귀하

그림2-90. 2020년도 진흥종묘/ 대일국제종묘 소포자유래 DH line 서비스 인수증





그림 2-91. 2020년도 의뢰기관에 DH line 서비스한 식물들

2021년도에는 대일국제종묘에서 의뢰한 십자화과 소포자 유래 배를 정상식물체로 유도하여 배추 111계통 676개체, 무 40계통 446개체의 식물체를 분양하였다.(표 2-36)

표 2-73. 2021년 십자화과 소포자유래 정상식물체 서비스(배추.무)

계통명	인수개체		비고	의뢰기관	인수일
	계통수	식물체수			
20-KD1	17	86	배추	대일국제종묘	2021. 03/11
20-KD3	6	19	배추	대일국제종묘	2021. 11
20-KD5	3	8	배추	대일국제종묘	2021. 03
20-KD6	8	42	배추	대일국제종묘	2021. 03
20-KD7	37	180	배추	대일국제종묘	2021. 03/11
20-KD8	2	2	배추	대일국제종묘	2021. 03
21-KK35	2	9	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK37	3	24	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK38	1	3	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK39	5	44	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK40	17	179	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK41	7	48	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK42	3	32	배추	대일국제종묘	2021. 11
21-KK11	2	23	무	대일국제종묘	2021. 11
21-KK12	2	14	무	대일국제종묘	2021. 11
21-KK13	2	29	무	대일국제종묘	2021. 11
21-KK14	19	231	무	대일국제종묘	2021. 11
21-KK15	9	96	무	대일국제종묘	2021. 11
21-KK17	4	35	무	대일국제종묘	2021. 11

21-KK19	1	10	무	대일국제종묘	2021. 11
21-KK23	1	8	무	대일국제종묘	2021. 11
계	151	1,122			

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배주과 재소의 소포자 배양에 의하여 발생된 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개 체		기 타
	계통수	식물체수	
20-KD1	12	69	배주
20-KD5	3	8	배주
20-KD6	8	42	배주
20-KD7	34	165	배주
20-KD8	2	2	배주
계	59	286	

2021년 3월 12일

인 수 기 관 : 대일국제종묘

인 수 자 : 김국호

농업회사법인 (주)유니플랜텍 귀하

소포자 배양 식물체 인수증

아래의 배주과 재소의 소포자 배양에 의하여 발생된 배상체로부터 유기한 순화 식물체를 아래와 같이 인수 합니다.

계통명	인수 개 체		기 타
	계통수	식물체수	
20-KD 1	5	17	배주
20-KD 3	6	19	배주
20-KD 7	3	15	배주
21-KK 35	2	9	배주
21-KK 37	3	24	배주
21-KK 38	1	3	배주
21-KK 39	5	44	배주
21-KK 40	17	179	배주
21-KK 41	7	48	배주
21-KK 42	3	32	배주
21-KK 11	2	23	무
21-KK 12	2	14	무
21-KK 13	2	29	무
21-KK 14	19	231	무
21-KK 15	9	96	무
21-KK 17	4	35	무
21-KK 19	1	10	무
21-KK 23	1	8	무
계	92	836	

2021년 11월 22일

인 수 기 관 : 대일바이오 국제종묘

인 수 자 : 김국호

농업회사법인 (주)유니플랜텍 귀하

그림 2-92. 2021년도 대일국제종묘 소포자유래 DH line 서비스 인수증



그림 2-93. 2021년도 의뢰기관에 DH line 서비스한 식물들(대일국제종묘)

라. 분양한 소포자유래 식물체의 특성(배추)

분양한(대일바이오종묘) 8품종 604line은 저온 처리하여 분양받은 다음해 3~4월부터 자가수정 및 타가수정을 실시하였다. 소포자유래 식물체는 약 50%는 생육이 저조하고, 화분발생이 이루어지지 않았고, 교배하였어도 결실하지 못하여 반수체로 인식되었다. 생육이 왕성하였으나, 화분발생이 저조하고, 종자 결실도 되지 않는 계통이 약 10%미만이 존재하였으며, 이들은 3~4배체, 혹은 이수체로 인지되었다. 604개체중 40%인 244계통은 채종이 가능하였고, 종자 생산능

력은 17-MK-10 3계통과, 17-MK-14 1계통 총 4계통만 50립 미만으로 채종되었고, 나머지 240계통은 종자생산력이 중상으로 매우 양호하였다(표 2-74).

표 2-74. 소포자유래 분양 식물체의 종자채종 현황(자가수정)

배양모본	분양 Line	채종 Line	종자생산능력	채종비율(%)
17-MK-10	9	3	하	33.33
17-MK-11	164	83	중상	50.61
17-MK-12	97	24	중상	24.74
17-MK-13	76	39	중상	51.32
17-MK-14	7	1	하	14.29
17-MK-17	6	4	중	44.44
17-MK-18	112	48	중	42.86
17-MK-19	133	42	중	31.58
Total	604	244		40.40



그림2-94. 대일국제종묘 분양받은 소포자 유래 식물체 특성 조사

제3장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제1절 목표

프로젝트	가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립
1세부프로젝트	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고추 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급 <ul style="list-style-type: none"> - 고추 나출 소포자 배양 기술 개선 - Shed-microspore 배양 기술 개발 - 다양한 형질을 보유한 DH개발 및 보급
2세부프로젝트:	<ul style="list-style-type: none"> ○ 파프리카 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급 <ul style="list-style-type: none"> - 모식물체의 유전적, 생리적 특성에 따른 배양 효율증진 방법연구 - 확립된 소포자 및 약배양을 통한 우수계통선발 - 확립된 파프리카 DH line 기업에 서비스 - 채소종자 사업단에서 유기하는 DH line의 식물체 확립 및 순화를 통한 기업체 서비스

제2절 목표 달성여부

<제1세부 고추 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립>

구분 (연도)	세부연구목표	가중치 (%)	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2017)	나출 소포자 배양 시 모식물의 생육조건 및 전처리조건 설정	20	100	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 온실에서의 모식물 생육조건 확립 및 소포자배 발생에 미치는 영향 조사 ◆ 항생제의 오염원 제거 효율 및 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사
	shed 소포자 배양 시 배지와 탄소원 조건확립	20	100	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 배지의 종류가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사 ◆ 탄소원 종류 및 농도가 소포자배 발생에 미치는 영향 조사
	소포자 유래 반수체, 배가반수체 배수성 검증	20	100	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 소포자유래의반수체, 배가반수체 특성분석 ◆ 소포자 유래 식물체의 Flow cytometric 분석을 통한 배수성 검증
	유용형질 및 의뢰품종 소포자 유래 식물체 개발 및 분양	40	100	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 자체 보유 F1 조합 및 GSP 사업단 참여 민간회사 및 대학 의뢰 품종대상 소포자 배양 실시 및 유기식물체 분양
2차년도 (2018)	고추 나출 소포자 배양 조건 확립	20	100	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 나출 소포자 배양 시 전처리 온도 및 기간 설정

	고 추 의 shed-microspore 배양 조건 확립	20	100	<ul style="list-style-type: none"> shed-소포자배양 시 오염원 제거를 위한 항생제 처리 shed-소포자배양 시 품종에 따른 배발생 효율 조사 shed-소포자배양 시 저온처리기간 조사 약배양 및 shed 소포자 배양 적용시 배발생 효율 비교 shed-소포자 배양 시 배지내 pH에 따른 배발생 효율 조사 shed-소포자배양 시 품종에 따른 배발생 효율 조사
	재분화 효율 증대를 위한 배양방법 개선	40	100	<ul style="list-style-type: none"> shed-소포자배양 시 소포자 배의 재분화율을 높이기 위한 방법 개선
	품종에 따른 반수체의 자연적 배가율 검증	20	100	<ul style="list-style-type: none"> 품종 및 배양방법에 따른 배가반수체 생산 효율 비교분석
3차년도 (2019)	나출 소포자 배양 시 호르몬의 영향 및 품종에 따른 소포자 배발생 효율 검증	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 2-HNA가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사 품종에 따른 소포자 배발생 및 재분화 효율 비교
	shed-microspore 배양 시 스트레스에 따른 배발생 효율 검증	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 고온 스트레스가 소포자배 발생 및 발달에 미치는 영향 조사 기아 전처리가 소포자배 발생에 미치는 영향 조사
	유용 형질 고정을 위한 배가반수체 생산	40	100	<ul style="list-style-type: none"> 원예원 농과원, 전북도원, 경북도원 보유 유용형질 계통 및 품종의 소포자 배양 시도 소포자 유래 배가반수체의 육종재료 특성평가
4차년도 (2020)	고추 모식물체 형질 특성별 소포자 배양 및 배가반수체 생산	40	100	<ul style="list-style-type: none"> 원예원, 농과원, 전북도원, 경북도원 보유 우수 계통 및 품종의 소포자 배양, 배가반수체 생산
	DH line 기업에 서비스	20	100	<ul style="list-style-type: none"> 유기배를 통한 정상식물체 다량확보 및 기업에 제공
	유기배상체의 정상식물체 확립 및 순화식물체 제공	40	100	<ul style="list-style-type: none"> TSWV저항성, 병저항성, 자색 등 특수 목적형질 자원활용
5차년도 (2021)	shed 소포자 배양기술 확립	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 기아처리 및 고온스트레스 처리를 통한 배발생 및 배발달 확인 재분화 방법 개선을 통한 식물체 재분화율 증진기술 개발

	유기배상체의 정상식물체 확립 및 순화식물체 제공	40	100	<ul style="list-style-type: none"> Shed-소포자배양/나출소포자배양을 통한 DH line유기 및 서비스
	소포자 유래 반수체/배가반수체 특성검정 및 배가반수체 후대 특성검정	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 나출 및 shed 소포자 배양기술로 획득한 소포자 유래 반수체/배가반수체 원예적 특성 평가 나출 및 shed 소포자 배양기술로 획득한 소포자 유래 배가반수체 채종 및 후대 원예적 특성평가

<제2세부 파프리카 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립>

구분 (연도)	세부연구목표	가중치 (%)	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2017)	소포자 배양조건 확립	30	100	<ul style="list-style-type: none"> shed-소포자배양 조건 구명 <ul style="list-style-type: none"> 품종이 배발생에 미치는 영향 4℃ 저온처리가 배발생에 미치는 영향 모본의 세대가 배발생에 미치는 영향 과색이 배발생에 미치는 영향 나출소포자 배양조건 구명 <ul style="list-style-type: none"> 전처리배지의 Mannitol농도가 배발생에 미치는 영향 품종이 배발생에 미치는 영향
	약배양 및 소포자 배양을 통한 DH line 유기	20	100	<ul style="list-style-type: none"> 호르몬을 첨가하지 않은 1/2MS배지에서 정상식물체 유기율이 높았음. 요리트와 발타사(B2TS)품종은 BAP를 첨가한 1/2MS배지에서도 정상식물체 유도가 가능함 ELS로부터 식물체 유도는 0.2mg/L Kinetin에서 효과적이었음 소포자배양을 통한 DH line유기 및 서비스
	십자화과 소포자유래 배상체의 정상식물체 유기 및 서비스	50	100	<ul style="list-style-type: none"> 인수된 소포자유래 배상체로부터 정상식물 유도용 배지 개발 발근유도용 배지개발 인수, 정상식물체유도, 발근, 순화 Protocol개발
2차년도 (2018)	약배양과 소포자배양을 통한 DH line 생산 방법 확립	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 소포자유래 배발생 효율을 높이기 위한 항생제 처리 및 효과분석 품종별 배발생 효율 향상 조건 구명 Mannitol농도가 나출소포자 배발생에 미치는 영향 탄소원이 배발생에 미치는 영향 기본배지가 소포자 배발생에 미치는 영향
	DH line 작물별/단계별 순화 조건 구명	20	100	<ul style="list-style-type: none"> 유기배상체 및 ELS로부터 정상적배 발달 최적조건 및 정상식물체 획득조건 구명 재분화율을 높이기 위한 단계별 분화시기 구명 소포자배양을 통한 DH line유기 및 서비스
	십자화과 유기 배상체의 정상	50	100	<ul style="list-style-type: none"> 십자화과 소포자유래 배상체의 정상식물체 유기 및 서비스

	식물체 확립 및 순화식물체 제공			<ul style="list-style-type: none"> 인수된 소포자유래 배상체로부터 정상식물체 유도배지 개발 -분화배지(1/2MS)에 호르몬 (BAP)첨가가 정상식물체 유기율에 미치는 영향 -소포자 유래 ELS(비정상배)를 분화배지(1/2MS)에 호르몬 첨가(0.2, 0.5mg/L Zeatin, Kinetin)가 정상식물체 재분화율에 미치는 영향 -소포자 유래배를 재분화배지에 옮기는 시기가 정상식물체 유도에 미치는 영향 인수, 정상식물체 유도, 발근, 순화 Protocol 개발 -소포자 유래 배상체를 정상식물체 유도 배지 (MS+1mg/L BA+0.02mg.L NAA, 1mg/L BA, 0.2mg/L Kinetin)에 이식하여 abnormoal개체의 조직을 치밀화 개체로 분화 및 multiple shoot를 유도할 배지 개발중. -유도된 multiple shoot는 rooting배지에 이식하여 정상식물체로 유도함 -순화율을 높이기 위하여 1단계 대량순화장치 (microponic- culture system, 특허출원 10-2016-0168338)을 이용하여 지속적으로 air를 공급하면서 서서히 습도가 맞춰질 수 있는 조건으로 진행
3차년도 (2019)	소포자 배양조건 확립	20	100	<ul style="list-style-type: none"> Shed-소포자 배양 조건 구명 - 호르몬 처리에 따른 배발생 효과구명 - 배양배지에 따른 배형성을 조사 나출 소포자배양 조건 확립 - Container에 따른 소포자나출 조사 - 오염원제거 항생제 개발
	Shed-culture 및 소포자 배양을 통한 DH line유기	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 정상식물체 재분화 조건 확립 소포자배양을 통한 DH line유기 및 서비스
	십자화과 소포자유래 배상체의 정상식물체 유기 및 서비스	50	100	<ul style="list-style-type: none"> 비정상배로부터 정상식물체 유기 →십자화과 소포자유래배 정상식물체 재분화조건 확립 -배발생 즉시 1/2MS No hormone배지에 이식 (90*20mmPetri-dish)→7~10일 간격으로 정상식물체 유도까지 계대배양(2회~10회) -배지 : 1/2MS No hormone→MS+1ppm BA+0.02ppm NAA -발근 및 정상식물체→1/2MS No hormone 배지이식 십자화과 소포자유래 식물체 분양
4차년도 (2020)	소포자 배양기술 확립	30	100	<ul style="list-style-type: none"> 기본배지가 소포자 배발생에 미치는 영향 조사 Hormone처리에 따른 배발생 효과조사
	Shed-소포자 배양/나출-소포자배양을 이용한 DH line 유기	20	100	<ul style="list-style-type: none"> Shed-소포자배양/ 나출-소포자 배양을 통한 DH line유기 및 서비스 L-ascorbic acid이 배발생에 미치는 영향조사 소포자배양을 통한 DH line유기 및 서비스
	십자화과 유기	50	100	<ul style="list-style-type: none"> 십자화과 소포자유래 배상체의 정상식물체 유기 및

	배상체의 정상 식물체 확립 및 순화 식물체 제공			<p>서비스</p> <p>→십자화과 소포자유래배 정상식물체 재분화조건 확립</p> <p>-배발생 즉시 1/2MS No hormone배지에 이식 (90*20mmPetri-dish)→7~10일 간격으로 정상식물체 유도까지 계대배양(2회~10회)</p> <p>-배지 : 1/2MS No hormone→MS+1ppm BA+0.02ppm NAA</p> <p>-발근 및 정상식물체→1/2MS No hormone 배지이식</p> <ul style="list-style-type: none"> • 네오씨드, 우리종묘, 진흥종묘, 대일바이오종묘, 국립 원예특작과학원 등 십자화과 육성팀
5차년도 (2021)	소포자 배양기술 확립	30	100	<ul style="list-style-type: none"> • 황산화제를 이용한 소포자유래배 형성을 조사 • 호르몬을 이용한 소포자유래배 형성을 조사 • 초기 소독시간이 배형성에 미치는 영향 조사
	Shed-소포자 배양/나출-소포자배양을 이용한 DH line 유지	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • Shed-소포자배양/나출소포자배양을 통한 DH line유기 및 서비스
	십자화과 유기 배상체의 정상 식물체 확립 및 순화식물체 제공	50	100	<ul style="list-style-type: none"> • 십자화과 소포자유래 배상체의 정상식물체 유기 및 서비스 <p>→십자화과 소포자유래배 정상식물체 재분화조건 확립</p> <p>-배발생 즉시 1/2MS No hormone배지에 이식 (90*20mmPetri-dish)→7~10일 간격으로 정상식물체 유도까지 계대배양(2회~10회)</p> <p>-배지 : 1/2MS No hormone→MS+1ppm BA+0.02ppm NAA</p> <p>-발근 및 정상식물체→1/2MS No hormone 배지이식</p> <ul style="list-style-type: none"> • 대일바이오 종묘 외 십자화과 육성팀 의뢰(2~4개 업체)

제4장 연구결과의 활용 계획

제 1절 특허, 논문, 제품 측면

1. 특허분석 측면

가. 기존 특허는 소포자배양에서 ELS 및 Calli 유기 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 정상배로 발생할 수 있는 embryo 발생율을 높일 수 있는 방향으로 연구를 추진하여 배발생을 대비 정상식물체 유기율을 대폭 향상시켜 특허 등을 국내 및 국외에 출원할 계획이다.

나. 원예원에서 본 과제를 통해 개발한 특허 “고추 shed 소포자배양을 이용한 식물체 생산시 2-step 재분화 방법의 이용”은 기존의 소포자 배양 방법을 개선하여 식물체의 재분화 효율을 기존 3.3~9.8%에서 59.1~77.4%로 평균 12.9배 향상시켜 shed 소포자배양시 문제가 되었던 낮은 재분화 효율을 증진시킬 수 있는 기술로 관련 연구를 수행하는 산업체, 대학 등에 기술이전할 계획이다.

다. 유기된 식물체는 하나의 소포자로부터 발생된 식물체로 유전적으로 유일의 특성을 가지고 있으며, 보통 소포자배 발생에 의한 식물체는 단 1개체만을 형성하는 특성이 있다. 그러나, 종자형성과 DH라인의 다수 확보를 위해서는 하나의 DH line의 최소 채종 가능한 수량까지 동형질의 개체를 확보할 필요가 있어, 하나의 소포자유래 식물체의 최소 clone화가 이루어진다면, 소포자 유래 식물체의 DH line 유기가 보다 쉬워 채종까지 유전자원의 손실없이 진행될 수 있다.

라. 본 과제를 통해 도출한 연구결과로 고추 및 파프리카 소포자 배양 기술 실용화 및 원천기술 확보가 가능할 것으로 판단되며 향후 실용화 가능한 고추 및 파프리카 소포자 배양 기술을 추가 확립 하고 산업체에 기술이전할 계획이다.

2. 논문분석 측면

가. 소포자 배양 기술에 있어서 기존의 논문은 소포자 유래 ELS 및 calli 유기 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 정상 embryo유기와 정상 식물체 유기효율을 증가시키는 방향으로 연구를 추진하여 실용적으로 육종에 활용될 수 있는 기술로 발전시키고 논문을 학술지 등에 게재할 계획이다.

나. 소포자 유래 식물체의 순화 체계 확립이 미흡한 실정으로 소포자 유래 식물체를 대량으로 생산하고 대량순화 할 수 있는 환경조건을 구명하였고 이를 논문화 및 실용화 할 계획이다.

3. 제품 및 시장분석 측면

가. 국내 및 국외시장 분석결과 물리적 기준인 파프리카의 중량과 크기에 의해 제품의 등급을 나누어 판매가 이루어지고 있어 제품의 영양적, 기능적 측면에서의 차이점을 검증하지 못하고 있음. 따라서 제품 평가 기술의 확보를 통해 물리적 측면 뿐만 아니라 화학적, 관능적 평가를 도입함으로써 고색소, 고비타민C 등 판매하는 제품을 다양화 할 수 있는 근거를 마련하는 방향으로 추진할 계획이다.

나. 국내 및 국외시장 분석결과 국내는 파프리카 재배면적은 급격히 증가하였으나, 대부분이 수입된 품종을 재배하는 실정임. 육종세대 단축을 위한 소포자배양 고품질 파프리카 품종개발

을 통한 수입 파프리카 품종 대체 및 해외 시장 개척을 위한 품종개발의 기반기술로서 Leading 품종 과 목표형질을 소포자 배양에 의하여 단기간 내에 고정하여 다량의 DH line을 이용한 신품종 육성의 기반 기술을 제공할 계획이다.

다. 본 연구로 확립한 기술로 다양한 형질을 가진 고추 및 파프리카 DH line의 확보 및 보급이 가능할 것으로 보이며 나아가 수출용 고추 및 수입대체 파프리카 품종육성 효율 증진 및 육종재료가 다양해질 것으로 판단된다.

라. 고추의 경우 형질전환 효율이 매우 낮아 아그로박테리움을 이용하지 않는 새로운 유전자 교정기술 개발이 필요하며 본 과제에서 확립된 고추 소포자 배양 기술을 기반으로 신품종기술 개발 관련 연구가 수행되고 있다.

마. 소포자를 이용한 나노입자+RNP 복합체 전달 기술로 목표유전자를 교정하면 타겟 형질의 특성을 유지한 배가반수체를 얻게 되어 육종소재를 조기 개발할 수 있는 장점이 있으며 새로운 형질을 보유한 고추 개발을 통해 국내외 경쟁력 확보가 가능할 것으로 보인다.

붙임. 참고문헌

Abdollahi M. R., Moieni A., Mousavi A. A. and Salmanian A. H. (2011). High frequency production of rapeseed transgenic plant via combination of microprojectile bombardment and secondary embryogenesis of microspore-derived embryos. *Molecular Biology Reports*. 38(2): 711-719

An D, Park EJ, Kim M (2011) Influence of medium addition and gitation on the production of embryos in isolated microspore culture of hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Plant Biotech* 38:30-41

Ari E, Yildirim T, Mutlu N, Büyükalaca S, Gökmen Ü, Akman E (2016) Comparison of different androgenesis protocols for doubled haploid plant 2 production in ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.). *Turk J Biol* 40:944 - 954

Asahi Y, Toyama S (1982) Some factors affecting the chloroplast replication in the moss *Plagiomnium trichomanes*. *Protoplasma* 112:9-16

Bhatia R, Dey SS, Sood S, Sharma K, ParkashC, Kumar R (2017) Efficient microspore embryogenesis in cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis L.) for development of plants with different ploidy level and their use in breeding programme. *Sci Hort* 216:83-92

da Silva Dias JC (2003) Protocol for broccoli microspore culture, in *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. eds Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I, editors (Dordrecht: Kluwer Academic Publishers;):195 - 204

Dolcet-Sanjuan R, Claveria E, Huerta A (1997) Androgenesis in *Capsicum annuum* L.- Effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. *J Amer Spc Hort Sci* 122(4):468-475

Dongju An · Eun-Joon Park · Moonza Kim.(2011). Influence of medium addition and agitation on the production of embryos in isolated microspore culture of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) *J Plant Biotechnol* (2011) 38:30-41

Dumas de Vaulx R., Chambonnet D, Pochard E (1981) In vitro culture of pepper

(*Capsicum annuum* L.) anthers, high rate plant production from different genotypes by +3 5°C treatments. *Agronomie* 1:859–864

Elliältioğlu Ş, Kaplan F, Abak K (2001) The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper. In: XIth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of capsicum and eggplant, Antalya, Turkey, pp 142 - 145

Ercan N, Sensoy EA, Sensor S (2006) Influence of growing season and donor plant age on anther culture response of some pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Sci Horti* 110:16–20

Ferrie AMR , Epp DJ , Keller WA (1995) Evaluation of *Brassica rapa* L. genotypes for microspore culture response and identification of a highly embryogenic line , *Plant Cell Rep*, Vol.14 ; pp.580–584

Ferrie AMR, Irmen KI, Beattie AD, Rossnagel BGR (2014) Isolated microspore culture of oat (*Avena sativa* L.) for the production of doubled haploids: effect of pre-culture and post-culture conditions. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 116:89–96

Gil-Humanes J. and Barro F. (2009) Production of doubled haploids in *Brassica*. In *Advances in haploid production in higher plants*. Dordrecht. 65–73.

Gyulai G, Gemesne JA, Sagi Z, Venczel G, Pinter P, Kristof Z, Torjek O, Heszky L, Bottka S, Kiss J et al., (2000) Doubled haploid development and PCR-analysis of F1 hybrid derived DH-R2 paprika (*Capsicum annuum* L.) lines. *J Plant Physiol* 156: 168–174

Hansen NJP, Andersen SB (1998) Efficient production of doubled haploid wheat plants by in vitro treatment of microspores with trifluralin or APM. *Plant Breed* 117:401 - 405

Hansen FL, Andersen SB, Due IK, Olesen A (1988) Nitrous oxide as a possible alternative agent for chromosome doubling of wheat haploids. *Plant Sci* 54:219 - 222

Harberd D J (1969) A simple effective embryo culture technique for *Brassica* , *Euphytica*, Vol.18 ; pp.425–429

Hu T, Kasha KJ (1997) Improvement of isolated microspore culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) through ovary co-culture. *Plant Cell Rep* 16:520–525

Hwang JH, Jang MS (2001) Effect of paprika (*Capsicum annuum* L.) juice on the acceptability and quality of wet noodle (I). *Korean J Food Cookery Sci* 17(4):373–379

Immonen S, Anttila H (2000) Media composition and anther plating for production of androgenetic green plants from cultivated rye (*Secale cereale* L.) *J Plant Physiol* 156:204–210

Irikova T, Grozeva S, Rodeva V (2011) Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) in vitro. *Acta Physiologiae Plantarum* 33(5):1559–1570

Jansen CJ (1974) Chromosome doubling techniques in haploids. In: Kasha, K.J. (eds.) *Haploids in Higher Plants, Advances and Potential*. Proceeding of the First International Symposium, Guelph, Ontario, June 10 - 14, pp 153 - 190

Jinpyo Oh1*, Jeong Min An1, Beom-Gi Kim2, and Chan Ju Lim(2021). Search for Microspore Culture Medium Conditions for a Generation Advancement of Lines, Generated through New Breeding Technology *Korean Society For Horticultural Science* 2021.10, 207–207

Kasha KJ, Hu TC, Oro R, Simion E, Shim YS (2001) Nuclear fusion leads to chromosome doubling during mannitol pretreatment of barley (*Hordeum vulgare* L.) microspores. *J Exp Bot* 52:1227 - 1238

Kim M, Jang IC (2001) Cytological analysis of microspore during temperature pretreatment in anther culture of *Capsicum annuum* L. *Kor J Plant Tiss Cult* 28(5):263–271

Kim M, Jang IC, Kim JA, Park EJ, Yoon M, Lee Y (2008) Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. *Plant Cell Rep* 27:425–434

Kim, M. Z. and Y. R. Kim. 1984. Basic studies on the induction of microspore-originated calluses or embryos in the anther culture of *Capsicum annuum* L. *Korean J Plant Tissue*

Cult, 12:75–112.

Kim M, Kim J, Yoon M, Choi DI, Lee KM (2004) Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum*). Plant Cell Tiss Organ Cult 77:63–72

Kim M, Park EJ, An D, Lee Y (2013) High-quality embryo production and plant regeneration using a two-step culture system in isolated microspore cultures of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) Plant Cell Tiss Organ Cult 112: 191–201

Kim M, Park EJ, Lee Y (2010) Increased embryo production by manipulation of pretreatment materials and media in isolated microspore culture of hot pepper (*Capsicum annuum* L.). In : Kumar A, Sopory S (eds) Applications of plant biotechnology ; Invitro propagation, plant transformation and secondary metabolite production. International Publishing House PvtLtd, India, pp89–105

Kim Yong Kwon*, Kweon Oh Yeol, Yoon Wha Mo(1999). Influence of Genotype and Ecotype on Anther Culture Efficiency in Hot pepper (*Capsicum annuum* L.) Korean J. Plant Tissue Culture Vol. 26, No, 1, 49–52

Kristiansen K, Andersen SB (1993) Effects of donor plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. Euphytica 67:105–109

Li HC, Devaux P (2003) High frequency regeneration of barley doubled haploid plants from isolated microspore culture. Plant Sci 164:379 - 386

Lee S. K., Kim J. S., Kang S. H., Sohn S. H., Won S. Y. (2016). Rediscovery of haploid breeding in the genomics era. Journal of Plant Biotechnology. 43: 12–20

Luitel BP, Kang WH (2013) In vitro androgenic response of minipaprika (*Capsicum annuum* L.) genotypes in different culture media. Hort Environ Biotechnol 54(2):162–171

Man Hyun Jo*, In Ki Ham¹, Min Young Park, Tae Il Kim, Yong Pyo Lim, and Eun Mo Lee(2012) Seed Production Ability of Doubled Haploid Plants through Microspore Culture in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) Introduced from China. Kor. J. Hort.

Sci. Technol. 30(5):573-578,

Mi-Suk Seo Chuloh Cho Man-Soo Choi JaeBuhm Chun1 Mina Jin and Dool-Yi Kim(2020)
Status of Molecular Biotechnology Research Based on Tissue Culture of Soybean Korean J.
Plant Res. 33(5):536-549

Mi-Suk Seo, So Youn Won, Sang-Ho Kang, Seong-Han Sohn, and Jung Sun Kim
(2015)Development of Tissue Culture Technology for haploid production in Brassica species
誌(Korean J. Int. Agric.), 27(4): 522~528 Journal of the Korean Society of International
Agriculture Vol.27 No.4 pp.522-528

Olszewska MJ, Damsz B, Rabeda E (1983) DNA endoreplication and increase in number of
chloroplasts during leaf differentiation in five monocotyledonous species with different 2C
DNA contents. Protoplasma 116 : 41-50

Park, E. J., Kim J. A., Lee, J. S., Jang, I. C., Yoon, M., Chung, S. H., and Kim M. (2005).
The Influence of Pretreatment Period, 2-Hydroxynicotinic Acid and Anther Co-pretreatment
on Embryo Induction in Isolated Microspore Culture of Capsicum annum L. Korean J.
Plant Biotechnol. 32(1): 37-44.

Popova Irikova T, Kintzios S, Grozeva Sm Rodeva V (2016) Pepper (Capsicum annum
L.) anther culture: fundamental research and practical applications. Turk J Biol 40:719-726

Possingham JV, Saurer W (1969) Changes in chloroplast number per cell during leaf
development in spinach. Planta 86:186-194

Seulki Lee · Jung Sun Kim · Sang-Ho Kang · Seong-Han Sohn · So Youn Won(2016).
○Rediscovery of haploid breeding in the genomics era. J Plant Biotechnol (2016) 43:12 - 20

Song, J.Y., I. Sivanesan, C.G. An, and B.R. Jeong. 2009. Micropropagation of paprika
(Capsicum annum) and its subsequent performance in greenhouse cultivation. Kor. J. Hort.
Sci. Technol. 27:293-298.

Supena, EDJ., and Custers, JBM. (2011). Refinement of shed-microspore culture protocol to
increase normal embryos production in hot pepper (Capsicum annum L.). Sci
Hortic-Amsterdam 130(4): 769-77.

Supena EDJ, Muswita W, Suharsono S, Custers JBM (2006a) Evaluation of crucial factors for implementing shed-microspore culture on Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Sci Hort* 107:226-232

Supena EDJ, Suharsono S, Jacobsen E, Custers JBM (2006b) Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Rep* 25:1-10

Testillano, P. S., (2019). Microspore embryogenesis: targeting the determinant factors of stress-induced cell reprogramming for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*. 70(11): 2965 - 2978.

Thomas J, Chen Q, Howes N (1997) Chromosome doubling of haploids of common wheat with caffeine. *Genome* 40:552 - 558

The influence of temperature pretreatment and donor plant cultivars on anther culture of *Capsicum annuum* L. *Journal of the Institute of Natural Science* Vol.6 Dec. 1997

Wang S (1998) Evaluation of various methods for ploidy determination in *Beta vulgaris* L. *J Genet Breed* 52:83-87

Wheatley, W. G., A. A. Marsolais, and K. J. Kasha. 1986. Microspore growth and anther staging in wheat anther culture. *Plant Cell Rep*, 5:47-49.

Young Sook Kim and Byung Ki Lee.(1996) Development of Microspores During Anther Culture of *Paeonia albiflora* Pall. *Korean J. Plant Tissue Culture* Vol. 23, No 5, 287~292

Yuan S, Su Y, Liu Y, Li Z, Fang Z, Yang L, Zhuang M, Zhang Y, Lv H, Sun P (2015) Chromosome doubling of microspore-derived plants from cabbage (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.) and Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) *Front Plant Sci* 6:1118

Zeng A, Yan J, Song L, Gao B, Zhang Y, Li J, Liu H, Hou X, Li Y (2015) Induction and development of microspore-derived embryos in broccoli x white-headed cabbage hybrids microspore culture. *Euphytica* 203:261-272

Zhou H, Komzak CF (1989) Improvement of anther culture methods for haploid production in wheat. Crop Sci 29:817-821

Zhou H, Zheng Y, Komzak CF (1991) Osmotic potential of media affecting green plant percentage in wheat anther culture. Plant Cell Rep 10:63-66

은종선, 이광식, 윤여중.(1994) 고추 약배양에서 배지조성 및 온도처리와 품종에 따른 배발생 (胚發生) 및 식물체 분화율과 유전적 변이. 한국육종학회지, 26권 4호. pp.353-362.

윤여중, 장상근, 이광식.(1991) 고추 약배양에 의한 식물체 유기. 한국원예학회지 32권 1호 pp.8-16.

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립						
	(영문) Development of Breeding Materials and Supply system in Solanaceae vegetables						
프로젝트 연구기관	국립원예특작과학원		프로젝트연구 책임자	(소속) 국립원예특작과학원			
참여기업	(주)유니플랜텍			(성명) 양은영			
총연구개발비 (816,000천원)	계	816,000,000	총 연구 기간	2017. 01. ~ 2021. 12			
	정부출연 연구개발비	716,000,000		총 인원	32		
	기업부담금	100,000,000		총 참여 연구원 수	내부인원	27	
	연구기관부담금				외부인원	5	

○ 연구개발 목표 및 성과

1. 모식물체의 유전적, 생리적 특징에 따른 배양 효율증진 방법연구
2. 소포자유래 배상체의 식물체 유기 및 조기 DH line보급
3. 채소종자 사업단 소포자유래 배상체의 식물체 유기 및 순화를 통한 DH line 보급

○ 연구내용 및 결과

1. 고추 소포자 배양 효율 개선

(1) 고추 나출 소포자 배양방법

- 모식물 관리는 저광도에서 단기간 재배하는 것이 좋음
- 전처리 온도 및 기간 구명 (32℃에서 3일간)
- 배지 내 차콜농도는 농도가 높아질수록 배발생을 감소함
- 액체배양, 이층배양, 2-step 배양 중 품종에 따라 적합한 선택이 필요함

(2) 고추 shed 소포자 배양 방법

- 전처리 온도 및 기간 구명 (9℃에서 7일간)
- 저온처리 기간에 따른 배발생은 배발생 효율 및 정상자엽배 획득 측면에서 9일 처리가 가장 좋음
- 교체배지 종류 : NLN > 1/2NLN > NN > MS
- 기아 전처리(maltose 농도)에 따른 배발생 효율 : 전처리배지 0%+추가배지4% > 전처리배지1%+추가배지3% > 전처리배지2%+추가배지 2%
- 품종에 따른 배지 pH : 밀양재래 전처리배지 6.0 - 배양배지 6.0, 7QF4, 7QF9 전처리배지 8.0 - 배양배지 8.0
- 탄소원 종류는 sucrose, maltose간 차이 없음
- 탄소원(sucrose) 농도 : 밀양재래 6%, LV2319 4%, Long fruit 6,10% → 품종에 따라 다름
- 재분화조건 개선

(3) 고추 소포자 유래 반수체/배가반수체 생산 및 보급

- 나출/shed 소포자 배양 2 track 시스템 이용 민간회사 및 대학 의뢰 29품종 대상 5년간 1243점의 식물체 획득 및 분양 완료
- 고추 소포자 유래 식물체의 육종 소재화를 위해 재분화 당대 및 후대 식물체의 주요 원예적 특성평가 및 D/B화 완료

2. 파프리카 소포자 배양조건 확립

(1) Shed-소포자배양조건 확립

- 봉오리채집: 겨울에 채집하는 것보다 여름에 채집한 봉오리가 배발생율이 높았음
- 4℃ 저온처리 유,무 : 무처리시 배발생 증가
- 품종 : Red와 Yellow계열에서 배발생이 높음, F1세대에서 callus발생과 배발생 모두 높음
- 호르몬 처리에 따른 배발생 효과 : 고체배지(Nitsch+2%Maltose+1%Charcoal+0.6%Plant agar)에 2.5uM Zeatin과 5uM NAA를 처리하면 배발생이 높음
- 배양배지에 따른 배형성율: Nitsch배지에서 배발생율이 높음

(2) 나출-소포자배양조건 확립

- 전처리배지의 Mannitol농도는 0.37M에서 배발생이 높음
- 품종 : Yellow계열의 요리트에서 배발생이 높음
- 배양배지는 NLN+10% Sucrose에서 36.7%로 정상배 발생이 높음
- 오염원제거 항생제 효과: Streptomycin이 효과적임
- Container에 따른 소포자 나출효과: 기존 사용하던 것 이외는 소포자 농도가 낮거나, 배양했을 때 cluster가 많이 발생하여 배발생을 저하시킴

2. 파프리카 소포자유래 배발생 및 식물체 획득 효율증진을 위한 전처리 기술개발

- 재분화 효율: 호르몬을 첨가하지 않은 1/2Ms배지에서 정상식물체 순화율 높음

3. 파프리카 모식물체 형질 특성별 배양효율 증진연구

- 요리트, 발타사(B2TS)품종 : BA를 첨가한 1/2MS배지에서도 정상식물체 순화율 높음
- ELS로부터 식물체 유도 : 0.2mg/L Kinetin에서 63%로 효과적

4. 십자화과 유기배상체의 정상식물체 확립 및 순화식물체 기업체 제공

- 1차로 90*20mm배양요기에 옮김
- 재분화할때는 MBN(MS+1ppm BA+0.02ppm NAA)배지 사용
- 작은 식물체는 7-10일 짧은 단위로 MBN배지에 여러번 옮김
- 크기가 큰 식물체는 1/2MS No hormone배지에 옮김
- 2017~2021년도: 인도받은 소포자유래배상체로부터 얻은 DH line 식물체 4,590개체 분양

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 고추 소포자 유래 배로부터 획득한 식물체 1,243개체 민간육종회사 및 대학에 보급
2. 파프리카 소포자 유래 배로부터 얻은 DH line 식물체 417개체, 파프리카 소포자 유래 식물체로부터 얻은 종자 149립기관과 민간 육종기업에 서비스
3. 십자화과 소포자유래배로부터 얻은 DH line 식물체 4,590개체 기관과 민간육종기업에 서비스
4. 순화용 Microponic-culture system특허등록(10-1960860)
5. 고추 shed 소포자 배양에 의해 얻어진 배로부터 2-step 재분화에 의한 소포자 유래 반수체 또는 배가반수체 식물체를 생산하는 방법 특허출원(10-2018-0165010) 및 등록(10-2242581호)
6. 고추 및 파프리카 소포자배양 조건 확립과 소포자유래 배발생 및 식물체 획득, 효율증진을 위한 전처리기술 개발을 활용한 석사학위 논문투고 및 학회지 투고

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
프로젝트명	가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립			
프로젝트 연구기관	국립원예특작과학원	프로젝트연구책임자	양은영	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	716,000,000	100,000,000		816,000,000
연구개발기간				
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타 <input type="checkbox"/> 미활용 (사유: _____)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 소포자배양기술확립	1. shed-소포자 배양시 저온처리 유, 무: 무처리시 배발생 증가 2. shed-소포자 배양시 과색이 Red와 Yellow계열에서 배발생 효율 증가, 세대에서는 F1에서 배발생 효율증가 3. Shed-소포자 배양시 적정봉오리선택: 꽃잎과 꽃받침의 길이가 1:1에서 2:1정도의 봉오리선택 4. Shed=소포자 배양시 배양배지는 Nitsch배지로 하였을 때 높은 배발생율을 보임 5. Shed-소포자 배양시 Zeatin과 NAA를 고체배지에 첨가했을 때 배발생이 가장 높았음 6. Shed-소포자배양시 L-ascorbic acid 10ppm을 Nitsch+2%Maltose 배지에 첨가하였을 때 배발생이 관찰됨 7. 나출소포자 배양시 전처리배지 0.37M Mannitol에서 배발생율 높음 8. 나출소포자 배양시 과색은 Yellow계열, 품종은 요리트에서 배발생이 높음 9. 나출소포자 배양시 배지는 NLN+10%sucrose가 배발생에 적합한 배양배지임이 확인됨 10. 나출소포자 배양시 소포자나출을 위해 사용된 container는 기존에 사용하던 것 이외는 소포자 농도가 낮거나, cluster가 많이 발생하여 배발생을 저하시킴 11. 나출소포자 배양시 전처리배지에 오염원 제거를 위해 Streptomycin항생제를 사용했을 때 효과적임

	12. 나출소포자 배양시 L-ascorbic acid 1ppm을 전처리단계에 처리했을 때 배발생이 관찰됨
② 유기배상체의 정상식물체 확립	<ol style="list-style-type: none"> 1. 재분화효율 : 1/2MS배지에 호르몬 처리하지 않았을 경우 재분화, 순화 효율 증가함 2. 1/2MS배지에 BA를 처리하였을 때 요리트, 발타사(B2TS)품종이 재분화능력이 높게 나타남 3. ELS로부터 식물체 유도: 0.2mg/L Kinetin에서 효과적으로 유도됨 4. 1차로 90*20mm 배양용기에 옮김 5. 작은 식물체는 7-10일 짧은 단위로 MBN(MS+1ppmBA+0.02ppm NAA)배지에 여러번 옮김 6. 크기가 큰 식물체는 1/2MS No hormone배지에 옮김
③ 파프리카 소포자유래 DH line 식물체 250점 서비스	<ol style="list-style-type: none"> 1. 전북농업기술원 군산 파프리카 연구소에 2017~2021기간동안 417개체 식물체 분양함 2. 삼성종묘에 소포자유래식물체로부터 얻은 종자 149립 분양함
④ 십자화과 소포자유래 DH line 식물체 3,500점 서비스 .	<ol style="list-style-type: none"> 1. 2017~2021 기간동안 대일국제종묘에 무 545개체, 배추 2,502개체 분양함 2. 2017~2021 기간동안 국립원예특작과학원에 무156개체, 배추 389개체 분양함 3. 2017~2021기간 동안 충남대학교에 뿌리배추 58개체 분양함 4. 2017~2021기간 동안 한국종묘에 무*배추 22개체, 배추 770개체 분양함 5. 2017~2021기간동안 (주)코레곤에 배추 13개체 분양함 6. 2017~2021기간동안 진흥종묘에 배추 135개체 분양함 7. 총 2017~2021기간동안 6개 기관에 무, 배추, 무*배추를 4,590개체 분양함

3. 연구비 집행실적 (2017~2021 누적)

구분	세부프로젝트명	금액	계획금액	사용액	잔액	비고
고추	고추 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급		316,000	309,688	6,312	
	파프리카 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급		500,000	497,663	2,337	
총계			816,000	807,351	8,649	

4. 연구목표 대비 성과

구분	품종개발		특허		논문			유전자원		DH계 통 식물체 유기 서비스	DH계 통 식물체 유기 서비스	기술 이전	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비S CI	학 술 발 표	수 집	등 록					
최종목표			1	1	1					500	3500			
최종실적			1	2	0		7			1,809	4,590			
달성율(%)			100	100	0					100	100			
1 차 년도	목표									100	300			
	실적						3			257	604			
	달성률									100	100			
2 차 년도	목표									100	500			
	실적						3			316	523			
	달성률									100	100			
3 차 년도	목표			1						100	700			
	실적			1			1			378	1,005			
	달성률									100	100			
4 차 년도	목표									100	1,000			
	실적									307	1,336			
	달성률									100	100			
5 차 년도	목표									100	1,000			
	실적									551	1,168			
	달성률									100	100			

5. 핵심기술

구분	핵심기술 명
①	마이크로포닉 순화시스템(Microponic Acclimatization System) 특허
②	고추 shed 소포자 배양에 의해 얻어진 배로부터 2-step 재분화에 의한 소포자 유래 반수체 또는 배가반수체 식물체를 생산하는 방법 특허
③	고추 및 파프리카 나출 소포자 배양 기술
④	고추 및 파프리카 shed 소포자 배양 기술
⑤	고추 및 파프리카 소포자 유래 식물체 및 식물체 후대 종자
⑥	유기배상체로부터 얻은 정상식물체 확립 기술

6. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장으로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		v				v				
②의 기술		v				v				
③의 기술					v					v
④의 기술					v					v
⑤의 기술		v				v				v
⑥의 기술					v					v

7. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	유기배상체로부터 대량의 식물체를 얻은 경우 마이크로포닉 순화시스템을 활용하여 DH line 식물체를 다양한 기관에 서비스할수 있음
②의 기술	shed 소포자 배양 기술 중 재분화 단계를 개선하여 재분화 효율 증진 가능
③의 기술	아직 고추 및 파프리카 소포자나출을 위해 사용되는 container는 하나밖에 없어 이를 이용하여 짧은 시간내에 DH line식물체를 생산해낼수 있다.
④의 기술	약배양과 소포자 배양의 중간 단계인 shed 소포자 배양기술은 나출 소포자 배양에 비해 소요시간은 길지만 과정이 간단하고 응용이 쉬워 소규모의 민간종묘회사나 개인육종가에 기술이전이 가능함
⑤의 기술	다양한 모식물에서 유래한 배가반수체 당대 및 후대식물체 보유로 육종소재 pool 확대 가능
⑥의 기술	유기배상체를 적정배양배지(MBN)에 옮겨 정상식물체유도율을 높여 육종연한 단축에 도움되는 DH line 식물체를 대량 얻을 수 있을 것으로 기대

8. 연구종료 후 성과창출 계획

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		DH계통 서비스	DH계통 식물체 유가서비스	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표			1	1	1					500	3,500			
연구기간 내 달성실적			1	2	0					1,809	4,636			
연구종료 후 성과창출 계획					1									

<붙임 3> (프로젝트) 프로젝트별 현장실태조사보고서 및 자체평가보고서

프로젝트별 현장실태조사표

2021. 12. .

1. 과제개요

과제번호	213006-05-5-CGd00	연구기간	2017년 1월 ~ 2021년 12월(총 5년)		
사업단명	GSP 채소종자사업단				
프로젝트명	가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립				
세부프로젝트 연구기관	세부프로젝트명	연구기관	세부프로젝트 책임자	해당 연구개발비(천원)	
	고추 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급	국립원예특작과학원	양은영	73,000	
	파프리카 육종 효율성 향상을 위한 육종소재 개발 및 보급	유니플랜텍	윤여중	80,000(20,000)	
연구개발비총괄 (단위 : 백만원)	정부출연금	참여기업 부담금			합 계
		현금	현물	소계	
1차년도	140,000	2,000	18,000	20,000	180,000
2차년도	140,000	2,000	18,000	20,000	180,000
3차년도	140,000	2,000	18,000	20,000	180,000
4차년도	143,000	2,000	18,000	20,000	183,000
5차년도	153,000	2,000	18,000	20,000	193,000
합계	716,000	10,000	90,000	100,000	916,000

2. 연구추진실적(현재까지 추진실적)

가. 연구개발내용

연구기관	주요연구내용	연구개발비 (천원)	가중치 (%)
국립원예특작과학원	○ 고추 shed 소포자 배양 재분화율 향상 실험 - 암처리 기간 연장에 따른 재분화율 증대실험 ○ 민간종묘회사 및 자체보유 자원대상 소포자 배양 수행 - 고추와 육종 등 외부 의뢰품종 10품종 - 자체 선발자원 및 시판종 20품종	73,000	100
(주)유니플랜텍	○ 향산화제에 따른 배발생율 조사 ○ 기본배지에 따른 배발생율 조사 ○ Shed-소포자 배양/나출 소포자유래배 정상식 물체 유도를 위한 향산화제 농도 조사 ○ Shed-소포자배양/나출소포자 배양을 통한	100,000	100

	DH line 유기 및 서비스 ○ 소포자 유래배 DH line서비스		
--	--	--	--

나. 연구계획대비 진도표

개발내용	구분	연구 개발 기간(월)												진도 (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
○ 고추 shed 소포자 배양 재분화율 향상 실험		→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○ 민간중묘회사 및 자체보유 자원대상 소포자 배양 수행				→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	100
○ Shed-소포자배양 기본배지테 따른 배발생율 조사		→	→	→	→	→	→	→						100
○ 향산화제에 따른 shed-소포자배양/나출소포자배양에서 배발생율 조사		→	→	→	→	→	→	→						100
○ Shed-소포자배양/나출소포자 배양을 통한 DH line유기 및 서비스				→	→	→				→	→	→	→	100
○ 십자화과 소포자유래배 배상체의 정상식물체 유기에 향산화제가 미치는 영향					→	→			→	→	→			100
○ 십자화과 소포자 유래배 DH line서비스		→									→	→	→	100
총 진도율														100%
* → 로 진도표기														

3. 연구개발비 집행실적(연구개발비 기준)

(현재까지, 단위 : 천원)

<총괄>

비목	금액		계획금액	사용액	잔액	비고	
	세목						
직접비	내부인건비 (이월금)	미지급					
		지급	현금	105,443 (8,857)	107,032	7,268	
			현물	18,000	18,000	-	
	외부인건비	미지급					
		지급	현금				
			현물				
	연구 지원인력인건비						
	학생인건비						
	인건비 소계			123,443 (8,857)	125,032	7,268	
	연구시설장비비	현금	일반	400	385	15	
			통합관리				
		현물					
	연구활동비 (이월금)			5,228 (255)	5,004	479	
	연구재료비 (이월금)			32,129 (407)	32,249	479	
	연구수당			11,800	11,800	-	
위탁연구개발비							
직접비 소계 (이월금)			173,000 (9,519)	174,470	8,049		
간접비	간접비						
연구개발비 총액 (이월금)			173,000 (9,519)	174,470	8,049		

<1세부>

비목	금액		계획금액	사용액	잔액	비고
	세목					
직접비	내부인건비 (이월금)	미지급				
		지급	현금			
			현물			
	외부인건비	미지급		47,843 (8,857)	51,164	5,536
		지급	현금			
			현물			
	연구 지원인력인건비					
	학생인건비					
	인건비 소계			56,700	51,164	5,536
	연구시설장비비	현금	일반	400	385	15
			통합관리			
		현물				
	연구활동비			4,728	4,249	479
	연구재료비			13,029	12,747	282
	연구수당			7,000	7,000	-
	위탁연구개발비					
직접비 소계			73,000 (8,857)	75,545	6,312	
간접비	간접비					
연구개발비 총액 (이월금)			73,000 (8,857)	75,545	6,312	

<2세부>

비목	세목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고	
직접비	내부인건비	미지급						
		지급	현금	57,600	55,868	1,732		
			현물	18,000	18,000	0		
	외부인건비	미지급						
		지급	현금					
			현물					
	연구 지원인력인건비							
	학생인건비							
	인건비 소계							
	연구시설장비비	현금	일반					
			통합관리					
		현물						
	연구활동비 (이월)				500 (255)	755	0	
	연구재료비 (이월)				19,100 (407)	19,502	5	
	연구수당				4,800	4,800	0	
위탁연구개발비								
직접비 소계				100,662 (662.763)	98,925	1,737		
간접비	간접비							
연구개발비 총액								

4. 참여기업 재무현황(현재기준)

사업자등록번호		대표자	윤여중
설립년도	2006	주요생산품	원예종묘
실무책임자	윤여중	연락처	
주소			
자본금	10천만원		
연간 매출액	38천만원	수출액	0.5천만원
연구개발투자비용	천만원	매출액대비 비율	%
총 종업원수	8명	연구가용인력	3명
재무상황			
프로젝트 책임자의 종합의견	제반서류 확인. 이상없음.		

5. 기타의견

해당사항 없음

6. 프로젝트 책임자의 종합의견

계획대로 추진되었음

자체평가보고서

사업단명	GSP 채소종자사업단	과제번호	213006-05-5-CGd00		
프로젝트명	가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립				
프로젝트연구기관	국립원예특작과학원				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	양은영			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	국립원예특작과학원	성명	양은영
		기관(부서)	유니플랜텍	성명	윤여중
연구기간	총 기간	2017.1.1.~2021.12.31	당해 연도 기간	2021.1.1.~2021.12.31	
연구비(천원)	총 규모	916,000	당해 연도 규모	193,000	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행
 계획대로 진행
 계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상외 성과 얻음
 어느 정도 얻음
 얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	DH계통 서비스	DH계통 식물체 유기체	기술 이전	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI						
최종목표			1	1	1			500	3,500			
연구기간 내 달성실적			1	2	0			1,809	4,636			
달성율(%)			100	100	0			100	100			

3. 연구개발 성과 세부 내용

3-1 기술적 성과

<1세부>

1. 고추 나출 소포자 배양방법

- 모식물 관리는 저광도에서 단기간 재배하는 것이 좋음
- 전처리 온도 및 기간 구명 (32℃에서 3일간)
- 배지 내 차콜농도는 농도가 높아질수록 배발생을 감소함
- 액체배양, 이층배양, 2-step 배양 중 품종에 따라 적합한 선택이 필요함

2. 고추 shed 소포자 배양 방법

- 전처리 온도 및 기간 구명 (9℃에서 7일간)
- 저온처리 기간에 따른 배발생은 배발생 효율 및 정상자엽배 획득 측면에서 9일 처리가 가장 좋음
- 교체배지 종류 : NLN > 1/2NLN > NN > MS
- 기아 전처리(maltose 농도)에 따른 배발생 효율 : 전처리배지 0%+추가배지4% > 전처리배지1%+추가배지3% > 전처리배지2%+추가배지 2%

○ 품종에 따른 배지 pH : 밀양재래 전처리배지 6.0 - 배양배지 6.0, 7QF4, 7QF9 전처리배지 8.0 - 배양배지 8.0

- 탄소원 종류는 sucrose, maltose간 차이 없음
- 탄소원(sucrose) 농도 : 밀양재래 6%, LV2319 4%, Long fruit 6,10% → 품종에 따라 다름
- 재분화조건 개선

3. 고추 소포자 유래 반수체/배가반수체 생산 및 보급

○ 나출/shed 소포자 배양 2 track 시스템 이용 민간회사 및 대학 의뢰 29품종 대상 5년간 1243점의 식물체 획득 및 분양 완료

○ 고추 소포자 유래 식물체의 육종 소재화를 위해 재분화 당대 및 후대 식물체의 주요 원예적 특성 평가 및 D/B화 완료

<2세부>

1. 나출-소포자 배양조건 확립

- 전처리배지의 Mannitol농도는 0.37M에서 배발생이 높음
- 품종 : Yellow계열에의 F₁품종 요리트에서 배발생이 높음
- 배양배지는 NLN+10%Sucrose에서 36.7%로 정상배 발생이 높음
- 호르몬처리에 따른 배형성율: L-ascorbic acid 1ppm을 전처리 단계에 처리했을 때 배발생이 관찰됨
- 고속회전 Blander의 기계적 문제로인하여 사용기간이 길어짐에 따라 오염 증가
- 오염원 제거 항생제 효과 :Streptomycin 효과적이나 배발생율이 낮음
- Container에 따른 소포자 나출효과: 기존사용하던것 이외는 소포자 농도가 낮거나, 배양했을 때 cluster가 많이 발생하여 배발생을 저하시킴으로 안정적 대체 방법 필요

2. Shed-소포자 배양조건 확립

- 봉오리채집: 겨울에 채집하는 것보다 여름에 채집한 봉오리가 배발생율이 높음
- Shed-culture 적정배지로는 Nitsch배지에 2%Maltose+1%Charcoal+0.6%Plant agar배지에 2.5uM Zeatin과 5uM NAA를 첨가하고 액체배지로 No hormone을 이용하였을때 배발생이 높았음
- 또한 L-ascorbic acid 20ppm, Cystein 30ppm을 처리했을 때 배발생에 영향을 미침 Red와 Yellow 계열에서 배발생이 높았고, 공시한 전 품종에서 배발생이 가능하여 나출 소포자보다 안정적으로 DH line유도 방법으로 적합함

3-2 과학적 성과

- 조직배양 식물체의 대량순화 시스템을 특허 출원하였음(특허 등록 제10-1960860호)
- 고추 shed 소포자 배양에 의해 얻어진 배로부터 2-step 재분화에 의한 소포자 유래 반수체 또는 배가반수체 식물체를 생산하는 방법을 특허 출원하였음(특허 등록 제10-2242581호)

3-3 경제적 성과

- 고추 소포자 유래 식물체 1,243점, 파프리카 DH line 566 line, 십자화과, 무, 배추, 박초이 등 총 4,636개 DH line 서비스로 소규모 종자회사에 DH line 서비스로 육종소재 확보에 공헌함

3-4 사회적 성과

- 소규모 육종회사의 inbreed lind 확보를 위해서는 9~10년의 자가교배를 통하여 획득하거나 국내, 중국 등 대규모 채종포에서 발생하는 모계 부계의 출현을 채집하여 이용하는데, 이경우는 법적으로 저축될 소지가 있어 합법적이면서 단기간내에 inbreed line을 확보할 수 있는 방법으로 사회적 문제도 해결 가능할 것으로 판단됨

4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음
 현재로서 불투명함
 그렇지 않음

5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음
 현재로서 불투명함
 그렇지 않음

6. 얻어진 성과와 발표상황

6-1 경제적 효과

- 기술료 등 수익 수 익 :
 기업 등예의 기술이전 기업명 :
 기술지도 등 기업명 :

6-2 산업·지식재산권 등

- 국내출원/등록 출원 1 건, 등록 2 건
- 해외출원/등록 출원 건, 등록 건

6-3 논문게재·발표 등

- 국내 학술지 게재 건
- 해외 학술지 게재 건
- 국내 학·협회 발표 7 건
- 국내 세미나 발표 1 건
- 기 타 건

6-4 인력양성효과

- 석 사 1 명
- 박 사 명
- 기 타 명

6-5 수상 등

- 있다 5 건 (국제중자박람회)
- 없다

6-6 마스크 등의 PR

- 있다 1 건
- 없다

7. 연구개발 착수 이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

- 없다 약간 감소되었다 크게 감소되었다

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오.

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡

(근거 : DH line 획득에 Shed-culture를 이용할 경우 유전자형, 실험실의 환경, 모본의 재배환경에 크게 영향받지 않고 안정적으로 DH line 확보가 가능하다.)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구 성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

나. 연구 성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분 보통 불충분

나. 향후 계속 참여 의사는? (※중간·단계평가에 한함)

- 충분 고려 중 중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는? (※중간·단계평가에 한함)


- 확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 지연/불가능한 경우 그 이유는?

- 소규모 종자회사에서 DH line의 필요성은 매우 높으나, 관행육종에 의한 방법이나, F₁의 대량전개에서 획득되는 inbreed line(지적 재산권에 영향을 받음)을 이용하는 경향이 많아 기업화 할 수 있는 금액을 투자하지 않음
- 소규모 종자회사에서 전국의 채종포나 중국의 채종포에서 inbreed를 획득하는 것은 불법의 소지가 있어 지향되어야할 부분이다.
- 현재 육종소재가 빈약한 우리나라로서는 소규모 종자회사에 지속적인 서비스가 필요한 부분이며, 합법적인 Inbreed line 확보방법인 소포자배양을 통한 DH line 확보에 관한 연구 및 서비스가 진행되어야 한다.
- 소규모 종자회사에서 필요로하는 DH line의 서비스는 공공연구기관, 지방 연구기관, 농업기술 센터 등에서 지속적으로 서비스가 진행될 필요가 높다.

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	국립원예특작과학원	농업연구사	양은영  (인)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 연구개발사업 가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립 연구개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 연구개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.