

발 간 등 록 번 호

11-1541000-001288-01

고추분자마커사업단

Center for Pepper Molecular Marker (PMM)

(주)에프앤피 부설 기술연구소

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “고추분자마커사업에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2012 년 2 월 일

주관연구기관명 : (주)에프앤피 부설기술연구소

주관연구책임자 : 김 신 제
세부연구책임자 : 김 학 용
세부연구책임자 : 남 영 우
세부연구책임자 : 박 용 주
세부연구책임자 : 백 운 돈
세부연구책임자 : 서 성 원
세부연구책임자 : 안 정 환
세부연구책임자 : 윤 길 영
세부연구책임자 : 이 문 호
세부연구책임자 : 이 철 희

요 약 문

I. 제 목

고추분자마커사업단

II. 연구개발의 목적

본 고추분자마커 사업단의 최종 목표는 고추에서 10개 이상의 분자마커를 개발하여 유용한 계통과 신품종 육성에 활용하며 그 결과로 10개 이상의 유용형질을 보유한 계통과 10개 이상의 신품종을 육성하는 것임

1. 2,700개 이상의 SSR 마커가 집적된 초고밀도 유전연관지도 작성과 10개 이상의 분자마커 개발로 MAS 체계 확립 및 다양한 형질의 RIL 및 탄저병 저항성 재료육성
2. 분자마커를 이용한 내병성 계통 육성 및 10개 이상의 품종 개발
3. 고추분자유종을 위한 마커분석, 병리검정 지원 및 분자마커 데이터베이스 구축

III. 연구개발 내용 및 범위

<PART I> 유전연관지도 작성과 분자마커개발 분야

1. 고추의 중간·종내 집단을 이용하여 2,700개의 SSR 마커를 보유한 유전자 연관지도 구축
2. 고추(*Capsicum annuum*) BAC library FP11BAC/B를 이용한 Comparative map 작성
3. 형질관련 마커 중 내병성의 경우 곰팡이병인 역병, 세균병인 풋마름병 마커를 우선적으로 개발하고 종자 생산 단가를 줄일 수 있는 회복인자와 유전자적 음성불임 관련 인자에 관련된 마커를 개발함. 형질관련인자가 단인자일 경우 BSA를 이용한 RAPD, AFLP, SRAP 등의 다형성 분석을 통해 마커를 개발하고 병저항성과 같이 QTL일 경우 QTL 분석을 통한 저항성 QTL 연관마커를 개발하여 유용성을 검정 후 MAS에 적용함
4. *C. annuum* x *C. chinense*, *C. annuum* x *C. frutescense* 각 조합별 RIL 육성 및 원예적 특성조사. 또한 PI594137 (*C. baccatum*)으로부터 *C. annuum*으로 탄저병 저항성 도입을 통한 Introgression line육성으로 탄저병저항성 풋고추, 건고추, 착색단고추계통 중간모본육성 분양 및 탄저병저항성 집단 육성

<PART II> 분자마커를 이용한 신품종 육성

1. 교배와 분리세대의 선발을 위주로 진행되는 전통육종방법에 분자마커를 이용하여 선발하는 MAS(Marker assisted selection)체계의 확립
2. 바이러스, 세균성반점병, 역병, 청고병에 내병성인 계통 육성 및 품종을 개발
3. 역병과 CMV, TMV 등에 복합 저항성을 가지는 품종을 개발
4. 복합내병성 수출용 고추 품종육성 및 대목품종을 개발

<PART III> 마커분석, 병리검정 지원 및 분자마커 데이터베이스 구축

1. 계통육성 및 품종개발을 위한 분자마커 분석 지원
2. 분자마커 개발 및 신품종 육성을 위한 내병성 생물검정 지원 : 역병, 바이러스 (CMV), 세균

성반점병, 청고병, 탄저병에 대한 저항성 검정

3. 고추의 기내 약배양 방법을 이용하여 Doubled Haploid Line 및 미숙배 배양을 이용한 Introgress Line 육성
4. 고추분자마커 데이터베이스 구축 및 웹기반의 서버 구축과 홈페이지 제작

IV. 연구개발결과

<PART I> 유전연관지도 작성과 분자마커개발 분야

1. 총 3,050개의 마커가 집적된 세계에서 가장 밀도가 높은 초고밀도 유전연관지도를 작성하여 특허출원하였음
2. 역병 및 청고병 유전집단을 이용한 유전연관지도를 작성하여 분자마커개발에 활용하였음
3. 고추(*Capsicum annuum*) BAC library를 제작하였음
4. 역병, 청고병, 회복인자, 응성불임 등의 형질과 연관된 분자마커를 개발하기 위하여 총 19개의 유전집단을 육성하였으며 각 집단에 대한 마커개발을 수행하였음
5. 역병 연관마커인 M07, N33 및 FPTY를 개발하였으며, 회복인자 연관마커 Rf35, GMS 인자와 연관된 4개의 마커 MS509, MS3, MSK, MSI를 개발하여 MAS 체계를 확립하였음
6. 청고병 저항성 QTL 마커인 N3505와 역병 저항성 육성 집단에 활용가능한 CMV-Co1 마커를 개발하였으며 매운맛 마커 (PH5-2)와 Bs2 마커를 개선하여 MAS 체계를 확립하였음
7. 고밀도 유전자지도 작성을 위한 Recombinant Inbred Line을 육성하기 위하여 *C. annuum* x *C. chinense* 114개, *C. annuum* x *C. frutescens* 161개 RIL을 육성하였음
8. 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression line 육성을 위해 PI594137 (*C. baccatum*) x PR29B (*C. annuum*)의 Backcross세대 후대에 대한 탄저병 재료 선발결과 12개의 저항성 개체를 선발함

<PART II> 분자마커를 이용한 신품종육성

1. 바이러스 저항성 7계통, 세균성반점병 저항성 3계통, 역병 저항성 10계통을 육성하였으며 청고병에 저항성인 3개 조합을 선발하였음. 그중 세균성반점병, 청고병, 역병, CMV 내병성 계통 각 1계통을 유전자원 등록할 예정임
2. 바이러스 저항성 2품종 (더블진, 홍대플러스)을 품종출원하였고. 더블진은 극대과종으로 바이러스에 강하고 숙기가 빠르며 건과품질이 우수하고 신미는 중정도임. 홍대플러스는 바이러스 (CMV C₀ strain)에 매우 강하고 극대과종으로 중생종이며 다수성으로 건과품질이 우수하고 신미도는 강함
3. 역병 저항성 3품종 (신파워불사조, 아우토반, 천하일색)을 개발하여 품종보호출원 하였음
4. 신파워불사조는 역병과 바이러스에 강한 복합저항성 품종으로 신미가 강하고 건과품질이 우수한 품질계로 과는 중대과에 속함
5. 아우토반품종은 역병과 바이러스에 강한 복합저항성 품종으로 다수성이며 건과품질이 우수하고 신미가 강하며 재배적응성이 높은 품종이며 전국 대부분에서 재배가 가능한 품종임
6. 천하일색 품종도 역병과 바이러스에 저항성인 복합내병성 품종으로 특히 바이러스에 강하여 재배안정성이 우수하며 다수성 품종임
7. 본 연구의 결과 역병, CMV, TMV 복합내병성 품종을 육성하기 위한 계통으로 역병 내병성 응성불임계통 24계통, CMV내병성 MS계통 3계통 등 27개의 응성불임계통을 육성하였으며,

CMV내병성 C-line 100여 계통, TMV(P3)저항성 17계통, 역병 내병성 60여 계통을 육성하였음. 이중 복합내병성 계통 HN-511, HN-513, PR-42, PR-55, PR-59 5계통을 유전자원 등록 예정임

8. 이 계통을 이용하여 역병·TMV(P3) 복합내병성이면서 매운맛이 강하고 건과품질이 우수한 ‘PR드래곤’을 개발하였으며, 역병·CMV복합내병성 품종으로 숙기가 빠르고 건과품질이 좋으며 석회결핍에 강한 ‘역강홍2호’, 역시 조생종으로 신미가 강한 ‘PR308’, 초세가 강하고 매운맛이 강하며 수량성이 좋은 ‘ECO-F79’등을 개발하여 품종보호 출원하였음
9. 이 중에 ‘PR드래곤’은 2011년 4월 15일자로 품종보호등록을 완료하였고 나머지 품종들은 절차 진행 중임
10. 내병성 유전자원은 기 보유중인 계통과 국내외에서 수집 선발된 계통을 분자마커 및 생물검정을 이용하여 내병성 여부를 판별한 후 원예적 형질이 우수한 3 계통 (역병·CMV 1계통, 역병·TMV 1계통, 풋마름병 1계통)을 유전자원 등록하였음
11. 대목용 품종은 분자마커를 이용하여 육성된 계통을 조합 작성하여 예비조합 선발 시험을 거쳐 농가 실증 시험 후 역병 대목용 1품종 (뉴라이프), 풋마름병 및 역병 복합 내병성 1품종 (RS902), 총 2품종을 품종보호출원 하였음
12. 복합 내병성 품종보호신청은 역병, 풋마름병, 바이러스병 등에 2개 이상 복합저항성인 품종을 3품종 (강력대통, 적벽대전, 웅고집) 품종보호출원 하였음
13. 중국과 인도에 품종보호 출원제도가 아직 없어 품종보호 대신 판매를 목표로 하고 한국에 3품종 (NUN0035-인도, 한원 18호-중국, LAHAB-네덜란드 및 유럽)을 품종보호출원 하였으며 추후에 인도, 중국에 품종보호 출원제도가 정착 시 현지 국가에 품종보호출원 할 수 있도록 할 것임

<PART III> 마커분석, 병리검정 지원 및 분자마커 데이터베이스 구축

1. 본 연구과제는 고추육종을 위하여 분자마커 분석, 병 검정 및 약배양과 배배양을 지원하는 것이 목표임. CMV, TMV, Bs2, 역병 (M07-CAPS, N33, FPTY), 매운맛, 회복인자, GMS (MSK, MS3, MS509, MSI) 총 12개의 분자마커를 분석하였으며 CMV, 역병, 탄저병, 세균성반점병, 청고병 총 5가지의 병검정을 수행하였음
 - 마커분석은 매년 5,000여점씩 분석하여 총 25,000여점 분석
 - 생물검정은 5가지 병에 대해서 13만여 점 검정 서비스 하였음
2. 약배양으로 1,328개체, 배배양으로 136개체의 식물체를 분양함으로써 육종을 지원하였음
3. 품종육성을 지원하기 위한 DB 구축 및 정보 제공을 위하여 4차년도부터 고추분자마커 사업단 홈페이지를 운영하였음. 고추분자마커 데이터베이스 구축 및 정보제공으로 관련 연구개발의 효율성을 증대시킴

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 본 과제를 통하여 개발된 2,700개 이상의 SSR 마커가 집적된 초고밀도 유전연관지도 및 BAC 라이브러리는 새로운 형질관련 분자마커를 개발하는데 소요되는 시간 및 비용을 절감시키고 Genome Wide Selection을 가능하게 함. 또한 원연간의 다양한 교배조합을 이용

해 육성된 유전집단들, DH 라인, RIL 집단 등을 활용하여 분자마커와 형질의 관계를 밝히는데 활용될 것임

- 본 과제를 통해 개발된 RIL 계통은 유전자지도 작성 및 이를 활용한 분자마커개발에 활용되고 연구 종료 후에도 국내용 품종개발 뿐만 아니라 수출용 품종 개발 등에 지속적으로 활용되며, 전통육종방법에 편중된 개인육종가나 소규모 종자회사의 육종기술력 제고로 국제적인 경쟁력을 확보토록 할 것임. 또한 탄저병 저항성 재료개발은 추후 지속적으로 연구를 수행하여 탄저병 저항성 품종을 개발하는데 중요한 육종소재로 활용할 수 있을 것임
- 본 연구를 통해 개발된 분자마커 및 유전연관지도는 지속적인 홍보로 관련업계에 기술이전을 통해 사업화함. 또한 자체기술실시로 종자회사에 분석지원 함으로써 실질적인 육종지원을 수행할 예정이며 본 연구를 통해 구축된 데이터베이스는 본 연구결과에서 축적된 고추 분자마커와 유전체 정보를 활용하기 위하여 데이터베이스와 연동 가능한 웹 포털 서비스를 구축하고 웹서버를 통해 지속적으로 관리함으로써 고추 유전체 관련 사업에 정보를 제공함
- 본 과제를 통해 육성된 내병성 계통을 이용하여 인도, 중국 및 기타지역의 복합 내병성 품종을 보다 효과적이고 신속하게 육성할 수 있을 것으로 생각됨. 지금까지는 전통육종 방법을 이용하여 계통 및 품종을 육성함으로써 시장의 변화 요구에 빠르게 대처 할 수 없었음. 하지만 본 과제가 수행되는 동안 축적된 전통육종과 분자육종의 결합은 타 연구에 있어서도 시행착오를 줄일 수 있고 보다 신속히 신품종을 육성할 수 있음. 신속한 복합 내병성 품종육성은 주 목표시장에서의 시장 선점뿐만 아니라 고부가가치 사업으로 확대 할 수 있는 계기가 될 것임
- 본 과제를 통해 육성된 신품종은 산업화하여 보급하고 있으며 유전자원 및 육성계통은 세부과제 수행 연구기관에서 연구 종료 후 국내용 품종개발뿐만 아니라 수출용 품종 개발 등에 지속적으로 활용 가능함. 본 과제를 통해 전통육종방법과 분자표지기술을 접목함으로써 품종육종의 효율성을 제고하며 전통육종방법에 편중된 개인육종가나 소규모 종자회사의 육종기술력 제고로 국제적인 경쟁력을 확보토록 할 것임
- 또한 본 과제에서 개발된 신품종들은 각 목표시장에 적합하도록 적극적으로 개발한 것으로 품종이 시장에 정착될 수 있도록 판매망을 확보할 계획이며 적극적인 홍보 및 판촉을 할 계획임. 국내 시장 뿐만 아니라 인도 및 중국 시장을 겨냥해 개발한 품종 또한 각 시장에서의 판매망 확보로 국가종자수출산업에 기여할 것임

SUMMARY

<PART I >

1. We have been constructing two genetic linkage maps for pepper using the SSR markers and F₂ populations derived from interspecific population of FP11 (*C. annuum*) × FP13 (*C. chinense*) and intraspecific population of FP12 (*C. annuum*) × FP16 (*C. annuum*), respectively. In the interspecific population, a total of 190 F₂ individuals were subjected to construction of the genetic linkage map with 2,328 markers. The SSR markers consisted of these from BAC end sequencing (BES), EST sequences and public sources, respectively. In the intraspecific population, a total of 190 F₂ individuals were subjected to construction of the genetic linkage map with 605 markers. We used total 2,933 markers for construction of an comparative map with MapDisto 1.7b using the MapChart 2.2 program. This interspecific map [FnP(AC)] was consisted 12 linkage groups covering 6,651 centimorgans (cM) on the LOD 6 with average interval distance of 2.9 cM. The intraspecific map [FnP(AA)] was consisted 14 linkage groups covering 3,001 cM on the same LOD score with average interval distance of 5.4 cM. The high density Comparative pepper map constructed will be used for Marker-Assisted breeding and genetic reference for Capsicum species.

2. A requirement of molecular markers has been dramatically increased in any breeding program. It is important in pepper breeding program to select lines with multiple disease resistance and male sterility. 1) *C. annuum* of AC2258, PI201232, PI201234 and CM334 are well-known resources of resistance to *Phytophthora capsici*. We performed QTL analysis and developed three markers, M07-CAPS, N33 and FPTY. 2) The genic male sterility (GMS) marker was developed using the four populations, MS509, MS3, MSK and MSI. We performed BSA-RAPD and BSA-AFLP using the populations after bioassay, obtaining four markers MS509, MS3, MSK and MSI. 3) Cytoplasmic male sterility (CMS) is restored by a specific nuclear gene: fertility restorer (Rf) gene. We collected accessions which restored fertility successfully and reported these distinct molecular markers elsewhere. We cultivated three populations' fprf101, fprf102 and fprf103. We developed the Rf marker, Rf35, by modifying the sequence derived from public domain. 4) We have been developing the markers for *Ralstonia solanacearum* resistance by QTL analysis. Using all of above markers, we have established basis for MAS system for pepper breeding.

3. We have obtained 114 RILs from *C. annuum* × *C. chinense* population and 161 RILs from *C. annuum* × *C. frutescens* population. And we have selected 12 anthracnose resistant introgression lines which were derived from PI594137 (*C. baccatum*) × PR29B (*C. annuum*) populations. We will provide the RILs to the Fungi and Plants Co., Ltd research team to develop genetic map, and we will improve the anthracnose resistant introgression lines for breeding anthracnose resistant varieties.

<PART II>

1. In this research breeding of lines resistant to diseases, such as CMV, bacterial leaf spot, phytophthora blight, bacterial wilt were performed. We obtained 7 lines in the first disease, 3 in the second, 10 in the third and 3 in the last disease. Two virus resistant varieties (Double Gun and Hongdae Plus) were developed. Double Gun has very large fruits with early maturity, good powder quality, medium pungency and moderate to high resistance. Hongdae Plus has high resistance to virus (CMV C₀ strain), and produces very large fruits with medium maturity, high productivity, strong pungency and excellent powder quality. Three phytophthora resistant varieties were developed (Sinpowervulsarzo, Autobahn, Cheonhailsaek). Sinpowervulsarzo has multiple resistance to phytophthora and virus, produces medium large fruits with high pungency and good powder quality. Autobahn has resistance to virus and phytophthora, and yields productive fruits with high pungency and good powder quality. It can be grown nationally due to its high stability to environments. Cheonhailsaek has also multiple resistance, especially highly resistant to virus, and has high stability and high yields.

2. To develop varieties with multiple resistance to phytophthora, CMV and TMV, we have selected 24 phytophthora resistant MS-lines, 3 CMV resistant MS-lines, 100 CMV resistant R-lines, 17 TMV (P3) resistant R-lines and 60 phytophthora R-lines. Also, we have selected three phytophthora-CMV resistant varieties, 'Yeokganghong II', 'PR308' and 'ECO-F79', and one phytophthora-TMV(P3) resistant variety, 'PR Dragon'. The 1st in conclusion, total 4 hybrids have been developed through this research and some of them are under commercial production or larger trials. Total 4 selected varieties which are partly under commercial production or under wider trials will be sold domestic market as well as globally where the market requires these kind of varieties.

3. The evaluation of disease resistant germplasm involved examination of resistance of local and international lines by using molecular markers and the bioassays. Then resulting three resistant lines with excellent horticultural traits were obtained (one multiple line to phytophthora and CMV, one to phytophthora and TMV, and one to bacterial wilt). Rootstock varieties for phytophthora resistance (New Life) and multiple resistance to bacterial wilt and phytophthora (RS902), were selected after analysis by molecular markers and growing on field. We developed three multiple resistant varieties (Gangryeokdaetong, Jeokbyeokdaejeon, Onggojip), these have at least two of the three resistances, phytophthora, bacterial wilt, and virus. Also, we have selected three resistant varieties, 'NUN0035' for India, 'Hanwon no.18' for China and 'LAHAB' for Netherlands and EU.

<PART III>

1. The purpose of this project was to support the molecular marker analysis, disease bioassay, and anther and embryo culture for pepper breeding. CMV, TMV, Bs2, *Phytophthora blight* (M07-CAPS, N33, FPTY), pungency (PH5-2), Restorer (Rf35), GMS (MSK, MS3, MS509, MSI) a total of 12 species of molecular markers for traits such as

services were performed. Pathological test were performed for CMV, *Phytophthora capsici*, *anthracnose*, Bacterial leaf spot, Bacterial wilt a total of 5 species of pathogen. **1)** molecular marker analysis was performed on 5,000 items/year, total 25,000 for 5 years. **2)** The number of bioassay on five diseases was about 130,000. **3)** The numbers of plants obtained by anther culture and embryo culture were 1,328 and 136, respectively, and these plants were supplied to the related breeding program.

2. To support breeding program, homepage for Pepper Molecular Marker center (PMM) has been maintained since 4th year. Effectiveness of research and development will be heightened by the DB construction and information supply.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction of the research project	13
Section 1. Purpose of the research	13
Section 2. Necessities of the research	14
Section 3. Effect 對 relevant fields	20
Chapter 2. The current status of the research in domestic and overseas	29
Section 1. Construction of genetic linkage map and development of molecular markers	29
Section 2. The current status of the research in molecular breeding and multi-disease resistant varieties	32
Section 3. The current status of the research in bioinformatics	37
Chapter 3. The scope and results of the research project	38
<PART I>	
Section 1. Development of high-density genetic linkage maps and Comparative map	38
Section 2. Construction and characterization of BAC libraries for pepper genome research	90
Section 3. Development of molecular marker for set up a MAS system in pepper (<i>Capsicum spp.</i>) breeding	102
Section 4. Generation of RILs for genetic mapping and breeding of anthracnose-resistance	157
<PART II>	
Section 1. MAS-aided breeding of lines and cultivars resistant to virus, phytophthora blight, bacterial wilt disease	195
Section 2. Breeding of early maturing pepper resistant to phytophthora blight and MAS -aided edvelopment of multiple resistant cultivars to both phytophthora blight and CMV disease	219
Section 3. MAS-aided development of multiple-resistant hot peppers for exportation and those for root stock use	232
<PART III>	
Section 1. Supportion molecular markers for pepper breeding	269
Section 2. Pathological test system for development of molecular markers and pepper breeding	276
Section 3. Reduction of generation using anther culture and introduce useful factor	

from different species via embryo culture	294
Section 4. Development of a database for molecular markers of pepper and a web-based server	334
Chapter 4. Appraisal of research project and effect to relevant fields	350
Chapter 5. The utilization plan of the results	371
Chapter 6. Acquired scientific and technical informations in the process of project	375
Chapter 7. Reference	379

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	13
제 1절 연구개발의 목적	13
제 2절 연구개발의 필요성	14
제 3절 연구개발에 따른 기대성과	20
제 2 장 국내외 기술개발 현황	29
제 1절 유전연관지도 작성 및 분자마커 개발	29
제 2절 고추 내병성 계통육성 및 품종개발의 국내외 기술개발 현황	32
제 3절 생물정보학 연구동향	37
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	38
PART I. 초고밀도 유전연관지도와 Comparative map 및 분자마커 개발	
제 1절 고추의 고밀도 SSR 유전연관지도 및 Comparative Map 작성	38
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	38
제 2항 연구내용 및 연구결과	41
제 2절 고추 유전체 연구를 위한 BAC library 제작 및 특성 검정	90
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	90
제 2항 연구내용 및 연구결과	91
제 3절 고추육종의 MAS (Marker Assisted Selection) 체계 확립을 위한 분자표지 개발	102
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	102
제 2항 연구내용 및 연구결과	103
제 4절 고밀도 유전자지도 작성을 위한 Recombinant Inbred Line 육성 및 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression 라인 육성	157
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	157
제 2항 연구내용 및 연구결과	158
PART II. 분자마커를 이용한 내병성 계통 육성 및 품종 개발	
제 1절 분자마커를 이용한 바이러, 세균성반점병, 역병, 청고병에 내병성인 계통육성 및 품종개발	195
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	195
제 2항 연구내용 및 연구결과	196
제 2절 조생 역병저항성 품종 및 분자마커를 이용한 역병, CMV 복합저항성 품종개발	219
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	219
제 2항 연구내용 및 연구결과	222

제 3절 분자마커를 이용한 복합내병성 수출용 고추품종 육성 및 대목품종 개발	232
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	232
제 2항 연구내용 및 연구결과	234
 PART III. 고추분자유종을 위한 분자마커 분석 및 병리연구지원	
제 1절 계통 육성 및 품종 개발에 분자마커 분석 지원	269
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	269
제 2항 연구내용 및 연구결과	269
제 2절 고추분자마커 개발 및 신품종 육성을 위한 병 내병성 생물검정	276
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	276
제 2항 연구내용 및 연구결과	276
제 3절 약배양을 이용한 세대단축 및 배배양을 통한 아종간 유용인자 도입	294
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	294
제 2항 연구내용 및 연구결과	300
제 4절 고추분자마커 데이터베이스 및 사업단 웹서버 구축	334
제 1항 이론적, 실험적 연구방법	334
제 2항 연구내용 및 연구결과	336
 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	
제 1절 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표 달성도	350
제 2절 기술발전에의 기여도	370
 제 5 장 연구개발결과의 활용계획	
제 1절 추가연구의 필요성	371
제 2절 타 연구에의 응용 및 기업화 추진방안	372
 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	
제 7 장 참고문헌	379

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

1. 최종목표

- 본 고추 분자마커 사업단의 최종 목표는 고추에서 10개 이상의 분자마커를 개발하여 유용한 계통과 신품종 육성에 활용하며 그 결과로 10개 이상의 유용형질을 보유한 계통과 10개 이상의 신품종을 육성하는 것임

2. 연구 분야별 목적

가. 초고밀도 유전연관지도와 Comparative Map 및 분자마커 개발

- 초고밀도 유전연관지도 작성 : 고추의 종간과 종내 집단을 이용하여 2,700개의 SSR 마커를 보유한 초고밀도 유전연관지도 및 고추 BAC library와 유전연관지도를 이용한 Comparative Map을 작성함으로써 분자유종을 위한 기반기술 및 유전체 정보를 확보함
- 형질관련 분자마커 개발 : 역병, 청고병, 흰가루병 등의 내병성 관련 분자마커와 핵내유전자적 음성불입, 회복인자 등의 교배관련 분자마커를 개발하여 고추육종의 MAS 체계를 확립하여 고품질의 신품종 육성에 육종효율을 높이고자 함
- RIL 육성 : 매운 고추의 전통육종분야에서 국제적인 경쟁력을 갖추었다고 평가를 받고 있는 우리나라가 계속 경쟁에서 앞서기 위해서는 분자마커를 활용한 분자유종분야의 기술개발에 더욱 박차를 가해야 하며 이를 위해 필요한 고밀도 유전자지도작성을 위해 다양한 형질의 유전집단에서 유래한 RIL을 육성하는 것이 중요함. 따라서 유전적 거리가 먼 복수의 원연간 교배조합을 이용하여 다양한 형질의 RIL을 육성하여 고밀도 유전자지도 작성에 활용하고자 함
- 탄저병저항성 재료육성 : 기후변화에 따라 강우일수의 증가는 고추재배에서 심한병해의 발생을 일으키고 특히 탄저병의 발생을 더욱 조장하는 환경이 되고 있어서 탄저병 저항성 품종의 육성이 더욱 시급히 요구됨. 현재 탄저병 저항성 재료가 *Capsicum baccatum*에서 보고되어 있으나 *C. annuum*과는 교배가 잘 되지 않아 내병성의 도입이 쉽지 않으므로 미숙 배배양등의 방법을 통하여 introgression line을 육성하여 *Capsicum baccatum*의 내병성을 *C. annuum*에 도입하고자 함

나. 분자마커를 이용한 내병성 계통 육성 및 품종 개발

- 총성 없는 전쟁인 종자전쟁에서 국제적인 경쟁력이 있는 고추 품종육종기술의 발전과 경쟁력을 확보하고 전통육종기술과 분자유종기술의 접목으로 품종육종소요시간의 단축과 선발기술의 정확성을 높임
- 복합내병성 품종을 개발 보급함으로써 고추 재배를 보다 쉽게 하여 고추재배의 안정성을 높여 가격안정과 더불어 농가소득 향상에도 기여

- 국내외에 있는 고추의 유전자원을 수집하여 원예적 형질, 응성불임성, 내병성 등을 평가하고 기 육성된 재료들에 대한 내병성을 탐색, 분자마커를 이용하여보다 신속하고 안정적인 계통을 육성, 일대잡종 품종육성에 활용
- 최종적으로 복합 내병성 품종을 육성하여 국내 고추 재배 농가를 보호하고 농가경제를 안정시키며 나아가서 중국, 인도 및 유럽 등 해외에 종자를 수출하여 국가 경쟁력 확보

다. 고추분자육종을 위한 분석지원

- 분자마커분석 지원 : 계통육성 및 품종개발을 위하여 발표된 논문 및 개발된 분자마커를 분자마커분석 지원함. 육종 소재에 효율적 활용을 위하여 마커를 개선하고 마커 분석의 정확성을 위한 지속적인 기술지도
- 병리검정 지원 : 역병, 바이러스, 세균성반점병, 청고병 등 저항성 계통 및 품종육성을 위하여 병리검정 지원
- 약배양 및 배배양 지원 : 약배양을 이용한 DH 라인 및 배배양을 통한 introgress 라인 육성 지원
- 데이터베이스 구축 : 유전자지도 작성 중 생성된 데이터를 일괄적으로 관리할 수 있는 프로그램에 대한 필요성이 대두됨에 따라 완성된 데이터를 바탕으로 통계 및 새로운 데이터 생산이 가능하도록 데이터베이스 및 웹서버 구축

제 2절 연구개발의 필요성

1. 국내 종자업계의 구조변화

- 우리나라는 1997년 IMF를 겪은 이후 많은 산업분야에서 변화를 겪어 왔고 금융업 다음으로 종자업계에 큰 변혁이 발생하여 국내 최대 종자회사인 흥농종묘와 중앙종묘가 다국적 기업인 Seminis로, 서울종묘가 Syngenta로, 청원종묘가 사카다로 각각 주인이 바뀌었으며 일본의 다끼이와 사까다가 아시아 시장 진출을 위한 거점지로 한국에 종묘회사를 설립하였음
- 이것은 우리 종자업계의 구조변화를 자연스럽게 유도하였고 그 결과 소규모 종자회사나 개인 육종가들이 새로운 형태의 세력으로 자리 잡아가고 있으며 이러한 변화는 네덜란드의 종자업 발달 형태와 비교하여 우리 종자업계가 매우 긍정적인 방향으로 재편되고 있다고 평가됨
- 그러나 우리 종자업계 전반의 가장 시급히 해결해야 할 문제는 **첨단연구결과의 육종에의 적극적이고 효율적인 활용**이며, 그중 분자마커를 활용하는 분자육종 지원체계는 선발 효율을 높이고 육종원가를 낮추어 군소 종자회사가 이익을 창출하는데 절대적 역할 수행
- 이는 유전체를 이해하고 분자마커를 개발하는 것만으로는 절대로 산업화라는 성공을 이룩할 수 없으며 육종가들의 끊임없는 마커의 활용으로 신품종을 육성하여 종자업에서 매출의 확대로 이어질 때 가능한 것으로 우리 사업단은 그 가능성을 현실화 할 수 있는 적극적인 역할을 할 것임

2. 우수한 품질의 종자 개발 생산은 시장 확대 및 매출증대에 필수적

- 종자야말로 농업과학의 핵심이요 현대 첨단생명과학의 결집체이며 그 사례는 종자 가격을 예로 들어 쉽게 설명할 수 있음. 1990년대 초 우리나라 고추 종자 도매가격은 1립 당 1원-2원이었고 다국적기업에 의한 흡수합병 후 CMV 저항성 신품종이 출시된 1998년에 1립 당 13원으로 상승되었고 2005년 역병저항성이 도입된 종자인 독야청청과 역강홍장군은 1립 당 35원으로 가격이 두 배 이상 급상승하였음 (그림 1)
- 1개의 병저항성 형질이 도입되면 적어도 두 배 이상 종자 가격이 높아지고 수출시장의 적극적인 확대가 이루어진다면 매출 5배의 증가가 가능할 것으로 기대됨. 유전체연구가 육종학과 접목할 때, 시장에서 보여줄 수 있는 획기적인 고부가가치의 꿈을 이룩할 수 있음
- 우수 종자는 식량 자체로서 뿐만 아니라 수많은 농작물 생산의 출발점으로서, 그리고 종자법과 특허법으로 보호받는 고부가가치 무역상품으로서 그 중요성이 막대하며, 종자산업의 성패는 곧 그 나라 과학수준과 국력을 여실히 보여주는 기준의 하나라고 할 수 있음

분자마커를 이용한 고품질 복합내병성 고추품종 개발시의 기대효과



그림 1. 분자마커를 이용한 고품질 복합내병성 고추품종개발시의 효과

3. 육종에서의 분자마커의 필요성

- 세계적 종자회사들은 생명공학이 육종에 어떤 방법으로든 활용될 것을 예견하여 많은 투자를 아끼지 않았고 이들의 국내진입으로 고전육종에만 의존하던 육종가들이 마커의 효용성을 직접 체험하였고 이로 말미암아 그 수요는 더욱 증가하게 될 것으로 예상됨
- 특히, 병저항성 분자마커의 경우 직접적인 병 접종 없이 저항성 개체의 선발이 가능하기 때문에 복합내병성 품종 육성에 적합하며 이러한 분자육종기술 활용에 의해 우량 신품종 개발기간을 단축함으로써 시장의 요구에 즉각적으로 대처할 수 있으며 나아가 종자수출의 증대 및 국가 경쟁력을 높임
- 또한, 병저항성의 경우 선발단계에서 오류에 의한 재 육종이나 차세대에서의 병저항성 screening 후 homo, hetero를 선별할 수 있으나, 분자마커의 사용은 당대에서 homo, hetero를 선별할 수 있고 그 저항성도 정확하게 판별할 수 있기 때문에 시간적, 경제적으로 큰 이익을 가져올 수 있음 (표 1)
- 이제 분자마커는 육종에서는 토양과 같이 없어서는 안 될 필수요소 즉, **육종과 분자마커는 훌륭한 자손(종자) 생산을 위한 신랑과 신부의 관계임**

표 1. 내병성 신품종에 의한 고추의 병충해 피해 감소에 따른 직접적인 경제효과

구분	2008 ~ 2009년 평균	병해에 의한 예상 생산성 감소율		
		15% 피해	30% 피해	45% 피해
생산량 (톤)	120,417 ±309.30	18,063±46.36	36,125±92.72	54,188±139.07
경제효과 (백억)	176.7± 0.57	26.5±0.09	53.0±0.17	79.5±0.25

* 2008-2009년 국내 고추 평균 생산량 (출처: 통계청, 2009. 11)과 가격은 양건 상품 소매기준(출처: 농산물유통공사, 2009. 11)

** 내병성 관련 분자마커 개발로 신품종 육성으로 병해의 15%를 예방할 경우, 건고추에서만 한 해에 약 2천 650억원, 45% 예방은 8천억 원의 경제효과 발생

4. 분자마커개발에 필수적인 고추의 유전연관지도 및 Comparative Map 작성 필요

- 분자마커의 개발을 위하여 우선 염색체내의 DNA에 대하여 잘 묘사된 유전연관지도와 Comparative Map이 필요함. 지금까지 여러 연구팀이 고추의 유전연관지도 작성을 위하여 노력하였으나 국지적 성과에 그치고 있음
- 작물을 대상으로 한 유전체 연구에서 분자마커 유전연관지도와 거대삽입체 유전자 library (예, BAC library)가 확보되면, 유전체의 물리지도를 제작할 수 있으며, 이를 통해 확보되는 BAC Contig 들은 마커의 실질적 활용에 중요한 기반자원이 될 수 있음
- 고밀도 유전지도 작성을 전제로 한 물리지도 제작은 최근 기술개발에 따라 genome-wide physical mapping이 이루어지기 시작하고 있음
- 2007년 감자에서 10,000개의 표지가 장착된 AFLP 유전연관지도를 작성하는데 성공하였으나 AFLP지도의 경우 효용성이 떨어지며 2007년 토마토에서 2,507개의 표지가 장착된 유전연관지도를 작성하였으며 이는 토마토 유전자 마커를 개발하는데 높은 효용성을 지니는 것으로 평가받고 있음

- 본 사업단에서는 SSR 마커를 이용한 고밀도 유전연관지도를 작성해야만 빠른 분자마커의 개발이 이루어지고 이 마커를 이용한 육종에의 성공으로 **생명공학과 종자산업** 두 분야에 **서 선두주자로 그 위상을 확고히 할 것임**

5. 데이터베이스 및 웹서버 구축의 필요성

- 고추분자마커를 얻어내는데 많은 돈과 시간이 투자되지만 이렇게 도출된 결과를 공유하는데 한계가 있음. 이를 극복하기 위하여 생물학자가 웹 기반 사용자 인터페이스를 통하여 쉽게 실험 데이터에 접근 가능하도록 함
- 데이터 수집, 정제, 분석, 가공 등의 여러 절차를 별도의 작업이 필요치 않고 축적된 정보를 이용하여 새로운 마커 생산 및 축적이 가능해짐. 이를 약학, 의학 및 농업에 활용함으로써 고부가 가치를 창출
- 국내외적으로 기업, 연구소의 고추분자마커 관련 전문가들에게 웹을 통한 마커 정보 제공 가능
- 장기적으로 마커 관련 데이터의 축적 및 이를 통한 관련 산업 분야와의 시너지 효과로 국내의 농업 생명관련 연구를 진행하는 연구실에서 체계적으로 실험 결과 데이터를 저장 및 관리하는 것이 가능

6. 고추 신품종개발의 필요성

가. 고추시장 현황

- 고추는 우리 국민의 식생활에 있어서 설명할 필요조차 없을 만큼 필수적인 위치를 차지하고 있으며, 연간 1인당 소비량은 약 1.8-2.4kg, 재배면적은 매년 감소 추세에 있으나 채소 작물 전체의 약 25-30%를 차지함
- 농가에서 고추를 생산, 판매하여 얻는 소득은 연간 약 1조-1조4천억 원으로 벼 다음으로 중요한 경종작물이며 김치, 고추장, 고춧가루 등 관련 산업의 경제적 규모는 약 3조원에 달하는 것으로 추정되나 작물 특성상 한 농가에서 대면적재배가 어렵고 재배되는 곳도 경사지, 무관개재배가 대부분으로 생산기반이 취약하며 재배기간 중 이상저온, 고온, 가뭄, 폭우, 태풍 등 기상환경도 열악함
- 노동집약적 작물이며 최근 산업의 발달과 아울러 인건비가 상승함에 따라 농촌 노동력도 감소, 노령화되었고 인건비가 상승하여 생산비가 극히 높아 국내시장 가격은 국제시장가격의 5-10배 이상으로 형성됨. 우리나라 농업은 차츰 무한 경쟁시대에 돌입하고 있으며 노동 집약적 작물인 고추는 인건비가 낮은 인접국의 영향을 더욱 심각함
- 이러한 상황에서 우리나라 소비자의 기호에 맞는 품종을 육성, 보급하여 국내 생산기반을 지켜 농가소득을 안정시키고 관련 산업을 보호해야 될 필요가 있는데 전통적인 육성 방법 만으로는 한계가 있어 분자 마커를 활용하여 보다 효율적이고 신속하게 복합내병성품종을 육성 할 필요가 있음
- 중국, 인도, 인도네시아 등 아시아 국가들의 고추재배면적이 중국과 인도가 각각 우리나라의 약 20배이고 인도네시아는 약 3배정도가 되는데 이들 국가에서는 최근 들어 재래종(op)에서 경제 발전에 따라 일대잡종 품종으로 재배품종이 급속히 전환되고 있음. 또한 유럽, 아프리카 및 중동 국가는 재배 면적은 적으나 종자 단가가 매우 높아 우리나라의 3-10배 이상인 경우도 많음. 이들 나라들은 최근 CMV(오이모자이크바이러스), TMV(담배모자이크

바이러스), TSWV(원형반점병, 토마토반점위조바이러스), Bs2(세균성반점병), 흰가루병 및 선충 등의 분자마커를 활발히 활용하고 있음

- 우리나라는 채소 품종 육성기술이 발달된 나라인데 그 중에서도 옹성불임성을 이용한 고추 일대잡종 품종기술은 세계 최고의 수준임. 국내용 고추의 경우 본 사업단에 참여하는 고추 육종가들은 최근 국내에서 가장 문제가 되고 있는 고추역병에 대한 저항성 품종 (역강홍장군, PR불사조)을 개발하여 보급하고 있으며, 수출용 고추의 경우 씨텍스 (주) (현, 바이엘크롭사이언스)의 연구결과로 개발된 품종이 인도, 중국 등에 수출되어 수출액을 증대시키고 우리 종자기술의 위상을 높이고 있음

나. 분자마커를 이용한 바이러스, 세균성반점병, 역병, 청고병에 내병성인 계통육성 및 품종개발의 필요성

- 농촌 고령화로 인하여 생력화 품종이 요구되고 있으며 생력화를 위하여 가장 필요한 과제 중 하나가 재배위험을 주릴 수 있는 내병성 품종 육성해야함
- 우리나라의 기후가 점점 아열대화 됨으로서 역병과 청고병 발생환경이 좋아져 병 발생피해 면적이 증가하는데 이에 따른 내병성 품종을 미리 개발함으로써 농가피해를 사전에 대비하여야 함
- 최근 소비자들이 웰빙 추구경향이 높아짐에 따라 친환경농산물 생산의 중요성이 증대되고 있는데 무농약 및 저농약 농산물을 생산하기 위하여 복합내병성 품종개발이 시급한 실정임
- 고추분자마커(바이러스:CMV, 세균성반점병:Bs2)를 활용하여 각 병들에 대한 내병성 형질(유전자)의 존재 유, 무를 조속히 판정함으로써 조기검정을 통한 내병성 계통 및 품종육성에 정확성과 육성계통시간의 단축함으로써 효율성을 증대할 수 있음
- 국내 고추재배환경의 특성상 연작재배가 불가피하여 그로인해 발생하는 많은 병해충 중에서 농약만으로는 방제가 힘든 토양전염병(역병, 청고병 등)에 대한 내병성 품종을 육성하는데 세부1과제에서 개발될 역병 등 분자마커를 활용하여 계통 및 조합을 선발함으로써 내병성 품종 개발 기간을 단축할 수 있음

다. 조생 역병저항성 품종 및 분자마커를 이용한 역병, CMV 복합저항성 품종개발의 필요성

- 고추는 우리나라로 전래된 지 400년이 채 되지 않았지만 우리 식생활에서 떼려야 뗄 수 없는 위치를 차지하고 있는 채소임.
- 국내 고추는 옹성불임성을 이용한 일대잡종 품종이 대부분이며, 일대잡종 품종 육성에 관련된 육종 기술은 세계적인 수준임
- 농업 생산 중에서 2004년도 고추의 총 생산액은 1조 3,904억 원으로 5위, 소득액 8,996원으로 소득액 기준으로 쌀과 돼지고기에 이어 3위의 위치를 차지하는 중요한 채소작물임
- 우리나라는 연간 약 18만 톤 정도의 고추가 소비되며, 이를 충당하기 위해서는 약 70,000ha 정도의 재배가 적정하지만 수입물량의 증가와 재배농민의 고령화와 더불어 병충해의 상습 발생 등으로 재배를 포기하는 농가가 늘어나 현재 약 45,000ha 정도가 재배되고 있음
- 국내 고추 주 재배지역은 대부분 수년간 고추를 연작함으로써 역병, 바이러스 등 병해의 발생이 많아지고, 태풍 등의 풍수해에 의해 생산의 기복이 심해 해마다 가격이 불안정함
- 역병의 경우 본 세부과제수행기관인 ECOSEED에서 개발한 저항성 품종이 2005년부터 보

급되어 2006년 전체 고추 재배면적의 약 5-6%, 역병저항성 품종의 약 60%이상을 점유하고 있으며, 역병 내병성 품종에 대한 재배농민의 요구는 계속 높아지고 있어 향후 역병 내병계 품종의 보급률은 급격히 증가할 것으로 예상됨

- 현재 보급되고 있는 역병 내병계 품종의 경우 품질과 바이러스 등 다른 병에 대한 복합 내병성 등 품종의 완성도가 다소 부족한 면이 많아, 향후 이에 대한 보완의 필요성이 높음
- 전통 육종 방법을 이용하여 내병성품종을 육성하는 데는 많은 노력과 재배면적, 시간 등이 소요되며, 그 결과 또한 병의 발생과 선발 등에 환경적인 요인이 많이 작용함으로써 그 결과의 안정성과 지속성이 떨어지는 문제점이 있어 다양한 주요형질과 관련된 분자표지의 개발과 이를 실제 품종육종에 활용함으로써 보다 효율적인 품종육종이 가능함
- 단기적으로, 이미 개발된 CMV 마커 등을 활용하여 역병내병성 품종의 복합내병성을 보완하는 품종을 육성함으로써 역병상습발생지에서도 안정적인 재배생산이 가능한 품종을 조기 보급할 필요성이 있음
- 특히, 소규모 종자회사나 개인육종가의 경우, 본 사업단에서 구상하고 있는 육종지원센터를 활용하여 저렴하게 이러한 분자표지기술을 전통육종방법과 접목한다면 선발의 효율을 높이고 품종육종의 기술을 향상시킬 수 있어 우리나라 종자산업의 기초를 튼튼히 다지고 국가경쟁력을 확보하는 모범적이고 실용적인 사례가 될 것임

라. 분자마커를 이용한 복합내병성 수출용 고추 품종 육성 및 대목품종 개발의 필요성

- 우리나라의 고추 육종 기술은 옹성불임을 이용한 품종 개발 수준에 있어서는 세계 최고의 위치에 있으나 내병성 품종육성은 아직까지 초보적인 단계에 있음. 선진국의 경우 20여 년 전부터 내병성 품종육성 및 10여 년 전부터는 분자표지를 이용하여 신품종을 육성하고 있음
- 우리나라는 고추 분자마커사업단이 시작하기 전까지는 CMV 분자표지마커(FnP 개발보급) 하나를 이용하여 신품종 육성에 활용하고 있었으나 제한적이었음. 따라서 고추분자마커사업단에서 고추의 주요형질관련 분자마커 개발이 필요한 실정임
- 2000년대 초 까지만 해도 인도, 중국, 인도네시아 등의 경쟁 국가들에서 대부분 교배종이 아닌 일반종과 제육을 통한 품종육성이 이루어 졌으나 최근, 다국적 기업이 우리나라의 인적, 물적 자원을 합병 후 옹성불임 및 육성기술을 유출하여 현지에서 신품종을 개발하고 있음. 그러므로 경쟁우위를 유지하기 위해서는 내병성 품종육성이 시급하고, 그 시간을 단축하는 방법으로 분자마커의 개발 및 개발된 기술을 활용하는 것이 시급함
- 또한 역병, 풋마름병, 바이러스병(TSWV, CMV, TMV 등) 내병성 품종을 육성하기 위한 중간 모본이 부족하므로 이들의 집단을 전통육성방법을 이용하여 다양화하고 마커개발에 이용하는 것이 필요함
- 최근 국내의 기온, 강우패턴의 변화로 역병, 풋마름병이 만연하여 농가에 큰 피해를 주고 있는데 이들 마커가 개발되면 대목용 품종 및 내병계 국내용 건고추의 품종육성이 용이할 것으로 생각됨. 또한, 인도네시아, 중국남부 및 종자생산기지에 내병성인 품종 수출 가능
- 결론적으로 분자마커를 이용하여 복합 내병성에 바탕을 두고 품질, 수량성 향상 및 기타 형질을 개선하는 품종육성이 이루어 져야 국제경쟁력이 제고 될 것임
- 경제산업적 측면 : 종자 산업은 외국으로부터의 원자재 도입 의존도가 매우 낮으며 부가가치가 높은 산업으로 국내 생산 기반을 근거로 수출용 품종을 육성할 경우 수출증대에 기여

할 수 있음. 현재 우리나라 고추 재배면적은 매년 약간씩 다르지만 4만~5만ha에 이르고 적정 수요량은 16만톤 정도이나 생산량은 약 8만톤 정도로 이를 Kg당 약 14,000원으로 계산하면 1 - 1.4조원에 달함. 또한 고춧가루, 장류, 김치류, 기타 식품첨가물 등 부대산업에 미치는 것까지 계산하면 3조~4조원에 이르는 경제적, 산업적 기반을 갖고 있음. 안정적인 생산을 통해 이를 지켜 나가자면 복합 내병성 품종의 육성이 필요함

- 복합 내병성 품종육성은 전통적인 육성 방법으로는 시간과 제약이 많으므로 분자유종방법, 특히 분자 마커의 활용이 적실히 필요함. 우리나라와 가까운 아시아권의 국가 중 중국의 고추재배면적은 통계자료에 따라 다소 다르지만 80만~1,20만ha, 인도 75만~80만ha 그리고 인도네시아 15만~20만ha정도로 각각 우리나라의 20배에서 2~3배 이상 재배규모가 큼. 이들 국가에서는 일대잡종 품종의 우수성을 인식하고 경제가 발전됨에 따라 일대잡종 쪽으로 품종의 선호도가 급속하게 전환되고 있으며 종자 시장 규모도 해마다 커지고 있음. 현재 우리나라 고추재배면적과 고추 종자시장규모를 생각해 볼 때 이들 국가에 종자를 수출하면 지금 형성된 국내 채소 종자시장의 몇 배 이상의 경제적 이익이 있을 것임

제 3절 연구개발에 따른 기대성과

1. 연구사업단의 산업적·사회적 역할

- **고추 분자마커 데이터베이스 및 웹서버 구축** : 데이터베이스 및 웹서버를 구축함으로써 홍보를 통한 고추 분자마커 연구개발을 활성화하고 고추 신품종 육종을 위한 연구자 및 육종가의 정보 교류의 사이버 공간 제공
- **고추분자마커에 대한 인프라 구축** : 현재 고추분자지도나 마커 개발에 대한 성과는 대학을 비롯한 여러 연구집단에서 보유하고 있음. 그러나 이들 연구성과들은 육종회사나 육종가가 직접 사용하기 적합한 것이 아니라 다시 재조합 하여야 하는 어려움이 있음. 본 사업단은 사업단의 연구결과물들을 육종회사의 직접 활용이 용이 하도록 하는 한편, 관련 인프라의 구축으로 세계 분자유종업계에 선두주자로서의 역할을 할 것임
- **분자유종의 기지** : 대부분의 거대종묘회사가 육종지원프로그램을 활발히 운영하고 있으나 소규모 육종회사나 개인육종가들에게는 육종지원이란 그림에 떡에 가까움. 그림에도 불구하고 우리 연구단 소속의 에코씨드 안정환 육종가는 “역강홍장군”을 개발하여 연간 약 15억원의 매출을 달성하는 성과를 올리고 있음. 본 사업단은 분자유종의 기본이 되는 초고밀도 유전자연관지도, Comparative Map 그리고 활용 가능한 분자마커를 개발하여 육종가의 신품종 개발에 가속도를 더해주는 지원센터가 될 것임
- **육종학과 분자유전학자의 만남의 장으로서의 역할** : 우리나라 전통육종학자들은 이미 분자마커의 중요성을 육종에 활용하여 깊이 체험한 바 있음. 그러나 실제로 육종가들이 몸담고 있는 육종회사에서 분자마커를 개발하기에는 열악한 환경이고, 분자마커에 대한 정보를 기술이전 받아도 분석을 위하여 전담인력을 투여할 만큼 경제적이지 못한 실정임. 이와 마찬가지로 유전체연구를 통해 분자마커를 개발하는 연구진 역시 좋은 형질을 가진 훌륭한 유전집단을 구하기 어려워 분자마커 개발에 어려움을 겪고 있음. 그러므로 본 사업단에서 만남의 장 (on-line/off-line)을 조성함으로써 절반은 성과가 이루어진 것이고 이로부터 훌

를 통한 연구결과는 자연스럽게 도출된다고 할 것임

- **육종재료 공유와 분자마커의 서비스 및 내병성 검정 지원센터로서의 역할** : 육종소재와 지식의 교류 그리고 이를 이용한 첨단유전체 결과물들의 생산과 이 결과물들을 육종에 활용할 수 있는 지원 시스템을 구축할 것임. 즉 마커 서비스의 경우, Seminis나 다끼이와 같은 구조를 도입하여 식물체 잎을 사업단으로 송부하면 분석 후 결과를 메일로 보내주고, 상시다발검정포를 육성하여 포장 사용을 필요로 할 경우 실 사용료를 받아 운영하기로 함. 또한 탄저병저항성 Introgression line을 건고추, 풋고추, 착색단고추형 등 용도별로 육성하여 초기세대에서 참여기업에 제공함으로써 각 참여기업의 고유한 재료에 도입시켜 다양한 형태와 용도의 탄저병저항성 계통과 품종을 육성토록 함
- **인력양성의 장으로서 역할** : 최근 삼성이 성균관대에 핸드폰학과 설립을 지원하여 산학과정이 새로 문을 연다는 뉴스를 접한 적이 있음. 급변하는 산업에 대학이 아직 그 역할을 충분히 하지 못하는 것을 보완하기 위한 중요한 프로그램이라고 평가되어짐. 본 사업단은 대학 3, 4학년 현장실습 프로그램을 도입, 농대인들에게 농업이 다른 어떤 산업보다도 고부가가치 산업이고 첨단산업이라는 의식을 고취할 수 있는 경험의 장을 마련함
- **돈 버는 요술방망이로서의 역할** : 본 사업단은 개발된 마커를 이용한 육종소재가 input이면서 output으로 품종이 개발되어 연구 자체가 곧 수익으로 이어질 수 있는 구조의 확립에 최선을 다할 것임

2. 유전체연구와 분자육종을 통한 신품종 개발의 산업적 효과

- 고밀도 Comparative Map 구축은 유전자연관분석에서 얻은 분자표지와 관련된 실제적인 염기서열의 획득에 소요되는 비용과 시간, 노동력을 단축함으로써, 새로운 분자표지의 개발과 기존 분자표지의 개량을 용이하게 함
- 고밀도 유전자 지도는 분자표지에 기반 한 품종육종에 필수적이거나, 현존 유전자지도는 밀도가 낮아 활용에 제약이 있었으나 본 고밀도 유전자 지도 구축으로 유용형질과 연관된 분자표지의 탐색 및 신규 마커의 개발을 위한 최단 경로를 확보하게 됨
- 따라서 분자육종지원을 위한 MAS용 분자표지의 개발이 쉬워짐으로써, 본 과제에서 개발되는 MAS 분자표지 뿐 아니라, 향후 요구되는 새로운 분자표지들을 시기적절하게 공급함으로써 현장의 고추 육종가들을 실제적으로 지원하여 세계적인 경쟁력을 제고시킬 것임
- 신규 분자표지 개발 기간 단축 및 비용대비 효율성 증진, 기존 분자표지의 정확성 개선으로 다양한 유전적 배경을 갖는 신품종 개발에 활용성을 높이며 이를 이용한 육종선발은 recurrent parent genome (RPG) recover에 필요한 세대를 단축(그림 2)하여 품종개발비용을 절감함. 또한 본 사업단에서 양성된 분석전문가와 최적화된 분석기기는 분자마커를 활용에서 단가 및 분석오류를 줄임으로써 효과적이고 정확한 육종체계를 지원할 수 있음
- 많은 전문가들은 앞으로의 QTL mapping과 MAS 효율을 높이기 위해서는 새로운 마커 개발 기술의 발전, QTL mapping과 기능유전체학의 결합 그리고 보다 높은 밀도의 연관지도의 필요성을 강조하고 있음
- 1cM 이내의 고밀도 유전자연관지도와 통합된 Comparative map은 계놈의 염기서열 또는 클론이 추적되는 분자표지 개발 체계를 구축함으로써 세계에 대한민국이 고추의 분자육종의 중심으로서의 위상을 정립시킴
- 병저항성 분자마커의 경우 직접적인 병 접종 없이 저항성 품종의 선발이 가능하기 때문에

복합내병성 품종의 선발에 매우 유용한 방법이며, 고추의 종자생산체계에서 가장 중요한 회복인자 및 유전자적 응성불임 관련 마커는 세대단축에 효과적으로 활용할 수 있음

- 분자마커를 활용한 육종에서의 경제적 파급효과는 육종기간을 줄임으로써 단축기간 동안의 병해 등에 의한 피해를 감소시킴 (10년)과 동시에 10년간의 육종에 소용되는 인건비, 노동력, 부대시설 등을 절감할 수 있는 다양한 직간접적인 효과로 약 1조 548만원 이상의 경제적 효과 기대 (표 2)
- 개인육종가 및 소규모 종자회사와 분자마커개발 전문회사가 유기적인 협력 체계를 구축함으로써 신품종개발능력을 획기적으로 끌어올릴 수 있어 우리나라 종자산업의 경쟁력을 높일 수 있음

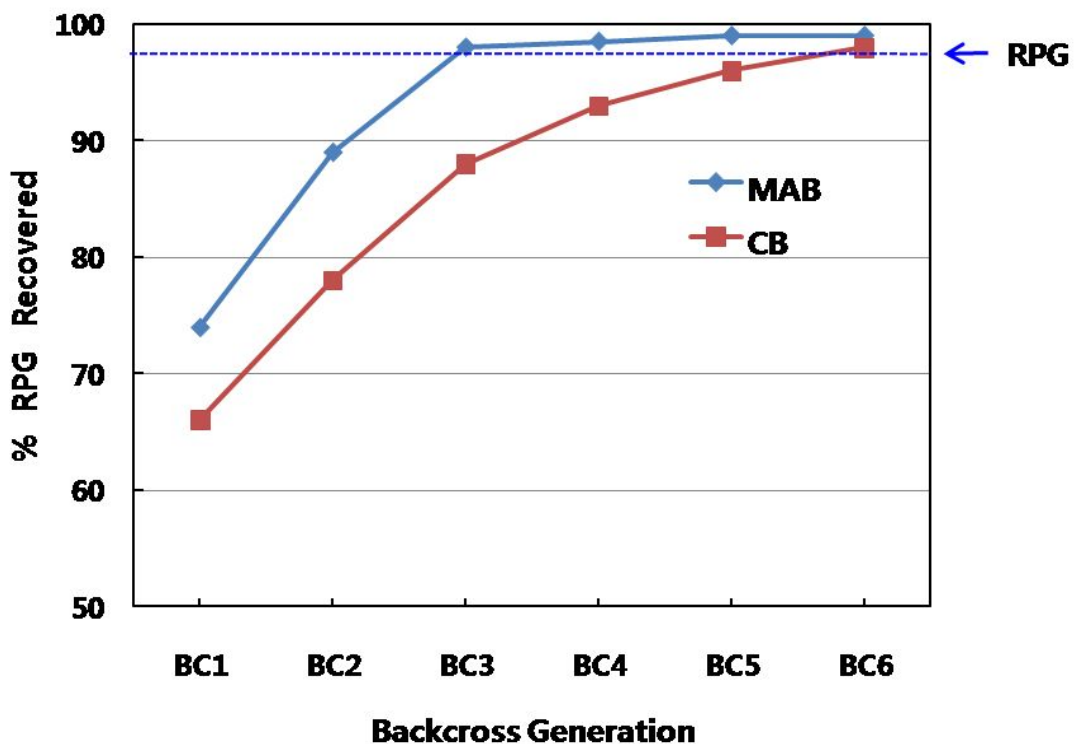


그림 2. Marker assisted backcrossing (MAB)과 전통 backcrossing (CB)에서 recurrent parent genome (RPG) 회복에 관한 컴퓨터 시뮬레이션. 마커를 활용한 backcrossing은 BC3에서 RPG에 도달하는 반면에 전통적 방법은 BC6에서야 도달함.

표 2. 분자마커를 활용한 육종에서 기간 단축이 미치는 직간접적인 경제효과 분석*

구 분	비용/년 (백만원)	육종기간 단축효과	합 계 (백만원)	비 고	
직접효과**	154,700	10	1,054,700	사업단소개 표 1 참조	
간접경비	인건비	27	10	270	3인 기준
	재료 및 농약 등	10	10	100	
	시설 및 관리비	60	10	600	
	임대료	5	10	50	1,320m ²
	기타	1	10	10	수수료 등
간접효과 소계	103	10	1,030		
계	154,803		1,548,030		

* 2008년 국내 고추시장 가격 기준 (8,349원/kg)

** 직접효과는 신품종에 의한 15%의 병해 감소를 기준

3. 기대효과 및 전망

- **고추재배농가의 고소득 창출** : 고품질 종자의 개발은 고추 재배면적이 감소되어도 그 생산량은 증대될 수 있는 최고의 도구임. 내병성 품종의 종자는 농약 살포횟수를 줄일 수 있어 필요노동력을 줄일 수 있으며 단위 면적당 생산량이 증대되어 농가소득에 간접적 역할을 함. 현재 (2007년) 우리나라의 고추 재배 면적은 5만 2천 ha이며 고추산업의 경제적 유발효과는 1조 3천억 원에 달함. 그러나 고추농사는 인력이 많이 들어 점점 농가가 재배를 기피하고 있으나 국내 고추소비량은 증가하고 있는 추세임. 국내 고추 재배면적은 감소하더라도 전체 생산량을 증대시킬 수 있는 최선의 해결책이 바로 고품질 고추종자의 육성임 (그림 3, 4)
- 분자유전학과 육종학과의 만남으로 이루어진 연구사업단의 모델 정립 : 고추, 배추 그리고 무 등에서 분자마커의 활용을 위한 여러 가지 시도가 이루어지고 있음. 정부의 지원을 받아 본 고추분자마커 사업단이 마커개발, 육종에의 활용, 신품종 육성에 성공하면 세계적으로 성공하는 컨소시엄 모델로 정립될 것임 (그림 5)
- 분자유종기술은 고전 육종의 한계를 극복 : 첨단생명 공학기술을 식물 관련 산업에 도입하려는 기술로, 유용유전자를 동식물에 직접 도입하여 신 기능성 동식물을 개발하는 기술과 분자유전학적 지도를 이용하여 육종효율을 높이고 육종연한을 단축하는 기술로 단기간에 신 계통 육성을 할 수 있음
- 약 2천억 원의 대체 효과 : 분자마커의 개발 및 이용으로 고품질 종자를 개발하면 해외수출 등 시장 확대가 가능하며 육성기간 단축에 따른 생산비 절감효과를 볼 수 있음(그림 2, 표 1). 이 절감효과와 품종보호에 따른 간접적 효과는 연간 약 2천억 원이 넘을 것으로 예상됨
- 전통육종방법과 분자표지기술을 접목함으로써 품종육종의 효율성을 높이고, 신속하게 개발된 복합내병성 품종은 즉시 산업화 가능하며, 유전자원 및 육성계통은 과제수행 연구기관

에서 국내용 품종뿐만 아니라 수출용 품종 육성 등에 지속적으로 활용
 ○ 전통육종방법에 편중된 개인육종가나 소규모 종자회사의 육종기술력 제고로 국제적인 경쟁력 확보

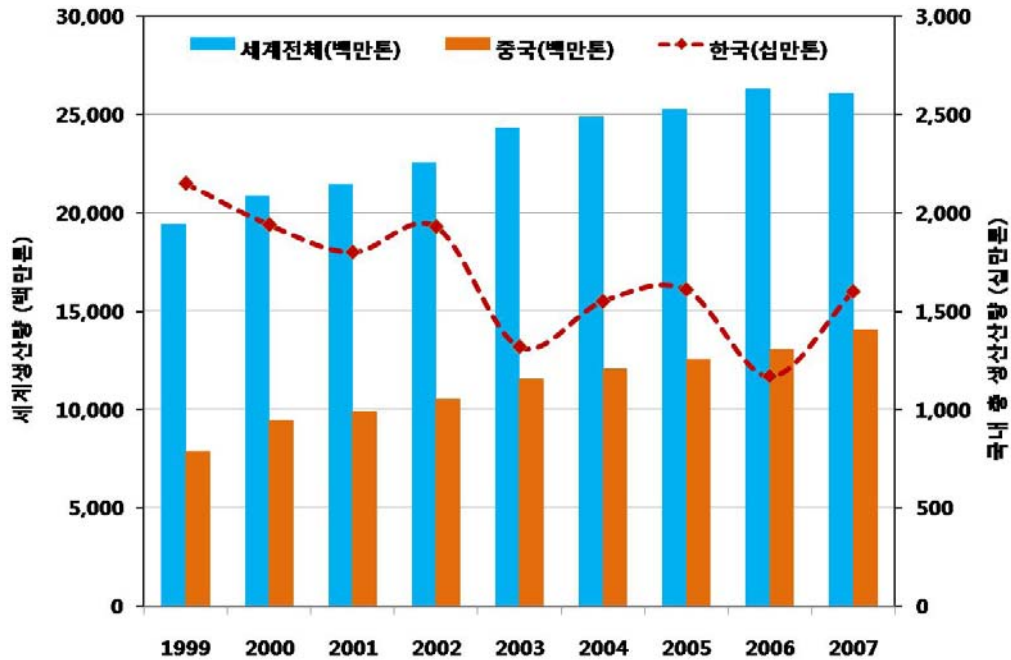


그림 3. 국내외 고추 생산량 변화. 중국은 2003년부터 세계 생산량의 50% 이상을 차지하는 반면, 국내 고추 생산량은 점차 감소 추세 (FAO, 2008)

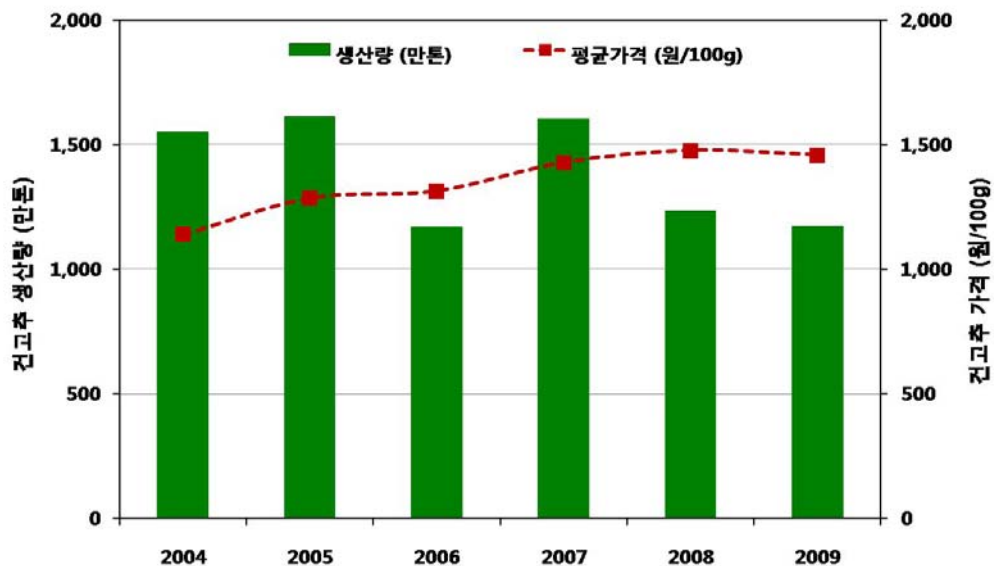


그림 4. 국내 건고추 생산량은 최근 2년간 감소하나 고추가격은 매년 꾸준히 상승하고 있음 (고추생산량; 통계청, 가격; 농산물유통공사)



그림 5. 고추분자마커사업단의 목표 및 기대효과

4. 연구개발과 인력양성

- 대학의 전문화에 기여 : 오늘날 전문화의 미명하에 극도로 고립, 파편화 되고 미시적이며 단기적인 대학의 연구와 교육에 일대 혁신을 이룰 수 있도록 본 사업단은 대학 4년차에 현장실습을 위한 장소로 제공되어 활용중임. 대학 교육과정 중 육종을 실제 체험하면서 다양한 전문가 집단이 유기적으로 장기간에 걸친 연구를 수행할 수 있으므로 연구에 대한 폭넓고 깊이 있는 경험을 체득할 수 있는 장을 마련함
- 농업이 고부가가치 산업임을 입증하여 이공계 지원을 높임 : 이공계 특히 농대 기피현상이 날로 심각해지고 있는 이 시대에 농대 졸업자로서 농학에서 종자는 고부가가치의 결집체임을 보여주고 연구가 돈이 될 수 있고 기술을 가진 사람이 다른 어떤 분야보다 성공하는 사람이 많고 well-being 할 수 있다는 것을 보여 줌으로써 주요한 사회적 과제를 해결하는 모티브로서의 역할을 담당함

5. 국가경쟁력 제고

- 한국이 바이오 기술 강국임을 증명 : 본 사업단은 작은 벤처기업들이 주축이 되어 우리나라 생명공학을 이용한 육종이 체계화에 성공하여 고품질 종자를 생산, 인도네시아, 인도, 그리고 네덜란드 등의 선진국에 수출, 판매한다면 전 세계 종자 회사들이 작은 나라 한국이 전통육종에 분자마커의 기술을 접목한 분자 육종기술도 세계적이라는 사실을 확인시킬 수 있음. 본 사업단에 참여한 세부 책임자들의 입증된 기술을 바탕으로 역병, 탄저병, 그리고 바이러스 병 저항성 유전자의 마커를 개발하고 유전자도 cloning 할 것임. 이러한 작은 결실들이 모여 전 세계에 한국이 바이오텍 강국이라는 이미지를 심어갈 것임 (그림 6)
- 세계종자 업계에서 국내종자업의 제자리 찾기 : IMF이후의 우리나라 종묘업계의 변화는 금융권의 변화보다 더 놀랄 만큼 빠르게 진행되어져 왔음. 종묘업계의 흡수 합병의 결과로 많은 국내 유전자원들이 해외로 유출되고 있는 것이 현실임. 그러나 금융권의 구조조정만큼 여론의 관심 대상도 아니었던 것도 사실임. 그러나 아직 늦지 않았고 지금이 가장 적기임. 첨단기술을 보유한 기업이 기반기술을 흡수한 후 다시 국내 기업이 예전의 그 자리를 차지하는 날이 빨리 도래하도록 투자를 해야 하는 시기이고 이 사업단이 끝나는 그날 우리나라 종자회사들도 세계적인 종자회사와 어깨를 나란히 할 것임
- 세계적인 종자회사에 분자마커를 기술이전하고 본 컨소시엄이 국제적 명성을 획득 : 고추분자마커사업단은 여러 종자회사와 연구소에 기술자문, 문헌 및 연구정보 제공, DNA 표지 공급, 식물유전육종 재료의 분석 등으로 실질적인 육종지원을 수행하고 자체 사업단 육성은 물론, 관련 종자회사와의 협력으로 정보교류의 장으로 반기별 1회 씩 연구회를 개최하여 관련 학문의 발전에 기여하고 있음
- 분자유전육종분야의 세계적인 기술 강국으로서 위상정립 : 우리나라는 고추의 전통육종에는 세계적인 강국으로 자리매김하고 있으나 분자마커를 이용한 다국적 종자 회사의 추격으로 그 위상이 실추될 위기에 처해 있음. 그러므로 고추분자마커를 이용한 신품종육성으로 세계시장에 종자 수출시 그 위상은 더욱 굳건해 질 것임
- 첨단과학의 대중화 사업의 일환으로, 농업생명공학의 중요성 홍보, 공신력 있는 연구결과 홍보, 소비자 대상 형질전환 농산물의 안전성 홍보 등을 수행하고, 급변하는 국제적 연구 환경에 신속히 효과적으로 대처할 수 있도록 연구기획, 정책개발, 정책자문의 기능을 활성화하여 유관기관과 협조할 것임 (그림 7)

분자마커를 이용한 고품질 복합내병성 고추품종 개발 로드맵

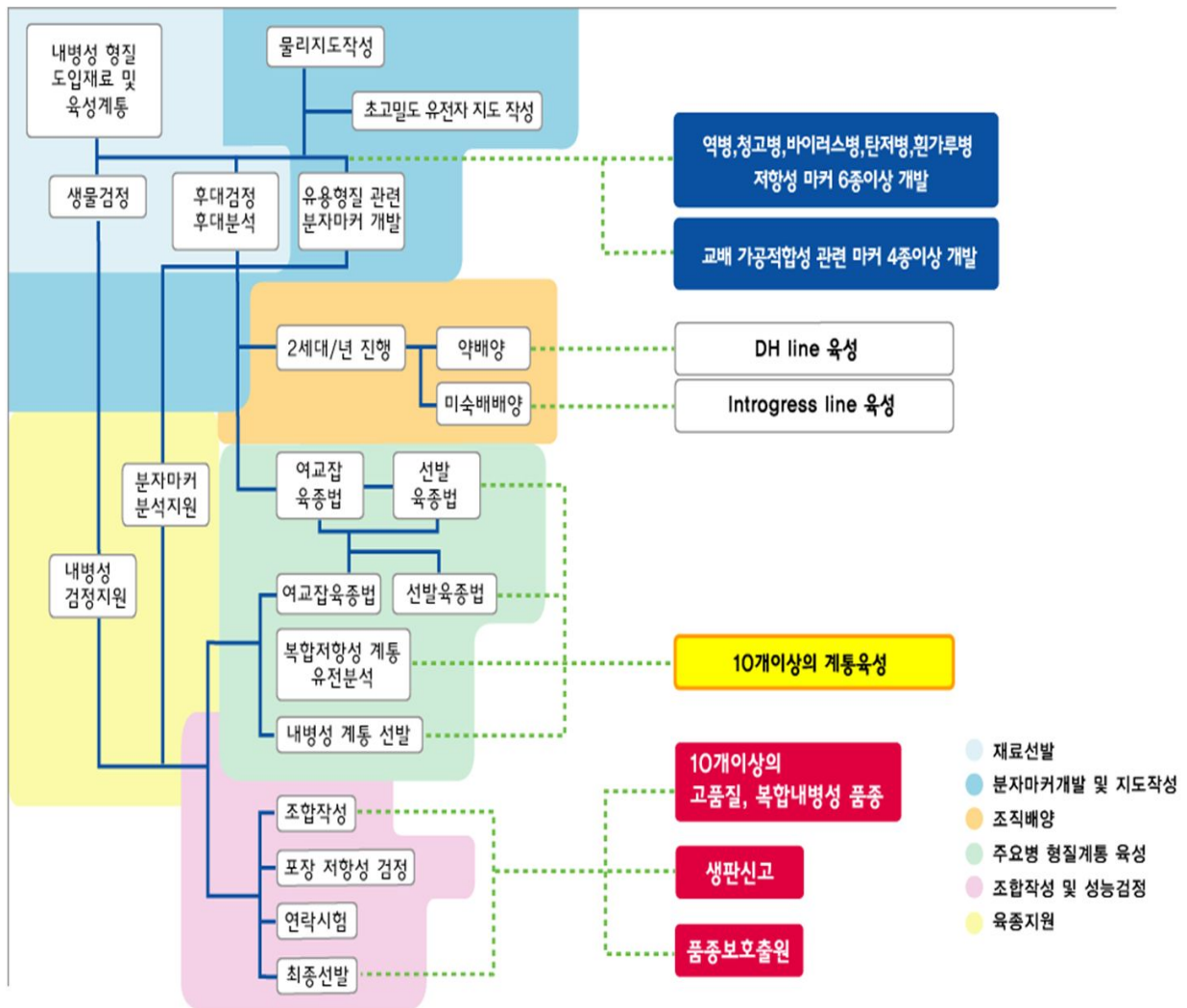


그림 6. 분자마커를 이용한 고품질 복합내병성 고추품종개발 로드맵

결과 활용을 위한 사업단 과제간 융합

제 1 핵심 과제

- 고밀도 유전연관지도
- Integrated Map
- Recombinant Inbred Line
- Introgression Line
- Doubled haploid Line
- 형질관련 분자마커

제 2 핵심 과제

- 분자마커를 이용한 내병성 계통 육성 및 품종
- 조생역병저항성 품종 및 분자마커를 이용한 복합 저항성 품종
- 분자마커를 이용한 수출용 고수 품종 육성 및 대목 품종

제 3 핵심 과제

- 계통육성 및 품종개발에 분자마커 분석지원
- 신품종 육성을 위한 내병성 생물검정
- 약배양을 이용한 세대단축 및 배배양을 통한 이종간 유용인자 도입

연구성과

- 10개 이상의 분자마커, 계통 및 신품종
- 초고밀도 유전연관지도 및 integrated map
- 고수 유전체 정보 및 *in-silico* 분석 인프라

성과활용방안

제 1 핵심과제

- *In-silico* 분석에 의한 분자마커의 유용성 검증 및 활용
- 유전체DB 구축

제 2 핵심과제

- 육성품종의 생산판매 신고
- 농가의 요구에 맞는 품종 육성
- 세계시장 진출

제 3 핵심과제

- 분자마커 분석 서비스
- 신품종 육성을 위한 생물검정
- HTP 체계구축

그림 7. 고추분자마커 사업단 연구결과 활용화 방안으로 연구결과 (고밀도유전연관지도, 신품종, 유전체 정보 등)를 활용한 육종지원 및 세계시장 진출

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 유전연관지도 작성 및 분자마커 개발

1. 고추 유전체 연구의 국내외 기술개발 현황

- 한국의 기초 인프라와 고추 육종 기술은 세계 최고 수준으로 인정받고 있으며 최근에는 고추 육종가들의 노력으로 중국, 인도, 동남아시아로 고추 종자를 상당량 수출하고 있기도 하나 다양한 재배환경을 충족시키기 위해서 분자마커를 이용한 신품종의 개발 수요가 커지는 추세임
- 신품종 개발의 속도를 높이기 위해서는, 특히 고추와 같이 게놈 크기가 큰 작물에서는 분자표지가 개발하고자 하는 목표형질에 밀접하게 연관이 되는 고밀도의 유전연관지도가 필수적이거나 고추에서 만들어진 유전자연관지도는 최근까지 수백여 개의 분자표지를 모아놓은 앙상한 골격에 불과하여 실용적인 면에서 고추 육종에 사용되기 어려운 단계에 있음
- 고추분자마커사업단 초기에 1cM이하의 초고밀도 연관지도를 제작하기 위해 SSR을 활용하고 있으나 고추에서 기존에 발굴된 SSR은 그 수가 매우 적고, 대개는 EST에서 얻은 편향된 정보라는 점에서 게놈 전체를 커버하기에는 무리가 있으므로 현 단계에서 실용적인 수준으로 고추의 유전자지도 발진시키는 가장 현실적이고 빠른 방법은 BAC 라이브러리의 말단염기서열에서 게놈와이드 SSR을 발굴하고 고밀도로 지도를 포화시키는 방법임
- 최근 HTP(High Throughput)을 위해서는 SSR 마커보다는 SNP 마커를 이용한 대량분석이 요구되어 마커개발의 동향도 SSR마커 보다는 SNP 마커위주로 개발하는 추세임
- 최근의 진보된 Next Generation Sequencing 기술을 바탕으로 여러 식물체로부터 whole genome profiling이 진행되고 있음에 따라 whole genome profiling의 요구도가 높아짐
- 염색체 내의 BAC clone을 정렬하는 물리지도 작성은 유전자와 형질간의 정확한 물리적 거리를 측정하는 꼭 필요한 지도임. 고밀도 유전연관지도와 물리지도는 식물체 염색체내에서의 위치에 상이성이 존재하기 때문에 FISH를 이용한 Comparative map작성이 필수적임
- 고추의 염색체는 다른 가지과 작물들과 같이 $n=12$ 이나 DNA용량은 $\sim 3\text{Gbp}/1\text{C}$, 2,700Mb로 다른 식물에 비해서 매우 큼. 이것도 euchromatin 부분이 heterochromatin 부분에 비하여 상당히 적은 20.2%로 존재한다는 것을 의미함
- 지금까지 보고된 고추 유전자연관지도들 분자육종의 한계에 도달해 이러한 문제점을 보완하기 위해서 고밀도 유전자연관지도가 필요함 (Minamiyama et al. 2006)
- 육종에서 마커를 활용한 선발 (MAS)이나 QTL mapping의 효율성과 정확성을 높이기 위한 방법으로 고밀도의 유전연관지도 작성이 필요함. 고밀도의 유전연관지도는 육종에 필요한 형질들의 염색체 위치를 확인할 수 있을 뿐만 아니라 목표형질간의 거리가 가깝기 때문에 육종과정에서 선발의 효율성을 높일 수 있음. 또한 세대진전 과정에서 시간 및 노동력의 현저한 절감효과를 가져옴
- MAB(Marker Assisted Backcross)를 이용한 계통육성 및 세대단축을 위해서는 도입하고자 하는 형질과 연관된 분자마커 뿐만 아니라 고밀도 유전연관지도가 반드시 필요하고 이는 공여친염색체제거(Background Selection)에 사용되어 획기적인 세대단축을 도와줌

- 앞으로는 개발된 분자마커의 유전체 정보를 활용한 *in-silico* breeding 기술수준과 축적된 유전체 정보의 생물정보학적 관리 및 활용 기술이 국가경쟁력의 척도가 될 전망이다

2. 고추 분자마커의 국내외 기술개발 현황

- 1980년대부터 개발되기 시작한 DNA 마커는 환경 영향을 받지 않고 개발 가능한 유전적 정보가 다량 존재하기 때문에 작물 육성에 활용가치가 높게 요구됨
- 국내에서는 분자마커를 이용한 육종에서 즉각 실용화 가능한 단일유전자 품종개발에 국한된 실정이고 다국적 기업에 비해 타 품종에서는 열세지만 일부 채소분야에서만 분자마커 기술이 높다는 평임
- 내병성 및 내재해성 신품종 육성에서 육종연한의 단축 및 경비절감을 위해 분자마커의 활용에 대한 중요성이 점점 증가하고 있음
- 고추의 신품종 육성시 특히 중요시되는 특성으로는 곰팡이병 (역병, 흰가루병, 탄저병 등), 세균병 (꽃마름병, 세반병 등), 바이러스병 (CMV, TMV, PMMoV, TSWV, PepMov, BBWV 등)등에 대한 병저항성 형질, 핵내유전자적 응성불임 및 회복인자와 관련한 교배관련 형질, 신미 및 과형, 탈립 등 가공관련 형질 등이 있음
- 역병, 청고병을 비롯해 육종에서의 중요 형질들이 QTL의 영향을 받으며 이러한 QTL들을 MAB (Marker Assisted Breeding) program에 적용하기 위해서 QTL mapping 및 high-throughput genotyping의 시스템이 개발되고 있음
- 역병의 경우 역병균의 race에 대한 연구가 여러 연구집단에서 수행 및 보고되고 있으며 역병균주에 따라 고추의 저항성여부 생물검정결과가 다르게 나타남. 또한 고밀도 SSR 유전연관지도를 사용하여 QTL을 분석하거나, RFLP를 사용한 유전연관 지도를 작성하여 QTL을 분석하는 등 여러 저항성 재료를 소재로 QTL 분석이 이루어지고 있음
- 고추의 청고병 저항성 유전자원은 광범위하게 사용하는 계통은 없으나 일부 종자회사에서 자체 검증을 거쳐 육종에 활용하고 있음. 현재까지 청고병 저항성에 연관된 분자마커나 저항성 QTL에 관한 보고는 없으나 같은 가지과 작물인 토마토의 경우 청고병 저항성 QTL에 관한 연구가 보고되어 있음
- 흰가루병은 저항성과 관련하여 현재까지 연구되어진 보고에 의하면 이 병원균의 저항성 재료 *C. annuum* (H3)이 있고, 저항성유전인자로는 상당한 상위성 효과를 보이는 5개가 알려져 있으나 이 마커의 사용이 제한적임. (주)농우바이오와 같은 일부 종자회사에서 자체 개발한 흰가루병 저항성 연관 분자마커를 이용하여 내병성을 지닌 품종을 시장에 출시하였음
- 유전적 응성불임 (GMS)인자들은 한국에서 발견된 ms_k 와 P.Kapia No.794에 X-ray 를 처리하여 유기해낸 ms_3 , 프랑스에서 발표된 ms_{509} , ms_{705} 가 이용되고 있음. 이들은 멘델의 유전법칙을 따르며, ms_k 는 ms_{705} , ms_3 와는 서로 비대립관계이며, ms_{509} 와는 대립관계로 같은 인자로 알려져 있으며 종자회사 자체적으로 개발하여 사용하고 있음. 우리나라에서는 핵내유전자적 응성불임을 이용한 잡종종자 생산체계에 주로 ms_k 인자를 활용함
- 회복인자는 현재까지 보고된 마커가 MAS에 적용되고 있으나 특정계통에 제한적으로 사용되거나 계통에 따른 마커타입으로 육종가가 선택적으로 사용하고 있음
- 현재까지 개발되었거나 앞으로 개발될 마커는 MAS 체계 확립과 함께 MAB를 위한 high throughput system에 적합하도록 개발 및 변경되어야 하는 필요성이 있음. 육종에 있어 분자마커나 유전자형 분석을 통한 선발 시스템 (Marker Assisted Selection, Marker

Assisted Breeding)이 점차 육종 시장에서 확대되고 있고, 양적형질유전을 하는 여러 우수한 원예적 형질 또한 QTL 분석을 통하여 MAB에 활용하기 위한 high throughput system 이 확립되고 있음

- 기존의 Marker Assisted Selection 개념에서 더 나아가 개발된 분자마커를 이용한 Marker Assisted Breeding 시스템 구축에 세계기업들의 관심이 집중되고 있음. 염기서열분석기술 발달에 의한 대량의 염기서열 정보를 육종에 활용하기 위한 방법들이 대두되면서, Genome Wide Association Study를 통한 background selection이 실제적으로 육종에 활용되고 작물에 따른 background selection을 위한 마커수 및 집단 규모가 현실적 문제로 대두됨
- 세계적인 종자회사들은 고전 육종에 그치지 않고 생명공학이 육종에 어떤 방법으로든 활용될 것을 예견하여 많은 투자를 아끼지 않으며 이들의 국내 진입으로 고전육종에만 의존하던 육종가들에게도 변화를 가져옴
- 다국적기업에서는 식물의 유전자지도를 작성하고 표지들을 유전자 지도에 위치시키고, 세밀하게 연관된 표지를 지속적으로 탐색하며 이러한 표지를 이용하여 신품종육성에 활용하고 있음
- 또한 다국적 종자기업은 분자마커를 이용하여 복잡한 유전자 품종개발에 인력, 기술 및 자본을 투자하여 기술력을 확보함. 이미 국외에서는 Marker Assisted Selection 수준을 넘어서 Marker Assisted Breeding 서비스가 사업화되었음. 세계적인 종자회사들은 생명공학이 육종에 어떤 방법으로든 활용될 것을 예견하여 많은 투자를 아끼지 않는 실정임
- 유럽과 남미는 많은 기존품종 관리에 대한 필요성과 국가적 전략차원에서 주로 식량작물에 관한 분자생물학적 기법 적용 연구에 집중하고 있음. 네덜란드의 경우 자국의 품종 육성과 관련하여 장미 등 화훼류에서 분자마커 연구를 진행하고 있으며 일본은 차와 딸기 그리고 일부 과수작물에서 품종 보호 관련 분자마커 연구를 진행하고 있는 등 국가별로 다른 연구 환경과 전략을 지니고 있음
- 영국에서 보리, 스페인에서는 포도와 같은 작물에 품종보호 분자마커 활용 연구사례가 있으며 네덜란드의 Wageningen 대학, Naktuinbouw, 스페인의 GESLIVE, IRTA 등도 품종식별 분자마커를 개발 및 활용하고 있음

제 2절 고추 내병성 계통육성 및 품종개발의 국내외 기술개발 현황

1. 국내 기술개발 현황

- 1980년대 초반 15만 ha에 이른 재배면적이 점차 감소하여 2000년대 후반 5만 ha이하로 감소되고 있음
- 1980년대 초반 국내 고추는 일반종에서 교배종으로 거의 100%가 전환되었고 일반종에서 교배종으로 전환 시점에는 수량적인 면이 크게 개선되었고, 내병성 측면에서도 획기적으로 개선되었음
- 이후 1980년 중반 국내 고추는 탄저병 등이 만연하여 수량이 감소되었는데 중소과종계인 홍일품이 출시되어 내병성 측면에서 획기적으로 개선되는 시점이 되었음
- 그 이후 우리나라 고추는 바이러스가 문제가 되었고 이 시점에 대명고추와 부강고추 등이 출시되어 또 한 번 내병성 품종 재배의 전환점이 되었음
- 바이러스 내병계 품종 재배가 확산 된 후 1990년대 중 후반부터 역병피해가 증가하기 시작하여 수많은 농가에 막대한 피해를 주게 되었음
- 2000년대 초반까지는 역병에 대한 저항성 품종이 출시되지 않았으나, 중반이후 역강홍장군과 독야청정이 육성 보급되면서 역병 저항성 품종으로의 전환이 매우 빠르게 진행되었음
- 우리나라 매우 고추 육종기술은 일반적으로 타국에 비하여 월등히 진보되었다고 할 수 있으며, 고추 일대잡종 채종에 관련된 응성불임성을 이용한 육종기술은 세계적인 수준임
- 역병내병성 품종의 보급은 2004년부터 시작되어 재배면적에서 차지하는 역병 내병계 품종의 보급률은 급격히 증가하는 추세이며, 초기에 보급된 역병 내병계 품종의 품질, 복합내병성 등의 품종 완성도가 충분치 못한 면이 있었으며 현재는 역병 뿐만 아니라 CMV에 대한 내병성까지 갖추면서 건과의 품질도 많이 개선되고 있으나 복합 내병성품종의 육성은 한편으로 재래종의 고유한 맛이 사라진다는 불만도 대두되고 있음
- 역병 내병계 품종의 보급은 기존의 일반계 품종의 재배 감소를 가져왔고 상대적으로 고가의 역병 내병계 품종의 선호도가 증가하게 되었으나 역병 내병계 품종의 보급은 일시적으로 품질의 저하와 바이러스에 대한 내병성 저하를 가져 왔음
- 따라서 최근에는 역병과 바이러스에 복합 내병성을 갖는 품종의 요구가 확대 되고 있고 역병계 품종의 확산과 동시에 그 동안 문제시 되지 않았던 풋마름병이 서서히 증가 하고 있으며 그에 대한 저항성 품종 무한질주 등이 출시되고 있음
- 2000년대 후반 2010년대에는 우리나라의 강우 분포시기가 변하고 집중 호우 및 장기간 호우로 인해 1980년대와 마찬가지로 탄저병이 증가되고 있으며 2011년에는 국내 생산량의 30%이상의 감소를 가져 온 것으로 보고되었음
- 따라서 탄저병에 대한 품종 육성에 대한 요구도가 급격히 늘어나고 있으며 이러한 시기에 고추의 경쟁력을 확보하기 위해서는 복합 내병계 품종의 개발이 시급함
- 역병계에서 문제가 되었던 바이러스 내병계 품종이 하나 둘씩 선보이고 있지만 환경의 변화가 매우 급격히 진행됨에 따라 복합 내병계 품종 개발의 요구가 급격히 높아지고 있음
- 이러한 복합 내병계 품종의 개발은 기존의 전통 육종 방법에서 분자 마커를 이용한 육종

기술을 접목하여 보다 효율적이고 빠른 세대의 진전을 이룸으로써 품종 육성을 더욱 빠르게 진행할 수 있게 되었음

- 국내 건고추 품종개발은 1990년대 고품질 품종에서 2000년대 바이러스 저항성품종으로 다시 2005년부터는 역병저항성 품종으로 급속히 발전하여 왔음
- 현재 국내에서 재배되고 있는 고추품종은 바이러스저항성인 고품질 건고추용 품종과 역병과 바이러스에 저항성을 가진 다수 성 복합저항성품종들이 개발되어 재배되고 있으며, 품종의 개발 속도가 빨라 1년에 수십 종 이상의 신품종들이 시장에 출시되고 있으며 지금까지 개발되는 품종들은 대부분 복합저항성 으로 다수성에 초점이 맞추어져 왔음
- 역병과 바이러스에 저항성인 품종들은 많이 개발되고 있으나 일교차가 심한 산간지역에서 주로 발병되는 세균성반점병이나 기후온난화로 고온기에 많이 발생하는 청고병에 대한 저항성 품종은 아직 개발되어 있지 않은 실정임
- 국내고추 재배환경의 변화로 이에 맞는 품종수요들이 급격히 증가되고 있는데 현재까지의 전통육종기법에 의한 육종방법으로는 그 수요를 충족하기 어려운 실정이었으며 이에 필요한 새로운 기술들의 발달로 분자마커를 활용하여 육종방법들이 활발히 활용되고 있음
- 고추 분자 마커는 (주)에프엔피의 CMV마커 개발 및 기술이전 이후 TMV, Bs2, 매운맛 등이 개발되었고 역병, 옹성불임 회복계(Rf), GMS등이 개발되어 활용 되고 있으며. 또한 고추와 육종, 서울대학교, 동부한농 및 농우 바이오 등에서도 마커를 개발하여 사용하고 있으며 매우 효과적인 결과를 얻고 있음.
- 본 과제가 시작되던 시점에서는 전통육종과 분자표지기술의 접목에 의한 품종 개발이 미진한 상태였지만 현재는 유용형질과 관련된 분자마커들이 많이 개발되고 있으며, 분석에 소요되는 경비도 많이 낮아져서 분자유종의 활용도가 많이 높아지고 있음
- 또한 지금까지는 특정 질적형질에 대한 분자마커를 활용하는 수준이었지만 분자마커 기술의 발달로 QTL (양적형질)에 대한 마커활용 뿐만 아니라 MAB (Marker Assisted Breeding), *In-silico* Breeding 등 분자마커를 활용한 신품종 개발연구가 활발히 진행되고 있음
- 기술 선진국의 경우 종자의 고급화가 빠른 속도로 진행되고 있는데 반하여 국내 기술은 아직 미약한 편이며 지금까지의 분자마커들은 단순히 계통 및 재료를 선발하는데 효율성을 증가시키기 위한 활용 수준에 그쳤다면 앞으로는 분자마커를 활용하여 신품종을 디자인하고 예측할 수 있는 연구들이 활발히 진행되어야 할 것임

2. 국외 기술개발 현황

- 국제적으로 고추재배면적이 큰 중국과 인도 등은 옹성불임성을 이용한 품종개발은 아직 초보적인 단계이나 일부 회사들은 상당한 수준의 기술을 보유한 것으로 추정됨
- 특히 한국 육종가를 고용하여 품종개발을 진행하고 있는 외국계회사들에 기술 및 유전자원들이 유출됨으로써 현재는 거의 평준화 되어가고 있으므로 기술적으로 뒤떨어진 파프리카는 물론이고 앞선다고 자만하고 있던 매운 고추의 교배종 육성기술 역시 글로벌기업에 따라 잡히고 있는 실정임
- 이러한 글로벌 종자회사들은 분자마커기술 및 활용에서 우리보다 앞선 기술을 보유하고 있

기 때문에 우리의 축적된 전통육종기술과 노하우를 활용해서 국제사회에서 경쟁력을 확보하고 시장을 선점하기 위해서 유용형질관련 분자마커의 개발과 활용을 더욱 활성화 할 필요가 있음

가. 중국 시장

- 중국은 전 세계 채소 생산량의 47%와 재배 면적 42%, 300여 종류의 채소를 재배하는 나라이다. 이러한 중국 시장에서 고추는 전통적으로 OP 시장이 많이 형성되어 있으나, 근래에 들어서는 F₁ 품종이 주로 판매되기 시작하였음
- 중국의 고추 재배 면적은 약 80~120만 ha로 알려져 있으나 정확한 면적은 보고되지 않았다 (표 3). 현재 중국 내의 고추 소비가 증가하고 수출 또한 증가 추세에 있어 재배면적이 점차적으로 증가하는 추세임
- 중국 북동부지역과 사천이나 신장 지역에는 한국계고추의 재배 면적이 증가하고 있으며, 종자가격 또한 기존 품종에 비해 월등히 높으며. 최근 들어 중국에서도 인건비 상승으로 대다수의 현지 육종회사들이 더 이상 저가의 품종을 생산 공급하기가 어려워지고 있고 우리나라의 회사들도 채종 비용 상승으로 생산에 어려움을 겪고 있음
- 그래서 옹성불임(MS) 육종법을 이용하여 생산비 절감 효과는 물론 품질 경쟁력을 갖추는데 주력하고 있고 우리나라 품종들이 교두보 역할을 하고 있음
- 중국 북부 건고추는 현재 판매되는 대부분의 고추가 금탑계로 알려져 있으나 실제 재배되는 품종은 국내에서 육성 시판되는 대부분의 품종이 재배되고 있고 국내에서 개발하여 산동지방에 많이 재배되고 있는 하우스재배용 우각초계 풋고추가 많이 재배되고 있으나 이러한 품종들은 아직까지는 바이러스 등의 내병성을 갖고 있지 못함
- 따라서 중국에서 재배되는 북방계 품종군과 하우스 재배용 품종군은 내병성 요구도가 점차 증가하는 추세에 있으며 특히 바이러스병에 내병성인 품종들을 요구하고 있고 중부 및 남부 노지 재배용 품종들에서도 복합 내병성의 요구도가 점차 높아지고 있음

표 3. 중국 고추시장규모

구분	재배면적 (Ha)	종자 소요량 (Kg)	종자가격 (천달러)	주요품종	기타
풋고추	546,000	273,000	12,285	우각초계, 상연 16호, 양각초계, 무초 4호 등	바이러스 (CMV) 내병성, 담녹, 농록, 다수확, 수송성
건, 홍고추 (한국계)	215,000 (22,000)	150,000 (10,000)	6,773* (2,400)	금탑계, 한국품종, 이금조, 익도홍, Hot chili	바이러스 (CMV), 세균성반점병, 청고병, 역병 내병성, 다수확, 강신미, 건조 용이
하늘초	64,000	44,800	538	조천초 op, SKY LINE 3	매운맛 및 향, 5cm, 다수확, 복화방 및 단화방
단고추	139,000	69,500	5,560	중초 4호, 5호, 유럽계 단고추	4심실, 후피, 다수확
합계	960,000	537,300	25,156		

* 중국건, 홍고추 45달러/1Kg, 한국계는 240달러/1Kg

나. 인도시장

- 인도는 중국 다음으로 재배면적이 넓어 약 75만~80만ha정도로 추정하고 있음 (표 4).
- 이들 시장은 아직도 고정종이 많이 재배되고 있으며. 주요 고추 재배는 건고추이나 풋고추의 재배도 많이 되고 있음
- 1990년대초 대부분이 고정종인 시장에 떼자쉬니라는 현지 품종이 교배종으로 처음 도입되어 현재 까지 재배되고 있고 특히, 한국에서 육성된 델리햇, 윈더햇 등이 도입되어 급속히 교배종 시장으로 전환되었으며 현재도 고정종에서 교배종으로 급속히 전환되고 있음
- 인도는 고추재배 지역이 넓고 재배 환경이 불량하고, 다양한 형태의 고추가 소비되며, 아울러 모든 종류의 바이러스병, 곰팡이병 등이 만연하고 있고 특히 매년 바이러스병으로 인해 수확량이 급속히 감소함
- 바이러스병 뿐 아니라 흰가루병, 탄저병이 대 발생하기도 하여 최근 들어 인도용 품종 들은 내충성 및 불량환경 적응성 품이 출시되기도 하였으며 흰가루병 저항성 품종이 출시되기도 하였음
- 하지만 인도는 아직까지는 초보적인 내병성 품종 육성 단계이며 아직까지도 대부분의 품종을 제육교배를 통한 품종육성이 이루어지고 있어 품종보호에도 취약하고 시장이 잘 형성되지 않았기에 인도내에는 분자마커를 활용하여 품종을 육성하지 못하고 있음

표 4. 인도 고추시장규모

구분		재배면적 (Ha)	종자 소요량(Kg)	종자가격 (천달러)	주요품종	기타
대장과, 녹색계	OP	1,750	653	9	TMR	
	F1	27,000	4,833	1,876	Fengle 4, Suwarita542	바이러스, 다수확
중과중, 녹색, 농록	OP	281,266	105,006	1,378	op, Byadagi	
	F1	41,000	8,020	3,113	Indam 5, BSS273	건과품질, 색도, 바이러스, 탄저병
대과중, 농, 농록	OP	25,000	9,333	123	op	
	F1	12,200	2,479	1,181	Wonder Hot	바이러스, 건과품질, 다수확
중, 대과, 담록	OP	10,000	3,733	49	S-49	
	F1	12,200	2,532	983	D. delux, Sitara	품질, 바이러스
요철담녹	OP	75,400	28,149	369	Pusa Jwala	
	F1	30,400	5,875	2,280	Ujala	수량성, 품질, 바이러스, 수송성, 탄저병
요철녹색	OP	186,500	69,627	914	Jwala, Byadagi	
	F1	21,400	3,751	1,456	US341	다수확, 바이러스
소과중, 하늘초	OP	16,350	6,104	80	Japanese longi	
	F1	200	42	16		맵기, 수량성
소과중, 하향	OP	69,000	25,760	338	G4	
	F1	10,600	4,709	1,827	NS1701, Tejashini	바이러스, 수량성, 맵기
기타	OP	49,134	18,343	241		
	F1	600	125	173		
합계	OP	714,400	266,709	3,501		
	F1	155,600	32,365	12,905		

다. 기타시장

- 유럽 및 중동지역은 전통적으로 무신미 품종을 재배하고 있으며 종자 가격이 우리나라와 비교해서도 고가임
- 이들 국가들은 무신미 육성에서는 매우 앞서 있으나 매운 고추에서는 매우 취약하며 아직 까지 우수한 품종을 출시하지 못하고 있음
- 분자마커는 무신미 고추에서는 활발히 사용하고 있으나 매운 고추에서는 그 활용이 제한적이며 표현형과 불일치하는 경우가 많아 활용에 제한적임

제 3절 생물정보학 연구동향

1. 생물학적 데이터베이스 분야의 연구동향

- 생명공학의 DNA칩, 단백질칩, SNP, 및 NGS 기술의 발달로 유전체 및 단백질체에 관한 방대한 양의 정보가 매우 빠른 속도로 축적되고 있음
- 생물학 관련 과학잡지 중 옥스퍼드 대학 출판부에서 발행하는 Nucleic Acid Research(NAR) 2010년 데이터베이스 특별호(<http://www3.oup.co.uk/nar/database/c/>)에 따르면, NAR에서 추천하는 인터넷에서 검색, 이용 가능한 생물학 정보 데이터베이스가 2010년 현재 1,230개에 달하고 있으며, 2009년 기준 5%의 성장률을 보이고 있음
- 식물분야에 있어서도 각 품종별, 지역별, 연구기관별 데이터베이스와 웹사이트가 구축되어 있으며, 통일된 프로토콜(protocol)을 이용하여 데이터베이스간 정보를 교환하는 국제적인 컨소시엄(consortium)이 구축된 바 있음. 유전체, 유전지도, 분자마커 등에 대한 데이터베이스를 구축하고 있으며, 이를 통해 연구자들이 정보를 보다 손쉽게 검색하고, 분석하고, 연구자들 간에 정보 교환을 용이하도록 서비스를 제공하고 있음
- 따라서, 방대한 양의 정보를 효율적으로 저장(storage)하고, 목적에 맞게 정렬(sort)하고 데이터를 필요로 할 때 쿼리(query) 구문을 통하여 검색(retrieval)할 수 있도록 구조화된 데이터베이스(structured database)를 구축하는 작업은 데이터의 효율적 활용에 매우 중요함

2. 생물학적 웹서비스 구축 동향

- 다량의 생물학 정보를 제공하는 웹 서비스는 유전체 관련 연구의 기본적인 요구 사항으로써, 최근 매우 빠른 속도로 축적되는 생물학적 데이터를 효과적으로 제공하기 위한 생물학적 웹서비스에 대한 연구 및 구축이 활발하게 진행되고 있음
- 생물학적 웹서비스는 크게 기술적인 단어를 사용하여 텍스트 자료의 검색을 제공하는 형태와 뉴클레오티드나 단백질 서열을 통해 데이터 분석을 제공하는 두 가지 형태로 분류가 가능하나, 현재 텍스트 검색을 통해 생물학 자료들을 검색하고, 검색 기준에 부합되는 관련된 정보들을 하이퍼링크를 통해 연결시켜주는 웹서비스 시스템이 가장 일반적이고 보편적인 형태임. 이러한 서비스의 대표적인 예로는 SRS, Entrez, DBGET/LinkDB 등이 있음
- 위 생물학적 웹서비스는 데이터베이스 서비스를 위한 SOAP 혹은 HTTP 기반의 웹 인터페이스 개발과 데이터 관리와 검색을 위한 모듈 탑재와 더불어 웹서비스의 특성에 따라 네트워크 분석 서비스 등과 같은 다양한 분석 서비스의 탑재를 통해 데이터베이스의 효율적인 정보 제공 서비스 및 분석 기능을 수행함
- 과거에는 단순히 데이터를 수집하고 향후 연구에 활용하기 위한 데이터베이스 구축에 많은 연구를 진행하였지만, 최근에는 이렇게 구축된 데이터베이스의 공공 서비스 및 유료 서비스 제공을 위해 데이터베이스 시스템과 연동을 통한 웹서비스 개발이 부각되고 있음
- 따라서, 본 과제에서 분자 마커 등에 대한 데이터베이스의 구축으로 생성한 원시(원천)정보에 대한 효과적인 검색 및 데이터 분석을 제공하고 사용하기 위해, 인터페이스 및 웹 서비스 시스템의 연구 및 개발은 매우 중요함

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

PART I. 초고밀도 유전연관지도와 Comparative map 및 분자 마커 개발

제 1 절 고추의 고밀도 유전연관지도 및 Comparative Map 작성

제 1 항 이론적, 실험적 연구방법

연차별	연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1년차	분리집단으로부터 DNA 분리	- 분리집단으로부터 DNA를 분리한 후, SSR 마커로 활용 가능성 검정을 위한 다형성 확인	- 중간 교배 집단인 <i>C. annuum</i> FP11 X <i>C. chinense</i> Habanero와 <i>C. annuum</i> X <i>C. frutescence</i> 집단으로부터 F ₂ DNA 분리
	SSR primer 제작	- Bioinformatic 기술을 이용한 primer 제작	- Bioinformatic 기술을 이용한 primer 제작 (1944개)
	Primer를 이용한 다형성 검증	- Primer의 실용성 여부를 검증하기 위한 다형성 확인	- Polyacrylamide gel electrophoresis를 통한 다형성 확인
	다형성 검증 및 분석	- 다형성 검증 및 연관분석	- 각 마커들의 연관분석을 통해 염색체에 마커를 위치시킴
	물리지도 작성	- Physical Map 작성	- 제작된 BAC library의 특정지역에서의 BAC-contig 작성여부를 통한 BAC library특성구명
2년차	육성집단 FP12 X FP16 DNA 분리	- FP12 X FP16 집단으로부터 DNA 분리	- FP12 X FP16 F ₂ 집단 190 개체로부터 genomic DNA 분리
	BAC End Sequencing 및 <i>in-silico</i> 분석	- BAC library를 이용한 BES 및 SSR 분석	- FP11BAC/B의 염기서열을 해독 - <i>In-silico</i> 분석
	SSR primer 제작 및 수집	- Bioinformatic 기술을 이용한 sequence search 및 primer 제작	- Bioinformatic 기술을 이용한 primer 제작 (8,695개 이상)
	Primer의 다형성 검증	- Primer의 활용 여부를 검증하기 위한 다형성 확인 및 연관분석	- PAGE를 통한 다형성 확인 - 연관분석을 통해 그룹에 위치시킴
	유전연관지도 작성 및 물리지도 작성	- MapDisto를 이용한 SSR 마커의 연관 그룹작성과 유전연관지도 작성 및 물리지도 작성	- FP11 X FP13 집단에서 1,014 SSR (FPssrG=132, FPssrC=388, FPssrB=194, FPssrW=289, STS=11) - FP12 X FP16 집단에서 251 SSR (FPssrG=31, FPssrC=160, FPssr B=23, FPssrW=37) - 총 1,265개의 SSR 집적

연차별	연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
3년차	15,000개 이상의 BAC end sequencing(BES)과 염기서열 분석	- BAC library를 활용한 BES와 이들 염기서열을 분석	- BAC end sequencing 결과로 확보된 염기서열을 bioinformatic tool을 이용하여 분석하여 SSR의 개발
	4,000개 이상의 SSR Primer 제작	- BES 염기서열 분석 및 다형성을 이용한 SSR 후보 primer의 개발	- BES 서열의 <i>in-silico</i> 분석 결과와 primer 특성을 분석하여 SSR 마커 개발
	총 2,000개의 마커가 집적된 유전연관지도 작성	- 개발된 SSR 마커와 MAP Disto를 이용한 유전연관지도 작성	- 중간·종내 유전집단(FP11 X FP13, FP12 X FP16)과 개발된 SSR 마커를 이용하여 800개가 추가 집적(1, 2차 합계 2,000개)된 유전연관지도 작성
	유전연관지도의 마커 중 250개 이상의 BES 대응연관 그룹 확인	- 유전연관지도와 BES 염기서열 분석 및 대응연관그룹 확인	- 분자마커 개발됨인 1-3세부과제에 다형성을 보이는 형질관련 마커를 송부하여 분자마커 개발에 활용 - 유전연관지도와 BES 서열을 이용하여 250개 이상의 BAC clone에 대한 대응연관 그룹 확인
	100개 이상의 프레파라트 제작과 FISH 조건을 확립 및 Comparative map 작성	- FISH를 위한 신규 프레파라트 제작 및 FISH 조건 확립 - MAP Disto를 이용한 유전연관지도 (11X13, 12X16)의 Comparative map 작성	- 기 개발된 cocktail과 probe를 활용하여 FISH를 수행할 수 있는 100개 이상의 프레파라트 제작과 FISH 조건을 확립 - 2개의 아종유전집단을 이용한 Comparative map 작성
4년차	유용 고밀도 유전연관지도 작성을 위한 계통 육성	- 약배양을 통한 DH line 육성 - 배배양을 통한 Introgress line 육성	- <i>C. annuum</i> 내의 chili pepper X Bell pepper를 교배하여 F ₂ 종내 육성 집단을 유전연관지도 작성에 활용 - 중간 교배 집단인 <i>C. annuum</i> X <i>C. chinense</i> 와 <i>C. annuum</i> X <i>C. frutescens</i> 집단의 RIL 육성으로 고밀도 유전연관지도 작성에 활용
	15,000개 이상의 BAC end sequencing (BES)과 염기서열 분석	- BAC library를 활용한 BES와 이들 염기서열을 분석	- BAC end sequencing 결과로 확보된 염기서열을 bioinformatic tool을 이용하여 분석하여 SSR의 개발
	4,000개 이상의 SSR Primer 제작	- BES 염기서열 분석 및 다형성을 이용한 SSR 후보 primer의 개발	- BES 서열의 <i>in-silico</i> 분석 결과와 primer 특성을 분석하여 SSR 마커 개발
	총 2,700개의 마커가 집적된 유전연관지도 작성	- 개발된 SSR 마커와 MapDisto를 이용한 유전연관지도 작성	- 중간 유전집단(FP11 X FP13), 종내 유전집단(FP12 X FP16)과 개발된 SSR 마커를 이용하여 700개가 추가 집적(합계 2,700개)된 유전연관지도 작성
	유전연관지도의 마커 중 250개 이상의 BES 대응연관 그룹 확인	- 유전연관지도와 BES 염기서열 분석 및 대응연관그룹 확인	- 분자마커 개발됨인 1-3세부과제에 다형성을 보이는 형질관련 마커를 송부하여 분자마커 개발에 활용 - 유전연관지도와 BES 서열을 이용하여 250개 이상의 BAC clone에 대한 대응연관 그룹 확인

연차별	연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
4년차	100개 이상의 프레파라트 제작과 FISH 조건을 확립 및 Comparative map 작성	- FISH를 위한 신규 프레파라트 제작 및 FISH 조건 확립 - MapDisto를 이용한 유전연관지도 (11X13, 12X16)의 Comparative map 작성	- 기 개발된 cocktail과 probe를 활용하여 FISH를 수행할 수 있는 130개 이상의 프레파라트 제작과 FISH 조건을 확립 - 중간 및 종내 유전집단을 이용한 Comparative map 작성
	고추분자마커 DB 구축	- 축적된 정보를 활용한 고추분자마커 DB 구축	- 고추분자마커 활용한 고추유전체 연구의 DB 구축 - 구축된 홈페이지 upgrade
5년차	유용 고밀도 유전연관지도 작성을 위한 계통 육성	- 약배양을 통한 DH line 육성 - 배배양을 통한 Introgress line 육성	- <i>C. annuum</i> 내의 chili pepper X Bell pepper를 교배하여 F ₂ 종내 육성 집단을 유전연관지도 작성에 활용 - 중간 교배 집단인 <i>C. annuum</i> X <i>C. chinense</i> 와 <i>C. annuum</i> X <i>C. frutescence</i> 집단의 RIL 육성으로 고밀도 유전연관지도 작성에 활용
	9,000개 이상의 BAC end sequencing(BES)과 염기서열 분석	- BAC library를 활용한 BES와 이들 염기서열을 분석	- BAC end sequencing 결과로 확보된 염기서열을 bioinformatic tool을 이용하여 분석하여 SSR의 개발
	총 2,970개의 마커가 집적된 유전연관지도 작성	- 개발된 SSR 마커와 MapDisto를 이용한 유전연관지도 작성	- 중간 유전집단(FP11 X FP13), 종내 유전집단(FP12 X FP16)과 개발된 SSR 마커를 이용하여 270개가 추가 집적(합계 2,970개)된 유전연관지도 작성
	유전연관지도의 마커 중 550개 이상의 BES 대응연관 그룹 확인	- 유전연관지도와 BES 염기서열 분석 및 대응연관그룹 확인	- 분자마커 개발팀인 1-3세부과제에 다형성을 보이는 형질관련 마커를 송부하여 분자마커 개발에 활용 - 유전연관지도와 BES 서열을 이용하여 550개 이상의 BAC clone에 대한 대응연관 그룹 확인
	고밀도 유전연관지도를 활용한 MAB 유용성 검증	- [(FP11XFP13)XFP11]의 BC ₁ F ₁ 128개체를 사용 - FnP(AC) map을 이용하여 Background selection 수행 - FP13의 도입형질로는 노란과색을 사용하여 FP11에 도입	- 유전연관지도내의 고르게 분포되어있는 240개의 분자마커를 활용하여 MAB유용성 검증 - 75%이상의 FP11유전자를 함유하고 노란과색을 가지는 개체선별에 필요한 분자마커의 수 계산
	고추분자마커 DB 구축	- 축적된 정보를 활용한 고추분자마커 DB 구축	- 고추분자마커 활용한 고추유전체 연구의 DB 구축 - 구축된 홈페이지 upgrade

제 2 항 연구내용 및 연구결과

1. 계통 육성

- 본 과제의 최종 연구목표는 2,700개의 마커가 집적된 고밀도 유전연관지도 작성과 기초 물리지도를 작성하는 것임
- 개발된 SSR 마커를 이용해 작성된 고밀도 유전연관지도를 신품종 육성에 활용하기 위해서는 첫째, 재배용 고추 육성에 대부분 사용하고 있는 대표적 품종의 유전적 배경을 포함하는 유전집단의 활용, 둘째, 다양한 유전적 배경 및 염기서열에서 유래된 분자마커의 사용, 셋째, 다양한 형질관련 마커의 등재 등의 조건을 충족하여야 함

가. RIL (Recombinant Inbred Line) 육성

- 유전적 거리가 먼 복수의 원연간 교배조합을 이용하여 다양한 형질의 RIL을 육성함으로써 고밀도 유전자지도 작성에 활용
- 목적하고자 하는 유전자에 밀접하게 연관된 분자표지를 얻기 위해서는 RIL의 목적 유전자 근처의 작은 부위의 유무에서 차이를 보이는 계통을 이용하여 고밀도 유전연관지도를 작성하는 것이 매우 중요
- 따라서 이러한 고밀도 유전연관지도의 제작을 통해 목적형질에 대한 지도와 표지화가 가능하게 되면 분석과 함께 육종에 활용할 수 있음

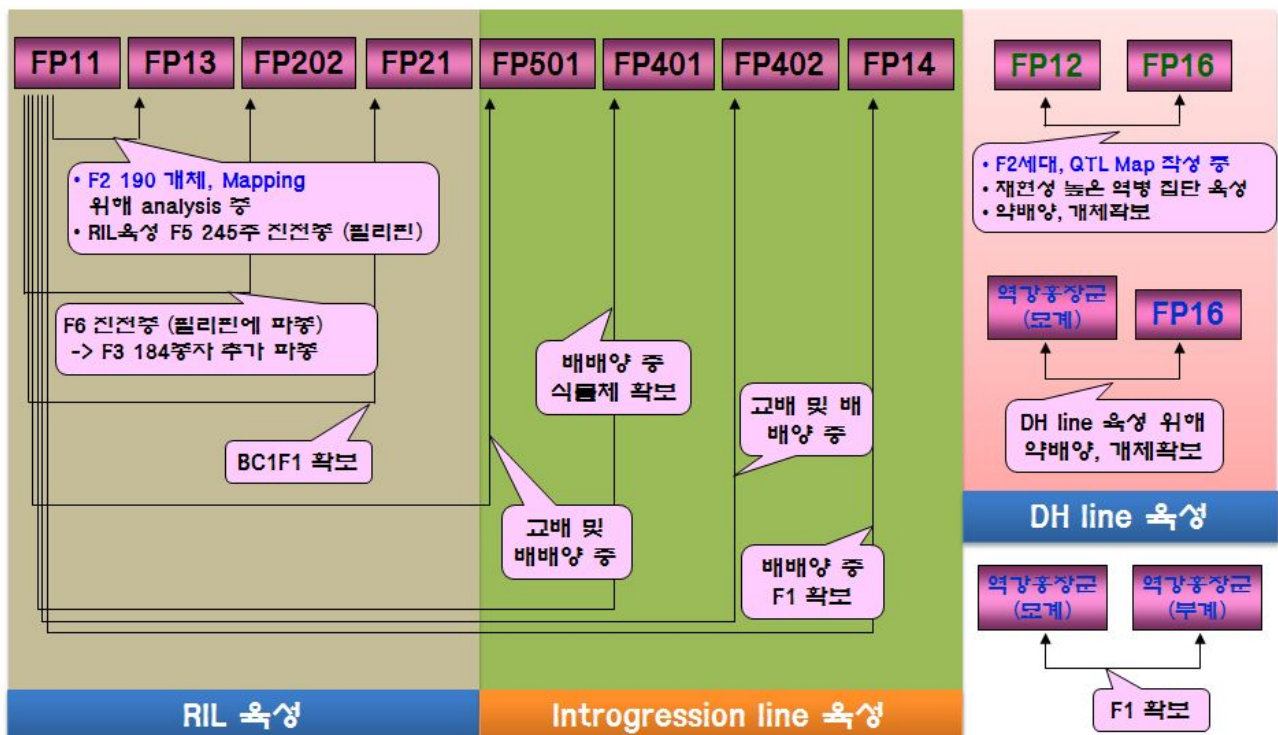


그림 1. 유전연관지도 작성을 위해 사용하고 있는 계통 및 육성 집단

- 본 과제에서는 가능한 대표성이 있는 집단을 사용함으로써 유전적 배경의 한계를 극복할 수 있는 고밀도 유전연관지도를 작성하기 위해 총 12개의 계통을 이용하여 10개의 교배조합

을 작성하였으며, 각각의 조합 특성에 따라 전통적 교배방법, 배배양 그리고 약배양 등의 방법으로 집단을 육성하고 있음 (그림 1)

- 5년차부터는 FP402, FP501 라인은 교배를 중단하였으며 현재까지 육성된 라인의 개체수를 표시하였음 (그림 2)
- 또한 다양한 *C. annuum*의 DH line 육성을 위해 FP11 X FP14, FP11 X FP16의 교배조합을 추가하여 사용하였음 (그림 2)
- 본 과제에서 사용하는 대표적인 집단 FP11에 대한 대표성 여부는 1, 2차 연구결과 보고 및 과제책임자 회의 등 육종가들의 제안과 협의를 거쳐 선발되었고, 이것을 기준으로 교배 조합을 작성하였음
- 기 육성된 집단으로 FP11 X FP13을 이용한 recombinant inbred line (RIL) 육성은 F₃에서 F₄ 세대, F₅ 세대로 진전하였고, FP11 X FP202 (*C. frutescense*) 집단은 F₄에서 F₅ 및 F₆ 세대가 진전되었으며, FP11 X FP21 (*C. chacoense*) 집단은 F₁ 세대를 back-cross를 통해 BC₁F₁ 세대 519종자를 확보하였음
- FP11 X FP13 RIL 집단은 F₅ 진전중이며 착과불량, 숙기지연 등으로 인해 F₃과 F₄를 추가 파종하여 진행 중임 (그림 1)
- FP11 X FP202 RIL 집단은 F₆ 진전중이며 개체수가 부족하여 F₄ 종자를 추가 파종하여 세대를 진전중에 있음 (그림 2)
- RIL 육성을 위한 3개의 집단은 1-3세부과제의 지원으로 세대축진을 위해 필리핀에 파종하여 진행하고 있음

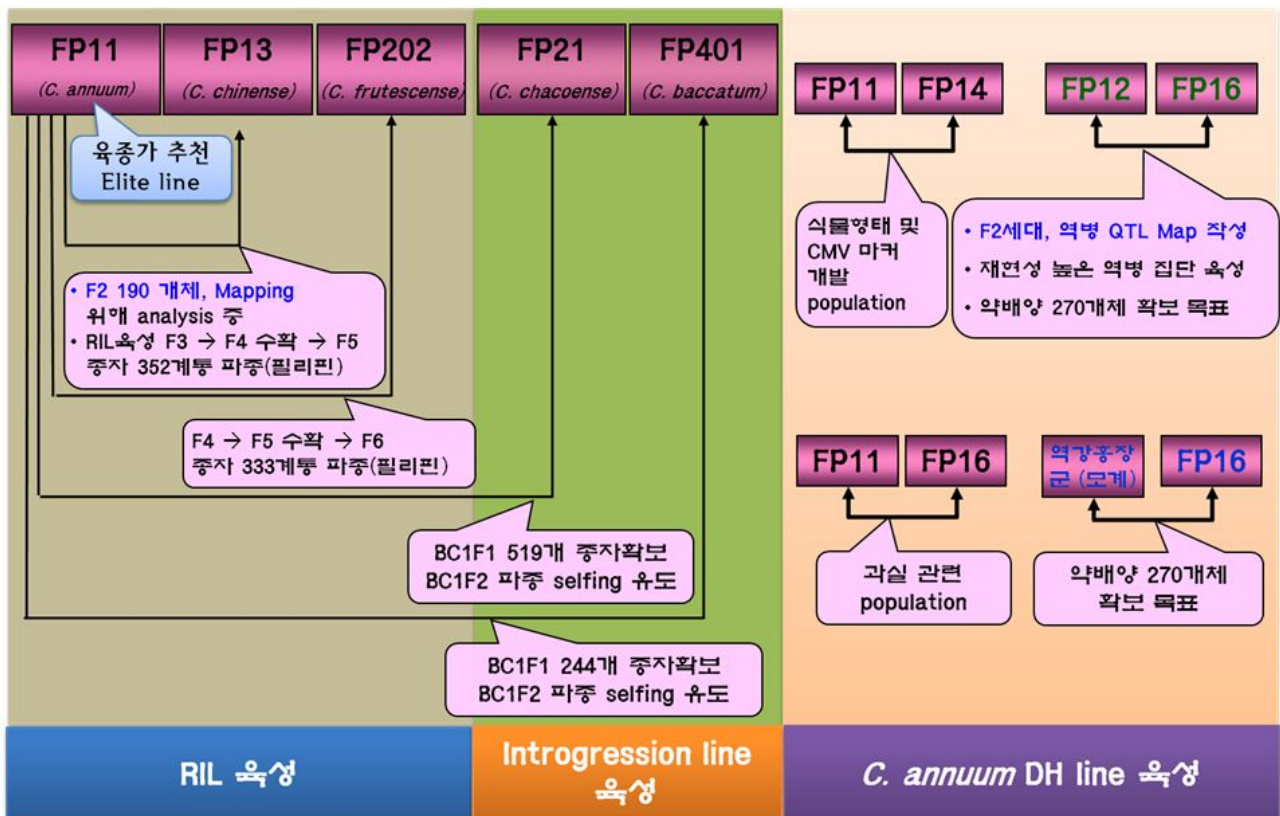


그림 2. 변화된 유전연관지도 작성을 위해 사용하고 있는 계통 및 육성 집단

2) 배배양

- 유전적 거리가 먼 계통간의 교배에서 불친화성으로 인하여 종자형성이 이루어지지 않으므로 만들어진 배를 분리하여 배양함으로써 개체를 육성할 수 있으며 이렇게 만들어진 개체는 유전연관지도 작성의 집단으로 사용함
- 또한 유전적 거리가 먼 계통일수록 표현형의 차이점이 두드러지므로 유전연관지도 작성에 매우 좋은 재료로 이용이 가능함
- 본 과제에서 사용하는 대표적인 집단 FP11에 대한 대표성 여부는 1, 2차 연구결과 보고 및 과제책임자 회의 등 육종가들의 제안과 협의를 거쳐 선발되었고, 이것을 기준으로 배배양의 교배 조합을 작성하였음
- Introgression line 육성을 위해 배배양을 시도하고 있는 집단은 FP11 X FP501, FP11 X FP401, FP11 X FP402 그리고 FP11 X FP14가 있음(표 1, 그림 2)

표 1. 배배양 교배조합 및 각 조합으로부터 유래된 개체 수.

모 X 부	확보된 F ₁ 개체수	모 X 부	확보된 F ₁ 개체수
FP401 X FP11	6	FP11 X FP401	5
FP402 X FP11	교배불친화성	FP11 X FP402	교배불친화성
FP501 X FP11	교배불친화성	FP11 X FP501	교배불친화성
FP11 X FP14	8	FP14 X FP11	교배불친화성
역강모* X FP401	50	FP401 X 역강모*	-
FP21 X FP11	48	FP11 X FP21	19

* 역강홍장균 모계; 음성불임

- 이들 육성 집단은 중간 유용인자를 포함하는 연관지도 작성에 이용하고자 하며 각 집단의 육성 상황은 FP11 X FP14 집단은 교배 후 미숙배 배양을 통해서 F₁ 개체를 확보하였으며, FP11 X FP401 (*C. bacatum* <PI>)집단 역시 배배양을 통해 F₁을 확보하여 F₂를 얻기 위해 자가수분 작업 중이며 introgression line 육성을 위해 (주)에프엔피의 온실에서 재배하고 있음 (그림 3, 표1).
- FP11 X FP402 (*C. bacatum*)와 FP11 X FP501 (*C. pubescence* Rocoto)집단들은 현재 (주)에프엔피와 에코씨드에서 배배양과 introgression line 육성을 위해 교배 및 배배양을 수행하였음 (1-3세부과제 지원)



그림 3. 중간 유용인자 도입을 위한 배배양 과정.

3) 약배양

- 약배양은 가장 빠른 시간 안에 유전자형을 동형화 시키는 방법(세대단축)으로 F₁ 품종 육성에 필요한 한쪽 친을 육종하는데 이 기술을 사용함
- 고추 약배양을 통해 단 세대에서 고정계통이 얻어지기 때문에 유용 열성 형질을 용이하게 만들 수 있다. 교배를 통해 한 계통을 만들기 위해서는 3~4년 정도의 시간을 소요하는데 비해 약배양은 1~2년 사이에 순수 계통을 만들 수 있어 육종 기간을 단축시킬 수 있다. 교잡친을 조기에 고정화시킴으로써 doubled-haploid 생산에 효율적으로 이용하여 신품종 육성을 할 수 있음
- 세대단축을 위한 doubled haploid (DH) line 육성을 위한 집단인 FP12 (*C. annuum* cv. CM334) X FP16 (*C. annuum* cv. ECW123R) 집단은 F₂ 275개체가 확보되어 이중 190개체의 gDNA 추출과 정량이 1차년도에 종료되었으며, 2차년도부터 역병 QTL map 작성에 이용하여 4차년도에는 547개의 마커가 등재된 유전연관지도가 작성되었고 이를 1-2세부과제에 송부하여 역병관련 분자마커 등 신품종 육성에 필요한 분자마커 개발에 활용하고 있음
- 이들 집단은 또 다른 집단인 역강홍장군모계 X FP16 집단과 역강홍장군모계 X 역강홍장군부계 집단과 함께 DH line 육성을 통한 세대단축을 위해 약배양을 (주)에프엔피와 3-3세부과제에서 수행하여 개체를 확보하고 순화된 개체로부터 종자를 수확하여 배수체를 확인하고 있음 (그림 4)
- 배수체 확인이 끝난 개체는 고밀도 유전연관지도 작성의 DH line population으로 활용되어 hetero 구분이 모호하거나 missing data를 보완하여 F₂ population으로 부족한 부분을 채워 완성도 높은 유전연관지도가 작성 될 것임
- 모든 약배양 개체는 개체전체부터 각 기관과 과실 종자형태 등을 사진으로 기록하고 문서

NO	교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
1	FP16 X FP12	A6								2010.8.6 4과실 수확 AVG:100종자	작은 과실에 비해 종자 양이 많음	2N
2	FP16 X FP12	A35									과실이 맺히지 않음	N
3	FP16 X FP12	A65									과실이 맺히지 않음	N
4	FP16 X FP12	A116									과실이 맺히지 않음	N
5	FP16 X FP12	A123								2010.6.29 1과실 수확 AVG:22종자	종자가 두껍고 과실 크기에 비해 종자 양이 적음	2N
6	FP16 X FP12	A132								2010.6.29 5과실 수확 AVG:22종자	하늘고추, 봉우리 끝이 보라색임	N

NO	교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
7	FP16 X FP12	A135								2010.7.13 6과실 수확 AVG:42종자	하늘고추	2N
8	FP16 X FP12	A140									과실이 맺히지 않음	N
9	FP16 X FP12	A146								2010.10.28 1과실 수확 AVG:23종자	하늘고추	2N
10	FP16 X FP12	A154									과실이 맺히지 않음	N
11	FP16 X FP12	A155									과실이 맺히지 않음	N
12	FP16 X FP12	A212									과실이 맺히지 않음	N

NO	교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
13	FP16 X FP12	A234								2010.7.13 8과실 수확 AVG:23종자	하늘고추 과실 크기에 비해 종자 양이 적음	2N
14	FP16 X FP12	A258								2010.8.6 4과실 수확 종자없음		N
15	FP16 X FP12	A280								2010.7.13 10과실 수확 AVG:35종자	하늘고추, 과실이 많이 있음	2N
16	FP16 X FP12	A283								2010.7.13 3과실 수확 AVG:29종자	종자가 일베 할이있음, 봉우리 끝이 보라색임	2N
17	FP16 X FP12	A315								2010.6.29 4과실 수확 종자없음	하늘고추	N
18	FP16 X FP12	A317								2010.7.13 6과실 수확 AVG: 37종자		2N

NO	교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
19	FP16 X FP12	A324								2010.8.6 1과실 수확 AVG:151종자	과실 크기에 비해 종자 양이 많음	2N
20	FP16 X FP12	A331									과실이 맺히지 않음	N
21	FP16 X FP12	A334								2010.7.3 9과실 수확 AVG:30종자		2N
22	FP16 X FP12	A339								2010.7.13 13과실 수확 AVG:56종자	종자가 두꺼움	2N
23	FP16 X FP12	A340								2010.7.13 13과실 수확 AVG:47종자	과실이 많이 있음, 봉우리 끝이 보라색임	2N
24	FP16 X FP12	A341								2010.6.29 2과실 수확 AVG:73종자	종자가 두꺼움	2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP16 X FP12	A361								2010.6.29 5과실 수확 종자없음	하늘고추	N
FP16 X FP12	A1								2010.10.14 5과실 수확 AVG:57종자	종자가 보라 색을 띠	2N
FP16 X FP12	A2								2010.10.28 8과실 수확 AVG:41종자	하늘고추, 종자가 보라 색을 띠	2N
FP16 X FP12	A3									종자가 보라 색을 띠	N
FP16 X FP12	A4								2010.10.28 12과실 수확 AVG:51종자	과실이 작고 종자 양이 많음	2N
FP16 X FP12	A5								2010.10.14 16과실 수확 AVG:23종자	과실이 작고 종자 양이 적음	2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP16 X FP12	A16								2010.10.28 7과실 수확 AVG:28종자	봉우리 끝이 보라색임	2N
FP16 X FP12	A7									봉우리 끝이 보라색임	N
FP16 X FP12	A8										2N
FP16 X FP12	A9									봉우리 끝이 보라색임	N
FP16 X FP12	A10								2010.10.14 16과실 수확 AVG:22종자	하늘고추, 과실이 작고 종자 양이 적음	2N
FP16 X FP12	A11								2010.11.05 8과실 수확 AVG:33종자		2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP16 X FP12	A12								2010.11.05 12과실 수확 AVG:44종자	봉우리 끝이 보라색임	2N
FP16 X FP12	A342								2010.10.14 8과실 수확 AVG:15종자	하늘고추 과실이 작고 종자 양이 적음	2N
FP16 X FP12	A343								2010.10.24 10과실 수확 AVG:38종자	하늘고추	2N
FP16 X FP12	A344										
FP16 X FP12	A345									하늘고추	
FP16 X FP12	A346								2010.10.14 1과실 수확 AVG:41종자	하늘고추 과실의 크기에 비해 종자 양이 적음	2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP16 X FP12	A347										
FP16 X FP12	A348								2010.10.14 4과실 수확 AVG:3종자	과실이 작고 종자 수가 적음	2N

그림 5. (FP16 X FP12) 조합 약배양으로부터 확보된 개체의 특성과 순화 및 재배를 통한 배수체 종자 확보

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP12 X FP16	B8								2010.8.6 5과실 수확 종자없음	과실이 엷기지 않음	N
FP12 X FP16	B14								2010.6.29 12과실 수확 AVG:53종자	하늘고추, 과실이 많이 달림	2N
FP12 X FP16	B27										N
FP12 X FP16	B37									과실이 엷기지 않음 봉우리 끝이 보라색임	N
FP12 X FP16	B53									과실이 엷기지 않음	N
FP12 X FP16	B58								2010.6.29 4과실 수확 AVG:49종자	종자가 브라 색을 띠고, 과 실의 크기가 작음	2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP12 X FP16	B59								2010.6.29 5과실 수확 AVG:69종자	종자가 얇고 과실이 많음	2N
FP12 X FP16	B65								2010.6.29 7과실 수확 AVG:69종자	봉우리 끝이 보라색	2N
FP12 X FP16	B72									과실이 엷기지 않음	N
FP12 X FP16	B76								2010.10.29 4과실 수확 AVG:35종자	봉우리 끝이 보라색	2N
FP12 X FP16	B83								2010.8.6 15과실 수확 AVG:68종자	과실과 종자가 많이 달림	2N
FP12 X FP16	B1								2010.10.29 4과실 수확 AVG:34종자		2N
교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
FP12 X FP16	B2								2010.10.14 4과실 수확 AVG:51종자	하늘고추	2N

그림 6. (FP12 X FP16) 조합 약배양으로부터 확보된 개체의 특성과 순화 및 재배를 통한 배수체 종자 확보

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
역강 X FP16	D3										N
역강 X FP16	D15								2010.6.29 4과실 수확 종자없음		
역강 X FP16	D24								2010.7.13 6과실 수확 AVG:48종자	하늘고추, 종자가 두껍 고 종자 양이 적음	2N
역강 X FP16	D34								2010.6.29 8과실 수확 AVG:40종자	종자가 두껍 고 크기에 비해 종자 양이 적음	2N
역강 X FP16	D36								2010.7.13 2과실 수확 종자없음		N
역강 X FP16	D39								2010.6.29 5과실 수확 AVG:29종자	종자가 두껍 고 종자 양이 적음	2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
역강 X FP16	D45								2010.6.29 8과실 수확 AVG:39종자	종자가 두꺼 움, 크기에 비해 종자 양이 적음	2N
역강 X FP17	D48								2010.7.13 4과실 수확 종자없음		N
역강 X FP18	D49								2010.6.29 9과실 수확 AVG:115종자	과실이 크고 종자 양이 많음	2N
역강 X FP19	D52								2010.6.29 5과실 수확 AVG:83종자	종자가 두꺼 움, 종자 양이 많음	2N
역강 X FP20	D66									봉우리 끝이 보라색	N
역강 X FP21	D88								2010.6.29 7과실 수확 AVG:47종자	하늘고추, 종자의 크기가 크고 종자가 두꺼움	2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
역강 X FP16	D89								2010.7.13 7과실 수확 AVG:44종자	하늘고추	2N
역강 X FP16	D90									하늘고추	2N
역강 X FP16	D92								2010.8.6 10과실 수확 AVG:69종자	종자가 두꺼 움	2N
역강 X FP16	D1								2010.10.14 16과실 수확 AVG:48종자	과실이 많이 달림	2N
역강 X FP16	D2								2010.10.28 8과실 수확 AVG:30종자	종자가 두껍고 종자 양이 적음	2N
역강 X FP16	D104										2N

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
역강 X FP16	D105								2010.10.14 6과실 수확 AVG:42종자		2N
역강 X FP16	D107										
역강 X FP16	D108										
역강 X FP16	D109										
역강 X FP16	D110									봉우리 끝이 보라색	
역강 X FP16	D111									하늘고추, 봉우리 끝이 보라색	

교배조합	번호	나무 형태	봉우리 형태	꽃 형태	잎 형태	과실 형태	과실크기	종자 형태	종자 수확일/종자수	특징	배제
역강 X FP16	D112								2010.10.14 21과실 수확 AVG:59종자	과실이 크고 종자 양이 많음	2N
역강 X FP16	D113										
역강 X FP16	D114										

그림 7. (FP16 X FP12) 조합 약배양으로부터 확보된 개체의 특성과 순화 및 재배를 통한 배수체 종자 확보

2. Simple Sequence Repeats (SSR) Primer 개발

- 본 연관지도 작성에 사용되는 SSR마커는 multiallelic, 높은 다형성 그리고 co-dominant 마커로 사용될 수 있기 때문에 유전연관지도 작성에 널리 이용되고 있음
- 1차년도, 2차년도, 3차년도에 Genomic DNA에서부터 유래한 SSR primer (FPssrG) 150개, cDNA library로부터 유래한 FPssrC 1800개, BAC end sequencing 및 *in-silico* 분석을 통해 확보한 FPssrB 6,446개의 SSR primer에 대하여 다형성을 확인(*in-silico* analysis)한 후 유전연관지도를 작성
- 3차년도에는 FPssrB primer 중에서 다형성이 없는 경우 sequence상의 다른 SSR을 탐색하여 124개의 primer를 다시 제작하였으며 이로부터 16개의 다형성을 확인하여 유전연관지도에 등재하였음(표 2)
- STS탐색 효율은 염기서열분석에 사용된 프라이머 중에서 최종 2차 screening까지 마친 프라이머의 수를 나타낸 것임
- STS마커 분석은 SSR 분석 후 남은 프라이머를 사용하는데 매우 큰 의미가 있으며 나아가 SNP의 의미를 가지므로 chip 분석에 응용될 수 있으며 PAGE gel 분석을 요구하지 않으므로 마커분석 또한 소규모 육종회사에서 분자마커로 사용하기에 적합함(그림 8)
- SSR마커 효율과 STS마커 효율은 서로 많은 차이를 보이지 않으므로 SSR분석 후 사장되는 프라이머는 염기서열 분석을 통하여 반드시 STS마커로 전환하여 사용하여야 할 것임

표 2. 1차 다형성 검정에서 polymorphism이 없는 primer로부터 STS 탐색

실험	Sequence 분석	STS 탐색결과 (FP11X13)	효율 (FP11X13)
2008년도 완료	B primer:122개 C primer:248개	B primer:17개 C primer:30개	13.9% 12.1%
2009년도 완료	B primer : 960개	B primer : 107개	11.2%
2010년도 완료	B primer : 672개	B primer : 74개	11.1%
2011년도 완료	B primer : 840개	B primer : 75개	8.9%
2012년도 완료	B primer : 292개	B primer : 22개	7.2%
Total candidate	3,134개	B primer:295개 C primer:30개	10.3%

- 4차년도에 기존의 BAC end sequence data을 통해 230개의 FPssrB primer를 추가로 제작하였으며, bioinformatic tool을 활용한 기술로 확보된 5,218개의 FPssrN를 제작하고 유전연관지도 작성을 위한 primer 검정을 진행하여 이들의 다형성 결과를 종합하여 유전연관지도 작성에 이용하고 있음 (그림 8)
- 4차년도에는 다양한 genomic resource를 활용하기 위하여 SGR (<http://solanaceae.plantbio-logy.msu.edu/>)의 데이터를 활용하여 기존의 SSR 프라이머와 중복되지 않는 프라이머 (FPssrW)를 121개 추가하여 분석하였음 (그림6)

- 5차년도에는 FPssrB primer 844개, FPssrW primer 44개, FPssrN primer 251개를 추가 제작하고 유전연관지도 작성을 위한 primer 검정을 진행하고 이들의 다형성 결과를 종합하여 유전연관지도 작성에 이용하고 있음 (그림 9)
- 형질관련된 기 발표된 논문에서 마커전환 가능성을 판단하여 염기서열을 분석하고 본 과제에서 다형성검정에 이용하고 있는 계통에서 다형성을 보이는 primer를 마커로 전환하여 유전연관 지도 작성에 이용하였음
- DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-e.html>)의 database중에서 *Capsicum* 속 sequence를 받아 기존의 sequence와 중복여부를 확인한 후 primer를 design하여 다형성 분석에 활용하였음
- DDBJ에서 확보한 sequence 뿐만이 아니라 논문이나 lab내에서 발생하는 sequencing data들의 각 종 (species) 별 sequencing data를 alignment하여 그 차이를 확인하고 근처의 동일한 부분을 primer로 잡아 형질관련 SCAR 및 CAPS 마커로 전환하고 다형성을 분석하였음
- DDBJ에서 확보한 sequence는 PCR분석 결과 증폭이 되지 않는 경우가 많아 사용 시 주의 를 요함

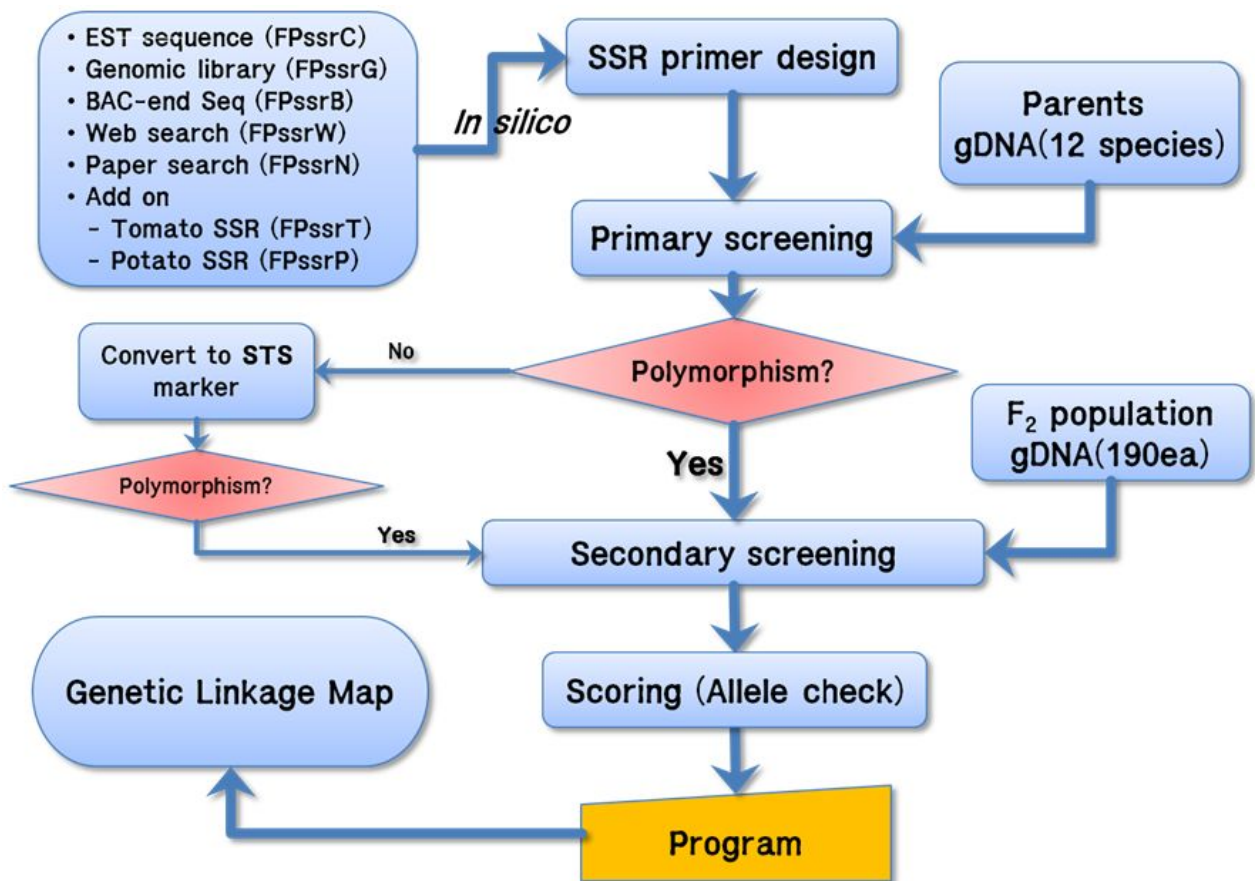


그림 8. 다양한 유전정보 분석으로부터 개발된 SSR primer를 이용한 유전연관지도 작성 과정.

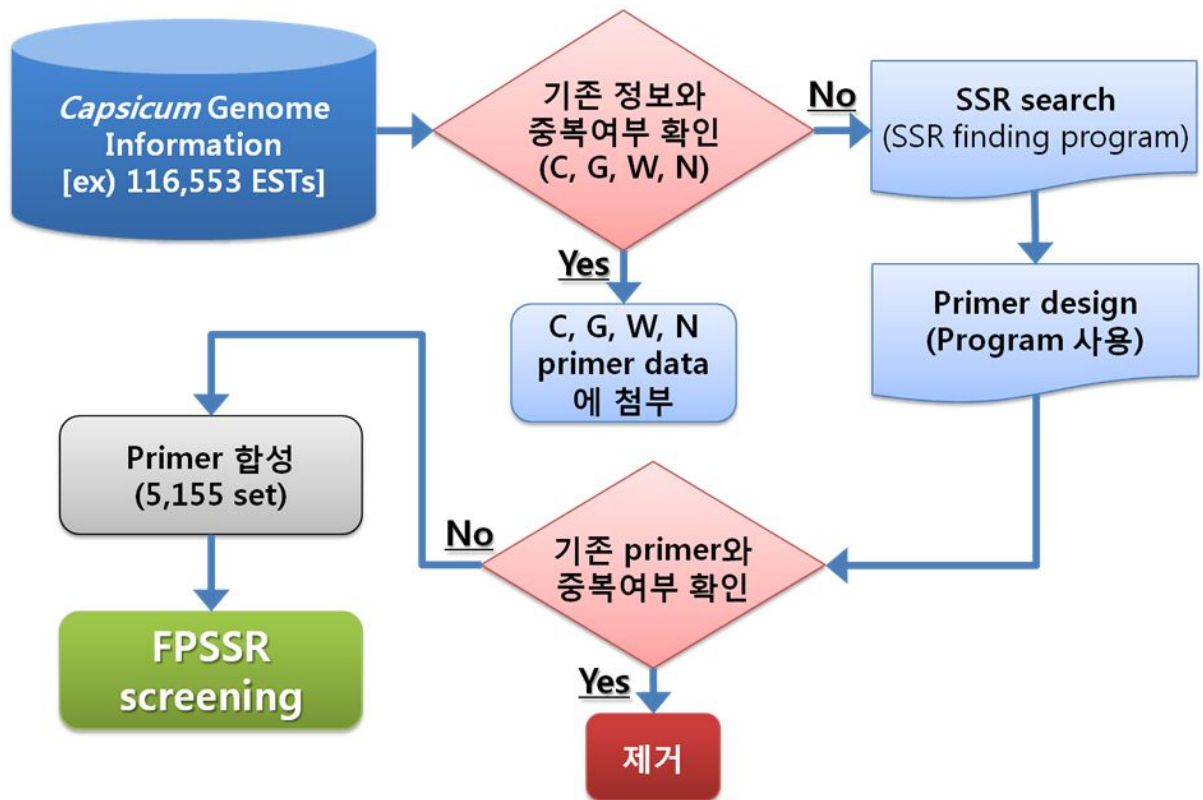


그림 9. 다양한 고추의 유전정보를 바탕으로 하여 SSR primer 분석 및 제작 과정

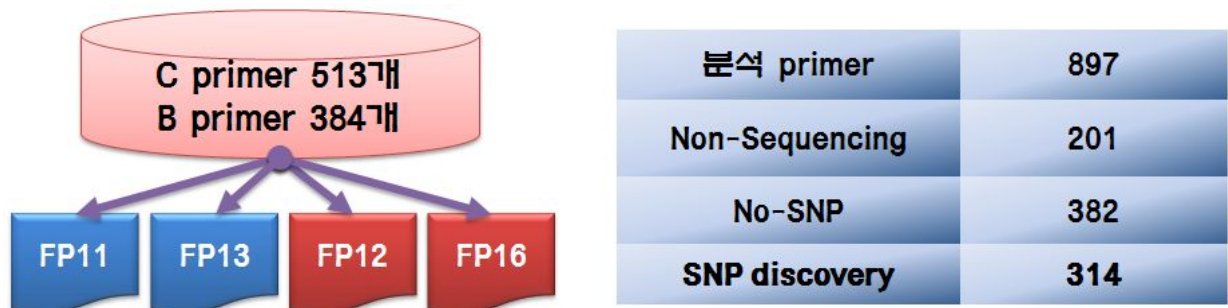
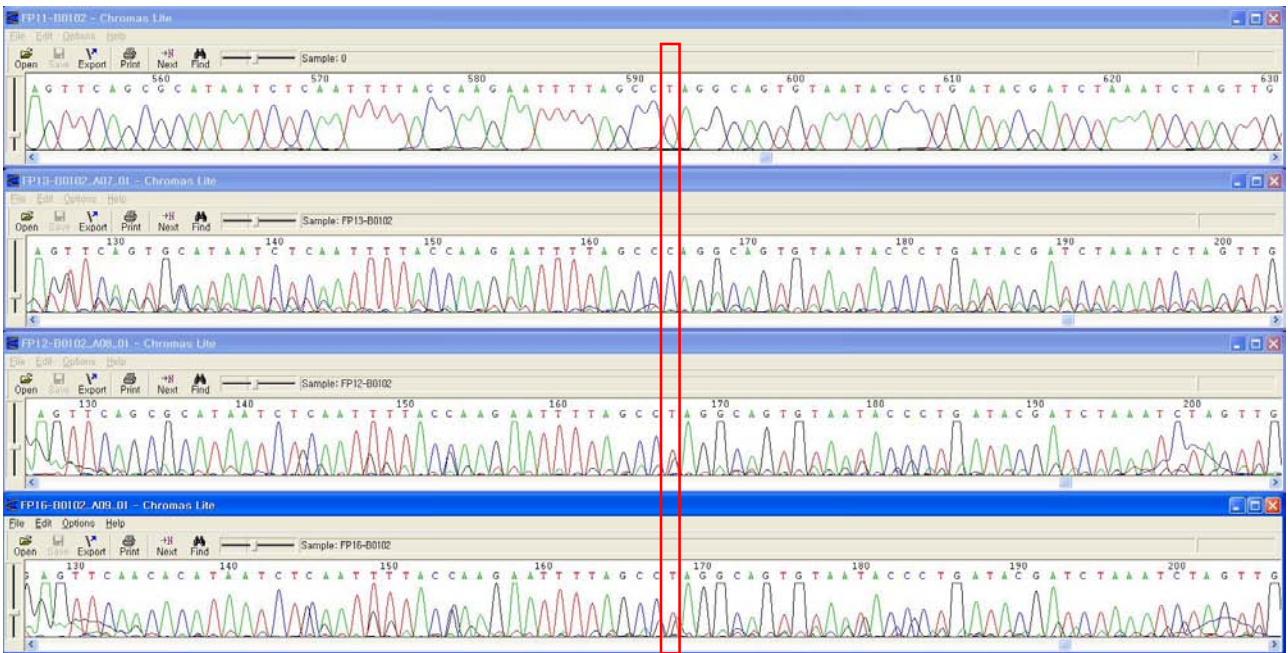


그림 10. 유전연관지도에 등재되지 않은 mono-morphic primer를 이용한 SNP 탐색

A.



B.

FP11 X FP13 Alignment :

```

Consensus TTCCACTTTTTCCACCTATTCTCTAC--TC---AGTCTCAGCCG-ATGA-TATCCTAAGA-ATAATCCATTCCATCCATG-AAGTTA-GAATT-AGTTCAGTCTGAGCATCATGG 513
FP11-B0102 TTCCACTTTTTCCACCTATTCTCTACTATCCTAAGTCTCAGCCGATGAATATCCTAAGATATAATCCATTCCATCCATGTAAGTTACGAATTCAGTTCAGTCTGAGCATCATGG 513
FP13-B0102 -----CW-TCG---AGTCTCAGCCGWATGA-TATCCTAAGAGATAATCCATTCCATCCATGGAAGTTATGAATTTAGTTCAGTCTGAGCATCATGG 86

Consensus TTCAGATTCAG-TATTTAG-TCATGACTCAGTTCATAAGAG-TCAG-GCATAATCTCAATTTTACCAAGAATTTTAGCC-AGGCAGTGTAAACCCGTGATACGATCTAAATCTA 627
FP11-B0102 TTCAGATTCAGTTATTTAG-TCATGACTCAGTTCATAAGAGTTCAGCGCATAATCTCAATTTTACCAAGAATTTTAGCCTAGGCAGTGTAAACCCGTGATACGATCTAAATCTA 626
FP13-B0102 TTCAGATTCAGCTATTTAGGTCATGACTCAGTTCATAAGAGGTCAGTGCATAATCTCAATTTTACCAAGAATTTTAGCCAGGCAGTGTAAACCCGTGATACGATCTAAATCTA 200

Consensus GTTGTCTCATGATTCGTACTTGCATAAGTTATCACTTCTCAATTCGATATGCATGAT 684
FP11-B0102 GTTGTCTCATGATTCGTACTTGCATAAGTTATCACTTCTCAATTCGATATGCATGAT 683
FP13-B0102 GTTGTCTCATGATTCGTACTTGC----- 224
  
```

FP12 X FP16 Alignment :

```

Consensus CC-----GGTC-MGCCGTATGA-ATC--AAGATATAATCCATTCCATCCATGTAAGTTACGAATTCAGTTCAGTCTGAGCATCATGGTTCA-ATTCAG-TATTTAGTCATGACT 116
FP12-B0102 -CSTSSTAAGGCTMGCCGTATGAKATCSTAAGATATAATCCATTCCATCCATGTAAGTTACGAATTCAGTTCAGTCTGAGCATCATGGTTCAAGTTATTTAGTCATGACT 115
FP16-B0102 CCGGGCGGKGGTCKMGCCGTATGATATCCKAAGATATAATCCATTCCATCCATGTAAGTTACGAATTCAGTTCAGTCTGAGCATCATGGTTCAATTCAGTATTTAGTCATGACT 116

Consensus CAGTTCATAAGAGTTCA-C-CATAATCTCAATTTTACCAAGAATTTTAGCCTAGGCAGTGTAAACCCGTGATACGATCTAAATCTAGTTGTCTCATGATTCGTACTTGCAAA 228
FP12-B0102 CAGTTCATAAGAGTTCAGCGCATAATCTCAATTTTACCAAGAATTTTAGCCTAGGCAGTGTAAACCCGTGATACGATCTAAATCTAGTTGTCTCATGATTCGTACTTGCAAA 227
FP16-B0102 CAGTTCATAAGAGTTCAACACATAATCTCAATTTTACCAAGAATTTTAGCCTAGGCAGTGTAAACCCGTGATACGATCTAAATCTAGTTGTCTCATGATTCGTACTTGCAAA 227
  
```

그림 11. 유전연관지도에 등재되지 않은 mono-morphic SSR primer를 이용한 SNP 탐색 중 FPssrB0102 primer에 대한 chromatograph(A) 와 alignment data(B)

Melting curve analysis using the HRM method

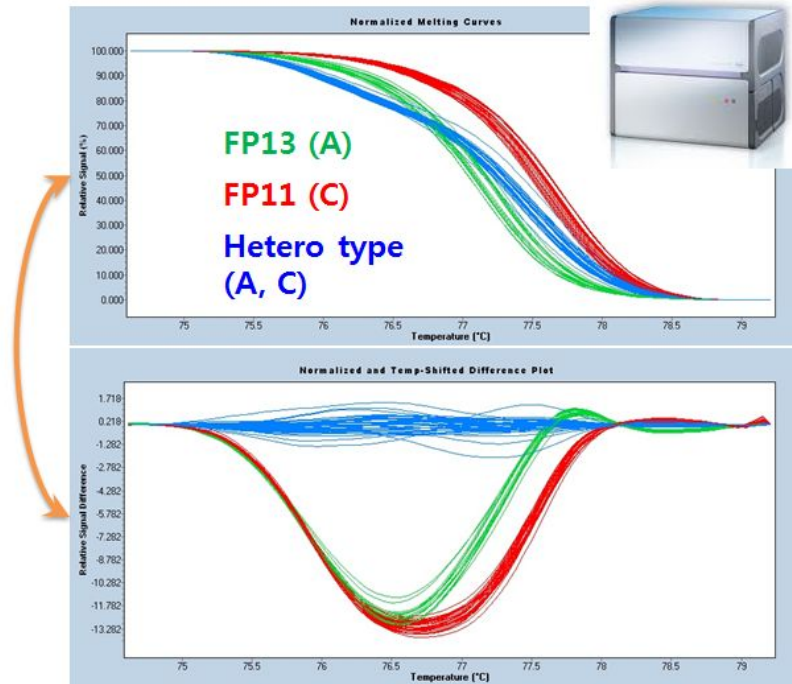
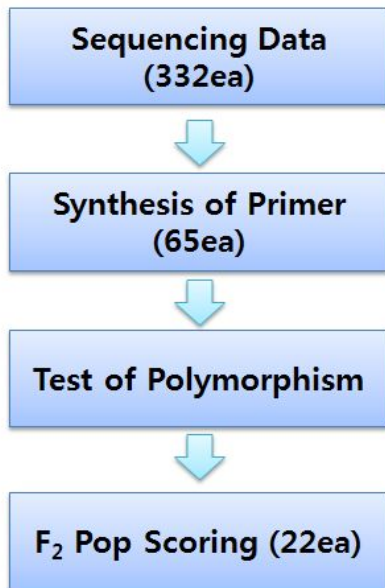


그림 12. Mono-morphic SSR primer를 이용하여 SNP를 탐색하고 이들 중에서 HRM으로 분석 가능한 마커를 선별하여 melting curve를 이용하여 분석하는 모습 (FPsnpB0160)

표 3. 고밀도 유전연관지도 작성을 위해 개발 또는 개발 중인 SSR primer와 분석 진행상황

		FPSSR B	FPSSR C	FPSSR G	FPSSR W	FPSSR T	FPSSR P	FPSSR D	STS	SNP	FPSSR N	Total
Genomic Resources		BES	cDNA seq.	gDNA seq.	Web search	Tomato SSR	Potato SSR	Tobacco SSR	Mono-morphism SSR primer		Paper, EST, Sequencing data, etc	
Candidate primer or sequence		42,000	5,000	239	3,214	3,218	4,340	102			120,000	178,113
Produced primer		7,652	1,800	239	2,049	32	32	16	3,134	314	6,065	18,199
Completed	FnP(AC)	534	401	135	328				325	32	853	2,608
	FnP(AA)	92	169	31	98						220	610
	11x202	5	7		6						1	19
Progression		90%	100%	100%	99%				99%	99%	99%	3,218

* 제 1차년도에서 제 5차년도까지 개발된 SSR primer 제작 누적 수

- FPSSrC와 FPSSrB에서 등재되지 않은 primer로부터 3,134개를 direct sequencing을 통해 후보를 탐색하고 이로부터 325개의 STS 마커를 추가로 등재하였음(표2)
- STS와는 별도로 SNP 탐색만을 위한 sequencing을 진행하였으며, C primer 513개, B primer 384개를 sequencing하여 50bp 이상에서 유일하게 존재하는 314개의 SNP를 확보하였음(그림 10, 11)
- 이번 SSR primer를 이용한 SNP탐색은 SNP 탐색만을 위한 primer가 아니기 때문에

sequencing이 이루어지지 않거나 polymorphism이 나타나지 않은 primer가 다수였음

표 4. 형질관련 마커 분석

Name	Protocol	Reference	POP*	LG
AFRF8	CAPS	Restoration factor	1113	6
CRF	CAPS	Restoration factor	1113	6
OPP13	CAPS	Restoration factor	1113	6
CMV	CAPS	CMV	1113	2
M05-4	SSR	Phytophthora	1113	5
M05-3	SSR	Phytophthora	1113	5
FPTTr053	CAPS	Phytophthora	1113	9
			1216	9
FPTTr045	CAPS	CMV	1113	2
FPSSR3	SCAR	Phytophthora	1216	U
FPSSR9	SCAR	Phytophthora	1216	9
FPACS2	CAPS	Pvr4	1113	U
PH5	CAPS	pungency	1216	2
FPAT3	CAPS	Acyltransferase 3	1113	2
FPACS75	CAPS	ACS075	1216	7
FPSCY8	CAPS	SCY-800: pungency	1113	2
FPCA847364	SCAR	putative resistance protein	1113	1
FPPSY3	CAPS	Psy gene sequence	1113	3
FPPSY4	SCAR		1113	3
	CAPS		1216	3
FPL3-5	SCAR	Tobamovirus resistance gene	1113	11
PSY5	SCAR	Phytoene synthase	1113	4
CMVC0-1	CAPS	CMV	1113	2
FPTTr055	CAPS	lipid transfer protein gene	1113	3
FPPhy	CAPS	Phytophthora	1113	5
FPTY	SNP	Phytophthora	1216	5

* POP; Population, LG; Linkage group

- SSR primer를 이용하여 SNP를 찾는 것은 우선 그 염기서열분석의 길이가 짧아 프라이머 선택의 폭이 매우 좁으며 SSR motif 근처에는 반복되는 염기서열이 많아 primer design이 용이하지 않고, SNP의 발견빈도도 높아 단독으로 존재하는 SNP 자리를 찾는 것이 매우 어려움
- 하지만 polymorphism이 나타나지 않은 SSR primer를 이용하여 SNP를 탐색하는 것은 추가로 primer를 제작하는데 드는 비용을 들이지 않는 면에서는 활용가치가 매우 높음
- SNP 마커는 앞으로 대량분석을 위한 분자마커를 확보하기위해 준비하는 것으로 HRM이나 SNP chip분석 등으로 활용될 것임
- 사업단의 SNP 마커 분석은 Roche사의 LC-480의 Realtime PCR 기기를 통해 이루어지고 있으며 HRM (High Resolution Melting) 기법을 사용하여 분석하고 있음 (그림 12)
- SSR 마커뿐만 아니라 56개의 형질관련 primer를 확보하고 24개를 유전연관지도에 등재하여 단순히 SSR 위주의 유전연관지도가 아니라 형질관련 분자마커도 함께 등재하여 1-3 세 부과제에서 형질관련 분자마커의 개발의 효율성을 높였음 (그림 13, 표4)
- 또한 같은 가지과 (*Solanaceae*)의 Tomato (FPssrT)와 Potato (FPssrP) 그리고 Tobacco (FPssrD)의 SSR을 이용하기 위한 효율성 검정과 분석 기술을 개발 중에 있으며, 각각의 SSR primer 유래와 확보현황 및 분석 진행상황은 표 3에 제시하였음
- 고밀도 유전연관지도 작성을 위해 FPssrB를 이용하여 FP11 X FP13 [FnP(AC)] 뿐만 아니라 FP12 X FP16 [FnP(AA)] 집단, FP11 X FP202 집단에도 적용하였고 유전연관지도는 FP11 X FP202를 제외하고 작성하였음 (표 3)

표 5. SSR분석 이외의 방법을 통한 분자마커 수집

	STS	SNP	합계
B primer	294	17	311
C primer	30	15	45
합계	324	32	356

- 고추의 고밀도 유전연관지도 작성은 주로 SSR primer를 위주로 하여 screening하였으며 염기서열 파생된 다형성을 나타내지 않는 primer는 염기서열 분석을 통해 다른 방법으로 다형성을 조사하였음
- FPssr B, C primer에서 다형성을 보이지 않는 것을 선별하여 염기서열 분석 후 STS와 SNP primer를 합성하여 다형성 검사 후 유전연관지도에 집적하였으며 총 356개의 마커가 집적되었음(표 5)
- 1차년도 연구결과, 많은 육종 전문가들이 중간 집단 (FP11 X FP13)과 종내 집단 (FP12 X FP16)을 각각 이용하여 유전연관지도를 작성하는 것이 고추의 대표성 확보와 다양한 유전적 배경을 포함하는 유용한 연관지도가 될 것이라는 의견을 반영하였음
- 4차년도의 목표인 2,700개의 유전연관지도 작성은 5년차에 이루어지는 것이나 유전연관지도를 이용한 마커개발 진행을 위해 목표설정을 앞당겨서 진행함
- 4차년도에는 역병 QTL을 위한 유전연관지도를 작성하여 FnP(AC) map, FnP(AA) map과 comparative mapping을 통해 분자마커개발을 진행하고 있음

- 역병과 관련한 마커개발을 위해 작성한 FnP(AA) map은 FP12는 저항성 line으로 FP16은 이병성 line으로 이루어진 집단으로 모두 *Capsicum annuum* 으로 종내 집단임
- 종내 집단은 중간 집단보다 다형성이 현저히 떨어지기 때문에 QTL분석 시 중간 집단인 FnP(AC) map과 comparative mapping을 통하여 마커개발에 유용하게 활용되고 있음
- 역병 QTL 유전연관지도는 기 발표된 논문과 사업단내 실험진행결과를 비교하여 1, 3, 5, 8 번 LG (linkage group)과 QTL 연관이 높은 것으로 알려져 전체적인 screening을 진행하지 않고 4개의 LG를 집중적으로 screening하여 유전연관지도를 작성하였음
- BAC end sequencing data를 활용하여 제작한 primer는 기존의 EST 기반 primer보다 genome 전반에 걸친 data를 반영한 것으로 GWAS에 맞는 연구 성과임

Name	Protocol	RE	Cuttin size	Reference	Product length	POP	LG	Coment
FPTr053	CAPS	HhaI, PvuII	중간	FPCAPS(Kim et al. 2008)	900	1113, 1216, 역병, 청고병	9	cut : FP11, FP16, 청고병부, 역병부

Sequencing 후 alignment

Pvu II

```

Consensus AACGAGCCTAG---T--CTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTCAAGCCGTGGAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAA-GCTACGTACAATAAACCC 348
FP16-F AACGAGCCTAGGAG-TAACTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTCAAGCCGTGGAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAATGCTACGTACAATAAACCC 306
FP16-R AACGAGCCTAGGAG-TAACTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTCAAGCCGTGGAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAATGCTACGTACAATAAACCC 347
FP12-F AACGAGCCTAGCCCTHMCTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTCAAGCCGTGGAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAAGGCTACGTACAATAAACCC 306
FP12-R AACGAGCCTAGGAG-TAACTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTCAAGCCGTGGAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAAGGCTACGTACAATAAACCC 343
  
```

Hha I

```

Consensus TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCA-TCGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCA-C-TTGGCGGATTA 570
FP13 F TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCAKTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCASCCTTGCGGATTA 533
FP13 R TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTA 569
FP11 F TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTA 528
FP11 R TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTA 565
  
```

```

Consensus GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 580
역병부-F GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 541
역병부-R GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 578
역병모-F GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 540
역병모-R GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 577
역병F1-F GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 540
역병F1-R GTAAGCAGAGTGAACCTCACAAACCAGATGCACTGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAAAGTCAAGAAGCAGCCTTGCGGATTAATGTCAGAAGCGT 575
  
```

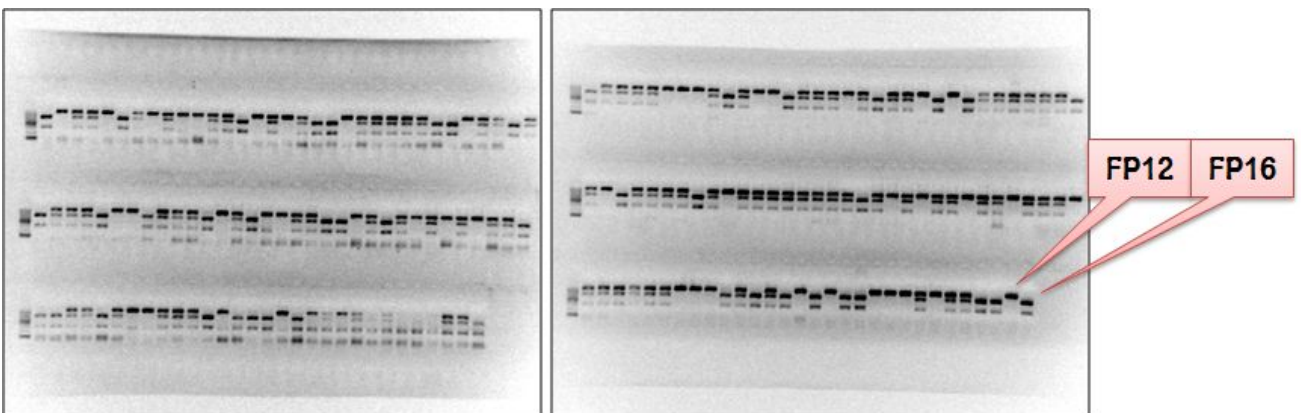


그림 13. FPTr053 marker의 분석과정과 계통에 대해 enzyme test하고, FP12XFP16 F₂ population에 대해서 PCR수행하고 Pvu II treatment

표 5. 고추의 고밀도 유전연관지도에 집적된 SSR primer 개발 현황

구 분	Total	1차년도 (2007)	2차년 년차보고	3차년 년차보고	4차년 년차보고	5차년 최종보고
FP11 X FP13	2,581	245	1,014	1,595	2,034	2,608
FP12 X FP16		DNA 추출	251	458	547	610

- 1차 검정 결과, 다형성이 보이지 않는 primer는 Sequence Tagged Site (STS) marker로 전환하여 유전연관지도를 작성하였음(표 2)
- 5차년도까지 총 3,134개의 sequencing을 통해 분석 가능한 마커를 선발하였고 B primer 분석하여 295개, C primer 분석하여 30개 총 325개의 STS 마커가 유전연관지도에 등재되었음
- 3 계통(FP11, FP13, FP202)의 염기서열을 확보하고, bioinformatic 프로그램을 이용하여 단일염기다형성(SNP)을 확인하고 SNP로부터 유래된 제한효소 절단부위를 확인하여 CAPS로 전환하여 유전연관지도 작성에 활용하였음 (그림 11)
- 5차년도까지 FP11 X FP13 집단과 FP12 X FP16 집단의 SSR 및 STS, CAPS, SCAR 마커 직접은 각각 2,608개와 610개로 3,218개의 분자마커가 집적되었으며, 연구진행에 따른 SSR 마커개발 및 집적 상황은 표 6에 제시하였음
- 1차 검정 결과를 마커의 검색과 확인이 용이하게 하기위해 데이터베이스화 하였으며 각각의 마커에 대해 scoring data를 첨부하고 다형성을 표시하였음 (그림16)
- 5차년도에는 PAGE gel분석을 덜어 주고자 다양한 방법을 강구하였는데 그중에서 Ready made gel은 200 bp 이하의 크기를 가지며 5 bp 이상의 차이를 보이는 마커에 대해서는 효과적으로 분석할 수 있음
- Ready made gel은 별도의 처리 없이 PCR product를 넣어주고 전기영동이 끝나면 EtBr을 이용하여 염색하고 확인하면 되어 PAGE gel보다 매우 간편하고 시간적, 공간적으로 절약할 수 있음
- 하지만 PCR products size가 200 bp 이하이며 서로간의 size 차이는 최소 5 bp이상 나야 분석이 가능하므로 모든 분자마커를 ready made gel을 이용하여 분석 할 수 없으므로 조건에 맞는 마커만 분석이 가능하고 분석 단가가 높다는 단점을 가지고 있음 (그림 19)
- 유전연관지도 작성을 위해서 여러 가지 genomic resource를 이용하고 그중에서 논문검색을 통해 고추와 관련된 마커와 염기서열을 분석하여 마커개발을 진행하였음 (그림 20)
- 특히 FPTr053 마커는 FPCAPS(Kim et al. 2008) 의 역병관련 마커에서 유래한 분자마커로서 염기서열을 분석하여 *Pvu* II, *Hha* I등의 제한효소에 의해 다형성이 있음을 찾고 screening을 통해 유전연관지도에 등재함 (그림 20, 21)
- 분자마커에 필요한 염기서열분석은 사업단 내에서 수행함으로 인해 원가절감과 분석시간 단축에 매우 효과적으로 진행할 수 있었음
- 형질관련 마커개발 뿐만 아니라 1-2과제와의 연계를 통해 마커개발을 이루는데 SSR, CAPS를 비롯해 SNP based marker 개발도 가능함

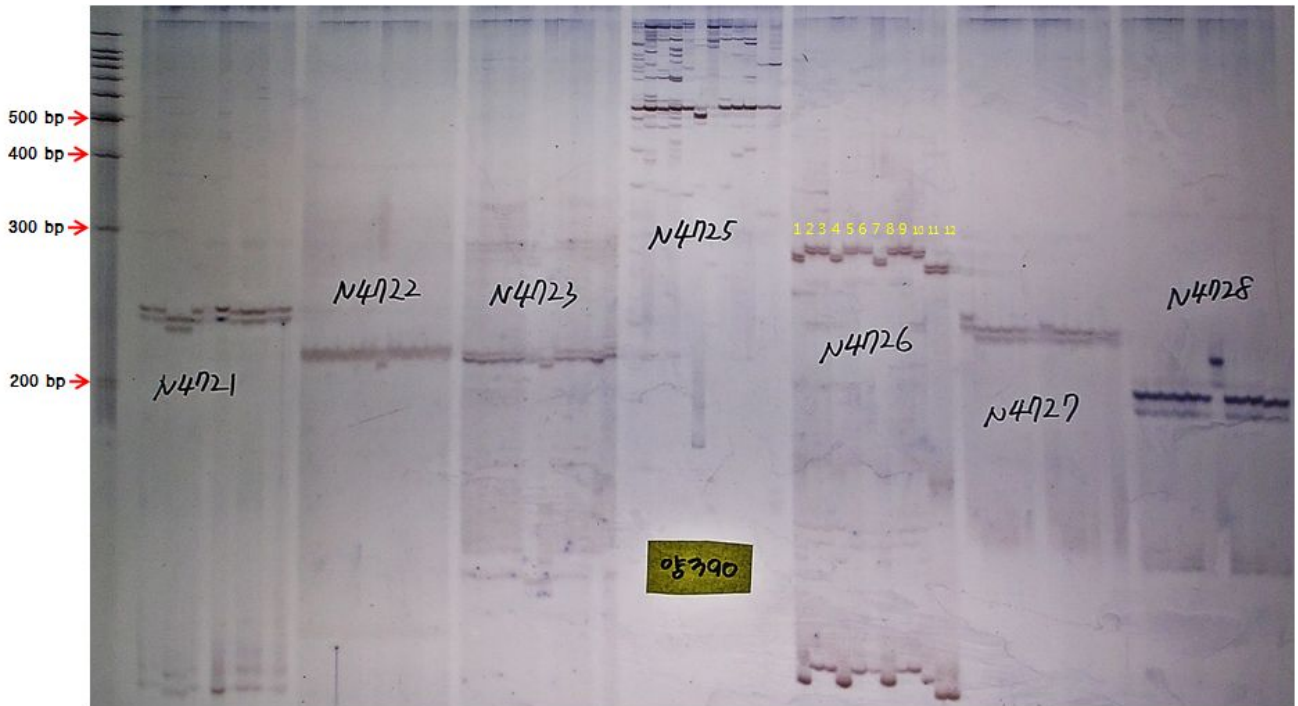
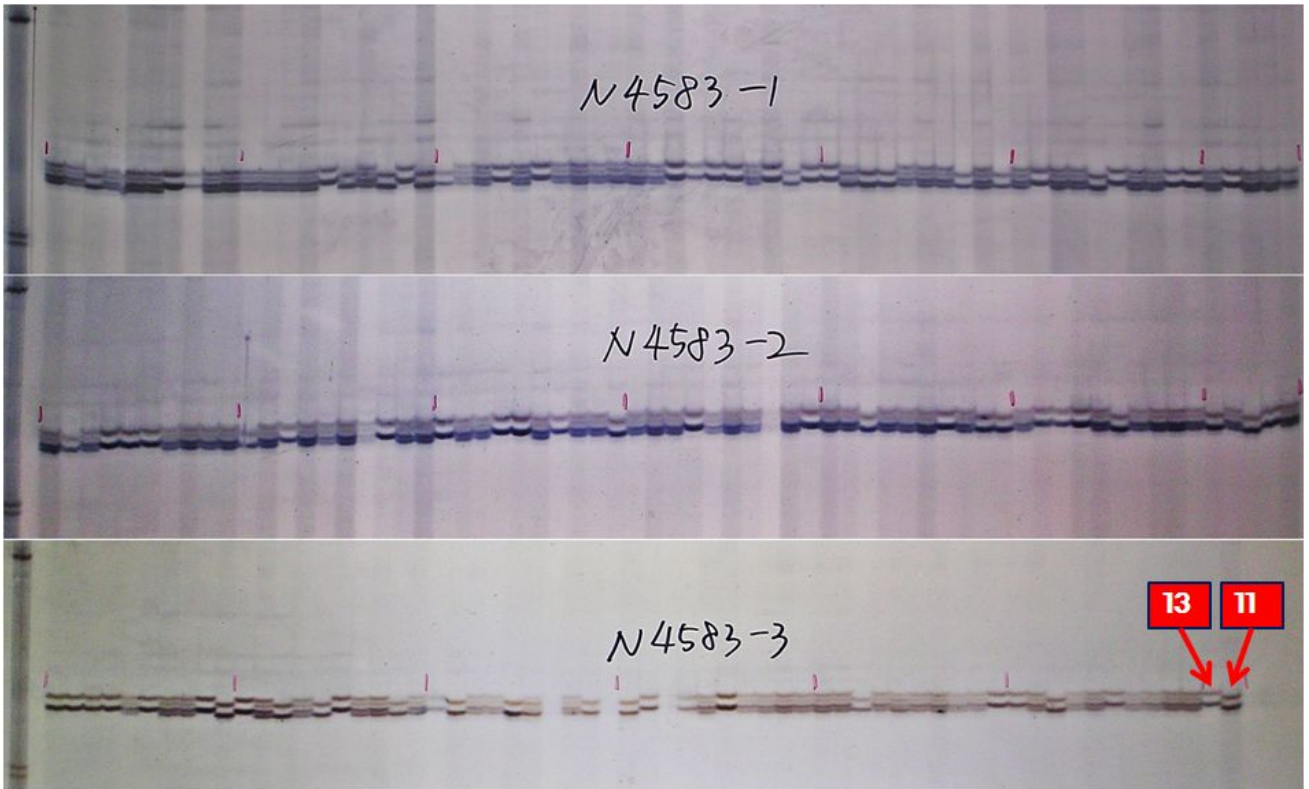


그림 15. 개발된 후보 SSR primer의 다형성 검증에 이용되고 있는 12계통의 poly-acrylamide gel electrophoresis (PAGE) 및 silver staining 사진. 1;FP13, 2;FP11, 3;FP202, 4;FP16, 5;FP12, 6;FP21, 7;FP501, 8;FP14, 9;역강부, 10;역강모, 11;FP401, 12;FP402.

Primer name	product size	PCR (Y/N)	Polymorphism												Function	SSR motif		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12				
MSRNC1733	300		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
MSRNC1736	286		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1737	300		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
MSRNC1738	278		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
MSRNC1739	186		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
MSRNC1740	290		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
MSRNC1741	246		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
MSRNC1742	179		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1743	188		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1744	144		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
MSRNC1745	175		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1746	279		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1747	240		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
MSRNC1748	277		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
MSRNC1749	270		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1750	262		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1751	206		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1752	214		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
MSRNC1753	144		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1754	251		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
MSRNC1755	221		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
MSRNC1756	262		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

그림 16. 모든 SSR primer를 이용한 1차 screening시에 다형성을 조사하고 데이터베이스화 하여 추후 검색과 확인이 용이하게 진행

A.



B.

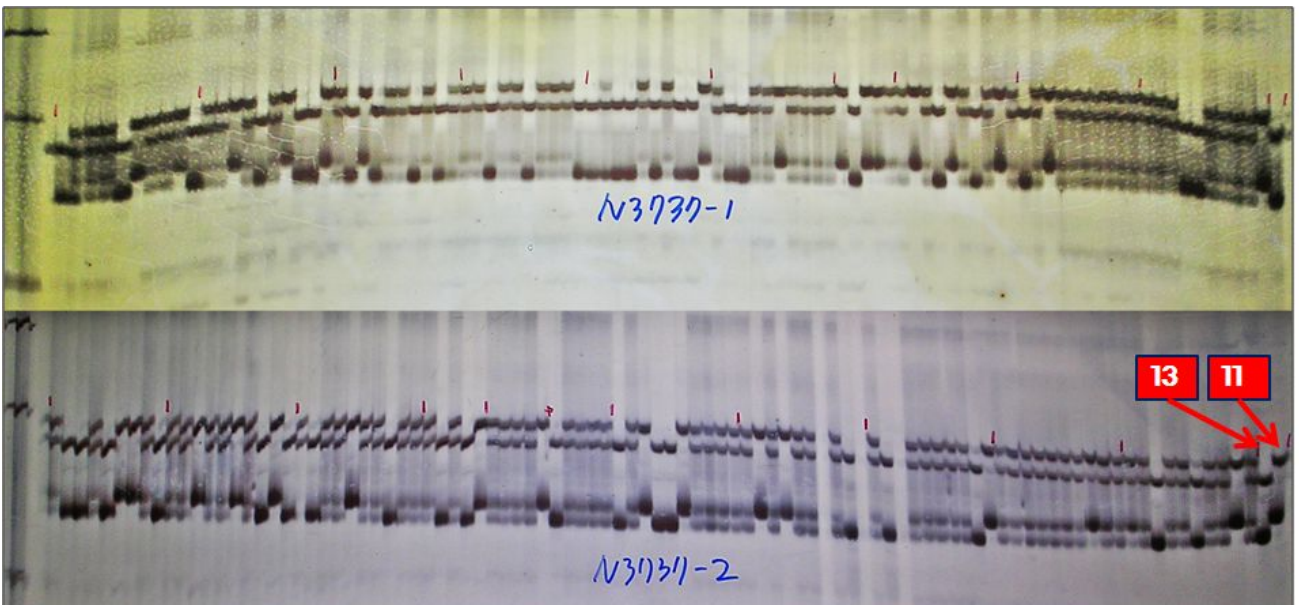


그림 17. 1차 선발된 SSR primer의 2차 다형성 검정을 위해 FP11 X FP13 집단의 F₂ genomic DNA와 FPssrW906(A), CA84(B) primer를 이용한 증폭 산물의 polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) 및 silver staining 사진(A : 72 comb 사용, B : 110 comb 사용).

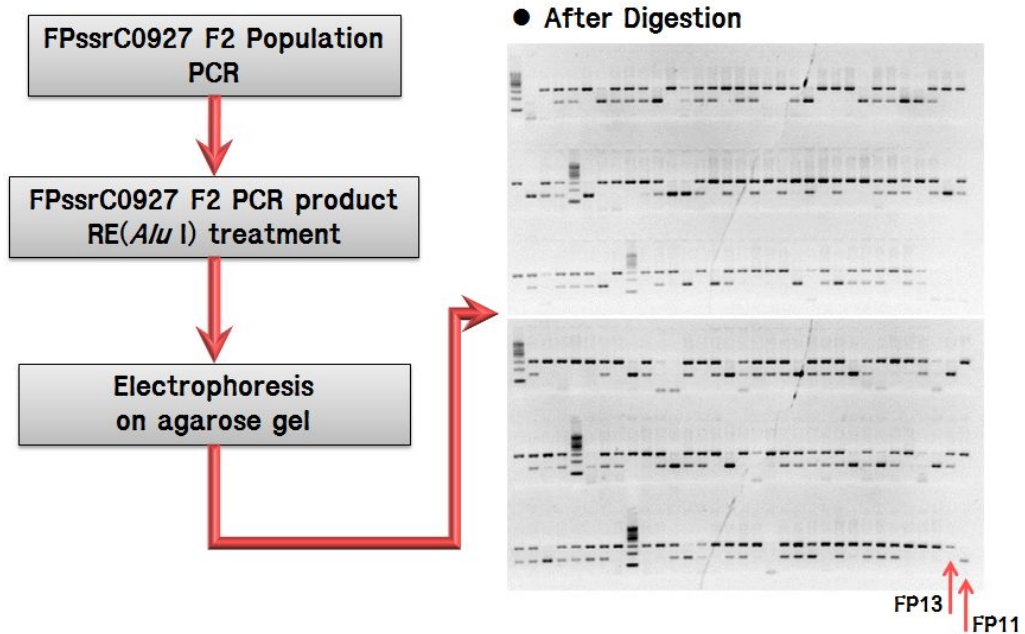
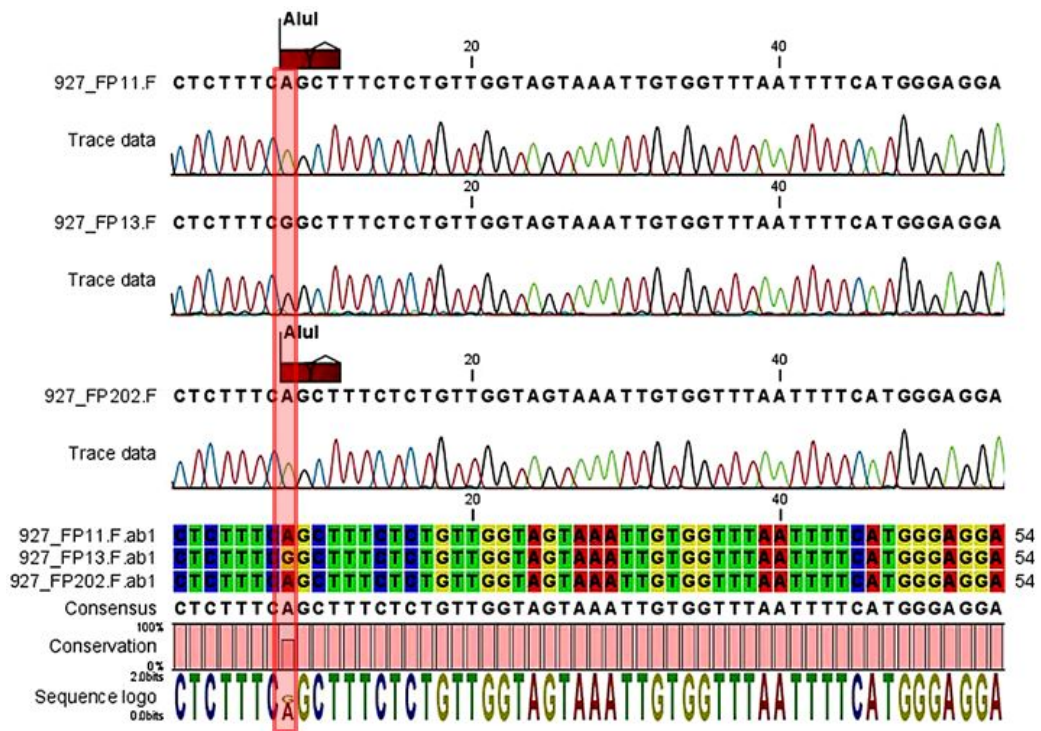


그림 18. 프로그램을 이용한 단일염기다형성(SNP) 탐색 및 SNP 유래 제한효소 절단부위를 이용한 CAPS 마커로의 전환(FPssrC0927)

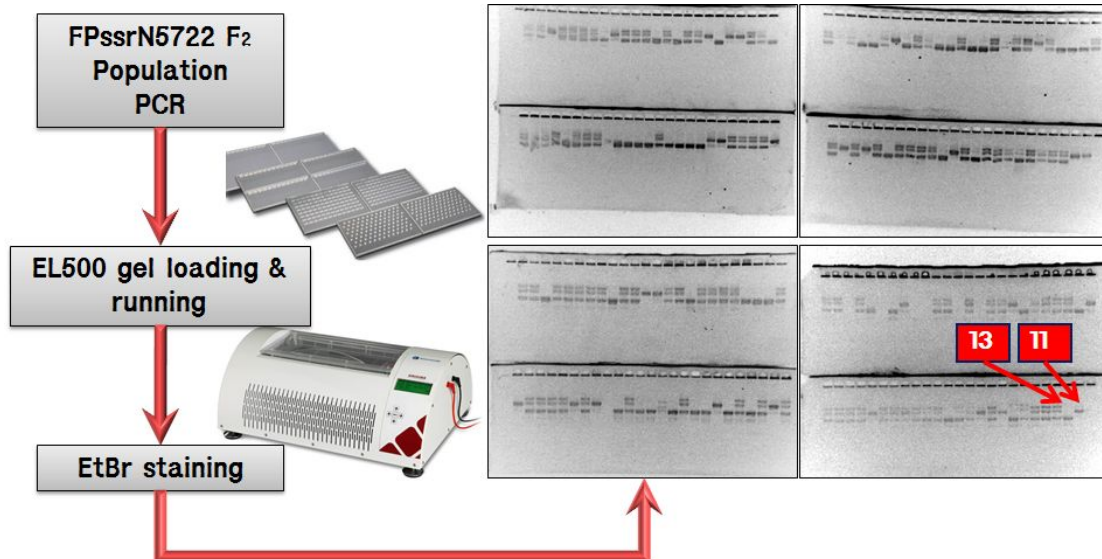


그림 19. Ready made gel을 이용한 SSR primer의 다형성 분석

Name	Protocol	RE	Cuttin size	Reference	Product length	POP	LQ	Coment
FPTr059	CAPS	HhaI, PvuII	중간	FPCAPS(Kim et al. 2008) (역병관련)	900	1113, 1216, 역병, 청고병	9	cut : FP11, FP16, 청고병부, 역병부

Sequencing 후 alignment

Pvu II

```

Consensus AACGAGCCTAG----T--CTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTC AAGCCGTGGAAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAA-GCTACGTACAATAAACCC 348
FP16-F AACGAGCCTAGGAG-TAACTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTC AAGCCGTGGAAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAATGCTACGTACAATAAACCC 306
FP16-R AACGAGCCTAGGAG-TAACTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTC AAGCCGTGGAAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAATGCTACGTACAATAAACCC 347
FP12-F AACGAGCCTAGCCCTMCTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTC AAGCCGTGGAAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAAGGCTACGTACAATAAACCC 306
FP12-R AACGAGCCTAGGAG-TAACTGGTAAAGTTTCTGCCATGTGACCAGGAGATCACGGATTC AAGCCGTGGAAACAGACTCCAGC-GAAATGCAAGGTAAAGGCTACGTACAATAAACCC 343
  
```

Hha I

```

Consensus TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCA-TGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCA-C-TTGGCGGATTA 570
FP13 F TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCACTCGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCASCTTTCGGGATTA 533
FP13 R TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCACTCGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATTA 569
FP11 F TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCACTCGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATTA 528
FP11 R TTTTCAGAGAGTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCACTCGACGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATTA 565
  
```

```

Consensus GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 580
역병부-F GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 541
역병부-R GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 578
역병모-F GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 540
역병모-R GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 577
역병F1-F GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 540
역병F1-R GTAAGCAGAGTGAACCTCACAACCAGATGCAGTGCAGGCCG-GCCAGTTTATTGGCAACGAATGCAACATCTCACAACGTCAAGAAGCAGCTTTCGGGATATGT CAGAAGCGT 575
  
```

그림 20. 논문검색을 이용한 분자마커 개발 중 염기서열 분석 과정

Enzyme working test

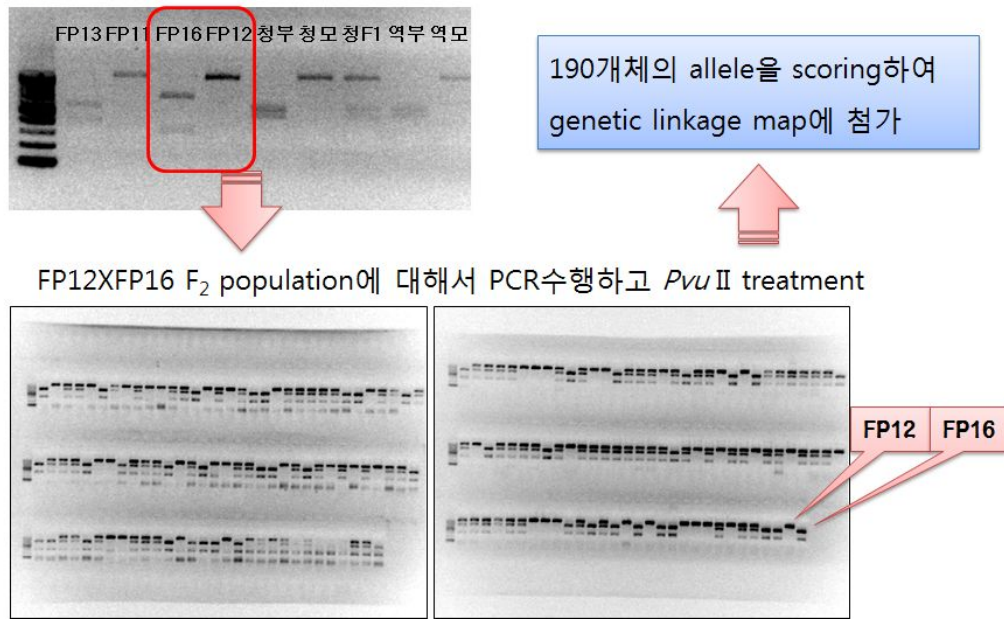


그림 21. 논문검색을 이용한 분자마커 개발중 염기서열 분석을 통해 개발한 프라이머를 이용하여 계통 분석 및 population 분석 (FPTr053)

4. 고밀도 유전연관지도 작성

- 신품종 개발의 속도를 높이기 위해서는, 특히 고추와 같이 게놈 크기가 큰 작물에서는 분자표지가 이용하려고 하는 목표 형질에 밀접하게 연관이 되는 고밀도의 유전자연관지도가 필수적이거나 고추에서 만들어진 유전자연관지도는 최근까지 이백여 개의 분자표지를 모아놓은 상상한 골격에 불과하여 실용적인 면에서 고추 육종에 사용되기 어려운 단계에 있음
- 최근 다른 모델 생물체 일부에서는 1cM이하의 초고밀도 연관지도를 제작하기 위하여 SSR을 활용하고 있으며 SSR은 실행이 용이하고, 얻을 수 있는 정보의 양이 많으며, 재현성이 높다는 점에서 장점이 있으나 유전자지도를 확보하기까지 많은 연구비가 소요되는 단점을 가지고 있음
- 고추에서 기존에 발굴된 SSR은 그 수가 매우 적고, 대개는 EST에서 얻은 편향된 정보라는 점에서 게놈전체를 커버하기에는 무리가 있으므로 현 단계에서 실용적인 수준으로 고추의 유전자지도를 발전시키는 가장 현실적이고 빠른 방법은 BAC 라이브러리의 말단염기서열에서 게놈와이드 (GWAS) SSR을 발굴하고 고밀도로 지도를 포화시키는 방법임

가. 종간 (FP11 X FP13) 유전집단을 이용한 유전연관지도

- 종간 집단인 FP11 (*C. annuum*) X FP13 (*C. chinense* Habanero) 집단은 (주)에프엔피에서 육성해 온 집단으로 제 1차년도 이전에 F₂ 190개체가 확보되어 genomic DNA를 분리, 약 2,100여개의 primer screening하여 1차년도에 245개의 SSR 마커가 집적된 유전연관지도를 작성하였음
- 고추의 고밀도 유전연관지도 작성은 5차년도에 표 3에 제시한 바와 같이 개발이 진행되어 온 primer를 이용하여 FP11 X FP13 집단에서 2,608개 마커를 등재 (그림 22)
- FP11 (*C. annuum*) X FP13 (*C. chinense* Habanero) 집단을 이용한 유전연관지도는

FnP(AC) map이라고 명명하고 특허를 출원하였음

- 1차 및 2차 검정과정의 결과를 종합한 후에 유전연관지도의 작성에는 MapDisto v1.7.2를 사용하여 χ^2 검정을 통해 분리비를 확인하고, 각각 primer 간의 유전적 연관 (genetic linkage)과 거리 (distance, cM)를 계산하여 작성하였음
- MapDisto v1.7.2에서 계산된 유전자간의 거리는 다시 MapChart v2.2를 이용하여 도식화하고 각각 다른 유전연관지도의 comparative mapping을 작성하였음
- MapDisto v1.7.2에서의 모든 유전적 거리를 계산할 때에는 Kosambi function을 통해 이루어 졌음
- 1차년도에는 FP11 X FP13에만 245개의 마커가 집적되었으나 5차년도에는 FnP(AC) map 과 FnP(AA) map의 유전연관지도에 2,608개의 마커가 집적되어 10.2배가 증가된 유전연관지도를 작성하였음 (그림 23)
- 제 5차년도에도 유전연관지도에는 SSR 마커뿐만 아니라 형질과 관련된 마커 그리고 STS 마커가 포함되어 있으며, 유래된 SSR은 FPssrG 135, FPssrC 401, FPssrB 534, FPssrW 328, FPssrN 853, CAPS 325, SNP 32개로 2,608개가 등재되었음
- 형질관련 마커로는 회복인자, CMV마커, 역병관련 마커, 매운맛 관련마커 등이 함께 등재되었음 (표3)

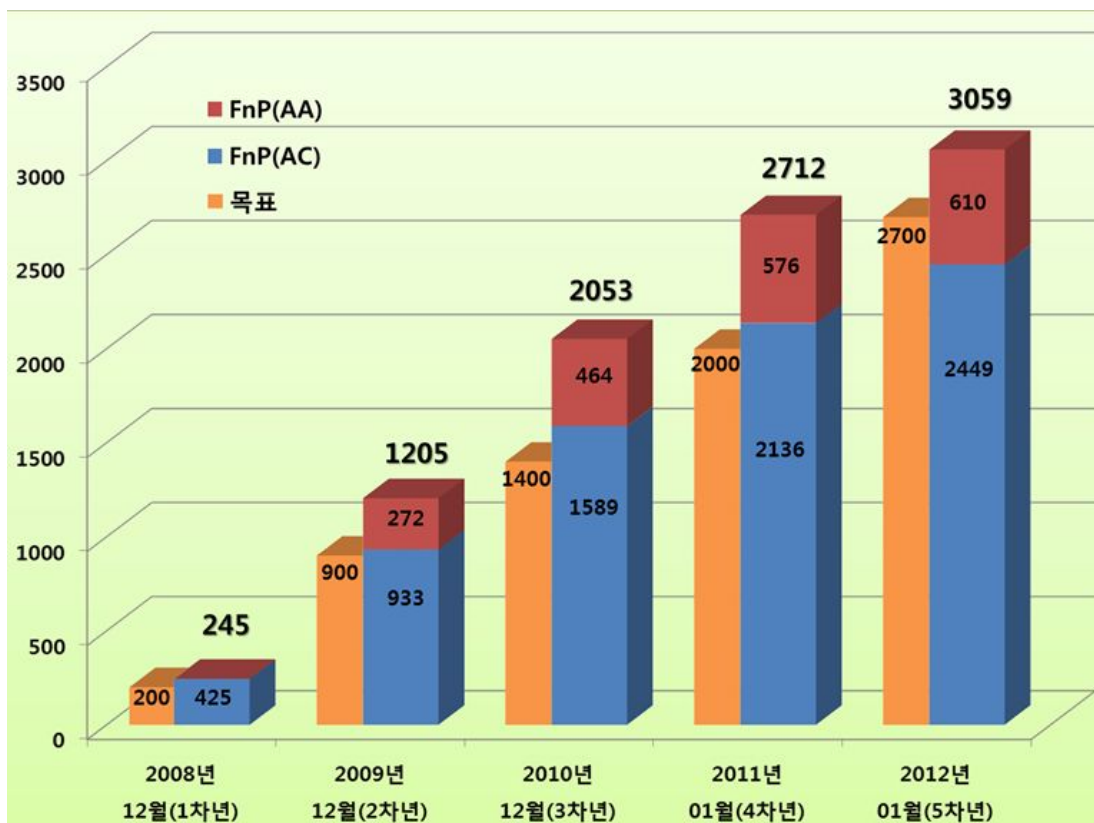
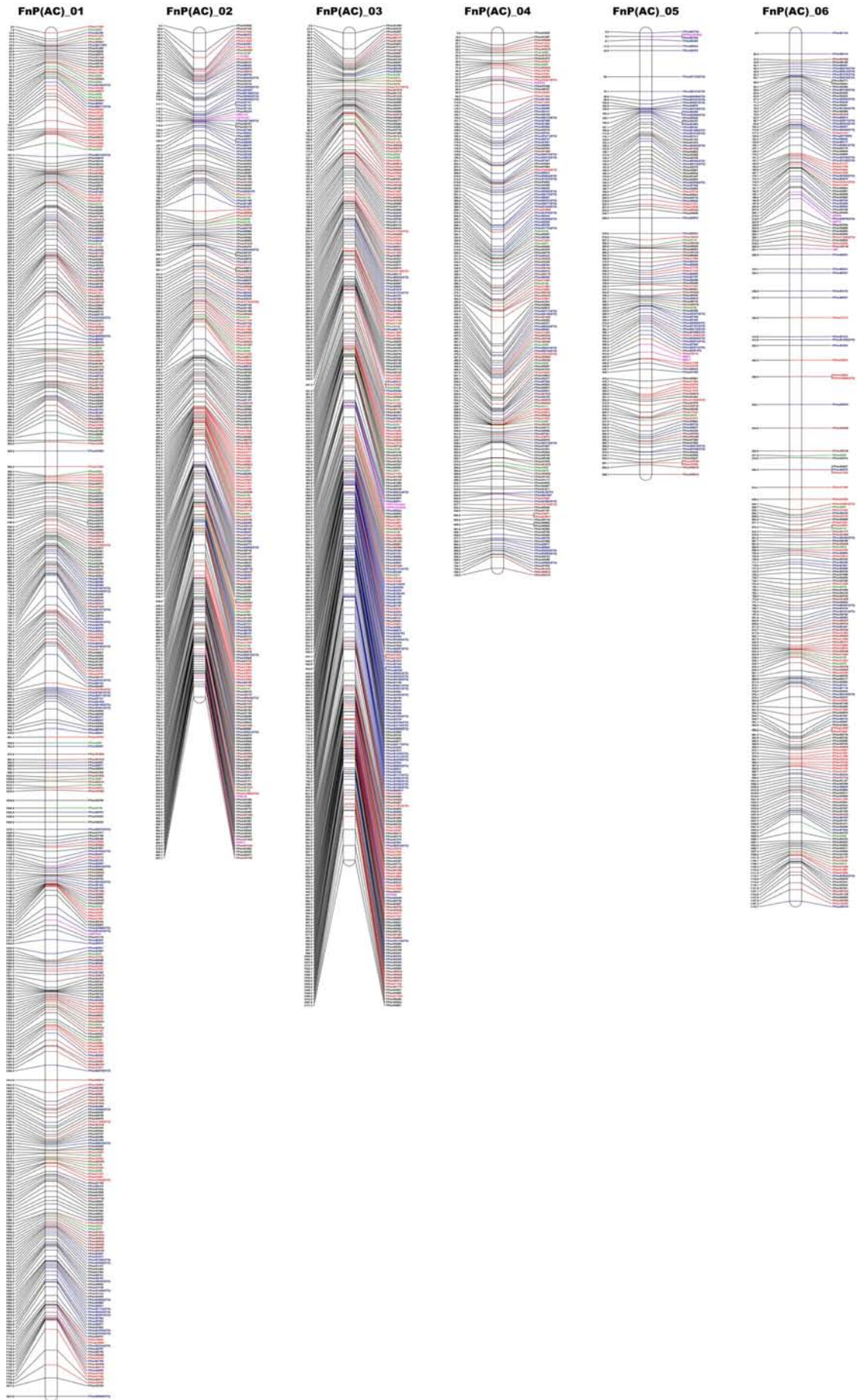


그림 22. 유전연관지도에 등재된 마커집적 추이(2012년 2월 21일 작성)



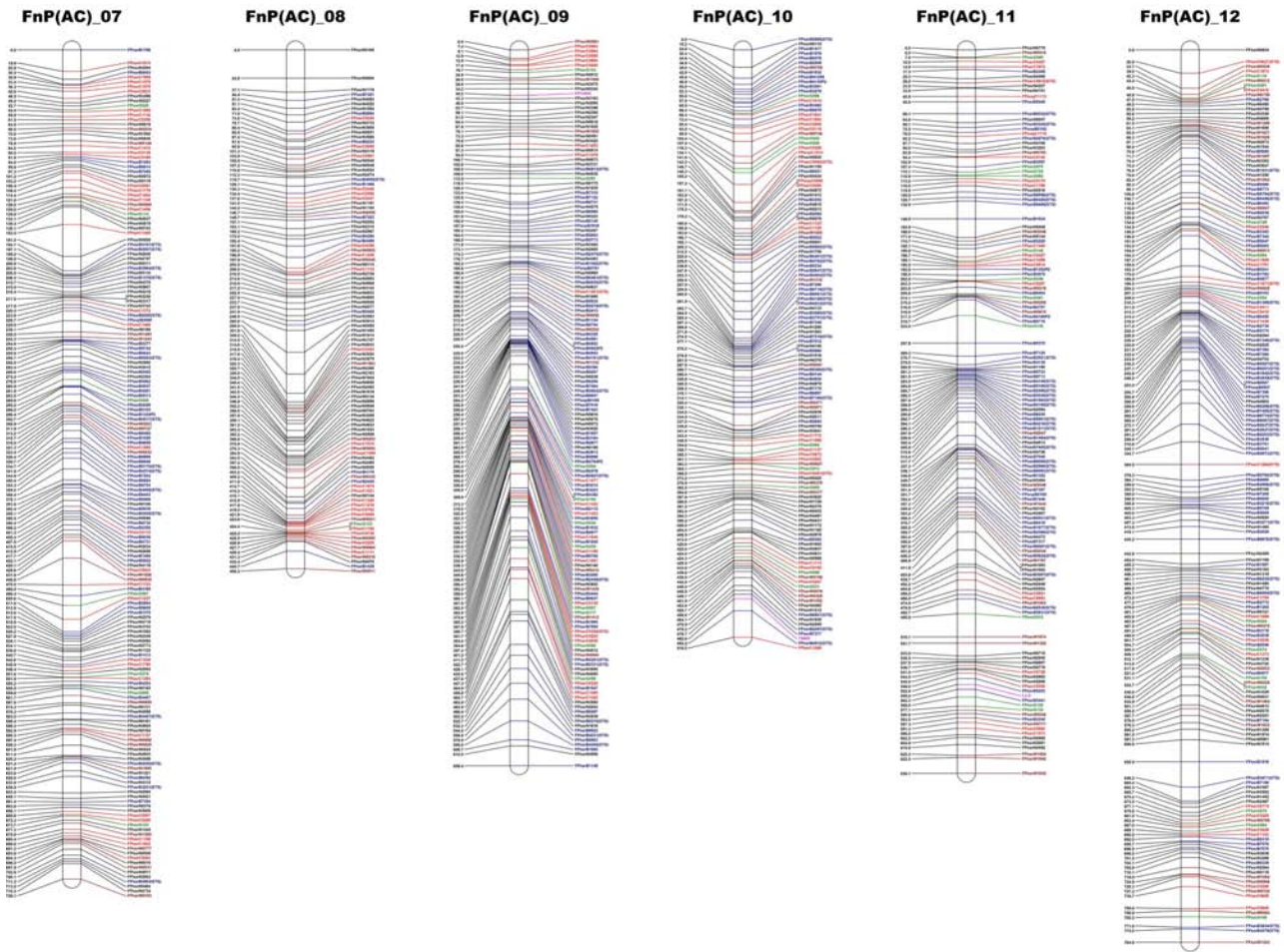


그림 23. 개발된 SSR 마커, STS 마커, SNP 마커 및 형질관련 마커를 이용한 고추의 고밀도 유전연관지도인 FnP(AC) map

나. 종내 (FP12 X FP16, *C. annuum*) 유전집단을 이용한 QTL Map 작성

- 1차년도 연구결과, 많은 육종 전문가들이 종간 집단 (FP11 X FP13)과 종내 집단 (FP12 X FP16)을 각각 이용하여 유전연관지도를 작성하는 것이 고추의 대표성 확보와 다양한 유전적 배경을 포함하는 유용한 지도가 될 것이라는 의견을 반영하였음
- 종내 집단인 FP12 (*C. annuum*) X FP16 (*C. annuum*) 집단은 (주)에프엔피에서 기 육성한 집단으로 1차년도에 F₂ 집단으로부터 190개체의 genomic DNA를 분리하였음
- FP12 (*C. annuum*) X FP16 (*C. annuum*) 집단을 이용한 유전연관지도는 FnP(AA) map으로 명명하고 특허출원 하였음
- 5차년도에 이들 집단을 이용하여 역병 QTL map을 작성하였으며, FP11 X FP13 집단과 FP12 X FP16 집단의 유전연관지도를 이용하여 comparative map을 작성하였음(그림 33)
- FnP(AA) map에 등재된 SSR 마커는 FPssrG 31, FPssrC 169, FPssrB 92, FPssrW 98, FPssrN 207, 형질관련마커 13개를 포함하는 총 610개가 등재되었음 (그림 24)
- 형질관련 마커로는 저널이나 sequencing analysis를 통해 매운맛 관련 및 역병후보 마커를 함께 등재하였음(표 4)
- 종내 (FP12 X FP16, *C. annuum*) 유전집단을 이용한 유전연관지도인 FnP(AA) map은 1-2 세부과제의 QTL mapping의 자료로 제공하여 분자마커 개발에 이용하고 있음

다. 청고병 집단[PS15(이병성) X PS15(안정화된 저항성) *C. annuum*]을 이용한 유전연관 지도 작성

- 청고병관련 마커개발을 위하여 기 선발된 청고병에 저항성과 이병성 F₂ 190개체의 교배집단을 이용하여 유전연관지도를 작성하고 QTL을 확인하여 마커개발에 이용하고자 함 (그림 25)
- 청고병집단은 모두 *C. annuum*으로 FnP(AA) map에 등재되어있는 분자마커(405개)를 이용하여 116개의 마커가 집적된 유전연관지도를 작성하여 81.1%의 효율을 나타내었음
- 하지만 QTL 분석에 사용되기에는 유전연관지도의 밀도가 낮아 추가적인 screening을 진행이 요구됨
- 따라서 FnP(AC) map에 등재되어있는 마커와 FPssrG, FPssrC등의 2,537개의 마커를 추가 분석하여 총 2,942개의 마커를 screening하여 263개의 마커가 집적된 유전연관지도를 작성하였음 (그림 26)
- 1차 screening에는 6개의 gDNA를 이용하였으며 표 7과 같은 순서로 진행하였음
- 모든 1차 screening 데이터는 파일에 입력하여 검색과 분석이 용이하도록 하였으며 사진과 같이 포함하여 집단에 대한 분석 시 용이하도록 하였음 (그림 26)
- 청고병집단 유전연관지도는 263개의 마커로 구성되며, 12개의 대표 linkage group, 총 길이 1,085.6 cM, 마커 간 평균 거리는 6.9 cM임 (그림 27)
- Linkage group 중에서 LG01, LG012은 3개, LG3, LG05, LG08번은 2개의 linkage group이 합쳐져지지 못하고 대표 linkage group으로 포함 시켰음
- FnP(AC) map과 FnP(AA) map이 이들의 linkage group을 명명하는데 근거로 사용되었으며 각각의 소규모 linkage group을 찾아 명명할 수 있었음

표 7. 청고병집단 유전연관지도 작성을 위한 1차 screening 분석용 gDNA

번호	1	2	3	4	5	6
청고병집단	PS15부계	PS15모계	PS15F1	PS14부계	PS14F1	PS13모계

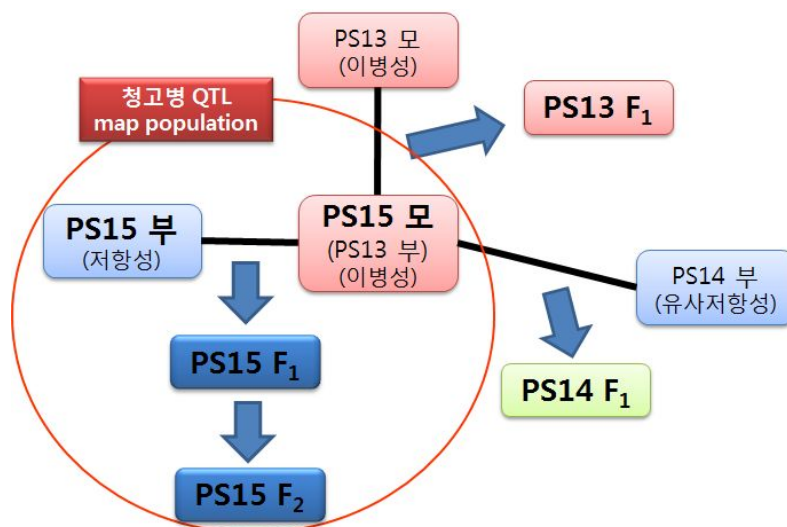


그림 25. 청고병 유전연관지도 작성을 위한 집단 모식도

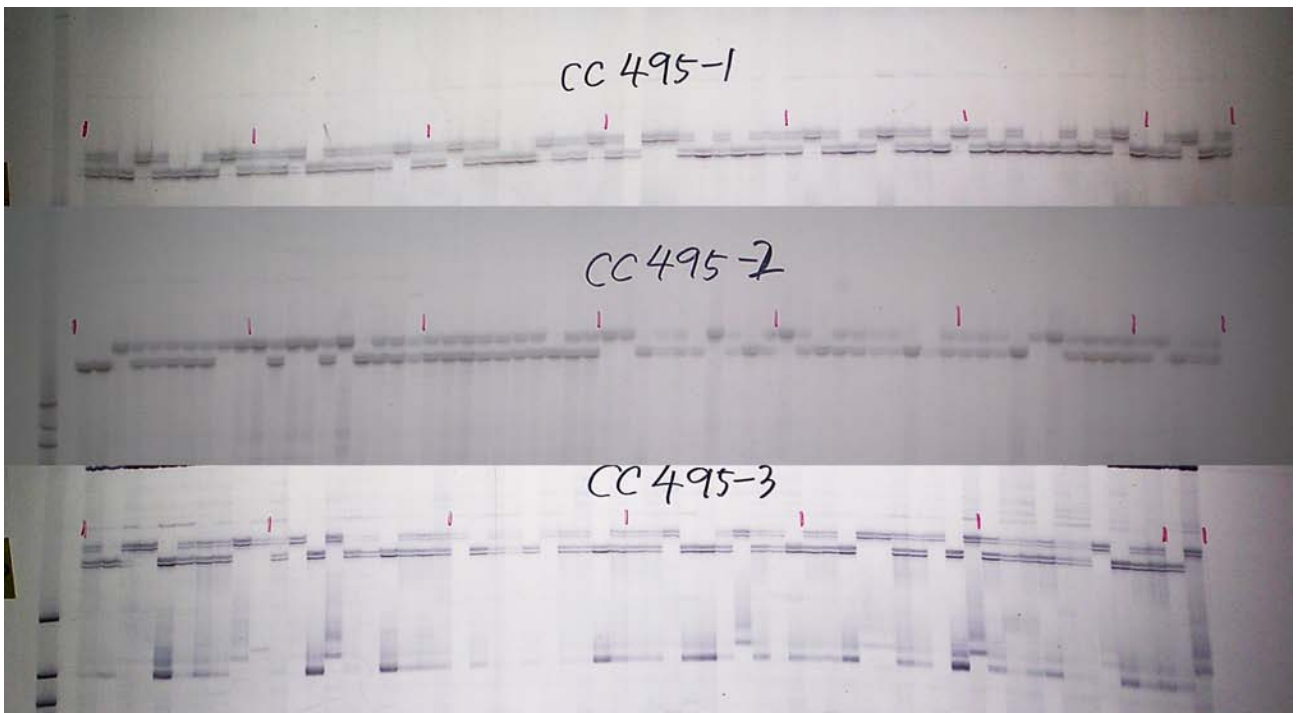
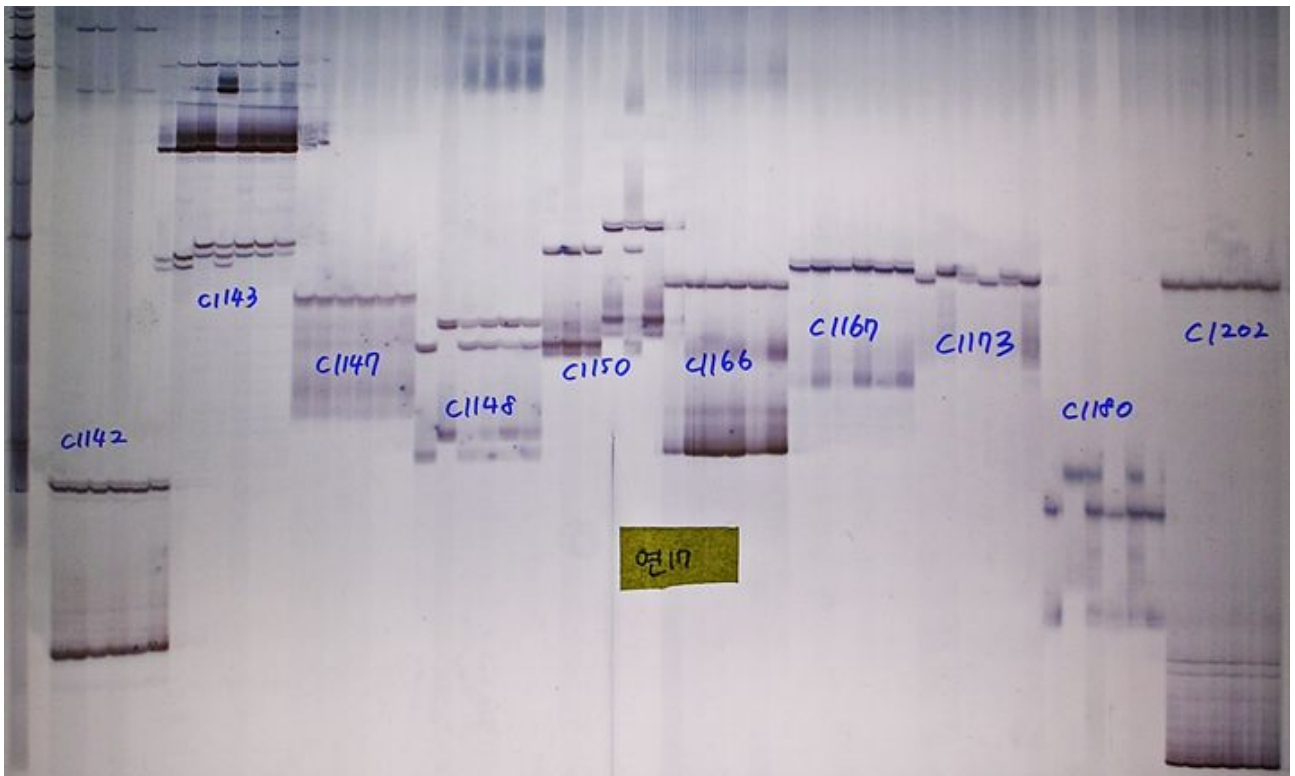


그림 26. 청고병집단 유전연관지도 작성을 위한 1차 및 2차 screening 모습

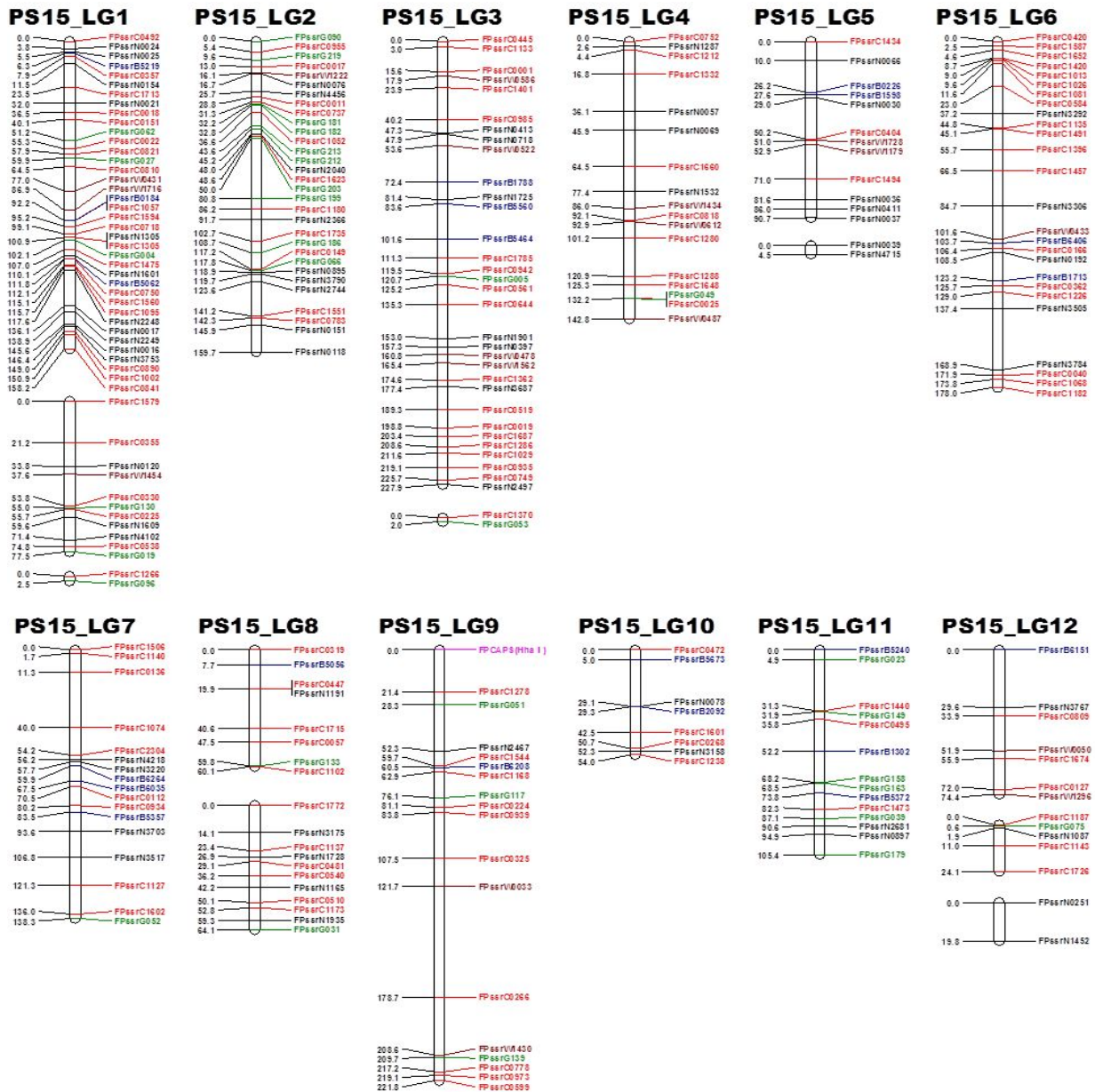


그림 27. SSR마커와 형질관련마커를 이용한 청고병집단 유전연관지도

라. 역병 집단(AC2258 X 역강홍장균 부계 *C. annuum*)을 이용한 유전연관지도 작성

- 역병관련 마커개발을 위하여 기 선발된 청고병에 저항성(역강홍장균 부계)과 이병성(AC2258)집단의 F₂ 96개체의 교배집단을 이용하여 유전연관지도를 작성하고 QTL을 확인하여 마커개발에 이용하고자 함 (그림 28)
- 역병집단은 모두 *C. annuum*으로 기존의 QTL 결과를 바탕으로 하여 FnP(AC) map과 FnP(AA) map의 LG1, 3, 5, 8에 등재되어있는 분자마커(403개)를 이용하여 76개의 마커가 집적된 유전연관지도를 작성하여 18.6%의 효율을 나타내었음
- 역병집단 유전연관지도는 기존의 연구결과를 토대로 역병연관 QTL인 높은 linkage group을 선발하여 집중적으로 개발을 시도함
- 1차 screening에는 3개의 gDNA를 이용하였으며 모, 부, F₁이며 같은 순서로 진행하였음
- 역병집단 유전연관지도 작성을 위한 1차 screening은 그림 29와 같이 진행하였으며 PAGE

- gel판에서 다형성을 선발하고 F₂ 집단에 대해 screening을 진행여부를 판단하였음 (그림 29)
- 역병집단 유전연관지도는 76개의 마커로 구성되며, 4개의 대표 linkage group, 총 길이 438.9 cM, 마커간 평균 거리는 6.5 cM임 (그림 30)

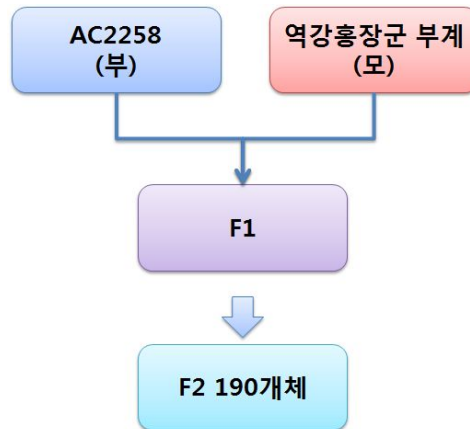


그림 28. 역병 유전연관지도 작성을 위한 집단 모식도



그림 29. 역병집단 유전연관지도 작성을 위한 1차 screening 모습

- Linkage group은 모두 10개로 나타났으며, LG01이 2개, LG03이 3개, LG05이 4개, LG08이 1개로 구성되어 있음

- FnP(AC) map과 FnP(AA) map이 이들의 linkage group을 명명하는데 근거로 사용되었으며 각각의 소규모 linkage group을 찾아 명명 할 수 있었음
- 1-1 세부과제에서 작성된 역병집단 유전연관지도는 1-2세부과제의 역병마커개발의 기본자료로 활용되어 마커개발에 사용됨
- 역병집단을 이용한 유전연관지도는 많은 마커를 이용한 고품도 연관지도가 아니고 역병개발을 위한 빠른 mapping으로 Linkage group 또한 1, 3, 5, 8번에 해당하는 QTL값에 의거하여 작성된 map임
- 따라서 단독으로는 QTL분석이 가능하지만 밀도가 높은 유전연관지도와의 comparative mapping을 통하여 더 근접한 마커를 조기에 선발이 가능함 (그림 31)

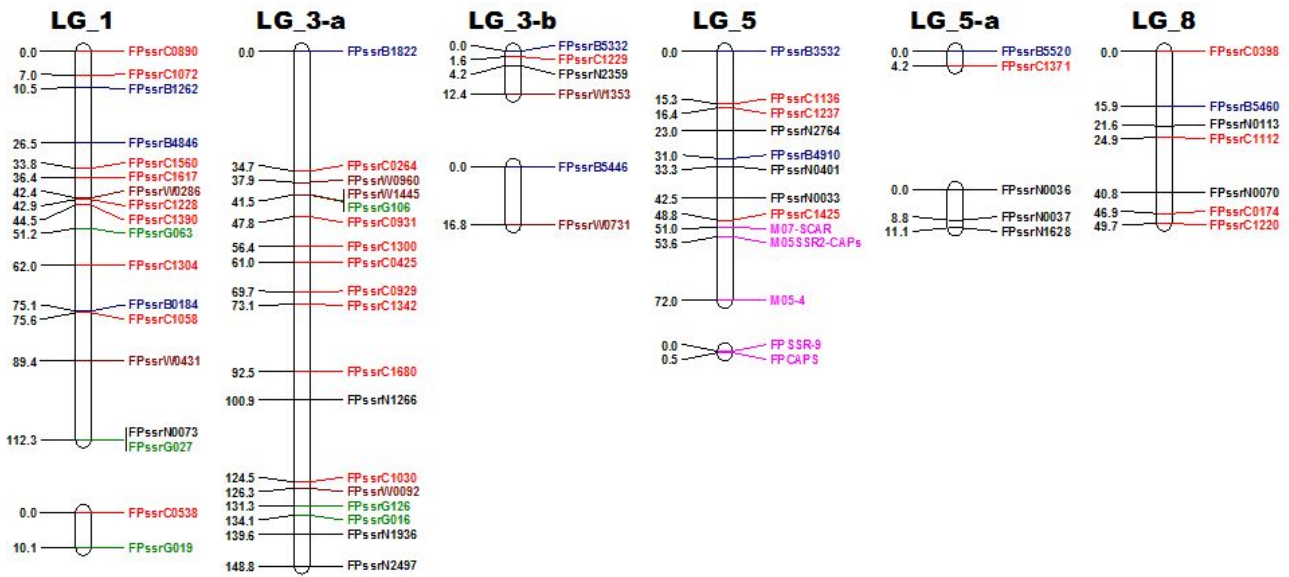
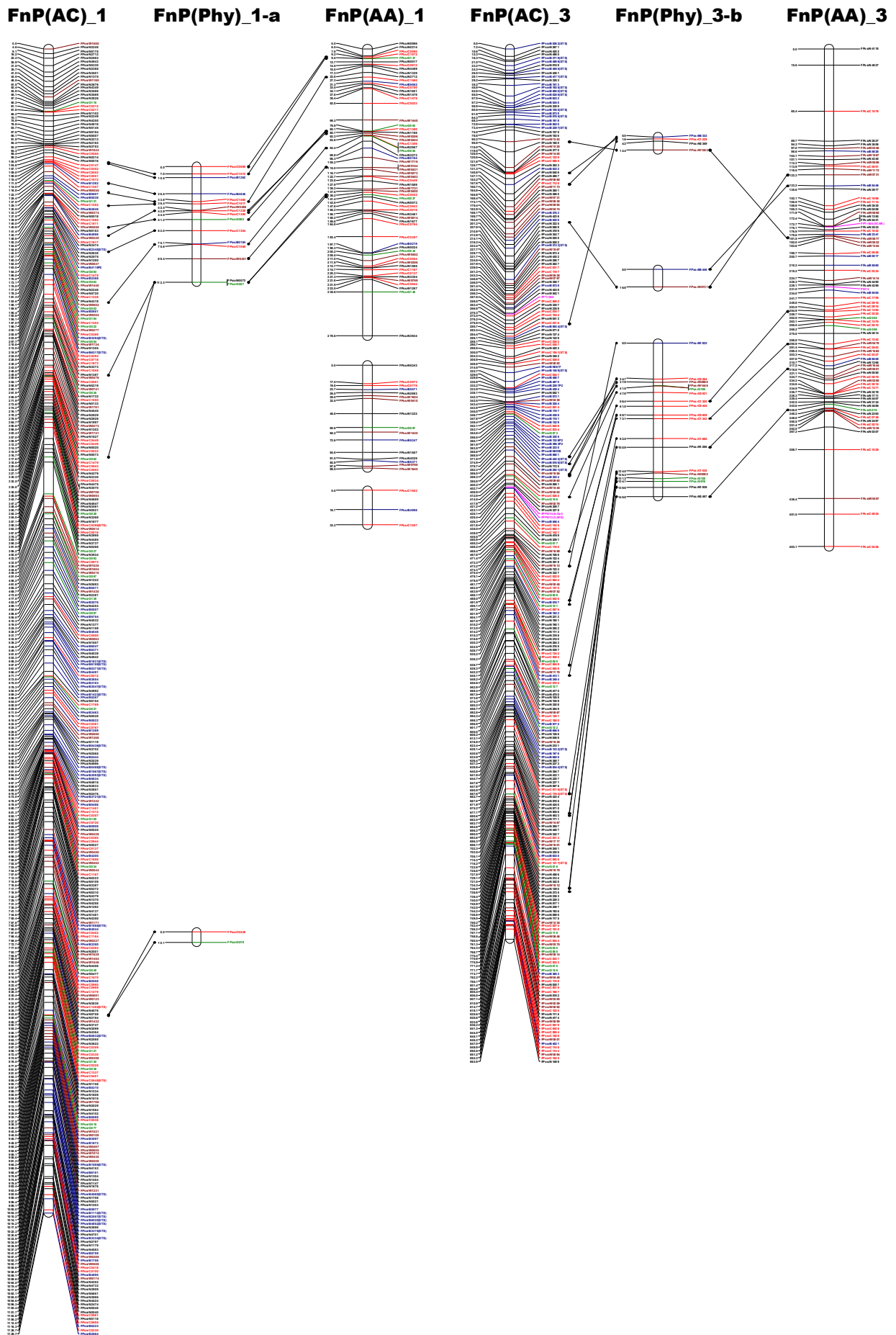


그림 30. SSR마커와 형질관련마커를 이용한 역병집단 유전연관지도



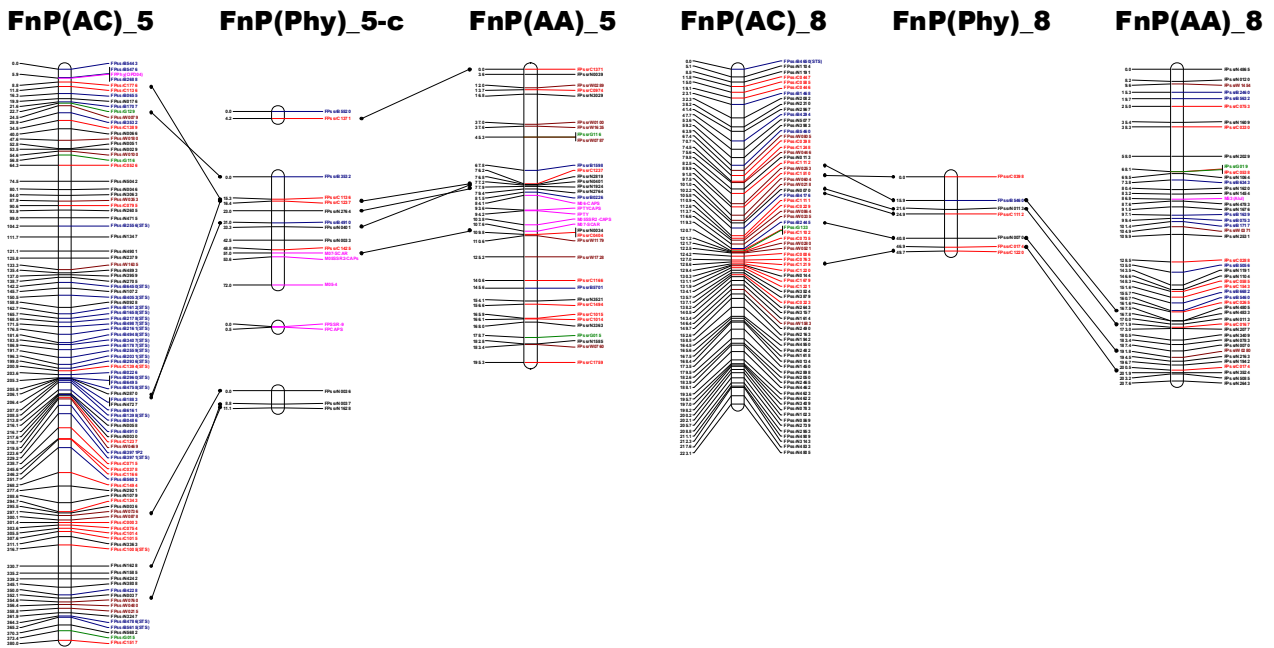


그림 31. 역병집단을 이용한 유전연관지도[FnP(Phy)]와 FnP(AC) map과 FnP(AA) map과의 comparative mapping

5. MAP Comparative

- FP11 X FP13 집단의 SSR 유전연관지도와 FP12 X FP16 집단을 이용한 QTL Map (1-2세대 부과제 수행)을 이용하여 두 집단의 comparative map을 작성하였음 (그림 33)
- 1113map과 1216map에 모두 변이를 보이는 SSR 마커의 수는 291개로 comparative mapping의 연결고리를 담당하고 있음 (그림 32)
- Comparative map은 개발된 SSR 마커의 활용에 있어서 넓은 범위의 유전적 배경을 포함할 수 있는 가능성 확인뿐만 아니라 유전연관지도 작성에 사용된 BAC end sequence를 이용한 FPssrB를 포함하고 있기 때문에 두 집단 이상의 유전연관지도와 물리지도를 통합한 map 작성에서 이들을 anchor 마커로 활용할 수 있음
- 물리지도는 DNA의 제한효소 절단부위들과 염색체 제한 절편의 순서와 같은 물리적 구성에 대한 정보를 제공하기 때문에 유전연관지도의 QTL 등 중요한 정보를 제공
- 본 과제에서 작성된 comparative map은 두 (FP11 X FP13, FP12 X FP16) 유전연관지도 간의 비교적 높은 빈도의 유전적 연관성을 나타내었으며, 고밀도 유전연관지도가 작성된 후에 Comparative 시킬 경우, 다양한 형질관련 마커와 대표적인 고추의 유전연관지도로 육종에 좋은 정보를 제공할 것임 (그림33)
- 특히 종내 유전연관지도의 비어있는 부분은 아종간의 고밀도 지도를 이용하여 예측함으로써 *Capsicum annuum* 간의 육종뿐만 아니라 비교유전체 연구에 많은 정보를 제공할 것임
- 4차년도에는 1-2과제와 연계한 역병집단을 이용하여 새로운 유전연관지도를 작성하였으며 FnP(AC) map, FnP(AA) map과 서로 비교하여 역병후보마커를 개발하는데 주도적인 역할을 담당하고 있음
- 본 사업단의 전략인 고밀도 유전연관지도를 먼저 작성한 후, 이 과정에서 수집된 BAC end sequencing 정보, BAC-contig 등의 정보를 활용하여 BAC clone을 이용한 물리지도를 작성

한 후에 두 지도가 통합된 Comparative map을 작성하면 보다 효율적으로 목표를 달성할 것임

- 고추분자마커사업단의 홈페이지가 완성됨에 따라 유전연관지도의 효율적인 관리가 이루어질 것으로 예상되나, 유전연관지도에 사용된 마커를 database화하는 작업이 선행되어야 할 것임
- Bioinformatics를 위한 DB화 작업은 많은 양의 data를 처리하고 관리함에 따라 5년 동안의 연구결과로 축적된 유전체 정보와 분자마커의 활용성을 극대화 할 것으로 기대됨
- 특히, 유전체 연구에서 구조유전체(물리지도, BAC contig)와 기능유전체(형질관련 마커 등)를 바탕으로 비교유전체의 연구는 고갈되어가는 육종재료를 다양화 할 수 있는 방법 중의 하나로 신품종 육성의 훌륭한 재료를 제공할 수 있음
- 따라서, 현재까지 축적된 유전체 정보와 앞으로 축적될 것으로 예상되는 유용한 분자마커 정보를 효율적으로 관리·활용할 수 있는 생물정보학적(bioinformatic) 관리체계 구축이 필요

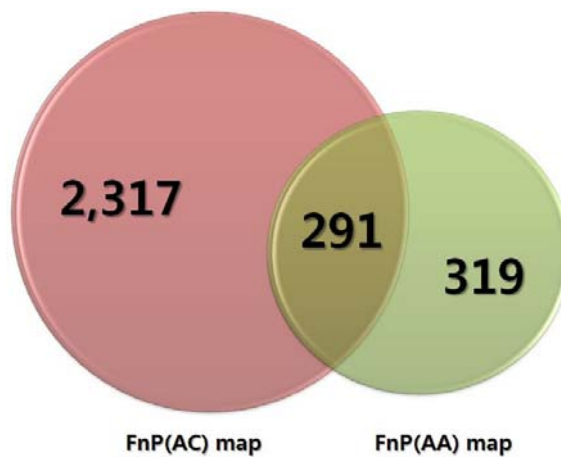


그림 32. FnP(AC) map과 FnP(AA) map에 등재되어있는 primer 분포도. FnP(AC) map은 총 2,608와 FnP(AA) map은 608개의 집적을 보이며 공통으로 존재하는 마커는 291개가 존재함

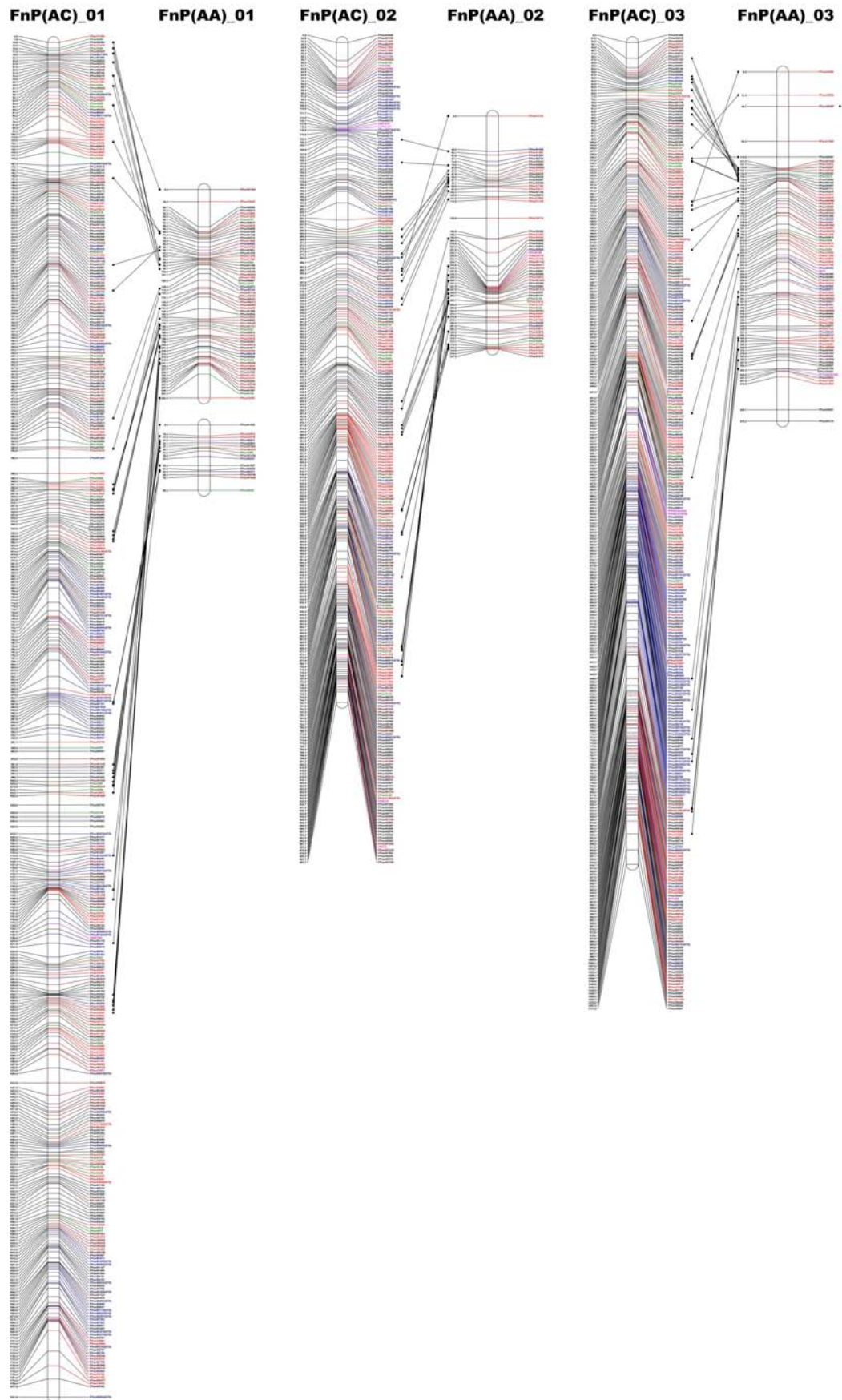


그림 33-A. FP11 X FP13 집단의 SSR 유전연관지도와 FP12 X FP16 집단을 이용한 QTL Map의 comparative Map (연관그룹 1~3)

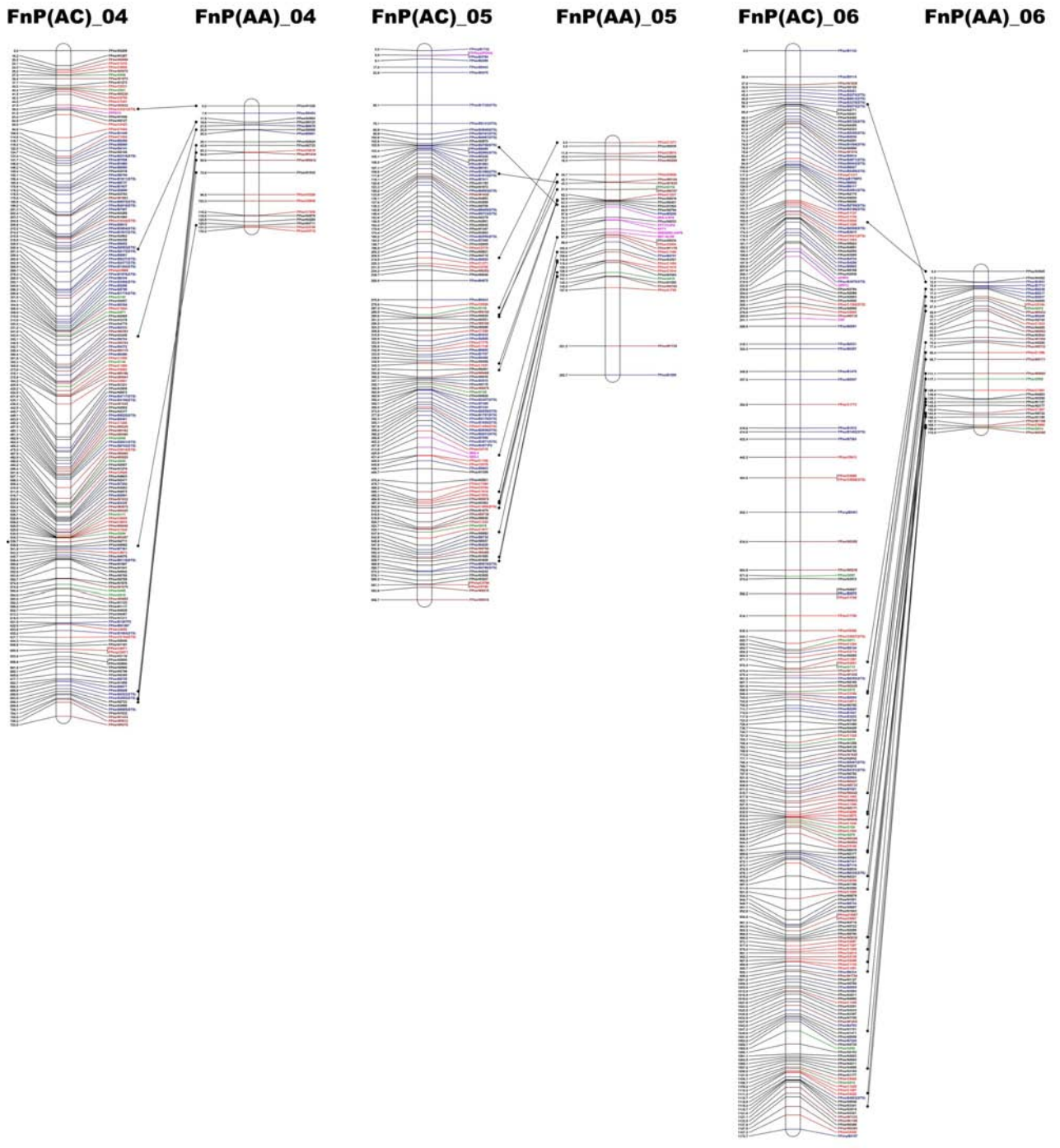


그림 33-B. FP11 X FP13 집단의 SSR 유전연관지도와 FP12 X FP16 집단을 이용한 QTL Map의 comparative Map (연관그룹4~6)

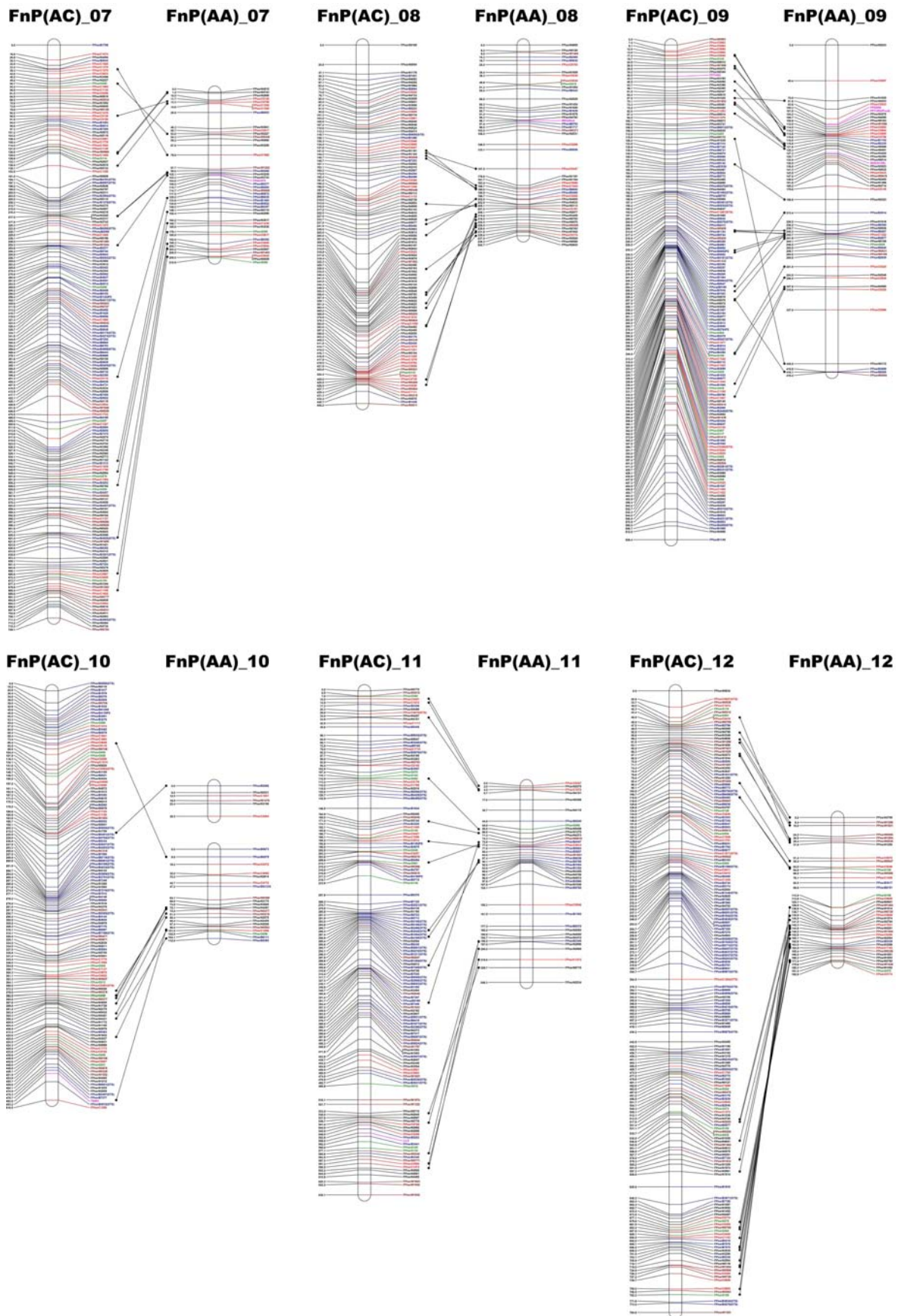


그림 33-C. FP11 X FP13 집단의 SSR 유전연관지도와 FP12 X FP16 집단을 이용한 QTL Map의 comparative Map (연관그룹 7~12)

6. 기초 물리지도 작성을 위한 BAC Clone의 확보

- 제 1차년도에 BAC library로부터 확보된 BES를 이용하여 BAC-contig를 작성하여, CMV-C₀ 주변에 450Kb를 비롯하여 4개의 BAC-contig를 확보하였음 (그림 34)
- 이와 같은 BAC-contig는 고해상도의 Comparative map 작성에 유용한 정보로 활용 가능

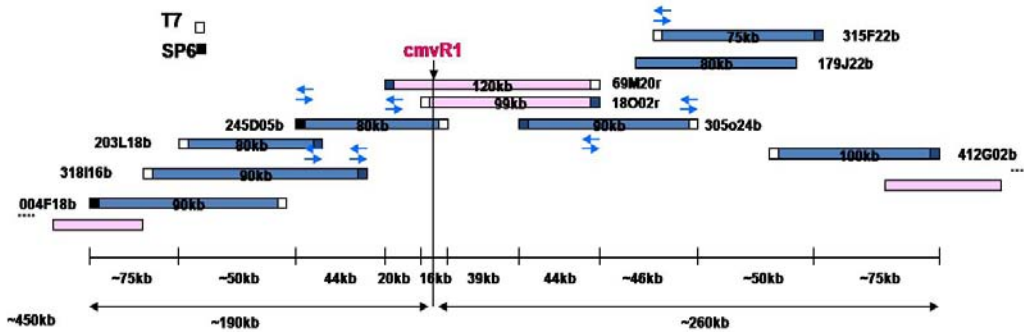


그림 34. BAC Library를 이용한 기초물리지도 작성을 위한 contig 작성

표 8. *Hind* III와 *EcoR* I을 처리한 FP11 BAC library와 *Bam*H I을 처리한 FP16 BAC library 제작 결과

Library	Cloning	Insert Size	Clones/Plates	Coverage	Chloroplast/* Mitochondria	
FP11BAC/R	EcoRI	120kb	71,808 / 187	3.6X	1.0% / 2.0%	
FP11BAC/B	BamHI	110kb	170,496 / 444	6.9X	1.1% / 1.0%	
FP11BAC/H	HindIII	94.2kb	129,024 / 336	3.78X	3.75%/1.25%	1차년
FP11BAC/H	HindIII	136.5kb	158,976/ 414	7.75X	2.4% / 1.2%	2차년
FP11BAC/R	EcoRI	129.3kb 147Kb	57,216/ 149 41,856/109	2.64X 2.20X	2.4% / 1.2%	2차년
FP11BAC/B	BamHI	127.5Kb	127,872/333	5.75X	2.4% / 1.2%	3차년
FP16BAC/B	BamHI	125kb	120,576/314	5.38X	2.4% / 1.2%	3차년
Subtotal	-	-	635,520/1,655	26.5X	-	-
Total	-	-	877,824/2,286	38X	-	

- 1차년도부터 3차년도까지 고추의 BAC library를 제작하였으며 FP11개체는 *Hind* III와 *EcoR* I를 처리하여 제작하였고, FP16은 *Bam*H I를 처리하여 제작하였음
- 총 클론의 개수는 87만개 이상으로 고추의 게놈의 38배에 해당하는 양의 DNA를 각각의 벡터에 결합시켜 클론을 제작하였음 (표 8)
- 총 2,286개의 384 well의 plate에 저장되어 -80°C에 보관되고 있으며 BAC end sequencing에 활용되어 FPssrB primer 제작에 사용되었음

- 제 1차년도에 BAC screening (Karyotyping)에서 확인된 159개의 spot을 분석하여 대응 연관그룹을 확인하였음 (표9)

표 9. 초기 karyotyping에 의한 Positive Clone 확인

Clone	Linkage group	Positive BAC	Size
CAN17	10		
CAN12	4		
CAV17	14	371112, 386J20, 416B03	~85Kb, ~110Kb, ~80Kb
CAN21	5		
CCS	4	302F19, 310C19	~60 & ~70Kb, ~65&75Kb
Ca4H	4	306M23	~40&~125Kb
COMT	2	124P11, 356M12	~90Kb, ~95Kb
CRTHYD	4		
GGPS	7	023B03R, 048D20, 192M12	~80Kb, ~100Kb, ~50Kb
LCY	10	379F22	~120Kb
PAL	2	437H22	
PDS	2		
PFTF	6		
PSY	7	237L04, 238M13, 310C19, 311H21, 424E12, 424H08	
TK2	1		

- 물리지도는 유전연관지도로 작성된 분자표지를 이용하여 실제 염색체내에서 확인하는 것으로 유전연관지도 작성의 최종 목적지에 해당됨
- 물리지도를 작성하기 위해서는 염색체와 hybridization 하는 probe의 선택이 중요한데 이때 사용되는 probe로 BAC clone이 가장 많이 활용됨
- BAC contig와 FISH에서 확인된 BAC clone이 서로 연계되어 만들어진 물리지도는 NGS를 이용한 whole genome sequencing보다 활용 가치가 매우 높음
- BAC clone을 probe로 활용하기 위해서는 BAC end sequence로부터 만들어진 분자표지가 유전연관지도내에 집적되어야 하며 하나의 linkage group에 연관되어 있는 BAC clone들이 여기에 사용됨
- 제 1차년도에 BAC screening (Karyotyping)에서 확인된 159개의 spot을 분석하여 대응 연관그룹을 확인하였음
- BAC sequence를 활용한 contig 작성과 대응 연관그룹 확인은 작성된 BAC library를 이용한 물리지도 작성의 효용성을 검증할 수 있을 뿐만 아니라 물리지도와 유전연관지도를 통합한 Comparative map 작성의 필수사항 임
- BAC end sequencing으로 확보된 염기서열을 이용하여 연관그룹 대응 BAC clones를 확인하였음 (표 10)
- 연관그룹 대응 BAC clones는 총 551개로 연관그룹별로 15개에서 65개로 다양하였으며, 연관그룹 3번이 65개로 가장 많은 BAC clone이 등재되었음
- 고추의 고밀도 유전연관지도는 계속해서 업데이트를 통해 개선될 것으로 앞으로 더 많은

BAC clone을 확보할 것으로 사료됨

- 유전연관 및 물리지도의 통합에 의한 유전연관분석에서 다형성 표지들은 target sequence의 정확한 위치를 파악하는 probe로 이용할 수 있으며, target sequence를 분리하기 위해서 fluorescence in situ hybridization (FISH)로 분자표지를 유전 연관지도와 유전자 물리적 지도를 연결하는데 이용.
- FISH에 사용되는 프레파라트를 3차년도에 130장을 계획하여 4차년도에는 189장, 5차년도에는 110장을 완성하였음 (그림 35)
- 5S ribosomal DNA를 이용하여 FISH 최적화를 위한 조건을 확립하였으며 BAC clone을 이용하여 test 중에 있음 (그림 36)
- 물리지도 작성을 위한 FISH조건에 염색체가 고르게 펼쳐진 프레파라트 제작이 중요하고 지속적인 프레파라트 제작과 BAC clone선발이 이루어져야함
- 따라서 두 종류의 지도가 통합되면 target sequence를 확인, 분리 그리고 서열 분석을 통해서 품종육성에 필요한 정보를 포함하는 Comparative map이 완성되어 구조, 기능 그리고 비교 유전체를 융합할 수 있는 informatics 기술을 통해 다양한 신품종 육성 방안이 마련될 것임

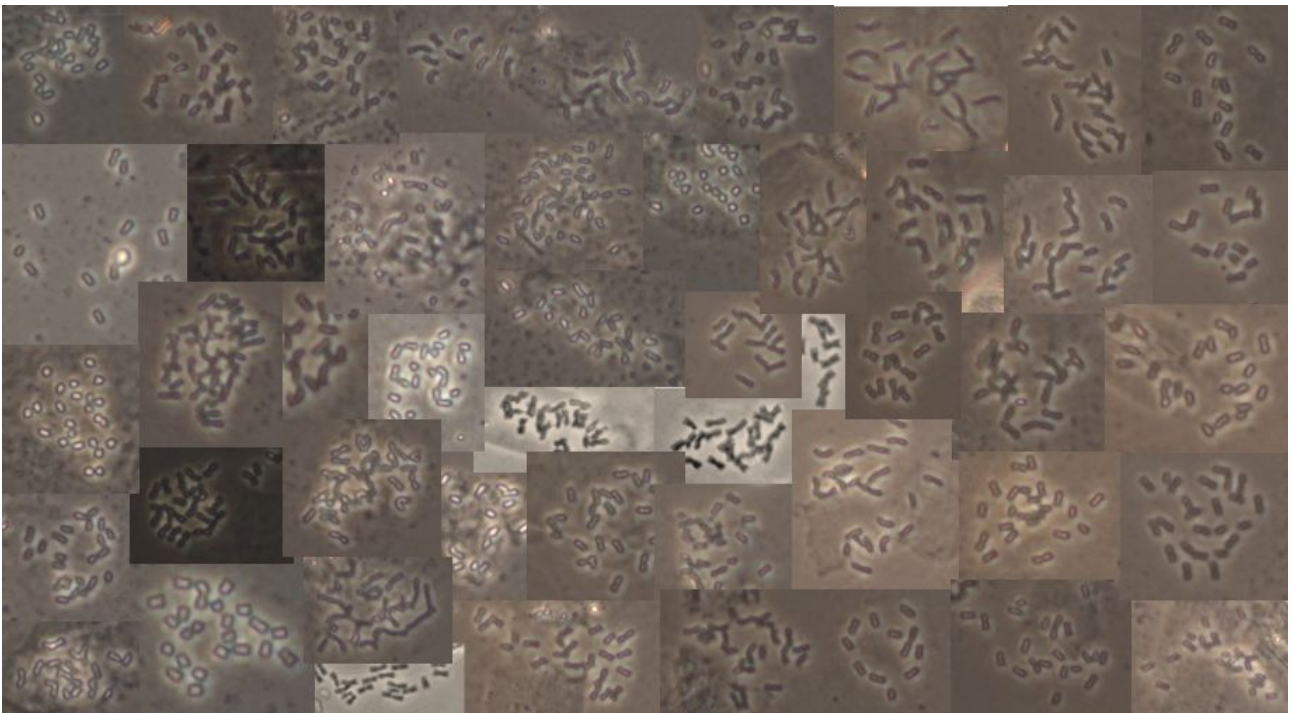


그림 35. Fluorescence *In Situ* Hybridization (FISH)용 프레파라트 제작 현미경 사진(X400)

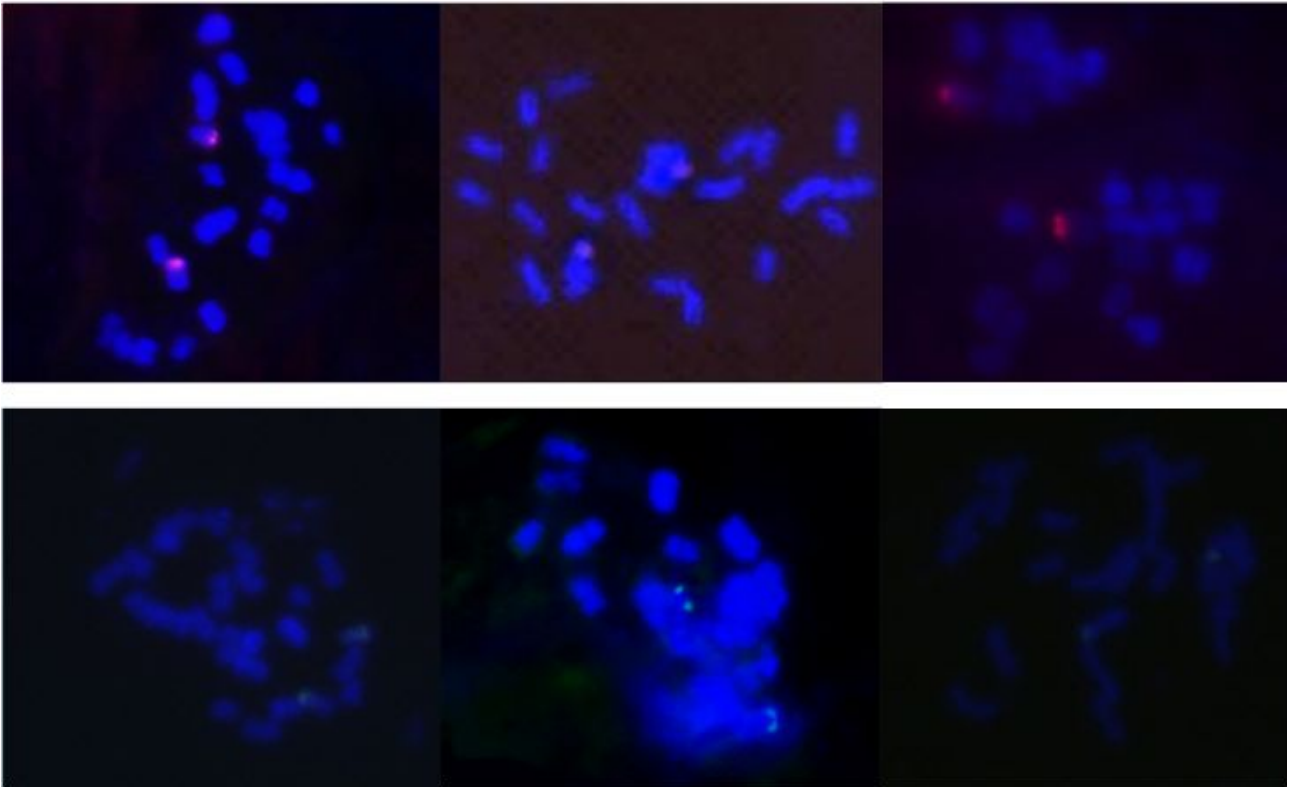


그림 36. 5S ribosomal DNA를 이용한 FISH 조건 확립(위: red spot, 아래: green spot)

표 10. BAC End Sequence (FP11 BAC/B)의 대응 연관그룹

LG	Clone name	LG	Clone name	LG	Clone name	LG	Clone name	LG	Clone name
1	FNPPFP114013801-R_0_C01_011.ab1	1	FNPPFP114048801-R_0_G03_019.ab1	3	FNPPFP114026802-R_0_A02_016.ab1	4	FNPPFP114003801-R_0_H04_018.ab1	5	FNPPFP114052402-R_0_F03_021.ab1
	FNPPFP114004402-R_0_B03_029.ab1		FNPPFP114049402-R_0_E01_007.ab1		FNPPFP114027401-R_0_H09_065.ab1		FNPPFP114004402-R_0_G08_052.ab1		FNPPFP114052801-R_0_F09_069.ab1
	FNPPFP114001801-R_0_D09_073.ab1		FNPPFP114049402-R_0_E05_039.ab1		FNPPFP114029802-R_0_E10_072.ab1		FNPPFP114003802-R_0_G08_052.ab1		FNPPFP114001802-R_0_F10_070.ab1
	FNPPFP114001802-R_0_E08_056.ab1		FNPPFP114051401-R_0_E04_024.ab1		FNPPFP1140302-R_0_E01_007.ab1		FNPPFP114007802-R_0_A09_079.ab1		FNPPFP114004401-R_0_D02_010.ab1
	FNPPFP114002401-R_0_B08_062.ab1		H336-1A02-F_0_A08_064.ab1		FNPPFP114001402-F_0_F04_022.ab1		FNPPFP114010801-R_0_H01_001.ab1		FNPPFP114004801-R_0_A09_079.ab1
	FNPPFP114002801-R_0_F10_070.ab1		H336-1A02-F_0_D03_025.ab1		FNPPFP114002401-F_0_G11_083.ab1		FNPPFP114011401-R_0_H01_001.ab1		FNPPFP114006802-R_0_B05_045.ab1
	FNPPFP114004801-R_0_A12_096.ab1		FNPPFP114004401-R_0_A09_079.ab1		FNPPFP114002801-R_0_F01_005.ab1		FNPPFP114013802-R_0_B08_062.ab1		FNPPFP114008402-R_0_A02_016.ab1
	FNPPFP114006801-R_0_C10_016.ab1		FNPPFP114006802-R_0_B03_029.ab1		FNPPFP114003801-F_0_E04_024.ab1		FNPPFP114013802-R_0_B08_062.ab1		FNPPFP114013802-R_0_A04_032.ab1
	FNPPFP114007402-R_0_C11_091.ab1		FNPPFP114009401-R_0_E07_055.ab1		FNPPFP114004402-R_0_H01_001.ab1		FNPPFP114013802-R_0_E04_024.ab1		FNPPFP114016401-R_0_H03_017.ab1
	FNPPFP114010801-R_0_F08_054.ab1		FNPPFP11401402-R_0_D05_041.ab1		FNPPFP114005801-R_0_G02_004.ab1		FNPPFP114020801-R_0_E02_008.ab1		FNPPFP114016801-R_0_A02_016.ab1
	FNPPFP114010801-R_0_G08_052.ab1		FNPPFP114014801-R_0_G05_035.ab1		FNPPFP114005802-R_0_F07_053.ab1		FNPPFP114024802-R_0_A12_096.ab1		FNPPFP114018401-R_0_B07_055.ab1
	FNPPFP114011801-R_0_A01_015.ab1		FNPPFP114016802-R_0_A07_063.ab1		FNPPFP114008802-R_0_C06_044.ab1		FNPPFP114025802-R_0_A05_047.ab1		FNPPFP114026802-R_0_C09_075.ab1
	FNPPFP114011801-R_0_F04_022.ab1		FNPPFP114019402-R_0_E04_024.ab1		FNPPFP114009802-R_0_E05_039.ab1		FNPPFP114026802-R_1_A09_079.ab1		FNPPFP114026802-R_0_D04_026.ab1
	FNPPFP114016401-R_0_G08_052.ab1		FNPPFP114020802-R_1_C04_028.ab1		FNPPFP114013401-R_0_A04_032.ab1		FNPPFP11402801-R_0_C02_012.ab1		FNPPFP114028401-R_0_B08_056.ab1
	FNPPFP114018801-R_0_A04_032.ab1		FNPPFP114028801-R_0_B04_030.ab1		FNPPFP114013801-R_0_H10_066.ab1		FNPPFP114028801-R_0_G08_052.ab1		FNPPFP114028401-R_0_D12_090.ab1
	FNPPFP114019401-R_0_H12_082.ab1		FNPPFP114032401-R_0_F08_054.ab1		FNPPFP114013802-R_0_D12_090.ab1		FNPPFP114037801-R_0_F05_037.ab1		FNPPFP114030802-R_0_D01_009.ab1
	FNPPFP114020802-R_1_E05_039.ab1		FNPPFP114001402-F_0_C03_027.ab1		FNPPFP114018801-R_0_G04_020.ab1		FNPPFP114038401-R_0_D03_025.ab1		FNPPFP114002401-F_0_E07_055.ab1
	FNPPFP114020802-R_1_F08_056.ab1		FNPPFP114001402-F_0_D05_041.ab1		FNPPFP114028401-R_0_G10_074.ab1		FNPPFP114042402-R_0_C05_043.ab1		FNPPFP1140026802-R_0_G02_004.ab1
	FNPPFP114023801-R_0_C10_076.ab1		FNPPFP114001802-F_0_G08_052.ab1		FNPPFP114021402-R_0_F11_085.ab1		FNPPFP114043801-R_0_B03_029.ab1		FNPPFP114003801-F_0_B02_014.ab1
	FNPPFP114026801-R_0_B06_046.ab1		FNPPFP114003802-F_0_H09_065.ab1		FNPPFP114021802-R_0_E07_055.ab1		FNPPFP114044401-R_0_D08_058.ab1		FNPPFP114005801-R_0_D12_090.ab1
FNPPFP114028401-R_0_A03_031.ab1	FNPPFP114006401-R_0_A12_096.ab1	FNPPFP114024801-R_0_C07_059.ab1	FNPPFP114044801-R_0_G12_084.ab1	FNPPFP114005802-R_0_A09_079.ab1					
FNPPFP114031401-R_0_F08_054.ab1	FNPPFP114007801-R_0_H12_082.ab1	FNPPFP114025801-R_0_E06_040.ab1	FNPPFP114044802-R_0_C01_011.ab1	FNPPFP114006802-R_0_F07_055.ab1					
FNPPFP114031401-R_0_G11_083.ab1	FNPPFP114007801-R_0_D12_090.ab1	FNPPFP114028401-R_0_G10_068.ab1	FNPPFP114045802-R_0_C03_027.ab1	FNPPFP114008401-R_0_C03_027.ab1					
FNPPFP114032802-R_0_H10_066.ab1	FNPPFP114008802-R_0_F06_038.ab1	FNPPFP114029802-R_0_G09_067.ab1	FNPPFP114046402-R_0_D08_058.ab1	FNPPFP114011401-R_0_B08_062.ab1					
FNPPFP114036801-R_0_H09_065.ab1	FNPPFP114009801-R_0_H02_002.ab1	FNPPFP114034801-R_0_A07_057.ab1	FNPPFP114046402-R_0_F12_086.ab1	FNPPFP114011401-R_0_D02_008.ab1					
FNPPFP114036801-F_0_H05_033.ab1	FNPPFP114011402-R_0_D06_042.ab1	FNPPFP114038402-R_0_D01_009.ab1	FNPPFP114050802-R_0_B01_014.ab1	FNPPFP1140128402-R_0_E01_007.ab1					
FNPPFP114038802-R_0_D09_073.ab1	FNPPFP114013401-R_0_A09_079.ab1	FNPPFP114039801-R_0_B09_071.ab1	FNPPFP114052401-R_0_G01_003.ab1	FNPPFP1140128401-R_0_G05_035.ab1					
FNPPFP114038802-R_1_C11_091.ab1	FNPPFP114013401-R_0_D05_041.ab1	FNPPFP114040401-R_0_C11_091.ab1	FNPPFP114053402-R_0_B11_093.ab1	FNPPFP114013802-R_0_F05_037.ab1					
FNPPFP114006401-R_0_F01_005.ab1	FNPPFP114017801-R_0_A09_079.ab1	FNPPFP114042801-R_0_C06_044.ab1	FNPPFP114059802-R_0_D06_042.ab1	FNPPFP114013801-R_0_H11_087.ab1					
FNPPFP114006801-R_0_C03_027.ab1	FNPPFP114018401-R_0_H01_001.ab1	FNPPFP114042801-R_0_C10_076.ab1	FNPPFP114059802-R_0_D06_042.ab1	FNPPFP114016802-R_0_A07_063.ab1					
FNPPFP114007402-R_0_F07_053.ab1	FNPPFP114018801-R_0_C07_059.ab1	FNPPFP114043802-R_0_F03_021.ab1	FNPPFP114059802-R_0_D06_042.ab1	FNPPFP114016802-R_0_D02_010.ab1					
FNPPFP114007801-R_0_H01_001.ab1	FNPPFP114021401-R_0_E10_072.ab1	FNPPFP114043802-R_0_G05_035.ab1	FNPPFP114059802-R_0_G01_003.ab1	FNPPFP114016802-R_0_H12_082.ab1					
FNPPFP114008401-R_0_F05_037.ab1	FNPPFP114024801-R_0_A11_095.ab1	FNPPFP114043802-R_0_A11_095.ab1	FNPPFP114059802-R_0_A04_032.ab1	FNPPFP114020802-R_0_C04_028.ab1					
FNPPFP114012802-R_0_G09_067.ab1	FNPPFP114025801-R_0_C04_028.ab1	FNPPFP114044802-R_0_E01_007.ab1	FNPPFP114059802-R_0_B11_093.ab1	FNPPFP114022801-R_0_C04_028.ab1					
FNPPFP114014801-R_0_F10_070.ab1	FNPPFP114032801-R_0_H09_065.ab1	FNPPFP114044802-R_0_C10_076.ab1	FNPPFP114059802-R_0_F10_070.ab1	FNPPFP114024802-R_0_D02_010.ab1					
FNPPFP114014801-R_0_E10_072.ab1	FNPPFP114032801-R_0_H10_066.ab1	FNPPFP114046801-R_0_D11_089.ab1	FNPPFP114059802-R_0_F07_053.ab1	FNPPFP114032402-R_0_G07_051.ab1					
FNPPFP114017802-R_0_B01_014.ab1	FNPPFP114033801-R_0_D11_089.ab1	FNPPFP114046801-R_0_G06_036.ab1	FNPPFP114059801-F_0_A06_048.ab1	FNPPFP114032802-R_0_F09_069.ab1					
FNPPFP114018401-R_0_C06_044.ab1	FNPPFP114034802-R_0_H01_001.ab1	FNPPFP114047801-R_0_G12_084.ab1	FNPPFP114059802-R_0_B09_077.ab1	FNPPFP114034402-R_0_D11_089.ab1					
FNPPFP114018402-R_0_G03_019.ab1	FNPPFP114043402-R_0_D10_074.ab1	FNPPFP114047801-R_0_G12_084.ab1	FNPPFP114064401-R_0_B09_077.ab1	FNPPFP114034402-R_0_D11_089.ab1					
FNPPFP114020801-R_0_B09_071.ab1	FNPPFP114044802-R_0_D12_090.ab1	FNPPFP114049801-R_0_E05_039.ab1	FNPPFP114064401-R_0_C09_075.ab1	FNPPFP114038802-R_0_H02_002.ab1					
FNPPFP114021801-R_0_A09_079.ab1	FNPPFP114046802-R_0_F10_070.ab1	FNPPFP114051801-R_0_D04_026.ab1	FNPPFP114064401-R_0_F08_054.ab1	FNPPFP114043801-R_0_A07_063.ab1					
FNPPFP114033801-R_0_D05_041.ab1	FNPPFP114049801-R_0_B01_013.ab1	FNPPFP114053801-R_0_G08_052.ab1	FNPPFP114078402-R_0_D12_090.ab1	FNPPFP114046801-R_0_A11_095.ab1					
FNPPFP114033801-R_0_E05_039.ab1	FNPPFP114049802-R_0_C02_012.ab1	FSGC8E002_02-A12-R.ab1	FNPPFP114023802-R_0_A10_080.ab1	FNPPFP114046801-R_0_C02_012.ab1					
FNPPFP114034401-R_0_C08_060.ab1	FNPPFP114053402-R_0_H06_034.ab1	FSGC8E002_03-D12-R.ab1	FNPPFP114032802-R_0_B09_071.ab1	FNPPFP114048401-R_0_D07_057.ab1					
FNPPFP114036401-R_0_D02_010.ab1	FNPPFP114001402-R_0_D07_057.ab1	H336-1B01-F_0_D09_073.ab1	FNPPFP114033401-R_0_C07_059.ab1	FNPPFP114051801-R_0_F09_069.ab1					
FNPPFP114036801-R_0_F06_038.ab1	FNPPFP114001801-R_0_C10_076.ab1	H336-1B01-F_0_H11_081.ab1	FNPPFP114034402-R_0_A04_032.ab1	FNPPFP114051401-R_0_H03_017.ab1					
FNPPFP114036802-R_0_C03_027.ab1	FNPPFP114001801-R_0_F01_005.ab1	H336-1B02-R_0_B06_046.ab1	FNPPFP114034801-R_0_B12_094.ab1	FNPPFP114051402-R_0_H11_081.ab1					
FNPPFP114037402-R_0_C02_012.ab1	FNPPFP114002802-R_0_H06_034.ab1	FNPPFP114001801-R_0_E01_007.ab1	FNPPFP114034802-R_0_G12_084.ab1	FNPPFP114051801-R_0_H06_034.ab1					
FNPPFP114037801-R_0_A08_064.ab1	FNPPFP114003802-R_0_H03_017.ab1	FNPPFP114006801-R_0_F08_054.ab1	FNPPFP114037801-R_0_G05_035.ab1	FNPPFP114051802-R_0_C03_027.ab1					
FNPPFP114037801-R_0_G11_083.ab1	FNPPFP114006801-R_0_D11_089.ab1	FNPPFP114008402-R_0_A03_031.ab1	FNPPFP114039401-R_0_G07_051.ab1	FSGC8E001_01-H08-F.ab1					
FNPPFP114039402-R_0_E03_023.ab1	FNPPFP114007402-R_0_C01_011.ab1	FNPPFP114010401-R_0_F10_070.ab1	FNPPFP114040402-R_0_H11_081.ab1	H336-1B02-F_0_F12_086.ab1					
FNPPFP114039402-R_0_D03_025.ab1	FNPPFP114009802-R_0_A08_064.ab1	FNPPFP114011402-R_0_F05_037.ab1	FNPPFP114040402-R_0_E07_055.ab1	FNPPFP114002401-R_0_D12_090.ab1					
FNPPFP114041402-R_0_H04_018.ab1	FNPPFP114010402-R_0_G03_019.ab1	FNPPFP114011801-R_0_G11_083.ab1	FNPPFP114040402-R_0_H10_066.ab1	FNPPFP114011401-R_0_D03_025.ab1					
FNPPFP114041801-R_0_F09_069.ab1	FNPPFP114011401-R_0_A06_048.ab1	FNPPFP114014402-R_0_C10_076.ab1	FNPPFP114045402-R_0_D02_010.ab1	FNPPFP114011401-R_0_F10_070.ab1					
FNPPFP114042802-R_0_D05_041.ab1	FNPPFP114014801-R_0_E07_055.ab1	FNPPFP114020801-R_1_A09_079.ab1	FNPPFP114045801-R_0_B07_051.ab1	FNPPFP114012402-R_0_E08_056.ab1					
FNPPFP114043401-R_0_B06_046.ab1	FNPPFP114014802-R_0_A02_016.ab1	FNPPFP114027401-R_0_D06_042.ab1	FNPPFP114045802-R_0_B03_029.ab1	FNPPFP114012802-R_0_B05_045.ab1					
FNPPFP114043401-R_0_G09_067.ab1	FNPPFP114014802-R_0_G03_019.ab1	FNPPFP114029801-R_0_H01_001.ab1	FNPPFP114045802-R_0_B11_093.ab1	FNPPFP114015401-R_0_H09_065.ab1					
FNPPFP114043802-R_0_C03_027.ab1	FNPPFP114016401-R_0_E09_071.ab1	FNPPFP114032401-R_0_G11_083.ab1	FNPPFP114045802-R_0_B09_071.ab1	FNPPFP114015401-R_0_H09_065.ab1					
FNPPFP114044402-R_0_D08_058.ab1	FNPPFP114016402-R_0_H08_050.ab1	FNPPFP114002801-R_0_G12_084.ab1	FNPPFP114047402-R_0_G09_067.ab1	FNPPFP114015802-R_0_A05_047.ab1					
FNPPFP114044802-R_0_A05_047.ab1	FNPPFP114020802-R_1_C12_092.ab1	FNPPFP114003401-F_0_G11_083.ab1	FNPPFP114051402-R_0_G06_036.ab1	FNPPFP114016802-R_0_D08_058.ab1					
FNPPFP114045802-R_0_E10_072.ab1	FNPPFP114021802-R_0_F10_070.ab1	FNPPFP114003801-F_0_G10_068.ab1	FNPPFP114051802-R_0_C05_043.ab1	FNPPFP114016801-R_0_A10_080.ab1					
FNPPFP114048402-R_0_B05_045.ab1	FNPPFP114021801-R_0_G07_051.ab1	FNPPFP114003802-R_0_D12_090.ab1	FNPPFP114052402-R_0_B06_046.ab1	FNPPFP114020402-R_1_B07_061.ab1					

LG	Clone name	LG	Clone name	LG	Clone name	LG	Clone name
7	FNPPF11E023A02-R_0_806_046.ab1	9	FNPPF11W001R801-R_0_A09_079.ab1	10	FNPPF11W002R802-R_0_C03_027.ab1	11	FNPPF11W037B01-R_0_H10_066.ab1
	FNPPF11E023B02-R_0_A05_047.ab1		FNPPF11W003A02-F_0_E08_056.ab1		FNPPF11W002R802-R_0_H11_081.ab1		FNPPF11W037B02-R_0_C10_076.ab1
	FNPPF11E024B02-R_0_D03_025.ab1		FNPPF11W006B01-R_0_F06_038.ab1		FNPPF11W011A01-R_0_B01_013.ab1		FNPPF11W037B02-R_0_F01_005.ab1
	FNPPF11E026B02-R_0_D07_057.ab1		FNPPF11W006B01-R_0_G03_019.ab1		FNPPF11W011A01-R_0_C02_012.ab1		FNPPF11W038B02-R_0_G11_083.ab1
	FNPPF11E029B01-R_0_A02_016.ab1		FNPPF11W006R801-R_0_C09_075.ab1		FNPPF11W011R801-R_0_A10_080.ab1		FNPPF11W041A02-R_0_E06_040.ab1
	FNPPF11E030B02-R_0_C10_076.ab1		FNPPF11W007B02-R_0_H04_018.ab1		FNPPF11W012B02-R_0_D10_074.ab1		FNPPF11W041B02-R_0_A06_048.ab1
	FNPPF11E032A02-R_0_G11_083.ab1		FNPPF11W008R802-R_0_G05_035.ab1		FNPPF11W015R802-R_0_H03_017.ab1		FNPPF11W041B02-R_0_A06_048.ab1
	FNPPF11W001B02-F_0_F10_070.ab1		FNPPF11W009R802-R_0_G09_067.ab1		FNPPF11W016R801-R_0_F07_053.ab1		FNPPF11W042A01-R_0_D10_074.ab1
	FNPPF11W001R802-R_0_D04_020.ab1		FNPPF11W011B01-R_0_A06_048.ab1		FNPPF11W024R801-R_0_H09_065.ab1		FNPPF11W044A01-R_0_F06_038.ab1
	FNPPF11W001R801-R_0_D03_025.ab1		FNPPF11W011B01-R_0_C09_075.ab1		FNPPF11W028B02-R_0_F05_037.ab1		FNPPF11W047A01-R_0_F01_005.ab1
	FNPPF11W003B02-F_0_G04_020.ab1		FNPPF11W012A02-R_0_D08_058.ab1		FNPPF11W033A02-R_0_G09_067.ab1		FNPPF11W049A02-R_0_H06_034.ab1
	FNPPF11W005R801-R_0_D04_026.ab1		FNPPF11W018A01-R_0_G02_004.ab1		FNPPF11W036A02-R_0_B05_045.ab1		FNPPF11W049B01-R_0_H01_001.ab1
	FNPPF11W006B02-R_0_F01_005.ab1		FNPPF11W018A01-R_0_G06_036.ab1		FNPPF11W042A01-R_0_G08_052.ab1		FNPPF11W051A01-R_0_G04_020.ab1
	FNPPF11W007B02-R_0_D05_041.ab1		FNPPF11W019A01-R_0_G06_036.ab1		FNPPF11W043A01-R_0_C04_028.ab1		FNPPF11W052B01-R_0_G08_052.ab1
	FNPPF11W010R802-R_0_D07_057.ab1		FNPPF11W021A01-R_0_H08_050.ab1		FNPPF11W043A02-R_0_C12_092.ab1		FNPPF11W053B01-R_0_H05_033.ab1
	FNPPF11W011A01-R_0_D01_009.ab1		FNPPF11W021B01-R_0_D07_057.ab1		FNPPF11W044B02-R_0_C07_059.ab1		FNPPF11E001R801-R_0_B11_093.ab1
	FNPPF11W014R802-R_0_G06_036.ab1		FNPPF11W021B02-R_0_G04_020.ab1		FNPPF11W047A02-R_0_A09_031.ab1		FNPPF11E001A02-R_0_D05_041.ab1
	FNPPF11W014R801-R_0_C01_011.ab1		FNPPF11W021B02-R_0_G12_084.ab1		FNPPF11W049B01-R_0_G02_004.ab1		FNPPF11W023A01-R_0_D10_074.ab1
	FNPPF11W019R802-R_0_B07_061.ab1		FNPPF11W034B01-R_0_G02_004.ab1		FNPPF11W049B01-R_0_G06_036.ab1		FNPPF11E008B01-R_0_H06_034.ab1
	FNPPF11W019R801-R_0_C04_028.ab1		FNPPF11W037B01-R_0_H10_066.ab1		H336-1B02-F_0_G09_067.ab1		FNPPF11E011B01-R_0_F02_006.ab1
	FNPPF11W021R802-R_0_H04_018.ab1		FNPPF11W037B02-R_0_H04_018.ab1		FNPPF11E001B01-R_0_F11_085.ab1		FNPPF11W031A01-R_0_B11_093.ab1
	FNPPF11W022R802-R_0_A12_096.ab1		FNPPF11W038A02-R_0_A12_096.ab1		FNPPF11E001B02-R_0_H03_017.ab1		FNPPF11W021B01-R_0_F11_085.ab1
	FNPPF11W025R801-R_0_D04_026.ab1		FNPPF11W038B02-R_0_F07_053.ab1		FNPPF11E002A02-R_0_G03_019.ab1		FNPPF11W021A01-F_0_D02_008.ab1
	FNPPF11W032B01-R_0_F11_085.ab1		FNPPF11W038B02-R_0_H01_001.ab1		FNPPF11E002B01-R_0_H11_081.ab1		FNPPF11W001A01-F_0_G03_019.ab1
	FNPPF11W033B01-R_0_A08_064.ab1		FNPPF11W039A02-R_0_E01_007.ab1		FNPPF11E003B01-R_0_D04_026.ab1		FNPPF11W001B01-F_0_D11_089.ab1
	FNPPF11W036A01-R_0_B11_093.ab1		FNPPF11W039A02-R_0_G07_051.ab1		FNPPF11E003B02-R_0_F06_038.ab1		FNPPF11W033A01-R_0_D04_026.ab1
	FNPPF11W037A02-R_0_H08_050.ab1		FNPPF11W040B02-R_0_D10_074.ab1		FNPPF11E004A01-R_0_H06_034.ab1		FNPPF11W004A02-R_0_F10_070.ab1
	FNPPF11W038A02-R_0_A07_063.ab1		FNPPF11W040B02-R_0_G06_036.ab1		FNPPF11E004B02-R_0_A01_015.ab1		FNPPF11W004R802-R_0_D02_010.ab1
	FNPPF11W038A02-R_0_F05_037.ab1		FNPPF11W040B02-R_0_H10_066.ab1		FNPPF11E006A02-R_0_D08_058.ab1		FNPPF11W036A02-R_0_C02_012.ab1
	FNPPF11W038B02-R_0_H02_002.ab1		FNPPF11W041A02-R_0_B06_046.ab1		FNPPF11E006B01-R_0_F03_021.ab1		FNPPF11W006B01-R_0_G03_019.ab1
	FNPPF11W040B01-R_0_B12_094.ab1		FNPPF11W042A01-R_0_C10_076.ab1		FNPPF11E006B02-R_0_G06_036.ab1		FNPPF11W006R801-R_0_H02_002.ab1
	FNPPF11W040B01-R_0_C12_092.ab1		FNPPF11W042B02-R_0_D03_025.ab1		FNPPF11E011A01-R_0_D11_089.ab1		FNPPF11W010R802-R_0_B09_077.ab1
	FNPPF11W041A01-R_0_D09_073.ab1		FNPPF11W043B01-R_0_F03_021.ab1		FNPPF11E011B01-R_0_F05_037.ab1		FNPPF11W011A02-R_0_G11_083.ab1
	FNPPF11W044B01-R_0_G01_003.ab1		FNPPF11W044B02-R_0_B10_078.ab1		FNPPF11E015A01-R_0_E12_088.ab1		FNPPF11W031A01-R_0_E04_024.ab1
	FNPPF11W047A01-R_0_B07_061.ab1		FNPPF11W046A01-R_0_C03_027.ab1		FNPPF11E018A01-R_0_F04_022.ab1		FNPPF11W013B01-R_0_B06_046.ab1
	FNPPF11W052A02-R_0_F12_086.ab1		FNPPF11W046B01-R_0_C10_076.ab1		FNPPF11E018B01-R_0_G08_052.ab1		FNPPF11W013R801-R_0_G05_035.ab1
8	FNPPF11E011A01-R_0_A02_016.ab1	FNPPF11W049B01-R_0_F12_088.ab1	FNPPF11E022B01-R_0_D01_009.ab1	FNPPF11W013R801-R_0_G11_083.ab1			
	FNPPF11E013A02-R_0_C06_044.ab1	FNPPF11W049B02-R_0_H12_082.ab1	FNPPF11E026B02-R_0_C04_028.ab1	FNPPF11W017A01-R_0_D08_058.ab1			
	FNPPF11E027A01-R_0_C07_059.ab1	FNPPF11W050A01-R_0_B09_077.ab1	FNPPF11E028B01-R_0_C09_075.ab1	FNPPF11W018R801-R_0_F02_006.ab1			
	FNPPF11E032B02-R_0_G11_083.ab1	FNPPF11W050A01-R_0_E05_039.ab1	FNPPF11W001B01-F_0_A10_080.ab1	FNPPF11W019A01-R_0_E10_072.ab1			
	FNPPF11W002A01-F_0_G11_083.ab1	FNPPF11W050B02-R_0_D09_073.ab1	FNPPF11W003B02-F_0_E09_071.ab1	FNPPF11W023R801-R_0_B03_029.ab1			
	FNPPF11W007B02-R_0_E05_039.ab1	FNPPF11W051A02-R_0_B07_061.ab1	FNPPF11W003B02-F_0_E09_071.ab1	FNPPF11W024R801-R_0_B12_094.ab1			
	FNPPF11W020R801-R_0_D11_089.ab1	FNPPF11W052A02-R_0_H11_081.ab1	FNPPF11W004R802-R_0_H02_002.ab1	FNPPF11W036A01-R_0_C05_043.ab1			
	FNPPF11W026R802-R_0_E04_024.ab1	FSGC8E001_03-C07-R.ab1	FNPPF11W005R801-R_0_C07_059.ab1	FNPPF11W036A01-R_0_E03_023.ab1			
	FNPPF11W032A01-R_0_B11_093.ab1	FNPPF11E001A01-R_0_C10_076.ab1	FNPPF11W006R802-R_0_F06_038.ab1	FNPPF11W036B01-R_0_B09_077.ab1			
	FNPPF11W036B01-R_0_D05_041.ab1	FNPPF11E001B01-R_0_H07_049.ab1	FNPPF11W006R802-R_0_H07_049.ab1	FNPPF11W037B02-R_0_A12_096.ab1			
	FNPPF11W043A01-R_0_D01_009.ab1	FNPPF11E002A02-R_0_B02_014.ab1	FNPPF11W007A02-R_0_H09_065.ab1	FNPPF11W037B02-R_0_G11_083.ab1			
	FNPPF11W044A01-R_0_D05_041.ab1	FNPPF11E002B02-R_0_F01_005.ab1	FNPPF11W007B01-R_0_G08_052.ab1	FNPPF11W038A02-R_0_A03_031.ab1			
	FNPPF11W045B01-R_0_C05_043.ab1	FNPPF11E003B02-R_0_D02_010.ab1	FNPPF11W007R802-R_0_B10_078.ab1	FNPPF11W038B01-R_0_H02_002.ab1			
	FNPPF11W052B02-R_0_A06_048.ab1	FNPPF11E003B02-R_0_D06_042.ab1	FNPPF11W011A02-R_0_D08_058.ab1	FNPPF11W042B02-R_0_H12_082.ab1			
	FNPPF11W053B01-R_0_A03_031.ab1	FNPPF11E006B01-R_0_D05_041.ab1	FNPPF11W011B01-R_0_H10_066.ab1	FNPPF11W047B01-R_0_A10_080.ab1			
	FNPPF11E002A02-R_0_H01_001.ab1	FNPPF11E006B01-R_0_G07_051.ab1	FNPPF11W011R801-R_0_H11_081.ab1	FNPPF11W047B02-R_0_C09_075.ab1			
	FNPPF11E004A01-R_0_C11_091.ab1	FNPPF11E008A01-R_0_E12_088.ab1	FNPPF11W013A01-R_0_H11_081.ab1	FNPPF11W049A01-R_0_D07_057.ab1			
	FNPPF11E007A01-R_0_C04_028.ab1	FNPPF11E008B01-R_0_H10_066.ab1	FNPPF11W014R802-R_0_G12_084.ab1	FNPPF11W050B02-R_0_E09_071.ab1			
FNPPF11E011A01-R_0_B05_045.ab1	FNPPF11E011A01-R_0_F05_037.ab1	FNPPF11W015R801-R_0_F02_006.ab1	FSGC8E002_02-C01-F.ab1				
FNPPF11E012A01-R_0_A10_080.ab1	FNPPF11E012A01-R_0_B02_014.ab1	FNPPF11W015R801-R_0_B09_077.ab1					
FNPPF11E014A01-R_0_C06_044.ab1	FNPPF11E013A02-R_0_B12_094.ab1	FNPPF11W021B01-R_0_D08_058.ab1					
FNPPF11E019B01-R_0_A02_016.ab1	FNPPF11E021A02-R_0_G09_067.ab1	FNPPF11W022R802-R_0_G12_084.ab1					
FNPPF11E020A02-R_0_H06_034.ab1	FNPPF11E023B01-R_0_A06_048.ab1	FNPPF11W022R801-R_0_F05_037.ab1					
FNPPF11E023A01-R_0_B07_061.ab1	FNPPF11E023B02-R_0_E10_072.ab1	FNPPF11W023R802-R_0_D01_009.ab1					
FNPPF11W001B01-F_0_C05_043.ab1	FNPPF11W002B01-F_0_C07_059.ab1	FNPPF11W025R801-R_0_H09_065.ab1					
FNPPF11W001B01-F_0_H11_081.ab1	FNPPF11W002R801-R_0_C08_060.ab1	FNPPF11W032B02-R_0_E04_024.ab1					

7. 고밀도 유전연관지도를 활용한 MAB 유용성 검증

- 앞으로의 분자육종은 MAS (Marker Assisted Selection)만 유지하여서는 원하는 형질의 품종을 얻는데 한계가 존재함
- MAB (Marker Assisted Breeding)는 Foreground selection, Background selection, Recombination selection을 통해 원하는 계통에 목적형질만 도입된 새로운 품종을 육성하는데 꼭 필요한 방법임
- MAB를 하기위해 필요한 요소들에는 우선 해당 작물의 고밀도 유전연관지도가 필요하고, 도입하고자하는 목적형질과 관련된 분자마커와 주변의 flanking marker, 마커의 대량분석 시스템, 분석 소프트웨어 등이 요구됨
- 이중에서 작물의 고밀도 유전연관지도가 필수적으로 요구되며 고추분자마커사업단이 보유하고 있는 고추의 고밀도 유전연관지도를 활용하여 MAB 유용성을 검증하고자 함

- FnP(AC) map의 고밀도 유전연관지도를 활용하고자 FP11과 FP13의 BC₁F₁ 집단 128개체를 이용하여 집단의 유전현상을 관찰하였음 (그림 37)
- FP13의 노란과색을 목적형질로 정하고(관련된 분자마커는 FPPSY5) FP11의 계통에 도입하는 과정을 MAB로 확립
- FP11을 반복친으로 FP13의 노란과색 형질을 도입하여 신품종을 육성하는 것을 목표로 함
- FP11의 genotype을 75%이상 보유한 개체를 선발하기위해 사용할 분자마커의 수 예측 하고자 함
- 분자마커는 FnP(AC) map을 사용하고 유전연관지도에 고르게 분포되어있는 분자마커 240개를 우선 선발
- 선발된 240개의 분자마커는 SSR, STS, SNP등 다양한 분자표지가 들어갈 수 있도록 하고 각각의 분자마커는 map전체를 분자마커수로 나누고 그 거리만큼 떨어진 마커를 선발하여 한쪽에 치우치지 않고 맵 전체에 골고루 분포되어있는 분자마커를 사용
- 총 10차로 나누어 한 회차에 24개씩 마커를 누적하여 분석하되 분자마커는 한곳에 치우치지 않게 선택(Random)

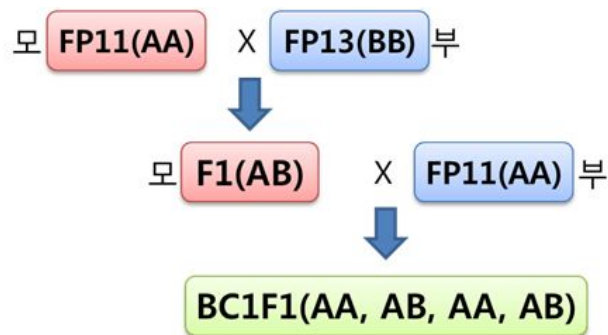
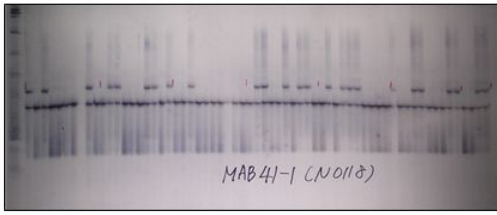


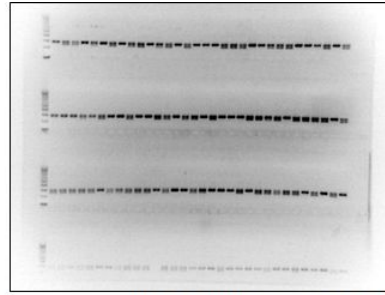
그림 37. MAB 유용성검증에 사용되는 집단의 모식도

- 분자표지의 다양성에 따라 그 분석방법도 다양하게 하여 조기에 검증이 완료되도록 하였으며 각 분자표지에 맞는 최적의 조건을 찾아 진행하였음 (그림 38)
- 분석에 사용된 분자마커를 기준으로 보면 매 회차별 약간의 차이를 보이지만 대부분 평이한 유전체보유량을 나타내고 있으며 누적회차를 기준으로 보면 3차 이후로는 거의 변화를 보이지 않는 것을 알 수 있음 (그림 39)

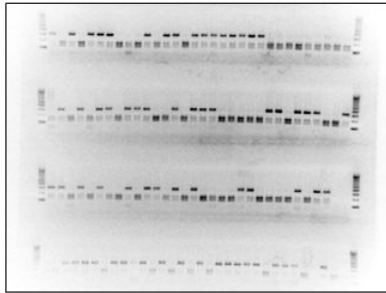
MAB 유용성 검증 시스템 구축



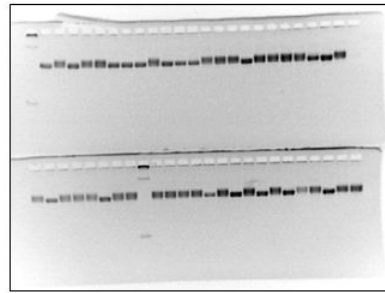
PAGE gel 분석 (FPssrN0118)



Agarose gel 분석 (FPssrB3654)



STS gel 분석, Nsi I 처리 (FPssrB4422)



Ready made gel 분석 (FPssrN3569)

그림 38. 다양한 분자마커와 분석방법을 통한 MAB 유용성 검증

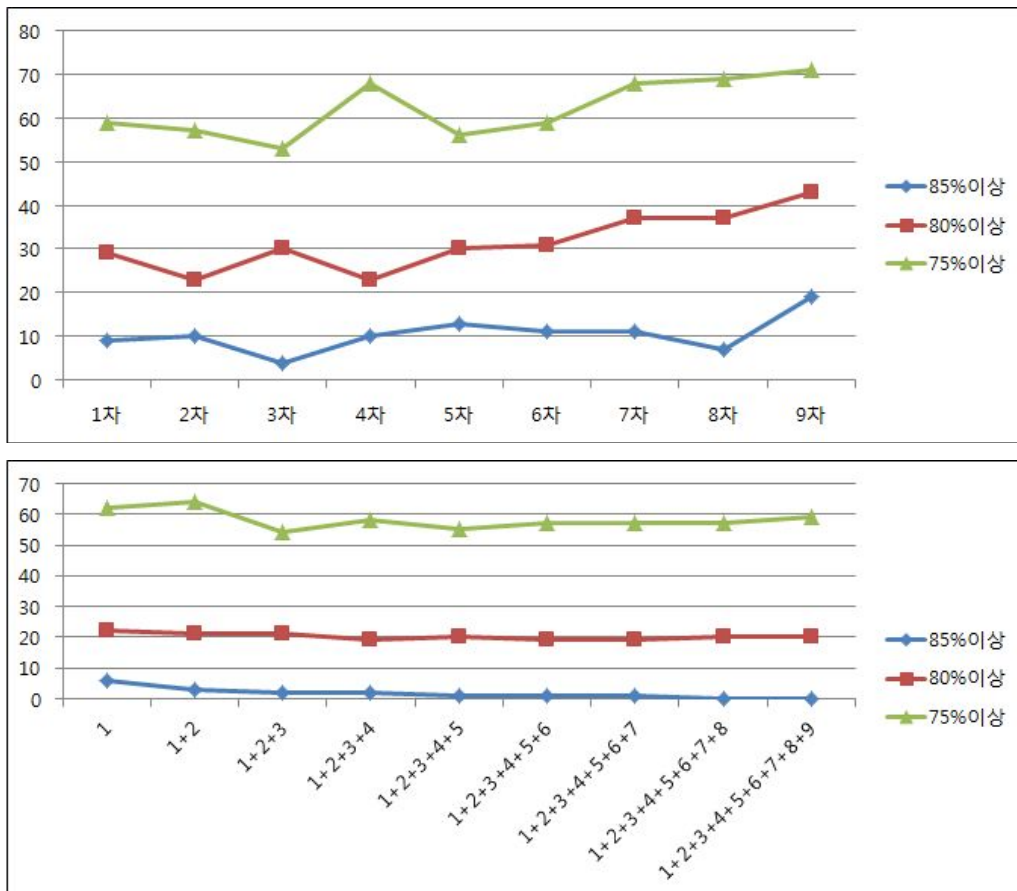


그림 39. 각회차와 누적회차에 따른 FP11 유전체 보유량 분석(위 : 각회차별, 아래 : 누적회차별)

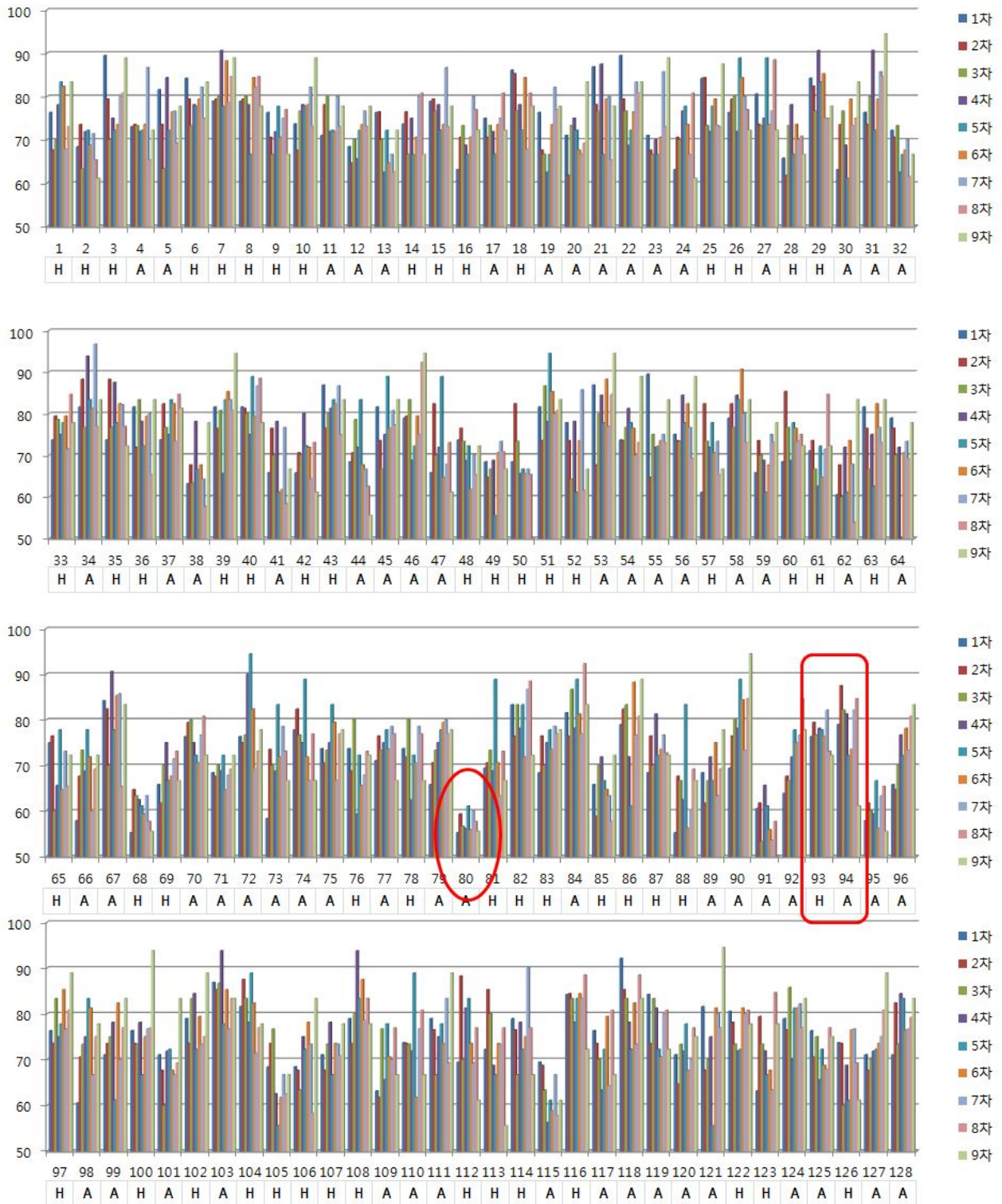


그림 40. BC₁F₁ 128개체의 FP11 유전체 보유량 조사. 아래 ‘A’, ‘H’는 노란과색 분석을 위한 FPPSY5분자마커의 scoring 값이며 A는 붉은과색, H는 노란과색과 붉은과색을 모두 포함하는 유전자형임

- 이는 고르게 분포되어있는 분자마커의 선택과 매 회차별로 분석된 분자마커가 매우 고르게 선발되었다는 것을 알 수 있음
- 어느 정도의 분자마커의 개수가 MAB에 적당한가에 대해서는 24개를 했을 경우와 240개를

분석하였을 경우에 그 차이가 적으나 주로 5회차 까지 누적하였을 때 이후 변동폭이 없으므로 약 120개를 분석할 경우에 흔들림 없는 결과를 줄 수 있을 것으로 사료됨

- 이는 최소 분자마커를 사용할 경우에 해당하는 내용이며 분자마커를 많이 사용하면 할수록 원하는 계통의 유전체가 많이 포함된 품종을 선발할 가능성이 높아짐
- MAB 유용성 검증 결과 평균 FP11(A genotype)을 가지는 확률은 74.36%로 AA와 AB가 1:1의 비율을 가짐
- 매 회차별 24개씩 분석하였을 때 분자마커의 수는 1차 수행 했을 때와 9차 수행했을 때 큰 변화가 없음 (80번(평균 58%) 개체와 93번(평균77%) 94번(평균78%)개체 비교) (그림 40)
- Foreground Selection : FPPSY5(노란과색 유전자마커) H; 60개체, A; 68개체
- Background Selection : 75%이상의 FP11 gene dosage를 가지며, FPPSY5의 유전자형이 H를 가지는 개체를 선발하여 후대로 이어가면 됨 → BC1F1 128개체 중에서 32개체 선택 (25%)
- 분석결과를 BC₁F₁ 집단을 이용하여 유전연관지도를 작성하였으며 8번 linkage group이 1번 linkage group에 흡수되어 나타난 것 이외에는 모두 각각의 linkage group에 고르게 분포된 것을 알 수 있음 (그림 41)
- 유전연관지도는 BC₁F₁ 128개체를 이용하여 작성하였으며 Kosambi function, LOD 6을 사용하여 작성되었음

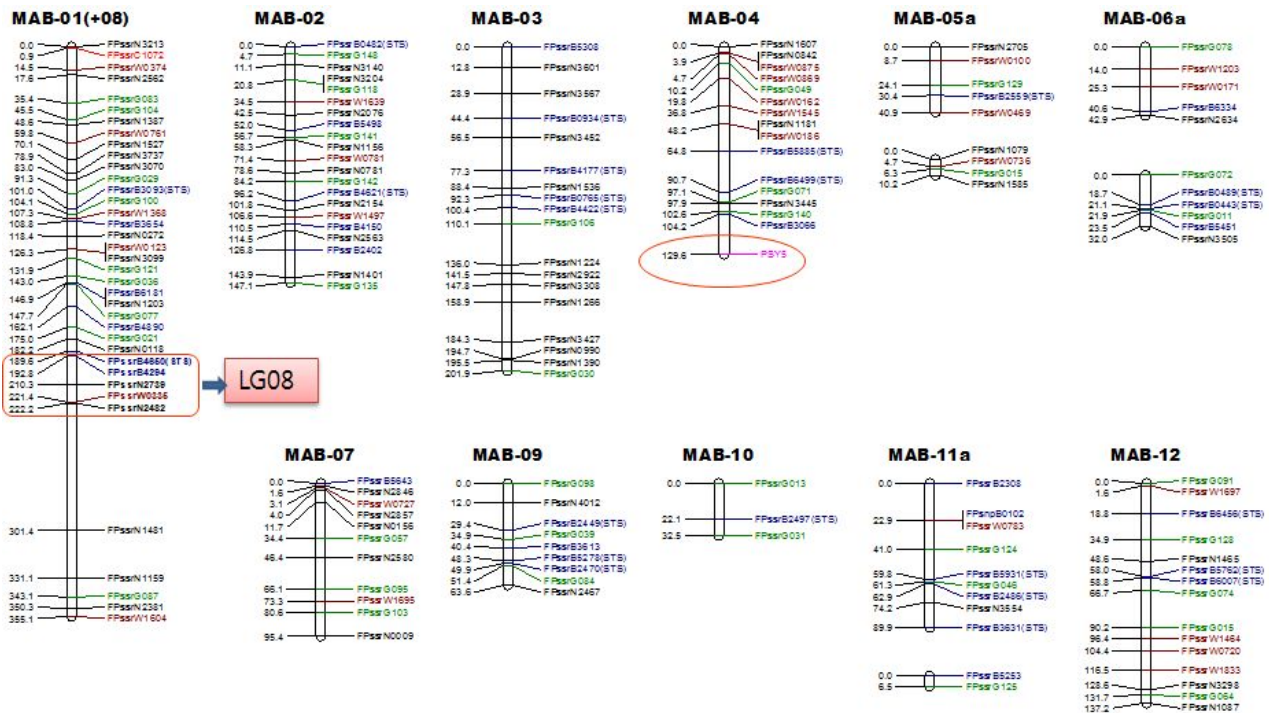


그림 41. MAB 유용성검증을 위해 만들어진 BC₁F₁집단 128개체를 이용하여 작성된 유전연관 지도

8. 축적된 정보를 활용한 고추분자마커 DB 구축

- 1차년도부터 축적되어온 data를 데이터베이스화 하기위한 사전준비를 시작하고 대부분의

data를 PC에 저장함

- 3-4과제와 연계하여 고추분자마커사업단 1-1, 1-2 과제에 해당하는 부분을 DB화 과정을 서로 의논하고 소프트웨어 제작에 착수함
- 웹서버로는 DELL사의 PowerEdge T300 모델을 이용하여 구축하였으며, open-source software를 활용하여 경제성과 확장성을 확보하였음
- 고추분자마커 데이터베이스 구축 및 정보제공을 통한 관련 연구개발의 효율성 증대
- 4차년도에는 고추분자마커사업단의 영문 홈페이지(www.pmm.re.kr)를 제작하여 공표하였음 (그림 42)
- 홈페이지의 내용은 고추분자마커사업단을 전 세계적으로 홍보하고 고추에 대한 정보와 사업단의 새 소식 등을 전함

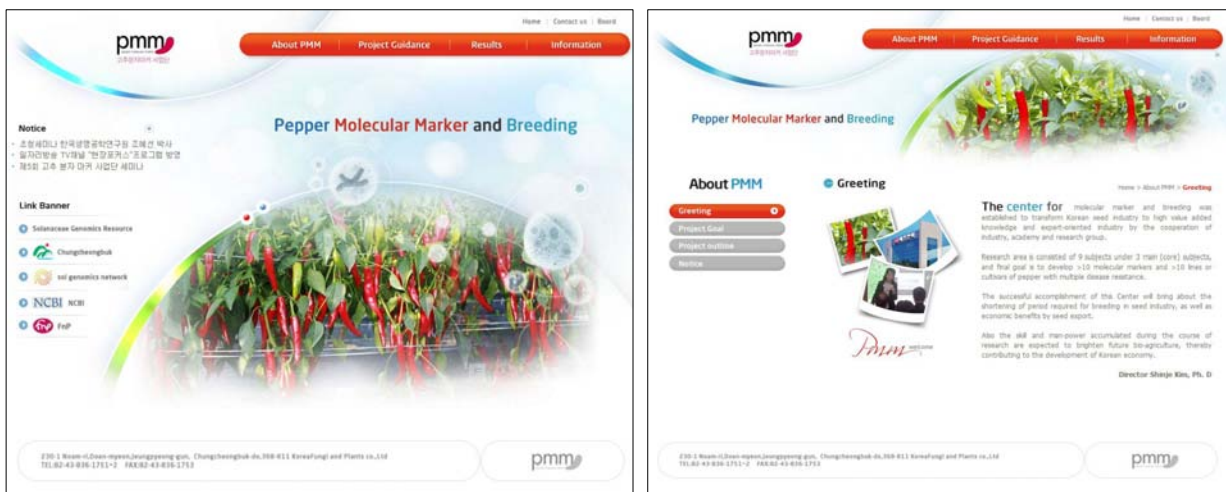


그림 42. 고추분자마커사업단 홈페이지 메인화면과 단장 인사말 화면

- 5차년도에는 Map Viewer를 설치하여 유전연관지도를 관찰하고 만들어진 과정과 gel 사진을 찾아 볼 수 있으며 유전연관지도에 등재되지 않은 분자마커도 검색하여 찾아 볼 수 있음
- Map Viewer는 FnP(AC) map뿐만 아니라 FnP(AA) map도 함께 검색할 수 있어 밀도 높은 분자마커 검색에 활용될 수 있음(그림 43)
- Map Viewer를 클릭하면 새로운 창에 내용이 활성화되는데 위의 메뉴 5가지를 클릭하여 세부내용을 확인 할 수 있으며 MapViewer 탭에서는 유전연관지도와 각 마커의 세부설명을 클릭을 통해서 알 수 있음(그림 44)
- MapViewer는 FnP(AC) map과 FnP(AA) map을 모두 실었으며 전체 유전연관지도를 IMG 버튼을 클릭함으로써 확인이 가능함

Introduction : FnP(A)C | MapViewer : FnP(A)C | Introduction : FnP(A)A | MapViewer : FnP(A)A | Help

Introduction

Simple sequence repeats (SSR) or microsatellites (MS) can develop to valuable markers for plant breeding because the SSR have several advantage features such as co-dominant, multiallelic loci and high polymorphism allowing precise discrimination even these mapping were closely related to individuals. Detection of variation by SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) marker is used mainly in bacteria virus and human beings, but in plants their applications is very limited and still the use of genetic linkage maps and QTL (Quantitative Trait Loci) analyses is most efficient way to develop molecular markers. In this study, we have been constructing linkage genetic map for pepper on the basis of SSR, using an F2 population derived from crosses FP11 (*Capiscium annuum* cv. Bukang) with FP13 (*Capiscium chinense* Habanero). A total of 190 F2 individuals were used for the construction of the genetic linkage map using 1,968 markers. The analysis of the genetic linkage map of cross FP11 with FP13 revealed that 1,968 markers could be mapped to 12 linkage groups covering 6,651 centimorgans (cM) with the LOD 5 and average interval distance of 3.4 cM. The markers developed will be useful for mapping and marker-assisted breeding in pepper and the genetic linkage map provides a reference genetic map for other *Capiscium* species.

Map Statistics

Map Statistics

Linkage Groups	Genomic Resources
Linkage Group 01 352	BES/BCI end sequencing)
Linkage Group 02 234	FP13b 294
Linkage Group 03 278	STS 181
Linkage Group 04 143	FP13c 4
Linkage Group 05 100	FP13d 23
Linkage Group 06 192	Genomic library
Linkage Group 07 143	NCBI sequences
Linkage Group 08 74	FP13g 123
Linkage Group 09 127	Web search
Linkage Group 10 109	FP13h 718
Linkage Group 11 107	FP13i 263
Linkage Group 12 109	Trait-related
Total 1,968	On the map 15

Protocols	Total
SSR	1,745
STS	204
SNP	4
Unknown	15
Total	1,968

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the MIF/AF (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries), IPET (Korean Institute of Planning & Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry & Fisheries), Chungcheongbuk-do and Jeonjupeong-gun.

Restriction : F2P(C) | BlastView : F2P(C) | Restriction : F2P(A) | BlastView : F2P(A) | Help

No.	marker_name	sequence_5'	annotation	size(bp)	product_size	forward_psm	reverse_psm	reverse_size	
1	FP13b001	H08-1031-F_3_107_205.ab1	hypothetical protein	ICTTTT3	232	Private	64	Private	63.03
2	FP13b002	H08-1031-F_3_102_218.ab1	hypothetical protein	GAATAAG3	270	Private	61.98	Private	61.84
3	FP13b003	H08-1031-F_3_103_201.ab1	LDH4/CD13/4 protein	ATAT9	280	Private	60.04	Private	64.2
4	FP13b004	H08-1029-F_3_104_202.ab1	cytochrome b	ATAAAT9	279	Private	64.36	Private	64.18
5	FP13b005	H08-1031-F_3_105_247.ab1	alpha oxide dehydrog	ATATC33	276	Private	63.91	Private	64.18
6	FP13b006	H08-1031-F_3_107_203.ab1	OSGAT9/9000	ATACAG3	233	Private	64.39	Private	63.89
7	FP13b007	H08-1029-F_3_108_204.ab1	hypothetical protein	GGTAGG33	217	Private	63.26	Private	64.02
8	FP13b008	H08-1031-F_3_109_276.ab1	subtilisin-like prote	ATATTTT3	217	Private	62.19	Private	63.21
9	FP13b009	H08-1029-F_3_110_205.ab1	NADH dehydrogenase s	CTCTCT3	274	Private	64.39	Private	63.92
10	FP13b010	H08-1029-F_3_111_208.ab1	hypothetical protein	CTGGAG3	232	Private	63.9	Private	64.2
11	FP13b011	H08-1029-F_3_112_208.ab1	trichoglydinate a	GCAGAT3	194	Private	63.99	Private	64.92
12	FP13b012	H08-1029-F_3_101_213.ab1	psbD	GGGATG3	196	Private	64.39	Private	63.89
13	FP13b013	H08-1029-F_3_102_214.ab1	hypothetical protein	AAACA33	236	Private	64.51	Private	63.79
14	FP13b014	H08-1029-F_3_103_226.ab1	Ubl1 protease family	ATTTTTT3	176	Private	61.76	Private	63.21
15	FP13b015	H08-1029-F_3_104_200.ab1	predicted protein	ATGAT3	227	Private	64.34	Private	63.89
16	FP13b016	H08-1029-F_3_105_245.ab1	isoogenase	AGATAT3	252	Private	64.22	Private	63.9
17	FP13b017	H08-1029-F_3_106_246.ab1	conserved hypothetical	TTCT3	25	Private	63.74	Private	63.23
18	FP13b018	H08-1029-F_3_107_261.ab1	GAT3/9 F.A.	ATACAG3	311	Private	63.93	Private	62.71
19	FP13b019	H08-1031-F_3_108_262.ab1	PREDICTED: similar t	ACAC3	277	Private	62.25	Private	64.28
20	FP13b020	H08-1029-F_3_109_277.ab1	hypothetical protein	CCCTCT33	233	Private	64.39	Private	64.38
21	FP13b021	H08-1029-F_3_110_278.ab1	hypothetical protein	CTC3	282	Private	63.89	Private	63.97
22	FP13b022	H08-1031-F_3_111_281.ab1	SET domain contain	AAACCG3	274	Private	64.37	Private	63.54
23	FP13b023	H08-1029-F_3_112_284.ab1	leis motif contain	AAATAG3	286	Private	62.76	Private	63.36
24	FP13b024	H08-1029-F_3_113_281.ab1	NADH dehydrogenase s	TTTTT33	211	Private	64.14	Private	62.94
25	FP13b025	H08-1029-F_3_110_282.ab1	subtilisin-like prote	ATGCTT3	174	Private	62.63	Private	64.04
26	FP13b026	H08-1029-F_3_111_283.ab1	ABC transporter subu	TAAT	179	Private	64.47	Private	63.17
27	FP13b027	H08-1029-F_3_112_284.ab1	hypothetical protein	TTCT3	238	Private	64.19	Private	63.72
28	FP13b028	H08-1029-F_3_113_285.ab1	hypothetical protein	CTCTCT3	247	Private	63.71	Private	64.26
29	FP13b029	H08-1031-F_3_114_284.ab1	PREDICTED: similar t	AGATAT4	272	Private	64.36	Private	64.01
30	FP13b030	H08-1029-F_3_115_285.ab1	hypothetical protein	GCATAG3	238	Private	62.96	Private	63.21
31	FP13b031	H08-1029-F_3_116_286.ab1	predicted protein	CCCAAG3	228	Private	63.9	Private	64.08
32	FP13b032	H08-1029-F_3_117_287.ab1	thapsigargin-bindin	ACAC4	236	Private	64.31	Private	63.5
33	FP13b033	H08-1029-F_3_118_288.ab1	conserved hypothetical	CTAG	194	Private	63.72	Private	62.97
34	FP13b034	H08-1029-F_3_119_289.ab1	unknown protein	AAACAAG3	234	Private	64.3	Private	64.92
35	FP13b035	H08-1029-F_3_120_290.ab1	PREDICTED: hypothet	ATAT4	241	Private	61.76	Private	63.89
36	FP13b036	H08-1029-F_3_121_291.ab1	hypothetical protein	ATAT4	241	Private	63.36	Private	62.47
37	FP13b037	H08-1029-F_3_122_292.ab1	glutathione S-tran	AAAAACG3	241	Private	62.97	Private	63.92
38	FP13b038	H08-1029-F_3_123_293.ab1	hypothetical protein	GTCT3	233	Private	63.95	Private	63.9
39	FP13b039	H08-1029-F_3_124_294.ab1	hypothetical protein	ATTTAG3	238	Private	63.76	Private	63.42
40	FP13b040	H08-1029-F_3_125_295.ab1	hypothetical protein	ATCTCT33	250	Private	63.99	Private	63.97
41	FP13b041	H08-1029-F_3_126_296.ab1	kinasin heavy chain	AAATAG3	198	Private	63.93	Private	63.89
42	FP13b042	H08-1029-F_3_127_297.ab1	OSR6/WR6/13.29	AAAAAT3	207	Private	62.95	Private	63.89
43	FP13b043	H08-1029-F_3_128_298.ab1	hypothetical protein	CTCTCT33	276	Private	63.8	Private	63.99
44	FP13b044	H08-1031-F_3_129_299.ab1	hypothetical protein	AACTCT33	226	Private	64.19	Private	64.04
45	FP13b045	H08-1031-F_3_130_300.ab1	predicted protein	ATTTT3	221	Private	63.96	Private	63.95
46	FP13b046	H08-1029-F_3_131_301.ab1	invariant dehydrogen	AAACAAG3	239	Private	63.94	Private	63.97

그림 43. 고추분자마커사업단 홈페이지 안의 MapViewer 내용 중 Introduction과 MapViewer 탭의 모습

Introduction : FnP(A)C | MapViewer : FnP(A)C | Introduction : FnP(A)A | MapViewer : FnP(A)A | Help

Explanation

Marker Name : FPssrB5966

Protocol	SSR	Product Size	280	Forward Primer	TGGCCAAAGATTTTTCAGCA	Reverse Primer	AAAGGATGATGATGATGATG																						
Modif	(AT)B	Restriction Enzyme		Annotation	predicted protein																								
Sequence change		Genomic resource	BES	Reference																									
Sequence ID	FNPPP11H012901-R_0_005_035.ab1																												
Sequene	CGAATTCAGGACGCTATGACATGATCGCCAGCATTATTAGGAGACATAGAAATCTCAAGCTTCGGAGTTTATTGAAATTAATAATTAAATCAGCTCCCACTTTTAAAGCTCAAAATCAATTCACCTAABAAAAATCAACTTTTATGCGCAACATATTTTTCAGAGCCAGCTTCGATATATATATATATGATATATATCAAAATGAAACAGCACTTTCAGCTTTTATTTATAGTGTCTGATATCTGCTTAAATACCTTAAATGCTCTGGATATATATATGATAATAAATGCTGCTTAATAMCCATATCTATACCTAGGACCTTATCTAAATCTCCAAATTAATTTTAAAAAAGTATTTCCAGCTCATCATCTCCTTTGGTCTCTTTGCACTCAATTTCAATCTTTTGTCTCAATCTATCACTAGCTAGTTCTTCAATTTTGGTGTCTCAATTTTACCTTTTGTGAAACCTTGGCATAGGCTCATGTTGGTAACTAATAAAGCTACTCCCTCTTAAAAAGATGATGACTCTTTCTTTTGTGCTGTTAAAAAAGATGATCTCTTCTCTTTTGAATAATTTAAATTTCAATTTTCCATGAGGATGTTAGGACACAGATTTAAATGCTTTTGTGATTTGCAAGCACTTTAATCAAGCCATAAGATTAATAAATCTCTTTTATTTCTTAAACTTTGCTCAGTAAAGTACCTCATCTTTTGAAGAGGAGAGTATACACCTAAAGTAAATATGCTCCATGCGCAGCAGCAATTACCTCCATAGGCTCTAAAGGGGGGTCCTCCACCTTTGTAAGCCCTTATCGTGTAAACCTCCAGGCTGTCCCTCTTGAATAAATCAAGCTCCCA																												
				PAGE gel																									
				Scoring data																									
				<table border="1"> <tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td></tr> <tr><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td></tr> </table>				1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
1	0	0	0	1	1	0	0	1	1																				
0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0																		
				Secondary screening image																									
				B031 B032 B033																									

그림 44. 고추분자마커사업단 홈페이지 안의 MapViewer 내용 중 Help 탭의 내용. 마커 세부 정보를 보여주며 또한 각 셀의 설명을 첨부하였음

제 2 절 고추 유전체 연구를 위한 BAC library 제작 및 특성 검정

제 1 항 이론적, 실험적 연구방법

연차별	연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)
1년차	FP11로부터 HMW DNA 분리	- 식물 핵 분리 및 agarose embedding - Agarose plug에 HMW DNA 부착
	HindIII 부분 절단 및 절편 분리	- <i>Hind</i> III 부분 제한 절단 및 전기영동 분석 - 2회의 PFGE 분석에 의한 적절한 크기의 절편 선택
	백터와 절편의 ligation 혼액 제조	- Ligation에 사용할 DNA 절편의 최종 농도 결정 - 백터와 DNA 절편의 ligation - BAC DNA 형성 여부 검증
	전기 형질전환 및 colony 수집	- 전기형질전환 (electroporation)
	BAC plate 제작 및 특성 검정	- BAC library 제작 - 결실률 및 평균 삽입체 크기 측정
2년차	- FP16로부터 HMW DNA 분리 - PBC81로부터 HMW DNA 분리	- 식물 핵 분리 및 agarose plug에 HMW DNA 부착
	- <i>Bam</i> H I, <i>Eco</i> R I, <i>Hind</i> III 부분 절단 및 절편 분리	- 2회의 PFGE 분석에 의한 적절한 크기의 절편 선택
	- BAC 백터 제조	- pECBAC1 및 pIndigoBAC-5 백터의 <i>Bam</i> H I, <i>Eco</i> R I, <i>Hind</i> III 처리 및 탈인산화
	- 백터와 절편의 ligation 혼액 제조	- Ligation에 사용할 DNA 절편의 최종 농도 결정
	- 전기형질전환 및 colony 수집	- 전기형질전환 (Electroporation)
- BAC plate 제작 및 특성 검정	- BAC library 제작 - 결실률 및 평균 삽입체 크기 측정	
3년차	- FP16으로부터 HMW DNA 분리 - PBC81로부터 HMW DNA 분리	- 식물 핵 분리 및 agarose embedding - Agarose plug에 HMW DNA 부착
	- <i>Bam</i> H I, <i>Eco</i> R I, 부분 절단 및 절편 분리	- <i>Bam</i> H I, <i>Eco</i> R I 부분 제한 절단 및 전기영동 분석 - 2회의 PFGE 분석에 의한 적절한 크기의 절편 선택
	- BAC 백터 제조	- pECBAC1 및 pIndigoBAC-5 백터의 <i>Bam</i> H I, <i>Eco</i> R I 처리 및 탈인산화
	- 백터와 절편의 ligation 혼액 제조	- Ligation에 사용할 DNA 절편의 최종 농도 결정 - 백터와 DNA 절편의 ligation - BAC DNA 형성 여부 검증
	- 전기 형질전환 및 colony 수집	- 전기형질전환 (Electroporation)
- BAC plate 제작 및 특성 검정	- BAC library 제작 - 결실률 및 평균 삽입체 크기 측정	

제 2 항 연구내용 및 연구결과

1. HMW DNA 분리 및 agarose plug 제조

- FP11 으로부터 분리한 핵 (nuclei)을 agarose plug에 부착시킴. Proteinase K를 처리하여 핵막을 분해한 다음, HMW (high-molecular-weight) DNA가 agarose plug에 부착되게 함
- 3회에 걸친 핵 분리와 plug 부착을 통해 총 300개 이상의 plug 조각을 확보함. 1회 제한효소 절단에 9-12개 plug를 사용하므로, 이는 약 25회 이상의 실험을 수행할 수 있는 양에 해당함
- FP16과 PBC81 으로부터 핵 (nuclei)을 분리하여 agarose plug에 부착시킨 다음, 핵막을 분해하여 HMW (high-molecular-weight) DNA를 agarose plug에 부착시킴. 수회의 plug 제조를 통해 각각 200개 이상의 plug 조각을 확보하고 이로써 각 20회 이상의 ligation을 수행할 수 있는 양의 DNA를 얻음

2. 제한효소 최적농도 결정

- Agarose plug를 *Hind* III 제한효소로 부분 절단하여 PFGE에 의해 전기영동. 그 결과 (그림 45), 0.6-1.2U/tube의 효소량이 library 제조에 필요한 절편을 만드는 데 가장 적합한 것으로 판단함

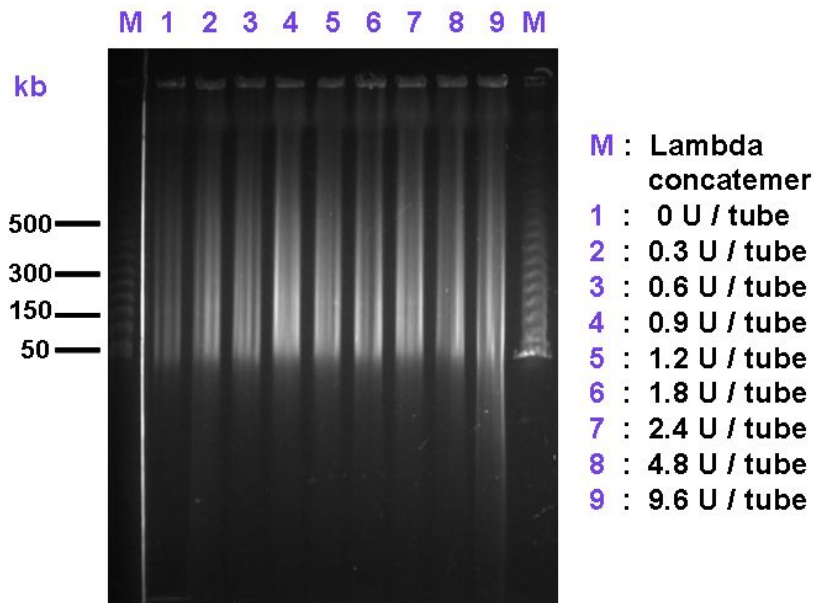


그림 45. Agarose plug-embedded FP11 DNA partially digested with *Hind* III and analyzed by PFGE.

- 두 계통의 agarose plug를 *Bam*H I 및 *Eco*R I 제한효소로 부분 절단하여 pulsed field gel electrophoresis (PFGE)에 의해 전기영동함
- 효소 절단 효율을 제고하기 위해, 표준 제한효소와 High-fidelity (HF) 제한효소를 시험 사용하여 비교함. 그 결과, 두 효소 모두 표준 제한효소에 비해, HF 제한효소 (그림 46)로 절단한 경우에 현저하게 다양한 크기의 절편을 얻을 수 있었음. 따라서 본 실험에서는 HF 제한효소 1-3 U/tube (*Bam*H I) 및 2-6 U/tube (*Eco*R I)을 가하여 100~400kb 절편을 제조하는데 사용함

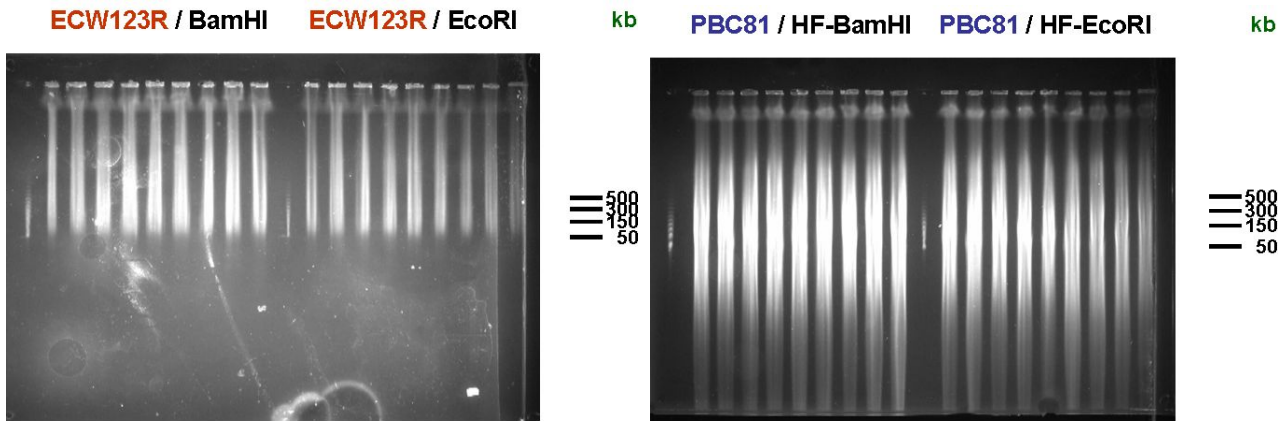


그림 46. ECW123R and PBC81 genomic DNA partially digested by standard restriction enzymes of increasing concentration (shown by triangles) and separated by PFGE

3. 제한효소 부분절단과 절편 선발

- Agarose plug를 0.6-1.2 U/tube의 *Hind* III 제한효소로 부분 절단하여 1차 (그림 47) PFGE에 의해 분리함. 이를 통해 ligation 혼액 제조에 적합한 100-400 kb 크기 절편을 선발함

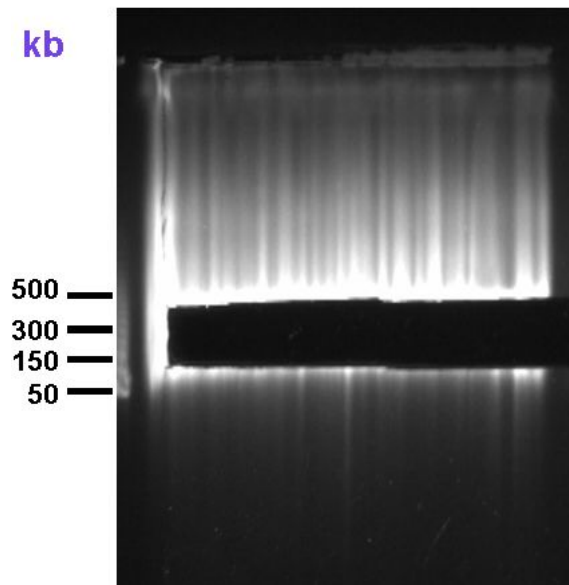


그림 47. Partially digested FP11 DNA separated by PFGE for fragments ranging 100~400 kb in size.

- 1차 PFGE에 의해 분리한 *Hind* III 절편들 중 아직 섞여 있는 < 80 kb 절편을 제거하기 위하여 2차 PFGE (그림 48)을 실시하고 이를 통해 ligation 혼액 제조에 적합한 크기의 절편을 확보함
- Agarose plug를 *Hind* III, *Bam*H I, 또는 *Eco*R I 제한효소로 부분 절단하여 1차 PFGE에 의해 분리함 (그림 49). 이를 통해 ligation 혼액 제조에 적합한 100-400 kb 크기 절편을 선발함
- 1차 PFGE에 의해 분리한 DNA 절편들 중 아직 섞여 있는 <70 kb 절편을 제거하기 위하여 2차

PFGE를 실시하고(그림 50) 이를 통해 ligation 혼액 제조에 적합한 크기의 절편을 확보함

- Agarose plug를 *BamH* I 또는 *EcoR* I 제한효소로 부분 절단하여 1차 PFGE에 의해 분리하고 (그림 51), ligation 혼액 제조에 적합한 100-400 kb 크기 절편을 선발함
- 1차 PFGE에 의해 분리한 DNA 절편 중 아직 섞여 있는 <75 kb 절편을 제거하기 위해 2차 PFGE를 실시함 (그림 52). 이를 통해 ligation 혼액 제조에 적합한 크기의 절편을 확보함

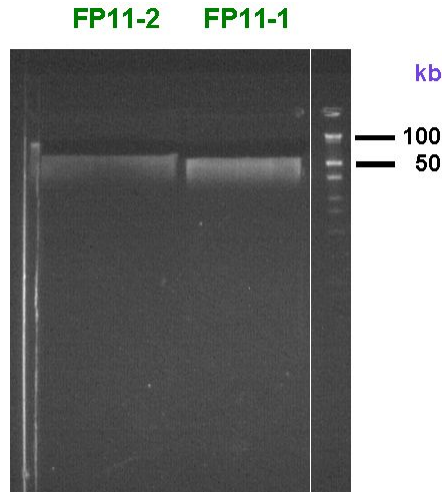


그림 48. The 2nd size selection. The first size-selected DNA fragments were electroeluted, separated by PFGE, and DNA fragments < 100 kb were removed. Gel pieces containing the recovered fragments (>80 kb in size) are shown to be excised.

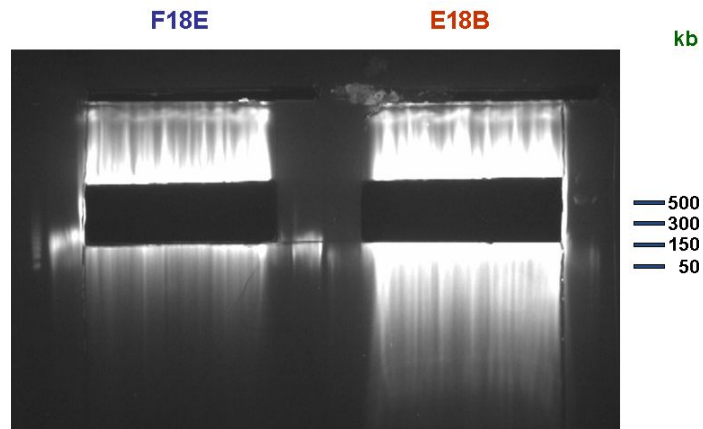


그림 49. The 1st size selection. Partially digested FP11 (F18E; *EcoR* I) and FP16 (E18B; *BamH* I) DNAs were separated by PFGE to obtain fragments ranging 100~400 kb in size.

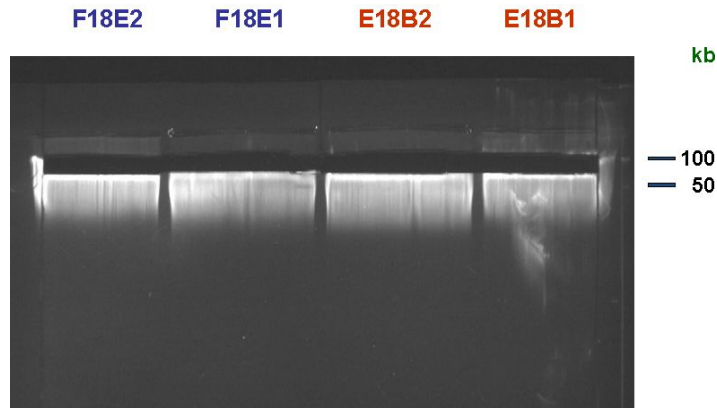


그림 50. The 2nd size selection. The first size-selected DNA fragments were electro-eluted, separated by PFGE, and DNA fragments < 100 kb were removed.

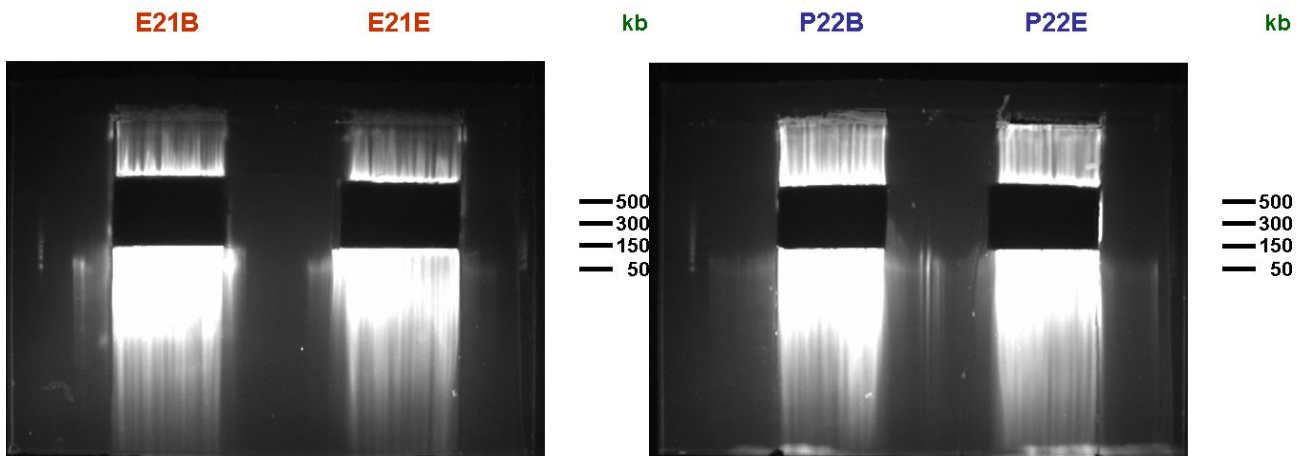


그림 51. The 1st size selection. Partially digested FP16 (E21B: *Bam*H I, E21E: *Eco*R I) and PBC81 (P22B: *Bam*H I, P22E: *Eco*R I) DNA were separated by PFGE to obtain fragments ranging 100~400 kb in size.

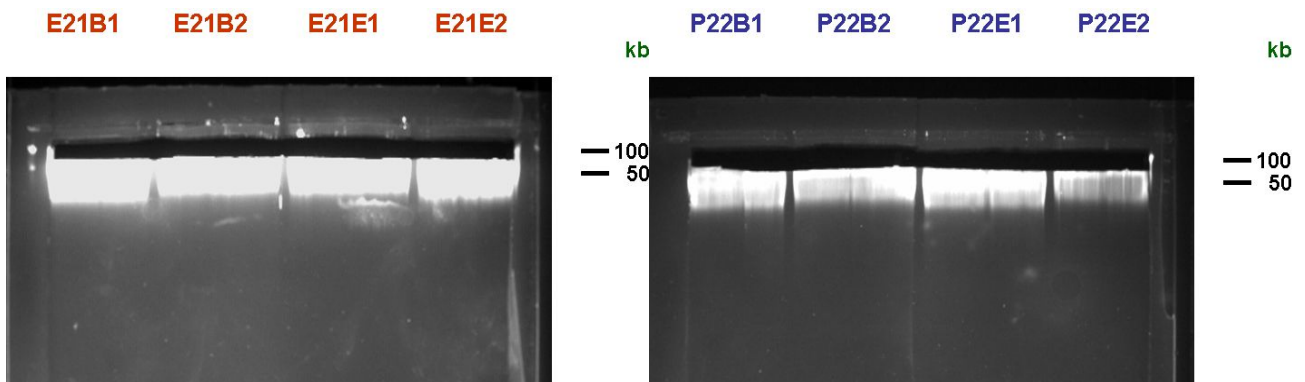


그림 52. The 2nd size selection. The first size-selected DNA fragments were electro-eluted, separated by PFGE, and DNA fragments < 75 kb removed. The DNA samples derived from two vertically excised first gel slices (e.g., P22B1 and P22B2) are shown.

4. 부분 절편의 농도 결정

- 1차년도에 2회에 걸친 크기 선별에 의해 확보한 DNA 절편의 최종 농도를 확인하기 위해 일반 전기영동을 실시함. 그 결과(그림 53), 성공적인 ligation에 필요한 최소한의 농도보다 높은 농도의 DNA를 회수하였음을 확인함

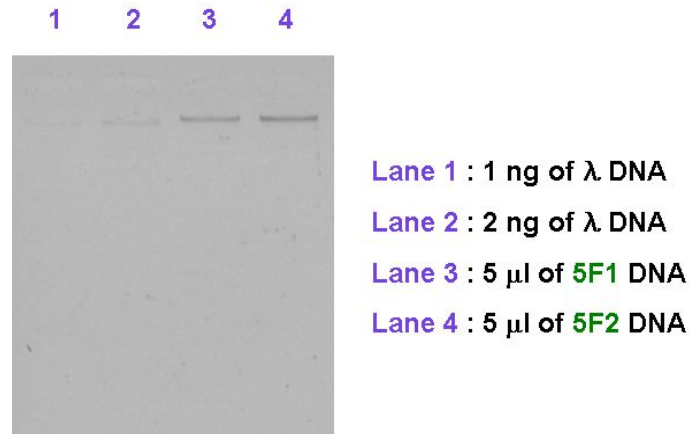


그림 53. Determination of concentrations of insert DNA. Double size-selected insert DNA preparations were compared with known amounts of control DNA (5F1: FP11-1, 5F2: FP11-2).

- 2차년도에 2회에 걸친 크기 선별에 의해 얻은 DNA 절편의 최종 농도를 일반 전기영동을 통해 확인함 (그림 54). 그 결과, 성공적인 ligation에 필요한 최소한의 농도보다 높은 농도의 DNA를 회수하였음을 확인함

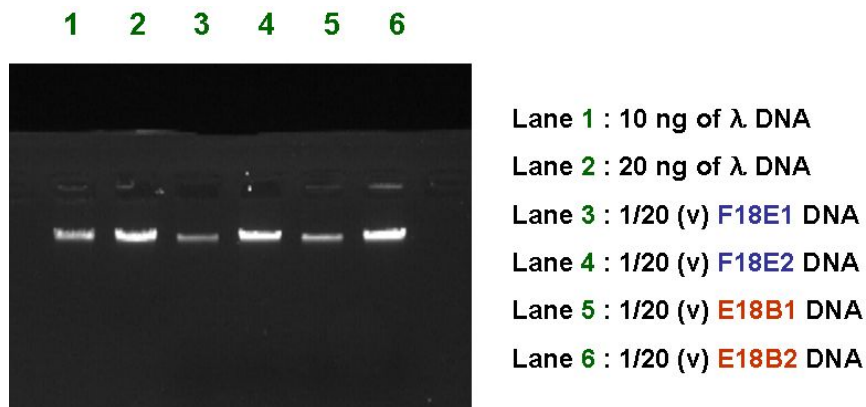


그림 54. Determination of concentrations of insert DNA. Double size-selected insert DNA preparations were compared with known amounts of control DNA.

- 3차년도에 2회에 걸친 크기 선별에 의해 얻은 DNA 절편의 최종 농도를 일반 전기영동을 통해 확인함 (그림 55). 그 결과, 성공적인 ligation에 필요한 최소한의 농도보다 높은 농도의 DNA를 회수하였음을 확인함

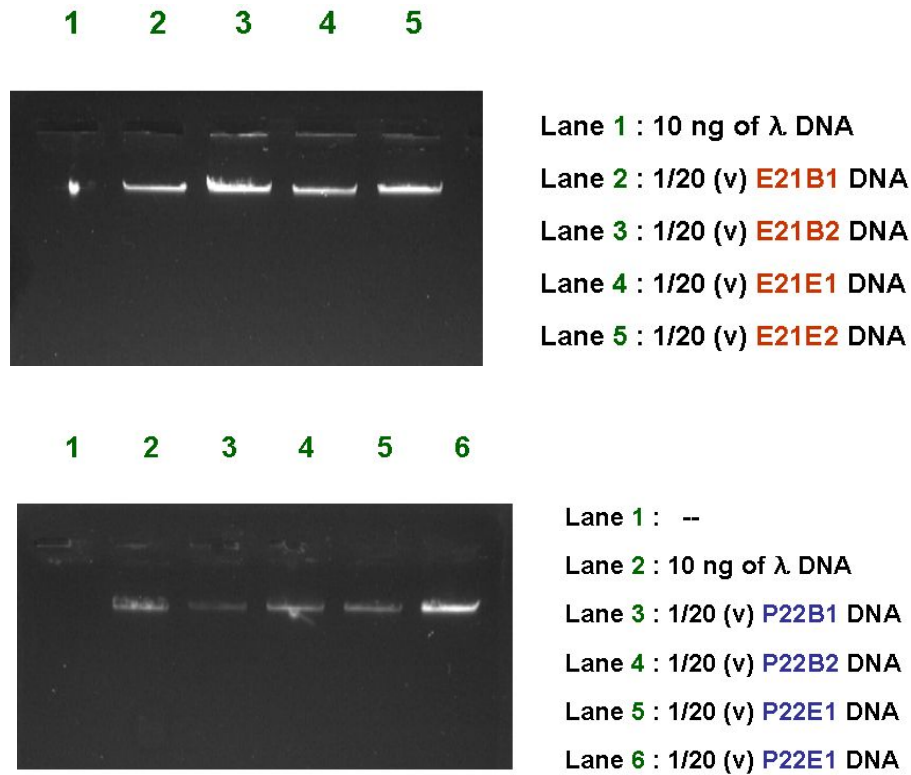


그림 55. Determination of concentrations of insert DNA. Double size-selected insert DNA preparations were compared with known amounts of control DNA.

5. BAC vector 제조

- BAC ligation에 필요한 pIndigoBAC-5 vector (그림 56)를 maxi-prep 하여 제한효소 (*Bam*H I, *Hind* III, *Eco*R I)로 절단함
- 제한효소로 처리한 처리구를 alkaline phosphatase를 이용하여 DNA조각의 말단을 탈인산화 시킴 (그림 57)

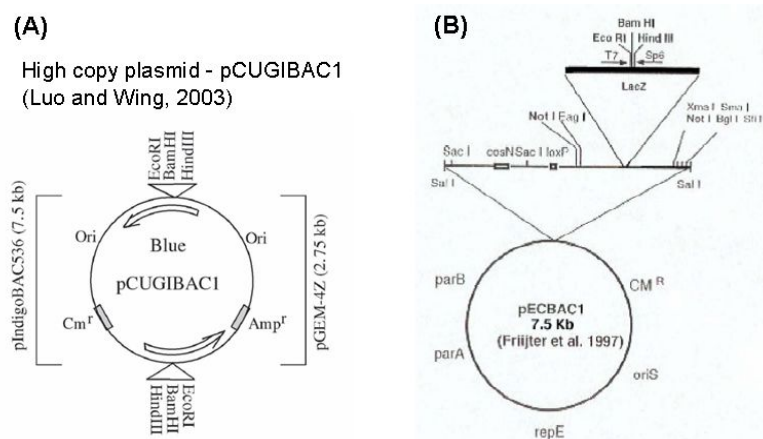


그림 56. Structure of BAC vectors used for library construction in this study.

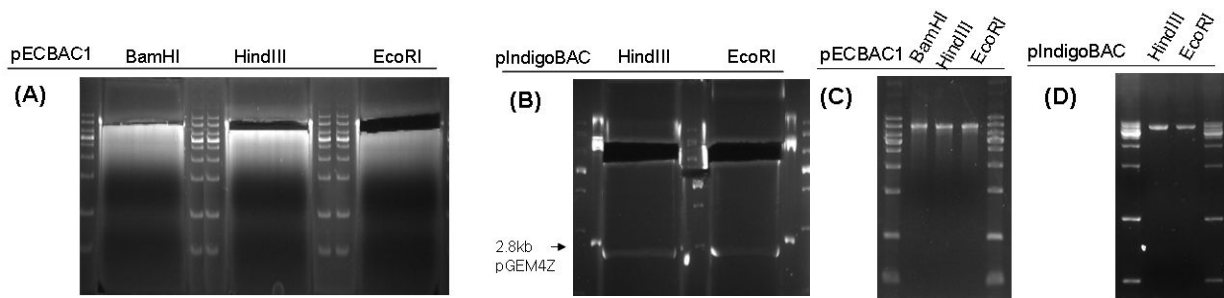


그림 57. Recovery of dephosphorylated and linearized pECBAC1 (A) and pIndigoBAC536 (B) vectors from an agarose gel. After overnight separation on 1% agarose gel at 40V, gel fractions containing the BAC vectors were cut out and purified. The resulting vector DNA was analyzed on agarose gel to estimate the concentration (15–20 ng/μl) (C, D).

6. DNA와 박테리의 ligation 결과

- 2회에 걸쳐 크기 선별된 DNA 절편과 BAC 박테리의 ligation을 수행함.
 - 박테리는 pIndigoBAC-5 (*Hind* III-digested)를 사용함.
 - Ligation 혼액을 *E. coli* (DH10B strain)에 전기 형질전환하여 배지에 키운 다음, 백색 콜로니를 대상으로 plasmid DNA 분리 및 PFGE 분석을 실시함.
 - 그 결과 (표 11.), 수회의 실험에 의해 제조된 ligation 혼액의 library용 적합성을 판정함.
- 크기 선별된 DNA 절편과 BAC 박테리를 ligation하고, ligation 혼액을 *E. coli* (DH10B strain)에 전기형질전환 하여 배지에 키운 다음, 백색 콜로니를 대상으로 plasmid DNA 분리 및 PFGE 분석을 실시함.
- 수회의 실험에 의해 제조된 ligation 혼액 중 library용으로 적합한 것을 판별한 결과, FP16 및 PBC81의 두 계통에서 제한된 개수의 ligation 혼액을 확보함 (표 12, 13)

표 11. Analysis of FP11 ligation mixtures

Ligation	Ligation volume (μl)	Number of colonies (/0.8 μl)			Estimated total number of colonies (μl)
		Plate 1	Plate 2	Subtotal	
2H1	90	113	125	238	26,775
2H2	100	10	14	24	*3,000
3H1	90	190	164	354	39,825
3H2	120	51	80	131	19,650
4H1**	110	62	77	139	19,112
4H2**	130	111	169	280	45,500
5H2	80	157	129	286	28,600
6H2**	190	275	120	395	93,812
Total	480			1,033	117,850

* Estimated with home-made DH10B electrocompetent cells

** Frequent insert-free clones; to be excluded in library collection

표 12. Analysis of ligation mixtures with *Bam*H I/*Eco*R I-digested fragments of FP16 DNA.

Date	Ligation ID	Restriction Enzyme	Ligation 1 Volume(μ l)	Ligation 2 Volume(μ l)
2009 11/16	E21B	<i>Bam</i> H I	60	60
2009 11/16	E21E	<i>Eco</i> R I	90	70
2009 11/30	E24B	<i>Bam</i> H I	-	70
2009 11/30	E24E	<i>Eco</i> R I	-	180

표 13. Analysis of ligation mixtures with *Bam*H I/*Eco*R I-digested fragments of PBC81 DNA.

Date	Ligation ID	Restriction Enzyme	Ligation 1 Volume(μ l)	Ligation 2 Volume(μ l)
2009 11/05	P20B	<i>Bam</i> H I	-	80
2009 11/05	P20E	<i>Eco</i> R I	-	70
2009 11/19	P22B	<i>Bam</i> H I	40	50
2009 11/19	P22E	<i>Eco</i> R I	85	75
2009 11/24	P23B	<i>Bam</i> H I	65	50
2009 11/24	P23E	<i>Eco</i> R I	50	80

7. Ligation 혼액의 전기 형질전환, library 제조 및 크기 추정

- 선별한 ligation 혼액을 대량 전기 형질전환하여 얻은 colony plates로부터 백색 콜로니를 수집하여 library를 제조하고 1·2차년도에 걸쳐 제조한 4종류의 BAC library (FP11 3종류, FP16 1종류)는 아래와 같음

FP11/HindIII (2007) : 1,680 colony plates; 336 (384-well) microtiter plates; 129,024 클론
FP11/HindIII (2008) : 1,800 colony plates; 414 (384-well) microtiter plates; 158,976 클론
FP11/EcoRI (2008) : 240 colony plates; 52 (384-well) microtiter plates; 19,968 클론
FP16/BamHI (2008) : 600 colony plates; 150 (384-well) microtiter plates; 57,366 클론

- 384-well microtiter plates에 백색 콜로니를 수집하여 library를 제작함. 그 결과, 총 336 plates (129,024 클론)의 BAC library를 얻음
- 선별한 ligation 혼액을 대량 전기형질전환하여 얻은 colony plates로부터 백색 콜로니를 수집하여 library를 제조하고 1·2차년도에 걸쳐 제조한 4종류의 BAC library (FP11 3종류, FP16 1종류)는 아래와 같음

	Ligation 혼액 합	클론 개수*	유전체 비 크기*
FP16/BamHI (2008 제작) :	190 µl	68,118 클론	1.67 x
FP16/BamHI (2009) :	190 µl	38,000 클론	1.73 x
FP16/EcoRI (2009) :	340 µl	68,000 클론	3.09 x
PBC81/BamHI (2009) :	285 µl	57,000 클론	2.59 x
PBC81/EcoRI (2009) :	360 µl	72,000 클론	3.27 x

* 최종 추정치 : 클론 개수 x 100 kb (평균 삽입체 크기) ÷ 2,200,000 kb (고추 반수 유전체 크기)

- 이상으로부터, FP16의 *BamH* I 및 *EcoR* I BAC library는 약 6.5배의 반수 유전체 크기를 가지며, PBC81의 *BamH* I 및 *EcoR* I BAC library는 약 5.8배의 반수 유전체 크기를 가질 것으로 예상됨

8. 결실률 및 평균 삽입체 크기 결정

- 무삽입체 클론의 비율과 평균 삽입체 크기 측정을 위해, 무작위로 추출한 BAC 클론을 plasmid DNA 분리한 다음, *Not* I 제한효소 절단과 PFGE에 의해 분석함(그림 58)

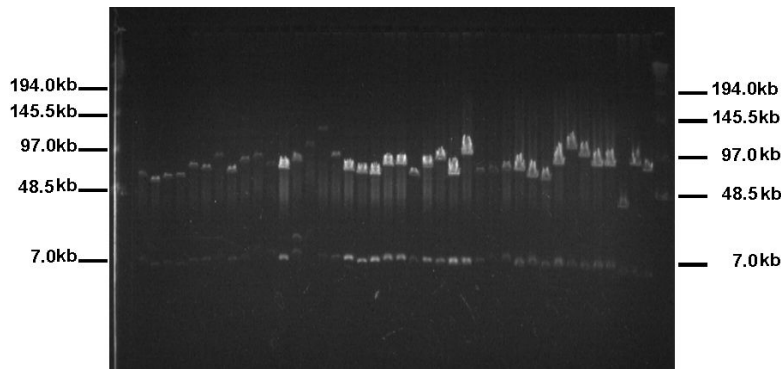


그림 58. Randomly selected FP11 BAC DNAs analyzed by *Not* I digestion and PFGE.

- 그 결과 (그림 59), BAC library의 무삽입체 비율은 7.1%, 평균 삽입체 크기는 약 90 kb로 추정됨

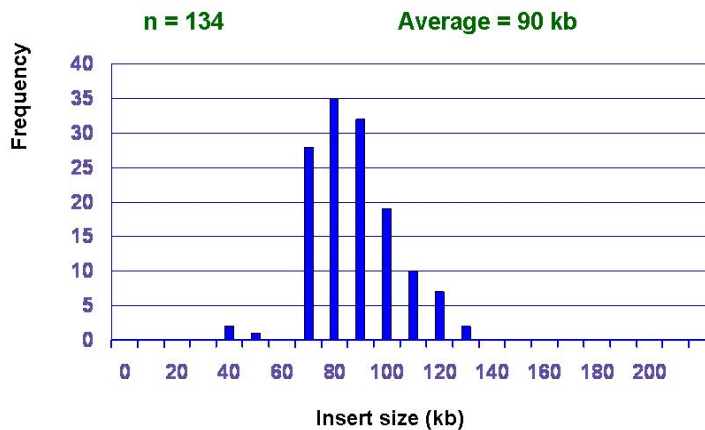


그림 59. Distribution of insert sizes of FP11 BAC library clones.

9. BAC library 크기 추정

- PFGE에 의해 분리된 BAC 클론들 (그림 60)을 Southern blotting을 통해 filter로 옮긴 다음, 고추의 chloroplast 또는 mitochondrial DNA를 probe로 하여 혼성화시킴
- 그 결과, chloroplast DNA는 총 80 클론 중 3 클론, mitochondrial DNA는 총 80 클론 중 1 클론이 포함되어, 각각 3.75% (chloroplast) 및 1.25% (mitochondria)의 비율을 나타냄

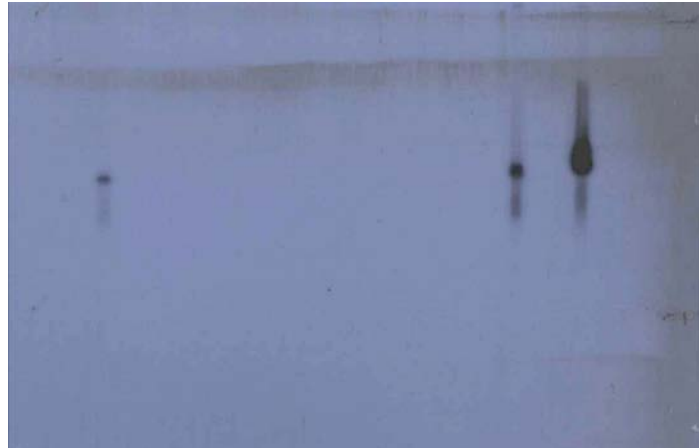


그림 60. Hybridization of BAC Southern blot with radiolabeled chloroplast probes.

- 이를 바탕으로 1·2차년도에 제작된 FP11 및 FP16 BAC library의 반수 유전체 크기를 다음과 같이 추정함 (무삽입체 클론 비율, chloroplast DNA 비율, mitochondrial DNA 비율 고려)

(1) FP11/Hind III library (2007)

$[129,024 \text{ (클론 개수)} \times 90 \text{ kb (평균 삽입체 크기)} \times \{1 - 0.071 \text{ (무삽입체 비율)} - 0.0375 \text{ (chloroplast DNA 비율)} - 0.0125 \text{ (mitochondrial DNA 비율)}\}] \div 2,200,000 \text{ kb (고추 반수 유전체 크기)} = 4.64 \text{ x}$

(2) FP11/Hind III library (2008)

$[158,976 \text{ (클론 개수)} \times 136.5 \text{ kb (평균 삽입체 크기)} \times \{1 - 0.024 \text{ (chloroplast DNA 클론 비율)} - 0.012 \text{ (mitochondrial DNA 클론 비율)}\}] \div 2,200,000 \text{ kb (반수 유전체 크기)} = 9.51 \text{ x}$

(3) FP11/EcoR I library (2008)

$[19,968 \text{ (클론 개수)} \times 129.3 \text{ kb (평균 삽입체 크기)}] \div 2,200,000 \text{ kb (반수 유전체)} = 1.17 \text{ x}$

(4) FP16/BamH I library (2008)

$[10,752 \text{ (2008년 상반기 개수)} \times 57.5 \text{ kb (평균 삽입체 크기)} + 57,366 \text{ (2008년 하반기 개수)} \times 53.3 \text{ kb (평균 삽입체 크기)}] \div 2,200,000 \text{ kb (고추 반수 유전체 크기)} = 1.67 \text{ x}$

표 14. Summary of pepper BAC library construction in 2007-2008.

Library	Cloning	Insert Size	Clones/Plates/Filters	Coverage	Chloroplast/ Mitochondria	Year
FP11BAC/R	EcoRI	120 kb	71,808 / 187 / 8	3.6 ×	1.0% / 2.0%	기존
FP11BAC/B	BamHI	110 kb	170,496 / 444 / 19	6.9 ×	1.1% / 1.0%	기존
Subtotal (FP11)	B, E	-	242,304 / 631 / 27	10.5 ×	1.1% / 1.3%	-
FP11BAC/H	HindIII	94.2 kb	129,024 / 336 / 14	4.6 ×	3.75%/1.25%	1차년
FP11BAC/H	HindIII	136.5 kb	158,976 / 414 / 0	9.5 ×	2.4% / 1.2%	2차년
FP11BAC/R	EcoRI	129.3 kb	19,968 / 52 / 0	1.1 ×	진행 중	2차년
Subtotal (FP11)	E, H	-	307,968 / 802 / 14	15.2 ×	-	-
FP16BAC/B	BamHI	53.3 kb	57,366* / 150* / 0	1.6 × *	진행 중	2차년
Subtotal (FP16)	B	-	57,366* / 150* / 0	1.6 × *	-	-

제 3절 고추육종의 MAS (Marker Assisted Selection) 체계 확립을 위한 분자표지 개발

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 역병 저항성 분자마커 개발

- 가. 역병저항성으로 확인된 CM334, AC2258, PI 등 origin이 다른 역병저항성 계통을 이용한 다양한 집단 육성
- 나. 유전집단의 F₂으로부터 DNA 분리 및 F₂, F₃ 라인의 역병 생물검정을 마친 결과를 바탕으로 BSA-RAPD를 수행하여 저항성과 이병성 개체간의 다형성 증폭 프라이머를 선발하여 마커로 전환
- 다. F₂ 유전집단을 이용하여 SSR 분자마커를 이용한 유전연관지도 작성 후 F₂, F₃의 역병 생물검정 결과를 이용하여 역병저항성 QTL 분석
- 라. QTL 분석에 의해 역병 저항성과 상관관계가 높은 SSR 마커를 선발하여 안정적인 마커로 전환
- 마. 선발된 마커의 유용성 검정 및 MAS 체계 확립

2. 청고병 저항성 분자마커 개발

- 가. 육종회사에서 선발한 저항성 계통을 이용하여 저항성 유전집단 육성
- 나. F₂ 집단으로부터 DNA 분리 및 청고병 생물검정 결과를 바탕으로 BSA-RAPD를 수행하여 저항성과 이병성 개체간의 다형성 증폭 프라이머를 선발하여 마커로 전환
- 다. F₂ 유전집단을 이용하여 SSR 분자마커를 이용한 유전연관지도 작성 후 F₂, F₃의 청고병 생물검정 결과를 이용하여 청고병 저항성 QTL 분석
- 라. QTL 분석에 의해 청고병 저항성과 상관관계가 높은 SSR 마커를 선발하여 안정적인 마커로 전환
- 마. 선발된 마커의 유용성 검정 및 MAS 체계 확립

3. 흰가루병 저항성 계통 육성

- 가. 수집 및 확보중인 품종 및 계통에 대한 흰가루병 생물검정을 통해 저항성 계통 선발
- 나. 선발된 저항성 계통의 교배조합 작성 및 마커개발을 위한 유전집단 육성
- 라. 토마토의 흰가루병 저항성 연관마커 탐색 및 고추에서의 유용성 확인

4. 회복인자 연관 분자마커 개발

- 가. 육종회사로부터 기존마커의 유용성이 없는 신규 집단을 육성하여 F₂ 집단의 임성조사 및 DNA 분리와 F₃ 육성 및 임성조사 수행
- 나. 각 집단의 임성조사 결과와 BSA-RAPD를 통한 임성개체와 불임개체간의 다형성 프라이머 선발
- 다. 선발 프라이머의 마커전환, 유용성 검증 및 MAS 체계 확립

라. 유전연관지도를 활용하여 기존 Rf 연관마커의 위치에 근접하게 링크된 마커의 다형성 분석 및 유용성 확인

5. 핵내유전자적 음성불임 (Genetic Male Sterility) 연관 분자마커 개발

가. 다양한 GMS 인자를 이용한 유전집단 육성

나. MF:MS=1:1 및 MF:MS=3:1 집단 육성 및 임성조사 수행

다. 임성조사 결과를 이용하여 BSA-RAPD 수행으로 임성개체와 불임개체간의 다형성 분석 및 후보마커 선발 후 마커 전환

라. 마커의 유용성 검증 및 MAS 체계 확립

제 2항 연구내용 및 연구결과

※ 마커개발에 사용된 연구집단의 변경

○ 사업단 초기 계획에 포함된 연구집단은 표 15과 같이 흰가루병 저항성 계통 선발외에 15개 집단이었으나 연구가 진행되면서 연구집단이 추가육성되어 표 16와 같이 흰가루병 저항성 계통 선발을 위한 집단을 제외하고 19개의 집단으로 증가되었음

표 15. 1년차에 사용된 연구집단

특성	집단	특성	집단
역 병	FPPcPo01 (역강홍장군)	흰가루병	저항성 계통 선발
	FPPcPo02 (독야청청)		fprf101
	FPPcPo03 (PI201234)		fprf102
	FPPcPo04 (PI201234)	회복인자	fprf103
	FPPcPo05 (CM334)		FPMS-509
청고병	fpchung1	GMS	FPMS-3
	fpchung2		FPMS-K
	fpchung3		FPMS-I

표 16. 연구수행 중 추가되어 증가된 연구집단

특성	집단	특성	집단
역 병	FPPcPo01 (역강홍장군)	청고병	FPchung1 (PS12)
	FPPcPo02 (독야청청)		FPchung2 (PS13)
	FPPcPo03 (PI201234)		FPchung3
	FPPcPo04 (PI201234)		PS14
	FPPcPo05 (CM334)		PS15
	FPPcPo06 (AC2258)	GMS	MS509 (<i>ms509</i>)
	FPPcPo07 (CM334)		MS3 (<i>ms3</i>)
회복인자	fprf 101	흰가루병	MSK (<i>msK</i>)
	fprf 102		MSI (<i>msI</i>)
	fprf 103		저항성 계통 선발

1. 역병 저항성 분자마커 개발

가. 역병 저항성 생물검정

1) 년차별 생물검정에 사용된 균주

- 1~2년차에 Pc01균주를 10^6 으로 접종하여 생물검정을 수행하였으며 3년차부터 병원성이 강한 Pc02균주를 타 연구기관으로부터 분양받아 접종원 농도 10^4 으로 접종하여 생물검정을 수행하였음 (표 17)
- 각 집단 F₃ 병검정 중 Pc01 균주에 대한 역병저항성은 각 라인에 대하여 ‘(건전한 개체/총 접종수)의 백분율’ (equ.1)로 저항성 정도를 나타내었고 Pc02 균주에 대한 저항성은 표 1의 발병지수에 따라 조사된 결과를 ‘{1-(처리구 발병지수 합/최고발병지수×전체주수)}의 백분율’ (equ.2)로 발병정도를 나타내었음

$$\text{equ.1} = \frac{\text{건전개체}}{\text{총접종수}} \times 100 \qquad \text{equ.2} = \left\{ 1 - \left(\frac{\text{처리구 발병지수 합}}{\text{최고발병지수} \times \text{전체주수}} \right) \right\} \times 100$$

표 17. 년차별 생물검정 조건

연차	접종집단 (FPPcPo-)	균주	접종농도	검정방법	비고	분양
1년차	01, 02, 03, 04 - F2	Pc01	10^6	유묘검정	식물병연구 제16권 제2호 'MY-1'	(주)대농종묘
2년차	01, 02, 05 - F3	Pc01	10^6	유묘검정		
3년차	05 - F3 06, 07 - F2	Pc02	10^4	유묘검정	병원성 강	
4년차	06 - F3	Pc02	10^4	유묘검정 및 뿌리검정		
5년차	05, 07 - F3	Pc02	10^{2-3}	저농도유묘검정		

2) 역병 균주 FPPc01, 02균주 간의 병원성 비교 및 적정 접종농도 확립

- 영양배지 (PDA)와 선택배지 (V8)에 동일한 크기의 역병균주를 접종하고 20℃에서 5일 배양 후 균사 생장 및 포자형성능을 현미경하에서 관찰함
- Pc01, 02 두 균주 모두 영양배지 보다는 선택배지에서 빠른 생장을 보였으며, 포자형성능 관찰 결과 Pc02 균주가 월등히 높음을 확인하였음 (그림 61)

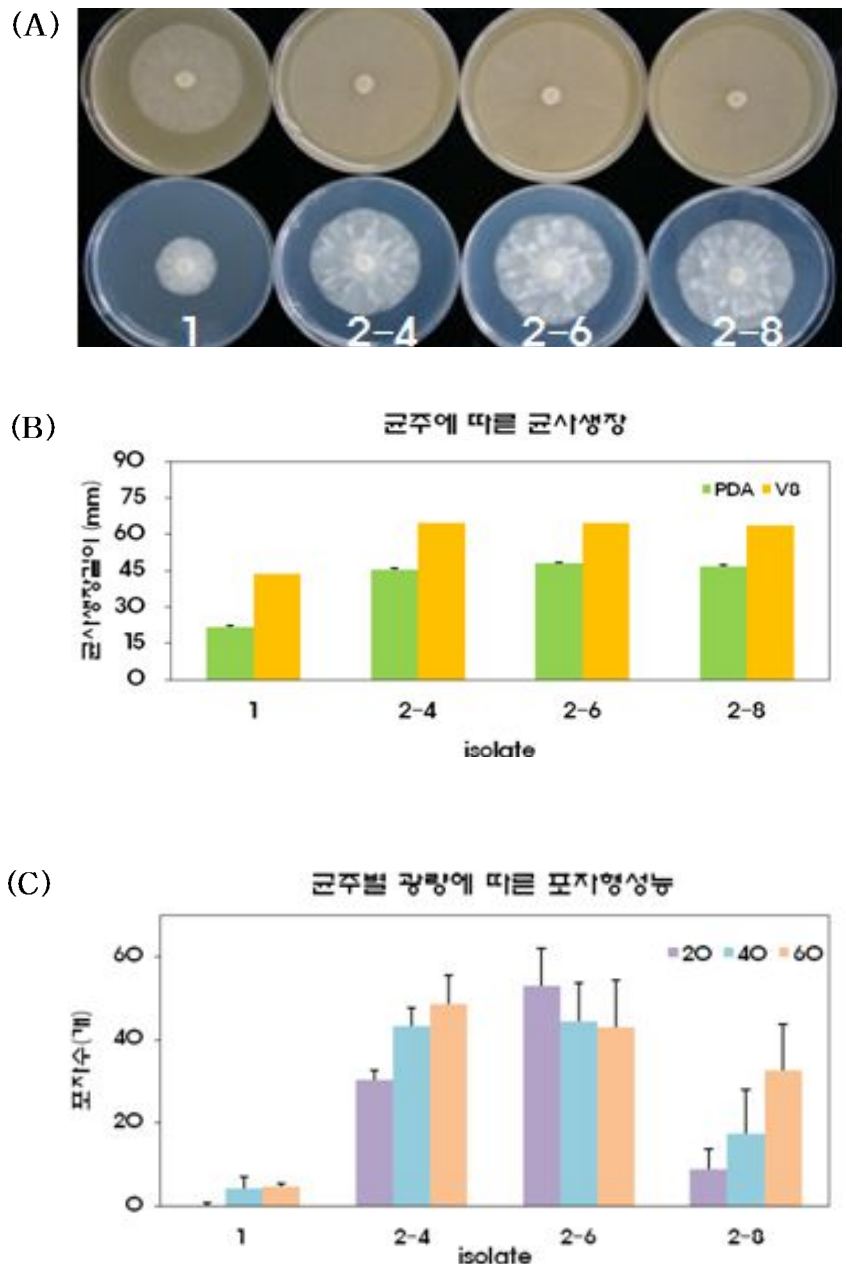


그림 61. 균주에 따른 생장 (A, B) 및 포자형성능 (C) 비교실험 (집종 5일 후), 균사생장 및 포자형성능 : FPPc02균주 > FPPc01균주

- 저병원성 균주 Pc01과 고병원성 균주 Pc02에 대하여 접종농도 구명을 위하여 10^4 spores/ml, 5×10^4 spores/ml로 접종 후 접종 7일 후부터 7일 간격으로 3회 조사 실시하였고 발병 정도는 표 18 및 그림 61을 기준으로 하였음
- 대조구로는 저항성 계통인 FP12 (CM334)와 이병성 계통인 FP16 (ECW123R)을 사용하였으며 처리당 10주를 50공 플러그판에 육성하여 역병 생물검정을 수행하였음
- Pc01 균주는 저농도 및 고농도 처리구에서 모두 발병율이 낮았으나 Pc02 균주는 두 처리구의 이병성 대조구 (ECW123R)에서 100% 발병을 확인하였으며 저항성 대조구 (FP12)는 10^4 처리구에서 발병되지 않았으나 5×10^4 spores/ml 처리구에서는 약간의 발병이 확인되었음 (그림 63)
- 이상과 같이 저병원성 Pc01 균주는 일반적 접종 방법 (접종농도 10^6 , 접종시기 유묘 분엽 4~6엽기)으로 접종한 것에 비해 고병원성 Pc02 균주의 접종은 고추 묘령 6~8엽기에 10^4 spores/ml로 접종한 후 7일 후부터 7일 간격으로 3회 조사하도록 접종방법을 확립하였음

표 18. 고추 역병 생물검정을 위한 지표 (index)

Index	Disease severity	Determinant
0	No symptom	R
1	~ 25 %	MR
2	25 ~ 50 %	MR
3	50 ~ 75 %	MR
4	75 ~ 100 %	S

R : resistance, MR : middle resistance, S : susceptible



그림 62. 고추 역병 생물검정을 위한 지표

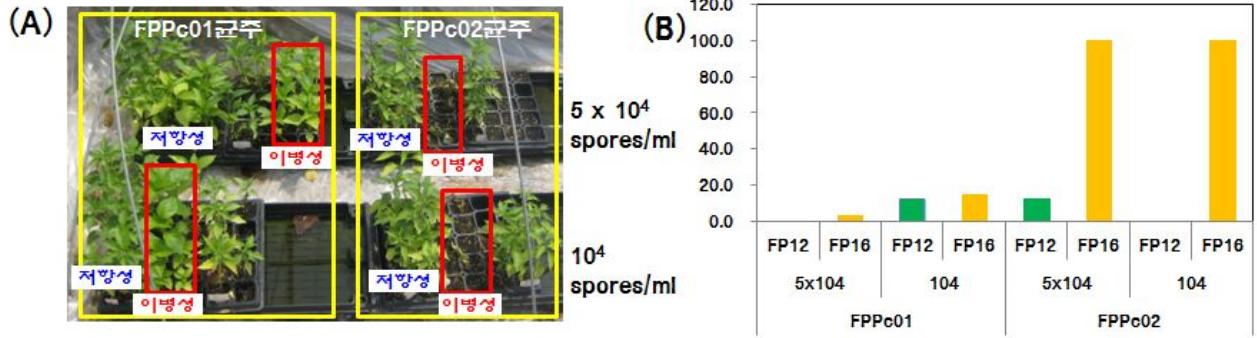


그림 63. 병원균, 접종농도에 따른 FP12, FP16 발병모습 (A, 접종 3주차 조사) 및 발병도 (B)

3) 역병 저농도 생물검정

- 접종농도: 10^4 , 5×10^3 , 10^3 spore/ml로 주 당 3ml 관주처리하여 접종하였음
- 접종 3주 후 조사시 10^4 , 5×10^3 spore/ml 처리구에서는 F₁ 및 F₂가 모두 발병하여 고사하였으나 10^3 spore/ml 처리구에서는 F₁의 저항성율은 저조하였으나 F₂에서 약 30%의 저항성율을 나타내었음 (그림 64, 65)
- 역병균을 저농도로 접종하였을 때 나타나는 생물검정 결과는 몇 개의 인자가 관여하는지는 알 수 없으나 저항성 인자가 열성으로 보이며 이에 대한 분자마커를 개발하기 위하여 저농도 생물검정을 균접종농도 10^{2-3} 으로 수행하였음

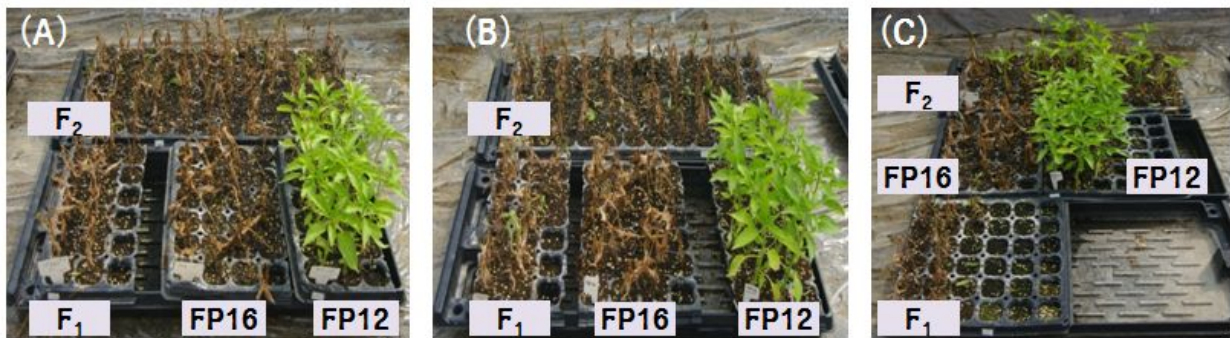


그림 64. 접종농도에 따른 저항성률(%), 접종 21일 후 조사. A; 10^4 spore/ml, B; 5×10^3 spore/ml, C; 10^3 spore/ml

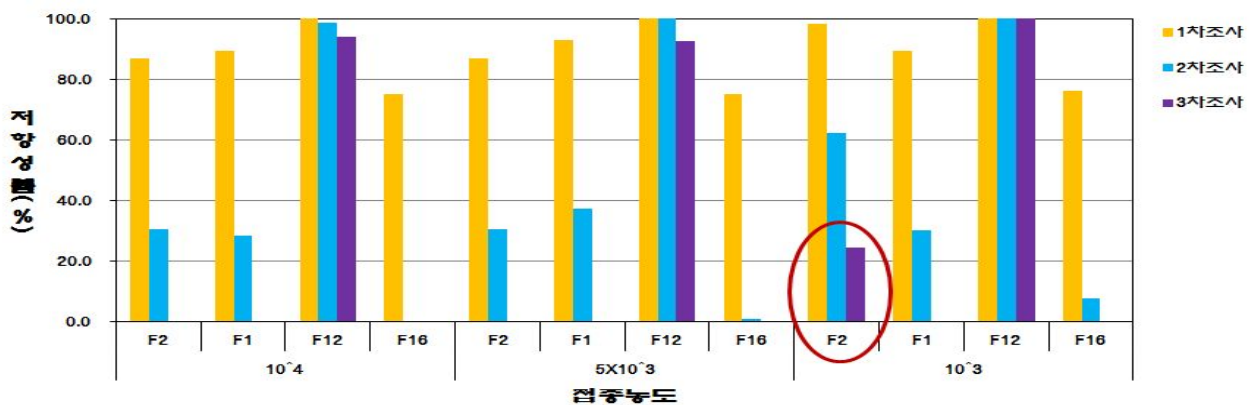


그림 65. 접종농도에 따른 F₂, F₁의 저항성률(%)

4) 집단별 생물검정 수행 결과

가) 집단 특성 및 년차별 생물검정 수행결과

- FPPcPo01(역강홍장군)은 AC2258 유래 저항성 집단으로 모계가 조생종, 역병 내병계이고 부계가 극조생계, 품질계로 역병이병성인 교배조합이며 FPPcPo05 집단은 CM334 유래 저항성 집단으로 저항성 친인 FP12 (CM334)는 신미가 강한 Chilly pepper이고, 이병성친인 FP16 (ECW123R)은 세반병저항성을 가진 Bell pepper인 교배조합을 사용 (그림 66)

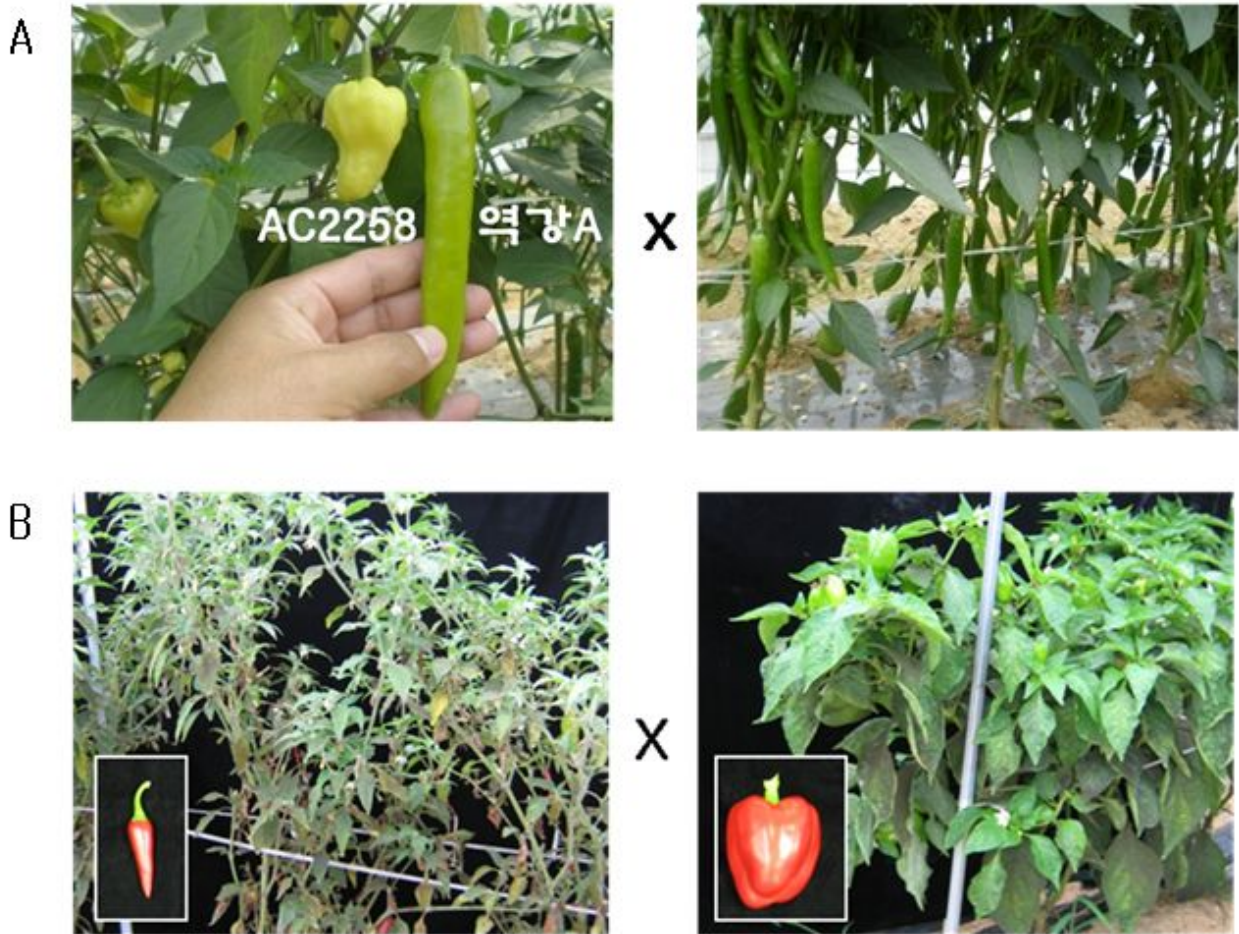


그림 66. FPPcPo01 및 05의 교배조합. A: FPPcPo01 (AC2258 유래)의 교배조합, B: FPPcPo05 (CM334 유래)의 교배조합

- 각 집단의 세대 육성 및 역병 생물검정은 표 19과 같이 연차별로 정리하였음. 1년차부터 저항성 origin이 다른 5개 집단을 육성하여 생물검정을 수행하였으나 3년차에 AC2258과 CM334를 저항성친으로 육성한 2개의 신규집단을 육성하여 마커 개발에 활용하였음
- 신규 육성 집단 포함하여 총 7개의 집단을 확보하였으며 그 중 FPPcPo01~04 집단은 BSA-RAPD를 이용하여 다형성 분석을 수행하였으며 FPPcPo05, 06 집단은 QTL 분석에 활용, FPPcPo07 집단은 유용성 검정에 활용하였음

표 19. 마커개발에 사용된 유전집단의 육성 및 병검정 수행 내용

집단명	1년차	2년차	3년차	4년차	5년차
FPPcPo01 (역강홍장군)	- F ₂ 100개체 DNA 추출 및 Pc01 균주를 이용한 유묘검정 수행 - F ₂ 200개체의 DNA 추출 및 종자수확 (F ₃)	- F ₃ 190 line의 Pc01 균주를 이용한 역병 유묘검정 수행	-	-	-
FPPcPo02 (독야청청)	- F ₂ 446개체 DNA 추출 및 Pc01 균주를 이용한 유묘검정 수행 - F ₂ 45개체의 DNA 추출 및 종자수확 (F ₃)	- F ₃ 46 line의 Pc01 균주를 이용한 역병 유묘검정 수행	-	-	-
FPPcPo03 (PI201234)	- F ₂ 167개체 DNA 추출 및 Pc01 균주를 이용한 유묘검정 수행	- 후대 없음	-	-	-
FPPcPo04 (PI201234)	- F ₂ 139개체 DNA 추출 및 Pc01 균주를 이용한 유묘검정 수행	- 후대 없음	-	-	-
FPPcPo05 (CM334)	- F ₂ 230개체의 DNA 추출 및 종자수확 (F ₃)	- F ₃ 190 line의 Pc01 균주를 이용한 역병 유묘검정 수행	- F ₃ 168 라인의 Pc02 균주를 이용한 유묘검정 수행 - Pc01, Pc02 균주에 대한 저항성 연관 QTL 분석		- F ₃ 110 라인의 Pc02 균주를 이용한 저농도 유묘검정 수행
FPPcPo06 (AC2258)	-	(3년차 신규 집단)	- F ₂ 173개체의 DNA 확보 및 Pc02균주를 이용하여 유묘검정 완료 - F ₂ 227개체의 DNA 확보 및 후대 종자 확보	- F ₃ 100라인의 Pc01 균주를 이용한 유묘 및 뿌리썩음 생물검정 수행	-
FPPcPo07 (CM334)	-	(3년차 신규 집단)	- F ₂ 173개체의 DNA 확보 및 Pc02균주를 이용하여 유묘검정 완료	-	- F ₃ 40 라인의 Pc02 균주를 이용한 저농도 유묘검정 수행

나) FPPcPo01 F₂ 100개체에 대한 역병 생물검정

- FPPcPo01은 AC2258 유래 저항성 집단으로 모체가 조생종, 역병 내병계이고 부계가 극조생계, 품질계로 역병이병성인 교배조합임
- FPPcPo01 집단의 F₂ 100개체를 대상으로 Pc01 균주를 사용하여 역병생물검정을 수행한 결과, 각각의 개체에서 병징이 발현된 시점과 괴사한 시점을 조사한 결과가 그림 67과 같은 곡선을 나타내었음
- 생물검정에 의해 저항성:이병성이 1:3의 비율을 보여 역병저항성이 열성일 것으로 예측됨. 따라서 호모형태의 이병성 개체가 초기에 발병하였으며, 헤테로의 저항성 유전자형을 보유한 고추개체들이 후반부에 발병하였을 것으로 예상됨. 또한 접종초기에 발병한 개체가 많고 시간이 경과함에 따라 그 수가 줄어들다가 역병균 자체의 활력이나 생활사와 연관되어 다시 발병개체수가 증가했을 가능성도 예상됨

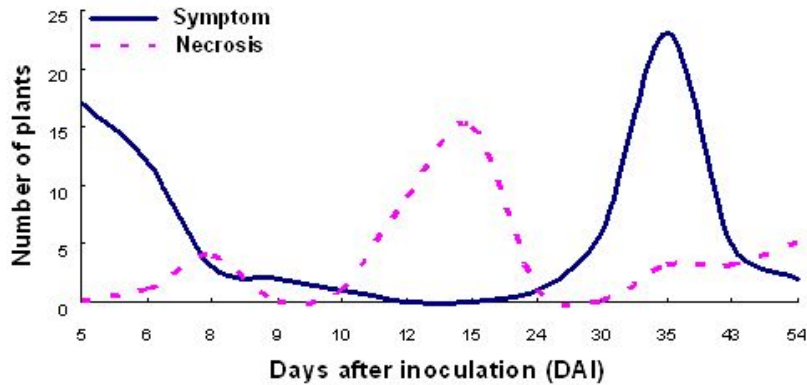


그림 67. FPPcPo01 100개체에 대한 역병의 진행곡선

다) FPPcPo02 생물검정 결과로 본 역병의 진행곡선

- FPPcPo02 F₂ 집단에 Pc01 균주를 사용하여 역병 접종을 수행 후 괴사한 개체수를 조사한 결과 그림 68과 같은 곡선을 나타냄. 이는 FPPcPo01에서 나타난 진행곡선과 비슷한 양상을 보이거나, FPPcPo01에서는 접종 후 8일, 15일, 54일의 3번의 괴사정점을 보인 반면, FPPcPo02에서는 접종 (8/23)후 10일, 35일, 55일의 3번의 괴사정점을 보여 시간적으로는 다르게 나타남

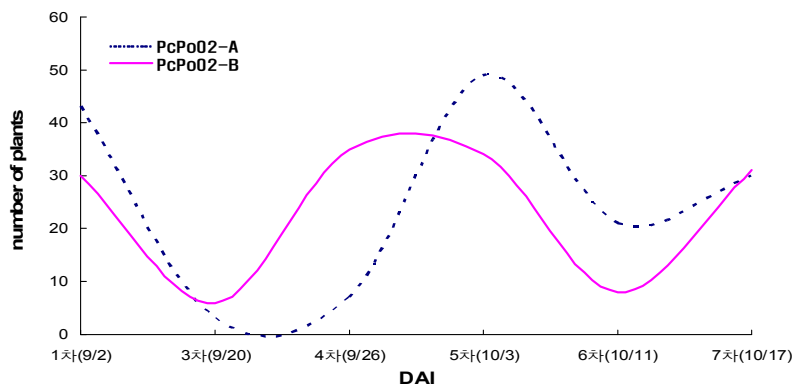


그림 68. FPPcPo02에 대한 역병의 진행곡선

라) FPPcPo01, 02, 및 05 F₃의 Pc01 균주를 이용한 역병 생물검정

- FPPcPo01, 02 및 05의 F₃에 대하여 Pc01 균주를 이용하여 한 라인당 20주씩 접종하는 방법으로 역병 생물검정을 수행하였음. 저항성 정도는 20주 중 건전한 개체의 수를 백분율로 나타내었으며 FPPcPo01 190 라인, FPPcPo02 46 라인, FPPcPo05 190 라인, 총 426 라인의 후대를 라인당 20주씩 총 8,520주를 Pc01 균주 1×10^6 의 농도로 접종하였음 (그림 69)

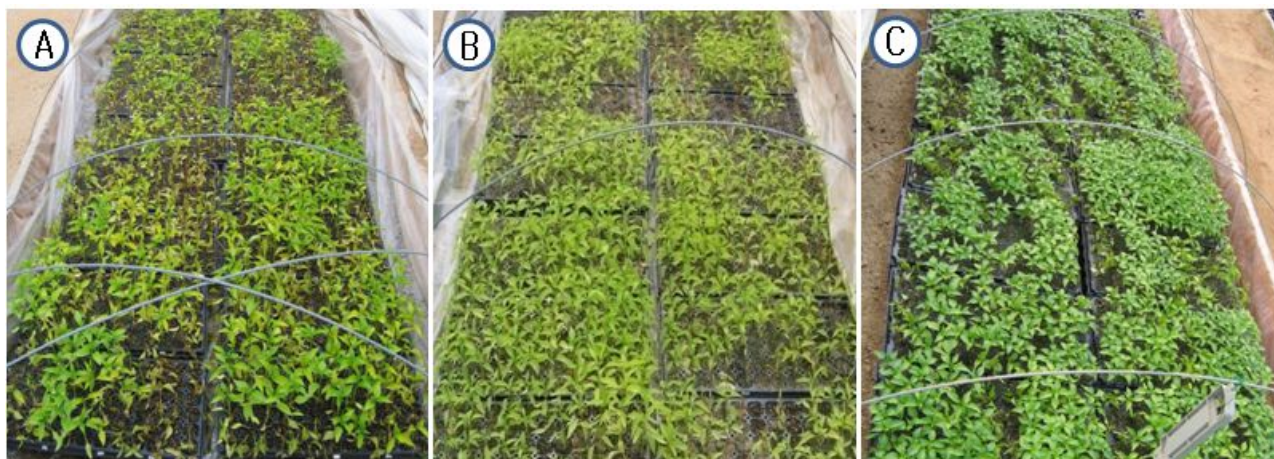


그림 69. FPPcPo01 (A), FPPcPo02 (B), FPPcPo03 (C) F₃의 역병 저항성 검정

- 세 집단의 역병 저항성 검정은 3반복으로 수행하였고 세 집단 모두에서 저항성 라인이 예상보다 적었음. 그 중 FPPcPo01 및 05의 3반복에 대한 저항성율별 개체수를 확인한 결과 0~10%의 저항성율을 보인, 이병성 개체의 수가 월등히 많았음 (그림 70)
- 이는 저항성 대조구의 생존율이 약 80%를 보임으로써 이것을 대조구로 비교해 볼 때 역병 접종시 환경적 영향에 의해 접종강도가 높았던 것으로 추측할 수 있으며 또한 분리세대를 거치면서 QTL인 역병 저항성 인자가 분리되어 저항성 정도가 낮아진 것으로 예상됨

마) FPPcPo05 F₃의 Pc02 균주를 이용한 유묘저항성 생물검정

- FPPcPo05의 F₃ 168라인에 대하여 라인당 24주씩, Pc02 균주 1×10^4 spores/ml를 주당 3 ml 관주 처리 방법으로 유묘검정 수행하였음
- 두 균주에 대한 각 라인의 저항성율을 비교한 결과 Pc01 균주에서 저항성으로 보였던 라인은 Pc02 균주에서도 저항성 라인으로 검정된 라인이 비교적 많았으나 4-09, 5-1, 5-15, 6-13, 7-12, 15-7, 15-8, 15-9, 15-10번 등의 라인은 두 균주에서 저항성율에 큰 차이를 보였음 (그림 71)
- 총 168라인 중 117라인은 QTL 분석에 사용하였고 Pc01 균주의 검정결과와 비교하여 각각의 균주에 대한 저항성 QTL을 분석하였음

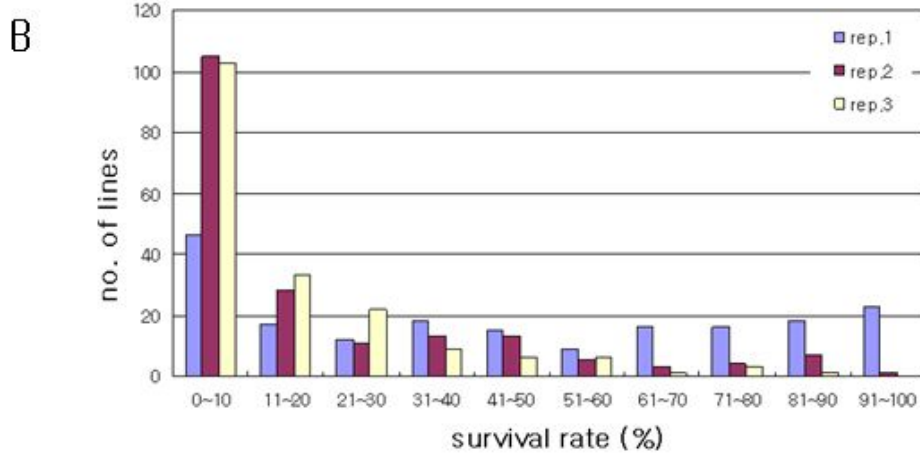
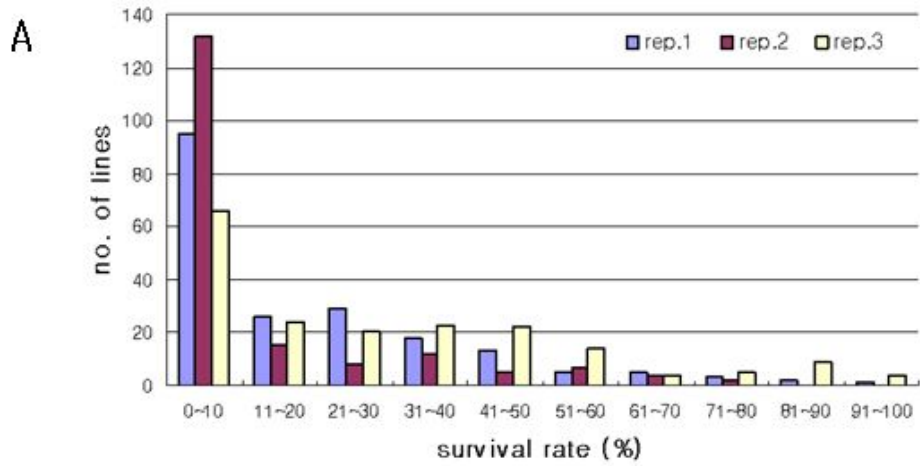


그림 70. FPPcPo01 (A) 및 FPPcPo05 (B)의 역병 저항성 검정 결과

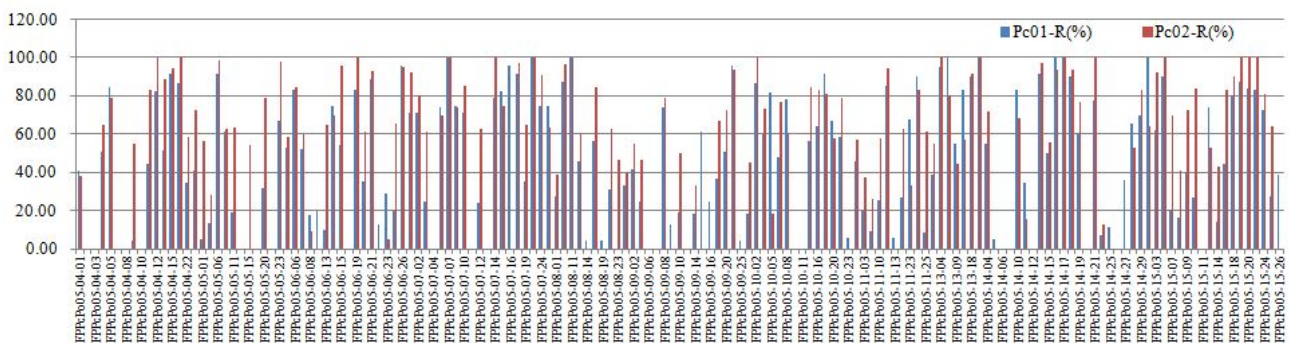


그림 71. FPPcPo05의 F₃에 대하여 두 균주 (Pc01, 02 균주)를 이용한 생물검정에 의한 저항성을 확인

바) FPPcPo06집단에 대한 유묘 및 뿌리썩음에 대한 생물검정

- 유묘 생물검정시 본엽 6매, Pc02 균주를 주 당 3ml 접종하여 접종 1주일 후부터 1주일 간격으로 3차례에 걸쳐 조사하였으며 실험 간의 오차를 줄이기 위하여 3반복 수행하였음 (그림 72)
- 유묘 생물검정은 F3 총 100라인에 대하여 라인당 24주씩 생물검정 하였으며, 대조구로는 FP12 (CM334), FP16 (ECW123R)을 저항성 이병성으로 각각 사용하였음



그림 72. FPPcPo06 F3 유묘 저항성 생물검정 접종 2주일 후 2차 조사

- 뿌리썩음 생물검정시 식물체는 본엽 8엽 이상 전개되어 제 1분지점의 개화시점에 Pc02 균주를 주 당 4ml씩 접종 수행하였으며, 1차 접종 1주일 후 동일한 방법으로 2차 접종을 수행하였음. 조사는 1차 접종 4주 후에 그림 73와 같은 index를 기준으로 한 차례만의 조사를 수행하였음
- 뿌리썩음 생물검정은 F₃ 총 100라인에 대하여 실험을 수행하였으며, FP12 및 FP16을 저항성 및 이병성 대조구로 각각 사용하였으며 유묘 생물검정과 동일하게 3반복 수행하였음



그림 73. FPPcPo06 F₃ 뿌리썩음 생물검정시 index (index 0: 무발병, 1: ~25%, 2: 25~50%, 3: 50~75%, 4: 75%~)

- 각 라인의 역병에 대한 유묘 및 뿌리썩음 생물검정 결과는 비교적 양상이 비슷했으나 13, 14, 19번 라인 및 103, 106, 107, 108, 109, 111, 112, 113번 라인 등에서는 뿌리썩음 저항성이 높게 나타났고 95, 100, 101, 136번 라인 등에서는 유묘 저항성이 높게 나타났음 (그림 74). 이 결과는 FPPcPo06 집단의 역병 저항성 QTL 분석에 활용하였음

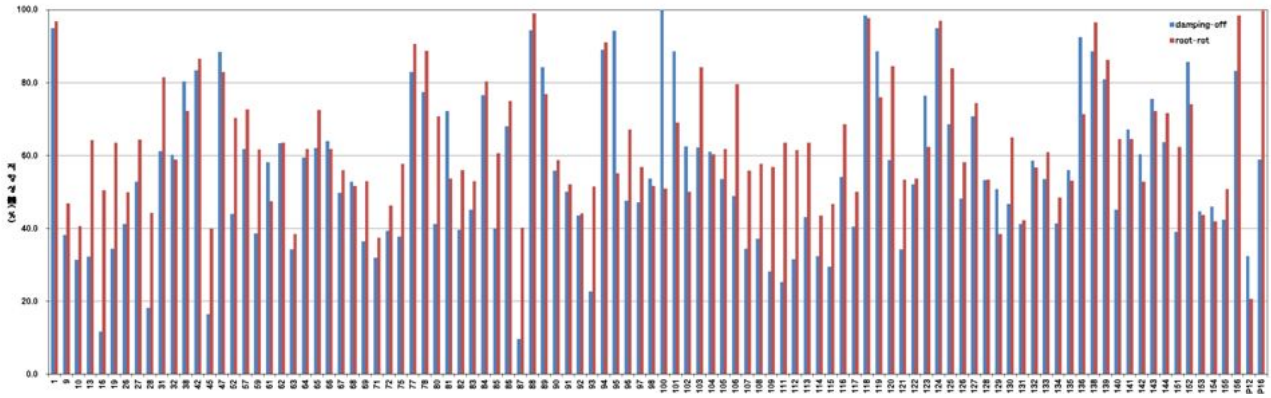


그림 74. FPPcPo06 F₃ 100라인의 유묘 및 뿌리썩음 생물검정에 대한 발병율

사) FPPcPo05 및 07 집단의 저농도 생물검정

- Pc02 균주를 이용하여 접종농도 $1\sim 5 \times 10^2$ spore/ml, 주 당 3ml 관주처리하여 저농도의 생물검정을 수행하였음
- FPPcPo05 집단은 110라인, FPPcPo07 집단은 40라인을 라인 당 24주씩 3반복으로 생물검정을 수행하였음 (그림 75)
- 대조구 (FP12, FP16)에서 발병율이 명확하게 나타난 것과 비교하면 두 집단 모두 전체적으로 낮은 발병율을 나타내었으며 이 결과는 개발마커에 대한 유용성 검정에 활용하였음 (그림 76)

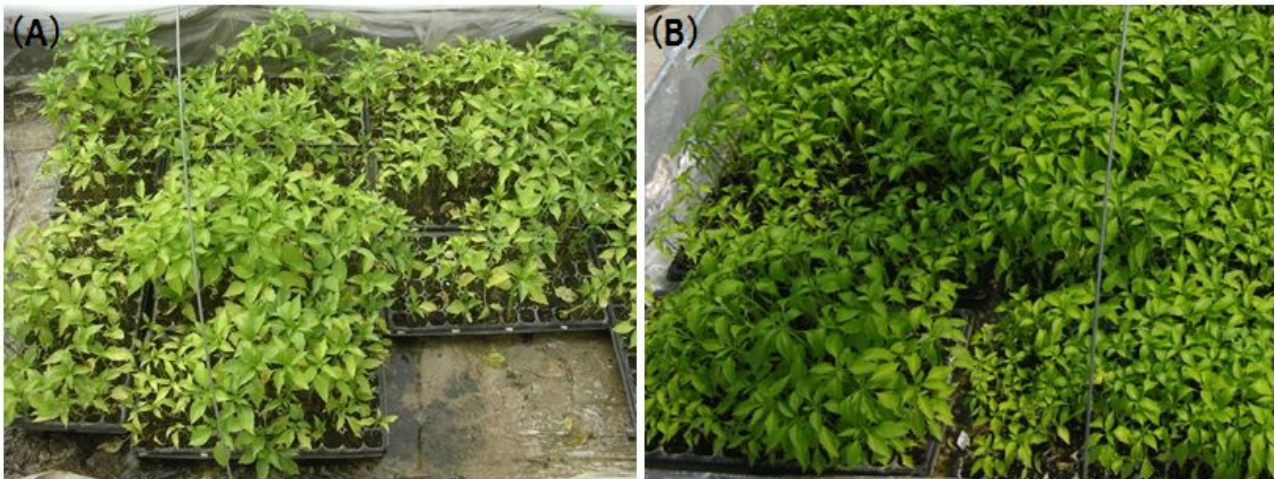


그림 75. 저농도 역병 생물검정에 의한 FPPcPo05 F₃ (A, 접종 21일 후), FPPcPo07 F₃ (B, 접종 21일 후)

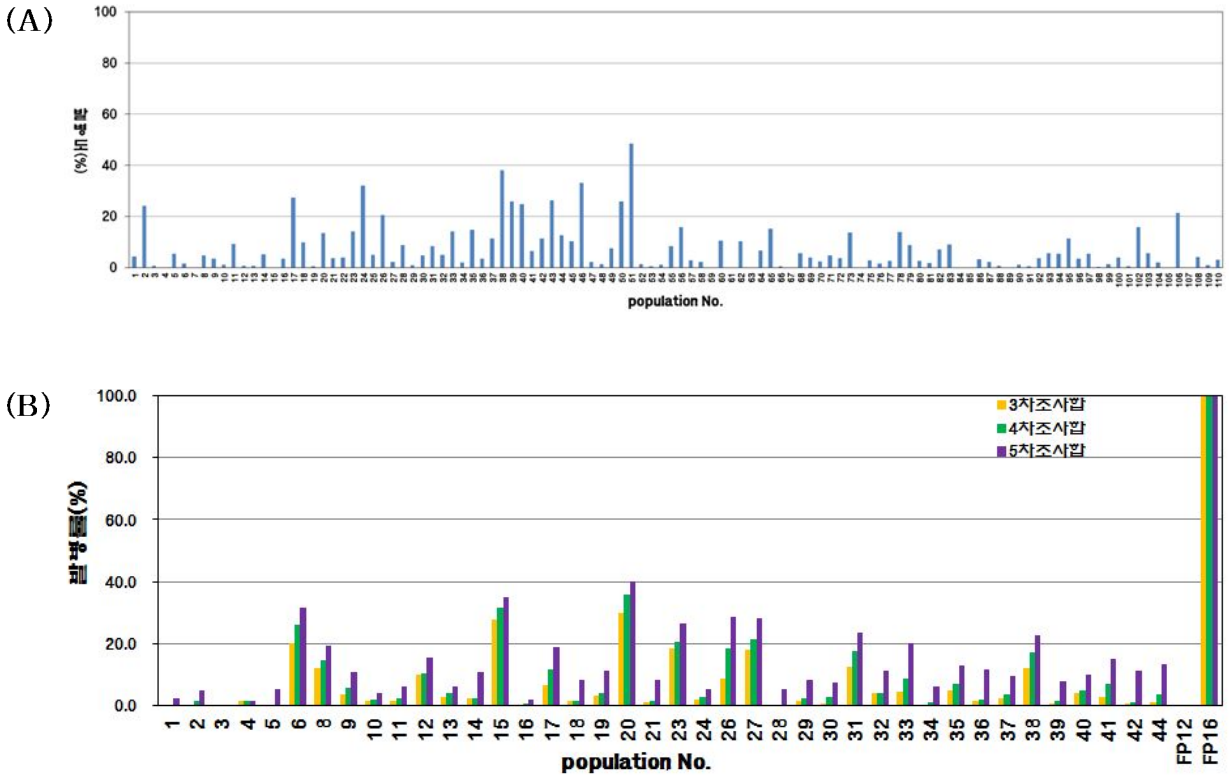


그림 76. FPPcPo05 F₃ (A)와 FPPcPo07 F₃ (B)의 Pc02 균주를 이용한 역병 저농도 생물검정 결과

나. 역병 저항성 분자마커 개발

1) RAPD 분석 및 마커 개발

가) FPPcPo01 집단의 RAPD 분석 및 마커개발

- 모, 부를 RAPD 프라이머로 스크리닝하여 다형성을 보이는 총 61개의 프라이머를 선발함
- 역병 생물검정을 마친 F₂ 집단 100개체에 대하여 선발 프라이머를 사용하여 스크리닝한 후 MapDisto 프로그램을 이용하여 map을 작성하고 WinQTLCart 프로그램을 사용하여 QTL을 분석하였음 (그림 77)
- 작성된 map의 QTL 분석 결과 두 개의 QTL 영역이 분석되었고 근접한 RAPD 프라이머로 M05와 V17을 선발하였음. M05는 F₂ 검정 결과 3:1로 분리됨을 확인하였고 마커로 전환하였으나 V17 프라이머는 F₂ 검정 결과 다형성을 보이지 않아 도태시켰음

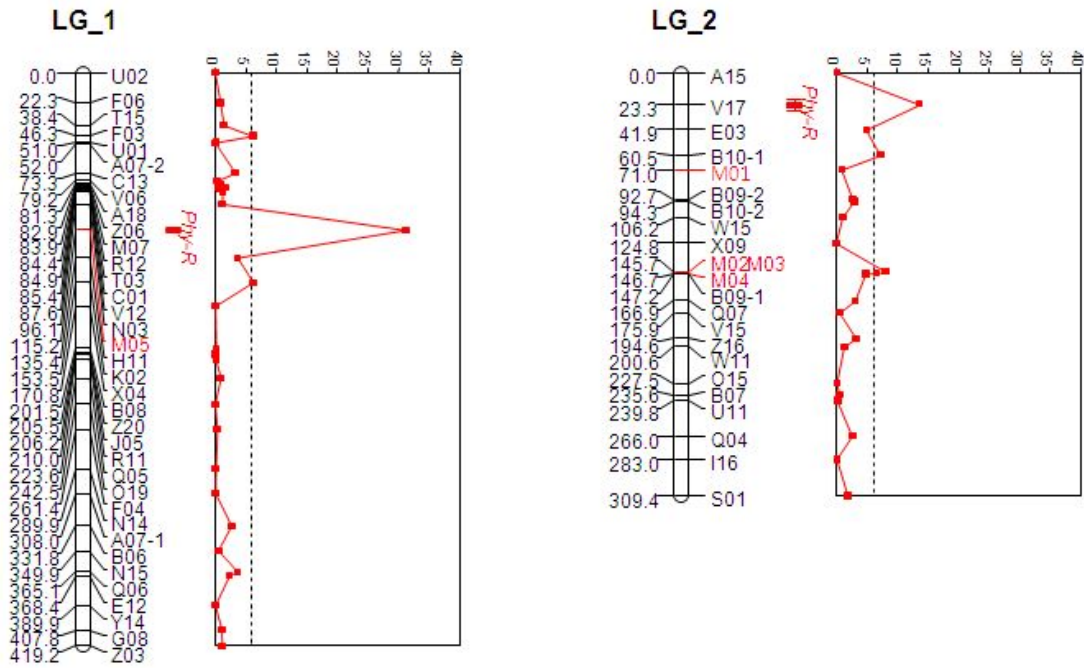


그림 77. RAPD를 기초로 한 역병 관련 QTL map. 마커에 따른 peak는 LOD로 'QTL candidate'를 나타냄

- 우성표지인자로 개발된 역병 마커 M05의 효용성을 검정하기 위해 바이엘크롭사이언스와 에코씨드로부터 샘플을 공급받아 블라인드 테스트를 실시한 결과, 역병 생물검정 결과와 85~90% 정도 일치함을 확인하였음 (그림 78)

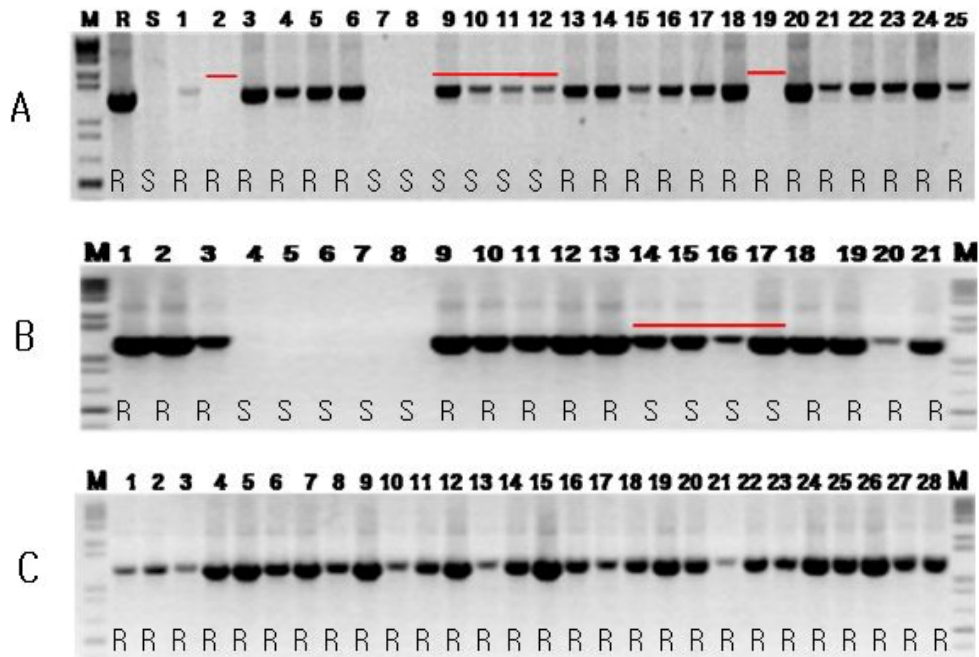


그림 78. 역병 연관 마커 M05의 블라인드 테스트 결과. A: 바이엘크롭사이언스, B, C: 에코씨드, 표시된 붉은 선은 병검정 결과와 불일치 샘플

- M05 마커를 공우성 분자마커로 전환하기 위하여 inverse PCR 수행한 결과 총 7208bp로 염기서열을 확장하였으며 확보된 염기서열에서 총 10개의 SSR을 탐색하여 M05SSR1~10으로 명명하였음 (그림 79). 이들을 FPPcPo05 집단의 양친에 대한 다형성 분석을 수행하여 M05SSR2-CPAS 마커로 전환하였고, 이를 FPPcPo05의 F₂에 분석 (그림 80)하여 QTL map에 등재하였음

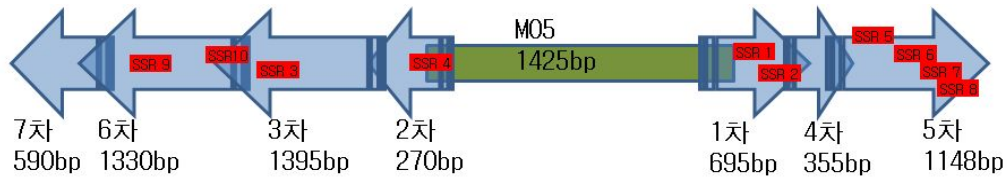


그림 79. PcM05의 inverse PCR 모식도 및 SSR의 위치

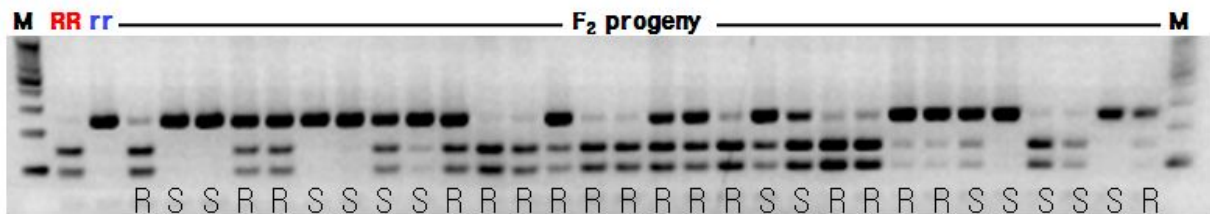


그림 80. PcM05SSR2의 F₂ 유용성 확인

나) FPPcPo02 및 03 집단의 RAPD 분석

- 병검정을 마친 FPPcPo02 F₂ 446개체의 DNA를 이용하여 BSA-RAPD를 수행한 결과 5개의 프라이머를 선발하였으나 F₂의 각 개체에 대해 스크리닝한 결과 역병 생물검정 결과와 불일치하는 것으로 확인됨
- 또한 병검정을 마친 FPPcPo03 F₂ 167개체의 DNA를 이용하여 BSA-RAPD를 수행한 결과 선발 프라이머가 없었으며 본 집단은 타 집단의 개발 분자마커의 유용성 검정에 활용함

다) FPPcPo04 집단의 RAPD 분석 및 마커개발

- 병검정을 마친 FPPcPo04 F₂ 139개체의 DNA를 이용하여 BSA-RAPD를 수행한 결과 이병성 특이밴드 증폭 프라이머와 저항성 특이밴드 증폭 프라이머를 각각 하나씩 선발하였고, 각각의 이름을 M07 및 M09로 명명하였음 (그림 81)

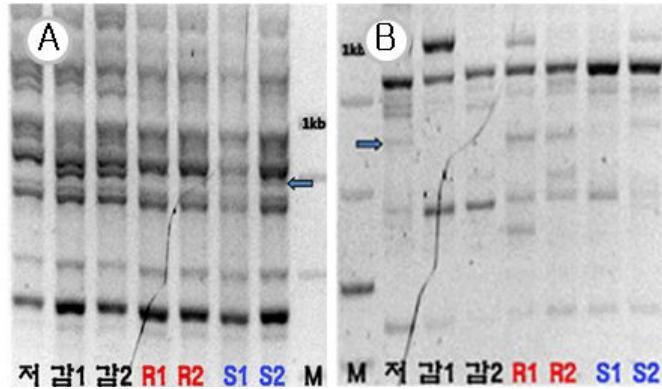


그림 81. FPPcPo04 집단 내 선발 프라이머 PcM07 (A)과 PcM09 (B)

- 선발된 M09 프라이머는 저항성 특이밴드가 재현되지 않아 도태되었으나, M07 프라이머는 저항성 계통인 역강모계와 FP12, 이병성 계통인 역강부계와 FP16의 염기서열간에 InDel을 확인하여 SCAR 마커로 전환하였고, QTL 분석을 위해 FPPcPo05의 유전연관지도상에 등재하였음
- M07-SCAR 마커의 유용성을 검증하기 위하여 블라인드 테스트를 수행하였음 (그림 82). 마이엘 크롭사이언스로부터 한국계, 역강분리계, 독야분리계 등 총 97점의 샘플을 공급받아 분석한 결과 역강분리계는 90%, 한국계는 80%의 선발 효율을 보였고, 독야분리계 샘플에서는 생물검정결과와 마커검정결과가 반대의 경향을 보였으며, 일부 샘플에서 생물검정으로 헤테로로 검정한 것이 PcM07 마커로는 호모 상태의 저항성으로 분석되었음

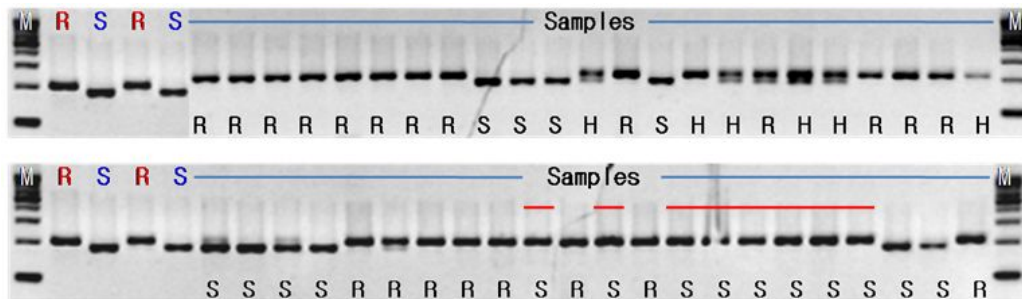


그림 82. M07의 블라인드 테스트 유용성 검증.
표시된 붉은 선은 병검정 결과와 불일치 샘플

라) FPPcPo05 집단의 RAPD 분석 및 마커개발

- FPPcPo05 F₃의 역병 생물 검정 결과를 토대로 BSA-RAPD를 수행한 결과 한 개의 프라이머를 선발하여 M06으로 명명함 (그림 83)
- M06 프라이머를 F₂에 개체별로 확인한 결과 역병 저항성 정도가 비교적 높은 154개체에서 저항성 특이밴드가 증폭되는 것을 확인하여 CAPS 마커로 전환 후 QTL 분석에 사용하기 위해 FPPcPo05 유전연관지도에 등재하였음

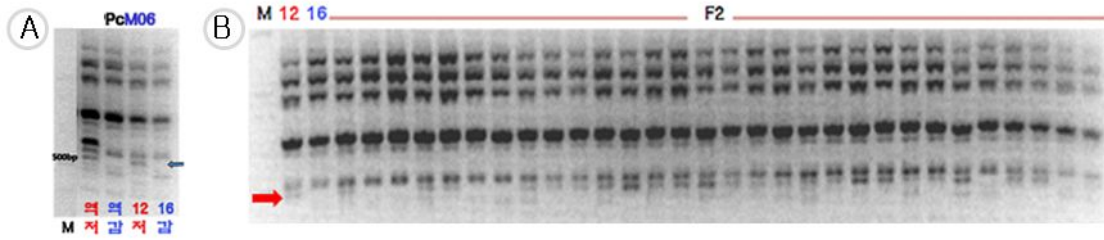


그림 83. 선발된 PcM06 프라이머 (A)와 FPPcPo05 집단 F₂에 대한 개체별 확인(B)

2) QTL 분석 및 마커 개발

가) FPPcPo05의 QTL 분석

- FP12 (CM334)와 FP16 (ECW123R)을 교배한 FPPcPo05 집단의 F₂를 육성하여 DNA를 분리하는 한편 역병 생물검정을 위한 F₃ 종자를 수확하였음
- F₃ 190라인을 라인당 20개체씩 총 3800주를 육성하여 역병 생물검정을 수행하였으며, 양친인 FP12와 FP16간에 다형성을 보이는 SSR 프라이머를 선발하여 F₂ 190개체에 대하여 스크리닝하였음. 또한 RAPD 분석으로부터 개발된 마커 M05SSR2-CAPS, M06, M07-SCAR 마커도 스크리닝하였음
- QTL mapping은 MapDisto 프로그램을 이용하여 map을 작성한 후 WinQTLCart 프로그램을 사용하여 QTL을 분석하였음
- 총 454개의 마커로 16개의 그룹을 작성하였고, QTL 분석은 CIM (Composite Interval Mapping)으로 수행한 결과 FPPcPo05 집단의 linkage group 1, 3, 5, 8, 11에서 8개의 QTL을 분석하였음 (그림 84). QTL 근접마커로 FPssrC0137, FPssrC1076, FPssrN0034, FPssrC0753, FPssrC1543, FPssrW1179, M07-SCAR, FPssrC0546을 선발하였음 (표 20)

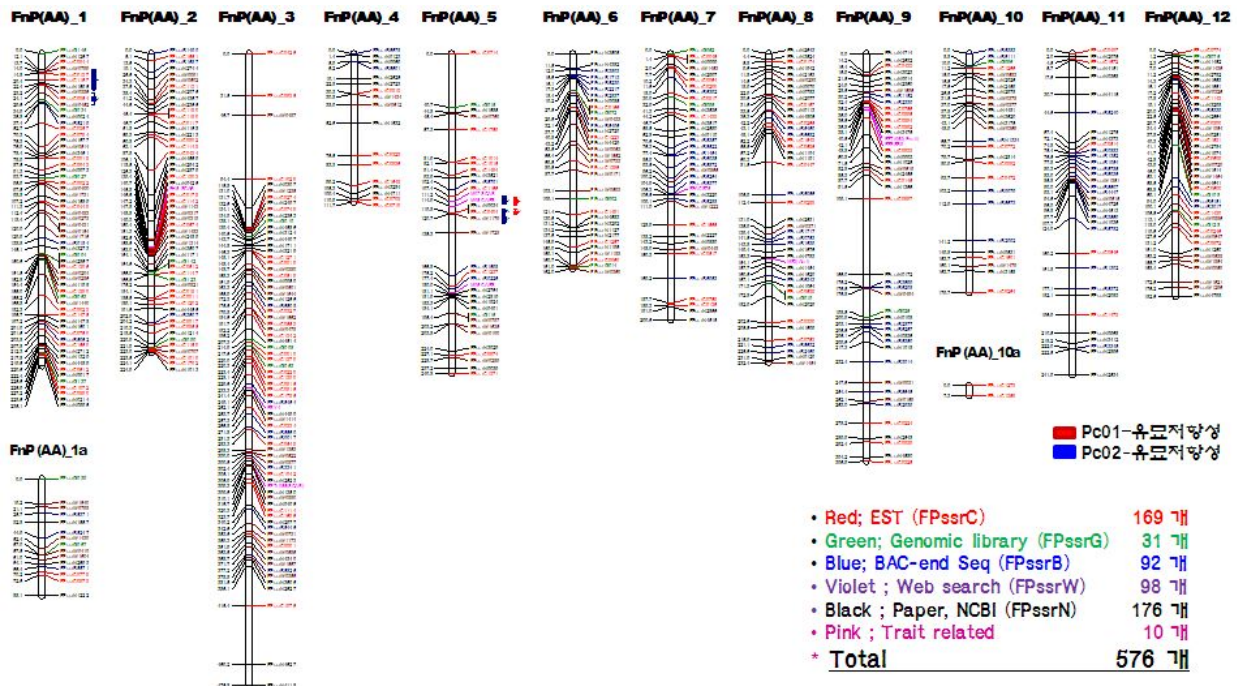


그림 84. The pepper genetic linkage map was constructed with 454 markers comes from diverse sources.

표 20. 454개의 SSR 마커를 사용하여 FPPcPo05 집단에서 QTL을 분석한 결과 총 5개의 LG에서 8개의 QTL이 분석되었음

Trait	LG	QTLs	Position	LOD ^a	Marker ^b	R ² (%) ^c	DR ^d
유묘저항성 (Pc01)	1	Pc01_sseeding-1	16.9	11.37	FPssrC0137	14.78	1.11
	3	Pc01_sseeding-3	385.1	3.08	FPssrC1076	2.55	4.50
	5	Pc01_sseeding-5	131.2	29.76	FPssrN0034	42.84	0.15
	8	Pc01_sseeding-8a	44.7	4.12	FPssrC0753	5.69	1.14
	8	Pc01_sseeding-8b	169.9	3.92	FPssrC1543	3.67	2.73
유묘저항성 (Pc02)	5	Pc02_sseeding-5a	123.8	40.09	FPssrW1179	73.90	0.73
	5	Pc02_sseeding-5b	137.9	39.45	M07-SCAR	81.95	0.40
	11	Pc02_sseeding-11	77.5	3.50	FPssrC0546	0.25	6.31

^a Log of odds ratio

^b Markers flanking the peak log of LOD of the QTL

^c Percentage of phenotypic variation explained by the QTL under consideration; R² of marker linked to the QTL was calculated with multiple regression analysis

^d Dominance ratio; $2Id/aI$, its significance is $DR < 0.2$ (additive), $0.2 < DR < 0.8$ (partially dominant), $0.8 < DR < 1.2$ (dominant), $DR > 1.2$ (overdominant)

나) FPPcPo06의 QTL 분석

- FPPcPo05의 QTL 분석 결과 낮은 수준이라도 저항성 QTL이 분석된 LG은 1, 3, 5, 8, 11 총 5개임. 이를 바탕으로 LOD 값 R² 값을 고려하여 LG1, 3, 5, 8에 존재하는 SSR 마커들을 이용하여 FPPcPo06 (역강부계×AC2258)의 양친에서 다형성 분석을 수행하였음
- 양친에 대하여 총 403개의 SSR 마커를 다형성 분석한 결과 75개의 마커가 선발되었음. 이를 이용하여 FPPcPo06 집단을 다형성 분석하였으며 LG (linkage group)을 작성한 결과 65개의 SSR 마커가 10개의 LG에 등재되었음
- 작성된 LG은 FPPcPo05의 LG에 맞추어 번호를 부여하였으며 상기한 생물검정 결과를 이용하여 QTL 분석을 수행하였음 (그림 85)
- QTL 분석 결과 유묘 및 뿌리썩음 저항성과 연관된 QTL이 LG1 및 5에서 분석되었음. 유묘저항성과 연관된 QTL은 LG5에 위치한 QTL이 LOD 11.32로 가장 높았으며 뿌리썩음과 연관된 QTL 또한 LOD 11.85로 LG5에 위치한 QTL이 가장 높게 분석되었음 (표 21)
- FPPcPo05 집단에서 3년차에 선발한 M05SSR2-CAPS, M07-SCAR, FPssrN0034의 마커를 이용하여 FPPcPo06 집단에 분석한 결과 FPssrN0034는 다형성을 보이지 않았으며 M07-SCAR 보다 M05SSR2-CAPS 마커가 저항성 QTL에 더 근접한 마커로 분석되었음 (표 21)

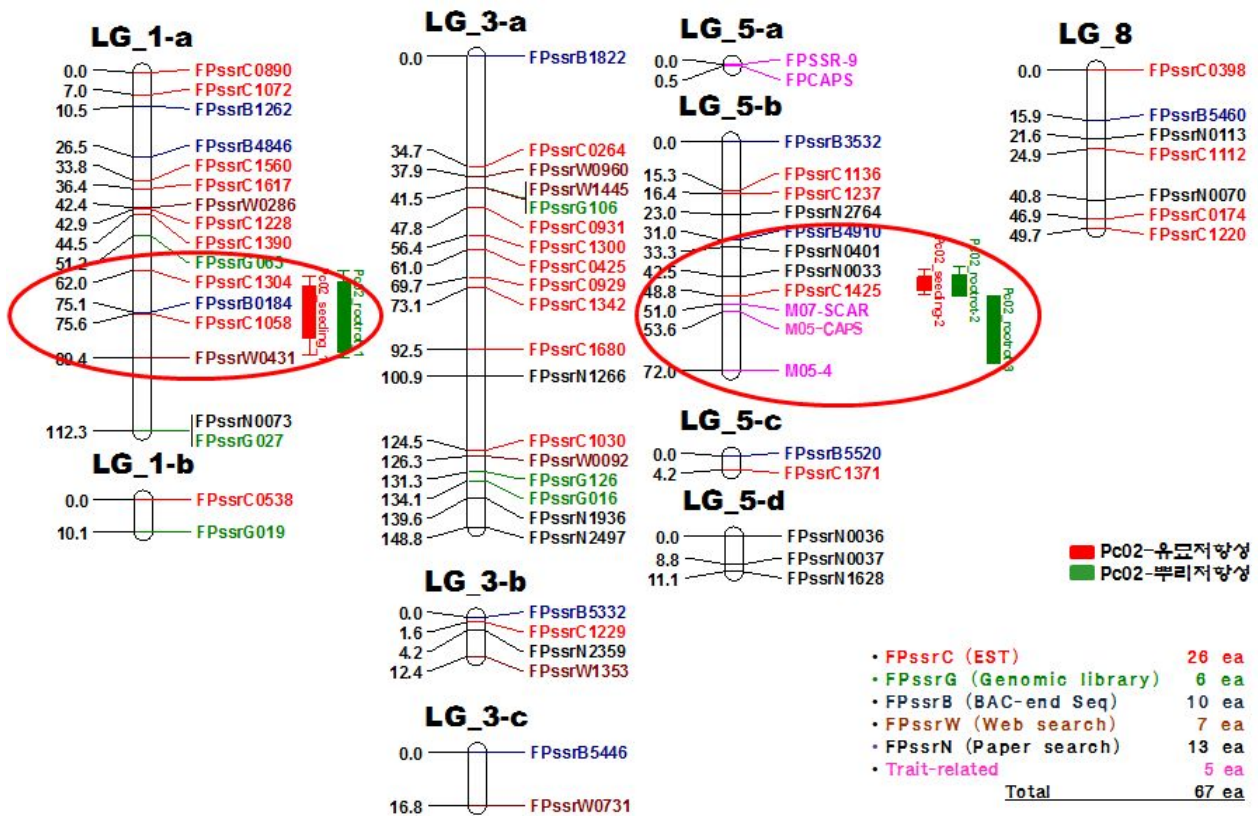


그림 85. The pepper genetic linkage map was constructed with 67 markers comes from diverse sources

표 21. 67개의 SSR 마커를 사용하여 FPPcPo06 집단에서 QTL을 분석한 결과 총 2개의 LG에서 5개의 QTL이 분석되었음

Trait	LG	QTLs	Position	LOD ^a	Marker ^b	R ² (%) ^c	DR ^d
유묘저항성 (Pc02)	1	Pc02_seeding-1	75.7	3.72	FPssrC1058	13.53	0.85
	5	Pc02_seeding-2	44.5	11.32	FPssrN0033	0	0
뿌리썩음 (Pc02)	1	Pc02_root rot-1	74.0	2.80	FPssrB0184	11.05	1.20
	5	Pc02_root rot-2	44.5	11.75	FPssrN0033	59.15	1.12
	5	Pc02_root rot-3	53.0	11.85	M05-CAPS	52.49	1.19

^a Log of odds ratio

^b Markers flanking the peak log of LOD of the QTL

^c Percentage of phenotypic variation explained by the QTL under consideration; R² of marker linked to the QTL was calculated with multiple regression analysis

^d Dominance ratio; 2I_d/aI, it is significance is DR < 0.2 (additive), 0.2 < DR > 0.8 (partially dominant), 0.8 < DR > 1.2 (dominant), DR > 1.2 (overdominant)

다) FPPcPo05 및 06 집단의 QTL 비교 및 저항성 연관 마커 개발

- FPPcPo05와 FPPcPo06의 comparative map을 작성하여 비교 분석한 결과 FPPcPo05에서 저항성 QTL에 근접한 마커는 M07-SCAR와 FPssrN0034이고 FPPcPo06에서는 FPssrN0033과 M05SSR2-CAPS 마커임 (그림 86)
- FPPcPo05와 06의 LG5의 동일한 위치에서 비교적 높은 수준의 QTL이 확인됨
- FPPcPo05 집단에서 선발한 M05SSR2-CAPS, M07-SCAR, FPssrN0034 마커 중 FPssrN0034 마커는 FPPcPo06 집단에서 다형성을 보이지 않음

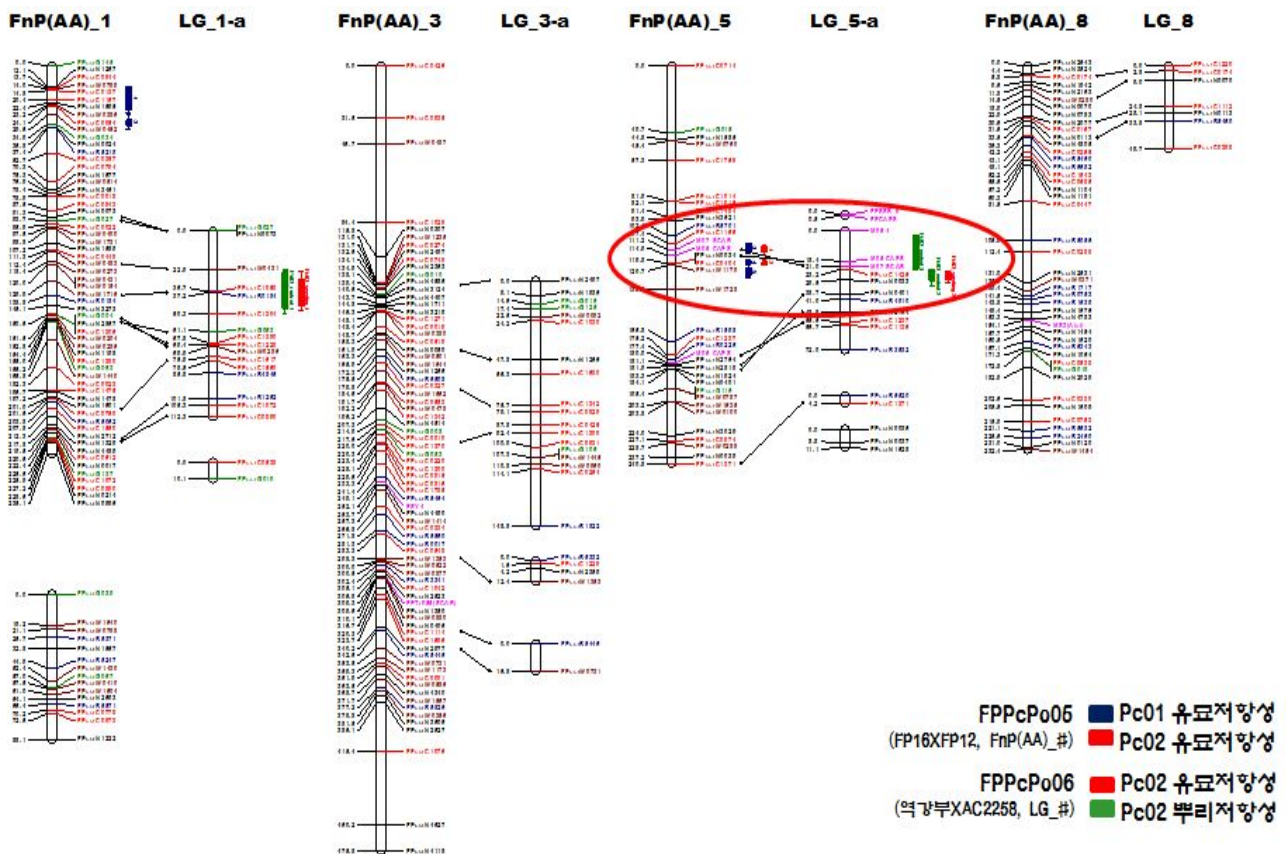


그림 86. The comparative map between FPPcPo05 (left) and FPPcPo06 (right) using molecular genetic linkage maps built in 2011.

3) Comparative map을 이용하여 선발된 BAC 클론으로부터 마커개발

- FPPcPo05 및 FnP(AA) 유전연관지도의 LG5번을 비교하여 분석한 결과 FPPcPo05의 QTL 영역과 유사한 위치에서 FnP(AA) map으로부터 BAC 클론을 선발하였음
- 선발된 BAC 클론 'B3971P2'으로부터 유래한 SSR 프라이머는 FPPcPo05 집단의 QTL 영역에 위치하지만 FnP(AA)에서만 다형성을 보이기 때문에 이를 이용하여 역병저항성 집단의 양친에서 다형성 분석 수행함
- B3971P2 클론을 염기서열 분석하고 임의로 프라이머를 제작하여 FPPcPo05 양친에 대한 다형성을 분석하였음
- FP12와 FP16의 염기서열을 총 9Kb 확장하여 SNP 마커인 'FPTY' 마커를 개발하였음 (그림 88). 또한 SNP 마커의 주변 염기서열을 이용하여 CAPS 마커인 'FPTY-CAPS'로 전환하였음 (그림 89). 그러나 FPTY-CAPS 마커의 경우 AC2258과 일부 이병성친에서 다형성을 보이지 않아 MAS 적용에 한계가 있으며 이에 반해 SNP 마커는 보다 넓은 범위의 유전집단에서 활용가능 하였음

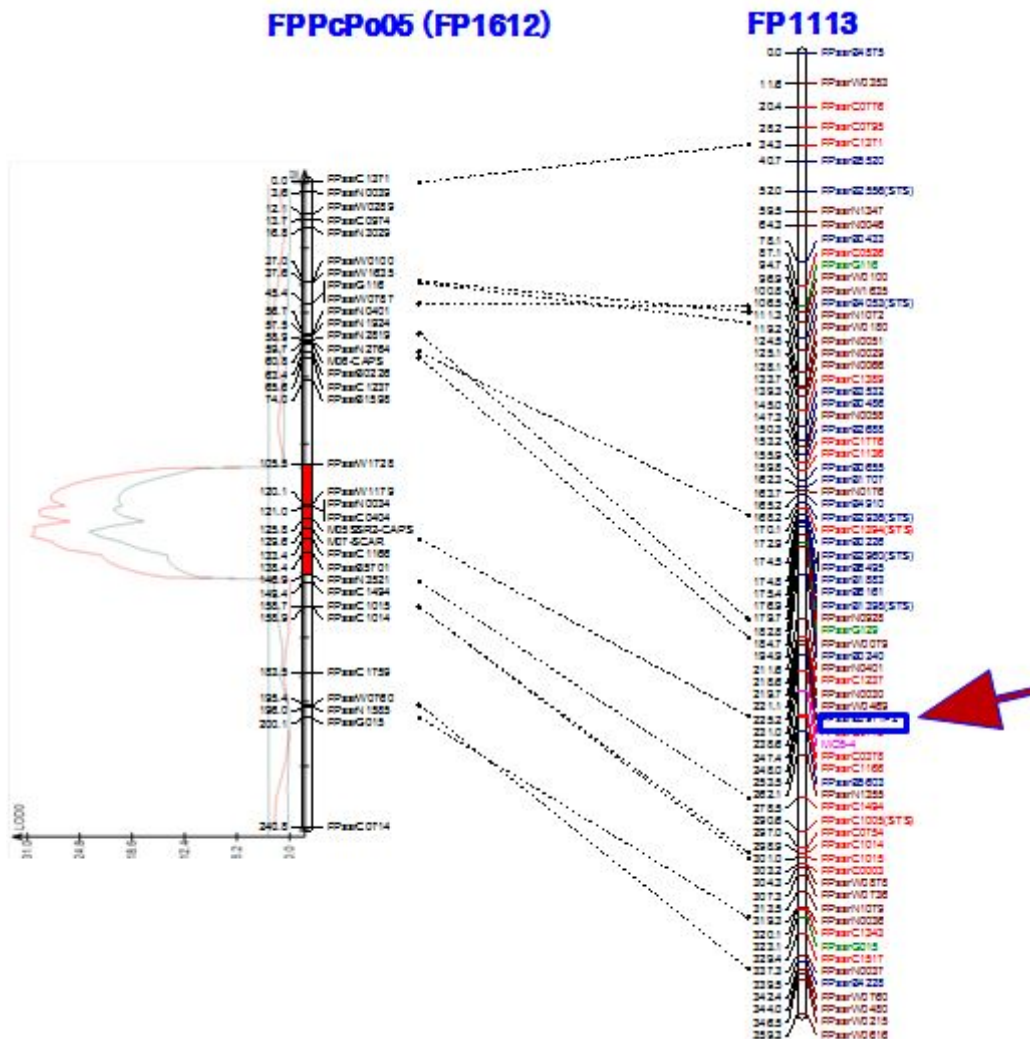


그림 87. FnP(AA)와 FPPcPo05의 comparative map을 활용하여 QTL 영역에서 BAC clone을 선발

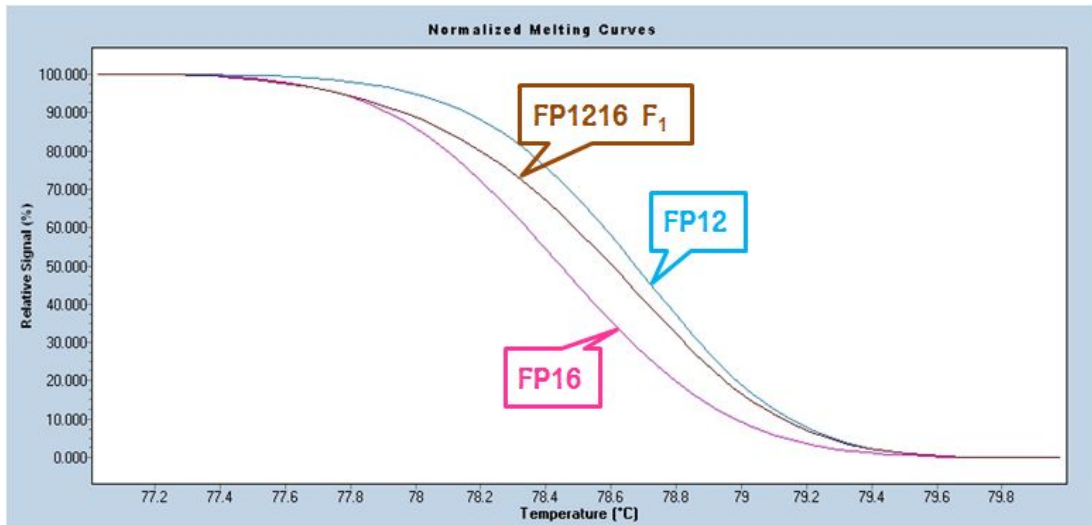


그림 88. BAC Clone 활용하여 개발된 FPTYSNP01 마커

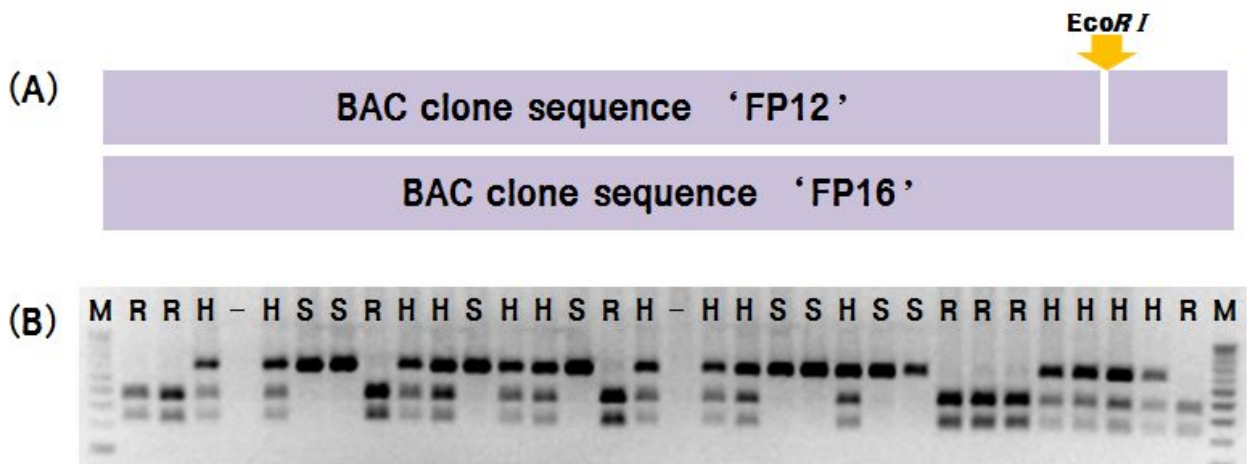


그림 89. BAC Clone 활용하여 개발된 FPTY-CAPS 마커의 모식도 (A)와 분석모습 (B)

다. 역병 저항성 분자마커의 유용성 분석 및 MAS 체계 확립

1) M07-SCAR 마커의 개선

- 연구수행 2년차에 개발된 M07 마커의 경우 QTL 분석에서는 항상 저항성 QTL과 근접하게 위치하는 것으로 분석되지만 실제 블라인드 테스트나 유용성 검증을 위하여 분석해 보면 선발효율이 예상보다 떨어짐
- 육종가에게는 선발효율, 즉 마커분석으로 선발한 개체들에 대하여 실제 병저항성을 보이는 개체의 비율이 95%이상 되어야 마커의 활용이 가능함. 이에 따라 저항성 개체를 모두 선발할 수는 없으나 최소한 마커로 선발한 개체는 꼭! 저항성임을 확신할 수 있도록 마커를 개선하고자 하였음
- 기개발 마커인 M07 마커의 경우 다양한 계통을 이용하여 염기서열을 비교분석한 결과

CM334 유래 저항성만을 판별가능하도록 개선하였음. 기존의 M07-SCAR 마커는 저항성 계통을 포괄적으로 선발하는 한편 일부 이병성 계통을 저항성으로 오인하는 분석결과를 가져오는데 반해 개선된 M07-CAPS 마커는 다양한 저항성 계통을 판별할 수는 없으나 저항성이 가장 강한 CM334 유래 저항성만을 판별가능 하였음 (그림 90)

- 역병저항성 연관 분자마커인 M07-CAPS 마커는 저항성 마커에 의한 이병성 개체의 선발오류는 감소하였으나 AC2258로부터 도입된 저항성인자 선발을 위해서는 추가마커가 요구됨

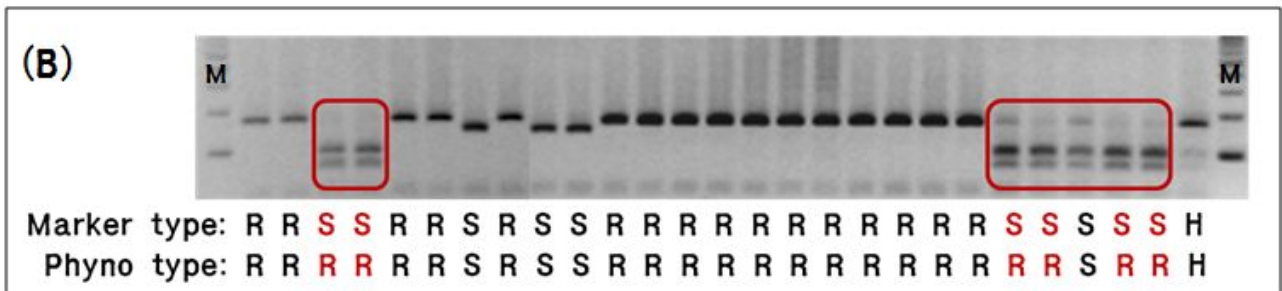
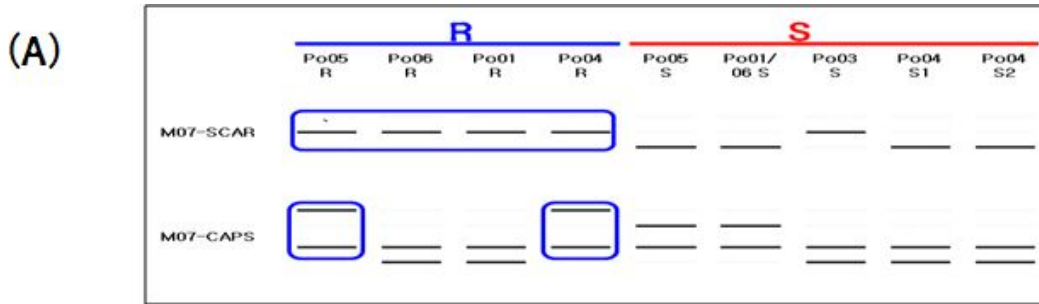


그림 90. M07의 SCAR 및 CAPS 마커에 의한 분석결과 해석 (A)과 분석모습 (B).

M07-SCAR 마커는 FPPcPo01, 04, 05, 06의 다양한 저항성 집단에서 저항성 개체를 선발할 수 있으나 이병성 개체에 대한 선발오류도 포함하고 있음. 이에 반해 M07-CAPS 마커는 CM334 유래 저항성 개체만을 선발가능하며 CM334 저항성 집단에 한해 95% 이상의 선발효율을 보임

2) 역병 MAS 적용을 위한 마커의 최종 선발

- 5년차까지 RAPD와 QTL 분석, BAC 클론을 활용하여 개발된 모든 분자마커를 FPPcPo05 및 06의 유전연관지도상에 등재한 후 가장 높은 수준의 저항성 QTL이 분석된 LG5번에 대하여 QTL 비교분석을 수행하였음 (그림 91)
- 최종적으로 저항성 QTL에 근접하며 육종재료를 이용한 유용성 검정을 통해 FPTY (SNP), FPssrN0033, M07-CAPS 마커를 선발하였음 (표 22)

FnP(AA)-5

LG_5

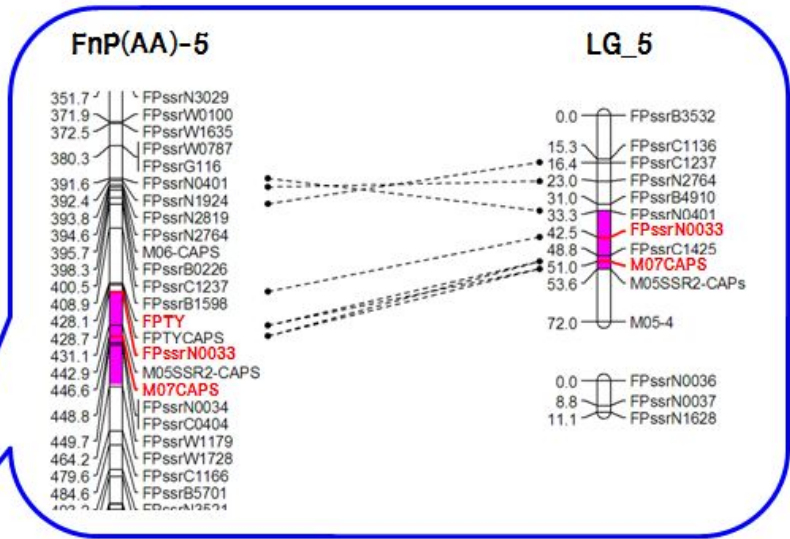


그림 91. FPPcPo05와 06의 유전연관지도에서 최종마커 선발

표 22. FPPcPo05 및 FPPcPo06에서 확인된 QTL들. FPPcPo05 및 06 집단에서 분석된 역병 저항성 QTL 중 가장 높은 R² 값을 가지는 QTL의 근접마커는 각각 FPssrN0033과 M07-CAPS 마커임

Population	Trait	LG	QTLs	Position	LOD ^a	Marker ^b	R2(%) ^c	DR ^d
FPPcPo06 (역강부계 XAC2258)	유묘저항성 (Pc02)	LG5	Pc02_DOR-1	44.5	11.3	FPssrN0033 (1.9 cM)	0	0.00
	뿌리저항성 (Pc02)	LG5	Pc02_RRR-1	44.5	11.8	FPssrN0033 (1.9 cM)	59.1	1.12
			Pc02_RRR-2	53.0	11.9	M07-CAPS (1.9 cM)	52.5	1.19
FPPcPo05 (ECW123R XCM334)	유묘저항성 (Pc01)	FnP(AA)_ 5	Pc01_DOR-1	437.1	17.5	FPssrN0033 (5.6 cM)	32.7	0.31
	유묘저항성 (Pc02)	FnP(AA)_ 5	Pc02_DOR-1	437.1	8.1	FPssrN0033 (5.6 cM)	38.4	0.25
			Pc02_DOR-2	446.6	13.4	M07-CAPS (0 cM)	41.8	0.29
			Pc02_DOR-3	453.7	10.5	FPssrW1179 (3.9 cM)	46.6	0.30

^a Log of odds ratio

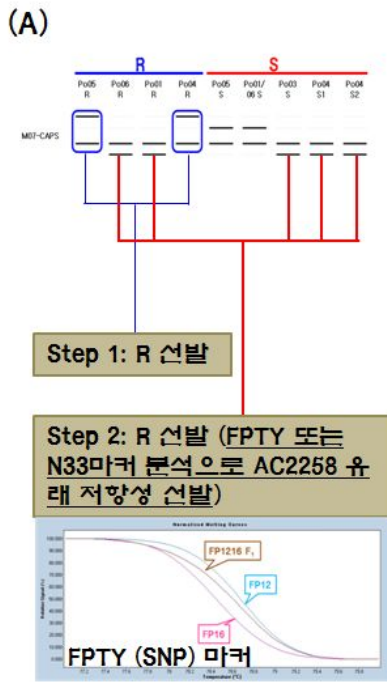
^b Markers flanking the peak log of LOD of the QTL

^c Percentage of phenotypic variation explained by the QTL under consideration; R2 of marker linked to the QTL was calculated with multiple regression analysis

^d Dominance ratio; $2Id/aI$, its significance is $DR < 0.2$ (additive), $0.2 < DR < 0.8$ (partially dominant), $0.8 < DR < 1.2$ (dominant), $DR > 1.2$ (overdominant)

3) MAS 체계 확립 및 유용성 검증

- 전술한 바와 같이 M07-CAPS 마커는 분석가능한 육종재료에 한계가 있음. 따라서 AC2258 유래 저항성 집단에서 분석된 높은 수준의 QTL 근접마커 FPssrN0033과 역병 저항성 육종 재료를 이용한 유용성 분석으로 선발된 FPTY (SNP) 마커를 이용하여 선발효율을 높이고자 하였음
- 1차로 **M07-CAPS 마커로 분석하여 CM334 유래 저항성 개체를 선발** 후 2차로 AC2258 유래 저항성 밴드패턴을 보이는 개체들에 대하여 **FPssrN0033 또는 FPTY (SNP) 마커로 분석하여 AC2258 유래 저항성 개체를 선발**하는 2-step 분석법으로 MAS 체계를 확립함 (그림 92)
- M07-CAPS 마커는 블라인드 테스트를 수행한 결과 95% 이상의 선발효율을 보였으며 CM334로부터 저항성을 도입할 경우 유용한 마커라는 평가를 받음. 추후 폭넓은 테스트로 유용성 검정을 확대할 예정이며 이를 바탕으로 특허출원 계획임
- 추가적으로 AC2258 유래 저항성 개체 선발이 가능하도록 2-step 분석법을 확립하였으며, 분석의 효율성을 높이기 위하여 상기 마커를 모두 SNP 마커로 전환하는 방법을 연구 중임



(B)

No.	시료#	Step1	Step2		표현형	No.	시료#	Step1	Step2		표현형
		M07 CAPS	FPTY	N33				M07 CAPS	FPTY	N33	
1	1	R			생	31	64	R			생
2	2	R			생	32	65	S	R	R	고사
3	3	S	R	R	생	33	66	S	-	S	고사
4	4	S	R	R	생	34	67	S	S	S	고사
5	5	R			생	35	68	R			생
6	6	R			생	36	69	R			생
7	7	S			고사	37	70	R			생
8	8	R			생	38	71	R			생
9	9	S			고사	39	72	R			생
10	10	S			고사	40	73	R			생
11	11	S			고사	41	74	R			생
12	12	S			고사	42	75	R			생
13	13	S			고사	43	76	R			생
14	14	S			고사	44	77	R			생
15	15	S			고사	45	78	R			생
16	16	S			고사	46	79	S	R	R	생
17	17	S			고사	47	80	S	R	R	생
18	51	R			생	48	81	S	S	S	고사
19	52	R			생	49	82	S	S	S	생
20	53	R			생	50	83	S	S	S	생
21	54	S	S	S	고사	51	84	H	H	H	생
22	55	S	S	S	고사	52	85	H	H	H	생
23	56	R			생	53	86	S	R	S	고사
24	57	R			생	54	87	R			생
25	58	R			생	55	88	R			생
26	59	H			생	56	89	R			생
27	60	H			생	57	90	R			생
28	61	R			생	58	91	H			생
29	62	R			생	59	92	S	S	S	고사
30	63	R			생	60	93	H			생

그림 92. 2-step 분석 (A)으로 M07(CAPS)+FPTY(SNP) 또는 M07(CAPS)+N33(SSR) 마커분석을 수행하여 95% 이상의 선발효율을 확인함 (B)

- 연구수행 4년차에 FPPcPo07 (CM334 유래 저항성) F₂ 집단을 M07-SCAR 마커로 분석하여 저항성 개체를 선발하였으며 당대에 생물검정을 수행하여 저항성 개체를 육성하였음
- 분자마커로 선발된 저항성 개체 11주의 후대를 육성하여 라인 당 24주씩 생물검정을 수행하였음. 그 결과 73번과 116번의 경우를 제외하고 100% 저항성을 유지하였음 (그림 93)

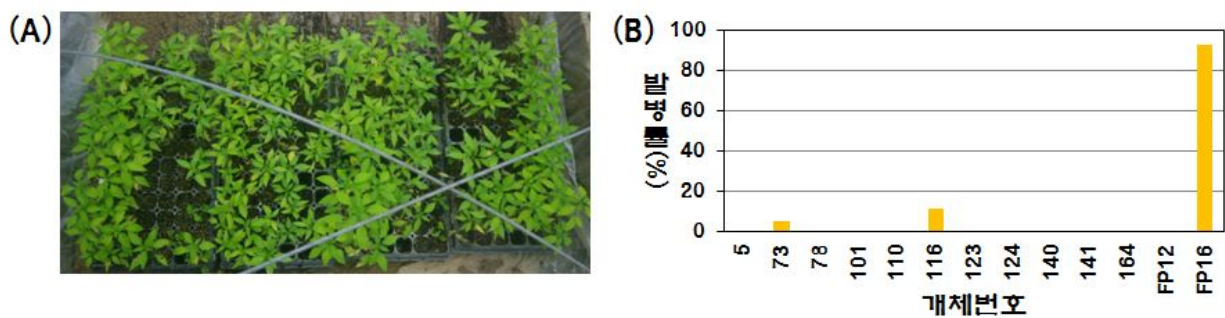


그림 93. FPPcPo07 F₂에서 저항성으로 분석된 개체의 후대 생물검정 수행모습 (A)과 발병율(B)

라. FPPcPo04 집단에서의 CMV 마커 개선

- FPPcPo04 집단은 기존 CMV 저항성에 비해 저항성 정도가 높은 수준임. 따라서 이 집단을 이용하여 신규한 CMV 저항성 분자마커를 개발함으로써 CMV 마커를 개선하고 저항성 유전자 클로닝에 활용할 수 있음

- FPPcPo04 집단은 육종선발 과정중에 마커개발에 활용하기 위하여 확보된 집단으로 역병 및 CMV 바이러스 병검정을 수행하였음
- 병검정 결과를 이용하여 BSA-RAPD를 수행하였으며 후보 프라이머를 선발하여 CAPS 마커로 전환하였음 (그림 94). 또한 전환된 CAPS 마커 CMV-Co1을 FnP(AC) 유전연관지도 상에 등재하여 확인한 결과 기존의 CMV-Co 마커와 약 36cM 떨어져있음을 확인하였음

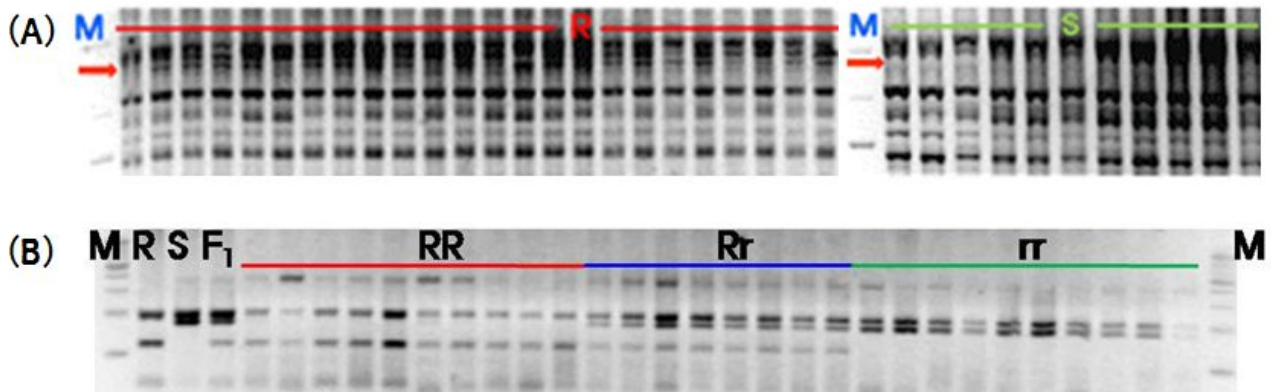


그림 94. FPPcPo04에서 유용성이 높은 CMV 저항성 프라이머 선발 (A) 및 마커 전환 (B)

2. 청고병

가. 신규 FPRs05 균주의 접종방법 확립

- 청고병 생물검정에 사용한 균주는 FPRs05로 이의 접종방법을 확립하기 위하여 시판품종을 대상으로 ‘관주처리’와 ‘상처 후 침지처리’ 방법을 수행하였음
- 사용한 시판품종은 대농종묘로부터 공급받았으며 시판품종 A (저항성), 시판품종 B (중도 저항성), 시판품종 C (이병성)를 사용하였고 본엽 2엽기에 접종하였음
- 접종 방법을 달리하여 병접종을 수행한 결과 ‘관주처리’에서는 병발현이 늦거나 발병하지 않은 반면 ‘상처 후 침지 처리’에서는 시판품종 A (저항성)와 시판품종 C (이병성)의 병 발현이 뚜렷하게 구분되었음 (그림 95)



그림95. 청고병 저항성 (시판품종 A), 중도저항성 (시판품종 B), 이병성 (시판품종 C) 식물체에 대한 접종방법 실험 결과 관주처리에서는 병 발현이 관찰되지 않은 반면 상처 후 침지 처리에서는 시판품종 A는 저항성, 시판품종 C는 이병성으로 구분되었음

- 이후의 청고병 생물검정은 접종농도 OD600=0.8, 상처 후 침지처리 10분 후 가식하였음
- 접종시 식물체 stage는 본엽 2매 전개시 수행하였으며, 접종 1주일 후부터 1주일 간격으로 그림 96과 같은 index로 3차례 조사 수행하였음



그림 96. 고추 청고병 생물검정시 index (index 0: 무발병, 1: ~25%, 2: 25~50%, 3: 50~75%, 4: 75%~)

나. 각 집단별 마커개발 수행 결과

- 청고병 저항성 유전집단은 초기에 두 종자회사의 육성재료 중 내병성 계통을 이용하여 세 개의 F₂ 유전집단 FPchung 1, 2, 3을 분양받았으며 4년차에 두 개의 유전집단 PS14, PS15를 추가분양 받아서 마커개발에 사용하였음 (표 23)

표 23. 청고병 저항성 유전집단 PS12, 13, 14, 15에 대한 각 집단의 유전정보

Population	Origin	유전집단
FPchung1 (PS12)	저항성A 불임 (모) X 이병성 (동남아 MR; 부)	F ₂
FPchung2 (PS13)	저항성A 불임 (모) X 이병성 (약함; 부)	F ₂
FPchung3	CPMMB02	F ₂
PS14	이병 (모) X 저항성A 유사 임성 (부)	F ₂
PS15	이병 (모) X 안정화된 저항성 (부)	F ₂

1) FPchung1

- FPchung1 F₂ 91개체에 대하여 DNA 확보 및 병검정을 수행하였음
- 병검정을 마친 FPchung1의 F₂ 91개체 중 이병성 30개체, 저항성 14개체를 선발하였으며 이를 사용하여 BSA-RAPD로 다형성을 분석하였으나 선발 프라이머 없음
- FPchung1 F₂ 177개체에 대하여 DNA 확보 및 후대 종자를 확보하였으며 (그림 97-A), 개발된 분자마커의 유용성 검정에 활용할 것임

2) FPchung2

- FPchung2 F₂ 93개체에 대하여 DNA 확보 및 병검정을 수행하였음
- 병검정 결과 F₂ 93개체 중 저항성 51개체, 이병성 8개체 선발되었고, 중도저항성인 개체가 다수 존재하였음. 병검정 결과를 이용하여 저항성 및 이병성간 BSA-RAPD와 BSA-RAPD를 수행하였으나 선발 프라이머 없음
- FPchung2 F₂ 190개체에 대하여 DNA 확보 및 후대 종자를 확보하였으며 (그림 97-B) 청고병 분자마커의 개발 후 유용성 검정에 활용할 계획임



그림 97. 청고병 마커개발용 FPchung1, FPchung2 유전집단 포장 (A)과 하우스육성 (B)

3) FPchung3

- FPchung3의 F₃ 46 line에 대하여 line당 12주씩 3반복으로 청고병 생물검정을 수행하였음. 그 결과 반복간 오차가 심한 현상을 확인하였으며 추후 병검정 실험에서는 이러한 점을 보정하기 위하여 대조구를 다양화하고 반복당 개체수를 늘릴 계획임
- FPchung3 F₂ 229 개체에 대하여 DNA 확보 및 병검정을 수행하였음 (그림 98)
- FPchung3 F₂ 병검정 결과 저항성 21 개체, 이병성 112 개체를 선발하였고 이를 이용하여 BSA-RAPD를 수행하였으며 4개의 저항성 특이밴드 증폭 프라이머를 선발하였음 (그림 99)
- 선발된 프라이머를 병검정을 마친 개체에 대하여 분석하였으나 병리검정 결과와 일치하지 않았음
- FPchung3 집단의 경우 저항성 개체에 비해 이병성 개체의 비율이 상당히 높았으며 중도저항성인 개체가 상당수 존재하였음. BSA-RAPD에 의한 분자마커 개발에 한계가 있으며 SSR을 이용한 QTL 분석을 수행하기로 함



그림 98. F₂인 FPchung3 유전집단 생물검정 수행

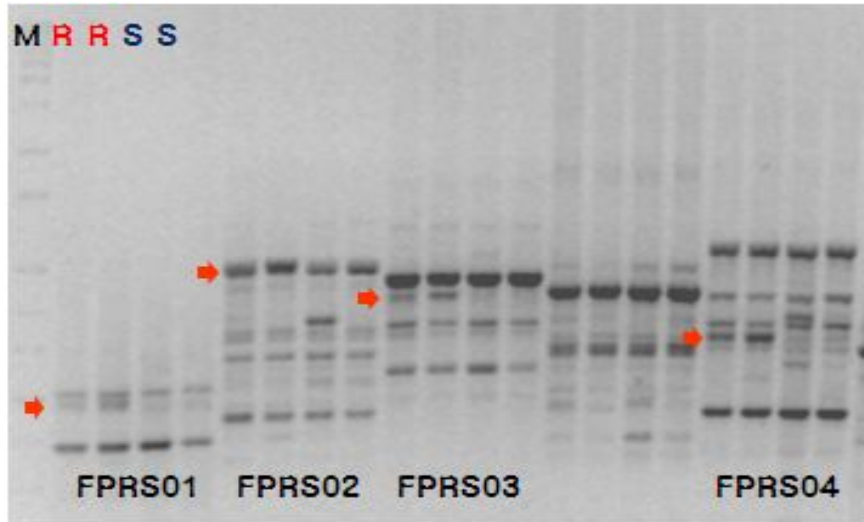


그림 99. FPchung3 집단에서 저항성 특이밴드 증폭 프라이머 4개 (FPRS01, 02, 03, 04)를 선발

4) PS12, 13, 14, 15 집단의 병검정

- 상기한 방법으로 동일하게 PS12, PS13, PS14, PS15에 대한 생물검정을 수행하였으며 각 집단에 대한 정보는 표 24와 같음
- 생물검정 결과 index 지수 '0, 1'을 저항성, '4'를 이병성으로 분류하였으며 각 집단에 대한 생물검정 결과는 표 4와 같음
- PS12 F₂ 생물검정 결과 총 177주에 대하여 수행하였으며 1차 조사시 저항성 11%, 이병성 6%, 2차 조사시 저항성 5%, 이병성 45%, 3차 조사시 저항성 4% 이병성 85%을 나타내었음
- PS13 F₂ 생물검정 결과 총 181주에 대하여 수행하였으며 1차 조사시 저항성 87%, 이병성 1%, 2차 조사시 저항성 41%, 이병성 30%, 3차 조사시 저항성 25% 이병성 64%을 나타내었음
- PS14 F₂ 생물검정 결과 총 158주에 대하여 수행하였으며 1차 조사, 2차 조사시 동일하게 저항성 88%, 이병성 0%, 3차 조사시 저항성 31% 이병성 49%을 나타내었음
- PS15 F₂ 총 186주에 대하여 생물검정을 수행하였으며 1차 조사시 저항성 89%, 이병성 0%, 2차 조사시 저항성 36%, 이병성 37%, 3차 조사시 저항성 16% 이병성 66%을 나타내었음

표 24.. 집단별 조사시기에 따른 저항성정도

집단	1차 조사		2차 조사		3차 조사		생물검정 수행 (주)
	R	S	R	S	R	S	
PS12	11%	6%	5%	45%	4%	85%	177
PS13	87%	1%	41%	30%	25%	64%	181
PS14	88%	0%	88%	0%	31%	49%	158
PS15	89%	0%	36%	37%	16%	66%	186

- PS15 F₃ 총 179라인에 대하여 생물검정을 수행하였음. 라인 당 16주씩 총 3반복 수행하였으며, 본엽 2매 출현시 접종농도 OD₆₀₀=0.8, 상처 후 침지처리 10분으로 접종하였음 (그림 100). 생물검정이 끝난 결과는 QTL 분석에 활용하였음

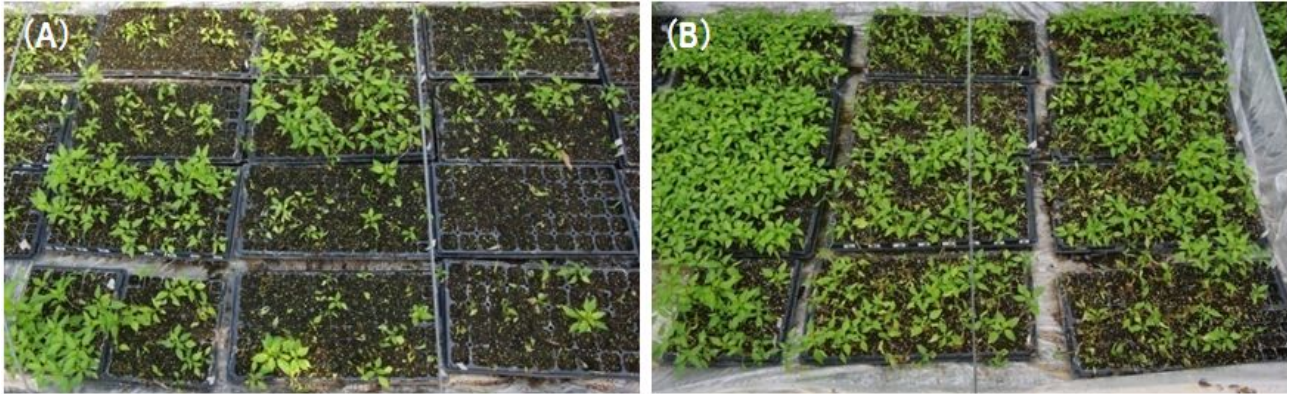


그림 100. PS15 F₃ 생물검정 1차 (A, 접종 21일 후)와 2차 (B, 접종 21일 후)의 모습

5) 다형성 분석 및 QTL 분석을 위한 유전연관지도 작성

- 상기한 집단들의 병검정 결과를 이용하여 BSA-RAPD를 수행하였으나 후보 프라이머를 선발하지 못함. 또한 병검정 결과 이미 알려진 바와 같이 청고병 저항성은 QTL로 존재하기 때문에 QTL 분석을 수행하고자 함
- 병검정결과를 확보한 저항성 집단 중에서 임성 및 청고병 저항성이 안정화되어있는 PS15집단을 사용하여 *C. annuum* 사이에서 다형성을 보이는 405개의 프라이머를 선발하여 1차로 양친에 대한 다형성 분석을 수행하였음
- 1차 분석에서 다형성을 보인 168개 SSR 마커를 이용하여 PS15 F₂ 분석을 수행하였으며 linkage group을 작성한 결과 총 18개의 LG이 작성되었음 (그림 101). FnP(AC) 유전연관지도의 LG 번호를 참고로 각 LG의 번호를 부여하였음
- PS15 집단의 청고병 저항성 QTL 분석을 수행한 결과 LG6번에서 1개의 청고병 저항성 QTL (Rs-R)이 분석되었으며 (표 25), 근접마커로 FPssrN3505 마커가 선발되었음

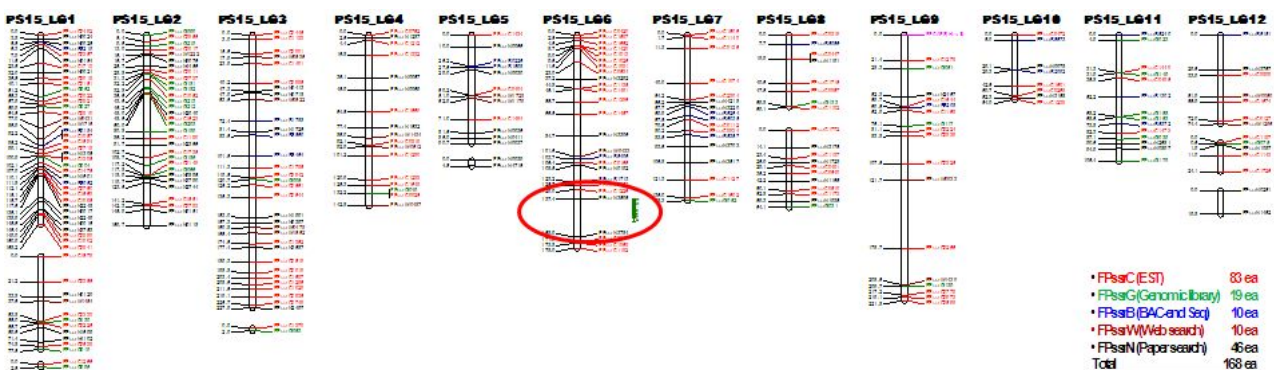


그림 101. 168개의 SSR 마커가 집적된 청고병 PS15 집단의 유전연관지도 작성

표 25. PS15의 QTL 분석표

Trait	LG	QTLs	Position	LOD ^a	Marker ^b	R ² (%) ^c	DR ^d
1 repeat	LG_6	Rs-R	145.4	4.3	FPssrN3505 (7.4 cM)	17.6	2.23

^a Log of odds ratio

^b Markers flanking the peak log of LOD of the QTL

^c Percentage of phenotypic variation explained by the QTL under consideration; R² of marker linked to the QTL was calculated with multiple regression analysis

^d Dominance ratio; 2Id/aI, it is significance is DR < 0.2 (additive), 0.2 < DR < 0.8 (partially dominant), 0.8 < DR < 1.2 (dominant), DR > 1.2 (overdominant)

6) 청고병 저항성 QTL 연관 분자마커 개발

- PS15 집단에서 저항성 QTL 근접마커로 선발된 FPssrN3505 마커를 이용하여 선발효율을 분석한 결과 저항성 연관마커가 호모, 헤테로 상태로 분석된 개체의 87%가 생물검정으로 중도저항성 이상의 저항성 수준을 보유한 것으로 확인됨 (그림 102)
- 선발된 QTL 근접마커 FPssrN3505를 CAPS 마커로 전환하기 위하여 염기서열을 분석하였으나 다형성을 보이는 제한효소가 없었음. 염기서열의 확장을 위하여 iPCR 수행중임
- 선발된 FPssrN3505 마커에 대하여 병검정과 마커분석을 동시 실시하여 크로스체크하기 위해서 타집단의 식물체를 육성중임
- 또한 기존 균주외의 다른 청고병 균주를 확보하였으며 청고병 저항성과 상관관계가 높은 QTL 마커를 추가 개발하기 위하여 PS15 집단에 병검정을 수행중임

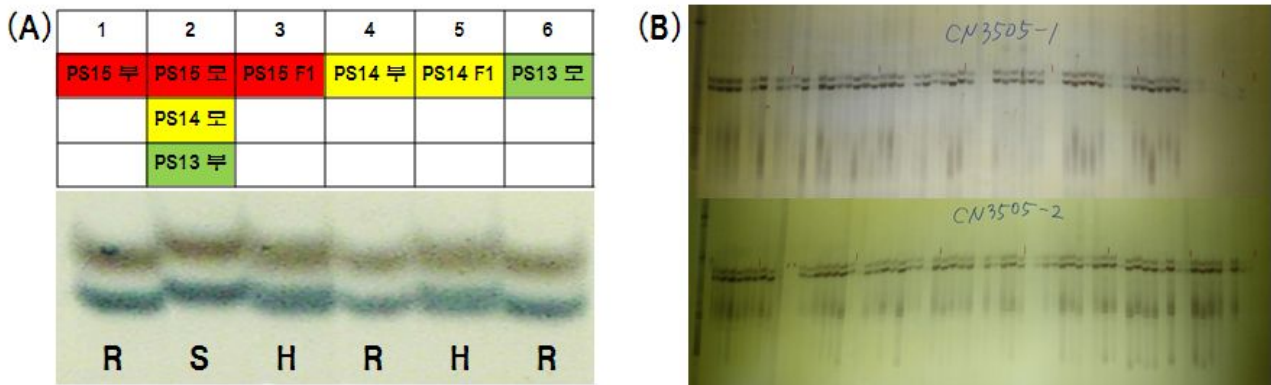


그림 102. 청고병 저항성 QTL 근접마커인 FPssrN3505에 대한 청고병 관련 집단 양친의 다형성 분석 (A)과 PS15 F₂의 분석 모습 (B)

3. 흰가루병 저항성 계통 육성 및 마커 개발

가. 흰가루병 저항성 계통 선발

- 흰가루병에 대한 저항성 계통을 선발하기 위한 접종방법은 이병잎을 갈아서 필터링한 후, 현탁액을 스프레이 하거나 이병잎의 뒷면에 있는 포자를 증류수를 이용하여 수거한 후 이 현탁액을 스프레이하여 접종하는 방법을 수행하였음
- 흰가루병 저항성을 보이는 하나의 계통을 선발하여 FPPM1이라 명명하였으며 흰가루병 저항성 분자마커 개발을 위한 유전집단 육성을 위하여 확실한 이병성 계통인 FPPM2를 선발하여 교배조합을 작성하였음 (그림 103, 104)
- 교배조합의 특성은 초장은 중장형이며 연록색의 과색, 16~18cm의 과장으로 신미가 강함 (표 26)



그림 103. 흰가루병 저항성 계통의 선발

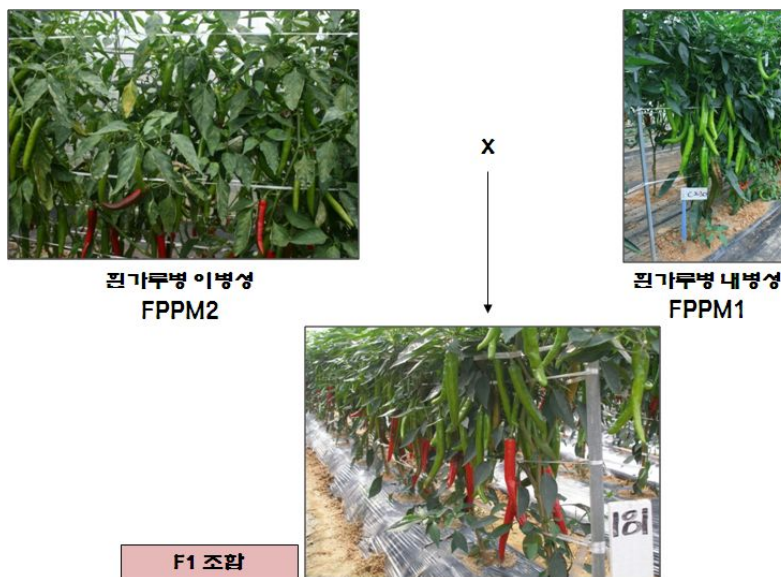


그림 104. 흰가루병 저항성 유전집단 작성을 위한 교배조합 모식도

표 26. 흰가루병 저항성 유전집단 작성용 계통 및 교배조합의 특성

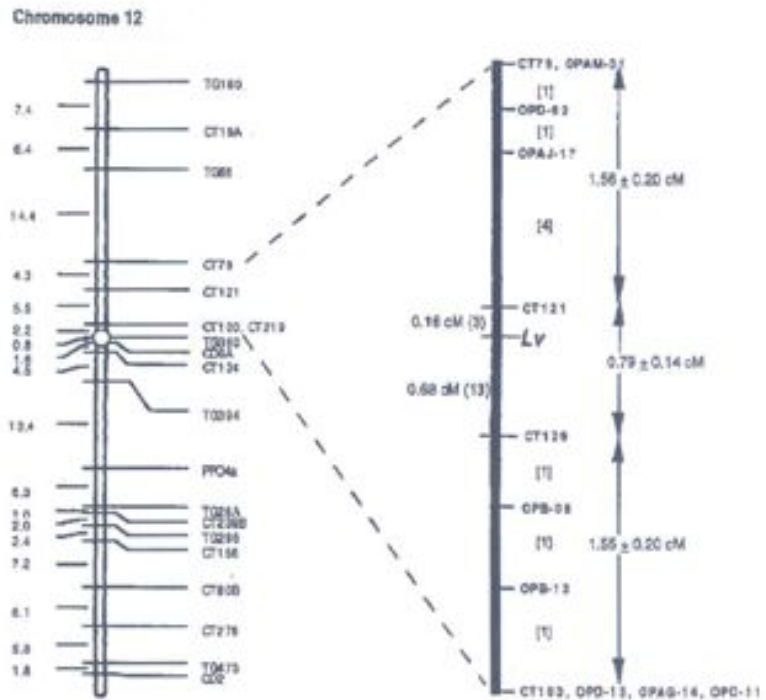
계통명	계통 특성
FPPM1	흰가루병 내병성, 중국 양각초 형 초장이 크며 착과력 우수, 과장 18cm
FPPM2	흰가루병 이병성, 국내용 건고추 절간이 길고, 과색은 연록, 과장 16cm, 신미 강
F1 조합	초장은 중장, 과색 연록, 신미 강, 과장 16 ~18cm

나. 흰가루병 저항성 마커 개발

- 토마토에서 흰가루병 저항성 분석으로 보고된 마커들을 탐색한 결과 *Lu* gene과 *OI* gene에 위치하는 QTL 마커들을 확인하였음 (그림 105)
- 확보된 마커들을 이용하여 고추의 저항성 및 이병성 개체간의 다형성 여부를 분석하기 위하여 PCR 증폭하였음
- *Lu* gene 근접마커 3, *OI* gene 근접마커 9개, 총 12개 마커를 PCR 증폭하여 분석한 결과 *OI* gene 근접마커 중 2, 5, 6, 7번의 4개 마커에서는 PCR 반응이 잘 일어나지 않았으며 4, 9번 마커와 *Lu* gene 근접마커 3개는 다형성을 확인할 수 없었음. 1번 및 8번 마커는 이병성 개체에서 밴드가 증폭되었고 3번 마커는 염기서열 분석결과 다형성이 확인되었으나 다양한 이병성 계통에서 스크리닝한 결과 저항성으로 분석되는 확률이 높았기 때문에 마커개발에서 제외하였음 (그림 106)
- 육종회사로부터 다양한 저항성 계통과 이병성 계통의 잎을 분양받아 토마토 흰가루병 저항성 QTL에 근접한 RAPD 프라이머를 이용하여 RAPD를 수행하였음. 그 결과 1개의 프라이머를 선발하였으며 마커로 전환하기 위하여 염기서열 분석 후 프라이머를 새로 작성하였음. 신규 제작한 프라이머를 이용하여 PCR 증폭 후 염기서열을 분석하였으나 다형성이 없었기 때문에 마커로 전환하지 못함 (그림 107)

(A)

Fig. 1 Left: molecular map of chromosome 12 based on Tanksley et al. (1992). The open circle shows the approximate position of the centromer based on Grandillo and Tanksley (1996). Right: enlargement of the interval CT79-CT100 containing the *Lv* gene. Centimorgan distances on the right are derived from the analysis of 1905 F₂ plants. Distances on left are derived from the disease screening of a subset of 72 individuals determined to be recombinant between CT79 and CT100. Numbers in parentheses are the numbers of individuals showing recombination in the corresponding interval. The order of RAPD markers (right side) was determined by the analysis of 16 selected individuals with crossovers in the CT79-CT100 interval. The numbers in brackets are the numbers of individuals recombinant in each corresponding interval



(B)

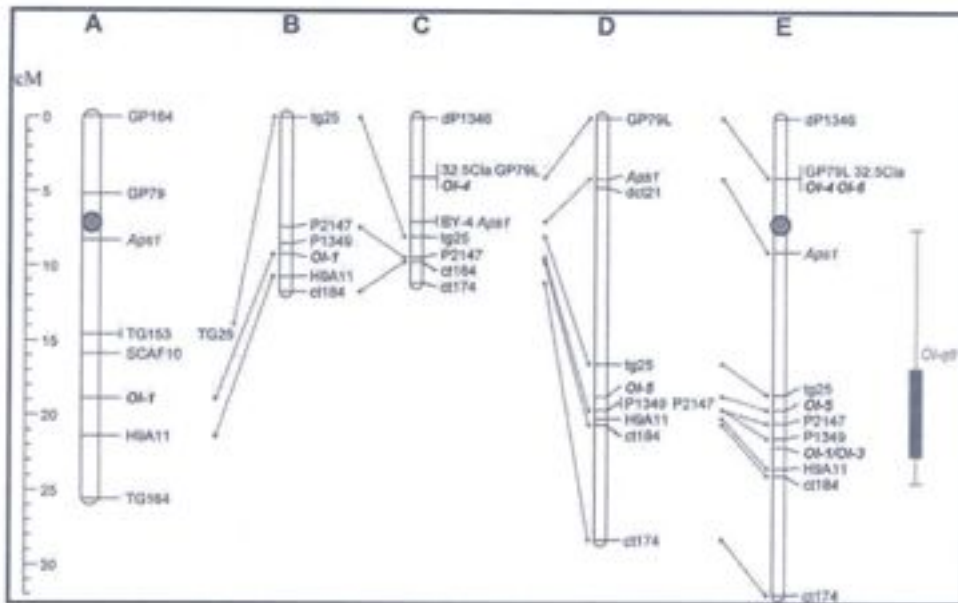


Fig. 1. Genetic maps for part of chromosome 6 showing map positions of *Ol* genes based on different populations. **A**, Skeleton map showing map positions of *Ol-1* relative to restriction fragment length polymorphism markers and a polymerase chain reaction (PCR) marker (SCAF10) surveyed by Huang and associates (2000a). **B**, *Ol-1* fine-mapping position, using a BC₂S₁ population of *Lycopersicon esculentum* cv. Money-maker (MM) × ABL-*Ol-1*. Based on the data set of the recombinant screening, relative orders for marker loci are indicated on this map rather than absolute map distances. **C**, Genetic linkage map showing map position of *Ol-4* based on a BC₂S₁ population derived from a cross of MM × *L. peruvianum* LA2172. **D**, Genetic linkage map showing the map position of *Ol-5* based on a BC₂S₁ population derived from a cross of MM × ABL-. **E**, Skeleton map for tomato chromosome 6 showing relative positions of the mapped *Ol* genes and *Ol-qt1* (Bai et al. 2003). The map position of centromer is indicated between markers GP79L and Apr1, according to Figure 1A (Huang et al. 2000a). Bars indicate the quantitative trait loci (QTL) intervals for which the inner gray bar shows a 1-LOD (log of the likelihood) support interval; the outer bar (dotted line) shows a two-LOD support interval. Simple PCR markers are used for B through E.

그림 105. 토마토의 흰가루병 저항성 연관 gene으로 보고된 *Lv* gene (A)과 *Ol* gene (B)의 근접마커들

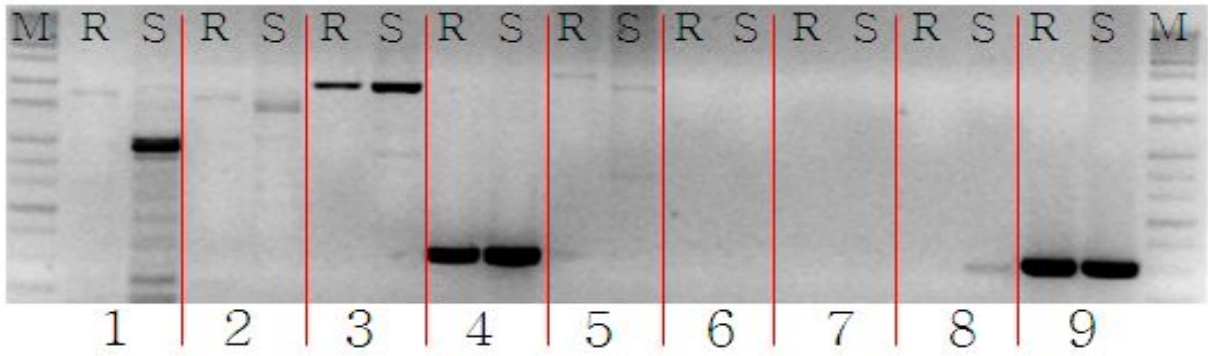


그림 106. 토마토 저항성 연관 QTL 근접마커 9개를 이용하여 고추에서의 PCR 반응 수행 결과 1, 3, 4, 8, 9번 프라이머에서 증폭밴드를 확인하였으며 2, 5, 6, 7, 8번 프라이머는 반응이 잘 일어나지 않았음

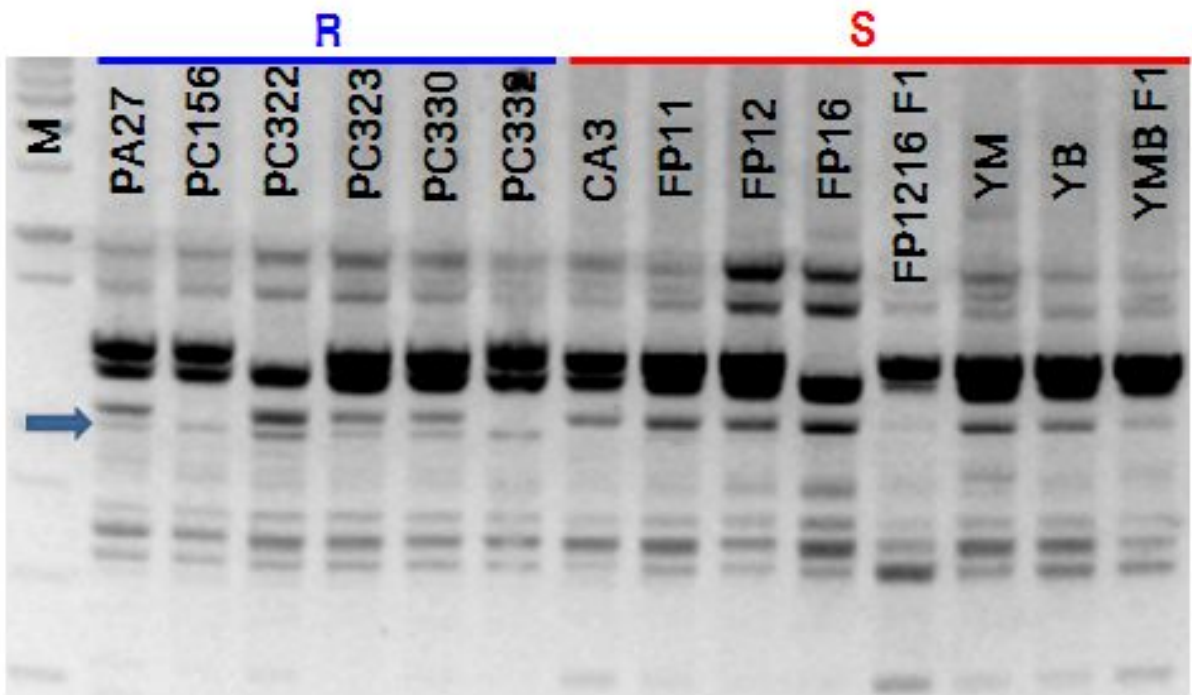


그림 107. 육종회사로부터 분양받은 저항성 개체와 이병성 개체의 DNA를 이용하여 RAPD 수행한 결과 1개의 프라이머를 선발

4. 회복인자 연관 분자마커 개발

가. 회복인자 관련 유전집단 육성

- 회복친 관련 분자마커를 개발하기 위하여 기존에 개발된 회복인자 연관마커의 유용성이 낮은 세 개의 유전집단을 육성하여 각각 fprf101, 102, 103으로 명명한 후 후대를 육성하였음
- fprf101의 분리후대 172주, fprf102의 분리후대 169주 fprf103의 분리후대 172주를 육성(그림 108)한 후 각각의 DNA를 분리하였으며, 집단별로 각각 135주, 126주, 125주의 후대 종자를 수확하였음



그림 108. 회복친 관련 F1 (상) 및 분리후대 F2 (하)의 식물체 모습

나. 회복인자 관련 유전집단의 임성조사 및 후대 임성조사

- fprf101, 102, 103 집단의 F₂를 육성하여 임성조사를 수행하였음
- F₂ 임성조사의 조사항목으로는 화분의 유무, 과실의 유무, 과실 속 종자의 유무를 조사함으로써 조사대상에서 임성을 보인 개체 중 환경적 요인에 의해 교배가 이루어진 경우를 최대한 배제하고자 하였음
- F₂ 집단의 임성조사 결과 세 집단 모두 임성 : 불임이 3 : 1의 비율을 나타내었고 그 결과는 표 27과 같음

표 27. 회복인자 관련 유전집단의 F₂ 임성조사 결과

집단명	개체수	임성 (%)	불임 (%)
fprf101	162	77.8	22.2
fprf102	160	75	25
fprf103	162	73.5	26.5

- F₂에서 임성을 나타낸 개체의 유전자형을 확인하기 위하여 후대 임성조사를 실시하였음. 후대 임성조사를 위하여 fprf101 126 라인, fprf102 139 라인, fprf103 120 라인 총 385라인의 후대를 각 라인당 20주씩 총 7,700주를 육성하였음 (그림 109)
- 임성조사를 위하여 화분을 관찰한 결과 꽃가루가 터진 상태와 그렇지 않은 상태, 한 주에서 일부의 꽃만 꽃가루가 터져 불완전 회복을 보이는 상태, 한 꽃에서 일부만 꽃가루가 터진 상태 등의 기형주를 관찰하였음 (그림 110, 111)
- 또한 열매를 맺은 경우에도 착과율에 차이가 있으며, 과실 안에 종자가 맺힌 경우와 그렇지 않은 경우가 관찰됨 (그림 112), 따라서 좀 더 세분화된 조사항목이 요구됨
- 후대 임성조사의 조사항목은 회복정도를 4단계로, 착과정도를 5단계로 나누어 조사하였음 (그림 113). 회복정도는 꽃가루 유무 조사로 모든 꽃에 꽃가루가 있을 경우 'A', 일부만이 있을 경우 'B', 모든 꽃에 없을 경우 'C', 성장은 하였으나 꽃이 피지 않은 'D'의 4단계로 나누었고, 착과정도는 과실의 수 및 종자의 유무를 조사하여 과실이 많이 달리고 종자가 있는 경우 '1', 많이 달렸으나 종자가 없는 경우 '2', 드문드문 달리고 종자가 있는 경우 '3', 드문드문 달리고 종자가 없는 경우 '4', 과실이 달리지 않은 경우 '5'의 5단계로 나누었음. 그 외 성장이 불량하고 꽃과 과실 모두 맺히지 않은 경우를 'F', 발아하지 않은 경우 'X'로 표기하였음



그림 109. 회복인자 관련 유전집단의 후대 임성조사를 위한 F₃ 육성

회복



불임



rf101

rf102

rf103

그림 110. 각 유전집단의 화분상태에 의한 회복 및 불임의 유형



그림 111. 회복된 꽃과 그렇지 않은 꽃이 한 주에 있는 경우 (왼쪽)와 꽃가루가 일부만 터진 경우 (오른쪽)는 불완전회복으로 조사



그림 112. 각 유전집단의 불임 회복 과실과 석과 비교

조사 일람표

정비	완전 회복 (모든 꽃에 꽃가루 있음)		A
	불완전 회복 (꽃가루가 있는 꽃과 없는 꽃이 섞여있음)		B
	회복 안됨 (모든 꽃에 꽃가루가 없음)		C
	꽃이 안 핀 (성장은 되었으나 꽃과 과실이 없음)		D
과실	많이 달림	종자 있음	1
		종자 없음	2
	드문드문 달림	종자 있음	3
		종자 없음	4
	없음		5
성장 상태가 안 좋음		같이 따주던 것들과 비교했을 때 생장이 불량, 꽃도 없고 열매도 맺이지 않음. (Fall)	F
삭이 나오지 않음			X

조사 결과 예

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	F2 Genotype	
X	D	A3	D	D	A3	A3	X	A3	A3	F	X	A3	F	X	A3	F	X	A3	D	R/R	
A5	A3	A5	3	A5	3	A5	A5	3	A5	A5	X	A5	A5	X	A5	A5	X	A5	D	R/R	
3	A5	A3	D	D	D	A3	D	3	3	D	D	D	X	D	3	3	A1	D	A3	R/R	
A5	A5	A1	A5	D	3	3	D	D	D	X	D	A5	D	D	D	D	A3	D	A3	R/R	
A5	A3	A3	A5	A5	X	X	3	A5	A5	D	A3	A3	A3	A3	A3	A5	A5	A5	A5	R/R	
F	D	3	3	A3	A5	F	D	3	D	A3	3	A5	A5	A5	D	A3	D	A3	A5	R/R	
A5	A5	A3	X	3	A3	A3	A5	3	A5	A5	D	A3	A5	D	1	B1	B3	3	A5	R/R	
A5	A5	A5	3	A5	A5	A3	A3	A5	3	A5	A5	A3	A3	A5	3	A5	A5	A5	A5	R/R	
A5	D	D	A1	A1	A3	A1	A3	3	A5	A5	F	A1	A3	A5	F	F	A1	3	A5	R/R	
3	3	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	F	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A3	R/R	
3	3	A5	A3	A5	1	A5	3	1	A5	1	A5	A5	B1	1	3	3	A5	3	B3	R/R	
A5	A1	X	A5	A5	D	D	3	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	R/R	
A5	D	1	A3	1	D	3	A5	D	D	3	A3	3	A5	3	3	A5	A5	A5	A5	R/R	
1	B3	D	D	B3	D	D	B3	D	B5	A5	3	D	A5	F	A5	D	B5	D	B5	R/R	
A5	3	A1	A5	A1	A1	D	F	B5	F	A5	A1	B3	A3	A5	3	3	3	3	A5	R/R	
A5	A3	A5	A5	X	B3	A5	A5	A5	3	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	R/R	
3	A5	A3	A5	A5	A5	A5	3	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	R/R	
A5	A3	A5	3	A5	3	A5	A5	3	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	R/R	
X	3	B3	A5	A5	A5	A5	A5	F	3	3	1	3	A3	A3	A5	A5	A5	A5	A5	R/R	
3	B3	F	B3	B3	3	A5	D	3	3	F	A3	F	3	A3	A3	A3	3	A5	X	R/R	
A1	A1	B1	A5	3	A5	B3	A5	1	3	A5	3	1	A5	A5	1	A5	A5	1	A5	X	R/R
X	A5	D	D	X	A5	A5	A5	A5	D	A5	A3	3	A3	A3	B3	A5	1	A5	A5	R/R	
A3	3	A5	A5	3	3	A5	3	A5	3	A5	3	A3	3	A3	3	A5	A5	3	A5	R/R	
D	A5	D	D	1	X	A5	1	A5	3	B3	3	3	B3	3	A5	A3	3	A5	A3	R/R	
1	1	3	A5	3	3	3	A5	X	X	D	D	B5	A5	A5	B5	B5	B5	B5	B5	R/R	
B1	3	A3	A1	A5	A1	A3	3	A3	3	A1	3	A5	A1	3	A5	A1	A3	A3	A3	R/R	
3	3	3	A3	A5	A5	A5	3	A1	3	3	3	A5	A3	3	A3	3	1	A5	A5	R/R	
1	X	D	B5	A5	D	A5	X	A3	D	D	A5	A5	A3	3	F	X	D	A3	A3	R/R	
B1	A1	B3	A3	3	A5	A5	A5	A3	A5	A3	A5	A3	3	B3	A5	A5	3	B5	A5	R/R	
3	A5	A3	A1	A5	A5	A5	A1	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A1	3	3	A5	A1	A5	R/R	
A5	A5	3	A3	A5	A5	A5	A3	D	3	D	3	X	D	D	D	X	X	F	X	R/R	
A1	F	A3	A3	F	X	3	A5	A3	D	D	B5	B5	D	D	D	D	B5	A3	X	R/R	
A3	B3	3	A5	3	A5	3	A5	3	A5	A5	A5	A5	A5	3	A5	A5	B5	3	A5	R/R	
A5	F	A5	A5	A5	B5	A5	B3	A5	A5	A5	A5	X	A3	B3	A5	A5	A5	A5	B1	R/R	
D	D	A1	D	3	F	3	A3	A1	D	D	F	D	F	D	F	A5	3	A3	F	R/R	
3	B3	X	A3	A5	A5	B3	B3	A5	1	A5	A5	B5	B5	F	A5	A5	3	A5	A3	R/R	
A5	A5	3	A5	A5	3	A5	A5	A1	A3	A5	X	3	B5	3	F	3	A5	3	A5	R/R	
A3	3	A1	D	D	3	A5	D	A1	D	3	D	D	D	3	D	3	A5	A1	A3	R/R	
A3	1	A3	A1	1	A5	3	1	A1	A3	A3	A3	A5	3	A5	A5	3	A5	A5	1	A5	R/R
3	A3	A5	A5	A5	A5	B1	A3	B5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	A5	R/R	

그림 113. 회복인자 관련 후대 임성조사를 위한 조사일람표 및 조사결과

다. 회복인자 관련 분자마커 개발

1) Bulked Segregant Analysis를 이용한 다형성 분석으로 분자마커 개발

- 각 집단에 대하여 임성조사 결과를 토대로 오픈 프라이머와 UBC 프라이머를 사용하여 임성과 불임간 BSA-RAPD를 수행 완료하였으며 1차 스크리닝에서 13개의 프라이머를 선발하였음
- 선발된 프라이머들에 대하여 각각의 개체별로 확인한 결과 유용성이 떨어져 마커로 전환하지 않았음 (그림 114)
- 다형성 분석을 위한 방법으로 BSA-SRAP를 수행하였으며 다형성을 나타내는 1개의 프라이머 조합을 선발하였음. 그러나 선발된 프라이머의 개체별 확인 결과 유용성이 떨어져 마커로 전환하지 않았음 (그림 115)

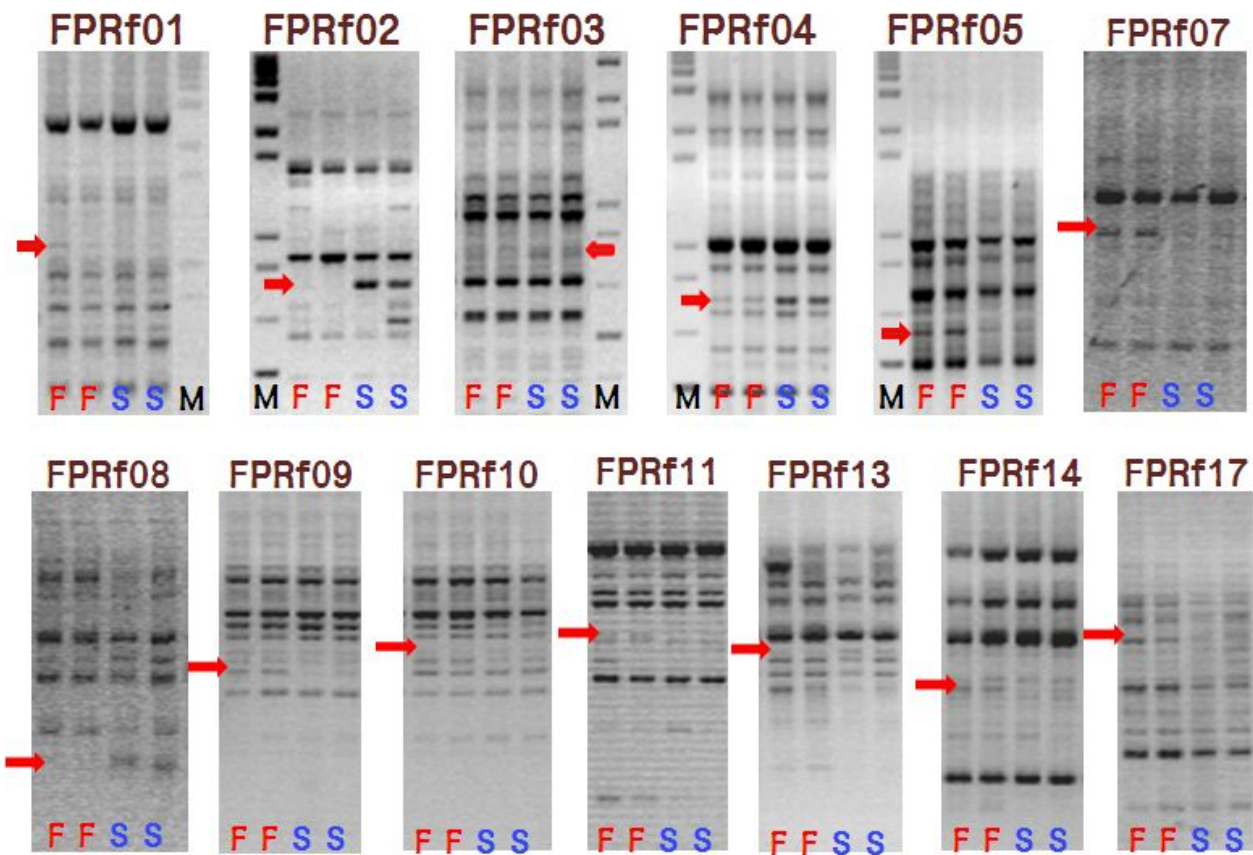


그림 114. BSA-RAPD를 이용한 다형성 분석으로 13개의 프라이머를 선발하였음. 각각의 개체에 대한 임성여부와 비교한 결과 유용성이 떨어져 마커전환을 진행하지 않음

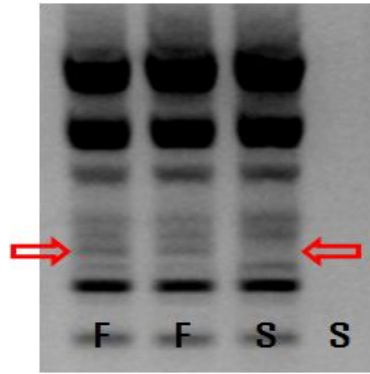


그림 115. FPRf102 집단의 BSA-SRAP 분석을 통해 선발된 다형성 프라이머

2) 회복인자 연관 Candidate gene approach

- fprf101, fprf102, fprf103 집단의 임성조사 결과를 토대로 임성과 불임간 BSA-RAPD를 수행 완료하였으나 선발 프라이머 없음
- 고추 임성회복과 관련된 염기서열을 확보하여 이들 염기서열을 *in-silico* 분석을 수행하였고 이들로부터 신규 프라이머 조합을 제작하였음 (그림 116)
- 신규 프라이머 조합을 사용하여 fprf101, 102, 103 집단의 임성과 불임 개체를 주형으로 PCR 수행한 후 증폭된 PCR 산물의 염기서열을 분석하였음
- fprf102 집단을 제외한 fprf101, 103 집단에서 임성과 불임간의 제한효소 위치가 다름을 확인하였고 이를 CAPS 마커로 전환하였음 (그림 117)
- 전환된 CAPS 마커는 'Rf35'라 명명하였으며 집단내 유용성 검증 완료 후 블라인드 테스트 결과 유용성이 검증 (그림 118) 되어 마커 분석 서비스 실시 및 특허 출원 하였음

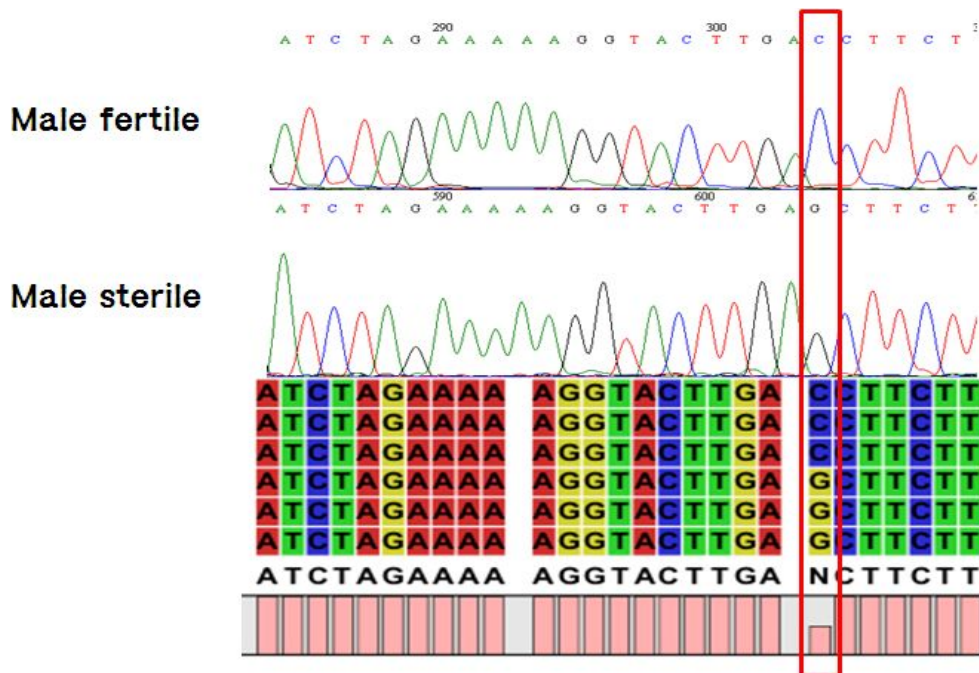


그림 116. 회복인자를 보유한 계통과 그렇지 않은 계통간의 다형성 분석결과 SNP (빨간색 박스)가 발견되었으며 이를 이용하여 회복인자 연관 CAPS 마커를 개발하였음

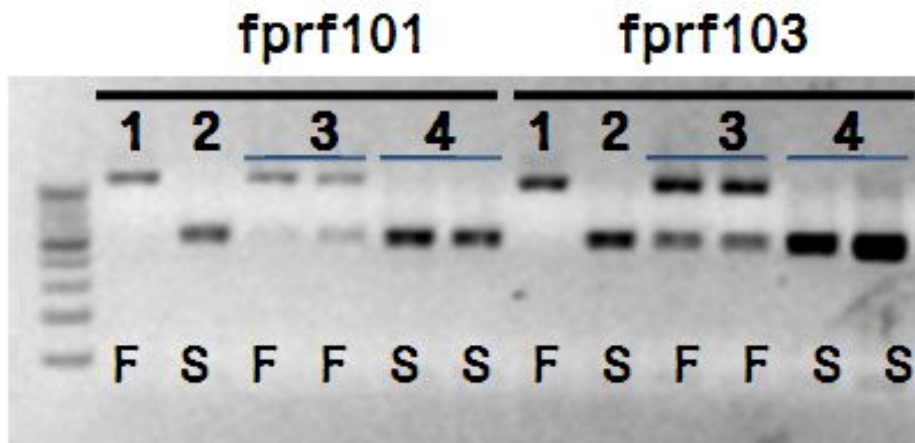


그림 117. CAPS 마커로 전환된 RF35마커의 fprf101, 103 집단에서의 다형성 확인. 1: 부, 2: 모, 3: Rf bulked DNA, 4: rf bulked DNA

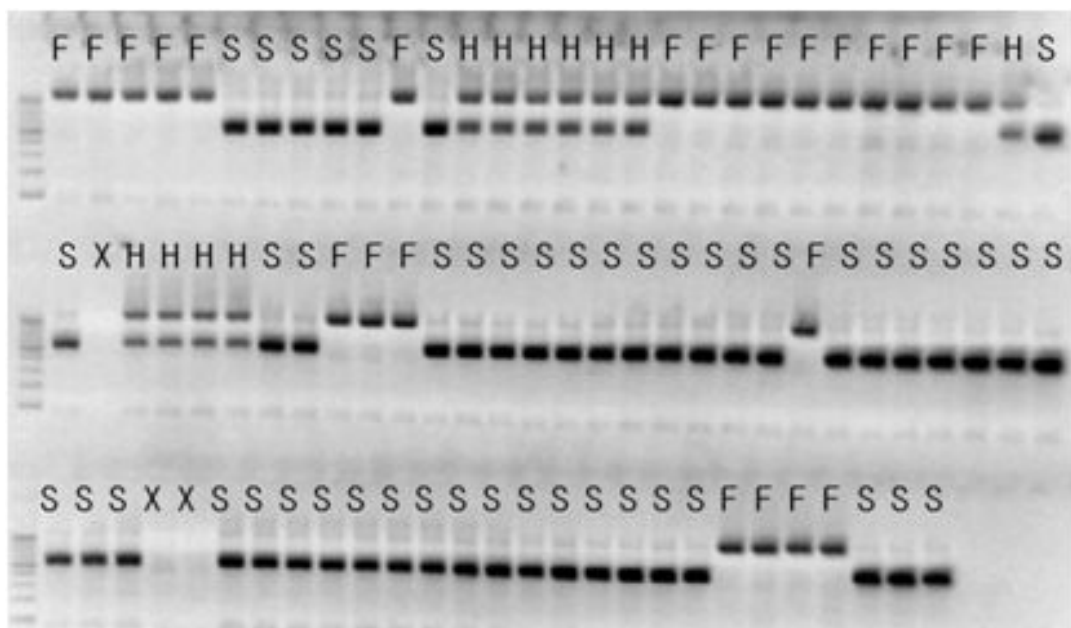


그림 118. Rf35 마커의 블라인드 테스트를 통한 유용성 검증으로 마커 개발 완료

3) 유전연관지도를 활용한 회복인자 연관 분자마커 개발

- 고추 임성회복과 관련되어 기존에 개발 및 보고된 분자마커들을 FnP(AA) 유전연관지도상에 등재한 결과 모두 LG6의 한 곳에 집중하여 등재되었음 (그림 119)
- 따라서 FPRf102 집단에 활용 가능한 분자마커 또한 동일영역에 존재할 것으로 예상되어 유전연관지도상의 회복인자 연관마커의 근접마커를 탐색하여 fprf2의 양친에 대한 다형성 분석 및 주변 염기서열을 분석할 계획임

FnP(AC)_6

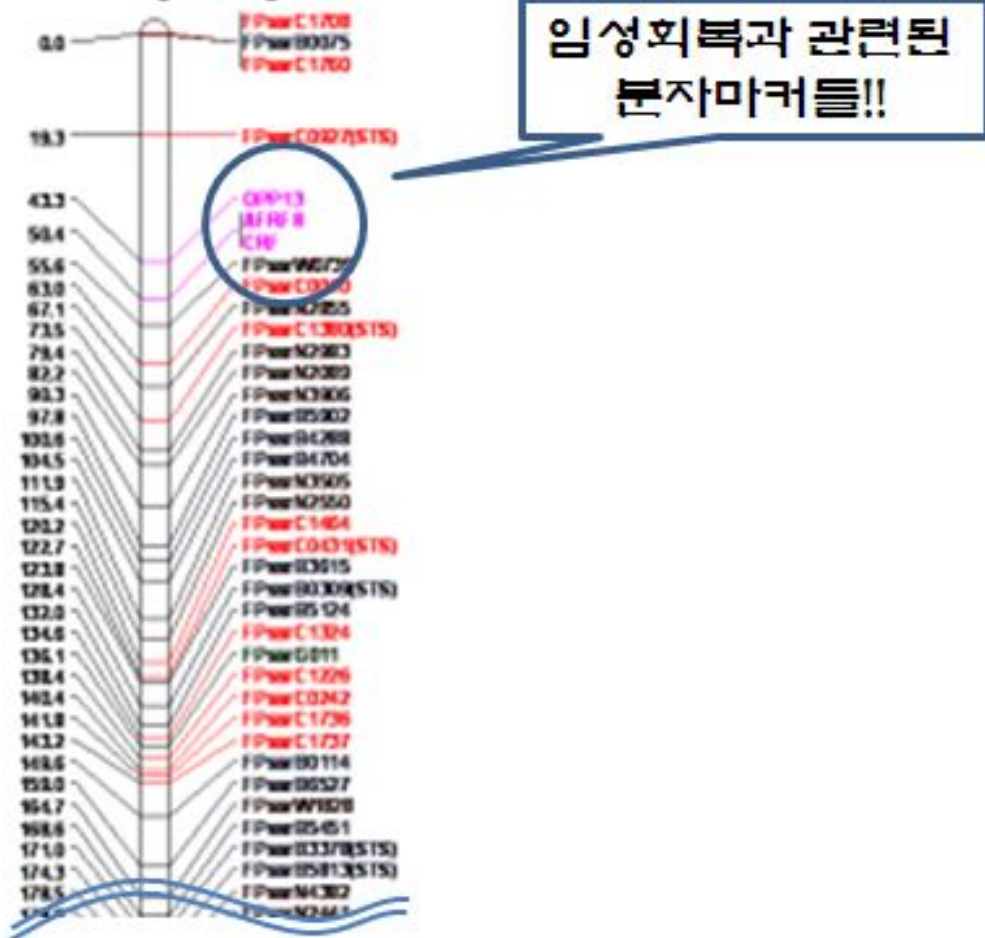


그림 119. 회복인자 연관 분자마커가 집적된 FnP(AA) 유전연관지도의 LG6

5. 유전자적 응성불임 (GMS) 연관 분자마커 개발

가. 회복인자 관련 유전집단 육성

1) GMS 연관 유전집단 육성

- GMS인자 중 국내 고추육종에 많이 활용되는 ms_K 와 ms_3 , 유럽의 고추육종에 활용되는 ms_{509} , 피만계통에서 분리된 ms_I 인자를 이용하여 유전집단을 육성함 (그림 120)

ms_{509} : Induced by EMS GMS ms_{509} (Csillery, 1983/한국누넵)

ms_3 : Induced by X-ray GMS ms_3 (Daskaloff, 1968/한국누넵)

ms_K : Korean wild type GMS ms_K (Yoo, 1990/한국누넵)

ms_I : Isolated from bell pepper, pimang GMS ms_I (한국누넵)

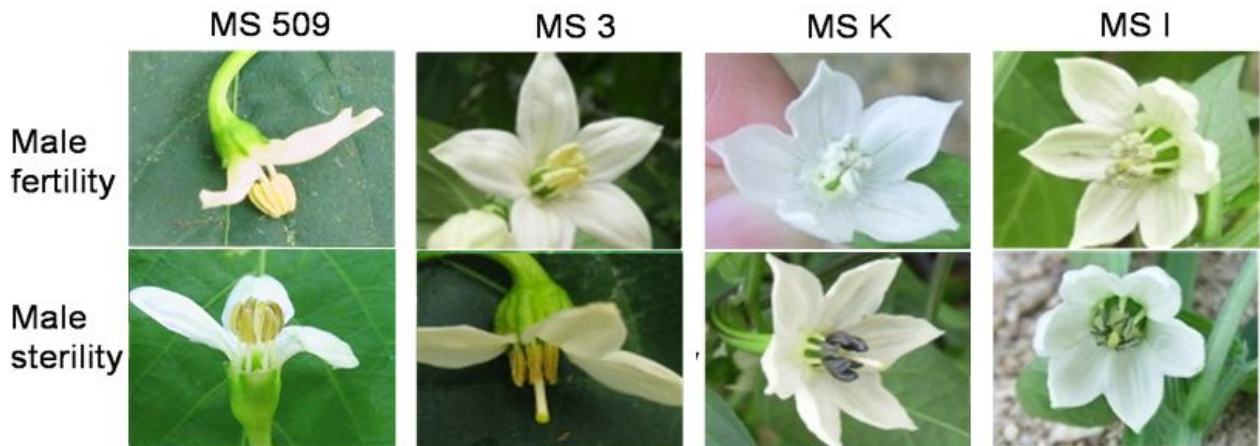


그림 120. GMS인자를 이용한 유전집단의 가임 및 불임주의 화분 모양. 화분의 유무를 육안으로 조사하여 불임여부를 조사하였음

- GMS 집단인 MS509의 1:1 140주, MS3의 1:1 199주, MSK의 1:1 50주, 3:1 191주를 육종회사로부터 분양받아 (주)에프엔피 온실에서 육성하였으며, 각 식물체의 DNA를 분리하였음. 또한 MSI의 경우, 육종회사로부터 식물체의 잎을 분양받아 DNA 분리를 완료하였음
- MS509, MS3, MSK, MSI의 1:1 집단을 육성하여 임성조사를 수행한 후 각 집단의 1:1집단으로부터 3:1 분리집단을 육성하여 임성조사를 수행하였음. 3:1 집단의 후대를 육성 및 임성조사를 수행하여 3:1 집단의 유전자형을 확인하였음

2) GMS 유전집단의 임성조사

- 각 집단의 임성조사시 1:1 집단의 경우 10개 이상의 개화한 꽃의 약의 유무, 식물체 및 과실의 형태, 과실 속 종자의 유무를 조사하였으며, 3:1 집단의 경우는 10개 이상의 개화한 꽃의 약의 유무, 후대의 임성 여부, 과실의 유무 및 종자의 유무를 조사하였음
- 각 집단의 그림 121, 122, 123, 124에서 보듯이 가임주 보다 불임주의 키가 큰 것을 관찰할 수 있으며 착과하였으나 과실속에 종자가 없는 경우도 관찰할 수 있었음. 후대의 임성여부 조사는 각 라인당 32주 또는 16주를 과종 (그림 125)하여 그 중 한 개체라도 불임인 경우 parents의 genotype을 hetero로 판단하였으며 조사양식은 그림 34과 같음
- 임성조사 결과, 가임군과 불임군의 비율이 χ^2 검정에 의해 각 유전집단의 분리비에 부합하였으며 이와 관련한 결과를 표 28 및 표 29에 정리하였음

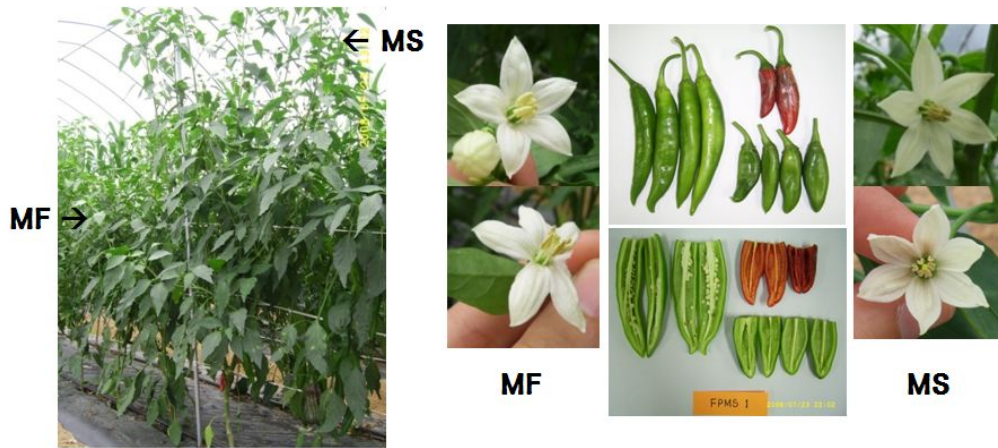


그림 121. MS509 집단의 응성불임 조사

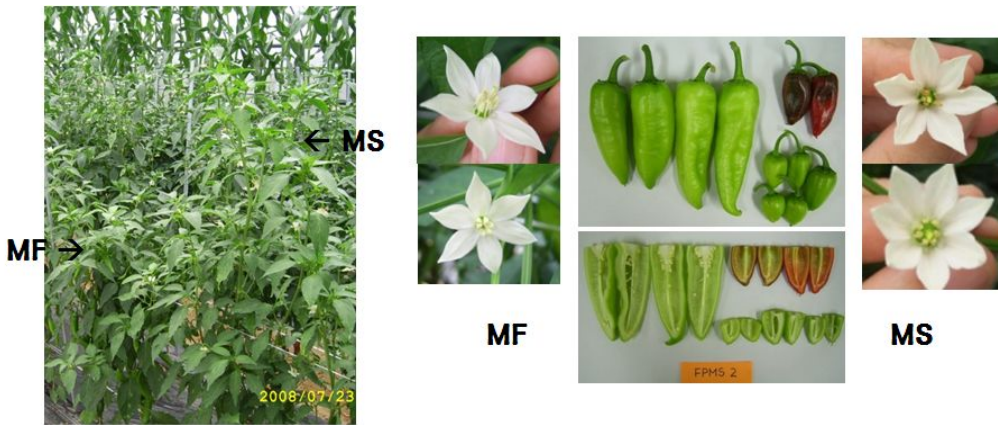


그림 122. MS3 집단의 응성불임 조사

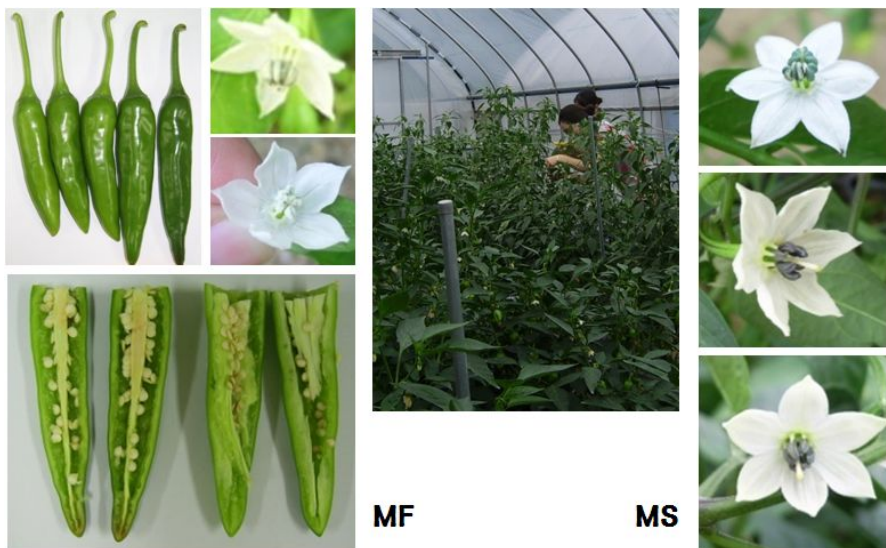


그림 123. MSK 집단의 응성불임 조사

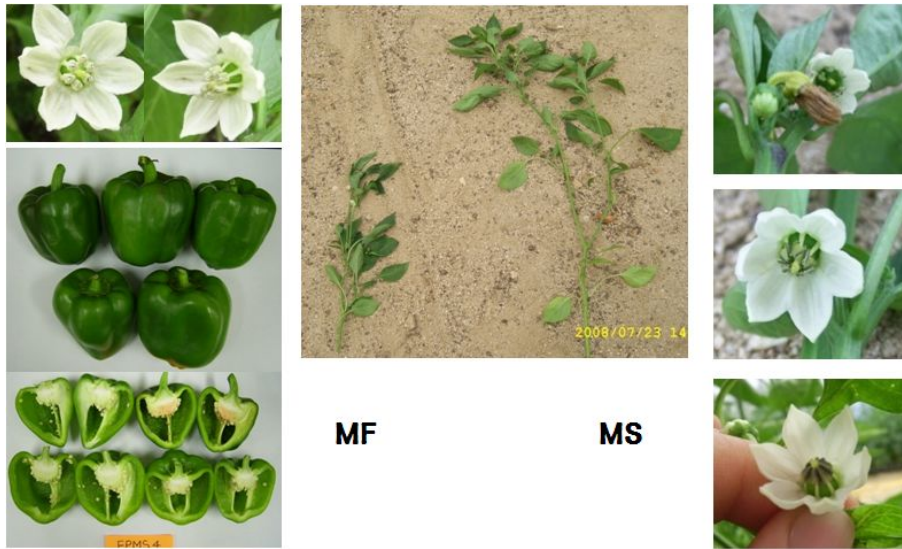


그림 124. MSI 집단의 응성불임 조사

*** 1:1 집단의 경우**

- 1) 개화한 꽃의 약 유무 확인(10개 이상)
- 2) 식물체, 과실 형태파악
- 3) 과실 속 종자 유무 파악

*** 3:1 집단의 경우**

- 1) 개화한 꽃의 약 유무 확인(10개 이상)
- 2) 3:1의 후대 32/16개체 중 한 주라도 불임인 경우 parents의 Genotype을 Hetero로 판단,
- 3) 과실 유무 파악

Page 5

MP-100				MP-105(2번 수 주입)			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-104(응성불임 종)				MP-103			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-102				MP-101			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-100				MP-99			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-98				MP-95			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-94				MP-92			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-91				MP-90			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-89				MP-87(응성)			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-85(응성)				MP-84			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-82				MP-79			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-78				MP-74			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32
MP-73				MP-72			
01	02	03	04	05	06	07	08
09	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32

< 임성조사관련 양식 >

그림 125. GMS 집단의 임성조사 항목 및 관련 양식

표 28. GMS 관련 유전집단의 음성조사 결과

집단명	개체수	MF (%)	MS (%)	분리비	비고
MS509 (1:1)	140	48.9	51.1	1:1	3:1 집단 육성
MS509 (3:1)	240	76.4	23.5	3:1	3:1 집단 후대 육성
MS3 (1:1)	199	49.4	50.6	1:1	3:1 집단 육성
MS3 (3:1)	327	74.5	25.4	3:1	3:1 집단 후대 육성
MSK (1:1)	50	44.9	55.1	1:1	3:1 집단 육성
MSK (3:1)	191	74.1	25.9	3:1	3:1 집단 후대 육성
MSI (1:1)	103	49.5	50.5	1:1	3:1 집단 육성
MSI (3:1)	195	75.4	24.6	3:1	3:1 집단 후대 육성

표 29. GMS 관련 3:1 유전집단의 후대 음성조사 결과

집단명	개체수	homo (%)	hetero (%)	분리비
MS509 (3:1) 후대	3200 (100×32)	36.6	63.4	1:2
MS3 (3:1) 후대	3200 (100×32)	29.6	70.4	1:2
MSK (3:1) 후대	3328 (104×32)	34.6	65.4	1:2
MSI (3:1) 후대	2000 (125×16)	30.4	69.6	1:2

나. GMS 각 인자별 분자마커 개발

1) MS509 (*ms509*) 연관 분자마커 개발

- MS509 집단 중 3:1 분리집단의 음성결과를 토대로 음성과 불임간의 다형성 분석을 위해 BSA-RAPD를 수행하였음
- BSA-RAPD로 1개의 불임 특이밴드 증폭 프라이머를 선발하였으며 MS509 집단의 개체별로 확인한 결과 불임주에서만 밴드가 증폭되는 것을 확인하였음 (그림 126-A)
- 선발 프라이머를 이용하여 증폭된 불임 특이밴드의 염기서열을 분석하여 프라이머를 작성하였으며 분리집단의 개체별 확인 결과 dominant 마커로 전환되었음 (그림 126-B)
- Co-cominant 마커로 전환하기 위하여 염기서열 내에서 신규프라이머를 작성하여 제한효소 처리한 결과 CAPS 마커의 가능성을 확인하였으나 non-specific한 염기서열의 증폭이 많으

므로 nested PCR을 수행한 CAPS 마커로 전환하였으며 (그림 126-C), 유용성 검정 후 특
히출원 하였음

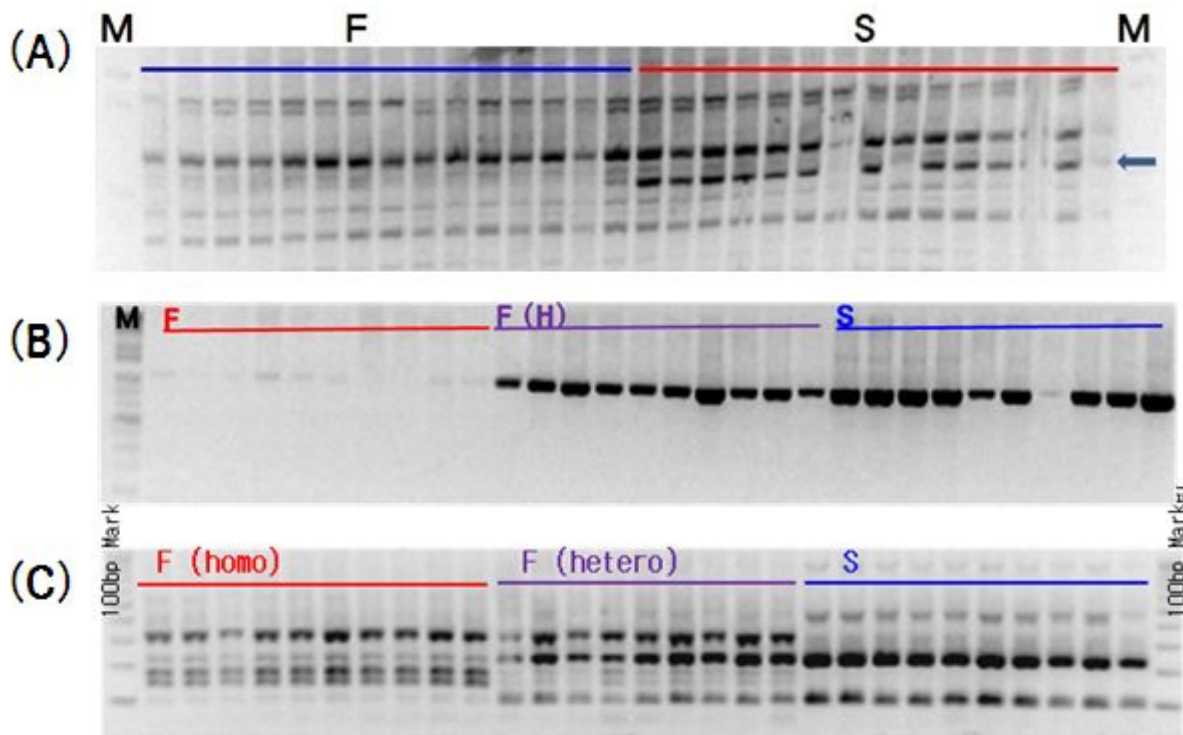


그림 126. RAPD를 이용하여 선발한 프라이머의 개체별 확인 (A), 1045bp의 염기서열 분석 및 primer 제작으로 SCAR 마커 전환 (B) 및 co-dominant 전환 (C). (M: 1Kb ladder, F 가임, S는 불임)

2) MS3 (*ms3*) 연관 분자마커 개발

- MS3 집단에서 3:1 분리집단을 이용하여 임성조사 결과를 토대로 가임주와 불임주의 DNA를 각각 5개씩 pooling하여 BSA-RAPD를 수행하였음
- Operon 및 UBC 프라이머를 screening한 결과 1개의 프라이머 (MS2-01)를 선발하였으며 선발된 RAPD 프라이머를 이용하여 개체별로 확인한 결과 임성과 불임간의 다형성 밴드를 확인하였음 (그림 127)
- MS2-01 선발 프라이머를 이용하여 증폭된 다형성 밴드를 pGEM-T Easy Vector에 클로닝하여 염기서열 확보
- 확보한 염기서열 내부에서 신규 프라이머를 제작하였으며 이를 이용하여 임성개체와 불임개체의 DNA를 주형으로 PCR 수행하여 염기서열 분석 결과 임성과 불임간의 제한효소 위치가 다름을 확인하였으며 nested PCR을 이용한 CAPS 마커로 전환하였음 (그림 128-A)
- Nested PCR을 이용한 CAPS 마커를 분석에 용이하도록 개선하기 위하여 주변 염기서열 확보를 위한 iPCR을 수행하였음
- Inverse PCR을 양방향으로 각각 수행한 결과 총 1.4Kb의 염기서열을 확보하였으며 이로부터 신규 프라이머를 제작하여 CAPS 마커로 개선 (그림 128-B)하였음. 개선된 마커는 유용성 검정 후 특허출원 하였음

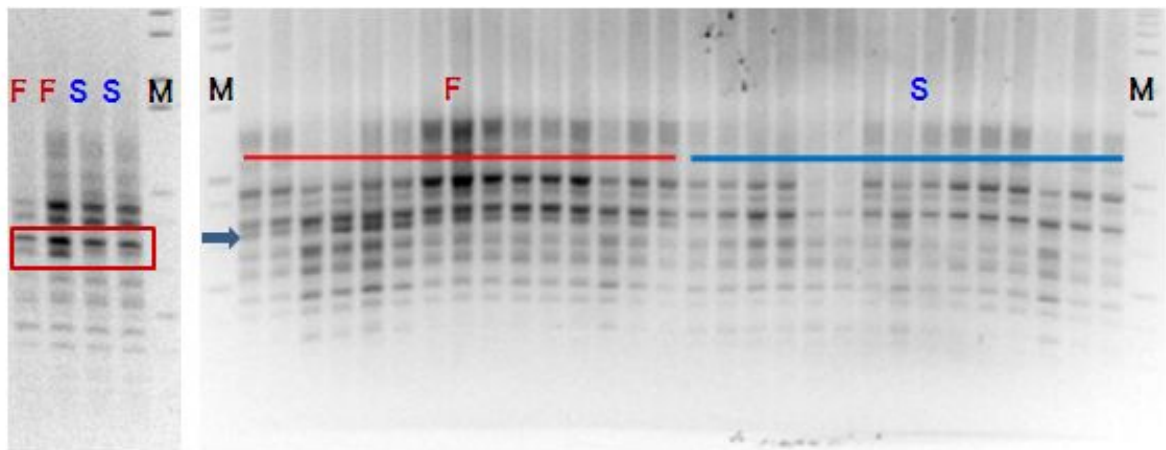


그림 127. MS3 집단에서 polymorphism 나타낸 primer MS201에 대한 개체별 BSA-RAPD (M: 1Kb ladder, F 가임, S는 불임)

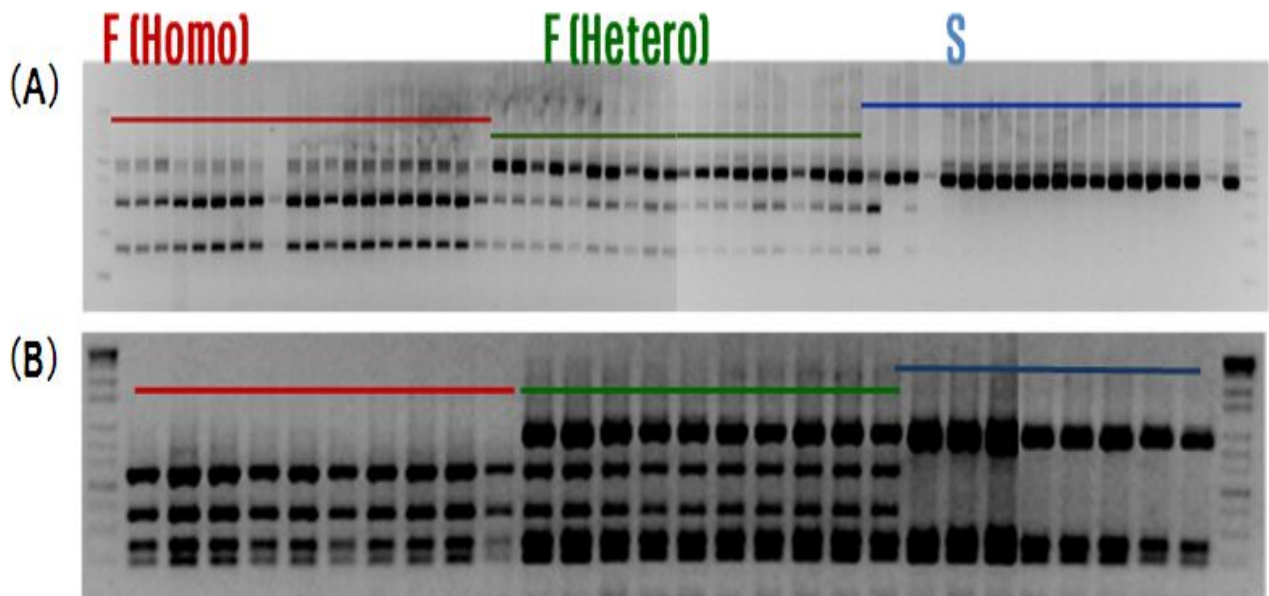


그림 128. 기존 염기서열을 이용하여 개발한 nested PCR을 이용한 CAPS 마커 (A)와 inverse PCR을 통해 확장된 1.6kb 염기서열 내에서 개선된 CAPS 마커 (B)

3) MSK (ms_K) 연관 분자마커 개발

- MSK 집단 중 3:1 분리집단의 임성조사 결과를 토대로 가임주와 불임주간의 BSA-RAPD를 수행하였고 그 결과 1개의 가임 특이밴드 증폭 프라이머를 선발하였음 (그림 129-A)
- 선발된 후보마커를 사용하여 증폭된 DNA 단편을 염기서열 분석하였으며 확보한 염기서열의 내부에서 신규 프라이머를 제작하여 임성 및 불임 개체를 주형으로 PCR 수행한 후 염기서열 분석하였음. 그 결과 제한효소 위치가 다름을 확인하여 CAPS 마커로 전환하였음 (그림 129-B)
- MSK 집단을 사용하여 유용성을 검증한 결과 11, 21, 27, 57번 개체에서 임성조사는 호모 가임 주로, 마커 분석은 헤테로 가임주로 분석되었음. 따라서 4라인에 대하여 후대 임성 조사를 재실시한 결과 모두 헤테로 가임임이 확인되었으며 분자마커와 일치함을 확인하였음

- 전환된 CAPS 마커의 블라인드 테스트 결과 유용성이 입증되어 마커 분석 서비스를 실시하였고 특히출원 하였음

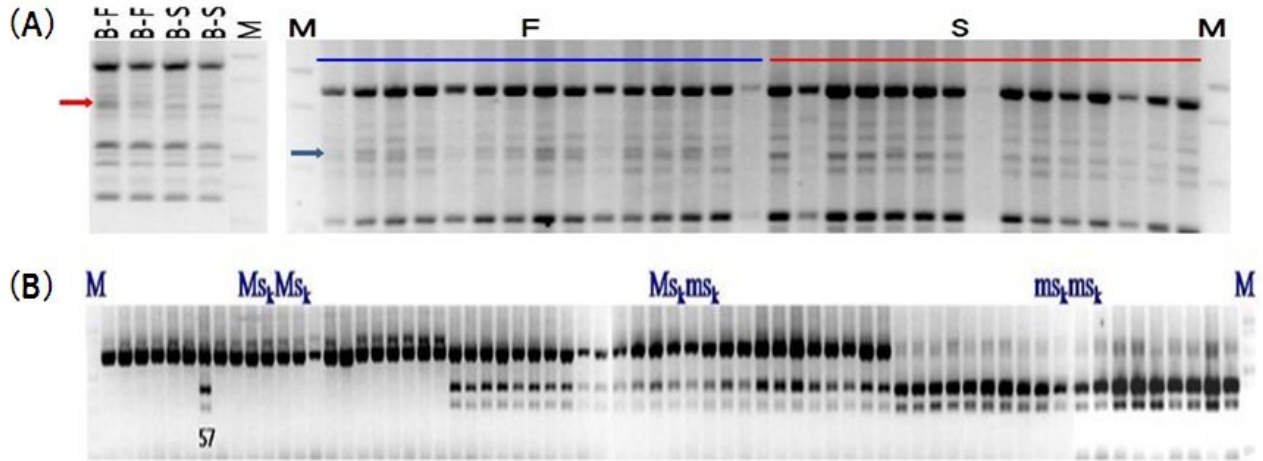


그림 129. MSK 집단에서 선발한 후보마커 MSK의 개체별 확인 결과 (A) 및 이를 CAPS 마커로 전환한 모습 (B) (M: 1Kb ladder, F 가임, S는 불임)

- MSK 마커의 분석 서비스 수행 중 MSK 마커와 불일치하는 한국누넴의 **01-1~**01-10 개체에 해당하는 **01 분리집단을 확보하였음 (표 30)
- MSK 마커의 개선을 위하여 한국누넴으로부터 **01-1, 4, 9번 개체를 이용한 후대 1:2:1 분리집단 총 396주를 인수인계 받아 gDNA 추출 및 임성조사를 완료하였으며 각 개체의 후대를 육성하여 임성조사를 수행함으로써 당대의 유전자형을 확인하였음
- 임성조사 결과를 토대로 BSA-AFLP를 수행하였으며 선발된 프라이머에 대하여 임성과 불임간의 다형성 분석으로 마커전환 중임 (그림 130)

표 30. 한국누넬의 마커분석 서비스 의뢰 샘플 중 MSK 마커와 불일치하는 라인 확보

No.	개체번호	MSK 마커타입	유전자형
<u>1</u>	<u>****-1</u>	<u><i>MsMs</i></u>	<u><i>Msms</i></u>
2	****-2	<i>MsMs</i>	<i>MsMs</i>
3	****-3	<i>MsMs</i>	<i>msms</i>
<u>4</u>	<u>****-4</u>	<u><i>MsMs</i></u>	<u><i>Msms</i></u>
5	****-5	<i>MsMs</i>	<i>msms</i>
6	****-6	<i>MsMs</i>	<i>msms</i>
7	****-7	<i>MsMs</i>	<i>MsMs</i>
8	****-8	<i>MsMs</i>	<i>MsMs</i>
<u>9</u>	<u>****-9</u>	<u><i>MsMs</i></u>	<u><i>Msms</i></u>
10	****-10	<i>MsMs</i>	<i>MsMs</i>



그림 130. 한국누넬으로부터 인수인계 받은 MSK 마커 불일치 분리집단

4) MSI (*msl*) 연관 분자마커 개발

- MSI 집단의 임성결과를 토대로 임성과 불임간의 다형성 분석을 위해 BSA-RAPD를 수행하였음. 오픈 프라이머 및 UBC 프라이머를 이용하여 RAPD를 수행하였으나 후보마커를 선발하지 못함
- 임성과 불임개체를 사용하여 BSA-AFLP를 수행한 결과 7개의 다형성 프라이머를 선발하였음 (그림 131)
- 선발된 프라이머로 증폭된 DNA 단편을 염기서열 분석하였으며 확보된 염기서열 내에서 iPCR을 위한 프라이머를 제작하여 주변염기서열을 분석한 결과 MSI-03 및 MSI-06 두개의 후보마커로부터 *EcoRI*을 사용한 CAPS 마커로 전환하였음 (그림 132)
- MSI-03, MSI-06 마커를 개체별로 확인한 결과 MSI 인자와 각각 13.6 cM, 5.7cM 떨어져 있는 것으로 확인되었으며 MSI-06 마커를 이용한 MAS 체계를 확립하였음

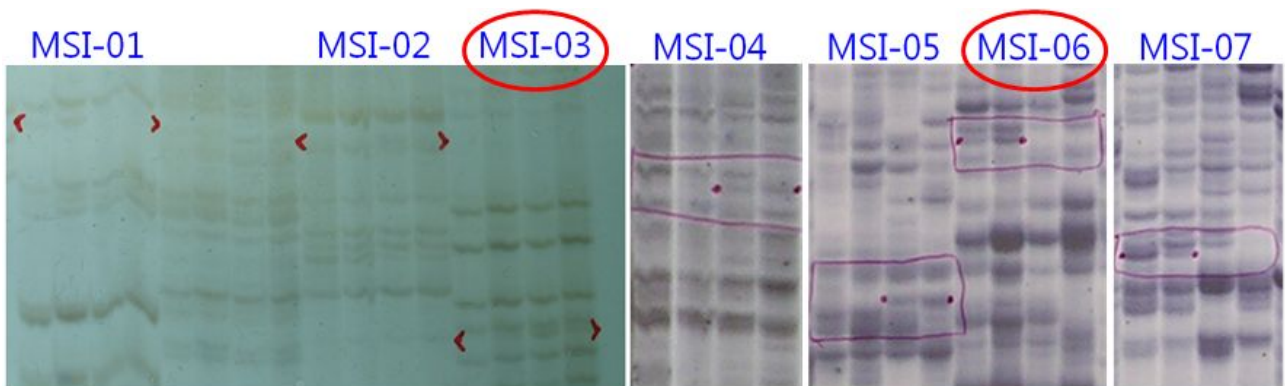


그림 131. AFLP screening으로 선발된 프라이머. 임성과 불임개체를 사용하여 BSA-AFLP를 수행한 결과 7개의 다형성 프라이머 선발 (MS4-01~07)

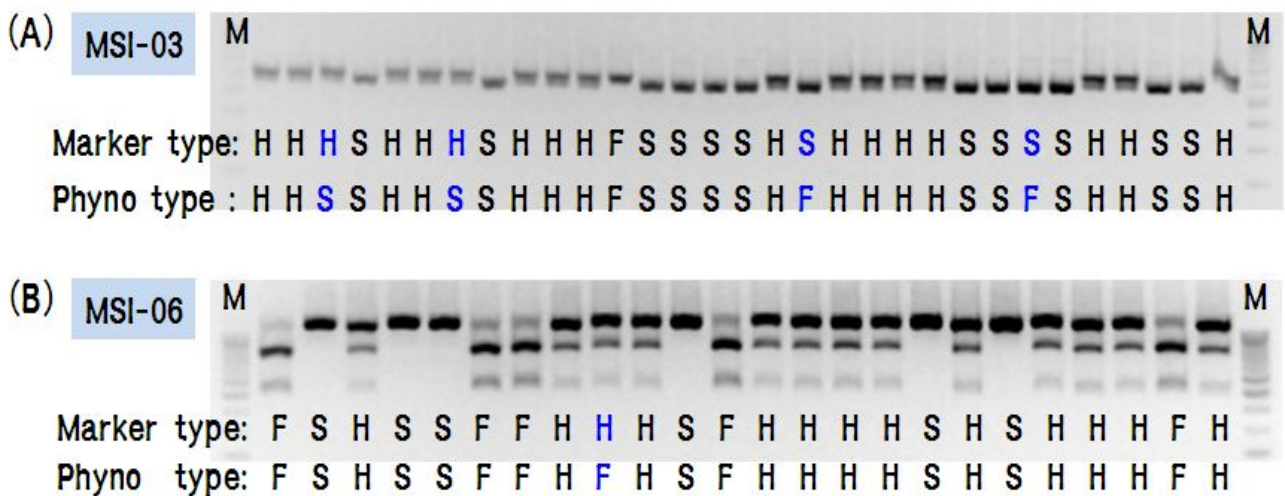


그림 132. AFLP로 선발된 프라이머 MSI-03 (A), MSI-06 (B)의 CAPS 마커전환

※ 마커개발을 위한 연차별 연구수행 내용

- 역병, 청고병, 흰가루병, 회복인자, 음성불입 총 5개의 형질과 연관된 분자마커를 개발하기 위하여 5년간 수행한 연구내용을 정리하면 표 31과 같음
- 2007년 15개의 유전집단을 육성한 것을 시작으로 3년차인 2009년에 4개 (역병 06 및 07집단, 청고병 PS14 및 15집단)의 집단을 추가로 육성하였으며 각 집단에 대한 마커개발을 수행하였음
- 그 결과 역병연관 마커인 M07, N33 및 FPTY를 개발하였으며, 회복인자 연관마커 Rf35, GMS 인자와 연관된 4개의 마커 MS509, MS3, MSK, MSI를 개발하였음. 그밖에 청고병 저항성 QTL 마커인 N3505와 FPPcPo04 집단으로부터 개선된 CMV-Co1 마커를 개발하였음

표 31. 연차별 연구수행 내용

마커명	Origin	2007		2008		2009		2010		2011	
		F ₁ 육성	F ₂ 육성	F ₂ 검정	F ₃ 육성	F ₃ 검정	후모 마커	F ₂ 검정	후모 전환	마커 개발	유전자와의 거리
역병	01 (역강홍장군)	0	0	유묘	0	유묘	2	2	1	M05	(N33)
	02 (특아정정)	0	0	유묘	0	유묘	없음	-	-	유용성 검정	(M07)
	03 (PI201234)	0	0	유묘	0	유묘	없음	-	-	유용성 검정	(M07)
	04 (PI201234)	0	0	유묘	-	-	2	2	1	M07	0 cM
	05 (CM334)	0	0	유묘	0	유묘	5	5	2	M06, N34	(M07)
						저농도	QTL분석	mapping	3	FPTY	4.9 cM
	06 (AC2258)	0	0	유묘	0	유묘/뿌리	2	2	1	N33	1.9 cM
07 (CM334)	0	0	유묘	0	저농도	1	1	없음	유용성 검정	(M07)	
청고병	Chung1 (PS12)	0	0	병검정	0	-	없음	-	-	-	-
	Chung2 (PS13)	0	0	병검정	0	-	없음	다형성분석	없음	-	-
	Chung3	0	0	병검정	0	-	4	4	없음	-	-
	PS14	0	0	0	0	0	없음	-	-	유용성 검정	(N3505)
	PS15	0	0	0	0	0	3	3	1	N3505	7.4 cM
회복인자	fprf1	0	0	임성조사	0	임성조사	3	3	1	Rf35	육종재료별
	fprf2	0	0	∕	0	∕	근접마커	근접마커	없음	근접마커	-
	fprf3	0	0	∕	0	∕	-	-	-	유용성검정	(Rf35)
음성불입	MS509 (<i>ms₅₀₉</i>)	0	0	∕	0	임성조사	1	1	1	MS509	3.4 cM
	MS3 (<i>ms₃</i>)	0	0	∕	0	∕	1	1	1	MS3	5.2 cM
	MSK (<i>ms_K</i>)	0	0	∕	0	임성조사	4	2	1	MSK	1.2 cM
	MSI (<i>ms_I</i>)	0	0	∕	0	∕	7	2	2	MSI	5.7cM
흰가루병	저항성계통 FPMP1 선발 추가연구> 1. 이병성계통과 교배조합 작성 및 F2 육성 2. 토마토의 흰가루병 저항성 마커 탐색 및 유용성 검정 진행										

제 4 절: 고밀도 유전자지도 작성을 위한 Recombinant Inbred Line 육성 및 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression 라인 육성

제 1 항. 이론적, 실험적 연구방법

1. 고밀도 유전자지도 작성을 위한 Recombinant Inbred Line 육성

- 가. 원연간의 교배집단 작성
 - 재료 : *C. annuum* x *C. chacoense*, *C. annuum* x *C. chinense*,
C. annuum x *C. frutescens* 교배조합작성 --> F₂ 집단 양성
 - 처리 : F₂세대부터 필리핀에서 SSD (Single Seed Descent Method)로 세대진전
 - 활용 : F₂세대 또는 BC1F1세대 DNA sample --> 유전자지도작성
 - 조사내용 : RIL의 특성조사 - 과색, 착과습성, 숙과색, 과크기 등

2. 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression line 육성

- 재료: PI594137 (*C. baccatum*), PR29B, P5 (이상 *C. annuum*)
- 처리 : PI594137 x PR29B 제웅교배 후 미숙배배양 방법으로 F₁ 식물체를 획득할 계획이었으나 의외로 정상적으로 종자가 성숙, 발아되어 F₁ 식물체는 쉽게 획득함
- F₁ 식물체는 유전적으로 불임이므로 노지에 정식하여 PR29B, P5 (이상 *C. annuum*)의 화분으로 backcross 실시한 후 착과된 과실은 탄저병에 노출시켜 감염 여부 조사하고 선발함
- 활용 : 획득한 F₁종자는 연구에 참여 기관과 공유하여 각 기관소유의 우량계통으로 back-cross를 실시하여 탄저병 저항성육성에 활용토록 함
- 조사 : 각 세대별 임성 및 각 개체별 탄저병 내병성, 과형 등 조사

제 2 항 연구내용 및 연구결과

1. 고밀도 유전자지도 작성을 위한 Recombinant Inbred Line 육성

- 본 연구의 목적은 매운 고추의 전통육종분야에서 국제적인 경쟁력을 갖추었다고 평가를 받고 있는 우리나라가 계속 경쟁에서 앞서기 위해서는 분자마커를 활용한 분자육종분야의 기술개발에 더욱 박차를 가해야 함
- 이를 위해 필요한 고밀도 유전자지도 작성을 위해 다양한 형질의 유전집단에서 유래한 RIL(Recombinant Inbred Line)을 육성하는 것이 유전연관지도의 정확도를 높이는 데 필요함

가. 유전집단 작성

- 고밀도 유전자지도 작성을 위한 RIL은 다양한 변이의 폭이 넓은 집단의 육성이 필요하여 유전적 거리가 먼 계통들 간의 교배를 통하여 다양한 변이의 창성이 필요함
- 상업용 품종에 주로 쓰이는 *C. annuum*과 *C. chinense*, *C. frutescense*, *C. chacoense* 간에 교배를 통하여 다양한 유전적 변이집단을 양성하기로 하였음
- *C. annuum*은 국내 CMV 내병계 품종의 저항성 소스로 사용되는 잘 알려진 계통을 사용하였고 *C. chinense* habanero는 매운 고추의 대명사로 알려진 고추로 숙과색이 노란색 계통을 사용하였음
- *C. frutescense*는 고추의 착과방향이 상향인 하늘초 계통을 사용하였으며, *C. chacoense*는 TMV내병성 재료로 알려진 재료로 잎이 작고 과실이 작은 소과종을 사용하였음

나. F₁조합 교배 및 F₂ 집단육성

- 1차년도에 *C. annuum* x *C. chinense*, *C. annuum* x *C. frutescense*, *C. annuum* x *C. chacoense* F₁조합 교배를 하였고 고추는 자가수정이 잘되는 작물이므로 꽃가루가 나오기 전에 약을 제거하고 화분친의 꽃가루를 수분시키는 제웅교배를 실시하였음
- F₁ 교배는 소량의 종자만 확보하면 되기 때문에 3~5과 정도 교배하여 종자를 확보하였고 확보한 F₁종자는 selfing종자인 F₂ 종자를 각 조합별 2,000립 정도 확보를 목표로 즉시 파종하였음 (그림 133)
- *C. annuum* x *C. chinense*, *C. annuum* x *C. frutescense* 는 정상적인 임성을 보여 F₂ 종자 생산에 별 어려움은 없었으나 *C. annuum* x *C. chacoense* 는 F₁의 임성이 불임이어서 정상적인 F₂종자의 확보가 불가능하여 (*C. annuum* x *C. chacoense*) x *C. chacoense* 의 형태로 BC₁F₁종자를 생산하였음 (그림 134, 135)
- 이들 종자는 F₂ 집단의 특성조사 및 DNA 샘플 채취를 위하여 (주)에프앤피 농장에서 재배하였음

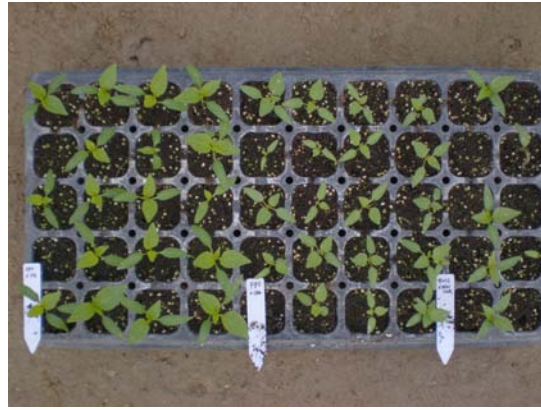


그림 133. 좌:FP11 x *C. frutescense* 중:FP11x*chacoense*, 우:FP11 x Habanero



그림 134. *C. annuum* x *C. chacoense* (불임)



그림 135. *C. annuum* x *C. frutescense*(가임)

다. SSD (*Single Seed Descent* , 단주계통육성법) 에 의한 RIL육성

- 여러 가지 전통육종방법 중에서 초기세대 집단 유전자의 소실을 최소화하면서 유전집단을 유지하는 육종법인 단주계통육종법 (SSD , *Single Seed Descent*)을 이용하여 F₂세대 이후의 세대를 진전시켰음
- 단주계통육종법은 F₂세대부터 선발 없이 한 포기에서 1개씩의 종자를 채취해서 파종하여 다음 세대를 육성하고 또 선발 없이 한 포기에서 1개씩의 종자를 채취해서 파종하여 다음 세대를 육성하는 방식으로 세대를 진전하는 식으로 진행하여 최종 F₇ ~ F₈세대에서 특성조사를 실시하였음
- 국내에서 육종을 진행하는 경우 1세대는 정상적으로 진행이 가능하지만 하반기는 겨울철에 난방시설 하에서 생육시켜야 하는 어려움이 있고 특히 *C. annuum* x *C. chacoense* 분리집단의 경우는 숙성이 극 만생종인 개체가 많아 국내에서 세대진전은 불가능하여 필리핀 육종기지를 활용하였음
- 필리핀 육종기지는 루손섬 클라크 경제자유구역 내에 위치하고 있어 치안이 안정적이고 비교적 자연재해가 적으며 클라크 필드 공항에서 10여분 거리에 있고 인천과 클라크 간에 직항항공편이 있어 접근성이 좋은 이점이 있었음
- 재료의 파종은 50구 트레이에 시판되는 상토를 사용하여 침종하지 않은 마른 종자를 파종하였음 (그림 136, 137)



그림 136. 한 셀당 1계통, 2~3립 파종 -->1주 육묘



그림 137. 필리핀 파종모습 : RIL육성

- 종자를 침종하여 파종하면 발아를 빠르게 유도하는 장점이 있지만 다루어야 할 재료 수가 많아 작업 중에 물리적 혼입이나 실수를 할 가능성이 많아 실익이 적다고 판단하였고, 실제 육종에서도 마른 종자를 트레이에 직파하여 연구를 수행해 왔기 때문에 이렇게 실시하였음
- 한 셀 당 1립씩 파종하는 것이 원칙이지만 열대지방에서 채취된 종자들은 대체로 종자의 활력이 낮고 발아세나 발아율도 낮은 것이 일반적인 경향이므로 결주 발생 우려가 높아서 한 셀 당 3립씩 파종하여 발아 후 정상적으로 생육되면 솟음을 실시하여 한 계통 당 1주씩만 포장에 정식하여 세대를 진전시켰음 (그림 138, 139)
- 열대지방의 기후적 특성 상 총채벌레, 응애 등의 피해가 많아서 정상적인 세대진전에 지장을 초래할 우려가 있어 세심한 관리가 필요하였음



그림 138. *C. annuum* x *C. frutescense* 후대



그림 139. *C. annuum* x *C. chinense* 후대

- *C. annuum* x *C. frutescense* 는 두 계통간의 친화력이 양호하여 화분의 임성이나 착과 비대에 별 어려움 없이 진행 할 수 있었으나 *C. annuum* x *C. chinense* 집단들의 분리세대는 임성이 좋지 않거나 꽃의 발생이 되지 않아 세대진전이 불가능한 개체가 많고 숙성도 극단

생종이 많아서 세대진전이 어려웠음 (그림 140, 141)



그림 140. *C. annuum* x *C. chinense* 후대



그림 141. 착과가 안 되는 개체가 많음

- 임성이 좋지 않아서 착과가 불량한 개체는 자기 꽃가루를 인공적으로 수분시키는 등 착과를 위해서 많은 노력을 기울였음. 개체간 숙기의 차이는 포장관리에 많은 어려움이 있어서 후반기에는 포장에 정식하지 않고 플라스틱 포트에 심어서 재배관리를 실시하였고 (그림 142, 143) *C. annuum* x *C. frutescense*와 *C. annuum* x *C. chinense* 두 집단의 각 개체별로 형질조사를 수행하였음 (그림 144-148)



그림 142. 플라스틱포트재배



그림 143. 숙기차이에 의한 포장 관리가 어려움



그림 144. RIL *C. annuum* x *C. frutescense*



그림 145. RIL *C. annuum* x *C. chinense*



그림 146. RIL *C. annuum* x *C. frutescense*의 과실사진













그림 147. RIL *C. annuum* x *C. frutescense*의 개체별 사진

그림 148. RIL 특성표

	계통명	AC-8		계통명	AC-44
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	8.5x1.4		과실크기	8.0x1.4
	계통명	AC-56		계통명	AC-59
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.5x1.5		과실크기	7.0x1.0
	계통명	AC-61		계통명	AC-62
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	크기	9.5x1.2		크기	7.0x1.2
	계통명	AC-65		계통명	AC-70
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	8.2x1.2		과실크기	7.5x1.5
	계통명	AC-76		계통명	AC-79
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	8.2x1.2		과실크기	7.2x1.0

	계통명	AC-106		계통명	AC-107
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.8x1.0		과실크기	8.2x1.0
	계통명	AC-175		계통명	AC-214
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.2x0.9		과실크기	7.5x1.7
	계통명	AC-219		계통명	AC-222
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	크기	6.2x1.0		크기	4.3x0.8
	계통명	AC-254		계통명	AC-259
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.1		과실크기	5.7x1.1
	계통명	AC-262		계통명	AC-268
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.1		과실크기	7.2x1.0

	계통명	AC-273		계통명	AC-274
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	9.3x1.2		과실크기	6.3x1.1
	계통명	AC-289		계통명	AC-291
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.5x1.1		과실크기	5.7x1.0
	계통명	AC-299		계통명	AC-307
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	크기	5.6x1.3		크기	4.5x1.0
	계통명	AC-312		계통명	AC-321
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.5x1.2		과실크기	4.6x1.1
	계통명	AC-327		계통명	AC-345
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.5x1.0		과실크기	4.5x1.5

	계통명	AC-351		계통명	AC-353
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.2x0.8		과실크기	6.3x1.2
	계통명	AC-354		계통명	AC-360
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.5x1.1		과실크기	5.4x1.3
	계통명	AC-363		계통명	AC-365
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	크기	5.4x1.8		크기	4.5x1.0
	계통명	AC-367		계통명	AC-368
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	3.8x1.2		과실크기	5.4x1.0
	계통명	AC-370		계통명	AC-375
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.4x2.1		과실크기	5.6x1.0

	계통명	AC-4		계통명	AC-5
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.7x1.5		과실크기	6.9x1.4
	계통명	AC-6		계통명	AC-8-2
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.5x1.0		과실크기	4.7x1.5
	계통명	AC-9		계통명	AC-10
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.6x1.0		과실크기	5.3x1.5
	계통명	AC-13		계통명	AC-20
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.3x1.3		과실크기	8.3x1.2
	계통명	AC-22		계통명	AC-24
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.6x1.0		과실크기	4.5x1.3

	계통명	AC-29		계통명	AC-33
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.3x1.0		과실크기	3.5x1.5
	계통명	AC-34		계통명	AC-37
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.4x1.5		과실크기	6.8x1.5
	계통명	AC-41		계통명	AC-47
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.3x1.5		과실크기	5.3x1.3
	계통명	AC-50		계통명	AC-55
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.7x1.2		과실크기	7.3x1.3
	계통명	AC-57		계통명	AC-60
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.3x1.1		과실크기	3.4x1.0

	계통명	AC60-2		계통명	AC65-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.6x1.1		과실크기	5.7x1.0
	계통명	AC-67		계통명	AC-69
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.f</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.6x1.1		과실크기	4.3x1.0
	계통명	AC-71		계통명	AC-73
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.2x1.0		과실크기	5.4x1.2
	계통명	AC-75		계통명	AC-86
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	Y		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.0		과실크기	6.3x1.0
	계통명	AC-88		계통명	AC-89
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.3x1.2		과실크기	6.7x1.5

	계통명	AC-94		계통명	AC-97
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.5x1.0		과실크기	5.8x1.3
	계통명	AC97-2		계통명	AC-98
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.4x1.2		과실크기	5.3x1.1
	계통명	AC-101		계통명	AC106-2
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.3x1.3		과실크기	6.2x1.0
	계통명	AC-116		계통명	AC-118
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.2x1.0		과실크기	5.5x1.1
	계통명	AC-128		계통명	AC-133
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.7x1.0		과실크기	5.2x1.0

	계통명	AC-136		계통명	AC-152
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.5x1.5		과실크기	5.3x1.6
	계통명	AC-155		계통명	AC-156
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.2x1.3		과실크기	6.3x1.5
	계통명	AC-162		계통명	AC-163
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.f</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	과실크기	4.6x1.3		과실크기	8.3x1.5
	계통명	AC-164		계통명	AC175-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	5.3x1.3		과실크기	6.8x1.3
	계통명	AC-179		계통명	AC-181
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.2		과실크기	7.3x1.2

	계통명	AC-183		계통명	AC-184
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.5x1.2		과실크기	7.5x1.4
	계통명	AC-192		계통명	AC-193
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.3x1.0		과실크기	5.6x1.4
	계통명	AC-196		계통명	AC-199
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.3x0.9		과실크기	5.3x1.2
	계통명	AC-205		계통명	AC-206
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.3x1.4		과실크기	6.4x1.2
	계통명	AC-220		계통명	AC-221
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	-		과실크기	-

	계통명	AC-236		계통명	AC-244
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	5.4x1.2		과실크기	5.4x1.3
	계통명	AC-253		계통명	AC254-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.5x1.3		과실크기	5.8x1.2
	계통명	AC-256		계통명	AC259-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.2		과실크기	4.7x1.4
	계통명	AC-261		계통명	AC273-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.5		과실크기	6.8x1.3
	계통명	AC-285		계통명	AC289-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	10.4x1.4		과실크기	8.9x1.4

	계통명	AC-290		계통명	AC299-2
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.8x1.2		과실크기	6.3x1.5
	계통명	AC-303		계통명	AC-305
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.6x1.3		과실크기	6.2x1.5
	계통명	AC-310		계통명	AC-311
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.8x1.5		과실크기	6.9x1.5
	계통명	AC-320		계통명	AC321-2
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.4x1.3		과실크기	6.2x1.3
	계통명	AC-322		계통명	AC-323
	Origin	<i>C.a x C.c</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	8.4x1.5		과실크기	6.2x1.2

	계통명	AC-325		계통명	AC-328
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	8.7x1.5		과실크기	4.6x1.0
	계통명	AC-332		계통명	AC-341
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.6x1.1		과실크기	6.3x1.3
	계통명	AC-342		계통명	AC345-2
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.2x1.1		과실크기	4.3x1.5
	계통명	AC367-2		계통명	AC-372
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.2x1.3		과실크기	7.5x1.3
	계통명	AC375-2		계통명	AC-376
	Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>		Origin	<i>C.a</i> x <i>C.c</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.5x1.1		과실크기	6.4x1.2

	계통명	AC-521		계통명	AF-6
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	과실크기	8.5x1.2		과실크기	5.6x1.2
	계통명	AF-7		계통명	AF-10
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	6.4x1.8		과실크기	5.7x1.2
	계통명	AF-11		계통명	AF-17
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.9x1.4		과실크기	6.5x1.3
	계통명	AF-18		계통명	AF-20
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	과실크기	7.5x1.4		과실크기	6.5x1.1
	계통명	AF-22		계통명	AF-58
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	8.4x1.2		과실크기	7.3x1.2



	계통명	AF-59		계통명	AF-63
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	과실크기	5.3x1.2		과실크기	5.6x1.4
	계통명	AF-66		계통명	AF-71
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	3.5x1.3		과실크기	5.6x1.2
	계통명	AF-82		계통명	AF-86
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	과실크기	5.7x1.2		과실크기	5.5x1.2
	계통명	AF-109		계통명	AF-113
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.8x1.3		과실크기	4.7x1.0
	계통명	AF-115		계통명	AC-121
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.c</i>
	과 색	R		과 색	Y
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	9.5x1.3		과실크기	8.9x0.9

	계통명	AF-121		계통명	AF-124
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.2		과실크기	5.7x1.3
	계통명	AF-140		계통명	AF-154
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.2		과실크기	6.8x1.3
	계통명	AF-156		계통명	AF-187
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.4x1.2		과실크기	7.8x1.3
	계통명	AF-197		계통명	AF202-2
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.6x1.0		과실크기	7.9x1.3
	계통명	AF-202		계통명	AF213-2
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.6x1.3		과실크기	4.6x1.0

	계통명	AF-213		계통명	AF-215
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	5.4x1.5		과실크기	5.3x1.4
	계통명	AF-220		계통명	AF-224
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.2		과실크기	7.3x1.3
	계통명	AF-252		계통명	AF-260
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.8x1.3		과실크기	6.7x1.3
	계통명	AF-270		계통명	AF-275
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.5x1.5		과실크기	5.9x1.3
	계통명	AF-277		계통명	AF-310
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	6.8x1.3		과실크기	6.5x1.3

	계통명	AF-319		계통명	AF-325
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	과실크기	6.7x1.5		과실크기	5.4x1.2
	계통명	AF-326		계통명	AF-332
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.4x1.3		과실크기	6.5x1.2
	계통명	AF-358		계통명	AF-360
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	과실크기	6.6x1.3		과실크기	6.0x1.3
	계통명	AF-361		계통명	AF365-2
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	과실크기	5.7x1.2		과실크기	7.4x1.3
	계통명	AF-365		계통명	AF-370
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	과실크기	6.7x1.3		과실크기	6.4x1.3

	계통명	AF-371		계통명	AF-376
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	7.6x1.4		과실크기	6.4x1.2
	계통명	AF-408		계통명	AF-428
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	5.4x1.1		과실크기	5.3x1.0
	계통명	AF-467		계통명	AF-474
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	과실크기	6.3x1.0		과실크기	4.5x1.2
	계통명	AF-478		계통명	AF-481
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	4.6x1.3		과실크기	5.5x1.2
	계통명	AG-9		계통명	AG-46
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	과실크기	6.3x1.2		과실크기	5.7x1.2

	계통명	AG-47		계통명	AG-67
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	7.8x1.3		과실크기	6.5x1.2
	계통명	AG-97		계통명	AG-113
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	7.4x1.3		과실크기	4.5x1.2
	계통명	AG-117		계통명	AG-119
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	4.6x1.3		과실크기	5.4x1.2
	계통명	AG-127		계통명	AG-131
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	좌실크기	4.6x1.2		과실크기	4.7x1.3
	계통명	AG-145		계통명	AG162-2
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	6.5x1.3		과실크기	5.6x1.2

	계통명	AG-162		계통명	AG-184
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	좌실크기	5.4x1.2		과실크기	7.5x1.4
	계통명	AG-192		계통명	AG-205
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	6.5x1.3		과실크기	6.4x1.3
	계통명	AG-208		계통명	AG-214
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	6.7x1.4		과실크기	4.2x1.3
	계통명	AG-232		계통명	AG-292
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	7.8x1.3		과실크기	5.6x1.4
	계통명	AG-302		계통명	AG-304
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	4.5x1.2		과실크기	6.7x1.3

	계통명	AG-320		계통명	AG-344
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	6.8x1.3		과실크기	7.5x1.5
	계통명	AG-352		계통명	AG-357
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	6.8x1.4		과실크기	5.3x1.1
	계통명	AG-362		계통명	AG-391
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	6.7x1.2		과실크기	4.5x1.2
	계통명	AG-399		계통명	AG-400
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	6.4x1.5		과실크기	5.7x1.0
	계통명	AG-401		계통명	AG-402
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	좌실크기	4.4x1.3		과실크기	6.7x1.3

	계통명	AG-416		계통명	AG-417
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	6.7x1.4		과실크기	5.6x1.4
	계통명	AG-420		계통명	AG-421
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	상향
	좌실크기	7.8x1.4		과실크기	6.9x1.3
	계통명	AG-444		계통명	AG-474
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	5.3x1.2		과실크기	5.7x1.3
	계통명	AG-476		계통명	AG-478
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	좌실크기	6.3x1.2		과실크기	5.8x1.2
	계통명	AG-486		계통명	AG-501
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	좌실크기	5.7x1.2		과실크기	5.4x1.2

	계통명	AG-506		계통명	AG-507
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	상향
	좌실크기	4.8x1.3		과실크기	5.3x1.2
	계통명	AG-508		계통명	AG-520
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	하향		착과습성	하향
	좌실크기	6.3x1.5		과실크기	5.3x1.1
	계통명	AG-526		계통명	AG-530
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	<i>C.a x C.f</i>
	과 색	R		과 색	R
	착과습성	상향		착과습성	하향
	좌실크기	8.4x1.3		과실크기	5.6x1.3
	계통명	AG-535		계통명	
	Origin	<i>C.a x C.f</i>		Origin	
	과 색	R		과 색	
	착과습성	하향		착과습성	
	좌실크기	7,9x1.5		과실크기	
	계통명			계통명	
	Origin			Origin	
	과 색			과 색	
	착과습성			착과습성	
	좌실크기			과실크기	

2. 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression line 육성

- 고추의 탄저병은 *Colletotrichum*속의 4종의 병원균에 의하여 발병한다고 알려져 있으며. 우리나라에서 고추에 탄저병을 일으키는 균은 1990년대 초반까지는 *Colletotrichum gloeosporioides*가 고추 탄저병의 주 병원균주로 보고되어 있었으나 그 후 *Colletotrichum acutatum*이 주종을 이루는 것으로 보고되었음 (김홍태, 2004)
- 이 균에 대한 저항성을 가진 고추 유전자원은 *Capsicum annuum*에는 거의 없고 *C. baccatum*과 *C. chinense* 에서 몇 가지가 보고되었으며 이 재료들은 *Capsicum annuum*과 교배를 하면 정상적으로 배가 성숙하지 않고 퇴화되기 때문에 미숙배 구제방법으로 F₁ 식물체를 얻을 수 있으며 이 F₁은 불임이기 때문에 *Capsicum annuum* 을 backcross하여 획득한 수백개체의 BC₁F₁ 중에서 가임인 80여 개체로 탄저병저항성을 유전분석한 결과 BC₁F₁집단의 내병성이 1:1이나 3:1의 멘델식 분리를 보이지 않고 저항성에서 이병성까지 연속변이를 보였으며 광의의 유전력이 0.61을 보여 고추 탄저병저항성은 다수의 유전자에 의한 양적유전을 한다고 보고하였음 (윤재복 등, 2009)
- 고추 탄저병은 역병, 바이러스병과 더불어 해마다 고추재배에서 많은 피해를 입히는 주요 병으로서 주로 비바람에 의해서 전염되므로 고추 주 재배기간이 장마 및 우기와 겹치는 우리나라에서는 고추 재배 안정성에 영향을 많이 미치는 요인임
- 특히 2011년도는 여름 내내 계속된 강우로 약제 방제를 제대로 실시하지 못해 탄저병 발생이 극심했던 해였다. 탄저병에 의한 피해는 약 30%정도의 수확량 감소를 초래했고 건고추 가격은 예년 수준의 2.5배 이상 폭등하였으며 국내 고추 자급률은 45%를 밑돌 것으로 추정되고 있음
- 본 연구에서는 탄저병 저항성이 있는 유전자원으로 알려진 PI594137(*C. baccatum*)을 수집하여 탄저병에 대한 저항성 검정 후 1차 선발하고 이들 개체의 후대에 대하여 2차 년도에 노지에 재배하여 자연감염에 의한 탄저병 저항성 검정의 재 실시하여 저항성 2개체를 선발하였음 (그림 149-151)
- 이 계통을 이용하여 PR29B등 몇 개의 *C. annuum*과 교배 후 F₁ 종자를 획득하였음 (그림 152). *C. annuum* x *C. baccatum* 조합의 교배 결과 배가 퇴화되어 정상적으로 결실된 정상적인 종자를 얻지 못하였으나 PI594137 (*C. baccatum*) x PR29B (*C. annuum*) 조합은 정상적으로 결실 되었으며 발아도 정상적으로 되어 완전한 식물체로 생육하였으나 임성은 불임이었음
- 이 F₁ 식물체를 이용하여 *C. annuum*으로 교배하여 착과시킨 후 탄저병 저항성 검정 및 BC₁F₁을 BC₁F₁ 종자를 확보하였음 (그림 153)



그림 149. PI 594137착과모습

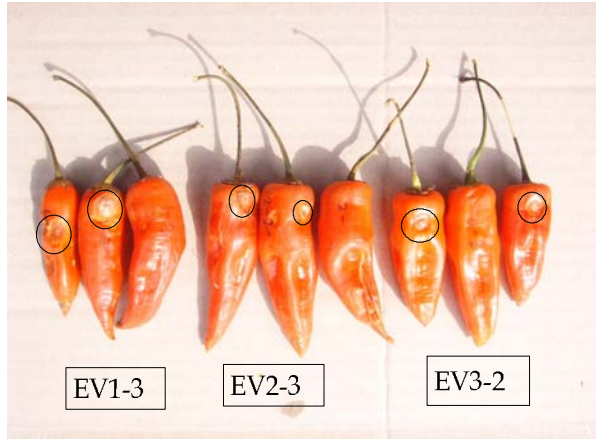


그림 150. 탄저병검정선발 (원안은 탄저병징)



그림 151. PI594137 분리계통간 저항성 차이



그림 152. PI594137x역강B F₁ 정상종자 결실



그림 153. BC₁F₁의 과실(좌), BC₁F₁교배 모습(중), *C. baccatum*, F₁, *C. annuum* 꽃모양(우, 순서대로). *C. baccatum* x *C. annuum*의 교배는 배의 퇴화에 의하여 F₁종자의 결실이 불가능하다고 보고되어 있으나 본 실험에서 사용된 계통 간에서는 정상적으로 종자를 맺었고 (그림 152), 과종 후 정상적으로 발아, 개화 하였으나 (그림153-우) 불임이어서 역강B를 반복친으로 BC₁F₁를 작성함 (그림153-좌)

○ PI594137 x *C. annuum* F₁을 이용하여 노지에서 *C. annuum*의 꽃가루로 수정시켜 착과된 F₁과실 (BC₁F₁종자가 들어있음)에 대하여 2009년에 탄저병 저항성을 조사한 결과 F₁은 양친의 중간정도의 저항성을 보였음 (그림 154)

- 2009년도에 교배된 BC₁F₁을 파종한 결과 오직 한 알만 발아하여 이 개체의 액아를 이용하여 접목하여 개체를 증식 후 포트에 심어 노지에서 탄저병저항성을 검정한 결과 아쉽게도 이병성으로 판명되었음 (그림 155, 156)
- 2010년도에 얻어진 충분한 BC₁F₁종자를 파종한 결과 BC₁F₁세대도 (*C. baccatum* x *C. annuum*) x *C. annuum* type은 임성회복률이 매우 낮았음 (표32 참조)
- 그리고 탄저병 저항성 수준을 향상시키기 위하여 backcross에 쓸 *C. annuum*계통을 탄저병에 비교적 견디는 재료로 엄선하여 사업을 진행할 예정이며, F₁단계에서 종자를 사업단에 공유하여 각사별로 저항성 재료육성을 병행하여 효율을 높이고자 하였음



그림 154. PI594137 x PR29B F₁(A)불임이어서 *C. annuum*으로 교배하여 착과시킨 후 탄저병 검정함 (B)



그림 155. BC₁F₁ 탄저병에 이병된 모습



그림 156. 같은 시기 일반계통의 탄저병 이병상태

○ 2010년도에 실시한 탄저병 저항성 검정결과 An6(BC₁F₁), An12(BC₁F₁), An20(BC₂F₁) 세 집단에서 내병성 수준이 높게 조사되어 선발하였음 (그림 157-161)



그림 157. PI594137xC.annuum BC₁F₁ 노지탄저병검정



그림 158. An12-15 (PI594137x역강B)x역강B BC₁F₁

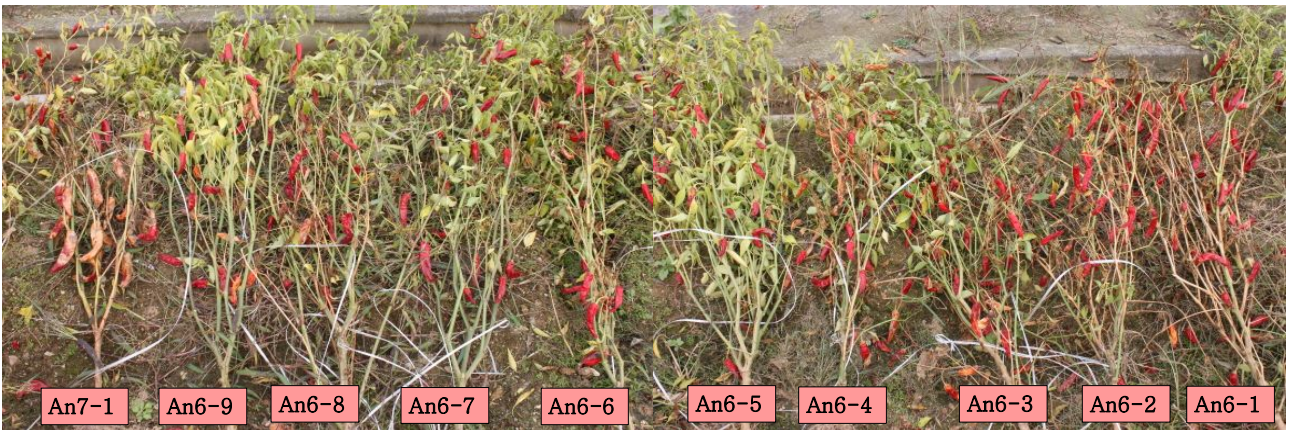


그림 159. BC₂F₁ - PRBx(PIxPRB) 임성은 대체로 양호함. 내병성수준도 An6-1과 AN6-5, An6-7, An6-8 은 중도저항성 이상을 나타내어 선발하였으며 후대 충분한 개체를 확보하여 내년도 내병성 검정예정



그림 160. An20-16 높은 수준의 저항성



그림 161. An20-22 매우 높은 수준의 저항성

표 32. 탄저병포장검정세대별 임성

No.	세대별	교배형*	임성	No.	세대별	교배형	임성
An1	BC ₁ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	미발아	An16	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An2	BC ₁ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	미발아	An17	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An3	BC ₁ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	MF	An18	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An4	BC ₁ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	분리	An19	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An5	BC ₁ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	미발아	An20	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	분리
An6	BC ₂ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	MF	An21	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An7	BC ₁ F ₁	<i>ax(bxa)</i>	MF	An22	BC ₂ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	미발아
An8	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	분리	An23	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An9	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS	An24	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS
An10	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS	An25	P	<i>b</i>	baccatum
An11	BC ₂ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	미발아	An26	P	<i>b</i>	baccatum
An12	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	분리(석과)	An27	P	<i>b</i>	baccatum
An13	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS	An28	P	<i>b</i>	baccatum
An14	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS	An29	P	<i>b</i>	baccatum
An15	BC ₁ F ₁	<i>(bxa)xa</i>	MS	An30	P	<i>b</i>	baccatum

*교배형 *a* : *C. annuum*, *b* : *C. baccatum*

- 2010년도에 선발된 AN6 및 AN8의 후대들에 대한 탄저병 검정에서 비교적 강한 개체를 선발하였음 (그림 162-164)
- 이 선발된 개체들은 생육 중반기까지는 저항성을 보이거나 생육 후기로 접어들면서 발병이 시작되는 정도의 저항성을 보였음. 최종적인 탄저병 저항성 수준은 잦은 강우에 의한 토양 병해인 역병에 이병된 개체들이 많이 발생하여 다음세대에서 다시 검정할 예정임



그림 162. AN6의 후대들 중 탄저병에 비교적 강한 것으로 선발된 개체들



그림 163. AN6의 후대들 중 탄저병에 비교적 강한 것으로 선발된 개체들



그림 164. AN8의 후대들 중 탄저병에 비교적 강한 것으로 선발된 개체들

- (*C. baccatum* x *C. annuum*) x *C. annuum* 조합 중 CMV 내병계인 VP5계통을 Backcross 한 조합의 후대에서는 수술이 퇴화한 개체들이 많았으며 후기 고온기에 접어들어 일부 개체에서 임성이 회복되어 후기 착과되는 경향을 보여 OP종자를 확보하여 계속해서 탄저병 저항성 검정을 실시할 예정임 (그림 165)



T85



T85



- $(bxa)OPxa$ 은 수술이 퇴화한 MS출현 높음.
- 고온기에 일부 약에서 화분발생 → 후기착과

그림 165. $(C. baccatum \times C. annuum) \times C. annuum$ 조합 중 CMV 내병계인 VP5계통을 Backcross한 조합의 후대 식물체의 사진

- 이 과제에서는 탄저병 저항성 중간모본 육성까지를 목표로 하였기 때문에 Introgression 중간 조합을 이미 각 참여기업에 기 분양하였음
- 본 사업단에 참여한 각각의 종자회사들별로 재료 육성이 진행되고 있고 본 과제에서 선발된 계통들은 현재의 저항성 수준이 상업적으로 활용가능한지 여부를 지속적으로 검정할 예정임
- 본 과제가 종료된 이후라도 또한 새로운 *C. baccatum* 저항성 재료가 찾아지면 *C. annuum*과 교배장벽을 극복하는 중간모본으로 활용할 수 있으리라 생각됨

PART II. 분자마커를 이용한 내병성 계통 육성 및 품종 개발

제 1절 분자마커를 이용한 바이러스, 세균성반점병, 역병, 청고병에 내병성인 계통육성 및 품종개발

제 1항 연구개발의 범위, 수행방법 및 수행내용

1. 바이러스 저항성계통 및 품종 육성

- 바이러스저항성 검정 - 마커검정 및 생물검정 : 분자마커(CMV C₀)를 이용한 저항성 형질 도입 확인 (분리계통, BC세대 및 신규조합)
- 원예적 형질 평가 - CMV C₁에 대하여 생물검정을 통한 저항성 검정 (F₃ 분리세대 검정)
- 계통육성 (교배) - 여교잡육종 및 순계육종법 수행 : 제웅교배 및 자가 교배, F₁ 조합교배
- F₁ 조합성능검정 수행 - 원예적 형질 평가 : 연구소 포장에서 F₁ 신규조합 성검, 지역시험 포장에서 시교 성능검정 수행

2. 세균성반점병 저항성조합 및 계통육성

- 세반병 저항성 검정(마커검정) : 분자마커(Bs2)를 이용한 저항성 형질 확인 및 선발
- 계통육성(여교잡육성법) : 계통육성을 위하여 BC₁F₁과 BC₂F₁을 작성하여 내병성 형질을 도입
- 원예적 형질 특성평가 : 포장 재배시험-원예적 형질 평가 (계통:BC₂F₂ ~신규F₁조합)

3.역병 저항성 계통 및 품종 육성

- 역병 저항성 검정 : 생물검정을 통한 저항성 형질 확인 및 선발
- 원예적 특성 평가 : 포장재배 시험을 통한 원예적 형질 평가(계통 F₂ ~ F₆, 신규조합)
- 조합작성 및 계통 육성 (교배) : 교배시험(저항성 계통 분리 및 선발 교배, 신규저항성 조합 작성 교배, 분리계통 형질 고정)

4. 청고병 저항성 계통 육성 및 조합 작성

- 청고병 저항성 검정 : 생물검정을 통한 저항성형질 확인 및 선발
- 원예적 특성 평가 : 선발된 계통들에 대해 생물검정을 통한 저항성 형질 확인 및 선발
- 계통육성 : 재배시험을 통한 원예적 형질 평가(F₃ ~ F₄)
: F₁교배조합 작성 : 저항성 계통에 대한 조합 작성

제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 도입종 성능검정 : 내병성 육종소재 활용을 위한 시험

- 수집된 도입종(품종과 계통 포함) 407점에 대하여 대농종묘 평택육종연구소(이하 연구소)내에서 재배시험을 통해서 내병성 개체를 선발함
- 선발된 개체에 대하여 ㈜에프엔피에서 기존에 이미 개발된 고추분자마커 및 새롭게 개발된 분자마커를 이용하여 검정을 실시 포장표현형과 마커분석을 상호 비교하여 분석결과를 토대로 내병성 개체를 선발하고 계통육성의 재료로 활용함
- 연구수행 기간 중 총407점의 도입종재료를 도입하여 특성평가시험을 통하여 바이러스저항성, 역병저항성 등 우수형질 계통 31계통을 선발하여 계통 및 품종육성에 활용함 (표 1, 그림 1)

표 1. 도입종 주요선발 계통 특성표

번호	과종 번호	계통명	주요특성	진행예정
1	PE13	건고추형	바이러스강(RR type), 역병저항성강, 청고병 저항성강, 초형중장, 신미가 약함, 과색 농록	유전인자 분석 후 대목 및 복합저항성 재료 활용
2	PE23	건고추용	바이러스중강(rr type), 숙기 늦고, 고색소, 신미가 강함, 과색농록, 과형우수	분리 후 계통선발
3	PE46	중국양각형	바이러스 강(RR type), 중조생종, 절간이 짧음, 신미가 약함, 과색 농록	분리 후 계통 선발
4	PE53	중국양각형	바이러스 강(Rr type), 중생종, 초형중장, 신미가 약함, 과색 농록	분리 후 계통 선발
5	PE5	중국양각초	바이러스 강(RR type), 양각초형	유전인자 분석 후 고추 대목 및 복합 저항성 재료 활용
6	P133	중간교배	과색 연두색, 소형과, 탄저병 저항성(F ₁)	BC ₁ 교배

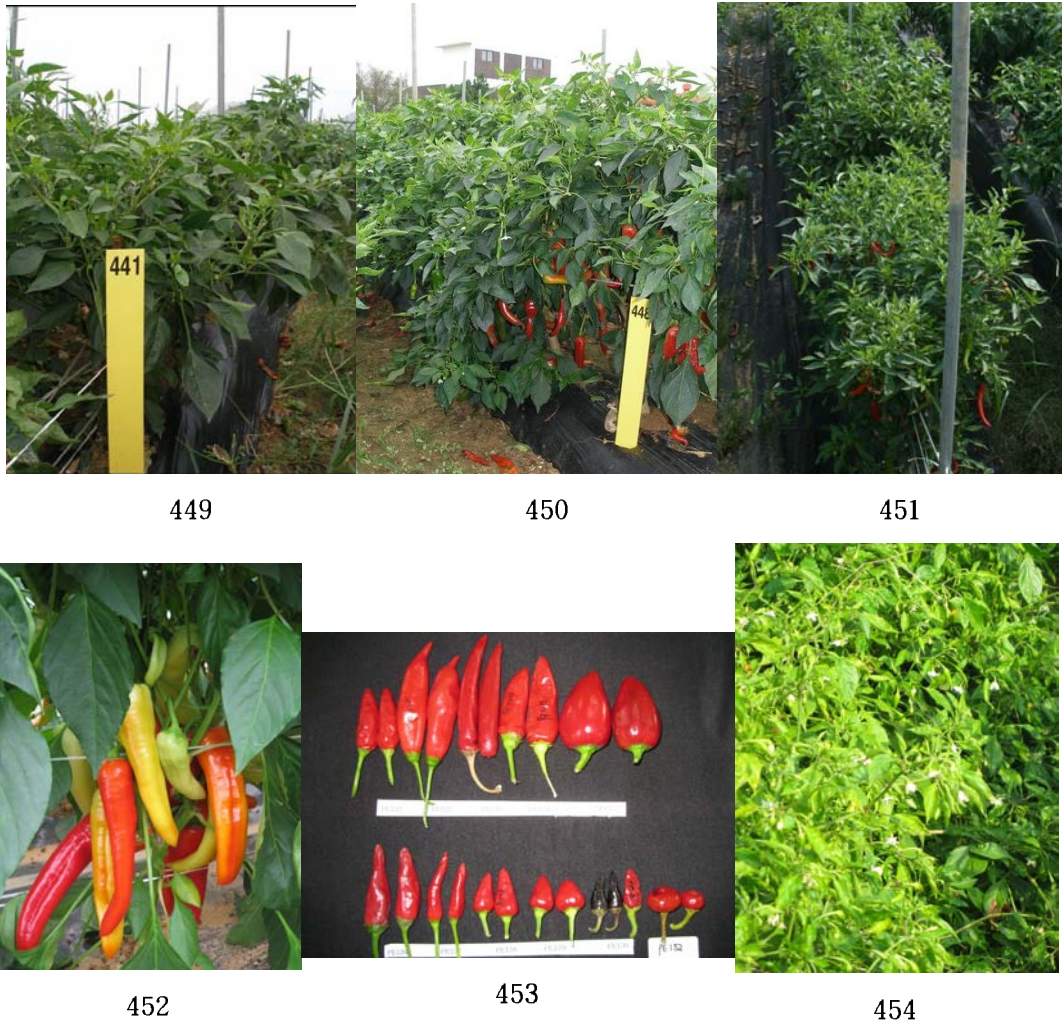


그림 1. 주요 도입종 선발 사진

2. 바이러스(CMV) 저항성 계통 및 품종 육성

가. 국내용 바이러스 저항성 계통 및 조합 선발

1) 국내용 바이러스 저항성 계통 육성

- 국내용 바이러스저항성 계통을 육성하기 위하여 CMV C₀ strain과 CMV C₁ strain에 저항성인 육성 재료를 찾기 위하여 기존 보유하고 있는 바이러스저항성 계통(포장저항성) 177점을 CMV분자마커 및 생물검정을 통하여 바이러스저항성 검정 후 그 후대들에 대하여 년차별로 총 1,155점에 대한 원예적 형질 및 저항성 평가 수행함
- 바이러스 저항성 평가는 각 CMV의 strain별로 저항성을 평가하고 각각의 저항성재료를 grouping한 후 저항성 계통을 육성하고 유전분석을 수행함
- CMV C₀ strain에 대한 저항성 재료는 국내품종 중에도 많이 존재하고 있으나 CMV C₁ strain에 대한 저항성은 국내 시판품종에서는 나타나지 않았으며 당사가 보유하고 있는 남방계 (PAN722) 계통에서 저항성이 확인됨. 이들 저항성 재료를 활용하여 Backcross와 Pedigree육종법으로 B-line(maintainer) 및 C-line(restore)을 육성함
- B-line (maintainer) 및 MS-line 계통육성 : CMV C₀ strain에 대한 저항성 재료 (DJBD)를

활용하여 원예적 형질이 우수한 조생대과계 B-line에 교배한 후 (BC₅) 후대에 대하여 저항성 평가 및 원예적 형질, 인자분석(분자마커 활용)을 통하여 후대를 선발한 후 형질이 고정된 B-line 1계통 (PK8B)을 기존 엘리트 MS-line에 Backcross (BC₆)하여 MS-line 1 계통을 육성하였음. 세대축진을 위해 해외 농장 (중국 해남도) 활용

- C-line (restore) 계통육성 : restore인자가 안정된 CMV C₁ strain에 저항성인 계통을 기존 원예적 형질이 우수한 C-line에 교배한 후 저항성 및 원예적 형질, 인자분석(분자마커 활용)을 평가하며 Backcross와 Pedigree육종법으로 4 계통을 육성하였음. CMV C₁ strain에 저항성인 계통은 CMV C₀ 분자마커에는 rr로 나타나 선발이 어려워 생물검정을 통하여 계통을 수행함. 저항성계통을 편친으로 하여 F₁조합을 작성하여 저항성 검정을 실시한 결과 F₁에서 중도 저항성으로 CMV C₀ strain(저항성)과 다른 저항성 유전양식 확인됨

2) 국내용 바이러스저항성 품종 개발

- 당사에서 기 육성된 바이러스 저항성계통을 활용하여 5년간 457개의 F₁조합을 작성하여 포장재배시험, 분자마커 및 생물검정을 통하여 (표 2~7) 22개 조합을 선발한 후 (표 8~10) 지역연락시험 및 적응성시험 후 최종 2조합을 선발하여 품종보호를 출원함 (더블건, 홍대플러스)
- 더블건은 극대과종으로 바이러스가 중강으로 숙기가 빠르며 건과품질이 우수하고 신미는 중정도이며 홍대플러스는 바이러스 (CMV C₀ strain)에 매우강하고 극대과종으로 중생종이며 다수성으로 건과품질이 우수하고 신미도는 강함 (그림 2)

표 2. 1년차 바이러스저항성 분자마커 검정시험 결과

구 분	검정계통수	선발계통수	비고
국내용 계통	177	11	선발 후 후대검정
국내용 조합	9	3	포장 성능검정
계	286	14	

표 3. 2년차 바이러스저항성 분자마커 및 생물검정시험 결과

구 분	marker 검정 수	marker 유전형			생물검정 (C ₀ , C ₁)	선발 계통수	비 고
		RR	Rr	rr			
국내용 계통	139	42	47	50	39	9	
국내용 조합	23	12	6	5	-	8	복합저항성은 제외
계	162	54	53	55	39	17	

표 4. 3년차 바이러스저항성 분자마커 및 생물검정시험 결과

구 분	marker 검정 수	marker 유전형			생물검정 (C ₁)	선발 계통수	비 고
		RR	Rr	rr			
국내용 계통	377	102	83	192	414	11	
국내용 품종	15	5	9	1	-	-	국내신품종
계	392	107	92	193	414	11	-

표 5. 4년차 바이러스저항성 분자마커 및 생물검정시험 결과

구 분	marker 검정 수	marker 유전형			생물검정 (C1)	선발수	비 고
		RR	Rr	rr			
국내용 계통	206	71	54	81	17	9	육성재료
국내용 품종	13	6	6	1	9	2	PED72,홍대플러스
계	219	77	60	82	26	11	

표 6. 5년차 바이러스저항성 분자마커 및 생물검정시험 결과

구 분	검정 계통 수	marker 유전형			비 고
		RR	Rr	rr	
국내용 계통	219	118	41	60	육성재료
계	219	118	41	60	

표 7. CMV 분자마커 및 생물검정 결과(5년차 통합결과)

년차	구 분	marker 검정 수	marker 유전형			생물검정 (C ₀ , C ₁)	선발 계통수	비 고
			RR	Rr	rr			
1년차	계통	-	-	-	-	177	11	포장검정 선행
	조합	9	-	-	-	58	3	
2년차	계통	139	42	47	50	39	9	
	조합	23	12	6	5	-	8	
3년차	계통	377	102	83	192	414	11	포장검정 선행
	조합	15	5	9	1	-	-	
4년차	계통	206	71	54	81	17	9	
	조합	13	6	6	1	9	2	
5년차	계통	219	118	41	60	-	-	
		-	-	-	-	-	-	
합계		1,001	356	246	390	714	53	

*1,3년차 포장검정 선행 후 마커검정실시

*2,4,5년차 마커검정실시 후 포장저항성확인

*개통검정수 (1년차:177,2년차:139,3년차:414,4년차:206,5년차:219 총합계

표 8. 바이러스 저항성 육성계통 및 품종 특성

번호	계통명	주요 특성	진행상황
1	MS-line(PK8)	BC6세대, CMV강(RR type), 중대과, 조숙, 착과력 우수, 건과품질 우수, 신미 약	시교(DNP64)
2	PK8B: B type	PEA3과 특성 동일	
3	HS16: B type	우각초 형(23cm), F6세대, 마커검정 CMV저항성 강(RR type), 과형 우수, 대과계, 조생, 착과력 우수, 신미 약	형질고정 후 MS-line에 BC ₂
4	DNP44C: C-Type	F6 세대,CMV 강(RR type),중생, 건과 우수, 신미 강, 형질고정	홍대플러스 부계
5	DNP61C: C type	F7 세대,CMV 강(RR type),중생, 과형 우수, 건과 품질 우수, 신미 중, 형질고정	시교DNP61 부계
6	CM1 : C type	F7세대,CMV C ₁ 에 저항성, 착과력우수, 중과(10cm), 세장과, 중만생	2011년조합 작성
7	CM2 : C type	F7 세대, CMV C ₁ 에 저항성, 착과력 우수, 중대과(12cm),세장과, 만생	2011년조합 작성
8	홍대플러스	CMV 강(RRtype), 중생 중, 과형 우수, 건과품질 우수, 신미 강, 건·물고추 겸용	2010년 생산판매신고
9	더블건	CMV 중강, 조숙, 수량성 높음, 극대과, 신미 약, 석회결핍 중강, 건과품질 우수	2010년품종보호출원

표 9. 선발계통(바이러스) 주요형질 특성표

주요특성	MS-line (PK8)	PK8B	HS16	DNP44 C	DNP61 C	CM1	CM2	비고
바이러스 저항성	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	4	4	강(4)~약(1)
CMV marker	RR	RR	RR	RR	RR	rr	rr	
역병 저항성	1	1.5	1.5	1.5	2	2	2	강(4)~약(1)
초장 (간장)	중장	중장	중	장	중	중	중장	
신미도	2	2	2	3	4	3	2	강(4)~약(1)
숙기	2	2	3	2	3	2	2.5	빠름(4)~늦음(1)
수량성	3.5	3.5	3	3	3	4	4	많음(4)~적음(1)
과 품질	상	상	중상	상	상	중	중	
과 크기	3	3	4	3	3	3	3.5	대(4)~소(1)
칼슘결핍	3	3	3	4	3	4	4	강(4)~약(1)
열과	3	3	3	3.5	3	3	3	강(4)~약(1)

표 10. 바이러스저항성 선발 조합 및 품종 특성표

주요특성	바이러스 저항성	수량성	숙기	과품질	과크기	신미도	칼슘결핍	열과	초장	비고
대들보	4	4	3	3	4	2	4	3	3	대비종
부춘	4	3	3	3	3	2	3	3	4	대비종
홍대플러스	4	4	2.5	4	3	4	4	3	4	생산판매신고
더블건	3	4	4	4	4	2	3	2	3	품종보호출원

* (4): 병에 강함, 수량성 많음, 숙기 빠름, 과 품질 양호, 신미도 강함, 칼슘결핍과 열과 강함, 초장 짧음
 (1): 병에 약함, 수량성 적음, 숙기 늦음, 과 품질 불량, 신미도 약, 칼슘결핍과 열과 약함, 초장 김



1, 2



3



4



5



6



7



홍대플러스(F1) 연락시험 (보은)

홍대플러스부계:DNP44C

그림 2. 바이러스 저항성 선발 계통

나. 중국 수출용 바이러스저항성 품종 육성

- 중국수출용 바이러스 저항성 계통을 육성하기 위하여 5년 동안도입종 368점을 도입하여 포장재배시험 및 분자마커를 활용하여 바이러스에 저항성인 39점을 선발한 후 (표 11, 표 12) 기존 보유하고 있는 MS-line을 활용하여 F₁조합을 작성한 후 포장재배시험을 통하여 바이러스에 저항성이며 과형이 우수한 2품종 (鴉靑11:CDNP11, 鴉靑44:CDNP44, 그림 3, 그림 4) 선발함
- 중국에 현지 연락시험 및 지역적응성 시험을 완료하고 F₁종자 생산함
- 현지 연락시험결과 바이러스에 강하고 과형도 우수하나 과장이 다소 작다 (22cm 내외)는 평가 있으며 지속적인 시장개발 후 판매 예정임

표 11. 중국용 CMV분자마커 및 생물검정 결과

년차	구 분	marker 검정 수	marker 유전형			생물검정 (C ₀ , C ₁)	선발 계통수	비 고
			RR	Rr	rr			
1년차	계통 및 조합	12	-	-	-	-	2	포장검정
	도입종	136	-	-	-	-	14	
2년차	계통 및 조합	83	14	6	63	2	2	
	도입종	70	12	10	48	-	5	
3년차	계통 및 조합	30	19	5	6	-	4	
	도입종	22	6	6	10	-	12	
4년차	계통 및 조합	8	3	5	0	-	-	
	도입종	7	0	0	7	-	-	
합계		368	54	32	13 4	2	39	

표 12. 중국용 바이러스 저항성 주요 선발 계통 및 조합 특성표

과종번호	계통명	주 요 특 성	비고
鴉靑11	CDNP 11	중국수출용우각형, 바이러스에 중강(rrtype:마커검정), 과색이 연녹색으로 과형이 우수하여 시장성이 좋음, 3실방으로 수송성 우수, 극대과종(23cm)	시교사업진행: 광저우교역회출품
鴉靑44	CDNP 44	중국수출용우각형, 포장시험시 바이러스에 강(Rrtype:마커검정), 절간이 짧고 착과력이 좋으며 수량성이 높음, 후기에도 초세가 강함	시교사업 진행 : 광저우교역회 마커검정 기여도 10%



그림 3. CDNP11(鴨青11)중국 수출용 품종(광저우중자교역회)



그림 4. CDNP44(鴨青11) 중국 현지 연락시험(북경)

3. 역병저항성 계통 및 품종육성

가. 역병저항성 계통 선발 및 F₁조합 성검

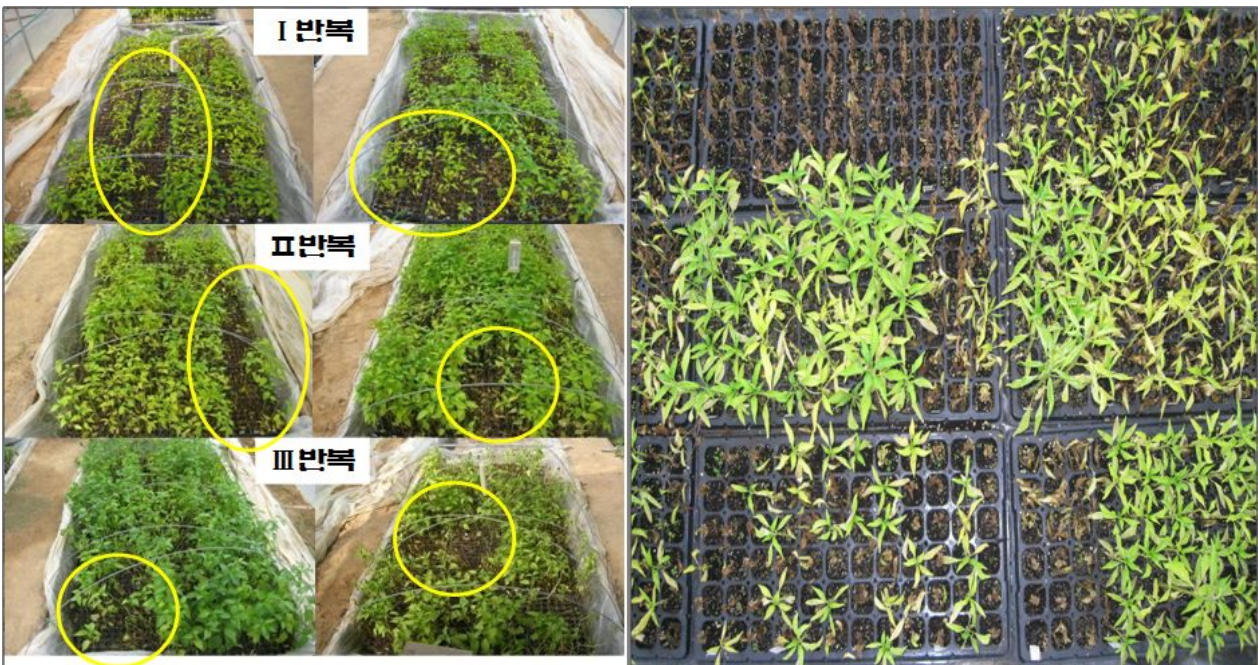
1) 역병저항성 계통 육성

- 역병저항성 계통의 육성하기 위하여 AC2258과 CM334유래 육성 계통을 활용하여 기존 엘리트 계통과 교배 후 Backcross와 pedigree육종법을 통하여 계통을 육성함
- 계통선발은 생물검정법을 이용한 역병저항성검정 및 포장재배시험을 통한 원예적 형질 및 포장 병저항성을 검정 수행함
- 역병검정을 위하여 자사내 보유 균주 중 가장 병원성이 강한 균주 (dnph-2)를 활용하여 저항성 검정을 수행함. 저항성 검정 계통은 5년 간 총 916계통 (대비중제외)을 년 차별로 계통을 검정한 후 103개의 저항성 계통을 선발하고 그 중 원예적 형질(수량성, 과특성, 품질 등)이 우수한 10계통을 최종 선발함
- 육성된 계통은 B-line(maintainer) 5계통, C-line(restore) 5계통임

- B-line(maintainer) 및 MS-line 계통육성 : 역병저항성 재료를 활용하여 원예적 형질이 우수한 조생 대과계 B-line에 교배한 후(BC₂) 후대에 대하여 저항성 평가 및 원예적 형질, 인자분석(분자마커 활용)을 통하여 후대를 선발한 후 형질이 고정된 B-line 5계통을 기존 엘리트 MS-line에 Backcross(BC₂)
- C-line(restore) 계통육성 : restore인자가 안정된 역병저항성 계통을 기존 바이러스에 저항성이며 원예적 형질이 우수한 C-line에 교배한 후 저항성 및 원예적 형질, 인자분석 (분자마커 활용)을 평가하며 Backcross와 Pedigree육종법으로 계통육성

2) F₁ 조합 작성 및 품종 개발

- 앞서 선발된 10계통과 기 개발된 역병저항성 계통을 활용하여 작성한 680개의 F₁조합들에 대해서 5년 동안 포장재배시험 후 원예적 형질이 우수한 141조합을 선발한 후 역병저항성 검정을 위하여 생물검정 (접종실험, 그림 5, 표13~18)을 실시하여 역병에 저항성이며 원예적 형질이 뛰어난 조합을 최종 18조합을 선발함 (그림 6, 표 19~22)
- 최종 선발된 조합은 년차별 지역 연락시험(전남, 충북, 충남) 및 적응성시험 후 성능이 우수한 3개 조합을 선발하여 생산판매신고 후 품종보호출원(신파위불사조, 아우토반, 천하일색)을 실시함
- 신파위불사조는 역병과 바이러스에 강한 복합저항성 품종으로 신미가 강하고 건과품질이 우수한 품질계로 과는 중대과에 속함
- 아우토반품종은 역병과 바이러스에 강한 복합저항성 품종으로 다수성이며 건과품질이 우수하고 신미가 강하며 재배적응성이 높은 품종이며 전국 대부분에서 재배가 가능한 품종임 (그림 7, 그림 8)
- 천하일색 품종도 역병과 바이러스에 저항성인 복합내병성 품종으로 특히 바이러스에 강하여 재배안정성이 우수하며 다수성 품종임 (그림 9)



분자마커 개발을 위한 계통 검정

역병저항성 계통 및 품종 검정

그림 5. 역병검정실험 결과

표 13. 1년차 (2007년) 역병저항성 생물검정 결과

구 분	검정 수	내병성 선발 계통	최종선발계통수 (원예적 형질)	비고
계통	334계통	57	8	검정 후 특성조사
조합	23조합	11	2	포장선발 후 검정
계	357	68	10	

표 14. 2년차 (2008년)역병저항성 생물검정 결과

계통	생물검정 계통	선발계통	비고
MS-line	2	1	중도저항성
C-line type	105	17	조합작성
B-line type	15	31 (분리개체)	임성조사
조합	33	7	2007년 선발조합: 4 2008년 신규조합: 3
계	155	56	

표 15. 3년차 (2009년)역병저항성 생물검정 결과

계통	검정계통수	저항성 계통	선발계통	비고
계통	171	20	10	
조합	27	12	3	시교 포함
대비종	16	7	-	
계	214	39	13	

표 16. 4년차 (2010년) 역병저항성 생물검정 결과

구분	검정계통수	저항성 계통	선발계통	비고
계통	87	19	9	
조합	43	12	3	시교 포함
대비종	7	3	-	
계	137	34	12	

표 17. 5년차 (2011년) 역병저항성 생물검정 결과

구 분	검정계통수	저항성계통수	선발계통수	비고
계통	61	19	9	
조합	15	12	3	시교포함
대비종	16	7	-	
계	92	38	12	

표 18. 역병 저항성 생물검정 결과

회차	구 분	검정계통수	저항성계통수	선발 계통수	비 고
1년차	계통	334	57	8	
	조합	23	11	2	
2년차	계통	122	-	49	
	조합	33	-	7	
3년차	계통	171	20	10	
	조합	27	12	3	
	대비종	16	7	-	
4년차	계통	87	19	9	
	조합	43	12	3	
	대비종	7	3	-	
5년차	계통	61	19	9	
	조합	15	12	3	
	대비종	16	7	-	
합계	계통	775	115	85	
	조합	141	47	18	
	대비종	39	17	-	
	합계	955	179	103	

표 19. 역병 저항성 선발 계통 및 조합 주요 특성표

번호	계통명	주요특성	비고
1	B-line type: PRBCKP5	F ₆ 세대, 역병 강, 대과, 조숙, 착과력 우수, 신미 강	2008년 B31 : MS-line BC2
2	B-line type: PRPK8DY4	F ₆ 세대, 역병과 바이러스(CMV RR)에 복합 저항성, 착과력 우수, 과형우수, 신미 중강	2009년B20: MS-line BC2
3	B-line type: PRDNP16DY 4	F ₅ 세대, 역병과 바이러스(CMV RR)에 복합 저항성 계통, 건과 우수, 신미 중강	2009년B28:BC2
4	B-line type: PRDNP16YK 5	F ₆ 세대, 역병저항성, 조숙, 과형 우수, 신미 강	2009년 B40 : BC2
5	B-line type: PRBCKP6	F ₆ 세대, 역병저항성, 조숙, 과형 우수, 극대과 (15cm), 신미 강	2010년 B30 : BC2
6	C-line type: 2006P10	F ₆ 세대, 역병과 바이러스병에 강함, 과형우수, 건과 우수, 착과력 우수, 조숙, 신미강	아우토반 부계
7	C-line type: PRDY6	F ₇ 세대, 역병과 바이러스(CMV:RRtype)에 복합저항성 계통, 조합능력우수, 건과우수, 숙기가 늦음	2009년 PED130, 2010년 PED140 조합 부계
8	C-line type: PRHNSK7	F ₈ 세대, 역병 저항성, 바이러스저항성 중강, 과형 우수, 착과력 우수, 후기 세력 우수	천하일색 부계
9	C-line type : PVDY7	F ₇ 세대, 역병과 바이러스(CMV:RR type)에 복합저항성, 과형우수, 신미강, 건과품질우수, 중생종	09년 PEC109 선발 계통, 2011년 조합능력 확인
10	C-line type: HNSK2	F ₆ 세대, 역병과 바이러스(CMV:RR type)에 복합저항성계통, 장과형, 중생종	2009년 PEC112 선발
11	신파워불사조	역병과 바이러스 복합저항성(CMV:RR type), 조숙, 착과력우수, 건과우수, 신미강, 중대과	2010년 품종보호출원
12	아우토반	CMV강(RR: type), 역병중강, 중만생, 과형우수, 신미중강, 건과우수	2011년 품종보호출원
13	천하일색	역병과 바이러스(CMV RR type)에 복합저항성, 과형우수, 신미강, 건과품질우수, 수량성 높음	2011년 품종보호출원

표 20. 선발계통 주요형질 특성표

주요 특성	PRBC KP5	PRPK 8DY4	PRDNP 16DY4	PRDNP 16YK5	PRBC KP6	2006 P10	PRDY6	PRHN SK7	PVDY7	HNSK2	비고
역병 저항성	3.5	3.5	4	4	3.5	3	3.5	3	3	3	강~약
바이러스 저항성	2	3.5	3.5	2.5	2	3	3	3	3	3	강~약
CMV MARKE R	rr	RR	RR	RR	rr	RR	RR	RR	RR	RR	
초장 (간장)	중	중	중장	중장	중단	중	장	중	중	중장	
신미도	4	3	3	4	4	4	2.5	3	3.5	2	강~약
숙기	4	3	2.5	2.5	3.5	3	2	3	2.5	2.5	빠름~ 늦음
수량성	3.5	4	4	3.5	3	3	3	3.5	3.5	3	많음~ 적음
과품질	중	상	상	상	중상	상	상	중	상	중	
과크기	4	3.5	3	3	4	3	3	3	3	3.5	대~소
칼슘결핍	4	3	3	4	4	3	4	2.5	4	3	강~약
열과	4	4	4	4	3	4	4	3	4	4	강~약

* (4) : 병에 강함, 수량성 많음, 숙기 빠름, 과품질 양호, 신미도 강함, 칼슘결핍과 열과 강함, 초장 짧음

(1) : 병에 약함, 수량성 적음, 숙기 늦음, 과품질 불량, 신미도 약, 칼슘결핍과 열과 약함. 초장 김



1

2

3

4



5

6

7

8



9

10

그림 6. 역병저항성 선발 계통

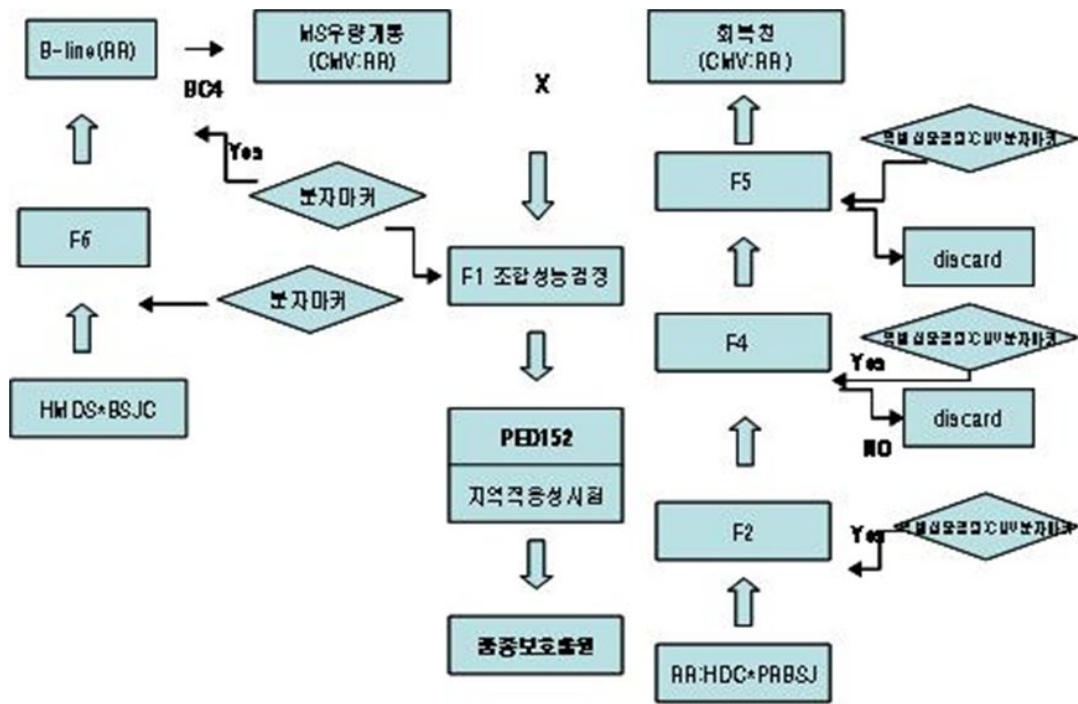


그림 7. 아우토반 육성도



아우토반

2006P 10

그림 8. 아우토반과 부계친(2006P10)



천하일색

PRHNSK7(부계)

그림 9. 천하일색과 부계친

표 21. 역병선발조합 및 시교, 신품종 주요형질 특성표

주요특성	독야청청	무한질주	일월산천	신파워 불사조 (DNP47)	천하 일색 (DNP62)	PED74 (D150)	PED130 (D140)	비고
바이러스 저항성	4	4	3	3	4	2.5	4	강(4)~약(1)
역병 저항성	3	3	3	3	2.5	3	3	강(4)~약(1)
초장 (간장)	중	중장	중장	중	중	중	중장	
신미도	2	2	2	3	4	4	2	강(4)~약(1)
숙기	2	3	2	3	3.5	4	2	빠름(4)~늦음(1)
수량성	3	4	2	3	4	4	3	많음(4)~적음(1)
과품질	중	상	중	상	중	상	상	
과크기	3.5	3	4	3	3	3	3.5	대(4)~소(1)
칼슘결핍	2.5	2.5	3	3	3.5	3.5	3	강(4)~약(1)
열과	3	3	3	3	3	3	3	강(4)~약(1)

* 4(강)~약(1)

표 22. 선발조합 및 시교, 신품종 수량성 형질 비교표

구분	과무계(g)				과수량				과 평균무계(g)			과장(cm)			과경(cm)			비고
	1차	2차	합계	증감	1차	2차	합계	증감	1차	2차	평균	1차	2차	평균	1차	2차	평균	
D118	400	510	910	110	128	215	343	87	3.1	2.4	2.7	13.3	11.1	12.2	2.6	2.3	2.5	독야 청청
D119	660	570	1230	-90	228	263	491	35	2.9	2.2	2.5	13.4	11.4	12.4	2.7	2.3	2.5	무한 질주
D121	280	390	670	110	95	167	262	72	2.9	2.3	2.6	14.7	10.1	12.4	2.7	2.3	2.5	일월 산천
D140	300	500	800	200	93	224	317	131	3.2	2.2	2.7	13.9	12.3	13.1	2.5	2.3	2.4	시교
D150	780	600	1380	-180	298	324	622	26	2.6	1.9	2.2	13.8	11.1	12.5	2.7	2	2.3	선발 조합
아우 토반	640	620	1260	-20	213	286	499	73	3	2.2	2.6	13.1	11.4	12.3	2.6	2.2	2.4	품종 보호 출원
D155	750	380	1130	-370	256	191	447	-65	2.9	2	2.5	12.1	10.3	11.2	2.2	2	2.1	선발 조합
D156	530	520	1050	-10	158	236	394	78	3.4	2.2	2.8	12.6	11.3	11.9	2.6	2.2	2.4	선발
천하 일색	620	580	1200	-40	189	237	426	48	3.3	2.4	2.9	12.7	10.9	11.8	2.7	2.5	2.6	품종 보호 출원

4. 세균성반점병 저항성 계통 육성

가. 세균성반점병 저항성 계통 선발 및 F₁조합 성능검정

1) 세균성반점병 저항성 계통 육성

- 세반병 저항성 계통을 육성하기 위하여 AVRDC에서 분양 받은 육성계통 (XVR3-25-27)을 활용하여 육성중인 분리재료 8계통 중 저항성으로 선발된 4계통 중 B-line type은 개체선발을 하며 형질을 고정시키며 세반병저항성 MS-line을 육성하기 위하여 기존 MS-line에 Backcross를 실시함
- 2010년 A-line에서 RR type 2계통과 Rr type 2계통을 선발하였으며 2011년에는 BC₃ 세대의 저항성 MS-line (PEA64)을 확보함
- 일부계통은 원예적 형질이 우수하며 세반병에 저항성인 B-line 육성을 위하여 원예적 형질이 좋은 계통 (DNP20B)과 교배하여 육성 중인 F₂ 및 BC₁F₁계통 15계통을 육성하여 분자마커로 검정한 결과 (표 24~28) RR type 2계통과 Rr type 13계통 중 2계통을 선발함. 2011년 BC₃작성과 BC₂F₂계통에 대한 저항성검정을 수행하여 계통을 선발함 (PEB55, 표 23, 그림 10, 그림 11)
- 2010년 C-line 육성을 위하여 38계통을 검정하여 4계통을 선발함. 선발된 계통 중 분리중인 원예적 형질이 우수하며 저항성인 선발된 계통 (PEC98 : F₄, 표 29)에 대하여 형질을 고정할 계획임
- Bs2에 대한 F₂ 분리비 (RR1: Rr2 :rr1)로 볼 때 Bs2 는 단인자 우성으로 작용하는 것으로 확인됨

2) F₁ 조합 작성 및 품종 개발

- 분리중인 계통들을 활용하여 F₁ 조합 성능검정을 수행하여 2010년 PED109가 선발되었으나 원예적 형질이 떨어져 (과가 작고 세장과형) 차 후 우수형질 계통이 육성된 후 F₁조합을 다시 작성할 계획임

표 23. 1년차(2007년) 세균성반점병 저항성 생물검정 결과

계통	검정 계통	선발계통수	비고
MS-line	23	0	포장 내병성 계통에 대하여는 BS1, 3race에 대하여 생물검정
C-line type	74	0	포장 내병성 계통에 대하여는 BS1, 3race에 대하여 생물검정
도입분리재료	8	4	
계	105	4	

표 24. 2년차(2008년) 세균성반점병 저항성 분자마커 및 생물검정 결과

계통	Bs2marker 검정 수	생물검정 계통 수	선발	비고
MS-line	-	2	0	
C-line type	7	20	2	
B-line type	6	3	3	선발 4계통 중 2계통 저항성
조합	36	35	-	2009년도 조합성검
계	49	60	5	

표 25. 3년차(2009) 저항성 분자마커 및 생물검정 결과

계통	Bs2 marker 검정 수	생물검정 계통 수	선발계통 수	비고
B-line type	7	6	1	-
C-line type	19	3	2	-
조합	23	19	1	-
계	49	28	4	-

표 26. 4년차(2010) 저항성 분자마커검정 결과

계 통	Bs2 marker 검정 수	Marker			선발계통 수	비고
		RR	Rr	rr		
A-line type	5	2	2	1	2	MS-line(BC2)
B-line type	15	2	13	0	2	Maintain line
C-line type	38	2	28	8	4	Rf line
계	58	6	43	9	8	-

표 27. 5년차(2011) 저항성 분자마커검정 결과

계통	검정주수	R marker	선발조합	비 고
B-line type	366	246	21	Maintain line
C-line type	49	39	6	Rf line
계	415	285	27	

표 28. 세균성반점병 저항성 분자마커 및 생물검정 검정결과

년차	구분	검정계통수	생물검정	선발계통수	비고
1년차	계통	97	-	-	
	재료	8	-	4	
2년차	계통	13	25	5	
	조합	36	35	-	
3년차	계통	26	9	3	
	조합	23	19	1	
4년차	계통	58	-	8	
5년차	계통	415		27	
합계		676	88	48	

표 29. 세균성반점병 선발 계통 및 조합 특성표

과종번호	계통명	주요특성	비고
PEA64	A-TYPE:	세균병에 저항성(Bs2 마커검정:RR type)으로 바이러스에도 비교적강(CMV C ₀ :rr)하며, 과형은 세장형, 숙기는 중만생종, 신미는 약함. MSline육성	BC ₃
PEB55	B-TYPE:	고품질 DNP20B 와 DNSW1계통을 교배하여 세반병 저항성고품질계통육성. Bs2마커로 선발	BC ₄
PEC98	C-TYPE	CMVRR(DNP3C)와 교배 후 F ₂ 분리 및 선발 : 분자마커 분리비(RR:1,Rr2,rr:1): Bs2 단인자우성 확인 후 후대 선발	CMV와 Bs2 복합저항성 계통육성F ₄



PEB55



PEB109

그림10. 세균성반점병 선발개체



그림 11. 세균성반점병 저항성 검정

5. 청고병 저항성 계통 및 품종 개발

가. 청고병 저항성 계통 육성

- 2007년부터 육성 중인 계통 (CM334 유래)에 대하여 청고병저항성 검정을 수행하였으며 2년차인 2008년부터는 F₁조합에 대하여도 병행하여 저항성 및 형질 평가를 수행하였으나 2008년부터 2010년까지 수행된 조합검정에서는 청고병에는 저항성인 6조합이 선발되었으나 원예적 형질이 떨어졌으며 저항성계통들도 형질과 병저항성이 분리함 (표 31~35)
- 계통육성은 2008년도에 선발된 청고병 저항성 분리계통 중 11계통을 선발하여 형질을 고정하여 2010년에 최종2계통을 선발한 후 (그림 12) 이를 활용하여 대목용 청고병저항성품종을 육성하기 위하여 7개 F₁조합을 작성함 (표 36)
- 이들 조합을 검정하여본 결과 1개 조합(TP27)이 청고병(역병복합저항성)에 저항성 (표 37) 이며 대목용에 적합한 배축을 가지고 있어 2011년 농가현지적응성 시험 후 품종보호출원 예정임

표 31. 2년차(2008년) 청고병 저항성 검정시험 결과

계 통	생물검정계통	선발계통 수	비 고
MS-line	19	-	-
C-line type	57	11	국내용 재료:8 동남아재료:3
B-line type	-	-	-
조합	37	1	-
계	113	12	

표 32. 3년차(2009년) 청고병 저항성 검정시험 결과

계 통	생물검정계통	저항성계통	선발계통	비 고
C-line type	11	6	6	
조합	3	1	-	고추대목용 조합
계	14	7	6	

표 33. 4년차(2010년) 청고병 저항성 검정시험 결과

계 통	생물검정계통	저항성계통	선발계통	비 고
C-line type	20	5	2	
조합	5	2	2	고추대목용 조합
대비종	4	1	-	
계	29	8	4	

표 34. 5년차(2011년) 청고병 저항성 검정시험 결과

계 통	생물검정계통	저항성계통	선발계통	비 고
C-line type	8	11	19	
조합	14	3	1	최종 선발 조합
대비종	5	1	0	
계	27	15	20	

표 35. 청고병 저항성 생물검정 결과

년차	구분	생물검정계통	저항성계통	선발계통	비 고
1년차	계통	34	-	-	
2년차	계통	76	-	11	고추대목 용 조합
	조합	37	-	1	
3년차	계통	11	6	6	
	조합	3	1	-	
4년차	계통	20	5	2	
	조합	5	2	2	
	대비중	4	1	-	
5년차	계통	8	11	19	
	조합	14	3	3	
	대비중	5	1	0	
합계		217	30	44	

표 36. 청고병 저항성 선발계통 특성표

과종번호	계통명	주요특성	진행예정
PEC256	KHRCR411	과가 가늘고(13CM*1.2CM), 남방계형, 역병과 청고병에 강함, C-line type(Rf마커:RR)	저항성계통 활용 및 F ₁ 조합 작성
PEC259	KHRPR5	F6세대, 청고병저항성중강(생물검정), 역병저항성강, CMV 저항성강 (RRtype:마커검정), C-line type(Rf마커:RR), 신미강, 과형우수	저항성계통 활용 및 F ₁ 조합 작성
PS3	PS3(TP27)	청고병저항성계통(생물검정), 역병저항성, 배축이 길며 굵음, 배축색 녹색	시교사업 및 품종보호출원

표 37. 청고병저항성 생물검정결과

계통	청고병	역병	배축경 (cm)	배축장 (cm)	배축색	비 고
PS1	2.4	1.2	0.37	2.67	자색	탄탄대목
PS2	4	3	0.32	2.3	녹색	조합
PS3	2.2	1.1	0.42	3.2	녹색	TP27
PS4	3	4.8	0.37	3.06	자색	조합
PS5	4	1.2	0.36	2.5	자색	조합
PS6	3.4	1.8	0.36	3.23	자색	조합
PS7	4.4	1.2	0.37	3.01	연자색	조합
PS8	3.7	1.5	0.38	2.73	연자색	조합
평균	3.4	2	0.37	2.84		

*국립원예특작과학원 실험 결과 (1) 이병성이 낮음 (5)이병성이 높음

제 2절 조생 역병저항성 품종 및 분자마커를 이용한 역병, CMV 복합저항성 품종개발

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 조생·고품질 역병저항성 계통 및 F₁ 품종육성

<1년차>

가. 기 보유계통 (고정 및 분리계통) 및 수집한 재료의 계통성능검정과 역병내병성 검정

1) 계통 내병성검정

- 재료 : 기 보유계통 (200계통) 및 분리 재료 (약 100점)
- 처리 : 묘령 35-40일경 유묘검정으로 내병성검정 후 생존주 선발
- 활용 : 생존개체 선발 후 후대검정 소재로 이용
- 조사내용 : 역병내병성 (이병율%)

2) 계통 성능검정

- 재료 : 계통 내병성 검정에서 선발된 개체
- 처리 : 선발개체 정식
- 활용 : 선발계통의 특성조사 후 계통고정 및 조합작성용 친으로 활용
- 조사내용 : 숙기, 과형, 건과품질 등 주요 특성

나. 역병내병계 신규재료 MS line 육성

- 재료 : 과제신청 전에 기 선발된 유지친
- 처리 : 기 선발된 유지친의 Backcross 작성
- 활용 : 신조합 작성의 모본으로 이용

다. 조생·고품질계 바이러스 내병계 재료육성

- 재료 : 바이러스 내병성 분리재료 100점
- 처리 : 포장 재배 및 선발
- 조사내용 : 개체별 숙기, 건과품질, 바이러스 포장저항성 등
- 활용 : 신조합 작성의 모본으로 활용

라. 우량 F₁조합 작성 및 작형별 성능검정

1) 우량 F₁조합 작성

- 재료 : 기 보유계통 및 선발계통
- 처리 : 조합별 5 개정도의 개화수분
- 활용 : 성능검정에 이용

<2년차>

가. <1년차>+유망조합 성능검정

- 재료 : 전년도에 작성된 조합 (100개)
- 처리 : 노지 포장에 구당 10주 x 3반복 재배시험
- 활용 : 우수조합 선발 후 지역연락시험 실시
- 주요조사내용 : 숙기, 초세, 내병성, 건과품질, 신미도, 수량성 등

<3년차>

가. <2년차> + 지역적응성시험

- 재료 : 2차년도 선발조합 (5조합 내외)
- 처리 : 농가포장에 100주 x 2반복이상 x 호남, 충청, 경북
- 활용 : 우수조합 선발 후 2차 지역적응성시험 실시
- 주요조사내용 : 숙기, 내병성, 건과품질, 지역적응성, 농가반응 등 품종화 가능성을 종합적으로 판단

<4년차>

가. <3년차> + 지역적응성시험

- 재료 : 3차년도 지역적응성시험 선발조합 + 3차년도 선발조합 (5조합 내외)
- 처리 : 농가포장에 100주 x 2반복이상 x 호남, 충청, 경북
- 활용 : 2개년 선발조합은 품종보호출원 및 우수조합 선발 후 2차 지역적응성시험실시
- 주요조사내용 : 숙기, 내병성, 건과품질, 지역적응성, 농가반응 등 품종화 가능성을 종합적으로 판단

<5년차>

가. <4년차> + 품종보호출원

- 재료 : 2개년 이상 3개 지역 이상의 지역 적응성 시험에서 최종 선발된 조합
- 활용 : 종자 생산, 보급

2. 분자표지기술을 이용한 CMV 및 역병 복합내병성 계통육성 및 F₁ 품종육성

<1년차>

가. CMV분자표지를 이용한 기 보유재료의 검정 및 선발

- 재료 : 과제 신청 전에 작성된 (CMV저항성분리계x역병저항성계통)의 분리 후대 (100점내외)
- 처리 : 1차 역병 접종, 2차로 생존주를 대상으로 육묘용 tray상에서 개체번호 부여 후 잎사귀 샘플 채취 분석
- 활용 : 선발개체는 역병 및 CMV복합저항성으로 형질고정 후 유지친 또는 임성회복친으로 활용
- 주요 조사내용 : 역병내병성, CMV marker 보유여부, marker의 homo or hetero여부

<2년차>

가. <1년차>+선발재료의 임성관련 인자분석

- 재료 : 1차년도에 선발된 개체
- 처리 : 인자분석용 교배조합 작성
- 활용 : 후대 임성조사 후 유지계 또는 회복친으로 활용
- 주요조사내용 : 임성

<3년차>

가. <2년차>+유망재료 MS-line 육성

- 재료 : 2차년도 임성조사결과 유지친으로 활용 가능한 개체 및 그 조합
- 처리 : Backcross진행
- 활용 : 계통육성 완료 후 조합 작성용 모본으로 활용
- 주요조사내용 : BC세대와 유지친의 특성 (유사성)

나. 조합성능검정

- 재료 : 2차년도 임성조사결과 100% 가임인 조합
- 처리 : 노지포장에 10주x3반복으로 재배시험
- 활용 : 회복친의 선발을 위한 정보확보
- 주요조사내용 : 순도, 내병성, 과실의 품질 등

<4년차>

가. <3년차> + 지역적응성시험

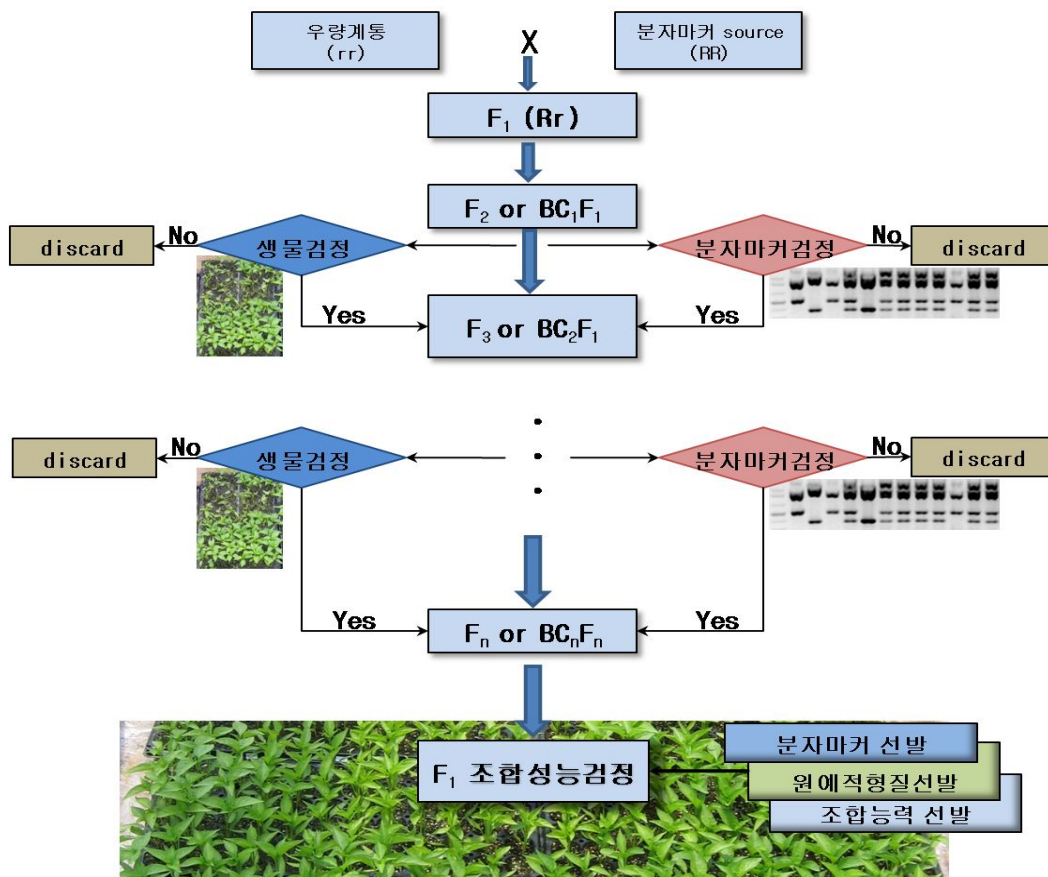
- 재료 : 3차년도 지역적응성시험 선발조합 + 3차년도 선발조합 (5조합 내외)
- 처리 : 농가포장에 100주 x 2반복이상 x 호남, 충청, 경북
- 활용 : 2개년 선발조합은 품종보호출원 및 우수조합 선발 후 2차 지역적응성시험실시
- 주요조사내용 : 숙기, 내병성, 건과품질, 지역적응성, 농가반응 등 품종화 가능성을 종합적으로 판단

<5년차>

가. <4년차> + 품종보호출원

- 재료 : 2개년 이상 3개지역 이상의 지역 적응성 시험에서 최종 선발된 조합
- 활용 : 종자 생산, 보급

3. 전통육종과 분자표지기술을 이용한 계통육성 및 F₁ 품종육성 모식도



제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 역병저항성 계통육성

- 우량계통에 역병내병성을 도입하기 위하여 교배한 조합의 분리후대나 역병내병성 품종의 분리후대의 원예적 형질을 조사하여 선발한 개체의 후대에 대한 역병내병성 검정을 실시하여 저항성계통 선발함
- 선발계통의 후대에 대하여 역병내병성 형질을 고정시켜가거나 여교잡 (Backcross)하여 우량계통에 역병 내병성을 도입하는 육성을 연차별로 진행하여 최종적으로 내병성계통 105계통을 선발함 (표 41)
- 역병내병성 MS-line육성을 위하여 Backcross를 실시하였던 다수의 계통 중에서 입성과 내병성 등이 안정된 24계통에 대하여 Backcross를 실시하여 역병내병성 응성불입계통 (MS)을 육성함 (표 42)
- 기존 역병내병계 B-line의 과 품질과 입성관련 유전자의 안정성을 높이기위해서 작성된 조합의 분리 후대 203 계통에 대하여 3주씩 육묘하여 역병검정을 실시하여 81계통을 선발함
- 이들 계통 중에서 입성관련 유전자형이 B-line형으로 확인된 12계통은 Backcross를 진행하여 새로운 MS line을 육성 진행중임
- 초기육성계통의 대부분은 AC2258유래 역병저항성 재료들과 시판되는 역병 내병계 품종의 분리후대 들이며, 역병내병성의 보강을 위하여 CM334 유래 저항성 재료들을 이용한 재료도 선발함
- PR25 BC2 Group 역시 높은 수준의 저항성을 보였는데 PR251은 내병성 수준이 비교적 높고 매운맛 이 강하며 입성이 안정된 반면 건과품질이 다소 부족하였고 PR252는 내병성도 좋고 매운맛이 강하 며 건과품질이 양호한 반면 입성이 다소 불안정한 단점 있음
- PR29B에 TMV (P3)저항성 마커를 도입중인 Group에서 B5-2 등에서 역병저항성이 높은 개체로 선 발되었으며, 역병과 CMV 복합내병성 재료육성을 위한 조합 후대도 선발하여 세대진전 중임

표 41. 연차별 역병집종 선발내역

연차별	총 검정계통수	총 검정주수	선발계통수	비고
1차년도	148	2300	52	
2차년도	228	3420	94	
3차년도	383	5745	73	
4차년도	574	7520	172	
5차년도	851	8740	105	MS 24계통,

표 42. 역병내병계 MS계통 육성결과

계통명	역병내병성 수준	기타	계통명	역병내병성 수준	기타
PR251	상	조생, 신미강,임성안정	PRGD2511	상	중조생, 건과양호,
PR252	상	조생,신미강,임성불안	PRGD2512	상	조생, 건과양호,
TMPR29	중	건과우수, TMV (P3)	PRGD2523	상	조생, 건과양호,
PRMBDOK	중	중생, 초세강	PRGD2514	상	중조생, 건과양호,
PR11529261	상	극조생, 신미강	PRGD2515	상	조생, 건과양호,
PR11529262	상	극조생, 신미강	PRGD2516	상	중조생, 건과양호,
PRGDA	중	조생, 건과양호	PRGD2517	상	조생, 건과양호,
PR29261	상	극조생, 건과양호	PRGD2518	상	조생, 건과양호,
PR29262	상	극조생, 건과양호	PRGD2519	상	중조생, 건과양호,
PR29SSC	상	중생,고성,건과양호	PRGDMU1	상	역병, CMV복합내병
PR26NGA	중	조생,농록,신미 강	PRGDMU2	상	역병, CMV복합내병
PR2529	상	중생, 신미 강	PRGDMU3	상	역병, CMV복합내병

- 역병 검정 후 선발된 개체들을 유지하기 위해서 지상부를 잘라서 접목하여 망실내에 정식 하여 세대를 진진시킴으로써 포장이 역병으로 오염되지 않도록 함 (그림 13, 14).



그림 13. 역병 집중 후 발병된 모습



그림 14. 역병집중 후 선발개체 접목후 정식

2. MAS를 이용한 CMV내병성 재료육성

- ㈜에프앤피에서 개발해서 실용화한 CMV marker를 이용하여 elite line에 CMV내병성을 도입하는 재료육성과 CMV내병성 시판품종의 분리 후대 및 CMV저항성 도입을 위한 교배조합의 분리 후대 등 5년간 총 4,379점을 대상으로 실시한 CMV 분자마커 검정결과 표 4에서 보는바와 같이 RR type이 1,240개체, Rr type이 1,260개체가 선발됨
- RR type은 원예적 형질을 고정 시켜서 조합작성에 사용하여 조합능력검정을 실시할 재료로 육성하였

- 으며 Rr type은 원예적 형질의 고정과 더불어 marker의 homo화 후 조합용 재료로 사용함
- 그러나 근래에 기존 CMV 내병성품종의 저항성을 무너뜨리는 새로운 strain (일명 CMV-C₁)의 피해가 전국적으로 확산되는 경향을 나타냄
 - 그림 15는 CMV-marker가 도입된 품종의 과실에 피저현상을 일으키는 병징을 보이는 사례로 바이러스 항체반응에서 CMV반응 확인됨
 - 그동안 CMV 내병성이 강했던 품종들도 새로운 strain에는 전반적으로 이병되는 현상을 보임으로서 새로운 strain (그림 16)에 대한 내병성 재료의 육성과 더불어 이에 대한 DNA marker의 개발이 시급함을 보여줌
 - 본 연구에서 인도에서 수집된 재료들 가운데서 기존 CMV 저항성 marker를 가지지 않으면서도 새로운 CMV strain에 대하여 저항성을 보이는 A862359가 선발되었는데 이 계통은 인도 건고추시장용 품종개발에 유용한 B-line type으로 육성불임계로 육성하였으며, 이 계통을 이용한 조합이 (표 44) 포장에서 CMV에 매우 강한 포장저항성을 나타냄
 - 향후 다양한 우량계통에 이 계통을 이용한 CMV내병성의 보완을 통하여 CMV내병성 품종을 육성할 예정임

표 43. 연차별 CMV marker 검정내역

연차별	총 검정계통수	RR type개체	Rr type개체	비고
1차년도	188	137	143	
2차년도	254	201	204	
3차년도	382	359	458	
4차년도	350	372	355	
5차년도	705	171	100	



그림 15. CMV 피해과실

사진설명:

고추에 피저병반을 보이는 조직을 CMV진단키트를 이용하여 검정한결과 CMV특이밴드가 보임



그림 16. CMV내병재료에 대한 CMV-C₁ 유묘검정

사진설명 : CMV내병성인 FP11에 CMV C₁을 유묘접종 접종하면 전형적인 CMV병징을 나타내며 이병되는 것으로 보아 새로운 strain의 CMV로 보임

표 44. CMV 저항성 선발계통 특성표

계통명	Type	주요특성	비고
MSB263	B-line	초세강, 과형우수, 건과우수,	MS-BC ₃ F ₁
UP17	B-line	복화방하늘초, 건과우수	MS-BC ₃ F ₁
UP19	B-line	복화방하늘초, 건과우수	MS-BC ₃ F ₁
VMA511	B-line	건과색 양호, 건과품질 양호, 착과양호	MS-BC ₂ F ₁
VMA512	B-line	건과색 양호, 건과품질 양호, 착과양호	MS-BC ₂ F ₁
VMA513	B-line	건과색 양호, 건과품질 양호, 착과양호	MS-BC ₂ F ₁
VMA54	B-line	건과색 양호, 건과품질 양호, 착과양호	MS-BC ₂ F ₁
VMA55	B-line	건과색 양호, 건과품질 양호, 착과양호	MS-BC ₂ F ₁
VMA94	B-line	건과색 양호, 건과품질 양호, 착과양호	MS-BC ₂ F ₁
YB-5B	B-line	우각초, 숙기극조생,	MS-BC ₁ F ₁
VP5	C-line	착과력 극히우수, 건과우수, 과형우수	역강홍2부계
VC282	C-line	착과력,과형 우수	ECO-F79부
VSIG-196	C-line	중국용 풋고추형	
VSIG-199	C-line	중국용 풋고추형	
9-8RR	C-line	거대과 , 건과양호	
V90-2	C-line	역병+CMV, 조생 대과	
WIN746	C-line	신미 강, 착과력우수, 초세양호	
DOK2022	C-line	역병+CMV, 조생 대과	
HN-511	C-line	역병+CMV, 중조생 중과	유전자원기탁
HN-513	C-line	역병+CMV, 중조생 소과	유전자원기탁
PR-20	C-line	역병+CMV, 조생 대과	
PR-22	C-line	역병+CMV, 조생 대과	
PR7226	C-line	역병+CMV, 중조생 중과, 신미극강	
PR34	C-line	역병+CMV, 조생 대과,농록과	
PR42	C-line	역병+CMV, 중조생 중과, 신미강	유전자원기탁
PR47	C-line	역병+CMV, 중조생 중과	
PR-55	C-line	역병+CMV, 조생 대과, 신미강,	유전자원기탁
PR-59	C-line	역병+CMV, 조생 대과, 신미강,	유전자원기탁
PR-69	C-line	역병+CMV, 조생 대과, 착과양호	

3. TMV-P3 저항성 재료육성

- 근래 고추재배포장에서 피해를 많이 주는 바이러스는 주로 CMV이지만 시설재배에서는 TMV피해도 많이 나타남
- 본 연구에서 TMV내병성 계통육성은 TMV-P3 marker를 이용하여 실시함 (표 45)
- Marker 검색결과 TMV-P3 marker를 가진 개체는 selfing하여 L₄L₄ 형으로 homo화하는 작업을 진행하였으나 Homo개체 출현은 이론치보다 현저히 낮았으며, 생육도 hetero형에 비하여 매우 위축되는 양상 확인됨. 이는 생육을 위축시키는 유전자와 TMV-P3 marker가 연관되어 있어서 이런 결과가 나오는 것으로 알려져 있음
- TMV-P3저항성 품종의 분리 후대 및 교배조합의 분리후대에 대하여 5년간 총569점에 대하여 TMV-P3 분자마커 분석결과 L₄L₄ type 106계통이 선발됨
- 선발된 계통들은 원예적 형질을 고려하여 선발 및 고정을 통하여 육종재료로 활용하고 있음

표 45. 연차별 TMV(P3) marker 검정결과

검정일자	TMV marker			계
	L ₄ L ₄	L ₄ l ₄	l ₄ l ₄	
1차년도	18	90	182	290
2차년도	17	44	20	81
3차년도	41	41	62	144
4차년도	27	6	4	37
5차년도	3	4	10	17
	106	185	278	569

4. 세균성반점병저항성(Bs2) 재료육성

- 최근 남부지방을 중심으로 세균성반점병의 발생이 심해지고 있고, 중국 고추 주산지에서도 세균성 반점병의 피해가 많이 발생함
- 본 연구에서는 세균성 반점병 내병성관련 분자마커인 Bs2 marker의 도입을 위한 총 104개의 분리후대 집단에서 homo type 1개체와 hetero type 69개체를 선발함
- Bs2 marker는 Backcross를 통하여 우량계통에 세균성 반점병에 대한 저항성을 도입하는데 효과적으로 사용할 수 있음
- 해남지방에서 수집한 세균성 반점병 내병성 재료에 대하여 Bs2 marker검정을 실시한 결과 (표 46) 저항성 마커를 가진 개체들이 선발되었는데, 이 재료들은 과 형질은 다소 부족하나 세균성병과 바이러스병에 대하여 현저히 강한 포장저항성을 보였기 때문에 육종소재로 유용하게 사용할 수 있다고 여겨짐

표 46. Bs2 marker 분석결과

검정일자	Bs2 marker		계
	homo형	hetero형	
4차년도	1	41	42
5차년도	0	27	27

5. 역병+CMV, TMV(P3) 복합내병성 F₁ 품종육성

- 우리나라 연간 고추 소비량은 건고추 기준으로 약 18만 톤 정도가 소요되며 이 중 약 50%정도가 국내생산으로 충당되어짐. 재배면적은 해마다 줄어들어 2011년도는 약 45,000ha에도 미치지 못한 것으로 추정됨
- 이와 같은 재배면적의 급격한 감소의 원인은 농산물시장 수입개방으로 인한 가격불안정과 기후변화에 의한 병충해의 발생증가, 재배농가의 고령화에 의한 재배규모 축소 등이라고 볼 수 있음.
- 이 중에서 특히 아열대화 되어가는 한반도의 기후변화는 강수량 및 강우일수의 증가와 병충해의 피해를 증가시킴
- 특히 2011년도는 잦은 강우로 제때에 병 방제를 하지 못하여 전국적으로 탄저병 피해가 극심하여 지역에 따라서는 전혀 수확을 하지 못하는 농가도 속출함
- 역병은 불량한 기후조건에도 불구하고 상습발생지역을 중심으로 역병 내병계 품종이 많이 보급된 관계로 발병은 예전에 비하여 많이 감소되었다고 보여짐
- 본 연구에서도 이와 같은 기후변화를 예상하고 복합내병성 품종의 개발을 목표로 연구를 수행함
- 역병은 생물검정을 통하여 선발하였고 CMV는 marker검정과 더불어 포장저항성 정도를 조사하여 선발함
- TMV-P3와 세균성 반점병은 주로 marker검정을 통해 선발함. 5차 연도에는 새로이 개발된 역병마커의 유용성이 확인되어 여교배 (Backcross) 과정에 활용함
- 역병내병성은 주로 웅성불임계통으로 육성하였으며 바이러스, 세균성 반점병 저항성은 회복친으로 육성하여 두 계통의 교배조합을 작성함으로써 두 가지 이상의 병에 대한 복합저항성을 유도하는 방법으로 육종을 진행함
- 1차 연도에 219조합을 조합성능검정에 공시하여 이중에 역병과 바이러스에 강하고 매운맛이 강하고 건과품질이 우수하며 색깔과 광택 등 과품질의 원예적 형질이 양호한 조합에 대하여 DNA marker 분석결과 TMV-P3 marker가 있는 것으로 확인된 No.219를 선발하였고, 이 조합에 대하여 2차 연도에 경북, 호남, 충청지역 등에서 지역 적응성시험을 실시한 결과 그 성능이 재확인 되었으며 재배농가의 평가도 좋아 최종 선발하여 PR드래곤으로 품종보호 출원하여 2년간 시험재배를 거친 후 2011년 4월 15일자로 품종보호등록을 완료함
- PR드래곤은 역병과 TMV-P3에 대하여 복합내병성을 가진 품종으로 매운맛이 강하고 과장 13-15cm, 평균과경 2.0cm의 대과종으로 건과품질이 우수한 품종임 (그림 17)



그림 17. 품종보호등록 완료한 ‘PR드래곤’ (‘PR태평’)으로 출원하였으나 유사명칭이 타사에서 기 등록하여 ‘PR드래곤’으로 품종명칭을 변경하였음)

- 당사에서 개발한 국내 최초의 역병내병성 품종인 ‘역강홍장군’ 고추의 CMV내병성 보완에 대한 요구가 많아 CMV내병성 보완을 위해 연구를 진행함
- 역강홍장군 모계는 역병 내병성 계통이면서 동시에 CMV-marker도 가지고 있음. 그런데 이 계통에서 CMV-marker는 정상적으로 내병성을 발현하지 못하는 것으로 생각되어 부계에 CMV-marker를 도입 필요성 있음. 그래서 CMV-marker를 가진 바이러스 저항성 계통과 역강홍장군 부계를 이용하여 Backcross 육종법으로 역강홍장군 부계에 CMV내병성을 도입함
- 이 계통을 이용하여 CMV내병성을 도입한 조합에 대하여 조합 성능검정 및 지역 적응성시험결과 ‘역강홍장군’과 비교하여 CMV포장저항성이 향상되었음이 확인함. 이 조합을 ‘역강홍2호’고추로 품종보호 출원하여 2011년도에 2년차 재배시험이 진행되어짐
- ‘역강홍2호’는 역강홍장군 고추의 장점인 조숙성과 착색이 빠르고 석회결핍에 강하며 과실건조가 빠른 장점에 매운맛이 다소 강해지고 CMV marker가 도입됨으로서 바이러스 포장저항성이 향상된 품종임 (그림 18, 그림 19)
- ‘역강홍2호’ 고추는 (주)코레콘 종묘를 통하여 2012년도에 시판할 예정이며 2012년도에 500kg을 채종할 계획임



그림 18. ‘역강홍 2호’ 착과사진



그림 19. ‘역강홍 2호’ 건과사진

- 3년차 (2009년도) 조합성능검정에서 선발된 D-5는 조생종으로서 과가 14~16cm로 크고 건과품질이 우수하며 매운맛이 강한 역병+CMV 복합내병계 조합임
- 4차년도 조합성능검정 및 지역 적응성 시험에서도 바이러스에 비교적 강하고 조기 수량이 많으며 건과색깔과 광택이 우수한 역병, CMV복합 내병성 조합으로 선발되어 2011년 1월에 'PR308'고추로 품종보호 출원을 하여 1년차 재배시험이 진행 중임 (그림 20, 그림 21)



그림 20. 'PR308' 착과사진



그림 21. 'PR308' 건과

- 4차년도 (2010년) 조합성능검정은 역병과 CMV 복합내병성 조합 위주로 70개의 시교품종 및 대비품종과 270개의 조합을 5주씩 2반복으로 공시하여 실시되었는데, 이중에 F-12는 엽색이 비교적 진하고 착과력이 우수하며 절간이 짧고, F-79는 조기수량이 월등히 많은 조생계 품종으로 매운맛이 강하고 과장 15cm내외인 대장과이고 건과품질도 무난한 조합으로 선발됨
- F-119는 역병에는 중도저항성이나 바이러스에 비교적 강하고 엽색이 짙으며 건과품질이 양호한 조생계 조합으로 선발하였고, F-206은 매운맛이 강하고 조기착과력이 좋으며 초형이 안정적인 조합으로 선발됨
- 이 선발조합들은 5차년도 (2011년)에 성능검정 및 지역 적응성시험에 공시한 결과 F-79가 지속적인 강우와 불량환경 조건임에도 불구하고 착과력이 좋고 역병 및 CMV에 비교적 강한 특성을 보였으며 매운맛이 강한 특성을 나타냄. 과장 13~15cm, 과경 2.0~2.2cm의 대과종으로 건조가 잘되고 건과품질도 무난한 것으로 평가되어 2012년 1월에 'ECO-F79'고추로 품종보호 출원 완료하였으며 'ECO-F79'는 2011년도에 시제품을 생산하였으며 (그림 22, 그림 23) 이 종자를 가지고 2012년도에 확대 시교사업을 실시할 예정임
- 4차년도에 선발되었던 F-12와 F-206 역시 5차년도에 시제품 종자를 채종하였으며, 2012년도에 각각 확대 시교사업을 실시하여 다양한 조건에서 적응성을 검정하여 그 결과에 따라 품종화 할 예정임.
- 중조생계 대과종으로 절간이 짧고 건과품질이 좋았던 F-119역시 (주)코레곤을 통하여 2011년도에 소량 채종하였으며, 이 조합은 2012년도에 터널 및 비가림 지역을 중심으로 확대 시교사업을 실시할 예정임 (그림 24, 그림 25)
- 5차 연도에 선발된 11F-28, 11F-30은 거대과 품종으로 역병내병성과 CMV내병성을 갖춘 조합으로 착과력이 우수한 특성을 지님 (그림 26). 이 조합들은 국내 세절건조시설이 되어있는 지역에서 시교사업을 실시할 예정임



그림 22. 'ECO-F79' 착과사진



그림 23. ECO-F79 건과사진



그림 24. F-119 착과모습



그림 25. F-206 착과모습

- CM334에서 역병 내병성을 도입한 재료들을 이용하여 육성한 조합들에서도 비교적 성능이 우수하여 선발한 계통들의 특성을 표 27에 제시함. 이 조합들은 2012년도에 재 공시하여 제반 특성을 한 번 더 확인한 후 최종적으로 선발 및 확대시교 여부를 결정할 예정임
- 최근 들어 2~3년간 전국적으로 기존 CMV marker를 가진 CMV 저항성 품종들이 거의 대부분 CMV 바이러스에 이병되는 결과를 보이고 있는데 이런 현상은 CMV의 새로운 strain으로 알려진 CMV-C₁ strain에 의한 피해로 생각되며, 기존의 CMV저항성 품종들은 새로운 strain의 바이러스에 대하여 생육초기에는 일반 감수성품종에 비해서는 훨씬 저항성이 강하지만 후기로 갈수록 발병이 진행되어짐
- 국내에서 시판 중인 대부분의 품종들은 이 새로운 strain의 바이러스에 대하여 이병성인 것으로 보이며 인도 등지에서 수집된 육종재료들 중에서는 이 바이러스에 저항성을 보이는 재료들이 일부 확인 됨
- 전국적으로 발병이 보고되고 있는 TSWV와 이 새로운 strain의 CMV 바이러스는 전국적으로 확산될 가능성이 높아 보여 이에 대한 내병성 육종이 매우 시급해짐
- 본 연구에서 육성한 재료중에 CMV-C₁에 강한 특성을 가진 인도수집종 A862359에 인도수집재료를 교배한 조합으로 바이러스에 매우 강한 특성을 나타냄 (그림 28). 이 재료를 이용하여 CMV-C₁ strain에 대한 저항성재료의 육성을 해 나갈 예정임



그림 26. F-28 착과사진



그림 27. F-30 착과사진

표 47. 5차 연도 선발조합 특성

No.	숙기	과장(cm)	과경(cm)	내병성	신미	건과	비고
D-16	조	13-14	1.8-2.0	PR, CMV-R	강	3.5	
D-18	조	15-16	1.9-2.0	PR, CMV-R	강	4	
D-19	조	13-14	2.2-2.4	PR, CMV-R	강	4	
F-28	조	14-16	2.2-2.4	PR, CMV-R	강	3.5	세절용
F-30	조	15-16	2.3-2.5	PR, CMV-R	강	3.5	세절용
F-78	중조	14-16	2.1-2.3	PR, CMV-R	중	4	
F-273	조	13-14	2.1-2.3	PR, CMV-R	강	4	
F-274	조	13-15	2.2-2.3	PR, CMV-R	중강	4	
F-430	중조	14-16	2.2-2.4	PR, CMV-R	강	4	
F-438	조	13-15	2.0-2.2	PR, CMV-R	강	4	
F-465	중	13-14	2.2-2.4	PR, CMV-R	강	4	
F-473	조	14-15	2.2-2.4	PR, CMV-R	강	4	



그림 28. A862359를 이용한 조합(오른쪽)

제 3절 분자마커를 이용한 복합내병성 수출용 고추품종 육성 및 대목품종 개발

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 유전자원의 수집·평가

가. 분자 마커를 이용한 계통육성 시험

- 분자마커를 이용하여 내병성을 검정하기 위하여 기 보유하고 있는 계통과 국내외에서 수집된 계통을 1월 말 2월 초순 파종하여 본엽 4-6매 시기에 1엽을 채취하여 분석하였음. 어린묘의 잎을 많이 채취하게 되면 생육에 문제가 발생될 수 있으므로 1회 1매 채취하였고 미 분석친은 6-8매에 재분석하였음
- CMV, TMV-P3, Bs2의 경우 육묘기에 분석된 계통의 개체를 homo(동형)저항항성 개체와 heterozygote(이형접합체), homo 이병성 개체로 정확히 구분하여 저항성 개체만 하우스 정식외의 경우 4월 하순 ~ 5월 중순에 정식하였으며 노지 정식외의 경우 늦서리 피해를 방지하기 위해 5월 상순에 정식하였음
- 원예적 형질을 우선 선발하고 저항성을 선발하는 경우 개체 선발한 개체를 마커 분석 결과에 따라 homo 이병성의 경우에는 선발하지 않았음
- 역병 저항성 계통 선발은 50구 트레이를 사용하였으며 1구당 2-3립을 파종하여 육묘한 후 생물 검정을 실시하였음. 역병균 농도는 1×10^5 /ml로 접종하였으며, 때에 따라서는 고농도 (1×10^6 /ml)의 역병균을 접종하여 선발 하였음. 접종 후 7일과 14일, 21일 경과 시기에 따라 지상부 및 지하부의 생존 여부를 조사한 후, 생존한 개체를 화분에 정식하였음
- GMS (유전자적응성불임) 계통은 마커 검정을 통하여 ms (불임, msms)개체와 mf (가임, MSMS, MSms)개체를 선발하여 정식을 하였으며, 매운맛의 경우도 검정 계통을 non-pungent (무신미)와 pungent (신미)로 개체별 분석을 실시하여 정식하였음

나. 내병성 재료 육성

- 분자마커 사업단 연구기간 이전 및 연구 중에 개발된 마커를 이용하여 선발한 계통들을 이용하여 2개 또는 3개의 내병성을 갖는 복합 내병성 계통을 육성하였으며 매 세대마다 마커 검정을 하여 내병성을 확인 하였음
- TSWV, 흰가루병, 풋마름병은 국내에서는 내병성의 보고가 거의 없었기 때문에 인도 및 유럽에서 계통을 수집, 재료 육성을 하여 이용하였음
- 재배는 누넨종묘의 일반 재배법을 따라 파종, 정식 및 관리하였는데 분자 마커를 이용한 계통육성과 동일하였음
- 내병성 재료육성은 누넨에서 기 수집, 보유하고 있거나 국내외에서 새로이 수집된 계통을 원예적 형질이 우수한 계통과 조합하여 종자를 확보하고 다음세대에 확보된 종자를 파종, 정식하여 개체선발을 하였으며 선발된 개체들은 여교잡하여 저항성인 계통을 육성하였음

다. 원예적 형질 평가

- 고추의 원예적 형질은 하우스 및 노지포장에서 재배를 통하여 식물체의 특성을 조사하였음. 육묘시기부터 발아세, 발아율, 배축 색, 배축장 등의 특성을 조사하였으며 정식 후 재배 생육 온도 및 재배 환경에 따른 수분, 수정 정도와 착과 정도를 평가하였고 생육 시기에 따라 초형, 초세 등을 조사하였음
- 과실의 형태와 과장, 과경 및 과실의 착색 정도 및 착색시기를 조사하였으며, 노지재배는 재배 기간 중에 발생하는 역병, 탄저병 및 virus 등의 조사도 병행하였음

2. 국내 조합선발시험

가. 예비조합 선발 시험

- 예비 조합은 연구소 노지포장에서 매년 약 300조합의 재배시험을 통하여 선발하였음. 매년 2월 중순에 파종하여 5월 초에 노지포장에 정식하였음
- 포장은 외줄재배로 120cm의 이랑 간격으로 준비하였으며, 정식 후 30일 1차 추비를 하였으며 재배 환경에 따라 병충해 방제와 살균제 및 영양제 처리를 하였음
- 조합의 특성을 시기별로 조사하였으며, 8월초에 1차 수확을 하고 2주후 2차 수확을 하였으며, 수확 후 과실 중량 및 수량을 조사하였다. 조합의 특성은 숙기, 과실의 형태, 과실 크기, 착색 정도, 미숙과색, 숙과색, 초세, 초형, 건과품질 등을 조사하였음

나. 농가별 실증 시험

- 예비조합 선발시험에서에서 선발된 조합을 전국 고추 주요 재배 단지에 실증 시험 하였음
- 경북 영양과 안동, 예천과 충남 청양과 부여, 충북 단양과 괴산, 전남 해남 지역 등 50여 지역 농가에 실증 시험을 실시하였음
- 지역별로 1월말 2월초 파종하여 4월 중순에서 5월 초순에 정식을 하였으며, 지역에 따라 두 줄 재배와 외줄 재배로 재배되었음. 일부지역에서는 터널재배를 실시하기도 하였음
- 7 ~ 9월 사이에 재배 농가를 방문하여 특성을 조사한 후 우수 조합을 선발하였음

다. 대목 품종 육성

- 대목 품종육성을 위해 역병과 풋마름병에 내병성이 있는 계통을 계통선발 시험에서 선발하여 조합을 작성 했고, 이들 조합을 이용하여 역병은 1×10^6 /ml의 농도로 접종하여 역병 내병성을 조사하였음
- 풋마름병은 한국에서는 발병을 시키는데 어려움이 많고 풋마름병의 병원성도 달라 인도와 인도네시아에서 접종 선발하였으며 선발된 조합은 국내에서 접목 시험을 실시하였음
- 접목시험 시 배축의 굵기, 길이 및 접목 용이성 등을 조사하였으며 접목한 품종은 농가 포장에 약 40,000주 이상 시험하여 안정성을 검정하였음

3. 해외 적응성 시험

가. 중국

- 중국의 누뎀 연구소 산둥성 수광(북쪽)과 광서성 난닝(남쪽)에 조합 선발 및 현지 적응성

시험을 진행하였음

- 재배는 중국 재배법에 따라 누넬에서 재배하는 방법과 동일하게 재배하였으며, 2008~2011년에 걸쳐 매년 조합 선발 및 현지 적응성 재배 시험을 하였음
- 난닝은 연평균 기온이 높아 9월 중하순경에 파종하여 12월 초순에 정식을 하며, 이듬해 4월 경에 특성 조사를 실시하였음. 또한 누넬 영업팀과 함께 농가 실증시험은 물론 현지에 맞는 조합을 선발하였음
- 중국 산둥지역은 2월말~3월초 순경에 파종하여 5월 중순경 정식을 하며, 8월 말에 조사를 실시하였음. 주요 시험은 한국건고추형, 중국 세장형 및 하늘초 조합의 조합선발 및 현지 적응성을 목적으로 실시하였음
- 중국 사천지역은 연중 기온이 낮아 1월말~2월 초순 파종을 하여 4월 중순경 정식을 하였으며, 9월 말에 조사를 실시하였음. 주요 시험은 한국건고추형의 건고추 및 가공용 홍고추용 선발을 위해 실시하였음

나. 인도

- 인도 현지 조합선발 및 적응성 시험을 위해 델리 무탈, 방갈로 및 군트르 지역에 작성된 조합을 공시하여 재배시험을 실시하였음
- 군트르 지역은 건고추를 주로 재배하는 지역으로 인도의 건고추 주산단지이며 재배 면적도 제일 넓음. 방갈로는 년중 기온이 높지 않은 곳으로 주로 소과종 및 풋고추 재배 지역이며, 조합선발 시험을 하기에 적합하여 예비 조합 선발 및 인도 현지 적응성 시험을 실시하였음
- 델리 무탈은 고온 착과성 품종을 선발하기 위해 이용하였음. 인도 선발 시험은 파종 7월 하순, 정식 9월초, 조사는 12월 초순부터 2월 초순에 조사하였음. 농가 실증 시험은 주로 6월부터 9월 사이 파종 하였으며 11월부터 2월까지 조사하였음

다. 기타

- 유럽과 중동 지역 품종 선발을 위해서 이탈리아와 요르단에서 현지 직원을 통해 조합선발 시험을 실시하였음. 파종은 2-3월에 하였고 조사는 8-9월에 하였는데 재배 작형은 한국 조합선발 시험과 유사하였음. 요르단에서 선발된 조합은 이집트, 모로코, 시리아 등에 현지 적응성 시험을 실시하여 품종을 선발 하였음

제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 고추 유전자원의 수집 및 평가.

가. 고추유전자원의 수집

- 제 1차년도 49점, 제 2차년도 100점, 제 3차년도 45점, 제 4차년도 183점, 제 5차년도 40점 총 417점을 수집하여 특성 및 내병성을 조사하고 유용한 형질을 가진 계통들은 형질을 고정하여 조합친으로 사용하고, 특정 내병성을 가진 계통들은 이를 이용하여 내병성 도입 조합을 작성하여 계통을 육성하였음

- 주요 수집지역은 한국 93점, 중국 157점, 동남아 140점, 유럽 및 기타지역 27점이었음 (표 48). 주요 유전자원은 유전자원 평가에서 내병성을 평가하고 계통육성 하였음

표 48 . 유전자원 수집내역

년차	수집내역				합계
	한국	중국	동남아	기타	
제 1차년도	-	34	15	-	49
제 2차년도	42	19	12	27	100
제 3차년도	13	19	13	-	45
제 4차년도	38	67	78	-	183
제 5차년도	-	18	22	-	40
합계	93	157	140	27	417

나. 고추유전자원의 평가

- 제 1차년도 1,178점, 제 2차년도 1,419점, 제 3차년도 1,510점, 제 4차년도 1,938점, 제 5차년도 2,092점 총 8,137점을 공시하였음. 주요 공시내역은 한국 계통 3,561점, 중국 계통 1,507점, 동남아 계통 1,499점, 유럽 등 기타지역 964점 및 신도입종 666점 이었음 (표 49). 이들 계통들은 주요 특성 및 내병성을 조사하고 유용한 형질을 가진 계통들은 형질을 고정하여 조합친으로 사용하였음
- 본 사업단의 목적에 맞게 주요 계통들에 대해서 CGMS에 대한 인자분석을 실시하였고, 주요 내병성 및 형질 인자인 CMV, TMV P3, 세균성반점병(Bs2), GMS, 회복계 등 분자마커 검정을 실시하였음
- 또한 역병과 풋마름병에 대해 생물검정을 하였음. 마커분석과 생물검정을 통해 선발한 계통들 중에서 원예적 특성이 우수한 계통들은 조합친으로 사용하고, 복합내병성 품종육성을 위한 복합내병성 계통육성을 하였음

표 49. 연도별 유전자원 평가내역

년차	한국	중국	동남아	기타	신도입	합계
제 1차년도	447	227	261	133	110	1,178
제 2차년도	552	270	296	178	123	1,419
제 3차년도	560	292	328	247	83	1,510
제 4차년도	894	342	316	203	183	1,938
제 5차년도	1,108	376	298	203	107	2,092
합계	3,561	1,507	1,499	964	606	8,137

1) 유전자원에 대한 CGMS (세포질적 유전자적 음성불입) 인자분석

- 제 1차년도에 작성한 75계통 중 유지계 14계통, 회복계 33계통, 불안정 28계통이있음. 중국 계통들은 대부분 임성이 불안정하여 CGMS로 유기하기에는 부적합하였음

- 제 2차년도에 작성한 71계통 중 유지계 26계통, 회복계 32계통, 불안정 13계통이었음. 불안정한 13계통은 중국, 동남아 계통들로 CGMS로 유기하기에는 부적합하였음
- 제 3차년도에 작성한 28계통 중 유지계 9계통, 회복계 19계통이었으며 불안정 계통은 없었음
- 제 4차년도에 작성한 54계통 중 유지계 3계통, 회복계 45계통, 불안정 6계통이었음. 최근 유럽에서도 웅성불임을 이용하여 다양한 품종이 육성 되고 있어 이들에 대한 웅성불임을 검정 할 필요가 있음 (표 50)
- 한국에서 이용하는 웅성불임성은 CGMS와 GMS msk (한국 유래 유전자적 웅성불임)인데 유럽에서 이용되고 있는 웅성불임은 주로 GMS이고 이 GMS는 여러 가지가 이용되고 있는 것으로 알려져 있음. 그러므로 유럽에서 도입된 웅성불임계통의 웅성불임 대립성 검정이 필요하여 3차년도에 수집한 웅성불임의 대립성검정을 한 결과 GMS ms3 (Daskaloff 유래 유전자적 웅성불임) 것을 알 수 있었음 (표 51)

표 50. 유전자원에 대한 CGMS 인자분석

년차	유지계	회복계	불안정계	합계
제 2차년도	14	33	28	75
제 3차년도	26	32	13	71
제 4차년도	9	19	-	28
제 5차년도	3	45	6	54
합계	52	129	47	228

표 51. 유럽도입 웅성불임 대립성검정

♀ ♂	유럽도입 ms (S : F)	표현형	비고
ms k B line	0 : 25	전체 가임	
ms k C line	0 : 25	전체 가임	CGMS B line
ms 3 B line	11 : 14	임성분리	임성분리함으로 ms 3임
ms 3 C line	0 : 25	전체 가임	

2) 유전자원에 대한 CMV 마커검정

- CMV 마커는 우리나라에서 최초로 개발된 분자마커로 그 효용성이 매우 큼. 이 분자마커를 이용함으로써 CMV 저항성 인자를 Hetero상태에서 곧바로 F₂세대 없이 여교배(BC)를 할 수 있었음
- 5년간 CMV에 대해 1,051계통 6,211점을 마커 검정한 결과 내병성 homozygote 1,980점, heterozygote 1,971점, 이병성 2,132점이었음 (표 52). 세대별 검정 결과는 F₂세대 182계통에서 172점, F₃세대(BC₁포함) 217계통 593점, F₄세대(BC₂ 포함) 298계통 623점 및 F₅이상 354계통 592점, 총 1,980점의 Homo 저항성 개체를 선발하였음 (표 53). 이 중 육성 목적에 부합하는 내병성 주요계통은 그 종자를 수확하여 보관 하였으며 내병성 조합친으로 사용하였음 (그림 29-35)

표 52. 유전자원에 대한 CMV 마커검정

CMV	Line No.	RR	Rr	rr	합계
제 1차년도	195	287	184	294	765
제 2차년도	161	301	337	347	985
제 3차년도	119	333	307	462	1,102
제 4차년도	308	519	541	472	1,532
제 5차년도	268	540	602	557	1,699
합계	1,051	1,980	1,971	2,132	6,083

표 53. 유전자원에 대한 세대별 CMV 마커검정

세대	계통수	RR	Rr	rr	합계
F2	182	172	180	798	1,150
F3(BC1포함)	217	593	469	575	1,637
F4(BC2포함)	298	623	635	406	1,664
F5이상	354	592	687	353	1,632
합계	1,051	1,980	1,971	2,132	6,083



CMV res.(RR);
선발된 인도풋고추 계통

X



CMV Sus.(rr);
이병성 중국 풋고추 계통

F1(Rr) X rr(BC1)

Rr : rr marker selection

BC1F1(Rr) X rr(BC2)

Rr : rr marker selection

BCnFn(RR) marker selection



CMV res.(RR); 마커선발을 통해 내병성 도입된 중국 풋고추 계통

그림 29. 마커 선발을 이용한 CMV 내병성 계통 육성도(위)



그림 30. CMV 선발계통(진고추)



그림 31. CMV 선발계통(인도풋고추)



그림 32. CMV 선발계통(인도진고추)



그림 33. CMV 선발계통(중국하늘초)



그림 34. CMV 선발계통(중국대과종)



그림 35. CMV+역병 선발계통(건고추)

3) 유전자원에 대한 TMV P3 마커검정

- 5년간 TMV P3에 대해 270계통 1,891점을 마커 검정한 결과 내병성 homozygote 417점, heterozygote 776점, 이병성 686점이었음 (표 54)
- 세대별 검정 결과는 F₂세대 41계통에서 43점, F₃세대(BC₁포함) 59계통 88점, F₄세대(BC₂ 포함) 68계통 108점 및 F₅이상 102계통 133점, 총 417점의 Homo 저항성 개체를 선발하였음 (표 55). 이 중 육성 목적에 부합하는 내병성 주요계통은 그 종자를 수확하여 보관 하였으며 내병성 조합친으로 사용하였음 (그림 36, 37)

표 54. 유전자원에 대한 TMV-P3 마커검정

TMV	Line No.	RR	Rr	rr	합계
제 1차년도	50	70	64	59	193
제 2차년도	52	51	70	86	207
제 3차년도	23	53	87	62	202
제 4차년도	56	104	179	143	426
제 5차년도	89	139	376	336	851
Total	270	417	776	686	1,879

표 55. 유전자원에 대한 세대별 TMV-P3 마커검정

세대	계통수	RR	Rr	rr	합계
F2	41	43	161	192	396
F3(BC1포함)	59	88	186	176	450
F4(BC2포함)	68	103	180	162	445
F5이상	102	183	249	156	588
합계	270	417	776	686	1,879



그림 36. TMV P3 선발계통(건고추)



그림 37. TMV P3 선발계통(중국풋고추)

4) 유전자원에 대한 유전자원에 대한 세균성반점병 마커검정

- 세균성반점병 (Bs2)는 3년차까지 우성마커로 hetero를 선발 할 수 없어 매 세대마다 저항성을 재 검정하여야하는 불편함이 있었으나 4차년도 부터는 co-dominant 마커를 사용하여 Hetero육성이 가능해져 보다 효율적이며 다양한 계통을 육성 할 수 있었음
- Bs2는 65계통 459점을 분석하여 156점의 우성저항성을 선발하였음. 이들 선발된 계통들을 이용하여 중국 북부용 건고추와 남부지방의 조합을 작성하였음 (표 56)

표 56. 유전자원에 대한 세대별 세균성반점병 마커검정

Bs2	계통수	RR	Rr	rr	합계
제 1차년도	8	17	-	10	27
제 2차년도	4	10	-	6	16
제 3차년도	13	19	-	1	16
제 4차년도	23	34	44	54	132
제 5차년도	17	76	92	100	268
합계	65	156	136	171	459

5) 유전자원에 대한 GMS 마커검정

- 제 3차년도에 개발된 GMSk(한국유래 GMS)를 이용하여 GMS계통을 보다 신속하고 정확하게 육성 시간을 단축 할 수 있는 계기가 되었음
- 지금까지 GMS를 육성 할 경우 매 세대 임성을 개개의 식물체마다 조사하여 가임과 불임을 구별 정식하였다. 이에 따른 묘의 노화와 교배기간의 지연에 따른 시간적, 비용적인 측면에서 비효율적 이었다. 최근 들어 유럽, 중동, 중국 및 인도의 품종육성을 하는데 CGMS로는 해결이 안 되는 계통이 너무 많아 다양한 품종요구에 대처할 수 없었음
- 새로이 개발된 GMS마커를 이용하면 GMS의 표현형으로는 알 수 없는 Hetero를 알 수 있으므로 매 세대형 매 교배로서 유지 육성하던 GMS를 Hetero로 유기 보다 효율적인 선발 및 순계를 얻을 수 있음
- 4차 년도에는 3차 년도의 결과를 기반으로 하여 3차에 걸쳐 67계통 449점을 분석하였음 (표 57). Homo 228점, Hetero 147점 및 74점의 불임개체를 얻었으며 불임주와 Hetero주를 이용하여 90계통의 새로운 GMS 육성불임 계통 조합을 작성 하였으며 이중 우수형질을 선발하여 5년차에 공시하여 임성을 확인하였음

표 57. 유전자원에 대한 GMS 마커 검정

ms k	계통수	MSMS	MSms	msms	합계
제4차년도	67	228	147	74	449

6) 유전자원에 대한 매운맛 co- dominant 마커검정

- 3차년도에 개발된 매운맛 co-dominant 마커를 이용하여 무신미계 품종육성을 할 수 있었음
- 최근 고춧가루 가공산업 및 수출 확대 노력으로 보다 다양하고 고품질의 품종요구가 이루어지고 있음. 특히 색상과 매운맛은 무엇보다 중요한데, 매운맛의 경우 같은 품종이라도 재배조건이나 환경, 기후에 의해서 많은 지배를 받아 일정한 결과를 얻지 못함. 따라서 무신미 품종을 육성하면 보다 안정적으로 매운맛 등급화가 가능해 짐
- 4차 년도에는 기 육성중인 무신미 계통들에 대해서 마커와 일치하는지를 검정해 보았고 이들 결과가 성분분석치와 일치하는지를 조사하여 분석한 전체 계통이 무신미로 성분분석과 일치하였음 (표 58, 그림 38)

표 58. 무신미 육성용 주요계통의 매운 맛 Marker 분석

공시번호	Marker	표현형	기타	공시번호	Marker	표현형	기타
5174-9	N ¹⁾	무신미	역병, CMV	5177-1	N	무신미	역병, CMV
5174-10	N	무신미	역병, CMV	5177-2	N	무신미	역병, CMV
5175-1	N	무신미	역병, CMV	5189-1	N	무신미	역병, CMV
5175-2	N	무신미	역병, CMV	5189-2	N	무신미	역병, CMV
5176-1	N	무신미	역병, CMV	5190-A	N	무신미	역병, CMV
5176-2	N	무신미	역병, CMV	5190-D	N	무신미	역병, CMV

¹⁾N ; Non pungent



그림 38. 무신미 선발개체 1



그림 39. 무신미 선발개체 2

7) 유전자원에 대한 역병 생물검정

- 역병 생물검정은 육성 목적에 따라 접종 농도를 달리하여 선발 하였음. 일반적인 접종농도는 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 을 기준으로 하여 선발하였고, 초기 분리세대 및 고도의 저항성이 요구되는 계통들에 대해서는 그 농도를 높여 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 으로 접종 선발 하였음. 접종 농도를 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 으로 하였을 때는 저항성 개체의 선발 빈도가 낮았음
- 새로운 계통육성을 위한 초기세대는 고농도 접종 후 선발된 계체들을 이용하여 여교잡을 실시하였고, 여교잡 후 다시 고농도 접종하여 선발, 접종을 반복하였음. 2-3회 고농도 여교배 후에는 접종 농도를 낮추어 접종 선발하여 원예적 형질을 고정하였음
- 이렇게 육성 고정된 계통들도 세대가 진전함에 따라 후대에서 이병성으로 변하는 경우가 있었음
- 제 4년차에 제 3년차 이전에 선발한 322계통들에 대해 재 선발 시험을 실시하였는데 29계통이 중도저항성 이하의 고사주가 발생하였고 나머지는 고도의 저항성을 보였음. 따라서 기존에 선발된 역병내병성 계통일지라도 2~3세대에 한번 이상은 재 검정하여 내병성을 확인 할 필요가 있는 것으로 조사되었음
- 육성 계통에 대한 생물 검정 결과는 제 1차년도 480계통 11,982점 중 저항성 7,228점, 이병성 4,753점, 제 2차년도 366계통 9,421점중 저항성 5,389점, 이병성 3,852점이었는데 이때까지는 접종 농도를 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 로 하였음
- 제 3차년도는 접종농도를 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 으로 하여 205계통 4,300점 중 저항성 881점, 이병성 3,419점 이었고 제 4차년도는 이전에 선발한 계통들을 재검정하여 423계통 7,828점 중 저항성 5,945점, 이병성 1,883점으로 저항성 빈도가 높았으며 제 5차년도 454계통 7,793점 중 저항성 3,131점, 이병성 4,664점이었음
- 총 5년간 1,928계통 41,146주 검정하여 저항성 22,574점, 이병성 18,572점을 얻었음 (표 59, 그림 40-44)

표 59. 유전자원에 대한 역병 생물 검정

Phytophthora capsici	Line No.	R	S	합계
제 1차년도	480	7,228	4,754	11,982
제 2차년도	366	5,389	3,852	9,241
제 3차년도	205	881	3,419	4,300
제 4차년도	423	5,945	1,883	7,828
제 5차년도	454	3,131	4,664	7,795
합계	1,928	22,574	18,572	41,146



그림 40. 역병 집중 선발계통



그림 41. 역병 집중 선발계통



그림 42. 역병 선발계통(건고추)



그림 43. 역병 선발계통(중국계)



그림 44. 역병 선발계통(인도계)

8) 유전자원에 대한 풋마름병 생물검

- 최근 들어 역병계 저항성 품종이 보급됨에 따라 그 동안 문제가 되지 않았던 풋마름병이 점차 늘어나는 경향이며 또한 동남아시아와 중국 남부지방을 중심으로 풋마름병이 문제가 되고 있어 저항성 품종 개발이 시급한 실정임
- 본 사업단에서는 분자 마커 개발을 위한 풋마름병 계통선발과 육성 집단을 만드는 것을 목표로 하고 있으며 이들 계통을 이용하여 저항성 품종을 육성하는 것을 목표로 시험하였음
- 제 1차 년도에는 풋마름병 저항성 계통을 선발하기 위한 기초 시험을 하였음. 총 14계통을 각 25주씩 집중하였는데 No. 444, 449 및 450의 계통이 저항성으로 나타나 이들 계통을 이

용하여 계통육성을 하였음 (표 60)

- 제 2차 년도에는 선발한 No. 444, 449 및 450의 계통을 이용하여 11조합을 작성 F₂종자를 채종 하였으며 F₃증식을 위해 중국 난닝에서 세대단축 하였으며 마커개발을 위해 F₁ 및 F₂ 종자를 ㈜에프엔피에 제공하였음
- 제 4차 년도에는 풋마름병 마커 개발을 위해 선발한 PS 15의 F₂ 및 F₃집단을 작성하여 인도네시아에 선발 시험하였으며, 마커 개발의 재현성 시험을 위해 PS 15의 약배양을 실시하여 1차 21개의 DH라인을 얻었고, 2차 42개의 DH를 획득하여 종자 채종하였음. DH는 사업단 종료 후에도 마커개발을 위해 사용할 계획임

표 60. 제 1차년도 유전자원에 대한 풋마름병 생물 검정

No.	접종주수	이병 주수				
		8.20	8.22	8.25	이병율%	저항성
control(BC)	25	9	12	20	80	S(이병)
444	25	1	2	2	8	R(저항)
449	25	1	3	3	24	R(저항)
450	25	1	0	1	4	R(저항)
451	25	11	11	13	52	M(중도)
462	24	8	13	19	79	S(이병)
506	13	1	4	5	38	M(중도)

9) 약배양 (DH) 계통육성

- 3년차 충북대로부터 인수한 약배양 계통을 4년차에 주요 특성조사를 하였음. 이 중 주요계통의 마커검정 결과 및 역병 생물 검정하였음
- DO계통은 CMV, 역병 및 매운맛 3개 인자가 관여하는 조합으로 약배양을 통해 3개의 인자가 모두 집적된 계통을 얻고자 하였음. 3개의 인자가 관여함으로 모두 호모인 계통을 얻기 위해서는 약배양 효율이 높아 약 400~500개의 DH가 얻어져야 유용한 원예적 형질의 계통을 얻을 수 있음
- 그러나 지금까지는 약배양의 효율이 그리 높지 않아 충분한 개체를 얻을 수 없었음. 금번 시험에서 25개 DH중 CMV, 역병에 저항성이며 무신미인 것은 Do-16 1개체였음
- 따라서 약배양 효율을 높이기 전까지는 우선 마커를 이용하여 CMV와 매운맛을 homo화 한 후 역병계와 조합을 하여 작성된 계통을 약배양하는 것과 같은 방법으로 선발 및 호모화 하는 것이 효과적임 (표 61, 그림 45-47). 제 4년차부터는 약배양이 과제에서 제외되어 누넬 자체의 약배양을 실시하였음

표 61. 약배양 유래 계통에 대한 marker 및 생물검정

공시번호	CMV marker	역병 생물검정	매운맛 marker	공시번호	CMV marker	역병 생물검정	매운맛 marker
DO-1	R	S	P	DO-14	S	R	P
DO-2	S	R	N	DO-15	S	R	P
DO-3	S	R	P	DO-16	R	R	N
DO-4	S	S	P	DO-17	R	R	P
DO-5	S	S	N	DO-18	S	S	P
DO-6	S	S	P	DO-19	R	S	P
DO-7	S	S	P	DO-20	R	S	P
DO-8	S	S	P	DO-21	R	S	P
DO-9	S	S	P	DO-22	S	R	P
DO-10	S	S	N	DO-23	S	S	P
DO-11	S	S	N	DO-24	S	R	P
DO-12	S	S	P	DO-25	S	S	P
DO-13	R	R	P				

P ; Pungent, N; Non pungent



그림 45. DH(중국계, CMV) 그림 46. DH(건고추, CMV+역병) 그림 47. DH(인도계, CMV+역병)

10) 내병성 계통육성 조합작성

- CMV, TMV P3, 역병, Bs2, 흰가루병 및 TSWV에 대한 내병계 복합 내병성 조합을 작성하여 계통육성을 하였음
- CMV 76조합, TMV P3 39조합, 역병 84조합, Bs2 19조합, 흰가루병 14조합, TSWV 8조합 및 2-3인자 복합 내병성 65조합 총 305조합을 작성하여 각각의 내병성 마커분석을 실시하였고 (표 62), 약 250계통의 복합 내병성 계통을 육성 중에 있음
- CMV, Bs2 복합 내병계 모계친을 마커를 이용하여 육성하고, TMV P3, 역병 복합 내병계를 마커와 생물검정으로 선발한 (그림 48-51) 후 복합 내병계 조합을 작성한 모식도입 (그림 52). 분자 마커를 이용함으로써 매 세대 Hetero상태에서 여교잡이 가능하고 생물검종 없이 마커로 선발함으로써 시간을 단축할 수 있었음

표 62. 복합내병성 계통 육성 조합 작성

구분	계통수					합계
	1차	2차	3차	4차	5차	
CMV	12	14	15	21	14	76
TMV-P3	8	10	8	11	2	39
역병	19	17	12	16	20	84
Bs2	-	-	3	6	10	19
PM	-	-	6	2	6	14
TSWV	-	-	-	2	6	8
복합내병성	10	7	10	19	19	65
합계	49	48	54	77	77	305



그림 48. CMV + 역병 복합내병계



그림 49. TMV P3 + 역병 복합내병계



그림 50. CMV+TMV+역병 복합내병계



그림 51. 역병 복합내병계 계통

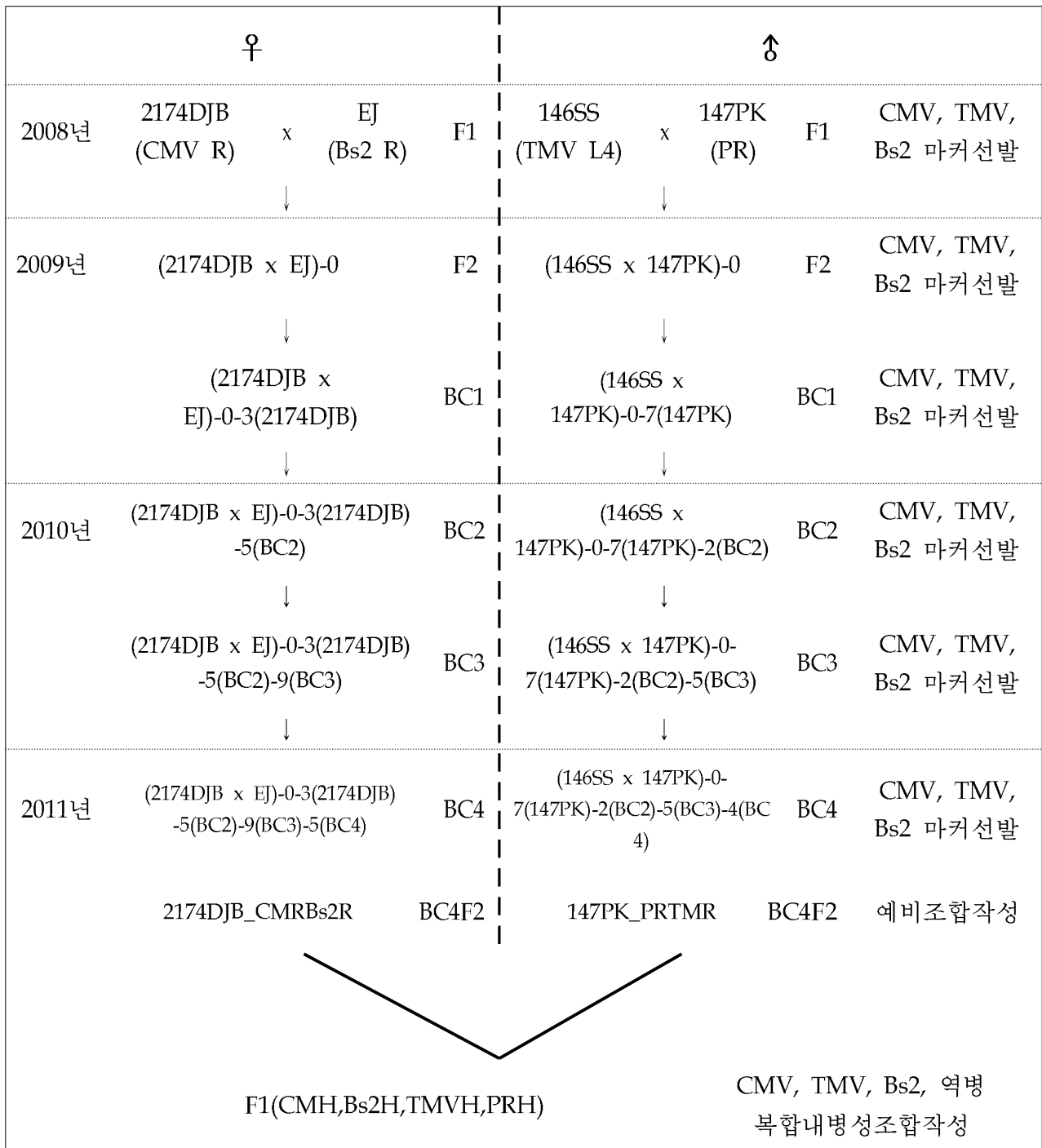


그림 52. CMV+Bs2 +TMV+역병 복합내병성 계통 육성 및 F1조합작성 모식도

2. 국내 조합선발시험

가. 예비조합선발시험

- 국내용 1,827조합, 중국용 724조합, 인도용 913조합 및 유럽 등 기타 326조합 총 3,790조합을 공시하여 특성을 조사하고 목표시장에 적합한 예비 조합을 선발하였음 (표 63)

표 63.년차별 예비조합선발시험 내역

(단위; 조합)

년차별	한국	중국	인도	기타	합계
1차년도	287	84	203	45	619
2차년도	298	118	110	48	574
3차년도	342	168	110	163	783
4차년도	300	188	289	30	807
5차년도	600	166	201	40	1,007
합계	1,827	724	913	326	3,790

1) 제 1차년도

- 국내용 건고추에서는 SP16532조합이 CMV 내병성과 역병에 대한 저항성을 가지며 수량성과 건과품질이 우수하여 선발하였음. 인도용으로는 SP92339조합이 CMV에 내병성이며 신미가 강하고 건조가 용이하며 고온 착과가 잘되는 조합으로 적합하여 선발하였음. 이들 조합은 본 과제가 선정되기 전 조합 작성한 것을 CMV마커를 이용하여 내병성임을 확인한 조합들임 (표 64, 그림 53-54)

표 64. 제 1차년도 예비조합선발 내역

조합명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP16532	14.5	2.1	강	중다	CMV, 역병	마커, 생물검정
SP92339	10.3	1.6	강	다	CMV	마커검정



그림 53. SP16532



그림 54. SP92339

2) 제 2차년도

○ 제 1차년도에 역병 집중을 통해 저항성으로 선발된 계통들과 CMV, TMV 마커를 이용하여 내병성으로 선발된 계통을 이용하여 조합 작성된 것들 중 건고추용으로 육성 목적에 부합하는 SP16544, SP16510, SP17255 및 SP18198조합을 선발하였음. 이들 조합은 3차년도에 농가 확대 시험을 하였음. 이들 조합의 마커 기여도는 30% 미만임 (표 65, 그림 55-58)

표 65. 제 2차년도 예비조합선발 내역

조합명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP16544	13.5	2.1	강	중	CMV	마커검정
SP16510	15.5	2.2	중강	중다	역병	생물검정
SP17255	8.0	1.4	강	다	역병	생물검정
SP18198	16.2	1.9	중약	다	TMV,역병	마커검정



그림 55. SP 16544



그림 56. SP 16510



그림 57. SP17255



그림 58. SP18198

3) 제 3차년도

- 제 1, 2차년도에 마커 검정과 역병 생물 검정을 통해 선발한 계통을 이용하여 작성된 조합 중 육성 목적에 부합하는 SP19221과 SP18239조합을 선발하였음 (표 66)
- SP19221은 숙기가 이르고 과실이 크며 역병과 CMV에 저항성이 있고 착과가 안정적이며 수량이 많았음 (그림 59)
- SP18239는 강력대통 (SP16532, 2차년도 품종보호출원)보다 과장이 길고 숙기가 조금 이르며 내병성은 유사(역병, CMV)하였음. 또한 초기 수량이 강력대통보다 많았음 (그림 60)
- 이들 2조합은 CMV마커를 이용하여 부계친을 육성, 선발한 계통을 이용하여 조합을 작성 선발한 조합이며, 이들 조합의 마커기여도는 약 50% 정도임

표 66. 제 3차년도 예비조합선발내역

조합명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP19221	14.1	2.2	중강	다	CMV,역병	중국 난닝, 사천 동시선발, 마커검정
SP18239	18.2	2.1	중강	중다	CMV,역병	마커검정



그림 59. SP19221



그림 60. SP18239

4) 제 4차년도

- 제 1, 2, 3차년도에 마커 검정과 역병 생물 검정을 통해 선발한 계통을 이용하여 작성된 조합 중 육성 목적에 부합하는 SP18241, SP18242조합을 선발하였음 (표 67)
- SP18241은 중생종으로 과실이 크고 굵으며 역병 및 바이러스(CMV)에 강해 수량이 많고 재배가 안정적임. SP18241은 응고집(2011-542)으로 품종보호 출원하였음 (그림 61)
- SP18242는 과장이 아주 길고 역병과 CMV에 내병성임. SP18242는 한마루 (02-2004-2011-23)로 품종생산판매신고 하였음 (그림 62)
- 이들 조합은 계통선발부터 분자마커를 이용하여 육성된 계통을 사용하여 마커 기여도는 50%이상임

표 67. 제 4차년도 예비조합선발내역

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP18241	13.5	2.4	강	다	CMV,역병	마커검정
SP18242	16.4	2.4	강	중다	CMV,역병	마커검정



그림 61. SP 18241



그림 62. SP 18242

5) 제 5차년도

- 제 1, 2, 3, 4차년도에 마커 검정과 역병 생물 검정을 통해 선발한 계통을 이용하여 작성된 조합 중 육성 목적에 부합하는 SP19172, SP10284조합을 선발하였음 (표 68)
- SP19172는 조생종으로 숙기가 이르고 역병 및 바이러스(CMV)에 아주 강해 수량이 많고 재배가 안정적이었음 (그림 63)
- SP10284는 중조생종으로 초세가 강하고 역병과 CMV에 내병성 이었음 (그림 64)
- 이들 조합은 계통선발부터 분자마커를 이용하여 육성된 계통을 사용하였으며 이들의 분자 마커 기여도는 80%이상임. 2012년 지역적응성 시험 후 품종보호예정임

표 68. 제 5차년도 예비조합선발내역

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP19172	15.0	1.9	약	중다	CMV,역병	바이러스 극강 마커검정
SP10284	14.0	2.1	강	다	CMV,역병	마커검정



그림 63. SP 19172



그림 64. SP 10284

나. 농가별 실증시험(지역적응성 시험)

1) 제 1차년도 선발 조합의 농가 실증시험

- 제 1차년도(2007)에 선발한 조합 SP16532를 전국 24개 지역에 농가 적응성 시험을 실시하여 역병과 바이러스(마커검정 : CMV)에 내병성이 있는 것을 확인 하였음 (표 69, 그림 65-66). 또한 견과 품질이 우수한 다수확 품종으로 신미가 아주 강한 것으로 확인 되었으며 농가 선호도가 좋아 2008년 10월 13일 “강력대통”으로 품종보호출원(출원 2008-345)을 실시하였음 (그림 67)

표 69. SP 16532(강력대통)의 주요지역별 특성

지역	재배자	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
괴산	김경호	14.5	2.1	강	다	CMV, 역병	역병포장오염심함
안동	이명호	15.2	2.3	강	다	CMV, 역병	역병포장오염조금
영월	김주섭	15.7	2.3	중	다	CMV, 역병	역병포장오염심함
부여	조상봉	13.9	2.0	강	다	CMV, 역병	역병포장오염중간
의성	박재수	14.5	2.0	강	다	CMV, 역병	역병포장오염중간



그림 65. 강력대통 착과모습



그림 66. 강원 영월 강력대통

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이
 통지권 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 권오권 전화: (031) 467-0110-0113 FAX: (031) 448-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 430-016 경기도 안양시 만안구 안양6동 433

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2008. 10. 13	품종보호 출원번호: 출원 2008 - 345
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 품 명: 고추
 품종 명칭: 강력대통
 출 원 인: 바이엘크롭사이언스(주) 농업사업부
 주 소: 충북 청주시 상당구 우성동 297-18

2008년 10월 13일

국립종자원



그림 67. 강력대통 품종보호 출원

2) 제 2차년도 선발 조합의 농가 실증시험

- 제2차년도(2008)에 선발한 조합 SP16544, SP16510, SP17255를 전국 54개 지역에 농가 적응 시험을 실시하여 역병, TMV 또는 CMV에 내병성이 있는 것을 확인 하였음
- 이 중 역병과 TMV P3에 복합 저항성이 있는 SP18198을 “강력 미리내 (신고번호; 02-0004-2009-53)”로 SP16544는 “강풍(신고번호;02-0004-2009-54)”으로 품종생산판매 신고를 완료하였음

표 70. 시교조합의 주요특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP16544	13.9	2.2	강	중	CMV	
SP16510	16.3	2.3	중강	중다	역병	
SP17255	10.0	1.6	강	다	역병	극강신미
SP18198	18.2	2.0	중약	다	TMV,역병	강력미리내



그림 68. SP18198



그림69. SP18198(청천),가운데(신흥계, 이병성)

3) 제 3차년도 선발 조합의 농가 실증시험

- 제 3차년도(2009)에 선발한 조합 SP19221, SP18239를 전국 60개 지역에 농가 적응성 시험을 실시하여 역병 및 CMV에 내병성이 있는 것을 확인 하였음 (표 71)
- 이중 역병과 CMV에 복합 저항성이며 숙기가 이르고 착과가 안정적인 SP19221은 노지 및 터널재배용으로 우수하여 “불꽃처럼(신고번호;02-004-2010-74)”로 품종생산 판매신고 하였음 (그림 70)
- 또한 SP18239는 대장과형 대과종으로 역병에 강하고 바이러스에도 내병성이 있는 조합으로 농가 선호도가 우수하여 “적벽대전(출원 2010-485)”으로 품종생산판매신고 및 품종보호를 출원하였음 (그림 71, 72)

표 71. 시교조합의 주요특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP 19221	13.7	2.4	중	다	CMV, 역병	터널, 노지
SP 18239	16.0	2.3	중강	중다	역병, CMV	



그림 70. SP 19221



그림 71. SP 18239

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이
 통지권 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 김현옥 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 430-016 경기도 안양시 만안구 안양6동 433

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2010.11.22	품종보호 출원번호: 출원 2010 - 485
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 물 명 : 고추
 품종 명칭 : 적벽대전
 출 원 인 : 바이엘크롭사이언스(주) 농업사업부
 주 소 : 경기 안성시 삼죽면 윤곡리150

2010년11월22일

국립종자원 

그림 72. 적벽대전 품종보호 출원

4) 제 4차년도 선발 조합의 농가 실증시험

- 제 4차년도(2010)에 선발한 조합 SP18241, SP18242를 전국 50개 지역에 농가 적응성 시험을 실시하여 역병 및 CMV에 내병성이 있는 것을 확인 하였음
- SP18241은 대과종으로 초세가 강하고 건과 품질이 우수하며 신미가 강해 농가 선호도가 우수해 “웅고집(출원 2011-542)”로 품종생산 판매신고 및 품종보호 출원하였음 (그림 73, 75)
- 또한 SP18242는 대장과형 대과종으로 역병에 강하고 바이러스에도 내병성이 있는 조합으로 농가 선호도가 우수하여 “한마루(신고번호02-0004-2011-23)”로 품종생산판매신고 하였음 (그림 74)



그림 73. SP 18241



그림 74. SP 18242

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이
 통지된 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 서주연 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 430-010 경기도 안양시 만안구 안양로 184

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2011.11.28 품종보호 출원번호: 출원 2011-542
 품종명칭 출원번호: 명칭

작 물 명: 고추
 품종 명칭: 옹고집
 출 원 인: 바이엘크롭사이언스(주) 누벨사업부
 주 소: 경기 안성시 삼죽면 율곡리 150

2011년11월28일

국립종자원



그림 75. 옹고집 품종보호 출

다. 대목 품종육성

- 제 2차년도에 대목용으로 시험한 6개 조합 중 역병접종시 내병성이 높고 접목이 용이한 SPR003을 선발하여 대목으로 이용하고 역병에 내병성이 없는 대통과 새로미 품종을 접목 하여 전국 농가에 약 20,000주를 시험한 결과 대목으로서의 우수성이 인정되었음
- 또한 제 3차년도 시험에서 선발한 SPR 901과 SPR 902을 전국 농가에 약 40,000주를 공시 한 결과 역병과 청고병에도 고도의 저항성이 있는 것으로 조사되었음 (표 72)
- 제 4차년도 시험 결과 SPR003은 농가 노지 시험에서 안정적인 결과를 얻었으나 하우스 시험에서 SPR 901, SPR 902보다 안정성이 떨어져 품종생산 판매신고를 보류하고 보다 안정 적이며 고도의 역병 저항성이 있는 SPR 901 (SP19277)을 “뉴라이프(출원 2010-484)”로 품종생산판매신고 및 품종보호출원을 하였음. 뉴라이프는 마커기여도가 약 50% 정도이며 생물 검정 기여도는 약 40%정도임. SPR 902는 역병 및 청고병에 아주 강하였으나 저온기 잎의 기형이 발생하는 현상이 있어 제 5차년도에 재 시험 및 확대 시험한 결과 안정적인 대목으로 판명되어 “알에스 902(출원 2011-551)”로 생산판매신고 및 품종보호출원 하였 음. 알에스 902는 마커 기여도가 약 40% 이며 분자마커 사업단의 생물 검정 기여도가 약 70% 정도임 (그림 76-81)

표 72. 선발 대목용 조합의 특성

Combination	Hypocotyl		First internode		Easy to grafting	Remarks
	Length (cm)	Wide (cm)	Length (cm)	Wide (cm)		
SPR 003	4.1	0.20	4.46	0.19	Easy	역병
SPR 901	4.6	0.22	4.68	0.20	Easy	역병
SPR 902	4.5	0.21	4.62	0.20	Easy	역병, 청고병
Control	4.3	0.22	3.54	0.20	Easy	역병



그림 76. 선발대목 접목모습



그림 77. SPR901 902 CONTROL



그림 78. 집중진경



그림 79. SPR 901 실생 902

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이

동지권 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 김현옥 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 430-0116 경기도 안양시 만안구 안양6동 433

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2010.11.22	품종보호 출원번호: 출원 2010 - 484
	품종명칭 출원번호: 명칭

작 품 명: 고추
 품종 명칭: 뉴라이프
 출 원 인: 바이엘크롭사이언스(주) 누템사업부
 주 소: 경기 안양시 삼죽면 윤곡리150

2010년11월22일

국립종자원

그림 80. 뉴라이프 품종보호 출원

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이

동지권 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 서주연 전화: (031) 467-0111 FAX: (031) 467-0116
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 430-0116 경기도 안양시 만안구 안양로 184

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2011.12.5	품종보호 출원번호: 출원 2011 - 551
	품종명칭 출원번호: 명칭 2011 - 1477

작 품 명: 고추
 품종 명칭: 알에스902
 대 리 인:
 주 소:

2011년12월05일

국립종자원

그림 81. 알에스 902 품종보호 출원

3. 해외 조합선발 및 적응성시험

가. 중국 조합선발 및 적응성시험

1) 노지용 하늘초 조합선발(중국 수광)

- 중국 산둥 누념육종연구소에 제2차년도 및 제 3차년도에 복화방 하늘초 조합의 선발을 목적으로 시험하였음
- 시험된 조합들 중 마커분석 결과 CMV 내병성으로 확인된 계통이 사용된 조합 중 SP 4009 및 SP 4018을 선발하였으며 단화방 하늘초 선발을 목적으로 SP68902을 선발 하였음 (표 73, 그림 82-85)
- 이들 조합은 유전자원 수집, 육성중인 계통들을 마커를 이용하여 내병성 여부를 판단하고, 마커분석결과 내병성이 있는 계통과 없는 계통을 이용한 조합이 포장 저항성에 있어 어떻게 달라지는지를 확인 후 조합을 선발 하였음
- 마커 선발시 CMV저항성이 있는 조합들은 그렇지 않은 조합에 비해 바이러스 내병성이 많이 다른 것을 확인 할 수 있었음. 이들 조합들은 2012년 농가 확대 시험 예정 중임

표 73. 중국 산둥 노지 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP68902	5.7	0.8	중약	다	CMV	단화방하늘초
SP68904	5.3	0.6	중약	다	-	단화방하늘초
SP69906	5.7	1.0	중	다	-	복화방하늘초
SP69907	7.0	0.9	중강	다	-	복화방하늘초
SP4009	4.5	0.9	중강	다	CMV	복화방하늘초
SP4018	5.5	0.7	강	다	CMV	복화방하늘초



그림 82. SP 4009



그림 83. SP 4018



그림 84. SP 68902



그림 85. 바이러스 이병

2) 노지용 한국형 건고추 조합선발 및 농가적응성 시험(중국 사천)

- 건고추 및 가공용 홍고추용 선발을 위해 중국 사천 지방에서 제 2차, 3차, 4차년도에 조합 선발 및 현지 적응성 시험을 실시하였음. 이 지역은 년 중 기온이 낮아 재배기간이 파종 후부터 수확기까지 매우 길었음
- 2차년도에 SP16511, SP18050 및 SP14056을 선발 하였고 (표 74), 3차년도에 SP19221, SP19036 및 SP 19037을 선발하였음 (표 75). 4차년도에는 SP16149 및 SP10044를 선발하였으며 (표 76), 기 선발한 조합들은 농가 확대시험을 실시하였음. SP18050은 한원 17호, 14056은 한원18호로 중국 현지 판매 중에 있으며 SP19221은 1012년 등록 판매 예정임 (그림 86-91)

표 74. 제 2차년도 중국 사천 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP16511	15	2.1	강	다	역병	
SP18050	14	2.0	중강	다	CMV	한원 17호
SP14056	13	2.0	약	중	CMV	한원 18호
SP14049	16	2.2	중강	중약	CMV	

표 75. 제 3차년도 중국 사천 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP19221	14.1	2.2	중강	극다	CMV, 역병	2012 판매예정
SP19036	13.2	1.8	강	다	TMV P3	
SP19037	14.0	2.2	강	다	TMV P3	

표 76. 제 4차년도 중국 사천 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP16149	14.5	2.4	강	다	-	확대시교
SP10044	16.3	2.3	강	다	CMV	확대시교



그림 86. 조합선발(지방정부+TV)



그림 87. SP 14056(한원 18호)



그림 88. SP 18050 (한원 17호)



그림 89. SP19221



그림 90. 조합선발 및 품평회



그림 91. SP 10044

3) 중국 난닝 예비조합선발시험

- 제 2, 3 4년차 작성된 신조합을 중국 난닝에서 1차 예비 조합선발 시험을 실시하고 선발된 조합들은 한국에서 2차 선발 시험을 실시하였고, 일부 조합은 증식하여 농가 확대 시험을 실시하였음 (표 77)
- 난닝은 12월 파종하여 4-5월 이면 1차 선발을 완료 할 수 있으므로 그 결과에 따라 한국에서 5월 정식시 주요 선발 계통은 확대 시험 할 수 있고 종자를 증식 할 수 있었음. 난닝 예비조합 선발 시험에서 한국계 건고추 조합은 작과가 매우 양호하고 재배가 잘 이루어져 조합선발 하는데 적합하였음. 중국 노지용 선초계열의 조합 선발에도 적합하였으며 남방계 고추 선발에도 적합 하였음
- 제 3~4차년도에 제 3차년도에 작성된 조합 중 SP19221 (그림 92)와 SP18239 (그림 93)는 마커 검정 결과 CMV에 내병성인 것을 알 수 있었으며 생물 검정 결과 역병에도 고도의 저항성인 것을 알 수 있었음. 난닝 재배시에도 충해 및 바이러스가 심한 중에서도 내병성이 강하여 제 4차년도에 확대 시험 하였음
- 제 4~5차년도에는 중국 선초계열의 조합을 위주로 선발 할 수 있었음. 선초계열은 아직까지 외국에서 육성된 우수한 품종이 없는 실정이며, 병저항성도 일부 품종에서 강하나 그리 높지 않은 실정임. SP60880 (그림 94), SP60916 (그림 95, 96), SP69930, SP96441 (그림 97) 및 SP60921 (그림 98)이 CMV분자 마커를 이용하여 육성된 계통을 사용하여 작성된 조합 중 우수하여 선발하였음

표 77. 제 4차년도 중국 사천 선발 조합의 주요 특성

공시 No.	품종명	과장 (cm)	과경 (cm)	내병성 (마커결과)	주요시장	비고
N167	SP19221	14.7	3.1	역병, CMV	한국, 중국	조생, 대과 다작과 품종생산판매신고 필
N196	SP18239	15.5	2.7	역병, CMV	한국, 중국	장과계 대과종 품종보호접수완료
N250	SP69930	18.5	2.3	CMV	중국	선초계
N251	SP60916	20.5	2.2	CMV	중국	선초계
N252	SP60880	20.3	2.4	CMV	중국	선초계
N255	SP96441	18.2	1.9	CMV	중국	선초계
N258	SP60921	18.5	1.8	CMV	중국	선초계



그림 92. SP 19221



그림 93. SP 19239



그림 94. SP 60880



그림 95 . SP 60916



그림 96. 중국 누넴 영업직원과 거래처 직원



그림 97. SP 96441



그림 98. SP 60921

나. 인도 조합선발 및 적응성시험

1) 제 2차년도 델리 MUTAL 지역 현지 조합선발 및 적응성시험

- 제 2차년도에 인도 현지 조합선발 및 적응성 시험을 위해 델리 무탈, 방갈로 및 군트르 지역에 각 110조합을 공시하여 조합선발시험 하였음
- 델리 지역은 고온착과성 및 저온 착과성 예비 조합을 선발하기에 적합한 곳임. 누넝종묘 무탈 농장에 공시 재배한 조합은 11월부터 야간 저온(18℃이하)이 시작되어 단위 결과가 나타나며 3-5월 사이는 고온으로 착과가 잘 이루어지지 않음. 시험 중인 조합 중 1차로 하단 착과 및 바이러스에 강한 조합을 선발하였으며 2차로 후기 고온 착과성을 조사하여 SP92339을 선발 하고 최종적을 방갈로와 군트르 성적을 참고하여 군트르에서 최종 선발하였음 (표 78, 그림 99-102)

표 78. 인도 델리 MUTAL지역 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP92339	9.3	1.3	강	다	CMV	인도, 중동
SP98331	10.3	1.1	중강	중다	CMV	인도
SP15061	14.6	1.7	중	다	CMV	아시아, 중동
SP98475	16.2	1.2	중	다	CMV	인도, 중국
SP9231	15.5	1.4	강	다	CMV	인도



그림 99. SP 92339



그림 100. SP 98331



그림 101. SP 98475



그림 102. 인도 델리 MUTAL 연구소

2) 제 3차년도 인도 군트르 지역 현지 조합선발 및 적응성시험

- 인도 현지 조합선발 및 적응성 시험을 위해 군트르 지역에 110조합을 공시하여 조합선발시험을 하였음
- 군트르 지역은 건고추를 주로 재배하는 지역으로 인도의 건고추 주산단지이며 재배 면적도 제일 넓음. 군트르 시험에서 SP92339와 SP92400을 선발하였음 (표 79)
- SP92339는 인도 델리 Mutal지역에서 선발되었던 인도 지역 품종인 G4계 소과종으로 신미가 매우 강하며(SHU 90,000), 착과성·수량성·건과색이 우수하였음 (그림 103)
- SP92400은 인도 현지 품종과는 다른 형태로 지역 품종보다 과실이 굵고 크며 과육이 다소 두꺼운 조합임 (그림 104). 이 조합은 기존 육성되었던 품종보다 건과색이 특히 우수하고 건조시 과요철이 적어 공시되었던 조합 중에서 가장 우수한 건과 품질을 나타내었음. 이들 조합의 분자마커 기여도는 약 40% 정도임.

표 79. 인도 군트르 지역 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP92400	14.1	1.8	강	다	CMV	대과종, 건과품질상
SP92339	9.3	1.3	강	다	CMV	소과종, 매운맛 강
SP9231	15.5	1.4	강	다	CMV	우점품종, 순한맛



그림 103. SP92339



그림 104. SP92400

3) 제 4차년도 인도 방갈로 지역 현지 조합선발 및 적응성시험

- 인도 현지 조합선발, 적응성 시험 및 품평회를 위해 방갈로 지역에 48조합을 공시하여 조합선발시험을 하였음 (표 80)
- 2009년초 선발 2009~2010시즌 확대시험을 실시한 SP92339와 SP92400를 방갈로에 공시하여 품평회를 실시하였음 (그림 105). 이 중 SP92400 (그림 106)은 농가 및 상인의 호응이 좋아 2010~2011년 시즌용으로 약 350kg, 2011~2012년 시즌용 500kg이 판매되었음. SP92339는

2011년 재선발 되었고 현재 군트로 지역에 재시험 중에 있으며 2012년 약 100kg판매 예정임

- 또한 조합선발시험에서 SP92606을 풋고추와 건고추 검용으로 선발 2011년 50kg판매하였으며 2012년 100kg판매 예정에 있다. SP92606 (그림 107)도 분자마커를 이용하여 선발한 계통을 사용한 조합으로 마커 기여도는 약 50%임

표 80. 인도 방갈로 지역 선발 조합의 주요 특성

품종 명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP92400 (NUN0035)	15.4	2.0	강	다	CMV	시판
SP92339 (NUN0051)	9.3	1.3	강	다	CMV	시판
SP92606 (NUN0013)	13.1	1.5	강	다	CMV	시판



그림 105. 품평회 포장 전경



그림 106. SP92400



그림 107. SP92606

4) 제 5차년도 인도 방갈로 지역 현지 조합선발 및 적응성시험

- 최근 들어 인도에서 고색소용 품종의 재배가 늘어가고 있으며 품종 요구도가 높음. 이들 고색소용 BYADAGI 품종군은 내병성이 상대적으로 떨어지는 경향이 있음. 따라서 인도 현지

에 분자마커를 이용하여 선발한 CMV 내병성 계통이며 고색소용인 계통을 이용하여 작성한 조합을 방갈로에 32조합 공시하여 예비조합선발시험을 하였음 (표 81)

- 공시된 조합 중 CMV, 풋마름병 복합내병성이며 수량이 많은 SP99646 (그림 108)을 선발하였으며. 또한 CMV 내병성이며 색소함량이 아주 높은 (ASTA 180이상) BYADAGI 형인 SP91447 (그림 109) 조합을 선발하였음. 이들 조합은 2012년 재시험을 하여 보급 여부를 확대 예정임

표 81. 인도 방갈로 지역 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP99464	15.0	2.0	강	다	CMV, 풋마름병	
SP91447	17.2	1.5	강	다	CMV	색소용 (ASTA +180)



그림 108. SP99646



그림 109. SP91447

다. 기타지역 조합선발 및 적응성시험

1) 제 2차년도 요르단 지역 현지 조합선발 및 적응성시험

- 요르단은 사막 기후로 비가 적고 병, 충해가 비교적 적어 조합 선발하기에 적합하여, 이곳에서 선발한 조합은 중동 및 북 아프리카 지역에 보급 할 경우 현지 적응성이 우수함
- 유럽에서 육성된 대부분의 조합은 신미가 약하여 최근 늘어나고 있는 신미계 고추의 수요를 감당하지 못하고 있음. 또한 이 지역의 종자 유통가격도 비교적 높아 시장성이 좋음
- 요르단에 2007년 1차년도에 선발된 조합을 지역 적응성 시험을 실시하였음. SP62568, SP64620, SP65647 및 SP15061을 선발하였으며 (표 82, 그림 110-111) 이들 조합은 기 육성된 조합의 CMV내병성을 마커로 검정하여 마커 기여도는 약 20%임

표 82. 요르단 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	내병성	기타
SP62568	22	3.4	약	중다	-	저온착과성우수
SP64620	23	2.8	중강	다	CMV, TMV	과모양우수
SP15061	15	2.0	중강	다	CMV	과모양우수
SP65647	16	3.0	강	다	CMV	



그림 110. 요르단 재배전경



그림 111. 조합선발(중동지역 상인)

2) 제 3차년도 요르단 지역 현지 조합선발 및 적응성시험

- 요르단에 2008년 선발된 조합과 2008년 작성된 조합을 공시하여 지역 적응성 시험을 실시 하였음. 2008년 선발된 조합 중 SP62568(NUN0055), SP64620(NUN0072) 3차년도 재배시험 에서도 성적이 우수하였음. 그중 SP64620은 품종등록을 진행 중에 있음 (표 83)
- 요르단에서 선발된 조합들은 중동과 아프리카 지역에 판매가 가능한데 이들 지역에서도 바이러스 (CMV,TSWV 등)병의 내병성 요구가 많음. 그러나 우리가 이용하고 있는 분자마커 를 사용하여 선발한 내병성 조합과 이병성 조합의 포장 병저항성이 유사하게 나오는 경위 가 있는 것으로 미루어 보아 특정한 한 가지 바이러스 내병성보다는 복합내병성이 필요한 것으로 생각됨
- 2009년 공시한 조합 중에서는 SP69661(68990)이 선발되었음. SP69661은 과형이 일자형으로 곧고 길며 과색이 황녹색을 띠어 터키 등에서 선호하는 Demure형 고추로 이 조합은 분자 마커를 이용하여 CMV 내병성 계통을 육성한 한쪽 친을 사용하여 마커 기여도는 약 60% 임

표 83. 요르단 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	과색	내병성	기타
SP62568	20	3.0	약	중다	담녹	-	확대시험
SP64620	24	2.5	중강	다	녹+	CMV, TMV	품종명“LAHAB”
SP69661	26	2.3	강	다	황녹	CMV	터키 등 확대시험

3) 제 4차년도 유럽, 중동 지역 적응성시험

○ 요르단에서 2009년 선발된 조합을 중동지역에 확대 시험한 결과 (표 84), SP64620 (NUN0072, 그림 112-113)이 중동지역의 품종요구도와 부합하여 유럽지역에 “LAHAB”로 품종등록을 하였으며 2011년 약 10kg(약 1억원) 판매, 2012년 30kg 판매예정임. SP62568(NUN0055, 그림 114)은 과색이 담녹색이나 이 지역에서 요구하는 황녹색 보다는 다소 짙어 재시험 예정이며, SP69661 (그림 115)은 과형, 수량성, 기호도 등이 우수하여 2012년 확대시험 예정에 있음

표 84. 중동지역 선발 조합의 주요 특성

품종명	과장(cm)	과경(cm)	초세	착과성	과색	내병성	기타
SP62568	20	3.3	약	다	담녹	-	재시험
SP64620	23	2.4	중강	다	농녹	CMV, TMV	LAHAB로 품종등록
SP69661	24	2.2	강	다	황녹	CMV	육묘시 BLIND PLANT 발생, 재시험



그림 112. SP 64620



그림 113. SP 64620(NUN 0072)



그림 114. SP 62568



그림 115. SP 69661(68990)

RART III. 고추분자육종을 위한 분자마커 분석 및 병리연구 지원

제 1절 계통 육성 및 품종 개발에 분자마커 분석 지원

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 분자마커 분석지원; 종묘회사의 육성 계통 각 소재 선발 및 육종 단계별 분자마커 분석
2. 발표 및 개발된 마커의 육종소재 활용가능마커로 개선

제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 분자마커의 분석지원 체계 확립

- (주)에프엔피에서 개발하거나 기 논문에 게재된 분자마커 6개인 오이모자익바이러스 저항성 인자인 Co, 담배모자익바이러스 저항성 인자인 L4, 세균성반점무늬병 저항성 인자인 Bs2, 흰가루병 저항성 인자, 매운맛 관련 인자인 Pun 1, 과실형태 인자인 Tri1를 1년차부터 선발에 활용할 수 있도록 지원함
- 사업단내에서 개발목표인 10개의 마커들은 개발 즉시 각 종묘회사로부터 sample을 분양받아 활용 가능 여부를 즉시 판단 사업단내의 육종시스템에 도입함
- 마커 서비스의 경우, Seminis나 다끼와 같은 구조를 도입하여 식물체 잎을 사업단으로 송부하면 분석하여 결과를 메일로 보내주고 사업단 참여 육종회사에 한하여 분석료는 실비인 1,500원/시료로 지원함
- 분자마커 분석을 통한 계통육성을 지원하기 위해 기 개발된 마커를 이용하여 그림 1과 같이 분석방법 및 지원체계를 확립하였고 그림 2와 같이 분석결과를 발송하였음
- 현재 분석지원이 이루어지고 있는 분자마커는 병 관련 마커로 오이모자익바이러스 (CMV, Co), 담배모자익바이러스 (TMV L4), 세균성반점무늬병 (Bs2)와 교배관련 마커인 Rf35, MSK, MS3, MS509 형질관련 마커인 매운맛 (PH5) 등이 있음 (그림 3, 표 1)
- 1-3과제로부터 신규 개발되어 분석 지원되는 마커로 회복친 관련 Rf35 마커 유전적 응성불임성 관련 MSK, MS3 마커와 기 발표 마커를 개선하여 효율성을 높인 매운맛 관련 PH5-2 마커가 있음
- 3차 년도에 신규 개발된 회복친 관련 Rf35 마커와 유전적 응성불임 관련 MSK에 대하여 4차 년도에 원활한 분석이 수행됨
- 4차 년도에 신규 개발된 유전적 응성불임 관련 MS3에 대하여 블라인드 테스트를 위해 샘플을 인수받아 분석하여 유용성 검정하였음
- 5차 년도에 개선된 마커 검정 및 새로운 조합의 육종 계통에 대한 분자마커 분석 수행됨
- 1년차에는 총 3,755점의 분자마커 분석 서비스를 수행하였으며 5년차에는 총 6,251점의 분자마커 분석 서비스를 수행하였음

- 분자마커 분석 서비스 중에서 각 연차마다 CMV 마커가 가장 많은 분자마커 분석 서비스를 수행하였음
- 5년차에는 FP1113 BC₁F₁ 집단의 MAS 분석으로 foreground selection을 수행하였으며, 1-1 유전연관지도를 활용한 background selection을 수행예정임

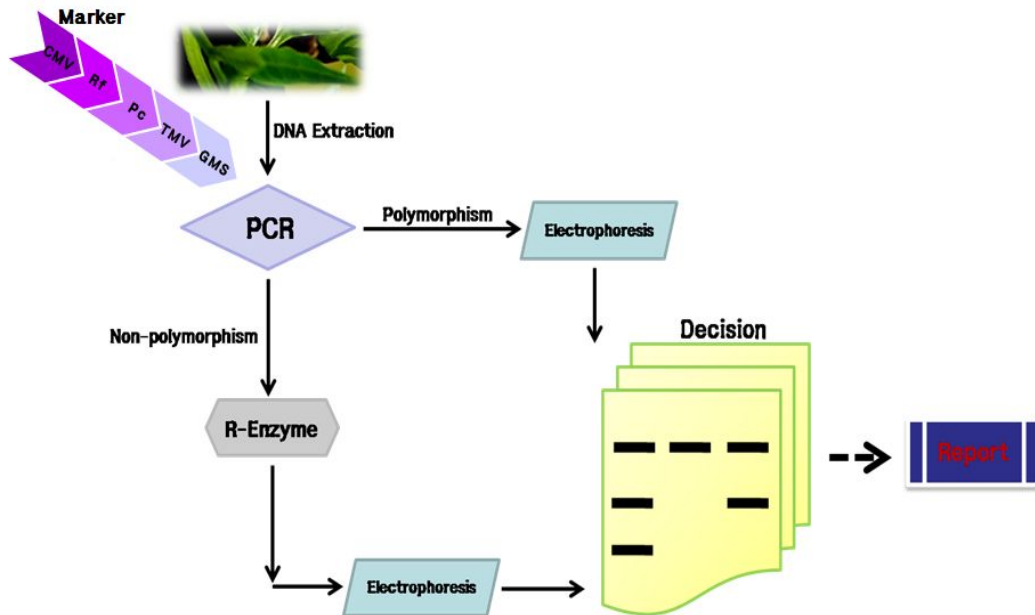
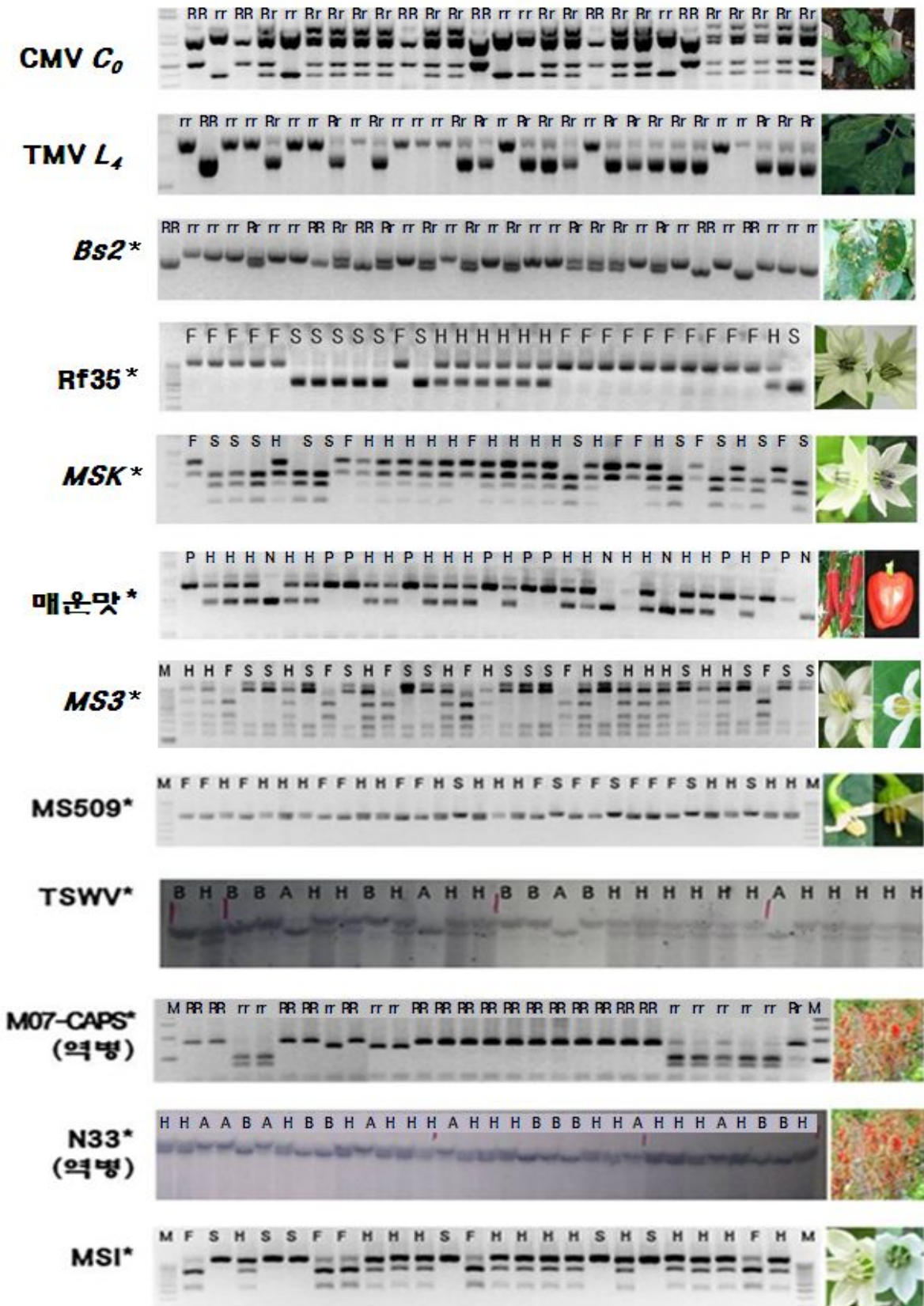


그림 1. 분자마커를 이용한 분석방법 및 분석결과 발송 흐름도

CMV 저항성 마커 테스트									
주요정보			원료			분석정보			
368-811 승물 증점근 토마토 노발리			원료명: 승물			분석정보			
230-1번지			원료번호: 11 V			분석정보			
T (043)836-1751 F (043)836-1753			원료종류: DNA			분석정보			
발송일자: 4. 16			원료수: 925			분석정보			
발송일자: 4. 24			원료수: 62			분석정보			
			원료수: 863			분석정보			
No.	시료#	1차	2차	3차	No.	시료#	1차	2차	3차
1	1	R			51	51	S		
2	2	H			52	52	S		
3	3	R			53	53	S		
4	4	R			54	54	S		
5	5	H			55	55	S		
6	6	H			56	56	H		
7	7	H			57	57	S		
8	8	H			58	58	H		
9	9	R			59	59	R		
10	10	H			60	60	H		
11	11	R			61	61	S		
12	12	H			62	62	H		
13	13	R			63	63	S		
14	14	H			64	64	H		
15	15	H			65	65	R		
16	16	R			66	66	H		
17	17	R			67	67	H		
18	18	R			68	68	H		
19	19	R			69	69	H		
20	20	H			70	70	S		
21	21	S			71	71	H		
22	22	R			72	72	R		
23	23	R			73	73	S		
24	24	R			74	74	R		
25	25	S			75	75	H		
26	26	R			76	76	R		
27	27	H			77	77	R		
28	28	H			78	78	R		
29	29	H			79	79	R		
30	30	S			80	80	R		
31	31	H			81	81	R		
32	32	R			82	82	R		
33	33	H			83	83	R		
34	34	H			84	84	R		
35	35	L			85	85	S		

Marker test 의뢰 내역																	
의뢰자	No.	발주일	의뢰 샘플수				분석 샘플수				발주수/의뢰						
			CMV	TMV	Bs2	Rf	Rn	PwS	GMS	CMV		TMV	Bs2	Rf	Rn	PwS	GMS
대동농업	1	2009-04-15	202					215									2009-04-21
	2	2009-04-15		3					3								2009-06-02
	3	2009-06-09			151								151				2009-06-12
	4	2009-07-09	135								134						2009-07-13
	5	2009-09-05	47							47							2009-09-09
	6	2009-09-05		18							18						2009-09-09
	7	2009-09-05					7								7		2009-09-11
	8	2009-10-23			17								17				2009-11-02
	9	2009-11-02															
삼양농업	1	2009-01-14	15					15									2009-01-20
	2	2009-01-14			15							15					2009-01-20
	3	2009-01-14				15							15				2009-01-20
	4	2009-03-02	907							891							2009-03-21
	5	2009-03-02	13							13							2009-03-21
	6	2009-03-02			13								13				2009-03-21
영원카드	1	2009-03-11			153								145				2009-04-13
	2	2009-05-05	375							363							2009-05-15
	3	2009-05-05		52						52							2009-05-15
	4	2009-05-05			141								135				2009-07-15
	5	2009-05-05				11							11				2009-08-17
	6	2009-05-05															2009-05-29
	7	2009-05-05		25						25			14				2009-05-29
	8	2009-05-05															2009-05-29
	9	2009-05-05	151							151							2009-05-29
	9	2009-05-10	153							153							2009-06-17
	10	2009-05-10		21							21						2009-06-17
	11	2009-05-04	8							8							2009-07-01
	12	2009-05-04			130								130				2009-07-01
	13	2009-07-07			37								34				2009-07-09
	14	2009-07-07	12										12				2009-07-13
	15	2009-07-07			99										85		2009-05-24
	16	2009-07-07															2009-05-24
	18	2009-07-21	243							243							2009-07-27
18	2009-07-21			243								184				2009-07-27	
18	2009-05-25	241							241							2009-05-27	

그림 2. 분자마커 분석 결과 통보



RR: resistant, Rr: hetero, rr: susceptible, F: fertility, S: sterility, H: hetero, P : pungency, N: non-pungency
 * 사업단 출범 이후 추가된 마커임

그림 3. 분석지원 중이거나 유용성 검증중인 분자마커의 종류

표 1. 연차에 따른 분자마커 및 연구내용

년차	분자마커수	연구내용
1년차	4종 지원	FnP에서 기 개발된 CMV, TMV, Bs2, 매운맛 연관 분자마커의 분석 서비스
2년차	6종 지원	기개발 마커인 CMV, TMV, Bs2, AFRF8, Pr, 매운맛 연관 분자마커의 분석서비스
3년차	11종 지원	CMV, TMV, Bs2, 회복인자 (AFRF8, Pr), 개선된 매운맛 (PH5-2) 분자마커의 분석서비스 및 신규개발마커 Rf35, MSK, MS3, 역병 2종의 블라인드 테스트
4년차	11종 지원	CMV, TMV, 개선된 Bs2, 매운맛 (PH5-2), 회복인자 (Rf35), MSK, MS3 분자마커의 분석서비스 및 역병 3종, MS509 의 블라인드 테스트
5년차	13종 지원	CMV, TMV, Bs2, 역병(M07-CAPS, N33, FPTY), 매운맛 (PH5-2), 회복인자 (Rf35), GMS (MSK, MS3)의 분석서비스와 신규개발마커 GMS (MS509, MSI), TSWV(육성재료별)의 블라인드 테스트

2. 육종에의 활용도를 높이기 위한 기 개발 마커의 개선

- 기 개발되어 분자마커 분석 서비스에 사용되었던 마커들을 효율적인 분자마커 분석 서비스로 수행하기 위하여 기 개발 마커를 개선하고자 함
- Bs2 마커는 homo와 hetero를 구분하기 어려운 dominant 마커라는 단점을 보완하기 위해, Bs2 관련 염기서열 (Tai et al., 1999)로부터 다양한 프라이머 조합을 작성하였음 (그림 4. A)
- Bs2 저항성 유전자 염기서열내에서 작성된 각 프라이머 조합들을 분석한 결과 저항성, 이병성 개체에서 공히 증폭되는 DNA 단편을 확인할 수 있는 프라이머 조합을 선발하였음
- Bs2 관련 선발된 프라이머 조합을 사용한 PCR 생산물의 염기서열을 분석한 결과 제한효소 위치의 다형성을 확인하였고, 이를 확인한 결과 다형성 밴드가 확인되었음 (그림 4. B). 개선된 Bs2 마커에 대한 블라인드테스트를 통하여 유용성 검증 후 분자마커 분석 서비스에 효율적으로 사용함
- 매운맛 관련 PH5 마커는 아주 매운맛 (Habanero)과 매운맛 (FP12), 안 매운맛 (FP16)을 구분하였으나 헤테로를 구분하지는 못하는 단점이 있음. 이에 매운맛 (FP12)과 안 매운맛 (FP16)을 구분하는 co-dominant 마커로 전환하기 위하여 기발표된 염기서열들을 참조하여 FP12, FP16의 염기서열을 분석하였음 (Stewart et al. 2005, Lee et al. 2004)
- 매운맛 관련 FP12, FP16의 다형성 분석 결과를 바탕으로 프라이머를 제작하였고, 이들 프라이머를 사용한 multiplex PCR 방법을 확립하여 마커를 전환하였음 (그림 5). 개선된 매운맛 마커에 대한 블라인드테스트를 통하여 유용성 검증 후 분자마커 분석 서비스에 효율적으로 사용함

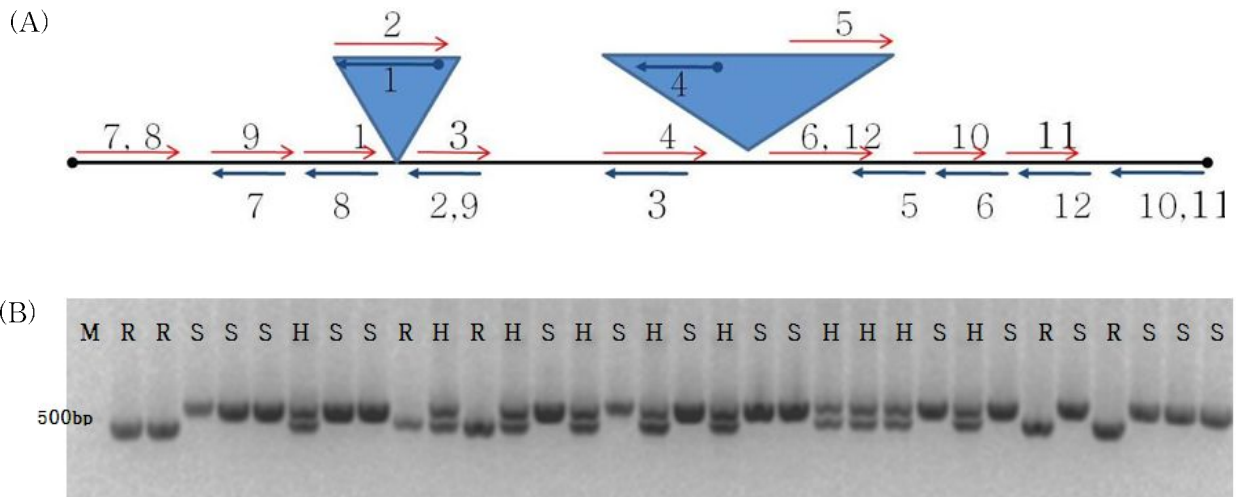


그림 4. 세균성점무늬병 저항성 gene (A, Tai et al., 1999)을 이용한 co-dominant 마커전환 (B)

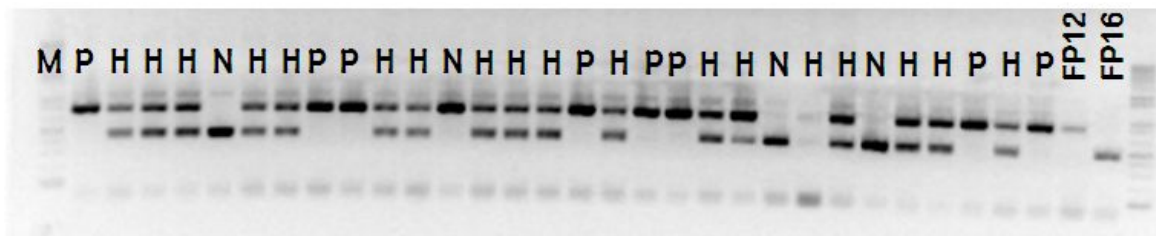


그림 5. 매운맛 관련 PH5-2 마커의 분석 예

- 유전적 응성불임 MS3 마커의 경우 nested PCR을 통해 분석해야 하는 번거로움을 보완하여 보다 효율적으로 품종 선발에 이용하고자 2회에 걸쳐 inverse PCR을 수행한 결과 총 1.4Kb의 주변염기서열을 확보하였음
- MS3 마커의 확장된 염기서열 내에서 작성된 각 프라이머 조합들을 분석한 결과 임성과 불임간의 제한효소 차이를 통한 다형성 확인이 가능한 후보 프라이머 조합을 선발함 (그림 6). 개선된 MS3 마커에 대한 블라인드테스트를 통하여 유용성 검증 후 분자마커 분석 서비스에 효율적으로 사용함
- 유전적 응성불임 MSK 마커 개선을 위해 3차례 inverse PCR을 수행하여 총2655bp 염기서열 확장하였으며 확장된 염기서열 내 프라이머 조합을 통하여 다형성을 보이는 제한효소를 확인하였고, 유용성 검증을 거쳐 분자마커 분석 서비스에 적용하였음 (그림 7)
- 유전적 응성불임 MS509 마커는 기존 nested PCR을 이용한 CAPS 마커라는 단점을 보완하기 위하여 multiplex PCR을 이용하여 detection이 가능하도록 개선함 (그림 8)
- Genome 43:137-142 (2000) 논문에 발표된 TSWV 저항성 분자마커를 사용하여 염기서열 분석함. FP11과 FP13을 이용하여 다형성 확인 및 F2 screening을 통하여 유전연관지도에 등재하였으며, 육종재료에 대한 다형성 분석 및 유용성 검증 후 분자마커 분석 서비스에 활용 계획임 (그림 9)



그림 6. 확장된 1.4Kb 염기서열내에 신규 프라이머 조합(A), 프라이머 조합에 따른 다양한 밴드패턴(B)

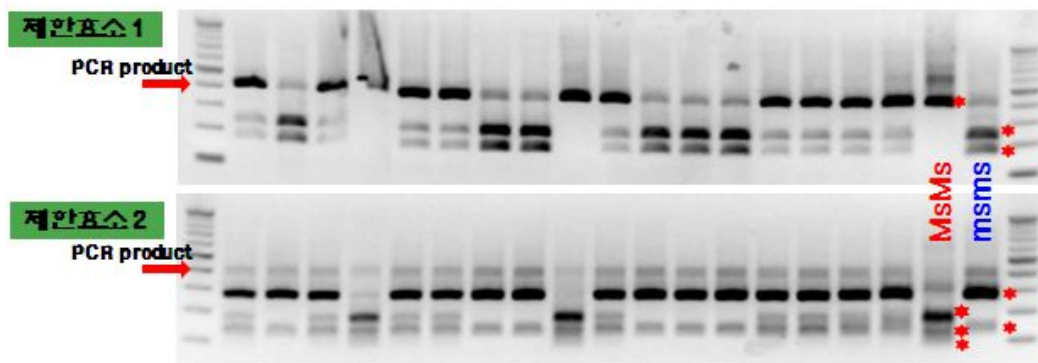


그림 7. 신규 개발된 유전적 음성불임 관련 MSK 마커의 분석 예

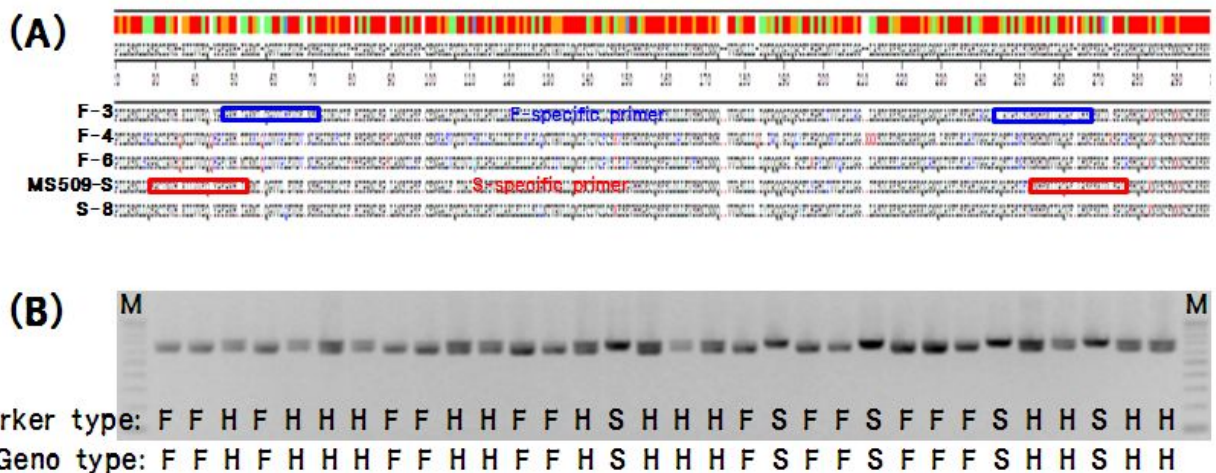


그림 8. MS509 마커로 증폭된 음성 및 불임개체의 염기서열 내에서 특이적인 프라이머를 제작(A)한 후 multiplex PCR 수행(B)

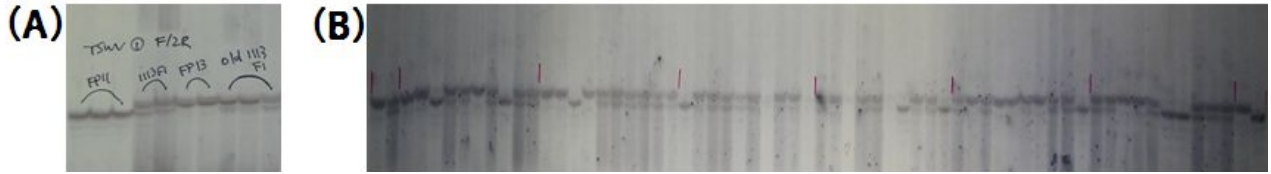


그림 9. FP11과 FP13을 이용하여 다형성 확인 (A) 및 F2 screening (B)

- 역병마커의 경우 기개발된 M07-CAPS 마커는 블라인드 테스트를 수행한 결과 95% 이상의 선발효율을 보였으며 CM334로부터 저항성을 도입할 경우 유용한 마커라는 평가를 받음
- 그러나 M07-CAPS 마커는 분석가능한 육종재료에 한계가 있음. 따라서 추가적으로 AC2258 유래 저항성 개체 선발이 가능하도록 FPssrN0033 및 FPTY (SNP)마커를 이용한 2-step 분석법을 확립하였음. 1차로 **M07-CAPS 마커로 분석하여 CM334 유래 저항성 개체를 선발** 후 2차로 AC2258 유래 저항성 밴드패턴을 보이는 개체들에 대하여 **FPssrN0033 또는 FPTY (SNP) 마커로 분석하여 AC2258 유래 저항성 개체를 선발**하는 2-step 분석법으로 MAS 체계를 확립함
- 연차에 따른 마커별, 의뢰처에 따라 표 2와 같은 분자마커 분석을 수행하였으며, 총 24,900 점의 마커 분석을 완료함
- 1년차부터 4년차 동안 꾸준한 분자마커 분석을 수행하였으며, 5년차에는 7,120점 분석을 수행하며 다른 연차에 비해 높은 분석 수행함

표 2. 사업단내에서 분석지원한 분자마커의 연차별 분석 현황

년도	검정샘플수										계
	CMV C ₀	TMV L ₄	Bs2	Rf	Pr	Pc	PH5-2	GMS			
								msh	ms 509	ms3	
2011	4,232	1,040	883	606	-	202	-	93	64	-	7,120
2010	3,032	463	157	39	-	-	12	456	-	193	4,352
2009	3,526	362	42	562	-	379	19-B	194	-	-	5,084
2008	2,950	816	65	202	226	330	330	-	-	-	4,589
2007	2,945	638	151	-	-	21	21	-	-	-	3,755

제 2절 고추분자마커 개발 및 신품종 육성을 위한 병 내병성 생물검정

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 탄저병저항성 검정시험

- 탄저병병원균을 이용한 생물검정
 - 고추 추출물을 이용한 탄저병병원균 포자 접종방법
 - 무상처 방법을 이용한 탄저병 저항성 검정법 개발 및 계통 검정

2. 역병저항성 검정시험

- 역병병원균을 이용한 생물검정: 역병병원균 포자(유주자)를 이용한 관주 접종방법
- 역병균 별 접종: 역병균주 별 접종법을 통한 병 발생 정도 분석
- 표준균주 대치배양
- mating type 분류
- 품종별 병원성 검정

3. 바이러스병저항성 검정시험

- 바이러스(CMV)을 이용한 생물 검정: CMV균주와 완충액을 이용한 고추자엽 접종방법

4. 청고병저항성 검정시험

- 청고병병원균을 이용한 생물검정: 청고병병원균 cell을 이용한 뿌리 침지 접종방법

5. 세균성반점병저항성 검정시험

- 세반병병원균을 이용한 생물검정: 세반병병원균 cell을 이용한 spray 검정방법

제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 병원균주 수집 내역

- 년차에 따른 내병성 생물검정을 위해 수집된 균주는 표 3과 같음
- 2년차에는 5개 병원균 (역병, 탄저병, 청고병, 세균성반점병, CMV) 7종에 대하여 53점을 수집 (또는 분양) 하였으며 수집된 병원균 중 역병균은 지역별 Isolate에 대하여 판별품종을 공시하여 역병균 별 race 존재여부와 병원성 정도에 관한 연구 재료에 사용됨
- 3년차에는 4개 병원균 (역병, 탄저병, 청고병, CMV) 4종에 대하여 13점을 수집 (또는 분양) 하였으며 역병균주는 병원성을 검정 후 역균 race연구에 사용 되었으며 CMV C₁ 균주도 바이러스 저항성 검정에 사용됨
- 4년차에는 3개 병원균 (역병, 청고병, CMV) 3종에 대하여 15점을 수집 (또는 분양) 하였으며 역병균주는 병원성을 검정 후 역병 race연구에 사용 하였으며 CMV C₁ 균주도 바이러스 저항성 검정에 사용함

표 3. 병원균 수집내역

병명	병원균주명	수집점수				비고C1			
		1년차	2년차	3년차	4년차	1년차	2년차	3년차	4년차
역병	<i>Phytophthora.capsici</i>	12종 (DNP H-1 등)	35	10	15	수집 분리	분리 및 분양		분양
탄저병	<i>Colletotrichum acutatum</i>		10	1			지역 별		
청고병	<i>Ralstonia solanacearum</i>	2종	2점	1	1	분양 (경북 대 등)	분양	분양	분양
세균성 반점병	<i>Xanthmonas campestris</i>	race 1, 3 :2종	2점			K A C C 분양	Race 1,3		
CMV	<i>Cucumber Mosaic Virus</i>	2종	4점	1	1	분양 C ₀ (강원 대등)	C ₀ , C ₁	C ₁	C ₁
총계		18점	53점	13점	15점				

2. 탄저병 저항성 검정

- 1-5세부과제 (변경 전)에서 수행하고 있는 탄저병 재료 *Capsicum baccatum*인 PI594137 계통 54점에 대해 탄저병 내병성 검정 결과 EV1-3등 7계통을 선발하였음
- PI1594137 (저항성 계통)과 이들로부터 유래된 계통 31계통들에 대한 저항성 검정을 수행하였으나 병발생률이 유의성이 없었음. 탄저병 저항성을 안정적으로 검정하기 위하여 무상처 접종법을 이용한 저항성 검정법을 확립하기 위한 연구를 수행하여 Agar disk를 이용한 무상처 접종법을 개발하고 이를 이용한 방법으로 9계통 108점에 대한 저항성 검정을 수행하였음 (표 4, 그림 10)

표 4. 고추 탄저병 저항성 검정 내역 (2년차)

과제명	기관명	검정계통	검정점수	검정수행율(%)	비고
1-5과제	에코씨드	31	155	0	발병률에 유의성이 없음
2-1과제	대농종묘	9	108	100	agar disk 방법에 의한 검정
계	-	40	263		



A : 풋고추 검정

B : 풋고추와 붉은 고추 검정

그림 10. 고추 탄저병 검정 사진 (2년차)

3. 역병 저항성 검정

가. 역병 병원균주별 병원성 시험

- 역병균주별 (7균주) 병원성 검정을 위하여 3계통의 Indicator (W, B, D) 90주를 균주별로 집중하여 병원성이 가장 높은 균주 (DNPH1, 10)를 2개를 선발하여 역병 내병성 검정용 균주로 활용하였음(표 5, 그림 11)



그림 11. 균주별 병원성 시험

표 5. 역병 병원균주별 병원성 정도

병원균명	병원균주명	발병률(%)			병원성 정도	비고
		W	B	D		
<i>C. capsici</i>	DNPH1	100	100	60	****	1차시험: 선발
	DNPH5	100	60	15	***	1차
	DNPH7	100	90	60	****	1차
	DNPH8	100	75	20	***	1차
	DNPH9	100	100	100	****	2차시험:
	DNPH10	100	70	25	***	1차
	DNPH12	100	100	100	*****	2차: 선발

2) 역병 병원균 race 연구

- 4개 역병 병원균주를 12개의 Genotype에 각각 집중하여 병원균주별 병 발생률을 조사하여 본 결과 Genotype에 따라 병 발생률이 다르게 나타남 (표 6)
- Dnph-2균주는 CM334 등 3품종을 제외한 대부분의 품종에서 병이 발생되었으나 다른 3균주는 계통에 따른 다른 병 발생률 확인됨

- 4개 병원균주별 모두에 저항성을 가지는 Genotype은 CM333, 탄탄대목, ConesianHot 이었 으며 이병성인 Genotype은 JalapenoEarly, 독야청청, 무한질주 확인
- 역강홍장균은 병원균에 따라 저항성 반응이 많이 다르게 나타남 (그림 12, 13)

표 6. 고추병원균주 별 병원성 결과

genotype	My-1	Kpc-7	Kpc-3	Dnph-2	Remark
CM334	-	-	-	-	-: resistant(no disease) +: moderately resistant ++: susceptible +++: very suceptable
JalapenoEarly	+++	+++	+++	+++	
AC2258	-	-	+	++	
PI201234	-	-	+	++	
독야청청	+++	+++	+++	+++	
무한질주	+++	+++	+++	+++	
역강홍장균	+++	++	-	+++	
불사조	+++	++	++	+++	
빨리따	++	+	++	+++	
PR마니따	++	+	++	+++	
PR대촌	+	+	+	++	
탄탄대목	-	-	-	-	
ConesianHot	-	-	-	-	



그림 12. genotype별 병원균주에 따른 병 검정 (3년차)



그림 13. Invitro에서의 병원균 검정 (3년차)

- 전국에서 수집된 역병균주 총 143개를 분리하고 분리된 균주를 표준균주에 대치배양을 통하여 mating type을 분류한 결과 56.6% A1 type, 39.2% A2 type로 나타났으며 S type (비교배형)은 4.2%로 분리됨 (표 7)
- 분리 균주 중 대표 균주 별로 병원성을 확인한 후 병원성 반응이 다른 13개의 고추를 선발하여 (표 8) 병원성 분화조사를 위하여 판별 품종균을 만들고 판별 품종균을 이용하여 병원성 여부를 조사한 결과 11종의 서로 다른 병원성 반응을 나타내는 것으로 조사됨 (표 9)
- 이를 통해 국내에 최소 11개의 고추 역병균 레이스가 존재하는 것을 확인 할 수 있음

표 7. 고추병원균주 별 mating type (4년차)

Year	Location	Isolate	Mating type		
			A1	A2	S*
2005	Chungbuk	4	1	3	0
	Kyungbuk	15	13	2	0
	Junnam	1	1	0	0
Subtotal		20	15(75.0)	5(25.0)	0(0)
2006	Kyunggido	12	6	5	1
	Chungbuk	39	16	23	0
	Chungnam	29	17	10	2
	Kyungbuk	11	10	1	0
Subtotal		91	49(53.8)	39(42.9)	3(3.3)
2007	Kyunggido	4	2	2	0
	Chungbuk	1	0	1	0
	Chungnam	1	1	0	0
	Junbuk	7	3	3	1
	Junnam	3	2	0	1
	Kyungnam	2	1	1	0
	Kyungbuk	14	8	5	1
Subtotal		32	17(53.1)	12(37.5)	3(9.4)
Total		143	81(56.6)	56(39.2)	6(4.2)

* S=sterile type.

☞ 8. The resistance assay against phytophthora blight on 28 cultivars

Cultivars	Isolate		
	A1 type(KPC-7)	A2 type(MY-1)	Sterile(KPC-1)
Super manitta	+++ ^a	+++	++
PR Galmuri	+	++	+
PR Keumdong	+	++	++
PR Kiripbaksu	++	++	+
PR Datta	-	-	+
PR Daechon	+	+	+
PR Manitta	-	-	+
PR Muhanjilju	++	+	++
PR Bobae	-	+	++
PR Sangseang	-	+	-
PR Ildeunggongsin	-	++	+
PR Chambut	+	++	+
PR Power	++	+	++
PR Palgwang	+	+	+
Kangreukjosanggun	++	++	-
Dokyacungcung	++	+	++
Mansahyungdong	+	-	-
Bulsajo	-	-	+
Yeokganghongjanggun	-	-	-
Tantandaemok	-	-	-
Taesang	-	+	+
Hanpanseung	+	+	++
NuMex 6-4	-	+	-
NuMex Big Jim	+	+	-
NuMex Conquistador	Nt	Nt	Nt
NuMex Espanola improved	+	-	-
NuMex Joe E. Parker	-	-	-
NuMex Sandia	Nt	Nt	Nt

a : - ; resistance, + ; moderate resistance, ++ ; susceptible, +++ ; very susceptible, Nt ; Not tested.

표 9. The series of race differentiation of *Phytophthora capsici*

Race	Isolate	Pepper line ^a												
		SCM	Yeu	Kan	Tae	Dok	Man	Tan	Gal	San	Han	Jal	Sup	Cal
1	KPC-8	R ^b	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	KPC-2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
3	KPC-3	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
4	KPC-4	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
5	KPC-1	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
6	KPC-5	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S
7	KPC-9	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S
8	KPC-1 0	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S
9	KPC-6	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
10	KPC-7	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S
11	MY-1	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S

aSCM=SCM334; Yeu=Yeukkanghongjanggung; Kan=Kangreukjosanggung; Tae= Taesan; Dok=Dokyacungchung; Man=Mansahyungdong; Tan=Tantantaemok; Gal=PR Gamuri; San=PR Sangseang; Han=Hanpanseung; Jal=Jalapeno Early; Sup=Supermanitta; Cal=California Wonder.

b R=resistant; S=susceptable.

나. 역병 저항성 분자마커 개발

- 1년차에 역강홍장균 F2 집단 (AC2258 유래 역병저항성) 100주 검정 (그림 14) : 검정 후 시기별로 이병 정도를 조사하여 역병 내병성 분자마커 개발의 기초 자료 활용 (분리비 R:r=1:3)
- 2년차에는 역병저항성 분자마커 개발을 위하여 역병저항성 3개 집단 (역강홍장균 F3 집단, 독야청청, 1216) 총 1,260계통 26,000식물체에 대하여 역병저항성 검정을 실시하여 저항성 계통과 이병성 계통의 저항성을 판정하였음
- 3년차에는 역병저항성 분자마커 개발을 위하여 169계통, 4309점에 대하여 역병저항성 검정을 수행함
- 4년차에는 1핵심 1-3세부과제에서 역병저항성 분자마커 개발을 위하여 200계통 12,600점에 대하여 역병저항성 검정을 수행함

다. 역병 저항성 계통 및 조합 검정시험

○ 1년차에는 각 세부과제별 역병 내병성 계통 및 조합에 대한 내병성을 검정한 결과 총 615 계통 21,704주를 접종하여 13,954주에 대한 시험 결과를 얻었으며 (표 10, 그림 15) 2-1세부과제에서 의뢰한 시험 중 일부는 접종원의 장기 이동으로 인한 병원성 감소로 초기 발병률이 떨어져 후기 접종은 에프엔피에서 직접 균을 배양하여 접종함



그림 14. 1년차에 수행된 역병 내병성 분자마커 검정시험 (역강홍장균 F2 집단)

표 10. 역병저항성 계통 및 조합 검정 결과 (1년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정결과	비고
1-3과제	에프엔피	1	100	100	
2-3과제	한국농업	138	15,584	7,834	접종시간 지연에 따른 병원성감소 (충북)
2-2과제	에코씨드	148	2,300	2,300	
2-1과제	대농종묘	328	3,720	3,720	
계		615	21,704	13,954	



그림 15. 역병저항성 계통 및 조합 검정 시험 사진

○ 2년차에는 2핵심 세부 3개 과제 (세부2-1, 세부2-2, 세부2-3)로부터 의뢰 받은 562계통 12,102식물체에 대하여 역병 저항성 검정을 수행하였음. 역병저항성 검정을 위하여 병원성이 강한 균주를 선발하여 검정하였음 (표 11, 그림 16, 17)

표 11. 역병저항성 검정 결과 (2년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정수행율 (%)	비 고
1-4과제	에프엔피	1,260	26,000	100	marker 개발
2-1과제	대농종묘	85	1,196	100	계통 및 품종육성
2-2과제	에코씨드	111	1,665	100	계통 및 품종육성
2-3과제	바이엘크롭 사이언스	366	9,241	90	계통 및 품종육성
계		1,822	38,102	97.5	



A : 독야청청 (F₂)

B : 1216 (F₂)

그림 16. 역병 저항성 분자마커 검정시험 (2년차)



그림 17. 역병저항성 계통 및 조합 검정 시험 사진 (2년차)

- 2핵심 세부 3개 과제 (세부2-1, 세부2-2, 세부2-3)로부터 의뢰 받은 802계통 15,347식물체에 대하여 역병 저항성 검정을 수행하였음. 세부2-1과제는 214계통 5,302점, 세부2-2과제는 383계통 5,745점, 세부2-3과제는 205계통 4,300점을 검정 수행함 (표 12, 그림 18)
- 4년차에는 2핵심 세부 3개 과제 (세부2-1, 세부2-2, 세부2-3)로부터 의뢰 받은 1,179계통 21,278식물체에 대하여 역병 저항성 검정을 수행하고, 세부2-1과제는 137계통 2,277점, 세부2-2과제는 574계통 4,974점, 세부2-3과제는 771계통 14,936점을 검정 수행함 (표 13, 그림 19, 20)

표 12. 역병저항성 검정 결과 (3년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정수행율 (%)	비 고
1-4과제	에프엔피	169	4,309	100	marker 개발
2-1과제	대농종묘	214	5,302	100	계통 및 품종육성
2-2과제	에코씨드	383	5,745	100	계통 및 품종육성
2-3과제	바이엘크롭 사이언스	205	4,300	100	계통 및 품종육성
계		971	19,656	100	



그림 18. 역병 저항성 분자마커 검정시험

표 13. 역병저항성 검정 결과 (4년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정수행율 (%)	비 고
1-3과제	에프엔피	200	12,600	100	marker 개발
2-1과제	대농종묘	137	2,277	100	계통 및 품종육성
2-2과제	에코씨드	574	4,974	100	계통 및 품종육성
2-3과제	한국누넴	771	14,936	100	계통 및 품종육성
계		1,682	34,787	100	



그림 19. 역병 저항성 분자마커 검정시험



그림 20. 역병저항성 계통 및 조합 검정 시험 사진

4. 바이러스 (CMV) 저항성 검정

가. CMV 병은 C₀ strain에 의하여 저항성검정을 진행하였으나 국내에서 CMV C₁ 발생율이 증가하고 있어 2009년도에는 이에 대한 생물검정도 확대 수행함 (그림 21, 22)

나. CMV 저항성 분자마커와 생물검정 비교시험

- 2년차에는 표 14와 같이, 3년차에는 세부2-1과제에서는 바이러스(CMV)저항성 검정 20계통 407점 수행하고 세부2-2과제에서 23계통 311점 수행함 (표 15)

- 2-2세부과제 바이러스 내병성 계통 (역강홍 MS-line 분자마커로 선발된 계통 : RR type)에 대하여 CMV에 대한 생물검정 ; 3계통 30점을 검정한 결과 병 발생이 적어 바이러스에 대한 저항성 여부를 판단하기 어려움

다. CMV 저항성 계통 및 조합 검정 (그림 23)

- 4년차에 세부2-1과제의 바이러스 (CMV)저항성 검정을 위하여 육성재료 26계통 650점, 세부2-2과제의 바이러스 (CMV)저항성 검정을 위하여 육성재료 15계통 140점, 세부3-2과제의 바이러스 (CMV)저항성 검정을 위하여 육성재료 19계통 184점 검정수행 (표 16)
- 2핵심 과제의 바이러스 내병성 계통 및 품종육성 시험에서 의뢰된 시료는 (주)에프앤피에서 개발된 분자마커로 검정 후 포장검정을 통하여 cross checking함으로서 CMV 내병성을 확인. 생물 검정에 의한 내병성검정 의뢰가 없어 수행을 하지 않았음



A : CMV C₁ 접종 전경사진

B : 발병된 병징 사진

그림 21. 바이러스 검정 시험사진



그림 22. 바이러스 검정 시험사진

표 14. 바이러스 저항성 생물검정 내역 (2년차)

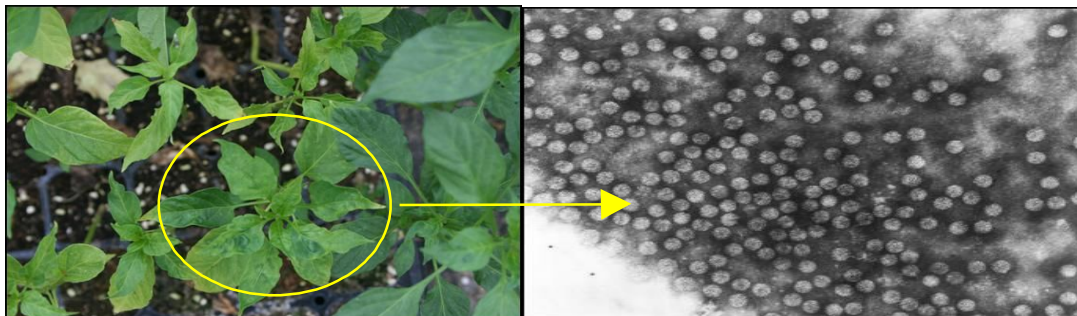
과제명	기관명	검정계통	검정점수	검정수행율 (%)	비 고
2-1과제	대농종묘	34	800	100	C ₀ , C ₁
2-2과제	에코씨드	15	150	100	-
2-3과제	바이엘크롭 사이언스	-	(200)	-	예비시험
계	-	49	950 (200)	-	-

표 15. 바이러스 저항성 생물검정 내역 (3년차)

과제명	기관명	검정계통	검정점수	검정수행율 (%)	비 고
2-1과제	대농종묘	20	407	100	C ₀ , C ₁
2-2과제	에코씨드	23	311	100	C ₁
계	-	43	718	100	-

표 16. 바이러스 저항성 생물검정 내역 (4년차)

과제명	기관명	검정계통	검정점수	검정수행율 (%)	비 고
2-1과제	대농종묘	26	650	100	C ₁
2-2과제	에코씨드	15	140	100	C ₁
2-3과제	한국누넴	19	184	100	C ₁
계	-	60	974	100	-



A : CMV C₀ 접종 후 병징

B : 발병된 병징 조직 검경

그림 23. 바이러스 검정 시험사진

5. 청고병 저항성 검정

가. 청고병 검정법 개발

- 청고병 저항성 검정법 개발을 위하여 병원균 (*Ralstonia solanacearum*) cell의 농도별 (4처리) 접종처리를 하여 발병률을 조사한 결과 1×10^8 cell의 농도에서 10분간 유묘의 뿌리를 침지처리 하였을 때 병 발생 높음 (70%)
- 본 시험을 기초로 2007년도 9월에 청고병저항성 계통 검정시험을 실시하였으나 병 발생률이 낮음 (그림 24)



그림 24. 청고병 균 cell 농도별 청고병 발생 현황

나. 청고병 저항성 분자마커 개발 검정 시험

- 청고병 저항성 분자마커를 개발하기 위하여 청고병에 저항성인 CPMMB2 계통의 F₂ 집단 100주에 대한 저항성 검정을 수행함 (그림 25-27)
- 세부 1-3세부과제에서 청고병 저항성 분자마커를 개발하기 위하여 34계통 검정 수행함

다. 청고병 저항성 계통 및 조합 검정

- 년차에 따라 청고병 저항성 계통 및 조합검정을 수행함 (표 17-20, 그림 28, 29)



그림 25. F₂ 집단에 대한 저항성 검정

표 17. 청고병 저항성 계통 및 조합 검정 내역 (1년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정결과	비고
1-3과제	에프엔피	1	100	-	저온기 접종으로 인한 병 발생률 낮음
2-3과제	한국농림	37	275	275	
2-1과제	대농종묘	34	680	-	저온기 접종으로 인한 병 발생률 낮음
계		72	1,055	275	

표 18. 청고병 저항성 검정 내역 (2년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정수행율 (%)	비고
1-4과제	에프엔피	248	5,980	50	청고병 발생률 낮음
2-1과제	대농종묘	89	1,159	100	-
2-3과제	바이엘크롭 사이언스	17	411	100	-
계	-	354	7,550	75	-

표 19. 청고병 저항성 검정 내역 (3년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	재검정수	검정수행율 (%)	비고
1-4과제	에프엔피	221	1,736	95	94.5	2010년 재수행
2-1과제	대농종묘	22	500	-	100	-
계	-	243	2,236	95	97.3	-

표 20. 청고병 저항성 검정 내역 (4년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	재검정수	검정수행율 (%)	비고
1-3과제	에프엔피	5	940		100	F2 집단
2-1과제	대농종묘	29	590		70	분리계통
계	-	34	1,530			



그림 26. 청고병 저항성 계통 검정 시험



그림 27. 분자마커 개발을 위한 청고병 저항성 검정



그림 28. 청고병 저항성 계통 검정 시험



그림 29. 분자마커 개발 및 계통 육성을 위한 청고병 저항성 검정

6. 세균성반점병 저항성 검정

가. 세균성반점병 저항성 계통 검정

- Bs2 분자마커를 이용하여 선발된 4계통과 포장에서 세균성반점병에 저항성을 보이지만 Bs2 분자마커는 없는 24계통들에 대하여 race Bs1, 3 의 병원균을 이용하여 세균성반점병 생물검정 수행함
- 2핵심 세부2-1과제의 세반병 저항성 계통 및 품종육성을 위하여 60계통 320식물체에 대한 저항성 검정을 수행함 (표 21, 그림 30)

표 21. 세균성반점병 저항성 검정결과 (2년차)

과제명	기관명	검정계통	검정주수	검정수행율 (%)
2-1과제	대농종묘	60	320	100
계	-	60	320	100



A: 세반병 이병성 계통

B : 이병성과 저항성 계통

그림 30. 세균성반점병 검정 사진

7. 종합결과

가. 저항성 계통 및 품종 개발을 위하여 역병, 바이러스 (CMV), 세균성반점병, 청고병에 대한 각 과제별로 의뢰된 시료에 대하여 표 22-24와 같이 년차에 따라 저항성 검정을 수행하였음

표 22. 2008년 병별 검정 내역

병명		검정계통	검정수	과제명	비고
역병	계통조합	562	12,102	세부2-1,2,3	계통 및 품종개발
	분리집단	1,260	26,000	세부1-4	마커 개발
탄저병		40	263	세부1-5, 세부2-1	무 상처 집중 방법개발
바이러스		49	950	세부2-1,2,3	계통 및 품종개발
세균성반점병		60	320	세부2-1	계통 및 품종개발
청고병	계통 조합	106	1,570	세부2-1,2,3	계통 및 품종개발
	분리집단	248	5,980	세부1-4	마커 개발
계		2,294	47,030		

표 23. 2009년 병별 검정 내역

병명		검정계통	검정수	과제명	비고
역병	품종육성	802	15,347	세부2-1,2,3	계통 및 품종개발
	마커개발	169	4,305	세부1-4	유전 집단 검정
바이러스(CMV)		43	718	세부2-1, 2	계통 및 품종개발
청고병	품종육성	22	500	세부2-1	계통 및 품종개발
	마커개발	221	1,736	세부1-4	
계		1,257	22,638		

표 24. 2010년 병별 검정 내역

병명		검정계통	검정점수	과제명	비고
역병	품종육성	1,482	22,187	세부2-1,2,3	계통 및 품종개발
	마커개발	200	12,600	세부1-3	유전 집단 검정
바이러스(CMV)		60	974	세부2-1,2,3	계통 및 품종개발
청고병	품종육성	29	590	세부2-1	계통 및 품종개발
	마커개발	5	940	세부1-3	F2 집단 검정
계		1,776	37,291		

제 3절 약배양을 이용한 세대단축 및 배배양을 통한 중간 유용인자 도입

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 고추 약배양을 이용한 세대 단축

가. 본 실험을 위해 1년차인 2009년 2월 6일, 3월 5일에 사업단 회의에서 약배양 재료 및 분양일정을 협의하여 참여업체로부터 고추묘를 분양받음 (표 25). 2년차인 2010년에 분양받아 보유 중인 일부 계통들도 가온 유리온실에서 생육 월동시키며 배양재료로 활용함 (표 26)

나. 연구에 사용된 고추 계통들은 대농종묘로부터 2계통(PPE05, PPE14), 에코씨드로부터 7계통(ECO, Eco-1, Eco-2, Eco-3, Eco-6, Eco-7, Eco-8), 한국누넴으로부터 16계통(8078, BCS81, BCS82, BCS83, BCS84, BCS85, BCS86, BCS87, BCS DO-1, BCS DO-2, BCS DO-3, BCS DO-4, BCS DO-5, BCS DO-6, BCS DO-7), 에프엔피로부터 4계통(FNP1, FNP2, FNP3, FNP4) 등 총 28계통을 분양받아 연구에 사용함

다. 3년차 초기에 분양받은 개체들은 25×25cm 플라스틱화분에 원예용상토:펄라이트:퇴비를 8:3:1로 용토를 만들어 1주씩 식재함 (그림 31). 3월 이후에 분양받은 개체들은 비닐하우스 내에 퇴비를 시비하고 경운한 후 식재함

라. 정식한 고추들은 점적관수와 분수호스를 병용 설치한 후 관수 관리 하였으며 관행에 준하여 생육 (그림 32). 또한 고추 전용추비를 2~3개월 단위로 사용하여 고추묘의 세력을 유지하고 필요시 탄저병, 온실가루이, 진딧물 등에 대해 농약 살포함

표 25. 1년차에 실험에 위해 제공된 고추 라인 및 수량

업체	라인번호	수량(주)	업체	라인번호	수량(주)
대농종묘	AC-1	10	한국누넴	AC-1	25
	AC-2	10		AC-2	25
	AC-3	15		AC-3	25
	AC-4	15		AC-4	25
	AC-5	15		AC-5	25
	AC-6	10		AC-6	25
	AC-7	15		AC-7	25
에코씨드	MA-1	20		AC-8	25
	MA-2	20		AC-9	25
	MA-3	20		AC-10	25
	MA-4	20	합계	21 lines	420주

표 26. 약배양을 위해 연구에 사용된 고추 계통들

업 체	계통명
대농종묘	PPE05
	PPE14
에코씨드	Eco
	Eco-1, Eco-2, Eco-3
	Eco-6, Eco-7, Eco-8
	8078
한국누넴	BCS81, BCS82, BCS83, BCS84, BCS85, BCS86, BCS87
	BCS DO-1, BCS DO-2, BCS DO-3, BCS DO-4, BCS DO-5, BCS DO-6, BCS DO-7
FNP	FNP1, FNP2, FNP3, FNP4



그림 31. 업체로부터 분양받은 고추묘의 정식 후 관리



화분 묘로부터의 약 채취



노지 묘의 모습



화분 묘의 모습



노지 묘로부터의 약 채취

그림 32. 고추 성묘로부터 약 채취 전경

마. 고추 약배양 방법

- 본 연구에서 기본적으로 사용한 약배양 방법은 그림 33와 같음, 각 회사로부터 분양받은 계통들을 포트 혹은 비가림 비닐하우스 내에 정식하여 비배관리하면서 생육시킨 후 꽃봉오리를 채취. 그 중 꽃잎을 벗겼을 때 약의 표면이 1/3 ~ 3/4 정도 보라색으로 착색된 것들을 위주로 선별하여 약배양의 재료로 사용
- 포장에서 채취한 고추의 꽃봉오리는 클린벤치 내에서 70% 에탄올 용액에 30초 동안 표면 살균하고, 이어서 1%의 sodium hypochlorite 용액에서 15분 동안 소독
- 약배양에 사용한 배지는 C배지를 기본배지로 하여 sucrose 3%, 2,4-D 0.1mg · L⁻¹, Kinetin 0.1mg · L⁻¹, gelrite 2.4mg · L⁻¹를 첨가한 다음 pH를 5.8로 맞춘 후 고압멸균하여 petri-dish에 분주하여 준비함
- 적출된 약은 1차 배양단계를 위해 변형 C배지를 분주한 petri-dish에 치상. 약을 배지에 치상한 다음 열처리를 위하여 약을 치상한 배지를 32℃의 성장상으로 옮겨 암상태에서 7일간 보관하면서 배양
- 32℃, 암상태에서 1주일 동안 배양한 약은 오염된 것을 제거하고 변형 C배지로 계대배양한 다음, 25±1℃, 광도 40μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기 16시간으로 조절된 배양실로 옮겨 배양하였다. 초기 접종 후 4주차가 되면 3차 배양단계로 배발달 배지인 R배지로 계대배양함
- 그 후 관찰을 계속하다가 배발생이 진행되는 것들은 MS배지로 계대배양하여 식물체로 발달되도록 하였으며, 이 때 사용한 MS배지는 MS 기본배지에 sucrose 2%, agar 8%를 넣고 pH를 5.8로 조정된 후 시험관에 분주하여 사용



그림 33. 실험에 사용된 약배양 방법

2. 약배양시 배와 식물체 발생을 촉진시키기 위한 요인별 실험

가. 약의 발달단계별 배양현황 및 배와 식물체 발생

- 약배양으로부터 배와 식물체의 발생을 촉진시키기 위하여 여러 가지 요인별 실험 시행함
- 각 회사로부터 분양받은 계통들은 육성모본의 형질 차이가 뚜렷하였으므로, 본 연구에서는 한국누넴으로부터 분양받은 BCS DO-1계통을 연구재료로 사용
- 본 요인별 실험에는 약의 발달단계별 실험을 제외한 모든 실험에서 33-50%가 보라색으로 착색된 약을 재료로 사용
- 채취한 꽃봉오리는 1.0%의 sodium hypochlorite로 소독하였으며, 기본 배지는 sucrose 3%, 2,4-D 0.1 mg · L⁻¹, kinetin 0.1 mg · L⁻¹, gelrite 2.4 mg · L⁻¹를 첨가하여 pH를 5.8로 조절한 변형 C배지를 사용함
- 각 요인별 실험 조건에 따라 C배지를 변형하여 사용하거나 MSK 또는 R배지를 이용하였으며, 각 배지의 조성은 표 27과 같음, 배양환경은 배지에 약을 치상한 다음 32°C에서 1주일 동안 암배양한 다음 동일한 배지로 계대 배양하여 3주 동안 25°C에서 명배양 하는 것을 기본으로 하였으나, 요인별 실험 조건에 따라 배양 환경을 달리함
- 배양중인 약에서 배가 발생한 경우에는 MS배지로 계대배양을 실시하여 식물체를 유도함. 조사항목으로는 초기 접종한 약의 수, 발생한 배와 식물체의 수를 조사하였으며, 약에서 배가 발생한 비율과 배에서 식물체가 발생한 비율을 구함

나. 약 발달단계별 적정 채취시기 구명

- 2008년 4월 23일 대농종묘로부터 분양받아 교내 하우스 포장에서 생육중인 계통들을 2008년 6월 꽃봉오리의 약을 발달단계별로 4단계로 나누어 채취함. 화뢰의 꽃잎 길이가 0~1mm

(A), 1~2mm (B), 2~3mm (C), 3~4mm (D)인 것으로 구분하여 치상함 (그림 34)

표 27. 연구에 사용된 배지의 조성표

첨가물질	C배지	R배지	MSK배지	MS배지
			($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	412.00	412.00	370.00	370.00
MnSO ₄ ·4H ₂ O	29.21	26.61	22.30	22.30
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	3.63	3.23	8.60	8.60
NH ₄ NO ₃	1238.00	1238.00	1650.00	1650.00
KNO ₃	2150.00	2150.00	1900.00	1900.00
CaCl ₂ ·6H ₂ O	313.00	313.00	440.00	440.00
KH ₂ PO ₄	142.00	142.00	170.00	170.00
H ₃ BO ₃	3.15	1.55	6.20	6.20
Na ₂ EDTA	18.65	18.65	37.25	37.25
FeSO ₄ ·7H ₂ O	13.90	13.90	27.85	27.85
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	50.00	50.00	-	-
KCl	7.00	7.00	-	-
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	38.00	38.00	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	34.00	34.00	-	-

첨가물질	C배지	R배지	MSK배지	MS배지
			($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	016	11.0	25	25
KI	695	330.0	8300	8300
CoCl ₂ ·6H ₂ O	016	11.0	25	25
Myo-inositol	50300	50.4	100000	100000
Thiamine.HCl	600	600.0	100	100
Nicotinic acid	700	700.0	500	500
Pyridoxine.HCl	5500	5500.0	500	500
Glycine	200	100.0	2000	2000
Vitamin B ₁₂	30	-	-	-
Biotin	5	5.0	-	-
Ca pantothenate	500	500.0	-	-
2,4-D	100	-	-	-
Kinetin	100	100.0	100	-



그림 34. 약 발달단계별로 채취된 약의 모습

A (화뢰의 꽃잎길이 0~1mm), B (1~2mm), C (2~3mm), D (3~4mm)

다. 약의 소독용액(sodium hypochlorite)의 농도별 배양현황 및 배와 식물체 발생

- 꽃봉오리를 채취하여 에탄올 70%액에서 30초간 표면살균하고, 이어서 sodium hypochlorite 용액에서 15분간 소독을 한 후 petri-dish에 약을 치상함, 이 때 sodium hypochlorite 용액을 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6%로 각각 농도를 달리하여 소독을 실시한 후 치상하여 소독액의 농도별로 배양효율 확인함
- sodium hypochlorite의 농도가 낮으면 식물체에 손상이 줄어들지만 오염률이 증가되며, sodium hypochlorite의 농도가 높아지면 오염률이 감소하지만 식물체에 손상으로 인하여 식물의 분화 및 재생율이 낮아지는 것으로 알려져 있음

라. 2차 배양시 광조건별 배양현황 및 배와 식물체 발생

- 소독한 약을 C배지에 치상하여 32°C의 암조건에서 7일 동안 배양한 후, 오염된 약을 제거하고 C배지로 계대배양하여 25°C의 배양실에서 배양. 이 때 광조건을 명조건 또는 암조건으로 조절하여 3주 동안 배양하면서 2차 배양시 광조건에 따른 배양효율을 확인함

마. 3차 배양시 배지종류에 따른 배양효율

- 소독한 약을 C배지에 치상하여 32°C의 암조건에서 7일 동안 배양한 후, 오염된 약을 제거하고 C배지로 계대배양하여 25°C에서 명조건에서 3주 동안 2차 배양함. 2차 배양에서 피사 또는 오염된 약을 제거한 다음 kinetin을 첨가한 MSK 또는 R배지로 계대배양하여 3차 배양시 배지종류에 따른 배양효율을 조사함

바. 약배양 배지 내의 탄소원의 종류와 농도에 따른 배양효율

- 배지의 삼투압이 배배양에 미치는 영향을 알아보기 위하여, mannitol은 sucrose를 3% 첨가한 C배지에 1, 2, 3, 4, 8%로 첨가하였으며, sucrose는 C배지에 각 0, 3, 4, 5, 6, 7, 8%로 각각 첨가하여 탄소원의 종류와 농도가 집중된 약의 배와 식물체 발생에 미치는 영향을 분석함

사. 약배양 배지 내 성장조절물질의 종류 및 농도에 따른 배양효율

- 약배양을 위해 사용된 C기본배지에 성장조절물질의 종류와 농도를 달리하여 조제하여 사용함
- ABA의 첨가가 약으로부터 배와 식물체를 형성하는데 미치는 영향을 구명하기 위하여 약배양에 사용한 변형 C배지에 ABA를 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹첨가하여 배양함. 또한, kinetin과 2,4-D의 혼용첨가가 약배양에 미치는 영향을 구명하기 위하여 변형 C배지에 kinetin과 2,4-D를 각기 0, 0.05, 0.1, 0.2 mg · L⁻¹로 혼용하여 첨가하여 약을 배양 종류와 농도가 집중된 약의 배와 식물체 발생에 미치는 영향을 분석함

아. 저온 전처리에 따른 배양효율

- 저온 전처리가 고추의 약배양 효율에 미치는 영향을 구명하기 위하여 고추의 약을 변형 C배지에 치상한 후, 4°C에서 0, 2, 3, 4, 6, 8일 동안 저온 전처리한 후 25°C로 옮겨 배양함

자. 활성탄 농도에 따른 배양효율

- 약배양에 사용하는 변형 C배지에 활성탄을 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0%로 달리 첨가하여 약을 배양함으로써 배지에 첨가된 활성탄의 농도가 배 발생 및 식물체 발생에 미치는 영향을 구명함

차. 배지 내 glutamic acid 농도에 따른 배양효율

- 약배양에 사용하는 변형 C배지에 glutamic acid를 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 mg · L⁻¹로 첨가하여 glutamic acid가 고추 약의 배발생 및 식물체 형성에 미치는 영향을 구명함

카. 고추 배배양 재료 및 인공수분

- 배배양을 위해 고추 모본 5계통을 에코씨드로부터 분양받아 충북대학교 실험포장 비닐하우스에서 조은상토:펄라이트:퇴비:바크를 7:3:1:1로 섞은 용토를 충진한 25cm 화분에 식재함. 이후 관수 및 비배관리를 하면서 꽃봉오리단계에서 추천되어진 교배라인 8조합에 따라 인공수분을 실시함 (표 28)
- 교배일로부터 약 4주 후 수정된 과실의 종자에서 배를 적출하여 MS배지에 치상하고 기내에서 배양된 배는 배양환경을 25±1℃, 광도 40μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기 16시간 하에서 관리

표 28. 배배양을 위해 실시한 교배라인

♀ \ ♂	FP401	역강	FP11	FP196	FP14
FP401		1 (1) ^z	134 (44)		
역강	130 (41)				
FP11	26 (7)			49 (7)	53 (13)
FP196			124 (59)		
FP14			-		

z 교배수 (착과수)

제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 고추 약배양을 이용한 세대 단축

- 본 연구에 사용된 고추 라인들은 3개의 참여 종묘회사 (대농종묘(주), (주)에코씨드, 한국누넴)에서 의뢰받은 것임. 각 회사별로 약배양을 통해 형성된 고추 개체수 확인 (표 29)
- 2년차에는 대농종묘 (2008년 4월 23일), 에코씨드 (2회 ; 2008년 4월 25일, 2008년 9월 24일), 바이엘크롭사이언스 (2회 ; 2008년 6월 23일, 2008년 9월 9일)로부터 17 lines, 623개체를 각각의 날에 분양받음 (표 30)
- 2년차에 정식 후 고추의 약배양을 통해 식물체를 유기하는 효율을 알아보기 위해 에코씨드로부터 분양받은 2개 품종(F1, F3)에 대해 기존의 방법으로 약배양 효율을 검정함
- 2년차인 2008년 6월에서 8월까지 F3 품종은 20,630개의 약을, F1 품종은 18,300개의 약을 기내에 접종함. 2년차 까지 배양결과 F3 품종은 85개의 배발생이, F1 품종은 22개의 배가

발생됨 (표 31, 그림 35). 식물체로 분화된 것은 각각 54, 8개 이고, 기외에서 순화 중이거나 완료된 개체수는 F3가 4개, F1이 7개임. 기존의 방식대로 약배양을 해본 결과 배발생율이 F3는 0.41%이고, F1은 0.12%로 매우 낮은 효율을 보임 (그림 36)

표 29. 각 회사별로 약배양에 의한 고추 배발생 유도

Lines		No. of anthers cultured	No. of anthers inducing embryos	No. of anthers inducing calli	Frequency of embryo production (%)	Frequency of calli production (%)
대농종묘	AC-1	150	26	32	17.3	21.3
	AC-2	296	56	116	18.9	39.2
	AC-3	598	150	20	25.1	3.3
	AC-4	222	76	6	34.2	2.7
	AC-5	496	124	44	25.0	8.9
	AC-6	174	36	54	20.7	31.0
	AC-7	346	74	34	21.4	9.8
에코씨드	MA-1	160	60	36	37.5	22.5
	MA-2	136	28	38	20.6	27.9
	MA-3	308	62	56	20.1	18.2
	MA-4	396	90	24	22.7	6.1
한국누넴	AC-1	90	14	16	15.6	17.8
	AC-2	234	100	8	42.7	3.4
	AC-3	84	30	0	35.7	0.0
	AC-4	136	28	8	20.6	5.9
	AC-5	90	42	12	46.7	13.3
	AC-6	408	102	110	25.0	27.0
	AC-7	396	144	8	34.4	2.0
	AC-8	330	100	20	30.3	6.1
	AC-9	640	260	10	40.6	1.6
	AC-10	272	118	8	43.4	2.9

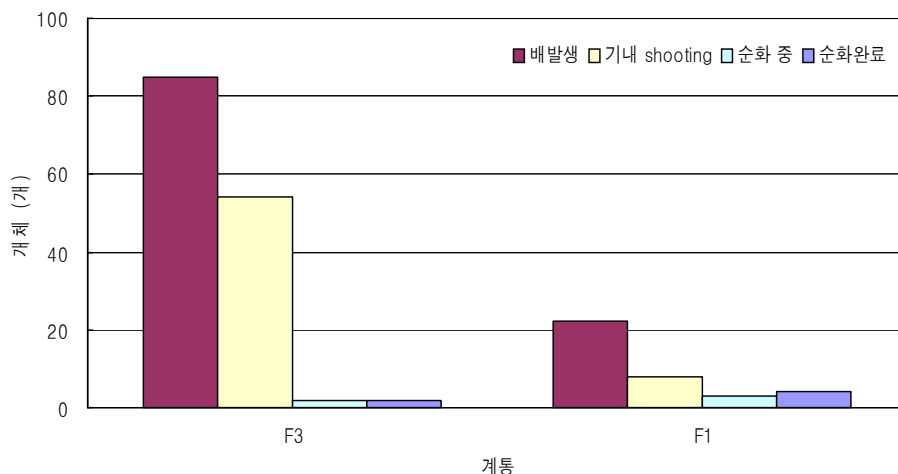


그림 35. 2년차인 2008년 고추 약배양 효율을 검정하기 위해 실시한 2품종의 배발생 및 식물체 분화

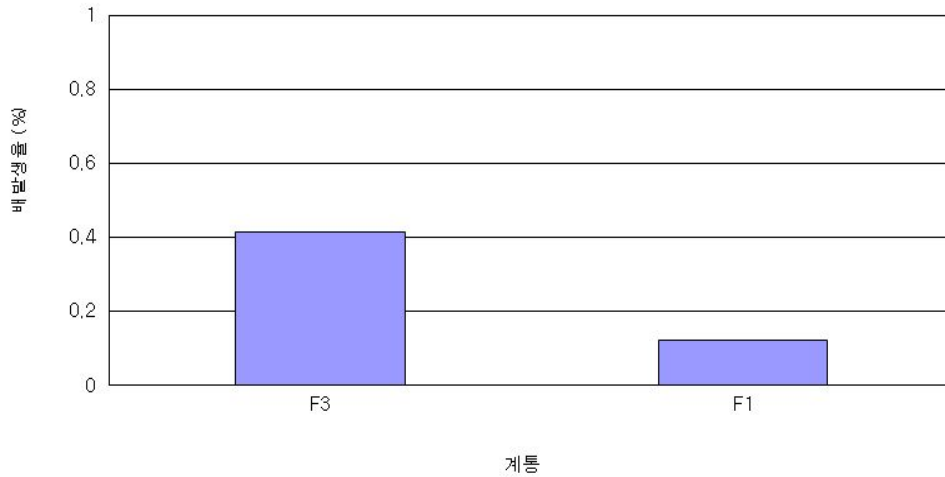


그림 36. 2년차인 2008년 고추 약배양 효율을 검정하기 위해 실시한 2품종의 배 발생율

표 30. 실험에 위해 제공된 고추 라인 및 수량

종묘회사	라인	개체수 (주)	라인특성	입고일
대농종묘	AC-1	20	조생종, 바이러스 저항성, 다수확 계통, 개장형	2008. 4. 23
	AC-2	17	조생종, 바이러스 중도저항성, 다수확 계통, 개장형	2008. 4. 23
	AC-3	17	중생종, 바이러스 저항성, 다수확 계통, 개장형	2008. 4. 23
	AC-4	18	중국용 하늘초 계통, 중생종, 다수확 계통, 매운맛 강함	2008. 4. 23
	AC-5	17	중국용 하늘초 계통, 바이러스 저항성	2008. 4. 23
	AC-6	20	중국용 하늘초 계통, 중만생종, 바이러스 저항성, 청고병 내병성, 다수확 계통	2008. 4. 23
에코씨드	F3	35	FP16 × FP12 F ₃ 계통	2008. 4. 25
	F1	35	FP16 × 역강모계 F ₁ 계통	2008. 4. 25
	ECO1	20	역강홍장군 (모계), CMV내병계, 역병·CMV 복합내병계 육성	2008. 9. 24
	ECO2	25	바이러스 내병성 강하고 품질 좋은 코레곤 입금넙고추 분리 후대	2008. 9. 24
바이엘크롭사이언스	BCS81	12 / 24	저온 착과력 우수, 중국 하우스용	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9
	BCS82	24 / 37	CMV 저항성 선발용, 인도용	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9
	BCS83	24 / 32	CMV 저항성 선발용, 인도용	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9
	BCS84	24 / 50	CMV 저항성 선발용, 인도용	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9
	BCS85	24 / 24	저온 착과력 우수, 중국 하우스용	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9
	BCS86	24 / 37	역병저항성, CMV저항성 선발용, 한국, 중국 등	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9
	BCS87	24 / 39	역병저항성, CMV저항성 선발용, 한국, 중국 등	2008. 6. 23 / 2008. 9. 9

표 31. 약 배양에 따른 배발생과 식물체 유도

계통 ^z	치상수 (개)	배발생 (개)	배발생율 (%)	기내 식물체 유기 (개)	기외순화 (개)	순화완료 (개)	계
F3	20,630	85	0.41	54	2	2	58
F1	18,300	22	0.12	8	3	4	15
계	38,930	107	0.27	62	5	6	73

zF3: FP16 × FP12 F₃ 계통, F1: FP16 × 역강모계 F₁ 계통

2. 약배양시 배와 식물체 발생을 촉진시키기 위한 요인별 실험 결과

가. 약의 발달단계별 배양현황 및 배와 식물체 발생

- 꽃봉오리를 채취한 다음, 약의 보라색 정도가 전체 중 0~20% 정도 착색된 것을 stage A, 21~40%가 착색된 것을 stage B, 41~60%를 stage C, 61~80%를 stage D, 81~100% 착색된 것을 stage E로 분류하여 5단계로 구분하여 배양함 (그림 37)
- 처음 약을 치상한 후, 3주차가 되면 배배지(R배지)로 약을 계대 배양한 다음, 배발생이 진행되는 것들은 MS배지로 옮겨 식물체로 발달되도록 하였다. 주요 조사항목으로 각 착색정도별로 치상한 약들의 배발생과 식물체 발생 수를 조사함

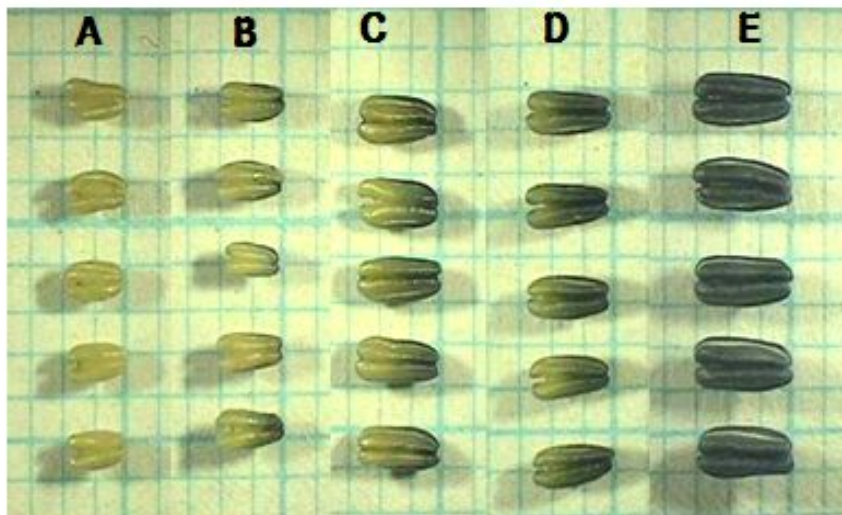


그림 37. 약의 착색정도에 따라 채취된 약의 모습

좌로부터 Stage A(0~20%), B(21~40%), C(41~60%), D(61~80%), E(81~100%)

- 약의 발달단계에 따라 배발생 효율이 달랐으며, 약의 발달단계에 따라 적정 sucrose 농도 차이를 확인함, 약은 보라색이 21~60% 정도 착색되었을 때 배와 식물체의 발생이 가장 우수함
- 약의 발달단계에 따라 적정 sucrose의 농도가 다르게 나타났는데, 0~40% 정도 착색되었을 때에는 sucrose의 농도가 6%일 때 배발생이 증가되었으며, 41~80% 정도 착색되었을 때에는

sucrose의 농도를 3%로 낮추는 것이 배발생에 효과적인 것으로 나타남 (표 32, 그림 38), 그러나 80% 이상 착색되었을 때에는 배지의 sucrose 농도에 관계없이 모두 배가 발생하지 않음

- 따라서 약의 발달단계에 따른 착색 정도는 약배양의 효율을 증가시키는데 매우 중요한 요소로 생각되었으며, 약의 발달단계에 따라 배지의 sucrose 농도를 조절해주는 것이 약으로부터 배의 발생을 증가시킬 수 있는 효율적인 방법으로 생각됨

표 32. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 약 발달단계와 배지 내 sucrose 농도의 영향

약의 발달단계 (착색, %)	배지종류	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
			수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0-20	C3	1,253	0	0.0	0	0.0	0.00
	C6	1,759	1	0.1	0	0.0	0.00
21-40	C3	1,937	0	0.0	0	0.0	0.00
	C6	1,353	3	0.2	1	33.3	0.07
41-60	C3	3,000	1	0.1	1	100.0	0.03
	C6	1,550	0	0.0	0	0.0	0.00
61-80	C3	1,879	2	0.1	0	0.0	0.00
	C6	1,484	0	0.0	0	0.0	0.00
81-100	C3	1,681	0	0.0	0	0.0	0.00
	C6	1,768	0	0.0	0	0.0	0.00

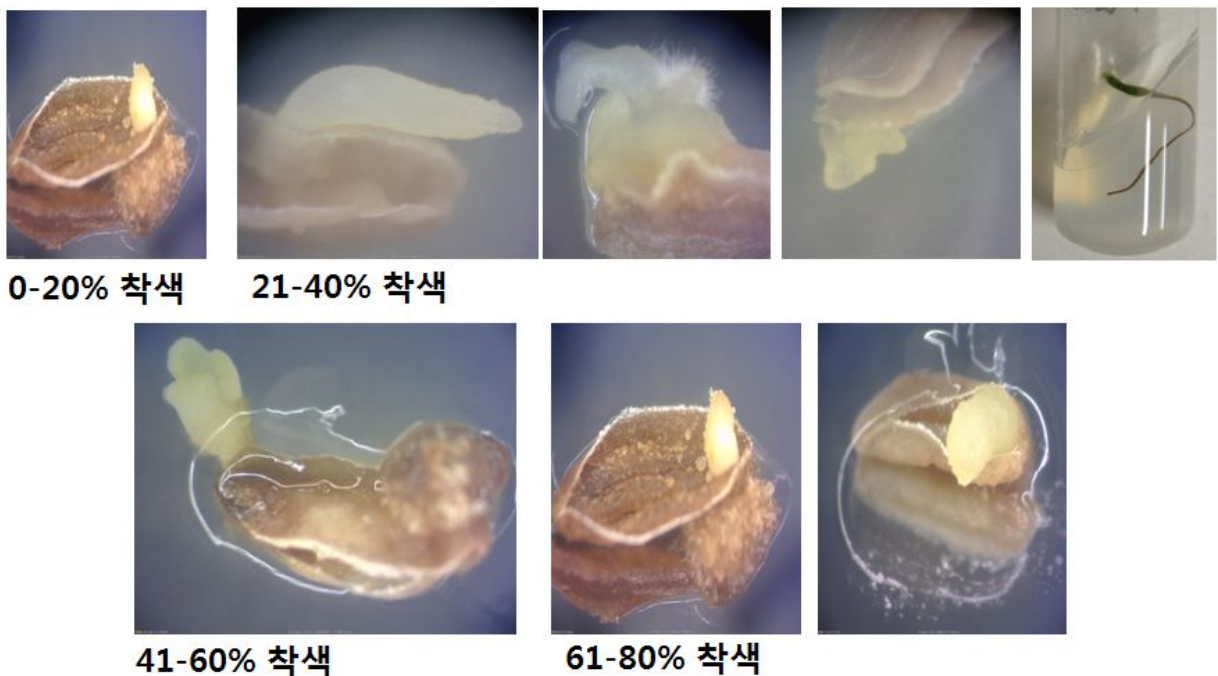


그림 38. 약의 발달단계에 따른 배와 식물체 발생

나. 약 발달단계별 적정 채취시기 구명

- 1년차 실험에서 채취시기에 따라 배발생의 정도가 차이가 나는 것으로 추정되어 정확한 약

채취시기를 알아보기 위하여 본 실험을 실시함 (표 33)

- 계절별 배양효율; 약배양의 경우 식물체의 생육온도에 따라 배발생의 차이가 난다고 보고되어 있음. 생육기가 고온일 경우 배발생으로 발달되지 않고 무반응 내지는 켈러스로 진행되어 약에서 직접 식물체로 발달되지 않기에, 효율적인 약배양 시기를 알아보기 위하여 월별로 분석함 (표 34, 그림 39)

표 33. 약 발달단계별 약배양 효율

라인	약 발달 단계 ^z	전체 접종수	생존율 ^y (%)		배 발생수 (개)	켈러스 형성수 (개)	켈러스 형성율 (%)	배 발생율 (%)	생존율 (%)
			반응	무반응					
AC3	A	87	64.4	35.6	0	2.0	2.3	0.0	100.0
	B	65	29.2	70.8	0	3.0	4.6	0.0	100.0
	C	36	44.4	55.6	0	0.0	0.0	0.0	100.0
	D	84	78.6	21.4	0	0.0	0.0	0.0	100.0
AC4	A	52	15.4	61.5	0	0.0	0.0	0.0	76.9
	B	55	5.5	36.4	0	0.0	0.0	0.0	41.8
	C	55	16.4	61.8	0	0.0	0.0	0.0	78.2
	D	57	3.5	52.6	0	0.0	0.0	0.0	56.1
AC5	A	61	3.3	36.1	0	0.0	0.0	0.0	39.3
	B	68	10.3	26.5	0	0.0	0.0	0.0	36.8
	C	59	0.0	50.8	0	0.0	0.0	0.0	50.8
	D	61	1.6	18.0	0	0.0	0.0	0.0	19.7
AC6	A	61	0.0	68.9	0	0.0	0.0	0.0	68.9
	B	60	0.0	20.0	0	0.0	0.0	0.0	20.0
	C	63	0.0	28.6	0	0.0	0.0	0.0	28.6
	D	65	0.0	64.6	0	0.0	0.0	0.0	64.6

z : 화뢰의 꽃잎길이 A (0~1mm), B (1~2mm), C (2~3mm), D (3~4mm)

y : 치상 후 3주차 조사

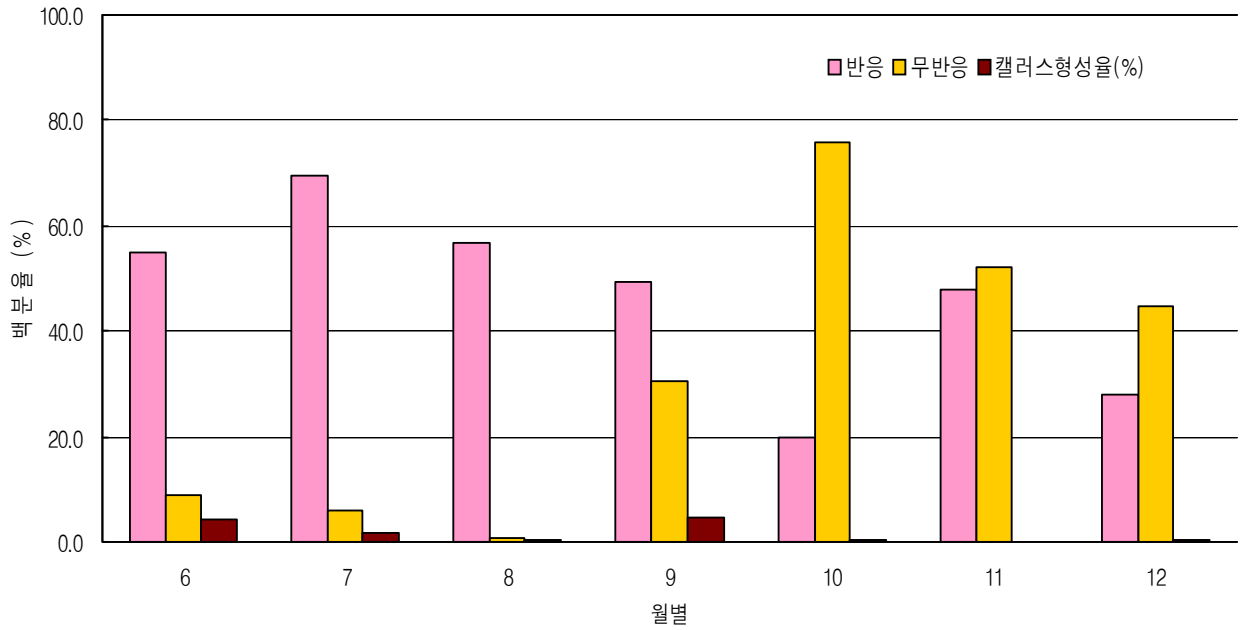


그림 39. 약배양시기에 따른 약의 배양반응

표 34. 배양시기에 따른 약배양 효율

종묘 회사	계통	월별	전체 접종수 (개)	생존율 (%)		배 발생수 (개)	켈루스 형성수 (개)	켈루스 형성율 (%)	생존율 (%)
				반응	무반응				
대농 종묘	AC1	6	397	67.3	22.4	0	22.0	5.5	89.7
		7	336	65.8	19.9	0	3.0	0.9	85.7
		8	60	51.7	1.7	0	0.0	0.0	53.3
		9	139	47.5	51.1	0	14.0	10.1	98.6
		10	165	3.0	97.0	0	0.0	0.0	100.0
		11	275	8.7	91.3	0	.0	0.0	100.0
	AC2	6	440	66.6	26.6	0	23.0	5.2	93.2
		7	138	55.1	15.2	0	5.0	3.6	70.3
		8	60	90.0	3.3	0	0.0	0.0	93.3
		9	81	59.3	39.5	0	0.0	0.0	98.8
		10	112	8.9	91.1	0	0.0	0.0	100.0
		11	122	40.2	59.8	0	0.0	0.0	100.0
	AC3	6	378	59.0	0.0	0	8.0	2.1	59.0
		7	193	74.1	0.0	0	1.0	0.5	74.1
		8	오염						
		9	121	63.6	35.5	0	2.0	1.7	99.2
		10	128	21.9	78.1	0	0.0	0.0	100.0
		11	110	37.3	62.7	0	0.0	0.0	100.0
	AC4	6	467	54.4	0.0	0	29.0	6.2	54.4
		7	120	86.7	0.0	0	11.0	9.2	86.7
		8	오염						
9		112	23.2	75.0	0	11.0	9.8	98.2	
10		오염							
AC5	6	329	55.9	0.0	0	0.0	0.0	55.9	
	7	240	62.9	0.0	0	0.0	0.0	62.9	
	8	오염							
	9	111	57.7	40.5	0	19.0	17.1	98.2	
	10	137	25.5	59.1	0	0.0	0.0	84.7	

		11	72	25.0	75.0	0	0.0	0.0	100.0
	AC6	6	324	19.8	0.0	0	17.0	5.2	19.8
		7	96	58.3	0.0	0	0.0	0.0	58.3
		8	오염						
		9	41	26.8	73.2	0	0.0	0.0	100.0
		10	57	24.6	75.4	0	0.0	0.0	100.0
		11	58	41.4	58.6	0	0.0	0.0	100.0
바이엘 그룹 사이 언스	BCS81	7	48	62.5	0.0	0	2.0	4.2	62.5
		8	60	41.7	0.0	0	0.0	0.0	41.7
		9	41	36.6	0.0	0	0.0	0.0	36.6
		10	236	3.0	69.5	0	2.0	0.8	72.5
		11	55	30.9	69.1	0	0.0	0.0	100.0
	BCS82	7	36	100.0	0.0	0	0.0	0.0	100.0
		8	60	10.0	0.0	0	0.0	0.0	10.0
		9	108	50.9	0.0	0	0.0	0.0	50.9
		10	129	47.3	52.7	0	1.0	0.8	100.0
		10	54	18.5	81.5	0	0.0	0.0	100.0
	BCS83	7	54	96.3	0.0	0	2.0	3.7	96.3
		8	54	55.6	0.0	0	0.0	0.0	55.6
		9	102	43.1	0.0	0	0.0	0.0	43.1
		10	325	41.8	57.5	0	0.0	0.0	99.4
		11	384	52.9	47.1	0	0.0	0.0	100.0
	BCS84	7	36	86.1	0.0	0	0.0	0.0	86.1
		8	18	100.0	0.0	0	0.0	0.0	100.0
		9	38	55.3	0.0	0	0.0	0.0	55.3
		10	255	31.0	66.7	0	8.0	3.1	97.6
		11	83	69.9	30.1	0	0.0	0.0	100.0
		12	161	43.5	36.0	0	1.0	0.6	79.5
	BCS85	7	30	86.7	0.0	0	0.0	0.0	86.7
		8	54	53.7	0.0	0	0.0	0.0	53.7
		9	84	72.6	0.0	0	0.0	0.0	72.6
		10	203	8.9	90.6	0	0.0	0.0	99.5
		11	119	81.5	18.5	0	0.0	0.0	100.0
	BCS86	7	48	87.5	0.0	0	1.0	2.1	87.5
		8	30	30.0	0.0	0	0.0	0.0	30.0
		9	18	22.2	0.0	0	0.0	0.0	22.2
		10	128	12.5	87.5	0	0.0	0.0	100.0
		11	164	64.6	34.1	0	0.0	0.0	98.8
	BCS87	7	48	39.6	0.0	0	0.0	0.0	39.6
		8	102	79.4	0.0	0	1.0	1.0	79.4
		9	오염						
		10	248	7.3	90.3	0	0.0	0.0	97.6
		11	66	12.1	87.9	0	0.0	0.0	100.0
12		309	19.7	49.2	0	0.0	0.0	68.9	
에코 씨드	ECO1	11	174	2.3	95.4	0	0.0	0.0	97.7
	ECO2	11	174	2.3	95.4	0	0.0	0.0	97.7

다. 약의 소독용액(sodium hypochlorite)의 농도별 배양현황 및 배와 식물체 발생

- 본 연구에서 꽃봉오리를 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6%의 sodium hypochlorite로 소독하여 배양한 약으로부터 식물체 식물을 형성하는데 가장 적합한 sodium hypochlorite의 농도를 조사한 결과, 농도별로 각기 배양한 약의 0.12, 0.08, 0.09, 0.17, 0.16, 0.27%가 식물체로 형성됨 (표 35, 그림 40)

- 기존에는 0.5~1.0%의 sodium hypochlorite로 꽃봉오리를 소독하여 약을 배양하는 것이 효과적인 것으로 알려져 있으나, 본 연구에서는 다소 높은 농도인 1.6% sodium hypochlorite로 꽃봉오리를 소독하는 것이 결과적으로 약으로부터 식물체 발생을 촉진하는 것으로 나타남
- 이는 1.6%의 sodium hypochlorite가 일부 약의 피사를 유도하는 경향이 있으나, 약의 오염율을 감소시키기 때문에 약에서 배가 발생하는 확률이 증가되기 때문으로 생각됨. 한편, 0.6%의 sodium hypochlorite로 소독하여 접종한 경우에는 약의 오염율이 86.78%로 매우 높았으나, 약에서 발생한 배의 80.00%가 식물체로 분화되어 배의 식물체 분화율이 상당히 높은 것으로 나타남
- 따라서 약의 오염율을 감소시킬 수 있다면, 0.6%의 농도로 소독하는 것이 1.6%의 sodium hypochlorite로 소독하여 접종하는 것 보다 약배양 효율을 증가시킬 수 있을 것으로 생각됨
- 따라서 sodium hypochlorite의 농도를 0.6%로 낮추어도 약의 오염율을 감소시킬 수 있는 방법을 개발할 필요가 있는 것으로 생각됨

표 35. 약배양시 배와 식물체의 발생에 미치는 sodium hypochlorite 농도의 영향

Sodium hypochlorite (%)	초기 약 치상량 (개)	1차 배양		배 발생		식물체 발생		
		약 접종량 (개)	오염 또는 피사율 (%)	수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0.6	3,275	433	86.78	5	0.15	4	80.00	0.12
0.8	6,158	695	88.71	8	0.13	5	62.50	0.08
1.0	6,599	976	85.21	9	0.14	6	66.67	0.09
1.2	1,184	584	50.68	3	0.25	2	66.67	0.17
1.4	641	156	61.96	2	0.31	1	50.00	0.16
1.6	3,358	1,069	68.17	14	0.42	9	64.29	0.27

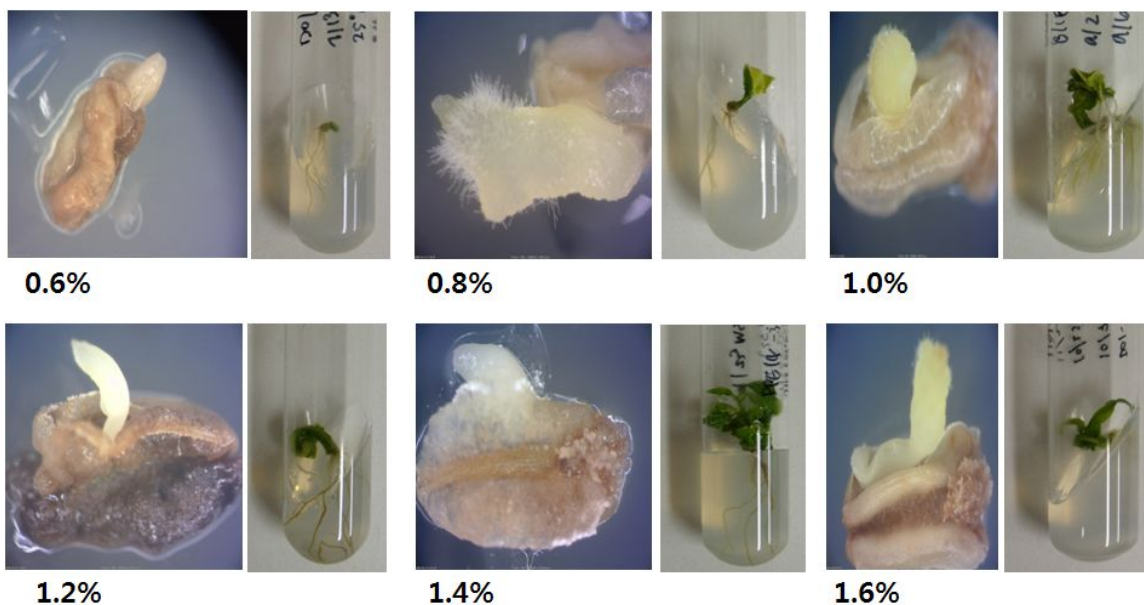


그림 40. Sodium hypochlorite의 농도에 따른 배와 식물체 발생

라. 2차 배양시 광조건별 배양현황 및 배와 식물체 발생

- 37℃의 암조건에서 7일 동안 배양한 약을 새 배지에 이식하여 25℃에서 배양할 때에도 암조건에서 배양하는 것이 배발생에 효과적이었으며, 암조건에서 형성된 배에서 식물체의 발생도 우수함 (표 36, 그림 41, 42)
- 2차 배양할 때에도 암조건에서 배양한 약은 명조건에서 배양한 약에 비하여 배의 발생이 2.36배 많았으며, 배에서 식물체가 발생하는 비율도 2배 많음
- 따라서 약배양의 효율을 증가시키기 위해서는 초기 배양할 때 암조건에서 배양한 약을 새로운 C배지에 계대배양하여 25℃에 배양할 경우에도 암조건에서 배양하는 것이 배양효율을 올릴 수 있는 방법임



그림 41. 명조건에서 배양한 약의 배와 발생

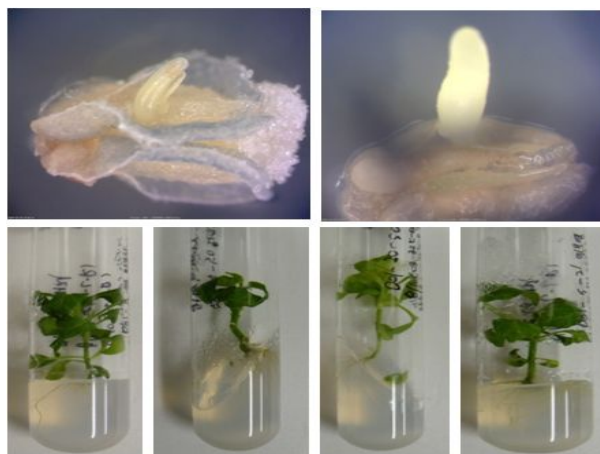


그림 42. 암조건에서 배양한 약의 배와 식물체 발생

표 36. 약의 2차 배양시 배와 식물체의 발생에 미치는 광조건의 영향

명조건	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
명	2,757	3	0.11	1	33.33	0.04
암	4,705	12	0.26	8	66.67	0.17

다. 3차 배양시 배지종류에 따른 배양효율

- R배지로 계대배양하여 3차 배양했을 경우에 배와 식물체의 발생이 모두 우수함(표 37, 그림 43, 44)
- R배지로 계대배양하였을 경우에는 MSK배지로 계대배양했을 때 보다 배발생율이 2배 높게 나타났으며, 식물체 발생율은 1.46배 높은 것으로 나타남

표 37. 3차 배양시 배와 식물체 발생에 미치는 배지종류의 영향

3차 배양 배지	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
MSK배지	3,901	7	0.18	4	57.14	0.10
R배지	4,187	15	0.36	11	73.33	0.26

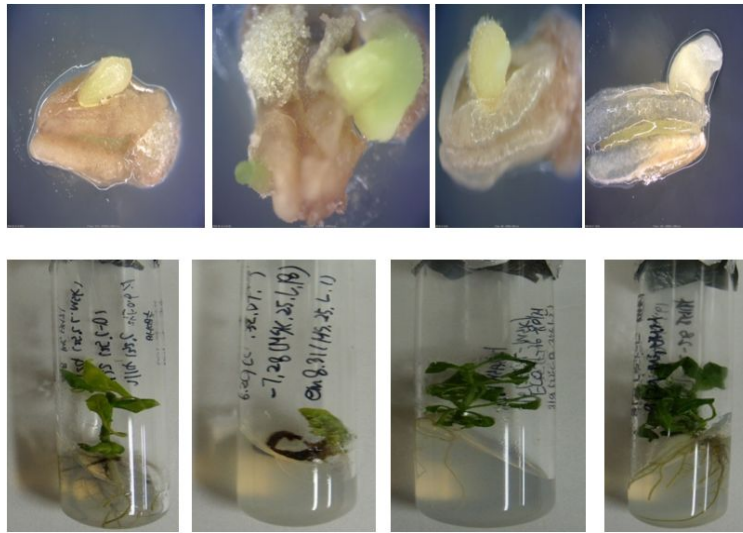


그림 43. MSK배지로 계대배양한 약에서 발생한 배와 식물체

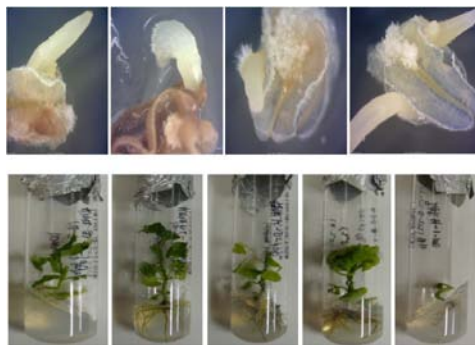


그림 44. R배지로 계대배양발생한 배와 식물체

- 따라서 R배지로 옮겨 3차 배양했을 때 약배양 효율이 증가되는 원인은 약에서 배가 발생하는 확률이 높기 때문으로 생각되며, 발생한 배로부터 식물체가 형성되는 것에는 배양 배지가 미치는 영향이 적은 것으로 생각됨

바. 약배양 배지 내의 탄소원의 종류와 농도에 따른 배양효율

- 연구의 결과, 배지에 mannitol을 첨가한 경우에는 배양한 약에서 배가 발생하지 않았으며, 따라서 식물체도 형성되지 않음 (표 38)
- 그러나 배지에 sucrose를 첨가하는 것은 약배양 효율을 증가시켰으며, 3~4% 첨가했을 때 배와 식물체의 발생이 가장 왕성함(표 39). 대부분 고추의 약을 배양할 때에는 배지 내 sucrose의 농도를 3% 첨가하는 것을 기본으로 하고 있으며, 본 연구의 기본 약배양 방법은 sucrose가 3% 첨가된 C배지를 사용함
- 본 연구에서 sucrose의 농도를 달리하여 연구한 결과, sucrose를 3~4%로 첨가하는 것이 배와 식물체 형성에 효과적임(그림 45, 46)
- 한편, 약의 발달단계와 배지 내 sucrose 농도를 달리한 연구에 의하면, 21~40% 정도 착색된 약을 sucrose의 농도를 6%로 첨가한 배지에 배양하였을 때 배와 식물체 발생이 가장 왕성함. 그러나 본 연구에서는 33~50% 정도 착색된 약을 재료로 실험하여 얻은 결과이므로 약간의 차이가 있음
- 따라서 약의 발달단계 및 배지 종류별 실험과 비교하여 종합적으로 고찰한 결과, 고추의 약배양 효율을 증가시키기 위해서는 21~40% 정도 착색된 약을 sucrose 6%가 함유된 C배지에 접종하는 것이 가장 효과적이지만, 41~80% 정도 착색된 약을 재료로 사용해야할 경우에는 sucrose가 3~4% 첨가된 C배지에 배양하는 것이 배와 식물체 형성을 촉진하는데 효과적일 것으로 생각됨

표 38. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 mannitol 농도의 영향

Mannitol (%)	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0	1,221	5	0.4	1	20.0	0.1
1	592	0	0.0	0	0.0	0.0
2	654	0	0.0	0	0.0	0.0
3	639	0	0.0	0	0.0	0.0
4	487	0	0.0	0	0.0	0.0
8	493	0	0.0	0	0.0	0.0

표 39. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 sucrose 농도의 영향

Sucrose (%)	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
3	1,221	5	0.4	1	20.0	0.1
4	770	4	0.5	1	25.0	0.1
5	790	0	0.0	0	0.0	0.0
6	682	0	0.0	0	0.0	0.0
7	531	0	0.0	0	0.0	0.0
8	493	0	0.0	0	0.0	0.0

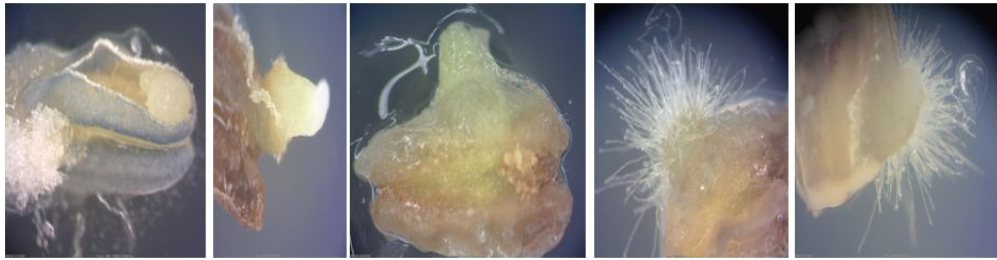


그림 45. Sucrose 3% 첨가구에서 형성된 배



그림 46. Sucrose 4% 첨가구에서 형성된 배와 식물체

사. 약배양 배지 내 성장조절물질의 종류 및 농도에 따른 배양효율

- 연구의 결과, 배지에 ABA를 첨가하는 것은 약배양에서 식물체를 형성하는데 효과가 없는 것으로 나타남 (표 40). 기존의 연구에 따르면 벼의 약배양에서는 ABA에 의하여 배발생 캘러스의 형성이나 식물체의 재분화가 촉진된다고 하였으나, 본 연구에는 ABA에 의한 영향이 나타나지 않음
- 따라서 고추의 약은 벼의 약에 비하여 ABA에 의한 배발생 또는 식물체 분화 효과가 낮은 것으로 생각됨

표 40. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 ABA 농도의 영향

ABA (mg·L ⁻¹)	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0.0	533	2	0.4	1	50.0	0.2
0.1	263	0	0.0	0	0.0	0.0
0.5	136	0	0.0	0	0.0	0.0
1.0	139	0	0.0	0	0.0	0.0
2.0	254	0	0.0	0	0.0	0.0

- Kinetin과 2,4-D의 농도를 달리하여 혼용하여 첨가한 결과, 본 연구에서 기본조건으로 사용한 kinetin과 2,4-D 각기 0.1 mg·L⁻¹의 첨가가 배발생과 식물체 형성에 가장 효과적임 (표 41, 그림 47). Kinetin과 2,4-D를 0.1 mg·L⁻¹의 농도로 혼용하여 첨가한 처리구 이외에는 2,4-D만 0.1 mg·L⁻¹로 단용 첨가한 처리구에서만 배가 발생하였는데, 배발생 확률이 0.2%로 낮음 (그림 48)

표 41. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 kinetin과 2,4-D 농도의 영향

Kinetin (mg·L ⁻¹)	2,4-D	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
			수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0.00	0.00	396	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.05	598	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.10	386	1	0.3	0	0.0	0.0
	0.20	388	0	0.0	0	0.0	0.0
0.05	0.00	300	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.05	302	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.10	419	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.20	436	0	0.0	0	0.0	0.0
0.10	0.00	319	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.05	294	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.10	1,279	7	0.6	1	14.3	0.1
	0.20	304	0	0.0	0	0.0	0.0
0.20	0.00	241	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.05	300	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.10	514	0	0.0	0	0.0	0.0
	0.20	326	0	0.0	0	0.0	0.0

아. 저온 전처리에 따른 배양효율

- 연구의 결과, 약을 접종한 후 4°C에서 저온 전처리하지 않는 것이 배와 식물체 발생에 효과적임, 저온 전처리 기간이 증가될수록 배발생이 감소하였으며, 3일 이상 저온 전처리 시 배가 발생하지 않음 (표 42, 그림 51-52)
- 따라서 채취한 약을 초기 접종할 때에는 4°C의 저온 보다는 32°C의 고온 조건에서 배양하는 것이 배와 식물체 발생에 효과적으로 나타남
- 일반적으로 약을 채취하여 모본의 생육적온보다 낮거나 높은 온도에서 일정 기간 두는 전처리 과정을 거친 약이 소포자의 분화능력이 향상된다고 함. 기존의 연구에 따르면 벼의 약 배양은 치상 전 저온처리가 배발생에 효과적인 것으로 알려져 있으며, 배추는 치상 후 35°C의 고온 처리가 배발생에 효과적인 것으로 알려져 있음

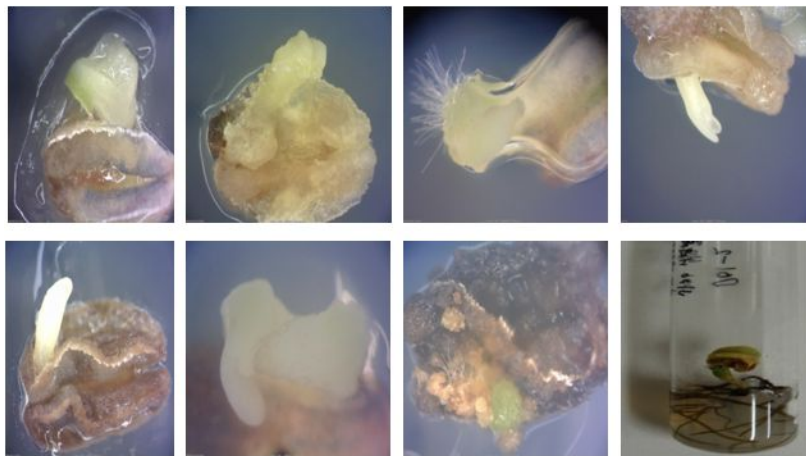


그림 47. Kinetin과 2,4-D를 각 0.1mg·L⁻¹ 혼용 첨가한 배지에서 형성된 배



그림 48. 2,4-D 0.1 mg·L⁻¹ 단용 첨가한 배지에서 형성된 배

- 본 연구에 의하면 고추의 약은 치상하여 고온처리 하는 것이 배발생과 식물체분화에 효과적이었음
- 따라서 종에 따라 초기 약 치상 후 적정 온도조건이 다르므로, 이를 고려하여 배양하는 것이 중요한 것으로 생각됨, 또한 고추의 약은 치상 후 고온조건에서 배양하는 것이 효과적임

표 42. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 저온처리의 영향

저온처리 (일)	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0	563	2	0.4	1	50.0	0.2
2	527	1	0.2	0	0.0	0.0
3	285	0	0.0	0	0.0	0.0
4	397	0	0.0	0	0.0	0.0
6	384	0	0.0	0	0.0	0.0
8	416	0	0.0	0	0.0	0.0

자. 활성탄 농도에 따른 배양효율

- 활성탄의 농도를 0.0~1.0%로 달리하여 배양한 결과, 활성탄을 첨가하지 않거나 0.1% 첨가하였을 때 배와 식물체 발생이 증가되었으나, 배발생 확률이 0.1%로 낮음. 또한 0.2% 이상의 활성탄을 첨가한 배지에서는 배발생이 억제되므로 활성탄을 첨가할 때에는 0.1% 이하로 첨가해야함 (표 43, 그림 49-51)



그림 49. 저온처리 없이 배양한 약에서 형성된 배와 식물체



그림 50. 4℃에서 2일 동안 저온 전처리하여 형성된 배

표 43. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 활성탄 농도의 영향

활성탄 (%)	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0.0	753	1	0.1	1	100.0	0.1
0.1	801	1	0.1	1	100.0	0.1
0.2	558	0	0.0	0	0.0	0.0
0.5	683	0	0.0	0	0.0	0.0
1.0	787	0	0.0	0	0.0	0.0

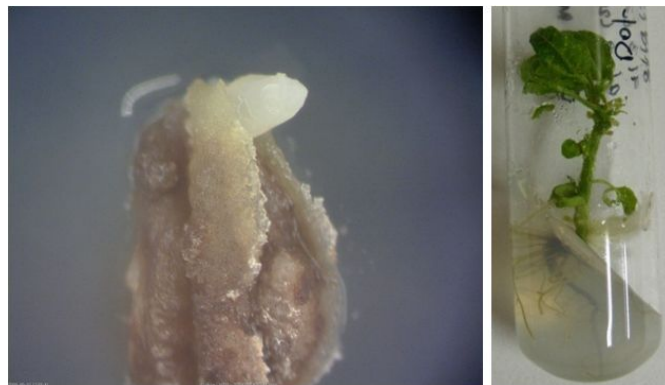


그림 51. 활성탄 0.1% 첨가구에서 형성된 배와 식물체

차. 배지 내 glutamic acid 농도에 따른 배양효율

- 무첨가구를 제외한 모든 glutamic acid 첨가구에서는 배가 발생하지 않음 (표 44)
- Glutamic acid는 식물의 합질소 성분으로 배지 내 ammonia를 흡수를 촉진하는 기능과 타 아미노산의 전구물질로 작용하는 것으로 알려져 있으며, 기존의 연구에 의하면, 담배와 옥수수의 약배양에서는 glutamine을 첨가했을 때 배형성이 촉진되었다고 하였으나, 본 연구에 의하면 고추의 약배양에 의한 배발생 및 식물체 재분화 효과가 없는 것으로 생각됨

표 44. 약배양시 배와 식물체 발생에 미치는 glutamic acid 농도의 영향

Glutamic acid (%)	초기 약 치상량 (개)	배 발생		식물체 발생		
		수 (개)	비율 (%)	수 (개)	배로부터의 비율 (%)	약으로부터의 비율 (%)
0.0	737	2	0.3	1	50.0	0.1
0.1	775	0	0.0	0	0.0	0.0
0.2	723	0	0.0	0	0.0	0.0
0.5	857	0	0.0	0	0.0	0.0
1.0	674	0	0.0	0	0.0	0.0

카. 종합 연구 결과

- 연구 결과를 종합한 결과, 고추의 약을 배양하여 식물체를 육성하기 위해서는 약의 21~60%가 보라색으로 착색된 약을 채취하여 꽃봉오리를 70% 알코올로 30초 동안 기포를 제거한 다음 1.6%의 sodium hypochlorite로 15분 동안 소독하는 것이 좋은 것으로 나타남
- 소독된 약은 약의 발달단계에 따라 3~6%의 sucrose를 첨가한 변형 C배지(2,4-D 0.1mg · L-1, kinetin 0.1mg · L-1, gelrite 2.4mg · L-1, 활성탄 0~0.1%를 첨가하여 pH를 5.8로 조절)에 치상하여 32°C에서 1주일 동안 암배양한 다음 오염된 약을 제외하고 남은 약을 동일한 배지로 계대배양하여 3주 동안 25°C에서 암배양하는 것이 배의 발생을 촉진하는 것으로 여겨짐
- 또한 2차 배양 후에는 R배지로 계대배양하여 배발생을 유도하는 것이 효과적인 것으로 나타남 (그림 52)

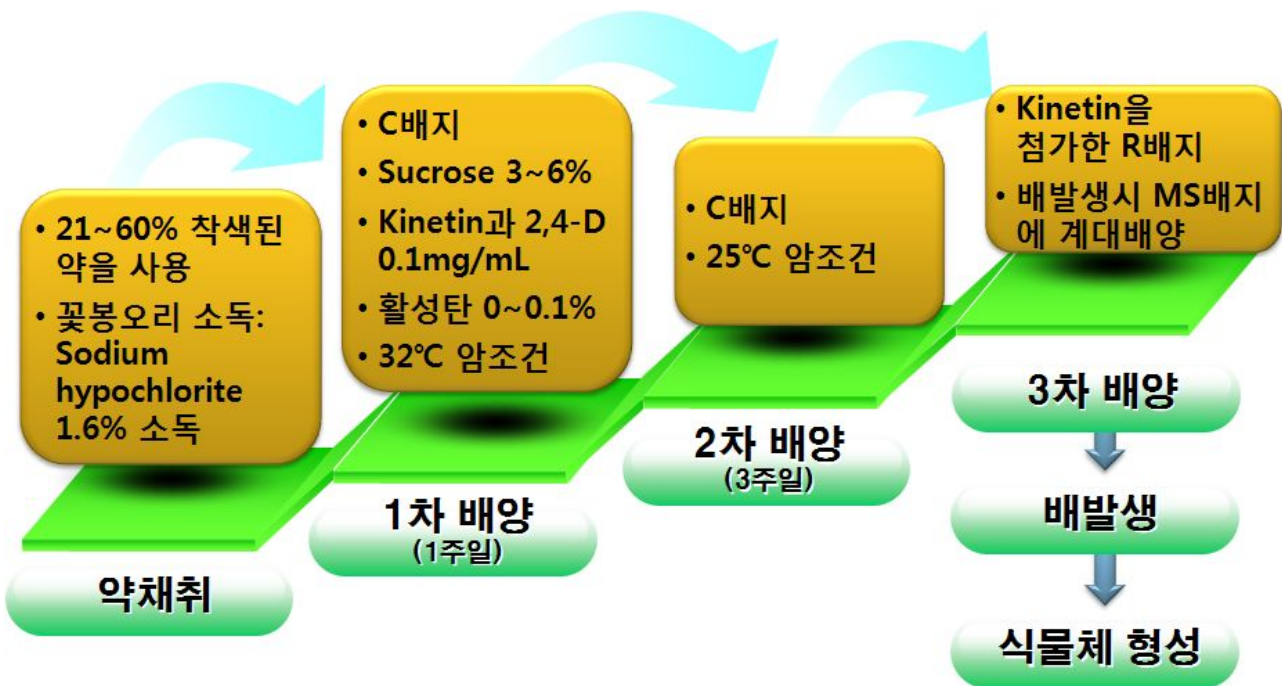


그림 52. 고추의 약배양 효율을 증가시킬 수 있는 배양방법

2. 품종에 따른 배양효율

가. 고추 약으로부터의 배발생이 품종에 따라서도 차이를 보인다고 보고된 바 있어 2개 업체 15품종에 대해 배양효율을 비교함 (그림 53, 54)

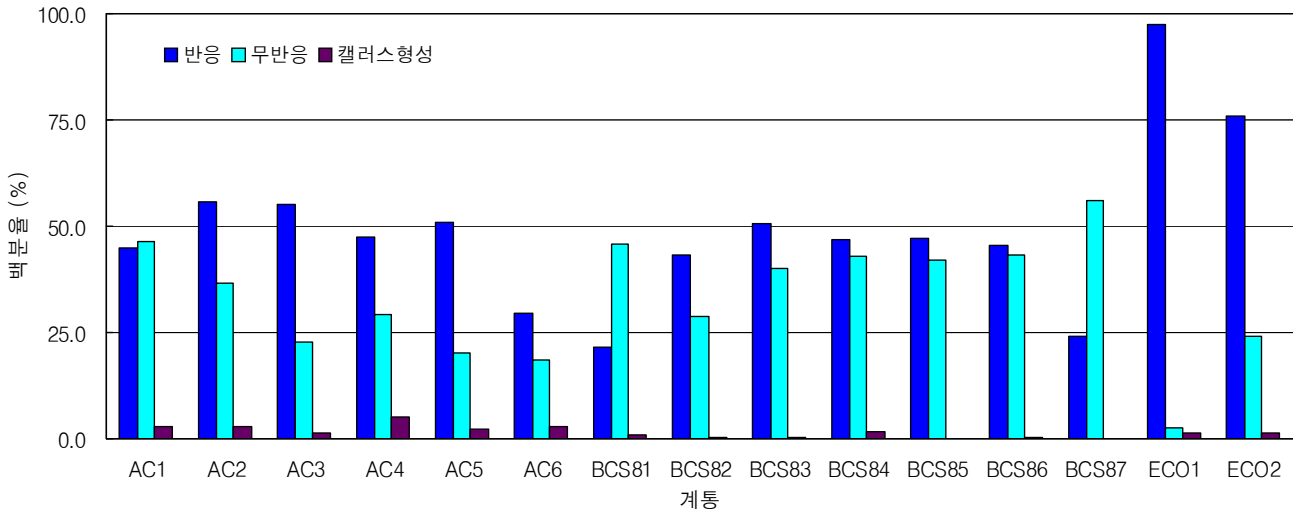


그림 53. 계통에 따른 생존반응 및 캘러스 형성

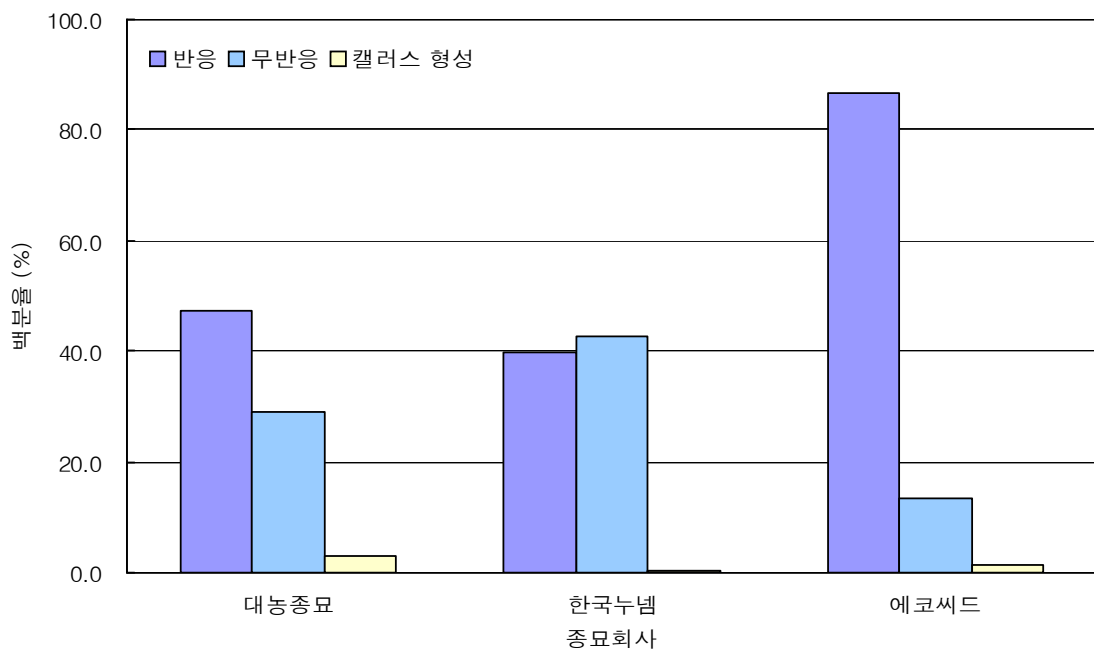


그림 54. 종묘회사에 따른 생존반응 및 캘러스 형성

3. 배배양을 통한 중간 유용인자 도입

가. 고추 배배양 재료 및 인공수분

- 인공수분은 교배조합에 의거, 모본으로 사용할 개체에서 아직 개화하지 않은 꽃봉오리의 수술을 제거해 주고 (제웅), 교배조합에 따라 부분의 수술에서 꽃가루를 모본의 주두에 인공수분을 한 후 유산지를 씌워줌. 그 후 수정이 확인되면 유산지 봉지를 제거하고 기내 배배양 재료로 사용 (그림 55-57)

- 배배양을 위해 사용된 고추 모본들은 7계통임 (FP401, FP402, FP501, FP11, FP14, FP21, 역강홍장군 모계)
- 연구에 사용된 12개의 교배조합은 FP401×FP11, FP402×FP11, FP501×FP11, FP11×FP14, 역강모×FP401, FP21×FP11, FP11×FP401, FP11×FP402, FP11×FP501, FP14×FP11, FP401×역강모, FP11×FP1 등 총 12개 (표 45)
- 이들 조합 중 FP401×FP11 등 6조합에서 배배양을 통해 136개체의 식물체 육성 (그림 58, 59)
- 이들 계통들은 25×25 cm 화분에 원예용상토:펄라이트:퇴비:바크를 7:3:1:1로 섞은 용토를 사용하여 식재한 후 점적관수를 설치하여 관수관리를 하였고, 고추전용 고품추비를 2~3개월마다 시비하여 비배관리 수행함

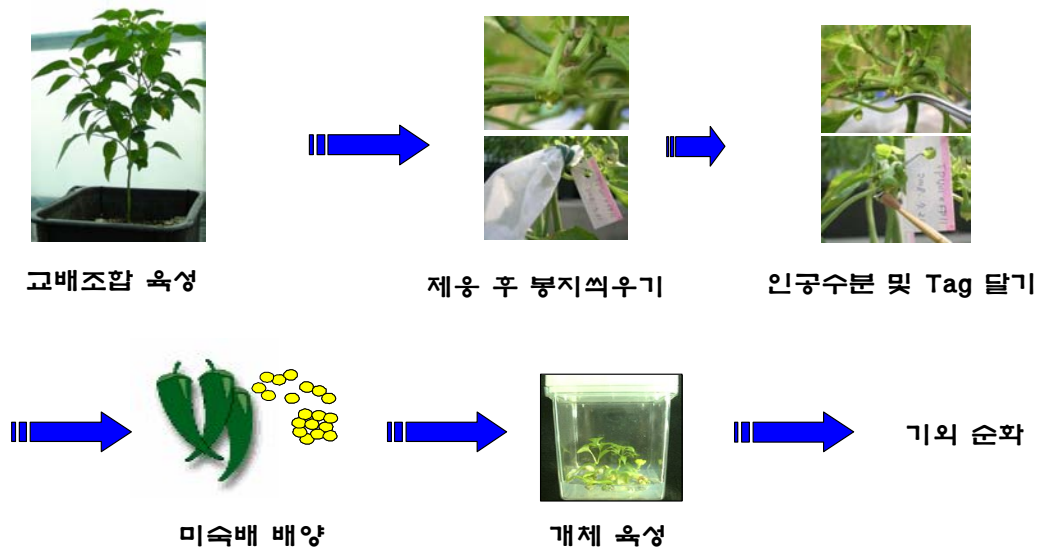


그림 55. 실험에 사용한 배배양 방법

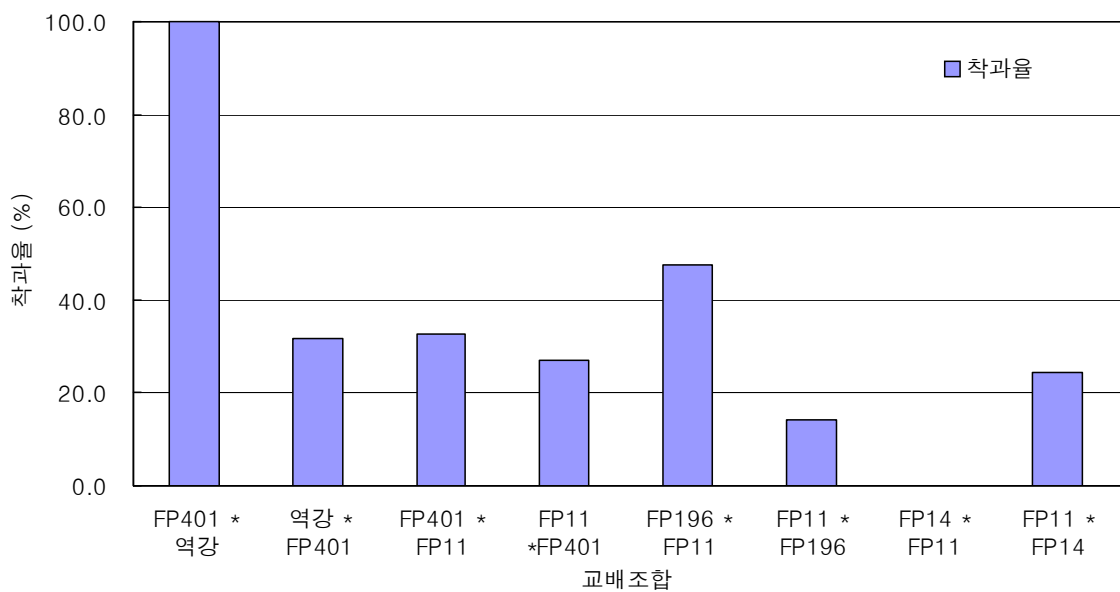


그림 56. 교배조합별 인공수분에 따른 작과율

- 당초 본 연구과제의 목표는 6개의 중간 교배조합으로부터 20개의 식물체를 육성하는 것이었으며, 연구의 결과 6개의 교배조합에서 136개체의 식물체를 생산하였으므로 연구목표를 초과달성함

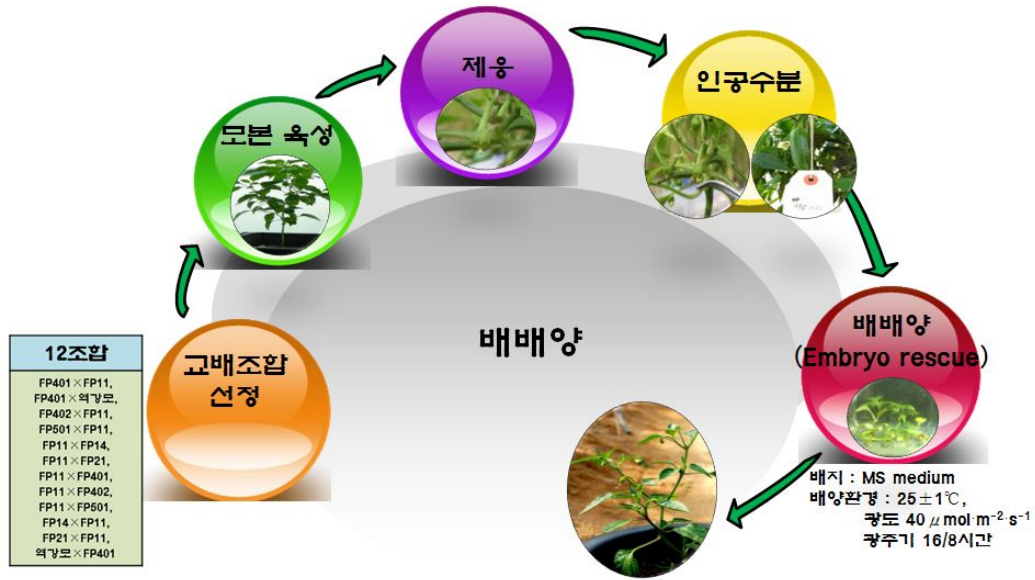


그림 57. 실험에 사용한 배배양 방법

표 45. 3년차 최종 배배양 진행상황

모 X 부	개체 수	모 X 부	개체 수
FP401 x FP11	6	FP11 x FP401	5
FP402 x FP11	교배 중	FP11 x FP402	교배 중
FP501 x FP11	교배 중	FP11 x FP501	교배 중
FP11 x FP14	8	FP14 x FP11	교배 중
역강모 x FP401	50	FP401 x 역강모	-
FP21 x FP11	48	FP11 x FP21	19



그림 58. 배배양을 위해 인공수분을 통해 착과 시킨 교배조합(역강XFP11)



그림 59. 역강XFP401조합에서 배배양을 통해 순화시킨 개체

나. 배배양

- 적출된 배에서 식물체가 발생하면 좀 더 넓은 MS병배지에 치상하여 배양을 하였고, 이후 기외로 순화과정을 거쳐 교배조합별 개체를 획득함 (표 46). 배배양으로부터 획득되어진 개체 중 순화를 마친 묘들은 2008년 11월 20일 에코씨드로 인도함. 인도한 내역들은 역강×FP401 17주, FP401×FP11 8주, FP11×FP401 1주, FP196×FP11 7주로서 총 33주임

표 46. 배배양을 위해 치상한 배와 이로부터 획득되어진 식물체

♀ \ ♂	FP401	역강	FP11	FP196	FP14
FP401		1 (0) ^z	15 (8)		
역강	104 (21)				
FP11	- (1)			6	10 (1)
FP196			82 (7)		
FP14			-		

^z배발생개체수 (순화묘수)

4. 종합 약배양 현황 및 식물체 발생

가. 종합 약배양 현황

- 계통에 관계없이 약배양에 사용한 배양 방법은 동일하며 약배양에 사용한 약은 기본적으로 꽃잎을 벗겼을 때 약의 표면이 1/3 ~ 3/4 정도 보라색으로 착색된 것들을 위주로 선별하여 약배양의 재료로 사용하였으나, 상기의 연구에서 20~60%가 보라색으로 착색된 약이 배양 효율이 우수한 것을 파악한 이후에는 20~60% 정도가 보라색으로 착색된 약을 재료로 배양함
- 채취한 고추의 꽃봉오리는 클린벤치 내에서 70% 에탄올 용액에 30초 동안 표면살균하고, 이어서 1%의 sodium hypochlorite 용액에서 15분 동안 소독하는 것을 기본으로 하였으나, 연구의 결과 sodium hypochlorite의 농도에 따라 약배양 효율이 달라지는 것을 확인한 후에는 sodium hypochlorite의 농도를 접종 상황에 맞춰 0.6~1.6%로 다양하게 사용함
- 약배양에 사용한 배지는 sucrose 3%, 2,4-D 0.1mg · L⁻¹, kinetin 0.1mg · L⁻¹, gelrite 2.4mg · L⁻¹를 첨가하여 pH를 5.8로 조절한 C기본배지를 주로 사용하였으나, 상기의 연구결과에 따라 약의 착색단계에 맞춰 sucrose의 농도를 3~6%로 조절하여 사용함
- 배발생 효율을 증가시키기 위하여 약을 치상한 배지를 32℃의 성장상으로 옮겨 암상태에서 7일간 보관하면서 배양하였음
- 32℃의 암상태에서 1주일 동안 배양한 약은 오염된 것을 제거하고 변형 C배지로 계대배양한 다음, 25±1℃, 광도 40μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기 16시간으로 조절한 배양실이나 암상태의 인큐베이터로 옮겨 배양함
- 초기 접종 후 4주차가 되면 3차 배양단계로 배발달 배지인 R배지 또는 MSK배지로 옮겨서 계대배양 하였으나, 연구를 통하여 R배지의 효율이 높은 것을 확인 한 다음에는 R배지로 옮겨서 계대배양 수행함
- 약으로부터 배의 발생을 촉진하기 위하여 약을 R배지로 옮겨 치상한 다음, 약에서 배가 발생되면 MS배지로 계대배양 하여 식물체로 발달되도록 유도함. 이 때 사용한 MS배지는 MS 기본배지에 sucrose 2%, agar 8%를 넣고 pH를 5.8로 조정한 후 시험관에 분주하여 사용함
- 4개의 참여업체로부터 분양받아 약배양에 사용한 28계통의 약배양 접종과 배양 현황은 그림 60, 61에 나타냄
- 2009년에 총 523,576개의 약을 접종하였으며, 그 중 분양된 모본의 수가 가장 많았던 BCS DO1계통의 접종한 약의 수가 41.48%로 가장 많았으며, 그 다음으로 FNP1(15.59%), BCS DO3(6.21%), BCS DO6(5.00%) 및 FNP4(3.94%). 한편, BCS81~BCS87, Eco-1, Eco-2 등과 같이 2008년도에 도입되어 노화된 계통은 식물체의 생육상태가 우수하지 않아 약이 부족하였기 때문에 1% 미만으로 소량 접종함

나. 배발생

- 총 28계통의 고추에서 채취한 약을 접종하여 배발생을 유도함 (그림 62, 63)
- 배의 발생을 효율적으로 유도하기 위하여 C 기본배지에 치상하여 32℃에서 1주일 배양한 후, 오염된 약을 제거하고 다시 C배지로 계대배양하여 25℃의 암조건 또는 명조건에서 3주일 동안 배양한 다음 배발생에 적합한 R배지로 약을 계대배양하여 배발생을 유도함

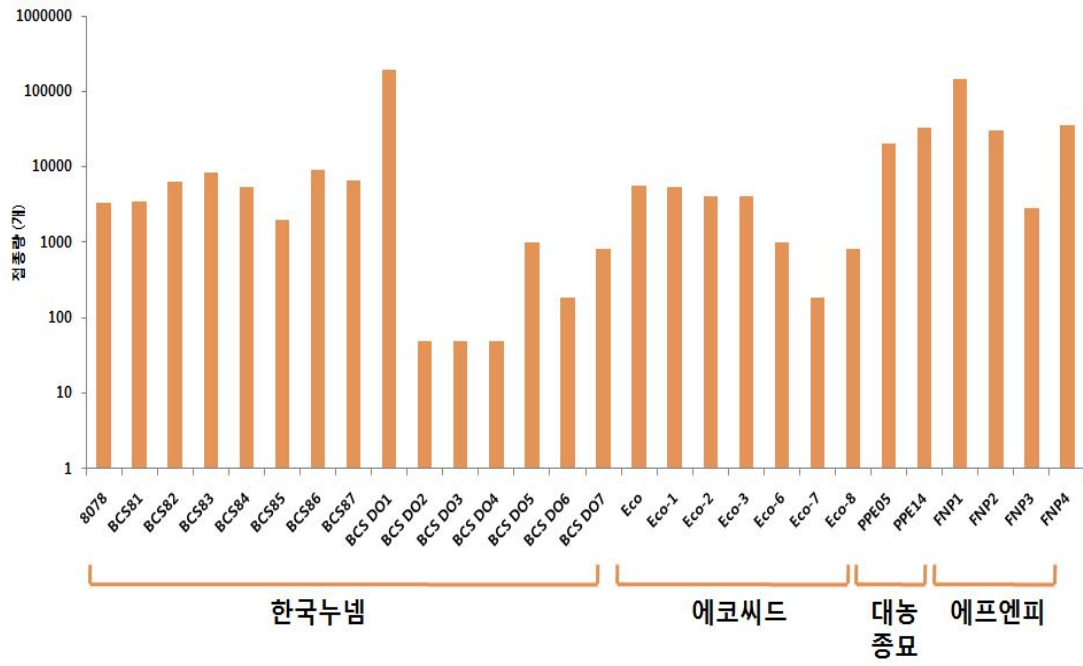


그림 60. 계통별 약배양 접종 현황



그림 61. 약배양 현황

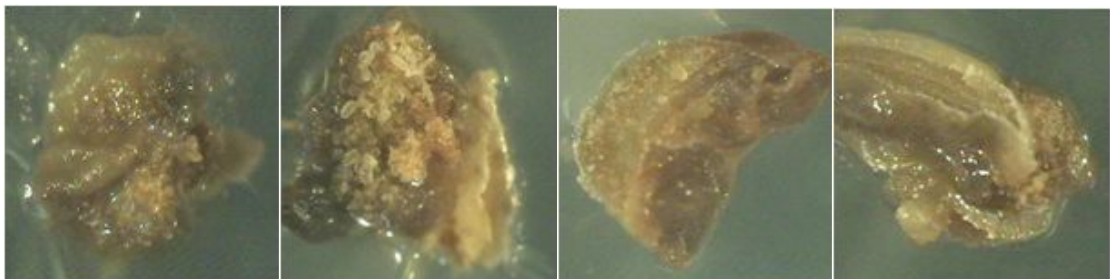


그림 62. 배양 중 퇴화된 배



그림 63. 배가 발생한 후 발달과정에서 식물체로 분화되지 못하고 켈러스화 되는 배

- 연구의 결과, 접종한 모든 계통에서 배가 발생하지는 않았으며, 28계통 중 8078, BCS 86, BCS 87, BCS DO1, BCS DO2, BCS DO3, BCS DO4, BCS DO5, BCS DO6, BCS DO7, Eco, PPE14, FNP1, FNP2, FBP3, FNP4 등 16계통에서만 배가 발생함
- 약배양의 최종 목표는 소포자에서 유래한 정상 식물체의 육종이므로 약으로부터 유기되는 배로부터 식물체를 분화시켜 정상적인 묘로 생육시키는 것이 매우 중요함
- 본 연구에서 다양한 계통의 약을 치상하여 다수의 배를 형성하였으나, 배가 발생한 경우에도 모든 배가 정상적으로 발달되지 않음. 배가 발생하였어도 도중에 퇴화되는 경우도 있었으며 (그림 64), 배가 발생하였으나 켈러스화 되는 배도 확인됨 (그림 65)

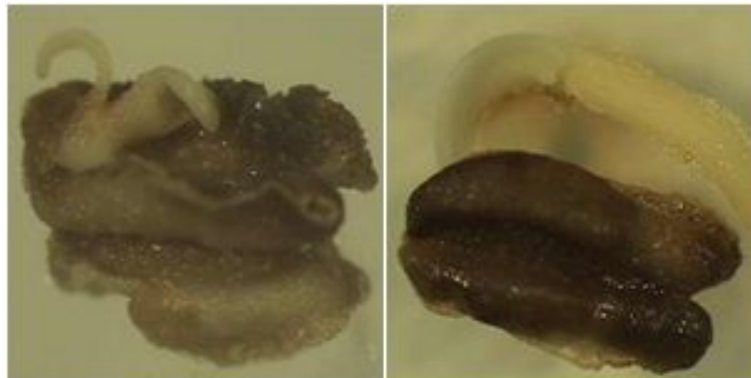


그림 64. 배양 중 노화된 배

- 한편, 건강한 배가 발생하였어도 배가 발생했을 당시 빠르게 발견하지 못하여 배가 노화된 이후에 발견되어 늦게 식물체를 유도하기 위한 MS배지로 이식한 경우도 있음. 대부분의 경우, 배가 발생할 때 shoot가 먼저 노출된 후, 뿌리가 발달하여 유묘로 발달하였으나, 뿌리가 먼저 노출되는 배도 확인됨 (그림 66)



그림 65. 1개의 약에서 1개의 배가 발생하여 식물체로 발달중인 배

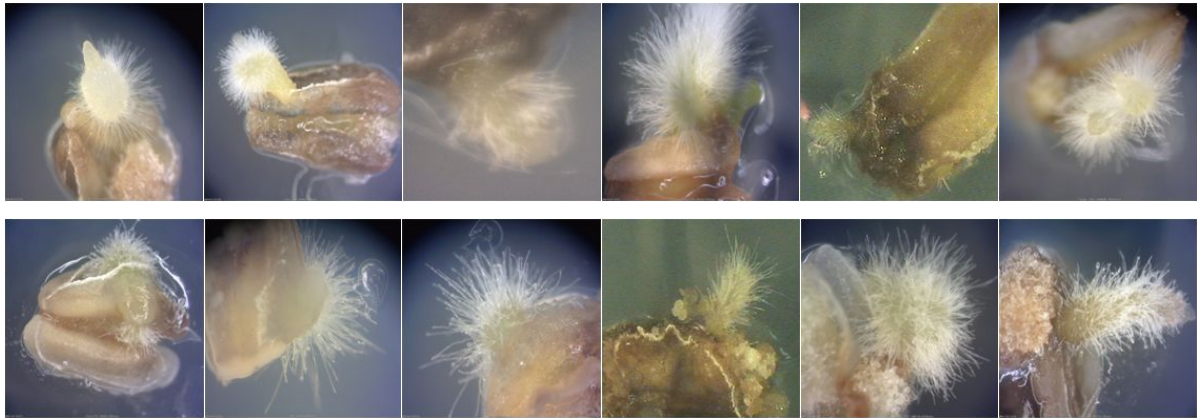


그림 66. 뿌리가 먼저 노출되는 배 (초기)



그림 67. 뿌리가 먼저 노출되어 생육중인 배

- 뿌리가 먼저 노출되는 배도 대부분 발달과정 중 정상적으로 신초가 형성되어 건강한 유묘로 발달하였으나 (그림 67), 뿌리만 발달하다가 퇴화되거나 비정상적인 유묘의 형태로 발달하는 경우도 있음
- 한편, 뿌리와 신초가 동시에 노출되어 성장하는 배도 확인됨 (그림 68)
- 또한, 1개의 약으로부터 1개의 배가 발생하는 경우가 대부분이었으나, 경우에 따라서는 1개의 약에서 다수의 배가 형성되는 경우도 있음 (그림 69)

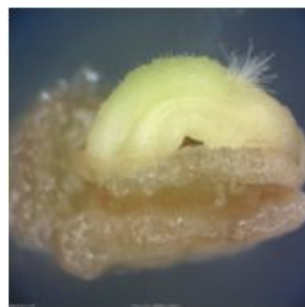


그림 68. 뿌리와 신초가 동시에 노출되는 배

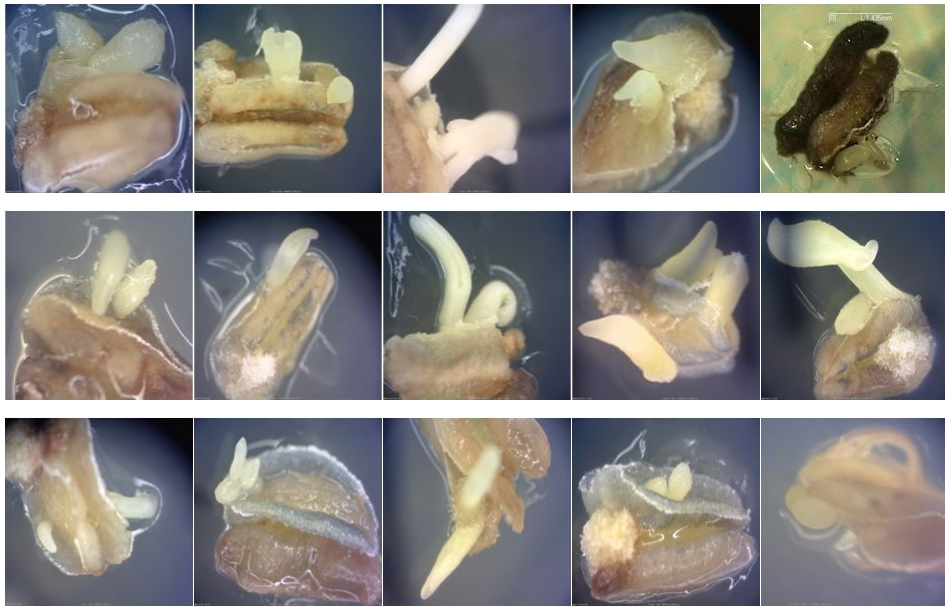


그림 69. 2개 이상의 배가 형성된 약

- 1개의 약에서 다수의 배가 발달한 경우에도 대부분은 발생한 배가 모두 정상적으로 발달하여 건강한 유묘를 형성함. 그러나 경우에 따라 1개의 약에서도 어떤 배는 신초가 먼저 형성되었으나 다른 배는 뿌리가 먼저 노출되는 경우도 있었으며(그림 70), 일부는 배가 발생하였으나 다른 배는 배가 발생하였다가 켈러스화 되는 경우도 있음 (그림 71)
- 반면, 배가 형성되었으나 형태가 특이한 경우도 있었는데(그림 72), 이들의 경우 대부분 정상적인 식물체로 분화되지 못함



그림 70. 다수의 약이 발생한 경우 (노출 부위 다름)

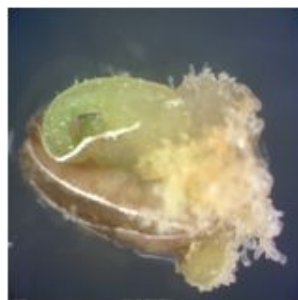


그림 71. 다수의 배가 발생하여 일부 켈러스화



그림 72. 배가 발생하였으나, 형태가 정상적이지 않은 배

다. 식물체 배양 (시험관 배양)

- 약을 C배지에 치상하여 32℃의 암상태에서 1주일 동안 배양한 다음 새로운 C배지로 계대 배양하여 25℃의 암조건 또는 명조건에서 3주일 동안 배양한 약을 R배지로 계대배양하여 배발생을 유도함
- R배지에서 배가 발생한 경우에는 식물체로의 분화를 유도하기 위하여 배를 MS배지로 계대 배양하여 배양하였다. R배지에서 발생한 배를 MS배지를 분주한 시험관으로 계대배양한 결과, 배는 식물체로 분화됨 (그림 73)

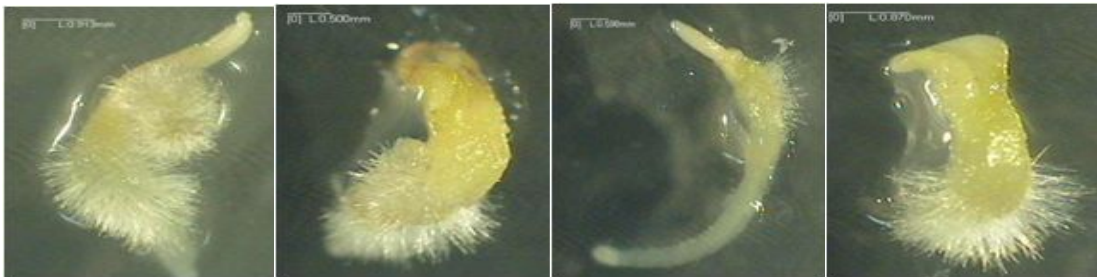


그림 73. MS배지로 이식하여 식물체 유도중에 있는 배

- 배에서 분화된 유식물체는 일정크기로 자랄 때까지 시험관에서 배양함 (그림 74, 75). 약에서 발생한 배를 식물체를 유도하기 위하여 MS배지로 계대배양 하여 배양한 결과, 일부 배는 식물체로 분화되던 중 괴사함 (그림 76)



그림 74. 배를 계대배양한 다음 식물체로 분화중인 유식물체

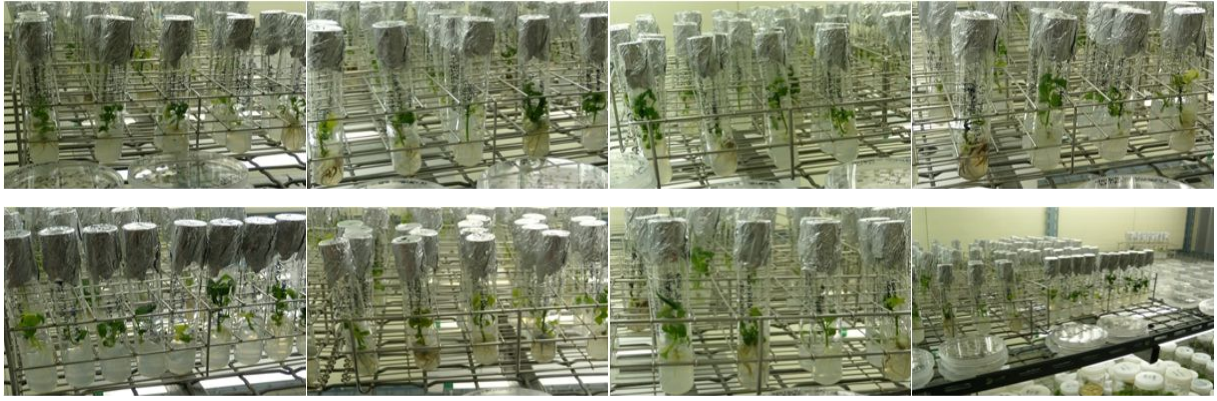


그림 75. 시험관에서 자라고 있는 식물들

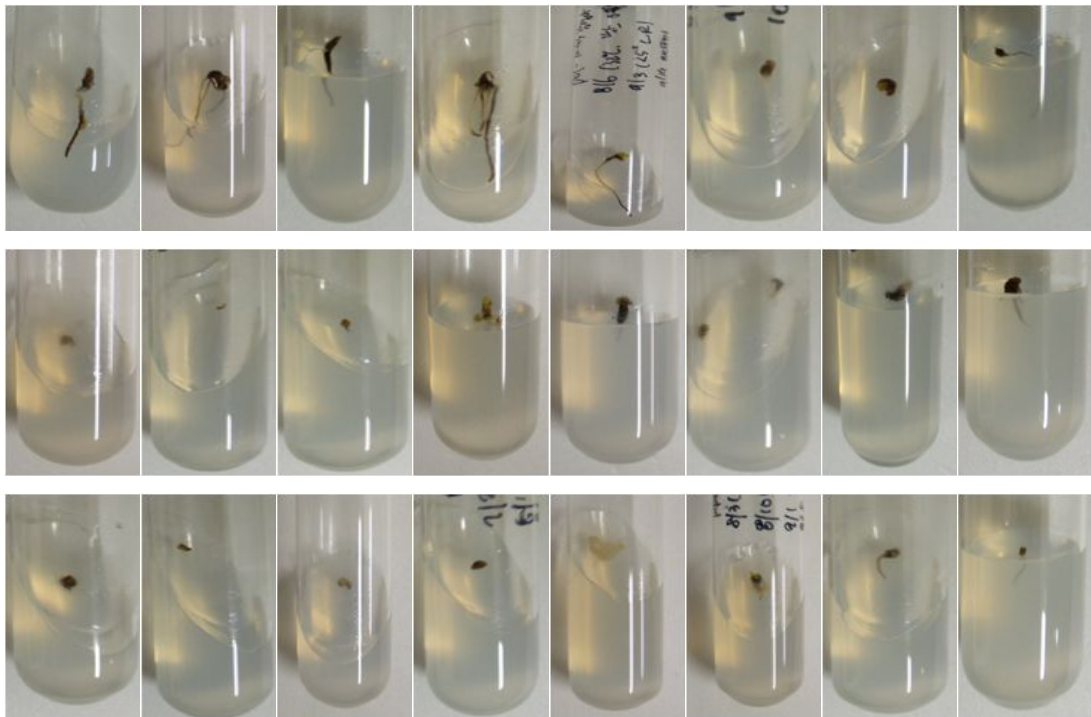


그림 76. 식물체로 분화 중 괴사한 유식물체

- 배양 중 괴사된 식물체를 제외하고는 대부분 정상적인 식물체로 분화되어 건강한 식물체로 자라났으나 (그림 77), 일부 배는 형태가 비정상적인 식물로 분화됨 (그림 78)
- 시험관내에서 배양한 식물체가 일정한 크기로 자라나면 기외로 이식함. 토양에 식재한 식물체는 토양활착률을 높이기 위하여 포트에 이식한 다음 배양실에서 일정 기간 순화과정을 거침. 시험관에서 배양한 식물체를 포트에 이식하여 배양실에서 순화과정을 거친 결과, 시험관에서 배양하여 바로 기외로 이식한 경우에는 모든 식물체가 토양에 활착하지 못하고 일부 식물체가 고사함 (그림 79)
- 그러나 순화과정에서 죽지 않고 살아남은 식물체는 대부분 온실로 옮겨 순화하는 과정에서도 정상적으로 생육하여 건강한 묘를 육성할 수 있음 (그림 80)

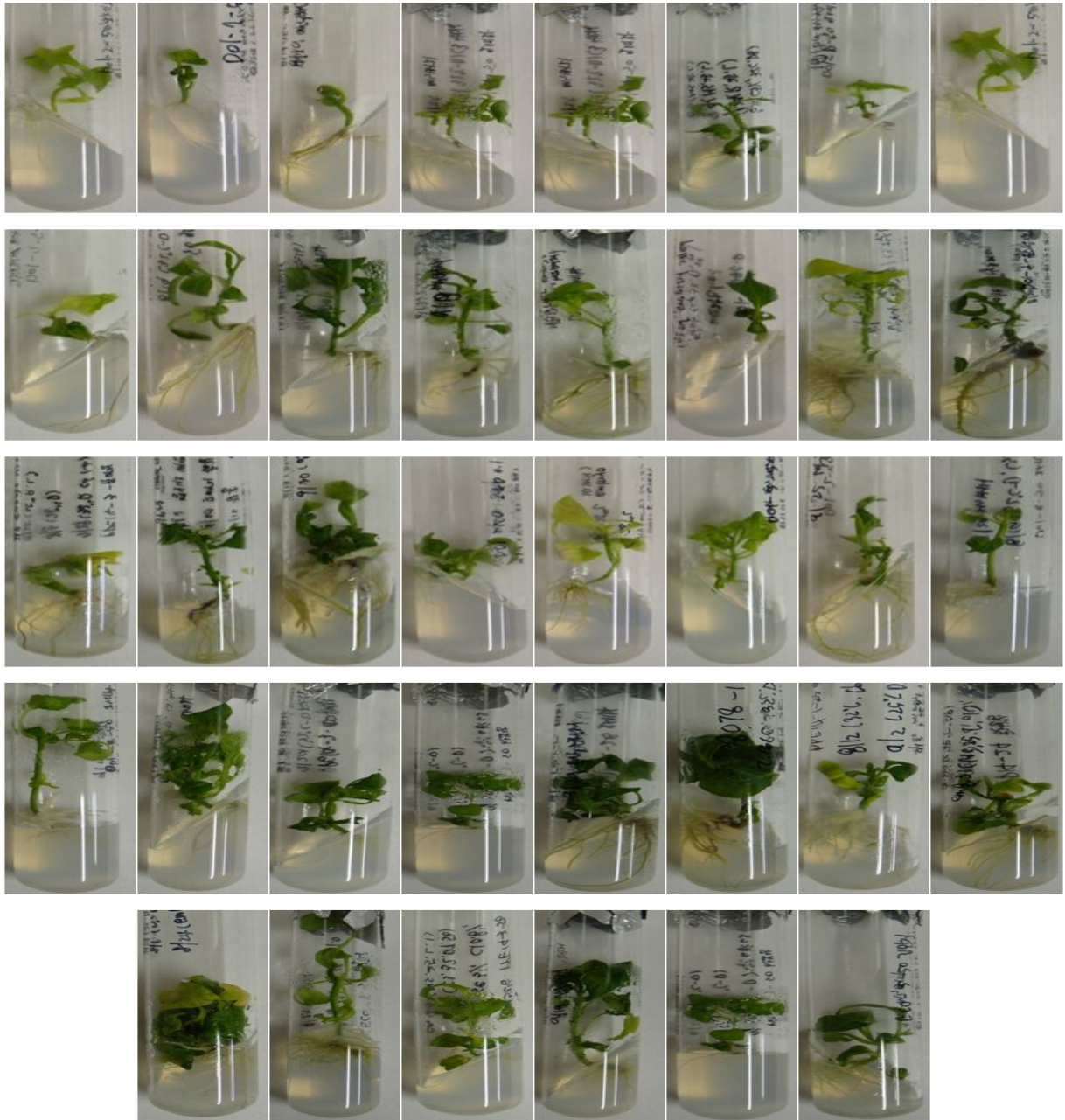


그림 77. 시험관에서 건강하게 자라고 있는 식물들

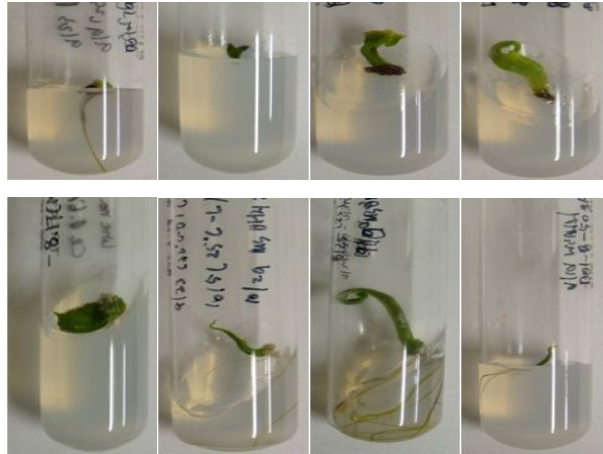


그림 78. 배에서 식물체로 분화 중 비정상적인 형태로 자라고 있는 식물들



그림 79. 시험관에서 배양하여 기외순화 중인 식물체 (일부 식물 고사)



그림 80. 시험관에서 배양한 다음 기외순화 하여 재배한 식물체

라. 배양병 배양

- 시험관에서 배양한 식물체를 바로 기외로 이식할 경우에는 시험관에서 자란 유식물체의 조직이 연약하고 외부 환경에 대한 적응 능력이 낮아 식물체가 순화과정에서 고사하는 경우가 발생하였으므로, 시험관에서 배양한 식물체를 동일한 MS배지를 분주한 200mL의 유리병으로 옮겨 식물체를 키운 다음 기외로 이식함
- 유리병으로 이식하여 배양중인 식물체는 그림 51-52와 같음. 시험관에서 약 2~4cm 정도까지 배양한 식물을 유리병으로 옮겨서 배양한 결과, 시험관에서 배양할 때 보다 식물체의 줄기가 굵고 잎과 가지의 발생율이 증가하는 등 생육상태가 우수해짐 (그림 81)
- 시험관에서 배양한 유식물체를 유리병으로 옮겨서 배양한 다음 기외로 이식한 결과, 시험관에서 배양하던 식물체를 바로 기외이식 했을 때에 비하여 잎의 크기가 증가하고 잎이 두꺼워지는 경향을 나타냄 (그림 82)
- 또한 유리병으로 계대배양하여 식물체를 키운 다음 기외이식한 경우에는 식물체가 길이생장보다 부피생장을 먼저 하여 식물체의 초장이 시험관에서 바로 이식한 식물체보다 작을 때에도 식물체의 전체적인 너비는 오히려 증가하는 경향을 보임 (그림 83)
- 이는 유리병으로 계대배양하여 식물체의 생육상태를 강건하게 한 다음 기외로 이식했기 때문에 기외로 이식된 식물체의 생육이 우수하기 때문으로 생각되어 짐 (그림 84)
- 본 연구과제에서는 상기의 약배양 과정을 통하여 2009년 12월에 16계통으로부터 총 1,328개의 건전한 식물을 생산함. 이 중 761개는 참여업체에 이미 분양하였으며, 567개는 분양하기 위하여 순화하고 있음(그림 85, 표 47)



그림 81. 200mL 유리병에서 식물체를 배양중인 모습

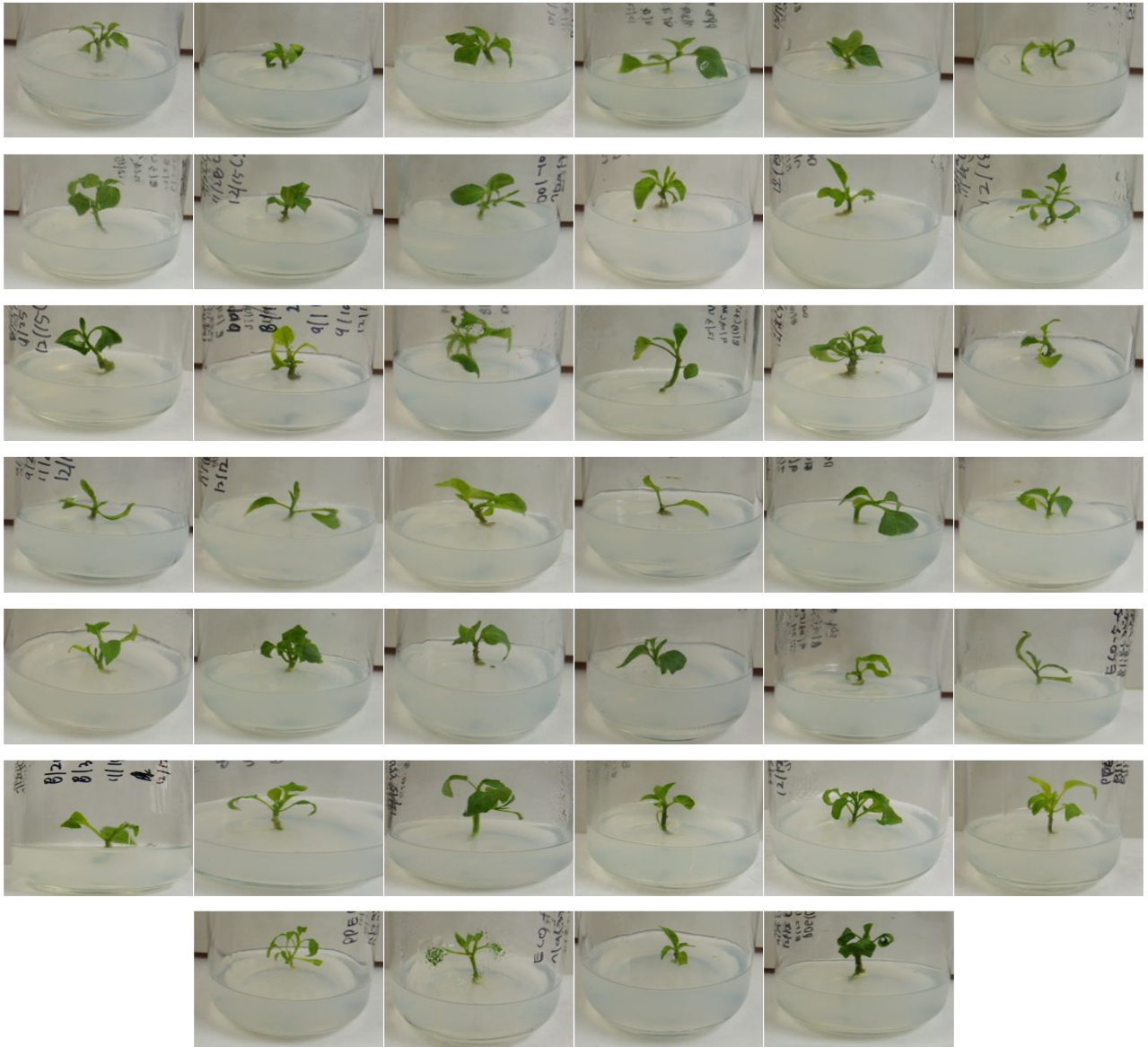


그림 82. 200mL 유리병에서 배양중인 유식물체

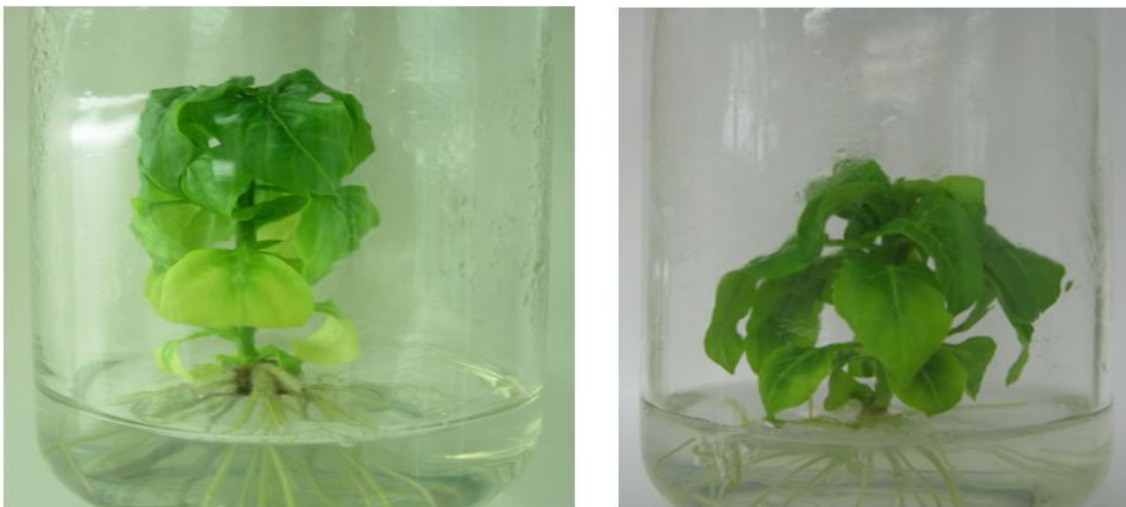


그림 83. 유리병에서 배양중인 건강한 식물체



그림 84. 유리병에서 배양한 다음 기외로 순화하여 재배한 식물체

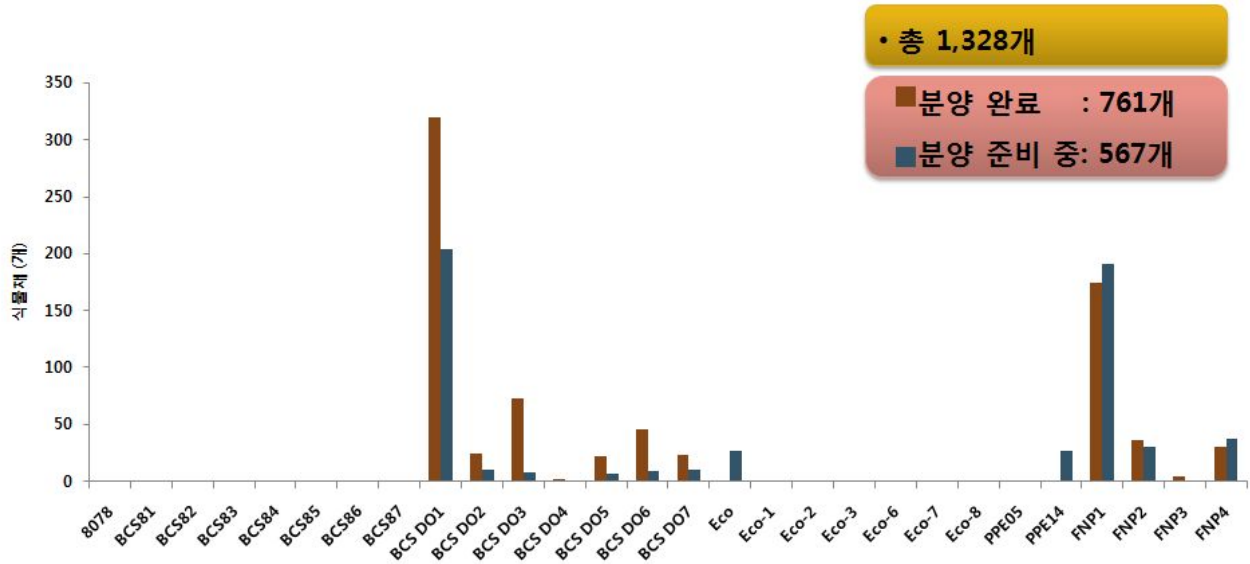


그림 85. 계통별 건전한 식물체 현황

표 47. 약배양으로 획득되어진 식물체의 인도

업체	계통	분양 완료된 식물체 (주)	분양준비 중인 식물체 (주)
한국누넴	BCS DO-1 등 9계통	513	252
에코씨드	Eco, Eco-6 등 2계통	-	28
대농종묘	PPE14 1계통	-	27
FNP	FNP 1 등 4계통	248	260
계		761	567
		1,328	

제 4절 고추분자마커 데이터베이스 및 사업단 웹서버 구축

제 1항 이론적, 실험적 연구방법

1. 고추분자마커 데이터베이스 구축

- 가. 기 개발된 고추 분자마커의 관계형 데이터베이스; 유전체, 분자마커 관련 데이터베이스들은 여러 가지 데이터베이스 모델 중 관계형 데이터베이스가 가장 많이 이용되고 있음, 기 개발된 고추 분자마커의 데이터를 수집하여 관계형 데이터베이스 구축
- 나. xml schema 구축; 데이터베이스간의 정보를 교환함에 있어 flat-file의 텍스트 형식이나 XML을 이용하고 있음
- 다. 기존 다양한 형태(xls, jpg, txt, abl)로 저장되어 있는 데이터를 데이터베이스로 구축하기 위해 parser 개발
 - 컴파일러의 일부로서 원시 프로그램의 명령문이나 온라인 명령문, 마크업 태그 등을 입력으로 받아들여서 다른 프로그램(컴파일러 내의 다른 요소들)에 의해 처리될 수 있도록 여러 부분(예를 들어 명사, 동사 그리고 그것들의 속성이나 옵션 등)으로 나눔
 - 또한 필요한 모든 입력이 제공되었는지를 점검하기도 함. 즉, 문장의 구조를 분석하여 원하는 위치에 있는 정보를 찾아주는 프로그램이라 할 수 있음
- 라. 효율적 관리를 위해 MySQL로 데이터베이스화
 - 1) 데이터베이스
 - 그 내용을 쉽게 접근하여 처리하고 갱신할 수 있도록 구성된 데이터의 집합체
 - 가장 널리 보급된 데이터베이스는 데이터를 다양한 방법으로 접근하고 재구성할 수 있도록 정의한 테이블형의 데이터베이스인 관계형 데이터베이스
 - 사용자는 데이터베이스 관리 도구를 이용하여 데이터의 읽기/쓰기를 제한하거나, 보고서 작성 또는 데이터의 활용도를 분석할 수 있음
 - 데이터베이스와 그 관리 도구는 대형 메인프레임에 주로 적용되었지만, 요즘에는 AS/400과 같은 소형 분산 워크스테이션과 중형급의 시스템뿐만 아니라 PC에도 사용됨
 - SQL은 IBM의 DB2, 마이크로소프트의 Access 그리고 Oracle, Sybase, Informix 등의 데이터베이스를 대화 형식으로 직접 조회하거나 갱신할 수 있도록 만들어진 표준 언어임
 - 2) MySQL
 - 표준 데이터베이스 질의 언어인 SQL(Structured Query Language)에 기반을 두고 있는 관계형 데이터베이스 관리 시스템 중 하나임
 - 개방소스로 매우 빠르고 유연하며, 사용하기 쉬운 특징
 - 리눅스, 유닉스 그리고 윈도우 등 사실상 모든 플랫폼에서 운영될 수 있고, 커널 스레드를 사용한 완전한 멀티스레드이며 C, C++, Eiffel, Java, Perl, PHP, Python, Tcl 등을 포함한 많은 프로그래밍 언어를 지원할 수 있는 API를 제공
 - MySQL은 데이터웨어하우징, 전자상거래, 웹데이터베이스, 로깅 및 분산 애플리케이션 등 광범위한 응용프로그램에서 사용되며, 상용 소프트웨어 및 그 외 다른 기술의 일부로 내장되는 경우가 점차 증가 추세임

- MySQL AB에 따르면, 전 세계적으로 6백만 개 이상의 MySQL이 설치되어 사용됨

2. 웹 포털 서비스

가. 서버용 PC 구축

- 데이터베이스는 웹 사이트의 방식으로 구축함으로써 유사한 연구 목적을 가진 연구자들이 정보를 공유함으로써 데이터베이스의 양적, 질적 증대 효과가 있을 수 있음
- 웹 서버로 사용할 PC형 서버 구축

나. 경제성 및 확장성 확보를 위해 Open-source software 활용

- 경제성 및 확장성 확보를 위해 Open-source software 활용 (Fedora, APM, Perl 등)

다. 관계형 DB의 데이터구조, 구축된 데이터베이스의 웹 접근성 보장

- 관계형 데이터베이스
- 일련의 정형화된 테이블로 구성된 데이터 항목들의 집합체로서, 그 데이터들은 데이터베이스 테이블을 재구성하지 않더라도 다양한 방법으로 접근하거나 조합 가능
- 사용자와 관계형 데이터베이스를 연결해주는 표준 검색 언어를 SQL이라고 하는데, SQL 문장은 관계형 데이터베이스에 있는 데이터를 직접 조회하거나 또는 보고서를 추출하는데 사용됨
- 관계형 데이터베이스는 만들거나 이용하기가 비교적 쉽지만, 무엇보다도 확장이 용이하다는 장점 있음
- 처음 데이터베이스를 만든 후 관련되는 응용프로그램을 변경하지 않고도 새로운 데이터 항목을 데이터베이스에 추가할 수 있음

라. 웹 데이터베이스와 연동 가능한 웹 포털 서비스 구축

1) APMSETUP

- 윈도우에 APM(Apache, PHP, MySQL)을 사용할 수 있도록 자동으로 설치, 설정 해주는 프로그램으로 쉽게 서비스를 컨트롤 할 수 있고 관리가 편리하다는 장점 있음 (그림 86)

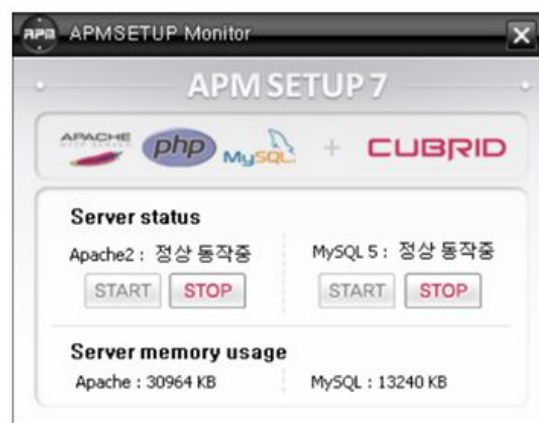


그림 86. APM SETUP7의 opening 화면

2) PHP(personal Hypertext Preprocessor) 를 이용한 웹포털 서비스 구축

- 프로그램 언어의 일종으로 원래 동적 웹페이지를 만들기 위해 설계되었으며 이를 구현하기 위해 PHP로 작성된 코드를 HTML 소스 문서 안에 넣어 작성자가 원하는 웹페이지를

생성함

- 많은 서버 측 오픈 소스 소프트웨어는 PHP로 구현되어 있으며, 대표적인 예로 phpBB와 위키백과를 구동시키는 미디어위키를 들 수 있음

마. Map viewer 구축

- 구축된 linkage group별로 marker의 cM 위치별로 볼 수 있게끔 하는 map viewer 개발

3. 홈페이지 구축 및 안정화

가. cgi 프로그래밍 기법을 이용한 홈페이지

- CGI 프로그래밍은 웹 프로그래밍언어 중 하나로 서버에서 많은 프로그램을 수행하게 되므로 서버에 무리를 준다는 단점이 있으나 외부 프로그램으로 실행하는 표준 방식으로 사용이 편리함
- CGI 프로그래밍을 통한 홈페이지를 구축, 사업단 홍보 및 정보 교류를 위한 홈페이지를 구축

나. 구축된 홈페이지의 안정화 및 활용체계 구축

제 2항 연구내용 및 연구결과

1. 고추분자 데이터베이스 구축

가. Java Excel API 등을 이용한 parser 개발

- 주요 실험 데이터가 다양한 포맷과 많은 용량과 파일 수로 정리되어 접근이 어려우며 관리가 쉽지 않음 (그림 87)

marker list - 16,001 개

FASTA file - 1,578개

gel screening image - 10,053개

Total 2.44G

- xls, ab1 파일 형태로 정리된 실험 결과 및 주요 데이터들을 parser를 이용해 효과적인 데이터 관리(수정, 추가, 삭제)를 위한 데이터베이스화 진행
- Java Excel parser: 엑셀에 저장되어 있는 내용들을 행열 정보를 이용해 자바변수로 이용할 수 있게끔 전환해주는 프로그램 (그림 88)

나. MySQL을 이용한 데이터베이스화

- 구축된 데이터베이스의 테이블 속성 (그림 89): marker_name, sequence_id, annotation, motif, product_size, forward_primer, forward_TM, reverse_primer, reverse_TM, 총 16,001개 marker 정보가 등록됨

2. 웹 포털 서비스

가. Dell사의 PowerEdge T300: 1-socket tower server, Quad Core Xeon Pro X3363, 16GB RAM, 2x1TB Hard drive

나. Linux x86_64 Fedora 9를 OS로 설치

다. Open-source software를 활용하여 경제성 및 확장성 확보

라. CGI(common gateway interface) 기능을 구현할 수 있는 테크노트 7 솔루션(Technote Inc.)를 기반으로 개발

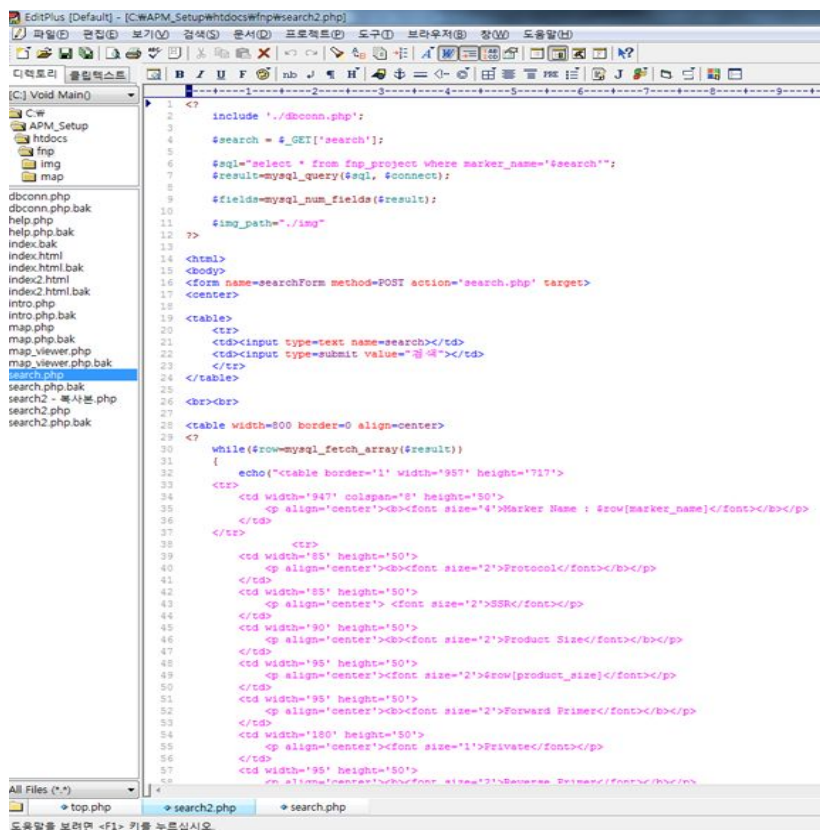
- 장점: MySQL5와 PHP5를 이용하여 데이터베이스 기반으로 홈페이지를 구동하며, 비전문가도 다룰 수 있는 관리자 기능을 가지고 있고, 스킨 전환 및 다양한 확장성을 지님

- Perl-CGI를 이용하여 방문자의 통계 및 프로그래밍에 의한 다양한 콘텐츠 및 분석도구의 결합이 가능하도록 함

마. 웹 데이터베이스와 연동 가능한 웹 포털 서비스 구축

- APMSETUP 이용

- PHP(personal Hypertext Preprocessor)를 이용한 웹포털 서비스 구축 (그림 90)



```
1 <?
2 include './dbconnn.php';
3
4 $search = $_GET['search'];
5
6 $sql="select * from fnp_project where marker_name='".$search."'";
7 $result=mysql_query($sql, $connect);
8
9 $fields=mysql_num_fields($result);
10
11 $img_path='./img/'
12 >>
13
14 <html>
15 <body>
16 <form name=searchForm method=POST action='search.php' target=
17 <center>
18
19 <table>
20 <tr>
21 <td><input type=text name=search></td>
22 <td><input type=submit value="검색"></td>
23 </tr>
24 </table>
25
26 <br><br>
27 <table width=800 border=0 align=center>
28 <tr>
29 <td>
30 while($row=mysql_fetch_array($result))
31 {
32 echo("<table border='1' width='95%' height='717'>
33 <tr>
34 <td width='947' colspan='8' height='50'>
35 <p align='center'><b><font size='4'>Marker Name : $row[marker_name]</font></b></p>
36 </td>
37 </tr>
38 <tr>
39 <td width='85' height='50'>
40 <p align='center'><b><font size='2'>Protocol</font></b></p>
41 </td>
42 <td width='85' height='50'>
43 <p align='center'><b><font size='2'>SSRC</font></b></p>
44 </td>
45 <td width='90' height='50'>
46 <p align='center'><b><font size='2'>Product Size</font></b></p>
47 </td>
48 <td width='95' height='50'>
49 <p align='center'><b><font size='2'>$row[product_size]</font></b></p>
50 </td>
51 <td width='95' height='50'>
52 <p align='center'><b><font size='2'>Forward Primer</font></b></p>
53 </td>
54 <td width='180' height='50'>
55 <p align='center'><b><font size='1'>Private</font></b></p>
56 </td>
57 <td width='95' height='50'>
58 <p align='center'><b><font size='2'>Reverse Primer</font></b></p>
59 </td>
60 </tr>
61 </table>
62 </td>
63 </tr>
64 </table>
65 </body>
66 </html>
```

그림 90. PHP 스크립트

바. 서비스 내용

1) 메뉴 (그림 91)

- Introduction FnP(AC) : FnP(AC) map의 population 설명 및 통계자료

- Map viewer FnP(AC) : map viewer, table을 통해 marker에 대한 상세검색 가능

- Introduction FnP(AA) : FnP(AA) map의 population 설명 및 통계자료

- Map viewer FnP(AA) : map viewer, table을 통해 marker에 대한 상세검색 가능
- Help : Primary screening에 사용되는 계통 이름과 유전연관지도 작성 모식도, marker등을 소개

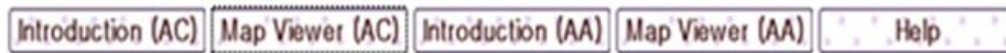


그림 91. 웹 페이지 메뉴

2) Introduction FnP(AC) (그림 92)

- Introduction : mapping population, 전체 크기(cM), mapping 방법
- Map statistics : Linkage group별로 존재하는 marker 수
- Genomic resources
- Protocols

3) Map viewer FnP(AC)

- Map viewer와 테이블의 marker 이름을 통해 검색 가능 (그림 93)
- Map viewer search : Marker의 cM 위치정보를 이용해 marker 검색이 가능
- 총 12개의 FnP(AC) 유전연관지도에서 특정 유전연관지도를 클릭 시 확대된 유전연관지도를 볼 수 있음 (그림 94)
- IMG를 클릭하면 12개의 FnP(AC) 유전 연관지도를 별도의 새 창으로 크게 확인 가능 (그림 95)
- 확대된 유전연관지도에 나와 있는 marker의 이름부분을 클릭하면 marker 상세한 정보 표시 (그림 96)
- Text search; 테이블의 marker 이름으로 검색 가능
- Marker에 대한 상세정보
- Protocol, Product size, Motif, Genomic resource, Primary screening PAGE gel 결과사진, Secondary screening PAGE gel 결과 사진 (그림 97) (IMG1, IMG2, IMG3)
- Forward primer, reverse primer 및 sequence에 대한 내용은 비공개이며 추후 공개될 예정

4) Introduction FnP(AA) (그림 98)

- Introduction : mapping population, 전체 크기(cM), mapping 방법
- Map statistics : Linkage group별로 존재하는 marker 수
- Genomic resources
- Protocols
- Acknowledgements

Introduction

Simple sequence repeats (SSR) or microsatellites (MS) can develop to valuable markers for plant breeding because the SSR have several advantage features such as co-dominant, multiallelic loci and high polymorphism allowing precise discrimination even these mapping were closely related to individuals. Detection of variation by SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) marker is used mainly in bacteria virus and human beings, but in plants their applications is very limited and still the use of genetic linkage maps and QTL (Quantitative Trait Loci) analyses is most efficient way to develop molecular markers. In this study, we have been constructing linkage genetic map for pepper on the basis of SSR, using an F2 population derived from crosses FP11 (*Capsicum annuum* cv. Bukang) with FP13 (*Capsicum chinense* Habanero) A total of 190 F2 individuals were used for the construction of the genetic linkage map using 1,968 markers. The analysis of the genetic linkage map of cross FP11 with FP13 revealed that 1,968 markers could be mapped to 12 linkage groups covering 6,651 centimorgans (cM) with the LOD 6 and average interval distance of 3.4 cM. The markers developed will be useful for mapping and marker-assisted breeding in pepper and the genetic linkage map provides a reference genetic map for other *Capsicum* species.

Map Statistics

Linkage Groups		Genomic Resources	
Linkage Group 01	352	BES(BAC end sequencing)	
Linkage Group 02	234	FPssrB	294
Linkage Group 03	278	STS	181
Linkage Group 04	143	FPsnpB	4
Linkage Group 05	100	cDNA library	
Linkage Group 06	192	FPssrC	347
Linkage Group 07	143	STS	23
Linkage Group 08	74	Genomic library	
Linkage Group 09	127	FPssrG	123
Linkage Group 10	109	NCBI sequences	
Linkage Group 11	107	FPssrN	718
Linkage Group 12	109	Web search	
Total	1,968	FPssrW	263
		Trait-related	
		On the map	15
		Protocols	
		SSR	1,745
		STS	204
		SNP	4
		Unknown	15
		Total	1,968

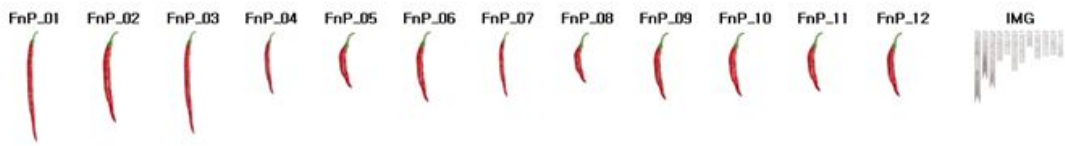
Acknowledgements

This work was supported by a grant from the MIFAFF (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries), iPET (Korean Institute of Planning & Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry & Fisheries), Chungcheongbuk-do and Jeungpyeong-gun.



그림 92. Introduction FnP(AC)

Introduction : FnP(AC) MapViewer : FnP(AC) Introduction : FnP(AA) MapViewer : FnP(AA) Help



No.	marker_name	sequence_id	annotation	motif	product_size	forward_primer	forward_tm
1	FPssrB0001	H336-1B01-F_0_A01_015.ab1	hypothetical protein	(CTTTT)3	222	Private	64
2	FPssrB0002	H336-1A01-F_0_A02_016.ab1	hypothetical protein	(ATAAAA)3	210	Private	63.98
3	FPssrB0003	H336-1A01-F_0_A03_031.ab1	SJCHGC01974 protein	(AT)18	280	Private	60.04
4	FPssrB0004	H336-1A02-F_0_A04_032.ab1	cytochrome b	(TAAAT)3	219	Private	64.06
5	FPssrB0005	H336-1B01-F_0_A05_047.ab1	allene oxide synthas	(TATCC)3	270	Private	63.91
6	FPssrB0006	H336-1A01-F_0_A07_063.ab1	Os04g0194500	(ATACA)3	203	Private	64.09

그림 93. map viewer와 table을 통해 marker 검색 가능

FnP(AC)_8

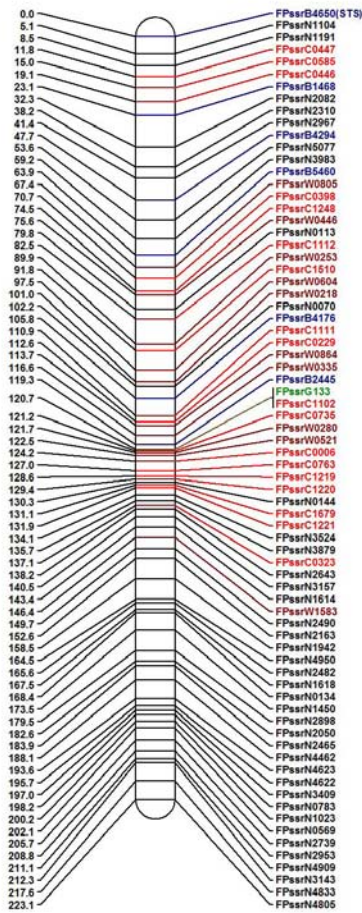


그림 94. map viewer에서 FnP(AC)_8 클릭시 확대된 유전연관지도

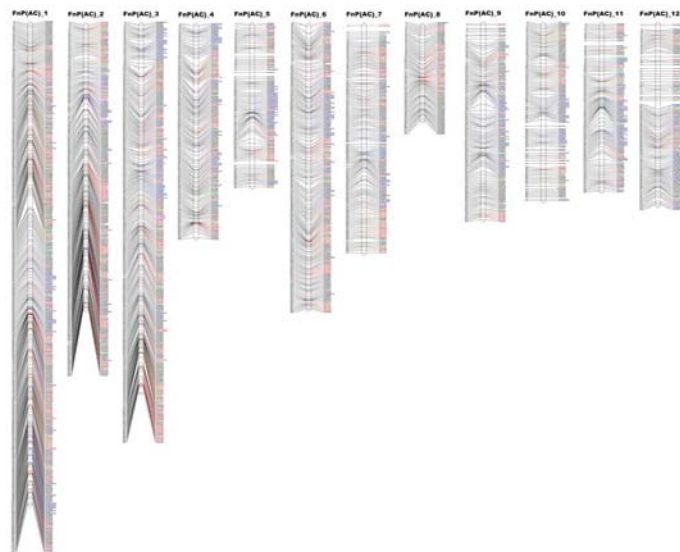


그림 95. IMG 클릭 시 나오는 전체 유전연관지도

Marker Name : FPssrB5966																															
Protocol	SSR	Product Size	260	Forward Primer	TGGCCAAACATATTTTCAGA	Reverse Primer	AAAGGAATGATGATGACGTGG																								
Motif	(AT) ₈	Restriction Enzyme		Annotation	predicted protein																										
Sequence change		Genomic resource	BES	Reference																											
Sequence ID	FNPPF11H012RB01-R_0_G05_035_ab1																														
Sequenece				PAGE gel																											
<pre> CGAATTCCAGGAACGCTATGACATGATTCGCCAAGCTATTT AGGTGACACTATAGAATACTCAAGCTTTCGAGTTTTATTGAA TTAATAATTATAATCAGCTCCTCAACTTTTTTAAACCCTCAA ATTCAAATTCACCTAAAAAAATTCAAACTTTATGGCCAAA CATATTTTCAGAACGCAACTCTGCATATATATATATATG TATATAACTTCAAATTTGAATCACAACTTTCACATTTTATTTT ATAGTTCGATATCTGCATTAATACCTTGAATCGCTC GGATAATTATATATTGATAATAAAATGCTGCTTAATAAACCTA ATTCTATACCTAGGACTCTATCCCAAATTCCTTAAATTT TTTTAAAAAAGTATTTCCAGCTCATCATCATTCCITTTGGT TCCTTTGCACCTCAATTCATCTTTTGTCTCATACTATCA CTCTAGTTTCTTTTCATTTAATCTTTGTTGTTCTCATAATTT ACCTTTTGTGTTGAAACCTTGGCATAGGTCATGTTGGTA ACTATAAACACTACTCCCTTCATTTAAAAACGAATGGACTA CTTTTCTTTTGGTCCGTTAAAAAAGAAATGATCTCTTTCCCT TTTTTGATAATATTTAATTTCAATTTCCACATGGCATGTTT AGGACCACAAGATTAATGACATTTGGTACATTTGACACAAC TTTAATTCAGGCCATAAGATTAATAAAATCTCTTTATTTCT TAAACTTTGCCTCAAGTTAAAGTAGCTATCTTTTGAAC GGAGGAAGTAGTACATACCTAAAGTAATGTCATGTCATGG CAGCAATTACCTCCATCCATAGGCCTTAAAGGGGGTCCC ACACTTGTGTTGAAACCCCTTATCCGTGTTAAACCTCCAGGTC GTCCCTTCTTGAAAAATCAACCTCCCCA </pre>																															
				Scoring data																											
				<table border="1"> <tr> <td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td> </tr> <tr> <td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td> </tr> </table>				1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1																				
0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0																				
Secondary screening image				IMG1 IMG2 IMG3																											

그림 96. FnP(AC)₈의 FPssrB5966 marker 상세내용

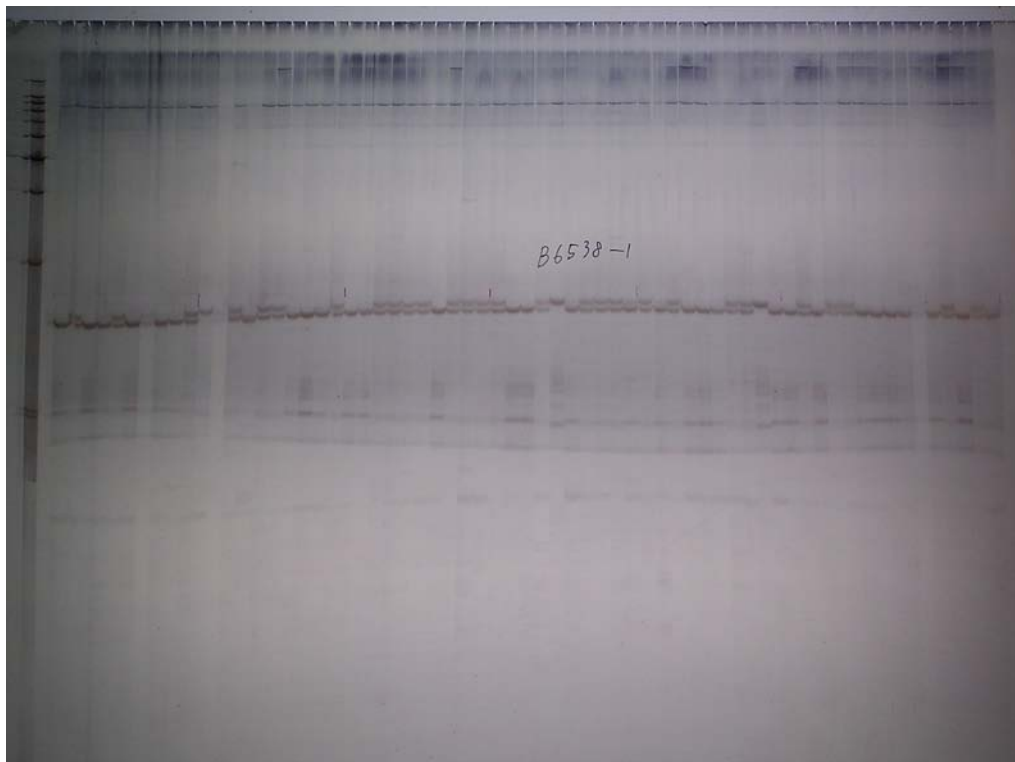


그림 97. secondary image1 FPssrB6538

Introduction

Simple sequence repeats (SSR) or microsatellites (MS) can develop to valuable markers for plant breeding because the SSR have several advantage features such as co-dominant, multiallelic loci and high polymorphism allowing precise discrimination even these mapping were closely related to individuals. Detection of variation by SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) marker is used mainly in bacteria virus and human beings, but in plants their applications is very limited and still the use of genetic linkage maps and QTL (Quantitative Trait Loci) analyses is most efficient way to develop molecular markers. In this study, we have been constructing linkage genetic map for pepper on the basis of SSR, using an F2 population derived from crosses FP12 (*Capsicum annuum* CM334) with FP16 (*Capsicum annuum* ECW123R) A total of 190 F2 individuals were used for the construction of the genetic linkage map using 553 markers. The analysis of the genetic linkage map of cross FP12 with FP16 revealed that 553 markers could be mapped to 14 linkage groups include LG01b and LG01c covering 3,001 centimorgans (cM) with the LOD 6 and average interval distance of 5.4 cM. The markers developed will be useful for mapping and marker-assisted breeding in pepper and the genetic linkage map provides a reference genetic map for other *Capsicum* species.

Map Statistics

Linkage Groups

Linkage Group 01a	62
Linkage Group 01b	16
Linkage Group 01c	3
Linkage Group 02	59
Linkage Group 03	78
Linkage Group 04	19
Linkage Group 05	36
Linkage Group 06	36
Linkage Group 07	40
Linkage Group 08	47
Linkage Group 09	52
Linkage Group 10	27
Linkage Group 11	38
Linkage Group 12	40
Total	553

Genomic Resources

BES(BAC end sequencing)		
FPssrB	79	
cDNA library		
FPssrC	140	
Genomic library		
FPssrG	26	
NCBI sequences		
FPssrN	202	
Web search		
FPssrW	93	
Trait-related		
On the map	13	

Protocols

SSR	540
Unknown	13
Total	553

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the MFAFF (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries), iPET (Korean Institute of Planning & Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry & Fisheries), Chungcheongbuk-do and Jeungpyeong-gun.



그림 98. Introduction FnP(AA)

5) Map viewer FnP(AA)

- Map viewer와 테이블의 marker 이름을 통해 검색 가능 (그림 99)
- Map viewer search : Marker의 cM 위치정보를 이용해 marker 검색이 가능
- 총 12개의 FnP(AA) 유전연관지도에서 특정 유전연관지도를 클릭하게 되면 확대된 유전연관지도를 볼 수 있음 (그림 100)
- IMG를 클릭하면 12개의 FnP(AA) 유전 연관지도를 별도의 새 창으로 크게 확인 가능 (그림 101)
- 확대된 유전연관지도에 나와 있는 marker의 이름부분을 클릭하면 marker 상세한 정보 표시 (그림 102)
- Text search; 테이블의 marker 이름으로 검색 가능
- Marker에 대한 상세정보 (그림 103): Protocol, Product size, Motif, Genomic resource, Primary screening PAGE gel 결과사진, Secondary screening PAGE gel 결과 사진
- Forward primer, reverse primer 및 sequence에 대한 내용은 비공개이며 추후 공개될 예정

The screenshot shows a web interface for a map viewer. At the top, there are navigation tabs: "Introduction : FnP(AC)", "MapViewer : FnP(AC)", "Introduction : FnP(AA)", "MapViewer : FnP(AA)", and "Help". Below the tabs is a map showing 12 markers labeled FnP_01a through FnP_12, each with a red vertical line representing a marker. To the right of the markers is a small "IMG" icon. Below the map is a search input field with a "검색" (Search) button. At the bottom, there is a table with 8 columns: No., marker_name, sequence_id, annotation, motif, product_size, forward_primer, and forward_tm.

No.	marker_name	sequence_id	annotation	motif	product_size	forward_primer	forward_tm
1	FPssrB0001	H336-1B01-F_0_A01_015.ab1	hypothetical protein	(CTTTT)3	222	Private	64
2	FPssrB0002	H336-1A01-F_0_A02_016.ab1	hypothetical protein	(ATAAAA)3	210	Private	63.98
3	FPssrB0003	H336-1A01-F_0_A03_031.ab1	SJCHQC01974 protein	(AT)18	280	Private	60.04
4	FPssrB0004	H336-1A02-F_0_A04_032.ab1	cytochrome b	(TAAAT)3	219	Private	64.06
5	FPssrB0005	H336-1B01-F_0_A05_047.ab1	allene oxide synthas	(TATCC)3	270	Private	63.91
6	FPssrB0006	H336-1A01-F_0_A07_063.ab1	Os04g0194500	(ATACA)3	203	Private	64.09

그림 99. map viewer와 table을 통해 marker 검색 가능

FnP(AA)_6

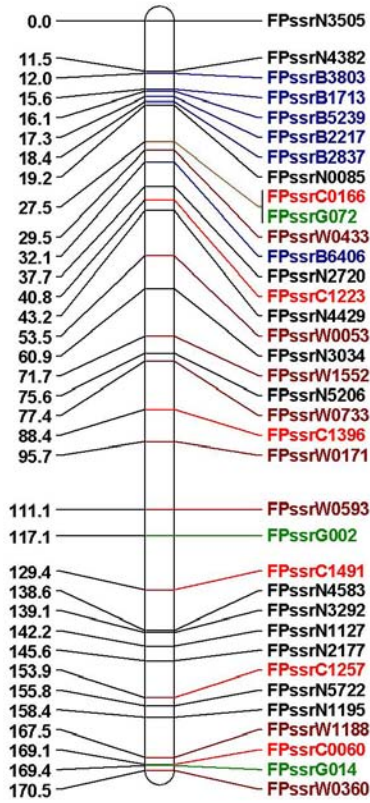


그림 100. map viewer에서 FnP(AA)_6 클릭시 확대된 유전연관지도

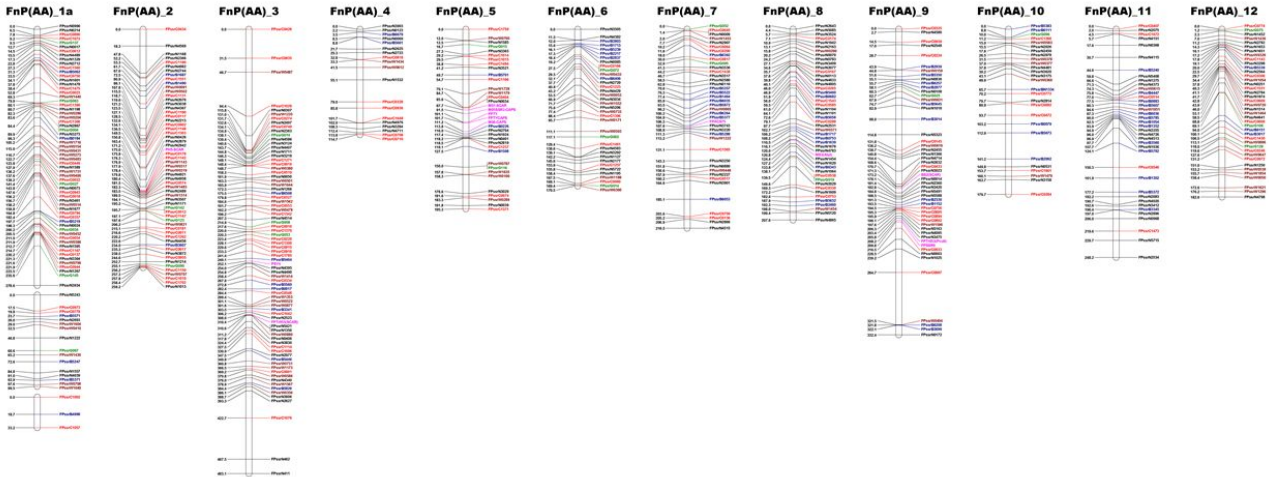


그림 101. IMG 클릭 시 나오는 전체 유전연관지도

검색

Marker Name : FPssrB6406

Protocol	SSR	Product Size	297	Forward Primer	GGCCATCGGAGAAAGATTTTA	Reverse Primer	GGATGTTACTGGTGGTGGATG																																				
Motif	(A) ₁₂	Restriction Enzyme		Annotation	GI21819																																						
Sequence change		Genomic resource	BES	Reference																																							
Sequence ID	FNPPF11H022RA01-R_0_C04_028.ab1																																										
Sequenece				PAGE gel																																							
<pre> NGAATCACGGAACGCTATGACCATGATTCGCCAAGCTATTT AGGTGACACTATAGAATAC TCAAGCTTCTTAATTTTTTGTG CGAAAACACTATTTTTTTTTTTTTCATTAAATCAATCAA ATTATCTGTAAAATAGCCACTGACAATTTCCCTAGAAAATA ACTACCTTTTAGTGGTGTGAAAATAATTTTTTCTTTGTCT GTGTTTGGTCCAAGCGCTTCGGATTTTTTTTCCATTCATT TTACTTTTATAAGTTGTCTAGATCCACAGGTCGATGGCCGTA ATAATTTTGTCTCTTTTTTATTACTAGTTGATTTAGATTTT AGACAAAAGAAATAAATAATAAC TTGTAGTGCAGTCAAATA GTGAAAAATAGTGCAAAAATTACTATTAGAGTCGAATGCAT CAGAGATGATGTATGCAAAATTGACACATGGTTTTTTCATA TATATACATATTTACTTTATTACTATTTTTTTATTTTTATTI TTATTTTTTTTATTTTTTATTACAACATGGTTATACCAAACT TGAACATGACTGGCCATCGGAGAAAGATTTTACACCTAGCT CTATTTAGCTTCTAAGATTATGAAATGGGATAATGAAC TAA TATTA AAAAC TATATTAGGAATGACGGAGATAC TCATTC TTT GAACAAAACCTTGCACATAACAAC TTAATTTATTTAGTGC AACATGGTACTACTATTATAAGTTAGTACTAACAATTTCA AGACTTCTAGATGTCATTTTGGGATTGTGACACTATAAAAAGG AAGCTAGAAATTACC TGGAAAAAGGAAAAAAAAAAACATCCA CCACCAGTAACATCC TAATTTCC TTTATTCATCGATCAATGGA GATCAATTAATTTTCAATTTATCCTCTTATTCTCATCCATTT TTATCATAGTTAGAAAATGGAAAAGCCAAAAACAAAAGTTTC CCTCAGGTCCATGGAG </pre>																																											
				Scoring data																																							
				<table border="1"> <tr> <td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>x</td><td>x</td> </tr> <tr> <td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>x</td><td>x</td> </tr> <tr> <td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>x</td><td>x</td> </tr> </table>				0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	x	x	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	x	x	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	x	x
0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	x	x																																
1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	x	x																																
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	x	x																																
Secondary screening image				IMG1 IMG2 IMG3																																							

그림 102. FPssrB6406 marker 상세내용

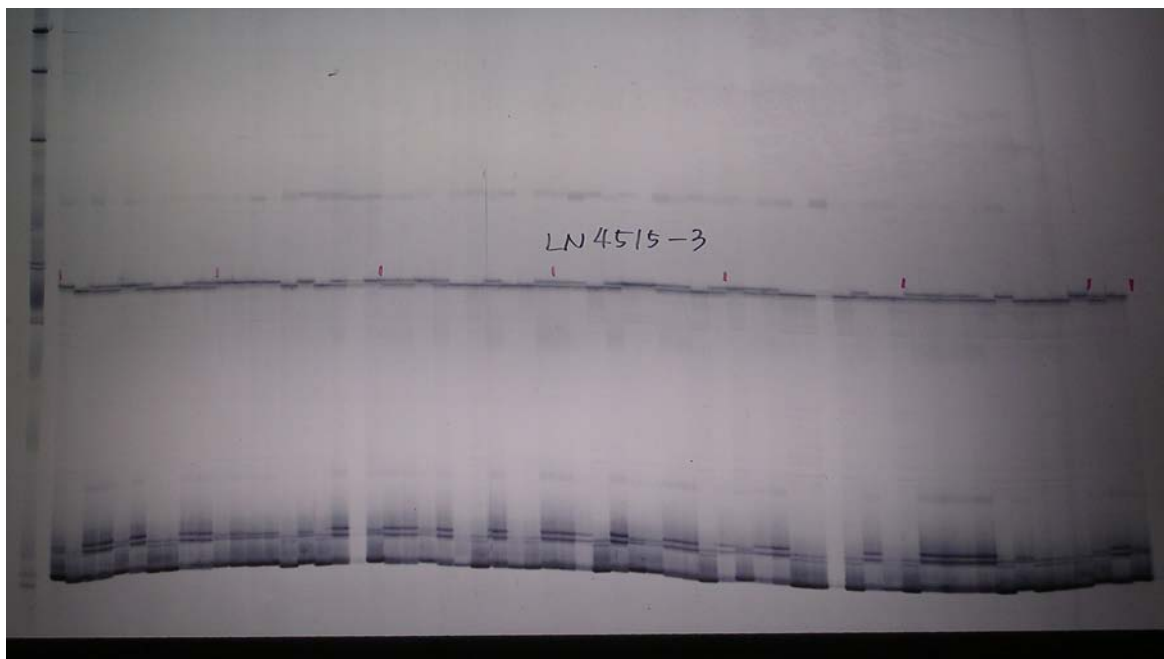


그림 103. secondary image1 FPssrN4515

6) help; Marker 상세 페이지 속성 설명 (그림 104), Primary screening에 사용되는 계통 이름과 유전연관지도 작성 모식도 (그림 105)

Introduction : FnP(AC) MapViewer : FnP(AC) Introduction : FnP(AA) MapViewer : FnP(AA) Help

Explanation

Marker Name : FPssrB5966																															
Protocol 1	SSR	Product Size	260	Forward Primer	TGGCCAAACATATTTTCAGA	Reverse Primer	AAAGGAATGATGATGAAGTTGG																								
Motif	(AT) ⁸	Restriction Enzyme		Annotation	predicted protein																										
Sequence change 2		Genomic resource 3	BES	Reference																											
Sequence ID	FNPF11H012RB01-R_0_G05_035.ab1																														
Sequenece				4 PAGE gel																											
CGAATTCCAGGAACGCTATGACATGATTGCGCAAGCTATTT AGGTGACACATAGAATAC TCAAGCTTTCGAGTTTATTGAA TTAATAATTATAATCACGTC TCCAAC TTTTAAACCTCAA ATTCAAATTCACCTAAAAAAATTCAAACTTTTATGGCCAAA CATATTTTTCAGAACGCAACTCTGCATATATATATATATAG TATAAATTCAAATTTGAATCACAACCTTTGCAC TTTATTTT ATAGTTCGATATCGCATTAAATACCTTTAGAATCGCTC GGATAATTATATATGATAATAAAATGCTGCTTAAATAAACCTA ATTCATAACCTAGGACTC TATCC TAAATC TCAATTAATTT TTTAAAAAAGTATTTCCACGTCATCATCTCC TTTGGT TCTCTTTGCAC TTTCAATTTCAATCTTTTGTCTACATATCA CTC TAGTTTCTTTCAATTTAATCTTTTGGTGTCTCATATTT ACC TTTTGTGAAACCTTGGCATAGGTCATCATGTTGGTA ACTATAAAACACTAC TCCCTTCATTTAAAAACGAATGGACTA CTTTTCTTTTGGTCCGTTAAAAAAGAAATGATCTCTTCTCT TTTTGTATAATTTTAAATTTCAATTTTCCACATGGCATGTTT AGGACCACAAGATTAAATGACATTTGGTACATTTGACACAAC TTTAATTCAGGCCATAAGATTAAAAATCTTCTTTATTCTT TAAACTTTGCGTCAAGTTAAAGTAGCTCATTCTTTTGAAC GGAGGAAGTAGTACATACCTAAAGTAATATGTCATGCAATGG CAGCAATTACCTCCATCCATAGGCCCTCAAAGGGGGGTCCC ACAC TTTGTTGAACCCCTTATCCGTGTTAAACCTCCAGGTC GTCCCTTCTTGAATAAATCAACCTCCCA				5 Scoring data																											
				<table border="1" style="margin: auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td> </tr> <tr> <td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td> </tr> </table>				1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
				1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1																
0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0																				
6 Secondary screening image				IMG1 IMG2 IMG3																											

- 1 Protocol : SSR, STS, CAPS, SCAR, SNP..
 - 2 Sequence change : Only in case of SNP
 - 3 Genomic resource : BES (BAC End Sequencing),
ESTs (Expressed Sequence Tags),
Paper, web search...
 - 4 PAGE gel : Primary screening gel image
- | | |
|---------|---|
| Species | <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>C. chinense</i> Habanero 2. <i>C. annum</i> cv. Bukang 3. <i>C. frutescense</i> 4. <i>C. annum</i> ECW123R 5. <i>C. annum</i> CM334 6. <i>C. chacoense</i> 7. <i>C. pubescense</i> 8. <i>C. annum</i> HN1534 9. <i>C. annum</i> 역강홍장군부계 10. <i>C. annum</i> 역강홍장군모계 11. <i>C. baccatum</i> PI594137 12. <i>C. baccatum</i> PBC81 |
|---------|---|
- 5 Primary screening scoring data : '1' is band, '0' is blank
 - 6 Secondary screening images : PAGE gel, Agarose gel.

그림 104. Marker FPssrB5966 상세 페이지 속성 설명

How to make

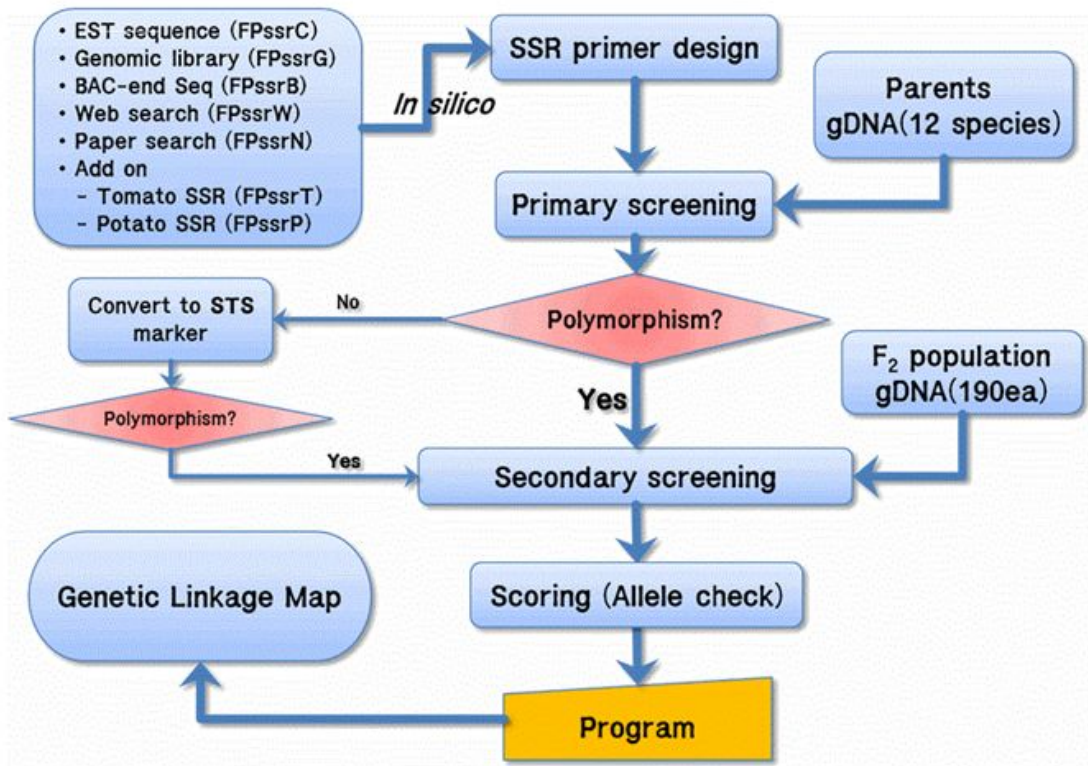


그림 105. How to make

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표 달성도

1. 최종 연구개발 목표

가. 초고밀도 유전자 연관지도와 Comparative Map 및 분자마커 개발

- 1) 고추의 고밀도 SSR 유전연관지도 및 Comparative Map 작성
 - MAS에 활용 가능한 2,700개 이상의 SSR마커를 보유한 유전연관지도 작성
 - 유전연관지도 작성 집단 활용을 위한 약배양, 배배양을 이용한 계통 육성
 - 고추의 고밀도 유전연관지도 작성을 위한 BAC library 제작과 BAC clone 확보
 - 축적된 정보를 활용한 고추분자마커 DB 구축
- 2) 고추의 분자마커 10종 이상을 개발하여 Marker Assisted Selection 체계 확립
 - 내병성 관련 (역병, 청고병, 흰가루병 외 3점) 분자마커 6종 이상 개발
 - 교배/가공관련 (회복인자, 핵내유전자적 옹성불임 외 2점) 분자마커 4종 이상 개발
- 3) 고밀도 유전연관지도 작성을 위한 RIL 육성 및 탄저병 저항성 재료육성
 - 고밀도 유전자지도 작성을 위한 Recombinant Inbred Line 육성
 - 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression line 육성

나. 분자마커를 이용한 내병성 계통 육성 및 품종 개발

- 1) 분자마커를 이용한 바이러스, 세균성반점병, 역병, 청고병에 내병성 계통육성 및 품종개발
 - 바이러스 저항성 7계통, 세균성반점병 저항성 3계통, 역병 저항성 10계통, 청고병 저항성 3계통 육성
 - 바이러스 및 세반병 저항성 2점, 역병저항성 2점, 청고병저항성 1점 품종보호 출원
- 2) 조생 역병저항성 품종 및 분자마커를 이용한 역병, CMV 복합저항성 품종개발
 - 역병 및 CMV/TMV(P3) 복합내병성 MS-line 20계통, C-line 40계통육성
 - 역병 및 CMV/TMV(P3) 복합내병성 4품종육성
- 3) 분자마커를 이용한 복합내병성 수출용 고추품종 육성 및 대목품종 개발
 - 풋마름병, 역병, 바이러스병 등 내병성계통 유전자원 등록 3점
 - 역병, 풋마름병 대목품종 개발 및 품종보호출원 2점
 - 역병, 풋마름병, 바이러스병 등에 2개 이상 복합저항성인 품종 개발 및 품종보호출원 3점 (중국과 인도에 품종보호 출원제도가 아직 없어 품종보호 대신 판매를 목표로 하고 한국에 3품종을 품종보호 출원하고 추후에 품종보호출원제도가 정착 시 현지 국가에 품종보호 출원 할 수 있도록 함)

다. 고추분자유종을 위한 분석지원

- 1) 분자마커분석 지원 : 분자마커 개발 즉시 분석 서비스에 적용하여 빠른 시간 내에 10개의 계통 육성과 10개의 신품종 개발 사업에 기술 지원
- 2) 병리검정 지원 : 역병, 바이러스, 세균성반점병, 청고병 등 저항성 계통 및 품종육성을 위

한 병리검정 지원

3) 약배양 및 배배양 지원 : 약배양을 이용한 DH 라인 및 배배양을 통한 introgress 라인 육성 지원

4) 데이터베이스 및 웹서버 구축

2. 연도별 연구개발 목표 달성도

○ 1년차 연구개발 목표 달성도

	연구 개발 의 목 표	연구 내 용	달성도
PA RT I-1	분리집단의 DNA 분리	- 분리집단으로부터 DNA 분리	110%
	SSR primer 제작	- EST로부터 총 1800개의 SSR primer 제작	100%
	Primer를 이용한 다형성 검증 및 분석	- 작성된 SSR Primer를 이용한 6계통에서 다형성 검증	110%
	연관지도 및 물리지도 작성	- 연관지도 작성 및 BAC library 평가를 위한 Contig 작성	115%
PA RT I-2	HMW DNA 분리 및 부분 절단	- HMW DNA가 부착된 agarose plug 제조	100%
	HindIII 부분 절단 및 절편 분리	- HindIII 부분 제한절단 및 2회의 PFGE 선발	100%
	벡터·절편의 ligation 혼액 제조	- Ligation 혼액 480 μ l 제조	100%
	전기 형질전환 및 colony 수집	- 형질전환 plates 1,680 plates 제조	100%
	BAC plate 제작 및 특성 검정	- 129,024개의 콜로니 수집, 336개의 BAC plates 제작	100%
PA RT I-3	역병 저항성 유용마커 후보 선발	- Origin이 다른 5개의 집단으로부터 F2 DNA 분리 및 후대 종자 수확. - FPPcPo 01, 02의 2개의 집단에서 역병 생물검정 결과를 근거로 BSA-RAPD를 수행하여 다형성 증폭 primer 선발	95%
	청고병 저항성 유전집단으로부터 DNA 분리	- FPchung 1, 2 집단을 에프엔피에 정식하여 DNA 분리 및 후대종자 수확 - FPchung 3 집단을 대농종묘에 정식하여 DNA 분리 및 후대종자 수확	100%
	흰가루병 저항성 계통 선발	- 흰가루병 저항성 두 계통 선발	100%

	회복인자 관련 집단으로부터 DNA분리	- fprf101, 102, 103 집단으로부터 DNA분리 - 후대종자 수확	100%
	유전적 응성불입관련 집단 으로부터 DNA 분리	- MS509, MS3, MSK, MSI 집단의 입성조사 - DNA 분리 - 후대종자 수확	100%
PA RT I-4	<i>C. annuum</i> x <i>C. chinense</i> <i>C. annuum</i> x <i>C. frutescense</i> <i>C. annuum</i> x <i>C. chacoense</i> F1조합작성 및 F2 집단 육성	- 세조합의 F1작성 - F2 종자확보를 위해 세대축진 (한국, 필리핀)	100%
	탄저병 저항성유전자원 의 특성평가 및 선발	- PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 세 대진전	100%
	<i>C. annuum</i> x <i>C. chinense</i> <i>C. annuum</i> x <i>C. baccatum</i> 의 F1 미숙 배배양 유래 식 물체획득	- 저항성 재료 선발	100%
PA RT II-1	바이러스 내병성 계통 선발	- 바이러스 내병성형질 소재탐색 (200계통이상)육내용 11계통, 중국용 14계통 선발	120%
	세균성반점병 내병성 3 계통 선발	- 세만병 내병성형질 소재탐색 (200계통 이상) 4계통 선 발	100%
	역병내병성 4계통 선발	- 역병내병성 형질 계통에 대한 소재탐색 (100점 이 상): 8계통, 2조합 선발	130%
	청고병내병성 1계통 선 발	- 청고병내병성 형질 계통에 대한 소재 탐색 : 3계통 검정	50%
PA RT II-2	보유계통 및 분리재료의 역병내병성 검정	- 총 검정 수 : 148계통2300주 - 선발계통 수 : 52계통 선발	100%
	역병 내병계 MS line 육성	- 총 28계통 선발 후 -> Backcross 세대진전	100%
	분자표지기술을 이용한 CMV 내병성 재료육성	- 총 468 점 검정 - CMV-RR : 137 개체선발 - CMV-Rr : 143 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 TMV 내병성 재료육성	- 총 290 점 검정 - TMV-RR : 18 개체선발 - TMV-Rr : 90 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 세균성반점병 (Bs2) 내병 성 재료육성	- PR계 B-line x ECW123R 조합작성 --> Backcross 예정	100%
	조생 역병내병계 조합성 능검정	- No.168, 185, 186, 219, 236 등 5 조합 선발	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합성능검정	- No.109, No.151, No.155, No.192, 197, 222등 6조합 선 발	100%

	역병-TMV 복합내병성 조합성능검정	- PR1031 선발	100%
PA RT II-3	목표에 부합하는 유전자원의 수집, 평가	- CMV 마커 765점, TMV 마커 193점, 세균성반점병 마커 27점 분석, 역병 11,982주, 청고병 350주 생물검정, 1,178계통 원예적 특성 파악 및 세대진전, 중국 유전자원 34점 수집, 동남아 15점 수집	100%
	선발된 내병성 계통들의 계통육성 조합 작성	- CMV 12조합, TMV 8조합, 역병계 19조합, 복합내병계 10조합	100%
	목표시장 국가에서 발생하는 각종 병 및 이들 source를 탐색	- 국가별 주요병해 정보 수집 분류	100%
	우수예비조합선발	- 국내용 287조합, 동남아용 203조합, 중국용 84 조합 기타 43조합, 총 619조합 공시	100%
	MS인자 분석용 조합작성	- 주요 계통의 CGMS불임계와 조합작성	100%
PA RT III-1	계통육성 및 품종개발을 위한 분자 마커분석 지원	- 에프엔피에서 기 개발된 총 4 종의 분자마커로3,755건의 분자마커 분석지원	110%
PA RT III-2	탄저병 내병성 Introgress line 재료 및 F1 50점 검정	- 탄저병 내병성재료 54점에 대한 내병성검정 수행	100%
	역병내병성계통 300점, 조합150점 검정	- 역병 615계통 및 조합 13,956주에 대한 내병성 검정	130%
	바이러스내병성 100계통 검정	- 바이러스 내병성 3계통30주에 대한 내병성 검정	80%
	세반병 내병성 100계통 검정	- 세반병내병성 28계통에 대한 검정	100%
	청고병내병성 150계통 검정	- 72계통 275주	80%
PA RT III-3	Doubled Haploid line 육성	- 고추의 기내 약배양 방법을 이용하여 Doubled Haploid line 육성	100%

○ 2년차 연구개발 목표 달성도

	연구 개발 의 목표	연구 내용	달성도
PART I-1	BAC End Sequencing (BES) 및 in-silico 분석	- 1-3세부에서 작성된 FP11 BAC library를 이용한 3,072 BES - 해독된 염기서열의 in-silico 분석으로 SSR 개발	110%
	SSR primer 제작 및 수집	- 1차년도에 실시한 BES를 이용한 SSR primer 제작 - Website search로 염기서열 및 SSR 수집 - 총 8,695 SSR primer 제작 및 수집 완료	100%
	SSR primer의 다형성 확인 및 검정	- 제작 및 수집된 Primer의 다형성 검증 - 다형성이 없는 primer의 전환	110%
	육성한 F ₂ 집단을 이용한 유전 연관지도 작성 (1,200개 SSR 집적) 및 물리지도 작성	- 1,265 SSR이 집적된 유전연관지도 작성 - 기초 물리지도 작성을 위한 FP11 BAC 특성 검정	100%
PART I-2	FP11의 반수 유전체 10배 크기인 BAC library 제작	- FP11/ <i>EcoR</i> I library : 19,968 클론 (1.1 x) - FP11/ <i>Hind</i> III library : 288,000 클론 (14.1 x)	152%
	FP16의 반수 유전체 10배 크기인 BAC library 제작	- FP16/ <i>Bam</i> H I library ; 57,366 클론 (1.6 x)	16%
PART I-3	역병 관련 양적형질에 대한 QTL map 작성	- FPPcPo01, FPPcPo02, FPPcPo05의 역병 생물 검정 - FPPcPO05 유전집단을 이용, SSR 을 기초로 한QTL map 작성	100%
	청고병 저항성 집단의 생물 검정 및 다형성 분석	- 청고병 저항성 집단의 F ₂ 및 F ₃ 육성 및 생물 검정	90%
	흰가루병 저항성 계통 선발	- 흰가루병 저항성 계통의 교배조합 작성 및 F ₁ 육성	100%
	회복인자 관련 집단의 후대 임성조사 및 다형성 분석	- fprf101, fprf102, fprf103의 F ₃ 육성 및 임성조사 - 각 집단의 BSA-RAPD를 통한 F ₂ 간의 다형성 분석	110%
	GMS 관련 집단의 후대 임성 조사 및 다형성 분석	- MS509, MS3, MSK, MSI의 후대 육성 및 임성조사 - MSK, MSI의 BSA-RAPD를 통한 다형성 분석	95%
PART I-4	각 F ₂ 및 BC1F1 종자 획득->고밀도유전자지도 시료제공 <i>C. annuum</i> x <i>C. frutescense</i> : F ₂ -->F ₃	- 세집단의 유전자지도시료제공완료 - F ₃ , F ₂ 종자확보(필리핀)	100%

	<i>C.annuum</i> x <i>C.chinense</i> : F ₂ -->F ₃		
	PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 고정	- PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 세대진전	110%
	F1 식물체 획득 <i>C. annuum</i> 을 반복친으로 BC ₁ F ₁ 작성 후 탄저병검정	- 미숙배배양 F ₁ 33개체 확보 - F ₁ 종자 50여립 확보 및 BC ₁ F ₁ 작성	110%
PART II-1	바이러스 저항성 20개 조합 선발	- 국내 : 마커검정, 포장검정, 생물검정을 이용하여 바이러스 저항성 조합 12개 선발 (바이러스 8개, 역병과 복합 4개), 9계통 선발 (마커검정 기여도 30%) - 중국 : 마커검정 및 포장검정을 이용한 조합 2개, 계통 5개 선발 (마커검정 기여도 50%)	100%
	세균성반점병 저항성 5계통 선발 및 50개 조합 작성	- Bs2 마커검정 및 생물검정을 이용한 세반병 저항성 5계통 선발, 42개 조합 작성 (마커검정 기여도 30%)	90%
	역병저항성 3계통 선발	- 생물검정을 이용한 역병저항성 49계통 선발	120%
	청고병저항성 2계통 선발	- 생물검정을 이용한 청고병저항성 11 계통 선발 (국내8계통, 동남아 4계통)	120%
PART II-2	보유계통 및 분리재료의 역병내병성 검정	- 총 검정 수 : 228계통3,420주 - 선발계통 수 : 76계통 선발	100%
	역병 내병계 MS line 육성	- 총 28계통 선발 후 --> Backcross 세대진전	100%
	분자표지기술을 이용한 CMV 내병성 재료육성	- 총 737 점 검정 - CMV-RR : 266 개체선발 - CMV-Rr : 197 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 TMV 내병성 재료육성	- 총 81 점 검정 - TMV-RR : 17 개체선발 - TMV-Rr : 44 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 세균성반점병 (Bs2) 내병성 재료육성	- PR계 B-line x ECW123R 조합작성 -->Backcross세대진전	100%
	조생 역병내병계 조합성능검정	- No.118, 148 등 2 조합선발	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합성능검정	- No.107, No.116, No.119, No.159등 4 조합 선발	100%
	역병-TMV 복합내병성 조합성능검정	- No.102 최종선발-->'PR드래곤' 품종보호출원	100%

PA RT II-3	목표에 부합하는 유전자원의 수집, 평가	- 유전자원에 대한 CGMS 인자분석 75 집 CMV 985 점, TMV 207점 및 세균성반점병 16점, 역병 9,24점 생물검정, 1,419계통 원예적 특성 파악 및 세대진전 국내 유전자원 42점 수집, 중국 19 점 수집 동남아12 점 수집, 기타 27점 수집	100%
	선발된 내병성 계통들의 계통육성 조합 작성	- CMV 14조합, TMV 10조합, 역병계 17조합, 복합내병계 7조합	100%
	예비조합능력검정 및 성능검정-건고추 품종 보호출원	- 국내 연구소 298조합 및 중국 연구소 하우스 118조합, 노지조합 시험 1품종 품종보호	100%
	우수조합의 해외적응성 시험-각 지역별 확대시험	- 중국 2곳 118조합, 인도 110조합, 요르단 48조합 선발시험	100%
	선발된 계통을 이용한 200조합이상 작성	- 선발된 계통을 이용 546조합 작성	100%
PA RT III-1	계통육성 및 품종개발을 위한 분자 마커분석 지원	- 총 6종의 분자마커로 4,589건의 분자마커 분석지원	120%
	분자마커 개선	- 개발된 마커를 육종에 활용 가능하도록 변형 ; dominant marker인 Bs2 마커의 단점 보안을 위한 주변염기서열 분석	100%
PA RT III-2	탄저병 무상처 접종법 개발 및 의뢰계통 검정	- 탄저병 무상처 방법 개발, 40계통 263점 검정	80%
	역병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 역병 562 계통 및 조합 12,102식물체 검정 - 분자마커 개발 1,260계통 26,000식물체 검정	150%
	바이러스 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 바이러스 저항성 49계통 950주에 대한 저항성 검정	100%
	세반병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 세반병저항성 60계통 320주에 대한 검정	100%
	청고병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 청고병 저항성 106계통 1,570식물체 검정, 분자마커 개발 248계통 5,980 식물체 검정 수행	80%
PA RT III-3	Doubled Haploid line 육성	- 고추의 기내 약배양 방법을 이용하여 Doubled Haploid line 육성	70%

○ 3년차 연구개발 목표 달성도

	연구 개발의 목표	연구 내용	달성도
PA RT I-1	15,000개 이상의 BAC End Sequencing (BES) 및 <i>in-silico</i> 분석	- 15,356개의 BAC end sequencing 결과로 확보된 염기서열을 bioinformatic tool을 이용하여 분석	102%
	4,000개 이상의 SSR primer 제작 및 다형성 검정	- <i>In-silico</i> 분석을 통해 4,307개의 후보 primer 제작하고 이들의 다형성을 분석하여 유전연관지도 작성에 이용	108%
	육성한 F2 집단을 이용한 유전연관지도 작성 (2,000개 SSR 집적)	- 2개의 중간·종내 유전집단 (11X13, 12X16과 개발된 SSR 마커를 이용하여 853 개가 추가 집적 완료 (1, 2 차 합계 2,053개) 및 유전연관지도 작성	107%
	유전연관지도의 BES 대응 연관 그룹 확인	- 유전연관지도와 BES 서열을 이용하여 381 개의 BAC clone에 대한 대응연관 그룹 확인	152%
	FISH 및 Comparative map 작성	- 109개의 프레파라트 제작 완료 및 rRNA를 이용한 hybridization 조건 확립 - 2개의 중간·종내 유전집단을 이용한 comparative map 작성	109%
PA RT I-2	FP16의 반수 유전체 10배 크기 BAC library 제작	- FP16 / <i>Bam</i> H I· <i>Eco</i> R I library : 6.5 x	100%
	PBC81의 반수 유전체 10배 크기 BAC library 제작	- PBC81 / <i>Bam</i> H I· <i>Eco</i> R I library : 5.8 x	100%
PA RT I-3	Pc01, Pc02 균주에 대한 역병저항성 연관 분자마커 개발 및 유용성 검증	- FPPcPo05 F3의 Pco2 균주를 사용한 병검정 완료 - FPPcPo05 F2의 SSR 마커 다형성 분석 - FPPcPo05의 QTL 분석으로 연관마커 개발 및 유용성 검증 - 신규집단 FPPcPo06, 07 F ₂ 의 병검정 및 다형성 분석	100%
	FPchung1, 2, 3 F ₂ 의 병검정 및 다형성 분석	- FPchung1, 2, 3 F ₂ 의 병검정 및 다형성 분석	100%
	FPchung1, 2 F ₂ 육성 및 후대종자 확보	- FPchung1, 2 F ₂ DNA 확보 및 후대 종자 확보	
	흰가루병 저항성 연관 마커 탐색	- 토마토의 흰가루병 저항성 연관 QTL 탐색 및 고추에서의 유용성 확인	100%
흰가루병 저항성 교배 조합 선발	- 흰가루병 저항성 교배조합의 성능검정, 교배조합 선발		
	fprf101, 102, 103 집단의 회복인자 관련 마커 개발	- 임성회복과 관련된 염기서열 확보로 신규마커 개발 - 개발마커 Rf35의 fprf101, 103 집단에서의 유용성 확인 및 MAS 체계 확립 (특허 출원) - fprf102 집단의 임성/불임간 다형성 분석 및 후보마커 선발	110%

	FPMS1, 2, 3, 4 집단의 GMS 관련 마커 개발	- MS509, MS3 (3:1) 후대 임성조사 완료 - MS3, MSK 마커개발 완료 (MS3, MSK, 특히 출원) - MS509, MSI의 임성/불임간 다형성 분석 및 후보마 커 선발	120%
PA RT I-4	<i>C.ann</i> x <i>C.fru</i> : F ₃ -->F ₄ -->(F ₅) - <i>C.ann</i> x <i>C.chi</i> : F ₂ -->F ₃ -->(F ₄)	- F ₅ , F ₄ 세대축진 (필리핀)	85%
	PI594137(<i>C. baccatum</i>) 의 탄저병저항성 선발 및 고정	- PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 세 대진전	110%
	F ₁ 식물체획득, 탄저병검 정 <i>C. annuum</i> 을 반복친으 로 BC ₁ F ₁ 작성 후 탄저 병검정	- F ₁ 세대 탄저병검정--> BC ₁ F ₁ 작성	110%
PA RT II-1	바이러스 저항성 품종 품종보호출원 2점 및 바 이러스 저항성 9계통 선 발	- 품종보호출원 1품종 : “더블건” - 국내 : 마커검정, 포장검정, 생물검정을 이용하여 바 이러스 저항성 1개 조합 선발, 11계통 선발(CMV C ₀ 5계통, CMV C ₁ 6계통), 시교 DNP53 선발 - 중국 : 마커검정 및 포장검정을 이용한 조합 1개 조 합 선발, 2개 시교사업 수행, 저항성 3계통 선발	100%
	세균성반점병 저항성 1 조합 및 3계통 선발	- Bs2 마커검정 및 포장검정을 이용한 세반병 저항성 조합 및 3계통(B-line type 1계통, C-line 2계통)선 발	100%
	역병 저항성 1조합 및 10계통 선발	- 품종보호출원 1품종 : “신과위불사조” - 생물검정을 이용한 역병저항성 10계통 및 1조합 선 발	100%
	청고병 저항성 품종을 위한 조합 작성 및 3계 통 육성	- 계통 세대진전이 늦어 F ₁ 조합 작성을 하지 못하였음 - 생물검정을 이용한 청고병저항성 6 계통 선발 : 건 고추용 저항성 3계통, 대목 저항성 3계통	80%
PA RT II-2	보유계통 및 분리재료 의 역병내병성 검정	- 총 검정 수 : 383계통 5,745주 - 선발계통 수 : 73계통 선발	100%
	역병 내병계 MS line 육성	- 총 28계통 선발 후 --> Backcross 세대진전	100%
	분자표지기술을 이용한 CMV 내병성 재료육성	- 총 1,209 점 검정 - CMV-RR : 359 개체선발 - CMV-Rr : 458 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 TMV 내병성 재료육성	- 총 144 점 검정 - TMV-RR : 41 개체선발 - TMV-Rr : 41 개체선발	100%

	분자표지기술을 이용한 세균성반점병 (Bs2) 내병성 재료육성	- (PR계 B-line x ECW123R) 조합 F ₂ 작성-->Bs2 marker선발-->Backcross진행	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합성능검정	- D-5, F-1, F-11, F-26, F-27, F-42, F-83, F-104, F-115 등 9조합선발	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합 지역 적응성시험	- D-2 최종선발 --> '역강홍2호'품종보호출원	100%
PA RT II-3	목표에 부합하는 유전자원의 수집, 평가	- 유전자원에 대한 CGMS 인자분석71 점 CMV 1,102 점, TMV 202점 및 세균성반점병 16점, 역병 4,300생물검정, 1,510계통 원예적 특성 파악 및 세대진진 국내 유전자원 13점, 중국19점, 동남아 13점 수집	100%
	선발된 내병성 계통들의 계통육성 조합 작성	- CMV 15조합, TMV 8조합, 역병계 12조합, 세균성 반점병 3조합, 흰가루병 6조합, 복합내병계 10조합	100%
	예비조합능력검정 및 성능검정-건고추 품종 보호출원	- 국내 연구소 342조합 및 중국 연구소 하우스 168조합, 노지조합 시험, 1품종 품종보호	100%
	우수조합의 해외적응성 시험-각 지역별 확대시험	- 중국 2곳 168조합, 인도 110조합 선발시험, 요르단 28조합, 기타 135조합	100%
	선발된 계통을 이용한 200조합이상 작성	- 선발된 계통을 이용 546조합 작성	100%
PA RT III-1	계통육성 및 품종개발을 위한 분자 마커분석 지원	- 발표된 논문에 근거한 마커 분석서비스 적용(회복칩 Bs2) - 총 7종의 10개의 분자마커로 5,084건의 분자마커 분석지원	120%
	제 1-3 세부과제에서 개발된 마커의 분석지원 체계 확립	- RF관련 마커개발(Rf35) - GMS인자 중 MSK 관련 마커개발완료	100%
	개발된 마커를 육종집단에 활용 가능하도록 변형	- 개발된 마커 Rf35에 대한 fprf101, 103집단내 유용성 확인 - 개발된 MSK 마커를 이용한 한국누뎀 블라인드 테스트 분석 수행, 집단 유용성 분석	100%
PA RT III-2	역병균 별 genotype별 병원성 확인	- 역병 7개 균주별과 42개 genotype에 대한 병원균 병원성 연구 수행	100%
	역병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 역병저항성 80계통 및 조합, 15,347점 검정 분자마커 개발 169계통 4,305점 검정.	100%
	바이러스 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 바이러스 저항성 43계통 718주에 대한 저항성 검정	100%
	청고병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	- 청고병 저항성 22계통 500식물체 검정, 분자마커 개발 221계통 1,736 식물체 검정 수행	100%
PA RT III-3	Doubled Haploid Line 및 Introgress Line 육성	- 고추의 기내 약배양 방법을 이용하여 Doubled Haploid Line 및 미숙배 배양을 이용한 Introgress Line 육성	100 %

○ 4년차 연구개발 목표 달성도

	연구 개발의 목표	연구 내용	달성도
PART I-1	유용 고밀도 유전연관지도 작성을 위한 계통 육성	- <i>C. annuum</i> 내의 chili pepper X Bell pepper를 교배하여 F ₂ 종내 육성 집단을 유전연관지도 작성에 활용 - 중간 교배 집단인 <i>C. annuum</i> X <i>C. chinense</i> 와 <i>C. annuum</i> X <i>C. frutescence</i> 집단의 RIL 육성으로 고밀도 유전연관지도 작성에 활용	100%
	BAC End Sequencing (BES) 및 <i>in-silico</i> 분석	- 16,000개의 sequence <i>in-silico</i> 분석과 BES 결과로 확보된 염기서열을 bioinformatic tool을 이용하여 분석	107%
	4,000개 이상의 SSR primer 제작 및 다형성 검정	- <i>In-silico</i> 분석을 통해 4,764개의 후보 primer 제작하고 이들의 다형성을 분석하여 유전연관지도 작성에 이용	119%
	육성한 F ₂ 집단을 이용한 유전연관지도 작성 (2,700개 SSR 집적)	- 중간과 종내 유전집단(11X13, 12X16) 과 개발된 SSR 마커를 이용하여 581개가 추가 집적 완료 (1, 2, 3과 함께 2,712개) 및 유전연관지도 작성	110%
	유전연관지도의 BES 대응 연관 그룹 확인	- 유전연관지도와 BES 서열을 이용하여 396 개의 BAC clone에 대한 대응연관 그룹 확인 - FP11에서 5.8X, FP16에서 5.4X coverage 의 BAC library 제작	100%
	FISH 및 Comparative map 작성	- 프레파라트 80개 추가제작 - Probe 설계 및 제작과 FISH - 2개의 중간-종내 유전집단을 이용한 comparative map 작성	135%
	고추분자마커 DB 구축	- 고추분자마커 활용한 고추유전체 연구의 DB 구축 - 고추분자마커사업단 홈페이지 구축	100%
PART I-2	FPPcPo06의 QTL 분석 FPPcPo05의 추가 SSR 마커를 이용한 QTL 분석 FPPcPo05 및 07 F ₂ 육성 및 후대 채종	- 균주 Pc01, 02의 병원성 확인 및 생물검정시의 적정 농도 확립 - FPPcPo06 F ₃ 100라인에 대하여 줄기썩음 및 뿌리썩음 생물검정 수행과 SSR 마커를 이용한 역병 연관 QTL 분석 - 42개의 SSR 마커가 추가된 총 454개의 SSR 마커를 이용한 FPPcPo05의 역병 연관 QTL 분석 - FPPcPo05, 07 집단 F ₂ 육성, 후대 채종 및 DNA 추출 완료 - FP1113과 FPPcPo05, FPPcPo03과 FPPcPo06의 intergrated map을 활용한 QTL 비교분석 및 QTL 영역의 BAC 클론을 이용한 다형성 분석 수행	90%

	4개의 청고병 집단 생물검정 PS15 집단의 SSR 마커를 이용한 다형성 분석	- PS12, PS13, PS14, PS15 총 4개 집단 F ₂ 의 생물검정 - 저항성정도가 높은 PS14, PS15 집단의 F ₂ 육성, DNA 확보 및 후대 채종 - 안정적 저항성을 보유한 PS15 집단을 이용하여 116개의 SSR 마커를 이용한 다형성 분석	90%
	흰가루병 저항성 F ₂ 집단 육성 토마토의 흰가루병 저항성 분자마커 탐색 및 유용성 검정	- 흰가루병 저항성으로 선발된 FPPM1 계통을 이용하여 저항성 F ₂ 집단 육성 - 토마토의 흰가루병 저항성과 연관된 분자마커 탐색 및 고추에서의 다형성 분석	100%
	회복인자 관련 fprf2 집단의 임성/불임간 다형성 분석 및 후보마커 선발	- fprf2 집단 BSA-SRAP로 다형성 분석 - 다형성 프라이머 1개 선발 및 개체별 확인 중 - 기존 Rf 마커 밀집영역에 링크된 마커의 염기서열을 이용하여 fprf2 집단의 유용성 확인	90%
	MS3, MS509의 마커 개발 MSI 집단의 다형성 분석 및 후보마커 개발	- MS3 마커개선, 블라인드 테스트 및 특허보완 - MSK 마커와 불일치하는 신규집단 육성 - MS509 후보마커의 마커전환 및 특허출원 - MSI 집단의 BSA-SRAP 수행으로 두 개의 후보마커 선발	100%
PART I-3	<i>C. ann</i> x <i>C. fru</i> : F ₅ --> F ₆ <i>C. ann</i> x <i>C. chi</i> : F ₄ --> F ₅	- F ₅ , F ₆ 확보위해 세대축진 (필리핀)	85%
	PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 고정	- PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 세대진진 - 탄저병 저항성 수준이 완벽하지는 못함.	100%
	BC ₁ F ₁ , BC ₂ F ₁ , BC ₁ F ₂ 종자획득 BC ₂ F ₁ , BC ₁ F ₂ 탄저병 저항성 검정 및 저항성 개체선발	- F ₂ , BC ₁ F ₁ , BC ₂ F ₁ , BC ₁ F ₂ 세대 탄저병검정 --> 비교적 강한 19개체 선발 - BC ₃ F ₁ 교배, 종자 등숙 중	120%
PART II-1	바이러스 저항성 품종 생산판매신고 1품 및 중국용 2품종 개발	- 생산판매신고 1품종 : "홍대플러스" - 중국 : 鴨靑11, 鴨靑44 품종등록 및 시교사업 수행	100%
	세균성반점병 저항성 1조합 육성 및 4계통 선발	- MS line 1계통, Maintain line 1계통, Rf line 2계통 선발	100%
	역병저항성 품종 품종	- 품종보호출원 1품종 : "DNP60" 출원계획	100%

	보호출원 1품종 및 생산 판매신고 1품종	- 생산판매신고 1품종 : “천하일색”(DNP57)	
	청고병 저항성 품종을 위한 F ₁ 예비조합 작성	- 청고병 저항성 3개 조합 선발	100%
PA RT II-2	보유계통 및 분리재료 의 역병내병성 검정	- 총 검정 수 : 204계통 3,060주 - 선발계통 수 : 87계통 - 고도저항성 : 51계통 - 중도저항성 : 36계통	100%
	역병 내병계 MS line 육성	- 선발된 28계통 Backcross 세대진전 - 분리재료 67계통 집중 34계통 선발 - 건과/임성개량 303계통 집중 51선발	100%
	분자표지기술을 이용한 CMV 내병성 재료육성	- 총 1,077 점 검정 - CMV-RR : 359 개체선발 - CMV-Rr : 458 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 TMV 내병성 재료육성	- 총 37 점 검정 - TMV-RR : 27 개체선발 - TMV-Rr : 6 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 세균성반점병 (Bs2) 내병 성 재료육성	- (PR계 B-line x ECW123R) 조합 F ₃ 작성 -->Bs2 marker 42점 선발 --> Backcross 또는 selfing 진행	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합성능검정	- D-4, D-5, D-6, F-10, F-12, F-16, F-79, F-119, F-146, F-165, F-189, F-206, F-210 등 13조합선발	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합 지역 적응성시험	- D-5(PR9308) 최종선발 --> ‘PR308’ 품종보호출원	100%
PA RT II-3	목표에 부합하는 유전 자원의 수집, 평가	- 유전자원에 대한 CGMS 인자분석 28 점 CMV 1,532 점, TMV 426점 및 세균성반점병 13점 , 유전자원에 대한 GMS 449점, 매운맛 19점 , 역병 7,828주 생물검 정, 내병성재료육성조합작성 4조합 , 1,938계통 원예 적 특성 파악 및 세대진전, 국내 유전자원 38 점 수집 중국 67점, 동남아 78점 수집	100%
	선발된 내병성 계통들 의 계통육성 조합 작성	- CMV 21조합, TMV 11조합, 역병계 16조합 세균성 반점병 6조합, 흰가루병 2조합 , TSWV 2조합 ,복합내 병계 19조합	100%
	예비조합능력검정 및 성능검정 - 건고추 및 대목 2품종 보호출원	- 국내 연구소 894조합 및 중국 연구소 188조합 ,노지 조합선발시험, 2품종 품종보호	100%
	우수조합의 해외적응성 시험 - 각 지역별 확대 시장	- 중국 188조합, 인도 289조합, 기타 30조합선발시험.	100%
	선발된 계통을 이용한 200조합이상 작성	- 선발된 계통을 이용 345조합 작성	100%

PART III-1	계통육성 및 품종개발을 위한 분자 마커분석 지원	<ul style="list-style-type: none"> - 발표된 논문에 근거한 마커 분석서비스 적용(회복친 Bs2) - 총 9종의 분자마커로 4,352의 분자마커 분석지원 	110%
	제 1-3 세부과제에서 개발된 마커의 분석지원 체계 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 개발된 매운맛 마커 co-dominant 마커 전환 완료 및 유용성 검증 후 마커분석 지원 실시 - 개발된 Bs2 마커의 co-dominant 마커 전환완료 및 MAS 체계 확립 - GMS인자 MSK관련 마커에 대하여 Inverse PCR을 통하여 염기서열 확장 후 마커 개선 수행 - GMS인자 MS3관련 마커에 대하여 Inverse PCR을 통하여 염기서열 확장 후 마커 개선 수행 	100%
	개발된 마커를 육종집단에 활용 가능하도록 변형	<ul style="list-style-type: none"> - 개발된 매운맛 마커 유용성 검증 후 마커분석 지원 실시 - 신규개발 마커 Rf35, MSK, MS3외 분자마커 분석지원 - 신규개발된 GMS인자 MS3관련 마커에 대하여 블라인드 테스트를 위하여 샘플 인수 후 유용성 검증함 	100%
PART III-2	역병균 별 genotypic 병원성 확인	<ul style="list-style-type: none"> - 15개 균주수집, 고추역병 분화연구 논문 발표 	100%
	역병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	<ul style="list-style-type: none"> - 역병저항성 1,482계통 및 조합 22,187 점 검정 분자마커 개발 200계통 12,600점 검정. 	100%
	바이러스 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	<ul style="list-style-type: none"> - 바이러스 저항성 60계통 97주에 대한 저항성 검정 	100%
	청고병 저항성 의뢰계통 및 조합 검정	<ul style="list-style-type: none"> - 청고병 저항성 29계통 590식물체 검정, 분자마커 개발 5계통 940주 식물체 검정 수행 	100%
PART III-3	고추 분자마커 데이터베이스 구축	<ul style="list-style-type: none"> - 코넬대학 BTI의 Lucal Mueller 박사와 면담 및 서신을 통해 시스템 구축 방법에 대해 협의 중 	80%
	웹 서버 구축	<ul style="list-style-type: none"> - Dell사의 PowerEdge T300 PC 구입 - Linux x86_64 Fedor 9 OS 구축 - Open-source software를 활용하여 웹 서버 구축 (Aparch, PHO, Mod-Perl 등) 	90%
	홈페이지 구축	<ul style="list-style-type: none"> - CGI 기능을 구현할 수 있는 테크노트 7 솔루션 (Technote Inc.)을 기반으로 개발 - 홈페이지의 콘텐츠는 80-90% 완성 	80%

○ 5년차 연구개발 목표 달성도

	연구 개발의 목표	연구 내용	달성도
PART I-1	고밀도 SSR 지도 작성; SSR마커 2,970개 집적 STS-CAPS marker개발	- 2,982 SSR 집적 유전연관지도 작성; FP11XFP13= 2,432개, FP12XFP16= 610개 - STS-CAPS marker 257개 개발	104%
	BAC end sequencing 및 <i>in-silico</i> SSR 분석 (9,000)	- 9,216 BAC end sequencing 및 <i>in-silico</i> 분석	102%
	유전연관지도의 BES 대응연관 그룹 확인 (550개 이상)	- BES 대응연관그룹 확인 (101개 추가, 총 551개)	100%
	FISH용 프레파라트 제작 (50개 이상 추가) Comparative map 작성	- 110개의프레파라트 제작 및 hybridization 조건 확립 - MAP Comparative	110%
	고추분자마커 DB 구축 지원	- 고추분자마커 활용한 고추유전체 연구의 DB구축 지원 - 구축된 홈페이지 update 지원	100%
PART I-2	역병저항성 연관 분자 마커의 유용성 검정 및 블라인드 테스트	- FPPcPo05 SSR 유전연관지도를 이용하여 QTL 연관 마커 M07-CAPS 개발 - FPPcPo06 SSR 유전연관지도로부터 QTL 연관마커 FPssrN33 개발 - FPPcP005 유전연관지도와 AC(FP1113) 유전연관지도의 comparative map 을 이용하여 역병저항성QTL 영역의 BAC 클론 선발 및 BAC 클론으로부터 SNP 마커인 FPTY-SNP 개발 - M07-CAPS와 FPTY-SNP 또는 FPssrB33 마커의2 step 분석으로 MAS 체계확립 - 저농도 생물검정 결과 및 육종회사의 블라인드 테스트를 통해 유용성 검정, 95% 이상의 선발효율 확인	100%
	PS15 집단의 QTL 분석 및 연관마커 개발 청고병저항성 연관 분자마커의 유용성 검정	- PS15의 F2 집단을 이용하여 168개의 분자마커가 집적된 유전연관지도 작성 - 청고병 생물검정 수행 및 QTL 분석 - 청고병 저항성 QTL 연관마커 개발 및 유용성 검정 결과 87% 정도의 선발효율 확인	100%
	토마토 흰가루병 저항성 연관 마커 탐색 흰가루병 저항성 연관 마커의 고추에서의 유용성 검정	- 토마토의 흰가루병 저항성 <i>Lv</i> locus 및 <i>Oi</i> gene 의 QTL 연관 마커 탐색 및 고추에서의 PCR 증폭 확인 - 수집된 저항성 QTL 연관마커를 흰가루병 저항성 집단을 이용하여 다형성 분석	100%
	fprf2 집단의 회복인자 연관 마커 개발	- FnP(AC) 유전연관지도를 이용하여 임성회복 연 분자마커와 근접한 SSR 마커 및 임성회복과 관련된 염기서열 확보	100%

		- fprf2 집단의 임성/불임간 다형성 분석 및 후보마커 선발 및 유용성 검정	
	MSI 연관마커의 개발 및 유용성 검정	- MSI 집단의 BSA-AFLP 수행으로 후보마커 선발 및 CAPS 마커전환, 유용성 검정 수행 - MSK 신규집단 육성 및 임성조사, BSA-AFLP수행으로 다형성 프라이머 선발	100%
PART I-3	<i>C. ann</i> x <i>C. fru</i> : F ₅ -->F ₆ -->(F ₇) <i>C. ann</i> x <i>C. chi</i> : F ₄ -->F ₅ -->(F ₆)	- F ₇ , F ₆ 세대축진(필리핀)	100%
	PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 고정	- PI594137(<i>C. baccatum</i>)의 탄저병저항성 선발 및 세대진전	100%
	BC ₂ F ₁ , BC ₂ F ₂ , BC ₁ F ₃ 종자획득 BC ₂ F ₂ , BC ₁ F ₃ 탄저병저항성 검정 및 저항성 개체선발	- F ₂ , BC ₁ F ₁ , BC ₂ F ₁ , BC ₁ F ₂ 세대 탄저병검정 --> 비교적 강한 12개체 선발	120%
PART II-1	바이러스저항성 품종육성(품종보호출원 1점) 내병성계통 7 계통 형질고정	- 바이러스내병성 계통 형질고정 :내병성 및 특성조사 후 선발 - 생산판매신고된 홍대플러스 재배시험 후 품종보호출원	100%
	세균성반점병 저항성 3 계통 육성	- BC ₃ F ₁ , BC ₄ F ₁ 작성 및 특성조사	100%
	역병저항성 품종보호출원(1품종 생산판매신고) 및 10계통 개발	- PED162 천하일색 시교사업 및 신규 F ₁ 조합 선발, 선발된 계통들에 대한 원예적 형질 최종평가, 내병성 최종평가	100%
	청고병 내병성 품종보호출원	- 선발 2조합 시교사업 및 품종보호출원	100%
PART II-2	보유계통 및 분리재료의 역병내병성 검정	- 총 검정 수 : 851계통 8740점 - 선발계통 수 : 105계통	100%
	역병 내병계 MS line 육성	- 선발된 24계통 Backcross 세대진전	100%
	분자표지기술을 이용한 CMV 내병성 재료육성	- 총 705 점 검정 - CMV-RR : 171 개체선발 - CMV-Rr : 100 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 TMV 내병성 재료육성	- 총 10 점 검정 - TMV-RR : 3 개체선발 - TMV-Rr : 4 개체선발	100%
	분자표지기술을 이용한 세균성반점병 (Bs2) 내병성 재료육성	- (PR계 B-line x ECW123R) 조합 F ₄ 작성-->Bs2 marker 27점 선발-->Backcross 또는 selfing 진행	100%

	역병-CMV 복합내병성 조합성능검정	- D-16, D-18, D-19, F-28, F-30, F-78, F-273, F-274, F-430, F-438, F-465, F-473, 등 12 조합 선발	100%
	역병-CMV 복합내병성 조합 지역 적응성시험	- D-18 : 'ECO-F79' 품종보호출원	100%
PA RT III-3	목표에 부합하는 유전자원의 수집, 평가	- 유전자원에 대한 CGMS 인자분석 54 점 CMV 1,699 점, TMV 851 점 및 세균성반점병 268 점 역병 7,795 주 생물검정, 2,092계통 원예적 특성 파악 및 세대진전, 중국 유전자원 18점 수집, 동남아 22점 수집	100%
	선발된 내병성 계통들의 계통육성 조합 작성	- CMV 14조합, TMV 2조합, 역병계 20조합, 세균성 반점병 10조합, 흰가루병 6조합, TSWV 6조합, 복합내병계 19조합	100%
	예비조합능력검정 및 성능검정-건고추 및 대목 2품종 보호출원	- 국내 연구소 600조합 및 중국 연구소 166조합, 노지 조합선발시험, 2품종 품종보호	100%
	우수조합의 해외적응성 시험-각 지역별 확대시장	- 중국 166조합, 인도 201조합, 기타 40조합선발시험.	100%
	선발된 계통을 이용한 200조합이상 작성	- 선발된 계통을 이용 345조합 작성	100%
PA RT III-1	계통육성 및 품종개발을 위한 분자 마커분석 지원	- CMV, TMV, Bs2, 역병(M07-CAPS, N33), 매운맛 회복인자, GMS(MSK, MS3, MS509, MSI), TSWV (육성재료별) 등 형질관련 분자마커의 분석 서비스 수행 - 총 12종의 분자마커로 6,251 분자마커 분석지원 - 계통육성 및 품종개발을 위한 분자마커 분석 지원	100%
	기개발마커의 개선	- GMS인자 MS509 마커 주변염기서열 분석으로 마커 개선 수행, multiplex PCR을 통한 detection가능 마커로 개선 - 개발된 TSWV 저항성 분자마커에 대한 다형성 확인 후 FnP(AC) map 등재, 육종재료에 대한 다형성 분석 및 유용성 검정 후 MAS 활용 계획	100%
	Marker Assisted Breeding 체계 확립을 위한 분석지원	- 두 개 이상의 여교잡 집단 육성 (FP1113 BC ₁ F ₁ , FP1114 BC ₁ F ₁) - 이 중에서 FP1113 BC ₁ F ₁ 집단의 MAS 분석으로 foreground selection 수행	100%
PA RT III-2	고추분자 데이터베이스 구축	- 고추분자 데이터베이스 구축	100%
	웹 포털 서비스	- 웹 포털 서비스	100%
	홈페이지 구축 및 안정화	- 홈페이지 구축 및 안정화	100%

3. 최종 연구개발 목표 달성도

연구내용		연구성과							
		1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계	목표	달성도
SSR 분자마커 개발 및 유전연관지도 작성 (누적개수)		245 (245)	840 (1,265)	791 (2,056)	676 (2,732)	318 (3,050)	3,050	2700	113%
연관그룹 대응 특이 BAC 분리 (누적개수)		-	137 (137)	244 (381)	74 (455)	96 (551)	551	500	110%
분자마커 개발		-	2 (역병 2)	4 (역병 1, 회복인자 1, GMS 2, CMV 1)	1 (GMS 1)	4 (Bs2 1, GMS 1, 매운맛 1, 청고병 후보마커 1)	11	10	100%
논문*	SCI	-	-	-	1		1	4	투고예정
	비SCI				(예정 4)		(예정 4)	5	
특허	국내출원	-	-	4	1	2	7	3	233%
	해외출원	-	-	-	2		2	목표 추가설정	추가달성
품종보호출원		-	2 (피알드래곤, 강력대롱)	3 (신파워불사조, 더블건, 역강홍2호)	4 (홍대플러스, PR308, 적벽대전, 뉴라이프)	5 (아우토반, 천하일색, ECO-F79, 옹고집 RS902)	14	10	140%
유전자원 등록**						12	12	10	120%
생산판매행신고 및 등록	신고	-	-	3 (신파알불사중, 신파워불사조, 더블건)	5 (홍대플러스, 천하일색, lahab, 한원18호, NUN0035)	1 (SP221)	9	-	-
	등록	-	-	2 (강력미리내, 강풍)	4 (鴉靑11/중국, 鴉靑44/중국, 불꽃처럼, 강력매달)	2 (한마루, 카리스)	8		
산업기술인력 양성 (명)		2	18	-	9	2	31	-	-
기술지도 (명)		-	123	18	481	4	626	-	-
고용창출 (명)		32	58	13	14	-	117	-	-
배배양 개체 확보 및 이전		교배	33 (33)	178 (211)	-	-	211	-	-
약배양 개체 확보 및 이전		21 (21)	54 (75)	1,253 (1,328)	46 (과제 종료, 집단 육성용)	-	1,374	-	-
병 검정 서비스 (계통/검정수)		690/22,789	2,294/47,030	1,257/22,633	1,776/37,291	-	6,017 /129,743	-	-
마커검정 서비스		3,755	4,589	5,084	4,352	7,120	24,900	-	-

* 4차년도 평가시 연구성과에 대하여 선 특허출원, 후 논문투고의 방향으로 진행함으로써 확보된 염기서열들의 정보를 보호하도록 조취하였음. 따라서 논문투고는 5차년도 후로 연기하였음

** 4차년도에 개발품종은 품종보호출원, 개발계통은 유전자원등록을 목표로 정정하였으며 유전자원 등록의 경우 기탁조건 충족을 위한 종자확보 후 2012년 9월 등록 예정임

○ 특허출원 9건

- 국내 출원 7건

1. 고추 옹성불임성의 회복에 관여하는 유전자의 유전자형을 판별하기 위한 CAPS 및 이를 이용한 회복유전자의 유전자형 판별방법 (110-2009-0135958)
2. 핵내유전자적 옹성불임인자 (ms_K)와 연관된 분자마커 및 이를 이용한 검정방법 (10-2010-0139958)
3. 핵내유전자적 옹성불임성 유전인자 (ms_3) 판별용 분자마커 및 이를 이용한 검정방법 (10-2010-0139957)
4. 오이모자이크 바이러스 저항성 분자마커 및 이를 이용한 검정방법 (10-2009-0135961)
5. 핵내유전자적 옹성불임인자 (ms_{509})와 연관된 분자마커 및 이를 이용한 검정방법 (10-2011-0007192)
6. 고추의 고밀도 유전자 연관지도 {A High-density Genetic linkage map of Capsicum sp.} (NP12-1010)
7. 캡시컴 안늄의 종내집단을 이용한 S S R 마커 및 유전자 연관지도 {SSR markers and Genetic linkage map using Intraspecific population of Capsicum annuum} (NP12-1011)

- 해외 출원 2건

1. 핵내유전자적 옹성불임인자 (ms_K)와 연관된 분자마커 및 이를 이용한 검정방법 (PCT/KR2010/009636)
2. 핵내유전자적 옹성불임성 유전인자 (ms_3) 판별용 분자마커 및 이를 이용한 검정방법 (PCT/KR2010/009633)

○ 분자마커 개발 11건

- 역병 3종 (M07, FPTY, FPssrN0033), GMS 4종 (ms_K , ms_3 , ms_{509} , ms_I), 회복인자 1종 (Rf35), Bs2 1종, 매운맛 1종 (PH-5), CMV 1종 (CMV-C₀₁), 청고병 후보마커 1종 (FPssrN3505), TSWV 후보마커 1종

○ 품종보호출원 14건

- 피알드래곤, 강력대통, 신파워불사조, 더블건, 역강홍2호, 홍대플러스, PR308, 적벽대전, 뉴라이프, 아우토반, 천하일색, ECO-F79, 웅고집, RS902

○ 유전자원 등록 12건

- 세균성만점병 내병성 계통, 청고병 내병성 계통, 역병 내병성 계통, CMV 내병성 계통, HN-511, HN-513, PR-42, PR-55, PR-59, 역병/CMV 복합내병계, 역병/TMV 복합내병계,

풋마름병 내병계

○ 생산판매신고 및 등록 17건

- 신고 9건 : 신피알불사종, 신파워불사조, 더블건, 홍대플러스, 천하일색, lahab, 한원18호, NUN0035, SP221
- 등록 8건 : 강력미리내, 강풍, 鴉靑11/중국, 鴉靑44/중국, 불꽃처럼, 강력매달, 한마루, 카리스

○ 논문

- 학술지 게재 1건, 예정 4건

1. 국내 고추 역병균의 병원성 분화. 식물병연구 제 16권 제2호
2. The molecular genetic map as tools for molecular breeding of pepper. 투고예정
3. QTL Analysis and Development of Molecular Marker Associated with *Phytophthora capsici* Resistance in Pepper. 투고예정
4. Development of CAPS marker Associated with Genetic Male Sterility, *ms₃* in Pepper. 투고예정
5. Development of Molecular marker for Genetic Male Sterility, *ms_K* selection in Pepper. 투고예정

- 기타

1. 국내 학·협회 발표 : 8 건 (포스터 발표 4건, 구두발표 4건)
2. 국외 학·협회 발표 : 7 건 (포스터 발표 6건, 구두발표 1건)
3. 국내 세미나 발표 : 7 건 (고추분자마커사업단 세미나)

○ 산업기술인력 양성

- 벤처협회 바이오인턴쉽, 기업연수 폴리텍 대학, 영남대학교, 고려대학교, 한국다끼 등 총 11회 31명

○ 교육 및 기술지도

- 농림교육원, 유기농재배 농민교육, 고추병 검정기술 교육, 고추재배 현장교육, 대농민 교육, 충북마이스터 대학, 분자마커 분석기술 교육 등 총 15회 626명

○ 사업단의 과제간 협력체계 활성화 (부록 참조)

제 2절 기술발전예의 기여도

- 본 연구는 기존 전통육종에 특정형질과 연관된 DNA마커를 활용해서 선발하는 MAS (marker assisted selection)기술을 접목하여 육종 및 선발의 효율성을 높이고 신속성과 정확성을 제고하는 기술을 확립하고자 수행되었음. 본 연구에서는 기존 개발되어있는 고추 형질관련 분자마커를 활용하여 신품종을 육성하는 연구과제와 더불어 새로운 유용한 분자마커의 개발도 수행하였음
- 본 연구팀의 구성이 마커의 소비자이자 유전 집단의 보유자인 육종회사와 마커 개발자가 한 팀으로 묶여서 긴밀한 소통과 평가를 통하여 마커를 개발함으로써 육종현장에서 필요한 마커를 효율적으로 개발할 수 있는 연구를 수행하였음. 본 연구팀의 출발과 더불어 국내 육종의 흐름이 전통육종에 분자마커를 활용한 MAS기술을 접목하는 시대의 문을 열었다고 평가할 수 있을 것임
- 본 연구과제는 고추의 전통육종기술을 바탕으로 분자마커를 이용함으로써 보다 신속하고 정확한 계통육성을 할 수 있었고, 품종변화가 매우 빠르고 복합 내병성 품종 요구도가 높아지는 시점에서 매우 효과적으로 신품종 육성 기간 및 육종 비용 절감효과를 가져와 보다 다양한 복합 내병성 품종 육성에 기여함
- 우리나라는 본 과제가 시행되어 매운 고추에 있어서는 분자유종시스템이 잘 갖춰지는 기회가 되었음. 아직까지 주 목표시장인 중국이나 인도는 분자유종시스템을 갖추지 못한 실정에서 전통적으로 우리나라의 세계 최고수준의 매운 고추에서의 육종기술 우위가 한 단계 더 높아지는 계기가 되었음
- 하지만 최근 중국, 인도 및 유럽 국가에서 분자 육종 시스템에 대한 연구가 활발히 시작되었고 일부에서는 Genome Wide Assisted Selection을 목표로 하기 때문에 본 과제가 종료된 후에도 더 많은 연구가 이루어져야 할 것임
- 본 연구는 유전자지도 작성용 유전집단을 육성하여 DNA 샘플을 제공하고 동일 집단으로부터 유래된 RIL (Recombinant Inbred Line)을 육성함으로써 초고밀도 유전연관지도상의 분자마커와 유용 유전자간의 관계를 밝혀서 실제 육종에서 유용하게 사용할 수 있는 유효한 DNA 마커를 개발하는데 꼭 필요한 기초정보를 제공함으로써 분자유종의 기술발전예에 많은 기여를 하리라 예상됨
- 또한 고추 재배에서 막대한 피해를 입히고 있는 탄저병저항성 품종육성을 위한 기초적인 육종 중간모본을 육성하여 보급함으로써 탄저병저항성 육종에 기여함. 특히 *C. annuum*과 *C. baccatum*간의 교배장벽을 극복할 수 있는 중간모본을 육성 보급함으로써 고추의 내병성 육종을 위해 진일보 함
- 고추분자 마커에 대한 웹 포털 서비스를 구축하여 운영함으로써 정보제공을 통한 고추 유전체연구를 활성화하고 새로운 마커 개발에 따른 기간 및 연구비용 절감효과에 기여함

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1절 추가연구의 필요성

1. 초고밀도 유전연관지도와 RIL 육성 및 분자유종

- 분자마커를 통한 선발 시스템은 육종에 있어서 없어서는 안 될 요소이며 목적하는 곳까지 빠르게 안내해 줄 네비게이션과 같은 존재임. 형질과 직접 연관된 분자마커를 개별적으로 육종선발에 사용하는 MAS는 육종과정에서 일반적으로 활용하는 수준까지 되었으며 이제는 MAB (Marker Assisted Backcross)를 적용하는 시점에 와 있음. MAB (Marker Assisted Breeding)나 GWAS (Genome Wide Assisted selection)는 넘쳐나는 방대한 양의 유전체 정보를 교배육종에 적용시킨 현재로서는 최적의 시스템이라 할 수 있음
- 그러나 MAB나 GWAS와 같은 육종시스템을 구현하기 위해서 최소한 요구되는 것이 유전연관지도임. 본 연구를 통해 개발된 고추 유전연관지도는 2,700개 이상의 SSR 마커가 집적된 초고밀도 유전연관지도로써 분자마커 개발 및 유전체 연구, MAB에 활용가치가 매우 높음. 이와 더불어 본 연구집단에서 육성한 RIL을 이용하여 초고밀도 유전연관지도를 한 번 더 정립하고 분자마커와 형질과의 연관을 밝힘으로써 고추에서 'Breeding by Design'을 일반화할 수 있도록 추가 연구가 필요함
- MAB를 위한 background selection을 실제적용하기 위해서는 세대에 따른 여교잡 집단의 규모 및 selection을 위한 마커의 최소 개수 등 선결해야 할 부분이 존재함. Simple Sequence Repeat (SSR) 마커를 이용한 유전연관지도를 활용하여 recombinant selection 및 background selection을 통한 MAB system 구축이 필요함
- 이러한 최첨단의 연구결과도 육종가들의 끊임없는 활용으로 신품종을 육성하고 매출의 확대에 이어질 때 비로소 가치를 받함. 육종에의 적극적인 활용을 위해서는 비용, 특히 분자마커 분석시스템도 갖춰져 있지 않는 군소의 기업들은 분석비용이 활용에의 장애물일 수 있음. 현재 SSR을 기반으로 한 유전연관지도의 활용가치를 높이기 위해서는 high-throughput의 분석시스템에 적합하도록 분자마커들을 전환할 필요가 있음. 양적형질유전을 하는 여러 우수한 원예적 형질들의 QTL 분석을 통한 선발에 있어서도 high throughput system의 확립이 필요함
- 현재 육성된 RIL 집단은 최종적으로 세대진전을 한세대 정도 더 진행하면서 보다 많은 형질을 조사할 필요가 있으리라 생각되며, 이렇게 육성된 RIL은 기존 유전자지도와의 비교분석에 활용함으로써 형질과 유전자, 분자마커의 연관성을 밝히는데 필수적임
- 더불어 탄저병 저항성 재료육성은 아직은 초보적인 단계이나 탄저병 저항성 보완과 더불어 좀 더 체계적인 연구를 진행하여 탄저병 저항성 품종이 현실화 되도록 하고, 또한 저항성 분자마커 및 저항성 유전자 개발에 적극 활용함으로써 유전체 연구 및 분자유종, 신품종 개발에 활용하도록 해야 할 것임

2. 분자마커를 이용한 신품종 개발

- 작물의 품종육성은 많은 시간이 소요되는 작업임. 지난 5년간 수행되어온 본 연구과제의 실질적인 결과는 지금까지의 연구결과를 바탕으로 지금부터 조금씩 나타나고 있음. 재료육성이 완성되어 가고 있고 그 재료들을 활용한 새로운 재료의 육성이나 신품종의 개발 등이 본격적인 궤도로 이제 진입하는 단계라고 볼 수 있음. 따라서 지금까지 수행된 본 연구과제의 결과를 토대로 신규로 개발된 역병내병성 연관마커, MS, Rf, Bs, CMV marker 등을 활용하여 국내용 품종뿐만 아니라 수출용 품종의 본격적인 개발에 착수할 필요가 있음
- 특히 CMV 등 여러 가지 병들의 새로운 race나 strain의 출현으로 현재의 내병성 소재나 품종으로는 완전한 시장의 요구에 부합하는데 한계가 있음. CMV의 새로운 strain인 가칭 CMV-C₁의 경우 기존 CMV-C₀ 저항성 품종들에 병을 일으키는 강력한 병원성을 가지고 있어 이에 대한 저항성 재료의 개발과 관련 분자 marker의 개발과 품종의 육성에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것임. 또 TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus)의 피해도 점차 증가하고 있고 아열대형 병이라고 할 수 있는 청고병과 최근 노지재배에서도 많이 발생하고 있는 흰가루병에 대한 연구도 절실히 요구되고 있음. 이 중에 흰가루병과 TSWV에 대한 내병성 품종은 수출시장에서도 그 요구도가 높아지고 있음. 이전부터 탄저병에 대한 저항성 품종의 요구는 아주 높으며 근래 와서 여러 회사에서 활발한 연구가 수행되고 있지만 아직 가시적인 품종보급은 이루어지지 않고 있으나 연구는 지속적으로 수행되어야 함
- 본 과제에서 이용한 CMV, TMV P3, Bs2, GMS, Rf, 역병 및 매운 맛에 대한 마커는 본 사업단의 참여 과제에서 사용한 재료들에 대해서는 매우 효과적임. 하지만 아직도 일부 마커들은 유전자 마커가 아니기 때문에 각각 육종가의 재료에 따라서 결과가 불일치하는 경우가 많고 새로이 도입된 유전자원을 이용할 경우에는 마커 결과를 신뢰 할 수 없는 경우도 있음. 물론 본 사업단 이외의 개발된 마커들도 현재까지는 특정 유전자원에 대해서는 매우 효과적이거나 유전자원이 달라질 경우 결과가 불일치하는 것을 알 수 있음. 따라서 본 연구과제가 종료된 후에도 보다 많은 재료들에 대해서 결과가 일치할 수 있도록 마커 확인 작업이 필요할 것임. 아울러 현재까지 개발되지 못한 탄저병, 흰가루병, 풋마름병 및 품질관련 마커의 개발이 필요함
- 고추의 재료육성에서 가장 보편적으로 사용되는 Backcross 육종법에서도 표현형에 의한 선발과 더불어 분자육종기술을 활용한 MAB 시스템을 이용한 신품종 육성기술에 대한 필요성과 요구가 높아질 것으로 사료됨. 따라서 분자마커 선발육종(MAS)에 더해 분자마커 여교배 (MAB)시스템이 저비용으로 이루어질 수 있는 연구가 필요함

제2절 타 연구에의 응용 및 기업화 추진방안

1. 타 연구에의 응용

- 본 과제에서 개발된 초고밀도 유전연관지도는 새로운 형질관련 분자마커를 개발하는데 소요되는 시간 및 비용을 절감시킴. 또한 BAC 라이브러리와 초고밀도 유전연관지도, 원연간의 다양한 교배조합을 이용해 육성된 유전집단들, DH 라인, RIL 집단 등은 잘 맞아 돌아가는 시계의 정교한 부품과 같기 때문에 고추 육종과 관련된 어떠한 연구분야에서나 제 역할을 훌륭히 수행할 수 있음

- 또한 본 연구를 통해 구축된 데이터베이스는 본 연구결과에서 축적된 고추 분자마커와 유전체 정보를 활용하기 위하여 데이터베이스와 연동 가능한 웹 포털 서비스를 구축하고 웹 서버를 통해 지속적으로 관리함으로써 고추 유전체 관련 사업에 정보를 제공함
- 본 과제를 통해 개발된 연구성과의 타과제에의 활용가치도 높을 뿐만 아니라 이들을 개발하면서 축적된 연구기술을 타작물의 분자유종기술에 적용함으로써 신품종 개발을 가속화
- 본 과제를 통해 개발된 분자표지 및 병리관련 기술을 토대로 당사에서 수행중인 iPET기획 과제인 '종자수출확대를 위한 해외 맞춤형 작물품종개발'과제에서 보다 발전적인 연구성과를 도출하도록 활용하고 있음. 특히 역병 및 CMV 연관마커의 경우 중국에서 병발생 문제가 점점 증가하고 있고 목표시장에서 중요한 형질이므로 현지 맞춤형 품종육성에 아주 좋은 수단으로 활용할 수 있음. 또한 본 과제에서 시작된 흰가루병 및 청고병 관련 연구도 인도 등 우리의 수출대상 국가에 맞는 맞춤형 품종육성에 꼭 필요한 기술이 될 것임. 탄저병 저항성 introgression 라인에 대한 연구도 지속적으로 시행하여 탄저병 저항성 품종의 육성도 실현하도록 할 것임
- 본 과제를 통해 육성된 내병성 계통을 이용하여 품종 개발을 하면 보다 효과적이고 신속하게 인도, 중국 및 기타지역의 복합 내병성 품종을 육성 할 수 있을 것으로 생각됨. 지금까지는 전통육성 방법을 이용하여 계통 및 품종을 육성, 시장의 변화 요구에 빠르게 대처 할 수 없었음. 하지만 본 과제가 수행되는 동안 축적된 전통육종과 분자유종의 결합은 타 연구에 있어서도 시행착오를 줄일 수 있고 보다 신속히 신품종을 육성할 수 있음. 신속한 복합 내병성 품종육성은 주 목표시장에서의 시장 선점뿐만 아니라 고 부가가치의 사업으로 확대할 수 있는 계기가 될 것임

2. 사업화 추진방안

- 본 연구를 통해 개발된 분자마커 및 유전연관지도는 지속적인 홍보로 관련업계에 기술이전을 통해 사업화함. 또한 자체기술실시로 종자회사에 분석지원 함으로써 실질적인 육종지원을 수행할 예정임
- 한국종자협회 및 기타 유관기관과 연계하여 개발된 분자마커를 홍보하고 과제종료 후 한시적으로 저렴한 분석비로 서비스함으로써 시장을 확보, 신품종개발에 적극 활용할 수 있도록 할 것임
- 본 과제의 연구결과로 개발된 신품종은 현재 일부 시판 및 채종이 진행되고 있으며 신규선발 조합들도 시교사업을 거쳐 품종화 가능성을 검토 중임
- 본 과제에서 육성된 품종들은 각 목표시장에 적합하게 개발된 것으로 조기에 시장에 정착될 수 있도록 적극적인 홍보 및 판촉을 할 계획임
- 한국 시장을 목표로 2008년 품종보호출원한 강력대통은 2009년부터 약 500Kg 판매하였고, 2010년 품종보호출원한 적벽대전은 2011년 농가 확대시험을 통해 아주 우수한 성적을 얻어 2012년 1차 판매에 계획한 100Kg이 전량 판매 예상됨. 2011년 품종보호출원한 옹고집은 2012년 약 50Kg판매 예정임. 2010년 품종보호출원된 대목 뉴라이프는 2012년 하반기 판매를 목표로 종자를 생산하였으며, 2011년 하우스용 대목으로 확대 시험 중에 있다. 2011년 품종보호출원한 역병, 풋마름병 복합대목 RS902는 2013년 판매를 목표로 개발 중에 있음
- 인도용으로 선발한 NUN0035는 인도시장에 2010년 약 350kg, 2011년 약 500kg를 판매하였으며 SP92606은 2011년 50kg을 판매하였으며 앞으로 매년 100kg이상 판매를 목표로 하고

있음. SP92339는 2012년 소량 판매후 시장 상황을 봐 가면서 판매 계획을 수립 예정임

- 중국용으로 선발한 한원 18호는 2011년 150kg, 2012년 200kg을 판매 예정이며 앞으로 새로 선발한 역병, 바이러스 복합 내병계 SP19221로 대체하여 2012년 300kg, 2013년 400kg 등 매년 확대 판매 예정임. 또한 중국 시장과 비슷한 유럽 및 중동용으로 선발한 LAHAB는 네덜란드에 품종을 등록하여 중동, 아프리카 및 유럽에 시험 판매용으로 약 10kg을 판매하였고 추후 약 100kg의 판매 계획에 있음. 이 품종은 우리나라보다 판매가격이 약 5-7배 비싼 1,000립에 약 250,000원에 판매되고 있음

표 97. 해외용 품종의 판매 계획

(단위 ; kg)

지역	년도	2011	2012	2013	2014
	품종				
인도	SP92339	-	30	100	100
	NUN0035	500	500	500	500
	SP92606	50	100	200	200
중국	한원 18호	150	200	150	100
	SP19221	100	300	400	500
기타	LAHAB	10	30	50	100
합계		810	1,160	1,400	1,500

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 인도의 품종개발수준은 옹성불임 이용 품종 개발 시작단계임
- 인도에서 문제가 되는 병은 바이러스, 흰가루병이며 총채벌레에 대한 내성품종 요구도가 높음. 글로벌회사는 총채벌레 내성 계통에 대한 연구도 수행중이라는 이야기가 있음
- 중국 시장도 역병과 세균성 반점병의 피해가 증가하고 있으며 이에 대한 저항성 품종의 요구도가 높음
- CMV의 새로운 strain인 CMV-C₁에 대한 저항성 재료가 인도 재래종에 존재함
- 고추의 탄저병 균주는 국가별로 다르며 한국은 *C. accutatum*, 인도는 *C. capsici*, 중국은 *C. accutatum*과 *C. gloeosporioides*이 주요 균주임. 현재 탄저병에 대한 연구는 미진한 상태이며 우리나라는 (주)고추와육종에서 가장 많은 연구를 진행하고 있음
- Post-genome 시대이전 염기 배열 정보를 얻어내는데 약 30억 달러의 돈과 13년의 세월이 투자 되었지만, 현재는 NGS(차세대 계놈 시퀀싱)과 같은 시퀀서의 발달로 인하여 개인당 약 3000달러와 3시간이면 개인 유전체 정보를 얻어 낼 수 있는 시대
- 한 명의 계놈 정보를 파악하기 위해 30억 개의 염기 배열을 30개 내외의 염기배열로 조각내서, 어떤 배열 패턴들이 존재하는지 초기 정보를 추출하면, 그 결과로 약 300 GB ~ 1 TB의 Raw Data가 발생
- 이러한 방대한 양의 바이오 데이터를 대상으로 서열 분석과 같은 정보처리를 위한 고성능 클라우드 컴퓨팅에 대한 연구 및 개발이 진행되고 있음
- Sol Genetic Network는 고추뿐 아니라 토마토, 커피 감자 등에 대한 분자표지 지도를 제공
- Map viewer와 마커에 대한 정보를 제공하고 있지만 그 정보가 매우 미약하며 그 분자마커에 대한 서열, primer에 대한 정보, gel screening image 등에 대한 데이터 미비
- Next generation sequencing의 개발로 인해 단기간에 genome sequencing이 이루어져 SNP의 탐색이 매우 용이해짐에 따라 Genomics를 넘어 functional genomics의 단계로 이어지고 있음
- *de novo* assembly를 gap이 없도록 얼마나 잘하고, 많은 양의 genomic data를 어떻게 활용할 것인가가 중요함. 454, Solexa, SOLiD등의 활용도가 높아져 많은 data들이 이러한 장비를 통해 생산됨
- 'GWAS(Genome-wide association studies)'라는 새로운 흐름의 연구가 진행되고 있으며 많은 연구들이 유전연관지도도를 통해 진행되고 있으므로, 결국 FISH를 통한 physical map이 이루어져야 함
- 비교유전체를 통해 개체간, 염색체간의 유사도를 규명하는 빈도가 높아졌음. NGS data들이 쏟아지면서 비교유전체를 통해 개체간, 염색체간의 유사도를 규명하고 나아가 각 종간의 evolution 연구가 활발하게 진행되고 있음 (예: 그림 1)

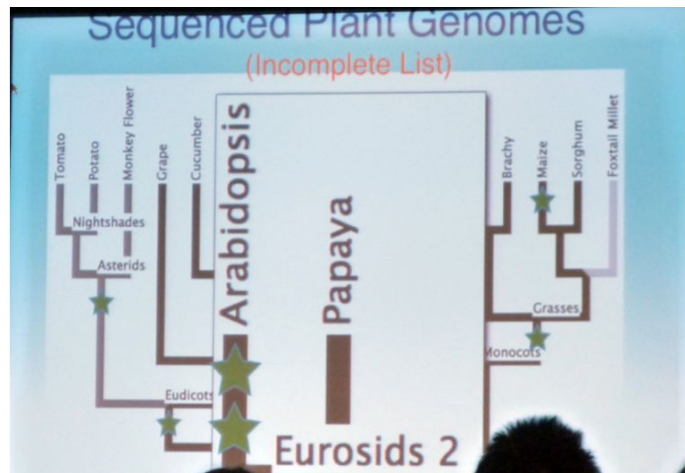


그림. 1 NGS data를 이용한 evolution 연구

- NGS(Next generation sequencing)을 이용하여 whole genome profiling이 여러 작물에서 이용되고 있음. 특히 KeyGene에서 BAC to BAC WGS(Whole Genome Sequencing)를 주도 하고 있음
- 현재 분자육종을 위해서 유전체 연구를 하는데 WGS는 필수요소로 작용하고 있으나 여전히 *de novo* assembly를 gap이 없도록 얼마나 잘하고, 많은 양의 genomic data를 어떻게 활용할 것인가가 중요함
- 생물정보학의 중요성이 크게 자리 잡으며 생물학 전반에 걸쳐 거의 대부분 bioinformatics를 통해서 이루어진 것으로 앞으로 bioinformatic data를 얼마나 잘 이해하고 분석하느냐가 관가름할 것으로 보임. 따라서 생물정보학(Bio-informatics)을 접하지 않고는 더 이상 분자 생물학을 연구할 수 없을 정도로 진행되고 있음
- ‘GWAS(Genome-wide association studies)’를 이용한 MAS를 시작하고 있었으며, cattle의 경우 50K marker를 이용하여 형질분석을 서비스함. 대량분석시스템을 적용하기 위하여 Genotyping에 기존의 HRM(High resolution melting)과 다른 방법의 기기가 개발(Fluidigm EP1) 되었으며, 분석방법도 다양하게 발전하여 더 쉽고 빠르게 data를 확인할 수 있음
- 더 빨리 더 많이 더 적은 돈으로 sequencing을 하기위해 많은 기기들이 소개되고 있으며 특히 polymer 진행시 발생하는 pH의 변화를 이용한 Life technologies사의 Ion Torrent 등의 기기는 더욱 발전된 분석기기로 그 활용가치가 높을 것으로 생각됨 (그림 2)



그림. 2 pH변화를 이용한 새로운 방식의 NGS machine

- 식물산업의 육종분야는 분자마커를 활용한 MAS와 MAB를 넘어 이제 GWS (genome Wide Selection)가 세계적인 추세임. GWS는 QTL mapping 없이 marker-assisted selection 이 가능함. MAS와 GWS를 간략히 비교하면 표 1과 같음

표 1. MTraditional MAS와 Genome Wide Selection의 비교

	Traditional MAS	Genome Wide Selection
Significant markers	do find	do not need
Trait related on	Estimate trait values of significant markers	Estimate trait values of all
Select based on	Select based on significant markers	Select based on all

- 2010년 PAG conference의 화두였던 GWAS가 여전히 중요한 테마임. Sequencing 기술의 발달로 획득한 방대한 양의 염기서열 정보의 활용에 대한 연구가 요구됨. Breeding에서도 MAS는 이제 더 이상 새로운 이야기가 아니며 BGI 등은 작물에 대한 전체 염기서열을 해독함으로써 whole genome을 대상으로 한 marker selection으로 신품종을 개발하는데 소요되는 기간이 2~3년밖에 되지 않는 breeding program들을 개발하고 있음
- 염기서열 정보를 이용해 개발된 SNP 마커는 신품종을 개발하는데 유용함. NGS로 획득된 염기서열 정보들을 이용하여 SNP를 발굴하고 SNP마커를 개발하고, 이렇게 개발된 SNP 마커들은 여러 가지 방법으로 breeding에 적용됨. 형질과 유의적인 관계에 있지 않은 마커를 genome wide selection에 활용하거나 parent line의 evaluation에 의해 mapping이 수행되어 형질연관 gene을 발견하는데 활용됨 (그림 3)

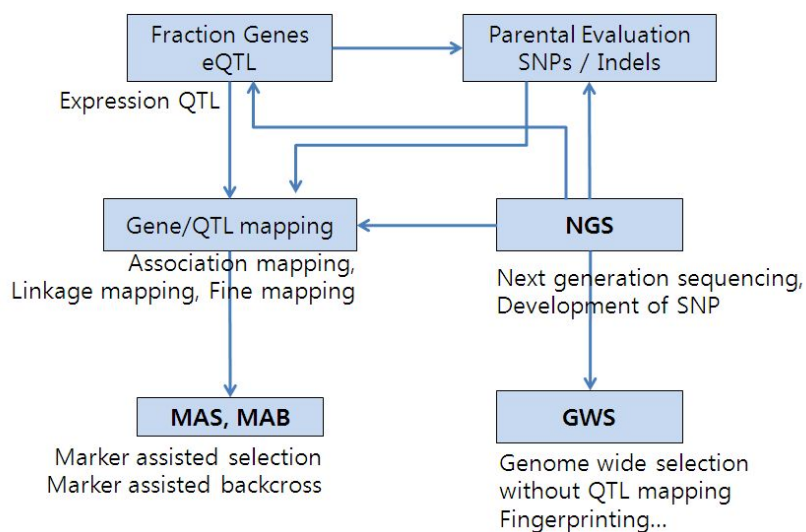
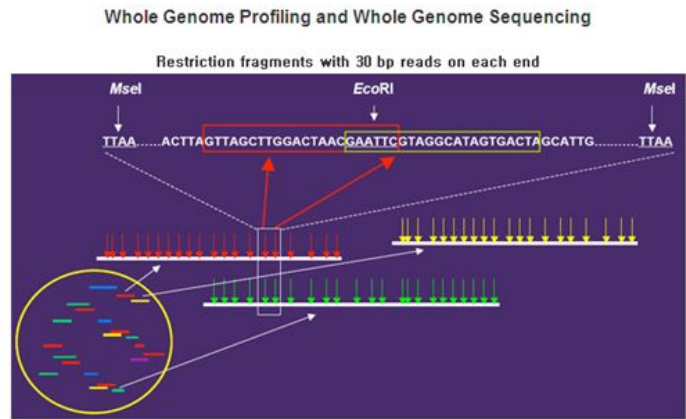


그림 3. 채소육종을 위한 NGS를 통한 SNP 마커 개발의 활용. NGS를 통해 도출된 다양한 정보는 SNP 마커 개발 및 MAS, MAB, GWS 등에 폭넓게 활용되어 육종시스템에 적용됨

- 분자육종에서 가장 두드러진 테마는 Whole Genome Profiling으로 이 기술을 적용하여 양질의 유전자 물리지도를 구축할 수 있으며 이는 기존의 assembly 방식보다 개선된 유전체 배열 assembly를 위한 효과적인 도구임. WGP 기술은 전체 유전체의 조립을 위한 뛰어난 framework을 제공하며 유전자 배열에 기반을 두므로 양질의 유전체 배열을 확립하는데 효과적임 (그림 4)



1. BAC library construction (125 to 175 Kb inserts)
2. BAC clones are cleverly pooled
3. Endonuclease enzyme digestion and tags/labels on the ends
4. Pooled BAC DNA is sequenced with Illumina GAII
5. BAC specific sequence tags, spaced every 2-6Kb are generated (knowledge of entire BAC, not just end sequence)
6. BAC clones are ordered into contigs, using an optimized FPC software program
7. Physical map construction

그림 4. KeyGene의 Whole Genome Profiling

제 7 장 참고문헌

PART I

1. 고추의 고밀도 SSR 유전연관지도와 Comparative Map 작성

- Arnedo-Andres M.S, Gil-Ortega R, 2002. Development of RAPD and SCAR markers linked to the *Pvr4* locus for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum L.*). Theor Appl Genet 105:1067-1074.
- Barchi Lorenzo, Bonnet Julien, Boudet Christine, Signoret Patrick, Nagy István, 2007. A high-resolution, intraspecific linkage map of pepper (*Capsicum annuum L.*) and selection of reduced recombinant inbred line subsets for fast mapping. Genome 50:51-60.
- Blum Eyal, Liu Kede, Mazourek Michael, Young Yoo Eun, Jahn Molly, 2002, Molecular mapping of the *C* locus for presence of pungency in *Capsicum*. Genome 45:702-705.
- Blum Eyal, Mazourek Michael, O'Connell Mary, Curry Jeanne, Thorup Troy. 2003. Molecular mapping of capsaicinoid biosynthesis genes and quantitative trait loci analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. Theor Appl Genet 108:79-86.
- Cheung Foo, Town Christopher D. 2007. A BAC end view of the *Musa acuminata* genome. BMC Plant Biology 7:29.
- Choi Su Ryun, Teakle Graham R, Plaha Prikshit, Kim Jeong Hee, Allender Charlotte J, Beynon Elena. 2007. The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. Theor Appl Genet 115:777-792.
- Gong L, Stift G, Kofler R, Pachner M. 2008. Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo L.* Theor Appl Genet 117:37-48.
- Gupta PK, Rustgi S (2004) Molecular markers from the transcribed/expressed region of the genome in higher plants. Funct Integr Genomics 4:139 - 162
- Huh J.H, Kang B.C, Nahm S.H, Kim S, Ha K.S, Lee M.H, Kim B.D, 2001. A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum spp.*). Theor Appl Genet 102:524-530.
- Kevin D, Livingstone, Vincent K, Lackney, James R, Blauth, Rik van Wijk, Molly Kyle Jahn, 1999. Genome Mapping in Capsicum and the Evolution of Genome Structure in the Solanaceae. Genetics 152:1183-1202.
- Kim DH, Kim BD (2005) Development of SCAR markers for early identification of cytoplasmic male sterility genotype in chili pepper (*Capsicum annuum L.*). Mol Cells 20:416-422.
- Kim Hyoun-Joung, Nahm Seok-Hyeon, Lee Heung-Ryul, Yoon Gi-Bo, Kim Ki-Taek. 2008. BAC-derived markets converted from RFLP linked to *Phytophthora capsici* resistance in pepper (*Capsicum annuum L.*). Theor Appl Genet 118:15-27.

- Konieczny Andrzej, Ausubel Frederick M. 1993. A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *The Plant Journal* 4(2):403-410.
- Kosambi DD (1943) The estimation of map units from recombination values. *Ann Eugen* 12:172 - 175
- Lagercrantz U, Ellegren H, Andersson L. 1993. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differ between plants and vertebrates. *Nucleic Acids Res* 21:1111-1115
- Lee J.D, Yoon J.B, Park H.G, 2008. Linkage analysis between the partial restoration (*pr*) and the restorer-of-fertility (*Rf*) loci in pepper cytoplasmic male sterility. *Theor Appl Genet* 117:383-389.
- Lee J.H, Nahm S.H, Kim Y.M, Kim B.D, 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theor Appl Genet* 108:619-627.
- Livingstone Kevin D, Lackney Vincent K, Blauth James R, Wijk Rik van, Jahn Molly Kyle. 1999. Genome Mapping in Capsicum and the Evolution of Genome Structure in the Solanaceae. *Genetics* 152:1183-1202.
- Luciano Carlos da Maia, Dario Abel Palmieri, Velci Queiroz de Souza, Mauricio Marini Kopp, Fernando Iraja Felix de Carvalho, and Antonio Costa de Oliveira, 2008. SSR Locator: Tool for Simple Sequence Repeat Discovery Integrated with Primer Design and PCR Simulation. *International Journal of Plant Genomics* 412696, 9 pages
- Marek L.F, Mudge J, Darnielle L, Grant D, Hanson N, Paz M, Huihuang Y, Denny R, Larson K, Foster-Hartnett D, Cooper A, Danesh D, Larson D, Schmidt T, Staggs R, Crow J.A, Retzel E, Young N.D, Shoemaker R.C, 2001. Soybean genomic survey: BAC-end sequences near RFLP and SSR markers. *Genome* 44:572-581.
- MINAMIYAMA Y, KINOSHITA S, INABA K, INOUE M. 2005. Development of a cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) marker linked to pungency in pepper. *Plant Breeding* 124:288-291.
- Minamiyama Y, Tsuru M, Hirai M, 2006. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Mol Breeding* 18:157-169.
- Minamiyama Y, Tsuru M, Kubo T, Hirai M, 2007. QTL Analysis for Resistance to *Phytophthora capsici* in Pepper Using a High Density SSR-based Map. *Breeding science* 57:129-134.
- Morgante M, Hanafey M, Powell W (2002) Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nat Genet* 30:194 - 200
- Ogundiwin Ebenezer A, Berke Terry F, Massoudi Mark, Black Lowell L, Huestis Gordon. 2005. Construction of 2 intraspecific linkage maps and identification of resistance QTLs for *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genome* 48:698-711.
- Quirin E.A, Ogundiwin E.A, Prince J.P, Mazourek M, Briggs M.O. 2005. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) primers for the detection of *Phyto.5.2*, a

- major QTL for resistance to *Phytophthora capsici* Leon. in pepper. *Theor Appl Genet* 110:605–612.
- Ritschel Patricia Silva, Lins Cesar de Lima, Tristan Rodrigo Lourenco, Buso Glaucia Salles Cortopassi, Buso Jose Amauri. 2004. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.). *BMC Plant Biology* 4:9.
- Sanwen H, Baoxi Z, Milbourne D, Cardle L, Guimei Y, Jiazhen G, 2000. Development of pepper SSR markers from sequence databases. *Euphytica* 117:163–167.
- Sugita Toru, Yamaguchi Kazunori, Kinoshita Tetsuji, Yuji Kenichi, Sugimura Yukiyo. 2006. QTL Analysis for Resistance to Phytophthora Blight (*Phytophthora capsici* Leon.) Using an Intraspecific Doubled-Haploid Population of *Capsicum annuum*. *Breeding Science* 56:137–145
- Tai Thomas H, Dahlbeck Douglas, Clark Eszter T, Gajiwala Paresh, Pasion Romela, Whalen Maureen C, Stall Robert E. 1999. Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *PNAS* 96:14153–14158.
- Tanksley S.D, Ganai M.W, Prince J.P, Vicente M.C. de, Bonierbale M.W, 1992. High Density Molecular Linkage Maps of the Tomato and Potato Genomes. *Genetics* 132:1141–1160.
- Tanksley Steven D, Bernatzky Robert, Lapitan Nora L, Prince James P. 1988. Conservation of gene repertoire but not gene order in pepper and tomato. *PNAS* 85:6419–6423.
- Thiel T, Michalek W, Varshney R.K, Graner A. 2003. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 106:411–422.
- Thorup. T.A, Tanyolac B, Livingstone K.D, Popovsky S, Paran I, Jahn Molly. 2000. Candidate gene analysis of organ pigmentation loci in the Solanaceae. *PNAS* 97:11192–11197.
- Tomita R, Murai J, Miura Y, Ishihara H, Liu S, Kubotera Y, Honda A, Hatta R, Kuroea T, Hamada H, Sakamoto M, Munemura I, Nunomura O, Ishikawa K, Genda Y, Kaxawaki S, Suzuki K, Meksem K, Kobayashi K. 2008. Fine mapping and DNA fiber FISH analysis locates the tobamovirus resistance gene *L³* of *Capsicum chinense* in a 400-kb region of R-like genes cluster embedded in highly repetitive sequences. *Theor Appl Genet* 117:1107–1118.
- Voorrips RE (2002) MapChart, Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J Heredity* 93:77 - 78
- Voorrips Roeland E, Finkers Richard, Sanjay Lia. 2004. QTL mapping of anthracnose (*Colletotrichum* spp.) resistance in a cross between *Capsicum annuum* and *C. chinense*. *Theor Appl Genet* 109:1275–1282.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, Lee T, van de Hornes M, Frijter A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23:4407–4414.

- Wu Feinan, T Nancy, Eannetta, Xu Yimin, Durrett Richard, Mazourek Michael, M Molly, Jahn, D Steven, Tanksley. 2009. A COS II genetic map of the pepper genome provides a detailed picture of synteny with tomato and new insights into recent chromosome evolution in the gene *Capsicum*. *Theor Appl Genet* 118:1279-1293.
- Yi G.B, Lee J.M, Lee S.H, Choi D.I, Kim B.D, 2006. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. *Theor Appl Genet* 114:113-130.
- Yoo E.Y, Kim S, Kim Y.H, Lee C.J, Kim B.D, 2003. Construction of a deep coverage BAC library from *Capsicum annuum*, 'CM334'. *Theor Appl Genet* 107:540-543

2. 고추육종의 MAS 체계 확립을 위한 분자표지 개발

- Baoxi Zhang., Sanwen Huang, Guimei Yang and Jiazhen Guo. 2000. Two RAPD markers linked to a major fertility restorer gene in pepper. *Euphytica*. 113,155 - 161.
- Barksdale TH, Papavizas GS, Johnston SA. 1984. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Plant Dis* 68:506-509.
- Boslane PW, Lindsey DL. 1991. A seedling screen for phytophthora root rot of pepper, *Capsicum annuum*. *Plant Dis* 75:1048-1050.
- Daskalov, S. 1971. Two new male sterile pepper (*C. annuum* L.) mutants. *CRAcadSciAgricBulg.* 4,291 - 294.
- Feng Hui., Wei Peng, Piao Zhong-Yun, Liu Zhi-Yong, Li Cheng-Yu, Wang Yu-Gang, Ji Rui-Qin, Ji Shu-Juan, Zou Ting, Choi Su-Ryun and Lim Yong-Pyo. 2009. SSR and SCAR mapping of a multiple-allele male-sterile gene in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). *TheorApplGenet.* 119(2),333-9.
- Glosier BR, Ogundiwin EA, Sidhu GS, Sischo DR, Prince JP. 2007. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica*. 62:23-30.
- Guerrero-Moreno A, Laborde JA. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. In:ProcIVth Eucarpia Meeting on *Capsicum*.Wageningen (Netherlands). pp52-56.
- Hanson Maureen R., and Bentolila Ste'phane. 2004. Interactions of Mitochondrial and Nuclear Genes That Affect Male Gametophyte Development. *The Plant Cell*. 16,S154 - S169.
- Hjerdin A., Säll T, Tuveesson S, and Halldén C. 1994. RFLP markers in the genus Beta: characterization of DNA sequences from a Beta vulgaris library. *Genetica*. 92,91-99.
- Huanga Tingyou., Wanga Yuping, Ma Bingtian, Ma Yuqing, and Lia Shigui. 2007. Genetic analysis and mapping of genes involved in fertility of Pingxiang dominant genic male sterile rice. *J Genet Genomics*. 34(7),616-22.
- Hur JM, Lee YS, Kim BS, Cho CH. 1990. Evaluation and inheritance of resistance to phytophthora blight in pepper. *Kor J Plant Pathol*. 6:447-451.
- Hwang BK, Kim YJ, Kim CH. 1996. Differential interactions of *Phytophthora capsici* isolates with pepper genotypes at various plant growth stages. *EuropJPlantPathol*.

02:311-316.

- Jundae Lee., Jae Bok Yoon, Jung -Heon Han, Won Phil Lee, Sang Hoon Kim, and Hyo Guen Rark., 2010: Three AFLP markers tightly linked to the genic male sterility *ms3* gene in chili pepper (*Capsicum annuum*L.) and conversion to a CAPS marker. *Euphytica*. 173,55-61.
- Jundae Lee., J. B. Yoon, J.-H. Han, W. P. Lee, J. W. Do, H. Ryu, S. H. Kim and H. G. Park. 2010. A codominant SCAR marker linked to the genic male sterility gene (*ms1*) in chilipepper (*Capsicum annuum*). *PlantBreeding*. 129,35-38.
- Kim Byung-Soo., Han Jeong-Hye, Joo Young-Sun, and Kim Jeong-Hoon. 2004. Genotyping of the Sources of Resistance to Bacterial Wilt in Pepper (*Capsicum annuum* L.)with Respect to Fertility-Restoring Gene Interacting with MaleSterileCytoplasm. *J.Kor.Soc.Hort.Sci.* 45(1),27-30.
- Kim DongHwan., and Kim Byung-Dong. 2005. Development of SCAR Markers for Early Identification of Cytoplasmic Male Sterility Genotype in Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Mol.Cells*. 20(3),416-422.
- Kim DongSun., Kim DongHwan, Yoo JaeHyoung, and Kim ByungDong. 2006. Cleaved Amplified Polymorphic Sequence and Amplified Fragment Length Polymorphism Markers Linked to the Fertility Restorer Gene in Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Moleculesandcells*. 21(1),135-140.
- Kim HJ, Nahm SH, Lee GR, Yoon GB, Kim KT, Kang BC, Choi D, Kweon OY, Cho MC, Kwon JK, Han JH, Kim JH, Park MK, Ahn JH, Choi SH, Her NH, Sung JH, Kim BD . 2008. BAC-derived markers converted from RFLP linged to *Phytophthora capsici* resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.).*TheorApplGenet*. 118:15-27.
- Kim YJ, Hwang BK .1989. Expression of age-related resistance in pepper plants infected with *Phytophthora capsici*. *Plant Dis*. 73:745-747.
- Kosambi D.D. 1944. The estimation of map distance from recombination values. *Ann Eugen*. 12:172-175.
- Lee CJ, Yoo EY, Shin JH, Lee J, Hwang HS, Kim BD. 2005. Non-pungent Capsicum contains a deletion in the capsaicinoid synthetase gene, which allows early detection of pungency with SCAR markers. *Mol Cells*. 19:262-267.
- Lefebvre V, Palloix A. 1996. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper-*Phytophthoracapsici*Leonian. *TheorApplGenet*. 93:503-511.
- Lu G. Y., Yang G. S, and Fu T. D. 2003. Molecular mapping of a dominant genic male sterility gene *Ms* in rape seed (*Brassica napus*). 262 - 265.
- Lee Jundae., Yoon jaebok, Park hyoguen. 2008. A CAPS marker associated with the partial restoration of cytoplasmic male sterility in chili pepper. *Mol Breeding*. 21:95-104.
- Ma Xiaoding., Xing Chaozhu, Guo Liping, Gong Yangcang, Wang Hailin, and Zhao Yunlei. 2007. Analysis of differentially expressed genes in genic male sterility cotton (*Gossypium hirsutum* L.) using cDNA-AFLP.*J. GenetGenomics*.Jun. 34(6),536-43.

- Martin, J., and J.H. Grawford, 1951: Several types of sterility in *Capsicum frutescens*. ProcAmSocHorticSci. 57,335 - 338.
- MICHELMORE R. W., PARAN I, and KESSELI R. V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc Natl Acad Sci U S A. 1;88(21),9828-32.
- Minamiyama Y, Tsuru M, Kubo T, Hirai M (2007) QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using high density SSR-based map. BreedingSci. 57:129-134.
- Minamiyama Y, Tsuru M, Hirai M. 2006. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. MolBreeding. 18:157-169.
- Oelke LM, Bosland PW, Steiner R. 2003. Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. JAmerSocHortSci. 128:213-218.
- Ogundiwin EA, Berke TF, Massoudi M, Black LL, Huestis G, Choi D, Lee S, Prince JP. 2005. Construction of 2 intraspecific linkage maps and identification of resistance QTLs for *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.).Genome. 48:698-71.1
- Ortega RG, Espanol CP, Zueco JC. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. PlantBreeding. 107:50-55.
- Peng H. F., Chen X. H, Lu Y. P, Peng Y. F, Wan B. H, Chen N. D, Wu B, Xin S. P, and Zhang G. Q. 2008. Fine mapping of a recessive genic male sterility gene (Bnms3) in rapeseed (*Brassica napus*) with AFLP- and Arabidopsis-derived PCR markers. TheorApplGenet. 117(1),11-8.
- Peterson, P.A . 1958. Cytoplasmically inherited male sterility in *Capsicum*. AmerNat. 92,111-119.
- Pochard, E. 1970. Obtaining three new male sterile mutants of pepper (*Capsicum annuum*) through application of mutagenes on monoploid material. Eucarpia (Versailles, France). 93 - 95.
- Quirin EA, Ogundiwin EA, Prince JP, Mazourek M, Briggs MO,Chlanda TS,Kim KT,Falise M,Kang BC,Jahn MM. 2005. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) primer for the detection of Phyto.5.2, amajor QTL for resistance to *Phytophthora capsici* Leon. in pepper. TheorApplGenet. 110:605-612.
- Reifschneider FJB, Boiteux LS, Della Vecchia PT, Poulos JM, Kuroda N. 1992. Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. Euphytica. 63:45-49.
- Reifschneider FJB, Café-Filho AC, Rego AM. 1986. Factors affecting expression of resistance in pepper (*Capsicum annuum*)to blight caused by *Phytophthora capsici* in screening trials. PlantPathol. 35:451-456.
- Shifriss, C. 1997. Male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.). Euphytica. 93,83-88.
- Smith PG, Kimble KA, Grogan RG, Millett AH. 1967. Inheritance of resistance in peppers

- to Phytophthora root rot. *Phytopathology*. 57:377-379.
- Stewart Jr C, Mazourek M, Stellari GM, O'Connell M, Jahn M. 2007. Genetic control of pungency in *C. chinense* via the Pun1 locus. *J. Exp. Bot.* 58, 979-991.
- Sugira T, Yamaguchi K, Kinoshita T, Yuji K, Sugimura Y, Nagata R, Kawasaki S, Todoroki A. 2006. QTL analysis for resistance to Phytophthora blight (*Phytophthora capsici* Leon.) using an intraspecific doubled-haploid population of *Capsicum annuum*. *Breed.sci.* 56:137-145.
- Thabuis A, Palloix A, Pflieger S, Daubeze AM, Caranta C, Lefebvre V. 2003. Comparative mapping of Phytophthora resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserved resistance loci across Solanaceae and for a large genetic diversity. *Theor Appl Genet* .106:1473-1485.
- Thabuis A, Lefebvre V, Bernard G, Daubeze AM, Phaly T, Pochard E, Palloix A. 2004. Phenotypic and molecular evaluation of a recurrent selection program for a polygenic resistance to *Phytophthoracapsici* in pepper. *TheorApplGenet*1. 09:342-351.
- Thorup TA, Tanyolac B, Livingstone KD, Poplvsky S, Paran I and Jahn M. 2000. Candidate gene analysis of organ pigmentation loci in the Solanaceae. *PNAS*. 97:11192-11197.
- Walker SJ, Bosland PW. 1999. Inheritance of phytophthora root rot and foliar blight resistance in pepper. *J Amer Soc Hort Sci.* 124:14-18.
- Williams John G.K., Kubelik Anne R, Livak Kenneth J, Rafalski J.Antoni, and Tingey Scott V. 1999. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 25;18(22),6531-5.
- Woong Yu, L. 1985. Inheritance of cytoplasmic male sterility in pepper (*Capsicum annuum*L.). KyungHeeUniversity, SouthKorea.M.Sc.thesis. 1 - 43.
- Yi GM, Lee JM, Lee SH, Choi DI, Kim BD. 2006. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. *Theor Appl Genet.* 114:113-130.
- 이상준, 박용주, 김홍태, 김병섭. 2010. 국내 고추 역병균의 병원성 분화. *Res. Plant Dis.* 16(2):153-157.

3. 고밀도 유전연관지도 작성을 위한 RIL 육성 및 탄저병 저항성 재료육성을 위한 Introgression 육성

- 김병수(Kim Byung Soo), 박현규(Park Hyoun-Kyu), 이우승(Lee Woo-Sung). 1987. 고추의 두 가지 탄저병균에 대한 저항성 소재 탐색. *국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第5卷 第1號.* page(2): 78-79.
- 김병수(Kim Byung Soo), 박효근(Park Hyoun Kyu), 이우승(Lee Woo Sung). 1987. 고추의 두 가지 炭疽病菌에 對한 抵抗性 素材 探索. *한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY.* 제28권 제3호 page(10): 207-213.
- 김수, 김기택, 채영, Arshad Jamal, 오대근. 2008. 고추 탄저병 병원균 집중 시 과실에서 차별적으로 발현되는 병저항성관련 유전자 탐색. *한국원예학회, 원예과학기술지.* 제26권 별호 2 page(s): 1-8.

- 김정환(Kim J.H), 서진욱(Seo J. U), 황재문(Hwang J. M). 2004. 고추의 생육 및 탄저병 발생에 미치는 친환경 농자재의 영향. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제22권 별호 I.5, page(s): 130-130.
- 김흥태(Heung Tae Kim). 2004. 고추 탄저병균(*Colletotrichum acutatum*)의 동정 및 특성. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제22권 별호II page(10):18.
- 박현규(Park Hyoun-Kyu), 김병수(Kim Byung-Soo), 이우승(Lee Woo-Sung). 1986. 고추의 黑色炭疽病 抵抗性에 關한 研究. 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第4卷 第1號. page(2): 56-57.
- 박현규(Park Hyoun-Kyu), 김병수(Kim Byung-Soo), 이우승(Lee Woo-Sung). 1989. 고추에 있어서 탄저병 저항성의 유전. 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第7卷 第2號. page(7): 28-31.
- 박효근(Park Hyoun Kyu), 김병수(Kim Byung Soo), 이우승(Lee Woo Sung). 1990. 고추에 있어서 炭疽病 抵抗性의 遺傳. 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제31권 제2호 page(7): 91-105
- 박효근(Park Hyoun-Kyu), 김병수(Kim Byung-Soo), 이우승(Lee Woo-Sung). 1990. 고추에 있어서 炭疽病 抵抗性의 遺傳. 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제31권 제3호. 9, page(s): 207-212.
- 배도함(Pae Do-Ham), 윤진영(Yoon Jin-Young), 이정명(Lee Jung-Myung). 1998. 수확과의 高壓噴霧接種에 의한 고추 탄저병 저항성 검정. 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제39권 제6호.12, page(s): 690-692.
- 배도함(Do-Ham Pae), Gniffkei P. A, Wang T. C, 채영(Young Chae), Engle L. M. 2004. 고추 탄저병 저항성의 신재료(*Capsicum annuum*)의 고정화 및 F₁ 조합의 저항성 반응. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제22권 별호 I.5, page(s): 66-66.
- 배도함, 채영, T. C., Wang, Liwayway M., Engle. 2003. Selection of New Breeding Materials with Resistant to Anthracnose in *Capsicum annuum*. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제21권 별호II page(10): 63-63.
- 배도함 (Do-Ham Pae), W. Kraikruan, R.Y. Yang, T.C. Wang, L.M. Engle. 2005. Correlation Between Anthracnose Resistance and Fruit Characteristics of Different Varieties and Different Fruit Ages of Pepper. 한국원예학회, 원예과학기술지, 제23권 별호II.10, page(s): 44-44.
- 송채은, 강훈승, 김영순, 오병준. 2000. Salicylic Acid Protects Pepper Fruit against Anthracnose Fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제18권 제5호. 9, page(s): 700-700.
- 신현주(H. J. Shin), 김용재(Y. J. Kim), 서상기(S. K. Suh), 박효근(H. G. Park). 1995. 탄저병 저항성 고추 품종 육성을 위한 유전자원 탐색. 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第13卷 第2號. page(10): 138-139.
- 윤재복. 2003. Identification of Genetic Resources, Interspecific Hybridization and Genetic Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annuum*) Resistant to Anthracnose. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제21권 별호 I.5, page(s): 120-120.
- 윤재복, 도재왕, 김상훈, 박효근. 2009. Inheritance of Anthracnose (*Colletotrichum acutatum*)

- Resistance in Capsicum Using Interspecific Hybridization 한국원예학회, 원예과학기술지, 제27권 제1호, page(3): 140-144.
- 윤재복(J.B. Yoon), 도재왕(J.W. Do), 이준대(J.D. Lee), 홍지화(J.W. Hong), 양동철(D.C. Yang), 박효근(H.G. Park). 2004. 고추 종간 BC₁ F₁ 집단에 있어서 RAPD와 AFLP 마커를 이용한 탄저병과 흰가루병 저항성에 관한 QTL 분석. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제22권 별호 I.5, page(s): 32-32.
- 윤재복(Jai Bok Yoon), 박효근(Hyo Guen Park). 1998. 접종방법, 접종원의 농도 및 접종과실의 성숙도에 따른 고추 탄저병징의 변화. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제16권 제3호 . page(s): 425-425.
- 윤재복(Jae Bok Yoon), 박효근(Hyo Guen Park). 2001. 고추의 과실탄저병 저항성 검정 방법, 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제42권 제4호.8, page(s): 389-393.
- 윤재복(Jae Bok Yoon), 양동철(Dong Cheol Yang), 도재왕(Jae Wang Do), 박효근(Hyo Guen Park). 2003. 고추 탄저병 저항성 QTL 분석을 위한 *C. annuum*과 *C. baccatum* 종간 BC₁ F₁ 집단 육성. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제20권 제5호.3, page(s): 72-72.
- 윤재복(Jae Bok Yoon), 양동철(Dong Cheol Yang), 박효근(Hyo Guen Park). 2001. 고추 과실 탄저병원균인 *Colletotrichum gloeosporioides*의 분리와 병원성 검정. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제19권 별호 II .10, page(s): 56-56.
- 윤재복(Jae Bok Yoon), 양동철(Dong Cheol Yang), 이원필(Won Phil Lee), 안순영(Soon Young Ahn), 박효근(Hyo Guen Park). 2005. 고추 속에 있어서 탄저병에 대한 저항성 유전자원 선발. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제23권 별호 I page(5): 29.
- 천미건 (Mi-Geon Cheon) , 권진혁(Jin-Hyeuk Kwon), 정선기(Seon-Gi Jeong), 김민근 (Min-Keun Kim), 정병만(Byeong-Mahn Chong) , 강남대(Nam-Dae Kang), 손길만 (Gil-Man Shon), 박창석(Chang-Seuk Park). 2010. 블루베리 탄저병균의 배양 및 병원학적 특성. 한국원예학회, 원예과학기술지. 제28권 제1호.2, page(s): 41-45.
- 최관순(Choi Kwan-Soon), 배도함(Pae Do-Ham). 1987. 고추 耐病性 育種을 爲한 基礎 研究. 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第5卷 第1號. page(2): 82-83.

PART II

- Allard R. W. 1960. Principles of plant breeding. Wiley, New York.
- Baek. U. D. 2008. Multiple utilization of male sterility in capsicum annuum L. and breeding variety using antherless male sterility. Ph.D. Thesis, Chungnam Nam Univ.
- Goldman I.I. 1999. Teaching recurrent selection in the classroom with wisconsin fast plants. HortTechnology. 9 (4):579-584.
- Jahn M, Paran I, Hoffmann K, Radwanski ER, Livingstone KD, Grube RC, Aftergoot E, Lapidot M, Moyer J. 2000. Genetic mapping of the Tsw locus for resistance to the Tospovirus Tomato spotted wilt virus in *Capsicum* spp. and its relationship to the Sw-5 gene for resistance to the same pathogen in tomato. Mol Plant Microbe Interact. . 13(6):673-82.
- Lee Jundae. Linkage analysis between the partial restoration(pr) and the restorer-of-fertility

- Rf) loci in pepper cytoplasmic male sterility. *Theor Appl Genet*. DOI 10.1007/s00122-008-0782-7.
- Lefebvre V, Kuntz M, Camara B, Palloix A. 1999. The capsanthin-capsorubin synthase gene: a candidate gene for the y locus controlling the red fruit colour in pepper. *Plant Mol Biol*. 36(5):785-9.
- Livingstone KD, Lackney VK, Blauth JR, van Wijk R, Jahn MK. 1999. Genome mapping in capsicum and the evolution of genome structure in the solanaceae. *Genetics*. Jul;152(3):1183-202.
- Palloix A., Daubeze A.M., Phaly T. and Pochard E. 1990. Breeding transgressive line of pepper for resistance to *phytophthora capsici* in a recurrent selection system. *Euphytica* 51:141-150, 1990.
- Rao GU, Ben Chaim A, Borovsky Y, Paran I. 2003. Mapping of yield-related QTLs in pepper in an interspecific cross of *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. *Theor Appl Genet*. 106(8):1457-66.
- Tanksley SD, Bernatzky R, Lapitan NL, Prince JP. 1998. Conservation of gene repertoire but not gene order in pepper and tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Sep;85.
- Walker Stephanie J. and Bosland Paul W. 1999. Inheritance of phytophthora root rot and foliar blight resistance in pepper. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*. 124(1): 14-18.
- 권태룡(Tae Ryong Kwon) , 황지은(Ji Eun Hwang), 김혜정(Hye Jung Kim), 장길수(Kil Su Jang) , 권오훈(Oh Hun Kwon), 박상구(Sang Gu Park), 김병수(Byung Soo Kim). 2009. 역병저항성 재래종 고추 ‘영교 7호’ 육성, 한국원예학회, 원예과학기술지, 제27권 별호 2 2009.10, page(s): 162-162.
- 김도현(D.H. Kim), 박호근(H.G. Park). 1995. 복합내병성 고추품종 육성을 위한 역병저항성 유전자원 탐색, 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第13卷 第2號. 10, page(s): 136-137.
- 김병수. 1988. 고추 더닝이병 抵抗性 系統과 疫病 抵抗性 系統의 特性, 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제29권 제4호 page(s): 247-252.
- 김병수, 허종문. 1990. 고추에 있어서 더닝이병과 疫病 抵抗性的 遺傳에 關한 研究, 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제31권 제4호 1990.12, page(s): 350-357.
- 김병수, 황희숙, 김주영, 한정혜. 2001. Additional Sources or Resistance to Phytophthora Blight in Pepper, 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제42권 제3호 page(s): 233-237.
- 김수(Su Kim) , 김동휘(Dong-Hwi Kim), 이성찬(Seong-Chan Lee), 한경숙(Kyung-SookHan), 한유경(You-Kyoung Han), 김기홍(Ki-Hong Kim). 2011. 고추 역병 저항성 조기 검정 방법 개발, 한국원예학회, 원예과학기술지, 제29권 별호 1 2011.5, page(s): 113-113.
- 김수(Su Kim), 채영(Young Chae), 양은영(Eun Young Yang), 김기택(Ki Taek Kim). 2010. 고추 역병 저항성 연관된 공우성 분자표지 개발, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제28권 별호 1 2010.5, page(s): 78-79.

- 김신제(Sin Jae Kim). 2007. 원예작물 특화 사업단의 역할과 전망 - 고추분자마커사업단, 한국 원예학회, 한국원예학회·한국생물환경조절학회 추계임시총회 및 공동학술발표회 자료집 . page(s): 30-30.
- 김정순, 김원일, 지형진, 곽재균, 김정곤, 심창기. 2010. Evaluation of Resistance in Hot Pepper Germplasm to Phytophthora Blight on Biological Assay. 한국원예학회, 원예과학기술지, 제28권 제5호 2010.10, page(s): 802-809.
- 남기웅, 김충희. 1990. 땅콩混植에 의한 고추疫病 防除, 한국원예학회. 韓國園藝學會 論文發表要旨 第8卷 第2號 1990.10, page(s): 60-61.
- 배도함, 윤진영, 이정명. 1997. 切取莖을 이용한 고추 疫病 抵抗性 검정방법 개발, 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제38권 제5호 1997.10, page(s): 474-477.
- 신동현(Dong-Hyun Shin), 윤용희(Yong-Hwi Yoon), 김길웅(Kil-Ung Kim), 정형진(Hyung-Jin Jeong), 이문중(Moon-Jung Lee), 권태룡(Tae-Ryong Kwon), 허봉구(Bong-Goo Hur), 배도함(Do-Ham Bae). 2002. 유전공학기법을 통한 고추역병 저항성 품종 개발 전략, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제20권 제2호. 6, page(s): 168-173.
- 이춘자(Choon-Ja Lee), 이재무(Jae Moo Lee), 이승미(Seung Mi Lee), 김병수 (Byung SooKim). 2008. 라오스 수집 고추의 역병에 대한 저항성, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제26권 별호 .5, page(s): 121-121.
- 이활진(Hwal Jin Lee), 문자영(Ja Young Moon), 김수(Su Kim), 김두욱(Doo Wook Kim), 오대근(Dae-Geun Oh). 2011. 고추 근연종에 대한 역병 저항성 평가, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제29권 별호 2 2011.10, page(s): 113-113.
- 조명철(Myeong Cheoul Cho), 양은영(Eun Young Yang) , 정해봉(Hae Boong Jeong), 채수영(Soo Young Chae) , 채영(Young Chae), 배도함(Do Ham Pae), 고관달(Kwan Dal Ko). 2009. 고추 역병, 풋마름병 저항성 대목용 품종 ‘원강 4호’ 육성, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제27권 별호 2009.5, page(s): 81-81.
- 조정래, 박정춘, 김희규. 1987. 고추묘 植部方法이 疫病 發病에 미치는 影響, 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第5卷 第2號 1987.7, page(s): 32-33.
- 조주성, 강권윤, 안정길, 반채돈. 1984. 接木에 의한 하우스고추의 疫病防除, 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第2卷 第1號. page(s): 40-41.
- 채수영(Soo Young Chae) , 양은영(Eun-Young Yang) , 조명철(Myeong-Cheoul Cho), 최학순(Hak Soon Choi) , 최장선(Jang-Sun Choi) , 정승룡(Seung-Ryong Cheong), Zhi-Hao Xu, Cheng-Hao Zhang. 2010. 고추 역병, 풋마름병 저항성 대목용 품종 개발을 위한 유전자원 평가 및 선발, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제28권 별호2 2010.10, page(s): 74-74.
- 최근원(Geon Won Choi) , 홍지영(Ji Young Hong), 설일환(Li Hwan Sul). 2001. 고추 분자마커의 형질전환 및 Southern 검정, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제19권 별호 I 2001.5, page(s): 79-79.
- 황희숙(Hee-Suk Hwang), 김병수(Byung-Soo Kim). 2002. 고추 역병 저항성 세포질용성불임성 유지계 및 회복계 육성, 한국원예학회, HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY. 제43권 제2호 2002.4, page(s): 143-150.
- 허종문(J. M. Hur), 이용수(Y. S. Lee), 김병수(D. S. Kim). 1987. 고추 역병 저항성의 평가와

저항성의 유전, 한국원예학회, 韓國園藝學會 論文發表要旨 第7卷 第2號. 1989.7, page(s): 26-27.

홍지영(Ji-Young Hong), 최근원(Geun-Won Choi). 2000. 품종보호용 분자마커의 고추 형질전환, 한국원예학회, 원예과학기술지. 제18권 제5호 page(s): 745-745.

PART III

1. 계통 육성 및 품종 개발에 분자마커 분석 지원

Alcantara, T.P. and Bosland, P.W. 1994. An inexpensive disease screening technique for foliar blight of chile pepper seedlings. HortScience. 29(10):1182-1183.

Bai Yuling, Feng Xuehui, Hulst Ron van der and Lindhout Pim. 2004. A set of simple PCR markers converted from sequence specific RFLP markers on tomato chromosomes 9 to 12. MolecularBreeding. 13:281-287.

Chunwongse J., Doganlar S., Crossman C., Jiang J., Tanksley S. D.. 1997. High-resolution genetic map of the Lv resistance locus in tomato. Theor Appl Genet. 95:220-223.

Danesh Dariush, Aarons Sharon, McGill Gail E., and Young Nevin D.. 1994. Genetic Dissection of Oligogenic Resistance to Bacterial Wilt in Tomato. MPMI. 7(4):464-471.

Giovanni Claudio De, Dell'Orco Pasqua, Bruno Angela, Ciccicarese Franco, Lotti Concetta and Ricciardi Luigi. 2004. Identification of PCR-based markers (RAPD, AFLP) linked to a novel powdery mildew resistance gene (ol-2) in tomato. PlantScience. 166:41-48.

Götesson Arvid, Marshall Jerry S., Jones David A., and Hardham Adrienne R. 2002. Characterization and Evolutionary Analysis of a Large Polygalacturonase Gene Family in the Oomycete Plant Pathogen *Phytophthora cinnamomi*. MPMI. 15(9): 907-921.

Kang Won-Hee, Hoang Ngoc Huy, Yang Hee-Bum, Kwon in-Kyung, Jo Sung-Hwan, Seo Jang-Kyun , Kim Kook-Hyung, Choi Doil, Kang Byoung-Cheorl. 2010. Molecular mapping and characterization of a single dominant gene controlling CMV resistance in peppers (*Capsicum annuum* L.). TheorApplGenet. 120:1587 - 1596.

Lafortune Denis and Beramis Michel. 2005. Partial Resistance of Pepper to Bacterial Wilt Is Oligogenic and Stable Under Tropical Conditions. PlantDis. 89:501-506.

Lee Jang-Soo, Lee Keun-Hyang, Kim Yeo-Song, Kang Kwon-Kyoo, Nou Ill-Sup and Hirata Yutaka. 2004. Detection of Individuals Restoring Fertility by DNA Fragment Converted into STS (sequence tagged site) in Red pepper. Korean J. Plant. Res. 7(2) 136-140.

Lee Sang Jun, Park Yong Ju, Kim Heung Tae and Kim Byung-Sup. 2010. The Race Differentiation of *Phytophthora capsici* in Korea. Research in Plant Disease. 16(2):153-157

Mimura Yutaka, Kageyama Tomoko, Minamiyama Yasuhiro and Hirai Masashi. 2009. QTL Analysis for Resistance to *Ralstonia solanacearum* in Capsicum Accession 'LS2341'. Japan.Soc.Hort.Sci. 78(3):307-313.

Minamiyama Yasuhiro, Tsuru Masato, Kubo Takashi and Hirai Masachi. 2007. QTL Analysis for Resistance to *Phytophthora capsici* in Pepper Using a High Density

SSR-based Map. *Breeding Science* 57:129-134.

- Ogundiwin Ebenezer A., Berke Terry F., Massoudi Mark, Black Lowell L., Huestis Gordon , Choi Doil, Lee Sanghyeob, and Prince James P.. 2005. Construction of 2 intraspecific linkage maps and identification of resistance QTLs for *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genome*. 48:698-711.
- Perchepped L., Bardin M., Dogimont C., and Pitrat M.. 2005. Relationship Between Loci Conferring Downy Mildew and Powdery Mildew Resistance in Melon Assessed by Quantitative Trait Loci Mapping. *PHYTOPATHOLOGY*. 95(5):556-565.
- Thoquet Philippe, Oliver Jocelyne, Sperisen Christoph, Rogowsky Peter, Laterrot Henri, and Grimsley Nigel. 1996. Quantitative Trait Loci Determining Resistance to Bacterial Wilt in Tomato Cultivar Hawaii7996. *MPMI*. 9(9):826-836.
- Tran Ngoc Hung and Kim Byung-Soo. 2010. Influence of Temperature, Pathogen Strain, Inoculum Density, Seedling Age, inoculation Method and Varietal Resistance on Infection of Pepper Seedlings by *Ralstonia solanacearum*. *Hort Environ Biotechnol*. 51(2):95-100.

2. 고추분자마커 개발 및 신품종 육성을 위한 병 내병성 생물검정

- Bosland, P. W. and Lindesy, D. L. 1991. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper, *Capsicum annuum*. *Plant Dis*. 75:1048-1050.
- Glosier, B. R., Ebenezer, A. O., Gurmel, S. S., David, R. S. and James, P. P. 2008. A differentil series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica* 162: 23-30
- Hwang, B. K. 2002 Studies of resistance of pepper to phytophthora blight and its control. *Res. Plant Dis*. 8: 131-145
- Kim, B. S. and Kim, J. H. 2003 Evaluation and selection of breeding lines of pepper developed by incorporation of resistance to *Phytophthora capsici* into local cultivars of Gyeongbuk province. *Agric. Res. Bull. Kyungbuk Natl. Univ*. 21: 11-16
- Oelke, L. M. and Bosland, P. W. 2003. Differentiation of race specific resistance to phytophthora root and foliar blight in *Capsicum annuum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*. 128: 213-218
- Ortega, G, Palazon, C. and Zueco, J. C. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* the pepper line 'SCM-334'. *Plant Breed*. 107: 50-55
- 이상준, 박용주, 김홍태, 김병섭. 2010. 국내 고추 역병균의 병원성 분화. *Res. Plant Dis*. 16(2):153-157.

3. 고추분자마커 데이터베이스 및 사업단 웹서버 구축

<http://ko.wikipedia.org/wiki/PHP>

<http://terms.co.kr/parser.htm>

<http://terms.co.kr/database.htm>

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 고추분자마커사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 고추분자마커사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.