

발간등록번호

11-1543000-001664-01

양배추 육종기반 기술 및 소재개발  
(Development of breeding materials and  
techniques for cabbage)

서울대학교 산학협력단

농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청



# 제 출 문

농림축산식품부장관 . 해양수산부장관 . 농촌진흥청장 . 산림청장 귀하

이 보고서를 “GSP” 프로젝트(세부프로젝트 “양배추 육종기반 기술 및 소재개발”)의 보고서로 제출합니다.

2017년 02월 14일

프로젝트 연구기관명 : 서울대학교산학협력단

프로젝트 책임자 : 양태진

1세부프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

세부프로젝트 책임자 : 곽정호

2세부프로젝트 연구기관명 : 순천대학교산학협력단

세부프로젝트 책임자 : 박종인

3세부프로젝트 연구기관명 : 서울대학교산학협력단

세부프로젝트 책임자 : 양태진





## 보고서 요약서

과제고유번호	213003-04-4 -CG400	해 당 단 계 연구 기 간	41개월	단 계 구 분	1/1
연구사업명	단 위 사 업 명	* 채소,원예 : 농식품기술개발(R&D)			
	세부 사업명	Golden Seed 프로젝트			
연구과제명	프로젝트명	양배추 육종기반 기술 및 소재개발			
	세부 프로젝트명 (주관 연구기관 /연구책임자)	1 세부 : 세포융합 및 조직배양 기술을 통한 우량 육종 소재 개발			
		2 세부 : 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재 개발			
		3 세부 : GWAS 분석을 통한 병저항성 양배추 후대 선발법 및 소재 개발			
		서울대학교 산학협력단			
		양태진			
연구책임자	양태진	해당단계 참 여 연구원 수	총: 23 명 내부: 23 명 외부: 0 명	해당단계 연구 개발 비	정부: 1,510,000천원 민간: 0 천원 계: 1,510,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 23 명 내부: 23 명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부: 1,510,000천원 민간: 0 천원 계: 1,510,000천원
연구기관명 및 소속부서명	서울대학교 산학협력단 / 농업생명과학대학 식물생산과학부			참여기업명	조은 종묘, 아시아종묘, 바이오브리딩
위탁연구					
<p><b>1세부</b> : 64종 양배추 형질 조사 및 DB화 계통간 세포질 및 핵 치환 조건 비교 종묘 기업들과 우수 계통 소포자 배양 서비스 수행</p> <p><b>2세부</b> : 국내외 407 품종 수집. 51개가 CMS, 269개가 자가불화합성을 이용해 종자 재종하고 있다는 것 확인 순도 검정용 마커, HRM 마커 개발 EP1 시스템을 이용한 24 chip 개발, 품종 합성에 이용되는 양친을 선발함</p> <p><b>3세부</b> : Brassica Oleraceae 202 계통 중, 40계통을 NGS sequencing 진행 및 유전자 은행 등록 1260만개 snp 발굴 및 분자 육종의 기반에 활용할 수 있는 인프라 구축, GWAS를 수행해 아종간 유연관계 구명 및 계통 식별 마커 개발 검은썩음병저항성, 뿌리혹병저항성 QTL 정보이용해 검정용 마커 개발, 양배추에 특히 많이 증가한 TE 2개를 새로 개발하고, 미니전이인자 반복서열이 배추과 종간, 종내 진화에 미친 영향 분석</p>				보고서 면수	211



# 요 약 문

## I. 과제명: 양배추 육종기반 기술 및 소재개발

## II. 연구성과 목표 대비 실적

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		원종 탐색	유전체 정보 등록	DB 구축	마케팅 전략 추진 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표			2	1	8	2	3			31	15	0		0
연구기간내 달성실적			2	0	11	4	9			121	44	1		2
달성율(%)			100	0	100	100	100			100	100	100		100

## III. 연구개발의 목표

세부과제	목표
제1세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 유전자원 및 상용품종의 원예적 형질 평가</li> <li>○ 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 민간 종묘회사 양배추 자원의 소포자 배양 서비스 제공</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 세포융합 기반 조건 탐색</li> </ul>
제2세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국외 elite 품종으로부터 자식종 선발(66종) 및 종묘회사에 제공</li> <li>○ 양배추 S-genotype 동정용 분자마커 개발(2종)</li> </ul>
제3세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 최근 완성된 양배추 유전체서열정보와 유전지도를 활용하여 농업형질이 다양한 양배추 계통들의 전체 유전체재분석과 비교유전체분석을 수행 고밀도 SNP 마커를 개발하여 범용으로 활용할 수 있는 양배추 분자유종시스템을 구축</li> <li>○ 유전체 재분석이 완료된 계통들에 대해 표현형질을 조사하고 GWAS 분석을 수행하여 농업적으로 유용한 병저항성유전자와 다양한 형질을 결정하는 유전자마커 개발</li> <li>○ 핵내 45S rDNA 및 엽록체유전체를 완전 해독하여 유전적다양성 비교분석 및 종묘회사에서 유용하게 활용될 수 있는 범용 종자순도검정용 마커를 개발 및 보급·지원</li> </ul>

IV. 연구개발 내용

세부과제	연구 내용
제1세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 소포자 배양 후대 고정 계통의 노지 형질 조사               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 12종의 양배추 계통 가을 작기 노지 형질</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 배양 배지 조성, 배양 온도, 전처리 및 후처리 조건 별 배양 효율 비교</li> </ul> </li> <li>○ 민간 종묘회사 양배추 자원의 소포자 배양 서비스 제공               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 아시아종묘, 조은종묘 등의 우수 계통 소포자 배양 서비스</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 세포융합 기반 조건 탐색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 무 유래 신규 MS 후보 계통의 원형질체 융합 기반 조건 설정</li> </ul> </li> </ul>
제2세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내외 시판 elite 품종 및 유전자원 수집</li> <li>○ 양배추의 자가불화합성 인자 <i>SRK</i> 및 <i>SCR/SP11</i> 유전자 동정 및 염기분석</li> <li>○ 주두측 및 화분측 자가불화합성 유전자를 이용한 <i>S</i>-genotype 선별용 분자마커 개발</li> <li>○ 자가불화합성 마커를 이용하여 elite 품종 및 수집된 유전자원들의 자가불화합성 유전자형 분석</li> <li>○ PCR-CAPS법을 이용하여 수집된 elite 품종으로부터 자식종 탐색</li> <li>○ 탐색된 자식종들의 재확인</li> <li>○ 재확인된 자식종의 민간종묘회사에 제공</li> </ul>
제3세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 농업형질이 다양한 양배추 40 계통 선발 및 이에 대한 whole genome sequencing(WGS) (약 6 Gbp) 수행               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내종묘회사 보유 다양한 계통을 활용 (조은종묘 및 아시아종묘 협조)</li> <li>- 농업형질이 다양한 40 계통에 대한 병저항성 및 다양한 농업특성 조사</li> <li>- 양배추 20 계통에 대한 WGS (계통당 10x coverage) 수행</li> <li>- 브로커리, 컬러플라워, 콜라비, 케일, 카일란 각 4계통에 대한 WGS 수행</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 표준유전체 정보를 기본 골격으로 하여 40 계통간 WGS 비교분석을 통하여 분자유종시스템개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 계통간 차이를 보이는 대규모 SNP 마커 개발: 각 염색체별 1,000점 이상, 전체 10,000점 이상</li> <li>- 개발된 SNP의 확인</li> <li>- 다양한 생물정보비교분석</li> <li>- 웅성불임 특성이 도입된 우수 양친계통을 이용한 고밀도 유전지도 기반 대규모 고효율 선발기술 개발 및 육종가 전개집단에 대한 선발 지원</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 계통들의 핵내 및 세포질 게놈 유래 계통 특이 barcoding resource 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 40 계통의 NGS기반 핵내 45S rDNA와 chloroplast genome 완성</li> <li>- 분석에 활용된 40 계통간 조합에서 활용될 수 있는 범용 종자순도검정용 마커 개발</li> <li>- 국내 양배추 품종 육성에 직접 활용이 가능한 400점 이상의 SSR 마커로 구성된 분자 유전지도 구축 및 활용기반 제공</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ WGS 기반 계통별 SNP 정보와 표현형정보의 상관분석을 통한 GWAS 분석으로 우수 농업형질 관련 마커 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 표준유전체 대비 유전자지역 SNP 지도구축</li> <li>- 질적 · 양적형질과 연관된 후보 유전자 및 마커개발</li> <li>- 병저항성 유전자 마커 개발</li> </ul> </li> </ul>
--	--

## V. 연구개발결과

세부과제	결과 요약
제1세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 64종의 양배추 자원의 가을 작기 노지 형질 조사 및 DB화</li> <li>○ 배양 배지 조성, 배양 온도, 전처리 및 후처리 조건 별 배양 효율 비교</li> <li>○ 상이한 특성의 양배추 계통간 세포질 및 핵 치환 조건 비교</li> <li>○ 아시아종묘, 조은종묘 등의 우수 계통 소포자 배양 서비스 수행</li> </ul>
제2세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내에서 판매되고 있는 외국 종자회사의 26개 F1 품종, 일본에서 판매되고 있는 224개의 F1 품종, 중국에서 판매되고 있는 56개의 F1 품종, 유럽에서 판매되고 있는 60개의 F1 품종, 인도 및 방글라데시에서 판매되고 있는 15개의 F1 품종, 베트남에서 판매되고 있는 15개의 F1 품종, 미국에서 판매되고 있는 7개의 F1 품종 등 총 407 품종을 수집하였음</li> <li>○ 수집된 407개의 F1 품종에 대하여 CMS 채종 여부를 확인한 320개의 F1 품종 중 51개의 F1 품종이 CMS를 이용하여 종자를 채종하고 있었으며, 나머지 269개의 F1 품종이 자가불화합성을 이용하여 종자를 채종하고 있다는 것을 확인하였음</li> <li>○ 수집된 407개의 F1 품종에 대하여 class 조합을 확인한 320개의 F1 품종 중 Class I × Class I 조합이 62 품종, Class II × Class II 조합이 58 품종, Class I × Class II 조합이 200 품종이었음</li> <li>○ Class II × Class II 조합으로 이루어진 F1 품종의 순도 검정용 마커 및 class II 자가불화합성 유전자형을 판별할 수 있는 HRM용 마커를 개발하였음. 또한 EP1 시스템을 이용하여 양배추 F1 품종의 순도 검정 및 유전적 고정도를 확인할 수 있는 SNP 24 chip을 개발하였음</li> <li>○ 기 보유 및 새롭게 개발된 마커들을 이용하여 320개 품종으로부터 자식종을 탐색한 결과 109개의 품종으로부터 121개의 자식종을 탐색할 수 있었으며, 이중 14개의 품종으로부터는 품종 합성에 이용되는 양친을 선발할 수 있었음</li> </ul>
제3세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내 육종가들이 양배추 품종육성에 이용하는 고정종 202 육성계통 중 음성불임성, 병저항성, 형태 등 농업형질이 다양한 44계통을 본 연구에 사용하였음: 양배추 20계통, 브로커리, 케일, 콜라비, 콜리플라워 각 5계통, 카이란 3계통, 방울다다기양배추 1계통</li> <li>○ 40계통에 대해 Illumina platform에 의한 NGS sequence를 수행하여 각 계통당 2.6~5.1gb (4~8X 커버리지) 의 whole genome sequence (WGS)를 생산하</li> </ul>

	<p>고 우리나라 유전자은행인 NABIC 생명정보은행에 등록하였음</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기존데이터 포함하여 44계통의 NGS에 대한 종합적인 생물정보분석을 수행하였으며 전체 1,260만개의 SNP를 발굴하였는데, 이중 약 10%는 유전자영역에서 발견되었음</li> <li>○ 1,260만개의 SNP 중 40계통 이상에서 모두 유전자형을 보이는 330만개의 범용 SNP를 발굴하였으며 이들에 대한 제놈브라우저를 구축하여 분자유종 기반에 활용할 수 있는 인프라를 구축하였음</li> <li>○ 330만개의 범용 SNP를 대상으로 GWAS 및 유전다양성 분석을 수행하여 양배추 아종간 진화 및 유연관계를 구명하였고 또한 아종특이 염색체 지역을 발굴하였음</li> <li>○ 44개의 NGS서열을 기반으로 모든 계통의 엽록체와 리보솜유전자 완전장 서열을 완성하였으며 이를 기반으로 아종간 진화기작을 구명하였고 37개의 엽록체변이와 31개의 리보솜유전자 변이를 탐색하였으며 이들을 이용해 계통을 식별하는 HRM 및 gel-based 마커를 개발하였음</li> <li>○ 기존의 연구에서 후보지역으로 선정되었던 검은썩음병저항성과 뿌리혹병저항성 유전지도 및 QTL 정보를 이용하여 실제 검정용 마커를 개발하여 다양한 집단에 검증하였고 뿌리혹병저항성 집단을 이용하여 분석된 GBS기반 고밀도 유전지도를 바탕으로 기존 표준유전체정보의 에러를 수정하는 것을 제안하였음</li> <li>○ 양배추에 특이하게 많이 증가한 전이인자 2개를 새로 개발했고 알려진 주요 반복 서열들과 40종류의 미니전이인자 반복서열 등이 배추과 식물 종간 혹은 종내 진화에 미친 영향 등을 분석하였음</li> </ul>
--	---

VI. 연구성과에 따른 기대성과

세부과제	기대성과
제1세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 주요 양배추 육성 계통의 형질관련 DB 작성 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 소포자 배양 후대 노지 재배 형질 등</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 우수 Doubled Haploid 계통 개발을 통해 양배추 품종 육성 연한 단축</li> </ul> </li> <li>○ 민간 종묘회사 양배추 자원의 소포자 배양 서비스 제공 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 수출용 양배추 품종 육성의 재료의 다양성 확보에 기여</li> </ul> </li> <li>○ 양배추 세포융합 기반 조건 탐색 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 신규 융성불임 양배추 계통 육성 노력을 통해 장기적으로 국내 육성 F<sub>1</sub> 품종의 종자 순도 제고 및 육성가 권리 보장</li> <li>- 무 유래 신규 MS 후보 계통의 원형질체 융합 기반 조건 설정</li> </ul> </li> </ul>
제2세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 수집된 품종들 중에 검은썩음병 저항성 품종 29품종, 시들음병 저항성 품종 64품종, 뿌리혹병 저항성 품종 6품종, 균핵병 저항성 품종 2품종, 노균병 저항성 품종 2품종, 무름병 저항성 품종 8품종들이 수집되었음. 이들 수집된 내병성 품종들은 각각의 병 저항성 분자마커 개발 및 육종 소재로 활용할 계획임</li> <li>○ 본 연구로부터 개발된 육종 소재는 SNP 24 chip을 이용하여 유전적 고정도를 재확인 후 양배추 품종 생산에 활용할 수 있도록 할 예정임</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 본 연구로부터 개발된 순도검정용 마커는 양배추 품종의 순도 검정 서비스에 활용할 것임</li> <li>○ 본 연구로부터 개발된 자가불화합성 유전자형 동정용 마커는 종묘회사들이 보유하고 있는 양배추 계통들의 유전자형 판별에 활용할 것임</li> </ul>
제3세부	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양배추 품종육성 효율증진을 위한 분자유종지원시스템의 사업단 차원 지원 전략</li> <li>○ 글로벌 기업과 경쟁력 향상을 위한 돌파구 제공 - 글로벌 기업의 전문학적인 지원에 대응하여 국내 우수품종의 경쟁력 있는 육종을 위해서는 골든 시드프로젝트와 같이 장기적이면서 안정적인 사업단 차원에서의 지원시스템이 필요함</li> <li>○ 국가적인 분자유종시스템의 안정지원을 통해서만 국내 양배추 품종의 국제경쟁력 확보가 가능하고 수출증대 및 수입대체를 통한 내수시장 기반이 마련될 것임</li> <li>○ GWAS를 이용한 다수의 우수 유전자로부터 형질 형성에 직접 관련되는 유용 유전자를 선발 분자마커로 개발하여 마커 자체가 형질에 연관되는 “trait-targeted” 유전자 마커를 개발 할 수 있을 것임</li> <li>○ 양배추 40 계통의 유전체 정보의 해석 및 분자마커의 개발로 육종회사와 상호작용을 통해 육종에 직접이용하여 글로벌 종자 시장에 신속하고, 정확한 품종을 판별하여 수출할 수 있을 것임</li> <li>○ 양배추 계통들의 핵내(45S rDNA) 및 세포질 게놈(엽록체 DNA)을 활용한 분자마커의 개발로 종자순도검정 및 국내 양배추 계통에 대한 상품화 및 사업화를 과학적이고, 실질적으로 지원할 수 있을 것임</li> <li>○ 양배추 유전체 재분석으로 생산된 데이터를 표준유전체 정보에 통합하여 다양한 형질관련 SNP를 대량 발굴하여 계통에서 우량형질 관련 분자마커를 개발할 수 있을 것임</li> </ul>

## SUMMARY

### (영문요약문)

#### <1세부과제>

There are 2 objects in this study. 1. Building database of traits important in agriculture from major *B. oleraceae* accessions 2. Shortening breeding period by developing doubled haploid accessions and contributing to diversity of breeding materials for export.

We estimated genetic resources of *B. oleraceae* and horticultural traits of accessions in commercial use. As a result, investigation of autumn cropping seasons culture traits and database of 64 *B. oleraceae* accessions resources. Comparison of cultivation efficiency of preconditioning and post conditioning, comparing of cytoplasm and nucleus transfer condition between accessions in different conditions were completed. We also implemented microspore cultivation service of outstanding accessions from Asia seeds and Jooun Seeds company.

#### <2세부과제>

In order to develop domestic varieties to be competitive with foreign varieties, it is necessary to use parents with good traits. Therefore, obtaining the parents having superior traits from the foreign seed companies is very important. The parents collected from overseas could be exploited as the background genetic resource for developing excellent target genotypes. Thus the primary aim would be searching out and collection of breeding materials with elite traits from foreign seed companies with a vision to develop new varieties of cabbage.

In this study, we developed molecular markers for the identification of self-incompatible genotypes and then developed a germplasm with elite cabbage cultivars using those molecular markers.

We have collected 407 commercial hybrid varieties from Korea, Japan, China, Europe, India, Bangladesh, Vietnam and USA. Among 407 F1 cultivars collected, we have tested breeding technique required for seed production of 320 hybrids i.e., whether those hybrids require CMS or self-incompatibility approach to develop seeds. Out of 320 F1 cultivars, 51 required CMS and the remaining 269 F1 cultivars required self-incompatibility approach to follow to develop seeds. Among the 320 F1 cultivars, 62 cultivars had Class I × Class I combination, 58 cultivars had Class II × Class II and the rest 200 cultivars had Class I × Class II combination. Two separate HRM markers, one for purity testing of F1 cultivars with Class II × Class II combination and another for identifying class II self-incompatible genotypes were developed. We also developed SNP 24 chip which can confirm purity and genetic precision of Cabbage F1 varieties using EP1 system. When we utilized all different marker sets out of 320 cultivars 121 homozygous lines were identified, those include 12 homozygous



for both parents.

Among the collected germplasm of 407 cultivars, 29 were resistant to black rot, 64 were resistant to yellows, 6 were clubroot resistant, 2 were sclerotinia resistant, 2 were downy mildew resistant and 8 were resistant to bacterial soft rot. These collected disease-resistant cultivars are planned to be utilized for developing resistant markers against each disease with a view to use those markers in future breeding programs. In addition, the developed markers effectively used in this study will be utilized in various breeding programs.

#### <3세부과제>

This project aimed to build a molecular breeding program by large scale genome sequencing and GWAS analysis in *B. oleracea*. We sequenced 44 *B. oleracea* inbred breeding accessions, including 20 cabbage, 5 for each of broccoli, cauliflower, Kohlabi, and Kale, 3 Kailan, and 1 brussel sprouts. The 44 breeding lines were selected based on the diversity of traits from 202 samples which were provided by several breeding companies. We produced whole genome sequence (WGS) for each of 44 lines up to 2.6~5.1gb (4~8X genome coverage) and registered each WGS into NABIC gene bank, Rural Development Administration. Based on bioinformatics analysis using the cabbage reference sequence, we identified overall 12.6 million SNPs of which 10% are identified from gene regions.

Among the 12.6 million SNPs, we selected 3.3 million SNPs which show genotype information for 40 of 44 breeding lines and build genotype browser for further efficient analysis and providing molecular breeding pipeline. We also conducted kinship analysis using 3.3 million SNPs and further conducted GWAS analysis to find sub-species unique genome regions. From analysis, we identified approximately 3,150 SNPs and 150 InDels which show subspecies unique polymorphism. Among those, we identified several subspecies-unique chromosomal regions which might be responsible for subspecies unique characteristics. We developed gel-based DNA markers to detect QTLs for blackrot resistance and clubroot resistance by application of our previous research.

We also made complete sequence of chloroplast and ribosomal genomes for all 44 breeding lines. Phylogenetic analysis using 3.3 million nuclear genome SNPs, chloroplast genomes and ribosomal genomes revealed the evolution of the subspecies. We also identified 37 and 31 polymorphic marker regions from chloroplast and ribosomal DNA, respectively, which are very useful for protection of breeding lines and also for authentication of each breeding line. We also conducted research to know the impact of major repeats and miniature repeats to understand evolution of Brassica.



CONTENTS  
(영 문 목 차)

Chapter 1 Overview of the project ····· 15

Chapter 2 Domestic and worldwide trends in technology development · 21

Chapter 3 Contents of the project and research results ····· 22

Chapter 4 Achievements and contribution to related fields ····· 194

Chapter 5 Application plan of research results ····· 199

Chapter 6 Information obtained during implementation of the project ·· 209

Chapter 7 References ····· 211

## 목 차

제 1 장	프로젝트의 개요 및 성과목표	15
제 2 장	국내외 기술개발 현황	21
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	22
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	194
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	199
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	209
제 7 장	참고문헌	211

# 제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표

## 1. 연구개발의 목적, 필요성

본 연구는 수입대체 및 수출용 양배추 품종육성을 위한 육종기반 기술 및 소재 개발을 목표로, 조직배양 기술을 통하여 국내외 품종 또는 유전자원으로부터 우량 원종을 선발하여 종묘회사에 제공하고, 양배추 S-genotype 동정용 분자마커를 개발하여 육종효율을 높이며, 최근 완성된 양배추 유전체서열정보와 유전지도를 활용하여 농업형질이 다양한 양배추 계통들의 전체 유전체재 분석과 비교유전체분석을 수행 고밀도 SNP 마커를 개발하여 범용으로 활용할 수 있는 양배추 분자유종시스템을 구축하는 것에 연구목표를 두고 있다. 더불어 유전체 재분석이 완료된 계통들에 대해 표현형질을 조사하고 GWAS 분석을 수행하여 농업적으로 유용한 병저항성유전자와 다양한 형질을 결정하는 유전자마커를 개발함과 더불어 핵내 45S rDNA 및 엽록체유전체를 완전 해독하여 유전적다양성 비교분석 및 종묘회사에서 유용하게 활용될 수 있는 범용 종자순도검정용 마커를 개발 및 보급하는 것을 목적으로 한다.

### ○ 국내 비중 및 세계 시장 규모에서의 위상

- 양배추, 무, 배추, 브로콜리, 유채 등의 배추과 채소류는 국내는 물론 세계적으로도 경제성이 큰 작목(국내 : 25억원, 세계 : 9.3천만불)
- 최근 중국, 인도, 인도네시아 등 신흥 아시아 국가들의 F<sub>1</sub> 종자 시장 규모가 급속히 증가하고 있으며, 다수의 다국적 종묘회사가 경쟁적으로 시장진출을 이루고 있음
- 2011년도 양배추 종자 수출액 : 481.1만불(중국, 263, 인도, 130, 인도네시아 22)
- 지역 별 양배추 시장 규모 : 유럽/북미(5,025만불), 중국(731), 인도(635), 기타 동남아(346)

### ○ 배추과 채소 작물에서 자가불화합성(S.I.) 및 옹성불임성(M.S.)을 이용한 F<sub>1</sub> 종자 육성 기술은 세계적 수준

- 현재 배추과 채소 작물의 육종은 자가불화합성(S.I.)에서 옹성불임성(C.M.S.)으로 전환되고 있으며, 옹성불임 기반 육종기술 보유 유무에 따라 경쟁력이 결정됨
- 현재 배추과 채소 작물의 상업 육종에서는 1960년대 무에서 유래된 Ogura 옹성불임자원을 다른 배추과 작물(양배추, 브로콜리, 청경채, 배추, 유채 등)에 세포융합 기술로 도입한 자원을 사용 중

### ○ 국내 배추과 채소의 병저항성 품종 육성은 초기 단계

- 현재 뿌리혹병, 무름병, 위항병 등의 저항성 품종 개발이 이루어지고 있으나, 병리검정 및 유전양상 구명 등의 기반 기술은 초기 단계로 다국적 기업과의 경쟁력 확보 미흡
- 국외의 경우 배추과 작물에서 세포융합 등의 기술을 이용하여 종.속간 유전물질의 전이를 통해 무름병, 흑부병 등의 형질을 도입한 보고가 있으며, 또한 아연(Zn) 내성, 내한성 등의 환경 내성 형질이 도입된 보고도 있음
- 국내에서는 개발된 고유의 CMS 자원으로는 무 유래의 신규 CMS와 이를 세포융합 등의 기술로 다른 배추과 작물에 도입한 자원 등이 있음

### ○ 배추과 채소 작물의 세대 단축 기술은 신품종 육성 연한 단축의 키워드

- 약배양, 소포자배양, 지방배양 등의 조직배양 기술을 통해 배추과 작물의 순계 확보에 걸

리는 시간 단축이 회사간 신품종 육성의 핵심 기술로 대두

- 전통 육종에서 유용 유전자원 혹은 품종으로부터 자식(Selfing) 등에 의한 순계 분리에는 최소 5년 이상의 시간이 걸리고, 이들 순계로부터 새로운 품종의 조합을 얻기에 다시 2-3년이 소요되며, 최종 지역 적응성 시험 2-3년을 더해 최종 품종 개발에는 최소 7-10년이 필요
- 소포자배양 등의 기술 사용시 우수 자원으로부터 순수계통(double haploid)을 얻는데 1-2년이 소요되어 전통육종 대비 육성 연한을 4-5년 단축 가능
- 국내에서는 이미 양배추, 브로콜리, 무 등의 소포자 배양 기술이 일반화 되어 있으며, 그 효율성의 제고를 통해 수출용 품종 육성에 유용한 기술로 사용될 수 있음
- 배추과 작물에 있어서 자가불화합성은 S-locus라는 단일 유전자 좌에 의해서 조절되며, 이들의 자가불화합성은 S-locus좌에 위치하고 있는 주두측 자가불화합성 인자 *SRK* (S-locus receptor kinase)와 화분측 자가불화합성 인자 *SP11* (S-locus protein 11)/*SCR*의 상호 인식반응에 의하여 자기·비자기를 인식하여 수정이 이루어 짐
- 세계적으로 포자체형 자가불화합성 연구의 재료는 배추과 식물, 특히 배추(*B. rapa*)를 재료로 해서 많은 연구가 진전이 되어 있으며 양배추(*B. oleracea*)를 이용한 자가불화합성 연구도 진전되고 있음
- 이러한 까닭에 배추 및 양배추의 자가불화합성 주두측 유전자인 *SLG* 및 *SRK*, 화분측 유전자인 *SCR/SP11*가 60~70개 정도 동정되어 유전자 은행에 등록되어 있기 때문에 자가불화합성 유전자형 동정용 마커 개발에 활용이 용이함
- 국내 종묘회사에서 보유 중인 매우 많은 양배추 유전자원은 자가불화합성 유전자형이 정확히 분류되어 있지 않음
- 자가불화합성 유전자형을 알지 못하기 때문에 육종현장에서는 육종가가 관행적으로 교배조합을 작성하고 있으므로 교배조합의 범위가 매우 좁음
- 본 연구 과제팀에서 개발하여 보유중인 자가불화합성 유전자형 동정용 마커는 현재 알려진 60~70의 자가불화합성 유전자형을 전부 동정할 수 없으므로 기 보유중인 마커로 자가불화합성 유전자형을 판별할 수 없는 자가불화합성 유전자형 동정 마커 개발과 기 보유 및 새롭게 개발될 마커를 이용하여 국내외 양배추 유전자원의 정확한 유전자형 정보가 필요함
- 또한, 외국 종묘회사(신젠타, 다끼이, 신젠타, 베조 등)들의 양배추 F1종자 채종은 자가불화합성 성질을 이용하여 F1종자를 채종하고 있음
- 국내 개발 품종이 외국 품종들과의 경쟁력을 갖기 위해서는 우량형질을 가지고 있는 양친의 사용이 필수적임. 따라서 외국 종묘회사들의 elite 품종에 이용되고 있는 우량 형질을 보유한 양친의 원종 확보는 우수 품종 개발에 좋은 유전자원으로서 활용 가치가 매우 높음
- 따라서, 현재 본 연구과제 신청팀에서 보유중인 자가불화합성 유전자형 동정용 마커 및 새롭게 개발될 자가불화합성 유전자형 동정 마커를 이용하여 외국 종묘회사들의 elite 품종으로부터 자식종 탐색 및 이용은 신품종 개발에 필요함
- 양배추 연구의 문제점 및 전망
  - 국외 글로벌 기업은 자체적으로 대규모 고효율 분자육종시스템을 구축하였지만 국내에는 아직 미흡한 실정임
  - 양배추에서 유전체 정보를 사용하여 유용 형질에 연관된 새로운 유용자원과 분자마커를 선별할 수 있는 생물정보의 해석은 취약함

- 유전체 연구가 분자유종까지 연계가 되려면 표준유전체해독 뿐 아니라 재분석 연구를 통한 linkage disequilibrium 및 association mapping 또한 중요함.
- 내병성, 내재해성 분자마커 개발 및 유용형질 발굴을 위한 재분석 연구는 다양한 식물에서 진행중에 있음
- 국산 품종의 해외 수출이 활발한 상황으로 사업화 역량은 충분함
- 국내 연구개발의 필요성
  - 품종개발의 경쟁력은 재료와 효율적인 선발을 위한 분자유종시스템의 지원필요
  - 표준유전체 정보가 밝혀진 작물의 경우 대규모 유전체정보를 활용하는 기술이 범용으로 적용되는데 최근 양배추 표준유전체정보가 해독되었으므로 이를 기반으로 하는 유전체 육종기술 및 GWAS 분석을 통한 농업유용형질 개발이 필요함
  - 내충성 및 복합내병성 종자 및 저장성이 우수하고 맛이 좋은 고품질 품종 개발을 통하여 국내 양배추 종자 시장 기반 확립 및 수출 맞춤형 품종 개발을 위한 특정 형질을 과학적이고, 신속하게 선발 할 수 있는 분자 마커 개발이 필요
  - 엽록체 및 45S rDNA 염기서열의 다형성을 활용하여 종자순도검정 시스템 개발로 정확한 계통검증 절차 구축이 필요
  - 우수한 양배추 전통육종기술을 분자유종기술과 접목하여 품종육성기간의 단축 필요
  - 유전체 정보를 육종 현장에 실용화하기 위해서는 공공기관과 민간기업의 참여로 적극적으로 상업화할 수 있도록 지원할 필요가 있으며, 이를 실질적, 체계적으로 연계할 수 있는 분자유종시스템 확립이 필요함

## 2. 연구 범위

### 제 1세부: 세포융합 및 조직배양 기술을 통한 우량 육종 소재 개발

- 양배추 소포자 배양 후대 고정 계통의 노지 형질 조사
  - 12종의 양배추 계통 가을 작기 노지 형질
- 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색
  - 배양 배지 조성, 배양 온도, 전처리 및 후처리 조건 별 배양 효율 비교
- 민간 종묘회사 양배추 자원의 소포자 배양 서비스 제공
  - 아시아종묘, 조은종묘 등의 우수 계통 소포자 배양 서비스
- 양배추 세포융합 기반 조건 탐색
  - 무 유래 신규 MS 후보 계통의 원형질체 융합 기반 조건 설정

### 제 2세부: 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재 개발

- 양배추의 유전자원 수집
  - 종묘회사에서 수집·보유중인 양배추 유전자원 분양(종묘회사, 국립유전자원 센터 등)
  - 해외 시판중인 양배추 F1 품종 수집(특히 elite 품종을 우선적으로)
- 양배추 F1 품종 육성을 위한 자가불화합성 유전자형 동정용 분자마커 개발
  - 주두측 자가불화합성 유전자형 동정법 확립
    - 양배추의 주두측 자가불화합성 유전자 정보수집(GeneBank 이용)
    - 종묘회사에서 수집·보유중인 양배추 유전자원 분양

- 양배추의 *SRK* 유전자 cloning 및 *SRK* 유전자의 염기서열 결정
- PCR-CAPS 마커 개발 및 주두측 *S*-allele의 특이적 제한효소 선발
- 국내 육성 양배추의 모든 계통 및 품종 수집
- 자가불화합성 인자형 결정(*SRK*) 및 개발된 *S*-genotype 마커의 유용성 검증
- PCR-CAPS법을 이용한 소재개발
  - 수집된 elite 품종 파종(400립/품종)
  - 유묘기의 잎으로부터 DNA 추출
  - 자가불화합성 마커를 이용하여 elite 품종들의 자가불화합성 유전자형 분석
  - PCR-CAPS법을 이용하여 elite 품종으로부터 자식종 탐색
- 탐색된 자식종들의 재확인
  - 탐색된 자식종들 간 교배 및 종자 수확
  - 수확된 종자의 파종 및 시판 품종들과의 형질비교
- 재확인된 자식종의 민간종묘회사에 제공

### 제 3세부: GWAS 분석을 통한 병저항성 양배추 후대 선발법 및 소재 개발

- 농업형질이 다양한 양배추 40 계통 선발 및 이에 대한 whole genome sequencing(WGS) (약 6 Gbp) 수행
  - 국내종묘회사 보유 다양한 계통을 활용 (조은종묘 및 아시아종묘 협조)
  - 농업형질이 다양한 40 계통에 대한 병저항성 및 다양한 농업특성 조사
  - 양배추 20 계통에 대한 WGS (계통당 10x coverage) 수행
  - 브로커리, 컬리플라워, 콜라비, 케일, 카일란 각 4계통에 대한 WGS 수행
- 양배추 표준유전체 정보를 기본 골격으로 하여 40 계통간 WGS 비교분석을 통하여 분자유종 시스템개발
  - 계통간 차이를 보이는 대규모 SNP 마커 개발: 각 염색체별 1,000점 이상, 전체 10,000점 이상
  - 개발된 SNP의 확인
  - 다양한 생물 정보 비교 분석
  - 옹성불임 특성이 도입된 우수 양친계통을 이용한 고밀도 유전지도 기반 대규모 고효율 선발기술 개발 및 육종가 전개집단에 대한 선발 지원
- 양배추 계통들의 핵내 및 세포질 게놈 유래 계통 특이 barcoding resource 개발
  - 40 계통의 NGS기반 핵내 45S rDNA와 chloroplast genome 완성
  - 분석에 활용된 40 계통간 조합에서 활용될 수 있는 범용 종자순도검정용 마커 개발
  - 국내 양배추 품종 육성에 직접 활용이 가능한 400점 이상의 SSR 마커로 구성된 분자 유전 지도 구축 및 활용기반 제공
- WGS 기반 계통별 SNP 정보와 표현형정보의 상관분석을 통한 GWAS 분석으로 우수 농업형질 관련 마커 개발
  - 표준유전체 대비 유전자지역 SNP 지도구축
  - 질적 · 양적형질과 연관된 후보 유전자 및 마커개발
  - 병저항성 유전자 마커 개발



### 3. 연구성과 목표 대비 실적

성과지표 구분		단위	1년차		2년차		3년차		4년차		최종		
			목표	실적	목표	실적	목표	실적	목표	실적	목표	실적	
과학 기술적 목표	품종 개발	국내 출원											
		국내 등록											
		국외 출원											
		품종생산수입 관매신고											
	국내 특허	출원			1	0	1	1	0	(1)	2	1	
		등록							1	0	1	0	
	국제 특허	출원					0	1			0	1	
		등록											
	논문	SCI	건	1	1	1	3	2	5	3	2(4)	7	11
		비SCI				1	1	1			2	2	3
	학회 발표	국내		2	1	1	6	3	7	2	0	8	14
		국제			4	2			5	2	2	4	11
		품종 지역적응성 검정											
		무독묘 품종생산											
		무독묘 원종주수											
		반수체 유래계통											
		계통선발											
		계통세대단축	점										
		생산량 검정											
		중간모본 육성											
		원종탐색	건	10	19	7	30	7	32	7	40	31	121
		분자마커 개발		0	3	1	2	1	4	1	0	3	9
		마커분석											
		분자마커 지원	점										
		bioassay 건수	건										
		유전자원 등록											
		유전체정보 등록				5	0	5	0	5	44	15	44
		유전자지도집단 등록											
		유전자원수집 및 분양											
		primer 탐색											
	기반구축												
	분리집단 육성												
	분리집단 적용												
	DB 구축								0	1	0	1	
	핵심집단 구축												
	협력관계 구축	건											
	현장평가회												
	전시포 개설 수												
	전시포 설명 횟수												
	품종특성설명회, 평가회												
	조직배양												
	민간서비스(batch)												
	비대칭세포융합체 민간제공												
	우수교배친 동질사배체 양성												

성과지표 구분		단위	1년차		2년차		3년차		4년차		최종	
			목표	실적	목표	실적	목표	실적	목표	실적	목표	실적
	유전자원도입 격리재배											
	병리검정											
	기본식물 생산	만구										
	자구 생산											
	중구 생산											
	개화구 생산	친구										
	중구증식											
	원균 중균 관리	건										
	중균 용기 개발											
	중균 배지 개발											
	중균배양 환경관리시스템											
	기능성평가											
	성분검정											
	성과관리시스템											
산업 경제적 목표	수입 대체 효과	품명	%									
		국내종자매출액	백만원									
	종자수출액	만불										
환경적 목표	시장조사보고서	건										
	정책조사보고서											
	인력양성				1		1			0		2

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 전세계적으로 배추에 대한 연구는 많이 진행되고 있으나 배추 종자공급은 주로 신젠타, 몬산토, 다끼이, 사카타 종묘 등에서 종자공급을 하고 있고 지속적인 연구개발비의 투자로 기술 수준 또한 상당히 진전됨.
- Sakata, Syngenta 등의 일본계 종자 회사들은 분자마커 및 병리등의 기술 접목으로 복합 내병성 및 고품질 중국용 배추 품종 개발을 진행하고 있으며, 품종 육성의 효율화를 시도하고 있음.
- 현재 배추 육성프로그램은 전통교배 육종방법을 이용함. 특히 자가불화합성 (Self-Incompatibly)을 이용하여 대부분의 품종을 개발하고 있으나 최근 옹성불임성(Male Sterility)을 이용한 육종방법이 활발히 연구되어 MS를 이용한 품종이 상업화 되고 있음.
- 최근 전 세계적으로 유전체연구가 활발히 이루어지고 있으며 이러한 첨단기술을 실제 육종방법에 적용하여 육성연한 단축, 내병성육종 및 종자순도검정에 적용을 하고 있음.
- 우리나라는 일찍이 흥농, 서울종묘 등이 배추 육성을 개시하여 이제는 안정된 육성기반을 구축함.
- 일부 국내 종자회사에서는 뿌리혹병, 노균병, TuMV 등 병 저항성 마커와 MS, SI등의 분자마커를 실제 육종에 활용되고 있으나 개인육종가 및 소규모 육종회사들은 아직까지 전통 육종에 의존하고 있는 실정
- 양배추 유전체 국외 연구 현황
  - 양배추는 인간에 유익한 여러 영양소가 함유되어 있어 세계적으로 소비가 점점 늘어나고 있음
  - 양배추는 세계적으로 2,084천 ha에서 재배되는 글로벌 작물로 중국이 약 70만ha로 가장 크며, 인도 (20만 ha) 및 유럽(20만 ha)의 재배 면적이 많음 전체 생산량은 약 60 백만톤에 달함
  - 중국 및 캐나다에서 양배추 육종을 위한 유전체 및 분자육종 연구가 활발히 진행 중임
  - 양배추 유전체는 630~696 Mbp 정도로 알려져 있으며, 최근 표준 유전체 분석이 중국 BGI (Beijing Genome Institute)와 캐나다 그룹에서 염기서열 해독완료 및 논문투고 중에 있음
- 양배추 유전체 국내 연구현황
  - 국내 양배추 종자 품종 국산화율은 10% 미만으로 중국, 인도 등 아시아지역의 종자가격은 아직 낮은 수준이나 재배면적과 가격 상승으로 향후 시장성장성이 높음
  - 배추과 작물의 국내 기술수준은 세계 최고수준이나, 양배추 종자의 육종소재는 부족함
  - 국내 기업 중 일부는 시장선도 제품을 보유하고 있으며 이를 바탕으로 연간 20톤 규모의 수출 실적을 보이고 있음

# 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

## 1. 연구범위 및 연구수행 방법

세부 과제	연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
제 1세부	- 양배추 소포자배양 후대의 원예적 형질 평가	- 12종의 양배추 소포자 후대 계통의 가을작기 노지형질 조사 및 DB화	- 구중, 구형, 초장, 엽색, 밑동모양, 구형지수, 고갱이 길이, 수확기, 재포성 등의 형질 조사 및 DB화
	- 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색	- 배양 배지 조성, 배양 온도, 전처리 및 후처리 조건 별 배양 효율 비교	- 비타민, 무기염류, 호르몬 등의 농도 및 heat/cold shock 처리에 따른 배발생 효율 비교
	- 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색	- 아시아종묘, 조은종묘 등의 우수 계통 소포자 배양 서비스 수행	- 아시아종묘 : 5계통 30개체 - 조은종묘 : 6계통 15개체
	- 양배추 세포융합 기반 조건 탐색	- 상이한 특성의 양배추 계통간 세포질 및 핵 치환 조건 비교	- 원형질체 전처리, 세포융합의 전류, 버퍼, 융합 후 세포 재생 배지의 조성 등
제 2세부	주두측 자가불화합성 유전자형 동정용 마커 개발	- 양배추의 주두측 자가불화합성 유전자 정보수집 - 수집된 정보를 이용한 <i>SRK</i> 유전자 증폭용 primer 설계 - 종묘회사 및 유전자원센터에서 수집·보유중인 양배추 유전자원 분양 - 종자파종 및 재배 후 시료채취 - 다양한 S 유전자형 동정	- 주두측 자가불화합성 유전자형 동정용 마커를 개발하기 위하여 유전자은행(NCBI)에 등록된 다수의 배추 및 양배추 주두측 자가불화합성 인자인 <i>SRK</i> 유전자의 정보를 수집하여 <i>SRK</i> 유전자 증폭용 primer를 설계 - 설계된 <i>SRK</i> 유전자 증폭용 primer를 이용한 PCR 증폭 - 양배추의 <i>SRK</i> 유전자 cloning - <i>SRK</i> 유전자의 염기서열 결정 - 양배추 S-genotype간 특이적 <i>SRK</i> 유전자 primer 선발 - 새로운 PCR-CAPS 마커 개발 - 주두측 S-allele의 특이적 제한효소 선발 - 개발된 S-genotype 마커의 유용성 검정 - 양배추의 다양한 S 유전자형을 확보하기 위하여 종묘회사 및 유전자원센터에서 수집·보유중인 양배추 유전자원을 최대한 분양·파종 및 시료 채취 - 다양한 S 유전자형 동정
	PCR-CAPS법, HRM, EP1 시스템을 이용한 elite 품종의 자식종 탐색	- 국외 시판 F1품종 수집 - 파종 및 재배 - 시료채취 및 DNA 추출	- 국내에서 시판되고 있는 외국회사 양배추 품종 및 일본에서 시판되고 있는 양배추 품종을 중점적으로

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 음성불임 채종 여부 확인</li> <li>- 기 보유중인 자가불화합성 마커를 이용하여 elite 품종으로부터 자식종 탐색</li> <li>- 탐색된 자식종의 자가불화합성 유전자형 결정</li> </ul>	<p>로 수집하여 수집된 품종 당 1차적으로 200립을 파종하여 DNA를 추출하여 실험을 수행</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 수집된 양배추 품종들의 종자가 CMS를 이용한 채종 종자이면 자식종을 선발하기 어려우므로 자가불화합성 또는 CMS 채종 여부를 기 보유중인 음성불임 구별 마커를 이용하여 확인</li> <li>- 자가불화합성을 이용하여 채종한 품종들은 PCR-CAPS법을 이용하여 자식종 선발</li> <li>- 자가불화합성을 이용하여 채종한 Class II 조합 품종들은 HRM용 마커를 이용하여 자식종 선발</li> <li>- 자가불화합성을 이용하여 채종한 품종들 중 순도가 높아 자식종을 찾기 어려운 품종은 600립 정도를 파종하여 대량으로 분석할 수 있는 EP1 system을 이용하여 자식종 선발</li> <li>- 선발된 자식종들은 자가불화합성 유전자형을 결정</li> </ul>
	○ 탐색된 자식종들의 종자 수확 및 민간종묘회사에 제공	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 탐색된 자식종들의 재배 및 종자 수확</li> <li>- 수확된 종자를 민간종묘회사에 제공</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 탐색된 자식종자들은 비닐하우스에서 일정기간 생육시킨 후 80-90일 정도 저온처리(4°C 정도)하여 개화를 유도 시킴</li> <li>- 개화가 유도된 자식종 식물체는 어린 꽃봉우리를 이용하여 자가수분 시킴 (뇌수분)</li> <li>- 종자 수확</li> </ul>
	○ 양배추 순도 검정용 마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- dCAPS 마커를 EP1용으로 전환</li> <li>- EP1용 probe 작제 및 EP1 수행</li> <li>- 양친 및 F1 구별 마커 선발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 제 1세부과제로부터 95개의 dCAPS 마커 분양</li> <li>- 종묘회사로부터 양친 및 이들 양친을 이용한 F1조합 시료 분양</li> <li>- EP1 system용 프라이머 제작</li> <li>- EP1 system용 probe 제작</li> <li>- EP1 수행</li> <li>- 양친 및 F1 구별 마커 선발</li> <li>- 양배추 순도검정용 24 chip 개발</li> </ul>
제 3세부	농업형질이 다양한 40 계통에 대한 병저항성 및 다양한 농업특성 조사	- 국내 종묘회사 및 기관에서 양배추를 포함한 여러 아종에 해당하는 많은 계통들을 수집	. 아시아종묘, 조은종묘, 바이오브리딩, 국립원예특작과학원 협조 (양배추 125계통, 콜라비 12계통, 브로콜

		리 20계통, 케일 12계통, 적색양배추 9계통, 카이란 6계통, 콜리플라워 17계통, 방울다다기 1계통)
농업형질이 다양한 양배추 40 계통 선발 및 이에 대한 whole genome sequencing(WGS)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 양배추 종내 여러 아종을 포함하여 40계통을 선발하여 (1차년도 10계통, 2차년도 30계통) whole genome resequencing 수행</li> <li>- 생산된 데이터들을 통해 생물정보분석 실시</li> <li>- 완성된 서열들의 비교분석을 통해 염기서열 변이 지역을 동정하고 활용가능성이 큰 지역에 대해서는 마커로 제작</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. 양배추 16계통 및 콜라비 5계통, 브로콜리 5계통, 케일 5계통, 카이란 3계통, 콜리플라워 5계통, 방울다다기 1계통씩 총 40계통에 대해서 resequencing 수행</li> <li>. 2.6~5.1 Gb에 해당하는 데이터 생성(3.8x~7.5x coverage)</li> <li>. 40 계통에서 153,361 ~ 153,382 bp에 이르는 complete chloroplast genome 염기서열의 완성</li> <li>. 계통간 비교분석을 통해 계통간 다양성을 보이는 18지역의 엽록체 유전체 variance 지역, 20지역의 45S rDNA variance 지역을 발견하였으며, 이 중 엽록체 기반 마커 제작 (4개의 계통 특이마커 개발)</li> <li>. 양배추 2계통 미토콘드리아 염기서열 분석 실시</li> <li>. 1x coverage양의 NGS데이터로 양배추 두 major repeat (centromeric repeat과 subtelomic repeat)에 대한 정량, 정성, 비교유전체 분석 기반 완성</li> <li>. 분석에 활용된 40 계통간 조합에서 총 35군데의 염기서열 변이를 동정하여 이 중 하나의 계통에 특이적인 변이 지역에서 활용될 수 있는 범용 종자순도 검정용 마커 개발</li> <li>. 40 계통 resequencing data들의 유전체 정보 등록 및 계통 구분 엽록체 기반 특이마커들에 대한 특허출원을 준비중</li> </ul>
선행연구에서 수행했던 양배추 흑부병 저항성 연관 연구에 대한 추가 분석	- 선행연구에서 동정한 흑부병 저항성 연관 QTL 지역에 양배추 reference 서열 기반 후보유전자 탐색	. 캐나다에서 완성한 양배추 표준유전체 염기서열에서 동정된 흑부병저항성 QTL에 해당하는 지역에 대해서 NBS-LRR 도메인을 포함하는 21개의 후보유전자 탐색.
Genotyping-by-sequencing 기술기반 양배추	- 선행연구에서 실시한 GBS 데이터의 실질적 분석 실시	. 뿌리흑병에 각각 저항성과 이병성인 모부분 계통간 18,000여개의

<p>뿌리혹병 저항성 심화연구</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 뿌리혹병 저항성 연관 QTL 지역 동정</li> <li>- 중국 BGI에서 완성한 양배추 reference genome 서열의 개선</li> </ul>	<p>SNP 발굴.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>. 4,103개의 GBS-SNP 마커에 대한 F2 개체들의 genotyping 결과를 얻어내어 유전자지도 작성</li> <li>. 9개의 연관군으로 이루어져 있고, 전체 879.9 cM, 평균 마커 interval이 1.15cM인 고밀도의 유전자지도 작성</li> <li>. race 2와 9에 해당하는 연천, 강릉군주에 대한 병리실험 결과와 연계하여 2번과 3번 염색체에서 저항성 QTL 지역 동정</li> <li>. DNA Research에 게재</li> <li>. 총 40군데의 mis-allocated scaffold 지역들을 탐색하여 이들의 실제 위치를 찾아 표준유전체 염기서열을 개선할 수 있는 정보 발굴</li> </ul>
<p>양배추 표준유전체 정보를 기본 골격으로 하여 40 계통간 대규모 SNP 탐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Whole genome sequencing (WGS) 수행으로 생산된 data들을 활용하여 Canada 그룹에서 완성한 reference genome을 기본 뼈대로 삼아 9개 염색체 전반에 걸친 대규모 SNP 탐색</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. 계통간 차이를 보이는 대규모 SNP 마커 개발: 각 염색체당 약 100만개의 SNP 지역, 전체 1200만개의 SNP들을 발굴</li> <li>. 개발된 SNP를 활용하여 계통간 유연관계 및 다양한 생물정보비교분석</li> <li>. 모든 40개 계통에 대한 SNP 밀도변이 지역에 대한 탐색과 이를 아종간 형태학적 다양성과 연계하는 분석 수행</li> </ul>
<p>뿌리혹병 및 검은썩음병 분자마커 개발 및 실증</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 뿌리혹병 저항성 연관 주동QTL 지역내 GBS 마커들을 제작하여 다양한 양배추 계통을 대상으로 맹검시험을 실시</li> <li>- 검은썩음병 저항성 연관 주동QTL 지역내 마커들을 활용하여 다양한 양배추 계통을 대상으로 맹검시험을 실시</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>.. CRQTL-C2_GN1, CRQTL-C3_GN2(YC) 두 QTL 지역에서 가장 높은 LOD값을 보이는 SNP 지역에서 각각 한 개씩의 dCAPS 마커를 제작하여 양배추 24개체에 대해 맹검시험을 실시</li> <li>. 병리검정을 통해 표현형 검사가 끝난 7개체에서 100%의 일치율을 확인</li> <li>. QTL 지역과 판별마커 활용 내용으로 특허 출원을 준비중</li> <li>. 검은썩음병 저항성 주동 QTL BRQTL-C1_1, 2 두 지역에서 가장 높은 LOD값을 보이는 6개의 마커를 활용하여 양배추 24개체에 대해 맹검시험을 실시</li> <li>. 24개체 중 22개체에 대해 genotyping과 phynotyping 결과</li> </ul>

			가 일치하는 것을 확인 . QTL 지역과 판별마커 활용 내용으로 특허 출원이 진행중
WGS 기반 계통별 SNP 정보와 표현형 정보의 상관분석을 통한 GWAS 분석으로 우수 농업형질 관련 마커 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 표준유전체 대비 유전자지역 SNP 지도구축</li> <li>- 다양한 성분분석을 통해 질적·양적형질과 연관된 후보 유전자 및 마커개발</li> <li>- 양배추내 아종 특이 형태학적 다양성 연관 후보 유전자 지역 동정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. 9개 염색체 전반에 걸쳐 동정한 SNP 지역들의 정보를 기반으로 web형식의 database 구축 (<a href="http://www.phyzen.co.kr:8080/GWASBrowser/index.html?name=Boleracea_FF">http://www.phyzen.co.kr:8080/GWASBrowser/index.html?name=Boleracea_FF</a>)</li> <li>. SNP database에서 원하는 조건에 부합하는 SNP들의 정보만을 GAPIT 5프로그램을 통한 GWAS 분석이 가능한 양식으로 추출할 수 있는 시스템 구축</li> <li>. 형태학적으로 다양한 아종들에 특이적인 SNP 및 InDel 지역 동정</li> </ul>	
핵 genome내 발굴한 SNP 지역 및 엽록체 기반 마커들의 활용성 육종가에 대한 지원 시스템 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2세부와의 협력을 통해 유용 SNP 지역 선발 및 여교배 선발 SNP chip 개발 및 지원</li> <li>- 엽록체 염기서열 변이기반 계통 특이 추가 마커의 제작 및 실증 연구와 특허 및 논문작성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. 동정된 SNP들 중 범용 SNP chip을 위한 약 12만 5천여개의 SNP들을 선발</li> <li>. 이후 eu-chromatin과 hetero-chromatin 지역에 따른 차별적 density로 SNP 선발하여 염색체당 300여개의 SNP 선발하여 정보를 2세부 순천대학교에 제공</li> <li>. 44계통 엽록체 서열 비교분석을 통해 동정했던 35지역의 염기서열 변이 지역 동정 및 계통 특이마커의 활용에 대한 내용으로 특허출원 진행중</li> </ul>	
- NGS 이용 MITE TE display 확립 및 대규모 삽입변이 마커 개발	- 배추과 식물들 유전체내에서 MITE의 삽입 여부로 나타나는 대규모 다형성 발굴 기술 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>. MITE 삽입지역만을 증폭시킨 DNA들을 NGS로 sequencing을 수행하여 종간, 종내 삽입여부에 따른 다형성을 확인하는 대규모 display 기술 확립</li> <li>. BraSta1삽입 변이지역 127지역 발굴</li> <li>. BraSta2 삽입 변이지역 69지역 발굴</li> </ul>	

## 2. 연구수행 결과



## 제1세부 : 세포융합 및 조직배양 기술을 통한 우량 육종 소재 개발

### 1. 양배추 유전자원 및 상용품종의 원예적 형질 평가

농업유전자원센터 및 채소과 자체 보유 중인 양배추 유전자원 64종의 노지재배를 통해 초장, 구고, 구중, 생육기 등 총 8종의 양적 형질을 최소 3반복 이상 조사하여 그 평균값을 통계분석에 사용하였다. 자원간의 유연관계 분석을 위해서, 측정값을 표준화하였다. 표준화 측정치는 통계 패키지(SAS v.9.2, NC, USA)를 사용하여 주성분 분석(Principal component analysis, PCA) 수행의 자료로 사용되었다.



그림 1-1. 다양한 양배추 자원

표 1-1. 양배추 생육 조사 요약

연번	자원명	초장 (mm)	엽장 (mm)	바깥잎색	구고 (mm)	구폭 (mm)	구형지수 (구고/구폭)	고갱이 길이 (mm)	구중 (g)	생육기 (일)	저장 가능일 (일)
1	90-7-1	310	298	녹색	151	147	1.0	81.0	1395	69	25
2	90-7-2	212	276	녹색	139	140	1.0	42.2	611	51	12
3	07-7-1	300	314	녹색	157	158	1.0	47.0	930	45	4
4	07-7-2	394	439	녹색	135	241	0.6	54.0	1631	63	8
5	08-7-1	246	282	녹색	157	158	1.0	47.0	874	43	5
6	08-7-2	234	237	녹색	144	150	1.0	50.6	904	46	7
7	08-7-3	254	280	녹색	174	158	1.1	54.0	1127	49	3
8	08-7-4	292	318	녹색	162	163	1.0	51.0	1037	54	11
9	08-7-5	314	352	녹색	166	178	0.9	65.0	1573	59	6
10	08-7-6	240	281	녹색	162	162	1.0	50.4	1104	44	12
11	08-7-7	256	248	녹색	155	148	1.1	47.6	902	45	9
12	08-7-8	240	291	녹색	151	163	0.9	53.0	939	49	3
13	08-7-9	260	256	녹색	174	158	1.1	61.0	1117	44	12
14	08-7-10	240	290	녹색	175	161	1.1	56.0	1213	44	12
15	08-7-11	262	245	녹색	160	148	1.1	52.6	918	46	7
16	08-7-12	446	500	녹색	164	214	0.8	78.0	1915	65	11
17	08-7-13	410	392	녹색	207	203	1.0	62.0	1896	65	14
18	08-7-14	290	330	녹색	177	179	1.0	61.0	1194	52	6
19	08-7-15	312	349	녹색	168	202	0.8	67.0	1463	59	6

20	08-7-16	250	284	녹색	147	155	1.0	50.0	941	53	16
21	08-7-17	248	292	녹색	170	165	1.0	68.0	1528	56	9
22	08-7-18	324	346	녹색	155	134	2.6	62.0	1584	72	22
23	08-7-19	396	424	녹색	156	193	0.8	56.6	2287	72	14
24	08-7-20	402	420	녹색	203	195	1.0	54.0	2867	83	11
25	08-7-21	264	256	녹색	149	148	1.0	48.6	869	48	4
26	08-7-22	378	452	녹색	192	194	1.0	61.8	2631	83	11
27	08-7-23	448	382	녹색	199	204	1.0	62.0	2957	83	11
28	08-7-24	438	450	녹색	195	201	1.0	59.0	2869	83	11
29	08-7-25	392	446	녹색	173	179	1.0	65.6	2018	72	22
30	08-7-26	424	405	녹색	188	186	1.0	64.0	2336	72	11
31	08-7-27	430	412	녹색	193	189	1.0	58.8	2578	83	11
32	08-7-28	414	416	보라	150	119	1.3	68.6	921	76	18
33	08-7-29	410	424	보라	152	168	0.9	60.0	1477	65	29
34	08-7-30	390	426	보라	143	151	1.0	67.8	1278	72	22
35	08-7-31	428	396	녹색	205	195	1.1	53.4	2796	83	11
36	08-7-32	342	405	보라	131	146	0.9	63.0	1005	65	18
37	08-7-33	302	328	녹색	162	166	1.0	46.4	950	54	9
38	08-7-34	372	426	녹색	184	213	0.9	58.4	2926	85	9
39	08-7-35	380	422	녹색	160	194	0.8	55.6	2011	83	11
40	08-7-36	406	400	녹색	177	195	0.9	67.4	2400	83	11
41	09-7-1	250	240	녹색	134	128	1.0	49.0	543	49	20
42	09-7-2	276	298	녹색	175	162	1.1	68.0	1737	63	6
43	09-7-3	422	450	녹색	189	215	0.9	92.0	2228	72	11
44	09-7-6	조 사 불 가									
45	09-7-9	조 사 불 가									
46	09-7-10	389	358	녹색	191	183	1.0	62.8	2558	80	3
47	09-7-11	557.5	570	녹색	205	209	1.0	69.7	1954	83	11
48	09-7-12	조 사 불 가									
49	09-7-16	468	424	보라	166	115	1.4	78.0	978	83	12
50	09-7-17	376	432	녹색	149	206	0.7	69.0	2039	72	23
51	09-7-22	374	396	녹색	173	194	0.9	93.6	2018	65	11
52	09-7-23	270	298	녹색	312	162	1.9	59.6	936	54	11
53	09-7-24	320	337	녹색	212	158	1.3	72.0	1318	59	6
54	09-7-25	332	368	녹색	195	156	1.3	50.0	1715	66	27
55	09-7-26	350	424	녹색	168	196	0.9	74.0	1861	69	23
56	09-7-27	270	287	녹색	181	153	1.2	55.6	1078	49	14
57	09-7-28	348	328	녹색	167	203	0.8	78.8	2052	59	6
58	09-7-29	216	248	녹색	156	154	1.0	63.0	1203	56	38
59	09-7-30	336	348	녹색	208	154	1.4	49.0	1584	61	28
60	09-7-31	310	320	녹색	230	144	1.6	65.5	1194	59	4
61	09-7-32	256	272	녹색	138	144	1.0	54.0	893	56	22
62	09-7-33	302	343	녹색	214	164	1.3	73.0	1454	59	6
63	09-7-34	298	322	녹색	221	157	1.4	74.6	1353	59	4
64	09-7-35	390	412	녹색	191	197	1.0	59.0	2624	83	12

\* 조사 불가 : 정식 직후 고사에 따른 생육 조사 불가

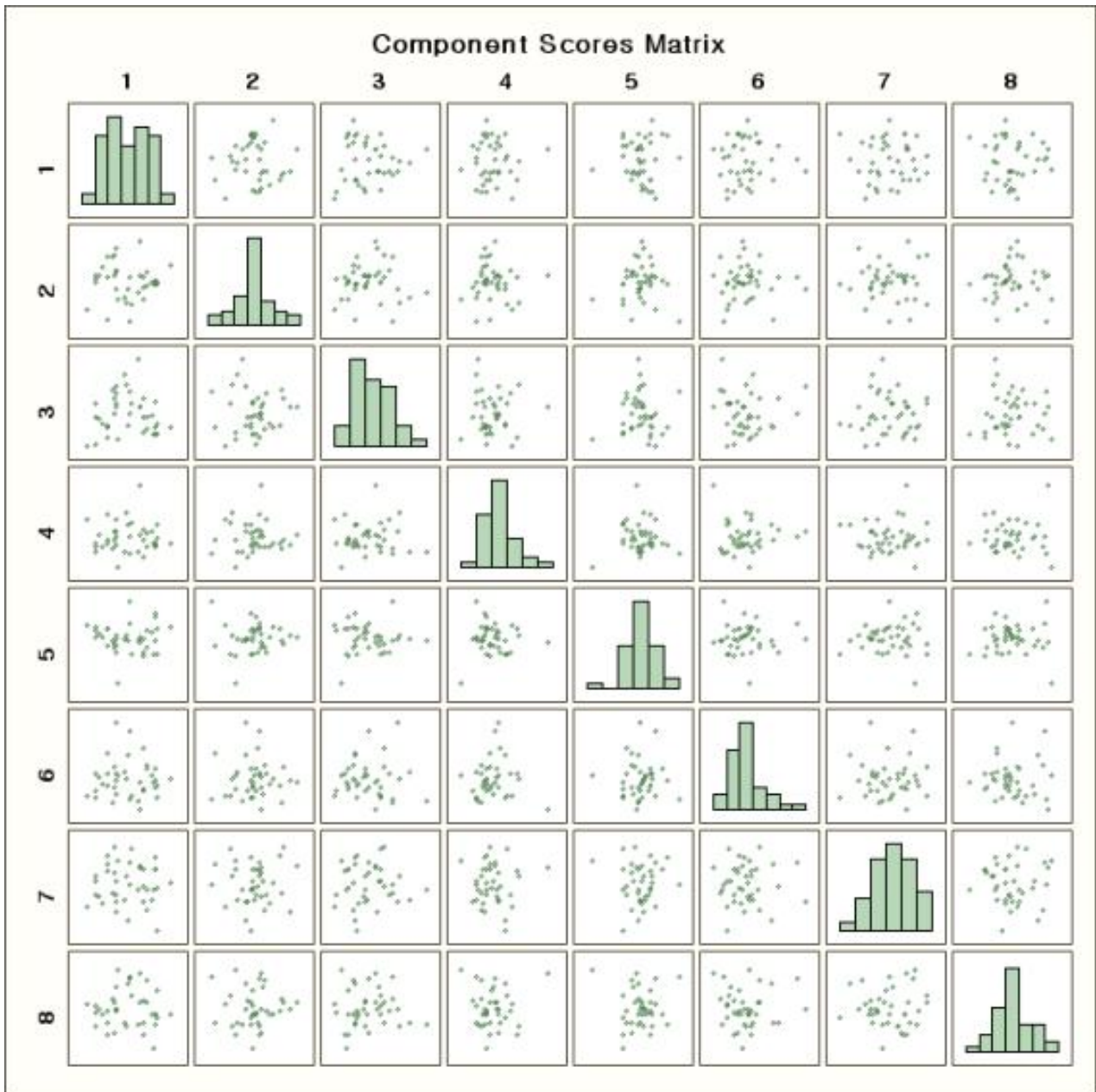


그림 1-2. 주성분 분석을 위한 주요 형질 간의 상관도 분석

분석 결과로 얻어진 제 1-3 주성분 값을 새로운 변량으로 설정하였고, 평균거리간의 비교를 이용한 비가중평균결합법(UPGMA)을 통해 계통도(dendrogram)를 얻었다. 1-3 주성분의 누적 기여도는 86.1%였다. 제 1주성분은 초장, 엽장과 정의 상관이 높아 전반적인 양배추의 생육 특성과, 제 2주성분은 구고, 구폭, 구중과 정의 상관이 높아 최종 수확물의 수량 특성과 관련이 깊음을 알 수 있었다.

계통도 작성의 결과 크게 3개의 분류군으로 나눌 수 있었다. 계통도상 제일 좌측에 위치한 I 군은 조생종으로 구중은 중간, 초세가 약하고, 열구 저항성이 낮은 특성을 보였고, 중간에 위치한 II 군은 구중이 크고 만생인 특성을, 마지막 III 군은 중·만생종이면서 구중이 작고 초세가 왕성한 특성을 보였다. 이러한 원예적 형질 특성 DB와 주성분 및 군집분석 결과는 향후 F<sub>1</sub> 양배추 품종 육성에 유용한 기초 자료로서 그 활용도가 높을 것으로 판단된다.

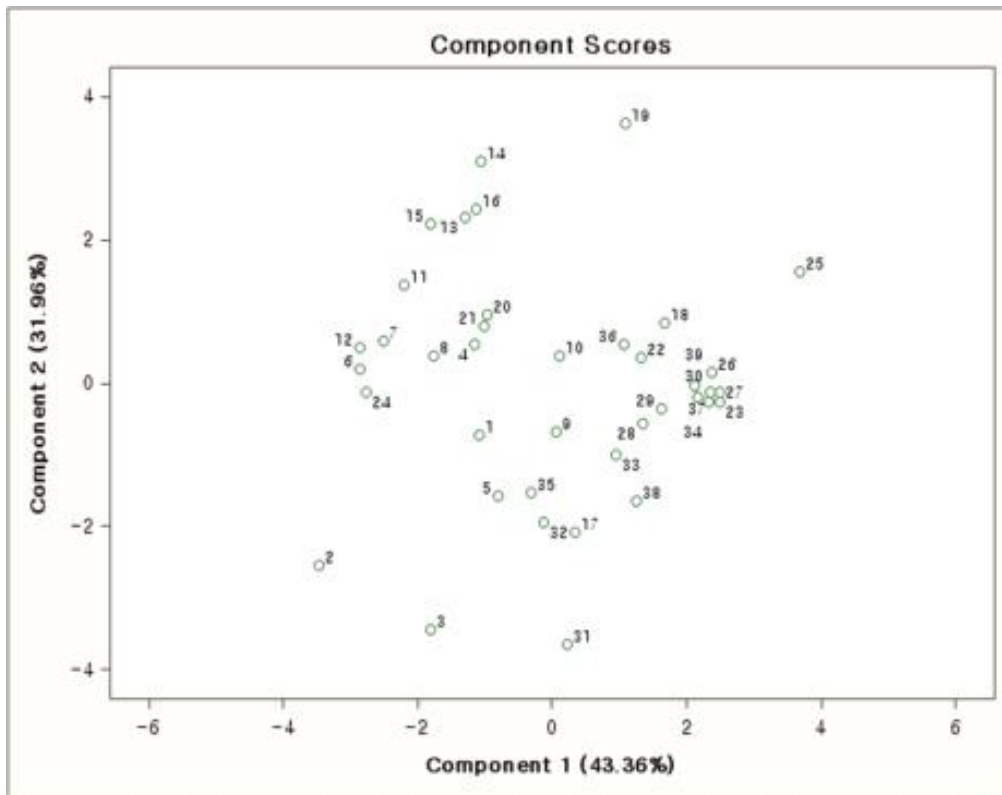


그림 1-3. 주성분 분석에 따른 주요 자원의 산점도(2D, 주성분 1, 2에 대한 각 자원의 연관 분포도)

제 1, 2, 3 주성분의 누적 기여도는 전체의 약 86.1%로 3종의 주성분으로 충분히 전체 형질의 추세를 판정할 수 있는 것으로 조사되었다. 제 1 주성분은 양배추의 초세와 관련이 있는 것으로 주로 초장에 강한 정의 상관을 보였는데, 이는 수량과 별도로 전반적인 양배추의 생육도를 추정하는데 유용한 성분으로 판단된다. 제 2 주성분은 최종 수량과 연관이 높은 성분으로 구중, 구폭, 구경 등에 강한 정의 상관을 보였다.

군집 분석 결과로 얻어진 수형도는 크게 3가지 자원군이 존재함을 보여 주었다. 제 I군의 경우 조생종이며, 구중은 중간이고 더불어 초세와 열구 저항성(재포성)이 약한 그룹이며, II군은 구중이 무겁고 만생의 특성을 가진 그룹이었고, 마지막 III군의 경우는 중생 혹은 만생종이면서 구중이 작고, 초세가 왕성한 그룹인 것으로 나타났다.

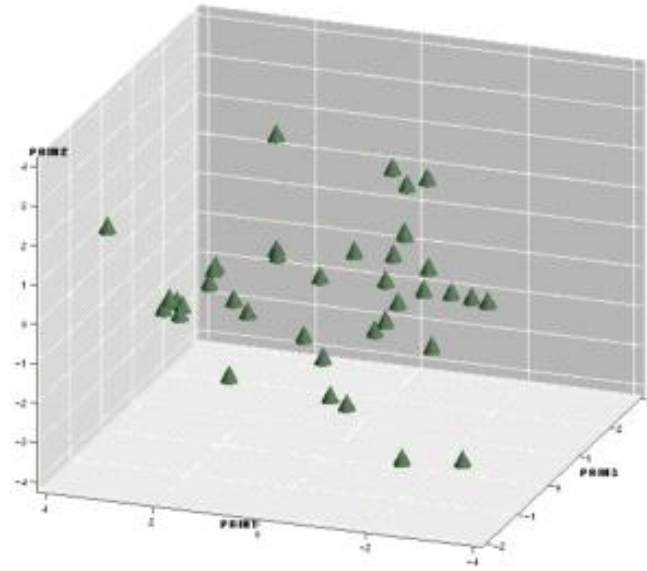
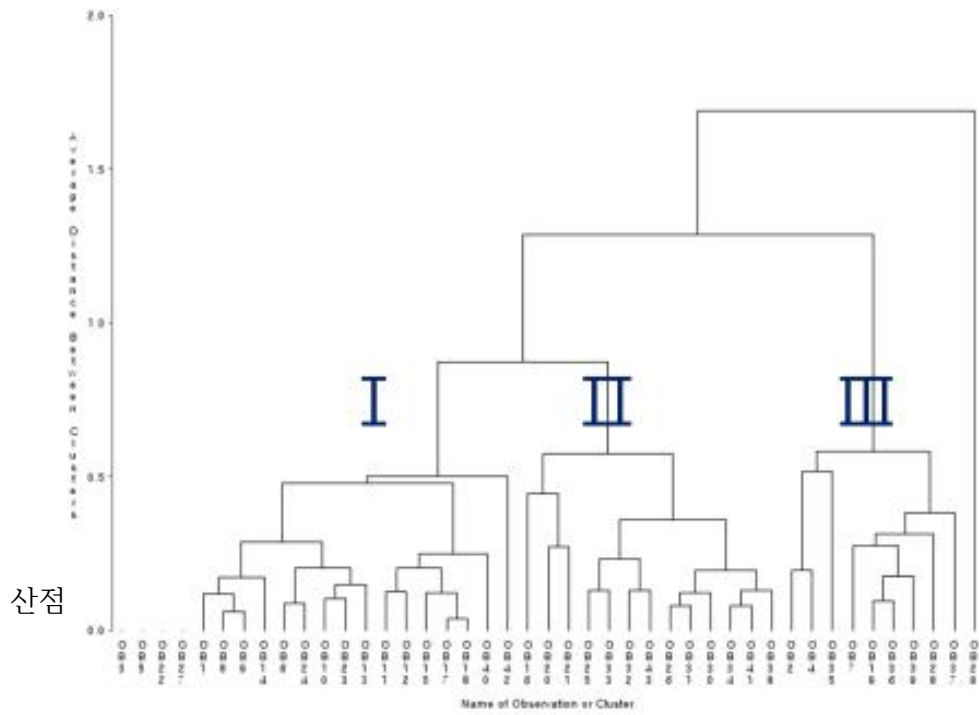


그림 1-4. 주성분 분석에 따른 주요 자원의



산점

그림 1-5. 군집분석 결과에 따른 수형도

## 2. 배추과 작물의 항세균력 및 항산화능 분석

본 과제에 있어 우량 양배추 육종 소재 개발이라는 큰 목표는 다른 배추과 작목에서 나타나는 기능성을 양배추로 도입하는 내용을 포함하고 있다. 따라서 본 과제의 수행 내용에 브로콜리, 콜리플라워 등의 기능성 관련 탐색 시험을 수행하였다. 1년차에는 주로 상용 브로콜리 품종의 항산화능과 항세균력을 평가 하였는데, 특히 주된 가식부위인 꽃봉오리(화구)는 물론, 잎과 줄기 부위도 함께 평가하였다.

브로콜리 11개 품종에 대해 그람 양성균 *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* 2종과 그람 음성균 *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* 2종에 대한 항균활성을 조사한 결과, *S. aureus*에 대해 AMG 품종에서 화뢰 12.83mm, 잎 13.00mm로 가장 높은 항균활성을 보였으나 부위별로는 큰 차이를 보이지 않았다. *L. monocytogenes*의 경우, 화뢰 부위는 NJ 품종이 13.58mm, 잎 부위는 YDR 품종이 13.92mm로 가장 큰 항균활성을 보였으며, 저해환의 평균값이 화뢰는 12.85mm, 잎은 13.17mm로 다른 4종의 균 중에서 가장 높은 값을 보였다. *E. coli* O157:H7에 대해서는 Grd 품종의 화뢰와 잎 부위 모두 가장 높은 항균활성을 보였으나, 부위별로는 차이가 나타나지 않았으며, *S. enteritidis*는 화뢰 부위에서는 NJ 품종이 12.67mm, 잎 부위에서는 NY, 0c 품종이 12.75mm의 저해환을 보였으며, 잎부위가 화뢰부위에 비해 높은 항균활성을 보여주었다.

표 1-2. 항세균력 평가에 사용된 균주

Gram 염색 특성	Strain	KCCM No.	Media
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>	KCCM 11335	TSA (BBL)
	<i>Listeria monocytogenes</i>	KCCM 40307	BHA (DIFCO)
Gran negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	KCCM 40406	TSA (BBL)
	<i>Salmonella enteritidis</i>	KCCM 12021	NA (DIFCO)

본 실험에 사용된 시료는 경기도 수원시 국립원예특작과학원 재배포장에서 재배한 브로콜리 11개 품종을 화뢰, 잎 부분으로 나누어 동결 건조한 후 분쇄하여 분말을 사용하였다. 추출물 제조는 동결건조한 브로콜리 분말시료에 10배의 70% 메탄올을 첨가한 후, 상온에서 24시간 교반 추출한 추출액은 여과지(Whatman No.6)로 여과한 다음 회전감압농축기(N-1NW, EYELA, Japan)로 감압농축 후 동결 건조하여 -20°C에서 냉동보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였다. 사용균주 및 배양조건으로 실험에 사용한 균주는 식중독을 유발하는 대표적인 균주로 그람 양성균 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* KCCM 11335, *Listeria monocytogenes* KCCM 40307 2종과 그람 음성균 *Escherichia coli* O157:H7 KCCM 40406, *Salmonella enteritidis* KCCM 12021 2종을 한국미생물보존센터에서 분양 받아 사용하였으며 사용된 배지의 조건은 표 1-2과 같다. 각 배지는 121°C에서 20분간 멸균하였으며 멸균된 petri dish에 약 20mL씩 분주하

여 사용하였다. 항균활성 측정의 경우, 브로콜리 품종 및 부위별 추출물의 항균활성은 paper disc 확산법으로 측정하였다(Bauer et al., 1966). 해당 평판배지에 균주를 streaking하여 배양된 균주 1 백금이를 취해 10mL의 균 생육배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하여 활성화시킨 후 3일 계대 배양 후 spectrophotometer (ND-1000, Nano Drop Technologies, Inc., USA)를 이용하여 600nm에서 균 현탁액의 흡광도가 0.3이 되게 하였다. 각 균주 배양액을 평판배지에 고르게 도말한 후 배지의 표면 위에 멸균된 paper disc(8mm, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 올려놓고 추출물을 disc에 50μL씩 주입하여 완전히 흡수시킨 후 37°C incubator에서 24시간 배양시켜 paper disc 직경을 포함한 주위의 inhibition zone(mm)의 직경을 측정하였다. 통계처리를 위해 실험결과는 3회 반복 측정 후 SAS 통계패키지(ver. 9.2, Cory, NC, USA)를 이용하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 통계적 유의성은 Duncan's multiple test로 검정하였다.

표 1-3. 시료의 부위 별 추출수율(70% 메탄올)

품종명	Yield (%)	
	화뢰	잎
NY	13.7	18.3
JN	17.8	26
YDR	14.4	19.7
0c	15.2	21.1
NJ	16.6	18
BRD	14.5	14
CJ	6.8	20.5
AMG	13.2	20.8
Grd	14.7	18.5
Gra	15.3	13.5
TS	13.3	15
Mean	14.1	18.7

추출수율의 경우, 동결건조한 브로콜리 분말로부터 70% 메탄올 추출물의 추출 수율은 표 2와 같다. JN품종의 추출수율이 화뢰와 잎 부위 모두 17.8%, 26.0%로 가장 높게 나타났으며, 품종마다 추출수율의 차이를 보였는데 이는 각 품종마다 가지고 있는 수분의 함량, 조직 치밀도, 물질 성분 등의 차이에 따른 것으로 사료된다. 부위별 평균값은 화뢰가 14.1%, 잎은 18.7%의 추출수율을 나타내었다.

항균활성의 경우 브로콜리 메탄올 추출물의 항균활성을 국내 주요 식중독균 4종에 대해 비교하였다(표 1-4, 그림 1-6).

표 1-4

품종명	저해환 크기(mm)							
	S. aureus		L. monocytogenes		E. coli O157:H7		S. enteritidis	
	Floret	Leaf	Floret	Leaf	Floret	Leaf	Floret	Leaf
NY	11.42±1.04c	12.17±0.80ab	13.00±0.25abc	13.17±0.58ab	10.42±0.63c	10.42±0.14b	10.42±1.18b	12.75±0.43a
JN	11.92±0.38bc	10.92±1.01c	12.00±0.75bc	12.83±0.95b	11.83±0.63b	11.00±1.00b	12.08±0.52a	11.17±1.04b
YDR	12.58±0.29ab	11.75±1.52bc	12.75±0.25abc	13.92±0.14a	12.25±0.25ab	12.33±0.14a	12.17±0.38a	12.50±0.25a
0c	12.42±0.38ab	12.75±0.25ab	13.08±0.14ab	13.17±0.29ab	12.33±0.72ab	12.67±0.14a	12.25±0.66a	12.75±0.90a
NJ	12.33±0.14ab	12.75±0.25ab	13.58±0.14a	13.33±0.38ab	12.50±0.25ab	12.67±0.14a	12.67±0.29a	12.67±0.14a
BRD	12.75±0.25a	12.75±0.25ab	12.58±0.52abc	13.08±0.14ab	12.67±0.14ab	12.50±0.25a	12.25±0.25a	12.67±0.14a
CJ	12.50±0.25ab	12.83±0.14ab	11.83±1.61c	13.00±0.25ab	12.42±0.63ab	12.50±0.66a	12.25±0.43a	12.42±0.38a
AMG	12.83±0.14a	13.00±0.25a	12.92±0.29abc	13.17±0.14ab	12.33±0.38ab	12.67±0.14a	11.42±0.72ab	12.00±0.90ab
Grd	12.75±0.25a	12.67±0.14ab	13.00±0.25abc	13.25±0.25ab	12.75±0.25a	12.75±0.00a	11.83±0.88a	12.33±0.63a
Gra	12.75±0.25a	12.83±0.14ab	13.25±0.50a	13.08±0.58ab	12.75±0.43a	12.50±0.25a	12.00±0.25a	12.25±0.00a
TS	12.83±0.14a	12.92±0.38ab	13.33±0.76a	12.92±0.80b	12.33±0.29ab	12.33±0.38a	11.50±1.39ab	12.42±0.14a
Mean	12.46±0.54	12.48±0.81	12.85±0.74	13.17±0.49	12.23±0.74	12.21±0.82	11.89±0.84	12.36±0.65

그람 양성균인 *S. aureus*는 황색 색소를 생성하여 황색포도상구균으로 불리며 식중독 뿐만 아니라 화농성 감염증, 폐렴, 골관절염 등을 유발하는 유해 세균이다. *S. aureus*에 대한 항균력을 살펴보면, AMG 품종에서 화뢰 12.83mm, 잎 13.00mm의 가장 높은 항균활성을 보였으나, 부위 별로는 큰 차이를 보이지 않았으며, 대조군으로 사용한 DMSO도 저해환을 나타냄으로서 DMSO가 *S. aureus*에 대해 생물학적 독성이 있는 것으로 판단되었다. *L. monocytogenes*는 리스테리아증(Listeriosis)을 일으켜 면역이 낮은 환자, 유아, 임산부 등에 패혈증, 뇌수막염, 유산 등을 일으키며, 사망에까지 이를 수 있는 식중독균으로 낮은 온도에서도 생육이 가능하여 냉장식품에 문제가 되고 있는 균이다. *L. monocytogenes*의 경우, 화뢰 부위는 NJ 품종이 13.58mm, 잎 부



위는 YDR 품종이 13.92mm의 항균활성을 보임으로서 가장 항균력이 뛰어났다. 부위별로는 각 품종마다 항균활성의 차이는 보였으나, 저해환의 평균 값이 화퇴는 12.85mm, 앞은 13.17mm로 다른 4종의 균 중에서 가장 높은 값을 보였다.

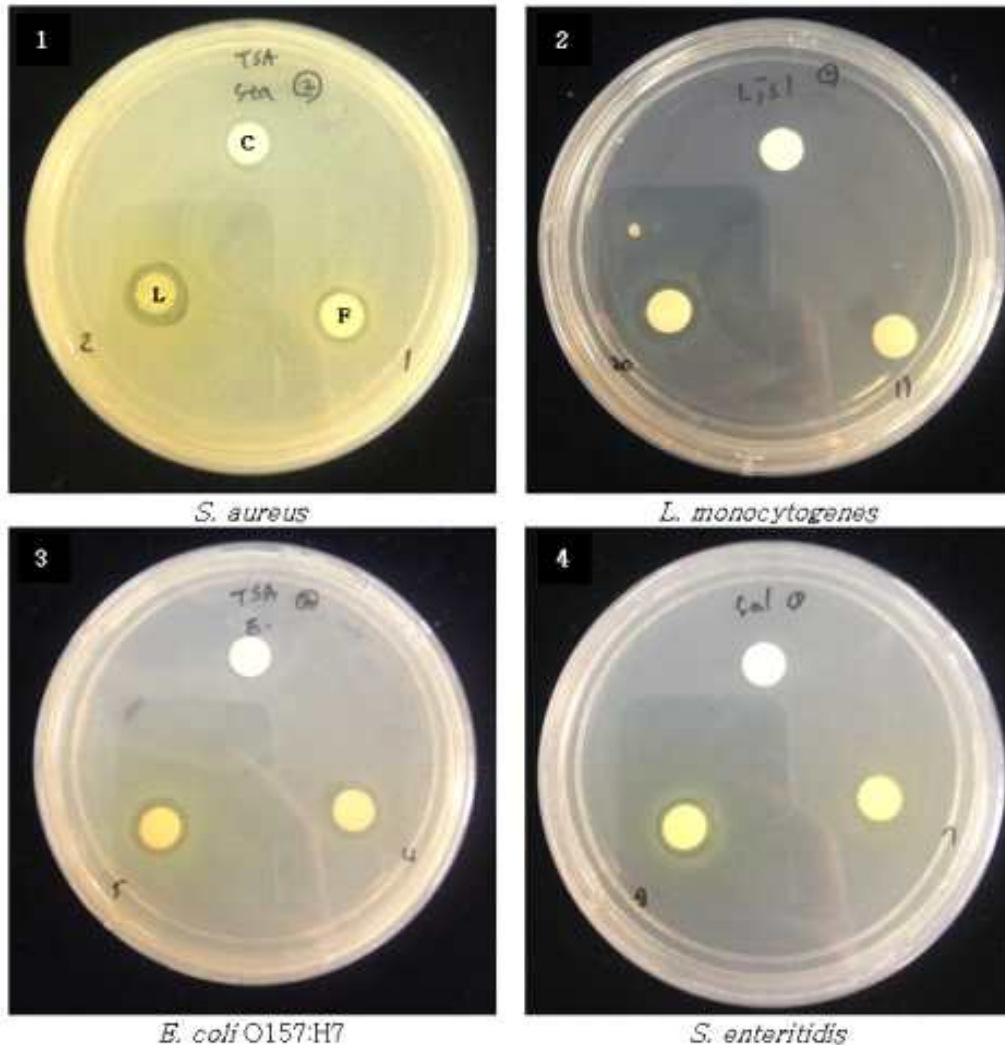


그림 1-6. 유해 미생물에 대한 저해환 크기 비교에 의한 브로콜리 품종, 부위 별 항세균력 비교

그람 음성균인 E. coli O157:H7은 다양한 식품과 물을 통해 사람에게 감염되며 사람간 전이가 가능한 것으로 보고되어 있으며, 일본에서 1996년 1만명 이상의 환자가 발생한 대표적인 식중독균으로 국내에서도 지속적으로 발병 사례가 일어나고 있는 추세로, 브로콜리 추출물의 항균활성을 살펴보면 Grd 품종이 화퇴와 앞 부위 모두 가장 높은 항균활성을 보였으나 부위별로는 차이가 나타나지 않았다. S. enteritidis는 장내세균과에 속하는 그람 음성균으로 가금류와 돼지에 널리 분포하며, 사람을 포함한 모든 동물에 감염하여 장염과 패혈증을 일으킬 수 있다. 미국, 캐나다, 유럽 등의 국가에서 S. enteritidis가 사람에게 감염된 경우가 급격히 증가 해왔으며, 국내에서도 사람 Salmonella속 균 가운데 S. enteritidis에 의한 감염증이 현저히 증가하고 있다(Kang, 2012). S. enteritidis에 대한 항균활성을 살펴보면, 화퇴 부위에서는 NJ 품종이 12.67mm, 앞 부위에서는 NY, 0c 품종이 12.75mm의 저해환을 보였으며, 부위별로는 앞부위가 12.36mm로 화퇴 부위 11.89mm 비해 높은 항균활성을 보여주었다.

브로콜리 부위별 추출물을 10% 농도로 제조하여 121°C에서 15분간 고온·고압처리한 후 항균성 검정을 한 결과, E. coli와 Salmonella typhimurium에서는 전혀 항균성을 보이지 않았고, 그람 양성균 중 Bacillus amyloliquefaciens에서 꽃과 꽃-줄기 추출물이 가장 두드러진 항균성을 보였고 잎 추출물에서도 항균성이 크지는 않지만 항균활성을 관찰할 수 있다는 문헌 보고가 있는데 이는 가열에 의해 그 활성이 감소한 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, NJ 품종의 화뢰 부위가 L. monocytogenes, S. enteritidis에 대해 가장 높은 항균활성을 나타내었으며, 항산화 활성도 가장 뛰어남으로 항균 효과를 가진 기능성 품종으로 판매 가능할 것으로 여겨졌다. 부위별 차이를 살펴보면, 품종마다 차이를 보이지만 잎 부위 추출물이 화뢰부위 추출물보다 L. monocytogenes, S. enteritidis에 대해 높은 항균활성을 보였다. 이를 통해 브로콜리의 화뢰뿐만 아니라 잎 부위의 항균력이 뛰어남을 알 수 있었고, 이는 현재 버려지고 있는 브로콜리 잎을 쌈채 혹은 녹즙으로 식용함으로써 국민의 보건 향상은 물론, 농가의 새로운 부수입원으로서 소득 증대에 기여 가능 할 것으로 기대된다. 더불어 이러한 신속, 간편 항균력 측정법은 기능성 브로콜리 품종 육성에 있어 대량의 후보 계통 중, 유망 계통만의 신속 선발에도 큰 도움이 될 것으로 판단된다.

### 3. 양배추 소포자 배양 효율 증진 조건 확립

#### 가. 실험재료

- 우수 형질을 가지는 응성 가임성의 양배추 41계통을 선발하여 소포자 배양을 실시하였다.

표 1-5. 양배추 소포자 배양계통

연번	계통	비고
1	07-7-2	07-7-2-(1,2)
2	07-7-34	07-7-34-2
3	08-7-2	
4	08-7-10	A9
5	08-7-12	08-7-12-(1,2), A9
6	08-7-13	08-7-13-1
7	08-7-14	A9
8	08-7-15	08-7-15-(1,2)
9	08-7-17	08-7-17-2
10	08-7-21	08-7-21-2
11	08-7-23	08-7-23-1
12	08-7-24	08-7-24-1
13	08-7-26	08-7-26-1, A9
14	08-7-28	08-7-28-1, A9
15	08-7-30	08-7-30-1, A9
16	08-7-32	08-7-32-1
17	08-7-36	08-7-36-1, A9
18	09-7-22	09-7-22-1, A9
19	09-7-24	09-7-24-(1,2)
20	09-7-25	09-7-25-1

21	09-7-26	09-7-26-1
22	09-7-27	09-7-27-1, A9
23	09-7-30	
24	09-7-31	09-7-31-(1,2), A9
25	09-7-33	09-7-33-(1,2)
26	09-7-34	
27	09FC-64	09FC-64-1
28	09SC-6	09SC-6-(1,2)
29	09SC-8	09SC-8-(1,2)
30	09SC-9	09SC-9-1
31	09SC-15	09SC-15-(1,2)
32	09SC-17	09SC-17-1
33	09SC-19	09SC-19-1
34	09SC-39	09SC-39-1
35	11-7-1	
36	11-7-2	A9
37	11-7-3	A9
38	11-7-5	11-7-5-(1,2)
39	11-7-7	
40	11-7-8	
41	11-7-9	11-7-9-(1,2)

나. 실험방법

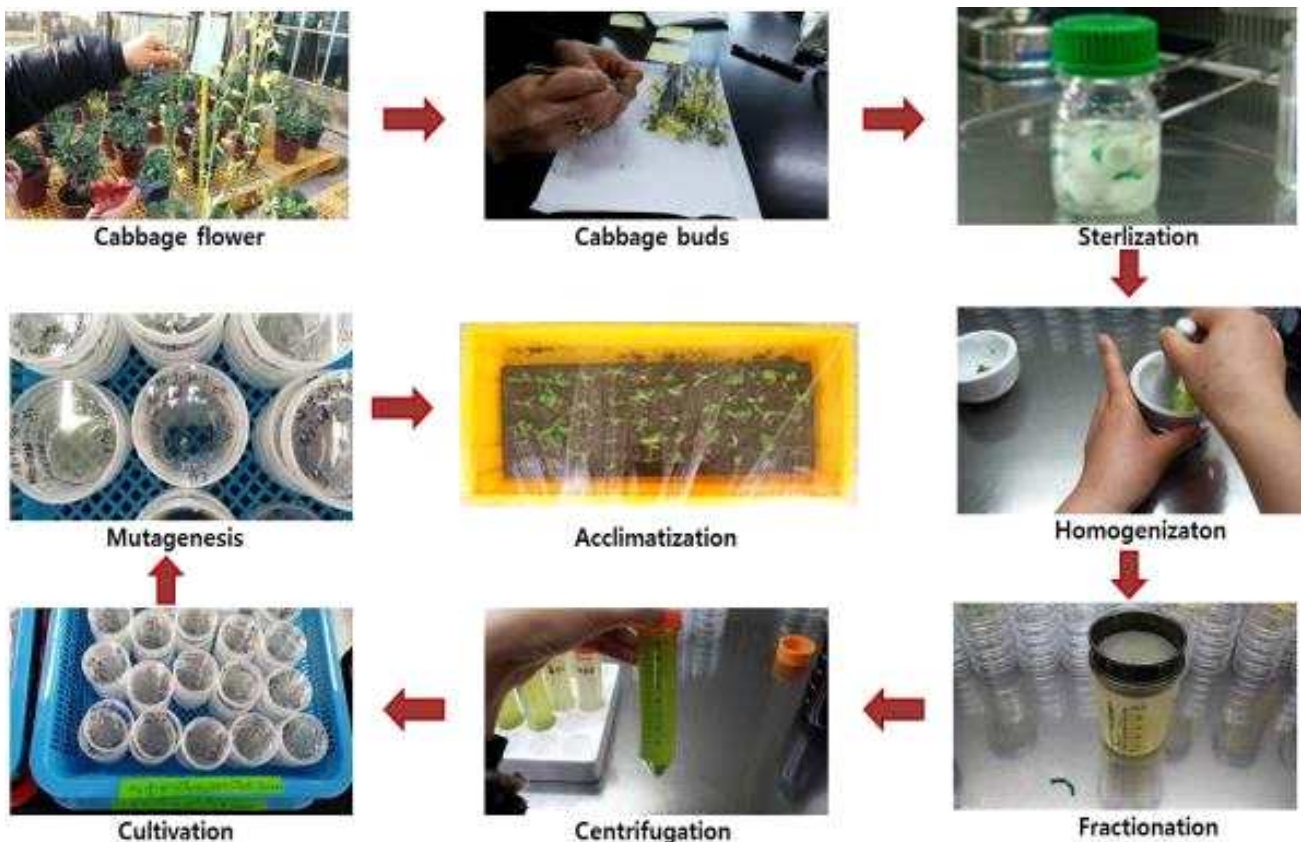


그림 1-7. 양배추 소포자 배양 실험 방법

### (1) 대량증식용 배지 조성 검정

표 1-6. 대량증식용 배지 조성

	NLN 배지농도	AgNO <sub>3</sub> (mg/L)	micro nutrients (mg/L)	PGRs (mg/L)
C1	1.0X	1.0	-	-
C2	1.0X	1.0	MS vitamin 1.0	-
C3	1.0X	1.0	B5 vitamin 1.0	-
C4	1.0X	1.0	Kao vitamin 1.0	-
C5	1.0X	1.0	MS micro elements 1.0	-
C6	1.0X	1.0	MS macro elements 1.0	-
B1	1.0X	-	NLN micro elements 1.0	NAA 0.05, BAP 0.05
B2	1.0X	1.0	-	NAA 0.05, BAP 0.05
B3	1.0X	-	NLN micro elements 1.0	
B4	0.5X	-	NLN micro elements 1.0	NAA 0.05, BAP 0.05
B5	0.5X	1.0	-	NAA 0.05, BAP 0.05
B6	0.5X	-	NLN micro elements 1.0	

### (2) 배양 조건 검정

- Heat Shock 온도 및 시간  
: 32.5°C, 24h 또는 30°C, 48시간
- Heat Shock 후, 배양 조건  
: 25°C, 14·15·17 일

### (3) 연구결과 및 진행 중 연구

- (가) 배 발생 후 기내 치상 개체
  - ① 배발생 후 기내 배양

표 1-7. 배발생 후 배양 계통

계통	배지번호, 배양조건	배 발생	총 갯수
08-7-12	C3(32.5°C, 24h)	1	1
08-7-28-1	C1(32.5°C, 24h)	1	2

	C2(32.5°C, 24h)	1	
08-7-30	C3(30°C, 48h)	3	4
	C5(30°C, 48h)	1	
09-7-22	C2(32.5°C, 24h)	1	1
09-7-31	C1(32.5°C, 24h)	5	16
	C2(32.5°C, 24h)	6	
	C3(32.5°C, 24h)	4	
	C4(32.5°C, 24h)	1	
09-7-33	C1(32.5°C, 24h)	1	1
09-7-34-1	B3(32.5°C, 24h)	1	1
09SC-15-1	C1(30°C, 48h)	1	1
09SC-15-2	C2(30°C, 48h)	1	1

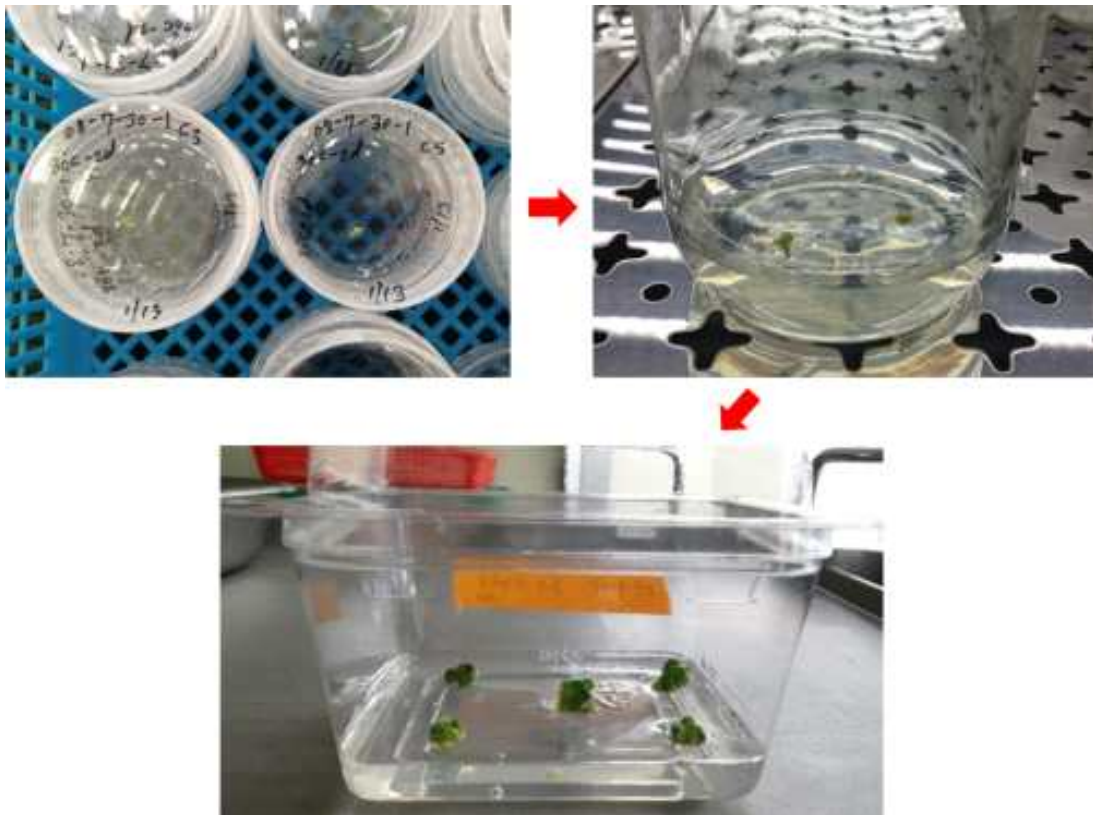


그림 1-8. 배 발생 후 치상 개체

② 순화 후 후대 식물체의 염색체 배수성 검정 및 원예적 특성 평가 진행 중

(나) 최적 배양 조건 탐색을 위한 실험 진행 중

① 최적 배양 조건 탐색

표 1-8. 최적 배양 조건 배지 조성

	NLN 배지농도	Sucrose (%)	AgNO <sub>3</sub> (mg/L)	Activated Charcoal (g/100ml)
1-1	0.25X	13	0	0
1-2				1.0
1-3				2.0
1-4				4.0
1-5			0.1	0
1-6				1.0
1-7				2.0
1-8				4.0
1-9			0.5	0
1-10				1.0
1-11				2.0
1-12				4.0
1-13			1.0	0
1-14				1.0
1-15				2.0
1-16				4.0
2-1	0.5X	13	0	0
2-2				1.0
2-3				2.0
2-4				4.0
2-5			0.1	0
2-6				1.0
2-7				2.0
2-8				4.0
2-9			0.5	0
2-10				1.0
2-11				2.0
2-12				4.0
2-13			1.0	0
2-14				1.0
2-15				2.0
2-16				4.0
3-1	1.0X	13	0	0
3-2				1.0
3-3				2.0
3-4				4.0
3-5			0.1	0
3-6				1.0
3-7				2.0
3-8				4.0
3-9			0.5	0
3-10				1.0
3-11				2.0



3-12				4.0
3-13				0
3-14			1.0	1.0
3-15				2.0
3-16				4.0
4-1				0
4-2			0	1.0
4-3				2.0
4-4				4.0
4-5				0
4-6			0.1	1.0
4-7				2.0
4-8				4.0
4-9				0
4-10			0.5	1.0
4-11				2.0
4-12				4.0
4-13				0
4-14			1.0	1.0
4-15				2.0
4-16				4.0
	2.0X	13		



그림 1-9. 양배추 최적 소포자 배양조건 탐색을 위한 실험계통

- ② 배 발생 후 기내 배양
- ③ 순화 후 후대 식물체의 염색체 배수성 검정 및 원예적 특성 평가 예정

(다) 조직배양 민간서비스(batch)

- ① 조은종묘

- 13F-5009-51 등 6계통 소포자 배양 민간서비스 진행 중



그림 1-10. 조은종묘 소포자배양 민간서비스



② 아시아종묘

- 5계통, 30개체의 양배추 소포자배양 실험 준비 중



그림 5. 아시아종묘 소포자배양 민간서비스

4. 양배추 세포융합 기술을 이용한 원형질체 배양 조건

가. 양배추 원형질체 융합 조건 탐색

(1) 시판 F<sub>1</sub>을 이용한 대칭·비대칭 융합 실험 진행 중

① 시험재료

표 1-9. 양배추 세포융합 시험재료

양배추(자엽, cotyledon)		무(배축, hypocotyl)	
C1	대박나(아시아종묘)	R1	서호골드(농우)
C2	조은에이스(조은종묘)	R2	전무후무(코레곤)
C3	YR온누리(농우)	R3	청황무(농우)
C4	YR호남(아시아종묘)	R4	상감무(한농)

② 원형질체 분리를 위한 효소 처리 조성과 농도

표 1-10. 효소처리 조성 및 농도

효소 / 조성	Cellulase (%)	Macerozyme (%)	Pectolyase (%)
E1	1	0.1	0.1
E2	1	0.5	0.1
E3	2	0.1	0.1
E4	2	0.5	0.1

③ 융합 후 최적 배지 조성검정

표 1-11. 배지 조성(MS basal medium+2% glucose+7% mannitol)

배지 \ PGRs	BAP (mg/L)	2,4-D (mg/L)	NAA (mg/L)
MS1	0.5	0.5	1.0
MS2	0.5	1.0	1.0
MS3	1.0	0.5	1.0
MS4	1.0	1.0	1.0



그림 6. 효소 처리 및 배양배지 조건 탐색

④ 융합 식물체의 마커 분석 및 형태 및 개화 관찰 예정

나. 비대칭 세포융합 기술을 이용한 유용 형질 도입

(2) 우량 CMS 계통의 세포질을 MF로 치환 실험 중

① CMS 검정을 통한 MS, MF 확인

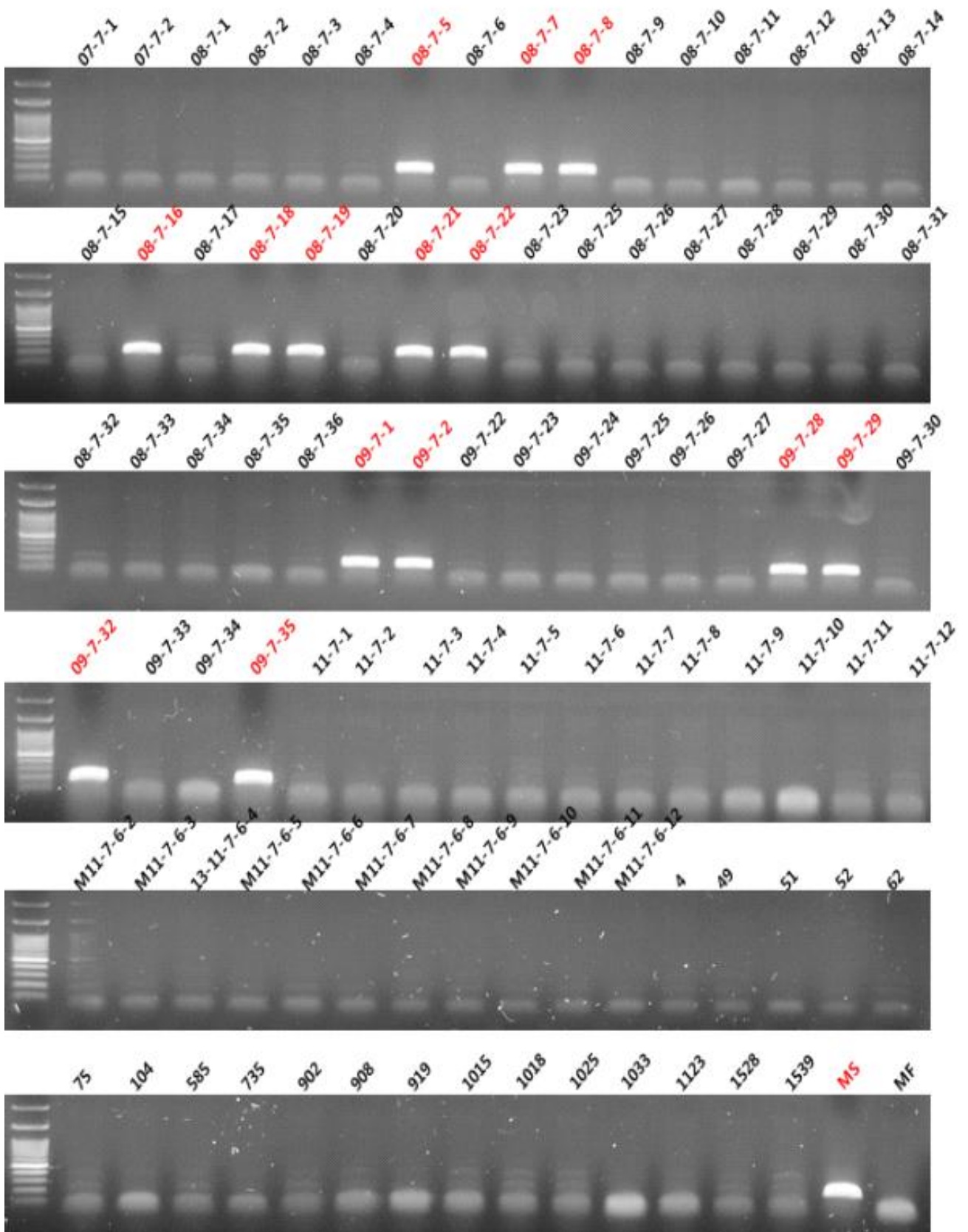


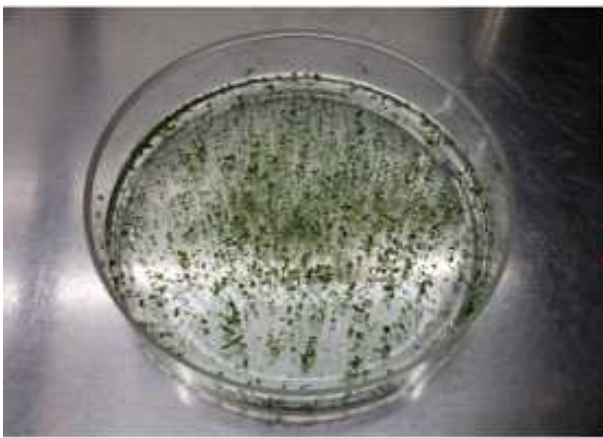
그림 1-10. 양배추 CMS 검정(MS:붉은색, MF:검정색)

② 시험 재료 선정

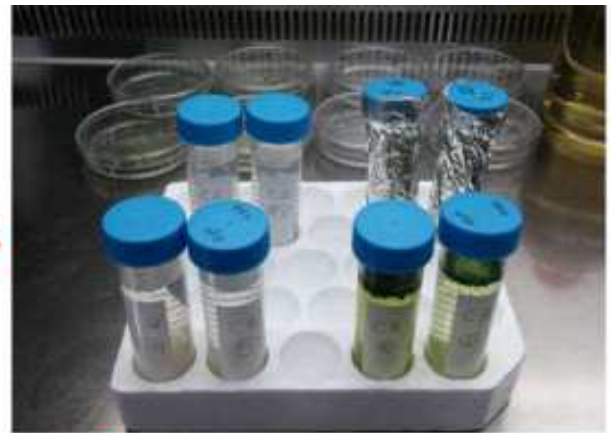
표 1-12. 세포융합을 위한 양배추 시료 선정

MS(응성불임 계통)	MF(응성가임 계통)
08-7-7	11FC-M9
08-7-9	11FC-M7
08-7-31	

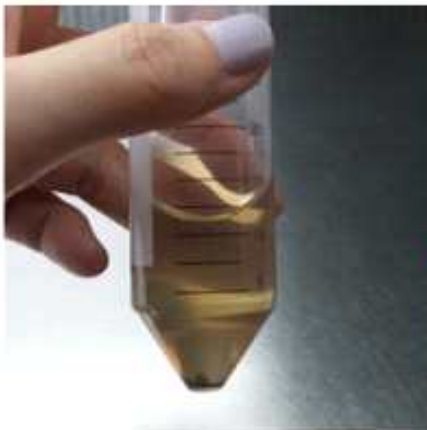
③ 효소 처리(CPW 9M, 3mM MES, 1% Viscozyme, 0.5% Celluclast, 0.5% Pectinex)



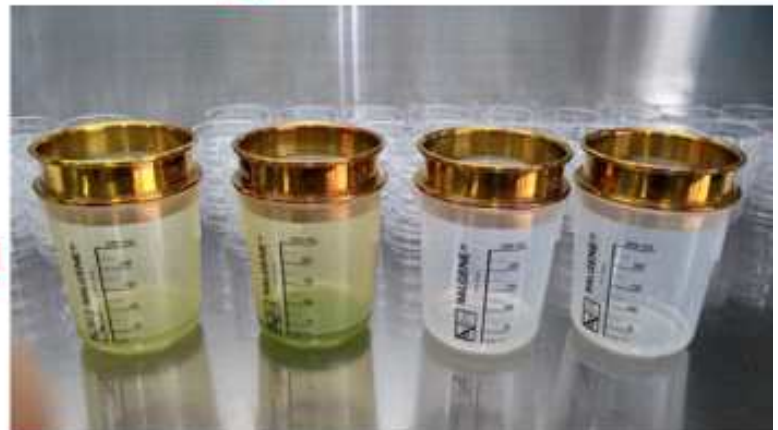
절편체 절단



효소 처리(16-18h)



원심분리



거름망 통과 후

그림 1-10. 양배추 효소처리



④ 혈구계수기를 이용하여 농도 측정

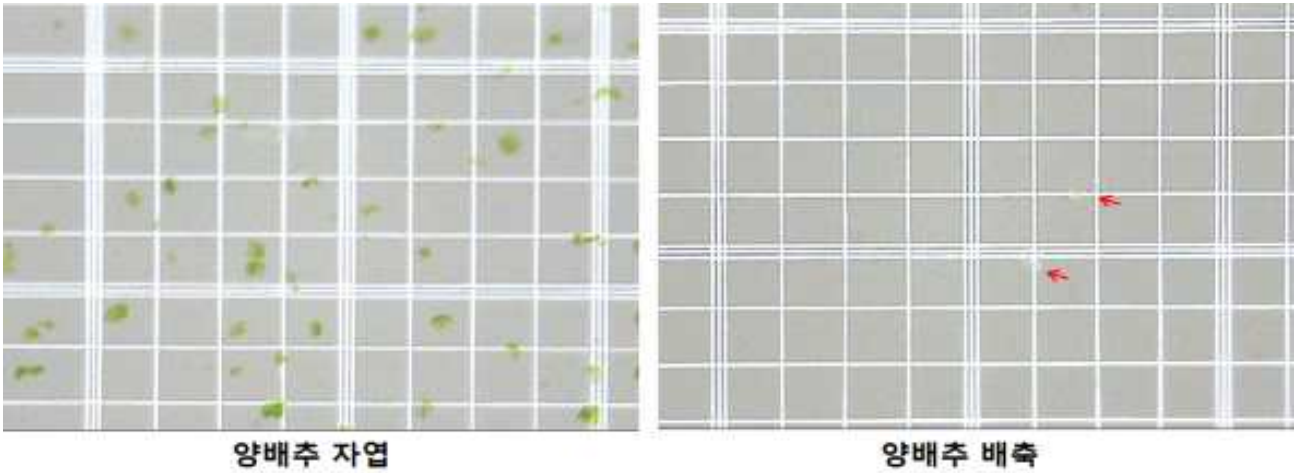


그림 1-11. 양배추 원형질체

⑤ 원형질체 전처리

- 세포질 불활성화: IOA 3mM, 10분 처리
- 핵 불활성화: UV 4680J/m<sup>2</sup>(시험 중)

⑥ 전기적 융합

- ECM 2001(BTX), 교류 30V/cm·40초, 직류 1400V/cm, 60μs

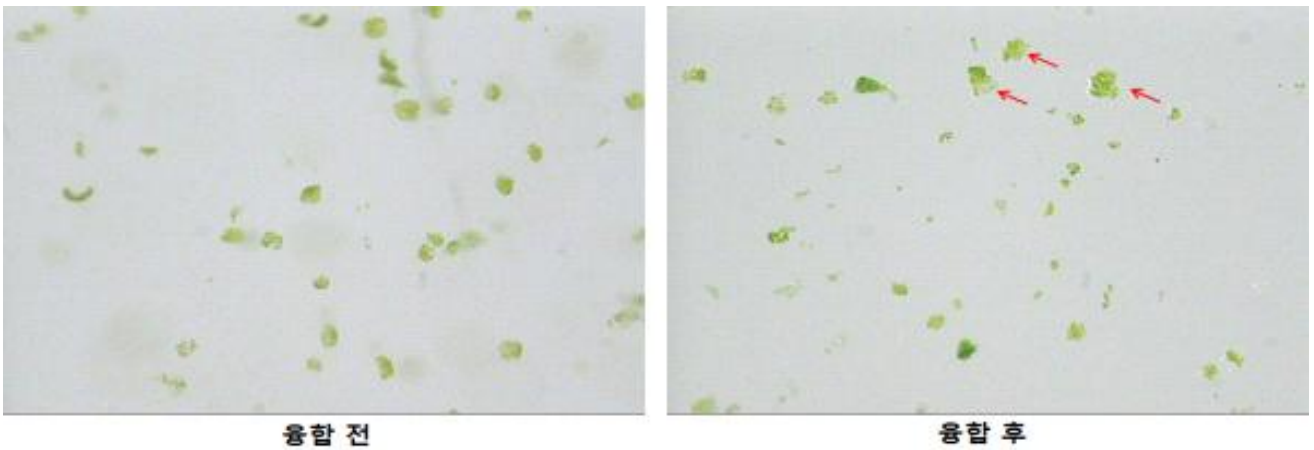


그림 12. 원형질체 융합

⑧ 원형질체 배양

표 13. 원형질체 배양 배지

배지 \ PGRs	BAP (mg/L)	2,4-D (mg/L)	NAA (mg/L)
MS1	0.5	0.5	1.0
MS2	0.5	1.0	1.0
MS3	1.0	0.5	1.0
MS4	1.0	1.0	1.0

## 5. 양배추 소포자 배양 효율 증진 기술 개발

양배추 소포자 배양 효율 증진 기술 개발을 위한 배양 배지 조성, 배양 온도, 전처리 및 후처리 조건별 배양 효율 비교 및 비타민, 무기염류, 호르몬 등의 농도 및 Heat shock 처리에 따른 배발생 효율 비교 실험을 실시하였다.

### 가. 재료 및 방법

#### (1). 소포자 배양 계통

양배추 크기, 숙기(조·중·만생종), 꽃봉오리 모양 등에 따라 선발된 12계통을 대상으로 실험을 실시하였다.

표 1-14

연번	계통
1	08-7-10
2	08-7-12
3	08-7-14
4	08-7-26
5	08-7-28
6	08-7-30
7	08-7-36
8	09-7-22
9	09-7-27
10	09-7-31
11	11-7-2
12	11-7-3



그림 1-13. 양배추 소포자 배양 계통

#### 나. 최적배지 조성검정

##### (1) Plant Growth Regulators:

- 0, NAA 0.05, BAP 0.05, NAA 0.05+BAP0.05 mg/L

##### (2) 배지의 pH

- 5.5, 5.8, 6.1, 6.4

##### (3) AgNO<sub>3</sub>

- 0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/L

##### (4) Activated Charcoal

- 0, 50, 100, 200 mg/p.d

#### 다. 배양 조건 검정

(1) Heat Shock Treatment(30°C): 0, 1, 2, 3, 4 days

### 6. 결과 및 고찰

#### 가. 최적배지 조성검정

(1) 생장조절물질 처리에 따른 배발생 비교 (Plant Growth Regulators: 0, NAA 0.05, BAP 0.05, NAA 0.05+BAP0.05 mg/L)

실험을 실시한 12계통 중 4계통에서 배가 발생하였으며, 배발생률, 총배발생 개수, 페트리디쉬 당 배발

생 개수는 표1-15, 그림1-15와 같다. '08-7-14' 계통과 '09-7-27' 계통에서는 BAP 0.05 mg/L 처리가 가장 배발생이 높지만, '08-7-10'계통과 '09-7-31'계통에서는 NAA 0.05과 BAP0.05 mg/L 조합 처리 시 배가 더 많이 발생함을 볼 수 있어 이는 계통에 따라 차이를 보이는 걸로 여겨진다.

표 1-15 생장조절물질에 따른 배발생 비교

	Cultivar	Treatment (mg/L)	% of embryo formation (%)	Total No. of embryos (No.)	No. of embryo/p.d (No.)
1	08-7-10	0	5.00	27	1.13±0.4
		NAA 0.05	5.00	27	1.13±0.3
		BAP 0.05	5.21	27	1.08±0.3
		NAA 0.05+BAP 0.05	6.67	40	1.25±0.6
2	08-7-14	0	43.13	106	1.54±1.0
		NAA 0.05	45.00	120	1.67±1.0
		BAP 0.05	51.88	145	1.75±1.1
		NAA 0.05+BAP 0.05	46.88	138	1.84±1.3
3	09-7-27	0	4.58	25	1.14±0.5
		NAA 0.05	5.83	45	1.61±0.8
		BAP 0.05	6.04	47	1.62±1.2
		NAA 0.05+BAP 0.05	3.96	26	1.37±0.6
4	09-7-31	0	3.13	6	1.20±0.4
		NAA 0.05	5.00	10	1.25±0.5
		BAP 0.05	2.50	5	1.25±0.5
		NAA 0.05+BAP 0.05	3.75	9	1.50±1.2



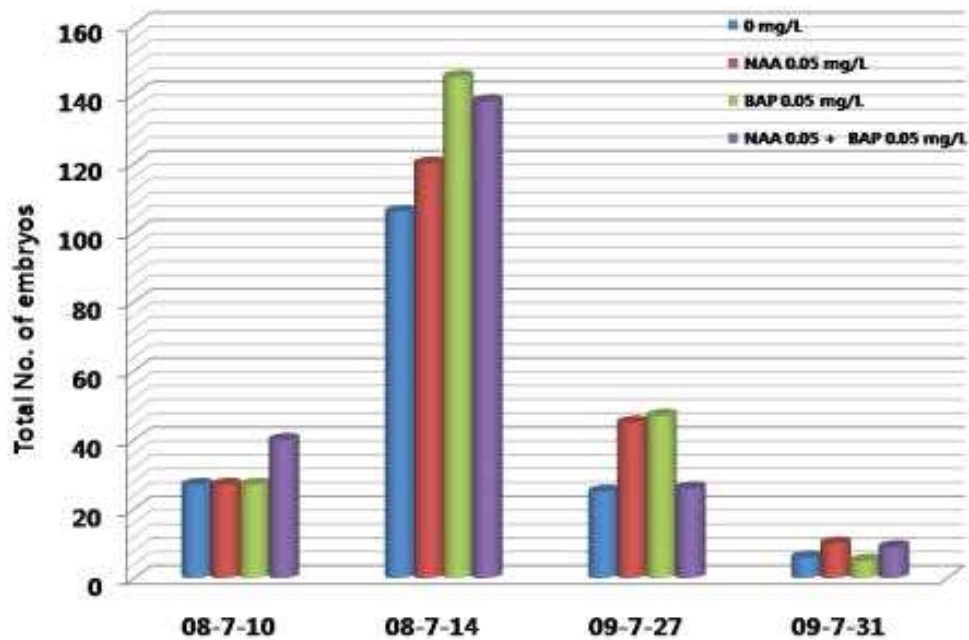


그림 1-15 Effect of plant growth regulators on formation of microspore embryo of different cultivars.

(2) 배지의 pH에 따른 배발생 비교(pH: 5.5, 5.8, 6.1, 6.4)

배지의 pH에 따른 배발생을 비교하기 위해 배지의 pH를 5.5, 5.8, 6.1, 6.4로 조정하여 배발생의 차이를 비교하였다. 표1-16, 그림 1-16을 살펴보면, 배가 발생한 모든 계통에서 배지의 pH가 5.5일 때 배가 가장 많이 발생하였으며, pH가 6.4 일 때 배가 아예 발생하지 않거나 배발생이 매우 미비함을 알 수 있었다.

표 1-16. 배지의 pH에 따른 배발생 비교

	Cultivar	Treatment (pH)	% of embryo formation (%)	Total No. of embryos (No.)	No. of embryo/p.d (No.)
1	08-7-10	5.5	10.83	63	1.21±0.6
		5.8	7.50	41	1.14±0.4
		6.1	3.33	16	1.00±0.0
		6.4	0.42	2	1.00±0.0
2	08-7-14	5.5	78.75	236	1.87±1.1
		5.8	65.63	187	1.78±1.2
		6.1	41.88	85	1.27±0.6

		6.4	0.63	1	1.00±0.0
3	09-7-27	5.5	14.79	99	1.39±0.7
		5.8	5.21	42	1.68±1.3
		6.1	0.42	2	1.00±0.0
		6.4	-	-	-
4	09-7-31	5.5	9.38	19	1.27±0.5
		5.8	3.13	5	1.00±0.0
		6.1	1.88	6	2.00±1.7
		6.4	-	-	-

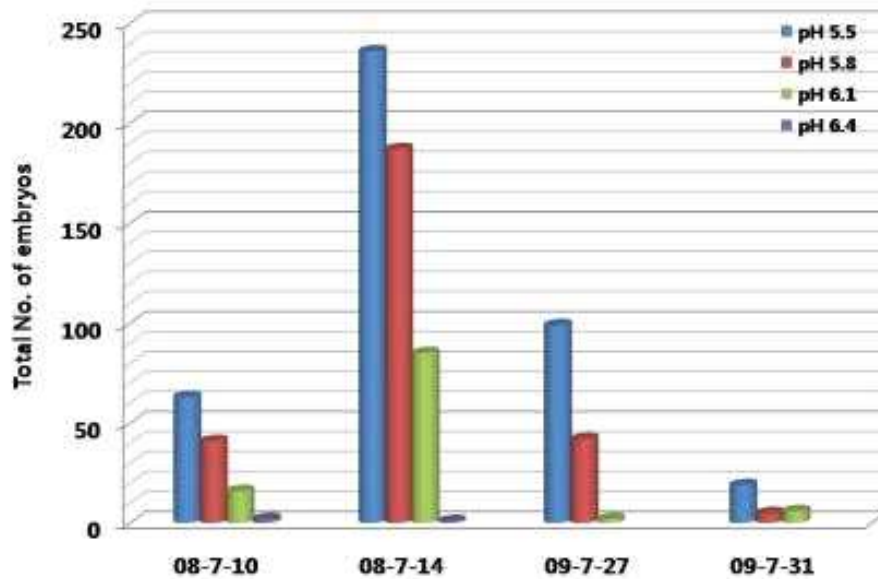


그림 1-16 Effect of various pH on medium for formation of microspore embryo of different cultivars.

(3) AgNO<sub>3</sub> 첨가에 따른 배발생 비교(0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/L)

AgNO<sub>3</sub> 첨가에 따른 배발생은 배발생률이 낮으나, '08-7-10', '08-7-14', '08-7-28' 계통에서 0.1mg/L 처리가 총 배발생 개수가 가장 많았으며, 배발생률도 높게 나타났다.

표 1-17. AgNO<sub>3</sub> 첨가에 따른 배발생 비교

	Cultivar	Treatment (mg/L)	% of embryo formation (%)	Total No. of embryos (No.)	No. of embryo/p.d (No.)
1	08-7-10	0	7.50	17	1.42±0.7

		0.1	19.38	55	1.77±1.0
		0.5	1.88	3	1.00±0.0
		1.0	-	-	-
2	08-7-14	0	3.13	10	1.00±0.0
		0.1	9.38	47	1.57±0.8
		0.5	9.06	39	1.34±0.6
		1.0	8.44	40	1.48±1.0
3	08-7-28	0	2.19	8	1.14±0.4
		0.1	3.44	13	1.18±0.4
		0.5	3.13	13	1.30±0.7
		1.0	1.25	4	1.00±0.0
4	09-7-27	0	5.00	10	1.25±0.5
		0.1	5.00	9	1.13±0.4
		0.5	2.50	5	1.25±0.5
		1.0	8.13	15	1.15±0.4

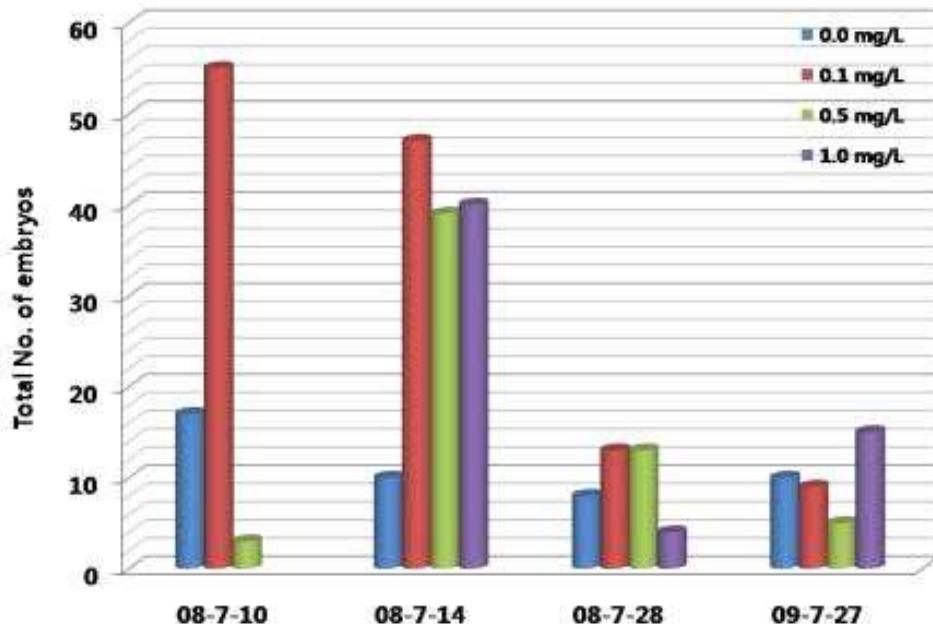


그림 1-17. Effect of AgNO<sub>3</sub> concentration on formation of microspore embryo of different cultivars.

(4) Activated Charcoal 첨가에 따른 배발생 비교(0, 5, 10, 20 mg/p.d)

Activated Charcoal 첨가에 따른 배발생은 표 1-18, 그림 1-18를 살펴보면, '08-7-14'계통을 제외한 나머지 계통에서 10mg/p.d 농도에서 가장 배발생이 좋았으며, '08-7-14'계통에서만 20mg/p.d의 농도에서 배발생이 가장 높게 나타났다.

표 1-18. Activated Charcoal 첨가에 따른 배발생 비교

	Cultivar	Treatment (mg/L)	% of embryo formation (%)	Total No. of embryos (No.)	No. of embryo/p.d (No.)
1	08-7-10	0	2.50	4	1.00±0.0
		5	10.00	27	1.69±0.9
		10	15.63	42	1.68±0.9
		20	0.63	2	2.00±0.0
2	08-7-14	0	-	-	-
		5	1.56	5	1.00±0.0
		10	12.19	56	1.44±0.9
		20	17.19	78	1.42±0.7
3	08-7-28	0	-	-	-
		5	4.38	17	1.21±0.6
		10	5.63	21	1.17±0.4
		20	0.31	1	1.00±0.0
4	09-7-27	0	-	-	-
		5	8.75	17	1.21±0.4
		10	11.88	22	1.16±0.4
		20	-	-	-

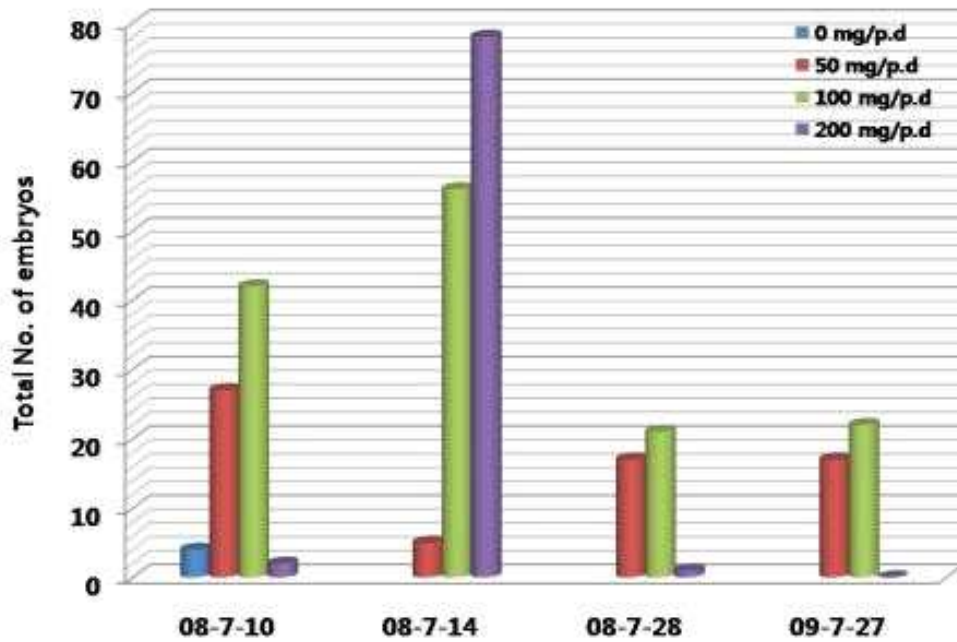


그림 1-18. Effect of activated charcoal on formation of microspore embryo of different cultivars.

나. 배양 조건 검정

(1) 고온 전처리에 따른 배발생 비교(Heat Shock Treatment(30°C): 0, 1, 2, 3, 4 days)

앞선 실험의 결과로 배지의 pH 5.5, 생장조절물질 NAA 0.05와 BAP 0.05mg/L 조합처리, AgNO<sub>3</sub> 0.1mg/L, activated charcoal 10mg/L를 첨가한 배지에 30°C에서 0, 1일, 2일, 3일, 4일의 고온처리를 실시하였다.

'08-7-10', '08-7-14', '08-7-28' 계통에서 배발생을 보였으며, 계통간 배발생률과 배발생은 차이를 보이지만, 세 개의 계통 모두 1일 고온처리에서 배발생이 가장 좋음을 볼수 있었다(표 1-19, 그림 1-19, 20 )

표 1-19. 고온처리(30°C)에 따른 배발생 비교

	Cultivar	Treatment (day)	% of embryo formation (%)	Total No. of embryos (No.)	No. of embryo/p.d (No.)
1	08-7-10	0	10.00	2	2.00±0.0
		1	20.00	5	2.50±2.1
		2	-	-	-
		3	-	-	-
		4	-	-	-
2	08-7-14	0	5.00	2	2.00±0.0
		1	55.00	33	3.00±1.7

		2	60.00	26	2.17±1.3
		3	5.00	2	2.00±0.0
		4	15.00	4	1.33±0.6
3	08-7-28	0	-	-	-
		1	80.00	25	3.13±1.5
		2	60.00	8	1.33±0.5
		3	20.00	2	1.00±0.0
		4	20.00	2	1.00±0.0

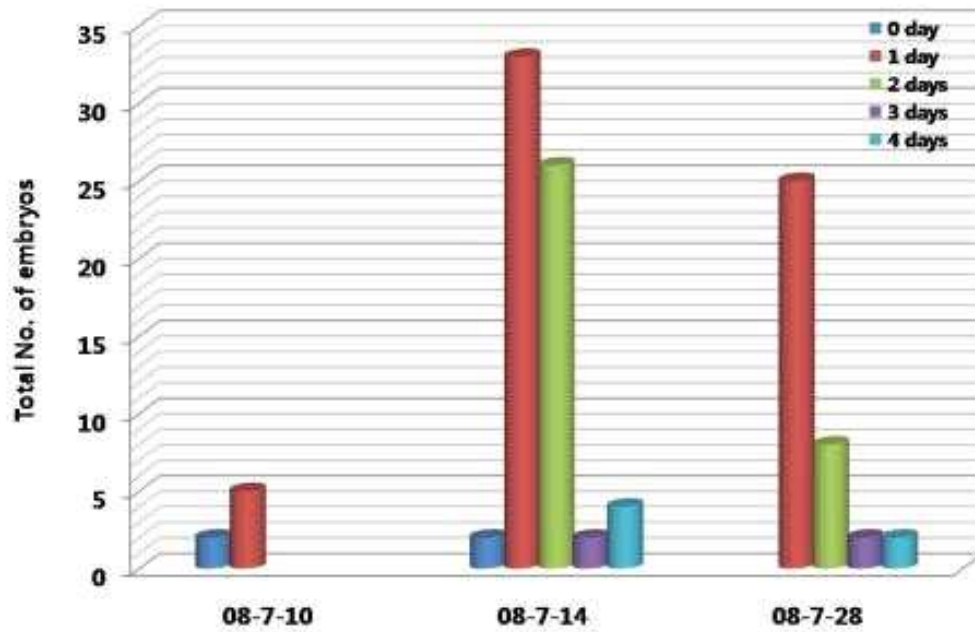


그림 1-19. Effect of heat shock treatment on formation of microspore embryo of different cultivars.

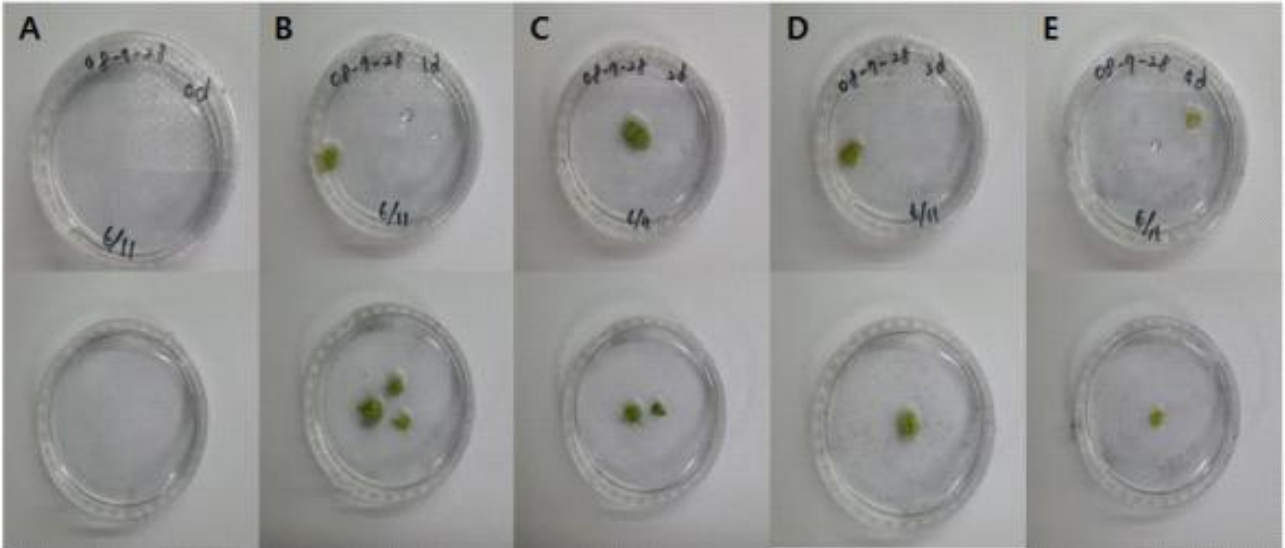


그림 1-20 Morphology of microspore embryo formation from microspore cultured on different heat shock treatments. A:0, B:1, C:2, D:3, E:4 days at 30°C.

앞선 실험의 결과를 요약하면, 소포자 배양 계통간 배발생에 차이가 많이 나는 것을 알 수 있으며, 모 식물체의 생육상태(화분/온실)에 따른 영향을 많이 받는 것을 볼 수 있었다. 성장조절물질에 따른 영향은 BAP 0.05 단독처리 또는 BAP 0.05, NAA 0.05 mg/L 조합처리가 효과적이며, 배지의 pH는 배발생한 모든 계통에서 배지의 pH가 5.5 일 때 배발생이 좋으며, pH 6.4일때는 아예 배발생을 안하거나 발생이 미비함을 볼 수 있었다. AgNO<sub>3</sub> 는 0.1 mg/L 첨가시, Activated charcoal 처리는 10mg/p.d 처리가 제일 효과적이었다.

앞선 실험의 결과로 배지의 pH 5.5, 성장조절물질 NAA 0.05와 BAP 0.05mg/L 조합처리, AgNO<sub>3</sub> 0.1mg/L, activated charcoal 10mg/L를 첨가한 배지에 30°C에서 1일(24시간)처리가 가장 효과적임을 볼 수 있었다.

#### 다. 소포자 배양 실험 진행 경과

소포자 배 발생 후 그림 1-8과 같이 MS배지에 계대 배양 후, 순화의 단계를 거치며 순화된 개체와 목록은 표 1-20과 같다.



그림 1-21. 배발생 후 소포자 배양 실험 진행

표 1-20. 배발생 후 순화 계통

연번	계통	순화 개체
1	08-7-10	12
2	08-7-14	61
3	08-7-28	14
4	08-7-30	5
5	09-7-22	6
6	09-7-27	39
7	09-7-31	26
8	09-7-33	16
9	09-7-34	4
10	09SC-15	12
Total		195





그림 1-22. 배발생 후 양배추 순화

라. 조직배양 민간서비스

(1) 조은종묘(13F-5009-51 등 6계통)

표 1-21

계통	배발생(개)	재분화개체(개)	순화개체(개)
13F-5009-51	43	100~150개체 예상	268
13F-2524-51	1	6	5



**13F-2524-51**



**13F-5009-51**

그림 1-23. 조은종묘 기내배양 개체



**13F-5009-51**

그림 1-24. 조은종묘 순화개체

(2) 아시아종묘(5계통, 30개체)

계통	배발생(개)	재분화개체(개)	순화개체(개)
4	3	12	3
7	7	30	1





4

7

그림 1-25. 조은종묘 기내배양 순화개체

## 6. 양배추 세포융합 기술을 이용한 원형질체 배양 조건

가. 유용 옹성불임(CMS) 무 및 양배추 자원의 확보

(1) 시험재료 확보

표 1-22. 양배추 세포융합 시험재료

양배추(가임)		무(옹성불임)	
C1	11FC M7	R1	14 MS u

(2) 식물재료의 발아율 검정

본 연구에 사용된 식물재료(무, 양배추)의 기내 배양체계 확립 및 원형질체 분리를 위한 기내 배양체 재료 확보를 위하여 각 식물 재료의 발아율 및 오염률을 조사한 결과 무, 양배추의 발아율이 각각 80, 97%로 비교적 양호했으나(표 1-23) 오염율이 무가 43%로 높게 나타나 살균 조건의 변경과 종피 제거 방법 등을 통해 기내 발아를 통한 무균 식물체의 확보가 가능하였다(그림 1-26).

표 1-23. 식물체 발아율 및 오염율 검정

작물명	계통명	발아율 (%)	오염율 (%)
CMS 무	14 MS u	80	43
정상 양배추	11 FC M7	97	0

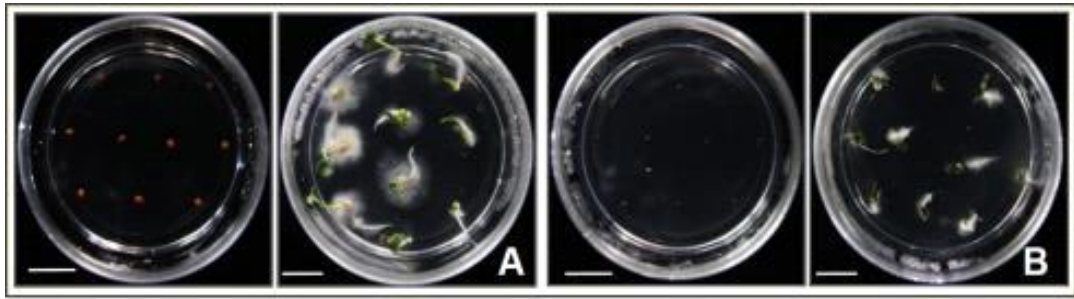


그림 1-26. 무, 양배추 종자 식물체 발아 모습

A: Germination of CMS radish seed; B: Germination of normal cabbage seed. Scale bars represent 2 cm (A-B).

#### 나. 무, 양배추 자원의 원형질체 분리 및 배양 체계 확립

##### (1) 무 잎으로부터 원형질체 유리 조건 확립

- 약 2주일 무균 발아된 유식물체의 잎 및 배축 약 1 g을 수거하여 CPW13M 용액에 30분간 전처리한 다음 세포벽분해효소용액으로 16시간동안 25°C 암배양을 하였다. 실험에 사용된 세포벽분해효소용액의 조성은 cellulase를 2%, Macerozyme을 0.5%로 할 경우와 Novozyme의 Viscozyme: Celluclast : Pectinex를 1 : 0.5 : 0.5의 비율로 한 2가지를 비교하여 처리하였다(표 1-24). 유리된 원형질체를 CPW9M 용액으로 세척후 회수하고 2종류의 세포벽분해효소용액의 원형질체 분리 효율을 조사한 결과 VCP 효소 용액이 분리 효율이 2.5-3배 정도 효율이 높았다(그림 1-27).

표 1-24. 원형질체 유리 세포벽분해효소용액 조성

C.M.	V.C.P.
CPW 9M	CPW 9M
3mM MES	3mM MES
2% Cellulase R10	1% Viscozyme
0.5% Macerozyme	0.5% Celluclast
pH 5.8	0.5% PectinEX
	pH 5.8

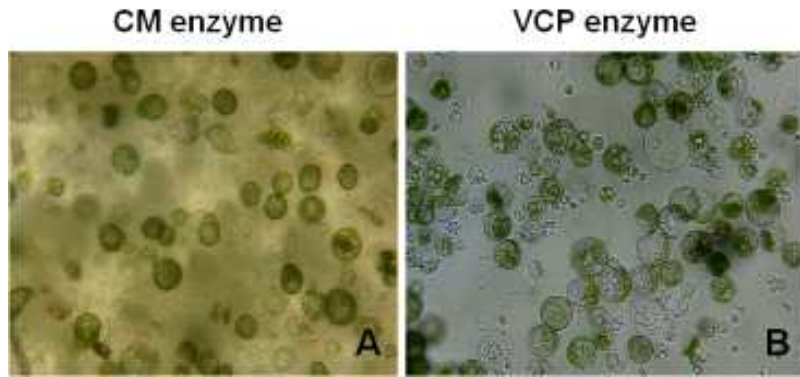


그림 1-27. 무 자엽으로부터 원형질체 분리체계 확립.

A: 2% cellulase R10 + 0.5% macerozyme (Yakult) 용액;

B: Viscozyme, celluclast 및 pectinEX (Novozyme) 혼합 용액

(2) 양배추 원형질체 유리 조건 및 배양체계 확립

- 무 식물체의 원형질체 분리 및 배양체계를 이용하여 양배추의 원형질체 분리 및 배양체계를 확립하였다(그림 1-28). 약 2주 정도 배양한 원형질체가 활발하게 분열하여 콜로니를 형성하였을 때 2,4-D 2mg/L와 BA 0.5mg/L를 첨가한 MS 배지에 옮긴 다음(표 1-25) 약 3-4 주 정도 후에 microcalli를 형성하는 것을 관찰하였다. 이를 동일 MS 고체 배지에 옮겨 캘러스의 증식을 유도하였고 유도된 캘러스는 BA가 첨가된 MS 배지로 옮겨 싹초를 유도하는 과정에 있다.

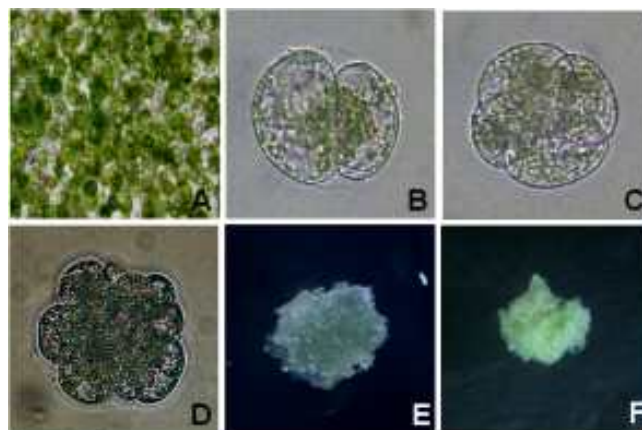


그림 1-28. 양배추 자엽유래 원형질체 배양체계 확립.

A: Freshly isolated protoplast; B: First cell division; C: Second cell division; D: Cell colony formation; E: Microcalli formation; F: Shoot induction from protoplast-derived green callus

표 1-25. 원형질체 배양 배지 최적 조성 검정

MS NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> free medium+3% sucrose+6% myo-inositol)

배지 \ PGRs	2,4-D (mg/L)	BAP (mg/L)
MS1	0.5	0.5
MS2	0.5	1.0
MS3	1.0	0.5
MS4	1.0	1.0
MS5	2.0	0.5
MS6	2.0	1.0

**다. 양배추 자원의 기내 식물체 재생 체계 확립**

- 상기 확립된 원형질체 분리 및 배양 체계를 통해 양배추 캘러스를 증식 확보하여 고효율 식물체 재생 체계를 확립하였다. 먼저 기내에서 발아시킨 양배추 자엽을 MS 기본배지에 BA(0, 1, 2, 5, 10 mg/L)와 NAA(0.5 mg/L)가 각각 농도별로 처리된 5 종류의 배양배지에 자엽 절편을 plate 당 10개씩 치상하고(표 1-26) 각 처리구당 3 반복하여 배양한 결과 NAA 단독 처리된 배지를 제외한 모든 배양배지에서 2-3주 안에 shoot가 나오는 것을 관찰하였다. 특히 2 mg/L BA와 0.5 mg/L NAA를 혼용한 배양배지 조건에서 80% 이상 shoot가 관찰되어 양배추의 자엽 절편으로부터 식물체 재분화에 효과적임을 알 수 있었다(그림 1-29). 또한 배지 고형제로 0.8% (w/v) agar 보다는 0.4% (w/v) Gelrite를 사용했을 때 자엽 절편으로부터 shoot 형성률이 약 2-3배 증가함을 알 수 있었다(그림 1-29). 이상의 결과를 통해 양배추의 식물체 재생 조건은 2 mg/L BA와 0.5 mg/L NAA를 혼용 처리한 MS 배지를 사용하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

표 1-26 양배추 자엽 유래 캘러스 재분화 배지 최적 조성 검정

(MS basal medium+3% sucrose)

배 지 \ PGRs	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)
MS1	0.5	0.5
MS2	1.0	0.5
MS3	2.0	0.5
MS4	5.0	0.5
MS5	10.0	0.5

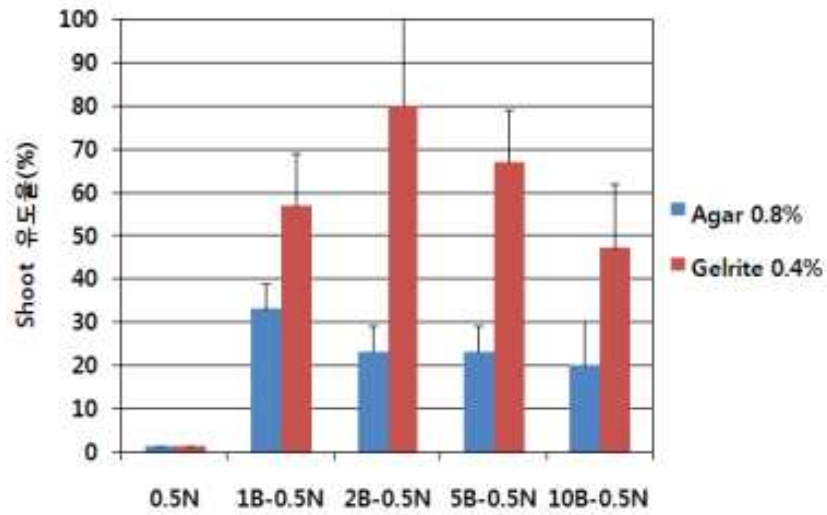


그림 1-29. 양배추 자엽 explant로부터 shoot 형성률

- 양배추 자엽 유래 원형질체로부터 얻어진 캘러스를 BA 2 mg/L와 NAA 0.5 mg/L를 첨가한 MS 배지에 옮겨 배양한 결과 약 1달 정도 후에 캘러스로부터 shoot가 발생함을 관찰하였으며(그림 1-30) 신장이 이루어진 shoot를 성장조절제가 첨가되지 않은 1/2 MS 배양배지로 옮겨 배양한 결과 뿌리가 발생되는 것을 관찰하였다(그림 1-31).

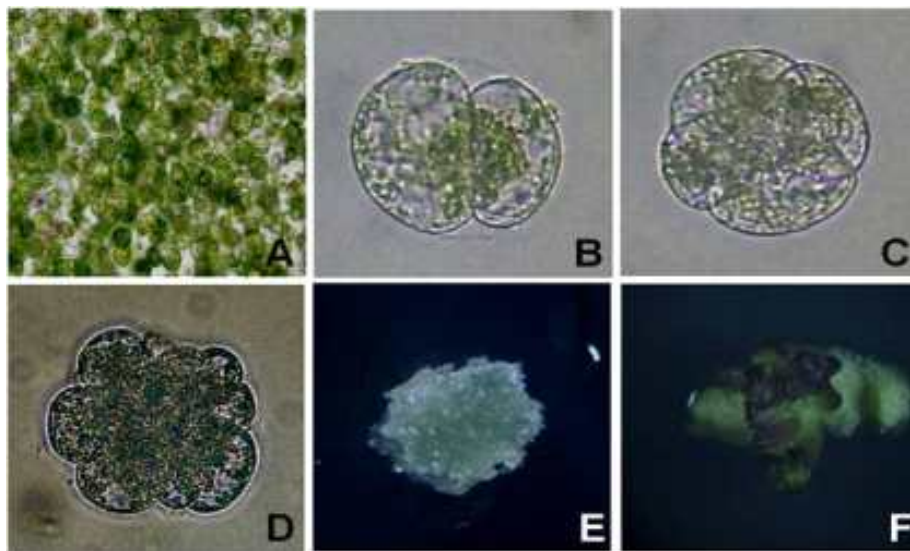


그림 1-30. 양배추 자엽유래 원형질체 재생체계 확립.

A: Freshly isolated protoplast; B: First cell division; C: Second cell division;  
 D: Cell colony formation; E: Microcallus formation; F: Shoot induction from  
 protoplast-derived green callus



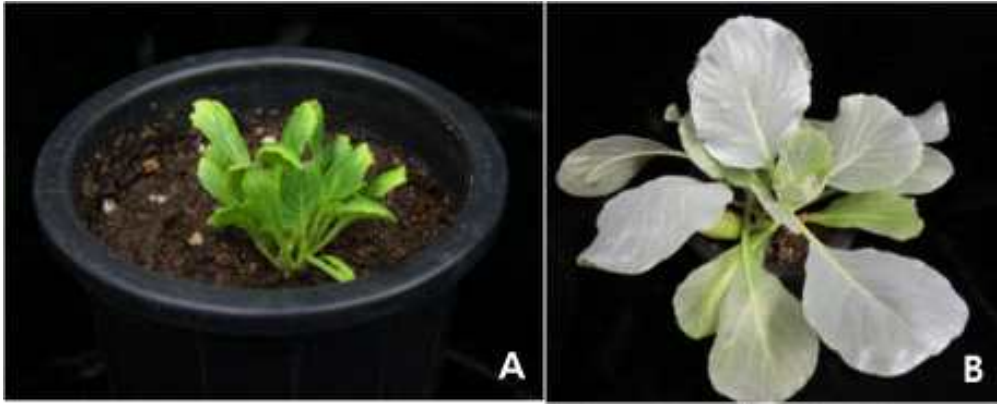


그림 1-31 양배추 원형질체 유래 캘러스로부터 식물체 재생체계 확립.

A: 토양 이식 초기; B: 정상 식물체 재생

### 라. 다양한 브로콜리 품종의 작기에 따른 Phytochemical과 항산화활성 비교

우량 양배추 육종 소재 개발이라는 목표를 위해 다른 배추과 작목 중 브로콜리에서 나타나는 기능성을 양배추로 도입하기 위하여, 브로콜리의 기능성 관련 탐색 시험을 실시하였다. 다양한 브로콜리 품종의 화퇴, 잎, 줄기 부위별로 봄, 가을 작기로 나누어 부위 및 작기에 따른 phytochemical과 항산화활성을 비교하였다.

12개의 브로콜리 품종을 수원 농촌진흥청 국립원예특작과학원 채소과 포장에서 봄·가을작기별로 재배하여 화퇴, 잎, 줄기 부위로 나누어 glucosinolates, vitamin C, total phenol, total flavonoid, 항산화 활성을 측정하였다. 봄, 가을 작기 모두 화퇴 부위에서 glucosinolate 함량이 가장 높게 나타났으며, phenol과 flavonoid는 잎 부위에서, vitamin C는 줄기부위에서 높은 함량을 나타내어 추후 브로콜리 기능성 식품개발을 위해 이러한 phytochemical을 이용 가능할 것으로 예상된다. 화퇴부위의 phytochemical은 가을작기보다 봄작기에서 함량이 높았으나, 잎과 줄기 부위는 가을작기에 함량이 더 높음을 볼 수 있었으며, 품종별, 부위별 상관관계는 봄작기가 더 높았다. 총 phenol 함량과 항산화 활성의 상관관계는  $r=0.674^{**}$ 로 가장 높았다.

#### (1). Glucosinolates 함량

표 1-27, 28, 29를 살펴보면 브로콜리 화퇴, 잎, 줄기 부위별로 봄, 여름 작기별 glucosinolate 함량을 비교하였다. Glucoraphanin은 모든 작기, 품종에서 가장 함량이 높았으며, glucobrassicin은 화퇴와 잎부위에서 그 다음으로 높게 나타났다. Glucoerucin은 줄기 부위에서만 존재하는걸로 나타났으며, progoitrin, sinigrin, gluconapin은 몇몇 품종에서만 나타났다.

화퇴부위에서는, 봄 작기의 TS-2319 품종에서 가장 높은 총 glucosinolate 함량을 보였으며, 가을 작기에는 Jiknok No.28 품종이 가장 높았다. 화퇴부위의 glucosinolate 함량은 봄 작기가 더 높았으나, 품종간 차이는 보이지 않았다.

줄기 부위에는 화퇴나 잎에 없는 glucoerucin이 있는데, 모든 품종에서 25-10%의 함량을 보였다.



Table 1-27 Seasonal variation in glucosinolate contents ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ , dry weight) in florets of broccoli cultivars.

Cultivar	Progoitrin		Glucoraphanin		Sinigrin		Gluconapin		Glucobrassicin		Total glucosinolates	
	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall
05-C3	0.00±0.00 <sup>z</sup>	0.17±0.00	2.30±0.15	4.03±0.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.58±0.10	4.31±0.10	3.88±0.25	8.51±0.07
AMaGi	2.25±0.08	1.83±0.01	2.61±0.11	1.41±0.01	0.00±0.00	0.00±0.00	0.57±0.02	0.60±0.01	1.54±0.09	2.57±0.11	6.95±0.28	6.40±0.12
BaeRi Dom	1.28±0.00	1.15±0.02	1.81±0.05	1.37±0.06	0.21±0.00	0.19±0.00	0.32±0.01	0.34±0.02	0.68±0.03	1.56±0.13	4.29±0.07	4.60±0.24
CheongJae	0.19±0.01	0.56±0.04	1.67±0.00	2.62±0.20	0.00±0.00	0.10±0.00	0.06±0.00	0.18±0.02	0.34±0.00	2.35±0.13	2.26±0.01	5.79±0.01
Diamond	0.00±0.00	0.00±0.00	4.34±0.02	2.05±0.14	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.51±0.06	1.63±0.06	7.85±0.08	3.68±0.20
Grace	0.00±0.00	0.00±0.00	5.83±0.33	1.75±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.46±0.10	1.42±0.08	7.29±0.23	3.17±0.18
Grander	0.00±0.00	0.00±0.00	4.28±0.22	2.37±0.07	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	4.21±0.03	4.09±0.04	8.48±0.01	6.46±0.02
JikNok No. 28	2.58±0.25	3.72±0.14	3.38±0.26	5.12±0.52	0.00±0.00	0.00±0.00	0.83±0.01	0.97±0.02	1.98±0.21	4.00±0.04	8.76±0.73	13.8±0.32
NokJae	0.00±0.00	0.00±0.00	3.74±0.40	3.54±0.31	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.88±0.07	2.49±0.07	5.62±0.33	6.03±0.38
NokYeom No. 1	2.64±0.27	2.55±0.01	2.16±0.06	3.32±0.12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.56±0.06	0.82±0.01	2.94±0.18	2.80±0.10	8.30±0.20	9.49±0.21
TS-2319	4.48±0.11	2.11±0.19	7.64±0.07	1.92±0.09	0.54±0.00	0.26±0.01	0.49±0.01	0.69±0.05	4.68±0.28	1.27±0.11	17.81±0.31	6.24±0.46
YuDoRi No. 1	1.86±0.07	2.36±0.19	3.31±0.09	3.49±0.09	0.30±0.03	0.00±0.00	0.44±0.01	0.61±0.04	2.09±0.18	3.00±0.20	7.99±0.18	9.45±0.53
Average	2.18	1.80	3.59	2.75	0.35	0.18	0.47	0.48	2.24	2.62	7.46	6.96

<sup>z</sup> Each value is the mean  $\pm$  SD of two independent replications.

Table 1-28 Seasonal variation in glucosinolate contents ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ , dry weight) in leaves of broccoli cultivars.

Cultivar	Progoitrin		Glucoraphanin		Sinigrin		Gluconapin		Glucobrassicin		Total glucosinolates	
	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall
05-C3	0.00±0.00 <sup>z</sup>	0.00±0.00	3.18±0.23	4.70±0.29	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.10±0.01	1.55±0.08	5.28±0.24	6.24±0.21
AMaGi	0.34±0.02	0.60±0.02	2.05±0.16	3.38±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	0.20±0.00	0.25±0.01	2.31±0.01	2.51±0.01	4.90±0.13	6.73±0.03
BaeRi Dom	0.26±0.02	0.22±0.01	2.00±0.09	1.36±0.11	0.07±0.00	0.06±0.01	0.18±0.01	0.10±0.01	1.16±0.01	0.68±0.01	3.66±0.05	2.41±0.12
CheongJae	0.00±0.00	0.19±0.01	1.66±0.11	5.05±0.06	0.00±0.00	0.06±0.00	0.00±0.00	0.08±0.00	0.21±0.00	1.74±0.11	1.87±0.11	7.11±0.18
Diamond	0.00±0.00	0.00±0.00	1.27±0.09	4.13±0.31	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.02±0.02	2.16±0.02	3.29±0.10	6.28±0.33
Grace	0.00±0.00	0.00±0.00	3.56±0.03	4.11±0.05	0.00±0.00	0.00±0.00	0.12±0.01	0.00±0.00	0.75±0.03	1.02±0.02	4.42±0.05	5.13±0.07
Grander	0.00±0.00	0.00±0.00	2.40±0.07	3.70±0.31	0.00±0.00	0.00±0.00	0.10±0.00	0.00±0.00	2.22±0.06	3.14±0.17	4.72±0.01	6.84±0.14

JikNok No. 28	0.48±0.00	0.34±0.02	2.66±0.13	1.61±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	0.24±0.00	0.12±0.00	1.55±0.10	1.34±0.08	4.91±0.03	3.40±0.04
NokJae	0.00±0.00	0.00±0.00	3.39±0.11	7.45±0.33	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.84±0.08	1.27±0.06	5.23±0.03	8.72±0.39
NokYeom No. 1	0.54±0.00	0.45±0.04	1.92±0.00	2.07±0.11	0.00±0.00	0.00±0.00	0.20±0.00	0.12±0.00	3.10±0.00	1.68±0.08	5.76±0.00	4.31±0.23
TS-2319	0.10±0.01	0.38±0.01	1.56±0.04	2.82±0.07	0.05±0.00	0.08±0.00	0.11±0.00	0.15±0.01	2.01±0.03	0.77±0.03	3.82±0.01	4.19±0.05
YuDoRi No. 1	0.21±0.01	0.27±0.01	1.09±0.06	1.41±0.10	0.00±0.00	0.06±0.00	0.17±0.00	0.11±0.00	1.08±0.00	0.96±0.01	2.54±0.09	2.80±0.12
Average	0.32	0.35	2.23	3.48	0.06	0.06	0.16	0.13	1.70	1.57	4.20	5.35

Table 1-29 Seasonal variation in glucosinolate contents ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ , dry weight) in stems of broccoli cultivars.

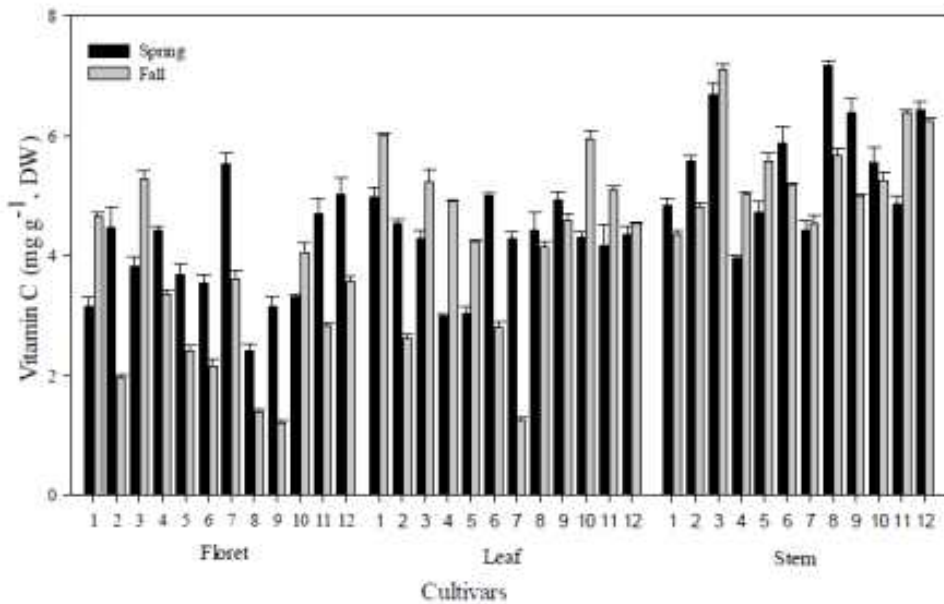
Cultivars	Progoitrin		Glucoraphanin		Sinigrin		Gluconapin		Glucoerucin		Glucobrassicin		Total glucosinolate	
	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall	Spring	Fall
05-C3	0.00±0.00 <sup>z</sup>	0.00±0.00	2.95±0.10	6.42±0.40	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.89±0.01	1.17±0.06	0.52±0.00	0.33±0.02	4.35±0.11	7.92±0.35
AMaGi	1.16±0.04	1.01±0.00	2.39±0.14	3.22±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.00	0.32±0.03	1.56±0.01	0.28±0.01	0.30±0.01	0.54±0.00	5.74±0.07	5.37±0.09
BaeRiDom	0.88±0.01	0.84±0.05	1.7±0.06	2.05±0.19	0.13±0.01	0.12±0.02	0.15±0.01	0.13±0.00	1.59±0.10	0.27±0.02	0.21±0.01	0.15±0.00	4.64±0.08	3.55±0.12
CheongJae	0.00±0.00	0.31±0.00	1.00±0.04	3.07±0.24	0.00±0.00	0.05±0.00	0.00±0.00	0.11±0.01	0.00±0.00	0.15±0.00	0.04±0.00	0.40±0.00	1.04±0.04	4.08±0.25
Diamond	0.00±0.00	0.00±0.00	2.65±0.12	3.98±0.12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.36±0.01	0.48±0.03	0.39±0.00	0.24±0.01	3.39±0.13	4.70±0.09
Grace	0.00±0.00	0.00±0.00	2.98±0.25	3.79±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.41±0.07	0.54±0.00	0.29±0.03	0.29±0.01	5.68±0.21	4.61±0.04
Grandeur	0.00±0.00	0.00±0.00	2.77±0.24	5.82±0.18	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.48±0.00	0.49±0.01	0.53±0.04	0.56±0.01	3.77±0.20	6.86±0.18
JikNok No. 28	1.22±0.01	1.29±0.06	1.55±0.00	1.40±0.03	0.00±0.00	0.00±0.00	0.29±0.01	0.32±0.00	1.20±0.02	0.18±0.01	0.17±0.00	0.23±0.00	4.41±0.02	3.41±0.10
NokJae	0.00±0.00	0.00±0.00	4.18±0.33	7.22±0.08	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.09±0.07	0.37±0.01	0.26±0.01	0.22±0.00	5.53±0.27	7.81±0.07
NokYeom No. 1	1.11±0.02	1.33±0.10	1.16±0.07	2.46±0.13	0.00±0.00	0.00±0.00	0.97±0.04	0.20±0.00	1.29±0.04	0.30±0.01	0.23±0.03	0.24±0.00	4.76±0.13	4.52±0.02
TS-2319	0.62±0.00	0.82±0.01	1.65±0.07	2.15±0.20	0.11±0.00	0.09±0.01	0.16±0.00	0.14±0.00	0.78±0.03	0.53±0.00	0.15±0.00	0.11±0.00	3.46±0.04	3.84±0.36
YuDoRi No. 1	0.78±0.06	0.74±0.06	1.31±0.12	1.59±0.02	0.10±0.00	0.08±0.01	0.12±0.01	0.13±0.01	0.95±0.08	0.23±0.02	0.23±0.01	0.15±0.00	3.47±0.29	2.91±0.08
Aver	0.96	0.90	2.19	3.60	0.11	0.09	0.33	0.19	1.14	0.42	0.27	0.29	4.19	4.96

age														
-----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

(2). Vitamin C 함량

Vitamin C 함량은 봄작기에는 2.42에서 5.53 mg·g<sup>-1</sup>으로 평균은 3.94mg·g<sup>-1</sup> 이고, 가을작기에는 1.22에서 5.27mg·g<sup>-1</sup>으로 평균 3.05mg·g<sup>-1</sup>이었으며, 변이가 가을작기가 41.7%로 더 높게 나타났다. 화뢰, 잎부위보다 줄기부위에서 가장 높은 vitamin C 함량을 보였는데, 이는 추후 고기능성 식품개발에 vitamin C 함량이 높은 브로콜리를 응용가능할 것으로 여겨진다.

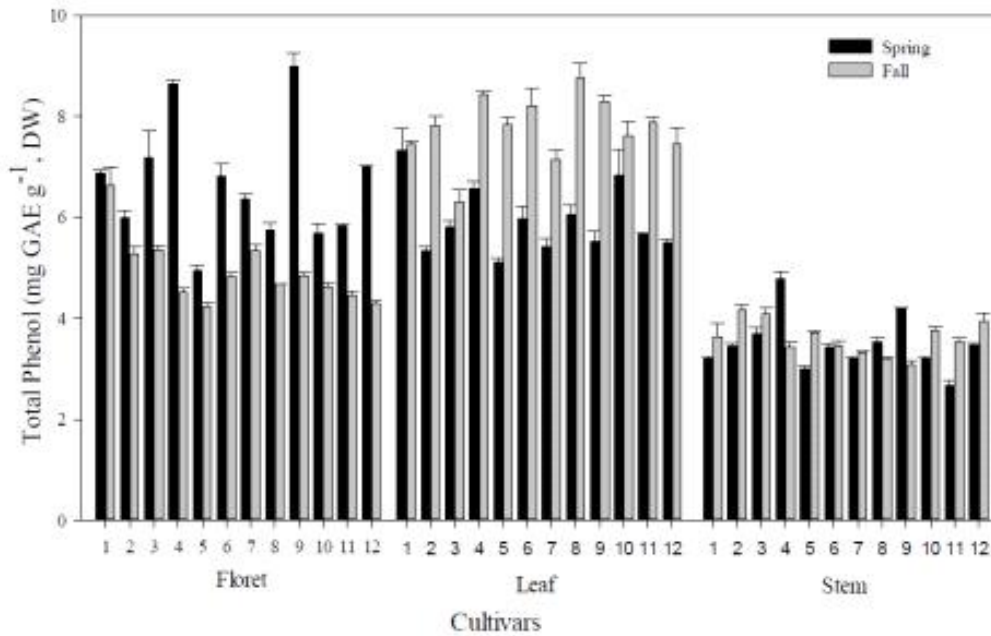
표 1-30 Seasonal variation in the vitamin C contents of florets, leaves, and stems of broccoli cultivars. Each bar represents the mean ± SD of three independent replications. 1, 05-C3; 2, AMaGi; 3, BaeRiDom; 4, Cheong-Jae; 5, Diamond; 6, Grace; 7, Grandeur; 8, JikNok No. 28; 9, NokJae; 10, Nok-Yeom No. 1; 11, TS-2319; and 12, YuDoRi No. 1.



(3). 총 phenol 함량

작기에 따른 총 phenol 함량을 살펴보면, 화뢰부위의 봄작기의 평균 함량이 6.67 mg·GAE·g<sup>-1</sup>으로 가을작기의 평균인 4.92mg·GAE·g<sup>-1</sup>보다 높게 나타났으며, 변화량은 봄작기는 17.9%, 가을작기는 13.5%를 나타냈다. 이와 반대로 잎과 줄기는 가을작기가 봄작기보다 높게 나타났다.

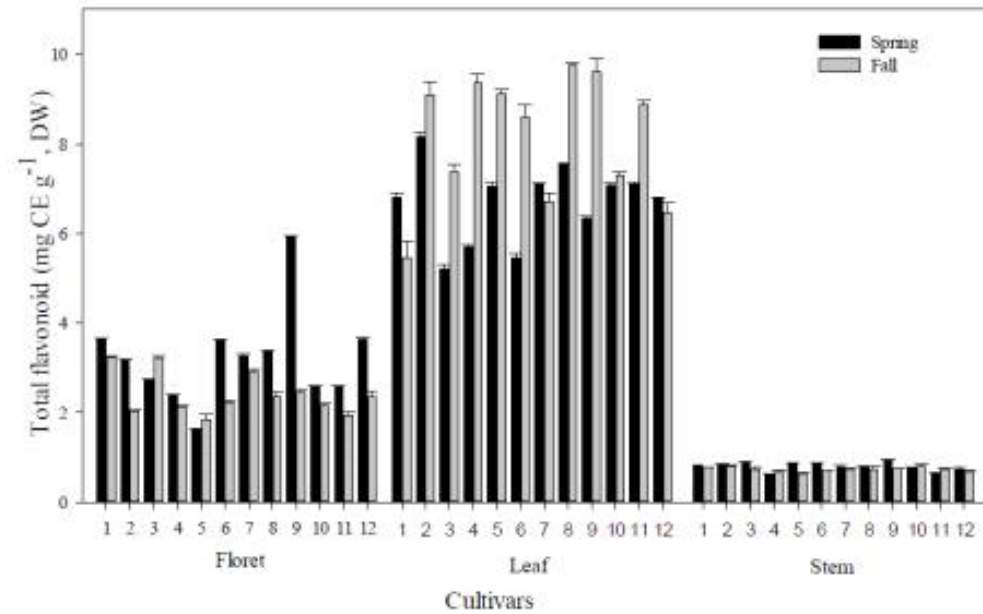
표 1-31 Seasonal variation in the total phenol contents of florets, leaves, and stems of broccoli cultivars. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of three independent replications. 1, 05-C3; 2, AMaGi; 3, BaeRiDom; 4, Cheong-Jae; 5, Diamond; 6, Grace; 7, Grandeur; 8, JikNok No. 28; 9, NokJae; 10, Nok-Yeom No. 1; 11, TS-2319; and 12, YuDoRi No. 1.



(4). 총 flavonoid 함량

화뢰부위의 총 flavonoid 함량은 표 1-31과 같은데, 화뢰부위와 줄기부위는 봄작기의 총 flavonoid 함량이 가을작기보다 높게 나타났으나, 잎 부위는 가을작기가 더 높게 나타났다. 부위별로 살펴보면, 잎부위의 총 flavonoid 함량은 화뢰부위보다는 3배, 줄기부위보다는 8배 높게 나타났는데, 이는 추후 잎부위를 flavonoid 이용 고기능성식품 개발에 이용가능할 것으로 여겨진다.

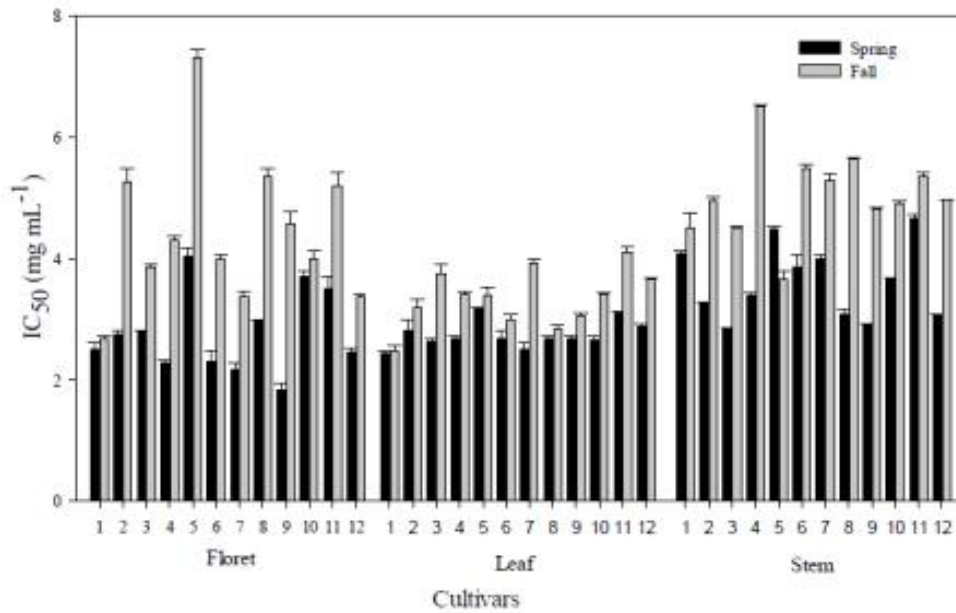
표 1-32 Seasonal variation in the total flavonoid contents of florets, leaves, and stems of broccoli cultivars. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of three independent replications. 1, 05-C3; 2, AMaGi; 3, BaeRiDom; 4, Cheong- Jae; 5, Diamond; 6, Grace; 7, Grandeur; 8, JikNok No. 28; 9, NokJae; 10, Nok- Yeom No. 1; 11, TS-2319; and 12, YuDoRi No. 1.



(5). 항산화 활성

항산화 활성을 살펴보면 표 1-33와 같은데, 낮은 IC<sub>50</sub>은 높은 항산화 활성을 나타낸다. 봄작기에는 화뢰는 Nokjae, 잎은 05-C3, 줄기는 Baeridom 품종에서 각각 제일 높게 나타났는데, 거의 모든 품종에서 봄작기가 가을작기보다 높은 항산화 활성을 나타내었다. 봄작기의 화뢰, 잎, 줄기 부위가 2.77, 2.74, 3.60 mg·mL<sup>-1</sup>로 나타났는데 이는 봄의 높은 온도가 항산화 활성에 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

표 1-33 Seasonal variation in the antioxidant activities in florets, leaves, and stems of broccoli cultivars. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of three independent replications. 1, 05-C3; 2, AMaGi; 3, BaeRiDom; 4, Cheong- Jae; 5, Diamond; 6, Grace; 7, Grandeur; 8, JikNok No. 28; 9, NokJae; 10, Nok- Yeom No. 1; 11, TS-2319; and 12, YuDoRi No. 1.



### 9. 부위에 따른 배추과 작목의 기능성 물질 및 항산화활성

양배추와 같은 배추과 작목인 브로콜리, 콜리플라워의 기능성 물질 및 항산화 활성 효과를 측정하여 추후 우량 양배추 육종 소재 개발 응용을 위해 아래의 실험을 실시하였다.

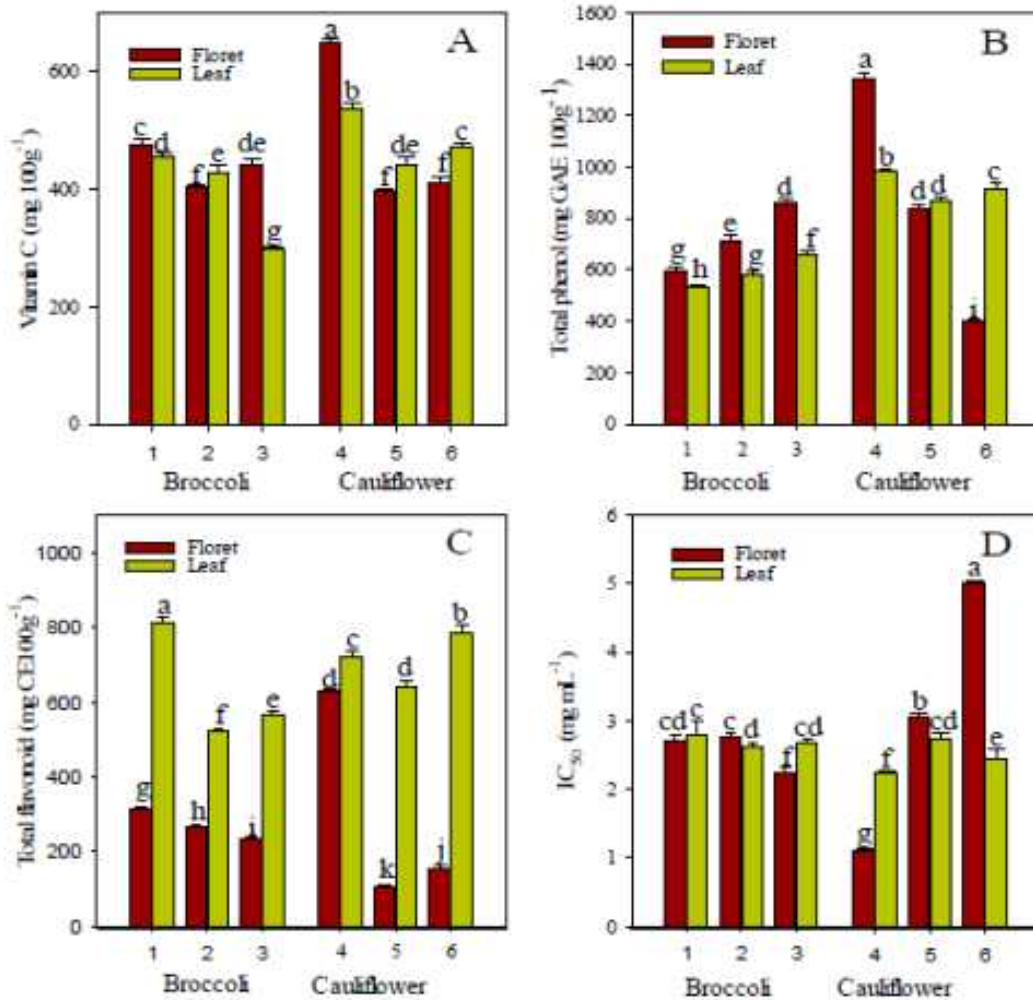
브로콜리와 콜리플라워를 화퇴, 잎 부위로 나누어 vitamin C, total phenol, total flavonoid, free sugar(glucose, fructose, sucrose) 함량, fatty acid 함량, 항산화 활성을 측정하였다. Total flavonoid 와 free sugar 함량은 잎 부위에서 높게 나타났는데, 화퇴부위에서는 asia purple 품종이 가장 높은 vitamin C(649.7 mg·100g<sup>-1</sup>), total phenol(1345.2 mg·GAE100g<sup>-1</sup>), total flavonoid(632.7 mg·CE100 g<sup>-1</sup>) 함량과 가장 높은 항산화 활성을 보였다. 대부분의 품종에서 주요 fatty acid인 palmitic이 23.52-38.42%, linoleic이 13.09%-18.97%, linolenic acid 가 26.32-51.80%를 나타냈다.

#### 가 Vitamin C, 총 phenol, 총 flavonoid 함량

브로콜리, 콜리플라워의 품종별, 부위별로 Vitamin C, 총 phenol, 총 flavonoid 함량을 측정해본 결과는 그림1-34와 같다. 브로콜리에서는 Amagi 품종의 화퇴와 잎 부위의 vitamin C 함량이 높게 나타났으나, total phenol 함량은 Amagi 품종이 가장 낮게 나타났다. 모든 품종에서 화퇴부위의 총 phenol 함량이 높게 나타났으나, total flavonoid 함량은 잎부위가 높게 나타났다. 콜리플라워의 경우, 화퇴부위의 vitamin C 함량은 asia purple이 가장 높게 나타났으며, 잎 부위는 asia white 품종과 bridal 품종이 높게 나타났다. Vitamin C 함량과 대조적으로 bridal 품종의 잎 부위에서 높은 total phenol 함량을 나타냈으며, total flavonoid 함량은 브로콜리와 마찬가지로 콜리플라워에서도 잎부위가 화퇴부위보다 높음을 알 수 있었다.

표 1-34. Vitamin C (A); total phenol (B); total flavonoid (C); and antioxidant activity (D) in floret and leaf of broccoli and cauliflower cultivars. Each vertical bar represents mean  $\pm$  SD of three independent replications; different letters within a box indicate a statistically significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple-range test. Broccoli cultivars:

1, AMaGi; 2, Baeridom; 3, Cheonjae. Cauliflower cultivars: 4, Asiapurple; 5, Asiawhite; 6, Bridal.



#### 나. Free sugar 함량

Glucose, fructose, sucrose의 세가지의 free sugar 함량을 측정해본 결과는 표 1-35과 같다. Glucose가 모든 품종과 부위에서 가장 높게 나타났으며, 브로콜리의 총 free sugar 함량은 cheonjae 품종을 제외한 모든 품종의 잎 부위에서 가장 높게 나타났다. 콜리플라워인 asia white 품종의 glucose 함량은 잎부위보다 화퇴부위에서 높게 나타났으나 다른 두 품종은 부위별로 큰 차이를 나타내지 않았다. 이와 대조적으로 fructose 함량은 잎부위보다 화퇴부위가 월등히 높게 나타났다.

표 1-35 Free sugar content (mg·g<sup>-1</sup> in dry weight) in various parts of broccoli and cauliflower cultivars.

Crop	Cultivar	Part	Glucose	Fructose	Sucrose	Total Free Sugar
Broccoli	AMaGi	Floret	77.4 <sup>x</sup> g <sup>y</sup>	75.3 f	0.6 j	153.3 h
		Leaf	134.5 b	99.3 d	7.8 g	241.6 d
	Baeridom	Floret	105.5 f	98.4 d	1.9 i	205.8 f
		Leaf	112.8 ef	78.2 f	23.3 d	214.3 ef
	Cheonjae	Floret	126.3 b - d	110.2 b	0.7 j	237.2 d
		Leaf	118.9 de	100.8 cd	4.0 h	223.7 e
Cauliflower	Asia purple	Floret	133.3 b	104.1 c	32.2 b	269.6c
		Leaf	127.8 bc	49.4 h	14.8 e	192.0 g
	Asia white	Floret	161.8 a	127.0 a	10.5 f	299.3 b
		Leaf	120.5 c - e	65.1 g	29.2 c	214.8 ef
	Bridal	Floret	133.1 b	113.5 b	72.0 a	318.6 a
		Leaf	127.3 bc	88.3 e	8.8 g	224.4 e

<sup>x</sup> Values are mean of two independent replications; <sup>y</sup> Different letters within the column are statistically significant by Duncan's multiple-range test at  $p < 0.05$ .

Fatty acid 함량은 아래의 표 1-36과 같다. 37개의 fatty acid 중에 13개의 fatty acid 만이 브로콜리의 화퇴부위에서 발견되었으며, 잎 부위에는 12개가 측정되었다. 그 중 palmitic, linoleic, linolenic acid의 3대 주 fatty acid가 amagi를 제외한 모든 품종과 모든 부위에서 총 fatty acid의 85% 이상을 차지하였다. 모든 품종과 부위에서 linolenic acid가 가장 주된 fatty acid로 나타났으며, 그 다음으로 palmitic과 linoleic acid 순이었다. Linolenic acid는 건강에 다양한 도움을 주는데 모든 품종과 부위의 잎 부위에서 화퇴 부위보다 높게 나타났다.

표 1-36. Fatty acid composition (%) in various parts of broccoli and cauliflower cultivars.

Fatty acids	Broccoli						Cauliflower					
	AMaGi		Baeridom		Cheonjae		Asia purple		Asia white		Bridal	
	Floret	Leaf	Floret	Leaf	Floret	Leaf	Floret	Leaf	Floret	Leaf	Floret	Leaf
Lauric (C12:0)	0.17 <sup>u</sup> <sub>a</sub> <sup>v</sup>	N/D <sup>w</sup>	0.10 b	N/D	0.10 b	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Myristic (C14:0)	1.04 a	0.39 f	0.51 e	0.28 g	0.39 f	0.29 g	0.87 b	0.91 b	0.87 b	0.68 d	0.77 c	0.67 d
Pentadecanoic (C15:0)	0.40 <sup>ab</sup>	0.44 a	0.29 e	0.38 bc	0.35 cd	0.36 <sup>b</sup> <sub>b-d</sub>	0.37 bc	0.30 e	0.36 <sup>b</sup> <sub>b-d</sub>	0.37 bc	0.32 de	0.44 a
Palmitic (C16:0)	31.74 c	23.55 <sup>g</sup>	29.75 e	24.05 <sup>g</sup>	31.03 <sup>cd</sup>	23.52 <sup>g</sup>	30.50 <sup>de</sup>	27.11 f	34.75 b	27.25 f	38.42 a	27.15 f
Palmit	0.66 a	0.21 de	0.44 c	0.21 de	0.37 c	0.13 e	0.73 a	0.22 d	0.53 b	0.17 de	0.40 c	0.20 de



oleic (C16:1)												
Heptadecanoic (C17:0)	0.61 a	0.40 e	0.30 fg	0.33 f	0.31 fg	0.27 g	0.59 a	0.47 bc	0.51 b	0.45 cd	0.41 de	0.42 de
Stearic (C18:0)	11.90 a	5.53 g	5.98 f	4.70 i	5.59 g	5.07 h	10.37 b	11.72 a	9.97 d	10.11 cd	8.73 e	10.24 bc
Oleic (C18:1 n9c)	3.63 d-g	3.13 g	3.82 b-e	3.22 fg	4.30 ab	3.74 c-f	3.56 e-g	3.99 b-e	4.12 a-d	4.23 a-c	4.61 a	3.75 c-f
Linoleic (C18:2 n6c)	13.56 ef	14.43 d	18.02 b	14.09 de	18.23 b	14.36 d	16.42 c	14.38 d	16.69 c	14.52 d	18.97 a	13.09 f
Linolenic (C18:3 n3)	34.34 f	50.72 a	39.13 de	51.80 a	37.80 e	51.03 a	35.52 f	39.76 cd	30.61 g	41.00 c	26.32 h	42.76 b
Arachidic (C20:0)	0.99 a	0.53 de	0.84 ab	0.42 e	0.74 a-d	0.44 e	0.48 e	0.55 e	0.81 a-c	0.57 c-e	0.61 b-e	0.62 b-e
Behenic (C22:0)	0.30 a	0.21 a-c	0.22 a-c	0.12 c	0.22 a-c	0.28 ab	0.22 a-c	0.23 a-c	0.32 a	0.21 a-c	0.17 b-c	0.23 a-c
Lignoceric (C24:0)	0.66 a	0.46 cd	0.60 ab	0.40 cd	0.57 ab	0.51 bc	0.37 de	0.36 de	0.46 cd	0.44 cd	0.27 e	0.43 cd
SFA <sup>x</sup>	47.81 b	31.51 g	38.59 f	30.68 g	39.30 e	30.74 g	43.77 c	41.65 d	48.05 b	40.08 e	49.70 a	40.20 e
MUFA <sup>y</sup>	4.29 bc	3.34 e	4.26 bc	3.43 dc	4.67 ab	3.87 cd	4.29 bc	4.21 bc	4.65 ab	4.40 bc	5.01 a	3.95 c
PUFA <sup>z</sup>	47.90 f	65.15 a	57.15 b	65.89 a	56.03 c	65.39 a	51.94 e	54.14 d	47.30 f	55.52 c	45.29 g	55.85 c

<sup>u</sup> Values are the mean of two independent replications; <sup>v</sup> Different letters within the row are statistically significant by Duncan's multiple-range test at  $p < 0.05$ ;

<sup>w</sup> N/D: Not detected; <sup>x</sup> SFA: saturated fatty acid; <sup>y</sup> MUFA: monounsaturated fatty acid; <sup>z</sup> PUFA: polyunsaturated fatty acid.

## 라. 항산화 활성

DPPH 라디칼 소거방법으로 항산화활성을 측정후, IC<sub>50</sub> 값을 계산하여 항산화 활성을 측정하였다. 브로콜리 품종에 따른 항산화활성은 화퇴부위에서 다양하게 나타났으며, amagi 품종과 chonjae 품종에서 잎부위보다 화퇴부위에서 상대적으로 높은 항산화활성을 나타냈으나, baeridom은 반대의 결과를 나타냈다. 모든 품종 및 부위에서 cheonjae 품종의 화퇴부위가 IC<sub>50</sub>= 2.27mg·mL<sup>-1</sup>로 가장 높게 나타났다. 콜리 플라워의 경우, asia purple의 화퇴부위가 잎부위보다 통계적으로 유의하게 높은 항산화 활성을 나타냈다.

항산화 활성을 작목별, 품종별, 부위별로 다양하게 나타났는데, 그중 asia purple의 화퇴부위가 가장 낮은 IC<sub>50</sub> 값을 보임으로써, 추후 항산화 활성을 이용한 식품 개발에 도움 가능할 것으로 예상된다.

## 제 2세부: 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재 개발

### 1. 자식종 탐색을 위한 품종 수집

현재 국내 양배추 종자시장(20억)의 약 90%가 일본 종자회사의 품종으로 다끼이, 사카타 종묘의 제품들이 차지하고 있다. 지역별로는 강원도의 경우 오가네, YR호월 등의 일본 품종이 80%의 시장을 점유하고 있으며, 제주도의 경우 오가네, YR호월, 마쯔모, 레드루끼, 하루타마, 하루토, 한옥1925 등의 일본 품종이 95% 이상의 시장을 점유하고 있다. 또한 전라남도의 경우 오가네, YR호월, YR동장군 등의 일본 품종이 68%를 점유하고 있으며, 경상북도의 경우 오가네, YR호월 등의 일본 품종이 83%를 점유하고 있다. 그 외 지역인 충청남도, 충청북도, 전라북도, 경상남도, 경기도 지역 역시 75%가 일본 품종인 오가네 및 YR호월을 재배하고 있는 실정이다. 일본 품종의 점유율이 매우 높은 이런 구조가 지속될 경우 가격경쟁력을 확보하지 못하여 일본 종자회사에 의해 가격이 지배될 우려가 있으므로 국내 시장에서 요구되어지고 있는 우수품종 개발 및 국내 개발 품종의 보급률 확대가 절실하다.

따라서 본 연구는 육종소재 개발의 일환으로 해외 선도 품종으로부터 자식종을 선발하여 국내 종묘회사에 제공함으로써 국내 종묘회사의 우수품종 개발에 필요한 육종소재로 활용하고자 하였다. 우선 자식종 선발을 위하여 GSP 과제 1차, 2차, 3차, 4차 년도에 걸쳐 국내에서 판매되고 있는 외국 종자회사의 26개 F1 품종, 일본에서 판매되고 있는 228개의 F1 품종, 중국에서 판매되고 있는 56개의 F1 품종, 유럽에서 판매되고 있는 60개의 F1 품종, 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 15개의 F1 품종, 베트남에서 판매되고 있는 15개의 F1 품종, 미국에서 판매되고 있는 7개의 F1 품종 등 총 407 품종을 수집하였다(그림 2-1). 유럽, 미국, 베트남, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 수집한 F1 품종들은 봉투에 품종에 대한 특성이 표기되어 있지 않아서, 한국 및 일본에서 수집된 F1 품종들에 대하여 숙기, 내병성 및 내재해성 등의 특성을 표 2-1, 2에 요약하여 정리하였다.

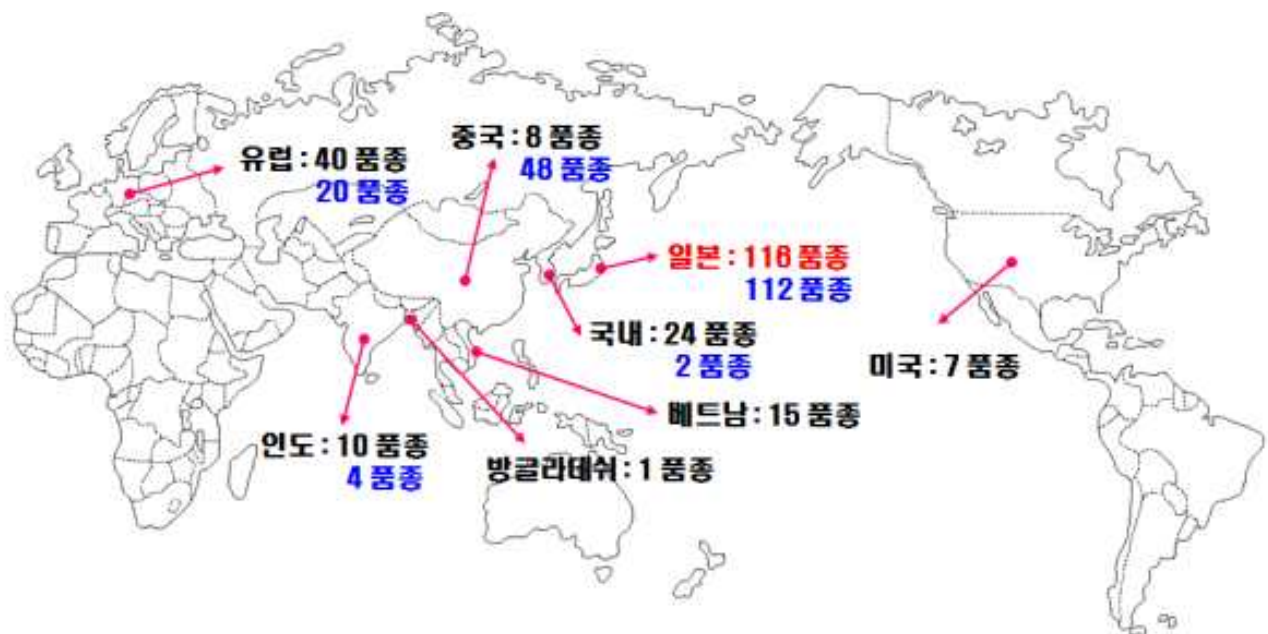


그림 2-1. 자식종 탐색을 위한 양배추 품종 수집

표 2-1. 국내에서 수집한 F1 품종의 특성 요약

	품 종	특 성
1	NP-K-01	위황병 강, 조생종, 재포성 강, 저장 및 수송성이 좋음
2	NP-K-02	위황병 및 흑부병 내병성, 재포성 좋음, 중조생종
3	NP-K-03	위황병 저항성, 흑부병 강, 갑고편원형, 만생종
4	NP-K-04	위황병 저항성, 흑부병 강, 내한성 강, 중만생종
5	NP-K-05	위황병 저항성, 저온기 균핵병 강, 내한성 강, 만생종
6	NP-K-06	위황병 저항성, 갑고형, 운송성 좋음, 흑색썩음병 강, 만생종
7	NP-K-07	위황병 내병성, 재포성 강, 편원구, 중생종
8	NP-K-08	흑부병 저항성, 편원형, 비교적 내서성, 중조생종
9	NP-K-09	위황병 강, 갑고 편원구, 재포성 높음, 유묘기 내한성 강, 중생종
10	NP-K-10	위황병 강, 갑고편원형, 저온기 구비대성 우수, 만생종
11	NP-K-11	내한성 및 재포성 우수, 만생종
12	NP-K-12	위황병 저항성, 편원형
13	NP-K-13	내한성에 다소 강, 저장성 및 수송성 좋음, 위황병 강
14	NP-K-14	위황병 저항성, 중생종, 내한성 및 저온비대성 좋음
15	NP-K-15	-
16	NP-K-16	원형, 결구력 우수
17	NP-K-17	편원형, 중생종, 위황병 강
18	NP-K-18	-
19	NP-K-19	내한성 및 저온 결구성 우수, 중생종
20	NP-K-20	위황병 강, 흑부병 강, 중만생종, 구 비대성 우수, 갑고편원형, 내한성 및 저온 결구성 강
21	NP-K-21	위황병 저항성, 내한성 강, 편원구, 안토시아닌 발생 적음
22	NP-K-22	-
23	NP-K-23	-
24	NP-K-24	위황병 저항성, 흑색썩음병 강, 내한성 강, 재포성 좋음
25	NP-K-25	-
26	NP-K-26	중만생종, 재포성 좋음

표 2-2. 일본에서 수집한 F1 품종의 특성 요약

	품 종	특 성
1	NP-J-01	위황병 저항성, 열구 매우 늦음, 불량환경 재배 용이
2	NP-J-02	내서, 내한, 내병성 강

3	NP-J-03	중만생종, 내한성
4	NP-J-04	극조생, 내서성강
5	NP-J-05	조생종, 편원형
6	NP-J-06	중생종, 고온기에강
7	NP-J-07	-
8	NP-J-08	중조생종,
9	NP-J-09	중생종, 위황병 강, 흑부병 강
10	NP-J-10	중조생종, 열구늦음
11	NP-J-11	극조생, 만추성 및 저온비대성 우수
12	NP-J-12	조생종, 열구 늦음
13	NP-J-13	중조생종, 재배하기 쉬움, 재배시기 넓음
14	NP-14-J	극조생, 소형 양배추
15	NP-15-J	-
16	NP-J-16	중만생, 위황병 강, 내서성 강, 내한성 강
17	NP-J-17	중생종, 내서성 강, 내병성 강, 위황병 저항성
18	NP-J-18	극조생, 소형 양배추
19	NP-J-19	-
20	NP-J-20	조생종, 위황병 저항성, 재포성우수
21	NP-J-21	중생종, 위황병 강
22	NP-J-22	중생종, 내병성 강, 흑부병 강, 뿌리혹병 강
23	NP-J-23	위황병 저항성, 균핵병 강, 안토시아닌free
24	NP-J-24	극조생, 위황병 저항성
25	NP-J-25	중생종, 위황병 절대 강, 뿌리혹병 저항성
26	NP-J-26	중생종, 위황병 저항성, 재포성우수
27	NP-J-27	내서, 내병성 강, 흑부병 강, 위황병 강
28	NP-J-28	중만생종, 내서성 강, 내병성 강, 위황병 강
29	NP-J-29	극조생, 위황병 강,
30	NP-J-30	중조생종, 만추성 및 조숙성 우수
31	NP-J-31	조생종, 내서성 우수, 위황병 저항성, 흑부병 내병성
32	NP-J-32	위황병 강, 흑부병 강, 생리장해 강
33	NP-J-33	위황병 강, 연부병 강, 흑부병 강
34	NP-J-34	위황병 저항성, 흑부병 강

35	NP-J-35	내한성 강, 재포성 우수
36	NP-J-36	내한성 강, 재포성 우수
37	NP-J-37	중만생종, 내한성 우수, 재포성 우수, 내병성 강
38	NP-J-38	조생종, 내서성 강, 내병성 강
39	NP-J-39	내한성 강, 시장성 높음
40	NP-J-40	중만생종, 위황병 저항성, 내한성 강
41	NP-J-41	중생종, 위황병 저항성, 흑부병 강
42	NP-J-42	중만생종, 극만추성, 위황병 강, 내한성 강
43	NP-J-43	중생종, 흑부병 강, 위황병 강, 재포성 우수
44	NP-J-44	중만생종, 위황병 강, 내한성 강, 저온비대성 탁월
45	NP-J-45	극조생종, 연부병 강, 흑부병 강
46	NP-J-46	위황병 강, 내한성 강
47	NP-J-47	중조생종, 재포성 좋고 열구 늦음
48	NP-J-48	극조생종, 위황병 강, 흑부병 강
49	NP-J-49	극조생종, 위황병 강, 흑부병 강
50	NP-J-50	중조생종, 위황병 강, 흑부병 강
51	NP-J-51	조생종, 내서성 강
52	NP-J-52	극조생종, 강한 불추대성
53	NP-J-53	중조생종, 재포성 우수
54	NP-J-54	극조생종, 위황병 저항성
55	NP-J-55	-
56	NP-J-56	내병성강, 내한성 강
57	NP-J-57	극조생종, 내병성, 재포성 우수
58	NP-J-58	초극조생종
59	NP-J-59	중생종, 내한성, 내열구성
60	NP-J-60	초극조생종,
61	NP-J-61	중조생종, 노균병 강, 연부병 강
62	NP-J-62	중생종, 노균병 강, 연부병 강
63	NP-J-63	내한성 강, 내병성 강
64	NP-J-64	내서성 우수, 내한성 우수, 저장성 우수
65	NP-J-65	조생종, 내한성 강
66	NP-J-66	-

67	NP-J-67	중생종, 내한성 우수, 재포성 우수, 당도 높음
68	NP-J-68	중조생종, 위황병 저항성
69	NP-J-69	조생종
70	NP-J-70	극조생종,
71	NP-J-71	내한성 강, 내서성 강
72	NP-J-72	중조생종, 내서성
73	NP-J-73	중생종, 내병성
74	NP-J-74	내병성 강, 내한성 강
75	NP-J-75	조생종
76	NP-J-76	중조생종, 내병성
77	NP-J-77	중생종, 내한성,내서성, 저온결구성, 내습성 강
78	NP-J-78	극조생종,
79	NP-J-79	중만생종, 내서성 강, 내한성 강
80	NP-J-80	조생종, 내한성 강
81	NP-J-81	조생종, 열구가 늦고 재포성 좋음
82	NP-J-82	조생종, 병에 강함, 열구가 비교적 늦고 수확기의 폭이 넓음
83	NP-J-83	극조생종, 내서성 및 결구성 좋음
84	NP-J-84	내한성 우수, 동결에 의한 부패에 강, 위황병 저항성, 흑부병 강
85	NP-J-85	중조생종, 내병성, 내한성
86	NP-J-86	위황병 저항성, 흑부병 강, 열구가 비교적 늦음
87	NP-J-87	내한성 및 저온비대성을 가짐, 위황병 저항성
88	NP-J-88	극조생종, 위황병 및 흑부병등의 병해에 강, 열구가 늦고 수확기의 폭이 넓음
89	NP-J-89	내한성 우수, 열구가 늦고 수확기의 폭이 넓음
90	NP-J-90	내서성 우수, 편원형
91	NP-J-91	내한성 및 저온비대성을 가짐, 위황병 저항성, 흑부병에 비교적 강
92	NP-J-92	만생종, 내한성 및 내습성 높음, 위황병 저항성, 흑부병 강, 열구가 늦고 재포성이 높음
93	NP-J-93	조생종, 내서성, 위황병 및 각종 병해에 강
94	NP-J-94	조생종, 위황병 저항성, 열구가 늦고 수확기의 폭이 넓음
95	NP-J-95	중생종, 위황병 저항성, 편원구
96	NP-J-96	중조생종, 편원형
97	NP-J-97	중생종, 편원형

98	NP-J-98	중조생종, 요고편원형
99	NP-J-99	조생종, 갑고편원형
100	NP-J-100	-
101	NP-J-101	중조생종, 갑고편원형,
102	NP-J-102	중조생종, 편원형, 연부병 및 썩음병에 강
103	NP-J-103	조생종, 갑고편원형, 뿌리혹병 및 위황병의 복합저항성
104	NP-J-104	중생종, 요고편원형, 뿌리혹병 및 위황병의 복합저항성
105	NP-J-105	중생종, 요고편원형, 뿌리혹병 및 위황병의 복합저항성
106	NP-J-106	중생종, 뿌리혹병 및 위황병의 복합저항성
107	NP-J-107	조생종, 위황병 저항성, 편원형
108	NP-J-108	중조생종, 내서성 및 내한성, 흑부병 및 연부병 강, 위황병 저항성
109	NP-J-109	중조생종, 내서성 및 내한성, 흑부병 및 연부병 강, 위황병 저항성
110	NP-J-110	중생종, 위황병 저항성, 내서성, 흑부병 강
111	NP-J-111	만생종, 위황병 저항성, 흑부병 강, 내한성 강, 저온비대성
112	NP-J-112	중조생종
113	NP-J-113	위황병 저항성, 흑부병 강, 습해에 대한 뿌리썩음에 강, 재포성 좋음
114	NP-J-114	중조생종, 위황병 저항성
115	NP-J-115	극조생종, 갑고편원형, 열구 늦음
116	NP-J-116	중조생종, 요고편원형, 내서성, 내한성, 흑부병 및 연부병 강
117	NP-J-117	내서성, 조생종
118	NP-J-118	중생종, 갑고편원구, 내한성
119	NP-J-119	내병성, 내한성, 중만생종
120	NP-J-120	열구 늦음, 중생종
121	NP-J-121	중생종, 흑부병 강, 갑고편원구
122	NP-J-122	중생종
123	NP-J-123	중생종
124	NP-J-124	조원 결구성, 갑고구
125	NP-J-125	갑고구, 조생종
126	NP-J-126	흑부병 강, 내한성 강, 중조생종
127	NP-J-127	내한성, 강기간 수확, 열구 늦음
128	NP-J-128	극조생종, 갑고형
129	NP-J-129	중만생종, 편원구

130	NP-J-130	-
131	NP-J-131	저온 하에서 비대성 우수
132	NP-J-132	시들음병 강
133	NP-J-133	시들음병, 흑부병, 뿌리흑병 강
134	NP-J-134	중조생종, 시들음병 A 타입 저항성, 흑부병 및 위조병의 내병성
135	NP-J-135	내서 및 내병성 우수, 중조생종, 시들음병 A 타입 저항성, 흑부병, 주부병, 위조병의 내병성
136	NP-J-136	조생종, 시들음병 A 타입 저항성, 흑부병 강
137	NP-J-137	내한성, Brix 8
138	NP-J-138	시들음병 A 타입 저항성, 세균성 병해 강,
139	NP-J-139	중생종, 제포성 우수, 흑부병의 내병성
140	NP-J-140	흑부병 강, 내한성 우수, 만추성 우수
141	NP-J-141	중조생종, 흑부병의 내병성
142	NP-J-142	시들음병 A 타입 저항성, 흑부병의 내병성
143	NP-J-143	극조생종, 시들음병 A 타입 저항성
144	NP-J-144	갑고편원구, 저온 비대성
145	NP-J-145	갑고편원구, 열구 발생이 늦음
146	NP-J-146	조생종, 열구 늦음, 시들음병 저항성
-147	NP-J-147	시들음병 저항성, 내서성 극강, 조생종
148	NP-J-148	-
149	NP-J-149	내서성, 극조생종
150	NP-J-150	내서성 및 내병성 우수, 극조생종
151	NP-J-151	-
152	NP-J-152	시들음병 저항성, 내서성 우수, 편원형
153	NP-J-153	편원형
154	NP-J-154	중조생종, 시들음병 저항성
155	NP-J-155	극조생종
156	NP-J-156	중생종, 선적색
157	NP-J-157	-
158	NP-J-158	시들음병 저항성, 흑부병 내병성, 흑반세균병 내병성
159	NP-J-159	흑부 및 흑반 세균병에 강, 내한성 강, 제포성 우수
160	NP-J-160	편원형
161	NP-J-161	위조병 강, 내서성 강



162	NP-J-162	내서성 및 내병성에 우수, 열구 늦음
163	NP-J-163	시들음병 저항성, 갑고편원형
164	NP-J-164	-
165	NP-J-165	중조생종
166	NP-J-166	-
167	NP-J-167	결구 엽수 많음, 저장성 높음, 만생종
168	NP-J-168	중조생종
169	NP-J-169	제포성 높음, 열구 늦음
170	NP-J-170	제포성 높음, 열구 늦음
171	NP-J-171	-
172	NP-J-172	내서, 흑부병, 균핵병에 강
173	NP-J-173	내서 및 내병성에 강
174	NP-J-174	시들음병 저항성, 조생종
175	NP-J-175	내한성 강, 저온 결구성 우수
176	NP-J-176	내한성 우수, 시들음병 A 타입, 제포성 높음
177	NP-J-177	내서 및 내한성에 강
178	NP-J-178	열구 늦음, 갑고편원구
179	NP-J-179	갑고편원구, 열구 늦음
180	NP-J-180	갑고편원구, 조생종
181	NP-J-181	열구 늦음, 조생종
182	NP-J-182	조생종
183	NP-J-183	갑고편원구, 엄한기에는 당도가 12도까지 올라감
184	NP-J-184	제포성 높음, 시들음병 저항성
185	NP-J-185	제포성 높음
186	NP-J-186	-
187	NP-J-187	위황병 저항성, 흑부병 강
188	NP-J-188	-
189	NP-J-189	시들음병 A 타입 저항성, 흑부병 강, 내서성 우수
190	NP-J-190	중조생종, 편원구
191	NP-J-191	내한 및 내병성에 우수, 시들음병 A 타입 저항성
192	NP-J-192	내한성 극강
193	NP-J-193	내한, 내서, 내병성에 강

194	NP-J-194	극조생종
195	NP-J-195	내한, 내병성 우수, 시들음병 A 타입 저항성
196	NP-J-196	중조생종
197	NP-J-197	갑고편원형, 시들음병 저항성
198	NP-J-198	조생종, 갑고편원형, 내서성 있음
199	NP-J-199	내서성 강, 조생종, 시들음병 저항성
200	NP-J-200	내서성 강, 조생종
201	NP-J-201	조생종, 칼슘 결핍병에 저항성
202	NP-J-202	시들음병 저항성, 제포성 우수, 중조생종
203	NP-J-203	내한성 및 제포성 우수, 갑고편원형, 중생종
204	NP-J-204	시들음병, 부패성 병해에 강
205	NP-J-205	뿌리혹병, 시들음병 저항성, 갑고편원형
206	NP-J-206	시들음병 저항성, 흑부병 강, 조생종
207	NP-J-207	흑부병 강, 시들음병 저항성, 갑고편원구
208	NP-J-208	조생종, 내서성 우수
209	NP-J-209	극조생종, 내서 및 내한성 강
210	NP-J-210	극조생종, 편원구
211	NP-J-211	내한성 우수, 편원구
212	NP-J-212	극조생종
213	NP-J-213	극조생종, 시들음병, 흑부병 강, 내서성 우수
214	NP-J-214	시들음병, 흑부병 강, 조생종
215	NP-J-215	극조생종, 시들음병 저항성
216	NP-J-216	시들음병 A 타입 저항성, 내서성, 고온결구성 강, 조생종
217	NP-J-217	시들음병, 흑부병 강
218	NP-J-218	내서성, 내건성 우수, 바이러스병 강
219	NP-J-219	조생종, 흑부병 및 입고병 저항성, 뿌리혹선충에 강
220	NP-J-220	시들음병 저항성, 흑부병 강, 조생종
221	NP-J-221	조생종, 시들음병 저항성, 흑부병 내병성
222	NP-J-222	시들음병 저항성, 흑부병 강
223	NP-J-223	시들음병 저항성, 흑부병 강, 제포성 우수, 갑고편원구, 만생종
224	NP-J-224	내한성, 내습성 높음, 제포성 높음
225	NP-J-225	내한성 우수, 편원구

226	NP-J-226	결구 엽수 많음, 저장성 높음, 만생종
227	NP-J-227	내서 및 내병성에 강
228	NP-J-228	제포성 높음, 시들음병 저항성

## 2. 수집된 내병성 품종의 이용

일본 품종의 점유율이 매우 높은 국내 시장에서 경쟁력을 확보하기 위해서는 우수품종의 개발이 절실히 필요하다. 우수품종의 조건으로는 내병성(시들음병, 뿌리혹병, 검은썩음병, 균핵병, 노균병, 검은뿌리썩음병), 균일성, 재포성, 크기 내서성, 내한성 등의 다양한 조건들을 갖추어야 할 것이다. 그 중 내병성은 매우 중요한 요건중의 하나이다. 현재 국내 종묘회사에서도 계통 및 품종육성을 위하여 종묘회사 자체적 또는 한국화학연구원에 의뢰하여 접종실험을 수행하여 계통 및 품종 등을 육성하고 있지만 뿌리혹병, 시들음병 등에 국한되어 있다. 그러므로 2015년도에 제주도 양배추 재배농가에서 문제가 되었던 균핵병에 대한 저항성 분자마커 개발, 또는 검은뿌리썩음병에 대한 저항성 분자마커 개발, 노균병에 대한 분자마커 개발 등을 수행하기 위한 재료의 부재로 상당히 어려운 점이 노출되었다. 따라서 현재 수집된 407품종들 중에 검은썩음병 저항성 품종 29품종, 시들음병 저항성 품종 64품종, 뿌리혹병 저항성 품종 6품종, 균핵병 저항성 품종 2품종, 노균병 저항성 품종 2품종, 무름병 저항성 품종 8품종들이 수집되어 있으며 이들 수집된 내병성 품종들은 분자마커 개발에 매우 유용한 소재로 이용될 것으로 기대된다.

### 3. 연구수행을 위한 추진전략

연구수행에 있어서 가장 효율적인으로 자식종을 선발하기 위하여 그림 2-2와 같이 추진전략을 수립하였다. 먼저 국내에서 판매되고 있는 외국 종자회사의 양배추 품종 수집 및 국외 특히 일본에서 판매되고 있는 품종을 중심으로 품종을 수집한 후 수집된 품종들의 CMS 또는 자가불화합성을 이용한 종자 채종 여부를 확인하였다. 그 다음 수집된 품종들에 있어서 자가불화합성 유전자의 Class 조합(Class I × Class I, Class II × Class II, Class I × Class II)을 확인한 후, 수집된 품종이 Class I × Class II 조합일 경우 본 연구실에서 보유하고 있는 Class 구별 마커를 이용하여 자식종을 선발하였고, Class I × Class I 조합일 경우는 PCR-CAPS법을 이용하여 자식종을 선발하였다. 그리고 Class II × Class II 조합일 경우는 본 과제를 수행하면서 개발된 HRM system용 마커를 이용하여 자식종을 선발하였다.

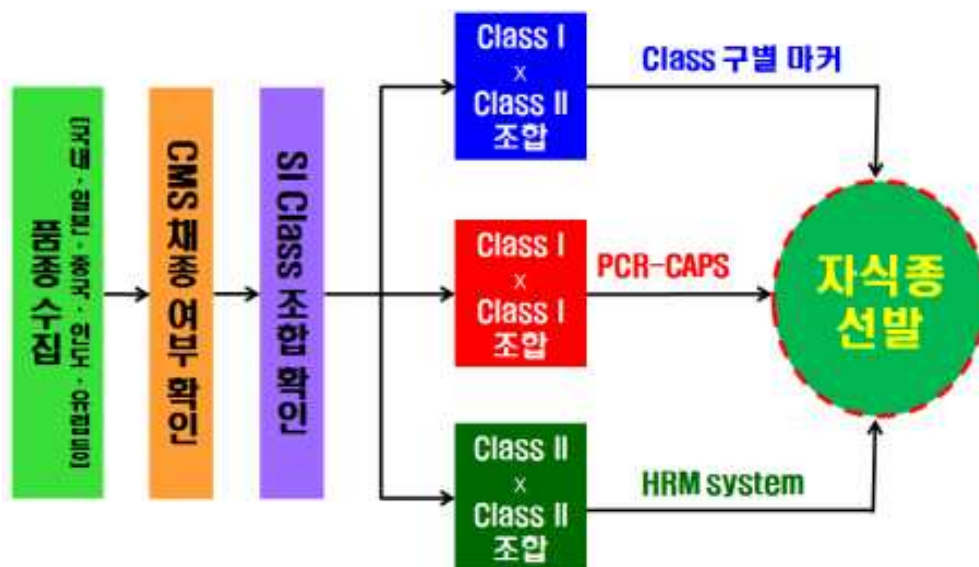


그림 2-2. 연구수행을 위한 추진전략 모식도

### 4. 수집된 품종들의 CMS 채종 여부 확인

국내에서 판매되고 있는 외국 종자회사의 양배추 26개의 F1 품종을 수집하여 CMS를 이용한 종자 채종 여부를 확인하였다. 또한, 일본에서 시판되고 있는 228개의 F1 품종, 유럽에서 판매되고 있는 60개의 F1 품종 중 40개의 F1 품종, 인도, 방글라데시에서 판매되고 있는 15개의 F1 품종 중 7개의 F1 품종, 중국에서 판매되고 있는 56개의 F1 품종 중 19개의 F1 품종에 대하여 CMS를 이용한 종자 채종 여부를 확인하였다. 확인 방법으로는 본 연구실에서 개발하여 보유하고 있는 2종류의 MS 및 MF 구별 마커(CMS 구별 marker I 및 CMS 구별 marker II)를 이용하여 확인하였다. 그 결과 국내에서 수집하여 확인한 26개의 F1 품종 중 4개의 F1 품종(NP-K-04, NP-K-12, NP-K-13, NP-K-15)이 CMS를 이용하여 채종하고 있다는 것을 확인하였다(그림 2-3 및 표 2-3). 또한 일본에서 판매되고 있는 228개의 F1 품종 중 36개의 F1 품종(NP-J-7, NP-J-14, NP-J-15, NP-J-31, NP-J-58, NP-J-60, NP-J-67, NP-J-83, NP-J-103, NP-J-104, NP-J-105, NP-J-106, NP-J-107, NP-J-108, NP-J-109, NP-J-110, NP-J-111, NP-J-112, NP-J-113, NP-J-115, NP-J-116, NP-J-117, NP-J-120, NP-J-123, NP-J-154, NP-J-172, NP-J-173, NP-J-176, NP-J-178, NP-J-198, NP-J-200, NP-J-202, NP-J-203, NP-J-205,

NP-J-206, NP-J-207)이 CMS를 이용하여 채종하고 있다는 것을 확인하였으며(그림 2-4 및 표 2-4), 유럽에서 판매되고 있는 60개의 F1 품종 중 CMS 채종 여부를 확인한 40개의 F1 품종 중 7개의 F1 품종(NP-E-11, NP-E-19, NP-E-21, NP-E-24, NP-E-29, NP-E-30, NP-E-40), 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 9개의 F1 품종 중 CMS 채종 여부를 확인한 7개의 F1 품종 중 2개의 F1 품종(NP-I-01, NP-I-04)이 CMS를 이용하여 채종하고 있다는 것을 확인하였다(그림 2-5, 6, 표 2-5, 6). 또한 중국에서 판매되고 있는 56개의 F1 품종 중 CMS 채종 여부를 확인한 19개의 F1 품종 중 2개의 F1 품종이 CMS를 이용하여 채종하고 있다는 것을 확인하였다.

이상의 결과로부터 국내 및 일본, 중국, 유럽, 인도, 베트남, 미국, 방글라데쉬에서 수집한 총 407개의 F1 품종에 대하여 CMS 채종 여부를 확인한 320개의 F1 품종 중 51개의 F1 품종이 CMS를 이용하여 종자를 채종하고 있었으며, 나머지 269개의 F1 품종이 자가불화합성을 이용하여 종자를 채종하고 있다는 것을 확인하였다(표 2-7). 현재 세계적인 추세가 자가불화합성을 이용한 종자 채종에서 점점 품종보호를 위하여 CMS를 이용한 종자 채종 쪽으로 이동하고 있다. 실제적으로 본 연구 수행에 있어서 수집된 F1 품종들 중, 일본의 한 회사의 양배추 F1 품종의 81%(16개의 F1 품종 중 13개의 F1 품종)가 CMS를 이용하여 종자를 채종하고 있다는 것을 확인하였다. 따라서 빠른 기간 내에 외국계 회사의 많은 품종들을 수집할 수 있도록 유전자원 수집에 집중되어야 한다고 판단된다.

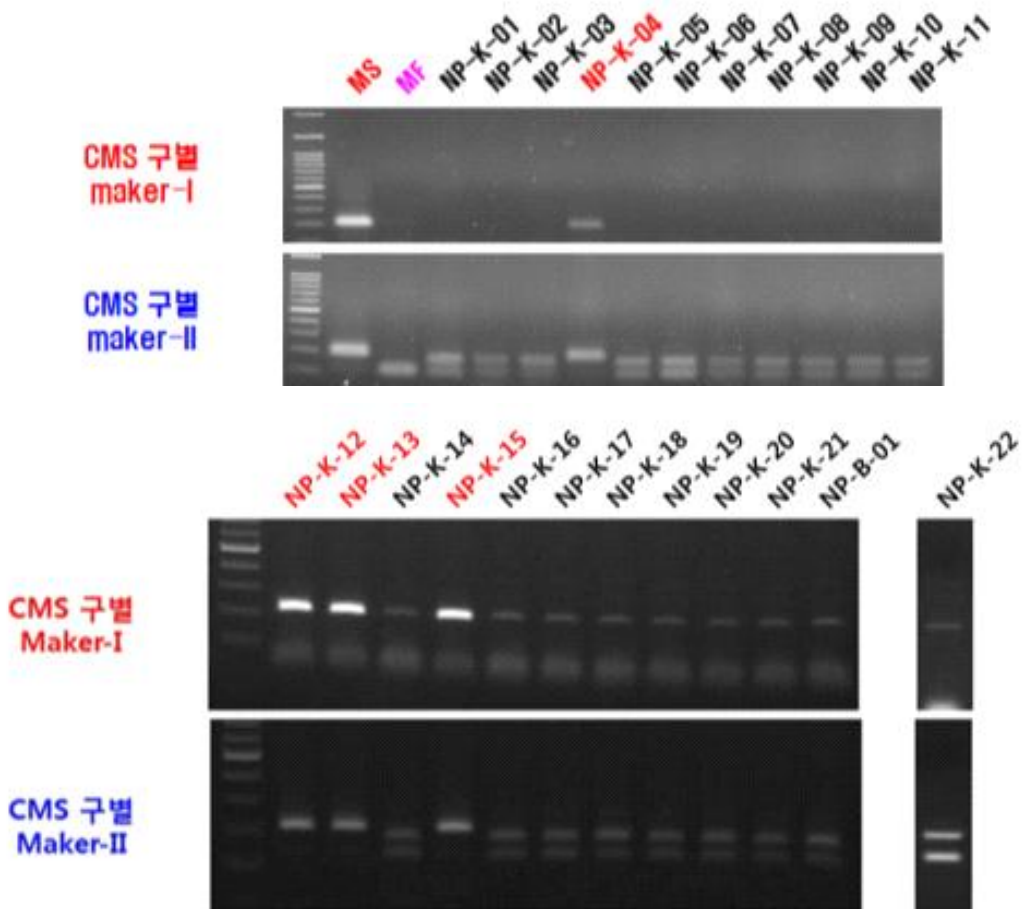
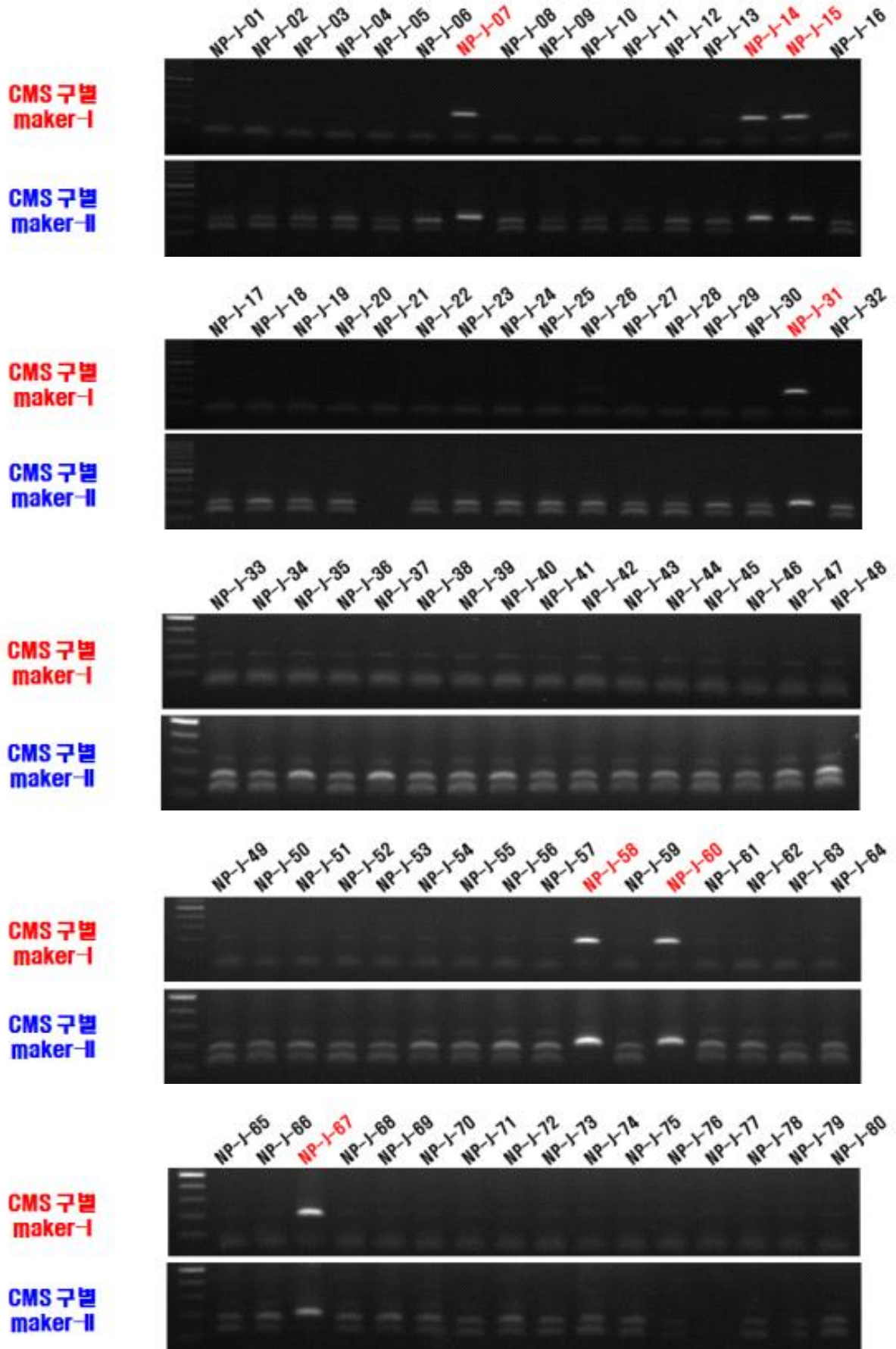
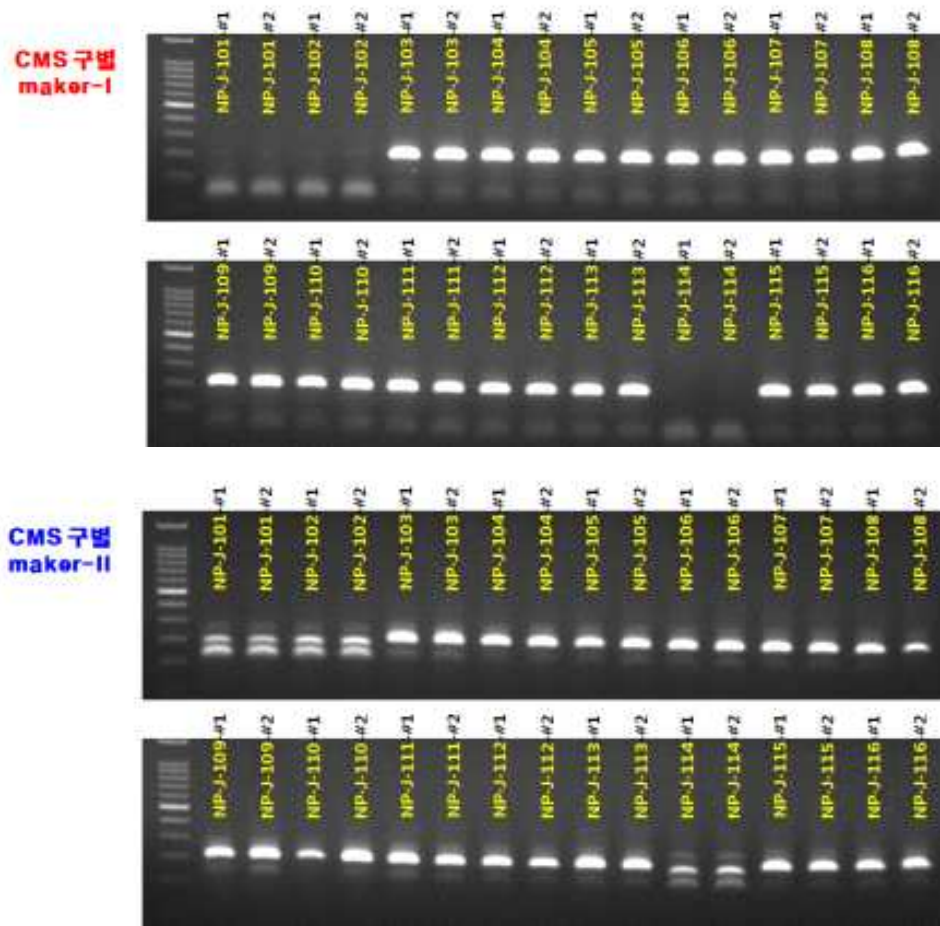
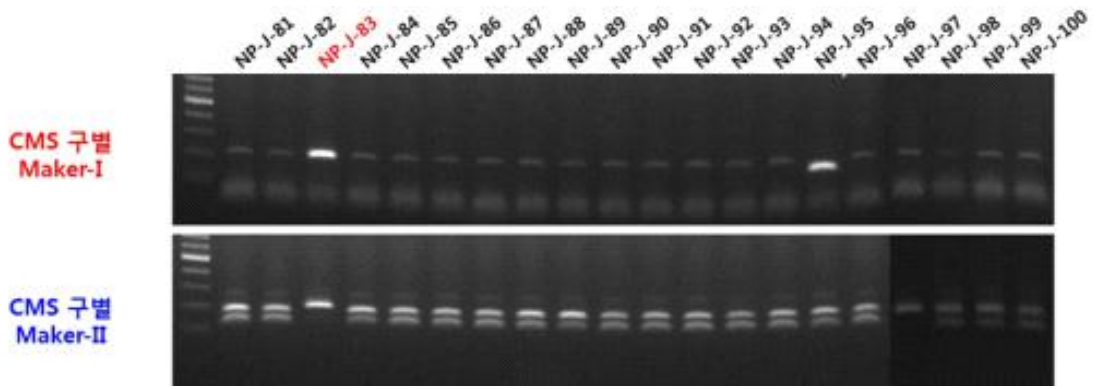
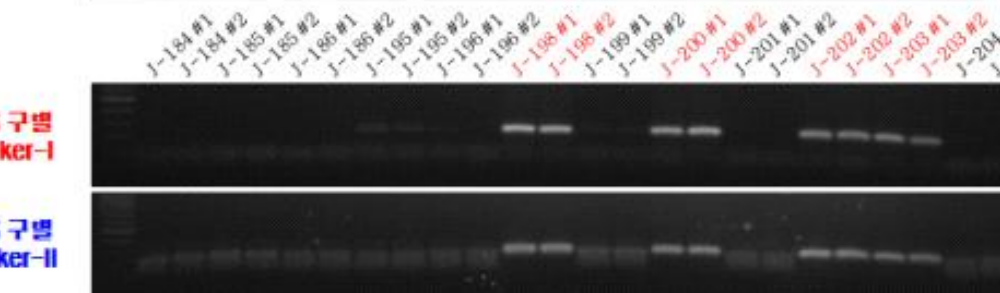
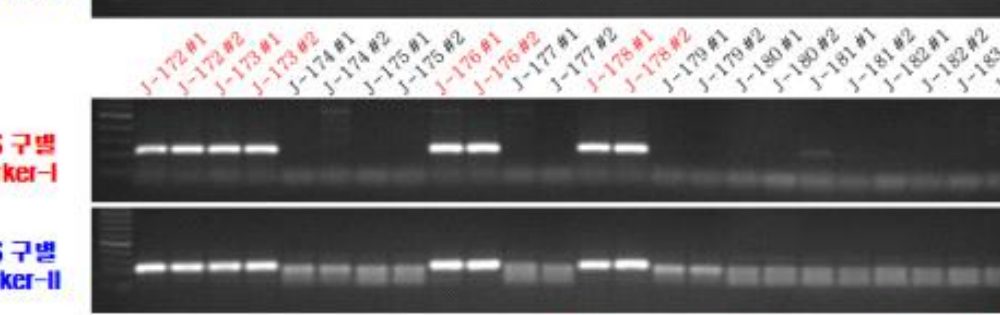
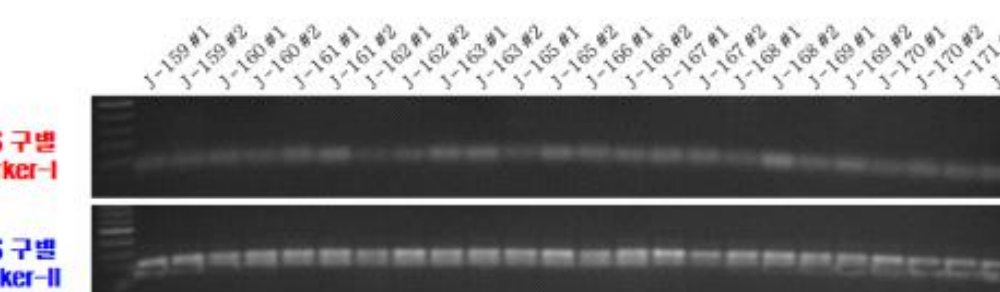
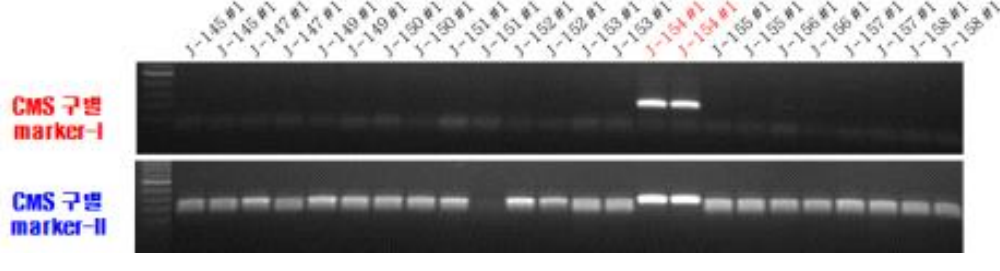
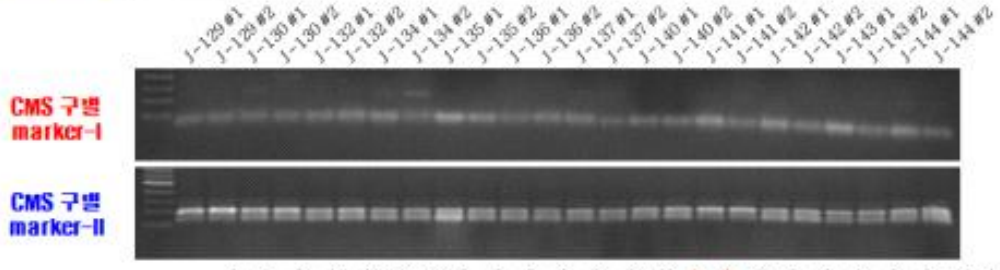
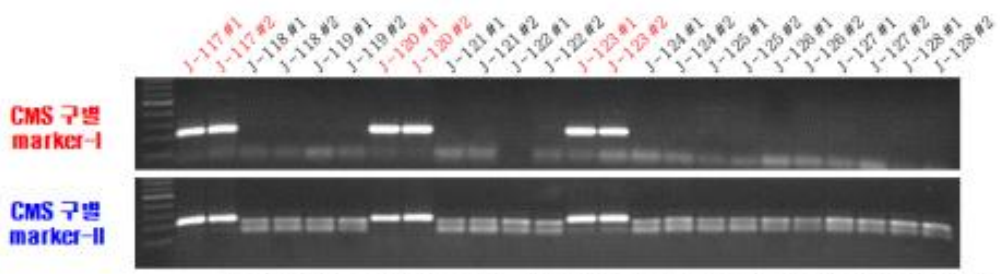


그림 2-3. 국내 및 방글라데쉬(NP-B-01)에서 수집한 품종의 CMS 채종 여부 확인











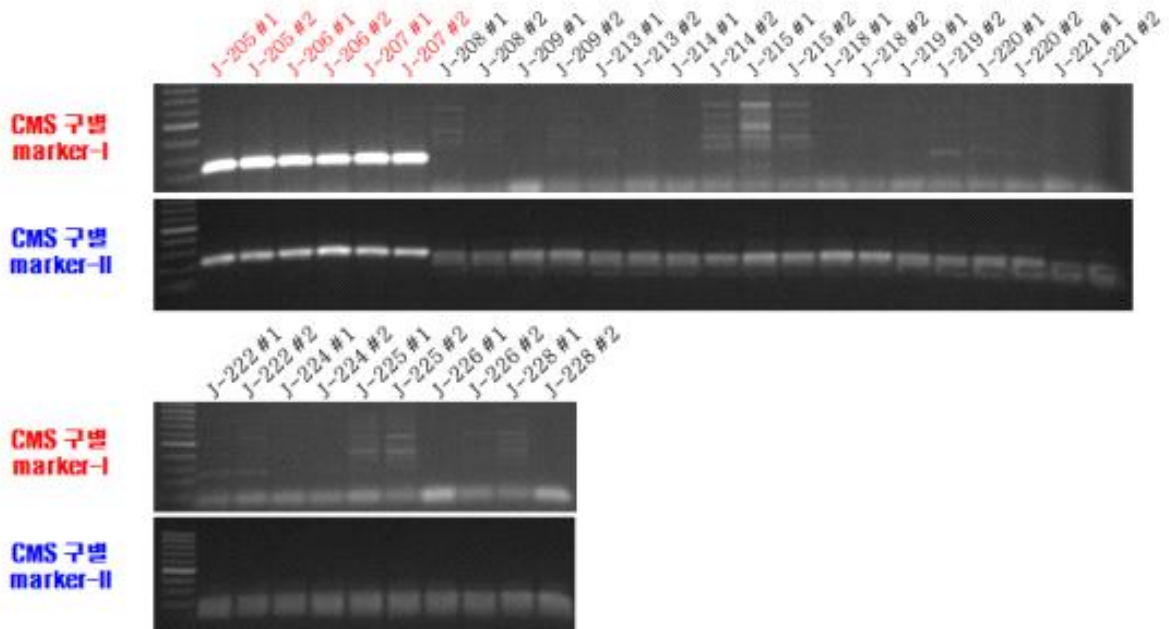


그림 2-4. 일본에서 수집한 품종의 CMS 채종 여부 확인

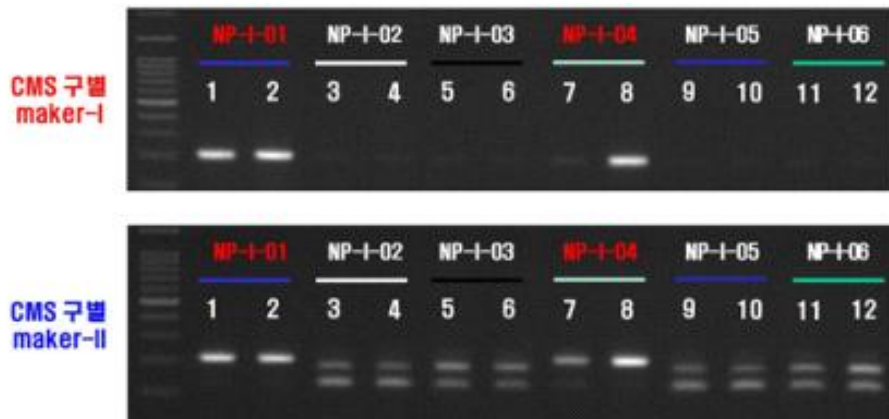
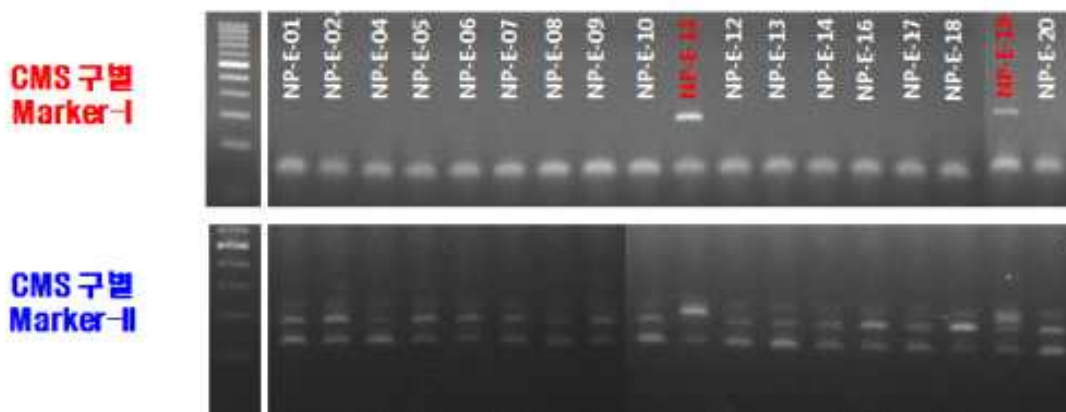


그림 2-5. 인도에서 수집한 품종의 CMS 채종 여부 확인



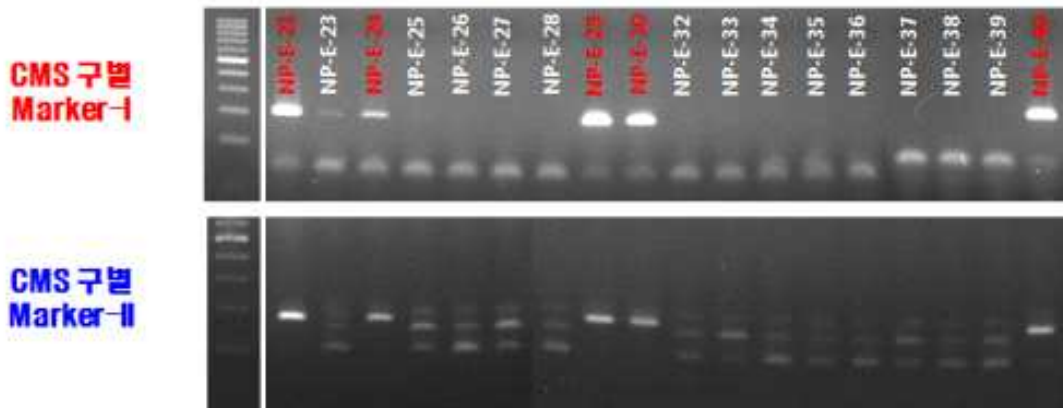


그림 2-6. 유럽에서 수집한 품종의 CMS 채종 여부 확인

### 5. 수집된 품종들의 Class 조합 확인

국내에서 판매되고 있는 외국 종자회사의 양배추 F1 품종들 중 수집된 26개의 F1 품종, 일본에서 시판되고 있는 228개의 F1 품종, 유럽에서 판매되고 있는 60개의 F1 품종 중 40개의 F1 품종, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 71개의 F1 품종 중 26개의 F1 품종 총 320개의 F1 품종에 대하여 Class 조합(Class I × Class I, Class II × Class II, Class I × Class II)을 확인하였다. 확인 방법으로는 본 연구실에서 개발하여 보유하고 있는 2종류의 Class 구별 마커(Class I Specific Maker 및 Class II Specific Maker)를 이용하여 자가불화합성 유전자의 Class 조합을 확인하였다.

그 결과 국내에서 수집하여 실험에 이용된 26개의 F1 품종 중 4개의 F1 품종이 Class I × Class I 조합이었으며, 7개의 F1 품종이 Class II × Class II 조합, 15개의 F1 품종이 Class I × Class II 조합으로 구성되어 있었고(그림 2-7, 표 2-3), 일본에서 수집된 228개의 F1 품종 중 40개의 F1 품종이 Class I × Class I 조합이었으며, 43개의 F1 품종이 Class II × Class II 조합, 145개의 F1 품종이 Class I × Class II 조합으로 구성되어 있었다(그림 2-8 및, 표 2-4). 또한, 유럽에서 수집한 40개의 F1 품종 중 15개의 F1 품종이 Class I × Class I 조합이었으며, 1개의 F1 품종이 Class II × Class II 조합, 24개의 F1 품종이 Class I × Class II 조합으로 구성되어 있었고(그림 2-10 및 표 2-5), 인도 및 방글라데쉬에서 수집된 7개의 F1 품종 중 Class I × Class I 조합으로 구성된 조합은 없었으며, 2개의 F1 품종이 Class II × Class II 조합, 5개의 F1 품종이 Class I × Class II 조합으로 구성되어 있었다(그림 2-7, 2-9, 표 2-6).

이상의 결과로부터 국내, 일본, 유럽, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 수집한 F1 품종 중 실험에 이용된 320개의 F1 품종 중 62개의 F1 품종이 Class I × Class I 조합, 58개의 F1 품종이 Class II × Class II 조합으로 구성되어 있었다. 그리고 200개의 F1 품종이 Class I × Class II 조합으로 높은 비율로 구성되어 있다는 것을 확인하였다(표 2-7). 또한, 일본에서 판매되고 있는 F1 품종들은 Class II × Class II 조합으로 구성된 비율이 Class I × Class I 조합으로 구성된 비율과 차이를 보이지 않았지만, 유럽에서 판매되고 있는 F1 품종들은 Class II × Class II 조합으로 구성된 비율이 매우 낮았고(확인한 40개의 F1 품종 중 오직 1개의 F1 품종), 상대적으로 Class I × Class I 조합으로 구성된 비율이 높음을 확인할 수 있었다.

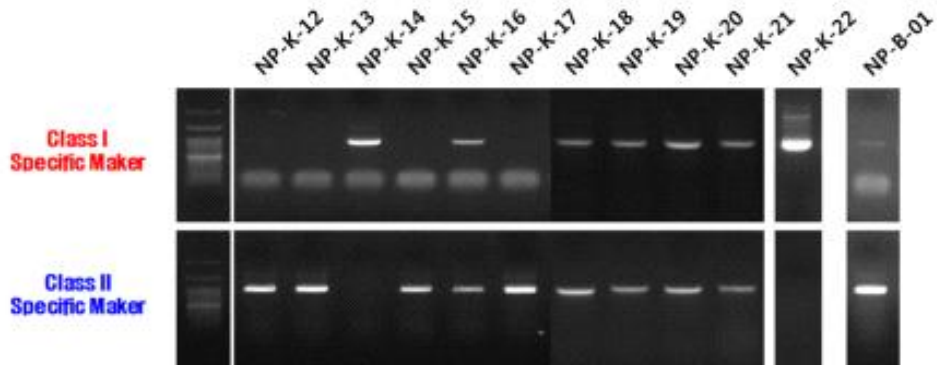
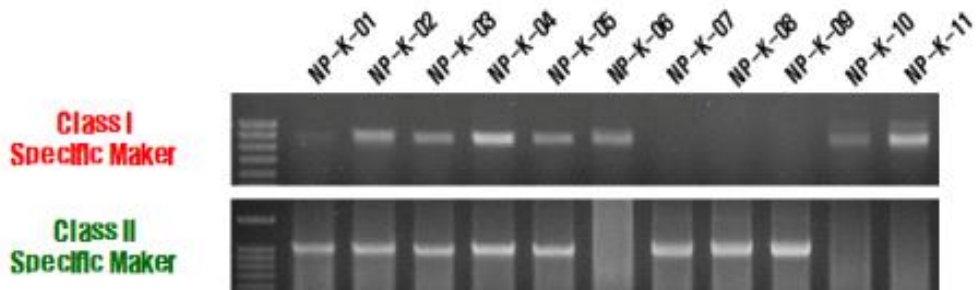
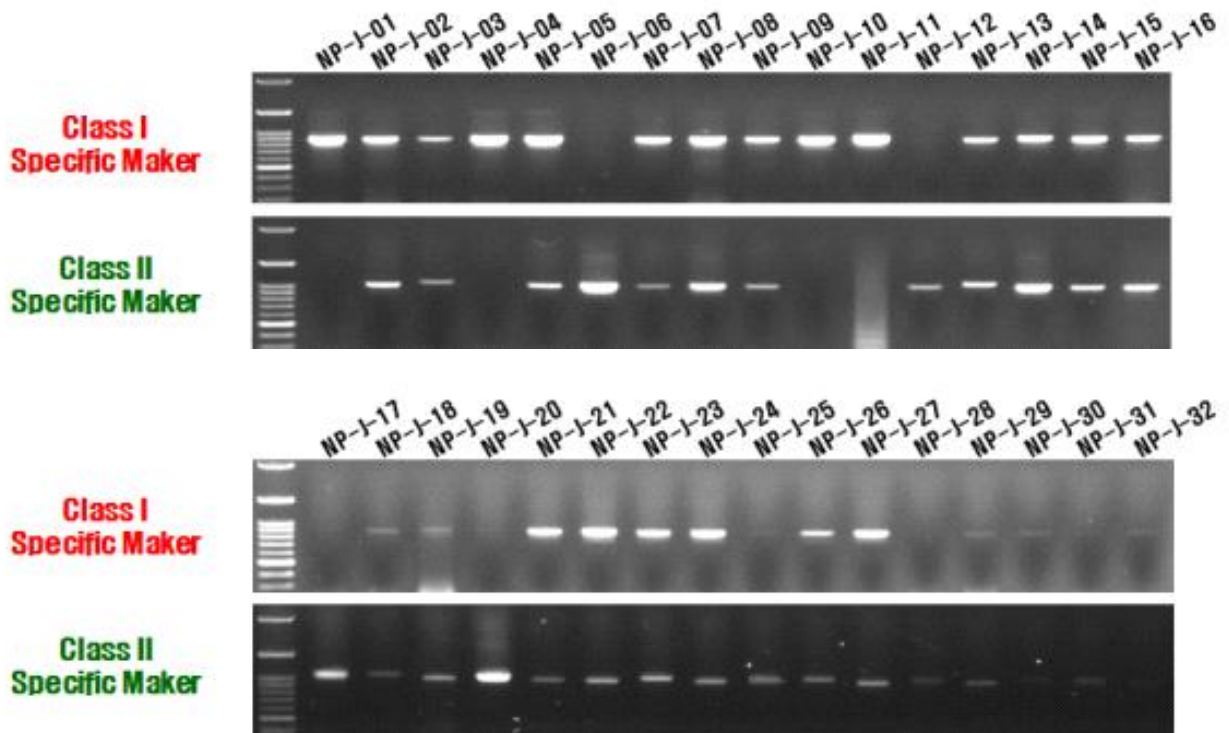
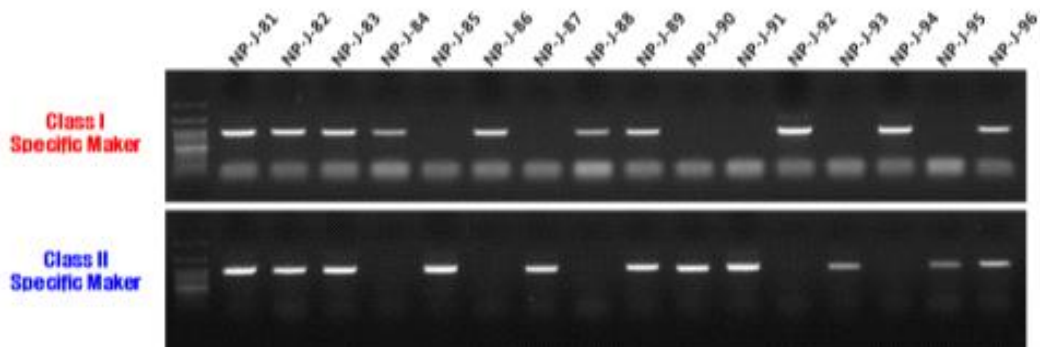
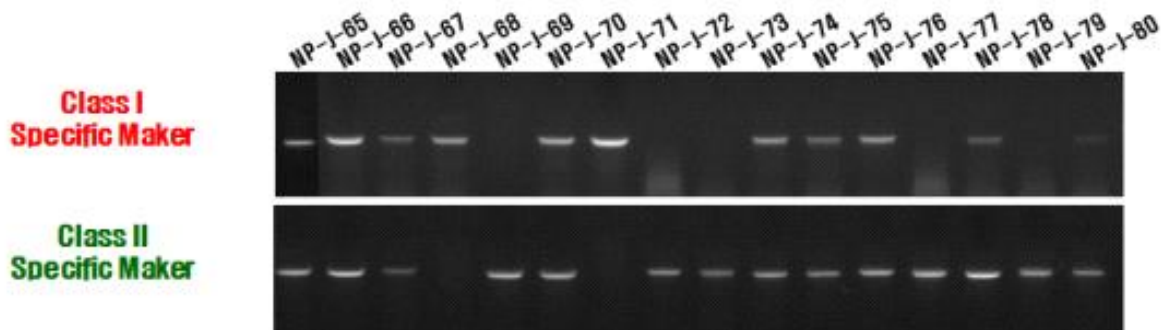
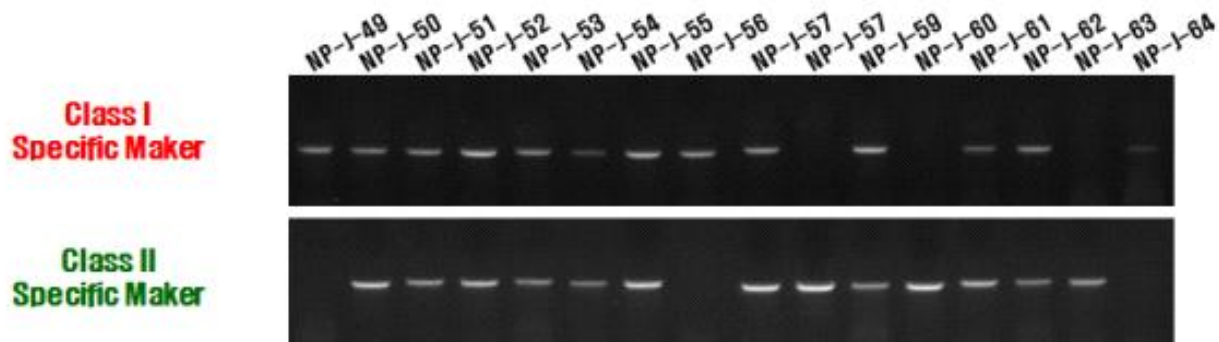
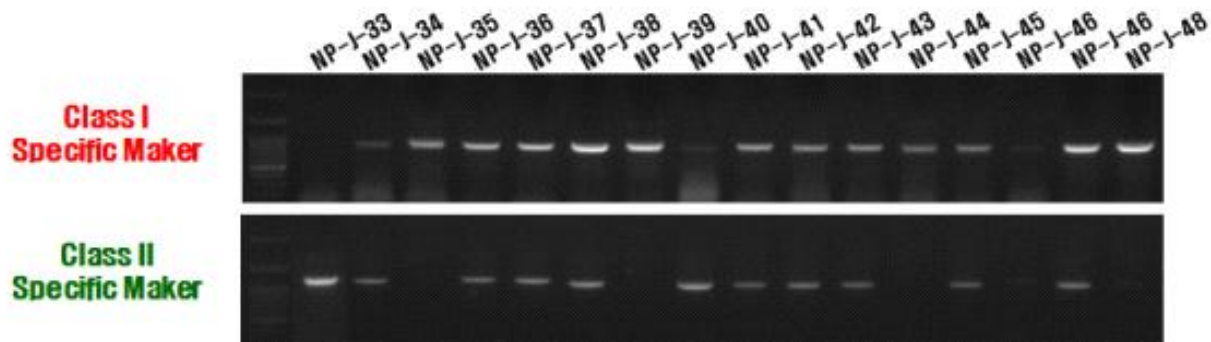
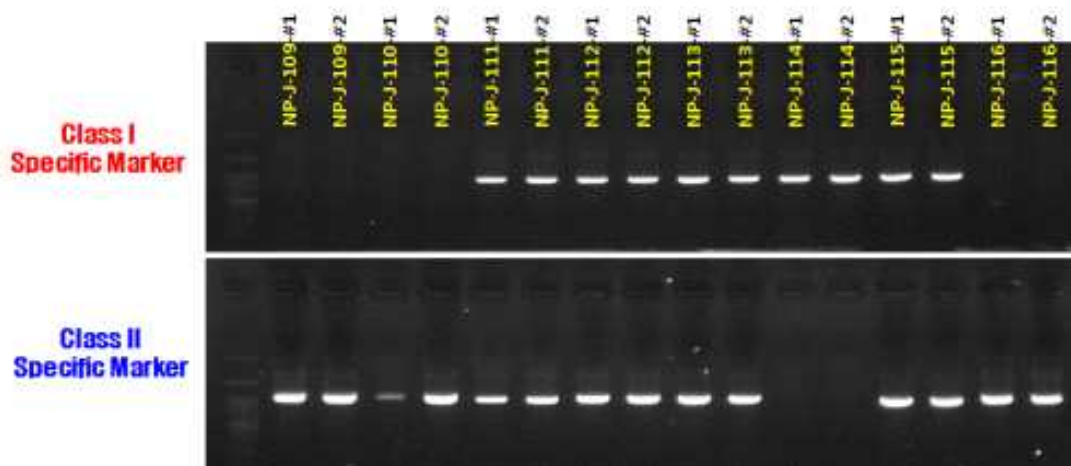
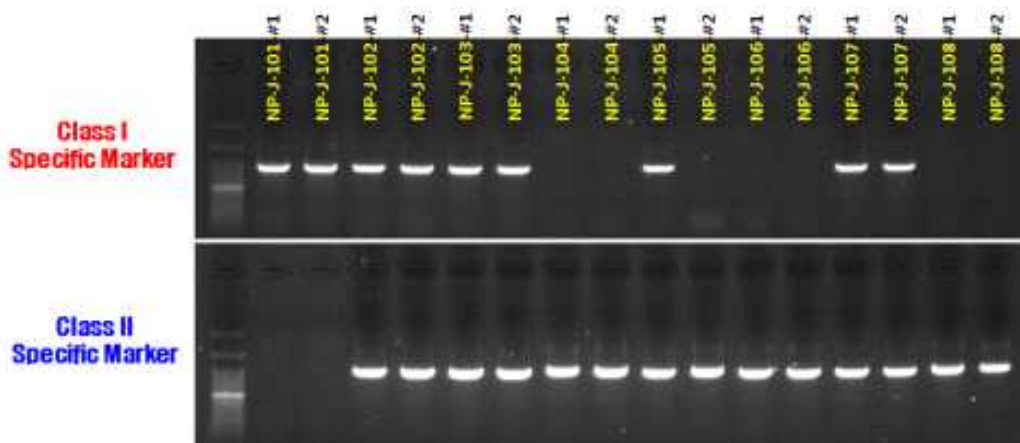
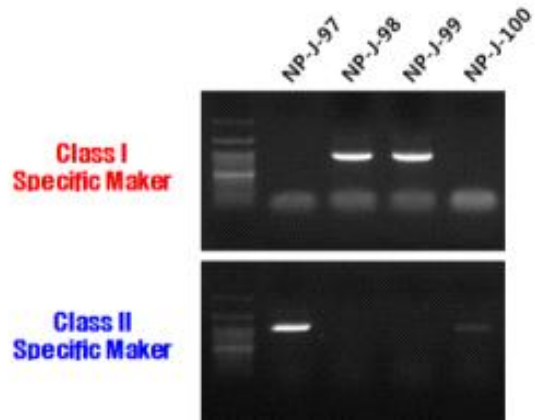


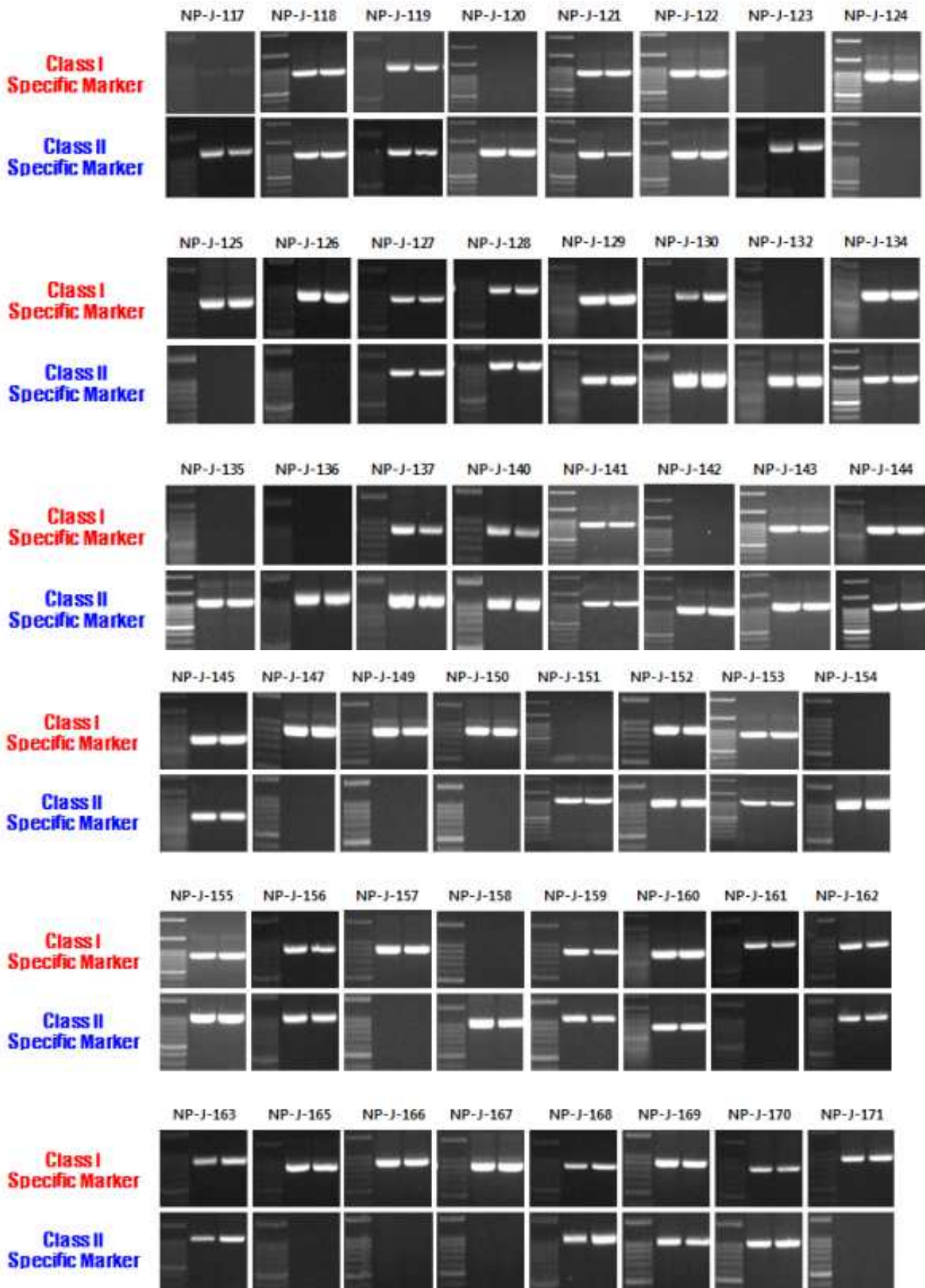
그림 2-7. 국내 및 방글라데쉬(NP-B-01)에서 수집한 품종에 대한 Class 조합 확인











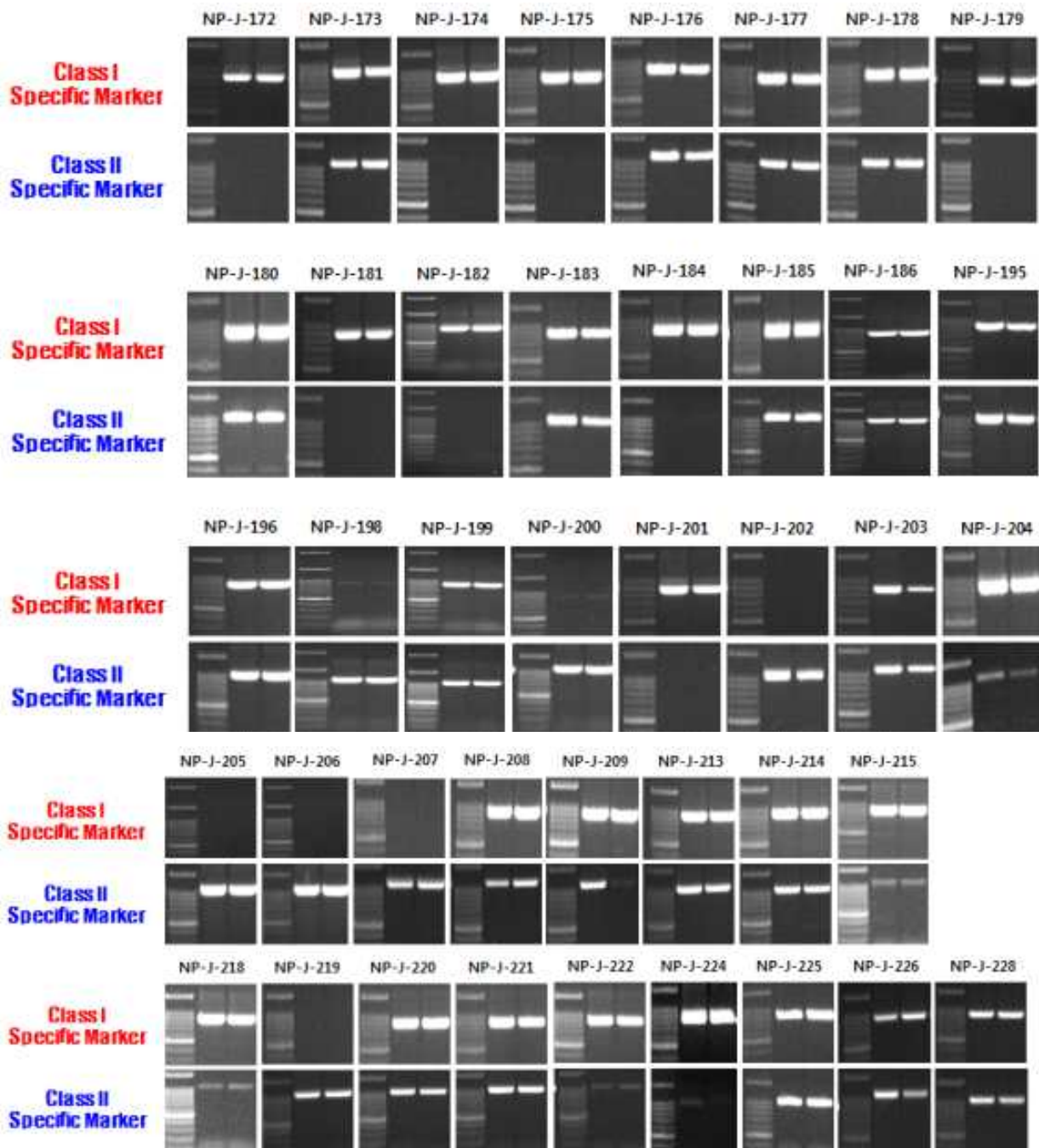


그림 2-8. 일본에서 수집한 품종에 대한 Class 조합 확인

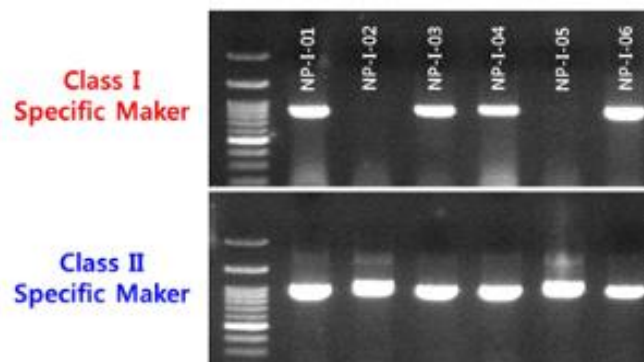


그림 2-9. 인도에서 수집한 품종에 대한 Class 조합 확인

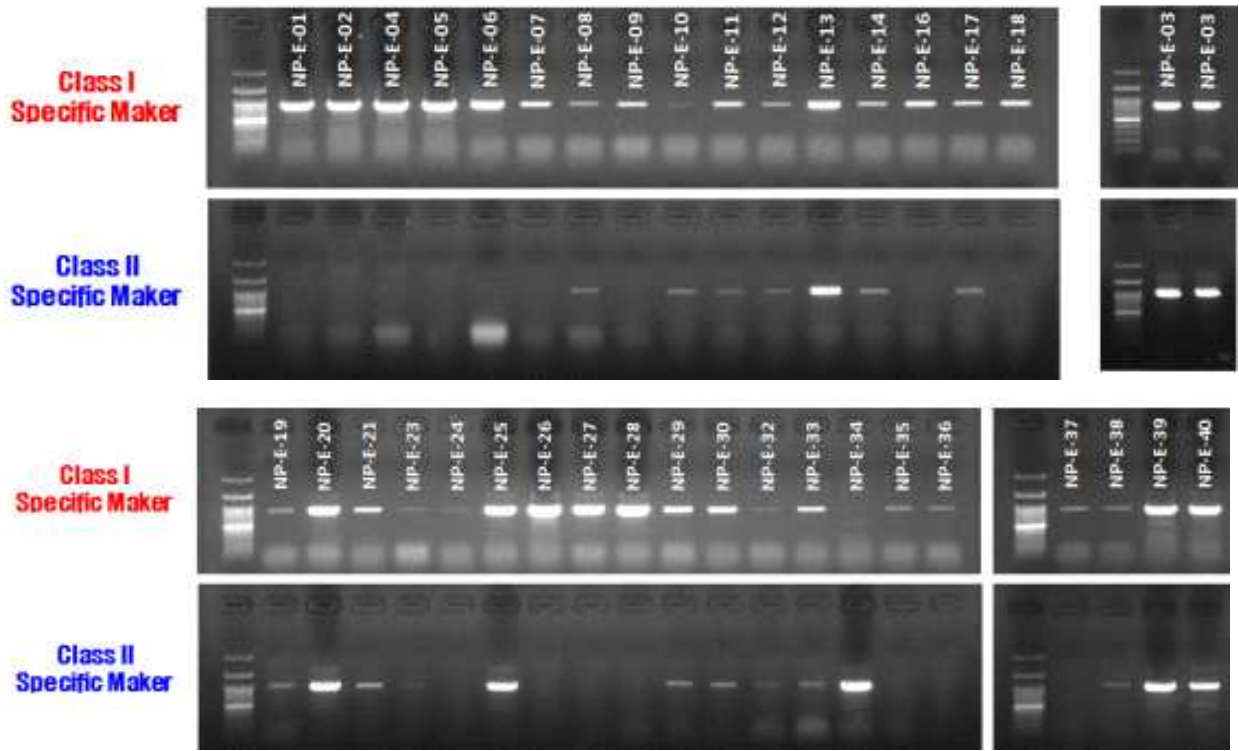


그림 2-10. 유럽에서 수집한 품종에 대한 Class 조합 확인

표 2-3. 국내 수집 품종의 Class 조합 및 채종 방법

	품 종	Class 조합	채 종 방법
1	NP-K-01	Class I × Class II	SI 채종
2	NP-K-02	Class I × Class II	SI 채종
3	NP-K-03	Class I × Class II	SI 채종
4	NP-K-04	Class I × Class II	CMS 채종
5	NP-K-05	Class I × Class II	SI 채종
6	NP-K-06	Class I × Class I	SI 채종
7	NP-K-07	Class II × Class II	SI 채종
8	NP-K-08	Class II × Class II	SI 채종
9	NP-K-09	Class II × Class II	SI 채종
10	NP-K-10	Class I × Class I	SI 채종
11	NP-K-11	Class I × Class I	SI 채종
12	NP-K-12	Class II × Class II	CMS 채종
13	NP-K-13	Class II × Class II	CMS 채종
14	NP-K-14	Class I × Class I	SI 채종
15	NP-K-15	Class II × Class II	CMS 채종
16	NP-K-16	Class I × Class II	SI 채종
17	NP-K-17	Class II × Class II	SI 채종
18	NP-K-18	Class I × Class II	SI 채종



19	NP-K-19	Class I × Class II	SI 채종
20	NP-K-20	Class I × Class II	SI 채종
21	NP-K-21	Class I × Class II	SI 채종
22	NP-K-22	Class I × Class II	SI 채종
23	NP-K-23	Class I × Class II	SI 채종
24	NP-K-24	Class I × Class II	SI 채종
25	NP-K-25	Class I × Class II	SI 채종
26	NP-K-26	Class I × Class II	SI 채종

표 2-4. 일본 수집 품종의 Class 조합 및 채종 방법

	품 종	Class 조합	채 종 방 법
1	NP-J-01	Class I × Class I	SI 채종
2	NP-J-02	Class I × Class II	SI 채종
3	NP-J-03	Class I × Class II	SI 채종
4	NP-J-04	Class I × Class I	SI 채종
5	NP-J-05	Class I × Class II	SI 채종
6	NP-J-06	Class II × Class II	SI 채종
7	NP-J-07	Class I × Class II	CMS 채종
8	NP-J-08	Class I × Class II	SI 채종
9	NP-J-09	Class I × Class II	SI 채종
10	NP-J-10	Class I × Class I	SI 채종
11	NP-J-11	Class I × Class I	SI 채종
12	NP-J-12	Class I × Class II	SI 채종
13	NP-J-13	Class II × Class II	SI 채종
14	NP-J-14	Class I × Class II	CMS 채종
15	NP-J-15	Class I × Class II	CMS 채종
16	NP-J-16	Class I × Class II	SI 채종
17	NP-J-17	Class II × Class II	SI 채종
18	NP-J-18	Class I × Class II	SI 채종
19	NP-J-19	Class I × Class II	SI 채종
20	NP-J-20	Class II × Class II	SI 채종
21	NP-J-21	Class I × Class II	SI 채종
22	NP-J-22	Class I × Class II	SI 채종
23	NP-J-23	Class I × Class II	SI 채종
24	NP-J-24	Class I × Class II	SI 채종
25	NP-J-25	Class I × Class II	SI 채종
26	NP-J-26	Class I × Class II	SI 채종
27	NP-J-27	Class I × Class II	SI 채종

28	NP-J-28	Class II × Class II	SI 채종
29	NP-J-29	Class I × Class II	SI 채종
30	NP-J-30	Class I × Class II	SI 채종
31	NP-J-31	Class II × Class II	CMS 채종
32	NP-J-32	Class I × Class II	SI 채종
33	NP-J-33	Class II × Class II	SI 채종
34	NP-J-34	Class I × Class II	SI 채종
35	NP-J-35	Class I × Class I	SI 채종
36	NP-J-36	Class I × Class II	SI 채종
37	NP-J-37	Class I × Class II	SI 채종
38	NP-J-38	Class I × Class II	SI 채종
39	NP-J-39	Class I × Class I	SI 채종
40	NP-J-40	Class I × Class II	SI 채종
41	NP-J-41	Class I × Class II	SI 채종
42	NP-J-42	Class I × Class II	SI 채종
43	NP-J-43	Class I × Class II	SI 채종
44	NP-J-44	Class I × Class I	SI 채종
45	NP-J-45	Class I × Class II	SI 채종
46	NP-J-46	Class I × Class II	SI 채종
47	NP-J-47	Class I × Class II	SI 채종
48	NP-J-48	Class I × Class II	SI 채종
49	NP-J-49	Class I × Class I	SI 채종
50	NP-J-50	Class I × Class II	SI 채종
51	NP-J-51	Class I × Class II	SI 채종
52	NP-J-52	Class I × Class II	SI 채종
53	NP-J-53	Class I × Class II	SI 채종
54	NP-J-54	Class I × Class II	SI 채종
55	NP-J-55	Class I × Class II	SI 채종
56	NP-J-56	Class I × Class I	SI 채종
57	NP-J-57	Class II × Class II	SI 채종
58	NP-J-58	Class II × Class II	CMS 채종
59	NP-J-59	Class I × Class II	SI 채종
60	NP-J-60	Class II × Class II	CMS 채종
61	NP-J-61	Class I × Class II	SI 채종
62	NP-J-62	Class I × Class II	SI 채종
63	NP-J-63	Class II × Class II	SI 채종
64	NP-J-64	Class I × Class I	SI 채종
65	NP-J-65	Class I × Class II	SI 채종

66	NP-J-66	Class I × Class II	SI 채종
67	NP-J-67	Class I × Class II	CMS 채종
68	NP-J-68	Class I × Class I	SI 채종
69	NP-J-69	Class II × Class II	SI 채종
70	NP-J-70	Class I × Class II	SI 채종
71	NP-J-71	Class I × Class I	SI 채종
72	NP-J-72	Class II × Class II	SI 채종
73	NP-J-73	Class II × Class II	SI 채종
74	NP-J-74	Class I × Class II	SI 채종
75	NP-J-75	Class I × Class II	SI 채종
76	NP-J-76	Class I × Class II	SI 채종
77	NP-J-77	Class II × Class II	SI 채종
78	NP-J-78	Class I × Class II	SI 채종
79	NP-J-79	Class II × Class II	SI 채종
80	NP-J-80	Class I × Class II	SI 채종
81	NP-J-81	Class I × Class II	SI 채종
82	NP-J-82	Class I × Class II	SI 채종
83	NP-J-83	Class I × Class II	CMS 채종
84	NP-J-84	Class I × Class I	SI 채종
85	NP-J-85	Class II × Class II	SI 채종
86	NP-J-86	Class I × Class I	SI 채종
87	NP-J-87	Class II × Class II	SI 채종
88	NP-J-88	Class I × Class I	SI 채종
89	NP-J-89	Class I × Class II	SI 채종
90	NP-J-90	Class II × Class II	SI 채종
91	NP-J-91	Class II × Class II	SI 채종
92	NP-J-92	Class I × Class I	SI 채종
93	NP-J-93	Class II × Class II	SI 채종
94	NP-J-94	Class I × Class I	SI 채종
95	NP-J-95	Class II × Class II	SI 채종
96	NP-J-96	Class I × Class II	SI 채종
97	NP-J-97	Class II × Class II	SI 채종
98	NP-J-98	Class I × Class I	SI 채종
99	NP-J-99	Class I × Class I	SI 채종
100	NP-J-100	Class II × Class II	SI 채종
101	NP-J-101	Class I × Class I	SI 채종
102	NP-J-102	Class I × Class II	SI 채종
103	NP-J-103	Class I × Class II	CMS 채종
104	NP-J-104	Class II × Class II	CMS 채종
105	NP-J-105	Class II × Class II	CMS 채종

106	NP-J-106	Class II × Class II	CMS 채종
107	NP-J-107	Class I × Class II	CMS 채종
108	NP-J-108	Class II × Class II	CMS 채종
109	NP-J-109	Class II × Class II	CMS 채종
110	NP-J-110	Class II × Class II	CMS 채종
111	NP-J-111	Class I × Class II	CMS 채종
112	NP-J-112	Class I × Class II	CMS 채종
113	NP-J-113	Class I × Class II	CMS 채종
114	NP-J-114	Class I × Class I	SI 채종
115	NP-J-115	Class I × Class II	CMS 채종
116	NP-J-116	Class II × Class II	CMS 채종
117	NP-J-117	Class I X Class II	CMS 채종
118	NP-J-118	Class I X Class II	SI 채종
119	NP-J-119	Class I X Class II	SI 채종
120	NP-J-120	Class II X Class II	CMS 채종
121	NP-J-121	Class I X Class II	SI 채종
122	NP-J-122	Class I X Class II	SI 채종
123	NP-J-123	Class II X Class II	CMS 채종
124	NP-J-124	Class I X Class I	SI 채종
125	NP-J-125	Class I X Class I	SI 채종
126	NP-J-126	Class I X Class II	SI 채종
127	NP-J-127	Class I X Class II	SI 채종
128	NP-J-128	Class I X Class II	SI 채종
129	NP-J-129	Class I X Class II	SI 채종
130	NP-J-130	Class I X Class II	SI 채종
131	NP-J-131	Class I X Class II	SI 채종
132	NP-J-132	Class II X Class II	SI 채종
133	NP-J-133	Class I X Class II	SI 채종
134	NP-J-134	Class I X Class II	SI 채종
135	NP-J-135	Class II X Class II	SI 채종
136	NP-J-136	Class II X Class II	SI 채종
137	NP-J-137	Class I X Class II	SI 채종
138	NP-J-138	Class I X Class II	SI 채종
139	NP-J-139	Class I X Class II	SI 채종
140	NP-J-140	Class I X Class II	SI 채종
141	NP-J-141	Class I X Class II	SI 채종
142	NP-J-142	Class II X Class II	SI 채종
143	NP-J-143	Class I X Class II	SI 채종
144	NP-J-144	Class I X Class II	SI 채종
145	NP-J-145	Class I X Class II	SI 채종
146	NP-J-146	Class I X Class II	SI 채종
-147	NP-J-147	Class I X Class I	SI 채종
148	NP-J-148	Class I X Class II	SI 채종

149	NP-J-149	Class I X Class I	SI 채종
150	NP-J-150	Class I X Class I	SI 채종
151	NP-J-151	Class I X Class II	SI 채종
152	NP-J-152	Class I X Class II	SI 채종
153	NP-J-153	Class I X Class II	SI 채종
154	NP-J-154	Class II X Class II	CMS 채종
155	NP-J-155	Class I X Class II	SI 채종
156	NP-J-156	Class I X Class II	SI 채종
157	NP-J-157	Class I X Class I	SI 채종
158	NP-J-158	Class II X Class II	SI 채종
159	NP-J-159	Class I X Class II	SI 채종
160	NP-J-160	Class I X Class II	SI 채종
161	NP-J-161	Class I X Class I	SI 채종
162	NP-J-162	Class I X Class II	SI 채종
163	NP-J-163	Class I X Class II	SI 채종
164	NP-J-164	Class I X Class II	SI 채종
165	NP-J-165	Class I X Class I	SI 채종
166	NP-J-166	Class I X Class I	SI 채종
167	NP-J-167	Class I X Class I	SI 채종
168	NP-J-168	Class I X Class II	SI 채종
169	NP-J-169	Class I X Class II	SI 채종
170	NP-J-170	Class I X Class II	SI 채종
171	NP-J-171	Class I X Class I	SI 채종
172	NP-J-172	Class I X Class I	CMS 채종
173	NP-J-173	Class I X Class II	CMS 채종
174	NP-J-174	Class I X Class I	SI 채종
175	NP-J-175	Class I X Class I	SI 채종
176	NP-J-176	Class I X Class II	CMS 채종
177	NP-J-177	Class I X Class II	SI 채종
178	NP-J-178	Class I X Class II	CMS 채종
179	NP-J-179	Class I X Class I	SI 채종
180	NP-J-180	Class I X Class II	SI 채종
181	NP-J-181	Class I X Class I	SI 채종
182	NP-J-182	Class I X Class I	SI 채종
183	NP-J-183	Class I X Class II	SI 채종
184	NP-J-184	Class I X Class I	SI 채종
185	NP-J-185	Class I X Class II	SI 채종
186	NP-J-186	Class I X Class II	SI 채종
187	NP-J-187	Class I X Class II	SI 채종
188	NP-J-188	Class I X Class II	SI 채종
189	NP-J-189	Class I X Class II	SI 채종
190	NP-J-190	Class I X Class II	SI 채종
191	NP-J-191	Class I X Class II	SI 채종
192	NP-J-192	Class I X Class II	SI 채종

193	NP-J-193	Class I X Class II	SI 채종
194	NP-J-194	Class I X Class II	SI 채종
195	NP-J-195	Class I X Class II	SI 채종
196	NP-J-196	Class I X Class II	SI 채종
197	NP-J-197	Class I X Class II	SI 채종
198	NP-J-198	Class I X Class II	CMS 채종
199	NP-J-199	Class I X Class II	SI 채종
200	NP-J-200	Class I X Class II	CMS 채종
201	NP-J-201	Class I X Class I	SI 채종
202	NP-J-202	Class II X Class II	CMS 채종
203	NP-J-203	Class I X Class II	CMS 채종
204	NP-J-204	Class I X Class II	SI 채종
205	NP-J-205	Class II X Class II	CMS 채종
206	NP-J-206	Class II X Class II	CMS 채종
207	NP-J-207	Class II X Class II	CMS 채종
208	NP-J-208	Class I X Class II	SI 채종
209	NP-J-209	Class I X Class II	SI 채종
210	NP-J-210	Class II X Class II	SI 채종
211	NP-J-211	Class I X Class II	SI 채종
212	NP-J-212	Class I X Class II	SI 채종
213	NP-J-213	Class I X Class II	SI 채종
214	NP-J-214	Class I X Class II	SI 채종
215	NP-J-215	Class I X Class II	SI 채종
216	NP-J-216	Class I X Class II	SI 채종
217	NP-J-217	Class I X Class II	SI 채종
218	NP-J-218	Class I X Class II	SI 채종
219	NP-J-219	Class II X Class II	SI 채종
220	NP-J-220	Class I X Class II	SI 채종
221	NP-J-221	Class I X Class II	SI 채종
222	NP-J-222	Class I X Class II	SI 채종
223	NP-J-223	Class I X Class II	SI 채종
224	NP-J-224	Class I X Class II	SI 채종
225	NP-J-225	Class I X Class II	SI 채종
226	NP-J-226	Class I X Class II	SI 채종
227	NP-J-227	Class I X Class II	SI 채종
228	NP-J-228	Class I X Class II	SI 채종

표 2-5. 유럽 수집 품종의 Class 조합 및 채종 방법

	품 종	Class 조합	채 종 방 법
1	NP-E-01	Class I × Class I	SI 채종
2	NP-E-02	Class I × Class I	SI 채종
3	NP-E-03	Class I × Class II	SI 채종
4	NP-E-04	Class I × Class I	SI 채종

5	NP-E-05	Class I × Class I	SI 채종
6	NP-E-06	Class I × Class I	SI 채종
7	NP-E-07	Class I × Class I	SI 채종
8	NP-E-08	Class I × Class II	SI 채종
9	NP-E-09	Class I × Class I	SI 채종
10	NP-E-10	Class I × Class II	SI 채종
11	NP-E-11	Class I × Class II	CMS 채종
12	NP-E-12	Class I × Class II	SI 채종
13	NP-E-13	Class I × Class II	SI 채종
14	NP-E-14	Class I × Class II	SI 채종
15	NP-E-15	Class I X Class II	SI 채종
16	NP-E-16	Class I × Class I	SI 채종
17	NP-E-17	Class I × Class II	SI 채종
18	NP-E-18	Class I × Class I	SI 채종
19	NP-E-19	Class I × Class II	CMS 채종
20	NP-E-20	Class I × Class II	SI 채종
21	NP-E-21	Class I × Class II	CMS 채종
22	NP-E-22	Class I × Class II	SI 채종
23	NP-E-23	Class I × Class II	SI 채종
24	NP-E-24	Class I × Class I	CMS 채종
25	NP-E-25	Class I × Class II	SI 채종
26	NP-E-26	Class I × Class I	SI 채종
27	NP-E-27	Class I × Class I	SI 채종
28	NP-E-28	Class I × Class I	SI 채종
29	NP-E-29	Class I × Class II	CMS 채종
30	NP-E-30	Class I × Class II	CMS 채종
31	NP-E-31	Class I × Class II	SI 채종
32	NP-E-32	Class I × Class II	SI 채종
33	NP-E-33	Class I × Class II	SI 채종
34	NP-E-34	Class II × Class II	SI 채종
35	NP-E-35	Class I × Class I	SI 채종
36	NP-E-36	Class I × Class I	SI 채종
37	NP-E-37	Class I × Class II	SI 채종
38	NP-E-38	Class I × Class II	SI 채종
39	NP-E-39	Class I × Class II	SI 채종
40	NP-E-40	Class I × Class II	CMS 채종

표 2-6. 인도 및 방글라데쉬 수집 품종의 Class 조합 및 채종 방법

	품 종	Class 조합	채 종 방 법
1	NP-I-01	Class I × Class II	CMS 채종
2	NP-I-02	Class II × Class II	SI 채종
3	NP-I-03	Class I × Class II	SI 채종
4	NP-I-04	Class I × Class II	CMS 채종

5	NP-I-05	Class II × Class II	SI 채종
6	NP-I-06	Class I × Class II	SI 채종
7	NP-I-07	Class I × Class II	SI 채종
8	NP-I-08	Class I × Class II	SI 채종
9	NP-B-09	Class I × Class II	SI 채종



표 2-7. 국내 및 국외 수집 품종의 Class 조합 및 채종 방법에 대한 품종 수

수집 지역/국가	수집 품종 수	Class 조합별 품종 수		SI 채종 품종 수	CMS 채종 품종 수
		Class I × Class I	Class I × Class II		
국내	26	Class I × Class I	4	22	4
		Class II × Class II	7		
		Class I × Class II	15		
일본	228	Class I × Class I	40	192	36
		Class II × Class II	43		
		Class I × Class II	145		
중국	56	Class I × Class I	3	17	2
		Class II × Class II	5		
		Class I × Class II	11		
유럽	60	Class I × Class I	15	33	7
		Class II × Class II	1		
		Class I × Class II	24		
인도 및 방글라데쉬	15	Class I × Class I	0	5	2
		Class II × Class II	2		
		Class I × Class II	5		
미국 베트남	7	Class I × Class I	-	-	-
	15	Class II × Class II	-		
		Class I × Class II	-		
합계	407	Class I × Class I	62	269	51
		Class II × Class II	58		
		Class I × Class II	200		
		합계	320		

\*87 품종은 현재 실험 중임

### 6. Class I × Class II 조합 품종으로부터 자식종 선발

국내, 일본, 유럽, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 320개의 F1 품종들의 Class 조합을 확인한 결과 Class I × Class II 조합으로 구성된 200개의 F1 품종들을 품종당 200립씩 파종한 후 본엽 2~3매 정도의 식물체로부터 각각의 식물체 엽을 채취하여 DNA를 추출한 후 본 연구실에서 개발한 Class I Specific Maker 및 Class II Specific Maker를 이용하여 자식종을 선발하였다. 그림 2-11의 예시로 나타낸 것과 같이 hetero의 경우 Class I Specific Maker 및 Class II Specific Maker를 이용하여 PCR을 수행할 경우 DNA 단편이 Class I 및 Class II 양 쪽에서 모두 증폭되지만 자식종의 경우 Class I 또는 Class II 어느 한쪽에서만 증폭되기 때문에 자식종을 쉽게 선발할 수 있었다.

Class I Specific Maker 및 Class II Specific Maker 및 200개의 F1 품종으로부터 추출한 각각의 DNA를 이용하여 PCR을 수행한 후 PCR 증폭의 유무에 의해 자식종을 선발한 결과 74개의 F1 품종(NP-K-01, NP-K-02, NP-K-03, NP-K-05, NP-K-18, NP-K-21, NP-J-02, NP-J-03, NP-J-05, NP-J-08, NP-J-12, NP-J-16, NP-J-18, NP-J-26, NP-J-27, NP-J-29, NP-J-30, NP-J-32, NP-J-40, NP-J-41, NP-J-42, NP-J-43, NP-J-45, NP-J-47, NP-J-48, NP-J-50, NP-J-62, NP-J-63, NP-J-80, NP-J-118, NP-J-119, NP-J-121, NP-J-122, NP-J-141, NP-J-153, NP-J-159, NP-J-173, NP-J-180, NP-J-203, NP-J-181, NP-J-182,

NP-C-32, NP-C-28, NP-C-34, NP-C-35, NP-C-37, NP-C-38, NP-C-26, NP-C-29, NP-C-30, NP-J-223, NP-J-153, NP-J-140, NP-J-152, NP-J-220, NP-J-155, NP-J-156, NP-J-150, NP-J-129, NP-J-130, NP-J-24, NP-J-46, NP-J-159, NP-J-192, NP-J-193, NP-J-194, NP-J-200, NP-J-176, NP-E-12, NP-E-20, NP-E-23, NP-E-30, NP-E-33, NP-E-39)으로부터 85개 line의 자식종을 선발할 수 있었다.

선발된 74개의 F1 품종 중 NP-J-8, NP-J-80, NP-E-20, NP-J-220, NP-J-140, NP-J-155, NP-J-150, NP-C-34, NP-C-35, NP-C-26, NP-J-176번의 F1 품종을 제외한 나머지 품종들에서는 F1품종을 합성하기 위하여 사용된 양친 중에 한쪽친 만을 선발 할 수 있었다. 그러나 NP-J-8, NP-J-80, NP-E-20, NP-J-220, NP-J-140, NP-J-155, NP-J-150, NP-C-34, NP-C-35, NP-C-26, NP-J-176번의 F1 품종에서 선발된 자식종들은 Class I Specific Maker 및 Class II Specific Maker에 특이적으로 증폭되어 이들 2개의 품종으로 부터는 F1품종을 합성하기 위하여 사용된 부계 및 모계 모두를 선발할 수 있었다. 모든 선발된 품종들은 재 실험을 수행하여 다시 한번 더 자식종인지를 확인 하였다(그림 2-12-48). 나머지 선발하지 못한 품종들은 현재 파종을 하여 계속해서 자식종을 탐색하고 있는 중이다.

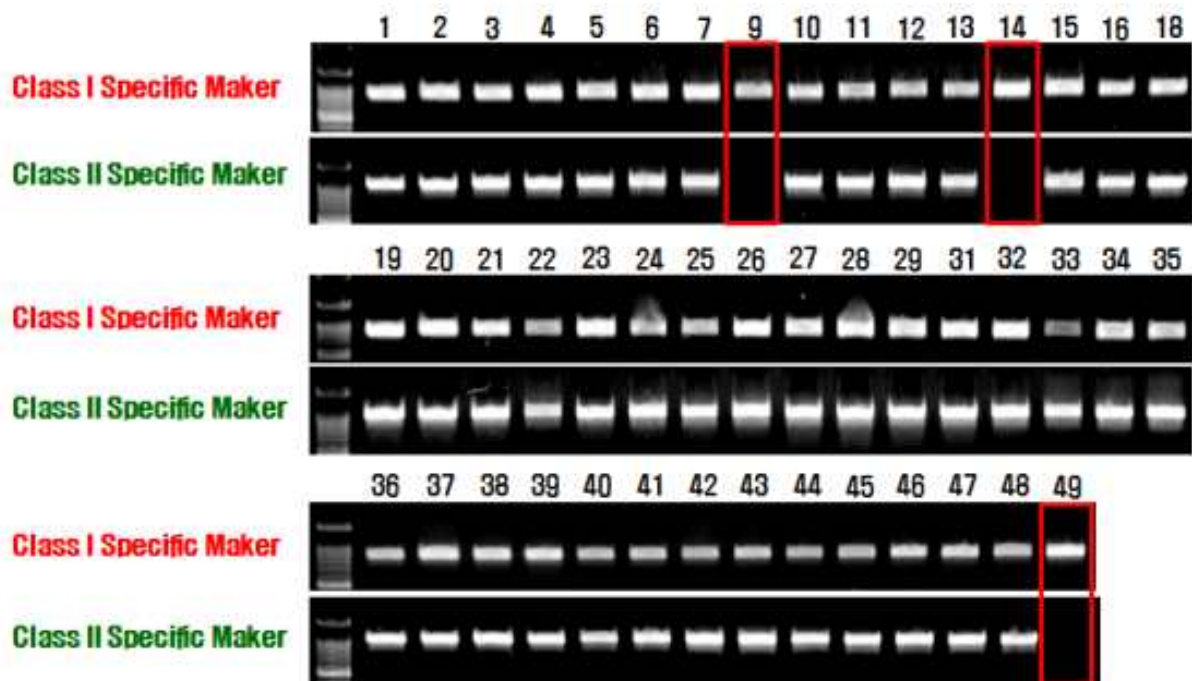


그림 2-11. Class I Specific Maker 및 Class II Specific Maker를 이용한 자식종 선발 예시

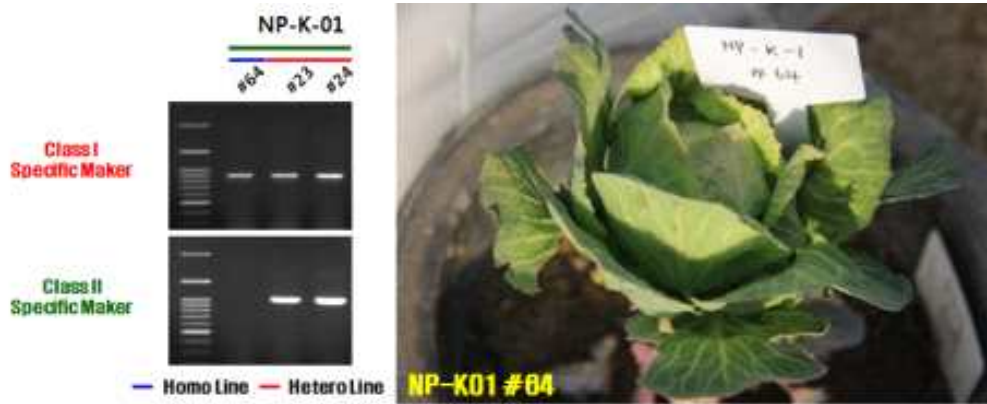


그림 2-12. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-K-01 품종의 자식종 선발

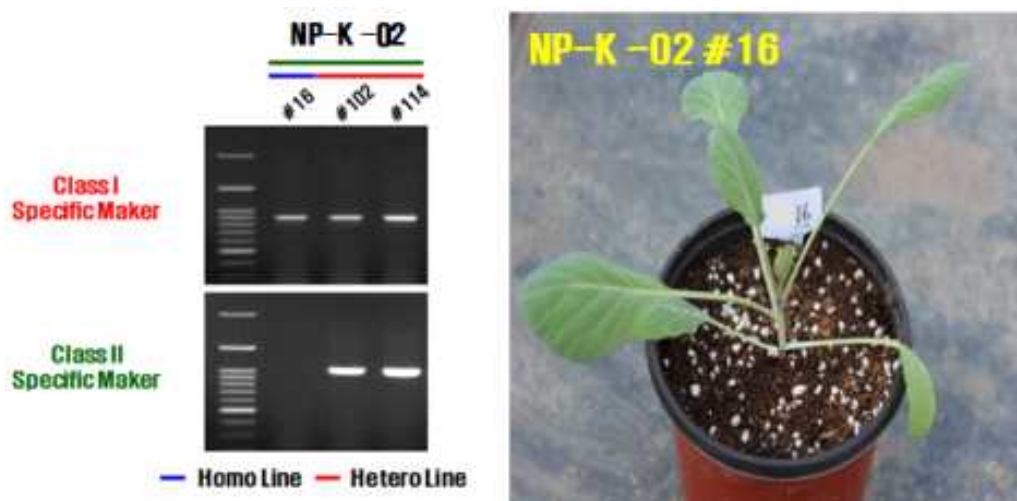


그림 2-13. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-K-02 품종의 자식종 선발



그림 2-14. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-K-03 품종의 자식종 선발



그림 2-15. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-K-05 품종의 자식종 선발

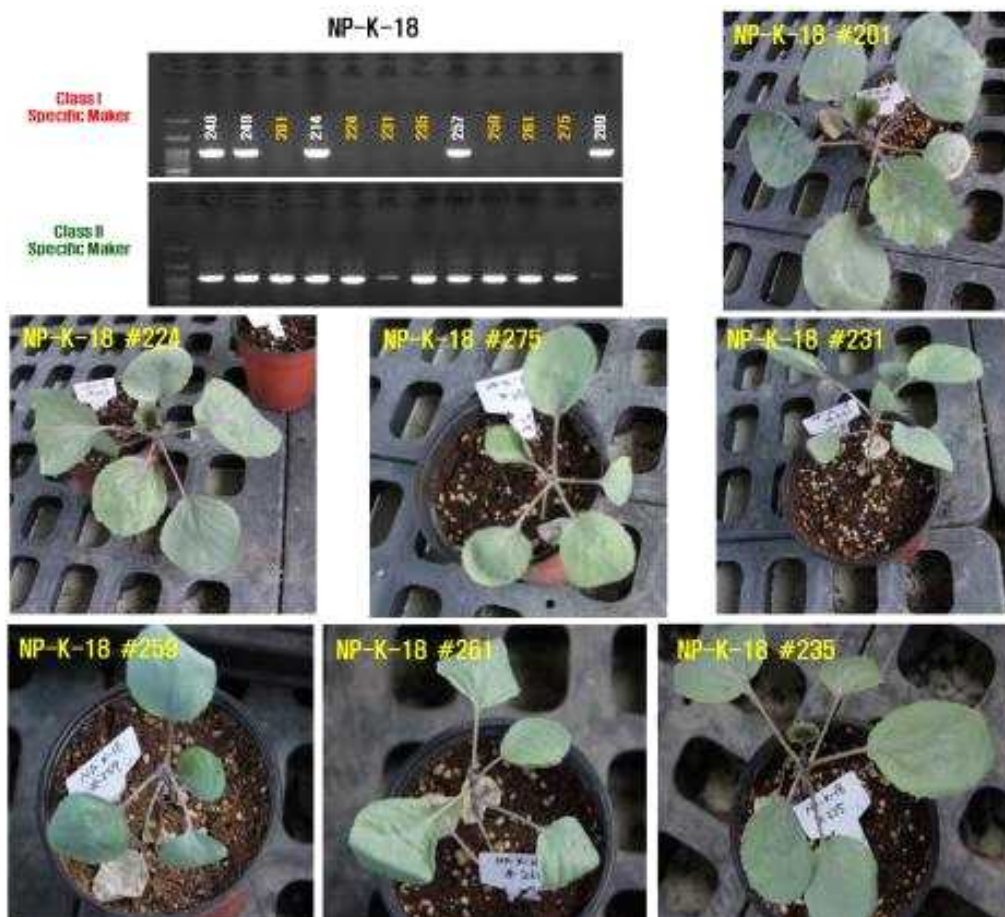


그림 2-16. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-K-18 품종의 자식종 선발



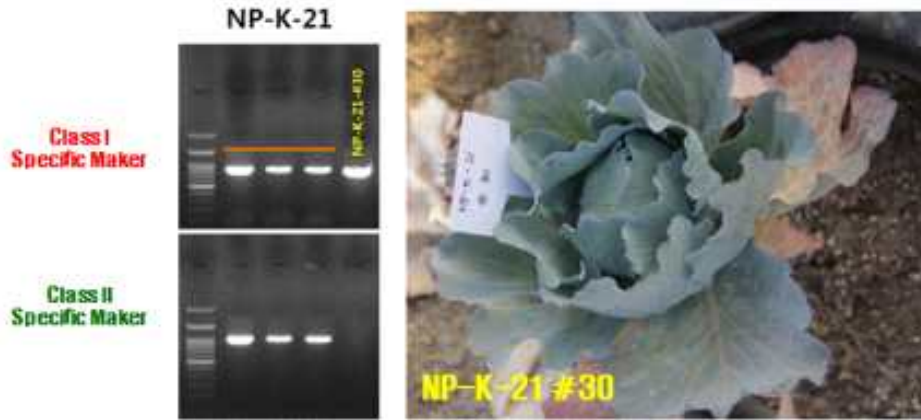


그림 2-17. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-K-21 품종의 자식종 선발

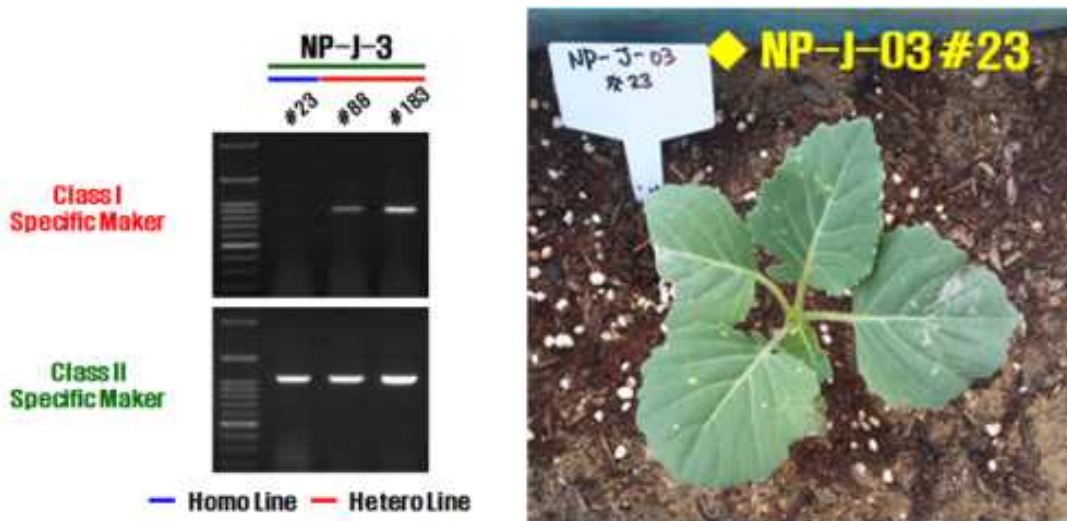


그림 2-18. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-03 품종의 자식종 선발

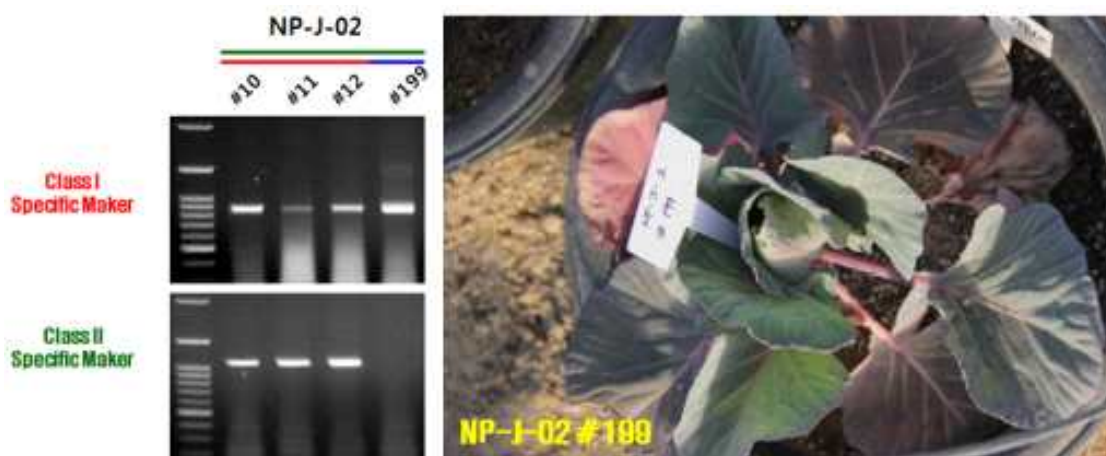


그림 2-19. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-02 품종의 자식종 선발

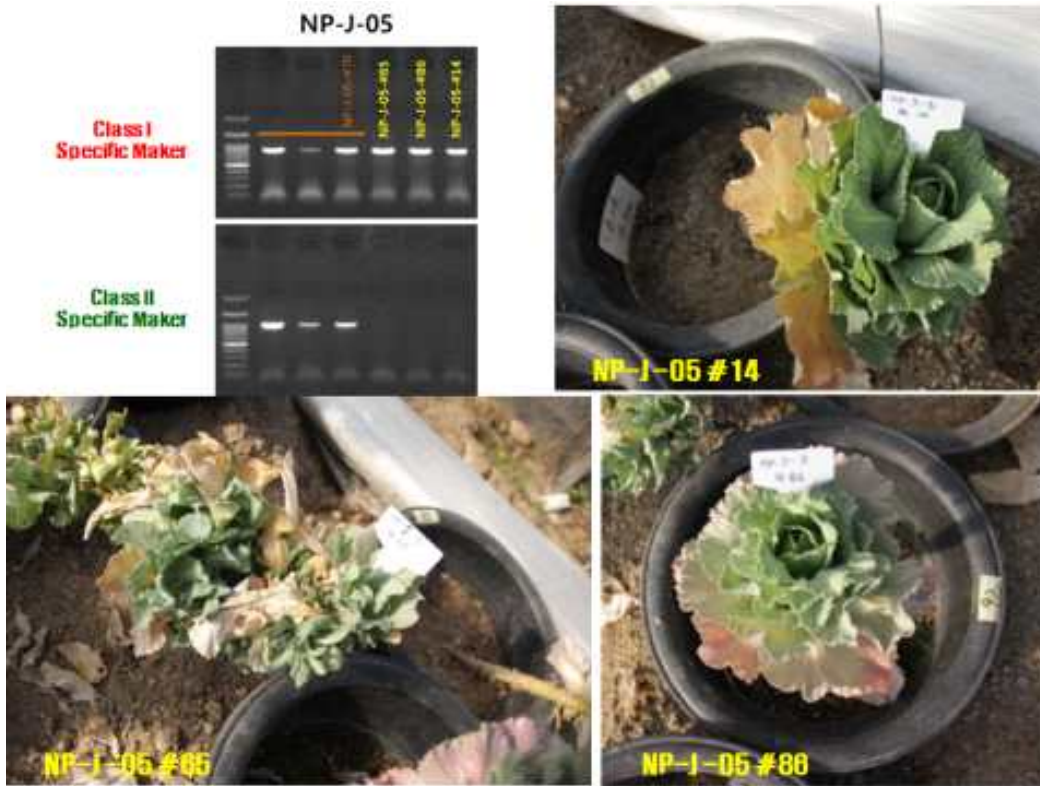


그림 2-20. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-05 품종의 자식종 선발



그림 2-21. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-08 품종의 자식종 선발





그림 2-22. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-12 품종의 자식종 선발



그림 2-23. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-16 품종의 자식종 선발

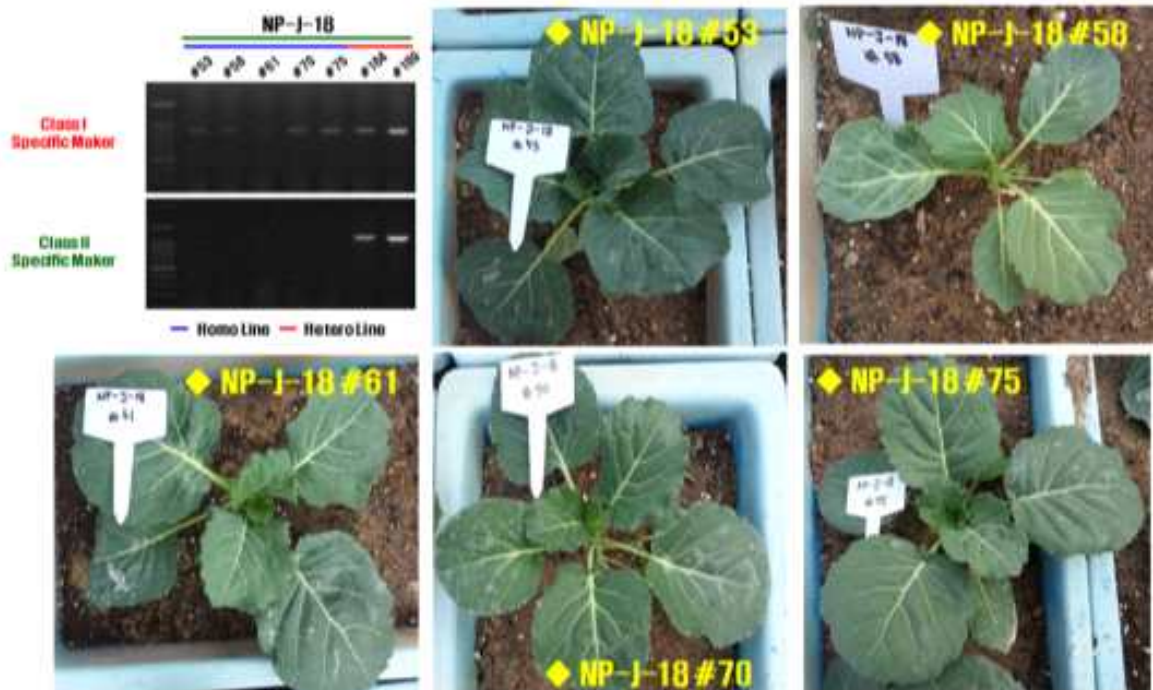


그림 2-24. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-18 품종의 자식종 선발

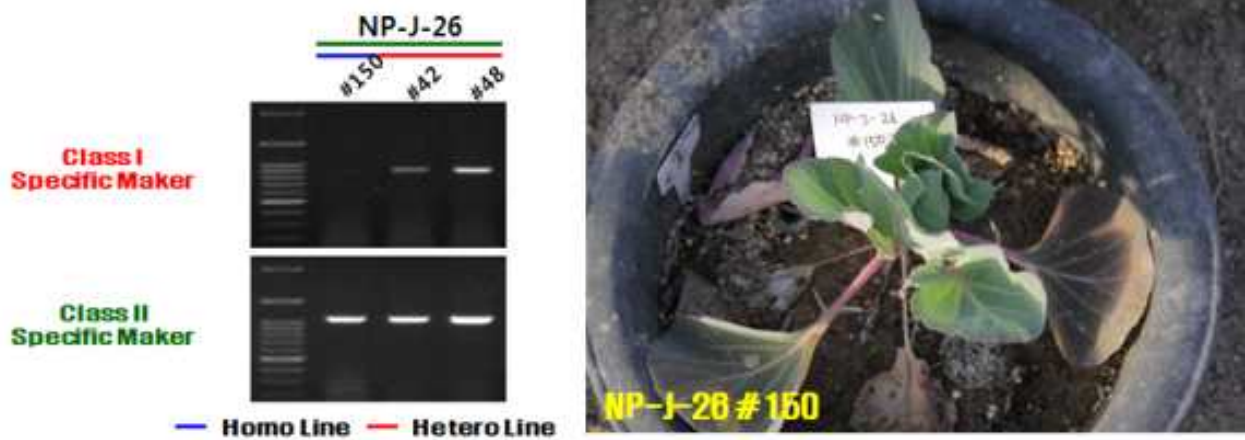


그림 2-25. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-26 품종의 자식종 선발



그림 2-26. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-29 품종의 자식종 선발

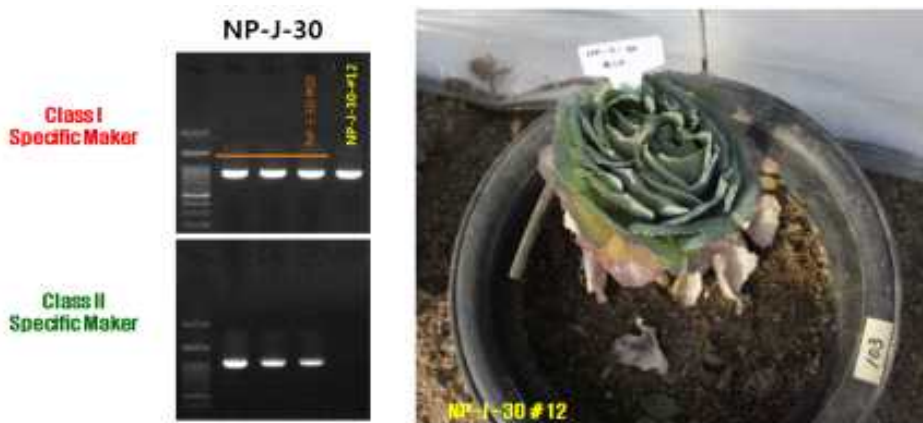


그림 2-27. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-30 품종의 자식종 선발



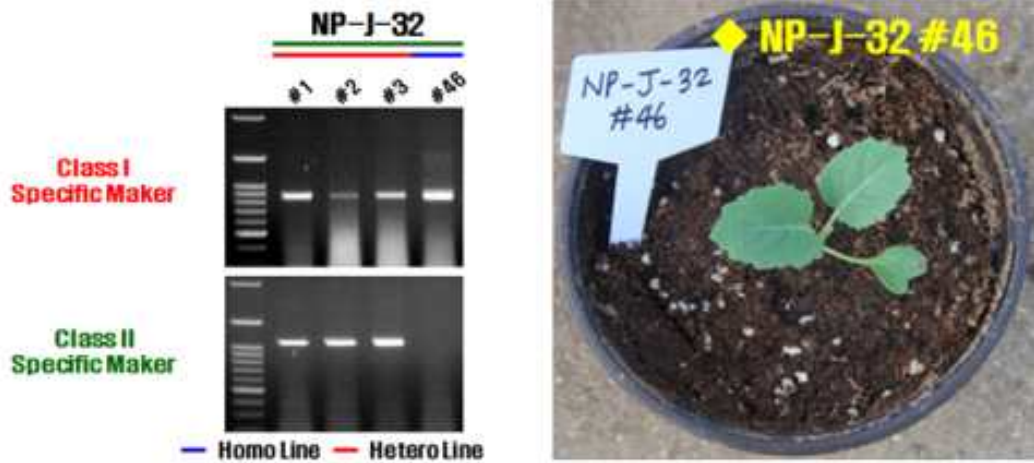


그림 2-28. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-32 품종의 자식종 선발



그림 2-29. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-41 품종의 자식종 선발

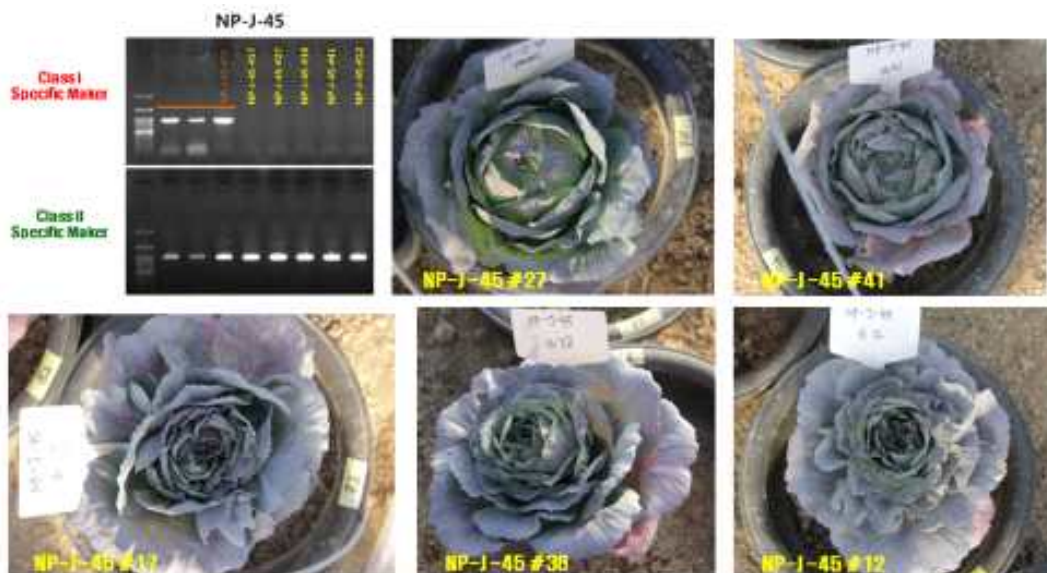


그림 2-30. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-45 품종의 자식종 선발

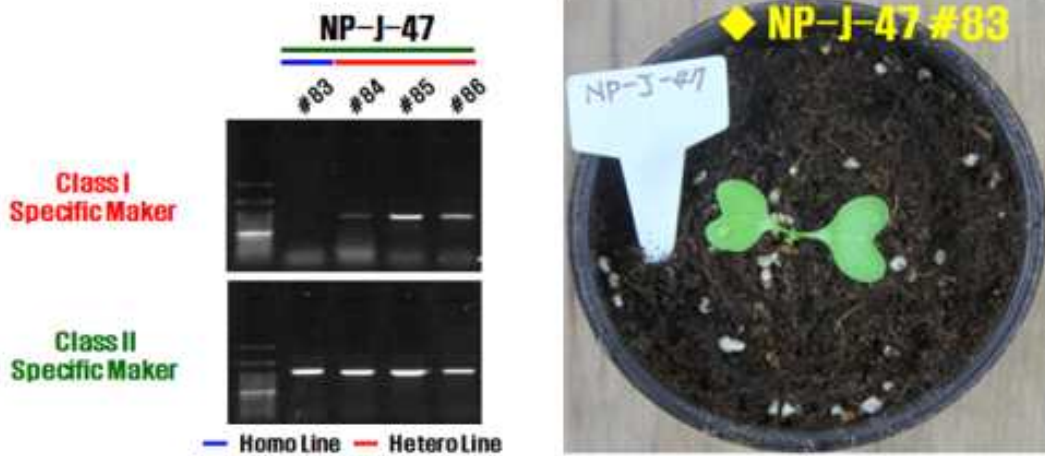


그림 2-31. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-47 품종의 자식종 선발

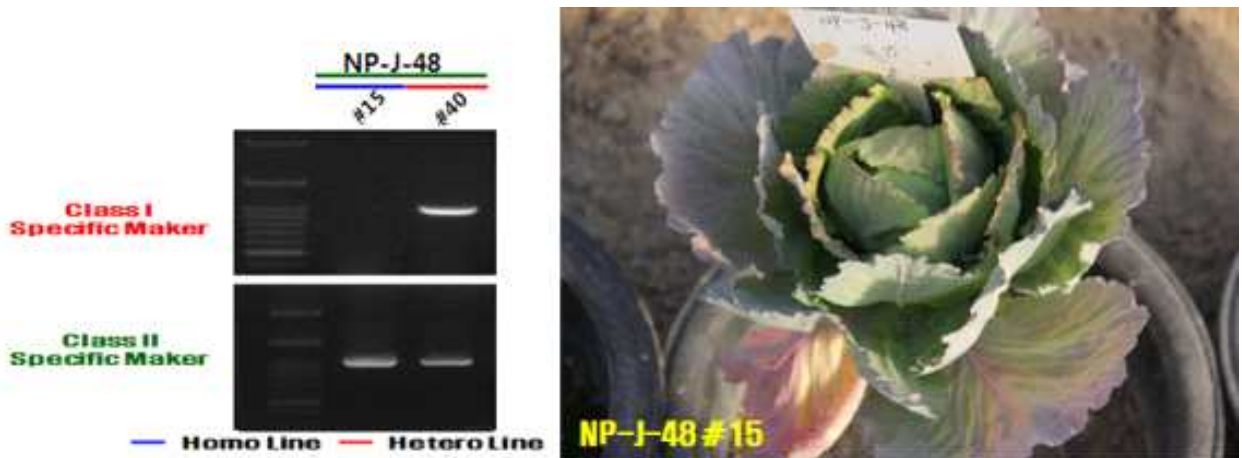


그림 2-32. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-48 품종의 자식종 선발



그림 2-33. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-27 품종의 자식종



선발

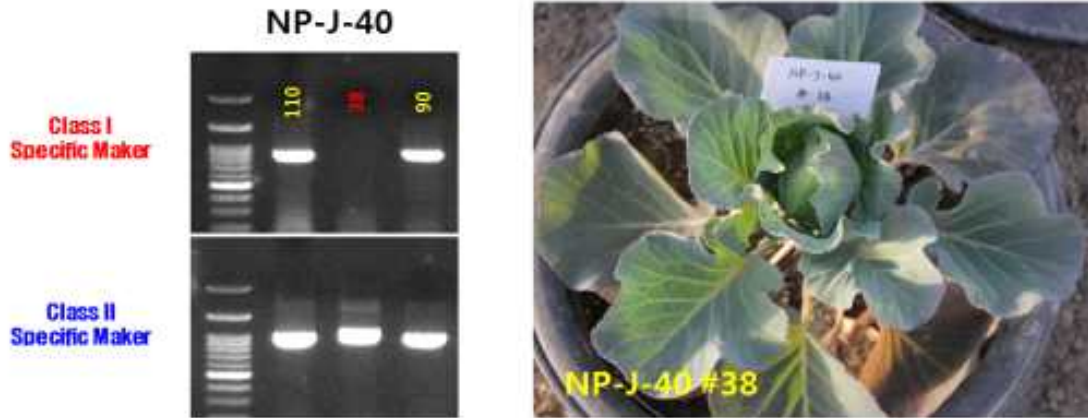


그림 2-34. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-40 품종의 자식종 선발



그림 2-35. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-43 품종의 자식종 선발



그림 2-36. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-42 품종의 자식종 선발

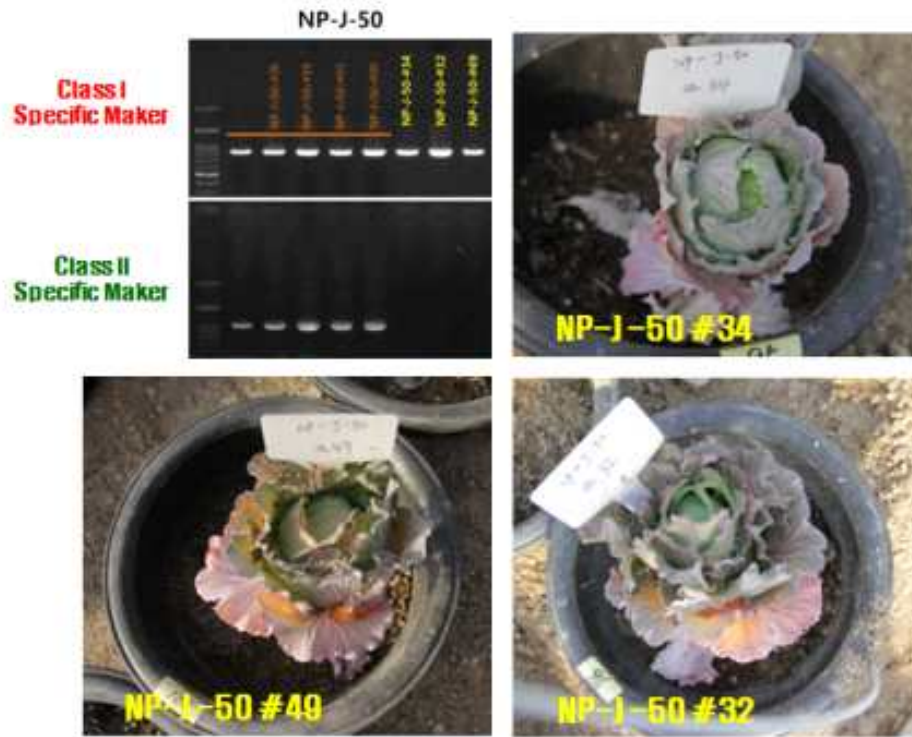


그림 2-37. Class I Specific 및 Class II Specific Marker를 이용한 NP-J-50 품종의 자식종 선발

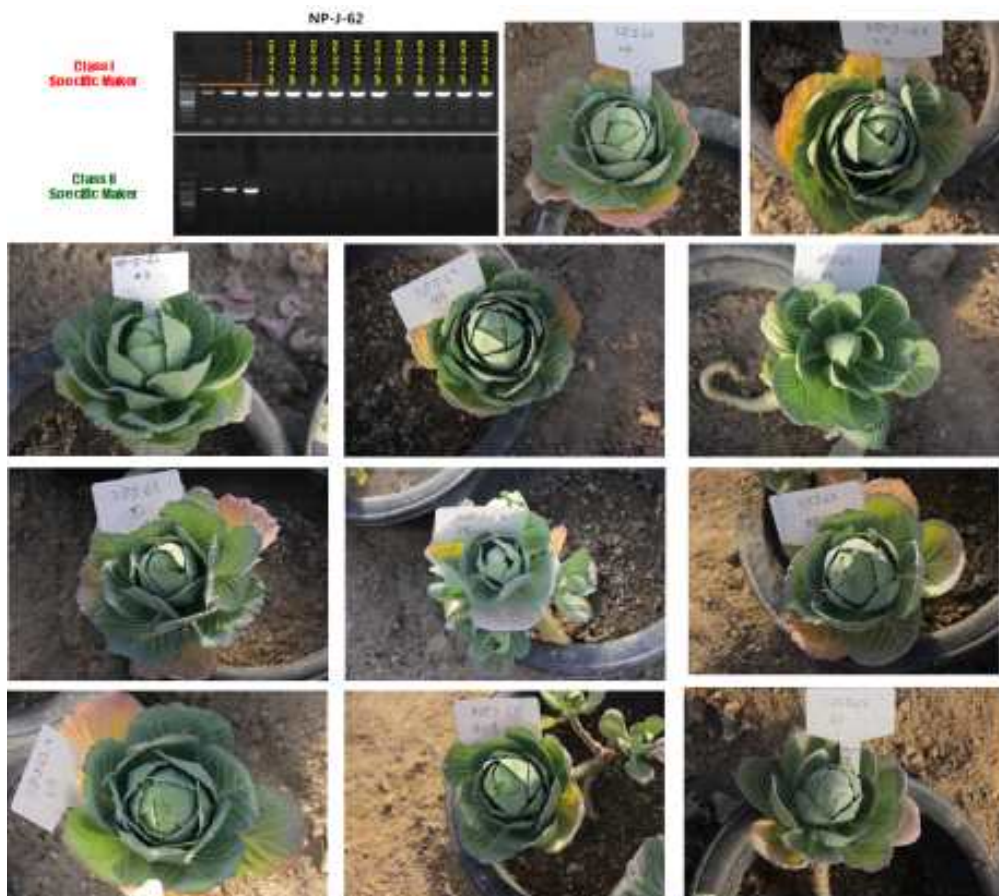




그림 2-38. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-62 품종의 자식종 선발

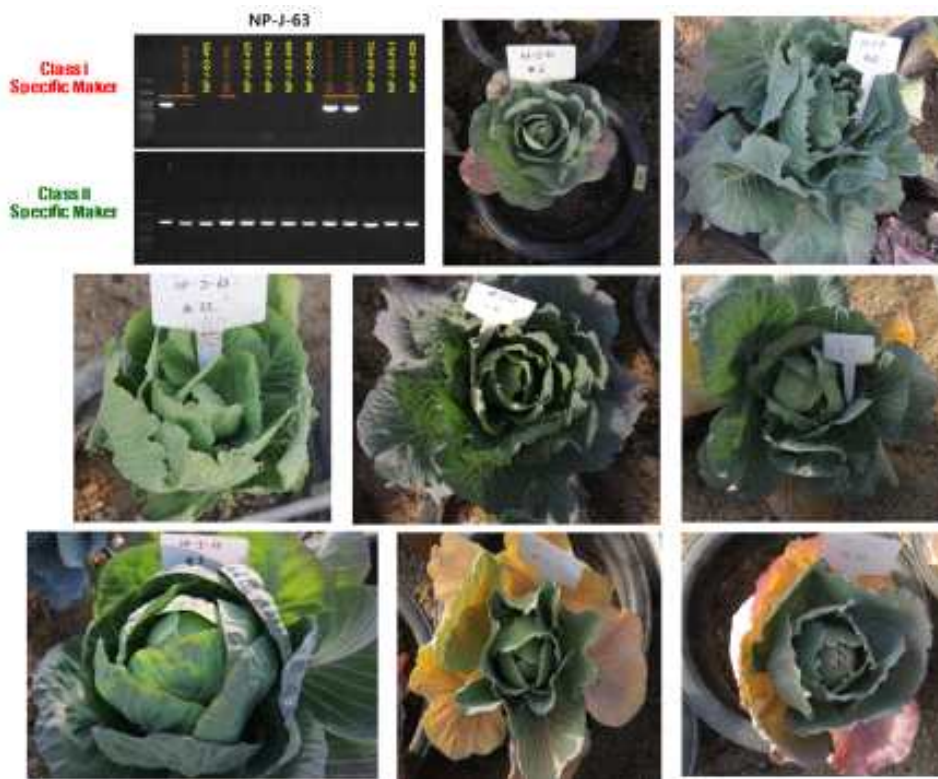


그림 2-39. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-63 품종의 자식종 선발

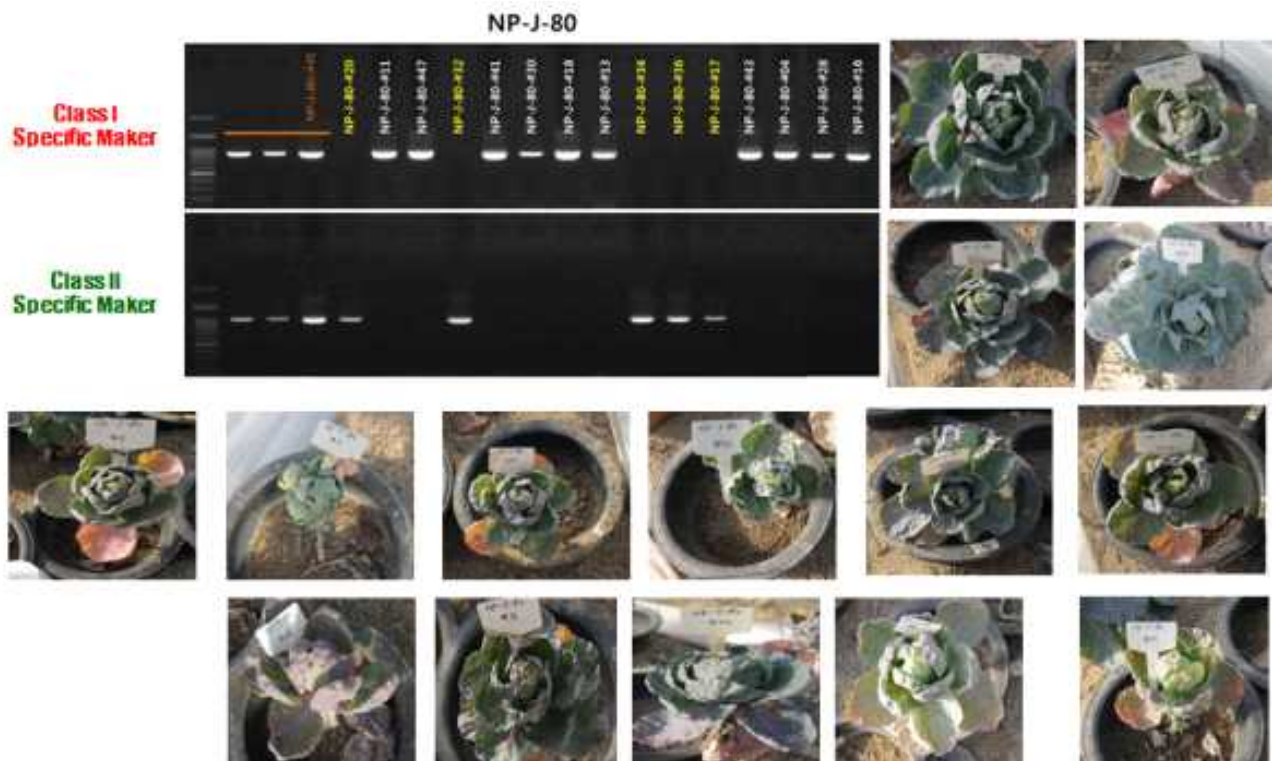


그림 2-40. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-80 품종의 자식종

## 선발

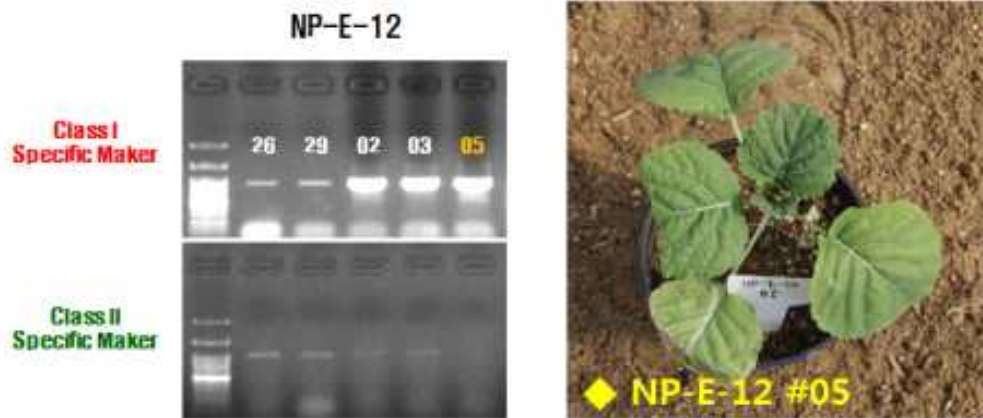


그림 2-41. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-E-12 품종의 자식종 선발



그림 2-42. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-E-30 품종의 자식종 선발



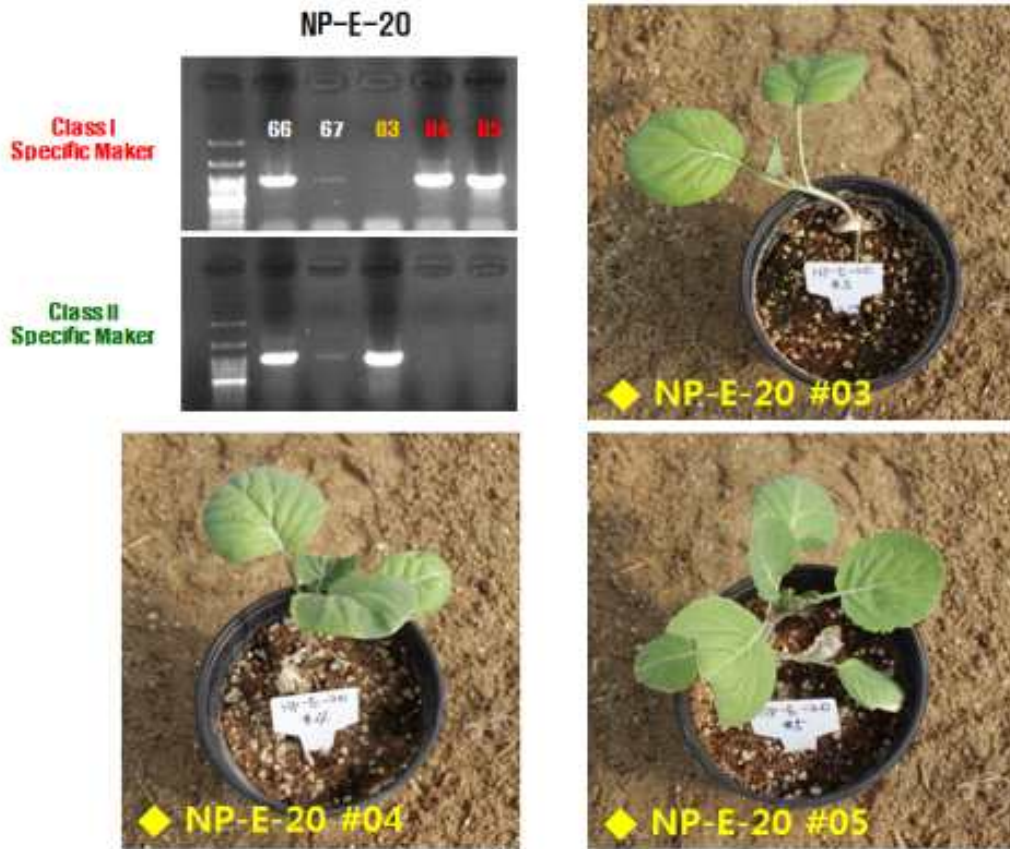


그림 2-43. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-E-20 품종의 자식종 선발

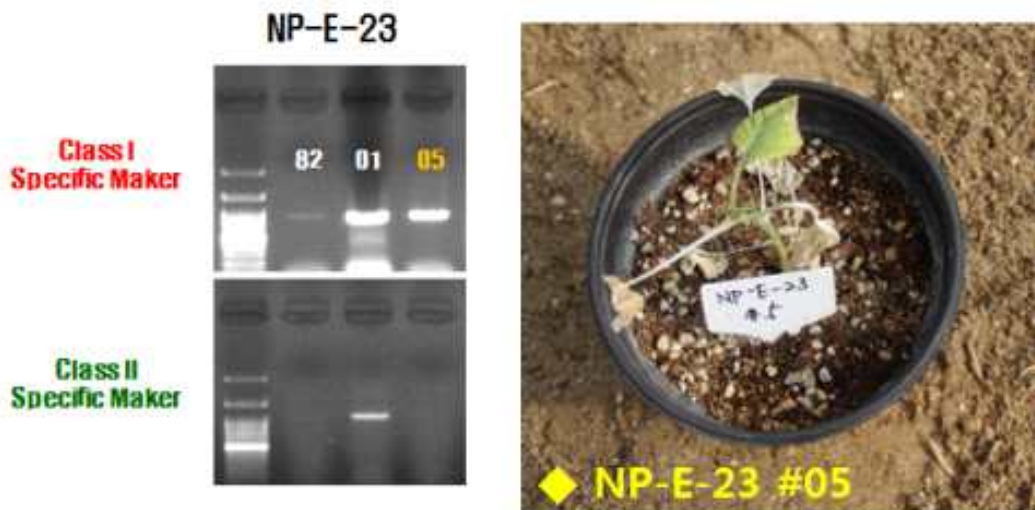


그림 2-44. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-E-23 품종의 자식종 선발

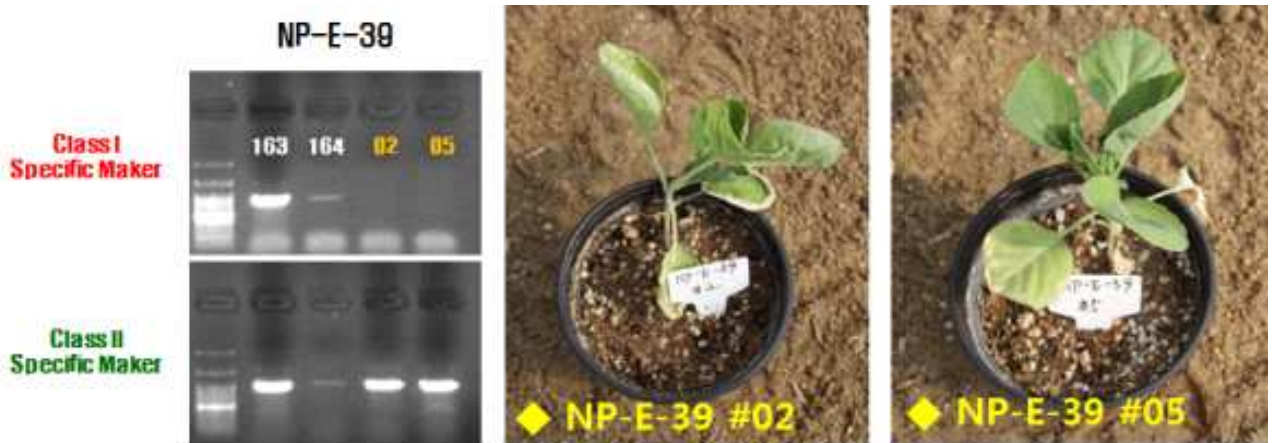
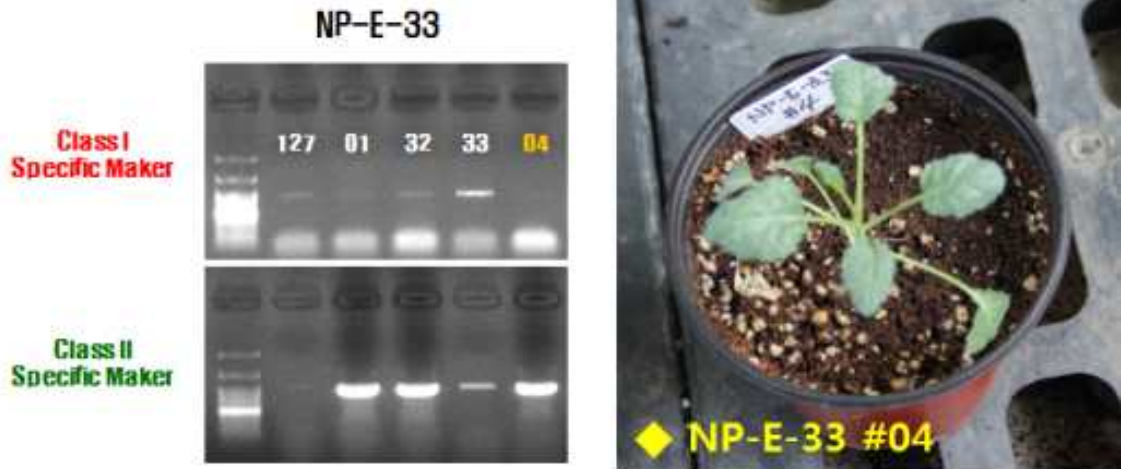


그림 2-45. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-E-39 품종의 자식종 선발

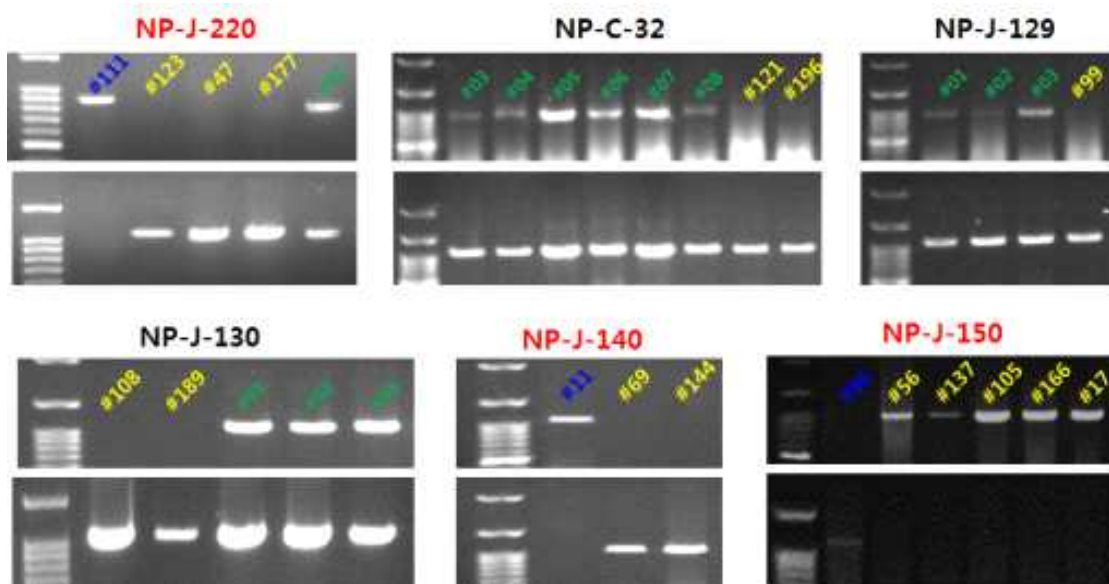


그림 2-46. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-220, NP-C-32, NP-J-129, NP-J-130, NP-J-140, NP-J-150 품종의 자식종 선발



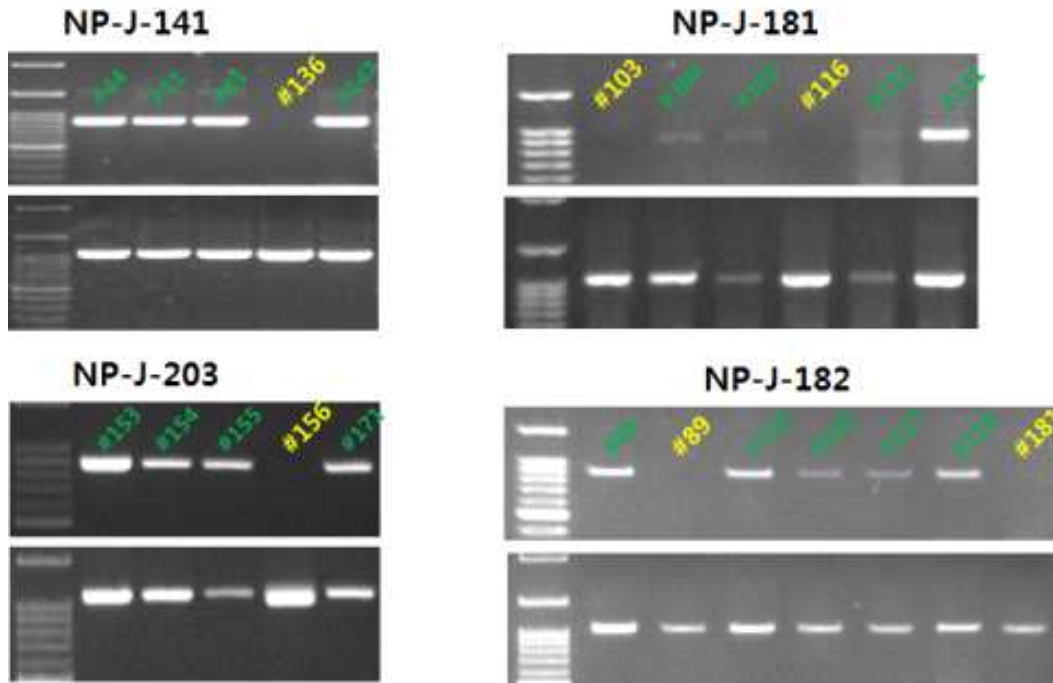


그림 2-47. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-J-141, NP-J-181, NP-J-203, NP-J-182 품종의 자식종 선발

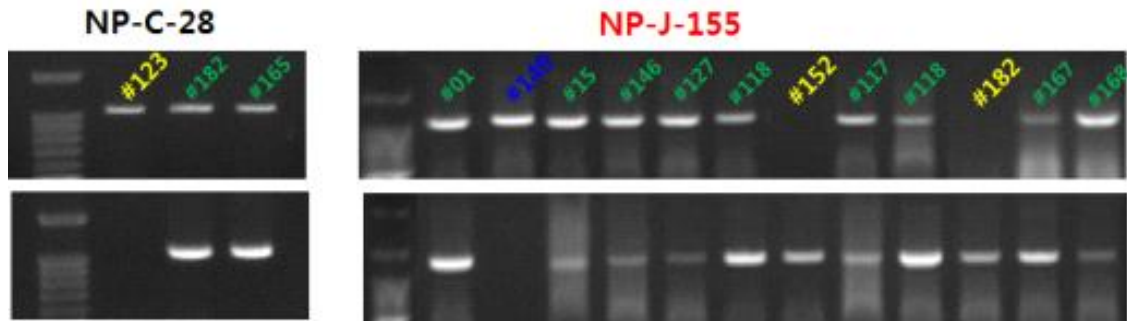


그림 2-48. Class I Specific 및 Class II Specific Maker를 이용한 NP-C-28, NP-J-155 품종의 자식종 선발

### 7. Class I × Class I 조합 품종으로부터 자식종 선발

496260, NP-J-10, NP-J-71, NP-J-157, NP-J-174, NP-J-175, NP-J-20196, NP-E-02, 13, NP-E-02이며, NP-E-02 F1 품종에서 선발된 자식종 중 #15와 #29의 밴드 양상이 다르게 나타났다. NP-K-06, NP-E-02, NP-E-06 50-58들 국내, 일본, 유럽, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 320개의 F1 품종들의 Class 조합을 확인한 결과 Class I × Class I 조합으로 구성된 62개의 F1 품종들을 품종당 200립씩 파종한 후 본엽 2~3매 정도의 식물체로부터 각각의 식물체 엽을 채취하여 DNA를 추출한 후 PCR-CAPS법을 이용하여 자식종을 선발하였다. 그림 45의 예시로 나타낸 것과 같이 Class I Specific Maker를 이용하여 PCR을 수행한 후 증폭된 PCR 산물을 이용하여 다수의 S 유전자형을 구분할 수 있는 제한효소로 소화시켰다. 그 후 소화된 밴드 양상을 확인하여 자식종을 선발하였다. 그 결과 62개의 F1 품종들 중 16개의 F1

품종(NP-K-06, NP-K-11, NP-J-4, NP-J-11, NP-J-49, NP-E-01, NP-E-02, NP-E-04, NP-E-05, NP-E-06, NP-J-04, NP-J-71, NP-J-157, NP-J-174, NP-J-175, NP-J-201)으로부터 18개의 자식종을 선발할 수 있었다. 선발된 16개의 품종 중 NP-K-06 및 NP-E-06 F1 품종을 제외한 나머지 14개의 품종들에서는 F1 품종을 합성하기 위하여 사용된 양친 중에 한쪽 친만을 선발 할 수 있었다. 그러나 NP-K-06 및 NP-E-06 F1 품종에서 선발된 자식종 중 NP-K-06 품종으로부터 선발된 #53, #54, #55은 밴드 양상이 동일하였고 #73은 밴드 양상이 다르게 나타났다. 또한 NP-E-06 품종에서 선발된 자식종 중 #21, #23, #29, #35, #37, #38, #44, #50은 밴드 양상이 동일하였고 #19은 밴드 양상이 다르게 나타났다. 이것은 NP-K-06 및 NP-E-06 품종에서는 F1품종을 합성하기 위하여 사용된 부계 및 모계가 모두 선발되었다고 생각되어진다. 모든 선발된 품종들은 재 실험을 수행하여 다시 한번 더 확인을 하였다(그림 2-49-56). 나머지 선발하지 못한 품종들은 현재 파종을 하여 계속해서 자식종을 탐색하고 있는 중이다.

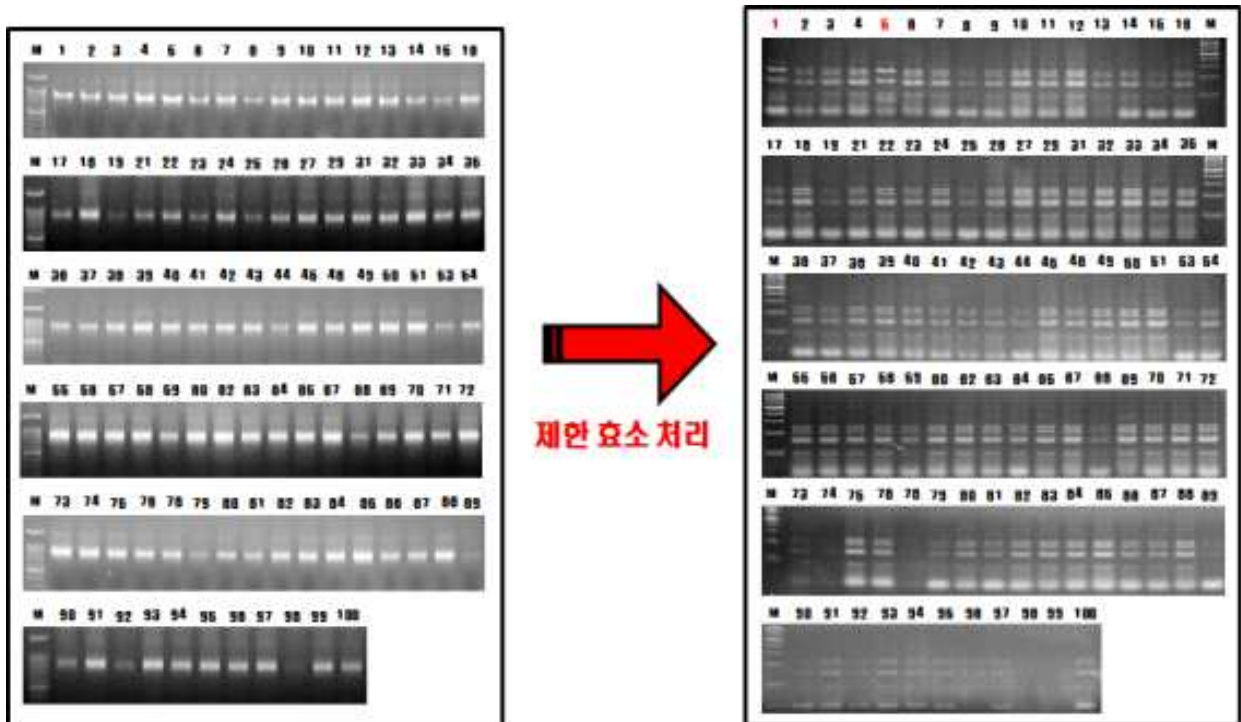


그림 2-49. PCR-CAPS법에 의한 자식종 선발 예시



그림 2-50. PCR-CAPS법에 의한 NP-K-6 품종으로부터 자식종 선발



그림 2-51. PCR-CAPS법에 의한 NP-K-11 품종으로부터 자식종 선발

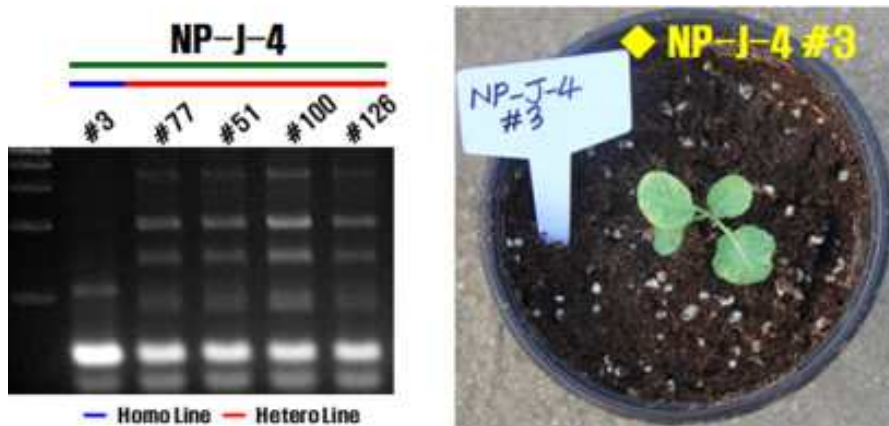


그림 2-52. PCR-CAPS법에 의한 NP-J-4 품종으로부터 자식종 선발





그림 53. PCR-CAPS법에 의한 NP-J-11 품종으로부터 자식종 선발



그림 2-54. PCR-CAPS법에 의한 NP-E-01 품종으로부터 자식종 선발

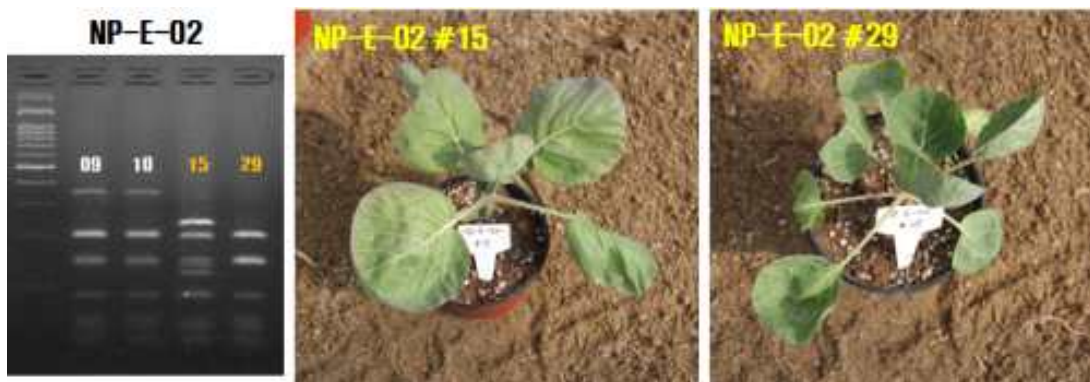


그림 2-55. PCR-CAPS법에 의한 NP-E-02 품종으로부터 자식종 선발

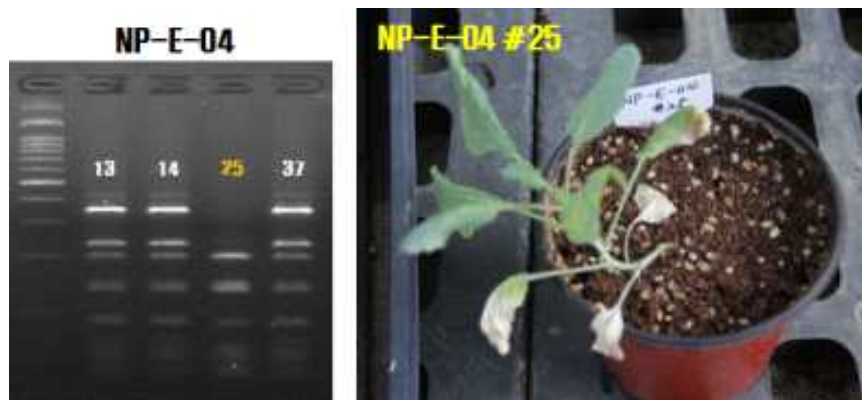


그림 2-56. PCR-CAPS법에 의한 NP-E-04 품종으로부터 자식종 선발

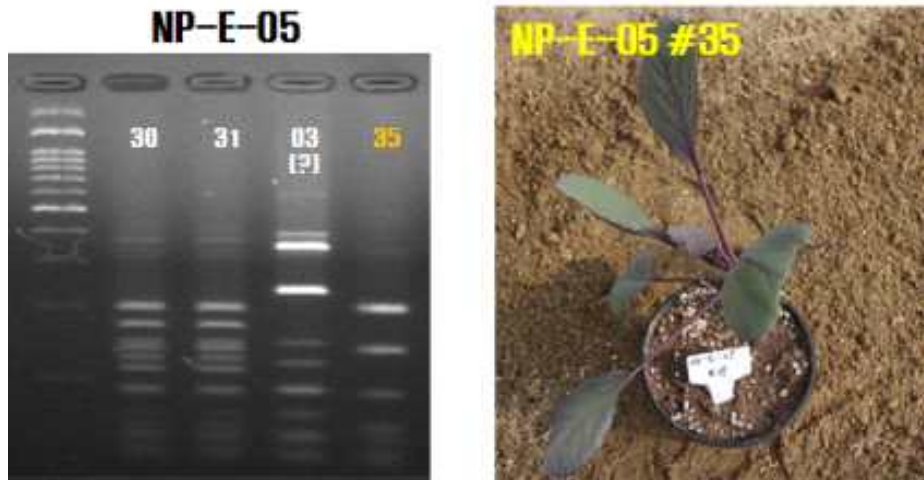


그림 2-57. PCR-CAPS법에 의한 NP-E-05 품종으로부터 자식종 선발

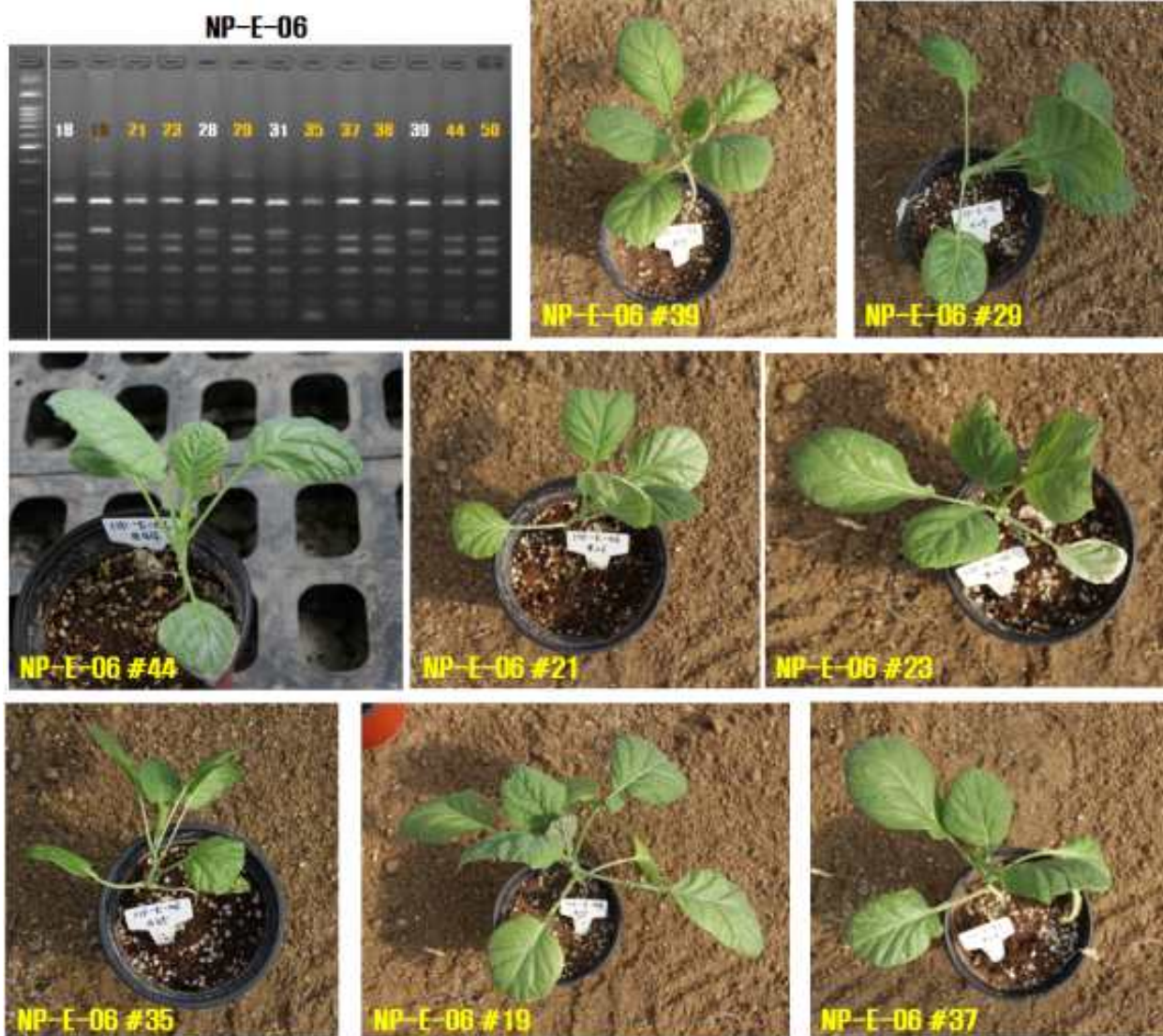


그림 2-58. PCR-CAPS법에 의한 NP-E-06 품종으로부터 자식종 선발

8. Class II × Class II 조합 F1 품종으로부터 자식종 선발

- Class II × Class II 조합으로부터 자식종 탐색을 위한 HRM용 마커 개발

양배추 자가불화합성 유전자형은 50~60여개로 이루어져 있으며 이중 Class II 그룹에 속하는 자가불화합성 유전자형은 단 3개인 S2, S5, S15이고 나머지는 Class I 그룹에 속한다. 따라서 이 3개의 유전자를 이용하여 Class II × Class II 조합으로 이루어진 F1 품종으로부터 자식종 선발을 위한 마커 개발이 매우 용이하다. Class II × Class II 조합으로 이루어진 F1 품종으로부터 자식종 선발 마커 개발을 위하여 유전자은행 및 본 연구팀이 동정한 자가불화합성 주두측 인자인 SRK2, SRK5, SRK15의 염기서열을 이용하였다. HRM system을 이용하기 위하여 그림 2-59에 나타난 것과 같이 3조합의 primer 조합을 작성한 후 유용성을 검토한 결과 3조합 중 1조합이 homo와 hetero를 정확하게 구분할 수 있는 매우 유용한 primer 조합 이었다(그림 2-60, 2-61).

```

SRK2   GAGGGCGAGAAGATCTTAATTTACGAGTACTTTGGGAGAATCTAAGCCTCGATTCTCATCTC 60
SRK5   GAGGGCGAGAAGATCTTAATTTACGAGTACTTTGGGAGAATCTAAGCCTCGATTCTCATCTC 60
SRK15  GAGGGCGAGAAGATCTTAATTTACGAGTACTTTGGGAGAATCTAAGCCTCGATTCTCATCTC 60
*****

SRK2   TTTGGTTAGTGCTTCAACACATCAGACCGATTTATTTTTACAGTTAAATGTCCTTTGGAAA 120
SRK5   TTTGGTTAGTGCTTCAACACATCAGACCGATTTATTTTTACAGTTAAATGTCCTTTGGAAA 120
SRK15  TTTGGTTAGTGCTTCAACACATCAGATAGATTTATTTTTACAGTTAAATGTCCTTTGGAAA 120
*****

SRK2   TATGTTAATGTGATTTCTGTTGTGAACGAAAGTGACAGATGAAACCGAAGCTGTATGTTAAA 180
SRK5   TATGTTAATGTGATTTCTGTTGTGAACGAAAGTGACAGATGAAACCGAAGCTGTATGTTAAA 180
SRK15  TATGTTAATGTGATTTCTGTTGTGAACGTAAGTACAGATGAAACCGAAGCTGTATGTTAAA 180
*****
classII-RoSRK-SNP-F1
SRK2   TTGGCAAAATGAGATTTGATATTATCAATGGTATTGCCCGAGGGCTTCTGTATCTTCACCA 240
SRK5   TTGGCAAAATGAGATTTGATATTATCAATGGTATTGCCCGAGGGCTTCTGTATCTTCACCA 240
SRK15  TTGGCAAAATGAGATTTGATATTATCAATGGTATTGCCCGAGGGCTTCTGTATCTTCACCA 240
*****

SRK2   AGATTACAGGTTTTAGAAATCATCCATAGGGATTTGAAAGCAAGCAATGTCTTGCTTGATAA 300
SRK5   AGATTACAGGTTTTAGAAATCATCCATAGGGATTTGAAAGCAAGCAATGTCTTGCTTGATAA 300
SRK15  AGATTACAGGTTTTAGAAATCATCCATAGGGATTTGAAAGCAAGCAATGTCTTGCTTGATAA 300
*****

SRK2   AGATATGACTCCAAAATTTACAGACTTTGGAAATGGCTAGGATCTTTGGACGGGATGAGAC 360
SRK5   AGATATGACTCCAAAATTTACAGACTTTGGAAATGGCTAGGATCTTTGGACGGGATGAGAC 360
SRK15  AGATATGACCCCAAAAATTTACAGACTTTGGAAATGGCAAGGATCTTTGGACGGGATGAGAC 360
*****
classII-RoSRK-SNP-F2      classII-RoSRK-SNP-R1
SRK2   GGAAGCTGACACGAGGAAAGGTGGTCCGGAACCTTAGTAAGCAATTAAGCATCAT----- 413
SRK5   GGAAGCTGACACGAGGAAAGGTGGTCCGGAACCTTAGTAAGCAATTAAGCATCAT----- 413
SRK15  GGAAGCTGACACGAGGAAAGGTGGTCCGGAACCTTAGTAAGCAATTAAGCATCTTGTATTTT 420
*****

SRK2   -----CATATTTTGGAAAACAAAGAGTTACCTTGGTACAAAATCAA 452
SRK5   -----CGTATTTTGGAAAACAAAGAGTTACCTTGGGTACAAAATCAA 452
SRK15  ATTTTTTTTTCTTAGCATCTTCCGTAATTTTGGAAAACAAAGACTTACCTTGGGTACAGAAATCAA 480
*****
classII-RoSRK-SNP-F3      classII-RoSRK-SNP-R2
SRK2   ATCCTGATAGCTTTTCTATTTAATATTTGTTATGACAG-TGGCTACATGTCTCCAGAAATAT 511
SRK5   AACCTGATAGCTTTTCTATTTAATATTTGTTATGACAGTGGCTACATGTCTCCAGAAATAT 512
SRK15  AACCTGATAGCTTATCTATTTAATATTTGTTATGACAG-TGGCTACATGTCTCCAGAAATAT 539
*****

SRK2   GCGATGAACGGGACATTCTCGATGAAGTACAGATGTGTTTGGGGTCTTGCTTCTT 571
SRK5   GCGATGAACGGGACATTCTCGATGAAGTACAGATGTGTTTGGGGTCTTGCTTCTT 572

```



```

SRK15  GCGATGAAACGGGACATTCTCGATGAAAGTCAGATGTCTTCACTTTTGGGGTCTTGCCTTCTT 599
*****

classII-RnSRK-SNP-R3
SRK2   GAAATTATAAGTGGCAAGAGGAAACAAAGCTTTCTGCGACTCGGATAGCAGCCTTAATCTT 631
SRK5   GAAATTATAAGTGGCAAGAGGAAACAAAGCTTTCTGCAACTCGGATAGTAGCCTTAATCTT 632
SRK15  GAAATTATAAGTGGCAAGAGGAAACAAAGCTTTCTGCGACTCGGATAGTAATCTTAATCTT 659
*****

```

그림 2-59. Class II SRK 유전자를 이용한 HRM용 마커 탐색

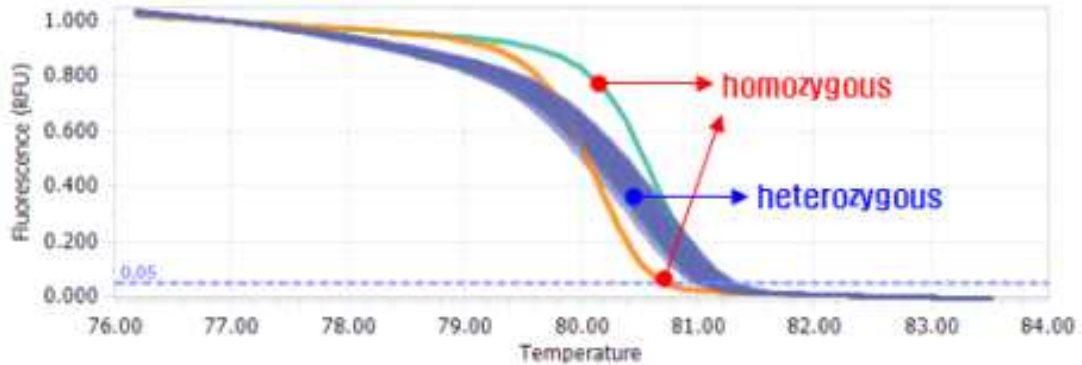


그림 2-60. Normalized Melting Curves

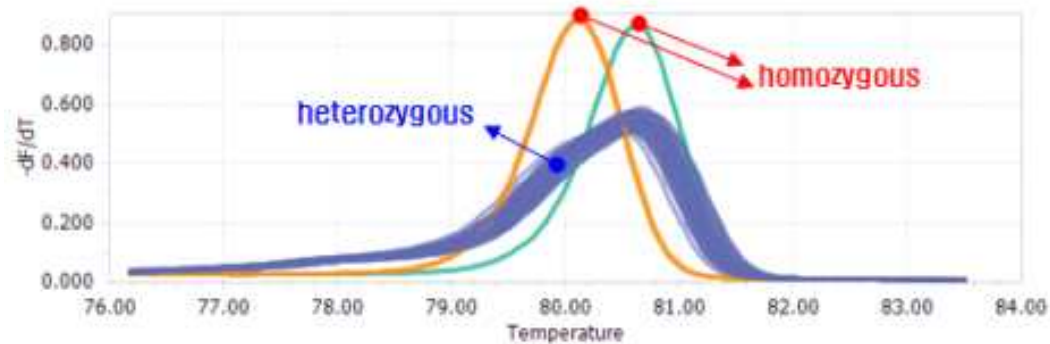


그림 2-61. Normalized Melting Peaks

- Class II × Class II 조합의 F1 품종으로부터 개발된 HRM용 마커를 이용한 자식종 선발

국내, 일본, 유럽, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 320개의 F1 품종들의 Class 조합을 확인한 결과 Class II × Class II 조합으로 구성된 58개의 F1 품종들을 품종당 200립씩 파종한 후 본엽 2~3매 정도의 식물체로부터 각각의 식물체 엽을 채취하여 DNA를 추출한 후 개발된 primer 조합과 함께 HRM system을 이용하여 자식종을 선발하였다. 그 결과 58개의 F1 품종들 중 19개의 F1 품종(NP-K-07, NP-K-08, NP-K-09, NP-J-06, NP-J-17, NP-J-20, NP-J-25, NP-J-69, NP-J-77, NP-J-79, NP-J-106, NP-J-28, NP-C-33, NP-J-13, NP-J-31, NP-J-72, NP-J-73, NP-J-154, NP-J-158)으로부터 11개의 자식종을 선발할 수 있었다. 11개의 선발된 자식종들은 F1 품종을 합성하기 위하여 사용된 양친 중에 한쪽친만의 자식종을 선발 할 수 있었다(그림 2-58-69). 나머지 선발하지 못한 품종들은 현재 파종을 하여 계속해서 자식종을 탐색하고 있는 중이다.

- Class II × Class II 조합의 F1 품종으로부터 개발된 HRM용 마커를 이용한 자식종 선발

국내, 일본, 유럽, 중국, 인도 및 방글라데쉬에서 판매되고 있는 320개의 F1 품종들의 Class 조합을 확인한 결과 Class II × Class II 조합으로 구성된 58개의 F1 품종들을 품종당 200립씩 파종한 후 본엽 2~3매 정도의 식물체로부터 각각의 식물체 엽을 채취하여 DNA를 추출한 후 개발된 primer 조합과 함께 HRM system을 이용하여 자식종을 선발하였다. 그 결과 58개의 F1 품종들 중 19개의 F1 품종(NP-K-07, NP-K-08, NP-K-09, NP-J-06, NP-J-17, NP-J-20, NP-J-25, NP-J-69, NP-J-77, NP-J-79, NP-J-106, NP-J-28, NP-C-33, NP-J-13, NP-J-31, NP-J-72, NP-J-73, NP-J-154, NP-J-158)으로부터 11개의 자식종을 선발할 수 있었다. 11개의 선발된 자식종들은 F1 품종을 합성하기 위하여 사용된 양친 중에 한쪽친만의 자식종을 선발 할 수 있었다(그림 2-58-69). 나머지 선발하지 못한 품종들은 현재 파종을 하여 계속해서 자식종을 탐색하고 있는 중이다.



그림 2-62. NP-K-07 품종으로부터 선발된 자식종 재배

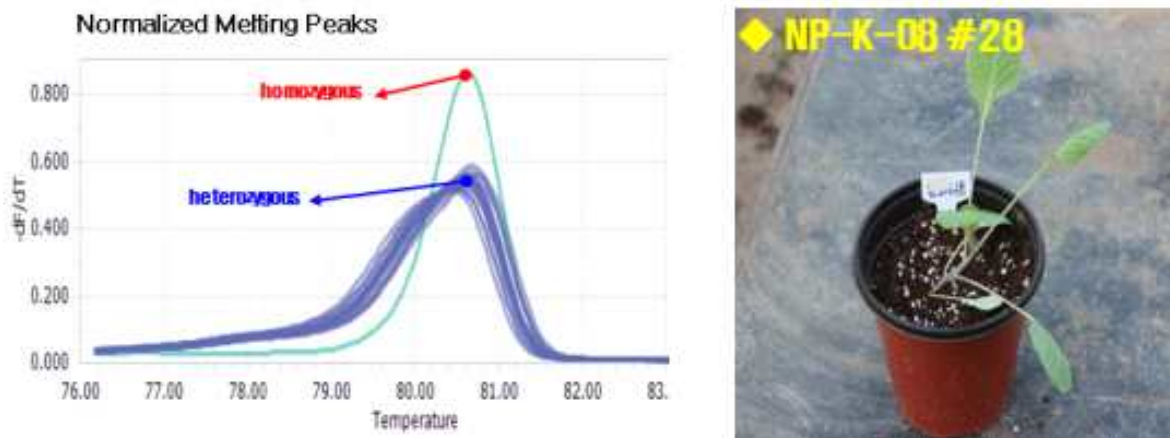


그림 2-63. NP-K-08 품종으로부터 선발된 자식종 재배



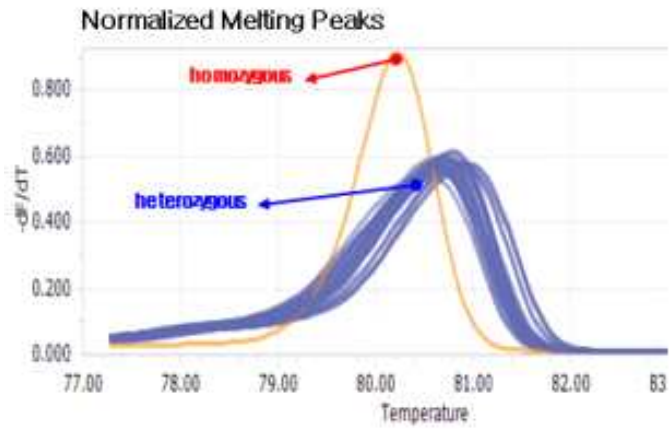


그림 2-64. NP-K-09 품종으로부터 선발된 자식종 재배

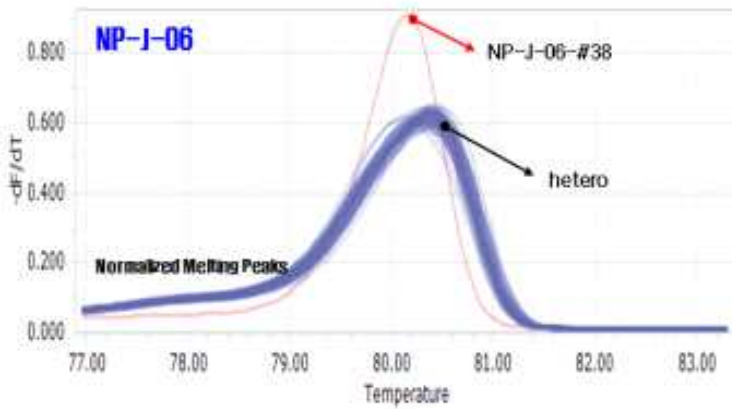


그림 2-65. NP-J-06 품종으로부터 선발된 자식종 재배

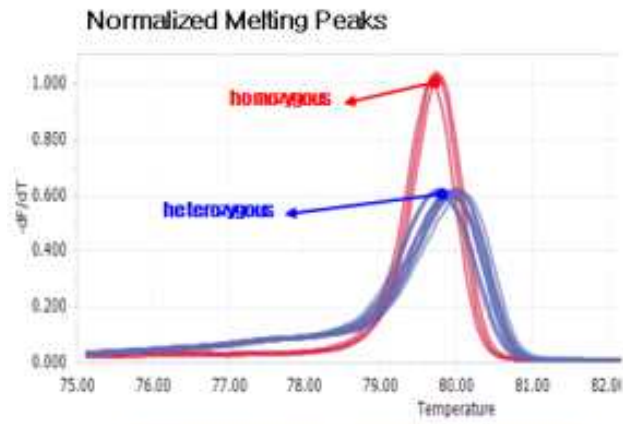


그림 2-66. NP-J-25 품종으로부터 선발된 자식종 재배

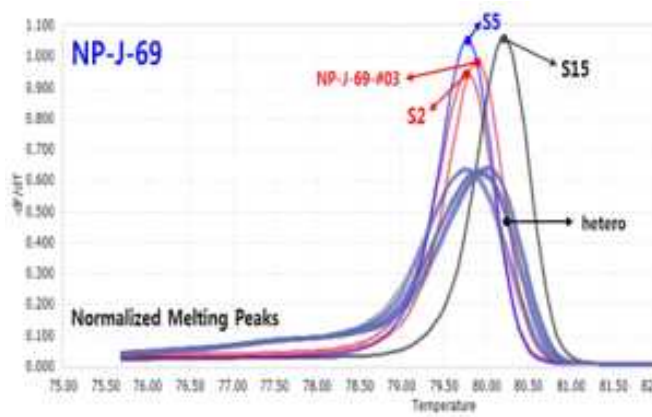


그림 2-67. NP-J-69 품종으로부터 선발된 자식종 재배

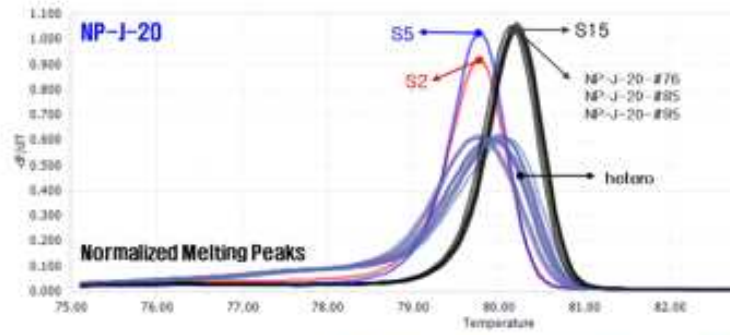


그림 2-68. NP-J-20 품종으로부터 선발된 자식종 재배

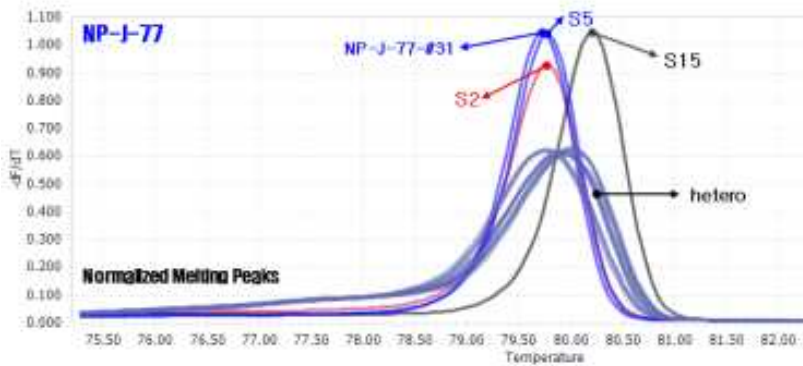


그림 2-69. NP-J-77 품종으로부터 선발된 자식종 재배



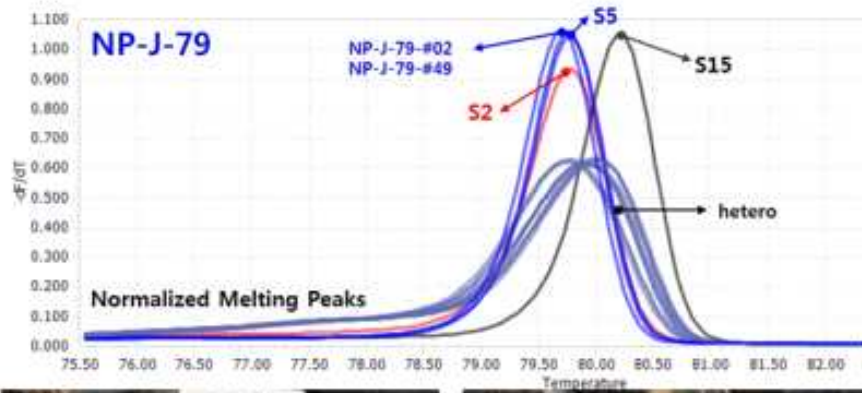


그림 2-70. NP-J-79 품종으로부터 선발된 자식종 재배

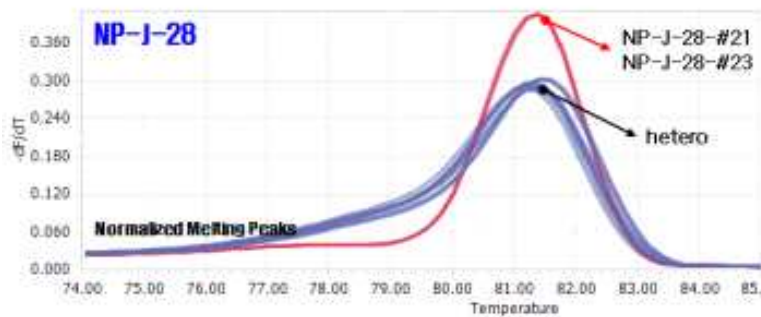


그림 2-71. NP-J-28 품종으로부터 선발된 자식종 재배

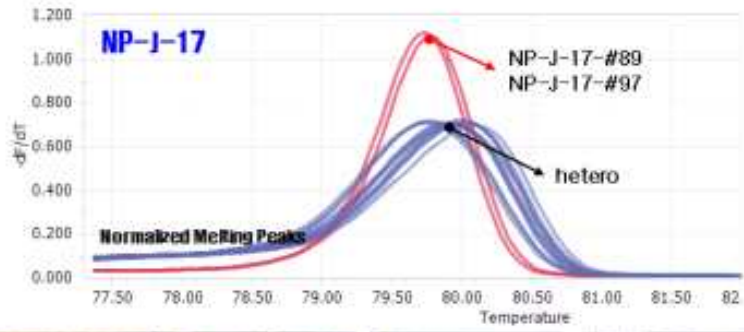


그림 2-72. NP-J-17 품종으로부터 선발된 자식종 재배

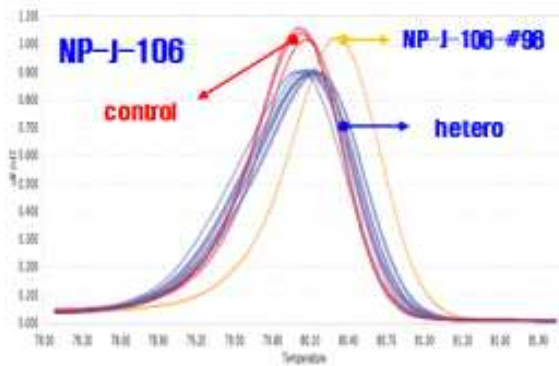


그림 2-73. NP-J-107 품종으로부터 선발된 자식종 재배

표 2-8. 국내 및 국외 수집 양배추 F1 품종으로부터 선발된 자식종 리스트

	수집지역	품종명	조합된 class	선발된 개체	비고
1	국내	NP-K-01	class I/II	64	
2	국내	NP-K-02	class I/II	16	
3	국내	NP-K-03	class I/II	14, 49	
4	국내	NP-K-05	class I/II	96, 99	
5	국내	NP-K-18	class I/II	201, 224, 275, 231, 259, 261, 235	
6	국내	NP-K-21	class I/II	30	
7	일본	NP-J-02	class I/II	199	
8	일본	NP-J-03	class I/II	23	
9	일본	NP-J-05	class I/II	14, 65, 86	
10	일본	NP-J-08	class I/II	36	
11				88	
12	일본	NP-J-12	class I/II	02, 100	
13	일본	NP-J-16	class I/II	200, 211	
14	일본	NP-J-18	class I/II	53, 58, 61, 70, 75	
15	일본	NP-J-26	class I/II	150	
16	일본	NP-J-27	class I/II	10, 13	
17	일본	NP-J-29	class I/II	75, 78	
18	일본	NP-J-30	class I/II	12	
19	일본	NP-J-32	class I/II	46	
20	일본	NP-J-40	class I/II	38	
21	일본	NP-J-41	class I/II	30	
22	일본	NP-J-42	class I/II	169, 250	
23	일본	NP-J-43	class I/II	12, 42	
24	일본	NP-J-45	class I/II	27, 41, 17, 38, 12	
25	일본	NP-J-47	class I/II	83	
26	일본	NP-J-48	class I/II	15	
27	일본	NP-J-50	class I/II	34, 49, 32	
28	일본	NP-J-62	class I/II	3, 41, 32, 50, 43, 15, 18, 20, 45, 26, 24	
29	일본	NP-J-63	class I/II	5, 25, 42, 49, 6, 31, 13, 29	
30	일본	NP-J-80	class I/II	20, 32, 34, 36, 17	
31				11, 47, 41, 30, 18, 13, 43, 4, 28, 16	
32	유럽	NP-E-12	class I/II	05	
33	유럽	NP-E-20	class I/II	03	
34				04, 05	
35	유럽	NP-E-23	class I/II	5	
36	유럽	NP-E-30	class I/II	3, 5	
37	유럽	NP-E-33	class I/II	4	
38	유럽	NP-E-39	class I/II	2, 5	
39	국내	NP-K-07	class II/II	71, 96	
40	국내	NP-K-08	class II/II	28	
41	국내	NP-K-09	class II/II	78	



42	일본	NP-J-06	class II/II	38	
43	일본	NP-J-17	class II/II	89, 97	
44	일본	NP-J-20	class II/II	76, 85, 95	
45	일본	NP-J-25	class II/II	25	
46	일본	NP-J-69	class II/II	03	
47	일본	NP-J-77	class II/II	31	
48	일본	NP-J-79	class II/II	02, 49	
49	일본	NP-J-106	class II/II	98	
50	일본	NP-J-28	class II/II	21, 23	
51	국내	NP-K-06	class I/I	73	
52				53, 54, 55	
53	국내	NP-K-11	class I/I	01, 05	
54	일본	NP-J-4	class I/I	03	
55	일본	NP-J-11	class I/I	35, 65	
56	일본	NP-J-49	class I/I	39, 29, 44, 21, 23, 35, 19, 37	
57	유럽	NP-E-01	class I/I	9, 39	
58	유럽	NP-E-02	class I/I	15	
				29	
59	유럽	NP-E-04	class I/I	25	
60	유럽	NP-E-05	class I/I	35	
61	유럽	NP-E-06	class I/I	19	
62				21, 23, 29, 35, 37, 38, 44, 50	
63	일본	NP-J-118	class I/II	93	
64	일본	NP-J-119	class I/II	72	
65	일본	NP-J-121	class I/II	167	
66	일본	NP-J-122	class I/II	106	
67	일본	NP-J-141	class I/II	136	
68	일본	NP-J-153	class I/II	83	
69	일본	NP-J-159	class I/II	234	
70	일본	NP-J-173	class I/II	189	
71	일본	NP-J-180	class I/II	69, 141	
72	일본	NP-J-203	class I/II	156	
73	중국	NP-J-181	class I/II	103, 116	
74	중국	NP-J-182	class I/II	89, 181	
75	중국	NP-C-32	class I/II	121, 196	
76	일본	NP-J-129	class I/II	99	
77	일본	NP-J-130	class I/II	108, 189	
78	중국	NP-C-28	class I/II	123	
79	중국	NP-C-33	class II/II	104	
80	일본	NP-J-223	class I/II	34, 85	
81	일본	NP-J-153	class I/II	83	
82	일본	NP-J-140	class I/II	11	
83				69, 144	
84	일본	NP-J-152	class I/II	25, 27	

85	중국	NP-J-220	class I/II	47, 123, 177	
86				111	
87	일본	NP-J-155	class I/II	152, 182	
88				149	
89	일본	NP-J-156	class I/II	84	
90	일본	NP-J-150	class I/II	86	
91				17, 56, 105, 137, 166	
92	중국	NP-C-34	class I/II	128	
93				144	
94	중국	NP-C-35	class I/II	3	
95				130, 147	
96	중국	NP-C-37	class I/II	126, 131	
97	중국	NP-C-38	class I/II	134	
98	중국	NP-C-26	class I/II	122	
99				131, 134	
100	중국	NP-C-29	Class I/II	3, 16, 90	
101	중국	NP-C-30	Class I/II	115	
102	일본	NP-J-10	class I/I	93	
103	일본	NP-J-13	Class II/II	72	
104	일본	NP-J-24	Class I/II	167	
105	일본	NP-J-31	Class II/II	106	
106	일본	NP-J-46	Class I/II	108, 189	
107	일본	NP-J-71	class I/I	234	
108	일본	NP-J-72	Class II/II	189	
109	일본	NP-J-73	Class II/II	69, 141	
110	일본	NP-J-154	Class II/II	236	
111	일본	NP-J-157	class I/I	103	
112	일본	NP-J-158	Class II/II	123	
113	일본	NP-J-159	Class I/II	149	
114	일본	NP-J-174	class I/I	156	
115	일본	NP-J-175	class I/I	89	
116	일본	NP-J-192	Class I/II	83	
117	일본	NP-J-193	Class I/II	160	
118	일본	NP-J-194	Class I/II	88, 141	
119	일본	NP-J-200	Class I/II	117, 161	
120	일본	NP-J-201	Class I/I	90	
121	일본	NP-J-176	Class I/II	111	
				47, 123	

### 9. 선발된 자식종의 S 유전자형 확인

선발된 자식종들의 S 유전자형을 확인하기 위하여 주두측 자가불화합성 인자인 SRK 유전자의 일부분을 증폭하여 클로닝 후 각각의 자식종 당 5개의 클론을 이용하여 염기분석을 수행하였다. 염기분석은 유전자은행인 NCBI를 이용하였으며 자가불화합성 유전자중 DNA 염기서열이 등록되어 있지 않고 mRNA 염기서열만 등록된 유전자는 exon 부분을 이용하여 상동성 검색을 수행하였다. 그 결과 NP-K-02 품종으로부터 선발된 자식종 #16번은 Class I 그룹에 속하는 SRK7과 매우 높은 염기 상동성을 나타내었다(그림 2-74). 또한 NP-K-05, NP-K-06, NP-K-11 품종으로부터 각각 선발된 자식종 #96, #73, #1번 역시 Class I 그룹에 속하는 SRK23과 매우 높은 염기 상동성을 나타내었으며(그림 2-75, 76, 77), NP-K-03 품종으로부터 선발된 자식종 #14번도 Class I 그룹에 속하는 SRK68과 매우 높은 상동성을 나타내었다(그림 2-78). NP-K-09 품종으로부터 선발된 자식종 #71번과 NP-K-08 품종으로부터 선발된 자식종 #28번은 각각 Class II 그룹에 속하는 SRK2-b와 SRK15와 매우 높은 염기 상동성을 나타내었다(그림 2-79, 80).

(SRK7)

```

NP-T#16      TGGAAAGGACAGATTCGACATTACAAAATGCTGTTCCTCGAGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60
RnSRK7      TGGAAAGGACAGATTCGACATTACAAAATGCTGTTCCTCGAGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60
*****

NP-T#16      GACTTCACGGTTTTAGGATAAATCCACAGGGATATGAAAACAGTAACATTTTTCCTTGATAAA 120
RnSRK7      GACTTCACGGTTTTAGGATAAATCCACAGGGATTTGAAAACAGTAACATTTTTCCTTGATAAA 120
*****

NP-T#16      TATATGATCCCAAAGATCTCGGATTTTGGGATGGCCAGAAATCTTTGCAAGGGACGAAACT 180
RnSRK7      TACATGATCCCAAAGATCTCGGATTTTGGGATGGCCAGAAATCTTTGCAAGGGACGAAACT 180
**

NP-T#16      CAAGCTAGGACAGACAATGCGGTTGGAACTTAActaagcaactctctgaagatatttatta 240
RnSRK7      CAAGCTAGGACAGACAATGCGGTTGGAACTTAActaagcaactctctgaagatatttatta 240
*****

NP-T#16      cccataaactctatagaactcatgacctctaadtccatTTTTTTT-gctactcadCGGCTA 299
RnSRK7      cccataaactctatagaactcatgacctctaadtccatTTTTTTTgctactcadCGGCTA 300
*****

NP-T#16      CATGTCTCCGGAGTACGCAATGGATGGCGTAATCTCGGAAAAAAGAGATGTTTTTCAGTTT 359
RnSRK7      CATGTCTCCGGAGTACGCAATGGATGGCGTAATCTCGGAAAAAAGAGATGTTTTTCAGTTT 360
*****

NP-T#16      TGGAGTCCATAGTTCTTTGAAAATTGTTAGTGGAAAAAGGAATAGAGGATTTCTACCAGGTGAA 419
RnSRK7      TGGAGTCCATAGTTCTTTGAAAATTGTTAGTGGAAAAAGGAATAGAGGATTTCTACCAGGTGAA 420
*****

NP-T#16      CCGGAAAAACAATCTTCCAAGCTATataadtttaagataaadaaccaataatattctatct 479
RnSRK7      CCTTGAAAAACAATCTTCCAAGCTATataadtttaagataaadaaccaataatattctatct 480
***

NP-T#16      actctcgaagattgctaaaacacttattttttgaaacaacgctaaaacaatttaaatgctt 539
RnSRK7      actctcgaagattgctaaaacacttattttttgaaacaacgctaaaacaatttaaatgctt 539
*****

NP-T#16      ttattttttataaacacgCATGGACTCATTTGGGCGGAGGGGAAGAGCGCTAGAAAATCGTAGA 599
RnSRK7      ttattcttataaacacgCATGGACTCATTTGGGCGGAGGGGAAGAGCGCTAGAAAATCGTAGA 599
*****

NP-T#16      TCCAGTCCATCGTAGATTCATCGTCCATCTCTGCCATCAACATTTCAACC AAAAGAAGTCC 659
RnSRK7      TCCAGTCCATCGTAGATTCATCGTCCATCTCTGCCATCAACATTTCAACC AAAAGAAGTCC 659
*****

```

NP-T#16 AAAATGCATACAAATTTGGTCTATTGTGTATTCAAGAACGTGCGGAGCACAGACCAACCGAT 719  
RnSRK7 AAAATGCATACAAATTTGGTCTATTGTGTATTCAAGAACGTGCGGAGCACAGACCAACCGAT 719  
\*\*\*\*\*

NP-T#16 GTCTGTGCTGCTTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTCAGCCATAAACCGCC 779  
RnSRK7 GTCTGTGCTGCTTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTCAGCCATAAACCGCC 779  
\*\*\*\*\*

NP-T#16 AGTTTATTGTCTCATAGCAAGTTATTATGCAAAATAATCCTTCTCAAGTAGGCAATTTCGA 839  
RnSRK7 AGTTTATTGTCTCATAGCAAGTTATTATGCAAAATAATCCTTCTCAAGTAGGCAATTTCGA 839  
\*\*\*\*\*

NP-T#16 CGAACGATGAATCCTGGAACGGTGAACAAGTACACCTGCTCAGTCAATCGATGCCCCGTAATA 899  
RnSRK7 CGAACGATGAATCCTGGAACGGTGAACAAGTACACCTGCTCAGTCAATCGATGCCCCGTAATA 899  
\*\*\*\*\*

NP-T#16 TGAAGAAGC 906  
RnSRK7 TGAAGAAGC 906  
\*\*\*\*\*

그림 2-74. NP-K-02 품종으로부터 선발된 자식중 #16의 SRK 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

(SRK23)

NP-S#96 TGGAAAGGAGAGATTCCGACATTACCAATGGTGTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60  
RnSRK23 TGGAAAGGAGAGATTCCGACATTATCAATGGTGTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 GACTTCACGGTTTTAGGATAAATCCACAGAGATTTGAAAAGTAAAGTAAATTTTGTCTTGATAAA 120  
RnSRK23 GACTTCACGGTTTTAGGATAAATCCACAGAGATTTGAAAAGTAAAGTAAATTTTGTCTTGATAAA 120  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 AATATGATCCCAAAGATCTCGGATTTTGGGATGGCCAGGATATTCCGAAGGGACGAGACC 180  
RnSRK23 AATATGATCCCAAAGATCTCGGATTTTGGGATGGCCAGGATATTCCGAAGGGACGAGACC 180  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 GAAGCTAACACAAATGAAGGTGGTCGGAACCTTAaataagcaatcaaaatatcacgaacatca 240  
RnSRK23 GAAGCTAACACAAATGAAGGTGGTCGGAACCTTA----- 212  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 atatctttaagaatataataaatatctcttaaccgctaacttttagaaaatttataact 300  
RnSRK23 -----

NP-S#96 ttttaagttaattttttctttactcagcggctacatgtccccggagtaaccgaatgggtggg 360  
RnSRK23 -----cagctacatgtccccggagtaaccgaatgggtggg 246  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 ATATTTTCAGAAAAATCAGATGTTTTCACTTTTGGAGTCAATAGTTCTTGAATTTGTTACT 420  
RnSRK23 ATATTTTCAGAAAAATCAGATGTTTTCACTTTTGGAGTCAATAGTTCTTGAATTTGTTACT 306  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 GGAAGAGGGAACAGAGGATTTCTACAATTTGTCTTACGAATACAGTCTTCTAAGCTATcta 480  
RnSRK23 GGAAGAGGGAACAGAGGATTTCTACAATTTGTCTTACGAATACAGTCTTCTAAGCTAT---- 364  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 actataaagaaccaataaattcagatataactttcaaaatttctgaaaacactttaaatacttt 540  
RnSRK23 -----

NP-S#96 tctcctaataaacagcactggagtaactggaaaggaaaggaaaggcactagaaaattgttagat 600  
RnSRK23 -----cactggagtaactggaaaggaaaggaaaggcactagaaaattgttagat 408  
\*\*\*\*\*

NP-S#96 TCAGTACTCGTAGATTCAATTGTCACCACTGTCATCAACATTTCAACCACAAGAAGTCCTA 660

RnSRK23 TTAGTACTCTGTAGATTTCATTGTCACCACTGTCATCAACATTTCAACCAAGAAGTCCTA 468  
 \*\*\*\*\*

NP-S#96 AAATGCATACAGATTGGTCTCTTGTGTGTCCAGGAACTTGCAGAGCACAGACCAACGATG 720  
 RnSRK23 AAATGCATACAGATTGGTCTCTTGTGTGTCCAGGAACTTGCAGAGCACAGACCAACGATG 528  
 \*\*\*\*\*

NP-S#96 TCGTCTGTGGTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTCATCCCTAAACCGCCA 780  
 RnSRK23 TCGTCTGTGGTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTCATCCCTAAACCGCCA 588  
 \*\*\*\*\*

NP-S#96 GGTAAATTGCCTCGGAAGAAGTCCCTTATGAACCTTGATCCCTTCATCAAGTAGGCAATACGAG 840  
 RnSRK23 GGTAAATTGCCTCGGAAGAAGTCCCTTATGAACCTTGATCCCTTCATCAAGTAGGCAATACGAG 648  
 \*\*\*\*\*

NP-S#96 GACGATGAATCCCTGCACTGTGAACCAATACACTTGCCTCAGTCATCGATGCCCGGTAAATAT 900  
 RnSRK23 GACGATGAATCCCTGCACTGTGAACCAATACACTTGCCTCAGTCATCGATGCCCGGTAAATAT 708  
 \*\*\*\*\*

NP-S#96 GAAAAC 906  
 RnSRK23 GAAAAC 714  
 \*\*\*\*\*

그림 2-75. NP-K-05 품종으로부터 선발된 자식종 #96의 SRK 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

(SRK23)

NP-H6#73 TGGAAGGAGAGATTCCACATTACCAATGCTGTTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTCATCAA 60  
 RnSRK23 TGGAAGGAGAGATTCCACATTATCAATGCTGTTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTCATCAA 60  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 GACTTACCGTTTTAGGATAATCCACAGAGATTTGAAAGTAAAGTAAACATTTTGCCTTGATAAA 120  
 RnSRK23 GACTTACCGTTTTAGGATAATCCACAGAGATTTGAAAGTAAAGTAAACATTTTGCCTTGATAAA 120  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 AATATGATCCCAAAGATCTCCGATTTTGGGATGGCCAGGATATTCCCAAGGGACCGAGACC 180  
 RnSRK23 AATATGATCCCAAAGATCTCCGATTTTGGGATGGCCAGGATATTCCCAAGGGACCGAGACC 180  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 GAAGCTAACACAATGAAAGGTGGTCGGAACCTTAdtaadgaatcaaatatcacgaacatca 240  
 RnSRK23 GAAGCTAACACAATGAAAGGTGGTCGGAACCTT----- 212  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 ctatctttaagaatataataaatatctcttaaccgataactttagaaaactttataact 300  
 RnSRK23 -----

NP-H6#73 tttaaqtttaattttttctttactcaacggctTACATGTCCTCCGAGTACGCAATGGGTGGG 360  
 RnSRK23 -----CGCTTACATGTCCTCCGAGTACGCAATGGGTGGG 246  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 ATATTTTCAGAAAAATCAGATGTTTTCACTTTTGGAGTCATAGTTCTTGAAAATTGTTACT 420  
 RnSRK23 ATATTTTCAGAAAAATCAGATGTTTTCACTTTTGGAGTCATAGTTCTTGAAAATTGTTACT 306  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 GGAAGAGGGAACAGAGGATTCACAAATTTGTCCCTACGAATACAGTCTTCTAAGCTATata 480  
 RnSRK23 GGAAGAGGGAACAGAGGATTCACAAATTTGTCCCTACGAATACAGTCTTCTAAGCTAT--- 364  
 \*\*\*\*\*

NP-H6#73 actataagaacgaataaattcgaatataactttcaaaattttctgaaaacactttaaatacttt 540  
 RnSRK23 -----

NP-H6#73 taccctaataaacacGCATGGAGTAACTGGAAAGGAAGGAAGGGCACTAGAAAATTGTAGAT 600  
 BoSRK23 -----GCATGGAGTAACTGGAAAGGAAGGAAGGGCACTAGAAAATTGTAGAT 408

\*\*\*\*\*

NP-H6#73      TCACTACTCGTAGATTTCATTGTCACCACTGTCATCAACATTTCAACCAACAAGAAGTCCCTA 660  
RnSRK23      TCACTACTCGTAGATTTCATTGTCACCACTGTCATCAACATTTCAACCAACAAGAAGTCCCTA 468  
\*\*\*\*\*

NP-H6#73      AAATGCATACAGATTGGTCTCTTTGTTGTGTCTCCAGGAACTTGCAGAGCACAGACCAACGATG 720  
RnSRK23      AAATGCATACAGATTGGTCTCTTTGTTGTGTCTCCAGGAACTTGCAGAGCACAGACCAACGATG 528  
\*\*\*\*\*

NP-H6#73      TCCCTCTGTGCTTTGGATGCTTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTCATCCCTAAACCGCCA 780  
RnSRK23      TCCCTCTGTGCTTTGGATGCTTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTCATCCCTAAACCGCCA 588  
\*\*\*\*\*

NP-H6#73      GCTAATTGCTCGGAAAGAAAGTCCCTTATGAACTTTGATCCCTTCATCAAGTAGGCAATACGAG 840  
RnSRK23      GCTAATTGCTCGGAAAGAAAGTCCCTTATGAACTTTGATCCCTTCATCAAGTAGGCAATACGAG 648  
\*\*\*\*\*

NP-H6#73      GACGATGAATCCCTGCACTGTGAAACCAATACACTTGCCTCAGTCAATCGATGCCCGGTAATAT 900  
RnSRK23      GACGATGAATCCCTGCACTGTGAAACCAATACACTTGCCTCAGTCAATCGATGCCCGGTAATAT 708  
\*\*\*\*\*

NP-H6#73      GAAAAC 906  
RnSRK23      GAAAAC 714  
\*\*\*\*\*

그림 2-76. NP-K-06 품종으로부터 선발된 자식중 #73의 SRK 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

(SRK23)

NP-H11#1      TGGAAAGGAGAGATTCCGACATTACCAATGGTGTGTTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60  
RnSRK23      TGGAAAGGAGAGATTCCGACATTACCAATGGTGTGTTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      GACTTACCGGTTTTAGGATAAATCCACAGAGATTTTGAAAGTAAGTAACATTTTGCCTTGATAAA 120  
RnSRK23      GACTTACCGGTTTTAGGATAAATCCACAGAGATTTTGAAAGTAAGTAACATTTTGCCTTGATAAA 120  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      AATATGATCCCAAGGATCTCCGATTTTGGGATGGCCAGGATATTCCCAAGGGACGAGACC 180  
RnSRK23      AATATGATCCCAAGGATCTCCGATTTTGGGATGGCCAGGATATTCCCAAGGGACGAGACC 180  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      GAAAGCTAACACAATGAAAGGTGGTCCGAACTTAAgtaagcaatcaaatatcacgaacatca 240  
RnSRK23      GAAAGCTAACACAATGAAAGGTGGTCCGAACTTAA----- 212  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      ctatctttaagaatataataaatatctcttaaccgtaactttadaaaqtttataact 300  
RnSRK23      -----

NP-H11#1      tttaaqtttaattttttctttactcagcggcctacatgtrccccgagctacgcaatgggctggg 360  
RnSRK23      -----cggcctacatgtrccccgagctacgcaatgggctggg 246  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      ATATTTTCAGAAAAATCAGATGTTTTCACTTTTGGAGTCATAGTTCTTGAATTTGTTACT 420  
RnSRK23      ATATTTTCAGAAAAATCAGATGTTTTCACTTTTGGAGTCATAGTTCTTGAATTTGTTACT 306  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      GCAAAAGAGGAAACAGAGGATTCTACAATTTGTCCTACGAATACAGTCTTCTAAGCTATcta 480  
RnSRK23      GCAAAAGAGGAAACAGAGGATTCTACAATTTGTCCTACGAATACAGTCTTCTAAGCTAT--- 364  
\*\*\*\*\*

NP-H11#1      agtataagaagcaataattcgatataactttcaaatttctgaaaacactttaaatacttt 540  
RnSRK23      -----

NP-H11#1      tatcctaataaacagGCATGGAGTAACTGGAAGGAAGGAAGGGCACTAGAAATTGTAGAT 600



RnSRK23 -----GCATGGAGTAACTGGAAAGGAAGGAAGGGCACTAGAAAATTGTAGAT 408  
 \*\*\*\*\*

NP-H11#1 TTAGTACTCTGTAGATTTCATTGTCAACCACTGTTCATCAACATTTCAACCACAAGAAGTCCTA 660  
 RnSRK23 TTAGTACTCTGTAGATTTCATTGTCAACCACTGTTCATCAACATTTCAACCACAAGAAGTCCTA 468  
 \*\*\*\*\*

NP-H11#1 AAATGCATACAGATTGGTCTCTTGTGTGTCCAGGAACTTGCAGAGCACAGACC AACGATG 720  
 RnSRK23 AAATGCATACAGATTGGTCTCTTGTGTGTCCAGGAACTTGCAGAGCACAGACC AACGATG 528  
 \*\*\*\*\*

NP-H11#1 TCGTCTGTGTGTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCTTCATCCTAAACCGCCA 780  
 RnSRK23 TCGTCTGTGTGTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCTTCATCCTAAACCGCCA 588  
 \*\*\*\*\*

NP-H11#1 GGTAAATTGCGTCCGGAAGAAAGTCCCTTATGAACTTGTATCCTTCATCAAGTAGGCAATACGAG 840  
 RnSRK23 GGTAAATTGCGTCCGGAAGAAAGTCCCTTATGAACTTGTATCCTTCATCAAGTAGGCAATACGAG 648  
 \*\*\*\*\*

NP-H11#1 GACGATGAATCCTGGACTGTGGAACCAATACACTTGTCTAGTCAATCGATGCCCGGTAAATAT 900  
 RnSRK23 GACGATGAATCCTGGACTGTGGAACCAATACACTTGTCTAGTCAATCGATGCCCGGTAAATAT 708  
 \*\*\*\*\*

NP-H11#1 GAAAGC 906  
 RnSRK23 GAAAGC 714  
 \*\*\*\*\*

그림 2-77. NP-K-11 품종으로부터 선발된 자식중 #1의 SRK 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

(SRK68)

NP-H3#14 TGGAAAGGAGAGATTCCACATTACAAAATGGTGTGTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60  
 RnSRK68 TGGAAAGGATAGATTCCACATTACAAAATGGTGTGTGCTCGAGGGCTTTTATATCTTTCATCAA 60  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 GACTTCACGGTTTTAGGATAAATCCACAGGGATATGAAACCAAGTAAACATTTTGTCTTGATAAA 120  
 RnSRK68 GACTTCACGGTTTTAGGATAAATCCACAGGGATATGAAACCAAGTAAACATTTTGTCTTGATAAA 120  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 TATATGATCCCAAAGATCTCGGATTTTGGGATGGCCAGAATCTTTGCAAGGGACGAAACT 180  
 RnSRK68 TATATGATCCCAAAGATCTCGGATTTTGGGATGGCCAGAATCTTTGCAAGGGACGAAACT 180  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 GAAAGCTAGCACAGACAATGGGGTCCGGAACCTTAaagaagaactctttgaagatattttctt 240  
 RnSRK68 GAAAGCTAGCACAGACAATGGGGTCCGGAACCTTA----- 212  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 acccataactctatagaactcatgaccttaadttcatttttatctactctcaCGGCTAC 300  
 RnSRK68 -----CGGCTAC 219  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 ATGTCTCCGGAGTACGCAATGGATGGGGTAATCTCGGAAAAAACAAGATGTTTTCACTTTT 360  
 RnSRK68 ATGTCTCCGGAGTACGCAATGGATGGGGTAATCTCGGAAAAAACAAGATGTTTTCACTTTT 279  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 GGAGTCCATAGTTCTTGAAAATTGTTAGTGGAAAAAGGAATAGAGGATTCATACCAGGTGAAAC 420  
 RnSRK68 GGAGTCCATAGTTCTTGAAAATTGTTAGTGGAAAAAGGAATAGAGGATTCATACCAGGTGAAAC 339  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 CCTGAAAAACAATCTTCTAAGCTACataaatttaagaaccaataatattcttactctcaag 480  
 RnSRK68 CCTGAAAAACAATCTTCTAAGCTAC----- 364  
 \*\*\*\*\*

NP-H3#14 attgctaaaacacttcttttttttaagaacgctaaaacaatttaaatgctttttattttt 540  
 RnSRK68 -----

NP-H3#14 ataaacacgcATGGAGTCAATTGGGCGGAGGGGAAGAGCGCTAGAAAATCGTAGATCCAGTCA 600  
RnSRK68 -----GCATGGAGTCAATTGGGCGGAGGGGAAGAGCGCTAGAAAATCGTAGATCCAGTCA 415  
\*\*\*\*\*

NP-H3#14 TCGTAGATTTGTTGTCAATCTCTGCCATCGACATTTCAACGAAAAGAAGTCCATAAAATGCA 660  
RnSRK68 TCGTAGATTTGTTGTCAATCTCTGCCATCAACATTTCAACGAAAAGAAGTCCATAAAATGCA 475  
\*\*\*\*\*

NP-H3#14 TACAAAATTGGTCTATTGTTGTATTCAAGAACCCTGCGGAGCACAGACC'AACGATGTCGTCCGG 720  
RnSRK68 TACAAAATTGGTCTATTGTTGTATTCAAGAACCCTGCGGAGCACAGACC'AACGATGTCGTCCGG 535  
\*\*\*\*\*

NP-H3#14 TGGTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTAGCCCTAAAACCGCCAGTTTATT 780  
RnSRK68 TGGTTTGGATGCTTGGAAAGTGAAGCAACAGAGATTCCCTAGCCCTAAAACCGCCAGTTTATT 595  
\*\*\*\*\*

NP-H3#14 GTCTCATGGCAAGTTATTATGCAATAATCCCTTCCCTCAAGTAGGCAATTCCAGCAGCAGATG 840  
RnSRK68 GTCTCATGGCAAGTTATTATGCAATAATCCCTTCCCTCAAGTAGGCAATTCCAGCAGCAGATG 655  
\*\*\*\*\*

NP-H3#14 AATCCCTGGACGGTGAACCAAGTACACCCTGCTCAGTCAATCGATGCCCCGTAAATATGAAAAGC 899  
RnSRK68 AATCCCTGGACGGTGAACCAAGTACACCCTGCTCAGTCAATCGATGCCCCG----- 702  
\*\*\*\*\*

그림 2-78. NP-K-03 품종으로부터 선발된 자식중 #14의 SRK 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

(SRK2-b)

NP-G#71 GAGGCGGAGAAAGATCTTAATTTACGAGTACTTTGGAGAAATCTAAGCCCTCGATTCTCATCTC 60  
RnSRK2-h GAGGCGGAGAAAGATCTTAATTTACGAGTACTTTGGAGAAATCTAAGCCCTCGATTCTCATCTC 60  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 TTTGgttactacttcaacacatcagaccgattttatTTTTtagacttaaatatctttgaaa 120  
RnSRK2-h TTTG----- 64  
\*\*\*

NP-G#71 tatattaatatgatttatattatgaacgaactcagATGAAAACCAAGAAAGCTGTATGTTAAA 180  
RnSRK2-h -----ATGAAAACCAAGAAAGCTGTATGTTAAA 89  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 TTGGCAAAATGAGATTTGATATTATCAATGCTATTGCCGAGGGCTTCTGTATCTTCACCA 240  
RnSRK2-h TTGGCAAAATGAGATTTGATATTATCAATGCTATTGCCGAGGGCTTCTGTATCTTCACCA 149  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 AGATTTCACGCTTTTACAATCATCCATAAGGCAATTTGAAAAGCAAGCAATATGTCCTGCTTGCATAA 300  
RnSRK2-h AGATTTCACGCTTTTACAATCATCCATAAGGCAATTTGAAAAGCAAGCAATATGTCCTGCTTGCATAA 209  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 AGATATGACTCCAAAATAATTCAGACTTTTGGAAATGGCTAGGATCTTTTGGACGGGATGAGAC 360  
RnSRK2-h AGATATGACTCCAAAATAATTCAGACTTTTGGAAATGGCTAGGATCTTTTGGACGGGATGAGAC 269  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 GGAAGCTGACACGAGGGAAGGTGCTCGGAACTTAgtaaagcaattaaagcatcatcatat 420  
RnSRK2-h GGAAGCTGACACGAGGGAAGGTGCTCGGAACTTA----- 302  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 tgaacaaagcaattacgttactacaagaatcaaatcctgatacgtttttctatttaaatat 480  
RnSRK2-h -----

NP-G#71 attatgcaatGGCTACATGTCCTCCAGAAATATGCCATGAAACGGGACATTTCTCGATGAAAGTC 540  
RnSRK2-h -----TGGCTACATGTCCTCCAGAAATATGCCATGAAACGGGACATTTCTCGATGAAAGTC 353  
\*\*\*\*\*

NP-G#71 AGATGTCCTTCACTTTTGGGGCTCTTGTCTTTGAAAATTATAAGTGGCAAGAGGCAACAAAGT 600  
RnSRK2-h AGATGTCCTTCACTTTTGGGGCTCTTGTCTTTGAAAATTATAAGTGGCAAGAGGCAACAAAGT 413  
\*\*\*\*\*

NP-#71           CTTCTCCGACTCCGATAGTACGCTTAATCTTCTCCGATGTTctaaaccttgaaacctcttaa 660  
RnSRK2-h       CTTCTCCGACTCCGATAGTACGCTTAATCTTCTCCGATGTT-----GTAATGGA 456  
\*\*\*\*\*

NP-#71           ttccatttctcttccgatcatatcactaaaaattccatccgacctttatccacacgTATGGA 720  
RnSRK2-h       -----GTAATGGA 460  
\*\*\*\*\*

NP-#71           GGAATTGGAAGAAGAGCTCAAGCTCTAGCAATAGTACGACAAAGCTCAATCGTACGATTTCTTAT 780  
RnSRK2-h       GGAATTGGAAGAAGAGCTCAAGCTCTAGCAATAGTACGACAAAGCTCAATCGTACGATTTCTTAT 520  
\*\*\*\*\*

NP-#71           CACCAACGTTCAAGCCACGCTGAAAATCTCAAGATGCTTACAAAATTGACCTCTTCTGCTGCTTC 840  
RnSRK2-h       CACCAACGTTCAAGCCACGCTGAAAATCTCAAGATGCTTACAAAATTGACCTCTTCTGCTGCTTC 580  
\*\*\*\*\*

NP-#71           AAGAAGCTGTCGAGCAATAGACCAATGATGCTGTCAAATAGTTTTGATGCTTCGGAAGCTGGAAG 900  
RnSRK2-h       AAGAAGCTGTCGAGCAATAGACCAATGATGCTGTCAAATAGTTTTGATGCTTCGGAAGCTGGAAG 640  
\*\*\*\*\*

NP-#71           CTGCAATTGATTTCTCAACCTAAGACGCAAGCTATTTGCTCAAGCGGAAGTTCTCTTCAAA 960  
RnSRK2-h       CTGCAATTGATTTCTCAACCTAAGACGCAAGCTATTTGCTCAAGCGGAAGTTCTCTTCAAA 700  
\*\*\*\*\*

NP-#71           CTTATTCTAGCCCTGACGATGAAAATTGCAAGCTGAAACCAAAATCAACCATGCTGATCAATTG 1020  
RnSRK2-h       CTTATTCTAGCCCTGACGATGAAAATTGCAAGCTGAAACCAAAATCAACCATGCTGATCAATTG 760  
\*\*\*\*\*

NP-#71           ACGCTCCGTAATATGAT 1037  
RnSRK2-h       ACGCTCCGTAATATGAT 777  
\*\*\*\*\*

그림 2-79. NP-K-09 품종으로부터 선발된 자식종 #71의 SRK 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

(SRK15)

NP-#72           GAGGCGGAGAGAGATCTTAATTTACGAGCTACTTGGAGAGATCTAAGCCCTCGACTCTCAATCTC 60  
RnSRK15       GAGGCGGAGAGAGATCTTAATTTACGAGCTACTTGGAGAGATCTAAGCCCTCGACTCTCAATCTC 60  
\*\*\*\*\*

NP-#72           TTTGGcttactgacctcaaacacatcagatagatctttatctttttagaccttaaatctcttttcaaaa 120  
RnSRK15       TTTGGcttactgacctcaaacacatcagatagatctttatctttttagaccttaaatctcttttcaaaa 120  
\*\*\*\*\*

NP-#72           tctcttcaatct 180  
RnSRK15       tctcttcaatct 180  
\*\*\*\*\*

NP-#72           TTGCGAAGATGAGATTTGATATTTACAGATGATTTGCGAGAGCCCTTCTGATCTTCAACCA 240  
RnSRK15       TTGCGAAGATGAGATTTGATATTTACAGATGATTTGCGAGAGCCCTTCTGATCTTCAACCA 240  
\*\*\*\*\*

NP-#72           AGATTTCAAGCTTTAGAGATCAATCAATAGAGATTTGAGAGAGAGATGCTCTTCTTCAATTA 300  
RnSRK15       AGATTTCAAGCTTTAGAGATCAATCAATAGAGATTTGAGAGAGAGATGCTCTTCTTCAATTA 300  
\*\*\*\*\*

NP-#72           AGATATGACCCAGAGAGATTTGAGAGATTTGAGAGAGAGATGCTCTTCTTCAATTA 360  
RnSRK15       AGATATGACCCAGAGAGATTTGAGAGATTTGAGAGAGAGATGCTCTTCTTCAATTA 360  
\*\*\*\*\*

NP-#72           GGAAGCTGACAG 420  
RnSRK15       GGAAGCTGACAG 420  
\*\*\*\*\*

NP-#72           atctttttttctcttaccatct 480  
RnSRK15       atctttttttctcttaccatct 480  
\*\*\*\*\*

NP-#72           aacctgatagcttct 540  
RnSRK15       aacctgatagcttct 540  
\*\*\*\*\*

```

NP_#78      CGATCAACCCCAATTCCTCCATCAACCTCACATCTCTTCACTTTTCCGCTCTTCTCTTCTT 600
RcSPK15    CGATCAACCCCAATTCCTCCATCAACCTCACATCTCTTCACTTTTCCGCTCTTCTCTTCTT 600
*****

NP_#78      A A A T T A T A A C T C C C A A C A C C A A C A A A C C C T T C T C C A C T C C C A T A C T A A T C T T A A T C T T C 660
RcSPK15    A A A T T A T A A C T C C C A A C A C C A A C A A A C C C T T C T C C A C T C C C A T A C T A A T C T T A A T C T T C 660
*****

NP_#78      T C C C A T C T C t a a c c t t c a a a c c c t c t t a a t t c c a t t c t c t t t c a c c c t c a a a a t c t c a c c a 720
RcSPK15    T C C C A T C T C t a a c c t t c a a a c c c t c t t a a t t c c a t t c t c t t t c a c c c t c a a a a t c t c a c c a 720
*****

NP_#78      t a t c a c t a a c a c a a a c c t c c c a c c t t t a t c c a c a c c t c t c c c a c c a a t t c c a a a c a a a c c t c a 780
RcSPK15    t a t c a c t a a c a c a a a c c t c c c a c c t t t a t c c a c a c c t c t c c c a c c a a t t c c a a a c a a a c c t c a 780
*****

NP_#78      A C C T C T A C A C A T A C T A C A C A C C C T C A T C A T A C A T T C T T C A T C A C C A A C C T T C A C C C C A C C 840
RcSPK15    A C C T C T A C A C A T A C T A C A C A C C C T C A T C A T A C A T T C T T C A T C A C C A A C C T T C A C C C C A C C 840
*****

NP_#78      T C A A A T C T T A A C A T C C T T A C A A A T T C C C C T C T C T C T T C A A C A A C C T C T A C A C C A T A C 900
RcSPK15    T C A A A T C T T A A C A T C C T T A C A A A T T C C C C T C T C T C T T C A A C A A C C T C T A C A C C A T A C 900
*****

NP_#78      A C C A A T C A T C T C T C A C T A C T T T T C A T C C T C C A A C T C A A A C T C C A T T C A T T C T C A A C C 960
RcSPK15    A C C A A T C A T C T C T C A C T A C T T T T C A T C C T C C A A C T C A A A C T C C A T T C A T T C T C A A C C 960
*****

NP_#78      T A A A C A C C A C C T T A T T C C C T C A C C A A A C T T C T C T T C A A A C T T A T T C T A C T T C C A C T A A 1020
RcSPK15    T A A A C A C C A C C T T A T T C C C T C A C C A A A C T T C T C T T C A A A C T T A T T C T A C T T C C A C T A A 1020
*****

NP_#78      A C T C C C T C A C C A T C A A A A T T C C A C A C T C A A C C A A A T C A C C A T C T C C A T C A T T C A C C C T C 1080
RcSPK15    A C T C C C T C A C C A T C A A A A T T C C A C A C T C A A C C A A A T C A C C A T C T C C A T C A T T C A C C C T C 1080
*****

NP_#78      C T A A T A T C A T 1000
RcSPK15    C T A A T A T C A T 1090
*****

```

그림 2-80. NP-K-08 품종으로부터 선발된 자식종 #28의 *SRK* 유전자 상동성 분석(소문자는 inton 영역임)

### 10. 자식종 선발용 DNA chip 개발

수집된 많은 양배추 F1 품종들로부터 빠르게 다수의 자식종을 선발하여 양배추 육종에 이용하여야 한다. 따라서 자식종 선발을 위하여 쉽고 빠르며, 간단하고, 대용량 데이터 생산이 가능하며, 뛰어난 데이터 quality 및 샘플당 분석비용이 저렴한 fluidigm system을 이용하기 위하여 24 DNA chip을 개발하였다. 우선 24 DNA chip을 개발하기 위하여 서울대학교 양태진 교수(1세부 과제), 한국생명공학연구원 김혜란 박사(타 프로젝트 4세부 과제)와 공동으로 연구를 수행하였다. 1세부 과제에서 이미 개발해 놓은 95개의 dCAPS 마커를 분양받아 재조합이 잘 일어난다고 보고되어진 텔로미어 영역에 위치하고 있는 35개의 dCAPS 마커를 선발하였다(그림 2-81). 선발된 35개의 dCAPS 마커의 유용성을 확인하기 위하여 아시아종묘로부터 양친(female, male) 및 이들 양친을 이용한 F1을 한 조합으로 하여 총 23조합(female: 23 line, male: 23 line, F1: 23)을 분양받아 실험에 이용하였다. 선발된 35개의 dCAPS의 유용성을 검토한 결과 18개의 dCAPS 마커를 선발하였으며 한국생명공학연구원으로부터 제공된 12개의 SNP 마커 중 6개를 선발하여 fluidigm system용 24 DNA chip을 개발하였다. 개발된 24 DNA chip은 female(X축 또는 Y축), male(X축 또는 Y축), F1(XY축)에 signal이 나타나는 것을 확인할 수 있었다(그림 2-82, 83, 84)

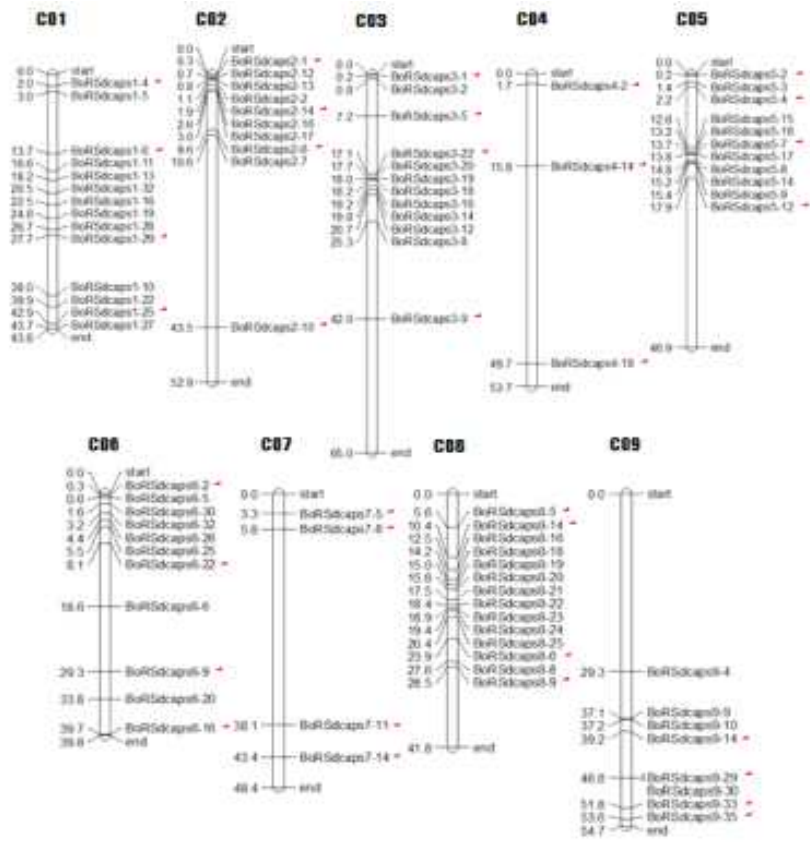


그림 2-81. 각 chromosome에 위치한 95개의 dCAPS 마커 및 선발된 35개의 CAPS 마커(빨간 색 표시)

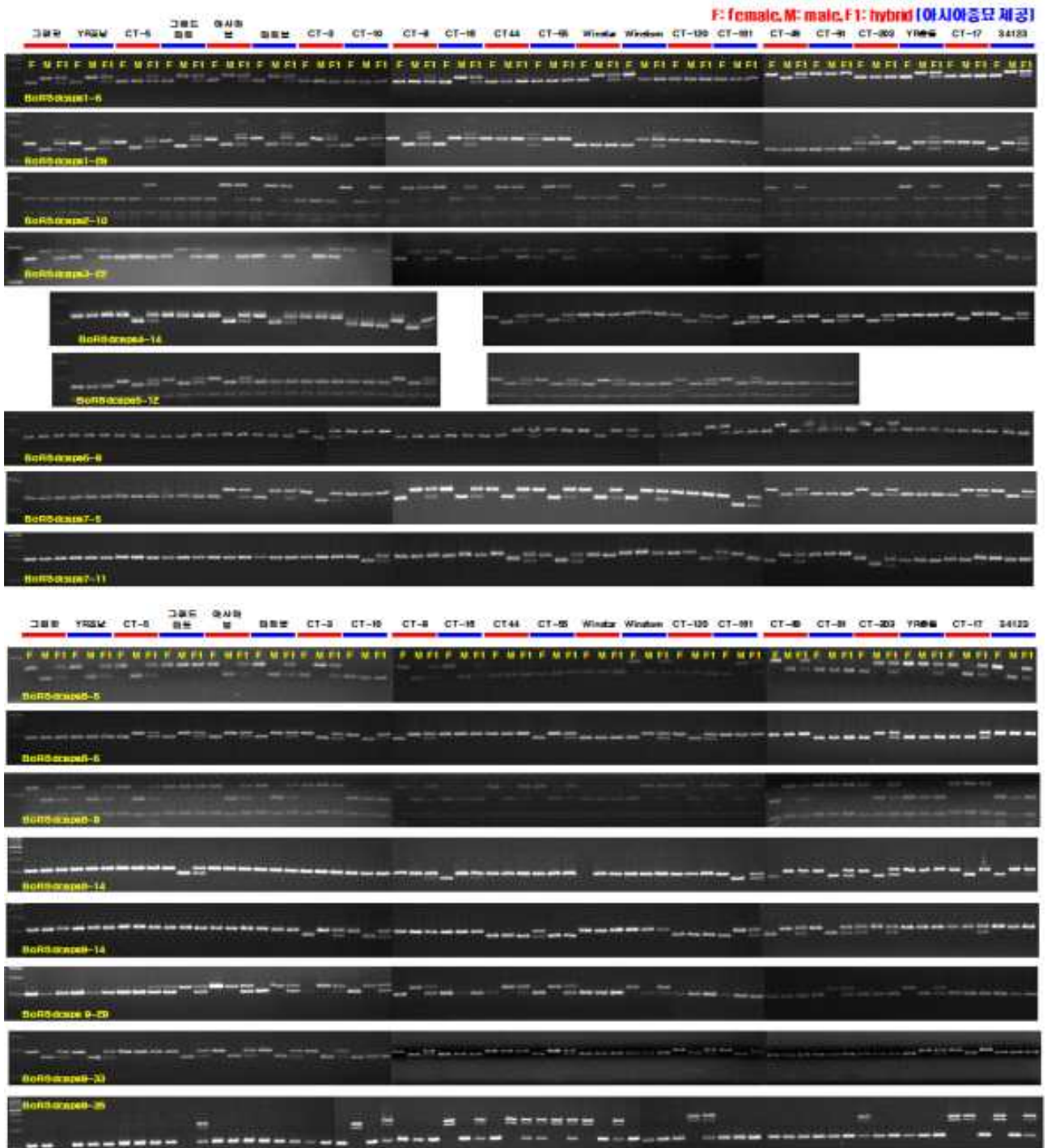
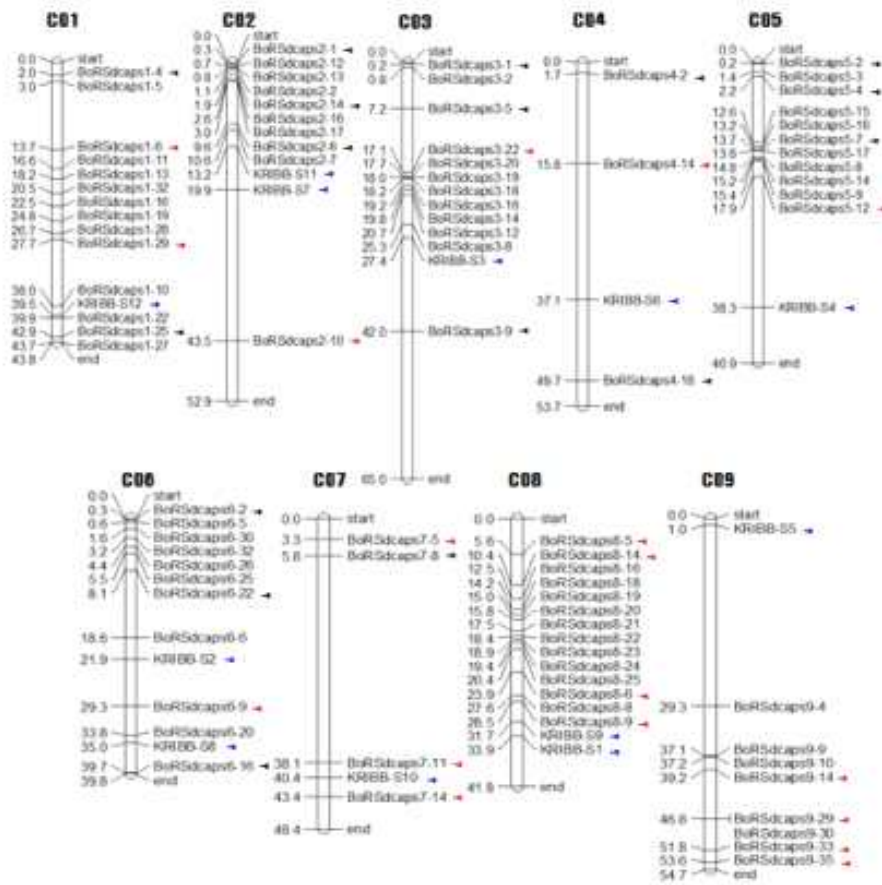


그림 2-82. 23조합(female, male, F1)을 이용하여 선발된 dCAPS 마커의 유용성 검토





◀ : Not good, ▶ : 선발된 SNP 마커 (18종), ◀ : 생공연 제공 SNP 마커 (12종)

그림 2-83. 유용성 검토 후 선발된 dCAPS 마커 및 SNP 마커 위치

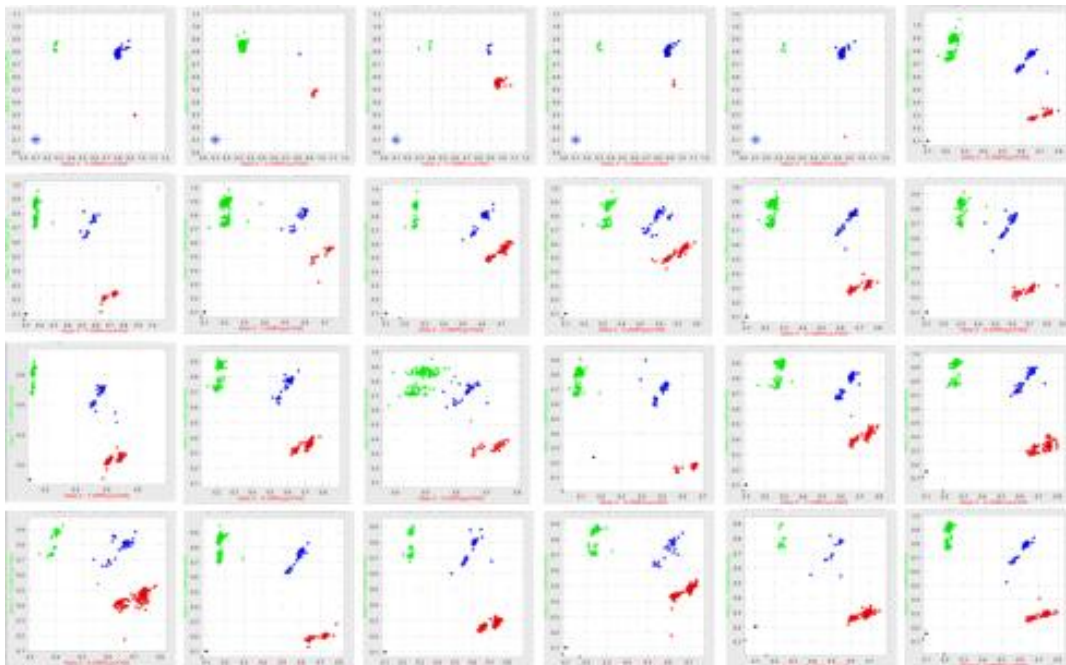


그림 2-84. Fluidigm system을 이용한 선발된 24 DNA chip의 유용성 검토

### 11. Fluidigm system용 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발

개발된 fluidigm system용 24 DNA chip을 이용하여 자식종이 선발된 품종들을 제외하고 자식종이 선발되지 않은 품종들을 이용하여 품종당 192립씩(한번에 192개의 sample을 분석할 수 있음) 파종한 후 본엽 2~3매 정도의 식물체로부터 각각의 식물체 엽을 채취하여 DNA를 추출한 후 자식종을 선발하였다. 그림 2-85의 예시에서 나타난 것과 같이 hetero의 경우 XY축에 signal이 나타나며 자식종의 경우 X축 또는 Y축에 근접하여 signal이 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 또한 표 2-9에 나타난 것과 같이 hetero의 경우 XY, 자식종의 경우 XX 또는 YY로 나타내었다. 이렇게 선발된 자식종들이 실제로 자식종인지를 확인하기 위하여 본 실험실에서 보유하고 있는 class I specific maker 및 class II specific maker를 이용하여 재확인을 수행하였다. 그 결과 그림 2-86에서 보여지는 것과 같이 hetero의 경우 Class I specific maker 및 class II specific maker를 이용하여 PCR을 수행할 경우 DNA 단편이 Class I 및 Class II 양쪽에서 모두 증폭되지만 자식종의 경우 Class I에서만 증폭되어 24 DNA chip을 이용하여 선발된 자식종들이 실제로 자식종임을 재확인 할 수 있었으며, 24 DNA chip의 유용성을 확인할 수 있었다. 따라서 fluidigm system용 24 DNA chip을 이용하여 자식종을 선발하기 위하여 12개의 F1 품종에 대하여 실험을 수행하였다. 그 결과 12개의 F1 품종 중 9개의 F1 품종(NP-J-223, NP-J-152, NP-J-156, NP-C-26, NP-C-29, NP-C-34, NP-C-35, NP-C-30, NP-C-31)에서 자식종을 선발할 수 있었으며 NP-C-26, NP-C-34 및 NP-C-35의 3개의 품종에서는 F1품종을 합성하기 위하여 사용된 부계 및 모계 모두를 선발할 수 있었다(그림 2-85, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94).

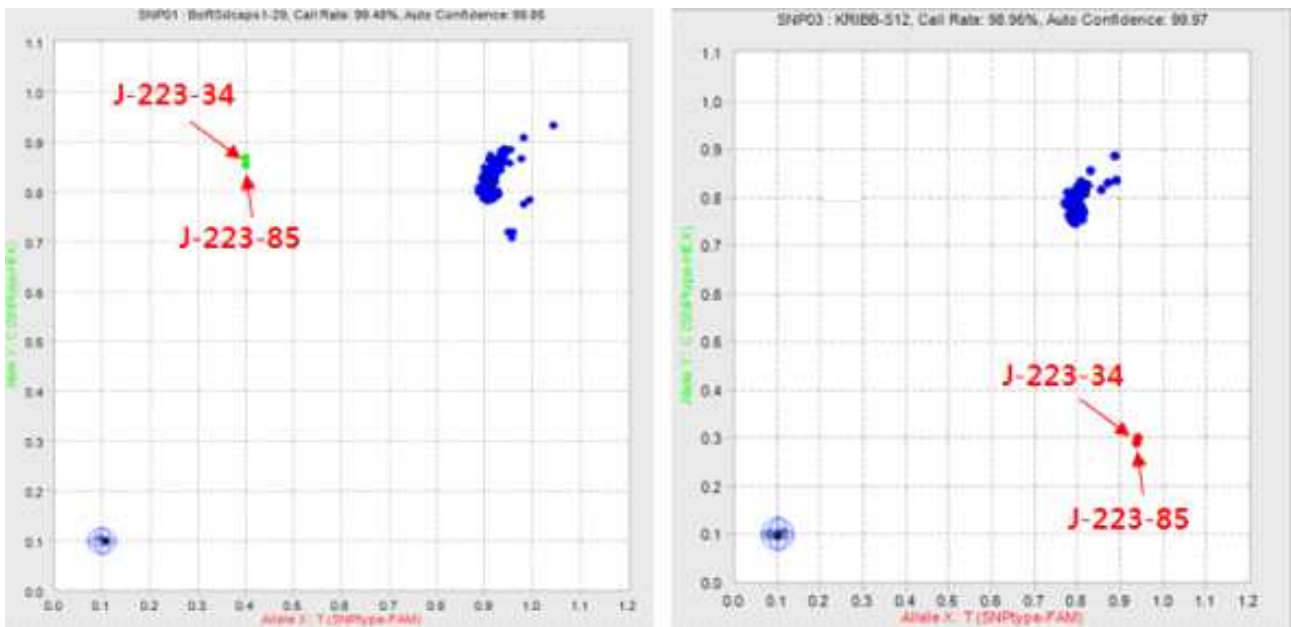


그림 2-85. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발

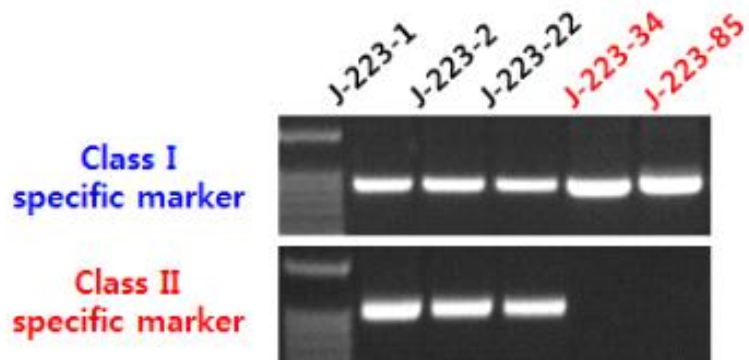


그림 2-86. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발 후 특이적 마커를 이용한 PCR 재확인











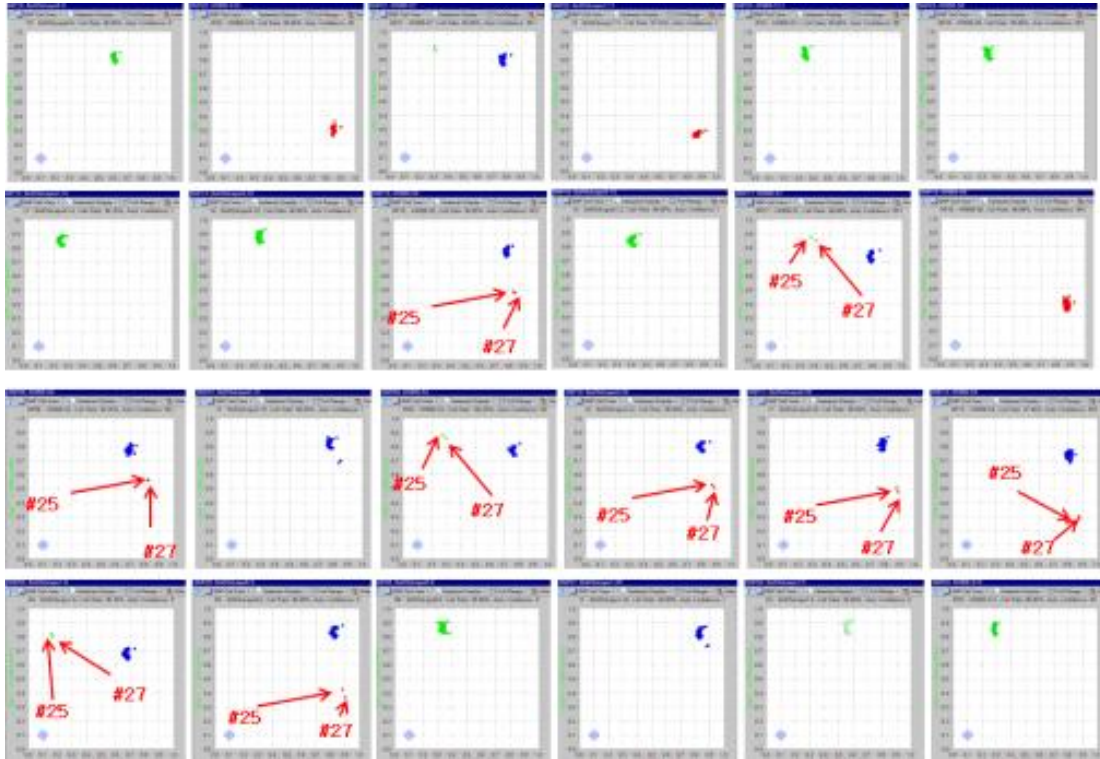


그림 2-87. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-J-152)

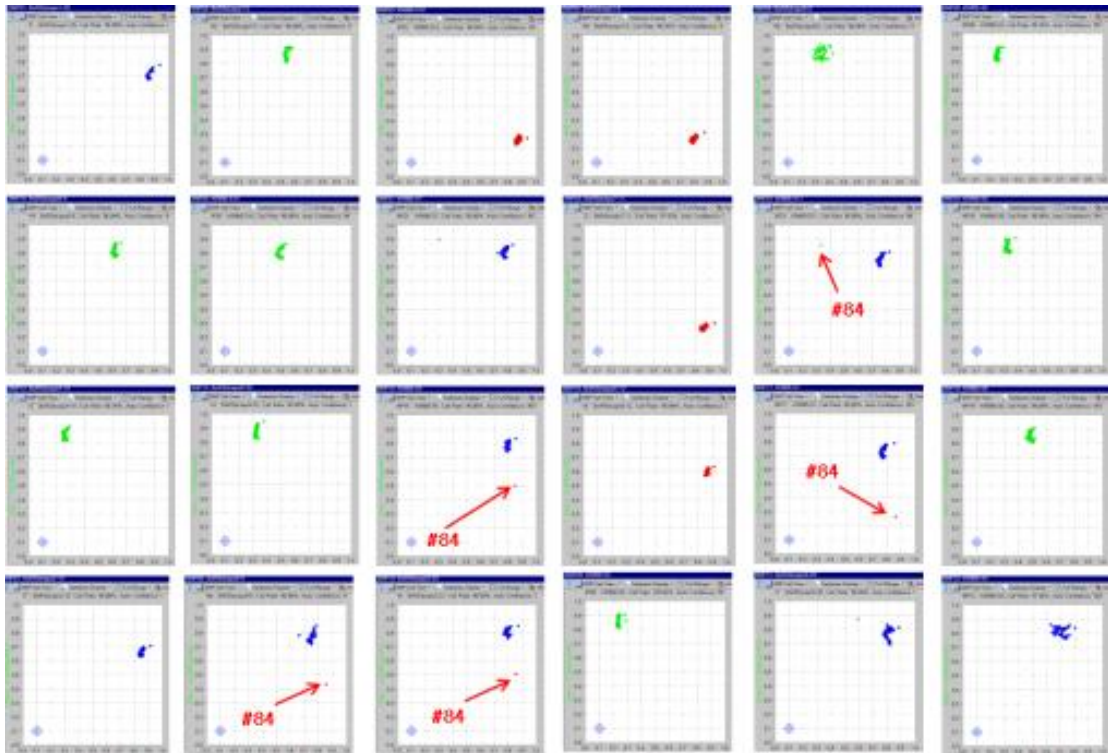


그림 2-88. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-J-156)

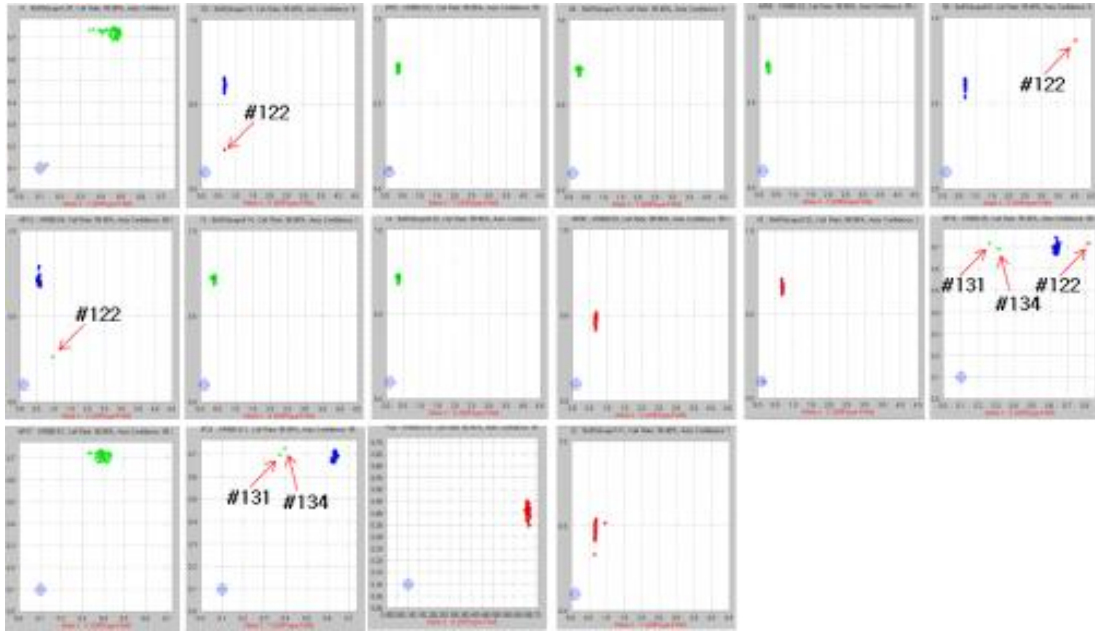


그림 2-89. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-C-26)

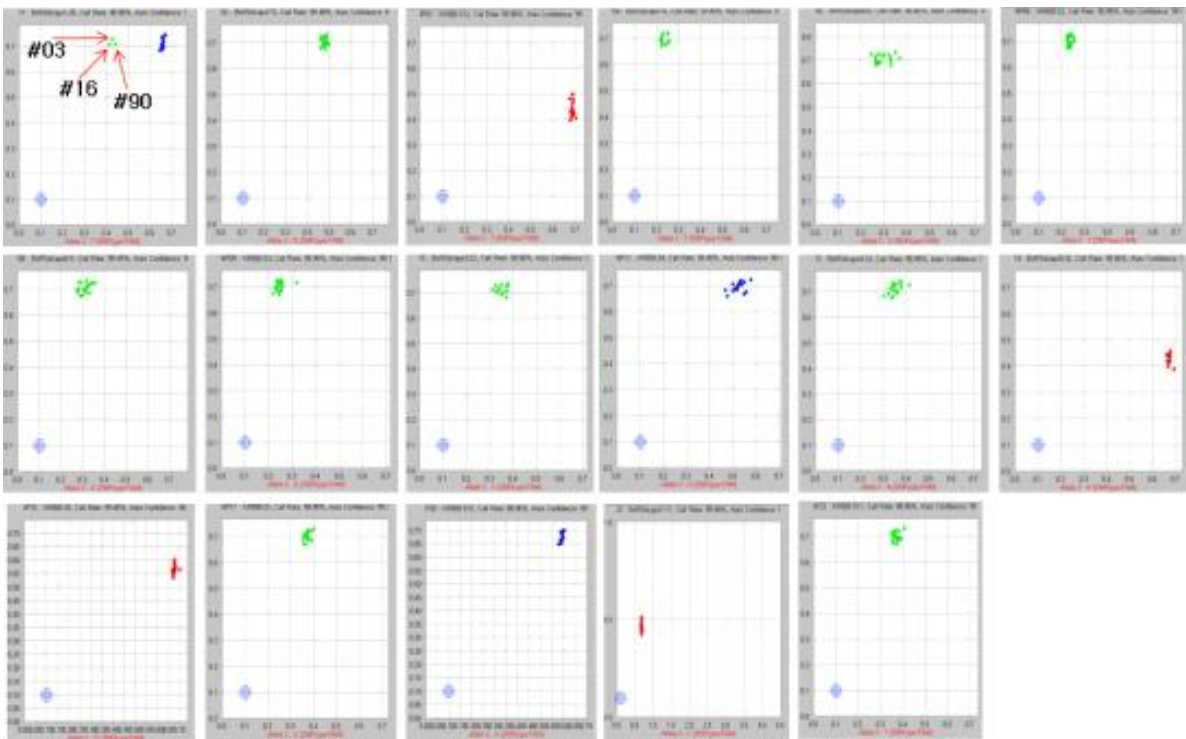


그림 2-90. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-C-29)

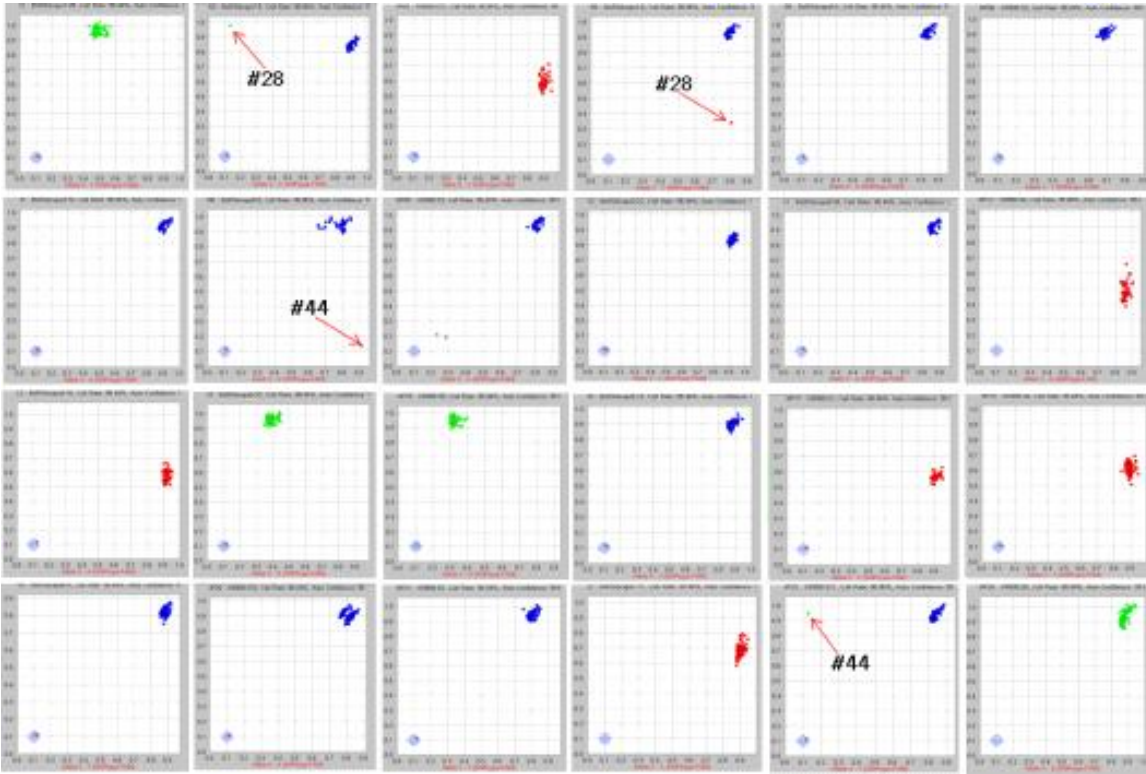


그림 2-91. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-C-34)

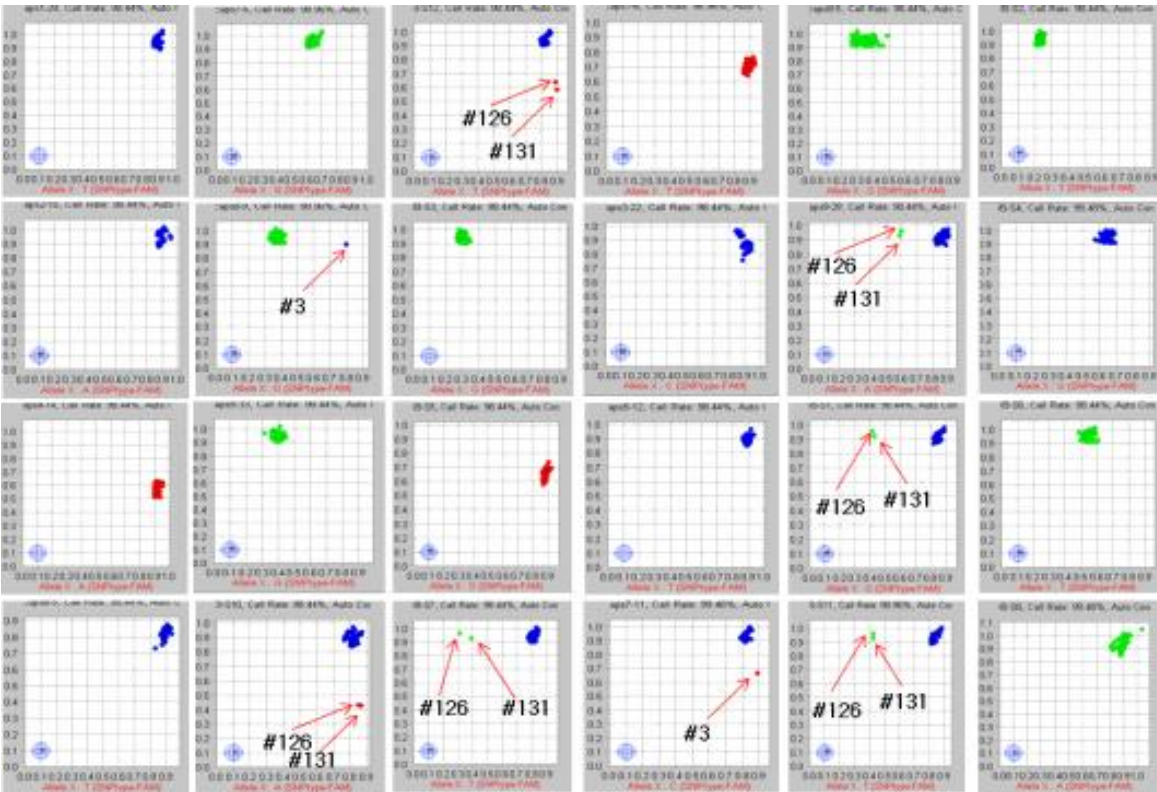


그림 2-92. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-C-35)



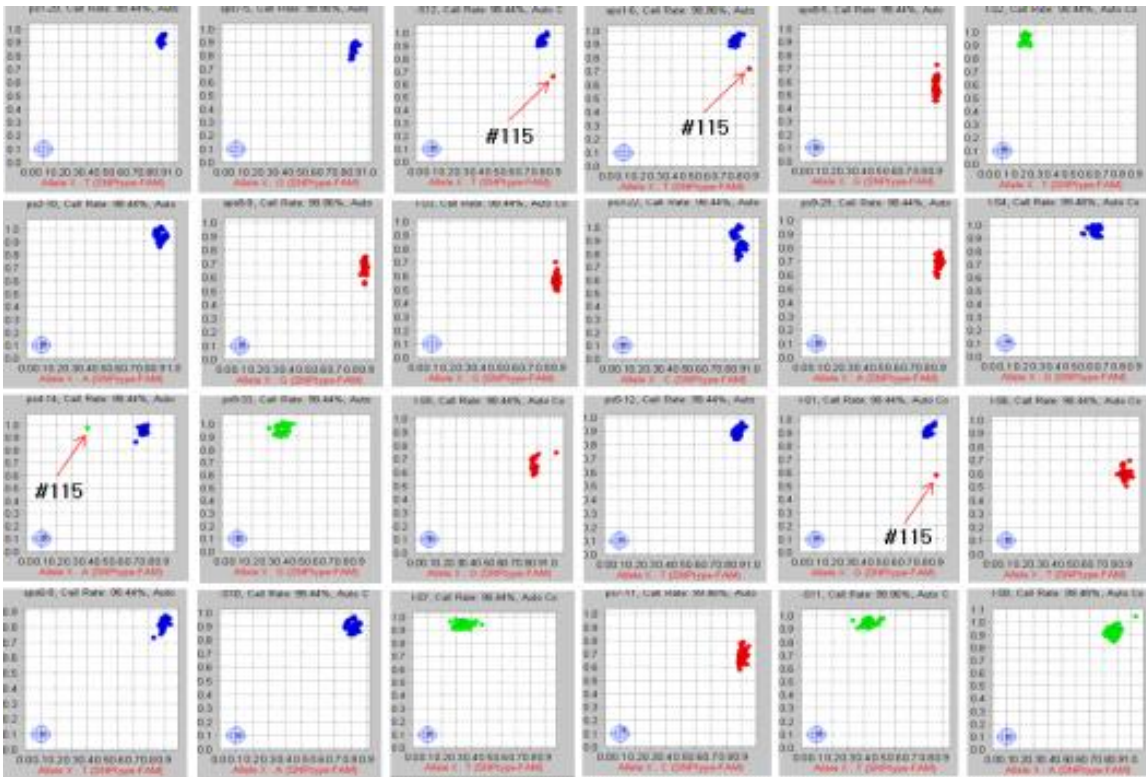


그림 2-93. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-C-30)

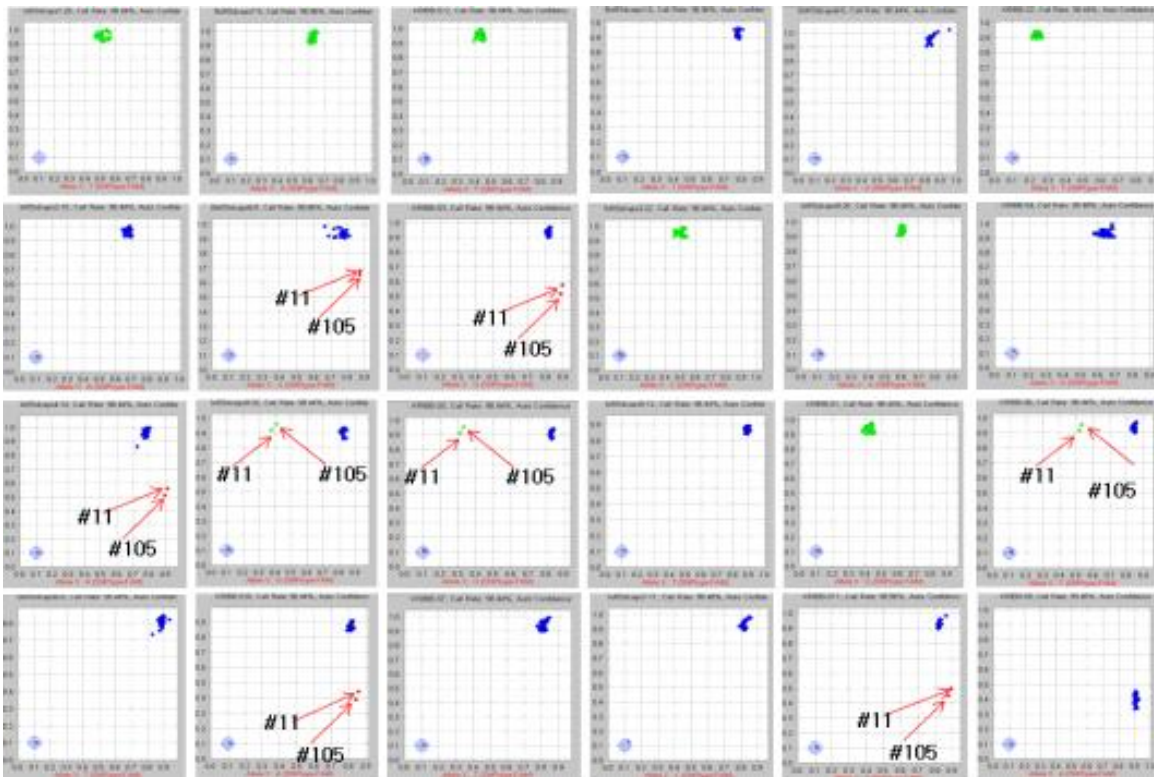


그림 2-94. 24 DNA chip을 이용한 자식종 선발(NP-C-31)





## 2. 양배추 40개 계통 whole genome sequencing 데이터 생산 및 유전자은행 등록

수집한 총 202개의 Brassica oleracea 계통들 중 농업적 형질 뿐만 아니라 원수집지역등을 고려하여 상대적으로 유연관계가 먼 계통들을 아래 표 3-1과 같이 40계통을 선발하여 Illumina sequencing platform을 이용하여 whole genome resequencing (WGS) 분석과 이후 GWAS 분석을 수행하였다. 이렇게 WGS를 수행한 총 40계통들은 적색 양배추를 포함한 일반양배추 16계통, 브로콜리, 케일, 콜라비, 콜리플라워 각 5계통, 카이란 3계통, 방울다다기 1계통으로 구성되어 있고(표 3-1), 이 데이터를 이용하여 대규모의 SNP를 탐색하고 조사된 농업형질과 연계하여 우수한 농업형질에 연관된 유전자 지역을 genome 상에서 바로 찾아내어 분자육종시스템 구축의 기반을 마련하기 위한 연구를 진행하였다.

표 3-1. 본연구에 사용된 양배추 육성계통 40개의 농업형질과 WGS 데이터생성

입원번호	수령년도	회사	작물	원수집 지역	계통특성	농업형질										Sequencing 결과		
						주요특성	고무질 지 알린	무리조형 지 알린	위장형 지 알린	무름병 지 알린	구모형	구크기	숙기	내서성	염색	Head Count	Total Bases	Coverage
14	1	대식대	양배추	네덜란드	고장종		약	약	약	강	완형	소	중	중	녹	30,709,040	3,906,660,640	5.7x
17	1	대식대	양배추	미국	고장종		강	약	강	강	완형	중	중	중	녹	30,589,640	3,675,354,440	5.3x
20	1	대식대	양배추		DII			중	중					녹	42,569,026	4,289,471,626	6.2x	
31	1	대식대	양배추			Ogura			중					녹	44,600,458	4,504,646,258	6.5x	
2	2	대식대	양배추	일본	고장종		약	약	약	강	완형	대	중	중	녹	32,034,530	4,827,824,270	7.0x
7	2	대식대	양배추	인도	고장종		강	약	강	강	고구형	중	중	중	회색	34,441,430	5,100,936,024	7.5x
13	2	대식대	양배추	일본	고장종		약	약	약	약	완형	소	조	약	농록	25,347,100	3,812,412,023	5.5x
32	2	대식대	양배추			Ogura			약					중	녹	29,561,204	4,296,546,643	6.2x
79	2	조은종묘	양배추								완형		조			20,262,676	3,062,717,670	4.4x
86	2	조은종묘	양배추								완형	중	중	중		29,066,958	4,462,572,546	6.5x
115	2	조은종묘	양배추				강				고구형		중	조		27,212,296	4,093,204,740	5.9x
122	2	조은종묘	양배추								완형		중	조		25,075,536	3,893,772,517	5.6x
163	2	조은종묘	양배추								완형	대	완			24,091,034	3,613,319,229	5.2x
170	2	조은종묘	양배추								완형	대	완			23,000,000	3,470,177,537	5.0x
40	2	대식대	적양배추											백		20,132,954	3,026,742,165	4.6x
46	2	조은종묘	적양배추			Ogura						중	중	회색		22,034,600	3,314,310,653	4.8x
24	1	대식대	브로콜리	일본	고장종		중	약	약	강	완	소	완	중	농록	41,360,390	4,177,480,180	6.1x
21	2	대식대	브로콜리	미국	고장종		중	약	약	중	완	중	완	중	농록	29,216,120	4,334,748,426	6.4x
174	2	조은종묘	브로콜리													30,320,644	4,558,562,571	6.6x
189	2	조은종묘	브로콜리													31,965,382	4,893,230,395	7.0x
185	2	조은종묘	브로콜리													27,701,312	4,173,436,156	6.0x
63	1	조은종묘	카이란										조			41,849,780	4,226,726,780	6.1x
65	2	조은종묘	카이란										조			25,646,252	3,853,116,201	5.6x
66	2	조은종묘	카이란										완			26,210,296	3,941,431,623	5.7x
26	1	대식대	케일	미국	고장종		강	약	약	강	완	중	중	녹		37,437,444	3,781,181,644	5.5x
27	2	대식대	케일	일본	고장종		중	약	약	강	완	소	중	녹		29,375,120	4,417,524,671	6.4x
80	2	조은종묘	케일									중				20,857,440	4,335,159,467	6.3x
61	2	조은종묘	케일									중				26,945,414	4,049,362,670	5.9x
62	2	조은종묘	케일									중				32,889,600	4,346,456,550	7.2x
55	1	조은종묘	콜라비								소	조				47,394,696	4,775,754,296	6.9x
53	2	조은종묘	콜라비			Ogura					완	조				25,029,648	3,900,486,174	5.7x
57	2	조은종묘	콜라비			Ogura					중	소	중			19,246,018	3,006,396,162	4.4x
56	2	조은종묘	콜라비								소	조				32,485,848	4,886,191,711	7.1x
43	2	대식대	콜라비											녹		20,439,910	3,074,727,253	4.5x
42	1	대식대	콜리플라워											녹		42,705,216	4,321,366,816	6.3x
192	2	조은종묘	콜리플라워	조선												22,539,574	3,447,289,664	5.0x
195	2	조은종묘	콜리플라워	중	조선											20,744,430	3,118,796,406	4.5x
197	2	조은종묘	콜리플라워	중	조선											21,752,096	3,270,457,504	4.7x
199	2	조은종묘	콜리플라워	중	조선											17,590,712	2,643,949,139	3.8x
54	1	조은종묘	방울다다기		op								완			43,434,290	4,386,862,200	6.4x

40개 계통에서 2.6 ~ 5.1 Gb 에 해당하는 데이터가 생산되었는데 이는 양배추 유전체 크기인 690 Mb의 3.8x ~ 7.5x coverage에 해당하는 양이다. 그리고 이전 연구에서 생산한 4개의 양배추 계통 NGS정보와 같이 전체 44개의 양배추종 계통들에 대한 NGS 정보를 농촌진흥청의 생물정보은행(NABIC)에 공식 등록하였으며 이들에 대한 유전자은행 정보 번호는 아래 표3-2와 같다.

표 3-2 양배추종 44계통의 NGS정보 및 유전자은행 등록 번호

Acc No.	Acc ID	Line number	B. oleracea Subspecies / Cultivar	Progeny	Company	Notes	Whole genome sequencing				NABIC accession number
							Sequencer	Count	Total Bases	Coverage	
1	DM_Bol_01	C1154	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		HiSeq 2000	114,454,524	11,539,806,924	6.2x	NN-2498
2	DM_Bol_02	C1234	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		HiSeq 2000	113,830,992	11,496,930,192	6.2x	NN-2498
3	DM_Bol_03	C1176	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		HiSeq 2000	126,837,064	12,810,543,464	6.2x	NN-2495
4	DM_Bol_04	C1220	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		HiSeq 2000	106,552,700	10,155,822,700	6.2x	NN-2497
5	DM_Bol_05	ac_14	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds		HiSeq 2000	58,709,840	3,909,693,840	6.1x	NN-2499
6	DM_Bol_06	ac_17	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds		HiSeq 2000	36,389,848	3,675,354,448	5.7x	NN-2528
7	DM_Bol_07	ac_28	capitata / Cabbage	Doubled	Asia Seeds		HiSeq 2000	41,569,026	4,299,471,026	6.7x	NN-2531
8	DM_Bol_08	ac_31	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds	Ogura CMS	HiSeq 2000	44,600,458	4,504,648,258	7.0x	NN-2532
9	DM_Bol_09	ac_32	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds	Ogura CMS	NextSeq 500	28,561,204	4,296,548,943	6.7x	NN-2537
10	DM_Bol_10	ac_2	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	32,094,538	4,827,824,278	7.5x	NN-2538
11	DM_Bol_11	ac_7	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	34,441,430	5,180,936,024	8.0x	NN-2500
12	DM_Bol_12	ac_13	capitata / Cabbage	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	25,347,188	3,812,412,023	5.9x	NN-2539
13	DM_Bol_13	ac_79	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	20,362,878	3,082,717,870	4.7x	NN-2540
14	DM_Bol_14	ac_84	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	29,666,958	4,462,572,566	6.9x	NN-2541
15	DM_Bol_15	ac_115	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	27,212,296	4,093,204,740	6.3x	NN-2542
16	DM_Bol_16	ac_122	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	25,875,536	3,891,772,517	6.0x	NN-2543
17	DM_Bol_17	ac_162	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	24,091,034	3,613,319,229	5.6x	NN-2544
18	DM_Bol_18	ac_170	capitata / Cabbage	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	23,000,080	3,470,177,537	5.4x	NN-2545
19	DM_Bol_19	ac_48	capitata / Cabbage (Red)	Inbred	Joem Seeds	Ogura CMS	NextSeq 500	22,034,600	3,314,510,653	5.1x	NN-2546
20	DM_Bol_20	ac_40	capitata / Cabbage (Red)	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	20,132,954	3,028,742,165	4.7x	NN-2547
21	DM_Bol_21	ac_24	italica / Broccoli	Inbred	Asia Seeds		HiSeq 2000	41,360,398	4,177,400,198	6.5x	NN-2529
22	DM_Bol_22	ac_21	italica / Broccoli	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	29,216,120	4,394,748,426	6.8x	NN-2548
23	DM_Bol_23	ac_174	italica / Broccoli	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	30,320,644	4,558,502,571	7.1x	NN-2549
24	DM_Bol_24	ac_180	italica / Broccoli	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	31,965,382	4,803,230,335	7.4x	NN-2550
25	DM_Bol_25	ac_183	italica / Broccoli	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	27,781,312	4,173,439,756	6.5x	NN-2551
26	DM_Bol_26	ac_42	botrytis / Cauliflower	Inbred	Asia Seeds		HiSeq 2000	42,785,216	4,321,306,816	6.7x	NN-2533
27	DM_Bol_27	ac_192	botrytis / Cauliflower	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	22,939,574	3,447,289,984	5.3x	NN-2552
28	DM_Bol_28	ac_195	botrytis / Cauliflower	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	20,744,430	3,118,796,486	4.8x	NN-2553
29	DM_Bol_29	ac_197	botrytis / Cauliflower	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	21,752,896	3,270,433,504	5.1x	NN-2554
30	DM_Bol_30	ac_199	botrytis / Cauliflower	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	17,590,712	2,643,840,139	4.1x	NN-2555
31	DM_Bol_31	ac_26	medullosa / Kale	Inbred	Asia Seeds		HiSeq 2000	37,437,444	3,781,181,844	5.9x	NN-2530
32	DM_Bol_32	ac_27	medullosa / Kale	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	29,375,128	4,417,524,971	6.8x	NN-2556
33	DM_Bol_33	ac_60	medullosa / Kale	Inbred	Joem Seeds	Ogura CMS	NextSeq 500	28,857,440	4,333,159,487	6.7x	NN-2557
34	DM_Bol_34	ac_61	medullosa / Kale	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	26,945,414	4,049,362,678	6.3x	NN-2558
35	DM_Bol_35	ac_62	medullosa / Kale	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	31,888,608	4,946,458,350	7.7x	NN-2559
36	DM_Bol_36	ac_55	gongylodes / Kohlrabi	Inbred	Joem Seeds		HiSeq 2000	47,284,696	4,775,754,296	7.4x	NN-2535
37	DM_Bol_37	ac_53	gongylodes / Kohlrabi	Inbred	Joem Seeds	Ogura CMS	NextSeq 500	25,928,648	3,900,488,174	6.0x	NN-2560
38	DM_Bol_38	ac_57	gongylodes / Kohlrabi	Inbred	Joem Seeds	Ogura CMS	NextSeq 500	19,946,018	3,000,396,162	4.7x	NN-2561
39	DM_Bol_39	ac_59	gongylodes / Kohlrabi (Purple)	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	32,485,848	4,886,191,711	7.6x	NN-2562
40	DM_Bol_40	ac_43	gongylodes / Kohlrabi (Purple)	Inbred	Asia Seeds		NextSeq 500	20,439,910	3,074,727,255	4.8x	NN-2564
41	DM_Bol_41	ac_63	alboglabra / Kailan	Inbred	Joem Seeds		HiSeq 2000	41,848,780	4,226,726,780	6.6x	NN-2536
42	DM_Bol_42	ac_65	alboglabra / Kailan	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	25,646,552	3,853,116,381	6.0x	NN-2565
43	DM_Bol_43	ac_66	alboglabra / Kailan	Inbred	Joem Seeds		NextSeq 500	26,210,296	3,941,431,623	6.1x	NN-2566
44	DM_Bol_44	ac_51	gemmifera / Brussels sprout	pollinated	Joem Seeds		HiSeq 2000	43,434,280	4,386,862,280	6.8x	NN-2534
							Average		3,998,159,703	6.2x	

\*used from previous study

### 3. 양배추 44개 계통 WGS 생물정보 분석

#### 가. 양배추 44계통간 대규모 SNP 탐색

생산된 raw data를 활용하여 유전체 전반에 걸친 대규모 SNP 탐색을 실시하기 위해 2014년도에 발표된 두 개의 양배추 표준유전체 염기서열들 중에서 캐나다 그룹에서 TO1000DH genotype으로 완성한 염기서열을 기본 골격으로 하여 다음과 같은 pipeline으로 SNP를 발굴하였다 (그림 3-2). 두 표준유전체 염기서열 중에서 중국 BGI에서 완성한 전체서열이 더 약 515Mb 정도로 더 길지만 9개의 pseudo molecule 형태로 assembly되어 있는 염색체 서열은 캐나다에서 완성한 서열이 더 길기 때문에 염색체 전반에 걸친 SNP를 발굴하기에는 더 적합하다고 판단하였다.

NGS QC Toolkit와 SAMTools를 사용하여 생산된 raw data의 quality trimming과 박테리아 sequence, PCR duplicate등을 제거한 이후에 Burrows-Wheeler alignment tool (BWA) 프로그램에서 default parameter 조건으로 캐나다 완성 양배추 표준유전체 정보에 alignment를 실

시하였다. Align된 read들의 grouping과 PCR duplicate 제거는 Picard 프로그램을 통해 수행되었으며 Genome analysis toolkit (GATK)를 사용하여 INDEL로 인한 misalignment를 바로잡기 위해 local realignment를 실시하였다. 이 모든 과정을 거친 SAM 파일 형태의 40 계통 data들은 하나로 합쳐져 UnifiedGenotyper 패키지를 통해 SNP들을 탐색하고 신뢰할 수 있는 SNP 정보들에 대해 각 계통들의 동일한 염색체상 위치에서 genotyping을 실시하였다.



그림 3-2. 다양한 양배추 40 계통에서 대규모의 SNP 탐색을 위한 workflow

#### 나. 탐색된 SNP들의 filtering 및 이를 활용한 44 계통간 유연관계분석

양배추의 표준유전체 정보인 9개 염색체 전반에 걸쳐 동정한 대규모 SNP들은 이후 Genome-Wide Association Study (GWAS) 분석을 위해서는 신뢰할 만한 SNP 들을 sorting하는 과정이 중요하다. 이를 위해서 생산된 sequencing data의 양을 고려한 SNP position들의 read coverage와 SNP-ratio, 그리고 동일한 지역에서 얼마나 많은 양배추 계통들에서 genotyping이 되었는지를 고려하여 SNP를 sorting 한 후 분석을 수행하였다. 40계통에서 2.6 ~ 7.1x coverage로 sequencing data가 생성되었기 때문에 최소 coverage 2, 최대 coverage 15의 조건과 80%의 SNP-ratio 비율, 그리고 최소 10개 계통 이상에서 genotyping이 된 SNP들만을 고른 결과, 전체 9개 염색체에서 약 1천2백만개의 SNP들을 발굴할 수 있었다 (표3-3). 반면 신뢰성을 높이고 활용성이 좋은 SNP를 발굴하기 위해서는 브로커리, 케일 등 모든 양배추 아종을 포함하는 다양한 양배추 계통에 공통으로 genotyping이 된 정보를 추출하는 것이 중요하다. 따라서 표 3-3에서와 같이 공통으로 유전형이 평가된 계통수를 20, 30, 40으로 확대하여 분석하였을 때 유효한 SNP의 개수가 1천만, 8백만, 3백개 수준으로 감소하는 것을 확인할 수 있다. 조사한 44계통 중 40계통 이상에 공통으로 유전형데이터를 제공한 SNP갯수는 3.4백만개 수



준으로 줄어들었지만, 이들의 신뢰성과 범용 활용가능성은 훨씬 더 높으리라 판단되었다.

표 3-3 양배추 44계통 WGS 기반 SNP genotyping 결과 요약

No. of genotyped accessions	Type	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	Total
>1	SNPs	1,235,681	1,614,089	1,857,258	1,538,013	1,278,069	1,127,637	1,368,540	1,096,442	1,565,640	12,681,369
	InDels	144,889	181,495	238,362	180,450	149,789	133,469	163,057	138,108	184,345	1,513,964
>10	SNPs	1,156,476	1,501,049	1,727,331	1,425,330	1,192,043	1,064,576	1,286,382	1,029,849	1,458,887	11,841,923
	InDels	130,528	162,108	214,382	161,948	134,984	121,120	146,692	124,898	166,145	1,362,805
>20	SNPs	1,041,341	1,337,656	1,534,284	1,285,986	1,059,155	967,438	1,161,774	933,056	1,298,979	10,619,669
	InDels	116,675	144,079	190,251	145,437	119,917	109,845	132,145	112,434	147,865	1,218,648
>30	SNPs	826,386	1,035,680	1,175,383	1,020,130	834,701	764,939	927,649	741,311	1,008,291	8,334,470
	InDels	89,957	108,017	142,433	112,107	91,197	84,571	102,556	85,748	111,897	928,483
>40	SNPs	330,572	410,004	443,238	417,810	347,780	309,761	378,957	309,992	404,452	3,352,566
	InDels	33,469	39,248	49,062	42,305	34,261	31,638	39,089	32,279	41,161	342,512
44	SNPs	47,572	61,589	62,655	61,916	54,121	45,626	54,190	48,103	60,691	496,463
	InDels	3,569	4,337	5,177	4,694	3,832	3,411	4,286	3,598	4,589	37,493

전체 9개 염색체 중 각각의 염색체에서 1백만개 이상의 SNP가 발견되었다. 염색체의 길이가 긴 3번 염색체에서 가장 많은 약 1백80만개의 SNP, 8번 염색체에서 가장 적은 1백10만개 SNP가 sorting이 되었다. 전체 1,260만개의 SNP정보의 위치 중 약 90% 이상을 차지하는 1,130만개의 SNP들은 유전자와 유전자 사이에서 발굴되었고 직접적으로 유전자의 구조변이와는 상관이 없는 것으로 파악되었지만, 이 중 130만개의 SNP는 유전자의 코딩지역에서 발견되어 이들의 기능 변이와의 관련성을 살펴보는것도 매우 흥미로운 기초자료라고 할 수 있겠다. InDel의 경우도 140만개는 비유전자영역에서 발견되었고 약 50만개는 유전자영역에 발견되어 이들에 대한 추가 연구가 필요하리라 생각된다 (표 3-4).

표 3-4 유전변이의 염색체상 위치 정보 종합

	SNPs			InDels		
	Intergenic	Genic	Total	Intergenic	Genic	Total
Chr1	1,097,090	138,591	1,235,681	139,503	5,386	144,889
Chr2	1,469,558	144,531	1,614,089	175,611	5,884	181,495
Chr3	1,647,342	209,916	1,857,258	229,791	8,571	238,362
Chr4	1,380,735	157,278	1,538,013	174,287	6,163	180,450
Chr5	1,138,785	139,284	1,278,069	144,299	5,490	149,789
Chr6	1,008,009	119,628	1,127,637	128,969	4,500	133,469
Chr7	1,229,607	138,933	1,368,540	157,554	5,503	163,057
Chr8	968,055	128,387	1,096,442	132,840	5,268	138,108
Chr9	1,402,883	162,757	1,565,640	177,836	6,509	184,345
Total	11,342,064	1,339,305	12,681,369	1,460,690	53,274	1,513,964

전체 1,260만개 중 가장 신뢰성이 높으면서도 많은 정보를 포함하고 있는 전체 44계통 중 40계통 이상에서 SNP genotype data를 제공하는 3,342,566개의 SNP 정보를 이후 분석에 이용하였으며 44계통간의 유전적 유연관계를 분석하기 위하여 GAPIT 프로그램을 이용하여 major allele frequency가 0.9 이상인 SNP들을 대상으로 Kinship 분석을 수행하였다 (그림 3-3). 유연

관계를 분석한 결과 cabbage, kale, kohlrabi, cauliflower, broccoli, kailan, brussels sprouts 등 각 아종별로 그룹이 나뉘는 것을 볼 수 있었다. 전체 양배추종을 구성하는 7개의 아종은 크게 두가지 그룹으로 구별되었는데, 첫 번째 그룹은 cabbage, kale, brussels sprouts (방울다다기양배추), kohlrabi를 포함한 그룹이었으며 두 번째 그룹은 broccoli, cauliflower, kailan을 포함한 그룹으로 구별되었다. cabbage와 가장 가까운 아종은 kale, 화기를 목적으로 하는 broccoli와 cauliflower는 상호 서로 가까운 유연관계를 보였다.

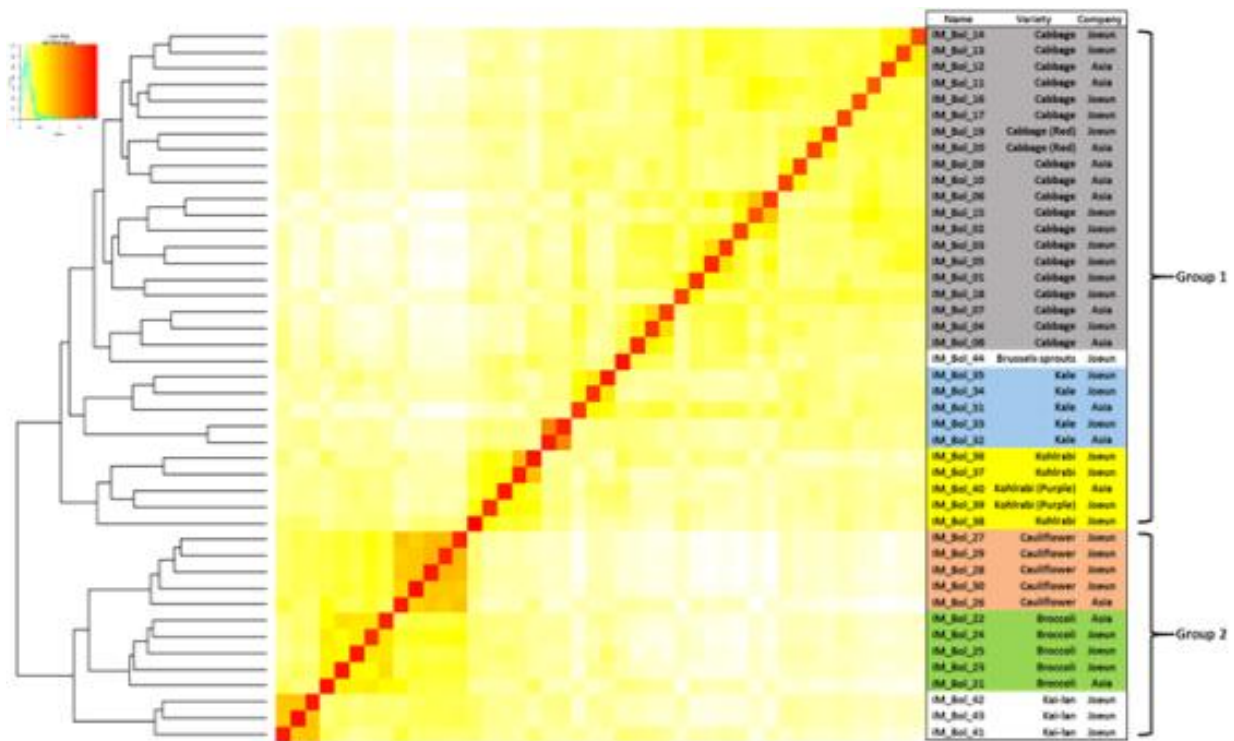


그림 3-3 SNP 정보 3,342,566개 정보를 이용한 양배추 44계통에 대한 Kinship 분석 결과

전체 데이터를 가지고 PCA 분석을 수행하였을때도 6개의 아종 그룹은 명확히 식별되었으며 위의 Kinship 기반 유전적 유사도와 비슷한 양상을 보여주어, 브로콜리, 콜리플라워, 카이란은 꽃과 꽃대를 식용으로 이용한다는 표현형적 특징과 더불어 진화 계보를 유사하다는 걸 확인할 수 있으며 나머지 콜라비, 케일, 양배추, 방울다다기, 양배추 또한 유사한 진화계보를 이루고 있다고 판단된다 (그림 3-4).

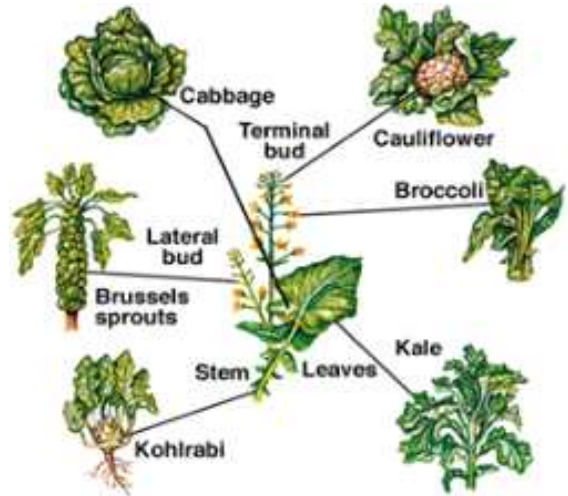
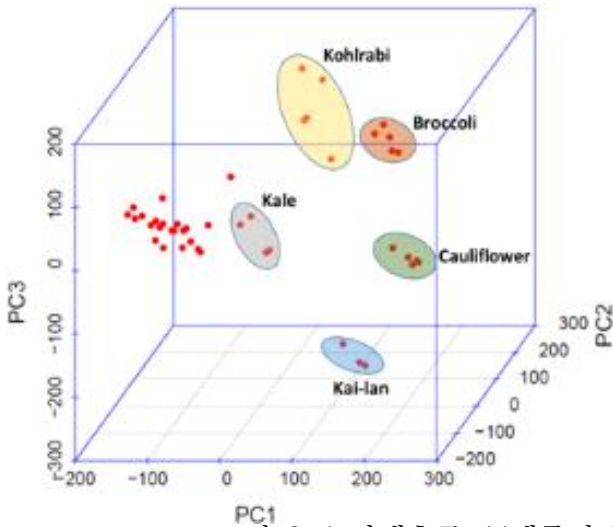
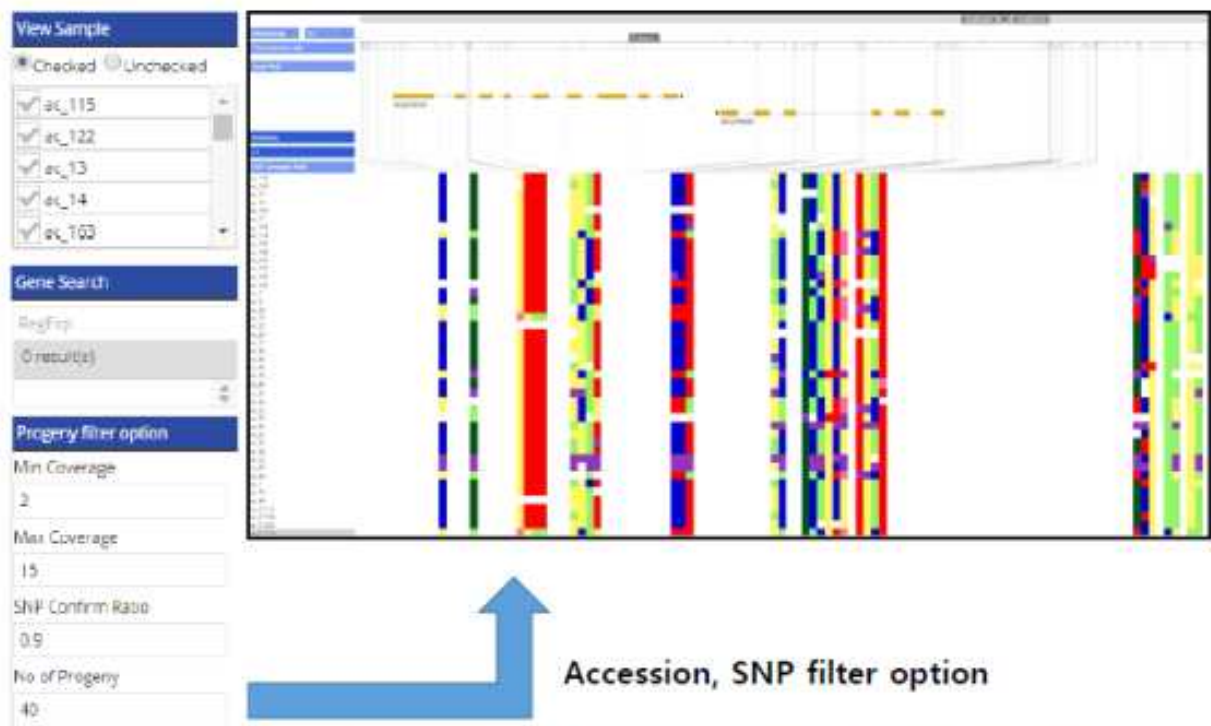


그림 3-4 양배추종 44계통의 PCA 분석 및 양배추 아종들의 특징

다. 양배추종 SNP 정보 데이터베이스 구축 및 분자유종지원시스템 구축

위에서 발굴된 양배추의 표준유전체 정보에 기반한 대규모 SNP정보는 분자유종에 활용될 수 있는 매우 유용한 자산이 될 수 있다. 따라서 이들 대규모 정보를 효율적으로 탐색하고 발굴할 수 있는 제놈브라우저를 구축하였으며 각 염색체 부위에 SNP 정보를 각각의 계통별로 쉽게 탐색하고 활용할 수 있는 양배추 SNP genotype browser 시스템을 구축하였다 (그림 3-5)

<http://www.phyzen.co.kr:8080/GWASBrowser/index.html?name=Bolera>



<http://www.phyzen.co.kr:8080/GWASBrowser/index.html?name=Bolera>

<그림 3-5> 양배추 44계통에 대한 SNP genotype browser



### 라. GWAS분석 및 양배추 아종 특이 SNP 발굴

양배추 유전체 전반에 분포하고 있는 SNP들의 분포를 살피고 이들 SNP 중 아종의 특징을 결정하는 유전형질과 관련성이 있는 염색체 부위를 살펴보기 위하여 SNP의 분포를 염색체 위치 전반에 걸쳐 위의 genotype browser를 이용하여 분석하였다. 각 계통별로 유전체 전반에 걸쳐 SNP density의 분포를 확인하면 아종 특이적인 분포 패턴을 찾고, 형태학적 다양성을 결정하는 유전자들의 후보지역을 찾을 수도 있을 것으로 판단하여 분석을 실시하였다. 먼저 각 계통별로 SNP의 개수를 확인하여 9개 염색체에 평균 density를 계산한 후 평균 SNP 개수를 기준으로 높은 density는 빨간색, 낮은 density는 노란색 계열로 구분되도록 하였다 (그림 3-6).

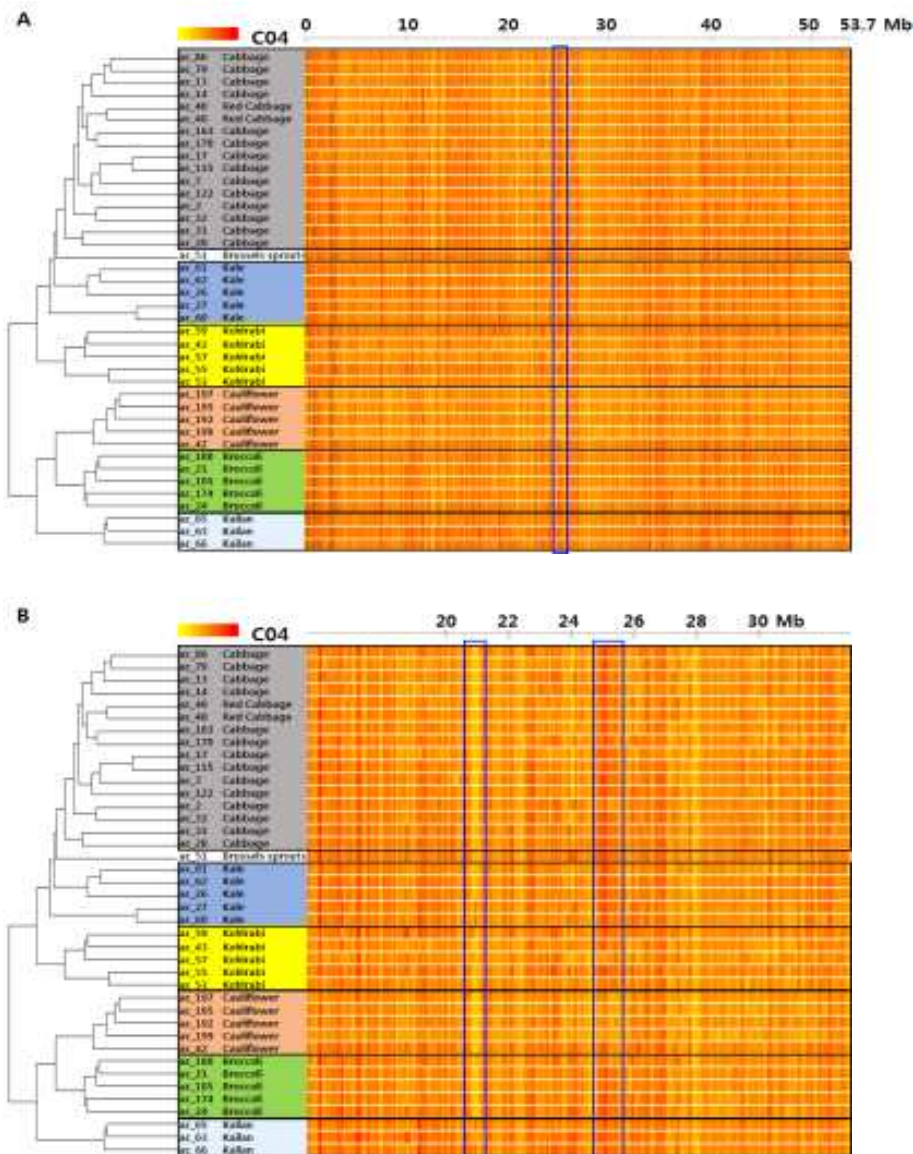


그림 3-6. 양배추 4번 염색체에서 40 계통별 SNP density 분포 (A)는 4번 염색체 전체대상.

파란색으로 표시된 지역은 Cauliflower 계통들이 다른 계통들보다 density가 낮은 경향을 보이는 지역 (B)는 20 ~ 30 Mb에 해당하는 지역을 zoom-in한 것. Kalean 계통들에서 더 높은 density 경향을 보이는 지역을 발견

그림 3-6A는 양배추 4번 염색체에 44개 계통의 SNP genotype 정보를 밀도로 표현한 것이다. 파란색으로 표시된 지역에서 cauliflower에 해당하는 계통들이 다른 계통들에 비해 SNP가 적은 경향을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 그림 3-6B는 4번 염색체의 20~30 Mb 지역을 좀 더 확대하여 살펴본 그림인데, A 그림에서는 표시한 지역을 좀 더 확실하게 살펴볼 수가 있었고, 20~22 Mb 사이에서 카이란 계통들에서 더 높은 SNP density 경향을 보이는 지역들도 확인할 수 있었다. 이런 분석방법을 통해 아종 특이적인 SNP 밀도의 variation 지역을 동정하였고, 이후 *Brassica oleracea* 종내 형태적 다양성과의 연관성에 대한 연구를 진행할 예정이다.

또한 아종 특이적으로 특징적인 SNP와 InDel 지역을 발굴하였는데, 아래와 같이 브로콜리, 콜리플라워, 케일과 카이란 특징적으로 아종 특이 변이가 많이 발굴되었다 (표3-5).

표 3-5 양배추 아종 특이적인 패턴을 보이는 SNP와 InDel 갯수

Subspecies	SNP	INDEL
Cabbage	0	0
Broccoli	111	10
Cauliflower	510	38
Kohlrabi	54	5
kale	510	38
Kai-lan	2,000	66

위에서 발굴된 아종 특이 SNP들을 양배추의 염색체에 표시를 했을 때 특정 염색체 부위에 아종 특이적인 변이가 대량 발굴되는 것을 확인할 수 있다. 이를 통해 해당 변이가 많은 염색체 위치에는 아종의 특징을 결정하는 중요한 유전자나 특성이 존재할 것이라도 판단되었다. 즉, 염색체 3번의 45Mbp 지역은 카이란 아종 특이적인 염색분체가 존재하고 6번 염색체 16Mbp 지역에는 브로콜리 특이 지역, 염색체 7번과 8번의 17Mbp 지역에는 공히 케일과 콜리플라워 특이적인 염색분체로 구성되어 있다고 판단되었다. 그 외 밀도는 낮지만 많은 지역에서 아종 특이적인 변이가 관찰되는데, 이런 지역에는 아종 특이적인 형질을 결정하는 중요한 유전자가 위치하고 있으리라 분석되며, 이들에 대한 정밀 분석이 추후 진행되리라 기대한다 (그림 3-7).

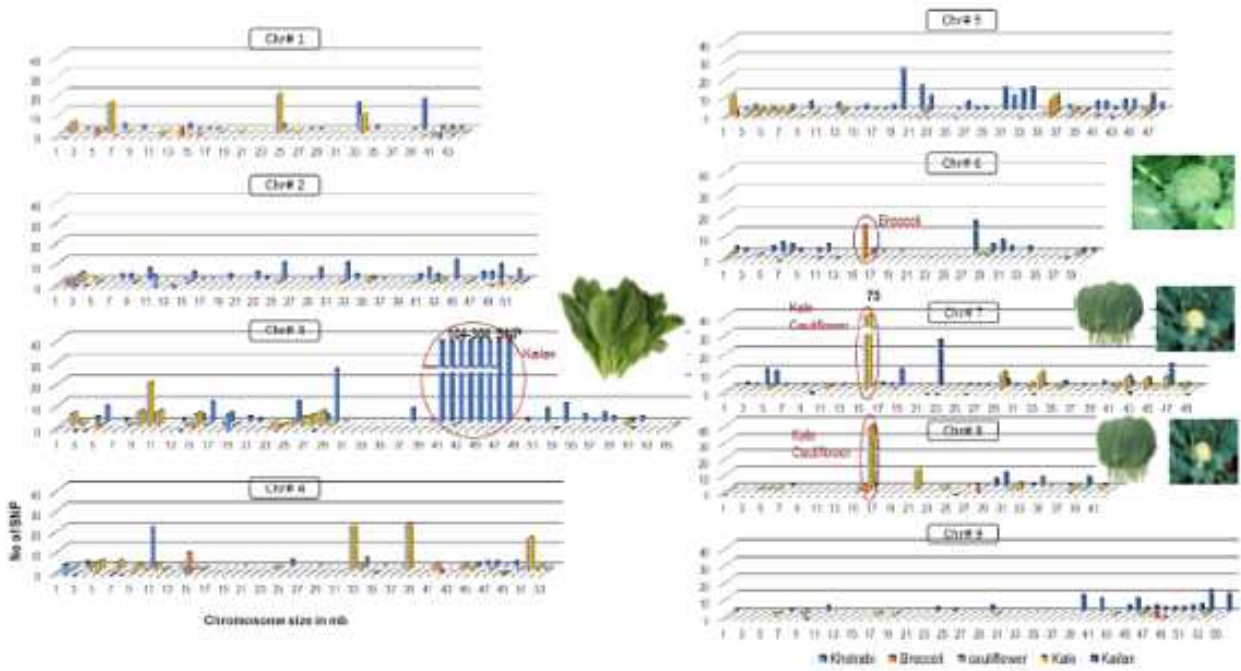


그림 3-7 양배추 염색체 위치별 양배추 아종특이 SNP 밀도 그래프

#### 4. 양배추 44개 계통 WGS 기반 염색체와 ribosomal DNA 완성 및 변이분석

##### 가. 양배추 44계통의 염색체 완전장서열 완성

본 연구실에서 구축한 NGS 데이터를 활용하여 세포질 내 염색체와 미토콘드리아 염기서열 분석 및 핵내 rDNA 염기서열 분석을 쉽게 할 수 있는 pipeline을 통해 44 계통의 모든 염색체와 rDNA의 완전장 서열을 완성하였다(그림 3-8).

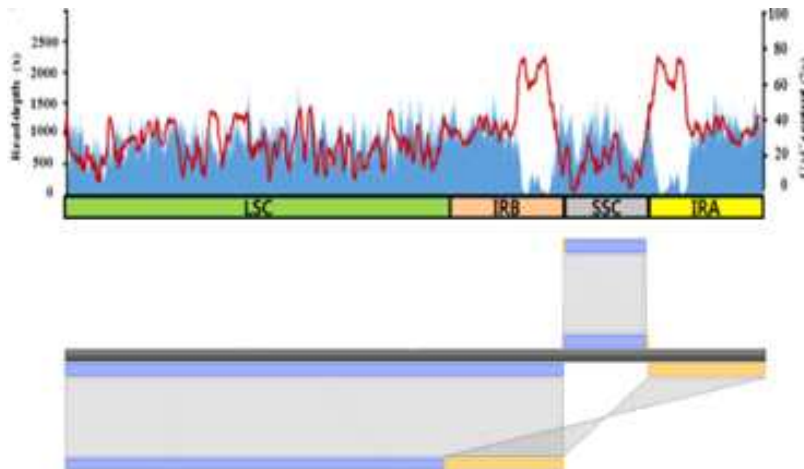


그림 3-8. 염색체 genome assembly 및 position별 depth, GC content 분석

모두 적은양의 NGS 데이터만 가지고도 그림 7처럼 적게는 두 개의 contig만으로 전체 엽록체 genome 서열을 완성할 수 있었다. 전체 NGS reads의 밀도를 보면 대부분 500-1,000 카피 이상의 read들이 완전장 형성에 참여한 걸 확인할 수 있다. 하지만, inverted repeat 지역 (IRA, IRB) 내 동일 GC content가 높은 지역에 NGS read들의 depth가 낮은 경향을 보이지만 완전장을 완성하는데는 전혀 문제가 없음을 확인할 수 있다.

본 과제를 통해 완성했던 총 44 계통의 엽록체 서열은 153,361 ~ 153,372 bp로 genome의 크기가 계통 간 매우 conserved 되어 있는 것을 알 수 있었다 (그림 3-9, 표 3-6). 가장 작은 계통은 조은종묘로부터 수집한 kale의 ac-61 accession이었으며, 가장 큰 계통은 역시 조은종묘에서 수집한 ac-65 kailan 계통이었다.

표 3-6. 양배추 44계통들의 완성된 엽록체 genome 정보

Accession	Subspecies	Company	Size (bp)	Accession	Subspecies	Company	Size (bp)
ac_65	Kailan	Joeun	153,372	ac_14	Cabbage	Asia	153,365
ac_66	Kailan	Joeun	153,365	ac_17	Cabbage	Asia	153,365
ac_26	Kale	Asia	153,365	ac_28	Cabbage	Asia	153,364
ac_27	Kale	Asia	153,367	ac_31	Cabbage	Asia	153,366
ac_60	Kale	Joeun	153,364	ac_2	Cabbage	Asia	153,365
ac_61	Kale	Joeun	153,361	ac_7	Cabbage	Asia	153,366
ac_62	Kale	Joeun	153,364	ac_13	Cabbage	Asia	153,366
ac_55	Kohlrabi	Joeun	153,364	ac_32	Cabbage	Asia	153,366
ac_43	Kohlrabi	Joeun	153,365	ac_79	Cabbage	Joeun	153,366
ac_53	Kohlrabi	Joeun	153,364	ac_86	Cabbage	Joeun	153,366
ac_57	Kohlrabi	Asia	153,364	ac_115	Cabbage	Joeun	153,366
ac_59	Kohlrabi	Joeun	153,365	ac_122	Cabbage	Joeun	153,366
ac_42	Cauliflower	Asia	153,364	ac_163	Cabbage	Joeun	153,366
ac_195	Cauliflower	Joeun	153,365	ac_170	Cabbage	Joeun	153,366
ac_197	Cauliflower	Joeun	153,365	ac_40	Cabbage	Joeun	153,366
ac_199	Cauliflower	Joeun	153,365	ac_48	Cabbage	Asia	153,364
ac_292	Cauliflower	Joeun	153,365	ac_24	Broccoli	Asia	153,364
ac_51	Brussels sprout	Joeun	153,366	ac_21	Broccoli	Asia	153,365
C1176	Cabbage	Joeun	153,366	ac_174	Broccoli	Joeun	153,364
C1220	Cabbage	Joeun	153,366	ac_180	Broccoli	Joeun	153,364
C1234	Cabbage	Joeun	153,366	ac_185	Broccoli	Joeun	153,365
C1184	Cabbage	Joeun	153,366	ac_63	Kailan	Joeun	153,364



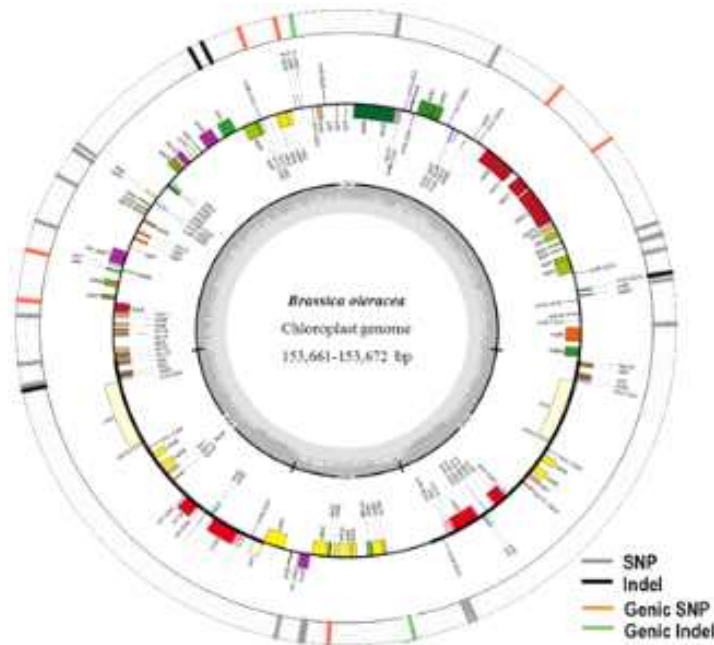


그림 3-9 양배추 44계통의 엽록체 완전장 지도 및 종내변이 지도

#### 나. 양배추 44계통의 rDNA 완전장서열 완성

본 연구실에서 구축한 파이프라인으로 동일한 NGS 정보를 이용하여 핵 내에 존재하는 리보솜유전자의 완전장 서열을 완성하였다. 단백질을 만드는 필수 기관인 리보솜을 구성하는 ribosomal RNA는 항시적으로 엄청난 양이 만들어져야 하기 때문에 핵 내 염색체 특정 지역에 밀집하여 존재하고, 수백~수천 카피가 반복하여 존재한다. 이들 리보솜유전자는 생명유지에 필수적인 정보이기 때문에 매우 안정적이고 잘 보존된 특징을 가지고 있지만 반복수가 많아 오히려 이들 정보를 완전하게 알 수가 없다. 그러나 우리 연구실 고유의 파이프라인을 통해 5.802bp의 3개의 리보솜 RNA로 구성된 45S rDNA 전사유닛 완전장 서열을 완성하였다 (그림 3-10) 45S rDNA는 18S-ITS1- 5.8S-ITS2-25S로 구성되어 있으며 45S와 45S간에 IGS(intergenic spacer)가 연결되어 있다. 양배추 18S rDNA는 1,807 bp, ITS1는 256 bp, 5.8S는 164 bp, ITS2는 188 bp, 25S는 3,386 bp로 매우 보존적으로 유사함을 보였다.

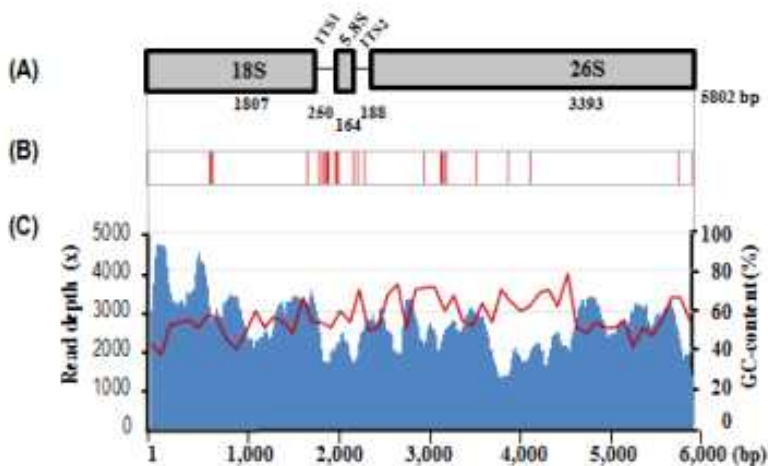


그림 3-10 45S Ribosome RNA gene의 완전장 서열 정보

#### 다. 양배추 44계통의 엽록체와 rDNA 종내 변이 분석

본 연구에 이용된 양배추 44 계통간 엽록체 genome을 alignment를 하여 비교해 본 결과 sequence 변이가 매우 적은것을 확인할 수 있었다. Genome 염기서열의 길이 차이가 가장 컸던 ac-61과 ac-65 계통들 사이의 21 bp의 서열변이가 가장 큰 것을 알 수 있었다. Ac-65 kailan 계통에 특이적인 변이 중에서 tandem repeat의 반복수가 다른 copy number variation으로 인해 발견되는 서열 변이도 존재하였다 (그림 3-11).

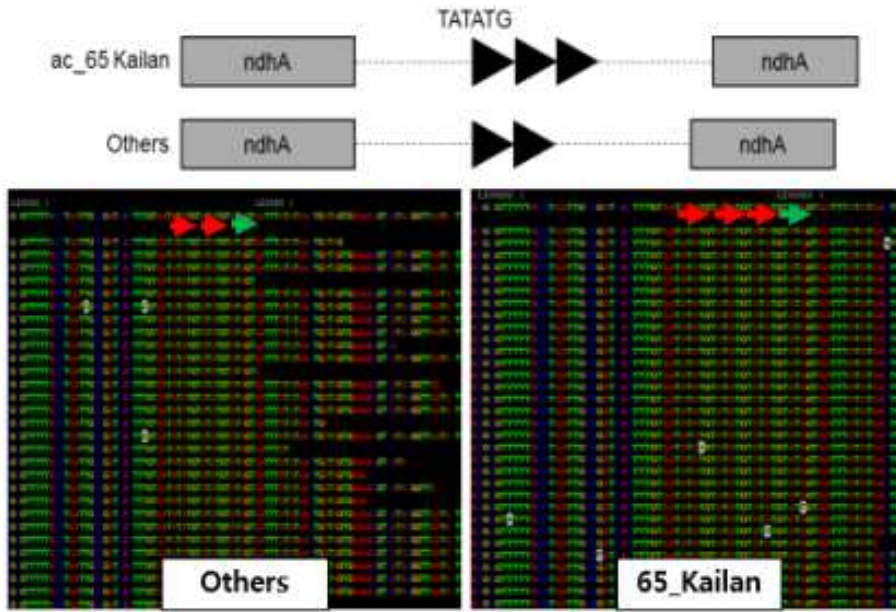


그림 3-11. 엽록체 genome assembly 및 계통간 InDel 변이 지역

전체 153,366bp 지역에서 전체 44 계통간 39개의 SNP와 InDel 염기서열 변이를 확인할 수 있었다. 전체 39개의 변이지역 중 9개는 protein-coding gene서열내의 genic region에 존재하였으며, 나머지 30개는 유전자와 유전자 사이인 intergenic region에 변이가 있는 것을 확인할 수 있었다 (표 3-7).

이 변이 지역중에서 19개의 염기서열 변이는 44계통 중에서 단 하나의 계통에서 특이적인 변이인 것으로 나타났고, ac-2 cabbage 계통과 ac-51 방울다다기 계통, ac-65 kailan 계통에 각각 세 군데의 염기서열변이가 존재함으로써 가장 많은 특이변이를 보였다. 39개의 변이지역 중 37개는 두 개의 allele 타입이지만 6번의 변이지역은 5개의 다양한 allele분포를 보이고 있고 35번의 변이는 3개의 allele type을 보이고 있어 매우 다양한 변이를 제공하는 hotspot임을 보여주고 있다. 각 변이지역에 대한 유전자형의 비율을 보면 전체 44개 계통 중 1개 계통에 특이하게 나타나는 변이가 19개로 가장 많고 1, 2, 3, 6, 8, 11, 25, 35 번 변이 지역에서는 비교적 균등한 변이의 분포를 보여주고 있다. 이들 변이 정보는 향후 양배추의 유전정보 분석 및 그룹화, 혹은 육성가의 권리 보호 등에 유용하게 활용될 수 있으리라 판단된다. 변이를 보이는 39개 지역의 각각의 유전자형과 변이 정보를 표 3-8에 자세하게 요약하였으며 이 정보는 향후 염색체 기반 다양한 마커의 발굴 및 제작에 매우 긴요한 정보를 제공한다 (표 3-8).



rDNA 의 경우도 매우 변이가 적지만 전체 완전장 서열에서 31개의 변이를 발굴하였으며 (표 3-9)와 같이 유전자사이 (ITS) 뿐 아니라 유전자 영역에서도 변이를 발굴할 수 있었기 때문에 매우 유용한 정보로 활용될 수 있으리라 판단된다. 또한 rDNA의 변이 정보도 각각의 계통에 대해 모두 정리 요약하였으며 이 정보는 계통 구분 혹은 품종식별 등의 실용적인 마커 개발 등에 매우 중요한 정보로 활용될 것이다 (표 3-9).

표 3-7. 양배추 44계통들의 엽록체 genome 서열에서 밝혀진 sequence variation 지역

No.	Type	Position	Locus	Region	Specificity	Alleles	Appearance <sup>b</sup>
1	SNP <sup>a</sup>	264	trnH-GUG ~ psbA	Intergenic		tgtt/aaca	28/16
2	SNP	3778	matK ~ trnK-UUU	Intergenic		a/t	29/15
3	Indel	4290	trnK-UUU ~ rps16	Intergenic		-/a	28/16
4*	SNP	6172	rps16 ~ trnQ-UUG	Intergenic	Bol_10	c/t	43/1
5*	SNP	7253	psbK ~ psbI	Intergenic	Bol_42	t/a	43/1
6	SNP	7351	psbK ~ psbI	Intergenic	Bol_07, 43	aaaa/taaa/ttaa/ttt/ttta	1/15/10/1/17
7	SNP	8259	trnS-GCU ~ trnR-UCU	Intergenic	Bol_32	a/at/ta	41/2/1
8	Indel	15626	rpoC2	Genic		t/-	34/10
9	SNP	20982	rpoC1	Genic	Bol_36	c/t	43/1
10	SNP	26566	rpoB ~ trnC-GCA	Intergenic		a/t	43/1
11	Indel	26569	rpoB ~ trnC-GCA	Intergenic		t/-	30/14
12	SNP	34361	psbC ~ trnS-UGA	Intergenic	Bol_44	a/c	43/1
13	Indel	42468	trnL-UAA	Genic		a/-	41/3
14	SNP	43679	ycf3	Genic	Bol_10	t/a	43/1
15*	SNP	46466	trnL-UAA	Genic	Bol_07	a/c	43/1
16	Indel	49414	ndhC ~ trnV-UAC	Intergenic	Bol_44	-/a	43/1
17	Indel	50432	trnV-UAC ~ trnM-CAU	Intergenic	Bol_10	a/-	43/1
18	SNP	61563	petA ~ psbJ	Intergenic	Bol_34	ta/at	43/1
19	Indel	62111	petA ~ psbJ	Intergenic	Bol_34	-/a	43/1
20	Indel	62114	petA ~ psbJ	Intergenic	Bol_34	ac/a	41/3
21	SNP	64453	psbE ~ petL	Intergenic		t/a	42/2
22	SNP	68240	rpl20 ~ rps12	Intergenic		a/t	42/2
23	SNP	70601	clpP	Genic	Bol_25	t/a	43/1
24	SNP	74515	petB	Genic	Bol_26	g/a	43/1
25	SNP	75702	petB ~ petD	Intergenic		g/c	28/16
26	SNP	79483	rps8 ~ rpl14	Intergenic	Bol_25	a/t	43/1
27	SNP	81170	rpl16 ~ rps3	Intergenic	Bol_30	g/t	43/1
28	Indel	81556	rpl16 ~ rps3	Intergenic		t/-	42/2
29	SNP	109716	ndhF	Intergenic	Bol_44	c/t	43/1
30	Indel	111549	ndhF ~ rpl32	Intergenic		a/-	39/5
31	Indel	111787	ndhF ~ rpl32	Intergenic		t/-	42/2
32	SNP	113674	ccsA	Genic		t/a	39/5
33*	Indel	120031	ndhA	Genic	Bol_42	-/tatatg	43/1
34	SNP	124394	rps15 ~ trnN-GUU	Intergenic	Bol_07	t/a	43/1
35	SNP	124815	rps15 ~ trnN-GUU	Intergenic		tttt/ttt/t	34/9/1
36	SNP	153373	rps15 ~ trnN-GUU	Intergenic	Bol_9	g/t	43/1
37	SNP	153374	trnI-CAU ~ rpl22	Intergenic	Bol_24	c/a	43/1

<sup>a</sup>Inverse complement

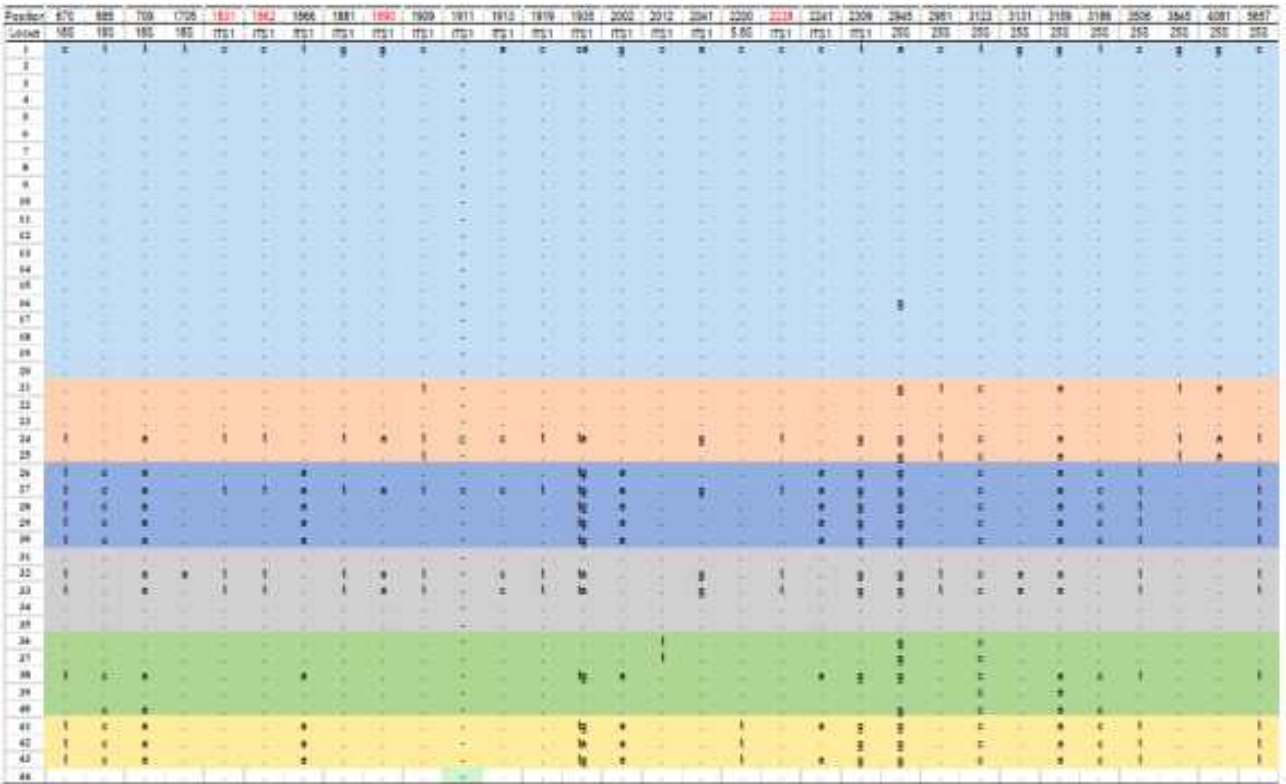
<sup>b</sup>number of accessions having a particular allele

\*marker validation

표 3-8 엽록체 완전장 서열 중 변이지역에 대한 44계통의 genotype정보



표 3-9 핵내 리보솜유전자 완전장 서열 중 변이지역에 대한 44계통의 genotype정보



라. 엽록체와 rDNA 완전장 서열에 기반한 양배추 44계통의 유연관계 분석 및 아종 식별

본 연구에서 확보한 엽록체의 39개 변이지역 정보와 리보솜유전자의 31개 변이지역 정보를 토대로 44개 계통의 유연관계 분석을 수행하였다. 엽록체는 모계유전을 하고 리보솜유전체는 양친 유전을 하기 때문에 각각의 유전체 정보를 구분하여 phylogenetic 분석을 수행하였다. 엽록체 서열정보 전체를 이용하여 44계통을 분석한 결과는 그림 3-12과 같은데, 비교적 양배추에 속한 여러 아종별로 clade가 묶이는 것을 확인할 수가 있었다. 유전체 전반에 걸쳐 발굴한 SNP들로 유연관계를 분석한 결과와 마찬가지로 크게 cabbage, kale, kohlrabi의 그룹과 broccoli, cauliflower, kailan의 그룹으로 나뉘어지는 경향을 보였으며, cabbage와 가장 가까운 것으로 보이는 아종은 kale, broccoli와 cauliflower가 가까운 유연관계를 보이는 경향으로 나타났다. 그러나 ac\_60 kale, ac\_65 kailan, ac\_48 적양배추, ac\_53과 57 kohlrabi 계통들처럼 다른 아종과 가깝게 묶이는 계통들도 다수 발견되었는데 이는 종묘회사들의 육종과정 및 유전자원 도입 과정에서 아종간 교배가 이루어지면서 나타나는 현상으로 추측된다.

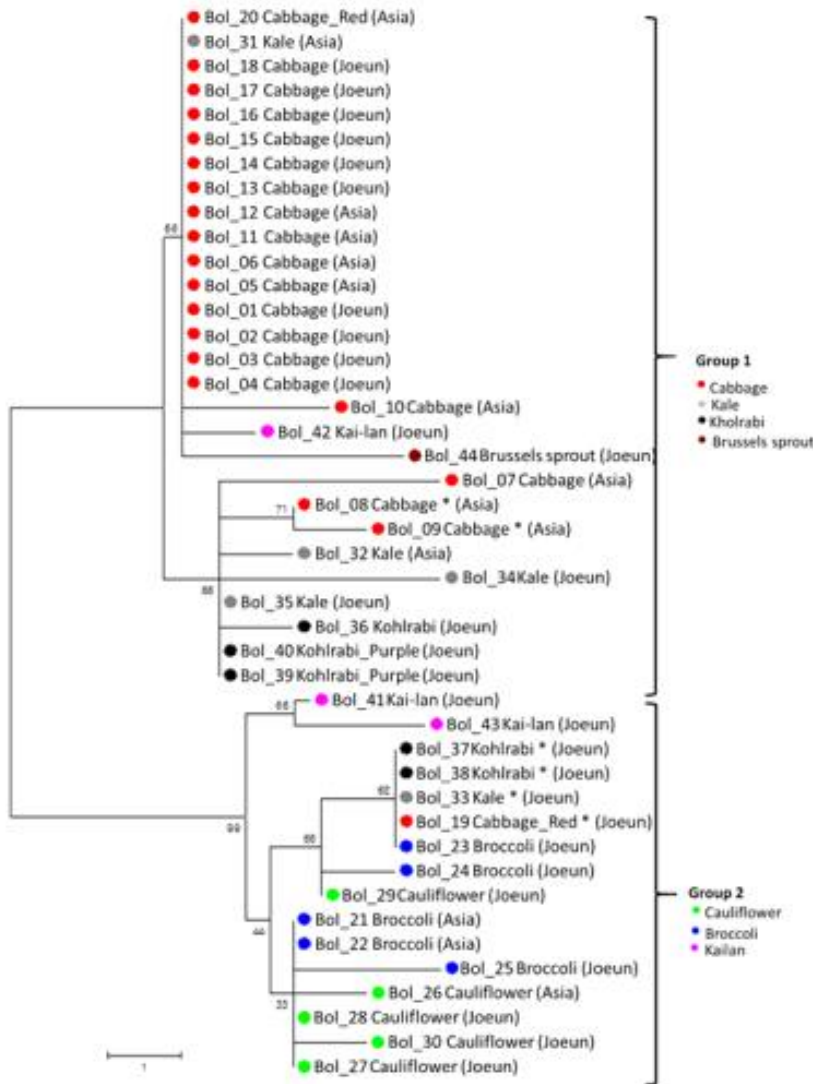


그림 3-12. 양배추 44계통 엽록체 염기서열 차이를 근거로 한 phylogenetic tree

위 엽록체 기반 계통도에서 다른 그룹으로 속하는 아종간 교잡 유래 계통을 배제하고 아종을 대표하는 2개 계통씩만 선별하여 계통도를 그렸을 때 아종간의 뚜렷한 식별과 유연관계가 설명됨을 확인할 수 있다. 엽록체 기반 계통도는 핵계놈전체 SNP를 기반으로 작성한 계통도와 거의 유사한 구조를 제공하고 있으며 이들 아종간 분화가 최근 17만년과 1만년 사이에 진행이 되고 있다는 매우 흥미로운 결과를 보여주고 있다 (그림 3-13).

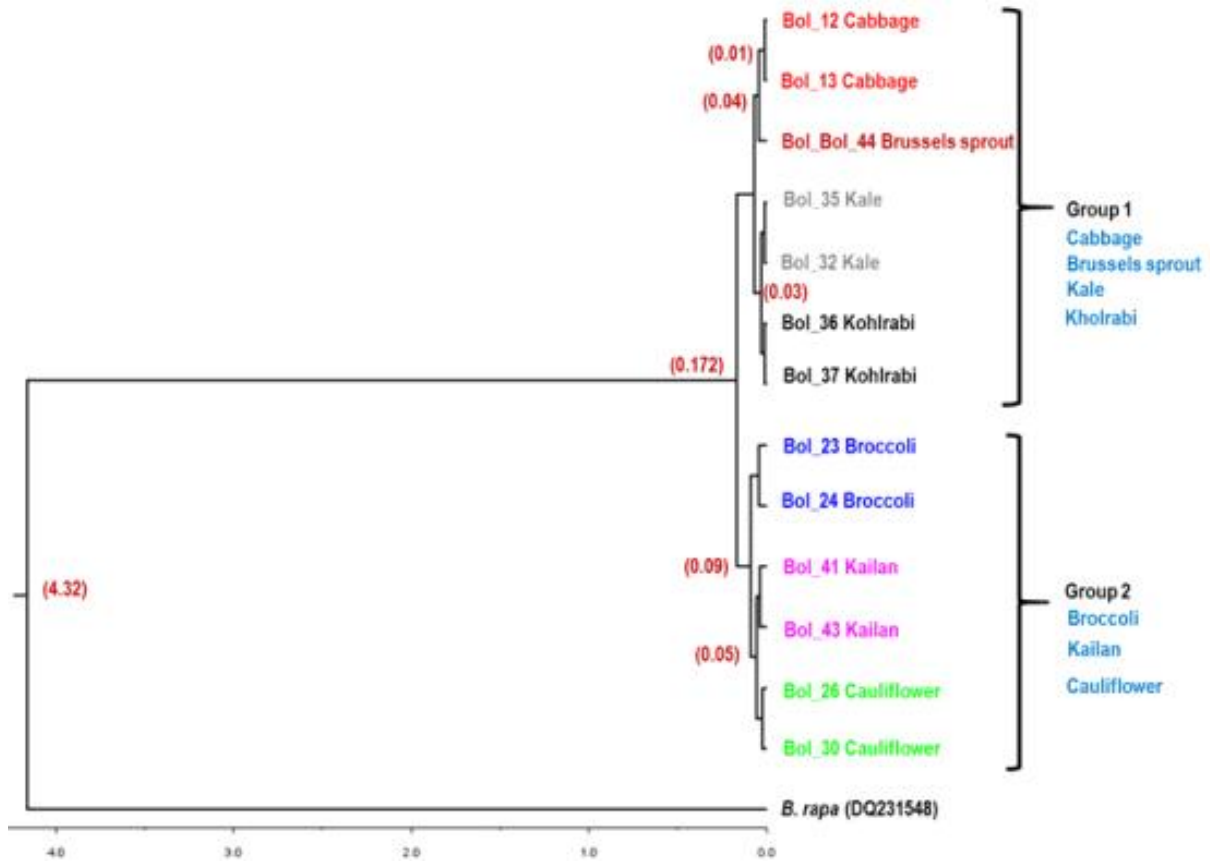


그림 3-13. 양배추 44계통 중 아종 대표 계통의 엽록체 서열 기반 계통도 및 진화시기 추정

반면에 리보솜 유전자 서열 정보를 기반으로 한 계통도는 아래와 같은데, 이 결과는 엽록체완전장 서열정보를 이용한 계통도와 약간 상이한 결과를 제공할 뿐 아니라 핵계놈 전체 SNP 정보 이용한 계통도와도 상이한 결과를 제공한다. 즉, 브로컬리계통의 경우 양배추와 콜라비, 케일과 같은 그룹으로 형성되고 카이란과 콜리플라워는 역시 같은 그룹으로 형성된다. 이와 같은 결과가 나온 원인은 전체 변이정도가 낮고 이에 기반한 분석이 충분한 표현력이 없거나 아니면 실제 특성일수도 있을 것이지만, 이에 대한 결과와 원인은 보다 많은 고찰을 요한다 (그림 3-14).





그림 3-14. 양배추 44계통 rDNA 염기서열 차이를 근거로 한 phylogenetic tree

#### 마. 양배추 계통간 염기서열 변이지역에 대한 마커제작

표 3-8,9에 명시한 sequence variation 지역 중에서 엽록체 지역에서 특정 계통에 변이를 보이는 지역에 대해서 그 지역을 특징적으로 증폭하는 마커를 제작하여 서열변이에 대한 검증을 실시하였다.

계통간 차이가 나는 SNP 및 INDEL 지역에 대하여 실제로 염기서열 해독이 잘 이루어졌는지 확인해보고자 마커를 제작하였다. Gel에 loading하여 전기영동으로 확인하는 방법보다 fluorescents dye를 통해 간단하게 확인할 수 있는 HRM (High Resolution Melting curves) 분석용 마커와 gel 기반 마커를 동시에 제작하였다. HRM 마커는 염기서열 기반 genotype 예측과 일치하여 완전장서열에서 보여주는 염기변이가 정확하며 유용한 마커로 활용될 수 있음을 설명하고 있다. 조은종묘의 51번 방울다다기와 63번 카이란 계통을 식별할 수 있는 각각 2개, 1개의 마커와 아시아종묘의 31번 양배추와 42번 콜리플라워를 식별할 수 있는 각각 2개, 1개의 마커를 확보할 수 있었다 (표 3-10, 그림 3-15).

표 3-10 엽록체 염기서열 차이를 기반으로 한 계통특이 HRM 마커정보

마커	Forward	Reverse	크기	특이계통
Bochlo-3	TTTCTTTCTTTCAATTCAATCTCG	GGGTTCGAATCCCTCTCTCT	151	51 방울다다기
Bochlo-11	TTGATTGGTTTTTCCCACCT	TTTGTAGATTGGTATGAATTTTTGAA	180	51 방울다다기
Bochlo-4	TCTTCACTTCATATTTGATCCATGA	TGGCTGTGATCTGTCATTACG	173	31 양배추
Bochlo-7	AAGGAATCCTGCTTTGCCTA	GGGGTTAAAGGAACGAATCA	173	31 양배추
Bochlo-5	TTCATACCACCGATAATGCTTG	GGCATGAAGGGACTCAATAAA	172	63 카이란
Bochlo-6	GAAGAGCTTTCGCATTTTGA	CTCCCCCTCCAAGAACTGTA	152	42 콜리플라워

표 3-11 엽록체 염기서열 차이를 기반으로 한 계통특이 전기영동기반 마커정보

Name	Forward	Reverse	size	RE
BoCP_dcaps_2sp	CATTCCTTTAGTTTGTGTAATTGATTC	ATATTTTACATATATAGAATTTAATGCCG	177	Hpa2
BoCP_dcaps_55sp	CTTATTATGACCATCCCTCATGG	TGATGAGTTCAGATATTAATGAACTCTTATA	194	Mse1
BoCP_dcaps_28Sp	TTTATAGTAAGATGAAAATCCGTTGACTGAT	AAAAGTGTCGGATGAATGAAAAA	156	Mbo1
BoCP_dcaps_199sp	GCCATCCTGTCCAATGAATTACT	TTGAGCCAATAAAACTGAGAAAATTGCIT	182	Mse1
BoCP_CNV	CAAAATCTTTGTGATTTTGGTGTTT	GGCTTGAAGCGGGTAAAA	151	

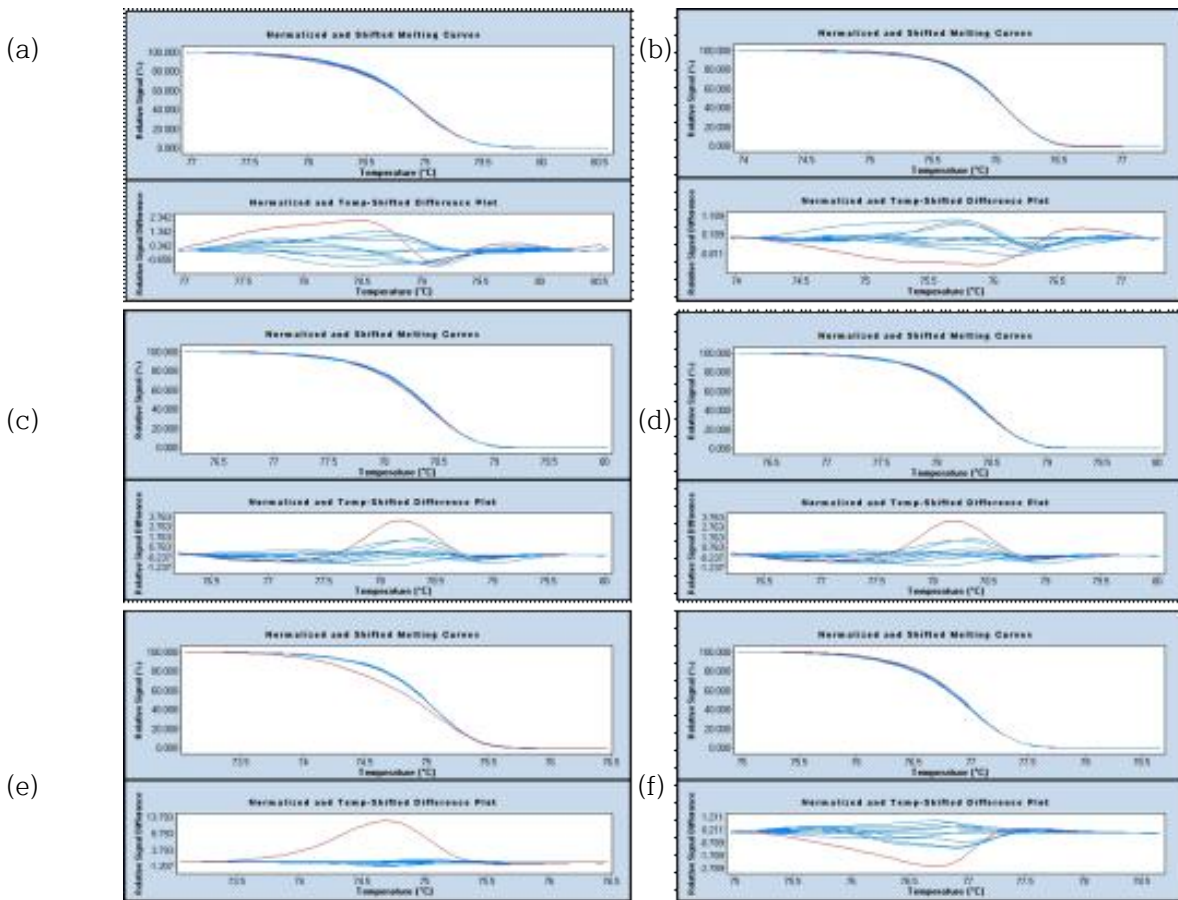


그림 3-15 Bochlo 마커들 HRM 실험결과. (a)Bochlo-3마커 (b)Bochlo-11마커 (c)Bochlo-4 (d)Bochlo-7 (e)Bochlo-5 (f)Bochlo-6. 각 결과에서 빨간색으로 표시되어 다른 결과가 나온 계통은 표 3-7에서 표기한 특이계통과 같다.



HRM마커의 경우 전기영동을 요하지 않는 장점이 있지만 이런 장비가 없거나 정량적인 표현이 필요할 경우 젤기반 전기영동에 의한 식별법을 요한다. 이를 위해 SNP 지역들은 PCR amplification 이후에 제한효소를 처리하여 SNP에 따라 digestion 유무로 명확하게 구분할 수 있는 dCAPS 마커로 제작하였으며 *ndhA* 유전자 지역은 tandem repeat들의 copy수의 차이로 amplicon의 길이가 다르게 나타나도록 마커를 제작하였다 (표 3-11, 그림 3-16).

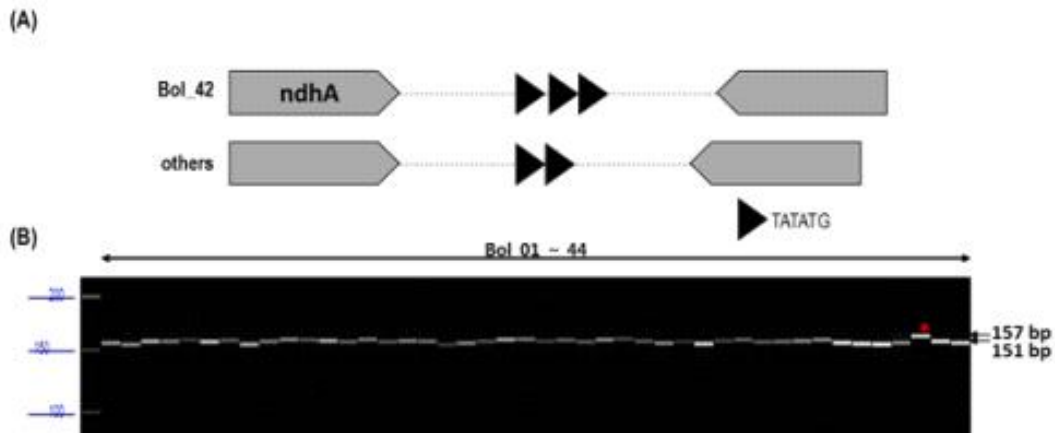


그림 3-16. 양배추 엽록체 InDel 변이의 마커 및 검증

표 3-10에 제작된 프라이머들에 대한 집단 분석결과는 모든 마커에서 완성된 염기서열에 맞는 기대한 결과와 동일한 것으로 나타났고 (그림 3-17), 이로 인해 본 연구실에서 수행한 엽록체 genome assembly가 잘 되었다는 것을 확인할 수 있었다. 현재 염기서열 변이를 보이는 다른 지역들, 특히 한 계통에 특이적인 지역들에 대해서 추가적인 마커를 제작하고 있다. 이렇게 개발된 마커들은 품종의 순도검정분석 뿐만 아니라 특정 육성계통들에 대한 종묘회사 및 육종가의 권리를 보호하는 데에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단됨에 따라 이 연구 내용을 특허로 출원하기 위한 과정이 진행 중이다.



그림 3-17 양배추 계통 특이 마커들의 검증 및 특이 계통 사진

## 5. 뿌리혹병 및 검은썩음병 분자마커 개발 및 실증

지난 1단계 중간평가지 검은썩음병에 저항성과 이병성을 보이는 두 양배추 모부분 계통들의 Whole genome resequencing data를 통해 양배추 9개 염색체 전반에 걸친 67만여개의 SNP를 발굴하고 다형성을 보이는 지역에 dCAPS 마커를 제작하여 유전지도를 작성하여 검은썩음병 저항성에 관여하는 1번 염색체내 주동 QTL, 3, 6번 염색체에 미동 QTL 지역을 동정한 바 있다. 또한 뿌리혹병 저항성 관련 연구에서는 genotyping-by-sequencing 기술을 이용하여 약 4,100개가 넘는 마커로 구성된 고밀도의 양배추 유전지도를 완성하고 뿌리혹병 병리검정을 통해 race 2에 해당하는 연천균주와 race 9에 해당하는 강릉균주에 대한 저항성 연관 QTL 지역을 동정한 바 있다. 이렇게 발굴된 두 병에 대한 저항성 연관 QTL 지역에 대해서 마커를 개발하여 여러 계통들에 대하여 분석을 실시하여 실증하는 것을 목표로 하였다.

### 가. 뿌리혹병 저항성 관련 논문 게재

뿌리혹병 저항성 연구에 대한 결과와 중국 BGI에서 완성한 양배추 표준유전체 염기서열을 revision하는 내용에 대해서 논문 작성을 완료하여 연내 학술지 게재를 본 과제 3차년도 목표로 준비하였고 SCI 국제학술지인 DNA Research 저널에 투고하여 11월에 publish 되었다. 두 개의 양배추 표준유전체 염기서열 모두를 작성한 유전지도와 비교하여 validation을 하는 것이 좋겠다는 reviewer의 의견을 받아서 지난 1단계 중간평가에 중국 BGI에서 완성한 서열만으로 수행했던 유전지도와 물리지도의 비교분석 (그림 3-18A)을 Canada 그룹에서 완성한 염기서열에도 동일한 조건으로 분석을 실시하였다 (그림 3-18B).

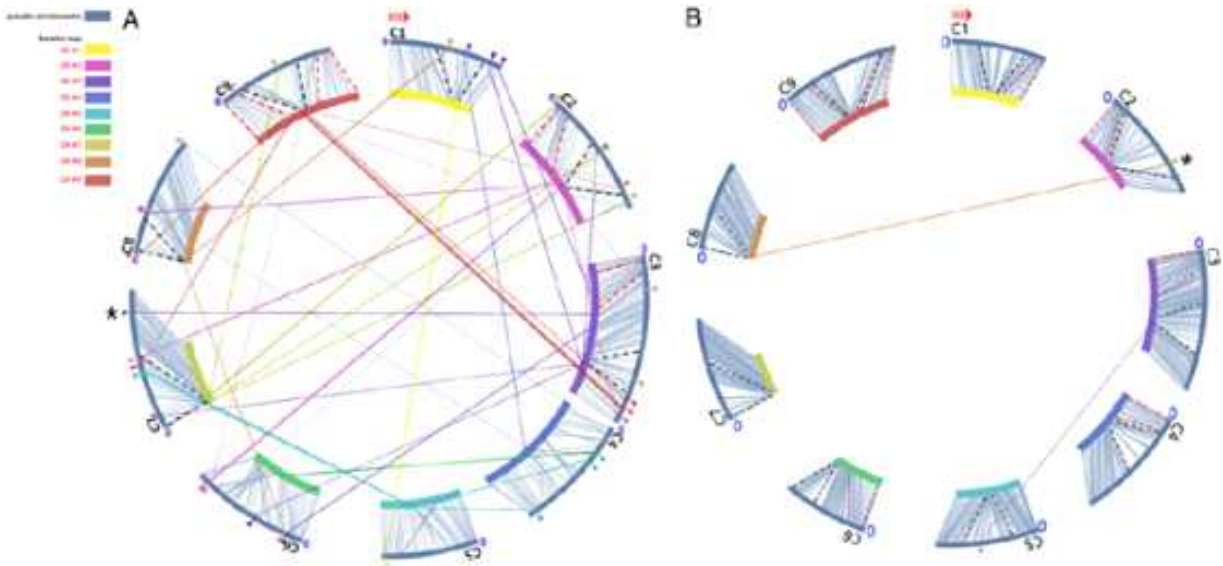


그림 3-18. 두 양배추 표준유전체 염기서열과 GBS기술로 완성한 유전지도들의 비교그림

중국 BGI의 양배추 염기서열에서는 총 40 군데의 mis-allocated scaffold 지역들이 발견되었는데, Canada 그룹의 서열에서는 단 두 군데의 mis-allocated scaffold 지역들이 발견되었다. BGI 서열은 본 과제의 재료와 같은 cabbage 아종에 속하는 accession 이고, Canada 서열은 kale 아종에 속하는 accession임에도 불구하고 Canada 서열과 연구실에서 작성한 유전자지도가 훨씬 더 높은 colinearity를 보였다. 이는 표준유전체서열을 만들 때 assembled scaffold들을 pseudo molecule 형태로 만들기 위해 작성한 유전자지도가 BGI에서는 약 2000여개의 PCR-based 마커들을 사용하였고 Canada그룹에서는 GBS 방법을 사용했기 때문으로 추정된다. 두 양배추 서열에서 나타난 mis-allocated scaffold들이 원래 anchoring 되어야 할 것으로 추정되는 지역들이 맞는 것인지를 확인해보고자 그림 3-8에서 “\*”로 표시한 표준유전체 genome 당 한 개씩의 mis-allocated 지역들과 서로 다른 genome 서열내 그 지역에 corresponding 하는 지역과 dotplot을 통해서 비교 분석을 실시해보았다 (그림 3-19).

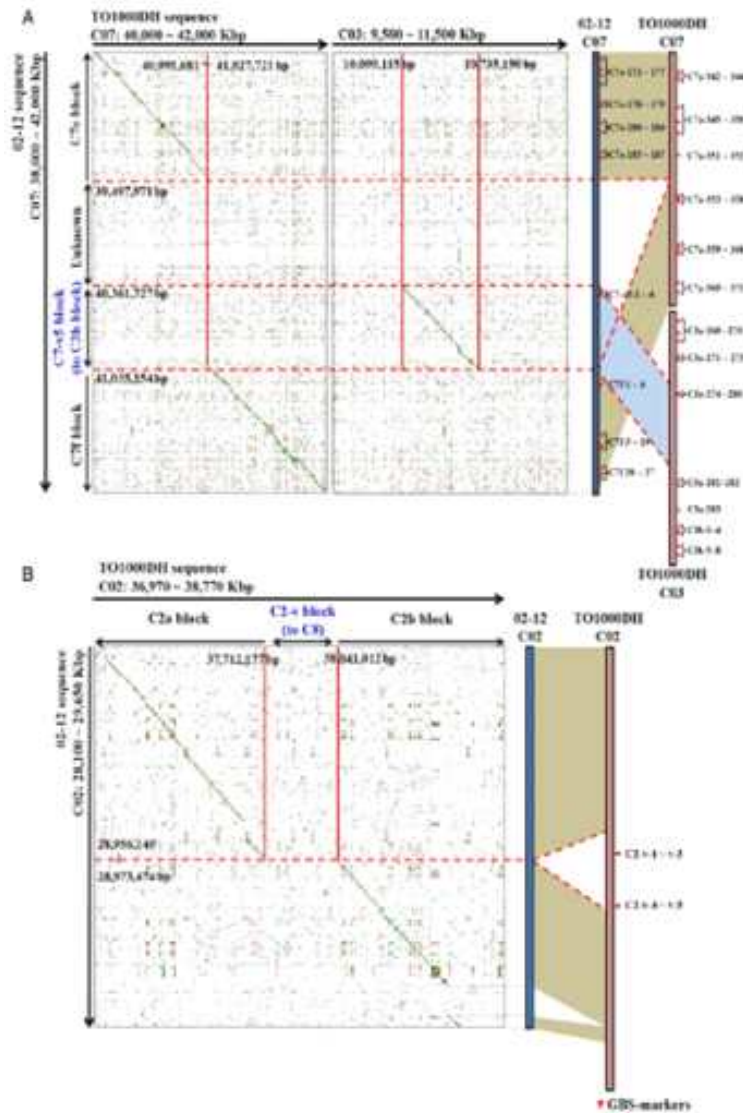


그림 3-19. 양배추 reference 서열내 Mis-allocated scaffold 지역들과 corresponding 지역들에 대한 비교그림

그림 3-19A BGI 완성 genome 서열에서 “\*” 표시된 7번 염색체내 mis-allocated scaffold 지역을 포함하여 주변 flanking sequence까지를 추출하여 Canada genome내 7번 염색체 서열과 비교해본 결과 mis-allocated scaffold 지역을 제외한 주변 서열만이 colinear한 것을 확인하였고, 그 mis-allocated 지역은 re-positioning 되어야할 3번 염색체 서열과 colinear함을 보였다. 이 결과로 Euchromatin 지역으로 추정되는 이 지역은 우리가 분석한 대로 7번 염색체가 아닌 3번 염색체로 가야하는 것이 맞는 것을 validation 할 수 있었다. 또한 그림 3-19B Canada 완성 genome 서열에서 2번 염색체 내 “\*” 된 지역 역시 BGI 서열 2번 염색체 서열과 비교한 결과 주변 flanking sequence만 colinear함을 보였다. 하지만 mis-allocated 지역이 원래 positioning이 되어야 8번 염색체내 지역과 corresponding sequence는 BGI genome 서열에서 찾을 수 없었다. 이는 이 지역이 assembly가 어려운 heterochromatin에 해당하기 때문에 pseudo molecule 형태의 서열이 60Mb정도 더 작은 BGI reference genome에 포함되어 있지 않은 것으로 추정할 수 있었다.

이 연구결과를 통해 본 연구실에서 수행한 GBS 방법이 정밀하고 정확한 유전자 지도를 완성하

는 데에 매우 효율적인 방법이라는 결론을 얻을 수 있었고, 추후 reference genome 서열을 완성한 다른 국제 그룹과의 협력으로 양배추의 표준유전체 서열을 개선시킬 수 있는 정보를 생산하였다고 생각된다. 그럼으로써 전 세계 많은 연구그룹에서 수행하는 양배추 연구에 기본빠대로써 정확한 정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 나. 뿌리혹병 분자마커 개발 및 실증

지난 연구결과로써 위 논문에서 동정한 뿌리혹병 저항성 연관 QTL지역은 그림 3-20과 표 12과 같다. 2번 염색체에서 race 9 강릉균주에 대한 저항성 QTL인 CRQTL-GN\_1, 3번 염색체 지역에서 강릉균주, race 2 연천균주 모두에 대한 저항성 QTL인 CRQTL-GN\_2 혹은 CRQTL-YC 두 지역이 동정이 되었다.

표 3-12 동정된 뿌리혹병 저항성 연관 QTL 지역정보

Isolation test (QTL name)	Linkage group	Marker interval	Scored marker of peak	LOD/LOD <sup>a</sup>	add/dominant effect <sup>b</sup>	variance explained (%) <sup>c</sup>
GNrace 9 <sup>9</sup> 2B <sup>12</sup>	CRQTL-GN_1 (C)	C2-111 - C2-111	C2-114	4.97	add	20
	CRQTL-GN_2 (C)	C2-776 - C2-140	C2-530	1.77	add	23.5
GNrace 9 <sup>9</sup> 2B <sup>14</sup>	CRQTL-GN_1 (C)	C2-361 - C2-1	C2-54	1.40	add	2
	CRQTL-GN_2 (C)	C2-111 - C2-111	C2-147	4.08	add	20
YCrace 2 <sup>10</sup> 2B <sup>14</sup>	CRQTL-YC (C)	C2-111 - C2-153	C2-450	3.73	add	47.1

<sup>a</sup> Peak LOD score of the QTL

<sup>b</sup> Additive or dominant effect of QTL's allele

<sup>c</sup> Percentage of variance explained at the peak of QTL

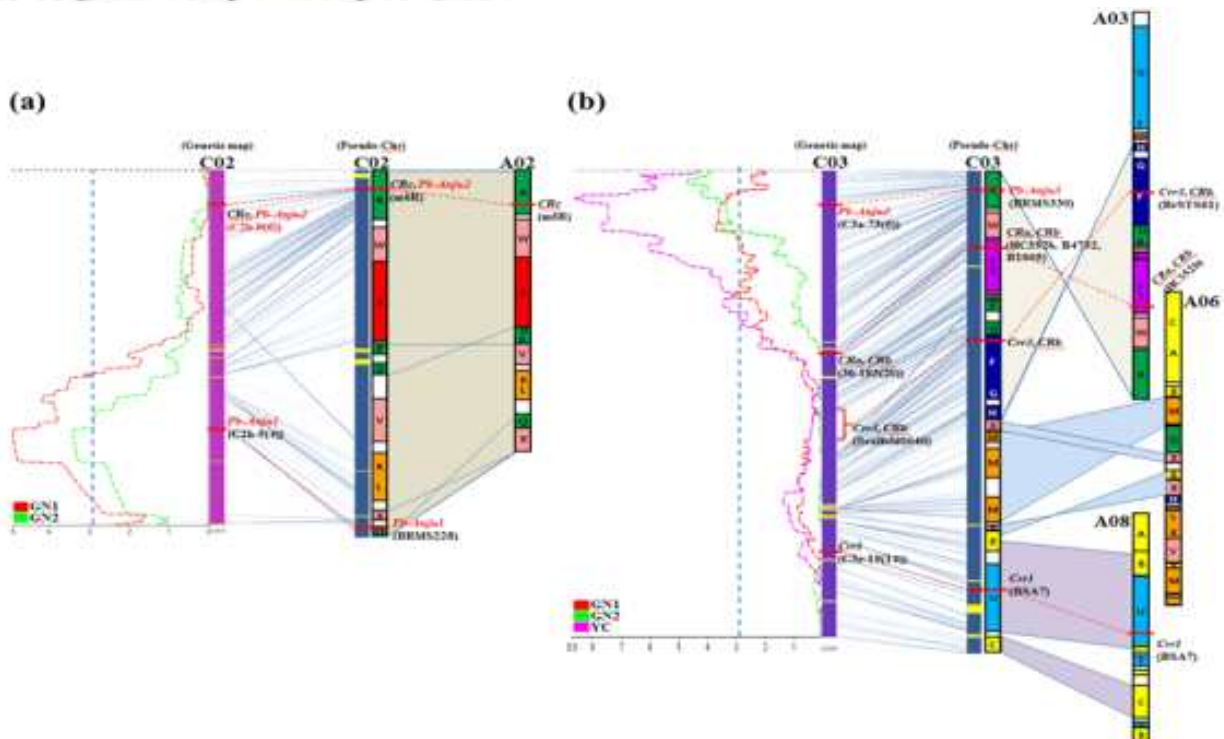


그림 3-20. 동정한 뿌리혹병 저항성 QTL지역과 기존 배추와 양배추에서 보고된 저항성 연관 유전자와 QTL 지역과의 비교. (a) CRQTL-GN\_1을 포함하는 양배추 2번 염색체와 유전지도를 counterpart 관계인 배추의 2번 염색체와 비교, (b) CRQTL-GN\_2와 CRQTL-YC를 포함하는 양배추 3번 염색체와 유전지도를 배추의 counterpart 관계인 지역들과의 비교.



두 QTL 지역에서 가장 높은 LOD 값을 보인 GBS-SNP마커들 중 각 QTL당 한개씩의 dCAPS 마커를 제작하였고 (표 3-13) 24개의 양배추 계통들의 샘플을 조은종묘에서 받아 맹검시험을 수행하였으며 그 결과는 그림 3-21, 표 3-14와 같다. 맨 뒤 C1176, C1220 계통은 뿌리혹병 저항성 연구에 모부본으로 사용된 계통으로 뿌리혹병에 각각 이병성 (S) 과 저항성 (R)의 형질을 가지고 있다.

표 3-13. 뿌리혹병 저항성 QTL 지역에서 개발한 dCAPS 마커 정보

QTL Region	Marker	Forward	Reverse	size	RE
CRQTL_GN-1	GBS_C2h-1	GCCAAACAATAGCTTAGAAAGAGAA	TTCAAGATATATATGGATTGGACAACGAT	154	Mbo1
CRQTL_GN-2 (CRQTL_YC)	GBS_C3a-70	GGTCATTTTTGTCTGCATCAAGT	TCCTTCTTACATCCTTGTAACCATACGT	224	Rsa1

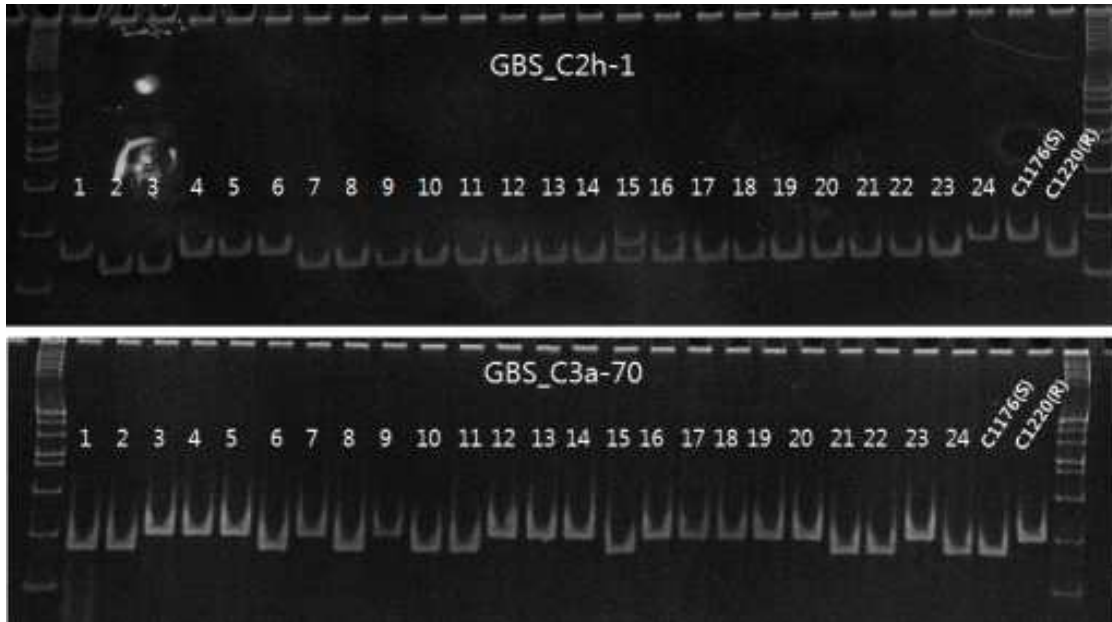


그림 3-21 뿌리혹병 저항성 판별을 위해 제작한 마커로 24개체 양배추에 맹검시험 결과

표 3-14. 뿌리혹병 맹검시험 결과 genotyping 결과와 phenotyping 결과 비교

QTLs	Markers	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	S	R
CRQTL-C2_GN	GBS_C2h-1	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
CRQTL-C3_GN & YC	GBS_C3a-70	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R
<b>Genotype Result (SNU)</b>		S	S	R	H	H	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R
<b>Phenotype Result (Joeun)</b>		S	S				S											R	R	R				S	S	R	

두 마커에서 모두 저항성 밴드를 보이면 저항성 개체, 연천균주와 강릉균주 모두에 대한 저항성에 관여하는 CRQTL-GN\_2 (CRQTL-YC)에서 제작한 마커에만 저항성 밴드



를 보이면 중도저항성 개체, CRQTL-GN\_1의 마커에만 저항성 밴드 profile을 보이거나 두 마커에서 모두 이병성 밴드 profile을 보이는 개체는 이병성 개체로 판별하였다. Genotyping 결과를 조은종묘에서 수행한 실제 병리검정 결과와 비교해보았다 (표 3-14) 24 개체 중에 실제 병리검정을 수행한 1, 2, 17, 18, 19, 24, 25번 7 개체의 접종결과가 100 % 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 추후 나머지 17개체에 대해서 조은종묘에서 추가적인 병리검정이 수행될 예정으로 병저항성 형질조사와 마커 실험 결과를 연계할 예정이고, 좀 더 정밀한 저항성 판별마커시스템을 만들기 위해 본 연구실에서도 추가 마커를 제작하여 실험을 진행할 것이다. 개발한 마커들로 인해 조기에 저항성을 판별할 수 있는 시스템이 구축이 되면 빠르게 뿌리혹병 저항성 품종을 육성하여 육종연한을 단축시킬 수 있을 것으로 기대하고 있으며, 이에 대해 2번과 3번 염색체에서 동정한 저항성 QTL 지역과 판별마커들에 대한 특허출원을 준비 중에 있다.

#### 다. 검은썩음병 분자마커 개발 및 실증

본 과제의 지난 1, 2차년도 결과로 양배추 검은썩음병의 저항성에 관여하는 QTL 지역을 동정하여 국제저널인 BMC Plant Biology에 올해 2월에 게재한 바 있다. 3번의 반복적인 병리실험의 결과와 검은썩음병에 각각 저항성과 이병성인 모부본 계통들의 WGS data들을 활용하여 SNP 지역들에서 제작한 dCAPS마커를 포함한 약 360여개의 마커로 구성된 유전자지도를 연계하여 1 번 염색체내 주동 QTL 지역인 BRQTL-C1\_1과 BRQTL-C1\_2, 그리고 미동 QTL인 BRQTL-C3 과 BRQTL-C6을 동정하였다 (표 3-15).

표 3-15. 검은썩음병 저항성 연관 QTL 정보

Inoculation test	QTL name	Linkage group	Marker interval (cM)	Marker nearest to peak in LOD score	LOD <sup>a</sup>	Additive effect <sup>b</sup>	Variance explained (%) <sup>c</sup>
1st test (2012)	BRQTL-C1_1	C1	H073E22-3 - BoRSdcaps1-11 (2.8 cM)	BnGM5301	3.871	-0.714	17.8
	BRQTL-C1_2	C1	BoRSdcaps1-13 - BoEdcaps4 (28.1 cM)	BoE5SR089	4.720	-0.697	21.2
	BRQTL-C3	C3	BoRSdcaps3-12 - BoE5SR291 (7.6 cM)	B041F06-2	3.834	-0.661	17.6
2nd test (2013)	BRQTL-C1_2	C1	BoE5SR089 - BoEdcaps4 (15.8 cM)	BoEdcaps4	3.051	-0.602	15.1
3rd test (2014)	BRQTL-C1_1	C1	H073E22-3 - BoRSdcaps1-11 (2.8 cM)	BoE5SR726, BoE5SR145	3.881	-0.912	19.8
	BRQTL-C1_2	C1	BoRSdcaps1-14 - BoEdcaps4 (22.6 cM)	BnGM5299	5.619	-0.987	27.3
	BRQTL-C6	C6	sR12387 - BnGM5353 (9.5 cM)	O110-G06	3.847	-0.868	19.6

Shown are position of the QTL on the map, LOD scores, additive and dominant effects, and percentage of variance explained.

<sup>a</sup>Peak LOD score of the QTL.

<sup>b</sup>Additive or dominant effect of C1234 allele.

<sup>c</sup>Percentage of variance explained at the peak of QTL.

이렇게 동정된 QTL지역과 개발되어 있는 마커들의 검은썩음병 저항성 판별에 대한 활용성을 검증해보기 위해 위에서 뿌리혹병 저항성 맹검시험에서 언급한 24개 양배추 계통들을 대상으로 QTL 지역내 가장 높은 LOD값을 보이는 6개의 마커들을 활용하여 역시 맹검시험을 수행하였다. 주동 QTL인 BRQTL-C1\_1, BRQTL-C1\_2 두 지역에서 선발된 마커들은 genomic SSR 2개, EST-SSR 3개, EST-dCAPS 1개 마커로 구성되어 있다 (표 3-16).

표 3-16. 뿌리혹병 저항성 QTL 지역내 마커 정보

Marker	Type	Forward	Reverse	RE
BnGMS301	SSR	AATATGCAGCATTCTAGACAAA	ATCATTCTCGTGATGACACA	
BoESSR089	EST-SSR	ATGATCAGCGAAACCACTCC	TGATACATCCCGTTTGCTCA	
BoEdcaps4	EST-dCAPS	GCAACGTTCCCTGTTCTTGT	GCCGTTGACTACATCGACGAGAGCGGGATC	BamHI
BoESSR726	EST-SSR	CAATGGGTTACGCATGGTTT	CGTTTGTGAAACAGCCATTG	
BoESSR145	EST-SSR	GGGCGAGGATGGTTACTACA	TCATACCCCAAGGCTATTTT	
BnGMS299	SSR	AACGTTGGAAAGAACTTTGA	TTTCAATGGTTTGTTGATGA	

수행한 맹검시험의 결과는 그림 3-22와 같으며 6개의 마커에서 모두 clear한 PCR 밴드 profile을 얻을 수 있었다. 맨 마지막 C1184와 C1234는 검은썩음병 저항성 연구에서 모부분으로 사용된 계통들로 각각 이병성 (S)와 저항성 (R)의 표현형을 가지고 있다. Genotyping profile의 결과를 표 3-17와 같이 정리하였으며, 한 QTL내 세 개의 마커중 두 개 이상에서 저항성인 밴드 profile을 보이면 저항성 QTL. 두개 이상의 마커에서 이병성 밴드 profile을 보이면 이병성 QTL로 구분하였다.

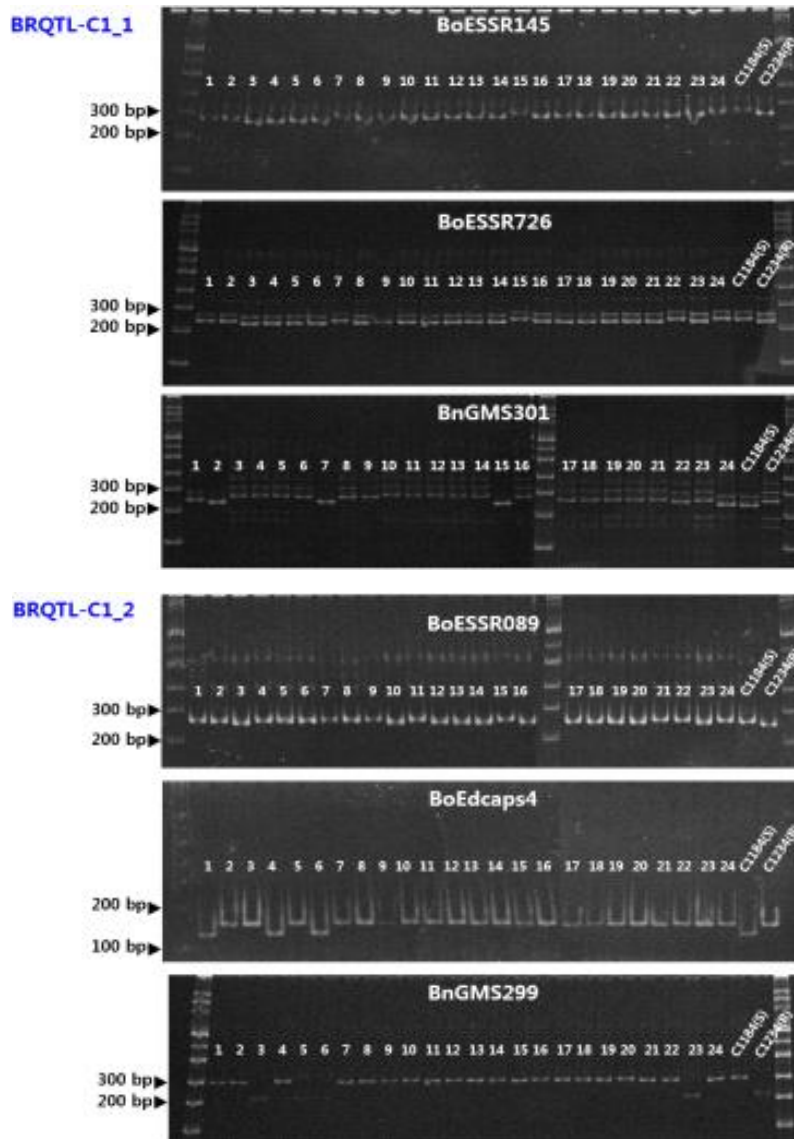


그림 3-22 검은썩음병 저항성 판별을 위해 제작한 마커로 24개체 양배추에 맹검시험 결과

표 3-17. 검은썩음병 맹검실험 결과 genotyping 결과와 phenotyping 결과 비교

QTLs	Markers	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	S	R	
BRQTL-C1_1	BoESSR726	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	
	BoESSR145	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	
	BnGMS301	S	-	R	R	R	R	-	S	S	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	
BRQTL-C1_2	BoESSR089	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	
	BoEdcaps4	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
	BnGMS299	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
Genotype Result (SNU)		S	S	R	IR	R	IR	S	IR	IR	R	IR	R	R	R	S	R	R	R	R	R	IR	IR	R	S	S	R	
Phenotype Result (Joeun)		S	S	R	S	S	S	R	IR	IR	R	IR	R	R	R	S	R	R	R	R	R	IR	IR	R	S	S	R	

BRQTL-C1\_1과 BRQTL-C1\_2에서 모두 저항성의 실험결과를 보이는 개체는 검은썩음병에 저항성인 개체, BRQTL-C1\_1에서만 저항성 실험결과를 보이면 중도저항성을 가진 개체, 두 QTL 지역에서 이병성 실험결과를 보인 개체는 이병성으로 판단하였다. 이 genotyping 결과 역시 조은종묘에서 수행한 병리검정 결과를 비교해보니 표 3-17과 같이 24개의 검체 중에서 22개체는 정확히 일치하거나 중도저항성과 이병성인 작은 차이를 보이는 등 높은 적중률을 보였다. 이 실험 결과로 소량의 시료로부터 DNA를 추출하여 조기에 검은썩음병의 저항성 및 이병성을 조기에 식별할 수 있는 마커의 활용방법을 구축하였다고 판단하였고, 이에 국내 특허 출원이 진행 중이다. 국내 종묘회사에서 실제 사용중인 육성계통을 대상으로 동정한 저항성 소스이기 때문에 향후 우리나라 양배추 검은썩음병 저항성 품종을 육성하는데 드는 비용 및 노동력, 육종연한을 단축시키고 나아가 시장경쟁력 강화에 도움이 될 수 있을 것으로 기대된다.

## 6. 양배추 주요 Repeat 서열 발굴 및 활용성 연구

### 가. 양배추 주요 repeat sequence 연구

엽록체, 핵내 rDNA, 미토콘드리아 genome을 assembly할 수 있는 실험실 구축 pipeline에서 resequencing data를 통해 양배추 genome의 주요 repeat element들에 대한 분석을 진행하였다. WGS한 10개 계통 중 14번 양배추에서 생성된 약 6.2x coverage의 정보 중 1x(약 690 Mb)에 해당하는 양을 random으로 추출하여 assembly를 실시하였다. 이렇게 만들어진 contig들에 추출한 1x양의 raw read들을 mapping하여 가장 평균 depth가 높은 contig 30개, 가장 길이가 긴 contig 30개를 각각 골라내어 분석을 실시하였다. NCBI에서 BLAST분석과 GIRI(Genetic Information Research Institute)에서 Repeat Masking 분석을 통해서 contig들을 분류하고 어떤 repeat 종류에 해당하는지를 비교하였으며 이를 토대로 양배추에 가장 많은 양을 차지하는 9 종류의 repeat을 발굴하였고 이들에 대한 유전체내 정보를 예측하였다.

이들 주요 repeat 9종류는 실제로 유전체 내에 많은 양을 차지하고 있지만 보고된 표준유전체 정보에는 0.75% 만 포함되어 있다 (표 3-18). 중국 BGI와의 공동연구를 통해 연구실에서 이미 tandem repeat 형태로 존재하는 CentBo-1과 2라는 두 가지 type의 176bp centromeric repeat을 동정해놓았기 때문에 이 정보와 비교하며 centromeric repeat들에 대한 일차적인 분

석을 수행하였다. 분석 결과 176bp Centromere tandem repeat에 대해 1x coverage WGS를 이용하여 정량한 추정치는 이 전체 유전체내 36Mbp 영역에 존재하고 있음을 나타내는데 이는 전체 유전체 크기의 약 5.7%에 해당하는 양이다 (표 3-18). 그 외 7가지 repeat을 포함하여 전체 9종류의 repeat에 대한 정량은 약 11%에 해당함을 보여준다. 이처럼 9종류의 간단한 repeat 구조가 양배추 전체 유전체의 68Mbp 정도를 점유하고 있음을 알 수 있다.

본 연구를 통해 양배추 특이적인 Type3 Copia retrotransposon (Bo-Cop-1)과 양배추 특이적인 BoCACTA transposable element를 처음 발굴하였는데, 이 두 개의 전이인자는 약 2Mbp와 약 9Mbp로 전체의 0.3%와 1.4%를 점유하고 있다 (표 3-18). 이들 전이인자의 염색체내 분포를 확인하기 위하여 Fluororecent In Situ Hybridization분석을 수행하였는데, 특이하게도 양배추와 가장 유사종인 배추에는 매우 소량이 존재하여 이들은 양배추와 배추가 분화하고 나서 특이적으로 양배추 계통에서만 증폭이 된 것으로 양배추 계통, 특이 마커로써의 활용성과 학문적 가치가 높음을 알 수 있다 (그림 3-23).

표 3-18 양배추 주요 repeat의 표준유전체 분포양과 WGS기반 추정량

Repeat element	Unit length (bp)	Reference genome (540 Mbp)							1x WGS (630 Mbp) <sup>a</sup>			GP by FISH (%)	GA (%) <sup>c</sup>	Element Source
		Pseudo-molecule (185 Mb)		Unanchored scaffold		Total (a+b) (Kb) (A)		GP <sup>b</sup> (%)	GR (x)	GR (Kb) (B)	GP (%)			
		(copy)	(Kb) (a)	(copy)	(Kb) (b)	(copy)	(Kb) (A)							
CENTBo1	177	460	74.77	743	120.85	1203	196.62	0.05	114,077 (±27196.3)	20,192 (±4814.1)	3.2	0.75	0.97	Liu et al. 2014
CENTBo2	177	510	83.2	1414	233.90	1924	317.13	0.08	89,827 (±26227.1)	15,099 (±4642.2)	2.52	1.63	1.99	Liu et al. 2014
5S rDNA	503	55	26.91	86	43.15	143	70.07	0.02	1286 (±510.5)	647 (±256.6)	0.1	7.3	10.83	Nomár et al. 2015
45S rDNA	7586	1	5.1	0	0	1	5.1	0.00	1,072 (±607.8)	8,136 (±4610.5)	1.29	6.17	0.06	Nomár et al. 2015
BoSTR-A	354	820	258.13	691	218.67	1,511	477	0.13	3,829 (±1043.4)	1,354 (±368.9)	0.21	2.55	35.23	Koo et al. 2011
BoSTR-B	351	3,114	1,040.51	2,072	694.37	5,186	1,734.88	0.45	21,067 (±5707.9)	7,394 (±2003.5)	1.17	4.67	23.46	(Sampath 2016)
GRB	6156	2	11.64	0	0	2	11.64	0.00	486 (±104.9)	2,995 (±645.6)	0.48	2.95	0.39	Liu et al. 2014
BoCop-1	6681	10	58.93	5	28.69	15	87.62	0.02	296 (±46.3)	1,968 (±329.3)	0.32	1.75	4.41	Sampath 2016
BoCACTA	8398	0	0	0	0	0	0	0.00	956 (±103.2)	8,967 (±970.4)	1.43	2.7	0	Aix et al. 2008
Total		4972	1,559.19	5013	1,339.86	9985	2,899.06	0.75	232,898 (±61552.4)	67,592 (±18641.2)	10.72	30.5	4.29	

<sup>a</sup> Repeats were estimated based on the *in silico* read mapping analysis on 44 *Brassica oleracea* accessions and the average values were represented to 1x wgs coverage (630 Mb).

<sup>b</sup> Genome proportion (GP): (Total amounts in Kb in reference genome/ 630,000Kb) x 100

<sup>c</sup> Genome appearance (GA) Percentage of repeat amounts in reference genome compared to the estimated amounts in 1x wgs. Kb: amounts in kilo base pair, SD: standard deviation



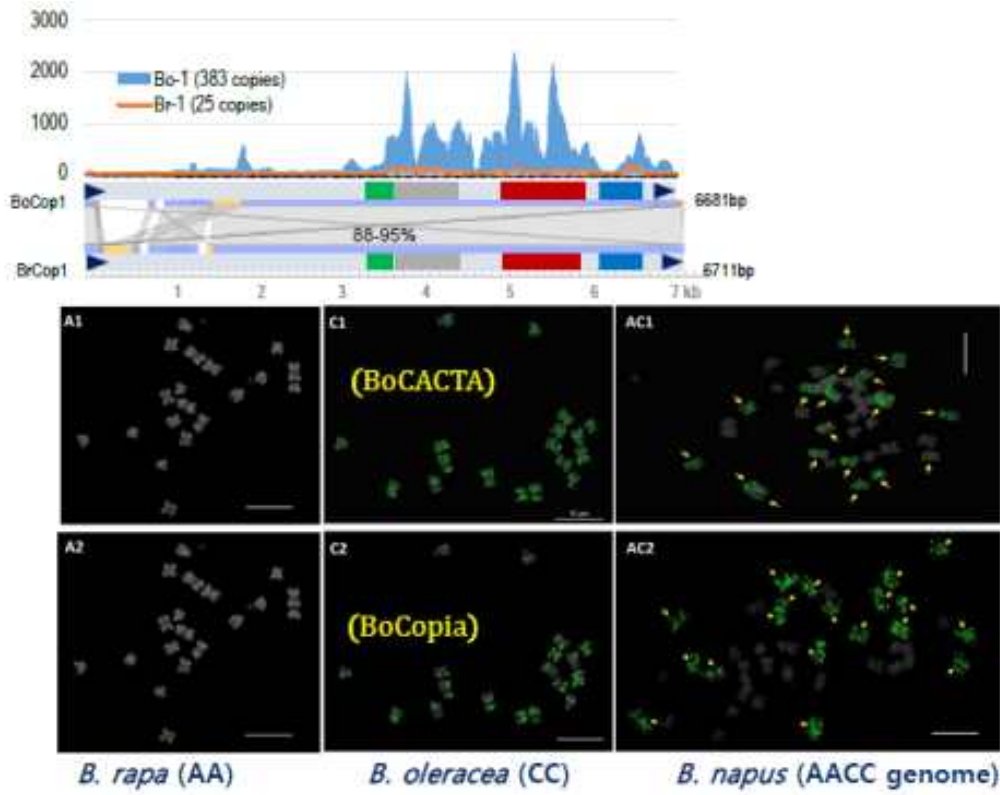


그림 3-23 양배추에 특이적으로 많이 존재하는 BoCopia의 구조 및 BoCopia와 CoCACTA의 FISH 분석을 통한 양배추 특이 존재 검증



### 나. 양배추 주요 repeat을 이용한 염색체 구조 핵형분석

위에서 발굴한 9개의 major repeats을 probe로 하여 FISH 분석을 수행하였고 양배추의 정밀 핵형지도를 완성하였다 (그림 3-24). 각각의 major repeat은 염색체에 특징적인 위치에 많은 양이 존재하기 때문에 염색체의 모양을 결정하고 각 염색체를 식별하는데 중요한 지침을 제공한다. 이를 토대로 아래와 같이 양배추의 염색체에 대한 명확한 식별법을 정립하였다.

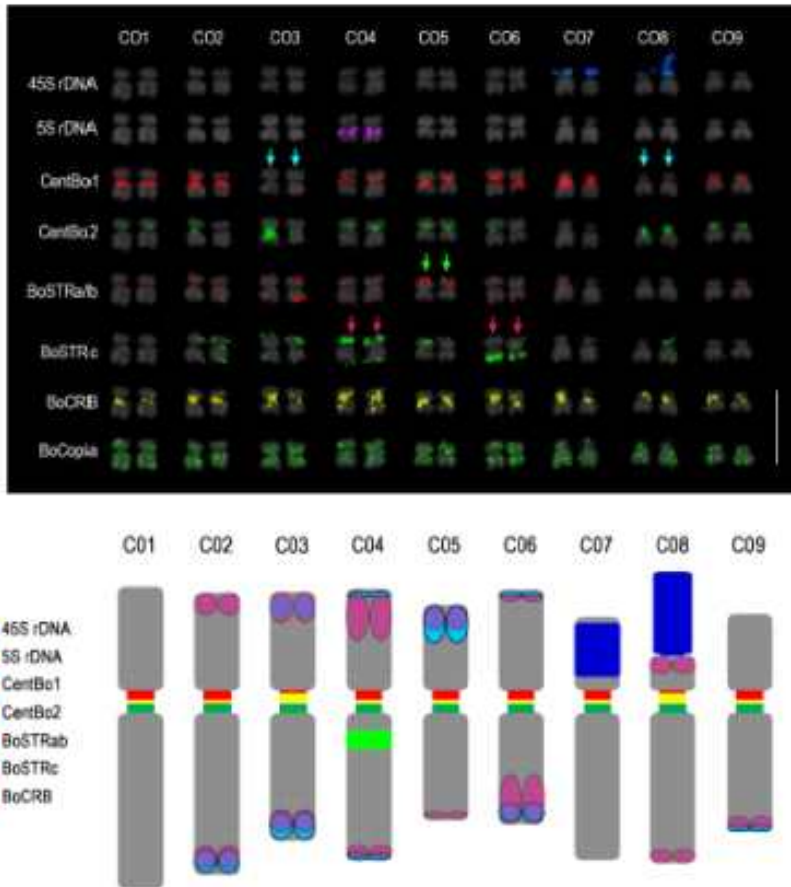


그림 3-24. 양배추 major repeat의 분포 FISH분석 및 이에 기반한 염색체 식별 핵형구조

### 다. 양배추 주요 repeat의 종간 및 종내 정량변이 분석

위에서 발굴한 9개의 major repeats에 대해 양배추 44개 WGS서열 1x coverage 서열을 매핑하여 각각의 계통 내에 분포하는 각 repeat의 양을 정량값으로 추정하였다. 전체 repeat의 함량과 각각의 repeat 함량이 계통 간 변이를 보여주지만 전체적으로는 유사한 경향을 나타내고 있어 추정값이 각 계통의 특징을 설명한다고 할 수 있다 (그림 3-25). 인 추정치가 많은 변이를 보여주고 배추 10계통과 양배추 44계통, 그리고 유채 2계통을 대상으로 각 repeat의 정량분석을 수행하였다. 정량은 위에서 수행한 것처럼 WGS 1x coverage를 이용하여 각각의 repeat 서열위에 mapping하고 mapping depth를 기준으로 정량 비교하였는데, 특히 위에서 예측한 것처럼

CACTA와 Copia는 양배추 계통들 모두 매우 많은 카피수로 존재하지만 배추 계통들에는 매우 적은 양을 보유하고 있는 것으로 확인되어 우리의 예측대로 이 두 개의 repeat은 양배추에 특이적으로 많이 증폭된 것으로 확인된다. 그 외의 repeat들도 종내 변이가 있지만 종간 변이를 더 명확하게 보여주고 있어 이들 repeat이 배추와 양배추의 종분화와 진화에 매우 결정적 역할을 한 것으로 추정된다 (그림 3-26).



그림 3-25. Major repeat종류별 양배추 44 계통 내 정량 분석

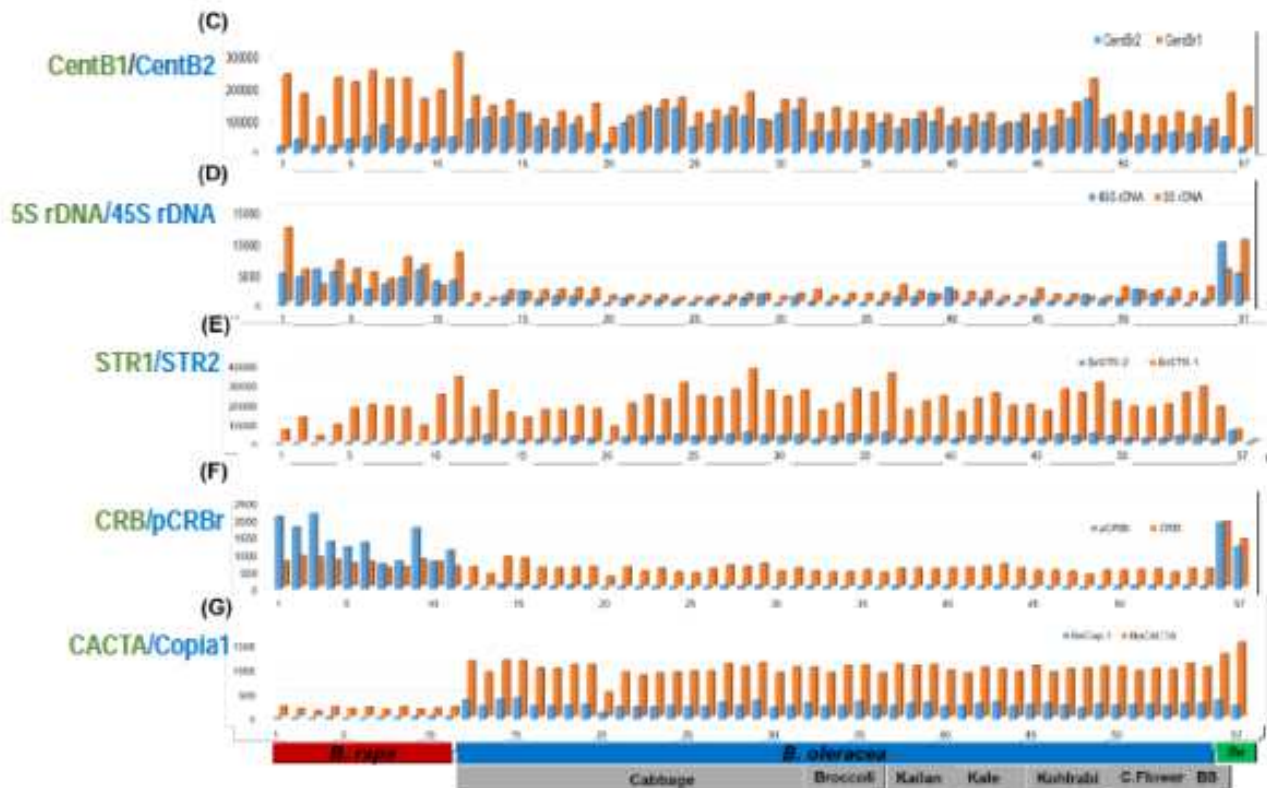


그림 3-26. 10개의 major repeat종류별 배추, 양배추, 유채 계통내 정량 분석

라. High copy miniature TE의 발굴 및 양배추 계통간 정량 비교 분석

위에서 발굴한 9개의 major repeat의 경우 염색체내 헤테로크로마틴구조가 밀집하여 존재하지만, 300bp 내외의 작은 구조를 가지고 있는 MITE 전이인자는 염색체내 유전자가 많은 지역에 골고루 산재해 있으며, 유전자의 구조나 발현변이를 일으키며 특정 형질의 변화를 일으키는 원인이 되기도 한다. 본 연구실에서 그동안 발굴한 38종류의 MITE family를 대상으로 각 family별로 양배추 44계통의 계통별 카피수를 정량 추정하였다. 이들은 family별로 카피수가 다양하며 또한 계통간 혹은 아종간 분포정도를 달리하고 있는 것으로 확인된다. 이를 토대로 이들 MITE family의 각각 member들이 양배추 계통들 간에도 다양하게 다른 삽입과 카피수를 가지고 있으며 이들의 분포위치나 유전자와의 관련성 정보 등을 추정함으로써 다양한 기능의 추정 등이 가능하리라 생각된다 (그림 3-27).

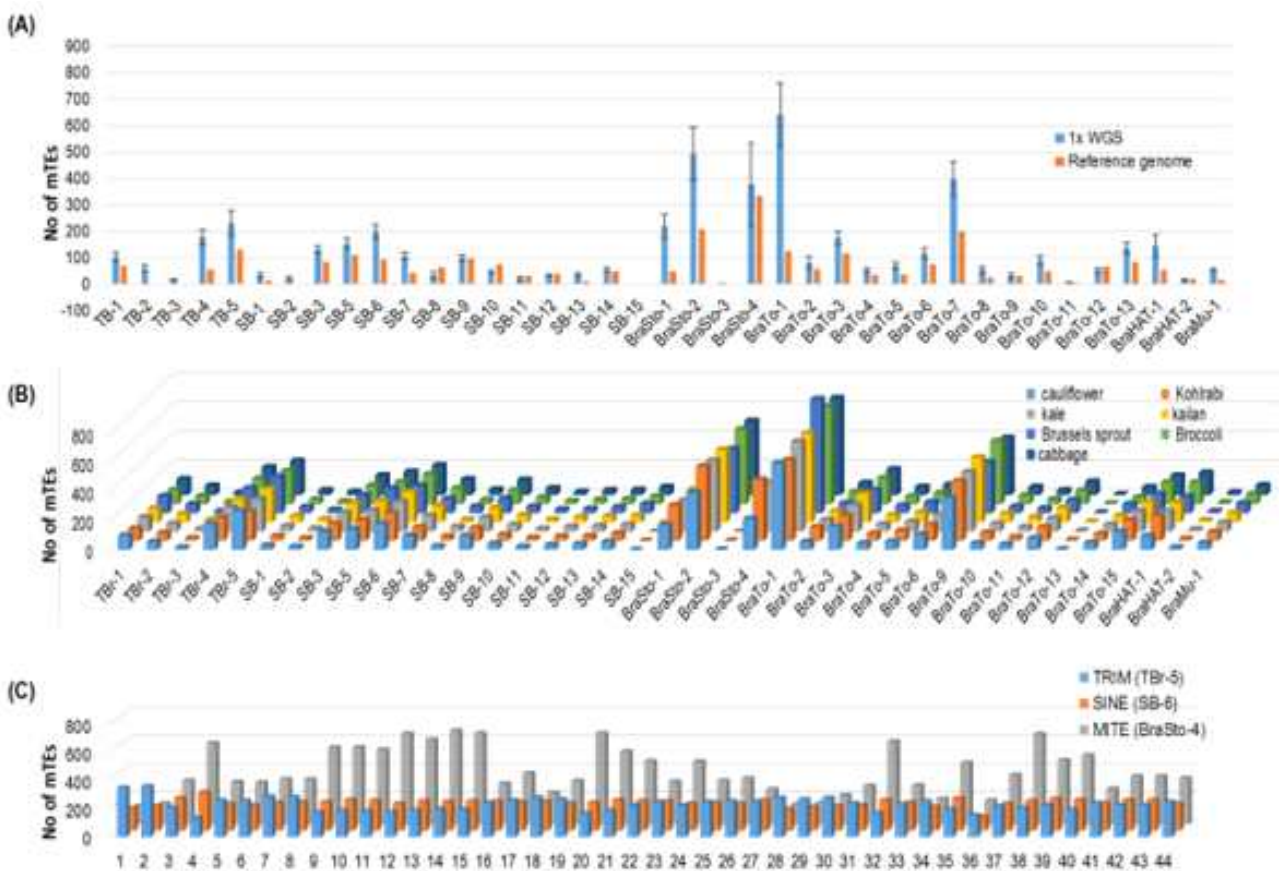


그림 3-27 양배추에서 발굴된 38종류 MITE family별 양배추 계통내 함량 추정 및 비교

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용	
1차년도 (2013)	<제1세부> 세포융합 및 조직배양 기술을 통한 우량 육종 소재 개발	- 양배추 유전자원 및 상용품종의 원예적 형질 평가	100	- 64종의 양배추 자원의 가을 작기 노지 형질 조사 및 DB화	
		- 양배추 소포자 배양 최적화 조건 탐색	100	- 배양 배지 조성, 배양 온도, 전처 리 및 후처리 조건 별 배양 효율 비교	
		- 민간 종묘회사 양배추 자원의 소포자 배양 서비스 제공	100	- 아시아종묘, 조은종묘 등의 우수 계통 소포자 배양 서비스 수행	
		- 양배추 세포융합 기반 조건 탐색	100	- 상이한 특성의 양배추 계통간 세 포질 및 핵 치환 조건 비교	
	<제2세부> 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재개발	- 주두측 자가불화합성 유전자형 동정 용 마커 개발	100	- 양배추의 주두측 자가불화합성 유전자 정보수집(GeneBank 이용) - 수집된 정보를 이용한 <i>SRK</i> 유전자 증 폭용 primer 설계 - 종묘회사 및 유전자원센터에서 수집· 보유중인 양배추 유전자원 분양 - 종자파종 및 재배 후 시료채취	
		- PCR-CAPS법을 이용한 elite 품종 의 자식종 탐색	100	- 국외 시판 F1품종(특히 elite 품종 수집) - 파종 및 재배(400립/품종) - 시료채취 및 DNA 추출 - 옹성불임 채종 여부 확인(기 보유중 인 옹성불임 구별 마커 이용) - 기 보유중인 자가불화합성 마커를 이용하 여 elite 품종으로부터 자식종 탐색 - 탐색된 자식종의 자가불화합성 유전자형 결정(증폭된 산물의 cloning 및 염기서열 분석)	
	<제3세부> GWAS분석을 통한 병저항성 양배추 후대선발법 및 소재개발	- 농업형질이 다양한 40 계통에 대한 병저항성 및 다양한 농업특성 조사	150	- 국내 종묘회사 및 기관에서 양배 추를 포함한 여러 아종에 해당하는 많은 계통들을 수집 - 병저항성 및 구의 모양, 크기, 속 기, 엽색, 결구력, 추대시기등 주요 형질들에 대한 농업특성 조사	
		- 농업형질이 다양한 양배추 40 계통 선발 및 이에 대한 whole genome sequencing(WGS)	100	- 일차적으로 10계통을 선발하여 whole genome resequencing 수 행 - 생산된 데이터들을 통해 생물정보 분석 실시	
	2차년도 (2014)	<제1세부> 세포융합 및 조직배양 기술을 통한 우량 육종 소재 개발	- 수집 양배추 유전자원의 특성 검정	100	- 양배추 뿌리혹병 복합균주의 기내 접 종을 통한 저항성 계통 선발 및 소포 자 배양의 재료로 공유
			- 양배추 소포자 배양 효율 증진 조건 확립	100	- 온도처리, 광/암조건에 따른 소포자 배 발생 효율 비교
- 무 옹성불임 및 양배추(MF)자원 확			100	- 유용 옹성불임(CMS) 양배추 및 무 자	

		보 및 기내배양체계 확립		<ul style="list-style-type: none"> <li>원의 확보</li> <li>- 양배추 자원의 원형질체 분리 및 배양 체계 확립</li> <li>- 양배추 자원의 기내 식물체 재생 체계 확립</li> </ul>
<p>&lt;제2세부&gt; 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재개발</p>		- 주두측 자가불화합성 유전자형 동정용 마커 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 시료로부터 DNA 추출</li> <li>- 설계된 SRK 유전자 증폭용 primer를 이용한 PCR 증폭</li> <li>- 양배추의 SRK유전자 cloning</li> <li>- SRK 유전자의 염기서열 결정</li> <li>- 양배추 S-genotype간 특이적 SRK 유전자 primer 선발</li> </ul>
		- PCR-CAPS법을 이용한 elite 품종의 자식종 탐색	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국외 시판 F1품종(전년도에 수집이 되지 않은 품종 및 신품종 수집)</li> <li>- 파종 및 재배(400립/품종)</li> <li>- 시료채취 및 DNA 추출</li> <li>- 웅성불임 채종 여부 확인(기 보유종인 웅성불임 구별 마커 이용)</li> <li>- 기 보유종인 자가불화합성 마커를 이용하여 elite 품종으로부터 자식종 탐색</li> <li>- 탐색된 자식종의 자가불화합성 유전자형 결정(증폭된 산물의 cloning 및 염기서열 분석)</li> </ul>
		- 탐색된 자식종들의 종자 수확 및 민간종묘회사에 제공	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 탐색된 자식종들의 재배 및 종자 수확</li> <li>- 수확된 종자를 민간종묘회사에 제공</li> </ul>
<p>&lt;제3세부&gt; GWAS분석을 통한 병저항성 양배추 후대선발법 및 소재개발</p>		- 농업형질이 다양한 양배추 30 계통 추가 선발 및 이에 대한 whole genome sequencing(WGS)	100	- 추가 30개 양배추 계통을 선발하여 whole genome resequencing을 수행
		- 양배추 표준유전체 정보를 기본 골격으로 하여 40 계통간 WGS 비교분석을 통하여 분자 육종시스템개발	80	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 계통간 차이를 보이는 대규모 SNP 마커 개발: 각 염색체별 1,000점 이상, 전체 10,000점 이상</li> <li>- 개발된 SNP의 확인 및 다양한 생물정보 비교분석</li> <li>- 웅성불임 특성이 도입된 우수 양친 계통을 이용한 고밀도 유전지도 기반 대규모 고효율 선발기술 개발 및 육종가 전개집단에 대한 선발 지원</li> </ul>
		- 선행연구에서 수행했던 양배추 흑부병 저항성 연관 연구에 대한 추가 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 흑부병 저항성 QTL로 동정된 지역에 대해서 NBS-LRR 도메인을 encoding 하고 있는 유전자들을 탐색</li> <li>- 배추와 애기장대등 근연종들의 유전체에서 synteny 관계에 있는 지역들과</li> </ul>

				비교분석
		- Genotyping-by-sequencing 기술 기반 양배추 뿌리혹병 저항성 심화연구	120%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 4,103개의 GBS 마커가 포함되어있는 고밀도 유전지도를 제작</li> <li>- 뿌리혹병 병원균중에서 race 2에 대해 저항성인 한군데의 QTL 지역, race 9에 대해 저항성인 두군데의 QTL지역을 발</li> <li>- 중국 BGI의 양배추 표준유전체 염기 서열에서 40군데의 mis-allocated scaffold 위치를 찾아 개선시킬 수 있는 정보 탐색</li> </ul>
3차년도 (2015)	<제2세부> 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재개발	주두측 자가불화합성 유전자형 동정용 마커 개발	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 주두측 자가불화합성 유전자형 동정용 마커를 개발하기 위하여 유전자은행(NCBI)에 등록된 다수의 배추 및 양배추 주두측 자가 불화합성 인자인 <i>SRK</i> 유전자의 정보를 수집하여 <i>SRK</i> 유전자 증폭용 primer를 설계</li> <li>- 양배추의 다양한 <i>S</i> 유전자형을 확보하기 위하여 종묘회사 및 유전 자원센터에서 수집·보유중인 양배추 유전자원을 최대한 분양, 파종 및 시료 채취</li> </ul>
		PCR-CAPS법을 이용한 elite 품종의 자식종 탐색	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내에서 시판되고 있는 외국회사 양배추 품종 및 일본에서 시판되고 있는 양배추 품종을 중점적으로 수집하여 수집된 품종 당 1차적으로 200립을 파종하여 DNA를 추출하여 실험을 수행</li> <li>- 수집된 양배추 품종들의 종자가 CMS를 이용한 채종 종자이면 자식종을 선발하기 어려우므로 자가불화합성 또는 CMS 채종 여부를 기 보유중인 음성불임 구별 마커를 이용하여 확인</li> <li>- 자가불화합성을 이용하여 채종한 품종들은 기 보유중인 자가불화합성 마커를 이용하여 자식종을 선발하고 선발된 자식종들은 자가불화합성 유전자형을 결정</li> </ul>
		○ 탐색된 자식종들의 종자 수확 및 민간종묘회사에 제공	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 탐색된 자식종자들은 비닐하우스에서 일정기간 생육시킨 후 80-90일 정도 저온처리(4℃ 정도)하여 개화를 유도 시킴</li> </ul>



				<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개화가 유도된 자식종 식물체는 어린 꽃봉우리를 이용하여 자가수분 시킴 (뇌수분)</li> <li>- 종자 수확</li> </ul>
	<p>&lt;제3세부&gt; GWAS분석을 통한 병저항성 양배추 후대선발법 및 소재개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 양배추 표준유전체 정보를 기본 골격으로 하여 40 계통간 대규모 SNP 탐색</li> </ul>	90%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 계통간 차이를 보이는 대규모 SNP 마커 개발: 각 염색체별 1,000점 이상, 전체 10,000점 이상</li> <li>- 개발된 SNP의 확인 및 다양한 생물정보비교분석</li> <li>- 음성불임 특성이 도입된 우수 양친계통을 이용한 고밀도 유전지도 기반 대규모 고효율 선발기술 개발 및 육종가 전개집단에 대한 선발 지원</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 양배추 계통들의 핵내 및 세포질 유전체 유래 계통 특이 barcoding resource 개발</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 40 계통의 NGS기반 핵내 45S rDNA와 chloroplast genome 완성</li> <li>- 분석에 활용된 40 계통간 조합에서 활용될 수 있는 범용 종자순도검정용 마커 개발</li> <li>- 40 계통 resequencing data들의 유전체 정보 등록 및 계통 구분 염색체 기반 특이마커들에 대한 특허 출원 준비</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 뿌리혹병 및 검은썩음병 분자마커 개발 및 실증</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 선행연구의 결과로 나타난 뿌리혹병 및 검은썩음병 저항성 QTL 지역 마커들의 효율성 분석을 여러 계통들에 대하여 실시</li> <li>- Resequencing data를 활용하여 저항성과 이병성 계통간 뿌리혹병 저항성 QTL 지역내 NBS-LRR 후보 유전자간 변이 탐색을 제2세부와 함께 실시</li> <li>- 뿌리혹병 저항성 QTL 연구에 대한 논문 작성 완료하여 연내 게재</li> </ul>
4차년도 (2016)	<p>&lt;제2세부&gt; 자가불화합성 유전자형 PCR-CAPS법을 이용한 양배추 소재개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 주두측 자가불화합성 유전자형 동정용 마커 개발</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 새로운 PCR-CAPS 마커 개발</li> <li>- 주두측 S-allele의 특이적 제한효소 선발</li> <li>- 개발된 S-genotype 마커의 유용성 검증</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ PCR-CAPS법, HRM, EP1 시스템을 이용한 elite 품종의 자식종 탐색</li> </ul>	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 국외 시판 F1품종(전년도에 수집이 되지 않은 품종 및 신품종 수집)</li> <li>- 파종 및 재배(400립/품종)</li> <li>- 시료채취 및 DNA 추출</li> </ul>

				<ul style="list-style-type: none"> <li>- 음성불임 채종 여부 확인(기 보유중인 음성불임 구별 마커 이용)</li> <li>- 기 보유 및 새롭게 개발된 자가불화합성 마커를 이용하여 elite 품종으로부터 원종 탐색</li> <li>- 탐색된 원종의 자가불화합성 유전자형 결정(증폭된 산물의 cloning 및 염기서열 분석)</li> </ul>
		○ 탐색된 원종들의 종자 수확 및 민간종묘회사에 제공	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 탐색된 자식종자들은 비닐하우스에서 일정기간 생육시킨 후 80-90일 정도 저온처리(4°C 정도)하여 개화를 유도 시킴</li> <li>- 개화가 유도된 자식종 식물체는 어린 꽃봉우리를 이용하여 자가수분 시킴 (뇌수분)</li> <li>- 종자 수확</li> </ul>
<제3세부> GWAS분석을 통한 병저항성 양배추 후대선발법 및 소재개발		- WGS 기반 계통별 SNP 정보와 표현형 정보의 상관분석을 통한 GWAS 분석으로 우수 농업형질 관련 마커 개발	90%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- NGS로 생산한 44계통의 sequencing data 정보등록</li> <li>- 유전체 전반에 걸쳐 발굴한 SNP 정보로 web database 구축</li> <li>- 형태적으로 다양한 아종간에 특이적인 SNP지역 발굴</li> </ul>
		- 핵 genome내 발굴한 SNP 지역 및 엽록체 기반 마커들의 활용성 육종가에 대한 지원 시스템 구축	95%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2세부와의 공조를 통해 양배추 여교배선발용 SNP chip 제작</li> <li>- chip 제작이 가능한 고순도 SNP의 선발과 euchromatin과 heterochromatin 지역에 따른 차별적 SNP 선발</li> <li>- 개발된 엽록체 염기서열 변이 기반 계통 특이마커 활용에 관한 특허 출원</li> </ul>
		- NGS 이용 MITE TE display 확립 및 대규모 삽입변이 마커 개발	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- MITE 삽입 지역만을 NGS를 이용하여 대량으로 sequencing을 진행하여 배추과 식물 종간, 종내 삽입여부에 따른 다형성 대량 발굴 기술 확립</li> </ul>

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 1. 연구개발 성과

### 가. 특허

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]									
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
특허	양배추 검은썩음병 저항성 또는 이병성 품종 선별용 분자 마커 및 이의 용도	국내	양태진, 이종훈, 안경구	2016.01.29	10-2016-0011651				
특허	양배추 자가불화합성 인자 Class II의 조합 순도 검정용 또는 유전자형 판별용 프라이머 세트 및 이를 이용한 순도검정 또는 유전자형 판별방법	국제	강종구, 노일섭, 박종인, 양기웅, 황인덕, 김영욱, 나잘우딘 아메드, 정희정, 한정숙현	2015.02.25	PCT/KR2015/001820	-	-	-	2015

### 나. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Genome-Wide Comparative Analysis of 20 Miniature Inverted-Repeat Transposable Element Families in <i>Brassica rapa</i> and <i>B. oleracea</i>	PLoS ONE	Perumal Sampath	9(4): e94499	미국	PLoS	SCI
2	Genome-wide SNP exploration based on whole genome resequences and quantitative trait loci (QTL) mapping of black rot resistance in cabbage	BMC Plant Biology	이종훈	15: 32	영국	BioMed Central	SCI
3	Miniature Inverted-repeat Transposable Elements (MITEs) as Valuable Genomic Resources for	Plant breeding & Biotechnology	Perumal Sampath	2(4): 322~333	한국	한국육종학회	비SCI

	the Evolution and Breeding of <i>Brassica</i> Crops						
4	Miniature Transposable Elements (mTEs): Impacts and Uses in the <i>Brassica rapa</i> genome	The <i>Brassica rapa</i> genome	Perumal Sampath	Chapter 6 pp 65-81		Springer	SCI
5	Genomic survey of the hidden components of the <i>B. rapa</i> genome	The <i>Brassica rapa</i> genome	Nomar Espinosa Waminal	Chapter 7 pp 83-96		Springer	SCI
6	Genotyping-by-sequencing map permits identification of clubroot resistance QTLs and revision of the reference genome assembly in cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> L.)	DNA Research	이종훈	DOI: 10.1093/dnares/dsv034	일본	Oxford University Press	SCI
7	Diversity and inheritance of intergenic spacer sequences of 45S ribosomal DNA among accessions of <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i>	Int J Mol Sci	양기웅	16(12), 28783-28799	미국	MDPI	SCI
8	The complete chloroplast genome sequence of Indian barnyard millet, <i>Echinochloa frumentacea</i> (Poaceae)	Mitochondrial DNA Part B : Resources	Perumal Sampath	http://dx.doi.org/10.1080/23802359.2015.1137832		Taylor & Francis	
9	Repeat Evolution in <i>Brassica rapa</i> (AA), <i>B. oleracea</i> (CC), and <i>B. napus</i> (AACC) Genomes	Plant Breed. Biotech	Nomar Espinosa Waminal	4(2):107-122	한국	한국육종학회	비SCI
10	Next-Generation Sequencing Based Transposon Display to Detect High-Throughput Insertion Polymorphism Markers in <i>Brassica</i>	Plant Breed. Biotech	Perumal Sampath	4(3):285~296	한국	한국육종학회	비SCI
11	Identification and characterization of LIM gene family in <i>Brassica rapa</i>	BMC Genomics	Jong-in Park, Nasar Uddin	15	영국	BIOMED CENTRAL	SCIE

12	Identification and expression analysis of cold and freezing stress responsive genes of <i>Brassica oleracea</i>	Gene	Ahmed Nasar Uddin Ahmed, Hee-Jeong Jung	154 (2)	네덜란드	ELSEVIER SCIENCE	SCI
13	characterization and expression profiling of MYB transcription factor family in response to abiotic and biotic stress in <i>Brassica rapa</i>	Molecular Genetics and Genomics	Gopal Saha	104	프랑스	SPRINGER HEIDELBERG	SCI
14	A Genome-wide analysis reveals stress and hormone responsive patterns of TIFY family genes in <i>Brassica rapa</i>	Frontiers in Plant Science	Gopal Saha	7	스위스	FRONTIERS RESEARCH FOUNDATION	SCIE

다. 분자마커

분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도
1	엽록체 유전체 다양성 마커	3건	양배추 계통구분 및 종자순도검정용 범용 분자마커	활용가능
2	엽록체 유전체 다양성 마커	2건	양배추 계통구분 및 종자순도검정용 범용 분자마커	활용가능
3	엽록체 유전체 다양성 마커	4건	양배추 계통구분 및 종자순도검정용 범용 분자마커	2016년 이후
4	양배추 CMS판별 마커	2	양배추 MS 및 MF 판별 마커	2013-현재
5	양배추 순도검정용 마커	1	Class II 조합을 이용하여 육성된 F1 품종의 순도검정용 SNP 마커	2014-현재
6	자가불화합성 유전자형 판별 마커	1	양배추 Class II 그룹에 속하는 S2, S5, S15의 유전자형을 판별할 수 있는 HRM용 마커	2014-현재
7	양배추 자식종 선발용 24 DNA chip	1	Fluidigm system용 24 DNA chip을 이용하여 양배추 F1 품종으로부터 자식종 선발	2015-현재

라. 인력양성

연구인력 활용/양성 성과													
번호	분류	기준년도	인력양성 현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	3세부과제	2014	1				1		1				
2	3세부과제	2015	1				1		1				
3	3세부과제	2017	1(예정)										

마. 학술발표

연번	발표일	학회명	발표장소	발표 제목	비고
1	2014.01.11	Plant&Animal Genome XXII	SanDiego, 미국	Characterization <i>LIM</i> Gene Family and Stress Induced Expression Profiling in <i>Brassica</i>	포스터
2	2014.01.11	Plant&Animal Genome XXII	SanDiego, 미국	Characterization and Expression Analysis of Calcineurin B-like (CBL) Family Genes in <i>Brassica</i>	포스터
3	2014.05.15	한국식물생명공학회	경희대학교 용인국제캠퍼스	Genome-wide Identification and expression analysis of cold and freezing stress responsive genes of <i>Brassica oleracea</i>	포스터
4	2014.05.28	한국원예학회	서울대학교 평창캠퍼스	Characterization of Dihydroflavonol 4-reductase(DFR) Genes and Their Association with Cold and Freezing Stress in <i>Brassicarapa</i>	포스터
5	2014.07.02	한국육종학회	라마다호텔, 제주도	Identification and expression analysis of Alfin-like transcription factors in response to biotic and multiple abiotic stresses in <i>Brassica rapa</i>	포스터
6	2014.10.22	한국원예학회	창원컨벤션센터	Characterization of Anthocyanidin Synthase (ANS) Genes Correlating with Cold AND Freezing Stress in <i>Brassica rapa</i>	포스터
7	2015.05.20	한국원예학회	농촌진흥청	Aquaporin Gene Family: Characterization and Stress-induced Expression Analysis in <i>Brassica rapa</i>	포스터
8	2015.07.01	한국육종학회	벙스코	Characterization of regulatory genes for anthocyanin biosynthesis pathway and cold/freezing tolerance in <i>Brassica rapa</i>	구두
9	2015.10.28	한국원예학회	2012여수세계박람회장	Marker Development and Utilization for Clubroot Disease Resistance in Chinese Cabbage	구두
10	2015.10.28	한국원예학회	2012여수세계박람회장	Cold-Inducible Glutathione S-transferase Superfamily Genes in <i>Brassica oleracea</i> : In silico and Expression Analysis	구두
11	2015.10.28	한국원예학회	2012여수세계박람회장	Identification and Expression Profiling of TIFY Family Genes Involved in Stress and	포스터



				Phytohormone Responses in Chinese Cabbage ( <i>Brassica rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i> )	
12	2015.12.11	한국식물분자표지 연구회	리베라 호텔	배추과 작물 분자마커 개발의 하이라이트 및 숙제	구두
13	2016.01.09	Plant & Animal Genome XXIV	SanDiego, 미국	Role of Aquaporin gene family towards abiotic and biotic stress tolerance in <i>Brassica rapa</i>	포스터
14	2016.01.09	Plant & Animal Genome XXIV	SanDiego, 미국	Identification of new clubroot resistant locus in chinese cabbage ( <i>Brassica rapa</i> L. against <i>Plasmodiophora brassicae</i> pathotypes of Korea	포스터
15	2016.10.01	Brassica 2016 Conference	멜버른, 오스트레일리아	Identification of a new resistant locus in a Korean <i>Plasmodiophora brassicae</i> pathotype group in chinese cabbage ( <i>Brassica rapa</i> L.) and development of the pathotype-specific markers	포스터
16	2016.10.26.	한국원예학회	광주 김대중컨벤션센터	Identification of Novel Locus for Clubroot Disease Resistance in Chinese Cabbage ( <i>Brassica rapa</i> L.)	
17	2013-10-18	한국작물학회	국립식량과학원 고령지농업연구센터	Complete chloroplast genome sequence of cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> L.) and comparison among three <i>Brassica</i> species	포스터
18	2014-03-31	The 19 <sup>th</sup> Crucifer Genetics Workshop	중국 우한	Diversity of organelle genomes and major nuclear DNA repeats in <i>Brassica</i> crops revealed by resequence data	구두
19	2014-03-31	The 19 <sup>th</sup> Crucifer Genetics Workshop	중국 우한	NGS-based high throughput transposon display for miniature transposable elements	포스터
20	2014-07-03	한국육종학회	제주도 라마다호텔	Complete chloroplast genome assembly of <i>Brassica</i> species from Next Generation Sequencing-based whole genome resequencing data and comparative analysis	포스터
21	2014-10-30	식물생명공학회	대구 경북대학교	High density genetic mapping and QTL map for black rot and clubroot resistance in cabbage	구두
22	2015-07-02	한국육종학회	부산 BEXCO	Construction of high resolution genetic map and QTL mapping for clubroot resistance using genotyping-by-sequencing analysis in cabbage	구두
23	2015-09-14	SABRAO Conference	인도네시아 보고르	Identification of clubroot resistance QTLs and revision of reference genome assembly in cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> L.) using a new genotyping-by-sequencing map	포스터
24	2015-09-21	한국분자·세포생물학회	서울 COEX	Genome-wide comparative analysis of the major repetitive elements reveals the diversity, evolution and insights into the hidden components of the <i>Brassica</i> genome	포스터
25	2015-09-21	한국분자·세포생물학회	서울 COEX	Contribution of TE (major repeats and miniature TE) in <i>Brassica</i> genome evolution	구두
26	2016-10-03	Brassica 2016	멜버른,	QTLs and genome evolution	기초

		Conference	오스트레일리아	revealed by GBS and resequencing data of <i>B. oleracea</i> accessions	연설
--	--	------------	---------	--	----

바. 양배추 소재 개발 : 총 121 계통

No.	수집지역	품종	선발된 개체
1	국내	NP-K-01	64
2	국내	NP-K-02	16
3	국내	NP-K-03	14, 49
4	국내	NP-K-05	96, 99
5	국내	NP-K-18	201, 224, 275, 231, 259, 261, 235
6	국내	NP-K-21	30
7	일본	NP-J-02	199
8	일본	NP-J-03	23
9	일본	NP-J-05	14, 65, 86
10	일본	NP-J-08	36
11	일본	NP-J-08	88
12	일본	NP-J-12	02, 100
13	일본	NP-J-16	200, 211
14	일본	NP-J-18	53, 58, 61, 70, 75
15	일본	NP-J-26	150
16	일본	NP-J-27	10, 13
17	일본	NP-J-29	75, 78
18	일본	NP-J-30	12
19	일본	NP-J-32	46
20	일본	NP-J-40	38
21	일본	NP-J-41	30
22	일본	NP-J-42	169, 250
23	일본	NP-J-43	12, 42
24	일본	NP-J-45	27, 41, 17, 38, 12
25	일본	NP-J-47	83
26	일본	NP-J-48	15
27	일본	NP-J-50	34, 49, 32
28	일본	NP-J-62	3, 41, 32, 50, 43, 15, 18, 20, 45, 26, 24
29	일본	NP-J-63	5, 25, 42, 49, 6, 31, 13, 29
30	일본	NP-J-80	20, 32, 34, 36, 17
31	일본	NP-J-80	11, 47, 41, 30, 18, 13, 43, 4, 28, 16
32	유럽	NP-E-12	05
33	유럽	NP-E-20	03
34	유럽	NP-E-20	04, 05
35	유럽	NP-E-23	5
36	유럽	NP-E-30	3, 5

37	유럽	NP-E-33	4
38	유럽	NP-E-39	2, 5
39	국내	NP-K-07	71, 96
40	국내	NP-K-08	28
41	국내	NP-K-09	78
42	일본	NP-J-06	38
43	일본	NP-J-17	89, 97
44	일본	NP-J-20	76, 85, 95
45	일본	NP-J-25	25
46	일본	NP-J-69	03
47	일본	NP-J-77	31
48	일본	NP-J-79	02, 49
49	일본	NP-J-106	98
50	일본	NP-J-28	21, 23
51	국내	NP-K-06	73
52	국내	NP-K-06	53, 54, 55
53	국내	NP-K-11	01, 05
54	일본	NP-J-4	03
55	일본	NP-J-11	35, 65
56	일본	NP-J-49	39, 29, 44, 21, 23, 35, 19, 37
57	유럽	NP-E-01	9, 39
58	유럽	NP-E-02	15
			29
59	유럽	NP-E-04	25
60	유럽	NP-E-05	35
61	유럽	NP-E-06	19
62			21, 23, 29, 35, 37, 38, 44, 50
63	일본	NP-J-118	93
64	일본	NP-J-119	72
65	일본	NP-J-121	167
66	일본	NP-J-122	106
67	일본	NP-J-141	136
68	일본	NP-J-153	83
69	일본	NP-J-159	234
70	일본	NP-J-173	189
71	일본	NP-J-180	69, 141
72	일본	NP-J-203	156
73	중국	NP-J-181	103, 116
74	중국	NP-J-182	89, 181
75	중국	NP-C-32	121, 196
76	일본	NP-J-129	99
77	일본	NP-J-130	108, 189
78	중국	NP-C-28	123

79	중국	NP-C-33	104
80	일본	NP-J-223	34, 85
81	일본	NP-J-153	83
82	일본	NP-J-140	11
83			69, 144
84	일본	NP-J-152	25, 27
85	중국	NP-J-220	47, 123, 177
86			111
87	일본	NP-J-155	152, 182
88			149
89	일본	NP-J-156	84
90	일본	NP-J-150	86
91			17, 56, 105, 137, 166
92	중국	NP-C-34	128
93			144
94	중국	NP-C-35	3
95			130, 147
96	중국	NP-C-37	126, 131
97	중국	NP-C-38	134
98	중국	NP-C-26	122
99			131, 134
100	중국	NP-C-29	3, 16, 90
101	중국	NP-C-30	115
102	일본	NP-J-10	93
103	일본	NP-J-13	72
104	일본	NP-J-24	167
105	일본	NP-J-31	106
106	일본	NP-J-46	108, 189
107	일본	NP-J-71	234
108	일본	NP-J-72	189
109	일본	NP-J-73	69, 141
110	일본	NP-J-154	236
111	일본	NP-J-157	103
112	일본	NP-J-158	123
113	일본	NP-J-159	149
114	일본	NP-J-174	156
115	일본	NP-J-175	89
116	일본	NP-J-192	83
117	일본	NP-J-193	160
118	일본	NP-J-194	88, 141

119	일본	NP-J-200	117, 161
120	일본	NP-J-201	90
121	일본	NP-J-176	111
			47, 123

## 2. 연구개발 성과의 활용방안 및 기대효과

### 1. 연구개발결과의 활용방안

- 수집된 품종들 중에 검은썩음병 저항성 품종 29품종, 시들음병 저항성 품종 64품종, 뿌리혹병 저항성 품종 6품종, 균핵병 저항성 품종 2품종, 노균병 저항성 품종 2품종, 무름병 저항성 품종 8품종들이 수집되었음. 이들 수집된 내병성 품종들은 각각의 병 저항성 분자마커 개발 및 육종 소재로 활용할 계획임
- 수집된 유전자원은 연구종료 후에도 지속적으로 육종소재 탐색에 활용할 것임
- 본 연구로부터 개발된 육종 소재는 SNP 24 chip을 이용하여 유전적 고정도를 재확인 후 양배추 품종 생산에 활용할 수 있도록 할 예정임
- 본 연구로부터 개발된 순도검정용 마커는 양배추 품종의 순도 검정 서비스에 활용할 것임
- 본 연구로부터 개발된 자가불화합성 유전자형 동정용 마커는 종묘회사들이 보유하고 있는 양배추 계통들의 유전자형 판별에 활용할 것임
- 양배추 분자유종에 유용하게 활용될 수 있는 330만개의 SNP를 발굴하였으며 이들 정보를 genotype browser로 구축하여 이후 관련 연구자들에게 활용될 것임
- 양배추 44개 계통의 엽록체 완전장 서열을 확보하였으며 종내변이지역 37개에 대한 정보를 확보하고 특허준비 중임
- 양배추의 검은썩음병저항성 QTL 마커를 개발하여 특허출원하였으며 뿌리혹병저항성 QTL마커는 개발하여 공개할 예정임

### 2. 기대효과

#### 가. 기술적 측면

- 양배추에 있어서 분자생물학적 방법을 통한 자가불화합성 인자의 조기 동정 마커를 육종에 적용시킬 경우 육종연한을 현저하게 단축시킬 수 있음
- 자가불화합성 유전자형 동정은 정확하고 신속하므로 교배시에 발생하는 환경요인에 의한 장애요인을 제거할 수 있음
- 양배추 분자유종에 유용하게 활용될 수 있는 330만개의 SNP를 발굴하였으며 이들 정보를 genotype browser로 구축하여 이후 활용성을 증대하였으며, SNP chip 개발에 기여하였음

- 양배추의 고밀도유전자지도를 작성하여 양배추 표준유전체정보의 에러를 수정할 것을 제안했을 뿐 아니라 배추과 식물의 진화 분석 등에 세계적인 리딩 그룹 역할을 하고 있음
- 육종과정에 효율적으로 활용할 수 있는 병저항성 및 자가불화합성 인자 식별 마커를 개발하여 이후 관련 연구에 유용한 정보를 제공하고 있음

나. 경제적·산업적 측면

- 본 연구로부터 개발된 양배추 육종 소재는 우수 신품종 개발에 활용될 것으로 기대됨
- 유묘기때 S 유전자형이 동정되면 개화기까지 작물을 재배하는데 필요한 비용 및 교배 노력이 절감됨으로써 종묘회사의 경제적 절감을 가져옴
- 최근 육종 기술은 분자육종 시스템의 지원을 통해 보다 빠르고 효율적인 시스템화 되어 가고 있는데, 본 성과를 통해 세계적 경쟁에 참여할 수 있는 기반을 구축하여 종자산업의 수준을 제고하였음
- 개발된 SNP 마커 등은 향후 다양한 분석 툴을 제공하여 유전자칩 등의 개발로 연결될 수 있음
- 우수 양배추 종자의 국산화 및 수출 지원에 역할을 할수 있을것으로 기대됨



## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 외국 종묘회사(신젠타, 다끼이, 신젠타, 베조 등)들의 양배추 F1종자 채종은 다수의 품종이 자가불화합성 성질을 이용하여 F1종자를 채종하고 있음
- 그러나 본 연구실에서 보유하고 있는 양배추 CMS(MS 및 MF 판별 마커) 마커를 이용하여 1차 및 2차년도에 수집된 F1 품종(일본, 유럽, 인도, 중국, 동남아시아에서 판매되고 있는 시판 F1품종들)들의 CMS를 이용한 채종여부를 확인한 결과 일본 한 개의 육종회사에서 판매되고 있는 F1 품종들은 대부분이 CMS를 이용하여 채종하고 있었음. 또한 유럽에서 수집한 F1 품종들 또한 CMS를 이용하여 채종한 품종들이 다수 존재하였음
- 이 결과는 현재 양배추 F1 종자 채종에 있어서 기존 자가불화합성을 이용한 채종에서 CMS를 이용한 채종으로 전환되고 있다고 보여지며 전환 속도도 가속화될 것으로 예상됨
- 양배추는 호냉성 작물로 냉기에 강하기 때문에 전 세계적으로 가장 많이 키우는 작물 중에 하나이며 주로 요리용, 가공용으로 주로 소비되며 세계적으로 208만ha에서 재배되는 글로벌 작물로 생산량은 5.8천만 톤에 달함(FAOSTAT, 양배추 및 기타 brassica속 작물 포함)
- 양배추의 종자시장 규모가 가장 큰 지역은 유럽지역으로 고품질의 양배추 생산으로 인해 종자가격이 품질별로 차이가 있지만 고품질 종자는 2,000불/kg 수준의 높은 가격을 형성하고 있음(종자업체 제공자료)
- 양배추의 시장구분은 외형에 의한 구분과 숙기에 의한 구분이 동시에 사용됨. 외형에 의한 분류로는 원형계 및 편형계 등이 있으며, 숙기에 의한 분류로는 극조생계(45~50일), 조생계(50~60일), 중생계(60~70일), 아시아계 만생(80~100일 전후), 유럽계 만생(150일 전후, 사우어 크라우트), 월동용(240일) 등이 있음
- 주요 양배추 종자 개발 기업은 일본계 기업과 글로벌 기업으로 구분되며 주요 일본계 기업은 다끼이, 사카다 종묘 등이 있으며 동남아, 중국, 인도를 주요 대상으로 종자를 개발하고 있음. 또한 일본 기업 중 노자키, 고바야시, 도키다 등의 기업은 양배추 육종을 전문으로 하는 기업으로 주로 중국, 인도, 동남아 등지에 진출하고 있으며 글로벌 기업인 니커스자완, 베조, 신젠타 등은 유럽, 미주를 주요 대상으로 하고 있음
- 해외 수입 양배추 종자는 내병성과 환경저항성이 우수하여 농가 및 거래처의 관심이 상승 중이며 수입종 비율이 점진적으로 높아지고 있음. 또한 각 지역에서 주로 요구되는 특성은 내재해성(내서성, 내한성)과 병충해 저항성(시들음병, 뿌리혹병, 검은썩음병, 연부병)이며 뿌리혹병 내병계 품종의 종자 가격은 일반계보다 2배 수준의 고가를 형성하고 있음
- 인도에서 유통이 이루어지는 양배추 종자의 주요 품종은 원형계(80%)이며 West Bengal주에서는 기후의 변화로 인해 병이 많아지면서 고온과 습기에 강하면서 구비대력이 1kg 내외의 소형이면서 조숙성이고 원형이며 균일성이 높은 품종이 요구되며, 특히 내서성과 시들음병/뿌리혹병 저항성(YCR) 품종이 요구되며 재래시장을 중심으로 거래되고 있어 재배지에서 재래시장으로의 장거리 운송 시에 저장성이 우수한 품종이 요구됨
- 인도네시아는 뿌리혹병이 15년 전부터 발생하기 시작하여, 현재는 40% 정도의 포장에 발병되고 있어 그 피해가 심각하여 뿌리혹병 저항성(CR)이 높은 품종이 요구되고 있으며, 또한 동남아시아에서는 내서성이 강하고 병충해에 강한 품종을 선호하고 있으며 이러한 특성을 가지고 있는 품종의 단가가 높음

- 유럽은 다른 지역과 달리 유럽계 중만생종의 종자 유통이 활발하며 결구 긴도가 우수하고 포장 저장성, 내재해성 및 내병충해성(시들음병 저항성(YR), 뿌리혹병 저항성(CR))이 강한 중만생계 양배추 품종이 요구됨
- 유럽의 양배추 시장은 주로 네덜란드 회사(Bejo, Seminis)들이 주도해 왔음. 또한 Takii, Sakata사 등의 일본회사들도 동유럽 시장에 적합한 숙기 늦은 품종을 출시하여 판매가 증가하고 있는 추세임

## 제 7 장   참고문헌

\* 보고서 작성 시 인용된 모든 참고문헌을 열거

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서