

발간등록번호

11-1543000-001666-01

수입대체 복합내병성 대과종 토마토 품종육성

(Variety Breeding with Multi-disease Resistance for Import
Substitution in Tomato)

한경대학교

농림축산식품부. 해양수산부.

농촌진흥청. 산림청

제 출 문

농림축산식품부장관 · 해양수산부장관 · 농촌진흥청장 · 산림청장 귀하

이 보고서를 “수입대체 복합내병성 대과종 토마토 품종육성” 프로젝트의 보고서로 제출합니다.

2017 년 2 월 14 일

프로젝트 연구기관명 : 한경대학교
프로젝트 책임자 : 강 권 규
세부프로젝트 연구기관명 : 토마토생명과학연구소
세부프로젝트 책임자 : 김 명 권
세부프로젝트 연구기관명 : 한경대학교
세부프로젝트 책임자 : 강 권 규

보고서 요약서

과제고유번호	213003-04-1 -SBC10	해 당 단 계 연 구 기 간	42개월	단 계 구 분	1/1
연구사업명	단 위 사 업 명	* 채소,원예 : 농식품기술개발(R&D) * 원예(표고) : 농식품기술개발 * 수산 : 수산기술개발 * 식량, 종축 : 농업공동연구			
	세부 사업명	Golden Seed 프로젝트			
연구과제명	프로젝트명	수입대체 복합내병성 대과종 토마토 품종육성			
	세부 프로젝트명 (주관 연구기관/ 연구책임자)	내재해성 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성(토마토생명과학연구원/ 김명권) SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발 (한경대학교/강권규)			
연구책임자	강권규	해당단계 참 여 연구원 수	총: 75 명 내부: 26 명 외부: 49 명	해당단계 연 구 개 발 비	정부:1,840,000 천원 민간: 366,700 천원 계: 2.206,700 천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 75 명 내부: 26 명 외부: 49 명	총 연구개발비	정부:1,840,000 천원 민간: 366,700 천원 계: 2.206,700 천원
연구기관명 및 소 속 부 서 명	한경대학교 원예생명과학과			토마토생명과학연구소	
위 탁 연 구	연구기관명: 부산대학교, 현대종묘			연구책임자: 박영훈, 박민우	
○ 토마토 신품종을 육종 개발하여 국내 환경에 맞는 우수한 토마토 종자를 보급함으로써 농가 소득증대 및 국내육성 품종 보급률을 향상시키고자 하였다. 연구성과로 품종보호출원 5품종, 품종보호등록 1품종, 품종생산판매신고 5품종을 완료하였으며, 연구기간 내에 토마토 종자 판매 5억원을 달성함 ○ SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재를 육성하기위해 MAB system 확립 및 다양한 SNP 마커 확보 및 MAB 선발을 통해 얻어진 BC3F1 세대에서 25계통 육성하였음				196 page	

요 약 문

I. 제 목

수입대체 복합내병성 대과종 토마토 품종육성

II. 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	품종개발			특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출 액 (백만 원)	종자 수출 액 (만달 러)	기술 이 전	시장조 사 및 정책 조사 보고서	인 력 양 성
	보호 출원	보호 등록	생판 신고	출 원	등 록	SCI	비S CI		수집	등록					
최종목표	3		2	1		1	5		85						10
1차 년도	목표						1		20						2
	실적			1			1		47		78				2
2차 년도	목표			1	1		1		25						2
	실적	1		1	2		1		38		120				2
3차 년도	목표	1		1			1	1	20						2
	실적	2		1			1	1	33		136				2
4차 년도	목표	2					1		20						4
	실적	2	1	2			1	2	34		209				4
계	목표	3		2	1		1	5	85						10
	실적	5	1	5	2		2	5	152		543				10
달성율(%)	160	200	250	200		200	100		178						100

III. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

가. 토마토 수입대체를 위해 재배안전성이 뛰어나고 환경친화적 재배가 가능한 품종 육성

나. 토마토의 소비확대에 기여하고 새로운 소비문화에 부응할 수 있는 품종육성

다. 수입대체 고품질 대과종 5품종, 신기능 육종소재 25계통 육성

(1) 저온기용 복합내병성계 대과종 토마토 3품종 육성

(2) 고온기용 복합내병성계 대과종 토마토 2품종 육성

(3) SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 25계통 육성

라. 국내 토마토 수입대체 30% 점유 및 국제적 수준 품종육성

2. 연구개발의 필요성

- 가. 토마토의 국내 재배면적은 매년 증가하여 6,900ha (2015년) 전후이며, 과채류 중에서 농가소득, 농산물 공급, 국민건강 차원에서 그 중요성이 매우 크다.
- 나. 국내 토마토 재배현황을 보면, 대과종 토마토 면적비율이 50%, 방울토마토가 50% 정도로 재배되고 있다.
- 다. 대과종 토마토는 크게 핑크계(pink)와 레드계(red) 분류되는데 핑크계가 80%, 레드계가 20% 정도이다.
- 라. 대과토마토와 방울토마토의 재배면적 비율이 50:50 정도로 추산되며, 대과토마토는 핑크계:레드계 80 : 20, 방울토마토는 원형계 : 타원형계 (대추형) 20 : 80 정도로 재배되고 있다.
- 마. 국내 토마토 종자시장 규모가 급격히 증가하여 2016년도에 200억 정도로 추산되며, 과채류 중에서 고추 다음으로 큰 비중을 차지하고 있다.
- 바. 재배품종은 국내육성품종이 약 30% 차지하고 있으며, 70% 정도가 외국품종으로 주로 일본과 유럽 등지에서 수입되고 있다.
- 사. 대과종은 수입의존율이 높아 핑크계는 70% 정도가 일본품종이고, 레드계는 80% 정도가 네덜란드, 이스라엘 등에서 수입되고 있다.

IV. 연구개발 내용 및 범위

1. 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성

다양한 토마토 유전자원들의 수집 평가하여 새로운 육종소재를 확보하여 분리선발 및 재육성소재로 활용하였으며, 기존에 고정계통에 새로운 유전자를 도입하고자 Backcross 방법으로 특정 유전자 집적으로 신계통을 창출하였다. 우량계통 육성 선발로 대과종 800여 계통들에 대한 모든 생육형질(배축색, 유묘생장, 초세, 엽형, 절간, 화방발달, 착과성 등)과 과품질 형질(과형, 과크기, 과색, 어깨색, 당도, 맛, 경도, 저장성, 열과, 과균일도 등), 내병성에 대한 조사 분석으로 양친으로 사용할 수 있는 순화 고정된 inbred line을 만들었다. 내병성 검정으로 황화위축바이러스(TYLCV tomato yellow leaf cur virus), 토마토모자이크바이러스(ToMV tomato mosaic virus), 토마토반점시들음바이러스(TSWV tomato spotted wilt virus), 선충(N nematode), 시들음병(F fusarium), 반신위조병(V verticillium, 근부위조병(Fr fusarium radices), 잎곰팡이병(Cf cladosporium fulvum), 역병(Ph phytophthora) 등은 분자마커로 검정하여 선발하였으며, 점무늬병(LS leaf spot), 세균성반점병(BS bacterial spot) 등은 포장저항성 검정을 하였다. 고정계통간에 F1 hybrid 조합을 작성하고 조합선발시험으로 1차 선발하였으며, 선발된 조합에 대해 농가실증시험을 통하여 최종선발과 품종화하였다.

2. SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발

SNP 분석은 레드 및 핑크 대과종 토마토 순계계통으로부터 DNA를 추출하여 resequencing을 수행

하여 많은 DNA 마커를 얻었다. 이들 마커들은 각 계통간의 유전지도를 작성하는데 사용하였으며, 자손집단의 지놈교차율확인하는데 이용하였다. 또한 여교배 후대 집단을 분석하기위해서 GBS system 은 코넬대 방법으로 셋팅하여, 육종효율 증진에 사용하였다. 또한 자식계통에 저항성유전자의 집적을 위해 주요 형질을 함유한 계통은 상호교배에의해 Gene pyramiding 최적화하였다.

V. 연구개발결과

1. 내재해성 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성

가. 토마토 유용 유전자원들의 수집 평가

토마토 유전자원을 생장형별로 유한형, 무한형, 과크기별로 대과종, 중과종, 미니종, 색상별로 pink color, red color, orange color, yellow color, brown color, 과형별로 편구형, 고구형, 타원형, 원형 등을 수집하였고, 저장성이 우수하고 열과저항성인 유전자원, TYLCV, TSWV, 잎곰팡이병, 근부위조병, 점무늬병, 역병, 흰가루병, 청고병 등에 내병성 토마토 유전자원 152점을 수집하여 평가하고 분리육성하거나 재육성 소재로 활용하였다.

나. 우량한 양친 계통들의 육성

모계육성으로 절간이 짧고 화방발달과 착과성이 좋고 과균일도, 저장성, 착색이 우수하고, 토마토모자이크바이러스, 선충, 시들음병, 점무늬병 등에 내병성이 있는 계통을 선발하여 1차년도에 42 line, 2차년도에 41 line, 3차년도에 67 line, 4차년도에 56 line을 육성하였다. 부계육성으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성, 수송성이 우수하며, 황화위축바이러스, 잎곰팡이병, 근부위조병, 역병 등에 내병성이 있는 계통을 선발하여 1차년도에 44 line, 2차년도에 42 line, 3차년도에 60 line, 4차년도에 48 line을 육성하였다. 고정계통들은 F1 조합작성에 사용하였다.

다. 신소재 육성

(pink계 x pink계) 1그룹, (red계 x pink계) 5그룹, (red계 x mini계) 1그룹, (pink계 x brown계) 1그룹 등 8그룹의 신소재육성 조합을 작성하고, backcrossing으로 유전자를 집적하여 BC4F3, BC3F2 단계의 새로운 육성재료들을 창출하였다.

라. F1 조합 선발시험

F1 조합 선발시험으로 제1차년도에 핑크토마토 20조합을 작성하여 14조합을 선발하였고, 2차년도에 핑크 34조합, 레드 28조합을 작성하여 핑크 5조합, 레드 5조합을 선발하였다. 제3차년도에 핑크 32조합, 레드 24조합을 작성하여 핑크 5조합, 레드 4조합을 선발하였으며, 4차년도에 핑크 32조합, 레드 21조합 중에서 핑크 5조합, 레드 5조합을 선발하였다. best로 선발된 조합들은 농가 실증시험을 실시하였다.

마. 품종등록 및 상품화

최종선발된 조합은 품종화하여 핑크토마토 ‘GS핑크’ ‘슈퍼스타’ ‘맘모스TY’ 흑토마토 ‘블랙이글’ 레드토마토 ‘찰스톤TY’ 등을 품종보호출원을 하였으며, ‘TY메가톤’ ‘킹스톤’ ‘토스카나’ ‘블루스톤’ ‘레드스트롱’ 등을 품종생산판매 신고하여 농가보급 판매 및 확대시험 중에 있다.

2. SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발

가. 엘리트계통의 재배/증식을 통한 형질 특성 조사한 결과 초세가 강하고 착과비대가 균일하고 과육이 단단하며 저장성이 우수하고 고온기 재배에 적합한 레드 대과 토마토 우량육종소재 및 저온기에 착과비대가 균일하고 저장성과 맛이 월등히 좋은 복합내병성 핑크 대과토마토 우량육종소재를 재료로 사용하였다.

나. SNP 대량발굴을 위한 재료, DNA추출, 정제 및 QC, sequencing을 위해서 SNP 발굴용 4개의 자식계통은 rin 계 1계통, 핑크계 2계통 및 레드계 1계통의 24일 된 육묘로부터 DNA 추출한 후, DNA 순도를 검정하고, 주) 테라젠에서 QC하고 Illumina/ Hiseq 2000 DNA sequencing을 이용하여 Sequencing 분석함

다. Genom-Wide SNP는 Illumina의 Hiseq 2000를 이용하여 분석하였으며, Shot read에 대한 raw data를 quality에 따라 trimming 하는 sequence pre-processing 과정을 거쳐 reference genome과의 alignment를 수행하여 consensus sequence를 작성 하였음. 1차 SNP(혹은 In/Del) detection 후에, SEEDERS in-house script를 이용하여 샘플 간의 SNP matrix를 작성하고, validation과정을 거쳐 유의한 SNP 후보 선발되었다. 4개의 자식계통의 Shot read에 대한 raw data는 표 2와 같다. 자식계통 간 read 수는 40,383,428 ~ 43,406,156으로 Reference genome의 10.33 ~ 11.11 배로 많이 읽었음. 4개의 자식계통의 raw data를 quality에 따라 trimming 한 결과 Reference genome의 8.40 ~ 9.10 배로 raw data의 79.25 ~ 84.7 %의 수준을 보였음. reference genome과 자식계통의 SNP는 144,992 ~ 558,526으로 polymorphic SNP는 교배조합인 K1과 K2는 607962, K3와 K4는 213,782로 나타났으며 비교샘플 간에 SNP비교분석은 각 샘플을 표준유전체와 비교하여 얻은 Total SNP position을 후보로 하여 합집합의 리스트를 만들고, matrix를 작성한다. 이 때, 빈 영역은 다시 샘플의 consensus sequence로부터 채워 넣는다. 작성된 matrix에서 동일한 position을 기준으로, 비교샘플 간에 서로 SNP인 경우 (polymorphic SNP)를 선발하였다.

라. reference genome과 자식계통의 SNP는 144,992 ~ 558,526으로 polymorphic SNP는 교배조합인 K1과 K2는 607962, K3와 K4는 213,782로 나타났음. 비교샘플 간에 SNP비교분석은 각 샘플을 표준유전체와 비교하여 얻은 Total SNP position을 후보로 하여 합집합의 리스트를 만들고, matrix를 작성한다. 이 때, 빈 영역은 다시 샘플의 consensus sequence로부터 채워 넣는다. 작성된 matrix에서 동일한 position을 기준으로, 비교샘플 간에 서로 SNP인 경우 (polymorphic SNP)를 선발하였다. Polymorphic SNP 중 intergenic region은 K1-K2 91%, K3-K4 83%로 나타났으며 Genic은 9, 17%로 나타났다. Genic은 다시 intron, CDS, UTR로 나뉘어 각각 K1-K2에서 6, 3, 0 %, K3-K4에서 11, 5, 1% 로 나타났음.

마. 염색체상에 K1-K2 간 polymorphic-SNP 분포도는 자식계통 K1-K2간 Polymorphic SNP 분포 12개 염색체 모두에 분포하고 있으며, 특히 5번 염색체에서 많은 Polymorphic SNP를 나타냄. 또한 자식계통 K3-K4간 Polymorphic SNP 분포 12개 염색체 모두에 분포하고 있으며, 특히 9번과 11번 염색체에서 많은 Polymorphic SNP를 나타내었다. 또한 각각의 자식계통 Genome-wide

In/Del 분석결과 27136 ~ 44462 수준으로 나타났으며, 교배조합인 K1-K2의 polymorphic in/del은 30,641, K3-K4는 11,045로 나타났음.

바. HRM (High Resolution Melting) primer design을 위해 Genome-wide 분석결과를 토대로 HRM primer set는 K1-K2간에 HRM primer set가 186,800, K3-K4간에는 70,596 set가 디자인 하였음. 그리고 이들 SNP 정보를 이용하여 초밀도 genetic map을 구축하였다.

사. 토마토 4 품종의 SNP를 이용하여 교배조합별 이용 가능한 SNP를 선발함. 가능한 총 교배조합은 6개이고, 총 410,074 SNPs가 선발되었다. 이 중 조건을 만족하는 primer를 디자인 할 수 있는 SNP는 245,514개이었다. 교배조합별 이용 가능한 SNP는 다양하였는데 K1 × K2 조합은 가장 많은 60,865 SNPs가 선발되었고, 그 중 primer를 이용할 수 있는 SNP는 40,691개이었다. 반면 K3 × K4 조합은 가장 적은 40,136 SNPs가 선발되었는데, 이용 가능한 primer를 가지는 SNPs 로는 20,62개가 존재하였다.

아. 각 염색체의 물리적인 길이로 구획한 경우는 염색체당 5개의 동일한 크기로 나누었다. 약 90Mb의 길이로 12개염색체 중 가장 긴 1번 염색체는 5개의 18Mb 길이의 구획으로 나누었고, 약 46Mb 길이의 가장 짧은 6번 염색체는 5개의 9Mb 길이로 분획되었다. 그리고 토마토 4 품종의 교배조합별로 primer가 이용 가능한 SNP를 이용하여 한 구획 당 3개의 SNP를 선발하여 나타내었다. 그리고 선발한 SNP 마커는 염색체별 약 10개씩 총 120개로 이들 마커정보를 DB화로부터 HRM primer을 디자인하였다.

자. 식물 육종에서 여교배는 하나 또는 그이상의 형질을 우량 계통에 도입 하고자 할 때 주로 사용하고 있는 육종법으로 BC1F1 세대에서 donor 친의 유전자들은 25%, 반복친은 75%로 구성되는 것이 통상적으로 알고 있다. 그러나 육종 현장에서는 유전자간의 상위성, 재조합 등에 의해 그 비율이 다소 차이를 보인다. 이런 차이를 이용하여 donor친의 유전자들이 많이 포함되지 않은 개체를 선발 한다면, 육종의 세대단축에 기여 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 최근 개발되어 사용하고 있는 GBS (genotyping by sequencing) 기술을 선택하고 그 기술을 이용하여 육종현장에 접목하여 BC1F1 세대에서 선발 효율을 높이고자 한다. 토마토 BC1F1 세대 96개체 library 구축을 위해 GBS Next generation sequencing 분석 재료의 제작 후 QC 결과를 나타낸 것으로 Acrylamide-gel 전기영동과 QC profile 결과와 일치하는 것을 확인하였다.

차. rin/rin의 유전자형을 가지면서 식미가 우수한 계통을 이용하여 초세가 강하고, 당도가 높고, 과 크기가 280-310g 인 핑크계에 교배하여 얻어진 F1은 핑크계 이며, 이를 이용하여 핑크계 P2와 여교배하여 BC1F1 세대로부터 foregrounding selection으로 rin 유전자형으로 먼저 선발하였다. 그리고 backgrounding 선발을 위해 GBS의 실험한 결과 BC1F1 식물체별 호모 SNP는 3,086개이었고, heterozygous SNP는 810개를 얻었다. 얻어진 호모 및 헤테로 SNP 마커를 염색체별로 분획한 결과 1번 염색체 239개, 2번 염색체 93개, 3번 염색체 197개, 4번 염색체 149개, 5번 염색체 233개, 6번 염색체 996개, 7번 염색체 120개, 8번 염색체 12개, 10번 염색체 28개, 11번 염색체 169개, 12번 염색체 245개 등 다양성을 보였음. BC1F1 세대에서 rin 유전자가 포함하고 반복친 핑크토마토의 계놈 조성을 살펴본 결과 대부분이 65-78%을 보였으며, 이중 rin/rin

계 P1 계놈이 15% 이하인 350-380 정도의 SNP 마커가 포함되어 있는 BC1F1 개체는 38, 45, 51, 57 식물체로써 각각 donor 계놈이 13%, 16%, 12%, 12.5%로 나타났다. 선발 BC1F1 식물체 과실의 특성을 살펴본 결과 핑크이면서, 초세가 강하고, 경도가 높으며 다양한 특성을 보였다. 선발한 식물체의 속기는 양친에 비해 반복친에 가깝게 나타났으며, 초세는 반복친과 거의 유사하였다. 그러나 과중은 donor 친과 거의 유사한 결과를 보였으며, 다른 형질은 크게 구별되지 않았다. 카. 양친 모두 무한생장형, 초세는 모두 강하며, 과형은 고구형, 편구형, 당도는 5.5-6.0 범위에 있는 자식계통을 이용하여 F1 및 BC1F1을 육성하여 GBS를 적용하였다. 레드계 토마토를 donor 친으로 pink 계 토마토를 recurrent 친으로 육성한 BC1F1 세대에서 GBS 적용 후, 얻어진 polymorphic SNP 마커수는 호모 SNP 2492 개 및 헤테로 SNP 396개로 나타났다. 얻어진 호모 및 헤테로 SNP 마커를 염색체별로 분석한 결과 표. 18와 같다. 1번 염색체 196개, 2번 염색체 23개, 3번 염색체 42개, 4번 염색체 116개, 5번 염색체 72개, 6번 염색체 287개, 7번 염색체 57개, 8번 염색체 38개, 10번 염색체 18개, 11번 염색체 84개, 12번 염색체 130개 등 다양성을 보였다. BC1F1 세대에서 red계 고품질 관련 유전자가 포함하고 반복친 핑크토마토의 계놈 조성을 살펴본 결과 대부분이 75-78%를 보였으며, 이중 red계 P1 계놈이 15% 이하인 BC1F1 개체는 61, 90 식물체로써 각각 donor 계놈이 11.5%, 14.5%로 나타났다. 발 BC1F1 식물체 과실의 특성을 살펴본 결과 핑크이면서, 초세가 강하고 다양한 특성을 보였다. 선발한 식물체의 속기는 양친에 비해 반복친에 가깝게 나타났으며, 초세는 반복친과 거의 유사하였다. 그러나 과중은 donor 친과 거의 유사한 결과를 보였으며, 다른 형질은 크게 구별되지 않았다.

타. 토마토 F1 품종간 교배를 통한 우량 유전자 집적 red 토마토 육종소재 개발을 위해 레드계 품종 메드슨과 티와이 250 품종을 교배하여 과중 250g, 고구형, 색상이 뚜렷하고, 초세가 강한 병저항성 인자가 다량 포함된 자식종자 S6 세대를 육성하였다.

3. 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발

가. 토마토 35계통 사이에서 수용성 비타민(WSV; Water Soluble Vitamin) B1, B2, B3, B5, B6, B9와 C 그리고 Polyphenol류 Naringenin chalcone, Quercetin, Rutin, Kaempferol과 Myricetin의 정량과 각 계통간의 비타민 함량이 유의한 지를 보고자 수행되었음. 수용성 비타민의 함량을 알아보기 위해 Sequential determination of fat-and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage, Santos J et al, 2012, Journal of Chromatography A 179-188을 참고하여 분석조건을 확립하였고 Polyphenol계 물질을 위하여 Determination of polyphenol levels variation in Capsicum annuum L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, SeMin Park et al, 2012, Food chemistry 981-985를 참고하여 추출조건을 설정하였음.

나. 토마토 유전자원은 재래종, 재배종, 야생종 등을 보유하고 있는 총 100계통에서 resequencing이 수행된 30계통을 선발하였고 그 중 재배 시 고온의 영향으로 누락이 된 개체를 제외한 23계통을 사용하였고, 국내 육종회사 F1 12 품종을 추가하여 정량분석을 위한 시료로 사용하였음.

다. Standard solution 분석으로, 결과로 도출해낸 Peak와 본 연구에 사용한 시료를 이용하여 얻은 Peak를 비교하여 수용성비타민과 Polyphenol이 검출된다는 사실을 알 수 있었음(Test한 두 시료의 결과를 대입시켜 Standard solution을 기준으로 물질의 유무를 확인). 이 때, 수용성비타민 B2와 B9의 경우 같은 시간에 나타난 Peak가 같은 Intensity를 보이지 않고, 다른 Peak가 매우 많이 검출되는 것을 확인하였으며, LOD값 이하로 검출되어 이는 본 실험에 사용된 토마토시료에는 함유되어있지 않다고 사료됨.

라. 토마토 수용성비타민과 Polyphenol 성분분석 결과는 B2와 B9을 제외한 선발 물질에서, 모두 LOD값 이상으로 성분이 검출되었다. 각각 토마토 35계통에서 얻은 농도(Concentration; $\mu\text{g/g}$)와 이에 대한 표준편차와 상대표준편차를 얻을 수 있었으며, 이로 인해 한 계통에 대한 3반복의 신뢰성을 확보함.

마. Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations, Rebecca Stevens et al, 2007, Plant Physiology vol.143 1943-1953에 의해 소과에서 더욱 많은 Ascorbic acid(Vitamin C)를 함유한다는 것을 착안하여 35계통 식물 시료에 대한 정량분석 데이터를 각 시료에 대한 과중 평균 Data를 기준으로 소과는 0-60g, 중과는 60-150g, 대과는 150g이상으로 나누어 분류하였음. 또한, 시료 간에 과색의 차이가 뚜렷한 것에 착안점을 두어 과색에 따른 분류를 시행하였음.

바. 과색에 따라 가공한 Data에 따르면 Black, Orange, Pink, Red와 Yellow로 나누어 보았을 때, 수용성비타민의 경우 C, B3, B6는 Red에서 가장 많은 함유량을 나타내었고 B5와 B1는 과색에 따른 차이를 보이지 않았음. 정량분석을 한 5가지 Polyphenol 모두에서 Pink과가 가장 낮은 함유량을 나타내는 것을 확인하였음. Polyphenol의 경우, 외국 재래종 고정계통 22품종에서는 Orange와 Red과에서 높은 함유량이 나타났고, 국내 육종회사 F1 12 품종에서는 Yellow와 Red과에서 높게 나타나 전반적으로 Red과에서 Polyphenol성분이 많을 것으로 사료됨.

사. 과 크기에 따라 가공한 Data에 따르면 수용성 비타민의 경우, 크기에 따른 차이점은 보기 힘들었으나 112번 시료(LA0797)은 5가지 수용성비타민에 대해 모두 높은 함유량을 나타냄. 또한 B6를 제외한 4가지 물질에서 대과에서 높은 함유량을 보였고, B6의 경우 가장 높은 함유량을 보인 과실은 대과이나, 그 다음으로 높은 과실들은 소과인 것으로 미루어 보아 소과에 많이 함유되어 있을 것으로 사료됨. Polyphenol의 경우 외국 재래종 고정계통 22품종에서는 눈에 띄는 차이를 보이지 않았으나 국내 육종회사 F1 12 품종에서는 소과에서 높은 함유량을 띄었음.

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 품종개발

구분	품종명칭	국명	출원(등록)			해당년도
			출원인	출원일	출원번호(등록번호)	
품종보호출원	GS핑크(K-Star)	한국	김명권	2015.1.19	2015-108(제6337호)	2014
품종보호출원	슈퍼스타	한국	김명권	2015.10.20	2015-582	2015
품종보호출원	블랙이글	한국	김명권	2015.12.1	2015-679	2015
품종보호출원	맘모스TY	한국	김명권	2016.6.22	2016-321	2016
품종보호출원	찰스톤TY	한국	김명권	2016.7.20	2016-351	2016
구분	품종명칭	국명	출원			해당년도
			출원인	출원일	신고번호	
품종생산 판매신고	TY메가톤	한국	김명권	2014.2.19	02-0005-2014-10	2013
품종생산 판매신고	GS레드(토스카나)	한국	김명권	2015.1.23	02-0005-2015-12	2014
품종생산 판매신고	킹스톤	한국	김명권	2015.10.27	02-0005-2015-79	2015
품종생산 판매신고	레드스트롱	한국	김명권	2016.10.21	02-0005-2016-63	2016
품종생산 판매신고	르네상스TY	한국	김명권	2016.11.2	02-0005-2016-68	2016

나. 특허

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]

구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
특허	발명특허	대한민국	부산대	2015.06	10-2015-092628				2015
	발명특허	대한민국	한경대	2015.02	10-2015-020154				2015

다. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Development of a high-resolution melting marker for selecting Fusarium crown and root rot resistance in tomato	Genome	Bichseam Kim	doi: 10.1139/gen-2011-0115	캐나다	NRC Research Press	SCI
2	Transgenic tomato plants ectopically expressing BrRZFP1 gene encoding C3HC4-type RING zinc finger protein	Plant Breeding and Biotechnology	정유진	2	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI
3	Whole Genome Resequencing in Tomato Lines Reveals SNP Variation and Breeding Events	Plant Breeding and Biotechnology	정유진	1	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI
4	Molecular characterization of the UDP-glucose 4-epimerase (BrUGE) gene family in response to biotic and abiotic stress in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i>)	PBR	강권규	9	일본	springer	SCIE
5	Identification of an SNP Variation of Elite Tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) Lines using Genome Resequencing Analysis	Korean Society of Breeding Science	강권규	57	한국	Korean Society of Breeding Science	SCIE
6	Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes	J Plant Biotechnol	강권규	43	한국	J Plant Biotechnol	Scopus
7	Genome Sequencing, a Milestone for Genomic Research and Plant Breeding	J Plant Biotechnol	강권규	43	한국	J Plant Biotechnol	Scopus

2. 성과활용계획: 2단계 품종육성에 활용할 계획임

SUMMARY

(영문요약문)

I. Title

Variety Breeding with Multi-disease Resistance for Import Substitution in Tomato

II. Research Goal and Achievements

The object of this project is to Tomato(*Lycopersicon esculentum* L.) new variety breeding and development adaptable in domestic environment, distribute seeds to farmers profit increasing and stabilization of tomato seed market, also advancement of nation competitiveness. the quantitative goal of this project was established on variety protection application 3 varieties and variety production and sales declaration 2 varieties. the achievements have been completed variety protection submission 5 varieties, variety protection registration 1 variety, variety production and sales declaration 5 varieties, and achieved tomato seed sales in domestic of 500 million KRW within this study period.

III. Aims and Needs for Research Development

Domestic cultivation area of tomato is 6,344 ha in 2012, and it is very important in farm household income and agricultural product supply among domestic fruit and vegetables. Domestic tomato cultivation is dominated by 55-60% big size fruit tomatoes and 40-45% cherry tomatoes. Big size fruit tomatoes are classified into pink type and red type, of which 90% are pink type and 10% red type. Domestic tomato seed market size is about 17 billion won in 2012, domestic cultivated varieties account for 30% and foreign imported paper accounts for 70%. Therefore, in this study, we aimed to increase the cultivation rate of domestic cultivated cultivars that are excellent in cultivation safety, environmentally friendly cultivation and tomato consumption, and cultivating cultivars capable of responding to new consumption culture. Pink big size tomato F1 hybrids have been developed with good fruit setting and enlargement, strong to window fruit, abnormal fruit physiological injury, good keeping quality and taste, TYLCV, ToMV, Fusarium, Nematode, Cladosporium, Leaf spot etc. multi disease resistance, Red big size F1 hybrids have been bred with strong plant vigor, uniform fruit setting, good storage and transportation, firm fruit flex, multi resistance adaptable in soil culture and hydroponic culture. Mostly tomato cultivation is conducted under protected houses in successive cropping, various disease of Fusarium, Fusarium radicles, Nematode, Cladosporium, Yellow Leaf Curl Virus etc. appear, also grow long period cycle under

low temperature, hot temperature, so that we need multi disease resistance and good environmental adaptable variety.

IV. Contents and Range of Research Development

The 1st detail study : collected and evaluated diverse tomato genetic resources for using segregating breeding and recombination matters, created new lines as present lines accumulated with new gene by backcross method, prime inbred line breeding and selection was performed about 800 materials which were evaluated and analysed all the growth characteristics(cotyledon color, seedling growth, plant vigor, leaves shape, internode, clusters developing, fruit setting etc.) and fruit quality characteristics (fruit shape, fruit size, fruit color, shoulder color, sugar content, taste, firmness, storage, crack, fruit uniformity etc.), disease resistance was tested and selected by molecular marker on TYLCV(tomato yellow leaf curl virus), ToMV(tomato mosaic virus), TSWV(tomato spotted wilt virus), N(nematode), F(fusarium), V(verticillium), Fr(fusarium radices), Cf(cladosporium fulvum), Ph(phytophthora) etc. and leaf spot, bacterial spot were checked in the field tolerance. the crossed F₁ hybrid combinations between fixed lines were tested and selected through hybrid selection trial, final selections from actual farmer'field trial have been registered as commercial variety.

The 2nd detail study : In the SNP analysis, many DNA markers were obtained by resequencing DNA extracted from the red and pink type big size fruit tomato inbred lines. These markers were used to generate genetic maps between each lines and were used to identify genomic crossing rates of offspring groups. The GBS system was set up by the Cornell method and used to improve breeding efficiency. Gene pyramiding was optimized by mutual crossing of strains containing major traits for the integration of resistant genes in the offspring.

V. Results of Research Development

Chapter 1 Variety Breeding with Multi-disease Resistance for Import Substitution in Tomato

1. Collection and evaluation of tomato useful genetic resources: Collected and evaluated 152 tomato genetic resources which are determinate type, indeterminate type by growth habit, big size, medium size, mini size by fruit weight, pink, red,

orange, yellow, brown by color, oblate, deep oblate, round, oval by fruit shape, good storage and cracking tolerance genetic resources, and TYLCV, Cladosporium, Fusarium radicans, Leaf spot, Phytophthora, Powdery mildew, Bacterial wilt resistant tomato genetics, these materials were evaluated and selected from the segregating population or used for recombination materials.

2. Elite parent line breeding and selection; Female line breeding and selection: bred and selected 42 lines in 1st year, 41 lines in 2nd year, 67 lines in 3rd year, 56 lines in 4th year with short internode, good flower developing, fruit setting, uniformity, storage, color, and Tomato Mosaic Virus, Nematode, Fusarium, Leaf spot resistance. Male line breeding and selection: bred and selected 44 lines in 1st year, 42 lines in 2nd year, 60 lines in 3rd year, 48 lines in 4th year with strong plant vigor, firm fruit flex, storage and transportation, Tomato Yellow Leaf Curl Virus, Cladosporium, Fusarium radicans, Phytophthora resistance. fixed inbred lines were used for F₁ hybrid combination crossing.

3. New material creation backcross; New materials improved to BC₄F₃, BC₃F₂ stage by backcross that were accumulated new gene in (pink x pink) 1 group, (red x pink) 5 group, (red x mini) 1 group, (pink x brown) 1 group recombinations.

4. F₁ hybrids selection trial: In the 1st year selected pink 14 combinations out of 20 hybrids, the 2nd year selected pink 5 combinations, red 5 combinations out of 62 hybrids, in the 3rd year selected pink 5 combinations, red 4 combinations out of 56 hybrids, in the 4th year selected pink 5 combinations, red 5 combinations out of 53 hybrids. the best selections have been tested at actual farmers' field trial.

5. Variety registration and commercialization: Final selected hybrids were registered that pink tomato 'GS Pink' 'Super Star' 'Mammoth TY', black tomato 'Black Eagle' red tomato 'Charlestone TY' were submitted to variety protection, also have been submitted variety production and sales declaration on 'TY Megaton' 'King Stone' 'Toscana' 'Blue Stone' 'Red Strong', all the varieties are on sales or large scale trial currently.

Chapter 2. Development Rapid Advancement of Generations for Breeding Efficiency Promotion for breeding Material by Using SNP Technology in Tomato

1. The characteristics of the traits from the cultivation / propagation of the elite lines were investigated. The results showed that the root length was strong, the seedlings were uniform, the flesh was hard and the storage was excellent. Very good complex tolerance pink base and tomato breeding material were used as materials.

2. For DNA extraction, purification, QC, and sequencing, four tomato inbred lines for SNP search were DNA extracted from 24-day-old seedlings of rin type 1, pink type 2 and red type. The purity of DNA was verified by using QC and sequencing was performed with Illumina and Illumina / Hiseq 2000 DNA sequencing system.

3. Genom-Wide SNP was analyzed using Illumina's Hiseq 2000, and consensus sequence was created by alignment with reference genome through sequence pre-processing to trim raw data for shot read according to quality. After detection of the primary SNP (or Indel), a SNP matrix was created between the samples using the SEEDERS in-house script, and the SNP candidates were selected through validation. The number of readings between child lines was 40,383,428 ~ 43,406,156, which was 10.33 ~ 11.11 times that of the reference genome. As a result of trimming the raw data of four children lines according to quality, it was 8.40 ~ 9.10 times of the reference genome and 79.25 ~ 84.7% of raw data. The SNPs of the reference genome and the child line were 144,992 ~ 558,526. K1 and K2 were 607962, and K3 and K4 were 213,782 in the polymorphic SNP. Create a list of unions with the SNP position as a candidate, and create a matrix. At this time, the empty region is filled again from the consensus sequence of the sample. Based on the same position in the created matrix, polymorphic SNPs were selected among the comparative samples.

4. The SNPs of the reference genome and the offspring were 144,992 ~ 558,526, and the polymorphic SNPs were 607962 for K1 and K2, and 213,782 for K3 and K4. A comparison of SNPs between comparative samples is made by creating a list of unions and a matrix, with the total SNP position obtained by comparing each sample with a standard genome as a candidate. At this time, the empty region is filled again from the consensus sequence of the sample.

Based on the same position in the created matrix, polymorphic SNPs were selected among the comparative samples. Among the polymorphic SNPs, 91% of K1-K2, 83% of K3-K4, and 9,17% of genic were found in the intergenic regions. Genic was again divided into intron, CDS, and UTR by 6, 3, 0% in K1-K2 and 11, 5 and 1% in K3-K4, respectively.

5. The distribution of polymorphic-SNPs between K1 and K2 on chromosomes is distributed in all 12 chromosomes of the polymorphic SNP distribution between K1 and K2 in child line. Especially, there are many polymorphic SNPs on chromosome 5. Polymorphic SNP distribution in the K3-K4 strain was also distributed in all 12 chromosomes, especially polymorphic SNPs on chromosome 9 and 11. In addition, genome-wide In / Del analysis of each strain showed 27136 ~ 44462 levels. The polymorphic in / del of K1-K2 was 30,641 and the K3-K4 was 11,045.

6. Based on the results of the genome-wide analysis for HRM (High Resolution Melting) primer design, the HRM primer set was designed with HRM primer set of 186,800 between K1 and K2, and 70,596 sets among K3-K4. We constructed a genomic map using SNP information.

7. SNPs of four varieties of tomatoes were used to select available SNPs for each crossbreeding combination. There were 6 possible total crossbreeding combinations, totaling 410,074 SNPs. Of these, 245,514 SNPs were able to design primers satisfying the conditions. The SNPs available for each mating combination varied, with 60,865 SNPs selected for the K1 × K2 combination, among which 40,691 SNPs were available for primer use. On the other hand, the K3 × K4 combination showed the lowest number of 40,136 SNPs. There were 20,62 SNPs with available primers.

8. When divided into physical lengths of each chromosome, they were divided into five equal sizes per chromosome. The longest chromosome 1 of 12 chromosomes was about 90 Mb in length and was divided into 5 18 Mb long sections. The shortest chromosome 6 of about 46 Mb was divided into 5 9 Mb lengths. Three SNPs were selected for each mosaic by using SNPs available for primer - mating combinations of four tomato varieties. The selected SNP markers were about 120, totaling about 10 for each chromosome. The HRM primer was designed from the database of these marker information.

9. It is commonly known that crossbreeding in plant breeding consists of 25% of donor genes in the BC1F1 generation and 75% of the repetitive progeny in the breeding method used when introducing one or more traits into a good lineage. However, at the breeding site, the ratio is somewhat different due to the superiority of genes and the recombination. Using these differences, selection of individuals that do not contain many donor genes can contribute to a shorter generation of breeding. Therefore, this study aims to increase the selection efficiency in the BC1F1 generation by setting GBS (genotyping by sequencing) technology that has been developed and used recently and using this technology in the field of breeding. After generation of the GBS Next Generation Sequencing analytical material for the construction of 96 libraries of tomato BC1F1 generations, the QC results were shown to be consistent with Acrylamide-gel electrophoresis and QC profile results.

10. F1, which is obtained by crossing to a pink system which has a genotype of *rin* / *rin* and has a good taste and has high initiality, high sugar content, and a size of 280-310 g, is a pink system. Using this method, we crossed with pink P2 and selected as *rin* genotype from foregrounding selection from BC1F1 generation. GBS showed 3,886 homozygous SNPs per plant and 810 heterozygous SNPs per background. The obtained homozygous and heterozygous SNP markers were divided into 239 chromosomes, 93 chromosomes, 197 chromosomes, 197 chromosomes, 149 chromosomes, 233 chromosomes, 996 chromosomes, 996 chromosomes. There were 120 chromosomes, 12 chromosomes, 28 chromosomes, 169 chromosomes, and 245 chromosomes. Genomic composition of the pink tomatoes containing the *rin* gene in the BC1F1 generation and repeatedly cloned showed that 65-78% of them were in the majority. Among the 38, 45, 51, and 57 plants, the donor genome was 13%, 16%, 12%, and 12.5%, respectively, in the BC1F1 population containing about 350-380 SNP markers with less than 15% of the *rin* / appear. As a result of looking at the characteristics of BC1F1 plant fruit, it showed pink, strong initial, hardness and various characteristics. The maturity of the selected plants was similar to that of the parents. However, overfeeding was similar to that of donor, and other traits were not significantly differentiated.

11. F1 and BC1F1 were grown and GBS was applied by using the parent line of the parents, the sugar content in the range of 5.5-6.0. The number of polymorphic SNP markers was 2492 homozygous SNPs and 396 heterozygous SNPs after GBS application in the BC1F1 generation in which the red tomatoes were donor and the pink tomatoes were recurrently grown. The obtained homozygous and heterozygous SNP markers were fractionated by chromosome,

resulting in 196 chromosomes, 23 chromosomes 2, 42 chromosomes, 42 chromosomes, 116 chromosomes, 72 chromosomes, 287 chromosomes, 7 chromosomes There were 57 chromosomes, 38 chromosomes, 18 chromosomes, 84 chromosomes, and 130 chromosomes. In the BC1F1 generation, the genomic composition of the red genetically modified pink tomatoes containing the high quality gene related to red was 75-78%, and BC1F1 with less than 15% of the red P1 genome was 61, 90 plants, 11.5% and 14.5%, respectively. As a result of looking at the characteristics of the plant BC1F1 plant fruit, it was pink, but it showed strong and various characteristics. The maturity of the selected plants was similar to that of the parents. However, overfeeding was similar to that of donor, and other traits were not significantly differentiated.

12. For the gene pyrimiding experiment, a hybrid of F1 x F1 crossing was carried out. In order to develop a high-yielding tomato breeding material, Medson F1 and TY 250 F1 were crossed, fruit weight (250g) were selected to F1, F2, F3, F4, F5 and F6 generation.

Chapter 3. Development of high-quality tomato breeding materials by analysis of genomics and metabolites

1. Quantitative of water soluble vitamins (WSV) B1, B2, B3, B5, B6, B9 and C and polyphenols such as Naringenin chalcone, Quercetin, Rutin, Kaempferol and Myricetin and vitamin contents of 35 tomato breeding materials were analyzed. To determine the content of water-soluble vitamins, analytical conditions were established by reference to Journal of Chromatography A 179-188, Santos *et al*, 2012, Sequential determination of fat-and-water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage. Determination of Polyphenol Levels in *Capsicum annuum* L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, SeMin Park *et al*, 2012, Food chemistry 981-985.

2. Thirty isolates were selected for resequencing in 100 genotypes including native species, cultivars and wild species. Among them, 23 strains were used except the missing ones due to high temperature during the cultivation. F1 12 varieties were added and used as a sample for quantitative analysis.

3. By standard solution analysis, it was found that water-soluble vitamins and polyphenols were detected by comparing the peaks derived from the resultant peaks with the peaks obtained from the samples used in the present study (by substituting the results of the two tested samples, To check the presence of the substance). In this case, the water-soluble vitamin B2 and B9 did not show the same intensity of peaks at the same time, and it was confirmed that other peaks were detected very much. It was detected below the LOD value and contained in the tomato samples used in this experiment.

4. Analyzes of tomato water - soluble vitamins and polyphenols showed that the components were found to be above the LOD value in B2 and B9. Concentration ($\mu\text{g} / \text{g}$) and standard deviation and relative standard deviation were obtained for 35 lines of tomatoes, respectively.

5. In addition, it has been reported that ascorbic acid (Vitamin C) is contained in the bovine colony according to Rebecca Stevens et al., 2007, Plant Physiology vol.143 1943-1953. Quantitative analysis data of 35 plant samples were classified into 0-60g, 60-150g, and 150g, respectively, based on the average data of each sample. In addition, the classification was performed according to the color of the specimen, with the focus on the difference in coloration between the samples.

6. According to the data processed according to the whiteness, C, B3, and B6 in the case of water soluble vitamins showed the highest contents in Red, when they were divided into Black, Orange, Pink, Red and Yellow. And B5 and B1 showed no difference according to coloration. In all of the five polyphenols analyzed, the lowest content was found in pink. Polyphenol content was higher in orange and red than in yellow and red in the native breeder F1 12 varieties.

7. According to the data processed according to the size of the water soluble vitamin, the difference according to the size was hard to see, but the sample No. 112 (LA0797) showed high contents for the five water soluble vitamins. In addition, the content of B6 was higher than that of B6, and the highest content of B6 was found in the flesh, but the next highest fruit was in the bovine. Polyphenol did not show any significant

difference in the 22 varieties of foreign native species, but it was higher in the cherry tomato in domestic breeding company F1 12 varieties.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1	Outline of project (including detailed project) and performance goal	23
Chapter 2	Domestic and Overseas Technology Development Status	30
Chapter 3	RESEARCH AND DEVELOPMENT CONTENTS AND RESULTS	33
Section 1.	Variety breeding with multi-disease resistance for import substitution in tomato	33
Section 2.	Variety breeding with high quality fruit for import substitution in tomato	67
Section 3.	Development rapid advancement of generations for breeding efficiency promotion for breeding material by using SNP technology in tomato	85
Section 4.	Development of high-quality tomato breeding materials by analysis of genomics and metabolites	129
Chapter 4	Achievement of goal and contribution to related field	163
Chapter 5	R & D Performance and Performance Utilization Plan	167
Chapter 6	Overseas science and technology information collected during the R & D process	174
Chapter 7	References	174

목 차

제 1 장	프로젝트의 개요 및 성과목표	23
제 2 장	국내외 기술개발 현황	30
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	33
	제 1절: 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성	33
	제 2절: 고품질 수입대체용대과종 토마토 품종 육성	67
	제 3절: SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발	85
	제 4절: 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발	129
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	163
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	167
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	174
제 7 장	참고문헌	174
<첨부>	특허, 논문 및 시장분석 보고서	189

제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표

제 1절 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 등을 기술

1. 연구개발의 목적

- 가. 토마토 수입대체를 위해 재배안전성이 뛰어나고 환경친화적 재배가 가능한 품종 육성
- 나. 토마토의 소비확대에 기여하고 새로운 소비문화에 부응할 수 있는 품종육성
- 다. 수입대체 고품질 대과종 12품종, 신기능 육종소재 25계통 육성
 - (1) 저온기용 복합내병성계 대과종 토마토 6품종 육성
 - (2) 고온기용 복합내병성계 대과종 토마토 6품종 육성
 - (3) SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 25계통 육성
 - (4) 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발
- 라. 국내 토마토 수입대체 70% 점유 및 국제적 수준 품종육성

2. 연구개발의 필요성

- (1) 토마토의 국내 재배면적은 매년 증가하여 6,900ha (2015년) 전후이며, 과채류 중에서 농가소득, 농산물 공급, 국민건강 차원에서 그 중요성이 매우 크다.
- (2) 국내 토마토 재배현황을 보면, 대과종 토마토 면적비율이 50%, 방울토마토가 50%정도로 재배되고 있다.
- (3) 대과종 토마토는 크게 핑크계(pink)와 레드계(red) 분류되는데 핑크계가 80%, 레드계가 20% 정도이다.
- (4) 대과토마토와 방울토마토의 재배면적 비율이 50:50 정도로 추산되며, 대과토마토는 핑크계 : 레드계 90 : 10, 방울토마토는 원형계 : 타원형계 (대추형) 40 : 60 정도로 재배되고 있다.
- (5) 국내 토마토 종자시장 규모가 급격히 증가하여 2016년도에 200억 정도로 추산되며, 과채류 중에서 고추 다음으로 큰 비중을 차지하고 있다.
- (6) 재배품종은 국내육성품종이 약 30% 차지하고 있으며, 70% 정도가 외국품종으로 주로 일본과 유럽 등지에서 수입되고 있다.
- (7) 대과종은 수입의존율이 높아 핑크계는 80% 정도가 일본품종이고, 레드계는 80% 정도가 네덜란드, 이스라엘 등에서 수입되고 있다.
- (8) 국내 토마토 종자시장에 외국 품종들이 무분별하게 들어오고 있으며, 종자가격도 비싸 토마토 재배농가의 부담을 가중시키고 있다.
- (9) 연작에 따른 각종 병해충 발생 증가와 최근 잦아진 극저온, 극고온 등 기후변화에 따른 토마토 안정생산이 위협받고 있다, 따라서 바이러스, 세균병, 곰팡이병 등에 복합내병성이면서 환경 적응성이 우수한 수입 대체용 신품종의 개발이 시급한 실정이다.
- (10) 토마토는 주요 육종 목표는 과실 수량 및 숙성, 크기, 색깔, 가용성 고형물 함량과 같이 맛

을 결정하는 요인과 병해충 저항성, 환경스트레스 저항성 등 재배 편의성에 집중하고 있으며, 중요한 육종형질은 오랜 기간 동안 유전적 연구와 유전자 연구가 진행되어 풍부한 문헌정보를 가지고 있다.

(11) 토마토의 유전체 염기서열 정보 전체가 공개 (*S. lycopersicum* Heinz 1706; Nature, 2012) 되어 이용 가능한 상황이며, 현재 13 품종 토마토의 genome sequencing project가 완료 혹은 진행 중이다.

(12) 현재까지 형질관련 분자마커 개발은 단일 유전자에 의해 조절되는 형질 중심으로 개발되어 왔으나, 세대단축을 위하여 여교잡 선발 (Marker-assisted backcrossing: MAB)을 위한 교배조합별 이용 가능한 genome-wide SNP 선발이 필요하다.

(13) SNP 기술이란 생물의 DNA는 99%가 동일한 구조를 가지지만, 남은 0.1%차이가 표현형의 변화를 가져오는데, 이와 같이 개체별, 계통별 염기서열의 차이를 분석해보면, 그중 90%가 같은 위치에서 한 염기가 다른 염기로 바뀌는데, 이와같이 많은 개체 또는 계통에서 DNA 염기서열에서 다른 염기가 같은 위치에서 발견되는 것을 SNP (single nucleotide polymorphism: 단일염기 다형화)라고 한다.

(14) 또한 육종 과정 중에서 제거해야 할 linkage dragging를 확인할 수 있는 분자마커 개발과 gene pyramiding을 위한 형질 연관 마커 및 교차율을 이용한 후손세대 예측 등 육종에 실질적인 정보를 생산 및 제공이 필요하다.

(15) 유전체 기반의 육종 시스템을 구현하기 위해서는 육종소재에 대한 정확한 데이터베이스, 표준유전체 정보, 모든 유전자의 유전양상을 이해할 수 있는 초고밀도 유전지도가 필요하다.

(16) 육종효율을 증대시키기 위해서는 육종연한의 단축이 필수적이며, 이에 유전체 정보와 결합된 유용유전자원의 추출과 이에 대한 분자마커 기술 개발이 핵심역량으로 부상하고 있음. 최근 급속히 증가되고 있는 유전체정보에 생물정보학 (bioinformatics) 기술을 접목하여 지식 기반 육종에 적합한 고급 정보를 제공함으로써, 유전체 정보와 육종간의 상호 소통 및 활용이 원활하도록 지원하는 가교역할이 필요하다.

3. 연구개발 범위

가. 내재해성 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성

(1) 우량한 대과토마토 계통육성

(가) 재육성으로 다양한 신소재 창출

(나) 우량한 parent line의 육성

(다) Multi 내병성 계통육성

(2) 고품질 복합내병계 조합작성 및 선발시험

(가) 초자 (초형, 초세, 절간, 잎형 등)와 과품질(과균일도, 과형, 과크기, 색상, 어깨색, 저장성, 맛 등)종합평가 선발

(나) Segment 별 유망한 핵심 조합 선발

- (3) 첨단 유전자원 수집 평가
 - (가) 내한성, 내서성 및 내병성 유전자원
 - (나) 재배안정성 대과 토마토 유전자원
 - (다) 새로운 유전자원을 평가한 후 분리 혹은 재육성 소재로 활용
- (4) 재배가 안정적이고 여러 생리장애에 둔감한 고품질 복합내병계 대과 토마토 상품화
 - (가) 지역별, 작형별 적응성시험으로 농가현장에서 평가 선발
 - (나) 원종증식, 종자생산
 - (다) 품종등록, 세미나, 홍보, 판매 --> 상품화(6품종)

나. 수입대체 고품질 레드대과 토마토 품종육성

- (1) 대과종 레드 토마토 유전자원 수집 및 평가
- (2) 과품질, 내병성 등을 평가
- (3) 선발 유전자원을 활용한 우수계통 육성
- (4) 우수계통을 이용한 조합작성 및 선발
- (5) 시교생산 및 원종증식 체계확립
- (6) 농가 재배 시험 및 시교시험
- (7) 고품질 레드 대과 토마토 상품화 (5품종)
- (8) 지속적 재배농가 관리 및 Consulting

다. SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발

- (1) SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재개발 (레드 및 핑크 대과종 순계계통 각 10점, 원형 및 대추형 방울토마토 순계계통 각 10점)
- (2) 토마토 RILs 집단의 증식을 통한 시료 확보 및 RILs resequencing
 - (가) 기 확보된 RIL 집단의 재배/증식을 통한 시료 확보
 - (나) MAB 검증용 여교잡 집단 (BC2, BC3) 구축
 - (다) Multiplexed Hiseq-2000 시스템을 이용하여 RIL 집단의 resequencing
- (3) RILs 집단의 형질 정보 조사
 - (가) 내병성, 고기능성(항산화) 물질, 고품질 등 형질 연관정보조사
 - (나) 형질 조사결과를 이용한 QTL mapping
- (4) RILs 집단 resequencing을 통한 SNP 기반의 genetic map 작성
 - (가) 교배 양친에 대한 SNP 정보를 발굴
 - (나) SNP 정보를 교배 양친과 비교하여 genotyping을 수행
 - (다) SNP 정보의 정확도를 실험적으로 검증
 - (라) 초고밀도 genetic map 구성
- (5) 토마토 여교잡 MAB 검정 시스템

(가) 자손집단의 SNP 간 관계 및 지능 교차율 확인

(나) 분자마커를 선발 및 세트 확보

(6) Gene pyramiding 최적화

4. 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발

가. 유전자원의 대사산물

(1) 비타민계 성분정량분석법 구축

(2) 계통/품종간 성분분석

(3) 페놀계 및 카로테노이드 성분분석 표준화

(4) 6종 페놀계 성분분석

(5) 6종 카로테노이드 성분분석

제 2절 연구성과 목표 대비 실적

1. 연구개발 성과목표 대비 실적

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내매출 액 (백만원)	중자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI		수 집	등 록					
최종목표	3		1		1	5		85						10
연구기간내 달성실적	5	1	2		2	5		152		543				10
달성율(%)	160	200	200		200	100		178						100

2. 품종개발

구분	품종명칭	국명	출원(등록)			해당년도
			출원인	출원일	출원번호(등록번호)	
품종보호출원	GS핑크(K-Star)	한국	김명권	2015.1.19	2015-108(제6337호)	2014
품종보호출원	슈퍼스타	한국	김명권	2015.10.20	2015-582	2015
품종보호출원	블랙이글	한국	김명권	2015.12.1	2015-679	2015
품종보호출원	맘모스TY	한국	김명권	2016.6.22	2016-321	2016
품종보호출원	찰스톤TY	한국	김명권	2016.7.20	2016-351	2016

구분	품종명칭	국명	출원			해당년도
			출원인	출원일	신고번호	
품종생산 판매신고	TY메가톤	한국	김명권	2014.2.19	02-0005-2014-10	2013
품종생산 판매신고	GS레드(토스카나)	한국	김명권	2015.1.23	02-0005-2015-12	2014
품종생산 판매신고	킹스톤	한국	김명권	2015.10.27	02-0005-2015-79	2015
품종생산 판매신고	레드스트롱	한국	김명권	2016.10.21	02-0005-2016-63	2016
품종생산 판매신고	르네상스TY	한국	김명권	2016.11.2	02-0005-2016-68	2016

3. 특허

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]

구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
특허	발명특허	대한민국	부산대	2015.06	10-2015-092628				2015
	발명특허	대한민국	한경대	2015.02	10-2015-020154				2015

4. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재								
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	
1	Development of a high-resolution melting marker for selecting Fusarium crown and root rot resistance in tomato	Genome	Bichseam Kim	5-0115	캐나다	NRC Research Press	SCI	
2	Transgenic tomato plants ectopically expressing BrRZFP1 gene encoding C3HC4-type RING zinc finger protein	Plant Breeding and Biotechnology	정유진	2	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI	
3	Whole Genome Resequencing in Tomato Lines Reveals SNP Variation and Breeding Events	Plant Breeding and Biotechnology	정유진	1	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI	
4	Molecular characterization of the UDP-glucose 4-epimerase (BrUGE) gene family in response to biotic and abiotic stress in Chinese cabbage (Brassica rapa)	PBR	강권규	9	일본	springer	SCIE	
5	Identification of an SNP Variation of Elite Tomato (Solanum lycopersicum L.) Lines using Genome Resequencing Analysis	Korean Society of Breeding Science	강권규	57	한국	Korean Society of Breeding Science	SCIE	
6	Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes	J Plant Biotechnol	강권규	43	한국	J Plant Biotechnol	Scopus	
7	Genome Sequencing, a Milestone for Genomic Research and Plant Breeding	Plant Breeding and Biotechnology	강권규	43	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI	

5. 유전자원

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
2013년도	TY내병성, 저장성 등	47점				
2014년도	long shelf, 청고병 등	38점				

6. 국내매출액

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액
1	1014.12.31 까지	부농종묘	1억 5천만
2	2014.12.31 까지	스카이종묘	7천만

7. 종자수출액/수입대체 효과

종자수출액(USD)				
번호	수출품목	수출액		
		수출일	수출국	수출금액

8. 기술이전

기술이전					
번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)

9. 마케팅 전략수립 보고서

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
번호	일자	활용명칭	활용내역

10. 인력양성

연구인력 활용/양성 성과													
번호	분류	기준년도	인력양성 현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
			2	1	5		7	1	8				

제 2 장 국·내외 기술개발 현황

제 1절 국내의 토마토연구현황

1. 국내 연구 현황

- 가. 토마토는 세계적인 채소 작물로 선진국의 품종개발 수준은 매우 우수한 편이나 국내의 토마토 육종은 초기단계이며 투자규모 및 토마토육종을 하는 종자회사가 적다.
- 나. 국내 토마토 품종 육성 연한은 30여년에 지나지 않으며, 특히 토마토 육종인력이 매우 적어 대외 경쟁력이 약함.
- 다. 국내에 보급되고 있는 품종은 일본회사와 다국적기업에서 육성한 품종이 많으나, 근래에 국내 토마토 육종기술도 많이 발전하여 국내 육종가가 만든 품종의 비율이 점차 높아지고 있으며, 특히 방울토마토의 경우 국내시장 점유율이 급상승하여 70%이상 점유하고 있음.
- 라. 토마토육종에 참여하고 있는 국내 기업이 극소수이며 토마토육종의 가장 큰 핵심 요소인 내병성육종 부분의 기술력 및 연구기반이 취약함.
- 마. 서울대에서 차세대바이 오그린 사업단의 지원으로 고추 유전체 해독을 완성도 높은 수준까지 진행 중이며(93X 유전체 정보생산, scaffold의 합이 90% 이상의 genome coverage), 국제적 협력을 이끌고 있음.
- 바. 한국생명공학연구원을 중심으로 2003년부터 시작된 국제가지과유전체 컨소시엄에 참가하여, 6년간 국제컨소시엄을 구성하였고, 토마토 유전체 분석(2번 염색체 담당)을 수행우수한 성과 (http://solgenomics.net/genomes/Solanum_lycopersicum/index.pl)
- 사. C. annum Dempsey X Perennial의 RIL 120개체와 양친 2종 포함 122개체의 resequencing 수행, 평균 1X genome coverage의 low-depth sequencing 실시
- 아. 재조합자식계통 (RILs: Recombinant Inbred Lines)이란 우량형질을 가진 계통을 교잡하여 얻어진 자식들을 계통화하여 자식계통을 육성하는데 이들 자식계통들의 집단을 말한다.
- 자. 부모를 포함한 122 RIL 계통으로부터 genome-wide SNP 선별 ; 평균 SNP는 867,927개, 최소 SNP를 가진 계통은 102,197개, 최대 SNP를 가진 계통은 4,971,051개를 얻을 수 있었는데 이는 시퀀스양이 부족하여 SNP 선별 기준의 경계에 걸쳐 있는 것이 많음.
- 차. 부모 사이에서 발생된 SNP를 120 계통의 RIL 집단에서 염기서열 수준에서 검증하는 알고리즘을 개발함. 95% 이상의 genotyping 정확도를 보여 육종연한 단축 및 우량 육종소재를 개발 할 수 있는 여건이 마련됨.

2. 국외 연구 현황

- 가. 토마토 육성역사를 세대별로 구분하면 1세대는 수량성(1970년대 잡종품종 보급), 2세대는 환경적응성(1980년대), 3세대는 저장성 및 내병성(1990년대), 4세대는 품질 위주의 성분육종(2000년대)으로 나눌 수 있으며 국내보다 약 5년 이상 앞서 있는 것으로 파악되고 있음.

- 나. 육종에 있어 분자표지의 중요성이 크게 부각되어 있으며, 다국적 종자회사들을 중심으로 자체 마커 개발기술과 High-throughput(HT)-MAS system 확립에 많은 투자를 하고 있음.
- 다. 일본의 경우 핑크대과와 방울토마토에서는 내병성과 고품질, 그리고 대목 품종에서는 복합내병성 육종위주로 연구가 진행되고 있음.
- 라. 토마토 품종 육성에 생명공학 기술을 적극 활용하여 병해충 저항성 선발시 DNA 마커를 이용하여 선발 효율을 극대화 시켜 다양한 병해충 저항성 유전자를 가지고 있으며 육종 연한을 단축하고 있음.
- 마. 토마토는 시장 규모만큼이나 종자시장도 크며, 다른 채소에 비해 선도적인 육종기술이 개발되었고 유전자 지도도 가장 먼저 작성.
- 바. 2011년 현재 세계의 토마토 종자 시장은 약 1조원에 달하며, 국내의 종자시장은 '01년 이래 매년 6.5%씩 성장.
- 사. 발달된 분자육종 기술을 이용하여 원하는 유전자를 확인하는 등 선발효율을 향상시키고 육종기간을 획기적으로 단축.
- 아. 2003년부터 시작된 국제가지과 유전체 컨소시엄을 통해 토마토 유전체 해독이 완료되었고, 2012년 5월 Nature에 발표되어 유전체 정보 공개됨.
- 자. 국제 가지과 공동연구 컨소시엄을 통해 매년 회원국에서 워크샵을 개최하고 정보 및 연구재료를 공유하여 우수한 협력체계 구축함.
- 차. SolCAP (<http://solcap.msu.edu/>)은 가지과 작물 유전체를 실용화하기 위하여 토마토와 감자에 집중하여 SNP 등 육종에 필요한 마커 및 분석용 tool로 개발 중임.
- 카. Tomato Functional Genomics Database (<http://ted.bti.cornell.edu/>)는 microarray를 통해 분석된 유전자 발현 양상을 분석한 데이터 베이스이며, 토마토 열매 관련하여 집중적으로 연구 중.
- 타. Tomato QTL database (<http://zamir.sgn.cornell.edu/Qtl/Html/home.htm>)는 토마토 IL 분석을 통해 확보된 QTL 정보를 제공함.

3. 국내외 연구수행기관 및 동향

Table 2-1. 국내외 연구수행기관 및 동향

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
일본의 Takii, Sakata사	고품질/ 저온기 토마토 개발, 재배안정성 대과종 토마토개발	도태랑 series, 호용, 슈퍼썬로드, 토사마, 꼬꼬, 큐티, 도태랑TY위너, 스마트 TY사마
Monsanto사	복합내병계/다수성 토마토 개발	라피도(디루이터), 유니콘, 박커스
농우바이오 (한국)	대과종, 방울, 대목토마토 품종 개발	큐피랑, 티와이알토랑, 미니찰, 티티찰, 닥터큐, 라운드 육성보급
토마토생명과학연구소 (한국)	내병성 완숙대과, 방울토마토 품종개발	티와이미라클, 토스트, 엔돌핀, TY포르테 육성보급
원예연구소 (한국)	유전자원 수집 및 기본 계통 육성	기본 계통 육성
한경대학교(한국)	유전자원 수집, 평가 및 품종개발	계통육성 및 계통분리, 품종육성
세미니스, 신젠타	약 20여 가지의 토마토 마커 개발	대부분 내병성 관련 마커이며 현재 고품질 신품종 개발을 위하여 분자 마커 활용 중
캐나다 대학 (캐나다) TGRC(미국)	시들음병 저항성 유전자(I3) 클로닝 유전자원 수집, 평가 및 증식 토마토 genomics에 국제공동 연구,	마커를 품종육성에 활용 중 품종개발자에게 년 약 600점 자원분양
코넬대학	토마토의 기초 유전자 지도, 토마토 마커 개발, 토마토 PCR-based marker DB 구축	일반 연구자가 활용할 수 있도록 모든 자료 공개 토마토 마커개발에 많은 도움을 받음
서울대 + KRIBB	토마토 genomics에 국제공동 연구	활용을 위한 DB 구축함
Keygene	가지과 채소 작물의 주요 형질에 대한 다인자, 단인자 마커 개발	출자한 회사에 마커 보급
일본 경도대학	トマト機能性成分を活用した花粉症・生活習慣病対策食品の開発	성분분석에 의하여 신품종 개발에 이용

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

* 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술

1절 내재해성 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성

1. 유전자원수집 및 평가

가. 새로운 유전자원으로 착과성과 저장성이 우수하고 TYLCV 내병성이 있는 핑크계(pink) 7점, 열과에 강하고 과균일도가 좋으며 청고병 등에 내병성이 있는 레드계(red) 10점, 그리고 yellow 1점, brown 1점을 수집 평가하여 분리육성 및 재조합 육성 소재로 활용하고자 함.

Table 1-1. 신유전자원 수집 특성 평가 (1차년도)

유전자원명	초형	과형*	과중 (g)	과색	경도** (저장성)	내병성***	비고
壽光-1	무한	고구	230	pink	FF	Ty,Tm,F,Cf	China
壽光-2	무한	고구	220	pink	FF	Ty,Tm,F,V	China
壽光-3	무한	고구	210	pink	FF	Tm,F,V,LS	China
壽光-4	유한	고구	190	pink	FF	Tm,F,V,LS	China
壽光-5	유한	편구	200	red	FF	Ty,Tm,F,V	China
廣東-1	무한	고구	250	pink	FF	Tm,N,F,V,Bw	China
廣東-2	무한	고구	230	pink	FF	Ty,Tm,V,Bw	China
廣東-3	무한	고구	220	pink	FF	Ty,Tm,N,Bw	China
廣東-4	무한	고구	220	red	FF	Ty,Tm,N,F,V	China
廣東-5	무한	고구	210	red	FF	Ty,Tm,N,F,V	China
MT	무한	타원	120	red	FF	Tm,F,V,Cf	Indonesia
MR	무한	타원	100	red	FF	Tm,F,V	Indonesia
ANA	무한	타원	120	red	FF	Tm,F,V	India
AVN	유한	타원	80	red	FF	Ty,Tm,N,F	India
PET	무한	타원	150	red	F	Tm,F,V	Italy
NL-1	무한	편구	220	red	FF		Netherland
NL-2	무한	편구	200	red	FF		Netherland
NL-3	무한	편구	160	red	FF		Netherland
NL-4	무한	편구	130	yellow	F		Netherland
NL-5	무한	고구	120	brown	F		Netherland
계	20점						

* 과형, 고구 ○ 편구 ○ 타원 ○

** 경도, M: medium, F: firm, FF: very firm

*** 내병성, Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato mosaic virus, N: Nematode, F: fusarium, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot, Bw: bacterial wilt



Photo 1-1. 수집된 다양한 토마토 유전자원

나. TYLCV 내병성, 저장성 유전자원 4점, 대과long shelf life 2점, 열과.청고병 저항성 3점, 유한형. TY내병계 3점, 다수성.long shelf 1점, 유한형.다수성 3점, Ty2 유전자 1점, 근부위조병(Fr) 내병계 1점 등 총 18점을 수집하여 평가 및 분리중임





Table 1-2. 신유전자원 수집 및 특성평가 (2차년도)

유전자원명	초형	과중 (g)	과형	과색	수집목적*	비고		
山東-1	무한	220	고구	pink	TYLCV 내병성, 저장성	China		
山東-2	무한	220	고구	pink	TYLCV 내병성, 저장성	China		
山東-3	무한	210	고구	pink	TYLCV 내병성, 저장성	China		
山東-4	무한	200	고구	red	TYLCV 내병성, 저장성	China		
上海-1	무한	250	고구	pink	대과, long shelf	China		
上海-2	유한	230	고구	pink	대과, long shelf	China		
廣東-1	무한	230	고구	red	열과저항성, BW저항성	China		
廣東-2	무한	230	고구	red	열과저항성, BW 저항성	China		
廣東-3	무한	220	고구	pink	열과저항성, BW 저항성	China		
Indo-1	유한	120	타원	red	유한형, TY내병계	India		
Indo-2	유한	120	타원	red	유한형, TY내병계	India		
Indo-3	유한	100	타원	red	유한형, TY내병계	India		
Pakistan-1	유한	100	타원	red	다수성, 저장성	Pakistan		
Iran-1	유한	130	타원	red	유한형, 다수성	Iran		
Iran-2	유한	120	타원	red	유한형, 다수성	Iran		
Iran-1	유한	단	8	132.0	타원	red	유한형, 다수성	Iran
Iran-2	유한	단	8	129.5	타원	red	유한형, 다수성	Iran
Iran-3	유한	단	8	150.6	고구	red	유한형, 다수성	Iran
Japan-1	무한	중	7	211.2	편구	pink	Ty2 내병계	Japan
Japan-2	무한	중	7	207.7	편구	pink	Fr(J3) 내병계	Japan
계	18점							

* 착과성 9: excellent - 1: poor * *TY: Tomato Yellow Leaf Curl Virus, BW: Bacterial Wilt

다. TSWV 내병계 2점, TYLCV 내병계 2점, cold tolerance계통 1점, 요리용토마토 1점, black leaf mold 내병계 1점, grey leaf spot 내병계 2점, long shelf life계 1점, 송이용토마토 2점, brown color 1점, 얼룩토마토 1점 등 총 13점을 수집하여 평가하고 육종소재로 활용.

Table 1-3. 신유전자원 수집 및 특성평가 (3차년도)

유전자원명	초형	과중(g)	과장 (cm)	과경 (cm)	과형	과색	경도 (kg/Φ)	사진	수집목적	수집처
Web	ID	253.2	5.6	8.4	flat	red	1.		극대과, TSWV 내병	Italy
Syrio	ID	160.7	5.8	6.7	round	red	1.7		중과, 송이형	Italy
Esedra	ID	196.5	6.2	7.1	round	red	1.8		Cold tolerance	Italy
Torano	ID	107.3	9.1	4.5	long	red	1.5		Long, TSWV	Italy
SA408	ID	238.2	5.1	9.3	Flat	pink	1.5		Winkle	Italy









BM13	ID	153.4	9.4	4.8	long	orange	1.3		Black leaf mold-R	China
OYA	ID	226.0	6.2	7.2	oblate	pink	1.5		Ty2 내병	Japan
AX-37	ID	160.1	6.0	6.2	round	red	2.0		송이,중과	Netherland
AX-88	ID	183.2	6.3	6.5	round	red	2.0		Red, LS-R	Netherland
TK-1	ID	223.7	6.8	7.3	round	red	2.1		Red, LSL	Turkey
TK-2	ID	42.5	3.0	4.3	round	red	1.8		Red송이	Turkey
TK-3	ID	187.3	6.1	7.5	oblate	black	1.7		Black 대과	Turkey
TK-4	ID	28.7	4.7	3.0	oval	bicolor	1.5		갈색+녹색	Turkey
계	13 점									

Table 1-4. 신유전자원 수집 및 특성평가 (4차년도)

유전자원명	초형	절간	착과성*	과중 (g)	과형	과색	수집목적**	수집처
MEG	무한	단	9	207.3	고구	pink	TYLCV내병성	Japan
Shandong-1	무한	중	8	198.4	고구	pink	ToCV내병성, 수송성	China
Shandong-2	무한	중	8	203.5	고구	pink	ToCV내병성, 수송성	China
MAT	무한	중장	9	156.5	타원	red	Long shelf, 저장성	Indonesia
HZ	유한	단	9	128.0	타원	red	Long shelf, 착과성	USA
CNN	무한	중장	8	189.6	고구	pink	BW내병성	Taiwan
CNS	무한	중장	8	205.8	고구	pink	BW내병성	Taiwan
IN-1	유한	단	9	170.4	타원	red	다수성, 신맛	India
IN-2	유한	단	9	134.3	타원	red	다수성, 신맛	India
KN-1	무한	중	8	220.6	편구	pink	TSWV내병성	Japan
KN-2	무한	중	8	218.5	편구	pink	잎골팡이내병성	Japan
계	11점							

* 착과성 9: excellent - 1: poor

** TYLCV: Tomato Yellow Leaf Curl Virus, ToCV: Tomato Chlorosis Virus, BW: Bacterial Wilt, TSWV: Tomato Spotted Wilt Virus

2. 우량 양친계통(parent line)들의 육성 및 선발

가. 연구방법

- (1) 공시재료: 대과종 토마토 육성재료 500여 계통을 공시
- (2) 처리: 40구 트레이에 파종하여 50~60일 육묘하여 2중 비닐하우스에 정식함
- (3) 시험방법: 주지1본 재배, 줄유인, 개화후 수정 착과시켰으며 6단까지 적심함
- (4) 조사내용
 - (가) 초형: 무한생장형(indeterminate type), 유한생장형(determinate type)
 - (나) 숙기: 제1화방의 개화시기와 착색이 빠르고 늦음에 따라 조.중조.중.중만.만으로 구분
 - (다) 절간: 지제부에서 제3단 화방까지의 길이
 - (라) 과형: 편구형(약간 납작한 형태), 고구형(과고가 높은 형태), 타원형(과장이 긴 형태)

- (마) 과중: 5과의 평균과중
- (바) 과색: 착색시의 색상에 따라 분홍색(pink), 홍색(red), 오렌지색(orange), 노란색(yellow), 갈색(brown)으로 나누며, rin은 착색이 되지 않는 rin gene
- (사) 어깨색: 착색이 되기 전 과일의 어깨부분의 base green의 정도에 따라 LG(light green), G(green), DG(dark green), U(no green back)
- (아) 경도: 과일의 경도는 저장성, 수송성과 연관이 있으며, 성숙시 단단한 정도에 따라 S(soft), M(medium), F(firm), VF(very firm)으로 나누고, 경도계로 측정
- (자) 과균일도: 성숙된 과일의 uniformity 정도, 상품수확률과 관련있음
- (차) 당도: Brix 당도계로 측정하였으며, 식미와 연관이 있음
- (카) 내병성: 개발된 분자마커를 이용하여 TYLCV(tomato yellow leaf curl virus 황화잎말림바이러스), Tm(tomato mosaic virus 토마토모자이크바이러스), Mi(nematode 선충), F(I2, fusarium 시들음병), Fr(fusarium radices 근부위조병), V(verticillium 반신위조병), Cf(cladosporium fuvum 잎곰팡이병), Ph(phytophthora 역병), LS(Stemphyllium 점무늬병) 등을 분자마커 및 포장저항성을 검정함

나. 연구결과

- (1) 모계육성(A line)으로 절간이 짧고 착과비대성이 좋고, 저장성, 과균일도가 우수하며, 토마토 모자이크바이러스(Tm), 선충(N).위조병(F2).잎곰팡이병(Cf) 등에 복합내병성이 있는 42계통을 육성 선발하였음 (Table 1-5, Photo 1-2).
- (2) 부계육성(B line)으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성.수송성이 우수하며, 황화잎말림바이러스(TYLCV).반신위조병(V).점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 44계통을 육성 선발 하였음 (Table 1-6, Photo 1-2).
- (3) 고정계통들은 F1 조합작성에 사용함.

Table 1-5. A Line 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

계통명	세대	초형	속기	과형*	과중(g)	과색	어깨색**	경도*** (저장성)	당도 (brix)	내병성****	선발 개체수
IL53	Fn	무한	중조	고구	164.5	pink	U	VF	5.6	Tm,I2,V	2
BMS	Fn	무한	중	고구	165.7	pink	U	VF	5.4	Tm,I2,V,Cf,LS	3
MBC	F7	무한	중조	편구	218.3	pink	LG	F	6.4	Ty1,Tm,Mi,I2,V,LS	3
FGQ	F7	무한	중조	고구	186.1	pink	U	VF	5.3	Tm,Mi,I2,V	3
MOE	F7	무한	조	편구	175.0	pink	G	F	6.4	Tm,Mi,I2,V,LS	3
NSH	F7	유한	조	편구	218.7	red	U	F	5.1	I2,V,LS	3
MDS	F7	무한	중만	고구	220.2	red	U	VF	4.8	Tm,Mi,I2	3
MOB	F6	무한	중조	고구	188.8	pink	LG	F	5.8	Tm,I2,V,LS	4
DKS7	F6	무한	중	편구	197.6	pink	G	F	5.8	Tm,Mi,I2,V,Cf	4
OG	F6	무한	중조	고구	197.2	pink	LG	VF	5.5	Tm,I2,Fr,V,LS	4
MOTH	F6	무한	중	고구	182.9	pink	U	VF	5.0	Ty1,3,Tm,Mi,I2,Fr	5
DEN	F6	무한	중만	고구	158.4	red	U	VF	4.8	Ty1,3,Tm,Mi,I2,V	5
계											42

Table 1-6. B Line 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

계통명	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도** (저장성)	당도 (brix)	내병성***	선발 개체수
CBS	F7	무한	중조	편구	220.2	pink	LG	F	6.5	Ty1,Tm,Mi,I2,V,LS	3
CN26	F7	무한	중만	고구	165.8	pink	DG	VF	5.4	Ty1,Tm,Mi,I2,V,LS	3
MGO	F7	무한	중조	고구	182.5	pink	U	VF	5.0	Tm,I2,LS	3
BME	F7	무한	중	고구	182.8	rin	U	VF	5.1	I2,Fr,V,LS	3
MGO	F7	무한	중조	고구	182.0	pink	U	VF	5.0	Tm,I2,LS	3
DGI	F6	무한	중조	고구	197.5	pink	LG	F	5.8	Ty1,Tm,I2,Fr,V,LS	4
TRD	F6	무한	중	편구	219.5	pink	DG	VF	5.3	Ty1,Tm,Mi,I2	4
DR	F6	무한	중	편구	212.1	pink	G	F	5.6	Tm,Mi,I2,V,Cf	3
JSB	F6	무한	중만	편구	184.8	red	U	VF	4.8	Ty1,3,Tm,Mi,I2,V,LS	4
MORP	F6	무한	중만	고구	232.6	pink	G	VF	6.0	Tm,I2,LS	3
MDP	F6	무한	중	편구	176.3	pink	U	VF	5.8	Tm,Mi,I2,V	3
SD	F6	유한	중조	편구	161.7	pink	LG	VF	5.6	Ty1,3,Tm,I2,V	4
ORN	F6	무한	중	고구	177.7	rin	U	VF	5.0	Fr,V,LS	4
계											44

* 어깨색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 경도, M: medium, F: firm, VF: very firm

*** 내병성, Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, Mi: meloidogyne incognita, I2: fusarium race2, Fr: fusarium radicans, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot



Photo 1-2. 계통육성 과정

다. 연구결과

(1) A Line(모계육성)으로 절간이 짧고 착과비대성이 좋고 저장성, 과균일도가 우수하며, 복합 내병성이 있는 41계통을 육성 선발하였고 순도를 순화 고정시킴 (Table 1-7, Photo 1-3).

(2) B Line(부계육성)으로 초세가 강하 과육이 단단하고 복합내병성이 있는 42계통을 육성 선발함 (Table 1-8, Photo 1-3).

Table 1-7. 모계(A Line) 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

BN	세대	초형	초세	과중 (g)	과형	과색	어깨색*	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	내병성**	선발 개체수
301	Fn	무한	중강	186.3	고구	pink	U	1.5	5.8	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,LS	2
302	Fn	무한	강	205.5	고구	pink	DG	1.2	6.0	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	2
303	F8	무한	중강	212.0	편구	pink	LG	1.2	5.8	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi	3
309	F7	무한	중강	166.7	타원	pink	LG	1.0	5.6	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	3
310	F7	무한	강	207.2	고구	pink	U	1.4	5.4	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi	3

315	F7	무한	중강	203.3	고구	red	U	1.2	5.1	Tm,I2,V,LS	3
323	F6	무한	강	220.1	고구	red	U	1.5	5.4	Tm,I2,V,Mi,LS	4
326	F6	무한	강	168.9	고구	red	U	1.6	5.8	Tm,I2,V,Mi,LS,Ph	4
330	F6	유한	중	157.5	타원	red	U	2.0	5.0	Tm,I2,V,Mi,Ph	4
338	F6	무한	강	212.7	고구	red	U	1.8	5.0	Tm,I2,Fr,V,Cf,LS	4
344	F6	무한	강	182.2	고구	red	U	2.0	5.0	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr	5
347	F6	유한	중	158.7	타원	red	U	2.0	4.8	Tm,I2,V,Mi	4
계											41

Table 1-8. 부계(B Line) 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

BN	세대	초형	초세	과중 (g)	과형	과색	여과색*	경도 (kg/Φ)	당도 (brix)	내병성**	선발 개체수
361	Fn	무한	중강	197.7	고구	pink	G	1.3	6.2	Tm,I2,V,Mi,LS	2
362	Fn	무한	중강	213.5	고구	pink	G	1.2	6.0	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Fr,Mi,LS	2
363	F9	무한	중강	207.9	편구	pink	LG	1.2	5.8	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,Mi,LS	3
364	F9	무한	중강	180.1	고구	pink	LG	1.5	5.8	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	3
367	F8	무한	강	188.9	고구	pink	G	1.4	6.0	Tm,I2,V,Fr,Mi,LS	3
368	F8	무한	강	205.4	고구	pink	G	1.7	5.8	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Fr,Mi,LS	4
369	F7	유한	중	176.4	구	red	U	1.5	5.2	Ty1,Ty3,V,Mi	4
371	F7	무한	강	192.5	고구	red	U	1.8	5.0	Tm,I2,V,Fr,Mi	4
374	F7	무한	중강	171.2	고구	red	U	1.8	5.0	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Fr,Mi,LS	4
375	F6	무한	강	182.8	고구	red	U	2.0	5.2	Tm,I2,V,Fr,LS	4
378	F6	무한	강	160.5	고구	red	U	1.7	5.3	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Ph	4
387	F6	무한	강	125.7	고구	brown	DG	1.4	5.5	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Fr,Mi,LS	5
계											42

* 여과색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 내병성, Ty1: ty1 gene, Ty3: ty3 gene, Tm: Tm2a, I2: fusarium race-2, V: verticillium dahliae, Fr: fusarium radicans, Mi: meloidogyne incognita, Cf: cladosporium pulvum, Ph: phytophthora, LS: leaf spot



Photo 1-3. 계통육성포장

라. 연구결과

(1) A line(모계)육성으로 F6 28 line, F7 20 line, F8 12 line, Fn 7 line, 총 67계통 육성 선발함 (Table 1-9).

Table 1-9. 모계(A Line) 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

계통번호	세대	초형	결간	과형	과중 (g)	과색	여과색*	경도 (kg/Φ)	당도 (brix)	내병성**	선발 개체수
15_101	F6	ID	68.7	round	205.6	pink	LG	1.8	5.8	Tm,V,Cf,LS	3
102	F6	ID	72.4	oblate	212.4	pink	LG	1.8	6.0	Mi,F2,V,LS	3
104	F6	ID	62.7	round	186.5	pink	G	2.0	6.0	Tm,F2,V,LS	2

105	F6	ID	73.6	round	182.9	pink	G	1.7	6.3	Ty,Tm,Mi,I2,V,LS	3
106	F6	ID	68.9	oblate	196.0	pink	DG	1.8	5.8	Ty,Tm,I2,LS	3
108	F6	ID	78.4	round	216.1	pink	DG	1.8	5.8	Ty,Tm,N,I2,Fr	3
109	F6	D	52.3	oblong	167.8	red	U	2.0	5.0	Tm,I2,LS,Ph	2
110	F6	D	54.6	oblong	178.2	red	U	2.1	5.0	Ty,Tm,Mi,I2,V	3
111	F6	ID	83.2	oblate	220.6	pink	G	1.8	6.3	Tm,N,I2,Fr	3
112	F6	ID	79.6	oblate	216.4	pink	G	1.7	6.0	Ty,Tm,I2,V,LS	2
113	F6	ID	72.4	oblate	208.8	pink	DG	1.7	6.0	I2,V,Cf,LS	2
115	F7	ID	80.4	round	169.8	rin	G	2.3	4.5	Tm,I2,Fr,V,LS	2
116	F7	ID	83.2	oblate	222.6	red	LG	2.0	5.0	Ty,Tm,N,I2,Cf	3
117	F7	ID	76.7	round	209.1	red	LG	2.0	5.2	Ty,Tm,N,I2	3
118	F7	ID	83.2	round	212.8	red	U	1.8	4.8	Mi,I2,V,LS	3
119	F7	ID	81.6	round	210.4	red	U	1.7	4.8	Tm,Mi,I2,V,Cf	3
120	F7	ID	78.4	round	205.9	pink	G	1.8	5.8	Tm,Mi,I2,V,Cf,LS	2
121	F7	ID	78.3	oblate	210	pink	G	1.8	6.0	Tm,Mi,F2,V,Cf,LS	2
122	F7	ID	75.7	round	178.6	pink	G	2.0	6.2	Tm,Mi,I2,V,LS	2
123	F8	ID	78.1	round	189.3	pink	G	1.8	5.8	Tm,I2,V,Ph	2
125	F8	ID	88.3	oblate	203.5	pink	DG	1.8	6.3	Ty,V,LS	3
126	F8	ID	87.2	oblate	209.5	pink	DG	1.8	6.3	Tm,Mi,F2,V,Cf	3
127	F8	ID	78.2	round	186.3	pink	G	2.0	6.0	Tm,I2,V,LS	2
128	F8	ID	82.1	round	223.0	pink	G	1.7	6.2	I2,V,LS	2
129	Fn	ID	83.5	round	234.7	red	U	2.2	4.6	Tm,Mi,I2,V,Fr	2
130	Fn	ID	77.6	round	216.3	red	U	2.2	4.6	Tm,Mi,I2,V,Fr	2
131	Fn	ID	79.0	oblate	209.8	pink	G	1.8	5.8	Tm,Mi,I2,V,Cf,LS,Fr	2
132	Fn	ID	82.2	round	226.7	pink	DG	1.8	6.2	Ty,Tm,Mi,I2,V,Cf,LS	1

(2) B line(모계)육성으로 F6 28 line, F7 19 line, F8 8 line, Fn 5 line, 총 60계통을 육성 선발함 (Table 1-10).

Table 1-10. 부계(B Line) 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

계통번호	세대	초형	절간	파형	파중 (g)	파색	어깨색*	경도 (kg/Φ)	당도 (brix)	내병성**	선발 개체수
15_301	F6	ID	88.7	round	226.7	pink	LG	1.8	5.8	Ty,Tm,V,Cf,LS	3
302	F6	ID	78.5	round	205.9	pink	LG	1.8	6.0	Tm,Mi,I2,V,LS	3
303	F6	ID	78.0	round	197.3	pink	U	2.0	5.4	Tm,I2,V,LS	3
304	F6	ID	78.8	oblate	209.5	pink	DG	1.7	6.3	Ty,Tm,Mi,I2,V,Cf,LS	3
306	F6	ID	76.9	round	194.3	pink	LG	2.0	5.4	Tm,I2,LS	3
308	F6	ID	88.4	round	223.5	red	U	2.2	5.0	Ty,Tm,Mi,I2,V	3
309	F6	ID	86.8	round	220.6	red	U	2.2	4.8	Ty,Tm,Mi,I2,V	3
310	F6	ID	84.2	round	185.3	pink	LG	2.0	5.5	Tm,Mi,I2,V,LS	3
311	F6	D	58.2	oblong	138.2	red	U	2.3	4.5	Tm,Mi,I2,V	2
312	F6	D	59.6	oblong	134.5	red	U	2.3	4.5	Tm,Mi,I2,V	2
314	F7	ID	78.8	round	209.1	pink	DG	1.8	6.2	I2,V,Cf,LS	2
315	F7	ID	87.6	oblate	196.1	pink	G	1.8	5.5	Ty,Tm,I2,V,Fr,LS	2
316	F7	ID	88.7	round	213.7	pink	G	1.8	5.8	Tm,Mi,I2,Cf	3
317	F7	ID	76.7	oblong	158.6	orange	LG	1.5	5.4	Tm,I2,V,Cf,LS	3
319	F7	ID	83.2	round	212.8	red	U	2.0	4.8	Tm,Mi,I2,V,Cf,LS	3
320	F7	ID	83.8	round	215.0	pink	LG	1.8	5.8	Ty,Tm,Mi,I2,LS	3
322	F7	ID	84.6	round	216.8	pink	G	1.8	5.8	Ty,Tm,Mi,I2,V,Cf,LS	3
323	F8	ID	75.9	round	218.3	pink	G	1.8	5.4	Ty,Tm,Mi,I2,V,Cf,LS	3
324	F8	ID	83.5	round	220.1	red	U	2.2	4.6	Tm,Mi,I2,V,LS	2
325	F8	ID	83.7	round	217.7	pink	LG	2.1	5.2	Ty,Tm,I2,V,Ph	3
326	Fn	ID	85.3	oblate	227.8	red	LG	2.2	4.6	Ty,Tm,Mi,I2,V,Cf,Fr	2
327	Fn	ID	80.3	round	206.5	pink	G	1.7	6.5	Ty,Tm,Mi,I2,V,Cf,Fr	2
	Fn	ID	78.2	round	212.0	pink	G	1.7	6.5	Ty,Tm,Mi,I2,V,LS,Fr	1

* 어깨색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 내병성, Ty1: ty1 gene, Ty3: ty3 gene, Tm: Tm2a, I2: fusarium race-2, V: verticillium daliae, Fr: fusarium radialis, Mi: meloidogyne incognita, Cf: cladosporium pulvum, Ph: phytophthora, LS: leaf spot



Photo 1-4. 계통육성포장 계통육성포장

마. 연구결과

(1) A line(모계)육성으로 F6 14 line, F7 11 line, F8 13 line, Fn 18 line, 총 56계통을 육성선발함.

Table 1-11. 모계(A Line) 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

계통번호	세대	초형	결간 (cm)	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (kg/Φ)	당도 (brix)	내병성**	선발 개체수
16-401	F6	ID	82.1	round	207.8	pink	G	1.7	6.2	Tm,Mil,I2,V,LS	3
402	F6	ID	79.5	round	213.2	pink	G	1.7	6.4	Ty,Tm,I2,V,LS	3
403	F6	ID	80.7	oblate	197.8	pink	G	1.8	6.0	Ty,Tm,Mil,I2,LS	4
404	F6	ID	84.3	round	213.7	red	LG	2.0	4.8	Ty,Tm,Mil,I2,V,LS	4
405	F7	ID	79.8	round	207.5	red	LG	2.2	5.2	Ty,Tm,I2,V,Cf	3
406	F7	ID	79.0	round	202.2	pink	DG	2.0	6.2	Ty,Tm,Mil,I2,V	3
407	F7	ID	80.5	oblate	217.3	pink	G	1.7	6.3	Tm,Mil,I2,LS,Fr	3
408	F7	ID	78.5	oblate	214.9	pink	G	1.8	6.0	Ty,Tm,I2,V,LS	2
409	F8	D	78.9	round	189.5	pink	G	1.9	5.4	Mil,I2,V,LS,Cf	3
410	F8	ID	79.6	oblate	218.2	pink	G	1.9	6.0	I2,V,LS,Fr,Ph	2
411	F8	ID	80.6	round	196.6	pink	LG	1.8	5.0	Tm,I2,V,Fr,LS	3
412	F8	ID	82.4	oblate	223.3	pink	G	1.8	5.1	Tm,Mil,I2,Fr,Cf	3
413	F8	ID	80.2	round	207.4	red	LG	2.0	4.8	Tm,Mil,I2,V	2
414	Fn	ID	78.4	oblate	210.7	pink	LG	2.0	5.2	Tm,Mil,I2,V,LS,Cf	2
415	Fn	ID	84.3	oblate	226.3	pink	G	1.8	5.8	Tm,Mil,I2,V,LS,Cf	2
416	Fn	ID	81.3	oblate	211.9	pink	G	1.7	5.6	Tm,Mil,I2,V,Cf	2
417	Fn	ID	83.5	oblate	223.3	pink	G	1.8	6.2	Tm,Mil,I2,V,Fr	2
418	Fn	ID	85.6	round	230.1	red	U	2.0	5.3	Tm,Mil,I2,V,Cf	2
419	Fn	D	82.1	round	225.6	red	U	2.2	5.6	Tm,Mil,I2,V,Cf,LS,Fr	2
420	Fn	ID	79.4	round	208.4	red	LG	2.2	5.5	Ty,Tm,Mil,I2,V,Cf,LS	2
421	Fn	ID	83.2	round	208.8	pink	LG	2.0	5.6	Mil,I2,V,LS,Fr	2
422	Fn	ID	82.5	oblate	217.2	pink	LG	1.8	6.3	Tm,Mil,I2,V,LS	2

(2) B line(부계)육성으로 F6 14 ne, F7 12 line, F8 10 line, Fn 12 line, 총 48계통을 육성 선 발함.

3. 내병성검정 및 선발

Table 1-12. 부계(B Line) 육성계통들의 주요 특성 및 선발수

계통번호	세대	초형	결간	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도 (kg/Φ)	당도 (brix)	내병성**	선발 개체수
16-451	F6	ID	86.7	round	218.2	pink	LG	1.8	6.2	Ty,Mi1,I2,V,LS,Fr	4
302	F6	ID	78.5	round	210.9	pink	LG	1.7	6.4	Ty,Tm,I2,V,LS,Cf	3
303	F6	ID	82.3	oblate	198.7	pink	G	1.8	6.0	Ty,Tm,Mi1,I2,LS	4
304	F6	ID	88.4	round	215.0	pink	LG	1.8	4.8	Ty,Tm,Mi1,I2,V,LS	3
306	F7	ID	79.4	oblate	217.4	pink	G	2.0	5.2	Ty,Tm,I2,V,Cf	3
308	F7	ID	79.9	round	200.6	pink	G	1.8	6.2	TY,Mi1,I2,V,LS,Fr	3
309	F7	ID	80.4	oblate	197.5	pink	G	2.0	6.3	Ty,I2,LS,Fr	3
310	F7	ID	79.0	oblate	214.9	pink	G	1.9	6.0	Ty,Tm,I2,V,LS	3
311	F8	D	82.1	round	189.5	red	LG	2.2	5.4	Ty,I2,V,LS,Cf	2
312	F8	ID	79.6	oblate	218.2	pink	G	1.9	6.0	Ty,Mi1,Fr,Ph	2
314	F8	ID	82.1	round	196.6	pink	LG	1.8	6.5	Tm,I2,V,Fr,LS	2
315	F8	ID	83.3	oblate	223.3	pink	G	1.8	6.	Ty,I2,Fr,Cf	2
316	F8	ID	78.2	round	217.6	pink	G	2.1	6.0	Tm,Mi1,I2,V,Fr	2
317	Fn	ID	79.4	oblate	210.7	red	U	2.2	5.2	Ty,Mi1,I2,V,Ph	2
319	Fn	ID	83.5	round	226.3	pink	LG	1.8	5.8	Tm,Mi1,I2,V,LS	2
320	Fn	ID	81.3	round	211.9	pink	G	2.1	6.5	Ty,I2,V,Cf,Ph	2
322	Fn	ID	82.5	oblate	223.3	pink	G	1.8	6.2	Ty,Mi1,I2,V,Fr	2
323	Fn	ID	83.1	round	22.6	pink	G	2.0	6.3	Ty,Mi1,I2,V,Cf	2
324	Fn	D	72.1	oval	189.5	red	LG	2.2	5.2	Ty,Mi,I2,V,Cf,LS	2

* 어깨색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 내병성, Ty1: ty1 gene, Ty3: ty3 gene, Tm: Tm2a, I2: fusarium race-2, V: verticillium daliae, Fr: fusarium radicis, Mi: meloidogyne incognita, Cf: cladosporium pulvum, Ph: phytophthora, LS: leaf spot

가. 실험방법

- (1) 1차로 유묘기에 있을 sampling하여 개발되어 있는 내병성 마커를 이용하여 일시에 내병성인자 유무를 확인하여 정식함.
- (2) 2차로 과일이 성숙되고 최종 선발된 개체에 대해 재확인 검정을 함
- (3) 마커검정은 부산대학교와 순천대학교에 의뢰하여 시험하였음



Photo 1-5. 마커검정 및 sampling과 선발개체

나. 실험결과

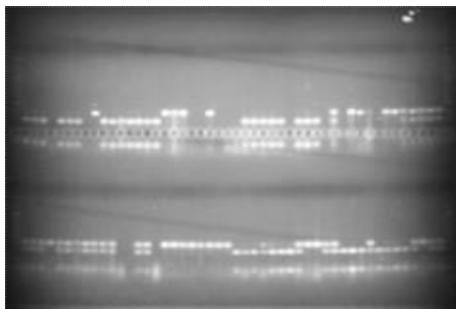
- (1) 육성 line들에 대한 multi 내병성을 분자마커로 검정하여 선발함

다. 토마토황화잎말림바이러스 Ty1 191점, Ty2 3점, Ty3 125점, 위조병레이스2 I2 234점, 근부위조병 Fr 15점, 선충 Mi1 71점, Mi23 30점, 반신위조병 V 21점, 토마토모자이크바이러스 Tm2a 95점, 토마토 반점

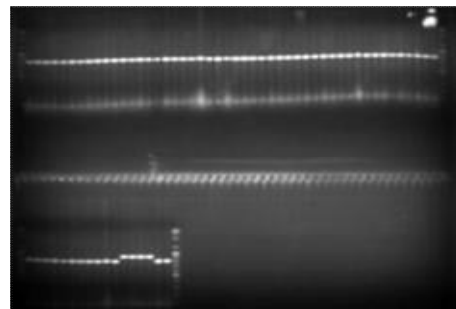
시들음병 Sw5 22점, 잎곰팡이병 Cf9 89점, 역병 Ph3 16점을 선발함 (Table 1-13, Photo 1-6).

Table 1-13. 내병성 검정 결과

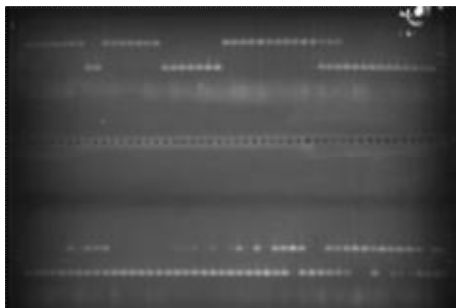
내병 인자	Ty1	Ty2	Ty3	F2 (I2)	F3 (I3)	Fr	N (Mi1)	Mi23	Va	Tm2a	Sw5	Cf9	Ph3
저항성 계통수	191	3	125	234	0	15	71	30	21	95	22	89	16



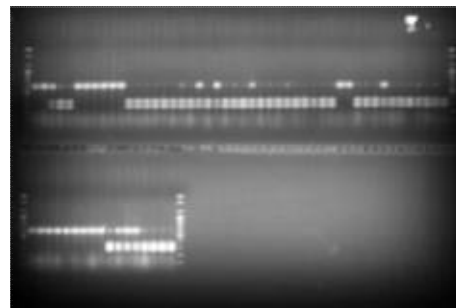
Ty1



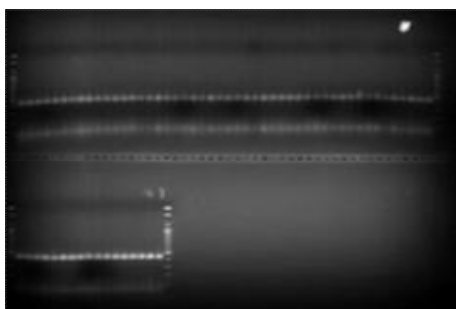
Ty2



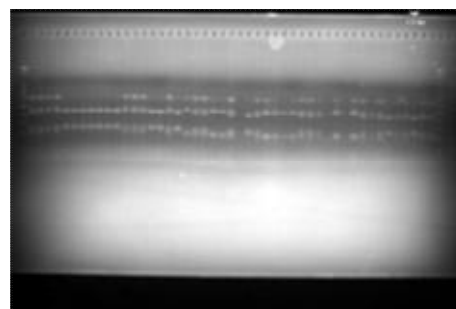
Ty3



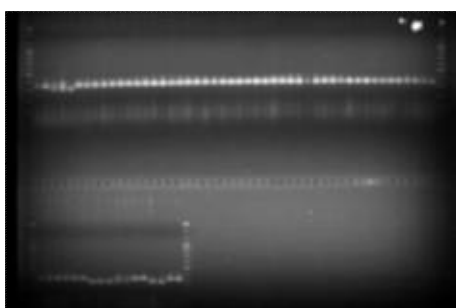
I2



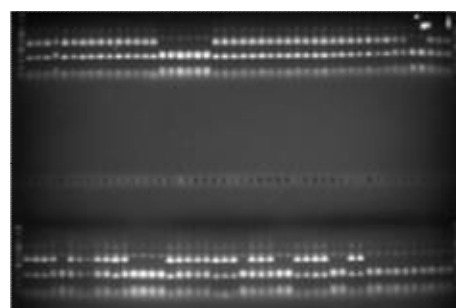
I3



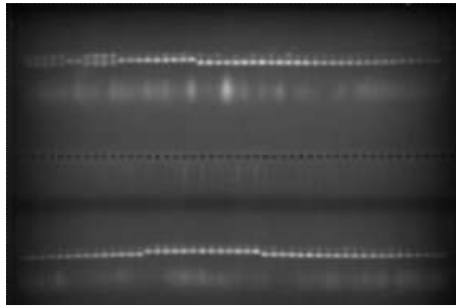
Mi1



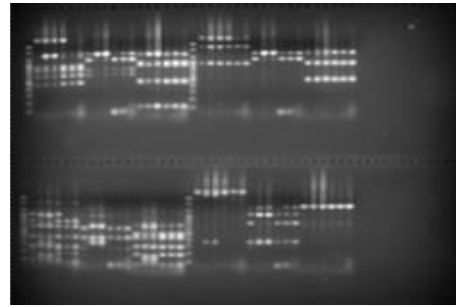
V



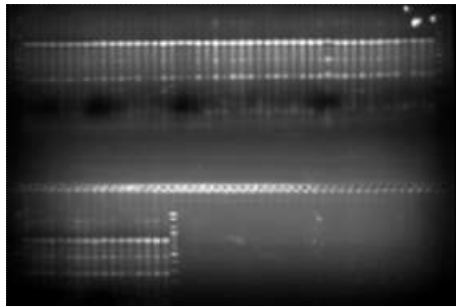
Tm2a



Sw5



Cf9



Ph3

Photo 1-6. 각 유전자별 분자마커

다. 실험결과

(1) 토마토황화잎말림바이러스 Ty1 218점, Ty2 27점, Ty3 163점, 위조병레이스2 I2 184점, 반신위조병 V 230점, 근부위조병 Fr 202점, 선충 Mi1 246점, 토마토모자이크바이러스 Tm2a 219점, 역병 Ph3 159점, 잎곰팡이병 Cf9 192점, 반점시들음병 Sw5 29점, Rin gene 33점, 오렌지색 Or 54점, 갈색 Br 58점을 각각 선발함 (Table 1-12).

Table 1-12. 각 유전자별 선발된 개체수

Gene	Ty1	Ty2	Ty3	I2 (F2)	V	Fr (J3)	Mi (N)	Tm2a	Ph3	Cf9	Sw5	Rin	Or	br
선발 개체수	218	27	163	184	230	202	246	219	159	192	29	33	54	58

(2) 육성계통 1508개체와 F₁ Hybrid 100여 조합에 대한 분자마커검정으로 일시에 개체별, 품종별 내병성 유전자를 확인하여 계통선발과 조합 선발에 활용함 (Table 1-13).

Table 1-13. 계통과 개체별로 분자마커 검정 list 일부

BN	Ty1	Ty2	Ty3	I2	I3	V	Fr	Mi	Tm2a	Fr(J3)	Ph3	Sw5	pink	rin	or	br
1-1	S	S	S	H	S	H	S	S	H	S	H	S	P			
1-2	S	S	S	H	S	H	S	S	H	S	H	S	P			
1-3	S	S	S	H	S	H	S	S	H	S	H	S	P			
2-1	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-2	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-3	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-4	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-5	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-6	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-7	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-8	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-9	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-10	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-11	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-12	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-13	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-14	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-15	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-16	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-17	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-18	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-19	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-20	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-21	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-22	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-23	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-24	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-25	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-26	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-27	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-28	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-29	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-30	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-31	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-32	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-33	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-34	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-35	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-36	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-37	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-38	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-39	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-40	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-41	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-42	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-43	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-44	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-45	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-46	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-47	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-48	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-49	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			
2-50	H	S	H	S	S	H	S	S	H	X	H	S	P			

라. 실험결과

- (1) 토마토황화잎말림바이러스 Ty1 182점, Ty2 32점, Ty3 176점, 위조병레이스2 I2 167점, 반신위조병 V 256점, 근부위조병 Fr 125점, 선충 Mi1 189점, 토마토모자이크바이러스 Tm2a 208점, 역병 Ph3 25점, 잎곰팡이병 Cf9 21점, 반점시들음병 Sw5 7점, Rin gene 27점, 오렌지색 Or 76점, 갈색 Br 78 점, 분홍색 pink color 188 개체를 각각 선발함 (Table 1-14).
- (2) 육성계통 6430점과 F₁ hybrid 138점에 대한 마커검정으로 토마토 병저항성과 과색 선발에 활용하였음 (Table 1-15).

Table 1-14. 각 유전자별 선발된 개체수

Gene	Ty1	Ty2	Ty3	I2	V	Fr	Mi1	Tm2a	Ph3	Cf9	Sw5	Rin	Or	Br	Pink
선발 개체수	182	32	176	167	256	125	189	208	25	21	7	27	76	78	188

Table 1-15. 계통과 개체별로 분자마커 검정 list 일부

NO.	Ty1	Ty2	Ty3	I2	Mi1	Sw5	V	Tm2a	Fr	Ph3	과색	과색
1	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
2	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
3	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
4	R	S	H	S	S	S	R	H	S	S	Red	Pink
5	R	S	H	S	S	S	R	R	S	S	Red	Pink
6	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	Red	Pink
7	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
8	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
9	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	Red	Pink
10	H	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
11	R	S	R	S	H	S	R	R	S	S	Red	Pink
12	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
13	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
14	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
15	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
16	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
17	R	S	R	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
18	R	S	H	S	R	S	R	H	S	S	Red	Pink
19	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
20	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
21	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
22	R	S	H	S	R	S	R	R	S	S	Red	Pink
23	R	S	H	S	R	S	R	R	H	S	Red	Pink
24	R	S	H	S	R	S	R	R	H	S	Red	Pink
25	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	Red	Pink
26	R	S	R	S	R	S	R	H	H	R	Red	not pink
27	R	S	R	S	R	S	R	R	R	H	Red	not pink
28	R	S	R	S	R	S	R	R	R	H	Red	not pink
29	R	S	R	S	R	S	R	H	H	H	Red	not pink
30	R	S	R	S	R	S	R	R	R	H	Red	not pink
31	R	S	R	S	R	S	R	R	R	H	Red	not pink
32	R	S	R	S	R	S	R	R	R	H	Red	not pink
33	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	Red	not pink
34	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	Red	not pink
35	R	S	R	S	S	S	R	R	R	S	Yellow	not pink
36	H	S	H	S	S	S	R	R	R	S	Red	not pink
37	H	S	H	R	R	S	R	H	H	S	Orange	not pink
38	S	S	S	R	H	S	R	R	R	R	Red	not pink
39	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	Red	not pink
40	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	Red	not pink

마. 실험결과

Table 1-16. Ty1/3, ty2, Fr(J3), Mi1, Sw5, I2, V, Tm, Cf9, Ph3, 과색(or, yel, br, pink) 5,364

NO.	16 BN	Ty1/3	Ty2	Fr(J3)	Mi1	Sw5	I2	V	Tm2a	Cf9	Ph3	color
1	106-1	H	S	R	H	S	S	S	S	S	S	red
2	106-2	H	S	R	H	S	S	S	S	S	S	red
3	106-3	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	red
4	107-1	H	S	R	S	S	R	R	S	S	R	red
5	107-2	H	S	R	S	S	R	R	S	S	R	red
6	107-3	H	S	R	S	S	R	R	S	S	R	red
7	110-1	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	pink
8	110-2	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	pink
9	110-3	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	pink
10	112-1	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	pink
11	112-2	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	pink
12	113-1	R	S	S	S	S	R	R	H	S	S	pink
13	113-2	R	S	S	S	S	R	R	H	S	S	pink
14	113-3	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	pink
15	115-1	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	pink
16	115-2	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	pink
17	117-1	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	pink
18	117-2	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	pink
19	126-1	H	S	H	R	S	R	S	R	H	S	pink
20	126-2	H	S	H	R	S	R	S	R	H	S	pink

4. 신소재 육성 및 Backcross

가. 연구방법

(1) Pink color에 red color의 과균일도와 저장성을 집적하는 (Pink x Red) 그룹, 고품질의 형질에 multi 내병성을 집적하는 (고품질계 x 내병성계) 그룹, 맛이 좋으면서 대과종 흑토마토 (Pink x Brown) 그룹 등 8집단을 만들어 Backcrossing을 진행함.

나. 연구결과

(2) 여교잡으로 BC3F1 단계까지 진행함 (Table 1-17, Photo 1-7).

Table 1-17. Material group used for backcrossing

Group	Stage	Objectives	Remark
G-1	BC3 F1	과육이 단단하고 황화잎말림바이러스(Ty), 잎곰팡이병(Cf)에 내병성인 소재육성	pink/pink
G-2	BC3 F1	조숙성이며 하단 착과비대성이 우수하고 맛이 좋은 소재육성	pink/red
G-3	BC3 F1	고구형에 저장성, 수송성이 우수한 소재육성	pink/red
G-4	BC3 F1	단간에 조생이면서Ty 내병성 소재육성	pink/red
G-5	BC3 F1	long shelf life gene(LSL)에 저장성, 수송성이 우수한 소재육성	red/pink
G-6	BC3 F1	Long shelf life에 TYLCV 내병성 소재육성	red/pink
G-7	BC3 F1	대과이면서 당도가 높은 소재 개발	big/mini
G-8	BC3 F1	흑갈색이면서 맛이 좋은 소재 개발	pink/brown
8 그룹			



Photo 1-7. Crossing

5. 토마토 기능성 성분분석

가. 품종 및 계통들에 대한 lycopene 및 β -Carotene 분석 결과 red color가 가장 높은 lycopene 함량을 보였고, 특히 방울토마토 ‘다니엘TY’가 41.4mg으로 가장 높은 lycopene 함량을 나타내었다.

나. 과색별로 분석한 결과 pink color, red color 계통이 lycopene 함량이 높은 반면 orange color, yellow color 계통이 β -Carotene 함량이 높음을 알 수 있었다, 또한 black color는 lycopene, β -Carotene 성분이 모두 낮게 나타났다 (Table 1-18, Photo 1-8, Fig 1-1).

Table 1-18. 토마토 계통별, 품종별 lycopene, β -Carotene 함량

Sample No.	Lycopene(mg)	β -Carotene (mg/100g)	Color	비고
TS-1	11.9±0.1		pink	강원대
TS-2	13.7±0.4		pink	
TS-3	15.6±0.2		pink	
TS-4	17.7±1.6		pink	
TS-5	26.9±1.4		pink	
TS-6	28.1±0.1		red	
TS-7	21.4±1.0		red	
TS-8	29.8±0.0		red	
TS-9	24.6±0.8		red	
TS-10	41.4±0.3		red	
TS-11	28.9±0.8		red	
TS-12	22.9±0.3		red	
TS-13	28.1±0.8		red	
TS-14	33.2±0.1		red	
TS-15	16.6±0.2		black	
TS-16	30.89	1.42	red	
TS-17	24.5	1.15	pink	
TS-18	13.19	3.66	orange	
TS-19	7.9	3.08	yellow	
TS-20	16.73	1.25	black	



Photo 1-8. 과색별 착과모습

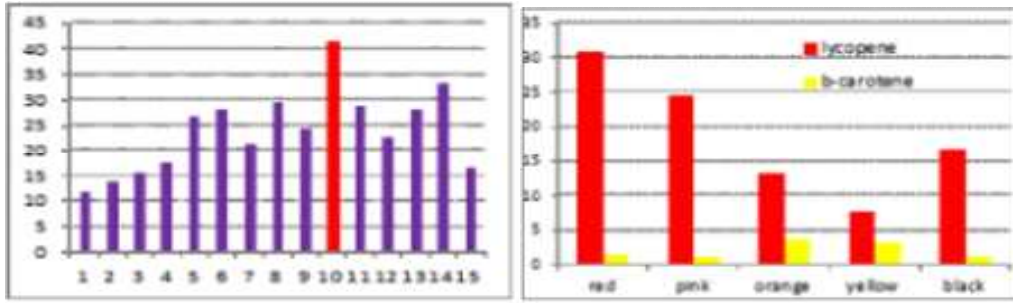


Fig 1-1. Lycopene, β -Carotene 함량

6. 세대진전시험

가. 시험방법

- (1) 공시재료: 육성재료 중에서 초기세대(F3~F5) 계통을 공시
- (2) 파종: 9월 초, 정식: 10월 중순, 교배: 11월-12월, 수확: 1월-2월
- (3) 시험장소 : 베트남, 네트하우스(net house)
- (4) 특성 조사 및 선발 : 초형, 초세, 과형, 착과성, 과균일도, 경도, 열과저항성, 포장내병성 등 기초적인 특성을 조사함
- (5) 형질이 열악한 개체 및 계통은 도태하고 한 세대를 진전함으로써 유전적 순화, 고정화

나. 시험결과_1차년도

- (1) F3 세대 → F4 세대 47 계통, F4 세대 → F5 세대 24 계통을 선발하여 종자를 받음 (Table 1-19, Photo 1-9)

Table 1-19. 세대진전 육성계통들의 주요 특성

계통명	세대	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 **	경도** (저장성)	당도 (brix)	내병성***	선발 개체수
MDS/DFN	F4	무한	중	고구	210	red	U	VF	4.5	Ty1,3,Tm,N,I2,V	5
KUIR	F4	무한	중	고구	187	red	U	VF	4.6	Ty1,3,Tm,I2,V,Cf	5
MSTR	F4	무한	중	고구	214	red	G	VF	4.3	Ty1,3,Tm,N,I2,V,Cf	5
DKN34	F4	무한	중조	고구	197	pink	DG	F	5.8	Tm,N,I2,V,Cf,LS	4
CBN34	F4	무한	중조	편구	212	pink	DG	F	5.5	Ty1,Tm,N,I2,LS	4
CBM24	F4	무한	조	고구	208	pink	G	F	5.8	Ty1,Tm,N,I2,V,Cf,LS	3
CBM25	F4	무한	중조	고구	185	orange	G	F	5.4	Ty1,Tm,N,I2,V,Cf,LS	3
CBM13	F4	무한	중조	고구	178	red	LG	F	5.2	Ty1,Tm,V,LS	3
CPX	F4	무한	중	고구	165	red	LG	VF	5.2	Ty1,Tm,I2,Ve,Cf	3
TSM	F4	무한	조	편구	156	pink	G	MF	6.5	Tm,N,I2,Fr,LS	4
SSR	F4	무한	중조	고구	192	pink	G	F	6.2	Tm,N,I2,Fr,LS	4
MOB/DK	F4	무한	중	편구	223	pink	LG	F	5.8	Tm,N,I2,V,LS	4
BCN	F5	무한	중	고구	200	red	U	VF	4.7	Ty1,3,Tm,N,I2,V	4
HZ23	F5	무한	중	고구	180	red	U	VF	4.7	Ty1,3,Tm,N,I2,V	4
GRD	F5	무한	중만	고구	230	red	U	F	4.8	Tm,N,I2,V	4
REB	F5	무한	중만	편구	200	red	G	VF	4.6	Ty1,3,Tm,N,I2,V,Cf	5
RPN60	F5	무한	중만	고구	180	red	G	VF	4.3	Tm,N,I2,V	4
MDRN	F5	무한	중만	고구	230	rin	U	VF	4.0	Tm,N,I2,V	3
계											71

** 어깨색: U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

*** 경도: M: medium, F: firm, VF: very firm

**** 내병성: Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, I2: fusarium race2, Fr: fusarium radicans, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot



Photo 1-9. 베트남 세대진전시험포장: 1차년도

다. 시험결과

(1) F3 세대 -> F4 세대 47계통, F4 세대 -> F5 세대 51계통을 세대진전하고 선발하여 종자를 받음 (Table 1-20, Photo 1-10).

Table 1-20. 세대진전 계통들의 주요 특성

계통 번호	세대	초형	숙기	과형*	과중 (g)	과색	어깨색 **	경도** (저장성)	당도 (brix)	내병성***	선발 개체수
401	F4	무한	중만	고구	198	pink	G	F	5.2	Tm,I2,Fr,V,Mi,Ph	4
402	F4	무한	중	고구	207	pink	G	VF	4.8	Tm,I2,Fr,V,Mi,Ph	4
403	F4	유한	조	편구	175	pink	LG	F	4.8	Tm,I2,V,Mi,Ph	4
404	F4	무한	중	고구	212	pink	G	F	6.2	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Cf	4
405	F4	무한	중조	고구	215	pink	G	F	6.5	Ty1,Ty3,Tm,I2,Mi,LS	3
408	F4	무한	중조	고구	208	pink	G	F	6.5	Ty1,Ty3,Tm,I2,Cf,LS	4
412	F4	무한	중조	고구	196	pink	G	F	6.2	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Cf,LS	4
413	F4	무한	중만	고구	217	red	NG	VF	5.0	I2,V,Ph	3
414	F4	무한	조	편구	186	red	LG	VF	4.8	Tm,I2,V,Mi,Ph	3
417	F4	무한	조	편구	192	red	NG	VF	4.8	Ty1,Ty3,I2,Fr,Mi	4
419	F4	무한	중조	고구	216	red	NG	VF	5.0	Ty1,Ty3,I2,Fr,Mi	3
422	F4	무한	중조	고구	210	red	NG	VF	5.0	Ty1,Ty3,Mi	3
427	F4	무한	중	고구	222	red	NG	VF	4.7	Tm,I2,V,Mi	4
428	F5	무한	중조	편구	192	pink	LG	VF	6.0	Tm,I2,Fr,Mi	4
430	F5	무한	중조	고구	222	pink	LG	VF	6.5	Tm,I2,V,Mi,Ph	4
432	F5	무한	중조	고구	206	pink	G	F	6.8	Tm,I2,V,Mi,Cf	4
433	F5	무한	중	고구	218	pink	G	VF	6.2	Tm,I2,Fr,Mi	4
434	F5	무한	중	고구	188	pink	LG	F	6.5	I2,Fr,Mi,Ph	3
436	F5	무한	조	고구	192	pink	LG	VF	6.0	Fr,Mi,Ph	3
437	F5	무한	중	고구	200	orange	LG	VF	6.0	Ty1,Ty3,I2,V,Mi,Ph	4
439	F5	무한	중만	고구	207	red	NG	VF	4.8	Ty1,Ty3,I2,V,Ph	4
440	F5	무한	중조	편구	195	red	NG	VF	4.6	Ty1,Ty3,I2,Mi,Ph	4
441	F5	무한	조	편구	195	red	NG	VF	4.8	Tm,I2,V,Mi	3
442	F5	무한	중	편구	204	red	NG	VF	4.8	Tm,I2,V,Mi	4
443	F5	무한	중	고구	209	red	NG	VF	4.5	Tm,I2,V,Mi	3
445	F5	무한	중조	고구	214	red	NG	VF	4.5	Ty1,Ty3,I2,V,Ph	4
446	F5	무한	중조	편구	210	red	NG	VF	4.8	Tm,I2,V,Mi	3
계											98



Photo 1-10. 세대진전시험포장: 2차년도

7. F1 조합 선발시험

*일부 고정계통으로 F1조합을 작성 교배하여 Hybrid를 만들고 그 조합선발시험을 실시함.

가. 시험방법

- (1) 공시품종 : 핑크대과 20조합과 대비품종 2품종
- (2) 파종 : 2013년 7월 17일, 40구 트레이에 점파
- (3) 정식 : 2013년 8월 27일
- (4) 시설 : 2중 하우스(난방), 토양재배
- (5) 재식거리 : 150cm x 50cm (2골 재배)
- (6) 시험주수 : 10주 2반복
- (7) 착과 : 토마토톤 120-150배 처리
- (8) 수확 : 2012. 12월 ~ 2014. 4월(축성작형)
- (9) 시험장소 : 본사 육종연구소
- (10) 기타관리 : 농가재배 방식과 똑같이 관리함

나. 시험결과 (Table 1-21, Photo 1-11)

- (1) F1 hybrid 20조합에 대한 조합능력검정시험 결과 14조합을 1차로 선발하였으며, 그 중 2013-BN 564, 579가 가장 우수하였다.
- (2) 564는 평균과중 215g에 고구형으로 어깨색이 짙으며 당도가 높고, 황화바이러스(Ty1), 토마토모자이크바이러스(Tm), 선충(N), 위조병(F2), 반신위조병(V), 점무늬병(LS) 등에 내병성을 지니고 있다.
- (3) 579는숙기는 중간 정도이고 과육이 매우 단단하여 열과에 강하고 과균일도가 우수하며, 황화바이러스(Ty1.3), 토마토모자이크바이러스(Tm), 선충(N), 위조병(F2), 근부위조병(Fr), 반신위조병(V), 점무늬병(LS) 등에 내병성을 지니고 있어 유망한 조합으로 선발하였다.

Table 1-21. 핑크대과토마토 F1 조합선발시험 성적_1차년도

2013 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색*	경도** (저장성)	당도 (brix)	과*** 균일도	내병성****	총평Z
561(대비종)	무한	중조	편구	187	pink	G	M	5.6	8	Tm.N.I2.Fr.V.Cf.LS	◎
562	무한	중	편구	208	pink	LG	F	5.4	7	Ty1.Tm.I2.V.Cf.LS	◎
563	무한	중조	고구	182	pink	LG	F	5.3	8	Ty1.Tm.I2.Fr.V.LS	◎
564	무한	중	고구	215	pink	DG	F	5.8	9	Ty1.Tm.N.I2.V.LS	◎
565	무한	중	편구	213	pink	DG	F	5.2	7	Ty1.Tm.N.I2.V.LS	◎
566	무한	중	편구	219	pink	G	F	5.0	7	Ty1.Tm.N.I2.Fr.LS	○
567	무한	중조	고구	205	pink	LG	F	5.0	7	Ty1.Tm.N.I2.LS	○
568	무한	조	고구	185	pink	LG	F	5.5	8	Ty1.Tm.N.I2.V.LS	◎
569	무한	중조	고구	187	pink	LG	MF	5.3	8	Ty1.Tm.N.I2.Fr.V.Cf.LS	◎
570	무한	중	고구	180	pink	DG	MF	5.4	7	Ty1.Tm.N.I2.Fr.V.LS	○
571	무한	중조	편구	200	pink	DG	F	5.6	7	Ty1.Tm.N.I2.V.LS	◎
572	무한	중조	편구	205	pink	G	F	5.6	8	Ty1.Tm.N.I2.V.LS	○
573	무한	중조	편구	210	pink	LG	F	5.3	8	Ty1.Tm.N.I2.V.Cf.LS	◎
574(대비종)	무한	중조	편구	214	pink	G	F	5.8	8	Ty1.Tm.N.I2.V.Cf.LS	◎
575	무한	중	고구	197	pink	G	F	5.8	8	Ty1.Tm.N.I2.V.LS	◎
576	무한	중	고구	180	pink	DG	MF	5.0	8	Ty1.Tm.N.I2.Fr.V.LS	◎
577	무한	중조	고구	192	pink	LG	MF	5.0	8	Ty1.3.Tm.N.I2.Fr.V.LS	○
578	무한	중조	고구	212	pink	U	MF	5.3	8	Ty1.3.Tm.N.I2.Fr.V.LS	◎
579	무한	중	고구	205	pink	G	MF	5.5	9	Ty1.3.Tm.N.I2.Fr.V.LS	★
580	무한	중	고구	213	pink	LG	F	5.0	7	Ty1.3.Tm.N.I2.Fr.V.LS	○
581	무한	중조	고구	187	pink	U	MF	5.2	8	Ty1.3.Tm.I2.Fr.V.N.LS	◎
582	무한	중조	고구	202	pink	LG	MF	5.2	8	Ty1.3.Tm.N.I2.Fr.V.LS	◎

** 어깨색 U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

*** 경도 M: medium, F: firm, MF: very firm

**** 내병성 Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, I2: fusarium race2, Fr: fusarium radialis, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot

▶ 과균일도 9 매우 우수 - 1 매우 불량 총평Z : ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통



Photo 1-11. Pink 대과 선발조합

8. F1 조합 선발시험

가. 시험방법

(1) 핑크대과 34 F1 Hybrid, 레드대과 28 F1 Hybrid에 대한 조합선발시험을 실시함.

작형	조합수	경종개요	시험장소
옆제작형 (고온기→저온기)	Pink 계 : 34조합	파종: 2014.7.21	육종연구소
	Red 계 : 28조합	정식: 2014.8.25	
	대비종 : 3품종	수정: 9월~10월	
		수확: 11월~1월	

나. 시험결과_Pink대과

(1) Pink F1 hybrid 34조합들의 조합능력검정시험 결과 5조합을 선발하였으며, 그 중 시험번호 2014-BN 512 조합이 가장 우수하게 평가되었다, 512는 평균과중 205g에 과균일도가 매우 우수하며, Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS 등 multi내병성을 지니고 있다 (Table 1-22, Photo 1-12).

Table 1-22. Pink 대과 조합선발시험 성적

2014 BN	초형	결간	과중 (g)	과형	과색	여과색*	경도 (kg/φ)	당도 (brx)	과** 균일도	수량(g/주)	내병성***	총평†
501	무한	중장	212.3	편구	pink	G	2.1	5.2	8	3,184	Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	◎
502	무한	중	208.1	고구	pink	U	2.3	5.0	8	3,121	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,LS	◎
503	무한	중	200.7	고구	pink	U	2.1	4.8	8	3,010	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,LS	◎
504	무한	중장	192.8	고구	pink	U	2.3	4.8	9	2,892	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,LS	◎
505	무한	중장	196.5	고구	pink	U	2.3	4.8	9	2,947	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,LS	◎
506	무한	중	215.0	고구	pink	U	2.4	4.8	8	3,225	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,LS	○
507	무한	중장	203.9	고구	pink	LG	2.0	5.2	8	3,058	Ty1,Ty3,Tm,I2,,Fr,Cf,LS	◎
508	무한	중	208.6	고구	pink	G	2.0	5.7	8	3,129	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	★
509	무한	중장	208.1	고구	pink	LG	2.2	5.3	8	3,121	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	◎
510	무한	중장	192.6	편구	pink	G	2.3	5.5	8	2,889	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	★
511	무한	중	213.5	편구	pink	LG	2.3	5.5	8	3,202	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	★
512	무한	중	205.8	고구	pink	G	2.2	5.8	9	3,087	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	★
513	무한	장	210.6	편구	pink	G	2.0	5.5	8	3,159	Ty1,Tm,I2,Mi,Cf,LS	○
514	무한	중	204.0	편구	pink	G	1.8	6.0	8	3,060	Ty1,Ty3,Tm,I2,LS	◎
515	무한	중	208.7	고구	pink	LG	2.0	6.5	8	3,130	Ty1,Tm,I2,Mi,,Cf,LS	◎
516	무한	중장	215.4	고구	pink	G	2.0	6.2	8	3,231	Ty1,Ty3,Tm,I2,Mi,Fr,Cf,LS	◎
517	무한	중	204.8	고구	pink	G	2.3	6.2	8	3,072	Ty1,Tm,I2,V,Mi,Fr,Cf,LS	◎
518	무한	중장	196.9	편구	pink	G	2.0	5.8	8	2,953	Ty1,Ty3,Tm,I2,LS	○
519	무한	중	192.7	고구	pink	U	2.4	5.5	9	2,890	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,LS	◎
520	무한	중	192.1	고구	pink	U	2.4	5.3	9	2,881	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,LS	◎
521	유한	중	190.8	고구	pink	LG	2.0	5.6	8	2,862	Ty1,Ty3,Tm,Cf,LS	◎
522	유한	중	202.5	고구	pink	U	2.4	5.0	8	3,037	Ty1,Ty3,Tm,I2,LS	○
523	무한	중단	210.5	고구	pink	U	2.4	5.0	8	3,157	Tm,I2,V,Mi,Fr,LS	◎
524	무한	단	198.3	고구	pink	G	1.8	5.8	8	2,974	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	★
525	무한	중장	213.3	고구	pink	DG	2.0	6.3	8	3,199	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,Mi,Cf,LS	◎
526	무한	중단	205.6	고구	pink	G	2.2	6.0	8	3,084	Ty1,Tm,Mi,Cf,LS	◎
527	무한	중단	187.8	편구	pink	LG	2.0	5.6	8	2,817	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	★
528	무한	중단	197.0	고구	pink	G	1.8	6.2	8	2,955	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	◎
529	무한	중	190.6	고구	pink	U	1.8	6.2	8	2,859	Ty1,Ty3,Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	○
530	무한	단	204.3	편구	pink	U	2.2	6.0	8	3,064	Ty1,Ty3,Tm,I2,Cf,LS	◎
531	무한	단	210.1	고구	pink	U	2.4	5.8	8	3,151	Ty1,Ty3,Tm,I2,Fr,Cf,LS	◎
532	무한	중단	206.9	편구	pink	U	2.0	5.8	8	3,103	Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	○
533	무한	중	196.6	고구	pink	LG	2.0	5.5	8	2,949	Ty1,Ty3,Tm,I2,LS	◎
534	무한	중	192.5	고구	pink	U	2.2	5.5	9	2,887	Ty1,Ty3,Tm,I2,LS	◎
535	무한	중장	207.8	편구	pink	LG	2.0	5.3	8	3,117	Tm,I2,V,Mi,Cf,LS	대비중

* 여과색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 과균일도 9 매우 우수 - 1 매우 불량

*** 내병성, Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, I2: fusarium race2, Mi:meloidogyne incognita Fr: fusarium radicans, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot, Ph: phytophthora

총평: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통

다. 선발된 조합들은 대비품종인 ‘라피토’에 비해 과육이 단단하여 열과에 강하며, TYLCV 등 복합내 병성이 추가되었으며, 과의 균일도가 향상되어 재배안정성과 상품수확률이 높아 농가실증시험을 거쳐 품종화함.



Photo 1-12. Pink 대과 선발조합

라. 시험결과_Red대과

(1) Red F₁ hybrid 28조합능력검정시험 결과 5조합을 선발하였으며, 그 중 시험번호 2014-BN 545조합이 가장 우수하게 평가되었다, 545는 절간은 중장이며 220g 정도에 어깨색은 옅은 녹색이며, 내병성(Ty1.Ty3.Tm.I2.Mi.LS)으로 특히 점무늬병(LS)에 강한 조합으로 선발 하였다 (Table 1-23, Photo 1-13).

Table 1-23. Red 대과 선발조합들의 주요 특성

2014 BN	초형	절간	과중 (g)	과형	과색	어깨색*	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과** 균일도	수량성 (g/주)	내병성***	총평Z
542	무한	중	215.2	고구	red	U	2.4	4.7	9	3,873	Ty1.Ty3.Tm.I2.V.Mi.Fr.Cf	◎
543	무한	중장	223.7	고구	red	U	2.2	5.2	9	4,026	Ty1.Ty3.Tm.I2.V.Mi	◎
544	무한	중	213.0	고구	red	U	2.5	5.0	9	3,834	Ty1.Ty3.Tm.I2	◎
545	무한	중장	220.5	고구	red	LG	2.5	5.0	9	3,969	Ty1.Ty3.Tm.I2.Mi.LS	★
557	무한	중	198.8	고구	red	U	2.4	4.3	9	3,578	Ty1.Ty3.Tm.I2.Mi.LS.Ph	◎
대프니스	무한	중장	217.3	고구	red	U	2.5	4.3	9	3,911	Ty1.Ty3.Tm.I2.Mi	대비종
트스트	무한	단	220.1	고구	red	U	2.3	4.8	9	3,961	Ty1.Ty3.Tm.I2.Mi	대비종

* 어깨색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 과균일도, 9 매우 우수 - 1 매우 불량

*** 내병성, Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, I2: fusarium race2, Mi:meloidogyna incognita Fr: fusarium radicola, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot, Ph: phytophthora

총평²: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통



Photo 1-13. Red 대과 선발조합

9. F₁ 조합 선발시험

가. 시험방법

작형	조합수	파종	정식	수확-조사	비고
역계작형 (고온기→저온기)	32 hybrids	2015.6.11	7.23	10월-12월	12주 x 2 re.
*	24 hybrids	2015.6.11	7.23	10월-12월	12주 x 2 re.

나. 시험결과_ Pink 대과

(1) Pink F₁ hybrid 32조합들의 조합능력검정시험 결과 5조합을 선발하였으며, 그 중 시험번호 2015-BN 614 조합이 가장 우수하게 평가되었다, 614는 조생이면서 217g 정도에 어깨색이 진하며 당도가 높고 과균일도가 좋아 상품수확률이 높고, Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS.Cf.Fr등에 Multi 내병성 품종으로 육성되었다 (Table 1-24, Photo 1-14).

Table 1-24. Pink 대과 F₁ 조합 선발시험 성적

2015 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과균일 도 **	수량 (g/주)	내병성***	총평Z
601	ID	중	고구	207±3.8	pink	LG	1.8	5.8	8	3,524	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
602	ID	중조	고구	214±3.3	pink	G	2.0	6.0	9	3,643	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V. LS.Fr	★
603	ID	중	고구	212±4.2	pink	G	1.8	5.6	8	3,610	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
604	ID	중만	편구	215±4.0	pink	DG	2.0	5.6	7	3,661	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	○
605	ID	중만	고구	223±4.3	pink	U	2.1	5.5	8	3,797	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
606	ID	중조	고구	212±3.8	pink	U	2.0	5.5	9	3,609	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
607	ID	중조	고구	212±5.1	pink	LG	1.9	5.6	8	3,612	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V. LS.Fr	◎
608	ID	중조	고구	216±3.8	pink	DG	1.8	6.0	8	3,677	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	○
609	ID	중	고구	222±4.1	pink	U	2.0	5.5	8	3,780	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V. LS.Cf	◎
610	ID	중조	고구	210±3.7	pink	G	1.8	5.7	8	3,575	Ty1.3.Tm.Mi.I2	○
611	ID	중조	고구	219±3.6	pink	LG	2.0	5.8	8	3,728	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
612	ID	중조	고구	204±3.4	pink	U	1.7	6.0	9	3,473	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
613	ID	중조	편구	213±3.9	pink	U	1.8	5.5	8	3,626	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎

614	ID	조	고구	217±3.7	pink	DG	1.8	6.3	9	3,694	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V. LS.Cf.Fr	★
615	ID	중만	고구	238±4.1	pink	G	1.8	6.2	8	4,052	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V. LS.Cf	★
616	ID	중	고구	213±4.4	pink	G	1.8	5.7	7	3,627	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	○
617	ID	중만	편구	235±4.7	pink	LG	1.8	5.4	8	4,001	Ty1.3.Tm.Mi.V.LS	◎
618	ID	중조	고구	226±3.9	pink	LG	1.8	6.0	9	3,847	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS.Cf	◎
619	ID	중조	고구	220±4.5	pink	LG	1.5	5.8	8	3,746	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS.Cf	◎
620	ID	중조	고구	219±4.1	pink	LG	1.7	6.0	8	3,729	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
621	ID	중만	편구	227±4.4	pink	U	1.8	5.6	8	3,865	Ty1.3.Tm.Mi.I2.LS	◎
622	ID	중	고구	223±3.8	pink	U	1.7	6.0	9	3,796	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V. LS.Ph	★
623	ID	중	고구	217±4.2	pink	U	2.0	5.7	8	3,695	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
624	ID	중조	고구	218±4.2	pink	U	1.8	5.5	8	3,712	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS.Cf	◎
625	ID	조	고구	225±3.8	pink	U	1.7	5.8	8	3,830	Ty1.3.Tm.I2.V.LS	○
626	ID	중조	고구	210±3.7	pink	LG	1.8	5.8	8	3,575	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
627	ID	중	고구	227±3.1	pink	G	2.0	6.2	9	3,864	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	★
628	ID	중조	고구	208±3.4	pink	U	1.8	5.6	8	3,541	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
629	ID	조	고구	205±3.7	pink	LG	1.6	6.0	8	3,490	Ty1.3.Tm.Mi.LS	○
630	ID	중	고구	214±4.0	pink	DG	1.8	6.0	8	3,644	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
631	ID	조	고구	204±3.3	pink	DG	1.7	6.2	9	3,473	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
632	ID	조	고구	207±3.4	pink	LG	1.8	6.0	9	3,524	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
633	ID	중	고구	222±4.5	pink	LG	1.7	5.7	9	3,780	Tm.Mi.I2.V.LS.Cf	라피토
634	ID	중	고구	213±3.0	pink	LG	2.0	6.0	9	3,626	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS.Fr	마라톤

* 약어: U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 피근일도: 9 매우 우수 - 1 매우 불량

*** 내병성: Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, N: nematode, I2: fusarium race2, Fr: fusarium radcis, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot

총평: ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통







Photo 1-14. Pink 대과 조합별 과 사진 및 선발조합 사진

다. 시험결과_ Red 대과

(1) Red계 F₁ hybrid 24조합들의 조합능력검시험 결과 4조합을 선발하였으며, 이 중 시험번호 2015-BN 653 조합이 가장 우수하게 평가되었다, 653은 무한성장형에 속하는 중 정도이며 평균과중 245g으로 과비대와 저장성이 우수하며, Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.Fr.LS 등 Multi 내병성이 있으며, 특히 근부위조병과(Fr) 회색점무늬병LS)에 내병성이 있어 친환경재배에 적합한 품종으로 육성되었다 (Table 1-25, Photo 1-15).

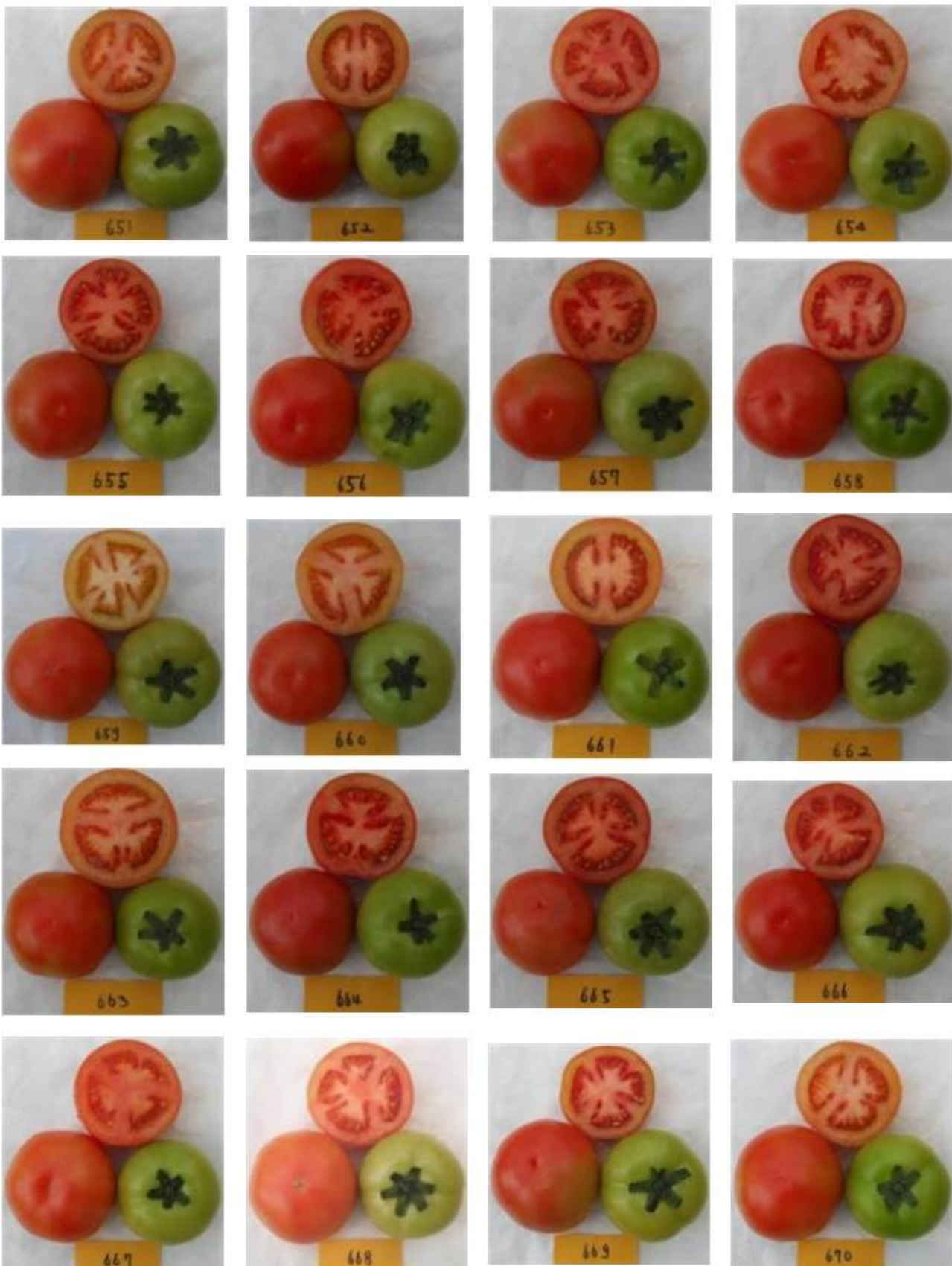
Table 1-25. Red 대과 F₁ 조합 선발시험 성적

2015 BN	초형	숙기	과형	과중 (g)	과색	어깨색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과균일도 **	수량 (g/주)	내병성***	총평Z
651	ID	중	고구	233±4.2	red	U	1.8	4.8	8	4,201	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	◎
652	ID	중	고구	227±3.8	red	U	2.0	4.8	8	4,091	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	◎
653	ID	중	고구	245±4.2	red	LG	2.0	5.0	9	4,417	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.Fr.LS	★
654	ID	중만	고구	247±4.8	red	LG	2.0	5.0	9	4,453	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.Fr	◎
655	ID	중	고구	238±4.3	red	U	2.1	4.7	9	4,291	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	◎
656	ID	중조	고구	232±4.5	red	LG	2.0	4.5	8	4,183	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	◎
657	ID	중조	고구	230±4.2	red	U	1.8	4.7	9	4,147	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.Fr	◎
658	ID	중조	고구	236±4.2	red	G	1.8	5.0	9	4,255	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.Fr.LS	★
659	ID	중	편구	245±5.3	red	U	2.1	4.5	8	4,419	Ty1.3.Tm.Mi.I2	○
660	ID	중	고구	240±5.3	red	U	1.9	4.7	8	4,329	Ty1.3.Tm.I2.V.LS	◎
661	ID	중조	고구	235±4.6	red	LG	2.0	4.8	8	4,237	Ty1.3.Tm.I2.V.Cf	◎
662	ID	중	고구	235±5.1	red	U	1.8	4.7	8	4,239	Ty1.3.Tm.Mi.I2.Cf	◎
663	ID	중만	고구	248±4.9	red	LG	1.8	4.5	8	4,471	Ty1.3.Tm.I2.V.LS	◎
664	ID	중만	고구	241±4.8	red	LG	1.8	4.3	8	4,345	Ty1.3.Tm.I2.V.LS	◎
665	ID	중	고구	238±4.9	red	U	1.8	4.7	8	4,291	Ty1.3.Tm.Mi.I2	◎
666	ID	중만	고구	230±4.5	red	U	2.3	4.7	9	4,147	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	★
667	ID	중만	편구	235±5.7	red	U	1.8	4.4	7	4,239	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	○
668	ID	중	고구	242±4.9	red	U	1.8	4.8	8	4,363	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	◎
669	ID	중	고구	245±4.5	red	U	2.0	4.5	7	4,417	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	○
670	ID	중만	고구	233±4.8	red	LG	2.3	4.8	9	4,201	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	★
671	ID	중만	편구	247±5.4	red	U	2.0	4.6	8	4,455	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.LS	◎
672	ID	중	고구	232±4.2	red	U	1.8	4.5	9	4,183	Ty1.3.Tm.Mi.I2	◎
673	ID	중	고구	235±4.9	red	U	2.0	4.7	8	4,237	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V.Ph	◎
674	ID	중조	고구	228±4.5	red	U	1.8	4.5	8	4,112	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	◎
675	ID	조	고구	238±5.6	red	LG	2.3	4.7	9	4,293	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	대비중
676	ID	중조	고구	240±6.1	red	LG	2.0	5.0	9	4,330	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V	대비중

* 어깨색, U: no green, LG: light green, G: green, DG: dark green

** 과균일도, 9 매우 우수 - 1 매우 불량

*** 내병성, Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato Mosaic Virus, I2: fusarium race2, Mi:meloidogyne incognitaFr: fusarium radicans, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS: leaf spot, Ph: phytophthora
 총평^z : ★ 매우 우수 ◎ 우수 ○ 보통



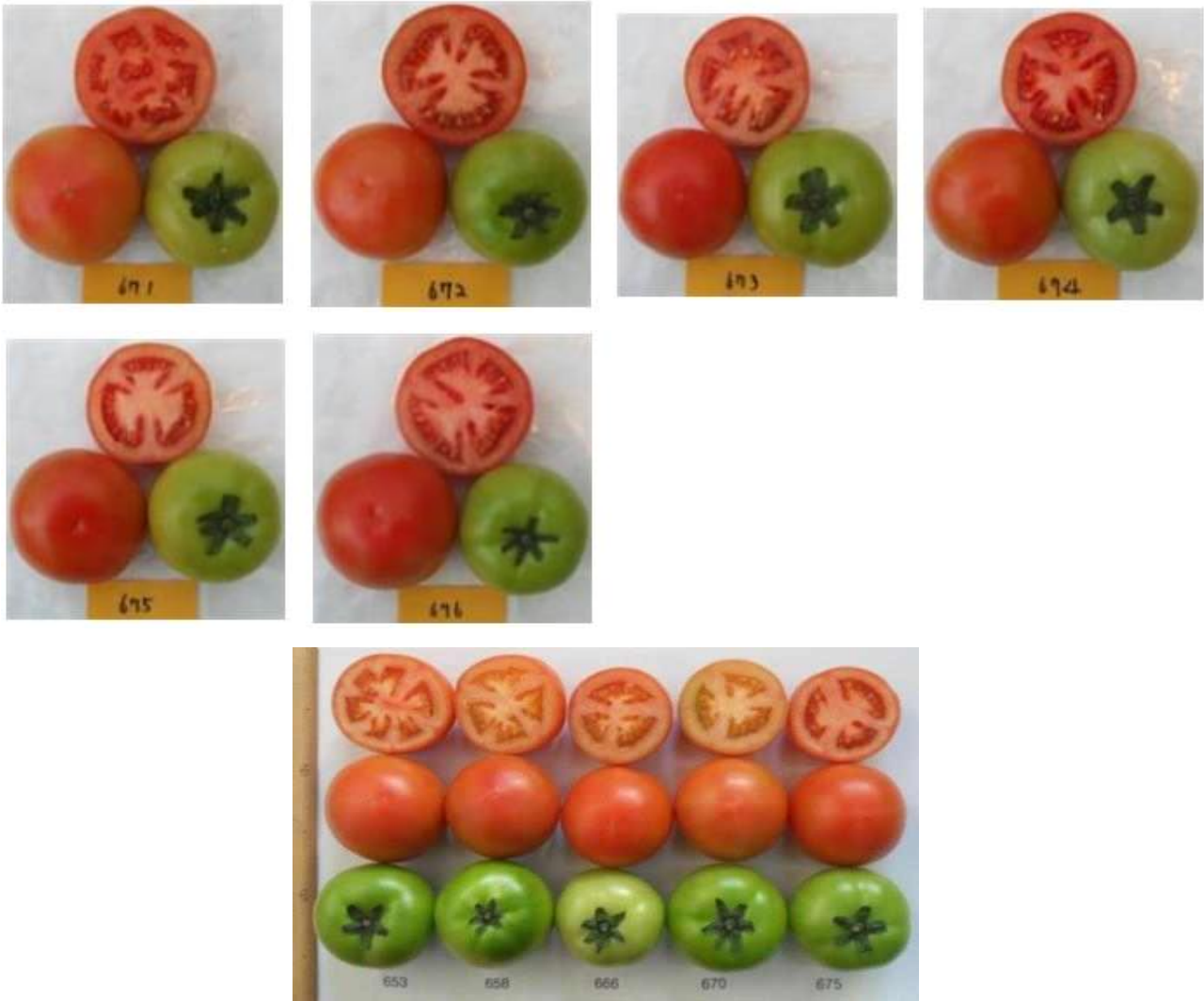


Photo 1-15. Red 대과 조합별 과 사진 및 선발조합 사진

10. F₁ 조합선발시험

가. 시험방법

구분	조합수	파종	정식	수확-조사	비고
Pink	32 hybrids	2016.3.15	5.6	7월-9월	12주 x 2 re.
Red	21 hybrids	2015.3.15	5.6	7월-9월	12주 x 2 re.

나. 시험결과_ Pink 대과

(1) Pink F₁ hybrid 32조합들의 조합능력검정시험 결과 2016-BN 705, 711, 717, 729, 733 조합을 선발하였다 (Table 1-26, Photo 1-16).

Table 1-26. Pink 대과 F₁ 조합 선발시험 성적

2016 BN	초형	숙기	절간	과중 (g)	과색	연개색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과관입도 **	수량 (g/주)	내병성***	비고
705	ID	중	84.6	238±4.2	pink	G	1.8	5.8	8	3,617	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS.Fr	
711	ID	조	80.4	232±4.1	pink	G	2.0	6.2	9	3,526	Ty1.3.Tm.Mi.I2.	
717	ID	중조	82.2	228±3.8	pink	DG	1.8	6.0	8	3,465	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS.Fr	
729	ID	중조	82.7	225±3.1	pink	G	1.8	6.0	9	3,420	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS.Cf.Fr	
733	ID	중	85.4	222±4.5	pink	LG	1.8	5.7	9	3,374	Tm.Mi.I2.V. LS.Cf.Fr	
734	ID	중	85.2	227±3.2	pink	LG	1.6	6.0	9	3,450	Tm.Mi.I2. V.LS.Cf.Fr	대비종



Photo 1-16. Pinkd 대과 선발조합

다. 시험결과_ Red 대과

(1) Red F₁ hybrid 21조합들의 조합능력검정시험 결과 2016-BN 754, 758, 761, 729 조합을 선발하였으며, Red F₁ hybrid 21조합들의 조합능력검정시험 결과 2016-BN 754, 758, 761, 767, 772 조합을 선발하였다 (Table 1-27, Photo 1-17).

Table 1-27. Red 대과 F₁ 조합 선발시험 성적

2016 BN	초형	숙기	절간	과중 (g)	과색	연개색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과관입도 **	수량 (g/주)	내병성***
754	ID	중	86.5	242±4.7	red	LG	2.0	5.0	9	4,114	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS
758	ID	중	9.2	240±4.5	red	G	2.0	5.3	9	4,080	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS.Fr
761	ID	중만	85.7	234±4.5	red	LG	2.2	5.0	9	3,978	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS.Fr
772	ID	중	82.6	238±5.1	red	LG	2.0	5.0	9	4,046	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V
773	ID	중만	90.4	238±5.6	red	LG	2.2	4.6	9	4,054	Ty1.3.Tm.Mi.I2.V
767	ID	중	88.7	158±3.2	red	LG	2.0	5.3	9	3,160	Ty1.3.Tm.Mi.I2. V.LS.Fr

11. 농가실증시험

가. 시험방법

(1) 1차년도 선발조합과 시판품종들을 작형별, 지역별로 농가포장을 임대하여 농가적응시험을 실시하였다.

(가) Pink 대과 농가실증시험

작형	품종수	파종	정식	수확-조사	지역
연계작형 (고온기-저온기)	7 품종	2014. 7. 1	8. 12	10월 ~ 12월	충북

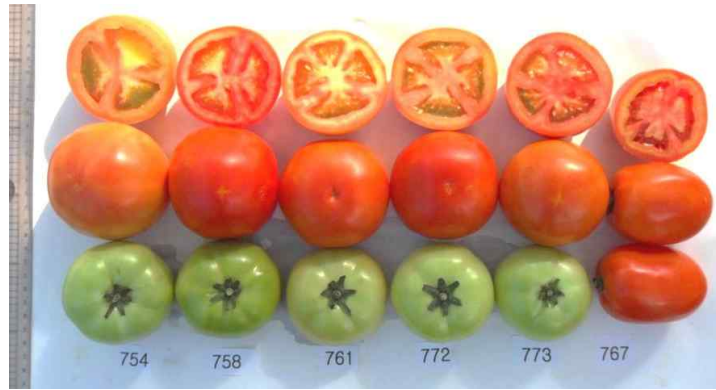


Photo 1-17. Red 대과 선발조합

나. 시험결과

- (1) 1차년도에 선발된 579는 절간이 짧고 초세가 강하며 잎색이 진하고 착과비대가 우수하며, 단단하여 열과에도 강하였다, 내병성(Ty1.ty3.Tm.I2.V.Fr.Mi.Cf.LS)으로 특히 황화잎말림바이러스(ty1,ty3)와 근부 위조병(Fr)에 내병성을 지니고 있다. 2013-BN 579는 ‘GS핑크(K-Star)’로 명명하여 품종보호 출원을 함
- (2) ‘GS핑크’는 대비종인 토사마에 비해 과가 크고 단단하며 황화잎말림바이러스(ty1.3)에 내병성이 있다. (Table 1-28, Photo 1-18).

Table 1-28. 핑크대과 농가실증시험 성적

품종명	회사명*	초형	절간	초세	과중 (g)	과형	과색	연계색**	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	내병성***	비고
2013-579	토생연	무한	중단	강	218	고구	pink	G	2.2	6.4	Ty1.ty3.Tm.I2.V.Fr. Mi.Cf.LS	품종 보호
라피토	몬산토	무한	장	강	225	편구	pink	LG	2.0	5.8	Tm.I2.Fr.Mi.Cf.LS	
TY 메가톤	토생연	무한	중	강	207	고구	pink	DG	1.8	6.4	Ty1.Tm.I2.V.Mi.Fr.Cf.LS	
TY마라톤	토생연	무한	중장	강	200	고구	pink	G	2.5	6.2	Ty1.Tm.I2.V.Mi.LS	
베데랑	토생연	무한	단	중	225	편구	pink	DG	1.8	6.5	Ty1.Tm.I2.V.Mi.Cf.LS	
TY알트랑	농우	무한	중	강	220	고구	pink	LG	2.0	6.0	Ty1.Tm.I2.V.Mi.Fr.Cf.LS	
토사마	사카다	무한	중	중	196	편구	pink	DG	1.7	6.5	Tm.I2.V.Fr.Mi.LS	

* 토생연: 토마토생명과학연구소



Photo 1-18. 농가시험포장



BN13-579 (K-Star)

다. Red 대과 농가실증시험

(1) 육성된 품종 ‘토스트’와 대비품종을 농가확대시험을 실시하였다. 토스트는 대비종보다 절간이 짧고 속기가 빠르고 수량성이 많으며, Ty1.Ty3,Tm.I2.V,Mi.V 등에 내병성을 지니고 있으며, 국내서 개발한 최초의 레드대과 토마토로 재배가 확대되고 있으며 수입대체 품종으로 기대효과가 크다 (Table 1-29, Photo 1-19).

Table 1-29. 레드대과 농가확대시험 결과

품종명	회사명	절간	속기	초세	과중	과형	과색	여객색*	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	내병성**	비고
토스트	투생연	단	조	중강	238	고구	red	LG	2.3	4.8	Ty1.Ty3,Tm, I2,Mi.V	품종 보호
대프니스	신젠타	중장	만	강	232	고구	red	LG	2.5	4.5	Ty1.Ty3,Tm, I2,Mi.V	대비종

* 여객색 LG: light green



Photo 1-19. 토스트 재배모습

토경재배

양액재배

11. 농가실증시험

가. 2차년도에 선발된 조합들에 대한 농가실증시험을 강원 춘천, 충북 청원 등지에서 실시하였다.

나. 시험결과: 2014-BN 508은 고구형에 과육이 단단하여 저장성이 우수하고 열과에도 강하며, Ty1.Ty3.Tm.Mi.I2.V.Fr.LS 등에 multi 내병성으로 ‘슈퍼스타(Super Star)’로 명명 하여 품종보호 출원을 함.

다. ‘슈퍼스타’는 대비종인 라피토에 비해 과가 균일하고 단단하며 황화잎말림바이러스(ty1.3)에 내병성이

있다 (Table 1-30, Table 1-28, Photo 1-20, Photo 1-21).

(1) Pink 대과 농가실증시험-1

작형	파종	정식	수확-조사	지역
반숙성, 조숙작형 (저우기->고우기)	14.12월	15.2월	5월-7월	강원 춘천

Table 1-30. 핑크대과 농가실증시험 성적-1

품종명	초형	절간	초세	과중 (g)	과형	과색	여과색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과관열도 **	내병성***	비고
14-508	ID	중	강	218.6	고구	pink	G	2.0	5.6	9	Ty1.ty3.Tm.Mi.I2.V.Fr. LS	품종보호
14-511	ID	중	강	225.7	편구	pink	G	2.0	5.4	8	Ty1.ty3.Tm.Mi.I2.V.Fr. LS	
14-512	ID	중	중강	212.3	고구	pink	G	1.8	5.7	9	Ty1.ty3.Tm.Mi.I2.V.Fr. LS	생판신고
14-524	ID	중강	강	233.0	편구	pink	DG	1.8	6.1	8.5	Ty1.ty3.Tm.Mi.I2.V.Fr. Cf.LS	
13-564	ID	중	강	227.5	고구	pink	G	2.0	5.5	8.5	Ty1.ty3.Tm.Mi.I2.V.Fr. LS	품종보호
라피토	ID	중강	강	225.5	편구	pink	LG	1.6	5.8	8.5	Tm.Mi.I2.V. Fr.Cf.LS	대비종

* LG: light green, G: green, DG: dark green

** 9: excellent -1:poor



Photo 1-20.농가시험14-508(슈퍼스타),13-564(K-Star)

(2) Pink 대과 농가실증시험-2

작형	파종	정식	수확-조사	지역
연체작형 (고우기->저우기)	15. 7월	15. 8월	10월-12월	충북 청원

Table 1-31. 핑크대과 농가실증시험 성적-2

품종명	초형	절간	초세	과중 (g)	과형	과색	어깨색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과균일 도**	내병성***	비고
14-508	ID	85.6	강	208.5	round	pink	G	2.0	5.7	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Fr.LS	슈퍼스타
14-510	ID	87.2	강	205.3	round	pink	G	1.8	5.4	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Fr.LS	
14-511	ID	84.3	강	222.8	oblate	pink	G	2.0	5.5	8	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Fr.LS	
14-512	ID	84.9	중강	216.1	round	pink	DG	1.9	5.8	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Fr.LS	
13-564	ID	86.7	강	237.8	round	pink	DG	2.0	5.5	8.5	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Fr.LS	K-Star
도테랑 솔라	ID	83.2	중강	218.4	oblate	pink	G	1.6	6.0	8	Tm.Mi.I2.V.Fr. Cf.LS	대비종
TY알트랑	ID	86.7	강	225.8	round	pink	G	1.7	6.0	8.5	Ty1.ty3.Tm.Mi.I2. Fr.Cf.LS	대비종
베테랑	ID	82.1	강	228.0	oblate	pink	DG	1.6	6.2	8	Ty1.Tm.Mi.I2. Fr.Cf.LS	대비종



Photo 1-21. 농가실증시험 포장

12. 농가실증시험

가. 3차년도에 선발된 조합들에 대한 농가실증시험을 부산 대저, 대구 달성, 강원 횡성 등지에서 실시하였다.

나. 시험결과: 2015-BN 615는 pink color로 230~260g 정도의 대과에 어깨색이 진하며, 황화바이러스(Ty1.3), 토마토모자이크바이러스(Tm2a), 선충(Mi1), 시들음병(I2), 반신위조병(V), 근부위조병(Fr), 점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 품종으로 '맘모스티와이(Mammoth TY)'로 명명하여 품종보호 출원을 함.

다. '맘모스티와이'는 대비종인 244보다 과가 크고 어깨색이 짙으며 근부위조병에 내병성이 있다 (Table 1-32, Photo 1-22).

라. 2015-BN 670은 red color로 220~250g 정도에 착과비대가 좋으며 과육이 단단하여 저장성이 우수하며, 황화바이러스(Ty1.3), 토마토모자이크바이러스(Tm2a), 선충(Mi1), 시들음병(I2), 반신위조병(V), 점무늬병(LS) 등에 내병성이 있는 품종으로 '찰스톤티와이(Chalestone TY)'로 명명하여 품종보호 출원을 함.

마. '찰스톤티와이'는 대비종인 대프니스에 비해 당도가 높고 점무늬병(LS)에 내병성이 있다 (Photo 1-23).

Table 1-32. 농가실증시험 성적

품종명	초형	결간	초세	과중 (g)	과형	과색	어깨색 *	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과균일 도**	내병성***	비고
15-615	ID	85.6	강	235.7	oblate	pink	DG	2.0	6.3	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Fr.LS	맘모스TY
244	ID	83.2	강	218.4	oblate	pink	LG	1.8	6.0	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.Cf.LS	대비종
15-670	ID	82.2	강	225.5	round	red	LG	2.2	5.0	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.LS	찰스톤TY
대프너스	ID	87.8	강	225.1	round	red	LG	2.2	4.7	9	Ty1.ty3.Tm.Mi. I2.V.	대비종



Photo 1-22. 맘모스TY



Photo 1-23. 찰스톤TY

13. 지역확대시험

가. Pink 대과

(1) 지역별로 강원 철원, 횡성, 홍천, 충남 부여, 전북 장수, 경북 포항, 안강 등지에서 대단위 (품종당 1000주 이상)로 심어, 수확 출하하여 상품성을 검정하였다.

(2) 14-BN 508, 512는 과균일도가 좋으며 단단하고 열과에 강하여 보급이 가능하다고 판단이 되며, 특히 'TY마라톤'은 공동과, 창문과 등 기형과 발생이 거의 없으며 맛이 좋고 상품수확률이 높아, 강원도 지역에서 공동선별 품종으로 지정되어 판매가 매우 증가할 것으로 보임 (Table 1-33, Photo 1-24).

Table 1-33. 핑크대과 지역확대시

품종명	회사	숙기	절간 (cm)	초계	과중 (g)	과형	과색	어깨색*	경도 (kg/Φ)	열과	당도 (brix)	과관탈락 **	대병성 ***
14-508	토생연	중	87.7	강	208±5.4	round	pink	G	2.0	강	5.8	9	Ty1,Ty3,Tm, Mi,I2,V,Fr,LS
14-512	토생연	중	85.6	강	220±5.7	round	pink	LG	2.0	강	5.8	9	Ty1,Ty3,Tm, Mi,I2,V,Fr,LS
슈퍼탈	사카다	중	82.1	강	218±7.2	oblate	pink	G	1.7	중강	6.2	8	Tm,I2,V,Mi, Cf,LS
544	문산트	중만	92.7	강	205±4.8	round	pink	LG	2.0	강	5.6	9	Ty1,Ty3,Tm, Mi,I2,V,Cf,LS
TY마라톤	토생연	중만	90.2	강	205±4.3	round	pink	LG	2.0	강	6.2	9	ty1,Tm,Mi, I2,V,Fr,LS



14-508(슈퍼스타)



14-512(킹스톤)



TY마라톤

Photo 1-24. 지역확대시험

나. 지역확대시험_Red 대과

- (1) 전북 장수, 강원 횡성, 홍천, 평창, 영월, 경남 사천 등지에서 확대시험을 하였다.
- (2) 14-BN 545는 숙기는 중 정도이며 평균과중 223g에 어깨색은 light green이고 경도가 좋으며, 점무늬병(LS) 저항성 품종으로 보급 가능할 것으로 판단되며, 토스트는 절간이 짧고 조숙에 수량성이 높아서 계속 확산될 것으로 전망함 (Table 1-34, Photo 1-25).

Table 1-34. 레드대과 지역확대시험

품종명	회사	숙기	절간 (cm)	초세	과중 (g)	과형	과색	어깨색*	경도 (kg/φ)	당도 (brix)	과균일도 **	내병성 ***
14-545	토생연	중	86.2	강	223±5.4	round	red	LG	2.2	5.0	9	Ty1,Ty3,Tm, I2,V,Mi,LS
대프니스	신젠타	만	90.3	강	216±5.1	round	red	LG	2.2	4.3	9	Ty1,Ty3,Tm, I2,V,Mi
토스트	토생연	중조	82.5	중강	220±7.8	round	red	LG	2.0	4.6	8.5	Ty1,Ty3,Tm, I2,V,Mi



Photo 1-25. 14-545 / 토스트

다. 지역확대시험_흑토마토(Black Tomato)

- (1) 경기 수원, 광주, 광명, 화성, 충북 청원 등지에서 농가확대시험을 하였으며, 2014-BN 145는 숙기가 중조이며 평균과중 88g에 어깨색이 매우 짙으며, TYLCV 내병성 품종 품종 흑토마토 ‘블랙이글 (Black Eagle)’로 명명하여 품종보호 출원을 함.
- (2) ‘블랙에이스(Black Ace)’도 초세가 강하고 원형에 과육이 단단하고 맛이 좋은 흑토마토 품종으로 확산 보급되고 있음 (Table 1-35, Photo 1-26).

Table 1-35. 흑토마토 지역확대시험

품종명	회사	숙기	절간 (cm)	초세	과중 (g)	과형	과색	어깨색*	경도 (kg/φ)	열과	당도 (brix)	과균일도 **	내병성 ***
14-145 블랙이글	토생연	중조	88.5	강	88.5	round	brown	DG	1.7	강	5.8	9	Ty1,Ty3,Tm, I2,V,Mi,Fr,LS
블랙 에이스	토생연	중	90.2	강	107.8	round	brown	DG	1.8	강	5.8	9	Tm,I2,V,Mi,Fr,LS
올메카	신젠타	중	92.6	강	110.1	round	brown	DG	1.8	강	5.5	9	Tm,I2,V,Mi,Fr,LS



Photo 1-26. 흑토마토 14-145(Black Eagle)/블랙에이스(Black Ace)

14. 품평회, 품종설명회, 농가교육

가. 강원 춘천, 횡성, 정선, 철원, 충남 부여, 전북 장수, 부산 대저, 대구 달성 등 전국의 주요 토마토 재배단지에서 품종평가회, 품종설명회, 농가교육 세미나, 재배상담으로 새로 육성 출시하는 품종들에 대한 홍보와 재배관리방법을 교육하고 지도하였음 (Photo 1-27).



전북 장수



강원 횡성



강원 정선



부산 대저

Photo 1-27. 품종설명회

2절 수입대체 고품질 레드대과 토마토 품종육성

1. 유전자원수집 및 평가

가. 유전자원 수집

연구과제 수행에 이용할 육성소재를 수집하기 위하여 AVRDC, TGRC, 국내외 등지에서 F₁, 계통, 야생종 등을 종자와 과실형태로 수집하여 육종에 이용하였다. 1차년도에는 27점의 유전자원을 수집하여 평가하였으며 2차년도에는 20점, 3차년도에는 25점, 4차년도에는 23점의 유전자원을 수집하여 평가하였다. 평가의 주안점으로는 원예적 형질, 내병성 그리고 재배기간 동안 고온기와 저온기를 거치면서 생육의 정도와 과실의 착과, 비대력, 기형과 출현 정도를 조사하였다.

나. 유전자원 특성평가

수집 유전자원의 특성을 평가하기 위하여 매 년 상반기와 하반기로 나누어 재배시험을 하였다. 상반기 파종은 2월 초~중순, 정식은 4월 중순에 실시하였으며 하반기는 7월말~8월 초순 파종, 정식은 9월 초순에 시행하였다. 재배를 위한 포장 준비는 재식거리 40cm×40cm로 하여 2반복으로 배치하였으며 관행 재배법으로 재배하여 특성을 평가하였다. 유전자원들은 재배포장에서 생육 특성을 육안으로 확인하거나 판매자 혹은 재배자로 부터 재배내력을 듣고 생육 특성과 과형을 육안으로 판별하여 원예적 특성을 판단하였다. 1차년도에 도입한 내재해성 유전자원 중 AVRDC

로부터 도입한 3가지 계통들은 모두 유한 생육형이었으며 AVTO1003와 AVTO1017의 과형은 장 타원형으로 붉은 색의 과색에 과의 크기는 중소형과 정도였다. AVTO1016은 붉은 색의 소형과 로 고온 조건에서 과실 내의 종자 형성이 극히 불량한 것으로 관찰되었다. TGRC에서 도입한 5 점의 유전자원은 모두 야생종으로 LA1932와 LA4440은 토마토 황화 잎 말림 바이러스(TYLCV) 저항성 유전자를 육성계통에 도입하기 위하여 분양 받았다. 그러나 LA1932는 자가 불화합성을 가져 세대진전에 많은 문제가 따랐으며 LA4440은 유한생육형의 장타원 모양의 과형을 가지며 이 유전자원은 타 품종 혹은 계통과의 수정이 용이하여 내병성 계통육종 소재로 유용하게 쓰일 것으로 판단된다.

2차년도에 미국에서 도입한 유전자원들 중 Arkansas Traveler와 Super Sioux는 내서성이 강한 품종으로 알려져 있으며 특히 Super Sioux는 미국의 Nevraska 대학에서 육성한 품종으로 여름 철 고온에 견디는 힘이 매우 강한 것으로 알려져 있다. 이들 주요 유전자원의 특성은 Table 2-1과 같으며 선발한 우수한 유전자원들은 육종소재로 활용할 계획이다.

3차년도 이탈리아, 중국, TGRC등 국·내외에 도입한 F₁ 품종 등 수집한 유전자원의 20점의 특성을 평가하기 위하여 재식거리 40cm×40cm 2반복으로 배치하였으며 관행 재배법으로 재배하여 특성을 평가하였다. 수집한 유전자원은 재배포장에서 생육특성을 육안으로 확인하거나 판매자 혹은 재배자로부터 제공받은 품종특성에 대한 기술서와 재배내력을 듣고 생육상태와 과형을 육안으로 판별하는 등 그 특성을 판단하였다.

중국에서 도입한 CHN-150122(P)는 무한생육형의 분홍색을 띠는 고구형 대과종 토마토였다. 이 계통은 고온기 화분활력이 뛰어나 일본계 분홍 토마토에 비하여 착과 및 비대력이 뛰어난 장점을 가지고 있으나 아쉽게도 보유한 내병성 인자가 확인되지 않았다. 이탈리아에서 도입한 소재들은 ITRGNLA-150324(R)을 제외한 나머지 모든 유전자원들은 중소내지 대과종 품종들로 확인되었다. 이들은 모두 *rin* gene을 가지고 있어 경도와 저장성이 뛰어난 소재들이었다. 다만 고온기 재배 시 *rin*이 과도하게 발현되어 고유의 과색이 퇴색되어 오렌지 색에 가까운 붉은 색을 띠는 단점을 지니는 것으로 확인되었다. 이들 계통들은 분리하여 차후 *rin*을 이용한 계통 육성에 이용하고자 한다. 주목할 점은 뿌리혹 선충병에 대한 내충성 유전자들이 3가지로 분화 되어 있다는 점이었다. 국내 시판중인 대부분의 뿌리혹 선충병에 대한 내충성 유전자는 고구마 뿌리혹 선충(*Meloidogyne incognita*)이나 이탈리아에서 도입한 소재들이 가지는 뿌리혹 선충병에 대한 내충성 유전자는 총 3가지로 *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*에 대한 내충성을 가지고 있었다. 이것은 이탈리아의 주요 재배단지에서 노지와 하우스 모든 곳에서 발병이 이루어진다는 뜻을 내포하며 국내 토마토 재배면적의 다분화와 재배품종, 재배적기의 다분화가 이루어지면 이러한 병원 충에 의한 감염이 이루어 질 수도 있을 가능성을 내포하고 있다. 따라서 이들 유전자원을 이용하여 향후 토마토 재배환경에 대비하는 자원으로써 활용가치가 높다고 판단되어 진다.

TGRC에서 도입한 야생종 유전자원들은 고색소 유전자인 *hp1* 또는 2 유전자를 보유한 것으로 붉은 색의 색도가 진한 *Ip* 유전자와 미숙과 색이 진한 녹색을 띠는 *dg* 유전자로 구분되었다. 이

들 *hp* 유전자를 가진 토마토는 *hp* 유전자가 없는 유전자원 또는 계통들에 비하여 성숙과색이 매우 진하였으며 라이코펜 함량 또한 높은 것으로 조사되었다. 따라서 이들 유전자원들은 고기능성 계통 육성에 적극 도입할 것이다.

4차년도에 중국과 TGRC에서 도입한 유전자원 23점을 수집하여 평가하였다. 수집유전자원 중 중국에서 도입한 CH-F127은 고구형으로 단단하며 고온과 저온에 화방출현 및 착과·비대가 우수한 소재이다. TGRC에서 도입한 야생종들 중 대부분은 Fusarium wilt와 Bacterial wilt에 저항성이 있거나 견디는 힘이 강한 소재들로서 향후 대목육성에 활용할 예정이다. 또한 Druzva는 오렌지색 대과종으로 향후 대과종 칼라 토마토품종육성에 응용할 계획이며 indigo rose, blue chocolate은 과색에 안토시아닌이 집적되어 짙은 자색을 띠는 유전자원이다. Green doctor forest는 유한형 토마토 유전자원으로 과실 성숙 후에도 녹색을 띠며 식미가 우수한 특성이 있다.

Table 2-1. 주요 수집 유전자원의 특성

연도	유전자원명	초형*	과형	과색	경도**	특성***	비고
2013	Health kick	D	Round	Red	M	고 라이코펜 함량	
	Mountain legend	D	Round	Red	M	조숙, 착과·비대우수 대과	
	Tasti-Lee	D	Round	Red	M	고 라이코펜 함량	
	13CHNTPL-01	ID	Glove	Red	MF	경도우수, 속기느림	
2014	GJ-TY-PL1	ID	Round	Red	MF	착과, 경도우수	
	Super sioux	D	Round	Red	F	내서성 우수	
	0593西紅柿	ID	Round	Red	M	Ty, 과형우수	
	Arkansas Traveler	ID	Round	Red	M	내서성 우수	
	CHN-150122(P)	ID	Round	Pink	MF	-	
2015	ITSPI-150324(R)	ID	Round	Red	FF	Tm, Ty, Fol 0, Fol 1, Mi, Ma, Mj, Va, Vd	
	ITTPE-150324(R)	ID	Round	Red	FF	Tm, Ty, Fol 0, Fol 1, Va, Vd, Ma, Mi, Mj	
	ITRGNLA-150324(R)	ID	Round	Red	FF	Tm, Fol 0, Fol 1, Ma, Mi, Mj	
	ITWLY-150324(R)	ID	Round	Red	FF	TSWV, Fol 0, Fol 1, Va, Vd	
	CH-F127	ID	Round	Red	MF	ASC, Pro, Mi, I2, Tm	-
2016	16T1-W8	D	Round	Red	M	Bw	야생종
	16T1-W9	D	Round	Red	M	Bw	야생종
	16T1-W11	D	Round	Red	M	Tolerant to Bacterial wilt	야생종
	16T1-W12	D	Round	Red	M	I1, Ve	야생종
	Druzba	D	Glove	Orange	S	오렌지색 대과	
	Indigo Rose	ID	Round	Purple	S	aug, aft gene	
	Blue chocolate	ID	Round	Purple	S	aug, aft gene	
Green doctor forest	D	Plimp	Green	M	녹색 과실		

* D determinate type, ID Indeterminate type

** MF midium firm, F firm FF very firm

*** Asc *Alternaria alternata*, Ty tomato yellow leaf curl virus, Tm tomato mosaic virus, Fol fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici*, For fusarium oxysporum f. sp. *radicis-lycopersici*, Va *verticillium albo-atrum*, Vd *verticillium dahlia*, Ma *Meloidogyne arenaria*, Mi *Meloidogyne incognita*, Mj *Meloidogyne javanica*, dg dark green, Ip intense pigment, hp high pigment



Health kick



Mountain legend



Tasti lee



13CHNTPL-01



GJ-TY-PL1



0593西紅梯



Arkansa Traveler



Super Sioux



ITSPI-150324(R)



ITTPE-150324(R)



ITPTGA-150325(R)



IT2SA408-150325(R)



Druzhba



Indigo Rose



Blue chocolate



Green doctor

Photo 2-1. 주요 수집유전자원

2. 기 보유 계통 및 유전자원 평가

가. 기 보유계통 및 보유 유전자원

1차년도 기 보유계통의 특성은 총 72점을 공시하여 특성을 평가하였으며 기 보유유전자원은 63점을 공시하였다. 2차년도는 기 보유계통 42점을 공시하였고 기 보유유전자원은 5점을 공시하여

특성을 평가하였다. 2차년도 상반기에 평가된 보유계통 및 유전자원에는 대과종 레드 토마토 계통에 옹성불임을 도입하고자 보유 유전자원 3점, 기존에 개발된 옹성불임 분홍 토마토 2계통과 레드 대과종 옹성불임계통을 작성하기 위하여 유기하였던 여교배 분리집단 3점이 포함되어 있다. 3차년도에는 40점의 보유계통과 15점의 보유 유전자원을, 4차년도에는 38계통의 보유계통과 15점의 보유 유전자원을 특성평가 하였다.

나. 특성평가

특성평가는 경기도 여주시 가남읍에 위치한 농업회사법인 현대종묘(주) 기술연구소에서 수행하였다. 파종은 매년 2월 초~중순에 실시하였으며 4월 중순에 정식을 하였다. 하반기 평가는 매년 7월 말~8월 초순에 파종하여 같은 달 중순에 가식을 하였으며 9월 초순경에 가온 하우스에 정식을 하였다.

기 보유 계통과 보유 유전자원들의 특성을 평가하기 위하여 재식거리 40cm×40cm으로 하여 각 20주씩 2반복으로 정식하여 원예적 특성을 조사하였다. 원예적 특성을 조사하기 위한 재배는 관행 농법을 따랐다. 특성조사는 파종부터 수확 시 까지 생육특성을 조사하였으며 조사는 유묘의 배축색의 안토시아닌 착색 유무를 판단하고 제1화방의 개화시기를 조사하여 상대적인 숙기를 판단하였으며 초형은 유한 생장형과 무한 생장형으로 나누어 조사하였다. 엽형은 국립종자원 토마토 조사요령의 부표를 참고하여 1-4의 4가지 형태로 조사하였으며 절간은 잎과 잎 사이, 즉 마디와 마디사이의 장·단으로 조사하였고, 초세는 전반적인 작물의 세력을 관찰하여 판단하였다.

과중은 성숙한 과를 수확하여 3반복으로 무게를 측정하여 조사하고 과실의 어깨색은 토마토 과의 상단부분에 녹색 무늬 유무와 정도에 따라 조사하였으며 과색은 완전 성숙 된 후의 색상에 따라 붉은색, 분홍색, 갈색, 노란색 그리고 주황색으로 나누었다. 과장과 과폭은 토마토의 길이와 폭을 버니어캘리퍼스로 측정하였으며 과육의 두께와 심실의 개수는 토마토를 가로로 절단하여 과육의 두께를 측정하고 심실의 개수를 세어 조사하였다. 당도는 토마토 과실이 완전 성숙 착색이 된 상태에서 과육의 즙을 굴절당도계(Matster-M, ATAGO Co.)를 사용하여 측정하였다.

옹성불임의 판별은 분양 계통의 경우 기술된 계통의 특성을 참고하였으며 유전적 옹성불임의 경우 화기의 구조를 보고 판단을 하였다. 기능적 옹성불임의 경우 화기의 구조가 정상이나 암술이 수술바깥으로 길게 뻗어 나와 있었으며 수술에 화분이 정상적으로 발현되나 개약 불량 비산불량과 같은 여러 가지 장벽에 의해 수정이 되지 않는 경우이다. 레드 대과종 토마토의 옹성불임 소재로 찾고자 하는 옹성 불임의 특징은 유전적 옹성불임으로 소포자 발생적 옹성불임이다. 소포자 발생적 옹성불임은 수술은 정상적으로 발달하나 소포자 또는 화분 발육과정에 이상이 발생함으로써 불임이 되는 것으로 옹성불임중에서 가장 많은 형태이다. 보고된 자료에 의하면 Stevens와 Rick(1986)은 옹성불임성이 육종에 사용되기 위해서는 두가지 요소가 구비되어야 한다고 했는데 첫째 완전한 옹성불임성을 가지고 있어야 하며 ms-5와 ms-16과 같이 자주 화분이 생성되어 자가 수정되는 능력이 있는 불임체는 사용하기 힘들고, 둘째 옹성불임원으로 이용되는 식물체는 형태적으로 결함이 없는 정상적인 특성을 가지고 있어야 하며 또한 옹성불임성은 F₁세대에서 완전하게 회복되어 정상이 될 수 있도록 열성의 형질을 가지고 있어야 한다고 하였다.

1차년도에 72점의 기보유계통과 63점의 기보유 유전자원에 대한 특성평가를 하였다. 특성조사결과 원예적 특성이 우수한 2계통에서 개체별로 4점을 선발하였으며 하반기에 6계통에서 각 개체별로 6점을 선발하여 후대 유기를 위하여 자가 교배 시켰다.

2차년도 특성평가 결과 42점의 기보유계통과 15점의 기보유 유전자원에 대하여 평가한 결과 이중 원예적 형질이 우수한 2계통에서 각 개체별로 4점을 선발하여 세대진전을 하였으며, 옹성 불임을 유기하기 위한 1계통을 선발할 수 있었다. 선발한 옹성불임 계통은 '14T40A-7'이라는 계통명을 부여하였으며 옹성불임 레드 대과종 토마토 우수계통 육성을 위한 육성 소재로 활용할 것이다.

3차년도 연구수행에 이용된 공시계통들 중 대과종에 속하는 15T1-095는 평균과장이 226.2g으로써 비교적 대과종이며 과실의 경도가 단단한 것이 특징이다. 또한 재배지에서 발병할 수 있는 주요 병들에 대하여 대부분 저항성을 가지며 이 계통은 선발 후 계통화하여 품종육성에 활용할 계획이다. 15T1-97과 15T1-104계통은 평균과중이 187g 내지 189g으로 중대과종 계통들이다. 경도는 중간정도이며 재배지에서 발병되는 주요 병들에 저항성을 가지는 것이 공통점이나 15T1-104는 TYLCV 저항성 유전자를 가지고 있는 것이 특징이다. 15T1-108 계통은 평균과중은 203.4g으로 중대과 그룹에 속하나 고구형으로 수려한 과형을 보이며 고온기 착과력과 비대력이 우수한 특징을 가진다. 이 계통 역시 재배지에서 발병하는 주요 병들에 대해 다양한 병 저항성 유전자를 가지고 있어 고품질의 레드 대과 토마토 육성에 활용 할 수 있는 계통으로 선발 육종할 계획이다.

4차년도 연구수행에 이용한 공시계통들 중 16T1-53은 평균과중이 350g내외로 대과이며 고온기 착과가 우수하고 기형과 출현 없이 균일도가 우수한 것이 특징이다. 선충, 시들음병, 반신위조, 토마토반점위조 바이러스와 토마토모자이크 바이러스에 대한 저항성을 가진다. 16T1-55는 과실이 평균과중이 280g 내외로 시들음병, 반신위조병, 토마토모자이크 바이러스, 토마토황화잎말림 바이러스병에 저항성을 가진다. 또한 과실이 단단하여 수송성과 저장성이 우수한 것이 특징이다.

Table 2-2. 기 보유 계통 및 유전자원 특성

연도	계통명	초형	파형	평균 과중(g)	경도 (lg/ #)	당도 (Brix%)	내병성/특성**
2013	15T1-20	D	Glove	214	M	5.0	-
	15T1-25	D	Round	97.2	M	5.0	-
	15T1-27	D	Round	122.8	F	5.4	-
	15T1-51	ID	Glove	141	M	4.0	-
	15T1-100-3	ID	Glove	188	EF	5.0	-
	15T2-47-2	ID	Round	155	F	5.2	-
	15T1-01	ID	Glove	187	MF	4.0	-
	15T1-11	ID	Round	78	M	4.3	-
	15T1-100-6	ID	Round	117	EF	5.0	-
	15T1-26	D	Plump	89.5	EF	4.0	-
	15T1-13	D	Plump	87.4	EF	4.5	-
	15T1-24	D	Plump	90.3	EF	4.0	-
	14T1-32	ID	Round	208.2	EF	4.5	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9
	14T1-47	ID	Glove	231.9	EF	6.0	Asc. 12, Fr. N, Ma, Cf9
14T1-56	ID	Round	236.7	EF	5.0	Asc. Fr. N, Ma, Im, Cf9	
14T1-69	ID	Round	239.9	EF	4.8	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9	
14T1-72	ID	Glove	250.3	EF	5.0	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9	
14T1-77	ID	Round	238.2	F	4.5	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9	
14T1-79	ID	Glove	236.0	EF	4.5	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9	
2014	14T1-101	ID	Glove	221.6	EF	4.3	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9
	14T1-112	ID	Glove	328.8	F	4.5	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im
	14T1-131	ID	Round	199.3	F	5.0	ASC. 12, Ty1, Ty3, Ma, Im, Cf9
	14T2-58	ID	Glove	186.6	EF	4.2	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9
	14T2-61	ID	Glove	203.8	EF	4.8	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9
	14T2-68	ID	Glove	209.3	EF	4.0	Asc. 12, Fr. N, Sw5, Ma, Im, Cf9
	14T2-69	ID	Glove	159.6	EF	5.3	Asc. 12, N, Im, Ty1, Ty3
	14T2-71	ID	Round	261.2	F	5.0	Asc. 12, Ph5, N, Sw5, Ma, Ty1, Ty3
	15T1-095	ID	Glove	226.2	MF	5	ASC. 12, J3, N, Sw5, Ma, Im, Cf-9
	15T1-097	ID	Glove	187.6	MF	5	ASC. 12, J3, N, Sw5, Ma, Im
15T1-098	ID	Glove	289.3	F	4.5	ASC. 12, J3, N, Sw5, Ma, Im, Cf-9	
2015	15T1-099	ID	Glove	236.8	EF	5	ASC. 12, J3, N, Ma, Im, Cf-9
	15T1-101	ID	Round	131.4	EF	5	ASC. 12, Im, Ma
	15T1-103	ID	Round	109.7	F	5	ASC. 12, Im, N, Ty1, Ty3, Ma
	15T1-104	ID	Glove	189	F	5	ASC. 12, Ty1, Ty3, Ma, Im

2016	15T1-107	ID	Globe	235	EF	4.75	ASC, 12, Tm, Cf-9, Ty1, Ty3, Me
	15T1-108	ID	Globe	203.4	M	5	ASC, 12, Ph3, N, Sw5, Me, Tm, Cf-9
	15T1-109	ID	Globe	199.5a	MF	5.05	ASC, 12, N, Tm, Cf-9, Me, Sw5, Ph3
	16T1-45	ID	Globe	320	EF	5	12, Ty
	16T1-46	ID	Globe	335	EF	5	12, Ty
	16T1-47	ID	Round	280	EF	5	12, Ty
	16T1-48	ID	Globe	250	EF	4.5	12, Ty
	16T1-53	ID	Globe	320	EF	5	Me, 12, Me, Sw5, Tm
	16T1-54	ID	Round	240	EF	4.5	12, Me, Sw5, Ty
	16T1-55	ID	Globe	280	EF	5	12, Me, Tm, Ty
	16T1-56	ID	Round	280	EF	5	Me, Me, Sw5, Tm

* D determinate type, ID Indeterminate type

** ME medium firm, F firm EF very firm

*** Asc *Alternaria alternata*, 12 *Fusarium oxysporum* race2, 13 *Fusarium oxysporum* race3, JS *Fusarium* wilt, Ph3 *Phytophthora infestans*, Me *Meloidogyne incognita*, Sw5 tomato spotted wilt virus, Ty tomato yellow leaf curl virus Me *Yersinia deholiae*, Tm tomato mosaic virus(Tm² type), Pm *Pseudomonas syringae* pv. Tomato, Cf-9 *Cladosporium fulvum* race-9



Photo 2-2. 기 보유 계통 및 유전자원

3. 우수계통 육성

원예적 형질이 우수하며 내재해성, 복합 병저항성 계통을 육성하기 위하여 1차년도에 계통 또는 각 개체별로 선발한 130점에 대하여 분자마커를 이용하여 내병성 검정하였고, 2차년도는 공시 계통들

로부터 4계통의 고정 계통을 선발 할 수 있었다. 3차년도는 2차년도 보유계통에서 검정을 통하여 응성불임 계통 3계통을 선발하였으며, 새로운 응성불임 계통을 유기하기 위한 여교배 집단을 작성 하였다. 또한 원예적 형질이 우수하며 연구목표에 부합하는 계통 20계통을 선발하였다. 4차년도에 는 고온기 착과 및 비대가 우수한 10계통을 선발하였으며 이중 9계통을 세대진전 중에 있다. 또한 3차년도에 작성한 응성불임은 불임감별 작업을 거쳐 여교배 집단에서 파생된 아계(substrain)를 비 롯하여 7계통에 대하여 세대진전 및 내병성 검정을 수행 중에 있다.

가. 복합내병성 계통육성

원예적 형질이 우수하며 내재해성, 복합 병저항성 그리고 고 기능성 계통을 육성하기 위하여 1 차년도에 공시계통 중 계통 또는 각 개체별로 선발한 130점에 대하여 분자마커를 이용하여 내병 성 검정하였고 그중 내병성과 원예적 형질이 우수한 50계통에 대하여 과 품질 조사를 실시하여 6계통을 선발하고 세대진전을 하였다. 병 검정에 활용한 마커는 Ty1, Ty2, Ty3, ToMV, Sw5, Rex, Asc, Ve, Pto, I2, I3, J3, Ph-3 그리고 Cf-9이며 내병성 검정은 부산대학교에 의뢰하여 검정하였다.

2차년도 우수계통 육성을 위하여 상반기 분리 세대 및 계통들 96점, 하반기에는 77점을 공시하 였다. 상반기 계통 특성평가를 위하여 2014년 2월 18일 파종하여 4월 4일 정식을 하였으며 하 반기 평가를 위하여 8월 4일 파종하였으며 9월 4일 정식하였다. 공시 계통들 중 원예적 형질이 우수하며 고온기와 저온기를 지나는 동안 내서성, 내한성이 우수한 계통들을 선발하였으며 선발 된 계통 및 개체 196점을 대상으로 마커를 이용하여 병저항성 검정을 하였다. 현재 토마토 재배 농가에서 광범위하게 퍼져 있는 토마토 황화 잎 말림 바이러스에 대한 저항성을 가진 계통의 수 가 적은 것으로 나타났으며 다양한 소재의 도입 또는 여교배를 통하여 이들 병 저항성을 띠는 우수 계통을 육성할 것이다.

3차년도 공시계통 중 연구목표에 부합하는 20계통의 레드 대과종 계통을 선발하여 특성을 평가 하였다. 그중 15T1-48의 평균 당도는 6.0brix° 로 가장 높았으며 15T1-49의 평균 과중은 308.3g으로 가장 무거웠다. 4차년도에는 10계통을 선발하였으며 9계통을 세대진전 하였다. 그리 고 응성불임계통 7계통을 세대진전 하였다.

Table 2-3. 주요 우수계통 특성

연도	계통명	초형	과형	평균 과중(g)	과색	경도*	당도 (Brix°)	내병성***
2013	13T1-67	ID	고구	116.5	Red	F	5.0	Tm
	31-7	ID	고구	130.0	Red	F	5.0	Asc, Tm, I2
	13T1-101-9	ID	편구	228.0	Red	FF	4.0	Asc, Tm, I2
	13T2-13-1	ID	고구	183.0	Red	FF	6.2	Asc, Tm, I2

	13T2-27-7	ID	고구	159.5	Red	FF	5.0	Asc, Tm, I2
	13T2-37-1	ID	고구	254.0	Red	FF	5.0	Asc, Tm, I2
	14T1-32	ID	고구	208.2	Red	FF	4.5	Asc, I2, J3, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T1-47	ID	편구	231.9	Red	FF	6.0	Asc, I2, J3, N, Va, Cf9
	14T1-56	ID	고구	236.7	Red	FF	5.0	Asc, J3, N, Va, Tm, Cf9
	14T1-69	ID	고구	239.9	Red	FF	4.8	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T1-72	ID	편구	250.3	Red	FF	5.0	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T1-77	ID	고구	238.2	Red	F	4.5	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T1-79	ID	편구	236.0	Red	FF	4.5	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
2014	14T1-101	ID	편구	221.6	Red	FF	4.3	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T1-112	ID	편구	328.8	Red	F	4.5	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm
	14T1-131	ID	고구	199.3	Red	F	5.0	ASC, I2, Ty1, Ty3, Va, Tm, Cf9
	14T2-58	ID	편구	186.6	Red	FF	4.2	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T2-61	ID	편구	203.8	Red	FF	4.8	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T2-68	ID	편구	299.3	Red	FF	4.0	Asc, I2, J3, N, Sw5, Va, Tm, Cf9
	14T2-69	ID	편구	159.6	Red	FF	5.3	Asc, I2, N, Tm, Ty
	14T2-71	ID	고구	261.2	Red	F	5.0	Asc, I2, Ph3, N, Sw5, Va, Ty
	15T1-038	ID	Round	178.2	Red	FF	5.0	I2, J3, Ph3, Mi, Sw5, Va, Tm, Cf9
	15T1-040	ID	Round	231.8	Red	F	6.0	I2, J3, Mi, Sw5, Va, Tm
	15T1-044	ID	Round	226.7	Red	F	5.75	I2, J3, Mi, Sw5, Va, Tm
2015	15T1-048	ID	Round	157.8	Red	FF	6.0	ASC, I2, Cf-9, Ty, Va
	15T1-049	ID	Round	308.3	Red	F	5.0	ASC, I2, Mi, Cf-9, Ty, Va
	15T1-061	ID	Round	256.9	Red	F	4.25	ASC, I2
	15T1-062	ID	Round	201.0	Red	F	4.75	ASC, I2
	15T1-064	ID	Round	175.1	Red	FF	4.25	ASC, Sw5, Va, Ph3, Cf-9
	16T1-88	ID	Round	320	Red	FF	4.5	I2, Ty
	16T1-89	ID	Round	310	Red	FF	4.5	Mi, I2, Va, J3, Sw5, Tm
2016	16T1-90	ID	Round	240	Red	F	5	Mi, I2, Va, J3, Sw5, Tm
	16T1-91	ID	Round	240	Red	F	5	Mi, I2, Va, Ty, Cf9
	16T1-92	ID	Round	220	Red	F	5	Mi, I2, Va, Ty, Cf9

* D determinate type, ID Indeterminate type

** MF midium firm, F firm FF very firm

*** Asc alternaria alternata, I2 fusarium oxysporum race2, I3 fusarium oxysporum race3, J3 Fusarium wilt, Ph3 phytophthora infestans, Mi Meloidogyne incognita, SW5 tomato spotted wilt virus, Ty tomato yellow leaf curl virus Va verticillium dahliae, Tm tomato mosaic virus(Tm² type), Pto pseudomonas syringae pv. Tomato, Cf-9 cladosporium fulvum race-9



13TS01



13TS02



13TS03



Photo 2-3. 선발 주요 우수계통

나. 옹성불임 계통육성

레드 대과종 토마토에 옹성불임을 유기하기 위하여 2차년도 상반기에 기 보유계통 중 옹성불임 분홍 대과종 토마토 계통과 이를 유기하기 위하여 작성하였던 여교배 집단을 공시하여 특성을 평가하였다. 이 중 1계통을 선발하여 레드 대과토마토 형질을 도입하기 위하여 2014년 하반기에 교배를 하여 F_1 을 작성하였으며, 2015년 상반기에 BC_1 집단을 작성하기 위한 교배를 실시할 예정이다.

대부분의 옹성불임 유전자는 감수분열 초기나 후기에 작용을 하고 감수분열 이전에 작용하는 경우는 적다고 하였는데 Kaul(1988)의 보고에 따르면 이 시기에 발현되는 것은 msu, ms-3, ms-15, ms-29, msk-1과 msk-2라고 보고하였으나 Rick과 Butter(1956)는 감수분열 이전에 발현하는 4개 유전자는 ms-3(Andrasfalvy, 1970), ms-15(Schmidt, 1981), ms-29와 ms-32(Stevens와 Rick, 1986)라 하였다. 또한 이들은 옹성불임성의 발현이 감수분열기에 시작되는 유전자는 ms-1, ms-5, ms-7, ms-8, ms-10, ms-12, ms-16, ms-18, ms-30과 ms-33이며, 4분염색체를 형성하는 시기에 발현되는 유전자는 ms-2, ms-4, ms-6, ms-11, ms-17, ms-23, ms-34, ms-45와 ms-46이고, 소포자기에 옹성불임성을 유발하는 유전자는 ms-9, ms-13, ms-14, ms-24, ms-27, ms-28, ms-31, ms-37, ms-41과 ms-43이라 보고하였다.

레드 대과종 토마토 옹성불임 육성에 이용한 기 보유계통 '14T40A-7'의 옹성불임 유전자는 ms-10이며 과색이 붉은 색에 가까운 분홍색을 띄며 무한 생육형을 가진 계통이며 고 구형의 과

형으로 착과 및 비대력이 우수한 특성을 나타낸다. 화기의 구조를 통하여 임성을 구분하는 것은 자칫 개화 중에 수술의 꽃가루가 암술에 닿아 자가 수정이 일어날 확률이 높으므로 개화 이전에 임성여부를 판단할 수 있는 방법이 요구되었다. 따라서 '14T40A-7'의 배축은 각각 녹색과 자색의 색으로 분리되는 특성을 가지며 녹색의 배축을 가진 개체에서 옹성불임성을 보이며 자색의 배축을 가지는 계통에서는 화분이 정상적으로 생성되어 임성을 나타내었기 때문에 이러한 특성을 나타내는 레드 대과종 계통을 육성하면 유묘상태에서 옹성불임과 화분친의 감별이 용이하여 유묘상태에서 쉽게 화분친을 제거해 낼 수 있다. 이를 위해서 녹색배축의 옹성불임 친에 화분친을 반복적으로 여교배하고 화분친과 유사한 형질의 개체를 선발하여 차대에서 녹색과 자색배축의 분리 비율이 1:3인 집단은 도태시키고 7:9인 집단을 정식하여 옹성불임을 감별하여 형매교배를 실시한다. 이때 녹색 배축에서 옹성불임 주만 남기고 자색 배축에서는 화분친 중 형질이 우수한 개체를 개별로 교배하여 차대에 배축이 녹색과 자색으로 분리 되는 집단만을 선발하여 형매교배를 진행하여 순도를 고정시켜 새로운 계통을 육성 할 수 있으며 이를 이용한 품종의 개발은 노동비 절감과 생산비 절감으로 이어질 수 있으리라 판단된다.

Photo 2-4에서 녹색 상자는 배축색이 녹색임을 뜻하며 자색 상자는 배축색이 자색임을 나타낸다. 위의 과정으로 육성된 옹성불임 계통은 파종상에서 종자가 발아를 하면 자색인 배축색을 제거 하고 녹색 배축을 가진 개체만을 선발하여 F₁ 종자 채종에 이용할 수 있으며 이로 인해 기존의 제육방식에 비해 시간과 노동력을 절감할 수 있으며 높은 균일도를 가진 고품질의 F₁ 종자 생산이 가능하게 된다. 옹성불임 계통 유기에 사용된 계통들의 원예적 특성은 Table 2-4, Table 2-5와 같으며 3차년도에는 우수한 계통들을 이용하여 원예적 형질이 우수한 다수의 옹성불임 계통을 유기할 것이다.

3차년도에 레드 대과종 토마토에 옹성불임성 도입을 위해 배축이 녹색이면서 옹성불임성을 가지는 09T40A-7과 09T40B-5 계통을 교배친으로 하였으며 이들 두 계통들은 무한 생육형의 생육 습성을 가지며 과색은 분홍색이고 평균과중은 200g 내외 이다. 그리고 2개의 계통을 반복친으로 사용하였다. F₁ 세대에서 3주를 정식한 다음 제육하여 교배를 실시하고 집단으로 종자를 얻어 100~120립 파종한 다음 반복친과 형태적 특성이 유사한 개체를 선발하여 20주씩 정식하였다. 정식한 다음 초형이나 과형이 반복친과 근접한 개체를 10~15주씩 선발하여 정식하였으며 이들을 다시 각각 자가수정시켜 종자를 얻었다. 획득한 종자들을 다시 선발한 식물체별로 파종을 하였으며 배축색이 분리되는 집단내에서 녹색인 개체만을 골라 20주씩 재배하면서 임성감별을 하였다. 배축이 녹색이면서 불임인 개체는 두고 배축이 녹색이면서 임성을 띄거나 자색이면서 불임 혹은 임성을 띄는 개체는 도태시켰다. 옹성불임 중에서 반복친과 유사한 초형의 개체를 10주 내로 골라 여교배를 실시하고 과형이 유사한 3주를 선발하여 개체를 모두 모아 집단으로 종자를 얻었다. 집단으로 획득한 종자를 다시 100립 파종하여 가식한 다음 반복친과 매우 유사한 개체 10주를 정식하여 재배하였으며 이들 식물체가 개화하면 제육하여 교배를 실시하였고 3개체의 종자를 집단으로 얻어 200립 파종하였다. 착과와 과실 비대가 완료된 후 반복친의 형질과 가장 유사한 개체 5주의 종자를 개체별로 얻어 배축이 분리되는 집단을 선발하고 자색으로 고정된 집단

은 도태하였다. 녹색배축 50주와 재색배축 50주를 정식하여 임성을 감별하였다. 녹색배축의 옹성 불임에 자색배축의 가임을 개체별로 교배하여 배축이 분리되는 개체를 선발한 다음 연속적으로 형매교배를 통하여 순도를 고정시켜 분홍대와 옹성불임 계통 MS-01, MS-02 그리고 MS-03을 육성할 수 있었다. 이와 동일한 방법으로 육성된 분홍대와 옹성불임 계통을 교배친으로하고 레드 대과 토마토 계통을 반복친으로 사용하여 옹성불임성을 도입하는 작업을 진행중에 있으며 현재 하나의 BC₁F₁ 집단과 2개의 BC₁F₂ 집단을 육성 중에 있다.

4차년도에는 3차년도에 옹성불임 육성을 위해 여교배한 집단으로부터 3 개체를 선발하여 형매교배를 통해 선발 및 유지하였다. MSR-29는 고구형으로 평균과중은 220g 내외이며 경도는 1.25kgf/㎏로 단단하다. 선충, 시들음병, 근부위조병, 토마토모자이크 바이러스병과 잎곰팡이 병에 대한 저항성이 있으며 BC₂세대이다. MSR-31은 중만생의 고구형으로 평균과중은 240g 내외이며 과실의 경도는 1.3kgf/㎏으로 단단하다. 현재 BC₁F₃ 세대이며 형매교배를 이용하여 임성을 유지하며 세대진전을 진행 중에 있다. MSR-32는 BC₂F₁세대로서 평균과중은 240g이고, 경도가 우수하며 고온기 착과 및 기형과 발생율이 현저히 낮은 계통이다.

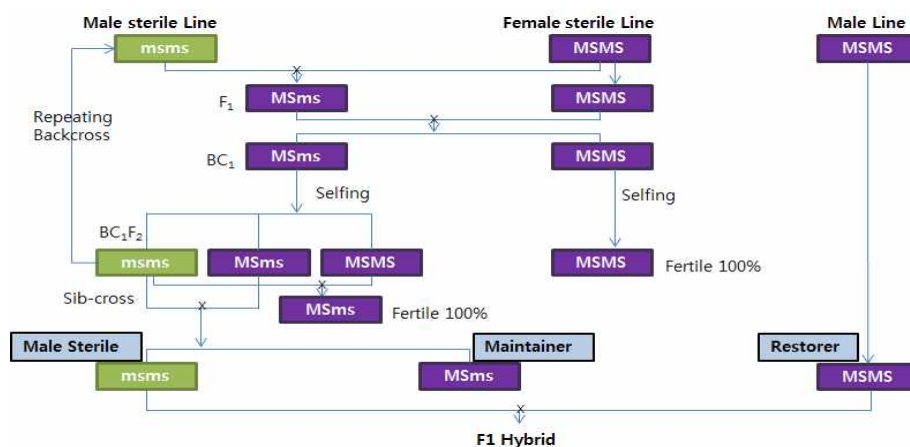


Photo 2-4. 레드 대과계통에 옹성불임을 도입하기 위한 과정

Table 2-4. 옹성불임 도입 사용된 옹성불임 계통 및 주요 유전자원

계통명	생육습성 [†]	배축색	옹성불임 관련 유전자	비고
LA1161	D	green	ms-49	IGRC
LA3631	ID	purple	ps-2	IGRC
LA3199	ID	purple	ms-48	IGRC
09T40A-7	ID	green/purple	ms-10	China
09T40B-5	ID	green/purple	ms-10	China

[†]생육습성 : D determinate type, ID indeterminate type

Table 2-5. 육성중인 육성불임 계통

BN	과형	과중(g)	과색*	어깨색**	경도(f/kg)	당도(Brix \circ)	내병성***	세대
MS-01	고구	226.2	P	G	1.2	5	ASC, Mi	F8
MS-02	고구	187.6	P	G	1.2	5	Tm, J3, Mi	F8
MS-03	고구	289.3	P	G	1.2	5	Tm, J3, Mi	F8
MS-04	고구	198	R	U	1.4	5	-	BC1F2
MS-05	고구	200	R	U	1.3	5	-	BC1F2
MS-06	고구	200	R	U	1.3	5	-	BC1

* R red, P pink

** G green, U uniform

*** Asc *alternaria alternata*, J3 *Fusarium wilt*, Mi *Meloidogyne incognita*, Tm *tomato mosaic virus*(Tm2⁺ type)

4. 기능성 성분분석

육성계통 중 원예적형질이 우수하며 연구 목표에 부합하는 계통 및 조합들을 대상으로 라이코펜 분석을 하였다. 각 계통의 개체별로 수확한 토마토 과실을 이용하여 비색법으로 진행하였으며 강원대학교 의생명과학과에 의뢰하여 선발 개체의 라이코펜 함량을 확인하였다. 1차년도에 50점을 선발하여 분석하였으며, 2차년도에는 95점, 3차년도에는 100점을 분석하였으며 그리고 4차년도에는 50점의 샘플을 분석하였다.

토마토에는 비타민과 무기질과 같은 기능성 성분 외에도 라이코펜과 베타카로틴 같은 기능성물질이 풍부하게 들어 함유되어 있다. 특히 라이코펜은 토마토에 많이 함유되어 있으며 인간이 이를 섭취하였을 경우 체내에서 항산화 작용을 도와 신체에 유익한 작용을 한다. 따라서 이러한 고 기능성 성분을 다량 함유한 토마토 계통을 육성하여 품종 개발에 이용하고자 라이코펜 분석을 시행하였다. 육성계통 중 원예적형질이 우수하며 연구 목표에 부합하는 계통 및 조합들을 대상으로 라이코펜 분석을 하였다. 각 계통의 개체별로 수확한 토마토 과실을 이용하여 비색법으로 진행하였으며 강원대학교 의생명과학과에 의뢰하여 선발 개체의 라이코펜 함량을 확인하였다. 공시계통 중 1차년도에 50점을 선발하여 분석하였으며 이중 2계통은 세대진전하여 2차년도 상반기에 선발한 55점과 함께 재분석하였고 하반기에 선발한 40점은 차후 분석의뢰 할 예정이다. 분석에는 Florida 대학에서 육성한 Tasi-Lee와 Syngenta Co.의 대프니스를 대비종으로 사용하였다.

라이코펜 함량이 높은 계통 또는 개체를 선발하기 위해서 토마토 과실을 각각 종단과 횡단하여 평판 크캐너위에 올려 놓은 다음 인위적으로 제작한 암실속에서 스캔하여 이미지화하였다. 스캔한 이미지 파일은 Ohio state Univ.의 Tomato analyzer 3.0 프로그램을 이용하여 과형과 과실의 색도를 분석하였으며 색도 수치 높은 계통 또는 소재를 선발하였다.

라이코펜 분석은 공시계통 중 원예적 형질이 우수하며 육종 목적에 적합한 계통에서 각각 선발한 50개체로부터 수확한 과를 강원대학교 의생명공학과 이해익 교수 실험실에 의뢰하여 비색법으로 분석을 하였다.

분석을 위하여 Wayne(Wayne et al., 2002)의 방법을 따랐으며 선발한 토마토 과실을 분쇄하여 각각 1.0g씩을 3개의 tube에 담아 3반복으로 실험을 진행하였다. 아세톤 5ml에 0.05%

BHT(Butylated hydroxytoluene), 95% 에탄올 5ml 그리고 Hexane 10ml를 차례로 넣은 뒤 15분 동안 냉장온도로 암실에서 교반(shaking)하였다. 다시 증류수(distilled water) 3ml를 가한 뒤 10분 동안 냉장온도로 암실에서 교반하였다. 냉장온도에서 10분간 대기 후 상층액을 취하여 503nm조건에서 흡광도를 측정하였으며 아래의 계산식으로 라이코펜 함량을 구하였다.

$$Lycopene\ contents(mg/Kg) = \frac{Abs\ of\ sample \times 31.2}{weight\ of\ sample(g)}$$

라이코펜 분석에 사용된 대비종인 대프니스 품종은 유럽계 다국적 회사인 Syngenta Co.에서 육성 시판 중인 품종으로 국내 레드 대과토마토 시장 점유율이 가장 높은 품종이며 Tasti-Lee는 미국 플로리다 대학에서 육성한 높은 라이코펜 함량을 가진 레드 대과 토마토이다. 그러나 Tasti-Lee는 생육습성이 무한 생육형이며 경도가 낮아 국내 레드 대과 토마토 시장에는 적합하지 않은 품종이다.

1차년도 분석결과 13T167이 9.2 ± 0.5 mg/kg으로 가장 낮게 나타났으며 13T166이 61.8 ± 0.7 mg/kg의 값으로 가장 높게 나타났고 대비종인 Tasti-Lee와 대프니스는 각각 47.4 ± 0.5 mg/kg와 24.6 ± 0.8 mg/kg으로 낮은 수치를 보였다.

2차년도 라이코펜 함량 분석결과를 보면 가장 낮은 수치를 나타내는 14T1-49계통은 9.2mg/kg 이었으며 가장 높은 수치를 나타내는 계통은 14T-08로 83.15mg/kg을 보였다. 라이코펜 함량이 가장 높은 14T1-08은 14T1-49계통의 라이코펜 함량에 비해 8배 이상, 대비종인 대프니스보다 약 4배 그리고 Tasi-Lee보다 약 25mg/kg 정도가 높게 나타났다.

3차년도에 공시소재들로부터 선발한 계통들을 대상으로 라이코펜 함량을 분석한 결과 HW-005 계통이 93.9mg/kg으로 가장 높은 수치를 보였으며 HD-001이 87.7mg/kg으로 그 뒤를 따랐다. HD-001은 평균과중이 20g 내외인 미니 토마토이며 HW-005는 평균과중이 100g 내외의 중소형 계통이다. 일반적으로 토마토의 크기가 작을수록 라이코펜의 함량이 높은 결과를 보이는데 이 경우 HW-005가 가지는 *hp2^{dg}* 유전자의 역할이 높은 라이코펜 함량을 나타내는데 작용 한 것으로 추측하여 볼 수가 있다.

4차년도 라이코펜 함량 분석은 하반기 재배에서 선발한 계통들을 대상으로 라이코펜 함량을 분석하였으며 과실이 익어가는 break 단계에서 수확하여 분석을 하였다. 분석결과 미니토마토 HL-94의 라이코펜 함량이 42.1mg/kg으로 가장 높게 나타났으며 대과종에서는 HL-78이 34.7mg/kg으로 가장 높은 수치를 보였다.

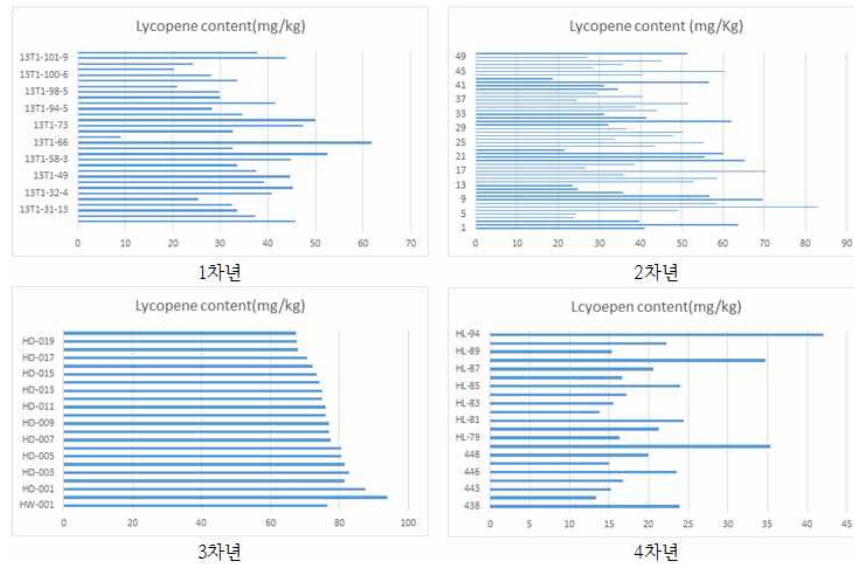


Photo 2-5. 주요 계통 및 선발 소재들의 라이코펜 함량

5. 교배조합 작성 및 조합선발

2차년도에 28조합을 작성하여 3조합을 선발하였다. 3차년도에는 40조합을 작성하여 7조합을 선발하였고, 4차년도에는 20조합을 작성하여 2조합을 선발 하였다. 조합성능검정은 상반기와 하반기 그리고 장기 재배 환경에서 상위질의 착과, 비대, 불량과 그리고 작물의 초세 유지 등을 조사하여 선발하였다.

조합들의 특성은 Table 2-6과 같다. 과중은 14T2-13이 가장 무거운 평균 과중 341.1g 나타났으며 14T1-03이 평균과장이 가장 낮은 203.3g으로 나타났다. 과형은 대부분 편구형이나 14T1-01과 14T1-03은 고구형 이다. 이들 조합들의 내병성은 대부분 대비종인 대프니스 보다 많은 병들에 대하여 저항성을 나타내었으나 토마토 재배농가에서 광범위하게 발병하고 있는 토마토 황화 잎 말림 바이러스에는 저항성을 보유하지 않고 있다. 따라서 향후 토마토 황화 잎 말림 바이러스 저항성 계통을 육성하여 이를 이용한 다양한 조합 작성을 요구된다. 조합성능검정 결과 선발한 14T1-01, 14T2-09 그리고 14T2-12 조합은 3차년도 상반기에 다시 한 번 재배시험을 하여 성능 검정을 한 후 농가재배 시험을 거쳐 농가 시험 결과가 높은 조합들은 품종등록 후 상품화 할 계획이다.

3차년도 실시한 조합성능검정 시험으로 7조합을 선발 할 수 있었다. 15T1-09, 15T1-11, 15T1-21 그리고 15T1-24 조합은 대비품종에 비하여 평균과중이 다소 작으나 과 균일도가 매우 우수하다. 15T1-16 조합의 평균과중은 329g으로 선발 조합들 중 가장 컸으며 경도도 단단한 편이었다. 15T1-17 조합은 과실이 편구형이며 15T1-22 조합은 고구형의 과실에 고온기 착과 및 기형과 출현이 매우 낮은 조합이다.

4차년도 선발한 유럽계 레드 대과종 2조합인 16T1-004와 16T1-008 두 조합을 선발하였고 분홍 대과종 토마토 2조합 16T1-24와 16T1-34을 선발하였다. 선발한 조합들과 대비종들은 2016년 7월 11일 자체 품평회를 개최하여 상품성과 시장 진입방안에 대하여 토론을 하였다.



Photo 2-6. 선발조합 및 자체 품평회개최(2016.7.11.)

Table 2-6. 4차년도 선발 조합 특성

연도	조합	과색	과형	평균 과중(g)	당도 (Brix)	경도 *	내병성**
2014	14T1-01	Red	Round	225.5	5.0	FF	I2, Fr, N, SW5, Ye, Tm, Cf9
	14T1-03	Red	Round	203.3	5.0	F	I2, Fr, N, SW5, Ye, Tm, Cf9
	14T1-07	Red	Glove	277.6	5.0	F	I2, Fr, N, SW5, Ye, Tm, Cf9
	14T1-08	Red	Glove	259.3	5.0	F	I2, Fr, N, SW5, Ye, Tm, Cf9
	14T2-09	Red	Glove	238.4	4.0	FF	I2, Fr, N, Sw5, Tm, Ye, Cf9
	14T2-12	Red	Glove	292.1	4.0	FF	I2, Fr, N, Sw5, Tm, Ye, Cf9
	14T2-13	Red	Glove	341.1	4.8	FF	I2, Fr, N, Sw5, Tm, Ye, Cf9
2015	15T1-09	Red	Round	197.9	5	FF	I2, Tm, Sw5, Mi, Cf-9, Ye, J3
	15T1-11	Red	Glove	198.6	5	MF	I2, Tm, Sw5, Mi, Cf-9, Ye, J3
	15T1-16	Red	Glove	329	5	FF	ASC, I2, J3, Mi, Sw5, Ye, Tm, Cf-9
	15T1-17	Red	Glove	225.4	5	F	I2, Tm, Sw5, Mi, Cf-9, Ye, J3
	15T1-21	Red	Round	198	4.25	F	ASC, I2, J3, Mi, Sw5, Tm, Ye, Cf-9
	15T1-22	Red	Round	230.2	4.75	FF	I2, Mi, Cf-9, Ye, Ph3
2016	15T1-24	Red	Round	195.8	5	F	ASC, I2, Mi, Tm, Ph3, Ye, J3, Ye Cf-9
2016	16T1-004	Red	Glove	180	5	FF	N, I2, Ye, J3, Sw5, Tm, Ty, Cf9
	16T1-008	Red	Glove	200	5	FFF	N, I2, Ye, J3, Sw5, Tm, Ty, Cf9
	16T1-24	Pink	Glove	240	4.5	F	N, I2, Ye, Tm, Ty, Cf9
	16T1-34	Pink	Glove	250	5	F	N, I2, Ye, J3, Tm, Cf9

* MF midium firm, F firm FF very firm

** Asc *alternaria alternata*, I2 *fusarium oxysporum* race2, I3 *fusarium oxysporum* race3, J3 *Fusarium wilt*, Ph3 *phytophthora infestans*, Mi *Meloidogyne incognita*, SW5 *tomato spotted wilt virus*, Ty *tomato yellow leaf curl virus*, Ye *verticillium dahliae*, ToMV *tomato mosaic vius*, Pto *pseudomonas syringae* pv. *Tomato*, Cf-9 *cladosporium fulvum* race-9

6. 재배시험

3차년도에 5조합을 농가재배시험을 하였으며 그중 저온 착과력이 우수하며 단단단하고 과 균일도가 우수한 조합명 15GW-01 1조합을 선발하였다. 선발한 15GW-01 조합은 평균과중이 210g 내외로 대비종인 강적과 대프니스에 비하여 다소 작으나 저온기 화방 출현과 착과, 과 비대력 그리고 과 균일도가 뛰어나다. 내병성은 시들음병(*fusarium oxysporum* race-2), 토마토 모자이크바이러스 Tm2^a형, 토마토 반점위조바이러스(TSWV), 반신위조병(*verticillium dahliae*), 근부위조병(*Fusarium wilt*, J3), 선충(*Meloidogyne incognita*), 잎곰팡이(*cladosporium fulvum* race-9)에 대한 저항성을

가진다. 또한 대비품종에 비하여 과실의 경도가 강하고 저장성이 우수하여 수송과 저장이 용이하다.

4차년도에 16GW-01을 포함한 레드토마토 5조합을 경상남도 김해시 화목동 소재의 농가에서 재배시험을 하여 지역 적응성 시험을 수행하였다. 7월 말에 파종하여 9월 초에 정식하였다. 재배시험 결과 16GW-03 조합은 다른 조합들에 비하여 저온기 착과력 및 과 비대가 우수하였으며 기형과 발생이 관찰되지 않았다. 선발 조합의 내병성은 선충(*Meloidogyne incognita*), 시들음병(*fusarium oxysporum* race2), 반신위조병(*verticillium dahliae*), 근부위조병(*Fusarium wilt*, J3), 토마토반점위조바이러스(TSWV), 잎마름역병(Ph3), 토마토 모자이크바이러스(Tm2^a), 토마토황화잎말림바이러스(TYLVCV) 그리고 잎곰팡이병(*cladosporium fulvum* race-9)에 저항성을 가진다.

Table 2-7. 농가재배시험 조합 특성

연도	조합명	초형	과형	평균 과중(g)	과색	경도 (kg/5)	당도 (Brix°)	내병성**
2015	GW-01	ID	고구	210	R	1.45	5	I2, Tm, SW5, Ye, J3, Mi, CF9
	GW-02	ID	편구	240	R	1.1	5	I2, Ye, Mi, J3, Tm, Ty
	GW-03	ID	고구	250	R	1.2	5	I2, Ye, Mi, Tm, Ty
	GW-04	ID	편구	230	R	1.1	5	I2, Ye, Mi, J3, Tm(IR), Ty
	GW-05	ID	편구	240	P	1.2	5	I2, Ye, Tm, Ty,
2016	16GW-01	ID	고구	220	R	1.4	5	Mi, I2, Ye, J3, Sw5, Tm, Ty, Cf9
	16GW-02	ID	편구	280	R	1.4	5	Mi, I2, Ye, J3, Sw5, Tm, Ty, Cf9
	16GW-03	ID	편구	300	R	1.3	5	Mi, I2, Ye, J3, Sw5, Ph3, Tm, Ty, Cf9
	16GW-04	ID	고구	260	R	1.3	5	Mi, I2, Ye, J3, Sw5, Tm, Ty, Cf9
	16GW-05	ID	고구	250	R	1.3	5	Mi, I2, Ye, J3, Sw5, Tm, Ty, Cf9

* MF midium firm, F firm FF very firm

** Asc *alternaria alternata*, I2 *fusarium oxysporum* race2, I3 *fusarium oxysporum* race3, J3 *Fusarium wilt*, Ph3 *phytophthora infestans*, Mi *Meloidogyne incognita*, Sw5 tomato spotted wilt virus, Ty tomato yellow leaf curl virus, Ye *verticillium dahliae*, Tm tomato mosaic virus, Pto *pseudomonas syringae* pv. tomato, Cf-9 *cladosporium fulvum* race-9

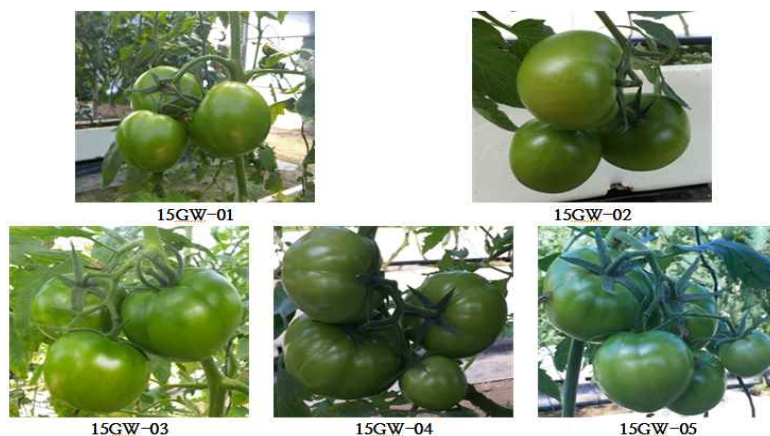


Photo 2-7. 2015년 농가재배시험 선발조합

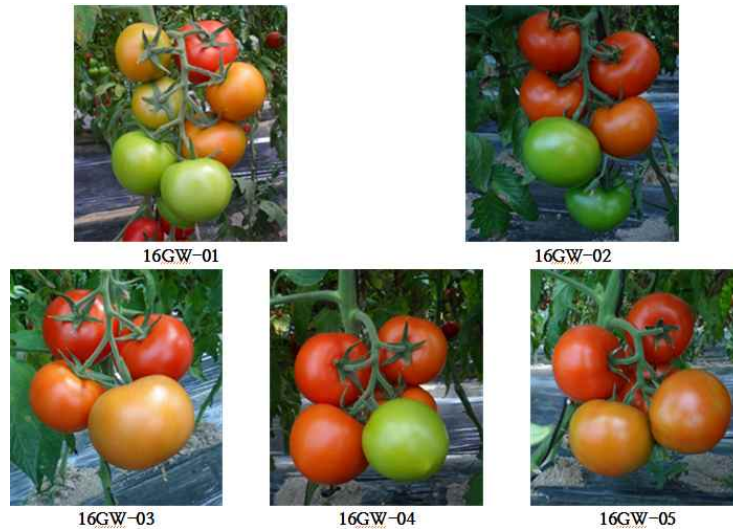


Photo 2-8. 2016년 농가재배시험 선발조합

3절 SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발

1. 토마토 레드계, 핑크계, rin계 엘리트 자식계통의 형질조사 및 resequencing을 통한 SNP 대량 발굴
가. 엘리트계통의 재배/증식을 통한 형질 특성 조사

초세가 강하고 착과비대가 균일하고 과육이 단단하며 저장성이 우수하고 고온기 재배에 적합한 레드 대과 토마토 우량육종소재 및 저온기에 착과비대가 균일하고 저장성과 맛이 월등히 좋은 복합내병성 핑크 대과토마토 우량육종소재는 현재 농우종묘 및 토마토생명공학연구소에서 품종 육성에 사용하고 있는 계통을 분양 받아 소재로 활용하였음 (Table 3-1, Photo 3-1)

Table 3-1. 토마토 Elite 계통들에서 주요 형질에 대한 특성조사

계통	초형	과색	과형	어깨색	과중 (g)	당도	내병성	비고
13-2084 (P1)	무한	rin	편구	무	200	4.0	Tm2	
13-1151 (P2)	무한	Pink	편구	유	300	5.5	Tm2a, Ty-1, Cf9, N	
10-2011 (P3)	무한	Red	편구	유	200	5.5	Tm2a, F2, V	
10-3321 (P4)	무한	Pink	고구	무	180	5.5	Tm2a,F2,V,Cf, LS, Ty-1	
13-1776 (P5)	무한	Pink	고구	무	170	4.0	F1, F2, N, Ty-2, Cf9, Tm2a, B	
13-1214 (P6)	무한	Red	편구	유	250	6.0	F2, N, SW, Tm2a, Ty-2, V	

* 과형, 고구 ○ 편구 ○ 타원 ○

** 경도, M: medium, F: firm, FF: very firm

*** 내병성, Ty: Tomato yellow leaf curl virus, Tm: Tomato mosaic virus, N: Nematode, F: fusarium, V: verticillium, Cf: cladosporium, LS:leaf spot, Bw: bacterial wilt



Photo 3-1. 대과종 토마토 (rin 계, 핑크계, 레드계) 엘리트 계통의 과색, 과형.

나. Multiplexed Hiseq-2000 시스템을 이용하여 엘리트 계통의 resequencing

(1) SNP 대량발굴을 위한 재료(육묘), DNA추출, 정제 및 QC, sequencin SNP 발굴용 4개의 자식계통은 rin 계 1계통, 핑크계 2계통 및 레드계 1계통을 pot에 심어 받아 후 24일 된 육묘를 이용하여 DNA 추출을 한 후, DNA 순도를 검정하고, 주 테라젠에서 QC하고 Illumina/ Hiseq 2000 DNA sequencing을 이용하여 Sequencing 분석함

MAS용 토마토 계통

SNP 발굴용 자식계통

○ SNP 대량발굴을 위한 재료
- 13-2084, 13-1151, 10-2011, 10-3351
(K1) (K2) (K3) (K4)

3. 실험 결과

번호	계통명 (ID)	Genome Size (Mb)	Genome Coverage (%)	Genome Quality (%)	Genome Size (Mb)	Genome Coverage (%)	Genome Quality (%)	Genome Size (Mb)	Genome Coverage (%)	Genome Quality (%)
1	K1	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04
2	K2	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04
3	K3	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04
4	K4	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04	1,200	200	2.04

Illustration of Illumina/Hiseq 2000 DNA sequencing principle:

5' GGCATGCTAAGTC 3'

Anneal primer

Molecules

Single molecule or Amplified clone

Signal

Chemistry or Others (electron)

Signal detection

Color coding, single or electron

Photo 3-2. SNP 대량발굴을 위한 육묘, DNA추출, 정제 및 QC 분석

다. 토마토 resequencing data을 이용한 genome-wide SNP (In/Del) 분석

(1) Genome wide SNP 분석

(가) Short read data의 sequence quality에 따른 trimming 후, reference genome과의 alignment를 수행하여 consensus sequence를 작성한다. 프로그램을 이용한 1차 SNP(혹은 In/Del) detection 후에, SEEDERS in-house script를 이용하여 샘플 간의 SNP matrix를 작성하고, 유의한 SNP 후보 선발을 위한 validation과정을 거친다. 이후에 분석 목적에 따른 다양한 응용분석을 수행

(나) Genom-Wide SNP는 Illumina의 Hiseq 2000를 이용하여 분석하였으며, Shot read에 대

한 raw data를 quality에 따라 trimming 하는 sequence pre-processing 과정을 거쳐 reference genome과의 alignment를 수행하여 consensus sequence를 작성 하였음. 1차 SNP(혹은 In/Del) detection 후에, SEEDERS in-house script를 이용하여 샘플 간의 SNP matrix를 작성하고, validation과정을 거쳐 유의한 SNP 후보 선발되었음.

(2) Sequencing data

(가) 4개의 자식계통의 Shot read에 대한 raw data는 Table 3-2와 같다. 자식계통 간 read 수는 40,383,428 ~ 43,406,156으로 Reference genome의 10.33 ~ 11.11 배로 많이 읽었음 (Table 3-2).

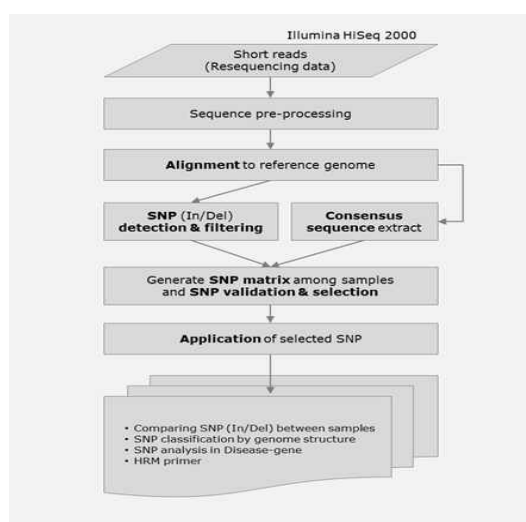


Photo 3-3. 토마토 resequencing data을 이용한 genome-wide SNP (In/Del) 분석위한 모식도

Table 3-2. 4개의 자식계통간 Illumina Hiseq raw data

Short read file	Sample	Num. of Reads	Avg. length	Total length (bp)	Genome coverage*
TN1312D5053_1.fq	K1	40,383,428	100	4,038,342,800	≈10.33X
TN1312D5053_2.fq		40,383,428	100	4,038,342,800	
TN1312D5054_1.fq	K2	41,186,727	100	4,118,672,700	≈10.54X
TN1312D5054_2.fq		41,186,727	100	4,118,672,700	
TN1312D5055_1.fq	K3	43,406,156	100	4,340,615,600	≈11.11X
TN1312D5055_2.fq		43,406,156	100	4,340,615,600	
TN1312D5056_1.fq	K4	43,282,479	100	4,328,247,900	≈11.07X
TN1312D5056_2.fq		43,282,479	100	4,328,247,900	

*Genome coverage : 각 샘플의 read 길이를 reference genome의 총 길이로 나눈 값. Resequencing platform : paired-end for DNA-seq, Illumina Hiseq 2000, Reference genome information : 781,666,411 bp

(3) Sequence pre-processing

(가) 4개의 자식계통의 raw data를 quality에 따라 trimming 한 결과 Reference genome의

8.40 ~ 9.10 배로 raw data의 79.25 ~ 84.7 %의 수준을 보였음 (Table 3-3).

(나) reference genome과의 alignment를 통하여 mapping 한 결과 reference genome의 86.8 ~ 93.37% 로 나타남

(4) Alignment to genome

(가) reference genome과 자식계통의 SNP는 144,992 ~ 558,526으로 polymorphic SNP는 교배조합인 K1과 K2는 607962, K3와 K4는 213,782로 나타났으며 비교샘플 간에 SNP비교분석은 각 샘플을 표준유전체와 비교하여 얻은 Total SNP position을 후보로 하여 합집합의 리스트를 만들고, matrix를 작성한다. 이 때, 빈 영역은 다시 샘플의 consensus sequence로부터 채워 넣는다. 작성된 matrix에서 동일한 position을 기준으로, 비교샘플 간에 서로 SNP인 경우 (polymorphic SNP)를 선발 (Table 3-4)

Table 3-3. Summary of Illumina Hiseq trimmed data

Sample	Num. of Reads	Avg. length	Total length (bp)	trimmed/raw*	Genome coverage
K1	36,341,925	92.56	3,363,739,637	83.30%	≈8.40X
	36,341,925	88.06	3,200,425,251	79.25%	
K2	37,672,525	92.60	3,488,387,852	84.70%	≈8.79X
	37,672,525	89.69	3,379,019,953	82.04%	
K3	39,163,649	92.50	3,622,559,299	83.46%	≈9.10X
	39,163,649	89.08	3,488,811,822	80.38%	
K4	38,352,712	92.53	3,548,660,008	81.99%	≈8.88X
	38,352,712	88.41	3,390,930,370	78.34%	

*trimmed/raw : (total length of trimmed reads / total length of raw reads)*100

Table 3-4. Summary of mapping

Sample	Total reads #	Mapped reads #	Reads-mapping region*
K1	72,683,850	66,637,536(91.68%)	695,590,487 (88.99%)
K2	75,345,050	68,002,695(90.26%)	678,481,908 (86.80%)
K3	78,327,298	74,696,500(95.36%)	729,826,551 (93.37%)
K4	76,705,424	70,719,625(92.20%)	696,675,055 (89.13%)

*Reads-mapping region : consensus sequence내에 base=N (un-mapping region)을 제외한 영역.
(Reads-mapping region / total length of reference genome)*100

(5) Genome-wide SNPs (SNPs validation between samples)

(가) Reference genome과 자식계통의 SNP는 144,992 ~ 558,526으로 polymorphic SNP는 교배조합인 K1과 K2는 607962, K3와 K4는 213,782로 나타났음. 비교샘플 간에 SNP비교분석은 각 샘플을 표준유전체와 비교하여 얻은 Total SNP position을 후보로 하여 합집합의 리스트를 만들고, matrix를 작성한다. 이 때, 빈 영역은 다시 샘플의 consensus sequence로부터 채

위 넣는다. 작성된 matrix에서 동일한 position을 기준으로, 비교샘플 간에 서로 SNP인 경우 (polymorphic SNP)를 선발 (Table 3-5).

(나) Polymorphic SNP 중 intergenic region은 K1-K2 91%, K3-K4 83%로 나타났으며 Genic은 9, 17%로 나타났다. Genic은 다시 intron, CDS, UTR로 나뉘어 각각 K1-K2에서 6, 3, 0 %, K3-K4에서 11, 5, 1% 로 나타났음 (Table 3-6)

Table 3-5. Summary of SNPs validation between samples

Sample	# of Total SNPs	# of Polymorphic SNPs	# of Non-polymorphic SNP
K1	558,526	607,962	136,474
K2	332,113		
K1	558,526	491,951	101,601
K3	144,992		
K1	558,526	536,420	141,323
K4	270,955		
K2	332,113	287,165	90,552
K3	144,992		
K2	332,113	244,920	172,460
K4	270,955		
K3	144,992	213,782	94,854
K4	270,955		

Table 3-6. Summary of 샘플 간 SNP distribution

비교샘플	# of Polymorphic-SNP	# of SNP in intergenic-region	# of SNP in genic-region	In genic-region		
				UTR	CDS	Intron
K1-K2	607,962	555,094	52,868	2,465	15,830	34,674
K1-K3	491,951	454,877	37,074	1,843	10,775	24,557
K1-K4	536,420	492,962	43,458	2,201	13,021	28,342
K2-K3	287,165	239,528	47,637	1,849	13,528	32,295
K2-K4	244,920	207,794	37,126	1,339	11,320	24,486
K3-K4	213,782	177,357	36,425	1,396	10,409	24,651

(6) 염색체상에 K1-K2 간 polymorphic-SNP 분포도

(가) 염색체상의 K1-K2간 Polymorphic SNP 분포도는 다음 그림과 같다. 자식계통 K1-K2간 Polymorphic SNP 분포 12개 염색체 모두에 분포하고 있으며, 특히 5번 염색체에서 많은 Polymorphic SNP를 나타냄 (Photo 3-4).

(7) 염색체상에 K3-K4 간 polymorphic-SNP 분포도

(가) 염색체상의 K3-K4간 Polymorphic SNP 분포도는 다음 그림과 같다. 자식계통 K3-K4간 Polymorphic SNP 분포 12개 염색체 모두에 분포하고 있으며, 특히 9번과 11번 염색체에서 많은 Polymorphic SNP를 나타내었다 (Photo 3-5).

(8) Genome-wide In/Del (Insertion/Deletion)

(가) 자식계통별 In/Del 자료를 확보하였으며, 각각의 In/Del description을 통하여 해당 유전자의 기능, primer 개발 및 목적 형질 유전자의 Marker 개발 응용이 가능할 것으로 판단됨.

(나) 각각의 자식계통 Genome-wide In/Del 분석결과 27136 ~ 44462 수준으로 나타났으며, 교배조합인 K1-K2의 polymorphic in/del은 30,641, K3-K4는 11,045로 나타났음 (Photo 3-6)

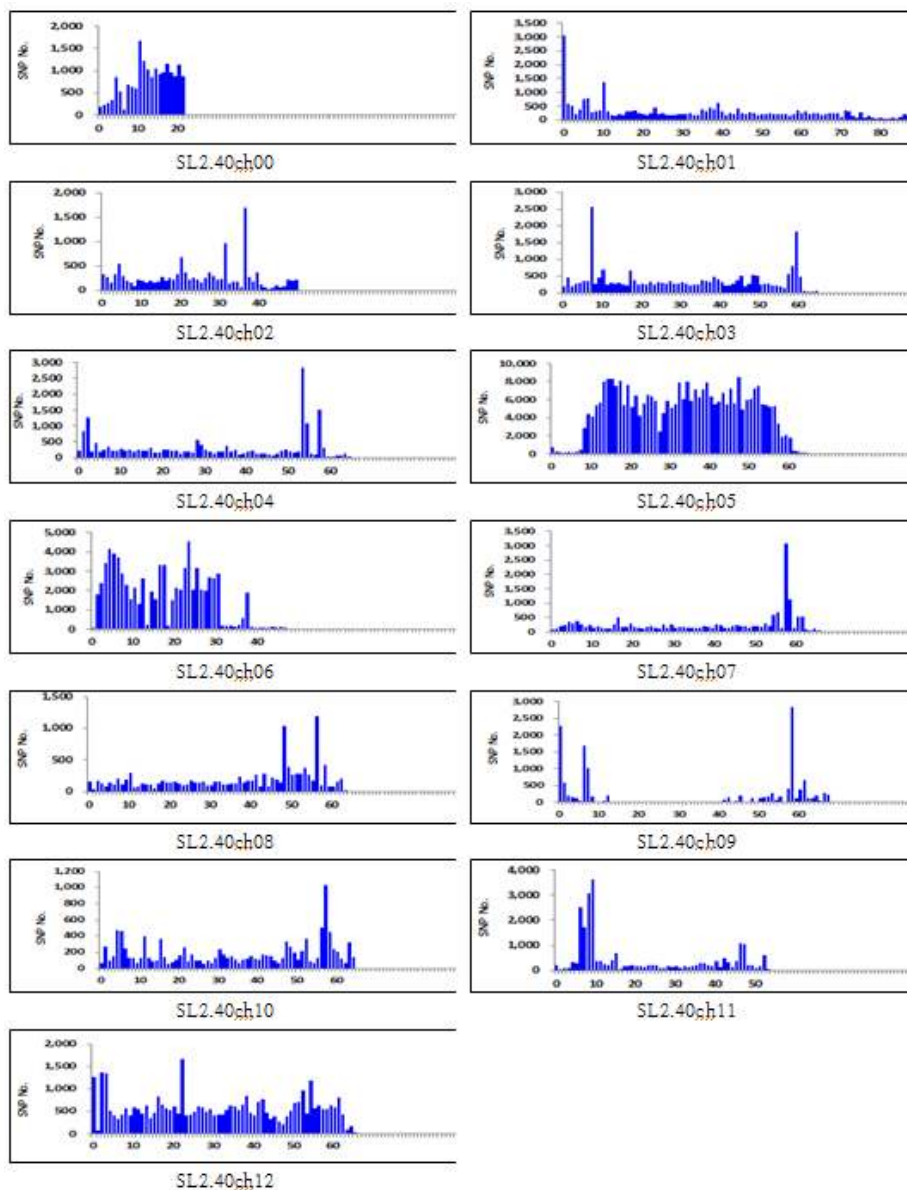


Photo 3-4. 염색체상에 K1-K2 간 polymorphic-SNP 분포도

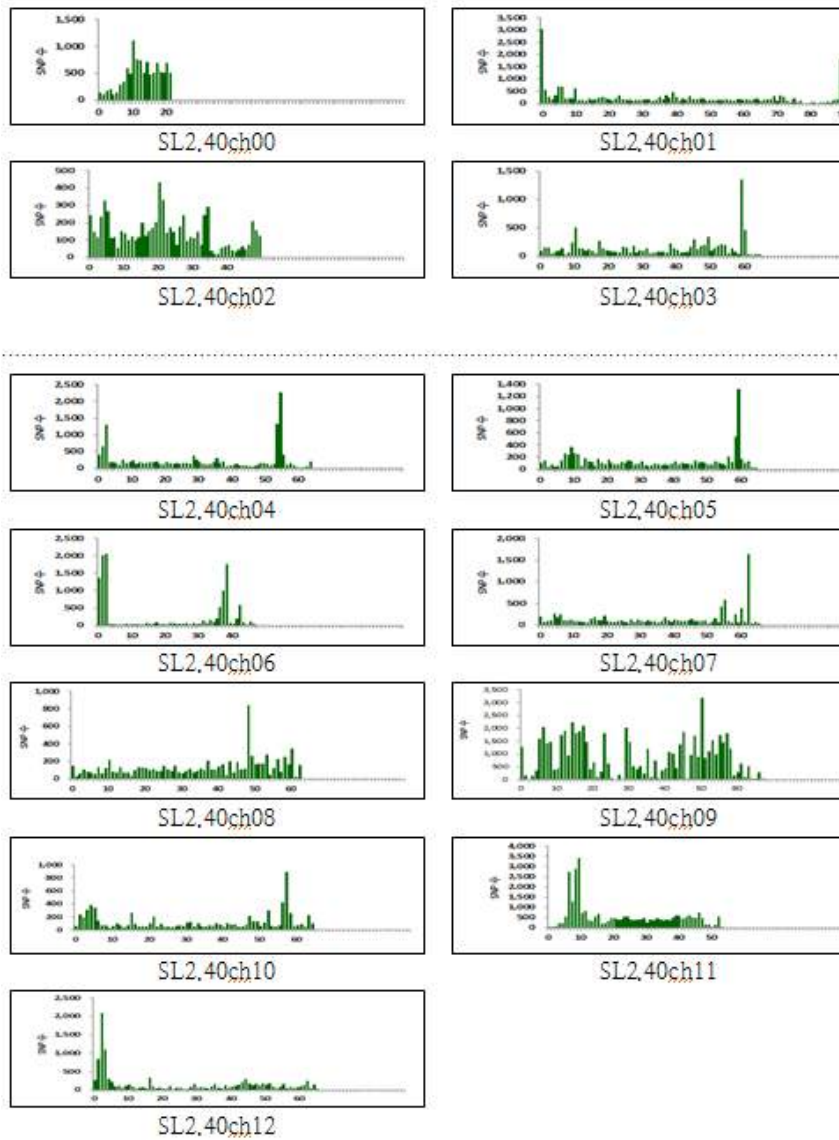


Photo 3-5. 염색체상에 K3-K4 간 polymorphic-SNP 분포도

(9) 샘플 간 In/Del distribution

(가) 샘플 간 In/Del distribution은 K1-K2의 polymorphic-in/del은 30641, K3-K4는 11,045로 나타났음. K1-K2과 K3-K4의 Intergenic에서 in/del은 각각 85%, 75%이며, K1-K2 genic은 intron, CDS, UTR이 각각 3, 1, 1%으로 총 15%, K3-K4는 22, 1, 2%로 총 25%로 나타났음 (Table 3-7).

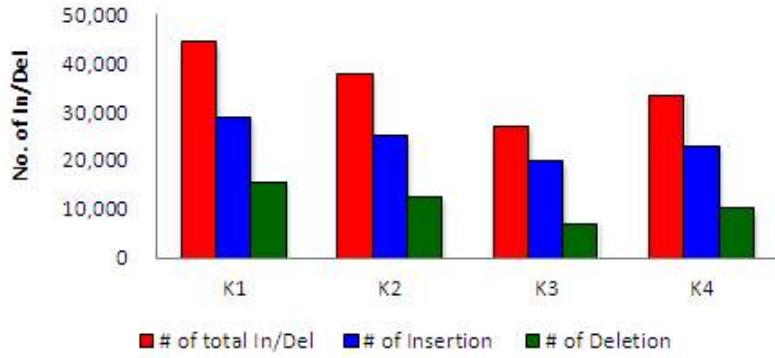


Photo 3-6. Number of total In/Del detection of samples

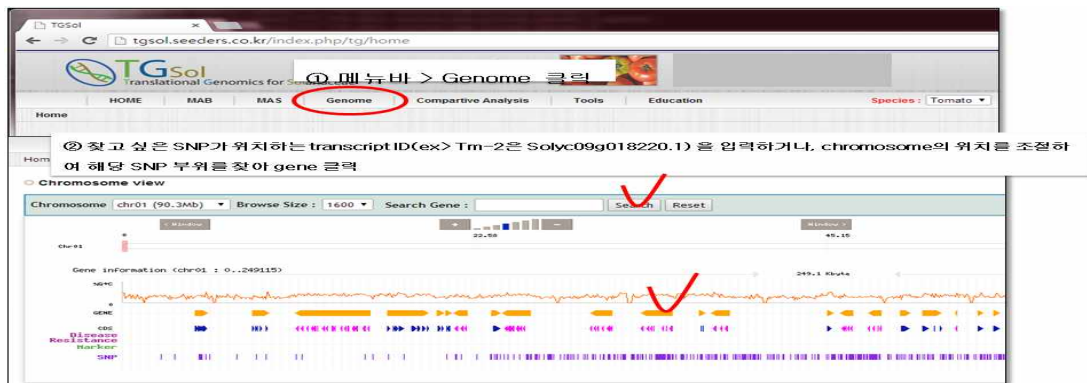
Table 3-7. Summary of 샘플 간 In/Del distribution

샘플비교	# of polymorphic-In/Del	# of In/Del in intergenic region	# of In/Del in genic region	In genic region				gene-Boundary
				UTR	CDS	Intron	intron-Boundary	
K1-K2	30,641	25,977	4,664	401	307	3,939	14	7
K1-K3	22,418	19,597	2,821	265	179	2,368	10	1
K1-K4	25,793	22,101	3,692	369	239	3,073	10	3
K2-K3	17,211	13,004	4,207	276	204	3,713	8	8
K2-K4	12,066	8,966	3,100	212	162	2,718	6	4
K3-K4	11,045	8,250	2,795	192	126	2,471	2	4

라. 대과종 엘리트계통간 SNP 데이터 DB 화

(1) 샘플 간 SNP 데이터 database화

(가) <http://tgsol.seeders.co.kr/index.php/tg/homedp> 에 접속하면



(나) 찾고자 하는 SNP에서 Get Sequence view 클릭

Gene Information (chr01 : 0..249115)

⑤ 찾고자 하는 SNP가 intergenic에 위치한 경우, intergenic영역 (gene 이외의 부분)을 클릭

Position: 109249 - 119421

Mapping Information (109,249-119,421) range : 10,172 byte

⑥ Position을 조절하여 보고자 하는 영역을 확대 축소 할 수 있음.

chrNo.	snp_position	ref	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	Gene ID	feature	Description	Sequence View
chr01	109272	G	n	n	n	n	n	n	n	G	A	G	A	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	109317	T	n	n	n	n	n	n	n	T	A	T	A	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	109695	T	n	n	n	n	n	n	n	T	C	T	C	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	109823	A	n	n	n	n	n	n	n	A	G	A	G	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	109836	G	n	n	n	n	n	n	n	G	A	G	A	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	109915	G	n	n	n	n	n	n	n	G	T	G	T	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	109916	C	n	n	n	n	n	n	n	C	T	C	T	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	110030	T	n	n	n	n	n	n	n	T	N	T	C	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	110032	A	n	n	n	n	n	n	n	A	N	A	G	intergenic		...	Get Sequence View
chr01	110078	G	n	n	n	n	n	n	n	G	A	G	A	intergenic		...	Get Sequence View

마. 대과종 SNP DB로부터 형질관련 유전자 선발 예

(1) 병 관련 유전자 내 SNP 선발 (실시예)

(가) 병 관련 tomato gene : 병 관련 유전자 서열과 BLAST하여 매치된 tomato 병 관련 유전자 (I-2, Mi, Sw-5, Tm-2, Ve) 내 SNP를 선발하기 위해 병 관련 유전자 서열을 토마토 reference gene과 BLAST를 수행한다. (필터 기준: E-value=0) BLAST를 통해 매치된 병 관련 토마토 유전자 내에 위치하는 SNP를 선발. 비교샘플 간에 차이를 보이는 SNP를 target으로 하여 HRM (High Resolution Melting) primer을 디자인하되, 결과의 정확성을 높이기 위해 엄격한 기준의 필터과정을 거친다. primer design은 reference sequence를 사용 (Table 3-8).

Table 3-8. Summary of SNP distribution in disease-genes

병 관련 유전자	병 관련 Tomato gene* list (BLAST filter: E-value=0)	SNP를 포함하는 unique Tomato gene list	Tomato gene내 SNP 수
I-2	Solyc11g071430.1.1	Solyc11g071430.1.1	3
	Solyc08g007630.1.1	Solyc08g007630.1.1	2
	Solyc11g071420.1.1	Solyc11g071420.1.1	17
	Solyc11g069990.1.1		
	Solyc11g069660.1.1		
Mi	Solyc11g069620.1.1	Solyc11g069620.1.1	1
	Solyc06g008450.2.1	Solyc06g008450.2.1	19
	Solyc06g008790.2.1		
	Solyc00g102400.2.1		
	Solyc06g008800.1.1		
	Solyc06g008400.1.1	Solyc06g008400.1.1	2
	Solyc05g008690.1.1	Solyc05g008690.1.1	3
	Solyc06g008480.1.1		
Sw-5	Solyc06g008770.1.1	Solyc06g008770.1.1	1
	Solyc06g008380.1.1		
	Solyc09g098130.1.1		
	Solyc09g098100.2.1	Solyc09g098100.2.1	2
Tm-2	Solyc09g018220.1.1	Solyc09g018220.1.1	21
	Solyc09g092310.1.1		
	Solyc09g092290.1.1		
	Solyc09g092300.2.1		
	Solyc09g092280.1.1		
Ve	Solyc09g005090.1.1	Solyc09g005090.1.1	3
	Solyc09g005080.1.1	Solyc09g005080.1.1	5

(2) 병 관련 유전자 내_SNP_list.xlsx (실시예)

(가) 자식계통간 병 관련 유전자 내 SNP 분석 SNP 데이터를 바탕으로 병 저항성 SNP marker를 개발 한다면 병 저항성 관련 한 MAS에 유용하게 사용될 것으로 판단됨 (Table 3-9).

Table 3-9. 토마토 MAS system에 사용하고 있는 병 관련 유전자의 resequencing data로부터 SNP 탐색

R-gene	reference_genome	SNP_position	ref	K1	K2	K3	K4
I-2	SL2.40ch11	51997125	C	C	A	A	M
I-2	SL2.40ch11	51997409	G	G	C	A	G
I-2	SL2.40ch11	51997443	C	C	C	C	S
I-2	SL2.40ch08	2162034	C	C	M	C	A
I-2	SL2.40ch08	2162044	A	A	R	A	A
I-2	SL2.40ch11	51986368	C	C	C	A	G
I-2	SL2.40ch11	51986448	C	C	C	A	M
I-2	SL2.40ch11	51986476	A	A	G	A	Y
I-2	SL2.40ch11	51986628	C	C	C	C	T
I-2	SL2.40ch11	51986742	A	A	G	G	R
I-2	SL2.40ch11	51986850	A	A	G	G	R
I-2	SL2.40ch11	51987176	C	C	A	C	T
I-2	SL2.40ch11	51987062	T	T	C	A	T
I-2	SL2.40ch11	51987135	T	T	T	C	W
I-2	SL2.40ch11	51987465	G	G	C	A	T
I-2	SL2.40ch11	51988174	C	C	A	T	Y
I-2	SL2.40ch11	51988219	A	A	A	A	G
I-2	SL2.40ch11	51988290	C	C	C	C	A
I-2	SL2.40ch11	51988335	A	A	G	G	A
I-2	SL2.40ch11	51988521	T	T	C	C	Y
I-2	SL2.40ch11	51989083	T	T	C	C	T
I-2	SL2.40ch11	51949085	T	T	C	C	C
Mi	SL2.40ch06	2354794	T	T	T	T	W
Mi	SL2.40ch06	2354845	C	C	Y	C	Y
Mi	SL2.40ch06	2354859	C	C	A	A	M
Mi	SL2.40ch06	2354873	C	C	C	C	Y
Mi	SL2.40ch06	2354880	C	C	C	C	S
Mi	SL2.40ch06	2355084	G	G	R	C	R
Mi	SL2.40ch06	2355128	G	G	Y	C	Y
Mi	SL2.40ch06	2355180	G	G	C	C	Y
Mi	SL2.40ch06	2356737	A	A	R	A	A
Mi	SL2.40ch06	2356738	G	G	G	G	A
Mi	SL2.40ch06	2356742	G	G	C	C	T
Mi	SL2.40ch06	2356779	A	A	W	A	A
Mi	SL2.40ch06	2358166	C	C	C	C	S
Mi	SL2.40ch06	2358235	T	T	Y	C	C
Mi	SL2.40ch06	2358296	G	G	K	G	G
Mi	SL2.40ch06	2358309	G	G	A	A	W
Mi	SL2.40ch06	2358473	C	C	Y	C	C
Mi	SL2.40ch06	2358481	C	C	K	C	C
Mi	SL2.40ch06	2358537	C	C	C	C	Y
Mi	SL2.40ch06	2359777	C	C	C	C	Y
Mi	SL2.40ch06	2330009	C	C	C	C	C
Mi	SL2.40ch05	2969073	A	A	G	G	K
Mi	SL2.40ch05	2969274	A	A	Y	C	W
Mi	SL2.40ch05	2969637	A	A	A	A	M
Mi	SL2.40ch06	2703787	C	C	A	A	Y

R-gene	reference_genome	SNP_position	ref	K1	K2	K3	K4
Sw-5	SL2.40ch09	67270356	G	R	G	G	G
Sw-5	SL2.40ch09	67274895	A	T	T	W	A
Tm-2	SL2.40ch09	13621583	G	T	T	G	A
Tm-2	SL2.40ch09	13622008	G	A	A	G	A
Tm-2	SL2.40ch09	13622207	T	C	C	C	T
Tm-2	SL2.40ch09	13622318	T	T	T	C	T
Tm-2	SL2.40ch09	13622352	T	C	C	C	T
Tm-2	SL2.40ch09	13622392	A	T	T	A	C
Tm-2	SL2.40ch09	13622397	C	G	G	C	G
Tm-2	SL2.40ch09	13622452	G	A	A	G	A
Tm-2	SL2.40ch09	13622474	A	G	G	A	G
Tm-2	SL2.40ch09	13622674	A	T	T	A	T
Tm-2	SL2.40ch09	13622776	C	A	A	C	A
Tm-2	SL2.40ch09	13622939	G	A	A	G	A
Tm-2	SL2.40ch09	13623145	G	A	A	G	A
Tm-2	SL2.40ch09	13623187	A	C	C	A	C
Tm-2	SL2.40ch09	13623268	A	C	C	A	C
Tm-2	SL2.40ch09	13623321	C	T	T	C	T
Tm-2	SL2.40ch09	13623466	G	A	A	G	A
Tm-2	SL2.40ch09	13623558	A	G	G	A	G
Tm-2	SL2.40ch09	13623670	C	T	T	C	C
Tm-2	SL2.40ch09	13623669	G	C	C	G	C
Tm-2	SL2.40ch09	13623713	C	T	T	C	T
Ve	SL2.40ch09	56782	G	G	A	G	A
Ve	SL2.40ch09	56859	T	T	C	T	C
Ve	SL2.40ch09	57576	T	T	G	T	G
Ve	SL2.40ch09	49137	G	G	A	G	A
Ve	SL2.40ch09	49172	G	G	A	G	A
Ve	SL2.40ch09	49294	G	G	C	G	A
Ve	SL2.40ch09	50254	T	T	A	C	A
Ve	SL2.40ch09	50824	T	T	C	T	C

2. 제2차년도

(1) HRM (High Resolution Melting) primer design

(가) 이상의 결과를 토대로 HRM primer set는 K1-K2간에 HRM primer set가 186,800, K3-K4간에는 70,596 set가 디자인 하였음 (Table 3-10).

Table 3-10. Summary of HRM primer-set

비교대상	# of polymorphic-SNPs	# of candidates of HRM	# of HRM primer set
K1-K2	607,962	487,487	186,800
K1-K3	491,951	393,735	149,886
K1-K4	536,420	430,987	182,081
K2-K3	287,165	230,267	76,723
K2-K4	244,920	197,668	67,200
K3-K4	213,782	172,344	70,596

(나) 비교샘플 간에 차이를 보이는 SNP를 target으로 하여 HRM(High Resolution Melting) primer을 디자인하되, 결과의 정확성을 높이기 위해 엄격한 기준의 필터과정을 거친다. primer design은 reference sequence.

Table 3-11. HRM primer list 결과 엑셀파일 (예시)

id	pos	ref	K1	K1/Total_depth	K2	K2/Total_depth	genic/intergenic	구분	descriptions	InterProScan_id	InterProScan_descriptions
SL2.40ch06	3629540	A	A	5/5	G	66	Solyc06g009680.21	intron	BRCT domain-containing protein	IPR01357	BRCT
SL2.40ch06	3630055	T	T	5/5	C	33	Solyc06g009680.21	intron	BRCT domain-containing protein	IPR01357	BRCT
SL2.40ch06	3630347	A	A	9/9	G	66	Solyc06g009680.21	intron	BRCT domain-containing protein	IPR01357	BRCT
SL2.40ch06	3631187	A	A	10/10	G	10/10	Solyc06g009680.21	intron	BRCT domain-containing protein	IPR01357	BRCT
SL2.40ch06	3631562	A	A	3/3	G	44	Solyc06g009680.21	cds	BRCT domain-containing protein	IPR01357	BRCT
SL2.40ch06	3634036	A	A	4/4	G	33	Solyc06g009690.11	intron	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3634598	C	C	8/8	A	44	Solyc06g009690.11	intron	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3634994	A	A	4/4	G	35	Solyc06g009690.11	intron	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3635057	C	C	8/8	T	66	Solyc06g009690.11	cds	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3635557	A	A	9/9	C	88	Solyc06g009690.11	intron	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3635848	G	G	10/10	T	88	Solyc06g009690.11	intron	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3636932	A	A	5/5	G	44	Solyc06g009690.11	cds	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3637260	T	T	5/5	C	33	Solyc06g009690.11	intron	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3638087	G	G	4/4	A	66	Solyc06g009690.11	cds	cDNA full insert sequence	IPR016024	Armadillo-type fold
SL2.40ch06	3707057	C	C	6/6	T	66	Solyc06g009750.21	intron	Importin alpha-1b subunit	IPR002652	Importin-alpha-like, importin-beta-binding region IPR000225 Armadillo IPR011989 Armadillo-like helical

나. 대과종 엘리트 계통간 SNP 데이터 이용 초고밀도 genetic map 구축

(1) 초고밀도 genetic map 구성

(가) 얻어진 SNP 정보를 이용하여 초밀도 genetic map을 구축하였음 (Photo 3-7).

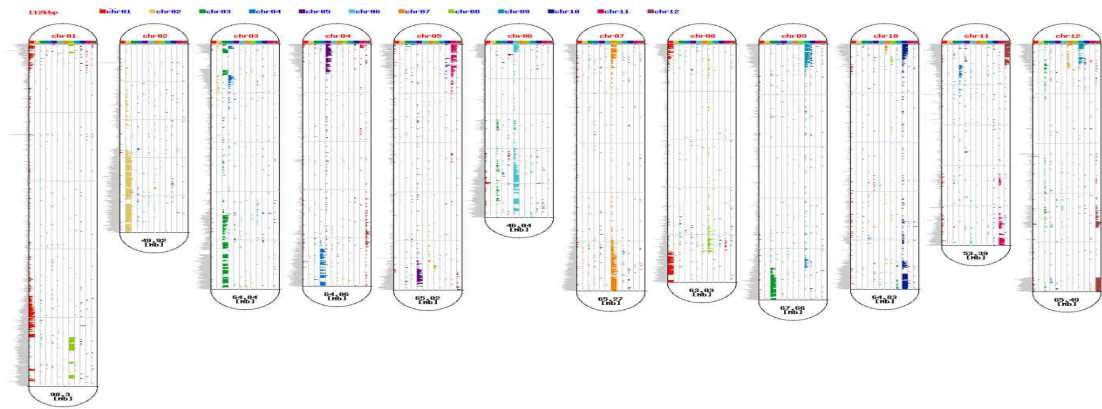


Photo 3-7. 4개 대과종 resequencing으로부터 얻어진 SNP의 genetic map

다. 대과종 엘리트 계통간 교배조합별 이용 가능한 SNP 마커 선발

(1) 확보된 genome-wide SNPs는 표준유전체와 비교하여 얻어졌으므로 비교대상이 바뀌면 SNP로 활용할 수 없는 경우가 발생한다. 따라서 분석을 실시한 토마토 4 품종의 SNP를 이용하여 교배조합별 이용 가능한 SNP를 선발함 (Photo 3-8). 가능한 총 교배조합은 6개이고, 총 410,074 SNPs가 선발되었다. 이 중 조건을 만족하는 primer를 디자인 할 수 있는 SNP는 245,514개이었다. 교배조합별 이용 가능한 SNP는 다양하였는데 $K1 \times K2$ 조합은 가장 많은 60,865 SNPs가 선발되었고, 그 중 primer를 이용할 수 있는 SNP는 40,691개이었다. 반면 $K3 \times K4$ 조합은 가장 적은 40,136 SNPs가 선발되었는데, 이용 가능한 primer를 가지는 SNPs로는 20,62개가 존재하였다. 적용 가능한 6개 조합의 SNP를 선발 후, primer 제작 조건을 만족하는 경우의 SNP를 선발

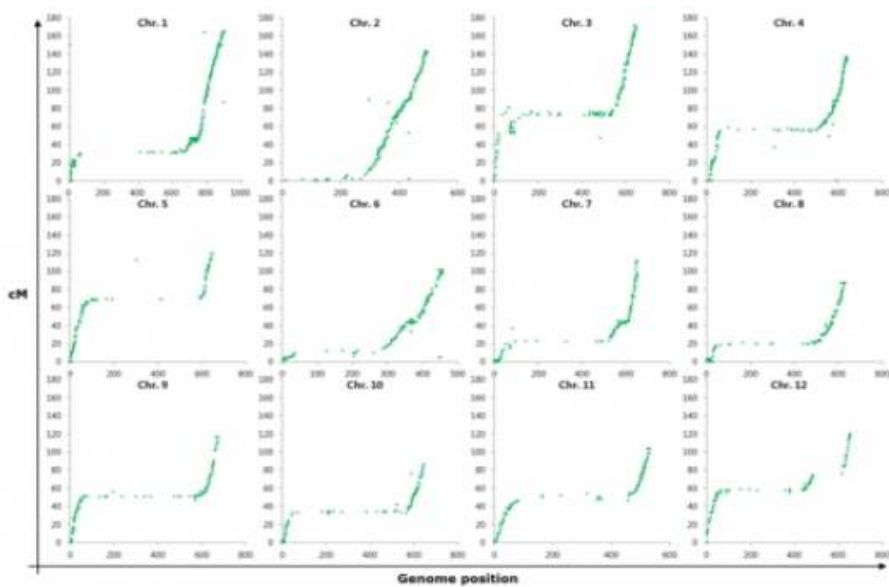


Photo 3-8. 교배조합별 이용 가능한 SNP 선발을 위한 염색체별 마커의 거리

(2) 분자마커를 이용하여 회복친의 염색체 구성 정도를 효율적으로 조사하기 위해서는 염색체를 적절히 구획하여 조사하여야 한다. 따라서 토마토 염색체의 분획은 물리적인 거리를 반영한 경우와 유전적 거리가 고려한 경우, 2가지로 접근하였다. 먼저 각 염색체의 물리적인 길이로 구획한 경우는 염색체당 5개의 동일한 크기로 나누었다. 약 90Mb의 길이로 12개염색체 중 가장 긴 1번 염색체는 5개의 18Mb 길이의 구획으로 나누었고, 약 46Mb 길이의 가장 짧은 6번 염색체는 5개의 9Mb 길이로 분획되었다. 그리고 토마토 4 품종의 교배조합별로 primer가 이용 가능한 SNP를 이용하여 한 구획 당 3개의 SNP를 선발하여 나타내었다 (Photo 3-9).

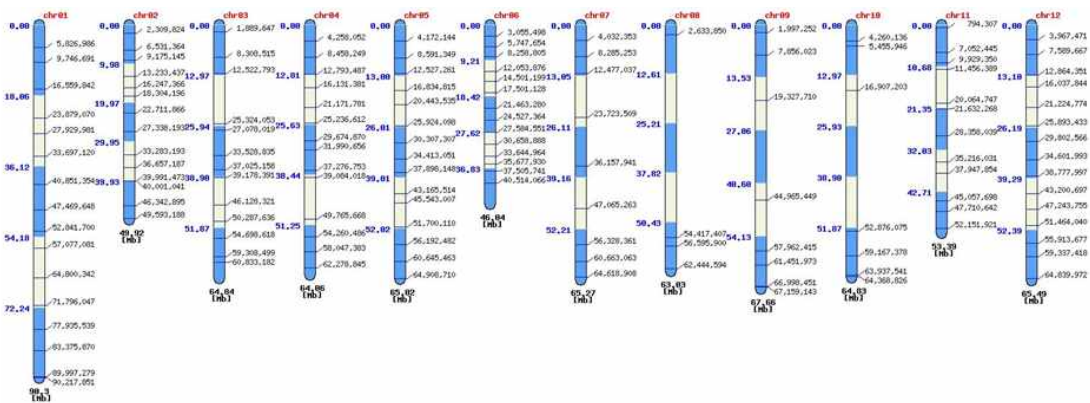


Photo 3-9. 토마토 엘리트계통에서 교배 조합별 각 염색체에서 선발한 SNP 마커 위치

(3) 선발한 SNP 마커는 염색체별 약 10개씩 총 120개로 이들 마커정보를 DB화로부터 HRM primer을 디자인한 결과 Table 3-12와 같다.

Table 3-12. 토마토 엘리트 계통간 SNP로부터 선발한 HRM primer 디자인

Chromosome	position	5-primer_seq	3-primer_seq	Chromosome	position	5-primer_seq	3-primer_seq
SL2_400001	5,826,986	TTGGATGCTGCTTAAAGGTC	ACATGTATGCGGAACTTCGT	SL2_400008	3,747,834	GCACGAGGATGCGACTTCTG	TGTCGCTGCTGCTGCTGCTG
SL2_400001	9,746,891	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	8,238,803	GGCTGTGGGATTTGGTGG	ACAGATAAGCGAAATTTCACT
SL2_400001	16,339,842	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	8,238,803	GGCTGTGGGATTTGGTGG	ACAGATAAGCGAAATTTCACT
SL2_400001	23,879,070	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	12,039,876	AGAGTAAAGCTATTAATAAGG	ACAAATAAGCTGAACTGACGCA
SL2_400001	27,929,883	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	14,901,199	AGACTGTATTTCTGCAAGTGTG	AGGAGAGGAGCTCTGTCAGAA
SL2_400001	33,697,120	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	17,502,128	CTTTTAAAGAAAGAAATGGTA	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400001	40,831,134	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	21,488,280	GTGGGAAATGGCTGTAGCTGT	TTGAGATAGCGAGGCTGCTG
SL2_400001	47,469,648	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	24,337,864	AAGTGTGGATATATGTGAAGCT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400001	52,841,700	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	27,584,351	CTTTTAAAGAAAGAAATGGTA	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400001	57,077,083	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	30,838,888	TGAAGATTCAGATATGCAATCTG	TGCGGAAATTTGTCACCTTTC
SL2_400001	64,800,342	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	31,644,964	AAGTGTGGATATATGTGAAGCT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400001	71,796,047	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	33,677,930	TGAATGTAGATATGCAATCTG	TGCGGAAATTTGTCACCTTTC
SL2_400001	77,995,539	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	37,505,745	AGACTGTATTTCTGCAAGTGTG	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400001	83,173,870	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	40,514,086	GGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400001	89,997,279	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	4,032,838	AGCTCCAATGTAGTCTGCA	AGTGTGGAAAGAAAGTGGC
SL2_400001	90,217,851	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	2,283,219	AAAGCAAGAGGAGGTTGAACA	GTCTGCTGCTGCTGCTGCTG
SL2_400001	1,309,824	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	12,477,037	GGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	6,312,864	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	23,723,509	TGGTGGGAAAGCAATGAGAG	GTCTGCTGCTGCTGCTGCTG
SL2_400002	9,173,143	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	36,157,945	AGCAACAAGACTAGGCTGCA	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400002	13,233,437	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	47,063,283	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400002	14,247,868	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	39,328,961	GGTGGAGATAGGCAACCA	GGGTTGGTGGTGGTGGTGG
SL2_400002	18,804,199	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	60,668,068	TGGTGGGAAAGCAATGAGAG	TGGGTTGGTGGTGGTGGTGG
SL2_400002	22,711,866	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	64,618,908	GGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	27,188,193	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	2,833,830	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	33,283,193	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	34,417,407	TGGGCACTAGGCTGCTG	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	46,842,893	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	38,339,800	GGTGGAGATAGGCAACCA	GGTGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	59,991,479	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	62,444,594	TTTGGGAAAGTGGTGG	AGCAACAAGCTAGGCTGCA
SL2_400002	60,003,443	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	1,997,232	TTTGGGAAAGTGGTGG	AGCAACAAGCTAGGCTGCA
SL2_400002	66,637,187	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	9,836,033	GGTGGAGATAGGCAACCA	GGTGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	49,939,188	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	19,327,710	TAGCACAGACAGCACACCA	AAAGCAAGCTGCTGCTG
SL2_400002	1,889,647	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	44,999,449	GGGAGATAGGCAACCA	GGTGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	8,308,133	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	57,962,433	GGTGGAGATAGGCAACCA	GGTGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	12,322,798	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	61,431,973	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT	CACTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	23,324,039	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	66,996,431	TGGGCACTAGGCTGCTG	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	39,178,193	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	71,130,642	GGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	53,326,838	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	4,260,138	GGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	37,025,139	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	1,455,946	TGGGCACTAGGCTGCTG	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	39,178,193	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	10,867,207	AGCAACAAGCTAGGCTGCA	AGCAACAAGCTAGGCTGCA
SL2_400002	48,122,821	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	32,876,079	TGCTTCTCAGGAGATAGGAG	TGGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	50,287,836	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	38,167,878	CTTTTAAAGGAGAAATGGTA	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400002	54,908,818	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	40,127,841	TGGTGGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	59,208,499	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	64,388,826	GTCTGCTGCTGCTGCTGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	60,833,182	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	794,807	ACTAGTTCCTGCTGCTGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	4,238,032	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	9,929,350	TGATGTGCTGCTGCTGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	8,438,249	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	11,456,889	TGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	12,793,427	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	20,064,747	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	16,131,883	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	21,832,268	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	21,171,781	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	23,338,099	AAAGCAAGCTAGGCTGCA	TGGTGGGAAATGGCTGTAGCTGT
SL2_400002	23,236,612	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	33,238,081	TGGTGGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	29,674,870	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	37,347,834	AGCTTGAAGCTAGGCTGCA	AGCTTGAAGCTAGGCTGCA
SL2_400002	31,290,658	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	45,037,698	GGGAAATGGCTGTAGCTGT	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	33,047,883	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	47,130,642	TGGGCACTAGGCTGCTG	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	49,745,668	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	13,151,921	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	34,280,488	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	3,967,471	AGATGGAGCTGAAAGGCTG	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	35,047,883	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	11,849,867	AGCAACAAGCTAGGCTGCA	AGCAACAAGCTAGGCTGCA
SL2_400002	62,276,849	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	12,864,351	TACTATGGGCACTGCTGCTG	AGGAAAGGAGAAATGAGAGCA
SL2_400002	4,172,144	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	16,037,844	CTTTTAAAGGAGAAATGGTA	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400002	8,392,149	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	21,224,774	GGTGGAGATAGGCAACCA	GGTGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	12,322,798	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	23,899,433	TAGATTTGCTGCTGCTGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	16,814,813	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	29,802,566	TGACATGACAGACTGCACTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	20,448,032	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	34,602,993	TCTGTCTGCTGCTGCTGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	23,224,039	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	38,777,997	TGACGCTTACTGCAAAAGCTG	AGTGGTTCAGCACTGCACTCT
SL2_400002	30,307,307	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	42,300,697	CTTGTGAGCTGAAAGGCTG	TGGGAAATGGCTGTAGCTGT
SL2_400002	34,413,091	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	47,248,733	AGCAACAAGCTAGGCTGCA	AGCAACAAGCTAGGCTGCA
SL2_400002	37,898,148	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	51,464,040	GTGAGCTGCAAGGAGAGCAAA	GGTGGAGATAGGCAACCA
SL2_400002	43,149,134	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	55,913,677	TTTGGGAAAGTGGTGG	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400002	43,343,007	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	59,337,413	TGGGCACTAGGCTGCTG	TGACCGCACTGATTTCTTCA
SL2_400002	51,700,110	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA	SL2_400008	64,839,972	AAGTGTGGATATATGTGAAGCT	AGCAATAAGCTGAAATTTGAAG
SL2_400002	56,192,482	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA				
SL2_400002	60,648,110	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA				
SL2_400002	64,908,710	TTTGGTGGGAAATGCAAGGC	AACAAGCGCCCAACTCCAA				

(4) 각각의 합성한 primer을 이용한 HRM validation 실험은 필코리아 제품의 RT-PCR kit를 사용하여 각 엘리트 계통간의 유효성을 검토한 결과 대부분은 선발한 마커가 이용 가능하였음 (Photo 3-10)

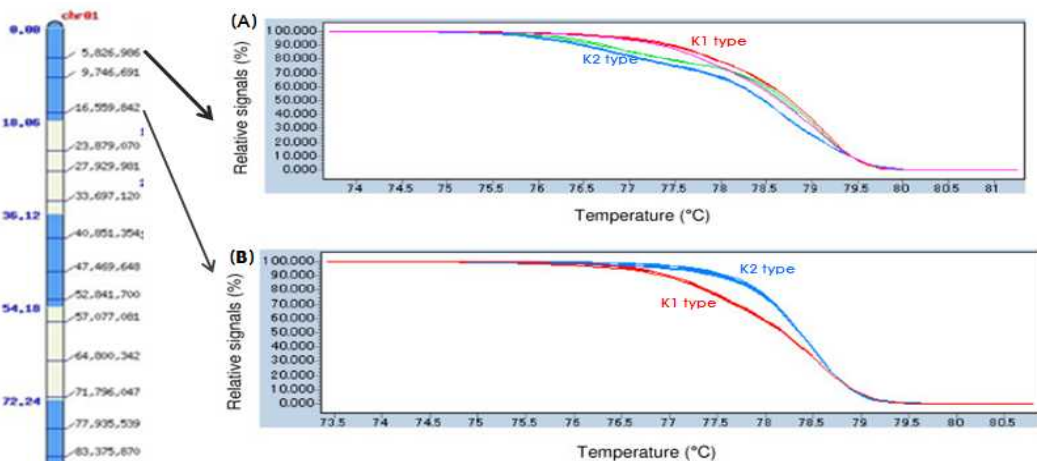


Photo 3-10. 선발한 SNP 마커의 유효성 평가를 위한 HRM primer의 적용

3. 토마토 여교잡 MAB 검정 시스템 개발 및 선발 가. 제1차년도

(1) MAB 선발을 위한 GBS (genotyping by sequencing) 적용 시스템 확립

(가) 식물 육종에서 여교배는 하나 또는 그이상의 형질을 우량 계통에 도입 하고자 할 때 주로 사용하고 있는 육종법으로 BC1F1 세대에서 donor 친의 유전자들은 25%, 반복친은 75%로 구성되는 것이 통상적으로 알고 있다 (Photo 32). 그러나 육종 현장에서는 유전자간의 상위성, 재조합 등에 의해 그 비율이 다소 차이를 보인다. 이런 차이를 이용하여 donor친의 유전자들이 많이 포함되지 않은 개체를 선발 한다면, 육종의 세대단축에 기여 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 최근 개발되어 사용하고 있는 GBS (genotyping by sequencing) 기술을 셋팅하고 그 기술을 이용하여 육종현장에 접목하여 BC1F1 세대에서 선발 효율을 높이고자 한다.

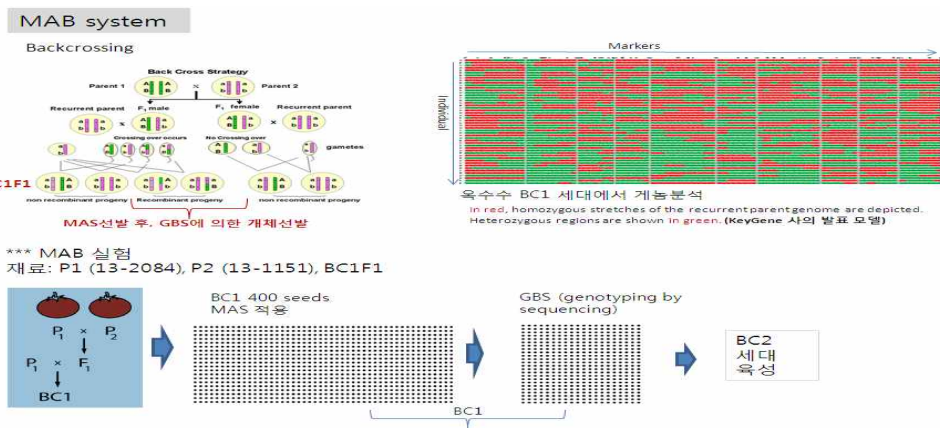


Photo 3-11. 토마토 여교잡 MAB 선발시스템 모식도

(나) BC1F1세대의 종자를 pot에 파종하고 발아 후 28일, 토마토 묘는 2-3개의 잎이 전개 되며 (Photo 3-12), 이중 1개의 잎을 이용하여 total DNA 추출에 이용하였다.

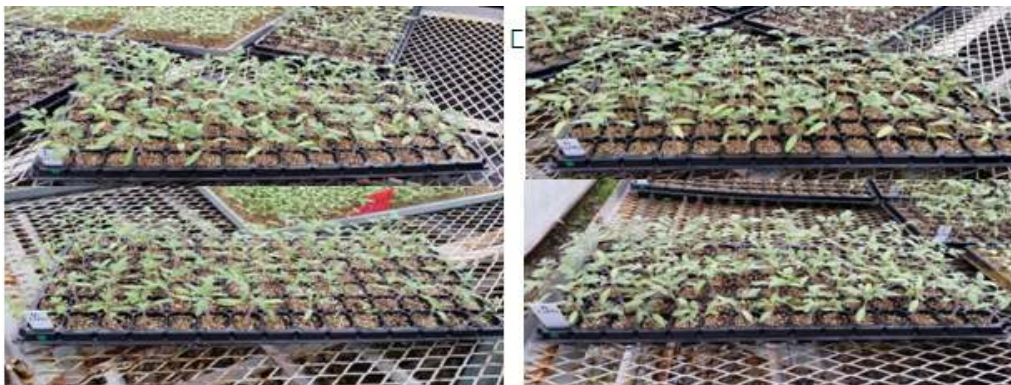


Photo 3-12. MAB 검정용 여교배집단의 육묘

(2) 식물 total DNA 대량 추출 시스템 구축

(가) 식물 DNA 추출은 발아 후, 28일 잎 1개를 이용하여 taco 사로부터 개발된 bead beater 를 이용하여 조직을 분쇄하였으며, DNA 추출은 필코리아 사의 추출 kit를 사용하여 1회 32샘플 2시간 소요되는 시스템을 활용하였음 (Photo 3-13).

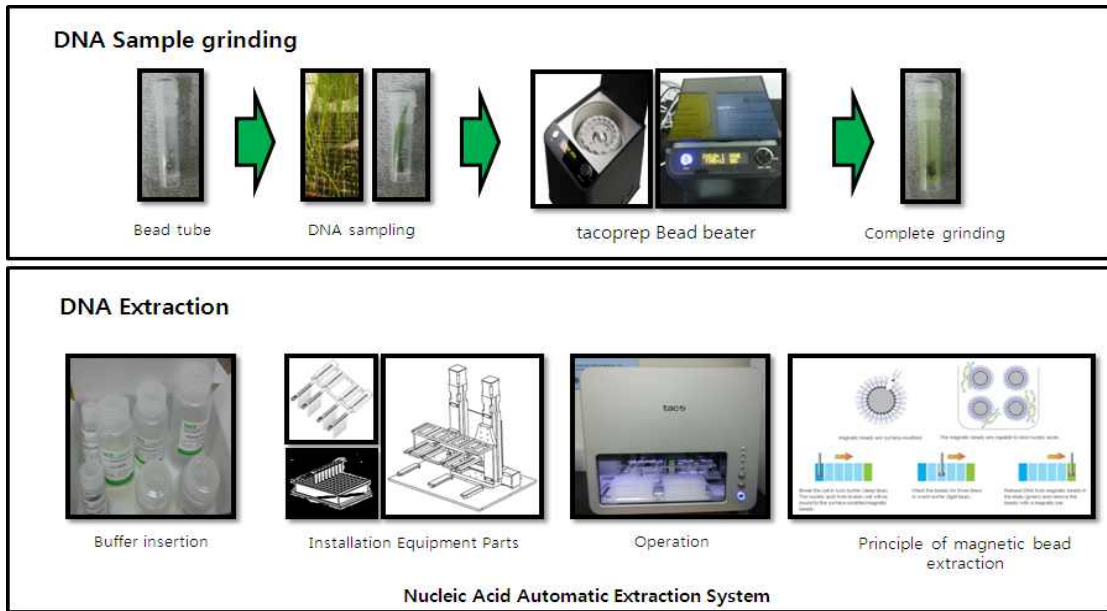
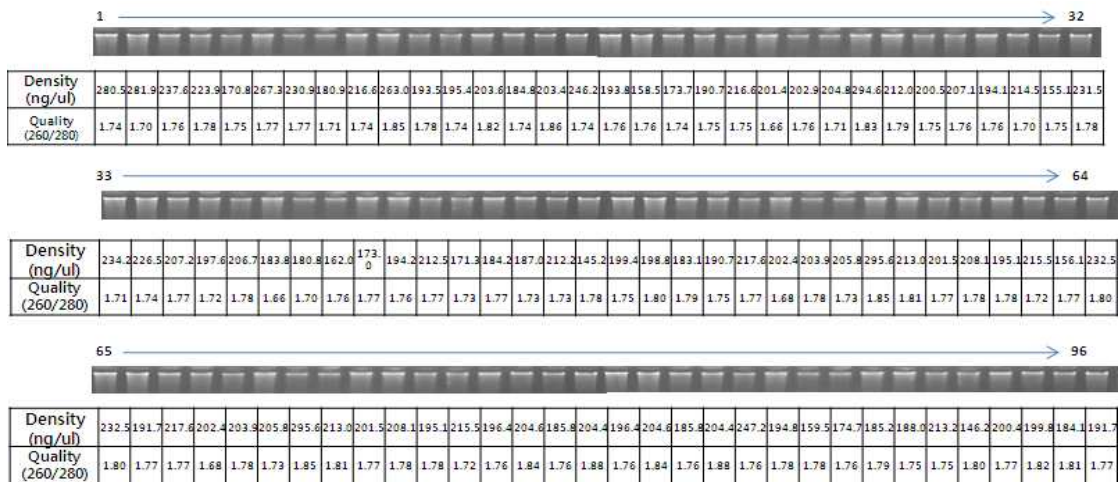


Photo 3-13. MAB 검정을 위한 식물 DNA 대량 추출 시스템

(3) DNA 추출 농도 및 품질

(가) 식물 잎 조직으로부터 분리한 DNA 순도는 260/280 비율이 1.77로 매우 양호 하여 RT-PCR분석, 제한효소 cutting, DNA 마커 탐색 등을 이용하는데 매우 유용할 것으로 생각 됨 (Photo 3-14).



** Average

Density (ng/ul)	204.7
Quality (260/280)	1.77

Photo 3-14. MAB 검정을 위한 추출 식물 DNA 농도 및 품질

(4) GBS 실험에 사용한 GBS adapters, PCR and sequencing primers

(가) GBS실험에는 barcode sequence를 가진 barcode adapter와 제한효소 site 만 가지는 common adapter를 디자인하여 식물 DNA를 제한효소로 cutting하여 en adapter를 ligation한다. 그리고 PCR용 primer를 Fw, Rv를 합성하여 PCR을 수행한 다음 sequencing에 필요한 Primer 등이 필요함 (Photo 3-15).

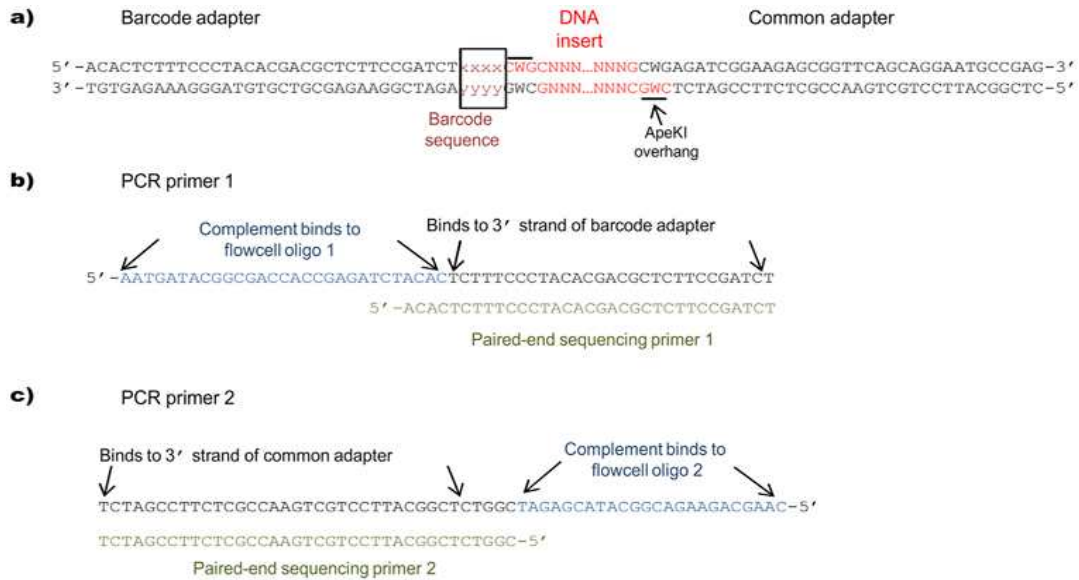


Photo 3-15. GBS 실험에 사용한 GBS adapters, PCR and sequencing primers

(나) GBS adapter를 결합하는 과정을 모식도는 ApeK1에 의하여 절단되어진 DNA 절편은 선발되어진 계통의 유전자를 인지하는 barcode sequce가 있는 barcode adapter와 Common adapter가 ApeK1 절단 부위를 인지하여 Ligation하고 그 후 PCR을 통하여 flowcell oligo가 부착되어진다.

Table 3-13. GBS 실험에 사용한 Barcode adapter

CTCC	TTCTC	TCGTT	CTATTA	AATATGC	TGCAAGGA
TGCA	AGCCC	GGTTGT	GCCAGT	ACGTGTT	TGGTACGT
ACTA	GTATT	CCAGCT	GGAAGA	ATTAATT	TCTCAGTC
CAGA	CTGTA	TTCAGA	GTAATT	ATTGGAT	CCGGATAT
AACT	ACCGT	TAGGAA	GTTGAA	CATAAGT	CGCCTTAT
GCGT	GCTTA	GCTCTA	TAACGA	CGCTGAT	AACCGAGA
CGAT	GGTGT	CCACAA	TGGCTA	CGGTAGA	ACAGGGAA
GTAA	AGGAT	CTTCCA	TATTTT	CTACGGA	ACGTGGTA
AGGC	ATTGA	GAGATA	CTTGCTT	GCGGAAT	CCATGGGT
GATC	CATCT	ATGCCT	ATGAAAC	TAGCGGA	CGCGGAGA
TCAC	CCTAC	AGTGGA	AAAAGTT	TCGAAGA	CGTGTGGT
TGCCA	GAGGA	ACCTAA	GAATTCA	TCTGTGA	GCTGTGGA
CGCTT	GGAAC	ATATGT	GAACTTC	TGCTGGA	GGATTGGT
TCACC	GTCAA	ATCGTA	GGACCTA	ACGACTAC	GTGAGGGT
CTAGC	TAATA	CATCGT	GTCGATT	TAGCATGC	TATCGGGA
ACAAA	TACAT	CGCGGT	AACGCCT	TAGGCCAT	TTCTGGGA

(5) GBS용 library 구축을 위한 모식도

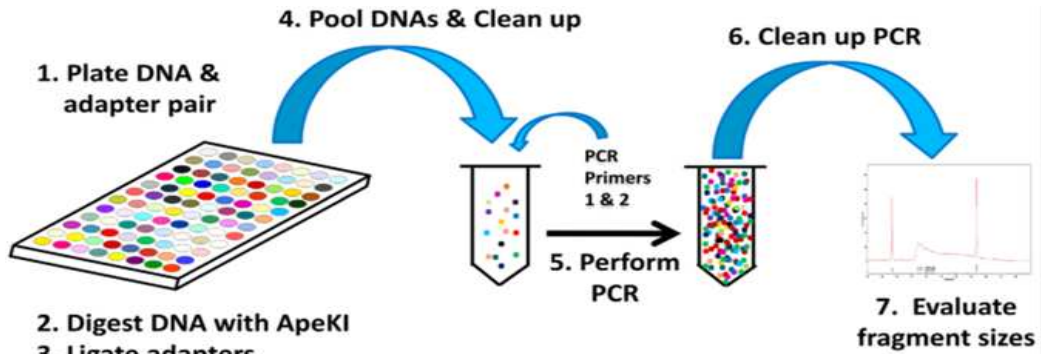


Photo 3-16. GBS용 library 구축을 위한 모식도

(가) Photo 3-16은 Next generation sequencing 분석 재료의 제작 과정을 설명한 그림입니다. 96개의 DNA 샘플과 Adapter를 준비한후 제한효소 ApeK1을 이용하여 DNA를 절단하고, Adapter와 Ligation 시킨 후 96개 샘플을 pooling 하여 Clean up 후 PCR을 거쳐 다시 Clean up 후 결과를 QC하게 됩니다.

(6) 토마토 BC1F1 세대 96개체 library 구축 및 확인

** Library의 확인 (PCR 및 QC)

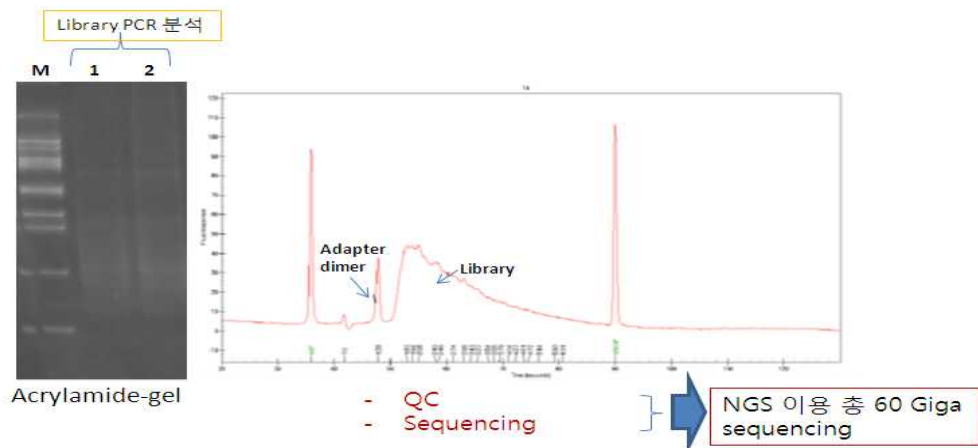


Photo 3-17. GBS용 library 구축 및 QC 분석

(가) Photo 3-17은 GBS Next generation sequencing 분석 재료의 제작 후 QC 결과를 나타낸 것으로 Acrylamide-gel 전기영동과 QC profile 결과와 일치하는 것을 확인함.

(7) BC1F1 세대에서 Barcode별 확보한 염기서열 정보

(가) 다양하게 Degrade 되어진 adapter에 결합되어진 유전자 단편의 정보를 NGS로 read 한 결과 Adapter에 결합되어진 각각의 유전자원의 Read 단편은 genom wide SNP 분석에 활용되어지고, Sequencing 정보 분석을 통해 금후 Barcode 별 P1, P2 사이 SNP 분류 및 계통 해석, 선발 연구가 이루어질 계획임.

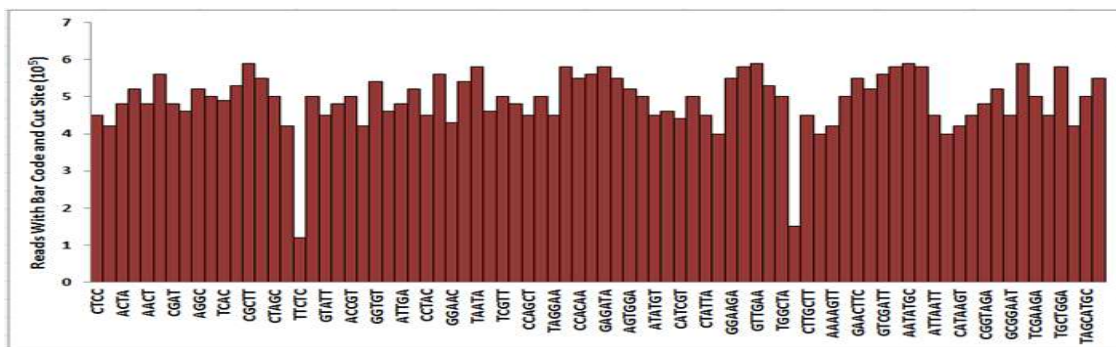


Photo 3-18. GBS용 library로부터 NGS Sequencing후, Barcode별 염기정보

나. 2차년도

(1) rin/rin 자식계통의 저장성 형질을 핑크계에 도입하고자 MAB 검정 및 선발

(가) 토마토는 대체로 후숙을 통하여 숙성되는데, 이러한 숙성 기간은 과실의 운송기간과 배송 거리, 시장에서의 신선도 유지와 관련이 깊다. 특히, 고온지방에 수출하는 토마토 품종은 고온에 의한 조기 숙성 때문에 유통 상의 어려움이 있어, 숙성기간을 반드시 고려해야 한다. 저장기간 및 유통기간을 늘리는 효과적인 방법으로써, Green-ripe와 Never-ripe 2와 같은 과실의 숙성을 저해하는 유전자와 LeETR4와 LeETR6과 같은 ethylene receptors를 이용할 수 있다. 열성인자인 RIPENING-INHIBITOR (Rin)은 과실 숙성을 크게 저해하는 유전자로 보고되었는데, 염색체 5번에서 rin 유전자의 위치를 밝혀냈다. 또한 positional cloning 방법을 통해 찾아낸 rin 유전자가 과실 숙성과 거대화락에 관련한 MADS-box 유전자(LeMADS-RIN and LeMADS-MC)와 관련이 있다고 보고했다. 또한, 두 MADS-box 유전자가 근접한 위치에 있기 때문에 rin 토마토는 일반적으로 거대화락을 갖는다. MADS-box 유전자는 꽃눈의 분화와 발달, 그리고 과실의 숙성에 주로 관여한다. 돌연변이체인 rin 토마토는 과실의 비대, 종자의 성숙은 진행되지만, 토마토가 숙성될 때 반드시 발생하는 에틸렌 가스가 발생하지 않으며 따라서 에틸렌 관련한 유전자가 발현하지 않고, 숙성이 진행되지 않는 것으로 보고되었다. 일반 토마토와 rin 토마토를 교배하여 얻은 교잡후대(Rin/rin)는 서서히 숙성되어 저장기간이 상당히 늘어나므로 저장기간이 긴 새로운 토마토 품종을 개발하는데 적합한 소재가 된다. 다만, 이 형질접합 유전형으로 만들어진 토마토 F1후대 등은 육성라인에 따라 거대화락을 수반하지 않는

경우가 생겨, 거대 화탁만으로는 육성하고자 하는 후대의 rin유전자형을 예측하기가 힘이 든다. 과실의 숙성정도를 확인하기 위해서는 발아에서 부터 수개월의 시간이 소요됨은 물론이고, 동형과 이형의 유전자형을 알기 위해서는 후대검정을 진행해야 하므로, 육종에 소요되는 시간과 경비, 노고는 상당한 것이다. 따라서, 이러한 육종과정의 어려움을 경감시키면서 저장기간이 긴 핑크계 토마토 품종 개발하고자 함.

(나) rin/rin의 유전자형을 가지면서 식미가 우수한 계통을 이용하여 초세가 강하고, 당도가 높고, 과 크기가 280-310g 인 핑크계에 교배하여 얻어진 F1은 핑크계이며, 이를 이용하여 핑크계 P2와 여교배하여 BC1F1 세대를 구축하였음 (Table 3-14, Photo 3-19)

Table 3-14. 저장성이 우수한 핑크계 토마토 육성을 위한 교배친 (P1 및 P2)의 특성

B.N.	생장형	숙기	절간	초세	과형	과중	과색	경도	과관밀도	식미	당도	내병성
13-2084 (A)	무한	중	중	중강	편구	190-220	rin	Firm	2	3	4	Tm2
13-1151 (B)	무한	중조	중장	강	편구	280-310	Pink	Firm	1	2	5.5	Tm2a, Ty-1, Cf9, N
13-3035 (C)	F1 (A x B)											
12-1086 (D)	BC1 (A. B x B)											



Photo 3-19. P1, P2 자식계통 및 교잡 F1에서 과실 형태

(다) F1에서 특성은 과중이 거의 대부분이 200g으로 과색은 핑크이었으며, BC1F1 세대의 종자를 파종하여 Rin유전자형을 이용하여 Genotyping을 실시한 결과 Rin/Rin과 Rin/rin으로 구별되었다 (Photo 41). 이 중 Rin/rin 형을 가진 식물체를 이용하여 GBS 실험을 수행하였음.

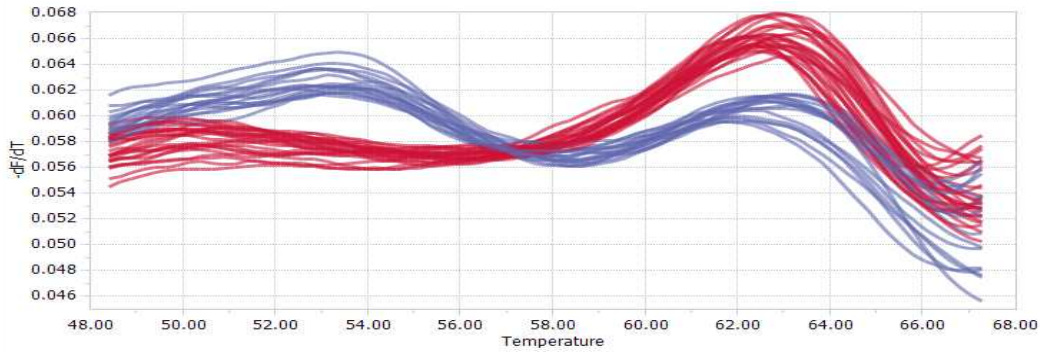


Photo 3-15. BC1F1 세대에서 Rin/rin 선발을 위한 SNP 마커를 이용한 HRM PCR 분석

(라) 총 96개 BC1F1세대의 Rin/rin type의 식물체를 이용하여 GBS실험을 실시한 결과 몇몇 샘플을 제외하고 2000만개이상의 염기배열을 확보 할 수 있었다 (Photo 3-16).

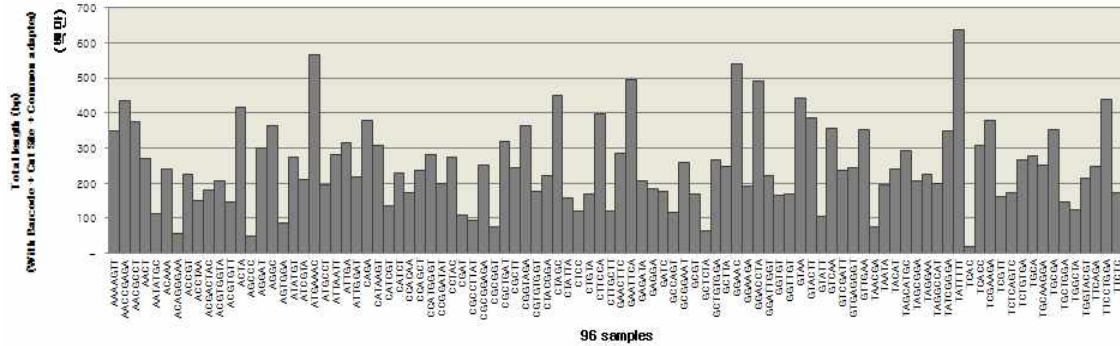


Photo 3-16. Rin/rin 형 BC1F1 세대 식물체별 Sequence Quality Trimming 후 시퀀스 양

(마) rin/rin계 P1 과 핑크계 P2에서 BC1F1 식물체별 호모 SNP는 3,086개이었고, heterozygous SNP는 810개를 얻었다 (Photo 3-17).

	No. of SNP loci (with K1, K2, K3, K4 SNP)	K1 와 K2 간의 SNP비교	No. of SNP (read depth > 3)	No. of SNP (read depth > 5)
GBS sample=96 + Undetermined sample=1	88,259	Polymorphic SNP loci*	3,894	1,519
		Non-polymorphic SNP loci*	68,550	-
		Ambiguous SNP loci*	3,621	-
		Unknown SNP loci*	12,194	-

- * Polymorphic SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 서로 SNP인 경우
- * Non-polymorphic SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 동일한 genotype인 경우.
- * Ambiguous SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 '기타-SNP' 로 인해 polymorphism을 확인하기 어려운 경우.
- * Unknown SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 genotype을 알 수 없어(base=N) 비교할 수 없는 경우.

*** SNP 유형 구분 기준 ***

- Homozygous: read depth ≥ 90%
- Heterozygous: 40% ≤ read depth ≤ 60%
- 기타: Homozygous/Heterozygous 로 구분할 수 없는 경우

Homozygous SNP	3,084
Heterozygous SNP	810

Photo 3-17. BC1F1 세대에서 rin/rin 계 계놈, 핑크계 계놈간 호모 SNP 및 헤테로 SNP의 마커수

(바) 얻어진 호모 및 헤테로 SNP 마커를 염색체별로 분석한 결과 Table 3-15와 같다. 1번

염색체 239개, 2번 염색체 93개, 3번 염색체 197개, 4번 염색체 149개, 5번 염색체 233개, 6번 염색체 996개, 7번 염색체 120개, 8번 염색체 12개, 10번 염색체 28개, 11번 염색체 169개, 12번 염색체 245개 등 다양성을 보였음.

(사) 이 들 마커는 BC1F1 세대의 게놈을 전체적으로는 cover 하지는 못하지만, 지금까지 MAB에 사용한 120개 마커보다 훨씬 많고, 유전자의 조성을 살펴보면 매우 유용한 기법으로 판단된다. 다만 염색체 8번에서 polymorphic SNP 마커를 12개 정도 밖에 얻지 못했다.

Table 3-15. 저장성이 우수한 rin/rin 계 P1 과 핑크계 P2 와의 여교배한 BC1F1 세대에서 GBS 검정에서 도출된 염색체 별 polymorphic SNP 마커 수

chromosome	No. of polymorphic SNP
chr00	30
chr01	239
chr02	93
chr03	187
chr04	149
chr05	233
chr06	896
chr07	120
chr08	12
chr09	171
chr10	26
chr11	168
chr12	245
Total	2,569

(아) 이들 polymorphic SNP 마커를 BC1F1 개체별 염색체별 표시를 Photo 3-18과 같이 표시하여 rin/rin 계에서 온 게놈을 blue로, 핑크계에서 온 게놈을 red로 그래픽 하였음.

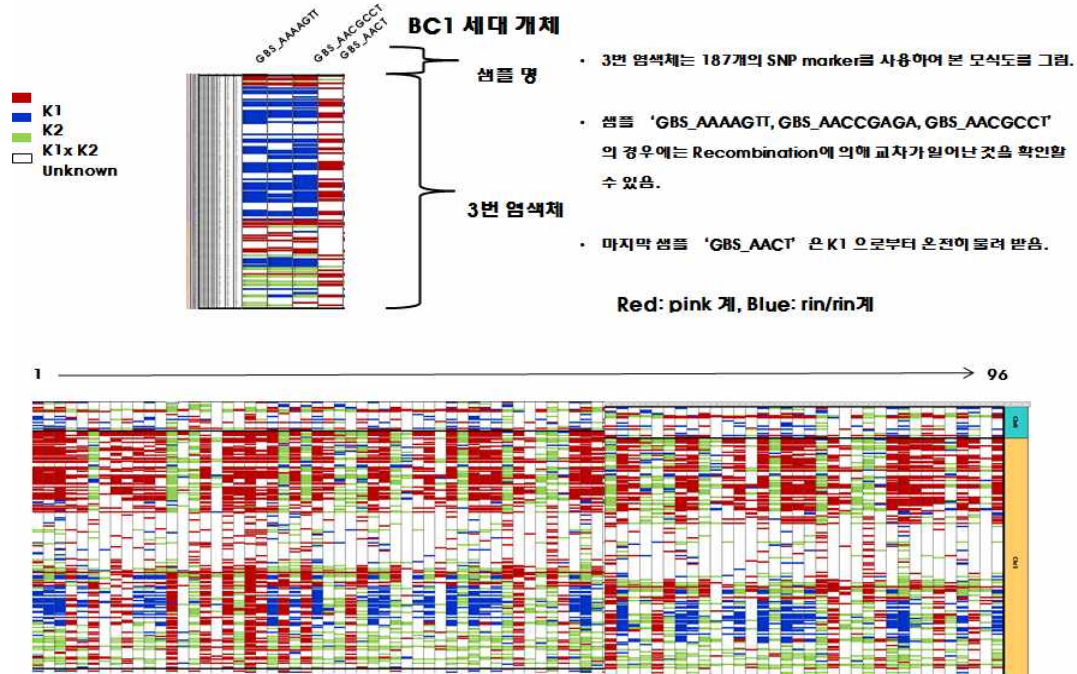


Photo 3-18. BC1F1세대 식물체의 GBS분석에 의한 계놈 조성

(자) 총 2569개의 SNP 마커를 이용해서 염색체별 GBS분석 계놈 조성을 살펴본 결과 Photo 3-19와 같다. 각 96개 BC1F1 세대 식물체에서 P1 및 P2 계놈의 조성은 다양하게 차이를 보였음.

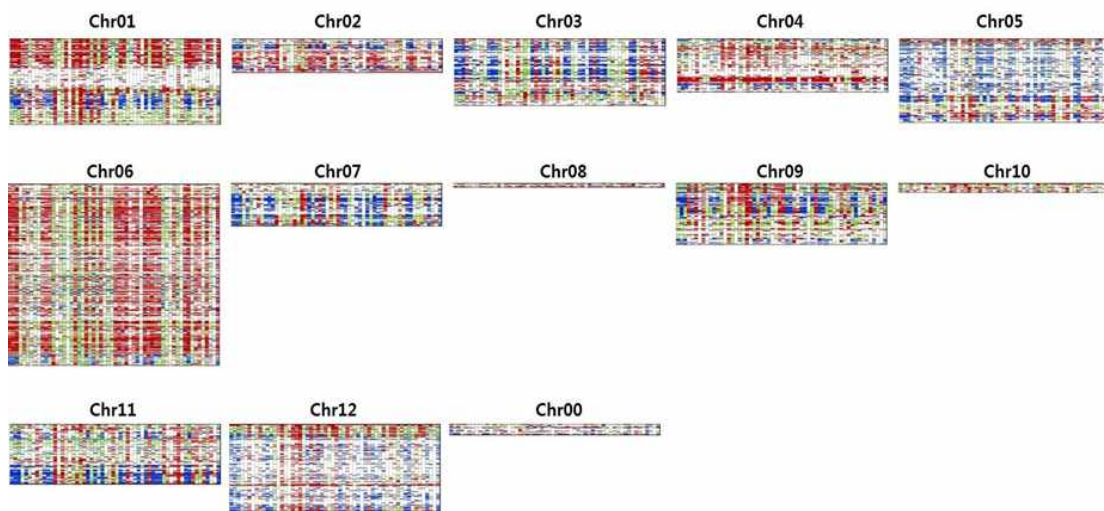


Photo 3-19. 2569개 polymorphic SNP 마커의 BC1F1 개체에서 계놈 조성

(차) BC1F1 세대에서 rin 유전자가 포함하고 반복친 핑크토마토의 계놈 조성을 살펴본 결과 대부분이 65-78%를 보였으며, 이중 rin/rin 계 P1 계놈이 15% 이하인 350-380 정도의 SNP 마커가 포함되어 있는 BC1F1 개체는 38, 45, 51, 57 식물체로써 각각 donor 계놈이 13%, 16%, 12%, 12.5%로 나타났다 (Photo 3-20).

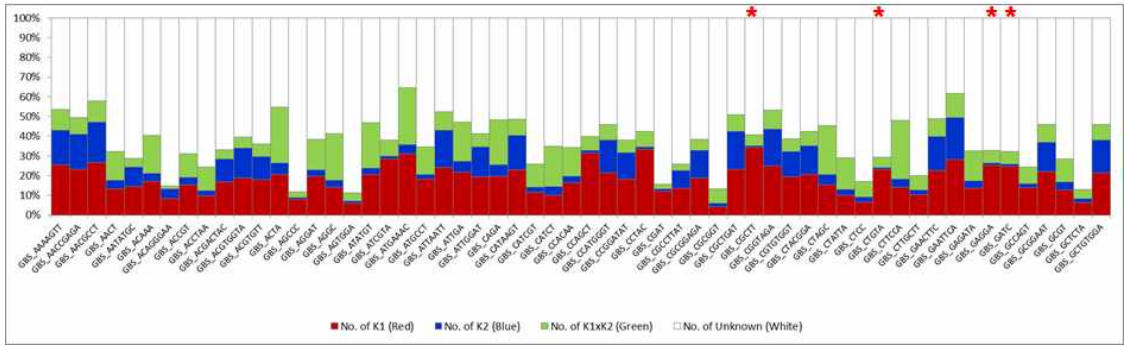


Photo 3-20. BC1F1 식물체에서 donor parent 및 recurrent parent의 게놈 비율 및 선발

(카) 선발 BC1F1 식물체 과실의 특성을 살펴본 결과 핑크이면서, 초세가 강하고, 경도가 높으며 다양한 특성을 보였다 (Table 3-16). 선발한 식물체의 숙기는 양친에 비해 반복친에 가깝게 나타났으며, 초세는 반복친과 거의 유사하였다. 그러나 과중은 donor 친과 거의 유사한 결과를 보였으며, 다른 형질은 크게 구별되지 않았다.

Table 3-16. 선발한 BC1F1 세대에서 식물체의 과실 특성

세대	생장형	숙기	절간	초세	과형	과중	과색	경도	과관밀도	식미	당도	내병성	
P1	무한	중	중	중강	편구	190-220	rin	Firm	2	3	4	Tm2	
P2	무한	중조	중장	강	편구	280-310	Pink	Firm	1	2	5.5	Tm2a, Ty-1, Cf9, N	
BC1F1	35	무한	중조	장	강	편구	220	Pink	Firm	2	2	4.5	-
	45	무한	중	중장	강	편구	190	Pink	Firm	2	2	4.3	-
	51	무한	중	중장	강	편구	200	Pink	Firm	1	2	4	-
	57	무한	중조	중장	강	편구	210	Pink	Firm	1	2	5.0	-



Photo 3-21. BC1F1 세대에서 토마토 과형 및 GBS에 의해 35, 45, 51, 57번 개체 선발

(타) 선발한 35, 45, 51, 및 57번 식물체는 BC1F2 종자 수확 및 BC2F2 세대종자를 육성하여 원예형질 조사 및 개체선발을 통해 우수 육종소재로 활용하고자한다 (3년차 연구)

(2) 엘리트 레드계 자식계통의 형질을 핑크계에 도입하고자 MAB 검정 및 BC1 세대에서 선발
 (가) 세계적으로 고품질 대과종은 대부분 레드계가 많이 육성되어 품종으로 등록되고 있다. 그러나 상대적으로 핑크계 토마토는 품질이 우수하지 못하여, 레드계 엘리트 계통을 이용하여 핑크계에 여교잡 육종에 의해 품질이 레드계를 가진 BC1F1 세대를 선발하여 육종소재로 활용하고자 한다. 따라서 엘리트 계통은 토마토생명공학연구소에서 육성중인 계통을 사용하여 F1 및 BC1F1을 육성하여 GBS시스템을 적용하고, BC1F1에서 레드 계인 P1의 계놈이 적게 포함된 개체를 선발하고자 한다.

(나) 양친 모두 무한생장형, 초세는 모두 강하며, 과형은 고구형, 편구형, 당도는 5.5-6.0 범위에 있는 자식계통을 이용하여 F1 및 BC1F1을 육성하여 GBS를 적용하였다 (Table 3-17).

Table 3-17. 엘리트 레드계 P1 과 핑크계 P2 양친의 원예적특성

B.N.	성장형 (plant type)	숙기 (maturity)	절간 (internode)	초세 (plant vigor)	과형 (fruit shape)	과중 (fruit weight)	과색 (fruit color)	경도 (firmness)	과균일도 (fruit uniformity)	식미 (taste)	당도 (Brix °)	내병성 (resistance)
P1	무한	중	중	중약	편구	210-230	Red	Firm	2	3	5.5	Tm2a, F2, V
P2	무한	중초	중장	강	고구	180-200	Pink	Firm	1	2	6.0	Tm2a, F2, V, C F, LS, Ty-1



Photo 3-22. GBS시스템에 적용한 P1 및 P2의 표현형

(다) 레드계 토마토를 donor 친으로 pink계 토마토를 recurrent 친으로 육성한 BC1F1 세대 에서 GBS 적용 후, 얻어진 polymorphic SNP 마커수는 호모 SNP 2492 개 및 헤테로 SNP 396개로 나타났다 (Photo 3-23).

	No. of SNP loci (with K1, K2, K3, K4 SNP)	K3 와 K4 간의 SNP비교	No. of SNP (read depth > 3)	No. of SNP (read depth > 5)
GBS sample=96 + Undetermined sample=1	88,259	Polymorphic SNP loci*	2,889	1,280
		Non-polymorphic SNP loci*	79,074	-
		Ambiguous SNP loci*	3,925	-
		Unknown SNP loci*	2,371	-

* Polymorphic SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 서로 SNP인 경우
 * Non-polymorphic SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 동일한 genotype인 경우.
 * Ambiguous SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 '기타-SNP'로 인해 polymorphism을 확인하기 어려운 경우.
 * Unknown SNP loci: 비교샘플 간에 동일 SNP 좌에서 genotype을 알 수 없어(base=N) 비교할 수 없는 경우.

*** SNP 유형 구분 기준 ***

- Homozygous: read depth ≥ 90%
- Heterozygous: 40% ≤ read depth ≤ 60%
- 기타: Homozygous/Heterozygous 로 구분할 수 없는 경우

Homozygous SNP	2,492
Heterozygous SNP	397

Photo 3-23. 레드계 토마토를 donor 친으로 pink계 토마토를 recurrent 친으로 육성한 BC1F1 세대에 서 GBS 적용 후, 얻어진 polymorphic SNP 마커수

Table 3-18. 우수한 red 계 P1 과 핑크계 P2 와의 여교배한 BC1F1 세대에서 GBS 검정에서 도출된 염색체별 polymorphic SNP 마커 수

chromosome	No. of polymorphic SNP
chr00	64
chr01	196
chr02	23
chr03	42
chr04	116
chr05	72
chr06	287
chr07	57
chr08	38
chr09	939
chr10	18
chr11	84
chr12	130
Total	2066

(라) 얻어진 호모 및 헤테로 SNP 마커를 염색체별로 분획한 결과 Table 3-18와 같다. 1번 염색체 196개, 2번 염색체 23개, 3번 염색체 42개, 4번 염색체 116개, 5번 염색체 72개, 6번 염색체 287개, 7번 염색체 57개, 8번 염색체 38개, 10번 염색체 18개, 11번 염색체 84개, 12번 염색체 130개 등 다양성을 보였음.

(마) 이 들 마커는 BC1F1 세대의 게놈을 전체적으로는 cover 하지는 못하지만, 지금까지 MAB에 사용한 120개 마커보다 훨씬 많고, 유전자의 조성을 살펴보는데 매우 유용한 기법으로 판단된다. 다만 염색체 10번에서 polymorphic SNP 마커를 18개 정도 밖에 얻지 못했다.

(바) 총 2569개의 SNP 마커를 이용해서 염색체별 GBS분석 게놈 조성을 살펴본 결과 Photo 3-24와 같다. 각 96개 BC1F1 세대 식물체에서 P1 및 P2 게놈의 조성은 다양하게 차이를 보였음



Photo 3-24. 2066개 polymorphic SNP 마커의 BC1F1 개체에서 게놈 조성

(사) BC1F1 세대에서 red계 고품질 관련 유전자가 포함하고 반복친 핑크토마토의 게놈 조성을 살펴본 결과 대부분이 75-78%을 보였으며, 이중 red계 P1 게놈이 15% 이하인 BC1F1 개체는 61, 90 식물체로써 각각 donor 게놈이 11.5%, 14.5%로 나타났다 (Photo 3-25).

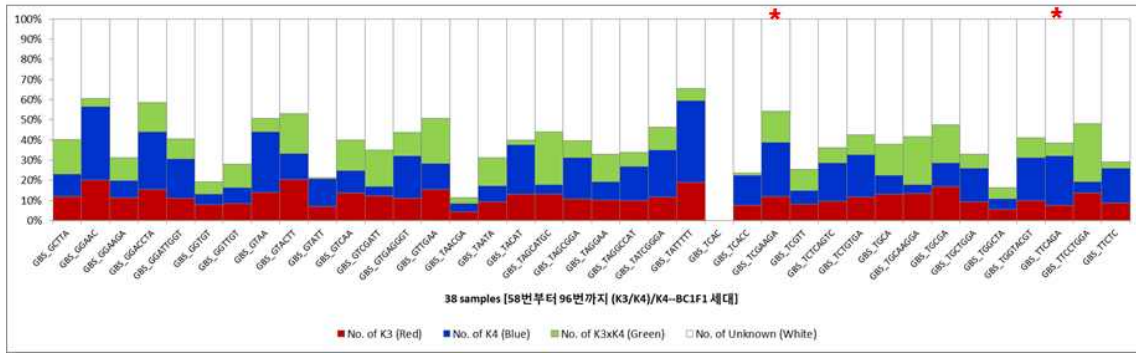


Photo 3-25. BC1F1 식물체에서 donor parent 및 recurrent parent의 게놈 비율 및 선발

(아) 선발 BC1F1 식물체 과실의 특성을 살펴본 결과 핑크이면서, 초세가 강하고 다양한 특성을 보였다 (Photo 3-26). 선발한 식물체의 숙기는 양친에 비해 반복친에 가깝게 나타났으며, 초세는 반복친과 거의 유사하였다. 그러나 과중은 donor 친과 거의 유사한 결과를 보였으며, 다른 형질은 크게 구별되지 않았다.



Photo 3-26. BC1F1 세대에서 토마토 과형 및 GBS에 의해 61, 90번 개체 선발

다. 제 3차년도

(1) GBS분석 및 SNP 선발

(가) 총 96개 계통을 이용하여 GBS분석을 실시한 결과 mapped region은 평균 75,929이었고, 평균 depth는 7.70, 총 계통별 총길이는 8,965,652bp이었고, reference 게놈 coverage 1.15로 대체적으로 GBS분석이 양호하였다. 따라서 이렇게 얻어진 Data로부터 SNP를 선발하고 이용하고자 한다 (Table 3-19).

Table 3-19. 토마토 GBS 결과로부터 얻어진 Genome 정보 및 reference와의 비교

	AAAAGTT	AACCGAGA	AACGCCT	AACT	AATATGC	ACAAA	ACAGGGAA	ACCGT	ACCTAA	ACGACTAC	Average
No. of mapped region	96,656	93,330	98,766	69,500	63,757	78,000	45,196	72,736	61,616	70,055	75,929
Avg. depth of mapped region	8.33	8.57	10.58	6.31	5.27	7.29	3.24	8.39	7.15	5.10	7.70
Total length of mapped region (bp)	11,637,092	11,116,420	11,904,148	8,260,102	7,503,183	9,297,541	5,239,669	8,323,119	7,046,532	8,287,676	8,965,652
Max length of mapped region (bp)	1,241	1,286	1,118	1,095	1,118	1,118	714	1,118	887	910	1,090
Avg. length of mapped region (bp)	120.40	119.11	120.53	118.85	117.68	119.20	115.93	114.43	114.36	118.30	116
Reference Genome coverage (%)	1.49	1.42	1.52	1.06	0.96	1.19	0.67	1.06	0.90	1.06	1.15

(2) SNP Filterin

(가) 총 88,252개의 SNP를 시작으로 MAB 육종에 적합한 SNP 마커의 조건을 적용하여 SNP를 선별하였다. 첫째, 88,252개 SNP 중 2종류의 유전형과 2종류의 대립유전자에 의한 경우만 선별하여 27,502개 SNP를 얻었다. 둘째, 27,502개 SNP 중 최소한 4개 품종 이상 구분할 수 있는 경우만 선별하여 13,315개의 SNP를 얻었다. 셋째, 13,315개의 SNP 중 두 유전형의 품종 분리비가 균등한 경우를 선별하여 3,084개의 SNP를 얻었다. 넷째, 3,084개의 SNP 중 해당 SNP의 위치로부터 양 옆 60 bp 구간에 다른 SNP가 없는 경우를 선별하여 720개의 SNP를 얻었다(Table 3-20).

Table 3-20. 선별한 SNP(주변 60bp에 다른 SNP가 존재하지 않은 것)의 4개 자식계통에서 다형성 및 Descriptions

id	pos	ref	K1 Tc		K2 Tc		K3 Tc		K4 Tc		Gene_name	Featur	Descriptions	InterProScan_id	InterProScan_descriptions
			K1	al_der	K2	al_der	K3	al_der	K4	al_der					
SL240ch01	5826986	G	A	9/9	G	8/8	A	8/8	G	7/7	Solyc01g010770.2.1	intron	Sph domain / band 7 family protein	IPR001107	Band 7 protein
SL240ch01	9746691	T	C	9/9	T	11 11	C	7/7	T	11 11	Solyc01g012600.1.1	cds	Dicer-like protein		
SL240ch01	16559842	G	A	6/6	G	4/4	A	4/4	G	5/5	Solyc01g014990.1.1	cds	Unknown Protein		
SL240ch01	23879070	G	A	9/9	G	7/7	A	8/8	G	8/8	Solyc01g017110.1.1	intron	NADH dehydrogenase subunit 5	IPR008543	Chloroplast Ycf2
SL240ch01	27929981	A	G	11 11	A	5/5	G	5/5	A	9/9	Solyc01g020210.1.1	cds	Mutator-like transposase		
SL240ch01	33697120	T	C	10 10	T	9/9	C	6/6	T	6/6	Solyc01g028890.1.1	intron	Unknown Protein		
SL240ch01	40851354	T	C	3 3	T	6/6	C	5/5	T	9/9	Solyc01g049660.1.1	cds	S-locus F-box-like protein b	IPR017451	F-box associated type 1
SL240ch01	47469648	T	C	4/4	T	5/5	C	5/5	T	7/7	Solyc01g056520.2.1	cds	RAN binding protein 16-like	IPR001494	Importin-beta, N-terminal
SL240ch01	52841700	A	G	4/4	A	9/9	G	5/5	A	8/8	Solyc01g057240.1.1	cds	S05 ribosomal protein L3-2	IPR000597	Ribosomal protein L3
SL240ch01	57077081	A	G	13 13	A	6/6	G	4/4	A	3 3	Solyc01g057900.2.1	intron	Ubiquitin-protein ligase	IPR000569	HECT
SL240ch01	64800342	G	A	4/4	G	7/7	A	9/9	G	11 11	Solyc01g065810.1.1	cds	NADH-quinone oxidoreductase subunit D	IPR001135	NADH-quinone oxidoreductase, subunit D
SL240ch01	71796047	C	C	8/8	T	4/4	C	9/9	T	3 3	Solyc01g080130.2.1	cds	Unknown Protein		
SL240ch01	77935539	G	G	10 10	A	8/8	A	7/7	G	5/5	Solyc01g094750.2.1	cds	Cytochrome P450		
SL240ch01	83375870	C	C	4/4	T	13 13	C	6/6	C	7/7	Solyc01g102970.2.1	intron	RNA-binding protein	IPR012677	Nucleotide-binding, alpha-beta plat
SL240ch01	89997279	G	A	5/5	G	13 13	A	10 10	G	4/4	Solyc01g112160.2.1	cds	Phosphoglycerate mutase family protein	IPR013078	Phosphoglycerate mutase
SL240ch01	90217851	T	C	5/5	T	4/4	C	3 3	T	3 3	Solyc01g112380.2.1	utr	Unknown Protein		
SL240ch02	2309824	A	A	5/5	G	10 10	A	8/8	G	9/9	Solyc02g005350.2.1	cds	Succinyl-CoA ligase	IPR005810	Succinyl-CoA ligase, alpha subunit
SL240ch02	6531364	A	A	9/9	G	5/5	A	11 11	G	3 3	Solyc02g014150.2.1	intron	Photosystem II Ycf48-like protein stability/assembly factor	IPR016705	Photosystem II stability/assembly factor, HCF136
SL240ch02	9175145	T	T	9/9	C	7/7	C	10 10	C	10 10	Solyc02g014720.2.1	intron	Hydrolase	IPR006674	M e t a l - d e p e n d e n t phosphohydrolase, HD region, subdomain
SL240ch02	13233437	G	G	5/5	A	12 12	G	7/7	A	4/4	Solyc02g021360.2.1	intron	WD-40 repeat protein	IPR020472	G-protein beta WD-40 repeat, region
SL240ch02	16247366	A	A	3 3	G	10 10	A	12 12	G	9/9	Solyc02g030360.1.1	intron	Receptor protein kinase	IPR017442	Serine/threonine kinase-related protein
SL240ch02	18304196	T	T	5/5	C	9/9	C	8/8	C	6/6	Solyc02g032120.2.1	intron	Zinc finger protein 207	IPR007087	Zinc finger, C2H2-type
SL240ch02	22711866	G	G	5/5	A	4/4	G	6/6	A	10 10	Solyc02g043860.2.1	intron	Insulin degrading enzyme	IPR011237	Peptidase M16, core
SL240ch02	27338193	A	A	10 10	G	4/4	A	6/6	G	9/9	Solyc02g055540.1.1	cds	ABC transporter G family member 31	IPR013525	ABC-2 type transporter
SL240ch02	33283193	C	C	9/9	T	12 12	C	11 11	C	12 12	Solyc02g068790.2.1	intron	Lactosylceramide 4-alpha-galactosyltransferase	IPR007652	Alpha 1,4-glycosyltransferase conserved region
SL240ch02	36657187	T	C	8/8	T	5/5	C	7/7	C	6/6	Solyc02g077000.2.1	intron	Lipase-like	IPR002921	Lipase, class 3
SL240ch02	39991473	T	T	4/4	C	7/7	C	7/7	C	12 12	Solyc02g081450.2.1	cds	NHL1	IPR010847	Harpin-induced 1
SL240ch02	40001041	C	C	7/7	T	8/8	T	10 10	T	12 12	Solyc02g081460.2.1	intron	Gamma-tubulin complex component 2	IPR007259	Spc97/Spc98
SL240ch02	46342895	T	C	8/8	T	9/9	C	11 11	T	9/9	Solyc02g090130.2.1	intron	Vacuolar protein sorting-associated protein vps13	IPR009543	Vacuolar protein sorting-associated protein
SL240ch02	49593188	A	G	7/7	A	11 11	A	13 13	A	13 13	Solyc02g094500.2.1	intron	Alpha-2 8-sialyltransferase 8B 1	IPR001675	Glycosyl transferase, family 29
SL240ch03	1889647	A	A	5/5	G	5/5	A	3 3	A	8/8	Solyc03g007320.2.1	cds	Polypyrimidine tract-binding protein 1-like	IPR012677	Nucleotide-binding, alpha-beta plat
SL240ch03	8308515	A	G	8/8	A	7/7	G	8/8	G	8/8	Solyc03g031510.2.1	cds	HR7 protein	IPR009632	P u t a t i v e metalloprotease inhibitor
SL240ch03	12522793	T	T	6/6	C	9/9	T	10 10	T	5/5	Solyc03g044240.1.1	cds	Cysteine proteinase	IPR013128	Peptidase C1A, papain
SL240ch03	25324053	C	T	9/9	C	8/8	T	15 15	C	15 15	Solyc03g059220.1.1	intron	Ulp1 protease family C-terminal catalytic domain containing protein	IPR015410	Region of unknown function DUF1985
SL240ch03	27078019	A	A	6/6	G	4/4	A	9/9	A	8/8	Solyc03g059460.1.1	cds	Serine/threonine-protein phosphatase 7 long form homolog	IPR019557	Aminotransferase-like, plant mobile domain
SL240ch03	33528835	G	G	4/4	A	9/9	G	8/8	G	5/5	Solyc03g063810.1.1	cds	Unknown Protein		
SL240ch03	37025158	G	A	8/8	G	11 11	G	8/8	G	12 12	Solyc03g065120.1.1	intron	Unknown Protein		
SL240ch03	39178391	A	A	12 12	G	7/7	A	10 10	A	10 10	Solyc03g070400.1.1	cds	N2-dimethylguanosine methyltransferase	IPR002905	N2,N2-dimethylguanosine tRNA methyltransferase
SL240ch03	46128321	G	G	9/9	A	9/9	G	10 10	A	3 3	Solyc03g082680.2.1	intron	Neuroblastoma-amplified protein-like protein	IPR011046	WD40 repeat-like
SL240ch03	50287636	A	A	6/6	G	10 10	A	7/7	A	6/6	Solyc03g095650.2.1	intron	MLO-like protein 17	IPR004326	Mlo-related protein
SL240ch03	54698618	G	G	7/7	A	10 10	G	7/7	G	3 3	Solyc03g104790.1.1	cds	Cyclin-dependent protein kinase-like protein		
SL240ch03	59308499	T	T	8/8	C	4/4	T	6/6	T	5/5	Solyc03g115600.2.1	intron	Unknown Protein	IPR003604	Zinc finger, U1-type
SL240ch03	60833182	C	T	4/4	C	9/9	T	5/5	C	9/9	Solyc03g117730.2.1	cds	Tubby-like protein 13	IPR000007	Tubby, C-terminal
SL240ch04	4258052	T	T	11 11	C	10 10	C	7/7	C	3 3	Solyc04g011850.1.1	cds	Glutaredoxin	IPR011905	Glutaredoxin-like, plant II
SL240ch04	8458249	G	G	5/5	A	4/4	G	5/5	A	8/8	Solyc04g017850.1.1	cds	Unknown Protein	IPR019557	Aminotransferase-like, plant mobile domain
SL240ch04	12793487	C	C	5/5	T	11 11	C	3 3	T	7/7	Solyc04g024470.1.1	cds	Unknown Protein		
SL240ch04	16131381	C	C	5/5	T	5/5	C	5/5	T	4/4	Solyc04g024940.2.1	cds	F-box family protein	IPR001810	Cyclin-like F-box
SL240ch04	21171781	A	A	9/9	G	4/4	A	8/8	G	6/6	Solyc04g025530.2.1	cds	Glutamate decarboxylase	IPR010107	Glutamate decarboxylase

SL240ch04	25236612	G	G	7 7	A	7 7	G	9 9	A	14 14	Solyc04g026220.21	intron	Unknown Protein				
SL240ch04	29674870	A	A	10 10	G	7 7	A	6 6	G	6 6	Solyc04g039620.21	intron	Ribose-phosphate pyrophosphokinase 4	IPR00836	Phosphoribosyltransferase		
SL240ch04	31990656	C	C	6 6	T	9 9	C	6 6	T	8 8	Solyc04g045410.11	intron	T-complex protein 1 subunit epsilon	IPR012718	T-complex protein 1, epsilon subunit		
SL240ch04	37276753	C	C	6 6	T	12 12	C	7 7	T	12 12	Solyc04g047860.11	intron	Unknown Protein				
SL240ch04	39084018	A	A	8 8	G	10 10	A	12 12	G	6 6	Solyc04g049160.21	intron	Calcium dependent protein kinase	IPR002290	Serine/threonine protein kinase		
SL240ch04	49765668	C	C	4 4	T	4 4	C	3 3	T	6 6	Solyc04g051490.21	intron	Essential meiotic endonuclease 1B	IPR006166	DNA repair XPF-type/Helicase nuclease,		
SL240ch04	54260486	T	C	6 6	T	4 4	C	10 10	C	8 8	Solyc04g057990.21	intron	mRNA 3'8apos-end-processing protein YTH1	IPR000571	Zinc finger, CCCC-type		
SL240ch04	58047383	A	A	8 8	G	5 5	G	8 8	G	4 4	Solyc04g074470.11	cds	Os06g0220000 protein	IPR006766	Phosphate-induced protein 1 conserved region		
SL240ch04	62278845	A	A	9 9	G	6 6	A	8 8	A	5 5	Solyc04g080550.21	intron	Phenylcoumaran benzylic ether reductase	IPR008030	NmrA-like		
SL240ch05	4172144	C	T	3 3	C	3 3	C	12 12	C	6 6	Solyc05g009960.21	intron	Taurine catabolism dioxygenase TauD/TfdA	IPR003819	Taurine catabolism dioxygenase TauD/TfdA		
SL240ch05	8591349	G	G	5 5	A	9 9	G	5 5	G	3 3	Solyc05g014620.11	cds	Unknown Protein				
SL240ch05	12527261	C	T	5 5	C	13 13	C	5 5	C	7 7	Solyc05g015860.21	intron	Sphingosine-1-phosphate lyase	IPR002129	P y r i d o x a l p h o s p h a t e - d e p e n d e n t decarboxylase		
SL240ch05	16834815	T	C	3 3	T	5 5	T	6 6	T	6 6	Solyc05g016460.11	intron	Unknown Protein				
SL240ch05	20443535	A	G	15 15	A	8 8	G	5 5	A	6 6	Solyc05g018320.21	cds	Ninja-family protein Os05g0558800	IPR012463	Protein of unknown function DUF1675		
SL240ch05	25924098	A	G	14 14	A	10 10	A	9 9	A	8 8	Solyc05g020040.11	intron	Ribonucleoside hydrolase	IPR001910	Inosine/uridine-preferring nucleoside hydrolase		
SL240ch05	30307307	T	C	3 3	T	10 10	T	8 8	T	6 6	Solyc05g024040.11	cds	Lysine-specific histone demethylase 1	IPR002937	Amine oxidase		
SL240ch05	34413051	C	T	10 10	C	6 6	C	11 11	C	7 7	Solyc05g025600.11	cds	Chloroplast photosystem II subunit X	IPR009518	Photosystem II protein PsbX		
SL240ch05	37898148	T	C	5 5	T	7 7	T	6 6	T	5 5	Solyc05g025910.21	intron	Starch synthase II				
SL240ch05	43165514	C	T	4 4	C	3 3	C	6 6	C	14 14	Solyc05g032660.21	intron	Dehydrogenase/ reductase 3	IPR002347	Glucose/ribitol dehydrogenase		
SL240ch05	45543007	C	T	7 7	T	8 8	T	5 5	T	3 3	Solyc05g032880.21	intron	50S ribosomal protein L9	IPR000244	Ribosomal protein L9		
SL240ch05	51700110	C	T	6 6	C	7 7	C	5 5	C	12 12	Solyc05g041620.11	intron	Caffeoyl-CoA O-methyltransferase	IPR002935	O-methyltransferase, family 3		
SL240ch05	56192482	C	T	5 5	C	9 9	C	11 11	C	13 13	Solyc05g044570.11	intron	DNA repair protein RAD16				
SL240ch05	60645463	T	C	4 4	T	10 10	T	8 8	T	8 8	Solyc05g051230.21	utr	Adenylyltransferase and sulfurtransferase MOC53	IPR009036	Molybdenum cofactor biosynthesis, MoeB		
SL240ch05	64908710	C	T	7 7	C	7 7	C	4 4	C	6 6	Solyc05g056490.21	cds	3'8apos(2'8apos) nucleotidase	IPR006239	5'8apos-bisphosphate nucleotidase HAL2		
SL240ch06	3055498	A	A	9 9	G	4 4	A	6 6	A	6 6	Solyc06g009110.21	cds	Nucellin-like aspartic protease	IPR001461	Peptidase A1		
SL240ch06	5747654	G	G	7 7	A	6 6	G	5 5	G	4 4	Solyc06g010270.11	cds	Pentatricopeptide repeat-containing protein	IPR002885	Pentatricopeptide repeat		
SL240ch06	8258805	T	T	14 14	C	6 6	T	9 9	T	5 5	Solyc06g011590.11	cds	Nodulin family protein	IPR010658	Nodulin-like		
SL240ch06	12053876	G	G	4 4	A	4 4	G	4 4	G	4 4	Solyc06g017970.21	intron	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase	IPR002083	MATH		
SL240ch06	14501199	A	A	12 12	G	9 9	A	6 6	A	8 8	Solyc06g019200.21	cds	Peptidase M50 family protein	IPR008915	Peptidase M50		
SL240ch06	17501128	C	C	8 8	T	3 3	C	5 5	C	5 5	Solyc06g031710.21	utr	Nodulin-like protein	IPR000620	Protein of unknown function DUF6, transmembrane		
SL240ch06	21463280	G	G	5 5	A	7 7	G	5 5	G	3 3	Solyc06g035710.11	cds	Multidrug resistance protein mdtK	IPR002528	Multi antimicrobial extrusion protein MatE		
SL240ch06	24527364	A	A	9 9	G	5 5	A	9 9	A	6 6	Solyc06g036780.21	intron	Os01g0708300 protein	IPR000620	Protein of unknown function DUF6, transmembrane		
SL240ch06	27584551	T	T	5 5	C	13 13	T	8 8	T	13 13	Solyc06g048460.11	intron	Anaphase promoting complex subunit 1	IPR002015	P r o t e a s o m e / c y c l o s o m e , regulatory subunit		
SL240ch06	30658888	A	A	9 9	G	4 4	A	9 9	A	9 9	Solyc06g051060.21	utr	Myb family transcription factor-like	IPR006447	Myb-like DNA-binding region, SHAQXF class		
SL240ch06	33644964	T	C	11 11	T	6 6	T	10 10	T	11 11	Solyc06g054350.21	intron	Unknown Protein				
SL240ch06	35677930	A	G	8 8	A	8 8	G	3 3	G	6 6	Solyc06g062280.21	utr	DSBA oxidoreductase	IPR012336	Thioredoxin-like fold		
SL240ch06	37505741	T	T	5 5	C	6 6	T	10 10	T	6 6	Solyc06g065690.21	cds	Serine/threonine-protein phosphatase 2A regulatory subunit delta 1 isoform	IPR002554	Protein phosphatase 2A, regulatory subunit, B56		
SL240ch06	40514066	G	G	10 10	A	10 10	G	6 6	G	10 10	Solyc06g071640.21	intron	Alliinase	IPR006948	Alliinase, C-terminal		
SL240ch07	4032353	C	T	3 3	C	12 12	C	8 8	C	11 11	Solyc07g009060.21	cds	Anther-specific protein SF18				
SL240ch07	8285253	C	C	6 6	T	7 7	C	10 10	T	5 5	Solyc07g017900.21	intron	Aldose 1-epimerase family protein	IPR008183	Aldose 1-epimerase		
SL240ch07	12477037	C	C	6 6	T	8 8	C	10 10	T	9 9	Solyc07g019630.11	intron	Unknown Protein				
SL240ch07	23723509	C	T	4 4	C	12 12	T	8 8	C	4 4	Solyc07g023980.11	cds	Unknown Protein				
SL240ch07	36157941	T	C	13 13	T	13 13	C	12 12	T	11 11	Solyc07g032240.21	cds	Protein arginine N-methyltransferase 1				
SL240ch07	47065263	C	C	9 9	T	7 7	C	3 3	T	4 4	Solyc07g040790.21	intron	WD-repeat protein	IPR017986	WD40 repeat region		
SL240ch07	56328361	A	G	7 7	A	8 8	A	10 10	A	13 13	Solyc07g047790.21	intron	Chaperone protein htpG	IPR001404	Heat shock protein Hsp90		
SL240ch07	60663063	T	T	6 6	C	5 5	T	4 4	C	5 5	Solyc07g055230.21	utr	50S ribosomal protein L5	IPR002132	Ribosomal protein L5		
SL240ch07	64618908	G	A	10 10	G	4 4	G	4 4	A	10 10	Solyc07g065730.11	cds	Pentatricopeptide repeat-containing protein	IPR002885	Pentatricopeptide repeat		
SL240ch08	2633850	A	G	9 9	A	12 12	A	11 11	A	4 4	Solyc08g008160.21	intron	WD repeat-containing protein 74	IPR017986	WD40 repeat region		
SL240ch08	54417407	A	A	8 8	G	7 7	G	7 7	G	9 9	Solyc08g068120.11	cds	DNA polymerase I family protein expressed	IPR001098	DNA-directed polymerase, family A	DNA	
SL240ch08	56595900	G	A	4 4	G	7 7	G	8 8	G	9 9	Solyc08g075320.21	intron	Cytochrome P450				
SL240ch08	62444594	A	G	5 5	A	9 9	G	5 5	A	10 10	Solyc08g082510.11	cds	F-box family protein	IPR005174	Protein of unknown function DUF295		
SL240ch09	1997252	A	G	6 6	A	11 11	A	13 13	A	6 6	Solyc09g008510.11	cds	UDP-glucosyltransferase family 1 protein	IPR002213	UDP-glucuronosyl/UDP-glucosylt ransferase		
SL240ch09	7856023	C	C	13 13	T	7 7	C	13 13	T	7 7	Solyc09g015040.11	cds	Os08g0119500 protein				
SL240ch09	19327710	C	T	6 6	C	6 6	C	4 4	C	4 4	Solyc09g025310.21	intron	NAC domain protein IPR003441	IPR003441	No apical meristem (NAM) protein		
SL240ch09	44965449	T	C	6 6	T	3 3	T	8 8	T	8 8	Solyc09g056500.11	cds	Ulp1 protease family C-terminal catalytic domain containing protein				
SL240ch09	57962415	C	T	5 5	C	4 4	C	4 4	T	10 10	Solyc09g064870.21	cds	Cbs domain containing protein expressed	IPR002550	Protein of unknown function DUF21		
SL240ch09	61451973	A	A	10 10	G	8 8	G	11 11	G	6 6	Solyc09g074190.11	intron	Baculoviral IAP repeat-containing 2	IPR001841	Zinc finger, RING-type		
SL240ch09	66998451	C	T	6 6	C	5 5	C	10 10	Solyc09g092680.21	intron	Protein transport protein Sec23	IPR006896	Sec23/Sec24 trunk region				
SL240ch09	67159143	G	A	4 4	G	8 8	G	8 8	G	10 10	Solyc09g097880.21	cds	DNA topoisomerase	IPR000380	DNA topoisomerase, type IA, core		
SL240ch10	4260136	T	T	7 7	C	7 7	T	6 6	C	12 12	Solyc10g011960.11	cds	Unknown Protein				
SL240ch10	5455496	G	G	5 5	A	9 9	G	5 5	A	14 14	Solyc10g017570.21	intron	Carbonyl reductase 3	IPR002347	Glucose/ribitol dehydrogenase		
SL240ch10	16907203	C	T	5 5	C	6 6	C	9 9	C	3 3	Solyc10g036800.11	cds	Polyprotein	IPR000477	RNA-directed DNA polymerase (reverse transcriptase)		
SL240ch10	52876075	A	A	9 9	G	9 9	A	7 7	G	7 7	Solyc10g055770.11	intron	Multidrug resistance protein 2	IPR016196	Major facilitator superfamily, general substrate transporter		
SL240ch10	59167378	A	A	8 8	G	5 5	G	5 5	G	11 11	Solyc10g076860.11	intron	BTB/POZ domain-containing protein	IPR003131	Potassium channel, voltage dependent, Kv, tetramerization		
SL240ch10	63937541	A	G	7 7	A	9 9	A	9 9	A	8 8	Solyc10g085420.11	cds	Os03g0816700 protein	IPR007612	Protein of unknown function DUF567		
SL240ch10	64368826	T	C	5 5	T	10 10	T	9 9	T	8 8	Solyc10g086080.11	cds	RING finger protein B	IPR001841	Zinc finger, RING-type		
SL240ch11	794307	G	A	12 12	G	11 11	G	8 8	G	11 11	Solyc11g005990.11	intron	Transcriptional corepressor SEUSS				
SL240ch11	7052445	C	C	7 7	T	4 4	C	5 5	T	9 9	Solyc11g013730.11	cds	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	IPR000685	Ribulose biphosphate carboxylase, large subunit, C-terminal		
SL240ch11	9929350	A	A	10 10	G	4 4	A	5 5	G	11 11	Solyc11g019990.11	cds	Response regulator 10	IPR012287	Homeodomain-related		
SL240ch11	11456389	C	T	8 8	C	7 7</											

SL240ch11	37947854	G	G	6 6	A	11 11	G	6 6	A	4 4	Solyc11g045450.1.1	cds	B3 domain-containing protein At1g49475	IPR003340	Transcriptional factor B3
SL240ch11	45057698	G	A	10 10	G	6 6	G	7 7	G	9 9	Solyc11g056670.1.1	intron	Cytochrome P450	IPR002885	
SL240ch11	47710642	A	G	5 5	A	5 5	A	10 10	A	7 7	Solyc11g065250.1.1	cds	Pentatricopeptide repeat-containing protein	IPR001764	Pentatricopeptide repeat
SL240ch11	52151921	A	A	8 8	G	4 4	G	10 10	A	4 4	Solyc11g071650.1.1	cds	Beta-D-glucosidase	IPR011831	Glycoside hydrolase, family 3, N-terminal
SL240ch12	3967471	A	G	8 8	A	9 9	A	8 8	A	9 9	Solyc12g011120.1.1	intron	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase	IPR011831	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase
SL240ch12	7589667	G	A	5 5	G	5 5	G	8 8	G	9 9	Solyc12g017860.1.1	intron	ATP-dependent RNA helicase DOB1	IPR016438	RNA helicase, ATP-dependent, SK12/DOB1
SL240ch12	12864351	C	T	3 3	C	4 4	C	8 8	C	8 8	Solyc12g020000.1.1	intron	Arginine/serine-rich coiled-coil protein 2		
SL240ch12	16037844	T	C	6 6	T	7 7	T	9 9	T	11 11	Solyc12g021360.1.1	intron	ApaG	IPR007474	ApaG
SL240ch12	21224774	A	G	6 6	A	8 8	A	4 4	A	8 8	Solyc12g027870.1.1	intron	Cell division protein kinase 8	IPR002290	Serine/threonine kinase
SL240ch12	25893433	C	T	4 4	C	4 4	C	4 4	C	8 8	Solyc12g035520.1.1	intron	Calmodulin-binding transcription activator 1	IPR005559	CG-1
SL240ch12	29802566	C	T	8 8	C	12 12	C	14 14	C	6 6	Solyc12g036190.1.1	intron	Ulp1 protease family C-terminal catalytic domain containing protein		
SL240ch12	34601993	C	T	6 6	C	14 14	C	12 12	C	8 8	Solyc12g038220.1.1	intron	Major Facilitator Superfamily protein	IPR016196	Major facilitator superfamily, general substrate transporter
SL240ch12	38777997	G	A	10 10	G	4 4	G	13 13	G	3 3	Solyc12g040320.1.1	intron	Lrr, resistance protein fragment		
SL240ch12	43200697	T	C	8 8	T	7 7	T	6 6	T	15 15	Solyc12g042460.1.1	intron	4-coumarate CoA ligase	IPR000873	AMP-dependent synthetase and ligase
SL240ch12	47243755	G	A	10 10	G	11 11	G	5 5	G	6 6	Solyc12g055890.1.1	cds	2-oxoisovalerate dehydrogenase alpha subunit	IPR001017	Dehydrogenase, E1 component
SL240ch12	51464040	C	T	8 8	C	4 4	C	9 9	C	9 9	Solyc12g062520.1.1	cds	AP-2 complex subunit	IPR015629	Clathrin coat associated protein AP-50
SL240ch12	55913677	G	A	6 6	G	3 3	G	7 7	G	8 8	Solyc12g076350.1.1	intron	Thyroid receptor-interacting protein 13		
SL240ch12	59337418	C	T	13 13	C	6 6	C	5 5	C	6 6	Solyc12g077580.1.1	intron	40S ribosomal protein S13	IPR009068	S15/NS1, RNA-binding
SL240ch12	64839972	G	A	12 12	G	3 3	A	6 6	G	5 5	Solyc12g099310.1.1	intron	Ubiquitin-conjugating enzyme 31	IPR000608	Ubiquitin-conjugating enzyme, E2

(3) HRM용 probe design 및 분석

(가) Filtering을 통해 얻은 720개의 SNP를 각 염색체당 평균 6.55 cM만큼 떨어지도록 SNP를 선별한 결과 258개의 SNP를 얻을 수 있었다(Table 3-21, Photo 3-27).

Table 3-21. 다형성 검정(polymorphism test)을 위한 SNP 분자표지

염색체	SNP probe	크기(cM)	분자표지 사이의 간격 (cM/분자표지)*
1	21	177.1	6.57
2	23	113.8	6.65
3	22	141.6	6.48
4	22	144.1	5.50
5	21	101.6	6.06
6	21	136.6	5.79
7	21	104.2	4.96
8	21	50.3	5.29
9	22	110.2	5.01
10	20	98.0	5.80
11	23	90.0	6.73
12	21	106.3	5.43
Total	258	1460.6	6.55

710개의 SNP 중 염색체 별로 분자 표지 간 거리가 평균 6.55 cM이 되도록 258개의 SNP를 선별하여 HRM probe를 제작하였다.

* 인접한 두 분자 표지 사이의 거리를 의미. 염색체 크기(cM) / SNP probe 개수.

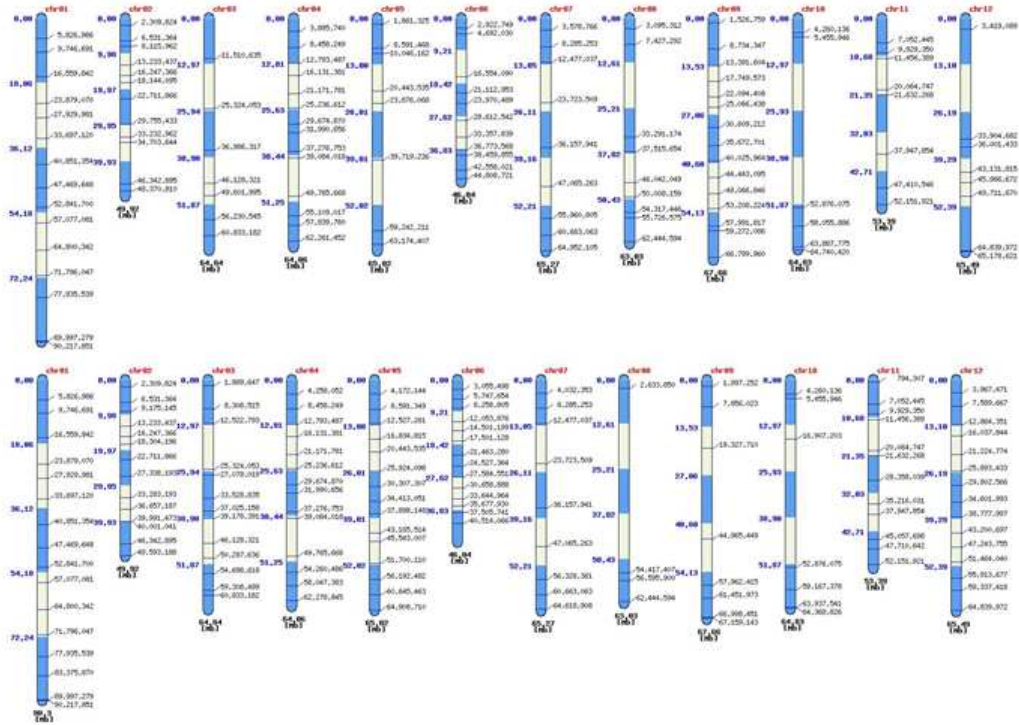


Photo 3-27. 다형성 검정(polymorphism test)을 위한 SNP 분자표지의 염색체상의 위치

(4) GBS기반 다형성 SNP 선발

(가) 다형성 검정(polymorphism test) 및 단일 염기 다형성 분자표지 선발; 2개 교배 조합의 양친 4계통을 두 반복으로 258개 분자표지들을 이용하여 교배친의 유전형 분석을 실시하였다 (Table 3-22). 유전자형이 이형 접합체이거나, 각각의 교배친 사이에 다형성이 없는 분자표지를 제외한 결과 P1 x P2 교배조합의 양친에서는 다형성이 있는 분자표지가 122개였고, P3 x P4 교배조합의 양친에서는 96개 발견 되었다.

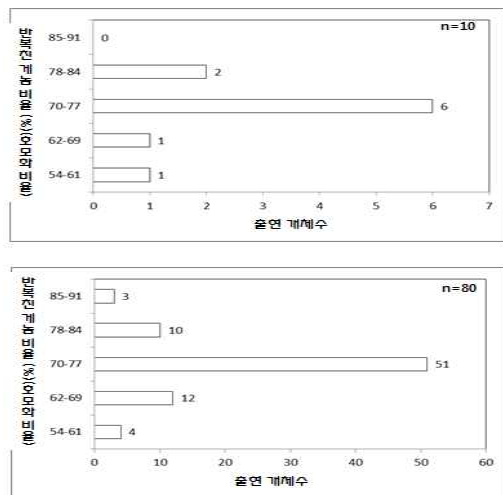
Table 3-22. 교배조합에 이용한 4개 자식계통간 258개 SNP중 교배조합별 다형성 SNP 선발

교배조합	선발 SNP
P1 x P2	122
P3 x P4	96

(5) GBS기반 SNP의 MAB 적용 효율성 분석

(가) MAB에 효율적인 샘플 수 측정; MAB에 효율적인 샘플의 수를 측정하기 위하여 토마토 여교배 1세대 집단 130개체를 대상으로 96개의 SNP 분자표지들을 이용하여 HRM system으로 분석한 자료를 활용하였다. 분석에 사용된 집단의 반복친과의 유사도는 59.4 ~ 91.2%로 측정되었다. MAB에 사용되는 샘플의 수가 증가 할수록 반복친과의 유사도가 가장 높은 개체를 선발 할 확률이 증가 할 것이라고 예상하였다. 따라서 MAB에 사용되는 마커 수가 일정할

때 샘플 수에 따른 반복친과의 유사도가 가장 높은 개체를 선발하는 것의 효율을 측정하기 위하여 130개의 개체 중 임의로 10, 40, 80개의 개체를 추출하였으며 임의로 추출된 집단에서 반복친과의 유사도 최댓값을 측정하였다. 그 결과 10개의 샘플을 대상으로 96개의 분자표지를 활용하였을 경우 반복친과의 유사도 최댓값이 84.6%로 측정되었으며, 40개의 샘플은 91.2%, 80개의 샘플은 81.8%로 측정되었다. 측정 결과 샘플 수가 증가함에 따라 반복친과의 유사도가 가장 높은 개체를 선발 할 확률이 증가하였다. 샘플이 80개 미만일 경우 샘플 수 증가에 따른 MAB 효율이 높은 비율로 증가하였다. 따라서 MAB를 수행 할 경우 샘플의 수가 적어도 80개 이상일 경우 효과적이라고 분석되었다.



- n=10개체의 경우 호모화정도는 85%이상 개체를 얻을 확률이 희박
- n=40개체의 경우 호모화정도는 85%-91% 개체 수 출현
- n=80개체의 경우 호모화정도는 85%-91% 개체 수 확보 가능

Photo 3-28. GBS기반 SNP의 MAB 적용 효율성 분석을 위한 BC1F1세대 개체별 Genotyping

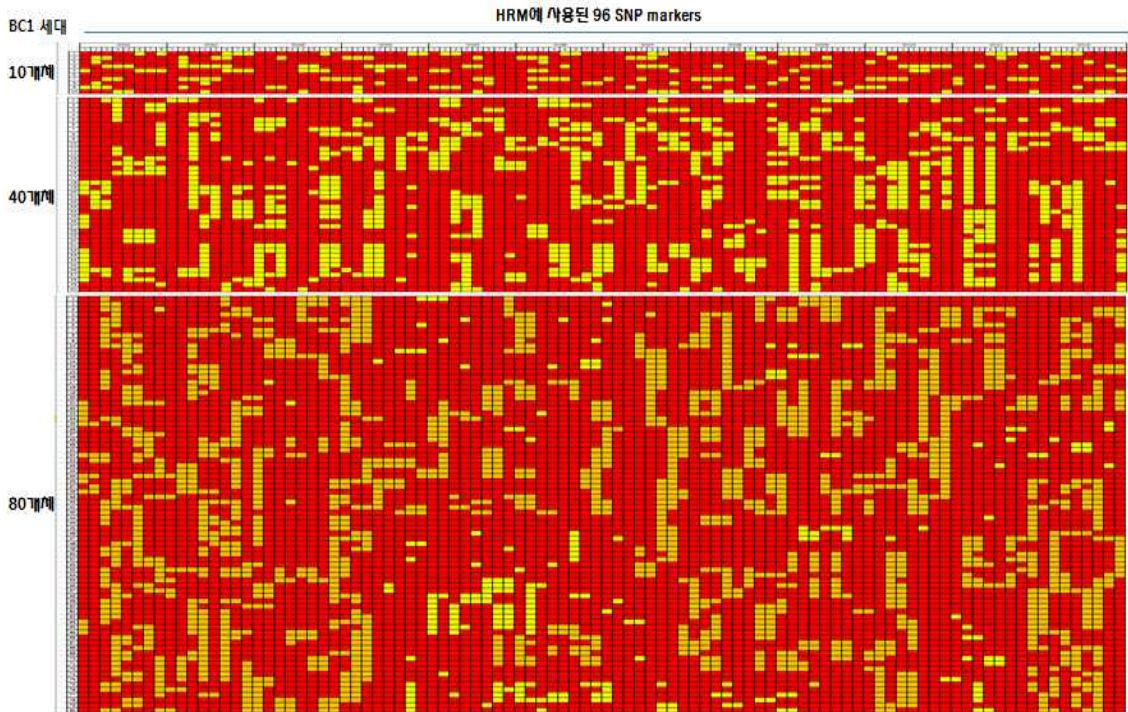


Photo 3-29. HRM에 사용한 SNP 마커를 통한 BC1F1 세대 개체별 유전자형 분석

(6) MAB에 효율적인 샘플의 수를 측정하기 위하여 토마토 여교배 2세대 집단의 60개체를 대상으로 96개의 SNP 분자표지를 이용하여 HRM system으로 분석한 자료를 활용하였다. 분석에 사용된 집단의 반복친과의 유사도는 73.5 ~ 98.7%로 측정되었다. MAB에 사용되는 샘플의 수가 증가할수록 반복친과의 유사도가 가장 높은 개체를 선발 할 확률이 증가 할 것이라고 예상하였다. 따라서 MAB에 사용되는 마커 수가 일정할 때 샘플 수에 따른 반복친과의 유사도가 가장 높은 개체를 선발하는 것의 효율을 측정하기 위하여 60개의 개체 중 임의로 10, 20, 30개의 개체를 추출하였으며 임의로 추출된 집단에서 반복친과의 유사도 최댓값을 측정하였다. 그 결과 10개의 샘플을 대상으로 96개의 분자표지를 활용하였을 경우 반복친과의 유사도 최댓값이 93.6%로 측정되었으며, 20개의 샘플은 95.2%, 30개의 샘플은 98.8%로 측정되었다.

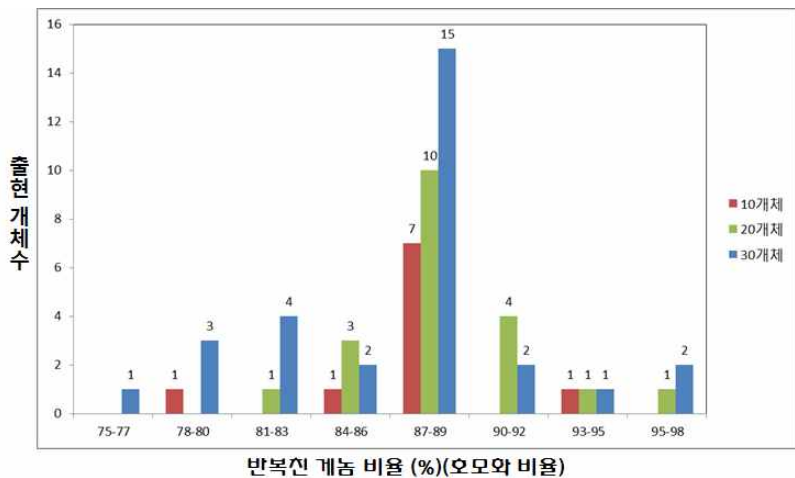


Photo 3-30. HRM에 사용한 SNP 마커를 통한 BC2F1 세대 개체별 유전자형 분석

(7) 선발 SNP를 이용한 BioMark™ HD System에 적용

(가) Fluidigm사의 BioMark™ HD System 이용 Probe 선발; 먼저 128개의 SNP로 부터 단일 염기 다형성 분자표지의 개수인 48에 맞춰 우선 선발하여 EP-probe를 제작하여 유용 SNP 24개를 선발하였다. 각 집단별로 단일 염기 다형성 유전형 분석을 위한 24개의 분자표지는 평균 약 60.4 cM, 만큼의 염색체를 담당할 수 있다. 실험재료는 P1, P2, F1을 1세트로 총 16세트를 이용하여 한개의 SNP type, 구분되지 않는 type들은 유효 SNP들은 제거하였다.

48 SNP markers

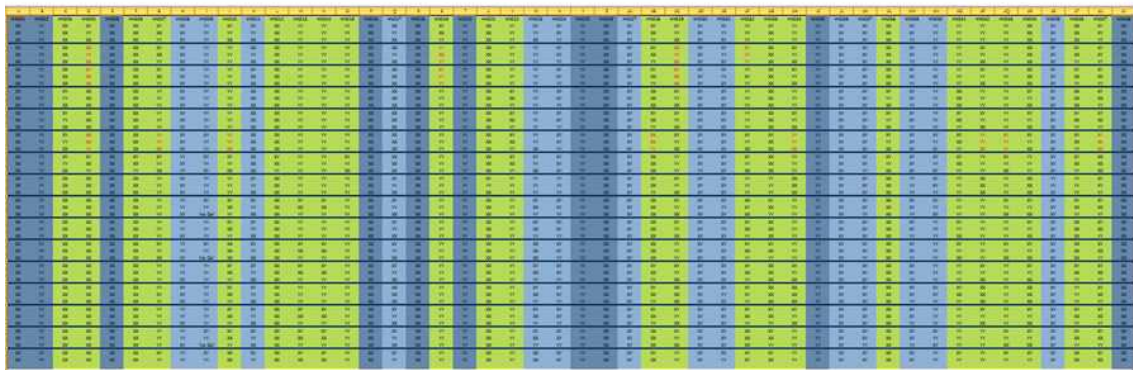


Photo 3-31. Fluidigm사의 BioMark™ HD System에 사용한 P1, P2 및 F1의 세트별 유전자형 분석 및 유효 SNP 선발

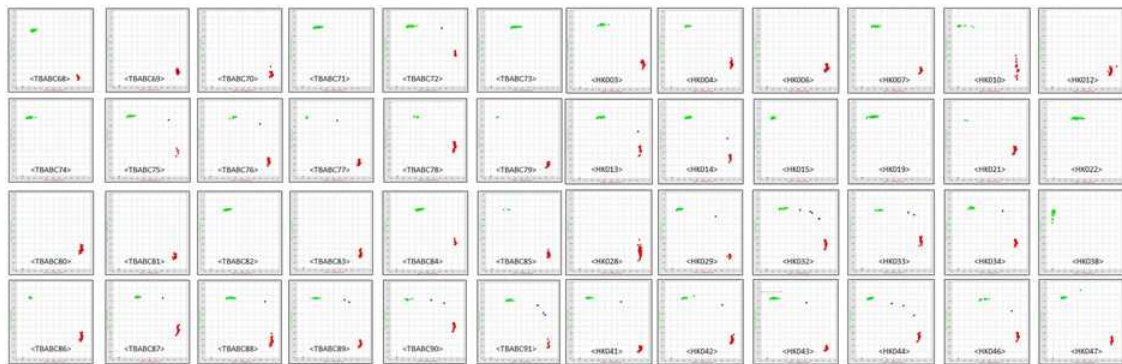


Photo 3-32. Fluidigm사의 BioMark™ HD System에 사용한 P1, P2 및 F1의 세트별 유전자형 분석 및 유효 SNP 선발

(나) 토마토 자식계통 264개 평가를 평가한 결과 48개 SNP에서 다형형을 보인 계통을 정리해보면 Photo 3-33과 같다. 현재 주)농우 및 토마토생명공학연구소 및 부산대, 한경대에서 육성중인 대과종을 대상으로 48개 EP1 system으로 분석한 결과 토생연 96계통은 hetero SNP 출현 비율 25% 정도로 육성중인 자식계통이 homo정도가 미약 (2-3세대 육성 필요)하며, 농우 120 계통은 hetero SNP 출현비율이 15% 정도로 육성중인 자식계통이 homo정도가 미약 (2-3세대 육성

필요)하였다. 부산대 및 한경대 계통은 hetero SNP 출현이 되지 않았음

(다) 이들 육성계통으로부터 48개 SNP가 모두 다형형으로 분리되는 계통을 정리한 결과 Table 3-23과 같다. 선발한 48개 SNP는 몇몇 계통에서 Homo SNP를 보이는 monomorphism의 양상을 보였으나, 대부분이 다형형을 보였다.

48 SNP marker

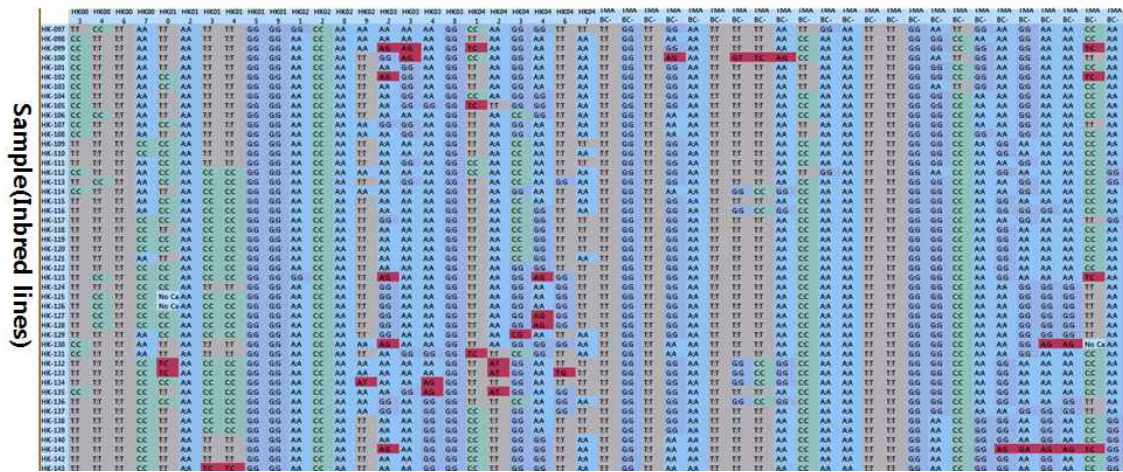


Photo 3-33. 선발한 48 SNP에 대한 대과종 토마토 육성 264계통의 genotyping 분석

Table 3-23. 대과종 토마토 육성계통으로부터 48개 SNP의 Genotyping 및 CIP 분석

SNP code	Polymorphism	PIC	Allelic loci																										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
HK01	poly	0.49	A	A	T	A	A	A	T	A	T	T	T	T	A	W	T	T	A	T	T	W	A	T	T	T	A	T	A
HK02	poly	0.50	C	C	C	T	C	C	T	T	C	C	T	T	T	C	Y	C	C	T	T	Y	C	Y	T	Y	T	Y	-
HK03	poly	0.48	C	C	C	T	T	C	T	C	C	T	T	C	T	C	C	C	T	C	C	Y	T	Y	Y	T	C	Y	C
HK04	poly	0.49	T	T	T	A	A	A	T	T	A	T	A	A	T	A	A	A	T	T	A	W	W	T	A	A	A	A	A
HK05	poly	0.49	C	C	C	T	C	C	T	C	T	T	T	T	T	C	T	C	C	T	T	Y	Y	Y	T	T	T	T	C
HK06	poly	0.47	A	C	C	C	C	C	A	A	C	C	A	C	C	C	C	C	C	A	C	A	A	A	M	A	C	M	C
HK07	poly	0.48	C	C	C	T	C	C	C	C	T	C	T	T	C	Y	C	C	C	C	T	Y	Y	C	T	T	T	T	T
HK08	poly	0.48	C	C	T	T	T	T	T	C	T	T	C	T	T	T	T	T	T	C	C	Y	Y	T	C	A	T	Y	C
HK09	poly	0.46	T	T	T	C	T	T	T	T	C	C	T	T	T	Y	T	C	C	T	Y	Y	T	Y	Y	C	C	-	
HK10	poly	0.49	T	T	T	T	A	A	A	A	A	A	A	A	A	T	A	A	A	T	A	T	T	T	A	A	T	W	T
HK11	poly	0.49	T	T	T	A	T	T	A	T	A	A	A	A	A	T	A	T	T	A	A	W	W	W	A	A	A	A	T
HK12	poly	0.48	C	C	T	C	C	C	T	T	C	C	T	Y	C	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	Y	C	Y	C
HK13	poly	0.48	C	C	T	C	C	C	T	T	C	C	T	Y	C	T	T	T	T	T	C	C	C	C	Y	C	Y	C	C
HK14	poly	0.48	C	C	C	G	C	C	G	C	G	G	G	G	G	C	G	C	C	G	G	G	S	G	G	G	G	G	C
HK15	poly	0.43	C	C	C	A	C	C	A	A	A	A	A	A	A	C	A	C	A	A	A	A	M	A	A	A	A	A	C
HK16	poly	0.49	T	T	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	T	C	C	C	C	T	T	T	T	Y	T	C	Y	T	
HK17	poly	0.49	C	C	C	T	T	T	C	C	T	C	T	C	T	T	C	T	T	C	C	Y	Y	Y	C	T	C	Y	C
HK18	poly	0.47	T	T	G	G	G	G	G	T	G	G	T	G	G	G	G	G	G	T	G	T	T	T	T	T	G	G	G
HK19	poly	0.50	A	A	G	A	A	A	A	G	A	A	G	R	A	G	G	G	G	G	G	A	A	A	G	G	G	R	-
HK20	poly	0.48	G	G	A	G	G	A	G	A	A	A	R	G	A	G	G	G	G	A	R	A	R	G	G	G	G	A	A

HK21	poly	0.44	G	G	A	A	A	A	A	G	A	A	G	A	A	A	A	A	G	G	R	R	A	G	G	A	A	A		
HK22	poly	0.43	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	C	C	C	C	C	C	A	M	A	M	M	A	A	A	C			
HK23	poly	0.49	G	G	A	G	A	G	A	A	G	A	G	A	A	A	A	G	G	G	A	A	A	A	A	G	G	G		
HK24	poly	0.44	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A	A	G	R	G	G	G	R	G	G	G			
HK25	poly	0.48	C	C	T	T	T	T	T	C	T	T	T	T	C	T	T	T	C	C	C	C	C	Y	C	T	Y	T		
HK26	poly	0.50	A	A	A	G	G	A	A	A	A	G	A	G	G	A	G	A	G	A	A	R	R	R	A	G	G	G	G	
HK27	poly	0.47	G	G	A	G	G	G	A	A	G	A	A	R	G	A	R	G	G	A	G	R	G	G	R	R	G	R	G	
HK28	poly	0.45	A	A	T	A	A	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	W	T	W	T	T	A	A	-		
HK29	poly	0.47	G	T	G	T	T	G	T	T	G	T	G	T	T	T	G	G	G	G	T	K	T	K	T	T	T	T	T	
HK30	poly	0.49	A	A	C	C	C	C	C	A	C	C	C	C	A	C	C	C	C	A	A	A	A	A	M	A	C	M	A	
HK31	poly	0.50	C	C	A	C	C	C	A	C	A	A	A	C	C	A	C	C	A	A	C	A	M	A	A	A	C	C	-	
HK32	poly	0.46	A	A	A	T	T	T	A	A	T	T	T	T	T	A	T	T	T	T	A	T	T	T	W	W	T	W	A	
HK33	poly	0.48	G	G	G	A	G	G	A	G	A	A	A	A	A	G	A	G	G	A	A	R	A	R	A	A	A	A	G	
HK34	poly	0.47	G	A	A	A	G	G	A	G	A	A	A	A	G	A	A	G	A	A	A	R	A	A	R	R	G	R	G	
HK35	poly	0.50	G	G	A	G	G	A	A	A	A	A	A	A	G	A	R	G	G	A	G	G	G	R	G	R	G	A	A	
HK36	poly	0.47	G	G	A	G	G	A	A	A	A	A	A	G	G	A	A	A	A	A	A	R	R	A	A	G	G	G		
HK37	poly	0.48	G	G	G	A	G	G	G	G	G	A	A	A	A	G	A	G	G	G	A	G	A	G	R	G	A	A	G	
HK38	poly	0.46	C	C	T	T	T	T	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	C	C	C	C	C	Y	C	T	T	T	
HK39	poly	0.50	C	C	C	C	C	C	T	T	T	C	T	C	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	C	Y	T
HK40	poly	0.43	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	G	A	A	A	A	A	A	A	G	R	G	R	G	G	G	G	-	
HK41	poly	0.47	A	A	G	G	G	G	G	A	G	G	A	G	G	G	G	G	G	A	A	A	R	R	A	A	G	G	G	
HK42	poly	0.49	T	T	G	G	G	G	G	T	G	G	G	G	T	G	G	G	G	T	T	T	T	T	K	T	G	K	T	
HK43	poly	0.48	G	G	A	G	G	G	A	A	G	A	A	R	G	A	R	G	G	A	G	R	G	R	R	A	G	R	G	
HK44	poly	0.43	C	C	C	T	T	T	T	C	C	T	T	T	T	C	T	T	T	T	Y	T	T	T	T	C	T	C		
HK45	poly	0.48	A	A	A	G	G	A	A	G	A	A	G	G	G	A	G	A	G	G	G	G	G	R	R	A	G	G		
HK46	poly	0.42	T	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	T	T	K	T	K	T	G	T		
HK47	poly	0.44	T	T	C	C	C	C	T	C	C	C	C	T	T	C	C	C	C	C	T	C	C	Y	C	C	T	Y	T	
HK48	poly	0.46	C	C	C	T	C	T	C	C	T	C	C	C	T	C	T	C	C	T	C	Y	T	T	C	Y	C	Y	-	
HK49	poly	0.44	G	G	T	G	T	T	T	T	T	T	G	G	T	K	G	G	T	T	T	T	T	T	T	T	G	K	T	
HK50	poly	0.48	T	T	T	A	T	T	T	T	T	A	A	A	A	T	A	T	T	T	A	T	A	T	W	T	A	A	-	
HK51	poly	0.43	C	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A	M	A	A	A	A	A	C	M	C	A	A	C	M	C
HK52	poly	0.43	T	T	G	G	G	G	G	G	G	T	T	G	G	G	G	T	G	G	G	K	G	G	G	G	T	T	T	
HK53	poly	0.43	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	Y	T	T	C		
HK54	poly	0.43	A	A	G	G	G	A	G	A	G	G	G	A	G	G	R	G	G	G	G	G	G	G	G	G	A	A	A	
HK55	poly	0.46	G	G	C	C	C	C	C	G	C	C	G	C	C	C	C	C	C	G	G	S	S	S	G	G	C	C	C	
HK56	poly	0.50	G	G	G	G	G	A	A	A	A	G	G	G	G	G	G	G	A	G	A	A	A	R	A	R	A	A	A	
HK57	poly	0.43	C	C	T	C	C	C	T	C	T	C	T	C	C	T	Y	C	C	C	T	C	C	C	Y	T	C	C	-	
HK57	poly	0.50	G	G	G	G	G	G	A	A	G	G	A	R	G	A	A	A	G	G	A	A	R	R	A	A	G	R	A	
HK59	poly	0.50	G	G	G	T	T	G	G	T	G	T	T	T	G	G	T	G	T	T	T	T	K	T	G	T	G	K	G	
HK60	poly	0.43	A	A	T	T	T	T	T	T	A	A	T	T	T	T	A	T	T	T	W	T	T	T	T	A	A	A		
HK61	poly	0.49	T	T	T	A	T	T	A	T	A	A	A	A	A	T	A	T	A	T	T	A	A	A	W	A	A	A	T	
HK62	poly	0.48	A	A	C	A	A	C	A	A	C	C	C	M	A	C	A	A	A	A	C	M	C	M	A	A	A	A	C	

(8) Fluidigm사의 BioMark™ HD System을 이용한 육성 집단별 개체 선발

(가) rin/rin 육성 집단(4285-1 × 4057-1)(BC1 세대); 48개의 분자표지를 통해 rin/rin 육성 집단(여교잡 1세대) 15개체에 대하여 단일 염기 다형성 유전형 분석을 실시하였다. SNP 마커

의 예러는 3개, genotyping 되지 않은 6개 마커를 제외하고 총 39개 마커를 이용하여 EP1 system 적용을 수행한 결과 반복친과의 유사도 61-81.7%였다. 반복친과의 유사도는 03번 개체가 81.7%로 가장 높았으며, 1, 2번 개체가 61%로 가장 낮았다(Photo 61). 이들 결과는 HRM primer로 BC1 개체별 실험 결과와 유사하였으며, EP1 probe수를 증가시키고, 개체수를 증가시킨다면 BC1에서 반복친과 유사한 계통을 가진 개체를 선발할 수 있을 것으로 생각된다.

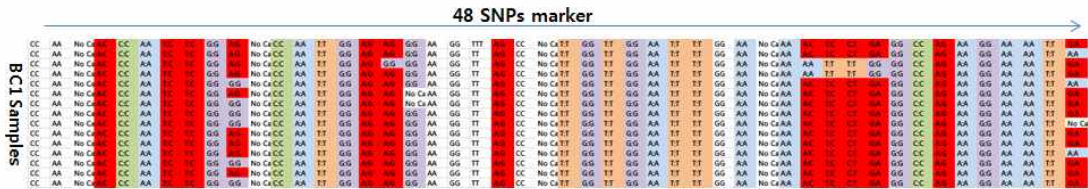


Photo 3-34. 선발한 48 SNP에 대한 대과종 토마토 BC1 계통 15개체에 대한 Genotyping 분석

(9) 과형이 다른 자식계통간 교배(4285-1 × 4057-1)으로부터 MAB 적용

(가) P1 및 P2의 특성; 과형이 다른 자식계통은 편구형과 장타원형 및 과색이 Red 및 오렌지색이며 다양한 내병성 지니고 있는 특성을 가지고 있다(Photo 3-35).

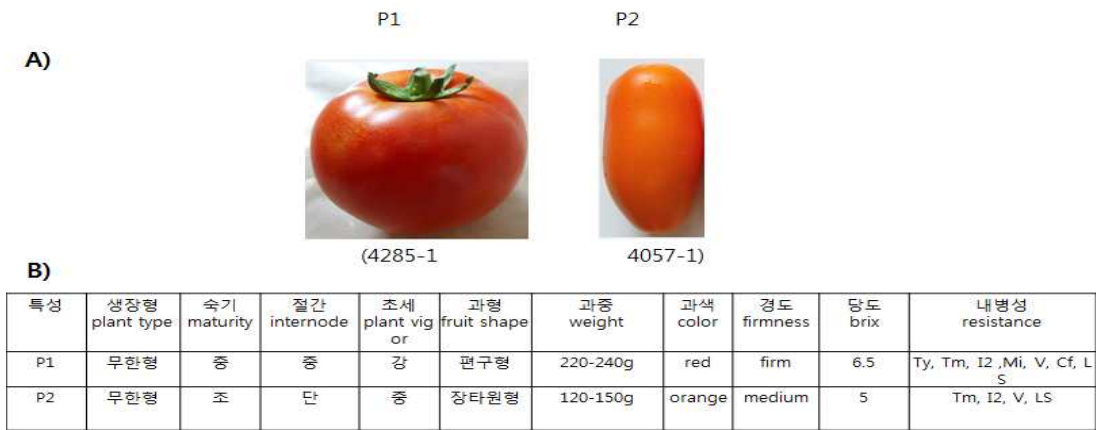


Photo 3-35. 과형이 다른 자식계통간 교배 (4285-1 × 4057-1)으로부터 MAB 적용을 위한 과 표현형 및 특성

(나) 이들 과형이 다른 자식계통을 이용하여 MAB용 선발 마커 개발을 위해 F1, BC1F1, BC2F1 집단을 만들어 24 chip 실험을 수행하였다. 실험에 사용한 24chip은 GBS기반으로 선발한 것으로 그 특성은 Table 3-24 와 같다.

Table 3-24. 선발한 SNP 마커의 염색체 위치 및 특성

Code	Chr	Position	Description
HanK1	DGTADDQ	Chromosome 8 53148383-53148503, 60047661-60047721	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101262737 (LOC101262737)
HanK2	TGGGGTC	Chromosome 8 62993969-62993949	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101259469 (LOC101259469)
HanK3	ACCATGT	Chromosome 10 59399-59279	malonyl-coenzymeA:thioesterase 5-O-glucoside-6'-O-malonyltransferase (LOC101256527)
HanK4	GGCTTGG	Chromosome 12 58797298-58797418	Solanum lycopersicum aquaporin TIP2-1 (LOC101245626)
HanK5	GTATTAG	Chromosome 1 1116662-1116792	Solanum lycopersicum Incubate 135-tyrosinase 2-1, chloroplast-like (LOC101262081)
HanK6	ACCAQCA	Chromosome 3 610294611-610294731	Nicotiana tomentosiformis respiratory burst oxidase homolog protein C (LOC104111720)
HanK7	BGGATGA	Chromosome 10 52672523-52672403	Solanum lycopersicum 24-methylsterol C-methyltransferase 2-like (LOC101242835)
HanK8	TTCAGGA	Chromosome 1 1292092-1292151	Solanum tuberosum sorbitol dehydrogenase-like (LOC102595131)
HanK9	GACGGAC	Chromosome 11 8169672-8169552	Solanum lycopersicum mRNA for CSNS protein
HanK10	TTTTGTA	Chromosome 1 324988-324878	Solanum lycopersicum protein PLANT CADMIUM RESISTANCE 2-like
HanK11	TGGAQCA	Chromosome 6 23693121-23693001, 32982879-32982759	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101256001 (LOC101256001); transcript variant X2
HanK12	GTGGTGG	Chromosome 3 61035794-61035514	whitely-induced gp51-phox (WFI)
HanK13	TGCTTAC	Chromosome 6 1647693-1647573	Solanum lycopersicum FRIGIDA-like protein 3 (LOC101252492)
HanK14	TGCTTAC	Chromosome 6 1647693-1647573	Solanum lycopersicum FRIGIDA-like protein 3 (LOC101252492)
HanK15	TGAGAGT	Chromosome 3 71619661-71619543	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101245339 (LOC101245339)
HanK16	TATCATAT	Chromosome 11 4925298-4925204, 4967836-4967802	Solanum tuberosum probable tyrosine-protein phosphatase At1g05000-like (LOC102605767); transcript variant X2
HanK17	AATGGCT	Chromosome 1 1189734-1189614, 1210717-1210597, 1402804-1402684	Solanum lycopersicum probable inactive 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase ACP2 (LOC101246950); mRNA
HanK18	DTGGAAC	Chromosome 11 7861576-7861655, 8430245-8430365	Solanum lycopersicum serine-threonine-protein kinase Aurora-2 (LOC101261479)
HanK19	GGTFAE	Chromosome 6 1723097-1723217	Solanum lycopersicum putative ER lumen protein-retaining receptor C298d4 (LOC101255302)
HanK20	TATGTAC	Chromosome 8 5316811-53168301	Solanum lycopersicum flowering time control protein FY (LOC101263044); transcript variant X2
HanK21	TCCGAAT	Chromosome 8 35249-35129, 49495-49375	Solanum tuberosum transcription factor MYC2-like (LOC102601372)
HanK22	DTCAACA	Chromosome 11 4801731-4801851	Solanum lycopersicum uncharacterized oxidoreductase AHg09670-like (LOC101247087)
HanK23	GGTFOAA	Chromosome 1 663769-663889, 827330-827450	Solanum lycopersicum GPI mannosyltransferase 2 (LOC101254228)
HanK24	AGGTGT	Chromosome 10 49994728-49994948, 65145-65025	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101260184 (LOC101260184)
HanK25	AATGAC	Chromosome 12 63232071-63232191, 80324031-80324620	Solanum lycopersicum cyclic nucleotide-gated ion channel 4 (LOC101243777)
HanK26	AATGAC	Chromosome 12 241950-241831, 256797-256677	Solanum lycopersicum cyclic nucleotide-gated ion channel 4 (LOC101243777)
HanK27	TCTDAAA	Chromosome 11 4670458-4670338, 4724462-4724342	Solanum lycopersicum UPD0678 fatty acid-binding protein-like protein A1g79260 (LOC101266473)
HanK28	ATDCAAT	Chromosome 1 18239717-18239837, 21883608-21883487	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC104646384 (LOC104646384)
HanK29	GACTTAA	Chromosome 3 45595542-45595662, 53422348-53422407	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101252062 (LOC101252062)
HanK30	CTGATTT	Chromosome 3 60854559-60854488, 14909-14789, 18163-18283, 71299704-71299584	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101252570 (LOC101252570)
HanK31	DTGAAAC	Chromosome 12 14535397-14535507, 16385020-16385149	Solanum lycopersicum electron transfer flavin-protein-subunitone oxidoreductase mitochondrial (LOC101249710)
HanK32	TATGGA	Chromosome 2 39266314-39266373, 54693-54750, 47098406-47098465	Solanum lycopersicum p21-activated protein kinase-interacting protein 1-like (LOC101260394)
HanK33	TGGAANT	Chromosome 2 46997828-46997948, 94234-94114, 7988-7869, 56794869-56794989	Solanum lycopersicum protein RALF-like 34 (LOC101266778)
HanK34	EATGAA	Chromosome 3 60785620-60782500, 71215602-71215482, 90401-90281, 90149-90263	Solanum lycopersicum heat shock 70 kDa protein 5 (LOC101255185)
HanK35	AGAGTA	Chromosome 11 5005598-5005478, 5054005-5053885	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101251436 (LOC101251436)
HanK36	AGABGG	Chromosome 10 52874028-52874148, 68349750-68349870	Solanum lycopersicum protein FEZ (LOC101267948)
HanK37	TGGGCTT	Chromosome 11 8345142-8345022, 9236762-9236612, 29450-29330, 31126-31006	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101266889 (LOC101266889)
HanK38	TGGGAG	Chromosome 11 4775339-4775358, 4815474-4815598	Solanum tuberosum 80S ribosomal export protein NMD9-like (LOC102592311)
HanK39	TGTTGAA	Chromosome 10 7385408-7385238, 8117609-8117489	Solanum lycopersicum auxin-induced protein 15A-like (LOC101245003)
HanK40	TGDAQGL	Chromosome 8 61599661-61599541, 69009032-69008912	Solanum lycopersicum E3 ubiquitin-protein ligase RHA18-like (LOC101250533)
HanK41	ACATAA	Chromosome 7 60815059-60814933, 60811439-60811345, 60821829-60821664, 106567	Solanum lycopersicum cytochrome P450 CYP72A219 (LOC101264947)
HanK42	TGAGAG	Chromosome 3 60808905-60808785, 1292-1412, 63890-63950	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101254582 (LOC101254582)
HanK43	DTTGAAC	Chromosome 11 8776434-8776314, 9566917-9566797	Solanum lycopersicum uncharacterized membrane protein AHg09580
HanK44	AGAGTTT	Chromosome 9 15115471-15115637, 1556317-1556436	Solanum lycopersicum RNA polymerase sigma factor sig1, chloroplast (LOC101267154); transcript variant X2
HanK45	GATTTTAC	Chromosome 3 2155587-2155467	Solanum tuberosum probable inactive receptor kinase AHg23740-like (LOC102592239); transcript variant X3
HanK46	ACAGATC	Chromosome 8 23546-23426, 61405144-61405024, 68796768-68796648	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101256207 (LOC101256207)
HanK47	TGATGTT	Chromosome 10 1688921-1688801, 1688502-1688382, 1356-1236	Solanum lycopersicum phosphoenolpyruvate carboxylase (LOC101261166)
HanK48	DGTADDQ	Chromosome 8 53148383-53148503, 60047661-60047781	Solanum lycopersicum uncharacterized LOC101262737 (LOC101262737)

(다) BC1F1 세대에서 Genotyping; 24개의 분자표지를 통해 과형이 다른 육성 집단(여교잡 1세대) 87개체에 대하여 단일 염기 다형성 유전형 분석을 실시하였다. 결과값이 제대로 나오지 않은 개체인 194, 195, 197, 200, 205, 207, 216, 220, 223 개체를 제외한 나머지 75개 개체들의 반복 친과의 유사도 평균값은 50.7%였다. 반복친과의 유사도는 42번 개체가 70.7%로 가장 높았으며, 3번 개체가 25%로 가장 낮았다(Photo 3-36).

SNP 분자 표지

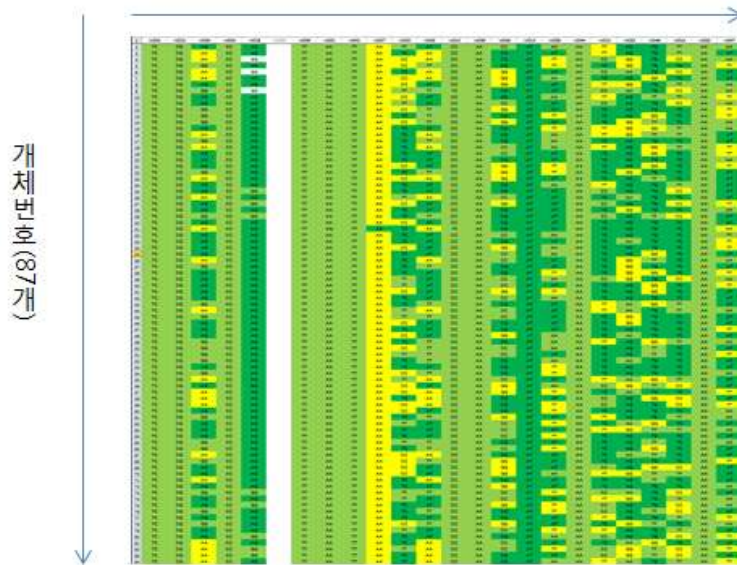


Photo 3-36. 과형이 다른 육성 집단(여교잡 1세대)의 BioMark™ HD system 분석 결과.

과형이 다른 육성 집단의 87개체에 대하여 24개 SNP 분자표지를 사용하여 BioMark™ HD system 분석 결과를 색깔로 표시하였다. 진한 녹색이 반복친의 유전형을 의미하고 녹색이 이형접합 유전형, 노란색이 공여친의 유전형을 의미한다. 흰 색으로 표시된 부분은 유전형 분석의 정확도가 낮은 부분을 의미한다. 반복친과 유전형 유사도가 가장 높은 개체의 유사도는 70.7%이며 가장 낮은 개체의 유사도는 25%이며 평균값은 50.7%이다.

(라) BC2F1 세대에서 Genotyping; 4170-1 × 4056-2의 분리 집단은 앞에서 분석한 집단 외에 한 세대를 더 진전시킨 분리집단(여교잡 2세대)을 대상으로 앞의 분석에서 사용한 분자표지와 동일한 24개의 분자표지를 사용하여 단일 염기 다형성 유전형 분석을 실시하였다. 72개 개체들의 반복친과의 유사도 평균값은 78.0%였다. 반복친과의 유사도는 26, 37, 75번 개체가 87.2%로 가장 높았으며, 141번 개체가 67.4%로 가장 낮았다(Photo 3-37).

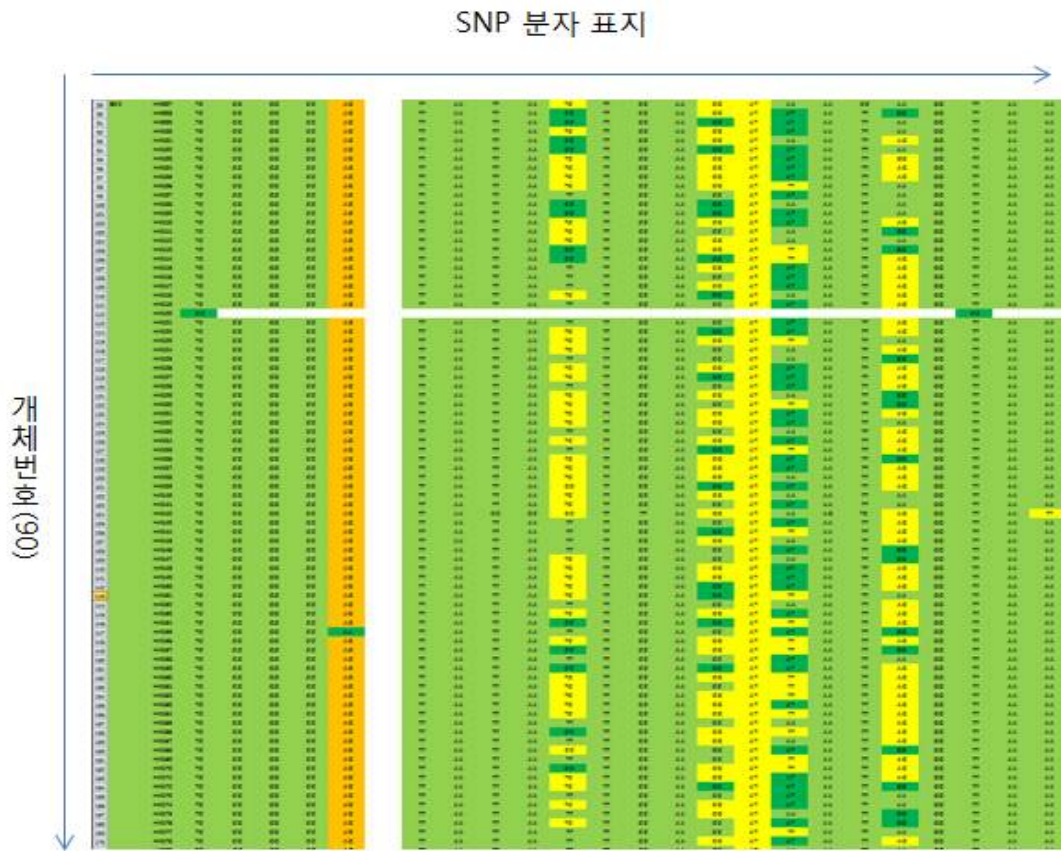


Photo 3-37. 과형이 다른 육성 집단(여교잡 2세대)의 BioMark™ HD system 분석 결과

그림에 대한 설명은 Photo 63와 같다. 반복친과 유전형 유사도가 가장 높은 개체의 유사도는 87.2%이며 가장 낮은 개체의 유사도는 67.4%이며 평균값은 78.0%이다.

(마) 현재 3차년도에서 4170-1 × 4056-2의 분리 집단은 여교배 3세대까지 MAB를 진행시켰다. 분석에 사용된 분자표지는 2차년도에서 사용된 분자표지 중 이형접합의 유전형으로 분석된 분자표지 24개와 72개의 새로운 분자표지를 추가하여 총 96개의 분자표지로 분석을 진

행할 예정이다. 유전형 분석에 사용된 샘플은 96개이며 2차년도에 실험에 사용된 45*45 BioMark™ HD system이 아닌 96*96 EP1™ system을 사용하려고 준비 중에 있다.

4. Gene pyramiding을 통한 레드계 육종소재 개발

가. 토마토 F1 품종간 교배를 통한 우량 유전자 집적 red 토마토 육종소재 개발

(1) 레드계 품종 메드슨과 티와이 250 품종을 교배하여 과중 250g, 고구형, 색상이 뚜렷하고, 초세가 강한 병저항성 인자가 다량 포함된 육종소재를 개발하기 위해 2005년부터 한경대학교 육종온실에 파종하여 자식종자 육성 및 세대를 진전시켜 S6 세대이다.

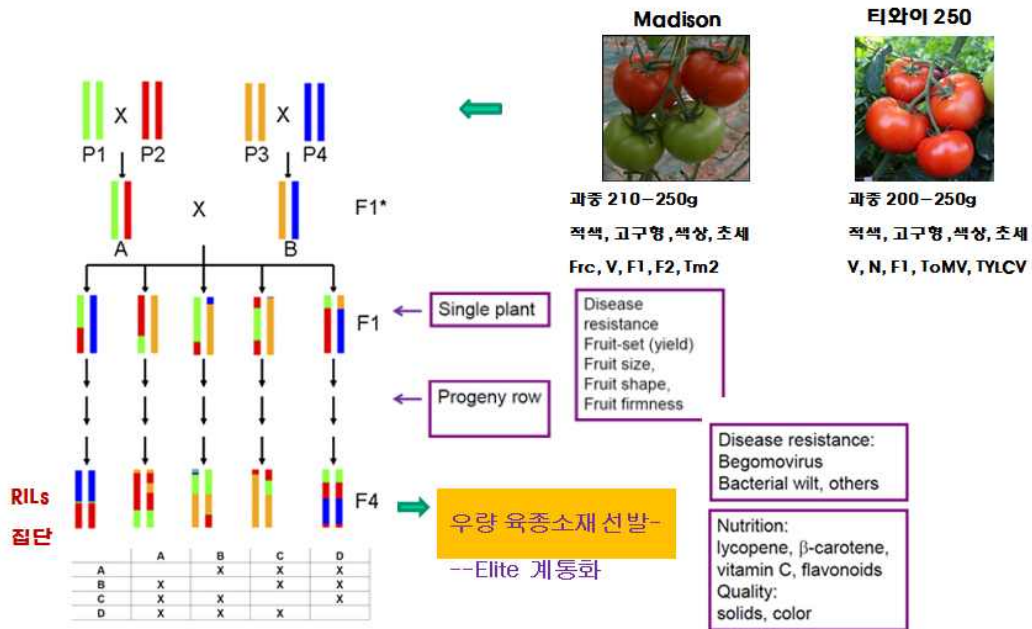


Photo 3-38. F1 품종간 교잡에 의해 얻어진 후대에서 계통선발

(2) S6 세대에서 육성한 계통의 원예적 특성분석은 Table 3-25와 같다. 대부분의 계통들은 초세가 강하고 식미가 좋으며, 당도가 4.3에서 6.1 Brix 이었다. 따라서 S7 또는 S8 세대에서 고품질 토마토 육성을 위해 교배조합을 작성함.

Table 3-25. 메드슨과 티와이 250 품종을 교배 후대 S6세대 57계통의 특성 조사

P5/P6 (S6)	생장형	숙기	결간	초세	과형	과중	과색	경도	과균 일도	식미	당도	내병성
09-906	무한	중	중	중강	고구	207	Red	Firm	2	3	4.3	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-908	무한	중조	중	중강	고구	251	Red	Firm	2	3	4.5	F2, N, Ty-2, Tm2a, B, V
09-911	무한	중조	중	중강	고구	213	Red	Firm	2	3	5.4	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, B
09-914	무한	중조	중	중강	고구	192	Red	Firm	2	3	5.9	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9, V
09-920	무한	중조	중	중강	고구	177	Red	Firm	2	3	4.3	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-923	무한	중조	중	중강	고구	223	Red	Firm	2	3	5.1	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, B
09-925	무한	중조	중	중강	고구	240	Red	Firm	2	3	5.2	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-928	무한	중조	중	중강	고구	198	Red	Firm	2	3	4.7	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-929	무한	중조	중	중강	고구	188	Red	Firm	2	3	4.4	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, V
09-932	무한	중조	중	중강	고구	172	Red	Firm	2	3	5.7	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-933	무한	중조	중	중강	고구	169	Red	Firm	2	3	5.8	F2, N, Ty-2, Tm2a, B, SW,
09-934	무한	중조	중	중강	고구	196	Red	Firm	2	3	5.4	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-935	무한	중조	중	중강	고구	177	Red	Firm	2	3	5.8	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, V
09-936	무한	중조	중	중강	고구	191	Red	Firm	2	3	5.9	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-938	무한	중조	중	중강	고구	183	Red	Firm	2	3	5.4	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-939	무한	중조	중	중강	고구	186	Red	Firm	2	3	5.8	F2, N, Ty-2, Tm2a, B, V
09-943	무한	중조	중	중강	고구	199	Red	Firm	2	3	5.4	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9, V
09-944	무한	중조	중	중강	고구	195	Red	Firm	2	3	5.8	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-945	무한	중조	중	중강	고구	233	Red	Firm	2	3	5.4	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9, SW,
09-948	무한	중조	중	중강	고구	263	Red	Firm	2	3	7.6	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, V
09-949	무한	중조	중	중강	고구	202	Red	Firm	2	3	5.3	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-950	무한	중조	중	중강	고구	232	Red	Firm	2	3	5.4	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9, V
09-951	무한	중조	중	중강	고구	201	Red	Firm	2	3	4.8	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-952	무한	중조	중	중강	고구	214	Red	Firm	2	3	4.9	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9, V
09-954	무한	중조	중	중강	고구	213	Red	Firm	2	3	4.3	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-955	무한	중조	중	중강	고구	189	Red	Firm	2	3	5.7	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, V
09-956	무한	중조	중	중강	고구	247	Red	Firm	2	3	5.9	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9, SW,
09-958	무한	중조	중	중강	고구	179	Red	Firm	2	3	5.8	F2, N, Ty-2, Tm2a, B
09-959	무한	중조	중	중강	고구	188	Red	Firm	2	3	4.6	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a,
09-960	무한	중조	중	중강	고구	182	Red	Firm	2	3	7.5	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-961	무한	중조	중	중강	고구	193	Red	Firm	2	3	5.7	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-962	무한	중조	중	중강	고구	168	Red	Firm	2	3	6	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, SW,
09-963	무한	중조	중	중강	고구	184	Red	Firm	2	3	6	F2, N, Ty-2, Tm2a, Cf9,
09-964	무한	중조	중	중강	고구	193	Red	Firm	2	3	6.1	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, B
09-965	무한	중조	중	중강	고구	211	Red	Firm	2	3	4.6	F2, N, Ty-2, Tm2a, SW, V
09-966	무한	중조	중	중강	고구	182	Red	Firm	2	3	5.0	F1, F2, N, Ty-2, Tm2a, V

(3) 과실의 특성은 Photo 3-39와 같다.



Photo 3-39. 메드슨과 티와이 250 품종을 교배 후대 S6세대 57계통의 과실 특성 조사



Photo 3-40. 메드슨과 티와이 250 품종을 교배 후대 S6세대 57계통의 생육상태 (한경대학교 부속농장)

4절 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발

1. 토마토 23계통의 Vitamin 성분분석

가. 토마토 23계통의 수용성 비타민(WSV) 정량분석

(1) 토마토 도입계통(재래종) 23 계통 사이에서 수용성 비타민(WSV; Water Soluble Vitamin)의 정량분석과 각 계통간의 비타민 함량 변이를 한 지를 보고자 하였다. 수용성 비타민의 함량 분석을 위해 'Sequential determination of fat-and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage'(Journal of Chromatography A, 2012, 179-188)을 참고하여 분석 조건을 확립하였다. 식물재료의 경우 토마토 유전자원을 생식완숙용, 가공용, 체리형, 등 세가지 용도에 속하는 재래종, 재배종, 야생종 등을 보유하고 있는 총 100계통에서 resequencing이 수행된 30계통을 선발하였고 그 중 재배 시 고온의 영향으로 누락이 된 개체를 제외한 23계통을 사용하여 vitamin 성분분석을 시행하였다. 선발된 시료는 전북 무주군에 위치한 농가의 양액재배형 비닐하우스에서 재배되었다. 재배된 토마토 시료는 50ml tube에 2~3개의 과실을 종자, 과육, 과피를 포함하면서 최대한 크기를 균일하게 잘라 넣어 진주 경남농업기술원에서 7일동안 동결건조를 실시하여 시료의 전처리를 실시하였다. 동결건조를 마친 시료는 진주 경상대학교 공동실험실습관의 생물소재분석실에서 성분분석을 시행하였다. 분석에 사용한 Vitamin standard 구비는 Thiamin hydrochloride (B1) (99.9% purity), riboflavin (B2) (99.9% purity), nicotinamide (B3) (99.9% purity), D-pantothenic acid (B5) (99.9% purity), pyridoxine hydrochloride (B6) (99.9% purity), Folic acid (B9) (97.0% purity) and ascorbic acid (C) (98.7% purity)를 SUPELCO (USA)에서 구매하여 사용하였고, Hippuric acid (IS) (98.0% purity), ammonium acetate and butylated hydroxytoluene (BHT)는 Sigma Aldrich (USA)에서 구매하여 사용하였다. Ammonium formate (99.0% purity)는 Fluka (USA), HPLC grade methanol, water and formic acid (98%)는 MERCK (Germany)에서 구매하여 사용하였다. Calibration standard과 quality control (QC) sample은 동결 건조된 시금치시료의 Spiking sample에 준해서 준비되었다. 이는 QC sample 농도(QC level)를 측정하는데 사용되었다. HPLC는 1260 series liquid chromatography system으로 degasser, pump, autosampler, 그리고 column oven (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)을 갖춘 장비를 이용하였다. 색층분 석(Chromatographic separation)은 Eclipse plus C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 mm) column (Agilent, USA)을 사용하여 분리해내었다. 이 때 이성분용매추출을 위해 증류수에 0.1%로 희석시킨 formic acid (A)와 methanol에 0.1%로 희석시킨 formic acid (B)를 혼용하여 20 mM ammonium formate를 용매로 사용하여 linear gradient를 다음과 같이 시행하였다: 40% B로 0분, 40-95% B로 0-1분, 95% B로 1-8분, 그런 다음 6분동안 각각의 설정값을 유지시켰다. 모든 실험시료는 flow rate는 0.5 mL/min, column의 온도는 25°C, 그리고 injection volume 은 10 mL의 조건으로 실험하였다. MS/MS 분석은 API 4000 system (AB Sciex, USA)를 사용하여 electro spray ionization (ESI)을 positive mode로 실시하였다. 양자화(Quantization)는 7 가지 비타민 성분분석 과정 중 이온변성 분석을 위해 multiple reaction monitoring (MRM)

mode를 사용하여 전구이온을 분석하였다. Fragment들과 단편화(Fragmentation) 조건들은 다음의 Table 1. BioAnalyst™, version 1.6.1과 Analyst software, version 1.6.1을 참고하였다. 또한 650℃ source temperature, 5.5 KV ionspray voltage, 5 collision gas (CAD), 10 curtain gas (CUR), 75와 70 psi ion source gas 1, 2의 조건으로 측정하였다. Dwell time은 75 msec로 설정하였고 분리도(Resolution)는 Q1과 Q3로 나타내었다.비타민 C, B1, B2, B3, B5, B6, B9 정량분석을 위한 시료의 추출과정은 다음과 같이 하였다. IS solution (1 mg/mL)를 동결건조된 시료 50mg에 첨가하고, 증류수로 희석시킨 10 mM ammonium acetate 1.4 mL와 methanol과 0.1% BHT를 50:50(v/v, %)로 혼합한 것을 첨가하였다. 모든 시약을 첨가한 시료를 5분동안 vortex하였고 ultrasonicator (100 WATTS, 42 KHZ, Branson® 2510RDTH, Danbury, USA)를 실온으로 5분동안 처리하였다. 그런 다음 centrifuged (HITACHI, Ibaraki, Japan)를 4,000 rpm으로 5분동안 실행하였고 상층액이 나뉘어지면 PTFE syringe filter (titan, 0.45 mm, SMI-Lab Hut Co, Ltd. Maisemore, UK)로 추출해내어 추출물을 LC-MS/MS 분석하였다 (Fig. 4-1).

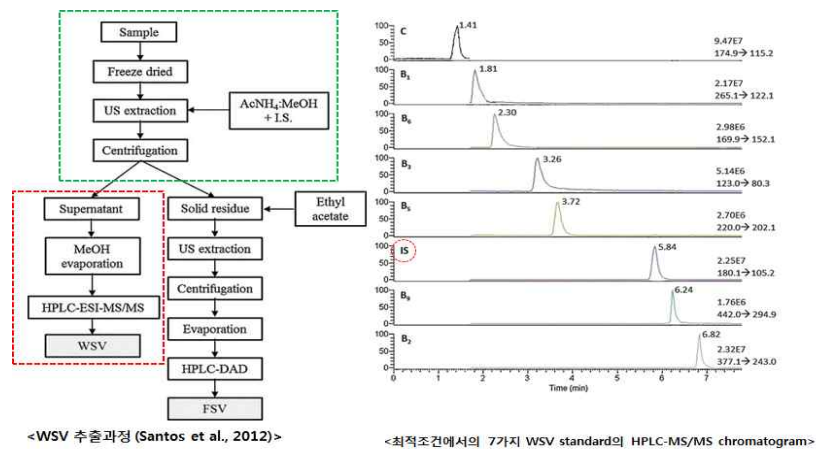


Fig 4-1. WSV, FSV 추출 모식도.

참고논문에 따라 이 중 WSV(Water Solubla Vitamin)경로를 참고 하여 추출을 시행하였다. 성분 함량 여부는 linearity, LOD(limit of detection)와 LOQ(limit of quantitation)로 확인하였고, 7가지 비타민에 대한 농도는 다음과 같이 검출되어 검량선(Standard Curve)에서 확인되었다: Pyridoxine Hydrochloride(B6) 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 25, 50 and 500 ng/mL, Nicotinamide (B3) 0.55, 1.1, 2.2, 5.5, 11, 55, 110 and 1100 ng/mL Ascorbic acid (C) 16.65, 33.3, 66.6, 166.5, 330, 1665, 3330 and 33300 ng/mL, D-Pantothenic acid(B5) 0.65, 1.3, 2.6, 6.5, 13, 65, 130 and 1300 ng/mL, Thiamine Hydrochloride (B1) 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10 and 100 ng/mL, Folic acid(B9) 1.65, 3.3, 6.6, 16.5, 33, 165, 330 and 3300 ng/mL, Riboflavin(B2) 0.9, 1.8, 3.6, 9.0, 18, 90, 180 and 1800 ng/mL. 각각의 7가지 비타민들에 대한 LOD(ng/mL)는 'signal-to-noise ratio of 3' 즉 '표준편차x3'을 이용하였고,

LOQ(ng/mL)는 'signal-to-noise of 10' 즉 '표준편차x10'을 이용하여 측정하였다.검량선 (Calibration curves)은 analyte/IS 면적의 비율과 analyte/IS 농도를 사용하여 평가되었다. 각각의 검량선(Calibration curve)은 1/x weighted linear regressions (n=5)를 사용함으로써 개별적으로 분석되었고(Table 4-1), Peak 면적은 가장 많은 product ion들의 Ion Chromatograms으로 측정되었다.

Table 4-1. 7가지 비타민 성분들의 각각에 대한 검량선($Y=aX+b$)과 r^2 (직선성).

Vitamin	Calibration curve	r^2
PH	$Y= 0.0257x +0.0067$	0.998
NA	$Y= 0.0389x -0.0202$	0.994
AA	$Y= 0.000323x -0.01$	0.991
PA	$Y= 0.00365x -0.00286$	0.992
TH	$Y= 0.132x -0.00205$	0.994
FA	$Y= 0.000895x -0.00135$	0.996
RF	$Y= 0.00103x -0.0008$	0.996

Standard물질의 분석으로 결과로 도출해낸 Peak와 시료 104, 106번을 이용하여 도출해낸 Peak를 비교하여 Ascorbic acid; AA (C), Nicotinamide; NA (B3), D-Pantothenic acid; PA (B5), Pyridoxine Hydrochloride; PH (B6)와 Thiamine hydrochloride; TH (B1)이 검출된다는 사실을 알 수 있었다(Figure 4-2). 다음은 비타민C함량이 독보적으로 높았던 시료 112번을 이용하여 Figure 4-2와 비교하여 같은 수용성비타민을 함유하고 있는지를 보고자 하였다(Figure 4-3). 시료가 column을 통과할 때 이동상(mobile phase)을 따라 이동시 column과 상호작용하면서 그 정도에 따라 속도차이가 일어나고 분리가 일어나기 때문에 다음 Figure에서 물질이 검출된 시간에 따른 농도 Peak가 standard solution과 동일하게 나타났는지를 비교하였다. 그 결과 비타민 C, B1, B3, B5, B6는 Peak가 나타난 시간과 Intensity가 거의 동일하여 같은 물질이 함유되어있다고 결론지었고, B2와 B9의 경우 같은 시간에 나타난 Peak가 같은 Intensity를 보이지 않고 다른 Peak가 매우 많이 검출되는 것을 확인할 수 있어 이 물질들은 토마토시료에 함유되어 있지 않다는 결론을 내렸다.

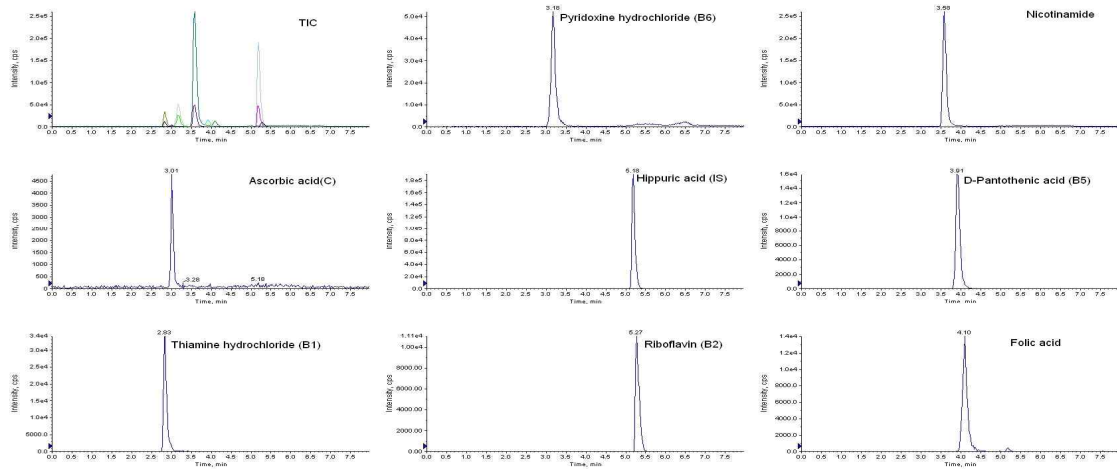


Fig 4-2. Standard solution의 chromatogram 결과. 이를 test한 두 시료의 결과를 대입시켜보는 기준으로 설정하였음.

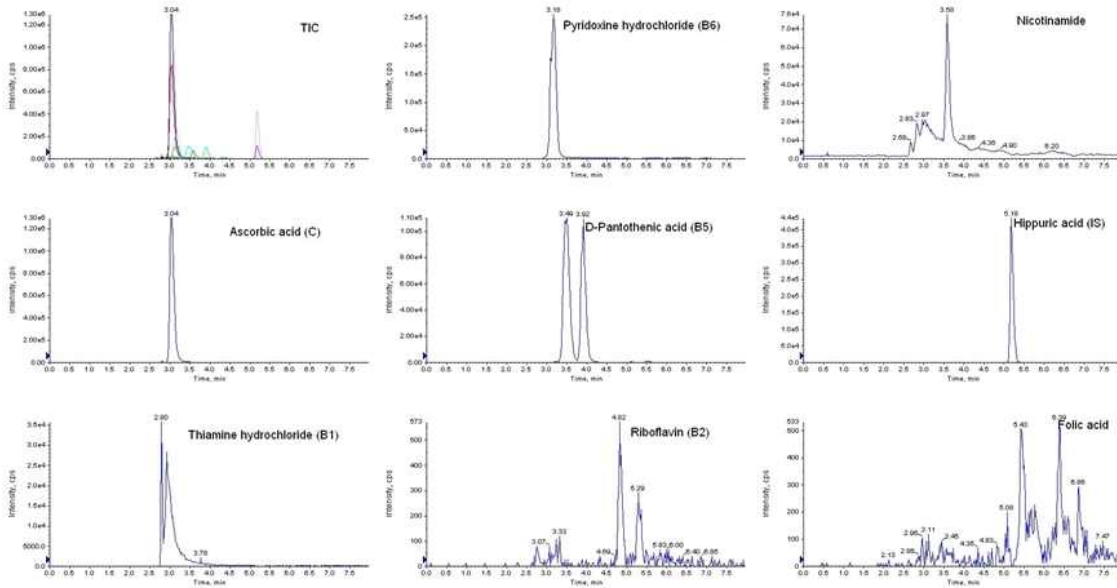


Fig 4-3. 시료 112번의 Chromatogram 결과.

성분분석 결과 Standard와 비교하여 ‘7가지 수용성 비타민 중 Riboflavin(B2)과 Folic acid(B9)는 LOD값 이하로 성분이 미달되어 함유하지 않는다.’로 결론지었고, 나머지 수용성 비타민의 농도는 가장 많이 검출된 비타민 C부터 B5, B3, B6, B1의 순서로 검출되었다(Table 4-2).

Table 4-2. 토마토 비타민 성분분석결과.

No.	ID	AA			NA			PA			PH			TH		
		concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD
1	Fla.7600	116.73	1.94	1.66	0.04	0.003	5.96	1.19	0.029	2.44	0.43	0.035	8.11	0.0047	0.0004	9.22
2	Fla.8233	111.13	4.56	4.11	0.05	0.004	7.27	1.00	0.100	10.01	0.27	0.010	3.59	0.0064	0.0002	2.86
3	GoldNugget	93.53	3.43	3.67	0.05	0.002	4.27	0.39	0.005	1.35	0.60	0.092	15.36	0.0070	0.0009	12.33
4	LA0797	203.60	15.74	7.73	0.09	0.001	1.34	1.21	0.090	7.50	0.60	0.005	0.88	0.0207	0.0006	2.79
5	LA1996	115.27	2.39	2.07	0.10	0.004	4.71	0.73	0.031	4.17	0.31	0.005	1.60	0.0142	0.0005	3.74
6	LA4425	124.60	6.76	5.42	0.11	0.005	4.94	1.27	0.097	7.66	0.36	0.023	6.31	0.0176	0.0005	2.76
7	NC84173	91.96	2.40	2.61	0.05	0.001	1.08	0.83	0.023	2.74	0.25	0.004	1.41	0.0075	0.0004	5.18
8	OhioMR13	89.47	3.43	3.84	0.05	0.002	3.31	0.81	0.084	10.39	0.41	0.012	2.89	0.0143	0.0001	0.35
9	PI564169	77.68	2.01	2.59	0.06	0.002	3.77	0.71	0.021	2.91	0.46	0.006	1.30	0.0121	0.0003	2.55
10	PI647532	83.93	4.31	5.13	0.04	0.001	1.50	0.84	0.123	14.61	0.23	0.027	11.76	0.0126	0.0010	7.55
11	Tropic	69.90	3.75	5.37	0.04	0.001	1.46	0.68	0.034	4.96	0.20	0.006	3.09	0.0080	0.0006	7.74
12	OH9242	105.32	0.59	0.56	0.07	0.007	10.07	0.38	0.018	4.67	0.20	0.005	2.46	0.0126	0.0004	3.52
13	M82	113.62	5.81	5.12	0.07	0.005	8.09	0.62	0.010	1.66	0.53	0.014	2.62	0.0104	0.0001	1.20
14	OH88119	135.46	2.40	1.77	0.05	0.003	5.00	0.37	0.018	4.90	0.38	0.006	1.49	0.0136	0.0007	4.86
15	Alisa Craig	115.13	8.44	7.33	0.07	0.006	9.10	1.20	0.118	9.89	0.28	0.007	2.50	0.0128	0.0012	9.32
16	BlackPlum	87.80	3.99	4.55	0.04	0.001	1.81	0.65	0.075	11.61	0.17	0.005	3.03	0.0183	0.0009	5.13
17	GoldBall	136.00	8.74	6.43	0.06	0.000	0.18	1.10	0.119	10.76	0.27	0.016	6.02	0.0168	0.0008	4.91
18	San Marzano	75.87	1.79	2.36	0.05	0.003	5.63	0.49	0.019	3.89	0.15	0.004	2.73	0.0169	0.0002	1.33
19	Yellow Pear	118.72	1.38	1.16	0.06	0.008	13.05	0.64	0.013	1.97	0.15	0.006	4.13	0.0123	0.0003	2.33
20	Yellow Stuffer	138.24	2.90	2.10	0.07	0.003	3.56	1.17	0.094	8.02	0.40	0.022	5.39	0.0205	0.0011	5.41
21	Cherokee Purple	95.81	0.68	0.71	0.05	0.003	5.62	1.37	0.077	5.61	0.39	0.009	2.23	0.0108	0.0004	3.58
22	97L97	123.98	4.40	3.55	0.07	0.008	11.72	0.30	0.003	1.09	0.34	0.016	4.82	0.0061	0.0001	1.26
23	PI114490	124.20	4.33	3.49	0.10	0.003	2.66	0.74	0.042	5.71	0.34	0.021	6.26	0.0131	0.0005	3.99

나. 토마토 23계통의 과특성(과크기 및 과색)에 따른 수용성 비타민(WSV) 함량변이

(1) 23계통 식물시료에 대한 수용성비타민 정량분석 데이터를 대, 중, 소과로 과중 평균 Data를 기준으로 소과는 0-60g, 중과는 60-150g, 대과는 150g이상으로 나누어 분류하였다(Table 4-3). 또한 과색에 따른 비타민 성분함량에 대한 상관관계를 알아보기 위하여 과색에 따른 분류를 시행하였다(Table 4-4).

위의 분류에 따라 비타민 함량에 따른 Graph를 수립하여 각각의 분류군에 따라 농도의 차이가 나는지를 알아보려고 하였다(Figure 4-4, 5). 한 계통을 3반복으로 하여 얻은 농도 값을 평균으로 나타내어 각 분류군 간의 비교분석을 하기 위해 SAS system을 이용하여 ANOVA 분석 후 $\alpha=0.05$ 로 하여 Duncan's multiple range test를 통해 유의성을 검정을 할 계획이었으나 각 분류군 간의 반복 수 차이가 커 현재 통계조건 확립 중에 있다. 따라서 본 보고서에는 그래프를 통해 대략적인 차이가 나는지 확인하였다. 반면, 같은 방식으로 전체의 시료를 하나의 독립적인 실험 군으로 보아 반복을 동일한 3반복으로 Duncan's multiple range test를 실시하였을 때는 각 계통들이 유의한 차이를 보이는 것을 알 수 있었다. LOD값 이하로 성분이 검출되지 못한 Riboflavin(B2)과 Folic acid(B9)를 제외한 Ascorbic acid; AA (C), Nicotinamide; NA (B3), D-Pantothenic acid; PA (B5), Pyridoxine Hydrochloride; PH (B6)와 Thiamine hydrochloride; TH (B1)에 대해 토마토 23계통에서 얻은 농도(concentration; mg/100g), 표준 편차(Standard Deviation; SD)와 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)값. RSD값을 구함으로서 한 계통에 대한 3반복에 대한 신뢰성을 확인하였다.

Table 4-3. 과중평균(g) data를 기준으로 Data 분류

NO.	종자번호	Genotype	과폭평균 (cm)	과높이평균 (cm)	과중평균 (g)	과색 Index	과형 Index 평균	Market Class	Species	Comment
5	SJG0045	GoldNugget	1.29	1.25	5.47	O	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
62	SJG0340	Yellow Pear	1.88	2.88	10.64	Y	obovoid	Vintage	S. lycopersicum	Selected
97	SJG0440	PI114490	2.88	2.32	12.04	Y	flat	Wild	S. lycopersicum	Selected
13	SJG0053	LA4425	3.41	2.30	14.44	R	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
50	SJG0324	BlackPlum	2.06	2.53	22.22	B	rectangular	Vintage	S. lycopersicum	Selected
17	SJG0093	PI564169	3.75	3.81	30.15	O	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
53	SJG0327	GoldBall	3.85	3.85	32.18	Y	round	Vintage	S. lycopersicum	Selected
48	SJG0322	Alisa Craig	2.60	2.11	33.18	R	flat	Vintage	S. lycopersicum	Selected
47	SJG0303	OH88119	4.03	4.39	40.43	R	rectangular	Processing	S. lycopersicum	Selected
44	SJG0285	M82	4.65	4.89	54.87	R	rectangular	Processing	S. lycopersicum	Selected
86	SJG0404	97L97	4.58	4.86	55.64	O	oxheart	Vintage	S. lycopersicum	Selected
60	SJG0337	SanMarzano	4.55	6.66	59.68	R	long	Vintage	S. lycopersicum	Selected
39	SJG0214	OH9242	4.88	4.90	61.88	R	ellipsoid	Processing	S. lycopersicum	Selected
1	SJG0009	Fla.7600	6.10	4.97	102.26	R	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
63	SJG0341	Yellow Stuffer	7.59	6.10	123.84	Y	ribbing	Vintage	S. lycopersicum	Selected
3	SJG0025	Fla.8233	6.86	4.99	137.12	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
16	SJG0088	OhioMR13	6.74	5.30	148.19	P	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
18	SJG0094	PI647532	8.15	4.77	156.05	Y	ribbing	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
27	SJG0107	Tropic	8.64	6.03	245.43	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
64	SJG0346	Cherokee Purple	9.03	5.53	264.65	P	ribbing	Vintage	S. lycopersicum	Selected
9	SJG0049	LA0797	-	-	-	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
10	SJG0050	LA1996	-	-	-	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
15	SJG0074	NC84173	-	-	-	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected

Table 4-4. 과색 Data를 기준으로 분류.

No.	ID	과색 Index	과크기
6	LA4425	R	소과
12	OH9242	R	중과
13	M82	R	중과
14	OH88119	R	중과
15	Alisa Craig	R	중과
18	San Marzano	R	중과
1	Fla.7600	R	대과
2	Fla.8233	R	대과
4	LA0797	R	대과
5	LA1996	R	대과
7	NC84173	R	대과
11	Tropic	R	대과
8	OhioMR13	P	대과
21	Cherokee Purple	P	대과
3	GoldNugget	O	소과
9	PI564169	O	중과
22	97L97	O	중과
19	Yellow Pear	Y	소과
23	PI114490	Y	소과
17	GoldBall	Y	중과
10	PI647532	Y	대과
20	Yellow Stuffer	Y	대과
16	BlackPlum	B	소과

참고한 논문에 따르면 소과에서 Vitamin C(Ascorbic acid)가 많이 검출된다고 보고되었지만, 본 실험을 통해 60g미만인 소과와 중과, 대과에서 4(L0797)을 제외한 전반적인 계통 간에서는 큰 차이를 확인하는데 어려움이 있었다. Fig. 3과 4의 그래프들을 참고해 보았을 때 수용성 비타민 5가지 모두에서 높은 농도를 띠는 4번 Sample(L0797)은 향후 거듭하여 분석해볼 계획이며 만일 모든 비타민에서 높은 농도를 가지는 토마토라면 수용성 비타민이 높은 계통으로서 좋은 육종재료가 될 수 있을 것으로 예상된다(Table 4-5).

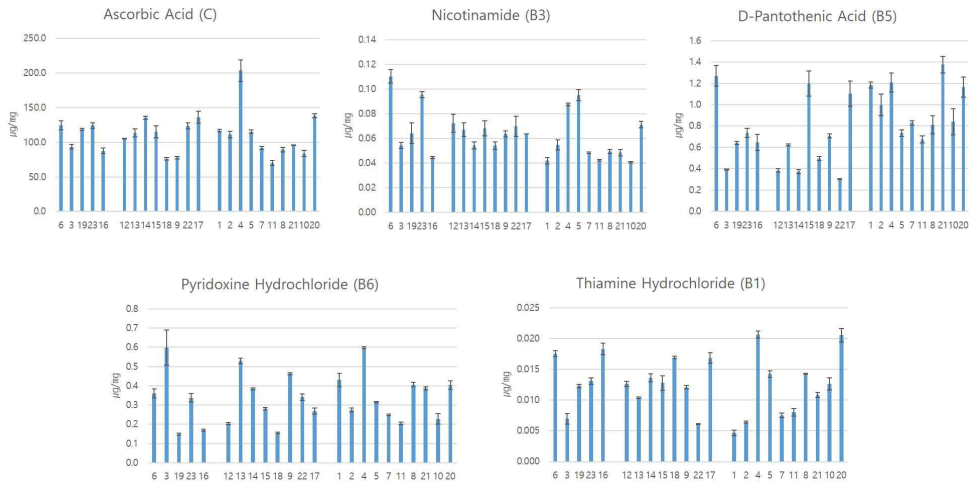


Fig 4-4. 수용성 비타민 농도 Data를 과크기에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 소과, 중과, 대과이다.

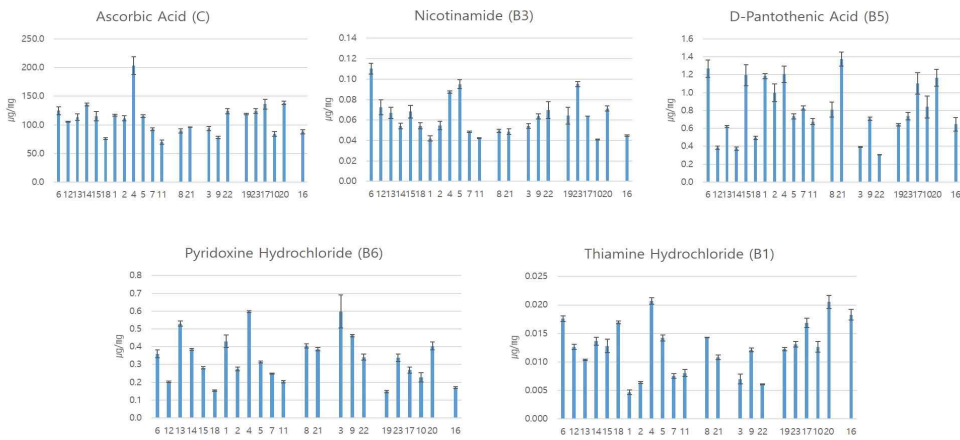


Fig 4-5. 수용성 비타민 농도 Data를 과색에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 Red, Pink, Orange, Yellow, Brown의 순서로 정렬한 것.

Table 4-5. 수용성 비타민 5가지에 대하여 가장 낮은 함량을 가지는 3가지 계통과 가장 높은 함량을 가지는 3가지 계통을 표시해놓은 것.

No.	ID	AA			NA			PA			PH			TH						
		concentration	SD	RSD	ID	concentration	SD	RSD	ID	concentration	SD	RSD	ID	concentrate	SD	RSD				
1	Tropic	69.90	3.75	5.37	PI647532	0.04	0.001	1.50	97L97	0.30	0.003	1.09	Yellow Pear	0.15	0.006	4.13	Fla.7600	0.0047	0.0004	9.22
2	San Marzano	75.87	1.79	2.36	Fla.7600	0.04	0.003	5.96	CH88119	0.37	0.018	4.90	San Marzano	0.15	0.004	2.73	97L97	0.0061	0.0001	1.26
3	PI564169	77.68	2.01	2.59	Tropic	0.04	0.001	1.46	CH9242	0.38	0.018	4.67	BlackPlum	0.17	0.005	3.03	Fla.8233	0.0064	0.0002	2.86
4	GoldBall	136.00	8.74	6.43	LA1996	0.10	0.004	4.71	LA0797	1.21	0.090	7.50	M82	0.53	0.014	2.62	BlackPlum	0.0183	0.0009	5.13
5	Yellow Stuffer	138.24	2.90	2.10	PI114490	0.10	0.003	2.66	LA4425	1.27	0.097	7.66	GoldNugget	0.60	0.092	15.36	Yellow Stuffer	0.0205	0.0011	5.41
6	LA0797	203.60	15.74	7.73	LA4425	0.11	0.005	4.94	Cherokee Purple	1.37	0.077	5.61	LA0797	0.60	0.005	0.88	LA0797	0.0207	0.0006	2.79

LA0797의 경우 5가지 비타민에서 모두 높은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다. 반면 Tropic과 97L97의 경우 다수의 비타민에서 낮은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다.

다. 토마토의 비타민 함량에 영향을 미치는 후보유전자와 QTL 탐색.

(1) 기존 보고된 논문 ‘Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations’(Plant Physiology, 2007, vol.143 1943–1953)에서 Ascorbic Acid(Vitamin C)의 생합성 경로를 파악하고(Fig. 6) 후보유전자로서 Ascorbic acid 생성을 활성화시키는 monodehydroascorbate reductase gene(MDHAR)과 다른 경로로서 Ascorbic acid 생성을 활성화시키는 과정에 가담하는 GDP-Mannose epimerase을 파악하였다. 나아가 이 gene을 Solcap SNP list에서 찾아, 본 실험에 사용된 23계통에 대한 SNP list에서 서로 간에 SNP 차이를 보이는지 알아보았다. 하지만 23계통에 대한 SNP 차이가 나타나지 않아 논문을 참고하여 candidate gene인 Monodehydroascorbate reductase, GDP-mannose 3',5'-epimerase, GDP-mannose pyrophosphorylase, L-galactono-1, 4-lactone dehydrogenase, Ascorbate oxidase, Monodehydroascorbate reductase에 대한 Solcap SNP ID 정보를 알아내 이를 23계통의 SNP list를 비교한 결과 solcap_snp_sl_35407 (GDP-mannose pyrophosphorylase)에서 PI 114490(No.23)가 다른 22계통과 다르게 AA가 아닌 GG를 띄는 것을 알 수 있었다. 하지만 이로 인해 Ascorbic acid(Vitamin C)의 함량이 다른 계통과 크게 다르지 않았음을 확인하였다.

Vitamin C 합성 유전자의 변이를 심층분석하기 위해 현재 고함량 Vitamin C 계통과 저함량 계통에서 위의 후보유전자들을 클로닝하고 염기서열변이를 탐색하여 마커를 개발하는 연구를 수행중에 있다.

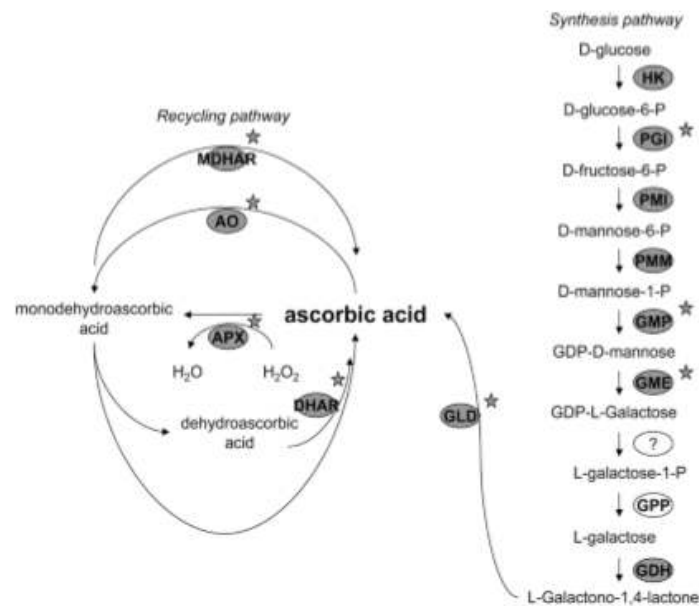


Fig 4-6. Ascorbic acid(Vitamin C) 생합성 경로.

2. 토마토 F1품종의 Vitamin 성분분석

가. 토마토 F1품종 12개의 수용성 비타민(WSV; Water Soluble Vitamin) 정량분석

토마토 F1품종 12개의 정량분석도 앞선 실험인 23계통의 방법으로 동일하게 진행하였다. 토마토 F1품종은 토마토생명과학연구소에서 시료를 받아 실시하였다 (Fig 4-7, Table 4-6).



Fig 4-7. 토마토생명연구소에서 제공받은 토마토 시료의 사진.

과색은 Red, Pink, Yellow, Orange, Brown이 있고, 대, 중, 소과로 여러 과 크기를 가지는 시료를 사용하였다.

Table 4-6. 토마토 F1 품종의 비타민 성분분석 결과.

No.	ID	Color	Remark	AA			NA			PA			PH			TH		
				Con	SD	RSD	Con	SD	RSD	Con	SD	RSD	Con	SD	RSD	Con	SD	RSD
1	Toast	R	대과	82.4693	0.6325	0.7670	0.0295	0.0007	2.3557	0.9986	0.0684	6.8468	0.4475	0.0110	2.4613	0.0074	0.0002	2.5451
2	GS Red	R	대과	99.4685	1.3263	1.3333	0.0263	0.0016	5.9567	1.6138	0.0369	2.2881	0.4714	0.0185	3.9305	0.0105	0.0001	1.2397
3	Marathon	P	대과	70.4000	0.3464	0.4921	0.0269	0.0016	6.0170	1.2200	0.0370	3.0361	0.3687	0.0175	4.7397	0.0174	0.0010	5.5803
4	K-star	P	대과	84.0304	1.4208	1.6908	0.0263	0.0017	6.6240	1.1817	0.0573	4.8501	0.3886	0.0087	2.2490	0.0127	0.0007	5.8746
5	Rapito	P	대과	85.8114	2.7308	3.1824	0.0248	0.0009	3.5857	2.0554	0.1113	5.4133	0.2898	0.0196	6.7602	0.0124	0.0007	5.5980
6	Black Ace	B	중과	95.4733	3.6397	3.8123	0.0332	0.0026	7.7494	0.7866	0.0120	1.5208	0.4588	0.0181	3.9428	0.0081	0.0003	3.7778
7	Orange	O	중과	99.5996	1.6353	1.6419	0.0305	0.0023	7.5735	2.0219	0.1147	5.6743	0.3762	0.0071	1.8972	0.0074	0.0005	6.6698
8	Candy	R	소과	132.3981	2.4076	1.8184	0.0315	0.0031	9.8880	1.0073	0.0413	4.0980	0.4683	0.0150	3.2121	0.0115	0.0003	2.6992
9	Crown	R	소과	80.0801	0.2883	0.3600	0.0268	0.0010	3.9049	0.5117	0.0241	4.7129	0.3858	0.0148	3.8450	0.0124	0.0005	4.4019
10	Mini Chal	R	소과	89.0725	2.8794	3.2326	0.0328	0.0004	1.2891	0.4290	0.0082	1.9118	0.3751	0.0104	2.7748	0.0107	0.0004	3.7287
11	Miracle	R	소과	153.2680	7.4920	4.8881	0.0344	0.0015	4.2907	0.6364	0.0343	5.3898	0.5824	0.0319	5.4770	0.0136	0.0005	3.5732
12	Yellow	Y	소과	59.8531	2.5583	4.2743	0.0258	0.0021	8.2380	0.2830	0.0082	2.9113	0.3489	0.0078	2.2246	0.0114	0.0005	4.5377

LOD값 이하로 성분이 검출되지 못한 Riboflavin(B2)과 Folic acid(B9)를 제외한 Ascorbic acid; AA (C), Nicotinamide; NA (B3), D-Pantothenic acid; PA (B5), Pyridoxine Hydrochloride; PH (B6)와 Thiamine hydrochloride; TH(B1)에 대해 각각 토마토 12 품종에서 얻은 농도 (concentration; mg/100g), 표준편차(Standard Deviation;SD)와 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)값. RSD값을 구함으로서 한 품종에 대한 3반복에 대한 신뢰성을 확인하였다.

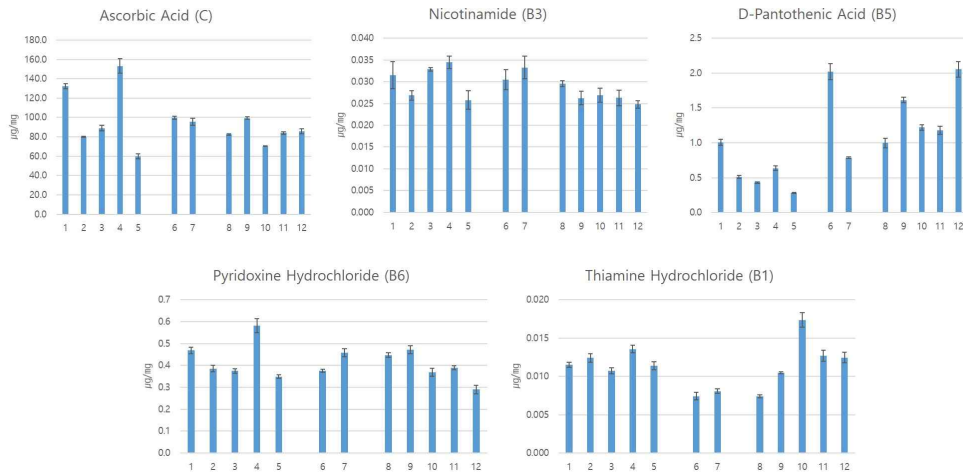


Fig 4-8. 수용성 비타민 함량 Data를 과색에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 Red, Pink, Orange, Yellow, Brown의 순서로 정렬한 것.

또한 마찬가지로 토마토 F1품종에 대한 Data 또한 과색과 과 크기로 분류하여 Graph로 나타내었고, 분류군에 따라 차이를 나타내는지 알아보려고 하였다. 먼저 수용성 비타민 함량 Data를 과색에 따라 분류를 하였을 때는 vitamin C와 B6의 경우 Red에서 높은 함량을 보이는 품종으로 1(Candy), 4(Miracle)로 둘 다 소과에 해당되어 참고논문의 내용과 일치하는 경향을 나타내었다. B3의 함량은 모든 시료에서 비슷하게 검출된 것을 알 수 있었고, B5의 경우 Pink의 12(Rapito)가 가장 높은 함량을 나타내었고, B1의 경우 Pink의 10(Marathon)에서 높은 함량을 보였다. 다음은 과 크기에 대해 분류하여 Graph를 작성한 것으로 이 결과 Ascorbic acid(vitamin C)의 경우 소과에서 1(Candy), 4(Miracle)이 다른 과색의 토마토 시료보다 확연하게 함량이 높은 경향을 보였다는 결과를 참고논문에 준하여 확인할 수 있었으나, 향후 vitamin B군과 과 크기에 대한 연관성을 알아볼 필요성이 있었다. 특히 B5는 소과에서 중, 대과에 비하여 낮은 함량을 볼 수 있어 이에 관련된 기작과 비타민 B군의 생합성경로, 후보유전자를 알아볼 필요가 있었다. B3의 경우에는 대, 중, 소과에서 함량의 차이가 거의 없지만 가장 높은 함량을 띠는 품종은 비타민 C와 동일하게 소과의 4(Miracle)임을 알 수 있었다. B6의 경우에도 소과의 4(Miracle)이 높은 함량을 띠는 것을 알 수 있었고, B1의 경우에는 대과의 10(Marathon)이, B5에서는 중과의 12(Rapito)가 가장 높음을 확인하였다(Figure 4-9).

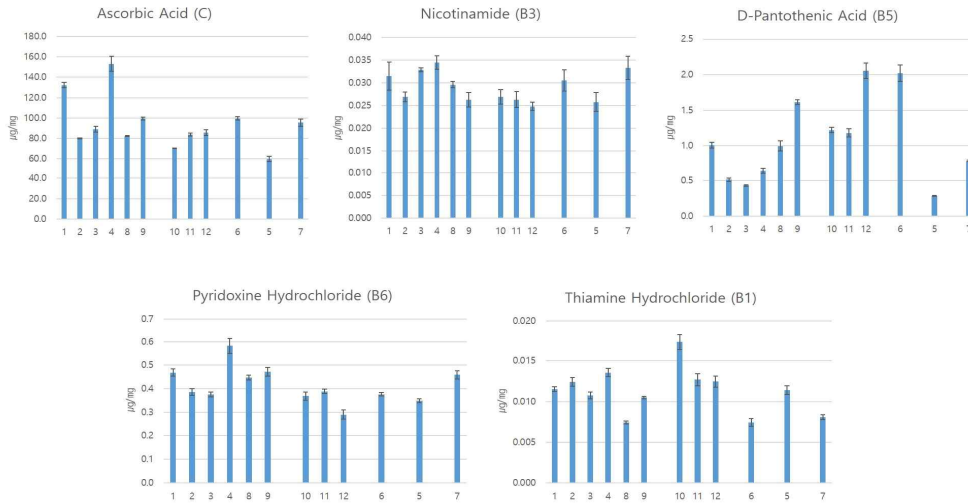


Fig 4-9. 수용성 비타민 함량 Data를 과 크기에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 소과, 중과, 대과의 순서로 정렬한 것.

위의 그래프들을 참고해 보았을 때 수용성 비타민 4가지에서 높은 농도를 띠는 4번 품종 (Miracle)은 향후 거듭하여 분석해볼 계획이며 만일 B5를 포함한 모든 비타민에서 높은 농도를 가지는 것으로 확인된다면 수용성 비타민이 높은 품종으로서 상업적 가치가 있을 것으로 예상된다(Table 4-7). 또한 F1품종의 결과에서는 기존에 보고된 바와 같이 소과에서 Vitamin C(Ascorbic acid)함량이 높았으므로 이를 23개 계통에서 분류된 소과와 비교할 필요성이 있다.

Table 4-7. 수용성 비타민 5가지에 대하여 가장 낮은 함량을 가지는 3가지 계통과 가장 높은 함량을 가지는 3가지 계통을 표시해놓은 것.

No.	AA		NA		PA		PH		TH	
	ID	average	ID	average	ID	average	ID	average	ID	average
1	Yellow	59.8531	Rapito	0.0248	Yellow	0.2830	Rapito	0.2898	Toast	0.0074
2	Marathon	70.4000	Yellow	0.0258	Mini Chal	0.4290	Yellow	0.3489	Orange	0.0074
3	Crown	80.0801	GS Red	0.0263	Crown	0.5117	Marathon	0.3687	Black Ace	0.0081
4	Orange	99.5996	Mini Chal	0.0328	GS Red	1.6138	Candy	0.4683	K-star	0.0127
5	Candy	132.3981	Black Ace	0.0332	Orange	2.0219	GS Red	0.4714	Miracle	0.0136
6	Miracle	153.2680	Miracle	0.0344	Rapito	2.0554	Miracle	0.5824	Marathon	0.0174

4(Miracle)의 경우 5가지 비타민에서 모두 높은함량을 보이는 것을 알 수 있었다. 반면 12(Yellow)과 Rapito의 경우 다수의 비타민에서 낮은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다.

3. 토마토 35종의 수용성 비타민(Water Soluble Vitamin; WSV) 성분 분석

가. 토마토 23계통의 수용성 비타민 정성 및 정량분석

(1) 토마토의 수용성 비타민 정량분석을 위한 추출법은 다음과 같다. 동결 건조된 시료 50mg에 IS solution (1mg/mL)를 첨가하고, 증류수로 희석시킨 10mM Ammonium acetate 1.4 mL와 Methanol과 0.1% BHT를 50:50(v/v, %)로 혼합한 것을 첨가하였다. 모든 시약을 첨가한 시료를 5분 동안 Vortex하고 Ultrasonicator (2510RDTH, Branson, Danbury, USA)를 실온으로

5분 동안 처리한 다음 Centrifuged (CT6E, HITACHI, Ibaraki, Japan)를 4,000 rpm으로 5분 동안 실행하여 상층액이 나뉘면 PTFE syringe filter(SMI-Lab Hut Co, Ltd. Maisemore, UK)로 추출하였다. 추출물은 LC-MS/MS로 정량분석을 하였다.

(2) HPLC는 1260 series liquid chromatography system으로 Degasser, Pump, Autosampler 그리고 Column oven (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)을 갖춘 장비를 이용하였다. 색층분석(Chromatographic separation)은 Eclipse plus C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 mm) Column (Agilent, USA)을 사용하여 분리하였다. 이때 이성분 용매추출을 위해 증류수에 0.1%로 희석시킨 Formic acid (A)와 Methanol에 0.1%로 희석시킨 Formic acid (B)를 혼용한 20mM Ammonium Formate를 용매를 제조한 후 Filtering과 Degassing한 후 Pump의 기포를 제거하였고 Column을 확인하고 Pump 압력을 확인하였다. 그런 다음 Column의 누수와 온도를 확인하였고 Sample을 주입하여 40-95% B로 0-1분, 95% B로 1-8분, 6분 동안 각각의 설정값을 유지시키는 방식으로 Linear gradient를 시행하였다. 모든 실험시료의 Flow rate는 0.5 mL/min, Column의 온도는 25°C, 그리고 Injection volume은 10mL의 조건으로 실험하였다 (Figure 4-10).

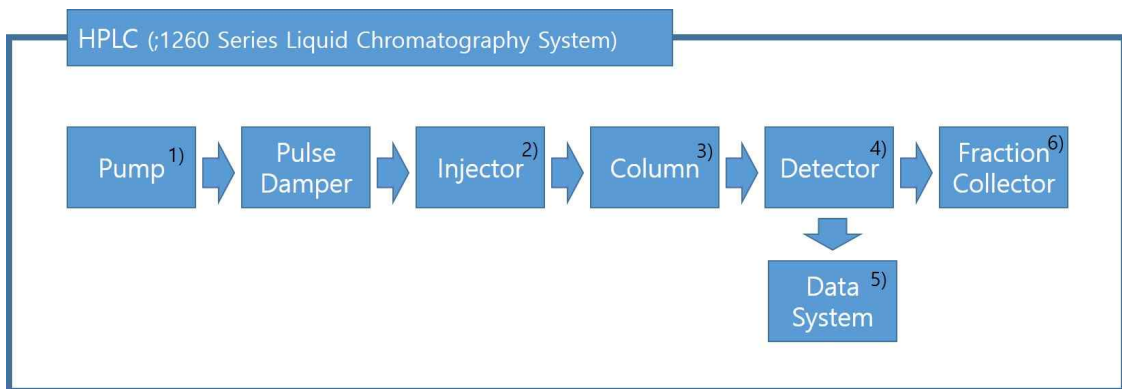


Fig 4-10. HPLC chromatogram 수행 과정. 용매 저장 용기에서 용매를 끌어서 시료주입기로 넣는 과정(1), 분석하고자 하는 시료를 주입하는 곳으로 Column으로 시료를 보내기 위한 부분(2), 다양한 재질의 충전재가 채워져 있으며 시료들을 각각 단일 성분으로 분리해냄(3), Column에서 분리되어 나온 시료에 비례하여 Signal로 바꾸어냄(4), 검출기에서 나온 Signal 수치를 Y축으로, 검출된 시간을 X축에 표현하여 Chromatogram을 작성(5), 분리된 성분들을 순수하게 회수(6).

(3) 수용성 비타민의 정성분석에 사용된 표준물질은 Thiamin hydrochloride (B1) (99.9% purity), Riboflavin (B2) (99.9% purity), Nicotinamide (B3) (99.9% purity), D-pantothenic acid (B5) (99.9% purity), Pyridoxine hydrochloride (B6) (99.9% purity), Folic acid (B9) (97.0% purity) and Ascorbic acid (C) (98.7% purity)의순도로 SUPELCO (Bellefonte, Pennsylvania, USA)에서 구매하여 사용하였다.

(4) Calibration standard과 quality control (QC) sample은 동결 건조된 시금치시료의 Spiking sample에 준해서 준비하였고 이는 QC sample 농도(QC level)를 측정에 사용되었다.

(5) MS/MS 분석은 API 4000 system (AB Sciex, USA)를 사용하여 Electro spray ionization (ESI)을 Positive mode로 실시하였다. 양자화(Quantization)는 이온 변성 분석을 위해 Multiple Reaction Monitoring (MRM) Mode를 사용하여 전구 이온을 분석하였다. Fragment들과 단편화(Fragmentation) 조건들은 BioAnalyst™, Version 1.6.1, and The Analyst Software, Version 1.6.1을 참고하여 650°C Source Temperature, 5.5KV Ionspray voltage, 5 Collision gas (CAD), 10 Curtain gas (CUR), 75와 70psi Ion source gas 1, 2의 조건으로 측정하였다. Dwell time은 75msec로 설정하였고 분리도(Resolution)는 Q1과 Q3로 나타내었다.

(6) Chromatogram을 이용하여 정량분석은 Peak 면적을 이용하였고, 정성분석은 Peak Retention time을 분석하여 수행하였다. 성분 함량 여부(정량분석)는 회귀직선($Y=aX+b$), LOD(limit of detection)와 LOQ(limit of quantitation)로 확인하였고, 7가지 비타민에 대한 농도는 다음과 같이 검출되어 검량선(Standard Curve)에서 확인되었다: Pyridoxine Hydrochloride(B6) 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 25, 50 and 500ng/mL, Nicotinamide (B3) 0.55, 1.1, 2.2, 5.5, 11, 55, 110 and 1100ng/mL Ascorbic acid (C) 16.65, 33.3, 66.6, 166.5, 330, 1665, 3330 and 33300ng/mL, D-Pantothenic acid(B5) 0.65, 1.3, 2.6, 6.5, 13, 65, 130 and 1300ng/mL, Thiamine Hydrochloride (B1) 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10 and 100ng/mL, Folic acid(B9) 1.65, 3.3, 6.6, 16.5, 33, 165, 330 and 3300ng/mL, Riboflavin(B2) 0.9, 1.8, 3.6, 9.0, 18, 90, 180 and 1800ng/mL. 각각의 7가지 비타민들에 대한 LOD(ng/mL)는 'signal-to-noise ratio of 3' 즉 '표준편차x3'을 이용하였고, LOQ(ng/mL)는 'signal-to-noise of 10' 즉 '표준편차x10'을 이용하여 측정하였다.

(7) 검량선(Calibration curves)은 기능성 화합물의 표준물질을 이용하여 각 농도 값에 대한 Peak 면적 값을 확인하고 실험 방법의 기준을 세웠다. 본 연구에서 검량선은 Analyte/IS 면적의 비율과 Analyte/IS 농도를 사용하여 평가되었다. 각각의 검량선(Calibration curve)은 1/x weighted linear regressions (n=5)를 사용함으로써 개별적으로 분석되었고(Table 4-8), Peak 면적은 가장 많은 Product ion들의 Ion Chromatograms으로 측정되었다.

Table 4-8. 7가지 비타민 성분들에 대한 검량선(회귀직선식; $Y=aX+b$)과 r^2 (직선성). $r^2 > 0.991$ 의 직선성을 구하여 적정 농도 값을 설정함.

Compounds	Regression equation	Correlation coefficient
PH	$Y= 0.0257x+0.0067$	0.998
NA	$Y= 0.0389x-0.0202$	0.994
AA	$Y= 0.000323x-0.01$	0.991
PA	$Y= 0.00365x-0.00286$	0.992
TH	$Y= 0.132x-0.00205$	0.994
FA	$Y= 0.000895x-0.00135$	0.996
RF	$Y= 0.00103x-0.0008$	0.996

(8) 표준물질로 도출해낸 Peak(Figure 11)와 시료 112번의 Peak를 비교하여 토마토에 함유되어있는 수용성 비타민 검출 유무를 알아내고자 하였다. 시료가 column을 통과할 때 이동상(mobile phase)을 따라 이동하면서 column과 상호작용하기 때문에 그 정도에 따라 속도차이가 일어나고 분리가 일어난다. 따라서 물질이 검출된 시간(Retention time)에 따른 농도 Peak가 standard solution과 동일하게 나타났는지를 비교하였다.

(9) 표준물질의 Retention time과 거의 동일한 Peak가 나타난 Ascorbic acid; AA(Vitamin C), Nicotinamide; NA(Vitamin B3), D-Pantothenic acid; PA(Vitamin B5), Pyridoxine Hydrochloride; PH(Vitamin B6)와 Thiamine hydrochloride; TH(Vitamin B1)는 토마토에서 검출된다는 사실을 알 수 있었고(Figure 12), 비슷한 Retention time에서 동일한 Intensity를 보이지 않고 다른 Retention time에서 다른 Peak 면적이 보이는 Riboflavin (Vitamin B2)와 Folic acid(Vitamin B9)은 토마토에서 검출되지 않는 것으로 나타났다. 또한 Riboflavin과 Folic acid는 LOD값 이하로 성분이 미달되어 함유하지 않는 것으로 판단하였다 (Table 4-9).

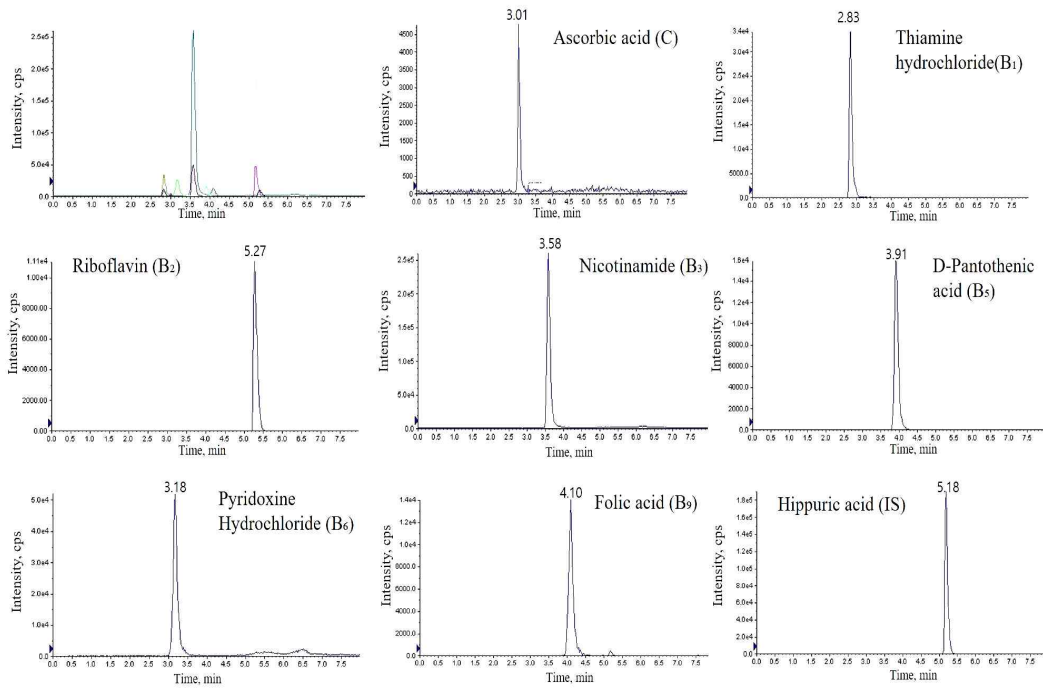


Fig 4-11. Standard solution의 chromatogram 결과.

이동상 흐름 시간과 검출기에서 나온 Signal 값을 바탕으로 그린 것으로 Peak 위의 표시된 값은 Retention time을 표시한 것이고, 괄호 안의 영문은 Vitamin의 종류를 표기한 것임.

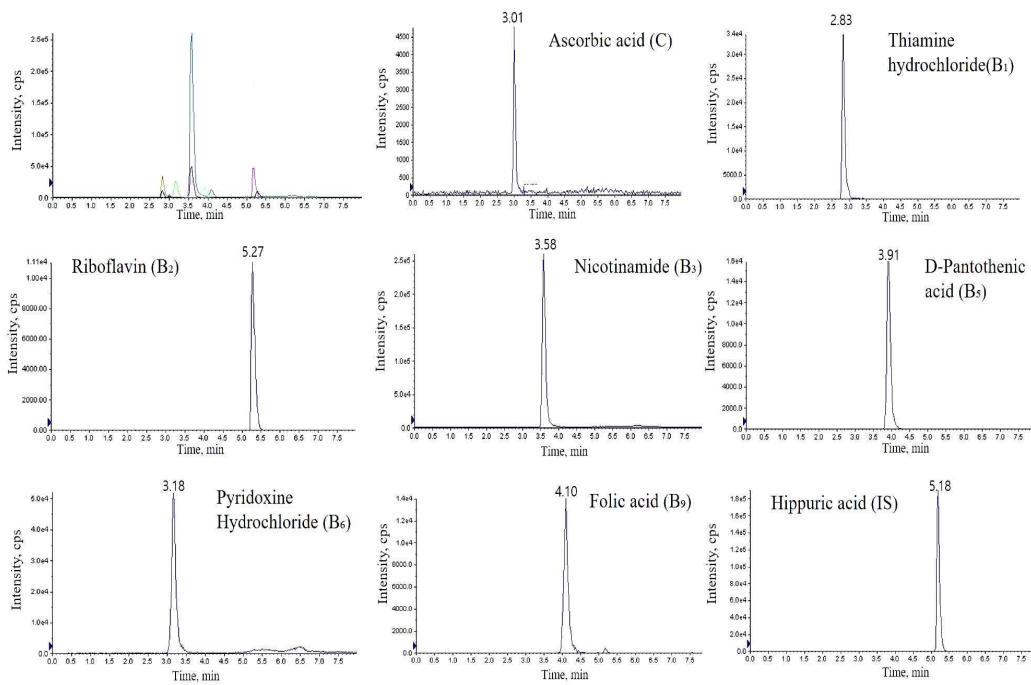


Fig 4-12. 시료 112번의 Chromatogram 결과.

Ribo flavin과 Folic acid는 각각 표준물질의 Retention time이 5.27과 4.10인데 반해 주요 Peak가 4.82와 6.39에 형성되어 검출되지 않는 것으로 판단하였다.

Table 4-9. 토마토 비타민 성분분석결과.

No.	ID	AA			NA			PA			PH			TH		
		concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD	concentration	SD	RSD
1	Fla.7600	116.73	1.94	1.66	0.04	0.003	5.96	1.19	0.029	2.44	0.43	0.035	8.11	0.0047	0.0004	9.22
2	Fla.8233	111.13	4.56	4.11	0.05	0.004	7.27	1.00	0.100	10.01	0.27	0.010	3.59	0.0064	0.0002	2.86
3	GoldNugget	93.53	3.43	3.67	0.05	0.002	4.27	0.39	0.005	1.35	0.60	0.092	15.36	0.0070	0.0009	12.33
4	LA0797	203.60	15.74	7.73	0.09	0.001	1.34	1.21	0.090	7.50	0.60	0.005	0.88	0.0207	0.0006	2.79
5	LA1996	115.27	2.39	2.07	0.10	0.004	4.71	0.73	0.031	4.17	0.31	0.005	1.60	0.0142	0.0005	3.74
6	LA4425	124.60	6.76	5.42	0.11	0.005	4.94	1.27	0.097	7.66	0.36	0.023	6.31	0.0176	0.0005	2.76
7	NC84173	91.96	2.40	2.61	0.05	0.001	1.08	0.83	0.023	2.74	0.25	0.004	1.41	0.0075	0.0004	5.18
8	OhioMR13	89.47	3.43	3.84	0.05	0.002	3.31	0.81	0.084	10.39	0.41	0.012	2.89	0.0143	0.0001	0.35
9	PI564169	77.68	2.01	2.59	0.06	0.002	3.77	0.71	0.021	2.91	0.46	0.006	1.30	0.0121	0.0003	2.55
10	PI647532	83.93	4.31	5.13	0.04	0.001	1.50	0.84	0.123	14.61	0.23	0.027	11.76	0.0126	0.0010	7.55
11	Tropic	69.90	3.75	5.37	0.04	0.001	1.46	0.68	0.034	4.96	0.20	0.006	3.09	0.0080	0.0006	7.74
12	OH9242	105.32	0.59	0.56	0.07	0.007	10.07	0.38	0.018	4.67	0.20	0.005	2.46	0.0126	0.0004	3.52
13	M82	113.62	5.81	5.12	0.07	0.005	8.09	0.62	0.010	1.66	0.53	0.014	2.62	0.0104	0.0001	1.20
14	OH88119	135.46	2.40	1.77	0.05	0.003	5.00	0.37	0.018	4.90	0.38	0.006	1.49	0.0136	0.0007	4.86
15	Alisa Craig	115.13	8.44	7.33	0.07	0.006	9.10	1.20	0.118	9.89	0.28	0.007	2.50	0.0128	0.0012	9.32
16	BlackPlum	87.80	3.99	4.55	0.04	0.001	1.81	0.65	0.075	11.61	0.17	0.005	3.03	0.0183	0.0009	5.13
17	GoldBall	136.00	8.74	6.43	0.06	0.000	0.18	1.10	0.119	10.76	0.27	0.016	6.02	0.0168	0.0008	4.91
18	San Marzano	75.87	1.79	2.36	0.05	0.003	5.63	0.49	0.019	3.89	0.15	0.004	2.73	0.0169	0.0002	1.33
19	Yellow Pear	118.72	1.38	1.16	0.06	0.008	13.05	0.64	0.013	1.97	0.15	0.006	4.13	0.0123	0.0003	2.33
20	Yellow Stuffer	138.24	2.90	2.10	0.07	0.003	3.56	1.17	0.094	8.02	0.40	0.022	5.39	0.0205	0.0011	5.41
21	Cherokee Purple	95.81	0.68	0.71	0.05	0.003	5.62	1.37	0.077	5.61	0.39	0.009	2.23	0.0108	0.0004	3.58
22	97L97	123.98	4.40	3.55	0.07	0.008	11.72	0.30	0.003	1.09	0.34	0.016	4.82	0.0061	0.0001	1.26
23	PI114490	124.20	4.33	3.49	0.10	0.003	2.66	0.74	0.042	5.71	0.34	0.021	6.26	0.0131	0.0005	3.99

LOD값 이하로 성분이 검출되지 못한 Riboflavin(B2)과 Folic acid(B9)를 제외한 Ascorbic acid; AA (C), Nicotinamide; NA (B3), D-Pantothenic acid; PA (B5), Pyridoxine Hydrochloride; PH (B6)와 Thiamine hydrochloride; TH (B1)에 대해 각각 토마토 23계통에서 얻은 농도 (concentration; mg/100g), 표준편차(Standard Deviation; SD)와 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)값. RSD값을 구함으로서 한 계통에 대한 3반복에 대한 신뢰성을 확보하였다.

(10) 선행연구에 의하여 소과에서 더욱 많은 Ascorbic acid(Vitamin C)를 함유한다는 것을 착안해 23계통 식물시료에 대한 수용성비타민 정량분석 데이터를 대, 중, 소과로 과중 평균 Data를 기준으로 소과는 0-60g, 중과는 60-150g, 대과는 150g이상으로 나누어 분류하였다(Table 71). 또한 과색에 따른 비타민 성분함량에 대한 상관관계를 알아보기 위하여 과색에 따른 분류를 시행하였다(Table 4-10).

Table 4-10. 과중평균(g) Data를 기준으로 분류한 결과. 소과종; 0-60g, 중과종; 60-150g, 대과종; 150g 이상.

NO.	종자번호	Genotype	과폭평균 (cm)	과높이평균 (cm)	과중평균 (g)	과색 Index	과형 Index 평균	Market Class	Species	Comment
5	SJG0045	GoldNugget	1.29	1.25	5.47	O	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
62	SJG0340	Yellow Pear	1.88	2.88	10.64	Y	obovoid	Vintage	S. lycopersicum	Selected
97	SJG0440	PI114490	2.88	2.32	12.04	Y	flat	Wild	S. lycopersicum	Selected
13	SJG0053	LA4425	3.41	2.30	14.44	R	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
50	SJG0324	BlackPlum	2.06	2.53	22.22	B	rectangular	Vintage	S. lycopersicum	Selected
17	SJG0093	PI564169	3.75	3.81	30.15	O	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
53	SJG0327	GoldBall	3.85	3.85	32.18	Y	round	Vintage	S. lycopersicum	Selected
48	SJG0322	Alisa Craig	2.60	2.11	33.18	R	flat	Vintage	S. lycopersicum	Selected
47	SJG0303	OH88119	4.03	4.39	40.43	R	rectangular	Processing	S. lycopersicum	Selected
44	SJG0285	M82	4.65	4.89	54.87	R	rectangular	Processing	S. lycopersicum	Selected
86	SJG0404	97L97	4.58	4.86	55.64	O	oxheart	Vintage	S. lycopersicum	Selected
60	SJG0337	SanMarzano	4.55	6.66	59.68	R	long	Vintage	S. lycopersicum	Selected
39	SJG0214	OH9242	4.88	4.90	61.88	R	ellipsoid	Processing	S. lycopersicum	Selected
1	SJG0009	Fla.7600	6.10	4.97	102.26	R	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
63	SJG0341	Yellow Stuffer	7.59	6.10	123.84	Y	ribbing	Vintage	S. lycopersicum	Selected
3	SJG0025	Fla.8233	6.86	4.99	137.12	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
16	SJG0088	OhioMR13	6.74	5.30	148.19	P	round	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
18	SJG0094	PI647532	8.15	4.77	156.05	Y	ribbing	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
27	SJG0107	Tropic	8.64	6.03	245.43	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
64	SJG0346	Cherokee Purple	9.03	5.53	264.65	P	ribbing	Vintage	S. lycopersicum	Selected
9	SJG0049	LA0797	-	-	-	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
10	SJG0050	LA1996	-	-	-	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected
15	SJG0074	NC84173	-	-	-	R	flat	Freshmarket	S. lycopersicum	Selected

Table 4-11. 과색 Data를 기준으로 분류한 결과. R; Red, P; Pink, O; Orange, Y; Yellow, B; Brown.

No.	ID	과색 Index	과크기
6	LA4425	R	소과
12	OH9242	R	중과
13	M82	R	중과
14	OH88119	R	중과
15	Alisa Craig	R	중과
18	San Marzano	R	중과
1	Fla.7600	R	대과
2	Fla.8233	R	대과
4	LA0797	R	대과
5	LA1996	R	대과
7	NC84173	R	대과
11	Tropic	R	대과
8	OhioMR13	P	대과
21	Cherokee Purple	P	대과
3	GoldNugget	O	소과
9	PI564169	O	중과
22	97L97	O	중과
19	Yellow Pear	Y	소과
23	PI114490	Y	소과
17	GoldBall	Y	중과
10	PI647532	Y	대과
20	Yellow Stuffer	Y	대과
16	BlackPlum	B	소과

(가) 위의 분류에 따라 비타민 함량에 따른 Graph를 수립하여 각각의 분류군에 따라 농도의 차이가 나는지를 알아보고자 하였다(Figure 4-13, 14). 한 계통을 3반복으로 하여 얻은 농도 값을 평균으로 나타내어 각 분류군 간의 비교분석을 하기 위해 SAS system을 이용하여

ANOVA 분석 후 $\alpha=0.05$ 로 하여 Duncan's multiple range test를 통해 유의성을 검정을 할 계획이었으나 각 분류군 간의 반복 수 차이가 커 통계조건 확립 중에 있다. 따라서 그래프를 통해 대략적으로 차이가 나는지 확인하였다.

(나) 수용성 비타민 5가지에 대하여 가장 높은 함량을 가지는 3가지 계통과 가장 낮은 함량을 가지는 3가지 계통을 조사하여 육종소재로서 가장 적합한 계통을 유추하였다(Table 4-12).

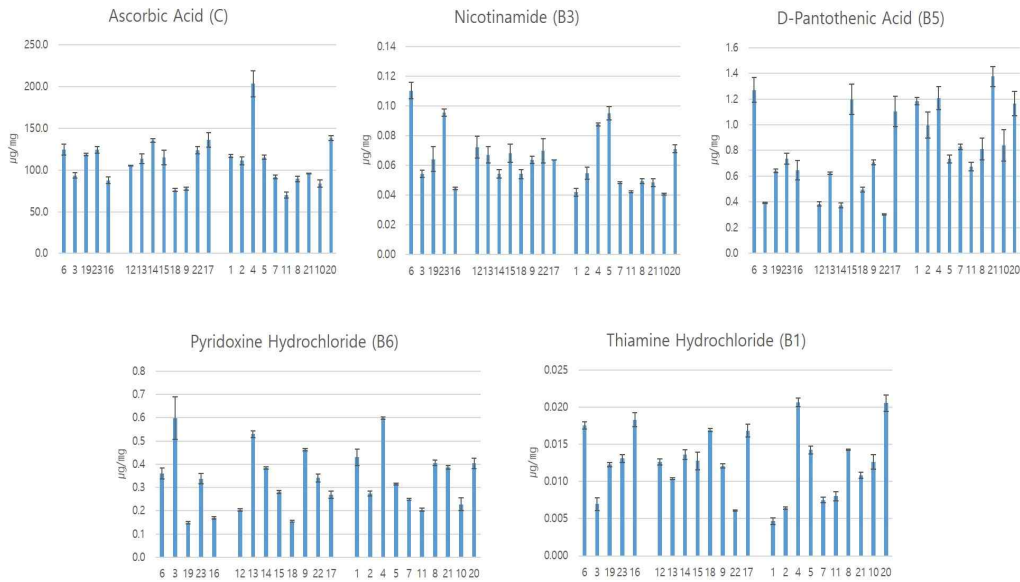


Fig 4-13. 수용성 비타민 농도 Data를 과 크기에 따른 분류를 시행하여 X축은 계통 Index, Y축은 농도; ng/mL를 나타낸 Graph. 왼쪽부터 사과, 중과, 대과.

참고한 논문에 따르면 사과에서 Vitamin C(Ascorbic acid)가 많이 검출된다고 보고되었지만, 본 실험을 통해 60g미만인 사과와 중과, 대과에서 4(L0797)을 제외한 전반적인 계통 간에서는 큰 차이를 확인하는데 어려움이 있었다.

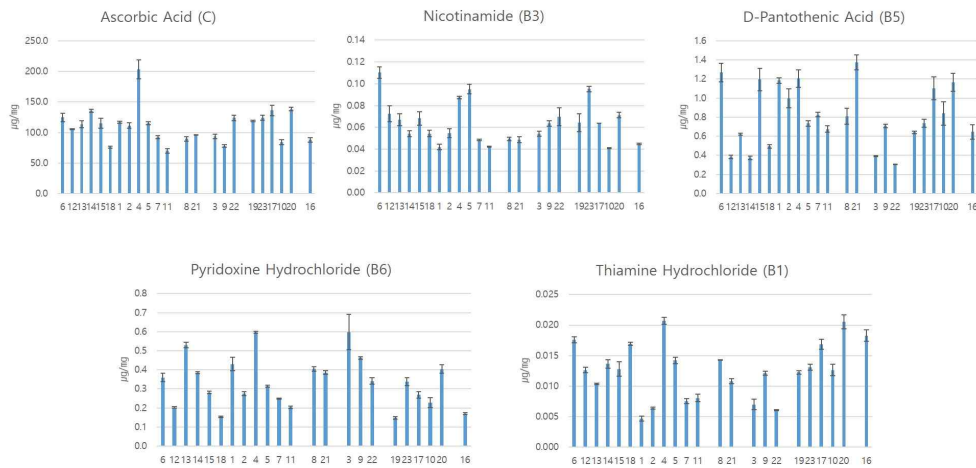


Fig 4-14. 수용성 비타민 농도 Data를 과색에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 Red, Pink, Orange, Yellow, Brown의 순서로 정렬한 것.

위의 그래프들을 참고해 보았을 때 수용성 비타민 5가지 모두에서 높은 농도를 띠는 4번 Sample(L0797)은 향후 거듭하여 분석해볼 계획이며 만일 모든 비타민에서 높은 농도를 가지는 토마토라면 수용성 비타민이 높은 계통으로서 좋은 육종재료가 될 수 있을 것으로 예상된다.

Table 4-13. 수용성 비타민 5가지에 대하여 가장 낮은 함량을 가지는 3가지 계통과 가장 높은 함량을 가지는 3가지 계통.

No.	ID	AA			NA			PA			PH			TH						
		concentration	SD	RSD	ID	concentration	SD	RSD	ID	concentration	SD	RSD	ID	concentration	SD	RSD				
1	Tropic	69.90	3.75	5.37	PI647532	0.04	0.001	1.50	97L97	0.30	0.003	1.09	Yellow Pear	0.15	0.006	4.13	Fla.7600	0.0047	0.0004	9.22
2	San Marzano	75.87	1.79	2.36	Fla.7600	0.04	0.003	5.96	OH88119	0.37	0.018	4.90	San Marzano	0.15	0.004	2.73	97L97	0.0061	0.0001	1.26
3	PI564169	77.68	2.01	2.59	Tropic	0.04	0.001	1.46	OH9242	0.38	0.018	4.67	BlackPlum	0.17	0.005	3.03	Fla.8233	0.0064	0.0002	2.86
4	GoldBall	136.00	8.74	6.43	LA1996	0.10	0.004	4.71	LA0797	1.21	0.090	7.50	M82	0.53	0.014	2.62	BlackPlum	0.0183	0.0009	5.13
5	Yellow Stuffer	138.24	2.90	2.10	PI114490	0.10	0.003	2.66	LA4425	1.27	0.097	7.66	GoldNugget	0.60	0.092	15.36	Yellow Stuffer	0.0205	0.0011	5.41
6	LA0797	203.60	15.74	7.73	LA4425	0.11	0.005	4.94	Cherokee Purple	1.37	0.077	5.61	LA0797	0.60	0.005	0.88	LA0797	0.0207	0.0006	2.79

LA0797의 경우 5가지 비타민에서 모두 높은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다. 반면 Tropic과 97L97의 경우 다수의 비타민에서 낮은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다. 따라서 LA0797이 수용성 비타민 함유량만을 고려하였을 때 기능성 토마토 품종 육성에 적합한 육종소재가 될 것으로 사료된다.

나. 토마토의 수용성 비타민 관련 후보유전자와 QTL탐색

(1) Ascorbic Acid(Vitamin C)의 생합성 경로를 파악하고(Fig 4-15) 후보유전자로서 Ascorbic acid 생성을 활성화시키는 Monodehydroascorbate reductase gene(MDHAR)과 다른 경로로서 Ascorbic acid 생성을 활성화시키는 과정에 가담하는 GDP-Mannose epimerase을 파악하였다. 나아가 이 유전자를 Solcap SNP list에서 찾아, 본 실험에 사용된 23계통에 대한 SNP list에서 서로 간에 SNP 차이를 보이는지 알아보았다. 하지만 23계통에 대한 SNP 차이가 나타나지 않아 논문을 참고하여 후보유전자인 Monodehydroascorbate reductase, GDP-mannose 3',5'-epimerase, GDP-mannose pyrophosphorylase, L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase, Ascorbate oxidase, Monodehydroascorbate reductase에 대한 Solcap SNP ID정보를 알아내었고 이를 23계통의 SNP list를 비교한 결과 solcap_snp_sl_35407(GDP-mannose pyrophosphorylase)에서 PI 114490(No.23)가 다른 22계통과 다르게 AA가 아닌 GG를 띠는 것을 알 수 있었다. 하지만 PI114490에서 Ascorbic acid(Vitamin C)의 함량이 다른 계통과 크게 다르지 않았음을 확인하였다.

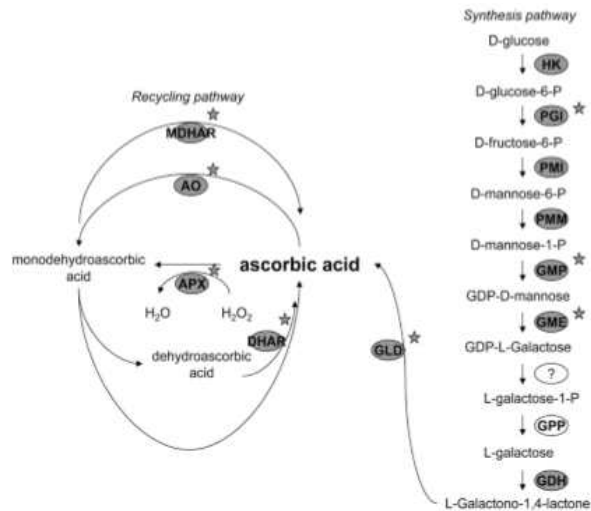


Fig 4-15. Ascorbic acid(Vitamin C) 생합성 경로.

4. 토마토 12 F₁ 품종의 Vitamin 성분분석

가. 토마토 F₁ 품종 12개의 수용성 비타민 정량분석

(1) 토마토 F₁ 품종 12개의 정성 및 정량분석은 앞선 23계통의 실험방법으로 동일하게 진행하였다. 토마토 F₁ 품종은 토마토생명과학연구소에서 완숙한 토마토 시료를 받아 실시하게 되었다(Figure 4-16, Table 4-14).



Fig 4-16. 토마토생명연구소에서 제공받은 토마토 시료의 사진.

과색은 Red, Pink, Yellow, Orange, Brown이 있고, 대, 중, 소과로 여러 과 크기를 가지는 시료를 사용하였다.

Table 4-14. 토마토 비타민 성분분석결과.

No.	ID	Color	Remark	AA			NA			PA			PH			TH		
				Con	SD	RSD	Con	SD	RSD	Con	SD	RSD	Con	SD	RSD	Con	SD	RSD
1	Toast	R	대과	82.4693	0.6325	0.7670	0.0295	0.0007	2.3557	0.9986	0.0684	6.8468	0.4475	0.0110	2.4613	0.0074	0.0002	2.5451
2	GS Red	R	대과	99.4685	1.3263	1.3333	0.0263	0.0016	5.9567	1.6138	0.0369	2.2881	0.4714	0.0185	3.9305	0.0105	0.0001	1.2397
3	Marathon	P	대과	70.4000	0.3464	0.4921	0.0269	0.0016	6.0170	1.2200	0.0370	3.0361	0.3687	0.0175	4.7397	0.0174	0.0010	5.5803
4	K-star	P	대과	84.0304	1.4208	1.6908	0.0263	0.0017	6.6240	1.1817	0.0573	4.8501	0.3886	0.0087	2.2490	0.0127	0.0007	5.8746
5	Rapito	P	대과	85.8114	2.7308	3.1824	0.0248	0.0009	3.5857	2.0554	0.1113	5.4133	0.2898	0.0196	6.7602	0.0124	0.0007	5.5980
6	Black Ace	B	중과	95.4733	3.6397	3.8123	0.0332	0.0026	7.7494	0.7866	0.0120	1.5208	0.4588	0.0181	3.9428	0.0081	0.0003	3.7778
7	Orange	O	중과	99.5996	1.6353	1.6419	0.0305	0.0023	7.5735	2.0219	0.1147	5.6743	0.3762	0.0071	1.8972	0.0074	0.0005	6.6698
8	Candy	R	소과	132.3981	2.4076	1.8184	0.0315	0.0031	9.8880	1.0073	0.0413	4.0980	0.4683	0.0150	3.2121	0.0115	0.0003	2.6992
9	Crown	R	소과	80.0801	0.2883	0.3600	0.0268	0.0010	3.9049	0.5117	0.0241	4.7129	0.3858	0.0148	3.8450	0.0124	0.0005	4.4019
10	Mini Chal	R	소과	89.0725	2.8794	3.2326	0.0328	0.0004	1.2891	0.4290	0.0082	1.9118	0.3751	0.0104	2.7748	0.0107	0.0004	3.7287
11	Miracle	R	소과	153.2680	7.4920	4.8881	0.0344	0.0015	4.2907	0.6364	0.0343	5.3898	0.5824	0.0319	5.4770	0.0136	0.0005	3.5732
12	Yellow	Y	소과	59.8531	2.5583	4.2743	0.0258	0.0021	8.2380	0.2830	0.0082	2.9113	0.3489	0.0078	2.2246	0.0114	0.0005	4.5377

LOD값 이하로 성분이 검출되지 못한 Riboflavin(B2)과 Folic acid(B9)를 제외한 Ascorbic acid; AA (C), Nicotinamide; NA (B3), D-Pantothenic acid; PA (B5), Pyridoxine Hydrochloride; PH (B6)와 Thiamine hydrochloride; TH (B1)에 대해 각각 토마토 23계통에서 얻은 농도(concentration; mg/100g), 표준편차(Standard Deviation; SD)와 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)값. RSD값을 구함으로서 한 계통에 대한 3반복에 대한 신뢰성을 확보하였다.

(2) 또한 마찬가지로 토마토 F₁ 품종에 대한 Data 또한 과색과 과 크기로 분류하여 Graph로 나타내었고, 분류군에 따라 차이를 나타내는지 알아보려고 하였다. 먼저 수용성 비타민 함량 Data를 과색에 따라 분류를 하였을 때는 vitamin C와 B6의 경우 Red에서 높은 함량을 보이는 품종으로 1(Candy), 4(Miracle)로 둘 다 소과에 해당되어 참고논문의 내용과 일치하는 경향을 나타내었다. B3의 함량은 모든 시료에서 비슷하게 검출된 것을 알 수 있었고, B5의 경우 Pink의 12(Rapito)가 가장 높은 함량을 나타내었고, B1의 경우 Pink의 10(Marathon)에서 높은 함량을 보였다(Figure 4-17).

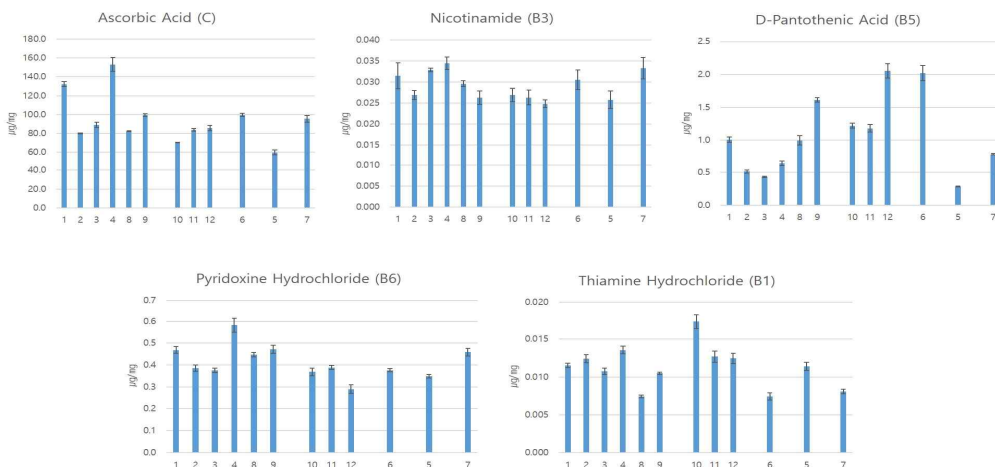


Fig 4-17. 수용성 비타민 함량 Data를 과색에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 Red, Pink, Orange, Yellow, Brown의 순서로 정렬한 것.

(3) 다음은 과 크기에 대해 분류하여 Graph를 작성한 것으로 이 결과 Ascorbic acid(vitamin C)의 경우 소과에서 1(Candy), 4(Miracle)이 다른 과색의 토마토 시료보다 확연하게 함량이 높은 경향을 보였다는 결과를 참고논문에 준하여 확인할 수 있었으나, 향후 vitamin B군과 과 크기에 대한 연관성을 알아볼 필요성이 있었다. 특히 B5는 소과에서 중, 대과에 비하여 낮은 함량을 볼 수 있어 이에 관련된 기작과 비타민 B군의 생합성경로, 후보유전자를 알아볼 필요가 있었다. B3의 경우에는 대, 중, 소과에서 함량의 차이가 거의 없지만 가장 높은 함량을 띠는 품종은 비타민C와 동일하게 소과의 4(Miracle)임을 알 수 있었다. B6의 경우에도 소과의 4(Miracle)이 높은 함량을 띠는 것을 알 수 있었고, B1의 경우에는 대과의 10(Marathon)이, B5에서는 중과의 12(Rapito)가 가장 높음을 확인하였다(Figure 4-18).

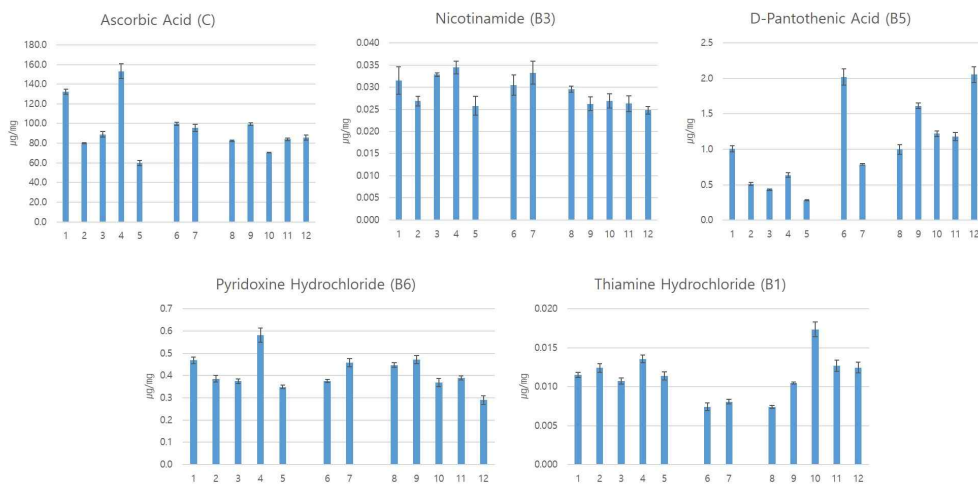


Fig 4-18. 수용성 비타민 함량 Data를 과 크기에 따른 분류를 시행하여 나타낸 Graph. 왼쪽부터 소과, 중과, 대과의 순서로 정렬한 것.

(4) 그래프들을 참고해 보았을 때 수용성 비타민 4가지에서 높은 농도를 띠는 4번 Sample(Miracle)은 향후 거듭하여 분석해볼 계획이며 만일 B5를 포함한 모든 비타민에서 높은 농도를 가지는 토마토가 된다면 수용성 비타민이 높은 계통으로서 좋은 육종재료가 될 수 있을 것으로 예상된다(Table 4-15). 또한 F1품종의 결과에서는 보고된 바와 같이 소과에서 Vitamin C(Ascorbic acid)함량이 높았으므로 이를 23개 계통에서 분류된 소과와 비교할 필요성이 있다.

Table 4-15. 수용성 비타민 5가지에 대하여 가장 낮은 함량을 가지는 3가지 계통과 가장 높은 함량을 가지는 3가지 계통을 표시해놓은 것.

No.	AA			NA			PA			PH		TH	
	ID	average	ID	average	ID	average	ID	average	ID	average	ID	average	
1	Yellow	59.8531	Rapito	0.0248	Yellow	0.2830	Rapito	0.2898	Toast	0.0074			
2	Marathon	70.4000	Yellow	0.0258	Mini Chal	0.4290	Yellow	0.3489	Orange	0.0074			
3	Crown	80.0801	GS Red	0.0263	Crown	0.5117	Marathon	0.3687	Black Ace	0.0081			
4	Orange	99.5996	Mini Chal	0.0328	GS Red	1.6138	Candy	0.4683	K-star	0.0127			
5	Candy	132.3981	Black Ace	0.0332	Orange	2.0219	GS Red	0.4714	Miracle	0.0136			
6	Miracle	153.2680	Miracle	0.0344	Rapito	2.0554	Miracle	0.5824	Marathon	0.0174			

4(Miracle)의 경우 5가지 비타민에서 모두 높은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다. 반면 12(Yellow)과 Rapito의 경우 다수의 비타민에서 낮은 함량을 보이는 것을 알 수 있었다.

5. 토마토 35종의 Polyphenol compounds 성분분석

가. 토마토 23계통의 Polyphenol compounds 정성 및 정량분석

(1) 토마토 Polyphenol compounds를 위한 추출법은 다음과 같이 수행하였다. 동결 건조된 시료 50mg에 70% Methanol 5mL을 첨가하고 1분동안 강하게 Vortex한 다음 Parafilm으로 Tube의 입구를 봉쇄하여 1시간동안 진탕을 하였다. 그 다음 Ultrasonicator(2510RDTH, Branson, Danbury, USA)를 24°C으로 10분동안 처리하였고 Centrifuged(CT6E, HITACHI, Ibaraki, Japan)를 4,000rpm으로 10분동안 실행하여 상층액이 나뉘어지면 PTFE syringe filter(SMI-Lab Hut Co, Ltd. Maisemore, UK)로 추출하였다. 추출물은 LC-MS/MS로 정량분석을 하였다.

(2) HPLC는 1260 Series liquid chromatography system으로 Degasser, pump, Autosampler 그리고 Column oven (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)을 갖춘 장비를 이용하였다. 색층분석(Chromatographic separation)은 XTerra MS C18 column(3.0 x 50mm, 5µm)을 사용하여 분리하였다. 이 때 이성분용매추출을 위해 증류수에 0.1%로 희석시킨 Formic acid (A)와 Methanol에 0.1%로 희석시킨 Formic acid (B)를 혼용한 20mM Ammonium formate를 용매로 사용하여 안정화를 위한 5분 동안 B 20%, Total 분석 시간 6분에서 95% B로 5분, 20% B로 1분 유지시키는 반응을 수행하여 Linear gradient를 시행하였다. 모든 실험 시료의 Flow rate는 500µl/min, Column의 온도는 30°C, Injection volume은 10µl의 조건으로 실험하였다. 검량선(;회귀직선) 작성과 LOD 및 LOQ 평가는 WSV 성분분석법과 동일하게 진행하였다.

(3) MS/MS 분석은 API 4000 System (AB Sciex, USA)를 사용하여 Electro spray ionization (ESI)을 Positive mode로 실시하였다. 양자화(Quantization)는 5가지 Polyphenol 성분분석 과정 중 이온 변성 분석을 위해 Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode를 사용하여 전구 이온을 분석하였다. Fragment들과 단편화(Fragmentation) 조건들은 BioAnalyst™, Version 1.6.1, and The Analyst Software, Version 1.6.1을 참고하여 500°C Source temperature, -4500V

Ionspray voltage, 5 Collision gas (CAD), 10psi의 Curtain gas (CUR), 75와 70psi Ion source gas 1, 2의 조건으로 측정하였다(Table 76). Dwell time은 75msec로 설정하였고 분리도 (Resolution)는 Q1과 Q3로 나타내었다.

Table 4-16. 5가지 Polyphenol compounds의 LC-ESI-MS/MS 측정을 위한 Mass analysis 매개변수.

Standard	Q1(m/z)	Q3(m/z)	DP	CE	CXP
Quercetin	300.824	150.9	-85	-26	-5
		178.6	-85	-26	-1
Naringenin	270.965	151	-75	-26	-1
		119.1	-75	-36	-5
Rutin	609.119	300	-120	-54	-11
		271	-120	-84	-43
Kaempferol	284.865	92.8	-135	-54	-3
		116.8	-135	-58	-7
Myricetin	316.892	150.9	-85	-36	-11
		137.1	-85	-42	-9
ISa	219.791	161.8	-35	-16	-11

ISa: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid

각 화합물은 Precursor 이온(Q1)을 선택한 후 실험적으로 최적 collision energy(CE), declustering potential(DP), collision cell exit potential(CXP)를 선택하여 정량 분석에 사용할 product 이온(Q2)를 선택하였다. Q1과 Q3는 분리도를 나타낸 값이고, DP(Declustering potential)는 Nitrogen에 의해 Declustering 되면서 Solvent 분자를 소실하고 Ion으로 형성되는 정도, CE(Collision energies)는 Collision gas로 인해 형성된 Fragment ion이 필요로 하는 Energy이며, CXP(Collision cell exit potential)는 Collision cell의 출구전위 제어 값을 나타낸다.

(4) 각각의 Polyphenol compounds에 대한 검량선(Calibration curves)은 Analyte/IS 면적의 비율과 Analyte/IS 농도를 사용하여 $Y=aX+b$ 의 회귀직선 형태로 작성하였는데, 1/x Weighted linear regressions (n=5)를 사용함으로써 개별적으로 분석되었으며 Peak 면적은 가장 많은 Product ion들의 Ion Chromatograms으로 측정되었다. 검량선은 r^2 (Correlation coefficient)로 평가하였다. 검출한계(Limit of Detection, LOD; ng/mL)는 'Signal-to-Noise ratio of 3' 즉 '표준편차x3'을 이용하였고, 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ; ng/mL)는 'Signal-to-Noise of 10' 즉 '표준편차x10'을 이용하여 측정하였다(Table 4-17).

Table 4-17. 5가지 Polyphenol compounds의 각각에 대한 분석 범위와 검량선(회귀직선식; $Y=aX+b$), r^2 (직선성), LOD 및 LOQ 값. $r^2 > 0.996$ 의 직선성을 구하여 적정 농도 값을 설정하였다.

Standard	Calibration range	Calibration curve	R2	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Quercetin	0.25 ~ 250ng/mL	$Y= 0.336X-0.0742$	0.997	0.1	0.5
Naringenin Chalcone	0.25 ~ 250ng/mL	$Y= 0.27X+0.0386$	0.998	0.1	0.5
Rutin	0.5 ~ 500ng/mL	$Y= 0.3X-0.0144$	0.999	0.2	1
Kaempferol	10 ~ 1000ng/mL	$Y= 0.00564X-0.0266$	0.996	6	20
Myricetin	0.25 ~ 250ng/mL	$Y= 0.166X-0.038$	0.998	0.1	0.5

(5) 표준물질로 도출해낸 Chromatogram Peak와 분석 시료의 Peak를 비교하였을 때 표준물질의 Retention time과 모두 동일한 것으로 나타나(Fig 4-19), Quercetin, Naringenin Chalcone, Rutin, Kaempferol과 Myricetin은 토마토 과육에서 검출되는 것으로 나타났다(Table 4-18).

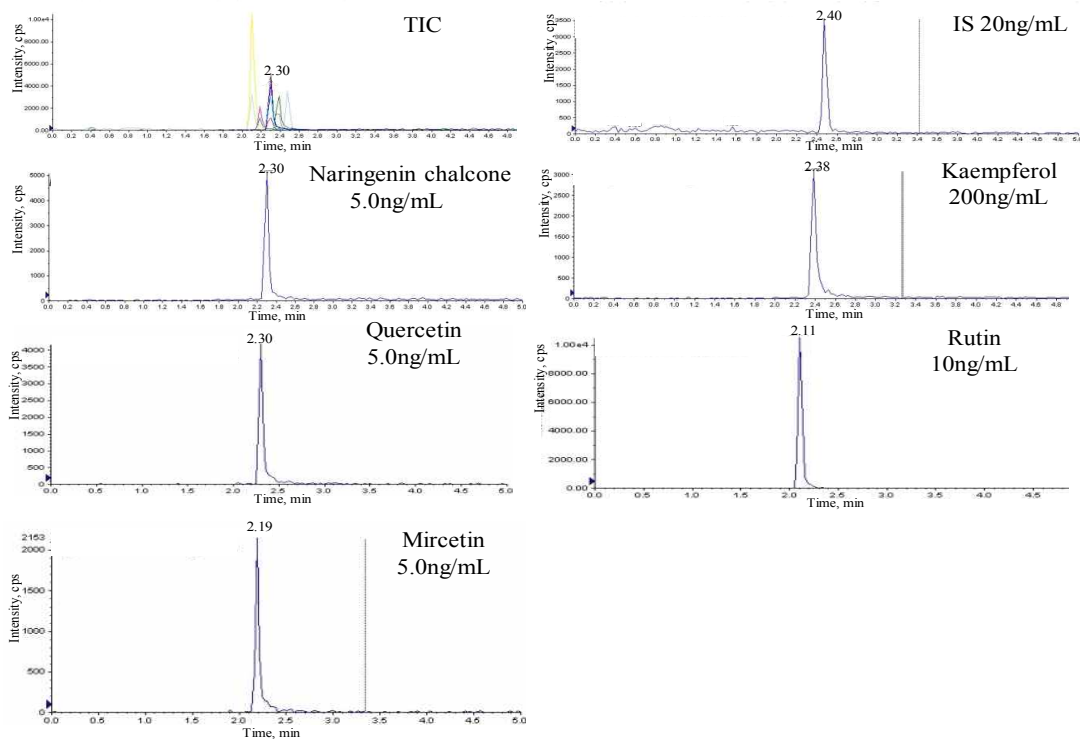


Fig 4-19. 5종의 Polyphenol compounds의 Chromatogram 결과. 분석 시료에서도 동일한 Retention time을 얻을 수 있었음.

Table 4-18. 토마토 Polyphenol compounds 성분분석 결과.

ID	Accession name	Quercetin			Kaempferol			Myricetin			Naringenin			Rutin		
		concentration (ng/mL)	SD	RSD	concentration (ng/mL)	SD	RSD	concentration (ng/mL)	SD	RSD	concentration (ng/mL)	SD	RSD	concentration (ng/mL)	SD	RSD
104	Fla.7600	0.72	2.20	3.30	0.70	8.90	14.00	0.04	0.23	6.70	77.70	127.02	1.80	96.20	518.59	5.90
106	Fla.8233	0.72	0.50	0.80	0.71	9.28	14.30	0.03	0.25	10.20	96.80	845.95	9.60	90.40	544.43	6.60
109	GoldNugget	0.72	3.87	5.90	1.79	10.50	6.50	0.05	0.33	7.70	235.00	1457.17	6.80	109.80	557.52	5.60
112	LA0797	0.87	4.52	5.70	0.71	3.46	5.40	0.04	0.34	10.30	111.90	545.62	5.40	55.30	502.92	10.00
113	LA1996	0.89	8.26	10.20	1.60	9.07	6.20	0.08	0.64	9.30	82.10	997.61	13.40	113.20	986.78	9.63
119	NC84173	0.61	3.61	6.50	1.00	13.76	15.20	0.04	0.45	12.40	110.90	886.12	8.80	95.40	728.86	8.40
123	OhioMR13	0.18	1.72	10.30	0.01	0.04	3.90	0.01	0.16	13.70	0.02	0.26	11.40	7.16	61.23	9.40
124	PI564169	0.78	5.09	7.20	1.00	7.41	8.10	0.03	0.29	11.10	67.20	805.87	13.20	97.20	551.94	6.20
135	Tropic	0.40	3.06	8.50	0.92	7.72	9.30	0.02	0.15	8.70	67.20	516.82	8.50	47.50	312.25	7.20
147	OH9242	0.48	1.92	4.40	0.47	3.47	8.10	0.00	0.00	-	58.00	133.17	2.50	52.10	150.44	3.20
154	M82	1.81	3.79	2.30	1.17	11.69	11.00	0.06	0.49	9.10	144.50	1550.27	11.80	115.10	288.68	2.80
157	OH88119	0.76	6.44	9.30	0.92	2.67	3.20	0.04	0.30	8.60	78.70	263.50	3.70	122.10	793.73	7.20
159	Alisa Craig	0.54	3.53	7.20	1.18	11.55	10.70	0.02	0.11	5.50	67.60	645.16	10.50	76.10	606.22	8.80
161	Blackplum	0.26	1.53	6.40	0.48	3.40	7.80	0.01	0.16	13.40	18.70	110.15	6.50	50.30	198.58	4.30
164	GoldBall	0.52	6.87	14.60	0.54	5.08	10.30	0.02	0.18	11.00	50.50	389.74	8.50	50.20	249.87	5.60
172	San marzano	0.60	1.48	2.70	0.77	8.11	11.50	0.00	0.00	-	45.40	317.65	7.70	51.70	167.03	3.60
174	Yellow pear	0.72	3.69	5.60	1.25	7.23	6.40	0.00	0.00	-	83.50	366.92	4.80	81.30	128.97	1.70
175	Yellow stuffer	0.85	5.66	7.30	1.15	8.16	7.80	0.04	0.27	6.90	124.30	1113.55	9.90	47.50	528.49	12.20
176	Cherokee purple	0.27	1.92	7.80	1.20	10.15	9.30	0.00	0.00	-	1.09	2.06	2.10	64.40	551.57	9.40
204	97L97	2.41	24.79	11.30	0.61	4.99	9.00	0.05	0.62	13.60	132.00	916.52	7.60	52.80	640.10	13.30
220	PI114490	0.91	7.56	9.20	0.72	4.67	7.10	0.03	0.22	8.00	66.80	496.42	8.20	44.00	389.36	9.70
125	PI647532	5.17	-	-	0.52	-	-	0.03	-	-	151.80	-	-	67.50	-	-
1	Toast	0.11	0.38	3.70	0.04	0.32	9.60	0.00	0.00	-	46.20	241.32	5.70	22.80	125.30	6.10
2	GS Red	0.14	1.06	8.30	0.04	0.08	2.00	0.00	0.00	-	58.70	347.71	6.50	32.90	92.92	3.10
3	Marathon	0.02	0.25	13.40	0.03	0.36	12.40	0.00	0.00	-	0.01	0.05	4.30	2.45	19.52	8.80
4	K-star	0.04	0.25	6.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	0.56	0.92	1.80	9.92	17.56	1.90
5	Rapito	0.07	0.87	14.40	0.02	0.42	13.50	0.00	0.00	-	22.00	147.31	7.40	13.40	151.00	12.40
6	Black Ace	0.17	1.15	7.60	0.27	2.69	10.80	0.01	0.09	7.70	76.30	233.02	3.40	38.80	436.16	12.40
7	Orange	0.34	3.06	10.00	0.00	0.00	-	0.01	0.02	1.50	77.80	566.66	8.00	14.90	58.59	4.30
8	Candy	0.54	2.74	5.60	0.62	0.68	1.20	0.03	0.17	6.80	152.90	854.40	6.10	104.20	196.55	2.10
9	Crown	0.27	2.25	9.20	0.92	2.55	3.10	0.02	0.24	11.40	143.70	1604.16	12.30	79.00	780.02	10.90
10	Mini chal	0.27	1.54	6.30	0.80	7.68	10.60	0.02	0.18	8.40	168.30	1743.56	11.40	97.60	505.21	5.70
11	Miracle	0.35	1.68	5.30	0.78	6.86	9.70	0.02	0.20	10.40	135.70	351.19	2.80	93.20	539.66	6.40
12	Yellow	0.34	2.60	8.40	1.53	6.08	4.40	0.02	0.27	12.40	221.50	1908.75	9.50	115.50	700.00	6.70

5종의 기능성 화합물에 대하여 토마토 23계통을 사용해 얻은 농도(concentration; ng/mL), 표준편차(Standard Deviation; SD)와 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)값. RSD 값을 통하여 한 계통에 대한 3반복에 대한 신뢰성을 확보하였다.

(6) 토마토 23 계통의 Polyphenol compounds 함량을 수용성 비타민의 분류 방식과 동일하게 과 색(Table 4-19)과 과크기로 계통과 품종을 분류하여(Table 4-18), 형질별 각 기능성 화합물의 분포를 알아보았다.

(7) 토마토 23 계통을 과색으로 분류한 결과, 함량에 대해 상위 3계통과 하위 3계통을 나누어 보았을 때 Quercetin은 상위 3계통이 154(R), 204(O), 220(Y)번으로 과색에 대해 차이를 보이지 않았으나 하위 3계통 중 2계통이 Pink로 분류되어 Quercetin은 분홍색 과실에서 적게 함량 될 것으로 추측하였다. Kaempferol에서는 상위 2계통이 노란색 과실에 속하였고 하위 3계통은 Red, Pink, Brown으로 나뉘었다. Myricetin의 경우에도 하위 3계통은 Red, Pink, Yellow로 나뉘어서 함량이 특히 낮은 과색 군을 나타내지 못했으나 상위 3계통 중 2계통이 Red에 속하는 것을 알 수 있었다. Naringenin chalcone의 경우 상위 3계통은 Red, Orange, Yellow로 나뉘었으나 하위 3계통 중 2계통은 분홍색 과실에 나뉘어진 것을 볼 수 있었다. Rutin의 경우 하위 3계통은 Pink, Orange, Yellow로 나뉘어 졌으나, 상위 3계통은 Red 과실로 통일됨을 알 수 있었다. 총 Polyphenol compounds 함량을 나타낸 graph를 참고해 보면, 상위 3계통은 Red, Orange, Yellow로 나뉘어 졌으나, Pink 과실인 123과 176번은 모두 하위 3계통에 속해 분홍색 과실은 Polyphenol compounds 함량이 낮을 것으로 사료된다(Figure 4-20).

Table 4-19. 토마토 23 계통의 과색 Data를 기준으로 분류한 결과. R; Red, P; Pink, O; Orange, Y; Yellow, B; Brown.

ID	과색	과크기	Total	Quercetin	Kaempferol	Myricetin	Naringenin chalcone	Rutin
104	R	대과	175.36	0.72	0.70	0.04	77.70	96.20
112	R	대과	168.82	0.87	0.71	0.04	111.90	55.30
113	R	대과	197.87	0.89	1.60	0.08	82.10	113.20
147	R	중과	111.05	0.48	0.47	0.00	58.00	52.10
154	R	중과	262.64	1.81	1.17	0.06	144.50	115.10
157	R	중과	202.52	0.76	0.92	0.04	78.70	122.10
159	R	중과	145.44	0.54	1.18	0.02	67.60	76.10
172	R	중과	98.47	0.60	0.77	0.00	45.40	51.70
123	P	대과	7.38	0.18	0.01	0.01	0.02	7.16
176	P	대과	66.96	0.27	1.20	0.00	1.09	64.40
106	O	대과	188.66	0.72	0.71	0.03	96.80	90.40
119	O	대과	207.95	0.61	1.00	0.04	110.90	95.40
124	O	중과	166.21	0.78	1.00	0.03	67.20	97.20
135	O	대과	116.04	0.40	0.92	0.02	67.20	47.50
204	O	중과	187.87	2.41	0.61	0.05	132.00	52.80
109	Y	소과	347.36	0.72	1.79	0.05	235.00	109.80
164	Y	중과	101.78	0.52	0.54	0.02	50.50	50.20
174	Y	소과	166.77	0.72	1.25	0.00	83.50	81.30
175	Y	대과	173.84	0.85	1.15	0.04	124.30	47.50
220	Y	소과	112.46	0.91	0.72	0.03	66.80	44.00
161	B	소과	69.75	0.26	0.48	0.01	18.70	50.30

Table 4-20. 토마토 23 계통의 과크기 Data를 기준으로 분류한 결과. 소과종; 0-60g, 중과종; 60-150g, 대과종; 150g 이상.

ID	과색	과크기	Quercetin	Kaempferol	Myricetin	Naringenin chalcone	Rutin	Total
104	R	대과	0.72	0.70	0.04	77.70	96.20	175.36
106	O	대과	0.72	0.71	0.03	96.80	90.40	188.66
112	R	대과	0.87	0.71	0.04	111.90	55.30	168.82
113	R	대과	0.89	1.60	0.08	82.10	113.20	197.87
119	O	대과	0.61	1.00	0.04	110.90	95.40	207.95
123	P	대과	0.18	0.01	0.01	0.02	7.16	7.38
135	O	대과	0.40	0.92	0.02	67.20	47.50	116.04
175	Y	대과	0.85	1.15	0.04	124.30	47.50	173.84
176	P	대과	0.27	1.20	0.00	1.09	64.40	66.96
124	O	중과	0.78	1.00	0.03	67.20	97.20	166.21
147	R	중과	0.48	0.47	0.00	58.00	52.10	111.05
154	R	중과	1.81	1.17	0.06	144.50	115.10	262.64
157	R	중과	0.76	0.92	0.04	78.70	122.10	202.52
159	R	중과	0.54	1.18	0.02	67.60	76.10	145.44
164	Y	중과	0.52	0.54	0.02	50.50	50.20	101.78
172	R	중과	0.60	0.77	0.00	45.40	51.70	98.47
204	O	중과	2.41	0.61	0.05	132.00	52.80	187.87
109	Y	소과	0.72	1.79	0.05	235.00	109.80	347.36
161	B	소과	0.26	0.48	0.01	18.70	50.30	69.75
174	Y	소과	0.72	1.25	0.00	83.50	81.30	166.77
220	Y	소과	0.91	0.72	0.03	66.80	44.00	112.46

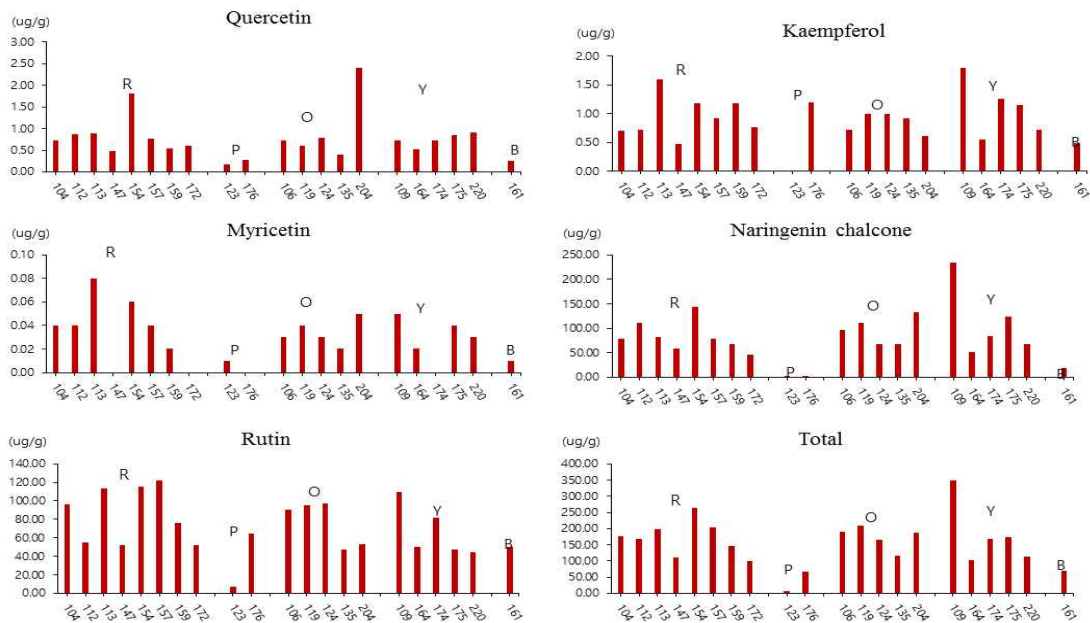


Fig 4-20. 토마토 23계통의 과색 분류에 따른 Polyphenol compounds 5종의 함량 Graph.

Rutin에서 유일하게 상위 3계통이 Red 과실 군에만 모여 있는 것을 알 수 있었고, Pink 과실 군은 전반적인 Polyphenol compounds에서 낮은 함량을 보였다.

(8) 토마토 23 계통을 과 크기로 분류한 결과, 함량에 대해 상위 3계통과 하위 3계통을 나누어 보았을 때 Quercetin은 상위 3계통 중 2계통이 중과에 속했고 하위 3계통 중 2계통이 대과에 속하였다. Myricetin은 상위 3계통이 대과, 중과, 소과로 나뉘어 졌고 대과인 176번, 중과인 147번, 172번, 소과인 174번에서 검출이 되지 않았다. Kaempferol에서 상위 3계통 중 2계통은 소과에 속하였고 하위 3계통은 대과, 중과, 소과로 나뉘어 졌다. Naringenin chalcone은 상위 3계통 중 2계통이 소과이고 하위 3계통 중 2계통이 대과였다. Rutin은 상위 3계통 중 2계통이 중과였고 하위 3계통 중 2계통은 대과였다. 총 Polyphenol compounds 함량을 나타낸 Graph에서는 상위 3계통이 대과, 중과, 소과로 나뉘어졌고 하위 3계통 중 2계통은 대과로 분류되었다 (Figure 4-21).

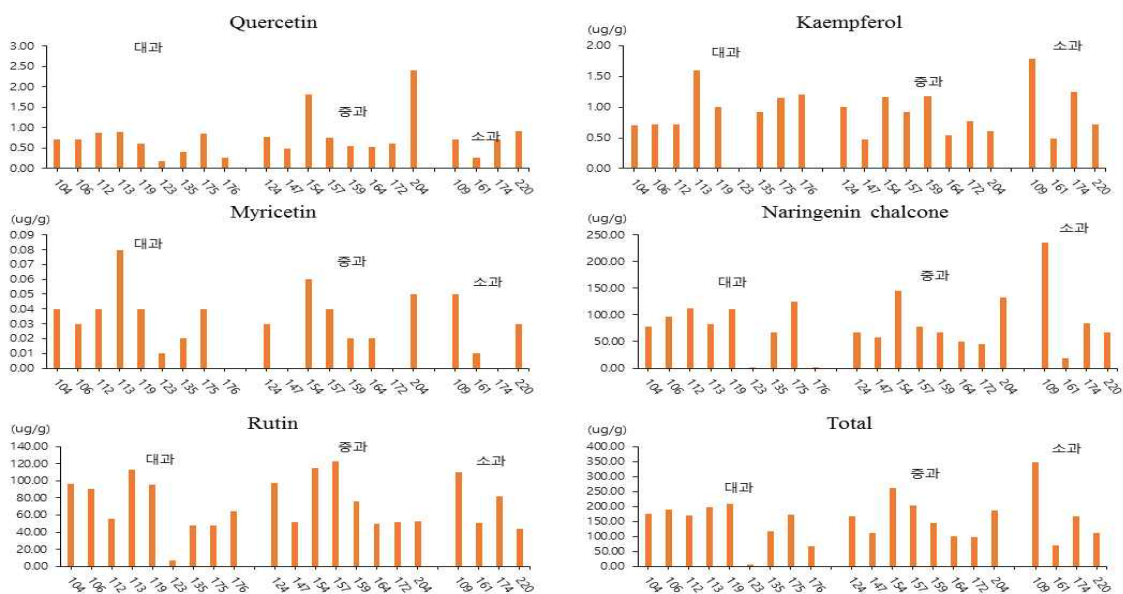


Fig 4-21. 토마토 23계통의 과색 분류에 따른 Polyphenol compounds 5종의 함량 Graph.

Total polyphenol compounds는 대과, 중과, 소과에서 큰 차이를 보이지 않았으나, 각 기능성 화합 물에 대한 분류를 보았을 때 Quercetin과 Rutin은 중과에 높은 함량을 가지는 계통이 속하였고, Kaempferol과 Naringenin chalcone은 소과에 높은 함량을 가지는 계통이 속하였다. 대과, 중과, 소과에 전반적으로 하위 3계통이 속해있는 Myricetin과 Kaempferol을 제외한 3종의 기능성 화합물은 대과에서 함량이 낮은 과실을 포함하였다.

(9) 토마토 23계통의 정량분석을 마친 결과 계통 154번(M82)은 Total Polyphenol compounds 가 높을 뿐만 아니라 Kaempferol을 제외한 4종의 Polyphenol compounds에서 상위 3계통 안에 속하고 제외된 Kaempferol에서도 전체 23계통의 평균보다 많은 함량을 가져 육중소재로서 가장 좋은 소재가 될 것으로 사료된다(Table 4-21).

Table 4-21. 토마토 23계통의 Polyphenol compounds 함량에 대한 하위 3계통과 상위 3계통 분류. 154번(M82) 계통이 4종의 Polyphenol compounds에서 상위 3계통에 속하는 것을 알 수 있다.

No.	Quercetin					Kaempferol					Myricetin				
	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD
1	123	OhioMR13	0.18	1.72	10.30	123	OhioMR13	0.01	0.04	3.90	147	OH9242	0.00	0.00	-
2	161	Blackplum	0.26	1.53	6.40	147	OH9242	0.47	3.47	8.10	172	San marzano	0.00	0.00	-
3	176	Cherokee purple	0.27	1.92	7.80	161	Blackplum	0.48	3.40	7.80	174	Yellow pear	0.00	0.00	-
4	220	PI114490	0.91	7.56	9.20	174	Yellow pear	1.25	7.23	6.40	204	97L97	0.05	0.62	13.60
5	154	M82	1.81	3.79	2.30	113	LA 1996	1.60	9.07	6.20	154	M82	0.06	0.49	9.10
6	204	97L97	2.41	24.79	11.30	109	GoldNugget	1.79	10.50	6.50	113	LA 1996	0.08	0.64	9.30

No.	Naringenin					Rutin					Total		
	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)
1	123	OhioMR13	0.02	0.26	11.40	123	OhioMR13	7.16	61.23	9.40	123	OhioMR13	7.38
2	176	Cherokee purple	1.09	2.06	2.10	220	PI114490	44.00	389.36	9.70	176	Cherokee purple	66.96
3	161	Blackplum	18.70	110.15	6.50	135	Tropic	47.50	312.25	7.20	161	Blackplum	69.75
4	204	97L97	132.00	916.52	7.60	113	LA 1996	113.20	986.78	9.63	119	NC84173	207.95
5	154	M82	144.50	1550.27	11.80	154	M82	115.10	288.68	2.80	154	M82	262.64
6	109	GoldNugget	235.00	1457.17	6.80	157	OH88119	122.10	793.73	7.20	109	GoldNugget	347.36

나. 토마토 12 F₁ 품종의 Polyphenol compounds 정성 및 정량분석

(1) 토마토 12F₁ 품종의 Polyphenol compounds를 위한 추출법, HPLC 분석, MS/MS 분석과 색층분석(Chromatographic separation)은 토마토 23계통의 Polyphenol compounds 정량분석 방법과 동일하게 진행하였다.

(2) 검량선(회귀직선) 작성과 LOD 및 LOQ 평가는 WSV 성분분석법과 동일하게 진행하였다. 토마토 12F₁ 품종에 대한 위의 Data는 23계통과 함께 수행하였고 분류를 계통과 분리하여 수행하였기 때문에 토마토 23계통의 Data와 동일하여 내용을 생략하였다(Table 4-22).

Table 4-22. 토마토 12 F₁ 품종의 Polyphenol compounds 성분분석 결과.

ID	Quercetin			Kaempferol			Myricetin			Naringenin			Rutin			Total	
	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	con (ng/mL)	SD	RSD	con (ng/mL)	SD	RSD	con (ng/mL)	SD	RSD	con (ng/mL)	SD	RSD	con (ng/mL)
1	Toast	0.11	0.38	3.70	0.04	0.32	9.60	0.00	0.00	-	46.20	241.32	5.70	22.80	125.30	6.10	69.15
2	GS Red	0.14	1.06	8.30	0.04	0.08	2.00	0.00	0.00	-	58.70	347.71	6.50	32.90	92.92	3.10	91.78
3	Marathon	0.02	0.25	13.40	0.03	0.36	12.40	0.00	0.00	-	0.01	0.05	4.30	2.45	19.52	8.80	2.51
4	K-star	0.04	0.25	6.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	0.56	0.92	1.80	9.92	17.56	1.90	10.52
5	Rapito	0.07	0.87	14.40	0.02	0.42	13.50	0.00	0.00	-	22.00	147.31	7.40	13.40	151.00	12.40	35.49
6	Black Ace	0.17	1.15	7.60	0.27	2.69	10.80	0.01	0.09	7.70	76.30	233.02	3.40	38.80	436.16	12.40	115.55
7	Orange	0.34	3.06	10.00	0.00	0.00	-	0.01	0.02	1.50	77.80	566.66	8.00	14.90	58.59	4.30	93.05
8	Candy	0.54	2.74	5.60	0.62	0.68	1.20	0.03	0.17	6.80	152.90	854.40	6.10	104.20	196.55	2.10	258.29
9	Crown	0.27	2.25	9.20	0.92	2.55	3.10	0.02	0.24	11.40	143.70	1604.16	12.30	79.00	780.02	10.90	223.91
10	Mini chal	0.27	1.54	6.30	0.80	7.68	10.60	0.02	0.18	8.40	168.30	1743.56	11.40	97.60	505.21	5.70	266.99
11	Miracle	0.35	1.68	5.30	0.78	6.86	9.70	0.02	0.20	10.40	135.70	351.19	2.80	93.20	539.66	6.40	230.05
12	Yellow	0.34	2.60	8.40	1.53	6.08	4.40	0.02	0.27	12.40	221.50	1908.75	9.50	115.50	700.00	6.70	338.89

5종의 기능성 화합물에 대하여 토마토 12 F₁ 품종을 사용해 얻은 농도(concentration; ng/mL),

표준편차(Standard Deviation; SD)와 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)값. RSD값을 통하여 한 계통에 대한 3반복에 대한 신뢰성을 확보하였다.

(3) 토마토 12 F₁ 품종을 과크기로 분류한 결과(Table 4-23), 분석한 모든 Polyphenol compounds가 소과종에서 상위 3계통이 모두 포함되어 높은 함량을 나타내었고, Kaempferol의 중과종인 7번(Orange)의 낮은 성분 함량을 제외한 1 경우를 제외한 모든 기능성 화합물에서 대과종이 낮은 성분 함량을 나타내었다. 따라서 과 크기의 측면에서 볼 때 소과종은 Polyphenol compounds를 많이 함유하는데 반해 대과종은 낮은 함량을 나타낼 것으로 사료된다(Figure 4-22).

Table 4-23. 토마토 12 F₁ 품종의 과크기 Data를 기준으로 분류한 결과.
소과종; 0-60g, 중과종; 60-150g, 대과종; 150g 이상.

ID	과색	과크기	Quercetin	Kaempferol	Myricetin	Naringenin chalcone	Rutin	Total
1	R	대과	0.11	0.04	0.00	46.20	22.80	69.15
2	R	대과	0.14	0.04	0.00	58.70	32.90	91.78
3	P	대과	0.02	0.03	0.00	0.01	2.45	2.51
4	P	대과	0.04	0.00	0.00	0.56	9.92	10.52
5	P	대과	0.07	0.02	0.00	22.00	13.40	35.49
6	B	중과	0.17	0.27	0.01	76.30	38.80	115.55
7	O	중과	0.34	0.00	0.01	77.80	14.90	93.05
8	R	소과	0.54	0.62	0.03	152.90	104.20	258.29
9	R	소과	0.27	0.92	0.02	143.70	79.00	223.91
10	R	소과	0.27	0.80	0.02	168.30	97.60	266.99
11	R	소과	0.35	0.78	0.02	135.70	93.20	230.05
12	Y	소과	0.34	1.53	0.02	221.50	115.50	338.89

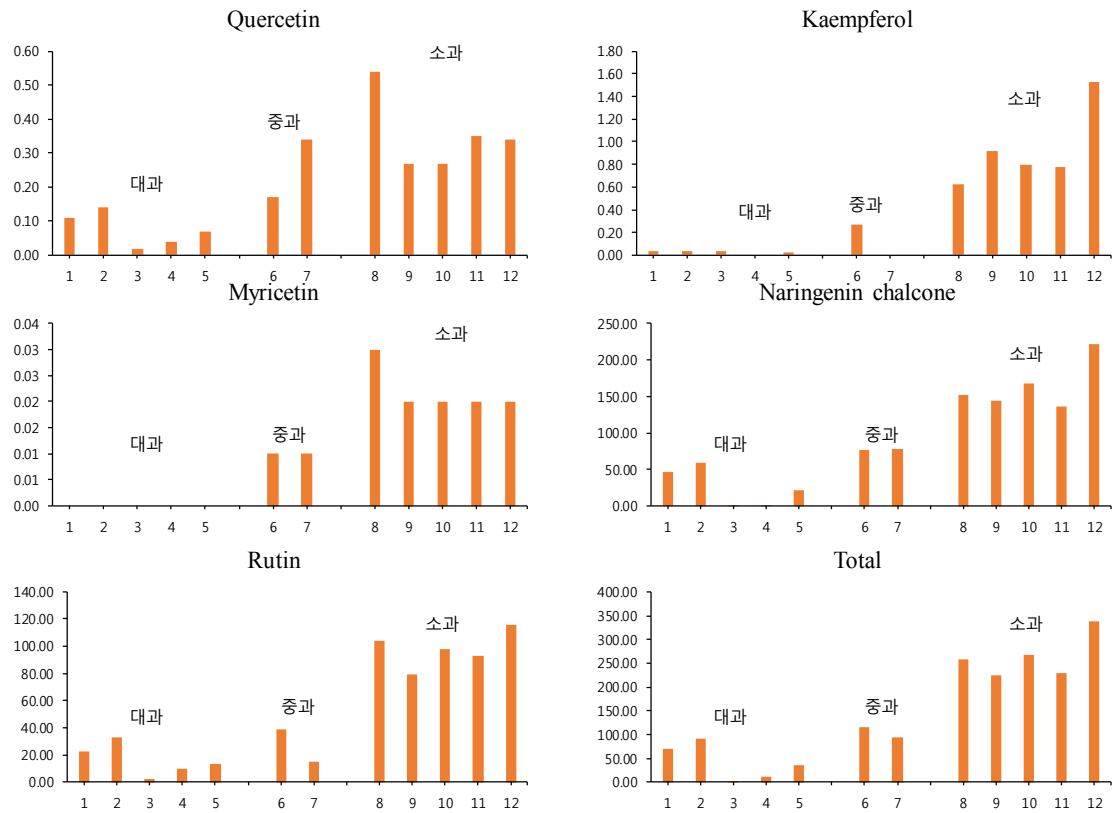


Fig 4-22. 토마토 12 F₁ 품종의 과크기 분류에 따른 Polyphenol compounds 5종의 함량 Graph. 전반적으로 소과종에서 높은 함량을 보이고 대과종에서 낮은 함량을 보임.

(4) 토마토 12 F₁ 품종을 과색으로 분류한 결과(Table 4-24), 모든 경우에서 상위 3계통 중 2계통은 Red에 속하였고 하위 3계통은 Kaempferol에서만 2계통이 Pink 과실에 속하였고 4종의 Polyphenol compounds에서 하위 3계통이 Pink 과실로 분류되는 경향을 알 수 있었다. 또한 상위 3계통 중 1계통은 모두 Yellow과실 인 것으로 나타났다. 따라서 과색의 측면에서 볼 때 Polyphenol compounds 함량은 Red와 Yellow 과실에서 높은 함량을 보이고, Pink 과실에서 낮은 함량을 가질 것으로 사료된다(Figure 4-23).

Table 4-24. 토마토 12 F₁ 품종의 과색 Data를 기준으로 분류한 결과.

R; Red, P; Pink, O; Orange, Y; Yellow, B; Brown.

ID	과색	과크기	Quercetin	Kaempferol	Myricetin	Naringenin chalcone	Rutin	Total
1	R	대과	0.11	0.04	0.00	46.20	22.80	69.15
2	R	대과	0.14	0.04	0.00	58.70	32.90	91.78
8	R	소과	0.54	0.62	0.03	152.90	104.20	258.29
9	R	소과	0.27	0.92	0.02	143.70	79.00	223.91
10	R	소과	0.27	0.80	0.02	168.30	97.60	266.99
11	R	소과	0.35	0.78	0.02	135.70	93.20	230.05
3	P	대과	0.02	0.03	0.00	0.01	2.45	2.51
4	P	대과	0.04	0.00	0.00	0.56	9.92	10.52
5	P	대과	0.07	0.02	0.00	22.00	13.40	35.49
7	O	중과	0.34	0.00	0.01	77.80	14.90	93.05
12	Y	소과	0.34	1.53	0.02	221.50	115.50	338.89
6	B	중과	0.17	0.27	0.01	76.30	38.80	115.55

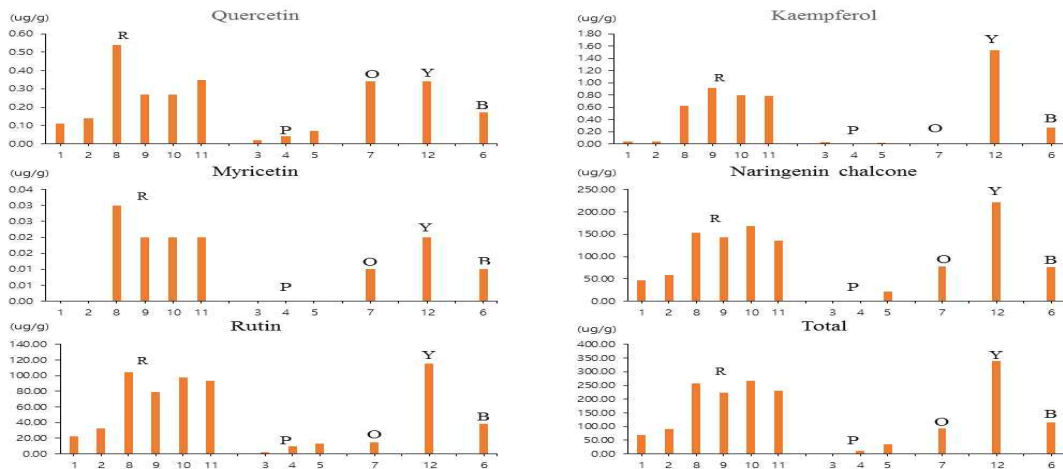


Fig 4-23. 토마토 12F₁ 품종의 과색 분류에 따른 Polyphenol compounds 5종의 함량 Graph. 전반적으로 Red와 Yellow 과실에서 높은 함량을 보이고 Pink 과실에서 낮은 함량을 보임.

(5) 토마토 12F₁ 품종의 정량분석 결과 품종 12번(Yellow)는 전반적인 Polyphenol compounds에서 높은 함량을 가지는 것으로 나타나 Polyphenol compounds 기능성 식품을 위한 육종소재로서 기여할 것으로 사료된다. 한편, WSV에서 함량이 가장 높았던 Miracle 품종은 Polyphenol compounds에서도 평균 농도보다 높은 함량을 보여 복합적인 기능성 화합물을 함유한 육종소재로서 기여할 것으로 사료된다(Table 4-25).

Table 4-25. 토마토 12F₁ 품종의 Polyphenol compounds 함량에 대한 하위 3계통과 상위 3계통 분류.

No.	Quercetin				Kaempferol				Myricetin						
	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD
1	3	Marathon	0.02	0.25	13.40	4	K-star	0.00	0.00	-	1	Toast	0.00	0.00	-
2	4	K-star	0.04	0.25	6.90	7	Orange	0.00	0.00	-	2	GS Red	0.00	0.00	-
3	5	Rapito	0.07	0.87	14.40	5	Rapito	0.02	0.42	13.50	3	Marathon	0.00	0.00	-
4	12	Yellow	0.34	2.60	8.40	10	Mini chal	0.80	7.68	10.60	11	Miracle	0.02	0.20	10.40
5	11	Miracle	0.35	1.68	5.30	9	Crown	0.92	2.55	3.10	12	Yellow	0.02	0.27	12.40
6	8	Candy	0.54	2.74	5.60	12	Yellow	1.53	6.08	4.40	8	Candy	0.03	0.17	6.80
Naringenin				Rutin				Total							
ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)	SD	RSD	ID	Accession name	con (ng/mL)			
3	Marathon	0.01	0.05	4.30	3	Marathon	2.45	19.52	8.80	3	Marathon	2.51			
4	K-star	0.56	0.92	1.80	4	K-star	9.92	17.56	1.90	4	K-star	10.52			
5	Rapito	22.00	147.31	7.40	5	Rapito	13.40	151.00	12.40	5	Rapito	35.49			
8	Candy	152.90	854.40	6.10	10	Mini chal	97.60	505.21	5.70	8	Candy	258.29			
10	Mini chal	168.30	1743.56	11.40	8	Candy	104.20	196.55	2.10	10	Mini chal	266.99			
12	Yellow	221.50	1908.75	9.50	12	Yellow	115.50	700.00	6.70	12	Yellow	338.89			

12번(Yellow) 계통이 선발된 5종의 Polyphenol compounds에서 상위 3계통에 속하는 것을 알 수 있다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전예의 기여도 등을 기술

제 1절 목표 달성도

세부과제 및 주요내용	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도
1. 내재해성 복합내병계 대과종 토마토 품종육성	→	→	→	→
- 유용유전자원의 탐색 및 수집평가	→	→	→	→
- 우량한 parent line 육성선발	→	→	→	→
- Multi내병성 검정 및 선발	→	→	→	→
- 신소재육성 Backcross	→	→	→	→
- 세대진전으로유전적 순화 및 고정	→	→	→	→
- 기능성물질 분석 및 내한성, 내서성 관련 형질 분석	→	→	→	→
- F1 조합작성 및 조합능력 검정시험	→	→	→	→
- 농가실증시험 및 지역적응성시험	→	→	→	→
- 농가실증시험 및 지역적응성시험	→	→	→	→
2. 수입대체 고품질 레드대과 토마토 품종육성	→	→	→	→
- 유전자원 수집 및 평가	→	→	→	→
- 기 보유계통 및 유전자원 특성조사	→	→	→	→
- 우수계통 육성	→	→	→	→
- 기능성 성분 분석	→	→	→	→
- 교배조합 작성 및 조합선발	→	→	→	→
- 농가재배시험	→	→	→	→
3. 토마토 SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발	→	→	→	→
- 토마토 집단의 증식을 통한 시료 확보 및 집단정보	→	→	→	→
- 대용량 genotyping by sequencing 처리 기술 및 MAB 칩개발	→	→	→	→
- 육종소재에 MABC 이용 계통선발	→	→	→	→
- 유전자 pyramiding 최적화	→	→	→	→
4. 대사체 분석 기반 고품질 토마토 육성용 분자마커 개발	→	→	→	→
- 기 보유 유전자원의 대사산물 성분분석	→	→	→	→
- 수집된 유전자원의 대사산물 성분분석	→	→	→	→

제 2절 관련분야의 기여도

1. 내재해성 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성

가. 토마토 유용 유전자원들의 수집 평가

토마토 유전자원을 생장형별로 유한형, 무한형, 과크기별로 대과종, 중과종, 미니종, 색상별로 pink color, red color, orange color, yellow color, brown color, 과형별로 편구형, 고구형, 타원형, 원형 등을 수집하였고, 저장성이 우수하고 열과저항성인 유전자원, TYLCV, TSWV, 잎곰팡이병, 근부위조병, 점무늬병, 역병, 흰가루병, 청고병 등에 내병성 토마토 유전자원 152점을 수집하여 평가하고 분리육성하거나 재육성 소재로 활용하였다.

나. 우량한 양친 계통들의 육성

모계육성으로 절간이 짧고 화방발달과 착과성이 좋고 과균일도, 저장성, 착색이 우수하고, 토마토모자이크바이러스, 선충, 시들음병, 점무늬병 등에 내병성이 있는 계통을 선발하여 1차년도에 42 line, 2차년도에 41 line, 3차년도에 67 line, 4차년도에 56 line을 육성하였다. 부계육성으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성, 수송성이 우수하며, 황화위축바이러스, 잎곰팡이병, 근부위조병, 역병 등에 내병성이 있는 계통을 선발하여 1차년도에 44 line, 2차년도에 42 line, 3차년도에 60 line, 4차년도에 48 line을 육성하였다. 고정계통들은 F₁ 조합작성에 사용하였다.

다. 신소재 육성

(pink계 x pink계) 1그룹, (red계 x pink계) 5그룹, (red계 x mini계) 1그룹, (pink계 x brown계) 1그룹 등 8그룹의 신소재육성 조합을 작성하고, backcrossing으로 유전자를 집적하여 BC4F3, BC3F2 단계의 새로운 육성재료들을 창출하였다.

라. F₁ 조합 선발시험

F₁ 조합 선발시험으로 제1차년도에 핑크토마토 20조합을 작성하여 14조합을 선발하였고, 2차년도에 핑크 34조합, 레드 28조합을 작성하여 핑크 5조합, 레드 5조합을 선발하였다. 제3차년도에 핑크 32조합, 레드 24조합을 작성하여 핑크 5조합, 레드 4조합을 선발하였으며, 4차년도에 핑크 32조합, 레드 21조합 중에서 핑크 5조합, 레드 5조합을 선발하였다. best로 선발된 조합들은 농가실증시험을 실시하였다.

마. 품종등록 및 상품화

최종선발된 조합은 품종화하여 핑크토마토 ‘GS핑크’ ‘슈퍼스타’ ‘맘모스TY’ 흑토마토 ‘블랙이글’ 레드토마토 ‘찰스톤TY’ 등을 품종보호출원을 하였으며, ‘TY메가톤’ ‘킹스톤’ ‘토스카나’ ‘블루스톤’ ‘레드스트롱’ 등을 품종생산판매 신고하여 농가보급 판매 및 확대시험 중에 있다.

2. SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발

가. 엘리트계통의 재배/증식을 통한 형질 특성 조사한 결과 초세가 강하고 착과비대가 균일하고 과육이 단단하며 저장성이 우수하고 고온기 재배에 적합하였다. 레드 대과 토마토 우량육종소재 및 저온기에 착과비대가 균일하고 저장성과 맛이 월등히 좋은 복합내병성 핑크 대과토마토 우량

육종소재를 재료로 SNP 대량발굴 및 HRM (High Resolution Melting) primer design을 위해 Genome-wide 분석결과를 토대로 HRM primer set는 K1-K2간에 HRM primer set가 186,800, K3-K4간에는 70,596 set가 디자인 하였음. 그리고 이들 SNP 정보를 이용하여 초밀도 genetic map을 구축하였다. 토마토 4 품종의 SNP를 이용하여 교배조합별 이용 가능한 SNP를 선발하였으며, 총 교배조합은 6개이고, 총 410,074 SNPs가 선발되었다. 이 중 조건을 만족하는 primer를 디자인 할 수 있는 SNP는 245,514개이었다. 교배조합별 이용 가능한 SNP는 다양하였는데 K1 × K2 조합은 가장 많은 60,865 SNPs가 선발되었고, 그 중 primer를 이용할 수 있는 SNP는 40,691개이었다. 반면 K3 × K4 조합은 가장 적은 40,136 SNPs가 선발되었는데, 이용 가능한 primer를 가지는 SNPs 로는 20,62개가 존재하였다. 각 염색체의 물리적인 길이로 구획한 경우는 염색체당 5개의 동일한 크기로 나누었다. 약 90Mb의 길이로 12개염색체 중 가장 긴 1번 염색체는 5개의 18Mb 길이의 구획으로 나뉘었고, 약 46Mb 길이의 가장 짧은 6번 염색체는 5개의 9Mb 길이로 분획되었다. 그리고 토마토 4 품종의 교배조합별로 primer가 이용 가능한 SNP를 이용하여 한 구획 당 3개의 SNP를 선발하여 나타내었다. 그리고선발한 SNP 마커는 염색체별 약 10개씩 총 120개로 이들 마커정보를 DB화로부터 HRM primer을 디자인하여 육종프로그램에 이용할 수 있었다.

식물 육종에서 여교배는 하나 또는 그이상의 형질을 우량 계통에 도입 하고자 할 때 주로 사용하고 있는 육종법으로 BC1F1 세대에서 donor 친의 유전자들은 25%, 반복친은 75%로 구성되는 것이 통상적으로 알고 있다. 그러나 육종 현장에서는 유전자간의 상위성, 재조합 등에의해 그 비율이 다소 차이를 보인다. 이런 차이를 이용하여 donor친의 유전자들이 많이 포함되지 않은 개체를 선발 한다면, 육종의 세대단축에 기여 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 최근 개발되어 사용하고 있는 GBS (genotyping by sequencing) 기술을 셋팅하고 그 기술을 이용하여 육종현장에 접목하여 BC1F1 세대에서 선발 효율을 높이고자 한다. 토마토 BC1F1 세대 96개체 library 구축을 위해 GBS Next generation sequencing 분석 재료의 제작 후 QC 결과를 나타낸 것으로 Acrylamide-gel 전기영동과 QC profile 결과와 일치하는 것을 확인하였다. 따라서 이들 세대단축기술을 이용하여 토마토 계통육성에 크게 기여 할 수 있을 것으로 생각한다.

3. 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발

토마토 35계통 사이에서 수용성 비타민(WSV; Water Soluble Vitamin) B1, B2, B3, B5, B6, B9와 C 그리고 Polyphenol류 Naringenin chalcone, Quercetin, Rutin, Kaempferol과 Myricetin의 정량과 각 계통간의 비타민 함량이 유의한 지를 보고자 수행되었음. 수용성 비타민의 함량을 알아보기 위해 Sequential determination of fat-and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage, Santos J et al, 2012, Journal of Chromatography A 179-188을 참고하여 분석조건을 확립하였고 Polyphenol계 물질을 위하여 Determination of polyphenol levels variation in Capsicum annum L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose using liquid chromatography- tandem mass spectrometry, SeMin Park et al, 2012, Food chemistry

981-985를 참고하여 추출조건을 설정하였음. 토마토 유전자원은 재래종, 재배종, 야생종 등을 보유하고 있는 총 100계통에서 resequencing이 수행된 30계통을 선발하였고 그 중 재배 시 고온의 영향으로 누락이 된 개체를 제외한 23계통을 사용하였고, 국내 육종회사 F1 12 품종을 추가하여 정량분석을 위한 시료로 사용하였음. Standard solution 분석으로, 결과로 도출해낸 Peak와 본 연구에 사용한 시료를 이용하여 얻은 Peak를 비교하여 수용성비타민과 Polyphenol이 검출된다는 사실을 알 수 있었음(Test한 두 시료의 결과를 대입시켜 Standard solution을 기준으로 물질의 유무를 확인). 이 때, 수용성비타민 B2와 B9의 경우 같은 시간에 나타난 Peak가 같은 Intensity를 보이지 않고, 다른 Peak가 매우 많이 검출되는 것을 확인하였으며, LOD값 이하로 검출되어 이는 본 실험에 사용된 토마토시료에는 함유되어있지 않다고 사료됨. 토마토 수용성비타민과 Polyphenol 성분분석 결과는 B2와 B9을 제외한 선발 물질에서, 모두 LOD값 이상으로 성분이 검출되었다. 각각 토마토 35계통에서 얻은 농도(Concentration; $\mu\text{g/g}$)와 이에 대한 표준편차와 상대표준편차를 얻을 수 있었으며, 이로 인해 한 계통에 대한 3반복의 신뢰성을 확보함. Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations, Rebecca Stevens et al, 2007, Plant Physiology vol.143 1943-1953에 의해 소과에서 더욱 많은 Ascorbic acid(Vitamin C)를 함유한다는 것을 착안하여 35계통 식물시료에 대한 정량분석 데이터를 각 시료에 대한 과중 평균 Data를 기준으로 소과는 0-60g, 중과는 60-150g, 대과는 150g이상으로 나누어 분류하였음. 또한, 시료 간에 과색의 차이가 뚜렷한 것에 착안점을 두어 과색에 따른 분류를 시행하였음. 과색에 따라 가공한 Data에 따르면 Black, Orange, Pink, Red와 Yellow로 나누어 보았을 때, 수용성비타민의 경우 C, B3, B6는 Red에서 가장 많은 함유량을 나타내었고 B5와 B1는 과색에 따른 차이를 보이지 않았음. 정량분석을 한 5가지 Polyphenol 모두에서 Pink과가 가장 낮은 함량을 나타내는 것을 확인하였음. Polyphenol의 경우, 외국 재래종 고정계통 22품종에서는 Orange와 Red과에서 높은 함량이 나타났고, 국내 육종회사 F1 12 품종에서는 Yellow와 Red과에서 높게 나타나 전반적으로 Red과에서 Polyphenol성분이 많을 것으로 사료됨.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절 연구개발 성과

1. 내재해성 복합내병계 수입대체용 대과종 토마토 품종 육성

가. 토마토 유용 유전자원들의 수집 평가

토마토 유전자원을 생장형별로 유한형, 무한형, 과크기별로 대과종, 중과종, 미니종, 색상별로 pink color, red color, orange color, yellow color, brown color, 과형별로 편구형, 고구형, 타원형, 원형 등을 수집하였고, 저장성이 우수하고 열과저항성인 유전자원, TYLCV, TSWV, 잎곰팡이병, 근부위조병, 점무늬병, 역병, 흰가루병, 청고병 등에 내병성 토마토 유전자원 152 점을 수집하여 평가하고 분리육성하거나 재육성 소재로 활용하였다.

나. 우량한 양친 계통들의 육성

모계육성으로 절간이 짧고 화방발달과 착과성이 좋고 과균일도, 저장성, 착색이 우수하고, 토마토모자이크바이러스, 선충, 시들음병, 점무늬병 등에 내병성이 있는 계통을 선발하여 1차년도에 42 line, 2차년도에 41 line, 3차년도에 67 line, 4차년도에 56 line을 육성하였다. 부계육성으로 초세가 강하고 과육이 단단하여 저장성, 수송성이 우수하며, 황화위축바이러스, 잎곰팡이병, 근부위조병, 역병 등에 내병성이 있는 계통을 선발하여 1차년도에 44 line, 2차년도에 42 line, 3차년도에 60 line, 4차년도에 48 line을 육성하였다. 고정계통들은 F₁ 조합작성에 사용하였다.

다. 신소재 육성

(pink계 x pink계) 1그룹, (red계 x pink계) 5그룹, (red계 x mini계) 1그룹, (pink계 x brown계) 1그룹 등 8그룹의 신소재육성 조합을 작성하고, backcrossing으로 유전자를 집적하여 BC4F3, BC3F2 단계의 새로운 육성재료들을 창출하였다.

라. F₁ 조합 선발시험

F₁ 조합 선발시험으로 제1차년도에 핑크토마토 20조합을 작성하여 14조합을 선발하였고, 2차년도에 핑크 34조합, 레드 28조합을 작성하여 핑크 5조합, 레드 5조합을 선발하였다. 제3차년도에 핑크 32조합, 레드 24조합을 작성하여 핑크 5조합, 레드 4조합을 선발하였으며, 4차년도에 핑크 32조합, 레드 21조합 중에서 핑크 5조합, 레드 5조합을 선발하였다. best로 선발된 조합들은 농가실증시험을 실시하였다.

마. 품종등록 및 상품화

최종선발된 조합은 품종화하여 핑크토마토 ‘GS핑크’ ‘슈퍼스타’ ‘맘모스TY’ 흑토마토 ‘블랙이글’ 레드토마토 ‘찰스톤TY’ 등을 품종보호출원을 하였으며, ‘TY메가톤’ ‘킹스톤’ ‘토스카나’ ‘블루스톤’ ‘레드스트롱’ 등을 품종생산판매 신고하여 농가보급 판매 및 확대시험 중에 있다.

2. SNP 분석을 통한 세대단축기술 및 우량육종소재 개발

- 가. 엘리트계통의 재배/증식을 통한 형질 특성 조사한 결과 초세가 강하고 착과비대가 균일하고 과육이 단단하며 저장성이 우수하고 고온기 재배에 적합한 레드 대과 토마토 우량육종소재 및 저온기에 착과비대가 균일하고 저장성과 맛이 월등히 좋은 복합내병성 핑크 대과토마토 우량육종소재를 재료로 사용하였다.
- 나. SNP 대량발굴을 위한 재료, DNA추출, 정제 및 QC, sequencing을 위해서 SNP 발굴용 4개의 자식계통은 rin 계 1계통, 핑크계 2계통 및 레드계 1계통의 24일 된 육묘로부터 DNA 추출한 후, DNA 순도를 검정하고, 주) 테라젠에서 QC하고 Illumina/ Hiseq 2000 DNA sequencing을 이용하여 Sequencing 분석함
- 다. Genom-Wide SNP는 Illumina의 Hiseq 2000를 이용하여 분석하였으며, Shot read에 대한 raw data를 quality에 따라 trimming 하는 sequence pre-processing 과정을 거쳐 reference genome과의 alignment를 수행하여 consensus sequence를 작성 하였음. 1차 SNP(혹은 In/Del) detection 후에, *SEEDERS in-house* script를 이용하여 샘플 간의 SNP matrix를 작성하고, validation과정을 거쳐 유의한 SNP 후보 선발되었다. 4개의 자식계통의 Shot read에 대한 raw data는 표 2와 같다. 자식계통 간 read 수는 40,383,428 ~ 43,406,156으로 Reference genome의 10.33 ~ 11.11 배로 많이 읽었음. 4개의 자식계통의 raw data를 quality에 따라 trimming 한 결과 Reference genome의 8.40 ~ 9.10 배로 raw data의 79.25 ~ 84.7 %의 수준을 보였음. reference genome과 자식계통의 SNP는 144,992 ~ 558,526으로 polymorphic SNP는 교배조합인 K1과 K2는 607962, K3와 K4는 213,782로 나타났으며 비교샘플 간에 SNP비교분석은 각 샘플을 표준유전체와 비교하여 얻은 Total SNP position을 후보로 하여 합집합의 리스트를 만들고, matrix를 작성한다. 이 때, 빈 영역은 다시 샘플의 consensus sequence로부터 채워 넣는다. 작성된 matrix에서 동일한 position을 기준으로, 비교샘플 간에 서로 SNP인 경우 (polymorphic SNP)를 선발하였다.
- 라. reference genome과 자식계통의 SNP는 144,992 ~ 558,526으로 polymorphic SNP는 교배 조합인 K1과 K2는 607962, K3와 K4는 213,782로 나타났음. 비교샘플 간에 SNP비교분석은 각 샘플을 표준유전체와 비교하여 얻은 Total SNP position을 후보로 하여 합집합의 리스트를 만들고, matrix를 작성한다. 이 때, 빈 영역은 다시 샘플의 consensus sequence로부터 채워 넣는다. 작성된 matrix에서 동일한 position을 기준으로, 비교샘플 간에 서로 SNP인 경우 (polymorphic SNP)를 선발하였다. Polymorphic SNP 중 intergenic region은 K1-K2 91%, K3-K4 83%로 나타났으며 Genic은 9, 17%로 나타났다. Genic은 다시 intron, CDS, UTR로 나뉘어 각각 K1-K2에서 6, 3, 0 %, K3-K4에서 11, 5, 1% 로 나타났음.
- 마. 염색체상에 K1-K2 간 polymorphic-SNP 분포도는 자식계통 K1-K2간 Polymorphic SNP 분포 12개 염색체 모두에 분포하고 있으며, 특히 5번 염색체에서 많은 Polymorphic SNP를 나타냄. 또한 자식계통 K3-K4간 Polymorphic SNP 분포 12개 염색체 모두에 분포하고 있으며, 특히 9번과 11번 염색체에서 많은 Polymorphic SNP를 나타내었다. 또한 각각의 자식

계통 Genome-wide In/Del 분석결과 27136 ~ 44462 수준으로 나타났으며, 교배조합인 K1-K2의 polymorphic in/del은 30,641, K3-K4는 11,045로 나타났음.

- 바. HRM (High Resolution Melting) primer design을 위해 Genome-wide 분석결과를 토대로 HRM primer set는 K1-K2간에 HRM primer set가 186,800, K3-K4간에는 70,596 set가 디자인 하였음. 그리고 이들 SNP 정보를 이용하여 초밀도 genetic map을 구축하였다.
- 사. 토마토 4 품종의 SNP를 이용하여 교배조합별 이용 가능한 SNP를 선별함. 가능한 총 교배조합은 6개이고, 총 410,074 SNPs가 선발되었다. 이 중 조건을 만족하는 primer를 디자인 할 수 있는 SNP는 245,514개이었다. 교배조합별 이용 가능한 SNP는 다양하였는데 K1 × K2 조합은 가장 많은 60,865 SNPs가 선발되었고, 그 중 primer를 이용할 수 있는 SNP는 40,691개이었다. 반면 K3 × K4 조합은 가장 적은 40,136 SNPs가 선발되었는데, 이용 가능한 primer를 가지는 SNPs 로는 20,62개가 존재하였다.
- 아. 각 염색체의 물리적인 길이로 구획한 경우는 염색체당 5개의 동일한 크기로 나누었다. 약 90Mb의 길이로 12개염색체 중 가장 긴 1번 염색체는 5개의 18Mb 길이의 구획으로 나누었고, 약 46Mb 길이의 가장 짧은 6번 염색체는 5개의 9Mb 길이로 분획되었다. 그리고 토마토 4 품종의 교배조합별로 primer가 이용 가능한 SNP를 이용하여 한 구획 당 3개의 SNP를 선별하여 나타내었다. 그리고 선발한 SNP 마커는 염색체별 약 10개씩 총 120개로 이들 마커정보를 DB화로부터 HRM primer을 디자인하였다.
- 자. 식물 육종에서 여교배는 하나 또는 그이상의 형질을 우량 계통에 도입 하고자 할 때 주로 사용하고 있는 육종법으로 BC1F1 세대에서 donor 친의 유전자들은 25%, 반복친은 75%로 구성되는 것이 통상적으로 알고 있다. 그러나 육종 현장에서는 유전자간의 상위성, 재조합 등에 의해 그 비율이 다소 차이를 보인다. 이런 차이를 이용하여 donor친의 유전자들이 많이 포함되지 않은 개체를 선별 한다면, 육종의 세대단축에 기여 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 최근 개발되어 사용하고 있는 GBS (genotyping by sequencing) 기술을 셋팅하고 그 기술을 이용하여 육종현장에 접목하여 BC1F1 세대에서 선별 효율을 높이고자 한다. 토마토 BC1F1 세대 96개체 library 구축을 위해 GBS Next generation sequencing 분석 재료의 제작 후 QC 결과를 나타낸 것으로 Acrylamide-gel 전기영동과 QC profile 결과와 일치하는 것을 확인하였다.
- 차. rin/rin의 유전자형을 가지면서 식미가 우수한 계통을 이용하여 초세가 강하고, 당도가 높고, 과 크기가 280-310g 인 핑크계에 교배하여 얻어진 F1은 핑크계 이며, 이를 이용하여 핑크계 P2와 여교배하여 BC1F1 세대로부터 foregrounding selection으로 rin 유전자형으로 먼저 선별하였다. 그리고 backgrounding 선발을 위해 GBS의 실험한 결과 BC1F1 식물체별 호모 SNP는 3,086개이었고, heterozygous SNP는 810개를 얻었다. 얻어진 호모 및 헤테로 SNP 마커를 염색체별로 분획한 결과 1번 염색체 239개, 2번 염색체 93개, 3번 염색체 197개, 4번 염색체 149개, 5번 염색체 233개, 6번 염색체 996개, 7번 염색체 120개, 8번 염색체 12개, 10번 염색체 28개, 11번 염색체 169개, 12번 염색체 245개 등 다양성을 보였음. BC1F1

세대에서 rin 유전자가 포함하고 반복친 핑크토마토의 게놈 조성을 살펴본 결과 대부분이 65-78%을 보였으며, 이중 rin/rin 계 P1 게놈이 15% 이하인 350-380 정도의 SNP 마커가 포함되어 있는 BC1F1 개체는 38, 45, 51, 57 식물체로써 각각 donor 게놈이 13%, 16%, 12%, 12.5%로 나타났다. 선발 BC1F1 식물체 과실의 특성을 살펴본 결과 핑크이면서, 초세가 강하고, 경도가 높으며 다양한 특성을 보였다. 선발한 식물체의 숙기는 양친에 비해 반복친에 가깝게 나타났으며, 초세는 반복친과 거의 유사하였다. 그러나 과중은 donor 친과 거의 유사한 결과를 보였으며, 다른 형질은 크게 구별되지 않았다.

카. 양친 모두 무한생장형, 초세는 모두 강하며, 과형은 고구형, 편구형, 당도는 5.5-6.0 범위에 있는 자식계통을 이용하여 F1 및 BC1F1을 육성하여 GBS를 적용하였다. 레드계 토마토를 donor 친으로 pink 계 토마토를 recurrent 친으로 육성한 BC1F1 세대에서 GBS 적용 후, 얻어진 polymorphic SNP 마커수는 호모 SNP 2492 개 및 헤테로 SNP 396개로 나타났다. 얻어진 호모 및 헤테로 SNP 마커를 염색체별로 분획한 결과 표. 18와 같다. 1번 염색체 196개, 2번 염색체 23개, 3번 염색체 42개, 4번 염색체 116개, 5번 염색체 72개, 6번 염색체 287개, 7번 염색체 57개, 8번 염색체 38개, 10번 염색체 18개, 11번 염색체 84개, 12번 염색체 130개 등 다양성을 보였음. BC1F1 세대에서 red계 고품질 관련 유전자가 포함하고 반복친 핑크토마토의 게놈 조성을 살펴본 결과 대부분이 75-78%을 보였으며, 이중 red계 P1 게놈이 15% 이하인 BC1F1 개체는 61, 90 식물체로써 각각 donor 게놈이 11.5%, 14.5%로 나타났다. 발 BC1F1 식물체 과실의 특성을 살펴본 결과 핑크이면서, 초세가 강하고 다양한 특성을 보였다. 선발한 식물체의 숙기는 양친에 비해 반복친에 가깝게 나타났으며, 초세는 반복친과 거의 유사하였다. 그러나 과중은 donor 친과 거의 유사한 결과를 보였으며, 다른 형질은 크게 구별되지 않았다.

타. 토마토 F1 품종간 교배를 통한 우량 유전자 집적 red 토마토 육종소재 개발을 위해 레드계 품종 메드슨과 티와이 250 품종을 교배하여 과중 250g, 고구형, 색상이 뚜렷하고, 초세가 강한 병저항성 인자가 다량 포함된 자식종자 S6 세대를 육성하였다.

3. 유전체 및 대사체 분석을 통한 고품질 토마토 우량 육종소재 개발

가. 토마토 35계통 사이에서 수용성 비타민(WSV; Water Soluble Vitamin) B1, B2, B3, B5, B6, B9와 C 그리고 Polyphenol류 Naringenin chalcone, Quercetin, Rutin, Kaempferol과 Myricetin의 정량과 각 계통간의 비타민 함량이 유의한 지를 보고자 수행되었음. 수용성 비타민의 함량을 알아보기 위해 Sequential determination of fat-and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage, Santos J et al, 2012, Journal of Chromatography A 179-188을 참고하여 분석조건을 확립하였고 Polyphenol계 물질을 위하여 Determination of polyphenol levels variation in Capsicum annuum L. cv. Chelsea (yellow bell pepper) infected by anthracnose using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, SeMin Park et al, 2012, Food chemistry 981-985를 참고하여 추출조건을

설정하였음.

- 나. 토마토 유전자원은 재래종, 재배종, 야생종 등을 보유하고 있는 총 100계통에서 resequencing이 수행된 30계통을 선발하였고 그 중 재배 시 고온의 영향으로 누락이 된 개체를 제외한 23계통을 사용하였고, 국내 육종회사 F1 12 품종을 추가하여 정량분석을 위한 시료로 사용하였음.
- 다. Standard solution 분석으로, 결과로 도출해낸 Peak와 본 연구에 사용한 시료를 이용하여 얻은 Peak를 비교하여 수용성비타민과 Polyphenol이 검출된다는 사실을 알 수 있었음(Test한 두 시료의 결과를 대입시켜 Standard solution을 기준으로 물질의 유무를 확인). 이 때, 수용성비타민 B2와 B9의 경우 같은 시간에 나타난 Peak가 같은 Intensity를 보이지 않고, 다른 Peak가 매우 많이 검출되는 것을 확인하였으며, LOD값 이하로 검출되어 이는 본 실험에 사용된 토마토시료에는 함유되어있지 않다고 사료됨.
- 라. 토마토 수용성비타민과 Polyphenol 성분분석 결과는 B2와 B9을 제외한 선발 물질에서, 모두 LOD값 이상으로 성분이 검출되었다. 각각 토마토 35계통에서 얻은 농도(Concentration; $\mu\text{g/g}$)와 이에 대한 표준편차와 상대표준편차를 얻을 수 있었으며, 이로 인해 한 계통에 대한 3반복의 신뢰성을 확보함.
- 마. Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations, Rebecca Stevens et al, 2007, Plant Physiology vol.143 1943-1953에 의해 소과에서 더욱 많은 Ascorbic acid(Vitamin C)를 함유한다는 것을 착안하여 35계통 식물시료에 대한 정량분석 데이터를 각 시료에 대한 과중 평균 Data를 기준으로 소과는 0-60g, 중과는 60-150g, 대과는 150g이상으로 나누어 분류하였음. 또한, 시료 간에 과색의 차이가 뚜렷한 것에 착안점을 두어 과색에 따른 분류를 시행하였음.
- 바. 과색에 따라 가공한 Data에 따르면 Black, Orange, Pink, Red와 Yellow로 나누어 보았을 때, 수용성비타민의 경우 C, B3, B6는 Red에서 가장 많은 함유량을 나타내었고 B5와 B1는 과색에 따른 차이를 보이지 않았음. 정량분석을 한 5가지 Polyphenol 모두에서 Pink과가 가장 낮은 함유량을 나타내는 것을 확인하였음. Polyphenol의 경우, 외국 재래종 고정계통 22품종에서는 Orange와 Red과에서 높은 함량이 나타났고, 국내 육종회사 F1 12 품종에서는 Yellow와 Red과에서 높게 나타나 전반적으로 Red과에서 Polyphenol성분이 많을 것으로 사료됨.
- 사. 과 크기에 따라 가공한 Data에 따르면 수용성 비타민의 경우, 크기에 따른 차이점은 보기 힘들었으나 112번 시료(LA0797)은 5가지 수용성비타민에 대해 모두 높은 함유량을 나타냄. 또한 B6를 제외한 4가지 물질에서 대과에서 높은 함유량을 보였고, B6의 경우 가장 높은 함유량을 보인 과실은 대과이나, 그 다음으로 높은 과실들은 소과인 것으로 미루어 보아 소과에 많이 함유되어 있을 것으로 사료됨. Polyphenol의 경우 외국 재래종 고정계통 22품종에서는 눈에 띄는 차이를 보이지 않았으나 국내 육종회사 F1 12 품종에서는 소과에서 높은 함유량을 띄었음.

제 2절 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 품종개발

세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다]									
구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기타 (비고)
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
품종생산판 매신고	TY메가톤	한국	김명권	2014.2.19	02-0005 -2014-40				
품종보호출 원	GS핑크	한국	김명권	2015.1.19	2015-108				
품종생산판 매신고	GS레드	한국	김명권	2015.1.23	2015-00013 3				

나. 특허

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경 우 반드시 국명을 기록합니다]									
구 분	지식재산권 등 명 칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
특허	발명특허	대한민국	부산대	2015.06	10-2015 092628				2015
	발명특허	대한민국	한경대	2015.02	10-2015-0 020154				2015

다. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Development of a high-resolution melting marker for selecting Fusarium crown and root rot resistance in tomato	Genome	Bichseam Kim	doi: 10.1139/gen-2015-0115	캐나다	N R C Research Press	SCI
2	Transgenic tomato plants ectopically expressing BrRZFP1 gene encoding C3HC4-type RING zinc finger protein	Plant Breeding and Biotechnology	정유진	2	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI
3	Whole Genome Resequencing in Tomato Lines Reveals SNP Variation and Breeding Events	Plant Breeding and Biotechnology	정유진	1	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI
4	Molecular characterization of the UDP-glucose 4-epimerase (BrUGE) gene family in response to biotic and abiotic stress in Chinese cabbage (<i>Brassica rapa</i>)	PBR	강권규	9	일본	springer	SCIE
5	Identification of an SNP Variation of Elite Tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) Lines using Genome Resequencing Analysis	Korean Society of Breeding Science	강권규	57	한국	Korean Society of Breeding Science	SCIE
6	Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes	J Plant Biotechnol	강권규	43	한국	J Plant Biotechnol	Scopus
7	Genome Sequencing, a Milestone for Genomic Research and Plant Breeding	Plant Breeding and Biotechnology	강권규	3	한국	Plant Breed. Biotech	비SCI

라. 유전자원

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
2013년도	TY내병성, 저장성 등	47점				
2014년도	long shelf, 청고병 등	38점				

2. 성과활용계획: 2단계 품종육성에 활용할 계획임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

없음

제 7 장 참고문헌

* 보고서 작성 시 인용된 모든 참고문헌을 열거

An SJ, Kwon JK, Yang HB, Choi HJ, Jeong HJ, Kim YJ, Choi GJ, Kang BC (2010) SNP marker development for purity test of oriental melon and melon. *Korean J Breed Sci* 42:397-406

Causse M, Desplat N, Pascual L, Le Paslier MC, Sauvage C, Bauchet G, Bérard A, Bounon R, Tchoumakov M, Brunel D (2013) Whole genome resequencing in tomato reveals variation associated with introgression and breeding events. *BMC Genomics* 14:791

Chagné D, Crowhurst RN, Troglio M, Davey MW, Gilmore B, Lawley C, Vanderzande S, Hellens RP, Kumar S, Cestaro A (2012) Genome-wide SNP detection, validation, and development of an 8K SNP array for apple. *PLoS One* 7:e31745

Consortium TG (2012) The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485:635-641
Cox MP, Peterson DA, Biggs PJ (2010) SolexaQA: At-a-glance quality assessment of Illumina second-generation sequencing data. *BMC Bioinformatics* 11:485

Cuesta-Marcos A, Szűcs P, Close TJ, Filichkin T, Muehlbauer GJ, Smith KP, Hayes PM (2010) Genome-wide SNPs and re-sequencing of growth habit and inflorescence genes in barley: implications for association mapping in germplasm arrays varying in size and structure. *BMC Genomics* 11:707

Edwards D, Batley J (2010) Plant genome sequencing: applications for crop improvement. *Plant Biotechnol J* 8:2-9

Foolad MR (2007) Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int J Plant Genomics* 2007:64358

Fulton TM, Van der Hoeven R, T EannettaN, Tanksley SD (2002) Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *Plant Cell* 14:1457-1467

Giovannoni JJ, Noensie EN, Ruezinsky DM, Lu X, Tracy SL, Ganai MW, Martin GB, Pillen K, Albert K, Tanksley SD (1995) Molecular genetic analysis of theripening-inhibitor

and non-ripening loci of tomato: A first step in genetic map-based cloning of fruit ripening genes. *Mol Gen Genet* 248:195–206

Gupta P, Roy J, Prasad M (2001) Single nucleotide polymorphisms (SNPs): a new paradigm in molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. *Curr Sci* 80:524–535

Hyten DL, Song Q, Fickus EW, Quigley CV, Lim JS, Choi IY, Hwang EY, Pastor Corrales M, Cregan PB (2010) High-throughput SNP discovery and assay development in common bean. *BMC Genomics* 11:475

Jo SH, Kim JE, Lee BW, Kim SM, Lee BM, Lee JH (2013) Genome-wide SNP Database for Marker-assisted Background Selection in Tomato. *Korean J Breed Sci* 45:232–239

Kim S, Misra A (2007) SNP genotyping: technologies and biomedical applications. *Annu. Rev Biomed Eng* 9:289–320

Kobayashi M, Nagasaki H, Garcia V, Just D, Bres C, Mauxion JP, Le Paslier MC, Brunel D, Suda K, Minakuchi Y (2013) Genome-wide analysis of intraspecific DNA polymorphism in ‘Micro-Tom’, a model cultivar of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Cell Physiol* 54:181–191

Li H, Durbin R (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics* 25:1754–1760

Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R (2009) The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25:2078–2079

Lin T, Zhu G, Zhang J, Xu X, Yu Q, Zheng Z, Zhang Z, Lun Y, Li S, Wang X (2014) Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genet* 46:1220–1226

Lindstrom EW (1925) Inheritance in tomatoes. *Genetics* 10:305–317

Rick CM, Butler L (1956) Cytogenetics of the tomato. *Adv Genet* 8:267–382

Shin WS (2015) Current status of global seed industry and role of golden seed project in Korea. *J Plant Biotechnol* 42:71–76

Shirasawa K, Fukuoka H, Matsunaga H, Kobayashi Y, Kobayashi I, Hirakawa H, Isobe S, Tabata S (2013) Genome-wide association studies using single nucleotide polymorphism markers developed by re-sequencing of the genomes of cultivated tomato. *DNA Res* 20:593–603

Shirasawa K, Isobe S, Hirakawa H, Asamizu E, Fukuoka H, Just D, Rothan C, Sasamoto S, Fujishiro T, Kishida Y (2010) SNP discovery and linkage map construction in cultivated tomato. *DNA Res* 17:381–391

Sim SC, Deynze AV, Stoffel K, Douches DS, Zarka D, Ganai MW, Chetelat RT, Hutton SF, Scott JW, Gardner RG, et al (2012) High-Density SNP Genotyping of Tomato (*Solanum*

lycopersicum L.) Reveals Patterns of Genetic Variation Due to Breeding. *PLoS One* 7:e45520

Trebbi D, Maccaferri M, De Heer P, Sørensen A, Giuliani S, Salvi S, Sanguineti MC, Massi A, Van der Vossen EAG, Tuberosa R (2011) High-throughput SNP discovery and genotyping in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Theor Appl Genet* 123:555–569

Thomson MJ (2014) High throughput SNP genotyping to accelerate crop improvement. *Plant Breed Biotechnol* 2:195–212

Van Deynze A, Stoffel K, Buell CR, Kozik A, Liu J, Van der Knaap E, Francis D (2007) Diversity in conserved genes in tomato. *BMC Genomics* 8:465

Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Spencer J (1998) Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 280:1077–1082

Xu J, Ranc N, Muños S, Rolland S, Bouchet JP, Desplat N, Le Paslier MC, Liang Y, Brunel D, Causse M (2013) Phenotypic diversity and association mapping for fruit quality traits in cultivated tomato and related species. *Theor Appl Genet* 126:567–581

Xu X, Liu X, Ge S, Jensen JD, Hu F, Li X, Dong Y, Gutenkunst RN, Fang L, Huang L (2012) Resequencing 50 accessions of cultivated and wild rice yields markers for identifying agronomically important genes. *Nat Biotechnol* 30:105–111

J. J. Giovannoni “Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening,” *Plant Cell*, Vol. 16, Supplement 1, September 2004, pp. 170–180. doi:10.1105/tpc.019158

E. M. Valle, S. B. Boggio and H. W. Heldt, “Free Amino Acids Composition of Phloem Sap and Growing Fruit of *Lycopersicon Esculentum*,” *Plant Cell Physiology*, Vol. 39, No. 4, June 1998, pp. 458–461.

S. Bortolotti, S. B. Boggio, L. Delgado, E. G. Orellano and E. M. Valle, “Different Induction Patterns of Glutamate Metabolising Enzymes in Ripening Fruits of the Tomato Mutant Green Flesh,” *Physiologia Plantarum*, Vol. 119, No. 3, May 2003, pp. 384–391. doi:10.1034/j.1399–3054.2003.00184.x

S. B. Boggio, J. F. Palatnik, H. W. Heldt and E. M. Valle, “Changes in the Aminoacid Composition and Nitrogen Metabolizing Enzymes in Ripening Fruits of *Lycopersicon Esculentum* Mill,” *Plant Science*, Vol. 159, No. 1, March 2000, pp. 125–133. doi:10.1016/S0168–9452(00)00342–3

G. R. Rodríguez, G. R. Pratta, D. R. Liberatti, R. Zorzoli and L. A. Picardi, “Inheritance of Fruit Shelf Life and Other Tomato Fruit Quality Traits Estimated from Crosses and Backcrosses of Selected Parents,” *Euphytica*, Vol. 176, July 2010, pp. 137–147.

G. Pratta, R. Zorzoli, S. B. Boggio, L. A. Picardi and E. M. Valle, “Glutamine and Glutamate Levels and Related Metabolizing Enzymes in Tomato Genotypes with Different Shelf-Life,”

Scientia Horticulturae, Vol. 100, No. 1–4, April 2004, pp. 341–347. doi:10.1016/j.scienta.2003.08.004

J. A. Labate, S. Grandillo, T. Fulton, S. Muños, A. L. Copyright © 2011 SciRes. AJPS Biodiversity in a Tomato Germplasm for Free Amino Acid and Pigment Content of Ripening Fruits 261

Caicedo, I. Peralta, Y. Ji, R. T. Chetelat, J. W. Scout, M. J. Gonzalo, D. Francis, W. Yang, E. van der Knaap, A. M. Baldo, B. Smith–White, L. A. Mueller, J. P. Prince, N. E. Blanchard, D. V. Storey, M. R. Stevens, M. D. Robbins, J. F. Wang, B. E. Liedl, M. A. O’Connell, J. R. Stommel, K. Auki, Y. Iijima, A. J. Slade, S. R. Hurst, D. Loeffler, M. N. Steine, D. Vafeados, C. McGuire, C. Freeman, A. Amen, J. Goodstal, D. Facciotti, J. van Eck and M. Causse, “Tomato,” In: C. Kole, Ed., *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, Vol. 5: Vegetables, Springer–Verlag, Berlin–Heidelberg, June 2007.

N. Schauer, D. Zamir and A. Fernie, “Metabolic Profiling of Leaves and Fruits of Wild Species Tomato: A Survey of the *Solanum Lycopersicum* Complex,” *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 410, April 2005, pp. 297–307 (Special Issue).

R. Zorzoli, G. Pratta and L. A. Picardi, “Variabilidad Para la Vida Postcosecha y El Peso de Los Frutos en Tomate Para Familias F3 de un HÍbrido Interespecífico,” *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, Vol. 35, November 2000, pp. 2423–2427. doi:10.1590/S0100–204X2000001200013

G. R. Rodríguez, G. R. Pratta, R. Zorzoli and L. A. Picardi, “Recombinant Lines Obtained from an Interspecific Cross among *Lycopersicon* Species Selected by Fruit Weight and Fruit Shelf Life,” *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Vol. 131, No. 5, October 2006, pp. 651–656.

M. Gallo, G. R. Rodríguez, R. Zorzoli, L. A. Picardi and G. R. Pratta, “Proteómica de la Madurez del Tomate,” *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*, Vol. 42, December 2010, pp. 119–133.

G. R. Pratta, G. R. Rodríguez, R. Zorzoli, E. M. Valle and L. A. Picardi, “Phenotypic and Molecular Characterization of Selected Tomato Recombinant Inbred Lines Derived from a Cross *Solanum Lycopersicum* × *S. Pimpinellifolium*,” *Journal of Genetics*, 2001, in Press.

S. S. Shapiro and M. B. Wilk, “An Analysis of Variance Test for Normality Complete Samples,” *Biometrika*, Vol. 52, No. 3–4, June 1965, pp. 591–611.

M. Kearsey and H. Pooni, “*The Genetical Analysis of Quantitative Traits*,” Chapman and Hall, London, May 1996.

Q. S. Du, Z. Q. Jiang, W. Z. He, D. P. Li and K. C. Chou, “Amino Acid Principal Component Analysis (AAPCA) and Its Applications in Protein Structural Class Prediction,”

Journal of Biomolecules Structure and Dynamics, Vol. 23, No. 6, August 2006, pp. 635–640.

B. G. Forde and P. J. Lea, “Glutamate in Plants: Metabolism, Regulation, and Signaling,” *Journal of Experimental Botany*, Vol. 58, No. 9, November 2007, pp. 2339–2358. doi:10.1093/jxb/erm121

A. Sorrequieta, G. Ferraro, S. B. Boggio and E. M. Valle, “Free Amino Acid Production during Tomato Fruit Ripening: A Focus on L-Glutamate,” *Amino Acids*, Vol. 38, No. 5, September 2009, pp. 1523–1532. doi 10.1007/s00726-009-0373-1.

F. Carrari and A. Fernie, “Metabolic Regulation Underlying Tomato Fruit Development,” *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, No. 9, February 2007, pp. 1883– 1897.

F. Mounet, M. Lemaire-Chamley, M. I. Maucourt, C. Cabasson, J. L. Giraudel, C. Deborde, R. Lessire, P. Gallusci, A. Bertrand, M. Gaudillere, C. Rothan, D. Rolin and A. Moinga, “Quantitative Metabolic Profiles of Tomato Flesh and Seeds during Fruit Development: Complementary Analysis with ANN and PCA,” *Metabolomics*, Vol. 3, No. 3, April 2007, pp. 273–287. doi:10.1007/s11306-007-0059-1

Y. Semel, N. Schauer, U. Roessner, D. Zamir and A. R. Ferni, “Metabolite Analysis for the Comparison of Irrigated and Non-Irrigated Field Grown Tomato of Varying Genotype,” *Metabolomics*, Vol. 3, No. 3, April 2007, pp. 289–295. doi:10.1007/s11306-007-0055-5

S. D. Roper and N. Chaudhar, “Processing Umami and Other Tastes in Mammalian Taste Buds,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 1170, July 2009, pp. 60–65. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04107.x

Akond M, Liu S, Schoener L, Anderson JA, Kantartzi SK, Meksem K, Song Q, Wang D, Wen Z, Lightfoot DA, Kassem MA (2013) A SNP-based genetic linkage map of soybean using the SoySNP6K illumina infinium beadchip genotyping array. *Journal of Plant Genome Sciences* 1:80–89

Alexandra M, Allen AM, Barker GLA, Berry ST, Coghill JA, 8 *J Plant Biotechnol* (2016) 43:1–11

Gwilliam R, Kirby S, Robinson P, Brenchley RC, D’Amore R, McKenzie N, Waite D, Hall A, Bevan M, Hall N, Edwards KJ (2011) Transcript-specific, single-nucleotide polymorphism discovery and linkage analysis in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnol J* 9:1086–1099

Alkan C, Coe BP, Eichler EE (2011) Genome structural variation discovery and genotyping. *Nat Rev Genet* 12:363–376 Allen AM, Barker GL, Berry ST, Coghill JA, Gwilliam R, Kirby S, Robinson P, Brenchley RC, D’Amore R, McKenzie N, Waite D, Hall A, Bevan M, Hall N, Edwards KJ (2011) Transcript-specific, single-nucleotide polymorphism discovery and linkage

analysis in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnol J* 9:1086–1099

Aranzana MJ, Kim S, Zhao K, Bakker E, Horton M, Jakob K, Lister C, Molitor J, Shindo C, Tang C, Toomajian C, Traw B, Zheng H, Bergelson J, Dean C, Marjoram P, Nordborg M (2005) Genome-wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes. *PLoS Genet* 1:e60

Barchi L, Lanteri S, Portis E, Acquadro A, Valè G, Toppino L, Rotino GL (2011) Identification of SNP and SSR markers in eggplant using RAD tag sequencing. *BMC Genomics* 12:304

Buckler ES, Holland JB, Bradbury PJ, Acharya CB, Brown PJ, Browne C, Ersoz E, Flint-Garcia S, Garcia A, Glaubitz JC (2009) The genetic architecture of maize flowering time. *Science* 325:714–718

Byers RL, Harker DB, Yourstone SM, Maughan PJ, Udall JA (2012) Development and mapping of SNP assays in allotetraploid cotton. *Theor Appl Genet* 124:1201–1214

Causse M, Desplat N, Pascual L, Paslier MCL, Sauvage C, Bauchet G, Bérard A, Bounon R, Tchoumakov M, Brunel D, Bouchet JP (2013) Whole genome resequencing in tomato reveals variation associated with introgression and breeding events. *BMC Genomics* 14:791

Chen H, Xie W, He H, Yu H, Chen W, Li J, Yu R, Yao Y, Zhang W, He Y, Tang X, Zhou F, Deng XW, Zhang Q (2014) A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol Plant* 7:541–553

Ching A, Caldwell KS, Jung M, Dolan M, Smith OS, Tingey S, Morgante M, Rafalski AJ (2002) SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genet* 3:19

Chung WH, Jeong N, Kim J, Lee WK, Lee YG, Lee SH, Yoon WC, Kim JH, Choi IY, Choi HK, Moon JK, Kim N, Jeong SC (2014) Population structure and domestication revealed by high-depth resequencing of Korean cultivated and wild soybean genomes. *DNA Research* 21:153–167

Clark SE, Hayes PM, Henson CA (2003) Effects of single nucleotide polymorphisms in β -amylase1 alleles from barley on functional properties of the enzymes. *Plant Physiol Bioch* 41:798–804

Cortés AJ, Chavarro MC, Blair MW (2011) SNP marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 123:827–845

Davey JW, Hohenlohe PA, Etter PD, Boone JQ, Catchen JM, Blaxter ML (2011) Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 12:499–510.

Dubcovsky, J. and Dvorak, J. (2007) Genome plasticity: a key factor in the success of

polyploid wheat under domestication. *Science*, 316, 1862–1866.

Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6:e19379

Fridman E, Carrari F, Liu YS, Fernie AR, Zamir D (2004) Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions. *Science* 305:1786–9

Fu YB, Cheng B, Peterson GW (2014) Genetic diversity analysis of yellow mustard (*Sinapis alba* L.) germplasm based on genotyping by sequencing. *Genet Resour Crop Evol* 61:579–594

Fu YB, Peterson GW (2011) Genetic diversity analysis with 454 pyrosequencing and genomic reduction confirmed the eastern and western division in the cultivated barley gene pool. *Plant Genome* 4:226–237

Ganal MW, Altmann T, Röder MS (2009) SNP identification in crop plants. *Curr Opin Plant Biol* 12:211–217

Goff SA, Ricke D, Lan TH, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* 296:92–100

Gut IG (2001) Automation in genotyping of single nucleotide polymorphisms. *Hum Mutat* 17:475–92

Hamilton JP, Hansey CN, Whitty BR, Stoffel K, Massa AN, Deynze AV, Jong WSD, Douches DS, Buell CR (2011) Single nucleotide polymorphism discovery in elite north american potato germplasm. *BMC Genomics* 12:302

Hamilton JP, Sim SC, Stoffel K, Deynze AV, Buell CR, Francis DM (2012) Single nucleotide polymorphism discovery in cultivated tomato via sequencing by synthesis. *Plant Genome* 5:17–29

Hirakawa H, Shirasawa K, Miyatake K, Nunome T, Negoro S, Ohyama A, Yamaguchi H, Sato S, Isobe S, Tabata S, Fukuoka H (2014) Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative *Solanum* species indigenous to the old world. *DNA Res* 2:649–660

Hirakawa H, Shirasawa K, Ohyama A, Fukuoka H, Aoki K, Rothan C, Sato S, Isobe S, Tabata S (2013) Genome-wide SNP genotyping to infer the effects on gene functions in tomato. *DNA Res* 20:221–233

Hont AD, Denoeud F, Aury JM, Baurens FC, Carreel F, Garsmeur O, Noel B, Bocs S, Droc G, Rouard M (2012) The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature* 488:213–217

Huang S, Li R, Zhang Z, Li L, Gu X, Fan W, Lucas WJ, Wang X, Xie B, Ni P (2009) The

genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nat Genet* 41:1275–1281

Huang X, Feng Q, Qian Q, Zhao Q, Wang L, Wang A, Guan J, Fan D, Weng Q, Huang T, Dong G, Sang T, Han B (2009) High-throughput genotyping by whole-genome resequencing. *J Plant Biotechnol* (2016) 43:1–11

9 *Genome Res* 19:1068–1076

Huang X, Wei X, Sang T, Zhao Q, Feng Q, Zhao Y, Li C, Zhu C, Lu T, Zhang Z (2010) Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nat Genet* 42:961–967

Huq MA, Akter S, Jung YJ, Nou IS, Cho YG, Kang KK (2016) Genome sequencing, a milestone for genomic research and plant breeding. *Plant Breeding and Biotechnology* 4:29–39

Hyten DL, Cannon SB, Song Q, Weeks N, Fickus EW, Shoemaker RC, Specht JE, Farmer AD, May GD, Cregan PB (2010). High-throughput SNP discovery through deep resequencing of a reduced representation library to anchor and orient scaffolds in the soybean whole genome sequence. *BMC Genomics* 11:38

International Rice Genome Sequencing Project (2005) The map-based sequence of the rice genome. *Nature* 436:793–800

Jang SJ, Sato M1, Sato K, Jitsuyama Y, Fujino K, Mori H, Takahashi R, Benitez ER, Liu B, Yamada T, Abe J (2015) A single-nucleotide polymorphism in an endo-1,4- β -glucanase gene controls seed coat permeability in soybean. *Plos One* 10:e0128527

Jeong IS, Yoon UH, Lee GS, Ji HS, Lee HJ, Han CD, Hahn JH, An G, Kim TH (2013) SNP-based analysis of genetic diversity in anther derived rice by whole genome sequencing. *Rice* 6:6 doi: 10.1186/1939-8433-6-6

Jones E, Chu WC, Ayele M, Ho J, Bruggeman E, Yourstone K, Rafalski A, Smith OS, McMullen MD, Bezawada C, Warren J, Babayev J, Basu S, Smith S (2009) Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers for use in commercial maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Mol Breeding* 24:165–176

Kharabian-Masouleh A, Waters DLE, Reinke RF, Ward R, Henry RJ (2012) SNP in starch biosynthesis genes associated with nutritional and functional properties of rice. *Sci Rep* 2:557

Kim JE, Oh SK, Lee JH, Lee BM, Jo SH (2014) Genome-wide SNP calling using next generation sequencing data in tomato. *Mol Cells* 37:36–42

Kircher M, Kelso J (2010) High-throughput DNA sequencing— concepts and limitations. *BioEssays* 32:524–536

Kruglyak L (1997) The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies. *Nat Genet* 17:21–24

Kumar B, Abdel-Ghani AH, Pace J, Reyes-Matamoros J, Hochholdinger F, Lübberstedt T (2014) Association analysis of single nucleotide polymorphisms in candidate genes with root

traits in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Science* 224:9–19

Kumar S, Banks TW, Cloutier S (2012) SNP discovery through next-generation sequencing and its applications. *Int J Plant Genomics* 2012:831460 doi:10.1155/2012/831460

Lam HM, Xu X, Liu X, Chen W, Yang G, Wong FL, Li MW, He W, Qin N, Wang B, Li J, Jian M, Wang J, Shao G, Wang J, Sun SS, Zhang G (2010) Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. *Nat Genet* 42:1053–1059

Lee YG, Jeong N, Kim JH, Lee K, Kim KH, Pirani A, Ha BK, Kang ST, Park BS, Moon JK, Kim N, Jeong SC (2015) Development, validation and genetic analysis of a large soybean SNP genotyping array. *Plant J* 81:625–636

LeVan TD, Bloom JW, Bailey TJ, Karp CL, Halonen M, Martinez FD, Vercelli D (2001) A common single nucleotide polymorphism in the CD 14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *J Immunol* 167:5838–5844

Li F, Kitashiba H, Inaba K, Nishio T (2009) A *Brassica rapa* linkage map of EST-based SNP markers for identification of candidate genes controlling flowering time and leaf morphological traits. *DNA Res* 16:311–323

Lu F, Lipka AE, Glaubitz J, Elshire R, Cherney JH, Casler MD, Buckler ES, Costich DE (2013) Switchgrass genomic diversity, ploidy, and evolution: novel insights from a network-based SNP discovery protocol. *PLoS Genet* 9:e1003215

Mardis ER (2007) The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet* 24:133–141

Mayer KF, Waugh R, Brown JW, Schulman A, Langridge P, Platzer M, Fincher GB, Muehlbauer GJ, Sato K, Close TJ, Wise RP, Stein N (2012). A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* 491:711–716

McCouch SR, Zhao K, Wright M, Tung CW, Eban K, Thomson M, Reynolds A, Wang D, DeClerck G, Ali ML (2010) Development of genome-wide SNP assays for rice. *Breed Sci* 60:524–535

McNally KL, Childs KL, Bohnert R, Davidson RM, Zhao K, Ulat VJ, Zeller G, Clark RM, Hoen DR, Bureau TE (2009) Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 12273–12278

Morin PA, Luikart G, Wayne RK (2004) SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 208–216

Muraya MM, Schmutzer T, Ulpinnis C, Scholz U, Altmann T (2015) Targeted sequencing reveals large-scale sequence polymorphism in maize candidate genes for biomass production and composition. *PLoS One* 10:e0132120

Oliver RE, Lazo GR, Lutz JD, Rubenfield MJ, Tinker NA, Anderson JM, Wisniewski Morehead NH, Adhikary D, Jellen EN (2011) Model SNP development for complex genomes based on hexaploid oat using high-throughput 454 sequencing technology. *BMC Genomics* 12:77

Pajerowska-Mukhtar K, Stich B, Achenbach U, Ballvora A, Lübeck J, Strahwald J, Tacke E, Hofferbert HR, Ilarionova E, Bellin D, Walkemeier B, Basekow R, Kersten B, Gebhardt C (2009) Single nucleotide polymorphisms in the allene oxide synthase 2 gene are associated with field resistance to late blight in populations of tetraploid potato cultivars. *Genetics* 181:1115–1127

Parida SK, Mukerji M, Singh AK, Singh NK, Mohapatra T (2012) SNPs in stress-responsive rice genes: validation, genotyping, functional relevance and population structure. *BMC Genomics* 13:426

Pasam RK, Sharma R, Malosetti M, Eeuwijk FAV, Haseneyer G, Kilian B, Graner A (2012) Genome-wide association studies for agronomical traits in a world-wide spring barley collection. *BMC Plant Biology* 12:16 10 *J Plant Biotechnol* (2016) 43:1–11

Poland J, Endelman J, Dawson J, Rutkoski J, Wu S, Manes Y, Dreisigacker S, Crossa J, Sanchez-Villeda H, Sorrells M, Jannink JL (2012) Genomic selection in wheat breeding using genotyping-by-sequencing. *Plant Genome* 5:103–113

Poland JA, Bradbury PJ, Buckler ES, Nelson RJ (2011) Genome-wide nested association mapping of quantitative resistance to northern leaf blight in maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:6893–6898

Poland JA, Rife TW (2012) Genotyping-by-sequencing for plant breeding and genetics. *Plant Genome* 5:92–102

Potato Genome Sequencing Consortium (2011) Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature* 475:189–195

Rafalski A (2002) Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr Opin Plant Biol* 5:94–100

Rostoks N, Mudie S, Cardle L, Russell J, Ramsay L, Booth A, Svensson JT, Wanamaker SI, Walia H, Rodriguez EM, Hedley PE, Liu H, Morris J, Close TJ, Marshall DF, Waugh R (2005) Genome-wide SNP discovery and linkage analysis in barley based on genes responsive to abiotic stress. *Mol Genet Genomics* 274:515–27

Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mullikin JC, Mortimore BJ, Willey DL (2001) A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409:928–933 Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977a) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl*

Acad Sci USA 74: 5463–5467

Sanger F, Air GM, Barrell BG, Brown NL, Coulson AR, Fiddes CA, Hutchison CA, Slocombe PM, Smith M (1977b) Nucleotide sequence of bacteriophage phiX174 DNA. *Nature* 265:687–695

Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, Ma J, Mitros T, Nelson (2010) Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463:178–183

Schnable PS, Ware D, Fulton RS, Stein JC, Wei F, Pasternak S, Liang C, Zhang J, Fulton L, Graves TA (2009) The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science* 326: 1112–1115

Schreiber L, Nader-Nieto AC, Schönhals EM, Walkemeier B, Gebhardt C (2014) SNPs in genes functional in starch–sugar interconversion associate with natural variation of tuber starch and sugar content of potato (*Solanum tuberosum* L.). *G3 (Bethesda)* 4:1797–1811

Shi Z, Liu S, Noe J, Arelli P, Meksem K, Li Z (2015) SNP identification and marker assay development for high-throughput selection of soybean cyst nematode resistance. *BMC Genomics* 16:314

Shirasawa K, Fukuoka H, Matsunaga H, Kobayashi Y, Kobayashi I, Hirakawa H, Isobe S, Tabata S (2013) Genome-wide association studies using single nucleotide polymorphism markers developed by re-sequencing of the genomes of cultivated tomato. *DNA Res* 20:593–603

Shirasawa K, Hirakawa H, Nunome T, Tabata S, Isobe S (2016) Genome-wide survey of artificial mutations induced by ethyl methanesulfonate and gamma rays in tomato. *Plant Biotechnol J* 14:51–60

Singh R, Ong-Abdullah M, Low ETL, Manaf MAA, Rosli R, Nookiah R (2013) Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in old and new worlds. *Nature* 500: 335–339

Sonah H, Bastien M, Iquira E, Tardivel A, Légaré G, Boyle B, Normandeau É, Laroche J, Larose S, Jean M, Belzile F (2013) An improved genotyping by sequencing (GBS) approach offering increased versatility and efficiency of SNP discovery and genotyping. *PLoS One* 8:e54603

Song Q, Hyten DL, Jia G, Quigley CV, Fickus EW, Nelson RL, Cregan PB (2013) Development and evaluation of SoySNP50K, a high-density genotyping array for soybean. *PLoS One* 8:e54985

Spindel J, Wright M, Chen C, Cobb J, Gage J, Harrington S, Lorieux M, Ahmadi N, McCouch S (2013) Bridging the genotyping gap: using genotyping by sequencing (GBS) to add high-density SNP markers and new value to traditional bi-parental mapping and

breeding populations. *Theor Appl Genet* 126:2699–2716

Stemmers FJ, Gunderson KL (2007) Whole genome genotyping technologies on the bead array platform. *Biotechnol J* 2:41–49

Sun R, Chang Y, Yang F, Wang Y, Li H, Zhao Y, Chen D, Wu T, Zhang X, Han Z (2015) A dense SNP genetic map constructed using restriction site-associated DNA sequencing enables detection of QTLs controlling apple fruit quality. *BMC Genomics* 16:747

Tenaillon MI, Sawkins MC, Long AD, Gaut RL, Doebley JF, Gaut BS (2001) Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9161–9166

The 100 Tomato Genome Sequencing Consortium (2014) Exploring genetic variation in the tomato (*Solanum section Lycopersicon*) clade by whole-genome sequencing. *Plant J* 80:136–148

Tomato Genome Consortium (2012) The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485:635–641

Truong HT, Ramos AM, Yalcin F, de Ruyter M, van der Poel HJ, Huvenaars KH, Hogers RC, van Enckevort LJ, Janssen A, van Orsouw NJ, van Eijk MJ (2012) Sequence-based genotyping for marker discovery and co-dominant scoring in germplasm and populations. *PLoS One* 7:e37565

Tung CW, Zhao K, Wright MK, Ali ML, Jung J, Kimball J, Tyagi W, Thomson MJ, McNally K, Leung H (2010) Development of a research platform for dissecting phenotype-genotype associations in rice (*Oryza* spp.). *Rice* 3:205–217

Uitdewilligen JG, Wolters AM, D'hoop BB, Borm TJ, Visser RG, van Eck HJ (2013) A next-generation sequencing method for genotyping by-sequencing of highly heterozygous autotetraploid potato. *PLoS ONE* 8:e62355

Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, Dhingra A, Cestaro A, Kalyanaraman A, Fontana P, Bhatnagar SK, Troggio M, Pruss D (2010) The genome of the domesticated apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Nat Genet* 42:833–839

Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright DA, Cestaro A, Pruss D, Pindo M, FitzGerald LM, Vezzulli S, Reid J (2007) A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS One* 2:e1326 *J Plant Biotechnol* (2016) 43:1–11 11

Vidal RO, Nascimento LC, Mondego JMC, Pereira GAG, Carazzolle MF (2012) Identification of SNPs in RNA-seq data of two cultivars of *Glycine max* (soybean) differing in drought resistance. *Genet Mol Biol* 35:331–334

Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol* 34:275–305

- Wang S, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang BE, Maccaferri M, Salvi S, Milner SG, Cattivelli L (2014) Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnol J* 12:787–796
- Waugh R, Jannink JL, Muehlbauer GJ, Ramsay L (2009) The emergence of whole genome association scans in barley. *Curr Opin Plant Biol* 12:218–222
- Wei O, Peng Z, Zhou Y, Yang Z, Wu K, Ouyang Z (2011) Nucleotide diversity and molecular evolution of the WAG-2 gene in common wheat (*Triticum aestivum* L.) and its relatives. *Genet Mol Biol* 34:606–615
- Wei Q, Wang Y, Qin X, Zhang Y, Zhang Z, Wang J, Li J, Lou Q, Chen J (2014) An SNP-based saturated genetic map and QTL analysis of fruit-related traits in cucumber using specific-length amplified fragment (SLAF) sequencing. *BMC Genomics* 15:1158
- Xia Y, Li R, Ning Z, Bai G, Siddique KH, Yan G, Baum M, Varshney RK, Guo P (2013) Single nucleotide polymorphisms in HSP17.8 and their association with agronomic traits in barley. *PLoS One* 8:e56816
- Xie W, Feng Q, Yu H, Huang X, Zhao Q, Xing Y, Yu S, Han B, Zhang Q (2010) Parent-independent genotyping for constructing an ultrahigh-density linkage map based on population sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:10578–10583
- Xu J, Yuan Y, Xu Y, Zhang G, Guo X, Wu F, Wang Q, Rong T, Pan G, Cao M, Tang Q, Gao S, Liu Y, Wang J, Lan H, Lu Y (2014) Identification of candidate genes for drought tolerance by whole-genome resequencing in maize. *BMC Plant Biology* 14:83
- Yu H, Xie W, Li J, Zhou F, Zhang Q (2014) A whole-genome SNP array (RICE6K) for genomic breeding in rice. *Plant Biotechnol J* 12:28–37
- Yu J, Hu S, Wang J, Wong GKS, Li S, Liu B, Deng Y, Dai L, Zhou Y, Zhang X (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* 296:79–92
- Zhang X, Borevitz JO (2009) Global analysis of allele-specific expression in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 182:943–954
- Zhao K, Tung CW, Eizenga GC, Wright MH, Ali ML, Price AH, Norton GJ, Islam MR, Reynolds A, Mezey J, McClung AM, Bustamante CD, McCouch SR (2011) Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nat Commun* 2:467
- Zhou Z, Jiang Y, Wang Z, Gou Z, Lyu J, Li W, Yu Y, Shu L, Zhao Y, Ma Y (2015) Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. *Nature Biotechnology* 33:408–414
- Ali-Benali MA, Alary R, Joudrier P and Gautier M. 2005. Comparative expression of five LEA genes during wheat seed development and in response to abiotic stresses by real-time

quantitative RT-PCR. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1730:56–65.

Bhattacharya RC, Maheswari M, Dineshkumar V, Kirti PB, Bhat SR and Chopra VL. 2004. Transformation of *Brassica oleracea* var. *capitata* with bacterial *betA* gene enhances tolerance to salt stress. *Sci. Hortic.* 100:215–227.

Blum A. 1999. Towards standard assays of drought resistance in crop plants, in: Proceedings of the workshop on molecular approaches for the genetic improvement of cereals for stable production in water-limited environments (Mexico: CIMMYT) pp.3–35.

Chandra Babu R, Zhang JX, Blum A, David Ho TH, Wu R and Nguyen HT. 2004. HVA1, a LEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) via cell membrane protection; *Plant Sci.* 166: 855–862.

Delauney AJ, Hu CAA, Kishor PBK and Verma DPS. 1993. Cloning of ornithine δ -aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry* 268:18673–18678.

Doyle JJ and Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.

Evenson RE and Gollin D. 2003. Assessing the impact of the green revolution, 1960–2000; *Science* 300:758–762.

Heimberg H, Boyen A, Crabeel M and Glandsdorff N. 1990. *Escherichia coli* and *saccharomyces cerevisiae* acetylornithine aminotransferases: evolutionary relationship with ornithine aminotransferases. *Gene* 90:69–78.

Hervieu F, Le Dily L, Huault C and Billard JP. 1995. Contribution of ornithine aminotransferase to proline accumulation in NaCl treated radish cotyledons. *Plant Cell Environ.* 18:205–210.

Khush GS. 2001. Green revolution: the way forward; *Nat. Rev.* 2:815–822.

Livak KJ and Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2)DDCt method. *Methods* 25:402–408.

Mazzucotelli E, Mastrangelo AM, Crosatti C, Guerra D, Stanca AM and Cattivelli L. 2008. Abiotic stress response in plants: when post-transcriptional and post-translational regulations control transcription. *Plant Science* 174:420–431.

Reddy MP, Sanish S and Iyenger ERR. 1992. Photosynthetic studies and compartmentation of ions in different tissues of *Isalicornia brachiata* Toxb under saline conditions; *Photosynthetica* 26:173–179.

Roosens NHCJ, Thu TT, Iskandar HM and Jacobs M. 1998. Isolation of ornithine-d-aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 117:263–271.

Schultz CJ and Coruzzi G. 1995. The aspartate aminotransferase gene family of *Arabidopsis*

thaliana encodes isoenzymes localized to three distinct subcellular compartments. *Plant J.* 7:61–75.

Van Roekel JSC, Damm B, Melchers LS and Hoekema A. 1993. Factors influencing transformation frequency of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Cell Rep.* 12: 644–647.

Yap YK, Kodama Y, Waller F, Chung KM, Ueda H, Nakamura K, Oldsen M, Yoda H, Yamakuchi Y and Sano H. 2005. Activation of a novel transcription factor through phosphorylation by WIPK, a wound-induced mitogen-activated protein kinase in tobacco plants. *Plant Physiol.* 139:127–137.

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

1. 특허
가.

출원 번호 통지서

출원 일자 2015.02.10
특기사항 심사청구(무) 출제신청(무)
출원번호 10-2015-0020154 (절수번호 1-1-2015-0140976-03)
출원인명칭 한국대학교 산학협력단(2-2005-050930-3)
대리인명칭 정유환(9-2005-001504-0)
발명자명칭 정유진 김경규 이권주 노일섭
발명의명칭 GBB 기술을 이용한 브라운 MAB 선발 시스템 구축

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 취와 같이 결실적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통보된 납입일수일에 출원, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
☎ 납부장번호 : 0131(기안번호) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보명칭(명칭), 결실신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 결실적으로 받을 수 있습니다.
☎ 특허청(patent.go.kr) 검색 > 민원서비스다움포털 > 특허민원사항문의 및 공지 정보 서비스
4. 특허(실용신안등록)출원을 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 특허법령 이경 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내 출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내 출원일부터 인정받기 전 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
☎ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
☎ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표-디자인은 6개월 이내
☎ 미연변태상표출원권 선출원권 기술을 우선권나중에 우선권주장할 경우, 선출원이 미연변태이면, 우선권로부터 15개월 이내에 미연변태상표출원 [권장특고출원가서(PTO/88/30)]를 제출하거나 우선권나중에 우선권 주장을 하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
☎ 특허출원 10-2010-0000000, 상표출원번호 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통보된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

나.

출원 번호 통지서

출원 일자 2015.06.30
 특 기 사 항 심사청구(유) 공개신청(무)
 출원 번호 10-2015-0092628 (접수번호 1-1-2015-0631552-24)
 출원인 명칭 부산대학교 산학협력단(2-2004-004484-3)
 대리인 성명 특허법인태백(9-2008-100101-3)
 발명자 성명 박영훈 김빛셀
 발명의 명칭 토마토 근부위조병 저항성 유전자 선발용 분자마커

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 등봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기라코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스다문로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr-특허마당-PCT/마드리드>
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원들 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 등봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

Development of a high-resolution melting marker for selecting *Fusarium* crown and root rot resistance in tomato

Bichseam Kim, Nahui Kim, Jun Young Kim, Byung Sup Kim, Hee-Jeong Jung, Indoek Hwang, Ill-Sup Noua, Sung-Chur Sim, and Younghoon Park

Abstract: *Fusarium* crown and root rot is a severe fungal disease of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL). In this study, the genomic location of the FORL-resistance locus was determined using a set of molecular markers on chromosome 9 and an F_2 population derived from FORL-resistant inbred 'AV107-4' (*Solanum lycopersicum*) × susceptible 'L3708' (*Solanum pimpinellifolium*). Bioassay performed using Korean FORL strain KACC 40031 showed single dominant inheritance of FORL resistance in the F_2 population. In all, 13 polymerase chain reaction-based markers encompassing approximately 3.6–72.0 Mb of chromosome 9 were developed based on the Tomato-EXPEN 2000 map and SolCAP Tomato single nucleotide polymorphism array analysis. These markers were genotyped on 345 F_2 plants, and the FORL-resistance locus was found to be present on a pericentromeric region of suppressed chromosomal recombination in chromosome 9. The location of the FORL-resistance locus was further confirmed by testing these markers against diverse commercial tomato and stock cultivars resistant to FORL. A restriction fragment length polymorphism marker, PNU-D4, located at approximately 6.1 Mb of chromosome 9 showed the highest match with the resistance locus and was used for conducting high-resolution melting analysis for marker-assisted selection of FORL resistance.

Key words: disease resistance, *Fusarium* crown and root rot, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, molecular marker, *Solanum lycopersicum*.

Résumé : La pourriture fusarienne de la tige et des racines est une maladie fongique grave causée par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL). Dans ce travail, la position génomique d'un locus de résistance au FORL a été déterminée à l'aide de marqueurs moléculaires situés sur le chromosome 9 et d'une population F_2 dérivée du croisement entre la lignée fixée résistante 'AV107-4' (*Solanum lycopersicum*) et la lignée sensible 'L3708' (*Solanum pimpinellifolium*). Un bioessai réalisé à l'aide de la souche coréenne FORL KACC 40031 a montré une hérédité monogénique dominante de la résistance au FORL au sein de cette population. En tout, 13 marqueurs PCR couvrant une région s'étendant approximativement entre 3,6 et 72,0 Mb du chromosome 9 ont été développés sur la base de la carte génétique Tomato-EXPEN 2000 et de la puce de génotypage SolCAP SNP. Ces marqueurs ont été génotypés sur 345 plantes F_2 , et le locus de résistance au FORL a été situé dans une région péricentromérique du chromosome 9 qui présente une suppression de la recombinaison. La position de ce locus de résistance a été confirmée en utilisant ces marqueurs sur une collection de diverses variétés commerciales et sources de résistance au FORL. Un polymorphisme de longueur de fragment de restriction, PNU-D4, situé à environ 6,1 Mb sur le chromosome 9, a montré la plus forte association avec le locus de résistance et a été utilisé pour réaliser des analyses de dissociation à haute résolution (= high-resolution melting) pour des fins de sélection assistée de la résistance au FORL. [Traduit par la Rédaction]

Mots-clés : résistance à la maladie, pourriture fusarienne de la tige et des racines, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, marqueur moléculaire, *Solanum lycopersicum*.

Introduction

Fusarium oxysporum (Sacc.) Snyder & Hans., a soil-borne haploid fungal plant pathogen causes vascular wilt or root rot in various agricultural crops and ornamental plants

(Olivain and Alabouvette 1997; Recorbet et al. 2003). Pathogenic isolates of *F. oxysporum* showing a high level of host specificity are classified into more than 120 formae speciales and races depending on the host plant species and

Received 4 September 2015. Accepted 7 December 2015.

Corresponding Editor: F. Betzile.

B. Kim and N. Kim, Department of Horticultural Bioscience, Pusan National University, Miryang 627-706, Republic of Korea.
J.Y. Kim and B.S. Kim, Department of Plant Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 210-720, Republic of Korea.
H.-J. Jung, I. Hwang, and I.-S. Noua, Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 540-950, Republic of Korea.
S.-C. Sim, Department of Bioresources Engineering, Sejong University, Seoul 143-747, Republic of Korea.
Y. Park, Department of Horticultural Bioscience, Pusan National University, Miryang 627-706, Republic of Korea; Life and Industry Convergence Research Institute, Pusan National University, Miryang 627-706, Republic of Korea.
Corresponding author: Younghoon Park (email: ypark@pusan.ac.kr).

Genome 59: 173–183 (2016) dx.doi.org/10.3390/genome-2015-0115

Published at www.nrcresearchpress.com/gen on 18 December 2015.

RESEARCH ARTICLE

Transgenic Tomato Plants Ectopically Expressing *BrRZFP1* Gene Encoding C3HC4-type RING Zinc Finger Protein

Yu-Jin Jung¹, Yong Gu Cho², Ill Sup Noh¹, Kiwon Kyoo Kang^{1*}

¹Department of Horticulture, Hankyong National University, Ansan, Kyonggi-do 426-749, Korea

²Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

³Department of Horticulture, Suncheon National University, 615 Jungang-ro, Suncheon, Jeonnam 540-742, Korea

ABSTRACT C3HC4-type RING zinc finger proteins are known to be essential in the regulation of plant processes, including responses to abiotic stress. In order to explore the potential of the *BrRZFP1* gene to enhance tolerance toward multiple stresses in different host plant genomes, we generated transgenic tomato (*Solanum lycopersicon* L. cv. Goldstandard) plants. The tomato plants overexpressing *BrRZFP1* acquired a higher tolerance to drought stress. However, the transgenic plants did not appear to be more cold tolerant than the WT, in any tested condition. The data obtained indicate that the specificity and the degree of *BrRZFP1* activity depend on the host genomic background. In physiological assessment of salt stress tolerance, transgenic plants showed more dry matter accumulation and maintained significantly higher levels of leaf chlorophyll content along with increasing levels of salt stress than the wild type plants. This study shows that *BrRZFP1* is a candidate gene in the engineering of crops for enhanced drought and salt stress tolerance.

Keywords: *BrRZFP1* gene, Abiotic stresses, Transgenic plants, Tomato

INTRODUCTION

The rapidly growing world population has made it necessary to limit the losses of crop productivity due to plant responses to environmental stress conditions, such as elevated or low temperatures, drought, salinity, poor soil nutrition, radiation, oxidative stress, and heavy metals. These abiotic factors activate an array of signaling pathways that ultimately lead to plant adaptation to stress, either through post-transcriptional or post-translational regulation (Mazzucotelli et al. 2008). Alternative splicing, degradation or accumulation of stress-related transcripts define the plant response to stresses at the mRNA level, whereas protein phosphorylation and dephosphorylation, ubiquitination, and sumoylation are some of the adaptive responses at the protein level (Mazzucotelli et al. 2008). To develop plant cultivars inherently resistant to abiotic stress would help secure crop production. However, progress in genetic improvement of crops for abiotic-limiting environments is

slow and more limited (Evanson and Gollin 2003), due to the lack of knowledge about the physiological processes limiting growth under abiotic stress conditions, poor understanding of abiotic stress tolerance mechanism, and lack of efficient techniques for screening breeding materials for abiotic stress tolerance (Kluash 2001).

In recent years, transcription factors are known to be essential regulators of plant cellular and physiological responses to environmental stimuli. Several plant transcription factors, regulating the biotic and abiotic stress response, have been identified and the function of some of them (i. e. CBFs/DREBs, ZFPs and SCDF-1) in freezing and cold tolerance has been demonstrated (Xiong et al. 2002; Tran et al. 2007; Cong et al. 2008; Zheng et al. 2009; Goldsack et al. 2011). Zinc finger proteins (ZFPs) are one of the best studied transcription factor families, playing important roles in various cellular functions, including transcriptional activation, regulation of apoptosis and protein folding and assembly (Lalry et al. 2001). The zinc-binding motifs of

Received March 6, 2014; Revised March 11, 2014; Accepted March 11, 2014

*Corresponding author: Kiwon Kyoo Kang, kyokang@hku.ac.kr, Tel: +82-31-870-8104, Fax: +82-31-870-8100

Copyright © 2014 by the Korean Society of Breeding Science

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Molecular characterization of the UDP-glucose 4-epimerase (*BrUGE*) gene family in response to biotic and abiotic stress in Chinese cabbage (*Brassica rapa*)

Yu Jin Jung^{1,2} · Jung Ho Kyoung¹ · Ill Sup Nou³ · Yong Gu Cho⁴ · Kwon Kyo Kang^{1,2}

Received: 30 July 2015 / Accepted: 8 September 2015 / Published online: 19 September 2015
© Korean Society for Plant Biotechnology and Springer Japan 2015

Abstract UDP-glucose 4-epimerase (UGE; EC 5.1.3.2) is an enzyme that plays an essential role in the interconversion of UDP-D-glucose (UDP-Glc) and UDP-D-galactose (UDP-Gal). Five members of the Chinese cabbage (*Brassica rapa*) UGE gene family, designated *BrUGE1* to *BrUGE5*, have been cloned and characterized. Quantitative PCR shows that the *BrUGE1* and *BrUGE4* mRNA are most abundant among other *BrUGE* genes, accounting for more than 55 % of total *BrUGE* transcripts in most of the tissues examined. All genes showed organ-specific expression pattern, two of which (*BrUGE1* and *4*) actively responded after *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* infection, while four genes (*BrUGE-1*, *-3*, *-4*, and *-5*) were shown to respond considerably against salt, drought and abscisic acid treatments. To better understand the function of the UGE gene, we constructed a recombinant pART vector carrying the *BrUGE1* gene under the control of the

CaMV 35S promoter and nos terminator and transformed using *Agrobacterium tumefaciens*. We then investigated *BrUGE1* overexpressing rice lines at the physiological and molecular levels under biotic and abiotic stress conditions. Bioassay of T₃ progeny lines of the transgenic plants in Yoshida solution containing 120 mM NaCl for 2 weeks, confirmed that the *BrUGE1* enhances salt tolerance to transgenic rice plants. Also T₃ progeny lines of the transgenic plants, when exposed to infection caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, showed tolerance to bacterial blight. These results showed that *BrUGE1* can be used as potential genetic resource for engineering *Brassica* with multiple stress resistance.

Keywords Chinese cabbage · Bacterial blight · Gene expression · Plant cell wall · Transgenic plants · UDP-D-glucose 4-epimerase (UGE)

Introduction

Plant cell walls are chemically complex, diverse structures that are modified throughout the processes of cell division, cell growth, and differentiation, and in response to abiotic and biotic stresses. During the process of cell wall biosynthesis the different glycosyl transferases use varying nucleoside-diphosphate (NDP) sugars to assemble the different cell wall polysaccharides (Feingold and Avigad 1980). The availability of the NDP-sugars is thus an important factor in determining the final polysaccharide composition. Nevertheless, it is unclear to what extent modifications in the pool size of a particular NDP-sugar can affect the presence or structure of cell wall polysaccharides. Plants possess a sophisticated sugar biosynthetic machinery comprising families of nucleotide sugars that

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11816-015-0370-7) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Kwon Kyo Kang
kykang@hknu.ac.kr

¹ Department of Horticulture, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea

² Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea

³ Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

⁴ Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 362-763, Korea

Research Report

Identification of an SNP Variation of Elite Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Lines using Genome Resequencing AnalysisYu Jin Jung^{1,2}, Ill Sup Nou³, Yong Gu Cho⁴, Myong Kwon Kim⁵, Hoy-Tack Kim³, and Kwon Kyo Kang^{1,2*}¹Department of Horticulture, Hankyong National University, Ansong 17579, Korea²Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Ansong 17579, Korea³Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea⁴Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea⁵Tomato Life Science and Research, Cheongju 28171, Korea

*Corresponding author: kykang@hknu.ac.kr

Received September 14, 2015 / Revised December 24, 2015 / Accepted January 28, 2016

© Korean Society for Horticultural Science and Springer 2016

Abstract. The completion of the tomato genome sequence and recent advances in DNA sequencing technology allow in-depth characterization of genetic variation present in the tomato genome. Cultivated tomato lines show low molecular but high phenotypic diversity. We resequenced the genomes of four elite tomato lines with an Illumina HiSeq 2000 sequencer. We generated, on average, 84 million 100-bp paired-end reads per line. Mapped reads covered 89.0-93.4% of the mapped *S. lycopersicum* reference genome (782 Mb). On average, 0.42 single nucleotide polymorphisms (SNPs)/kb and 0.05 short insertions and deletions (InDels)/kb were found in the four elite lines. The highest number of SNPs was 558,526 found in tomato line 13-1084. We identified many SNPs and InDels, derived from 1012 genes, in region 7-62 Mb of chromosome 5 in the four elite lines. The same pattern of multiple SNPs was detected on chromosome 5 in lines 13-1151 and 10-3321, deriving from genes in region 0-2 Mb, and many homozygous SNPs and InDels were detected on chromosome 1 of these two lines. The same pattern of multiple SNPs and InDels derived from genes located between regions 53-60 Mb of chromosomes 4 and 11 was found in the four elite lines. The SNPs and InDels identified in this resequencing study will serve as useful genetic tools and candidate polymorphisms in the search for DNA variations associated with valuable phenotypic diversity.

Additional key words: InDels, next-generation sequencing, SNP analysis

Introduction

Marker-assisted breeding allows the use of molecular markers to indicate the presence or absence of a specific trait without undertaking phenotypic observations (Edwards and Batley, 2010). It also aids in maintaining desirable traits while introducing new characteristics during the breeding process (Jo et al., 2013). A single nucleotide polymorphism (SNP) is a single nucleotide mutation identified within the whole genome sequence. In many recent studies, SNPs were used as molecular markers to detect genetic variation and identify plants and animals with beneficial traits (Gupta et al., 2001; Kim and Misra, 2007; Thomson, 2014). In human, one SNP is present for every 1,000 nucleotides (Wang et al., 1998), while in tomato one SNP is found every 1,647 nucleotides, on average (Van Deynze et al., 2007). Recently, a large number of crops were sequenced by next generation

sequencing (NGS) and numerous molecular markers, which are referenced in the genome sequences of each crop, were identified by genome-wide SNP analysis (Chagné et al., 2012; Hyten et al., 2010; Trebbi et al., 2011). In addition, in both medical and agricultural sectors, SNPs have been used as marker-assisted backcrossing (MAB) markers that can confirm the presence of important genes, and their use is expanding through *in silico* analysis (An et al., 2010; Cuesta-Marcos et al., 2010; Xu et al., 2012).

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.), the most commonly produced and consumed product among culinary vegetable crops, has worldwide economic value and is also used as a model breeding crop of *Solanaceae* (Foolad, 2007). The tomato seed market is large and the scale of production and trade has been steadily increasing. Compared to other culinary vegetable crops, advanced breeding techniques have been developed for tomato and it is the first crop to have its

Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes

Md. Amdadul Huq · Shahina Akter · Ill Sup Nou · Hoy Taek Kim · Yu Jin Jung · Kwon Kyoo Kang

Received: 18 March 2016 / Revised: 24 March 2016 / Accepted: 25 March 2016
 © Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Single nucleotide polymorphism (SNP) is an abundant form of genetic variation within individuals of species. DNA polymorphism can arise throughout the whole genome at different frequencies in different species. SNP may cause phenotypic diversity among individuals, such as individuals with different color of plants or fruits, fruit size, ripening, flowering time adaptation, quality of crops, grain yields, or tolerance to various abiotic and biotic factors. SNP may result in changes in amino acids in the exon of a gene (asynonymous). SNP can also be silent (present in coding region but synonymous). It may simply occur in the noncoding regions without having any effect. SNP may influence the promoter activity for gene expression and finally produce functional protein through transcription. Therefore, the identification of functional SNP in genes and analysis of their effects on phenotype may lead to better understanding of their impact on gene function for varietal improvement. In this mini-review, we focused on evidences revealing the role of functional SNPs in genes and their phenotypic effects for the purpose of crop improvements.

Keywords Functional SNPs, Genetic diversity, Phenotypic variation, Biotic and abiotic stresses

Introduction

Crop plants are very important for human being, therefore different strategies are using for their improvement accordance to current demands. Among these strategies, plant breeding program is a natural way of variety development. During breeding programs, a lot of genetic variations are arisen, which are corresponding to the phenotypes; such as quality of crops, grain yields, different colors of plants or fruits, size of fruits, and tolerance to various biotic and abiotic stresses (Vidal et al. 2012; Jang et al. 2015). Genetic diversity is also generated in different crop species through domestication of the same species in different geographical regions. The most common form of genomic variation is single nucleotide variation in the genome within the individuals. Analysis of DNA variation through DNA sequencing of a target gene regulating phenotypes is a good way to identify causal genes for the traits. The recent advances in sequencing technology are giving great opportunity for plant breeders to find out genetic diversity in different breeding populations, especially for the discovery of functional SNP (single nucleotide polymorphism) in causal genes and development of SNP markers, which are associated with diverse agronomic traits in crops (Vidal et al. 2012). Most of the crop plants contain high nutritional value, which provides some particular nutrients that have high impact

Genome Sequencing, a Milestone for Genomic Research and Plant Breeding

Md. Amdadul Huq¹, Shahina Akter², Yu-Jin Jung^{1,2}, Ill Sup Nou³, Yong-Gu Cho⁴, Kwon-Kyoo Kang^{1,2*}

¹Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea

²Department of Horticulture, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea

³Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

⁴Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

ABSTRACT Plant breeding programs are often used to improve varieties through creating diverse agronomic traits. During a breeding program, a lot of genetic diversities are created in the genome after different generations through homologous recombination. Genome sequencing technology has revolutionized the discovery of genes and molecular markers associated with diverse agronomic traits in crop improvement programs. Genomic research is now in the peak of success, thus creating new opportunities for crop improvement modern sequencing technology is now capable of sequencing thousands to millions of bases per run. Modern sequencing technologies enable the sequencing of different cultivars with small to complex genomes at a reasonable time and cost. These massive data can be used to identify important agronomic traits of crops such as fruit color, size, ripening, flowering time adaptation, grain yield, and quality maintenance. In addition, they can be used to develop crop varieties. This mini-review is focused on the role of genome sequencing in genomic research and plant breeding for crop improvements.

Keywords Plant breeding, Genetic diversity, Homologous recombination, DNA sequencing, Molecular markers, Agronomic traits

INTRODUCTION

Plant breeding is a natural way to create genetic variation among individuals of species in order to obtain desired characteristics. It is important to ensure that the world food demand is met by developing new varieties with improved crop qualities, including high yield, tolerance to various environmental stresses (drought, cold, salinity, flood, etc.), and resistance to various insects, fungi, bacteria, and viruses. Breeding programs can develop crop varieties with these qualities. One major technique in plant breeding is by crossing between two closely related individuals to produce new crop varieties or lines with desirable properties. A successful breeding program largely depends on homologous recombination to exchange genetic information between chromosomes during meiosis, thus creating genetic diversity and hybrid plants with desired

characteristics. These genomic changes in individuals could be associated with phenotype changes, including different colors of plants or fruits, size, grain yields, tolerance to various stresses, male sterility in plants, and different disease resistance. Phenotypic variations through domestication from one region to other regions are also associated with different agricultural species. Analysis of DNA sequence variations in candidate genes based on morphological phenotypes is a good way to identify causal genes for these traits. Many studies have reported genome-wide evaluations for different breeding varieties or lines of plants with strong genetic diversity across different chromosomal regions in association with different phenotypic changes (Lam *et al.* 2010; Riedelsheimer *et al.* 2012; Causse *et al.* 2013; Chen *et al.* 2014; Xu *et al.* 2014).

Modern sequencing technology is a great tool for identifying the genetic diversity in hybrid plants, especially

Received February 6, 2016; Revised February 11, 2016; Accepted February 12, 2016; Published February 28, 2016

*Corresponding author Kwon-Kyoo Kang, kykang@hknu.ac.kr, Tel: +82-31-670-5104, Fax: +82-31-670-5109

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 농식품기술개발(R&D)사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 농식품기술개발(R&D)사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.