

(뒷면)

213008-0  
4-1-SB9

|                      |
|----------------------|
| 발간등록번호               |
| 11-1543000-001663-01 |

(앞면)

중  
간  
내  
병  
성  
양  
파  
품  
종  
육  
성  
을  
위  
한  
분  
자  
육  
종  
기  
술  
확  
립

5cm  
↓

**중간 내병성 양파 품종육성을  
위한 분자 육종기술 확립**  
(Establishment of a molecular breeding  
system for development of superior  
onion cultivars)

|                    |
|--------------------|
| 주<br>의<br>(편집순서 8) |
|--------------------|

전남대학교

(15 포인트 고딕체열)

↑  
6cm  
↓

↑  
9cm  
↓

농림축산식품부

농림축산식품부

↑  
3cm  
↓

↑  
4cm  
↓

# 제 출 문

농림축산식품부장관 귀하

이 보고서를 “종간 내병성 양파 품종육성을 위한 분자 육종기술 확립” 프로젝트(세부프로젝트 “양파 분자육종 기반 구축 및 주요 형질 관련 분자표지 개발”)의 보고서로 제출합니다.

2017년 02월 14일

프로젝트 연구기관명 : 전 남 대 학 교

프로젝트 책임자 : 김 성 길

세부프로젝트 연구기관명 : 전 남 대 학 교

세부프로젝트 책임자 : 김 성 길

세부프로젝트 연구기관명 : 국립식량과학원

세부프로젝트 책임자 : 김 철 우

## 요 약 문

### I. 제 목

종간 내병성 양과 품종육성을 위한 분자 육종기술 확립

### II. 연구성과 목표 대비 실적

#### 1. 응성불임 임성 회복유전자 선발용 분자표지 개발 및 신뢰성을 검증

최신식 기술인 Next generation sequencing 기술인 RNA-Seq 기술과 BSA기술을 접목하여 응성불임 임성 회복유전자와 perfect linkage disequilibrium을 갖는 연관 분자표지 31446을 개발하였다. 31446 분자표지는 다양한 유전자원에서 표현형과 분자표지형이 100% 일치함을 확인하여 신뢰성을 입증하였다.

#### 2. 노균병 저항성을 도입하기 위한 MAB 시스템을 구축

유럽에서 노균병 저항성을 가지는 *A.roylei*와 양파의 종간교잡을 통해 노균병 저항성을 가지는 양파 품종인 'Santero'를 출시하였다. 연관지도를 이용하여 3번 염색체 말단에 노균병 저항성 유전자가 들어갔음을 확인하였고 8개의 loci를 선발하여 4개의 노균병 저항성 선발용 분자표지 (DMR1, DMR2, DMR3, DMR4)를 개발하였다. 개발된 4가지의 분자표지는 recombinant selection 분자표지로 활용될 수 있지만 아직 foreground 분자표지와 background 분자표지가 개발되지 않았다. 따라서 2단계 과제에서 노균병에 대한 포장검정과 foreground 분자표지, background 분자표지를 개발할 예정이다.

#### 3. 고기능성 적색 양파 품종 개발을 위한 유전자 선발용 분자표지 개발 및 분자육종 시스템을 구축

양파에서 적색에 관여하는 유전자는 2가지로 *DFR*과 *ANS* 유전자이다. *DFR*유전자의 경우 이전 연구에서 14가지 allele을 판별할 수 있는 시스템을 개발하였다 (Song et al. 2013). 본 연구에서 *ANS*유전자에 대한 2가지 새로운 돌연변이형을 확인하였고 밝혀진 6가지 *ANS* allele을 판별할 수 있는 시스템을 구축하였다.

#### 4. 종간교잡을 통한 국내의 내병성 도입 유전자원을 육성

흑반병, pink root, 잎마름병, 탄저병, OYDV(onion yellow dwarf virus)에 대해 저항성을

가진 파(*A. fistulosum*)를 이용하여 양파와 중간교잡을 통해 새로운 유전자원을 확보하였다. 또한 병에 대한 내병성을 보이는 5가지 *Allium* 종과 양파의 중간교잡을 수행하여 계통을 확보하였다.

### 5. 반수체 배양을 통한 반수체 유래 계통을 육성

총 24계통으로부터 404,175개의 화뢰를 이용하여 667개체의 반수체 유래 개체를 생산하였다. 계통에 따른 반수체 유래 개체의 생산율을 분석하여 원예30008B품종이 0.61%로 가장 높았다.

## Ⅲ. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 개발 목적

첫째, 옹성불임 임성 회복유전자 선발용 분자표지 개발 및 신뢰성을 검증한다.

둘째, 노균병 저항성을 도입하기 위한 MAB시스템을 구축한다.

셋째, 고기능성 적색 양파 품종 개발을 위한 유전자 선발용 분자표지 개발 및 분자유종 시스템을 구축한다.

넷째, 중간교잡을 통한 국내의 내병성 도입 유전자원을 육성한다.

다섯째, 반수체 배양을 통한 반수체 유래 계통을 육성한다.

### 2. 필요성

양파 (일반명: onion; 학명: *Allium cepa* L.)는 종교적인 이유 등 특별한 이유를 제외하고는 전 세계 모든 나라에서 소비되고 있는 중요한 채소작물이다. 2009년 기준으로 전 세계 양파 생산규모는 연간 약 7천 2백만 톤 규모로 채소작물 중에 4위를 차지하고 있다 (FAO, 2011). 국내생산규모는 2010년 기준으로 재배면적은 약 22,113 헥타르에 달하고 생산량은 140만 톤 규모이다 (Korean Statistical Information Service, 2010). 양파 재배면적과 생산량은 연차 간 증감이 있지만 최근 가격상승으로 인해 재배면적이 확대되고 있는 추세에 있다. 특히, 2010년에는 재배면적이 전년도 보다 19.3%증가하였다. 재배지역은 주로 전남, 경남, 경북, 제주 순으로 많이 재배하는데 상위 4개 도의 면적이 전국의 90%를 차지하고 있다.

양파종자시장 규모는 지난 10여 년간 꾸준한 증가추세를 보이고 있는데 2010년에는 약 213 억원으로 고추와 무에 이어 3위를 차지하고 있다 (한국종자협회, 2011). 반면, 양파종자의 순수입 규모는 약 27억 원으로 1위를 차지하고 있어 수입의존도가 가장 높은 작물이 되고 있다. 양파 종자는 주로 일본으로부터 수입하는데 고정종에 비해서 F<sub>1</sub>품종의 종자가격이 높다. 특히, 조생종의 경우 고정종 가격보다 F<sub>1</sub>품종의 가격이 거의 10배에 육박하기도 한다 (한국종자협회, 2005). 따라서 해외 양파의 의존도를 국내로 돌리기 위해선 국산 양파 품종 개발이 절실한 상황이다. 그러나 국내의 양파 육종 기반이 매우 취약하여 국산 양파 품종 개발보다 관련된 기반 기술이 필요한 현실이다. 기반 기술로는 세대를 단축하여 새로운 양파 품종을 개발하기 위한

MAB (Marker Assisted Backcrossing) 시스템 구축과 F<sub>1</sub>종자를 효율적으로 생성하기 위한 응성불임성에 대한 연구, 단시간에 대량 증식하고 고정시킬 수 있는 반수체 배양기술이 해당된다.

응성불임과 반수체 연구뿐만 아니라 양파의 구피색은 중요한 육종 목표형질중 하나이다. 크게 백색, 황색, 적색 품종이 주류를 이루고 있고 국내에서는 대부분 황색품종을 선호한다. 최근에 적색품종의 경우 소비자 기호의 다양화와 건강기능성에 대한 관심이 늘어나면서 소비량이 증가하는 추세이다. 그러나 적색품종의 경우 황색품종보다 저장성이 낮은 문제점이 있다. 따라서 분자표지를 이용하여 저장성 높은 품종을 개발하게 된다면 소비가 보다 확대될 것으로 생각된다.

양파 재배에서 가장 큰 걸림돌은 노균병이다. 노균병을 예방하기 위해서 국내 양파 육성과정에서 농약을 과다사용하고 있어 식품안전성 및 환경오염이 대두되고 있다. 따라서 노균병 저항성 품종 개발이 시급한 상황이다. 최근 유럽에서는 중간교잡을 통한 노균병 저항성 품종이 40년간의 연구 끝에 출시되어 고가로 판매되고 있다. 따라서 분자표지를 이용하여 다양한 국내 노균병 저항성 품종을 개발하면 고부가치를 창출할 수 있을 것이다.

#### IV. 연구개발 내용 및 범위

##### 1. 유전자지도 기반 여교배 세대단축기술 (Marker assisted backcrossing: MAB) 개발

정밀한 표준 유전자지도를 기반으로 MAB에 적합한 foreground, recombinant, background selection marker 개발 및 주요 육종 계통 대상 분자표지 다형성 DB를 구축한다.

##### 2. MAB를 이용한 노균병 저항성 계통 개발

최근 유럽에서 출시된 노균병 저항성 품종의 노균병 저항성 정도 검정 및 노균병 저항성 유전자 식별용 분자표지 개발 및 이를 활용하여 노균병 저항성을 MAB를 이용하여 단기간 내에 국내 주요 계통에 도입한다.

##### 3. 응성불임 임성 회복유전자 선발용 분자표지 개발

대량의 분리집단을 육성하여 임성 회복유전자와 linkage disequilibrium에 있는 매우 가까이 연관된 분자표지를 개발한다.

##### 4. 다양한 양파 구피색 결정 유전자 분리 및 분자표지 개발

과 transcriptome data를 이용하여 구피색 결정 후보 유전자를 분리하여 흰색 및 연록색을 결정하는 유전자를 분리하고 이를 기반으로 기능성 분자표지 개발한다.

##### 5. 양파 F<sub>1</sub>종자 순도검정 및 향상용 분자표지 개발

F<sub>1</sub>종자 및 원종의 순도를 높일 수 있는 분자표지를 이용한 순도검정 시스템 개발 및 순도검정용 분자표지에 대한 주요 육종계통 및 품종의 DB를 구축한다.

## 6. 근연종 및 다양한 양파 유전자원 수집 및 특성조사

국내외 유전자원 관리기관으로부터 근연종 유전자원을 수집하고 수집된 유전자원을 증식하여 내병성 및 농업적 특성 조사한다.

## 7. 종간 교잡을 통한 내병성 형질 도입

병해충 저항성을 보유한 것으로 알려진 근연종을 양파와 교배하여 분리후대 집단을 양성하고 내병성 및 농업적 특성을 조사하여 내병성 형질을 지닌 계통을 선발하여 F1 교배모본 육성한다.

## 8. 종간교잡을 이용하여 새 CMS 개발 및 기능성 성분도입

양파의 옹성불임(CMS-S, CMS-T)외에 *Allium fistulosum* 또는 *A. galanthum* 등으로부터 세포질을 도입하여 새 CMS 계통 육성과 종간교잡계통들의 저장성 및 성분관련 형질을 분석하여 저장성이 뛰어난 계통을 육성한다.

## 9. 양파 반수체 배양을 통한 다양한 계통 개발

양파 품종육성 효율 증진을 위한 양파 반수체 육종기술을 확립하고 반수체 배양 유래 DH (doubled haploid) 계통 특성을 검정하여 다양한 육종 재료 분양한다.

# V. 연구개발결과

## 1. 옹성불임 임성 회복 유전자 연관 분자표지 개발

4,273개의 분리집단을 이용하여 옹성불임 회복유전자에 가장 가까운 co-dominant 분자표지 jnurfl3을 개발하였다.

## 2. Bulked segregant analysis와 RNA-Seq을 이용한 양파 옹성불임 임성 회복유전자 분리

BSA기술과 RNA-Seq기술을 이용하여 옹성불임 회복유전자와 perfect linkage disequilibrium을 가지는 분자표지 31446을 개발하였고 회복유전자중 가장 유력한 후보인 *Acpms1* 유전자를 확인하였다.

## 3. 옹성불임 임성 회복유전자와 linkage disequilibrium을 갖는 분자표지를 활용한 양파 육종 효율 향상

미국에서 개발된 3가지 SNP분자표지와 개발된 jnurfl3 분자표지를 이용하여 회복유전자와 jnurfl3 분자표지가 linkage disequilibrium 관계임을 확인하였고 분자표지를 이용한 양

과 육종 효율을 증대시킬 수 있는 4가지 방안을 제시하였다.

#### 4. 양파의 노균병 저항성을 가지는 *Allium roylei* 단편에 대한 분자표지 개발

chromosome 3의 연관지도를 이용하여 8개 loci를 선발하였고 노균병 저항성 유전자와 연관된 DMR1, DMR2, DMR3, DMR4 분자표지를 개발하였다.

#### 5. 양파의 2가지 새로운 *ANS* mutant allele 확인

2가지 황색 품종에서 premature stop codon을 가지는 *ANS*<sup>PS</sup> allele과 critical amino acid change를 가지는 *ANS*<sup>S188L</sup> allele을 분리하였으며 여러 *ANS* allele을 판별할 수 있는 시스템을 구축하였다.

#### 6. 근연종 및 다양한 유전자원과 특성 분석

미국, ARS (Agricultural Research Service), GRIN (Germplasm Resources Information Network's)를 통해 *Allium* 속 9종 60점을 분양받았고 AVRDC, 네덜란드 종묘회사(Enza Zaden)로부터 42점의 신규자원을 수집하였다. 또한 확보된 유전자원의 특징조사를 수행하였다.

#### 7. 종간교잡계통의 특성검정

양파(*A. cepa*)와 바빌로비(*A. vavilovii*), 양파(*A. cepa*)와 파(*A. fistulosum*), 양파(*A. cepa*)와 샬롯(*A. ascalonicum*)의 종간교잡을 통해 종자를 확보하였고 조합능력검정을 수행하였다.

#### 8. 내병성 형질도입을 위한 육종소재개발 및 노균병 저항성 계통 선발

흑반병, pink rot, 잎마름병, 탄저병 등에 저항성을 가지고 있는 파(*A. fistulosum*)와 양파를 종간교잡하여 종자를 확보하였고 병원성에 대한 저항성 조사를 할 예정이다. 또한 노균병 저항성 계통을 선발하기 위해서 국내 시판 품종을 확인한 결과 6가지 품종에서 노균병 발병율이 10%보다 낮음을 확인하였다.

#### 9. 양파 반수체 배양을 통한 다양한 계통 개발

24계통으로부터 404,175개의 화뢰를 이용하여 미숙화뢰배양을 수행하였고 667개의 반수체 유래 개체를 생산하였다. 24계통에 대한 반수체 생산률을 비교분석하였고 만들어진 반수체를 분양하였다.

#### 10. 양파 주요 leading 품종 수집 및 특성 평가

중국으로부터 2가지 새로운 유전자원을 확보하였고 국외 품종 유래 8계통을 대상으로 계

통 특성 평가를 수행하여 초형, 엽색, 구형, 숙기, 수량성, 저장성을 확인하였다.

#### 11. 양파 지방배양에 적합한 모식물체 최적생육조건 탐색 및 지방배양 기술 정립

월동재배 생존율에 따른 반수체 유래 개체 생산율에 미치는 영향을 조사하였으나 뚜렷한 상관관계는 볼 수 없었다. 또한 flow cytometry를 이용한 양파 배수성 검정법을 확립하였다.

### VI. 연구성과 및 성과활용 계획

#### 1. 양파 응성불임 회복유전자 연관 분자표지 개발

양파는 한 개의 화구(umbel)에서 1000개 이상의 꽃이 피기 때문에 F1채종 시에 응성불임이 필수적으로 필요하다. 이전 연구에서 개발된 세포질 구별 분자표지와 이번 연구에서 개발된 회복유전자 연관 분자표지를 이용한다면 효율적인 F1채종에 유용한 도구가 될 것이다.

#### 2. 적색과 관련된 ANS 유전자의 allele type을 판별할 수 있는 시스템 구축

최근에 건강에 대한 관심이 높아지면서 적색 양파의 수요가 증가하고 있다. 적색에 관여하는 유전자는 *DFR*과 *ANS* 유전자가 관여하는 것으로 확인되었기 때문에 이전 연구에서 개발된 *DFR* allele 판별 시스템과 이번 연구에서 개발된 *ANS* 유전자의 allele 판별 시스템을 같이 사용한다면 새로운 적색 품종을 생산하는데 유용하게 사용될 수 있다.

#### 3. 양파의 노균병 저항성을 가지는 *Allium roylei* 단편에 대한 분자표지 개발

개발된 4가지 노균병 저항성 연관 분자표지를 이용하여 MAB 시스템으로 국내 양파 계통에 노균병 저항성을 효율적으로 도입할 수 있다면 국내 양파의 수확량을 급증할 수 있을 것이고 저장성 또한 증대할 것으로 생각된다.

#### 4. 종간교잡을 통한 다양한 품종 개발

종간 교잡을 이용하여 얻어진 다양한 품종은 양파가 가지지 못한 이점을 도입할 수 있는 중요한 수단이고 종간교잡을 통해 얻어진 새로운 유전자원은 중요한 F1품종을 개발하는데 활용될 것으로 생각된다.

#### 5. 다양한 반수체 계통 개발

본 과제를 통해서 반수체 배양을 통해 반수체 유래 계통 (Double haploid)을 확보하였다. 이는 2년생 작물과 자식열세라는 단점을 극복할 수 있는 중요한 수단이고 높은 순도의 F1 품종을 개발하는데 유용하게 사용될 것이다.



## SUMMARY

### ○ Title : *Establishment of a molecular breeding system for development of superior onion cultivars*

Onion is the most widely cultivated species of the genus *Allium*. Although the onion is one of the important vegetables, the onion has many weaknesses on breeding. First, onion is a biennial plant and has high level of heterozygosity. Therefore, identification of major phenotypes or development of new cultivar takes 2-3 years. To overcome this obstacles many people study deep into a molecular breeding system of onion.

First, one of the major traits of molecular breeding on onion is male sterility. The self-pollination of onion is easily happen because the umbel consists of many flower. However application of cytoplasmic male sterility (CMS) produce F1 hybrid seed and prevent the contamination of seed production. To use the male sterility for producing F1 hybrid seeds we must use the molecular markers based on CMS-inducing gene and restorer gene. To date, all CMS-inducing genes are the chimeric structure that consist of partial sequences of mitochondrial genes and unknown sequences. The candidate gene inducing the male sterility in onion, *orf725*, is reported in our research group (Kim et al., 2009). *orf725* consisting of partial sequences of the *cox1* gene and unknown sequences has been identified in both the CMS-S and CMS-T cytoplasm. The molecular marker based on the *orf725* and *cox1* sequences can distinguish the three onion mitotypes perfectly. On the other hand, molecular marker based on restorer gene is not reported. Therefore, we developed the linkage marker which was in linkage disequilibrium with the restorer gene using a combination of bulked segregant analysis and RNA-seq. However further study identifying the restorer gene is needed.

Second trait is the resistant of downy mildew in onion. Downy mildew disease caused by oomycete *Peronospora destructor* is most destructive disease in the onion-producing regions in the world. The resistance of downy mildew was founded in the *Allium roylei*. Recently, 'Santero', novel onion cultivar resistant to downy mildew, was released in Euroup. 'Santero' is the product of a onion crossed with *Allium roylei*. Therefore, we developed the linkage markers based on *Allium roylei* and onion sequences in 'Santero'. After further researches on the MAB (marker assisted backcrossing) system and identification of the resistance gene are needed to introduce the resistant into the domestic elite cultivars efficiently.

Third trait is the onion bulb color. Nowadays, people are interested in medicinal and health-promoting crops for their health. Yellow and red onions contain a lot of health-promoting compounds, such as quercetin and anthocyanin. In previously research, almost all structural genes encoding enzymes in the anthocyanin biosynthesis pathway were cloned in our research group. Therefore we identified the many mutants which are cause of difference between the red and yellow bulb colors and developed the molecular markers based on polymorphism between mutant and structure gene sequences. In addition, process consisting of PCR amplification and sequencing of the PCR products was developed to identify the many *DFR* and *ANS* alleles from diverse onion germplasm. Further research about white color is performing using the transcriptome data and segregating population.

The last one is haploid culture technology for producing doubled haploid lines. It need long period to develop the purebred variety because onion is biennial life and has severe inbreeding depression. However we produced the purebred varieties in a short period of time using haploid culture technology. Therefore, we reduced the breeding periods and obtained the diverse genetic resources.

In conclusion, results of this project are very useful information for development of superior onion cultivars.

## CONTENTS

|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Chapter 1</b> | <b>Overview of the project</b> .....                               | <b>11</b> |
| <b>Chapter 2</b> | <b>Domestic and worldwide trends in technology development</b> ... | <b>14</b> |
| <b>Chapter 3</b> | <b>Major Results</b> .....   | <b>16</b> |
| <b>Chapter 4</b> | <b>Level of achievement and contribution to industry</b> .....     | <b>88</b> |
| <b>Chapter 5</b> | <b>Major products and schedule of application</b> .....            | <b>89</b> |
| <b>Chapter 6</b> | <b>Collected technological information</b> .....                   | <b>93</b> |
| <b>Chapter 7</b> | <b>References</b> .....  | <b>94</b> |

## 목 차

|       |                       |    |
|-------|-----------------------|----|
| 제 1 장 | 프로젝트의 개요 및 성과목표       | 11 |
| 제 2 장 | 국내외 기술개발 현황           | 14 |
| 제 3 장 | 연구개발수행 내용 및 결과        | 16 |
| 제 4 장 | 목표달성도 및 관련분야에의 기여도    | 88 |
| 제 5 장 | 연구개발 성과 및 성과활용 계획     | 89 |
| 제 6 장 | 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 | 93 |
| 제 7 장 | 참고문헌                  | 94 |

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

# 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

## 제 1절 연구개발의 개발 목적

첫째, 융성불임 임성 회복유전자 선발용 분자표지 개발 및 신뢰성을 검증한다.

둘째, 노균병 저항성을 도입하기 위한 MAB시스템을 구축한다.

셋째, 고기능성 적색 양파 품종 개발을 위한 유전자 선발용 분자표지 개발 및 분자유종 시스템을 구축한다.

넷째, 중간교잡을 통한 국내의 내병성 도입 유전자원을 육성한다.

다섯째, 반수체 배양을 통한 반수체 유래 계통을 육성한다.

## 제 2절 연구개발의 필요성

양파 (일반명: onion; 학명: *Allium cepa* L.)는 종교적인 이유 등 특별한 이유를 제외하고는 전 세계 모든 나라에서 소비되고 있는 중요한 채소작물이다. 2009년 기준으로 전 세계 양파 생산규모는 연간 약 7천 2백만 톤 규모로 채소작물 중에 4위를 차지하고 있다 (FAO, 2011). 국내생산규모는 2010년 기준으로 재배면적은 약 22,113 헥타르에 달하고 생산량은 140만 톤 규모이다 (Korean Statistical Information Service, 2010). 양파 재배면적과 생산량은 연차 간 증감이 있지만 최근 가격상승으로 인해 재배면적이 확대되고 있는 추세에 있다. 특히, 2010년에는 재배면적이 전년도 보다 19.3%증가하였다. 재배지역은 주로 전남, 경남, 경북, 제주 순으로 많이 재배하는데 상위 4개 도의 면적이 전국의 90%를 차지하고 있다.

양파종자시장 규모는 지난 10여 년간 꾸준한 증가추세를 보이고 있는데 2010년에는 약 213 억원으로 고추와 무에 이어 3위를 차지하고 있다 (한국종자협회, 2011). 반면, 양파종자의 순수입 규모는 약 27억 원으로 1위를 차지하고 있어 수입의존도가 가장 높은 작물이 되고 있다. 양파 종자는 주로 일본으로부터 수입하는데 고정종에 비해서 F<sub>1</sub>품종의 종자가격이 높다. 특히, 조생종의 경우 고정종 가격보다 F<sub>1</sub>품종의 가격이 거의 10배에 육박하기도 한다 (한국종자협회, 2005). 따라서 해외 양파의 의존도를 국내로 돌리기 위해선 국산 양파 품종 개발이 절실한 상황이다. 그러나 국내의 양파 육종 기반이 매우 취약하여 국산 양파 품종 개발보다 관련된 기반 기술이 필요한 현실이다. 기반 기술로는 세대를 단축하여 새로운 양파 품종을 개발하기 위한 MAB (Marker Assisted Backcrossing) 시스템 구축과 F<sub>1</sub>종자를 효율적으로 생성하기 위한 융성불임성에 대한 연구, 단시간에 대량 증식하고 고정시킬 수 있는 반수체 배양기술이 해당된다.

융성불임과 반수체 연구뿐만 아니라 양파의 구피색은 중요한 육종 목표형질중 하나이다. 크게 백색, 황색, 적색 품종이 주류를 이루고 있고 국내에서는 대부분 황색품종을 선호한다. 최근에 적색품종의 경우 소비자 기호의 다양화와 건강기능성에 대한 관심이 늘어나면서 소비량이

증가하는 추세이다. 그러나 적색품종의 경우 황색품종보다 저장성이 낮은 문제점이 있다. 따라서 분자표지를 이용하여 저장성 높은 품종을 개발하게 된다면 소비가 보다 확대될 것으로 생각된다.

양파 재배에서 가장 큰 걸림돌은 노균병이다. 노균병을 예방하기 위해서 국내 양파 육성과정에서 농약을 과다사용하고 있어 식품안전성 및 환경오염이 대두되고 있다. 따라서 노균병 저항성 품종 개발이 시급한 상황이다. 최근 유럽에서는 중간교잡을 통한 노균병 저항성 품종이 40년간의 연구 끝에 출시되어 고가로 판매되고 있다. 따라서 분자표지를 이용하여 다양한 국내 노균병 저항성 품종을 개발하면 고부가치를 창출할 수 있을 것이다.

## 제 3절 연구성과 목표 대비 실적

### 1. 옹성불임 임성 회복유전자 선발용 분자표지 개발 및 신뢰성을 검증

최신식 기술인 Next generation sequencing 기술인 RNA-Seq 기술과 BSA기술을 접목하여 옹성불임 임성 회복유전자와 perfect linkage disequilibrium을 갖는 연관 분자표지 31446을 개발하였다. 31446 분자표지는 다양한 유전자원에서 표현형과 분자표지형이 100% 일치함을 확인하여 신뢰성을 입증하였다.

### 2. 노균병 저항성을 도입하기 위한 MAB 시스템을 구축

유럽에서 노균병 저항성을 가지는 *A.roylei*와 양파의 중간교잡을 통해 노균병 저항성을 가지는 양파 품종인 'Santero'를 출시하였다. 연관지도를 이용하여 3번 염색체 말단에 노균병 저항성 유전자가 들어갔음을 확인하였고 8개의 loci를 선발하여 4개의 노균병 저항성 선발용 분자표지 (DMR1, DMR2, DMR3, DMR4)를 개발하였다. 개발된 4가지의 분자표지는 recombinant selection 분자표지로 활용될 수 있지만 아직 foreground 분자표지와 background 분자표지가 개발되지 않았다. 따라서 2단계 과제에서 노균병에 대한 포장검정과 foreground 분자표지, background 분자표지를 개발할 예정이다.

### 3. 고기능성 적색 양파 품종 개발을 위한 유전자 선발용 분자표지 개발 및 분자유종 시스템을 구축

양파에서 적색에 관여하는 유전자는 2가지로 DFR과 ANS 유전자이다. DFR유전자의 경우 이전 연구에서 14가지 allele을 판별할 수 있는 시스템을 개발하였다 (Song et al. 2013). 본 연구에서 ANS유전자에 대한 2가지 새로운 돌연변이형을 확인하였고 밝혀진 6가지 ANS allele을 판별할 수 있는 시스템을 구축하였다.

### 4. 중간교잡을 통한 국내의 내병성 도입 유전자원을 육성

흑반병, pink root, 잎마름병, 탄저병, OYDV(onion yellow dwarf virus)에 대해 저항성을 가진 파(*A. fistulosum*)를 이용하여 양파와 중간교잡을 통해 새로운 유전자원을 확보하였다. 또한 병에 대한 내병성을 보이는 5가지 *Allium* 종과 양파의 중간교잡을 수행하여 계통을 확보하였다.

## 5. 반수체 배양을 통한 반수체 유래 계통을 육성

총 24계통으로부터 404,175개의 화뢰를 이용하여 667개체의 반수체 유래 개체를 생산하였다. 계통에 따른 반수체 유래 개체의 생산율을 분석하여 원예30008B품종이 0.61%로 가장 높았다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1절 국내외 기술개발 현황

#### 1. 양파 유전자지도 작성

양파는 대부분의 *Allium*속 작물과 동일하게 8개의 염색체를 가지고 있다. 크기는 약 15,290Mb이고 옥수수의 유전체보다 6배, 벼의 유전체보다 36배, *Arabidopsis*의 유전체보다 107배의 굉장히 큰 유전체를 가지고 있다. 따라서 유전자지도를 정밀하게 작성하기엔 어려움이 따른다. 최초의 유전자지도는 1998년에 14개의 RAPD 분자표지와 110개의 RFLP 분자표지를 이용하여 보고하였다 (King et al. 1998). 이후 수차례의 유전자지도가 업데이트 되었지만 아직까지 다른 작물의 유전자지도에 비하면 해상도가 크게 떨어진다고 볼 수 있다. 또한 Martin et al. (2005)은 양파 유전자지도의 EST와 벼의 유전자 위치를 비교한 결과 거의 collinearity가 없음을 확인하였다. 따라서 양파의 유전체 연구는 독립적으로 수행될 필요성이 있다.

#### 2. 웅성불임성에 대한 연구

웅성불임은 정상적으로 기능을 하는 꽃가루를 만들지 못하는 현상이다. 많은 작물에서 F1품종을 효율적으로 만들기 위해서 웅성불임이 사용되었다. 양파의 경우 1개의 화구(umbel)에 1000개의 꽃이 존재하고 각각의 꽃들의 개화는 2-4주에 걸쳐 일어나므로 물리적 제움에 의한 F1 종자생산은 불가능하다. 따라서 양파의 F1종자 채종에 웅성불임은 필수적으로 필요하다. 최초로 발견된 양파 웅성불임은 1925년에 Dr. Jones가 *Italina Red*에 품종에서 발견한 것으로 CMS-S라 명명하였고 1개의 회복유전자가 회복시켜주는 것으로 보고되었다 (Jones and Emsweller 1936). 그리고 1965년 Berninger에 의해 CMS-S와 다른 양상의 웅성불임이 발견되었고 CMS-T로 명명하였다 (Berninger 1965). CMS-T 웅성불임의 경우 3개의 독립된 회복유전자에 의해 일어나고 환경에 따라 불안정하다는 단점이 보고된 바 있다. 국내에서 육종된 품종은 약 48%가 CMS-T를 가지고 있었고 오직 15%만 CMS-S를 가진 것으로 보고되었다. 따라서 국내 육종 계통에 높은 비율로 존재하는 CMS-T를 CMS-S로 대체하는 연구가 시급하다.

웅성불임성을 F1종자 채종에 이용하기 위해선 유기유전자 판별 분자표지와 회복유전자 판별 분자표지가 필요하다. 유기유전자 판별 분자표지의 경우 전남대 김성길 교수 연구팀에서 한번의 PCR로 정상 및 2종류의 세포질을 판별할 수 있는 분자표지를 개발하여 보고하였다 (Kim et al. 2009a). 회복유전자 판별 분자표지의 경우 RFLP 분자표지를 개발하여 SSCP (single-strand conformation polymorphism) 분자표지로 전환시켜 보고한 사례가 있고 이를 simple PCR 분자표지로 전환하여 보고하였지만 회복유전자와 약 1cM정도 떨어져 있어 신뢰성이 낮다 (Gökçe et al. 2002; Martin et al. 2005; Bang et al. 2011). 따라서 신뢰성이 있는 선발을 위해 회복유전자와 근접한 분자표지의 개발이 필요하다.

#### 3. 양파 구피색에 대한 연구

양파의 구피색은 크게 백색, 황색, 적색품종이 주류를 이루고 샬루즈, 황금색이 보고된 바가 있다. 양파의 구피색은 5가지의 locus에 의해 결정되는 것으로 보고되었다 (El-Shafie and

Davis 1967). 이후 미국 Texas A&M 대학의 연구팀에서 황색과 적색의 차이를 결정하는 유전자가 안토시아닌 생합성경로에 있는 *DFR* 효소를 만드는 유전자임을 밝혀내어 식별할 수 있는 분자표지를 개발하였다 (Kim et al. 2004). 그러나 국내의 황색양과는 미국의 황색양과와 다른 *DFR* 돌연변이를 가지고 있었고 이를 판별할 수 있는 분자표지가 보고되었다 (Kim et al. 2009b). 안토시아닌 생합성경로에 관련된 *DFR* 유전자뿐만 아니라 *ANS* 유전자의 돌연변이도 브라질 황색양과 품종에서 확인되었다. 미국의 황색양과 (*DFR* 돌연변이)와 브라질 황색양과 (*ANS* 돌연변이)를 교배하면 적색이 나옴을 확인하였고 *DFR*유전자와 *ANS*유전자는 complementation관계에 있음을 확인하였다 (Kim et al. 2005). 따라서 국내 다양한 색상의 품종을 개발하기 위해서 국내 품종의 *DFR*유전자형과 *ANS*유전자형에 대한 연구가 필요하다.

#### 4. 반수체 배양에 대한 연구

양과는 2년생 작물이기 때문에 고정된 계통을 얻기 위해선 많은 시간이 필요하다. 그러나 반수체 배양을 이용하면 고정된 계통을 일찍 얻을 수 있는 장점과 대량증식이 가능하다는 장점이 있다. 국내 양과의 조직배양에 대한 최초의 연구는 양과의 부위별 캘러스 유기에 필요한 성장조절제의 첨가에 관한 연구로 1984년에 보고되었다 (박규찬, 1984). 이후 순원기 배양방법, 체세포 배발생 캘러스 배양, 미성숙 화뢰배양의 연구가 보고되었다. 그러나 양과의 조직배양에서 재분화가 잘 되지 않고, 다른 작물에서 많이 성공하였던 약배양이나 소포자배양도 아직 성공한 사례가 성공한 사례가 없다. 국내에서 정해봉 등(1996)의 연구가 최초로 배양조직별 유식물체 유기율이 미숙 화뢰배양 1.0%, 자방배양 0.5%, 배추배양 0.07%순으로 나타났고 반수체의 유기율은 모든 배양조직에서 매우 낮아 미숙 화뢰배양이 0.17%, 배추배양이 0.02%로 보고하였다. 양과에서 반수체에 대한 배양이 쉽지 않으나 한세대가 2년으로 길고 우수한 순계를 단기간 안에 확보하기 위해서는 반수체 배양이 매우 유용하기 때문에 반수체 유기의 효율을 높이기 위한 연구가 매우 절실하다.



# 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

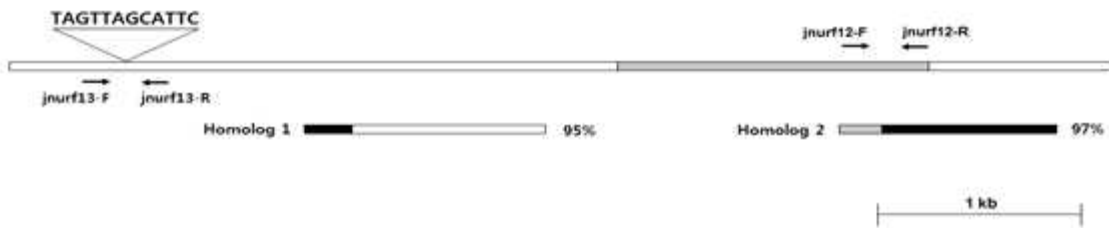
## 제 1절 연구개발수행 내용 및 결과

### 1. 응성불임 임성 회복 유전자 연관 분자표지 개발

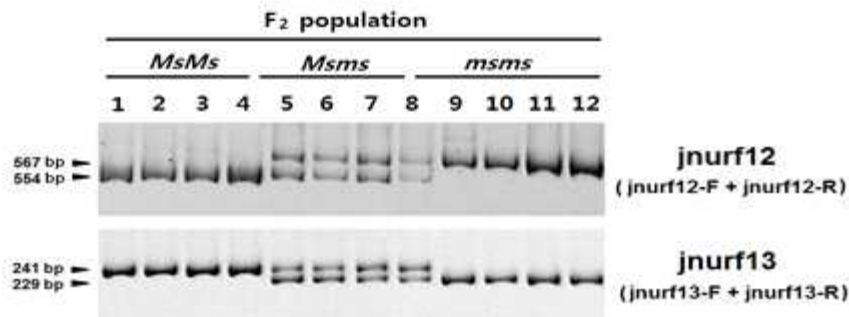
#### 가. 응성불임 임성 회복유전자 연관 분자표지인 jnurf06 marker 개발

이전 연구에서 개발된 0.05cM을 근접한 분자표지와 최근에 미국과 중국에서 보고된 분자표지에 대한 상대적인 거리를 4,273개로 이루어진 대량 분리집단을 이용하여 분자표지들의 정확한 거리를 산출하였다. 중국에서 보고된 분자표지의 경우 dominant marker로 신뢰성 있는 증폭이 어려워 보고된 염기서열을 바탕으로 indel mutation을 찾아서 codominant marker로 전환하였고 이 분자표지를 jnurf12 marker로 명명하였다 (그림 1). 대량 분리집단에서 선발된 recombinant를 분석한 결과 미국에서 보고된 분자표지는 jnurf17 marker와 jnurf06 marker 사이에 위치한 것으로 판명되어 아주 가까이 연관되어 있지 않았다 (그림 2). 그러나 jnurf12 marker의 경우 기존에 가장 가까이 연관된 마커로 알려진 jnurf05 marker (0.05cM) 보다 더 가까이 연관된 것으로 판명되었다 (그림 2).

A



B



C

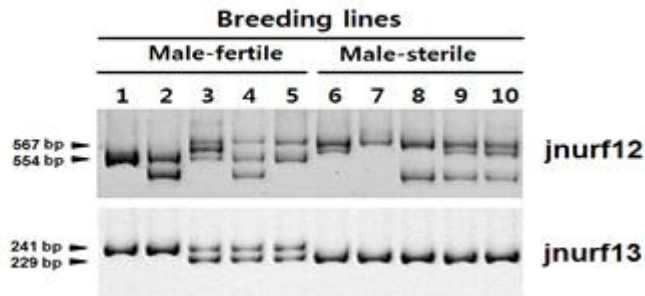


그림 1. MS locus와 연관된 분자표지 개발

| Plant number | <i>jnurf10</i> | OPT | <i>Ms</i> | <i>jnurf12</i> | <i>jnurf05</i> | <i>jnurf17</i> | ACms.1100 | <i>jnurf06</i> | <i>jnurf20</i> | PSAO |
|--------------|----------------|-----|-----------|----------------|----------------|----------------|-----------|----------------|----------------|------|
| 12-797       | H              | B   | B         | B              | B              | B              | B         | H              | D              | A    |
| 12-801       | B              | B   | B         | B              | B              | B              | B         | H              | D              | H    |
| 12-236       | B              | B   | B         | B              | B              | B              | B         | H              | D              | H    |
| 11-185       | B              | B   | B         | B              | B              | B              | H         | H              | D              | H    |
| 11-511       | B              | B   | B         | B              | B              | B              | H         | H              | D              | H    |
| 11-495       | H              | H   | D         | H              | H              | H              | B         | B              | B              | B    |
| 12-111       | H              | H   | D         | H              | H              | B              | B         | B              | B              | H    |
| 11-246       | H              | H   | D         | H              | H              | B              | B         | B              | B              | B    |
| 11-798       | H              | H   | D         | H              | H              | B              | B         | B              | B              | B    |
| 12-510       | B              | B   | B         | B              | H              | H              | H         | H              | D              | H    |
| 12-069       | H              | H   | D         | H              | B              | B              | B         | B              | B              | B    |

그림 2. *jnurf10*와 PSAO 분자표지사이의 11개체 recombinant에 대한 표현형과 분자표지형

나. 개발된 *jnurf12* marker와 회복유전자 사이의 linkage disequilibrium 정도 분석

*jnurf12* marker의 경우 4,000여 개로 이루어진 분리집단에서 marker와 유전자 간에 단 하나의 recombinant도 관찰되지 않았으므로 유전자와 매우 근접한 분자표지로 생각된다. 따라서 *jnurf12* marker와 유전자간의 linkage disequilibrium 여부를 판단하기 위하여 다양한 육종계통을 분석하였다. 그러나 *jnurf12* marker의 경우 다양한 육종계통을 대상으로 분석하였을 때 마커 패턴이 다양하게 나오고 예상치 않은 밴드들이 관찰되었다 (그림 1). 따라서 이러한 문제를 해결하기 위해서 genome walking을 실시하여 약 5.5kb flanking sequence를 확보하였다. genome walking 과정에서 homology가 95%이상인 다양한 fragment들이 나왔는데 이는 회복 유전자 주변 서열이 양과 유전체 내에서 유사한 반복 서열이 많이 존재한다는 것을 보여주고 있다. Genome walking을 통하여 확장된 지역의 5'끝 부분에서 12-bp indel을 발견하였고 이 indel을 이용하여 codominant marker를 개발하였고 이를 *jnurf13* marker로 명명하였다 (그림 1). *jnurf13* marker의 경우 F2 집단 뿐만아니라 다양한 육종계통을 대상으로 실험하였을 경우에도 정확하게 marker genotype을 판명할 수 있었다 (그림 1). *jnurf13* marker를 이용하여 5개의 양과 육종기관에서 수집된 24계통을 분석한 결과 *jnurf13* marker는 표현형과 marker genotype이 완벽하게 일치하였다. 반면 다른 근접한 분자표지들의 경우에는 표현형과 marker genotype이 일치하지 않아 오직 *jnurf13* marker만 회복 유전자와 linkage disequilibrium 관계에 있다는 것을 알 수 있었다 (그림 3)

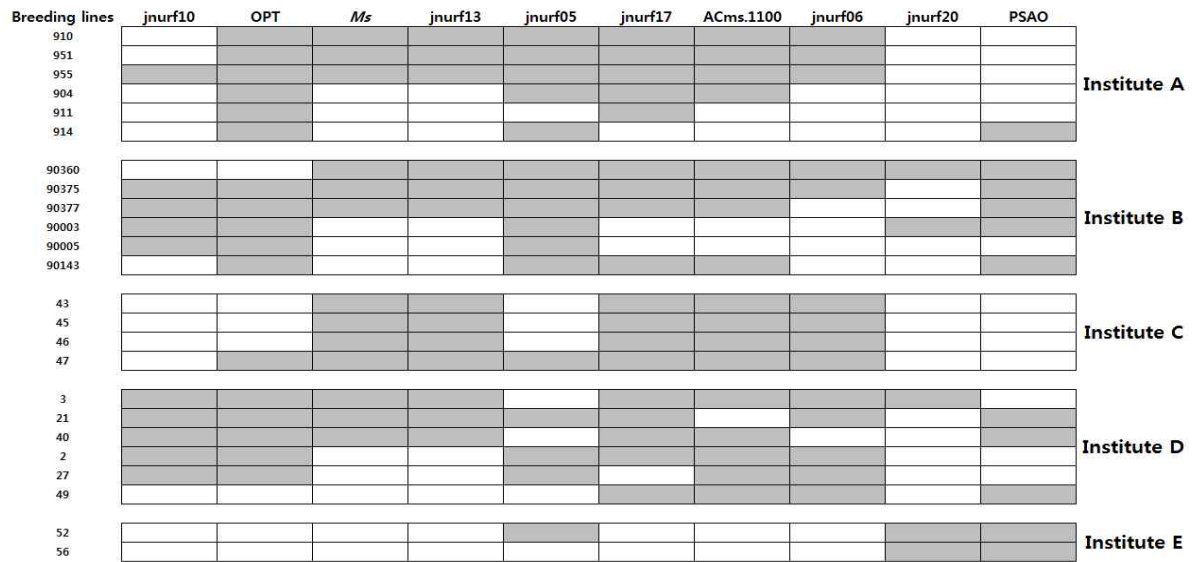


그림 3. 다양한 육종 계통의 Ms locus와 연관된 분자표지형사이의 관계분석

다. 개발된 jnurf13 marker를 이용한 육종계통의 회복유전자형 예측

jnurf13 marker와 회복유전자 간의 linkage disequilibrium 관계를 보다 광범위하게 조사하기 위해서 6개의 양과 육종기관에서 수집된 표현형이 확인된 104개의 육종계통을 분석하였다. 그 결과 jnurf13 marker는 모든 계통을 대상으로 정확하게 회복유전자의 유전자형을 예측할 수 있었다 (표 1). 그러나 전혀 예상 밖의 놀라운 현상을 발견했는데 CMS-T 세포질을 가진 153개의 육종계통에 대해서도 jnurf13 marker의 유전자형과 회복유전자 표현형이 정확하게 맞아떨어졌다. 이는 기존에 보고된 3개 이상의 회복유전자가 임성회복에 관여한다는 보고와 정면으로 대치되는 결과이다.

표 1. 다양한 육종 계통의 표현형과 jnurf13 분자표지형 확인

| Onion breeding Institutes | Number of analyzed breeding lines | Cytoplasm types and male-fertility phenotypes <sup>a</sup> |    |            |    |
|---------------------------|-----------------------------------|--|----|------------|----|
|                           |                                   | CMS-S  |    | CMS-T-like |    |
|                           |                                   | MF   | MS | MF         | MS |
| A                         | 38                                | 20   | 17 | 1          | 0  |
| B                         | 40                                | 13   | 18 | 5          | 4  |
| C                         | 60                                | 9  | 21 | 5          | 25 |
| D                         | 6                                 | 0  | 0  | 1          | 5  |
| E                         | 48                                | 4  | 0  | 4          | 40 |

|                                      |     |      |      |      |      |
|--------------------------------------|-----|------|------|------|------|
| F                                    | 65  | 0    | 2    | 1    | 62   |
| Total                                | 257 | 47   | 57   | 17   | 136  |
| Level of correspondence <sup>b</sup> |     | 100% | 100% | 100% | 100% |

**라. 개발된 jnurfl3 marker를 이용한 CMS-S와 CMS-T 음성불임의 임성 회복기작 재 조명**

CMS-T 세포질을 가진 음성불임성과 CMS-S 세포질을 가진 음성불임에 대한 임성회복유전자인 ms locus와의 관계를 구명하기 위해서 4개의 CMS-T 세포질을 가진 F2 분리집단을 육성하였다. 육성된 F2 집단의 표현형을 조사하고 이를 jnurfl3 marker genotype과 비교한 결과 모든 집단에서 정확하게 그 결과가 일치하였다 (표 2). 이러한 결과도 기존의 이론과 대치되는 결과이다. 따라서 다시한번 세포질 타입을 확인하기 위하여 F2 집단의 세포질을 기존에 보고된 4종의 세포질 판별용 분자표지를 이용하여 분석하였다. 그 결과 4종의 F2 집단 모두 CMS-T 세포질을 가지고 있었다 (그림 4). F2 집단의 표현형 분리비를 관찰한 결과 4 집단 중에 3개 집단은 3대 1 분리비를 보였지만 1개 집단은 3대1 분리비에서 크게 벗어났다. 그러나 다른 집단들도 불임개체의 숫자가 가임에 비해서 예상수치 보다 적게 나왔다. 보다 정확한 분리비 예측을 위해서 F2 집단의 개체수를 193개에서 560개체로 늘려서 분석을 실시하였다. 그 결과 2개 집단은 3대1 분리비에 맞게 나왔지만 2개 집단은 3대1 분리비에서 크게 벗어났다. 분리비가 왜곡되는 원인을 조사하기 위해서 allelic segregation distortion와 zygotic segregation distortion 여부를 분석하였다. 그 결과 allelic segregation distortion이 관찰되었다. 이러한 결과를 종합해 보면 이전에 보고된 CMS-T 음성불임의 경우 3개 이상의 회복유전자가 관여한다는 이론은 segregation distortion을 고려하지 않은 오류로 판단된다. 따라서 CMS-T는 CMS-S와 마찬가지로 같은 음성불임 유기 유전자에 의해서 음성불임이 유기되고 회복 또한 같은 유전자에 의해서 이루어짐을 밝혔다. 본 보고서에서 보고한 분자표지 및 회복기작에 관한 연구내용은 자식검정을 통해서는 5년 이상 소요되는 유지친, 회복친, 음성불임친 판별을 단 하루 만에 할 수 있게 하여 양과 육종기간을 획기적으로 단축시킬 것으로 기대된다.

**표 2. CMS-T like 세포질타입을 가지는 F2 분리집단에 대한 jnurfl3 분자표지와 음성불임 표현형의 Chi-square test**

| Population | Segregation of male-fertility phenotypes <sup>a</sup> |    |          |          | Segregation of jnurfl3 marker genotypes <sup>b</sup> |    |    |          |          |
|------------|---|----|----------|----------|--|----|----|----------|----------|
|            | MF  | MS | $\chi^2$ | <i>p</i> | A  | H  | B  | $\chi^2$ | <i>p</i> |
|            | 020501  | 30 | 10       | 0        | 1.00   | 11 | 19 | 10       | 0.15     |
| 020502     | 30  | 6  | 1.33     | 0.25     | 10   | 20 | 6  | 1.33     | 0.51     |

|        |     |    |      |        |    |    |    |     |        |
|--------|-----|----|------|--------|----|----|----|-----|--------|
| 020301 | 41  | 3  | 7.76 | 0.0058 | 10 | 31 | 3  | 9.6 | 0.0082 |
| 020302 | 33  | 7  | 1.2  | 0.27   | 7  | 26 | 7  | 3.6 | 0.17   |
| Total  | 134 | 26 | 6.53 | 0.011  | 38 | 96 | 26 | 8.2 | 0.017  |

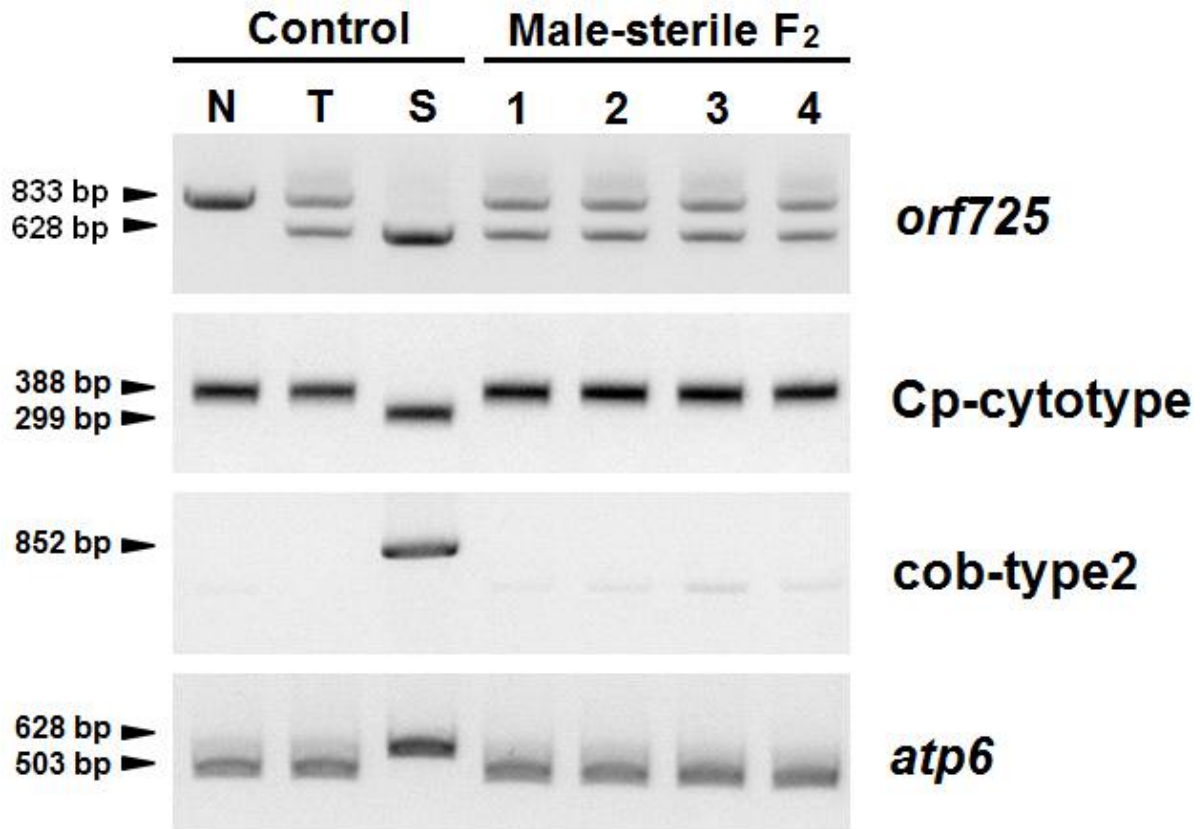


그림 4. 양파 세포질 타입을 구별하는 분자표지형

## 2. Bulk segregant analysis와 RNA-Seq을 이용한 양파 응성불임 임성 회복유전자 분리

### 가. MF와 MS bulk간에 homozygous한 SNP를 가진 유전자 탐색

양파 응성불임 임성회복 유전자를 분리하기 위하여 응성불임과 가임 표현형이 분리가 일어나는 F<sub>2</sub> 집단에서 불임 12개체를 선발하고 가임 12개체를 임성조사와 이전에 개발된 분자표지를 이용하여 homozygous한 개체를 선발하였다.

응성불임과 가임 각각 12개체의 꽃을 성장단계별로 분리하여 bulk로 만든 다음 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA를 이용하여 RNA-Seq을 Illumina HiSeq2000을 이용하여 양파 trnascriptome data를 확보하였다. 가임은 4.8Gb를 확보하고 불임 bulk로부터 5.3Gb sequence를 확보하였다. 확보된 raw reads는 trimming을 거쳐서 32,674개의 contig를 de novo assembly를 통하여 조립하였다 (표 3).

조립된 contig를 대상으로 각각 MF와 MS bulk로부터 생산된 read를 mapping하여 MF와

MS 간에 차이를 보이는 SNP를 발굴하였다. 총 430개의 homozygous SNP가 141개의 유전자로부터 표 4번과 같은 과정을 거쳐서 탐색되었다. 탐색된 SNP의 homozygosity는 모두 IGV viewer를 통하여 직접 육안으로 확인하였다 (그림 5).

표 3. Illumina Hiseq 2000기술을 이용하여 만들어진 raw sequence의 정보

|                           | Sample            |                   |
|---------------------------|-------------------|-------------------|
|                           | Male-fertile bulk | Male-sterile bulk |
| Read type                 | Paired-end        | Paired-end        |
| Read length (bp)          | 101               | 101               |
| Number of total reads     | 35,060,464        | 38,195,132        |
| Total length (bp)         | 4,853,137,130     | 5,302,036,059     |
| Number of trimmed reads   | 20,854,096        | 22,876,112        |
| Trimmed total length (bp) | 2,617,660,631     | 2,877,318,217     |
| Number of contigs         | 32,674            |                   |
| Gene length               | 28,472,055        |                   |
| Largest gene length       | 12,147            |                   |
| Average gene length       | 871               |                   |
| GC ratio                  | 41.08%            |                   |

표 4. Ms locus와 linkage disequilibrium을 갖는 contig 선발 과정

| Screening criteria  | Number of screened contigs |
|---|----------------------------|
| <i>De novo</i> assembly of contigs from raw reads produced by RNA-Seq | 32,674                     |
| ↓   |                            |
| Contigs containing homozygous SNPs between MF and MS bulks            | 141                        |
| ↓   |                            |

Contigs containing reliable SNPs verified by the IGV viewer 139



Contigs containing perfectly homozygous SNPs verified by PCR amplification and sequencing of bulked MF and MS DNAs 132



Contigs containing SNPs showing perfect linkage with the Ms locus in the large-sized segregating population 30



Contigs containing SNPs showing perfect linkage disequilibrium with the Ms locus from the analysis of diverse breeding lines 15

---



그림 5. IGV viewer 프로그램을 이용하여 신뢰성 있는 SNP 확인

탐색된 SNP를 실제로 PCR과 sequencing을 통하여 확인하고자 선발된 139개의 유전자 염기서열을 바탕으로 PCR primer 조합을 작성하였다. 잠재적인 exon-intron junction은 orthologous한 벼 유전자를 분리하여 벼의 정보를 활용하였다.

제작된 primer를 이용하여 MF와 MS bulk DNA를 template로 해서 PCR을 수행하고 증폭된 PCR product은 sequencing하여 SNP를 확인하였다. 그 결과 7개의 contig를 제외하고는 모두 예상대로 perfect한 homozygous SNP를 보였다.

그리고 PCR product을 sequencing한 결과 intron이 있는 75개의 유전자 중에서 61개에서 벼의 intron 위치가 양과 intron의 위치와 일치하여 81.3%의 일치도를 보여 intron의 수와 위치는 벼와 양과 유전체에서 상당한 수준으로 conserved됨을 알 수 있었다.

그러나 양과 웅성불임 임성회복유전자와 매우 가까이 연관된 75개의 유전자들은 그들의 orthologous한 벼의 유전자의 경우 서로 크게 연관된 관계를 보여주지 못하였다 (그림 6). 따라서 비록 같은 단자엽 식물이지만 벼와 양과는 intron의 구조는 conserved되었지만 유전체 내에서 유전자들의 배열은 크게 다르다는 것을 확인하였다. 따라서 향후 양과 유전체 연구를 위해서 모델 식물인 벼의 유전체 정보이용은 제한적일 것으로 판단된다.

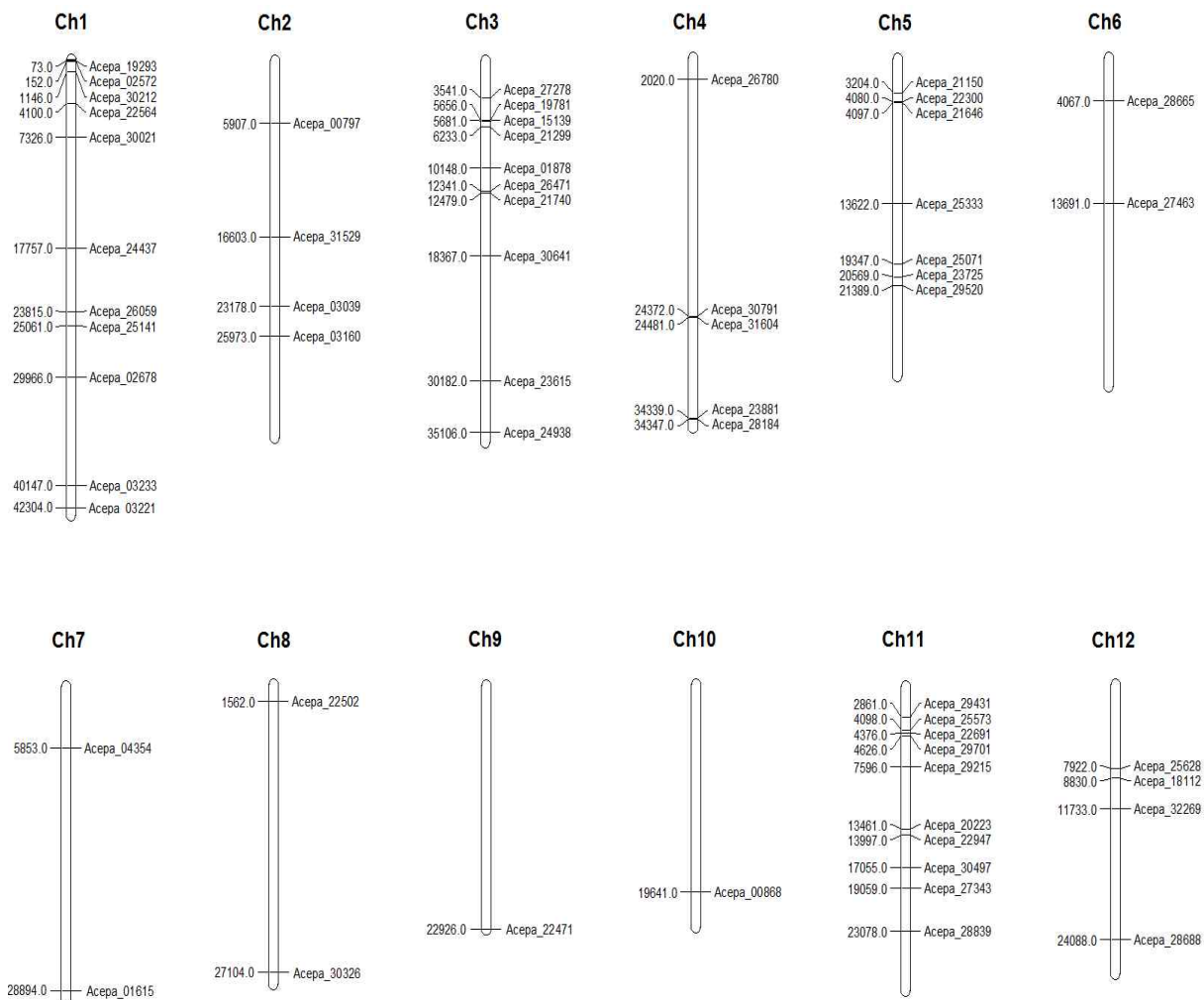


그림 6. 회복유전자와 가깝게 연관된 양과 유전자에 대한 벼의 orthologous 유전자 지도 작성

나. 대량 분리집단과 육종계통을 이용한 perfect linkage disequilibrium에 있는 유전자



### 선발

homozygous SNP를 가진 contig들 중에서 회복 유전자와 perfect하게 linkage disequilibrium에 있는 유전자를 선발하기 위해서 약 4,200여개로 이루어진 대량 분리집단에서 선발한 유용한 recombinant를 분석하였다. 가장 먼저 회복유전자와 0.047cM 떨어진 jnurf05 marker와 회복 유전자 사이에서 crossing-over가 일어난 ‘12-510’ 개체를 분석하였는데 132개의 유전자들 중에서 85개가 jnurf05 marker와 같은 방향에서 회복 유전자와 연관되어 있다는 결과가 나왔다 (그림 7). 따라서 이들 85개의 유전자는 회복 유전자가 될 수 없기 때문에 이후 분석에서 제외하였다.

이어서 회복유전자와 0.5cM 떨어진 OPT marker 사이에서 crossing-over가 있는 ‘11-248’ 개체를 이용하여 분석한 결과 45개의 유전자들 중에서 30개의 유전자가 회복유전자와 perfect하게 연관된 것으로 나왔다.

마지막 screening process에서는 선발된 30개의 유전자를 대상으로 무작위적으로 선발된 2개의 육종계통 (90377과 90143)을 대상으로 표현형과 유전자의 SNP가 일치하는지 분석하였다 (Fig. 3B). 분석 결과 30개의 유전자들 중에서 18개의 유전자가 SNP genotype이 표현형과 일치하였다.

선발된 18개의 유전자의 경우 대량의 육종계통을 분석하기 위해서 co-dominant CAPS marker 또는 ILP marker를 SNP를 기반으로 개발하였다 (표 5).

개발된 분자표지를 이용하여 6개 양과 육종기관이 보유한 표현형이 확인된 251개의 육종계통을 분석한 결과 18개의 유전자들 중에서 14개의 유전자가 음성 회복유전자 표현형과 marker genotype이 완벽하게 일치하였다. 따라서 이들 14개의 유전자는 음성불임 음성회복 유전자와 완벽하게 linkage disequilibrium에 있다는 것을 알 수 있었다.

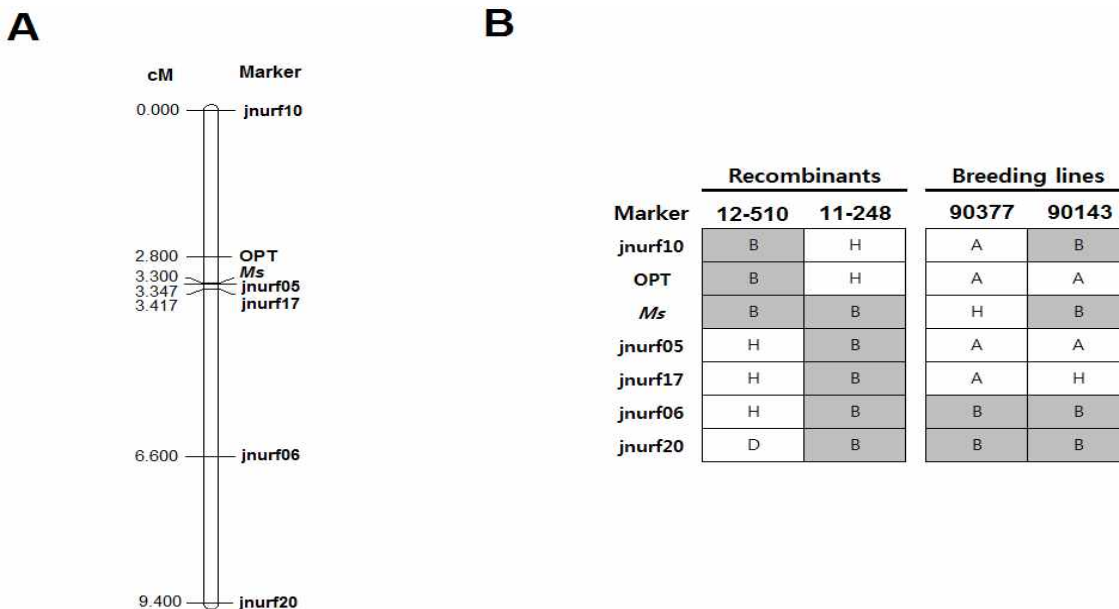


그림 7. 회복유전자 연관 지도와 표현형과 분자표지형의 비교 분석

표 5. 연구에서 개발된 primer 정보

| Markers     | Type of marker | Size of InDel for ILP markers | Restriction enzymes used for CAPS markers |
|-------------|----------------|-------------------------------|---|
| jnurf 15334 | ILP            | 186 bp                        |   |
| jnurf 23881 | CAPS           |                               | <i>PvuII</i>                              |
| jnurf 24123 | CAPS           |                               | <i>NdeI</i>                               |
| jnurf 24501 | CAPS           |                               | <i>SalI</i>                               |
| jnurf 24998 | CAPS           |                               | <i>AciI</i>                               |
| jnurf 25191 | CAPS           |                               | <i>EcoRI</i>                              |
| jnurf 26780 | CAPS           |                               | <i>HindIII</i>                            |
| jnurf 27463 | CAPS           |                               | <i>DraI</i>                               |
| jnurf 27528 | CAPS           |                               | <i>DraI</i>                               |
| jnurf 28184 | ILP            | 46 bp                         |   |
| jnurf 28314 | CAPS           |                               | <i>SspI</i>                               |
| jnurf 28839 | CAPS           |                               | <i>HinfI</i>                              |
| jnurf 31446 | ILP            | 34 bp                         |   |
| jnurf 31869 | CAPS           |                               | <i>TaqI</i>                               |
| jnurf 24437 | CAPS           |                               | <i>TaqI</i>                               |

#### 다. 임성회복 유전자와 완벽하게 linkage disequilibrium에 있는 유전자들의 기능 분석

임성회복유전자와 완벽하게 연관된 14개의 유전자에 대해서 RT-PCR과 RACE (Rapid amplification of cDNA ends)를 이용하여 full-length cDNA를 완성하였다. 완성된 cDNA 염기서열을 바탕으로 유전자의 아미노산 서열을 유추하였다. 유추된 아미노산 서열을 바탕으로 MF와 MS사이에에서 치명적인 돌연변이 존재 여부를 검정하였다. 그 결과 3개의 유전자의 경우 아미노산 서열에 차이가 없어 후보 유전자에서 제외되었다.

나머지 11개의 유전자에 대해서는 각각의 유전자와 상동성이 높은 다른 식물종에서 분리된 50종 유전자의 아미노산 서열을 NCBI database에서 찾아 이들 유전자들의 아미노산 서열과 align하여 치명적인 돌연변이를 탐색하였다 (그림 8).

분석을 실시한 11개의 유전자에서 오직 4개의 유전자만이 conserved domain에 치명적인 돌연변이를 가지고 있었다. 따라서 이들이 가장 유력한 후보 유전자로 추정된다.

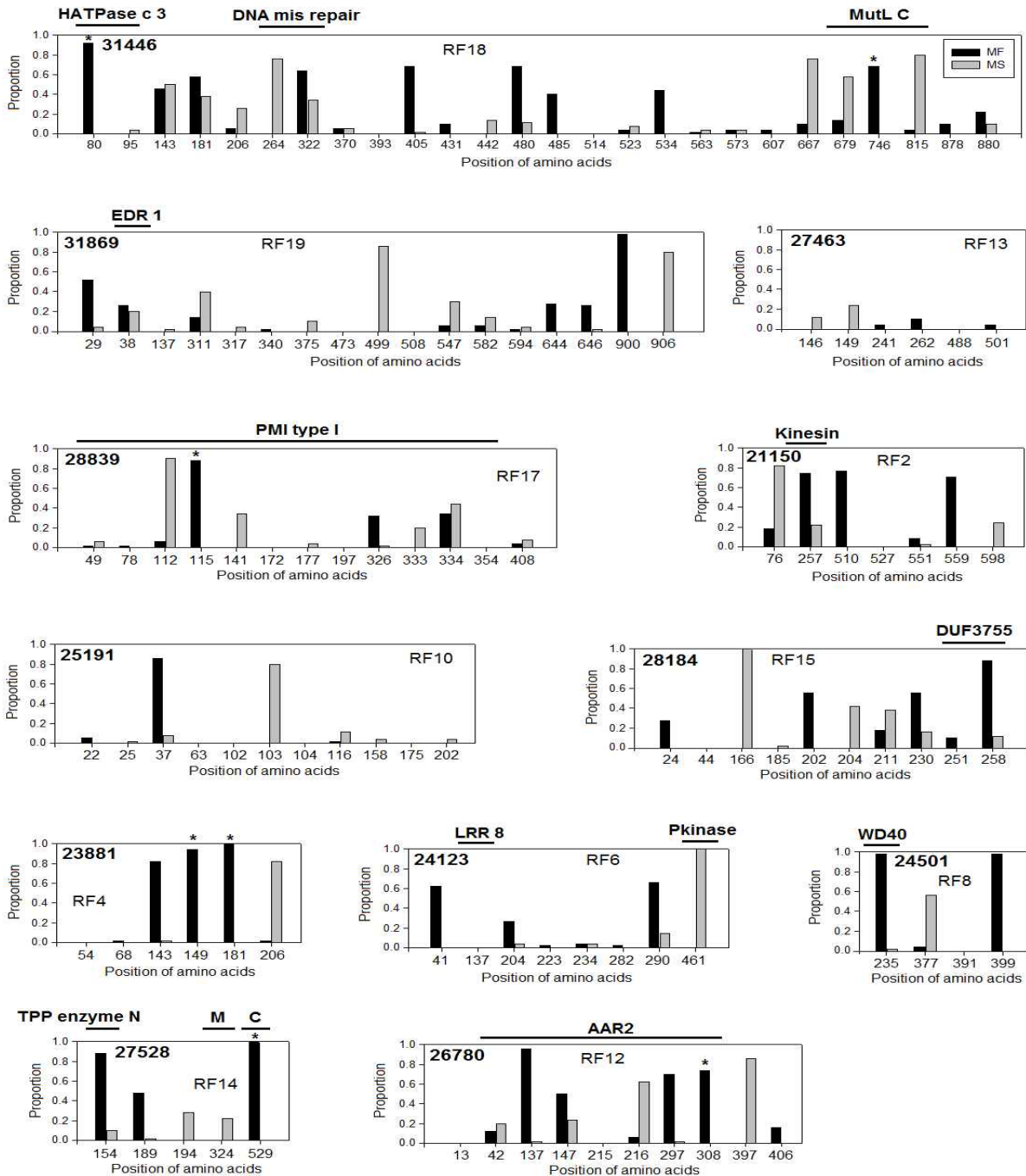


그림 8. 다양한 식물에서 확인된 40가지의 homologous 유전자의 MF, MS 아미노산 분석

### 라. 양파에서 분리한 PPR(Pentatricopeptide repeat) gene family 분석을 통한 회복유전자 후보 도출

지금까지 다른 식물종에서 분리된 옹성불임 임성 회복유전자들은 거의 절반 정도가 그 기능이 PPR protein이었다. 따라서 양파에서도 PPR protein을 coding하는 유전자가 임성 회복 유전자일 가능성이 높다. 따라서 양파 transcriptome으로부터 벼에서 분리된 임성 회복 유전자인 Rf1a 유전자를 query로 해서 PPR domain을 가지고 있는 483개의 양파 유전자를 분리하였다.

분리된 483개의 PPR gene들 중에 2개가 MF와 MS bulk사이에 homozygous SNP를 가지

고 있었지만 이들은 회복 유전자와 pefert linkage를 보이지 않았다.

양파에서 분리된 483개의 PPR gene들 중에 회복 유전자와 유사성이 높은 41개의 PPR gene을 분리하여 이들과 기존에 다른 종에서 분리된 회복 유전자와의 연관관계를 분석하였다 (그림 9). 그러나 이들은 모두 MF와 MS bulk 사에서 SNP를 찾을수 없었고 발현량도 MF가 MS bulk에 비해서 2배 이상 높은 발현을 보이는 유전자가 없었다. 따라서 결론적으로 양파에서는 음성 회복유전자는 PPR protein을 coding하는 유전자가 아닐 가능성이 높다.

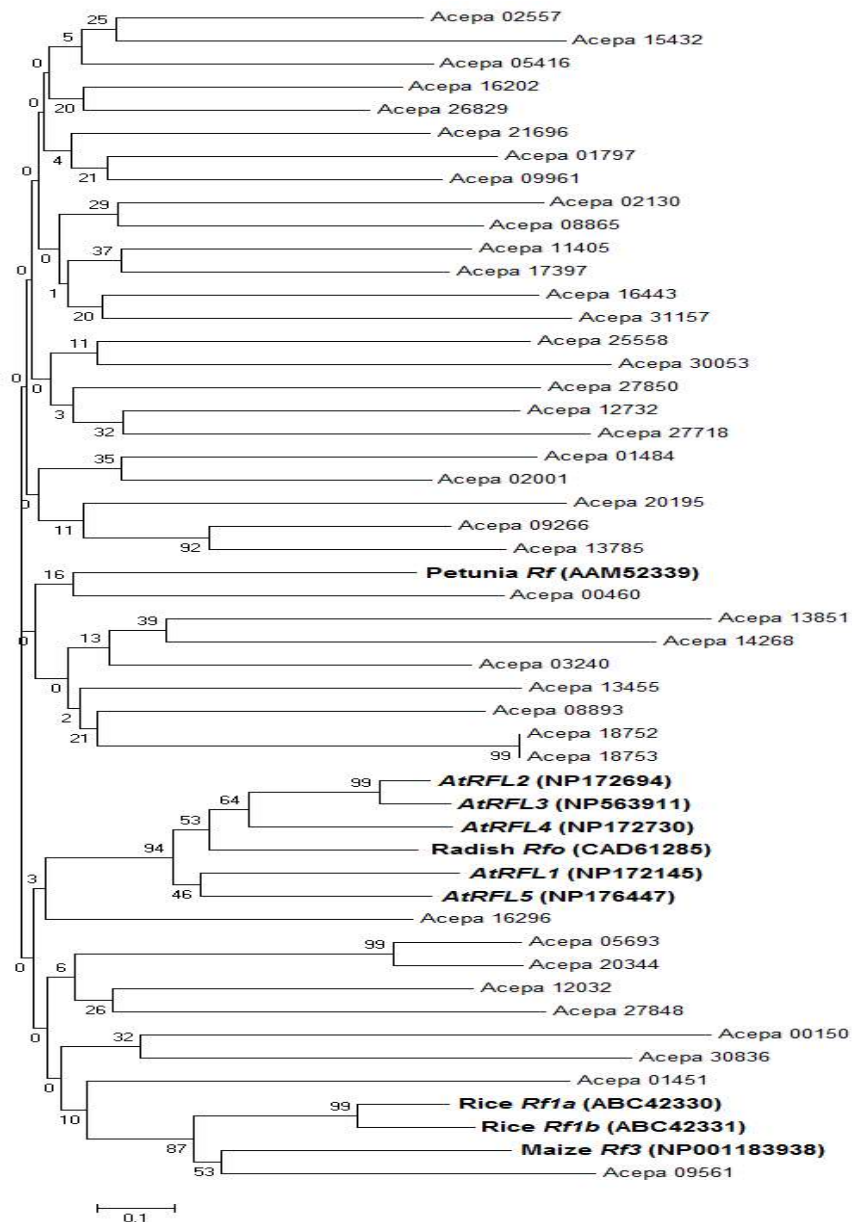


그림 9. 다양한 식물에서 확인된 회복유전자와 양파의 PPR유전자의 phylogenetic tree 분석

3. 음성불임 음성 회복유전자와 linkage disequilibrium을 갖는 분자표지를 활용한 양파 육종 효율 향상
  - 가. 음성불임 음성 회복유전자와 가깝게 연관된 분자표지들의 연관관계 확인

미국의 Heavy연구그룹은 응성불임 임성 회복유전자와 가깝게 연관된 3가지 SNP 분자표지 (isotig 34671\_610, isotig30856\_1351, isotig29186\_1830)을 보고하였다. 그러나 3가지 SNP분자표지의 연관관계나 회복유전자에 대한 상대적인 유전자적 거리는 보고하지 않았다.

3가지 SNP분자표지를 쉽게 사용할 수 있는 CAPS분자표지로 전환하기 위해 해당하는 contig의 sequence를 확보하였다. MF와 MS사이에서 polymorphism을 보일 확률이 높은 intron sequence를 이용하기 위해서 contig의 sequence와 rice의 homologous sequence를 비교하여 양과의 exon과 intron구조를 추정하였다 (그림 10). isotig 34671\_610와 isotig29186\_1830은 하나의 intron을 포함하는 primer 조합을 개발하였고 isotig30856\_1351의 경우 intron을 가지지 않아 intron을 포함하지 않는 primer 조합을 개발하였다. 개발된 primer 조합으로 PCR을 수행하여 MF와 MS개체에 해당하는 sequence를 확보하였고 얻어진 sequence를 alignment하여 polymorphism이 있는 부분을 확인하였다. polymorphism이 나타나는 부분을 enzyme site로 하여 3가지 CAPS마커(Jnurff610, Jnurff1351, Jnurff1830)로 전환하였다 (표 6).

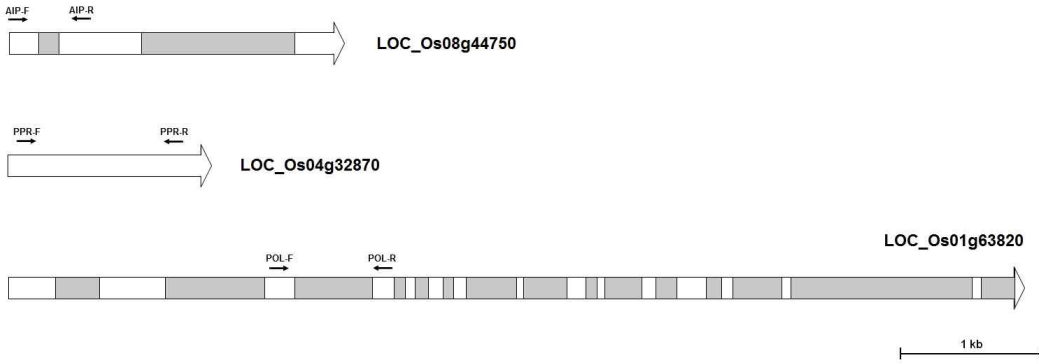
응성불임 임성 회복유전자와 가깝게 연관된 분자표지들의 연관관계를 확인하기 위해서 4,237개로 이루어진 대량 분리집단의 recombinant 21개체를 분석하였다(그림 10). Jnurff1351과 Jnurff1830은 Jnurff05와 Jnurff17사이에 위치하였고 Jnurff610과 Jnurff13은 응성불임 임성 회복유전자와 co-segregation함을 확인하였다.

Jnurff610과 Jnurff13중에서 응성불임 임성 회복유전자와 더 가깝게 연관된 분자표지를 선발하기 위해 한국 육종기관으로부터 얻어진 24계통을 이용하여 분자표지들의 연관관계를 확인하였다 (그림 10). Jnurff610의 경우 응성불임 임성 회복유전자에 대해 6개의 recombinant를 가졌고 Jnurff13의 경우 응성불임 임성 회복유전자와 recombinant가 없이 co-segregation함을 확인하였다. 이로써 Jnurff13 분자표지만 응성불임 임성 회복유전자에 대해 linkage disequilibrium 관계에 있다는 것을 알 수 있었다.

표 6. 연구에서 개발된 CAPS 분자표지에 대한 염기서열과 제한효소 정보

| Marker     | Primer name | Primer sequence (5' to 3')<br>Forward/Reverse | Annealing temperature | Restriction enzyme |
|------------|-------------|---|-----------------------|--------------------|
| Jnurff610  | AIP-F       | GATAATGGCGAGGGATTCAA                          | 57°C                  | PvuI               |
|            | AIP-R       | GTTGCTCCTGCTATGCTTCC                          |                       |                    |
| Jnurff1351 | PPR-F       | GTGCACCAACAGTTTCCGTA                          | 57°C                  | AclI               |
|            | PPR-R       | TTTCCACACTTTCCCTTTCG                          |                       |                    |
| jnurff1830 | POL-F       | GACCTGCATGGGAGGATTTA                          | 57°C                  | NsiI               |
|            | POL-R       | TGGTGTGAATGGAGGAACAA                          |                       |                    |

A



B

| Plant number | jnurf10 | OPT | Ms | jnurf13 | jnu610 | jnurf05 | jnu1351 | jnu1830 | jnurf17 | ACms.1100 | jnurf06 | jnurf20 | PSAO |
|--------------|---------|-----|----|---------|--------|---------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|------|
| 12-797       | H       | B   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | H       | D       | A    |
| 12-801       | B       | B   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | H       | D       | H    |
| 12-236       | B       | B   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | H       | D       | H    |
| 11-185       | B       | B   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | H         | H       | D       | H    |
| 11-511       | B       | B   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | H         | H       | D       | H    |
| 11-495       | H       | H   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | B         | B       | B       | B    |
| 12-111       | H       | H   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | B       | B         | B       | B       | H    |
| 11-798       | H       | H   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 11-246       | H       | H   | D  | H       | H      | H       | H       | B       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 12-510       | B       | B   | B  | B       | B      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |
| 12-069       | H       | H   | D  | H       | H      | B       | B       | B       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 11-007       | B       | B   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |
| 11-096       | B       | B   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |
| 11-169       | H       | H   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 11-221       | B       | B   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |
| 11-303       | B       | B   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |
| 11-326       | H       | H   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 11-333       | H       | H   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 11-343       | H       | H   | B  | B       | B      | B       | B       | B       | B       | B         | B       | B       | B    |
| 11-727       | B       | B   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |
| 11-213       | B       | B   | D  | H       | H      | H       | H       | H       | H       | H         | H       | D       | H    |

C

| Breeding lines | jnurf10 | OPT | Ms | jnurf13 | jnurf610 | jnurf05 | jnu1351 | jnu1830 | jnurf17 | ACms.1100 | jnurf06 | jnurf20 | PSAO |
|----------------|---------|-----|----|---------|----------|---------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|------|
| 910            |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 951            |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 955            |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 904            |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 911            |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 914            |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 90360          |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 90375          |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 90377          |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 90003          |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 90005          |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 90143          |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 43             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 45             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 46             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 47             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 3              |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 21             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 40             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 2              |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 27             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 49             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 52             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |
| 56             |         |     |    |         |          |         |         |         |         |           |         |         |      |

그림 10. Ms locus와 연관된 분자표지의 연관관계 분석

나. 양파의 육종과정에서 세포질타입과 임성 회복유전자에 대한 분자표지의 활용방안

우리나라에서 양파의 F<sub>1</sub> 종자를 생산하기 위해선 종자오염을 막기 위해 음성불임을 사용한다. 양파 육종에 음성불임을 이용하기 위해선 음성불임을 유지시키는 세포질타입과 임성 회복유전자에 대한 분자표지가 필요하다. 이러한 점에서 임성 회복유전자에 대한 linkage disequilibrium 관계인 Jnurf13 분자표지는 유용하게 사용될 수 있다. 따라서 Jnurf13 분자표지와 세포질 타입을 구분할 수 있는 분자표지를 이용하여 양파의 육종 효율성을 높일 수 있는 4가지 활용 방안을 제시하였다.

첫 번째 활용방안은 단기간에 유지친을 선발할 수 있다. 양파 육종기관에서 유지친으로 개

발하고자 하는 100계통을 Jnurf13분자표지와 세포질 타입을 구분하는 분자표지로 분석하였다. 그 결과 89계통만이 유지친에 적합한 세포질 타입과 회복유전자 genotype을 가지고 있었다 (표 7). 2가지 이상의 회복유전자 homozygous genotype을 가지는 7계통을 확인하였고 이는 차후에 유지친으로 만들기 위한 homozygous recessive *Ms* genotype을 선발하는데 이용될 수 있다. 또한 homozygous dominant *Ms* genotype을 가지는 4가지 계통은 제외시키거나 회복친으로 사용될 수 있다. 따라서 유지친을 선발할 때 유지친에 적합한 89계통 중에서 1계통을 선발하면 단기간에 유지친을 선발할 수 있다.

**표 7. *Ms* locus 유전자형과 세포질타입을 확인하는 분자표지를 이용한 유지친 선발**

| Cytoplasm type | Genotype of the <i>Ms</i> locus         | Number of breeding lines |
|----------------|---|--------------------------|
| Normal         | <i>msms</i>                             | 89                       |
| Normal         | <i>MsMs</i>                             | 3                        |
| Normal         | <i>MsMs</i> + <i>msms</i>               | 2                        |
| Normal         | <i>MsMs</i> + <i>Msms</i>               | 1                        |
| Normal         | <i>MsMs</i> + <i>Msms</i> + <i>msms</i> | 4                        |
| CMS-T          | <i>MsMs</i>                             | 1                        |
| Total          |   | 100                      |

두 번째 활용방안은 웅성불임친의 오염원인을 판별할 수 있다. 양과 육종기관으로부터 가임의 표현형이 보이는 웅성불임 4계통을 세포질 타입을 구분하는 분자표지와 Jnurf13 분자표지를 이용하여 세포질 타입과 임성 회복유전자의 genotype을 확인하였다 (표 8). 그 결과 CMS-T 세포질 타입과 임성 회복유전자가 heterozygous genotype을 가지는 19개체를 확인하였고 이는 웅성불임을 유지시키는 유지친의 순도가 낮아 웅성불임친이 오염되었을 것으로 추정되었다. 다른 오염된 2개체의 경우 정상 세포질 타입과 임성 회복유전자가 homozygous recessive genotype을 가졌다. 이는 유지친의 세포질타입과 회복유전자의 genotype이 일치하는 것으로 보아 유지친의 종자가 웅성불임친에 혼입되었을 것으로 추정되었다. 양과의 F1종자는 웅성불임친과 회복친의 교배를 통해서 만들어지기 때문에 웅성불임친에서 오염이 발생되면 F<sub>1</sub> 종자의 순도도 떨어지게 된다. 이와 같이 분자표지를 이용하여 원인을 분석하고 이를 보완하면 F<sub>1</sub> 종자의 순도를 높일 수 있다.

**표 8. 웅성불임 계통에서 확인된 웅성가임 표현형을 가지는 계통의 회복유전자의 유전자형과 세포질형 확인**

| Male-sterile maternal line | Number of detected male-fertile contaminants | Cytoplasm type and <i>Ms</i> genotype of the male-fertile plants <sup>z</sup> |               |
|----------------------------|--|---|---------------|
|                            |  | T <i>Msms</i>   | N <i>msms</i> |
| 750                        | 14   | 14  | 0             |
| 714                        | 1  | 1   | 0             |
| 755                        | 1  | 0   | 1             |
| 1108                       | 5  | 4   | 1             |
| Total                      | 21   | 19  | 2             |

세 번째 활용방안은 유지친의 순도를 검정할 수 있다. 유지친의 순도가 낮아지면 웅성불임친의 순도도 떨어지게 되어 웅성불임친에서 가임의 표현형을 갖는 오염주가 발생한다. 육종기관으로부터 웅성불임친과 교배할 때 가임주가 나타나는 유지친 2계통을 대상으로 세포질타입을 구별할 수 있는 분자표지와 *Jnurfl3*을 이용하여 세포질 타입과 임성 회복유전자의 genotype을 확인하였다 (표 9). B421계통은 98개체 중에서 77개체만이 유지친에 맞는 세포질타입과 임성 회복유전자 genotype을 가지고 있었고 B423계통은 68개체 중에서 59개체만이 유지친에 적합한 타입을 가지고 있었다. 이와 같이 분자표지를 이용하면 유지친에 적합한 개체만 선발할 수 있어 유지친의 순도를 높일 수 있다.

**표 9. Ms locus에 대한 유전자형과 세포질타입 구별 분자표지를 이용한 유지친의 순도 검정**

| Maintainer line | Cytoplasm type | Genotype of the <i>Ms</i> locus | Number of plants | Total |
|-----------------|----------------|---------------------------------|------------------|-------|
| 421             | Normal         | <i>msms</i>                     | 77               | 98    |
|                 | Normal         | <i>Msms</i>                     | 6                |       |
|                 | CMS-T          | <i>msms</i>                     | 10               |       |
|                 | CMS-T          | <i>Msms</i>                     | 5                |       |
| 423             | Normal         | <i>msms</i>                     | 59               | 68    |
|                 | Normal         | <i>Msms</i>                     | 7                |       |
|                 | Normal         | <i>MsMs</i>                     | 2                |       |

네 번째 활용방안은 open pollination 품종의 순도를 검정할 수 있다. 육종기관으로부터 open pollination 품종에 해당하는 2계통에 대해 세포질 구별 분자표지와 *Jnurfl3* 분자표지를 이용하여 세포질 타입과 웅성불임 임성 회복유전자에 대한 genotype을 확인하였다 (표 10). open pollination 품종의 경우 웅성불임을 사용하지 않기 때문에 세포질타입이 웅성불임 유기유전자를 가지는 CMS 타입이고 회복유전자 genotype이 heterozygous한 경우 세대를 거듭할수록 종자량이 감소하는 문제점이 발생한다. 따라서 분자표지를 이용하여 회복유전자 genotype이 dominant homozygous한 개체만 선발한다면 종자량이 감소하는 문제점을 해결할 수 있다.

**표 10. Ms locus에 대한 유전자형과 세포질타입을 구별하는 분자표지를 이용한 OP 품종에 대한 순도 검정**

| Population | Cytoplasm type | Genotype of the <i>Ms</i> locus | Number of plants | Total |
|------------|----------------|---------------------------------|------------------|-------|
| AR13       | CMS-S          | <i>MsMs</i>                     | 29               | 96    |
|            | CMS-S          | <i>Msms</i>                     | 28               |       |
|            | CMS-S          | <i>msms</i>                     | 10               |       |
| BS13       | CMS-S          | <i>MsMs</i>                     | 30               | 59    |
|            | CMS-S          | <i>Msms</i>                     | 26               |       |
|            | CMS-S          | <i>msms</i>                     | 3                |       |



#### 4. 양파의 노균병 저항성을 가지는 *Allium roylei* 단편에 대한 분자표지 개발

##### 가. 양파의 노균병 저항성유전자와 연관된 분자표지 개발

유럽에서 노균병에 대해 저항성을 가지는 'Santero' 품종으로부터 국내의 육종 계통으로 노균병 저항성을 도입하고자 노균병 저항성에 대한 AFLP 분자표지의 정보를 이용하였지만 동일한 크기의 AFLP 분자표지를 재현할 수 없었다. 노균병 저항성 유전자를 가지는 *A. roylei* 단편은 chromosome 3의 말단에 위치한 것으로 보고되었다. 따라서 양파의 노균병 저항성유전자 연관분자표지를 개발하기 위해 chromosome 3에 대한 연관지도의 정보를 이용하였다. chromosome 3의 말단에 8개의 loci를 선발하였다 (그림 11). 각각의 loci로부터 121-bp sequence를 확보하였고 RNA-Seq 분석으로 얻어진 transcriptome database로부터 local BLAST를 사용하여 상응하는 cDNA sequence를 확보하였다. 양파의 genomic sequence 정보는 없기 때문에 rice의 homologs와 alignment하여 exon-intron 구조를 추정하였고 하나의 intron을 포함하는 인접한 exon sequence를 기반으로 primer 조합을 개발하였다. 개발된 8개의 primer 조합 중에서 i25255 locus에 해당하는 primer 조합은 양파와 *A. roylei* 사이에서 length polymorphism을 보였다. 'Santero' 품종의 경우 크기가 큰 PCR product와 작은 PCR product 모두 증폭되었다 (그림 12). 2개의 PCR product에 대한 sequence를 확보하였고 양파와 *A. roylei* 사이에는 7개의 SNP와 intron부분에 67-bp indel을 확인하였다 (그림 12). 'Santero' 품종에서 크기가 큰 PCR product는 *A. roylei*의 sequence와 완벽하게 일치하였다. 다른 양파 계통에서 *A. roylei* fragment에 해당하는 큰 크기의 PCR product가 존재하는지 확인하기 위해 21개의 국가로부터 얻어진 124계통을 분석하였다. 그러나 'Santero'와 *A. roylei*를 제외하고 다른 양파 계통에서는 큰 크기의 PCR product가 증폭되지 않았다. 이러한 결과는 크기가 큰 PCR product의 경우 *A. roylei*로부터 'Santero' 품종으로 유입된 *A. roylei*의 fragment를 증폭시켰다는 것을 나타내고 'Santero' 품종의 경우 노균병 저항성 유전자에 대해 heterozygous함을 나타낸다. 67-bp indel을 기초로 개발된 분자표지는 "DMR1"으로 명명하였다.

### OH1 X 5225

### BYG15-23 X AC43

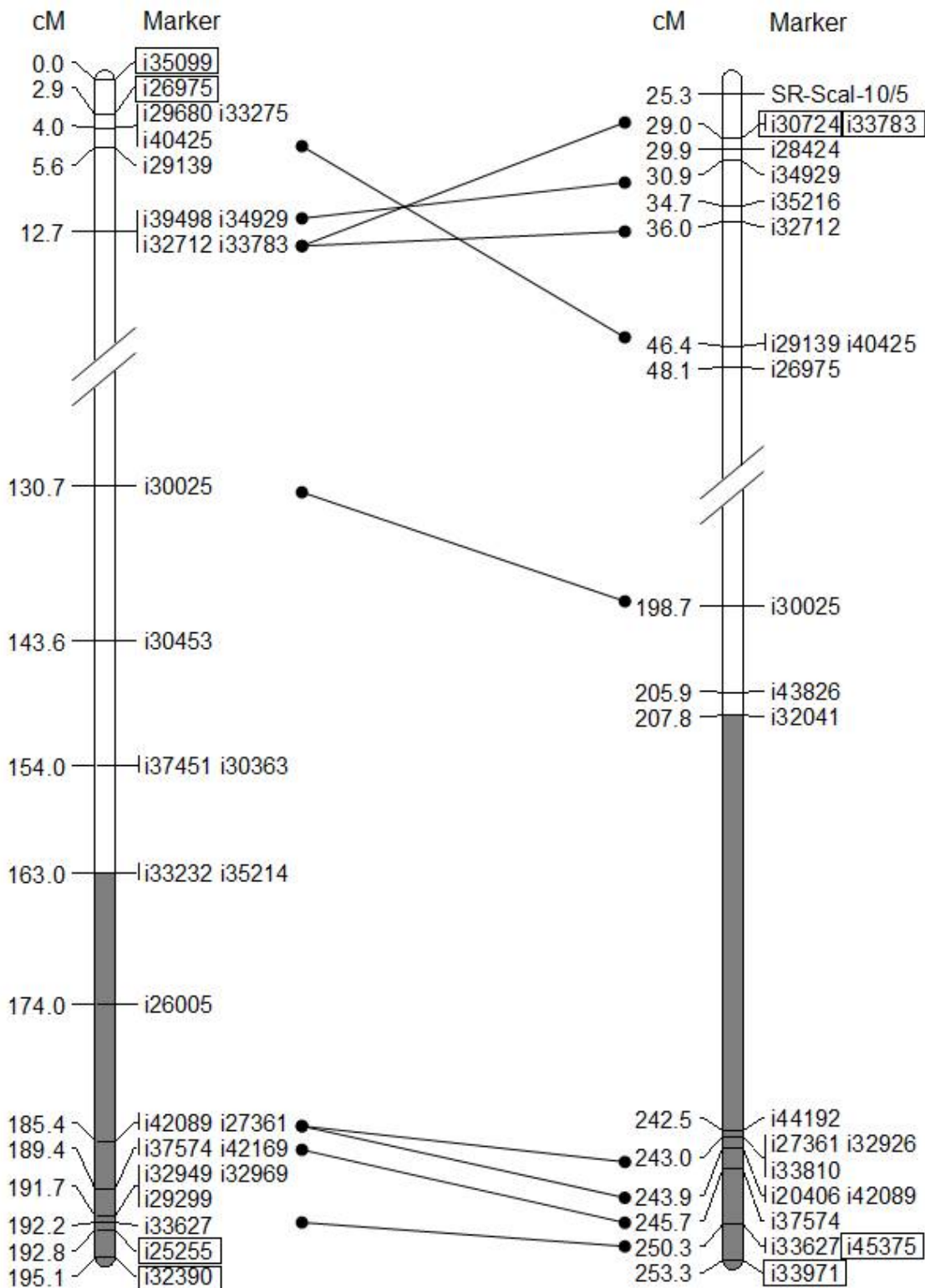
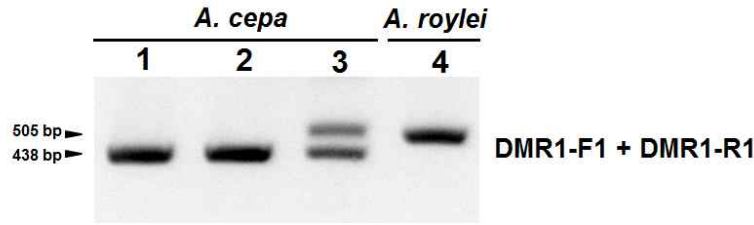


그림 11. 양파에서 노균병 저항성을 가지는 염색체 3번의 연관지도

A



B

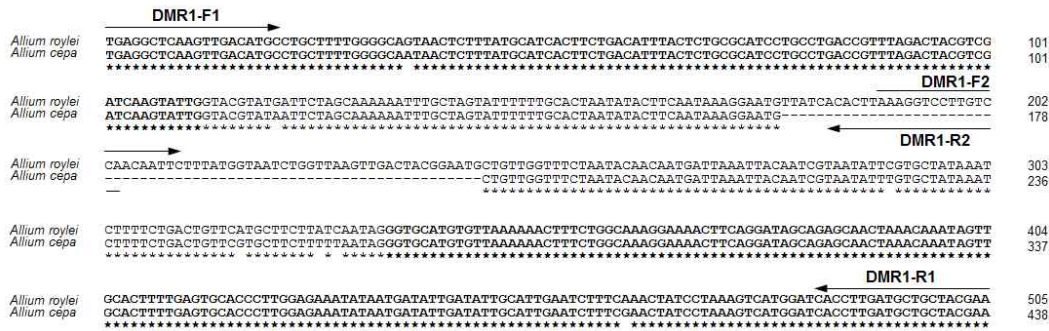


그림 12. 양파에서 노균병저항성 유전자와 연관된 DMR1 분자표지 개발

나. 노균병 저항성 유전자와 연관된 recombinant selection 분자표지 개발

‘Santero’ 품종의 노균병 저항성 유전자를 효율적으로 국내의 육종계통에 도입하기 위해선 MAB(Marker-Assisted Backcrossing) system을 구축해야 하고 MAB를 수행하기 위해선 recombinant selection 분자표지가 필요하다. 양파의 연관지도를 이용하여 chromosome 3 말단의 loci를 선발하였고 i25255 locus를 이용한 방법과 동일하게 primer 조합을 만들었다. primer 조합을 이용하여 양파와 *A. roylei* 사이의 polymorphism을 보이는 loci를 선발하였고 ‘Santero’ 품종에서 증폭된 PCR product의 sequence를 확보하여 polymorphic sequence의 genotype을 분석하였다. OH1 X 5255의 연관지도에서 163.0cM 아래에 위치한 i26005, i33232, i35214 loci는 양파와 *A. roylei* 사이에서 SNP와 indel이 heterozygous함을 확인하였다. 다른 4가지 loci(i37451m i30363, i30453, i30025)는 양파의 sequence와 동일한 homozygous한 것을 확인하였다. BYG15-23X AC43 연관지도의 경우 207.8cM에 해당하는 i32041 locus는 heterozygous함을 확인하였고 205.9cM에 해당하는 i43826 locus와 198.7cM에 해당하는 i30025 locus에 대해 양파 sequence와 동일한 homozygous한 것을 확인하였다 (표 12). i33232와 i34214 loci는 *A. roylei* fragment의 말단에 위치함을 확인하였고 i43826과 i30363 loci는 *A. roylei* fragment와 가장 가깝게 연관된 loci임을 확인하였다. 4가지 loci에서 recombinant selection 분자표지를 선발하고자 육종기관에서 반복친으로 사용하는 육종계통 6개를 이용하여 분석하였다. i33232와 i35214 loci의 경우 양파의 2가지 allele이 *A. roylei*의 allele과 달랐고 sequence polymorphism을 기초로 CAPS 분자표지를 개발하였다 (표 13). i33232 locus에 해당하는 분자표지는 “DMR2”로 명명하였고 i35214 locus에 해당하는 분자표

지는 “DMR3”로 명명하였다 (그림 13). i43826 locus의 경우 6개의 육종계통에서 ‘Santero’품종의 allele과 동일하였다. 따라서 2가지 양파 allele에 대해 monomorphic하므로 recombinant selection 분자표지 후보에서 제외되었다. i30363 locus의 경우 ‘Santero’품종의 allele과 다른 하나의 allele이 2개의 계통에서 확인되었고 2가지 allele사이의 5개 SNP를 기반으로 CAPS 분자표지를 개발하였다. 이러한 분자표지를 “DMR4”로 명명하였다 (그림 13, 표 11). 노균병 저항성 유전자를 국내 육종계통에 도입하기 위해서 H6와 OB814 계통을 반복친으로 사용한다면 DMR2, DMR3, DMR4는 recombinant selection 분자표지로 활용할 수 있을 것이다.

표 11. 연구에서 개발된 분자표지의 염기서열과 제한효소에 대한 정보

| Marker | Primer name | Primer sequence (5' to 3') | Restriction enzyme |
|--------|-------------|----------------------------|--------------------|
| DMR1   | DMR1-F1     | TGAGGCTCAAGTTGACATGC       | Simple PCR marker  |
|        | DMR1-R1     | TTCGTAGCAGCATCAAGGTG       |                    |
| DMR2   | DMR2-F      | GGAAGGTTCCGATGCAGTAA       | <i>Msp</i> I       |
|        | DMR2-R      | GCATTTCCGGCTGCAGCTATTT     |                    |
| DMR3   | DMR3-F      | TTCCAAGAATGAATGCACAGTAG    | <i>Msp</i> I       |
|        | DMR3-R      | CAGGCGAATCCAAGTACACA       |                    |
| DMR4   | DMR4-F      | TGATGCATTCAGCAACAACCTT     | <i>Aci</i> I       |
|        | DMR4-R      | TCGAATTCTGAGCGTTCAATC      |                    |

표 12. 노균병 저항성 계통인 ‘Santero’의 3번 염색체 말단에 대한 loci 분석

| Locus               | Mapping population | Position (cM) | Polymorphism                       |        | Genotype of ‘Santero’                |
|---------------------|--------------------|---------------|------------------------------------|--------|--------------------------------------|
|                     |                    |               | between onion and <i>A. roylei</i> |        |                                      |
| i25255              | OH X 5225          | 192.8         | 7 SNPs and 1                       | indel  | Heterozygous for all SNPs and indel  |
| i26005              | OH X 5225          | 174.0         | 3 SNPs and 1                       | indel  | Heterozygous for all SNPs and indel  |
| i33232              | OH X 5225          | 163.0         | 10 SNPs                            |        | Heterozygous for 5 SNPs              |
| i35214 <sup>a</sup> | OH X 5225          | 163.0         | 8 SNPs and 2                       | indels | Heterozygous for all SNPs and indels |

|        |                 |       |               |       |                                  |
|--------|-----------------|-------|---------------|-------|----------------------------------|
| i37451 | OH X 5225       | 154.0 | 54 SNPs and 1 | indel | Homozygous for the onion alleles |
| i30363 | OH X 5225       | 154.0 | 11 SNPs and 1 | indel | Homozygous for the onion allele  |
| i30453 | OH X 5225       | 143.6 | 14 SNPs       |       | Homozygous for the onion alleles |
| i30025 | OH X 5225       | 130.7 | 3 SNPs        |       | Homozygous for the onion alleles |
| i32041 | BYG15-23 X AC43 | 207.8 | 1 SNP         |       | Heterozygous                     |
| i43826 | BYG15-23 X AC43 | 205.9 | 28 SNPs and 1 | indel | Homozygous for the onion alleles |
| i30025 | BYG15-23 X AC43 | 198.7 | 3 SNPs        |       | Homozygous for the onion alleles |

표 13. MAB 시스템에서 recombinant selection 분자표지를 개발하기 위해 선택된 loci 정보

| Locus  | Santero        | Breeding lines |                |                |                |                |                |
|--------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|        |                | H6             | OB867          | OB814          | OB251          | OB252          | OB870          |
| i33232 | <i>San/Roy</i> | <i>H6/H6</i>   | <i>San/San</i> | <i>H6/H6</i>   | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>H6/H6</i>   |
| i35214 | <i>San/Roy</i> | <i>H6/H6</i>   | <i>San/San</i> | <i>H6/H6</i>   | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>H6/H6</i>   |
| i43826 | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> |
| i30363 | <i>San/San</i> | <i>H6/H6</i>   | <i>San/San</i> | <i>H6/H6</i>   | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> | <i>San/San</i> |

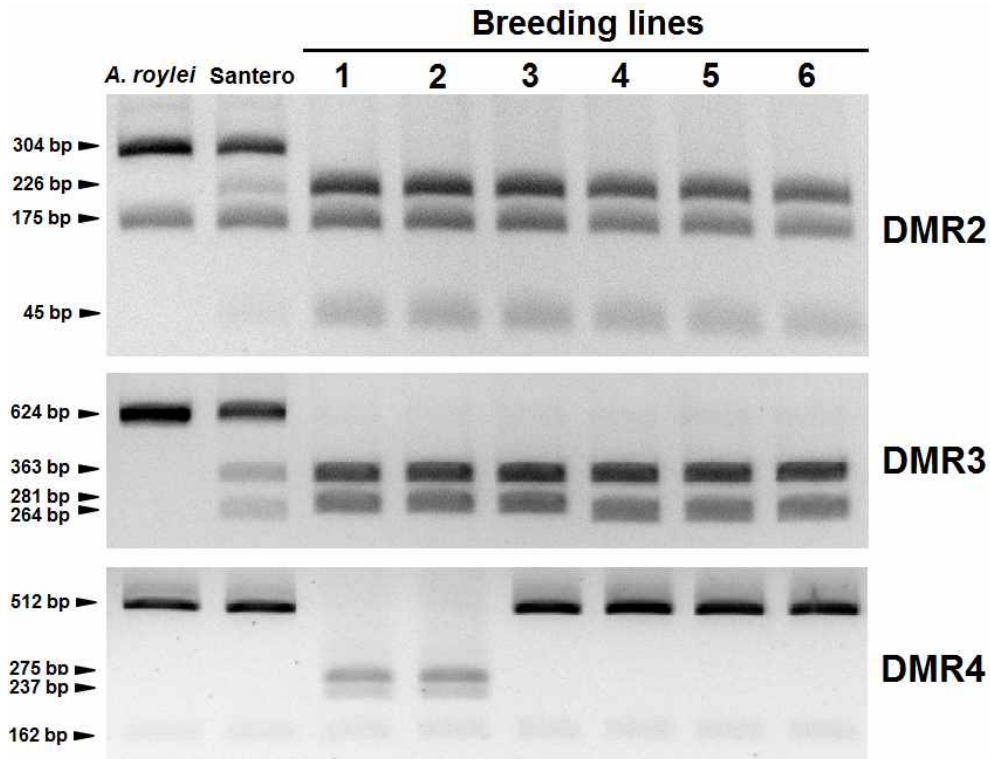


그림 13. MAB 시스템에서 recombinant selection 분자표지

### 5. 양파의 2가지 새로운 *ANS* mutant allele 확인

#### 가. 양파에서 premature stop codon을 가지는 inactive *ANS* allele 확인

- 흰색 육종 계통 (456W)와 황색 육종 계통 (503Y)에 대한 F<sub>2</sub> 분리집단을 육성하였고 황색, 흰색, 붉으스름한 흰색, 적색으로 구피색의 분리를 관찰하였다 (그림 14). F<sub>2</sub> 분리집단의 분리비 검증을 통하여 흰색을 결정짓는 *I* locus는 dominant homozygous임을 확인하였다 (표 14). 붉으스름한 흰색은 *I* locus를 heterozygote로 가지고 정상적인 DFR 유전자와 *ANS* 유전자를 가지는 양파에서 나타날 것으로 추측하였다. F<sub>2</sub> 분리집단에서 붉은색과 황색의 분리비가 나타났으므로 DFR유전자와 *ANS* 유전자의 Inactive allele이 존재할 것으로 생각하였다. DFR-A 유전자를 확인해본 결과 정상적인 homozygous DFR-AR1을 가지고 있었다. 따라서 기능을 하지 않는 *ANS* 유전자를 가질 것으로 추정하였다.

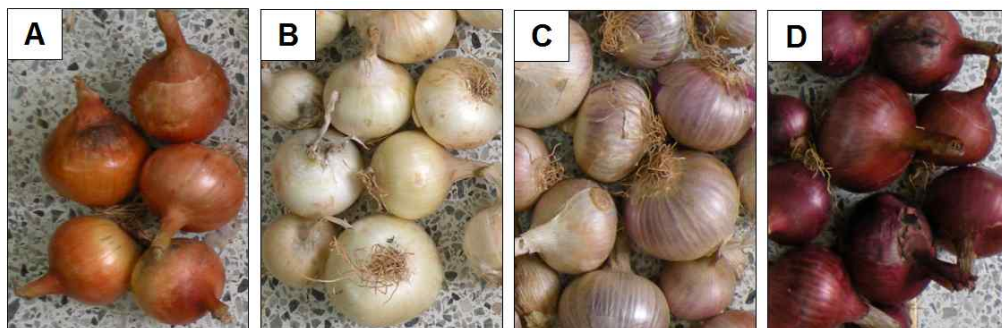


그림 14. 흰색 품종(436W)와 황색 품종(403Y)의 교배를 통한 F<sub>2</sub> 분리집단의 표현형

표 14. 흰색 품종과 황색 품종사이의 F2 분리집단에 대한 유전양상 확인

| Phenotype     | Expected genotype         | Number of bulbs |          |
|---------------|---------------------------|-----------------|----------|
|               |                           | Observed        | Expected |
| Red           | <i>ii RR L-</i>           | 12              | 12.37    |
| Yellow        | <i>ii RR ll</i>           | 6               | 4.13     |
| White         | <i>II RR --, Ii RR ll</i> | 21              | 24.75    |
| Reddish-white | <i>Ii RR L-</i>           | 27              | 24.75    |
| Total         |                           | 66              | 66       |

$\chi^2 = 1.64, P = 0.65$

F<sub>2</sub> 분리집단의 황색과 적색 양파에 대한 *ANS* 유전자 sequence를 확인한 결과 Exon1에 4-bp('GTAC') insertion을 가지는 *ANS* allele을 확인하였다 (그림 15). 4-bp insertion으로 인해 exon2의 5' 말단에 premature stop codon이 형성됨에 따라 exon2 부분을 잃어 기능을 하지 않을 것으로 추정되었다. 또한 RT-PCR 결과 새로운 *ANS* allele에 대한 transcript는 확인되지 않았다 (그림 16). 따라서 새로운 돌연변이형 *ANS* allele을 *ANS<sup>PS</sup>*로 명명했다.

새로운 *ANS<sup>PS</sup>* allele을 판별하기 위해서 *Sna*B I enzyme을 이용한 CAPS 분자표지를 제작하였다. 삽입된 4-bp sequence는 *Sna*B I의 인식서열로 사용되기 때문에 *ANS<sup>PS</sup>* allele에 대한 PCR product는 완전히 잘릴 것으로 예상되었다. F<sub>2</sub> 분리집단을 이용하여 genotype을 확인한 결과, 황색 개체는 모두 이 대립유전자의 homozygote이며 적색과 불그스름한 백색은 heterozygote 혹은 *ANS<sup>L</sup>* 대립유전자의 homozygote였다 (그림 16). 새롭게 만들어진 CAPS 분자표지를 ANS-PS로 명명하였다.

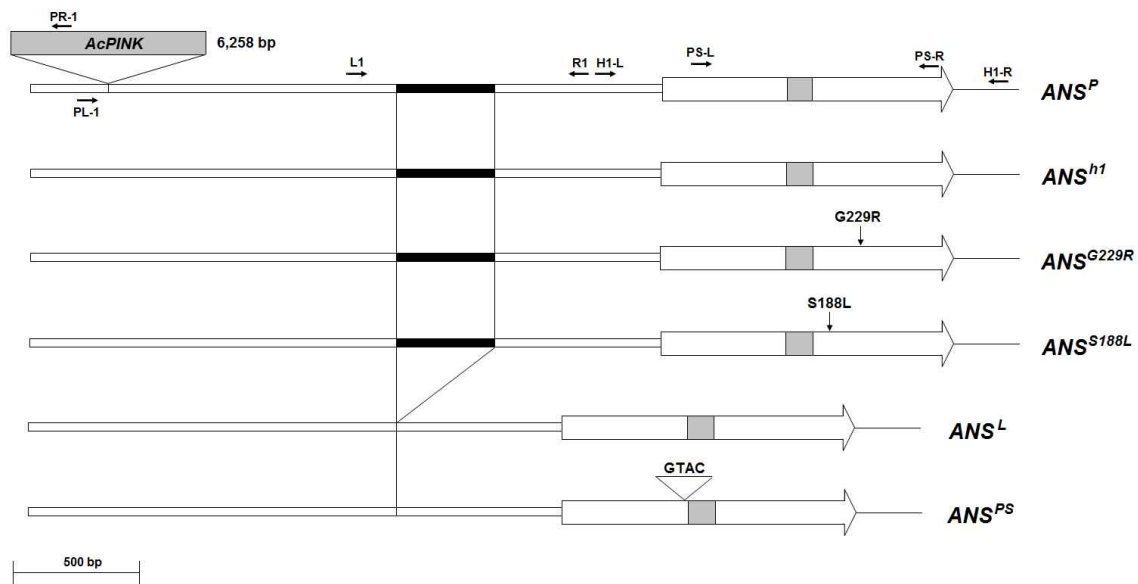
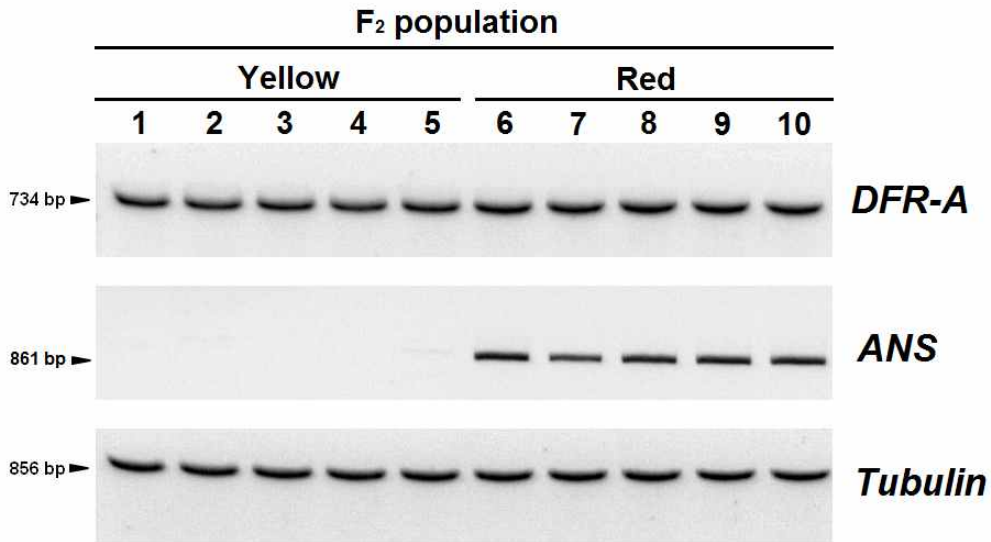


그림 15. 양파에서 확인된 *ANS* allele의 구조

**A**



**B**

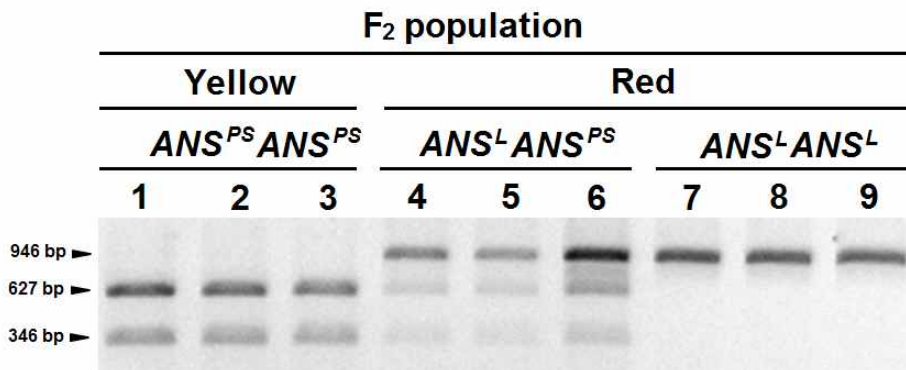


그림 16. *ANS<sup>PS</sup>* allele의 RT-PCR 결과와 *ANS<sup>PS</sup>*를 확인하기 위한 분자표지 개발

**나. Critical amino acid change를 가지는 inactive *ANS* allele 발견**

노균병 저항성 유전자를 국내 육종 계통에 도입하려는 목적으로, 저항성 황색 품종 'Santero'와 4가지 황색 육종 계통을 교배하였다. 4가지 F<sub>1</sub> 집단은 모두 옅은 적색의 구피색을 나타냈다 (그림 17). 이는 *R*과 *L* locus의 complementation 현상에 의해 적색이 나타날 것으로 추정되었다. 이를 입증하기 위해서 *DFR-A* 유전자를 분석하였다. 'Santero'는 정상적인 *DFR-A<sup>R3</sup>* allele을 가졌고 4가지 육종 계통은 기능을 상실한 *DFR-A<sup>PS</sup>* allele을 가지고 있었다.



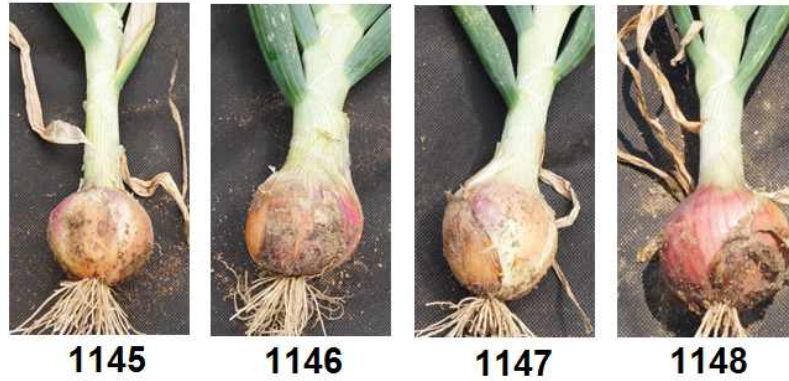


그림 17. 'Santero' 품종과 황색 계통사이의 F1 집단의 표현형

*ANS* 유전자에 대해 분석한 결과 'Santero' 품종은 heterozygous한 *ANS* genotype을 가지고 있었다. 두 가지 allele에 대한 homozygote를 얻기 위해서, 'Santero'와 적색 육종 계통 (H6)을 교배하여 F<sub>2</sub> 분리집단을 만들었다. F<sub>2</sub> 분리집단의 황색 개체로부터 2번째 exon에 SNP (C→T)를 가지는 새로운 *ANS* allele을 확인하였다 (그림 15). SNP를 가지는 새로운 *ANS* allele에 대한 3,168-bp의 promoter 부분은 정상인 *ANS<sup>hl</sup>* allele과 동일하였기 때문에 SNP에 의해 *ANS* 효소가 기능을 하지 못할 것으로 추정하였다. SNP의 존재로 *ANS* 효소의 188번째 아미노산인 serine이 leucine으로 amino acid change를 가졌고 해당 부분의 serine이 *ANS* 활성화에 중요할 것으로 예상되었다. 이를 입증하기 위해서 다양한 식물에 존재하는 53가지의 *ANS* 아미노산 서열을 분석한 결과 모두 동일한 부분에 serine이 존재함을 확인하였다 (그림 18, 그림 19). 새롭게 발견된 allele을 *ANS<sup>S188L</sup>*로 명명하였다.

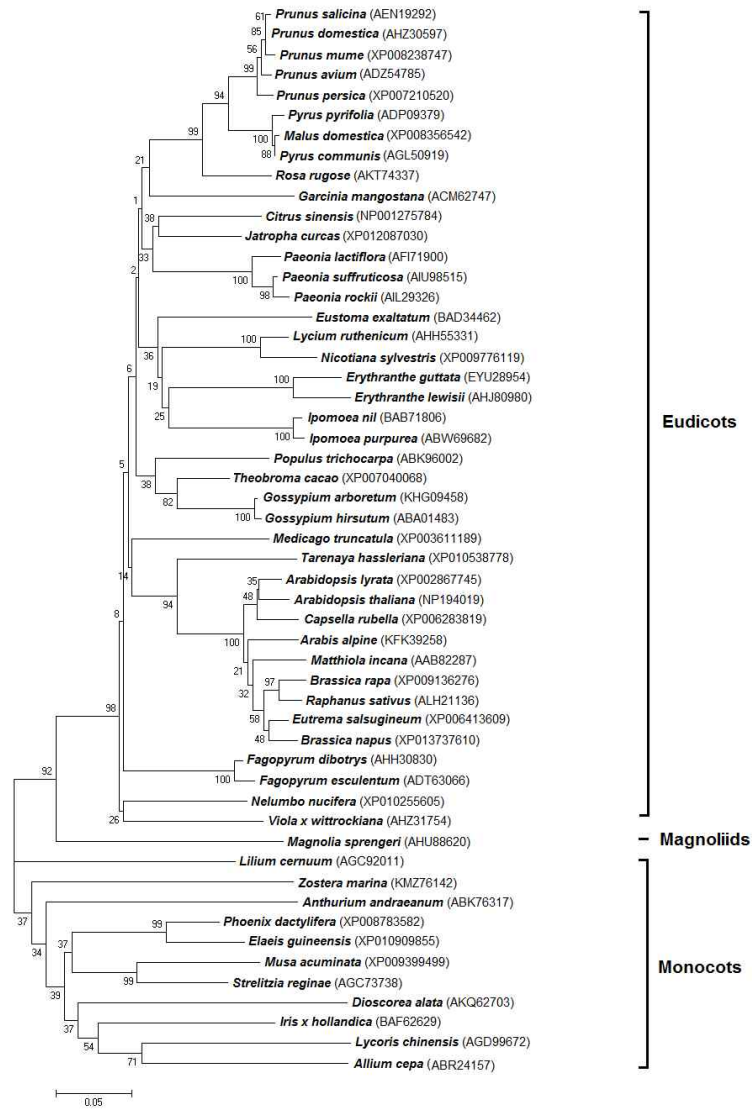


그림 18. 다양한 종에서 확인된 53가지 ANS 효소의 아미노산서열을 이용하여 phylogenetic tree 작성

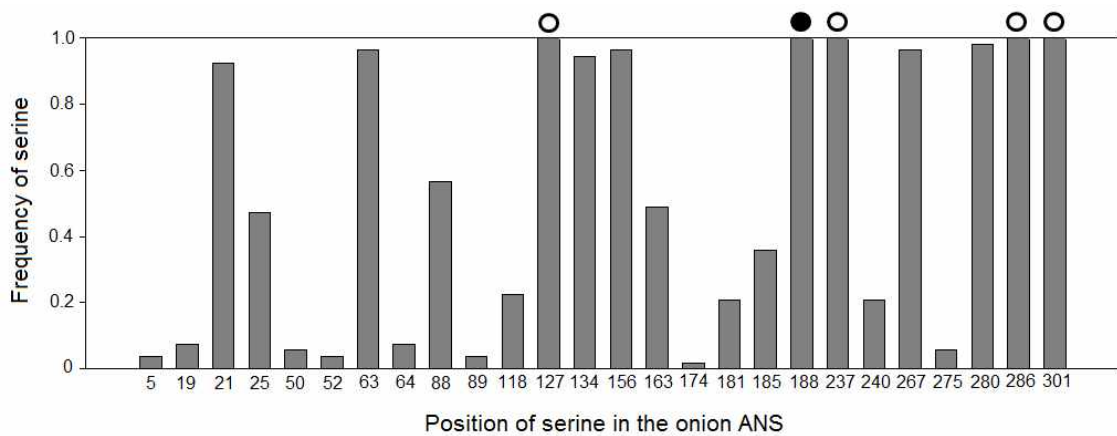


그림 19. 다양한 식물종에서 확인된 53가지 ANS 효소와 양파의 ANS 효소의 serin의

## 보존성 확인

### 다. 다양한 양파 유전자원의 ANS allele 분석

추가적인 ANS allele을 확인하기 위해서 다양한 양파 유전자원 116개체를 분석하였다. Promoter에 DNA transposon (*AcPINK*)를 가지는  $ANS^P$  allele을 확인하기 위해 transposon 부분에 제작된 PR-1 primer를 이용하여 분석하였다 (그림 15).  $ANS^P$  allele을 가지지 않는 개체는 H1-L와 H1-R primer를 이용하여 기존의 ANS allele에 대한 variant를 확인하였다. (그림 15).  $ANS^L$  allele에 대해 2가지 variant가 확인되었는데  $ANS^{L-1}$  allele은 3' UTR부분에 1-bp insertion을 가지고  $ANS^{L-2}$  allele은 intron부분에 2개의 SNP를 가지고 있었다.  $ANS^H$  allele에 대해 5가지 variant가 확인되었는데  $ANS^{H-1}$  allele은 100번째 아미노산 lysine이 methionine으로,  $ANS^{H-2}$  allele은 253번째 아미노산 leucine이 phenylalanine으로 바뀌었다. 하지만 53가지 ANS 효소에서 이 위치가 보존되어 있지 않으므로, 이 변화는 ANS 효소 기능에 영향을 주지 않을 것으로 추정되었다 (그림 20).  $ANS^P$  allele에 대한 variant인  $ANS^{P-1}$ 은 1개의 SNP를 가지고 있었다. SNP에 의해 두 번째 위치의 threonine이 proline으로 바뀌지만 53가지의 ANS 효소에서 보존되지 않는 부분이었고 정상적인  $ANS^L$  allele에서 두 번째 위치에 proline을 가지므로 기능에 영향을 주지 않을 것으로 추정되었다 (그림 21).

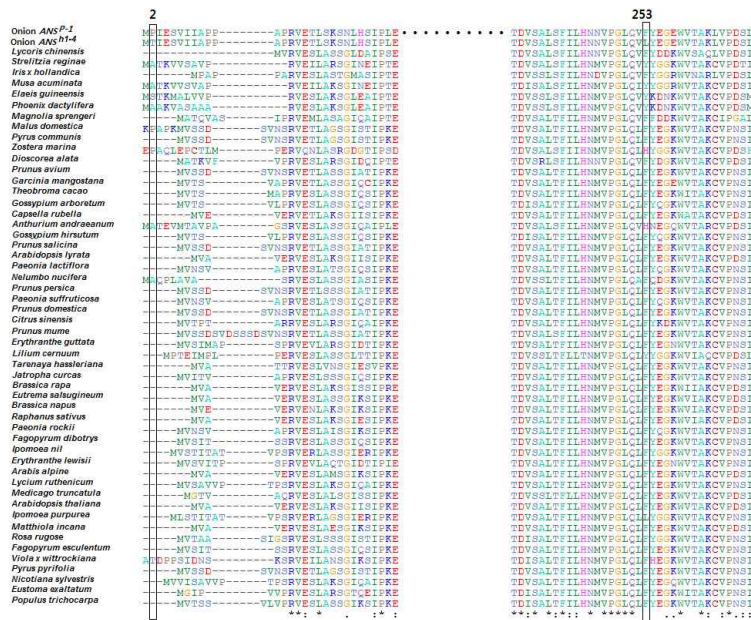


그림 20.  $ANS^{P-1}$ ,  $ANS^{H-1}$ ,  $ANS^{H-5}$  allele와 다른 식물에서 확인된 52가지의 ANS 효소에 대한 아미노산서열 확인

```

100
h1 ACCTTCTTATCTTGTGGATCCACATGTACTGAAAGGACATGTGAACCTATTGGGACAAAGAGAGACACCTCACCAGAAATGTTTGTAGAAATGGA
h1-4 ACCTTCTTATCTTGTGGATCCACATGTACTGAAAGGACATGTGAACCTATTGGGACAAAGAGAGACACCTCACCAGAAATGTTTGTAGAAATGGA
p ACTTCTTCTTATCTTGTGGATCCACATGTACTGAAAGGACATGTGAACCTATTGGGACAAAGAGAGACACCTCACCAGAAATGTTTGTAGAAATGGA
200
h1 GTAAATACATATAGCTATTCTTATTACTTAACTTAACTTATTTGGTGGTTCACAGAGAACTATACCTCACTTGGGGTCCAAACCGGTTGGTACAGTA
h1-4 GTAAATACATATAGCTATTCTTATTACTTAACTTAACTTATTTGGTGGTTCACAGAGAACTATACCTCACTTGGGGTCCAAACCGGTTGGTACAGTA
p GTAAATACATATAGCTATTCTTATTACTTAACTTAACTTATTTGGTGGTTCACAGAGAACTATACCTCACTTGGGGTCCAAACCGGTTGGTACAGTA
300
h1 CTCTCCACCAATCAACCCACATCCOCAGAGATGTATTCCCATCTTCTATATATGTATACACATCAGTTTGGGGTACAAACAACTCAGAAC
h1-4 CTCTCCACCAATCAACCCACATCCOCAGAGATGTATTCCCATCTTCTATATATGTATACACATCAGTTTGGGGTACAAACAACTCAGAAC
p CTCTCCACCAATCAACCCACATCCOCAGAGATGTATTCCCATCTTCTATATATGTATACACATCAGTTTGGGGTACAAACAACTCAGAAC
400
h1 ATTATACATAGCACTAGAAAGCGTGAATTTGCCACCACCGCTCCAGAGTAGAGACCTCTCGAATCCAACTCCACTCCATCTCTTTGGAAATACA
h1-4 ATTATACATAGCACTAGAAAGCGTGAATTTGCCACCACCGCTCCAGAGTAGAGACCTCTCGAATCCAACTCCACTCCATCTCTTTGGAAATACA
p ATTATACATAGCACTAGAAAGCGTGAATTTGCCACCACCGCTCCAGAGTAGAGACCTCTCGAATCCAACTCCACTCCATCTCTTTGGAAATACA
500
h1 TCCGGCCCGAGCAGAGCGGGCCCTGTAGGCGATGCATTAGAACAGCTTCAACACTCCAACTCCGGCCCAAAATTCOGATATCTGACCTCGATTCAG
h1-4 TCCGGCCCGAGCAGAGCGGGCCCTGTAGGCGATGCATTAGAACAGCTTCAACACTCCAACTCCGGCCCAAAATTCOGATATCTGACCTCGATTCAG
p TCCGGCCCGAGCAGAGCGGGCCCTGTAGGCGATGCATTAGAACAGCTTCAACACTCCAACTCCGGCCCAAAATTCOGATATCTGACCTCGATTCAG
600
h1 CAGCTCATTGAGAAAGTGAACAAAGCAGCGAAATGGGGAGCTAGCCACTGTGAACTGAACTCTAGCGAGTTGATGGAAGAAATGCTGGTGA
h1-4 CAGCTCATTGAGAAAGTGAACAAAGCAGCGAAATGGGGAGCTAGCCACTGTGAACTGAACTCTAGCGAGTTGATGGAAGAAATGCTGGTGA
p CAGCTCATTGAGAAAGTGAACAAAGCAGCGAAATGGGGAGCTAGCCACTGTGAACTGAACTCTAGCGAGTTGATGGAAGAAATGCTGGTGA
700
h1 GCTGGCAGGGTTTTTCAATCTCCACTCGAGGCTAAAGAGAAATATGCTAACGATCAATCAAAGGGAAGATCCAAAGGTATGGAAGTAACTGGCAA
h1-4 GCTGGCAGGGTTTTTCAATCTCCACTCGAGGCTAAAGAGAAATATGCTAACGATCAATCAAAGGGAAGATCCAAAGGTATGGAAGTAACTGGCAA
p GCTGGCAGGGTTTTTCAATCTCCACTCGAGGCTAAAGAGAAATATGCTAACGATCAATCAAAGGGAAGATCCAAAGGTATGGAAGTAACTGGCAA
800
h1 ATAAAGCAAGGGCCACTCGAGTGGGAGACTATTTTTCACTCATTTTTCCCTGATGACAAAGTCTCTCTCGTTTGGCTAAACAGCTTCCGA
h1-4 ATAAAGCAAGGGCCACTCGAGTGGGAGACTATTTTTCACTCATTTTTCCCTGATGACAAAGTCTCTCTCGTTTGGCTAAACAGCTTCCGA
p ATAAAGCAAGGGCCACTCGAGTGGGAGACTATTTTTCACTCATTTTTCCCTGATGACAAAGTCTCTCTCGTTTGGCTAAACAGCTTCCGA
900
h1 CTACATGTAAGTTGCACTATAAATCTTCTCAACATAGAGACACATAAATAAAGTAAAGAAATATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
h1-4 CTACATGTAAGTTGCACTATAAATCTTCTCAACATAGAGACACATAAATAAAGTAAAGAAATATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
p CTACATGTAAGTTGCACTATAAATCTTCTCAACATAGAGACACATAAATAAAGTAAAGAAATATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
1000
h1 ATTTATGTCAGTGAATATACAGAGTTTGGAGTCTGAGAAATATAGCCAGCAAAATGCTATCCACTTTCATTGGGTTTCAACTACCAACCC
h1-4 ATTTATGTCAGTGAATATACAGAGTTTGGAGTCTGAGAAATATAGCCAGCAAAATGCTATCCACTTTCATTGGGTTTCAACTACCAACCC
p ATTTATGTCAGTGAATATACAGAGTTTGGAGTCTGAGAAATATAGCCAGCAAAATGCTATCCACTTTCATTGGGTTTCAACTACCAACCC
1100
h1 AAGGACAGCTAGAACAAAGATAAAGGACAGAGACTTACTCTCCAGCTGAAATATACTACTCCAAATGCCCCAGCCACATCTGGCATTA
h1-4 AAGGACAGCTAGAACAAAGATAAAGGACAGAGACTTACTCTCCAGCTGAAATATACTACTCCAAATGCCCCAGCCACATCTGGCATTA
p AAGGACAGCTAGAACAAAGATAAAGGACAGAGACTTACTCTCCAGCTGAAATATACTACTCCAAATGCCCCAGCCACATCTGGCATTA
1200
h1 GAGTGGAGCCACAGSAGCTGAGTCTTATGTTCTATCTGCACAAACAGTCCAGGCTTCAAGTGTTTACAGGGTGAATGGTAACTGCGAA
h1-4 GAGTGGAGCCACAGSAGCTGAGTCTTATGTTCTATCTGCACAAACAGTCCAGGCTTCAAGTGTTTACAGGGTGAATGGTAACTGCGAA
p GAGTGGAGCCACAGSAGCTGAGTCTTATGTTCTATCTGCACAAACAGTCCAGGCTTCAAGTGTTTACAGGGTGAATGGTAACTGCGAA
1300
h1 ACTGTTCCAGATCTCTGATGTCAGATGTTGGGATTCGCTGAAATTTGAGGATGGGATTCACAAAGTGTGTGCTATGCGGTTGGTAAATAG
h1-4 ACTGTTCCAGATCTCTGATGTCAGATGTTGGGATTCGCTGAAATTTGAGGATGGGATTCACAAAGTGTGTGCTATGCGGTTGGTAAATAG
p ACTGTTCCAGATCTCTGATGTCAGATGTTGGGATTCGCTGAAATTTGAGGATGGGATTCACAAAGTGTGTGCTATGCGGTTGGTAAATAG
1400
h1 GAGAGTGTAGGATTTCTGGCTGTGTTCTGTGAACCCCAAGGATGCTGTTGTCTAAGCCATTGGATGAGGTTGTGACAGAGATGGCCCCCA
h1-4 GAGAGTGTAGGATTTCTGGCTGTGTTCTGTGAACCCCAAGGATGCTGTTGTCTAAGCCATTGGATGAGGTTGTGACAGAGATGGCCCCCA
p GAGAGTGTAGGATTTCTGGCTGTGTTCTGTGAACCCCAAGGATGCTGTTGTCTAAGCCATTGGATGAGGTTGTGACAGAGATGGCCCCCA
1500
h1 GGTACACTCTCCAGCTTTCACAGCATCTGACAGAGTGTGTTTAAAGAGAGTGGAGATTGGATGACTCTGATTTGATTAATGAAATATCTC
h1-4 GGTACACTCTCCAGCTTTCACAGCATCTGACAGAGTGTGTTTAAAGAGAGTGGAGATTGGATGACTCTGATTTGATTAATGAAATATCTC
p GGTACACTCTCCAGCTTTCACAGCATCTGACAGAGTGTGTTTAAAGAGAGTGGAGATTGGATGACTCTGATTTGATTAATGAAATATCTC
1600
h1 TTTTATGATTTCCAGGTTTGTACTTTATGATCCATCATCAGTGAATGGTGAATCAAACATATATAGACTTCTGTTTTGTTGATGATTAATCA
h1-4 TTTTATGATTTCCAGGTTTGTACTTTATGATCCATCATCAGTGAATGGTGAATCAAACATATATAGACTTCTGTTTTGTTGATGATTAATCA
p TTTTATGATTTCCAGGTTTGTACTTTATGATCCATCATCAGTGAATGGTGAATCAAACATATATAGACTTCTGTTTTGTTGATGATTAATCA

```

그림 21. *ANS<sup>h1</sup>*, *ANS<sup>h1-5</sup>*, *ANS<sup>P</sup>* allele의 염기서열 분석

확인된 *ANS* allele의 variant에 대해 phylogenetic tree를 그려본 결과 3가지 그룹으로 나뉘었다 (그림 22). 또한 확인된 variant를 이용하여 양파의 *ANS* allele을 판별하는 system을 구축하였다 (그림 23).

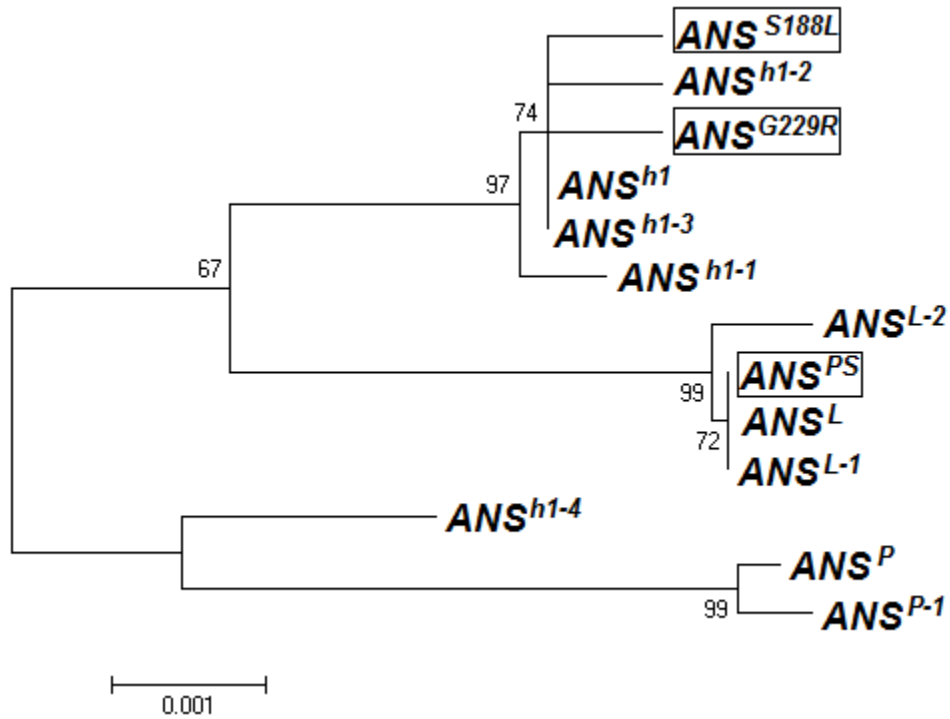


그림 22. 14가지 ANS allele에 대한 phylogenetic tree 분석

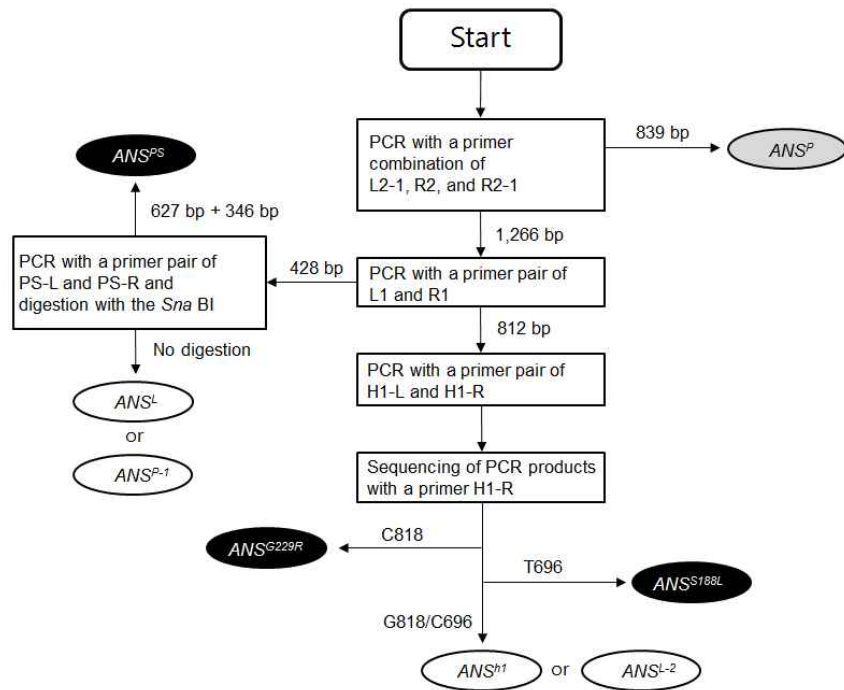


그림 23. ANS allele을 판별할 수 있는 system

6. 근연종 및 다양한 유전자원과 특성 분석  
 가. 근연종 및 다양한 양파 유전자원 수집

양파는 다른 작물들에 비해서 유전적 다양성이 매우 좁고, 재배종의 기원이 되는 야생종이 아직까지 발견되지 않았기 때문에 *Allium* 속 간의 종간교잡이 양파의 유전적인 특성을 개선할 수 있는 중요한 수단으로 인식되고 있다. 이러한 이유로 양파의 육종소재 개발을 위해 다양한 유전자원을 수집하기로 하였고 우선적으로 미국, ARS (Agricultural Research Service), GRIN (Germplasm Resources Information Network's)를 통해 *Allium* 속 9종 61점을 분양신청 하여 그중 9종 60점을 분양 받았으며 그중 56점은 국립종자원에 기탁하였다(표 15). 수집된 양파 근연종은 노균병 저항성을 가진 종으로 알려진 *A. roylei* 외 6종, 총 27점으로 *A. roylei*와 *Allium cepa* var. *aggregatum*은 1점씩 수집하였고 *Allium altaicum*외 4종은 검색되는 것 중에 참고자료가 있는 것들과 수집 지역이 겹치지 않는 것을 위주로 분양 받았다(표 16).

표 15. 유전자원 수집내역

| Taxon   | 분양신청점수 | 분양점수   |
|---|--------|--------|
| <i>Allium roylei</i>  | 1      | 1      |
| <i>Allium altaicum</i>                                      | 6      | 6      |
| <i>Allium galanthum</i>                                     | 4      | 4      |
| <i>Allium vavilovii</i>                                     | 4      | 4      |
| <i>Allium schoenoprasum</i> (골파)                            | 8      | 7      |
| <i>Allium oschaninii</i> (프랑스샤롯)                            | 3      | 3      |
| <i>Allium cepa</i> var. <i>aggregatum</i> (multipleronions) | 1      | 1      |
| <i>Allium hybr.</i> (교잡종)                                   | 9      | 9      |
| <i>Allium cepa</i> var. <i>cepa</i>                         | 25     | 25     |
| 총 계   | 9종 61점 | 9종 60점 |

표 16. 수집된 양파 근연종 유전자원의 특징

| Taxon                   | ID       | Collected in        | Reference   |
|-------------------------|----------|---------------------|---|
| <i>Allium roylei</i>    | PI592999 | Russian Federation  |   |
| <i>Allium altaicum</i>  | PI280549 | Former Soviet Union | Bradeen, James M. and Michael J. havey. 1995. Amer J Bot 82(11): 1455-1462. |
|                         | PI483406 | Kazakhstan          | Bradeen, James M. and Michael J. havey. 1995. Amer J Bot 82(11): 1455-1462. |
|                         | PI576873 | Germany             |   |
|                         | PI576874 | Nei Monggol, China  |   |
|                         | W612751  | Israel              |   |
|                         | W618947  | Mongolia            | Lupien, S.L., Hellier, B.C., Dugan, F.M.. 2004. Pl Dis v.88(1):83.          |
| <i>Allium galanthum</i> | PI280091 | Former Soviet Union | Bradeen, James M. and Michael J. havey. 1995. Amer J Bot 82(11): 1455-1462. |
|                         | PI512034 | Kazakhstan          |   |
|                         | PI       | Wisconsin, US       |   |

|                                    |           |                    |   |
|------------------------------------|-----------|--------------------|---|
|                                    | 576905    |                    |   |
|                                    | W6 17644  | California,US      |   |
| <i>Allium vavilovii</i>            | PI 281727 | FormerSovietUnion  |   |
|                                    | PI 406677 | FormerSovietUnion  | Bradeen, James M. and Michael J. havey. 1995. Amer J Bot 82(11): 1455-1462. |
|                                    | PI 576959 | Wisconsin,US       |   |
|                                    | W6 19873  | Turkmenistan       |   |
| <i>Allium schoenoprasum</i>        | PI 261639 | Netherlands        |   |
|                                    | PI 261803 | Austria            |   |
|                                    | PI 280565 | FormerSovietUnion  |   |
|                                    | PI 401719 | Denmark            | Havey, Michael J.. 1991. Theor Appl Genet 81:752-757.                       |
|                                    | PI 576933 | Russian Federation |   |
|                                    | PI664902  | United Kingdom     |   |
|                                    | W6 21545  | Mongolia           |   |
| <i>Allium oschaninii</i>           | PI 281722 | FormerSovietUnion  |   |
|                                    | W6 12754  | Kazakhstan         |   |
|                                    | W6 28048  | Tajikistan         |   |
| <i>Allium cepa</i> var. aggregatum | PI 576896 | US                 | shallot   |

수집된 양파 중간교잡 유전자원은 모두 8점으로 양파와 샬롯, 파, *A. galanthum* 간의 중간교잡계통들이며, 그중 PI 546156는 Pink root과 Yellow Dwarf에 저항성이 있고 PI 546339는 노균병에 저항성이 있다고 하여 내병성 형질도입 재료로의 이용가능성에 관심을 두고 있다 (표 17).

표 17. 수집된 양파 중간교잡 유전자원의 특징

| Taxon               | ID        | Collected in       | Reference  |
|---------------------|-----------|--------------------|--|
| <i>Allium hybr.</i> | PI 452126 | Russian Federation | <i>Allium cepa</i> L. AMARYLLIDACEAE (onion, shallot), Pedigree: <i>Allium cepa</i> x <i>A. oschaninii</i>   |
|                     | PI 546156 | Maryland, US       | Bunching type onion, amphidiploids of <i>Allium cepa</i> x <i>Allium fistulosum</i> . Maturity 95 days. Bulbs mature full maturity. Mild, vigorous, fine for summer planting. Pink root and Yellow dwarf tolerant. Tops fairly tall, gray-green. Shorter and slightly thicker stemmed than Evergreen Bunching. Produces somewhat less stems per clump. |
|                     | PI 546228 | California, US     | <i>Allium fistulosum</i> L. AMARYLLIDACEAE (Welshonion), Bunching onion type, amphidiploids of <i>Allium cepa</i> x <i>Allium fistulosum</i> .   |
|                     | PI 546339 | United States      | Beltsville bunching type. Seedling vigor. Winter hardiness. Pedigree: <i>A. fistulosum</i> PI223853 'Kujyu-negi' genic male-sterile / <i>A. cepa</i> (P52-374A = White Sweet Spanish / PI 246322 F3) amphidiploid (colchicine)   |
|                     | PI 546343 | Maryland, US       | Medium bulbing. Winter hardiness. Bulb scales  |

|           |    |  |   |
|-----------|----|--|---|
|           |    |  | dry, reddish-brown. Flower stalks up to 178cm. Has shown resistance to natural infection by downy mildew. <i>Peronospora destructor</i> at Beltsville. <i>A. galanthum</i> PI280091 / <i>A. cepa</i> inbred B2215C (Brigham Yellow Globe) amphidiploid (colchicine-induced) |
| PI 656885 | US |  | <i>Allium cepa</i> L. AMARYLLIDACEAE (onion, shallot), Re-identification 15-Sep-1999 NE9<br><i>Allium hybr.</i> Short day onion.  |
| PI 656892 | US |  | <i>Allium cepa</i> L. AMARYLLIDACEAE (onion, shallot), Re-identification 15-Sep-1999 NE9<br><i>Allium hybr.</i> Short day onion.  |
| PI 662395 | US |  | <i>Allium cepa</i> L. AMARYLLIDACEAE (onion, shallot), Re-identification 15-Sep-1999 NE9<br><i>Allium hybr.</i> Short day onion.  |
| PI 662396 | US |  | <i>Allium cepa</i> L. AMARYLLIDACEAE (onion, shallot), Re-identification 15-Sep-1999 NE9<br><i>Allium hybr.</i> Short day onion. Fruit type: globe, medium size, yellowish brown, mildly pungent. Plant type: vigorus, productive. Maturity: 130days.                       |

수집된 양파 유전자원은 모두 25점으로 우리나라의 생육조건에 맞는 단일형을 위주로 수집했으며 내병성이나 내추대성의 특성을 갖는 양파는 생육형에 관계없이 수집하였다. 수집한 유전자원 중 네덜란드에서 육성된 Rijnsburger(PI662429)는 유럽 등에서 양파 품종 육종소재로 널리 활용되는 것으로 유용한 자원으로 활용이 기대된다. 미국 유전자원 센터에서 검색된 양파 유전자원은 Pink root 저항성을 지니는 계통이 많은 편이었고 간혹 Purple Blotch나 총채벌레에 저항성을 보이는 계통이 있었으나 노균병에 저항성을 보이는 양파 유전자원은 수집하지 못하였다(표 18).

표 18. 수집된 양파 유전자원의 특징

| Taxon                                     | ID        | Collected in   | Reference  |
|---|-----------|----------------|--|
| <i>Allium cepa</i><br>var.<br><i>cepa</i> | PI 546077 | Maryland, US   | Bulb globe shaped, brown. Short day type   |
|   | PI 546083 | Wisconsin, US  | Maturity 113 days. Low percentage of peeler and high yield. Skin color very good. Percentage of number 1 bulbs very high   |
|   | PI 546091 | California, US | Maturity 95 days. Early, slow bolting which permits fall planting in southern latitudes where they grow through winter and produce bulbs in spring. Bulbs slightly flattened, medium size. Flesh firm, mild. Color very deep purplish-red. |
|   | PI 546093 | Texas, US      | Maturity 80 days. Very early white variety. Resistant to pink root. Slow to bolt   |
|   | PI 546096 | California, US | Maturity 110 days. Used for storage and market. Bulb medium size, globe to high-globe shape. Skin dark red, well retained during harvesting and storage. Flesh firm, pinkish-white, pungent. Good storage onion.                           |
|   | PI 546106 | New York, US   | Maturity 110 days. Bulb fairly large,  |



|           |                |  |   |
|-----------|----------------|--|---|
|           |                |  | semi-globe with glistening white skin. Flesh white, rather soft and mild. Considerably earlier than the Utah strain and ripens down better. Not a long keeper   |
| PI 546109 | California, US |  | Short day type. Maturity 97 days. Market use. Bulb elongated, medium size, globe. Skin white, mild, non-bolting. Flesh white  |
| PI 546115 | California, US |  | Maturity 120 days. Bulb very large, white globular. Flesh firm, white, mild.  |
| PI 546119 | California, US |  | Short day onion. Maturity 85 days. Early Crystal Wax type, maturing 7-10 days earlier than Eclipse. Resistant to pink root. Highly non-bolting. Bulbs deep-flat, uniform, attractive white. Flesh crisp, slightly more pungent than other Bermuda types.  |
| PI 546140 | Michigan, US   |  | Short day type. Standard open pollinated variety. Non-bolting. Produces good yields of medium to large size bulbs. Satisfactory shipping quality. Bulbs top shape. Skin straw yellow, medium-firm. Flesh white, mild.                                     |
| PI 546150 | Maryland, US   |  | Early maturing, long day storage type. Bulb high globe. Flesh moderately firm. Scales dark brown. Combined well with unreleased Spanish inbreds in Utah. Spanish type hybrids involving this line are generally improved in storage quality.              |
| PI 546164 | California, US |  | Maturity 90 days. Bulb top shape, medium size, early market type. Not long-keeping variety. Skin color light yellow. Flesh firm and mild flavored. Adapted for fall planting in Texas and the Pacific Southwest. Highly recommended as early market type. |
| PI 546174 | California, US |  | Maturity 100 days. Sets and storage use. Bulb medium size, oblate. Skin yellow. Flesh white   |
| PI 546180 | Louisiana, US  |  | Short day variety. Resistant to Purple Blotch. Vigorous growth under semi-tropical, humid conditions. Flesh firm, very pungent. Good keeper. Bulb small, thick-flat shape. Mature few days later than standard Yellow Bermuda                             |
| PI 546201 | Utah, US       |  | Standard variety, long-day. Maturity 115 days. Foliage light green and somewhat resistant to thrips. Bulbs large, deep-globes tapered, small, fairly heavy neck. Skin straw-yellow and  |

|           |                |  |  |
|-----------|----------------|--|--|
|           |                |  | adhear fairly well in handling and storage. Heavy yielder. Resistant to the Oregon strain pink-root.   |
| PI 546212 | Maryland, US   |  |  |
| PI 546213 | Maryland, US   |  |  |
| PI 546222 | Maryland, US   |  | Letter "B" preceding 5546 indicates Beltsville inbred. Letter "B" following 5546 indicates fertile companion line or maintenance line N ms ms  |
| PI 546331 | California, US |  | Bunching type. Stalks long, clear white. Mild, vigorous, matures flat  |
| PI 639251 | New Mexico, US |  | Short day onion. Yellow, high yield, excellent bolting resistance. Bulbs are intermediate between a high top and a flat top. The necks are small, and when fully mature and field cured, the bulbs develop an attractive, thin yellow scale.   |
| PI 639252 | New Mexico, US |  | Short day onion. It is <b>highly resistant to pink root disease</b> , and produces high yields on pink root infested soils. Pedigree: Maternal parents thought to be in N cytoplasm included in NuMex Fernandex are Ben Shermer, Peckham YSS, and Tucker YSS. NuMex BR1, Buffalo, and El Capitan contributed S cytoplasm. Several parents contributed genes for male sterility (ms). |
| PI 639257 | New Mexico, US |  | A fall-planted, <b>short day type</b> onion, in normal (N) cytoplasm. Excellent bolting resistance and moderate to <b>high resistance to pink root</b> ( <i>Phoma terrestris</i> ).  |
| PI639258  | New Mexico, US |  | A fall-planted, <b>short day type</b> onion, in normal (N) cytoplasm. Excellent bolting resistance and moderate to <b>high resistance to pink root</b> ( <i>Phoma terrestris</i> ).  |
| PI 662394 | US             |  |  |
| PI662429  | Netherland S   |  | <i>Allium cepa</i> L. AMARYLLIDACEAE (onion, shallot), BulbNotes: Thin scale for <b>Rijnsburger</b> , yellow, pear shaped, firm.   |

#### 나. 신규유전자원 수집(2015)

신규유전자원은 AVRDC, 네덜란드 종묘회사(Enza Zaden), 국외 수집을 통해 Red creole 등 42점을 수집하였다. AVRDC에서 수집한 양파 유전자원은 19점이며 Long day type(LD)이 3품종, Short day type(SD) 13품종, Inter-mediate type(ID) 3품종으로 이들 유전자원은 남아프리카 등 9개국에서 수집되었던 품종들로 다양한 생태형을 가지고 있어 양파 육종소재로 이용 가능성이 높다. 특히 Pakistan, India, Thailand 등에서 수집된 자원은 기후변화에 대응하는 내병성, 내서성 품종개발의 기준품종으로 이용성이 높을 것으로 여겨진다(표 19).

표 19. AVRDC 수집 유전자원 내역

| No. | VI No.   | Pedigree / Cultivar Name | Country of Collection | Ecotype |
|-----|----------|--------------------------|-----------------------|---------|
| 1   | VI036223 | -                        | Italy                 | LD      |
| 2   | VI037354 | RED CREOLE               | South Africa          | ID      |
| 3   | VI037359 | WANGDIFODRANG            | Bhutan                | LD      |
| 4   | VI037365 | PHULKARA                 | Pakistan              | SD      |
| 5   | VI037375 | POONA RED                | India                 | SD      |
| 6   | VI037379 | LOCAL                    | Thailand              | SD      |
| 7   | VI037391 | BOLA PRECOCE             | Brazil                | SD      |
| 8   | VI038522 | AGRIFOUND LIGHT          | India                 | SD      |
| 9   | VI038553 | ARAD (H)                 | Israel                | ID      |
| 10  | VI041439 | VIOLET DE GALMI          | France                | LD      |
| 1   | VI041551 | H-226 [H]                | Israel                | ID      |
| 12  | VI041561 | PHULKARA                 | Pakistan              | SD      |
| 13  | VI043477 | PUSA MADHVI              | India                 | SD      |
| 14  | VI043666 | COMPOSTO IRA-6           | Brazil                | SD      |
| 15  | VI043668 | MUTUALI IPA-8            | Brazil                | SD      |
| 16  | VI043678 | PERA IPA-4               | Brazil                | SD      |
| 17  | VI045170 | ROSE ONION               | India                 | SD      |
| 18  | VI045524 | BELEM IPA-9              | Brazil                | SD      |
| 19  | VI045525 | COMPOSTO IPA-6           | Brazil                | SD      |

표 20은 네덜란드, 호주, 필리핀 등에서 수집한 유전자원의 내역이다. 수집된 유전자원은 23점으로 특히 호주 종묘회사를 통해 수집한 4018등 4계통과 네덜란드의 Shinto 등 4계통은 국내에서 가장 문제가 되고 있는 노균병저항성계통(?)으로 추정되고 있으며 기존에 수집한 노균병저항성인 Santero가 장일형 품종인데 반하여 이들 계통과 품종들은 단일형으로 국내환경에 적응성이 높을 것으로 추정하고 있으며 노균병 저항성계통육성에 활용성이 더 높을 것으로 여겨진다.

표 20. 국외수집 유전자원 내역

| No | Pedigree/Cultivar Name | Source     | Remarks        |
|----|------------------------|------------|----------------|
| 1  | 4018                   | 종묘회사(호주)   | 노균병저항성?, 단일형   |
| 2  | 4058(1)                | "          | "              |
| 3  | 4058(2)                | "          | "              |
| 4  | 4060                   | "          | "              |
| 5  | Shinto                 | 종묘회사(네덜란드) | 노균병저항성? 단일형    |
| 6  | Red spur               | "          | " (자색)         |
| 7  | Lousia                 | "          | " (자색)         |
| 8  | Sorebeno               | "          | 노균병저항성?        |
| 9  | Barletta               | 네덜란드       | 백색양파           |
| 10 | The Kelsai             | 네덜란드       | 자이언트양파         |
| 11 | Rijnsburger            | 네덜란드       | 황색양파, 춘파형      |
| 12 | Rijnsburger            | 네덜란드       | 유럽양파품종 육성 기본재료 |
| 13 | Zittauergelbe          | 네덜란드       | 황색양파, 둥근형      |

|    |                         |      |                  |
|----|-------------------------|------|------------------|
| 14 | ramatadimilono          | 네덜란드 | 춘파형 중만생          |
| 15 | Walla Walla             | 네덜란드 | 황색, 단양파          |
| 16 | TondaMusona             | 네덜란드 | 백색양파, 조생, 춘파형    |
| 17 | Noordhollandsebloedrode | 네덜란드 | 매운 자색양파          |
| 18 | Noordhollandsebloedrode | 네덜란드 | 자색, 중만생춘파양파, 저장성 |
| 19 | Brunswijker             | 네덜란드 | 자색양파, 춘파형, 저장성   |
| 20 | White Lisbon            | 네덜란드 | 잎 양파             |
| 21 | Primo                   | 필리핀  | 자색양파             |
| 22 | Red Pinoy               | 필리핀  | 지색양파, 저장성        |
| 23 | Batanes jumbo           | 필리핀  | 샤롯 (자색)          |



그림 24. 국외수집 유전자원

#### 다. 유전자원의 증식 및 특성조사

수집된 양파 근연종 유전자원들은 50-200립 가량을 분양 받았으며, 이중 70-80립을 과중하여 발아율과 생육을 조사한 결과 전반적으로 생육이 저조하였으며 생육 중 상당수가 유실되었다. 그 중 *Allium vavilovii*와 *Allium cepa* var. *aggregatum*은 모구가 형성되었으나 나머지는 식물체로 유지되고 있으며 종자 증식과 교배모본으로 사용하기 위해 정식하였다(표 21).

표 21. 수집된 양파 근연종 유전자원의 생육

| Taxon                  | ID       | Plant name | 모구<br>형성성 | 식물체<br>유지 | 정식<br>개체수 | 비고 |
|------------------------|----------|------------|-----------|-----------|-----------|----|
| <i>Allium roylei</i>   | PI592999 | G 30722    |           | 27        | 18        |    |
| <i>Allium altaicum</i> | PI280549 |            |           | 2         | 2         |    |
|                        | PI483406 | VIR 3138   |           | 3         | 11        |    |

|                                       |             |                 |    |    |   |
|---------------------------------------|-------------|-----------------|----|----|---|
|                                       | PI 576873   | W6 9967         | 16 | 1  |   |
|                                       | PI576874    | 1667/92         | 3  | 3  |   |
|                                       | W6 12751    | W6 12751        | 17 | 18 |   |
|                                       | W6 18947    | 96S-64          | 5  | 5  |   |
| <i>Allium galanthum</i>               | PI280091    |                 | 6  | 5  |   |
|                                       | PI 512034   | 771150          | 12 | 12 |   |
|                                       | PI 576905   | GA-C-76         | 40 | 25 |   |
|                                       | W6<br>17644 | W61             | 9  | 4  |   |
| <i>Allium vavilovii</i>               | PI 281727   | 207             | 5  | 2  |   |
|                                       | PI 406677   |                 | 1  | 1  |   |
|                                       | PI 576959   | 60124           | 3  | 0  |   |
|                                       | W6<br>19873 | W6 19873        | 2  | 0  |   |
| <i>Allium schoenoprasum</i>           | PI 261639   |                 | 0  | 0  |   |
|                                       | PI 261803   |                 | 20 | 19 |   |
|                                       | PI 280565   |                 | 5  | 5  |   |
|                                       | PI 401719   | R-2121          | 27 | 21 |   |
|                                       | PI 576933   | W6 4265         | 7  | 3  |   |
|                                       | PI664902    | Nira            | 50 | 38 |   |
|                                       | W6<br>21545 | 98HV-17<br>0    | 0  | 0  |   |
| <i>Allium oschaninii</i>              | PI 281722   | 279             | 9  | 7  |   |
|                                       | W6 12754    | N 105           | 2  | 1  |   |
|                                       | W6<br>28048 | TJK2006:3<br>44 | 2  | 2  |   |
| <i>Allium cepa</i> var.<br>aggregatum | PI 576896   | W6 9982         | 18 | 8  | y |

양파와 중간잡종 유전자원들은 모두 50립 가량을 분양 받아 각 자원별로 15-30립을 파종하여 발아율과 생육을 조사한 결과, PI656885 등 4개의 자원을 제외하고 전반적으로 생육이 양호하였으며 중간잡종 유전자원 중 PI 546228, PI546339, PI546343은 모구를 형성하지 못하고 식물체 형태로 유지되고 있다 (표 22). 각 유전자원들은 종자 증식과 교배모본으로 사용하기 위해 정식하였다 (그림 25).

표 22. 수집된 중간잡종 및 양파 유전자원의 생육

| Taxon        | ID        | Plant name                   | 모구<br>형성<br>성 | 식물체<br>유지 | 정식<br>개체수 | 비<br>고 |
|--------------|-----------|------------------------------|---------------|-----------|-----------|--------|
| Allium hybr. | PI 452126 |                              | 7             |           | 6         | y      |
|              | PI 546156 | Beltsville Bunching          | 13            |           | 10        | w      |
|              | PI 546228 | Improved Beltsville Bunching |               | 10        | 10        |        |
|              | PI 546339 | F-C 8492                     |               | 9         | 7         |        |
|              | PI 546343 | GA-C 76                      |               | 7         | 4         |        |
|              | PI 656885 | Saturn                       |               | 0         | 0         |        |
|              | PI 656892 | Brown Beauty                 | 8             |           | 8         | y      |
|              | PI 662395 | Pacesetter                   | 7             |           | 7         | y      |
|              | PI        | Golden Beauty                | 10            |           | 5         | y      |

| 662396                                 |              |                                   |    |    |    |
|--|--------------|-----------------------------------|----|----|----|
| <i>Allium cepa</i><br>var. <i>cepa</i> | PI 546077    | B 12115 C                         | 6  | 5  | y  |
|  | PI 546083    | Indian Queen                      | 12 | 10 | y  |
|  | PI 546091    | Calred                            | 10 | 5  | yr |
|  | PI 546093    | Early Crystal                     | 15 | 13 | w  |
|  | PI 546096    | Southport Red Globe               | 8  | 8  | r  |
|  | PI 546106    | White Sweet Spanish<br>California | 20 | 4  | w  |
|  | PI 546109    | Early Texas White Grano           | 5  | 5  | w  |
|  | PI 546115    | WhiteSweetSpanishJumbo            | 14 | 7  | w  |
|  | PI 546119    | Eclipse L 303                     | 12 | 11 | w  |
|  | PI 546140    | San Joaquin                       | 9  | 5  | y  |
|  | PI 546150    | U 16-3-10-2B                      | 8  | 3  | y  |
|  | PI 546164    | Yellow Grano                      | 15 | 11 | y  |
|  | PI 546174    | Yellow Ebenezer                   | 12 | 9  | y  |
|  | PI 546180    | Red Creole C-5                    | 15 | 8  | y  |
|  | PI 546201    | Yellow Sweet Spanish Utah         | 4  | 1  | y  |
|  | PI 546212    | B 02147 A                         | 12 | 8  | y  |
|  | PI 546213    | B 02147 B                         | 10 | 6  | y  |
|  | PI 546222    | B 05546 B                         | 5  | 3  | y  |
|  | PI 546331    | White Lisbon                      | 12 | 7  | w  |
|  | PI 639251    | NuMex BR1                         | 15 | 8  | y  |
|  | PI 639252    | NuMex Jose FernandezPI            | 4  | 1  | y  |
|  | PI 639257    | NM162                             | 10 | 7  | y  |
|  | PI 639258    | M172                              | 9  | 8  | y  |
| PI 662394                              | Pacesetter   | 18                                | 13 | y  |    |
| <i>Allium cepa</i><br>L.               | PI<br>662429 | Rijnsburger H.S. 65               | 4  | 1  | y  |



*A. roylei*



*A. vavilovii*

*A. aggregatum*



[식물체 자원 증식]



[모구자원 증식]



## 그림 25. 파속 유전자원 채종모구 생산

### 라. 유전자원 증식 및 특성평가(2015)

2013~2014년에 수집한 파속유전자원 *Allium vavilovii* 등 6종 41점의 채종모구를 2014년 채종하우스에 정식하여 2015년에 채종하였다(표 23). 증식된 유전자원 중 종자량이 충분한 PI281727 (*A. vavilovii*) 등 14점은 종자은행에 등록할 예정이다.

표 23. 파속 유전자원 증식

| No | Taxon                   | ID or variety       | Seed harvest (g) | no | Taxon              | ID or variety         | Seed harvest (g) |
|----|-------------------------|---------------------|------------------|----|--------------------|-----------------------|------------------|
| 1  | <i>Allium vavilovii</i> | PI281727            | 27               | 22 | <i>Allium cepa</i> | White Sweet Spanish J | 15               |
| 2  | <i>Allium vavilovii</i> | PI 406677           | 1                | 23 | <i>Allium cepa</i> | Early Texas White     | 52               |
| 3  | <i>Allium vavilovii</i> | PI 576959           | 1                | 24 | <i>Allium cepa</i> | White Sweet Spanish   | 31               |
| 4  | <i>Allium altaicum</i>  | PI 280549           | 3                | 25 | <i>Allium cepa</i> | Eclipse L 303         | 84               |
| 5  | <i>Allium altaicum</i>  | PI 576874           | 2                | 26 | <i>Allium cepa</i> | San Joaquin           | 5                |
| 6  | <i>Allium altaicum</i>  | W6 12751            | 53               | 27 | <i>Allium cepa</i> | U 16-3-10-2B          | 20               |
| 7  | <i>Allium altaicum</i>  | W6 18947            | 1                | 28 | <i>Allium cepa</i> | Yellow Ebenezer       | 16               |
| 8  | <i>Allium schoeno.</i>  | PI 261639           | 1                | 29 | <i>Allium cepa</i> | Red Creole C-5        | 89               |
| 9  | <i>Allium galanthum</i> | PI 576905           | 3                | 30 | <i>Allium cepa</i> | B 02147 A             | 15               |
| 10 | <i>Allium hybr.</i>     | PI452126            | 17               | 31 | <i>Allium cepa</i> | White Lisbon          | 93               |
| 11 | <i>Allium hybr.</i>     | Beltsville Bunching | 72               | 32 | <i>Allium cepa</i> | NuMex BR1             | 10               |
| 12 | <i>Allium hybr.</i>     | Brown Beauty        | 20               | 33 | <i>Allium cepa</i> | NuMex Jose Fernandez  | 1                |
| 13 | <i>Allium hybr.</i>     | Pacesetter          | 3                | 34 | <i>Allium cepa</i> | NM162                 | 13               |
| 14 | <i>Allium hybr.</i>     | Golden Beauty       | 61               | 35 | <i>Allium cepa</i> | M172                  | 13               |
| 15 | <i>Allium hybr.</i>     | Improved Belts Bun  | 88               | 36 | <i>Allium cepa</i> | Pacesetter            | 13               |
| 16 | <i>Allium hybr.</i>     | F-C 8492            | 51               | 37 | <i>Allium cepa</i> | Belami                | 18               |
| 17 | <i>Allium hybr.</i>     | GA-C 76             | 21               | 38 | <i>Allium cepa</i> | Galmi                 | 17               |
| 18 | <i>Allium cepa</i>      | Indian Queen        | 41               | 39 | <i>Allium cepa</i> | Safari                | 21               |
| 19 | <i>Allium cepa</i>      | Early Crystal       | 95               | 40 | <i>Allium cepa</i> | Idol                  | 91               |
| 20 | <i>Allium cepa</i>      | Southport Red Glo   | 35               | 41 | <i>Allium cepa</i> | TexasGrano            | 49               |
| 21 | <i>Allium cepa</i>      | White Sweet Spanis  | 15               |    |                    |                       |                  |

## 7. 중간교잡계통의 특성검정

### 가. 양파(*A. cepa*)와 바빌로비(*A. vavilovii*)간 중간교잡 계통

양파의 야생종은 아직 발견되지 않고 있으며, 연구결과들에서 *A. vavilovii*가 양파의 가장 가까운 근연종으로 알려져 있으나 육종소재로 이용할 수 있는 유용한 형질에 대한 연구는

아직 미미하다. 양파와 *A. vavilovii*간에는 비교적 교배가 용이하고 F1에서 백색 ~ 자색까지 다양한 구피색이 분리되어 다양한 색깔의 양파를 육종할 수 있는 육종소재개발과 아직 밝혀지지 않은 농업적인 형질을 탐색하고자 하였다. 표 21의 120418은 *A. vavilovii*를 자식한 계통으로 구피색이 황색, 자색, 백색으로 분리하였고 당도는 9.8Brix로 일반 황색계 양파에 비해 조금 높은 편이었고 구 모양은 2~3개가 분구되었으며 화구의 모양은 양파에 비해 작고 소화는 양파와 비슷하였다. 시험번호 120419 ~ 120422는 양파와 여교잡한 계통들로 구색의 분리가 일어나고 구형도 편원형이었다 (표 24, 그림 26). 금후 이 계통들은 양파와 여교잡하여 생육 및 수량특성을 검토하고 내병성, 수량성, 기능성성분 등에 대한 연구가 필요하다.

표 24. 양파 x *A. vavilovii* 중간교잡계통 생육 및 수량특성 (2013년)

| 시험번호   | 교배조합                | 엽수 | 초장 (cm) | 엽초장 (cm) | 엽초경 (mm) | 도복기 (월.일) | 구중 (g) | 구형 지수 | 구색    | 당도 (Brix) |
|--------|---------------------|----|---------|----------|----------|-----------|--------|-------|-------|-----------|
| 120418 | <i>A. vavilovii</i> | 7  | 57      | 13       | 18.9     | 6.7       | 195    | 95    | Y,R,W | 9.8       |
| 120419 | CF 236              | 8  | 47      | 12       | 16.0     | 6.1       | 88     | 86    | Y, R  | 10.4      |
| 120420 | CF 242              | 8  | 57      | 12       | 22.0     | 6.1       | 142    | 88    | R     | 8.9       |
| 120421 | CF 246              | 4  | 42      | 9        | 11.7     | 5.26      | 118    | 83    | Y,W   | 10.7      |
| 120422 | CF 247              | 9  | 42      | 13       | 11.6     | 6.5       | 203    | 78    | Y,R   | 6.9       |



그림 26. 양파(*A. cepa*)와 바빌로비(*A. vavilovii*)간 중간교잡계통(2013년) - BC1F1

표 25는 기존에 육종 중인 양파와 바빌로비 간 교잡계통들로 BC1F1과 BC1F2세대들이다. 아직 초기세대로 구색이 자색, 백색, 황색 등으로 분리현상을 보이고 있고 대부분이 추대성이 강하여 50%까지 추대되는 현상을 보이고 있다. BC1F1의 130506계통을 제외한 대부분의 계통들의 도복기는 중만생종의 특성을 보였으며 BC1F2의 130501 등 4계통은 도복이 되지 않았다. 구중은 대비품종들에 비해 낮았고 구형은 편구형에 가까웠으며 계통들 중 130508, 130510 등이 구중은 각각 235g, 216g으로 정상적인 양파와 유사하였다. 양파와 바빌로비간 중간교잡계통들은 초기세대로 수량성, 추대성, 구피색의 분리등의 현상이 발생하고 있지만 초형이 직립형이고 노균병, 잎마름병 등의 발생이 없었고 뿌리의 발달이 왕성한 특성을 보였다(그림 27).

표 25. 양파 x *A. vavilovii* 중간교잡계통 생육 및 수량특성 (2014년)



| 번호 | 계통번호   | 엽수<br>(매/주) | 초장<br>(cm) | 엽초장<br>(mm) | 엽초경<br>(mm) | 추대율<br>(%) | 도복기<br>(월.일) | 구중<br>(g) | 구형지수  | 구색 | 비고    |
|----|--------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|--------------|-----------|-------|----|-------|
| 1  | 130501 | 9           | 57.0       | 12.2        | 18.4        | 30         | -            | 40.0      | 97.0  | 분리 | BC1F2 |
| 2  | 130502 | 7.8         | 59.4       | 13          | 17.1        | 20         | -            | 69.6      | 88.4  | 분리 | “     |
| 3  | 130503 | 7.8         | 57.8       | 13.2        | 14.5        | 10         | -            | 85.6      | 86.6  | 분리 | “     |
| 4  | 130504 | 8.2         | 53.8       | 14          | 16.6        | 50         | -            | 40.4      | 100.7 | 분리 | “     |
| 5  | 130505 | 8.6         | 68.4       | 15.2        | 18.5        | 40         | 5.26         | 175.0     | 83.1  | 분리 | “     |
| 6  | 130506 | 8.6         | 75.6       | 16          | 21.8        | 40         | 5.26         | 194.4     | 82.4  | 분리 | “     |
| 7  | 130507 | 7.6         | 61.2       | 16.4        | 20.8        | 50         | 5.26         | 129.6     | 118.8 | 분리 | “     |
| 8  | 130508 | 8.6         | 75.4       | 15          | 20.2        | 40         | 5.26         | 235.2     | 87.7  | 분리 | “     |
| 9  | 130509 | 8.6         | 70.0       | 16.8        | 18.8        | 30         | 5.24         | 214.8     | 88.6  | 분리 | “     |
| 10 | 130510 | 9.8         | 69.8       | 14.2        | 22.6        | 20         | 5.26         | 216.6     | 82.4  | 분리 | “     |
| 11 | 130511 | 8.2         | 66.0       | 15.6        | 16.9        | 50         | 5.28         | 95.2      | 87.8  | 분리 | “     |
| 12 | 130512 | 8           | 64.0       | 15.4        | 15.0        | 40         | 5.23         | 156.0     | 87.0  | 분리 | “     |
| 13 | 130513 | 8.6         | 71.6       | 15          | 21.5        | 30         | 5.24         | 177.2     | 88.6  | 분리 | “     |
| 14 | 130561 | 6           | 52.6       | 13.2        | 13.7        | 10         | 5.5          | 142.4     | 65.6  | 분리 | BC1F1 |
| 15 | 130562 | 8.4         | 58.4       | 15.8        | 13.8        | 2          | 5.24         | 194.8     | 80.3  | 분리 | “     |
| 16 | 130563 | 8.2         | 67.4       | 18.2        | 17.5        | 10         | 5.17         | 206.8     | 93.6  | 분리 | “     |
|    | 선과워    | 8.6         | 83.6       | 21          | 22.9        |            | 5.12         | 253.0     | 104.6 | Y  | 대비    |
|    | 로망     | 5           | 62.0       | 16.2        | 13.3        |            | 4.28         | 312.0     | 93.5  | Y  | 대비    |
|    | 천주적    | 8.4         | 76.8       | 19.2        | 21.5        |            | 5.22         | 231.6     | 92.2  | R  | 대비    |



그림 27. 양파(*A. cepa*)와 바빌로비(*A. vavilovii*)간 중간교잡 계통(2014년) - BC1F1

### 나. 양파(*A. cepa*)와 파(*A. fistulosum*)간 중간교잡 계통

양파와 파 중간교잡계통은 파를 모본으로, 양파를 부분으로 하여 교잡한 후 F1에 양파를 반복친으로 여교배를 하여 육성하였다. 표 26은 2013년에 생육기와 수확후의 특성을 조사한 성적이다. 육성한 계통은 BC3~BC4세대를 경과한 계통들로 대비품종인 선파위에 비해 수량은 비록 낮지만 구형과 당도 등의 특성이 우수한 계통들이 선발되었다. 계통중에 120401, 120404, 120411은 구형지수가 100이상의 고구형 계통으로 양파 F1종자생산에서 현재 선호되는 구형품종을 육성하는데 유용한 화분친으로 유망하며 고형물함량의 지표인 당도가 10 Brix 이상의 계통들은 가공용 등으로 이용가능성이 높은 계통들로 여겨진다. 유용한 특성을 가진 계통들은 융성불임계통과 조합능력과 생산력 검정을 검토하여 양파 F1 종자생산용 중간모본으로 품종보호출원 할 예정이다.

표 26. 양파x 파 중간교잡계통 생육 및 수량특성 (2013년)

| 시험번호   | 교배조합        | 엽수 | 초장 (cm) | 엽초장 (cm) | 엽초경 (mm) | 도복기 (월.일) | 구중 (g) | 구형 지수 | 구색  | 당도 (Brix) |
|--------|-------------|----|---------|----------|----------|-----------|--------|-------|-----|-----------|
| 120401 | CF17A/CF53B | 6  | 62      | 13       | 16.7     | 6.3       | 207    | 102   | Y   | 10.3      |
| 120402 | CF53A/CF53F | 6  | 62      | 15       | 17.8     | 6.3       | 217    | 90    | Y   | 8.8       |
| 120403 | CFF0610     | 7  | 56      | 13       | 18.3     | 6.3       | 183    | 96    | Y   | 9.7       |
| 120404 | CFF0615     | 6  | 58      | 12       | 14.5     | 5.28      | 200    | 109   | Y   | 6.7       |
| 120405 | GF5/CF60A   | 6  | 55      | 11       | 15.9     | 6.3       | 161    | 98    | Y   | 11.0      |
| 120406 | CFF28A      | 6  | 54      | 12       | 15.3     | 5.26      | 154    | 85    | Y   | 8.8       |
| 120407 | CF53A       | 6  | 57      | 12       | 17.2     | 6.8       | 162    | 98    | Y   | 8.3       |
| 120408 | CF70B       | 6  | 53      | 12       | 16.0     | 6.3       | 173    | 95    | R   | 9.0       |
| 120409 | CF71A       | 6  | 53      | 12       | 15.6     | 5.28      | 162    | 91    | R   | 8.9       |
| 120410 | CF73A       | 7  | 64      | 17       | 20.7     | 6.4       | 177    | 90    | Y   | 9.2       |
| 120411 | CFF0646     | 7  | 65      | 14       | 16.3     | 6.3       | 142    | 100   | Y   | 6.5       |
| 120412 | H93/CF28A   | 9  | 77      | 18       | 21.7     | 6.11      | 147    | 80    | Y   | 10.3      |
| 120413 | H93/CF29A   | 8  | 57      | 15       | 15.9     | 6.1       | 135    | 87    | Y,R | 10.6      |
| 120414 | H93/CF29A   | 7  | 62      | 15       | 15.1     | 5.28      | 124    | 87    | R   | 11.5      |
| 120423 | CF109       | 6  | 63      | 14       | 14.6     | 5.26      | 171    | 91    | R   | 8.2       |
| 120424 | CF164B      | 6  | 72      | 13       | 18.5     | 5.28      | 230    | 98    | Y   | 11.4      |
| 120425 | CF168       | 8  | 69      | 13       | 15.3     | 5.28      | 205    | 93    | Y   | 7.1       |
| 120426 | CF168ms     | 7  | 63      | 15       | 16.0     | 5.28      | 200    | 93    | Y   | 8.1       |
| 120436 | CF56A       | 8  | 72      | 14       | 18.2     | 5.29      | 222    | 98    | Y   | 7.9       |
| 120437 | CFF0616     | 7  | 53      | 11       | 12.3     | 6.1       | 146    | 99    | Y   | 8.3       |
| 120438 | CFF0610     | 7  | 60      | 10       | 16.7     | 6.1       | 172    | 92    | Y   | 9.9       |
| 120439 | CFF0646     | 6  | 60      | 12       | 15.5     | 6.5       | 143    | 93    | Y   | 10.9      |
| 대비     | 선파위         | 6  | 53      | 12       | 15.3     | 6.3       | 260    | 88    | Y   | 8.7       |
|        | 천주적(자색)     | 7  | 50      | 13       | 16.3     | 6.11      | 168    | 83    | R   | 7.2       |



그림 28. 양파 x 파 중간교잡계통 (2013년)

표 27은 양파와 파간 중간교잡유래계통들(BC3F3)로 2002 년부터 자원수집과 교배를 수행하였다. 3회 여교배를 통해 양파의 형질을 도입한 후 3세대 동안 모구 선발과 자식을 통해 형질을 고정하였다. 130514, 130515, 130523, 130524 등의 수량성은 대비품종(선파워)과 비슷한 수량성을 보였다. 도복기는 조생종의 도복기인 4월 28일부터 5월 28일 까지 다양한 분포를 보였으며 추대율도 안정적인 경향을 보였다. 구형은 높은 고구형으로 화분친으로의 유망한 특성을 보였으며 구색의 분리 현상은 나타나지 않았다. 금후 이 계통들은 정밀한 내병성과 성분분석을 통해 F1 종자생산의 화분친으로 활용하고자 한다.

표 27. 양파 x 파 중간교잡계통 생육 및 수량특성 (2014년)

| 번호 | 계통번호   | 엽수<br>(매/주) | 초장<br>(cm) | 엽초장<br>(mm) | 엽초경<br>(mm) | 추대율<br>(%) | 도복기<br>(월.일) | 구중<br>(g) | 구형지수  | 구색 | 비고    |
|----|--------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|--------------|-----------|-------|----|-------|
| 1  | 130514 | 5.8         | 60.4       | 11          | 13.9        | 2          | 5.1          | 256.0     | 92.7  | Y  | BC3F3 |
| 2  | 130515 | 6.6         | 61.8       | 11.6        | 13.5        |            | 5.1          | 277.8     | 97.5  | Y  | “     |
| 3  | 130516 | 6.4         | 66         | 16.8        | 14.8        | 2          | 5.2          | 216.6     | 110.6 | Y  | “     |
| 4  | 130517 | 10.6        | 85         | 16          | 30          |            | 5.3          | 278.2     | 101.1 | R  | “     |
| 5  | 130523 | 8           | 81.2       | 19.2        | 20          |            | 5.17         | 250.4     | 104.1 | Y  | “     |
| 6  | 130524 | 8.4         | 84.2       | 19.6        | 21.6        |            | 5.24         | 254.6     | 114.9 | Y  | “     |
| 7  | 130525 | 8.6         | 81.2       | 18.6        | 19.8        |            | 5.17         | 224.0     | 104.8 | Y  | “     |
| 8  | 130526 | 8.6         | 79         | 16.4        | 17.7        |            | 5.17         | 211.8     | 104.3 | Y  | “     |
| 9  | 130527 | 8.6         | 84.4       | 18          | 19.3        |            | 5.19         | 224.0     | 117.7 | Y  | “     |

|     |        |      |      |      |      |      |       |       |       |    |   |
|-----|--------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|----|---|
| 10  | 130528 | 9    | 83.6 | 18   | 20.2 | 5.25 | 236.2 | 113.2 | Y     | “  |   |
| 11  | 130529 | 6.8  | 70.8 | 19.2 | 15.6 | 4.28 | 186.4 | 118.5 | Y     | “  |   |
| 12  | 130547 | 8.2  | 74.4 | 17.2 | 20.9 | 5.26 | 230.2 | 116.3 | Y     | “  |   |
| 13  | 130548 | 7.6  | 74   | 18.2 | 22.3 | 5.3  | 227.8 | 116.8 | Y     | “  |   |
| 14  | 130549 | 7.6  | 68.8 | 16.8 | 19.3 | 5.19 | 238.2 | 116.8 | Y     | “  |   |
| 15  | 130550 | 7.8  | 73.8 | 18   | 17.8 | 5.24 | 239.6 | 121.1 | Y     | “  |   |
| 16  | 130551 | 8    | 76   | 18.4 | 19.8 | 5.25 | 211.6 | 135.3 | Y     | “  |   |
| 17  | 130552 | 7.2  | 78   | 20   | 14.5 | 10   | 5.25  | 143.2 | 142.9 | Y  | “ |
| 18  | 130553 | 9.6  | 82.8 | 17.8 | 16.7 | 10   | 5.25  | 142.2 | 145.9 | R  | “ |
| 19  | 130554 | 7.6  | 77.8 | 18.4 | 16.5 | 15   | 5.17  | 137.4 | 120.6 | Y  | “ |
| 20  | 130555 | 10.2 | 74   | 12.6 | 18.3 | 5.3  | 139.0 | 86.5  | 분리    | “  |   |
| 선파워 |        | 8.6  | 83.6 | 21   | 22.9 | 5.12 | 253.0 | 104.6 | Y     | 대비 |   |
| 로망  |        | 5    | 62.0 | 16.2 | 13.3 | 4.28 | 312.0 | 93.5  | Y     | 대비 |   |
| 천주적 |        | 8.4  | 76.8 | 19.2 | 21.5 | 5.22 | 231.6 | 92.2  | R     | 대비 |   |



그림 29. 양파 x 파 중간교잡계통 (2014년)

#### 다. 양파(*A. cepa*)와 샬롯(*A. ascalonicum*)간 중간교잡 계통

양파와 샬롯간 중간교잡계통육성은 2002년에 샬롯을 모본으로, 양파를 반복친으로 여교잡하여 육성하였다. 샬롯은 양파에 비해 수분함량이 적고 휘발성 황화합물 함량이 많아 양파의 저장성 향상과 기능성성분함량을 높이고자 육성을 시작하였다. 육성계통 중에 ‘120428’과 ‘120436’은 황색계통으로 구중이 200g 이상으로 대비품종인 ‘선파워’에 비해 구중은 낮았으나 구형지수는 90이상이었고 자색계인 ‘12434’는 대비품종인 ‘천주적’에 비해 수량과 구형이 우수하였다(표 28).

표 28. 샬롯x양파 중간교잡계통 생육 및 수량특성 (2013년)

| 시험번호   | 교배조합          | 엽수 | 초장 (cm) | 엽초장 (cm) | 엽초경 (mm) | 도복기 (월.일) | 구중 (g) | 구형지수 | 구색  | 당도 (Brix) |
|--------|---------------|----|---------|----------|----------|-----------|--------|------|-----|-----------|
| 120427 | CF 251B       | 8  | 57      | 12       | 16.2     | 6.11      | 137    | 94   | R   | 8.6       |
| 120428 | CF265B/CF266B | 7  | 68      | 17       | 18.4     | 6.8       | 214    | 93   | Y   | 9.2       |
| 120429 | CF 267B       | 8  | 45      | 12       | 15.6     | 6.11      | 161    | 115  | R,Y | 10.0      |
| 120430 | CF269B/CF270B | 8  | 55      | 11       | 18.2     | 6.5       | 167    | 89   | Y   | 7.9       |

|        |               |   |    |    |      |      |     |     |     |      |
|--------|---------------|---|----|----|------|------|-----|-----|-----|------|
| 120431 | CF 269B       | 8 | 55 | 12 | 16.7 | 6.5  | 188 | 91  | Y   | 8.6  |
| 120432 | CF273B/CF274B | 7 | 64 | 12 | 18.3 | 6.3  | 190 | 130 | R,Y | 10.9 |
| 120433 | CF 273B       | 7 | 65 | 13 | 15.1 | 6.3  | 148 | 117 | Y   | 12.5 |
| 120434 | AH08004       | 8 | 64 | 18 | 21.0 | 6.5  | 223 | 86  | R   | 9.9  |
| 120435 | AC26          | 7 | 66 | 18 | 16.2 | 6.5  | 180 | 104 | R   | 9.7  |
| 120436 | CF56A         | 8 | 72 | 14 | 18.2 | 5.29 | 222 | 98  | Y   | 7.9  |
| 120437 | CFF0616       | 7 | 53 | 11 | 12.3 | 6.1  | 146 | 99  | Y   | 8.3  |
| 120438 | CFF0610       | 7 | 60 | 10 | 16.7 | 6.1  | 172 | 92  | Y   | 9.9  |
| 120439 | CFF0646       | 6 | 60 | 12 | 15.5 | 6.5  | 143 | 93  | Y   | 10.9 |
| 대비     | 썬과워           | 6 | 53 | 12 | 15.3 | 6.3  | 260 | 88  | Y   | 8.7  |
| 대비     | 천주적(자색)       | 7 | 50 | 13 | 16.3 | 6.11 | 168 | 83  | R   | 7.2  |



그림 30. 샤롯x양파 중간교잡계통 (2013년) - BC2~ BC4

표 29와 그림 31은 양파와 샤롯간 중간교잡 계통들이다. BC3F3세대 계통들로 대부분의 계통들이 안정적인 표현형을 나타내고 있다. 130521과 130522는 구피색이 분리현상을 보이고 있지만 대부분의 계통들의 구피색은 고정된 것으로 여겨지며 도복기는 5월2일부터 5월 28일 까지 분포하였다. 구중은 대비품종들에 비해 다소 낮았으나 구형은 고구형계통이 대부분이었다. 특히 130542는 구형지수가 172로 장고구형에 속한 특이한 특성을 보였다. 금후 원예적인 특성이 좋은 계통들을 선발하여 조합능력을 검증하고자 한다.

표 29. 샤롯x양파 중간교잡계통 생육 및 수량특성 (2014년)

| 번호 | 계통번호   | 엽수<br>(매/주) | 초장<br>(cm) | 엽초장<br>(mm) | 엽초경<br>(mm) | 추대율<br>(%) | 도복기<br>(월.일) | 구중<br>(g) | 구형지수  | 구색 | 비고    |
|----|--------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|--------------|-----------|-------|----|-------|
| 1  | 130518 | 6.2         | 66.8       | 23.4        | 15.8        |            | 5.28         | 223.6     | 140.4 | Y  | BC3F3 |
| 2  | 130519 | 8.2         | 75.8       | 21.0        | 18.1        | 4          | 5.2          | 230.0     | 102.9 | Y  | “     |
| 3  | 130520 | 8.4         | 77.8       | 19.6        | 20.9        |            | 5.17         | 213.0     | 127.5 | R  | “     |
| 4  | 130521 | 7.4         | 74.4       | 19.4        | 16.1        | 7          | 5.15         | 199.4     | 114.2 | 분리 | “     |

|    |        |      |      |      |      |    |      |       |       |    |    |
|----|--------|------|------|------|------|----|------|-------|-------|----|----|
| 5  | 130522 | 8.6  | 79.2 | 20.4 | 21.1 | 5  | 5.15 | 214.2 | 108.2 | 분리 | “  |
| 6  | 130530 | 7.2  | 77.0 | 19.2 | 18.0 |    | 5.8  | 198.4 | 109.8 | Y  | “  |
| 7  | 130531 | 8.0  | 86.8 | 19.8 | 20.6 |    | 5.24 | 215.0 | 118.4 | R  | “  |
| 8  | 130532 | 7.8  | 77   | 20.0 | 18.8 |    | 5.23 | 282.0 | 109.9 | Y  | “  |
| 9  | 130533 | 7.8  | 68.8 | 17.6 | 16.2 |    | 5.26 | 213.4 | 91.9  | R  | “  |
| 10 | 130534 | 8.2  | 73.0 | 16.4 | 20.1 |    | 5.28 | 217.0 | 95.6  | R  | “  |
| 11 | 130535 | 8.2  | 71.2 | 19.6 | 18.8 |    | 5.9  | 201.0 | 134.3 | Y  | “  |
| 12 | 130536 | 8.4  | 56.6 | 14.2 | 20.8 |    | 5.3  | 161.2 | 149.1 | R  | “  |
| 13 | 130537 | 8.2  | 75.6 | 16.8 | 20.0 |    | 5.24 | 200.0 | 129.3 | Y  | “  |
| 14 | 130538 | 7.8  | 73.6 | 16.2 | 19.9 |    | 5.3  | 210.6 | 117.4 | Y  | “  |
| 15 | 130539 | 7.8  | 69.8 | 17.8 | 21.3 |    | 5.23 | 294.8 | 113.1 | Y  | “  |
| 16 | 130540 | 8.6  | 66.4 | 16.4 | 18.4 |    | 5.24 | 293.0 | 106.5 | Y  | “  |
| 17 | 130541 | 8.2  | 71.4 | 16.8 | 19.6 | 5  | 5.25 | 220.8 | 187.7 | Y  | “  |
| 18 | 130542 | 8.2  | 63.8 | 14.8 | 19.6 | 1  | 5.24 | 239.6 | 172.4 | Y  | “  |
| 19 | 130543 | 8.4  | 82.4 | 21.4 | 21.4 | 10 | 5.24 | 221.8 | 125.7 | R  | “  |
| 20 | 130544 | 8.4  | 75.0 | 17.0 | 19.5 |    | 5.23 | 323.4 | 98    | Y  | “  |
| 21 | 130545 | 8.2  | 72.8 | 18.2 | 18.8 |    | 5.16 | 260.2 | 153.1 | Y  | “  |
| 22 | 130546 | 8.0  | 73.0 | 18.0 | 19.2 |    | 5.26 | 237.0 | 134.1 | Y  | “  |
| 23 | 130558 | 9.2  | 51.4 | 12.4 | 16.8 | 5  | 5.3  | 127.2 | 82.5  | 분리 |    |
| 24 | 130559 | 10.4 | 51.8 | 13.8 | 16.9 | 10 | 5.3  | 118.4 | 109.6 | 분리 | “  |
| 25 | 130560 | 7.2  | 67.0 | 17.6 | 17.6 | 20 | 5.3  | 142.4 | 123   | R  | “  |
|    | 선파워    | 8.6  | 83.6 | 21.0 | 22.9 |    | 5.12 | 253.0 | 104.6 | Y  | 대비 |
|    | 로망     | 5.0  | 62.0 | 16.2 | 13.3 |    | 4.28 | 312.0 | 93.5  | Y  | 대비 |
|    | 천주적    | 8.4  | 76.8 | 19.2 | 21.5 |    | 5.22 | 231.6 | 92.2  | R  | 대비 |

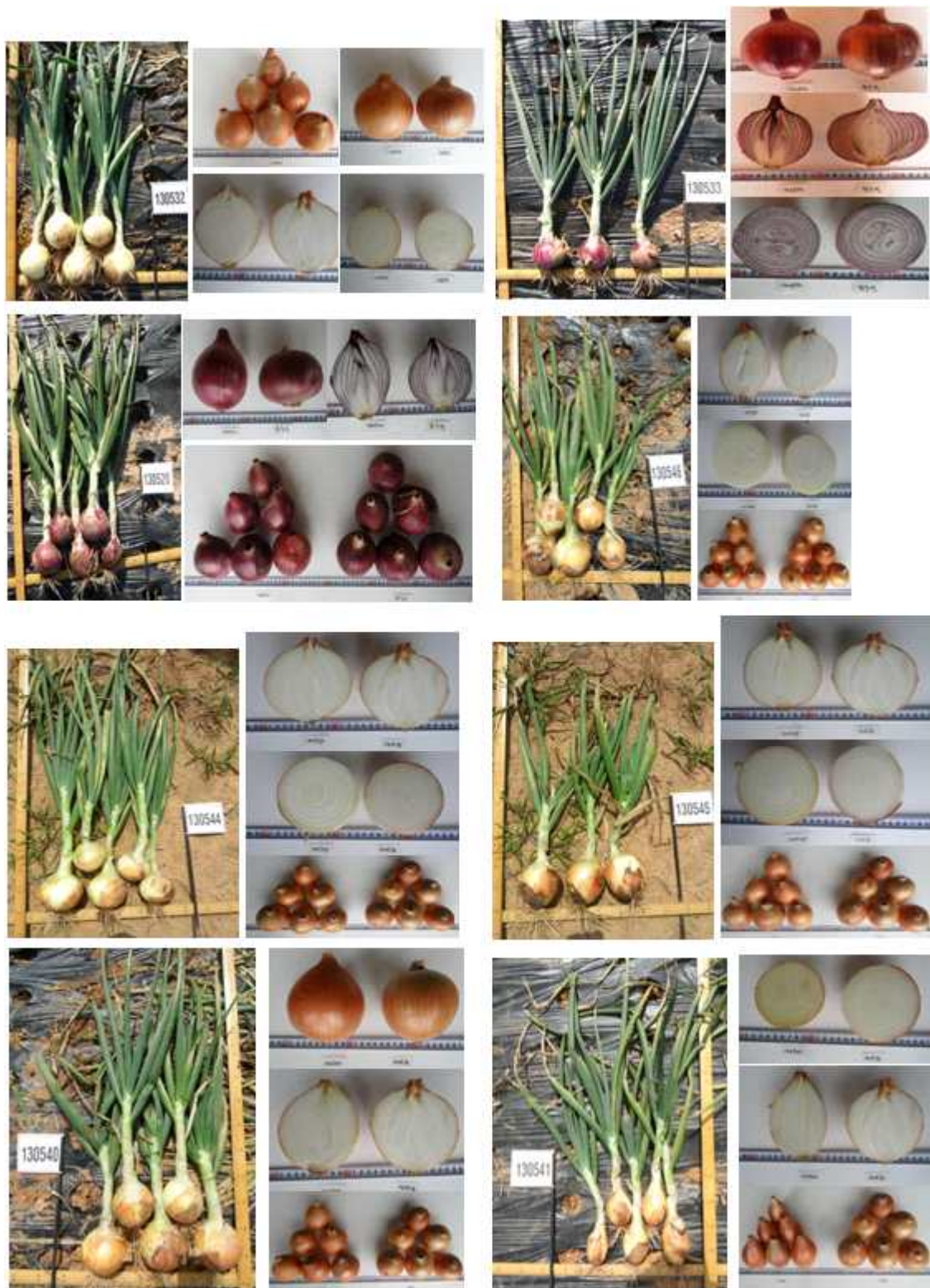


그림 31. 샬롯x양파 중간교잡계통 (2014년)

라. 중간교잡 계통을 이용한 조합능력검정

표 30은 2013년 양파 육성불임계통과 중간교잡계통을 화분친으로 하여 10183/10389 등 5조합에 대한 조합능력을 검토하였다. 구중에 대한 Hetrosis는 조합에 따라 11 ~ 72% 까지 차

이를 보였으며 10183/10400 조합은 72%로 높은 잡종강세효과를 보여 중간교잡계통을 F1 종자생산의 화분친으로 활용 가능성을 보여주었다.

**표 30. 양파 MS계통과 중간교잡계통 간 조합능력검정 (2013)**

| 시험<br>번호 | 교배조합        | 엽수<br>매/주 | 초장<br>(cm) | 엽초장<br>(cm) | 엽초경<br>(mm) | 도복기<br>(월.일) | 구<br>색 | 구형<br>지수 | 구중<br>(g) | *Het<br>rosis<br>(%) | 당도<br>brix |
|----------|-------------|-----------|------------|-------------|-------------|--------------|--------|----------|-----------|----------------------|------------|
| IH1      | 10183/10389 | 7         | 61         | 13          | 16.0        | 5.24         | Y      | 102      | 229       | 30                   | 7.1        |
| IH2      | 10183/10400 | 7         | 61         | 14          | 15.6        | 5.19         | Y      | 84       | 243       | 72                   | 7.2        |
| IH3      | 10057/10389 | 7         | 60         | 12          | 16.1        | 5.26         | Y      | 90       | 253       | 17                   | 7.5        |
| IH4      | 10103/10389 | 7         | 74         | 19          | 20.4        | 5.26         | Y      | 83       | 252       | 11                   | 9.9        |
| IH5      | 10103/10400 | 7         | 61         | 15          | 16.1        | 5.28         | Y      | 89       | 252       | 31                   | 9.6        |

표 31는 응성불임계통과 중간교잡 유래계통을 화분친으로 하여 조합능력을 검정한 결과이다. 조합능력에 이용된 응성불임계통은 바이오에너지작물센터에서 육성한 9계통이었으며 화분친은 110484 등 4계통이었다. 대부분의 계통들이 대비품종에 비해 높은 수량성을 나타냈으며 특히 130428의 구중은 483g으로 가장 높은 수량성을 보였다.

**표 31. 양파 MS계통과 중간교잡계통 간 조합능력검정 (2014)**

| 번<br>호 | 계통번호   | 교배조합          | 엽수<br>(매/주) | 초장<br>(cm) | 엽초장<br>(cm) | 엽초경<br>(mm) | 구중<br>(g) | 구형<br>지수  | 구<br>색 | 비<br>고 |
|--------|--------|---------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----------|-----------|--------|--------|
| 1      | 130438 | 110195/110484 | 8.2         | 80.2       | 20.8        | 19.0        | 310.<br>6 | 105.<br>3 | Y      |        |
| 2      | 130441 | 110197/110484 | 7.6         | 78.2       | 22.6        | 19.1        | 255.6     | 106.1     | Y      |        |
| 3      | 130446 | 110201/110484 | 8.2         | 85.6       | 21.6        | 19.5        | 331.8     | 102.9     | Y      |        |
| 4      | 130451 | 110223/110484 | 7.6         | 90.2       | 25.4        | 22.4        | 275.8     | 108.9     | Y      |        |
| 5      | 130455 | 110239/110484 | 7.8         | 78.6       | 22.2        | 18.3        | 323.6     | 119.0     | Y      |        |
| 6      | 130428 | 110187/110493 | 8.2         | 67.6       | 14.4        | 19.6        | 483.0     | 94.6      | Y      |        |
| 7      | 130447 | 110201/110501 | 7.2         | 77.6       | 16.4        | 14.9        | 303.2     | 104.6     | Y      |        |
| 8      | 130429 | 110187/110509 | 7.6         | 69.4       | 14.2        | 17.8        | 302.<br>8 | 97.2      | Y      |        |
| 9      | 130442 | 110197/110509 | 8.0         | 80.2       | 17.6        | 18.2        | 299.4     | 102       | Y      |        |
| 대      | 로망     | -             | 6.8         | 68.4       | 14.4        | 16.3        | 187.<br>8 | 102.<br>4 | Y      | 조생     |
| 비      | 선파워    | -             | 9.4         | 79.0       | 18.0        | 21.6        | 234.3     | 99.3      | Y      | 중만생    |
|        | 천주적    | -             | 7.8         | 80.0       | 16.2        | 22.2        | 231.6     | 92.2      | R      | 자색     |
|        | 계      | 9조합           |             |            |             |             |           |           |        |        |

**마. [품종보호출원, 원예30012]**

품종보호출원 중인 원예30012는 양파의 저장성을 높이기 위해 고품물 함량이 많고 수분이



적어 양파와 가장 근연관계인 원예30012는 프랑스에서 수집한 ‘샤롯’(Allium ascalonicum L.)을 모본으로 하고 고종종(OP) 품종이며 저장성이 좋은 천주대고(A. cepa L.)를 부분으로 하여 중간교배하여 F1에서 웅성불임 20개체를 선발하였다. F1중에서 분구수가 적고 황색인 개체를 선발하여 모본으로 하고 천주대고를 부분으로 여교배하고 모구선발과 교배과정을 3회에 걸쳐 반복하였고 2006년 여교배3세대(BC3F1)에서 임성계통인 SH14-10-7-2-1을 선발하여 2008년~20014년 까지 4세대동안 모구선발과 집단채종으로 형질을 유지시키고 20013년에 형질이 고정된 웅성불임계통과 조합능력검정 결과 성능이 우수하여 ‘원예30012’로 품종보호출원 하였다. 그림 8에서 원예30012의 육성과정을 도식화하였고 그림 32와 표 29부터 표 34에 걸쳐 생육특성 등을 정리하였다.

- 시험성적

‘원예30012’의 초형은 직립형이며 엽색은 녹색, 구피색은 황갈색이며 구모양은 넓은 타원형이다. 도복기가 5월 16일로 중만생계통에 속한다.

표 32. 고유특성 (‘13 ~ ‘14, 식량원 바이오센터)

| 계통명     | 초형  | 엽색 | 구형    | 구색  | 도복기(월.일) | 약색 | 웅성불임성 |
|---------|-----|----|-------|-----|----------|----|-------|
| 원예30012 | 직립형 | 녹색 | 원형    | 황갈색 | 5.16     | 연황 | 가임    |
| 대비(선과위) | 직립형 | 녹색 | 넓은달갈형 | 황갈색 | 5.12     | 연황 | 가임    |

초장은 73cm 로 중간형이며 주당엽수는 약 8매로 많은 편으로 엽초장과 엽초경은 각각 18.9mm, 18cm 중간정도이며 구중은 260g으로 대구형이다.

표 33. 가변특성 (‘13 ~ ‘14, 식량원 바이오센터)

| 계통명     | 초장(cm) | 주당엽수 | 엽초경(mm) | 엽초장(cm) | 구중(g) |
|---------|--------|------|---------|---------|-------|
| 원예30012 | 73     | 8.2  | 18.8    | 18      | 260   |
| 대비(선과위) | 84     | 8.6  | 22.9    | 21      | 253   |

‘원예30012’의 구형을 나타내는 구형지수는 104로 원형에 속하며 구중은 260g으로 대구의 특성이 있고 구중과 당도는 각각 260g, 10.5°Brix로 대비품종의 구중 253g에 비해 약간 크고 당도는 대비품종(8.9°Brix) 보다 높다, 특히 당도가 높아 F1 품종육성에 중요한 화분친으로 유망한 특성을 가지고 있다.

표 34. 모구특성 (‘13 ~ ‘14, 식량원 바이오센터)

| 계통명     | 구고(mm)   | 구경(mm)   | 구형지수    | 구중(g)    | 당도(°Brix) |
|---------|----------|----------|---------|----------|-----------|
| 원예30012 | 86.2±2.3 | 82.9±2.5 | 104±3.1 | 260±16.7 | 10.5      |
| 대비(선과위) | 84.5±3.0 | 80.8±3.1 | 98±6.8  | 253±19.9 | 8.9       |

‘원예30012’를 응성불임계통 110195 등 5계통의 화분친으로 하여 교배한 F1의 수량은 5계통 모두 대비품종에 비해 9~38% 증수되었고 건전구율은 110195/원예300123 등 3계통이 대비품종과 비슷하거나 좋아 저장성 품종육성의 재료로 유망시 된다.

**표 35. 조합능력검정**

| 번호 | 교배조합           | 구중<br>(g) | 구형지수 <sup>a</sup> | 수량     |     | 건전구율 <sup>b</sup><br>(%) |
|----|----------------|-----------|-------------------|--------|-----|--------------------------|
|    |                |           |                   | kg/10a | 지수  |                          |
| 1  | 110195/원예30012 | 311       | 105               | 7,989  | 133 | 83.6                     |
| 2  | 110197/원예30012 | 256       | 106               | 6,575  | 109 | 94.6                     |
| 3  | 110201/원예30012 | 332       | 103               | 8,535  | 142 | 77.5                     |
| 4  | 110223/원예30012 | 276       | 109               | 7,094  | 118 | 76.0                     |
| 5  | 110239/원예30012 | 324       | 119               | 8,324  | 138 | 86.5                     |
| 대비 | 선과워            | 234       | 99                | 6019   | 100 | 83.5                     |

원예30012의 채종특성으로 개화기는 5월29일이며 주당 분구수는 6개, 화경출현율이 100%였고 화경장과 화구경은 각각 155cm, 132mm 로 대비품종에 비해 컸다.

**표 36. 채종특성 (‘13 ~ ‘14, 식량원 바이오센터)**

| 계통명     | 추대기<br>(월.일) | 개화기<br>(월.일) | 분구수<br>(개/주) | 화경수<br>(개/주) | 화경장<br>(cm) | 화구경<br>(mm) |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
| 원예30012 | 4.20         | 5.29         | 6            | 6            | 155         | 132         |
| 대비(선과워) | 4.23         | 5.30         | 6            | 6            | 161         | 123         |

내한성과 저장성이 좋았으며 노균병에는 중간정도 저항성을 보였다.

**표 37. 노균병저항성, 내한성, 저장성 (‘13 ~ ‘14, 식량원 바이오센터)**

| 계통명     | 노균병 | 내한성 | 저장성 |
|---------|-----|-----|-----|
| 원예30012 | 중   | 강   | 강   |
| 대비(선과워) | 중   | 강   | 강   |



그림 32. 원예30012 생육 및 수량특성

## 8. 내병성 형질도입을 위한 육종소재개발 및 노균병 저항성 계통 선발

### 가. 양파와 파 간의 중간교잡을 통한 내병성 형질 도입 (2014)

양파의 중간교잡 재료로 가장 많이 이용되고 있는 종 가운데 하나인 파(*A. fistulosum*)는 흑반병, pink root, 잎마름병, 탄저병, OYDV(onion yellow dwarf virus) 등에 저항성을 가지고 있고 양파에 비해 내한성, 건물율, 휘발성황화합물 성분이 많아 양파 저항성 품종육성과 성분개량에 필요한 유용형질을 가지고 있다. 양파와 파는 염색체수가 같고( $2n=2x=16$ ) 비슷한 핵형을 가지고 있어 1930년대 초부터 연구의 대상이 되고 있다 (Khrustaleva and Kik 2000) 본 연구진에서도 2004년부터 파를 양파 품질개량을 위한 교배재료로 이용하고 있었으나 주된 연구의 목적은 내병성 형질도입이 아니라 건물함량과 저장성을 높이고자 하였다. 따라서 내병성 형질도입을 목적으로 새롭게 선발하기 위하여 양파와 파의 정역교배를 통해 얻어진 F1 종자를 다시 파종하여 식물체를 확보하였다. 각 F1 개체들의 교잡 여부를 확인하기 위하여 국립 종자원에서 특허 등록된 양파 품종식별용 초위성체 프라이머 세트 중 AFAT09E05와 AFA11C12를 이용하여 파와 양파의 교잡 여부를 확인하였다. 그림 3에서 보이는 것과 같이 양파 x 파 교배집단의 총 136개 식물체 중 23개의 개체가 두 프라이머의 밴드 패턴이 모두 양파형으로 나타나 자식 또는 종자오염으로 의심되었으며 교잡율은 83.1%로 나타났다 (그림 33A, 표 38). 반면 파 x 양파 교배집단은 발아율이 낮아서 F1 식물체를 많이 얻지는 못했지만 모두 교잡형으로 판단되었다 (그림 33B, 표 38). 이 계통들은 내병성 검정에 이용할 F2 종자 획득을 위한 모구증식에 사용되었다.

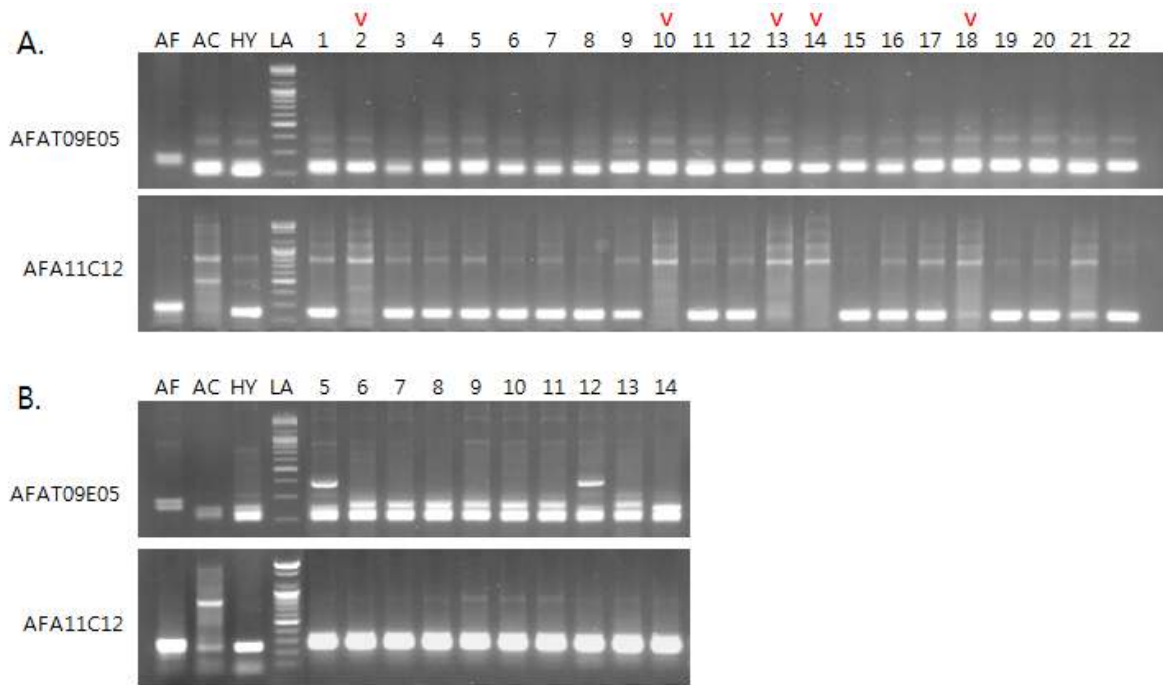


그림 33. DNA marker를 이용하여 양파와 파 간의 중간교잡 확인

표 38. DNA marker를 이용하여 확인된 양파와 파 간의 중간교잡율

| 교배조합                        | primer    | 밴드 패턴 |    |     | 개체수 | 교잡율(%) |
|-----------------------------|-----------|-------|----|-----|-----|--------|
|                             |           | 양파형   | 파형 | 교잡형 |     |        |
| 양파/ 파                       | AFAT09E05 | 136   | .  | .   | 136 | 83.1   |
|                             | AFA11C12  | 23    | 6  | 107 |     |        |
| 파 / 양파<br>(110093 / 110390) | AFAT09E05 | .     | .  | 14  | 14  | 100    |
|                             | AFA11C12  | .     | 14 | .   |     |        |
| 파 / 양파<br>(110186 / 110390) | AFAT09E05 | .     | .  | 9   | 9   | 100    |
|                             | AFA11C12  | .     | 9  | .   |     |        |

#### 나. 중간교잡을 이용한 육종소재 개발(2015)

노균병 등 주요 병해충 저항성 육종소재 개발을 위해 2014년에 채종모구를 채종하우스에 정식하여 2015년에 인공교배 하였으며 *A. hybrid/A. cepa* 등 48조합에서 교잡종자를 수확하였다. 채종내역은 표 39와 같다.

표 39. 중간교잡 채종내역

| 교배조합                                     | 채종조합수 | 비고                  |
|--|-------|---------------------|
| <i>A. hybr.</i> × <i>A. cepa</i>         | 11    | Pink root?          |
| <i>A. alticum</i> / <i>A. cepa</i>       | 2     | 파 야생원종?             |
| <i>A. galanthum</i> / <i>A. cepa</i>     | 8     | 웅성불임, 내서성 등         |
| <i>A. vavilovii</i> / <i>A. cepa</i>     | 9     | 양파 야생원종?            |
| <i>A. schoenoprasum</i> / <i>A. cepa</i> | 2     | 부추형태 ?              |
| <i>A. cepa</i> / <i>A. cepa</i>          | 16    | Pink root, 내한성, 저장성 |
| 계  | 48    |                     |

표 40. *Allium hyb.* × *A. cepa* 교배 및 채종내역

| 번호. | 교배조합                 | 채종량 (g) | 비고                    |
|-----|----------------------|---------|-----------------------|
| 1   | PI452126ms/130072    | 6       | 내한성, 바이러스저항성, 노균병 저항성 |
| 2   | PI452126ms/130174    | 2       | "                     |
| 3   | PI546156/130174      | 8       | "                     |
| 4   | PI546156/130174      | 1       | "                     |
| 5   | PI656892ms/130174    | 1       | "                     |
| 6   | PI662395/130072      | 4       | "                     |
| 7   | 130701-7ms/PI452126  | 1       | "                     |
| 8   | 130701-5ms/PI452126  | 2       | "                     |
| 9   | 130708-10ms/PI546156 | 2       | "                     |
| 10  | PI656892ms/PI656892  | 5       | "                     |
| 11  | 130701-7ms/PI546077  | 1       | "                     |

표 40은 *Allium hyb.*와 *A. cepa*를 교잡한 결과 채종내역이다. 교잡계통들은 *A. hyb.*의 내한성과 바이러스, 노균병저항성형질을 양파에 도입하고자 수행되었다. *Allium hybrid*는 대부분 복2배체(n=32)로서 임성을 가지고 있으며 양파와 교잡이 용이한 것으로 알려져 있다. 대부분의 *A. hyb.* 품종들은 *A. cepa*와 *A. fistulosum*간의 교잡종으로 pink root, yellow dwarf virus에 저항성이 있으며 *A. cepa* × *A. galanthum*은 노균병에 저항성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. PI 452126는 *A. cepa* × *A. oschaninii*의 교잡종으로 아직까지 그 유용성이 밝혀져 있지 않다. 따라서 이 계통들은 금후 연구를 통해 노균병 등 병해저항성과 환경내성등을 검토하고자 한다.

표 41. *Allium galanthum* × *A. cepa* 교배 및 채종내역

| 번호. | 교배조합                    | 채종량(g) | 비고               |
|-----|-------------------------|--------|------------------|
| 1   | A140209/120140          | 1      | 노균병저항성, 응성불임성 도입 |
| 2   | A140210/130323          | 1      | "                |
| 3   | A140210/130324          | 1      | "                |
| 4   | A140210/130760          | 1      | "                |
| 5   | 130011-10ms/PI 576905mf | 1      | "                |
| 6   | PI 576905ms/130012-10mf | 1      | "                |
| 7   | PI 576905/130062-10     | 1      | "                |
| 8   | PI 576905/130040        | 1      | "                |

표 41은 *A. galanthum*과 *A. cepa* 간의 중간교잡 결과이다. 정역교배결과 8조합에서 채종하였 으며 종자 결실량은 1g 내외로 *A. hyb.*에 비해 양파와의 교잡친화성이 낮았다. *A. galanthum*은 노균병에 대한 내성과 응성불임인자를 가지고 있어 일본과 미국 등에서 양파와 파의 응성불임계통육성 연구에 이용되고 있다. 특히 PI676905는 응성불임과 가임이 발견되어 양파에 새로운 형질도입에 유용한 재료로 이용 가능성이 높다(그림 11).



그림 34. *A. galanthum* 의 불임화와 가임화

*A. alticum*은 파의 야생종으로 알려져 있으며 그 형태와 화기 구조는 파와 매우 유사하다. 본 실험에서 2조합을 교배하여 채종하였다(표 42). 교잡종의 특성은 아직 보고된 적이 없어 실험을 통하여 식물학적 특성과 내병성, 환경저항성 등의 특성을 검토하고자 한다.

표 42. *A. alticum* / *A. cepa* 교배 및 채종내역

| 번호 | 교배조합           | 채종량(g) | 비고                             |
|----|----------------|--------|--------------------------------|
| 1  | A140203/120140 | 1      | 파( <i>A. fistulosum</i> ) 야생종? |
| 2  | A140206/120140 | 2      |                                |



그림 35. *A. alticum* 추대 및 결실

표 43. *A. vavilovii* × *A. cepa* 교배 및 채종내역

| 번호 | 교배조합                | 채종량(g) | 비고                                |
|----|---------------------|--------|-----------------------------------|
| 1  | 130655-4ms/PI406677 | 4      | 양파의 야생종?, 건물함량, 황화합물등<br>기능성성분 도입 |
| 2  | A140212/130323      | 6      |                                   |
| 3  | A140212/130324      | 4      |                                   |
| 4  | A140212/130760      | 3      |                                   |
| 5  | A140213/130132      | 2      |                                   |
| 6  | A140213/130323      | 2      |                                   |

|   |                |   |
|---|----------------|---|
| 7 | A140213/130323 | 3 |
| 8 | A140214/130742 | 2 |
| 9 | A140215/130323 | 4 |

*Allium vavilovii* 는 양파의 야생종으로 알려져 있으며 양파나 샬롯과 매우 유사한 형태를 가지고 있으며 양파에 비해 건물함량(soluble solide content) 가 높고 황화합물성분이 많은 것으로 알려져 있다. 양파와 교잡친화성이 높고 잡종 종자생산에 유리한 야생종이다. 현재까지 교잡종에 대한보고로 cytology 분야에 몇 건이 발표된바 있으나 그 식물학적 특성과 성분 특성에 대한보고는 매우 드물다. 본 실험에서는 9조합을 채종하여 유묘를 양성하여 포장에 정식하였으며 차 년도에 식물학적 특성을 검토할 계획이다(표 43).

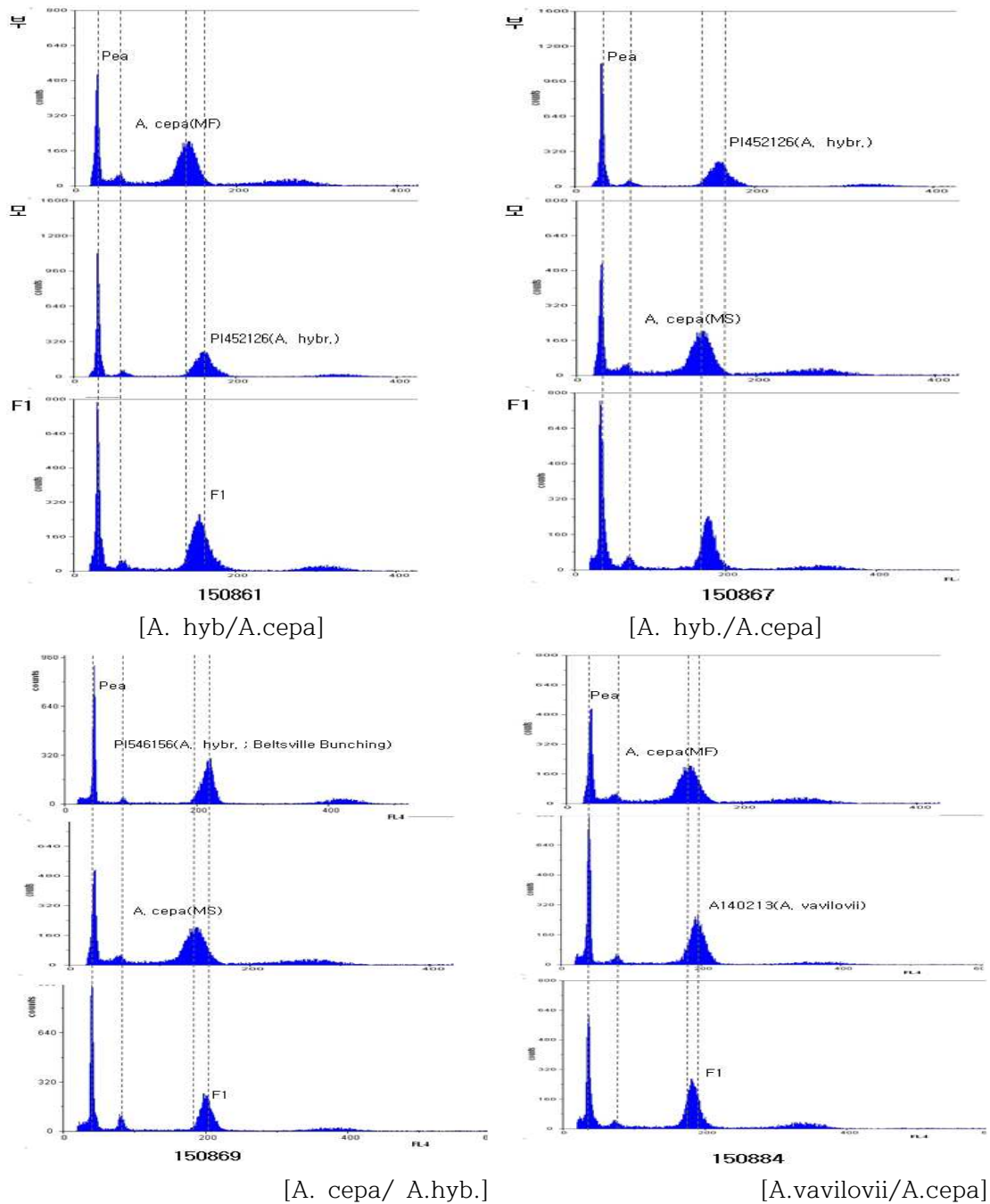


그림 36. *A. vavilovii* 의 화구와 개화

표 44. 양파 품종간 교배 및 채종 내역

| 번호 | 교배조합                 | 채종량(g) | 비고                             |
|----|----------------------|--------|--------------------------------|
| 1  | PI546083-1/130072    | 6      | Indian Queen                   |
| 2  | PI546083-2/130072    | 6      | Indian Queen                   |
| 3  | PI546083-1/130132    | 6      | Indian Queen                   |
| 4  | 130708-4ms/PI54610   | 4      | White Sweet Spanish California |
| 5  | 130708-4ms/PI546164  | 3      | Yellow Grano                   |
| 6  | 130011-5ms/PI546212  | 6      | B 02148 A                      |
| 7  | PI546212ms/130072    | 9      | B 02150 A                      |
| 8  | PI546212/130102      | 3      | B 02152 A                      |
| 9  | PI546212ms/130132    | 10     | B 02154 A                      |
| 10 | PI546212ms/PI546213  | 4      | B 02156 A                      |
| 11 | 130702-5ms/PI546222  | 1      | B 05546 B                      |
| 12 | PI546213/PI546212    | 5      | B 02147 B                      |
| 13 | PI546213ms/130102    | 1      | B 02147 B                      |
| 14 | 1303655-4ms/PI639252 | 5      | NuMex Jose Fernandez           |
| 15 | PI639258ms/130102    | 8      | M175                           |
| 16 | 130701-6MS/Santero   | 2      | Santero                        |

표 44는 국내육성 양과계통과 도입한 유전자원가의 교배 및 채종내역이다. 16조합을 채종하였으며 교배모본으로 이용된 유전자원은 국외에서 오랫동안 양과 육종소재로 이용된 고정계통으로 국내품종과 유사한 단일형의 특성이 있고 pink root 저항성, 저장성, 구피색 등에서 우수한 특성을 가진 품종으로 알려져 있어 국내 양과 품종육성의 유용한 자원으로 이용가능성이 높다. F1 계통들은 국내에 적응성과 원예적 특성을 검토하여 육종소재로 이용할 예정이다. 중간교잡식물체들의 잡종 확인은 Flow Cytometry를 이용하여 2C DNA content 측정하였다 (그림 37).





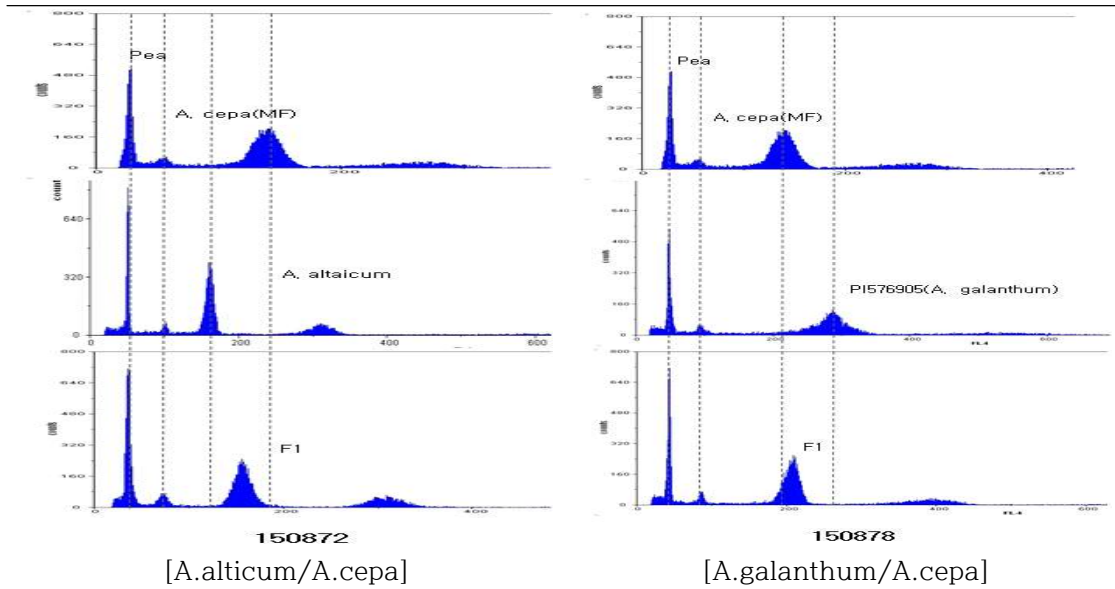


그림 37. Flowcytometry를 이용한 중간교잡식물체들의 교잡검정

#### 다. 노균병 저항성 계통 선발

노균병(*Peronospora destructor*)은 저온 다습한 조건에서 발생하는 병으로 국내 양파 주산단지에서 가장 피해가 심한 병이다. 노균병은 발생시기에 따라 1차 노균병과 2차 노균병으로 분류하며 1차 노균병은 토양이나 병든 식물체에서 난포자로 잠복한 후 양파 육묘상과 본포에서 양파 육묘를 감염시키며 병징은 2월부터 4월에 나타나며 전신감염 형태로 나타나기 때문에 약제방제가 불가능하다. 2차 노균병은 1차 노균병 감염주에서 분생포자가 발생하여 공기전염하며 농약살포 등에 의해 방제가 가능하다. 양파 재배에서 가장 심한 피해를 주는 것은 1차 노균병으로 국내에서 재배되는 품종들은 노균병에 저항성이 없는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 야생종인 *Allium roylei*에서 노균병저항성 형질을 도입하여 육성한 Santero를 도입하여 양파나라에서 육성중인 5계통에 대한 노균병 이병성검정을 수행하였고 국내에서 재배되고 있는 국내육성품종과 수입품종 18품종에 대한 노균병에 대한 감수성을 검정하였다. 노균병은 활물기생으로 균주배양법이 확립되어 있지 않아 연구소내에 노균병 이병포장에서 수행하였다. 노균병 저항성 육성계통에 대한 노균병 저항성 검정은 시판품종인 로망과 선파위를 대비품종로 하여 1144 등 5계통을 실험재료로 하여 수행하였다. 결과에서 1차 노균병 감염주는 로망에서 가장 대비품종인 로망이 41.8%가 감염되었으나 시험계통인 1144 등 5계통은 감염주 발생 정도가 낮았다. 특히 1147과 1148을 이병주 발생이 없었다 (표 45). 그러나 2차 노균병은 대비품종들에 비해 낮았으나 감염주가 발생하여 완전한 저항성은 아닌 것으로 판단되었다.

표 45. 노균병 저항성 육성계통의 저항성 검정

| 구 분          | 로망   | 선파위 | 1144 | 1145 | 1146 | 1147 | 1148 |
|--------------|------|-----|------|------|------|------|------|
| 1차노균병 이병율(%) | 41.8 | 7.2 | 6.8  | 0.4  | 0.2  | 0.0  | 0.0  |
| 2차노균병 이병정도   | +++  | ++  | +    | +    | +    | +    | +    |

### (1) 국내 시판 품종의 노균병 저항성 검정

국내에서 재배되고 있는 국내 육성품종과 수입품종 마르시노310 등 18품종에 대해 1차 노균병 발병율을 노균병 이병포장에서 검정하였다. 실험결과에서 전 품종모두 노균병에 감염되었으나 품종 간에 발병율의 차이를 보였다. 시험품종 중 로망 등 6품종은 노균병 발병율이 40%이상 높게 나타났으며 웰빙볼 등 6품종은 노균병 발병율이 10% 이하였다 ( 그림 15).

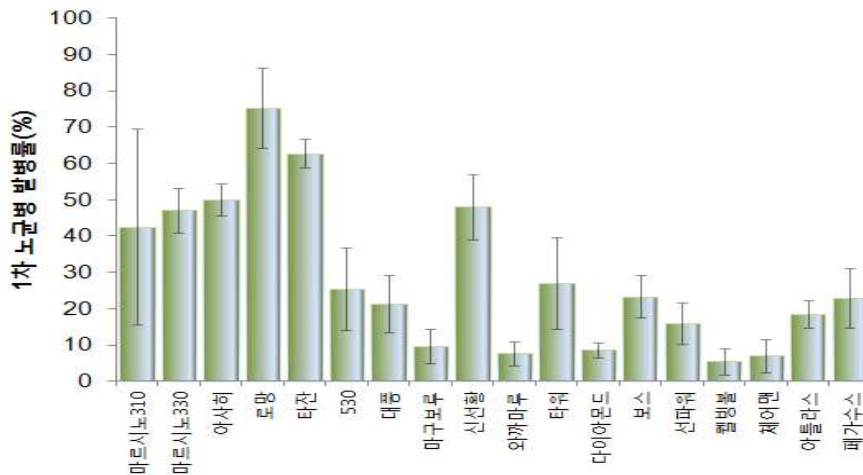


그림 38. 품종별 1차 노균병 발병률

### (2) 종간교잡 육성계통 및 수집 유전자원의 노균병 저항성 검정

Allium 속 가운데 노균병저항성 형질은 *A. roylei* 가 가지고 있다는 연구결과 보고가 다수 있고 *A. roylei*에서 노균병 저항성을 도입하여 이미 시판품종이 국외에서 재배되고 있지만 앞선 실험결과에서 국내 환경에서는 노균병에 대한 저항성이 다소 낮은 것으로 나타났다. 노균병은 각 종마다 노균병 발현 양상이 다르게 나타나며 잎의 큐티클층의 발달, 표피조직의 세포벽 성분, 기공의 밀도 등이 영향을 미친다고 한다. 따라서 새로 교잡한 종간교잡 F1계통과 과속유전자원들에 대한 노균병 저항성을 검토하고자 수행하였다. 시험재료는 종간교잡 F1 20계통, 양과 F1 18계통, Allium 속 유전자원 21계통 및 품종, 국외수집 Indian Queen 등 18품종, 국내 주요재배품종 마르시노310 등 30품종을 공시하였다. 2015년에 채종. 파종하여 2016년에 노균병검정을 수행하고자 한다.

### (3) 노균병 저항성 검정계통 검정 시험재료

표 46. 종간교잡 F1계통 : 20계통 ('15 채종- 파종- '16특성평가)

| 번호 | 교배조합              | Source              |
|----|-------------------|---------------------|
| 1  | PI452126ms/130072 | Alliumhybr.         |
| 2  | PI452126ms/130174 | Allium hybr.        |
| 3  | PI546156/130174   | Beltsville Bunching |
| 4  | PI546156/130174   | Beltsville Bunching |
| 5  | PI656892ms/130174 | Brown Beauty        |

|    |                       |                     |
|----|-----------------------|---------------------|
| 6  | PI662395/130072       | Pacesetter          |
| 7  | 130701-7ms/PI452126   | Alliumhybr.         |
| 8  | 130701-5ms/PI452126   | Alliumhybr.         |
| 9  | 130708-10ms/PI546156  | Beltsville Bunching |
| 10 | PI656892ms/PI656892   | Brown Beauty        |
| 11 | A140206/120140        | Alliumaltaicum      |
| 12 | PI 576905/130012-10mf | Allium galanthum    |
| 13 | A140212/130323        | Alliumvavilovii     |
| 14 | A140212/130760        | Alliumvavilovii     |
| 15 | A140213/130323        | Alliumvavilovii     |
| 16 | A140213/130323        | Alliumvavilovii     |
| 17 | A140214/130742        | Alliumvavilovii     |
| 18 | 130701-7ms/PI546077   | Alliumcepa          |
| 19 | PI546083-1/130072     | Alliumcepa          |
| 20 | PI546083-2/130072     | Alliumcepa          |

표 47. 품종 간 교잡 F1계통 : 18계통 ('15 채종- 파종- '16특성평가)

| 번호 | 교배조합                 | 비고  |
|----|----------------------|---|
| 21 | PI546083-1/130132    | Alliumcepa Indian Queen                   |
| 22 | 130708-4ms/PI54610   | Alliumcepa White Sweet Spanish California |
| 23 | 130708-4ms/PI546164  | Alliumcepa Yellow Grano                   |
| 24 | 130011-5ms/PI546212  | Alliumcepa B 01247A                       |
| 25 | PI546212ms/130072    | Alliumcepa B 01248A                       |
| 26 | PI546212/130102      | Alliumcepa B 01249A                       |
| 27 | PI546212ms/130132    | Alliumcepa B 01250A                       |
| 28 | PI546212ms/PI546213  | Alliumcepa B 12115 C                      |
| 29 | 130702-5ms/PI546222  | Alliumcepa B 05546 B                      |
| 30 | PI546213/PI546212    | Alliumcepa B 02147 B                      |
| 31 | PI546213ms/130102    | Alliumcepa B 02147 B                      |
| 32 | 1303655-4ms/PI639252 | Alliumcepa NuMex Jose Fernandez           |
| 33 | PI639258ms/130102    | Alliumcepa M172                           |
| 34 | 130701-6ms/Santero   | Alliumcepa BC1F1                          |
| 35 | ON1144/130011-5ms    | Alliumcepa 산테로BC2F1(양파나라)                 |
| 36 | ON1145ms/130012-10   | Alliumcepa 산테로BC2F1 (양파나라)                |
| 37 | ON1145ms⊗130012-10   | Alliumcepa 산테로BC2F1 (양파나라)                |
| 38 | ON1145ms/130040      | Alliumcepa 산테로BC2F1 (양파나라)                |

표 48. Allium 속 유전자원 검정 : 21계통 및 품종

| 번호 | 계통명         | 비고                              |
|----|-------------|---------------------------------|
| 39 | PI452126-1⊗ | Alliumhybr.                     |
| 40 | PI546156⊗   | Alliumhybr. Beltsville Bunching |
| 41 | PI546156-1⊗ | Alliumhybr. Beltsville Bunching |
| 42 | PI546156-2⊗ | Alliumhybr. Beltsville Bunching |
| 43 | PI662396-1⊗ | Alliumhybr. Golden Beauty       |
| 44 | PI662396-2⊗ | Alliumhybr. Golden Beauty       |

|    |                        |                        |                              |
|----|------------------------|------------------------|------------------------------|
| 45 | PI546228-3             | <i>Alliumhybr.</i>     | Improved Beltsville Bunching |
| 46 | PI 546339-6            | <i>Alliumhybr.</i>     | F-C 8492                     |
| 47 | PI 546339-7            | <i>Alliumhybr.</i>     | F-C 8492                     |
| 48 | PI 546343-5            | <i>Alliumhybr.</i>     | GA-C 76                      |
| 49 | PI 546343-6            | <i>Alliumhybr.</i>     | GA-C 76                      |
| 50 | A140205 OP             | <i>Alliumaltaicum</i>  | PI 576874                    |
| 51 | A140206 OP             | <i>Alliumaltaicum</i>  | W6 12751                     |
| 52 | A140207 OP             | <i>Alliumaltaicum</i>  | W6 18947                     |
| 53 | PI 280549 OP           | <i>Alliumaltaicum</i>  | PI 280549                    |
| 54 | PI 483406 OP           | <i>Alliumaltaicum</i>  | PI 483406                    |
| 55 | W6 12751 OP            | <i>Alliumaltaicum</i>  | W6 12751                     |
| 56 | A140212⊗SIB-1          | <i>Alliumvavilovii</i> | PI 281727                    |
| 57 | A140212⊗SIB-2          | <i>Alliumvavilovii</i> | PI 281727                    |
| 58 | PI281727-1⊗            | <i>Alliumvavilovii</i> | '207                         |
| 59 | PI281727-2⊗            | <i>Alliumvavilovii</i> | '207                         |
| 60 | <i>Allium altaicum</i> | <i>Alliumaltaicum</i>  |                              |

국내외 시판품종 노균병 저항성 검정 : 국외수집 18품종, 국내시판30품종

표 49. 국외수집 품종 : Indian Queen 등 18품종

| 번호  | 품종 및 계통명       | 비 고                 |
|-----|----------------|---------------------|
| 61  | PI546083-2⊗    | Indian Queen        |
| 62  | PI546093⊗SIB-1 | Early Crystal       |
| 63  | PI546096-1⊗    | Southport Red Globe |
| 64  | PI546106⊗      | White Sweet Spanish |
| 65  | PI546109-1⊗    | Early Texas White   |
| 66  | PI546119-2⊗    | Eclipse L 304       |
| 67  | PI546119⊗SIB-1 | Eclipse L 305       |
| 68  | PI546140⊗      | San Joaquin         |
| 69  | PI546150⊗SIB   | U 16-3-10-2B        |
| 70  | PI546164-1⊗    | Yellow Grano        |
| 105 | 4018           | EnzaZaden(AU)       |
| 106 | 4058(1)        | Enza Zaden(AU)      |
| 107 | 4058(2)        | Enza Zaden(AU)      |
| 108 | 4060           | EnzaZaden(AU)       |
| 109 | Shinto         | EnzaZaden(NL)       |
| 110 | Red spur       | Enza seeds(NL)      |
| 111 | Lousia         | Enza seeds(NL)      |
| 112 | Sorebeno       | Enza seeds(NL)      |

표 50. 국내 주요재배품종 : 30품종

| 번호 | 품종명     | 비 고 |
|----|---------|-----|
| 1  | 마르시노310 | 수입  |
| 2  | 상상불     |     |
| 3  | 라피도300  |     |

|    |          |    |
|----|----------|----|
| 4  | 에스엔피2    |    |
| 5  | 놀라운      |    |
| 6  | 젤빠른      |    |
| 7  | 마르시노330  |    |
| 8  | 로망       | 수입 |
| 9  | 얼리-7     |    |
| 10 | 더신기한     |    |
| 11 | 선파워      |    |
| 12 | 터보       | 수입 |
| 13 | 카타마루     | 수입 |
| 14 | 신나는      |    |
| 15 | 큰솔       |    |
| 16 | 거창한      |    |
| 17 | 황제       |    |
| 18 | 파워볼      |    |
| 19 | e -조은    |    |
| 20 | 엄청난      |    |
| 21 | 슈퍼리치     | 수입 |
| 22 | 인터쿨러70   | 수입 |
| 23 | 케이스타     |    |
| 24 | 케이맥스     |    |
| 25 | 오삼공      |    |
| 26 | TS-3281  |    |
| 27 | 신기2호     |    |
| 28 | 탱글이(28호) |    |
| 29 | 천주적      | 수입 |
| 30 | 항후       |    |

### 9. 양파 반수체 배양을 통한 다양한 계통 개발

#### 가. GSP 참여 연구소 및 종자회사 육성계통 반수체 유래 계통 생산 및 분양

GSP 참여 연구소 및 종자회사로부터 반수체 유래 계통 생산 및 분양 의뢰를 받아 2013년 여름 국립식량과학원 바이오에너지센터(현 국립원예특작과학원 채소과 파속연구실)로부터 14 계통 210개체, (주)동부팜한농으로부터 5 계통 100개체, 농협종묘센터로부터 2계통 50개체, 양파나라로부터 3 계통 60개체 등 총 24계통 435개의 양파 종구를 인수 받음(표 51)

표 51. 지방배양(미숙화되배양) 요청 기관, 계통 및 개체 수

| 회사명 또는 기관명 | 계통명  | 개체수 | 비고 |
|------------|------|-----|----|
| 동부팜한농(주)   | OC01 | 20  |    |
|            | OC02 | 20  |    |
|            | OC03 | 20  |    |
|            | OC04 | 20  |    |
|            | OC05 | 20  |    |
| 농협종묘센터     | 551  | 25  |    |
|            | 553  | 25  |    |
| 양파나라       | 422  | 20  |    |
|            | 1321 | 20  |    |
|            | 1322 | 20  |    |

|                     |           |    |
|---------------------|-----------|----|
| 국립식량과학원<br>바이오에너지센터 | 원예30001 B | 15 |
|                     | 원예30002 A | 15 |
|                     | 원예30002 B | 15 |
|                     | 원예30003 A | 15 |
|                     | 원예30003 B | 15 |
|                     | 원예30004 A | 15 |
|                     | 원예30004 B | 15 |
|                     | 원예30005 A | 15 |
|                     | 원예30005 B | 15 |
|                     | 원예30006 A | 15 |
|                     | 원예30006 B | 15 |
|                     | 원예30008 A | 15 |
|                     | 원예30008 B | 15 |
| Y-3                 | 15        |    |

### 나. 양파 월동재배

GSP 참여 연구소 및 종자회사로부터 인수한 24계통 435 개체의 종구를 2013년 11월 4일부터 6일까지 국립원예특작과학원 채소과 비닐하우스에 정식한 후 월동재배를 실시함(그림 39)

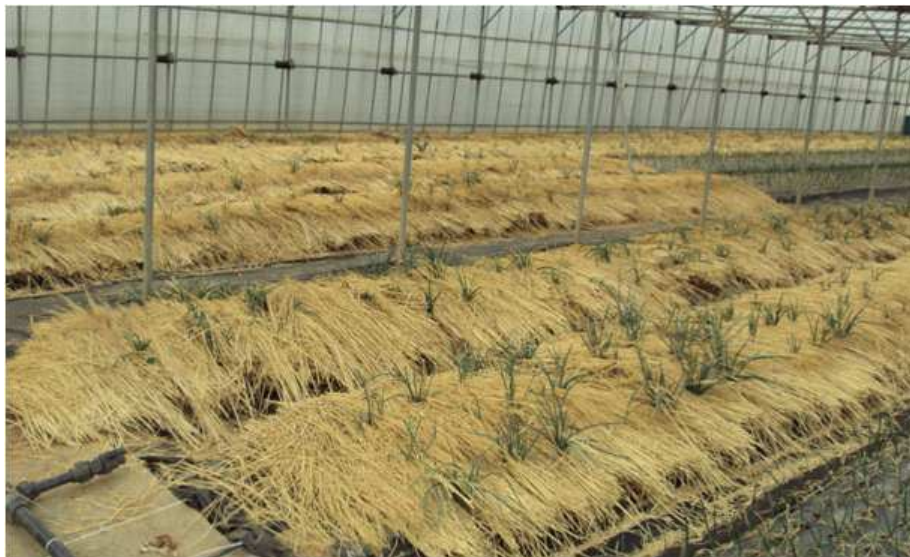


그림 39. 자방배양(미숙화뢰배양) 의뢰받은 개체의 월동 모습

모든 양파 개체의 월동기간 중 벚짚으로 지하부를 보온하였고(그림 39) 대부분의 양파 계통의 생육은 양호하였으나(그림 40) 일부 개체는 월동 중 고사하였다. 2014년 3월 하순 하우스의 기온과 지온이 충분히 오른 후 벚짚을 제거하였으며 이후 재배는 양파 농업기술 길잡이에 준하여 재배하였다.



동부팜한농 'OC02'

양파나라 '422'

농협종묘센터 '551'

바이오에너지센터  
'원예30004A'

그림 40. 배양 의뢰받은 개체의 월동 후 생육 모습

#### 다. 양과 미숙화뢰배양

양과의 추대 시기 및 화뢰발생기는 계통별에 따라 달랐으며 5월 중순부터 시작하여 6월 하순까지 지속되었다. 5월 중순 이후부터 미숙화뢰배양에 적합한 단계의 미숙화뢰를 채취하여 미숙화뢰배양을 실시하였으며 총 24계통으로부터 404,175개의 화뢰를 16,167개의 petri-dish에 치상하였으며 petri-dish 당 평균 25개의 미숙화뢰를 치상하였다 (그림 41).

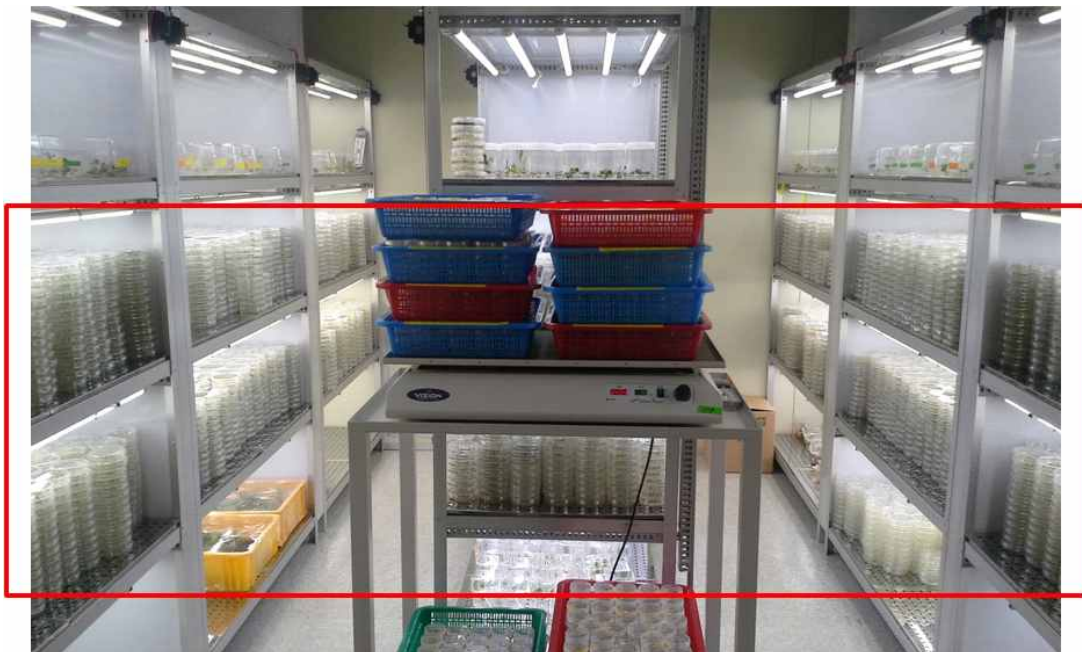


그림 41. 조직배양실 미숙화뢰배양 전경

채취한 미숙화뢰는 12%의 락스에 15분간 세척한 후 멸균수로 3회 행군된 BDS 배지에 치상하였으며 이 후 1/2 BDS 배지에 계대배양한 후 유식물체를 1/2 MS 배지에 치상하여 발근시킨 후 화분으로 옮겨 온도가 5°C 이상으로 유지되는 하우스에서 순화하였음(그림 42)

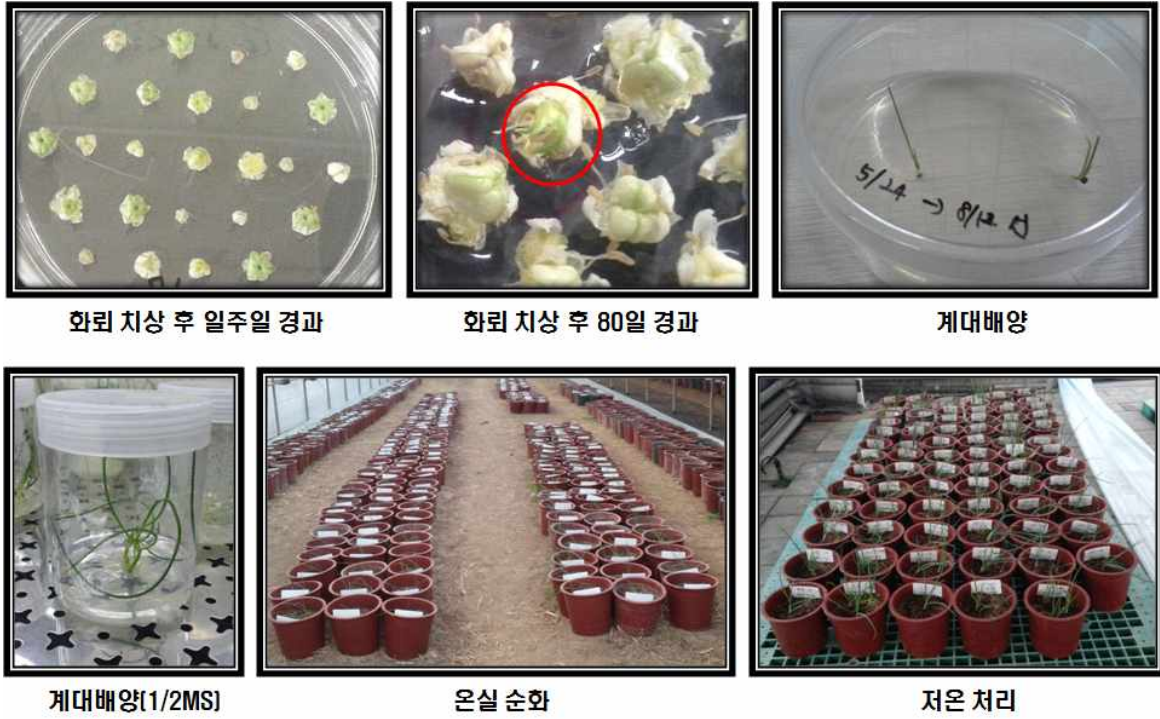


그림 42. 양파 미숙화뢰배양 단계별 식물체 사진

전체 배양한 404,175개의 화뢰 중 667개의 반수체 유래 개체가 생산되어 반수체 유래 개체 생산율은 0.17%이었으나 계통에 따라 큰 차이를 보였음(표 52)

배양화뢰수가 적었던 계통을 제외하고 원예30005B 계통이 11,125개의 화뢰 중 반수체 유래 개체를 단 1개만 생산하여 생산율이 0.01%로 가장 낮았으나 원예30008B의 경우 총 14,950개의 화뢰 중 91개의 반수체 유래 개체를 생산하여 생산율이 0.61%로 가장 높았음(표 52)

표 52. 양파 미숙화뢰배양 내역 및 반수체 유래 개체 생산율

| 회사명(기관)                        | 계통명       | 배양화뢰수(개) | 반수체 유래 개체수 | 반수체 유래 개체 생산율(%) |
|--------------------------------|-----------|----------|------------|------------------|
| 동부팜한농(주)                       | OC01      | 22,525   | 7          | 0.03             |
|                                | OC02      | 1,000    | -          | 0.00             |
|                                | OC03      | 16,525   | 36         | 0.22             |
|                                | OC04      | 3,300    | 2          | 0.06             |
|                                | OC05      | 525      | -          | 0.00             |
| 농협종묘센터                         | 551       | 19,050   | 4          | 0.02             |
|                                | 553       | 28,700   | 106        | 0.37             |
| 양파나라                           | 422       | 17,325   | 3          | 0.02             |
|                                | 1321      | 27,525   | 7          | 0.03             |
|                                | 1322      | 39,350   | 195        | 0.50             |
| 식량원<br>바이오에너지센터<br>(현 원예원 채소과) | 원예30001 B | 11,675   | 22         | 0.19             |
|                                | 원예30002 A | 11,225   | 20         | 0.18             |
|                                | 원예30002 B | 12,950   | -          | 0.00             |
|                                | 원예30003 A | 15,400   | 6          | 0.04             |
|                                | 원예30003 B | 11,125   | 1          | 0.01             |
|                                | 원예30004 A | 19,750   | 21         | 0.11             |
|                                | 원예30004 B | 10,075   | 5          | 0.05             |



|  |           |         |     |      |
|--|-----------|---------|-----|------|
|  | 원예30005 A | 18,075  | 4   | 0.02 |
|  | 원예30005 B | 17,950  | 1   | 0.01 |
|  | 원예30006 A | 14,675  | 54  | 0.37 |
|  | 원예30006 B | 24,100  | 47  | 0.20 |
|  | 원예30008 A | 10,875  | 31  | 0.29 |
|  | 원예30008 B | 14,950  | 91  | 0.61 |
|  | Y-3       | 18,400  | 4   | 0.02 |
|  | 계         | 404,175 | 667 | 0.17 |

### ○ 양파 반수체 유래 개체 분양

양파나라에서 분양 의뢰받은 SPBDA4-3-1, SPBDA11-2-4, SPBDA11-2-6, SPBDA13-1-1, MBB423-5-2-2, GM101-2-2-1, 09OP2-2 및 TB204-4-4-2-2 등 8계통의 미숙화뢰배양을 통해 생산된 반수체 유래 계통을 분양(그림 43, 채소과-608, 2014. 4. 4.)

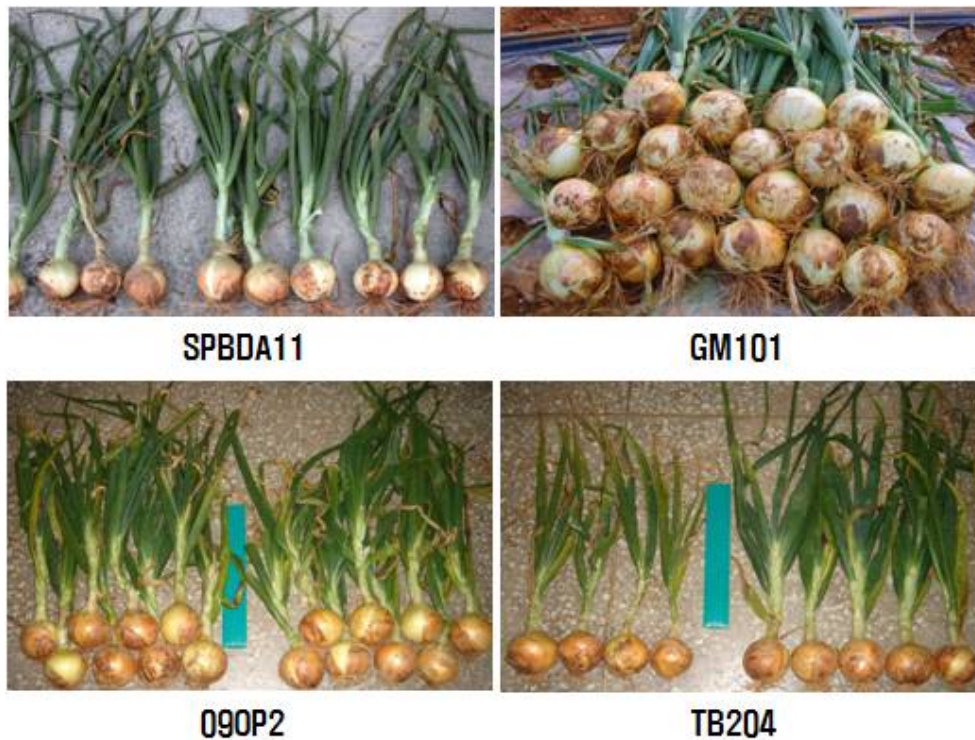


그림 43. 분양 완료한 반수체 유래 계통 사진

2014년 가을 및 겨울에 생산되어 순화가 완료된 21계통 667개의 양파 유식물체를 가온하지 않는 하우스로 옮겨 저온처리하였으며 2015년 2월에 의뢰한 회사에 분양.

## 10. 양파 주요 leading 품종 수집 및 특성 평가

### 가. 양파 주요 목표 수출시장별 선도 품종 수집

공무국외여행 중 중국 허베이성 종자시장에서 중국 양파 시판 품종 ‘金冠洋葱王’(금관양창왕)을 수집하고 안후이성 종자시장에서 적양파인 ‘紅皮洋葱’(홍피양충) 등 총 2점 수집(그림 44) 수집 종자는 노지 및 하우스 특성 검정을 실시한 후 농업유전자원센터에 유전자원으로 등록할 예정이다



그림 44. 중국 양파시판품종 홍피양총(좌) 및 금관양창왕(우)

#### 나. 국외 품종 유래 계통의 미숙회피 배양 및 계통 특성 평가

국외 품종 유래 8 계통을 양파나라로부터 배양 의뢰 받아 미숙회피배양을 실시하였으며 미숙회피배양 방법은 상기 방법과 같음 미숙회피배양으로 생산된 반수체 유래 계통을 계통 당 10점 총 80점을 분양하였음(채소과-608, 2014. 4. 4.) 분양한 양파 계통을 포장재배한 후 4월에서 6월 사이에 수확하여 그 특성을 조사하였으며 조사항목은 초형, 엽색, 구형, 숙기, 수량성, 저장성 등이었음(표 53)

표 53. 국외 품종 유래 양파 반수체 유래 계통의 특성

| 계통명           | 초형  | 엽색 | 구형     | 숙기   | 수량성 | 저장성 | 비고                           |
|---------------|-----|----|--------|------|-----|-----|------------------------------|
| SPBDA4-3-1    | 입성  | 진녹 | 원형     | 6월초  | 상   | 상   | 저장성, 수량성이 좋은 중생종             |
| SPBDA11-2-4   | 입성  | 진녹 | 원형     | 6월초  | 중   | 중   | 구피색이 좋은 중생종                  |
| SPBDA11-2-6   | 입성  | 진녹 | 고구형 원형 | 6월중순 | 상   | 상   | 저장성, 수량성, 재배 안정성이 좋은 중만생     |
| SPBDA13-1-1   | 입성  | 진녹 | 고구형 원형 | 6월중순 | 상   | 상   | 중만생 아계                       |
| MBB423-5-2-2  | 반개장 | 녹  | 원형     | 5월중순 | 상   | 중   | 비대력과 내한성이 좋다                 |
| GM101-2-2-1   | 반개장 | 연녹 | 편구형    | 4월초  | 중   | 하   | 극조생                          |
| 09OP2-2       | 입성  | 진녹 | 원형     | 6월초  | 상   | 상   | 초형이 좋고, 엽이 가늘다               |
| TB204-4-4-2-2 | 입성  | 진녹 | 고구형 원형 | 5월말  | 중   | 상   | 숙기가 빠르고 저장성이 좋고, 입성직립, 진녹의초형 |

계통별로 숙기가 최대 70일까지 차이를 보였는데 계통 중 GM101-2-2-1은 숙기가 4월 초로 극조생종이었고 SPBDA11-2-6과 SPBDA13-1-1은 6월 중순으로 중만생종이었으며 기타

계통별 특성은 표 53와 같음

## 11. 양파 지방배양에 적합한 모식물체 최적생육조건 탐색 및 지방배양 기술 정립

### 가. 양파 미숙화뢰배양을 위한 적정 조건 확립

양파 미숙화뢰배양시 모식물체의 월동재배 생존율이 반수체 유래 개체 생산율에 미치는 영향을 조사하였으나 뚜렷한 상관관계는 보이지 않았음(표 54)

표 54. 지방배양(미숙화뢰배양) 요청 기관, 계통 및 개체 수

| 계통명       | 개체수 | 월동재배 후<br>생존개체 | 월동재배<br>생존율(%) | 반수체 유래 개체<br>생산율(%) |
|-----------|-----|----------------|----------------|---------------------|
| OC01      | 20  | 19             | 95.0           | 0.03                |
| OC02      | 20  | 1              | 5.0            | 0.00                |
| OC03      | 20  | 16             | 80.0           | 0.22                |
| OC04      | 20  | 2              | 10.0           | 0.06                |
| OC05      | 20  | 1              | 5.0            | 0.00                |
| 551       | 25  | 20             | 80.0           | 0.02                |
| 553       | 25  | 25             | 100.0          | 0.37                |
| 422       | 20  | 17             | 85.0           | 0.02                |
| 1321      | 20  | 20             | 100.0          | 0.03                |
| 1322      | 20  | 20             | 100.0          | 0.50                |
| 원예30001 B | 15  | 11             | 73.3           | 0.19                |
| 원예30002 A | 15  | 11             | 73.3           | 0.18                |
| 원예30002 B | 15  | 12             | 80.0           | 0.00                |
| 원예30003 A | 15  | 14             | 93.3           | 0.04                |
| 원예30003 B | 15  | 11             | 73.3           | 0.01                |
| 원예30004 A | 15  | 15             | 100.0          | 0.11                |
| 원예30004 B | 15  | 10             | 66.7           | 0.05                |
| 원예30005 A | 15  | 15             | 100.0          | 0.02                |
| 원예30005 B | 15  | 15             | 100.0          | 0.01                |
| 원예30006 A | 15  | 13             | 86.7           | 0.37                |
| 원예30006 B | 15  | 15             | 100.0          | 0.20                |
| 원예30008 A | 15  | 9              | 60.0           | 0.29                |
| 원예30008 B | 15  | 13             | 86.7           | 0.61                |
| Y-3       | 15  | 15             | 100.0          | 0.02                |

또한 적정 미숙화뢰 채취시기를 구명하기 위하여 계통별 채취시기를 조사하였으나 계통별로 추대 및 개화시기가 크게 달라 일정한 경향을 찾기 어려웠음

### 나. Flow cytometry를 이용한 양파 반수체 및 배수체 검정법 확립

- 양파 반수체 유래 계통의 배수성 검정을 위하여 flow cytometry를 이용한 양파 배수성 검정법을 확립하였다. CyStain ultraviolet Precise P Nuclei Extraction Buffer(Partec, Münster, Germany)가 든 petri-dish에 어린 잎 1cm<sup>2</sup>를 넣은 후 면도날로 30초 동안 잘게 잘라 nuclei를 나출하였다. 나출된 nuclei를 함유한 용액을 30µm nylon mesh (Partec GmbH, Gorlitz, Germany)에 여과한 하여 식물체 부스러기를 제거한 후 여과액을 DAPI staining buffer(CyStain ultraviolet Precise P Staining Buffer; Partec, Münster, Germany)를 이용하

여 염색하였다. Partec CyFlow SL(Partec GmbH, Mu'nster, Germany) 기기를 이용하여 샘플당 3,000개 이상의 염색된 nuclei를 측정 한 후 peak의 상대적 거리를 측정하여 배수성 검정을 실시하였음(그림 45)

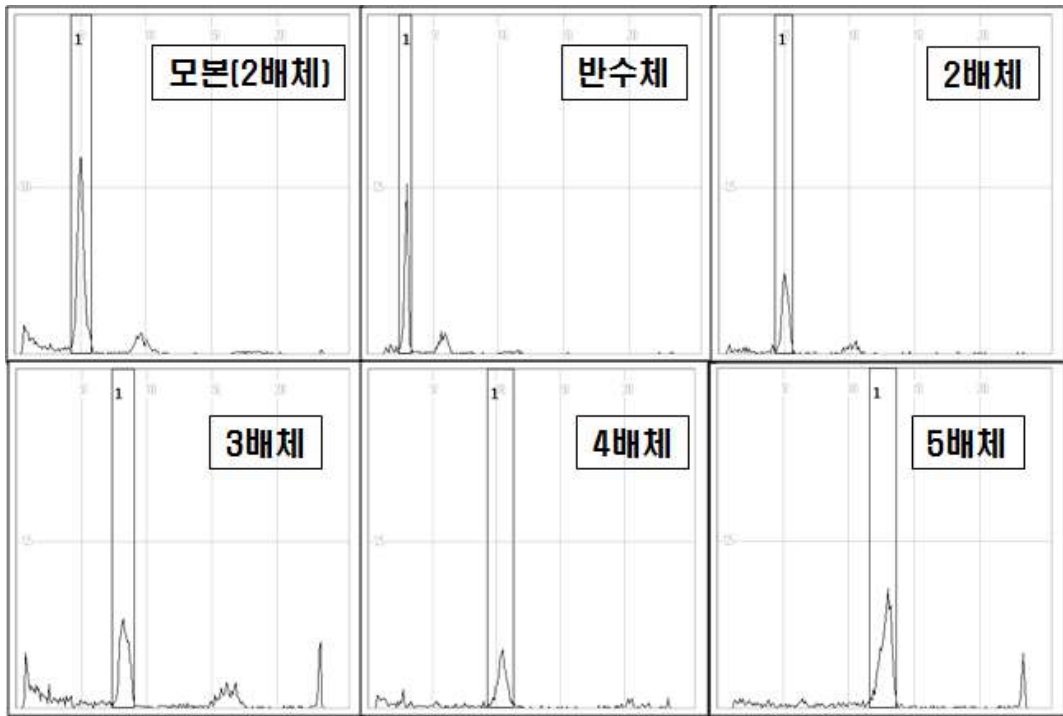


그림 45. Flowcytometry를 이용한 양과 배수체의 검정

Flow cytometry를 이용한 배수성 검정법을 확립한 후, 미숙화뢰배양을 통하여 생산된 반수체 유래 계통의 배수성 검정을 실시하였음(표 55) 반수체 유래 계통의 배수성을 조사한 결과, 반수체 유래 계통 중 반수체의 비율이 가장 높았고 그 다음이 2배체였으며 3배체, 4배체 5배체도 발생하는 것으로 나타났음(표 55)

표 55. 양과 자방배양(미숙화뢰배양) 유래 개체의 배수성 검정

| 계 통 | 유식물체수 | 반수체수  | 2배체수 | 3배체수 | 4배체수 | 5배체수 | 반수체 +2배체 |
|-----|-------|-------|------|------|------|------|----------|
| 835 | 82    | 62    | 20   | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 837 | 5     | 5     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 845 | 63    | 42    | 19   | 2    | 0    | 0    | 0        |
| 851 | 1     | 1     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 852 | 32    | 18    | 14   | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 854 | 16    | 9     | 6    | 0    | 0    | 0    | 1        |
| 856 | 3     | 3     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 868 | 10    | 4     | 6    | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 890 | 1,415 | 1,121 | 234  | 1    | 22   | 2    | 35       |
| 912 | 12    | 4     | 8    | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 891 | 53    | 40    | 13   | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 895 | 2     | 2     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0        |
| 968 | 330   | 216   | 104  | 2    | 4    | 0    | 4        |
| 계   | 2,024 | 1,527 | 424  | 5    | 26   | 2    | 40       |

**다. 미숙화퇴배양 결과(2014~2015)**

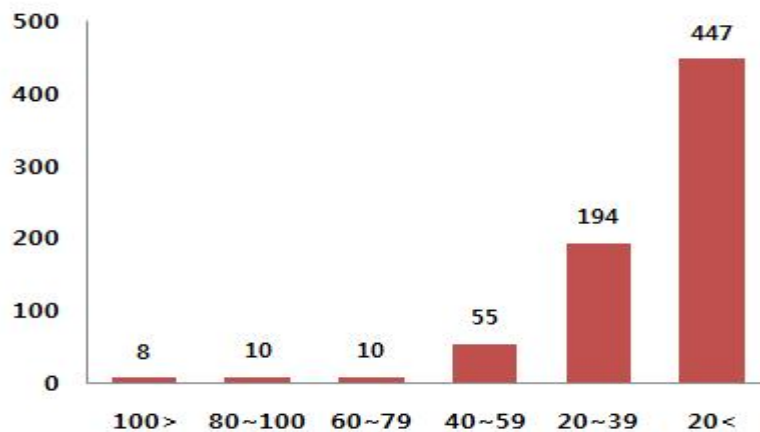
양과 반수체 배양을 통한 DH 계통을 육성하기 위해 응성불임14계통, 화분친(고정종) 8계통을 시험재료로 미숙화퇴배양을 수행하였다. 2015년 5월 응성불임계통 유래 78계통630개체를 수확하였으나 모구저장 중 부패 등이 발생하여 267개체를 채종하우스에 정식하였고 화분친유래 반수체는 24계통121개체를 수확하고 34개체를 채종하우스에 정식하였다(표 56, 표 57).

**표 56. 미숙화퇴배양 유래 응성불임계통 모구생산**

| 구 분 | 30001 |    | 30002 |    | 30003 |   | 30004 |    | 30005 |    | 30006 |     | 30008 |    | 계   |     |
|-----|-------|----|-------|----|-------|---|-------|----|-------|----|-------|-----|-------|----|-----|-----|
|     | A     | B  | A     | B  | A     | B | A     | B  | A     | B  | A     | B   | A     | B  |     |     |
| 수확  | 계통수   | 5  | 7     | 4  | 0     | 5 | 0     | 7  | 4     | 7  | 0     | 9   | 12    | 7  | 11  | 78  |
|     | 개체수   | 10 | 44    | 27 | 0     | 5 | 0     | 40 | 38    | 13 | 0     | 131 | 129   | 61 | 132 | 630 |
| 정식  | 7     | 33 | 19    | 0  | 2     | 0 | 12    | 7  | 8     | 0  | 58    | 39  | 35    | 47 | 267 |     |

**표 57. 미숙화퇴배양 유래 화분친계통 모구생산**

| 계통명 | Y-3 | 120217 | 120219 | 120283 | 120284 | 120286 | 1322 | 미상 | 계   |
|-----|-----|--------|--------|--------|--------|--------|------|----|-----|
| 수확  | 계통수 | 1      | 2      | 5      | 1      | 3      | 10   | 1  | 24  |
|     | 개체수 | 8      | 0      | 24     | 2      | 7      | 71   | 1  | 121 |
| 정식  | 1   | 0      | 2      | 0      | 0      | 27     | 1    | 3  | 34  |



**그림 46. 미숙화퇴배양 유래 개체의 구중분포**

그림 46은 미숙화퇴배양 유래개체들의 구중 분포이다. 채종이 가능한 구중인 40~50g 이상의 구중을 가진 개체는 83개체였고 대부분 40g 이하였다. 이 소구들은 배수체 검정을 통해 배수성을 판별한 후 DH계통을 선발하여 원예적특성과 채종특성을 검토하고자 한다.



그림 47. 미숙화되배양 유래 종구생산



그림 48. 미숙화되배양 유래 채종모구 정식

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

| 연구개발 목표  | 연구개발내용   | 달성도 (%) |
|--|--|---------|
| □ 제1세부과제 : 양파 분자유종 기반 구축 및 주요 형질 관련 분자표지 개발                  |  |         |
| ○ 유전자지도 기반 여교배 세대단축기술 (Marker assisted backcrossing: MAB) 개발 | - RNA-Seq analysis를 수행하여 주요계통간의 polymorphism분석 및 1000여개의 primer 조합 개발                    | 50      |
| ○ MAB를 이용한 노균병 저항성 계통 개발                                     | - MAB를 위한 recombinant selection 분자표지 개발  | 50      |
| ○ 음성불임 임성 회복유전자 선발용 분자표지 개발                                  | - 음성불임 임성 회복유전자와 perfect linkage disequilibrium을 가지는 분자표지 개발                             | 100     |
| ○ 다양한 양파 구피색 결정 유전자 분리 및 분자표지 개발                             | - 적색을 결정하는 ANS 유전자의 2가지 새로운 돌연변이형 확인   | 100     |
| ○ 양파 F1종자 순도검정 및 향상용 분자표지 개발                                 | - F1종자 순도를 검증할 수 있는 분자표지 개발 및 활용방안 제시  | 100     |
| □ 제2세부과제 : 종간 원연교배를 통한 양파 품종개발 (3년차에 종료됨)                    |  |         |
| ○ 근연종 및 다양한 양파 유전자원 수집 및 특성조사                                | - 국외로부터 다양한 유전자원 수집 및 특성조사 실시  | 100     |
| ○ 종간 교잡을 통한 내병성 형질 도입.                                       | - 양파에 내병성을 도입하고자 파( <i>A. fistulosum</i> )를 비롯한 6가지의 <i>Allium</i> 종과 양파의 종간교잡을 통한 품종 육성 | 50      |
| ○ 종간교잡을 이용하여 새 CMS개발 및 기능성 성분도입                              | - 양파와 3가지의 <i>Allium</i> 종의 종간 교잡을 통한 품종 육성  | 50      |
| ○ 양파 반수체 배양을 통한 다양한 계통 개발                                    | - 667개의 반수체 유래 개체를 생성하였음   | 100     |

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 제1절 정량적 성과

### 1. 성과 목표

| 구분   | 특허 |    | 신품종         |                    |      |    | 유전자원<br>등록 | 논문  |      | 기타 |
|------|----|----|-------------|--------------------|------|----|------------|-----|------|----|
|      | 출원 | 등록 | 품종명<br>명칭등록 | 품종생산<br>수입판매<br>신고 | 품종보호 |    |            | SCI | 비SCI |    |
|      |    |    |             |                    | 출원   | 등록 |            |     |      |    |
| 1차년도 |    |    |             |                    |      |    | 1          |     |      |    |
| 2차년도 |    |    |             |                    | 1    |    | 10         | 2   |      |    |
| 3차년도 | 1  |    |             |                    |      |    |            | 2   | 1    |    |
| 4차년도 |    | 1  |             |                    | 1    |    | 10         | 2   | 2    |    |
| 계    | 1  | 1  |             |                    | 2    |    | 20         | 7   | 3    |    |

### 2. 연구 성과

| 구분   | 특허 |    | 신품종         |                    |      |    | 유전자원<br>등록 | 논문  |      | 기타 |
|------|----|----|-------------|--------------------|------|----|------------|-----|------|----|
|      | 출원 | 등록 | 품종명<br>명칭등록 | 품종생산<br>수입판매<br>신고 | 품종보호 |    |            | SCI | 비SCI |    |
|      |    |    |             |                    | 출원   | 등록 |            |     |      |    |
| 1차년도 | 1  | 1  |             |                    |      |    | 1          |     |      |    |
| 2차년도 |    | 2  |             |                    | 1    |    | 2          |     |      |    |
| 3차년도 | 1  |    |             |                    |      |    | 4          |     |      |    |
| 4차년도 | 2  |    |             |                    |      |    | 4          |     |      |    |
| 계    | 4  | 3  |             |                    | 1    |    | 11         |     |      |    |

### 3. 과제별 성과물

| 성과물<br>유형   | 성 과 물 명  | 성과물 주<br>담당자 | 성과적용<br>년 월 | 성과물<br>승인 여부 |
|-------------|--|--------------|-------------|--------------|
| 논문<br>(SCI) | At least nine independent mutations of the DFR-A gene are responsible for appearance of yellow onions ( <i>Allium cepa</i> L.) from red progenitors                                  | 송숙이<br>김성길   | 2014. 01    | 승인           |
| 논문<br>(SCI) | A codominant molecular marker in linkage disequilibrium with a restorer-of-fertility gene (Ms) and its application in reevaluation of inheritance of fertility restoration in onions | 김성길          | 2014. 10    | 승인           |



|             |  |            |          |    |
|-------------|--|------------|----------|----|
| 논문<br>(SCI) | A high-resolution linkage map of the Rfd1, a restorer-of-fertility locus for cytoplasmic male sterility in radish ( <i>Raphanus sativus</i> L.) produced by a combination of bulked segregant analysis and RNA-Seq.          | 이영표<br>김성길 | 2014. 10 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Characterization of three active transposable elements recently inserted in three independent DFR-A alleles and one high-copy DNA transposon isolated from the Pink allele of the ANS gene in onion ( <i>Allium cepa</i> L.) | 김성길        | 2015. 06 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Application of the Molecular Marker in Linkage Disequilibrium with Ms, a Restorer-of-fertility Locus, for Improvement of Onion Breeding Efficiency   | 김수정<br>김성길 | 2015. 07 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Comparative analysis of complete chloroplast genome sequences of a normal male-fertile cytoplasm and two different cytoplasms conferring cytoplasmic male sterility in onion ( <i>Allium cepa</i> L.)                        | 김성길        | 2015. 08 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Identification of candidate genes associated with fertility restoration of cytoplasmic male-sterility in onion ( <i>Allium cepa</i> L.) using a combination of bulked segregant analysis and RNA-seq                         | 김성길        | 2015. 11 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Development of a simple PCR marker tagging the <i>Allium roylei</i> fragment harboring resistance to downy mildew ( <i>Peronospora destructor</i> ) in onion ( <i>Allium cepa</i> L.)  | 김성준<br>김성길 | 2016. 03 | 승인 |

|             |  |            |          |    |
|-------------|--|------------|----------|----|
| 논문<br>(SCI) | Development of a system for S locus haplotyping based on the polymorphism SLL2 gene tightly linked to the locus determining self-incompatibility in radish ( <i>Raphanus sativus</i> L.)         | 김대현<br>김성길 | 2016. 05 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Completion of the mitochondrial genome sequence of onion ( <i>Allium cepa</i> L.) containing the CMS-S male-sterile cytoplasm and identification of an independent event of the ccmFN gene split | 김봉주<br>김성길 | 2016. 11 | 승인 |
| 논문<br>(SCI) | Identification of two novel ANS alleles responsible for inactivation of anthocyanidin synthase and failure of anthocyanin production in onion ( <i>Allium cepa</i> L.)                           | 김은영<br>김성길 | 2016. 12 | 승인 |
| 특허출원        | 양파 응성-불임 선별용 핵산분자 jnurfl3  | 김성길        | 2013. 11 | 승인 |
| 특허출원        | 양파의 임성회복 관련 분자 마커 및 응성-가임 또는 응성-불임의 선별방법   | 김성길        | 2015. 07 | 승인 |
| 특허출원        | 노균병 저항성 양파 선별용 마커  | 김성길        | 2016. 04 | 승인 |
| 특허출원        | 무의 자가불화합성 결정 유전자형 선별용 프라이머   | 김성길        | 2016. 03 | 승인 |
| 특허등록        | 양파의 응성불임 다형성 마커  | 김성길        | 2013. 12 | 승인 |
| 특허등록        | 양파의 구피색 선별용 분자표지   | 김성길        | 2014. 05 | 승인 |
| 특허등록        | 양파 응성불임 선별용 핵산분자 jnurfl3   | 김성길        | 2015. 01 | 승인 |
| 품종출원        | 원예30012  | 농촌진흥청장     | 2015. 03 | 승인 |

## 제 2절 성과활용 계획

### 1. 양파 응성불임 회복유전자 연관 분자표지 개발

양파는 한 개의 화구(umbel)에서 1000개 이상의 꽃이 피기 때문에 F1채종 시에 응성불임이 필수적으로 필요하다. 이전 연구에서 개발된 세포질 구별 분자표지와 이번 연구에서 개발된 회복유전자 연관 분자표지를 이용한다면 효율적인 F1채종에 유용한 도구이다. 또한 국내 양파 육종회사에서 자유롭게 정보를 이용할 수 있도록 공개하여 국내 양파시장이 더욱 커갈 수 있는 방안을 모색하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

### 2. 적색과 관련된 *ANS* 유전자의 *allele type*을 판별할 수 있는 시스템 구축

최근에 건강에 대한 관심이 높아지면서 적색 양파의 수요가 늘어가고 있다. 적색에 관여하는 유전자는 *DFR*과 *ANS* 유전자가 관여하는 것으로 확인되었기 때문에 이전 연구에서 개발된 *DFR* allele 판별 시스템과 이번 연구에서 개발된 *ANS* 유전자의 allele 판별 시스템을 같이 사용한다면 새로운 적색 품종을 생산하는데 유용하게 사용될 수 있다.

### 3. 양파의 노균병 저항성을 가지는 *Allium roylei* 단편에 대한 분자표지 개발

개발된 4가지 노균병 저항성 연관 분자표지를 이용하여 MAB 시스템으로 국내 양파 계통에 노균병 저항성을 효율적으로 도입할 수 있다면 국내 양파의 수확량을 급증할 수 있을 것이고 저장성 또한 증대할 것으로 생각된다. 또한 이번에 수행된 연구 방식을 적용하여 아직 연구가 미비한 잎마름병과 같은 타병원저항성 분자표지 개발에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

### 4. 종간교잡을 통한 다양한 품종 개발

종간 교잡을 이용하여 얻어진 다양한 품종은 양파가 가지지 못한 이점을 도입할 수 있는 중요한 수단이고 종간교잡을 통해 얻어진 새로운 유전자원은 중요한 F1품종을 개발하는데 활용될 것으로 생각된다.

### 5. 다양한 반수체 계통 개발

본 과제를 통해서 반수체 배양을 통해 667개의 반수체 유래 계통 (Double haploid)을 확보하였다. 이는 2년생 작물과 자식열세라는 단점을 극복할 수 있는 중요한 수단이고 높은 순도의 F1 품종을 개발하는데 유용하게 사용될 것이다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

\* 응성불임에 대한 정보

: 양과의 응성불임은 1925년 Dr. Jones가 Italian Red라는 품종에서 CMS-S를 최초로 보고하였고 1965년 Berninger에 의해 새로운 응성불임인 CMS-T가 보고되었다 (Jones and Emsweller 1936; Berninger 1965). CMS-S 응성불임은 한 개의 회복유전자에 의해 회복될 것으로 추정되었고 CMS-T는 3개의 독립적인 유전자에 의해 회복될 것으로 추정되었다 (Schweisguth 1973). 그러나 본 과제에서 CMS-S 응성불임의 회복유전자 연관 분자표지가 CMS-T 응성불임을 가진 개체의 표현형과 100% 일치함을 확인하였고 따라서 같은 회복유전자에 의해 회복되거나 가깝게 연관된 회복유전자에 의해 회복된다는 사실을 확인할 수 있었다. 또한 최신식 기술인 Next generation sequencing의 RNA-Seq기술과 BSA(Bulked segregant analysis)기술을 이용하여 회복유전자에 대한 perfect linkage disequilibrium을 가지는 연관 분자표지를 개발할 수 있었다.

## 제 7 장 참고문헌

- Bang H, Cho D, Yoo K, Yoon M, Patil BS, Kim S (2011) Development of simple PCR-based markers linked to the Ms locus, a restorer-of-fertility gene in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica* 179:439-449
- Berninger E (1965) Contribution à l'étude de la sterilité mâle de l'oignon (*Allium cepa* L.). *Ann Amélior Plant* 15:183-199
- El-Shafie MW, Davis GN (1967) Inheritance of bulb color in the onion (*Allium cepa* L.). *Hilgardia* 38(17):607-622
- Gökçe AF, Havey MJ (2002) Linkage Equilibrium among Tightly Linked RFLPs and the Ms Locus in Open-pollinated Onion Populations. *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* 127(6): 944-946
- Jones HA, Emsweller SL (1936) A male-sterile onion. *Proc Am Soc Hort Sci* 34:582-585
- Kim S, Binzel M, Yoo K, Park S, Pike LM (2004) Inactivation of DFR (dihydroXavonol 4-reductase) gene transcription results in blockage of anthocyanin production in yellow onions (*Allium cepa*). *Mol Breed* 14:253 - 263
- Kim S, Jones R, Yoo K, Pike LM (2005) The *L* locus, one of complementary genes required for anthocyanin production in onions (*Allium cepa*), encodes anthocyanidin synthase. *Theor Appl Genet* 111:120 - 127
- Kim S, Lee E, Cho DY, Han T, Bang H, Patil BS, Ahn YK, Yoon M (2009a) Identification of a novel chimeric gene, *orf725*, and its use in development of a molecular marker for distinguishing three cytoplasm types in onion (*Allium cepa* L.). *Theor Appl Genet* 118:433-441
- Kim S, Baek D, Cho D, Yoon M (2009b) Identification of two novel inactive *DFR-A* alleles responsible for failure to produce anthocyanin and development of a simple PCR-based molecular marker for bulb color selection in onion (*Allium cepa* L.) *Theor Appl Genet* 118:1391-1399
- King JJ, Bradeen JM, Bark O, McCallum JA, Havey MJ (1998) A low-density genetic map of onion reveals a role for tandem duplication in the evolution of an extremely large diploid genome. *Theor Appl Genet* 96:52 - 62
- Martin WJ, McCallum J, Shigyo M, Jakse J, Kuhl JC, Yammane N, Pither-Joyce M, Gokce AF, Sink KC, Town CD, Havey MJ (2005) Genetic mapping of expressed sequences in onion and in silico comparisons with rice show scant colinearity. *Mol Genet Genomics* 274:197-207
- Song S, Kim C, Moon J, Kim S (2014) At least nine independent natural mutations of the *DFR-A* gene are responsible for appearance of yellow onions (*Allium cepa* L.) from red progenitors. *Mol Breed* 33:173-186
- Schweigsuth B (1973) Étude d'un nouveau type de stérilité male chez l'oignon, *Allium cepa* L. *Ann Amélior Plant* 23:221-233

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 GSP원예종자사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 GSP원예종자사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.