

발간등록번호

11-1543000-001648-01

무 품종 육성을 위한 육종기반 기술 개발 및 네트워크 구축

(Development of breeding technology and network for radish
(*Raphanus sativus* L.))

국립원예특작과학원

농림축산식품부. 해양수산부. 농촌진흥청. 산림청

제 출 문

농림축산식품부장관 . 해양수산부장관 . 농촌진흥청장 . 산림청장 귀하

이 보고서를 “Golden Seed” 프로젝트(세부프로젝트 “무 품종 육성을 위한 육종 기반기술 개발 및 네트워크 구축”)의 보고서로 제출합니다.

2017년 2월 14일

프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

프로젝트 책임자 : 박수형

세부프로젝트 연구기관명 : 서울대학교

세부프로젝트 책임자 : 이지영

세부프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

세부프로젝트 책임자 : 박수형

세부프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

세부프로젝트 책임자 : 채원병

세부프로젝트 연구기관명 : 네오씨드

세부프로젝트 책임자 : 김승호

요 약 문

I. 제 목 : 무 품종 육성을 위한 육종 기반기술 개발 및 네트워크 구축

II. 연구성과 목표 대비 실적

구분	품종개발		특허		논문		분자마커	유전자원		국내매출액	종자수출액	기술이전	마케팅전략수립보고서	인력양성	홍보	시스템개발/개선
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록							
최종목표	13	3	10	5	18	16	6		220			6		8	7	2
1차년	목표					1			25							
	실적				1			59	8						2	
2차년	목표	1		1		2	2	1	25					1		
	실적	1		1		2		1	27	43				2		
3차년	목표	1		1		2	2	1	30			1		1		1
	실적	1				2		1	63	73		2		1		1
4차년	목표	2		1		3	1	1	30					1		
	실적	3		1		3		1	39	42		2		3		1
소 계	목표	4		3		7	6	3	110			1		3		1
	실적	5		2		8		3	188	166		4		6	2	2
소 계	5		2		8		3	188	166			4		6	2	2
합 계	5		2		8		3	188	166			4		6	2	2

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				소포자배양	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표	8	10	120	850			
1 단계	목표	4	3	450			
	실적	3	5	40	470	405	
합 계	3	5	40	470	405		

III. 연구개발의 목적 및 필요성

□ 연구개발 목적

- 1세부프로젝트: 차세대 유전체 기술을 도입, 분자마커를 이용한 육종시스템 및 분자마커 데이터베이스 셋업함으로써 신품종 개발의 속도를 증가시키고 체계화 하고자 함
- 2세부프로젝트: 국내외 다양한 유전자원의 수집, 평가를 통하여 연구 목적에 부합하는 자원을 선발하며, 소포자 배양을 통하여 선발된 자원, 정보, 소포자 배양 기술 및 육성된 계통을 신속하게 민간종묘회사에 제공함으로 고부가가치 수출용 종자를 개발할 수 있는 육종의 기반을 조성코자 함
- 3세부프로젝트: 채종효율이 높은 유전자원 및 옹성불임 유전자원을 선발, 계통 육성 및 보급하기 위하여 무의자가불화합 유전자형 검정 분자표지를 개발하고 다양한 자가불화합성 유전자형을 가진 무계통 집단을 구축하며 자가불화합 유전자형 검정 서비스(120점/1년)를 수행한다.
- 4세부프로젝트: 원종 증식 방법인 CO₂ 가스 처리 방법을 개선한 기술 개발, 자가불화합성을 회피하는 것이 가능한 NIL (Near Isogenic Line)을 이용한 원원종 및 원종 증식하는 기술 개발

□ 연구개발 필요성

- 1세부프로젝트: 품종 육성에 활용 가능한 무 뿌리 특성 및 병저항성 관련 DNA마커의 개발 및 활용
- 2세부프로젝트: 품종 육종 기간을 단축하며 순도를 높일 수 있는 소포자 배양 기술의 개발과 적용을 통한 수출용 품종 육성 기반 조성
- 3세부프로젝트: 채종에 활용되는 자가불화합 판별 분자표지 개선 및 적용으로 종자 생산 기반 마련
- 4세부프로젝트: 무 품종의 불법복제와 자식주 출현을 막기위한 MS 채종법과, 원원종 및 원종 증식의 문제 해결을 위한 CO₂ 처리방법 구명으로 원종증식 체계 확립

IV. 연구개발 내용 및 범위(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

- 1세부프로젝트: 다양한 무 자원과 RIL을 대상으로 목표형질 (유용 이차대사물 생산, 뿌리 비대, 근형, 바람들이) 분석, 차세대 유전체 기술을 이용하여 목표형질과 관련된 전사체 및 다양한 유전자원에 대한 유전체 프로파일링 수행, SNP와 분자마커 개발, 목표형질과 연관된 유전자 및 SNP을 밝히기 위해 분리집단을 작성하여 genotyping-by-sequencing을 이용한 분석 진행
- 2 세부프로젝트: 무의 효과적 소포자 배양법 구명 및 서비스 실시, 국내외 다양한 무 자원 수집, 평가, 선발을 통한 목적별 수출용 육성 재료 선발
- 3 세부프로젝트: 본 연구는 무의 육종 및 채종에 이용할 수 있는 S-hyplotype 판별용 분자표지를 개선 또는 개발하고, 무 유전자원과 육성계통을 수집 및 포장특성검정을 수행하며, 개발한 분자표지를 이용하여 유전자원 및 육성계통의 S-hyplotype을 분석한 후 최종적으로 분자표지가 개발된 23개의 S-hyplotype을 모두 포함하고 개개의 SI에 대하여 homozygous한 계통 집단의 육성을 목표로 한다. 또한, 프로젝트에 참가한 종자회사의 무 육종 효율을 증진시키기 위하여 각 종자회사의 의뢰를 통하여 계통별 S-hyplotype을 검정한다.
- 4세부프로젝트: 최근 무는 불법 복제 문제와 자식주 출현을 막기 위해 많은 품종들이 MS를 이용한 채종으로 전환되고 있으나 원원종 및 원종의 증식에서 어려움을 겪고 있다. 이러한 문제를 개선하기 위해 관행의 원종증식 체계 확립, 해외 생산 적지 정보 수집, 유전자원 수집 및 등록, 품종보호 출원(조합의 작성 및 선발), 무 시들음병 저항성 분자마커 개발을 수행함

V. 연구개발결과

- 1세부프로젝트: 근피색, 근비대와 관련된 전사체를 다수 확보하였고, 근피색, 근비대, 근형, 바람들이의 유전 분석을 위한 라인의 유전체 정보와 SNP 확보
- 2세부프로젝트: 반수체 배양용 재료 수집, 평가 및 소포자 배양 실시로 품종보호 출원 2점, 유전자원 등록 63점, DH line 개발 및 자원분양 22점, 소포자배양서비스 470점 실시 및 홍보 2건을 완료함
- 3세부프로젝트: 본 연구를 통하여 23개의 무 S-hyplotype 판별용 분자표지를 개선 또는 개발하였고 동일한 수의 S-haplotype를 가진 무 계통 집단을 육성하였으며 GSP에 참가한 종자회사의 계통 405 점에 대한 S-hyplotype 검정을 완료하였다.
- 4세부프로젝트: 4년동안 무 유전자원 73점을 수집하여 유전자원 특성 평가 후 한국생명공학연구원에 유전자원으로 등록하였다. 웅성불임성 무 원종의 원활한 증식을 위해 CO₂ 가스 처리 방법을 개선하기 위한 적정 CO₂ 가스 농도를 구명하여 연구보고서를 제출하였다. 보유중인 육성 계통 192점의 자가불화합성 인자형을 분석하고 모든 계통의 자가불화합성 인자형을 확인하였다. 자가불화합성 인자형 분석을 바탕으로 NIL (Near Isogenic Line) 육성 중에 있다. 중국 12개시/현, 이탈리아, 뉴질랜드 등 총 14개 지역 무 채종지 정보를 수집하였다. 봄, 여름용 열무 2품종을 품종보호출원하였다. 확보한 무 시들음병 관련 유전자원의 병리 검정을 실시하여 저항성, 중도저항성, 이병성 계통으로 나누어 본 연구에 사용하였다. 문헌검색을 통해 보고된 다른 식물에서의 시들음병 저항성 유전자를 확인하였고 이는 대부분 NBS-LRR와 LRR-RLP 그리고 SRLK domain이었다. 확보한 시들음병 관련 유전자원 중 저항성 YR31, 중도저항성 B2, 이병성 YR15로부터 NBS와 SRLK을 목표로 RGA를 분리하였고 이들을 서열 비교 분석을 통해 계통간 차이를 확인하였다. 분리된 RGA와 더불어 무 database에서부터 온 정보를 바탕으로 RGA 특이 marker를 개발하였고 이를 확보한 시들음병 관련 유전자원에 검정해보았다.

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

- 1세부프로젝트: 2단계의 품종 개발에 분자 육종을 위한 마커 제공에 활용할 계획
- 2세부프로젝트: 민간회사 및 기관에 소포자배양 기술 및 육성된 계통을 제공하여 고부가가치 종자를 개발 할 수 있는 재료로서 육종의 기반을 조성
- 3세부프로젝트: 특허출원(무의 자가불화합 인자형 판별용 프라이머 세트), 품종출원 (원교10052호), 논문게재(SCI 2건, Chae et al. 2016. Plant receptor kinases bind and phosphorylate 14-3-3 proteins. *Genes & Genomics* 38 : 1111-1119. Kang et al. 2016. Reproductive traits and molecular evidence related to the global distribution of cultivated radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Systematics and Evolution* 302 : 1367-1380), 유전자원 30점 등록
- 4세부프로젝트: 본 연구과제를 통하여 수집된 73점의 유전자원은 한국생명공학연구원에 유전자원 등록하였고 일부 우수 유전자원은 선발하여 육종 재료로 이용할 계획이다. 웅성불임성 무 원종 증식을 위한 적정 CO₂ 처리 농도를 구명하였고 이를 바탕으로 웅성불임성 무 품종 육성이 한층 더 활발해 질 것이다. 자가불화합성을 회피하는 NIL (Near Isogenic Line) 육성이 빨라지면 무 품종 육성에 유용하게 활용될 것이다. 무 시들음병과 관련된 분자마커를 개발하여 다양한 무 품종을 육성하는데 활용할 계획이다. 무에서의 NBS와 SRLK RGA를 분리하였고 이를 이용해 수집한 시들음병 관련 유전자원에서 다형성을 보이는 RGA 특이 marker 3개를 개발하였다. 이를 이용해 시들음병 mapping 집단에 사용할 수 있고, 또한 병 저항성 유전자를 바탕으로 개발된 marker이기 때문에 다른 복합적인 병 저항성 연구에도 사용 가능할 것이다.

SUMMARY
(영문요약문)

I. Title : Development of breeding technology and network for radish (*Raphanus sativus* L.)

II. Performance against targets

Performance objectives		Variety development		Patent		Paer		Molecular marker	Germplasms		Domestic sales	Exports (10,000 \$)	Technology transfer	Marketing strategies report	Human Resources	advertisement	System technology establishment
		Application	Registration	Application	Registration	SCI	Non-SCI		Collection	Registration							
Final objectives		13	3	10	5	18	16	6		220			6		8	7	2
1st year	Objectives						1			25							
	Performance					1			59	8						2	
2nd year	Objectives	1		1		2	2	1		25					1		
	Performance	1		1		2		1	27	43					2		
3rd year	Objectives	1		1		2	2	1		30			1		1		1
	Performance	1				2		1	63	73			2		1		1
4th year	Objectives	2		1		3	1	1		30					1		
	Performance	3		1		3		1	39	42			2		3		1
Sub Total	Objectives	4		3		7	6	3		110			1		3		1
	Performance	5		2		8		3	188	166			4		6	2	2
Sub Total		5		2		8		3	188	166			4		6	2	2
Total		5		2		8		3	188	166			4		6	2	2

Performance objectives		DB build	DH development	Resource sale	Service			
					Microspore culture	Molecular make	Pathology test	Phynotype test
Final objectives		8	10	120	850			
1 stage	Objectives	4	3		450			
	Performance	3	5	40	470	405		
Total		3	5	40	470	405		

III. The purpose and need for research and development

- The establishment of molecular breeding systems and supporting information for radish by employing next-generation sequencing technologies and their analyses
- By collecting and evaluating various genetic resources internal and external, we will select the resources that meet the objectives of the research. We will provide selected resources through the microspore culture, information, microspore culture technology and developed system to the private seed company to create a foundation for breeding
- This study was conducted in radish (*Raphanus sativus* L.) to develop molecular markers to identify different S-hyplotypes, to establish homozygous lines with different S-hyplotypes and to apply S-hyplotype identifying markers to inbred lines from companies participating in Golden Seed Project (GSP), in order to develop inbred lines with high seed production efficiency.
- Radish has characteristic of self - incompatibility as cruciferous vegetable, and the seed efficiency per plant is very low . In particular, male sterility strains are often difficult to proliferation of stock seeds, thus hindering variety development.
- In recent years, many varieties have been converted into production using MS to prevent illegal copying and the emergence of offspring, but they are suffering from the proliferation of stock seeds.
- In order to solve these problems, it is necessary to develop a technology that improves the method of CO₂ gas treatment, which is a method of proliferation of the conventional stock seeds.
- In order to solve these problems fundamentally, it is imperative to develop a technique for proliferating of stock seeds using NIL (Near Isogenic Line), which is capable of fundamentally avoiding self-incompatibility.
- Recently, weather conditions of radish seed production area are changing due to abnormal weather. Therefore, the seed yield is not stable and the quality of the seed is also poor.
- In order to solve these problems, it is necessary to collect information on existing radish seed production area and find ways to improve these problems. It is also necessary for each seed company to share this information to find the right place for their breed.
- In addition, it is necessary to search for a previously unknown area and secure stable radish seed production area.
- It is very important to breed tolerant varieties because *Fusarium wilt* is once a soil infectious disease and it continues to develop and it is very difficult to control.
- Soil infectious disease is increasing due to continuous climate change and

continuous-cultivation damage. Therefore, it is common to carry out a *Fusarium wilt* resistance test for the breeding of new varieties for each seed company. In the future, the need for disease resistant varieties will increase. Therefore, it is necessary to search for breeding materials and develop related DNA markers.

IV. Research contents and scope

- Analysis of key traits for breeding such as secondary metabolites, root radial growth, root shape, and root sponginess in radish inbred lines
- Search for gene expression which is related to the anthocyanin production and root radial growth by performing transcript profiling using Illumina sequencing
- Development and analysis of segregating F₂ populations generated between parental lines with contrasting phenotypes in secondary metabolites, root radial growth, root shape, and root sponginess
- Establishment and service of the effective microspore-culture of radish
- Selection of export materials for export purposes by collecting, evaluating, and selecting various domestic and foreign resources
- This research include the development of molecular markers to identify different S-hyplotypes, establishment of homozygous lines with different S-hyplotypes and application of S-hyplotype identifying markers to inbred lines from companies participating in Golden Seed Project (GSP).
- Establishment of proliferation system
 - Establishment of proliferation system by improvement of CO₂ treatment method
 - Establishment of proliferation system through NIL cultivation
- Collecting information on overseas production area
- Collection and registration of germplasms
- Application of variety protection: making and selection of combination
- *Fusarium wilt* resistance molecular marker development
 - Pathogen inoculation and check disease symptoms in collected radish
 - The study of resistant to fusarium wilt in different plants
 - Analysis of radish genetic information about resistance to fusarium wilt and development of RGA specific markers

V. Research Results

- Identification of hundreds of differentially expressed genes that might be involved in the anthocyanin production or the root radial growth
- Identification of SNPs unique to inbred lines that are used for genetic analyses of agronomically important traits
- Collection and evaluation of haploid culture materials and microspore culture completed 2 items of application for protection of varieties, 63 items of genetic resource registration, 22 items of development of DH line and resource

distribution, 470 items of microspore culture service and 2 cases of PR through media

- Twenty three molecular markers that can detect 23 different S-hyplotypes in radish were improved or developed. Radish accessions were collected from China, Vietnam and United States, and evaluated in field condition. The 23 S-hyplotype markers were applied to radish germplasm and inbred lines, and more than 23 homozygous lines with different S-hyplotypes were established in the National Institute of Horticultural and Herbal Science. S-hyplotype markers were applied to 405 inbred lines from companies participating in GSP to increase breeding efficiency of those companies.
- For four years, 73 radish genetic resources were collected. After evaluating the characteristics of genetic resources, they were registered as genetic resources in Korea Biotechnology Research Institute.
- In order to improve the proliferation of male sterile radish seedlings, the optimum CO₂ gas concentration for improving the CO₂ gas treatment method was determined and a research report was submitted.
- The self-incompatibility genotypes of 192 line were analyzed and all SI genotypes were identified.
- NIL (Near Isogenic Line) is being bred based on SI genotypes analysis.
- It has collected information on 14 different radish seed production area in China, including 12 regions in China, and Italy and New Zealand.
- Two leaf-radish varieties were applied for variety protection for spring and summer varieties.
- Radish were collected, pathogen was inoculated and disease symptoms were checked.
- From advance research, the resistance genes to fusarium wilt in different plants can be divided into three groups: NBS-LRR, LRR-RLP and SRLK domain
- NBS and SRLK RGAs from resistance line YR31, mild resistance line B2 and susceptible line YR15 were isolated and analyzed sequencing and similarity.
- RGA specific markers were developed from information of isolated RGA and radish databases and validated.

VI. Research achievements and future plan

- SNPs and transcripts will be utilized for molecular breeding of radish in the next stage of Golden Seed Project
- By provide private seed companies and institutions with microspore culture technology and cultivated DH lines for establish the foundation of breeding as a material that can develop high value-added seeds
- Achievements

- Patent application : Primer set for detecting self-incompatibility haplotype of radish
- Cultivar application : Wonkyo10052
- Research Papers :
 - Chae et al. 2016. Plant receptor kinases bind and phosphorylate 14-3-3 proteins. *Genes & Genomics* 38 : 1111-1119.
 - Kang et al. 2016. Reproductive traits and molecular evidence related to the global distribution of cultivated radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Systematics and Evolution* 302 : 1367-1380
- Plant germplasm registration : 30 accessions
- Future Plan
 - Patent registration : Primer set for detecting self-incompatibility haplotype of radish
 - Cultivar registration : Wonkyo10052
- The 73 genetic resources collected through this project are registered as genetic resources in Korea Biotechnology Research Institute, and some excellent genetic resources will be selected and used as breeding materials.
- Through this research project, the optimal CO₂ treatment concentration for proliferation of male sterile radish stock seeds was determined and based on this, the breeding of male sterile radish variety will become more active.
- This project will be useful for radish breeding if NIL breeding, which avoids self-incompatibility, is accelerated.
- Through this research project, we will develop molecular markers related to *Fusarium wilt* disease. And we plan to utilize the molecular markers for radish breeding.
- In the present study, radish NBS and SRLK RGAs were successfully isolated from genomic DNA of three different inbred lines of radish with degenerate primers. Three RGA specific markers with polymorphism in collected radish were developed. They could be used for genetic mapping to accelerate the process of selection and development of multiple disease resistant radish cultivar.

CONTENTS
(영 문 목 차)

Chapter 1. Purpose and Outline of Project

Chapter 2. Domestic and International Research and Development

Chapter 3. Results and Contents of Research and Development

Chapter 4. Contribution of Research and Development for Related Research Area

Chapter 5. Research Results and Their Application Plans

Chapter 6. International Information of Science and Technology

Chapter 7. Reference

목 차

- 제 1 장 프로젝트(세부프로젝트 포함)의 개요 및 성과목표
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 참고문헌

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

제 1 장 프로젝트(세부프로젝트 포함)의 개요 및 성과목표

1 절. 연구개발의 목적 및 내용

1. 연구개발 목표 및 내용

가. 최종목표 : 무 품종 육성을 위한 육종 기반기술 개발 및 네트워크 구축

나. 주요 연구 내용

- (1) 제1세부 : 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자마커 개발과 DNA 프로파일링
- (2) 제2세부 : 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대단축기술 개발
- (3) 제3세부 : 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성
- (4) 제4세부 : 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

프로젝트	무 품종 육성을 위한 육종 기반기술 개발 및 네트워크 구축
1세부프로젝트	○차세대 유전체 기술을 이용, 1단계에는 RIL라인을, 2단계에는 품종, 원종을 대상으로 목표형질관련 유전자 및 마커를 발굴하고자 함
2세부프로젝트	○무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대 단축기술 개발을 위해 목적 형질별 우수한 순계(DH line)를 신속하게 육성하여 고부가가치 품종 개발용 육종 재로로 공급코자 함
3세부프로젝트	○채종효율이 높은 유전자원 및 응성불임 유전자원의 선발, 계통 육성 및 보급을 위하여 1단계에는 자가불화합 유전자형 검정 분자표지를 개발 또는 개선하고, 다양한 자가불화합성 유전자형을 가진 무 계통 집단을 구축하며, 자가불화합 유전자형 검정서비스(120점/1년)를 실시하고자 함
4세부프로젝트	○ 원원종 및 원종 생산체계 확립 및 보급, 무 채종지 정보 수집

다. 과제별(세부.협동) 연구개발의 목표 및 내용

(1) 제1세부프로젝트

○ 연구개발의 최종 목표
- 차세대 유전체 기술을 이용하여 RIL라인을 구축코자 함
○ 연구개발의 내용
- 다양한 무 자원과 RIL을 대상으로 목표형질 (병저항성, 유용이차대사물 생산, 뿌리비대성 증대) 탐색 기술 개발 . NGS 기술을 이용하여 목표형질과 관련된 전사체 및 다양한 유전자원에 대한 유전체 프로파일링 수행, SNP와 분자마커 개발.
- 목표형질과 연관된 유전자 및 SNP을 association mapping을 통해 밝히며, 이 과정에서 개발한 다양한 분자마커를 바탕으로 육종회사의 품종 육성용 마커 데이터로 제공, 기 개발 마커의 분석 적용 서비스 (민간 육종 자원 100점/1년) 실시

(2) 제2세부프로젝트

○ 연구개발의 최종 목표

- 무의 반수체 육종법을 이용한 순계 육성 및 육종 세대 단축 기술 개발 및 적용

○ 연구개발의 내용

- 무 신규자원 수집 및 무 GSP 1~5 프로젝트 참여 연구원 요청 및 **공여 자원을 활용하여 소포자 배양을 수행**하며, 배양체의 순화 및 재배로 종자를 증식하고, 육성된 계통의 원예적 특성을 검정하여 목적 형질(배양효율, 기능성 등)에 부합한 자원을 선발 (**민간육종자원 100점/1년 배양서비스**)
- 소포자 배양 효율이 높은 자원과 낮은 자원을 선발하여 유전 연구를 위한 기본 재료로 제공하며, 필요할 경우 배양 효율이 낮으나 우수한 자원과의 교배를 통한 배양 재료 등 집단을 육성하여 소포자 배양용 모본으로 사용코자 함.

(3) 제3세부프로젝트

○ 연구개발의 최종 목표

- 무의 자가불화합 유전자형 검정 분자표지 개발 및 개선

○ 연구개발의 내용

- 무 신규 유전자원을 수집, 평가하여 채종효율이 높고 다양한 자가불화합성 및 응성불임성을 가진 자원을 선발하고, 이를 이용하여 우수계통을 육성 및 보급
- 선발된 유전자원 및 자가불화합 계통들을 이용하여 육종현장에서 활용가능한 자가불화합 유전자형 검정 방법을 개발하고 이를 이용하여 무 GSP 1~5 프로젝트 참여 연구원 또는 민간 육종자원의 자가불화합 계통의 유전자형 정보를 제공(민간 육종 자원 120점/1년 검정)

(4) 제4세부프로젝트

○ 연구개발의 최종 목표

- 원원종 및 원종 생산체계 확립 및 보급, 무 채종지 정보 수집

○ 연구개발의 내용

- **원원종 및 원종의 증식** 체계를 확립을 위해 다양한 농도와 조건의 CO2 처리 조건의 효과를 구명
- 세포질 유전자적 **응성불임성 및 자가불화합성을 병용한 원종 증식 체계** 확립
- 추대가 너무 늦어 개화기가 우기와 겹치는 만추대 무의 국내 또는 국외 생산 체계 확립
- 최근 인건비 상승 및 기상 이변 등의 영향으로 인하여 안전하고 정확한 품종의 종자를 해외에서 생산하기가 어려워지는 문제가 발생하고 있으므로, 이를 타개할 수 있는 새로운 지역을 개발

2 절. 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 필요성

가. 무 종자 시장 규모 및 국내 종자시장의 문제점과 해결방안

- 1) 세계 농산물 종자 시장 규모는 약 367억 \$이며, 무 종자 시장은 약 1.5억 \$임 ('08)
 - 농산물 종자 시장은 세계 종자시장 695억 \$의 53%를 차지하며 연평균성장률 4.3%로 급속하게 성장하고 있는 시장임 ('08)
 - 시장 규모를 비교할 경우 일본이 가장 큰 시장이며, 한국과 중국 순서임
 - 재배 면적을 비교할 경우 중국, 인도, 동남아 순임
 - 인도나 동남아 시장은 재배 면적은 크나 가격이 저렴한 재래종 위주의 시장으로 형성되어 있음, 최근 중국은 일대잡종(F₁) 으로 전환되고 있는 추세임
 - 앞으로 10년 후면 인도 및 동남아 시장도 일대잡종(F₁) 시장으로 전환될 가능성이 있어 무 종자 시장의 규모는 더욱 커질 것으로 기대됨

<표 1> 주요 국가별 무 재배 면적 및 시장 규모

국가	재배면적(ha)	면적(%)	가격(백만\$)	가격(%)	비고
한국	27,000	1.6	38.4	25.2	'12년
일본	32,000	1.9	60	39.3	'07년
중국	1,200,000	71.5	37	24.3	'11년
동남아	100,000	6.0	6.7	4.4	'11년
인도	300,000	17.9	6	3.9	'11년
기타	20,000	1.2	4.4	2.9	'11년
합계	1,679,000	100	152.5	100	

※ 자료제공 : 종묘회사

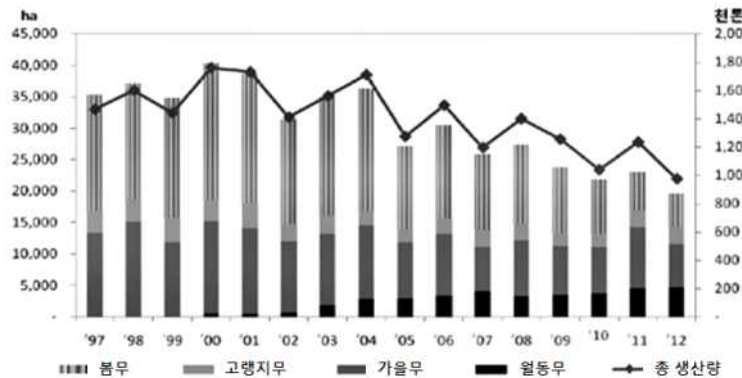
2) 국내 무 종자 시장의 문제점 및 해결 방안

- 형태가 우수하며, 재배가 용이한 한국형 무 품종 개발은 많이 되었으나, 내병 및 내충성 품종 및 품질 관련 기초 연구 미비
 - ☞ **국내 보유 및 육성 자원의 DNA 프로파일링을 통한 목적 형질별 우수 자원 활용**
- 국내 대형 회사(농우바이오, 다끼이, 동부하이텍)가 국내 시장의 80%를 점유하게 되어 재배 품종 선택 폭이 좁아짐으로 이상 기상 발생 시 대규모 생리 장애 발생 가능
 - ☞ **중소 종묘 회사 지원 가능 선발 기법 및 고순도 계통(DH line) 개발**
- 무는 배추과 채소로 자가불화합 특성이 있으며, 수분화당 종자수가 적어 채종 효율이 낮음. 특히 응성불임 계통의 채종에 어려움이 자주 발생하여 품종 개발을 저해하고 있음
 - ☞ **자가불화합을 회피 가능 NIL (Near Isogenic Line) 및 응성불임과 자가불화합을 함께 고려하여 채종하는 기술 개발**

나. 국내 무 및 종자 시장의 규모

1) 국내의 무 생산 동향은 재배면적과 생산량이 감소하는 추세임

- 재배면적은 점진적 감소 추세 : 35천ha('97)→39천ha('01)→26천ha('07)→ 20천ha('12)
- 생산량도 감소 추세 : 146만톤('97)→173만톤('01)→119만('07)→ 98만톤('12)
- **10a당 생산량**은 재배기술 발달로 다소 증가하였으나, **이상기상으로 인해 급감('12)** : 4,470kg('01) → 5,362('11), 4,992kg('12, 이상기상)
- 작형별 재배면적 변동을 살펴보면 추대 문제가 발생하는 봄재배 비율이 감소하였으며, **생산품의 품질이 우수한 겨울 및 가을 재배 비율 증가**
전체 대비 봄재배 비율55→26%, 여름11→13%, 가을36→43%, 겨울1→19% ('01→'11)



[그림 1] 무 재배면적과 생산량 동향

2) 국내 무 종자 수입량은 증가, 수출량은 감소 추세임

- 종자 수입량 : ('00년) 3,127천불 → ('05) 3,804천불 → ('10) 3,749천불
- 종자 수출량 : ('00년) 6,389천불 → ('05) 4,391천불 → ('10) 3,836천불
- 주요 종자 수출 국가는 일본으로 2009년의 경우 수출액이 2백6십만 불에 달함
 - 근피가 매끈하며 잔뿌리가 없는 품종 선호
 - 위황병, 뿌리혹병 등 토양 전염 병해충에 저항성인 품종 요구
- 또 다른 주요 시장인 중국의 경우 한국 및 중국 회사의 가격 경쟁이 심함
- 인도 및 동남아 시장은 아직 재래종이 유통되고 있어 시장 개척 필요

3) 내수 촉진 및 수출 증진을 위한 당면 문제

- 국내 시장 : 국민 소득 증가로 고품질 품종 요구도 증가 추세
 - ☞ 재배가 어려운 시기인 봄과 여름 재배 가능 고품질 품종 개발 필요(품질 향상)
- 일본 시장 : 위황병 등 부가가치가 높은 고품질 내병성 품종 요구도가 높음
 - ☞ 육질, 근형, 근피 등이 우수하며 토양전염성 병에 저항성 계통 개발 필요
- 중국 시장 : 고품질 품종의 경우 품종 보호가 가능한 육종 기술 도입 및 활용
 - ☞ 다양한 응성불임성 소재 및 유지친 개발로 품종 복제 방지 기술 적용
- 인도 및 동남아 시장 : 종자의 생산 단가가 낮으며 품질이 양호한 채종 기술 개발
 - ☞ 양친 및 일대잡종 품종의 채종 효율 증진이 가능 채종 체계 개발 필요

다. 무 품종 육성을 위한 분자마커 개발의 필요성

- 무는 국내외 주요 채소로, 생산액 기준 세계 10위권 이며 종자 시장규모는 세계 11위 (130-155만불). 2020년 전 세계 시장규모 383백만 불로 예상 (자료:context 2020 outlook).
- 우리나라 무 육종 기술, 특히 1대 잡종 품종 육성 기술은 세계적 수준.
- 품종 육성 기술의 우수성에도 불구하고, 분자 육종을 위한 유전 정보와 제반 기술이 부족
- 기능성을 높일 수 있는 유전자원은 있으나 이들에 대한 체계적인 이해와 정보는 부재

☞ 유용 유전자 및 형질 관련 연구와 이를 선발할 수 있는 마커를 동시에 개발하여 육종 효율 증진을 가속화함으로써 해외 종자시장 우위 보존, 신규시장 진입 및 선점에 유리

○ 목표 개발형질

■ 병저항성 증대

- 위황병, 뿌리혹병은 무의 생산성 및 품질을 떨어뜨리는 주요한 병.
- 위황병(*Fusarium wilt*)은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *Raphani*라는 곰팡이에 의해 발생
- 뿌리혹병(*club root*)은 *Plasmodiophora brassicae*라는 원생생물(protist)에 의해 발생
- 토양 전염성 병으로 생육 중기 이후 지상부와 지하부에 증상이 나타남.
- 이들 병을 조기 진단할 수 있는 분자마커 시스템 부재로 육종 기한 단축 어려움.

☞ 내병성 품종 육성을 위해서는 강한 저항성을 갖는 유전자원 확보가 무엇보다도 중요.

☞ 병을 조기 진단할 수 있는 분자마커의 개발도 병을 조기 방제하는 데에 효과적

■ 유용 이차대사물이 풍부한 기능성 무

● 안토시아닌

- 자색을 띠는 색소, 안토시아닌은 이차대사 산물의 하나로 항산화 효과가 뛰어나.
- 무는 자색 꽃이 많아, 안토시아닌 생합성 관련 효소들을 모두 가지고 있을 것으로 생각됨.
- 무의 근피, 근육 특이적인 안토시아닌의 축적은 전사 인자 조절에 의한 것일 가능성이 높음.

☞ RNA-seq과 분자 마커 개발을 통하여 안토시아닌 생합성을 조절하는 유전자를 찾고, 육종을 통해 선별하여, 식감이 훌륭하고 항산화성이 높은 무 품종의 개발 추구.

● 글루코시놀레이트류

- 배추과 작물에서 주로 발견되는 이차 대사산물로, 항암 및 항산화 효과를 가지고 있음.
- 10여 종의 유사체가 밝혀져 있고 화학적 분석이 요구됨.
- 무의 기능성을 높여줄 매우 유용한 물질이며, 유전적 분석도 요구됨

☞ 무 유전자원을 이용, 고함량의 글루코시놀레이트를 생산하는 무 품종의 개발 추구.

■ 근비대성, 근형, 근피 향상

- 무의 뿌리 비대 속도의 조절은 무의 생산성에 직접적 영향을 미침.
- 최근 이상기상 현상이 자주 발생하며 근비대가 신속한 육종 재료의 육성이 시급함
- 선행연구에 의하면 뿌리 비대가 cambium에서의 활발한 세포분열을 통해 이루어짐
- 무의 근형 및 근피 관련 유전자 탐색 및 분자 표지 개발로 원예적 특성 조사가 어렵고, 선발을 위해 오랫동안 재배해야 하는 문제점 개선 가능

- 한국형 무는 조기비대속도가 매우 느려 재배 기간이 길다는 문제점을 지님.
 - 조기 비대, 고른 근피와 H 근형은 GSP 사업 무 품종개발의 공통된 목표 형질.
 - 무의 중요한 부분인 뿌리 성장에 대한 유전적 이해 부재.
- ☞ 무 GSP 연구 중요회사의 다양한 원종 및 육종계통들을 분석하여 뿌리 비대, 근형, 근피에 영향을 미치는 유전자와 효과적 분자마커개발이 가능할 것으로 기대.

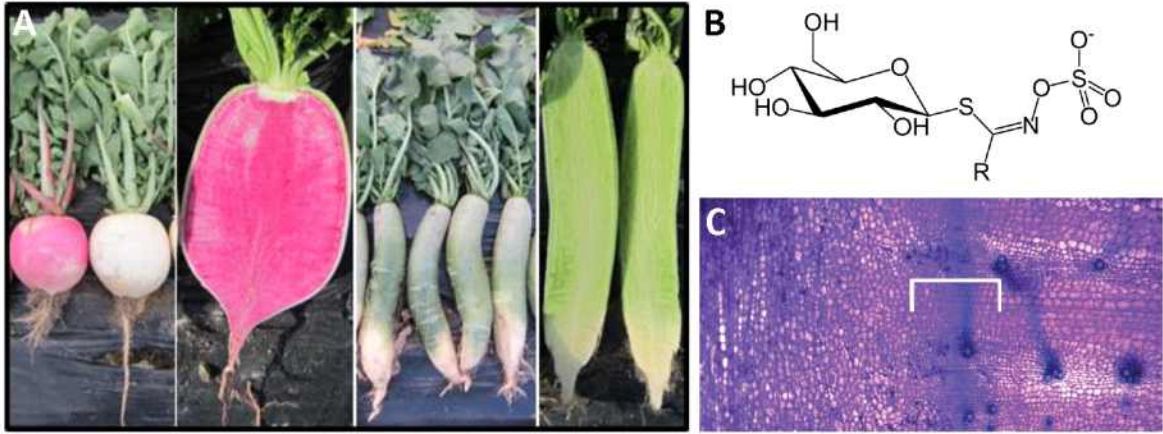


그림 2. 무 분자 육종을 위한 기반자료들. A. 근피/근육의 다양한 색소 축적과 다양한 근형을 일으키는 유전자원 B. 항암, 항산화 효과를 지닌 이차대사물, 글루코시놀레이트 C. 근비대에 관여하는 세포분열층 (cambium).

○ 선행연구 및 기술개발

- 애기장대 뿌리의 세포타입 별로 일어나는 23,000개의 유전자 발현 지도 제작.
- 뿌리 비대를 위한 세포를 공급하는 cambium을 포함, 23개 세포 타입에서 일어나는 유전자 발현에 대한 정보를 애기장대 연구를 통해 확보.
- 무의 뿌리 비대과정에서 cambium 발달 확인.
- 애기장대의 돌연변이체에서 NGS와 SNP 데이터를 이용한 돌연변이체 유전자 추적에 성공.
- 애기장대에서 개발한 유전자 발현, NGS, SNP 데이터 분석 파이프라인을 무 분자육종 시스템 개발에 활용할 계획.

○ 본 세부과제의 시의 적절성

- 차세대바이오그린21 사업에서 NGS 기술을 이용하여 무의 유전체 분석을 진행 중이며 2014년 일차 염기서열 발표 예정.
- 유전체 정보의 공개는 무 육종을 위한 분자 마커 개발에 유용한 정보를 제공할 것임.
- 무 유전체의 크기는 애기장대 유전체의 4배 (572Mbp) 정도로, NGS를 이용한 유전체 분석이 비교적 용이할 것으로 기대.
- 무는 애기장대와 진화적으로 연관성이 크므로, 애기장대에서 축적되어진 다량의 유용 유전자 정보를 다른 작물에 비해 보다 용이하게 접목시킬 수 있으며, 따라서 형질과 연관된 유전자의 선정과 분자마커 개발에 있어 효과적 활용이 가능

- ☞ 국내 무 육종 기술의 우수성을 고려, 분자 육종에 필요한 기반기술개발을 통해 무 종자 사업 분야의 주도권을 유지해야 함.

라. 반수체 육종법 이용 순계 육성 및 세대 단축 기술 개발

- 무는 배추과에 속하는 채소로 자가수정에 의한 자식열세 현상이 강하여 인공수분(뇌수분)으로 강제로 자식하여 계통을 육성할 경우 채종이 되지 않는 문제가 발생함
- 이러한 자식 열세 현상을 회피하기 위해 형매 교배 방법을 이용하나, 이 경우 순도가 낮아지는 문제가 발생하여 품종 육종의 걸림돌이 되고 있음
- 배추과 채소 중 하나인 양배추의 반수체인 소포자를 배양하여 자연배가 시킴으로 순도가 높은 다양한 계통을 단기간에 육성하여 활용중임 (Bayer Crop Science)
- ☞ 무의 반수체인 소포자 등의 배양을 통하여 단기간에 유전적으로 고정된 개체 육성 가능
- ☞ 육성된 다수의 DH 개체의 뇌수분을 통하여 채종이 잘 되는 계통 육성 가능

○ 주요 연구 내용

■ 소포자 및 약배양을 위한 모식물체 육성

- 목적 형질별 모식물체 수집, 평가 및 선발
- 선발 및 육성 자원의 개화 유도를 위한 춘화 처리 및 개화 유도 (작물 관리)
- ☞ 활력 있는 반수체의 풍부한 생산을 위해 양액공급, 병해충 관리 등 작물 관리가 중요

■ 목표 형질별 반수체 배양

● 반수체 유기 효율 조사

- 무 품종의 도입 국가 및 뿌리 특성 별 반수체 배양 실시로 유기 효율 조사
- 반수체 유기율이 높은 계통을 육성하여 우수 자원과 교배함으로 배양 효율 증진
- 분자표지 개발 등 유전 분석 연구의 재료 및 육종 소재로 활용

☞ 무 GSP 참여 기업별 다양한 자원을 배양, 분석함으로 연구 효율 증진

● 글루코시놀레이트류 다량 함유 계통 육성

- 배추과 작물의 주요 향암 기능성 물질의 분석을 통해 다량 함유 자원 선발
- 선발 및 도입 자원의 반수체 배양을 통한 우수 계통 단기 육성
- 무의 기능성 관련 유전 분석 재료 및 육종 소재로 활용

○ 선행연구 및 기술개발

- 무의 소포자 배양에 효과적인 조건 탐색 완료 및 DH Line 6계통 육성('10)
- 무, 배추, 양배추, 브로콜리 등 다양한 배추과 채소의 효과적인 소포자 배양법 구명
 - 배추 : NLN배지(1X)+활성탄(간혹 NAA, BA) 첨가 배지, 열처리-32℃ 하루가 효과적
 - 무, 양배추 : NLN배지(2X)+활성탄(간혹 NAA, BA) 첨가 배지, 열처리-32℃ 2일이 효과적
- 소포자 배양에 의한 고순도 배추 계통 육성 및 품종보호 출원 완료 : '원교20034호' 등7점



소포자 배양으로 육성된 무 DH inbred 평가 모습('10) 배추 DH 품종 '원교20034호'

3 절. 연구개발개발결과의 성과목표

1. 연구성과목표

(단위 : 건수)

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국 내 매 출 액	중 자 수 출 액	기 술 이 전	마 케 팅 전략 수립 보고서	인 력 양 성	홍 보	사 설행 체 확 립 기술 개발 간수
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비 SCI		수 집	등 록							
최종목표	13	3	10	5	18	16	6		220			6		8	7	2
1차년	목표					1			25							
	실적				1			59	8						2	
2차년	목표	1		1		2	2	1	25					1		
	실적	1		1		2		1	27	43				2		
3차년	목표	1		1		2	2	1	30			1		1		1
	실적	1				2		1	63	73		2		1		1
4차년	목표	2		1		3	1	1	30					1		
	실적	3		1		3		1	39	42		2		3		1
1단계	목표	4		3		7	6	3	110			1		3		1
	실적	5		2		8		3	188	166		4		6	2	2

성과목표	DB구축	DH계통 개발	자원분양	서비스			
				소포자배양	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표	8	10	120	850			
1차년	목표	0		100			
	실적	0		12	100		
2차년	목표	0	2	100			
	실적	0	4	9	100	120	
3차년	목표	2	1	100			
	실적	1	1	10	95	115	
4차년	목표	2		150			
	실적	2		9	175	270	
1단계	목표	4	3	450			
	실적	3	5	40	470	405	

2. 목표대비 연구성과

(단위 : 건수)

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국 내 매 출 액	종 자 수 출 액	기 술 이 전	마 케 팅 전략 수립 보고서	인 력 양 성	홍 보	사 스 템 체 계 확 립 기술 개발 건수	
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비 SCI		수 집	등 록								
최종목표	13	3	10	5	18	16	6		220			6		8	7	2	
1단계	목표	4		3		7	6	3		110			1		3		1
	실적	5		2		8		3	188	166			4		6	2	2
달성율(%)	100		67		100	0	100	100	100	100			100		100	100	100

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				소포자배양	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표	8	10	120	850			
1 단계	목표	4	3		450		
	실적	3	5	40	470	405	
달성율(%)	75	초과	초과	초과	초과		

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1 절. 국내 기술개발 현황

1. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자마커 개발과 DNA 프로파일링

○ 무 게놈 시퀀싱 정보는 최근 국내 연구진에 의하여 보고되었다 (Mun et al., 2015; Kim et al., 2016). 유전체 데이터와 더불어 추대, 스트레스 저항성, 이차대사물 (글루코시놀레이트) 생산에 관련된 전사체 분석과 유전자에 대한 정보가 국내에서 발표되고 있다 (Jung et al., 2016). 이처럼 분자육종에 활용하기 위한 유전체 기반 정보가 국내에서 빠른 속도로 제공되고 있어 앞으로 무의 분자 육종 개발은 급속도로 발전할 것으로 전망한다.

2. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대단축기술 개발

○ 무(*Raphanus sativus* L.)의 국내 재배 면적은 2000년도에 약 40천ha 까지 증가한 후 지속적으로 감소하여 최근에는 22천ha 내외로 재배되고 있으나, 전체적으로 채소 재배 면적이 감소추세에 있어서 현재도 국내 10대 채소로 주요 작목에 포함됨.

○ 수출용 품종의 개발은 과거 70년대에 자가불화합의 일시적인 타파에 의한 단교잡 무 품종 개발로 일대잡종 무 품종의 순도를 획기적으로 높인 기술의 우수성이 인정되어 일본으로 본격적으로 수출하게 되었음

○ 만추대성 봄 무 품종을 육성하며 2000년대까지 일본으로 활발하게 수출이 이루어짐

○ 이밖에 위황병 저항성, 근형 우수, 내서성, 생리장해가 적은 품종 등 다양한 품종이 개발되며 일본, 중국, 동남아시아, 미주 및 인도 등의 시장에까지 품종을 수출하게 되었음

○ 무는 항암 기능성 물질로 알려진 글루코시놀레이트, 소화 촉진 물질로 알려진 리파아제 등 다양한 기능성 물질이 함유되어 있어 오랜 기간 한국인의 사랑을 받아온 채소고, 최근에는 철분도 다량 함유된 무청이 건강식품으로 부각되고 있음

○ 국립원예특작과학원 채소과에서는 2000년부터 무의 소포자 배양 관련 연구를 실시한 결과 본 과제를 협약할 당시인 2013년도에는 다양한 자원의 소포자 배양이 가능한 실정으로, 각 민간 종자회사에서 요청하는 자원의 효과적 배양 조건 구명 및 실용화 연구의 실시가 가능함

3. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성

○ 우리나라에서 분자표지를 이용한 자가불화합성 검정은 원예연구소(현 국립원예특작과학원) 채소과에서 주로 연구되어 왔으며, 19개의 SCAR 분자표지를 이용한 검정방법을 개발하였다 (Chung et al., 2009). 이후 이를 더욱 개량하여 22개의 SCAR 분자표지를 이용한 SI 검정방법을 확립하였고, SCAR 분자표지를 이용해 단지무의 S-haplotype 분포를 조사하였다(Ahn et al., 2014).

○ 하지만 30개가 넘는 것으로 추정되는 무의 전체 SI 복대립유전자에 대한 분자표지는 아직까지 개발되어있지 않고 특히 무의 SI 연구에 필수적인 S-haplotype을 모두 포함하고 개개의 SI에 대하여 homozygous한 계통 집단은 개별회사에서 보유하고 있어 연구기관이나 회사 간의 공유가 어려워 연구의 발전이 더딘 실정이다.

4. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

○ 전 세계 무 재배면적은 약 150만 ha 정도로 추산(종자업계 추산)되는데, 중국이 약 100~120만 ha로 가장 많이 재배하며 인도가 30만 ha로 2위를 차지한다. 재배면적으로는 전 세계 재배면적의 85~90%를 중국과 인도가 차지하나 종자 시장규모 면에서는 약 20~30% 정도의 시장을 점유하는 반면 한국과 일본의 재배면적은 약 8% 내외이나 종자 가격면에서는 70~80%를 차지하고 있다.

○ 국내 무 품종 육성기술은 세계 최고 수준으로 알려져 있으며 민간 종묘회사와 개인육종가들이 중국, 인도, 일본 및 동남아 등 세계 시장을 목표로 품종개발에 매진하고 있으며 새로운 시장을 개척하기 위해 선의의 경쟁을 펼치고 있다.

○ 무 품종 육성은 이미 알려진대로 자가불화합성(Self incompatibility)과 웅성불임성(Male sterility)을 이용하고 있다. F1 품종 육성 초기에는 대부분 자가불화합성을 이용하여 품종을 육성하고 채종하였으나 최근에는 웅성불임성을 이용한 품종 육성으로 대부분 전환하고 있다. 자가불화합성을 이용한 품종 육성의 장점은 F1 종자의 양친이 모두 자가불화합성으로 양친 모두의 종자를 채종하여 이용할 수 있기 때문에 종자 생산량이 높고 생산단가를 낮출 수 있다는 것이다. 그리고 대부분의 계통이 저농도의 CO₂ 처리로 원종 증식이 가능하기 때문에 원종 증식이 안정적이며 판매 종자 또한 안정적인 공급이 가능하다는 것이다. 그러나 자가불화합성을 이용한 품종 육성의 단점은 힘들게 개발한 양친의 원종 유출이 용이해 무분별한 복제 품종이 난무하여 종자시장이 안정적으로 유지되지 못하는 경향이 있다. 또한 채종지의 이상기후로 인한 자식주의 출현이 늘어나면서 종자의 품질이 저하되는 문제점을 안고 있다.

○ 반면에 웅성불임성을 이용한 품종 육성은 양친의 자식주의 출현이 없기 때문에 고품질, 고순도의 종자 생산이 가능하고, 양친의 원종 유출이 불가능에 가까워 무분별한 복제품의 출현을 막을 수 있어 종자시장이 안정적으로 유지 관리되고, 어렵게 개발한 시장의 시장 선점 효과를 오랫동안 누릴 수 있는 장점이 있다. 그러나 웅성불임성을 이용한 품종 육성은 유지친을 별도로 개발해야 하기 때문에 육성에 시간이 많이 걸리고 일부 계통들은 유지친 개발이 어려워 활용이 전혀 불가능한 경우도 있다. 그리고 양친이 육성된 이후에는 원종 증식이 원활하지 못하여 판매 종자를 충분히 공급하지 못하는 단점이 있다.

○ 웅성불임성의 단점을 근본적으로 해결하기 위해 NIL(Near Isogenic Line) 육성이 주목받고 있다. NIL(Near Isogenic Line)은 웅성불임 계통과 유지친 계통간의 자가불화합성을 타파하기 위한 방법으로 유지친 계통의 자가불화합 인자를 핵치환하여 웅성불임 계통과 유지친 계통간에 자가화합성으로 만들어 주는 것이다. 이는 전통적인 여교배 육종법에 따라 계통을 육성하며 보통 6~7년의 시간이 소요된다. 최근에는 분자육종 기술의 발전으로 분자마커의 개발이 용이해 지고 다양한 SNP 마커가 개발되어 background selection system 이 구축됨에 따라 무의 여교배 육종 기간을 획기적으로 단축시킬 수 있게 되었다. 관행의 방법으로 6-7회의 backcross를 진행해야 했다면 이제는 2-3회만으로 고정된 NIL을 획득할 수 있을 것으로 기대된다.

2 절. 국외 기술개발 현황

1. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자마커 개발과 DNA 프로파일링

○ 무 계놈 시퀀싱 정보는 최근 일본, 중국 연구진에 의하여 보고되었다 (Kitashiba et al., 2014;

Mitsui et al., 2015; Xiaohui et al., 2015). <http://www.radish-genome.org/> 에는 약 45,000여개의 유전자가 보고되어 있고, 다양한 전사체 데이터가 축적되면서 계속 증가할 것으로 예상되어진다. 유전체 데이터와 더불어 추대, 스트레스 저항성, 이차대사물 (글루코시놀레이트) 생산에 관련된 전사체 분석과 유전자에 대한 정보가 국외에서 발표되고 있다 (Wang et al., 2013; Xu et al., 2015; Li et al., 2016). 이차림 분자유종에 활용하기 위한 유전체 기반 정보가 국외에서 빠른 속도로 제공되고 있어 앞으로 무의 분자유종 개발은 급속도로 발전할 것으로 전망한다.

2. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대단축기술 개발

- 전 세계적으로 상업화된 매우 다양한 배추 품종들이 개발되었으며, 특히 배추과 작물과 유전적으로 상당히 유사한 애기장대 풀을 이용한 유전 및 생리 관련 연구가 많이 수행되었음. 최근 연구 진행 중인 Multi-national Brassica Genome Project 등 유전자 염기서열 분석 관련 연구가 활발하게 진행 중에 있음. 또한 이러한 연구 결과를 육종에 활용하기 위한 마커 개발 등 실용화를 위한 연구가 다방면에서 수행되고 있음(Brassica 2008 International Symposium).
- 품종보호를 위한 육성불임 자원의 개발 관련 연구가 1970년대부터 미국의 Cornell 대학교, 프랑스 Inra 연구소 등에서 활발하게 이루어졌으며, 현재는 무의 원형질을 도입한 다양한 육성불임 배추, 양배추, 브로콜리 등을 개발하여 특허를 보유하고 있음.

3. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선별 및 계통 육성

○ 배추과 작물은 SSI를 갖는데 이는 주두와 화분을 형성하는 모식물체의 SI 표현형에 의해 SI의 발현이 결정된다. SI는 SLG, SRK 및 S-locus protein 11 (SP11)/ S-locus Cys-rich protein (SCR) 유전자에 의해 결정되는 것으로 알려져 있다. 주두의 SI 발현 여부는 SLG와 SRK 유전자의 발현에 의해 조절되며 화분의 SI는 SCR 유전자에 의해 조절된다(Bataman, 1955; Nasrallah and Nasrallah, 1993; Takayama et al., 2003).

○ SI 복대립유전자들을 판별하는 분자표지를 개발하기 위해 현재까지 S-locus glycoprotein (SLG)와 S-locus receptor kinase (SRK) 유전자들의 다형성(polymorphism)을 이용하고 있다. S-haplotype의 수는 양배추류(*Brassica oleracea* L.)에서 50개(Brace et al., 1994; Park et al., 2001, 2002), 배추(*B. rapa* L. ssp. *pekinensis*)에서 30개(Nou et al., 1993), 무(*R. sativus* L.)에서 27개 이상이 동정되었으며(Lim et al., 2002, 2004), 무 재배품종에서는 20여개(Bateman 1955; Okazaki and Hinata 1984), *R. raphanistrum* L.에서는 25-34개(Sampson, 1967)의 S-haplotype이 보고되었다. 최근 10여년간 SLG와 SRK 유전자의 염기서열을 분석하여 현재까지 27개의 SI 복대립유전자형에 대한 염기서열이 NCBI (National Center for Biotechnology Information) Gene bank에 등록되어 있으며, 이 중 SLG는 15개, SRK는 22개이다(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 2017년 1월 기준). 이러한 염기서열 정보를 기반으로 PCR-RFLP 방법을 이용한 SI 판별 분자표지가 개발되었으며, *Brassica*와 *Raphanus*속에서 이용되었으나(Lim et al., 2002), 유전자형간 유사성이 높은 염기서열로 인하여 PCR 적용에 어려움이 있고, PCR-RFLP에 의한 방법은 고가의 제한효소를 이용하는 경우가 많아 높은 검정비용 면에서 비효율적이며 보편성이 떨어지는 문제점이 있었다. 이러한 PCR-RFLP법은 SLG 유전자 및 SRK 유전자의 다양한 haplotype을 보다 용이하게 평가할 수 있는 Sequence

Characterized Amplification Region(SCAR) 방법으로 대체되고 있는 추세이다.

4. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

○ 일본의 전체 무 재배면적은 대략 35,000 ~ 40,000ha 정도로 채소 작물 중 제일 넓은 재배 면적을 차지하고 있다. 그만큼 일본의 식생활에서 무는 없어서는 안되는 중요한 채소로 자리잡고 있다. 일본에서 무는 생과용 뿐만 아니라 가공용으로 판매되고 있으며 대표적으로 무말랭이용, 절임용, 오로시용, 오뎅용, 쓰마용 등 다양한 형태의 가공무가 발달해 있다.

○ 일본에서 무 품종 육종은 90년도 초반까지는 매우 활발해서 다양한 형태의 작형에서 F1 품종이 개발되어 왔으나 90년대 중반에서 2000년대 중반까지 약 10여년간 침체기를 겪었으나 최근에는 각 종묘회사나 국가 연구기관에서 무 품종 육성에 많은 노력을 기울이고 있다.

○ 국가 연구기관에서는 현재도 다양한 유전자원을 분석하여 각 지역의 작형과 특성에 맞는 계통을 만들어 중간 모본으로 종묘회사에 분양하고 있으며 새로운 조합도 작성하여 각 현의 농업 기술 보급센터를 통해 매년 조합 검정 시험을 실시하고 있다. 최근에 農5號라는 계통을 개발하여 각 종묘회사에 중간모본으로 공급하고 있는데 이 계통은 가공용으로서 가공 후에 색깔의 변화가 거의 없고 무 특유의 냄새가 나지 않는 것이 특징이다. 그리고 이 계통의 형질관련 분자마커를 개발하여 특허 등록하였으며, 이 계통은 일본종묘회사라면 누구라도 매우 저렴한 가격에 이용할 수 있다고 한다.

○ 중국의 무 전체 재배면적은 100~120만 ha로 추정된다. 중국은 넓은 국토 면적만큼 다양한 형태의 지역 재래종이 발달해 있고 유전자원 또한 풍부하다. 현재까지 재배되는 무는 지역 재래종이 대부분을 차지하고 가격 또한 매우 저렴해서 종자 시장 규모는 재배면적에 비해서는 매우 적은 규모이다. 그러나 2000년대 초반부터 한국형 봄무가 중국 시장에 판매되기 시작하면서 품질 좋은 무가 시장에서 판매되고 재배 농가도 수입이 늘어나면서 한국형 봄무는 농가의 고소득 작물로서 인기가 높다.

○ 중국의 무 품종 육성은 대부분 국가 연구기관에서 주도하고 있었으나 최근에는 각 지역에 생겨난 대형 종묘회사들을 중심으로 무 육종 프로그램을 가진 회사들이 늘어나고 있다.

○ 국가 연구기관으로는 각 성에 소속된 채소다업연구소 등으로 주로 각 지역에 맞는 재래종을 선별하고 개량하여 농가에 저렴한 가격에 공급하는 일이 주된 업무였다. 그러나 최근에는 재래종 품종개량 뿐만 아니라 재래종을 이용한 F1 품종을 만들어 종묘회사를 통하여 공급하는 곳이 늘어나고 있다. 매년 개최되는 각 지역의 종자 박람회에 출품되는 각 성의 채소연구소 품종들은 초기에는 재래종 개량 품종 위주였으나 최근에는 대부분 신규 육성된 F1 품종 위주로 전시되고 있어 육종 기술의 발전을 한눈에 볼 수 있고 발전 속도 또한 매우 빠르다는 것을 알 수 있다. 이들 품종들은 아직까지 자가불화합성을 이용한 품종이 대부분이지만 일부 품종은 옹성불임성을 이용한 품종들도 출시되고 있다.

○ 민간 종묘회사들은 2000년대 초반에 한국의 무 채종을 대행하는 채종 전문회사로 출발한 회사들이 많은데 이들 회사들은 한국의 채종을 위한 육종 기술을 지도 받고 한국산 봄무 원종을 그대로 이용하여 중국내 자체 판매회사로 성장한 경우가 많다. 이들 회사는 한국에서 개발된 다양한 원종을 모두 보유할 수 있게 되어 자체 품종을 만들어서 중국내에서 판매를 확대하고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1 절. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자 마커 개발과 DNA 프로파일링

1. 1년차 연구 내용 및 결과

가. 뿌리 비대를 효율적으로 측정할 수 있는 형질 진단법 탐색

- Recombinant Inbred Line (RIL)을 시간대별로 채근하여 이들의 이미지를 찍고 정량하여 시간대별 뿌리 비대 및 근형 분석
- RIL 사이의 시간대별 성장 곡선을 비교하여 비대성장이 빠른 라인과 비대성장이 느린 라인 선정
- 비대성장에 차이를 보이는 RIL을 이용, 이들 라인에서 cambium 의 세포분열 활성도를 cell cycle maker를 인지하는 항체를 이용하여 분석
- 애기장대 연구를 통해 확보한 cambium에 특이적으로 발현하는 전사조절 유전자들의 발현 양상을, 비대성장에 차이를 보이는 RIL사이에서 qRT-PCR를 이용하여 비교, 분석

나. 안토시아닌과 글루코시놀레이트 측정을 위한 metabolite profiling 개발

- 안토시아닌 축적과 관련한 근피색 집단 유전분석 및 근육색 집단 작성을 위한 형질분석
- 글루코시놀레이트 함량 분석법 확립 및 고함량 무게통탐색을 위한 시료 확보

다. 근비대, 병저항성 관련 유전자 발굴

- 개체 간에 매우 균일하고 우수한 근비대를 보여준 원교10049를 이용, 뿌리 cambium과 주변 조직을 laser capture microdissection을 이용, 5-9주 사이에 2주 간격으로 분리하여 Illumina RNA sequencing 실시. 비대가 취약한 05-D2382도 5, 7, 9주에서 샘플링 LCM 완료. 현재 RNA-seq을 실시하기 위해 library 제작 중
- 위황병, 뿌리혹병을 지닌 무 품종의 DNA/RNA seq을 위해 저항성과 감수성 라인 동정

2. 2년차 연구 내용 및 결과

가. 근피색, 근육색 관련 유전자 발굴

- 근피색 분리 집단 유전분석 및 RNA-seq 수행

나. 글루코시놀레이트 함량

- 무 유전자원 71 계통에 대한 글루코시놀레이트 함량 분석 완료

다. 무 우량 품종 육성을 위한 품질 관련 유용 형질 탐색

- 무의 추대를 조절하는 FLC 동정 및 춘화 처리에 대한 반응성 확인

라. 목표형질 유전자와 분자마커 발굴을 위한 분리 집단 작성

- 바람들이: F1 종자 확보, F2 종자 확보를 위해 식물 배양 중.

원교10040 (바람들이에 약함) x 원교10029 (바람들이에 강함)

- 근형: F1 종자 확보, F2 종자 확보를 위해 식물 배양 중.

원교10032 (H형) x 원교10045 (동근형)

- 병저항성: F1 종자 확보, F2 종자 확보를 위해 식물 배양 중.
원교10039 (저항성) x 원교10048 (감수성)
- 근비대: F1 종자 확보.
원교10045 (비대 우수) x 13-FM218 (05-D2382; 비대취약)
원교10039 (비대 우수) x 13-FM232 (비대취약)

마. NGS 데이터 분석 셋업

- NGS 데이터 분석 파이프라인 셋업을 위해, NGS 데이터가 나오는 시기인 2015년 4월 중 연구원을 코넬 대학교의 Boyce Thompson Institute로 파견, 공동 연구로 데이터 분석 및 분석 파이프 라인 도입 예정
- 비대관련 마커유전자를 애기 장대 뿌리 발현 지도를 토대로 106점 발굴

바. 근비대 관련 유전자 발굴

- 개체 간에 매우 균일하고 우수한 근비대를 보여준 원교10049를 이용, 뿌리 cambium과 주변 조직을 laser capture microdissection을 이용, 5-9주 사이에 2주 간격으로 분리하여 Illumina RNA sequencing 실시. 비대가 취약한 05-D2382도 5, 7, 9주에서 샘플링 LCM 완료. RNA-seq을 실시하기 위해 library 제작 완료, sequencing 마무리 중.

3. 3년차 연구 내용 및 결과

가. 목표형질 유전자와 분자마커 발굴을 위한 분리 집단 작성 완료

- 바람들이: F2 바람들이 검정 실시
원교10040 (바람들이에 약함) x 원교10029 (바람들이에 강함)
- 근형: F2 근형 검정 실시
원교10032 (H형) x 원교10045 (등근형)
- 병저항성: F2 종자 확보. 병 검정 실험을 위한 10048 종자 확보 중
원교10039 (저항성) x 원교10048 (감수성)
- 근비대: F2 종자 확보.
원교10045 (비대 우수) x 13-FM218 (05-D2382; 비대취약)
원교10039 (비대 우수) x 13-FM232 (비대취약)

나. 분리 집단 작성에 이용할 SNP 분석

- 위 분리집단 작성에 이용한 양친 RIL의 genome sequencing 실시, SNP 분석

다. 근육색, 근피색 관련 형질

- 적색, 백색 분리 집단에서 RNA-seq 결과를 바탕으로 후보 유전자가 위치하는 구역 확정

라. 글루코시놀레이트 함량

- 무 유전자원 71 계통에 대한 글루코시놀레이트 함량 분석 내용 정리하여 출판

마. 뿌리 목표형질 관련 분자마커 발굴

- 216과 218라인(05-D2382)의 뿌리로부터 얻은 전사체 시퀀싱 데이터를 Boyce Thompson Institute의 Zhangjun Fei 교수와 공동연구로 de-novo assembly를 이용한 RNA-seq데이터의 1차 분석 진행. 추가적인 결과들을 genome-base assembly와 병행해 진행 중. 각 샘플의 raw read count를 기반으로 유전자의 발현양을 얻음. 일부 부적합 데이터에 대해서 재분석이 진행중.

- 조직 및 발달 시기별 전사체의 차등발현을 분석하기 위해 DESeq2, edgeR등의 분석툴을 이용해 분열조직에 발현이 높은 유전자군을 분리.
- 애기장대의 뿌리 발현 지도에서 초기 형성층에 과발현되는 1,216개의 유전자를 무 전사체와 blast분석으로 비교해 애기장대 유전자 약 800개에 대해 서열이 유사한 무 전사체를 추출, Hierarchical Clustering을 통해 무 전사체의 발현양상을 분석함.
- 원교10039(비대우수) x 라인232(E146-3) (비대취약), 원교10045 (비대우수) x 라인218 (05-D2382) (비대취약)에서 F2 분리집단을 표현형분석, 유전형 분석을 위해 GBS 라이브러리 제작, SNP 분석 수행 중.
- H형 관련 원교10032(H형)와 원교10045(둥근형)에서 F2 분리집단의 표현형분석을 수행, 유전형 분석이 진행 예정임.
- 원교10029(바람들이에 강함)와 원교10040(바람들이에 약함)에서 F2 분리집단의 표현형분석을 수행, 유전형 분석이 진행 예정임.

4. 4년차 연구 내용 및 결과

가. 병저항성 관련 분자마커 발굴

- 병저항성과 관련된 유전자 동정을 위한 분리집단 F2 종자 확보
원교10039 (저항성) x 원교10048 (감수성)

나. 근피색, 근육색 관련 유전자 발굴

- 근피색 분리집단의 근피, 하배축, 엽병, 꽃잎의 안토시아닌 축적을 분석 근피색은 단일 열성인자에 의해 결정된다고 판단. 반면 하배축과 엽병, 꽃잎에서의 분리비는 근피와는 다름을 확인함.
- F3 집단에서 적색 근피색 24개, 백색 근피색 8개체에 대해 RNA-seq을 수행하고 무 표준 유전체 정보를 활용하여 SNP 분석 근피색과 관련된 마커를 확보함. 근피색 관련 SNP가 위치한 부분의 유전자 중 근피색을 조절하는 후보유전자를 탐색함.
- 무 근육색 유전자 발굴 및 마커 개발을 위하여 균일한 적색의 근육색을 보이는 원교10048호를 10048과 교배. F1 집단에서 근육색 형질을 관찰

다. 글루코시놀레이트 함량 측정을 위한 계통/수집종

- 고함량 무 자원을 재료로 사용하여 글루코시놀레이트 함량 분리 집단 제작. 글루코시놀레이트 고함량 무 육종을 위한 재료 선발.

라. 무 SNP탐색 확보

- 무 뿌리형질관련 분자마커 개발을 위해 SNP분석 파이프라인을 구축하고, 무 품종에서 SNP의 분포를 분석함.
- 비대, 근형, 병저항성 관련 6개의 무의 SNP를 분석하고 각 개체에 고유한 SNP를 선별함.

1. 뿌리 유용형질 분석

가. 무 뿌리 비대를 유도하는 생리적 조절과 관련 유전자 분석

실험 재료: 무 비대성장을 좀 더 체계적으로 이해하기 위해 박수형 박사로부터 두 종류의 RIL (group A: 관동여름 x 평지 여름, group B: 팔광 x 하령)을 표1과 같이 제공받아 국립원예특작과학원 비닐하우스에서 파종 (2013년 9월 10일), 9주간 재배 (2013년 11월 13일까지)

표 1. 본 연구에 사용된 라인 정보

라인번호	그룹	라인정보	라인번호	그룹	라인정보
207	A	원교 10028 호	222	A	D232-6(H)
208	A	원교 10030 호	223	A	D60-3
209	A	원교 10031 호	224	A	A37-232
210	B	원교 10034 호	225	B	E60-2(H)
211	A	원교 10037 호	226	A	D84-2(II)
212	B	원교 10041 호	227	A	D6-7
213	부모미상 신조합	신조합(11-FD139)	228	A	D12-2
214	제주수집종 후대	원교 10045 호	229	A	D84-2
215	중국수집종 후대	원교 10048 호	230	A	D169-2
216	A	원교 10049 호	231	B	E124-3
217	B	B175-111	232	B	E146-3
218	A	05-D2382	233	B	E226-1
219	A	D45-3(H)	234	B	E265T-5
220	B	E69-1	235	A	A21-121

(1) 뿌리 비대 과정의 시간대 별 관찰

- ① 목적: 무 성장과정을 시간대별로 관찰 분석함으로써, 무의 비대 성장과 수확량의 패턴을 이해하고자 함.
- ② 방법: 표1에서 개체수가 충분한 16개 라인 (라인207-222) 을 선정하여 파종 후 5주에서 9주 사이의 기간에 매주 3개체 이상을 수확, 뿌리의 무게/둘레/길이를 각각 측정.
- ③ 결과: 대부분의 RIL의 뿌리성장은 파종 후 5주부터 활발히 이루어짐. 시간대 별로 각 라인의 뿌리 무게와 둘레를 측정하고 (그림 1), 5주와 9주 후의 비대/수확량을 순위화하여 비교한 결과 (표 2), 세 가지 추후의 연구에 유용한 타입을 확인.
라인 209, 216, 219 (type 1)의 경우, 파종하여 수확기까지 꾸준히 우수한 성장을 보인 반면, 213, 218, 220 (type 3)은 파종하여 수확기까지 성장이 매우 낮은 속도로 이루어짐. 라인 212, 215, 217 (type 2)은 5주까지의 성장은 느렸으나, 이후 수확까지 매우 빠른 성장을 거침.

표 2. 라인 별 초기 뿌리 비대/성장파 수확기의 비대/수확량을 순위화하여 비교한 결과

RIL	Circumference Rankings (5 week)	Weight Rankings (5 week)	Circumference Rankings (9 week)	Weight Rankings (9 week)
207	10	11	7	12
208	11	10	9	14
209	4	2	2	3
210	5	6	14	8
211	7	8	10	11
212	14	15	11	7
213	13	12	15	15
214	1	4	6	10
215	15	16	1	6
216	2	3	8	4
217	9	9	3	2

218	16	14	16	13
219	3	1	5	1
220	12	13	13	16
221	6	5	4	5
222	8	7	12	9

Type 1 (파랑), Type 2 (빨강), Type 3 (노랑)

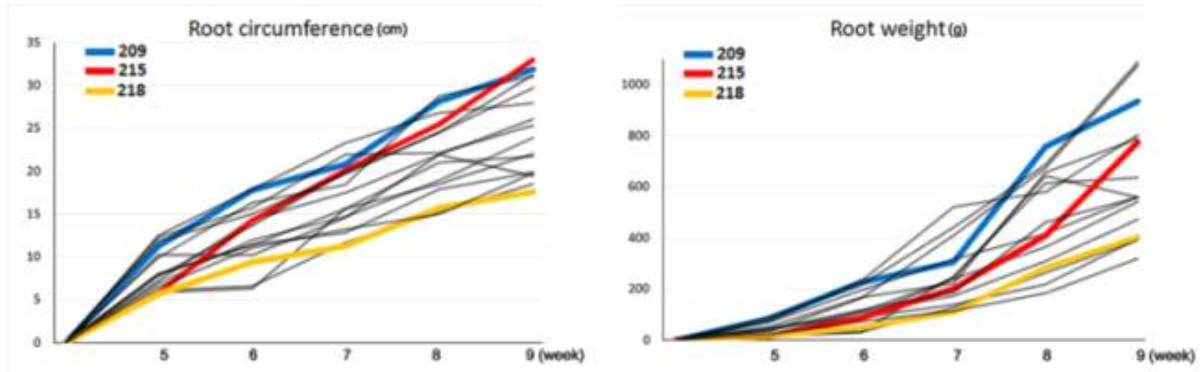


그림 1. 시간대별 수집 관찰을 통한 무 비대성장 분석. RIL 라인의 무 둘레 및 질량을 시간대별로 측정 및 분석한 결과 그래프. 파랑색 라인은 5주 이전의 우수한 초기비대형질이 5-9주 예에서도 이어진 라인 (type 1), 빨강색은 5주 이전에는 상대적으로 느린 비대성장을 보이거나 5-9주 사이에 우수한 비대성장을 보이는 라인 (type 2), 그리고 노랑색은 5주 이전 및 5-9주 사이에서도 느린 비대성장을 보인 라인 (type 3)을 표시하고 있다.

(2) 무 비대성장을 이해하기위한 형성층 세포 활동 관찰

- ① 배경: 줄기의 비대 성장은 형성층의 활발한 세포분열을 통해 유도되는 것으로 알려져 있으나, 이러한 활동이 뿌리 작물인 무의 비대성장 및 생산성에 직접적 영향을 미치는 중요한 요소인 지는 알려진 바가 없음. 따라서 본 연구에서는 분자마커 개발을 착수하기 전, 무 뿌리 형성층의 세포분열이 근비대에 미치는 영향을 조사.

(가) 형성층 관찰을 위해 선발된 무 라인의 시간대별 성장 비교

- ① 방법: 16개 라인 가운데, type 1, 2, 3에 속하는 대표적 라인 (216, 212, 218)과 비대는 우수하나 뿌리 길이가 짧은 라인 214을 선택하여, 형성층 관찰.
- ② 결과: 시간대 별로 이미지를 찍어 분석 시 (그림 2), 라인 214 (원교10045), 216 (원교10049)은 5-7 주 사이에 급속한 비대성장을 보이는데 반해, 라인 212 (원교10041)는 6-7 주 사이에 비대성장을 보임. 반면 라인 218 (05-D2382)은 발육시간 내내 느린 비대 성장을 보임. 결론적으로 214, 216 라인은 가장 잘 빠른 비대 성장을 그리고 212 번은 중간 수준의, 218번은 가장 느린 비대성장을 보여줌.

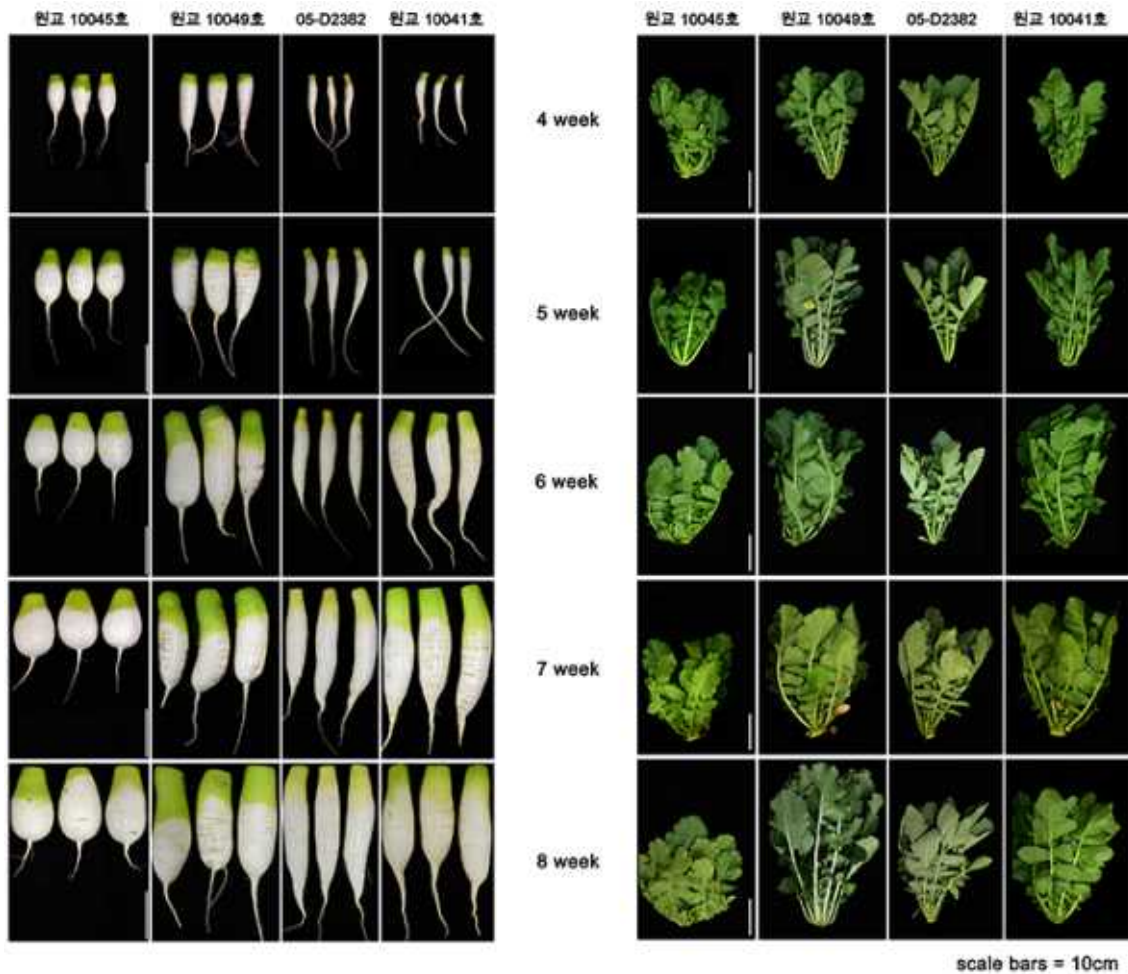


그림 2. 선발된 무의 시간대별 이미지.

(나) 미세절단을 통한 형성층 구조 분석

- ① 방법: 선발한 네 라인의 뿌리에서 가장 비대한 부위를 5-9주 사이 횡절단하여, 전반적인 세포 배열을 관찰, 형성층이 존재함을 확인. 이 형성층 부위를 5, 7, 9주차에 미세절단기로 잘라 염색하여 라인별 세포 배열 상태를 좀 더 자세히 분석 (그림 3).
- ② 결과: 비대성장이 좋은 라인인 214 (원교10045), 216 (원교10049)에서는 5주 및 7주차에 형성층 부위가 얇은 세포층이 촘촘히 배열된 두터운 층으로 이루어져 있다가 생육이 거의 마무리된 9주에는 이 층이 퇴화되는 양상을 보임. 반면 212 (원교10041), 218 (05-D2382)라인의 형성층은 5주 및 7주차에도 형성층을 이루는 세포의 수가 훨씬 적음, 특히 218 라인의 형성층은 매우 미약하게 발달. 이를 통해 비대성장이 좋은 라인의 형성층에서는 성장이 빠르게 일어나는 5주에서 7주 사이에 세포 분열 활동이 왕성하게 일어나고 있음을 시사 (그림 3).

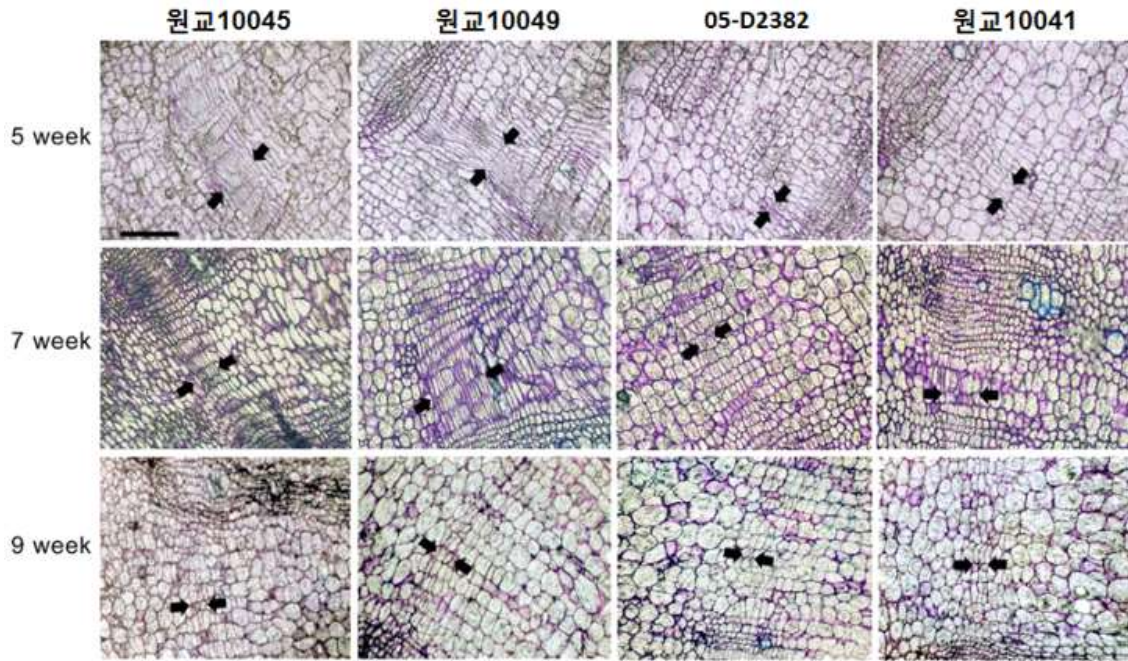


그림 3. 시간대별 / 라인별 뿌리 형성층의 세포 배열 분석. 214 (원교10045), 216 (원교 10049) 라인은 5주 및 7주에 잘 발달된 형성층을 보임. 반면 212 (원교10041), 218 (05-D2382) 라인의 형성층은 생육기간 내내 매우 빈곤하게 발달. 두 개의 검은 화살표로 표시된 구간이 분열활동을 하는 형성층을 나타냄.

(다) 분자표지법을 이용한 형성층 세포분열의 활성화도 분석

- ① 방법: 형성층의 세포분열 활성화도에 의해 비대성장의 차이가 일어남을 증명하기 위해 비대성장이 우수한 라인 (214, 216; 원교10045, 원교10049) 과 열등한 라인 (212, 218; 원교 10041, 05-D2382)의 형성층을 포함한 뿌리 단면에서 세포 분열 활성화에 비례하여 발현되는 마커 단백질의 발현을 측정. 이를 위해 마커 단백질에 대한 항체를 이용하여 immunolocalization을 실시, 시간대 별 발현 수준 확인 (그림 4).
- ② 결과: 214, 216 라인은 5-7주에 거쳐 활발한 세포분열을 보임을 알 수 있었고, 212 라인은 7주에 강한 세포분열을 나타냄. 이에 반해, 218 라인은 시간대별 발달과정 속에서 형성층의 활발한 세포분열 나타내는 분자표지 시그널이 매우 약함. 이는 형성층의 세포 분열 활동 수준이 라인별 형성층의 발달과 더 나아가 비대성장에 지대한 영향을 미침을 의미.

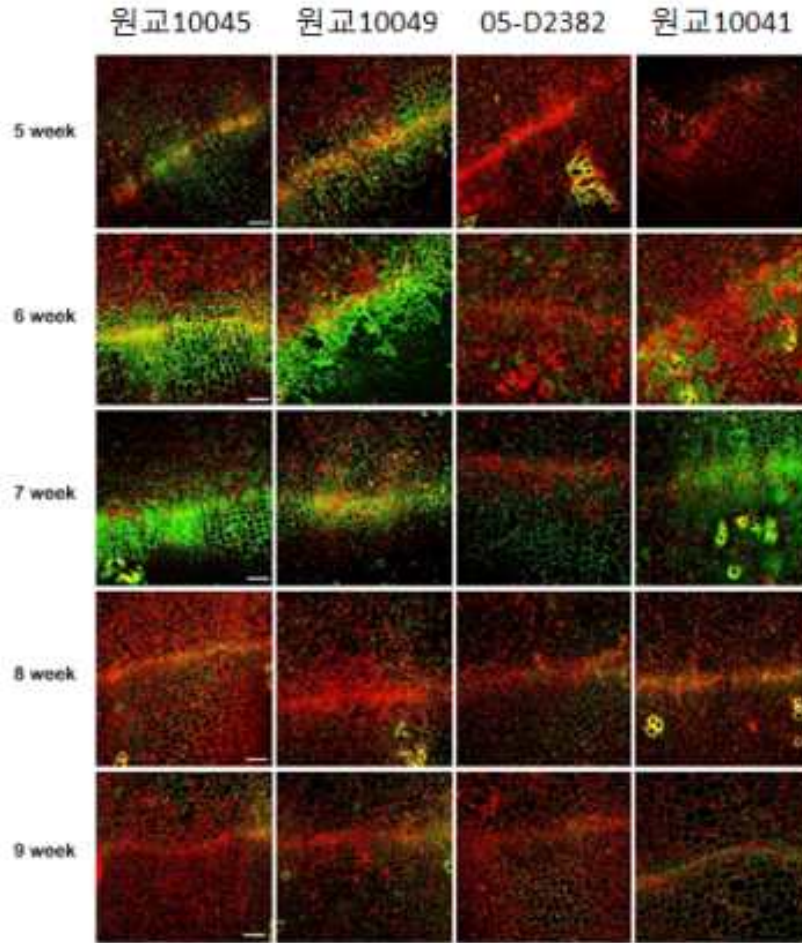


그림 4. Immunolocalization을 이용한 시간대별/라인별 형성층의 세포분열 활동 분석. 녹색의 형광 시그널이 세포분열 마커 단백질의 발현 위치와 정도를 나타냄. 5-7 주에 활발한 비대성장을 보이는 214, 216 라인은 5-7주에 걸쳐 형성층 부위에서 활발한 세포분열이 이루어짐을 확인할 수 있음. 212 라인은 7주에 강한 세포분열을 나타냄. 하지만 218 라인은 모든 생육시간대에 걸쳐 세포분열 활동이 매우 낮게 나타남.

(3) 무 비대성장에 관여하는 후보 전사조절유전자의 발굴, 분석

(가) 후보 전사조절유전자의 선정

- ① 배경: 애기장대에서 본 세부과제 연구팀이 확보하고 있는 형성층에 특이적으로 높게 발현되는 전사조절유전자에 대한 정보를 이용, 이들 가운데 11개를 선정하여 선택된 12개 유전자와 단백질 코팅 부위의 염기서열상 가장 유사한 무 유전자를 reciprocal blast를 통해 무 게놈 데이터베이스로부터 찾아냄 (표 3). 이들 후보 유전자들 중 형성층 발현이 우수한 유전자의 발현 양상을 비대성장이 우수한 라인 216과 나쁜 라인 218에서 시간대별로 분석하여, 과연 이 유전자들이 애기장대처럼 형성층 특이적인 발현 패턴을 보이는 지, 그리고 비대성장이 우수한 라인과 나쁜 라인 사이에 발현 차이가 있는 지를 조사.

표 3. 무 형성층에서의 발현 분석에 이용된 후보유전자들

EST ID	Cambium enriched transcription factor genes in Arabidopsis	TF motif	Putative Radish CDS
FY439133	AT2G22540	MADS box	Rsa1.0_01930.1_g00004.1
EY908024	AT2G31180	MYB	Rsa1.0_00496.1_g00007.1/Rsa1.0_03050.1_g00002.1
EV532705	AT4G08150	Homeobox	Rsa1.0_00263.1_g00002.1
EY917101	AT4G37750	AP2	Rsa1.0_00792.1_g00008.1
EV545694	AT5G61590	ERF	-
EV528492	AT5G61590	ERF	Rsa1.0_00056.1_g00002.1
RsASL9 (no EST)	AT1G16530	ASL	Rsa1.0_00065.1_g00008.1
FY440652	AT3G23250	MYB	Rsa1.0_01399.1_g00001.1/Rsa1.0_02960.1_g00001.1
FY448049	AT2G38470	WRKY	Rsa1.0_03437.1_g00004.1
FY434566	AT5G51190	ERF	Rsa1.0_07250.1_g00002.1
FD981520	AT1G17380	JAZ	Rsa1.0_00153.1_g00014.1
FY443167	AT2G47260	WRKY	Rsa1.0_01588.1_g00008.1

radish CDS: <http://radish.kazusa.or.jp/>

EST: <http://bioinfo.bti.cornell.edu/cgi-bin/radish/index.cgi>

(나) 시간대별 후보 전사조절유전자의 발현양상

- ① 방법: 온실 조건에서 키운 라인 216 (원교10049)로부터 시간대별/ 조직별로 시료를 채취하여, 이들 시료로부터 각각의 total RNA를 추출하였고, 추출되어진 1 ug의 total RNA 과 역전사 효소를 이용하여 cDNA를 합성 후 quantitative PCR을 이용하여 후보유전자들의 발현 양상을 분석.

시간별/ 조직별 시료채취를 위해 5주, 7주 그리고 9주 키운 무 뿌리 중 가장 비대한 부위를 사용하였고, 그림 7A와 같이, cambium zone (cz), inner parenchyma 1 (ip1) 그리고 inner parenchyma 2 (ip2) 세 부분으로 구분하여 시료를 채취.

Inner parenchyma1은 cambium 과 pith 사이의 두께를 100로 보았을 때, cambium으로부터 30% 안쪽의 조직을 의미하여, inner parenchyma 2는 60% 안쪽의 조직을 의미.

그림 5B와 같이 7주된 뿌리의 top, middle, bottom 부위의 cz, ip1, ip2로부터 total RNA를 분리하여 동일한 유전자 발현 분석을 실시.

- ② 결과: 원교10049의 시간대별 분석결과, EY908024, EV532705, EY917101는 발현정도의 차이는 있으나 전반적으로 cz에서의 발현이 ip1, 2에서의 발현보다 높게 일어남 (그림 5D)

FY439133는 7, 9주 뿌리의 cz에서 발현이 높게 일어남.

EV545694, EV528492의 발현은 7주에 높게 일어남.

7 주차 뿌리의 부위별 분석 결과, FY439133 와 RsASL9 을 제외하고는 cz 에 높은 발현을 보임.

③ 결론: 선택한 후보 유전자의 약 절반은 뿌리 발달과정에서 형성층 특이적 발현 양상을 보임.

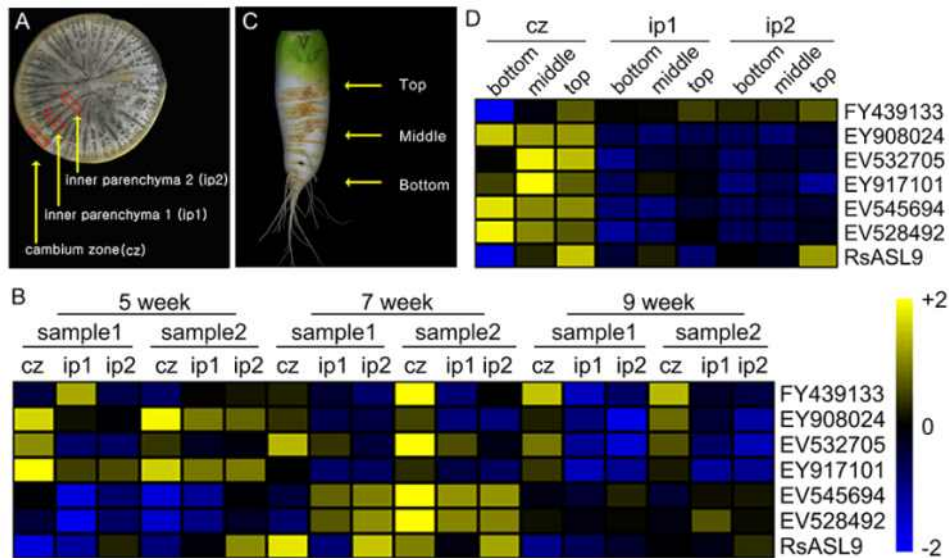


그림 5. 무 비대성장 관련 후보 전사조절인자의 시간/공간대별 발현양상 분석. A) 무 뿌리 내 조직 특이적 샘플링을 보여주는 모식도. B) 이들 전사 조절 인자들의 생육시간대별 발현양상 분석을 보여주는 heat map. C) 무 뿌리에서의 공간대별 샘플링 위치를 보여주는 이미지. D) 이들 전사조절인자들의 뿌리 공간대별 발현양상을 보여주는 heat map. Heat map은 quantitative RT-PCR을 통해 얻어진 유전자들의 Ct값에서 대조군 유전자인 Actin의 Ct값을 뺀 $-\Delta Ct$ 값을 산출한 후, row normalization한 결과.

(다) 비대형질의 차이를 보이는 무 라인간의 후보 유전자 발현 분석.

① 방법: 가-1에서 조사한 유전자들이 비대성장이 우수한 라인과 열등한 라인사이에 어떤 발현양상 차이를 보이는지 알아보기 위하여 라인 216 (원교10049)과 파종 후 동일한 시기에 라인 218 (05-D2382)에서 시료를 채취하여 유전자 발현 양상을 시간대 별로 분석 (그림 6A).

② 결과: FY439133과 EV545694의 경우 라인216과 218사이에 발현 패턴이 현저히 다름 (그림 6B,C).

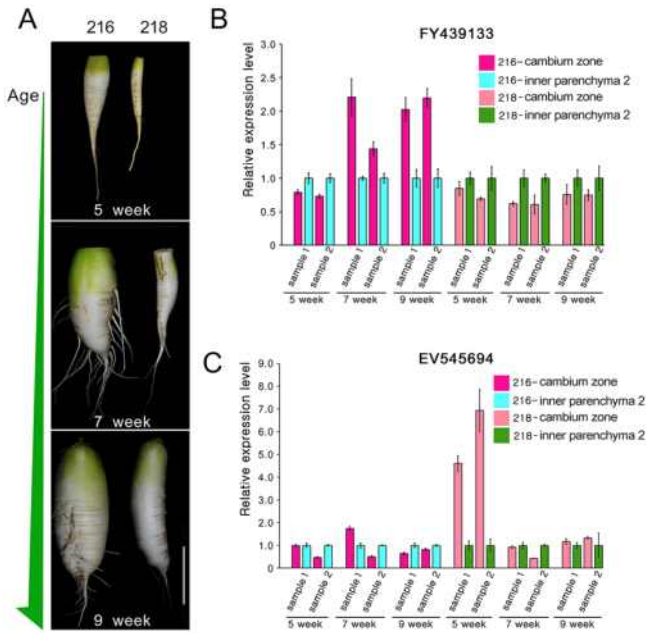


그림 6. 라인 216과 218에서 발굴된 유전자들의 발현양상 차이 분석. A) 라인 216과 218 식물체의 시간대별 성장을 보여주는 이미지. B-C) Inner parenchyma region2에서의 발현양을 기준하여, 라인 216과 218 사이에 상이적인 발현양상을 보여주는 유전자 FY439133 (B) 와 EV545694 (C).

(4) 무 뿌리 비대 조절에 사이토키닌이 관여함을 규명

- ① 방법: 비대가 우수한 원교10049 (216라인)와 열등한 218라인 (05-D2382)의 차이가 사이토키닌과 연관되어 있는 지를 확인하고자, 사이토키닌에 반응하는 마커 유전자를 real-time RT PCR로 분석하고 (그림 7A), 5주된 뿌리의 절편을 사이토키닌으로 처리하여 유전자 발현의 변화를 조사 (그림 7B).
- ② 결과: 그림 9A는 원교10049 (216라인)에서는 사이토키닌의 양 또는 시그널이 형성층에서 매우 높거나 활발한 반면, 218라인에서는 형성층 특이적 반응이 거의 일어나지 않음을 보여줌. 그림 9B는 218라인이 사이토키닌의 처리에도 유전자 반응을 보여주지 않는 것을 보여줌.
- ③ 결론: 두 라인간의 비대차이는 사이토키닌의 신호전달의 차이에 기인한 것으로 추정.

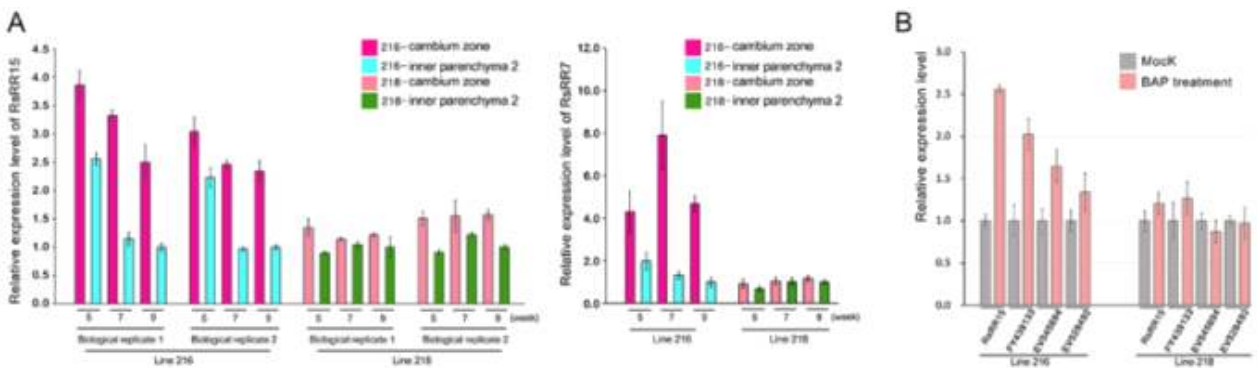


그림 7. 라인 216 그리고 218에서의 사이토키닌 반응성 유전자들의 발현양상 차이 분석. A) 라인 216 그리고 218에서 생육시기에 따른 사이토키닌 반응성 유전자인 RsRR15 그리고 RsRR7 의 형성층내 발현양상 분석. B) 사이토키닌 처리에 대한 라인 216 그리고 218 뿌리 형성층 부위의 유전자 발현 변화 분석

- ① 방법: 그림 7의 결과에 근거, 원교10049 (216라인)와 218라인(05-D2382)을 파종 3주후에 사이토키닌으로 처리하여 처리하지 않은 비교군과 비대 정도를 비교하고, 형성층의 구조와 세포 분열 정도를 분석.
- ② 결과: 원교10049 (216라인)의 경우 비대가 사이토키닌 처리 후 눈에 띄게 증가한 반면, 218라인은 별 차이를 드러내지 않았다. 사이토키닌에 대한 반응과 더불어 원교10049 (216라인)는 형성층의 크기가 증가하고 세포 분열도 증가하는 반응을 보여줌.

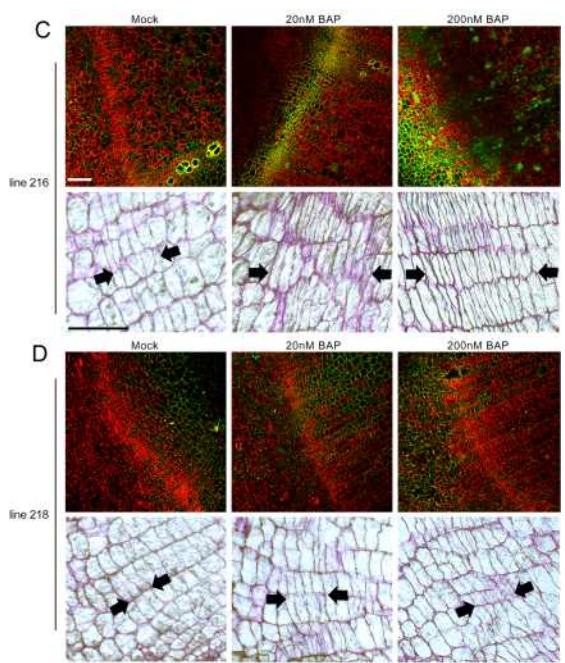
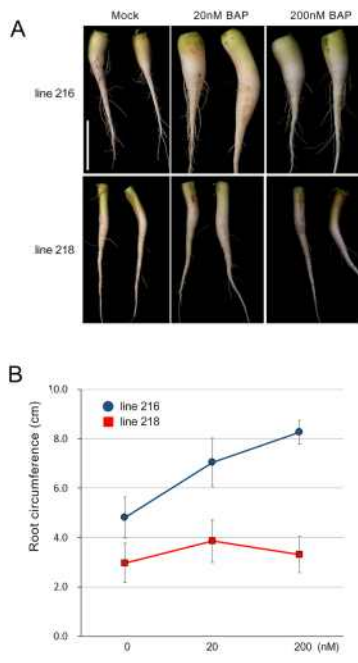


그림 8. 사이토키닌에 반응한 뿌리 비대와 형성층의 변화. 3주된 라인 216과 218을 사이토키닌으로 1주일간 처리 시, 발생하는 뿌리 비대의 변화 이미지 (A)와 둘레 변화 (B). C, D) 사이토키닌의 처리에 반응한 형성층 구조 변화 및 세포분열 관찰 결과.

(5) 무 뿌리 비대에 관여하는 유전자의 생물정보학 기법을 이용한 다량 발굴

- ① 방법: 본 세부과제 연구를 통해 애기장대의 형성층에 특이적으로 발현되는 상당수의 유전자들이 무에서도 유사한 발현 패턴을 보인다는 것을 알게 되었음. 이러한 기초 자료를 토대로 애기장대에서 형성층에 특이적으로 발현되는 유전자에 대한 무에서의 상동유전자들을 reciprocal blast를 통해 탐색. 1,217개의 애기장대 유전자가 형성층 발달의 초기 단계에 발현이 특이적으로 일어나는 것으로 예측됨. 이 가운데 845개의 무 상동유전자를 찾아냄. 이들 유전자의 애기장대 뿌리에서의 발현을 hierarchical clustering을 통해 분석, 형성층 발현이 우수한 유전자 106개를 선발 (표 4, 그림 9)

표 4. 형성층에 특이적으로 발현되는 뿌리 비대 마커 후보 유전자

Arabidopsis CDS	Radish Unigene	Arabidopsis CDS	Radish Unigene	Arabidopsis CDS	Radish Unigene
AT4G19810	UN09285	AT5G58330	UN12452	AT2G04400	UN08326
AT5G38020	UN12274	AT4G04640	UN21658	AT1G29670	UN18766
AT1G18870	UN40319	AT3G53960	UN28145	AT5G44720	UN13157
AT5G41460	UN01634	AT5G54770	UN17788	AT4G31500	UN51198
AT5G05940	UN35822	AT3G26650	UN09975	AT2G38860	UN29494
AT5G16960	UN17154	AT5G01530	UN17400	AT3G02050	UN19265

AT4G17090	UN34554	AT4G10340	UN21447	AT3G61820	UN18469
AT5G06720	UN20830	AT1G61520	UN23199	AT3G44720	UN26505
AT5G06730	UN28493	AT2G37660	UN23482	AT1G11840	UN50909
AT5G44400	UN10248	AT5G01240	UN26932	AT5G47910	UN14645
AT4G37800	UN25335	AT3G55840	UN33773	AT1G21440	UN18760
AT1G69870	UN26708	AT5G57560	UN13178	AT2G31790	UN01782
AT4G03210	UN12705	AT3G54820	UN20509	AT1G11330	UN34322
AT1G02730	UN37747	AT5G49630	UN09378	AT1G68530	UN10015
AT5G12270	UN40216	AT1G19600	UN03486	AT4G39330	UN10443
AT2G35155	UN20540	AT1G78960	UN14285	AT1G51500	UN10960
AT4G21680	UN06374	AT4G26370	UN19871	AT5G45670	UN06314
AT5G13400	UN13404	AT1G14790	UN22097	AT1G17840	UN03638
AT1G52400	UN13043	AT1G77060	UN21007	AT2G26250	UN13718
AT1G73600	UN03473	AT4G13770	UN22968	AT5G23890	UN07837
AT1G29660	UN19089	AT3G19710	UN22535	AT5G05870	UN51229
AT4G33220	UN14972	AT4G29060	UN18393	AT4G33300	UN06507
AT3G16370	UN23045	AT1G01320	UN14548	AT4G29720	UN30447
AT1G75900	UN50199	AT1G04420	UN20473	AT5G17850	UN06060
AT5G63980	UN19636	AT2G29650	UN26678	AT4G39980	UN23110
AT5G17990	UN39909	AT3G58790	UN11986	AT5G25610	UN18206
AT1G18670	UN19268	AT1G08980	UN21994	AT4G34710	UN17325
AT4G39970	UN22177	AT5G66570	UN14116	AT3G62150	UN33527
AT1G30040	UN03658	AT4G27440	UN17852	AT4G11280	UN19232
AT2G43800	UN51716	AT3G12200	UN35497	AT5G66650	UN33733
AT1G33170	UN09872	AT1G48600	UN21835	AT2G17840	UN07735
AT1G20620	UN21581	ATCG00340	UN13579	AT1G22180	UN16154
AT1G02400	UN27708	AT2G17220	UN06942		
AT3G57530	UN11544	AT2G26190	UN00915		

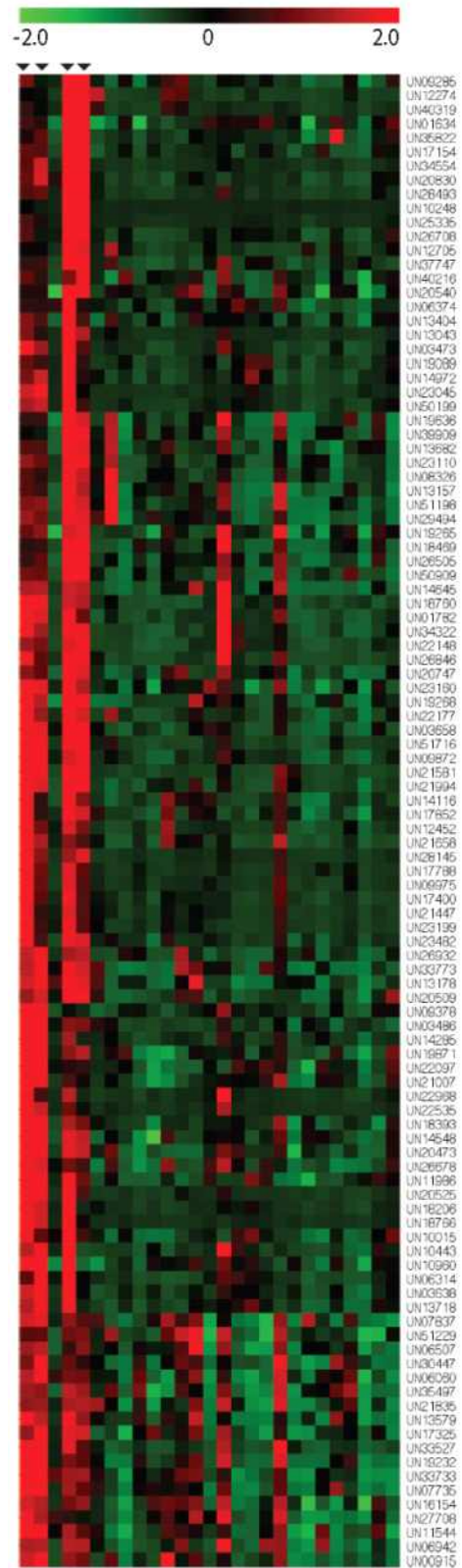


그림 9. 애기장대 초기 형성층에 특이적으로 발현되는 유전자들에 대한 뿌리 발현 heat map. 역삼각형으로 표시된 부분이 형성층 부위를 나타냄.

(6) 무 뿌리 비대 관련 유전자의 다량 발굴을 위한 High-throughput transcriptomics 셋업

- ① 방법: 생물정보학적인 방법으로 선발한 유전자가 실제로 무 형성층 특이적인 유전자일 지의 여부는 발현 분석을 통해 밝혀내어야 함. High-throughput 분석 방법으로 형성층 특이적인 유전자들을 밝히기 위해 Laser Capture Microdissection 기술을 도입, 셋업.
- ② 결과: RNA를 5, 7, 9주된 216, 218라인 무의 조직들 (cambium, parenchyma, cortex)로부터 각각 분리, RNA quality 확인 완료. 이들로부터 sequencing library 작성을 위한 기술 검토 결과, NuGen의 Ovation RNA-seq library construction system을 채택하여, 실험을 진행 중 (그림 10)

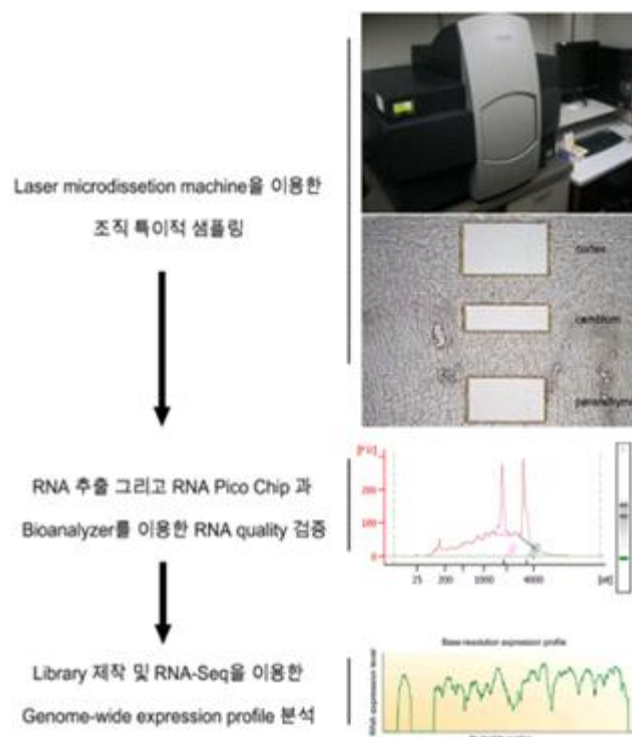


그림 10. Laser Capture Microdissection을 이용한 형성층 유전자 발현 분석의 진행 모식도.

나. 전사체 분석 파이프라인 구축, 전사체 분석

(1) 전사체 분석 파이프라인 구축.

- ① 방법: 전사체 시퀀싱을 통해 얻은 대량의 염기서열 조각은 전사체 정보로 전환하기 위해 염기서열 조각을 재정렬하고 무 전사체 서열 정보만을 분리하는 과정 필요. 이 과정은 무 유전체를 이용하는 방법과, 유전체 정보없이 시퀀싱된 염기서열 조각만으로 전사체 정보를 추출하는 방법이 있어 두 가지 방식을 모두 도입해 분석을 진행 중. 그림 11은 de-nove assembly를 이용한 전사체 분석과정을 보여줌.



그림 11. de-novo assembly를 통한 전사체 분석 파이프라인

(2) 무 전사체 발현분석

- ① 방법: 5주 (5w)와 7주 (7w)된 라인 216 (원교10049)와 218라인(05-D2382)의 뿌리로부터 얻은 전사체 시퀀싱 데이터의 pre-processing 결과를 표5에 요약. cortex (cor), cambium (cam), parenchyma (p) 조직별로 hand dissection (HS)과 microdissection (MS)한 샘플에서 얻은 전사체 들로부터 sequencing library 작성 de-novo assembly를 이용해 전사체 데이터를 얻고, iAssembler를 사용하여 (<http://bioinfo.bti.cornell.edu/tool/iAssembler>), replicate을 제거, unique transcript들을 확보 (그림 12), sequence read를 RPKM값으로 정규화해 유전자 발현량을 얻음.
- ② 결과: 시퀀싱된 데이터의 pre-processing으로 질이 낮은 sequence read, rRNA, chloroplast, mitochondrial RNA를 제거한 결과 약 66%의 read를 최종적으로 얻음. 79,163 transcript가 최종으로 발견되었으며, 이들의 길이 분포는 그림 12에서 확인할 수 있듯이 매우 짧은 전사체들을 배제하면 1kb~2kb사이에서 peak를 이룸. 무 유전체를 이용한 분석 결과가 얻어지면 매우 짧은 전사체들이 보다 긴 전사체 부분으로 분포할 것으로 예측됨.

표 5. 무 전사체 pre-processing 결과

sample	Total	Remove adapter, low qual, short reads		remove rRNA		map to chloroplast	map to mitochondria	final reads	
		Drop	Clean	rRNA Drop	Clean	mapped	mapped	clean	%clean
216HS-5wCam	12,759,686	500,766	12,258,920	2,040,844	10,218,076	165,826	278,869	9,773,381	95.65
216HS-5wP	12,254,242	480,148	11,774,094	2,506,988	9,267,106	215,492	463,576	8,588,038	92.67
216HS-7wCam	11,433,533	414,589	11,018,944	3,435,657	7,583,287	299,126	595,743	6,688,418	88.2
216HS-7wP	10,427,296	389,755	10,037,541	2,761,962	7,275,579	217,236	541,978	6,516,365	89.56
216MS-5wCor	11,674,834	428,563	11,246,271	2,210,474	9,035,797	90,844	362,998	8,581,955	94.98
216MS-5wP	10,826,732	416,542	10,410,190	2,623,200	7,786,990	172,629	443,733	7,170,628	92.08
218HS-5wCam	12,485,943	453,466	12,032,477	2,587,799	9,444,678	310,049	391,277	8,743,352	92.57
218HS-5wP	10,673,081	400,890	10,272,191	2,143,304	8,128,887	259,542	347,147	7,522,198	92.54
218HS-7wCam	12,972,358	487,205	12,485,153	2,734,117	9,751,036	362,842	596,698	8,791,496	90.16
218HS-7wP	12,105,710	455,180	11,650,530	2,141,083	9,509,447	320,745	479,744	8,708,958	91.58
218MS-5wCam	11,173,667	403,248	10,770,419	3,574,366	7,196,053	261,032	605,274	6,329,747	87.96
218MS-5wCor	11,354,409	414,242	10,940,167	3,595,279	7,344,888	242,065	606,445	6,496,378	88.45
218MS-5wP	10,919,152	389,639	10,529,513	3,309,855	7,219,658	236,077	519,886	6,463,695	89.53
218MS-7wCam	13,340,764	509,196	12,831,568	3,744,574	9,086,994	266,526	456,235	8,364,233	92.05
218MS-7wCor	13,303,993	479,034	12,824,959	3,563,402	9,261,557	332,574	499,624	8,429,359	91.01
	177,705,400	6,622,463	171,082,937	42,972,904	128,110,033	3,752,605	7,189,227	117,168,201	91.46

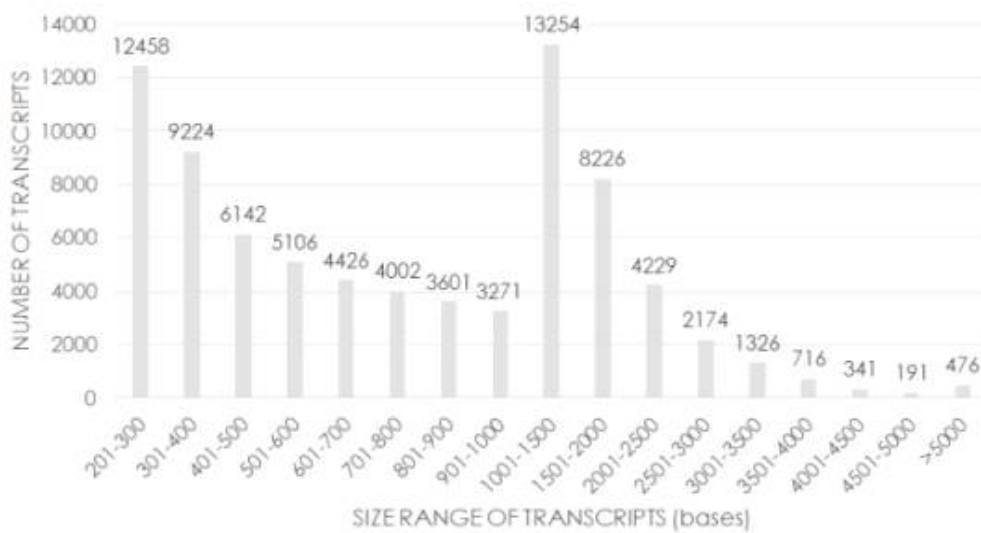


그림 12. de-novo assembly를 통한 무 전사체 길이 분포. 103,504개의 contig로부터 79,163개의 전사체가 얻어졌으며 200-400bp와 1000-2000bp의 전사체들이 가장 큰 비중을 차지함.

(3) 무 조직별 전사체 발현양상 비교 및 형성층 발현 유전자 분리.

- ① 방법: 무 유전체 또는 de-novo assembly로 얻은 전사체 발현 데이터를 생물정보학 및 통계 모형을 통한 분석으로 조직 및 발달 시기에 따라 차등 발현 패턴을 확인하고 비대 발달에 중요한 형성층에서 발현이 달라지는 후보유전자군을 분리함.
- ② 결과: 발달시기에 따라 각 조직에서 분리된 전사체들은 상관관계분석 및 주성분 분석 결과 전사체들의 발현 차이는 분석에 사용된 라인에 의한 기여도가 가장 높았으며 조직에 따른 차이도 비교적 높게 나타남 (그림13). 차등발현 분석을 위해 통계툴로 limma, edgeR, DESeq, 및, EBSeq등을 이용해 (Rappaport et al., 2013) 비대에 중요한 형성층에서 차등발현을 나타내는 전사체들을 5주와 9주에서 분리함. 비대가 가장 활발한 7주의 데이터가 현재 분석 중이며, 분리된 전사체에서 비대에 중요한 전사조절자를 탐색할 계획임.

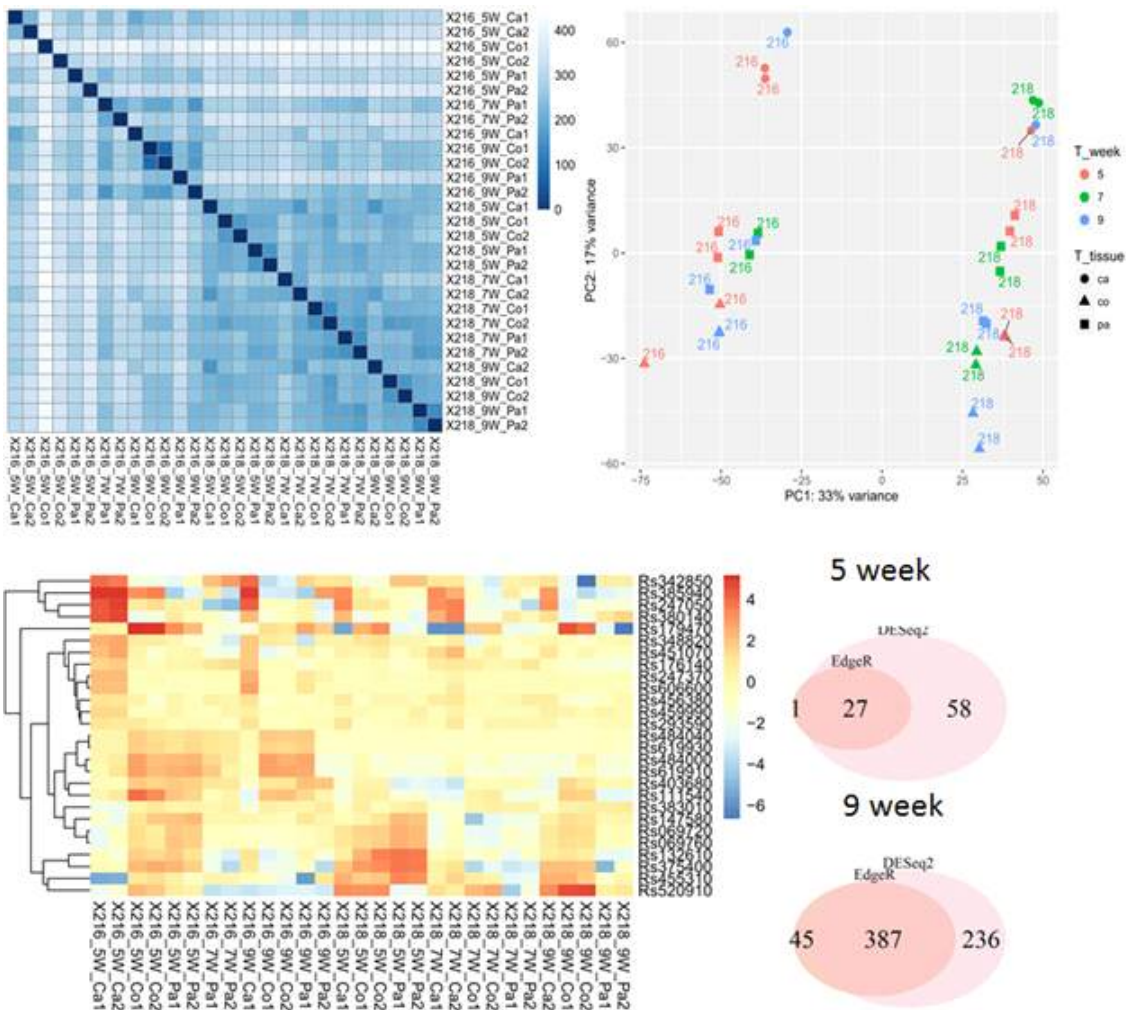


그림 13. 무 비대관련 전사체 분석 결과. (위)각 샘플간의 상관관계와 주성분 분석 결과. (아래) 5주 9주에서 216라인의 분열조직에서 발현이 상대적으로 강한 전사체를 분리해 edgeR과 DESeq2에서 공통적인 전사체를 추출하고 이 중 5주에서 추출한 27개의 전사체의 발현을 각 샘플에서 클러스터링을 통해 heatmap으로 표시함.

(4) 무와 애기장대 homolog간 발현패턴 비교.

- ① 방법: 애기장대의 뿌리 발현 지도에서 초기 형성층에 과발현되는 1,216개의 유전자를 무 전사체와 blast분석으로 비교해 애기장대 유전자 약 800개에 대해 서열이 유사한 무 전사체를 추출, Hierarchical Clustering을 통해 무 전사체의 발현양상을 분석함.
- ② 결과: 비대가 우수한 라인 216 (원교10049)의 5, 7주 뿌리의 형성층에서 발현이 강한 유전자군을 확인함 (그림 14A의 붉은 박스). 또한 무 전사체와 유사한 애기장대의 유전자 발현양상을 분석한 결과 이들 유전자군은 초기 형성층 발달과정에 상대적으로 발현양이 높음을 확인 할 수 있음 (그림 14B의 녹색 박스).

※ 선별된 전사체들의 형질관련 유용성을 평가하기 위해 먼저 이들 전사체의 발현을 무 조직에서 실험적으로 다시 검증하는 한편 비대관련 F2 분리집단의 SNP 분석과 비교 분석을 통해 형질관련 핵심 유전자원을 선별할 수 있을 것으로 기대함. 일부 유전자원은 애기장대에서 돌연변이 및 형질전환체 연구로 표현형 검증이 진행될 예정임.

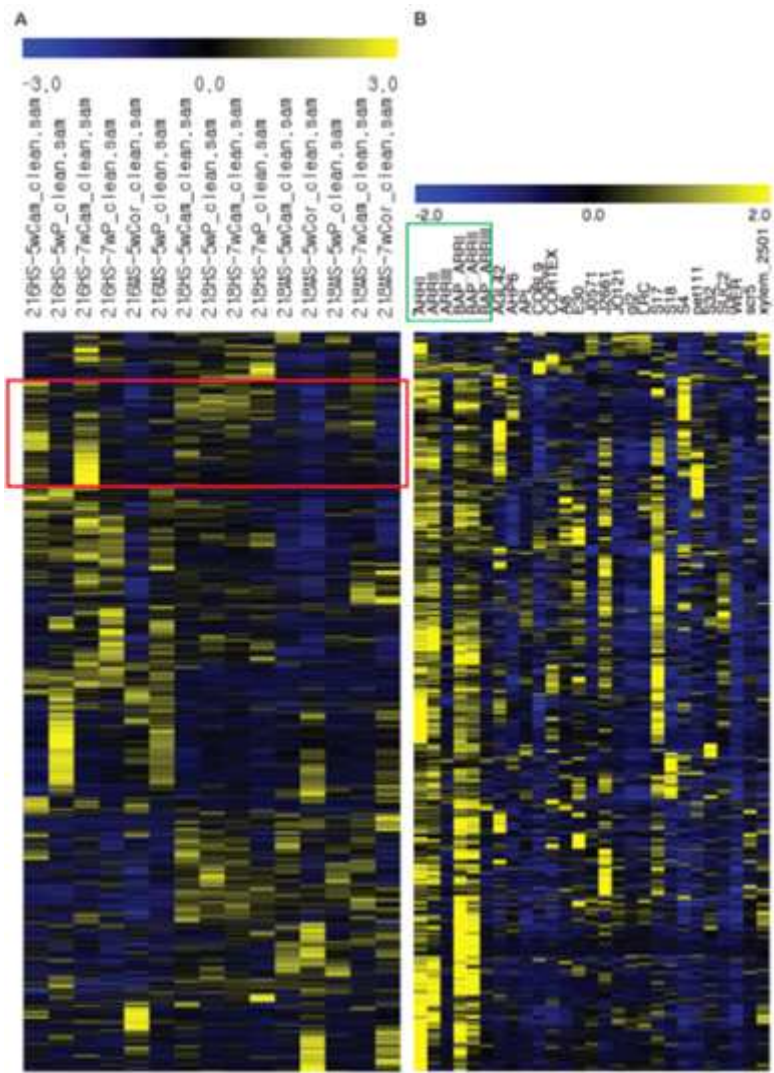


그림 14. 애기장대 형성층 발현 유전자와 유사한 무 전사체 발현양상 분석. 라인 216 (원교10049)와 218라인(05-D2382)의 cortex (cor), cambium (cam), parenchyma (p) 조직에서 5주 (5w)와 7주 (7w)에 전사체를 분리해 염기서열을 분석하고 애기장대의 형성층 발현 유전자와 비교해 heatmap을 작성함. 붉게 표시한 부분은 라인 216의 형성층에서 발현이 강한 유전자군이며 녹색부분의 ARR1, ARR2는 형성층 발달시기의 유전자 발현 데이터를 표시.

다. 뿌리 비대 및 그 외 유용형질 관련 유전자 발굴을 위한 분리집단 작성

(1) 뿌리 비대 관련 분리집단 작성 및 SNP분석

(가) 뿌리 비대 관련 분리집단 작성 (그림 15, 16)

- ① 방법: 분리집단 작성을 위해 F2 종자를 채종, 원교10039와 라인232(E146-3)의 F1 개체에서 2400립, 원교10045와 라인218 (05-D2382)의 F1에서 480립의 종자를 확보하고 각각 196개체, 250개체의 F2를 국립원예특작과학원에서 재배해 근비대와 무게를 측정하고 개별 DNA 시료를 확보함. 원교10045와 라인218의 F2 집단은 2차로 116개체가 추가로 분석됨.



그림 15. 뿌리 비대가 우수한 원교10039와 열등한 라인 232간의 분리집단 작성.

scale bar = 10cm



그림 16. 뿌리 비대가 우수한 원교10049와 라인 218 간의 분리집단 작성

② 결과: F2 분리집단의 비대특성은 잎에 비해 뿌리의 무게와 상대적으로 높은 상관관계를 보임이 재차 확인됨 (그림17). 원교10039와 라인232에 비해 원교10045와 라인218 모본에서 표현형의 균일도가 높게 나타나 원교10045와 라인218의 F2 집단이 2차 분석에 사용됨.

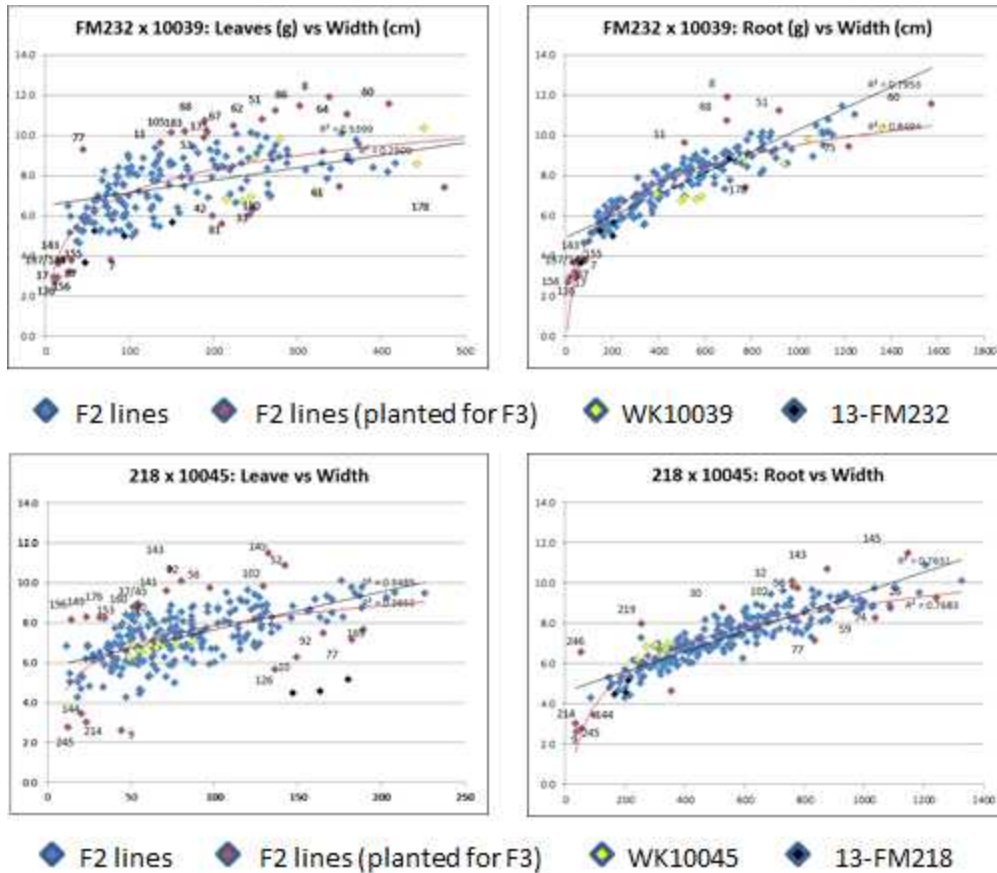


그림 17. 비대관련 원교10039와 라인232에 비해 원교10045와 라인218 F2 분리집단의 비대와 무게의 분표 측정 결과

(나) 비대와 관련된 유전체 변이 탐색 및 마커 개발

① 방법: F2 분리집단에서 채취한 조직에서 DNA를 추출하고 두 개의 제한 효소로 (PstI, MseI) 절단된 DNA절편으로 GBS (Genotyping-by-Sequencing) 라이브러리를 제작 (Elshire et al., 2011), 염기서열 분석으로 각 개체의 표현형에 따른 유전체 변이를 추적함.

② 결과: 비대관련 원교10045와 라인218의 F2 집단 116개체에서 DNA를 분리하고 GBS 라이브러리가 제작됨 (그림 18). 현재 염기서열 분석이 준비 중.

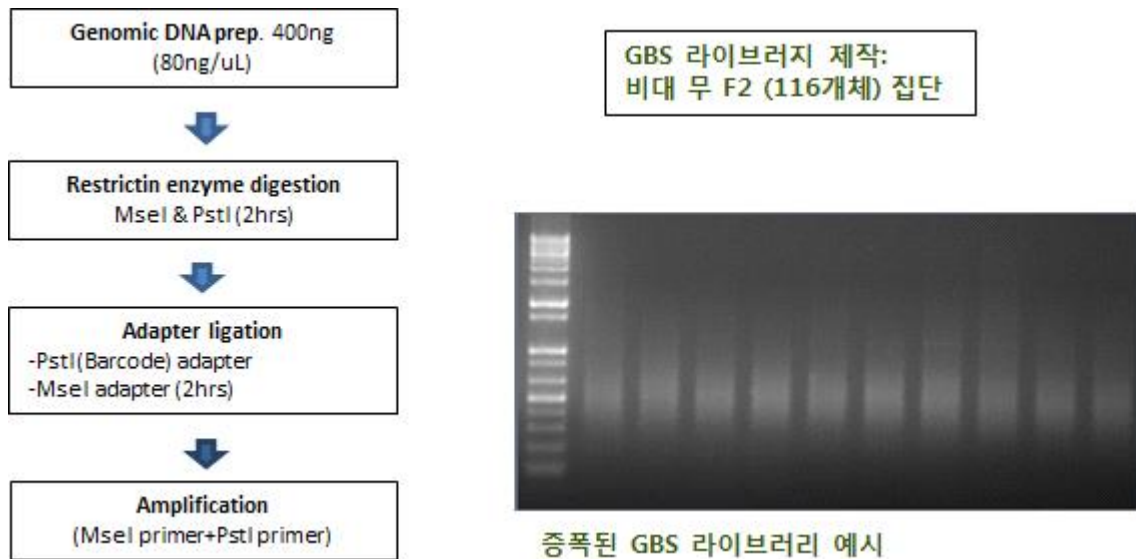


그림 18. SNP 분석을 위한 GBS 분석 파이프라인

(2) H 근형 관련 분리집단 (그림 19,20)

- ① 방법: 분리집단 작성을 위해 F2 종자를 채종, 원교10032와 원교10045의 F1 개체에서 2100립의 종자를 확보함. 국립원예특작과학원에서 138개체의 F2를 재배해 DNA 시료를 채취하고 10주차에 뿌리의 근형을 측정함. 2차로 146개체의 F2로 근형 분석이 추가됨.
- ② 결과: 뿌리의 길이와 두께의 비를 통해 근형을 분석한 결과 등근형과 H 근형의 분리가 뚜렷하지 않고 대부분 중간정도의 근형을 보임. 따라서 단일 유전자에 의한 표현형은 아닐 것으로 추정됨. 염기서열 분석을 위해 DNA 시료를 확보 중이며 근형이 등글거나 H-형에 가까운 35개체는 다음세대 분석을 위한 채종을 위해 재식함.

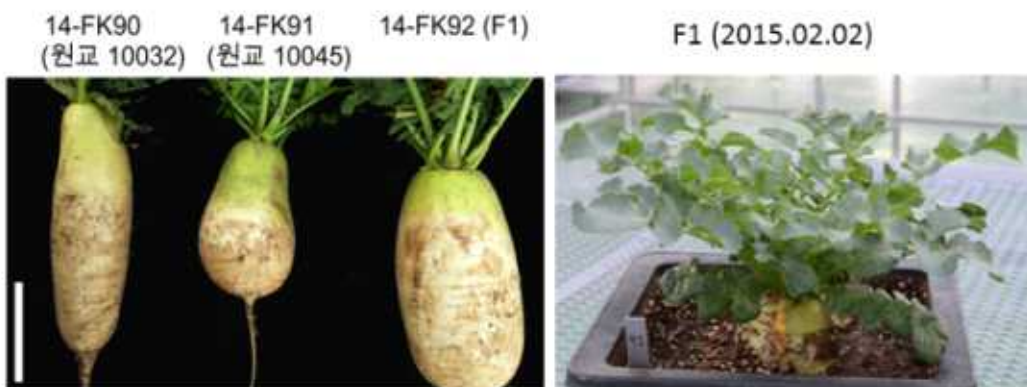


그림 19. H 근형의 원교10032와 원형을 지닌 원교10045 간의 교배에 의한 F1 (14-FK92) 근형 및 식물체 사진. scale bar = 10cm

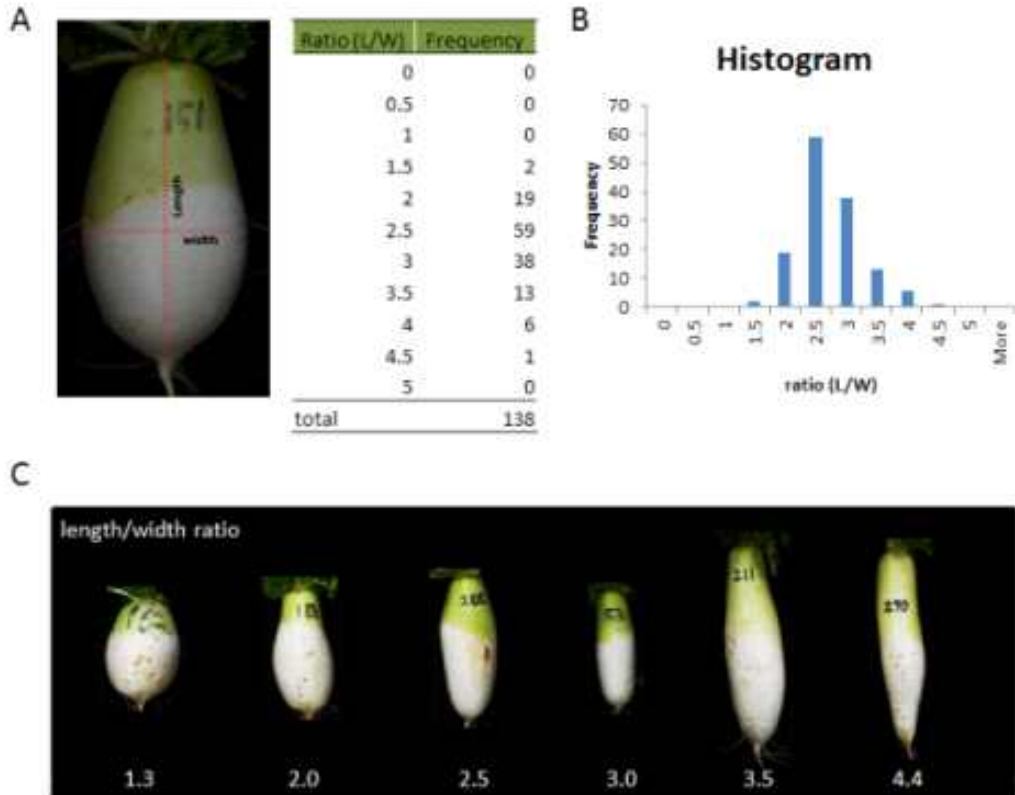


그림 20. H 근형관련 F2 분리집단 표현형. 길이와 두께 비를 이용한 근형분석에 따른 F2 개체들의 근형분포 도표(A)와 그래프(B), 그리고 각 근형 값에 해당하는 대표적인 개체 이미지(C)

(3) 바람들이 관련 분리집단 (그림 21,22)

- ① 방법: 분리집단 작성을 위해 F2 종자를 채종, 원교10029와 원교10040의 F1 개체에서 430립의 종자를 확보함. 국립원예특작과학원에서 125개체 서울대학교 자연대학 온실에서 100개체의 F2를 재배해 DNA 시료를 채취하고 각각 10주차와 13주차에 뿌리를 절개해 바람들이 정도를 측정함. 2차로 106개의 F2가 분석됨.
- ② 결과: 바람들이 분석 결과 F1 개체에서는 바람들이 표현형이 나타나지 않아 바람들이 형질이 열성인자일 것으로 추정됨. F2 분리집단에서의 바람들이 표현형은 다양한 양상으로 나타나 단일 유전자에 의한 표현형은 아닐 것으로 추정됨. 염기서열 분석을 위해 DNA 시료를 확보 중이며 바람들이 정도가 약하거나 아주 심한 개체 50개체는 다음세대 분석을 위한 채종을 위해 잎과 뿌리 윗부분을 재식함.



그림 21. 바람들이에 강한 원교10029와 약한 원교10040 간의 교배에 의한 F1 (14-FK89) 의 뿌리 절단 이미지 및 식물체 사진. scale bar = 10cm

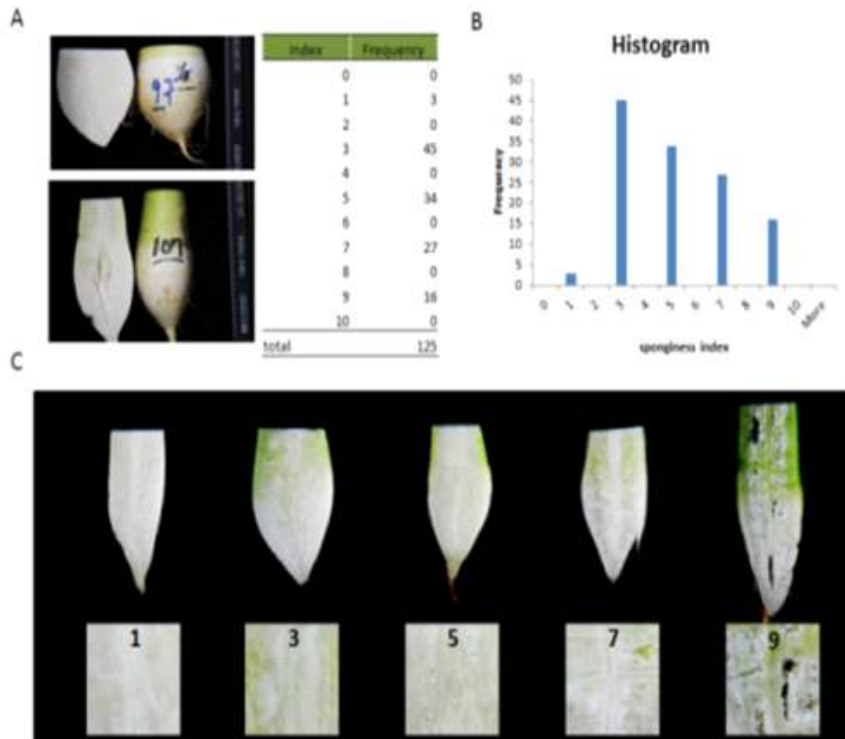


그림 22. 바람들이 관련 F2 분리집단 표현형. F2 개체의 바람들이 정도를 나타낸 표(A)와 그래프(B), 그리고 각각의 바람들이 지표에 해당하는 F2개체의 뿌리단면 이미지.

2. 병저항성 분석

가. 무 시들음병 분석

①방법: 종자를 파종하여 온실에서 2주일 동안 재배한 무의 뿌리를 1×10^7 conidia/ml의 포자현탁액에 30분 동안 침지하여 40구 플러그 포트에 이식하고 25°C 생육상에서 20일 동안 재배한 후에 다음과 같은 발병도 기준으로 병조사 하였음.

0=건전,

1=지하부는 갈변되나 지상부는 병징이 없는 것,

2=지하부는 갈변되고 지상부는 약간 생육이 억제되는 것,

3=지하부는 갈변되고 지상부는 생육이 억제되며 약간 황화된 것,

4=지하부는 갈변되고 지하부와 지상부 모두 생육이 억제되며 심하게 황화된 것,

5=고사

②결과: 12종 중 2개는 저항성, 2개는 중도저항성 그리고 나머지는 감수성을 나타냈음. 대조 품종으로 사용한 '명산무'와 '장생무'는 저항성 그리고 '청수궁중무'는 감수성 반응을 나타내어 실험은 잘 수행되었음을 알 수 있음 (표 6, 그림 23)

표 6. 품종의 무 시들음병에 대한 저항성

품종명	발병도	반응
원교 10029호	2.7	S
원교 10032호	1.8	MR
원교 10039호	1.1	R
원교 10040호	2.3	MR
원교 10041호	4.5	S
원교 10045호	3.9	S
원교 10048호	4.3	S
13-FM212	4.0	S
13-FM214	1.3	R
13-FM216	3.3	S
13-FM218	5.0	S
13-FM232	4.9	S
명산 (저항성 대조)	1.2	R
장생 (저항성 대조)	1.4	R
청수궁중 (감수성 대조)	4.1	S

R, 0.0-1.5; MR, 1.6-2.5; S, 2.6-5.0.

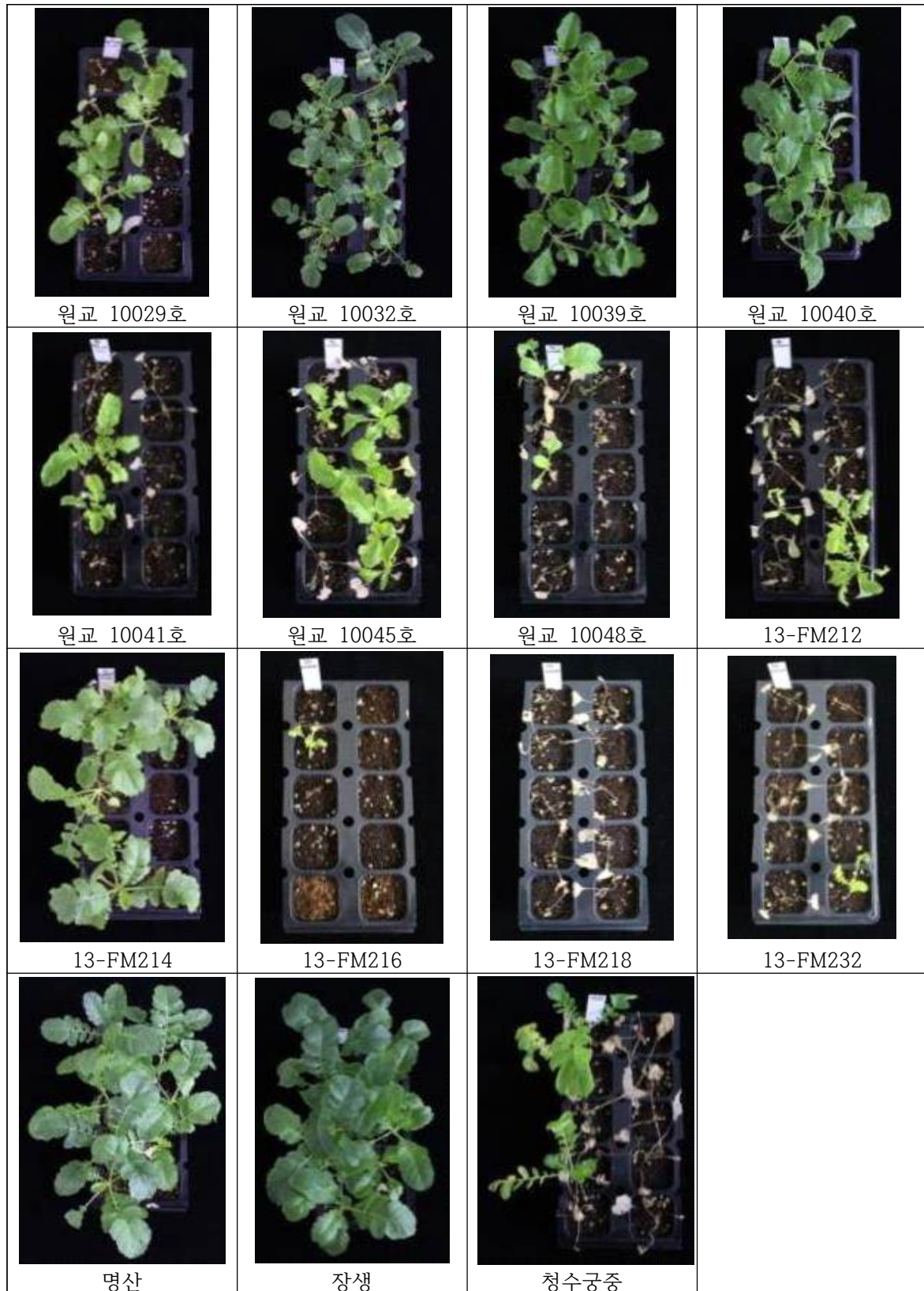


그림 23. 무 시들음병에 대한 식물의 반응

나. 뿌리혹병 분석

①방법: 파종 10일 후 유묘에 뿌리혹병균을 포트 당 1.7×10^9 개가 되도록 접종하였으며, 20°C 항온항습실(10hr 광, 14hr 암)에서 1주간 배양한 후 온실에서 재배하였음. 접종 48일 후에 발병도(0~4)를 조사하였음.

0=뿌리혹병 발생이 없음,

1=주근에 뿌리혹이 착생되었으며 혹은 비대정도가 적고 서로 독립하여 존재,

2=비대정도가 큰 뿌리혹이 주근에 착생,

3=주근이 가늘고 주근과 세근에 작은 혹이 착생,

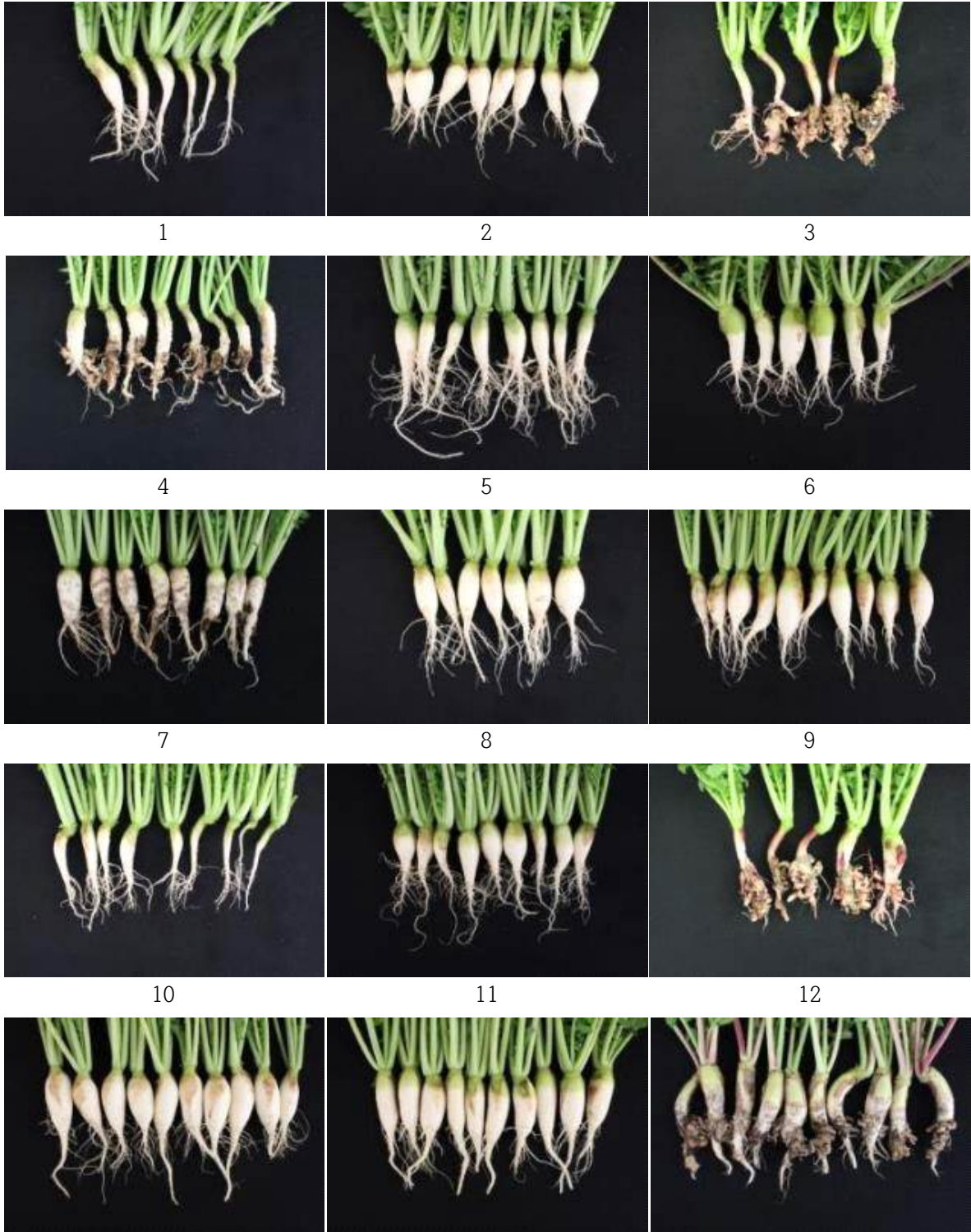
4=주근이 심하게 가늘고 주근과 세근에 큰 혹이 존재.

* 저항성 조사 기준. 평균 발병도가 1.0 미만인 경우에는 저항성, 1.0 이상에서 2.0 이하는 중도저항성, 2.0 초과는 감수성으로 판정함.

②결과: 12품종 중 13-FM216, 13-FM218, 원교 10032호, 원교 10048호는 감수성 반응을 나타냄. 12품종 중 13-FM212 등 8개 품종은 저항성 반응을 나타냄. 대조 품종으로 실험한 '초롱'은 감수성 그리고 '백옥', '슈퍼길조'와 '여름춘향이열무'는 저항성 반응을 나타냈음 (표 7, 그림 24).

표 7. 품종의 뿌리혹병에 대한 저항성

번호	계통명	발병도	반응*
1	13-FM212	0.2	R
2	13-FM214	0.0	R
3	13-FM216	3.8	S
4	13-FM218	4.0	S
5	13-FM232	0.0	R
6	원교 10029호	0.0	R
7	원교 10032호	3.8	S
8	원교 10039호	0.0	R
9	원교 10040호	0.1	R
10	원교 10041호	0.0	R
11	원교 10045호	0.0	R
12	원교 10048호	4.0	S
대조	초롱	4.0	S
	백옥	0.0	R
	슈퍼길조	0.0	R
	여름춘향이열무	0.4	R



백옥(R)

슈퍼길조(R)

초롱(S)

그림 24. 병리검정 대상 무와 대조 무의 뿌리혹병 발생

다. 병저항성 관련 분리집단 작성

①방법: 무시들음병과 뿌리혹병에 저항성을 보인 원교10039와 감수성을 보인 원교10048의 F1 종자를 확보. F2 180립을 채종, 종자를 추가로 얻기위해 온실에서 F1개체를 키우는 중 (그림 25). 병리 검정을 위해 원교10039와 10048의 종자 증식 중.



그림 25. 무시들음병과 뿌리혹병에 저항성이 강한 원교10039과 약한 원교10048 간의 교배에 의한 F1 식물의 사진.

3. 근육색, 근피색 관련 형질

가. 근피색형질분석

(1) 근피색의 유전 양상 분석

○ 배경: 자색 또는 적색 근피, 근육 무는 색소 물질의 항산화 효과로 인해 소비자의 선호가 높고 부가가치가 높음. 근피색의 유전분석과 근피색 결정 유전자의 동정 및 마커 개발을 목표로 연구 진행.

○ 방법: 중국 유래 F1 품종의 후대에서 근피색 유전 분석. 11-FD162에서의 근피색은 단일 열성인자에 의해 결정된다고 판단됨 (그림 26). 대규모 F2 집단에서 분리비를 검정 하고 F3 분리집단을 이용한 전사체 분석을 수행함.

② 결과: RNA-seq 에 사용한 F3 개체에 대해 F4 세대를 분석하여 각각의 유전형이 homozygote인지 heterozygote인지 결정하고 그 정보를 분석에 활용함. 백색 후대에서는 모두 백색 근피색이 적색 근피 후대에서는 적색만 나오는 homozygote와 적색, 백색에 분리하는 heterozygote가 나타남.

근피의 안토시아닌 축적은 백색무와 적색무의 위, 중간, 아래 부분으로 면도칼을 이용하여 얇게 잘라내어 톨루이딘 블루 (toluidine blue)로 염색하여 관찰한 결과, 근피의 안토시아닌 축적이 epidermis cell의 2-3 층에서 이루어짐을 확인 (그림 29).

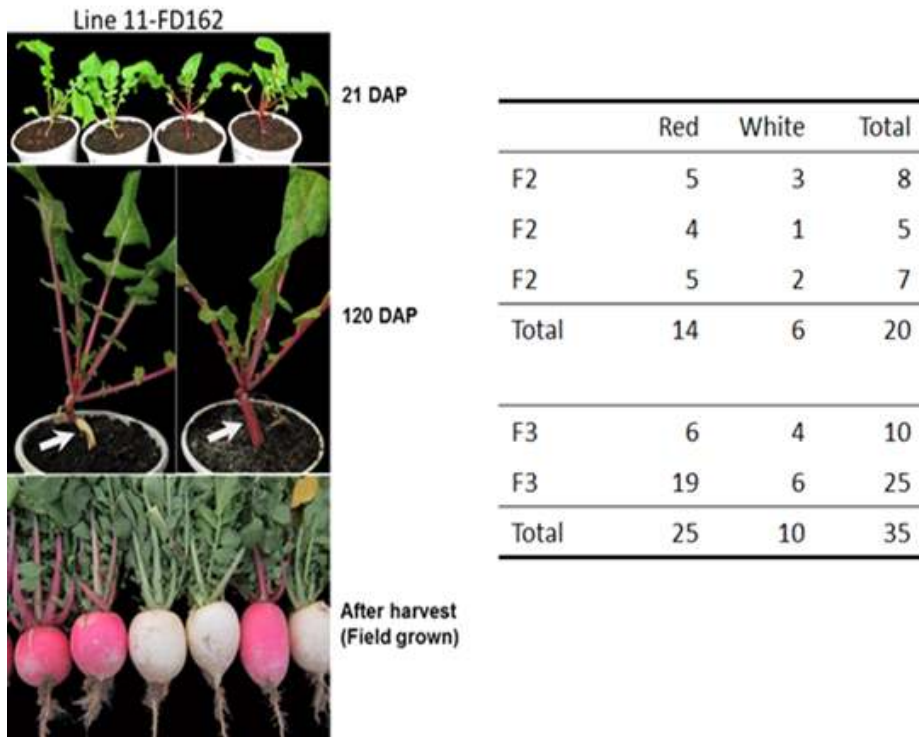


그림 26. 근피색 유전자원. 중국 유래 품종 11-FD162의 형질 및 분리비. 적색이 우성으로 3:1 분리비를 보임. 단일 열성인자 유전으로 판단.

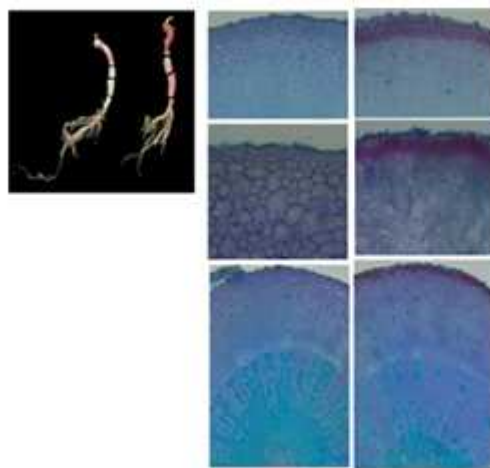


그림 27. 백색무와 적색무 근 단면에서의 안토시아닌 색소 발현비교.

- ①방법: 무 근피색이 적색과 백색으로 분리되는 집단에서 하배축, 엽병, 꽃잎 색과 근피색의 상관 관계를 확인.
- ② 결과: 근피색이 적색인 개체들에서 하배축도 모두 적색을 보였으나, 근피색이 백색인 개체의 하배축은 적색:백색=1:2로 분리됨. 엽병도 비슷한 양상을 보임. 그러나, 꽃잎의 경우 근피, 하배축, 엽병 색깔과 무관 (표8).

표 8. 근피색 분리 집단에서 근피색과 하배축, 엽병, 꽃잎색의 상관 관계 (R 적색, W 백색)

		하배축		엽병		꽃잎	
		R	W	R	W	R	W
근피	R	75	0	75	0	40	32
	W	25	51	15	61	37	36
하배축	R			82	19	55	39
	W			9	42	20	29
엽병	R					47	39
	W					28	29

(2) 근피색 관련 유전자 발현 분석

- ①방법: F3 집단에서 적색 근피색 24개, 백색 근피색 8개체에 대해 RNA-seq을 수행. 각각의 개체에 바코드를 붙여 개체간 read를 구분할 수 있게 함. 무 표준 유전체 정보를 활용하여 SNP 분석

표 9. 어셈블된 무 표준 유전체 길이 및 근피색 분리 F3 집단에서의 SNP 마커 개수

Chromosome	Size (bp)	Chromosome	Size (bp)
R1	26,309,735	R1	26,309,735
R2	43,799,612	R2	43,799,612
R3	29,132,933	R3	29,132,933
R4	50,002,108	R4	50,002,108
R5	45,943,323	R5	45,943,323
R6	53,636,577	R6	53,636,577
R7	27,187,321	R7	27,187,321
R8	29,681,327	R8	29,681,327
R9	38,354,807	R9	38,354,807
<i>R.sativus</i> total	344,047,743	<i>R.sativus</i> total	344,047,743

- ② 결과: RNA-seq 결과 319,443개의 SNP마커가 근피색 분리 집단에서 polymorphism을 보이는 것을 확인함. 이들 SNP 분석을 통해 근피색 결정 인자의 유전자좌를 추적.

근피색과 연관된 SNP가 모여 있는 부분에 11-FD162의 근피색을 결정하는 인자가 위치할 가능성이 높다고 판단하고 이 부분에 위치하고 있는 안토시아닌 관련 유전자를 찾음. 백색 근피무도 엽병 등에서 적색이 나타나므로 생합성 유전자의 변이라기보다 조직 특이적 발현을 조절하는 전사조절 유전자에 초점을 두고 살펴봄. 특히 안토시아닌 축적을 조절하는 Myb 전사인자에 관심을 둬.

적색 근피 개체와 백색 근피 개체들의 발현량 비교 분석을 통해 DEG로 나타나는 유전자를 발굴. RNA 샘플은 앞에서 추출한 것으로 무의 안토시아닌 축적과는 직접적으로 관련이 없음에 유의.

SNP 연관분석으로 확인한 염색체 R7 지역을 좁혀 해당 지역에 있는 후보유전자에 대한 발현량을 qRT-PCR로 확인 (그림29).

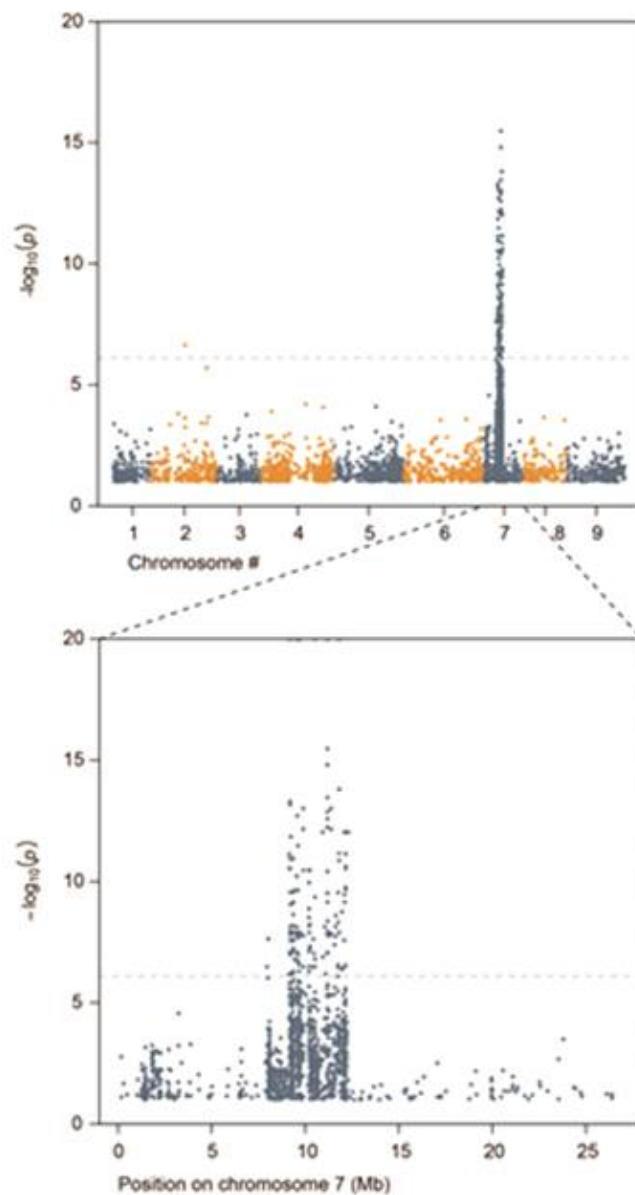


그림 28. 무 근피색 연관 SNP 들의 무 표준 유전체 염색체 상의 위치. 근피색 연관 SNP가 모여 있는 7번 염색체의 9-12 Mb 구역에 해당 유전자좌가 위치할 것으로 판단됨.

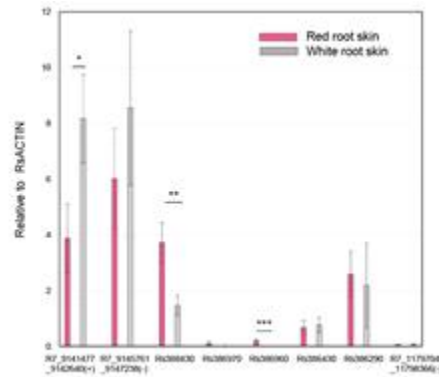


그림 29. 근피색 결정 예상 위치의 후보유전자들에 대한 근피조직에서의 발현량 분석

(3) 근피색 원인 물질 동정

①방법: 적색 근피의 원인 물질을 동정함. standard와 HPLC를 이용하여 적색의 두 개의 주성분을 확인하였고, 이 중 하나가 펠라고니딘임을 확인함. 그 외의 다른 물질에 대해서는 해당하는 standard 물질이 없어 LC-MS를 이용하여 분석 수행 중.

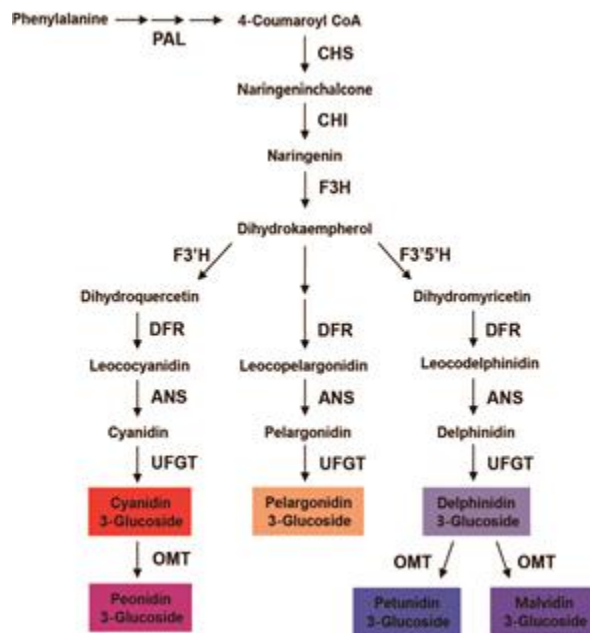


그림 30. 안토시아닌 생합성 과정

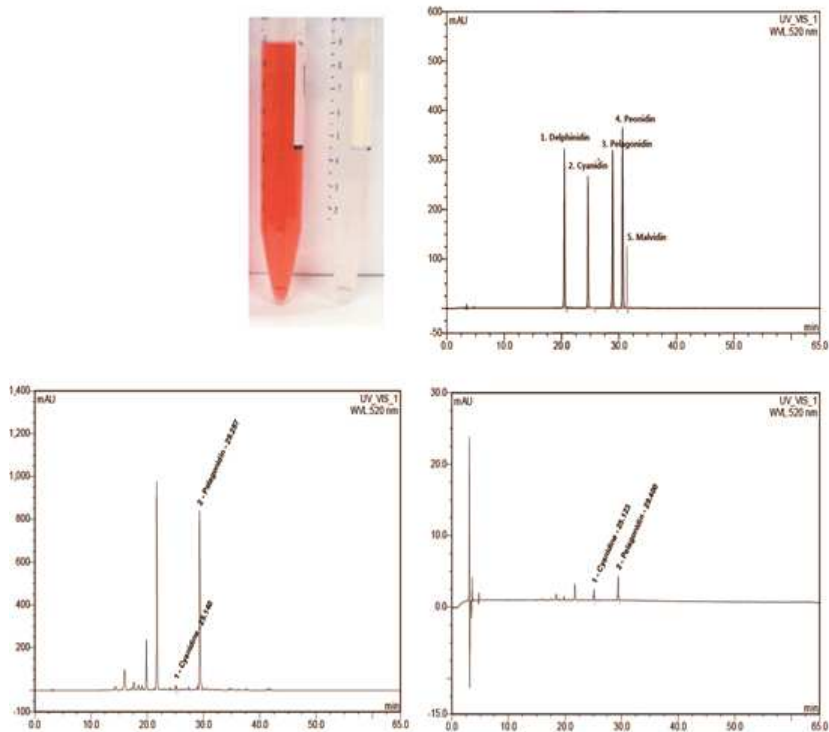


그림 31. 적색 근피 개체와 백색 근피 개체의 HPLC를 이용한 성분 분석. 유기 용매로 추출 후 aglycone 형태로 정제함(왼쪽 위). 표준 샘플을 이용하여 성분을 동정함 (오른쪽 위). 적색 근피의 주요 성분은 펠라고니딘으로 확인 됨. 델피니딘, 시아니딘은 매우 적거나 검출되지 않음(왼쪽 아래). 또 다른 성분에 대한 LC-MS 분석을 수행 중. 백색 근피 무에서는 색소물질이 거의 검출되지 않음 (오른쪽 아래).

나. 근육색 형질분석

(1) 무 근육색의 유전 양상 분석

- ① 방법: 무 근육색 유전자 발굴 및 마커 개발을 위하여 균일한 적색의 근육색을 보이는 원교 10048호를 선발함. 여러 유전자원 중 색의 진하고 균일성이 뛰어난. 이를 재료로 유전 분석을 위한 교배.
- ② 결과: 표준 유전체 분석에 쓰인 백색 근육색을 가진 원교 10039 와 원교 10048의 교배를 수행. F1 집단에서 다양한 근육색 형질이 관찰됨. 근육색 조절은 복합 유전인자에 의해 조절될 것이라 판단됨 (그림 32).

다. 적색 무 품종 선발

본 연구에서 사용된 무 근피색 관련 안토시아닌 성분 중 펠라고니딘이 주요 성분 중 하나로 확인되었으며 무에서의 적색색소 성분 이해를 위해서는 보다 다양한 무 유전자원에서 성분분석이 필요하다고 판단됨. 분자육종을 통한 적색소 고함량 품종 혹은 특정한 생리활성을 가진 적색소를 가진 무 품종 개발을 위해서는 관련 분자마커의 유용성을 평가할 수 있는 유전 및 분자생물학적 접근이 여전히 필요하다고 판단됨. 본 연구에서 확보한 적색근피 마커

역시 근피색 결정과 관련된 제한적인 마커이며 근피색과 관련해서도 다양한 무 품종에서의 검증이 선행되어야 될 것으로 판단됨.

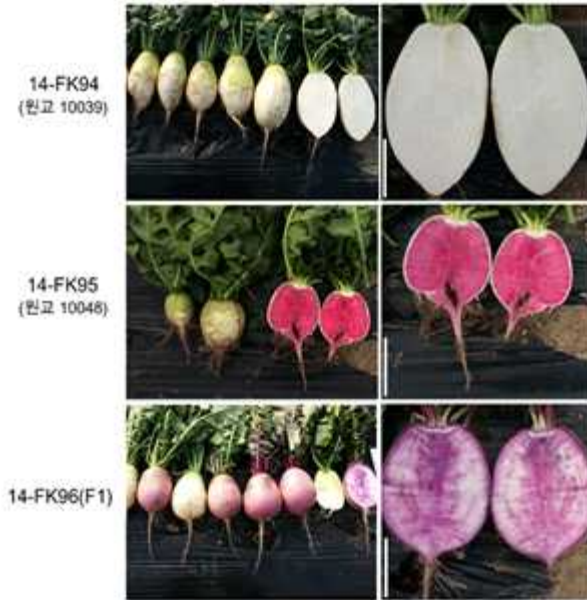


그림 32. 원교 10048호 및 10039호, 그리고 두 품종을 교배한 F1의 근육색 형질. 원교 10048호의 근육색 형질, 균일한 적색을 나타냄. F1에서 형질의 분리가 나타나면 근피색, 근육색에서 자색이 나타남.

4. 글루코시놀레이트 함량 분석 및 유전자 발굴, 마커 개발

글루코시놀레이트는 배추과 작물에서 발견되는 이차 대사산물로 항암, 항산화 효과를 가지고 있으며, 따라서 무의 기능성을 높여줄 유용한 이차대사산물

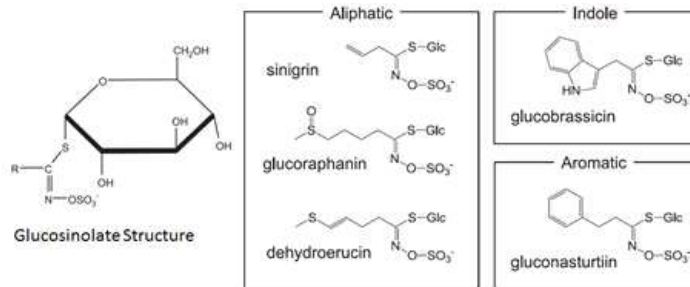


그림 33. 글루코시놀레이트의 구조 및 종류

가. 무 글루코시놀레이트 성분 함량 분석

- ① 방법: 글루코시놀레이트의 황화기를 제거하고 HPLC 분석을 통해 정량함. standard가 없는 글루코시놀레이트를 동정하기 위해 LC-MS를 이용함. 총 71 계통의 무를 분석하였으며 6 종의 글루코시놀레이트에 대해 정량 분석을 수행함. 각각의 계통에 대한 3개의 무 샘플을 각각 분석하여 반복으로 사용. 무 71 계통의 뿌리 형질에 대한 분석을 통해 글루코시놀레이트 함량과 뿌리 표현형을 함께 분석함.
- ② 결과: 무 71계통에 대한 글루코시놀레이트 함량 분석, Glucoerucin (GER), Glucoraphasatin (GRH), Glucoraphenin (GRE), Glucobrassicinapin (GBN), 4-Hydroxyglucobrassicin (4HGBS), 4-Methoxyglucobrassicin (4MGBS) 의 성분이

주요 성분이며 그 외의 몇가지 글루코시놀레이트를 검출하였으나 함량이 미미하여 정량 분석에는 사용하지 않았다. 성분들 간의 연관 분석 결과에 따르면 GRH와 GRE, 4HGBS와 4MGBS에서 낮은 정도의 양의 상관관계가 나타났다. 이들은 서로 전구체를 공유하는 관계에 있다. 대체로 성분들간의 상관관계는 낮은 편이었만, 일부 알리파틱과 인돌릭 글루코시놀레이트 사이에서는 약한 양의 상관관계를 보여 이들 생합성 과정이 공통적으로 조절될 수 있다는 것을 보여 주었다.



그림 34. 글루코시놀레이트 생합성 모식도. 아미노산 메티오닌을 전구체로하는 알리파틱 글루코시놀레이트와 트립토판을 전구 물질로 하는 인돌릭 글루코시놀레이트가 있다. 이중 무 글루코시놀레이트 함량의 대부분을 차지하는 글루코 라파닌은 네 개의 탄소를 사이드 체인으로 한다.

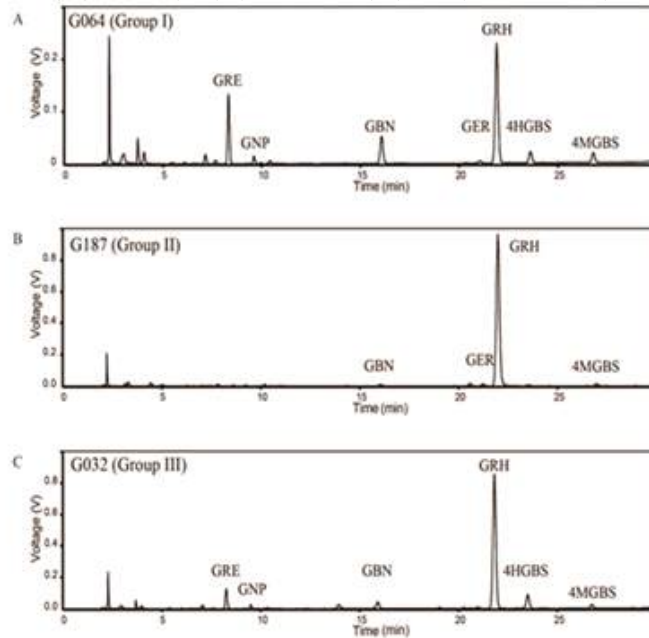


그림 35. 세 개의 대표적인 무 샘플에 대한 HPLC 분석 결과. 대체로 GRH의 함량이 높으나 그 외의 성분은 불검출 되는 경우도 많다. 특히 인돌 글루코시놀레이트의 경우 함량이 높은 것과 거의 없는 것이 있다.

나. 무 형질과 글루코시놀레이트 함량간의 연관분석

- ① 방법: 71개 무 자원에서 글루코시놀레이트 성분의 PCA 분석을 수행함.
- ② 결과: 6종류의 글루코시놀레이트 함량을 이용한 PCA 분석으로 71개의 무 자원을 3개 그룹으로 나눌 수 있음. 그룹I은 대부분의 유전자원을 포함하고 있으며 다양한 무 뿌리 형

질을 나타냄. 그룹II는 GRH, GER 등의 함량이 높고 글루코시놀레이트 총함량이 높은 특징을 보임. 짧은 삼각형에 잔뿌리가 많은 유전자원을 포함함. 그룹III는 인돌 글루코시놀레이트 함량이 높은 계통을 포함하고 있음. 글루코시놀레이트와 근피색, 근형, 바람들이, 당도, 크기 등의 무의 형질들과는 밀접한 관계를 찾기 어려웠고. 유전적 연관성이 없다고 생각되며 근형에 상관없이 고함량 글루코시놀레이트 육종이 가능함을 의미함. 지역 및 육종의 정도에 따라 차이가 없는 것은 글루코시놀레이트 함량이 기존 육종의 목표 형질로 선택되지 않은 것으로 판단할 수 있고 앞으로 육종의 소재로 활용할 가치가 높다고 할 수 있음.

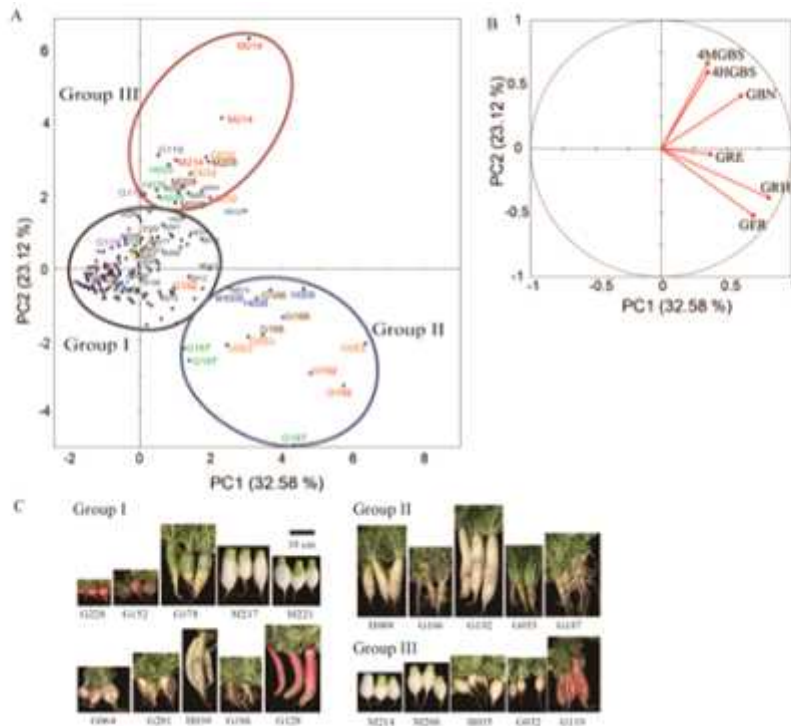


그림 36. 무 71 계통에 대한 글루코시놀레이트 함량을 이용한 PCA 분석 (A) 스코어링 플랏 (B) 로딩 플랏 (C) 각 그룹에 해당하는 무 사진.

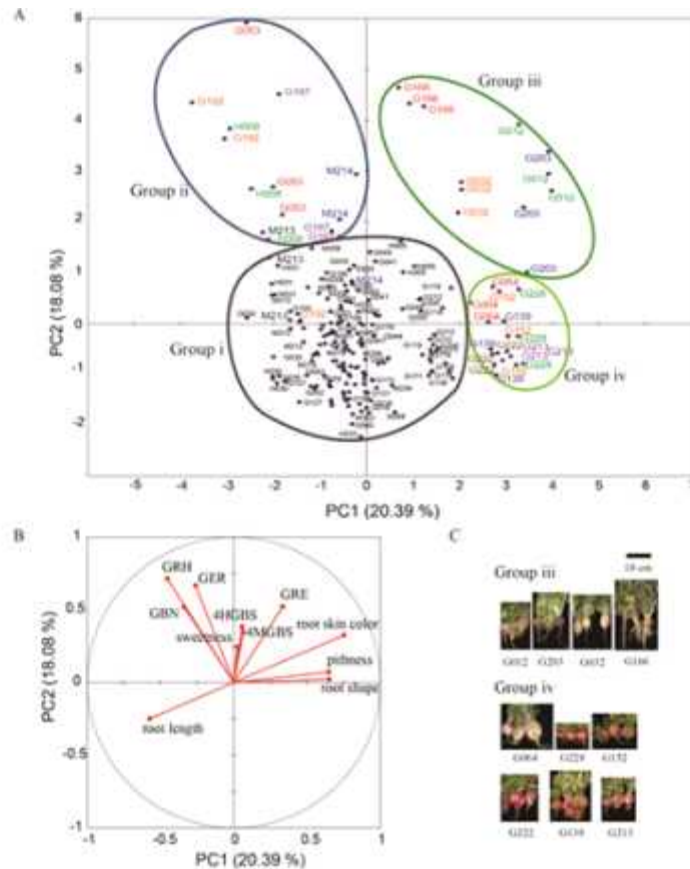


그림 37. 6개의 글루코시놀레이트 함량과 무 형질을 이용한 PCA 분석 (A) 스코어링 플랏 (B) 로딩 플랏 (C) 그룹 iii과 그룹 iv에 해당하는 무 사진.

5. 무 추대 관련 유전자

가. 무 FLC 유전자 분석

무의 유용 형질에 대한 유전자 동정 및 마커 개발로 우량 품종 육성에 기초 자료를 제공하고자 함.

(1) 무의 추대와 관련된 FLC 유전자 분리

- ① 배경: 무 재배에서 추대는 재배 작기 결정, 무의 상품성, 채종 등에 중요한 형질로 개화조절 유전자로 잘 알려진 FLC 유전자를 무에서 동정함으로써 무의 추대 결정 유전자 및 그 기작에 대해 이해하고자 함.
- ② 방법: 무 FLC 유전자를 동정, 배추과 FLC와 근연관계를 분석함.
- ③ 결과: 무는 다른 배추과 작물과 마찬가지로 유전체의 배수화 과정을 겪으면서 세 개의 FLC 유전자가 존재함을 확인하고 그 염기서열 및 아미노산 서열을 통해 기종에 알려진 배추과 FLC 유전자들 간의 유사성을 확인함. (그림38). 세 개의 무 FLC 유전자를 기존 배추과 FLC 유전자와의 유사성에 의거하여 RsFLC1, 2, 3로 명명함.

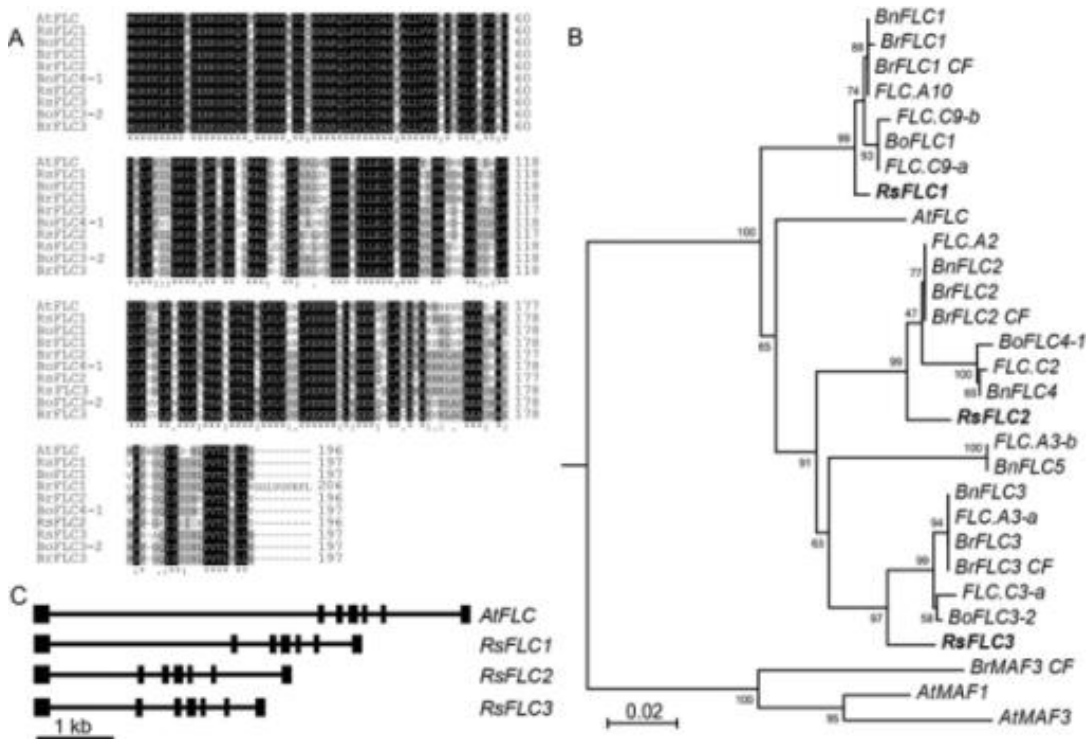


그림 38. 무 FLC 유전자의 아미노산서열(A)과 배추과 FLC 유전자와의 근연관계 분석(B) 및 유전자 구조(C)

(2) 무 FLC 유전자 기능분석

- ① 방법: 무에서 분리된 RsFLC1, 2, 3를 애기장대에 과발현 시켜 개화시기를 관찰함으로써 그 기능을 확인함. 애기장대 형질 전환체에서 각각의 도입 유전자의 과발현을 qRT-PCR 방법으로 확인함.
- ② 결과: 각각의 유전자의 과발현이 애기장대의 개화를 지연, 이는 RsFLCs가 개화 조절에 중요 기능을 담당함을 보여줌 (그림 39).

(3) 무 FLC 유전자의 조직 및 춘화처리에 따른 발현량 측정

- ① 방법: 무 조직별 FLC 유전자의 발현을 qRT-PCR로 측정하고 춘화처리에 의한 발현변화는 RNA-seq과 qRT-PCR을 이용해 측정함.
- ② 결과: 무의 FLC 유전자의 조직별 발현 양상을 보면 RsFLC1, 2는 모두 조직에서 고르게 발현되지만, RsFLC3은 뿌리 등에서 거의 발현되지 않음. 즉 세 개의 FLC 유전자는 발현되는 주 발현 조직에서 차이가 나타남 (그림 40). 무 FLC 유전자들은 춘화처리에 따라 그 발현량이 감소하는 경향을 보임. FLC 유전자의 발현량은 개화시기가 앞당겨지는 표현형과 강한 상관관계를 보임 (그림 41). 전사체 분석을 통해 RsFLC1, 2, 3의 상대량을 비교해보면 RsFLC2의 발현량이 RsFLC1, 3 보다 낮은 것을 알 수 있음 (그림 41A).

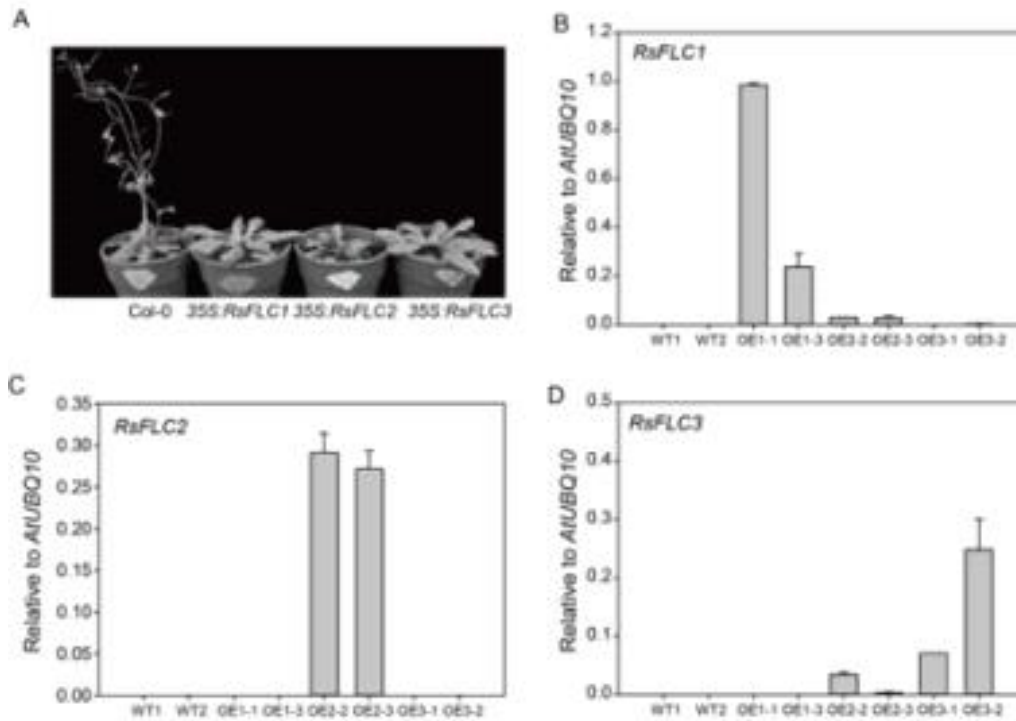


그림 39. 무의 FLC 유전자 과발현에 의한 애기장대 개화 지연 (A). 각각의 형질 전환체에서 도입 유전자의 과발현을 qRT-PCR 방법으로 확인 (B, C, D)

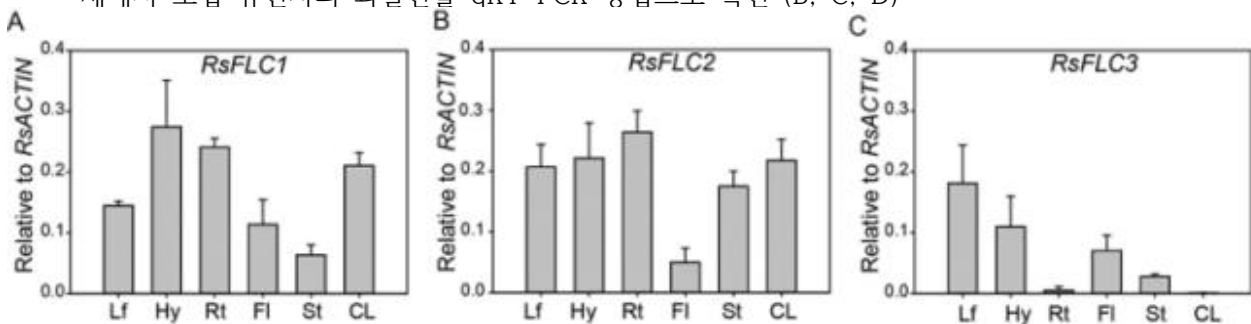


그림 40. 무 세 개 FLC 유전자의 조직별 발현 양상. RsFLC1, 2는 모든 조직에서 전반적인 발현을 확인할 수 있으나, RsFLC3는 뿌리 및 꽃대앞에서의 발현이 매우 낮음을 확인할 수 있음. Lf: 잎, Hy: 하배축, Rt: 뿌리, Fl: 꽃, St: 꽃대, CL: 꽃대잎

나. 무 조기추대 라인 선발

(1) 무 품종의 개화시기 및 춘화처리 반응성 측정

- ① 방법: 무 시판품종 진주대평무(JD), 청운무(CW), 청한무(CH)와 원교 10039호를 이용하여 춘화처리에 따른 개화시기를 조사하고 유묘기 식물체를 이용하여 춘화처리에 반응 정도를 측정함.(그림 42).
- ② 결과: 초기 30일까지의 춘화 처리는 품종에 따른 일부 차이를 보이지만, 30일 정도의 춘화 처리는 모든 품종에서 개화시기를 일정하게 앞당기는 효과를 보임.

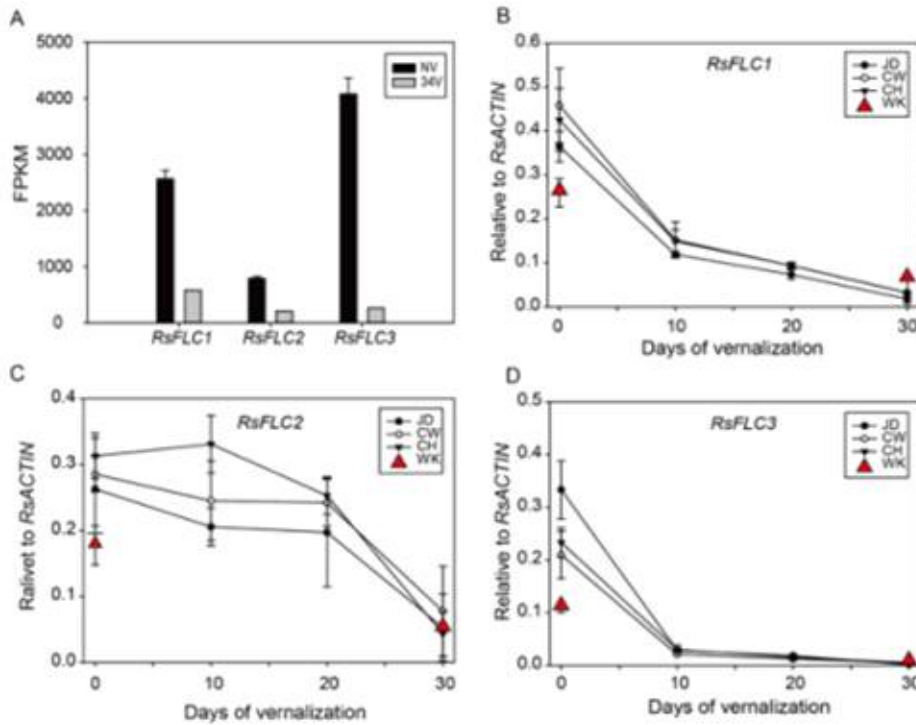


그림 41. RsFLC 유전자의 발현량. A)춘화처리 전후 RNA-seq을 통한 RsFLC 유전자들의 발현량 변화 B-D)qRT-PCR을 이용한 RsFLC 유전자들의 춘화처리 정도에 따른 발현량 변화 , RsFLC2는 다른 RsFLC 에 비해 초기 반응성이 떨어짐.

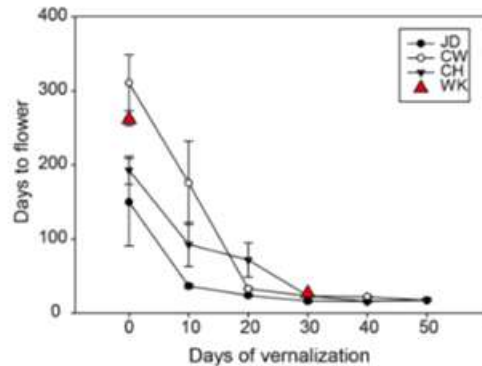


그림 42. 무 품종의 춘화처리 반응성. 춘화처리 기간에 따른 개화 시기 관찰. 품종마다 반응성이 다르며, 약 30일 정도면 충분한 춘화처리 기간이 되며 품종들의 개화시기가 비슷해짐.

(2) 무 조기추대 라인선발

- ① 조기 추대관련 마커 개발을 위한 집단 제작을 위해 조기 추대 유전자원을 선발하였음. (G46,162,189,190 and 219 라인이 춘화처리 없이 매우 초기에 추대가 이루어짐을 확인할 수 있음). 실험에 사용한 무 품종 및 계통은 그림 43과 표 10에 제공.

※ 무 FLC 유전자의 과다 발현이 애기장대의 개화를 억제함을 확인하여 무 추대의 중요 유전자원임을 확인했으나, 실험에 사용된 무 품종에서는 품종 간 FLC 유전자의 발현차이가 크지 않았기 때문에 FLC이외의 다른 요인이 이들의 추대시기에 영향을 줄 것으로 판단됨. 춘화처리를 하지 않은 조건에서 추대시기의 차이를 보이는 라인 간에 분리집단을 작성해 추대

조절 좌위의 추적이 이뤄져야 함.

표 10. 실험에 사용한 무 계통에 대한 정보

Name	Flowering time without vernalization (DAT)	Producer or Germplasm ID	Origin
WK10039 (WK)	~259	NIHHS, RDA	Korea
Jinju Daepyung (JD)	~150	Dongwon Nongsan Seed Co. Ltd.	Korea
Chung Woon (CW)	~311	Monsanto	Korea
Chung Han (CH)	~193	Danong Co. Ltd.	Korea
G46	<35	PI311753	Poland
G162	<35	CR 501	Poland
G189	<35	sung 04	Myanmar
G190	<35	sung 126	Myanmar
G219	<35	THA-LSY-2000-71	Thailand

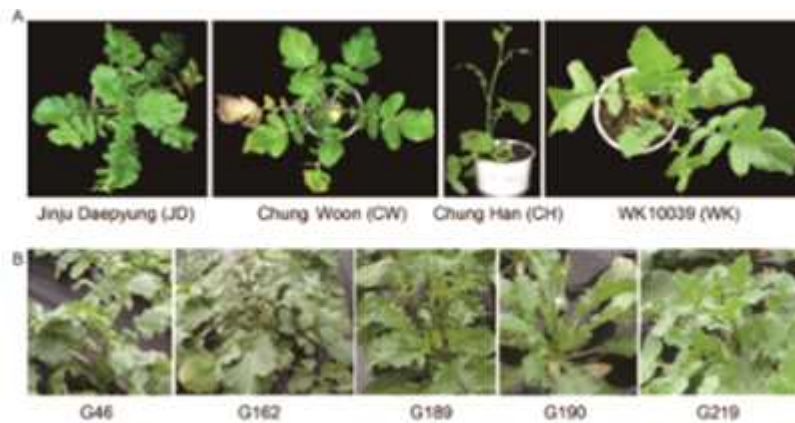


그림 43. 실험에 사용한 무 품종들. 하단 조기개화 무 다섯 계통

6. 무 SNP 탐색 및 확보

무 뿌리형질관련 분자마커 개발을 위해 SNP분석 파이프라인을 구축하고 각각의 뿌리형질과 관련된 F2 분리집단들에서 얻어진 염기서열정보를 분석해 목표형질 관련 SNP를 발굴하기 위한 분석을 진행

- ① 방법: 뿌리형질과 관련된 F2 개체 혹은 집단의 염기서열 시퀀스를 필터링을 통해 부정확한 read들을 걸러낸 후 표준유전체의 염기서열에 매핑해 SNP 정보를 추출, 얻어진 SNP에 형질과 관련된 분석을 진행함. 매핑은 BWA(Burrows-Wheeler Aligner)로 진행하고, Samtools와 커스터마이징된 분석 스크립트를 이용해 SNP를 추출하는 과정을 거침 (그림 44).
- ② 결과: SNP 분자마커 분석 파이프라인을 구축, 형질이 대조되는 무 품종 간 SNP를 포함, 6개의 무 품종에서 각 1,000,000-2,000,000 개의 SNP를 확보하고 각 품종에만 고유하게 존재하는 SNP들을 추출함(그림 45). 위 6개 품종의 육종에서 모본을 추적하기 위한

마커 개발에 노력 중.

※ 이를 위해 현재 확보하고 있는 품종 고유 SNP 중 각 염색체 당 일정한 수의 SNP 들을 선별해 dCAPS 혹은 allele-specific PCR primer를 제작하고, PCR을 수행, PCR 마커로서의 유용성을 평가할 예정임. 마커의 유용성은 현재 상업적으로 활용되고 있는 무 유전자원의 다양성과 연관이 되어 있으며 보다 범용적으로 사용될 수 있는 마 커를 확보하기 위해선 다양한 무 자원의 SNP 데이터베이스 구축이 선행되어야 될 것 으로 판단됨.

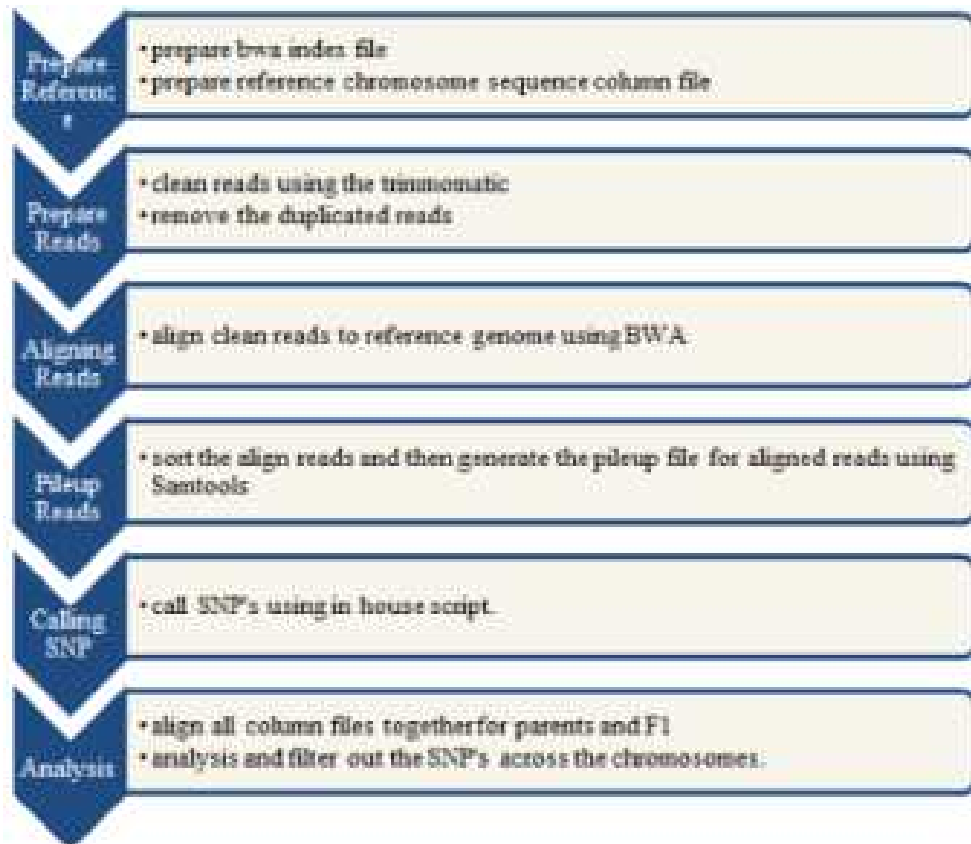
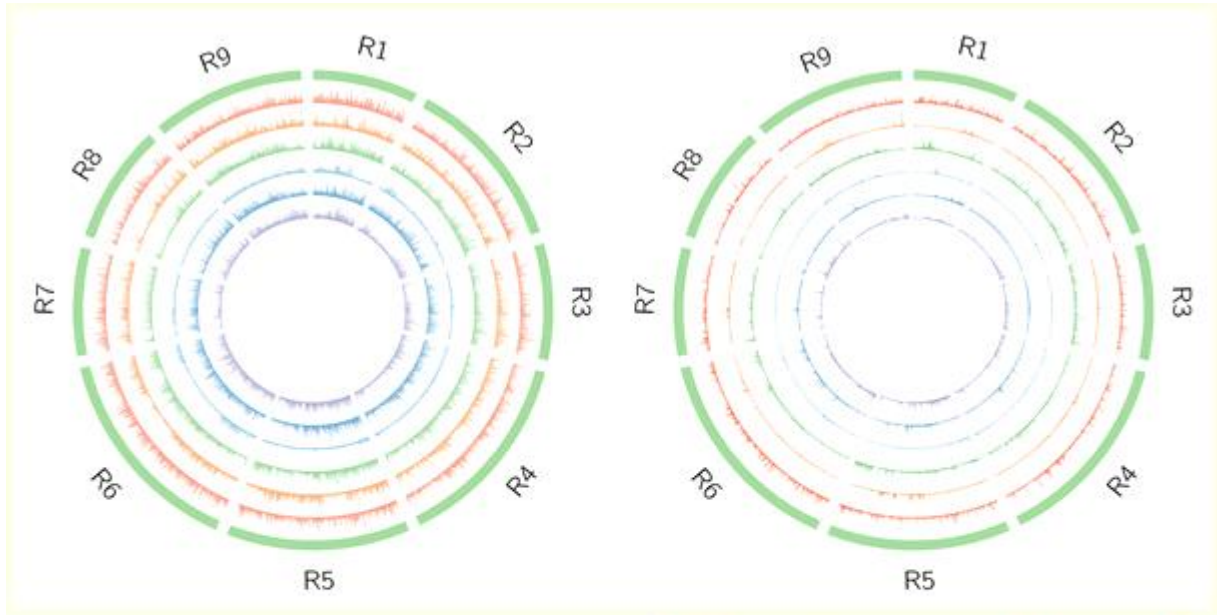


그림 44. SNP 분석 파이프라인



안쪽부터 바깥쪽으로

FM09 line10032 H형
 FM13 line10029 바림이강약
 FM44 line10039 병저항성약
 FM45 line10040 바림이강약
 FM50 line10045 병저항성약
 FM53 line10048 병저항성약

샘플	총 SNP	고유 SNP
FM09	1,739,804	445,947
FM13	1,860,891	288,915
FM44	768,582	130,259
FM45	1,871,586	545,446
FM50	1,821,695	265,987
FM53	2,027,086	760,795

그림 45. 무 개체의 SNP 분포. 6개의 무 유전체에서 분석된 SNP들의 상대적인 위치를 표시. 각 100kb당 SNP 밀도로 나타냄. 왼쪽 그림은 각 라인에서의 전체 SNP 분포이며 오른쪽 그림은 라인에 특이적인 SNP 분포를 표시함.

2 절. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대 단축기술 개발

1. 1년차 연구 내용 및 결과

가. 반수체 배양용 재료 수집 및 재배 : 예비시험 결과 육성된 11계통 종자 증식 및 특성 평가 완료

○ 소포자 배양을 통하여 육성된 계통의 가을 재배를 통한 특성 평가 : 종묘회사와 공동 선발 결과 새로운 품종 선발 (13-FM111, 원교10051호)

<표 1> 신규 육성된 11계통의 채종 및 파종 내역

포장라벨	육성방법	계통번호	증식년도
13-FM104	소포자배양체	11-CFD238-2	2013
13-FM105	소포자배양체	11-CTC18-2	2013
13-FM106	소포자배양체	11-CTC18-3	2013
13-FM107	소포자배양체	11-CTC18-4	2013
13-FM108	소포자배양체	11-CTC18-5	2013
13-FM109	소포자배양체	11-CTC18-6	2013
13-FM110	소포자배양체	11-CTC18-8	2013
13-FM111	소포자배양체	11-CTC18-10	2013
13-FM112	소포자배양체	11-CTC18-12	2013
13-FM113	소포자배양체	11-CTC18-14	2013
13-FM114	소포자배양체	11-CTC18-16	2013

○ 종자 증식에 성공하여 품종보호 출원 실시 : 원교10051호

무 (*Raphanus sativus* L) /원교10051호

1. 구분 : 중간모본
2. 육성내력 : 채소과 보유 품종 중 2001년 수집된 '태백무' 배양 후대
 - 무의 소포자 배양을 위해 2011년 채소과 보유 자원 파종
 - 소포자 배양 : 2011년 겨울부터 2012년 봄
 - 종자 증식 : 2012년 가을
 - 소포자 배양으로 육성된 계통의 최종 선발은 2013년 포장 품평회 과정을 통하여 다양한 종묘회사의 무 육종가들과 공동으로 선발 됨
3. 주요특성
 - 육성계통은 근형이 장형이며, 매우 가늘고 길은 형태를 보임
 - 대조인 서호무에 비하여 지상부와 지하부의 생육이 아담함
4. 적응지역 : 전국
5. 재배상 유의점 : 봉소에 다소 민감함
6. 보완을 요하는 특성 : 없음

7. 시험성적(품종의 특성설명)

가. 고유특성

<표 1> 13-FM111 고유특성

구분	근피색	근형	근육색	엽형
13-FM111	백색+녹색	장형	백	절엽
서호무	백색+녹색	타원형	백	절엽

나. 가변특성

<표 2> 13-FM111 가변특성

구분	주중(g)	근중(g)	근장(cm)	엽수(개)	엽장(cm)
13-FM111	329.3	224.7	16.3	22.0	21.7
서호무	2,617.7	2,198.7	23.7	24.3	41.3

다. 병해충 저항성 : 병충해 저항성은 대비종과 유사함

라. 수량성 : 925.1 kg/10a (대조구 : 7,354 kg/10a)

마. 품질특성 : 근형이 가늘고 길으며, 근수부가 넓어 우수하게 평가됨

바람들이에 강함 (1, 대조-2.3)

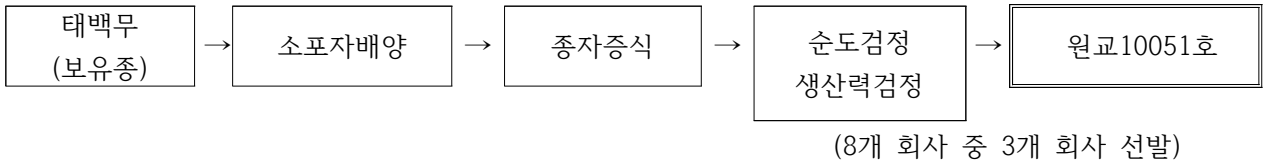
* 바람들이 지수 : 0 없음, 1 미약, 2 변색, 3 바람들이 시작, 4 지름 1mm 이하 구멍, 5 지름 3mm 이하 구멍, 6 지름 5mm 이하 구멍, 7 구멍 2개 이하 형성, 8 구멍 3개 이상 형성, 9 대형 공극 형성

8. 육성경과

가. 육성계통도 (13-FM111)

년 도	2011	2012	2013
세 대		TC ₁	
구분	11-TC18(태백무) 11-TC19(모리구찌) 11-TC20(몽령) 11-TC21(태백무) 11-TC22(901) 11-TC23(902) 11-TC24(대홍포) 11-TC25(한백옥)	채소과 -- 동부한농 동부한농 흥농 현대종묘 현대종묘 대농종묘 대농종묘	1 2 · · 10 -- 16 원교 10051호
비고	보유품종 파종 및 배양	소포자배양 및 증식	순도 검정 후 선발

나. 육성계보도



9. 종자 확보량

- 현재 보유량 200립으로 증식 필요

10. 대체품종 : 없음

11. 임시보호권 처분 가능여부 :가능

12. 기타 참고사항

가. 품종명칭 추천안: 13-FM111 → 원교10051호

나. 품종특성표

No	특 성	표 현 형 태										출 원 품 종		대 조 품 종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	No	실 측 치	No	실 측 치
4	앞: 잎부착부위의 너비			좁다		중간		넓다				3	35.0	5	70.7
18	무: 길이	매우 짧다		짧다		중간		길다		매우 길다		3	16.3	5	23.7
19	무: 굵기			가늘 다		중간		굵다				4	6	5	16.0
20	무: 뿌리의 너비			좁다		중간		넓다				4	20.7	5	23
21	무: 모양	알타 리형	누운 타원형	원형	타원형	달걀 형	넓직 각형	직사 각형	좁은 직사각형	좁은 역삼각형	고 드름모양	8		4	
23	무: 밑동모양	매우 뾰족 하다	뾰 족 하다	둥그 름 하다	둥글 다	평평 하다						2		3	
27	두가지색무:흰부위의 넓이	매우 좁다		좁다		중간		넓다		매우 넓다		3		3	

라. 사진 제출(양식5)



신품종 “원교10051호”의 모습



육성모본인 “태백무”의 재배 모습

소포자 배양으로 육성된 최초의 무 품종 “원교10051호” 공동 선발 모습

○ 무의 국내외 우수 시판 품종 등 자원 수집 : 15점



<중국 광저우 수집 자원 3점(상) 및 미국 수집 자원 3점(하)>

<중국 북경 수집 무 9점 모습>

나. 소포자 배양 : 효과적 조건 구명 실험 및 배양 서비스(7개 회사, 100점)실시

○ 무의 소포자 배양에는 품종의 유전적 소질, 재배 환경 등 다양한 요인이 작용하므로 한 두 개의 배양 조건을 선발하기는 어렵다. 따라서 다양한 배지를 한꺼번에 실험하는 것이 가장 효과적으로 판단되어 아래의 9가지 조건을 선발하였다.



<표 2> 무의 소포자 배양 서비스에 사용될 선발된 배지 조성

배지번호	배지조성
10	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%
10-A	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13% + Kao Vit 1mg
10-B	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%+Gamberg Vit 1mg
10-C	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%+MS Vit 1mg
10-D	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%+Micronutrient
10-E	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%+Macronutrient
11	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S13%+ NAA 50 μ l+BAP 50 μ l
12	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15%
13	1N NLN +1N NLN Vit. + CaNO ₃ 0.5g + AgNO ₃ 1mg + S15%+ NAA 50 μ l+BAP 50 μ l

○ 소포자 배양 서비스 실시 : 7개사 20점(점당 5점) 9조건으로 소포자 배양 실시 결과 738점의 배상체를 획득하였으며, 이들을 MS 고체배지로 옮겨 551점을 분양함

<표 3> 무 소포자 배양 1차 서비스 실시 자원 20점 목록(품종당 5개체)

<표 4> 국내 민간 종묘회사 요청 20점의 소포자 배양 서비스 결과

라벨	번호	소속	책임자	작물명	품종명	파종립수	우선순위	프로젝트명
13-KR1	1	현대종묘(주)	김덕현	무	HDR1	10	1	재래종(청피홍심 등) 품종개발
13-KR2	2	현대종묘(주)	김덕현	무	HDR2	10	2	재래종(청피홍심 등) 품종개발
13-KR3	3	㈜코레곤	이광식	무	Koregon1	10	1	무과제
13-KR4	4	㈜코레곤	이광식	무	Koregon2	10	2	무과제
13-KR5	5	삼성종묘(주)	백남권	무	3398((삼원교잡F3)	10	1	극동지역 단무지용 무 품종 개발
13-KR6	6	삼성종묘(주)	백남권	무	3468(단교잡F1)	10	2	극동지역 단무지용 무 품종 개발
13-KR7	7	동부팜한농(주)	전병문	무	R1	10	1	만추대 타원형 백수계 품종 개발
13-KR8	8	동부팜한농(주)	전병문	무	R2	10	2	만추대 타원형 백수계 품종 개발
13-KR9	9	농협종묘센터	서정팔	무	이 삼	10	1	만추대 타원형 청수계 품종개발
13-KR10	10	농협종묘센터	서정팔	무	내 삼	10	2	만추대 타원형 청수계 품종개발
13-KR11	11	뉴란바이오	안영순	무	NR-1	10	1	월동용 백육색 품종 개발
13-KR12	12	뉴란바이오	안영순	무	NR-2	10	2	월동용 백육색 품종 개발
13-KR13	13	충원종묘	강갑수	무	오 x 오	10	1	일본조기비대용 백육색 가을무 품종개발
13-KR14	14	충원종묘	강갑수	무	오 x 궁	10	2	일본조기비대용 백육색 가을무 품종개발
13-KR15	15	현대종묘(주)	김덕현	무	HDR3	10	3	재래종(청피홍심 등) 품종개발
13-KR16	16	㈜코레곤	이광식	무	Koregon3	10	3	무과제
13-KR17	17	삼성종묘(주)	백남권	무	3428(단교잡F2)	10	3	극동지역 단무지용 무 품종 개발
13-KR18	18	동부팜한농(주)	전병문	무	R3	10	3	만추대 타원형 백수계 품종 개발
13-KR19	19	농협종묘센터	서정팔	무	청 삼	10	3	만추대 타원형 청수계 품종개발
13-KR20	20	뉴란바이오	안영순	무	NR-3	10	3	월동용 백육색 품종 개발

라벨	소속	최적배지	배개수	차선배지	배개수	전체배수	MS 치상개수
13-KR1	현대종묘(주)	10-A	1	-	-	1	1
13-KR2	현대종묘(주)	-	-	-	-	0	0
13-KR3	(주)코레곤	10-D	8	-	-	8	4
13-KR4	(주)코레곤	-	-	-	-	0	0
13-KR5	삼성종묘(주)	10-B	9	-	-	9	7
13-KR6	삼성종묘(주)	10-B	95	13	90	263	206
13-KR7	동부팜한농(주)	13	27	12	17	65	53
13-KR8	동부팜한농(주)	12	6	10-D	5	13	13
13-KR9	농협종묘센터	10-B	43	10	33	141	113
13-KR10	농협종묘센터	13	34	10-B	21	100	94
13-KR11	뉴란바이오	12	1	-	-	1	1
13-KR12	뉴란바이오	-	-	-	-	0	0
13-KR13	충원종묘	10-A	1	-	-	1	1
13-KR14	충원종묘	-	-	-	-	0	0
13-KR15	현대종묘(주)	10-A	2	10-B	1	4	3
13-KR16	(주)코레곤	10-A	60	11	17	86	18
13-KR17	삼성종묘(주)	-	-	-	-	0	0
13-KR18	동부팜한농(주)	-	-	-	-	0	0
13-KR19	농협종묘센터	13	14	10-A	7	46	37
13-KR20	뉴란바이오	-	-	-	-	0	0
						738	551

2. 2년차 연구 내용 및 결과

가. 반수체 배양용 재료 수집 및 재배

○ 수집자원 특성 평가 및 선발

- 일본 수집 품종 42점 및 국내 수집 품종 15점의 노지 봄 재배 : 대부분 추대가 빠르고 원예적 특성이 양호하지 못함. 일부 근형이 양호하며 근피색이 특이한 자원을 선발하였음. 선발 자원은 추후 배양용 소재 등으로 활용



<표 1> 일본 및 한국 수집 자원 목록

과종라벨	품종명	도입처	과종량	과종라벨	품종명	도입처	과종량
13-FE111	늘푸른 봄무	홍농씨앗	26	13-FE140	12-1-27	일본수집중	26
13-FE112	신청일품무	홍농씨앗	26	13-FE141	12-1-28	일본수집중	26
13-FE113	재래종무	단양5일장	26	13-FE142	12-1-29	일본수집중	26
13-FE114	춘하무	중앙종묘	26	13-FE143	12-1-30	일본수집중	26
13-FE115	하우스스리썬봄무	신젠타종묘	26	13-FE144	12-1-31	일본수집중	26
13-FE116	청대봄무	농우바이오	26	13-FE145	12-1-32	일본수집중	26
13-FE117	평정무	농우바이오	26	13-FE146	12-1-33	일본수집중	26
13-FE118	청운무	홍농씨앗	26	13-FE147	12-1-34	일본수집중	26
13-FE119	관청무	홍농씨앗	26	13-FE148	12-1-35	일본수집중	26
13-FE120	태양무	농우바이오	26	13-FE149	12-1-36	일본수집중	26
13-FE121	화명일타리무	농우바이오	26	13-FE150	12-1-37	일본수집중	26
13-FE122	청룡무	(주)코레곤	26	13-FE151	12-1-38	일본수집중	26
13-FE123	건강시래기무	제일종묘	26	13-FE152	12-1-39	일본수집중	26
13-FE124	토광무	동부하이텍	26	13-FE153	12-1-40	일본수집중	26
13-FE125	설강무	아시아종	26	13-FE154	12-1-41	일본수집중	26
13-FE126	12-1-13	일본수집중	26	13-FE155	12-1-42	일본수집중	26
13-FE127	12-1-14	일본수집중	26	13-FE156	12-1-43	일본수집중	26
13-FE128	12-1-15	일본수집중	26	13-FE157	12-1-45	일본수집중	26
13-FE129	12-1-16	일본수집중	26	13-FE158	12-1-46	일본수집중	26
13-FE130	12-1-17	일본수집중	26	13-FE159	12-1-47	일본수집중	26
13-FE131	12-1-18	일본수집중	26	13-FE160	12-1-48	일본수집중	26
13-FE132	12-1-19	일본수집중	26	13-FE161	12-1-49	일본수집중	26
13-FE133	12-1-20	일본수집중	26	13-FE162	12-1-50	일본수집중	26
13-FE134	12-1-21	일본수집중	26	13-FE163	12-1-51	일본수집중	26
13-FE135	12-1-22	일본수집중	26	13-FE164	12-1-52	일본수집중	26
13-FE136	12-1-23	일본수집중	26	13-FE165	12-1-53	일본수집중	26
13-FE137	12-1-24	일본수집중	26	13-FE166	12-1-54	일본수집중	26
13-FE138	12-1-25	일본수집중	26	13-FE167	12-1-55	일본수집중	26
13-FE139	12-1-26	일본수집중	26				

○ 국내외 시판 품종 등 무 자원 수집 : 13점



<중국 수집 자원 7점>



<미국 수집 자원 6점>

나. 반수체 배양실시

○ 소포자 배양 서비스 실시 : 7개사 20점(점당 5점) 9조건으로 소포자 배양 실시 결과 392점의 배상체를 획득하였으며, 이들을 MS 고체배지로 옮겨 348점을 분양함

<표 2> 소포자배양 1차 서비스 결과 획득된 배상체의 민간 분양 모습

			
획득된 배상체 모습	분양중인 무 배상체	무 배상체 분양 모습	무 배양법 기술 이전

<표 3> 무 소포자 배양 서비스 실시 자원 목록

라벨	번호	소속	품종명	파종일	파종립수
14-KR1	1	코레곤	Koregon 5	7월10일	10
14-KR2	2	뉴란 바이오	NR-4	7월10일	10
14-KR3	3	삼성종묘	3435	7월10일	10
14-KR4	4	대일바이오종묘	No.1 ZLH-1	7월10일	10
14-KR5	5	대일바이오종묘	No.2 ZLH-4	7월10일	10
14-KR6	6	대일바이오종묘	No.3 ZLH-6	7월10일	10
14-KR7	7	대일바이오종묘	No.4 RBH-852	7월10일	10
14-KR8	8	대일바이오종묘	No.5 RBH-854	7월10일	10
14-KR9	9	대일바이오종묘	No.6 RBH-885	7월10일	10
14-KR10	10	대일바이오종묘	No.7 RBH-856	7월10일	10
14-KR11	11	동부팜한농	1	10월31일	10
14-KR12	12	동부팜한농	2	10월31일	10
14-KR13	13	동부팜한농	3	10월31일	10
14-KR14	14	동부팜한농	4	10월31일	10
14-KR15	15	현대종묘	1	10월31일	10
14-KR16	16	현대종묘	2	10월31일	10
14-KR17	17	현대종묘	3	10월31일	10
14-KR18	18	현대종묘	4	10월31일	10
14-KR19	19	코레곤	1	10월31일	10
14-KR20	20	코레곤	2	10월31일	10

<표 4> 소포자배양 서비스 결과 획득된 배상체 및 배지조건

라벨	신청회사	배발생 배지수	최적 배지	개체수	차선 배지	개체수	배발생 개수	치상 개수
14-KR1	코레콘	2	10-D	9	-	-	9	7
14-KR2	뉴란바이오	2	-	-	-	-	4	-
14-KR3	삼성종묘	5	12	10	10	1	24	8
14-KR4-6,10	대일바이오	-	-	-	-	-	-	-
14-KR7	대일바이오	1	10	124	-	-	124	124
14-KR8	대일바이오	1	10	3	-	-	3	3
14-KR9	대일바이오	1	10	1	-	-	1	1
14-KR11	동부팜한농	7	10-C	31	10-D	24	67	67
14-KR12	동부팜한농	4	13	4	10-D	2	8	7
14-KR13	동부팜한농	5	10-D	5	12	3	12	11
14-KR14	동부팜한농	9	10-A	11	11	8	43	38
14-KR15	현대종묘	4	10-D	3	10-C	1	9	4
14-KR16	현대종묘	7	12	14	10-D	8	32	29
14-KR17	현대종묘	2	10	2	10-B	1	3	3
14-KR18	현대종묘	6	11	26	10	16	52	45
14-KR19	코레콘	1	11	1	-	-	1	1
14-KR20	코레콘	-	-	-	-	-	-	-
합계							392	348

다. 반수체 유래 계통 육성

○ 소포자 배양을 통하여 순화된 개체의 교배 및 육성 계통의 가을 재배를 통한 특성 평가 :
종묘회사와 공동 선발하여 우수 품종 선발 (FM111, 원교10051호)

<표 5> 2차년도 신규 육성 DH inbred 등 55점 목록

포장라벨	개체라벨	정식 년도	조제 번호	포장라벨	개체라벨	정식년 도	조제 번호
14-FK119	11-TC100-1	2012	1	14-FK147	11-TC112-1	2012	40
14-FK120	11-TC100-2	2012	2	14-FK148	11-TC112-2	2012	41
14-FK121	11-TC100-3	2012	3	14-FK149	11-TC113-1	2012	43
14-FK122	11-TC101-1	2012	4	14-FK150	11-TC113-2	2012	44
14-FK123	11-TC101-3	2012	6	14-FK151	11-TC114-3	2012	48
14-FK124	11-TC102-1	2012	7	14-FK152	11-TC115-2	2012	50
14-FK125	11-TC102-2	2012	9	14-FK153	11-TC117-1	2012	54
14-FK126(MS)	11-TC103-1x11-TC103-2	2012	11	14-FK154	11-TC117-3	2012	56
14-FK127(MS)	11-TC103-1x11-TC103-3	2012	12	14-FK155	11-TC118-1	2012	57
14-FK128	11-TC103-2	2012	13	14-FK156	11-TC118-2	2012	58
14-FK129	11-TC103-3	2012	14	14-FK157	11-TC119-1	2012	59
14-FK130	11-TC104-1	2012	16	14-FK158	11-TC119-3	2012	61
14-FK131	11-TC104-2	2012	17	14-FK159	11-TC120-1	2012	62
14-FK132	11-TC104-3	2012	18	14-FK160	11-TC120-2	2012	63
14-FK133	11-TC105-1	2012	19	14-FK161	11-TC120-3	2012	64
14-FK134	11-TC105-2	2012	20	14-FK162	11-TC121-1	2012	65
14-FK135	11-TC105-3	2012	21	14-FK163	11-TC121-2	2012	66
14-FK136	11-TC106-1	2012	22	14-FK164	11-TC127-1	2012	74
14-FK137	11-TC108-1	2012	28	14-FK165	11-TC127-2	2012	75

14-FK138	11-TC108-2	2012	29	14-FK166	11-TC130-1	2012	80
14-FK139	11-TC108-3	2012	30	14-FK167	11-TC130-2	2012	81
14-FK140	11-TC109-1	2012	31	14-FK168	11-TC130-3	2012	82
14-FK141	11-TC109-2	2012	32	14-FK169	11-TC131-2	2012	84
14-FK142	11-TC109-3	2012	33	14-FK170	11-TC132-1	2012	85
14-FK143	11-TC110-1	2012	34	14-FK171	11-TC132-2	2012	86
14-FK144	11-TC110-2	2012	35	14-FK172	11-TC134-2	2012	90
14-FK145	11-TC111-1	2012	37	14-FK173	11-TC134-3	2012	91
14-FK146	11-TC111-3	2012	39				

<표 6> 종묘회사와 공동으로 선발된 DH inbred 3계통의 모습



○ 유전자원 등록을 위한 소포자 배양 유래 육성 계통 2차 채종 완료 : 전년도 노지 포장 선발 계통 39점 종자 증식 결과 11계통에서 100립 이상 채종 성공

13 포장라벨	계통명	1차 채종	조제번호	2차 채종	채종량
13-FM313	11-TC100-3	2012	3	2014	0
13-FM314	11-TC101-1	2012	4	2014	115
13-FM315	08-MR6-1	2009	279	2014	24
13-FM316	11-TC102-2	2012	9	2014	0
13-FM317	11-TC103-2	2012	13	2014	84
13-FM318	11-TC104-3	2012	18	2014	46
13-FM319	08-MR11-1	2009	284	2014	152
13-FM320	11-TC105-3	2012	21	2014	274
13-FM321	08-MR13-1	2009	286	2014	0
13-FM322	11-TC106-2	2012	23	2014	35
13-FM323	08-MR16-1	2009	289	2014	36
13-FM324	08-MR17-1	2009	290	2014	361
13-FM325	08-MR18-1	2009	291	2014	546
13-FM326	11-TC108-3	2012	30	2014	109
13-FM327	11-TC109-1	2012	31	2014	209
13-FM328	11-TC110-1	2012	34	2014	87
13-FM329	08-MR22-1	2009	299	2014	216
13-FM330	08-MR23-1	2009	300	2014	0
13-FM331	11-TC111-3	2012	39	2014	106
13-FM332	11-TC112-1	2012	40	2014	30
13-FM333	08-MR27-1	2009	308	2014	95
13-FM334	11-TC113-1	2012	43	2014	63
13-FM335	11-TC114-3	2012	48	2014	0
13-FM336	08-MR30-1	2009	314	2014	346

13-FM337	11-TC115-2	2012	50	2014	72
13-FM338	11-TC117-3	2012	56	2014	0
13-FM339	08-MR33-1	2009	321	2014	28
13-FM340	08-MR34-1	2009	322	2014	0
13-FM341	11-TC118-2	2012	58	2014	0
13-FM342	11-TC119-1	2012	59	2014	0
13-FM343	08-MR37-1	2009	327	2014	500
13-FM344	11-TC120-1	2012	62	2014	0
13-FM345	08-MR39-1	2009	329	2014	0
13-FM346	11-TC121-1	2012	65	2014	0
13-FM347	11-TC123-1	2012	70	2014	0
13-FM348	08-MR43-4	2009	338	2014	0
13-FM349	11-TC127-2	2012	75	2014	0
13-FM350	08-MR47-1	2009	343	2014	0
13-FM351	11-TC129-2	2012	78	2014	0

○ 종자 증식에 성공하여 품종보호 출원 실시 : 원교10045호

무 (*Raphanus sativus* L.) 계 통 명 : 원교10045호

1. 구분 : 육성계통(중간모본)

2. 육성내력

가. 재료 수집 및 선발

- 2005년 제주 온난화농업기술센터 수집 소재 평가 시 수집
- 선발 재료 증식 및 평가 지속
- 최종 선발은 2010년 포장 품평회 과정을 통하여 다양한 종묘회사 무 육종가들과 공동으로 선발 됨

나. 교배조합 작성 : 2005년

다. 세대진전 및 선발 : 2005 ~ 2010년

- 세대진전 : 뇌수분에 의한 자가수정 5세대 진전
- 선발 : 매 세대 노지 포장에서 원예적 특성 양호 개체 선발

라. 특성검정 : 2010 ~ 2011년

- 근형이 타원형으로 짧고 뿌리 끝맺이 양호함
- 지상부 엽형이 반개장형으로 결각이 깊음
- 뿌리 형태가 우수하여 조합 작성에 유리하게 사용될 수 있음

마. 육성기관 : 국립원예특작과학원

바. 종자증식 : 2011 ~ 2014

3. 주요특성

가. 육성계통은 근형이 단 타원형임

나. 지상부와 지하부의 생육이 아담함

다. 용도 : 품질계 육성용 모본

4. 적응지역

○ 전국

5. 재배상 유의점

○ 기비로 석회와 붕소를 넣어야 생리장애를 예방할 수 있음

6. 보완을 요하는 특성

○ 원예적 특성이 우수하지 못함

7. 시험성적(품종의 특성설명)

가. 고유특성

<표 1> 원교10045호 고유특성

구분	근피색	근형	근육색	엽형
원교10045호	백색+녹색	단타원형	백	절엽
서호무	백색+녹색	타원형	백	절엽

나. 가변특성

<표 2> 원교10045호 가변특성

구분	주중(g)	근중(g)	근장(cm)	엽수(개)	엽장(cm)
원교10045호	442	360	13.2	17.8	22.8
서호무	1,668	1,406	20.7	22.1	36

다. 병해충 저항성 : 병충해 저항성은 대비종과 유사함

라. 수량성 : 1,120 kg/10a (대조구 : 4,686 kg/10a)

마. 품질특성 : 근형이 단타원형이며 근피가 매끈함

바람들이에 강하다 (1, 대조-5)

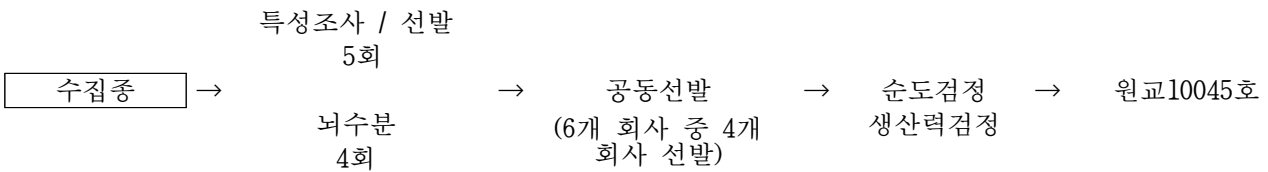
* 바람들이 지수 : 0 없음, 1 미약, 2 변색, 3 바람들이 시작, 4 지름 1mm 이하 구멍, 5 지름 3mm 이하 구멍, 6 지름 5mm 이하 구멍, 7 구멍 2개 이하 형성, 8 구멍 3개 이상 형성, 9 대형 공극 형성 ('11년 생육 중기 고온으로 바람들이 현상 심함)

8. 육성경과

가. 육성계통도

년 도	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
세 대	수집종	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	
구분	1	1	1	1	1	1	원교 10045호
	2		2	2	2		
	3		3	3	3		
	·		4	4	4		
	·		5	5	5		
	334						
·							
389							
비고	개체선발	원예적 특성 확인, 선발, 너수분	원예적 특성 확인, 선발, 너수분	원예적 특성 확인, 선발, 너수분	원예적 특성 확인, 선발, 너수분	원예적 특성 확인, 최종 선발, 너수분	순도 검정, 생산력 검정,

나. 육성계보도



9. 종자 확보량

- 현재 품종보호 출원 및 유상 분양 가능한 량의 종자를 증식하였음

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이


통지권 내용에 의문이 있으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 김민지 전화: (054) 912-0113 FAX: (054) 912-0210
 인터넷 홈페이지: www.seed.go.kr
 7410-220 경상북도 김천시 혁신8로 119

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2015. 5.19	품종보호 출원번호: 출원 2015 - 398
	품종명칭 출원번호: 명칭 2015 - 875

과 물 명: 무
 품종 명칭: 원교10045호
 출 원 인: 농촌진흥청
 주 소: 권라북도 전주시 완산구 농생명로 300농촌진흥청사

2015년05월19일

국립종자원 

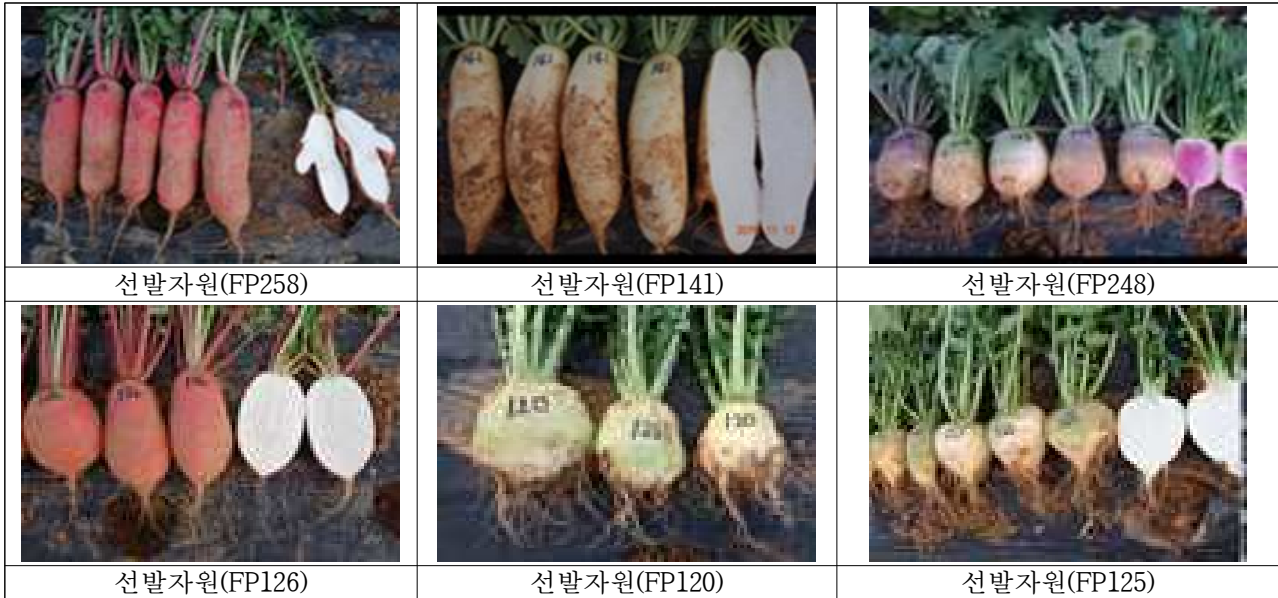
3. 3년차 연구 내용 및 결과

가. 반수체 배양용 재료 수집 및 재배

○ 수집자원 특성 평가 및 선발

- 종묘사별 원하는 특성의 자원 선발을 위해 원예원 보유 자원 228점 평가
(2007년부터 중국, 인도 등 국외 수집자원과 한국 수집 자원 중 일부 파종)

→ 8 기관(11명) 공동 선발 결과 15-FP258, 280, 141, 248 등 20점 선발



<표 1> 2015년 가을 원예원 보유 자원 228점의 파종 목록

포장라벨	도입번호	포장라벨	도입번호	포장라벨	도입번호
15-FP109	07-1-1	15-FP185	08-1-20	15-FP261	12-1-26
15-FP110	07-1-2	15-FP186	08-1-21	15-FP262	12-1-27
15-FP111	07-1-3	15-FP187	08-1-22	15-FP263	12-1-28
15-FP112	07-1-4	15-FP188	08-1-25	15-FP264	12-1-29
15-FP113	07-1-5	15-FP189	08-1-26	15-FP265	12-1-30
15-FP114	07-1-6	15-FP190	08-1-27	15-FP266	12-1-31
15-FP115	07-1-7	15-FP191	08-1-28	15-FP267	12-1-32
15-FP116	07-1-8	15-FP192	08-1-29	15-FP268	12-1-33
15-FP117	07-1-9	15-FP193	08-1-30	15-FP269	12-1-34
15-FP118	07-1-10	15-FP194	08-1-31	15-FP270	12-1-35
15-FP119	07-1-11	15-FP195	09-1-1	15-FP271	12-1-36
15-FP120	07-1-12	15-FP196	09-1-2	15-FP272	12-1-37
15-FP121	07-1-13	15-FP197	09-1-3	15-FP273	12-1-38
15-FP122	07-1-14	15-FP198	09-1-4	15-FP274	12-1-39
15-FP123	07-1-15	15-FP199	09-1-5	15-FP275	12-1-40
15-FP124	07-1-16	15-FP200	09-1-6	15-FP276	12-1-41
15-FP125	07-1-17	15-FP201	09-1-7	15-FP277	12-1-42
15-FP126	07-1-18	15-FP202	09-1-8	15-FP278	12-1-43
15-FP127	07-1-19	15-FP203	09-1-9	15-FP279	12-1-44
15-FP128	07-1-20	15-FP204	09-1-10	15-FP280	12-1-45
15-FP129	07-1-21	15-FP205	09-1-11	15-FP281	12-1-46
15-FP130	07-1-22	15-FP206	09-1-12	15-FP282	12-1-47
15-FP131	07-1-23	15-FP207	09-1-13	15-FP283	12-1-48

15-FP132	07-1-24	15-FP208	09-1-14	15-FP284	12-1-49
15-FP133	07-1-25	15-FP209	09-1-15	15-FP285	12-1-50
15-FP134	07-1-26	15-FP210	09-1-16	15-FP286	12-1-51
15-FP135	07-1-27	15-FP211	09-1-17	15-FP287	12-1-52
15-FP136	07-1-28	15-FP212	09-1-18	15-FP288	12-1-53
15-FP137	07-1-29	15-FP213	10-1-1	15-FP289	12-1-54
15-FP138	07-1-30	15-FP214	11-1-1	15-FP290	13-1-1
15-FP139	07-1-31	15-FP215	11-1-2	15-FP291	13-1-2
15-FP140	07-1-32	15-FP216	11-1-3	15-FP292	13-1-3
15-FP141	07-1-33	15-FP217	11-1-4	15-FP293	13-1-4
15-FP142	07-1-34	15-FP218	11-1-5	15-FP294	13-1-5
15-FP143	07-1-35	15-FP219	11-1-6	15-FP295	13-1-6
15-FP144	07-1-36	15-FP220	11-1-7	15-FP296	13-1-7
15-FP145	07-1-37	15-FP221	11-1-8	15-FP297	13-1-8
15-FP146	07-1-38	15-FP222	11-1-9	15-FP298	13-1-9
15-FP147	07-1-39	15-FP223	11-1-10	15-FP299	13-1-10
15-FP148	07-1-40	15-FP224	11-1-11	15-FP300	13-1-11
15-FP149	07-1-41	15-FP225	11-1-21	15-FP301	건강시래기무
15-FP150	07-1-42	15-FP226	11-1-22	15-FP302	고원여름무
15-FP151	07-1-43	15-FP227	11-1-23	15-FP303	관청무
15-FP152	07-1-44	15-FP228	11-1-24	15-FP304	무시로열무
15-FP153	07-1-45	15-FP229	11-1-25	15-FP305	산나리열무
15-FP154	07-1-46	15-FP230	11-1-26	15-FP306	설강무
15-FP155	07-1-47	15-FP231	11-1-27	15-FP307	영동무
15-FP156	07-1-48	15-FP232	11-1-28	15-FP308	청동무
15-FP157	07-1-49	15-FP233	11-1-29	15-FP309	청황무
15-FP158	07-1-50	15-FP234	11-1-30	15-FP310	추동열무
15-FP159	07-1-51	15-FP235	12-1-55	15-FP311	토광무
15-FP160	07-1-52	15-FP236	12-1-1	15-FP312	태양무
15-FP161	07-1-53	15-FP237	12-1-2	15-FP313	화명알타리무
15-FP162	07-1-124	15-FP238	12-1-3	15-FP314	홍빛열무쌈
15-FP163	07-1-125	15-FP239	12-1-4	15-FP315	15-1-1
15-FP164	07-1-126	15-FP240	12-1-5	15-FP316	15-1-2
15-FP165	07-1-127	15-FP241	12-1-6	15-FP317	15-1-3
15-FP166	08-1-1	15-FP242	12-1-7	15-FP318	15-1-4
15-FP167	08-1-2	15-FP243	12-1-8	15-FP319	15-1-5
15-FP168	08-1-3	15-FP244	12-1-9	15-FP320	15-1-6
15-FP169	08-1-4	15-FP245	12-1-10	15-FP321	15-1-7
15-FP170	08-1-5	15-FP246	12-1-11	15-FP322	15-1-8
15-FP171	08-1-6	15-FP247	12-1-12	15-FP323	15-1-9
15-FP172	08-1-7	15-FP248	12-1-13	15-FP324	15-1-10
15-FP173	08-1-8	15-FP249	12-1-14	15-FP325	15-1-11
15-FP174	08-1-9	15-FP250	12-1-15	15-FP326	15-1-12
15-FP175	08-1-10	15-FP251	12-1-16	15-FP327	15-1-13
15-FP176	08-1-11	15-FP252	12-1-17	15-FP328	15-1-14
15-FP177	08-1-12	15-FP253	12-1-18	15-FP329	15-1-15
15-FP178	08-1-13	15-FP254	12-1-19	15-FP330	15-1-16
15-FP179	08-1-14	15-FP255	12-1-20	15-FP331	15-1-17
15-FP180	08-1-15	15-FP256	12-1-21	15-FP332	15-1-18
15-FP181	08-1-16	15-FP257	12-1-22	15-FP333	15-1-19
15-FP182	08-1-17	15-FP258	12-1-23	15-FP334	15-1-20
15-FP183	08-1-18	15-FP259	12-1-24	15-FP335	15-1-21
15-FP184	08-1-19	15-FP260	12-1-25	15-FP336	15-1-22

※ 선발된 도입 자원(품종)들은 종묘회사에 즉시 분양 중('15. 12월말)이며, 소포자 배양 및 교배를 위한 재료로 활용될 계획 임

○ 국내외 시판 품종 등 무 자원 수집 : 23점



<미국 수집 자원 17점>



<일본 수집 자원 15점>



나. 반수체 배양실시

○ 소포자 배양 서비스 실시 : 3차년도 소포자배양 서비스 95점의 소포자 배양 결과 862점의 소포자 유래 배상체 유도, 767점의 배상체를 고체 배지에 치상하여 분양 완료하였음

<표 2> 무 3차 소포자 배양 서비스 실시 자원 목록

라벨	번호	소속	품종명	파종일	파종립수
15-KR1	21	코레곤	3	10월31일	10
15-KR2	22	코레곤	4	10월31일	10
15-KR3	23	네오씨드	1	10월31일	10
15-KR4	24	네오씨드	2	10월31일	10
15-KR5	25	네오씨드	3	10월31일	10
15-KR6	26	네오씨드	4	10월31일	10
15-KR7	27	네오씨드	5	10월31일	10
15-KR8	28	대일바이오종묘	1	1월5일	10
15-KR9	29	대일바이오종묘	2	1월5일	10
15-KR10	30	대일바이오종묘	3	1월5일	10
15-KR11	31	대일바이오종묘	4	1월5일	10
15-KR12	32	대일바이오종묘	5	1월5일	10
15-KR13	33	대일바이오종묘	6	1월5일	10
15-KR14	34	대일바이오종묘	7	1월5일	10
15-KR15	35	대일바이오종묘	8	1월5일	10
15-KR16	36	대일바이오종묘	9	1월5일	10
15-KR17	37	대일바이오종묘	10	1월5일	10

<표 3> 소포자배양 3차 서비스 결과 획득된 배상체 및 배지조건

라벨	신청 회사명	배발생 배지수	최적 배지	개체수	차선 배지	개체수	배발생 개수	치상 개수
15-KR1	코레콘	1	10-D	1	-	-	1	1
15-KR2	코레콘	1	10-D	3	-	-	3	3
15-KR3	네오씨드	8	11	26	10-C	23	127	107
15-KR4	네오씨드	9	11	31	10	24	109	100
15-KR5	네오씨드	5	13	10	10-D	6	22	21
15-KR6	네오씨드	8	10-B	147	10-D	19	213	201
15-KR7	네오씨드	4	10-D	4	11	3	11	9
15-KR8	바이오브리딩	7	10-C	41	13	30	120	116
15-KR9	바이오브리딩	9	10-D	23	11	19	109	85
15-KR10	대일바이오종묘	2	10-A	1	12	1	2	2
15-KR11	대일바이오종묘	2	10-B	2	10-C	1	3	2
15-KR12	대일바이오종묘	2	11	3	10	2	5	5
15-KR13	대일바이오종묘	-	-	-	-	-	-	-
15-KR14	대일바이오종묘	2	10-A	2	10-C	2	4	4
15-KR15	대일바이오종묘	6	10-B	48	10	31	127	101
15-KR16	대일바이오종묘	-	-	-	-	-	-	-
15-KR17	대일바이오종묘	3	11	3	10-D	2	6	5
15-KR18	대일바이오종묘	1	10-A	2	-	-	2	1
15-KR19	대일바이오종묘	2	11	2	10	2	4	4
합계							868	767

<표 4> 원예원 선발 자원의 소포자 배양 결과

라벨	배발생 배지수	최적 배지	개체수	차선 배지	개체수	배발생 개수	치상 개수	토양순화	
13-TF	1	3	10-B	15	11	6	23	19	-
13-TF	2	6	10-A	71	11	3	82	15	-
13-TF	3	2	11	8	10	1	9	7	-
13-TF	4	6	10-B	47	12	8	66	58	2
13-TF	5	5	10-B	9	11	5	18	16	-
13-TF	6	2	10-A	2	12	1	3	3	-
13-TF	7	4	10-A	81	11	15	100	77	3
13-TF	8	8	10-B	118	10-C	17	182	145	-
13-TF	9	1	10-C	1	-	-	1	1	-
13-TF	10	2	10-C	2	10-D	1	3	3	-
13-TF	11	5	10-B	12	10-A	6	30	28	2
13-TF	12	-	-	-	-	-	-	-	-
13-TF	13	-	-	-	-	-	-	-	-
13-TF	14	3	10-D	11	10-A	6	19	19	-
13-TF	15	6	10-D	6	10-C	6	22	20	-
13-TF	16	3	12	1	-	-	3	1	-
13-TF	17	4	13	4	10	2	8	8	-
13-TF	18	2	12	1	-	-	2	1	-
13-TF	19	3	10-B	45	10-C	7	55	43	-
13-TF	20	5	12	3	10-C	2	10	9	-
13-TF	21	6	10-B	4	12	3	14	11	-
13-TF	22	-	-	-	-	-	-	-	-
13-TF	23	3	10-C	2	12	1	4	4	-
13-TF	24	6	13	32	10-B	29	93	67	-
13-TF	25	7	11	70	10-B	19	113	46	-
13-TF	26	1	11	8	-	-	8	-	-

13-TF	27	5	12	185	11	32	239	126	1
13-TF	28	7	13	14	10-C	5	33	14	-
13-TF	29	2	10-A	4	10-D	1	5	0	-
13-TF	30	2	10-A	2	10-E	1	3	3	-
합계							1,148	744	8

다. 반수체 유래 계통 육성







○ 소포자 배양 유래 계통(3차년도 신규 및 기존 자원 포함)의 뇌수분을 통한 종자 증식 및 원예적 특성 평가 : 48점의 소포자배양 유래 DH 계통의 종자를 성공적으로 증식하였으며 이들을 종묘회사와 공동 선발하여 우수 품종을 선발하였음

<표 5> 3차년도 증식 완료된 48점의 DH 계통의 목록

포장라벨	계통명	순화년도	포장라벨	계통명	순화년도
15-FP61	11-TC100-1	2015	15-FP85	11-TC103-2	2014
15-FP62	11-TC100-3	2015	15-FP86	11-TC108-3	2014
15-FP63	11-TC105-1	2015	15-FP87	11-TC109-1	2014
15-FP64	11-TC117-1	2015	15-FP88	08-MR27-1	2014
15-FP65	11-TC130-2	2015	15-FP89	11-TC113-1	2014
15-FP66	11-TC131-2	2015	15-FP90	08-MR30-1	2014
15-FP67	11-TC134-3	2015	15-FP91	11-TC115-2	2014
15-FP68	11-TC104-3	2012	15-FP92	11-CTC18-10	2013
15-FP69	11-TC105-3	2012	15-FP93	11-CTC18-12	2013
15-FP70	11-TC108-3	2012	15-FP94	08-MR11-1	2009
15-FP71	11-TC112-1	2012	15-FP95	08-MR13-1	2009
15-FP72	11-TC113-1	2012	15-FP96	08-MR16-1	2009
15-FP73	11-TC119-1	2012	15-FP97	08-MR17-1	2009
15-FP74	11-TC120-2	2012	15-FP98	08-MR18-1	2009
15-FP75	11-TC130-1	2012	15-FP99	11-TC109-1	2012
15-FP76	11-TC130-2	2012	15-FP100	08-MR22-1	2009
15-FP77	11-TC130-3	2012	15-FP101	08-MR23-1	2009
15-FP78	11-TC132-2	2012	15-FP102	08-MR27-1	2009
15-FP79	11-CFD238-2	2014	15-FP103	08-MR30-1	2009
15-FP80	11-CTC18-2	2014	15-FP104	08-MR33-1	2009
15-FP81	11-CTC18-3	2014	15-FP105	08-MR34-1	2009
15-FP82	11-CTC18-4	2014	15-FP106	08-MR37-1	2009
15-FP83	11-CTC18-8	2014	15-FP107	08-MR39-1	2009
15-FP84	11-CTC18-10	2014	15-FP108	08-MR47-1	2009

<표 6> 종묘회사와 공동으로 선발된 DH inbred 계통의 모습



		
선발계통 (FP78)	선발계통 (FP85)	선발계통 (FP88)
		
선발계통 (FP92)	선발계통 (FP94)	선발계통 (FP96)

※ 선발된 DH 계통들은 종자 증식 및 분양 절차를 진행

○ 유전자원 등록을 위한 육성 완료 계통 6점 채종 완료 후 입고 위해 공문 발송완료



4. 4년차 연구 내용 및 결과

가. 반수체 배양용 재료 수집 및 재배

○ 수집자원 특성 평가 및 선발

- 종묘사별 원하는 특성의 자원 선발을 위해 원예원 보유 자원 116점 재배
- 7 기관 공동 선발 결과 16-FC96, 100, 115, 117, 132, 165 6점 선발



<표 1> 2016년 봄 재배된 원예원 보유 자원 116점의 파종 목록

16라벨	설명	16라벨	설명	16라벨	설명	16라벨	설명
16-FC73	중국도입	16-FC102	중국	16-FC131	일본	16-FC160	미국
16-FC74	중국	16-FC103	중국	16-FC132	일본	16-FC161	미국
16-FC75	중국	16-FC104	중국	16-FC133	일본	16-FC162	미국
16-FC76	중국	16-FC105	중국	16-FC134	일본	16-FC163	미국
16-FC77	중국	16-FC106	인도도입	16-FC135	일본	16-FC164	미국
16-FC78	중국	16-FC107	일본도입	16-FC136	일본	16-FC165	중국청도
16-FC79	중국	16-FC108	일본	16-FC137	일본	16-FC166	중국청도
16-FC80	중국	16-FC109	일본	16-FC138	일본	16-FC167	중국청도
16-FC81	중국	16-FC110	일본	16-FC139	일본	16-FC168	중국청도
16-FC82	중국	16-FC111	일본	16-FC140	일본	16-FC169	중국청도
16-FC83	중국	16-FC112	일본	16-FC141	일본	16-FC170	중국청도
16-FC84	중국	16-FC113	일본	16-FC142	일본	16-FC171	중국청도
16-FC85	프랑스도입	16-FC114	일본	16-FC143	일본	16-FC172	중국청도
16-FC86	프랑스	16-FC115	일본	16-FC144	일본	16-FC173	미국 도입
16-FC87	프랑스	16-FC116	일본	16-FC145	일본	16-FC174	미국

16-FC88	프랑스	16-FC117	일본	16-FC146	일본	16-FC175	미국
16-FC89	프랑스	16-FC118	일본	16-FC147	일본	16-FC176	미국
16-FC90	프랑스	16-FC119	일본	16-FC148	일본	16-FC177	미국
16-FC91	프랑스	16-FC120	일본	16-FC149	일본	16-FC178	미국
16-FC92	프랑스	16-FC121	일본	16-FC150	이스라엘도입	16-FC179	미국
16-FC93	프랑스	16-FC122	일본	16-FC151	이스라엘	16-FC180	미국
16-FC94	프랑스	16-FC123	일본	16-FC152	이스라엘	16-FC181	계절무
16-FC95	중국도입	16-FC124	일본	16-FC153	이스라엘	16-FC182	계절무
16-FC96	중국	16-FC125	일본	16-FC154	미국도입	16-FC183	서울대채료
16-FC97	중국	16-FC126	일본	16-FC155	미국	16-FC184	서울대
16-FC98	중국	16-FC127	일본	16-FC156	미국	16-FC185	서울대
16-FC99	중국	16-FC128	일본	16-FC157	미국	16-FC186	서울대
16-FC100	중국	16-FC129	일본	16-FC158	미국	16-FC187	서울대
16-FC101	중국	16-FC130	일본	16-FC159	미국	16-FC188	서울대

※ 선발된 도입 자원(품종)들은 종묘회사에 즉시 분양 하였으며, 소포자 배양 및 교배를 위한 재료로 활용

○ 국내외 시판 품종 등 무 자원 수집 : 30점



<일본 수집 자원 30점>

나. 반수체 배양실시

○ 소포자 배양 서비스 실시 : 4년차에 175점 소포자배양 서비스 결과 2,211점의 배상체를 유도, 2045점의 배상체를 고체 배지에 치상하여 분양 완료하였음

<표 2> 소포자배양 4차 서비스 실시 자원 목록

라벨	종류	회사명		과중립수
16-KR 1	Radish	Koregon	Koregon 6	10
16-KR 2	Radish	Koregon	Koregon 7	10
16-KR 3	Radish	Koregon	Koregon 8	10
16-KR 4	Radish	Koregon	Koregon 9	10
16-KR 5	Radish	농협종묘	200	10
16-KR 6	Radish	농협종묘	212	10
16-KR 7	Radish	농협종묘	345	10
16-KR 8	Radish	농협종묘	363	10
16-KR 9	Radish	농협종묘	384	10
16-KR 10	Radish	농협종묘	370	10
16-KR 11	Radish	동부팜한농	HN1(전병문)	10
16-KR 12	Radish	동부팜한농	HN2(전병문)	10
16-KR 13	Radish	동부팜한농	HN3(전병문)	10
16-KR 14	Radish	동부팜한농	HN4(전병문)	10
16-KR 15	Radish	동부팜한농	HN5(전병문)	10
16-KR 16	Radish	대일바이오	D 1	7
16-KR 17	Radish	대일바이오	D 2	7
16-KR 18	Radish	대일바이오	D 3	7
16-KR 19	Radish	대일바이오	D 4	7
16-KR 20	Radish	대일바이오	D 5	7
16-KR 21	Radish	대일바이오	D 6	7
16-KR 22	Radish	대일바이오	D 7	7
16-KR 23	Radish	대일바이오	D 8	7
16-KR 24	Radish	대일바이오	D 9	7
16-KR 25	Radish	대일바이오	D 10	7
16-KR 26	배추과	한국종묘	HK 1	식물체
16-KR 27	배추과	한국종묘	HK 2	식물체
16-KR 28	배추과	한국종묘	HK 3	식물체
16-KR 29	배추과	한국종묘	HK 4	식물체
16-KR 30	배추과	한국종묘	HK 5	식물체
16-KR 31	배추과	Koregon	2501	식물체
16-KR 32	배추과	Koregon	2502	식물체
16-KR 33	배추과	Koregon	2505	식물체
16-KR 34	배추과	Koregon	2506	식물체
16-KR 35	배추과	Koregon	2507	식물체

<표 3> 소포자배양 4차 서비스 결과 획득된 배상체 및 배지조건

라벨	작물	회사	최적 배지	개체수	차선 배지	개체수	배발생	전체 치상
16-KR 1	무	코레곤	1-A	3	11	1	4	3
16-KR 2	무	코레곤	-	-	-	-	-	-
16-KR 3	무	코레곤	10	2	-	-	2	2
16-KR 4	무	코레곤	11	7	10-D	2	12	11
16-KR 5	무	농협종묘	10-B	60	10	31	127	127
16-KR 6	무	농협종묘	1-D	40	10-B	21	78	78
16-KR 7	무	농협종묘	11	7	10-B	2	10	10

16-KR	8	무	농협종묘	10	27	10-C	8	48	44
16-KR	9	무	농협종묘	10	70	10-B	10	99	99
16-KR	10	무	농협종묘	10-D	9	13	5	27	25
16-KR	11	무	동부팜한농	11	10	10-D	10	22	22
16-KR	12	무	동부팜한농	10-D	4	10-A	1	5	5
16-KR	13	무	동부팜한농	10	9	10-C	4	21	19
16-KR	14	무	동부팜한농	10-D	10	12	4	18	7
16-KR	15	무	동부팜한농	10-D	1	1-D	1	2	2
16-KR	16	무	대일바이오	13	3	-	-	3	3
16-KR	17	무	대일바이오	13	4	-	-	4	4
16-KR	18	무	대일바이오	-	-	-	-	-	-
16-KR	19	무	대일바이오	-	-	-	-	-	-
16-KR	20	무	대일바이오	-	-	-	-	-	-
16-KR	21	무	대일바이오	10-D	3	-	-	3	3
16-KR	22	무	대일바이오	-	-	-	-	-	-
16-KR	23	무	대일바이오	10-D	-	-	-	9	9
16-KR	24	무	대일바이오	생육불량	-	-	-	-	-
16-KR	25	무	대일바이오	13	-	-	-	1	1
16-KR	26	배추과	한국종묘	13	305	11	229	866	738
16-KR	27	배추과	한국종묘	12	51	11	42	151	148
16-KR	28	배추과	한국종묘	13	33	10-C	27	124	121
16-KR	29	배추과	한국종묘	11	70	10-A	32	148	147
16-KR	30	배추과	한국종묘	13	99	10	83	307	304
16-KR	31	배추과	코레곤	10-C	1	-	-	1	1
16-KR	32	배추과	코레곤	-	-	-	-	-	-
16-KR	33	배추과	코레곤	11	19	10-D	10	48	44
16-KR	34	배추과	코레곤	10-C	22	10	21	71	68
16-KR	35	배추과	코레곤	10	5	10-C	1	7	6
								2,211	2,045

다. 반수체 유래 계통 육성

○ 소포자 배양 유래 계통(3차년도 신규 및 기존 자원 포함)의 뇌수분을 통한 종자 증식 및 원예적 특성 평가 : 48점의 소포자배양 유래 DH 계통의 종자를 성공적으로 증식하였으며 이들을 종묘회사와 공동 선발하여 우수 품종을 선발하였음

<표 4> 4년도 증식 완료되어 특성 평가된 46계통의 목록

16라벨	설명	계통명(도입번호)	채종(도입)년도	조제번호
16-FA106	배양체	13-FM319-2	2014	441
16-FA107	배양체	13-FM320-1	2014	442
16-FA108	배양체	13-FM320-2	2014	443
16-FA109	배양체	13-FM322-2	2014	445
16-FA110	배양체	13-FM324-1	2014	450
16-FA111	배양체	13-FM325-1	2014	452
16-FA112	배양체(MS)	13-FM325-2×13-FM325-1	2014	453
16-FA113	배양체	13-FM326-1	2014	454
16-FA114	배양체	13-FM327-1	2014	456
16-FA115	배양체	13-FM328-1	2014	457

16-FA116	배양채	13-FM329-1	2014	458
16-FA117	배양채	13-FM331-1	2014	462
16-FA118	배양채	13-FM332-2	2014	464
16-FA119	배양채	13-FM336-2	2014	470
16-FA120	배양채	13-FM343-1	2014	475
16-FA121	배양채	14-CRM12-2	2015	4
16-FA122	배양채	14-CRM16-1	2015	6
16-FA123	배양채	14-CRM16-2	2015	7
16-FA124	배양채	14-CRM16-7	2015	10
16-FA125	배양채	14-CRM16-10	2015	12

<표 5> 종묘회사와 공동으로 선발된 DH inbred 계통의 모습



※ 선발된 DH 계통들은 종자 증식 및 분양 절차를 진행 중

- 유전자원 등록을 위해 육성 완료 계통 2점 채종 완료 후 입고 위해 공문 발송완료
- 품종보호 출원 : 원교10050호

무 (*Raphanus sativus* L.) 계 통 명 : 원교10050호

1. 구분 : 육성계통(중간모본)

2. 육성내력

가. 재료 수집 및 선발

- 2011년 봄 중국 우한 지역에서 개최되는 종자 전시회 출장 과정에 구입한 중국 시판 품종 중 ‘북경만당홍’ 유래.
- 당시 중국에서 수집한 다양한 만당홍 품종 등 30점을 공시하였으며, 그 중 원예적 특성은 분리가 되나 적색 색택 발현이 우수한 개체를 선발하여 이를 지속적으로 세대진전하였음.
- 2013년 종자회사 육종가들과 공동으로 포장 품평회를 실시한 결과 품질이 우수하여 공동 선발됨. 이후 지속적으로 종자 증식 및 원예적 특성을 검정한 결과 근피와 근육의 적색이 안정적으로 발현되었음

나. 세대진전 : 2011 ~ 2016년

- 세대진전 : 뇌수분에 의한 자가수정 5세대 진전
- 선발 : 2013년 최종 선발 이후 노지 포장에서 안정적 발현

다. 특성검정 : 2013 ~ 2015년

- 근형이 단타원형으로 짧고 뿌리 끝맺이 양호함
- 근피색과 근육색이 적색으로 균일하게 발현되어 우수함
- 대조인 서호무에 비하여 지상부와 지하부의 생육이 아담함

라. 육성기관 : 국립원예특작과학원

마. 종자증식 : 2014 ~ 2016

3. 주요특성

가. 육성계통은 단 타원형이며 근피색과 근육색이 적색임

나. 지상부와 지하부의 생육이 아담함

다. 용도 : 품질계 육성용 모본, 고정종

4. 적응지역 : 전국

5. 재배상 유의점

- 기비로 석회와 붕소를 넣어야 생리장애를 예방할 수 있음

6. 보완을 요하는 특성

- 원예적 특성이 우수하지 못함

7. 시험성적(품종의 특성설명)

가. 고유특성

<표 1> 원교10050호 고유특성

구분	근피색	근형	근육색	엽형
원교10050호	적색+백색	단타원형	적색	절엽
서호무	백색+녹색	타원형	백	절엽

나. 가변특성

<표 2> 원교10050호 가변특성 (2013년, 수원, 가을노지)

구분	주중(g)	근중(g)	근장(cm)	엽수(개)	엽장(cm)
원교10050호	855.3	656.7	12.0	18.0	34.0
서호무	2,522.0	2,072.6	23.8	26.2	41.2

다. 병해충 저항성 : 병충해 저항성은 대비종과 유사함

라. 수량성 : 2,155 kg/10a (대조구 : 7,263 kg/10a)

마. 품질특성 : 근형이 단타원형이며 근피가 매끈함

바람들이에 강하다 (1, 대조-5)

라벨	주중 (g)	근중 (g)	근장 (cm)	근폭 (상) (mm)	근폭 (중) (cm)	근폭 (하) (mm)	엽수 (개)	엽장 (cm)	바람 들이
원교10050호 (‘13 가을재배)	855.3	656.7	12.0	67.7	10.7	24.0	18.0	34.0	2.0
원교10050호 (‘14 가을재배)	853.7	647.3	12.7	61.7	10.0	25.7	21.3	37.0	1.3
서호무 (‘13 가을재배)	2522.0	2072.6	23.8	70.8	15.6	23.6	26.2	41.2	3.0

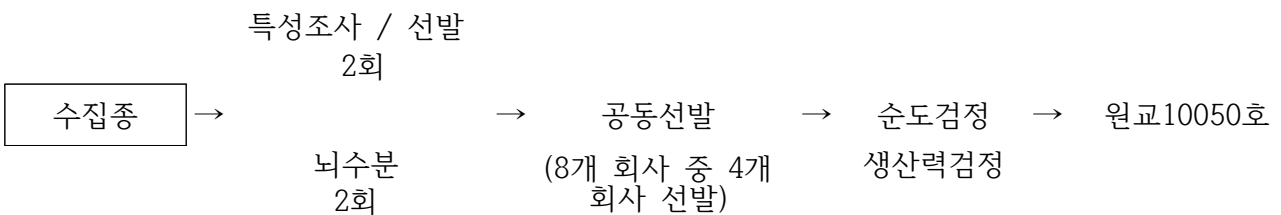
* 바람들이 지수 : 0 없음, 1 미약, 2 변색, 3 바람들이 시작, 4 지름 1mm 이하 구멍, 5 지름 3mm 이하 구멍, 6 지름 5mm 이하 구멍, 7 구멍 2개 이하 형성, 8 구멍 3개 이상 형성, 9 대형 공극 형성

8. 육성경과

가. 육성계통도

년 도	2011	2011	2012	2013
세 대	수집종	S ₁	S ₂	
구분	1 2 3 · · 6 · · 11	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	원교 10050호
비고	개체선발	원예적 특성 확인, 선발, 뇌수분	원예적 특성 확인, 선발, 뇌수분	순도 검정, 생산력 검정,

나. 육성계보도



※ 신품종직무육성심의회(2013년)에서 선발 횟수가 적다는 지적이 있어 추후 2년간(‘14~’15) 종자를 증식하며 균일성 검정 결과 주요 특성인 근피와 근육색의 분리나 나타나지 않아 계통으로서 고정되었음을 확인함

9. 종자 확보량

- 현재 품종보호 출원 및 유상 분양 가능한 량의 종자를 증식하였음



<육성품종 ‘월교10050호’ 모습>

민원인을 가족같이, 민원을 내일같이
 등지된 내용에 허물이 없으시면 담당자에게 문의하시기 바랍니다.
 담당자: 김지유 전화: (054) 912-0113 FAX: (054) 912-0210
 인터넷 홈페이지: www.secd.go.kr
 39660 경상북도 김천시 혁신로 119

품종보호출원번호 통지서

출원일자: 2016. 8.10 품종보호 출원번호: 출원 2016 - 399
 품종명칭 출원번호: 명칭 2016 - 867

작 품 명: 무
 품종 명칭: 월교10050호
 출 원 선: 농촌진흥청
 주 소: 경상북도 김천시 관산구 농생영로 300농촌진흥청사

2016년08월10일

국립종자원



< 2세부 위탁 >

가. 차세대 염기서열 분석법(NGS)을 이용한 GBS(Genotype-by-Sequencing) 분석

- (1) 기존의 AFLP, RFLP, SSR등의 분자마커를 이용한 유전형 분석(genotyping)은 비용적 또는 시간적인 약점이 있음
- (2) 2011년부터 식물에 적용되기 시작한 GBS 분석을 통한 SNP 분자마커 유전자 지도 분석법은 고밀도 유전자 지도를 시간과 비용면에서 많은 이점을 가지고 작성할 수 있음
- (3) 본 연구에서는 Poland et al. (2012)이 확립한 PstI-MspI의 double-digestion 방법을 연구의 성격에 맞도록 수정하여 GBS 라이브러리를 작성하였음
- (4) 본 연구에서는 두 가지 제한효소와 함께 라이브러리를 전기영동 젤 상에서 염기단편의 크기에 따라 추출하여 genomic representation을 극대화 시켜 효율을 증가
- (5) 그림 1은 GBS 라이브러리의 작성과정을 표현한 모식도로서 전기영동법을 이용한 염기단편의 크기에 의한 선별법 뿐만 아니라 라이브러리의 질(quality control)을 높이기 위한 다양한 방법을 적용하였음
- (6) 시퀀싱이 완료된 GBS 라이브러리로부터 작성된 FASTq 파일은 TASSEL-GBS 파이프라인을 이용하여 유전자형의 분석이 진행
- (7) TASSEL-GBS 파이프라인의 경우 시퀀싱 오류로부터 야기될 수 있는 SNP분석의 오류를 줄이기 위하여 에러율이 0%에 가까운 첫 번째 염기로부터 64개의 염기서열만 따로 추출하여 유전분석을 실시하므로 식물의 유전자형 분석에 유용한 도구임
- (8) 특히 TASSEL-GBS의 경우 표준유전체가 확립되지 않은 무의 분석이 이용될 수 있는 UNEAK 파이프라인이 별도로 설치가 되어 있으므로 이를 이용하여 SNP 유전자형 정보를 가지고 있는 hapmap 파일을 작성

(9) 작성된 hapmap 파일은 통계 분석 프로그램에서 회귀법을 이용하여 기 조사된 각 계통의 재분화율과 함께 single-marker analysis를 적용

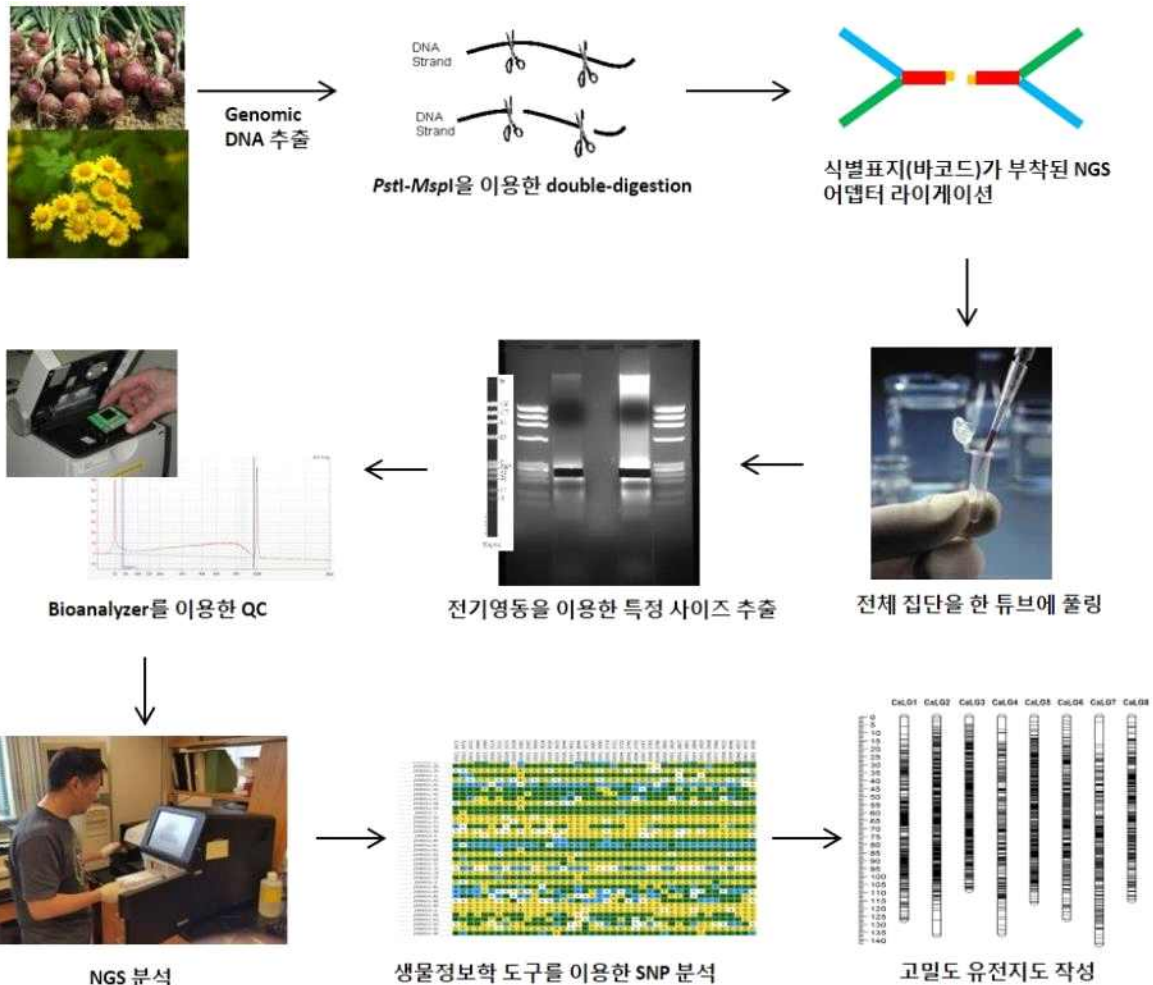
나. 재분화율과 연관된 SNP의 비교유전체 분석

- (1) SNP 시퀀스를 무 표준유전체를 이용하여 위치정보를 수집
- (2) GFF 파일을 이용하여 물리적 거리가 가까운 유전자 정보를 수집

다. 연구결과

1. 소포자 배양 관련 유전분석에 이용된 무 샘플과 재분화율

- (1) 다양한 경로를 통해 수집 또는 육성한 무 계통에 대해 소포자 배양 방법을 사용하여 double haploid를 제작함
- (2) 총 120 계통에 대해 소포자 배양간 각 계통별 재분화율을 바탕으로 크게 세 가지 집단으로 분류 (H: 높은 재분화율을 나타내는 계통, M: 중간 수준의 재분화율을 나타내는 계통, L: 낮은 재분화율을 나타내는 계통, 표 2)
- (3) 각 계통에 대한 파종 후, 무 샘플의 가용성 및 각 집단별 적정 계통 배분을 통해 H 집단에서 35 계통, M 집단에서 31 계통, L 집단에서 30계통을 선발함
- (4) 총 96 계통을 대상으로 GBS를 수행함



<그림 1> Double-digested GBS 라이브러리를 이용한 유전자 지도의 작성 흐름도

표 2. 무 계통별 정보 및 재분화율에 따른 분류

라벨	선발번호	계통명 및 유래	계통 추가 설명	재분화율	분류
16-GX60	1	08-MR13	日本光斗菜	269.500	H
16-GX71	2	12-LA41(12-SC49-3)		96.970	H
16-GX35	3	중국도입종자		88.519	H
16-GX93	4	태백무	원예원	66.053	H
16-GX59	5	별망	07-FP322	55.000	H
16-GX97	6	현대종묘	양달한백옥	54.063	H
16-GX09	7	농우바이오		49.306	H
16-GX78	8	12-LA66(12-SC92-1)		46.667	H
16-GX68	9	12-LA35(12-SC37-2)		42.955	H
16-GX18	10	육성중 계통		40.444	H
16-GX08	11	흥농씨앗		38.431	H
16-GX33	12	중국도입종자		37.667	H
16-GX32	13	중국도입종자		34.444	H
16-GX04	14	서울종묘		32.764	H
16-GX17	15	육성중 계통		30.303	H
16-GX99	16	대농종묘		27.500	H
16-GX06	17	흥농종묘		27.333	H
16-GX120	18	대조		27.143	H
16-GX02	19	사카타 코리아		25.952	H
16-GX12	20	도입품종		24.848	H
16-GX14	21	도입품종		24.444	H
16-GX11	22	동부한농종묘		21.667	H
16-GX79	23			20.417	H
16-GX27	24	프랑스도입종		20.370	H
16-GX75	25	12-LA47(12-SC67-3)		20.303	H
16-GX103	26	웅성불임 자원 교배체		20.000	H
16-GX46	27	08-SE14	07-SD88-4*07-SD70-2	17.727	H
16-GX106	28	웅성불임 자원 교배체		17.143	H
16-GX118	29	시판품종		15.556	H
16-GX07	30	청원농산		15.278	H
16-GX77	31	12-LA49(12-SC70-1)		13.067	H
16-GX113	32	시판품종(무한)		12.903	H
16-GX05	33	중앙종묘		12.796	H
16-GX72	34	12-LA44(12-SC61-2)		12.333	H
16-GX61	35	중국 자원 후대	10-FB49-1	12.143	H
16-GX21	36	중국자원후대		11.111	H
16-GX36	37	중국도입종자		11.000	H
16-GX108	38	웅성불임 자원 교배체		10.500	H
16-GX115	39	시판품종(무한)		9.663	H
16-GX34	40	중국도입종자		8.889	H
16-GX62	41	중국 자원 후대	10-FB230-3	6.000	M
16-GX102	42	웅성불임 자원 교배체		5.833	M
16-GX24	43	캐나다도입종		5.641	M
16-GX15	44	도입품종		5.455	M

16-GX85	45	대조		4.762	M
16-GX52	46	뇌수분	07-FP309	4.375	M
16-GX29	47	중국도입종자		3.889	M
16-GX28	48	중국도입종자		3.704	M
16-GX107	49	용성불임 자원 교배체		3.448	M
16-GX90	50	대조		3.421	M
16-GX03	54	진흥종묘		3.333	M
16-GX13	52	도입품종		3.333	M
16-GX45	53	38% MS 후대		3.333	M
16-GX74	51	12-LA46(12-SC64-1)		3.333	M
16-GX57	55	별망	07-FP308	3.125	M
16-GX43	56	68% MS 후대		2.857	M
16-GX37	58	중국도입종자		2.778	M
16-GX73	57	12-LA45(12-SC62-1)		2.778	M
16-GX26	59	캐나다도입종		2.667	M
16-GX80	60	07-SD89-3*07-SD70-2		2.593	M
16-GX47	61	대조		2.500	M
16-GX119	62	대조		2.500	M
16-GX58	63	별망	07-FP310	2.273	M
16-GX76	64	12-LA48(12-SC69-2)		2.121	M
16-GX44	65	38% MS 후대		2.083	M
16-GX111	66	프랑스 품종	김선주	2.000	M
16-GX112	67	프랑스 품종	김선주	2.000	M
16-GX65	68	중국 자원 후대	10-FB222-1	1.875	M
16-GX31	69	중국도입종자		1.481	M
16-GX38	70	중국도입종자		1.429	M
16-GX104	71	대조		1.277	M
16-GX109	72	용성불임 자원 교배체		1.176	M
16-GX16	73	육성중 계통		1.111	M
16-GX20	74	육성중 계통		1.111	M
16-GX49	75	뇌수분	07-FP302	1.111	M
16-GX81	76	대조		1.053	M
16-GX10	77	농우종묘		0.857	M
16-GX25	78	캐나다도입종		0.833	M
16-GX40	79	68% MS 후대		0.833	M
16-GX91	80	대조		0.800	M
16-GX56	81		07-FP333	0.455	L
16-GX82	82	대조		0.408	L
16-GX69	84	12-LA36(12-SC38-1)		0.333	L
16-GX114	83	시판품종(무한)		0.333	L
16-GX116	85	시판품종		0.313	L
16-GX19	86	육성중 계통		0.303	L

16-GX92	87	대조		0.278	L
16-GX105	88	응성불임 자원 교배체		0.278	L
16-GX84	90	대조		0.263	L
16-GX98	89	대농종묘		0.263	L
16-GX88	91	대조		0.227	L
16-GX83	92			0.000	L
16-GX86	93	대조		0.000	L
16-GX87	94	대조		0.000	L
16-GX89	95	대조		0.000	L
16-GX94	96	동부한농	일본무	0.000	L
16-GX95	97	동부한농	일본무	0.000	L
16-GX96	98	현대종묘	하미농	0.000	L
16-GX100	99	원교10033호	별교배	0.000	L
16-GX101	100	응성불임 자원 자식체		0.000	L
16-GX110	101	프랑스 품종	김선주	0.000	L
16-GX117	102	시판품종		0.000	L
16-GX48	103	02-r201유래		0.000	L
16-GX50	104	뇌수분	07-FP305	0.000	L
16-GX51	105		07-FP308	0.000	L
16-GX53	106	뇌수분	07-FP310	0.000	L
16-GX54	107	뇌수분	07-FP319	0.000	L
16-GX55	108		07-FP322	0.000	L
16-GX63	109	중국 자원 후대	10-FB232-2	0.000	L
16-GX64	110	대조	10-FB233-1	0.000	L
16-GX66	111	중국 자원 후대	10-FB223-1	0.000	L
16-GX67	112	원교10037호	11-FD51-1	0.000	L
16-GX70	113	12-LA37(12-SC40-1)		0.000	L
16-GX39	114	68% MS 후대		0.000	L
16-GX41	115	68% MS 후대		0.000	L
16-GX42	116	68% MS 후대		0.000	L
16-GX22	117	중국자원후대		0.000	L
16-GX23	118	중국자원후대		0.000	L
16-GX30	119	중국도입종자		0.000	L
16-GX01	120	농우바이오		0.000	L

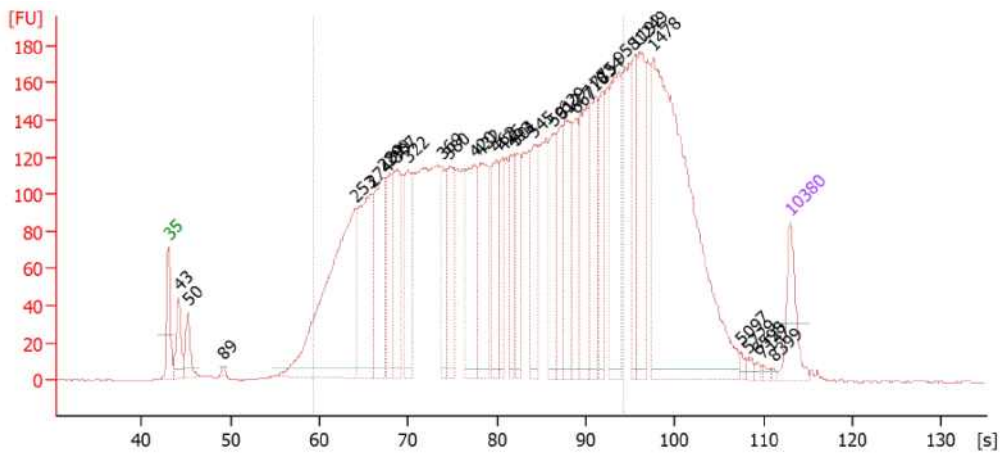
2. 대용량 유전분석 파이프라인 구축

가. Genotype-by-Sequencing (GBS) 라이브러리의 구축

- (1) 재분화율을 바탕으로 선별된 96개를 샘플에 대하여 각각 DNA를 추출하여 40ng/ul로 희석
- (2) 제한효소(*Nsi*I과 *Mse*I)를 버퍼와 함께 넣고 2시간 동안 37°C에서 분해 (Poland et al. 2012 의 방법을 modification)

사이트를 의미)

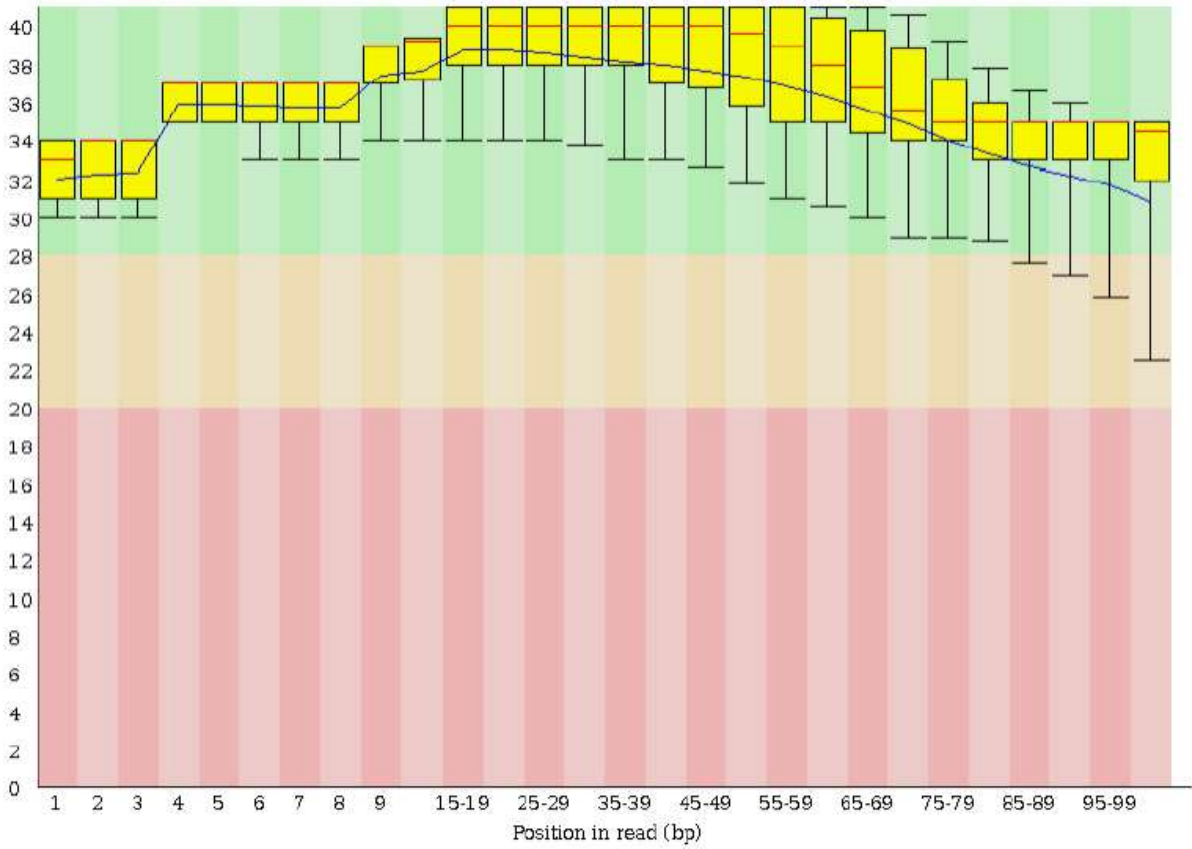
- (6) GBS라이브러리의 QC를 위하여 Bioanalyzer를 이용해 라이브러리 단편의 분포를 그림 5와 같이 확인



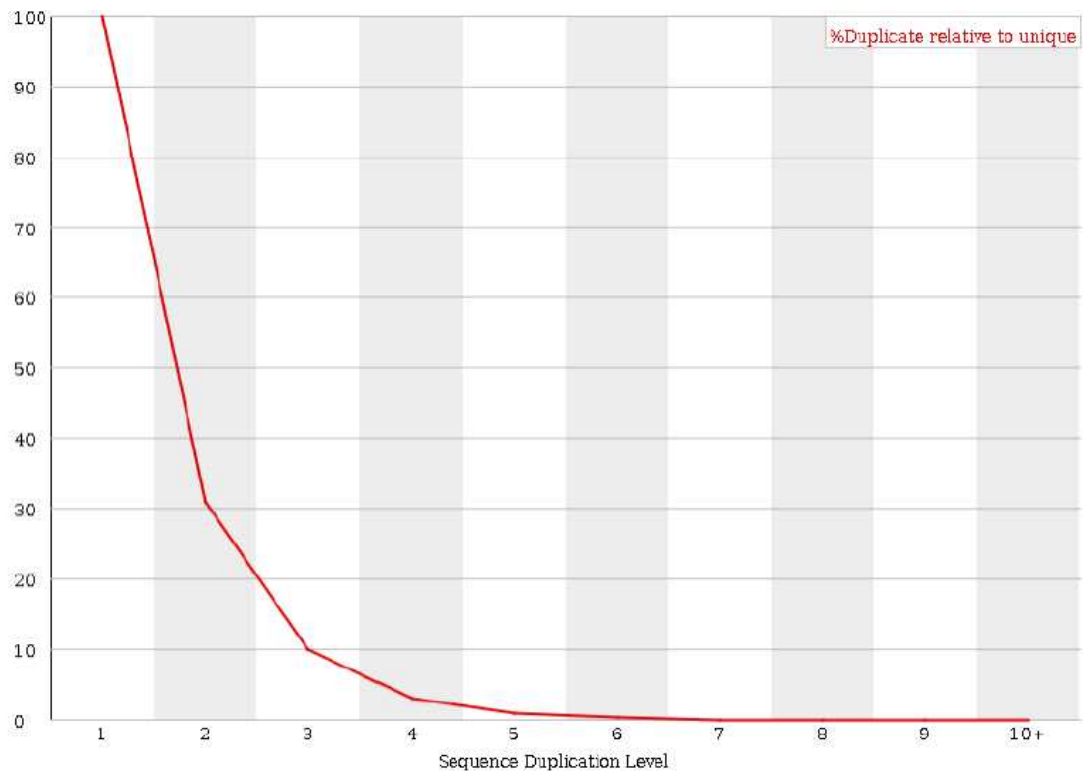


<그림 6> Paired-end sequencing에서의 forward와 reverse 시퀀스의 비교

- (4) 그림 7은 Illumina 염기서열 분석에 있어서 각 염기의 quality score 분포를 보여주는 것으로서 100bp 시퀀스에서 모두 30이상(99.9%)의 quality score를 보여주고 있음. TASSEL-GBS 파이프라인은 시퀀스 시작지점부터 64bp만을 잘라내어 이용하기 때문에 시퀀스 분석상의 오류로 인한 유전분석의 오류를 최소화 할 수 있음.
- (5) 그림 8은 염기서열상의 중복서열 분석결과로서 시퀀스의 시작지점 4-6bp 위치에는 multiplexing을 위한 96개의 barcode 서열이 존재하기 때문에 중복서열이 상대적으로 많은 것이고 이후에는 중복서열이 현저히 감소하는 것으로 보아 염기서열 분석결과는 유전분석에 적당한 것으로 생각할 수 있음.



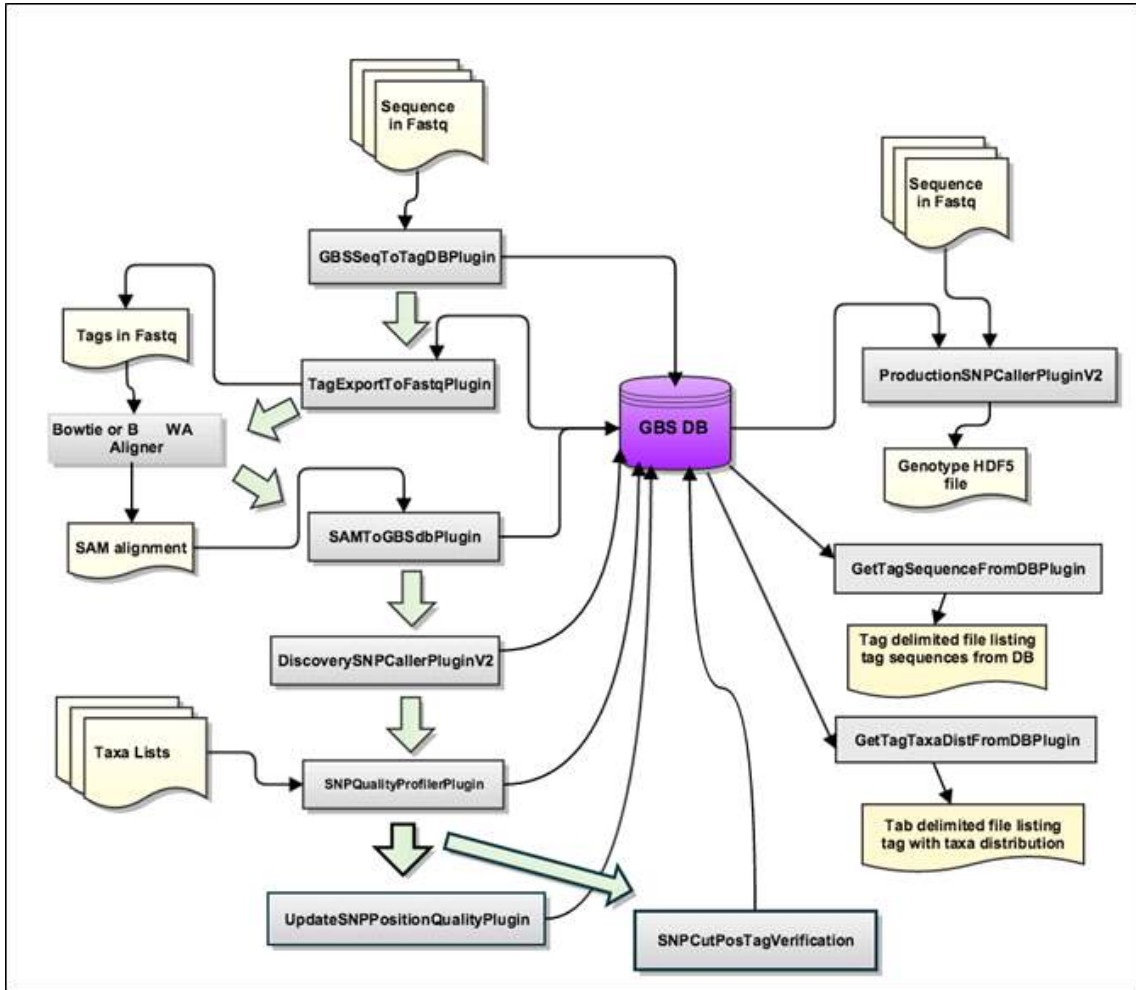
<그림 7> 염기서열분석 결과의 quality score 분포



<그림 8> 염기서열분석 결과의 중복서열 분석결과

4. 유전자형 분석 (Genotyping)

가. GBS 데이터 분석을 위해 TASSEL 5 GBS v2를 이용한 단일마커다형성 분석 (그림 9)



<그림 9> Discovery pipeline 모식도

(1) Step01 : GBSSeqToTagDBPlugin

- (가) GBSSeqToTagDBPlugin는 fastq 파일을 입력하여 실행하는데, tags를 찾아서 barcode를 가진 good read만 골라내어 local database에 저장
- (나) 위에 저장된 good barcoded reads중에서 barcodes를 잘라내고, 그 뒤의 sequences 중에 second cut site 또는 read into the common adapter sequence가 있으면 그 data는 필터링
- (다) PEARL을 이용한 명령어:

```
perl~/TASSEL5/run_pipeline.pl-fork1-GBSSeqToTagDBPlugin-ePSTI-i/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV3/fastq/-db/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/GBSV2.db-k/home/yglee/Projects/Radish/sequence/Test_key_yglee.txt-endPlugin-runfork1
```

(2) Step02: TagExportToFastqPlugin

(가) TagExportToFastqPlugin는 database에 저장된 distinct tags를 bowtie2 또는 BWA aligner program로 읽을 수 있도록 FASTQ file로 변환

(나) 이 변환된 결과물은 “.sam” 파일을 만드는데, 이는 GBS 분석 pipeline에서 SNP calling을 위해 반드시 필요

(다) PEARL을 이용한 명령어:

```
perl~/TASSEL5/run_pipeline.pl-fork1-TagExportToFastqPlugin-db/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/GBSV2.db-o/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/tagsForAlign.fa.gz-c1-endPlugin-runfork1
```

(3) Step03: Burrows-Wheeler Aligner (bwa, Li et al. 2009)

(가) bwa는 “.sam” 파일들을 reference genome에 align 하기 위한 명령어

(나) PEARL을 이용한 명령어:

```
~/programs/bwa-0.7.15/bwa-abwtswrsg_all_v1.fasta  
~/programs/bwa-0.7.15/bwaindex-abwtswrsg_all_v1.fasta  
~/programs/bwa-0.7.15/bwaaln-t4../reference/rsg_all_v1.fastatagsForAlign.f  
a.gz>tagsForAlign.sai  
~/programs/bwa-0.7.15/bwasamse../reference/rsg_all_v1.fastatagsForAlign.  
saitagsForAlign.fa.gz>tagsForAlign.sam
```

(4) Step04: SAMToGBSdbPlugin

(가) SAMToGBSdbPlugin는 reference genome상에 가능성 있는 tag의 위치를 결정하기 위해 “.sam” 파일을 읽음. plugin은 tag cut 위치에 대한 정보를 가진 database를 업데이트 함. “.sam” 파일에 있는 tag이 database와 일치하지 않으면 에러로 간주

(나) PEARL을 이용한 명령어:

```
perl~/TASSEL5/run_pipeline.pl-fork1-SAMToGBSdbPlugin-i  
/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/tagsForAlign.sam  
-db /home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/GBSV2.db  
-aProp 0.0 -aLen 0 -endPlugin -runfork1
```

(5) Step05: DiscoverySNPCallerPluginV2

(가) DiscoverySNPCallerPluginV2는 GBSv2 database 파일을 이용하여 aligned tags로부터 SNP를 탐색. 같은 physical location에 위치한 tags를 align. 이 align된 tags로부터 찾은 SNPs 정보로부터 알게 된 그 위치와 allele data가 database에 저장됨.

(나) PEARL을 이용한 명령어:

```
perl~/TASSEL5/run_pipeline.pl-fork1-DiscoverySNPCallerPluginV2-db  
/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/GBSV2.db  
-mnLCov 0.1 -mnMAF 0.01 -deleteOldData true -endPlugin -runfork1
```

(6) Step06: SNPQualityProfilerPlugin

(가) 이 plugin은 주어진 taxa set을 위한 다양한 coverage, depth, 그리고 genotypic statistics에서 발견된 모든 SNP을 score한다. 만일 taxa가 정해지지 않으면, plugin은 database에 저장된 taxa를 이용함.

(나) PEARL을 이용한 명령어:

```
perl~/TASSEL5/run_pipeline.pl-fork1-SNPQualityProfilerPlugin-db/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/GBSV2.db -statFile "1_outputStats.txt" -deleteOldData true -endPlugin -runfork1
```

나. SNP genotyping 방법

(1) ProductionSNPCallerPluginV2

(가) 이 plugin은 fastq와 keyfile 데이터를 genotype으로 변환시킨 후 이 변환된 genotype data를 VCF 또는 HDF5 format으로 된 genotype file에 더해줌. VCF는 default output임. HDF5 file은 output file parameter에 이용된 파일에 ".h5"를 붙여서 요청할 수 있음. 아래에 있는 명령어에 있는 것처럼 "-ko" 옵션을 이용하면 샘플들을 같은 HDF5 output file과 합칠 수 있음.

(나) PEARL을 이용한 명령어:

```
perl~/TASSEL5/run_pipeline.pl-fork1-ProductionSNPCallerPluginV2-db/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/GBSV2.db-ePSTI-i/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV3/fastq/-k/home/yglee/Projects/Radish/sequence/Test_key_yglee.txt-kmerLength64-o/home/yglee/Projects/Radish/sequence/TASSELV5v2_paired/productioHapMap_noKO.vcf-endPlugin-runfork1
```

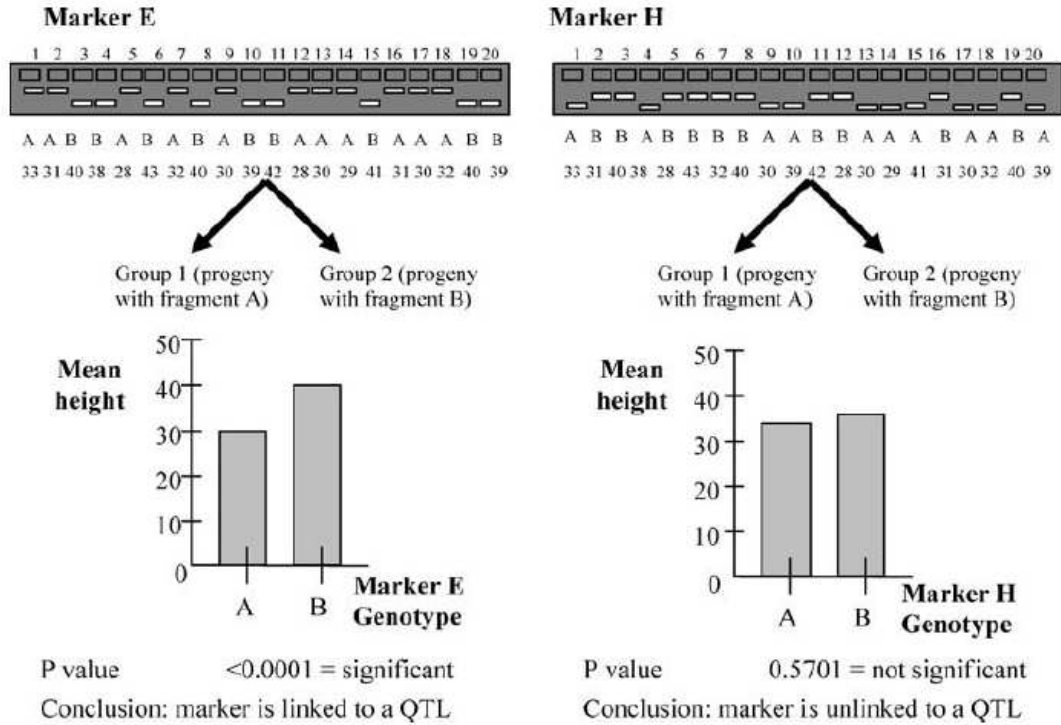
다. SNP genotyping 결과

(1) SNP calling 결과, 총 3,835,968 개의 SNP이 genotyped되었으며, 각 SNP별 total missing rate을 계산하여 missing genotype이 96개 samples 중 10개 이상인 SNP은 제거함. 그리고 Minor allele frequency > 0.05 인 SNP만 선별하여 total 18,071 SNP을 추출하여 실제 분석에 사용함.

5. 단일분자표지 분석법 (Single marker analysis)

가. 단일분자표지 분석법의 원리와 방법 (Collard et al., 2005)

(1) 분자 마커의 유전형이 같은 그룹끼리 묶어 평균을 내어 차이를 구하고 그 분자 마커와 표현형 간의 상관관계를 찾는 방법. 그림 10에서 마커 E를 예로들면 fragment A와 fragment B를 가진 두 그룹 간에 키의 평균값이 차이를 보이거나, 마커 H의 경우를 보면, 두 그룹 간에서 키 평균값의 차이가 거의 없음. 이 경우 마커 E가 키와 상관관계가 있다고 결론을 내릴 수 있음.



<그림 10> 단일분자표지 분석법의 원리

- (2) 통계방법에는 t-test, ANOVA, 또는 linear regression이 많이 쓰임. 분자 마커 내 그룹 간의 피노타입 차이가 없다고 귀무가설을 세운 후 이를 통계적으로 검증하는 방식임. 본 연구에서는 QTL Cartographer라는 소프트웨어를 이용하여 분석함.
- (3) 단일분자표지 분석법은 linkage map 없이 바로 일반 통계 소프트웨어를 써서 할 수 있는 장점이 있으나 만약 분자 마커가 표현형과 연관된 유전자와 멀어질수록 그 연관관계가 낮아지기 때문에 전체 게놈에 걸쳐 분리가 일어나는 많은 수의 마커를 필요로 함. 따라서 GBS가 합리적으로 이용될 수 있음

나. 소포자 배양에서 재분화율의 단일분자표지 분석법 결과

- (1) 이 분석법은 앞서 설명한대로 유전지도 없이 간이로 분자마커와 형질의 상관관계를 분석하는 방법으로서 이는 후속실험에서 추가 검증이 필요하지만 GBS로 얻은 게놈 전체에 걸친 분자마커를 효율적으로 스크리닝할 수 있는 방법이다.
- (2) 본 분석법은 다음의 단순선형회귀모델을 이용하였다

$$y = b_0 + b_1x + e$$

- (3) 표 4에서 제시된 결과는 b_0 , b_1 , F statistic 결과를 각각의 분자표지에 대하여 나타내는 것으로 분자표지들이 재분화율과 어느 정도로 연관되어 있는지 알아볼 수 있다. 표의 location은 스캐폴드 상의 위치를 나타내며 sequence name과 sequence discription은 각각 마커가 발견된 스캐폴드 상에 있는 유전자 이름과 유전자에 대한 설명을 나타낸다.

(4) 위 모델에서의 귀무가설(H_0)은 $b_1 = 0$ 이며 대립가설(H_a)은 $b_1 \neq 0$ 으로 정의되며 F값의 확률(P -value)이 작다면 이는 분자표지와 재분화율의 연관성을 나타내는 것이다 (*, **, ***, **** 은 0.1%, 0.01%, 0.001%, 0.0001%의 유의성을 각각 보여준다).

ID	P-value	Scaffold	Location	Ref	Sequence Name	Sequence Description
marker2031	*	Rs_scaf1279	19425	C		
marker2082	*	Rs_scaf1283	45766	G		
marker2725	*	Rs_scaf14	237848	T		
marker2974	**	Rs_scaf14282	327	C		
marker2975	**	Rs_scaf14282	329	A		
marker3348	*	Rs_scaf1498	23778	T		
marker4095	*	Rs_scaf16382	450	A		
marker4477	*	Rs_scaf1707	47162	G	RSG46506.t1	leucine aminopeptidase 1
marker4957	*	Rs_scaf182	119785	G		
marker4958	*	Rs_scaf182	119804	T		
marker4965	**	Rs_scaf182	315781	T	RSG14716.t1	ribonuclease h-like protein
marker4969	**	Rs_scaf182	315835	C	RSG14716.t1	ribonuclease h-like protein
marker4970	**	Rs_scaf182	315866	A	RSG14716.t1	ribonuclease h-like protein
marker4971	**	Rs_scaf182	315890	T	RSG14716.t1	ribonuclease h-like protein
marker5045	*	Rs_scaf184	300027	T		
marker6450	**	Rs_scaf21962	374	C	RSG58881.t1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC100790056
marker6451	***	Rs_scaf21962	421	T	RSG58881.t1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC100790056
marker6454	***	Rs_scaf21962	446	A	RSG58881.t1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC100790056
marker7569	**	Rs_scaf249	180479	A		
marker7570	**	Rs_scaf249	180533	A		
marker7773	*	Rs_scaf2540	14102	C		
marker7791	*	Rs_scaf2547	22451	C		
marker7853	*	Rs_scaf25616	270	A	N/A	
marker8508	****	Rs_scaf2799	19778	T		
marker8512	****	Rs_scaf2799	19863	C		
marker8594	*	Rs_scaf281	176301	C	RSG19029.t1	ring-h2 finger protein at11-like
marker8955	***	Rs_scaf29400	628	T	RSG61521.t1	
marker9014	*	Rs_scaf297	8006	T	RSG28786.t1	receptor-like protein kinase hsl1-like
marker910	*	Rs_scaf3	247805	T	N/A	

8						
marker9660	*	Rs_scaf317	223958	T		
marker9872	*	Rs_scaf324	160958	G	RSG30616.t1	helicase-like protein
marker10352	*	Rs_scaf344	29717	T	RSG21982.t1	dna replication licensing factor mcm5-a-like
marker11967	****	Rs_scaf4221	1190	C	RSG50121.t1	hypothetical protein SORBIDRAFT_07g011900
marker12054	*	Rs_scaf43	314932	T		
marker1241	*	Rs_scaf11462	903	C		
marker12614	*	Rs_scaf471	85196	T		
marker12920	*	Rs_scaf493	171984	T		
marker13203	*	Rs_scaf511	1036	G	RSG28884.t1	ribonuclease h-like protein
marker13809	*	Rs_scaf560	53655	C		
marker14579	*	Rs_scaf6236	2649	A	N/A	
marker15451	*	Rs_scaf703	43972	A	RSG37752	
marker15452	*	Rs_scaf703	44048	A	RSG37752	
marker15761	*	Rs_scaf7372	1556	C	N/A	
marker15763	*	Rs_scaf7372	1611	T	N/A	
marker15840	*	Rs_scaf749	23496	G	RSG37847.t1	protein pelota-like
marker16582	*	Rs_scaf8219	919	A		
marker16583	*	Rs_scaf8219	921	T		
marker17016	*	Rs_scaf866	49375	A	RSG34684.t1	protein
marker17235	*	Rs_scaf89	286886	T		
marker17236	*	Rs_scaf89	286893	C		
marker17237	*	Rs_scaf89	286927	G		
marker17238	*	Rs_scaf89	286987	A		

표 4. 소포자 배양에서 재분화율의 단일분자표지 분석 결과 (*, **, ***, **** 은 0.1%, 0.01%, 0.001%, 0.0001%의 유의성을 각각 보여준다)

3 절. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성

1. 유전자원 수집, 특성 검정 및 유전자원센터 기탁

○ 1년차(2013) 연구 수행을 위하여 2013년 중국 중서부(허난성, 장쑤성, 안후이성 등)에서 34점의 시판 재래종을 수집하였다. 구체적인 수집 장소는 허난성 정저우, 상쑤 종자시장, 장쑤성 쉬저우 종자시장, 안후이성 허페이 종자시장이다. 포장특성검정을 위하여 2014년 8월 29일 국립원예특작과학원(수원) 시험연구포장에 수집 유전자원 34점을 파종하였고 11월 6일 수확하였다. 수확 후 근중, 근장, 근폭, 엽장, 엽수, 당도, 바람들이 등 농업적 형질을 조사하였다(표 1). 34점의 유전자원 중 고유의 특성을 가진 유전자원 5점을 2014년 농업유전자원센터에 기탁/등록[채소과-397, 2014. 3. 4., 접수번호 GB14059(2014.03.11.)] 하였고 2014년 가을 포장특성검정 후 우수한 형질을 가진 유전자원 8점을 2015년 농업유전자원센터에 기탁(채소과-270, 2015. 1. 30.) 하였고 추가로 유전자원 13점을 2015년 농업유전자원센터에 기탁하였다(농업유전자원센터-4249, 2015.12.23.).

표 1. 중국 수집 유전자원 34점의 지상부 및 지하부 생육 특성

라벨	주중 (g)	근중 (g)	근장 (cm)	근폭			엽장 (cm)	엽수 (ea)	당도 (Brix°)	바람들이 ²
				상(mm)	중(mm)	하(mm)				
14-1-01	656±201	533±179	9.5±2.4	52± 8.4	93± 8.4	43± 9.7	36.2±4.3	20.8±2.5	9.1±0.2	2.8±1.3
14-1-02	1346±207	1148±215	23.0±1.4	46± 5.2	84±14.7	49± 5.7	37.0±2.4	30.7±1.4	6.1±0.3	4.5±0.5
14-1-03	1004±102	697±100	9.7±1.2	72± 9.6	107± 3.7	58± 8.0	44.5±6.9	20.0±2.8	7.8±0.4	4.5±3.6
14-1-04	1795±311	1368±231	23.3±2.3	70± 7.9	102±10.4	47± 6.7	55.7±5.6	17.8±3.8	6.5±0.2	6.2±1.7
14-1-05	1543± 84	1181± 69	18.0±2.1	66± 9.0	107±11.3	49±10.1	59.5±5.8	13.3±3.1	5.8±0.3	6.2±1.5
14-1-06	668± 76	535± 76	13.8±1.5	57± 5.0	76± 4.2	41± 4.1	29.7±6.1	12.3±2.2	7.4±0.2	5.8±1.2
14-1-07	616±173	544±156	20.5±4.3	42± 6.1	95±11.1	43± 9.7	30.7±4.0	21.0±2.8	6.6±0.4	8.0±1.3
14-1-08	1130±264	856±280	10.8±1.5	65±10.4	111± 9.2	55±10.9	47.8±4.8	18.5±2.2	7.7±0.5	2.5±1.4
14-1-09	1419±226	938±120	34.0±4.2	54± 6.0	65± 5.7	37± 6.3	57.8±3.8	32.2±5.4	6.5±0.6	5.5±2.3
14-1-10	1277±189	863±109	35.3±3.9	44± 5.8	64± 3.8	33± 3.0	66.7±5.9	24.8±4.1	6.4±0.2	5.0±1.4
14-1-11	424± 71	316± 59	6.3±1.4	82±14.7	114± 6.5	53± 7.4	33.8±4.8	11.3±2.0	8.0±1.0	8.8±0.4
14-1-12	724±136	621±132	20.3±3.9	44± 5.6	70± 4.8	38± 4.9	32.8±2.6	19.8±5.4	6.2±0.3	2.8±0.8
14-1-13	1058±248	963±271	21.0±3.3	39± 8.5	96± 9.0	43± 5.0	39.8±4.6	9.5±1.6	6.2±0.7	4.3±1.2
14-1-14	1525±194	1215±155	31.2±1.9	40± 4.5	83± 5.6	35± 4.7	50.2±4.6	21.3±2.6	5.0±0.2	3.2±0.4
14-1-15	1263±288	938±200	18.2±1.5	54±11.1	104± 4.3	40±10.9	50.0±3.3	25.3±3.0	6.0±0.3	6.3±1.2
14-1-16	214± 60	180± 48	5.8±0.4	59±10.5	92± 8.5	58±15.3	18.2±3.8	13.0±3.3	7.0±0.9	8.8±0.4
14-1-17	282±138	232±105	6.2±1.5	61±17.2	103± 8.6	48±12.5	20.7±6.4	17.3±2.6	7.1±0.3	9.0±0.0
14-1-18	948±226	773±193	15.8±2.6	51± 8.5	106±12.4	51± 8.3	41.2±3.3	19.7±3.9	5.3±0.3	7.3±1.5
14-1-19	731± 99	618± 94	23.0±4.4	41± 4.9	68± 7.2	37± 8.8	33.5±2.1	10.7±0.8	7.1±0.4	4.8±0.4
14-1-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14-1-21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14-1-22	908±210	800±203	26.5±3.1	51± 7.1	100± 9.1	44± 8.3	34.2±1.7	17.3±1.8	6.1±0.7	8.2±0.4

14-1-23	606± 81	508± 74	24.2±1.5	53± 7.2	86±11.5	48±13.6	33.3±3.9	17.2±2.7	6.5±0.7	8.5±0.5
14-1-24	1623±286	1257±278	38.8±3.4	48± 4.4	79± 8.4	40± 5.0	56.3±4.4	26.3±4.3	6.5±0.5	6.8±1.5
14-1-25	1433±304	903±344	36.2±5.0	50± 8.6	62±11.1	28± 5.0	58.7±4.0	27.3±1.8	7.2±0.6	3.3±0.8
14-1-26	822±125	657± 99	20.0±1.5	47± 4.3	82± 7.4	36± 3.8	42.7±3.1	17.8±2.3	7.6±1.2	5.0±2.1
14-1-27	855±115	673±112	10.2±1.3	55± 9.0	101± 7.3	40± 6.2	42.3±2.7	19.0±2.2	8.8±0.7	2.7±0.8
14-1-28	994± 75	783± 26	11.8±0.8	48± 5.1	117± 3.8	61±10.1	38.7±1.5	31.7±7.1	7.4±0.4	6.7±0.5
14-1-29	1326±259	1127±229	33.7±2.5	45± 5.4	86± 5.8	39± 3.3	37.5±2.9	19.3±2.4	6.4±0.6	6.2±0.8
14-1-30	1738±253	1403±217	41.5±4.6	44± 4.3	78± 6.1	37± 4.5	54.3±1.8	23.3±4.2	5.4±0.3	5.3±0.8
14-1-31	1161±191	865±173	18.2±3.5	56±14.3	99± 5.5	44± 9.3	54.8±7.5	22.0±3.3	6.8±1.0	7.0±1.1
14-1-32	1091±212	851± 95	21.0±1.4	54± 4.7	85± 3.3	41± 4.3	51.8±5.9	18.7±4.5	7.0±0.4	7.3±1.4
14-1-33	1463±182	1160±167	20.3±3.4	57± 6.1	107± 7.5	38± 5.5	56.2±2.3	17.5±2.3	7.1±0.4	7.7±1.5
14-1-34	942±219	616±168	14.8±1.6	62±16.4	83±17.6	39± 4.2	57.8±4.2	17.7±4.3	9.9±1.0	2.0±0.9

^z 바람들이 : 1(없음) ~ 9(매우 심함)

2016년 유전자원 등록을 위하여 베트남 및 미국에서 수집한 유전자원 17점을 전주 국립원예특작과학원 실험포장에서 2015년 9월 4일 각각 20립 이상씩 파종한 후 11월 초 수확하여 그 형태적 특성과 SI 유전자형을 검정하고(그림 1) 수확 후 조사하였다(표 2).

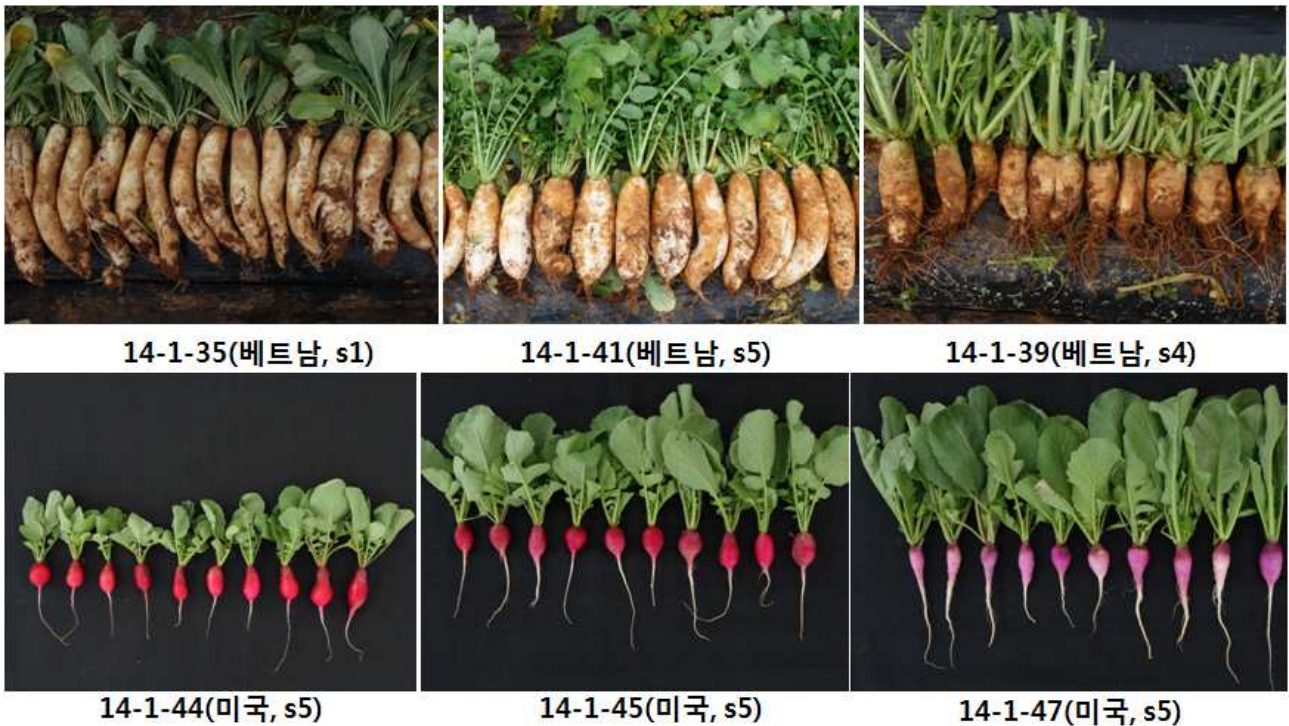


그림 1. 베트남 및 미국에서 수집한 유전자원의 형태적 특성 및 SI 유전자형의 예

표 2. 베트남, 미국 수집 유전자원 17점 포장 특성 검정

라벨	엽중 (g)	근중 (g)	근장 (cm)	근폭			엽장 (cm)	엽수 (ea)	당도 (Brix°)	바람들이 ^z
				상(mm)	중(mm)	하(mm)				
14-1-35	149± 70.8	1135±448	36.4 ±2.6	47.3± 10.9	81.0± 14.4	20.7±2.5	34.2±2.8	20.2±4.8	3.8±0.2	7.0±2.0

14-1-36	-	82± 17	8.0 ±1.0	32.4± 4.1	40.8± 4.1	19.0±4.2	-	-	4.2±0.5	7.4±0.9
14-1-37	-	84± 26	10.4 ±1.3	30.9± 6.4	40.8± 6.1	18.0±2.6	-	-	3.0±0.4	8.2±1.1
14-1-38	170± 73.7	1380±106	41.8 ±7.3	47.2± 8.7	83.8± 5.0	31.6±5.7	36.0±3.4	23.6±3.9	3.9±0.4	7.4±0.9
14-1-39	-	177±103	12.4 ±1.9	38.5± 5.2	52.4± 9.7	22.7±4.8	-	-	3.9±0.3	7.4±1.7
14-1-40	189± 39.6	1825±459	45.6 ±2.6	48.7± 3.1	91.7±11.7	26.1±4.8	36.4±3.2	24.8±1.5	4.1±0.4	7.8±1.8
14-1-41	336± 39.6	1683±783	29.0 ±5.2	45.1± 10.7	94.7±24.2	27.1±4.2	61.8±1.3	13.6±0.9	4.5±0.4	3.0±0.0
14-1-42	-	146± 32	9.4 ±1.1	41.8± 6.4	60.2± 5.6	25.1±5.2	-	-	3.5±0.4	8.6±0.9
14-1-43	-	88± 14	11.4 ±0.9	31.0± 5.1	42.6± 6.4	17.7±4.9	-	-	4.3±0.5	9.0±0.0
14-1-44	3.5± 1.6	9± 3	10.5 ±2.3	-	-	-	9.3±1.3	5.1±1.0	-	-
14-1-45	9.8± 2.9	14± 4	13.7 ±2.8	-	-	-	16.1±1.9	6.5±0.8	-	-
14-1-46	4.0± 1.2	10± 3	11.9 ±2.1	-	-	-	10.1±1.1	5.0±0.7	-	-
14-1-47	15.9± 6.8	8± 2	13.9 ±3.2	-	-	-	18.7±2.3	7.5±1.1	-	-
14-1-48	1072±180.0	1729±818	46.6 ±8.1	62.1± 13.1	83.8±22.4	27.1±4.8	59.0±3.9	49.0±2.5	4.7±0.1	5.4±2.2
14-1-49	11.1± 4.1	12± 3	14.9 ±5.1	-	-	-	15.9±2.0	5.8±1.0	-	-
14-1-50	8.0± 2.2	9± 2	14.0 ±1.2	-	-	-	14.1±1.3	5.8±0.6	-	-
14-1-51	10.0± 2.3	492±235	21.2 ±5.4	48.3±12.3	69.6± 13.8	24.0±4.1	±	±	4.1±0.3	8.6±0.9

^z 바람들이 : 1(없음) ~ 9(매우 심함)

2. 무 자가불화합 유전자형 검정 분자표지 개발, 클로닝, 서열 분석

가. Standard DNA set을 이용한 자가불화합 유전자형별 분자표지 개선 또는 개발

○ 자가불화합(SI)유전자형 판별용 분자표지 개발을 위하여, NCBI에 등록되어 있는 SRK 및 SLG sequncce를 주형으로 SI 유전자형별 primer 총 213 pair를 제작하였다. 이 primer들을 검정하기 위하여, (주)동부팜한농으로부터 각기 다른 29개의 SI 유전자형을 가진 계통에서 추출된 DNA 57점을 분양받아 이들을 standard로 이용하였다. 제작한 primer를 (주) 동부팜한농으로부터 분양받은 standard DNA에 적용하여 분자표지의 발현 유무와 위치를 확인하였다.(그림 2)

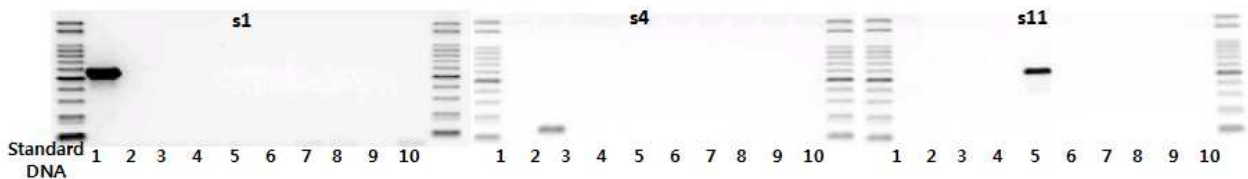


그림 2. 개발된 자가불화합유전자형 s1, s4, s11 판별 분자표지(size marker: 100bp DNA ladder)

○ 2014년도까지 s1, s4, s5, s8, s11, s18, s21, s26 등 8개의 SI 유전자형에 대한 분자표지의 개발 또는 개선을 완료하였고, 2015년도에는 s2, s7, s12, s15, s16, s20, s22, s23, s24등 9개의 자가불화합 유전자형 분자표지의 개발을 완료하였다(그림 3, 4; 표 3).

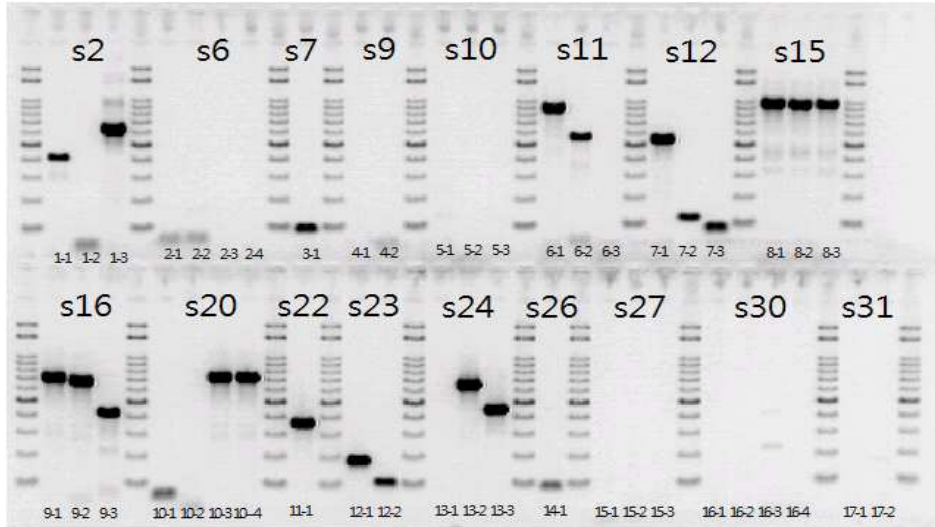


그림 3. 현재 분석중인 자가불화합유전자형 판별 분자표지

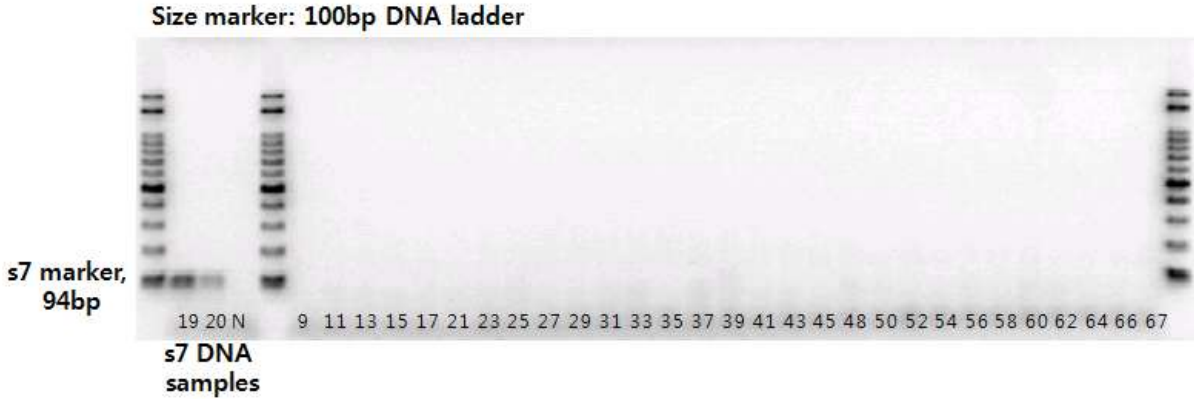


그림 4. 개발된 자가불화합유전자형 s7 판별 분자표지(size marker: 100bp DNA ladder)

표 3. 2015년까지 개발된 자가불화합 유전자형 판별용 분자표지 17점 목록

NO.	SI type	Primer pairs		MT
		F	R	
1	s01	slg01_F_381	slg01_R_1002	62°C
2	s02	srk02_F_678	srk02_R_1086	58°C
3	s04	slg04_F_756	slg04_R_887	58°C
4	s05	slg05_F_316	slg05_R_604	62°C
5	s07	srk07_F_937	srk07_R_1023	58°C
6	s08	srk08_F_452	srk08_R_1071	60°C
7	s11	slg11_F_321	slg11_R_878	58°C
8	s12	slg12_F_318	slg12_R_869	58°C
9	s15	srk15_F14	srk15_R1063	62°C
10	s16	srk16_F	srk16_R	62°C
11	s18	srk18_F_596	srk18_R_1101	60°C
12	s20	srk20_F312	srk20_R1058	57°C
13	s21	slg21_F	slg21_R	60°C
14	s22	srk22_F_213	srk22_R_595	58°C
15	s23	srk23_F_140	srk23_R_233	58°C
16	s24	slg24_F_75	slg24_R_820	60°C

2015년도까지 분자표지 개발을 위해 쓰인 무 SI 별 standard DNA는 (주)동부팜한농 육종연구소에서 분양받았으며 이 DNA 세트는 기존 SI 분자표지 개발에 사용된 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 염기서열과 다소 차이가 있었다. 따라서 2016년도에는 2015년까지 발표된 모든 무의 자가불화합 분자표지에 대한 정보를 취합하여 본 프로젝트를 통하여 개발된 분자표지와 염기서열을 분석하였다(표 4).

표 4. 본 프로젝트를 통하여 개발한 primer와 기존 Ahn 등(2014) 및 농업기술실용화재단 primer의 염기서열 비교

No	SI	Primer	Primer sequences (5'-3')		
			개발 primer	Ahn et al (2014)	농업기술실용화재단
Total no. markers			18	22	24
1	s01	Forward	agatctccggtgggtggcagag	agatctccggtgggtggcagag	ataagttccgctggctattt
		Reverse	ccacttttccatattcctgggatcg	ccacttttccatattcctgggatcg	gcagcagccaatctgacata
2	s02	Forward	gaacagaggattcaactacgga	cggcttctcagaaccaattcccgt	cagaaccaattcccgttggg
		Reverse	tcgtcgtaacactgcctact	tcgcactgtgagtcacatgg	gcagcagccaatctgacata
3	s04	Forward	tacagacaacggagaggaga	tacagacaacggagaggaga	ctggaattttaccatgggctc
		Reverse	aactgaagccatcccgggtga	aactgaagccatcccgggtga	gctcctttgtatttcataaactcca
4	s05	Forward	tcttacacctgtgcactctgc	ggcaacaactctgtcttctaggt	ctcaaccgggattttcgcgt
		Reverse	acgcgaaaatcccgggtgagg	acgcgaaaatcccgggtgagg	cagaacaggttccatgccga
5	s06	Forward		ctgttctcgtcagccttttcg	ctcagaaccacctcaagttct
		Reverse		acataggttcgctcggacac	attgattccagggtcgtcca
6	s07	Forward	tcttcagagaacagaccaacca	tcttcagagaacagaccaacca	acaagcagatattgtcttaacc
		Reverse	cctggccatttaggctgagga	cctggccatttaggctgagga	ccatgcctgaatctatgattcag
7	s08	Forward	cacaatgaacgtggttggaac	cacaatgaacgtggttggaac	tcataaccttttaattcgtactca
		Reverse	caggattgatcgtcgtcacactgtc	caggattgatcgtcgtcacactgtc	ttgatgcatttaatgacttgtgg
8	s09	Forward	tctttggaaggacacagagt	tctttggaaggacacagagt	atctttggaaggacacagagt
		Reverse	ggattcattgtcttcgcaatgcct	tttttgcgaggcggtaaact	cgaaagcagatcgaatattatcg
9	s10	Forward		cctacgacaattcttacactgc	cttcaactcccgaatctagttctcg
		Reverse		tgcatagcccaccgctcttc	gtgcgccgctttgca
10	s11	Forward	tgtcctccaaggtcattcca	tgtcctccaaggtcattcca	cttcagaaccacctcaaattct
		Reverse	gaccagaacacgttccacacca	gaccagaacacgttccacacca	atagaactcaggaagtcttcggtt
11	s12	Forward	tctgtcctcctggcact	tctgtcctcctggcact	cttcagaaccacctcaagttct
		Reverse	acgttccaatccactgttgacgga	catggaccgctccgatgctc	gttgacggattcaacgtcag
12	s13	Forward			
		Reverse			
13	s15	Forward	gaggtgacattaattgctaggcttc	ctttgaatagctcgaaggtctataga	ctttgaatagctcgaaggtctataga
		Reverse	ggctgaggaatctctgctgcttc	ccaaaccacagacgacattg	ccaaaccacagacgacattg
14	s16	Forward	gcattgaccagatgagaagattc	gcattgaccagatgagaagattc	gcattgaccagatgagaagattc
		Reverse	gttccgatcggagtatctgtgc	gttccgatcggagtatctgtgc	gttccgatcggagtatctgtgc
15	s17	Forward			
		Reverse			
16	s18	Forward	cgcaatgaatgggatcttctccga	cgcaatgaatgggatcttctccga	caaagagaaccataactctacaa
		Reverse	aggattcatcgtcatccaactgcct	aggattcatcgtcatccaactgcct	gacaatgaatctatgatgactgga

17	s20	Forward	catcaagactccccggttagg	ctcgagtaggcaatccaacg	tatgtaagtttaagaaccaataatgcta
		Reverse	tcgttgattgcctactcga	gggtactcgttcctcagga	atcgtccaggattcatcgtcgttgattgcc
18	s21	Forward	ggcaacaatctgtcctgattg	ggcaacaatctgtcctgattg	ggcaacaatctgtcctgattg
		Reverse	aacacgttgattcaaaaactgattta	aacacgttgattcaaaaactgattta	aacacgttgattcaaaaactgattta
19	s22	Forward	ggctgtgattgattcgtaggaga	ggctgtgattgattcgtaggaga	atagaatagtgaatattgatgggaa
		Reverse	cgagaataccatccagtgc	cgagaataccatccagtgc	gtcatgagtttttagagttatgggt
20	s23	Forward	ttcggttagagcctcatcca	cttggtgtgtattgaggcagatg	catcagtatcatcgttttaacca
		Reverse	ctcctacaattgatcacagccaga	ctcctacaattgatcacagccaga	caggattcattgtcatcacacttc
21	s24	Forward	attcacctgccctatcga		taggaataggataagaaagccccggaa
		Reverse	tggagtagatgcttgggtgg		tcaacacgttgattcaaaaactgattgtaa
22	s25	Forward			
		Reverse			
23	s26	Forward	attcgaagggggtgccaga	attcgaagggggtgccaga	ttcctacgtcatgaaaagtaca
		Reverse	actcattccgtccacggtc	actcattccgtccacggtc	tggtaaacccagaaacatgct
24	s27	Forward		tcttgattctacatcgcctcg	ctattggtttcttcaactaccggat
		Reverse		ttgatgtcggggtcgtccatc	gcagctgccaatctgacata
25	s28	Forward			
		Reverse			
26	s29	Forward			gcctggattatttctctcgttaggctc
		Reverse			gacatcgttggtcgtgctccgcacttc
27	s30	Forward		tgtaggtaaaacccaaggctc	aatggatgggatattctcgg
		Reverse		cttccgatgcaacaactgg	gtaaatggcagtgatggcaa
28	S31	Forward		gaggattcaacaacttgacaacg	tcaaataccaccagcatcagt
		Reverse		tccagttaacccatgcctgt	tgtttgaacaatttagcatatcg
29	s32	Forward			
		Reverse			
30	s33	Forward			
		Reverse			

표 4의 분자표지 염기서열 정보를 이용하여 프라이머 작성 후 각각의 밴드 발현 유무 및 특이성을 비교·분석하였다(표 5). 그 결과, s1, s2, s4, s6, s7, s8, s9, s10, s11, s12, s15, s16, s17, s18, s20, s22, s23, s26, s29 등 총 19개의 SI 검정 분자표지를 개발 또는 기존 분자표지를 개선하였다. 기존 실용화재단에서 개발한 분자표지 중 2개(s16, s29), 안 등(2014)이 발표한 분자표지 중 8개(s1, s4, s7, s8, s11, s18, s22, s26)를 annealing temperature 등을 조절하여 밴드의 발현 및 SI 구별성을 강화하였다. 또한 기존에 발표된 SI 분자표지 중 multiple bands를 보이거나 SI 유전자형의 구별성이 다소 떨어지는 8개의 분자표지를 개선하기 위하여 s2, s9, s12, s15, s20, s23 등 6개의 신규 분자표지를 개발하였다(표 5; 그림 5).

표 5. 본 프로젝트를 통하여 개선 또는 개발된 분자표지의 염기서열 정보 및 출처

No.	SI	Genes	Primer sequences (5'-3')		TM (°C)	Sources
			Forward	Reverse		
1	s01	SLG	AGATCTCCGGTGGGTGGCAGAG	CCACTTTTCCATATTCCTGGGATCG	62	Ahn et al. (2014)
2	s02	SRK	GAACAGAGGATTCAACTACGGA	TCGTCGTAACACTGCCTACT	58	In this study
3	s04	SLG	TACAGACAACGGAGAGGAGA	AACTGAAGCCATCCCGGTGA	58	Ahn et al.

							(2014)
4	s06	SLG	CTTCAGAACCACCTCAAGTTCT	ATTGATTCCAGGGTCGTCCA	45	Kim et al. (2011)	
5	s07	SRK	TCTTGCAGAGAACAGACCAACCA	CCTGGCCATTTAGGCTGAGGA	58	Ahn et al. (2014)	
6	s08	SRK	CACAATGAACGTGGTTGGAAC	CAGGATTGATCGTCGTCACACTGTC	60	Ahn et al. (2014)	
7	s09	SRK	TCTTTGGAAGGGACACGAGT	GGATTCATTGTCCTCGCAATGCCT	46	In this study	
8	s10	SRK	TCAAAATACCACCAGCATCAGT	TGTTTTGAACAATTTAGCATATCG	45	Kim et al. (2011)	
9	s11	SLG	TGTCCTCCAAGGTCATTCCA	GACCAGAACACGTTCCACACCA	58	Ahn et al. (2014)	
10	s12	SLG	TCTTGTCCTCCTTGCCACT	ACGTTCCAATCCACTGTTGACGGA	58	In this study	
11	s15	SRK	GAGGTGACATTAATTGCTAGGCTTC	GGCTGAGGAATCTCTGCTGCTTC	63	In this study	
12	s16	SRK	GCATTGACCCAGATGAGAAGATTTC	GTTCCGATCGGAGTATCTGTGC	62	Kim et al. (2011)	
13	s17	SLG	CTTCACTCCCGAATCTAGTTCTCG	GTGCGCCGCTTTGCA	45	Kim et al. (2011)	
14	s18	SRK	CGCAATGAATGGGATCTTCTCCGA	AGGATTCATCGTCATCCAACCTGCCT	60	Ahn et al. (2014)	
15	s20	SRK	CATCAAGACTCCCGGTTTAGG	TCGTTGGATTGCCTACTCGA	63	In this study	
16	s22	SRK	GGCTGTGATTGATTTCGTAGGAGA	CGAGAATACCCCATCCAGTGC	58	Ahn et al. (2014)	
17	s23	SRK	TTCGGTTAGAGCCTCATCCA	CTCCTACAAATTGATCACAGCCAGA	58	In this study	
18	s26	SLG	ATTCGAAGGGGGTTGCCAGA	ACTCGATTCCGTTCCACGGTC	60	Ahn et al. (2014)	
19	s29	SLG	GCCTGGATTATTTCTCTTCGGTTAGGCIC	GACATCGTTGGTCTGTGCTCCGCACTTTC	68	Kim et al. (2011)	

안 등(2014)과 농업기술실용화재단에서 공개한 분자표지들은 대부분 (주)동부팜한농 standard DNA와 같이 예상되는 유전자형에서 밴드가(밴드의 품질에 관계없이) 발현이 되었으나 이 중 s6, s10, s27, s29, s30, s31은 우리가 가지고 있는 standard DNA 세트에서 발현되지 않았고, s13, s25, s28, s32, s33의 경우, 아직까지 분자표지의 개발이 보고된 적이 없다. 이는 (주)동부팜한농 standard DNA와 NCBI에 등록된 유전자 서열 간 차이가 있음을 의미한다.

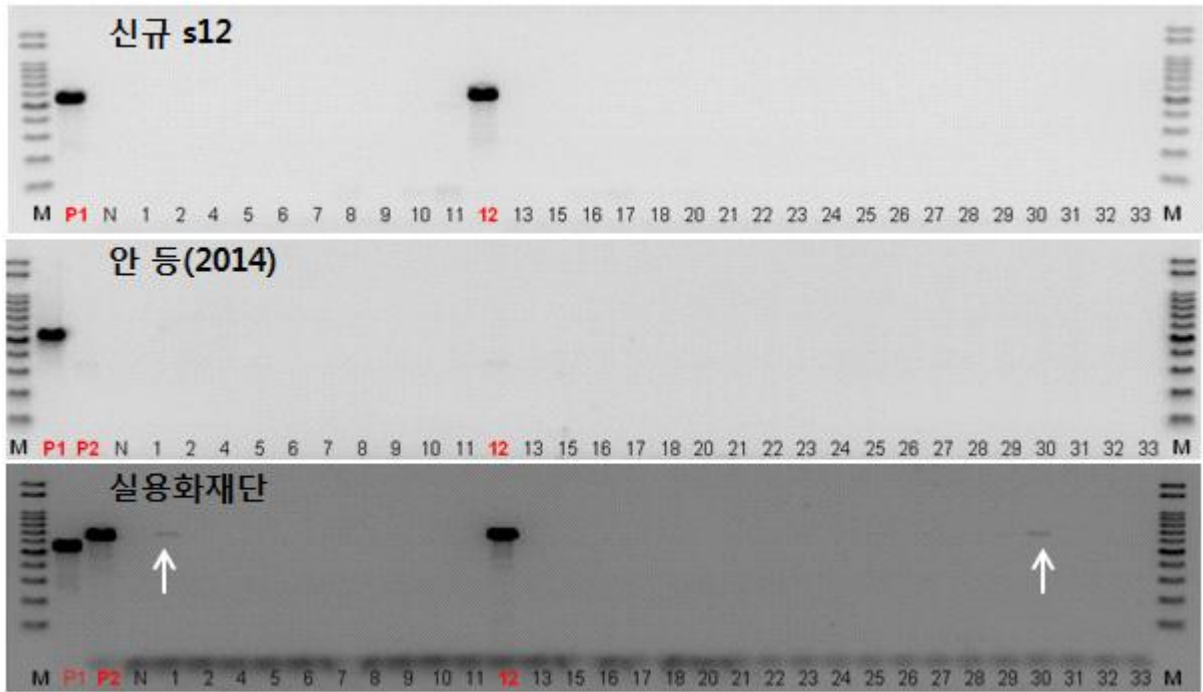


그림 5. 신규 개발한 s12 분자표지와 기존 분자표지와의 비교 예. M: 100bp DNA ladder, P1:신규 개발 s12 분자표지, P2: 안 등(2014) 또는 농업기술실용화재단 기 개발 분자표지, N: negative control, 1-33: SI standard DNA

또한 기존의 SCAR 분자표지는 한 번의 PCR로 한 가지의 SI만 구별이 가능하여 분석하고자 하는 자가불화합 인자형의 수만큼 PCR을 수행해야 했다. 자가불화합 인자형 분석의 효율성을 높이기 위하여 2016년에는 SLG와 SRK의 염기서열을 이용하여 제작한 primer들의 조합을 작성하여 한 번의 PCR로 여러 개의 인자형 분석이 가능한 primer 조합을 작성하였다. 그 결과, 한 번의 PCR로 s3, s5, s21, s24번의 SI의 구별이 가능한 multiplex 분자표지를 개발하여 특허 출원하였다(그림 6, 출원번호 10-2016-0078507).

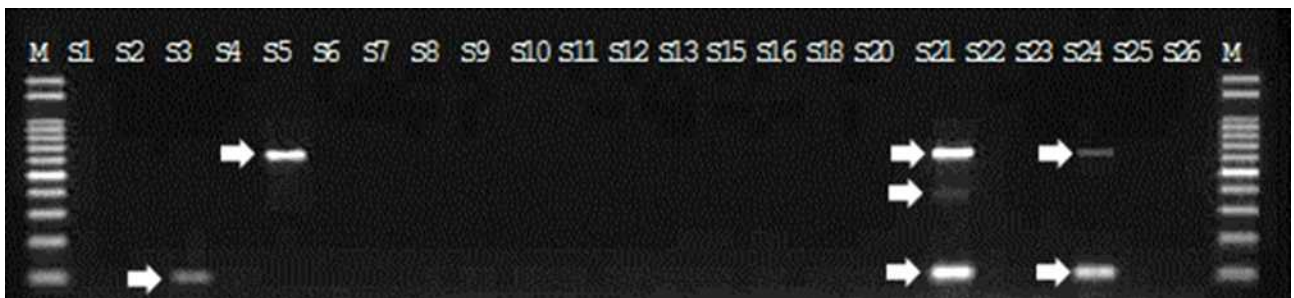


그림 6. S3, 5, 21, 24 유전자형을 한번의 PCR로 구별이 가능한 특허 출원 multiplex 프라이머. M: 100bp DNA ladder, 1-26: SI standard DNA

2. Standard DNA set을 이용한 자가불화합 유전자형별 SLG, SRK 유전자 클로닝 및 sequencing

(주) 동부팜한농으로부터 분양받은 standard DNA와 NCBI sequence를 기반으로 제작된 primer 간의 source가 달라 것이라 두 자가불화합 유전자형 sequence 정보간의 차이가 있었으

며 이는 나머지 13개의 분자표지 개발에 장애요인이다(그림 7).

Sequences producing significant alignments:

Select All None Selected 0

Alignments Download Graphics Database Use of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> Raphanus sativus SLG(S7) gene for S glycoprotein, partial cds	2001	2001	99%	0.0	99%	AB009684.1
<input type="checkbox"/> Raphanus sativus S locus protein 5 gene, partial cds	1609	1609	96%	0.0	94%	JF834532.1
<input type="checkbox"/> Brassica rapa S locus protein 1 gene, partial cds	1561	1561	99%	0.0	92%	HM629338.1
<input type="checkbox"/> Brassica oleracea SLG-31 mRNA for S-locus glycoprotein, partial cds	1552	1552	99%	0.0	92%	AB054729.1

Sequences producing significant alignments:

Select for downloading or viewing reports	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> 1>Select seq dbj AB009684.1	Raphanus sativus SLG(S7) gene for S glycoprotein, partial cds	2001	2001	99%	0	99%	AB009684.1
<input type="checkbox"/> 2>Select seq gb F834532.1	Raphanus sativus S locus protein 5 gene, partial cds	1609	1609	96%	0	94%	JF834532.1
<input type="checkbox"/> 3>Select seq gb HM629338.1	Brassica rapa S locus protein 1 gene, partial cds	1561	1561	99%	0	92%	HM629338.1
<input type="checkbox"/> 4>Select seq dbj AB054729.1	Brassica oleracea SLG-31 mRNA for S-locus glycoprotein, partial cds	1552	1552	99%	0	92%	AB054729.1
<input type="checkbox"/> 5>Select seq gb HM629340.1	Brassica rapa S locus protein 3 gene, partial cds	1546	1546	99%	0	92%	HM629340.1
<input type="checkbox"/> 6>Select seq dbj D85216.1	Brassica campestris DNA for S glycoprotein, partial cds	1476	1476	99%	0	91%	D85216.1
<input type="checkbox"/> 7>Select seq gb EF056499.1	Raphanus sativus S glycoprotein T63 gene, complete cds	1459	1459	99%	0	91%	EF056499.1
<input type="checkbox"/> 8>Select seq gb AY527401.1	Raphanus sativus haplotype S18 S-locus glycoprotein gene, complete cds	1435	1435	99%	0	90%	AY527401.1
<input type="checkbox"/> 9>Select seq dbj AB009682.1	Raphanus sativus SLG(S6) gene for S glycoprotein, partial cds	1435	1435	99%	0	90%	AB009682.1
<input type="checkbox"/> 10>Select seq dbj D85219.1	Brassica campestris DNA for S glycoprotein, partial cds	1430	1430	99%	0	90%	D85219.1
<input type="checkbox"/> 11>Select seq dbj AB013719.1	Brassica oleracea mRNA for SLG23BoI, complete cds	1408	1408	99%	0	90%	AB013719.1
<input type="checkbox"/> 12>Select seq embj X16123.1	B. oleracea mRNA for S-locus specific glycoprotein (8529-2) (sporophytic self-incompatibility system)	1391	1391	99%	0	90%	X16123.1
<input type="checkbox"/> 13>Select seq dbj D85198.1	Brassica oleracea DNA for S glycoprotein, partial cds	1382	1382	98%	0	90%	D85198.1
<input type="checkbox"/> 14>Select seq dbj D85212.1	Brassica oleracea DNA for S glycoprotein, partial cds	1380	1380	99%	0	89%	D85212.1
<input type="checkbox"/> 15>Select seq embj AJ551426.1	Cichorium intybus partial SLG gene for S-locus-specific glycoprotein	1371	1371	97%	0	90%	AJ551426.1
<input type="checkbox"/> 16>Select seq embj X03170.1	Brassica oleracea mRNA 3' end for S-locus-specific glycoprotein (SLG)	1363	1363	99%	0	89%	X03170.1
<input type="checkbox"/> 17>Select seq embj Y00268.1	Brassica oleracea mRNA for S-locus specific glycoprotein	1363	1363	99%	0	89%	Y00268.1
<input type="checkbox"/> 18>Select seq embj Z30211.1	B. oleracea (alboglabra) srk29 gene	1354	1354	98%	0	89%	Z30211.1
<input type="checkbox"/> 19>Select seq dbj AB180902.1	Brassica oleracea 5-12 SLG gene for S-locus glycoprotein, complete cds	1352	1352	99%	0	89%	AB180902.1
<input type="checkbox"/> 20>Select seq dbj D85201.1	Brassica oleracea DNA for S glycoprotein, partial cds	1352	1352	99%	0	89%	D85201.1
<input type="checkbox"/> 21>Select seq gb HM629339.1	Brassica rapa S locus protein 2 gene, partial cds	1351	1351	99%	0	89%	HM629339.1

그림 7. standard DNA의 자가불화합 유전자형(s16)과 NCBI BLAST 결과(s7) 의 불일치 모습

대표적 자가불화합 원인 유전자인 SLG와 SRK를 각 자가불화합 유전자형별로 standard DNA set으로부터 클로닝하여 반영구적으로 보존하면, 필요시 이를 sequencing하여 정보를 이용할 수 있고 다른 연구기관의 요청이 있을 시 기술이전하여 한국 무의 자가불화합 연구에 도움이 될 것으로 판단되었다. 따라서 2014년부터 29개의 자가불화합 유전자형에 대하여 SLG class I과 II 유전자 및 SRK 유전자 부위의 클로닝(그림 8)과 sequencing을 시작하였다.

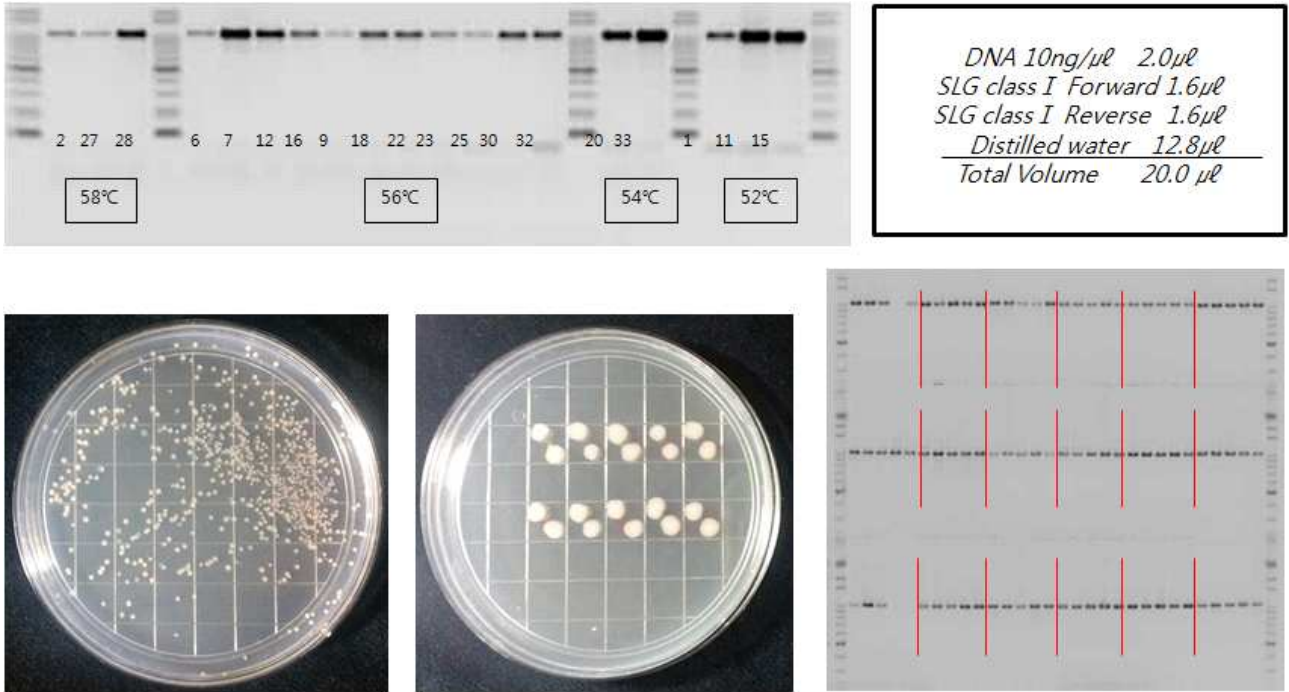


그림 8. SLG class I과 II의 클로닝 과정

안 등(2014)과 농업기술실용화재단에서 공개한 분자표지들 중 (주)동부팜한농의 standard DNA 세트에서 발견되지 않은 분자표지들(s6, s10, s27, s29, s30, s31)은 NCBI의 SI 염기서열 결정 시 쓰였던 standard DNA와 다르기 때문인 것으로 판단되며, 이들이 현재까지 알려지지 않은 새로운 SI 유전자형인지 단순히 numbering의 문제인지는 추후 연구가 더 필요할 것으로 판단된다. 기존의 s6, s10, s27, s29, s30, s31 유전자형 분자표지를 확보하기 위하여, 삼성종묘 등 종자회사로부터 위 6개의 유전자형에 대한 DNA를 확보하여 이를 이용한 분자표지 개발을 진행하고 있다. (주)동부팜한농의 standard DNA 세트 중 s6, s10, s27, s29, s30, s31과 아직까지 분자표지의 개발이 보고된 적이 없는 분자표지 s13, s17, s25, s28, s32, s33 등 12개 유전자형에 대한 분자표지 개발을 위하여 현재 보유하고 있는 30개의 SI standard DNA(동부한농)를 이용하여 SLG class I과 class II, SRK를 클로닝 한 후 염기서열을 분석하였다. 분석을 위해 사용한 primer 쌍은 표 5과 같다. 염기서열 분석을 통해 얻은 평균 염기서열 길이는 SLG class I의 경우, 1109.4bp, SLG class II 785.6bp, SRK는 1077.1bp였다(표 6).

표 6. SLG 및 SRK 유전자형 클로닝 및 염기서열 분석을 위한 primer sequence 및 각 유전자별 서열 정보

Genes	Primer (Forward)	Primer (Reverse)	sequence length(bp)	
			range	average
SLG (class I)	ggtatctcgggatatgtacaaga	gcagcagccaatctgacata	1093-1123	1109.4
SLG (class II)	atcctgccctttcgatctatgt	tccacgtgaatcgattgagtgt t	779-797	785.6
SRK	gttcattgacgcagatgag	ggcatcgataactgagcagg t	1050-1135	1077.1

클로닝을 위하여 각각의 standard DNA를 3쌍의 Primer로 증폭한 후 증폭산물을 0.8% Agarose gel에 80v에서 180분간 전기영동한 후, 원하는 size의 insert를 잘라 Gel Fragments Extraction kit (Real biotech, Banqiao City, Taiwan)을 이용하여 Extraction하였다. Insert DNA를 TOPO vector에 넣어 ligation한 후, Competent cell에 ligated vector를 넣고 Heat shock(42°C for 30sec, 2min in ice) 후 400μl의 SOC media를 첨가하여 37°C Shaking incubator에서 1시간 배양하여 Transformation하였다. 이를 고체 LB Agar LOP + 50μg/ml Ampicillin + 60μg/ml X-gal 에 incubation 시킨 배지를 200μl 분주하여 Spreading하고 Spreading된 LB plate는 37°C incubator에서 12 - 16시간 overnight시켰다. 염기서열 분석을 위하여, transformation으로 형성된 colony 중 각 유전자 당 white colony 3개씩을 selection 한 후, picking하여 액체 LB Agar LOP + 50μg/ml Ampicillin이 들어있는 centrifuge tube에 넣고 37°C shaking incubator에서 12 - 16시간 overnight 시킨 후 배양된 균은 Alkaline solution I, Alkaline solution II, Alkaline solution III를 이용하여, Plasmid prep하였다. Plasmid Prep DNA를 각각 purification한 후, 각각의 유전자를 바이오니아(Daejeon, Korea)에 sequencing을 의뢰하였고 각 Plasmid prep DNA당 양방향으로 읽은 두 개의 sequence data는 Bioedit 프로그램을 이용하여 contig assembly를 하고 그 data들을 EcoR I sequence(GAATTC) 부분으로 잘라내어 alignment시키고 insert sequence data를 얻었다.

전체 30개의 SI 유전자형 중, SLG class I은 19개의 유전자형에서, SLG class II는 26개, SRK는 20개의 SI 유전자형에서 증폭되었다(표 7).

표 7. SLG 및 SRK 유전자형 클로닝 및 염기서열 분석을 위한 primer sequence 및 각 유전자별 서열 정보

SI types	SLG class I	SLG class II	SRK
Total no. amplified sequences	19	26	20
s1	0		0
s2	0	0	0
s4		0	
s5		0	
s6	0	0	0
s7	0	0	0
s8		0	0
s9	0	0	0
s10		0	
s11	0	0	0
s12	0	0	0
s13		0	
s15	0	0	0
s16	0	0	0
s17		0	
s18	0	0	0
s20	0		0
s21		0	
s22	0	0	0

	s23	0	0	0
	s24		0	
s25		0		0
	s26		0	
s27		0	0	0
s28		0	0	0
s29			0	
s30		0		0
s31			0	0
s32		0	0	0
	s33	0	0	0

상기 염기서열 중, (주)동부팜한농의 30개의 SI standard DNA 염기서열을 NCBI의 nucleotide BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 이용하여 sequence homology를 비교한 후, 검색 결과 중 query cover 98% 이상인 유전자 중 Identity가 가장 높은 유전자를 대표로 선정하였다(표 8).

표 8. (주)동부팜한농 standard DNA를 이용한 NCBI nucleotide BLAST 검색 결과

The results of nucleotide BLAST in NCBI using Dongbu standard DNA					
No	SI	Genes	Description	QC	ID
1	s01	SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S1 S-locus glycoprotein (SLG) gene, complete CDS*	99%	99%
		SLG Class II	-	-	-
		SRK	Raphanus sativus haplotype S1 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	99%
2	s02	SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S2 S-locus glycoprotein (SLG) gene, complete cds	99%	99%
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S2 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	99%
3	s04	SLG Class I	-	-	-
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S4 S-locus glycoprotein (SLG) gene, partial cds	98%	99%
		SRK	-	-	-
4	s05	SLG Class I	-	-	-
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S5 S-locus glycoprotein (SLG) gene, partial cds	98%	99%
		SRK	-	-	-
5	s06	SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S27 S-locus glycoprotein gene, complete cds	99%	90%
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S9 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	99%
6	s07	SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S7 S-locus glycoprotein (SLG) gene, complete cds	99%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus SLG(S4) gene for S glycoprotein, partial cds	99%	99%
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial	98%	91%

		cds		%	
		SRK	Raphanus sativus haplotype S7 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	99%
		SLG Class I	-	-	-
7	s08	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S8 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S27 S-locus glycoprotein gene, complete cds	99%	90%
8	s09	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S9 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	99%
		SLG Class I	-	-	-
9	s10	SLG Class II	Raphanus sativus SRK9 mRNA for S-locus receptor kinase-9, partial cds	99%	92%
		SRK	-	-	-
			Raphanus sativus haplotype S11 S-locus glycoprotein gene, complete cds	99%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus S receptor protein kinase (SRK-a) mRNA, complete cds	98%	99%
10	s11	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S11 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S12 S-locus glycoprotein gene, complete cds	99%	99%
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S7 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	90%
		SLG Class I	-	-	-
12	s13	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S4 S-locus glycoprotein (SLG) gene, partial cds	99%	96%
		SRK	-	-	-
		SLG Class I	Raphanus sativus SRK21 mRNA for S-locus receptor kinase-21, partial cds	98%	99%
13	s15	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S15 S-locus receptor kinase gene, partial cds	99%	99%
			Raphanus sativus S-locus protein 5 gene, partial cds	96%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus SLG(S7) gene for S glycoprotein, partial cds	99%	99%
		SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
14	s16		Raphanus sativus haplotype S16 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	99%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S18 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	99%

		SLG Class I		-	-	-
15	s17	SLG Class II	Raphanus sativus SRK9 mRNA for S-locus receptor kinase-9, partial cds		98%	92%
		SRK		-	-	-
			<small>Raphanus sativus haplotype S18 S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>		99%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus SRK6 mRNA for S-locus receptor kinase-6, partial cds		98%	99%
16	s18	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds		98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S18 S-locus receptor kinase gene, partial cds		98%	99%
			Raphanus sativus haplotype S2 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds		98%	99%
		SLG Class I	<small>Raphanus sativus haplotype S27 S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>		99%	88%
17	s20	SLG Class II		-	-	-
		SRK	Raphanus sativus haplotype S20 S-locus receptor kinase gene, partial cds		99%	99%
		SLG Class I		-	-	-
18	s21	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S21 S-locus glycoprotein gene, partial cds		98%	99%
		SRK		-	-	-
			<small>Raphanus sativus haplotype S27 S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>		99%	88%
		SLG Class I	Raphanus sativus SLG(S1) gene for S glycoprotein, partial cds		99%	89%
19	s22	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds		98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S22 S-locus receptor kinase gene, partial cds		98%	99%
		SLG Class I	Raphanus sativus SLG(S5) gene for S glycoprotein, partial cds		99%	90%
20	s23	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds		98%	91%
		SRK	Raphanus sativus haplotype S23 S-locus receptor kinase gene, partial cds		99%	99%
		SLG Class I		-	-	-
21	s24	SLG Class II	Raphanus sativus SRK9 mRNA for S-locus receptor kinase-9, partial cds		98%	93%
		SRK		-	-	-
		SLG Class I	<small>Raphanus sativus S glycoprotein T83 gene, complete cds</small>		99%	95%
22	s25	SLG Class II		-	-	-
		SRK	Raphanus sativus haplotype S30 S-locus receptor kinase gene, partial cds		98%	88%
		SLG Class I		-	-	-
			Raphanus sativus haplotype S4 S-locus glycoprotein (SLG) gene, partial cds		98%	96%
23	s26	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds		98%	99%
		SRK		-	-	-
24	s27	SLG Class I	<small>Raphanus sativus haplotype S1 S-locus glycoprotein (SLG) gene, complete cds</small>		99%	90%

		Raphanus sativus haplotype S11 S-locus glycoprotein gene, complete cds	99%	89%	
	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%	
	SRK	Raphanus sativus haplotype S18 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	91%	
	SLG Class I	<small>Raphanus sativus haplotype S27 S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>	99%	99%	
25	s28	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
	SRK	Raphanus sativus haplotype S27 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	99%	
	SLG Class I	-	-	-	
		Raphanus sativus SRK9 mRNA for S-locus receptor kinase-9, partial cds	98%	99%	
26	s29	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S21 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	99%
	SRK	-	-	-	
		<small>Raphanus sativus haplotype S18 S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>	99%	87%	
	SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S10 S-locus glycoprotein (SLG) gene, complete cds	99%	86%	
27	s30	SLG Class II	-	-	
	SRK	Raphanus sativus haplotype S29 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	98%	
	SLG Class I	-	-	-	
28	s31	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
	SRK	Raphanus sativus haplotype S1 S-locus receptor kinase (SRK) gene, partial cds	98%	91%	
		<small>Raphanus sativus S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>	99%	99%	
	SLG Class I	Raphanus sativus haplotype S10 S-locus glycoprotein (SLG) gene, complete cds	99%	87%	
29	s32	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
	SRK	Raphanus sativus haplotype S29 S-locus receptor kinase gene, partial cds	98%	99%	
	SLG Class I	<small>Raphanus sativus haplotype S27 S-locus glycoprotein gene, complete cds</small>	99%	90%	
30	s33	SLG Class II	Raphanus sativus haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds	98%	91%
	SRK	-	-	-	

* 붉은색으로 표시된 유전자 이름은 본 연구의 SI primer 쌍을 개발하기 위해 이용된 유전자의 이름임

한 유전자 당 세 개의 콜로니를 취하여 염기서열을 분석한 결과, s7 SLG class I, s11 SLG class I, s16 SLG class I & SRK, s18 SLG class I & SRK, s22 SLG class I, s26 SLG class II, s27 SLG class I, s29 SLG class II, s30 SLG class I 및 s32 SLG class I 등 총 12 개의 유전자에서 두 종류의 염기서열이 관찰되었다(표 8). 두 종류의 염기서열 중 하나는

sequence Identity가 90% 내외로 낮고 partial sequence가 많아 주요 SI 유전자들의 paralogous 유전자들로 추정된다. SLG class II primer에 의해 증폭된 염기서열 중 *Raphanus sativus* SRK9 mRNA for S-locus receptor kinase-9, partial cds와 *Raphanus sativus* haplotype S26 S-locus glycoprotein gene, partial cds 등 두 가지 유전자형이 가장 높은 빈도로 검색되었다. standard DNA의 염기서열간 비교 결과, s21과 s29, s6과 s9번의 염기서열이 동일하게 나타났으며 이는 s21과 s29 그리고 s6과 s9 standard DNA 또는 SI 유전자형이 같은 것으로 판단되었다.

상기 염기서열은 충남대학교에 보내 현재 Single Nucleotide Polymorphism(SNP) 분자표지 개발에 이용 중이다.

3. 자가불화합(SI)유전자형 검정 서비스

종자회사 '네오씨드'로부터 육성계통 120점에 대한 SI 유전자형 검정서비스를 의뢰받아(채소과-161, 2014. 1. 24) 본 연구를 통해 개발된 14개의 분자표지를 이용하여 SI 유전자형에 대한 검정을 실시 후 결과를 통보하였다(그림 9; 채소과-610, 2014. 4. 4).

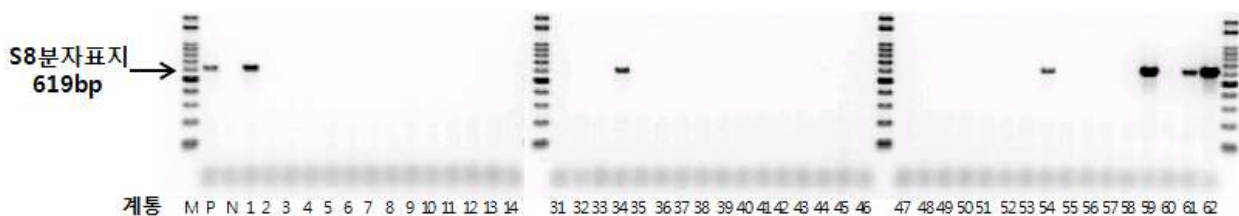


그림 9. 개발된 자가불화합 유전자형 s8 분자표지를 이용한 검정서비스 결과

2015년(2년차) 17개의 SI 분자표지를 이용하여 종자회사에서 요청 받은 계통(120점 이상)에 대하여 2차년도 검정서비스를 제공하였다(채소과-269, 2015. 1. 30.). 2015년 하반기(3년차) SI 유전자형 검정서비스를 위하여, 제일종묘농산 50점 및 삼성종묘 65점 등 총 115건의 SI 검정을 의뢰받아 본 연구를 통해 개발된 18개의 분자표지를 이용하여 검정 후 결과를 통보하였다(채소과-1201, 1채소과-1202, 2015. 5. 12.). 2016년에는 대일바이오 종묘의 무 육성 계통 20점(채소과-1715, 2016.7.5.), 코레곤 종묘의 무 육성 계통 100점(채소과-1714, 2016.7.5.), 제일종묘농산 50점(채소과-1724, 2016.7.5.), 삼성종묘 계통 100점(채소과-1723, 2016.7.5.) 등 총 270건의 GSP 과제 수행 회사의 SI 검정 요청을 처리하였다.

4. 자가불화합 유전자형이 다른 국내·외 무 유전자원, 육종자원의 확보, 특성 검정, 선발 및 세대진전

2013년 농업유전자원센터 데이터베이스 검색을 통해 44개국에서 수집된 재래종 및 야생종 무 유전자원 218점을 확보하였다. 국가별 유전자원의 수는 한국 재래종이 28점으로 가장 많았으며 터키 13점, 일본 및 중국 각각 12점, 인도 10점, 네팔 10점 및 우즈베키스탄 8점 등의 순이었다(그림 10). 2014년 알타리무, 북방계 및 남방계 무 등 2013년 확보한 유전자원과 형태적 특성이 다른 유전자원 91점을 농업유전자원센터 데이터베이스 검색을 통하여 추가로 확보하였다.

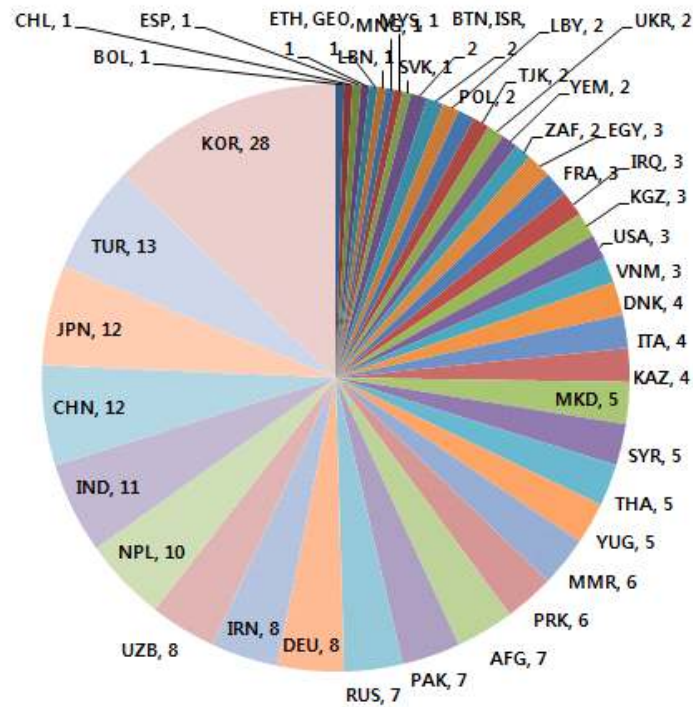


그림 10. 무 유전자원 218점의 국가별 분포

무 유전자원 및 육종자원 218점을 2013년 9월 11일부터 11월 18일까지(그림 11), 그리고 2014년 4월 10일부터 6월 23일까지 각각 가을 및 봄재배작형에 준하여 포장 재배하였다. 가을 재배는 유전자원 1점 당 20립씩, 봄재배는 10립씩 augmented design을 이용하여 파종하였다. 가을재배의 경우, 발아율, 근장, 근피색, 근육색, 바람들이, 당도 등 주로 뿌리의 품질에 관한 데이터를 수집하였고, 봄재배의 경우, 개화시기, 화기 및 협의 형태적 특성 등 주로 생식생장에 관련된 데이터를 수집하였다.



그림 11. 유전자원 218점 포장재배 전경

무 유전자원은 근장, 근피색, 당도에서 매우 큰 다양성을 보였는데 근장은 3.3cm(13-FG167) 부터 56.7cm(13-FG031)까지 50cm가 넘는 차이를 보였다(그림 12).

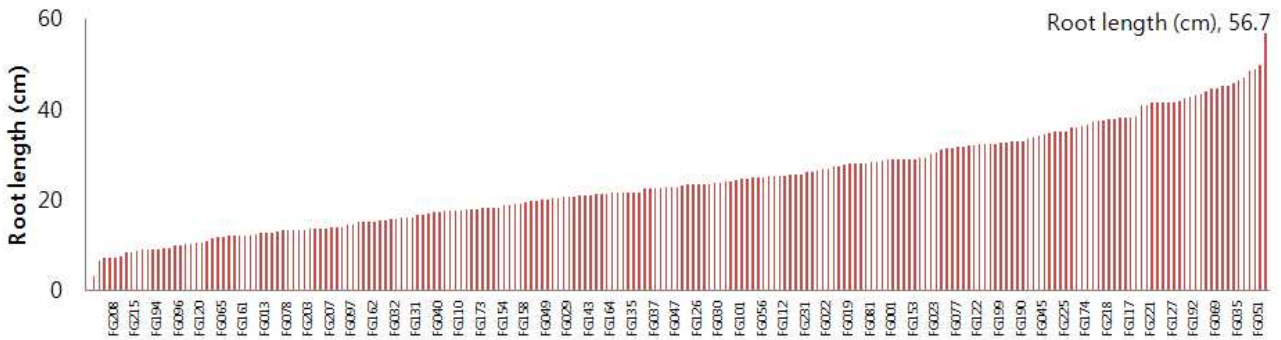


그림 12. 무 유전자원 218점의 근장 분포

당도 또한 2.8Brix°부터 15.0Brix°까지 유전자원별로 큰 차이를 보였는데 당도가 가장 낮은 13-FG223은 프랑스에서 수집한 샬러드 무 계열이었으며 당도가 가장 높은 13-FG206은 한국에서 수집한 갯무 계열이었다(그림 13).

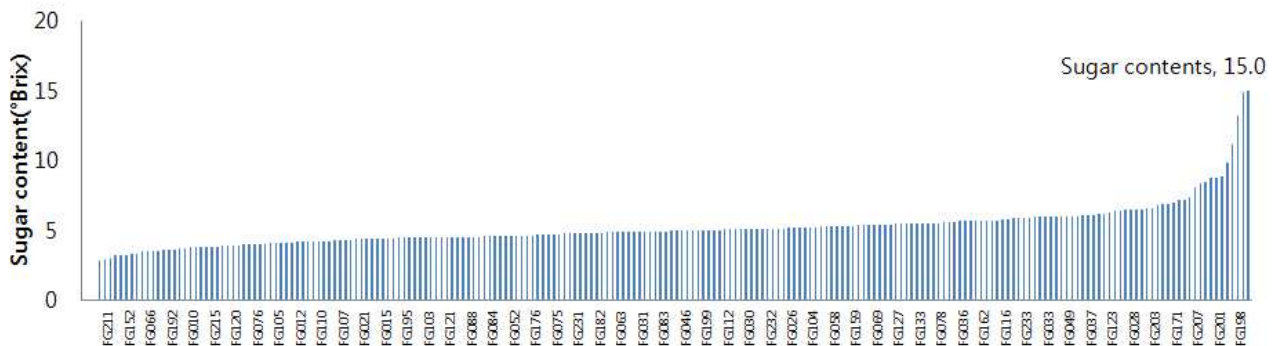


그림 13. 무 유전자원 218점의 당도 분포

2014년 봄재배에서 유전자원 별 개화시기를 조사한 결과, 개화시기가 가장 빠른 유전자원은 13-FG026, 084, 103, 148, 150, 189, 219 등 7점으로 파종 후 35일만에 개화하였는데 이들은 대부분 잎이 판엽이고 근장이 긴 남방계 유전자원이거나 잔뿌리가 많고 근비대가 잘 되지 않는 특성이 있었다. 파종 후 60일 내외에 개화하여 개화시기가 가장 늦은 유전자원은 근피색이 빨간 계열인 샬러드무(FG97, 119, 161), 청피무(FG182) 및 흑무(FG194) 등이었으며 이중 흑무가 파종 후 64일로 개화시기가 가장 늦었다. 유전자원 중 16.1%는 봄재배 기간 중 개화하지 않았는데 이중 13-FG194를 제외한 대부분의 흑무 유전자원은 개화를 하지 않았고, 이들의 개화를 위해서는 다른 유전자원보다 더 낮은 온도가 요구되는 것으로 판단된다. 개화한 유전자원 중 협이 형성된 유전자원을 선별하여 협을 수확 후 협의 길이를 조사한 결과, 조사한 유전자원의 협의 길이 또한 2.1cm부터 34.9cm까지 다양한 차이가 보임을 확인하였고 협의 길이가 가장 긴 유전자원은 FG-016으로 야생무(*Raphanus raphanistrum*)로 나타났다(그림 14).

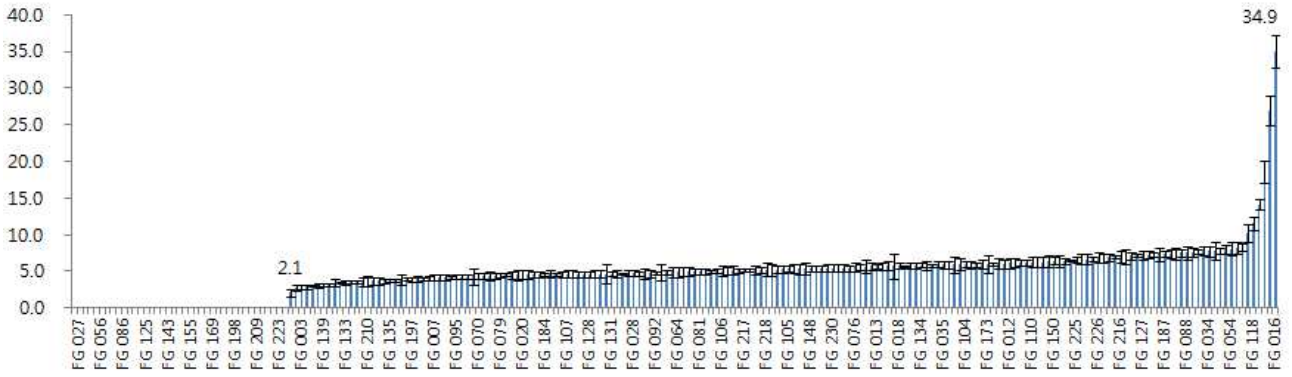


그림 14. 유전자원 218점의 협 길이 분포

218점의 유전자원은 협의 길이뿐만 아니라 형태에서도 다양한 변이를 보였다(그림 15).

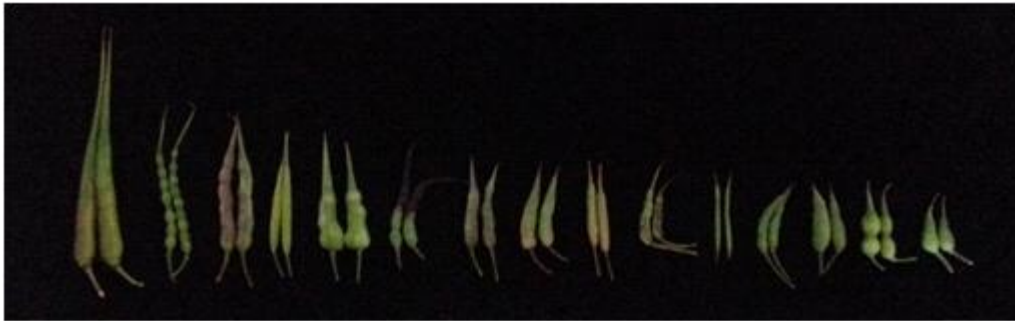


그림 15. 유전자원 218점 협의 형태적 다양성

협이 형성된 유전자원의 협당 종자 수를 조사한 결과, 2.2개부터 15.0개까지 다양한 수의 종자를 형성하는 것으로 나타났다(그림 16).

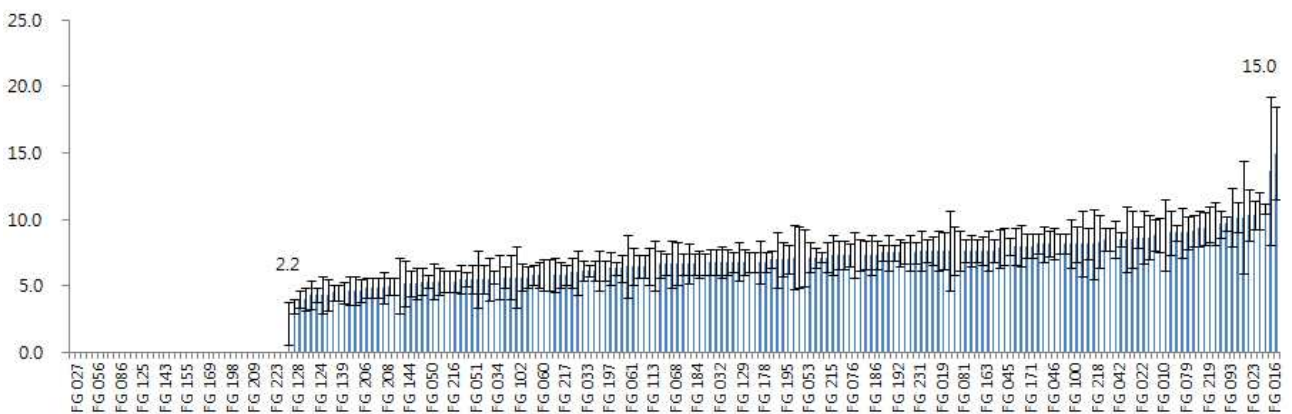


그림 16. 유전자원 218점의 협 당 종자수 분포

협이 형성된 유전자원 179개를 대상으로 협의 길이와 협당 종자수의 상관관계를 계산한 결과 $R^2=0.3016$ 으로 고도의 정의 상관관계가 있는 것으로 나타났다(그림 17).

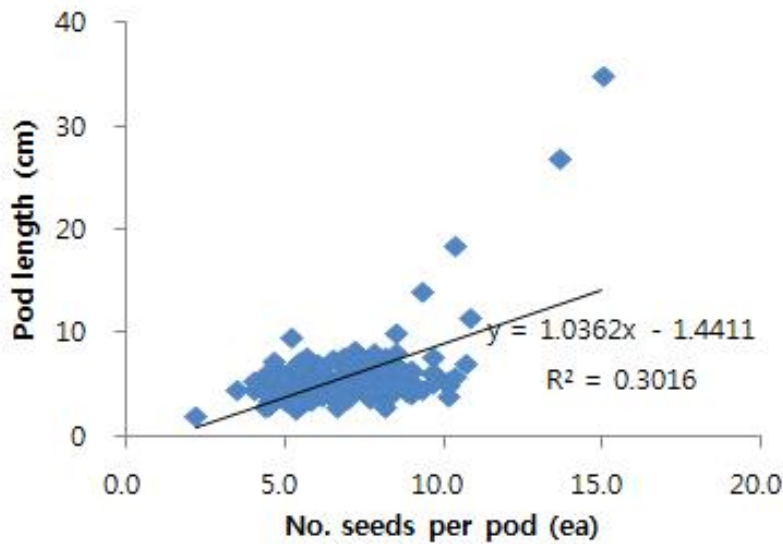


그림 17. 협의 길이와 협당 종자수 간의 상관관계 분석

2014년도에 추가로 확보한 무 유전자원 및 육종자원 91점을 2014년 8월 29부터 11월 6일 까지 가을재배작형에 준하여 포장 재배하였으며 유전자원 1점 당 20립씩 파종하고 augmented design을 이용하여 실험구를 배치하였다. 식물체를 수확한 후 주중, 근중, 근장, 근폭, 엽장, 엽수, 당도, 바람들이 등의 주요한 농업적 형질을 조사하였다(표 9).

표 9. 2014년 가을 포장재배 유전자원 농업적 형질 조사

라벨	주중 (g)	근중 (g)	근장 (cm)	근폭			엽장 (cm)	엽수 (ea)	당도 (Brix°)	바람들이 ²
				상(mm)	중(mm)	하(mm)				
SG-01	1307± 260	822± 208	18.7± 1.5	51±10.1	103±16.5	59±20.1	68.0±16.1	16.7± 1.2	7.2±2.2	8.3±0.6
SG-02	1855± 806	1170± 815	22.0± 6.6	79±14.2	110±17.2	46± 2.9	67.0± 8.5	20.3± 5.7	6.7±0.6	8.7±0.6
SG-03	2005±1033	1315± 850	15.0± 5.3	87± 3.5	128±14.0	70±11.4	56.7± 7.5	21.7± 2.9	6.9±0.4	6.0±2.6
SG-04	2205± 246	1497± 160	18.3± 3.8	89±22.9	124± 7.0	52± 6.2	73.7± 3.8	19.3± 9.0	5.4±0.3	5.7±3.1
SG-05	1762± 700	958± 203	15.0± 5.0	112±15.7	150±11.5	42± 2.6	66.0±10.1	25.3±14.7	5.6±0.2	8.7±0.6
SG-06	1512± 440	950± 434	27.3± 4.9	76±13.7	94±23.8	41± 9.6	58.7± 6.7	21.3± 4.0	6.1±0.7	7.7±1.2
SG-07	2705± 543	1560± 601	12.3± 3.2	118±13.3	167±18.4	67±46.9	77.0± 5.6	27.0±11.5	5.2±1.5	8.0±1.0
SG-08	2355± 738	1170± 286	16.0± 2.0	134±26.2	154±11.2	48± 6.0	69.7± 2.1	21.7± 3.2	5.8±0.5	7.7±2.3
SG-09	2427± 116	1420± 160	15.0± 1.0	92± 6.4	106±57.1	63±12.3	88.0±12.3	16.0± 6.0	6.2±0.7	8.0±0.0
SG-10	2160±1097	1680± 350	17.3± 5.5	104±24.8	164±27.5	63±38.7	68.0± 7.0	22.7± 4.2	5.3±0.5	9.0±0.0
SG-11	1455±1075	800± 622	8.5± 0.7	101±31.1	128±46.0	64±45.3	63.0± 7.1	25.5± 0.7	7.1±0.5	8.0±0.0
SG-12	2133± 655	1573± 470	23.3± 8.0	86±12.7	132±30.6	50±10.8	66.3± 4.2	21.0± 5.6	5.4±0.6	8.0±1.7
SG-13	1782± 589	1285± 609	16.3± 2.1	108±29.3	130±29.3	49± 6.4	62.3± 4.0	18.7± 2.1	5.9±1.6	7.7±2.3
SG-14	1578± 780	720± 416	18.3± 6.0	63± 9.1	91±11.1	56±35.2	51.3±14.6	17.7± 9.9	5.8±0.6	7.7±1.2
SG-15	1380± 114	823± 205	14.7± 5.0	69± 4.5	101± 9.7	54±28.9	70.7±13.1	22.0± 5.2	5.7±0.6	6.3±2.3
SG-16	1553± 371	752± 123	17.0± 2.0	92± 6.1	101±12.2	41± 2.6	63.7± 5.1	17.0± 4.4	5.6±0.9	8.0±1.7
SG-17	2978±1588	1957±1180	22.7± 4.7	107±17.8	126±20.7	41±12.1	65.3± 8.1	22.7± 9.9	6.1±0.2	7.3±1.2

SG-18	2478± 255	1887± 148	26.0± 1.0	86± 2.6	118±19.1	43± 2.0	53.7± 6.1	33.7± 8.3	5.4±0.3	5.0±3.5
SG-19	2172± 143	1822± 110	28.3± 2.1	62± 5.3	108± 3.2	53±13.5	52.7± 3.1	28.7± 0.6	4.9±0.3	4.7±0.6
SG-20	2745± 898	2153± 739	24.0± 0.0	77±12.0	120±20.5	47± 7.8	47.5± 0.7	25.5± 2.1	6.2±0.3	4.0±0.0
SG-21	3595± 416	2817± 270	26.7± 3.8	57± 9.2	143±13.3	46± 0.6	59.7± 5.5	28.0±10.1	5.0±0.5	6.7±1.2
SG-22	1092± 179	815± 117	18.0± 0.0	53± 9.5	82± 7.8	86±25.8	51.3± 3.8	19.0± 2.6	6.2±0.1	4.0±1.0
SG-23	2940± 59	2507± 233	38.0± 3.0	47±13.5	109± 2.5	47±13.6	47.3± 5.8	27.0± 7.9	5.2±0.7	5.0±2.0
SG-24	1097± 234	890± 163	16.0± 0.0	55± 1.0	152± 4.6	99± 2.9	44.0± 1.7	22.3± 1.5	6.7±0.2	7.3±2.9
SG-25	3010±1033	1858± 861	29.7±12.9	90±25.7	133±30.3	57±11.5	66.7± 4.2	31.0±11.1	6.1±0.8	7.7±2.3
SG-26	2053± 519	885± 254	22.0± 7.8	108±21.0	109±13.5	47±22.6	71.7± 9.7	13.0± 5.3	4.8±1.1	9.0±0.0
SG-27	1537± 381	1058± 255	10.0± 1.0	112±21.4	153±12.1	46±18.2	60.0± 3.5	18.7± 2.5	5.1±0.3	7.7±1.2
SG-28	1173± 506	647± 118	10.3± 1.5	75± 2.1	102±12.7	41± 7.1	54.3± 3.1	21.0±13.9	6.1±0.9	5.0±0.0
SG-29	2298± 722	1557± 291	21.7± 4.2	83±23.2	136± 2.0	46± 3.2	67.7± 6.4	24.7± 3.5	6.1±0.3	8.3±1.2
SG-30	2093± 565	1480± 489	14.0± 3.5	88± 6.9	135±12.4	58±19.6	65.3± 5.5	19.7± 4.9	5.6±0.5	7.0±1.7
SG-31	2055± 136	927± 298	24.0± 1.7	94±26.5	90±29.1	38±10.1	71.3±13.6	34.3± 5.9	6.7±0.5	6.7±2.1
SG-32	2652± 437	1613± 276	26.7± 7.2	85±10.8	104± 9.5	44± 9.1	79.3± 7.4	28.7± 2.9	5.4±0.2	6.3±2.9
SG-33	3050± 701	1625± 580	15.0± 4.6	125± 8.0	149±20.0	55±11.6	74.7± 6.7	26.3± 4.0	5.5±0.5	8.3±0.6
SG-34	2187± 267	1417± 244	15.3± 1.5	127± 1.7	140±11.0	76± 1.2	70.3± 6.4	21.3± 0.6	6.1±0.1	8.7±0.6
SG-35	2770± 759	1283± 183	22.7± 6.1	86±37.9	110±12.7	39± 8.4	73.0± 3.6	24.0± 4.6	5.6±0.5	7.3±1.5
SG-36	1678± 60	957± 149	13.7± 0.6	123±10.0	135±10.4	55±17.2	71.0±10.4	17.7± 3.2	5.8±0.4	9.0±0.0
SG-37	3032±1034	1232± 442	23.7± 2.1	108±14.2	102± 9.5	59±24.6	81.0± 3.5	25.7± 6.0	5.8±0.3	7.0±2.0
SG-38	2428± 480	1397± 292	30.0± 2.6	93±24.6	94±16.5	39± 8.5	81.7± 7.5	19.7± 1.5	5.7±0.8	9.0±0.0
SG-39	2745± 695	1935± 411	35.0± 2.0	63± 6.4	92±12.1	37± 4.9	64.3± 7.6	21.0± 5.6	5.4±0.5	5.0±0.0
SG-40	1777± 360	1250± 293	51.0± 4.0	55± 3.0	61± 6.0	30± 4.7	50.3± 5.7	45.3±10.0	5.1±0.4	5.3±1.5
SG-41	852± 261	638± 160	9.3± 2.1	98±13.6	118± 3.1	91± 3.5	39.0± 7.2	17.3± 4.5	5.7±0.5	9.0±0.0
SG-43	1208± 600	928± 509	10.7± 5.5	98±28.2	149±34.6	67±31.9	40.0± 4.0	17.7± 4.2	4.9±0.5	8.7±0.6
SG-44	2608± 440	1467± 343	27.3± 2.1	66± 9.1	94±10.4	37± 4.7	77.0± 6.0	39.7± 5.7	5.4±0.0	5.7±0.6
SG-46	2393±1373	1178± 745	26.7± 3.2	74±17.9	95±31.8	32± 9.2	73.3± 4.0	36.7± 2.1	5.3±0.7	6.7±2.1
SG-47	2417± 347	1290± 358	38.7±10.8	57± 0.6	81± 5.7	30±11.7	61.7± 9.0	64.7±11.5	6.5±0.6	8.0±1.7
SG-48	4058± 701	2568± 919	42.3± 6.0	82± 8.5	100±16.3	31± 1.2	68.7± 7.8	36.3± 6.8	5.8±1.1	6.7±2.1
SG-49	2787± 600	1628± 488	20.0± 1.7	64± 9.6	127±27.4	45± 1.5	69.0± 2.0	62.7± 8.7	5.2±0.3	4.3±1.5
SG-50	1860± 75	1042± 215	29.0± 6.6	62±12.7	75± 3.6	39±12.1	71.0± 4.6	24.0± 1.7	6.2±0.7	5.3±1.2
SG-51	2212± 670	1332± 532	45.7± 7.6	54± 4.7	66± 7.9	30± 3.2	61.0± 2.6	42.3±15.5	5.2±0.2	5.0±1.7
SG-52	1375± 562	897± 284	32.7± 5.8	52± 9.5	69±18.0	29±16.7	49.3±16.7	25.3± 7.5	5.9±1.2	7.0±3.5
SG-53	898± 438	735± 332	31.0± 7.2	40± 4.7	71±13.2	32± 6.2	43.0± 7.0	17.7± 5.5	5.6±0.5	6.7±1.2
SG-54	1445± 278	798± 160	31.7± 5.9	48±10.8	64±13.5	34± 7.6	54.7± 4.2	36.7± 8.5	6.0±0.6	5.0±1.7
SG-55	1218± 790	872± 592	32.0± 7.2	56± 9.7	67±13.9	28± 8.1	51.3± 4.7	23.7±11.0	6.4±0.7	5.0±1.7
SG-56	3878±1446	1908± 555	46.0± 1.4	77± 8.5	82± 5.7	38± 7.1	56.5± 4.9	45.5± 6.4	5.9±0.0	8.5±0.7
SG-57	2167± 321	1637± 410	46.0± 7.0	53± 3.6	82±18.1	36±11.1	49.0±13.1	34.7± 9.6	4.9±0.7	5.3±1.2
SG-58	3038± 202	1858± 421	47.5± 9.2	78±12.7	110±14.8	40± 0.0	60.5±13.4	58.0± 5.7	6.0±1.1	9.0±0.0
SG-59	1620± 0.0	1165± 0.0	36.0± 0.0	57± 0.0	81± 0.0	46± 0.0	59.0± 0.0	31.0± 0.0	4.9±0.0	8.0±0.0
SG-60	1623± 245	998± 282	32.0± 3.5	72±12.9	72±18.0	30± 5.5	58.0± 1.0	33.7± 5.1	4.9±0.7	7.0±2.0
SG-61	1758± 89	1485± 23	45.0± 7.2	50± 8.6	82±30.8	39± 5.6	38.7± 6.7	27.3± 2.5	5.1±0.3	8.3±1.2
SG-62	1937± 273	1370± 88	38.0± 4.6	71±16.2	71± 9.0	28± 6.7	49.3± 6.7	34.7± 2.3	6.1±0.4	3.7±1.2

SG-63	2313± 347	1088± 213	38.0± 1.7	59± 4.0	71±11.7	27± 1.0	62.0± 7.9	54.7±11.1	5.0±0.7	6.3±2.1
SG-64	2048± 344	1153± 215	39.7± 6.7	61±10.5	69± 3.5	30± 5.1	63.7± 8.6	44.3±12.3	4.6±0.4	5.7±1.2
SG-65	1900± 952	1187± 562	15.0± 1.7	87±12.5	115±17.4	40± 3.6	64.3± 9.7	22.3± 4.9	8.1±1.2	4.3±2.3
SG-66	1263± 318	842± 193	11.7± 1.5	95± 6.6	125±12.0	88±27.0	52.0± 4.6	19.7± 3.1	8.4±3.9	7.7±1.2
SG-67	1058± 88	853± 103	29.5± 2.1	54± 2.8	86± 2.1	40±17.7	40.5± 2.1	20.5± 0.7	6.7±2.1	8.0±1.4
SG-68	843± 98	618± 104	11.7± 2.5	64±17.6	108±22.9	38±13.6	45.3± 1.2	16.0± 2.6	7.4±1.5	5.0±2.0
SG-69	2320± 255	812± 338	25.0± 5.3	68±13.2	70± 8.7	29± 1.5	68.3± 5.1	33.0± 5.2	5.9±1.7	4.0±0.0
SG-70	2002± 146	1362± 87	49.3± 5.0	52±10.0	68± 5.0	36± 2.5	53.3± 3.2	45.3± 0.6	5.0±0.4	5.7±2.5
SG-71	1957± 289	1383± 189	36.7± 4.7	67± 3.5	78± 3.5	55± 9.1	57.3±13.1	34.7±11.0	4.3±1.2	7.0±1.7
SG-72	2763± 142	2137± 148	41.3± 4.0	56± 4.4	99± 1.5	35± 0.6	54.0± 2.6	18.7± 8.3	4.8±0.2	5.7±1.5
SG-73	3778± 729	2568± 218	48.7± 3.2	83± 7.8	92± 5.2	39± 6.4	63.0± 6.0	37.0± 5.2	5.6±0.6	6.0±1.0
SG-74	4198±1665	2672±1195	60.3± 8.6	80±11.6	91±23.2	34± 0.6	57.7± 5.9	45.0± 5.0	5.7±1.0	7.0±1.0
SG-75	1607± 434	1292± 404	39.3± 4.5	50± 8.2	85±16.7	39± 9.6	43.3± 4.9	29.3± 1.2	5.1±0.3	6.7±0.6
SG-76	1555± 827	623± 500	19.7±10.0	63± 9.0	81±26.2	29± 1.5	80.0±17.1	15.7± 8.1	6.3±0.5	9.0±0.0
SG-77	2415± 531	1433± 70	33.0± 4.4	71±11.2	93±11.4	37±11.9	65.7± 5.1	42.7±11.2	5.0±0.4	7.7±1.5
SG-78	1463± 291	853± 223	47.7± 6.7	42± 4.0	57± 4.7	22± 3.8	53.0± 2.6	43.3± 3.5	6.3±1.5	6.7±0.6
SG-79	2373± 428	1522± 318	40.7± 2.5	58±14.2	84± 8.0	41± 4.4	40.0±13.0	41.7± 9.1	6.7±0.4	7.0±1.0
SG-80	2265± 273	1470± 201	44.3± 2.9	62± 4.5	77± 6.1	35± 5.5	55.0± 3.0	52.3± 3.2	5.9±0.2	7.3±1.2
SG-81	2447± 198	1722± 94	27.0± 1.0	71±11.5	107± 3.0	43±11.9	59.3± 6.0	24.0± 2.6	5.8±0.3	6.7±2.1
SG-82	2537± 334	1673± 154	34.3± 3.5	70± 9.0	95± 5.1	35± 0.6	60.0±11.4	36.3± 4.9	6.1±0.3	4.0±1.0
SG-83	2380± 643	1593± 515	35.3± 5.5	59± 3.8	86±17.5	32± 4.7	64.3± 3.1	30.3± 1.5	6.5±0.7	4.7±1.5
SG-84	2172± 218	1215± 178	25.7± 4.0	66± 4.0	92± 9.0	38± 8.5	62.3± 5.8	38.3± 5.0	5.7±0.6	6.0±1.0
SG-85	2217± 837	1470± 662	23.3± 1.2	76± 7.0	98±18.1	38±13.1	63.7± 3.1	22.7± 3.1	5.4±0.4	4.3±1.5
SG-86	2108± 453	1420± 278	51.0± 4.4	65± 7.2	68± 7.6	38± 5.5	43.0± 5.0	55.7±10.0	5.4±0.3	6.7±0.6
SG-87	2422± 584	1523± 454	24.3± 2.5	79±14.2	99±15.8	40± 9.6	71.7± 6.8	25.3± 1.5	6.4±0.5	3.7±1.2
SG-88	3108± 653	2013± 461	40.3± 3.1	78± 4.5	108± 6.7	42±11.1	52.7± 1.5	34.7± 4.9	5.5±0.4	5.3±2.3
SG-89	623± 217	532± 189	7.3± 0.6	85±15.5	112±18.6	80±10.5	27.0± 3.6	21.0± 0.0	6.6±0.6	7.0±1.0
SG-90	1255± 0.0	920± 0.0	9.0± 0.0	67± 0.0	132± 0.0	91± 0.0	45.0± 0.0	15.0± 0.0	6.9±0.0	3.0±0.0
SG-91	3025± 733	2515± 630	46.3± 5.1	71± 6.2	96± 7.0	37± 5.9	43.7± 1.5	45.7± 3.5	4.8±0.1	3.0±0.0

^z 바람들이 : 1(없음) ~ 9(매우 심함)

2013년 특성검정을 완료한 218점의 유전자원 중 형태적 특성과 원산지를 고려하여 총 39점의 유전자원을 선발하였으며 선발한 유전자원의 특성은 표 10와 같다.

표10. 선발 유전자원 39점의 원산지 및 형태적·원예적 특성

작물명	원산지	형태적 특성					원예적 특성						
		앞모양 ^z	모용			출현기 ^x	발아율 (%)	화퇴형성기 ^w	개화시 ^w	근장 (cm)	바람들이 ^v	당도 (Brix*)	
			앞면	앞뒷면	줄기								
13-FG 001	무	CHN	PF	1 ^y	0	1	12	70			29.0	5.7	4.9
13-FG 002	무	IND	PF	1	0	1	3	80			34.3	8.3	5.1
13-FG 003	무	TUR	PF	1	0	1	3	75			22.7	7.7	5.3
13-FG 006	무	IRN	PF	1	0	1	3	70			18.7	8.3	3.6
13-FG 011	무	TUR	PF	0	0	0	3	80	55	59	29.0	9.0	3.8

13-FG 012	무	TUR	PF	1	1	1	3	95			12.0	8.3	4.2
13-FG 022	무	AFG	PF	1	0	1	3	80			26.7	3.7	5.5
13-FG 032	무	KOR	LY	1	0	1	3	85			15.7	3.0	6.2
13-FG 033	무	KOR	LY	1	0	1	3	100			21.3	3.0	6.0
13-FG 041	무	IND	PF	0	0	1	3	85	54	57	27.3	8.3	4.2
13-FG 049	무	KOR	PF	1	0	1	3	90			20.0	3.0	6.0
13-FG 051	무	JPN	PF	1	0	1	3	85			48.7	5.7	5.0
13-FG 052	무	JPN	PF	1	0	1	3	80			24.0	1.3	4.6
13-FG 053	무	JPN	LY	1	0	1	3	75			18.0	3.7	5.6
13-FG 064	무	IRN	PF	1	0	1	3	85			15.3	5.0	4.9
13-FG 082	무	AFG	PF	1	0	1	3	50			25.0	5.0	5.5
13-FG 083	무	CHN	LY	1	0	1	3	90			43.0	5.7	4.9
13-FG 119	무	CHN	LY	1	0	1	3	85			28.3	9.0	4.8
13-FG 121	무	EGY	LY	0	0	0	3	70			29.0	9.0	4.5
13-FG 127	무	NPL	PF	1	0	1	3	85			41.3	3.0	5.4
13-FG 128	무	NPL	PF	1	0	1	3	85			44.3	4.3	5.0
13-FG 152	무	DEU	PF	1	0	1	3	70			9.0	9.0	3.2
13-FG 159	갯무	KOR	PF	1	0	1	3	80			20.0	3.7	5.3
13-FG 166	야생무	ITA	PF	1	1	1	3	75			17.7	5.0	6.4
13-FG 171	무	KAZ	PF	1	0	1	3	70			20.3	8.3	6.9
13-FG 172	무	PRK	PF	1	0	1	3	100			36.0	5.0	4.4
13-FG 173	무	JPN	PF	1	0	1	3	85			18.0	3.0	5.4
13-FG 176	무	UZB	PF	0	0	1	3	80			22.3	6.3	4.6
13-FG 178	무	UZB	PF	1	0	1	3	95			29.0	5.0	4.9
13-FG 186	갯무	JPN	PF	1	0	1	3	70			14.0	3.0	8.4
13-FG 187	갯무	JPN	PF	1	0	1	3	60			13.7	5.0	8.7
13-FG 192	무	MMR	LY	0	0	0	3	75			42.7	4.3	3.6
13-FG 201	무	KOR	PF	1	0	1	3	65			15.0	3.0	8.8
13-FG 203	무	KGZ	PF	1	0	1	3	70			13.3	6.3	6.6
13-FG 212	무	RUS	PF	1	0	1	3	75			23.3	9.0	3.0
13-FG 213	무	LBY	PF	1	0	1	3	85			7.3	9.0	5.4
13-FG 221	무	MYS	LY	0	0	0	3	75			40.7	7.7	4.4
13-FG 222	무	CHL	PF	1	0	1	3	80			11.3	9.0	5.0
13-FG 228	무	PRK	PF	1	0	1	3	90			6.7	9.0	7.2

z PF: pinnatifid; LY: lyrate; PS: pinnatisect

y 1 모용 있음, 0: 모용 없음

x 파종 후 40% 출현기까지 소요 일수

w 파종 후 화뢰형성 및 개화까지 소요 일수

v 바람들이 : 1(없음) ~ 9(매우 심함)

선발한 유전자원 39점의 성숙모본을 2013년 11월 하우스에 정식하였고(그림 18) 3월부터 자가 수정을 실시하여 세대진전 하였다(그림 19)



그림 18. 선발한 유전자원 39점 성숙모본 정식(2013년 11월 20일)



그림 19. 성숙모본 세대진전(2013년 11월 20일 ~2014년 6월 20일)

2014년 유전자원 39점을 가을재배를 통하여 포장에 전개 및 선발을 실시하였으며 선발한 유전자원 39점의 성숙모본을 2014년 11월 6일 하우스에 정식하였고 2월부터 자가수정을 실시하여 세대진전을 진행하였다. 세대진전 중인 39계통과 국립원예특작과학원에서 기보유한 육종자원의 DNA를 추출하여 자가불화합 유전자형별 분자표지를 적용하여 유전자형이 서로 다른 계통을 각 유전자형별로 2계통씩 선별하여 자가불화합 유전자형이 서로 다른 무 집단의 구축에 이용하였다.

서로 다른 SI 유전자형을 가진 집단 구축을 위하여, 원예원 보유 육성계통 74점 및 자가수분 2세대까지 진전시킨 유전자원 152점 등 총 226점을 전주 국립원예특작과학원 실험포장에서 2015년 9월 4일 각각 20립 이상씩 파종하여 11월 초 수확하였다(그림 20).



그림 20. 2015년 가을 무 포장 전경

파종한 총 226점의 무 육성 계통 및 유전자원을 CTAB protocol을 이용하여 점 당 3개 식물체의 nuclear DNA를 추출하였다. 이 DNA를 이용하여 Mun 등(2015)이 개발한 무 유전자지도에서 100개의 INDEL과 SSR 분자표지의 polymorphism을 분석한 후 최종적으로 36개의 분자표지를 선발하였다. 36개의 선발된 분자표지를 이용하여 전체 226점의 일부인 무 육성계통 및 유전자원 65점을 NTSYSPC version 2.21 program의 UPGMA를 이용하여 무 유전자원 및 계통에 대한 유전적 다양성을 분석한 결과, 현재 보유하고 있는 육성계통 및 유전자원은 서양무와 남방계, 북방계 등 다양한 무를 포함하고 있는 것으로 나타났다(그림 21).

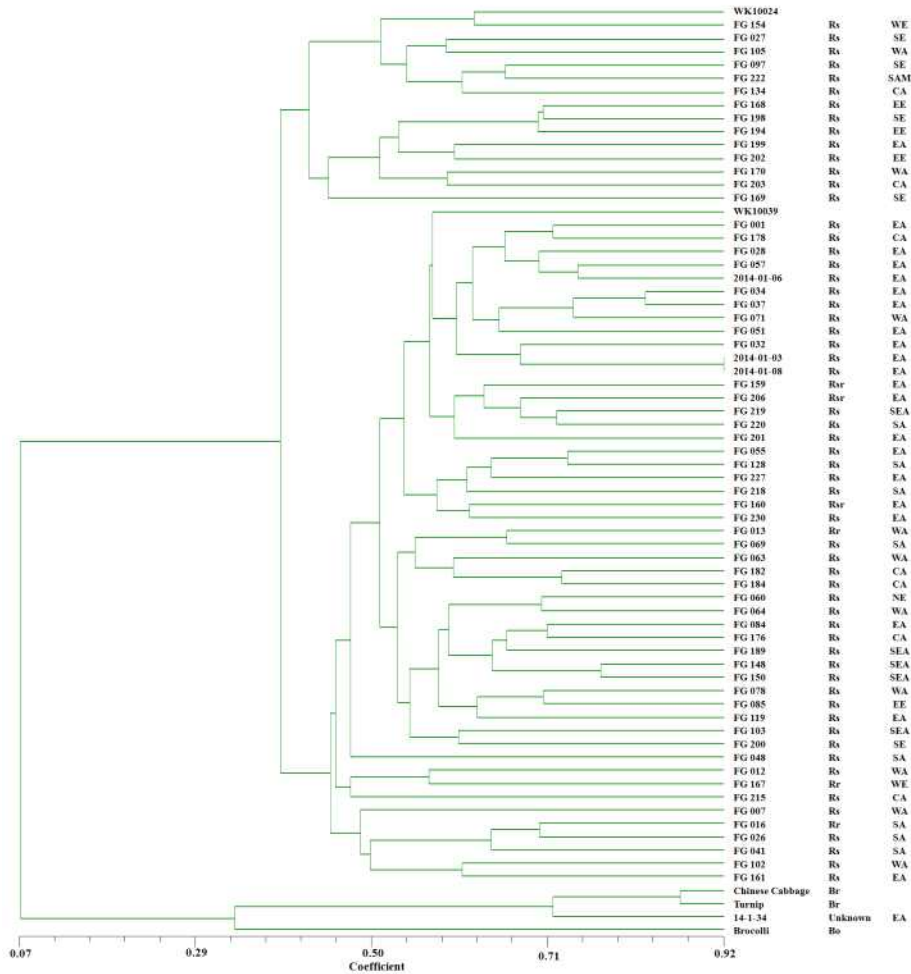


그림 21. 36개 genome anchored 분자표지를 이용한 무 유전자원과 육성 계통의 유전적 다양성 분석

2016년 3세대 이상 진전된 66점의 유전자원을 SI 검정 분자표지 23개를 이용하여 SI 종류와 분포를 조사하였다. 총 20개의 SI가 있는 것으로 확인되었으며 가장 많은 SI는 s4, s21, s29이었다(그림 22)

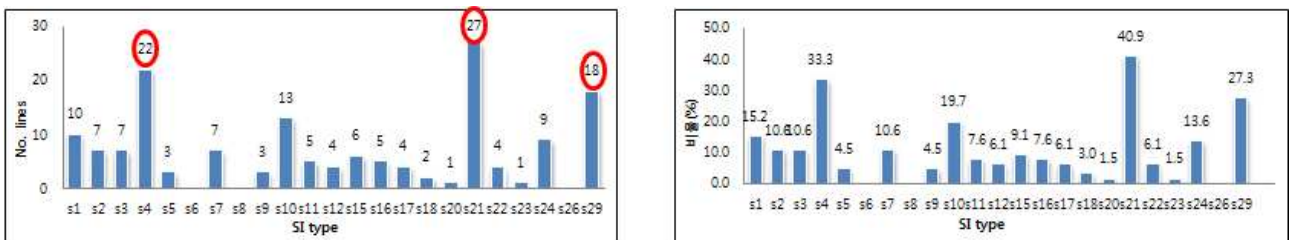


그림 22. SI 구별 분자표지 23점을 이용한 3세대 이상 세대진전한 유전자원 66점의 SI 종류 및 분포 조사

국립원예특작과학원에서 보유하고 있는 육성 계통 36점을 SI 검정 분자표지 23개를 이용하여 SI 종류와 분포를 조사한 결과, 총 12개의 SI가 존재하는 것을 확인하였고 s8, s10, s21이 가장 많이 있는 것으로 나타났다(그림 23)

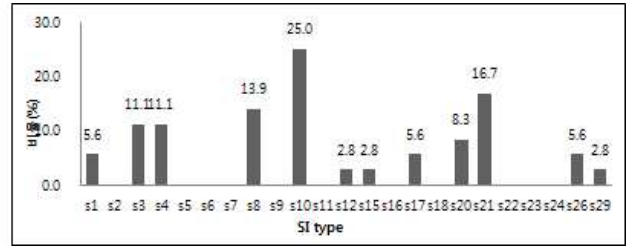
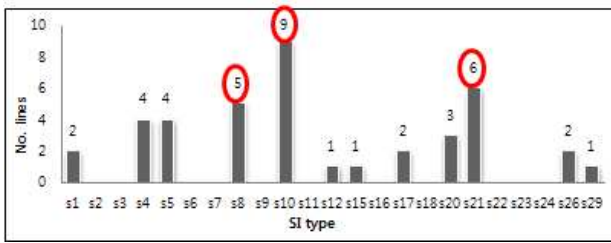


그림 23. SI 구별 분자표지 23점을 이용한 보유하고 있는 육성 계통 36점의 SI 종류 및 분포 조사

유전자원과 육성계통 양쪽 다 없는 s6 유전자형을 제외하고 총 22개의 SI 유전자형에 대한 SI 유전자형 집단을 작성하였다. SI 검정이 완료된 무 육성계통은 그 표현형과 유전형이 다양하였으며 s11 유전자형의 경우 특이하게도 순무에서 발견되기도 하였다(그림 24). 선발된 계통은 현재 국립원예특작과학원 채소과 온실에서 저온처리 중이며 2017년 봄 자가수정을 통하여 종자를 얻은 후 보관할 예정이며 추후 연구기관이나 회사의 요청에 의해 분양할 예정이다.



그림 24. 현재 SI 유전자형 검정이 완료된 무 육성 계통의 예

< 3세부 위탁 >

무 환경스트레스 내성 기작 구명 및 유용 유전자원 발굴을 목적의 일환으로 환경 내성 관련 유전자들을 클로닝 하였다. 온도(저온, 고온), 고염분, 가뭄, 오존 등 지구 환경 변화에 대응하기 위한 연구 대상이라고 판단되는 LRR-RLKs 중 brassinosteroid(BR) 호르몬 수용체인 BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1(BRI1) 세포막 수용체 등을 포함한 고등식물체의 abiotic stresses/biotic stresses에 대한 저항성 및 신호전달 메커니즘에 대한 이해가 매우 빈약하다. 따라서 무 식물체로부터 BRI1, BAK1(식물의 성장과 발달, plant innate immunity, programmed cell death), RPK1(환경스트레스 저항성), PERK4(환경스트레스 저항성) 등 유전자들의 특징 및 단백질 생화학적인 연구 등을 수행하기 위한 목적으로 클로닝 하였다 (그림 25).

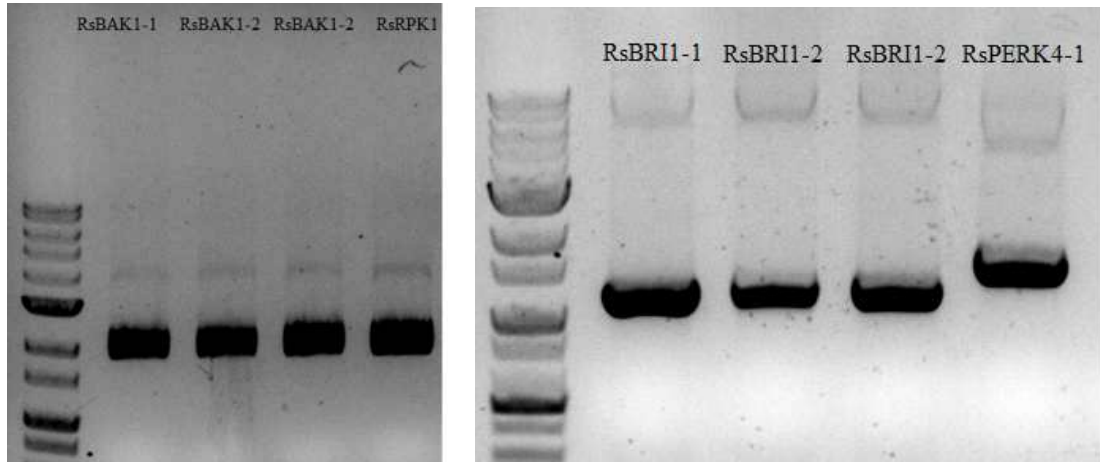


그림 25. RT-PCR을 수행하여 무 유식물체로부터 total RNA 분리 및 cDNA를 합성한 후 관련 유전자들의 full length를 확보

Full length 유전자들을 확보한 후 *in vitro* 에서 세포막 수용체의 재조합 단백질들의 활성과 특징 등을 구명하기 위하여, 재조합 단백질 발현 벡터(pFlag-Mac)에 cytoplasmic domain 부위를 클로닝하여 BL21(DE3) 숙주 세포에서 300 μ M IPTG 처리 후 단백질 발현을 유도하였다 (그림 26). BL21 세포에서 pFlag-Mac 벡터에 클로닝한 세포막 수용체 유전자들을 이용하여 재조합 단백질 생산, SDS-PAGE 및 Western blot hybridization 수행하여 생화학적 단백질을 분석하였다. 무 식물체로부터 클로닝한 세포막 수용체 kinase 중 BRI1, BAK1, PERK4 재조합 단백질은 흥미롭게도 pY, pThr 잔기에서 강력한 인산화 반응을 보였을 뿐 아니라 E.coli 단백질에 transphosphorylation를 시키는 것으로 나타났다. 이 외에 phospho-specific 항체를 이용하여 인산화 부위 판별하였다.

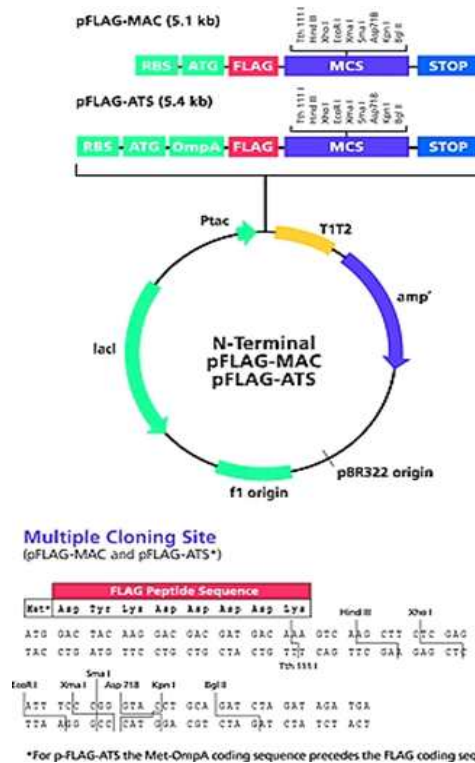


그림 26. 세포막 수용체 kinase의 재조합 단백질 발현 벡터

23 °C에서 16시간 동안 재조합 단백질 발현 유도 후 배양된 세포 등을 수확하여 재조합 단백질 등을 추출하여 이들 세포막 수용체 단백질들의 발현, phosphospecific 항체 활용한 인산화 양상 분석, 그리고 in vitro 에서 키나제에 의한 transphosphorylation 검증 등을 수행하였다(그림 27). 그림 27과 같이 RsBRI1은 tyrosine 잔기에서는 인산화가 일어나지 않는 반면에 threonine 잔기에서는 강한 인산화뿐만 아니라 대장균 단백질로의 transphosphorylation 활성을 보였다. 또한 RsPERK4는 tyrosine, threonine 잔기등에서 강한 인산화를 보였으나 대장균 단백질로의 transphosphorylation 활성은 보이지 않았다. 그러나 RsBRI1, RsPERK4와는 대조적으로 RsBAK1은 tyrosine, threonine 잔기에서 강한 인산화와 대장균 단백질로의 transphosphorylation 활성을 보였다. 이와 같은 연구 결과 등을 환경스트레스 내성 및 기후 변화 등에 대한 무 작물 연구에 흥미롭고 중요한 연구 활용이 가능하다고 판단된다.

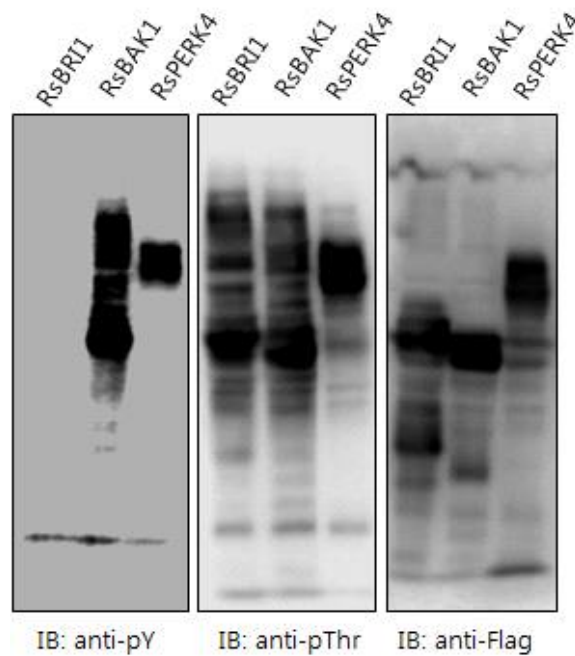


그림 27. 세포막 수용체의 재조합 단백질의 인산화 양상 분석

또다른 흥미로운 연구 결과로는 그림 28에서 보여주는 바와 같이 세포막 수용체 단백질의 재조합 단백질 배양 시간에 따른 인산화 양상 비교 분석 결과이다. Flag-RsBAK1-1의 경우 tyrosine 잔기에서의 인산화는 IPTG 처리 6시간에 detection 되었으며 약 10 시간 후에 최대 활성을 보이는 것으로 사료된다. 그러나 threonine 잔기에서의 인산화는 tyrosine 보다 빠른 IPTG 처리 4시간 후에 detection 되었다. 흥미로운 결과로서 RsPERK4의 경우 tyrosine 잔기에서의 인산화는 IPTG 처리 2시간에 detection 되었으며 배양 초기에 최대 활성에 도달되었다. Threonine 잔기에서의 인산화 역시 tyrosine과 유사하게 IPTG 처리 2시간 후에 detection 되었다. 그림 27과 그림 28에서와 같이 무 세포막에 존재한 세포막 수용체라 할지라도 단백질 인산화 및 kinase의 활성등이 뚜렷하게 구분되는 특징을 보인다.

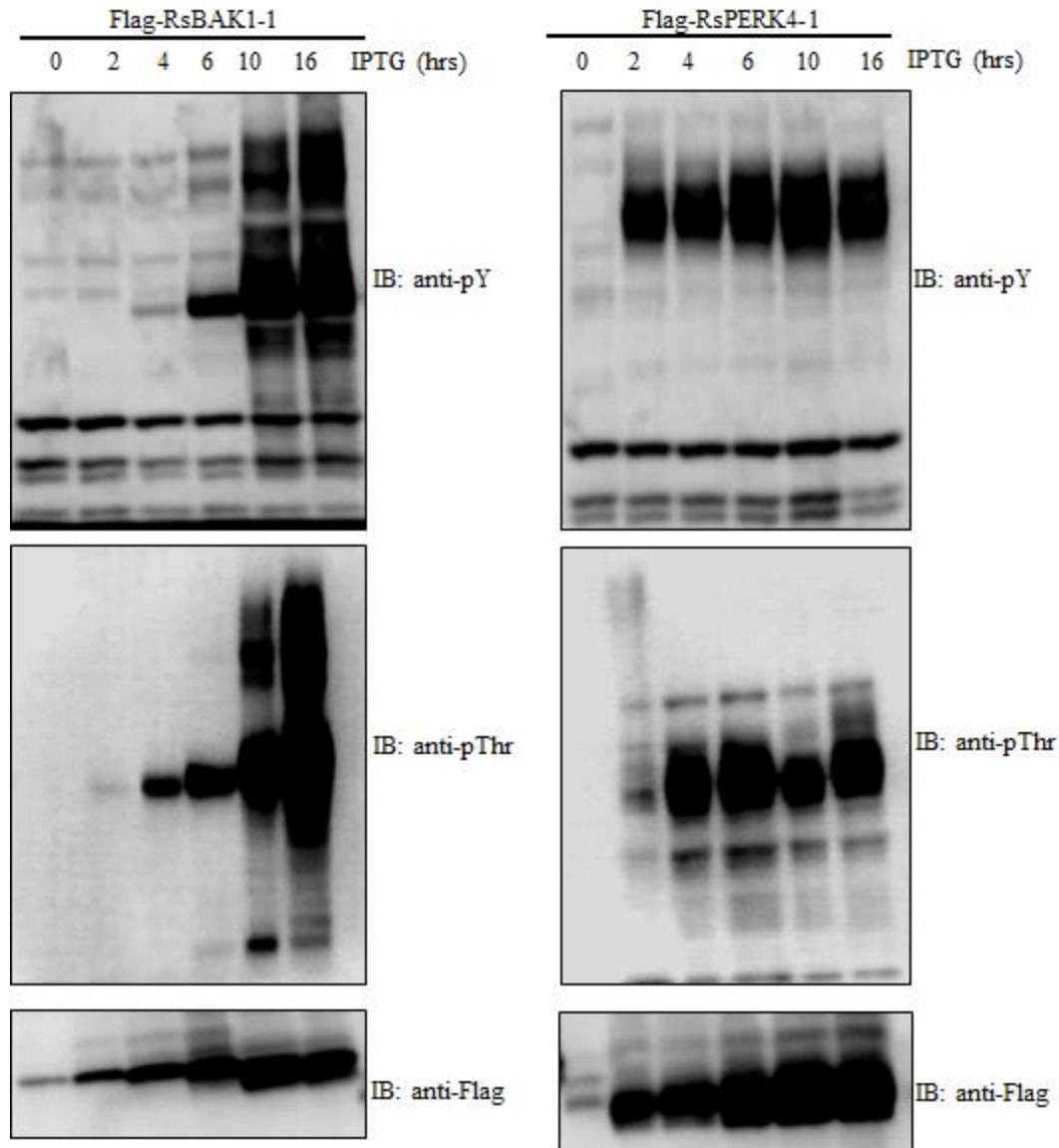


그림 28. 세포막 수용체 단백질의 재조합 단백질 배양 시간에 따른 인산화 양상 비교 분석

단백질 생화학적인 접근 방법을 통한 또 다른 측면에서 흥미로운 사실은 세포막 수용체 kinase의 활성을 조절하는 중요한 부위로 carboxyl terminus (CT) 부위라고 판단되어 CT 부위의 deletion과 비교하여 정상 단백질의 receptor kinase의 활성등을 분석하였다 (그림 29). 그림 29에서 보는 바와 같이 RsBAK1(Δ CT)는 RsBAK1과 비교하였을 때 autophosphorylation 감소 뿐 아니라 대장균 단백질로의 transphosphorylation 활성은 거의 보이지 않았다. 반면에 RsPERK4는 큰 차이가 있었다. 이와 같은 결과등을 비교 분석하였을 때 무 세포막 수용체들의 효소 활성 및 특징들은 신호전달 기작 유형에 따라 특이적으로 다르게 작용함을 알 수 있다.

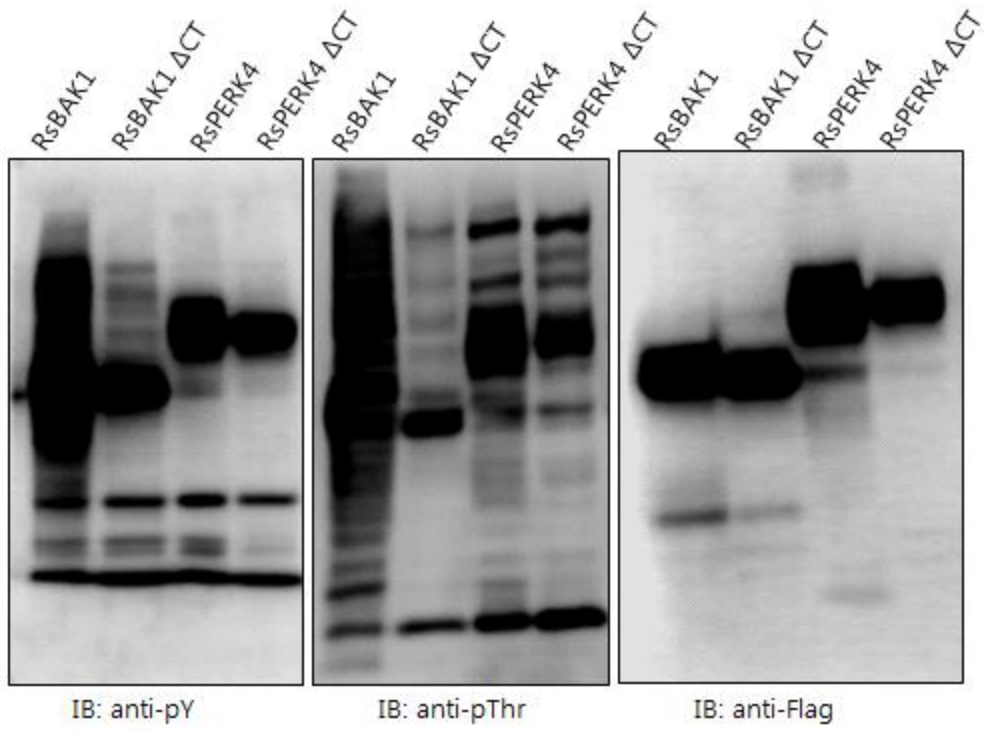


그림 29. RsBAK1, RsPERK4와 Δ CT 재조합단백질(Truncated)의 receptor kinase의 활성분석

4 절. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

1. 유전자원 수집 및 등록

가. 유전자원의 수집

○ 무는 현재 많은 품종에서 옹성불임성(MS)을 이용한 채종이 늘어나면서 점차 새로운 유전자원을 구하기가 점차 어려워지고 있는 현실이며 이러한 어려움을 극복하기 위해 하루라도 빨리 다양한 유전자원을 확보하는 것이 필요하게 되었다.

○ 1차년도 연구과제 시작이 다소 지연되는 관계로 유전자원의 수집도 다소 늦어졌으나 중국 현지인에게 의뢰하여 북경 및 무한 종묘상에서 판매되는 10품종을 수집하였다. 가능하면 일반종이나 재래종 품종을 구입하였으나 일부 F1 품종도 포함됐을 가능성이 있다. 연구과제의 시작이 늦어지면서 유전자원 구입도 늦었기 때문에 유전자원의 평가 및 선발은 2차년도 과제에 추가하여 실시하였다.

○ 2차년도는 대부분 일본에서 판매되는 품종을 수집하였으며 신품종들은 대부분 옹성불임계통을 이용하기 때문에 육성 재료로 이용하기에는 어려움이 있어 가능하면 자가불화합성을 이용한 오래 전에 개발된 품종을 위주로 14품종을 수집하였다. 유전자원 평가 및 선발은 1차년도 수집된 유전자원을 포함하여 24점 평가하고 한국생명공학연구원에 등록하였다.

○ 3차년도는 중국의 종자박람회 참석이나 현지 종묘상에 방문하여 40점의 유전자원을 수집하였다. 중국의 무는 아직 재래종이 많이 남아 있어 가능하면 다양한 무를 수집하려고 하였다. 수집된 유전자원은 흥피무, 청피무 계통이 많고 일부 백수 원형계인 춘불로 계통도 포함되어 있으며, 자체 육성 품종이라고 소개하고 있지만 일본무 모양을 한 품종도 다수 있다. 가을에 성능검정 포장에서 유전자원 평가를 완료한 후 40점을 한국생명공학연구원에 등록하였다.

○ 4차년도는 일본 및 중국의 20일무 9점을 수집하였고 유전자원 평가를 거쳐 9점을 한국생명공학연구원에 등록하였다.

< 표1> 유전자원 수집 및 등록

구분	목표(점)	수집(점)	평가(점)	등록(점)	비고
1차년도	10	10	0	0	-
2차년도	10	14	24	24	목표대비 240%
3차년도	10	40	40	40	목표대비 400%
4차년도	10	9	9	9	목표대비 90%
합계	40	73	73	73	목표대비 183%



< 그림 1 > 1차년도 유전자원 수집 사진



< 그림 2 > 2차년도 유전자원 수집사진



< 그림 3 > 3차년도 유전자원 수집 활동 - 종자교역회 및 성도 종묘상 방문

나. 유전자원의 평가 및 등록

○ 본 연구과제를 통하여 4년동안 총 73점의 해외 유전자원을 수집하였으며 유전자원 성능 평가를 거친 후 원예적 형질이 우수한 자원은 육성 재료로 선발하였으며 모두 한국생명공학연구원에 유전자원 등록을 완료하였다.



< 그림 4 > 2차년도 유전자원 평가 선발 사진



< 그림 5 > 3차년도 유전자원 평가 선발 사진



< 그림 6 > 4차년도 유전자원 평가 선발 사진

한국생명공학연구원 미생물자원센터 (31516, 서울 (02, 14, 61) 연구개발동 (31517/31518, 4146) 4F 4F)
 국가생물자원원 125, Tel: 042-860-4025, Fax: 042-860-4025

연구성과물(생물자원) 기탁 필증

기탁번호: KR1100001-0010000

연구개발사업명	Goldenweed 유전자원		
주요내용	연구개발명	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	
	연구기관명	연세대학교	김승훈
	연구기간	2013.07~2017.05 (생물자원 확보 (총 4년 중 2년 상당))	
세부내용	기탁명	종자 24종	
	연구개발명		
	연구기관명		연구책임자
세부내용	연구개발명		
	연구기관명		연구책임자
	기탁명		
기탁소재 구분		종자	
기탁확보	필증	기탁일자	2014. 9. 25

본 기관에서 기탁하신 상기 연구성과물(생물자원)을 국가연구개발사업의 추진 목적 중한 과학(연구) 발전(2008.5.27 제정) 및 국가생물자원원 제정(2008.7.8 공포)에 따라 상기와 같이 기탁 영수증을 발급합니다.

2014년 11월 5일
 생물자원 성과물전달기관
 한국생명공학연구원 미생물자원센터장 (인)

Biological Resource Center(BRC)
 Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) 2014.02

한국생명공학연구원 미생물자원센터 (http://krrib.ribb.ac.kr) 연구개발동 (http://31517/31518/4146/4F 4F)
 국가생물자원원 125, Tel: 042-860-4025, Fax: 042-860-4025

연구성과물(생물자원) 기탁 목록

기탁번호	연구개발명	연구번호	연구내용명	연구책임자	비고
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	001	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	002	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	003	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	004	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	005	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	006	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	007	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	008	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	009	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	010	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	011	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	012	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	013	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	014	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	015	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	016	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	017	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	018	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	019	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	020	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	021	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	022	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	023	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	
KR1100001-0010000	Goldenweed 유전자원	024	무 종래 지역 연구(생물 자원) 기탁(연구) 관련 기술 개발	김승훈	

Korean Collection for Type Culture (KCTC)
 Biological Resource Center (BRC)
 Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)

< 그림 7 > 2차년도 유전자원 기탁필증 및 목록

한국생명공학연구원 생물자원센터 <http://krcr.kribb.ac.kr> 연구성과물 <http://biop.kribb.ac.kr>
 연구제도 정보서 입선부 181 Tel: 063-570-5602, FAX: 063-570-5609

연구성과물(생물자원) 기탁 필증

기탁번호	BP123434 - BP123434
연구개발사업명	GoldenSeed 프로젝트(유전자)
연구과제명	무병산 기원 연구(항종류 #1 생선지 기원 기술 개발)
연구기관명	내삼비드
연구책임자	김윤홍
기탁일	총치 40일
기탁소재 구분	총치
기탁일자	2015-12-28

과 기관에서 기탁하신 상기 연구성과물(생물자원)을 국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정(제정령: 제정2008-5-27 공포) 및 총 국경 시행규칙 제정(2008.7.8 공포)에 따라 상기와 같이 기탁 받았음을 확인합니다.

2016년 3 월 10 일
 생물자원 성과물전달기관
 한국생명공학연구원 생물자원센터장
D.S. Park

Korean Collection for Type Culture(KCTC)
 Korea Research Institute of Science and Technology (KRIST) 2016-0-0005

한국생명공학연구원 생물자원센터(<http://krcr.kribb.ac.kr>) 연구성과물 (<http://biop.kribb.ac.kr>)
 연구제도 정보서 입선부 181 Tel: 063-570-5602, FAX: 063-570-5609

연구성과물(생물자원) 기탁 목록

기탁번호	생물자원명	종리번호	연구과제명	연구책임자	비고
BP123434	Raphanus sativus L.	2015AP00	무병산 기원 연구(항종류 #1 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123435	Raphanus sativus L.	2015AP01	무병산 기원 연구(항종류 #2 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123436	Raphanus sativus L.	2015AP02	무병산 기원 연구(항종류 #3 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123437	Raphanus sativus L.	2015AP03	무병산 기원 연구(항종류 #4 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123438	Raphanus sativus L.	2015AP04	무병산 기원 연구(항종류 #5 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123439	Raphanus sativus L.	2015AP05	무병산 기원 연구(항종류 #6 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123440	Raphanus sativus L.	2015AP06	무병산 기원 연구(항종류 #7 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123441	Raphanus sativus L.	2015AP07	무병산 기원 연구(항종류 #8 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123442	Raphanus sativus L.	2015AP08	무병산 기원 연구(항종류 #9 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123443	Raphanus sativus L.	2015AP09	무병산 기원 연구(항종류 #10 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123444	Raphanus sativus L.	2015AP10	무병산 기원 연구(항종류 #11 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123445	Raphanus sativus L.	2015AP11	무병산 기원 연구(항종류 #12 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123446	Raphanus sativus L.	2015AP12	무병산 기원 연구(항종류 #13 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123447	Raphanus sativus L.	2015AP13	무병산 기원 연구(항종류 #14 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123448	Raphanus sativus L.	2015AP14	무병산 기원 연구(항종류 #15 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123449	Raphanus sativus L.	2015AP15	무병산 기원 연구(항종류 #16 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123450	Raphanus sativus L.	2015AP16	무병산 기원 연구(항종류 #17 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123451	Raphanus sativus L.	2015AP17	무병산 기원 연구(항종류 #18 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123452	Raphanus sativus L.	2015AP18	무병산 기원 연구(항종류 #19 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123453	Raphanus sativus L.	2015AP19	무병산 기원 연구(항종류 #20 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123454	Raphanus sativus L.	2015AP20	무병산 기원 연구(항종류 #21 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123455	Raphanus sativus L.	2015AP21	무병산 기원 연구(항종류 #22 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123456	Raphanus sativus L.	2015AP22	무병산 기원 연구(항종류 #23 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123457	Raphanus sativus L.	2015AP23	무병산 기원 연구(항종류 #24 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123458	Raphanus sativus L.	2015AP24	무병산 기원 연구(항종류 #25 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123459	Raphanus sativus L.	2015AP25	무병산 기원 연구(항종류 #26 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP123460	Raphanus sativus L.	2015AP26	무병산 기원 연구(항종류 #27 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치

< 그림 8 > 3차년도 유전자원 기탁필증 및 목록

한국생명공학연구원 생물자원센터 <http://krcr.kribb.ac.kr> 연구성과물 <http://biop.kribb.ac.kr>
 연구제도 정보서 입선부 181 Tel: 063-570-5602, FAX: 063-570-5609

연구성과물(생물자원) 기탁 필증

기탁번호	BP1295157 - BP1295155
연구개발사업명	GoldenSeed 프로젝트(유전자)
연구과제명	무병산 기원 연구(항종류 #1 생선지 기원 기술 개발)
연구기관명	내삼비드
연구책임자	김윤홍
기탁일	총치 9일
기탁소재 구분	총치
기탁일자	2016-08-25

과 기관에서 기탁하신 상기 연구성과물(생물자원)을 국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정(제정령: 제정2008-5-27 공포) 및 총 국경 시행규칙 제정(2008.7.8 공포)에 따라 상기와 같이 기탁 받았음을 확인합니다.

※ 기탁 자료를 대한 상세정보는 생물자원정보 시스템을 통해 확인하시기 바랍니다.

2016년 9 월 6 일
 생물자원 연구성과물전달기관
 한국생명공학연구원 생물자원센터장
D.S. Park

Korean Collection for Type Culture(KCTC)
 Korea Research Institute of Science and Technology (KRIST) 2016-0602P

한국생명공학연구원 생물자원센터(<http://krcr.kribb.ac.kr>) 연구성과물 (<http://biop.kribb.ac.kr>)
 연구제도 정보서 입선부 181 Tel: 063-570-5602, FAX: 063-570-5609

No. 2016-00707

연구성과물(생물자원) 기탁 목록

기탁번호	생물자원명	종리번호	연구과제명	연구책임자	비고
BP1295157	Raphanus sativus L.	2016GP 046	무병산 기원 연구(항종류 #1 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295158	Raphanus sativus L.	2016GP 047	무병산 기원 연구(항종류 #2 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295159	Raphanus sativus L.	2016GP 048	무병산 기원 연구(항종류 #3 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295160	Raphanus sativus L.	2016GP 049	무병산 기원 연구(항종류 #4 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295161	Raphanus sativus L.	2016GP 050	무병산 기원 연구(항종류 #5 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295162	Raphanus sativus L.	2016GP 051	무병산 기원 연구(항종류 #6 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295163	Raphanus sativus L.	2016GP 052	무병산 기원 연구(항종류 #7 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295164	Raphanus sativus L.	2016GP 053	무병산 기원 연구(항종류 #8 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295165	Raphanus sativus L.	2016GP 054	무병산 기원 연구(항종류 #9 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295166	Raphanus sativus L.	2016GP 055	무병산 기원 연구(항종류 #10 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치
BP1295167	Raphanus sativus L.	2016GP 056	무병산 기원 연구(항종류 #11 생선지 기원 기술 개발)	김윤홍	총치

< 그림 9 > 4차년도 유전자원 기탁필증 및 목록

2. CO₂ 처리방법 개선에 의한 원종증식 체계 확립

가. 시험의 목적

현재 대부분의 종묘회사에서는 무 원종을 증식하기 위해 CO₂ 가스 처리방법을 이용하고 있다. 일반적인(관행의) 자가불화합성 계통의 원종 증식 방법은 밀폐된 하우스에 매개충(꿀벌)을 넣고 CO₂ 가스를 2.5 ~ 3.5% (대략 3%) 정도의 농도로 처리하여 원종을 증식하고 있으며, 이렇게 하면 원종량 또한 충분히 확보가 가능하다. 하지만 응성불임성 계통은 관행의 CO₂ 처리 방법으로는 충분한 원종량 확보가 어려운 계통이 많은데, 그동안의 경험과 선배 육종가들의 조언을 참고하여 CO₂ 가스 처리농도를 높여 처리하면 응성불임성 계통도 원종 증식이 가능할 수 있겠다고 예측되어 본 시험을 실시하게 되었다.

본 시험은 관행의 CO₂ 가스 처리 농도(3%)로 처리했을 때와 CO₂ 가스 처리 농도를 높여 처리(4%, 4.5%, 5%)하였을 때, CO₂ 가스 처리 농도 변화에 따른 원종 생산량을 비교하여 응성불임성 계통의 원활한 원종 생산을 위한 적정 CO₂ 처리농도를 구명하고 CO₂ 가스 처리방법을 개선하는데 그 목적이 있다.

나. 연구 수행 내용

본 시험은 무의 자가불화합성 및 응성불임성 계통에서 CO₂ 가스 처리 농도별 원종 생산량을 비교하기 위해 2013년부터 2016년까지 네오씨드 연구 농장(경기도 안성 소재)에서 다음과 같은 순서와 내용으로 수행되었다.

○ CO₂ 가스 농도 3% 처리 시험 및 4.5% 처리 예비 시험

우선 관행의 원종 증식 방법인 CO₂ 가스 농도 3%를 처리하였 때 원종 생산량을 조사하였다. 그리고 동시에 3계통에서 CO₂ 가스 농도 4.5% 처리 시험을 별도로 실시하여 원종 생산량의 증감을 비교하였다.

○ CO₂ 가스 농도 4.5% 처리 본시험

가.의 4.5% 예비시험의 결과를 바탕으로 시험에 사용된 모든 계통으로 확대하여 CO₂ 가스 농도 4.5%를 처리하여 원종 생산량을 조사하였고, 관행의 방법과 원종 생산량을 비교하였다.

○ CO₂ 가스 농도 4% 및 5% 처리 시험

나.의 시험결과를 바탕으로 적정 CO₂ 가스 처리 농도를 구명하기 위해 CO₂ 가스 4% 및 5% 처리 시험을 실시하여 원종 생산량을 조사하였고, 1년차~3년차 전체 시험결과를 비교. 분석하여 적정 CO₂ 처리 농도를 구명하고자 하였다..

○ 파종 시기별 원종 생산량 비교

3차년도까지의 시험 결과를 바탕으로 적정 CO₂ 처리 농도는 4.5%임을 구명하였고, 위의 시험 계통 중 만추대 계통과 조추대 계통을 각각 1계통을 선정하여 파종 시기를 달리하였을 때 원종 생산량을 비교하여 적정 파종 시기를 구명하고자 하였다.

다. 재료 및 방법

○ 재료

본 시험을 수행하기 위하여 네오씨드에서 육성 중인 5세대 이상 backcross를 진행한 웅성불임성 계통 20계통과 그 유지친 20계통과 자가불화합성 계통 2계통을 공시재료로 사용하였다. 그리고 CO₂ 가스 농도 4.5% 처리 예비 시험을 위해 위 자가불화합성 2계통과 또 다른 웅성불임성 1계통을 공시재료로 사용하여 모두 21개의 웅성불임성 계통과 그 유지친, 2개의 자가불화합성 계통을 사용하였다.

CO₂ 가스 농도 4.5% 처리 본시험에서는 관행의 원종 증식 방법으로도 충분한 원종량 확보가 가능한 웅성불임 2계통과 추대가 너무 늦은 웅성불임 1계통, 그리고 4.5% 예비시험에 사용된 웅성불임 1계통을 제외하고 모두 17개의 웅성불임성 계통과 그 유지친, 2개의 자가불화합성 계통을 사용하였다.

CO₂ 가스 농도 4% 및 5% 처리 시험에서는 CO₂ 가스 농도 4.5% 처리시험에서 유의미한 원종 생산량 증가를 보인 웅성불임성 7계통과 그 유지친 계통을 사용하였다.

파종시기별 원종생산량 비교 시험에서는 유의미한 원종 생산량 증가를 보인 웅성불임성 계통 중에서 만추대 계통인 DD1과 조추대 계통인 GG1 각각 1계통씩을 선정하여 시험에 사용하였다.

○ 방법

시험에 사용된 각각의 재료는 추대성이 다른 계통으로 각 계통의 추대 특성에 따라 추대가 늦은 만추대 계통은 11월 상순에서 중순 사이에 파종하였고, 추대가 빠른 조추대 계통은 12월 하순에서 1월 상순 사이에 파종하였다. 위 연구수행 내용 라. 파종시기별 원종생산량 비교 시험을 위해서는 만추대 계통은 10월 20일과 11월 14일 파종하였고, 조추대 계통은 1월 5일과 1월 30일에 파종하였다. 육묘 방법은 발아상에 파종하여 싹을 틔운 후 떡잎이 완전히 전개된 다음 원예용 상토를 채운 50구 트레이에 10-20주씩 가식하여 육묘하였다. 모본이 활착한 후에는 충분한 저온을 받도록 하기 위해 주간에는 환기를 시켜 서늘하게 관리하였고, 야간에는 보온덮개를 덮어 동사를 방지하였다.

정식은 이듬해 봄 3월 중순경에 미리 준비한 하우스 내의 소형 망실에 각 계통의 필요량에 따라 5 - 20주씩, 35cm x 27cm 간격으로 정식하였다. 하우스 한 동에는 소형 망실 11개씩 설치하여 각각의 망실이 동일한 조건이 되도록 하였다. 웅성불임계통과 유지계통의 정식 비율은 1:1로 하였고, 자가불화합성 계통은 20주씩 정식하였다. 정식 후 계통의 추대 특성에 따라 4월 중순부터 5월 중순에 걸쳐 개화가 시작되었고, 개화 시작 전에 각각의 망실은 방충망을 씌워 격리하여 매개충에 의한 오염을 방지하였다. 개화가 시작되면 웅성불임 계통과 유지계통의 화기를 관찰하여 오염이나 이형주는 사전에 제거하였고 충분한 화지를 확보하기 위해 적심을 실시하였다.

개화가 시작된 후 매개충(꿀벌)을 망실에 넣어 꿀벌의 화분 매개활동을 관찰하여 화분 매개활동이 활발해 지면 CO₂ 가스를 처리하였다. CO₂ 가스를 처리하기 전에 하우스를 밀폐한 후에 가스를 주입 하되 매일 동일한 시간에 처리하였다. CO₂ 가스 처리 농도는 위의 연구 수행 내용에서 밝힌대로 처리 하였다. CO₂ 가스 처리 시각은 매일 오후 5시 경에 처리 시작하였고 대략 25분 정도에 걸쳐 주입하고 9시까지 하우스를 밀폐 상태를 유지시켜 4시간 정도의 처리 시간을 두었다. CO₂ 가스 농도의 측정 은 가스검지관을 이용한 CO₂ 가스측정기를 이용하여 측정하였다. 가스 처리가 끝나면 밀폐된 하우스를 환기시켜 외기와 동일한 조건이 되게 하였다. 이러한 CO₂ 가스 처리 방법은 개화가 종료되는 기간 까지 그대로 유지하였다. 개화가 종료되는 시점은 계통마다 다 다르지만 대략 개화 시작 후 25-30일 까지 이다. CO₂ 가스 주입은 정확한 농도를 맞추기 어려운 일반적인 봄베(bombe)를 사용하지 않고 기화기와 가스분배기가 달린 대형 액화탄산탱크(CO₂ 탱크)를 사용하여 주입하였다. CO₂ 탱크는 가스 분배기를 통해 하우스내의 CO₂ 가스 농도와 처리시간을 정확히 맞출 수 있기 때문에 매우 유용하고 편리한 장치이다.

개화가 종료되면 매개충(꿀벌)을 빼내고 CO₂ 가스 처리를 종료한다. 일반적으로 조추대 계통은 5월 중순에, 만추대 계통은 6월 상순에 개화가 종료된다. 개화가 종료된 후 각 계통의 협의 상태를 살펴서 종자가 등숙되어 갈숙기에 접어들면 모본을 예취하여 거꾸로 매달아 건조시키고, 완전히 건조된 후 탈종하여 종자 생산량을 측정하였다. 생산된 종자는 가을에 본포에 1립씩 파종하여 발아 시험과 순도 검정 시험을 거쳐 최종적으로 이상 유무를 확인하였다.



< 그림 10 > CO₂ 가스 처리 망실 전경



< 그림 11 > CO₂ 가스 처리를 위한 가스탱크 및 가스 분배기

라. 결과 및 고찰

○ CO₂ 가스 농도 3% 처리 시험 및 4.5% 처리 예비 시험

본 시험에서는 관행의 원종 증식 방법인 CO₂ 가스 농도 3% 처리하였을 때 원종 생산량을 조사하였고 시험성적은 < 표 2 >과 같다.

< 표 2 > CO₂ 가스 3% 처리 시 원종 생산량

NO	BN	종자량 (ml/주)	NO	BN	종자량 (ml/주)	NO	BN	종자량 (ml/주)
1	NR1	6.7	9	SX011	0.1	16	TX001	48.0
2	NR2	10.3		SX012	4.1		TX002	37.8
3	DX009	0.7	10	SX017	28.3	17	TX011	10.3
	DX010	8.7		SX018	25.2		TX012	10.8
4	DD001	2.1	11	SX019	2.2	18	GG001	3.6
	DD002	9.4		SX020	4.3		GG002	18.6
5	DD003	2.5	12	TT001	2.2	29	GG003	8.5
	DD004	10.5		TT002	12.5		GG004	25.0
6	DD011	2.6	13	TT015	3.1	20	GG007	5.0
	DD012	5.5		TT016	8.0		GG008	12.0
7	DD013	2.1	14	TT017	3.1	21	GX003	0.7
	DD014	6.8		TT018	6.1		GX004	7.7
8	SX009	0.4	15	TT019	2.2	22	GX025	0.3
	SX010	3.8		TT020	6.3		GX026	4.3

* NO 1, 2 : 자가불화합성 계통 ** NO 3 이하 : BN 홀수번호는 웅성불임성 계통, 짝수번호는 유지진

그리고 CO₂ 가스 농도 4.5% 처리 예비 시험의 원종 생산량을 조사한 시험성적은 <표 3>와 같다.

< 표 3 > CO₂ 가스 4.5% 처리 시 원종 생산량 비교

NO	BN	종자량(ml/주)	
		3%	4.5%
1	NR1	6.7	10.8
2	NR2	10.3	16.7
3	NR3	X	11.9

* NO 1, 2 : 자가불화합성 계통 ** NO 3 : 웅성불임성 계통

일반적으로 자가불화합성 계통의 원종증식에서 종자량(ml/주)이 10ml 이상이면 원종으로서 수량이 충분하다고 판단한다. 이는 F1 종자 생산 시 자가불화합성이 잘 유지되면서 자식주 출현의 위험은 줄이고 원종 증식도 충분히 가능하다는 의미일 것이다. 종자량(ml/주)이 5 ~ 10 ml/주 이면 최소 수량은 확보가 가능하다고 판단한다. 이는 자가불화합성이 강하면서 원종량도 어느 정도 확보가 가능한 수준이다. 종자량(ml/주)이 5ml/주 이하이면 자칫 충분한 원종량을 확보하지 못할 수도 있기 때문에 부족하다고 할 수 있다. 하지만 웅성불임성 계통의 경우에는 F1 종자 생산 시 자식주의 문제가 없기

때문에 원종 생산량이 많으면 많을수록 좋을 것이다.

이것을 전제로 CO2 가스 농도 3% 처리 시험에서 NR1과 NR2는 자가불화합성 계통으로 원종 생산량이 6.7ml/주, 10.3ml/주로 최소 수량은 확보가 가능하였다.(표 2)

응성불임성 계통들은 SX17, TX1, TX11, GG3 등 4계통이 각각 28.3ml/주, 40.0ml/주, 10.3ml/주, 8.5ml/주로 충분하거나 최소한의 원종 생산량을 확보할 수 있었지만 나머지 16계통은 원종 생산량이 5ml/주 이하로 나타나 최소한의 원종 생산량을 확보 할 수 없었다.(표 2)

하지만 NR1과 NR2는 CO2 가스 농도 4.5% 처리 예비시험에서 원종 생산량이 각각 10.8ml/주, 16.7ml/주로 50% 이상의 수량 증가를 확인 할 수 있었다. NR3는 응성불임성 계통으로 선행연구에서 관행의 3% CO2 처리로 생산량이 너무 적어 원종량 확보가 불가능하였으나 CO2 농도 4.5%로 처리한 예비시험에서 원종으로서 충분한 수량을 확보할 수 있었다.(표 3)

위 두 시험에서 무 원종 증식 시 CO2 가스 처리 농도를 4.5%로 높여 처리하면 자가불화합성과 응성불임성 계통 모두 원종 생산량을 높일 수 있는 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.

○ CO2 가스 농도 4.5% 처리 본시험

본 시험에서는 1차년도 시험에서 CO2 가스 농도 3% 처리로도 충분한 원종량 확보가 가능한 SX 17, TX 1 등 2계통과 개화가 너무 늦어 가스 처리 기간이 짧은 DX 9, 4.5% 처리로 충분한 원종량 확보가 가능한 NR 3 등을 제외한 자가불화합성 2계통과 응성불임성 17계통과 그 유지친을 CO2 가스 농도 4.5%로 처리하여 원종 생산량을 조사하였고 시험성적은 < 표 4 >과 같다.

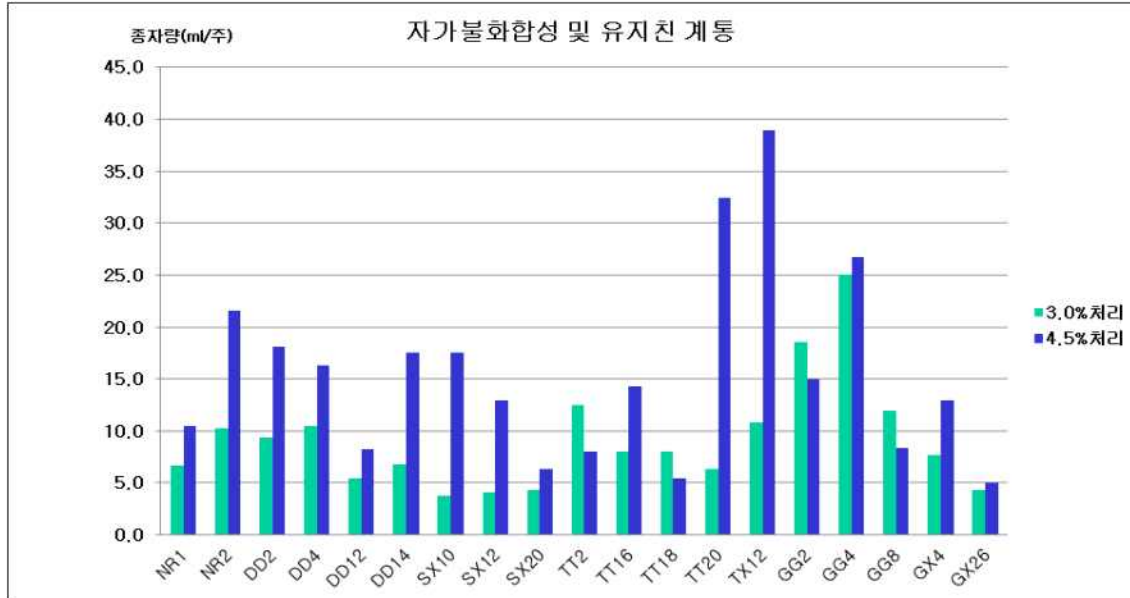
< 표 4 > CO2 가스 3% / 4.5% 처리 시 원종 생산량 비교

NO	BN	종자량(ml/주)		NO	BN	종자량(ml/주)	
		3.0%	4.5%			3.0%	4.5%
1	NR1	6.7	10.5	11	TT15	3.1	10.0
2	NR2	10.3	21.6		TT16	8.0	14.3
3	DD1	2.1	12.0	12	TT17	3.1	2.5
	DD2	9.4	18.1		TT18	8.0	5.5
4	DD3	2.5	2.8	13	TT19	2.2	7.0
	DD4	10.5	16.3		TT20	6.3	32.5
5	DD11	2.6	3.2	14	TX11	10.3	22.0
	DD12	5.5	8.3		TX12	10.8	39.0
6	DD13	2.1	6.5	15	GG1	3.6	6.4
	DD14	6.8	17.5		GG2	18.6	15.0
7	SX9	0.4	2.0	16	GG3	8.5	13.0
	SX10	3.8	17.5		GG4	25.0	26.7
8	SX11	0.1	0.3	17	GG7	5.0	5.3
	SX12	4.1	13.0		GG8	12.0	8.4
9	SX19	2.2	1.9	18	GX3	0.7	2.5
	SX20	4.3	6.3		GX4	7.7	13.0
10	TT1	2.2	2.0	19	GX25	0.3	1.8

TT2	12.5	8.0		GX26	4.3	5.0
-----	------	-----	--	------	-----	-----

* NO 1, 2 자가불화합계통 ** NO 3 이하 BN 홀수번호는 MS계통, 짝수번호는 유지친

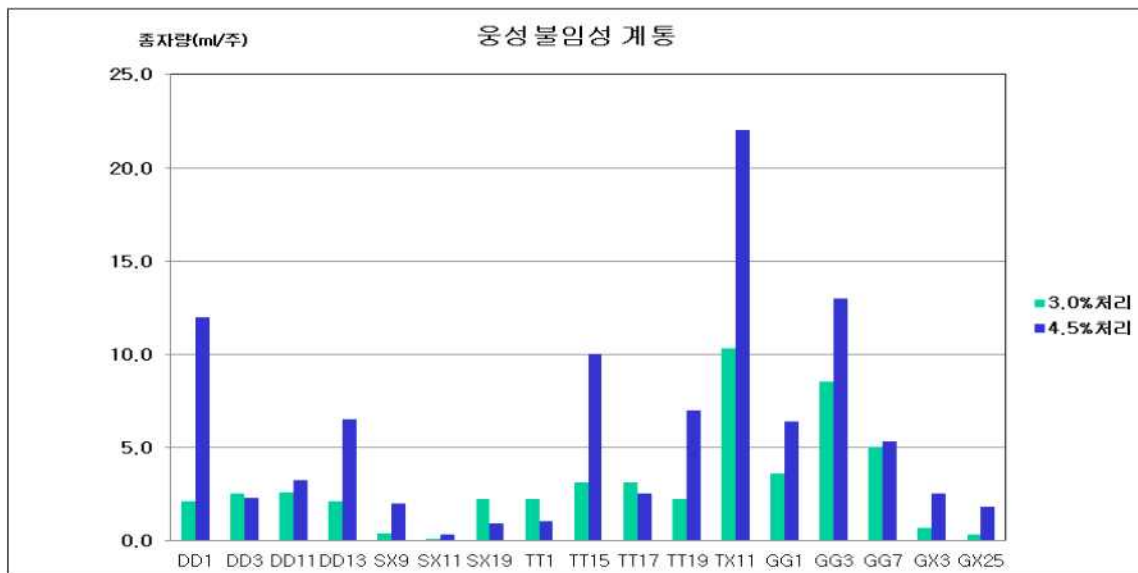
(1) 응성불임 유지 계통



< 그림 12 > 자가불화합성 및 응성불임 유지 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

자가불화합성 및 응성불임 유지친 19계통은 CO2 처리농도를 4.5%로 높여서 처리하였을 때, 3%로 처리하였을 때보다 많은 계통에서 수량 증가를 확인하였다. 전체 19계통 중 TT2, TT18, GG2, GG8 은 원종 생산량이 다소 감소하였지만, 나머지 15계통은 50-300%까지 수량이 증가하였다. 수량이 증가한 15계통 중 12계통은 주당 종자량(ml/주)이 10ml/주 이상으로 원종으로서 충분한 수량 확보가 가능하였다.(표 4, 그림 12)

(2) 응성불임성 계통



< 그림 13 > 응성불임성 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

응성불임성 계통 또한 CO2 처리농도를 4.5%로 높여서 처리하였을 때, 3%로 처리하였을 때보다 많은 계통에서 수량 증가를 확인하였다. 전체 17계통 중에서 DD3, SX19, TT1, TT17 등 4계통은 수량이 감소하였지만, 나머지 13계통에서 수량이 증가하였다. 수량이 증가한 13계통 중에서 DD1, DD13, TT15, TT19, TX11, GG1, GG3 등 7계통은 200-300% 정도 수량이 증가하였고, 주당 종자량(ml/주)이 5ml/주 이상으로 원종으로서 최소한의 수량도 확보가 가능하였다. 수량이 증가한 13계통 중에서 DD11, SX9, SX11, GG7, GX3, GX25 등 6계통은 수량이 증가하였으나 수량 증가가 미미하거나 원종으로서 최소 수량 확보에는 미치지 못하였다.(표 4, 그림 13)

○ CO2 가스 농도 4% 및 5% 처리 시험

본 시험에서는 CO2 가스 농도 4.5% 처리 시험에서 주당 종자량(ml/주)이 5ml/주 이상으로 원종으로서 최소한의 수량 확보가 가능하였던 7계통에 대하여 적정 CO2 가스 처리 농도를 구명하기 위하여 CO2 가스 농도 4%와 5%로 처리하여 각각의 원종 생산량을 조사하였고 시험성적은 <표 5 >과 같다.

< 표 5 > CO2 가스 4%, 5% 처리 시 원종 생산량 비교

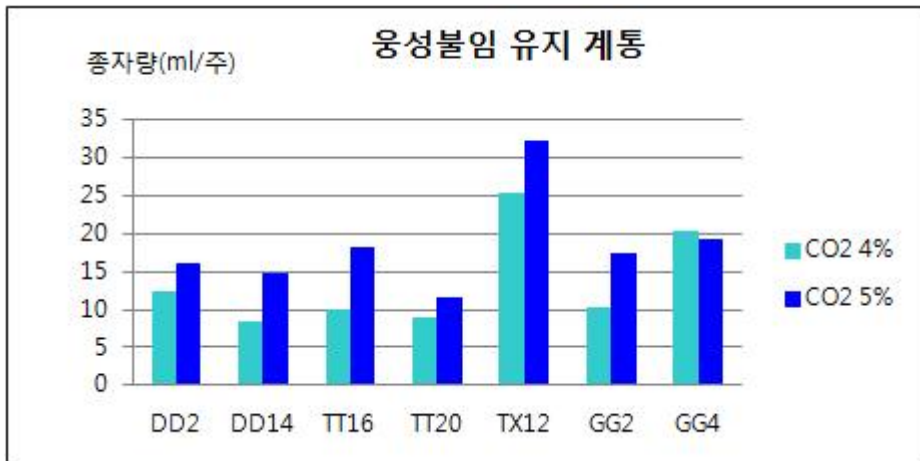
NO	BN	종자량(ml/주)		NO	BN	종자량(ml/주)	
		CO2 4%	CO2 5%			CO2 4%	CO2 5%
1	DD1	10.2	12.8	5	TX11	10.8	17.4
	DD2	12.5	16.1		TX12	25.3	32.3
2	DD13	4.0	5.3	6	GG1	2.3	8.3
	DD14	8.3	14.7		GG2	10.2	17.5
3	TT15	5.5	11.3	7	GG3	9.2	10.8
	TT16	10.1	18.2		GG4	20.4	19.3
4	TT19	3.6	5.4				
	TT20	8.9	11.6				

* NO 1 이하 BN 홀수번호는 MS계통, 짝수번호는 유지진



<그림 14 > CO2 처리 농도 4% / 5%에서 MS 계통 결합 상태(* 왼쪽 CO2 4% 처리, 오른쪽 5% 처리)

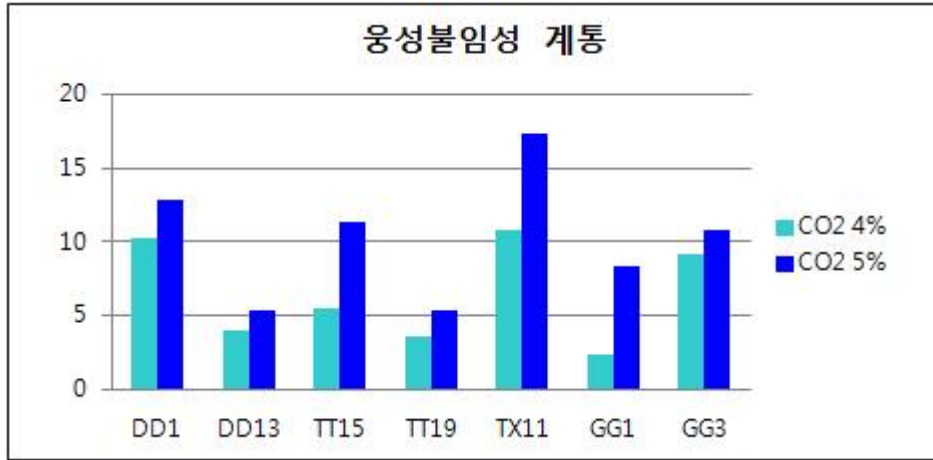
(1) 응성불임성 유지 계통



< 그림 15 > 응성불임 유지된 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

CO2 가스 농도 4% 처리와 5% 처리를 비교했을 때 응성불임 유지(자가불화합) 계통은 전체 7계통 중에서 GG4를 제외한 6계통에서 5%로 처리했을 때 원종 생산량이 더 많았다. (표 5, 그림 15)

(2) 응성불임성 계통



< 그림 16 > 웅성불임성 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

CO2 가스 농도 4% 처리와 5% 처리를 비교했을 때 웅성불임성 계통은 모든 계통에서 5%로 처리했을 때 원종 생산량이 더 많았다. 웅성불임성 계통을 CO2 농도 4%로 처리하면 DD1, TX11 등 2계통에서 충분한 수량 확보가 가능했다. CO2 농도 5%로 처리하면 모든 계통에서 최소수량 확보가 가능하고 DD1, TT15, TX11, GG3 등 4계통에서 충분한 수량 확보가 가능했다.(표 5, 그림 16)

○ CO2 가스 농도 3%, 4%, 4.5% 및 5% 처리 시험 결과 분석

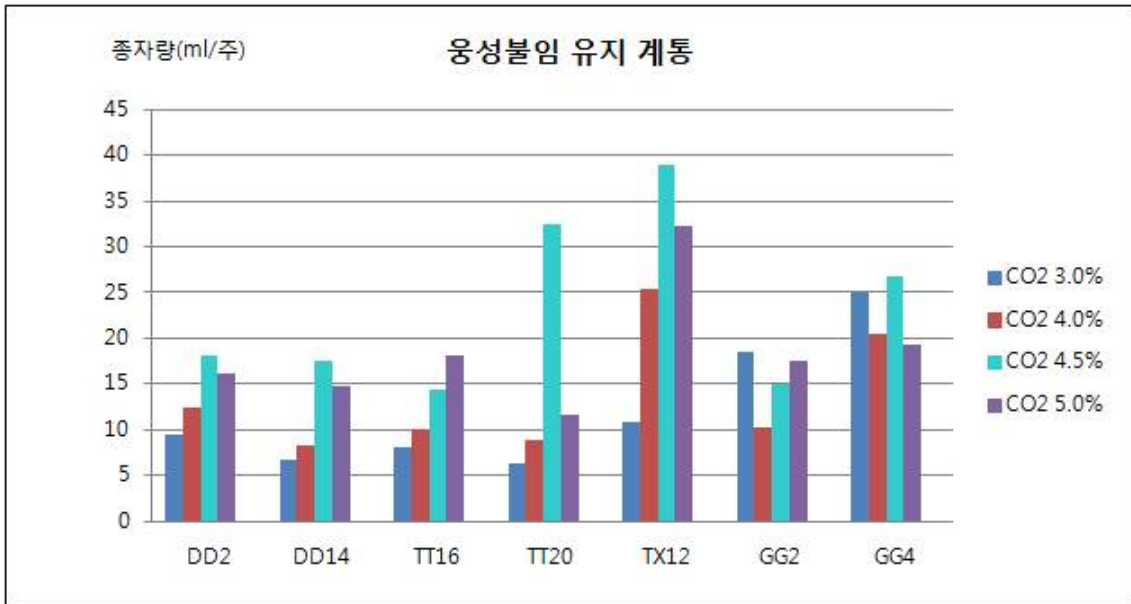
현재까지의 시험 결과를 바탕으로 CO2 가스 처리 농도별 원종 생산량을 비교하면< 표 6 >와 같다.

< 표 6 > CO2 가스 3%, 4.5%, 4%, .5% 처리 시 원종 생산량 비교

NO	BN	종자량(ml/주)			
		CO2 3.0%	CO2 4.0%	CO2 4.5%	CO2 5.0%
1	DD1	2.1	10.2	12.0	12.8
	DD2	9.4	12.5	18.1	16.1
2	DD13	2.1	4.0	6.5	5.3
	DD14	6.8	8.3	17.5	14.7
3	TT15	3.1	5.5	10.0	11.3
	TT16	8.0	10.1	14.3	18.2
4	TT19	2.2	3.6	7.0	5.4
	TT20	6.3	8.9	32.5	11.6
5	TX11	10.3	10.8	22.0	17.4
	TX12	10.8	25.3	39.0	32.3
6	GG1	3.6	2.3	6.4	8.3
	GG2	18.6	10.2	15.0	17.5
7	GG3	8.5	9.2	13.0	10.8
	GG4	25.0	20.4	26.7	19.3

* NO 1 이하 BN 홀수번호는 MS계통, 짝수번호는 유지친

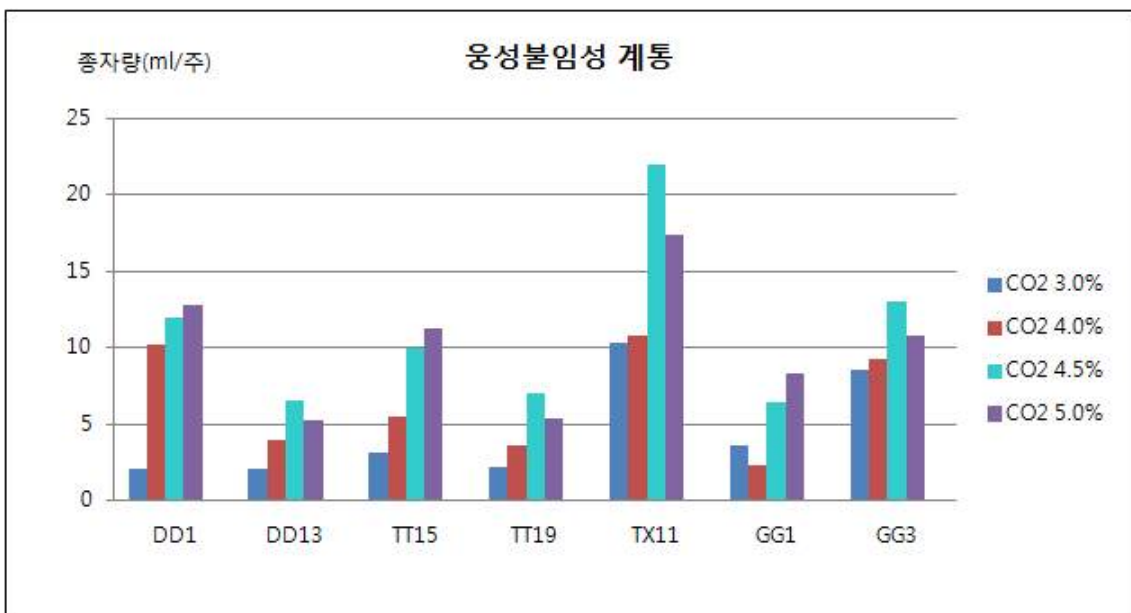
(1) 응성불임성 유지 계통



< 그림 17 > 응성불임 유지 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

응성불임성 유지 계통은 전체 7계통 중 GG2, GG4 2계통을 제외한 5계통에서 CO2 가스 농도 3%, 4%, 4.5% 처리 구간에서 처리 농도가 높을수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다. GG2와 GG4는 일정한 경향성은 보이지 않고 각각 3%와 4.5%에서 제일 높은 값을 나타내었다. (표 6, 그림 17)

(2) 응성불임성 계통



< 그림 18 > 응성불임성 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

응성불임성 계통은 7계통 중 GG 1 1계통을 제외한 6계통에서 CO2 가스 농도 3%, 4%, 4.5% 처

리 구간에서 처리 농도가 높을수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다. CO2 가스 농도 4.5%와 5% 처리구간에서는 DD13, TT19, TX11, GG3 등 4계통은 CO2 농도 4.5%에서 원종 생산량이 더 많았고, DD1, TT15, GG1 등 3계통은 CO2 농도 5%에서 생산량이 더 많았다. (표 6, 그림 18)

마. 파종 시기별 원종 생산량 비교

현재까지의 시험결과를 바탕으로 웅성불임계통의 원활한 원종 증식을 위한 적정 CO2처리 농도는 4.5% 였다. 본 시험에서는 웅성불임성 계통 중 만추대 계통인 DD 1과 조추대 계통인 GG 1을 이용하여 파종시기를 달리하였을 때 원종 생산량을 비교하였다. 파종시기는 만추대 계통은 이른파종은 10월 20일 에, 관행파종(늦은파종으로 표기)은 11월 14일 파종하였고, 조추대 계통은 관행파종(이른파종으로 표기)은 1월 5일에, 늦은파종은 1월 30일에 파종하여 비교하였고 시험성적은 < 표 7 >과 같다.

< 표 7 > 파종 시기별 무 원종 생산량 비교

구분	BN	종자량(ml/주)		
		CO24.5% (2014년)	CO24.5% (이른파종)	CO24.5% (늦은파종)
만추대계통	DD1	12	10.7	8.5
조추대계통	GG1	6.4	9.6	11.5



< 그림 19 > 만추대 계통 결핍 상태 좌: 이른파종, 중: 늦은파종 우: 비교



< 그림 20 > 조추대 계통 결핍 상태 좌: 이른파종, 중: 늦은파종 우: 비교

만추대 계통은 일반적인 파종시기보다 일찍 파종한 시험구에서 원종생산량이 더 많았고(표7, 그림 19), 조추대 계통은 일반적인 파종시기보다 늦게 파종한 시험구에서 원종생산량이 더 많았다.(표7, 그림 20)

바. 결론

1년차부터 4년차까지 다양한 CO2 처리 농도별 시험을 수행하면서 무의 응성불임성 계통의 원활한 원종 증식을 위한 적정 CO2 처리 농도를 구명하고자 하였다. 시험에는 자가불화합성 2계통과 응성불임성 20계통, 유지친 20계통이 사용되었으며 시험의 최종 결과는 다음과 같다.

- 자가불화합성 계통 및 유지친 계통은 CO2 처리 농도 3% 에서도 최소한의 원종 생산량 확보가 가능하였고, CO2 농도가 높아질수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다.
- 응성불임성 계통은 20계통 중 2계통은 CO2 처리 농도 3% 에서도 충분한 원종 생산량 확보가 가능하였다.
- 응성불임성 계통 중 CO2 가스 농도 변화에 유의미한 원종 생산량 증가를 보인 계통은 DD 1, DD 13, TT 15, TT 19, TX 11, GG 1, GG 3 등 7계통으로, CO2 처리 농도 3%, 4%, 4.5% 구간에서 농도가 높을수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다.
- CO2 처리 농도 4.5%, 5% 구간에서는 7계통 모두 주당 원종 생산량이 5ml/주 이상으로 원종으로서 최소 수량 확보가 가능하였으나, 계통에 따라 다른 결과를 보였다.
- DD 13, TT 19, TX 11, GG 3 등 4계통은 CO2 가스 농도 4.5%에서 원종생산량이 더 많았고 D 1, TT 15, GG 1 등 3계통은 CO2 가스 농도 5%에서 원종생산량이 더 많았다.
- 만추대 계통인 DD 1은 CO2 가스 농도 4.5%에서 관행보다 일찍 파종했을 때 원종생산량이 더 많았고, 조추대 계통인 GG 1은 관행보다 늦게 파종했을 때 원종생산량이 더 많았다.
- 현재까지 시험결과를 종합하면 무 응성불임성 계통의 원활한 원종 생산을 위한 적정 CO2 가스 처리 농도는 원종생산량과 경제성 등을 고려하여 4.5%가 가장 적정한 농도로 판단되었다.

3. NIL(Near Isogenic Line)의 육성

가. 시험의 필요성 및 목적

본 연구과제의 필요성에서 언급했듯이 최근 무 신품종의 많은 부분이 응성불임성을 이용한 채종이 늘고 있지만 응성불임성 계통은 자가불화합성 계통과 달리 관행의 CO2 처리 방법으로도 원종 증식이 어려운 문제가 있다. 원종 증식의 어려움을 해결하기 위해 관행의 CO2 처리 방법을 개선하는 방법과 개선된 CO2 처리 방법으로도 원종 증식이 불가능한 계통을 원종 증식하기 위해 NIL을 이용하여 자가화합성으로 만들어 주는 방법이 필요하다.

본 시험은 이미 고정된 응성불임 계통을 이용하여 유지친의 자가불화합성(SI) 인자를 핵치환하여 응성불임 계통과 유지친이 자가화합성이 되도록 유지친을 NIL로 만드는데 목적이 있다.

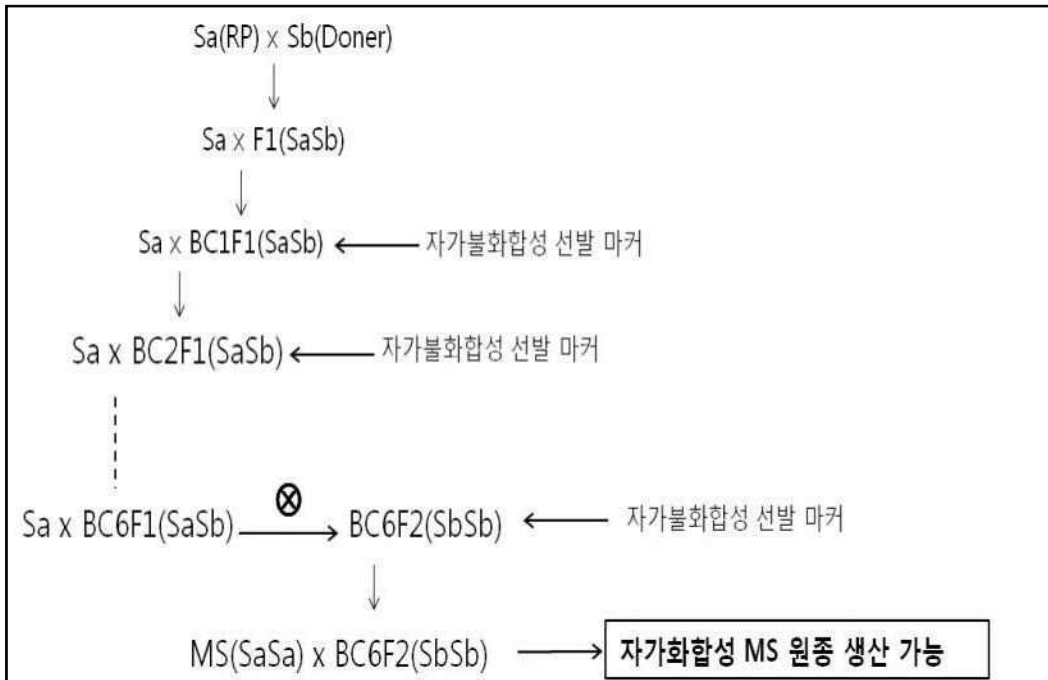
나. NIL 육성 방법

○ 일반적인 NIL 육성 방법(여교잡 육종법)

- CO2가스 처리로 원종 증식이 어려운 MS계통과 그 유지친(반복친, RP)의 SI 인자형을 확인하고 그 유지친과 교배화합성이며 SI 인자형이 서로 다른 계통(1회친, Doner)을 교배하여

F1을 만든다. 그런 다음 여교잡(back cross) 육종법에 따라 F1개체에 반복친을 교배(backcross)하기를 반복하여 계통을 육성한다.

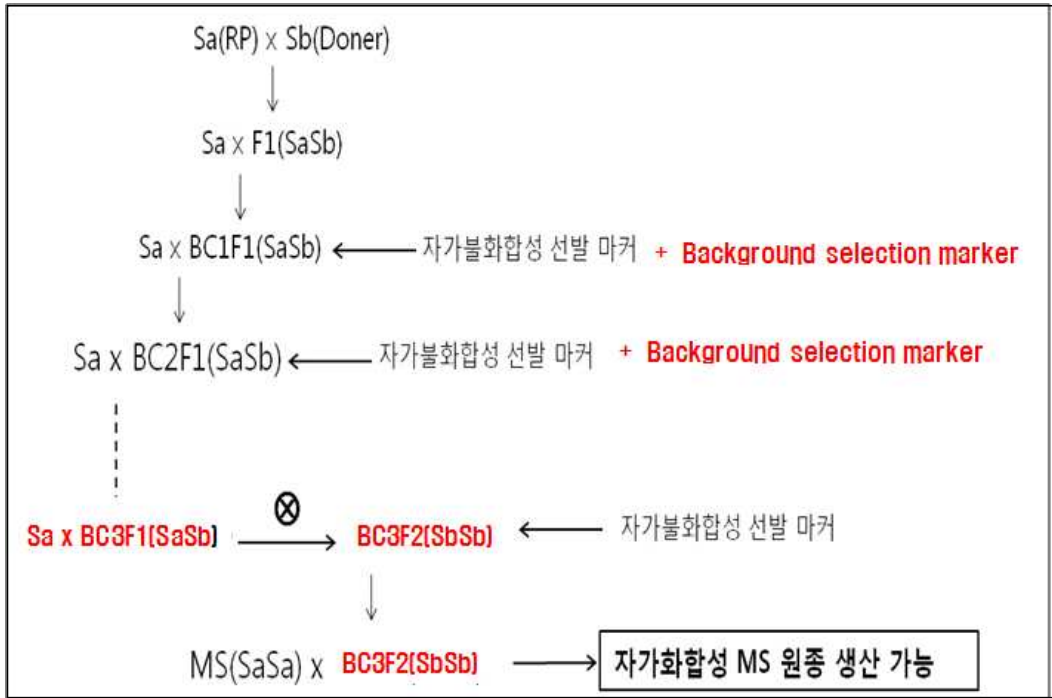
- 각 세대별 모본 선발과정에 SI 인자 마커 이용하며 각 개체는 SI 인자형이 Heterozygous인 개체를 선발한다. 각 세대마다 선발된 개체에 반복친을 계속 backcross를 진행하여 BC6F1세대에서 모본을 선발하고 이를 자가수정하여 BC6F2 세대에서 SI 인자형이 Homozygous인 개체를 선발한다. 최종적으로 선발된 계통은 모든 형질은 반복친과 거의 같고 자가불화합성 인자만 핵치환된 계통(NIL)으로 응성불임 계통과는 자가화합성이 되어 원종 증식이 가능한 계통이다.



< 그림 21 > 일반적인 NIL 육성 기본 모식도

○ Background selection 시스템 구축

- 2015년 12월 농업기술실용화재단에서 background selection system 이 구축됨에 따라 무의 여교배 육종 기간을 획기적으로 단축시킬 수 있게 되었다. 관행의 방법으로 6-7회의 backcross 를 진행해야 했다면 이제는 2-3회만으로 고정된 NIL을 획득할 수 있을 것으로 기대된다.
- 이는 마이크로플루이딕 칩이 개발로 한번에 대량의 DNA를 분석할 수 있게 되었으며 또한 분자육종 기술의 발전으로 다양한 SNP 마커(Background selection marker)가 개발되어 가능해졌다.
- 각 세대의 선발단계(BCnF1)에서 Background selection marker를 이용하여 반복친과 유전적으로 유사성이 가장 높은 개체를 선발하여 여기에 SI 인자형 마커를 이용하여 SI 인자형이 Homozygous인 개체를 선발한다. 이를 2-3회 반복하면 관행의 6-7회 backcross 와 동일한 결과를 얻을 수 있다.



<그림 22 > Background selection marker를 이용한 NIL 육성 모식도



< 그림 23 > 플루다임사의 마이크로플루이드 칩

다. 연구수행 내용 및 방법

본 시험은 응성불임 계통과 그 유지친의 SI 인자를 핵치환하여 자가화합성인 NIL로 만들기 위해 1차년도부터 4차년도까지 네오씨드 연구 농장에서 다음과 같은 순서와 방법으로 수행되었다.

○ 자가불화합성(SI) 인자형 분석 (1차년도~3차년도)

우선 NIL을 만들기 위해 국립원예특작과학원과 농업기술실용화 재단에 의뢰하여 보유중인 계통의 SI 인자형을 분석하였다. 본 시험을 수행하기 위하여 네오씨드에서 육성 중인 6세대 이상 세대진전을 한 응성불임 계통 및 자가불화합성 계통 등 120계통을 공시재료로 사용하였다. 시험에 사용된 각각의 재료는 1차년도에 육성 모본으로 선발된 개체의 신초에서 DNA를 추출하여 국립원예특작과학원에 자가불화합성 인자분석을 의뢰하였다. 2차년도에는 보다 많은 PRIMER를 보유하고 있는 농업기술실용

화재단에 반복시험을 의뢰하였다. 3차년도에는 1차 backcross 진행 전 선발된 F1조합과 신규 계통에 대하여 재검정 작업을 실시하여 인자형 최종 보정 작업을 실시하였다.

○ backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발 (2차년도~4차년도)

2차년도에 가.의 SI 인자형 분석 결과를 바탕으로 인자형이 서로 다른 10개의 F1 조합을 작성하였고 그 중 교배화합성이 좋은 8개 조합을 교배모본으로 정식하였으며, 3차년도와 4차년도에 backcross를 진행하였다.

3차년도 1차 backcross 진행 후 BC1F1 상태에서 background selection mark를 이용하여 반복 친 계통과 유전적 상동성이 높은 개체를 선발하였고 4차년도 2차 backcross 진행하였다. BC2F1 상태에서 background selection mark를 이용하여 재차 상동성이 높은 개체를 선발하는 과정을 반복하였다.

라. 결과 및 고찰

○ 자가불화합성(SI) 인자형 분석

(1) 1차년도 자가불화합성 인자분석 결과

네오씨드에서 보유중인 120개의 계통을 국립원예특작과학원에 자가불화합성 인자형 분석을 의뢰하여 < 표 8 >과 같은 결과를 얻었다.

< 표 8 > 1차년도 자가불화합성 인자분석 결과(국립원예특작과학원)

네오씨드 무 자가불화합성 유전자형 분석							
primer : S1, S2, S4, S5, S7, S8, S11, S12, S18, S21, S22, S23, S24, S26(총 14개)							
DNA 번호	인자형	DNA 번호	인자형	DNA 번호	인자형	DNA번호	인자형
1	S8	31	S7	61	S8	91	S5
2		32	S7	62	S18,S21	92	
3	S8	33	S18	63	S8	93	
4	S24	34	S7	64	S8	94	
5		35		65		95	
6	S5	36	S8	66		96	S5
7		37		67	S8	97	
8		38	S18	68	S5,S8	98	S5
9		39		69	S5,S8	99	
10		40	S5	70		100	
11		41		71	S8	101	S12
12		42	S7	72		102	
13		43	S2	73		103	S5
14	S4	44	S2	74		104	S5
15	S4	45		75		105	S5
16	S1	46		76		106	
17	S1	47		77	S8	107	
18		48		78	S18	108	S5
19	S1	49	S7	79		109	S1
20	S5	50		80		110	
21	S5	51	S7	81		111	S5
22		52		82	S5	112	S1
23		53		83	S7	113	S5
24	S18	54		84	S5	114	
25	S18	55	S2	85		115	

26	S7, S18	56	S8	86		116	
27	S7, S18	57		87	S5	117	
28	S7	58		88		118	
29	S7	59		89		119	
30	S7	60	S21	90	S5	120	

- 인자분석을 실시한 결과 전체 120계통 중에서 60개 계통의 인자형이 확인되었다.
- 밝혀진 인자형 중에서 5개 계통에서 단일한 인자형이 아닌 복수의 인자형으로 확인되었다.

(2) 2차년도 자가불화합성 인자분석 결과

1차년도 국립원예특작과학원의 자가불화합성 인자형 분석결과 보유중인 PRIMER 가 많지 않고, 또한 모든 계통에 대한 인자형을 확인할 수 없어 보다 많은 PRIMER를 보유(31개)하고 있는 농업기술실용화 재단에 의뢰하여 반복시험을 실시하였고, 분석의뢰한 거의 모든 계통에서 자가불화합성 인자형을 확인할 수 있었고 결과는 < 표 9 >와 같다.

< 표 9 > 2차년도 자가불화합성 인자분석 결과(농업기술실용화 재단)

네오씨드 무 자가불화합성 인자형 분석							
DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE
1	S13	31	S1	61	S8	91	S5
2	S24	32	S1+8	62	S4	92	nII
3	S5	33	S21	63	S1+4+8	93	S1
4	S24	34	S8+18	64	S17	94	S1
5	S30	35	S1	65	S17	95	S5
6	S21+30	36	S5	66	S17	96	S5
7	S4	37	S15	67	S17+22	97	S5
8	S11+12	38	S5+12	68	S5	98	S5
9	4	39	S2	69	S5+8	99	S5
10	24	40	S2	70	S15	100	S13
11	4	41	nII	71	S21	101	S24
12	24	42	S5	72	S9	102	S5
13	S21+30	43	S24	73	nII	103	S1
14	S4	44	S24	74	S5	104	S24
15	S4	45	S12	75	S7+12	105	S4
16	S1	46	S8+24	76	S5	106	S1
17	S1	47	S1	77	S1+16	107	S5
18	S4	48	S1	78	S16	108	S4+5
19	S1	49	S1	79	S5	109	S2+30
20	S5	50	S29	80	S4	110	S8
21	S5	51	S2	81	S4	111	S5
22	S5+8	52	S8+30	82	S5	112	S24
23	S8	53	S1	83	S5	113	S21
24	S1	54	S1+29	84	S17	114	S24
25	S7+12	55	S24	85	S9+10	115	S21
26	S7+24	56	S21	86	S9+10+22	116	nII
27	S1	57	S8	87	S1	117	S24
28	S7+12	58	S5+8+15	88	S5+9	118	S13

29	S8+18	59	S8	89	S5	119	S22
30	S7+12	60	S8	90	S5	120	S8

- 위 분석시험에 사용된 재료들은 1차년도 분석 의뢰한 계통과 모두 동일한 계통이지만, 인자형 분석결과는 전혀 다른 결과를 보였다. 그리고 두가지 이상의 인자형을 보이는 계통이 22계통으로 1차년도보다 훨씬 많이 늘어났다.
- 위 분석시험에 사용된 재료들은 일부를 제외하고 대부분은 F6~7 세대 이상의 계통들로 대체로 형질이 고정되었다고 판단되는 재료를 사용하였다.
- SI TYPE이 두가지 또는 세가지의 TYPE으로 나타나는 것들은 아직 고정이 덜 된 것인지 아니면 지금까지 밝혀지지 않은 새로운 TYPE 인지 알수 없지만 실제로 두가지 TYPE으로 나타나는 계통들 중 자식 임성이 매우 안정적인 계통, 즉 자가불화합성이 높은 계통이 많아 새로운 TYPE일 가능성을 완전 배제할 수는 없다.

(3) 3차년도 자가불화합성 인자분석 결과

농업기술실용화 재단에 의뢰하여 현재 육성 중인 72계통의 SI 인자형을 분석하였다. 일부 계통은 2차년도에 두가지 또는 세가지 인자형으로 나타나는 계통을 재분석 하였고, 나머지 대부분의 계통은 5-6세대의 계통으로 형질이 거의 고정 단계에 와있는 계통들이다. 대체로 2차년도 인자분석결과보다 두가지 또는 세가지 인자형으로 나오는 비율은 많이 줄어들었다. 인자분석 결과는 < 표 10 >과 같다.

< 표 10 > 3차년도 자가불화합성 인자분석 결과(농업기술실용화 재단)

네오씨드 무 자가불화합성 인자형 분석							
DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE
1	S24	19	S24	37	S21	55	S21
2	S24	20	S24	38	S5+2+30	56	S21
3	S4	21	S2	39	S18	57	S21+30+1
4	S4	22	S24	40	S21	58	S24
5	S4	23	S24	41	S2	59	S24
6	S21	24	S24	42	S21	60	S21
7	S21	25	S24	43	S21	61	S8
8	S24	26	S21	44	S21	62	S24
9	S4	27	S21	45	S21	63	S24
10	S4	28	S21	46	S21	64	S8
11	S4	29	S21+18	47	S21	65	S17
12	S4	30	S5	48	S21	66	S16
13	S4	31	S5	49	S21	67	S16
14	S4	32	S9	50	S21	68	S21
15	S17	33	S30	51	S21	69	S21
16	S24	34	S5+30	52	S21	70	S4
17	S24	35	S24	53	S21	71	S8
18	S24	36	S24	54	S21	72	S18

- DNA 번호 1, 2 는 2차년도에 고정된 MS계통과 그 유지친으로 S24와 S30으로 인자형이 분석되었으나 3차년도 재검정 결과 S24로 최종 결정되었고, DNA 번호 9, 10 또한 고정된 MS계통과 그 유지친으로 2차년도에 S4와 S13으로 인자형이 분석되었으나 재검정 결과 S4로 최종 결정되었고 DNA 번호 52, 53은 2차년도에 인자형이 없는 것으로 나왔으나 3차년도 재검정 결과 S21로 판명되었고, DNA 번호 71, 72는 각각S1+8과 S8+18로 두 가지 인자형이 동시에 나왔으나 3차년도 재검정결과 S8과 S18로 최종 결정되었다.
- DNA 번호 29, 34, 38, 57 은 SI TYPE이 두가지 또는 세가지의 TYPE으로 나타나는 계통으로 아직 고정이 되지 않은 계통인지 새로운 TYPE의 인자형인지 알 수 없으나 4차년도 재검정하여 인자형을 확정할 필요가 있다.
- 2년차, 3년차 SI 인자 분석 결과, 분석할 때 마다 약간의 오차가 발생할 수도 있음을 알게 되었고 인자형을 명확히 하기 위해서는 몇 번의 반복 분석 후 최종적으로 인자형을 결정하는 것이 중요하다고 생각되었다.

나. backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발

(1) 2차년도 교배조합 작성

2차년도에 농업기술실용화재단의 SI 인자형 분석 결과를 바탕으로 인자형이 서로 다른 10개의 F1 조합을 작성하였고 그 중 교배불화합성인 2개 조합을 제외하고 교배화합성이 좋은 8개 조합을 교배모본으로 정식하였다. 2차년도에 교배모본으로 선발된 교배화합성 F1 조합의 자가불화합성 인자형은 다음과 같다. S30xS13, S13xS30, S21+30xS13, S1xS7+12, S1xS5, S5xS1, S1+8xS8+18, S8+18xS1+8

(2) 3차년도 backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발

3차년도 backcross를 진행하기 전 교배모본으로 선발된 8개 F1조합의 양친에 대해 SI 인자형 재검정을 실시하여 인자형 보정 작업을 거친 후에 backcross를 진행하였다.(표 10과 결과분석 참조) SI 인자형 재보정 결과 S30은 S24로 보정, S13은 S4로 보정, S1+8은 S8로 보정, S8+18은 S18로 각각 보정되었다. 8개의 F1 조합 중 인자형이 S21+30xS13 인 1개 조합은 모본의 고사로 인해 backcross를 진행하지 못하여 최종적으로 7개의 조합을 backcross 완료하였다. 따라서 보정된 인자형 결과와 7개의 BC1F1계통은 S24xS4, S4xS24, S1xS7+12, S8xS18, S18xS8, S5xS1, S1xS5 이다. BC1F1 세대에서 backcross 계통 7개와 MS 유기중인 S5xS8 계통 등 총 8개 계통의 종자를 확보하였다. 확보된 종자를 트레이에 파종하여 Background selection marker와 SI 마커를 이용하여 모본을 선발하였다.

분석에 사용된 마커 개수는 96개 SNP마커를 사용하였고 표본의 수는 48점을 분석하였다. 2개의 계통에서는 종자의 발아가 불량하여 표본수가 48점에 미치지 못하는 계통도 있었다. Background selection marker 분석 결과를 바탕으로 SI 인자분석 마커를 이용하여 자가불화합성 인자의 Homo 또는 Hetero 여부를 판정하였다. Background selection marker 분석 결과 유전적 상동성이 높은 개체와 SI 인자분석 결과 Heterozygous 인 개체를 모본으로 선발하여 4차년도에 backcross를 계속 진행하였다. 마커 분석 결과는 다음과 같다.

(가) S24 x S4의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL1	1	2	3	4	5	6
A		88	83	82	78	80
B	96	84	78	89	79	83
C	0	85	78	81	96	82
D	83	82	79	87	75	80
E	89	86	85	84	85	86
F	89	82	86	78	85	84
G	82	86	90	89	87	81
H	82	80	95	82	88	87

NL1	1	2	3	4	5	6
A	24	24	24	24	24	24
B	24	24	24	24	24	24
C	0	24	24	24	24	24
D	24	24	24	24	24	24
E	24	24	24	24	24	24
F	24	24	24	24	24	24
G	24	24	24	24	24	24
H	24	24	24	24	24	24

< 표 11 > 좌 - 상동성 분석

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과는 G3, H3 등이 90, 95개 마커에서 동일하게 나왔으나 SI 인자분석에서 모두 S24로 나와 선발된 개체가 없었다.

(나) S4 x S24의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL2	1	2	3	4	5	6
A		84	83	90	84	81
B	95	79	87	83	94	91
C	0	84	90	77	82	85
D	84	79	81	85	83	88
E	84	83	84	87	84	85
F	86	78	87	80	86	79
G	83	82	78	96	82	96
H	80	81	87	79	94	82

NL2	1	2	3	4	5	6
A	24	24	24	24	24	24
B	24	24	24	24	24	24
C	0	24	24	24	24	24
D	24	24	24	24	24	24
E	24	24	24	24	24	24
F	24	24	24	24	24	24
G	24	24	24	24	24	24
H	24	24	24	24	24	24

< 표 12 > 좌 - 상동성 분석

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과는 B5, G4, G6, H5 등이 94, 96개 마커에서 동일하게 나왔으나 SI 인자분석에서 모두 S24로 나와 선발된 개체가 없었다.
- 위 (가), (나)의 결과에서 자가불화합성 인자가 S24로 동일하게 나온 것은 최초 인자형 동정 단계에서 오류가 있었을 가능성이 높은 것으로 판단된다.

(다) S1 x S7+12의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL3	1	2	3	4	5	6
A		90	83	87	78	83
B	95	87	90	85	81	84
C	0	82	81	82	87	84
D	81	81	83	82	83	93
E	81	80	91	89	82	91
F	85	79	85	80	85	86
G	87	88	82	83	83	87
H	77	92	87	85	87	76

<표 13> 좌 - 상동성 분석

NL3	1	2	3	4	5	6
A	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
B	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
C	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
D	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
E	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
F	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
G	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
H	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과는 D6, H2 등이 92, 93개 마커에서 동일하게 나왔으나 SI 인자분석에서 모두 판정불가로 나와 선발된 개체는 없었다. 이 계통은 재파종하여 SI 인자분석만 재검정하여 Hetero 형인 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(라) S8 x S18의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL4	1	2	3	4	5	6
A		87	74	82	77	88
B	96	85	85	85	83	74
C	0	84	76	76	74	75
D	88	85	78	73	86	75
E	91	74	81	77	89	83
F	80	89	86	83	74	87
G	72	73	83	79	77	80
H	68	77	79	76	80	84

<표 14> 좌 - 상동성 분석

NL4	1	2	3	4	5	6
A	8	8	8	8	8	8
B	8	8+18	8+18	8+18	8	8
C		8	8	8	8	8+18
D	8	8	8+18	8+18	8	8+18
E	8	8+18	8	8	8	8+18
F	8+18	8	8+18	8	8+18	8
G	8+18	8+18	8+18	8+18	8	8
H	8+18	8+18	8+18	8	8+18	8

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 B2, B3, B4, F3 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(마) S18 x S8의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL5	1	2	3	4	5	6
A		83	87	X	X	X
B	96	86	80	X	X	X
C	0	79	83	X	X	X
D	75	70	74	X	X	X
E	75	81	78	X	X	X
F	66	84	78	X	X	X
G	78	77	73	X	X	X
H	86	76	79	X	X	X

<표 15> 좌 - 상동성 분석

NL5	1	2	3	4	5	6
A	18	18+8	18+8	X	X	X
B	18	18	18+8	X	X	X
C		18+8	18	X	X	X
D	18	18+8	18	X	X	X
E	18	18	18	X	X	X
F	18	18	18+8	X	X	X
G	18+8	18+8	18+8	X	X	X
H	18	18+8	18+8	X	X	X

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 A2, A3, B3 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.
- S18 x S8 계통은 backcross 단계에서 불화합성이 나타나기 시작했고 종자량도 많지 않았다.

(바) S5 x S8의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL6	1	2	3	4	5	6
A		73	75	65	69	X
B	95	74	86	82	79	X
C	0	89	85	74	74	X
D	69	79	77	81	76	X
E	75	75	76	74	68	X
F	80	78	84	73	X	X
G	78	79	84	79	X	X
H	76	81	73	68	X	X

<표 16> 좌 - 상동성 분석

NL6	1	2	3	4	5	6
A	5	5	8	8	8	X
B	5		5		5	X
C		5	5		5+8	X
D	5+8	5+8	5		5+8	X
E		5	8	8	5	X
F	5	8	5+8	5	X	X
G	5+8				X	X
H	5+8	5		5	X	X

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 D2, F3 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.
- S5 x S8 계통 또한 backcross 단계에서 불화합성이 나타나기 시작했고 종자량도 많지 않았다.

(사) S5 x S1의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL7	1	2	3	4	5	6
A		84	88	82	87	89
B	95	78	84	79	77	93
C	0	80	89	85	77	79
D	73	77	86	87	82	85
E	82	89	80	91	84	84
F	82	83	80	84	85	79
G	86	84	87	88	85	82
H	82	78	80	85	87	84

<표 17> 좌 - 상동성 분석

NL7	1	2	3	4	5	6
A	5	5	5+1	5+1	5	5
B	5	5+1	5+1	5	5	5
C		5+1	5	5+1	5	5+1
D	5	5+1	5+1	5	5+1	5+1
E	5+1	5+1	5+1	5	5+1	5
F	5+1	5+1	5	5	5	5
G	5	5+1	5	5	5+1	5+1
H	5	5	5	5	5	5

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 A3, E2, C4, D6 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(아) S1 x S5의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL8	1	2	3	4	5	6
A		82	87	85	82	82
B	96	82	82	83	80	80
C	0	88	88	84	86	77
D	80	85	43	80	83	79
E	83	79	80	79	72	77
F	81	77	85	80	82	84
G	78	86	85	84	83	79
H	96	82	82	85	77	85

<표 18> 좌 - 상동성 분석

NL8	1	2	3	4	5	6
A	1	1+5	1	1	1+5	1+5
B	1	1	1+5	1+5	1+5	1+5
C		1 5	1+5	1+5	1	1+5
D	1	1	1	1+5	1+5	1+5
E	1	1	1+5	1+5	1	1+5
F	1+5	1	1+5	1+5	1+5	1+5
G	1+5	1	1+5	1+5	1+5	1+5
H	1	1+5	1+5	5	1	1+5

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 C2, C3개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

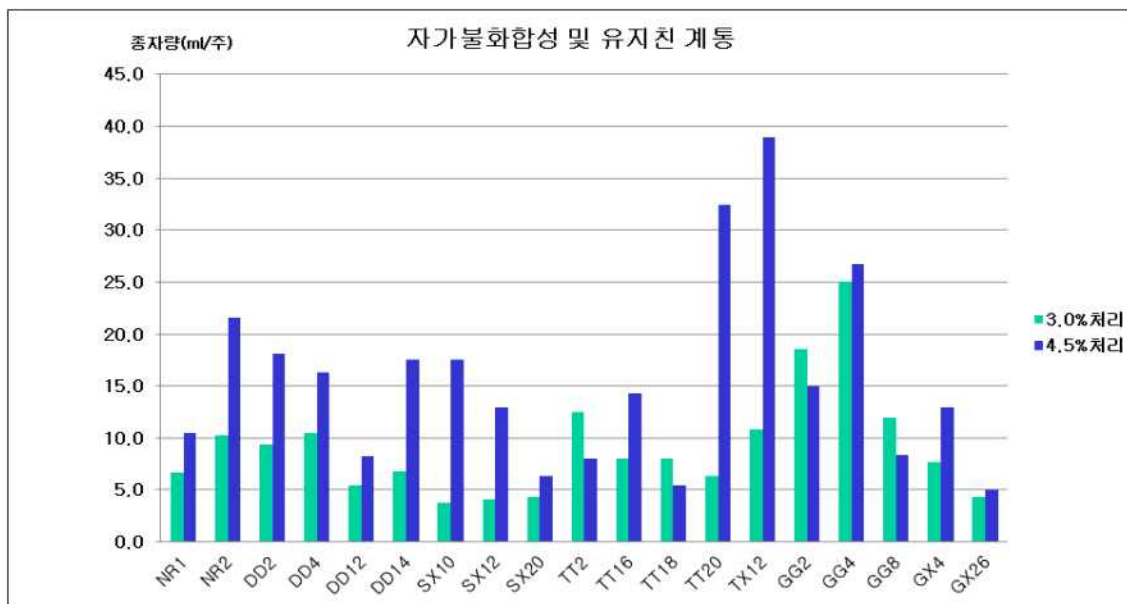
< 표 4 > CO2 가스 3% / 4.5% 처리 시 원종 생산량 비교

NO	BN	종자량(ml/주)		NO	BN	종자량(ml/주)	
		3.0%	4.5%			3.0%	4.5%
1	NR1	6.7	10.5	11	TT15	3.1	10.0
2	NR2	10.3	21.6		TT16	8.0	14.3
3	DD1	2.1	12.0	12	TT17	3.1	2.5
	DD2	9.4	18.1		TT18	8.0	5.5
4	DD3	2.5	2.8	13	TT19	2.2	7.0

	DD4	10.5	16.3		TT20	6.3	32.5
5	DD11	2.6	3.2	14	TX11	10.3	22.0
	DD12	5.5	8.3		TX12	10.8	39.0
6	DD13	2.1	6.5	15	GG1	3.6	6.4
	DD14	6.8	17.5		GG2	18.6	15.0
7	SX9	0.4	2.0	16	GG3	8.5	13.0
	SX10	3.8	17.5		GG4	25.0	26.7
8	SX11	0.1	0.3	17	GG7	5.0	5.3
	SX12	4.1	13.0		GG8	12.0	8.4
9	SX19	2.2	1.9	18	GX3	0.7	2.5
	SX20	4.3	6.3		GX4	7.7	13.0
10	TT1	2.2	2.0	19	GX25	0.3	1.8
	TT2	12.5	8.0		GX26	4.3	5.0

* NO 1, 2 자가불화합계통 ** NO 3 이하 BN 홀수번호는 MS계통, 짝수번호는 유지친

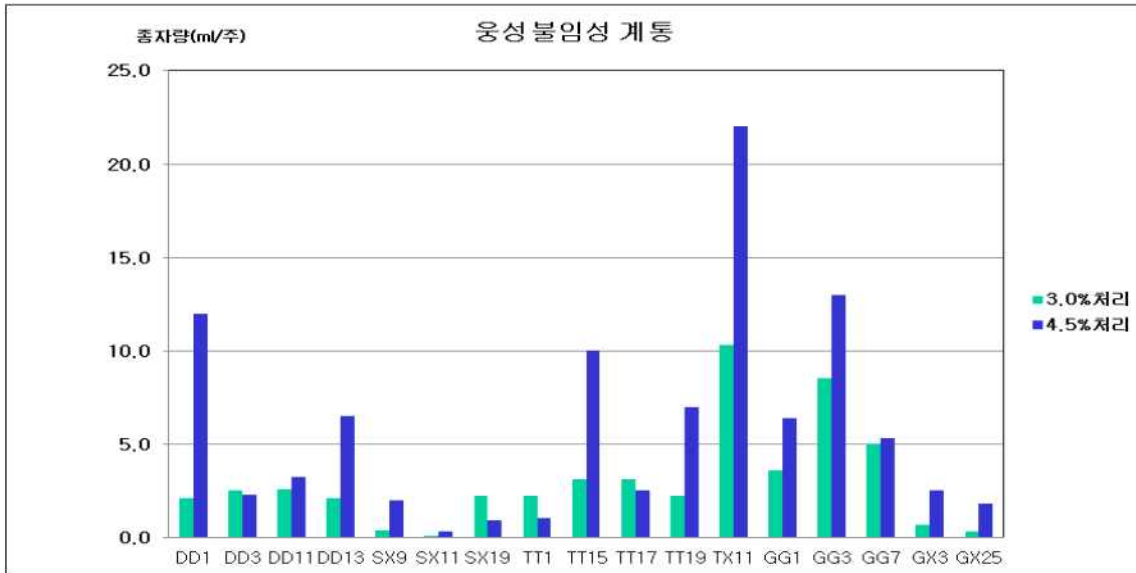
(1) 응성불임 유지 계통



< 그림 12 > 자가불화합성 및 응성불임 유지 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

자가불화합성 및 응성불임 유지친 19계통은 CO2 처리농도를 4.5%로 높여서 처리하였을 때, 3%로 처리하였을 때보다 많은 계통에서 수량 증가를 확인하였다. 전체 19계통 중 TT2, TT18, GG2, GG8 은 원종 생산량이 다소 감소하였지만, 나머지 15계통은 50-300%까지 수량이 증가하였다. 수량이 증가한 15계통 중 12계통은 주당 종자량(ml/주)이 10ml/주 이상으로 원종으로서 충분한 수량 확보가 가능하였다.(표 4, 그림 12)

(2) 응성불임성 계통



< 그림 13 > 용성불임성 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

용성불임성 계통 또한 CO2 처리농도를 4.5%로 높여서 처리하였을 때, 3%로 처리하였을 때보다 많은 계통에서 수량 증가를 확인하였다. 전체 17계통 중에서 DD3, SX19, TT1, TT17 등 4계통은 수량이 감소하였지만, 나머지 13계통에서 수량이 증가하였다. 수량이 증가한 13계통 중에서 DD1, DD13, TT15, TT19, TX11, GG1, GG3 등 7계통은 200-300% 정도 수량이 증가하였고, 주당 종자량(ml/주)이 5ml/주 이상으로 원종으로서 최소한의 수량도 확보가 가능하였다. 수량이 증가한 13계통 중에서 DD11, SX9, SX11, GG7, GX3, GX25 등 6계통은 수량이 증가하였으나 수량 증가가 미미하거나 원종으로서 최소 수량 확보에는 미치지 못하였다.(표 4, 그림 13)

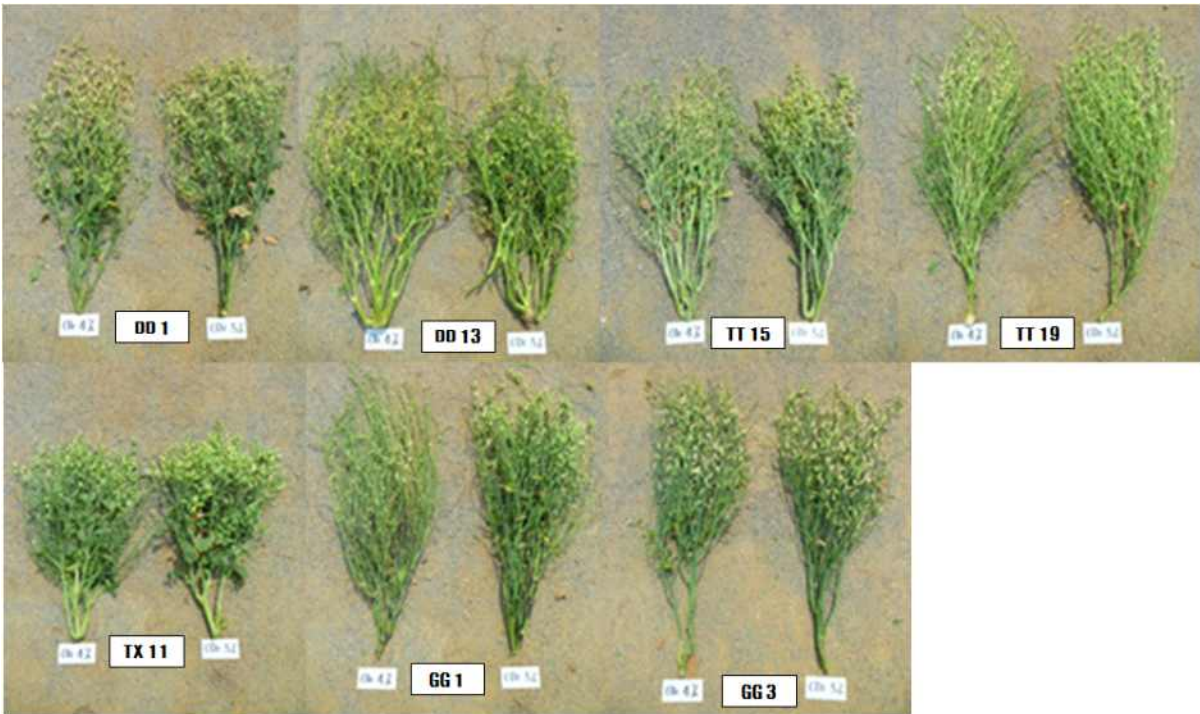
다. CO2 가스 농도 4% 및 5% 처리 시험

본 시험에서는 CO2 가스 농도 4.5% 처리 시험에서 주당 종자량(ml/주)이 5ml/주 이상으로 원종으로서 최소한의 수량 확보가 가능하였던 7계통에 대하여 적정 CO2 가스 처리 농도를 구명하기 위하여 CO2 가스 농도 4%와 5%로 처리하여 각각의 원종 생산량을 조사하였고 시험성적은 <표 5>과 같다.

< 표 5 > CO2 가스 4%, 5% 처리 시 원종 생산량 비교

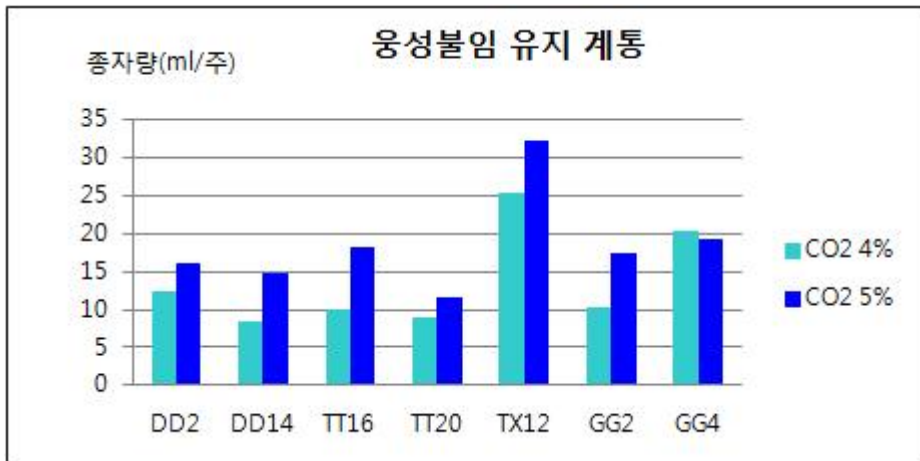
NO	BN	종자량(ml/주)		NO	BN	종자량(ml/주)	
		CO2 4%	CO2 5%			CO2 4%	CO2 5%
1	DD1	10.2	12.8	5	TX11	10.8	17.4
	DD2	12.5	16.1		TX12	25.3	32.3
2	DD13	4.0	5.3	6	GG1	2.3	8.3
	DD14	8.3	14.7		GG2	10.2	17.5
3	TT15	5.5	11.3	7	GG3	9.2	10.8
	TT16	10.1	18.2		GG4	20.4	19.3
4	TT19	3.6	5.4				
	TT20	8.9	11.6				

* NO 1 이하 BN 홀수번호는 MS계통, 짝수번호는 유지진



<그림 14 > CO2 처리 농도 4% / 5%에서 MS 계통 결핍 상태(* 왼쪽 CO2 4% 처리, 오른쪽 5% 처리)

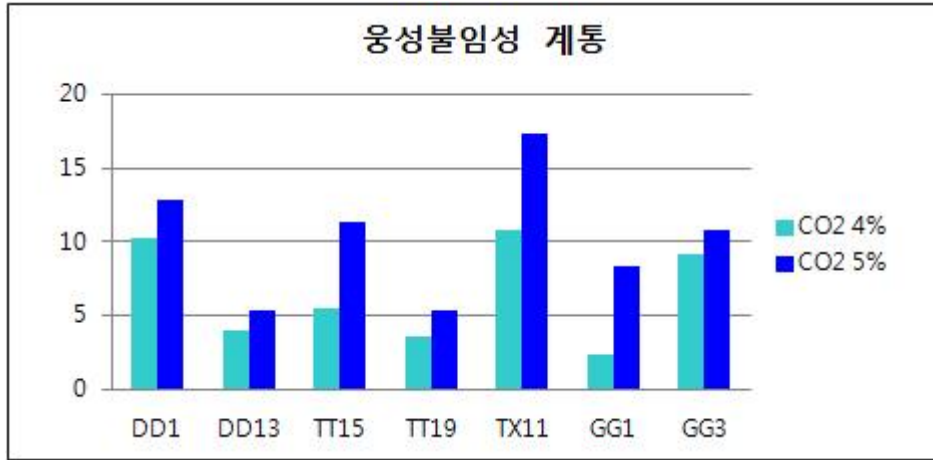
(1) 응성불임성 유지 계통



< 그림 15 > 응성불임 유지친 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

CO2 가스 농도 4% 처리와 5% 처리를 비교했을 때 응성불임 유지(자가불화합) 계통은 전체 7계통 중에서 GG4를 제외한 6계통에서 5%로 처리했을 때 원종 생산량이 더 많았다. (표 5, 그림 15)

(2) 응성불임성 계통



< 그림 16 > 웅성불임성 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

CO2 가스 농도 4% 처리와 5% 처리를 비교했을 때 웅성불임성 계통은 모든 계통에서 5%로 처리했을 때 원종 생산량이 더 많았다. 웅성불임성 계통을 CO2 농도 4%로 처리하면 DD1, TX11 등 2계통에서 충분한 수량 확보가 가능했다. CO2 농도 5%로 처리하면 모든 계통에서 최소수량 확보가 가능하고 DD1, TT15, TX11, GG3 등 4계통에서 충분한 수량 확보가 가능했다.(표 5, 그림 16)

라. CO2 가스 농도 3%, 4%, 4.5% 및 5% 처리 시험 결과 분석

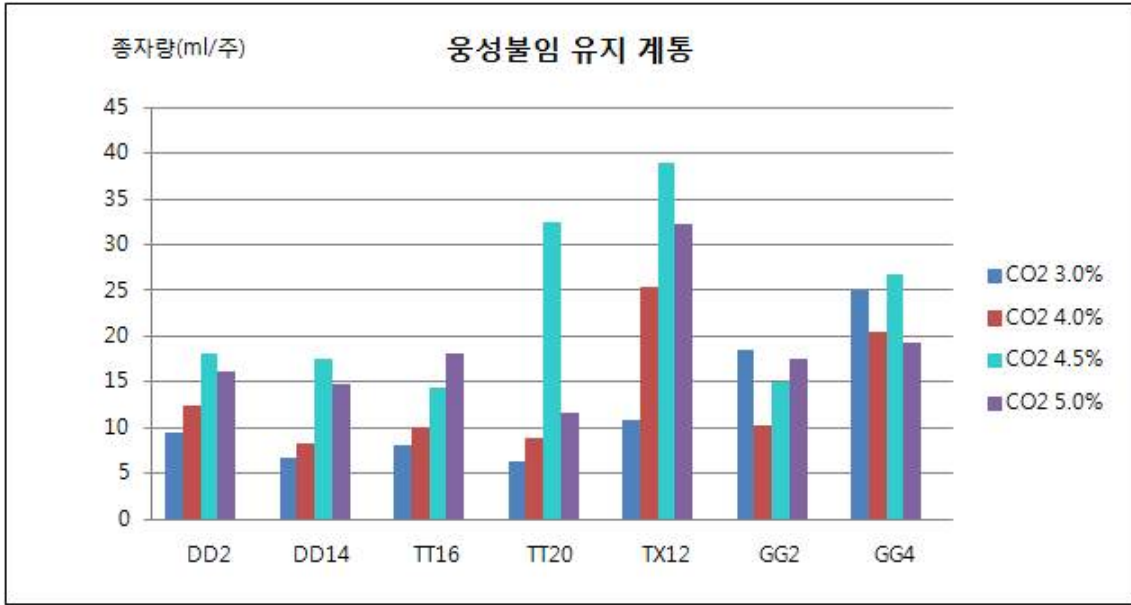
현재까지의 시험 결과를 바탕으로 CO2 가스 처리 농도별 원종 생산량을 비교하면< 표 6 >와 같다.

< 표 6 > CO2 가스 3%, 4.5%, 4%, .5% 처리 시 원종 생산량 비교

NO	BN	종자량(ml/주)			
		CO2 3.0%	CO2 4.0%	CO2 4.5%	CO2 5.0%
1	DD1	2.1	10.2	12.0	12.8
	DD2	9.4	12.5	18.1	16.1
2	DD13	2.1	4.0	6.5	5.3
	DD14	6.8	8.3	17.5	14.7
3	TT15	3.1	5.5	10.0	11.3
	TT16	8.0	10.1	14.3	18.2
4	TT19	2.2	3.6	7.0	5.4
	TT20	6.3	8.9	32.5	11.6
5	TX11	10.3	10.8	22.0	17.4
	TX12	10.8	25.3	39.0	32.3
6	GG1	3.6	2.3	6.4	8.3
	GG2	18.6	10.2	15.0	17.5
7	GG3	8.5	9.2	13.0	10.8
	GG4	25.0	20.4	26.7	19.3

* NO 1 이하 BN 홀수번호는 MS계통, 짝수번호는 유지친

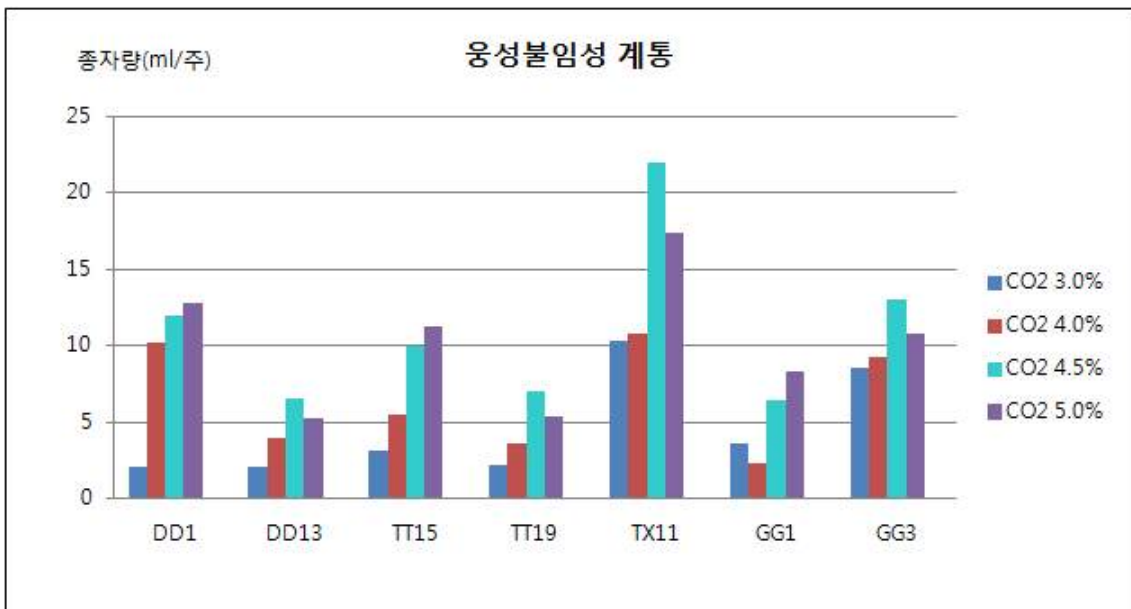
(1) 응성불임성 유지 계통



< 그림 17 > 응성불임 유지 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

응성불임성 유지 계통은 전체 7계통 중 GG2, GG4 2계통을 제외한 5계통에서 CO2 가스 농도 3%, 4%, 4.5% 처리 구간에서 처리 농도가 높을수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다. GG2와 GG4는 일정한 경향성은 보이지 않고 각각 3%와 4.5%에서 제일 높은 값을 나타내었다. (표 6, 그림 17)

(2) 응성불임성 계통



< 그림 18 > 응성불임성 계통의 CO2 처리 농도별 종자량

응성불임성 계통은 7계통 중 GG 1 1계통을 제외한 6계통에서 CO2 가스 농도 3%, 4%, 4.5% 처

리 구간에서 처리 농도가 높을수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다. CO2 가스 농도 4.5%와 5% 처리구간에서는 DD13, TT19, TX11, GG3 등 4계통은 CO2 농도 4.5%에서 원종 생산량이 더 많았고, DD1, TT15, GG1 등 3계통은 CO2 농도 5%에서 생산량이 더 많았다. (표 6, 그림 18)

마. 파종 시기별 원종 생산량 비교

현재까지의 시험결과를 바탕으로 웅성불임계통의 원활한 원종 증식을 위한 적정 CO2처리 농도는 4.5% 였다. 본 시험에서는 웅성불임성 계통 중 만추대 계통인 DD 1과 조추대 계통인 GG 1을 이용하여 파종시기를 달리하였을 때 원종 생산량을 비교하였다. 파종시기는 만추대 계통은 이른파종은 10월 20일 에, 관행파종(늦은파종으로 표기)은 11월 14일 파종하였고, 조추대 계통은 관행파종(이른파종으로 표기)은 1월 5일에, 늦은파종은 1월 30일에 파종하여 비교하였고 시험성적은 < 표 7 >과 같다.

< 표 7 > 파종 시기별 무 원종 생산량 비교

구분	BN	종자량(ml/주)		
		CO24.5% (2014년)	CO24.5% (이른파종)	CO24.5% (늦은파종)
만추대계통	DD1	12	10.7	8.5
조추대계통	GG1	6.4	9.6	11.5



< 그림 19 > 만추대 계통 결협 상태 좌: 이른파종, 중: 늦은파종 우: 비교



< 그림 20 > 조추대 계통 결협 상태 좌: 이른파종, 중: 늦은파종 우: 비교

만추대 계통은 일반적인 파종시기보다 일찍 파종한 시험구에서 원종생산량이 더 많았고(표7, 그림

19), 조추대 계통은 일반적인 파종시기보다 늦게 파종한 시험구에서 원종생산량이 더 많았다.(표7, 그림 20)

바. 결론

1년차부터 4년차까지 다양한 CO₂ 처리 농도별 시험을 수행하면서 무의 응성불임성 계통의 원활한 원종 증식을 위한 적정 CO₂ 처리 농도를 구명하고자 하였다. 시험에는 자가불화합성 2계통과 응성불임성 20계통, 유지친 20계통이 사용되었으며 시험의 최종 결과는 다음과 같다.

- 자가불화합성 계통 및 유지친 계통은 CO₂ 처리 농도 3% 에서도 최소한의 원종 생산량 확보가 가능하였고, CO₂ 농도가 높아질수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다.
- 응성불임성 계통은 20계통 중 2계통은 CO₂ 처리 농도 3% 에서도 충분한 원종 생산량 확보가 가능하였다.
- 응성불임성 계통 중 CO₂ 가스 농도 변화에 유의미한 원종 생산량 증가를 보인 계통은 DD 1, DD 13, TT 15, TT 19, TX 11, GG 1, GG 3 등 7계통으로, CO₂ 처리 농도 3%, 4%, 4.5% 구간에서 농도가 높을수록 원종 생산량도 증가하는 경향을 보였다.
- CO₂ 처리 농도 4.5%, 5% 구간에서는 7계통 모두 주당 원종 생산량이 5ml/주 이상으로 원종으로서 최소 수량 확보가 가능하였으나, 계통에 따라 다른 결과를 보였다.
- DD 13, TT 19, TX 11, GG 3 등 4계통은 CO₂ 가스 농도 4.5%에서 원종생산량이 더 많았고 D 1, TT 15, GG 1 등 3계통은 CO₂ 가스 농도 5%에서 원종생산량이 더 많았다.
- 만추대 계통인 DD 1은 CO₂ 가스 농도 4.5%에서 관행보다 일찍 파종했을 때 원종생산량이 더 많았고, 조추대 계통인 GG 1은 관행보다 늦게 파종했을 때 원종생산량이 더 많았다.
- 현재까지 시험결과를 종합하면 무 응성불임성 계통의 원활한 원종 생산을 위한 적정 CO₂ 가스 처리 농도는 원종생산량과 경제성 등을 고려하여 4.5%가 가장 적정한 농도로 판단되었다.

3. NIL(Near Isogenic Line)의 육성

가. 시험의 필요성 및 목적

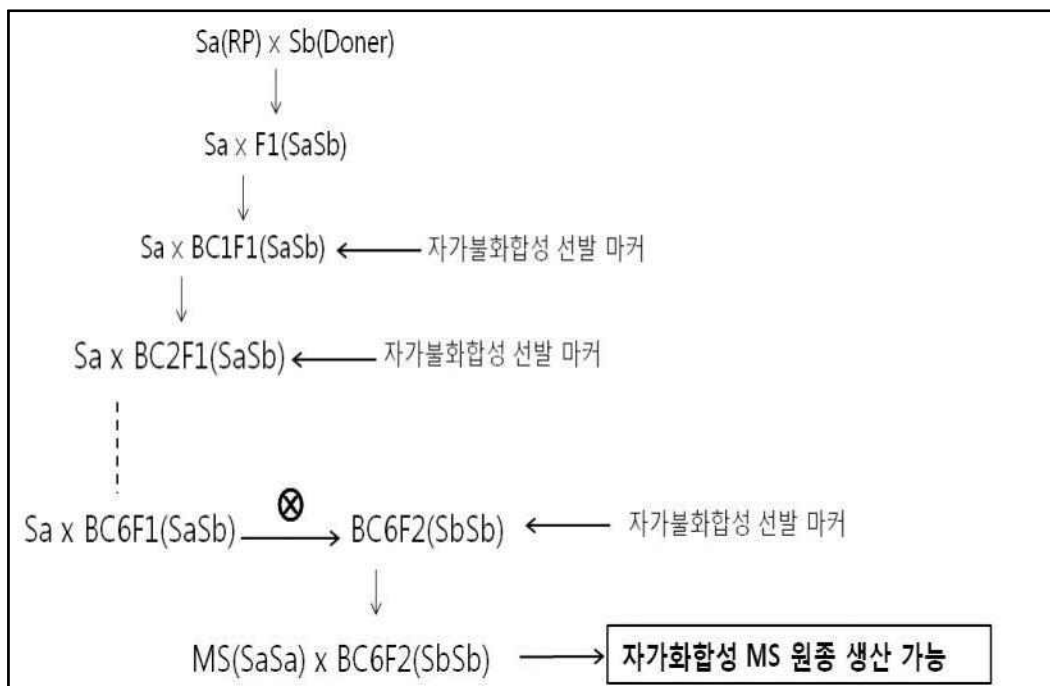
본 연구과제의 필요성에서 언급했듯이 최근 무 신품종의 많은 부분이 응성불임성을 이용한 채종이 늘고 있지만 응성불임성 계통은 자가불화합성 계통과 달리 관행의 CO₂ 처리 방법으로도 원종 증식이 어려운 문제가 있다. 원종 증식의 어려움을 해결하기 위해 관행의 CO₂ 처리 방법을 개선하는 방법과 개선된 CO₂ 처리 방법으로도 원종 증식이 불가능한 계통을 원종 증식하기 위해 NIL을 이용하여 자가화합성으로 만들어 주는 방법이 필요하다.

본 시험은 이미 고정된 응성불임 계통을 이용하여 유지친의 자가불화합성(SI) 인자를 핵치환하여 응성불임 계통과 유지친이 자가화합성이 되도록 유지친을 NIL로 만드는데 목적이 있다.

나. NIL 육성 방법

- 일반적인 NIL 육성 방법(여교잡 육종법)

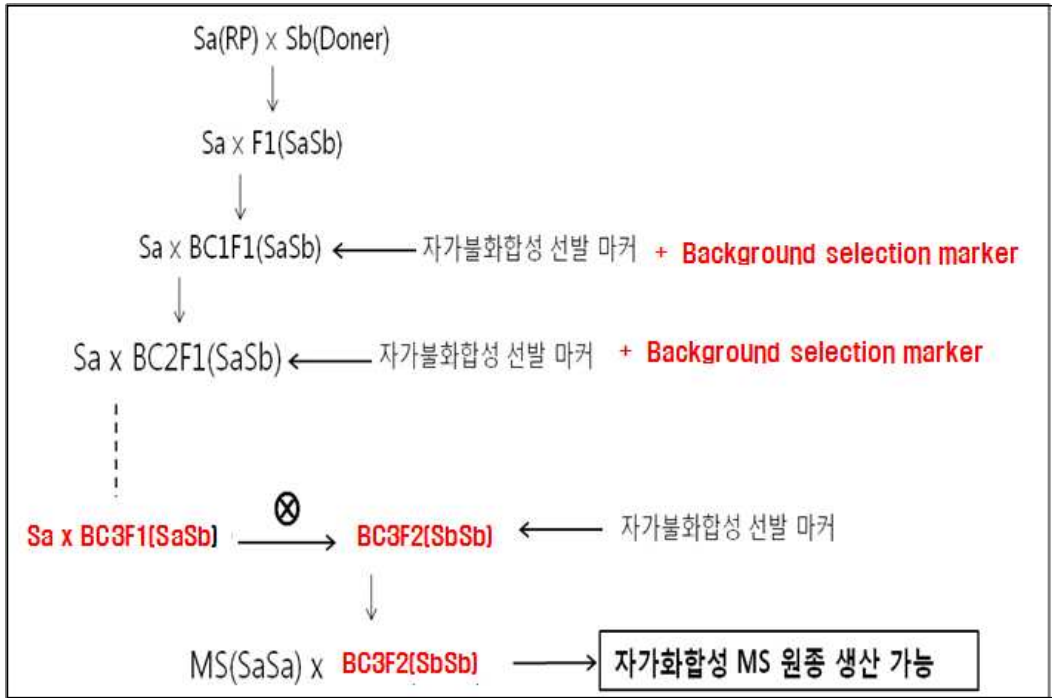
- CO2가스 처리로 원종 증식이 어려운 MS계통과 그 유지친(반복친, RP)의 SI 인자형을 확인하고 그 유지친과 교배화합성이며 SI 인자형이 서로 다른 계통(1회친, Doner)을 교배하여 F1을 만든다. 그런 다음 여교잡(back cross) 육종법에 따라 F1개체에 반복친을 교배(backcross)하기를 반복하여 계통을 육성한다.
- 각 세대별 모본 선발과정에 SI 인자 마커 이용하며 각 개체는 SI 인자형이 Heterozygous인 개체를 선발한다. 각 세대마다 선발된 개체에 반복친을 계속 backcross를 진행하여 BC6F1세대에서 모본을 선발하고 이를 자가수정하여 BC6F2 세대에서 SI 인자형이 Homozygous인 개체를 선발한다. 최종적으로 선발된 계통은 모든 형질은 반복친과 거의 같고 자가불화합성 인자만 핵치환된 계통(NIL)으로 웅성불임 계통과는 자가화합성이 되어 원종 증식이 가능한 계통이다.



< 그림 21 > 일반적인 NIL 육성 기본 모식도

○ Background selection 시스템 구축

- 2015년 12월 농업기술실용화재단에서 background selection system 이 구축됨에 따라 무의 여교배 육종 기간을 획기적으로 단축시킬 수 있게 되었다. 관행의 방법으로 6-7회의 backcross를 진행해야 했다면 이제는 2-3회만으로 고정된 NIL을 획득할 수 있을 것으로 기대된다.
- 이는 마이크로플루이딕 칩이 개발로 한번에 대량의 DNA를 분석할 수 있게 되었으며 또한 분자육종 기술의 발전으로 다양한 SNP 마커(Background selection marker)가 개발되어 가능해졌다.
- 각 세대의 선발단계(BCnF1)에서 Background selection marker를 이용하여 반복친과 유전적으로 유사성이 가장 높은 개체를 선발하여 여기에 SI 인자형 마커를 이용하여 SI 인자형이 Homozygous인 개체를 선발한다. 이를 2-3회 반복하면 관행의 6-7회 backcross 와 동일한 결과를 얻을 수 있다.



<그림 22 > Background selection marker를 이용한 NIL 육성 모식도



< 그림 23 > 플루다임사의 마이크로플루이드 칩

다. 연구수행 내용 및 방법

본 시험은 웅성불임 계통과 그 유지친의 SI 인자를 핵치환하여 자가화합성인 NIL로 만들기 위해 1차년도부터 4차년도까지 네오씨드 연구 농장에서 다음과 같은 순서와 방법으로 수행되었다.

○ 자가불화합성(SI) 인자형 분석 (1차년도~3차년도)

우선 NIL을 만들기 위해 국립원예특작과학원과 농업기술실용화 재단에 의뢰하여 보유중인 계통의 SI 인자형을 분석하였다. 본 시험을 수행하기 위하여 네오씨드에서 육성 중인 6세대 이상 세대진전을 한 웅성불임 계통 및 자가불화합성 계통 등 120계통을 공시재료로 사용하였다. 시험에 사용된 각각의 재료는 1차년도에 육성 모본으로 선발된 개체의 신초에서 DNA를 추출하여 국립원예특작과학원에 자가불화합성 인자분석을 의뢰하였다. 2차년도에는 보다 많은 PRIMER를 보유하고 있는 농업기술실용

화재단에 반복시험을 의뢰하였다. 3차년도에는 1차 backcross 진행 전 선발된 F1조합과 신규 계통에 대하여 재검정 작업을 실시하여 인자형 최종 보정 작업을 실시하였다.

나. backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발 (2차년도~4차년도)

2차년도에 가.의 SI 인자형 분석 결과를 바탕으로 인자형이 서로 다른 10개의 F1 조합을 작성하였고 그 중 교배화합성이 좋은 8개 조합을 교배모본으로 정식하였으며, 3차년도와 4차년도에 backcross를 진행하였다.

3차년도 1차 backcross 진행 후 BC1F1 상태에서 background selection mark를 이용하여 반복 친 계통과 유전적 상동성이 높은 개체를 선발하였고 4차년도 2차 backcross 진행하였다. BC2F1 상태에서 background selection mark를 이용하여 재차 상동성이 높은 개체를 선발하는 과정을 반복하였다.

라. 결과 및 고찰

○ 자가불화합성(SI) 인자형 분석

(1) 1차년도 자가불화합성 인자분석 결과

네오씨드에서 보유중인 120개의 계통을 국립원예특작과학원에 자가불화합성 인자형 분석을 의뢰하여 < 표 8 >과 같은 결과를 얻었다.

< 표 8 > 1차년도 자가불화합성 인자분석 결과(국립원예특작과학원)

네오씨드 무 자가불화합성 유전자형 분석							
primer : S1, S2, S4, S5, S7, S8, S11, S12, S18, S21, S22, S23, S24, S26(총 14개)							
DNA 번호	인자형	DNA 번호	인자형	DNA 번호	인자형	DNA번호	인자형
1	S8	31	S7	61	S8	91	S5
2		32	S7	62	S18,S21	92	
3	S8	33	S18	63	S8	93	
4	S24	34	S7	64	S8	94	
5		35		65		95	
6	S5	36	S8	66		96	S5
7		37		67	S8	97	
8		38	S18	68	S5,S8	98	S5
9		39		69	S5,S8	99	
10		40	S5	70		100	
11		41		71	S8	101	S12
12		42	S7	72		102	
13		43	S2	73		103	S5
14	S4	44	S2	74		104	S5
15	S4	45		75		105	S5
16	S1	46		76		106	
17	S1	47		77	S8	107	
18		48		78	S18	108	S5
19	S1	49	S7	79		109	S1
20	S5	50		80		110	
21	S5	51	S7	81		111	S5
22		52		82	S5	112	S1
23		53		83	S7	113	S5
24	S18	54		84	S5	114	
25	S18	55	S2	85		115	

26	S7, S18	56	S8	86		116	
27	S7, S18	57		87	S5	117	
28	S7	58		88		118	
29	S7	59		89		119	
30	S7	60	S21	90	S5	120	

- 인자분석을 실시한 결과 전체 120계통 중에서 60개 계통의 인자형이 확인되었다.
- 밝혀진 인자형 중에서 5개 계통에서 단일한 인자형이 아닌 복수의 인자형으로 확인되었다.

(2) 2차년도 자가불화합성 인자분석 결과

1차년도 국립원예특작과학원의 자가불화합성 인자형 분석결과 보유중인 PRIMER 가 많지 않고, 또한 모든 계통에 대한 인자형을 확인할 수 없어 보다 많은 PRIMER를 보유(31개)하고 있는 농업기술실용화 재단에 의뢰하여 반복시험을 실시하였고, 분석의뢰한 거의 모든 계통에서 자가불화합성 인자형을 확인할 수 있었고 결과는 < 표 9 >와 같다.

< 표 9 > 2차년도 자가불화합성 인자분석 결과(농업기술실용화 재단)

네오씨드 무 자가불화합성 인자형 분석							
DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE
1	S13	31	S1	61	S8	91	S5
2	S24	32	S1+8	62	S4	92	nII
3	S5	33	S21	63	S1+4+8	93	S1
4	S24	34	S8+18	64	S17	94	S1
5	S30	35	S1	65	S17	95	S5
6	S21+30	36	S5	66	S17	96	S5
7	S4	37	S15	67	S17+22	97	S5
8	S11+12	38	S5+12	68	S5	98	S5
9	4	39	S2	69	S5+8	99	S5
10	24	40	S2	70	S15	100	S13
11	4	41	nII	71	S21	101	S24
12	24	42	S5	72	S9	102	S5
13	S21+30	43	S24	73	nII	103	S1
14	S4	44	S24	74	S5	104	S24
15	S4	45	S12	75	S7+12	105	S4
16	S1	46	S8+24	76	S5	106	S1
17	S1	47	S1	77	S1+16	107	S5
18	S4	48	S1	78	S16	108	S4+5
19	S1	49	S1	79	S5	109	S2+30
20	S5	50	S29	80	S4	110	S8
21	S5	51	S2	81	S4	111	S5
22	S5+8	52	S8+30	82	S5	112	S24
23	S8	53	S1	83	S5	113	S21
24	S1	54	S1+29	84	S17	114	S24
25	S7+12	55	S24	85	S9+10	115	S21
26	S7+24	56	S21	86	S9+10+22	116	nII
27	S1	57	S8	87	S1	117	S24
28	S7+12	58	S5+8+15	88	S5+9	118	S13

29	S8+18	59	S8	89	S5	119	S22
30	S7+12	60	S8	90	S5	120	S8

- 위 분석시험에 사용된 재료들은 1차년도 분석 의뢰한 계통과 모두 동일한 계통이지만, 인자형 분석결과는 전혀 다른 결과를 보였다. 그리고 두가지 이상의 인자형을 보이는 계통이 22계통으로 1차년도보다 훨씬 많이 늘어났다.
- 위 분석시험에 사용된 재료들은 일부를 제외하고 대부분은 F6~7 세대 이상의 계통들로 대체로 형질이 고정되었다고 판단되는 재료를 사용하였다.
- SI TYPE이 두가지 또는 세가지의 TYPE으로 나타나는 것들은 아직 고정이 덜 된 것인지 아니면 지금까지 밝혀지지 않은 새로운 TYPE 인지 알수 없지만 실제로 두가지 TYPE으로 나타나는 계통들 중 자식 임성이 매우 안정적인 계통, 즉 자가불화합성이 높은 계통이 많아 새로운 TYPE일 가능성을 완전 배제할 수는 없다.

(3) 3차년도 자가불화합성 인자분석 결과

농업기술실용화 재단에 의뢰하여 현재 육성 중인 72계통의 SI 인자형을 분석하였다. 일부 계통은 2차년도에 두가지 또는 세가지 인자형으로 나타나는 계통을 재분석 하였고, 나머지 대부분의 계통은 5-6세대의 계통으로 형질이 거의 고정 단계에 와있는 계통들이다. 대체로 2차년도 인자분석결과보다 두가지 또는 세가지 인자형으로 나오는 비율은 많이 줄어들었다. 인자분석 결과는 < 표 10 >과 같다.

< 표 10 > 3차년도 자가불화합성 인자분석 결과(농업기술실용화 재단)

네오씨드 무 자가불화합성 인자형 분석							
DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE	DNA 번호	SI TYPE
1	S24	19	S24	37	S21	55	S21
2	S24	20	S24	38	S5+2+30	56	S21
3	S4	21	S2	39	S18	57	S21+30+1
4	S4	22	S24	40	S21	58	S24
5	S4	23	S24	41	S2	59	S24
6	S21	24	S24	42	S21	60	S21
7	S21	25	S24	43	S21	61	S8
8	S24	26	S21	44	S21	62	S24
9	S4	27	S21	45	S21	63	S24
10	S4	28	S21	46	S21	64	S8
11	S4	29	S21+18	47	S21	65	S17
12	S4	30	S5	48	S21	66	S16
13	S4	31	S5	49	S21	67	S16
14	S4	32	S9	50	S21	68	S21
15	S17	33	S30	51	S21	69	S21
16	S24	34	S5+30	52	S21	70	S4
17	S24	35	S24	53	S21	71	S8
18	S24	36	S24	54	S21	72	S18

- DNA 번호 1, 2 는 2차년도에 고정된 MS계통과 그 유지친으로 S24와 S30으로 인자형이 분석되었으나 3차년도 재검정 결과 S24로 최종 결정되었고, DNA 번호 9, 10 또한 고정된 MS계통과 그 유지친으로 2차년도에 S4와 S13으로 인자형이 분석되었으나 재검정 결과 S4로 최종 결정되었고 DNA 번호 52, 53은 2차년도에 인자형이 없는 것으로 나왔으나 3차년도 재검정 결과 S21로 판명되었고, DNA 번호 71, 72는 각각S1+8과 S8+18로 두 가지 인자형이 동시에 나왔으나 3차년도 재검정결과 S8과 S18로 최종 결정되었다.
- DNA 번호 29, 34, 38, 57 은 SI TYPE이 두가지 또는 세가지의 TYPE으로 나타나는 계통으로 아직 고정이 되지 않은 계통인지 새로운 TYPE의 인자형인지 알 수 없으나 4차년도 재검정하여 인자형을 확정할 필요가 있다.
- 2년차, 3년차 SI 인자 분석 결과, 분석할 때 마다 약간의 오차가 발생할 수도 있음을 알게 되었고 인자형을 명확히 하기 위해서는 몇 번의 반복 분석 후 최종적으로 인자형을 결정하는 것이 중요하다고 생각되었다.

나. backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발

(1) 2차년도 교배조합 작성

2차년도에 농업기술실용화재단의 SI 인자형 분석 결과를 바탕으로 인자형이 서로 다른 10개의 F1 조합을 작성하였고 그 중 교배불화합성인 2개 조합을 제외하고 교배화합성이 좋은 8개 조합을 교배모본으로 정식하였다. 2차년도에 교배모본으로 선발된 교배화합성 F1 조합의 자가불화합성 인자형은 다음과 같다. S30xS13, S13xS30, S21+30xS13, S1xS7+12, S1xS5, S5xS1, S1+8xS8+18, S8+18xS1+8

(2) 3차년도 backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발

3차년도 backcross를 진행하기 전 교배모본으로 선발된 8개 F1조합의 양친에 대해 SI 인자형 재검정을 실시하여 인자형 보정 작업을 거친 후에 backcross를 진행하였다.(표 10과 결과분석 참조) SI 인자형 재보정 결과 S30은 S24로 보정, S13은 S4로 보정, S1+8은 S8로 보정, S8+18은 S18로 각각 보정되었다. 8개의 F1 조합 중 인자형이 S21+30xS13 인 1개 조합은 모본의 고사로 인해 backcross를 진행하지 못하여 최종적으로 7개의 조합을 backcross 완료하였다. 따라서 보정된 인자형 결과와 7개의 BC1F1계통은 S24xS4, S4xS24, S1xS7+12, S8xS18, S18xS8, S5xS1, S1xS5 이다. BC1F1 세대에서 backcross 계통 7개와 MS 유기중인 S5xS8 계통 등 총 8개 계통의 종자를 확보하였다. 확보된 종자를 트레이에 파종하여 Background selection marker와 SI 마커를 이용하여 모본을 선발하였다.

분석에 사용된 마커 개수는 96개 SNP마커를 사용하였고 표본의 수는 48점을 분석하였다. 2개의 계통에서는 종자의 발아가 불량하여 표본수가 48점에 미치지 못하는 계통도 있었다. Background selection marker 분석 결과를 바탕으로 SI 인자분석 마커를 이용하여 자가불화합성 인자의 Homo 또는 Hetero 여부를 판정하였다. Background selection marker 분석 결과 유전적 상동성이 높은 개체와 SI 인자분석 결과 Heterozygous 인 개체를 모본으로 선발하여 4차년도에 backcross를 계속 진행하였다. 마커 분석 결과는 다음과 같다.

(가) S24 x S4의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL1	1	2	3	4	5	6
A		88	83	82	78	80
B	96	84	78	89	79	83
C	0	85	78	81	96	82
D	83	82	79	87	75	80
E	89	86	85	84	85	86
F	89	82	86	78	85	84
G	82	86	90	89	87	81
H	82	80	95	82	88	87

< 표 11 > 좌 - 상동성 분석

NL1	1	2	3	4	5	6
A	24	24	24	24	24	24
B	24	24	24	24	24	24
C	0	24	24	24	24	24
D	24	24	24	24	24	24
E	24	24	24	24	24	24
F	24	24	24	24	24	24
G	24	24	24	24	24	24
H	24	24	24	24	24	24

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과는 G3, H3 등이 90, 95개 마커에서 동일하게 나왔으나 SI 인자분석에서 모두 S24로 나와 선발된 개체가 없었다.

(나) S4 x S24의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL2	1	2	3	4	5	6
A		84	83	90	84	81
B	95	79	87	83	94	91
C	0	84	90	77	82	85
D	84	79	81	85	83	88
E	84	83	84	87	84	85
F	86	78	87	80	86	79
G	83	82	78	96	82	96
H	80	81	87	79	94	82

< 표 12 > 좌 - 상동성 분석

NL2	1	2	3	4	5	6
A	24	24	24	24	24	24
B	24	24	24	24	24	24
C	0	24	24	24	24	24
D	24	24	24	24	24	24
E	24	24	24	24	24	24
F	24	24	24	24	24	24
G	24	24	24	24	24	24
H	24	24	24	24	24	24

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과는 B5, G4, G6, H5 등이 94, 96개 마커에서 동일하게 나왔으나 SI 인자분석에서 모두 S24로 나와 선발된 개체가 없었다.
- 위 (가), (나)의 결과에서 자가불화합성 인자가 S24로 동일하게 나온 것은 최초 인자형 동정 단계에서 오류가 있었을 가능성이 높은 것으로 판단된다.

(다) S1 x S7+12의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL3	1	2	3	4	5	6
A		90	83	87	78	83
B	95	87	90	85	81	84
C	0	82	81	82	87	84
D	81	81	83	82	83	93
E	81	80	91	89	82	91
F	85	79	85	80	85	86
G	87	88	82	83	83	87
H	77	92	87	85	87	76

<표 13> 좌 - 상동성 분석

NL3	1	2	3	4	5	6
A	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
B	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
C	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
D	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
E	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
F	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
G	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가
H	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가	판정불가

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과는 D6, H2 등이 92, 93개 마커에서 동일하게 나왔으나 SI 인자분석에서 모두 판정불가로 나와 선발된 개체는 없었다. 이 계통은 재파종하여 SI 인자분석만 재검정하여 Hetero 형인 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(라) S8 x S18의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL4	1	2	3	4	5	6
A		87	74	82	77	88
B	96	85	85	85	83	74
C	0	84	76	76	74	75
D	88	85	78	73	86	75
E	91	74	81	77	89	83
F	80	89	86	83	74	87
G	72	73	83	79	77	80
H	68	77	79	76	80	84

<표 14> 좌 - 상동성 분석

NL4	1	2	3	4	5	6
A	8	8	8	8	8	8
B	8	8+18	8+18	8+18	8	8
C		8	8	8	8	8+18
D	8	8	8+18	8+18	8	8+18
E	8	8+18	8	8	8	8+18
F	8+18	8	8+18	8	8+18	8
G	8+18	8+18	8+18	8+18	8	8
H	8+18	8+18	8+18	8	8+18	8

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 B2, B3, B4, F3 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(마) S18 x S8의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL5	1	2	3	4	5	6
A		83	87	X	X	X
B	96	86	80	X	X	X
C	0	79	83	X	X	X
D	75	70	74	X	X	X
E	75	81	78	X	X	X
F	66	84	78	X	X	X
G	78	77	73	X	X	X
H	86	76	79	X	X	X

<표 15> 좌 - 상동성 분석

NL5	1	2	3	4	5	6
A	18	18+8	18+8	X	X	X
B	18	18	18+8	X	X	X
C		18+8	18	X	X	X
D	18	18+8	18	X	X	X
E	18	18	18	X	X	X
F	18	18	18+8	X	X	X
G	18+8	18+8	18+8	X	X	X
H	18	18+8	18+8	X	X	X

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 A2, A3, B3 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.
- S18 x S8 계통은 backcross 단계에서 불화합성이 나타나기 시작했고 종자량도 많지 않았다.

(바) S5 x S8의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL6	1	2	3	4	5	6
A		73	75	65	69	X
B	95	74	86	82	79	X
C	0	89	85	74	74	X
D	69	79	77	81	76	X
E	75	75	76	74	68	X
F	80	78	84	73	X	X
G	78	79	84	79	X	X
H	76	81	73	68	X	X

<표 16> 좌 - 상동성 분석

NL6	1	2	3	4	5	6
A	5	5	8	8	8	X
B	5		5		5	X
C		5	5		5+8	X
D	5+8	5+8	5		5+8	X
E		5	8	8	5	X
F	5	8	5+8	5	X	X
G	5+8				X	X
H	5+8	5		5	X	X

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 D2, F3 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.
- S5 x S8 계통 또한 backcross 단계에서 불화합성이 나타나기 시작했고 종자량도 많지 않았다.

(사) S5 x S1의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL7	1	2	3	4	5	6
A		84	88	82	87	89
B	95	78	84	79	77	93
C	0	80	89	85	77	79
D	73	77	86	87	82	85
E	82	89	80	91	84	84
F	82	83	80	84	85	79
G	86	84	87	88	85	82
H	82	78	80	85	87	84

<표 17> 좌 - 상동성 분석

NL7	1	2	3	4	5	6
A	5	5	5+1	5+1	5	5
B	5	5+1	5+1	5	5	5
C		5+1	5	5+1	5	5+1
D	5	5+1	5+1	5	5+1	5+1
E	5+1	5+1	5+1	5	5+1	5
F	5+1	5+1	5	5	5	5
G	5	5+1	5	5	5+1	5+1
H	5	5	5	5	5	5

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 A3, E2, C4, D6 개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(아) S1 x S5의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL8	1	2	3	4	5	6
A		82	87	85	82	82
B	96	82	82	83	80	80
C	0	88	88	84	86	77
D	80	85	43	80	83	79
E	83	79	80	79	72	77
F	81	77	85	80	82	84
G	78	86	85	84	83	79
H	96	82	82	85	77	85

<표 18> 좌 - 상동성 분석

NL8	1	2	3	4	5	6
A	1	1+5	1	1	1+5	1+5
B	1	1	1+5	1+5	1+5	1+5
C		1 5	1+5	1+5	1	1+5
D	1	1	1	1+5	1+5	1+5
E	1	1	1+5	1+5	1	1+5
F	1+5	1	1+5	1+5	1+5	1+5
G	1+5	1	1+5	1+5	1+5	1+5
H	1	1+5	1+5	5	1	1+5

우 - SI 인자분석

- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 C2, C3개체를 모본으로 선발하였고 backcross를 진행하였다.

(3) 4차년도 backcross 및 Background selection marker에 의한 개체 선발

4차년도 backcross는 3차년도에 8개 계통 중 SI 인자형이 동일하게 나타난 NL1(S24xS4), NL2(S4xS24)를 제외한 6개 계통에서 선발된 개체 중에서 유전적 상동성이 제일 높은 2개체를 모본으로 정식하여 backcross를 진행하여 BC2F1 단계까지 진행하였다. 추대가 빠른 계통인 NL3(S1xS7+12), NL4(S8xS18), NL5(S18xS8)은 여름에 재파종하여 Background selection marker에 의한 개체 선발을 완료하였으며, 여기에서 선발된 개체로 backcross를 진행하여 BC3F1 단계까지 진행하였다. 현재 교배가 완료되어 종자 건조 중에 있다. 그리고 추대가 늦은 계통은 NL6(S5xS8), NL7(S5xS1), NL8(S1xS5)은 가을에 파종하여 Background selection marker에 의한 개체 선발을 완료하였으며, 현재 교배모본으로 정식 예정이다.

분석에 사용된 마커는 3차년도와 동일한 96개 SNP마커를 사용하였고 표본의 수는 48점을 분석하였다. Background selection marker 분석 결과를 바탕으로 SI 인자분석 마커를 이용하여 자가불화합성 인자의 Homo 또는 Hetero 여부를 판정하였다. Background selection marker 분석 결과 유전적 상동성이 높은 개체와 SI 인자분석 결과 Heterozygous 인 개체를 모본으로 선발하여 다음년도에 계속backcross를 계속 진행할 예정이다. 마커 분석 결과는 다음과 같다.

(가) NL3(S1 x S7+12)의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL3	1	2	3	4	5	6
A	96	83	88	81	87	91
B	65	86	85	88	86	88
C	0	88	88	90	87	83
D	86	86	89	83	85	83
E	90	89	88	84	85	91
F	88	89	84	88	90	88
G	91	86	85	91	91	86
H	88	90	88	89	90	91

<표 19> 좌 - 상동성 분석

NL3	1	2	3	4	5	6
A	1	7+1 2	1	7+1 2	7+1 2	1
B	7+1 2	1	7+1 2	1	7+1 2	1
C		7+1 2	1	7+1 2	1	7+1 2
D	1	7+1 2	7+1 2	7+1 2	1	7+1 2
E	1	7+1 2	1	1	7+1 2	1
F	1	1	7+1 2	7+1 2	1	1
G	1	1	7+1 2	7+1 2	1	7+1 2
H	1	1	1	1	7+1 2	7+1 2

우 - SI 인자분석

- NL3는 3차년도 재파종하여 SI 인자분석만 재검정하여 Hetero 형인 개체를 모본으로 선발하여 backcross를 진행하였다. BC2F1 세대에서 일반적인 backcross 보다는 다소 높은 상동성을 나타내고 있다.
- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 G4, H6 개체를 모본으로 선발하여 backcross를 진행하였다.

(나) NL4(S8 x S18)의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL4	1	2	3	4	5	6
A	96	86	82	85	88	83
B	57	79	87	86	84	81
C		85	86	78	85	79
D	83	80	89	84	89	76
E	86	87	83	86	51	74
F	81	88	91	82	86	74
G	90	77	85	81	85	90
H	78	83	88	81	77	79

<표 20> 좌 - 상동성 분석

NL4	1	2	3	4	5	6
A	8	8	8	8	8	8+1 8
B	18	8+1 8	8	8+1 8	8+1 8	8+1 8
C		8+1 8	8+1 8	8+1 8	8+1 8	8+1 8
D	8+1 8	8+1 8	8+1 8	8	8	8+1 8
E	8+1 8	8	8+1 8	8+1 8	8	8+1 8
F	8+1 8	8	8	8	8+1 8	8+1 8
G	8	8+1 8	8+1 8	8	8	8
H	8+1 8	8+18	8	8+18	8+18	8+18

우 - SI 인자분석

- NL4는 BC2F1 세대에서 일반적인 backcross 보다는 다소 높거나 비슷한 상동성을 나타내고 있다. 그리고 SI 인자가 Homo 인 개체는 90, 91 등이 있지만 Hetero 인 개체는 BC1F1세대와 거의 유사한 상동성을 나타내고 있다.
- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 D3, F5 개체를 모본으로 선발하여 backcross를 진행하였다.

(다) NL5(S18 x S8)의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL5	1	2	3	4	5	6
A	96	90	91	86	89	87
B	55	86	88	89	88	90
C		86	89	89	91	89
D	87	91	86	88	86	83
E	89	93	94	93	88	90
F	89	87	92	89	83	89
G	90	88	91	90	82	91
H	91	88	82	87	87	86

<표 21> 좌 - 상동성 분석

NL5	1	2	3	4	5	6
A	18	18	18	18+ 8	18+ 8	18+ 8
B	8	18+ 8	18+ 8	18+ 8	18	18
C		18+ 8	18	18	18+ 8	18
D	18+ 8	18	18+ 8	18	18	18+ 8
E	18	18	18	18	18	18
F	18	18+ 8	18	18	18+ 8	18
G	18	18+ 8	18	18+ 8	18+ 8	18
H	18	18	18+8	18+8	18	18+8

우 - SI 인자분석

- NL5는 BC2F1 세대에서 일반적인 backcross 보다는 다소 높은 상동성을 나타내고 있다. SI 인자가 Homo 인 개체는 93, 94 등이 있지만 Hetero 인 개체는 90, 91 로 나타내고 있다.
- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 C5, G4 등 2개체를 모본으로

선발하여 backcross를 진행하였다.

(라) NL6(S5 x S8)의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL6	1	2	3	4	5	6
A	96	84	81	81	81	81
B	51	89	91	77	90	86
C		74	77	89	82	79
D	88	89	80	86	70	83
E	78	94	81	87	86	88
F	87	80	79	80	88	82
G	87	82	90	83	72	90
H	90	86	81	88	86	88

<표 22> 좌 - 상동성 분석

NL6	1	2	3	4	5	6
A	5	5	5	5	5+8	5
B	8	5+8	5+8	5+8	5	5
C		5+8	5	5+8	5	5+8
D	5	5+8	5	5	5+8	5+8
E	5	5	5	5	5	5
F	5+8	5+8	5+8	5	5	5+8
G	5	5	5+8	5+8	5+8	5
H	5+8	5+8	5	5	5	5+8

우 - SI 인자분석

- NL6는 BC2F1 세대에서 일반적인 backcross 보다는 다소 높은 상동성을 나타내고 있다. 그리고 SI인자가 Homo 인 개체는 90, 94 등이 있지만 Hetero 인 개체는 90, 91 로 나타내고 있다.
- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 B3, G3 등 2개체를 모본으로 선발하여 backcross를 진행할 예정이다.

(마) NL7(S5 x S1)의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL7	1	2	3	4	5	6
A	96	92	92	93	89	88
B	69	91	85	92	91	28
C		90	92	92	84	88
D	88	87	89	87	89	86
E	86	88	89	92	89	88
F	88	94	88	89	87	88
G	87	93	92	88	88	90
H	88	87	90	88	87	88

<표 22> 좌 - 상동성 분석

NL7	1	2	3	4	5	6
A	5	5	5	5	5+1	5+1
B	1	5	5	5	5+1	5+1
C		5	5	5	5+1	5+1
D	5	5	5	5	5+1	5+1
E	5	5	5	5	5+1	5+1
F	5	5	5+1	5	5+1	5+1
G	5	5	5	5	5+1	5+1
H	5	5+1	5	5	5+1	5

우 - SI 인자분석

- NL7는 BC2F1 세대에서 일반적인 backcross 보다는 다소 높은 상동성을 나타내고 있다. SI 인자가 Homo 인 개체는 93, 94 등이 있지만 Hetero 인 개체는 90, 91 로 나타내고 있다.
- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 B5, G6 등 2개체를 모본으로 선발하여 backcross를 진행할 예정이다.

(바) NL8(S1 x S5)의 상동성 분석 및 SI 인자분석 결과

NL8	1	2	3	4	5	6
A	96	⁸⁷	⁹¹	91	90	92
B	68	90	⁸⁹	89	96	93
C		⁹⁰	95	89	91	90
D	95	95	90	95	89	91
E	⁸⁹	94	92	⁸⁸	87	88
F	⁸⁹	96	92	⁹¹	90	87
G	⁹⁰	89	92	87	88	89
H	⁹²	92	⁸⁹	95	89	90

NL8	1	2	3	4	5	6
A	1	1+5	1+5	1	1	1
B	5	1	1+5	1	1	1
C		1+5	1	1	1	1+5
D	1	1+5	1	1	1	1+5
E	1+5	1+5	1+5	1+5	1+5	1
F	1+5	1	1+5	1+5	1+5	1
G	1+5	1	1+5	1	1	1
H	1		1+5	1	1	1

<표 23> 좌 - 상동성 분석

우 - SI 인자분석

- NL8는 BC2F1 세대에서 일반적인 backcross 보다는 매우 높은 상동성을 나타내고 있다. 그리고 다른 계통들과 비교해도 높은 상동성을 나타내고 있다.
- 상동성 분석 결과 상동성이 높고 SI 인자분석에서 Hetero 형인 D2, E2 등 2개체를 모본으로 선발하여 backcross를 진행할 예정이다. 이 계통은 앞으로 한번의 교배로 거의 고정된 NIL을 만들 수 있을 것으로 예상된다.

4. 해외 무 생산지(채종지) 정보 수집

가. 무 생산지(채종지) 정보 수집의 필요성 및 목적

최근 전 지구적인 이상 기온으로 인해 기존의 무 채종지 기상조건도 변하여 종자 생산량이 안정적이지 못하고 종자의 품질 또한 좋지 못한 문제가 매년 발생하고 있다. 그리고 더 큰 문제는 기후변화가 너무 유동적이라 특정 지역의 기후를 전혀 예상할 수 없다는 것이다. 그러다 보니 예전에는 우수한 품종을 만드는 것이 중요했다면, 현재에는 우수한 품종도 물론 중요하지만 품질 좋은 종자를 안정적으로 확보하는 것도 우수한 품종 못지않게 중요한 문제가 되었다.

이러한 문제를 해결하기 위해 기존의 무 채종지에 대한 정보를 수집하여 채종지 문제를 개선할 방법을 모색하는 것이 필요하고 이러한 정보를 각 종묘회사들이 공유하여 자신의 품종과 역량에 맞는 적절한 채종지를 최대한 많이 확보하는 것이 필요하다. 그리고 기존에 알려지지 않은 무 채종지를 탐색하여 안정적인 채종지를 새로이 구축하는 것이 필요하다.

따라서 본 시험은 중국과 기타 해외 다양한 무 채종 지역과 해당 지역의 기후 특성, 채종 환경, 그리고 장점과 단점, 채종 전문회사 등의 관련 정보를 수집하여 각 종묘회사와 공유하고 무 품종개발 뿐만 아니라 안정적인 종자 생산지를 확보하는데 도움을 주고자 하는데 목적이 있다.

나. 연구수행 내용

본 연구는 현재 한국 종묘회사들이 많이 채종하고 있는 중국과 뉴질랜드, 이탈리아 등의 무 채종지

정보를 수집하였다. 중국 6개성 12개 시/현 지역과 뉴질랜드, 이탈리아 등 총 14개 지역의 채종지 환경과 기후, 채종지의 장점과 단점, 그리고 채종 회사 정보 등을 수집하였다. 그리고 중국의 경우 종자 산업과 채종지 지원 사업에 높은 관심을 두고 있어 중국 정부의 채종지원 정책을 간략하게 조사하였다.

다. 중국정부의 채종지원 정책

○ 중국 정부의 채종산업 정책

- 종자업 생산기지의 건설 및 확충은 장기적으로 매우 중요한 임무 중 하나로 인식하고 있다.
- 우수한 생산기지 확대, 기본 품질보장 강화, 우수한 지도력 발휘, 지속적인 발전 유지 정책을 펴고 있다.
- 우수한 채종기지 환경 조성으로 건전한 생산관리, 종자생산기지의 엄격한 유지 관리 정책을 펴고 있다.
- 성실하고 신용이 있는 채종회사의 육성 및 경쟁적인 발전환경을 구축하기 위해 노력하고 있다.

○ 우수한 채종기지 건설부문의 정책

우수한 채종기지 건설부문에서는 아래 다섯가지 항목에 중점을 두고 있다.

- 채종우세구역 표준 포장 건설 : 각 지역에 분포되어 있는 영구적 기지를 확정하여 우수 채종기지에 대한 엄격한 관리 및 보호, 면적감소를 막기 위해 채종지에 대한 용도 변경이 안되도록 하고 있다.
- 안전한 기계화 촉진 : 채종농가에 대한 농기계 구입 보상 정책, 채종에 필요한 농기계설비 연구개발, 농기계 및 농법기술의 일체화 등으로 최종적으로는 전 채종과정의 기계화를 이루고자 한다.
- 종자 생산의 산업화 : 국가의 지도아래 지방정부정책을 유도하고 우수한 기업을 유치하여 기업으로 하여금 설비 및 투자를 늘리고 채종 및 관련 산업을 집단화하여 1차, 2차 및 3차 산업이 서로 시너지효과를 낼 수 있는 환경을 조성한다.
- 채종기지의 감독 강화 : 우수 종자 생산기지에 대한 기업 진입을 허가제로 전환하고 채종과정의 관리, 불법생산자 처벌, 상표침해 관리 등 위법한 내용을 엄격히 관리 감독한다.
- 채종환경 건설 : 지역별 적극적인 채종산업 육성, 토지 전용, 농기계 구매 보상제도 및 펀드 조성으로 종자산업 시너지효과를 충분히 발휘할 수 있도록 유도 한다.

라. 중국의 주요 무 채종지역

<표 24> 중국의 주요 무 채종지역

주요 지역	채종 현황
길림성	연변조선족 자치구가 있는 지역으로 일찌기 한국품종에 대한 생산을 시작 하였다. 현재 다양한 품종들이 생산이 되고 있으나 원종유출이 심한 지역이라 신품종 또는 유출이 용이한 품종은 가능하면 피해야하는 지역이다. 모든 작물의 작형이 한번만 가능하므로 생산단가가 타지역에 비해 비싼 편이다.
요녕성	상황은 길림성과 유사하나 많은 회사들이 길림성에서 요녕성 지역으로 채종지를 옮

	기는 경향을 보인다. 특히 십자화과의 경우 길림지역보다 동사율이 적고 원종유출이 상대적으로 심하지 않은 지역이다.
산동성	대표적인 종자 생산지역으로 채종면적이 몇 만무에 이르는 지역이다. 십자화과, 박과류등 모든 작물의 채종이 가능하며 종자 수확시기를 앞당길수 있어 매우 선호되는 지역이다. 그러나 대부분 한족 회사들이 이유로 품질관리 가 용이하지 않고, 채종기술이 떨어져 고가 작물은 피하는 것이 유리한 지역이다.
하남성	하남성 또한 대표적인 중국의 채종지역으로 주로 중국 당지 품종의 생산이 주로 이루어지는 지역이다. 겨울철 저온감응에 적당한 온도와 우기가 오기전에 수확할수 있는 최적의 지역이나 유채재배 면적이 광범위해 환경정리가 무척 까다로운 지역이며 품질 보증 또한 어려운 지역이다. 십자화과의 경우 추후 개발해야 될 지역중에 하나로 채종기술 및 환경정리가 용이한 지역을 찾아야 할 것이다. 이 지역 또한 산동과 마찬가지로 고가작물은 피해야 하는 지역이다.
감숙성	강수량이 매우 적은 지역이나 수로가 잘 발달해 있고 지하수 이용이 용이해 무 채종의 적지이다. 우기가 없어 채종지로서 매우 우수하며 주로 과채류 생산을 많이 해왔던 지역이나 최근에는 무, 배추 등의 배추과 채소 종자생산으로 주목받고 있는 지역이다. 종자 품질이 우수하나 겨울철 춥고 동사의 위험이 있고 배추과에 대한 채종경험이 많지 않아 채종 지도가 반드시 필요하다.
내몽고	강수량이 매우 적은 지역이나 오랜 역사의 농업기술 발전으로 작물 생산에는 문제가 없는 지역이다. 우기가 따로 없어 생산에 적기이며 추후 생산지 개발에 힘을 써야 할 지역이다.이 지역 또한 한족 회사들이 대부분이라 품질관리 및 생산기술이 낙후가 되어있어 적합한 채종회사 및 채종지역을 개발하는 것이 필요하다.

(가) 길림성 무 채종지역

(1) 연길시 왕청현



<그림 24> 연길시 왕청현 위치

- 연변 조선족 자치주 동북부 지역, 연평균 기온 3.9도, 강수량 580mm, 무상기간 110-140일
- 1990년대 초반부터 한국품종 채종하기 시작하여 현재까지 오랜기간 적합한 작형 및 채종지를

꾸준하게 개발해 오고 있는 지역이다.

- 지형적 특징 : 주로 계곡과 구릉 등 산악지형으로 되어 있고 강이 흐르고 있어 격리가 가능하여 채종지로서 유리한 지역이다.
- 경지 가용면적 : 41만 ha, 일인당 평균 경지 면적 0.25ha, 88%가 천수답
- 기후적 특성 : 선명한 대륙성 계절풍 기후, 중온대 반습윤 기후대로 봄철은 건조하고 바람이 많고, 여름은 비교적 고온이며 강수량이 많다.
봄철은 저온이 지속되다가 5월 중순 온도 상승하며 우기는 7-8월에 집중된다. 이때는 십자화과 작물의 수확기 및 후숙 시기로 강우의 량과 단속에 따라 채종량과 종자 품질에 영향을 미친다.
- 장점 : 채종농가의 오랜 기술이 축적되어 있고 , 선진적인 채종 기술 보유하고 있으며, 한국 품종에 대한 이해도가 뛰어나다.
- 단점 : 겨울철 추위로 동사율이 높고 최근 수확기 이상 기후로 채종량과 종자 품질에 문제가 있다.
- 파종 : 만추대 계통 - 11월 말 ~12월 초
조추대 계통 - 1월 중순 ~ 2월 중순
- 정식 : 4월 초 ~ 4월 말
- 개화 : 5월 초 ~ 7월 말
- 수확 : 7월 말 ~ 8월 초
- 탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
- 선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(2) 길림성 도문시



<그림 25> 길림성 도문시 위치

- 연변 조선족 자치주 동부 지역, 연평균 기온 5.4도, 강수량 540mm, 무상기간 125-140일
- 연길시와 더불어 1990년대 초반부터 한국품종 채종하기 시작하여 채종 경험이 풍부하다
- 지형적 특징 : 장백산맥 산줄기의 낮은 구릉지대에 위치함. 산지 구릉, 대지, 계곡, 평지 등

서북쪽이 높고 동남쪽이 저지대로 남강산맥이 관통하고 있다.

- 경지 가용면적 : 황폐한 산지가 5천ha이고 작물재배가 가능한 면적은 30 ha 정도이다.
- 기후적 특성 : 온대대륙성 기후, 중온대 반습윤 기후대로 봄철은 가물고 바람이 많고, 여름은 덥고 강수가 많고 가을은 시원하고 강수가 적고, 겨울은 눈이 적고 춥다. 동해의 영향으로 여름철 온도는 약간 시원한 편이고 겨울철은 약간 온화하다. 연평균 일조총량은 2,062시간이며 봄철 서리는 5월 중순 경에 끝난다. 강수량은 6-8월에 집중되고 고온과 강수량이 겹쳐 작물 생육에 유리하다.
- 장점 : 한국품종에 대한 채종 역사가 길고 한국 품종 및 품질 요구도에 대한 이해가 높다.
농가별 소면적 채종하는 지역으로 자체 육묘시설을 구비하여 품질관리가 용이하다.
- 단점 : 최근 매년 이상기후의 발생으로 생산량에 대한 편차가 심하여 요녕성으로 채종지를 옮기는 회사가 늘고 있다.
- 파종 : 만추대 계통 - 11월 말 ~ 12월 초
조추대 계통 - 1월 중순 ~ 2월 중순
- 정식 : 4월 초 ~ 4월 말
- 개화 : 5월 초 ~ 7월 말
- 수확 : 7월 말 ~ 8월 초
- 탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
- 선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(3) 길림성 용정시



<그림 26> 길림성 용정시 위치

- 연변 조선족 자치주 남동부 지역, 연평균 기온 5.6도, 강수량 549mm, 무상기간 130 - 150일
- 지형적 특징 : 완만한 산악지형이며 사방이 높은 산맥으로 둘러싸인 산지구릉성 분지를 형성하고 다양한 지형이 공존하고 중간높이의 산, 구릉지, 하곡평원, 계곡, 늪지대 등이 분포하고 있다.

- 가용면적 : 경지면적은 42천ha, 그 중 수도작은 8천ha, 임야지는 170천ha
- 기후적 특성 : 중온대 대륙성 계절풍 기후, 사계절이 뚜렷하다. 겨울은 매우 춥고 여름은 매우 덥다. 연평균 총일조시간은 2,429시간이며 9월 하순 첫서리가 내리고, 5월 상순 서리가 끝난다.
- 장점 : 연길시, 도문시와 마찬가지로 한국 품종에 대한 채종 역사가 길고 품종 이해도가 높다.
농가별 소면적 채종하는 지역으로 자체 육묘시설을 구비하여 품질관리가 용이하다.
- 단점 : 겨울과 여름의 온도 편차가 심해 자연재해가 자주 발생한다.
겨울철 저온동해 피해, 봄철 늦서리 피해, 여름-가을 가뭄 피해 등이 발생한다.
- 파종 : 만추대 계통 - 11월 말 ~ 12월 초
조추대 계통 - 1월 중순 ~ 2월 중순
- 정식 : 4월 초 ~ 4월 말
- 개화 : 5월 초 ~ 7월 말
- 수확 : 7월 말 ~ 8월 초
- 탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
- 선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(4) 길림성 통화시



<그림 27> 길림성 통화시 위치

- 길림성의 남쪽 지역으로 요녕성과 인접. 연평균 기온 5.8도, 강수량 560mm, 무상기간 115 - 145일
- 지형적 특징 : 전체 면적의 72%는 낮은 산악지형으로 구성되어 있고, 28%는 강과 계곡 평지로 구성되어 있다.
- 가용면적 : 경지면적은 37천ha, 인구 1인당 경지 면적 22.2 畝
- 기후적 특성 : 계절풍 기후대로서 중온대 습윤 기후구역에 속한다. 장백산 지형의 영향으로 대륙성기후가 선명하고 봄철에는 건조한 바람이 강하고 기온 상승이 빠르며 여름은 짧으나 덥고 습하며 집중강우 현상을 보인다.
9월 하순 첫서리가 내리고, 5월 상순 서리가 끝난다.

- 장점 : 내륙에 위치하며 고온다습한 기후가 상대적으로 짧은편이다.
기후적인 여건으로 병충해피해가 타지역에 비해 적은 편이다.
지형적인 특성상 격리거리에 큰 문제가 없어 채종지로서 유리하다.
수많은 한국품종이 채종되는 지역으로 채종기술이 축적되어 있다.
특히 십자화와 채종에 유리한 지역이다.
- 단점 : 천수답이 대부분을 차지하므로 강수량에 많이 의존하는 경향이 있다.
최근 몇 년동안 이상기후로 인하여 작황의 편차가 심해지는 경향이 있다.
- 파종 : 만추대 계통 - 11월 중순 ~ 12월 초
조추대 계통 - 1월 중순 ~ 2월 중순
정식 : 4월 초 ~ 4월 말
개화 : 5월 중 ~ 6월 중
수확 : 7월 말 ~ 8월 초
탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(5) 길림성 무 채종의 장점

- 세 지역 모두 연변조선족자치주에 속한 지역으로 의사소통에 불편함이 없다.
- 산지, 계곡, 구릉지로 이루어져 채종시에 격리에 대한 문제 없다.
- 봄철을 제외한 작물생육기간에 강수량이 적당하여 무 채종의 적지이다.
- 청정지역으로 현재까지 생산된 종자에서 병, 바이러스 등의 문제가 없다.
- 채종역사가 길고 한국품종에 대한 이해도가 높다.
- 종자품질이 우수하여 입고 후 감량분을 최소화 할 수 있다.
- 지방정부 차원의 채종기술 개선 및 지속적인 농가교육이 이뤄지고 있다.

(6) 길림성 무 채종의 단점

- 고위도 지역으로 작물 재배기간이 상대적으로 짧다.
- 한국품종 위주의 생산을 많이 하는 관계로 채종 단가가 상대적으로 높다.
- 최근 몇 년간 계속되는 이상기후로 육묘기 및 정식 후 동사율이 높고
생육후반 강수량 증가로 채종량 및 종자 품질에 편차가 발생하고 있다.
- 조선족이 운영하는 회사가 많아 원종 유출 및 생산된 종자의 유출이 심한 편이다.

(나) 요녕성 무 채종지역

(1) 요녕성 본계시



< 그림28 > 요녕성 본계시 위치

- 본계시는 요녕성의 성도인 심양의 동쪽에 위치하며 심양경제특구의 중심도시 역할을 한다.
- 지리적 특징 : 심양, 무순, 안산, 단동, 요양, 통화 등과 인접하고 있다.
교통이 발달되어 있어 지리적으로 우세한 위치에 있다.
- 기후적 특성 : 중온대 습윤 기후구역에 속하며 연평균 기온 6.1도, 강수량 700mm .
장백산의 끝자락으로 봄은 바람과 일조량이 적당하고 여름은 덥고 습하다.
10월 상순 첫서리가 내리고, 5월 상순 서리가 끝난다.
- 장점 : 배추 생산기지가 있어 십자화와 채종시 농민들의 재배기술과 접목이 용이하다.
내륙 지역으로 고온다습하지 않은 기후로서 십자화와 채종에 유리하다.
산이 많은 지역으로 격리거리 확보에 유리하다.
한국 가을무 및 여름무의 주 채종지로 농가의 채종 기술이 우수하다.
채종 면적이 많지 않아 장래 면적 확대가 기대되는 지역이다.
- 단점 : 천수답이 많아 강수량에 많이 의존하는 경향이 있다.
이상기후로 인하여 작황의 편차가 심해지는 경향이 있다.
만추대 계통은 생산이 잘 안되는 단점이 있다.
- 파종 : 조추대 계통 - 1월 중순 ~ 2월 중순
정식 : 4월 초 ~ 4월 말
개화 : 5월 중 ~ 6월 중
수확 : 7월 말 ~ 8월 초
탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(2) 요녕성 개주시



<그림 29> 요녕성 개주시 위치

- 지리적 특징 : 발해만 동안지역으로 요동경제특구 남부에 위치. 북으로 영구시, 남으로 대련시, 동으로 만주족 자치구와 인접하고 있다.
- 지형적 특징 : 서부해안지역은 평지와 서북지역은 낮은 평원과 구릉지대, 동으로 높은 산악 지형으로 형성되어 있다.
- 기후적 특성 : 북온대 반습윤 계절풍 기후대에 속하며 연평균 기온 6.9도, 강수량 700mm, 무상기간은 170~186일 정도이다.
여름철 강수량이 많지만 전체적으로 강수량과 일조량이 풍부하고 온화한 기온으로 농업생산에 유리한 기후 조건을 가지고 있다.
- 장점 : 한국품종 생산에 경험이 축적되어 있다.
생산된 종자의 품질이 우수하여 품질 보증이 가능하다.
채종 면적이 많지 않아 장래 면적 확대가 기대되는 지역이다.
- 단점 : 해안과 가까워 여름철 고온 다습하다.
- 파종 : 조추대 계통 - 1월 중순 ~ 2월 중순
정식 : 3월 하순 ~ 4월 중순
개화 : 4월 하순 ~ 6월 상
수확 : 7월 상 ~ 7월 하
탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(3) 요녕성 무 채종의 장점

- 겨울철 동해 피해가 상대적으로 심하지 않은 지역이다.
- 산지, 계곡, 구릉지로 이루어져 채종 시 격리에 대한 문제가 없다.
- 내륙지역으로 여름철 고온 다습한 기간이 상대적으로 짧다.
- 소규모 회사들이 많아 소면적 생산이 가능한 지역이다.
- 한국품종에 대한 이해도가 높고 종자 품질이 높다.

- 채종 단가가 상대적으로 저렴한 편이다.
- 항구와 인접하고 있어 수출입이 용이하다.
- 채종 면적이 많지 않아 장래 면적 확대가 기대되는 지역이다

(4) 요녕성 무 채종의 단점

- 천수답이 많아 관리소홀에 의한 생산량이 감소할 우려가 있다.
- 이상기후 영향으로 여름철 집중 강우가 때때로 발생한다.
- 원종 유출 및 생산된 종자의 유출은 여전히 상존한다.

(5) 길림성 및 요녕성 주요 채종회사

<표 25> 길림성 및 요녕성 주요 채종회사

회 사 명	전 화 번 호	주 소	채종지역
龍井新農種苗有限公司	0433-4382678	吉林省延吉市長白西徐工集團2樓門市	길림성
遼寧碧安凱種苗有限公司	0417-625-2709	中國遼寧省營口經濟技術開發區	길림, 요녕성
大連盛鴻種苗有限公司	0411-85158468	大連市瓦房店市西楊鄉葦套農場	길림, 요녕성
遼寧東亞農業發展有限公司	024-86121534	沈陽市于洪區長江北街33號	길림, 요녕성
沈陽益久祥種業有限公司	138-04971379	沈陽黃河北大街	요녕성
營口萬泰種業有限公司	0417-2845403	渤海大街賀太南里17號	요녕성
桓仁大玉科技種業有限公司	130-50226601	本溪市桓仁縣	요녕성
本溪金田種業有限公司	139-41478269	本溪市本溪縣	요녕성
遼寧禾豐種業有限公司		朝陽市喀左縣	요녕성
大連米可多國際種苗有限公司	0411-83640870	大連市開發區東北七街10-6-3號	요녕성
大連中裕種業有限公司	0411-84793335	大連市高新園區黃浦路782-402	요녕성

(다) 산둥성 무 채종지역

(1) 산둥성 청도시

- 지리적 특징 : 산둥성의 남부에 위치하며 북쪽으로 연태 서쪽으로 웨이팡, 남서쪽으로 르자오와 접한다.
- 지형적 특징 : 도시주변, 경계지역은 주로 산악 지역으로 총면적의 15.5%가 고지대이고, 25.1%가 구릉지대 그리고 37.8%가 평야지대이다.
- 기후적 특성 : 계절풍의 영향을 받고 온난 습윤한 기후와 대륙성 기후의 경계선. 겨울은 춥고 때때로 눈이 오며 기온은 0도 주변을 맴돈다. 여름은 일반적으로 덥고 습하나 아주 더운 날은 드물다. 해안에 근접해 있고 반도에 있어서 중국 내륙지역과 비교해서 봄이 한달 늦게 찾아온다.

- 파종 : 만추대 계통 - 10월 20일경 파종, 조추대 계통 - 1월 상순
- 정식 : 3월 상순 ~ 3월 하순
- 개화 : 4월 상순 ~ 5월 하
- 수확 : 6월 하 ~ 7월 하
- 탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
- 선적 : 9월 초 ~ 10월 말



<그림 30> 산둥성 주요 무 채종지역 : 청도, 웨이팡, 덕주

(2) 산둥성 웨이팡시/청주시

- 지리적 특징 : 산둥반도 중부에 있는 위치하며 남으로는 임기시, 북으로 발해만에 면해 있으며, 서쪽은 치박시, 동영시와 접하고 있다.
- 기후적 특성 : 온대성 계절풍 대륙성 기후대. 겨울에는 한랭하고 비와 눈이 매우 적다. 봄에는 빨리 더워지고 바람이 많으며 강수량이 상대적으로 적다. 여름은 강수량이 많고 무덥다. 가을은 일조량이 풍부하고 맑은 날이 많다.
- 파종 : 만추대 계통 - 10월 20일경 파종, 조추대 계통 - 1월 상순
- 정식 : 3월 상순 ~ 3월 하순
- 개화 : 4월 상순 ~ 5월 하
- 수확 : 6월 하 ~ 7월 하
- 탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순
- 선적 : 9월 초 ~ 10월 말

(3) 산둥성 덕주시

- 지리적 특징 : 산둥성의 북서부에 위치하고, 남쪽으로 지난, 서남쪽으로 랴오청, 동쪽으로 빈저우와 접하고 북쪽으로 허베이 성의 창저우, 형수이와 접한다.

- 기후적 특성 : 계절풍의 영향을 받아 사계가 분명하고 춥고 덥고 건조 및 습한 기후대가 선명하며 봄시즌은 건조하고 바람이 많으며 기온상승이 빠르다. 여름에는 덥고 가을에는 청명하며 겨울에는 한랭하고 건조하며 눈이 적은 대표적인 대륙성 기후의 특징을 보인다. 맑은날이 많아 일조량이 풍부하여 작물 생장에 매우 유리한 조건이다.
- 파종 : 만추대 계통 - 10월 20일경 파종, 조추대 계통 - 1월 상순
정식 : 3월 상순 ~ 3월 하순
개화 : 4월 상순 ~ 5월 하
수확 : 6월 하 ~ 7월 하
탈종 및 정선 : 8월 초 ~ 8월 중순

(4) 산동성 지역 채종의 장점

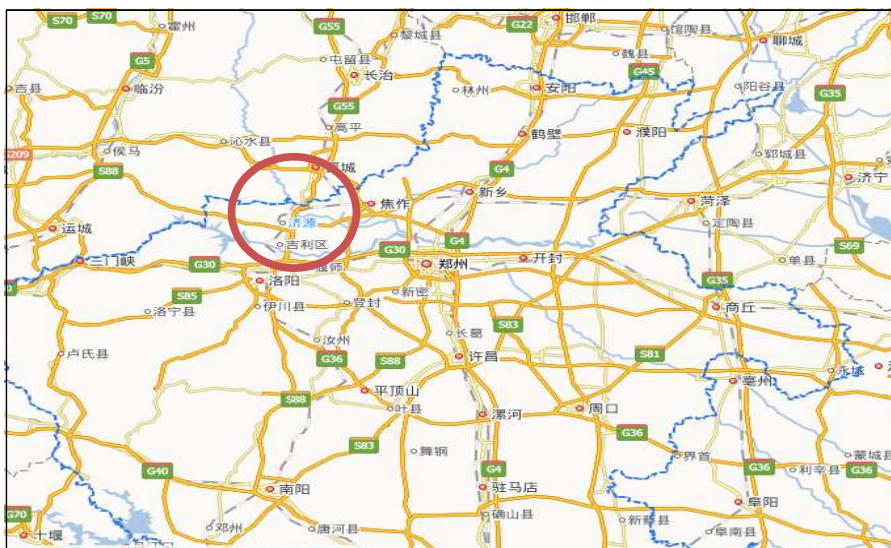
- 한국과 지리적으로 가까워 접근성이 좋고 종자무역이 용이하다.
- 일찍부터 종자회사들이 들어서 기술력이 축적되어 있다.
- 한국과 기후적으로 유사하여 한국 품종의 채종에 유리하다.
- 기온이 상대적으로 온화하여 동북지역보다 종자 수확이 빠르다.
- 다년간 축적된 채종기술로 고품질의 한국 품종 요구에 부응할 수 있다.

(5) 산동성 지역 채종의 단점

- 최근 기후 변화로 인한 생산량의 변동이 심한 편이다.
- 생육후기 갑작스런 기온상승으로 종자품질이 떨어지는 경우가 발생한다.
- 생산회사에서 육종도 겸하기 때문에 원종 유출의 우려가 있다.

(라) 하남성 무 채종지역

(1) 하남성 제원시



< 그림 31 > 하남성 제원시 위치

- 지리적 특징 : 하남성의 성도인 정저우의 서북쪽에 위치하고 서남쪽에 낙양과 가깝고 북쪽으로 인

근에 산서성이 위치하고 있다.

- 지형적 특징 : 북쪽으로 태행산맥이 있어 계곡과 골짜기가 많아 채종에 유리하다.
- 기후적 특성 : 온대계절풍 지역으로 사계절이 분명하며 온화한 기후대이다. 햇빛, 온도 및 수자원이 풍부하고 농업생산에 유리한 기후조건을 갖고 있다. 더위와 추위가 분명하고 건조기 반건조기의 구분이 명확하다. 봄은온도상승이 빠르고 바람이 많으며 강수량이 적고, 가뭄이 빈번하며, 여름은 찌는듯한 더위와 우기가 집중된다. 가을은 청명하여 기온이 내려가는폭이 크며 강수량이 적고, 겨울은 한랭하며 비와 눈이 매우 적게 내린다.
- 파종 : 만추대 계통 - 10월 20일경 파종, 조추대 계통 - 12월 중순
- 정식 : 2월 하순 ~ 3월 중순
- 개화 : 3월 하순 ~ 5월 중순
- 수확 : 6월 중순 ~ 7월 상순
- 탈종 및 정선 : 7월 중 ~ 8월 상순
- 선적 : 8월 하순 ~ 9월 하순

(2) 하남성 채종의 장점

- 기후가 온화하여 동해의 피해가 거의 없는 지역이다.
- 장마 전에 수확 할 수 있어 양질의 종자를 생산할 수 있다.
- 채종지 주변 환경 정리가 잘 되어 있어 오염주의 발생이 적다.
- 현지 채종 회사와의 업무협조가 비교적 원활한 편이다.
- 동북지역보다 채종 단가가 저렴하다.

(3) 하남성 채종의 단점

- 극만추대 품종은 저온감응 문제로 인해 채종에 무리가 있다.
- 생육후기 갑작스런 기온상승으로 종자품질이 떨어지는 경우가 발생한다.
- 산악지역의 경우 물 공급이 불충분하여 채종 후 발아가 문제가 되기도 한다.

(마) 감숙성 무 채종지역

(1) 감숙성 주천시



<그림 32> 감숙성 주천시의 위치

- 지리적 특징 : 주천시는 감숙성의 서북부에 위치하고 동으로 장예시, 남쪽으로 칭하이 성, 서쪽으로 가옥관시, 북쪽으로 내몽골과 인접하고 있다. 예로부터 중원에서 서역으로 통하는 교통의 요충지이며 실크로드의 중요한 오아시스 도시였다.
- 지형적 특징 : 남쪽이 높고 북쪽이 낮으며 서남방향과 동북방향으로 기울어져 있다.
- 기후적 특성 : 반사막 건조성 기후로 강수량이 매우 적고 증발량이 매우 많으며 일조시간이 길다. 겨울은 춥고 여름은 더우며 기온차가 많다. 가을은 시원하고 봄은 건조하고 모래바람이 많다. 연평균 온도 7.9도이며 연중 최고온도 42도, 최저온도 영하 31.6도이다. 연평균 강수량 84mm, 평균강수 일수는 62일 정도이다.
- 파종 : 만추대 계통 - 11월 10일경 파종, 조추대 계통 - 1월 하순
 정식 : 3월 하순 ~ 4월 상순
 개화 : 5월 중순 ~ 6월 하순
 수확 : 7월 하순 ~ 8월 상순
 탈종 및 정선 : 8월 중 ~ 9월 상순
 선적 : 10월 중순 ~ 11월 상순

(2) 감숙성 채종의 장점

- 강수량이 적어 채종에 매우 유리한 조건을 갖추었다.
- 예로부터 수로가 잘 발달되어 있으며 지하수의 이용 또한 용이하다.
- 강수량이 적어 수확 후 건조가 용이하고 고품질의 종자 생산이 가능하다.
- 최근에 배추과 작물의 채종 면적이 늘어나고 있으며 품질 또한 우수하다.

(3) 감숙성 채종의 단점

- 겨울에 매우 춥기 때문에 동해 피해가 많이 발생한다.
- 배추과 채소의 채종 경험이 많지 않다.
- 기온의 편차가 심해 품종에 맞는 최적의 생산 조건을 찾는데 시간이 걸린다

- 품질에 대한 이해도가 낮아 오염의 우려가 남아 있다.

(바) 내몽고 무 채종지역

(1) 내몽고 적봉시



< 그림 33 > 내몽고 적봉시의 위치

- 지리적 특징 : 내몽고자치구의 동남부에 있는 직할시로 허베이성(河北省) 청더시(承德市, 승덕시), 랴오닝성(辽宁省) 차오양시(朝阳市, 조양시)와 접하고 있다.
- 지형적 특징 : 적봉은 음하강[陰河]과 영금강[英金河]의 합류점에 있고, 주위는 여러 산들로 둘러싸여 있다. 북동쪽에 붉은색의 높은 봉우리가 있어 적봉으로 불림.
- 기후적 특성 : 적봉시는 중온대 반건조대륙성 기후대에 속한다. 겨울은 길고 한랭하여 봄은 건조하고 바람이 많고 여름은 짧고 더우며 강수량이 집중되어 있고 가을은 매우 짧고 기온이 급속히 내려간다. 연평균 강수량은 300-500mm로 일조량이 풍부하고 증발산량이 매우 많다.
- 파종 : 만추대 계통 - 11월 10일경 파종, 조추대 계통 - 1월 하순
- 정식 : 3월 하순 ~ 4월 상순
- 개화 : 5월 중순 ~ 6월 하순
- 수확 : 7월 하순 ~ 8월 상순
- 탈종 및 정선 : 8월 중 ~ 9월 상순
- 선적 : 10월 중순 ~ 11월 상순

(2) 내몽고 채종의 장점

- 강수량이 적어 채종에 유리한 조건을 갖추고 있다.
- 주변에 강들이 많아 수자원이 풍부하여 가뭄 피해가 적다.
- 최근에 배추과 작물의 채종 면적이 늘어나고 있으며 품질 또한 우수하다.
- 채종단가 등에서 길림성을 대체할 유망한 후보지역이다.

(3) 내몽고 채종의 단점

- 최근에 생육후기 강우량이 늘면서 수확에 어려움이 겪기도 한다.
- 품질에 대한 이해도가 낮아 오염의 우려가 남아 있다.

(사) 산둥성, 하남성, 감숙성, 내몽고 지역 무 채종회사

<표 26> 산둥성, 하남성, 감숙성, 내몽고 지역 주요 무 채종 회사

회사명	연락처	주소	채종 지역
山東華盛種業有限公司	139-05363720	山東青州市	산둥
濟源市興農種業有限公司	0391-6969528	濟源市黃河大道98號副16號	하남
濟源市中原種業有限公司	0391-6606478	濟源市東三公里	하남
濟源市金三丰種業有限公司	135-07670341	濟源市天壇區鐵西路23號	하남
大連盛鴻種苗有限公司	0411-85158468	大連市瓦房店市西楊鄉葦套農場	감숙, 내몽고
遼寧東亞農業發展有限公司	024-86121534	沈陽市于洪區長江北街33號	감숙, 내몽고
沈陽益久祥種業有限公司	138-04971379	沈陽黃河北大街	감숙, 내몽고
遼寧禾丰種業有限公司	024-88082666	朝陽喀左縣	내몽고
甘肅東方農業開發有限公司	0937-2631332	酒泉市北關街北新花園19號樓	감숙
酒泉市中大種業科技有限公司	0937-2855998	酒泉市肅州區中大路16號	감숙

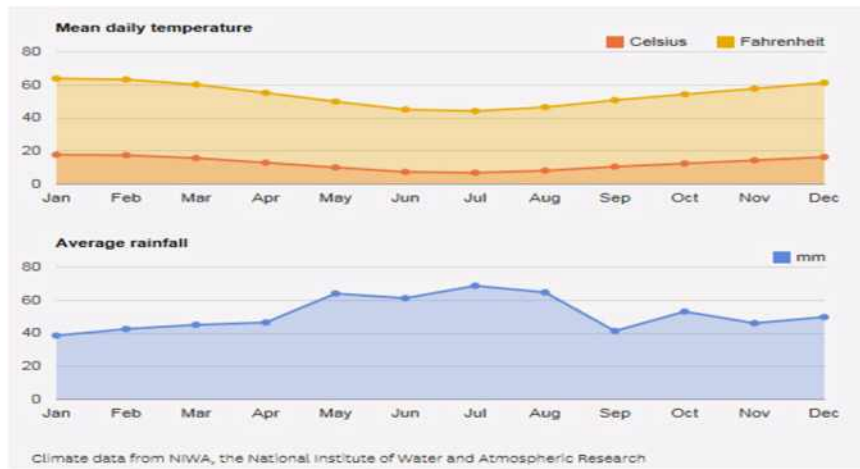
마. 뉴질랜드



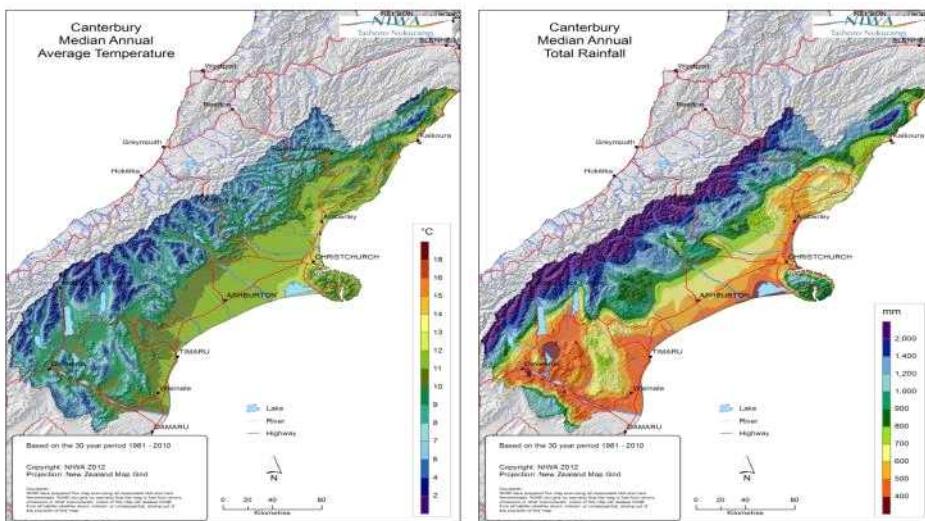
<그림 34> 뉴질랜드 채종지역 - 캔터베리 평원

○ **채종환경**

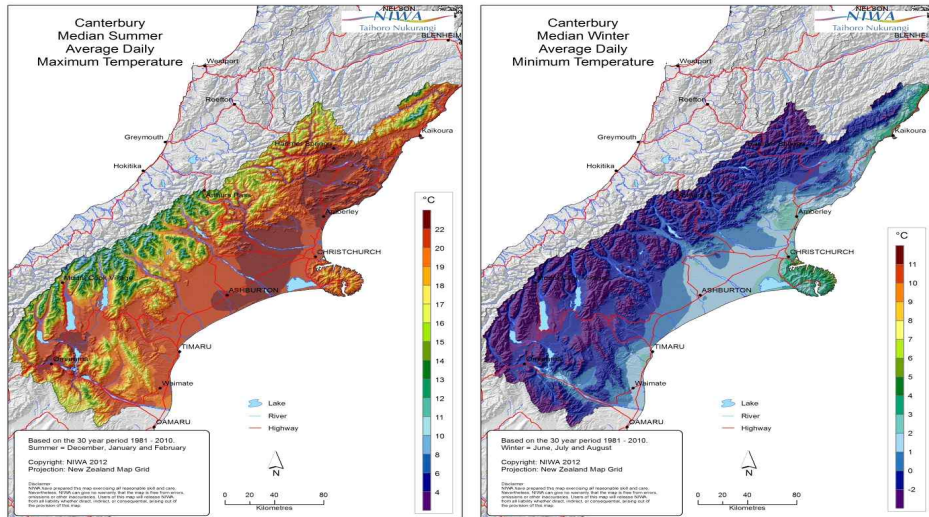
- 무 채종지역 : 뉴질랜드 남섬의 캔터베리 대평원, 연평균 기온 10°C 내외, 강수량 500-700mm
남섬은 50% 이상이 산악지역과 구릉으로 되어있어 채종에 적합한 지역이다.
캔터베리 지역은 전통적인 작물 재배의 중심지역으로 시스템이 잘 구축되어 있다.
- 지리적 특성 : 남섬 최대 도시인 크라이스트처치 남쪽에 위치하며 서쪽 산악지형인 서던알프스와 동쪽인 남태평양 사이에 위치하고 있다.
- 기후적 특성 : 뉴질랜드는 남태평양의 섬으로 기본적으로 온화한 해양성 기후 특성을 지닌다.
캔터베리 평원의 여름철은 알프스를 넘어오는 바람에 의해서 덥고 건조하며 강수량은 낮은 편이며 특히 여름에는 긴 건조기간이 지속될 때가 있다.
- 1990년대 초반부터 한국품종 채종하기 시작하여 현재까지 오랜기간 한국과 협력관계를 유지해 오고 있는 지역으로 한국 품종에 대한 이해가 높음
- 가용면적 : 390여만 ha로 한번 채종 후 20년간 같은 포장에서 채종하지 않아도 될 정도로 넓은 면적을 보유하고 있다.



<그림 35> 캔터베리 지역의 연평균 기온 및 강수량



<그림 36> 캔터베리 지역 연평균 기온 및 강수량 분포도



<그림 37> 캔터베리 지역의 여름철 최고기온 및 겨울철 최저기온 분포도

○ 뉴질랜드 무 채종의 장점

- 아시아, 유럽, 북미 등 세계적으로 전통적인 채소 재배지역은 북위 40도 주변 지역이다. 남반구의 채소재배 가능 지역은 남위 40도에 위치한 오스트레일리아 일부와 뉴질랜드 뿐
- 북반구의 무 채종 시 판매시기 문제가 발생할 경우 뉴질랜드는 아주 좋은 대안 지역이다.
- 기온 및 강수량 등 전체적인 기후 조건이 무 채종에 적합한 지역이다.
- 관계시설이 잘 되어 있고 농업용수가 풍부하여 건조 피해가 적다.
- 초봄 기후가 온화하여 냉해 피해가 적어 안정적인 생산이 가능하다.
- 주위에 무 재배 농가가 없는 청정지역으로 오염의 염려가 없는 최적지이다.
- 다년간의 채종 노하우와 최첨단 기계를 갖추고 있어 질 좋은 종자 생산 가능하다.
- 자체 품질 검사 및 채종과정을 모니터링 할 수 있는 시스템 갖추고 있다.
- 채종 지역별 방풍림을 설치하여 바람의 피해 최소화하고 있다.

○ 뉴질랜드 무 채종의 단점

- 조류 피해가 많은 지역으로 종자 손실이 많다.
방조망 설치로 조류 피해를 최소화하기 위해 노력하고 있다.
- 무 채종지역은 대평야 지역으로 소규모 채종이 어렵다. 최소 5ha이상 채종 면적이 필요하다.
- 추대가 늦은 품종을 직파할 경우 서리 피해가 발생할 수 있어 채종 회사가 꺼리는 경향이 있다.

○ 뉴질랜드 채종회사 명단

- 회사명 : South Pacific Seeds (NZ) Ltd
- 주소 : P.O. Box 113, Methven, New Zealand
- 연락처 : 64 3 302 8115 Fax: 64 3 302 9040
- email : nzoffice@spsnz.co.nz
- Web : www.southpacificseeds.co.nz

- 회사명 : AB ANNAND Seed Services, Ltd.

- 주소 : Crnr. Waterholes & Weedons Rd, RD 5, Springston, Christchurch, New Zealand

- 연락처 : +64 3 325 2020, Fax + 64 3 325 2828

- email : ABA@abannand.co.nz

- 회사명 : Seed Production Australia New Zealand Co Ltd. (SPANZ)

- 주소 : Centrum Lane, I Zone Rolleston Christchurch New Zealand

- 연락처 : +64 274354055 Fax: +64 3636663

- E-mail : stephen@spanz.co.nz

- Web : www.spanz.co.nz

- 회사명 : Smith Seeds Ltd.

- 주소 : PO Box 358 Ashburton New Zealand

- 연락처 : 64 (3) 308 2700 Fax: +64 (3) 308 2705

- E-mail : info@smithseeds.co.nz

- Web : www.smithseeds.co.nz

바. 이탈리아



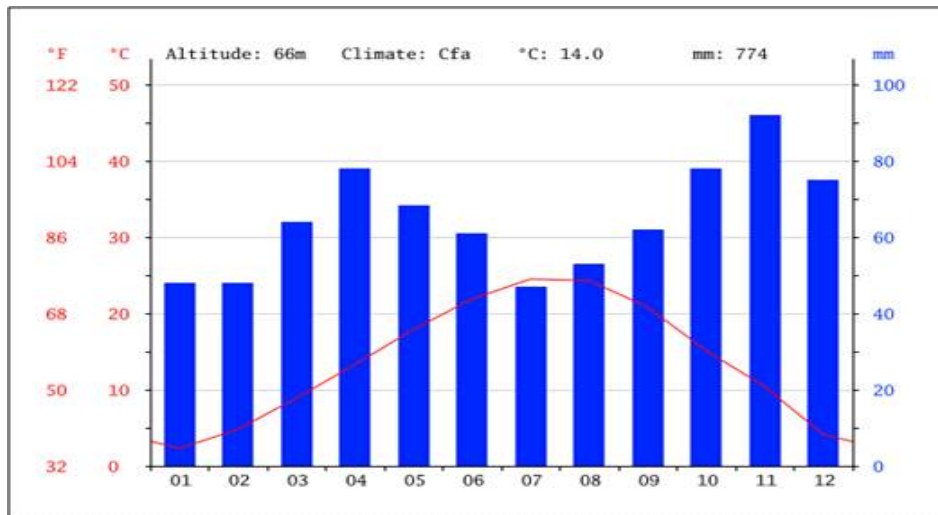
<그림 38> 이탈리아 채종 지역 : 에밀리아-로마냐주

○ 채종 환경

- 무 채종지역 : 이탈리아 북부 지역의 에밀리아-로마냐주, 연평균 기온 14°C, 강수량 744mm

에밀리아 로마냐주는 이탈리아 농업생산의 10% 차지하는 푸드밸리라 불리는 지역으로 전체 면적의 48%가 평원, 27%가 언덕, 25%가 산악지역으로 이루어져 무 채종의 최적지이다.

- 지리적 특성 : 주도인 볼로냐를 중심으로 남서쪽으로 아펜니노 산지와 동쪽으로 아드리아해 사이의 대평원 지역이다.
- 기후적 특성 : 에밀리아 로마냐 에서의 기후는 온화하며 매년 적당한 강우량이 있고 심지어 가장 건조한 달에도 여전히 적당한 강우량이 있다.
한 해 중 가장 따뜻한 달은 7월이며, 7월의 평균 기온은 24.5 °C이고 1월의 평균기온은 2.3 °C로 일년 내에 가장 낮다. 가장 건조한 달과 가장 습한 달의 강수량 차이는 45 mm로 건습의 차이가 크지 않다.
- 1990년대 한국의 종묘회사들과 협력관계를 맺고 채종을 전문으로 대행하고 있으며 오랜 기간 쌓인 노하우로 한국 품종에 대한 이해가 높다.



<그림 39> 에밀리아 로마냐 지역의 연평균 기온 및 강수량 분포도

month	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
mm	48	48	64	78	68	61	47	53	62	78	92	75
°C	2.3	4.8	8.9	13.3	17.9	21.9	24.5	24.3	20.8	15.1	10.4	4.1
°C (min)	-0.6	1.3	4.7	8.4	12.6	16.5	18.8	18.7	15.6	10.7	7.1	1.2
°C (max)	5.3	8.4	13.2	18.2	23.3	27.4	30.3	29.9	26.0	19.5	13.8	7.0
°F	36.1	40.6	48.0	55.9	64.2	71.4	76.1	75.7	69.4	59.2	50.7	39.4
°F (min)	30.9	34.3	40.5	47.1	54.7	61.7	65.8	65.7	60.1	51.3	44.8	34.2
°F (max)	41.5	47.1	55.8	64.8	73.9	81.3	86.5	85.8	78.8	67.1	56.8	44.6

<그림 40> 에밀리아 로마냐 지역의 연평균 기온 및 강수량

○ 이탈리아 무 채종의 장점

- 해양성 기후대의 지역으로 기후변화가 심하지 않아 비교적 안정적인 생산이 가능하다.
- 강수량이 적당하여 건조피해가 적어 안정적 생산이 가능하다.

- 기후대가 다양하여 무 뿐만 아니라 다른 작물의 채종에도 유리한 지역이다.
- 한국 품종의 채종역사가 길어 한국품종에 대한 이해도 높아 종자의 품질이 높다.
- 채종에서 전문성을 갖추고 있고 종자가공설비도 구비하여 전문화된 종자생산이 가능하다.
- 채종 후 한국에서 원하는 형태의 종자가공이 가능하다.
- 충분한 창고 공간을 확보하고 있어 한국에서 원하는 시기를 종자를 공급할 수 있다.

○ 이탈리아 무 채종의 단점

- 채종 전문 회사들이 많아 원종 유출의 우려를 완전히 배제할 수 없다.
- 회사별로 종자가공수준의 차이가 있어 직접 방문과 경험을 통해 적정 회사를 선택해야 한다.

○ 이탈리아 채종 회사 명단

- **회사명 : Anseme S.p.A.**
- 주소 : Via Cipro 60, Cesena 47023 Italy
- E-mail : anseme@anseme.com
- Tel : +39 (0547) 382121 / Fax : +39 (0547) 384451
- Web : www.anseme.com

- **회사명 : De Corato Sementi SRL**
- 주소 : Via Corato 195/3, 70031 Andria (BA) Italy
- E-mail : info@decoratosementi.it
- Tel : +39 0883 541042 / Fax: +39 0883 542883
- Web : www.decoratosementi.it

- **회사명 : Zagaria F.lli Sementi**
- 주소 : Via Pontano, 82, 76123 Andria (BT) - ITALY
- Tel/Fax : 0883 291757
- E-mail : info@zagariasementi.com

- **회사명 : SUBA SEEDS COMPANY S.r.l.**
- 주소 : Via Emilia, 1818 , 47020 Longiano (FC) Italy
- Tel : +39 0547 56191 / Fax: +39 0547 56285
- E-mail : suba@subaseeds.com

- **회사명 : S.A.I.S. Spa**
- 주소 : Via Ravennate, 214, 47023 Cesena (FO) , Italy
- E-mail : sais@saissementi.it
- Tel : +39 547 384250 / Fax: +39 547 384089
- Web : www.saissementi.it

- 회사명 : Cooperativa Agricola Cesenate(C.A.C)
- 주소 : Via Calcinaro, 1450 - 47521 Martorano di Cesena (FC) (ITALY)
- Tel. : +39 547 643511 / Fax : +39 547 383417 - 0547 381002
- E-mail : cac@cacseeds.it

5. 합 작성 및 조합의 선발

가. 재료 및 방법

본 연구과제에서 사용된 재료들은 위 제2절 CO2 처리방법 개선에 사용된 계통들 중 주로 국내용 무를 육성하기 위한 계통들을 사용하였으며 국내용 무 품종육성에 부합하는 원예적 형질을 가진 양친으로 교배조합을 작성하였다. 1차로 조합성능검정 시험을 실시하여 원예적 형질이 우수한 F1 조합을 예비 조합으로 선발하였고, 2차로 예비선발 조합과 신규로 작성된 신규조합 등을 다시 성능검정을 실시하였다. 2차 조합성능검정 결과 예비 선발된 조합에서 우수한 성적을 보인 조합을 최종 조합으로 선발하였고 신규조합에서 또다시 2차 예비 조합을 선발하는 과정을 반복하였다. 최종 선발 조합은 다음해 확대 시교 종자를 생산하여 농가에 시교 시험을 실시하여 농가의 의견을 청취하고 품종보호출원하였다.

나. 우수 조합의 선발

○ 서남열무

서남열무는 선행연구에서 조합을 작성하여 1차 예비선발된 조합이다. 1차년도(2013년)에 시교 종자를 생산하여 농장에서 성능검정을 재실시하여 가을 재배에서 채종번호 BX3007로 최종 선발되었다. 그리고 이듬해(2014년) 저온기 및 고온기 성능검정시험을 실시하였다. 성능검정 시험은 비가림 하우스에서 성능검정을 실시하였다. 저온기재배는 2014. 2. 10일 파종하여 4. 10 수확조사하였고, 고온기재배는 2014. 5. 7일 파종하여 5. 30 수확조사하였다. 대비종은 저온기용으로 동남열무, 신만복열무를 고온기용으로 흑단여름열무, 돈방석열무 등을 사용하였다. 서남열무는 저온기 파종에서 추대가 늦고 엽수가 많으며 엽색이 농록이며 고온기 파종에서도 엽수 분화가 빠르고 엽색이 농록이며 위황병 중도 저항성으로 나타났다.

서남열무는 1차년도 가을에 최종 선발 후 2차년도(2014년) 저온기 시험을 실시함과 동시에 확대 시교생산을 실시하고, 원원종 증식 시험도 실시하였다. 서남열무의 모계는 위 제2절 CO2처리방법 개선에 사용된 GG3 계통으로 위 제2절 시험에서 확인된 것처럼 CO2 처리농도를 높일 때 원종 생산량이 월등히 개선되는 것을 알수 있었다.

현재의 열무는 농가에서 순도를 매우 중요시하기 때문에 MS 품종에 대한 요구가 높다. 따라서 서남열무 또한 계통 육성 단계부터 MS 계통을 육성해 오고 있었는데, 문제는 품종이 만들어지고 난 후 원종 증식이 어떻게 될지 알 수 없다는 것이었다. 그런데 위 제2절 CO2 처리방법 개선으로 이 문제를 바로 해결할 수 있었다.

2차년도(2014년) 확대 생산한 시교종자를 2차년도(2014년) 가을과 3차년도(2015년) 봄에 종자 판매상을 통하여 고양시 덕양구, 일산구 등의 열무 재배단지에 시교 사업을 진행하였다. 농가시교사업 결과 봄 재배에서는 저온기에도 엽수분화가 빠르고 엽색이 농록이며 추대가 늦은 것이 좋은 장점였고, 가을 재배에서는 저온기에도 엽신장이 빨라 수량성이 다른 품종에 비해 수량성이 많다는 것이 농가의 반응이었다. 특히 고양시 일대는 시들음병(위황병)이 많이 발생하는 지역으로 본 조합은 경쟁력이 있어 보인다는 평가가 많았다. 지금까지의 조합선발시험과 농가시험사업 결과를 바탕으로 2015년 서남열무로 품

종보호출원(출원번호 2015 - 489)하였으며, 2015년과 2016년 일부 판매종자를 생산하여 판매 준비 중에 있다.



<그림 41> 열무 재배 전경 및 선발 조합 개체 전경



<그림 42> 서남열무(BX3007) 선발 사진



서남열무(BX3007) 저온기 재배 수확 전경



서남열무(BX3007) 고온기 재배 수확 전경

<그림 43> 서남열무(BX3007) 농가 시교 사업

○ 금보석열무

금보석열무는 2차년도(2014년)에 조합을 작성하여 예비선발된 조합이다. 이 조합은 소형 Topping 망실에서 소량 종자를 받아 2차년도(2014년)에 이어 3차년도(2015년)에도 농장에서 성능검정 시험을 진행하였으며, 위 서남열무가 최종 선발되었을 때 BN 5로 예비 선발되었다. 금보석열무는 선발 당시 초자가 입성으로 고온기에도 잎이 무성하지 않고 가지런하며 엽색이 농록으로 엽면에 얼룩무늬가 나타나지 않으며 줄기에 검은무늬병 발생이 없어 고온기 전용으로 선발되었다.

그리고 3차년도(2015년)에 시교 종자를 생산하여 고온기 성능검정시험을 실시하였다. 성능검정 시험은 비가림 하우스에서 성능검정을 실시하였다. 고온기재배는 시교종자 생산 직후 인 2015. 7. 20일 파종하여 8. 12 수확조사하였다. 대비종은 흑단여름열무, 돈방석열무 등을 사용하였다. 금보석열무는 고온기 재배에서도 초자가 입성으로 키가 짧고 무성하지 않으며 엽색이 농록이며 줄기 굵어 수량성이 높았다. 그리고 무엇보다 줄기에 검은무늬병이 발병하지 않아 상품성이 높을 것으로 판단되었다.

이러한 성능검정 결과를 바탕으로 4차년도(2016년)에 확대시교 종자를 생산하면서 원원종 증식도 동시에 진행하였다. 그리고 농가의 의견을 구하기 위해 연구소 주변 농가에 소량 시교사업도 병행하였다. 농가의 시교사업 결과 대비종인 흑단열무보다는 키가 약간 커보이지만 대비종보다 하엽 노화현상이 적고 잎이 단단해 수확 작업이 더 용이하다는 의견이었다.

그러나 문제는 원원종 증식에서 나타났다. 금보석 열무의 모계는 위 제 2 절 CO₂ 처리방법 개선에 사용되었던 GX3 계통으로 CO₂ 처리방법의 개선으로도 원종 증식이 잘 되지 않는 계통이다. 열무의 재료로서 원예적 형질은 매우 우수한 계통이지만 2013년부터 2015년까지 다양한 CO₂가스 처리 방법에도 원종 증식이 어려워 현재는 NIL 육성 방법으로 문제를 해결하고자 하고 있다. 현재 NIL은 BC2F₁ 단계까지 진행되었으며(위 제 3절 NL 6) 다음 세대 모본도 선발이 완료되었다. Background selection 시스템이 구축됨에 따라 NIL 육성도 속도가 빨라질 것으로 기대된다.

금보석열무는 원종 증식의 문제는 있지만 조만간 해결 가능할 것으로 판단되어 성능검정결과와 농가의 의견을 바탕으로 2016년 품종보호출원(품종보호출원 2016-360)하였으며, 2017년 확대 시험용 종자를 소량이지만 생산할 계획이다.



<그림 44> 금보석열무(BN 5) 선발 사진



<그림 45> 금보석열무(BN 5) 최종 선발 및 농가시교 사업

< 4세부 위탁 : 무 시들음병 저항성 분자마커 개발 >

1. 이론적, 실험적 접근방법

- 시들음병 저항성 분자마커 개발위한 무 유전자원 확보 및 병리검정
- 다른 식물에서 시들음병 저항성 연구결과 문헌조사

- 무 유전체 정보 및 문헌조사 결과이용 내병성 형질 연관 분자마커 개발

가. 추진전략·방법

시들음병 저항성 분자마커 개발하기 위하여 기 보유하고 있는 저항성 계통 이외에 시들음병 저항성 유전자원을 수집 및 병리검정센터에 의뢰하여 병리검정을 통해 저항성 형질을 확인하였다. 무는 모델 식물인 애기장대와 동일하게 십자화과이다. 모델식물 및 타 십자화과에서 시들음병 저항성 연구결과를 문헌조사하고, 저항성 형질을 검정할 수 있는 지표(분자마커)로써 가능성(범용성)이 있는지 확보한 유전자원에서 분자마커분석을 하였다. 기 보유하고 있는 무 저항성 계통으로 만든 분리집단에서 시들음병을 접종하여 저항성 형질의 유전분석을 하였다. 문헌조사 결과로 내병성 형질 연관부위를 확보하고 무 유전체 정보를 이용하여 목적 부위에서 분자마커를 개발하고자 한다.

2. 연구내용

가. 시들음병 저항성 분자마커 개발위한 무 유전자원 확보 및 병리검정

신젠타에서 분양받은 무 자식계통인 B2와 835, 그리고 네오시드에서 분양받은 무 자식계통인 YR1-18, 22, 29, 31, 35를 확보하여 본 실험에 이용하였다. 한국화학연구소에 의뢰하여 시들음병 병리검정을 실시하였다. 발아 후 9~10일 후 병 접종을 실시하였다. 접종 13일 후 병 증상을 6단계로 나누어 확인하였다 (0: 아무런 증상 없음, 1: 지하부가 갈변되었으나 지상부는 아무런 증상 없음, 2: 지하부가 갈변되었고 지상부도 조금 시듦, 3: 지하부가 갈변되었고 지상부는 황화 현상 발생, 4: 지상부가 갈변되었고, 지상부는 황화 현상과 함께 상당히 시듦, 5: 고사). 각각 총 열 개체를 이용하여 병 증상을 확인하였고 평균을 냈다. 평균을 이용하여 저항성 (평균≤1.0), 중도 저항성 (1.0<평균≤2.5), 감수성 (2.5<평균)으로 표시하였다. 각 계통 별로 10개의 식물로부터 나타난 병리 검정 값의 평균값과 저항성, 중도 저항성, 이병성을 <표 27>에 표시하였다. YR2, 4, 5, 6, 29, 31 계통은 저항성, B2, YR1, 7, 8, 10, 11, 12, 22, 35 계통은 중도 저항성, 그리고 835, YR3, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 18 계통은 이병성으로 나타났다.

<표 27> 실험에 사용한 무 유전자원의 병리검정 결과

순번	출처	계통 이름	평균 발병도	반응
1	신젠타	B2	1.7 ± 1.4	중도 저항성
2		835	5.0 ± 0.0	이병성
3	네오시드	YR1	1.2 ± 0.7	중도 저항성
4		YR2	0.7 ± 0.5	저항성
5		YR3	3.1 ± 1.0	이병성
6		YR4	0.7 ± 0.8	저항성
7		YR5	0.8 ± 0.4	저항성
8		YR6	1.0 ± 0.9	저항성
9		YR7	1.9 ± 1.3	중도 저항성
10		YR8	1.8 ± 0.9	중도 저항성
11		YR9	3.0 ± 1.3	이병성
12		YR10	1.5 ± 0.9	중도 저항성
13		YR11	1.2 ± 1.6	중도 저항성
14		YR12	2.4 ± 1.7	중도 저항성

15	YR13	4.5 ± 0.7	이병성
16	YR14	5.0 ± 0.0	이병성
17	YR15	3.8 ± 0.4	이병성
18	YR16	4.7 ± 0.6	이병성
19	YR17	4.6 ± 1.2	이병성
20	YR18	5.0 ± 0.0	이병성
21	YR22	1.8 ± 1.1	중도 저항성
22	YR29	1.0 ± 0.9	저항성
23	YR31	0.6 ± 0.5	저항성
24	YR35	1.2 ± 1.0	중도 저항성

나. 다른 식물에서 시들음병 저항성 연구결과 문헌조사

애기장대, 배추, 양배추, 토마토, 목화 그리고 멜론에서도 시들음병이 발병되며 많은 연구들이 진행되고 있다(Cole et al. 2013, Diener et al. 2005, 2013, Shen et al. 2013; Motoki et al. 2014; Lv et al. 2014; Sarfatti et al. 1991, Guus et al. 1998, Catazariti et al. 2015, Yvonne et al. 2016; Mauricio et al. 2013, Zhang et al. 2016; Joobeur et al. 2004). 하지만 현재까지 무에서의 시들음병 저항성 유전자에 대한 연구는 미미하며 무에서의 시들음병 저항성 유전자는 아직 알려진 것이 없다. 다른 식물에서의 시들음병 저항성 유전자에 대한 정보와 네 곳의 무 데이터베이스에서 blast를 통해 다른 식물에서의 시들음병 저항성 유전자들과 상동하는 유전자를 정리하였다 (<http://bioinfo.bti.cornell.edu/cgi-bin/radish/index.cgi>; <http://www.radish-genome.org>; <http://www.nodai-genome-d.org>; <http://radish.kazusa.or.jp>). 시들음병 저항성 유전자는 크게 NBS-LRR (Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat), LRR-RLP (Receptor Like Protein), SRLK (S Receptor Like Kinase)로 보여진다.

다. 무 유전체 정보 및 문헌조사 결과이용 내병성 형질 연관 분자마커 개발

본 연구는 RGAs(Resistance Gene Analogs)를 이용하여 저항성 품종 개발에 도움을 주고자 하였다. RGA란 잠정적인 저항성 유전자로, 이는 보존된 도메인과 구조를 갖고 있다(Sekhwil et al. 2015). 대표적인 RGA는 크게 nucleotide binding site-leucine rich repeat(NBS-LRR)와 transmembrane-leucine rich repeat(TM-LRR)로 나누어진다(Sekhwil et al. 2015). NBS-LRR은 다시 toll/interleukin receptor(TIR)-NBS-LRR(TNL)와 non-TNL/coiled coil-NBS-LRR (CNL)로 나누어진다(Hammond-Kosack and Jones 1997). TNL과 CNL은 유발 인자촉발성면역체계(effector triggered immunity; ETI)에 속하며 이들은 숙주 세포 내에서 병원성 인자 단백질을 목표로 반응한다(Chisholm et al. 2006). TM-LRR 역시 다시 receptor like kinase(RLK)와 receptor like protein(RLP)로 나누어진다(Hammond-Kosack and Jones 1997). RLK와 RLP는 패턴인식단백질(pattern recognition receptors; PRRs)로서, 이들은 병원균/미생물 연관 분자 패턴(pathogen/microbe associated molecular pattern; PAMP/MAMP)을 인식해 면역반응을 조정한다.(Chisholm et al. 2006).

본 연구의 목표는 무에서 시들음병 관련 RGA를 분리하는 것과 그와 관련된 RGA 특이 마커를 개발하는 것이다. degenerated primer를 이용하여 세 개의 무 자식계통으로부터 RGA가 분리되었다. RGA의 클로닝과 서열을 확인한 뒤, 이를 비교 분석과 함께 계통수 분석을 하였다. 이를

바탕으로, RGA 특이 마커를 개발하였고 24개의 무 자식계통에 검정하였다. 최종적으로 개발된 RGA 특이 마커들을 이용하여 무 유전자 지도 작성을 위한 부모 계통 선택에 도움을 줄 것이고, 또한 다양한 병 저항성 무 계통 개발을 위해 사용될 것이다.

3. 연구결과

가. NBS와 SRLK RGA의 cloning, sequencing 후 유사 비교 분석

분리된 NBS RGA는 500bp의 크기였고 각각 B2에서 19개, YR15에서 26개, YR31에서 23개 분리되어 cloning, sequencing되었다. 총 68개의 NBS RGA를 다른 식물의 유전자와 유사 비교 분석한 결과, 대부분 애기장대, 유채, 양배추, 무의 병 저항성 단백질과 비슷하다는 것을 알 수 있었다 (표 28).

SRLK RGA는 900bp의 크기였고 각각 B2에서 18개, YR15에서 20개, YR31에서 8개 분리되었다. 총 46개의 SRLK RGA를 다른 식물의 유전자와 유사 비교 분석을 한 결과, 유채와 양배추, 무의 SRLK 유전자와 상당한 유사성을 보였다 (표 29).

이를 통해 시들음병 관련 무 유전자원으로부터 병 저항성 유전자인 NBS와 SRLK domain을 확보하였고 이를 이용해 두 유전자들의 변이를 살펴 볼 수 있게 되었다.

<표 28> NBS RGA와 다른 식물에서의 유사 유전자

RsRGAs	The sequence with high similarity	GenBank accession no.	% identity	E-value
NBS_B2-1	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	8.00E-78
NBS_B2-2	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698498.1	87%	3.00E-101
NBS_B2-3	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	99%	5.00E-114
NBS_B2-4	PREDICTED: TMV resistance protein N-like [<i>Brassica napus</i>]	XP_013727071.1	91%	2.00E-106
NBS_B2-5	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	75%	2.00E-77
NBS_B2-6	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	7.00E-78
NBS_B2-7	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013650262.1	95%	6.00E-110
NBS_B2-8	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	98%	4.00E-119
NBS_B2-9	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X3 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698499.1	85%	3.00E-97
NBS_B2-10	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	74%	1.00E-74
NBS_B2-11	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	99%	1.00E-111
NBS_B2-12	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-77
NBS_B2-13	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	75%	3.00E-76
NBS_B2-14	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	98%	2.00E-110
NBS_B2-15	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-77
NBS_B2-16	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-77
NBS_B2-17	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	97%	2.00E-113
NBS_B2-18	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: putative disease resistance protein At4g11170 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013588752.1	88%	4.00E-93
NBS_B2-19	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	99%	1.00E-118
NBS_YR15-1	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: putative disease resistance protein At4g11170 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013588752.1	88%	8.00E-94

NBS_YR15-2	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	7.00E-78
NBS_YR15-3	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013650262.1	95%	3.00E-109
NBS_YR15-4	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	99%	2.00E-114
NBS_YR15-5	PREDICTED: putative disease resistance protein At1g63350 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018454444.1	99%	3.00E-116
NBS_YR15-6	PREDICTED: putative disease resistance protein At1g63350 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018454444.1	99%	3.00E-116
NBS_YR15-7	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	78%	9.00E-81
NBS_YR15-8	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013650262.1	95%	6.00E-110
NBS_YR15-9	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013650262.1	95%	6.00E-110
NBS_YR15-10	PREDICTED: putative disease resistance protein At1g63350 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018454444.1	99%	4.00E-115
NBS_YR15-11	PREDICTED: putative disease resistance protein At1g63350 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018454444.1	99%	4.00E-115
NBS_YR15-12	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	7.00E-78
NBS_YR15-13	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	78%	1.00E-79
NBS_YR15-14	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	4.00E-77
NBS_YR15-15	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-77
NBS_YR15-16	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	98%	3.00E-118
NBS_YR15-17	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	78%	1.00E-80
NBS_YR15-18	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X3 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698499.1	86%	4.00E-98
NBS_YR15-19	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-77
NBS_YR15-20	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: putative disease resistance protein At4g11170 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013588752.1	89%	3.00E-94
NBS_YR15-21	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	98%	9.00E-111
NBS_YR15-22	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	98%	3.00E-118
NBS_YR15-23	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-77
NBS_YR15-24	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	78%	4.00E-80
NBS_YR15-25	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	99%	7.00E-112
NBS_YR15-26	PREDICTED: putative disease resistance protein At1g63350 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018454444.1	99%	1.00E-113
NBS_YR31-1	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	7.00E-78
NBS_YR31-2	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	7.00E-78
NBS_YR31-3	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	99%	2.00E-114
NBS_YR31-4	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X3 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698499.1	86%	2.00E-99
NBS_YR31-5	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	75%	2.00E-77
NBS_YR31-6	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	96%	2.00E-112
NBS_YR31-7	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	77%	2.00E-80
NBS_YR31-8	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X3 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698499.1	86%	4.00E-99
NBS_YR31-9	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013650262.1	95%	7.00E-110
NBS_YR31-10	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	77%	2.00E-80
NBS_YR31-11	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Brassica napus</i>]	XP_013664583.1	82%	6.00E-86
NBS_YR31-12	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	75%	2.00E-77
NBS_YR31-13	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like isoform X2 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013650262.1	95%	3.00E-110

NBS_YR31-14	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	78%	10 1.00E-8 0
NBS_YR31-15	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X3 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698499.1	86%	6.00E-9 7
NBS_YR31-16	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 isoform X3 [<i>Brassica napus</i>]	XP_013698499.1	86%	6.00E-9 7
NBS_YR31-17	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	98%	7.00E-1 11
NBS_YR31-18	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	96%	3.00E-1 15
NBS_YR31-19	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	76%	1.00E-7 7
NBS_YR31-20	PREDICTED: disease resistance protein RPS6-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018441634.1	98%	1.00E-1 17
NBS_YR31-21	PREDICTED: putative disease resistance protein At4g11170 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013587884.1	85%	1.00E-9 7
NBS_YR31-22	NB-ARC domain-containing disease resistance protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	NP_192674.1	78%	8.00E-8 1
NBS_YR31-23	PREDICTED: disease resistance protein RML1A-like [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018443512.1	99%	2.00E-11 1

<표 29> SRLK RGA와 다른 식물에서의 유사 유전자

RsRGAs	The sequence with high similarity	GenBank accession no.	(% identity)	E-value
SRLK_B2-1	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_B2-2	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 isoform X2 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018432758.1	95%	3.00E-139
SRLK_B2-3	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-4	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-5	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-6	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-7	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-8	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_B2-9	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	2.00E-176
SRLK_B2-10	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-11	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-12	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-13	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_B2-14	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-15	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_B2-16	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_B2-17	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_B2-18	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_YR15-1	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_YR15-2	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_YR15-3	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 isoform X2 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018432758.1	90%	0
SRLK_YR15-4	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	1.00E-164
SRLK_YR15-5	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_YR15-6	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_YR15-7	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_YR15-8	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 isoform X2 [<i>Raphanus sativus</i>]	XP_018432758.1	95%	1.00E-156
SRLK_YR15-9	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_YR15-10	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	91%	0
SRLK_YR15-11	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0
SRLK_YR15-	PREDICTED: G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase CES101 [<i>Brassica oleracea</i> var. <i>oleracea</i>]	XP_013583331.1	92%	0

다. SRLK RGA 서열 비교 분석

B2, YR15, YR31에서부터 분리된 46개의 SRLK RGA와 *A. thaliana*에서의 시들음병 저항성 유전자인 *RFO3*, *B. rapa*에서의 SRLK domain의 아미노산 서열 비교 분석을 했다(그림 59). 46개의 SRLK RGA는 모두 G-lectin과 PAN_AP의 구간을 보존되어 있었다. B2와 YR15와는 다르게 YR31의 SRLK RGA에서 8개의 아미노산 삽입이 있었다. 이는 YR31의 저항성은 SRLK와 관련이 있을 것이라 추측된다. 반면 *A. thaliana*의 시들음병 저항성 유전자인 *RFO3*와 *B. rapa*의 SRLK domain과 서로 다른 3개의 무 자식 계통에서 분리된 46개의 SRLK RGA간 아미노산 서열은 큰 차이가 있었다. 이를 통해 무 유전자원에서의 SRLK domain의 변이를 보았고 저항성과 이병성 간의 SRLK 서열 차이를 확인하려 하였고 중도저항성(B2), 이병성(YR15)와는 달리 저항성 계통인 YR31에서 In/Del를 발견함으로써 그 차이를 확인하였다.



<그림 47> 46개의 무 SRLK RGA 아미노산 서열 비교

라. RGA 특이 marker 개발 및 marker 검정

무 database와 분리된 RGA 서열 정보를 바탕으로 개발된 RGA 특이 marker를 24개의 자식 계통에 검정한 결과 3개의 RGA 특이 marker에서 다형성을 보였다. SRLK-Indel marker의 경우 YR31과 B2, YR15간의 24bp의 In/Del을 목표로 개발하였다(그림 60). For1 marker의 경우 *A. thaliana*의 시들음병 저항성 유전자인 *ATFor1*를 목표로 개발하였다. GRP3 marker의 경우 NBS RGA의 group 3로부터 개발하였다. Marker 검정 결과는 그림 61에 표시하였다. 이 결과는 24개의 무 자식 계통과 RGA 특이 marker 간의 관계가 매우 연관되어 있다는 사실을 나타낸다.

본 연구에선 다형성을 보이는 3개의 RGA 특이 marker를 개발하였고, 확보한 유전자원에 마커 검정한 결과 표현형과 유전자형이 100% 일치하는 마커는 발견할 수 없었다. 하지만 개발된 3개의 RGA 특이 marker를 이용하여 시들음병 mapping 집단에 사용할 수 있고 또한 병 저항성 유전자를 바탕으로 개발된 marker이기 때문에 다른 복합적인 병 저항성 연구에도 사용 가능할 것이라 생각된다. 최종적으로 본 연구의 결과는 무에서의 시들음병 저항성 유전자를 찾기 위한 하나의 중요한 역할을 할 것이라 생각된다.

```

SRLK_B2  --T-----G-- // -----A-----G-----C----- // --T-----T--G-
SRLK_YR15 --T-----G-- // -----A-----G-----C----- // --T-----T--G-
SRLK_YR31 --C-----T-- // -----G-----A-----T----- // --A-----C--C-

```

```

SRLK_B2  --A-- // -----C-----T-----G----- // --T-----XXX--C-
SRLK_YR15 --A-- // -----C-----T-----G----- // --T-----XXX--C-
SRLK_YR31 --G-- // -----T-----A-----A----- // --A-----AAT--T-

```

```

SRLK_B2  --A-- // -----XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX // --G-----T--T-----C
SRLK_YR15 --A-- // -----XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX // --G-----T--T-----C
SRLK_YR31 --G-- // -----ATCAGGAAGGATATTTTCATCTCGG // --T-----C--G-----G

```

19 SNP

3bp indel and 24bp indel

<그림 48> 무 3개의 자식계통부터 분리된 SRLK RGA DNA 서열 비교

(a) SRLK Indel



(b) ForI



(c) GRP3



<그림 49> RGA 특이 marker 검정

제 4 장 목표달성도 및 관련분야의 기여도

제 1 절 연구목표의 달성도

1. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자마커 개발과 DNA 프로파일링

본 연구를 통하여 무의 근비대, 근형, 바람들이, 병저항성, 근피색, 글루코시놀레이트 함량과 같은 유용 형질에 대한 체계적인 분석을 진행하였고, 근비대, 근피색 관련 전사체 데이터 생산을 완료하여 분석을 마무리하는 단계에 있다. 또한, 상기의 유용형질에 대한 유전 분석을 할 수 있는 inbred line을 선발하고 이들이 갖고 있는 SNP 분석을 마쳤다. 또한, inbred line 간의 교배를 통해 분리 집단을 제작하였고 이들의 유전 분석을 GBS라는 기술로 분석하기 위한 기술을 확보, 실행 단계에 있다. 제1세부 연구팀은 유전체, 전사체, 유전형 분석의 체계적인 연구 시스템 셋업을 통하여 2단계 GSP사업의 틀을 마련하였고, 참여 기업체들의 육종에 필요한 기술을 제공하게 될 것이다.

2. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대단축기술 개발

- 가. 1차년도: 품종보호권 출원 1점(원교10046호), 소포자 배양 연구 실시 결과 배양에 효과적인 9조건 선발 및 소포자 배양 서비스 실시(7개사 20종 100점 서비스 실시 결과 배상체 738점 발생, 551점 분양 완료)
- 나. 2차년도: 품종보호권 출원 1점(원교10045호), 소포자 배양 서비스 실시(5개사 20종 100점 서비스 실시 결과 배상체 392점 발생, 348점 분양 완료), 국외자원 10점 수집(중국), 유전자원 10점 등록, DH 계통 4점 개발 및 분양 완료
- 다. 3차년도: 소포자 배양 서비스 실시 (5개사 19종 95점 서비스 실시 결과 배상체 868점 순화, 767점 분양 완료), 국외자원 10점 수집(일본 10점), 유전자원 24점 입고, 기술이전 1건 실시 (동부팜한농, 무 소포자 배양 기술), DH 계통 1점 개발 및 분양, 자원분양 5점
- 라. 4차년도: 품종보호권 출원 1점(원교10050호), 소포자 배양 서비스 실시 (5개사 33종 175점 서비스 실시 결과 2211점 순화, 2045점 분양 완료), 국외자원 33점 수집, 유전자원 33점 등록.

< 2세부 위탁 >

본 연구의 정성적 목표인 대용량 유전자형 분석시스템을 확립하였으나 정량적 목표인 비SCI 1건, 분자마커 5건은 현재 작성중임. 기간 내에 달성하지 못한 목표의 조속한 달성을 위하여 분석 및 논문작성을 계속 진행중임.

3. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성

본 연구를 통하여 중국과 베트남으로부터 무 유전자원 41점을 수집하여 포장특성검정을 실시하였으며 이 중 30점을 유전자원센터에 등록을 완료하였다. 무의 육종 및 채종에 이용할 수 있는 S-hyplotype 판별용 분자표지 23개를 개선 또는 개발 완료하였고, 이를 이용하여 GSP에 참여하

고 있는 기업들에게 총 505건의 자가불화합 검정 서비스를 제공하여 목표(3년간 360점)를 초과 달성하였다. 개발한 분자표지를 이용하여 유전자원 및 육성계통의 S-hyplotype을 분석한 후 최종적으로 분자표지가 개발된 23개의 S-hyplotype을 모두 포함하고 개개의 SI에 대하여 homozygous한 계통 집단을 육성하여 연구기관이나 종자회사의 요청에 의해 분양할 예정이다.

4. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

- 가. 유전자원 수집: 중국 현지에서 유전자원 10점 수집 및 일본에서 유전자원 14점 수집하여 총 24점의 유전자원 평가 및 등록 완료(한국생명공학연구원). 중국에서 유전자원 40점 수집하여 유전자원 평가 및 등록 완료. 일본에서 유전자원 9점 수집하여 유전자원 평가 및 등록 완료.
- 나. 기존 계통 SI 인자형 분석 10계통 이상 - NIL 육성: 육성중인 계통 120점을 국립원예특작과학원에 SI 인자분석 의뢰. 14개 primer에 대한 분석 완료. 육성중인 계통 120점을 농업기술실용화재단에 SI 인자분석 의뢰하여 SI 인자형 확인 완료육성중인 계통 72점을 농업기술실용화재단에 SI 인자분석 의뢰하여 인자형 확인 완료.NIL 육성 기본 자료로 활용 육성중인 계통 88점을 농업기술실용화재단에 SI 인자분석 의뢰하여 인자형 확인 완료6계통에 대하여 SI인자 분석 후 핵치환 작업 계속 진행. BC2F1 단계에서 hetero 선발 완료.
- 다. CO₂ 처리에 의한 원종 및 원원종 증식 10계통 이상: 육성중인 계통 25계통을 CO₂가스 3% 처리에 의한 원종 및 원원종 증식 시험 수행. 육성중인 계통 19계통을 CO₂가스 4.5% 처리에 의한 원종 및 원원종 증식 시험 수행. 2차년도 시험을 바탕으로 7계통을 CO₂가스 4 ~ 5% 처리에 의한 원종증식 시험 수행. 3차년도까지 시험을 바탕으로 조추대, 만추대 각 1계통씩을 CO₂가스 4.5% 처리에 의한 파종시기별 원종 생산량 비교 시험 완료.
- 라. 무 생산지 정보 수집: 중국 현지 지인을 통한 채종지 정보 수집(길림성, 요녕성, 산둥성, 하남성, 감숙성, 내몽고) 및 뉴질랜드, 이탈리아 무 채종지 정보수집 완료
- 마. 품종보호출원을 위한 조합선발 시험: 국내용 월동무 및 열무 조합검정시험 실시. 위황병 검정시험 실시 - 국내용 여름무 및 열무 42점 완료. 국내용 여름무 시교 사업 진행. 위황병 검정시험 - 50계통 완료. 서남열무 품종보호출원 완료. 시들음병 유전자원 확보 및 병리검정 완료-저항성 재료 유전체 재분석 완료. 타식물 시들음병 저항성 연구결과 문헌조사 완료. QTL구간 등 목적(target) 영역에서 프라이머 디자인 및 검정 50개 완료.

제 2 절 관련 분야에의 기여도

1. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자마커 개발과 DNA 프로파일링

본 연구를 통하여 '식물의 비대성장을 조절하는 ASL9 유전자 및 이의 용도'라는 명칭으로 특허 출원을 하였고, 총 6편의 SCI 논문을 발표하였다. 또한 애기장대 데이터와의 비교를 통한 뿌리비대 관련 전사체, 근피색 관련 전사체, reference radish genome 데이터와의 비교를 통한 inbred line 고유 SNP를 보고하여 데이터베이스화하는 단계에 있다. 본 연구과정에서 박사 후 연구원, 석사, 학사를 포함한 5명의 인력 양성이 이루어졌다.

2. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대단축기술 개발

가. 차세대 염기서열 분석법(NGS)을 이용한 GBS(Genotype-by-Sequencing) 분석 파이프라인의 확립

- 무에서 확립된 대용량 유전자형 분석시스템은 배추과의 모든 작물에 활용이 가능
- NGS를 이용한 분자마커의 대량 발굴 시스템은 향후 배추과 분자유종에서의 분자마커의 활용성을 높이며 비용을 절감할 수 있음

나. 소포자배양 재분화율과 연관되어 있는 단일염기다형성(SNP) 마커 후보군 선별

- 단일마커분석법으로 발굴된 마커후보군은 후속연구에서 추가검정을 통하여 재분화율과 연관된 분자마커로 이용가능
- SNP 염기서열에서 PCR 프라이머를 디자인하여 다양한 소포자배양 무 라인에 적용하여 유전분석 집단육성에 있어서 신속하고 효율적인 스크리닝에 이용될 수 있음

3. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선별 및 계통 육성

본 연구를 통하여 무의 자가불화합 인자형 4개를 한 번의 PCR로 판별할 수 있는 프라이머 세트를 특허 출원하였고, 뿌리가 길고 근형이 H형인 무 계통 '원교10052호'를 품종 출원하여 무 육종 관련 분야의 발전에 기여하였다. 또한 유전자원 30점을 유전자원센터에 등록하여 무 육종재료의 다양성을 넓히는데 기여하였다. 또한 SCI 논문 "Reproductive traits and molecular evidence related to the global distribution of cultivated radish (*Raphanus sativus* L.), Plant Systematics and Evolution 138:1367-1380"의 게재를 통하여 배추과채소 진화 및 세계적인 분포에 대한 연구의 지평을 넓히는데 기여하였으며 위탁과제에서는 Plant receptor kinases bind and phosphorylate 14-3-3 proteins. Genes and Genomics 38:1111-1119를 게재하여 관련 연구분야에 기여하였다.

4. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

- 본 연구를 통하여 해외의 유전자원을 73점 수집하였고 이를 유전자원 등록하였다. 특히 이들 유전자원의 상당수는 재래종 품종이 많아 유전적 다양성을 확보하는데 기여하였다. 그리고 이들 유전자원을 국가기관에 등록하여 누구라도 이용할 수 있게 하였다.
- 본 연구과제를 통하여 무 응성불임성 계통의 원활한 원종 증식을 위한 적정 CO2 처리농도를 구명하였으며 이를 다수의 연구자들과 공유하여 무 원종 증식 체계를 확립하였다.
- 본 연구과제를 통하여 무의 자가불화합성을 회피하기 위한 NIL 육성을 시작하였으며, Background selection 시스템 구축을 앞당겨 다수의 육종가들이 이 시스템을 활용할 수 있게 공유하여 NIL 육성 기간을 획기적으로 앞당길 수 있을 것으로 기대된다.
- 본 연구과제를 통하여 중국과 뉴질랜드, 이탈리아 등 무 채종지 정보를 수집하고 공유하여 변화무쌍한 기후 변화에도 무 종자를 안정적으로 생산할 수 있는 기반을 마련할 수 있을 것으로 기대된다. 무의 안정적인 생산 기반이 마련됨으로써 우리가 개발한 신품종을 해외에 안정적으로 공급하여 무 종자의 수출 증대에도 기여할 수 있을 것으로 기대된다.
- 본 연구과제를 통하여 무 시들음병 분자마커 개발하여 저항성 계통 및 자원의 조기 확보 및 육종시에 선별 효율을 증진 도모할 것이고 내병성 형질관련 분자마커는 특허 출원과 산업화를 통해 우수품종개발의 기반을 제공 할 것으로 예상된다. 또한 개발된 형질에 대한 마커 및 자료는 배추과 여러 작물에 응용이 가능할 것이다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

〈총괄〉

(단위 : 건수)

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국 내 매 출 액	종 자 수 출 액	기 술 이 전	마 케 팅 전략 수립 보고서	인 력 양 성	홍 보	사 템 계획 립 술 개발 건수
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비 SCI		수 집	등 록							
최종목표	13	3	10	5	18	16	6		220			6		8	7	2
1차년	목표					1			25							
	실적				1			59	8						2	
2차년	목표	1		1		2	2	1	25					1		
	실적	1		1		2		1	27	43				2		
3차년	목표	1		1		2	2	1	30			1		1		1
	실적	1				2		1	63	73		2		1		1
4차년	목표	2		1		3	1	1	30					1		
	실적	3		1		3		1	39	42		2		3		1
소 계	목표	4		3		7	6	3	110			1		3		1
	실적	5		2		8		3	188	166		4		6	2	2
소 계	5		2		8		3	188	166			4		6	2	2
합 계	5		2		8		3	188	166			4		6	2	2

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				소포자배양	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표	8	10	120	850			
1 단계	목표	4	3	450			
	실적	3	5	40	470	405	
합 계	3	5	40	470	405		

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				성분분석	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표	8						
1차년도	목표	0					
	실적	0					
2차년도	목표	0					
	실적	0					
3차년도	목표	2					
	실적	1					
4차년도	목표	2					
	실적	2					
5차년도	목표	1					
	실적						
6차년도	목표	1					
	실적						
7차년도	목표	1					
	실적						
8차년도	목표	1					
	실적						
9차년도	목표	0					
	실적						
소계	목표	8					
	실적	3					
종료 1차년도							
종료 2차년도							
종료 3차년도							
종료 4차년도							
종료 5차년도							
소계							
합계							

나. 성과 활용 계획

- ‘식물의 비대성장을 조절하는 ASL9 유전자 및 이의 용도’ 의 특허 등록 진행
- 무 비대 성장 전사체 데이터의 분석결과를 분야 상위 5% 이내의 저널에 발표
- 1단계에서 개발한 전사체 데이터의 정밀 분석을 통해 유용 유전자에 대한 특허 출원
- 유용형질 관련 라인 고유 SNP 에 대한 특허 출원
- 1단계에서 개발한 분리집단의 GBS 분석을 통하여 유용형질 관련 분자 마커 개발 및 특허 출원

2 절. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대 단축기술 개발

가. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

구분	품종개발		특허		논문		분자마커	유전자원		국내매출액	종자수출액	기술이전	마켓팅 전략 수립 보고서	인력양성	홍보	사설택육개발건수
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록							
최종목표	2					2		40	40			1				
1차년	목표							10	10							
	실적							15							2	
2차년	목표	1				1		10	10							
	실적	1						13	10							
3차년	목표					1		10	10			1				
	실적							23	20			1				
4차년	목표	1						10	10							
	실적	1						30	33							
소 계	목표	2				2		40	40			1				
	실적	2				(2)		81	63			1			2	
목 표	2					2		40	40			1				
합 계	2					(2)		81	63			1			2	

성과목표	DB구축	DH계통개발	자원분양	서비스			
				소포자배양	분자마커	병리검정	표현형검정
최종목표		3		450			
1차년	목표			100			
	실적		12	100			
2차년	목표	2		100			
	실적	4	9	100			
3차년	목표	1		100			
	실적	1	10	95			
4차도	목표			150			
	실적		9	175			
목표		3		450			
합계		5	40	470			

* 단계별 연구성과 목표는 연차/중간/단계평가의 정량적 평가지표로 활용됨

** 연구성과는 연구개발계획에 맞춰 도출하고 예시와 같이 작성하되 사업단별로 수정하여 사용

나. 품종개발

세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구 분	품종 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	원교10045호	대한민국	박수형	2015.05.19	출원2015-398				
2	원교10050호	대한민국	박수형	2016.08.10	출원2016-399				

다. 특허

지식재산권[발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격] 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별로)기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	

라. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재								
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	
1	뿌리부분이 작고 근육이 단단한 '원교10045호' 육성	작성중					비SCI	
2	근피와 근육색이 적색인 '원교10050호' 육성	작성중					비SCI	

바. 유전자원

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	정보명	국가	등 록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	Siji jing bai 60	중국	박수형	2014.5.21	K243705	
2	Qiu bai 65 san jiao zhong	중국	박수형	2014.5.21	K243706	
3	Ju hong shuiguo luobo	중국	박수형	2014.5.21	K243707	
4	Mantanghong luobo	중국	박수형	2014.5.21	K243708	
5	Ju hongyi	중국	박수형	2014.5.21	K243709	

6	기타채소	중국	박수형	2015.02.09	K248162	
7	기타채소	중국	박수형	2015.02.09	K248163	
8	기타채소	중국	박수형	2015.02.09	K248164	
9	기타채소	중국	박수형	2015.02.09	K248165	
10	기타채소	중국	박수형	2015.02.09	K248166	
11	20Ridagen	중국	박수형	2015.10.06	297172	
12	한춘옥	중국	박수형	2015.10.06	297173	
13	한백옥	중국	박수형	2015.10.06	297174	
14	한올대형봄무	중국	박수형	2015.10.06	297175	
15	홍봉자무	중국	박수형	2015.10.06	297176	
16	홍천아단무	중국	박수형	2015.10.06	297177	
17	Juhong shuiguo luobo	중국	박수형	2015.10.06	299453	
18	Juhongyi	중국	박수형	2015.10.06	299454	
19	원교10045호	육성품종	박수형	2015.12.01	K254720	
20	원교10046호	육성품종	박수형	2015.12.01	K254721	
21	원교10047호	육성품종	박수형	2015.12.01	K254722	
22	원교10048호	육성품종	박수형	2015.12.01	K254723	
23	원교10049호	육성품종	박수형	2015.12.01	K254724	
24	Natsu-fu	일본	박수형	2015.12.01	K254725	
25	Aki butai	일본	박수형	2015.12.01	K254726	
26	Taibyō miyashige daikon	일본	박수형	2015.12.01	K254727	
27	Bitamin daikon	일본	박수형	2015.12.01	K254728	
28	Shin taibyo sobutori daikon	일본	박수형	2015.12.01	K254729	
29	Oden daikon	일본	박수형	2015.12.01	K254730	
30	Hakushu	일본	박수형	2015.12.01	K254731	
31	Yuan man jing	중국	박수형	2016.12.28	K261262	
32	Chunqiu zao hong	중국	박수형	2016.12.28	K261263	
33	Radish-Hybrid Every White	인도	박수형	2016.12.28	K261264	
34	IND-PSH-12-1-6	인도	박수형	2016.12.28	K261265	
35	IND-PSH-12-1-7	인도	박수형	2016.12.28	K261266	
36	Turnip Purple Top	인도	박수형	2016.12.28	K261267	
37	IND-PSH-12-1-11	인도	박수형	2016.12.28	K261268	

38	Koushiso daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261269	
39	Dai ten	일본	박수형	2016.12.28	K261270	
40	Be ni-ge shou	일본	박수형	2016.12.28	K261271	
41	Karafurufaibu	일본	박수형	2016.12.28	K261272	
42	Ha dai ten	일본	박수형	2016.12.28	K261273	
43	Takuan daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261274	
44	Kohaku hatsukadaikon	일본	박수형	2016.12.28	K261275	
45	Hon kurenai kabu	일본	박수형	2016.12.28	K261276	
46	Sho de in daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261277	
47	Karami daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261278	
48	Aka daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261279	
49	Hatsu ka daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261280	
50	Akamaru hatsuka daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261281	
51	Penri na	일본	박수형	2016.12.28	K261282	
52	Tsubomi na	일본	박수형	2016.12.28	K261283	
53	Na dai ten	일본	박수형	2016.12.28	K261284	
54	Ami ka ki na	일본	박수형	2016.12.28	K261285	
55	IND-PSH-15-1-28	일본	박수형	2016.12.28	K261286	
56	Aki no aya	일본	박수형	2016.12.28	K261287	
57	Yoshitsune	일본	박수형	2016.12.28	K261288	
58	Minite machi	일본	박수형	2016.12.28	K261289	
59	Aki dzumari daikon	일본	박수형	2016.12.28	K261290	
60	Kanpaku	일본	박수형	2016.12.28	K261291	
61	Shin yashima	일본	박수형	2016.12.28	K261292	
62	Kokabu	일본	박수형	2016.12.28	K261293	
63	Suigetsu shogoin	일본	박수형	2016.12.28	K261294	

자. 기술이전

기술이전					
번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)
1	무상기술이전	무 소포자 배양	동부팜한농	2015.08.19	0

차. 마케팅 전략수립 보고서

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

파. DH계통개발

DH계통개발				
구분	계통명	계통특성	분양처	기타
2차년도	14-FK128	백수 장형무 DH line	농협종묘(서정팔)	2014.11.11.(품평회)
2차년도	14-FK128	백수 장형무 DH line	대일바이오(강남희)	2014.11.11.(품평회)
2차년도	14-FK171	백수 장형무, 근육단단 DH	대일바이오(강남희)	2014.11.11.(품평회)
2차년도	14-FK173	백수 장형무, 근육단단 DH	대일바이오(강남희)	2014.11.11.(품평회)
3차년도	14-FK95	청피홍심 DH line	서울대(이지영)	2015.01.19

파-1. 자원분양

자원분양				
구분	공문번호	분양내용	분양처	기타
1	채소과-1795	무 7 점	서울대학교	(2013.09.12.)
2	채소과-2006	무 2 점	농협종묘	(2013.10.21.)
3	채소과-2015	무 2 점	현대종묘	(2013.10.22.)
4	채소과-2043	무 1 점	삼성종묘	(2013.10.25.)
5	채소과-376	무 2 점	서울대학교	(2014.03.03.)
6	채소과-472	무 4 점	대일바이오	(2014.03.13.)
7	채소과-710	무 1 점	서울대학교	(2014.04.24.)
8	채소과-1115	무 2 점	대일바이오	(2014.06.30.)
9	채소과-213	품중육성용무3점	농협종묘	(2015.01.26.)
10	채소과-1396	공동연구용무6점	서울대학교	(2015.06.03.)
11	채소과-2988	육종재료용무3점	바이오브리딩	(2015.11.30.)
12	채소과-2360	무2점	장중수	(2016.09.28.)
13	채소과-2862	무2점	대일바이오	(2016.11.28.)
14	채소과-2863	무5점	코레곤종묘	(2016.11.28.)

하. 서비스

서비스(성분분석, 분자마커, 병리검정, 표현형검정)				
번호	서비스 종류	점 수	주요내용	기타
13-KR1 ~ 20	소포자배양	100	무 소포자 배양 서비스 실시	
14-KR1 ~ 20	소포자배양	100	무 소포자 배양 서비스 실시	
15-KR1 ~ 19	소포자배양	95	무 소포자 배양 서비스 실시	
16-KR1~33	소포자배양	175	무 소포자 배양 서비스 실시	

3 절. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성

가. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

성과목표	품종개발			특허		논문		분자 마커 개발	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 보고서	인력 양성
	생산수입 판매건수	출원	등록	출원	등록	SCI	비 SCI		수 집	등 록					
최종목표		3				2	3			80					
1차년도	목표								-	5					
	실적								34	8					
2차년도	목표									5					
	실적									9					
3차년도	목표					1				10					
	실적									13					
4차년도	목표		1			1				10					
	실적		1		1	2									
5차년도	목표														
	실적														
6차년도	목표														
	실적														
7차년도	목표														
	실적														
8차년도	목표														
	실적														
9차년도	목표														
	실적														
소계	목표		1			2	1			30					
	실적		1		1	2			34	30					
종료 1차년도															
종료 2차년도															
종료 3차년도															
종료 4차년도															
종료 5차년도															
소계															
합계															

* 게재중

다. 특허

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

구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명	무의 자가불화합 인자형 판별용 프 라이머 세트	한국	채원병	16.6.23	10-2016-0 078507				

라. 논문

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저 자명	호	국명	발행 기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Plant receptor kinases bind and phosphorylate 14-3-3 proteins	Genes and Genomics	채원병 (오만호)	38	한국	Springer	SCI
2	Reproductive traits and molecular evidence related to the global distribution of cultivated radish (<i>Raphanus sativus</i> L.)	Plant Systematics and Evolution	강은선 (채원병)	302	오스 트리아	Springer	SCI

마. 분자마커

분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도

바. 유전자원

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	청삼라복(청수계)	중국 허난성 정저우	채원병	14.03.11	K243537	
2	초급만당홍(청피홍심계)	중국 허난성 정저우	채원병	14.03.11	K243538	
3	잡교록수(청피청심계)	중국 허난성 상쑤	채원병	14.03.11	K243539	
4	영삼홍(홍피계)	중국 허난성 상쑤	채원병	14.03.11	K243540	
5	북경만당홍(청피홍심계)	중국 허난성 상쑤	채원병	14.03.11	K243541	
6	우선절대장(백수계)	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	14.03.11	K243542	
7	하양단협13호(백수계)	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	14.03.11	K243543	
8	특종 소백앵도라복(백수계)	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	14.03.11	K243544	
9	홍령(춘계전용라복)	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	15.03.11	K248962	
10	남한춘백옥	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	15.03.11	K248963	
11	신화 사계백정라복	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	15.03.11	K248964	
12	신화 사계앵도라복	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	15.03.11	K248965	
13	서주 이외칭	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	15.03.11	K248966	
14	사계청라복	중국 장쑤성 쉬저우	채원병	15.03.11	K248967	
15	절대장라복	중국 허베이성	채원병	15.03.11	K248968	
16	명주	중국 허베이성	채원병	15.03.11	K248969	
17	원종 신대청라복	중국 허베이성	채원병	15.03.11	K248970	
18	Lu yuTM	중국	채원병	15.12.23.	K254279	
19	Zheng yan 791	중국	채원병	15.12.23.	K254280	
20	Zaochun yu	중국	채원병	15.12.23.	K254281	
21	Chengdu man shen hong luobo	중국	채원병	15.12.23.	K254282	
22	Jing xuan 501 shul luobo	중국	채원병	15.12.23.	K254283	
23	Chaoji dahong pao luobo	중국	채원병	15.12.23.	K254284	
24	Yuan zhong wu ying shul luobo	중국	채원병	15.12.23.	K254285	

25	Dahong pao	중국	채원병	15.12.23.	K254286	
26	Xia baiyu	중국	채원병	15.12.23.	K254287	

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
27	Xiao long	중국	채원병	15.12.23.	K254288	
28	Yuan zhong xin lutou qing luobo	중국	채원병	15.12.23.	K254289	
29	Hefei qing luobo	중국	채원병	15.12.23.	K254290	
30	Hua ye da man jing	중국	채원병	15.12.23.	K254290	

사. 국내매출액

아. 종자수출액/수입대체 효과

자. 기술이전

차. 마케팅 전략수립 보고서

카. 인력양성

타. DB구축

파. DH계통개발/자원분양

하. 서비스

서비스(성분분석, 분자마커, 병리검정, 표현형검정)				
번호	서비스 종류	접 수	주요내용	기타
1	2014 SI 검정 서비스	120	네오씨드 무 SI 유전자형 검정	
2	2015 SI 검정 서비스	115	제일종묘농산 등 무 SI 유전자형 검정	
3	2016 SI 검정 서비스	270	삼성종묘 등 무 SI 유전자형 검정	

4 절. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

제 1 절 연구성과

1. 연구개발 성과목표 대비 실적

성과목표	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액 (만불)	기술 이전	마케팅 전략 보고서	시스템 개발 기술 발수
	출원	등록	출원	등록	SCI	비S CI		수 집	등록					
최종목표	1								40					1
1차 년도	목표								10					
	실적								10	0				
2차 년도	목표								10					
	실적								14	24				
3차 년도	목표	1							10					1
	실적	1							40	40				1
4차 년도	목표								10					
	실적	1							9	9		2		
달성율(%)	200								182			부가 달성		100

2. 품종보호출원

구분	품종명칭 (건별각각기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
품종보호 출원	서남열무	한국	네오씨드	2015.7.30	출원 2015-489				
품종보호 출원	금보석열무	한국	네오씨드	2016.7.29	출원 2016-360				

5. 분자마커

분자마커 개발				
번호	특성	보유건수	주요내용	활용년도

6. 유전자원

가. 2년차 유전자원 기탁 목록(24점)

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188287	
2	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188288	
3	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188289	
4	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188290	
5	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188291	
6	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188292	
7	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188293	
8	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188294	
9	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188295	
10	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188296	
11	총태무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188297	
12	일본 열무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188298	
13	청피계 무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188299	
14	청피계 무	일본	김승호	2014.9.25	BP1188300	
15	판엽계 청피무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188301	
16	판엽계 청피홍심 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188302	
17	홍피계 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188303	
18	홍피계 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188304	

19	홍피계 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188305	
20	홍피계 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188306	
21	적환20일 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188307	
22	적환20일 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188308	
23	적장 20일 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188309	
24	백환 20일 무	중국	김승호	2014.9.25	BP1188310	

나. 3년차 유전자원 기탁 목록(40점)

세부적으로 전부(진별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234304	
2	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234305	
3	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234306	
4	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234307	
5	홍피무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234308	
6	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234309	
7	홍피무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234310	
8	자색무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234311	
9	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234312	
10	홍피무, 중근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234313	
11	홍피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234314	
12	홍피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234315	
13	홍피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234316	
14	홍피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234317	
15	홍피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234318	
16	홍피무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234319	
17	홍피무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234320	
18	홍피무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234321	
19	청수궁중무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234322	

20	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234323	
21	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234324	
22	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234325	
23	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234326	
24	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234327	
25	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234328	
26	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234329	
27	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234330	
28	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234331	
29	중국청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234332	
30	청피홍심무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234333	
31	청피홍심무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234334	
32	청피홍심무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234335	
33	청피홍심무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234336	
34	반청피무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234337	
35	백수무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234338	
36	백수무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234339	
37	백수 춘불로무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234340	
38	백수 춘불로무, 단근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234341	
39	백수무, 장근형	중국	김승호	2015.12.24	BP1234342	
40	청수궁중무, 장근형	스리랑카	김승호	2015.12.24	BP1234343	

다. 4년차 유전자원 기탁 목록(9점)

세부적으로 전부(건별로)기록						
번호	특성	수집	등록			기 타
			등록인	등록일	등록번호	
1	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295157	
2	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295158	
3	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295159	
4	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295160	
5	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295161	
6	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295162	

7	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295163	
8	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295164	
9	적환 20일무	일본	김승호	2016.9.06	BP1295165	

7. 국내매출액

국내 종자 판매 실적			
번호	일자	판매처	매출액

8. 종자수출액/수입대체 효과

종자수출액(USD)				
번호	수출품목	수출액		
		수출일	수출국	수출금액

9. 기술실시

번호	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)
1	직접실시	봄 여름용 열무 품종(서남열무, 금보석열무)	네오씨드	2016.12.26	5,470,000

10. 마케팅 전략수립 보고서

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

11. 인력양성

12. DB구축

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

DB구축				
번호	DB명	주요내용	구축년도	기타

13. DH계통개발/자원분양

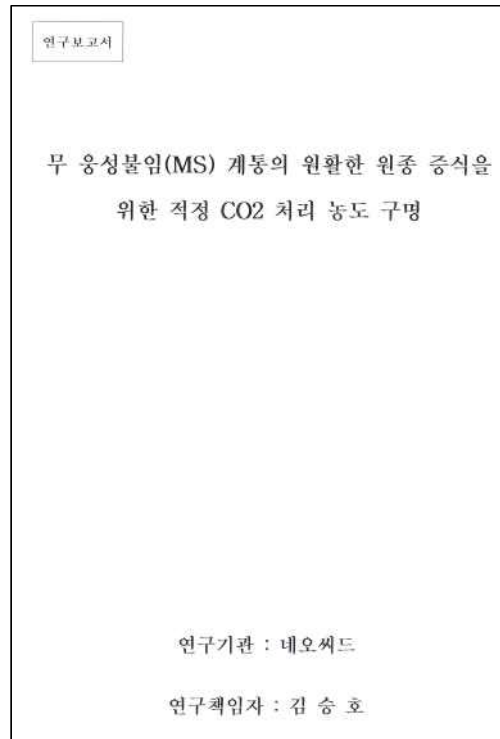
DH계통개발				
구분	계통명	계통특성	분양처	기타

14. 서비스

서비스(성분분석, 분자마커, 병리검정, 표현형검정)				
번호	서비스 종류	점 수	주요내용	기타

15. 시스템 체계확립 기술개발

번호	일자	주요 내용	연구기관	연구책임자	비고
1	2016.3	무 옹성불임(MS) 계통의 원활한 원종 증식을 위한 적정 CO2 처리농도 구명	네오씨드	김승호	-



<그림 63> 연구보고서 표지

제 4 절 연구성과 활용계획

- 본 과제를 통하여 수집된 유전자원을 이용하여 중국 재래종무의 F₁ 전환, 품질 좋은 유색 무의 개발 등에 활용할 수 있을 것이다.
- 본 연구과제를 통하여 수집된 73점의 유전자원은 한국생명공학연구원에 유전자원 등록하였고 일부 우수 유전자원은 선발하여 육종 재료로 이용할 계획이다.
- 본 연구과제를 통하여 응성불임성 무 원종 증식을 위한 적정 CO₂ 처리 농도를 구명하였고 이를 바탕으로 응성불임성 무 품종 육성이 한층 더 활발해 질 것이다.
- 본 연구과제를 통하여 자가불화합성을 회피하는 NIL(Near Isogenic Line) 육성이 빨라지면 무 품종 육성에 유용하게 활용할 계획이다.
- 본 연구과제를 통하여 무 시들음병 분자마커를 개발하여 다양한 무 품종을 육성하는데 활용할 계획이다.
- 특허 등록 : 무의 자가불화합 인자형 판별용 프라이머 세트
- 품종 등록 :원교10052호

제 5 절 추가연구 개발의 필요성

- 무의 자가불화합성을 회피하기 위한 NIL 육성의 중요성을 인식하고 NIL 육성의 시간을 단축하기 위한 다양한 기술 개발이 필요하다. Background selection 시스템은 양친간 다형성을 보이는 SNP 마커수가 많아져야 훨씬 위력을 발휘할 것이다. 이를 위해 다양한 품종군과 품종군간 다형성을 보이는 다양한 SNP마커 개발에 연구지원이 필요하다.
- 무의 시들음병은 약제로 방제가 어렵기 때문에 반드시 저항성 품종으로만 방제가 가능하다. 저항성 품종을 만드는데 매년 병 접종시험과 선발을 반복해야 하고 시간도 많이 걸리는 문제가 있어 시들음병 저항성 분자마커 개발로 품종 육성의 효율을 높일 수 있다. 따라서 무 시들음병 저항성 마커 뿐만 아니라 다양한 내병성 마커 개발에 지속적인 관심과 연구지원이 필요하다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1 절. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자 마커 개발과 DNA 프로파일링

- 무 비대 관련 전사체 데이터의 분석에서 아직 보고되지 않은 전사체를 탐색하기 위해 reference genome sequence와 de-novo assembly를 동시에 진행하고 있으며, 이 과정에서 식물 유전체 분석의 경험이 풍부한 미국 Boyce Thompson Institute의 Dr. Zhangjun Fei와 정기적인 화상회의를 통해 분석에 대한 의견을 얻고 있음
- GBS 데이터 분석을 위해 독일 막스플랑크 연구소의 최은영 박사의 자문과 최신 실험 기술에 대한 정보를 얻음

2 절. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대 단축기술 개발

- 신젠타, 몬산토 등의 다국적기업에서는 무 등 배추속 작물의 세포질웅성불임성관련 특허 및 실용화 단계이며, 다국적 종자회사들은 대량의 유전체 정보를 이용하여 기존에 사용되고 있던 분자표지를 유전양식에 부합하며, 비용이 저렴하고, 분석하기 쉬운 경제적인 분자표지로 전환 시키는 중
- 유전공학적 기법을 이용한 웅성불임 유도는 가능하지만 웅성배우자체 발달관련 프로모터와 결합된 세포독성물질이 우성으로 발현되어 웅성불임 회복시 완전히 임성을 회복할 수 없는 단점이 있음
- 70년대 미국 코넬대와의 공동연구로 무의 웅성불임 유전자가 연구되었으며 배추과 작물 계통에도 도입된 바 있음. 또한 일부 세포질웅성불임 유전자의 경우 세계 특허 등록이 완료되었으며 중국 농과원에서도 웅성불임품종을 상용화 하여 품종 육성 중
- 2005년 미국 캘리포니아 주립대(데이비스) 와 원예원 공동연구로 자성배우자체 관련연구 진행됨. 애기장대의 유전자 삽입 돌연변이체 연구로부터 발달에 필수적인 130개 유전자 목록과 특성이 조사되었으며 유전자칩 연구로 자성배우자체에서만 발현되는 225개 유전자의 목록이 작성됨
- 무의 소포자 배양 관련하여는 국외 연구 및 발표 결과가 없음

3 절. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성

- 최근 10여년간 SLG와 SRK 유전자의 염기서열을 분석하여 현재까지 27개의 SI 복대립유전자 형에 대한 염기서열이 NCBI (National Center for Biotechnology Information) Gene bank에 등록되어 있으며, 이 중 SLG는 15개, SRK는 22개이다 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>2017년 1월 기준).

4 절. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

- 미국 코넬대학에서 발표한 유전체 정보(Shen et al. 2013, Plant Cell Physiol 54:e3)에는 무의 미토콘드리아 유전체 염기서열, EST, unigene 서열을 모아 RadishBase(A Database for Genomics and Genetics of Radish)를 제공하고 있음
(<http://bioinfo.bti.cornell.edu/cgi-bin/radish/index.cgi>)
- 일본 Kazusa에서 일본 무(*Raphanus sativus* cv. 'Aokubi')를 재료로 하여 유전체분석을(The whole draft genomic sequence) 하였음. 총 길이는 402 Mb 로 추정하는 무 유전체 크기의 75.9%를 포함하고 있었으며, 이 중 61,572 유전자가 있을 것으로 예측함 (Kitashiba et al. 2014; <http://radish.kazusa.or.jp>)
- 일본 동경대학에서 발표한 유전체 정보(Yuki et al. 2015, Scientific Reports doi:10.1038/srep10835)에는 일본 무인 Aokubi Soubutori Daikon DH line(Sakata seed)의 유전체분석을 하여 제공함 (<http://www.nodai-genome-d.org>)

제 7 장 참고문헌

1 절. 제1세부프로젝트: 무 품종육성을 위한 SNP탐색 및 MAS용 분자 마커 개발과 DNA 프로파일링

- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., and Mitchell, S.E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One* 6, e19379.
- Jung, W.Y., Park, H.J., Lee, A., Lee, S.S., Kim, Y.S., and Cho, H.S. (2016). Identification of Flowering-Related Genes Responsible for Differences in Bolting Time between Two Radish Inbred Lines. *Front Plant Sci* 7, 1844.
- Kim, N., Jeong, Y.M., Jeong, S., Kim, G.B., Baek, S., Kwon, Y.E., Cho, A., Choi, S.B., Kim, J., Lim, W.J., Kim, K.H., Park, W., Kim, J.Y., Kim, J.H., Yim, B., Lee, Y.J., Chun, B.M., Lee, Y.P., Park, B.S., Yu, H.J., and Mun, J.H. (2016). Identification of candidate domestication regions in the radish genome based on high-depth resequencing analysis of 17 genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 129, 1797-1814.
- Kitashiba, H., Li, F., Hirakawa, H., Kawanabe, T., Zou, Z.W., Hasegawa, Y., Tonosaki, K., Shirasawa, S., Fukushima, A., Yokoi, S., Takahata, Y., Kakizaki, T., Ishida, M., Okamoto, S., Sakamoto, K., Shirasawa, K., Tabata, S., and Nishio, T. (2014). Draft Sequences of the Radish (*Raphanus sativus* L.) Genome. *DNA Res.* 21, 481-490.
- Li, C., Wang, Y., Xu, L., Nie, S., Chen, Y., Liang, D., Sun, X., Karanja, B.K., Luo, X., and Liu, L. (2016). Genome-Wide Characterization of the MADS-Box Gene Family in Radish (*Raphanus sativus* L.) and Assessment of Its Roles in Flowering and Floral Organogenesis. *Front Plant Sci* 7, 1390.
- Mitsui, Y., Shimomura, M., Komatsu, K., Namiki, N., Shibata-Hatta, M., Imai, M., Katayose, Y., Mukai, Y., Kanamori, H., Kurita, K., Kagami, T., Wakatsuki, A., Ohyanagi, H., Ikawa, H., Minaka, N., Nakagawa, K., Shiwa, Y., and Sasaki, T. (2015). The radish genome and comprehensive gene expression profile of tuberous root formation and development. *Scientific reports* 5.
- Mun, J.H., Chung, H., Chung, W.H., Oh, M., Jeong, Y.M., Kim, N., Ahn, B.O., Park, B.S., Park, S., Lim, K.B., Hwang, Y.J., and Yu, H.J. (2015). Construction of a reference genetic map of *Raphanus sativus* based on genotyping by whole-genome

resequencing. *Theor. Appl. Genet.* 128:259-272.

Rapaport, F., Khanin, R., Liang, Y., Pirun, M., Krek, A., Zumbo, P., Mason, C.E., Socci, N.D., and Betel, D. (2013). Comprehensive evaluation of differential gene expression analysis methods for RNA-seq data. *Genome Biol* 14, R95.

Wang, Y., Pan, Y., Liu, Z., Zhu, X., Zhai, L., Xu, L., Yu, R., Gong, Y., and Liu, L. (2013). De novo transcriptome sequencing of radish (*Raphanus sativus*L.) and analysis of major genes involved in glucosinolate metabolism. *BMC Genomics* 14, 836.

Xiaohui, Z., Zhen, Y., Shiyong, M., Yang, Q., Xinhua, Y., Xiaohua, C., Feng, C., Zhangyan, W., Yuyan, S., Yi, J., Bo, L., Di, S., Haiping, W., Na, C., Yundan, D., Jian, W., Jinglei, W., Caixia, G., Jun, W., Xiaowu, W., and Xixiang, L. (2015). A de novo Genome of a Chinese Radish Cultivar. *Horticultural Plant Journal* 1, 155-164.

Xu, L., Wang, Y., Liu, W., Wang, J., Zhu, X., Zhang, K., Yu, R., Wang, R., Xie, Y., Zhang, W., Gong, Y., and Liu, L. (2015). De novo sequencing of root transcriptome reveals complex cadmium-responsive regulatory networks in radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Sci* 236, 313-323.

2 절. 제2세부프로젝트: 무의 반수체 육종법 이용한 순계 육성 및 육종 세대 단축기술 개발

Beilstein MA, IA Al-Shehbaz, EA Kellogg. 2006. Brassicaceae phylogeny and trichome evolution. *Am. J. Bot.* 93: 607-619.

Chanana NP, V Dhawan, SS Bhojwani. 2005. Morphogenesis in isolated microspore cultures of *Brassica juncea*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 83: 169-177.

Chun CH, HY Na. 2011. Microspore-derived embryo formation in response to cold pretreatment, washing medium, and medium composition of Radish (*Raphanus sativus* L.) , *Kor. J. Hort. Sci. Technol*, 29: 494-499.

Chun CH, HY Park, HY Na. 2011. Microspore-derived embryo formation in Radish (*Raphanus sativus* L.) according to nutritional and environmental conditions. *Hort. Environ. Biotechnol.* 52: 530-535.

Dubas E, F Janowiak, M Krzewska, T Hura, I Zur. 2013. Endogenous ABA concentration and cytoplasmic membrane fluidity in microspores of oilseed rape (*Brassica napus* L.) genotypes differing in responsiveness to androgenesis induction. *Plant Cell Rep.* 32: 1465-1475.

Erwin JE, RM Warner, AG Smith. 2002. Vernalization, photoperiod and GA3 interact to affect flowering of Japanese radish (*Raphanus sativus* Chinese Radish Jumbo

- Scarlet). *Physiol. Plant.* 115: 298-302.
- Gu HH, P Hagberg, WJ Zhou. 2004. pretreatment enhances microspore embryogenesis oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Growth Regul.* 42: 137-143.
- Hwang SI, JE Kim, HY Na. 2016. Flower Bud Differentiation in Response to Low Temperature Treatment and Day-length Extension Treatment in Radish (*Raphanus sativus* L.). *Korean J. Breed. Sci.* 48(1): 48-53.
- Jeong JH. 2005. Effects of low temperature and photoperiod treatment on growth and flowering in *Hosta longipes*. *Kor. Ass. Flo. Ind. Dev.* 13: 273-278.
- Jo MH, IK Ham, MY Park, TI Kim, YP Lim, EM Lee. 2012. Seed production ability of doubled haploid plants through microspore culture in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) introduced from China. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 30: 573-578.
- Joosen R, J Cordewener, EDJ Supena, O Vorst, M Lammers, CH Maliepaard, T Zeilmaker, B Miki, T America, J Custers, K Boutilier. 2007. Combined transcriptome and proteome analysis identifies pathways and robust markers associated with the establishment of *Brassica napus* microspore-derived embryo development. *Plant Physiol.* 144: 155-172.
- Kim KS, YH Lee, HJ Cho, YS Jang, KG Park. 2012. Effects of culture condition on embryogenesis in microspore culture of *Brassica napus* L domestic cultivar 'Tammiyuchae'. *Korean J. Crop Sci.* 57: 317-323.
- Kim SJ, JH Kwak, KR Do, HY Na. 2013. Developmental stage and density of microspore by flower structure in broccoli lines. *Korean J. Breed Sci.* 45: 19-25.
- Kim YJ, KW Lee, HS Kim, YK Cheong, KG Park, KJ Kim. 2011. Effects of plant growth regulators on haploid production of wheat. *Korean J. Breed. Sci.* 43: 50-55.
- Koh GH, EH Kim, EH Park, YW Seo, SL An. 2010. *Plant breeding science*, Hayng munsa. p.407-410.
- Lee SS, AJ Kim. 2000. Effects of cultural vessel, plant growth regulator, illuminating and shaking on embryo induction and growth in microspore culture of heading chinese cabbage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 41: 16-20.
- Lee SS, SA Lee, JM Yang, JK Kim. 2011. Developing stable progenies of *xBrassicoraphanus*, an intergeneric allopolyploid between *Brassica rapa* and *Raphanus sativus*, through induced mutation using microspore culture. *Theor Appl Genet.* 122: 885-891.
- Lionneton E, W Beuret, C Delaitre, S Ochatt, M Rancillac. 2001. Improved microspore culture and doubled-haploid plant regeneration in the brown condiment mustard (*Brassica juncea*). *Plant Cell Rep.* 20: 126-130.
- Lu CM, B Zhang, F Kakihara, M Kato. 2001. Introgression of genes into cultivated *Brassica napus* through resynthesis of *B. napus* via ovule culture and the accompanying change in fatty acid composition. *Plant Breeding.* 120: 405-410.
- Moon W, DJ Yu. 2013. *Crop physiology science*, Knou. p.325-334.

- Moon W, JK Kim, JW Lee. 2012. Horticultural crop science I - vegetable, Knou. p.123-357.
- Na HY, JH Kwak, CH Chun. 2011. The effects of plant growth regulators, activated charcoal, and AgNO₃ on microspore derived embryo formation in broccoli (*Brassica oleracea* L var *italica*). Hort. Environ. Biotechnol. 52: 524-529.
- Park SH, MK Yoon. 2008. 한국의 배추과채소 유전자원을 활용한 품종 육종 -무, 배추를 중심으로-. The Korean Society for Palnt Biotechnology. 1: p.31.
- Park SH, MK Yoon, JH Kwak, DY Kim. 2011. 소포자 배양을 이용한 무 계통 육성 체계 개발. The Korean Society for Palnt Biotechnology. 1: p.103.
- Pink D, L Bailey, S McClement, P Hand, E Mathas, V Buchanan- Wollaston, D Astley, G King, G Teakle. 2008. Double haploids, markers and QTL analysis in vegetable Brassicas. Euphytica. 164: 509-514.
- Prem D, K Gupta, G Sarkar, A Agnihotri. 2008. Activated charcoal induced high frequency microspore embryogenesis and efficient doubled haploid production in *Brassica juncea*. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 93: 269-282.
- Seo MS, SH Sohn, BS Park, HC Ko, M Jin. 2014. Efficiency of microspore embryogenesis in *Brassica rapa* using different genotypes and culture conditions. J. Plant Biotechnol. 41: 116-122.
- Seo MS, SY Won, SH Kang, SH Sohn, JS Kim. 2015. Development of Tissue Culture Technology for haploid production in Brassica species. Korean J. Int. Agric. 27(4): 522-528.
- Yoo KC, WT Andrew. 1984. Studies on the physiology of bolting and flowering in *Raphanus sativus* L. VIII. Effect of irradiant energy and day length on the vernalized and non vernalized Radishes. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 25: 201-205.

3 절. 제3세부프로젝트: 무 채종 효율 증진을 위한 자원 선발 및 계통 육성

- Ahn Y, Kim H, Han D, Park Y (2014) S-haplotypes and genetic Diversity in 'Danji' radish (*Raphanus sativus* L. var. *Hortensis*). Kor. J. Hort. Sci. Technol. 32:210-216.
- Chung H, Kim S, Park H, Kim K (2009) Application of SCAR markers to self-incompatibility genotyping in breeding line of radish (*Rapahnus sativus* L.). Korean J. Breed. 41:397-402.
- Lim SH, Cho HJ, Lee SJ, Cho YH, Kim BD (2002) Identification and classification of S haplotypes in *Raphanus sativus* by PCR-RFLP of the S locus glycoprotein (SLG) gene and the S locus receptor kinase (SRK) gene. Theor. Appl. Genet. 104:1253-1262.
- Bateman AJ (1955) Self-incompatibility system in angiosperms. III Cruciferae Heredity 9:52-68

- Nasrallah JB, Nasrallah ME (1993) Pollen stigma signaling in the sporophytic self-incompatibility response. *The Plant Cell* 5:1325-1335
- Takayama S, Shimamoto H, Shiba H, Funato M, Che FS, Watanabe M, Iwano M, Isogai A (2003) Direct ligand-receptor complex interaction controls Brassica self-incompatibility. *Nature* 413:534-538
- Brace J, King GJ, Ockendon DJ (1994) A molecular approach to the identification of S-alleles in Brassica oleracea. *Sex Plant Reprod* 7:203-208
- Park JI, Lee SS, Kang KK, Watanabe M, Nou IS (2001) Identification of S-genotypes by PCR-RFLP in breeding lines of Brassica. *Mol and Cells* 12:227-232
- Park JI, Lee SS, Watanabe M, Takahata Y, Nou IS (2002) Identification of S-alleles using polymerase chain reaction-cleaved amplified polymorphic sequence of the S-locus receptor kinase in breeding lines of Brassica oleracea. *Plant Breed* 121:192-197
- Nou IS, Watanabe M, Isogai A, Hinata K (1993) Comparison of S-alleles and S-glycoproteins between two wild populations of Brassica campestris in Turkey and Japan. *Sex Plant Reprod* 6:79-86
- Lim SH, Kim KT, Park SH, Cho HJ, Park HY, Woo JG, Mok IG (2004) Registration of S haplotype in Raphanus sativus L. by PCR-RFLP of SLGs and SRKs. *NCBI Genebank*
- Lim SH, Cho HJ, Lee SJ, Cho YH, Kim BD (2002) Identification and classification of S haplotypes in Raphanus sativus by PCR-RFLP of the S locus glycoprotein (SLG) gene and the S locus receptor kinase (SRK) gene. *Theor Appl Genet* 104:1253-1262
- Okazaki K, Hinata K (1984) Analysis of S-alleles and S-glycoproteins in F1-hybridvarietiesofJapaneseradish(Raphanus sativus L.). *Jpn J Breed* 34:237-245
- Sampson DR (1967) Frequency and distribution of self-incompatibility alleles in Raphanus raphanistrum. *Genetics* 56:241-251

4 절. 제4세부프로젝트: 생산 기반 연구(원종 및 F1생산지 기반기술 개발)

- Adriano, B.S., C.W.N. Ana, R.M.S. Raphaela, C.B. Luiz, M.S.S. Nina and M.B.I. Ana. 2005. *In silico* survey of resistance (*R*) genes in *Eucalyptus* transcriptome. *Genet Mol Biol* 28:562-574.
- Armstrong, G.M. and J.K. Armstrong. 1952. Physiologic races of *Fusaria* causing wilts of the Cmciferae. *Phytopathology* 42:255-257.
- Bailey, T.L., M. Boden, F.A. Buske, M. Frith, C.E. Grant and L. Clementi. 2009. MEME suite: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Res* 37:202-208.
- Bosland, P.W. and P.H. Williams. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from

crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility, and geographic origin. *Can J Bot* 65:2067-2073.

Catanzariti, A.M., G.T.T. Lim and D.A. Jones. 2015. The tomato *I-3* gene: a novel gene for resistance to *Fusarium* wilt disease. *New Phytol* 207:106-118.

Chisholm, S.T., G. Coaker, B. Day and B.J. Staskawicz. 2006. Host-microbe interactions: Shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124:803-814.

Cole, S.J. and A.C. Diener. 2013. Diversity in receptor-like kinase genes is a major determinant of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *matthioli*. *New Phytol* 200:172-184.

Deng, Z., S. Huang, P. Ling, C. Chen, C. Yu, C.A. Weber, G.A. Moore and F.G. Gmitter Jr. 2000. Cloning and characterization of NBS-LRR class resistance-gene candidate sequences in citrus. *Theor Appl Genet* 101:814-822.

Diener, A.C. and F.M. Ausubel. 2005. Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a dominant *Arabidopsis* disease-resistance gene, is not race specific. *GSA* 171:305-321.

Diener, A.C. 2013. Routine mapping of *Fusarium* wilt resistance in BC1 populations of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol* 13:171.

Gao, Y., W.Z. Guo, L. Wang and T.Z. Zhang. 2006. Isolation and characterization of resistance and defense gene analogs in cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Sci China C Life Sci* 49:530-542.

Garibaldi, A., G. Gilardi and M.L. Gullino. 2006. Evidence for an expanded host range of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Raphanin*. *Phytoparasitica* 34:115-121.

Guus, S., J. Groenendijk, J. Wijbrandi, M. Reijans, J. Groenen, P. Diergaarde, T.V. Lee, M. Bleeker, J. Onstenk, M. Both, M. Haring, J. Mes, B. Cornelissen, M. Zabeau and P. Vos. 1998. Dissection of the *Fusarium I2* gene cluster in tomato reveals six homologs and one active gene copy. *Plant Cell* 10:1055-1068.

Hammond-Kosack, K.E. and J.D.G. Jones. 1997. Plant disease resistance genes. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 48:575-607.

Joobeur, T., J.J. King, S.J. Nolin, C.E. Thomas and R.A. Dean. 2004. The *Fusarium* wilt resistance locus *Fom-2* of melon contains a single resistance gene with complex features. *Plant J* 39:283-297.

Kendrick, J.B. and W.C. Snyder. 1942. *Fusarium* wilt of radish. *Phytopathology*

32:1031-1033.

- Lim, G.T.T., G.P. Wang, M.N. Hemming, S. Basuki, D.J. McGrath, B.J. Carroll and D.A. Jones. 2006. Mapping the *I-3* gene for resistance to *Fusarium* wilt in tomato: application of an *I-3* marker in tomato improvement and progress towards the cloning of *I-3*. *Australas Plant Pathol* 35:671-680.
- Lv, H., Z. Fang, L. Yang, Y. Zhang, Q. Wang, Y. Liu, M. Zhuang, Y. Yang, B. Xie, B. Liu, J. Liu, J. Kang and X. Wang. 2014. Mapping and analysis of a novel candidate *Fusarium* wilt resistance gene *FOC1* in *Brassica oleracea*. *BMC Genomics* 15:1094.
- Mauricio, U., R.B. Hutmacher, P.A. Roberts, S.D. Wright, R.L. Nichols and R.M. Davis. 2013. Inheritance and QTL mapping of *Fusarium* wilt race 4 resistance in cotton. *Theor Appl Genet* 126:1405-1418.
- Motoki, S., R. Fujimoto, H. Ying, Z.J. Pu, Y. Ebe, T. Kawanabe, N. Saeki, J.M. Taylor, M. Kaji, E.S. Dennis and K. Okazaki. 2014. Identification of candidate genes for *Fusarium* yellows resistance in Chinese cabbage by differential expression analysis. *Plant Mol Biol* 85:247-257.
- Ori, N., Y. Eshed, I. Paran, G. Presting, D. Aviv, S. Tanksley, D. Zamir and R. Fluhr. 1997. The *I2C* family from the wilt disease resistance locus *I2* belongs to the nucleotide binding, leucine-rich repeat superfamily of plant resistance genes. *Plant Cell* 9:521-532.
- Pollegioni, P., G.V. Linden, A. Belisario, M. Gras, N. Anselmi, I. Olimpieri, L. Luongo, A. Santini, E. Turco, G.S. Mugnozza and M.E. Malvolti. 2012. Mechanisms governing the responses to anthracnose pathogen in *Juglans* spp. *J Biotechnol* 159:251-264.
- Rameneni, J.J., Y. Lee, V. Dhandapani, X. Yu, S.R. Choi, M.H. Oh and Y.P. Lim. 2015. Genomic and post-translational modification analysis of leucine-rich-repeat receptor-like Kinases in *Brassica rapa*. *PLoS One* doi:10.1371.
- Sarfatti, M., J. Katan, R. Fluhr and D. Zamir. 1989. An RFLP marker in tomato linked to the *Fusarium oxysporum* resistance gene *I2*. *Theor Appl Genet* 78:755-759.
- Sarfatti, M., M. Abu-Abied, J. Katan and D. Zamir. 1991. RFLP mapping of *II*, a new locus in tomato conferring resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 1. *Theor Appl Genet* 82:22-26.
- Sekhwil, M.K., P. Li, I. Lam, X. Wang, S. Cloutier and F.M. You. 2015. Disease resistance gene analogs (RGAs) in Plants. *Int J Mol Sci* 16:19248-19290.

- Shen, Y. and A.C. Diener. 2013. *Arabidopsis thaliana* resistance to *Fusarium oxysporum* 2 implicates tyrosine-sulfated peptide signaling in susceptibility and resistance to root infection. PLoS Genet doi:10.1371.
- Staniaszek, M., E.U. Kozik and W. Marczewski. 2007. A CAPS marker TAO1 902 diagnostic for the *I-2* gene conferring resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 in tomato. Plant Breeding 126:331-333.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol 28:2731-2739.
- Wan, H., Z. Zhao, A.A. Malik, C. Qian and J. Chen. 2010. Identification and characterization of potential NBS-encoding resistance genes and induction kinetics of a putative candidate gene associated with downy mildew resistance in *Cucumis*. BMC Plant Biol 10:186.
- Wang, L.Z. and Q.W. He. 2005. *Chinese Radish*. Scientific and technical documents publishing house 292-370.
- Wang, Y.H., X.L. Hou, S.X. Shen, X.P. Chen and M. Wang. 2006. Isolation and characterization of resistance gene analogs from *Brassica campestris* ssp. *Chnensis*. Scientia Agricultura Sinica S634.
- Yu, X., S.R. Choi, N. Ramchiary, X. Miao, S.H. Lee, H.J. Sun, S.G. Kim, C.H. Ahn and Y.P. Lim. 2013. Comparative mapping of *Raphanus sativus* genome using *Brassica* markers and quantitative trait loci analysis for the Fusarium wilt resistance trait. Theor Appl Genet 126:2553-2562.
- Yvonne, G.C., A.M. Catanzariti, B. Baker, D.J. Mcgrath and D.A. Jones. 2016. Identification of *I-7* expands the repertoire of genes for resistance to Fusarium wilt in tomato to three resistance gene classes. Mol Plant Pathol 17:448-463.
- Zhang, Q., Z.Y. Zhang, S.Z. Lin, H.Q. Zheng, Y.Z. Lin, X.M. An, Y. Li and H.X. Li. 2008. Characterization of resistance gene analogs with a nucleotide binding site isolated from a triploid white poplar. Plant Biol doi:10.1111.
- Zhang, Z., J. Zhao, L. Ding, L. Zou, Y. Li, G. Chen and T. Zhang. 2016. Constitutive expression of a novel antimicrobial protein, *Hcm1*, confers resistance to both verticillium and Fusarium wilts in cotton. Sci Rep 9:20773.

<첨부 1> 특허·논문·제품(시장) 분석보고서

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

프로젝트명	무 품종 육성을 위한 육종 기반기술 개발 및 네트워크 구축		
프로젝트 책임자	박수형	프로젝트 연구기관	국립원예특작과학원

1. 본 연구관련 국내외 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
무 품종육성을 위한 SNP 마커 탐색 및 MAS용 분자마커 개발	미국	70%	70%	90%	
무 소포자 배양	한국	100%	100%	100%	

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) 현재 기술수준은 선진국 100% 대비 우리나라 및 신청한 연구팀의 기술수준 표시
- 3) 기술개발 목표수준은 당해과제 완료 후 선진국 100% 대비 목표수준 제시
- 4) 부가설명이 필요한 경우 비고란에 작성

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목 및 초록

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		무 품종육성을 위한 SNP 마커 탐색 및 MAS용 분자마커 개발	
Keyword		Raphanus sativus, marker	Raphanus sativus and (anthocyaninorglucosinolate)
검색건수		212	321
유효특허건수		3	2
핵심특허 및 관련성	특허명	배추과 작물 중 판별을 위한 엽록체 DNA 마커 및 이를 이용한 판별 방법	신규한 안토시아닌 생합성 증진 유전자 및 이의 이용
	보유국	대한민국	대한민국
	등록년도	2015	2014
	관련성(%)	80%	90%
	유사점	마커 기반 분자육종	안토시아닌 관련
	차이점	무 포함 배추과, 엽록체 DNA마커	
핵심특허 및 관련성	특허명	무 유전자원 분석을 위한 분자표지 및 이의 용도	Plant cell culture for production of natural products with reduced glucosinolate contamination
	보유국	대한민국	미국
	등록년도	2014	2015
	관련성(%)	90%	90%
	유사점	마커 기반 분자육종	글루코시놀레이트관련
	차이점		목표형질
핵심특허 및 관련성	특허명	무 음성불임성의 회복에 관여하는 유전자의 유전자형을 판별하기 위한 CAPS 및 이를 이용한 회복유전자의 유전자형 판별방법	
	보유국	대한민국	
	등록년도	2011	
	관련성(%)	90%	
	유사점	sequence 정보이용 분자 육종	
	차이점	NGS 와 CAPS 사이의 방법적 차이	

개발기술명		무 품종육성을 위한 SNP 마커 탐색 및 MAS용 분자마커 개발	
Keyword		Raphanus sativus, Radish, SNP, MAS	Radish, sequence database
검색건수		50	4528
유효특허건수		4	36
핵심특허 및 관련성	특허명	배추과 작물의 종 식별을 위한 범용 프라이머 세트 COS0566 및 이를 포함하는 분자마커	차세대 염기서열분석법을 이용한 유전체 DNA 말단 서열의 대량 분석방법
	보유국	대한민국	대한민국
	등록년도	2016	2016
	관련성(%)	80%	50%
	유사점	마커 기반 종 분석	차세대 염기서열 분석법
	차이점	무 포함 배추과, 목표형질	대상작물아님, 클로닝을 통한 분석
핵심특허 및 관련성	특허명	Maize cytoplasmic male sterility (cms) c-type restorer rf4 gene, molecular markers and their use	Methods for sequence-directed molecular breeding
	보유국	미국	미국
	등록년도	2012	2016
	관련성(%)	50%	90%
	유사점	분자마커 이용	분자마커 이용 육종
	차이점	대상작물아님, 목표형질	무를 포함 여러 작물, 목표형질
핵심특허 및 관련성	특허명		Isolated polynucleotides and polypeptides, and methods of using same for increasing plant yield, biomass, vigor and/or growth rate of a plant
	보유국		미국
	등록년도		2015
	관련성(%)		70%
	유사점		차세대 유전체 정보를 이용한 육종
	차이점		대상작물 아님

- 1) 개발기술명은 본 연구과제 최종 연구개발 목표기술을 의미
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총 검색건수를, 유효특허건수는 검색한 특허 중 핵심(세부)개발기술과 관련성이 있는 특허를 의미
- 3) 핵심특허는 개발기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 특허를 기준으로 분석

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	미국, 일본, 유럽, 중국, 한국
논문 DB	pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), google scholar(www.scholar.google.co.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		무 품종육성을 위한 SNP 마커 탐색 및 MAS용 분자마커 개발	
Keyword		Raphanus sativus and glucosinolate	Raphanus sativus and anthocyanin
검색건수		24	17
유효논문건수		7	3
핵심논문 및 관련성	논문명	Characterization of RsMYB28 and RsMYB29 transcription factor genes in radish (Raphanus sativus L.)	Identification of anthocyanin biosynthesis related microRNAs in a distinctive Chinese radish (Raphanus sativus L.) by high-throughput sequencing.
	학술지명	Genetics and Molecular Research	Mol Genet Genomics.
	저자	X.B. Luo, Z. Liu, L. Xu, Y. Wang, X.W. Zhu, W. Zhang, W. Chen, Y.L. Zhu, X.J. Su, M. Everlyne and L.W. Liu	Sun Y, Qiu Y, Duan M, Wang J, Zhang X, Wang H, Song J, Li X.
	게재년도	2016	2016
	관련성(%)	80%	80%
	유사점	무 글루코시놀레이트 조절 유전자 동정 및 발현 분석	안토시아닌 생합성 조절 miRNA 발현분석
	차이점	마커 개발 연구 없음	마커 개발 연구 없음
핵심논문 및 관련성	논문명	Identification of candidate domestication regions in the radish genome based on high-depth resequencing analysis of 17 genotypes.	Metabolic Profiling and Antioxidant Assay of Metabolites from Three Radish Cultivars (Raphanus sativus).
	학술지명	Theoretical and Applied Genetics	Molecules.
	저자	Kim N, Jeong YM, Jeong S, Kim GB, Baek S, Kwon YE, Cho A, Choi SB, Kim J, Lim WJ, Kim KH, Park W, Kim JY, Kim JH, Yim B, Lee YJ, Chun BM, Lee YP, Park BS, Yu HJ, Mun JH.	Park CH, Baskar TB, Park SY, Kim SJ, Valan Arasu M5, Al-Dhabi NA, Kim JK, Park SU.
	게재년도	2016	2016
	관련성(%)	80%	60%
	유사점	무 글루코시놀레이트 생합성 유전자 발현분석	무 안토시아닌 추출 및 분석
	차이점	마커개발 연구 없음	유전적 연구 없음

개발기술명		무 품종육성을 위한 SNP 마커 탐색 및 MAS용 분자마커 개발	
Keyword		Radish and (SNP or SSR)	Radish and QTL
검색건수		17	8
유효논문건수		6	3
핵심논문 및 관련성	논문명	Novel glucosinolate composition lacking 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate in Japanese white radish (<i>Raphanus sativus</i> L.)	Construction of a chromosome-assigned, sequence-tagged linkage map for the radish, <i>Raphanus sativus</i> L. and QTL analysis of morphological traits.
	학술지명	Theoretical and Applied Genetics	Breeding Science
	저자	Masahiko I, Tomohiro K, Yasujiro M, Takayoshi O, Katsunori H, Hitoshi Y, Junna K, and Takeshi N	Hashida T, Nakatsuji R, Budahn H, Schrader O, Peterka H, Fujimura T, Kubo N, and Hirai M
	게재년도	2015	2013
	관련성(%)	90%	50%
	유사점	형질관련 분자마커 개발	분리집단 작성, 분자마커 이용
	차이점	목표형질	STS, SSR 마커, 목표형질
핵심논문 및 관련성	논문명	Kazusa Marker DataBase: a database for genomics, genetics, and molecular breeding in plants	Genetic linkage map construction and QTL mapping of cadmium accumulation in radish (<i>Raphanus sativus</i> L.).
	학술지명	Breeding Science	Theor Appl Genet.
	저자	Kenta S, Sachiko I, Satoshi T, and Hideki H	Xu L, Wang L, Gong Y, Dai W, Wang Y, Zhu X, Wen T, and Liu L.
	게재년도	2014	2012
	관련성(%)	80%	50%
	유사점	분자마커 데이터베이스	분리집단 작성, 분자마커 이용
	차이점	무를 포함한 여러작물, 목표형질	목표형질
핵심논문 및 관련성	논문명	QTL analysis using SNP markers developed by next-generation sequencing for identification of candidate genes controlling 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate contents in roots of radish, <i>Raphanus sativus</i> L.	
	학술지명	PLoS One	
	저자	Zou Z, Ishida M, Li F, Kakizaki T, Suzuki S, Kitashiba H, and Nishio T	
	게재년도	2013	
	관련성(%)	90%	
	유사점	형질관련 분자마커 개발	
차이점	목표형질		

4. 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

- 1) 국내 제품생산 및 시장 현황 : 청색 및 백색 무 위주
- 2) 국외 제품생산 및 시장 현황 : 적색 및 청색 등 유색 무 시장 확대

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

- 1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)
 - 유색무 및 유색 채소 활용 증가 예상
- 2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과						
경제적 파급효과						
부가가치 창출액	10	10	10	15	15	50
합 계	10	10	10	15	15	50

5. 3P(특허,논문,제품)분석을 통한 연구추진계획

가. 분석결과 향후 연구계획(특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

1) 특허분석 측면

- 기존 특허는 종 식별을 위한 분자 마커의 개발 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 근비대, 바람들이, 근피색 형질 관련 육종에 필요한 분자 마커의 개발 방향으로 연구를 추진하여 국내 및 국외에 출원할 계획임

2) 논문분석 측면

- 기존 논문은 이차대사체의 생산과 관련된 유전자의 연구분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 근비대, 바람들이 현상과 연관된 유전자 발현과 GBS를 이용한 관련 QTL 분석방향으로 연구를 추진하여 육종, 유전체 연구 분야 상위 5% 이내의 학술지에 게재할 계획임

3) 제품 및 시장분석 측면

- 국내 및 국외시장 분석결과 유색 품종 등의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 현재 국내에는 도입기이므로, 본 연구과제에서는 다양한 유색 품종의 개발 연구를 추진하여 유색 품종의 해외 수출 및 판매를 지원할 계획

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 채소종자사업단사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 채소종자사업단사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.

(뒷면)

213002
-04-4
-SBO10

무
품
종
육
성
을
위
한
육
중
기
반
기
술
개
발
및
네
트
위
크
구
축

주 의
(편집순서 8)

농
림
축
산
식
품
부
해
양
수
산
부
농
촌
진
흥
청
산
림
청

(15 포인트 고딕체열)