

최 종
연구보고서

감자역병 저항성 분자마커 개발 및
MAS를 이용한 역병저항성
감자의 분자육종 연구

Selection of late blight resistant potato lines
with molecular markers,
and the application of MAS for late blight
resistant potato breeding

연구기관

강원대학교(고령지농업연구소, 동국대학교)

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “감자역병 저항성 분자마커 개발 및 MAS를 이용한 역병저항성 감자의 분자육종 연구”의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 8월 20일

주관연구기관명: 강 원 대 학 교

총괄연구책임자: 이 윤 수

연 구 원: 허 권

연 구 원: 이 상 표

연 구 원: 김 권 중

연 구 원: 정 희 선

협동연구기관명: 고령지농업연구소

협동연구책임자: 박 영 은

연 구 원: 류 경 열

연 구 원: 조 지 홍

연 구 원: 김 점 순

연 구 원: 조 현 목

협동연구기관명: 동 국 대 학 교

협동연구책임자: 김 혜 영

연 구 원: 홍 지 연

연 구 원: 남 상 욱

연 구 원: 김 로 연

연 구 원: 문 제 선

연 구 원: 구 윤 모

요 약 문

I. 제 목

감자역병 저항성 분자마커 개발 및 MAS를 이용한 역병저항성 감자의 분자유종 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

가. 역병 저항성 감자의 육성을 위해 요구되는 유전 자원의 평가를 목적으로 분자유종의 기초를 마련코자 수행되었으며 우선, 양적형질과 연관된 표지인자를 이용한 국내 주요 재배종과 유전자원으로 보관중인 유색종, 근연 야생종 감자 계통의 역병에 대한 양적형질의 유전적 분석, 둘째로, 도입유전자의 탐색 및 field 저항성 계통과 QTL의 연관 관계분석을 통한 저항성 계통 선발, 셋째로, AFLP 기법을 이용한 저항성 관련 분자마커의 선발 및 SCAR marker의 개발, 마지막으로 저항성과 감수성 품종간의 유연관계 분석과 역병원균에 대한 감자의 수직 저항성 유전자의 탐지를 목적으로 수행하였다.

나. 병원균이 가지고 있는 병원성의 차이는 병원균 레이스에 관계하는 것으로 이들 요인 중에는 감염력, 병원균의 기주 내 지속시간 그리고 포자발아율이 크게 관계하는 것이며 이런 변화는 직접적으로 병 발생에 차이를 보는 것으로 판단된다. 따라서 병원균에 의한 기주의 침입능력은 기주에 의한 병원균의 발생억제는 기주 기생체간의 특이성 반응으로 생각되며 감자유종 및 식물병원학 연구의 한 분야로 오랫동안 연구자들 관심의 대상이었다. 그러므로 병원균 집단의 변동에 효과적으로 대처하는 저항성 품종을 육성하는 것은 매우 중요하고 궁극적으로 병 방제를 위해서 필연적인 과정이다. 그러나 수많은 유전자원을 지속적으로 측정하고 그에 대한 반응을 평가하는 것은 매우 많은 시간, 노력과 경비를 지불해야하는 어려움이 있어 효과적

으로 검정 할 수 있는 표지인자를 개발하는 것은 매우 중요한 일중의 하나이다. 따라서 본 연구에는 우리나라 재배환경 조건에서 농업형질이 우수하고 역병에 강한 유전자원을 보유중인 감자유전자원을 이용하여 선발하고 역병저항성 품종 육성을 위한 육종소재를 개발하고자 수행하였다.

다. 재배감자는 유전적 다양성이 결여되어 신품종의 육성이 어려워 야생근연종 중에서 역병에 저항성이 있는 종 또는 clone을 이용하여 저항성 유전자를 도입할 수 있다. 저항성 유전자 도입은 두 교배양친간의 crossing-over가 진행되어야 도입이 가능하며 이를 세포유전학적으로 확인하는 방법이 필요하다. 감수분열기에 어느 정도의 pairing을 파악할 수 있으나, 일반적인 염색 방법으로는 거의 불가능하므로 감수분열기에 특별한 염색기술과 GISH방법을 이용하여 가능할 것으로 판단된다.

2. 연구 개발의 필요성

가. 우리나라의 경우 생산력 검정시험에서 높은 다수성을 보인 수미와 대지 등이 대표적인 품종으로 재배되고 있지만 역병에 대해 감수성을 보여 그 대책이 시급한 실정이다. 이러한 이유에서 중요 품종에 결여되어 있는 저항성 분자 markers의 선발 및 저항성 gene의 탐지는 저항성 육종 및 유전자원으로서 충분한 가치가 있으며, 병원체가 새로운 race로 변이를 일으킨다는 점에 비추어 볼 때 많은 marker의 선발은 중요한 의미를 지닐 것이다.

나. 감자역병에 대한 연구는 방제 방법과 저항성 품종을 육성하기 위한 다양한 노력들이 이루어지고 있다. 국제감자연구소는 역병에 대하여 고도의 저항성 반응을 보이는 다양한 종류의 근연야생종을 보유하고 있고, 이를 이용한 A1 교배형과 A2 교배형 모두에 수평 저항성을 가진 감자의 육종집단을 선발하고 있다. 감자역병 저항성 계통은 1993년에 멕시코의 발병이 심한 지역에서 저항성 평가를 통하여 다양한 지역에서 적응력이 뛰어난 계통을 선발하였고, 향후 품종화 할 전망이다. 우리나라에서도 다양한 유전자원을 도입하여 저항성 품종 육성을 위한 육종소재로 이용할 수 있으나, 일장이나 기온 등 우리나라와 재배적인 환경이 다른 지역에서 선발되었기 때문에 농업형질 및 적응성에 문제가 있어 우리나라 재배환경에서도 감자역병에 강

하고 농업형질이 우수한 품종의 육성이 절실한 시점이다.

다. 역병 저항성이 있는 야생종을 교배 양친으로 사용하는 경우, 양친의 임성을 아는 것은 도움이 되며, 특히 $2n$ gamete이 형성되는 경우 4배체 재배종과의 직접적인 교배를 통해 역병 저항성 야생종의 모든 형질이 재배종으로 도입될 수 있기 때문에 역병 저항성 품종 육종에 유용한 도구가 될 수 있다. $2n$ gamete의 경우 감수분열기의 염색체 행동 관찰이 더욱 정확한 방법이기도 하나 많은 클론을 모두 검경하는 데는 많은 시간이 요구되기 때문에 임성검사 시 그 화분 크기의 차이로 $2n$ gamete을 찾아내어 교배에 효율적으로 이용하고 세포학적인 검정은 그 클론이 교배양친으로 사용된 후 하는 것이 효율적인 방법이라고 생각하된다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 제 1 세부과제 : 감자역병 병저항성 마커 선발 및 저항성 유전자 탐색

가. 저항성 line 선발 및 저항성 marker 개발

- 1) 병원균에 대해 저항성인 계통, 근연 야생종 및 재래종 유색감자로 부터 저항성 line 선발.
- 2) AFLP 기법을 이용한 저항성 marker 개발.

나. 근연야생종 및 재래종 유색감자 유전자원의 저항성 특성평가 및 저항성 유전자 탐색

- 1) QTL 분석, physical mapping, STS-content mapping, DNA fingerprinting, suppression PCR, pulsed-field gelelectrophoresis, RFDD, end-rescue.
- 2) cDNA-AFLP 기법을 이용한 저항성 gene 탐지.

다. 재래종 품종의 저항성과 감수성 품종간의 유연관계 분석.

- 1) RAPD 기법을 이용한 DNA fingerprinting.
- 2) NTSYS-pc에서 UPGMA program을 이용하여 clustering analysis를 이행.

2. 제 1 협동과제 : 감자 역병저항성 유전자원 탐색 및 개발

가. 역병저항성 유전자원 확보를 위한 유전자원 pool 탐색.

1) 야생종과 4배체 도입종 등 보유 유전자원에 대한 역병 포장 저항성 검정.

나. 선발된 저항성 germplasm의 포장검정.

1) 교배를 통한 저항성 line 선발/검정.

2) 선발된 저항성 line의 tuber quality 검정 등 quantitative, qualitative 특성 구명

3. 제 2 협동과제 : 역병 저항성 감자계통의 세포 유전적 특성 연구

가. 교배 양친의 체세포 염색체 및 감수분열기 검정.

1) 양친의 배수성 검정, 2n gamete 형성 검사.

2) 양친의 입성 검정, 감수분열기의 세포질 분해 및 burning 방법 규명

나. 세포질 분해방법을 이용하여 잡종의 감수분열기 검정.

1) 재배종과 야생종의 염색체간의 behavior에 의한 저항성 gene의 전이.

2) 4배체 x 4배체, 혹은 4배체 x 2배체간의 잡종이 선발후 형광염색과 *In Situ* hybridization을 이용한 분석.

다. 감자의 GISH 방법 연구.

1) 두 교배 양친간의 형광염색을 달리하여 감수분열기의 behavior 연구.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 제 1 세부과제 : 감자역병 병저항성 마커 선발 및 저항성 유전자 탐색

감자역병 저항성 marker 탐지를 위한 AFLP 분석에서는 bulk 기법을 이용하여 4개의 primer 조합에서 저항성 marker로서의 가능성이 있는 특이적인 band를 검출하였고, 이를 S 와 HR individual 계통에 동일한 조건으로 수행하여 3 조합의 primer에서 재현성 높은 표지인자를 선발하였으며 조합간 동일한 band를 형성하지 않은 계통을 제외한 AG14074, AG14095, AG34094, F25-27 을 선발할 수 있었다. 이 계통들은 위의 QTL marker tagging의 결과와도 대부분 일치하는 것으로 나타났다. 선발된 molecular marker는 sequencing 결과를 토대로 primer 조합 E+AT/M+CTC에서 LBR-1 forward primer 5'-ACATAAGGAGACCATGGAA-3'와 reverse primer 5'-AAGGTGGTTTGAGAGTTCTG-3'. Primer 조합 E+ACC/M+CTT 에서 LBR-2 forward primer 5'-AAAGAACATGATCAGGGATG-3' 와 reverse primer 5'-GTACCAATTCACCCAATCTG-3'를 제작하였다(Table 5). Primer set의 sensitivity를 확인한 결과 저항성 표지인자로는 LBR-1이 높은 재현성을 보인 반면 LBR-2는 재현성이 상당히 떨어지는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 5). 감자역병 저항성 gene 탐색은 cDNA-AFLP 분석으로 수행하였으며 전체 198개 조합중에서 역병원균을 접종한 식물체에서 발현되는 gene은 A(E+AG/M+CAC)에서는 350 bp 정도에서 specific band를 확인하였고, B(E+CT/M+CAG)와 C(E+AG/M+CTA)에서는 각각 500 bp와 320 bp 부근에서 band가 확인되었다(Fig. 12). Molecular marker와 저항성 유전자의 개발은 저항성 line의 선발, genome내 변이여부의 탐색 및 육종 재료로 활용 가능성이 매우 높다. 우리나라의 경우 생산력 검정시험에서 높은 다수성을 보인 수미와 대지 등이 대표적인 품종으로 재배되고 있지만 역병에 대해 감수성을 보여 그 대책이 시급한 실정이다. 이러한 이유에서 중요 품종에 결여되어 있는 저항성 분자 markers의 선발은 저항성 육종 및 유전자원으로서 충분한 가치가 있으며, 병원체가 새로운 race로 변이를 일으킨다는 점에 비추어 볼 때 많은 marker의 선발은 중요한 의미를 지닐 것이다.

2. 제 1 협동과제 : 감자 역병저항성 유전자원 탐색 및 개발

본 연구에는 우리나라 재배환경 조건에서 농업형질이 우수하고 역병에 강한 유전자원을 보유중인 감자유전자원을 이용하여 선발하고 역병저항성 품종 육성을 위한 육종소재를 개발하고자 수행하였다.

527종의 감자 유전자원에 대하여 역병저항성을 평가한 결과 AG14052 등 11계통은 포장저항성이었고, 집종 저항성 평가에서 A1 교배형을 가진 역병균을 접종하였을 때에는 AU22002 등 162계통, A2 교배형의 역병균을 접종하였을 경우에는 AU22002 등 140계통이 저항성이 있는 것으로 평가되었다. A1 교배형과 A2 교배형의 역병균 처리 간에는 상관성은 있었으나 상관의 정도가 높지는 않았다.

농업형질을 평가하여 AG14005 등 66계통은 단위면적당 수량성이 높고 (3,500kg/10a 이상) 상서율이 80% 이상으로 매우 높아 다수성 유전자원으로 선발하였으며, AG14016 등 66계통은 비중이 1.080 이상으로 높고, glucose 함량이 0.25% 이하로 낮아 칩이나 프렌치프라이 제조용으로 적합한 형질을 가진 유전자원으로 선발되었다. 선발된 66계통의 역병저항성을 조사한 결과 모두가 역병에 약한 것으로 평가되었다. 역병에 강한 유전자원을 개발하기 위하여 선발된 계통간 교배에서 4배체 재배종간 교잡에서는 5조합 5,852립, 2배체간 교잡에서는 2조합 1,030립의 종자를 획득하였다. 착과율은 2배체간 조합이 29.7%, 4배체간 조합이 78.6% 였고, 1개의 열매당 종자의 수는 2배체간 조합에서 31개, 4배체간 조합에서는 평균 133개였다.

3. 제 2 협동과제 : 역병 저항성 감자계통의 세포 유전적 특성 연구

세포학적 연구를 위해 근연 야생종의 역병 저항성 검사, 임성 검사, 2n 배우자 형성률을 조사하였다. Wlb3-14(*S. polyadenium*, PI310963, 2n=24)는 2n 화분을 2.57% 형성하였는데, 역병균 *Phytophthora infestans*에 저항성이므로 이 클론이 재배종과의 교배시 육종 재료로 사용될 수 있다고 사려되었다.

재배종과 야생종 감자의 세포융합체와 그 여교잡 후손을 가지고 GISH를 시도하였다. 뿌리의 체세포와 화분모세포가 이용되었고, 야생종의 염색체가 재배종의 염색체와 구분되는 것을 확인하였다. 따라서 GISH가 재배종에 도입된 저항성 야생종의 유전자 도입을 검정하는 방법이 될 수 있었다.

역병 저항성 야생종 *S. berthaultii*와 F9-99와 F9-124의 교배 후손인 LBFA와 LBFB에 GISH를 시도하였으나 용이하지 않아 LBFA-18,19에 오이 (*Cucumis sativus* L.)의 5S rDNA를 이용한 FISH를 수행하여 중간 잡종을 확인할 수 있었다.

SUMMARY

Selection of late blight resistant potato lines with molecular markers, and the application of MAS for late blight resistant potato breeding

1. Development of SCAR Marker and R-gene Linked to Resistance to *Phytophthora infestans* in Potato

Late blight caused by the oomycete *Phytophthora infestans* is the most serious fungal disease in potato cultivation worldwide. Late blight resistance is demanding the attention of potato breeders worldwide following recent migrations of aggressive metalaxyl-resistant isolates of *Phytophthora infestans* potato production areas. Resistance to late blight was controlled by a few major genes (*R* gene) which can be easily overcome by new races of *Phytophthora infestans* and an unknown number of genes expressing a quantitative type of resistance which may be more durable. In this study, we used AFLP method to identify markers linked to resistance trait. According to AFLP method, primer combination of E+AT/M+CTC selected out of eighty primer combinations. The specific fragment was isolated and ligated into a T-vector, followed by transformation on *E.coli*. Plasmid DNA was extracted from transformants, and the target product was harvested. The whole sequence of 127 bp was determined using T-vector and designated on LBR-1 primer set. We employed the PCR with LBR-1 of the SCAR primer. As a result, 127 bp fragment was observed only on HR lines but not in S lines. We used cDNA-AFLP to identify R-gene associated with late blight in potato. Among 198 combinations of cDNA-AFLP primers, the primer combinations E+AG / M+CAC (350 bp), E+CT / M+CAG (500 bp) and E+AG / M+CTA (320 bp) repeatedly produced specific cDNA fragments, which were detected only from *P. infestans*-infected resistance potato lines.

2. Screening and development of resistance to late blight in potato germplasms

This study was carried out to evaluate the resistance against late blight of the potato germplasm and to develop the resources for potato breeding. In 527 potato clones, 11 clones including AG14052 were showed the resistance to late blight in field trial. In inoculation method using detached the leaves, 162 potato clones including AU22002 were resistance to A1 mating type and 140 clones including AU22002 were resistance to A2 mating type. All of the potato germplasm were differently response against pathogens and the resistance resource of late blight was not identified from this experiment. To find the specific resistance resource against late blight, 47 clones which are showed the resistance to single mating type of *Phytophthora infestans* were selected from the former experiment and the new sources of potato germplasm. Through the field trials and inoculation test, CIP 724 clone was selected that was actively response against late blight in different conditions. In the field trials, CIP724 was not developed the typical symptom on leaf and stem for 4 weeks after first occurrence of disease. Also, the hypersensitive reaction was initiated in CIP724 clone when the inoculum was inoculated on detached potato leaves in laboratory test. The symptom was not extended toward outside of the leaf and the leaves produced the black necrosis on the inoculated site.

On the agronomic characteristics, 66 clones including AG14005 were selected as high yield with 3,500kg/10a in tuber yield and 80% in rates of marketable tuber. And 66 clones including AG14106 were selected as having a suitable characteristics for chip and french fry processing, low glucose content of less than 0.25% and high specific gravity of more than 1.080. However all of the selected clones were evaluated susceptible to late blight.

To develop the resistance breeding resource to late blight, the selected clones were made cross and 5,852 seeds were obtained in 5 combinations between 4x and 4x, 1,030 seeds were obtained in 2 combinations between 2x and 2x potato

clones. The percentage of fruits set between 2x and 2x, and 4x and 4x showed 29.7% and 78.6, respectively. Mean number of seeds per 1 fruit between 2x and 2x, and 4x and 4x showed 31 and 133, respectively.

3. Cytogenetic study of late blight resistant potato

Late blight resistance, sterility, 2n gamete were investigated with potato related wild species for cytogenetic research. Wlb3-14(*S. polyadenium*, PI310963, 2n=24) produced 2n pollen at 2.57%, was resistant to *Phytophthora infestans*. Therefore, this clone could be used as the parent to cross with cultivar for breeding purpose.

GISH technique was carried out with somatic hybrid of wild species and potato cultivar and its backcross progeny. Root tip somatic cells and pollen mother cells were used. Wild species chromosomes were distinguished from cultivar chromosome with GISH. GISH is a useful cytogenetic method in hybrids to detect introgression of resistant wild species genes into the cultivars.

F9-99 and F9-124 are progenies of Hat, haploid clone of *Solanum tuberosum* cv. *Atlantic* crossed with *S. chacoense*. *S. berthaultii* is late blight resistant wild species. LBFA and LBFB are progenis of *S. berthaultii* and F9-99 and F9-124. *S. berthaultii* chromosome could not be distinguished from F9-99 and F9-124 chromosome by GISH. But *S. berthaultii* chromosome could be distinguished

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	16
Sec. 1 Subject of research	16
Sec. 2 Necessary of research	17
Chapter 2. Present status of domestic and foreign researches	20
Sec. 1 Situation of international technology development	20
Sec. 2 Further vision	21
Sec. 3 Reasonability of technology introduction	21
Chapter 3. Research results and discussions	22
Sec. 1 Development of SCAR Marker and R-gene Linked to Resistance to <i>Phytophthora infestans</i> in Potato	22
1. Development of Marker Linked to Resistance to <i>Phytophthora</i> <i>infestans</i> in Potato using AFLP method	22
A. Materials and methods	22
B. Results and discussion	31
2. Genetic Relationship between HR-lines and S-lines of Potato using RAPD analysis	40
A. Materials and methods	40
B. Results and discussion	41
3. Detection of Resistance gene in closely related late blight	43
A. Materials and methods	43
B. Results and discussion	46
Sec. 2 Screening and development of resistance to late blight in potato germplasms	50
1. Screening of resistance to late blight in potato germplasms	50
A. Materials and methods	50
B. Results and discussion	53

2. Evaluation of major agronomic characteristics in potato germplasms	66
A. Materials and methods	66
B. Results and discussion	67
3. Development of late blight resistance potato	83
A. Materials and methods	83
B. Results and discussion	85
Sec. 3 Cytogenetic study of late blight resistant potato	86
1. Study of mitotic chromosome number and meiosis of crossing parents	86
A. Materials and methods	86
B. Results and discussion	88
2. Study of chromosome affinity in meiosis of the hybrids	98
A. Materials and methods	98
B. Results and discussion	105
3. Application GISH to study genomic divergence between species	108
A. Materials and methods	108
B. Results and discussion	109
 Chapter 4. Achievement or contribution for related field	 111
 Chapter 5. Application plan for the results	 112
Sec. 1 Utilization plan	112
Sec. 2 Expected effect	112
 Chapter 6. International science and technology information	 114
 Chapter 7. Literature cited	 115

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	16
제1절 연구개발의 목적	16
제2절 연구개발의 필요성	17
제 2 장 국내외 기술개발현황	20
제1절 국내·외 관련기술의 현황	20
제2절 앞으로 전망	21
제3절 기술도입의 타당성	21
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	22
제1절 감자역병 병저항성 마커 선말 및 저항성 유전자 탐색	22
1. 저항성 lines 선말 및 AFLP기법을 이용한 감자의 역병 저항성 marker의 선말	22
가. 재료 및 방법	22
나. 결과 및 고찰	31
2. RAPD 기법을 이용한 저항성 lines과 감수성 lines과의 유연관 분석	40
가. 재료 및 방법	40
나. 결과 및 고찰	41
3. 감자역병 병저항성 유전자 탐색	43
가. 재료 및 방법	43
나. 결과 및 고찰	46
제2절 감자역병 저항성 유전자원 탐색 및 개발	50
1. 감자 유전자원의 역병저항성 탐색	50
가. 재료 및 방법	50
나. 결과 및 고찰	53
2. 감자 유전자원의 주요 농업형질 특성 평가	66
가. 재료 및 방법	66

나. 결과 및 고찰	67
3. 감자역병 저항성 유전자원의 개발	83
가. 재료 및 방법	83
나. 결과 및 고찰	85
제3절 역병 저항성 감자계통의 세포 유전적 특성 연구	86
1. 교배 양친의 체세포 염색체 검정과 감수분열기 검정	86
가. 재료 및 방법	86
나. 결과 및 고찰	88
2. 잡종의 감수분열기의 염색체 친화성 연구	98
가. 재료 및 방법	98
나. 결과 및 고찰	105
3. GISH에 의한 종간 genomic divergence 연구	108
가. 재료 및 방법	108
나. 결과 및 고찰	109
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	111
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	112
제1절 활용방안	112
제2절 기대효과	112
제 6 장 연구개발과정에서의 수집한 해외과학기술정보	114
제 7 장 참고문헌	115

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

구 분	연구 개발 목표	연구발 내용 및 범위
	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 세부과제 - 저항성 line 선발 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 세부과제 - 병원균에 대해 저항성인 계통, 근연 야생종 및 재래종 유색감자로부터 저항성 line 선발
1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 협동과제 - 감자역병 저항성 유전자원 선발 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 협동과제 - A1, A2 교배형에 따른 기내 저항성 검정 - 무방제 포장에서의 역병저항성 평가
	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제2 협동과제 - 잡종 식물체에 사용할 교배양친의 세포학적 연구 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제2 협동과제 - 양친의 음성 검정, 2n 배우자 형성률 검사
	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 세부과제 - 저항성 marker 선발 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 세부과제 - AFLP 기법을 이용한 SCAR marker 개발
2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 협동과제 - 농업형질이 우수한 감자 역병 저항성 유전자원 선발 및 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 협동과제 - 감자 유전자원의 주요 농업적인 형질평가 - 저항성 계통간 인공교배
	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제2 협동과제 - 잡종의 감수분열기 염색체 친화성 연구 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제2 협동과제 - 세포질 분해방법 연구, 감자의 GISH 방법 연구
	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 세부과제 - 저항성 gene 선발 및 감자 계통간의 유연관계 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 세부과제 - cDNA-AFLP 기법을 이용한 감자역병에 대한 R-gene 탐색과 RAPD에 의한 유연관계 분석
3차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 협동과제 - 감자역병 저항성 유전자원 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제1 협동과제 - 저항성 계통간 교잡후대의 세대진전
	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제2 협동과제 - GISH에 의한 중간 genomic divergence 연구 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제2 협동과제 - 잡종의 염색체간 친화성 규명

제2절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

- 가. 감자(*Solanum tuberosum* L.)에 역병을 일으키는 *Phytophthora infestans*는 전형적인 난균강(Oomycetes)에 속하는 병원균으로 공기 전염하는 분생포자에 의해 폭발적인 전염력을 가지고 있어서 전세계적으로 감자가 재배되는 곳에서는 대발생의 가능성이 잠재하고 있음
- 나. 1845-1846년 사이에 발생했던 아일랜드 대기근(Irish Potato Famine)으로 100만 명 이상이 굶어죽고 150만명이 식량을 찾아 북미 대륙으로 이주한 기록이 있음
- 다. 그러나 감자 역병균에 대한 연구는 병원균의 분리 및 보존이 어려운 이유로 감자역병에 관한 연구는 아직도 초보적인 단계에 머물러 있음
- 라. 향후 감자품종 육성목표중 작형에 따른 조숙 내병 다수성 품종 육성은 필수적인 연구 분야이고, 약제 방제와 더불어 저항성 품종의 선발, 육종, 활용이 필수적임
- 마. 고품자 농업시험장에서 보유하고 있는 유전자원들에 대하여 역병에 대한 포장 및 기내 저항성을 검정함으로써 저항성 계통을 선발하고, 선발된 계통은 역병저항성 감자품종 육성을 위한 모본으로 활용하며, 또한 육성효율 증진을 위한 역병 저항성 관련 분자마커 개발을 위한 기초 재료를 제공할 필요성이 있음
- 바. 미국과 유럽 그리고 남미 지역의 경우, 유색 및 야생감자 유전자원으로부터 역병 저항성 유전자 탐색연구가 국제공동 연구로 진행되고 있음
- 사. 미국과 유럽선진국에서는 최근 각종 분자생물학적 방법을 이용한 역병저항성 분자육종연구가 진행되고 있으나, 국내에서는 아직 감자역병 저항성 품종육성을 위한 분자육종 연구가 행해진 적이 없음
- 아. 본 과제의 수행으로 역병저항성 감자의 분자육종 기초를 마련하고, 나아가 선발된 분자마커를 활용해 역병저항성 품종육성에 필요한 경비와 시간 그리고 인적 자원의 소요 등을 줄일 수 있음
- 자. 재배감자는 유전적 다양성이 결여되어 신품종의 육성이 어려워 야생근연종 중에서 역병에 저항성이 있는 종 또는 clone을 이용하여 저항성 유전자를 도입할 수 있음. 저항성 유전자 도입은 두 교배양친간의 crossing-over가 진행되어야 도입

이 가능하며 이를 세포유전학적으로 확인하는 방법이 필요함

차. 감수분열기에 어느 정도의 pairing을 파악할 수 있으나, 일반적인 염색방법으로는 거의 불가능함. 그러므로 감수분열기에 특별한 염색기술(현재 본 연구자가 개발중)과 GISH 방법을 이용하여 가능할 것으로 판단됨

2. 경제·산업적 측면

가. 감자는 세계 5대 식용작물의 하나로 대부분 식용으로 소비되고 있으며. 감자는 타작물에 비해 수익성이 낮아 해마다 재배면적이 감소되어 왔으나 최근 들어 알카리성 건강식품 선호 붐을 타고 수요가 증가하면서 재배면적이 늘어나고 있음

나. '97년 감자의 재배면적은 25.5천ha이며 지난 10년간 평균 재배면적을 작형 별로 보면 봄감자 67.9%, 고냉지감자 19.8%, 가을감자 12.3%로 나타났다. '97년 감자의 생산량은 637.6천 톤으로 나타났다

다. 2004년 예상되는 국내생산량은 1,050천톤 이다. 감자의 최근 10년 평균 1인 1일 소비량은 21.2g이다. 주산지는 강원도 원주, 정선, 춘천, 평창, 횡성, 제주 남제주, 경남 밀양, 전남 해남, 전북 김제 등으로 이 지역 출하량이 시장거래물량의 대부분을 차지하고 있다. 국내 감자의 수요량은 매년 늘어나 2004년에는 1,300천톤 가량 될 예정임

라. 감자는 단위 면적당 최대의 식량을 생산할 수 있는 작물로 인식되고 있으며, 강원도 농산물 중에서 감자는 매년 매출액이 1,300억 정도이고 가공업체에 의해서 생산되어 판매되는 매출액을 합치면 2,000억원이 훨씬 넘을 것으로 생각됨

마. *Phytophthora infestans*에 의해 유발되는 감자 역병은 세계적으로 중요한 병이나, 한국에서는 특히 중서 생산에 큰 문제가 되고있는 병임. 대관령에서는 약제살포가 않된 경우에는 역병 증상이 포장에 처음 나타난후 14일 내에 전포장의 식물이 낙엽현상을 이르게 중서 생산에 지대한 영향을 줌. 해발고도가 높고 생육기에 비교적 낮은 온도(18℃)와 비가 자주와서 습도가 높은 지역에서 일반적으로 발생하는 병이나, 우리나라 에서는 저 지대인 강릉(추작)과 수원(춘작) 지방에서도 발생되므로 감자의 생산수량에 큰 영향을 미치게 되었음

바. 또한, 역병균에 의한 경제적 피해는 아직 산정 된바 없고, 매년 역병균 방제를

- 위해 천문학적 숫자의 약제 방제비가 소모되고 있는 실정임
- 사. 역병저항성 분자육종을 통해 저항성품종이 개발되면 역병균 방제를 위해 사용되는 약제 방제비의 상당부분을 절감 할 수 있음
- 아. 수입 개방화에 따라 앞으로는 가공용 감자뿐 아니라 생감자의 수입도 증가 추세에 있다고 판단되고 있는 이때 한국산 감자가 대처해야할 방법중 하나는 우수한 품종을 확보 하는 것임. 이는 내병, 다수성은 물론 고품질의 품종의 육성이 절대로 필요함을 의미함

3. 사회·문화적 측면

- 가. 매년 역병균 방제를 위해 천문학적 숫자의 약제 방제비가 소모되고 있는 실정임
- 나. 역병저항성 분자육종을 통해 저항성품종이 개발되면 역병균 방제를 위해 사용되는 약제 사용횟수를 줄일 수 있어 환경보호에 도움이 될 수 있음
- 다. 역병저항성 분자육종을 통해 저항성품종이 개발되면 역병균 방제를 위해 사용되는 약제 방제비의 상당부분을 절감 할 수 있고, 결국 농가의 경상수지를 개선할 수 있음
- 라. 강원도는 북한의 대부분 지역과 유사하기 때문에 강원도에서 개발된 감자재배기술과 품종들이 통일 후 북한 지역에 쉽게 적용이 가능할 것임. 따라서 통일 후 식량작물로서의 감자의 역할이 크게 대두됨

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내·외 관련기술의 현황

1. 국내의 경우 고령지농업시험장과 강원대학교에서 유색감자 및 야생감자 수집과 역병균에 대한 연구를 진행 시켜 오고 있음
2. 감자 역병균에 대한 연구는 병원균의 분리 및 보존이 어려운 이유로 아직도 초보적인 단계에 머물러있음
3. 미국에서는 감자 역병균의 genome project가 수행되고 있으며, 이 연구 결과는 역병 저항성 감자의 육성에 자료로 활용되고 있음
4. 미국과 유럽 그리고 남미 지역의 경우, 야생감자 유전자원으로부터 역병저항성 유전자 탐색연구가 국제공동 연구로 진행되고 있음
5. 미국의 경우 B0718-3 그리고 PI583331, 스코틀랜드의 경우 G6582-3등 저항성 계통이 선발되어 육종프로그램에 활용되고 있음
6. 미국과 유럽선진국에서는 최근 각종 분자생물학적 방법을 이용한 역병저항성 분자유종연구가 진행되고 있으나, 국내에서는 아직 감자역병 저항성 품종육성을 위한 분자유종 연구가 행해진 적이 없음
7. 야생종 유전자원 도입을 위한 준비로 본 연구자들에 의하여 반수체를 재배종으로부터 유도하였고 이들의 일부는 야생종과 교배가 시도 되어 야생종-반수체의 잡종이 일부 생산되었고, 이들 일부에 대한 내병성특성도 검정되었음
8. 야생근연종을 재배종 반수체와 교배하여 이들 교잡종중 2n 배우체를 생산하는 clone들을 선발한후 계속 육종 선발하여 재배종 보다 우수한 계통을 선발하는 육종방법이 이용되고 있음
9. 감자 재배종과 야생 근연종과 세포융합을 하여 융합체를 계속 교배 선발 하면서, RFLP 와 RAPD 방법을 이용하여 야생종의 내병성 유전자의 DNA marker를 규명하고자 현재 많은 연구가 진행되고 있음
10. 분자적 marker와 세포학적 marker의 연구가 필요하다는 것이 인정은 되나 많은 발전이 없었음. 일부 실험실에서 GISH, FISH를 이용한 방법으로 시도하고 있음

제2절 앞으로 전망

1. 새로운 첨단육종기술의 발전과 더불어 재래종 유색감자 대한 유전자원으로서의 중요성이 더욱 증대되고 있으며, 이에 따라 재래종 유색감자 및 야생감자에 대한 유전자원으로서의 재평가가 이루어져야 할 것임
2. 새로운 첨단육종기술의 발전과 더불어 역병 저항성 유전자 탐색 및 계통 선발을 위해 유색감자와 야생감자는 유전자원으로서의 중요성이 더욱 증대되고 있으며, 이에 따라 재래종 유색감자에 대한 유전자원으로서의 가치가 높게 평가될 것임
3. 저항성표지인자를 규명하고 이의 세포학적인 위치가 규명되면 그 후 표지인자의 cloning도 가능할 것이고 이를 이용한 직접적 형질전환으로 저항성육종이 가능하며 이에 대한 특허도 가능할 수 있음. 또한, 저항성 표지 인자를 이용하여 저항성 실험을 포장검사를 하기 전에 분자적, 세포학적으로 일차 선발할 수 있음
4. 본 연구를 통해 국내에서도 분자유종 방법을 통한 역병저항성 품종의 육성이 본격적으로 진행되어 역병저항성 연구가 국제적 수준에 도달할 것으로 전망됨

제3절 기술도입의 타당성

“해당없음”

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 감자역병 병저항성 마커 선발 및 저항성 유전자 탐색

1. 저항성 lines 선발 및 AFLP기법을 이용한 감자의 역병 저항성 marker의 선발

가. 재료 및 방법

1) 식물재료

역병균에 대해 저항성 또는 감수성인 계통, 근연야생종 및 재래종 유색감자로부터 저항성 line 선발 및 선발된 line을 이용한 저항성 분자 마커의 개발을 위해 고령지 농업 시험장 과 동국대로부터 33 lines의 시료를 분양받았다. 시료들 중 유전적 variation이 심한 lines은 제외하였고, 새로 분양받은 시료를 첨가하여 분석하였으며 실험을 수행하면서 분자수준에서 강한 저항성 계통으로 사료되는 lines을 선발하였다 (Table 1, 2).

2) 저항성 검정

저항성 검정은 분양받은 시료들 중 HR lines 과 S lines을 이용하였으며 3회 반복하여 수행하였다. 병원균 재료는 *Phytophthora infestans* isolates YY-8(A1), YY-9(A1), 20B02(A2)를 10% clarified V8 medium(100ml V8 juice, 5g CaCO₃, 15g agar)에서 18℃, 암상태에서 20일 가량 배양시킨 후, 20ml의 cold dH₂O를 넣어 주고, 명조건에서 2-3일 정도 배양하여 sporangium의 형성을 유도하였고, 접종전 sporangium suspension을 4℃에서 2-3시간 incubation시켜 Zoospores형성을 유도하였다. 병원균 접종은 petri dish에 3MM paper를 2장 정도 깔고 그 위에 채취한 잎을

올려놓고 멸균수를 넣어준 후 density가 1×10^6 /ml 정도인 현탁액을 plate 당 2 drop 씩 넣어 주었다. plate는 growth chamber에서 명암 조건을 15 hours/9 hours로 하였고 온도를 명조건에서는 23°C, 암조건에서는 15°C로 내려 주었으며 접종 후 3일 후 부터 병반정도를 관찰하였다.

3) Genomic DNA 추출

DNA 추출은 Goodwin(1992)의 방법을 수정하여 이용하였으며 파종한 피경으로부터 생육한 본엽 5-7매의 유묘기에 0.5g 정도의 어린잎을 채취하여 1.5ml tube에 넣고 액체질소로 곱게 마쇄하여 엽절편이 녹기전에 extraction buffer (100mM Tris-HCl pH 8.0, 500mM NaCl pH 8.0, 50mM EDTA pH 8.0, 1.25% SDS)를 700 μ l 처리 후 동량의 phenol : chloroform : isoamylalcohol (25 : 24 : 1)을 처리하고 약 5분간 조심스럽게 흔들어 준 후 65°C에서 1시간 동안 보관하였다. 이를 13,000 rpm에서 30분간 원심분리 하여 상층액을 취해 동량의 isopropanol 처리 후 -20°C에서 1시간 동안 DNA를 침전시켰다. 침전된 pellet은 70% ethanol로 조심스럽게 씻어준 후 실온에서 충분히 건조시키고 RNase(50 μ g/ml)가 첨가된 TE buffer (10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA pH 8.0) 200 μ l를 넣어 37°C에서 1시간 정도 incubation 시켰다. Bulk의 조성은 potato 33계통을 S (1-2), MR (3-7), R1 (8-15), R2 (16-24), HR (25-33) 계통별로 동량의 잎을 50ml tube에 넣고 위와 동일한 방법으로 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 spectrophotometer를 이용하여 농도를 측정하여 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

4) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

가) Digestion of DNA

Genomic DNA 1 μ g을 *EcoR* I (Quantum, USA) 5 units으로 37°C에서 12시간 동안 충분히 절단한 후 2.5배의 에탄올을 첨가하여 -70°C에서 1시간 동안 침전시킨 후 13,000rpm에서 30분 동안 원심분리 하였다. 침전된 DNA는 실온에서 충분히 건조시킨 후 3 units의 *Mse* I (Quantum, USA)으로 65°C에서 12시간 동안 충분히 절단시킨 후 동일한 방법으로 DNA를 건조시켰다. 건조된 DNA는 멸균된 dH₂O에 녹인 후

1.5% agarose gel상에서 절단 여부를 확인하였다.

나) Adaptor ligation

절단된 DNA를 3 units 의 T4 DNA ligase (Quantum, USA)와 0.5uM 의 *EcoR* I, *Mse* I adaptor를 첨가한 후 14°C에서 12시간동안 ligation 시켰다. 이는 1:10으로 희석하여 pre-amplification을 하기 위한 재료로 사용하였다.

다) Pre-amplification

제한효소로 절단된 DNA중 특정부위만을 증폭시키기 위하여 adaptor에 상보적인 염기서열을 지닌 primer를 이용하였다(Table 3). primers는 선택적인 nucleotide가 첨가되지 않은 E0/M0 primers를 이용하였으며 PCR 반응 조건은 DNA 5 μ l에 1X buffer (10mM Tris-HCl pH 9.0, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100), 200uM dNTP, 0.5uM primers, 0.5 unit 의 *Taq* polymerase (Quantum, USA)를 첨가하여 Perkin-Elmer thermal cycler에서 94°C에서 30초, 60°C에서 1분 그리고 72°C에서 1분을 1 cycle로 최종 20회 반복하고 반응을 종료하였다.

라) Selective PCR amplification

pre-amp시킨 PCR 산물은 다시 1:50으로 희석하여 선택적인 염기가 첨가된 primer를 이용하여 2차 PCR 반응을 수행하였다(Table 3). 반응조건은 DNA 5 μ l에 1X buffer (10mM Tris-HCl pH 9.0, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100), 200uM dNTP, 0.5uM primers, 0.5 unit 의 *Taq* polymerase (Quantum, USA)를 첨가하여 Perkin-Elmer thermal cycler에서 94°C에서 30초, 60°C에서 30초 그리고 72°C에서 1분을 1 cycle로 시작하여 다음 부터는 annealing 온도를 0.7°C씩 감소 시키면서 11 cycles을 반복한 뒤 94°C에서 1분, 56°C에서 30초, 72°C에서 1분을 23 cycles 반복한 뒤 반응을 종료하였다.

마) Gel electrophoresis

최종 PCR 산물을 5 μ l정도 취해 3배의 3X loading dye (95% formamide, 10mM EDTA, pH 8.0, 0.05% bromophenol blue)와 혼합한 뒤 95°C에서 5분간 가열하여 single strand로 만들어 준 후 그중 5 μ l를 취해 미리 가열된 6% denaturing

polyacrylamide gel (acrylamide : bis-acrylamide 19:1, 7.5M urea, 1X TBE)에 1,800V와 60W에서 3시간 전기영동한 다음 silver staining 기법으로 결과를 분석하였다. 저항성 계통에만 특이적으로 증폭된 bands는 재증폭하여 원하는 size를 보기 위해 blade를 이용하여 오려내고 그 위에 증류수 20 μ l를 넣어 유리판으로부터 gel이 잘 분리되도록 하였고, 분리된 gel은 effendorf tube에 넣고 2차 PCR과 동일한 조건으로 재증폭하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.2% agarose gel상에서 100V의 전압으로 3시간 정도 전기영동한 후 원하는 size로 정확히 증폭되었는지를 확인하였다.

5) AFLP 단편의 정제

agarose gel상에서 재증폭된 PCR 산물은 blade를 이용하여 분리하여 GENE CLEAN[®] Turbo (Q-Bio, USA) purification system을 이용하여 정제하였다. 먼저 GENE CLEAN[®] Turbo salt solution을 100 μ l/gel 0.1g를 첨가하여 55 $^{\circ}$ C water bath에서 5분간 두어 gel을 완전히 용해시켰고, 이 용액 중 500 μ l정도를 GENE CLEAN[®] Turbo Cartridge에 옮겨 넣고 13,000rpm에서 5초간 원심분리하여 용액과 분리하였다. 여기에 GENE CLEAN[®] Turbo wash solution을 500 μ l 첨가하여 vortex한 후 5초간 원심분리하여 용액을 제거하였으며 이 과정을 2회 실시하였고, Cartridge를 2ml의 Catch tube에 옮긴 후 GENE CLEAN[®] elution solution을 30 μ l 처리하여 실온에서 5분간 두어 DNA를 충분히 녹인 후 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다. 정제된 PCR 산물은 1% agarose gel상에서 전기영동하여 band의 size 및 quality를 측정하였다.

6) Cloning and Sequencing

Taq polymerase에 의한 PCR 산물은 양 끝에 adenine이 붙는 특징이 있어 직접 ligation 할 수 있도록 제작된 pGEM[®]-T easy vector (Promega, USA)에 삽입시킨 후 competent cell(bacterial strain JM109)에 transformation하고 white/blue 선발을 거쳐 DNA가 삽입된 것으로 사료되는 colony를 선발하였다. 이것은 다시 ampicillin(50 μ g/ml)이 들어 있는 LB broth에서 16시간 정도 배양한 후 RPM[®] Kit (Q-Bio, USA)을 이용하여 plasmid를 분리하였다. plasmid는 insert 여부를 확인하기

위하여 vector내 위치한 제한효소 인식범위인 *EcoR* I 을 이용하여 37°C에서 2시간 정도 incubation한 후 1.2% agarose gels에서 100V의 전압으로 전기영동시켜 확인하였다. DNA 삽입여부가 확인된 시료는 30 μ l씩 새로운 tube에 분주하여 한양대학교내 바이오넥스에 sequencing을 의뢰하였다.

7) Primer 디자인 및 sensitivity 분석

Sequencing 결과를 토대로 Primer³ Output Program를 이용하여 양말단 부근에서 20bp정도의 특이적인 primer set를 디자인하였다. Primer set은 S, R, HR individual 계통에 PCR 반응을 수행하여 재현성 및 특이성 여부를 확인하여 SCAR marker로 전환하였다.

8) Southern hybridization

감자역병 저항성 line중 Resy의 DNA 영역을 probe로 사용하기 위해 PCR labelling 방법으로 표지하여 사용하였다. Resy의 plasmid DNA 10 ng, 0.5 μ M pUC/M13 forward primer(5'-CGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC-3'), 0.5 μ M pUC/M13 reverse primer (5'-TCACACAGGAAACAGCTATGAC- 3'), 10 \times buffer, 5 unit *Taq* polymerase, 0.1 mM dGTP, dCTP, dATP, 0.09 mM dTTP, 1 mM digoxigenin-dUTP(Boehringer Mannheim, Germany)을 총 100 μ l로 하여 94°C에서 90초, 50°C에서 90초, 72°C에서 2분을 한 과정으로 하여 25번 반복한 후, 72°C에서 4분을 반응시켰다. PCR-labelling 산물을 확인하기 위해서 1% agarose gel에서 전기영동 후 확인하였다. Probe detection은 DIG Nucleic Acid Detection Kit(Boehringer Mannheim GmbH, Germany)을 사용하였다. 4개의 감수성 line, 10개의 저항성 line 과 2개의 negative control line의 genomic DNA는 1 \times reaction buffer, 200 μ M dNTPs, 1 unit polymerase, 0.1 μ M LBR-1 forward primer 5'-ACATAA GGAGACATGGAAA-3' 와 reverse primer 5'-AAGGTGGTTTTGAGAGTTCTG-3' Pprimer의 반응조건으로 하여 전체 20 μ l의 반응액으로 하였다. PCR반응은 94°C에서 1분동안 denaturing하고 94°C에서 30초, 47°C에서 30초, 72°C에서 30초를 1 cycle로 총 30 cycle을 수행하였고 72°C에서 30초간 extention하였다. PCR 산물은 1%

agarose에서 전기영동하였다. agarose상에 있는 HR-specific fragment는 membrane에 transfer된 후, 60℃로 미리 가열된 standard hybridization solution(5× SSC, 0.02% SDS, 0.1% N-lauroylsarcosine, 1% blocking reagent) 20 ml를 첨가하고 1시간동안 prehybridization 시킨다음 기존의 buffer를 제거하고, 완전변성된 probe 30 μl와 standard hybridization solution이 혼합된 용액 5 ml을 다시 첨가한 후 60℃에서 12시간 hybridization 하였다. Hybridization이 끝난 뒤 membrane에 붙지 않은 probe를 제거하기 위하여, 2X SSC, 0.1%(w/v) SDS 용액과 0.1X SSC, 0.1%(w/v) SDS 용액에 각각 20분씩 최종 2회에 걸쳐 membrane을 세척하였다. 세척된 membrane은 blocking stock solution을 maleic acid buffer로 1:10 희석시킨 용액에 실온에서 30분 동안 incubation시켰으며, 다시 Anti-Dig-AP conjugate를 전 과정에서 사용된 buffer로 1:5,000 희석시킨 용액에 실온에서 30분 동안 incubation 시켰다. 그 후 붙지 못한 conjugate를 제거하기 위하여 0.3%(w/v) tween 20이 함유된 maleic acid buffer로 실온에서 15분씩 2회에 걸쳐 세척한 후, detection buffer(0.1 M Tris-HCl, 0.1 M NaCl)로 5분동안 incubation 시킨다음 NBT/BCIP solution이 첨가된 detection buffer 10 ml을 첨가하여 membrane을 염색한 후 나타나는 band를 관찰하였다.

9) NCBI blast search

AFLP primer (E+AT / M+CTC)가 포함된 LBR-1 marker 196 bp sequence에서 AFLP primer (E+AT: 18 bp; M+CTC: 19 bp)를 제외한 159 bp sequence는 NCBI genebank (Nucleotide)에 삽입하여 다른종의 resistance-gene과의 상동성 여부를 확인하였다.

Table 1. Original list of potato lines tested in this study

Plant No.	Lines	Late blight sensitivity	Plant No.	Lines	Late blight sensitivity
1	수 미	S	18	AG34192	R
2	대 지	S	19	AG34208	R
3	AG14049	MR	20	AG44006	R
4	AG14055	MR	21	AG44019	R
5	AG34083	MR	22	AG44027	R
6	AG34151	MR	23	AG44077	R
7	AG44067	MR	24	chm-A	R
8	AG14052	R	25	AG14065	HR
9	AG14127	R	26	AG14074	HR
10	AG14136	R	27	AG14095	HR
11	AG14162	R	28	AG14159	HR
12	AG34054	R	29	AG34094	HR
13	AG34065	R	30	F9-14*	HR
14	AG34093	R	31	F9-99*	HR
15	AG34144	R	32	F9-124*	HR
16	AG34155	R	33	F25-27*	HR
17	AG34158	R			HR

*diploid cultivars, all others are tetraploid

S: sensitive

MR: mild resistant

R: resistant

HR: highly resistant

Table 2. List of potato lines tested in this study

Plant No.	E+AT/M+CTC	E+ACC/M+CTT	E+ACC/M+CAA
	lines	Lines	Lines
1	수 미 (S)	Denali (S)	Denali (S)
2	대 지 (S)	L. R (S)	L. R (S)
3	AG14065 (HR)	대 지 (S)	대 지 (S)
4	AG14074 (HR)	수 미 (S)	수 미 (S)
5	AG14095 (HR)	Resy (HR)	Resy (HR)
6	AG14159 (HR)	조 풍 (HR)	조 풍 (HR)
7	AG34094 (HR)	남 서 (HR)	남 서 (HR)
8	F9-14 (HR)	AG14065 (HR)	AG14065 (HR)
9	F9-99 (HR)	AG14074 (HR)	AG14074 (HR)
10	F9-124 (HR)	AG14095 (HR)	AG14095 (HR)
11	F25-27 (HR)	AG14159 (HR)	AG34094 (HR)
12	-	AG34094 (HR)	F25-27 (HR)
13	-	F9-14 (HR)	-
14	-	F25-27 (HR)	-

Table 3. Sequences of AFLP primers and adaptors used in this study

<i>EcoR</i> I adaptor		5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3'-CTGACGCATGGTTAA-5'
<i>Mse</i> I adaptor		5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'
<i>EcoR</i> I + 0 primers		GACTGCGTACCAATTC(5'→3')
<i>EcoR</i> I + N primers	1	GACTGCGTACCAATTC+AA
	2	GACTGCGTACCAATTC+AC
	3	GACTGCGTACCAATTC+TG
	4	GACTGCGTACCAATTC+AT
	5	GACTGCGTACCAATTC+TC
	6	GACTGCGTACCAATTC+TA
	7	GACTGCGTACCAATTC+ACC
	8	GACTGCGTACCAATTC+AAC
<i>Mse</i> I + 0 primers		GATGAGTCCTGAGTAA(5'→3')
<i>Mse</i> I + N primers	1	GATGAGTCCTGAGTAA+CAA
	2	GATGAGTCCTGAGTAA+CAG
	3	GATGAGTCCTGAGTAA+CTA
	4	GATGAGTCCTGAGTAA+CTT
	5	GATGAGTCCTGAGTAA+CAC
	6	GATGAGTCCTGAGTAA+CTC
	7	GATGAGTCCTGAGTAA+CAT
	8	GATGAGTCCTGAGTAA+CTA

나. 결과 및 고찰

1) 저항성 검정

P. infestans, 3 isolates를 이용한 저항성 검정에서는 isolates 20B02(A2), YY-8(A1)에서 병반이 관찰 되었는데 HR lines 중 AG14159, F9-14, F9-99의 경우 isolates 20B02에 의해 병반이 형성되었으며, 남서의 경우에도 약간의 병반이 관찰되었다. isolates YY-8의 경우에는 S lines 수미와 대지에서는 아무런 병징이 관찰되지 않았고 F9-99, AG14065에서 작은 병반이 관찰되었다. 본 실험은 분양받은 시료의 저항성 여부를 재확인하고, 병원균에 대해 강한 저항성을 보이는 lines을 선발하기 위해 실시하였다. 분석 결과 이전의 저항성 검정 결과와는 조금 상이한 결과가 나타났는데, 이것은 접종균의 race가 틀리거나 실험상의 오류로 생각된다. 따라서 marker 선발을 위해 isolates 20B02(A2)에 의해 병반을 형성한 AG14159, F9-14, F9-99를 제외하고 S lines 과 아무런 병징을 보이지 않은 나머지 HR lines만을 분석에 이용하였다.

2) AFLP 분석 결과

AFLP 기법은 genomic DNA를 제한효소로 절단한 후 증폭반응을 하면 증폭양상이 단순화되며 bands의 상대적인 강도가 변하여 재현성이 높아지는 원리를 이용한 방법으로 RFLP의 정확성과 RAPD의 간편함을 동시에 수용한다. 제한효소를 이용하여 DNA를 절단 후 adaptor에 상응하는 primer를 이용하여 특정 DNA 단편만을 증폭하여 marker를 얻을 수 있는데 분석범위가 상당히 넓고 각 반응마다 생성되는 단편의 수가 약 100여개 정도로 각 개체간 변이가 심하여 marker 개발에 아주 유용하게 사용되고 있다. 또한 AFLP는 유전자 지도작성에 유용하고, 생물 다양성 분석에 매우 효과적이며 genome의 근연관계 및 계통발생과정의 조사 또는 도입 염색체의 확인 및 동정에 적합한 기술이다. 본 실험에서는 AFLP 기법을 도입하여 역병균에 대해 저항성 또는 감수성인 계통, 근연야생종 및 재래종 유색감자로부터 저항성 line 선발 및 선발된 line을 이용한 저항성 분자 마커의 개발을 목적으로 수행되었다.

본 실험에서는 8 개의 *EcoR* I primers 와 8 개의 *Mse* I primers를 이용하여 총

64조합으로 수행하였다(Table 3). 분석 결과 primer 조합 당 약 120-200 여개의 다형화 bands가 검출되었으며(Table 4). 그중 3개의 primer 조합에서 저항성 lines에서만 공통적으로 bands가 검출되었다(Fig. 1 and 2). primer 조합간 R과 MR lines은 다른 저항성 계통들과의 증폭양상에 있어 variation이 상당히 심하게 나타나는 것을 관찰할 수 있었는데, 처음에는 최초로 분양받은 33 lines이 분석에 이용되었으나 variation이 심한 R 과 MR lines은 제외되었고, 역병에 대한 병원성 검정에서 강한 저항성을 보인 HR lines과 S lines만이 분석에 이용되었다. 최초의 33 lines 을 이용한 bulk 분석에서는 primer 조합 AT/CAC 와 AT/CTC에서 R, S lines간 특이적인 bands가 검출되었으며 재현성 여부를 확인하기 위해 동일한 조건에서 반복하여 수행한 결과 AT/CTC의 경우에는 재현성이 상당히 떨어졌고 AT/CAC의 경우 그대로 재현됨을 확인 할 수 있었다(Fig. 1). AT/CAC의 경우 285bp 부근에서 특이적인 bands가 검출되었으며, 이중 sequence 분석을 위해 HR lines의 band가 cloning에 이용되었다(Fig. 1). bulk 기법은 marker로서의 재현성 및 정확성이 다소 떨어지는 단점이 있기 때문에 신빙성 있는 결과를 얻기 위해서는 동일한 조건에서 반복실험을 통해 같은 결과를 얻을 수 있어야 하지만 많은 시료와 primer 조합을 비교적 단시간에 분석할 수 있는 장점을 가지고 있다.

S 와 HR lines만을 이용한 실험에서는 primer 조합 E+AT/M+CTC, E+ACC/M+CTT, 에서 저항성 lines에서만 특이적으로 증폭된 bands를 검출 할 수 있었다(Fig. 1 and 2). E+AT/M+CTC의 경우 약 200 bp 부근에서 특이적인 bands가 검출되었는데 9번(F9-99) lane에서는 다소 흐리기는 하지만 모든 저항성 lines에 공통적으로 bands가 증폭되어 있음을 확인 할 수 있었고 그 중 lanes 4, 6, 8, 10이 cloning에 이용되었다(Fig. 1). Primer E+ACC/M+CTT 조합에서는 새로 분양받은 S 계통 2 lines과 3 lines의 HR 계통이 추가되었고 F9-99 와 F9-124 lines이 제외되었다. 분석결과 160bp의 bands가 검출되었는데 4 lines의 S 계통에서는 아무런 증폭양상도 관찰되지 않았고 HR lines중 lane 6(조풍)에서는 다소 흐린 band가 검출되었으며, lane 11(AG14159), 13(F9-14)에서는 어떠한 band도 증폭되지 않았다(Fig. 2). Primer 조합 E+ACC/M+CAA에서도 225bp 부근에서 저항성 lines에만 특이적인 bands가 검출되었는데 primer E+ACC/M+CTT와 마찬가지로 AG14159, F9-14 에서는 band가 검출되지 않아 제외되었으며, lane 7(남서)의 경우 다소 흐린 band가 검출되었다. 이 중에서 lane 5(Resy) 와 lane 12(F25-27)의 단편이 cloning에 이용되

있다(data not shown).

Table 4. Profiles of the BSA-AFLP analysis with 15 primer combinations.

Pair primers	Number of bands		Size of bands(bp)
	Polymorphic ^a	Polymorphic ^b	
AA/CAA	5	1	150-600
AC/CAC	7	3	150-600
AT/CTC	4	2	100-500
TG/CTA	4	1	250-800
AT/CTT	6	3	100-800
TA/CTA	4	1	100-800
TA/CTT	3	0	100-650
AAC/CAA	7	4	200-650
AAC/CAG	14	2	100-1,200
AAC/CTC	5	2	150-510
ACC/CAA	13	5	150-580
ACC/CTT	9	3	150-600
ACT/CAC	12	9	350-700
AGC/CTA	13	7	100-900
AGC/CGA	11	4	200-1,100
Total	117(7.8)^c	46(3.07)^c	

^a Number of amplified polymorphic bands of 3 bulked (HR, R, S) DNA pools

^b Number of bands detected only in HR bulked DNA pool

^c The numbers indicate total bands(average ratio)

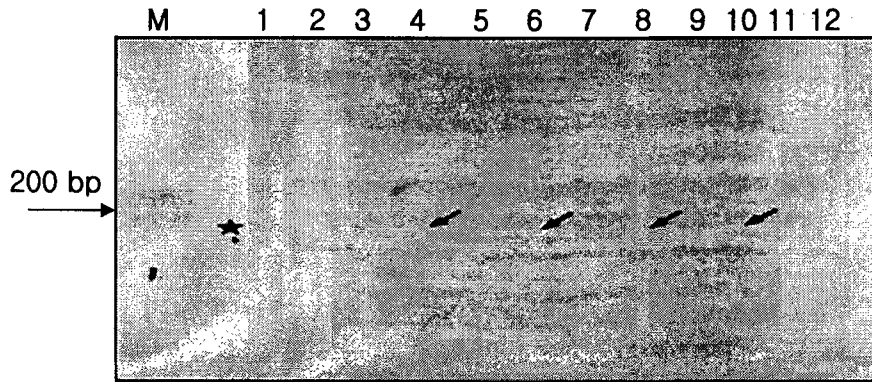


Figure 1. AFLP fragment (subsequently called AFLP-196) with the resistance genotype, using primer combination E+AT (5'-GACTGCGTACCAATTCTA-3') and M+CTC (5'-GATGAGTCCTGAGTAACTC-3'). The lanes M: molecular weight marker (Invitrogen, USA), 1: Superior, 2: Dejima, 3: AG14065, 4: AG14074, 5: AG14095, 6: AG14159, 7: AG34094, 8: F9-14, 9: F9-99, 10: F9-124 and 11: F25-27. Arrow indicate eluted bands.

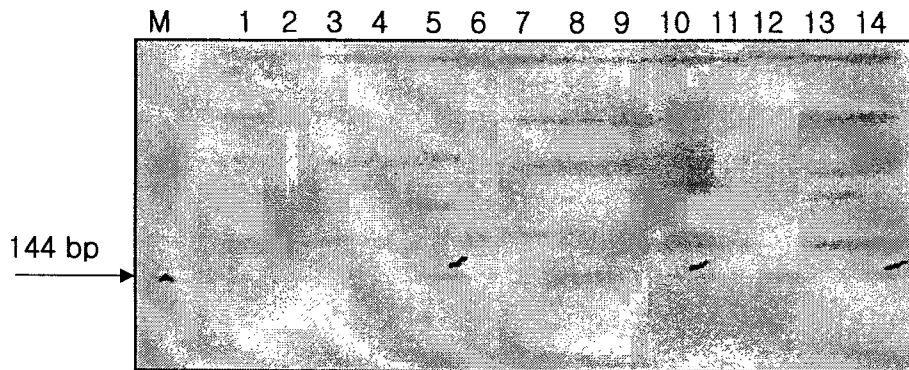


Figure 2. The AFLP-144bp fragments generated with primer combination E+ACC/M+CTT showing specific amplification products. Lanes M: 1 kb DNA ladder, 1:Denali, 2: L.R, 3: Dejima, 4: Superior, 5: Resy, 6: 조풍, 7: 남서, 8: AG14065, 9: AG14074, 10: AG14095, 11: AG14159, 12: AG34094, 13: F9-14, and 14: F25-27. Arrows indicate eluted bands.

3) Sequencing 및 primer 디자인

Sequence 분석 결과, primer E+AT/M+CTC는 총 196bp의 oligonucleotides로 구성되어 있었으며 E+ACC/M+CTT는 144bp의 oligonucleotides로 구성되어 있었다(Fig.

3 and 4). 특히 E+ACC/M+CAA의 경우 225bp로 구성되어 있었으며 E+ACC/M+CTT의 sequences 와 80% 정도의 유사성을 보여주었다. 상동성 분석을 위한 Blast search(NCBI blast program) 결과 primer E+AT/M+CTC 와 E+ACC/M+CTT는 *Triticum aestivum*의 leaf rust 저항성 AFLP marker 와 약 10% 정도만의 유사성을 보였을 뿐 다른 어떤 개체의 어떤 부분과도 유사성을 보이지 않았다. 따라서 본 논문에서 선발한 AFLP markers는 아직 보고되지 않았거나 새로운 markers로서의 가능성이 있을 것으로 사료된다. Sequencing 결과를 토대로 5' 과 3' 부위의 sequence를 이용하여 GC 함량이 50%를 넘지 않게 20bp의 특이적인 primer를 디자인하였다. Primer 조합 E+AT/M+CTC에서 LBR-1 forward primer 5'-ACATAAGGAGACATGGAAA-3' 와 reverse primer 5'-AAGGTGGTTTGAGAGTTCTG-3'를 제작하였고, primer 조합 E+ACC/M+CTT에서 LBR-2 forward primer 5'-AAAGAACATGATCAGGATG-3' 와 reverse primer 5'-GTACCAATT CACCCAATCTG-3'를 제작하였다(Table 5). 디자인된 SCAR primer set는 재현성 및 특이성 확인을 위해 각각의 계통에 최적 조건을 찾아 PCR 분석을 수행하였다.

<u>GACTGCGTACCAATTCATCAAGAACATGTATAACATAAGG</u>	40
primer E+AT→	
AGACCATGGAAACATATAATCACACATGACTCCAAGACAT	80
specific primer LBR-1 →	
GAAACAAGCCAAAAAGGAACTCTTTATCTTGCGCTCAAAT	120
AGGGATAGAAGGAAAGAGATAAGTATATCAGAACTCTCAA	160
←specific primer LBR-1	
<u>ACCACCTTCCCCTTTGGGAGTTACTCAGGACTCATC</u>	196
← primer M+CTC	

Figure 3. The complete sequences of AFLP fragment of potato. The primer combination E+AT/M+CTC.

<u>GATGAGTCCTGAGTAACTTAAATTTACTAAGCCAAAAAGA</u>	40
primer M+CTT→	
ACATGATCAGGGATGGAATCTCACCTTCAGGAGAAATCTA	80
specific primer LBR-2→	
AATGATTGGGAAGTGGATAGAATTGCTGAACTGCTACTCA	120
<u>GATTGGGTGAATTGGTACGCAGTC</u>	144
←specific primer LBR-2 ←primer E+ACC	

Figure 4. The complete sequence of AFLP fragment of potato. The primer combination E+ACC/M+CTT.

4) SCAR marker의 개발

특이적으로 디자인된 primer set의 재현성 및 특이성 분석을 위해 S, R 그리고 HR individual lines에 PCR 분석을 수행하였다. 정확한 PCR 조건을 찾기 위해 annealing 온도를 최초 계산 값에서 6℃ 정도 낮춘 후 2℃씩 증가시키면서 증폭 양상을 분석하였고 annealing 시간도 최초 1 분에서 2 분까지 변화를 주면서 실험을 수행하였다 (Table 5). 분석 결과 primer set, LBR-1은 4개의 S lines에는 band가 형성되지 않고 모든 HR lines에서만 127bp의 특이적인 band가 검출되어 primer의 재현성이 높게 나타나는 것을 확인하였으며, southern 수행결과 역시 HR lines에서만 detection 되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5). R lines에서는 15, 17, 18, 25 와 26 lanes을 제외한 대부분의 계통에서 127bp의 band가 검출되었는데 이 계통들은 육안에 의한 저항성 검증 과정 중 오류가 있었을 것으로 예상되며, 역병 저항성 유전자원에서 제외시키는 것이 좋을 것으로 사료된다. 반면, primer set, LBR-2는 다양한 PCR 조건의

변화와 재반복 실험에서도 S 와 HR 모든 lines에 band가 형성되어 재현성 및 특이성이 상당히 낮게 나타났다(data not shown). 요컨대, 본 논문에서는 선발된 3개의 표지인자로부터 sequence를 토대로 역병 저항성 형질 관련 primer set 2쌍을 제작하여 그 중 재현성과 특이성이 높은 1쌍의 primer set, LBR-1을 개발하였다.

특이적 SCAR primer set, LBR-1은 역병 저항성 계통선발 및 형질분석 등을 보다 신속하고 정확하게 탐지 할 수 있을 것이다. 보다 중요한 것은 수많은 감자 유전자원 중 역병에 대해 저항성을 가지는 우수한 계통을 보다 신속하고 정확하게 선발 할 수 있다는 것이다. 이는 저항성과 같은 불명확한 형질을 평가하기 위해 소요되는 시간과 노동력 및 예산을 절약하여 연구의 효율을 증가시킬 뿐 만 아니라 국내의 초보적인 수준인 감자의 저항성 분자 육종의 기초를 마련할 것이라 사료된다.

Table 5. Descriptions of late blight resistance-linked AFLP markers and the derived SCAR markers.

AFLP markers		AFLP-derived SCAR markers		
Name	Primers	Name (Size)	Specific primers	PCR conditions
AFLP-196	E+AT	LBR-1	5'ACATAAGGAGACCATGGAAA3'	94°C, 60s
	/M+CTC	(127bp)	5'AAGGTGGTTTGAGAGTTCTG3'	47°C, 60s
				72°C, 90s
AFLP-144	E+ACC	LBR-2	5'AAAGAACATGATCAGGGATG3'	94°C, 60s
	/M+CTT	(102bp)	5'GTACCAATTCACCCAATCTG3'	46°C, 60s
				72°C, 90s

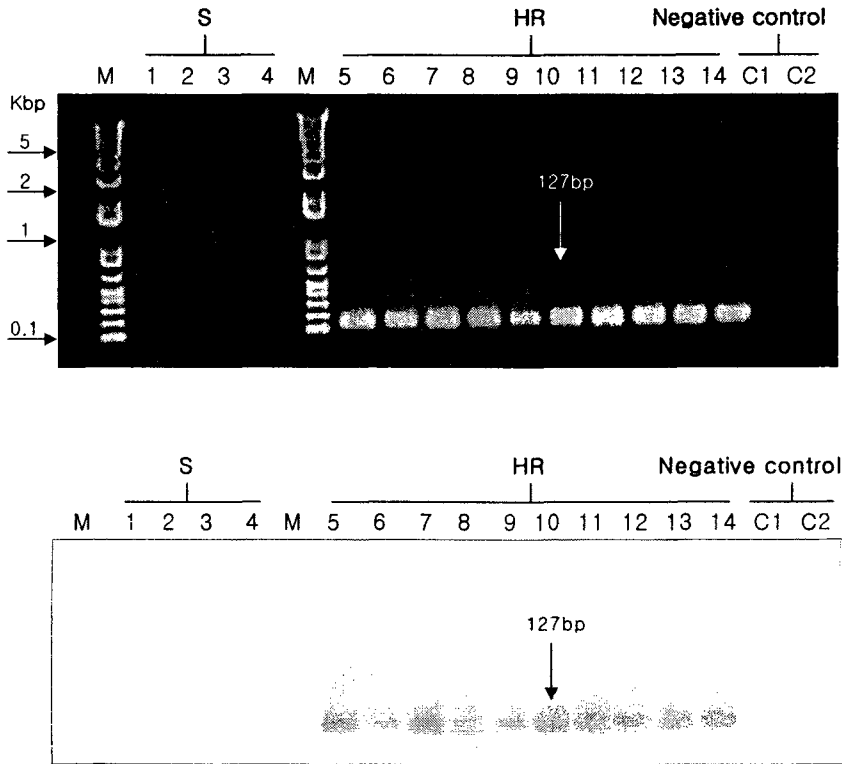


Figure 5. PCR Amplification products and Southern products obtained with SCAR primer combination LBR-1 present in highly resistant lines and absent in susceptible lines. The lanes M, 1kb DNA ladder; 1, Denali; 2, L.R; 3, Dejima; and 4, Speriior (susceptible lines). lanes 5, Resy; 6, 조풍; 7, 남서; 8, AG14065; 9, AG14074; 10, AG14095; 11, AG14159; 12, AG34094; 13, F9-14; and 14, F25-27 (highly resistant lines). lanes C1, negative control (only forward primer amplified product) and C2, negative control (only reverse primer amplified product). The listed names of potato cultivars tested are in Table 1 and 2.

5) NCBI blast

감자 저항성 marker(LBR-1)가 다른 저항성 gene과의 상동성을 확인하기 위해 NCBI blast search를 수행한 결과 LBR-1 marker가 감자 야생종인 *Solanum demissum* 염색체 5번의 PGECO93P17 clone 과 86%의 상동성이 나타나는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 6). 감자의 야생종으로서 *S. demissum*의 chromosome 5

region은 감자역병원균(R1 race)에 대한 R-gene이 풍부한 region으로 알려져있다. 특히 chromosome 5 region중의 3.7cM region은 저항성 유전자인 Rx, Nb, GPa 그리고 QTL R-gene이 풍부한 것으로 알려져있다. NCBI blast search 결과 본 실험에서 탐지한 LBR-1 marker가 감자역병 저항성 marker임을 증명하는데, 상당한 접근성을 보여주었다.

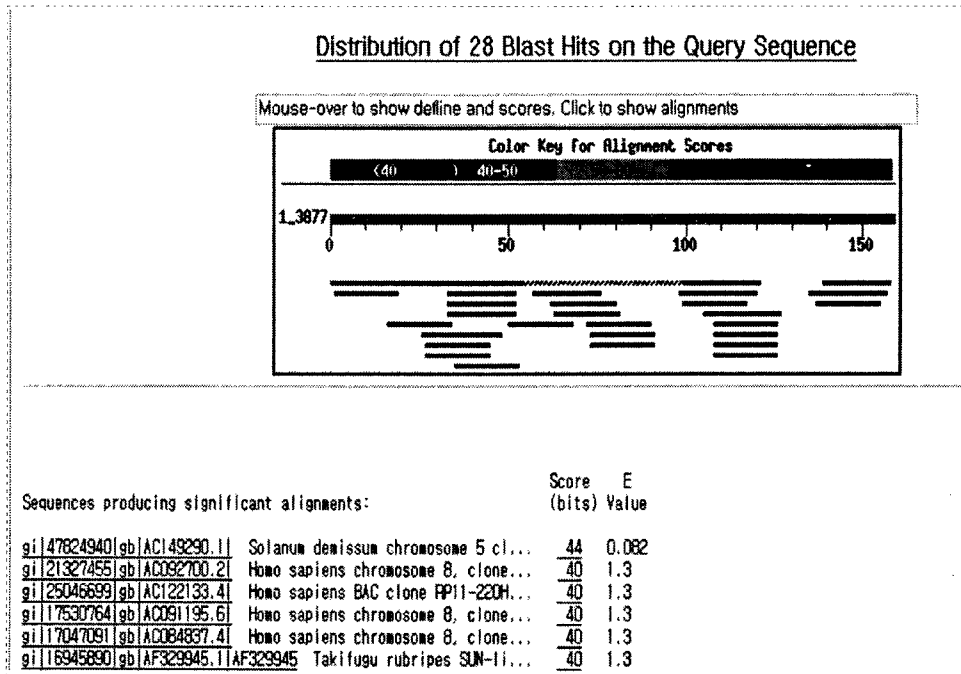


Figure 6. The comparison of LBR-1 region sequence of *Solanum tuberosum* at Genbank through network.

회 반복하였다. 증폭된 PCR산물은 1%의 agarose gel에서 100 V에서 2시간 동안 전기영동 후 UV transilluminator상에서 단편들의 양상을 관찰하였고, Polaroid film을 사용하여 보관하였다.

2) NTSYS-pc program

증폭된 bands를 가지고 binominal matrix code로 band가 존재하는 것은 1로 작성하고 band가 존재하지 않은 것은 0으로 작성한 뒤 dendrogram을 나타내는 NTSYS-pc에서 UPGMA program을 이용하여 clustering analysis를 이행하였다.

나. 결과 및 고찰

본 실험에서 실시한 유연관계 분석에 사용된 line은 감자역병에 저항성 line과 감수성 line을 가지고 실험하였으며 RAPD 방법으로 실시하였다. RAPD분석은 총 10개의 random primer를 사용하였다. 증폭된 단편들의 크기는 0.2-5.0 Kb의 범위에 속했으며 총 82개의 band중에서 30개의 명확히 눈에 띄는 band만을 선택하여 유연관계 분석자료로 사용하였다(Fig. 6).

Dendrogram을 작성한 결과 감자 lines는 크게 2가지 그룹(A, B그룹)나뉘어졌다. A 그룹은 Denali, L. R, AG14095, AG34094, 조풍, AG14065, 대지로 그룹화 되었으며, 나머지 7개 lines는 B그룹으로 형성되어졌다. A그룹과 B그룹은 각각 70% 이상의 유사성을 보였고, 감수성 lines 중 수미를 제외하고는 모두 A그룹에 포함되어 있었으며 A그룹과 B그룹간에는 55%의 낮은 유사성을 보였다(Fig.7, Table 6).

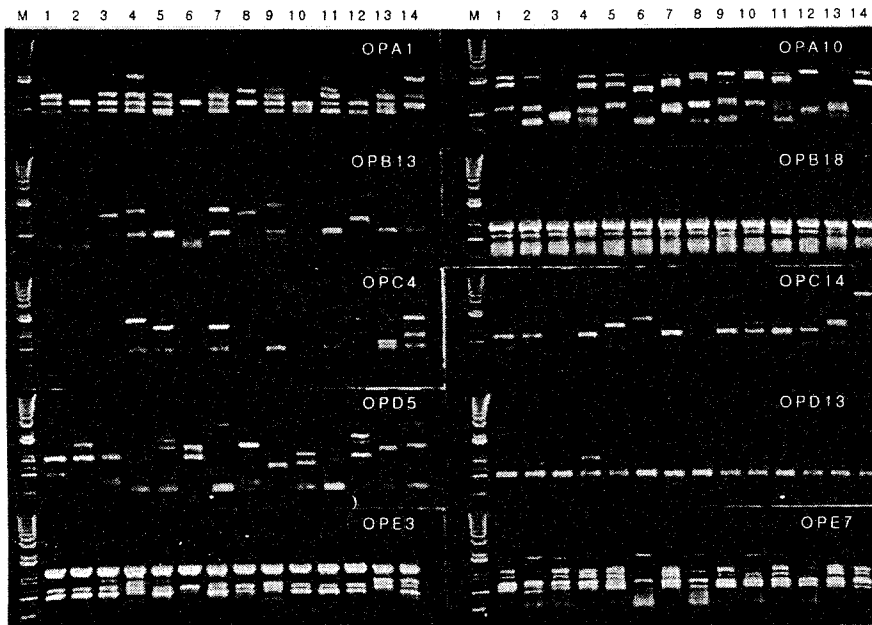


Figure 6. PCR amplified genomic DNAs from the fourteen isolates of Potato.
(Primer : RAPD primer(operon))

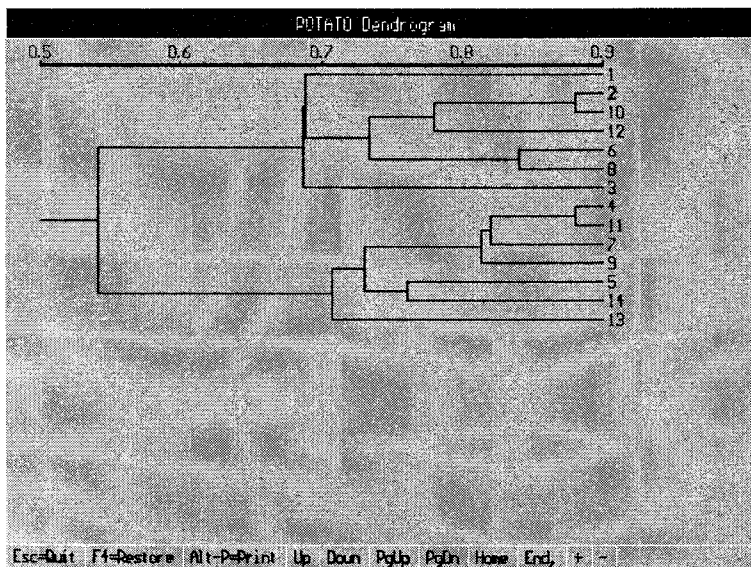


Figure 7. UPGMA dendrogram showing the relationship among the Potato species based on the band in 1.0% agarose gel in RAPD.

Table 6. Similarity matrix based on the number of shared by the compared Potato species and their crossed isolates of Potato species on the 1.0% agarose gel in RAPD analysis.

	Denali	L.R	대지	수미	Resy	조풍	남서	AG14065	AG14074	AG14095	AG14159	AG34094	F-14
L.R	0.680												
대지	0.680	0.680											
수미	0.600	0.520	0.680										
Resy	0.600	0.520	0.600	0.680									
조풍	0.640	0.720	0.640	0.400	0.480								
남서	0.720	0.560	0.560	0.800	0.800	0.360							
AG14065	0.640	0.800	0.720	0.400	0.480	0.840	0.440						
AG14074	0.600	0.680	0.680	0.760	0.760	0.560	0.800	0.560					
AG14095	0.720	0.880	0.640	0.480	0.560	0.680	0.600	0.760	0.720				
AG14159	0.560	0.560	0.640	0.880	0.640	0.440	0.840	0.440	0.880	0.600			
AG34094	0.760	0.760	0.760	0.680	0.520	0.720	0.640	0.720	0.760	0.800	0.720		
F9-14	0.480	0.320	0.560	0.720	0.720	0.440	0.680	0.280	0.640	0.360	0.760	0.480	
F25-27	0.600	0.440	0.760	0.840	0.760	0.400	0.720	0.480	0.680	0.400	0.720	0.600	0.720

3. 감자역병 병저항성 유전자 탐색

가. 재료 및 방법

1) 식물재료

감자역병원균들에 대한 감자의 저항성 유전자를 탐색하기 위해 고령지 농업연구소로부터 역병저항성 감자 5 lines과 감수성 3 lines의 시료를 재분양 받았으며, 역병에 대한 Sensitivity는 고령지의 포장에서 검정되었다(Table 7).

Table 7. List of potato lines tested in this study(cDNA-AFLP)

Plant No.	Lines	Late blight sensitivity
1	남 서	HR
2	조 풍	HR
3	대 78	HR
4	Kondor	HR
5	I-1124	HR
6	대 서	S
7	수 미	S
8	대 지	S

2) 재배환경 및 저항성 검정

감자 품종들은 상토와 흙을(1:3) 혼합한 지름 20 cm 인 포트에서 재배하였다. 재배하는동안 온실안의 평균기온 25℃, 평균습도 30-40%를 유지하면서 재배하였다. 20일 정도 성장한 감자품종들은 저항성 실험을 위해서 growth chamber로 옮겨졌다. 병원균 접종은 온도 20℃, 습도 80-90%를 유지하면서 역병원균 포자현탁액(4×10^5 spores/ml)을 분무 접종하였다.

3) cDNA-AFLP

가) Total RNA 추출

감자잎을 채취하여 liquid nitrogen로 마쇄한후 Total RNA Safe Kit (Q. BIO gene)을 사용하여 추출하였다.

나) mRNA isolation

감자잎에서 추출한 total RNA는 Oligo(dT) primer를 이용한 PolyAtract[®] mRNA Isolation System Kit (Promega)을 이용하여 mRNA를 추출하였다(Fig. 8).

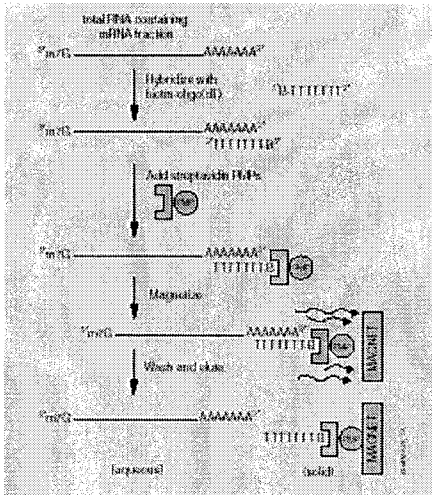


Figure 8. Schematic diagram of the PolyA Tract[®] mRNA isolation procedure.

다) cDNA synthesis

Total RNA로부터 분리한 mRNA는 Universal RiboClone[®] cDNA Synthesis System Kit (Promerger)을 사용하여 cDNA를 합성하였다(Fig. 9).

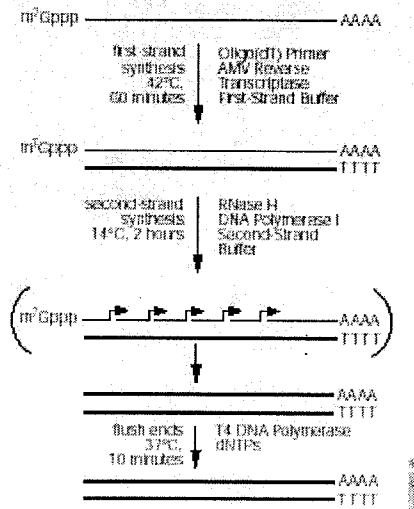


Figure 9. cDNA synthesis using the Universal RiboClone[®] cDNA Synthesis System and Oligo(dT) Primer.

라) cDNA-AFLP

cDNA AFLP는 다음과 같은 과정으로 실시하였다. cDNA 1 μ g → 제한처리 (EcoR I / Mse I) → Ligation (0.5 μ M EcoR I / Mse I adator) → Pre-amplification (EcoR I-0 / Mse I-0 primer) → Re-amplification (EcoR I+XX / Mse I+XXX primer) → Electrophoresis (6% denaturing polyacrlamide gel) → Staining (silver staining)

나. 결과 및 고찰

1) 저항성 검정.

8개의 감자품종들은 제주3, KR-3, 대관령1-5, 1-5-1, 부안020523, 020712-5 모두 6개의 역병원균으로 접종하였다. 접종후 20일 지나서 저항성을 검정하였다. 각 역병원균마다 상이한 저항성을 나타내었고, 고령지 농업연구소에서 검정한 결과와도 상이하였다. 대체로 6개균주에 모두 저항성을 나타내는 품종은 대78, Kondor 였다(Fig 10, 11, Table 8).

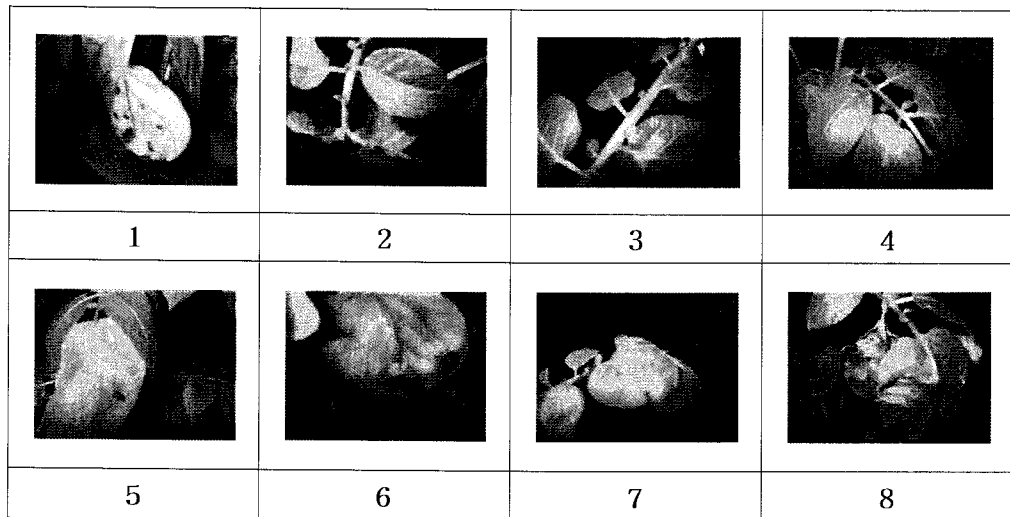


Figure 10. Symptoms of late blight of potato plants caused by *Phytophthora*

infestans(Daedwallyeong1-5). Lane 1, 남서; 2, 조풍; 3, 대-78; 4, Kondor; 5, I-1124; 6, 대서; 7, 수미; 8, 대지.

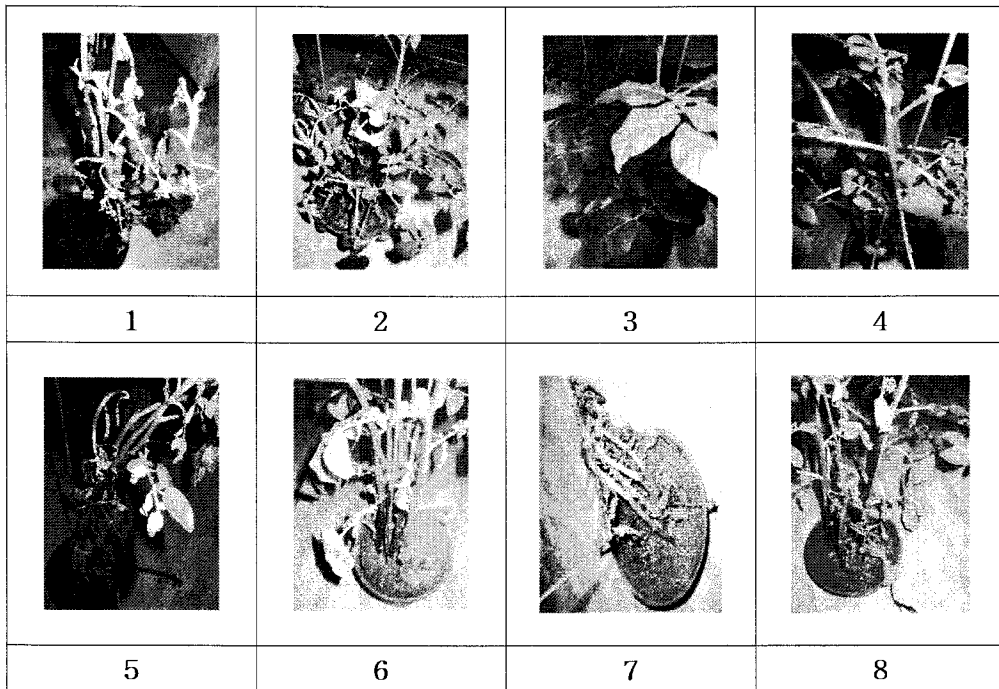


Figure 11. Symptoms of late blight of potato plants caused by *Phytophthora infestans*(부안-020523). Lane 1, 남서; 2, 조풍; 3, 대-78; 4, Kondor; 5, I-1124; 6, 대서; 7, 수미; 8, 대지.

Table 8. Cultivars used in the study and their reaction to *Phytophthora infestans*

Isolates <i>P. infestans</i>	days	남서	조풍	대78	Kondor I-1124	대서	수미	대지
제주3	7	- ^a	-	-	-	+	++	+
	20	+	+++	-	-	+	+++	++
대관령1-5	7	++	-	-	-	+	+	+
	20	+++	+	-	-	+++	+	+
1-5-1	7	-	+	-	-	+	+	-
	20	++	++	-	-	+++	+++	-
KR-3	7	-	-	-	-	-	-	-
	20	+	-	-	-	-	+	-
부안020523	7	+	-	-	-	-	+	-
	20	+++	+	-	-	+	+++	+
020712-5	7	-	+	-	-	+	-	+
	20	+	++	-	-	++	+	+++

^a- : not pathogenic, + : weak, ++ : moderate and +++ : severe, respectively.

2) cDNA-AFLP

cDNA-AFLP는 EcoR I re-amp primer 18개와 Mse- I re-amp primer 11 의 조합으로 총 198개 조합으로 수행하였다. 역병 R-gene을 detection하기 위해 sample은 강한 저항성(HR)을 보인 대78 품종과 Kondor 품종을 사용하였다. Group은 모두 3개의 그룹으로 선정하였으며, 1-group은 역병원균 제주3를 접종한 후 7일 후 total RNA를 추출하였으며, 2-group은 역병원균 대관령1-5를 접종한 후 역시 7일 후에 total RNA를 추출하였다. 3-group은 역병원균을 접종한지 않은 식물체로 control로 사용하였다. 전체 198개 조합중에서 역병원균을 접종한 식물체에서 발현되는 gene은 A(E+AG/M+CAC)에서는 350 bp 정도에서 specific band를 확인하였고, B(E+CT/M+CAG)와 C(E+AG/M+CTA)에서는 각각 500 bp와 320 bp 부근에서 band가 확인되었다(Fig. 12).

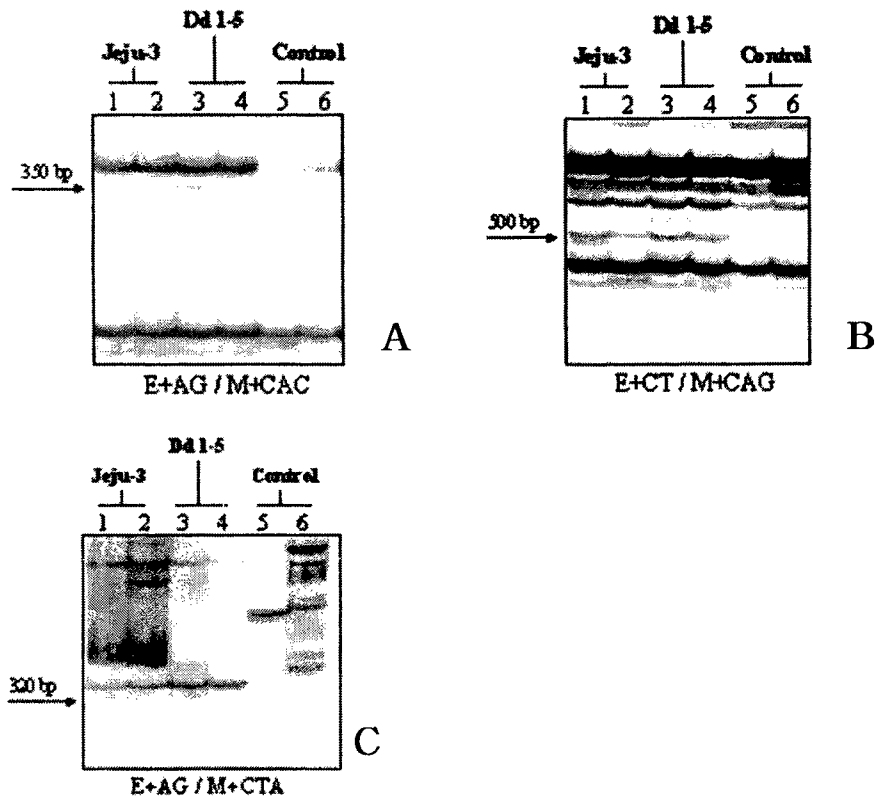


Figure 12. Specific cDNA-AFLP detection of R-gene by using total RNA extract from potato leaves: Lane 1, 3, 5, 대-78; Lane 2, 4, 6, Kondor.

제2절 감자역병 저항성 유전자원 탐색 및 개발

1. 감자 유전자원의 역병저항성 탐색

가. 재료 및 방법

1) 시험재료

농촌진흥청 고령지농업연구소에서 유지 보존하고 있는 4배체 464종, 3배체 9종, 그리고 2배체 54종 등 총 527종의 감자 유전자원을 대상으로 하여 감자역병에 대한 저항성과 주요 농업형질을 평가하고 저항성이 강한 것으로 평가된 계통은 교잡육종을 통하여 역병저항성 유전자원을 창출하고자 하였다.

2) 감자역병의 포장저항성 검정

재배 포장은 경운을 한 후 10a당 퇴비는 1,500kg, 시비(N-P-K)는 15-18-12kg씩 포장에 전면살포 하였다. 품종별로 5주씩 완전임의배치 3반복으로 배치하였으며, 재식 거리는 휴간 75cm와 주간 25cm로 하였다. 파종은 5월 6일에 하였으며, 재배관리는 농촌진흥청 감자표준재배법에 준하여 실시하였으며, 감자역병의 포장저항성 검정을 위해 역병약제는 살포하지 않았다. 파종 후 50일경인 6월말 경 시험포에 역병이 발생되기 시작하였으며 초발생 2주 후에 발병정도를 조사하였다.

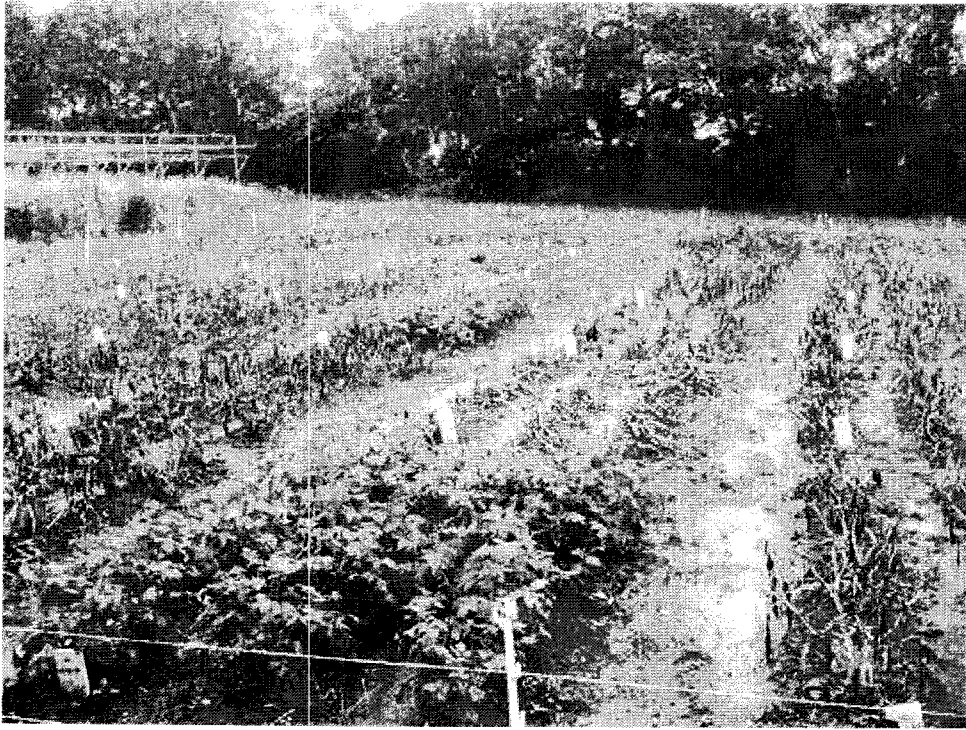


Figure 1. Field evaluation of potato germplasms to *p. infestans*

3) 감자역병의 접종저항성 검정

실험에 이용한 병원균은 조사기간 동안 수집한 균주 중에서 감자 주산지에서 우점하는 병원균을 사용하였다. 병원균 분리는 감자 포장에서 수침형 병징을 보이는 병든 식물체를 수집하여 병원균을 분리하였다. 감자절편을 이용한 병원균 분리를 위하여 감자는 표면을 깨끗이 씻고 건조시킨 다음 70% 에탄올을 이용하여 표면소독을 하였다. 그리고 실험용 칼을 이용하여 두께 7~8mm 크기로 절편을 만들어 병든 잎을 멸균한 페트리디쉬에 넣고 그 위에 감자절편을 올려두고 20℃ 항온기에서 4-5일 동안 배양하였다. 감자절편 표면에 자라는 곰팡이 균사를 조심스럽게 분리하여 새로 조제한 선택배지(PARP, pimarin, ampicillin, rifamycin, pentachloronitrobenzen)에 배양하여 곰팡이의 형태적 특징에 따라서 병원균을 동정하고 실험에 이용하였다. 실험

에 사용한 병원균은 강원도 평창군 도암면 횡계리에서 채집한 A2 교배형과 강릉시 왕산면 대기리에서 채집한 A1 교배형(레이스 R1.3)을 사용하였다.

저항성 검정에 이용한 병원균 접종원은 병원균 분리에 사용한 것과 같이 감자 절편에 20 μ l씩 병원균을 접종하여 20 $^{\circ}$ C 항온기에서 5일 동안 배양하여 감자절편에 형성된 균사 및 유주자낭을 수거하였다. 그 후 병원균 유주자낭에서 유주자를 유기하기 위하여 30분 동안 4 $^{\circ}$ C 냉장고에서 방치한 후 꺼내어 유주자 농도를 확인하였다. 병원균 접종농도는 유주자 1.05 \times 10⁶ zoospore/ml로 농도를 조절하여 저항성 평가에 사용하였다. 감자는 정식한지 60일 정도 경과한 감자의 상위 3-6 잎을 채취하여 미리준비한 물한천 배지에 6개 잎을 뒷면이 위쪽으로 향하게 올려놓고 각각 20 μ l씩 접종원이 이탈되지 않도록 조심스럽게 접종하고 실온에서 12시간 정도 정치시켰다. 그 후 감자 잎의 표면이 위쪽으로 향하게 돌려 놓고 4일 동안 20 $^{\circ}$ C에서 배양하였다. 그리고 해부현미경을 이용하여 병원균의 포자발아 여부와 유주자낭 형성량을 확인하였고, 기주에 발생한 병반의 특징에 따라서 저항성 반응을 조사하였다. 발병지수는 병징이 발생하지 않은 경우 0, 1~5% 병반면적은 발병지수 1, 6~20% 병반면적은 발병지수 3, 21~40% 병반면적은 발병지수 5, 41~60% 병반면적은 발병지수 7, 61% 이상은 발병지수 9로 각각 구분하여 조사하였다.

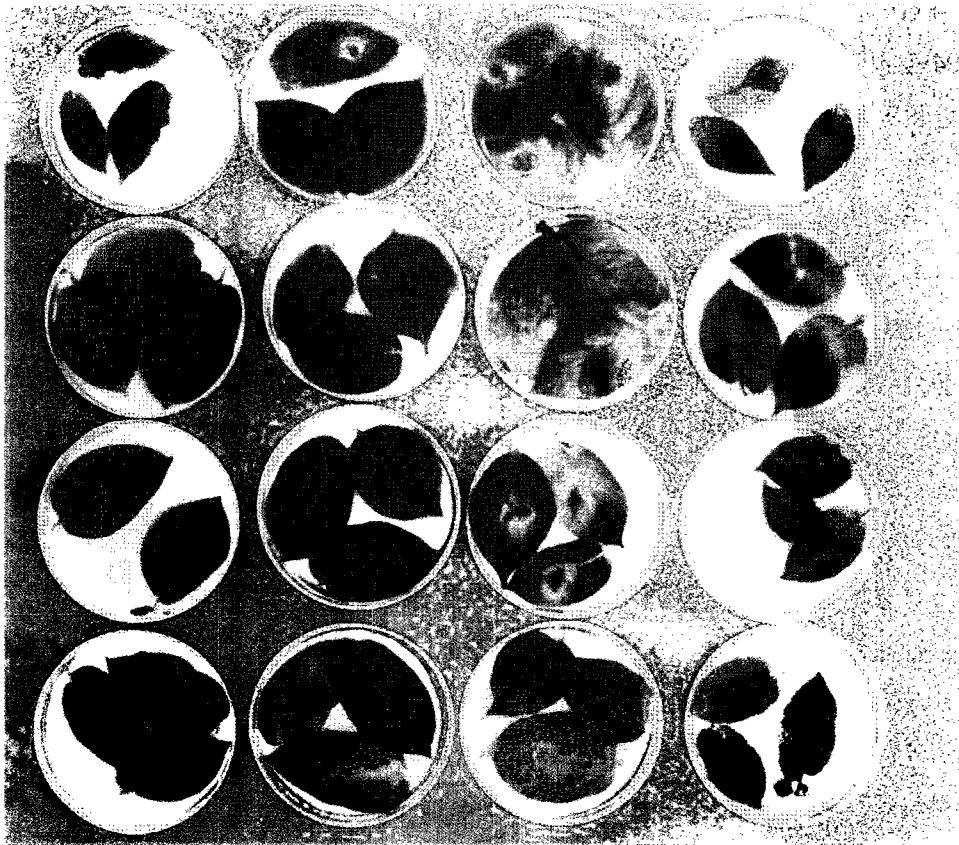


Figure 2. Inoculation test of potato germplasm to *P. infestans*

나. 결과 및 고찰

1) 감자 유전자원의 역병저항성 탐색

527종의 감자 유전자원에 대하여 포장에서 역병저항성 정도를 평가한 결과 병반 면적이 5%, 피해지수가 '1' 이내로써 역병에 강한 것으로 판단된 계통이 AG14052 등 11계통 이었다. 병반 면적이 20%이하인 발병지수 '3' 정도로 역병에 비교적 강한 것으로는 AG14049 등 26계통 이었다(표 1, 그림 4).

국내에서 감자역병은 1990년대 이전까지는 교배형 A1 이라는 병원균에 의하여 발생한 것으로 알려져 있으며 이는 A2교배형 병원균에 비하여 병원성이 약하고 메타락

실에 대하여 감수성 반응을 보이는 병원균이다. A2교배형 감자 역병균 발생은 1993~94년 사이에 최초로 보고한 이후 많은 병원균이 A2 교배형 균주로 메타락실에 대한 반응은 저항성으로 확인되었다.

감자역병균 A1 과 A2 교배형은 인공접종을 통하여 저항성 반응을 검정하였다(표 1). 감자역병균 교배형 A1균이 접종된 앞에서 병반면적율이 5%이하인 발병지수가 '1' 이하로 저항성으로 판단되는 계통이 AU22002 등 162계통, 발병지수 '9'인 감수성 계통은 159계통 이었다. A2 교배형의 역병균을 접종하였을 경우에는 AU22002 등 140계통이 저항이 있는 것으로 평가되었으며, 164계통이 역병에 매우 약한 것으로 평가되었다. A1과 A2 교배형에 따른 계통별 저항성 정도의 분포는 두 교배형 간에 큰 차이 없이 비슷한 경향이었다. 그러나 A2 교배형을 접종한 처리가 A1 교배형을 접종한 처리에 비해 역병에 강한 계통이 적었고, 약한 계통의 분포가 많은 것으로 볼 때 A2 교배형이 더 병원성이 강하고 심각한 피해를 주는 것으로 생각되었다.

포장에 자연발생에 의한 역병저항성 평가결과 발병지수가 '1'이하의 저항성으로 판명된 계통은 AG14065 등 11계통으로서 기내에서의 접종 결과에 비해 피해의 정도가 심하였다.

포장에서의 저항성 평가 결과와 기내에서의 접종을 이용한 저항성 평가 결과를 상관분석을 해 본 결과 두 처리간에는 통계적 유의성이 없었다. 이것은 처리한 계통의 수가 많았고, 환경차이에 따른 계통의 분산이 컸기 때문인 것으로 추정되었다. 반면에 A1 교배형과 A2 교배형의 역병균 처리 간에는 상관성은 있었으나 상관의 정도가 크게 높지는 않았다($r=0.533$).

감자 유전자원에 대한 다양한 저항성 반응이 포장 및 실내실험을 통하여 확인되어 저항성 선발마커를 개발하는 것이 불가능하였다. 그래서 병원균 특성에 따른 저항성 반응을 구체적으로 판단하기 위하여 A1, A2 교배형 반응과 포장에서 특이적인 개체를 47개 선발하여 포장 및 실내에서 검정한 결과는 표 2와 같았다.

감자역병의 발생이 해마다 극심한 포장에서 선발된 개체를 대상으로 평가한 결과 4개체(AG34247, AG44077, CIP724, CIP270812)는 강한 저항성 반응을 보였다. 포장에서 저항성 반응을 보이는 개체 가운데 인공접종한 실험에서 CIP724만 저항성 반응을 보였다. 따라서 CIP 724는 병원균 레이스 1.3에 대하여 저항성 유전자를 가지고 있는 것으로 판단되었다.

그러나 포장에서 저항성 반응을 보이는 개체가 실내에서 저항성 반응이 떨어지는

이유는 여러 가지로 생각 할 수 있으나 그중 하나는 포장에서 존재하는 병원균 집단에 의한 것으로 생각된다. 일반적으로 우리나라 감자밭에는 감자역병 레이스가 다양하게 존재하여 감자 병원균간의 경쟁이 있고 이는 기주의 정착력에 직접 관여하는 것으로 판단된다. 실제로 병든 식물체에서 분리한 병원균의 병원성을 검정하는 실험에서 단일병원균을 접종하는 경우 강한 반응을 보이다가 여러 개의 병원균을 혼합하여 접종하는 경우 병원성이 현저하게 저하되는 것을 볼 수 있는데 이것을 새로운 육종의 방향을 암시하는 것 중의 하나이다.

병원균에 대한 저항성 품종 육성은 수직 저항성 반응을 중심으로 진행되어 이들에 대한 병원균의 적응을 유발하는 결과를 가져와 해마다 기주의 저항성이 현저하게 감소하고 엄청난 피해를 유발하는 쪽으로 발달하였다. 그러나 병원균은 기주보다 생활사가 짧고 환경 적응능력이 탁월하기 때문에 저항성 품종을 육종하는 것이 매우 어려운 문제로 대두되고 있으므로 병원균의 집단변동을 고려한 저항성 육종의 방향설정이 필요한 실정이다.

따라서 병원균에 대한 집단변동 및 다양한 유전자원에 대한 저항성 반응을 고려한 평가가 이루어져야하고 이번 실험을 통하여 얻어진 결과는 유전자원을 증식하고 육종에 필요한 재료를 확보하는데 있어 크게 기여 할 것으로 판단된다.

Table 1. Response of detached potato leaves inoculated with zoospore suspension of two mating types of *Phytophthora infestans* and susceptibility at field trial.

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
AU 22002	0.3 ²	0.0	0.2		AU 33005	2.3			
AU 22003	0.3	0.7	0.5		AU 33006	9.0	9.0	9.0	
AU 22005	7.0	0.3	3.7		AU 33011	0.0	0.0		
AU 22007	9.0	9.0	9.0		AU 33012	0.0	0.0	0.0	
AU 22008	9.0	9.0	9.0		AU 42003	9.0	9.0	9.0	
AU 22009	1.7	1.3	1.5		AG 32001	9.0	9.0	9.0	
AU 22010	8.3	0.7	4.5		AG 32002	7.7	9.0	8.3	
AU 22012	0.0	5.0	2.5		AG 32003	7.7	9.0	8.3	
AU 22013	9.0	4.3	6.7		AG 32005	9.0	4.3	6.7	
AU 22014	9.0	9.0	9.0		AG 32007	1.7	3.7	2.7	
AU 22015	1.3	9.0	5.2		AG 32008	0.0	3.7	1.8	
AU 22016	9.0	9.0	9.0		AG 32009	9.0			
AU 22019	9.0				AG 32010	1.0	1.0	1.0	
AU 22020	9.0	7.0	8.0		AG 32011	4.3	7.7	6.0	
AU 22023	6.3				AU 33001		8.3		
AU 22024	0.0	0.3	0.2		AU 33004	8.3			
AU 22025	9.0	0.7	4.8		AU 33005		0.0		
AU 22027	2.7	2.3	2.5		AU 33007	0.0	0.3	0.2	
AU 22028	4.3				AU 33010	9.0	3.3	6.2	
AU 22029	9.0	9.0	9.0		AU 33011	0.3			
AU 22031	0.7	6.3	3.5		AG 14005	4.3	1.0	2.7	7
AU 22033	9.0	8.3	8.7		AG 14006	7.7	9.0	8.3	5.7
AU 22034	6.3	1.0	3.7		AG 14007	9.0	9.0	9.0	8
AU 22035	9.0	9.0	9.0		AG 14008	9.0	9.0	9.0	8.3
AU 22038	1.0	5.7	3.3		AG 14010	3.0	1.7	2.3	8
AU 22040	9.0	1.7	5.3		AG 14015	8.3	8.3	8.3	5
AU 22041	9.0	3.7	6.3		AG 14016	0.3	1.0	0.7	6.3
AU 22043	5.7	5.0	5.3		AG 14017	0.0	1.0	0.5	3.7
AU 22044	1.3	7.0	4.2		AG 14018	0.0	2.3	1.2	7
AU 22045	2.3	7.0	4.7		AG 14019		9.0		7
AU 22047	9.0	9.0	9.0		AG 14020	1.3	7.0	4.2	8.3
AU 22050	4.3	1.0	2.7		AG 14023	8.3	9.0	8.7	8.3
AU 22051	9.0	9.0	9.0		AG 14024	1.3	0.7	1.0	7.7
AU 22052	9.0	3.7	6.3		AG 14025	9.0	9.0	9.0	7
AU 33001	9.0				AG 14027	0.3	0.0	0.2	5.7
AU 33002	1.3	7.7	4.5		AG 14029	0.3	9.0	4.7	
AU 33003	2.3	0.7	1.5		AG 14030	0.7	2.3	1.5	4
AU 33004		0.7			AG 14031	5.0	9.0	7.0	6

Table 1. continued

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
AG 14032	9.0	9.0	9.0	7	AG 14089	9.0	2.3	5.7	
AG 14033	4.3	0.7	2.5		AG 14090	9.0	9.0	9.0	7
AG 14035	3.7	1.7	2.7	7	AG 14092	0.3	0.0	0.2	
AG 14036	9.0	9.0	9.0	9	AG 14094	7.7			7
AG 14037	0.0	3.0	1.5	5	AG 14095	7.0	9.0	8.0	0.3
AG 14038	9.0	9.0	9.0	6	AG 14096	9.0	9.0	9.0	6.3
AG 14039	0.0	4.3	2.2	5.7	AG 14098	9.0	9.0	9.0	7
AG 14045	0.7	0.7	0.7		AG 14099	2.3	6.0	4.2	6
AG 14048	3.7	9.0	6.3	9	AG 14101	2.3	3.0	2.7	5
AG 14049	0.0	6.3	3.2	3	AG 14103	2.0	6.3	4.2	7
AG 14050	6.3	0.7	3.5	5	AG 14105	9.0	9.0	9.0	
AG 14051	6.3	0.3	3.3	5	AG 14106	9.0	9.0	9.0	3.7
AG 14052	3.0	4.3	3.7	1.3	AG 14107	9.0	7.7	8.3	9
AG 14053	0.0	1.3	0.7	8	AG 14108	3.7	9.0	6.3	6
AG 14054	3.0	9.0	6.0	4.3	AG 14110	0.0	6.3	3.2	5.7
AG 14055	9.0	9.0	9.0	2	AG 14111	9.0	9.0	9.0	6
AG 14057	3.0	9.0	6.0		AG 14112	1.0	9.0	5.0	9
AG 14058	9.0	9.0	9.0	7	AG 14115	0.3	1.3	0.8	5
AG 14059	6.3	9.0	7.7	7	AG 14116	0.3	0.7	0.5	6.3
AG 14060	2.0	5.7	3.8		AG 14117	8.3	7.7	8.0	7
AG 14062	2.3	9.0	5.7	7	AG 14120	5.7	7.0	6.3	5.7
AG 14063	5.7	6.3	6.0	6.3	AG 14121	1.0	9.0	5.0	
AG 14064	7.0	7.7	7.3	4.3	AG 14123	9.0			7
AG 14065	0.3	1.0	0.7	0.3	AG 14127	9.0	6.3	7.7	1
AG 14067	9.0	0.3	4.7	7	AG 14129	1.7	1.0	1.3	6.3
AG 14069	9.0	9.0	9.0	2.3	AG 14130	3.0	9.0	6.0	5
AG 14070	9.0	9.0	9.0	7.7	AG 14131	7.0	7.0	7.0	5
AG 14071	0.7	1.0	0.8	5	AG 14133	1.7	9.0	5.3	3.3
AG 14073	9.0	7.0	8.0		AG 14134	9.0	9.0	9.0	6.3
AG 14074	0.0	9.0	4.5	0.7	AG 14136	1.0	5.7	3.3	2
AG 14075	9.0	9.0	9.0	3.7	AG 14137	0.7	9.0	4.8	4
AG 14077	7.0	9.0	8.0	7	AG 14139	0.7	1.0	0.8	
AG 14078	9.0			6.3	AG 14140	5.0	7.0	6.0	3.7
AG 14081	9.0	9.0	9.0	7	AG 14142	7.0	7.0	7.0	9
AG 14084	7.0	4.3	5.7	5.7	AG 14143	0.0	9.0	4.5	5.7
AG 14085	1.0	9.0	5.0	6.3	AG 14144	9.0			7
AG 14086	9.0	9.0	9.0	8	AG 14145	0.0	1.7	0.8	4.3
AG 14087	1.0	2.3	1.7	6.3	AG 14146	0.3			4.3
AG 14088	7.7			7	AG 14147	9.0	9.0	9.0	8

Table 1. continued

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
AC 14148	9.0	9.0	9.0	7	AG 34037	3.7	6.3	5.0	
AC 14150	9.0	2.3	5.7	4.3	AG 34038	1.0	7.0	4.0	7
AC 14156	5.7	1.0	3.3	4.3	AG 34039	1.3	6.3	3.8	
AC 14158	0.0	2.3	1.2		AG 34040	3.7	9.0	6.3	
AC 14159	7.0	2.3	4.7	0.7	AG 34042	7.0	7.7	7.3	5.7
AC 14160	9.0			4	AG 34043	0.0	0.7	0.3	5.7
AC 14162	6.3	6.3	6.3	1.3	AG 34044	9.0	9.0	9.0	6
AC 14163	0.0	2.0	1.0		AG 34045	5.0	0.7	2.8	4.7
AC 14167	9.0	8.3	8.7		AG 34046	9.0	9.0	9.0	4.5
AC 14168	9.0	9.0	9.0		AG 34048	3.3	0.0	1.7	7
AC 14070		3.0			AG 34050	9.0	0.7	4.8	7
AC 14173	2.3	9.0	5.7		AG 34052	3.0	1.0	2.0	
AC 14178	8.3	1.0	4.7	7	AG 34053	7.7	7.7	7.7	8.3
AC 14180	0.3	2.3	1.3		AG 34054	0.0	1.0	0.5	2.7
AC 14181	9.0				AG 34055	0.3	9.0	4.7	9
AC 14182	1.7	6.3	4.0		AG 34056	1.3	0.3	0.8	8.3
AC 24001	6.3	9.0	7.7	5	AG 34057	0.3	3.7	2.0	4.7
AC 24002	8.3	4.0	6.2	5.7	AG 34058	6.3	7.7	7.0	9
AC 24003	3.3	1.0	2.2	7	AG 34059	2.3	2.3	2.3	
AC 24004	3.3	0.3	1.8	5.7	AG 34062	3.0	4.3	3.7	6
AC 24005	5.0	2.3	3.7	7.7	AG 34063	0.0	5.7	2.8	
AC 24006	3.0	2.3	2.7	6.3	AG 34064	2.3	9.0	5.7	7
AC 24007	3.0	3.0	3.0	5	AG 34065	9.0	8.3	8.7	2.7
AC 34001	2.0	1.3	1.7	7	AG 34066	1.0	0.0	0.5	8
AC 34002	7.0	7.0	7.0		AG 34067	2.3	9.0	5.7	4.7
AC 34005	7.7	1.0	4.3		AG 34068	1.0	1.7	1.3	7.7
AC 34006	9.0	9.0	9.0	6.3	AG 34069	2.3	0.3	1.3	
AC 34007	9.0	7.0	8.0		AG 34071	0.3	0.3	0.3	6
AC 34012	0.7				AG 34073	8.3	7.0	7.7	7
AC 34013	9.0	9.0	9.0		AG 34074	2.3	0.7	1.5	7.7
AC 34014	3.3	0.0	1.7	7	AG 34075	0.3	9.0	4.7	7
AC 34020	9.0	9.0	9.0	4.7	AG 34076	0.0	0.7	0.3	3.7
AC 34023	3.0			4.7	AG 34077	9.0	9.0	9.0	5.3
AC 34025	2.0	2.3	2.2	3.3	AG 34079	0.7	5.7	3.2	7
AC 34026	4.3	0.0	2.2		AG 34083	0.3	0.0	0.2	3
AC 34030	8.3			4.7	AG 34084	9.0	9.0	9.0	9
AC 34034	0.0	1.0	0.5	7	AG 34085	0.0	1.0	0.5	4
AC 34035	1.0	3.0	2.0		AG 34092	0.0	6.3	3.2	
AC 34036	9.0	1.0	5.0	8	AG 34093	8.3	3.3	5.8	1.7

Table 1. continued

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
AC 34094	0.3	0.3	0.3	0.7	AG 34161	6.3	5.7	6.0	4.7
AC 34095	5.0	0.0	2.5	7	AG 34162	0.3	0.3	0.3	
AC 34096	0.0	0.3	0.2		AG 34163	7.0			5
AC 34098	1.3	0.0	0.7		AG 34172	0.0	1.0	0.5	
AC 34102		9.0			AG 34173	0.0	7.7	3.8	
AC 34103	1.0	0.0	0.5		AG 34174	4.3			
AC 34104	7.0	9.0	8.0	8.3	AG 34175	0.3	0.0	0.2	
AC 34109	9.0	7.7	8.3	2.7	AG 34182	8.3			
AC 34115	7.7	3.7	5.7	9	AG 34185	9.0	5.7	7.3	9
AC 34117	0.0	2.3	1.2	7	AG 34187	2.7	0.0	1.3	4
AC 34118	3.7	1.0	2.3		AG 34188	9.0	9.0	9.0	3.3
AC 34119	0.7	0.0	0.3		AG 34189	1.3	0.3	0.8	4
AC 34120	9.0	9.0	9.0		AG 34192	9.0	9.0	9.0	2
AC 34121	5.7	0.0	2.8	6	AG 34193	0.0	2.7	1.3	7
AC 34123	0.7	1.0	0.8		AG 34194	9.0	0.3	4.7	8.3
AC 34124	5.0	0.0	2.5		AG 34195	9.0	9.0	9.0	4
AC 34128	0.0	3.0	1.5		AG 34197	0.3	0.3	0.3	5
AC 34129	6.3	3.0	4.7		AG 34199	9.0	9.0	9.0	4
AC 34130	7.7	9.0	8.3	7	AG 34200	0.3	3.7	2.0	7.7
AC 34131	0.0	0.7	0.3		AG 34201	1.3	4.3	2.8	6.3
AC 34132	0.3	0.3	0.3	9	AG 34203		9.0		6
AC 34136	9.0	9.0	9.0	7.7	AG 34204	0.0	1.7	0.8	3.7
AC 34137	0.3	5.0	2.7	6	AG 34205	8.3	7.7	8.0	4.3
AC 34138	3.0	5.7	4.3		AG 34206	0.7	0.0	0.3	5.7
AC 34139	4.3	0.3	2.3		AG 34207	9.0	9.0	9.0	5
AC 34140	9.0	9.0	9.0	5	AG 34208	9.0	6.3	7.7	1
AC 34143	1.7	7.7	4.7	4.3	AG 34209	2.3	0.0	1.2	7
AC 34144	1.7	9.0	5.3	2	AG 34213	9.0	3.7	6.3	7
AC 34145	3.7	0.7	2.2		AG 34215	0.3	3.0	1.7	7.7
AC 34146	5.0	7.0	6.0	4	AG 34217	0.3	0.3	0.3	
AC 34148	1.3	1.0	1.2		AG 34239	0.0	8.3	4.2	
AC 34149	5.0	3.7	4.3	8	AG 34240	2.3	1.0	1.7	
AC 34151	0.7	0.7	0.7	3	AG 34241	0.0	0.0	0.0	
AC 34152	8.3	0.0	4.2	7	AG 34244	6.3	0.7	3.5	
AC 34155	9.0	7.7	8.3	1.3	AG 34245	0.0	0.3	0.2	
AC 34156	9.0	9.0	9.0		AG 34246	9.0			
AC 34157	2.3	7.0	4.7	5	AG 34247	1.0	0.3	0.7	
AC 34158	7.0	7.7	7.3	1.5	AG 34252	0.7	0.0	0.3	
AC 34160	0.3	0.7	0.5		AG 34258		7.7		

Table 1. continued

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
AG 34260	9.0	3.0	6.0		AG 44024	0.0	1.0	0.5	5
AG 34261	7.7	4.3	6.0		AG 44025	2.3	0.0	1.2	6.3
AG 34262		2.3			AG 44026	9.0	5.7	7.3	
AG 34263	0.0	1.7	0.8		AG 44027	1.3	0.3	0.8	2
AG 34264	0.3				AG 44028	0.0	0.0	0.0	3.5
AG 34265	0.0	3.0	1.5		AG 44030	9.0	9.0	9.0	7.7
AG 34267	2.3	0.7	1.5		AG 44031	1.3	5.0	3.2	8
AG 34269	9.0	5.3	7.2		AG 44032	7.0	8.3	7.7	7
AG 34270	7.7	7.0	7.3		AG 44033	7.0	9.0	8.0	7
AG 34271	0.0	3.0	1.5		AG 44034	0.7	1.7	1.2	
AG 34272	9.0	1.7	5.3		AG 44035	6.3	1.7	4.0	6.3
AG 34273	7.0	9.0	8.0		AG 44039	8.3	7.7	8.0	3
AG 34278	7.0				AG 44040	0.3	5.7	3.0	6
AG 34279	1.3	3.7	2.5		AG 44041	2.7	1.7	2.2	6.3
AG 34281	0.3	0.0	0.2		AG 44042	9.0	9.0	9.0	7.7
AG 34284	0.0	0.0	0.0		AG 44043	0.7	0.7	0.7	7
AG 34285	3.0	3.7	3.3		AG 44044	0.3	2.3	1.3	6.3
AG 34287	7.7	9.0	8.3		AG 44045	0.3	0.0	0.2	6.3
AG 34288	1.7	0.0	0.8		AG 44047	8.3	5.0	6.7	9
AG 34289	7.7	7.0	7.3		AG 44048	0.0	0.3	0.2	6.3
AG 34290	2.3	3.3	2.8		AG 44050	0.3	0.7	0.5	7
AG 34291	3.0	0.7	1.8		AG 44051	3.0	0.0	1.5	4.7
AG 44001	1.0	1.7	1.3	6	AG 44052	0.0	0.3	0.2	
AG 44005	0.7	0.7	0.7	5.7	AG 44053	9.0	4.3	6.7	4.3
AG 44006	8.3	2.3	5.3	2	AG 44055	5.7	3.7	4.7	7.7
AG 44007	2.3	9.0	5.7		AG 44057	4.3	1.7	3.0	5.7
AG 44009	0.3	4.3	2.3	5.7	AG 44059		4.3		7
AG 44010	9.0	9.0	9.0	5	AG 44063	0.7	9.0	4.8	9
AG 44011	0.7	0.3	0.5	4.7	AG 44064	2.7	0.7	1.7	6.3
AG 44012	9.0	9.0	9.0		AG 44065	6.3	0.7	3.5	5.7
AG 44013	5.0	0.3	2.7	6.3	AG 44067	9.0	9.0	9.0	3
AG 44014	9.0			8.3	AG 44068	0.3	0.0	0.2	6.3
AG 44016	2.3	1.0	1.7	5.7	AG 44069	0.0	1.0	0.5	7
AG 44017	9.0	9.0	9.0	5	AG 44070	0.7			5.7
AG 44018	9.0	5.7	7.3		AG 44071	0.0	0.3	0.2	7.7
AG 44019	6.3	9.0	7.7	1	AG 44073	5.0	9.0	7.0	6.3
AG 44021	7.0	7.7	7.3	7	AG 44074	1.3	5.7	3.5	7
AG 44022	8.3	5.0	6.7	4.3	AG 44076	1.0	7.0	4.0	3.7
AG 44023	1.0	5.7	3.3	4.7	AG 44077	0.0	0.7	0.3	2

Table 1. continued

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
AC 44080	5.0	7.7	6.3	7	AG 54067	1.3	0.3	0.8	
AC 44081	0.0	0.7	0.3		청춘	0.3	3.0	1.7	
AC 44082	3.7	0.3	2.0	7	1-11	5.0	3.0	4.0	8
AC 44085	0.7	1.0	0.8		1-12	8.3	3.7	6.0	6.3
AC 44087	0.0	4.3	2.2		1-14	9.0	0.7	4.8	5
AC 44092	6.3	9.0	7.7		1-15	9.0	9.0	9.0	5.7
AC 44093	9.0	9.0	9.0	7	1-2	8.3	7.7	8.0	6.3
AC 44094	2.3	3.7	3.0		1-3	3.0	8.3	5.7	5
AC 44096	3.0	0.0	1.5	7	1-30	7.0	9.0	8.0	7
AC 44097	1.7	0.7	1.2	9	1-42	5.7	0.7	3.2	9
AC 44098	3.0	3.3	3.2	4	1-49	9.0	9.0	9.0	6.3
AC 44099	2.3	3.0	2.7		1-53	0.3	0.0	0.2	7
AC 44101	0.7	8.3	4.5		1-55	5.0	3.7	4.3	4.3
AC 44102	6.3	9.0	7.7	7	1-6	0.3	7.7	4.0	5
AC 44103	9.0	1.7	5.3		1-61	9.0			6
AC 44104	0.3	3.0	1.7	8	1-62	0.3	1.3	0.8	8
AC 44105	7.7	1.7	4.7		1-63	0.3	1.7	1.0	6.3
AC 44107	0.3	0.0	0.2		1-66	0.3	0.0	0.2	7
AC 44108	9.0	6.3	7.7		1-67	2.7	1.0	1.8	6.3
AC 44109	0.3	1.7	1.0		1-68	9.0	7.0	8.0	6.3
AC 44110	5.0	3.7	4.3		1-70	0.7	6.3	3.5	7
AC 44111	2.3	3.7	3.0		1-73	0.3	5.0	2.7	7
AC 44112	0.3	3.0	1.7		1-8	5.7	9.0	7.3	7
AC 44113	0.0	1.0	0.5		1-84	0.0	1.3	0.7	6
AC 44118	0.3	7.7	4.0	6.3	1-9	9.0	9.0	9.0	5
AC 44120	3.7	8.3	6.0	4	92HC-11	9.0	9.0	9.0	5.7
AC 44121	0.3	1.0	0.7		92HC-15	7.7	9.0	8.3	5.7
AC 44122	0.3	0.0	0.2	7	92HC-16	0.3	3.7	2.0	3.7
AC 44124	1.3	1.0	1.2	4	92HC-17	3.3	9.0	6.2	3
AC 44125	0.3	6.3	3.3		92HC-18	4.3	8.3	6.3	3.7
AC 44129	0.0	0.3	0.2		92HC-20	9.0	9.0	9.0	3
AC 44131	0.0	1.7	0.8		92HC-21	9.0			5
AC 44132	3.0	1.7	2.3		92HC-22	9.0	9.0	9.0	3.7
AC 44146	9.0	9.0	9.0		92HC-25	0.0	2.0	1.0	6.3
AC 44160		9.0			92HC-30	9.0	9.0	9.0	5.7
AC 44171		0.3			92HC-34	9.0	7.0	8.0	5
AC 44174	0.0				92HC-4	4.3	9.0	6.7	3.7
AC 54064	0.0	1.7	0.8		92HC-48	0.7	7.0	3.8	5
AC 54065	0.0	0.7	0.3		92HC-5	1.3	1.3	1.3	1

Table 1. continued

Clones	Inoculation			Field	Clones	Inoculation			Field
	A1	A2	Mean			A1	A2	Mean	
92HC-7	2.0	4.3	3.2	1.7	F25-16	6.3	3.0	4.7	9
92VC-2	0.0	0.0	0.0	5	F25-24	5.7	3.0	4.3	5
95HC-42	2.7	1.7	2.2	5	F25-27	9.0	9.0	9.0	3.7
F10-49	1.0	7.7	4.3	4.3	F25-49	1.7	2.7	2.2	6.3
F1-16	9.0	9.0	9.0	6.3	F25-53	6.3	3.7	5.0	3.7
F1-31	2.3	5.0	3.7	5.7	F25-70	0.0	0.3	0.2	3.7
F13-21	0.7	3.7	2.2	1	F25-75	1.0	3.3	2.2	4.3
F13-23	5.7	1.0	3.3	7	F25-91	1.3	0.7	1.0	7.7
F13-24	0.7	1.7	1.2	4.3	F27-3		7.0		7
F1-42	9.0	9.0	9.0	5	F2-8	9.0	7.0	8.0	5
F1-5	5.7	1.7	3.7	7.7	F28-18	3.3	9.0	6.2	3
F17-28	1.0	0.0	0.5	7	F30-2	0.0	2.3	1.2	8.3
F1-78	8.3	9.0	8.7	7	F5-18	4.0	7.7	5.8	7
F1-8	6.3	7.0	6.7	9	F9-114	5.0	7.0	6.0	7
F19-16	1.3	9.0	5.2	7	F9-132	9.0	9.0	9.0	7.7
F21-62	1.0	4.3	2.7	9	F9-136	0.3	0.0	0.2	7
F23-11	9.0	9.0	9.0		F9-19	9.0	9.0	9.0	7.7
F2-35	1.0	2.3	1.7	9	F9-38	4.3	7.7	6.0	4.3
F24-12	0.7	0.3	0.5	5	F9-62	2.3	7.0	4.7	6
F24-14	9.0	2.3	5.7	9	F9-69	0.3	7.7	4.0	8.3
F24-5	7.7	3.7	5.7	1	F9-95	0.3	0.3	0.3	3
F24-6		0.7		5.7	F9-99	0.3	0.7	0.5	0.7
F25-14	1.0	0.7	0.8	8					

※ 0= no symptom, 1= 1~5% symptom area, 3= 6 ~20 %, 5= 21~40%, 7= 41~60%,

9=more than 61%

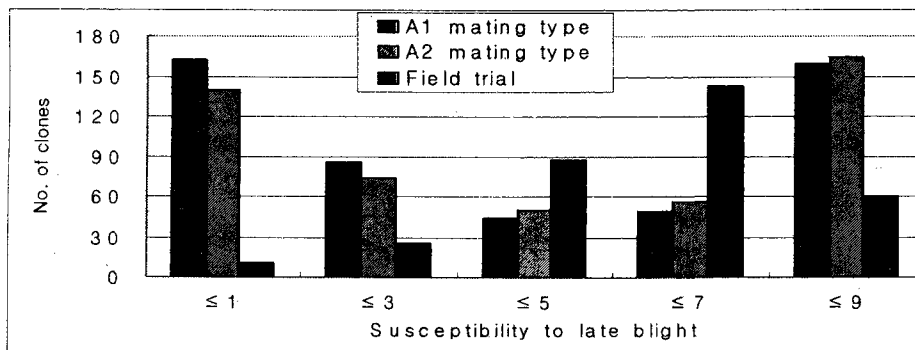


Figure 4. Frequency of the susceptibility to late blight of potato germplasms.

Table 2. Response of detached potato leaves inoculated with zoospore suspension of *Phytophthora infestans*

Clone	Sporulation ¹		Symptom on host ³				Response
	Rate	Sporangia ²					
AG14029	3/6	0.19×10 ³	N	BA	BS		S
AG14047	3/6	2.6×10 ³	N	BA	BS		S
AG14062	3/6	0.8×10 ³	N	BA	BS		S
AG14062	3/6	0.2×10 ³	N	BA	BS		S
AG14067	5/6	1.35×10 ³	N	BA	BS		S
AG14068	5/6	5.6×10 ³	N				S
AG14084	4/6	0.24×10 ³	N	BA	BS	Y	S
AG14103	4/5	3.7×10 ³	N		BS		S
AG14109	4/6	1.7×10 ³	N		BS		S
AG14115	5/6	3.3×10 ³			BS		S
AG14182	4/6	1.6×10 ³	N		BS		S
AG24001	3/6	1.12×10 ³	N	BA	BS		S
AG24003	4/6	0.28×10 ³	N	BA			S
AG24007	3/6	1.2×10 ³	N	BA	BS		S
AG34085	4/6	1.34×10 ³	N	BA	BS	C	S
AG34090	0/6	0	N		BS	Y	R
AG34094	4/6	1.6×10 ³	N	BA	BS		S
AG34096	2/6	0.4×10 ²		BA	BS	Y	M
AG34153	3/6	0.16×10 ³	N	BA	BS		S
AG34194	6/6	6.1×10 ³	N		BS		S
AG34247	1/6	0.3×10 ²	N		BS		M
AG34278	5/6	0.48×10 ³	N		BS		S
AG34285	3/6	1.14×10 ³	N	BA	BS		S
AG44001	6/6	1.59×10 ³					S
AG44010	5/6	7.4×10 ³	N	BA	BS		S
AG44013	4/5	1.6×10 ³	N	BA	BS		S
AG44014	1/6	0.99×10 ³	N	BA	BS	Y	M
AG44016	3/6	0.35×10 ³	N			Y	S
AG44019	6/6	1.65×10 ³	N		BS		S
AG44022	3/6	0.38×10 ³	N	BA	BS		S
AG44028	1/6	0.23×10 ³	N	BA	BS		M
AG44032	5/6	1.25×10 ³	N	BA	BS		S
AG44034	6/6	1.23×10 ³	N	BA	BS		S
AG44043	5/6	0.3×10 ³	N	BA	BS		S
AG44057	3/6	0.4×10 ³	N		BS		S
AG44059	6/6	0.8×10 ³	N		BS		S
AG44065	2/6	0.4×10 ³	N		BS	C	M
AG44071	4/6	7.29×10 ³	N		BS		S
AG44076	2/6	0.25×10 ³	N	BA	BS		M

Table 2. continued

Clone	Sporeulation		Symptom on host				Response
	Rate	Sporangia	N	BA	BS		
AG44077	1/6	0.3×10^2	N	BA	BS		M
AG44082	4/6	0.54×10^3	N	BA	BS		S
AG44084	0/6	0	N	BA	BS		R
AG44098	3/6	0.25×10^3	N		BS		S
AG44111	5/6	2.25×10^3	N		BS		S
AG44112	3/6	0.33×10^3	N	BA	BS		S
AG44118	4/6	1.26×10^3	N	BA	BS		S
AG44124	6/6	6.4×10^3	N				S
AG44131	6/6	0.9×10^3	N		BS		S
AG44132	6/6	2.37×10^3	N		BS		S
CIP 270812	3/6	1.6×10^3	N	BA	BS	Y	S
CIP 67008	3/6	0.15×10^3	N		BS	Y	S
CIP 710125	2/6	0.4×10^2	N	BA	BS	C	M
CIP 765	2/6	0.13×10^3	N	BA	BS		M
CIP 871	5/6	2.95×10^3	N				S
CIP724	0/6	0		BA	BS	C,Y	R
ND	5/6	2.75×10^3	N		BS		S
PB	6/6	2.4×10^3	N				S
PD	1/6	0.7×10^2	N	BA	BS		M

¹ : determined the sporulation of isolate at 5 days after inoculation with 1.02×10^6 zoospore/ml

² : Sporangia ; No. of sporangia/ml

³ : N; necrosis, BA ;brown area, BP ;brown spot, C ;canker Y; yellowing

R : resistance, M moderate, S : susceptible

Table 3. Response of potato varieties to late blight in fields of Daekwallryung area

Clone	Sympton of late blight		Response ³
	Incidence(%) ¹	Severity ²	
AG14029	1/30(3.3)	0.1	M
AG14047	2/30(6.7)	1.0	S
AG14062	25/30(83.3)	1.0	S
AG14062	21/30(70.0)	1.0	S
AG14067	25/30(83.3)	2.4	S
AG14068	13/20(65.0)	1.8	S
AG14084	22/30(73.3)	1.2	S
AG14109	25/30(83.3)	1.8	S
AG14115	13/30(43.3)	1.0	S
AG14182	21/30(70.0)	0.8	M
AG24001	22/30(73.3)	1.0	S
AG24003	28/30(93.3)	2.8	S
AG24007	4/30(13.3)	0.3	M
AG34085	30/30(100)	3.2	S
AG34090	22/30(73.3)	1.0	S
AG34094	13/30(43.3)	1.0	S
AG34153	29/30(96.7)	2.5	S
AG34194	26/30(86.7)	2.6	S
AG34247	0/30(0)	0	R
AG34278	21/30(70.0)	0.9	M
AG44010	18/30(60.0)	1.6	S
AG44022	8/30(26.7)	0.3	M
AG44028	6/30(20.0)	0.2	M
AG44032	28/30(93.3)	0.8	M
AG44034	15/30(50.0)	0.6	M
AG44043	23/30(76.7)	0.8	M
AG44059	23/30(76.7)	2.0	S
AG44065	9/30(30.0)	0.3	M
AG44071	23/30(76.7)	2.0	S
AG44076	11/30(36.7)	0.3	M
AG44077	0/30(0)	0	R
AG44082	19/30(63.3)	0.6	M
AG44084	이상증상		
AG44098	8/30(26.7)	1.0	S
AG44111	19/30(63.3)	1.2	S
AG44112	25/30(83.3)	2.6	S
AG44118	5/30(16.7)	1.0	S
AG44124	23/30(76.7)	1.2	S
AG44131	2/30(6.7)	0.2	M
CIP724	0/30(0)	0	R

Table 3. continued

Clone	Sympton of late blight		Response
	Incidence	Severity	
ND-2717-6	29/30(96.7)	2.5	S
CIP 270812	0/30(0)	0	R
CIP 67008	30/30(100)	2.7	S
CIP 710125	11/30(36.7)	0.9	M
CIP 765	7/30(23.3)	0.4	M
CIP 871	18/30(60.0)	1.3	S
PB	8/30(26.7)	0.9	M

¹ : incidence of disease(%)

² : 0= no symptom, 1= 1~25% symptom area, 2= 26 ~50 %, 3= 51~75%, 4= 76~100%

³ : R= resistance, M= moderate, S= susceptible

2. 감자 유전자원의 주요 농업형질 특성 평가

가. 재료 및 방법

본 시험에 공시된 감자 유전자원들은 고려지농업연구소 대관령 시험포장에서 주요 농업 형질인 숙기, 초세, 수량, 비중 및 glucose 함량을 조사하였다.

재배 포장은 경운을 한 후 10a당 퇴비는 1,500kg, 시비(N-P-K)는 15-18-12kg씩 포장에 전면살포 하였다. 품종별로 10주씩 완전임의배치 3반복으로 배치하였으며, 재식거리는 휴 간 75cm와 주간 25cm로 하였다. 파종은 5월 6일에 하였으며, 재배관리는 농촌진흥청 감자 표준재배법에 준하여 실시하였다. 파종 후 70일에는 주요한 생육형질(초세, 경장, 경수)을 조사하였고, 100일에 지상부의 숙기를 조사하였다. 파종 후 120일에 각 실험구별로 감자를 수확하여 수량과 상서율을 조사하였으며, 비중과 glucose 함량 측정을 위한 시료는 각 기 계통의 특성을 대표할 수 있는 중간 정도의 크기에서 실험구당 약 3kg 정도씩 취하였다. 감자 시료는 물에 씻어 표면의 흙을 제거하여 환기가 잘되고 차광이 된 실내 건조장에서 약 1주일간 음건하여 비중과 glucose 함량을 조사하였다. 감자의 비중은 전자저울을 이용하여 공기중에서의 무게(공기중)와 물속에서의 무게(수중)를 측정한 후 다음과 같은 계산식에 따라 환산하였다. [비중 = 공기중/(공기중 - 수중)]

Glucose 함량은 Lindsay의 방법(1973)에 준하여 측정하였다. Glucose 함량 측정은 반복당 임의로 감자 5개씩, 한 계통당 15개씩 조사하였다. 감자는 껍질을 벗긴 후 직경 5mm의 cork borer를 이용하여 정부에서 기부로 관통시켜 측정용 시료를 채취하여 무게를 측정한 후 test tube에 reagent 2mL와 증류수 1mL를 감자와 함께 넣어 95°C로 유지되는 water bath에서 shaking을 시키면서 8분간 가열하여 발색반응을 시켰다. 분석은 실온에서 냉각시켜 2mL의 증류수를 첨가하여 가볍게 흔들어준 다음 spectro-photometer (U-2000, Hitachi) 570nm에서 흡광도를 측정하여 glucose 함량을 계산하였다.

나. 결과 및 고찰

감자의 주요한 농업형질과 관련하여 숙기, 초세, 경장, 경수, 더텡이병 저항성, 수량성, 상서울을 조사하였고, 가공품질과 연관성이 높은 비중과 glucose 함량을 측정하였다.

AG14005 등 66계통은 단위면적당 수량성이 높고(3,500kg/10a 이상) 상서율이 80% 이상으로 매우 높아 다수성 유전자원으로 선발하였다(표 2, 그림 5).

최근에 감자의 소비형태가 선진국의 추세로 변화해감에 따라 우리나라의 품종육성 방향도 고품질 가공용 품종육성으로 집중화되고 있다. 가공용 품종 육성을 위한 교배모본으로 가장 이상적인 고비중, 저 glucose 함량을 가진 품종을 선발하기 위해서는 가공형질이 우수한 유전자원을 선발하여 교배모본으로 이용하는 것이 선행되어야 한다. 그러나, 비중과 환원당 형질은 품종간에도 차이가 있으며 재배환경, 즉 토양조건, 기상환경, 시비조건, 생육기간 등의 차이에 따라서 형질의 발현 정도가 달라질 수 있다(Rastovski 등, 1981; Sinha 등, 1992). 따라서, 본 시험은 우리나라의 재배환경에 잘 적응할 수 있고, 감자역병에 저항성이 있는 교배모본을 선발하기 위하여 수행되었다.

본 시험의 결과 비중이 1.080 이상으로 높고, glucose 함량이 0.25% 이하로 낮아 칩이나 프렌치프라이 제조용으로 적합한 형질을 가진 유전자원으로 AG14016 등 66계통이 선발되었다(표 2, 그림 6). 선발된 66계통의 역병저항성을 조사한 결과 모두가 역병에 약한 것으로 평가되었다.

Table 4. Agronomic characteristics of potato germplasms.

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG14001	Mid	5.0	42	1.8	0.0	3,036	89	1.061	0.21
AG14003	Mid-late	2.0	23	1.6	0.5	556	22	1.070	0.17
AG14004		3.0	29	1.3	0.0	941	21	1.070	0.22
AG14005	Mid-late	6.0	51	3.3	1.3	4,971	82	1.061	0.22
AG14006	Mid	7.0	53	2.6	0.3	3,905	75	1.060	0.25
AG14007	Mid	3.0	19	2.0	0.0	2,048	88	1.111	
AG14008	Mid-late	5.0	43	1.4	0.0	2,306	61	1.056	0.44
AG14009	Mid	7.0	47	1.5	0.0	3,764	89	1.084	0.08
AG14010	Mid-late	5.0	52	2.1	0.0	3,648	89	1.074	0.18
AG14011	Mid	4.0	46	1.7	1.0	1,513	75	1.062	0.19
AG14012	Mid	4.0	43	1.9	1.5	2,603	77	1.071	0.42
AG14013	Early	9.0	63	2.6	0.0	5,102	73	1.060	0.31
AG14014	Mid-late	7.0	57	1.9	0.0	3,474	58	1.068	0.17
AG14015	Early	6.0	50	2.0	1.0	3,759	57	1.111	0.39
AG14016	Mid	7.0	53	2.1	2.3	5,311	88	1.080	0.25
AG14017	Late	7.0	59	1.9	1.0	4,869	45	1.065	0.23
AG14018	Late	7.0	56	2.1	0.0	3,585	87	1.086	0.17
AG14019	Mid-late	8.0	73	2.1	0.8	3,853	71	1.090	0.20
AG14020	Early-mid	3.0	39	2.2	1.0	2,523	73	1.083	0.14
AG14021				1.7	0.0	1,884	74	1.038	0.07
AG14023	Mid-late	4.0	46	1.7	1.5	2,409	78	1.064	0.27
AG14024	Early-mid	8.0	49	2.1	1.5	5,536	92	1.065	0.15
AG14025	Early-mid	5.0	55	2.0	1.5	4,487	83	1.062	0.14
AG14026	Early-mid	7.0	55	2.5	2.5	3,335	73	1.077	0.29
AG14027	Mid-late	5.0	36	1.8	0.0	3,669	71	1.048	0.42
AG14028	Mid	7.0		2.1	1.5	3,395	65	1.079	0.25
AG14029	Mid-late	3.0	53	1.9	0.0	1,680	55	1.100	0.14
AG14030	Mid	7.0	69	1.4	0.8	1,730	38	1.081	0.40
AG14031	Early-mid	2.0	20	1.0	0.0	1,022	68	1.060	0.20
AG14032	Mid	6.0	48	2.3	0.8	5,288	76	1.097	0.16
AG14033	Mid	1.0	30	1.7	0.0	1,365	100	1.087	
AG14034	Early-mid	5.0	50	2.7	0.0	3,271	76	1.082	0.15
AG14035	Early-mid	6.0	60	1.8	1.5	1,987	77	1.075	0.21
AG14036	Mid	5.0		1.5	0.0	3,298	77	1.057	0.12
AG14037	Mid-late	6.0	66	2.1	0.0	2,948	73	1.058	0.45
AG14038	Early-mid	7.0	55	1.8	0.0	4,413	78	1.074	0.16

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG14039	Early-mid	3.0	48	2.0	0.0	3,109	60	1.069	0.22
AG14040	Early-mid	7.0	61	2.4	1.0	2,936	44	1.090	0.26
AG14041	Mid	3.0	46	1.6	0.0	2,406	48	1.069	0.39
AG14042	Early-mid	4.0	49	2.8	1.5	3,216	58	1.074	0.37
AG14043		9.0	43	1.6	0.0	1,667	77	1.093	0.26
AG14045	Early-mid	5.0	62	1.8	0.5	5,041	71	1.064	0.30
AG14047	Early	5.0	43	3.1	0.0	2,318	65	1.066	0.54
AG14048	Early-mid	5.0	43	2.2	0.3	1,987	63	1.057	0.17
AG14049	Mid	8.0	59	2.0	2.0	4,066	57	1.067	0.50
AG14050	Mid-late	6.0	48	2.8	0.3	3,012	64	1.085	0.14
AG14051	Late	9.0	64	2.2	0.0	4,057	82	1.067	0.10
AG14052	Late	5.0	65	2.5	0.3	2,219	59	1.084	0.09
AG14053	Early-mid	6.0	42	2.6	0.5	743	34	1.077	0.13
AG14054	Early-mid	7.0	43	1.9	1.5	2,041	43	1.051	0.36
AG14055	Late	7.0	84	2.3	0.0	4,181	90	1.069	0.08
AG14057	Early-mid	7.0	50	2.0		2,720	85	1.065	0.20
AG14058	Mid-late	5.0		1.0	1.0	1,644	49	1.056	0.24
AG14059	Mid	9.0	71	1.6	2.0	4,977	82	1.066	0.18
AG14060	Mid-late	5.0	41	1.2	0.0	1,902	61	1.067	0.62
AG14061	Early-mid	5.0	35	1.0	0.3	977	23	1.081	0.29
AG14062	Mid-late	5.0	42	1.5	0.5	3,150	83	1.075	0.12
AG14063	Mid-late	8.0	44	2.5	0.0	4,861	77	1.061	0.30
AG14064	Late	8.0	56	3.0	2.3	3,202	42	1.093	0.23
AG14065	Mid-late	8.0	55	1.8	0.0	3,255	69	1.060	0.08
AG14066	Mid-late	5.0	62	1.3	0.0	4,348	86	1.072	0.23
AG14067	Mid	5.0		2.0	0.5	3,298	76	1.068	0.24
AG14068	Late	6.0	64	1.9	0.3	4,502	78	1.055	0.34
AG14069	Late	5.0	61	2.1	0.3	2,412	34	1.113	0.28
AG14070	Mid	6.0	50	1.6	0.5	2,581	85	1.070	0.14
AG14071	Late	9.0	76	2.5	1.9	5,288	36	1.095	0.19
AG14072	Mid-late	5.0	48	2.1	1.8	3,659	66	1.061	0.13
AG14073	Late	9.0	51	2.0	0.0	1,902	65	1.067	0.47
AG14074	Mid-late	6.0	61	1.9	0.3	4,377	73	1.073	0.31
AG14075	Mid-late	9.0	58	1.7	0.0	5,350	88	1.062	0.23
AG14077	Early-mid	4.0	55	2.1	0.0	4,813	79	1.074	0.27
AG14078	Mid-late	4.0	33	1.7	0.8	1,269	23	1.082	0.53
AG14081	Early-mid	7.0	58	2.7	1.0	3,237	84	1.049	1.49
AG14082	Mid	7.0	38	1.0	0.0	2,725	100	1.049	0.38
AG14083	Late	5.0	53	2.0	0.3	3,071	58	1.090	0.44

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ²	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG14084	Mid	5.0	42	1.4	0.4	3,778	75	1.079	0.10
AG14085	Mid-late	9.0	47	2.0	0.0	3,634	92	1.072	0.15
AG14086	Early-mid	3.0	22	2.0	0.0	1,325	86	1.085	0.08
AG14087	Mid-late	6.0	50	1.9	0.5	4,647	87	1.076	0.11
AG14088	Mid	7.0	36	2.8	0.0	4,099	75	1.065	0.88
AG14089		3.0	12	1.0		320	0	1.080	
AG14090	Mid-late	4.0	28	1.2	0.0	1,632	66	1.057	0.36
AG14091	Mid-late	8.0	49	1.4	0.3	3,299	73	1.082	0.13
AG14092	Mid-late	9.0	57	2.2	0.0	5,605	73	1.086	0.55
AG14093	Early-mid	6.0	50	2.2	0.0	4,411	93	1.072	0.24
AG14094	Late	3.0	39	1.0	0.0	309	100	1.111	
AG14095	Mid	8.0	57	2.1	0.8	3,669	63	1.077	0.22
AG14096	Early	6.0	51	1.6	0.0	3,767	85	1.065	0.14
AG14098	Mid-late	3.0	30	1.9	2.0	1,931	72	1.056	0.47
AG14099	Mid-late	7.0	54	2.1	0.0	828	34	1.046	0.16
AG14100	Mid	5.0	51	1.3	0.0	4,117	94	1.062	0.07
AG14101	Early	6.0	46	1.8	0.8	3,376	87	1.064	0.10
AG14103	Mid	4.0	60	1.9	0.0	2,657	76	1.073	0.20
AG14104	Mid-late	7.0	66	1.9	0.3	3,754	73	1.074	0.47
AG14105	Mid-late			2.0	1.0	2,169	87	1.069	0.09
AG14106	Mid-late	7.0		1.1	0.5	3,058		1.058	0.13
AG14107	Mid-late	5.0		2.9	0.0	2,524	69	1.073	0.15
AG14108	Early-mid	5.0	51	2.0	0.0	2,730	39	1.048	
AG14109	Mid-late	5.0	49	1.4	0.0	4,224	87	1.066	0.42
AG14110	Mid	8.0	58	2.2	0.0	3,489	54	1.079	0.12
AG14111	Mid	7.0	38	1.3	0.0	160	0		0.11
AG14112	Early-mid	3.0	35	2.1	0.3	2,813	52	1.076	0.21
AG14113	Mid				3.0	4,720	95	1.080	
AG14115	Mid-late	1.0	28	1.5	0.0	1,237	97	1.077	0.10
AG14116	Late	5.0	30	1.6	2.0	2,834	88	1.066	0.44
AG14117	Mid	6.0	46	1.7	0.3	5,563	88	1.065	0.23
AG14118	Early-mid	7.0	50	1.9	1.0	2,172	32	1.085	0.22
AG14120	Early-mid	6.0	49	1.5	0.0	3,016	95	1.082	0.16
AG14121	Mid-late	5.0	52	2.1	0.0	299	0	1.032	0.19
AG14122	Mid-late	4.0	41	1.8	1.5	2,699	70	1.109	0.19
AG14123	Mid-late	2.0	28	1.9	0.0	1,223	71	1.061	0.21
AG14125	Mid-late	5.0	36	1.6	0.5	886	66	1.072	0.27
AG14126	Mid-late	5.0	53	2.1	0.3	3,954	70	1.070	0.40
AG14127	Early-mid	1.0	43	3.0		4,874	58	1.074	

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ²	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ⁷	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG14128	Early-mid	7.0	57	1.8	0.0	2,026	79	1.113	0.20
AG14129	Early-mid	5.0	54	2.1	2.5	858	29	1.054	0.26
AG14130	Mid-late	7.0	65	1.8	1.3	4,256	72	1.055	0.21
AG14131	Mid-late	6.0	41	1.9	0.3	2,698	66	1.062	0.63
AG14132	Mid-late	5.0	54	2.0	3.0	3,892	77	1.089	0.28
AG14133	Mid-late	3.0	20	2.1	1.5	1,769	63	1.076	0.08
AG14134	Mid	5.0	38	1.5	2.0	1,625	37	1.081	0.28
AG14135	Early-mid	7.0	64	1.5	0.0	1,099	96	1.076	0.87
AG14136	Mid-late	7.0	65	1.3	0.0	2,784	27	1.056	0.42
AG14137	Mid-late	5.0	45	2.0	0.0	1,987	58	1.055	0.61
AG14138	Mid-late	6.0	55	1.8	0.0	2,875	66	1.088	0.32
AG14139	Mid-late			2.0	1.0	2,240	49	1.067	0.31
AG14140	Early-mid	9.0	62	2.3	0.0	3,384	67	1.069	0.24
AG14141	Late	9.0	66	2.2	2.5	5,216	96	1.073	0.49
AG14142	Mid-late	5.0	39	1.6	0.0	3,514	92	1.088	0.36
AG14143	Mid	5.0	64	2.3	0.3	3,684	79	1.083	0.24
AG14144	Late	6.0	52	2.2	0.0	3,146	55	1.062	0.47
AG14145	Mid-late	6.0	65	1.7	1.8	3,214	72	1.080	0.21
AG14146	Late	7.0	40	1.7	0.0	3,797	84	1.062	0.18
AG14147	Mid-late	7.0	40	1.6	0.0	3,701	78	1.053	0.15
AG14148	Early	7.0	30	1.0	0.0	1,499	70	1.084	0.20
AG14149	Late	6.0	41	1.3	0.0	3,197	87	1.071	0.15
AG14150	Mid-late	8.0	55	2.6	0.3	5,030	76	1.073	0.45
AG14153	Late	9.0	78	1.8	0.0	654	0	1.106	0.18
AG14156	Mid-late	6.7	80	2.0	3.0	3,610	79	1.052	0.51
AG14158	Mid	9.0	75	1.8	1.5	6,453	80	1.079	0.14
AG14159	Mid	9.0	73	3.1	0.3	4,582	75	1.070	0.24
AG14160	Mid-late	8.0	63	1.8	0.0	577	5	1.053	0.16
AG14161	Late	3.0		2.0	0.5	3,324	84	1.050	0.11
AG14162	Late	8.0	62	2.5	0.5	3,659	37	1.091	0.20
AG14163	Late	7.0	39	1.7	0.0	2,238	32	1.091	0.15
AG14167	Mid	7.0	54	2.0	1.0	1,433	41	1.108	0.38
AG14168	Early-mid	5.0	78	1.8	0.0	25			0.12
AG14169	Late	7.0	85	2.2	0.0	971	9	1.072	1.09
AG14171	Late	3.0	78	1.1	0.0	423		1.167	0.19
AG14172	Mid-late	3.0	71	1.8	1.5	2,485	22	1.045	0.93
AG14173	Mid-late	3.0	66	2.2	0.0	357	0		0.91
AG14174	Mid	7.0	54	2.3	1.7	956	12	1.087	0.24
AG14175			105	1.2	0.0				0.46

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG14176	Late	9.0	65	2.6	0.0	1,184	29	1.095	0.14
AG14177	Early-mid	9.0	40	2.4	0.0	3,317	77	1.094	0.11
AG14178	Mid-late	5.0	63	2.1	0.3	5,387	81	1.054	0.35
AG14179	Early-mid	3.0	78	2.0	0.0	446	0	1.061	0.83
AG14243	Early-mid	7.0	49	3.0	0.0	7,612	85	1.073	0.13
AG24001	Early	5.0	50	1.8	0.8	4,525	93	1.056	0.22
AG24002	Early	3.0	27	2.2	1.5	1,088	43	1.077	0.35
AG24003	Mid-late	6.0	61	3.3	0.8	4,620	75	1.074	0.39
AG24004	Late	8.0	62	4.1	2.5	2,643	55	1.057	0.39
AG24005	Early-mid	6.0	36	2.7	0.0	3,099	78	1.083	0.06
AG24006	Mid	5.0		1.5	0.0	3,173	79	1.063	0.07
AG24007	Early	8.0	51	1.8	0.0	4,275	76	1.076	0.40
AG24008	Late	7.0	56	2.5	0.0	4,947	87	1.072	0.23
AG24009		3.0	47	2.7	0.0	6,375	86	1.064	0.55
AG24010	Mid-late	5.0	42	2.0	0.0	3,338	86	1.075	0.16
AG24012	Early	5.0	38	1.8	0.0	3,225	72	1.074	0.24
AG24013	Mid	5.0	47	2.3	5.5	3,779	77	1.058	0.27
AG32001	Early-mid	5.0	39	1.2	0.0	1,397	88	1.072	0.29
AG32004	Mid-late	7.0	65	1.3	0.0	3,061	89	1.051	0.18
AG32005	Mid-late	3.0	76	1.7	0.0	5,145	49	1.120	0.21
AG32007	Mid-late	7.0	78	2.8	0.0	9,089	74	1.052	0.32
AG32008	Mid	7.0	50	1.0	0.5	629	0		0.59
AG32009	Early	3.0	20	2.3	0.0	216	90	1.101	0.19
AG32011	Mid-late	7.0	37	1.3	9.0	5,728	24	1.094	
AG34001	Early-mid	1.0	59	1.7	0.0	1,888	100	1.061	
AG34002	Mid-late	7.0	27	1.2	0.0	821	68	1.086	0.43
AG34004			25	1.0		293	0	1.059	
AG34005	Mid	5.0	25	1.5		1,067	71	1.038	
AG34006	Mid	6.0	43	3.1	0.3	4,247	78	1.076	0.15
AG34007	Mid	5.0	48	1.0	0.0	1,013	54	1.044	
AG34008	Mid	5.0	79	1.9	0.0	2,635	85	1.071	0.19
AG34010			18	2.0		2,027	61	1.070	0.18
AG34012	Mid-late	5.0	41	1.0	0.0	1,301	64	1.077	0.90
AG34013			25	1.3		2,160	77	1.068	0.16
AG34014	Mid-late	5.0	43	1.5	0.3	2,914	53	1.058	0.59
AG34020	Mid-late	4.0	41	2.4	0.0	2,442	29	1.062	0.28
AG34023	Early-mid	7.0	48	2.9	0.8	3,663	78	1.071	0.10
AG34024	Late	2.0	34	1.5	0.3	1,064	45	1.060	0.18
AG34025	Mid-late	8.0	59	1.7	0.3	2,341	57	1.078	0.14

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ²	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG34026	Mid	5.0	52	2.1	0.5	4,498	82	1.071	0.11
AG34030	Early-mid	6.0	42	2.1	0.0	2,584	72	1.074	0.14
AG34032	Mid	5.0	29	1.2	2.5	917	51	1.104	
AG34034	Mid	7.0	42	2.7	0.0	5,041	90	1.074	0.20
AG34035	Mid	5.0	31	3.0	2.0	3,237	61	1.068	0.14
AG34036	Early	3.0	21	1.0	0.0	523	67	1.045	0.20
AG34037	Early-mid	3.0	43	2.7	0.0	4,565	100	1.061	
AG34038	Early-mid	3.0	52	1.3	2.0	3,818	89	1.078	
AG34041	Late	6.0	63	2.6	1.0	2,382	48	1.138	0.45
AG34042	Early	7.0	45	1.4	0.0	4,753	87	1.086	0.11
AG34043	Mid-late	5.0	65	2.6	0.3	2,118	62	1.077	0.16
AG34044	Early-mid	3.0	36	2.5	1.0	2,117	64	1.061	0.09
AG34045	Early-mid	3.0		2.2	0.0	791	33	1.064	0.33
AG34046	Mid-late	3.0		4.0	1.0	1,330	57	1.052	0.20
AG34047	Early-mid	3.0		1.9	0.0	1,618	82	1.065	0.09
AG34048	Mid	6.0	44	2.3	0.0	2,696	73	1.066	0.14
AG34050	Mid	5.0		1.9	0.5	2,746	74	1.064	0.33
AG34051	Mid-late	4.0	23	1.6	2.5	1,921	69	1.088	0.09
AG34052	Mid	9.0	56	1.8	0.0	3,090	98	1.083	0.46
AG34053	Late	5.0	55	2.1	0.8	3,363	81	1.064	0.17
AG34054	Mid	8.0	55	2.4	0.3	5,168	85	1.071	0.17
AG34055	Early-mid	4.0	49	2.1	1.3	1,405	71	1.068	0.24
AG34056	Early-mid	3.0		1.6	0.5	3,538	91	1.064	0.18
AG34057	Early-mid	5.0	50	2.9	0.3	4,985	91	1.066	0.30
AG34058	Mid	5.0	43	1.7	0.0	2,272	61	1.064	0.12
AG34059	Mid-late	5.0	32	1.2	0.0	3,538	85	1.065	0.37
AG34060	Mid-late	7.0	37	1.3	0.5	1,368	73	1.090	0.06
AG34061	Early-mid	7.0	48	2.1	0.0	4,161	77	1.076	0.14
AG34062	Mid-late	8.0	48	1.8	1.0	875	34	1.070	0.43
AG34063	Mid			2.3	0.0	4,089	83	1.081	0.27
AG34064	Mid-late	6.0	55	3.1	0.0	3,466	58	1.070	0.18
AG34065	Early-mid	4.0	46	1.6	0.0	2,143	72	1.064	0.23
AG34066	Mid	5.0		1.6	1.0	1,800	93	1.061	0.10
AG34067	Mid-late	4.0	27	1.4	0.8	1,104	91	1.064	0.22
AG34068	Mid	5.0	31	1.3	2.0	2,420	90	1.068	0.19
AG34070	Mid-late	6.0	46	2.1	1.0	3,246	62	1.073	0.21
AG34071	Mid	4.0	30	1.3	0.0	842	56	1.071	0.13
AG34072	Early-mid			3.0		4,035	96	1.071	0.14
AG34073	Mid-late	3.0	35	1.9	0.3	1,529	90	1.075	0.23

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG34074	Mid	4.0	37	2.5	0.0	2,788	72	1.079	0.12
AG34075	Mid	5.0	45	1.8	0.0	3,348	79	1.068	0.22
AG34076	Late	6.0	59	2.5	0.8	705	0	1.078	0.09
AG34077	Early-mid	4.0	43	2.3	0.3	3,156	80	1.066	0.19
AG34079	Late	3.0	22	2.0	4.0	1,113	26	1.046	0.13
AG34083	Late	5.0	77	2.1	0.0	5,052	51	1.170	0.26
AG34085	Mid-late	4.0	46	1.4	1.0	2,103	71	1.067	0.16
AG34090	Mid-late	5.0	64	2.0	0.0	5,337	80	1.052	0.41
AG34092	Early-mid	5.0	57	1.6	0.0	2,396	33	1.085	0.28
AG34093	Late	7.0	44	1.6	0.2	2,806	50	1.082	0.18
AG34094	Late	7.0	42	1.7	0.0	2,424	54	1.071	0.26
AG34095	Mid-late	5.0	56	1.8	0.0	2,006	36	1.061	0.60
AG34096	Late	3.0	63	2.2	0.5	2,869	74	1.069	0.65
AG34098	Mid-late	1.0	45	1.3	0.0	1,913	28	1.072	0.20
AG34104	Mid	5.0	57	2.2	0.0	2,995	78	1.057	0.43
AG34108	Mid-late	6.0	78	3.2	0.8	3,670	89	1.055	0.20
AG34109	Mid	6.0	44	1.5	0.8	1,610	58	1.056	0.31
AG34110	Late	9.0		2.5		2,302	66	1.064	0.14
AG34115	Mid	5.0	37	1.3	0.0	496	65	1.045	0.35
AG34117	Mid-late	7.0	78	1.4	3.0	740	18	1.076	
AG34118	Mid	3.0	63	1.0	0.0	907	100	1.127	
AG34120	Mid	7.0	48	2.2	2.0	5,936	85	1.075	0.17
AG34121	Late	3.0	65	1.0	4.0	619	0	1.065	0.27
AG34123	Mid	7.0	60	1.3	0.0	2,460	66	1.050	0.76
AG34124	Late	7.0	46	1.3	0.0	494	0	1.083	0.37
AG34127	Early-mid	7.0	71	1.1	0.0	2,002	58	1.107	0.72
AG34128	Mid-late	5.0	59	1.3	0.0	1,963	54	1.081	1.05
AG34129	Mid	3.0	28	1.0	2.0	1,280	85	1.075	0.28
AG34130	Late	5.0	25	1.2	0.0	1,418	82	1.051	0.15
AG34131	Mid-late	5.0	64	2.0	0.0	740	51	1.070	0.23
AG34132	Mid-late	7.0	42	1.8	0.0	1,445	80	1.073	0.34
AG34133	Mid-late	1.0	18	2.0	0.0	622	33	1.088	0.19
AG34134	Mid-late	2.0	32	1.1	1.0	772	45	1.052	0.22
AG34136	Early-mid	4.0	53	2.9	0.3	3,816	67	1.060	0.29
AG34137	Mid-late	6.0	58	2.0	0.3	4,746	39	1.059	0.43
AG34138	Mid	5.0	27	1.6	0.0	571	32	1.068	0.17
AG34140	Mid	5.0	66	1.3	0.0	4,945	92	1.077	0.18
AG34142	Mid	7.0		1.8	1.0	3,226	84	1.070	0.32
AG34143	Mid-late	6.0	50	2.2	0.5	3,523	51	1.094	0.15

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ²	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG34144	Mid-late	7.0	64	2.8	0.0	1,842	64	1.088	0.18
AG34145	Mid	3.0	41	3.2	0.0	3,946	72	1.063	0.34
AG34146	Late	6.0	52	1.4	0.0	2,396	78	1.064	0.30
AG34148	Mid	5.0	47	1.1	0.0	245	0	1.161	0.41
AG34149	Late	9.0	61	2.0	0.0	3,381	56	1.063	0.13
AG34151	Mid-late	6.0	59	2.1	0.3	2,951	58	1.106	0.35
AG34152	Mid	8.0	65	1.7	0.0	4,169	63	1.086	0.21
AG34153	Early-mid	7.0	61	2.9	0.3	4,401	78	1.081	0.42
AG34154	Mid-late				7.0	3,605	87	1.067	
AG34155	Mid	8.0	75	2.7	1.5	8,675	67	1.073	0.38
AG34156	Early-mid	5.0	49	2.1	0.8	4,530	88	1.062	0.19
AG34157	Early-mid	8.0	58	1.9	0.0	3,600	80	1.071	0.20
AG34158	Mid-late	3.0	40	2.5	3.5	2,671	67	1.072	0.41
AG34161	Mid-late	4.0	40	1.8	0.5	953	41	1.058	0.23
AG34162	Mid-late	7.0	56	2.4	0.0	1,589	40	1.070	0.38
AG34163	Mid	9.0	62	2.0	0.0	3,994	78	1.078	0.12
AG34167	Early-mid	7.0	62	2.0	0.0	4,238	70	1.096	0.19
AG34171	Mid	9.0	68	2.0	0.0	4,256	48	1.076	0.24
AG34172			21	1.5	0.0	3,296	71	1.073	0.25
AG34173	Mid-late	5.0	65	1.2	0.0	953	42	1.086	0.48
AG34174	Early-mid	5.0	37	1.8	0.0	1,468	13	1.060	0.19
AG34175	Late	3.0	74	1.9	0.0	1,308	13	1.077	0.38
AG34176	Mid-late	9.0	55	2.6	1.0	4,213	73	1.093	0.29
AG34184	Mid-late	7.0	32	1.3	0.0	149	0	1.084	0.28
AG34185	Mid-late	1.0	19	1.0	0.0	523	0	1.065	0.17
AG34186	Mid	5.0	61	2.0	0.0	1,077	50	1.115	0.16
AG34187	Early-mid	6.0	59	2.7	0.3	6,199	80	1.059	0.16
AG34188	Early	5.0	37	1.7	0.3	1,506	82	1.059	0.20
AG34189	Late	8.0	68	2.6	1.0	3,132	62	1.081	0.25
AG34190	Early-mid	6.0	53	1.7	0.0	2,388	49	1.075	0.12
AG34191	Early-mid	4.0	48	2.2	0.0	4,450	81	1.065	0.26
AG34192	Early-mid	7.0	56	2.1	0.8	3,666	49	1.061	0.46
AG34193	Late	3.0	48	1.9	0.5	3,484	73	1.062	0.33
AG34194	Mid-late	5.0	50	2.2	0.8	3,457	80	1.072	0.17
AG34195	Mid-late	9.0	64	2.5	0.5	5,841	79	1.073	0.32
AG34196	Mid-late	3.0		1.4	0.0	658	23	1.061	0.08
AG34197	Late	4.0	62	2.0	1.5	3,269	75	1.068	0.17
AG34198	Mid	5.0	38	2.4	0.5	3,134	56	1.074	0.21
AG34199	Mid-late	7.0	61	2.1	0.5	5,237	65	1.060	0.16

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ²	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG34200	Mid	3.0		1.0	0.5	1,133	91	1.066	0.29
AG34201	Mid-late	8.0	68	3.0	1.0	4,821	73	1.072	0.23
AG34202	Late	4.0	44	1.7	0.5	2,060	52	1.068	0.33
AG34203	Mid	7.0	41	2.1	0.3	4,102	88	1.054	0.30
AG34204	Mid-late	9.0	56	2.2	0.3	4,594	66	1.074	0.24
AG34205	Mid	4.0	54	2.1	0.8	3,946	75	1.067	0.20
AG34206	Mid	5.0	55	2.3	1.0	4,007	78	1.066	0.56
AG34207	Mid-late	4.0	33	2.1	0.8	1,440	66	1.082	0.25
AG34208	Mid-late	5.0	80	3.3	0.0	799	34	1.179	0.27
AG34209	Early -mid	6.0	48	1.8	1.0	2,199	75	1.070	0.36
AG34210	Mid-late	3.0	52	1.7	0.0	2,096	97	1.076	0.18
AG34211	Mid	5.0	40	1.7	0.3	1,966	66	1.077	0.11
AG34212	Late	7.0	36	1.7	1.0	2,818	67	1.069	0.07
AG34213	Mid	3.0	41	1.3	0.0	427	0	1.143	
AG34215	Mid	3.0	28	1.6	0.0	1,013	65	1.059	0.10
AG34216	Mid-late	9.0	93	2.3	0.7	4,330	71	1.065	0.56
AG34217			37	2.0		747	52	1.062	0.32
AG34220	Mid-late	9.0	73	1.9	0.0	6,307	83	1.057	0.77
AG34239	Mid-late	7.0	58	1.1	0.0	853	24	1.084	0.25
AG34240			48	1.5	0.0		21	1.066	0.21
AG34241	Mid-late	5.0	50	1.9	0.0	2,681	28	1.076	0.16
AG34242	Early	3.0	49	2.3	0.0	3,783	49	1.068	0.28
AG34243	Mid-late	7.0	57	1.1	0.0	3,491	51	1.070	0.41
AG34244	Mid-late	7.0	101	1.6	0.0	452	44	1.114	0.26
AG34245	Mid-late	9.0	51	2.0	0.0	3,481	50	1.078	0.30
AG34246			19	2.3	0.0	4,154	41	1.065	0.77
AG34247	Mid	9.0	89	1.9	0.0	1,280	29	1.062	0.56
AG34252	Mid-late	7.0	79	1.8	0.0	3,026	35	1.072	0.97
AG34254	Mid	7.0	69	1.8	0.0	2,418	54	1.078	0.11
AG34260	Mid-late	9.0	55	1.3	0.0	1,131	59	1.077	
AG34261	Late	7.0	86	2.0		2,357	34	1.042	
AG34263	Mid-late	7.0	83	1.9	0.0	3,061	89	1.076	0.71
AG34264	Late	9.0	71	1.4	0.0	2,546	55	1.060	0.54
AG34265	Mid-late	9.0	66	2.0	0.0	2,126	56	1.076	0.48
AG34267	Late	9.0	86	3.2	0.0	3,509	49	1.077	0.22
AG34268	Mid	9.0	82	3.2	0.0	2,268	7	1.090	0.25
AG34269	Mid-late	9.0	81	1.8	0.0	1,968	24	1.076	0.31
AG34270	Mid-late	5.0	38	1.9	0.0	295	0	1.095	0.24
AG34271	Mid	5.0	69	2.1	0.0	2,425	79	1.059	0.13

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG34272	Late	7.0	85	2.7	0.0	4,149	41	1.061	0.30
AG34273	Mid-late	9.0	70	3.0	0.0	2,926	84	1.065	
AG34274	Late	9.0	87	1.9	0.0	2,425	0	1.077	0.40
AG34276	Late	9.0	87	2.1	0.0	2,478	0	1.071	0.24
AG34279		3.0	12	4.0		6,016	84	1.050	
AG34281	Mid-late	5.0	75	1.7	0.0	3,058	33	1.066	0.21
AG34282	Late	9.0	73	2.0	0.0				0.19
AG34285	Early-mid	9.0	48	1.7	0.0	4,146	93	1.056	0.15
AG34286	Mid-late	9.0	80	1.0	0.0	2,459	33	1.086	0.17
AG34287	Mid-late	7.0	61	2.9	0.0	4,618	82	1.054	0.26
AG44001	Mid	7.0	48	2.7	0.0	3,552	66	1.061	0.15
AG44002	Mid	6.0	61	2.1	0.3	5,241	87	1.062	0.28
AG44003	Mid-late	6.0	42	2.3	0.0	3,674	69	1.078	0.11
AG44004	Mid-late	7.0	57	2.1	0.5	3,705	73	1.066	0.23
AG44005		3.0		2.3	5.0	987	72	1.066	0.16
AG44006	Mid	5.0	47	2.3	5.5	3,779	77	1.058	0.27
AG44007	Mid-late			2.0	0.0	1,067	0	1.037	0.14
AG44008		3.0		2.0	0.5	400	26		0.06
AG44009	Early-mid	4.0	25	2.1	1.3	1,885	67	1.058	0.18
AG44010	Mid-late	5.0	51	2.4	2.0	5,173	73	1.061	0.24
AG44011	Late	5.0	33	1.2	1.0	2,153	56	1.051	0.27
AG44012	Mid	2.0	34	1.4	1.3	1,594	59	1.097	0.10
AG44013	Mid-late	7.0	51	2.2	0.0	5,807	85	1.064	0.27
AG44014	Early-mid	4.0	51	2.7	0.0	2,789	74	1.056	0.25
AG44015	Late	5.0		1.4	0.0	2,978	94	1.082	0.16
AG44016	Mid	5.0	59	2.0	0.5	4,817	85	1.062	0.28
AG44017	Mid	6.0	47	2.7	0.0	4,730	78	1.072	0.22
AG44018	Late	3.0		1.1	0.0	1,211	82	1.076	0.09
AG44019	Mid-late	3.0	48	2.8	0.8	3,380	74	1.051	0.17
AG44020	Mid-late	6.0	62	2.0	0.5	3,961	77	1.054	0.19
AG44021	Mid	8.0	50	2.0	0.3	3,621	75	1.081	0.31
AG44022	Mid	4.0	53	2.0	0.5	3,367	74	1.071	0.24
AG44023	Early-mid	6.0	45	1.6	0.8	2,672	58	1.064	0.20
AG44024	Mid-late	7.0	53	2.6	0.0	2,873	74	1.066	0.55
AG44025	Early-mid	4.0	35	2.2	2.3	1,578	70	1.077	0.11
AG44026	Early	3.0	31	2.4	0.0	1,524	62	1.062	0.22
AG44027	Mid-late	7.0	66	2.4	0.0	1,920	45	1.061	0.27
AG44028	Mid	9.0	58	1.8	0.0	3,433	63	1.054	0.42
AG44029	Early-mid			1.3	0.0	2,293	75	1.068	0.22

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ²	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG44030	Early-mid	4.0	36	2.1	0.0	2,471	59	1.061	0.22
AG44031		5.0	41	2.5	0.3	2,403	57	1.056	0.28
AG44032	Early-mid	5.0	41	1.7	0.0	2,792	43	1.067	0.13
AG44033	Mid	7.0	41	1.1	0.3	3,036	70	1.067	0.23
AG44034	Mid-late	7.0	29	1.4	0.0	4,136	65	1.064	0.20
AG44035	Mid-late	5.0	59	2.7	0.0	3,196	72	1.069	0.19
AG44036	Early-mid	6.0	58	2.6	0.0	4,011	63	1.073	0.12
AG44037	Early-mid	6.0	62	1.9	0.8	2,854	84	1.076	0.29
AG44038	Mid	6.0	55	2.7	0.0	3,940	79	1.071	0.15
AG44039	Mid-late	6.0	68	2.0	1.0	4,777	55	1.085	0.25
AG44040	Late	3.0		1.1	0.0	707	31	1.052	0.19
AG44041	Mid-late	7.0	49	3.1	0.0	3,762	62	1.079	0.10
AG44042	Mid	6.0	58	2.9	0.5	4,265	73	1.076	0.14
AG44043	Mid-late	4.0	51	2.6	0.3	4,229	46	1.069	0.20
AG44044	Late	4.0	35	1.6	0.0	2,227	73	1.067	0.15
AG44045	Early	8.0	54	2.1	0.0	4,229	69	1.069	0.13
AG44046	Mid-late	5.0		3.2	0.0	3,600	85	1.070	0.12
AG44047	Mid-late	6.0	26	2.3	0.0	1,985	77	1.068	0.15
AG44048	Mid	6.0	57	2.0	0.3	5,710	74	1.066	0.19
AG44049	Mid	6.0	41	1.6	0.0	1,295	77	1.056	0.11
AG44050	Mid	5.0	59	2.1	0.5	3,328	72	1.070	0.19
AG44051	Early-mid	7.0	75	2.8	0.5	7,289	73	1.055	0.67
AG44052	Mid-late	6.0	63	2.8	0.0	647	0	1.068	0.39
AG44053	Mid-late	4.0	35	1.2	2.8	367	35	1.140	0.16
AG44054	Mid-late	5.0	44	1.4	0.0	3,618	83	1.067	0.19
AG44055	Mid	5.0	35	2.5	0.3	2,857	70	1.057	0.29
AG44056	Late	5.0		1.5	2.0	3,342	93	1.069	0.06
AG44057	Early-mid	5.0	51	2.1	0.0	3,500	46	1.063	0.45
AG44058	Mid	3.0	43	1.5	1.0	3,768	55	1.061	0.20
AG44059	Early-mid	3.0	58	2.4	0.3	3,001	60	1.058	0.13
AG44060	Mid-late	5.0	50	2.1	0.0	2,943	62	1.073	0.21
AG44061	Mid	3.0		2.0	1.0	1,200	56	1.045	0.16
AG44062	Mid	3.0		2.4	0.0	4,453	87	1.063	0.15
AG44063	Mid-late	3.0	24	2.3	0.0	2,929	62	1.062	0.19
AG44064	Mid-late	7.0	70	2.6	1.3	4,071	71	1.068	0.53
AG44065	Mid	7.0	85	2.6	0.0	6,132	78	1.062	0.29
AG44066	Mid-late	9.0	69	1.6	0.3	3,910	91	1.079	0.18
AG44067	Mid-late	7.0		2.8	1.0	2,640	77	1.079	0.10
AG44068	Early-mid	5.0	47	1.8	0.3	2,871	70	1.080	0.08

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG44069	Mid	2.0	39	2.0	0.3	2,011	73	1.071	0.09
AG44070	Mid	6.0	40	3.5	0.0	5,123	77	1.084	0.29
AG44071	Mid-late	5.0	40	1.6	0.3	1,483	95	1.076	0.10
AG44073	Mid	7.0	38	2.1	0.0	3,630	68	1.074	0.29
AG44074	Mid	6.0	28	1.2	0.3	1,926	69	1.082	0.17
AG44075			58	2.3	0.0	5,749	94	1.065	0.12
AG44076	Early-mid	7.0	53	2.2	1.8	4,031	66	1.061	0.27
AG44077	Mid	6.0	52	2.6	0.0	2,997	69	1.074	0.22
AG44080	Early-mid	4.0	56	2.1	0.3	3,896	77	1.054	0.44
AG44081	Mid-late	7.0	58	1.1	0.0	3,488	62	1.068	0.16
AG44082	Mid	8.0	75	2.1	0.5	5,497	83	1.076	0.25
AG44084	Mid-late	5.0	57	2.4	0.8	3,469	86	1.087	0.25
AG44088	Mid	3.0	25	3.0	0.0	2,379	89	1.073	
AG44089	Mid-late	3.0	61	1.4	0.0	804	86	1.082	0.18
AG44090	Mid-late	7.0	63	1.3	0.0	576	100	1.061	
AG44092	Mid	3.0	77	3.0	0.0	3,861	83	1.033	0.10
AG44093	Mid-late	5.0	32	2.3		1,125	83	1.119	
AG44094	Mid-late	5.0	55	2.6	0.0	1,966	54	1.057	0.33
AG44096	Mid-late	5.0	48	1.0	0.0	1,333	100	1.080	
AG44097	Mid-late	5.0	43	1.3	0.0	636	35	1.067	0.24
AG44098	Late	5.0	58	1.8	0.0	2,108	57	1.078	0.29
AG44099	Mid-late	5.0	65	1.0	0.0	487	47	1.042	0.31
AG44100	Mid	1.0	13	1.0	0.0	352	0	1.067	
AG44102	Mid-late	3.0	51	3.0	0.0	3,952	92	1.053	0.56
AG44103	Mid	9.0	62	1.8	0.0	793	62	1.066	0.34
AG44104	Mid-late	3.0	52	1.2	0.0	2,069	64	1.044	0.40
AG44105	Late	5.0	45	1.0	0.0	1,216	43	1.060	0.01
AG44106	Mid-late	7.0	55	2.0	0.0	0		1.062	0.67
AG44108	Mid-late	7.0	58	2.6	0.0	1,131	59	1.078	0.72
AG44109	Mid-late	9.0	93	1.9	0.0	2,066	91	1.059	0.28
AG44111	Mid	5.0	71	2.3	0.0	3,210	73	1.063	0.36
AG44112	Late	7.0	44	3.2	2.0	1,867	62	1.068	0.74
AG44113	Mid-late	9.0	61	3.4	4.5	4,686	48	1.056	0.20
AG44115		3.0	42	1.9	0.0	1,397	61	1.082	0.16
AG44118	Mid-late	5.0	44	1.3	0.0	1,008	62	1.099	0.31
AG44120	Mid-late	7.0	54	2.0	0.0	4,527	82	1.079	0.30
AG44121	Mid	3.0	44	1.6	0.0	2,466	81	1.074	0.20
AG44122	Mid	7.0	60	3.8	1.3	4,634	72	1.084	0.25
AG44123	Mid-late	9.0	50	1.2	0.0	2,793	50	1.069	0.17

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AG44124	Early	8.0	45	2.0	0.0	2,915	99	1.064	0.15
AG44125	Mid-late	7.0	51	2.3	0.0	3,858	36	1.088	0.19
AG44126	Early-mid	7.0	79	1.5	0.0	2,805	66	1.066	0.52
AG44129	Mid-late	7.0	67	1.3	0.0	3,434	84	1.056	0.35
AG44132		3.0	39	1.0		117	0		
AG44133	Early-mid	7.0	58	1.3	0.0	1,600	51	1.070	0.80
AU22001	Mid-late	5.0	73	1.4	0.0		51	1.063	0.72
AU22002	Mid-late	3.0	61	1.4	0.0		47	1.078	0.34
AU22003	Mid-late	3.0	48	1.3	0.0		96	1.068	0.47
AU22004	Mid	7.0	49	1.5	0.0		54	1.105	0.65
AU22005	Mid-late	3.0	53	1.6	0.0		93	1.066	1.04
AU22007	Mid-late	5.0	81	4.5	0.0		0	1.065	0.48
AU22008	Late		40	3.0			0	1.045	
AU22009	Mid	5.0	51	2.4	0.0		89	1.073	0.40
AU22010	Early	3.0	54	2.4	0.0		76	1.062	0.28
AU22011	Mid-late	1.0	47	2.5	0.0		20	1.098	
AU22012	Mid-late	5.0	57	2.2	0.0		42	1.067	0.49
AU22013	Mid-late	5.0	40	2.0	0.0		85	1.080	0.28
AU22014	Mid	3.0	66	3.6	0.5		30	1.064	0.07
AU22016	Mid	1.0	43	1.0	0.0		98		0.42
AU22018	Early	1.0	50	1.8			81	1.071	
AU22019	Mid-late	5.0	52	1.9	0.0		36	1.062	0.10
AU22020	Mid-late	3.0	70	1.0			38	1.083	
AU22023	Mid	3.0	36	1.2	0.0		0	1.094	0.52
AU22024	Mid-late	9.0	51	3.3	0.0		15	1.065	0.52
AU22025	Mid	5.0	33	1.2	0.0		70	1.055	0.74
AU22026	Early-mid	5.0	38	1.7	2.0		27	1.063	
AU22027	Mid-late	5.0	29	2.7	0.0			1.100	0.56
AU22028	Mid-late	3.0	45	1.2	8.0		42	1.052	1.04
AU22031	Mid-late	3.0	33	2.5	0.0		41	1.067	0.40
AU22032	Mid-late	5.0	45	2.3	0.0		0		0.25
AU22033	Early	1.0	28	4.0	0.0		36	1.074	0.15
AU22034	Mid-late	3.0	51	1.2	0.0		88	1.069	
AU22035	Early	3.0	29	1.8	0.0		87	1.091	0.14
AU22036	Mid-late	3.0	53	1.7	0.0		30	1.065	0.48
AU22037	Mid-late	3.0	67	3.3	0.0		0	1.078	
AU22038	Mid-late	7.0	53	1.7	0.0		90	1.058	0.19
AU22039	Early-mid	7.0	58	2.0	0.0		43	1.054	0.26
AU22040	Late	5.0	72	1.5	0.0		63	1.056	0.12

Table 4. continued

Clones	Maturity	Plant vigor ^z	Height of stems(cm)	No. of stems	Scabies ^y	Yield (kg/10a)	Rates of MTY ^x	Specific gravity	Glucose (%)
AU22041	Late	7.0	59	2.2	0.0		74	1.071	0.25
AU22042	Mid-late	3.0	49	1.3	0.0		100	1.074	0.41
AU22043	Early	7.0	70	2.7	0.0		19	1.070	0.11
AU22044	Mid	7.0	54	1.3	0.0		56	1.061	0.31
AU22045	Mid	3.0	56	1.5	0.0		0		0.22
AU22046	Early-mid	5.0	38	1.2	0.0		32	1.096	0.20
AU22047	Early	3.0	36	3.8	3.5		86	1.057	0.42
AU22048	Mid-late	7.0	60	2.9	2.0		22	1.072	0.26
AU22049	Late	3.0	33	1.5	0.0		0	1.077	
AU22050	Mid	7.0	45	1.4	0.0		84	1.053	0.29
AU22052	Early	3.0	17	1.2	0.0		27	1.077	0.14
AU33001			71	1.3	0.0		45	1.152	0.23
AU33002	Mid-late	3.0	66	1.0	0.0			1.121	0.18
AU33003			65	3.5	0.0		87	1.047	0.50
AU33004	Mid-late	1.0	45	2.0	0.0		0	1.000	0.28
AU33005	Mid	1.0	67	1.7	0.0		10	1.288	0.92
AU33006	Mid-late	3.0	38	1.7	0.0		0	1.145	0.24
AU33007	Mid	3.0	70	2.3	0.0		6	1.127	0.17
AU33011	Early-mid	7.0	82	2.0	0.0		14	1.094	0.20
AU33012	Mid-late	5.0	44	1.2	0.0		93	1.081	0.25
AU42002	Mid-late	7.0	78	1.9	0.0		0	1.079	0.64
AU42003	Mid-late	7.0	73	1.9	0.0		0	1.139	0.99
AU42004	Mid-late	7.0	66	1.2	0.0			1.091	1.08

^z 1=very weak, 3=weak, 5=medium, 7=strong, 9=very strong

^y 0= no symptom, 1= 1~5% symptom area, 3= 6 ~20 %, 5= 21~40%, 7= 41~60%, 9=more than 61%

^x Rates of maketable tuber yield, more than 50g

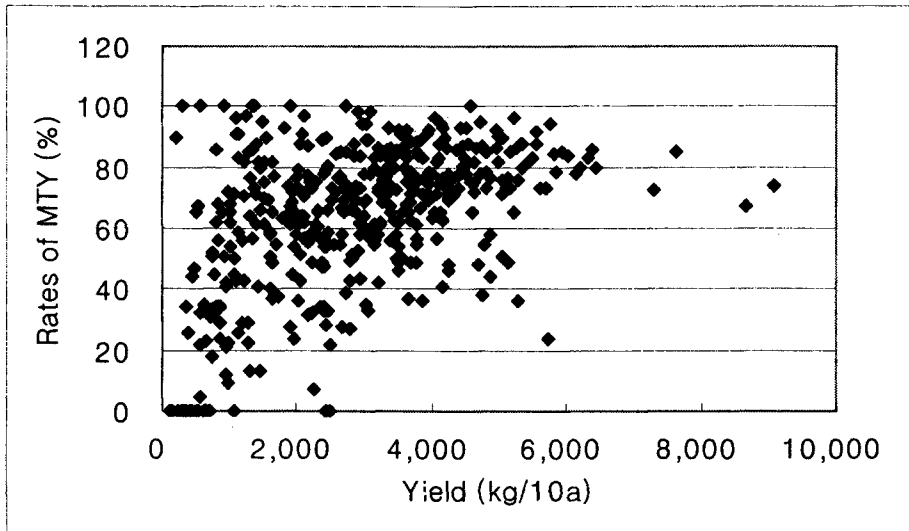


Figure 5. Distribution of tuber yield and rates of marketable tuber yield in evaluated potato germplasms.

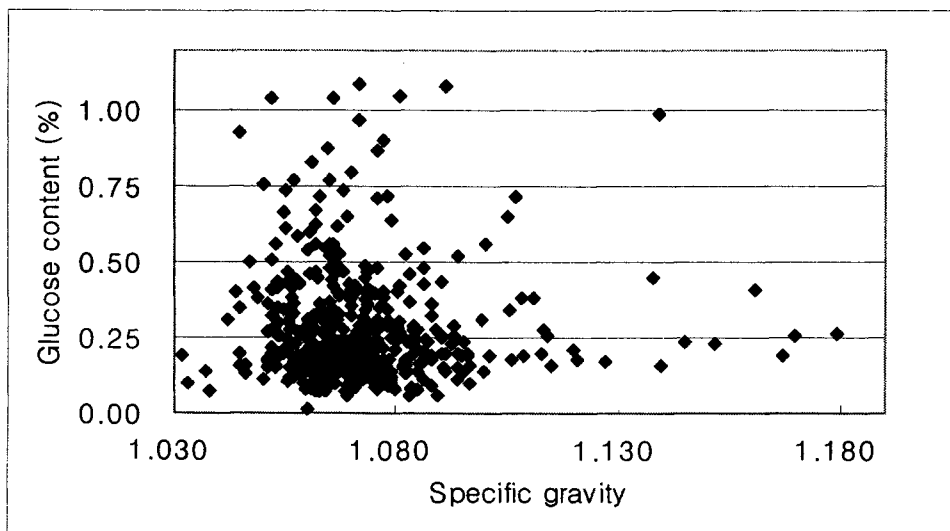


Figure 6. Distribution of specific gravity and glucose content of evaluated potato germplasms.

3. 감자역병 저항성 유전자원의 개발

가. 재료 및 방법

감자 유전자원중 포장 및 실내에서의 저항성 평가를 통하여 역병에 매우 강한 것으로 평가된 6계통의 유전자원을 교배모본으로 이용하였다. 4배체 재배종간 교잡을 위하여 역병에 저항성인 계통으로 AG14065와 AG34094, 역병에 약한 계통으로는 AG24006을 공시하여 이면교잡을 실시하였다. 교배모본으로 사용된 2배체 계통들은 동국대학교에서 선발된 계통으로서 중간잡종 계통인 F9-124와 F9-99를 모본으로 하고 근연야생종인 *Solanum berthaultii*에서 선발된 berB-1을 부분으로 하여 인공교배를 하였다. 개화한 꽃을 채취하여 1일간 음건시킨 뒤 바이브레이터로 화분을 털어 내어 젤라틴 캡슐에 화분을 저장하여 사용하였으며, 당일 개화한 꽃에서 약을 핀셋으로 제거하고 채취한 화분을 인공교배 하였다.

수정이 이루어진 열매진 착과 후 약 40일경에 수확하여 2주간 후숙시킨 다음 종자를 분리하였다. 분리한 종자는 4℃에 저장하였다가 이듬해 봄에 실생1세대를 전개하였다. 7조합 2,240여립의 진정종자를 2004년 4월 20일 32공 플러그 트레이에 파종하였다. 육묘용 상토는 시중에서 판매되는 육묘용 상토(쑥쑥이, 한농)를 사용하였고, 발아 후 묘의 생육상태에 따라 주 1회 영양액(하이포넥스 액비 1,000배액)을 엽면시비하였고, 주기적으로 분무형 스프링클러로 관수하여 적습상태를 유지하였다.

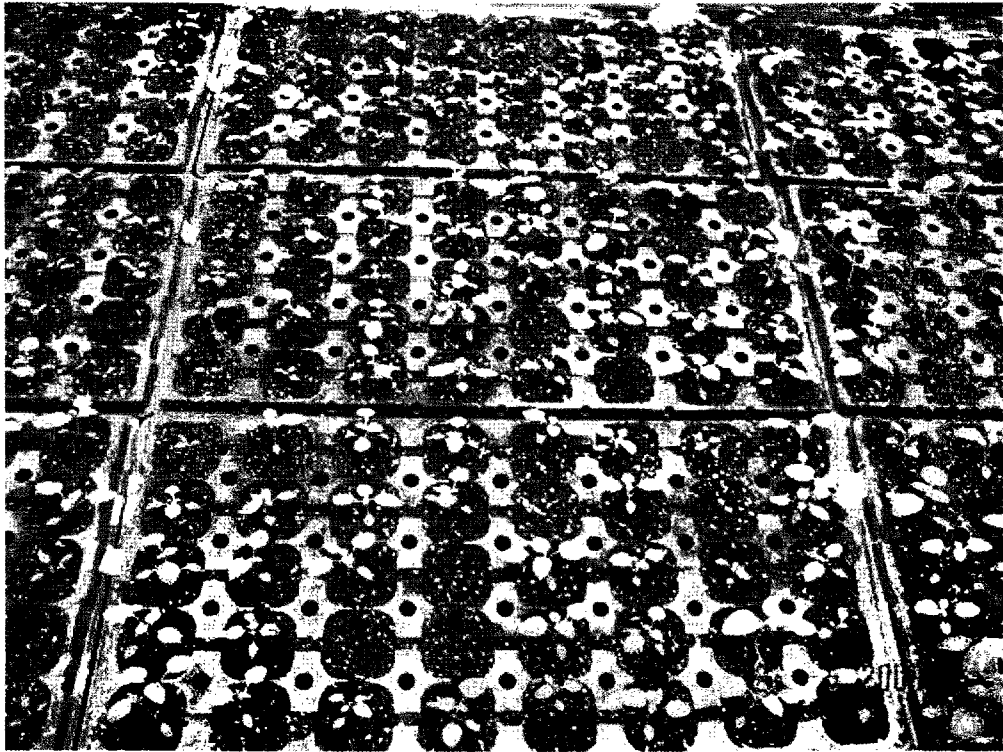


Figure 3. Seedling of progenies using 32 hole plug tray.

나. 결과 및 고찰

4배체 재배종간 교잡에서는 5조합 5,852립, 2배체간 교잡에서는 2조합 1,030립의 종자를 획득하였다. 착과율은 2배체간 조합이 29.7%, 4배체간 조합이 78.6% 였고, 1개의 열매당 종자의 수는 2배체간 조합에서 31개, 4배체간 조합에서는 평균 133개였다. 이처럼 2배체간 조합이 4배체간 조합보다 착과율도 낮고 1과당 종자수가 낮은 것은, 배수성 작물에서는 배수성이 감소됨에 따라 양적형질의 발현정도가 감소될 뿐만 아니라 개화 및 임성이 저하되어 교배육종의 장애요인이 되고 있음을 알 수 있었다(Hermunstad & Peloquin, 1985). 본 시험에서 모본으로 이용된 F9 계통들은 4배체에서 유기된 반수체를 다시 근연야생종과 교잡된 후대로서 일반적인 반수체에 비해 임성이 많이 회복되어 비교적 임성이 높은 것으로 나타났다(Carrloo & Maine, 1989).

본 시험에서 생산된 후대의 종자는 현재 조합별로 약 320립 정도씩 플러그 트레이에 파종하여 비가림 하우스 내에서 생육 중에 있으며 여기에서 생산된 괴경은 후대 검정을 통하여 역병 저항성 계통을 선발할 예정이다.

Table 5. The results of crossing among potato clones with different resistance levels to *P. infestans*.

Ploidy	Female	Male	No. of flowers crossed	No. of fruits set	Percentage of fruits set	No. of seeds	No. of seeds/fruit
4x×4x	AG14065	AG24006	23	16	69.6	2,350	147
4x×4x	AG14065	AG34094	3	2	66.7	440	220
4x×4x	AG34094	AG24006	13	12	92.3	1,155	96
4x×4x	AG34094	AG14065	14	12	85.7	1,493	124
4x×4x	AG24006	AG14065	3	2	66.7	414	207
Mean			56	44	78.6	5,852	133
2x×2x	F9-124	berB-1	22	14	63.6	410	29
2x×2x	F9-99	berB-1	89	19	21.3	620	33
Mean			111	33	29.7	1,030	31

^z Resistance clones : AG14065, AG34094, F9-124, F9-99, BerB-1

Susceptible clones : AG24006

제3절 역병 저항성 감자계통의 세포 유전적 특성 연구

1. 교배 양친의 체세포 염색체 검정과 감수분열기 검정

가. 재료 및 방법

1) 양친의 임성 검정, 2n gamete 형성 검사

Wisconsin에서 분양받은 역병 저항성 근연야생종 8종을 발아시켜 강원도 고령지 농업시험장 온실에서 재배하며 야생종의 개화시기에, 각 클론 당 3개 이상의 화약을 수집하여 3일 또는 그 이상 실내 혹은 저온고에서 건조시켰다. 분양받아 재배한 8개의 종은 2배체 4종, 4배체 2종, 6배체 2종이다. vibrator로 털어 내어 양이 적은 순으로 1, 2, 3 으로 표시하고, 각각 aceto-carmin glycerol로 염색하여 적어도 100개 이상의 화분을 계수하고, 염색 여부에 따라 임성을 조사하였다. 각 계통 내에서 화분의 평균 크기보다 30% 이상 큰 것은 2n으로 간주하였다.

2) 역병 저항성 검사

강원도 강릉시 대기리에서 2002년 7월 중순에 분리한 R1,3 인 역병균을 가지고, 생장일 수 70일인 온실재배된 식물체 감자의 상위엽을 가지고 실험하였다.

R1,3는 강원지역에서 가장 많이 분리되는 형이며 괴경을 이용하여 분리한 병원균을 PARP(pimaricin, ampicilline, rifamficin, pentachloronitrobenzen) 선택 배지에 10일 배양후 균사를 수거하고 30min. 4℃에서 처리 유주자를 유도하고 접종 농도를 1.05×10^6 /ml로 하였다.

Water agar 배지에 식물체의 상위엽 약 6개씩을 놓고 뒷면에 $20 \mu\text{l}$ 씩 접종하고 실온에서 12시간 처리 후, 잎의표면이 위쪽으로 향하도록 돌려 놓고 6000lux, 20℃, 8h, 0lux, 15℃, 16h으로 5일간 배양하였다.

해부 현미경을 이용 병원균의 sporulation 여부를 확인하였고, 기주의 저항성 반응은 괴저(N:necrosis), 갈변(BA:brown area, BS:brown spot), 이상세포증식(C:canker),

천공(P:pore), 황화(Y:yellowing)으로 구분하여 확인하였다.

3) 감수분열기의 세포질 분해 및 burning 방법 규명

*Solanum tuberosum*의 반수체와 *S. commersonii* LZ 3.2(PI#320266)의 융합잡종의 여교잡 후대자손을 재료로 이용하였다.

가) 식물체의 기내 유지

멸균된 MS 증식배지를 사용하여 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 하에 16시간의 광(4000~5000 lux)과 8시간의 암상태에서 계대 배양하며 유지되었다.

나) 염색체 슬라이드 준비

(1) 전처리와 보관

포장과 기내 식물체를 화분에 옮겨 growth chamber에서 24°C 하에 16시간의 광과 18°C 하에 8시간의 암상태를 유지하여 화아를 채취하였다. 약 5mm 내외 크기의 화아를 수집하여 전처리 없이 Farmer's solution (EtOH : acetic acid =3:1)에서 24시간 고정하였다. 이를 70% ethanol에 옮겨서 4°C 에 보관하였다.

(2)슬라이드 준비

Slide glass위에서 1/2개의 수술만을 채취하여 acetocamine용액을 넣고 메스로 그 안에 있는 화분모세포를 꺼내고 화분모세포 이외의 조직은 제거한 후 coverglass를 덮고 압착(squash)하였다. -70°C deep freezer에 3시간 이상 보관한 후 cover glass를 제거하고 실온의 증류수에서 각각 두 번, 37°C enzyme buffer로 한 번 행균 후 이를 말리고, enzyme mixtuer(1% cellulase, 10% pectinase in enzyme buffer, pH 4.6)로 37°C Slide warmer에서 약 35분 처리하였다. 37°C 의 증류수에 각기 두 번을 행균 후완 완전히 말리고, Methanol : acetic acid = 3:1에 한번 세척하고 두 번째에

는 Methanol : acetic acid = 3:1를 충분히 취하여 알코올 램프불에 태웠다(burning).

나. 결과 및 고찰

1) 양친의 입성 검정, 2n gamete 형성 검사

<Table 1>을 보면 pollen의 양이 대체적으로 많은 편이며, wlb 6, *S. hjertingii*(PI 186559)는 상대적으로 화분의 양이 적다. 그리고 wlb10-10의 경우 화분이 나오지 않았다.

화분 염색율이 10% 이하인 clone들이 82개 clone 중 31개 clone이었고 이들은 육종재료로 이용하기 부적당하다고 판단된다. wlb8(*S. demissum*)은 모든 clone의 화분 염색율이 10% 이하인 반면 wlb6(*S. hjertingii*)은 모든 clone의 화분 염색율이 높았다.

2배체종 *S. megistacrolobum*(wlb1), *S. polyadenium*(wlb3)과 *S. phureja*(wlb10)는 2EBN이므로 이들 중 2n 화분이 형성되면 4배체인 *S. tuberosum* 재배종과 교배가 가능할 것이다. *S. jamesii*는 1EBN이므로 *S. tuberosum* 4배체(2n=48, 4EBN) 반수체(2n=24, 2EBN)와도 교배가 되지 않으므로 육종에 이용하려면 세포 융합기법을 써야할 것이다.

wlb3-14(*S. polyadenium*, PI310963, 2n=24)은 2.57%의 2n pollen을 생산하여, 이 clone 만이 재배품종과 교배가 가능할 것으로 사려된다. 다른 clone들의 재배종 반수체와 교배하여 이용할 수 있다.

Table 1. Pollen quantity, sterility and 2n pollen

Clone number (species, PI#)		pollen quantity	sterility(%)	2n pollen(%)
Wlb 1(<i>S. megistacrolobum</i> , PI 195210, 2n=24, 2EBN)	-1	2.3	32.57	0.00
	-2	2.3	7.45	0.03
	-3	3.0	11.85	0.00
	-4	2.3	20.57	0.00
Wlb 3(<i>S. polyadenium</i> , PI 310963, 2n=24)	-1	1.7	19.72	0.72
	-3	1.7	33.48	0.54
	-4	1.7	5.81	0.32
	-5	2.7	15.49	0.66
	-6	1.7	47.02	0.26
	-7	1.7	27.00	0.47
	-9	3.0	10.27	0.07
	-10	2.0	13.12	0.65
	-11	2.0	2.23	0.08
	-12	1.7	36.21	1.04
	-13	2.3	7.49	0.34
	-14	1.0	32.13	2.57
	-15	2.3	8.90	0.41
	-16	2.0	14.85	0.32
-17	1.0	33.03	0.94	
-19	1.3	11.57	0.00	
Wlb 4(<i>S. jamesii</i> , PI 195190, 2n=24, 1EBN)	-3	2.0	7.71	0.00
Wlb 9(<i>S. multidisectum</i> , PI 210044, 2n=24, 2EBN)	-1	3.7	23.52	0.06
Wlb 10(<i>S. phureja</i> , PI 320359, 2n=24, 2EBN)	-1	1.7	29.90	0.05
	-2	2.7	14.67	0.07
	-3	3.7	37.60	0.01
	-4	1.0	62.05	0.30
	-5	2.0	49.74	0.05
	-6	2.7	28.05	0.01
	-8	1.7	23.95	0.00
	-9	1.7	34.11	0.00
	-10	0.0	0.00	0.00

Table 1. continued

<p>Wlb 6(<i>S. hjertingii</i>, PI 186559, 2n=48, 2EBN)</p>	-1	2.3	52.39	0.01	
	-2	1.0	81.90	3.17	
	-4	1.3	57.62	0.91	
	-5	1.5	45.25	0.04	
	-6	1.7	66.85	0.11	
	-7	1.0	61.48	0.38	
	-8	1.7	42.16	0.51	
	-9	2.0	36.73	0.11	
	-11	1.3	51.89	0.05	
	-12	1.0	67.74	0.00	
	-13	0.3	25.00	0.21	
	-14	1.0	49.76	0.04	
	-15	1.3	53.76	0.15	
	-16	1.7	39.20	0.38	
	-17	1.0	79.95	0.55	
	<p>Wlb 7(<i>S. fendleri</i>, PI 225661, 2n=48, EBN=2)</p>	-1	2.7	6.91	0.98
		-2	2.3	6.41	0.26
-3		2.3	36.91	0.59	
-5		2.0	22.34	0.64	
-6		2.3	10.85	0.54	
-7		2.0	10.22	0.36	
-8		2.0	21.87	0.49	
-11		3.0	22.53	0.91	
-12		2.0	3.16	0.53	
-13		1.7	22.53	0.35	
-15		2.0	8.08	0.30	
-16		1.7	10.51	1.20	
-17		1.7	24.68	0.38	
<p>Wlb 5(<i>S. hougasii</i>, PI 161726, 2n=72 4EBN)</p>	-1	1.0	33.19	0.00	
	-3	3.0	3.94	0.00	
	-4	2.7	6.27	0.08	
	-5	3.3	6.51	0.04	
	-6	3.0	4.66	0.28	
	-8	1.3	54.45	0.00	
	-12	2.7	17.55	0.93	

Table 1. continued

Wlb 8(<i>S. demissum</i> , PI 160208, 2n=72, 4EBN)	-1	1.7	2.36	0.00
	-2	1.7	2.03	0.00
	-3	1.3	1.48	0.00
	-4	1.5	5.22	0.00
	-5	1.0	7.29	0.00
	-6	1.7	1.50	0.00
	-7	2.0	2.70	0.00
	-8	1.7	6.69	0.00
	-9	1.7	2.45	0.00
	-10	2.0	2.91	0.61
	-11	1.7	4.85	0.00
	-12	2.0	2.92	0.00
	-13	1.3	4.54	0.21
	-14	2.0	1.99	0.00
	-15	1.3	1.77	0.00
	-16	1.7	1.45	0.77

* pollen quantity: 1 : some 2 : middle 3 : much

: pollen quantity per flower/number of flowers

* sterility : sterile pollen(unstained with aceto-carmin)/total pollen \times 100

* 2n pollen : about 30% larger than the other pollens

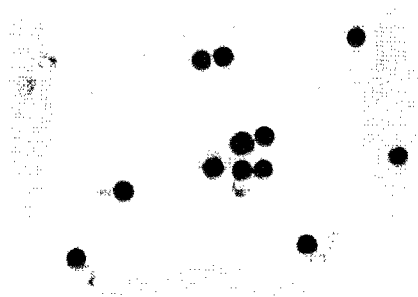


Figure 1. Pollen of *S. polyadenium* Wlb3-12, arrow indicates 2n pollen, \times 200

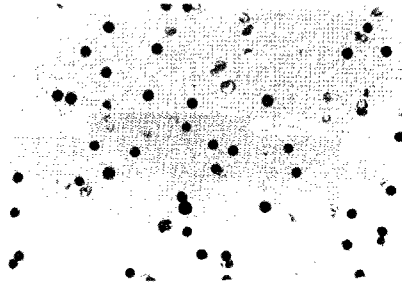


Figure 2. Pollen of *S. polyadenium* Wlb3-17, arrow indicates sterile pollen, $\times 100$

2) 역병 저항성 검사

대부분이 저항성을 보였으며, 각기 저항성 반응으로 괴저, 갈변, 천공, 이상세포증식, 황화반응을 과민성반응으로 보였다. 또 저항성인 Wlb1-2, wlb3-15, Wlb5-1, 2, 3, Wlb6-16은 과민성 반응도 거의 나타나지 않았다. Wlb10-3, 6, 8, 9, 10은 잎의 표면에 포자가 형성되는 감수성을 보였다. 따라서 이들을 제외한 나머지를 역병 저항성 도입을 위한 재료로 이용할 수 있을 것이다.

Table 2. Response of detached potato leaves inoculated with zoospore suspension of *Phytophthora infestans*

Clone number (species, PI#)		Sporu- -lation	Symptoms ¹					Response
			N	BA	BS	C	P	
Wlb 1(<i>S. megistacrolobum</i> , PI 195210, 2n=24, 2EBN)	-1			○ ²				R
	-2							HR
Wlb2(<i>S. microdontum</i> , PI 195185, 2n=24, 2EBN)	-1			○				R
Wlb 3(<i>S. polyadenium</i> , PI 310963, 2n=24)	-1		○		○			R
	-2		○	○	○	○		R
	-3		○	○	○	○		R
	-4		○	○	○	○		R
	-5		○	○	○	○		R
	-6				○	○		R
	-7		○	○	○	○		R
	-8					○		R
	-9				○	○		R
	-10		○	○	○	○		R
	-11		○	○	- ³	○	○	R
	-12		○	○	○	○	○	R
	-13			○	○	○		R
	-14				○	○		R
	-15				-	○		HR
	-16		○	○				R
	-17		○	○	○	○		R
	-18		○	○	○	○	○	R
	-19			○	○		○	R
Wlb 4(<i>S. jamesii</i> , PI 195190, 2n=24, 1EBN)	-1		○	○	○		○	R
	-3				-			R
Wlb 9(<i>S. multidisectum</i> , PI 210044, 2n=24, 2EBN)	-1		○		○			R
Wlb 10(<i>S. phureja</i> , PI 320359, 2n=24, 2EBN)	-1		○		○			R
	-2			○	○	○		R
	-3	○	○	○	○			S
	-4		○	○	○			R
	-5		○	○	○			R
	-6	○	○	○	○		○	S
	-8	○	○	○	○			S
	-9	○	○	○				S
	-10	○	○	○				S

Table 2. continued

<p>Wlb 5(<i>S. hougasii</i>, PI 161726, 2n=72 4EBN)</p>	-1				-			HR
	-2							HR
	-3			-	-			HR
	-4		○		○			R
	-5				○			R
	-6				○			R
	-7				○			R
	-8				○			R
	-9							R
	-10				○			R
	-11		○	○	○		○	R
	-12				○			R
<p>Wlb 6(<i>S. hjertingii</i>, PI 186559, 2n=48, 2EBN)</p>	-1							R
	-2		○		○			R
	-3		○		○			R
	-4		○		○			R
	-5				○			R
	-6		○		○			R
	-7				○			R
	-8		○		○			R
	-9				○			R
	-10				○			R
	-11		○		○			R
	-12		○		○		○	R
	-13				○			R
	-14		○		○			R
	-15							R
	-16				-			HR
	-17				○			R
-18				○			R	
-19				○			R	

Table 2. continued

Wlb 8(<i>S. demissum</i> , PI 160208, 2n=72, 4EBN)	-1		○	○	○				R
	-2		○		○				R
	-3		○	○	○				R
	-4		○	○	○				R
	-5		○	○	○				R
	-6		○	○	○				R
	-7		○	○	○				R
	-8		○	○	○				R
	-9			○	○				R
	-10		○	○	+ ⁴				R
	-11		○	○	○				R
	-12		○	○	○				R
	-13		○	○	○				R
	-14		○	○	○				R
	-15		○	○	○				R
	-16		○	○	+ ⁴ ,+ ⁵				R

1: N: necrosis, BA: brown area, BS: brown spot, C: canker, Y: yellowing, WS: white spot

² : midium, ³ : less

⁴ : more ⁵ : most

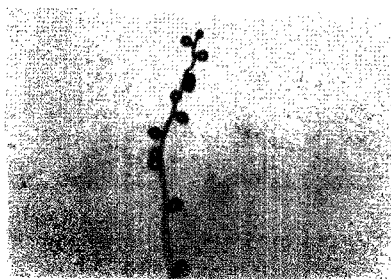


Figure 3. *Phytophthora infestans* sporangium, ×40

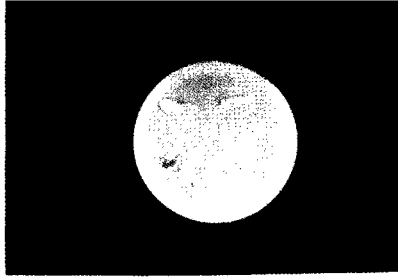


Figure 4. symptoms in host: brown area on Wlb3-1

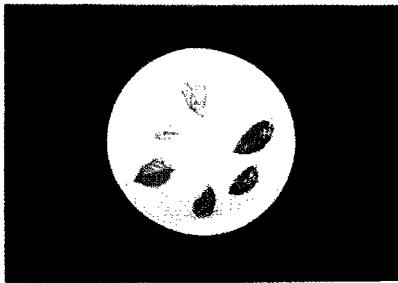


Figure 5. Symptoms in host: necrosis in Wlb 10-2

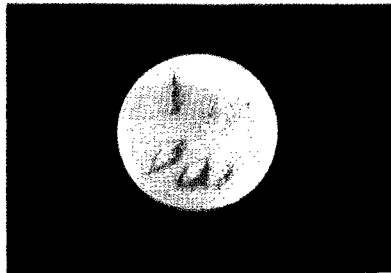


Figure 6. Symptoms in host: brown spots in Wlb 5-5

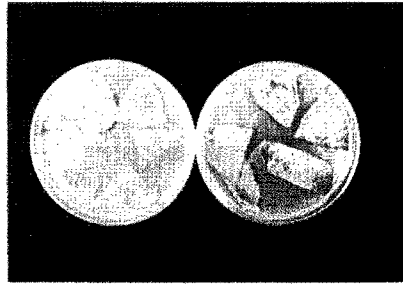


Figure 7. Race identification: *S. superior*(left) and R2(right)

3) 감수분열기의 세포질 분해 및 burning 방법 규명

세포질 제거가 완전히 이루어지지 않는으나 이 방법으로 슬라이드를 만들어 GISH
를 수행할 것이다.

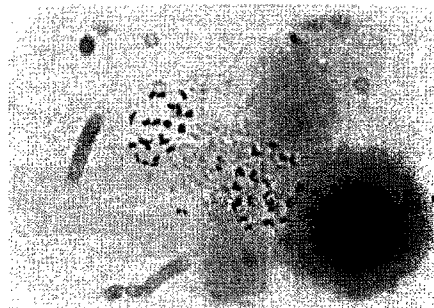


Figure 1. Metaphase chromosome of HA06-9

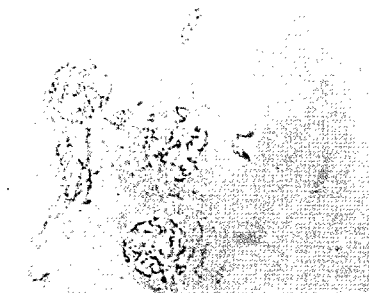


Figure 2. Prophase I pachytene chromosome of CT206-14

2. 잡종의 감수분열기의 염색체 친화성 연구

가. 재료 및 방법

1) 감자의 GISH 방법 연구

식물체는 *Solanum commersonii*(P.I.320266) 클론 LZ3.2와 *S. tuberosum* 재배품종 수미의 반수체 클론 PT56을 체세포 융합체 HA06-9와 재배종 대지(*Solanum tuberosum* cv. Dejima)를 여교잡한 2세대 CT206-14이다. 체세포 분열과 감수분열 세포에 대해 각각 GISH 방법을 연구하였다. 식물체는 멸균된 MS 증식배지를 사용하여 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 하에 16시간의 광(4000~5000 lux)과 8시간의 암상태에서 계대 배양하며 기내 유지되었다.

가) 염색체 슬라이드 준비

(1) 체세포 염색체

(가) 전처리와 고정

MS배지에서 자란 기내 잡종 식물체들의 신선한 근단을 채취하여 0.02M 8-hydroxyquinoline에서 5~6시간 전처리 후, Farmer's solution(ethanol:acetic acid=3:1)에서 24시간 이상 고정한다. 이를 70% ethanol에 옮겨서 보관하였다.

(나) 슬라이드 준비

뿌리를 1cm 정도 잘라 멸균수에서 약 20~30분간 씻어내고 enzyme mixture(2% cellulase, 1.5% macerozyme, 1% pectolyase, 0.5 mM EDTA, pH 4.2)에 담근 후 6분간 $5\times 10^{-2}\text{Pa}$ 에서 vacuum 처리해준 후 37°C 에서 약 50분 간 처리하였다. 이후 다시 증류수로 약 10분간 씻어내고 Ethanol:Acetic acid=3:1 용액을 떨어뜨려 포셉으로

전개 후 건조하였다. 위상차 현미경(ZEISS Axiorab)으로 검경하여 분열상이 양호한 슬라이드를 선발하여 GISH에 이용하였다. In situ hybridization(ISH) 전까지 냉동보관이 가능하였다.

(2) 화분모세포 염색체

(가) 전처리와 보관

포장에 옮겨 심은 HA06-9와 CT206-14 식물체에서 약 5mm 내외 크기의 화약을 수집하여 Farmer's solution(ethanol:acetic acid=3:1)에서 24시간 고정하였다. 이를 70% ethanol에 옮겨서 4℃에 보관하였다.

(나) 슬라이드 준비

1/2개의 수술만을 채취하여 슬라이드 글라스위에 놓고 aceto-camine용액을 놓고 메스로 그 안에 있는 화분모세포를 꺼내어 화분모세포 이외의 조직은 제거한 후 커버 글라스를 덮고 압착(squash)하였다. -70℃ 급속 냉동기에 3시간 이상 보관한 후 커버 글라스를 제거하고 실온의 증류수에서 각각 두 번, 37℃ enzyme 버퍼에서 한 번 헹군 후 이를 말리고, enzyme mixture(1% cellulase, 10% pectinase in enzyme buffer, pH 4.6)로 37℃ 슬라이드 온열기에서 약 35분 처리하였다. 37℃의 증류수에 각기 두 번을 헹군 후완 완전히 말리고, Methanol:acetic acid=3:1에 한 번 세척하고 두 번째에는 Methanol:acetic acid=3:1를 충분히 취하여 알코올 램프로 태웠다. ISH 전까지 냉동 보관할 수 있으나, 가능하면 빨리 이용하는 것이 좋았다.

나) GISH(Genomic In Situ Hybridization)

표지한 DNA와 경쟁적으로 접합할 수 있는 양친 중 한쪽의 DNA를 추출하여 크기를 작게 하여 blocking DNA로 준비하고, 나머지 형광으로 확인하고 싶은 양친 DNA를 추출하여 표지 DNA(probe DNA)로 사용한다. 표지 DNA는 random priming이나 nick-translation 방법을 이용하여 biotin-16-dUTP나

digoxigenin(DIG)-11-dUTP를 표지하여 만든다. 준비된 슬라이드의 염색체를 변형시켜 외가닥으로 만들고 그 위에 준비한 blocking DNA, probe DNA를 넣어 접합시키는 과정이다.

(1) Blocking DNA와 Probe DNA의 준비

Blocking DNA로는 *Solanum tuberosum* cv. superior(PT56)와 *S. tuberosum* cv. Dejima를 사용하였으며 Probe DNA로는 *S. commersonii* (LZ3.2)를 사용하였다.

(가) 감자식물체의 총 DNA추출

DNA추출은 Tanksley 방법(Fulton 등, 1995)을 이용하였다. microprep. 버퍼는 DNA extraction buffer:Nuclei lysis buffer:Sarkosyl=5:5:2에 100ml 당 0.4g sodium disulfate를 첨가하였다. 1.5ml microtube에 기내 식물체의 잎을 넣고, 200ul microprep. 버퍼를 가하여 수공 homogenizer로 마쇄한 후 550ul의 microprep. 버퍼를 더 첨가하고, 손으로 약하게 흔들여 완전히 섞은 후, 항온수조에서 1시간에서 2시간 정도 65℃로 유지하였다. 중간 중간 확인하며 용액과 마쇄된 잎을 섞어주었다. Chloroform:isoamyl-OH(24:1)로 tube를 채우고 100번 정도 위아래로 섞어주고 10,000rpm으로 5분간 원심 분리하였다. 약 0.5ml에 해당하는 상층액을 새로운 tube에 옮기고 그 부피의 2/3~1배 분량의 냉동보관 된 isopropanol을 채운 후 DNA 침전이 생성될 때까지 위아래로 섞어주었다. DNA 침전이 많을 경우 isopropanol을 따라버리고, 적을 경우 10,000rpm으로 3분간 원심 분리하여 침전시켰다. Isopropanol을 버리고 70% 에탄올로 DNA pellet을 세척하고 원심분리 한 후 한 번 더 세척하여 클린벤치에서 15~30분 정도 건조하거나 37℃ 온열기 위에서 건조하고 50ul의 TE 버퍼를 가한 뒤 65℃ 항온수조에서 15~30분간 다시 부유시켰다. RNase(10ug/ul)를 4ul 첨가하여 37℃에서 30분 처리하였다. 4℃에서 1주일간 혹은 -20℃에서 장기보관이 가능하다.

(나) RNase의 제거와 정제

TE 250ul를 더하고 Chloroform:isoamyl-OH(24:1) 200ul를 넣고 잘 섞은 후 12,000rpm에서 5분 정도 원심분리 한 후 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 3M sodium acetate 500 μ l와 차가운 100% 에탄올 1ml를 넣고 잘 섞은 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리 하여 DNA를 침전시키고 70% 에탄올로 세척하였다. TE 50ul와 1/10 부피의 sodium acetate 5ul, 약 두 배 부피의 100% 에탄올 100ul를 넣고 잘 섞은 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리 하여 DNA를 침전시키고 70% 에탄올로 세척했다. 클린벤치에서 15분 정도 건조한 후 50ul의 TE로 DNA를 용해시켰다. 550ul의 TE를 더하고 400ul의 phenol을 천천히 섞어준 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리 하여 상층액을 취하고 50ul의 3M sodium acetate와 1ml의 100% EtOH를 넣고 잘 섞은 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리 하여 DNA를 침전시키고 70% 에탄올로 세척한 후 건조시키고 50ul의 증류수나 TE에 녹였다.

(다) Blocking DNA 준비

250ul의 증류수를 더 넣고 121 $^{\circ}$ C, 1.3기압에서 5분 처리하여 약 500base pair(bp) 크기 이하로 잘라주고 그 상태로 냉동 보관하였다. 전기영동으로 size를 확인하고 fluormeter로 농도를 측정하였다.

(라) Probe DNA 표지

추출한 LZ3.2 DNA를 fluormeter로 농도 측정 후, TE로 희석하여 100ng/ul가 되도록 하였다. DIG-Nick translation mix(Roche 1745816)를 이용하여 주형 DNA인 LZ3.2 DNA를 1 μ g(10ul), 증류수 6ul, DIG-Nick translation mix(DNA polymerase I, DNase I, 0.25mM dATP, dCTP, dGTP, 0.17mM dTTP and 0.08mM DIG-11-dUTP in reaction buffer in 50% glycerol: 5x concentration) 4ul를 PCR tube에 넣고, 14.5 $^{\circ}$ C에서 1시간 반 동안 처리한 후 5분 간 냉동시킨 후 1.0% agarose gel로 전기 영동하여 그 크기를 확인하였다(Fig. 7). 크기가 500bp 정도로 적당하면, 0.5M EDTA 2ul를 넣고 65 $^{\circ}$ C에서 10분간 처리하고 회수하여 냉동 보관하였다.

(2) ISH(In Situ Hybridization)

(가) 슬라이드 전처리와 변성

RNase(1mg/ml RNase A, 2X SSC) 600ul를 슬라이드 위에 도포 후 37℃에서 50분 처리하고 슬라이드 위 염색체 DNA의 손실을 막기 위하여 4℃ paraformaldehyde 용액에 10분 담근 후 1X PBS에 실온에서 5분간 각각 세 번 세척하였다. 70%, 90%, 100% 에탄올에 2분 씩 담그어 탈수하고 건조한 후 70℃의 항온수조에 couplin jar에 담긴 slide denaturation 용액(70% formamide/2X SSC)을 넣고 슬라이드를 담그어 10분 간 처리였다. -20℃의 70%, 95%, 100% 에탄올에 3분 씩 담그어 탈수하고 건조하였다.

(나) Hybrid mixture의 준비와 변성

슬라이드 한 개를 기준으로 표지 DNA(LZ3.2 DNA, 800bp 크기) 20ng, 그에 30-40 배에 해당하는 blocking DNA(대지 혹은 PT56 DNA), salmon sperms DNA(ssDNA, 10mg/ml, autoclave한 것) 1ul를 넣고 hybrid solution(50% formamide, 10% dextran sulfate/2X SSC)으로 한 슬라이드 당 10ul의 용액을 만들어 주었다. PCR 기계로 90℃ 이상에서 10분 간 처리하여 변성시키고 얼음에 5분 이상 보관하였다.

(다) 접합

변성하여 외가닥으로 만들어 주고 탈수한 1)의 염색체 슬라이드에, 변성하여 외가닥으로 만든 LZ 3.2 probe DNA가 들어있는 2)의 hybrid mixture 10ul를 얹고 커버글라스를 덮은 후 37℃ humid chamber에서 overnight(6시간 이상)하였다.

(3) 세척과 검경

슬라이드 염색체 위에 접합한 표지 DNA의 위치를 현미경으로 확인하기 위하여 접합하지 않은 DNA와 효소물질은 제거하고 형광으로 염색하여 검경하고 image를 잡

는 과정이다. 접합이 끝난 슬라이드 위의 DIG에 항원 항체 관계로 결합하는 FITC 등의 형광물질을 표지하여 probe를 보고, probe가 접합하지 않은 나머지 부분은 염색체를 염색해주는 형광물질인 DAPI나 PI로 대비 염색한다. FITC를 볼 수 있는 형광 파장 범위로 probe의 위치와 유무를 확인하고, DAPI 혹은 PI를 볼 수 있는 형광 파장 범위에서 전체 염색체를 확인하여 image를 잡는다.

(가) 체세포 염색체

2X SSC, 40℃의 50% formamide/2X SSC 용액에 5분, 2X SSC 용액에 5분씩 각각 두 번 세척하였다. Anti-digoxigenin FITC(Sigma)가 포함된 100ul의 5% BSA/4X SSC/0.2% tween-20을 도포하고 커버 글라스를 덮어 37℃에서 50분간 반응시킨 후, 4X SSC/0.2% tween-20으로 실온에서 각각 5분씩 세 번 세척하였다. 1ug/ml DAPI(Sigma)가 포함된 vectashield(Vector Lab.) 15ul를 도포하여 커버를 덮고 Cooled CCD camera(CoolSNAP, Photometrics)가 장착된 형광 현미경 하에서 FITC와 DAPI filter(Nikon, Japan)로 검경하고, 확인한 signal과 대비 염색한 부위를 소프트웨어(Meta imaging series™ 4.6, Universal Imaging Corporation)로 합성하고 Adobe Photoshop 6.0을 이용했다.

(나) 화분모세포 염색체

Fluorescent Antibody Enhancer set(Roche 1768506)을 이용하였다. 우선 1X PBS에서 커버 글라스를 떼어 내고 250ul의 1X blocking 용액을 얹어 실온에서 30분간 처리한 후 용액을 따라 버린다. 30ul의 anti-DIG solution을 넣고 커버 글라스로 덮은 후 37℃ humid chamber에서 1시간 처리한 후 37℃ washing 버퍼(0.2% tween 20 in 1X PBS)로 짧게 세 번 세척한다. 이에 30ul의 anti-mouse-Ig-DIG 용액을 넣고 커버 글라스로 덮은 후 암 상태의 humid chamber에서 37℃ 1시간 처리하였다. 37℃ washing 버퍼로 짧게 세 번 세척한 후 마지막으로 anti-DIG-fluorescein 용액 30ul를 넣고 커버글라스로 덮은 후 37℃ humid chamber에서 암 상태로 1시간 처리한다. 37℃ washing 버퍼로 5분간 세 번 세척하고 PI(30ng/ml) 30ul를 얹은 후 커버 글라스를 덮고 암 상태로 37℃ humid chamber에서 3시간 이상 처리하여 대비염색을 하

였다. 암 상태에서 washing 버퍼로 짧게 세척 후 antifade(Q-BIO gene, RIST 1378) 10ul를 얹고 커버 글라스를 덮은 후 filter paper를 이용하여 세게 누르고 nail enamel로 봉하였다. 파장범위 EX510~560에 해당하는 BA590 filter로 PI로 대비염색된 염색체를, 파장범위 EX450~490에 해당하는 BA520 filter로 FITC가 결합한 probe DNA를 검경(Nikon Optiphot-2 Labophot-2A/2)하여 hybridization 여부와 대비염색의 염색 정도를 간단히 확인한 후 확인한 signal과 대비 염색한 부위를 서울대 치학 연구소의 confocal microscope(Carl Zeiss)와 software Pascal(Carl Zeiss)로 이미지를 합성하고 Adobe Photoshop 6.0을 이용했다.

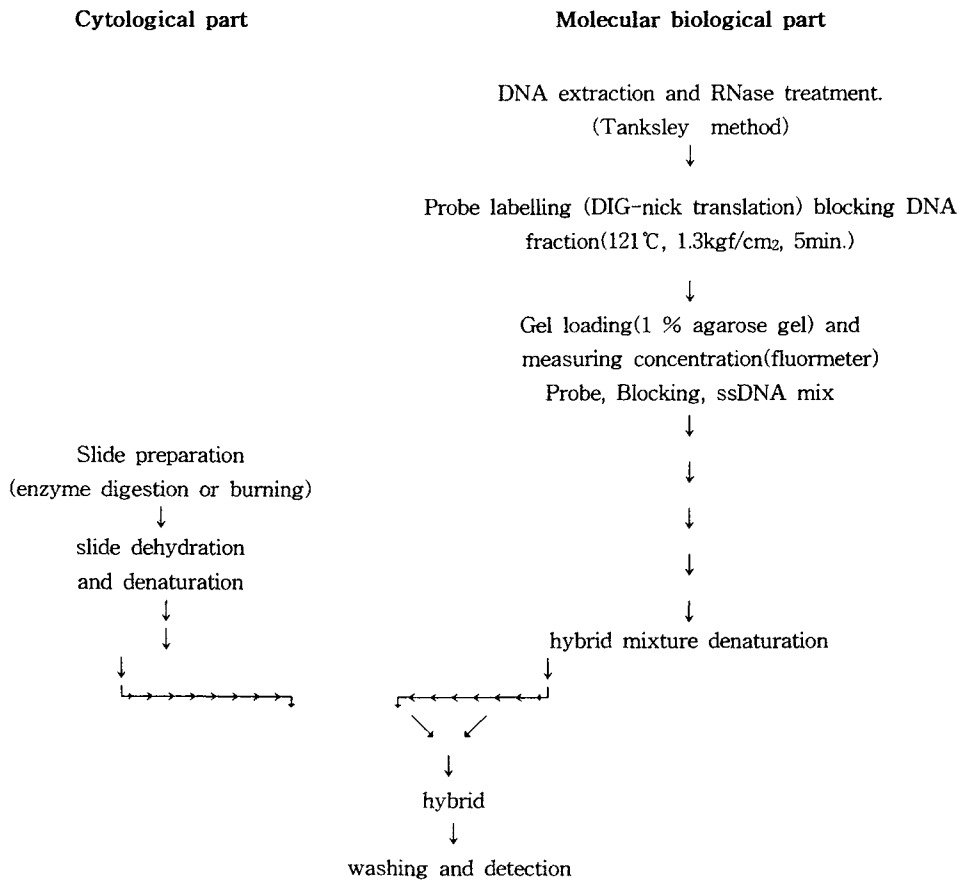


Figure 1. GISH 전체 과정

나. 결과 및 고찰

1) 감자의 GISH 방법 연구

가) 체세포 염색체

S. commersonii($2n=2x=24$)와 *S. tuberosum* cv. Superior 반수체($2n=2x=24$)의 세포 융합체인 HA06-9 클론에서는 LZ3.2의 염색체가 전체 48개 염색체 중 24개 있었다. 전체 염색체는 DAPI로 염색되어 파란색이며 LZ3.2의 염색체는 DIG에 결합한 rhodamin의 발광으로 붉은색이었다(Fig. 5). 이로써 *S. commersonii*와 *S. tuberosum* cv. Superior 반수체의 염색체가 24개씩 존재함을 알 수 있었다.

나) 화분모세포 염색체

*S. commersonii*와 *S. tuberosum* 염색체 행동 조사를 위해 화분모세포 염색체에 GISH를 수행하였다. 이는 역병저항성잡종의 선발 후대에도 유용하게 사용될 것으로 생각되었다.

클론 HA06-9에서 감수 분열 제 1 중기, 제 2 중기를 관찰하였다. 제 1 중기에서는 PI로 빨강계 대비 염색된 24개 2가 염색체(bivalent)중 15개의 LZ3.2를 포함한 2가 염색체(bivalent)가 있었다. LZ3.2 염색체는 DIG에 결합한 FITC의 발광으로 노란색이었다(Fig. 6). 이는 LZ3.2 염색체와 *S. tuberosum* 염색체의 대합이 있음을 의미하였다.

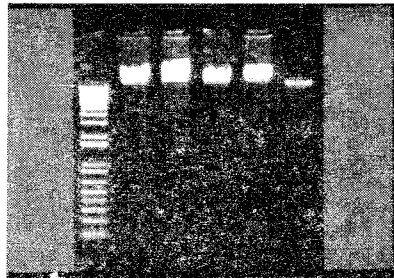


Figure 2. 감자의 총 DNA. M: 10kb ladder(promega). 1 and 2: Dejima DNA. 3 and 4: PT56 DNA. 5: LZ3.2 DNA.

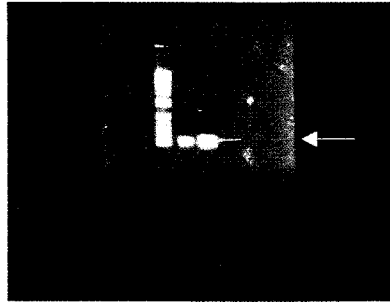


Figure 3. blocking DNA. M: 10kb ladder(promega). 1: PT56 DNA. 2: Dejima DNA.

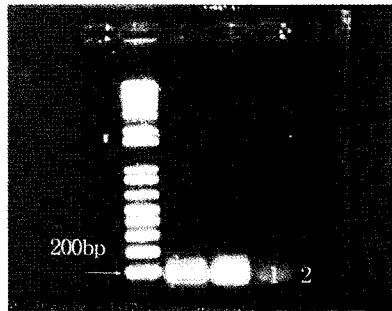


Figure 4. Probe DNA labelled with Dig through nick translation. M: 10kb ladder(promega). 1, 2 and 3 lane: LZ3.2 DNA labelled with DIG.



Figure 5. Genomic in situ hybridization on mitotic chromosomes. Blue is due to DAPI counterstain. A: HA06-9. Red is due to rhodamin bounded to DIG labelled LZ3.2.

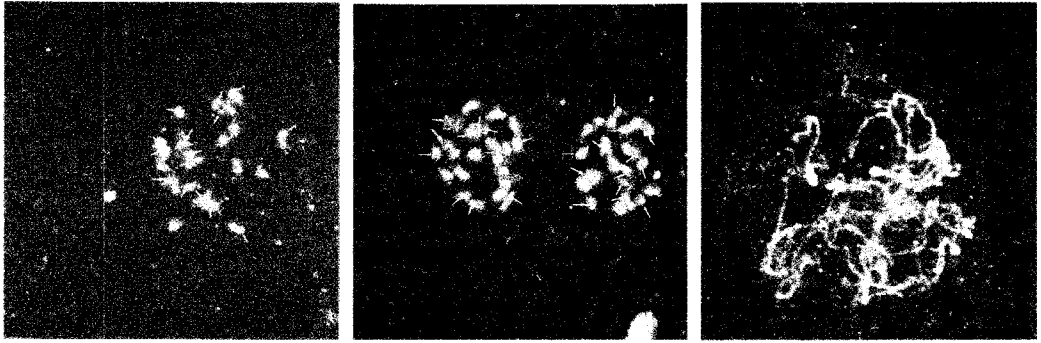


Figure 6. Genomic in situ hybridization on meiotic chromosomes in PMCs. Red is due to PI counterstain and yellow is due to FITC bounded to DIG labelled LZ3.2 A: HA06-9 metaphase I, B: HA06-9 metaphase II and C: CT206-14 prophase.

3. GISH에 의한 중간 genomic divergence 연구

가. 재료 및 방법

1) 식물체

Solanum tuberosum cv. Atlantic의 반수체 Hat와 chc : *S. chacoense*의 후대 자손 F9-99, F9-124를 야생종 역병 저항성 야생종 *S. berthaultii*와 교배하여 얻은 후손 LBFA1~21, LBFB1~21을 대관령으로부터 분양받아 이 중 LBFA-18,19에 FISH를 시도하였다.

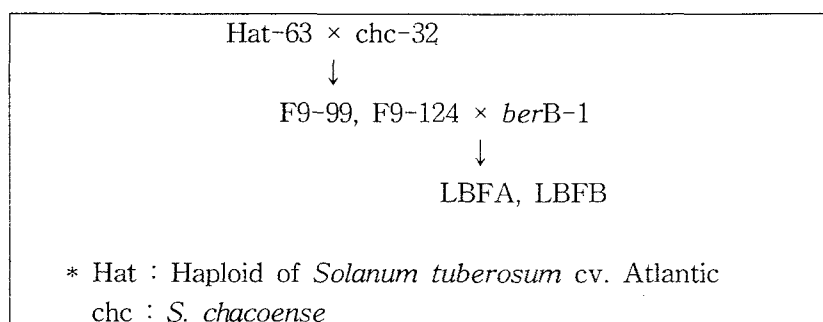


Figure 1. Pedigree of LBFA, LBFB

2) 실험 방법

FISH를 위한 탐침 (probe)으로는 digoxigenin-11dUTP로 표지된 오이 (*Cucumis sativus* L.)의 5S rDNA (Koo et al. 2002)가 이용되었다. McFISH는 Koo 등 (2002)의 방법을 변용 하였다. 건조된 염색체 슬라이드에 600 μ l의 RNase용액 (1 mg/ml RNase A, 2 X SSC)을 60분 (37 $^{\circ}$ C) 동안 처리 후, 슬라이드 상의 염색체 변성을 위하여 70% formamide/2 X SSC 용액에 2분간 처리한 다음, -20 $^{\circ}$ C의 70% 에탄올에서 급냉 및 세척 후, 90%와 100% 에탄올을 각각 3분씩 세척하여 상온에서 건조

시켰다. 탐침 혼합액 (biotin/digoxigenin으로 표지된 각각의 100 ng의 probe DNA, 50% formamide, 2 X SSC, 10% dextran sulfate, 10 ng ssDNA)은 97°C에서 10분간 변성시킨 후, 5분 동안 급냉시켜 준비하였다. 건조된 슬라이드 상에 25 μ l의 탐침 혼합액을 가한 다음, 플라스틱 커버를 덮고 37°C에서 12시간 이상 hybridization 시켰다. Hybridization시킨 슬라이드는 40°C의 2 X SSC, 50% formamide/2 X SSC, 2 X SSC, 4 X SSC 용액에서 각각 10분씩 세척하였다. 탐침의 비 특이적인 결합을 막기 위해 염색체 슬라이드를 blocking 용액 (5% BSA/4 X SSC/0.2% tween-20)으로 37°C에서 5분간 처리한 후, 1%의 avidin-FITC (fluorescein isothiocyanate)와 anti-digoxigenin rhodamine (Sigma)이 포함된 100 μ l의 5% BSA/4 X SSC/0.2% tween-20 혼합액을 슬라이드에 떨어뜨린 다음 커버를 덮고, 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 biotin과 digoxigenin으로 표지된 DNA 탐침이 동시에 검출되도록 하였다. 슬라이드를 4 X SSC/0.2% tween-20 완충액으로 37°C에서 5분씩 3번 세척한 후 1 μ g/ml DAPI (Sigma)용액을 포함한 Vectashield (Vector Lab.) 15 μ l를 도포하여 커버를 덮은 다음, cooled CCD camera (CoolSNAP, Photometrics)가 장착된 형광 현미경 하에서 FITC-DAPI-Rhodamine filter (Nicon, Japan)를 사용하여 촬영하였다. 확인된 signal들은 소프트웨어 (Meta imaging seriesTM 4.6, Universal Imaging Corporation)를 이용하여 합성하였다.

나. 결과 및 고찰

오이 (*Cucumis sativus* L.)의 5S rDNA는 LBFA-18,19의 1번 염색체에 각각 두 개씩 표지되었는데, 이것은 각 1번 염색체가 두개로 이것은 각각 F9-99와 저항성 야생종 *S. berthaultii*의 1번 염색체로 사려된다.

감자의 genome은 12개를 기본으로 하는데, 이들은 서로 모양과 크기가 비슷하여 구별하기가 어렵다. 이 중 1번 염색체는 가장 길어 식별이 가능한데, 이와 같이 감자의 1번 염색체에 특이적으로 표지되는 오이 (*Cucumis sativus* L.)의 5S rDNA를 탐침으로 이용하면, 부모 종간의 근연관계가 너무 가까워서 GISH가 효과적으로 수행되지 않은 경우 효과적으로 중간 잡종을 구별할 수 있다고 사려되었다.

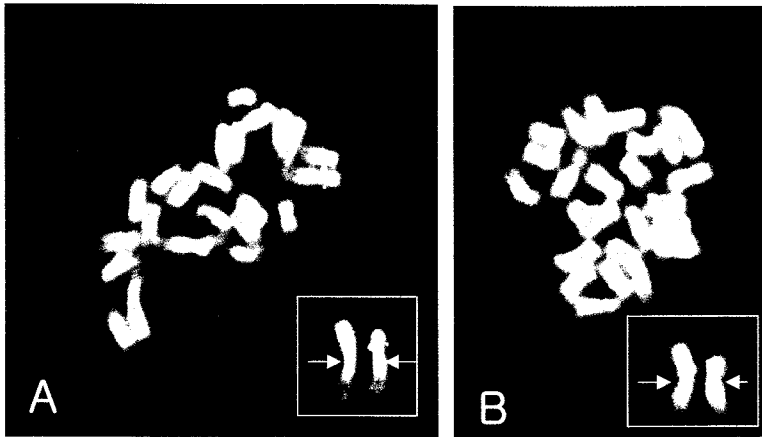


Figure 2. FISH on mitotic chromosomes. Blue is due to DAPI counterstain
A: LBFA-18, B: LBFA-19 . Red is due to rhodamin bounded to DIG labelled
5S rDNA. Arrows indicate centromere.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	연구 개발 목표	연구목표 달성 여부 및 기여도
주관연구 기관과제 (강원대)	<ul style="list-style-type: none"> - 저항성 line 선발 - 저항성 marker 선발 - 저항성 gene 선발 및 감자 계통간의 유연관계분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 병원균에 대해 저항성인 계통, 근연 야생종 및 재래종 유색감자로부터 저항성 line을 선발 하였음 - AFLP 기법을 이용한 SCAR marker 의 개발로 저항성 line 판별에 활용가능 - cDNA-AFLP 기법을 이용한 감자역병에 대한 R-gene 탐색과 RAPD에 의한 유연관계 분석 완료
제1 협동 연구과제 (고령지 농업 연구소)	<ul style="list-style-type: none"> - 감자 유전자원의 역병 저항성 탐색 - 감자 유전자원의 주요 농업형질 특성 평가 - 감자역병 저항성 유전 자원의 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 감자 유전자원의 역병 저항성 탐색결과 저항성 line 선발 - 감자 유전자원의 주요 농업형질 특성 평가를 통한 유용자원의 확보 - 감자역병 저항성 유전 자원의 개발
제2 협동 연구과제 (동국대)	<ul style="list-style-type: none"> - 잡종 식물체에 사용할 교배양친의 세포학적 연구 - 잡종의 감수분열기 염색체 친화성 연구 - GISH에 의한 중간 genomic divergence 연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 양친의 임성 검정, 2n 배우자 형성을 검사 - 세포질 분해방법 연구, 감자의 GISH 방법 연구 - 잡종의 염색체간 친화성 규명

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제1절 활용방안

1. 개발된 감자역병 병저항성 유전자원은 감자 신품종 육성을 위한 유전자원으로 활용 할 수 있음
2. 감자역병 병저항성 근연야생종 및 유색감자의 계통 선발을 통한 농약 사용 감소를 유도
3. 개발된 유전자원은 감자 신품종 육성을 위한 유전자원으로 활용할 수 있음
4. 감자역병 병저항성 품종 육성의 중요한 자료로 이용되고 규명된 역병저항성 DNA 부위는 저항성 선발의 표지유전자로 이용이 가능함
5. 감자의 유전연구의 재료로 제공될 것이며, genetic marker가 규명되면 이의 특허 출원도 가능함

제2절 기대효과

1. 기술적 측면

- 가. 감자역병 병저항성 유전자의 선발 및 활용을 통한 역병 저항성 감자 생산 가능
- 나. 분자유전 기술과 실질적인 육종을 연관시켜 내병성품종을 개발하므로 첨단 육종기술의 실용화의 체계확립이 가능할 것임
- 다. 저항성 유전자가 규명되면, 차후의 저항성 유전자의 도입은 규모가 큰 내병성의 포장실험을 하지 않고 clone의 DNA분석을 하여 저항성 유전자가 도입되었는가를 확인 할 수 있음
- 라. 야생종의 저항성 유전자를 재배종에 도입하면서 유전자의 동시 추적이 가능함
- 마. 몇개의 DNA marker가 혼동될 경우도 있으므로 marker가 1차 규명된 후 DNA fragment를 이용한 hybridization에 의한 실험도 하여 차후의 저항성 도입을 정확하게 할 수 있음
- 바. 역병저항성 품종 육성의 중요한 자료로 이용되고 규명된 역병저항성 DNA

부위는 저항성선발의 표지유전자로 이용이 가능함

2. 경제 산업적 측면

- 가. 감자역병 병저항성 line의 선발을 통해 병저항성 감자의 대량생산을 기초를 마련
- 나. 근연야생종 및 유색감자의 저항성 유전자를 이용, 무병종서 생산 시스템 확립으로 앞으로 재배면적의 확대에 따른 무병종서를 대량으로 공급할 수 있음
- 다. 통일 후 식량작물로서의 감자의 역할이 크게 대두 될 것이 예상되므로 병저항성 감자의 품종 육성과 재배기술은 북한 지역에 쉽게 적용이 가능할 것임

제 6 장 연구개발 과정에서의 수집한 해외 과학 기술 정보

제1 세부과제 : 감자역병 병저항성 마커 선발 및 저항성 유전자 탐색

가. 감자역병 병저항성 관련 유전자의 탐색을 위한 연구의 일환으로 gene silencing technique을 활용하는 기술이 사용되고 있으며, 국제적으로는 감자 역병 병원균인 *P. infestans*의 genomics 연구가 활발히 진행되고 있어 병저항성 및 병원성과 관련된 mechanisms을 구명하는 각종 연구가 진행되고 있다.

제1 협동과제 : 감자 역병저항성 유전자원 탐색 및 개발

가. 현재 남미와 북미 지역 등에서 역병 저항성 감자 유전자원의 탐색을 위해 야생종과 근연야생종이 많이 활용되고 있으며, 특히 포장에서 저항성 line 선발을 위한 각종 기술과 분석방법들이 개발되고 있다.

제2 협동과제 : 역병 저항성 감자계통의 세포 유전적 특성 연구

가. 감자 근연야생종 *S. bulbocastanum*에 역병저항성 관련 염색체 부위가 염색체 No. 8에 있다는 보고가 있었음. *S. bulbocastanum*의 역병저항성 DNA부위를 감자 육종계통에 전달하도록 시도하였으며 일부는 전달되었으나 많은 부위는 전달되지 않았다.

나. 화분모세포와 GISH, FISH 기술을 이용하여 육종계통에 전달된 저항성 DNA의 확인이 가능한 것을 알 수 있었다.(University of Wisconsin)

제 7 장 참고문헌

- Agrama HA, Houssin SF, Tarek MA 2002. Cloning of AFLP markers linked to resistance to *Peronosclerospora sorghi* in maize. Mol. Genet. Genomics 267:814-819.
- Agrios GN 1988. Plant pathology. Academic press, San Diego, pp 306-313.
- Ahn, Y.K., H.Y. Kim, H.S. Choi, K.T. Kim and H.G. Park. 2001. Production of interspecific somatic hybrids between the cultivated potato (*Solanum tuberosum*) interspecific somatic hybrids between the cultivated potato (*Solanum tuberosum*) and the wild species (*S. brevidens*). J. Kor. Soc. Hort. Sci. 42(4):420-424.
- Anamthwat-Jonsson, K., J.S. Heslop-Harrison and T. Schwarzacher. 1996. Genomic In situ hybridization for whole chromosome and genomic analysis. In: C. Melody(ed.). In Situ Hybridization. In Situ Hybridization laboratory companion, Chapman and Hall, Deutschland.
- Ardiel GS, Grewal TS, Deberdt P, Rossnagel BG and Scoles GJ 2002. Inheritance of resistance to covered smut in barley and development of a tightly linked SCAR marker. Theor. Appl. Genet. 104:457-464.
- Bradshaw, J .E. and G .R. Mackay. 1994. Breeding strategies for clonally propagated potatoes. In: Bradshaw J. E., Mackay, G. R. (eds), Potato Genetics. CAB Int. Willingford, UK: 467-497.
- Cao W, Hughes GR, Ma H, Dong Z 2001. Identification of molecular markers for resistance to *Septoria nodorum* blotch in durum wheat. Theor. Appl. Genet.

- Carroll, C.P. and M.J. De Maine. 1989. The agronomic value of tetraploid F1 hybrids between potatoes of group tuberosum and group phureja / stenotomum. *Potato Res.* 19: 109-121.
- Dong, F., R.G. Novy, J.P. Helgeson and J. Jiang. 1999. Cytological characterization of potato-*Solanum tuberosum* somatic hybrids and their backcross progenies by genomic in situ hybridization. *Genome* 42: 987-992.
- Dong, F., J. Song, S.K. Naess, J.P. Helgeson, C. Gebhardt and J. Jiang. 2000. Development and applications of a set of chromosome-specific cytogenetic DNA markers in potato. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1001-1007.
- El-Kharbotly A, Leonards-Schippers C, Huigen DJ, Jacobsen E, Pereira A, Stiekema WJ, Salamini F, Gebhardt C 1994. Segregation analysis and RFLP mapping of the *R1* and *R3* alleles conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in progeny of dihaploid potato parents. *Mol. Gen. Genet* 242:749-754.
- Escalante, A, S. Imanishe, M. Hossain, N. Ohimido and K. Fukui. 1998. RFLP analysis and genomic in situ hybridization(GISH) in somatic hybrids and their progeny between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum lycopersicoides*. *Theor. Appl. Genet.* 96:719-726.
- Ewing EE, Simko I, Smart CD, Bonierbale MW, Mizubuti ESG, May GD, Fry WE 2000. Genetic mapping from field tests of qualitative and quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in a population derived from *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. *Mol. Breeding* 6:26-36.

- Fry WE, Goodwin SB, Dyer AT, Matuszak JM, Drenth A, Tooley PW, Sujkowskii LS, Koh YJ, Cohen BA, Spielman LJ, Deahl KL, Inglis DA, Sandlan KP 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: Chronology, pathways and implications. *Plant Dis.* 77:653-661.
- Fulton, T.M., J. Chunwongse and S.D. Tanksley. 1995. Microprep protocol extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 13(3):207-209.
- Garriga-Caléré, F., D.J. Huigen, E. Jacobsen and M.S. Ramanna. 1999. Origin of an alien disomic addition with an aberrant homologue of chromosome-10 of tomato and its meiotic behaviour in a potato background revealed through GISH. *Theor. Appl. Genet.* 98:1263-1271.
- Gavrilenko, T., R. Thieme and V.-M. Rokka. 2001. Cytogenetic analysis of *Lycopersicon esculentum* (+) *Solanum tuberosum* somatic hybrids and their androgenetic regenerants. *Theor. Appl. Genet.* 103:231-239.
- Guenther, J. F., K .C. Michael and P. Nolte. 2001. The economic impact of potato late blight on US growers. *Potato Res.* 44: 121-125.
- Haider Ali, S.N., M.S. Ramanna, E. Jacobsen and R.G.F. Visser. 2001. Establishment of a complete series of a monosomic tomato chromosome addition lines in the cultivated potato using RFLP and GISH analysis. *Theor. Appl. Genet.* 103:687-695.
- Hanneman, R.E. Jr. and J.B. Bamberg. 1986. Inventory of tuber-bearing *Solanum* species. *Wis. Agr. Exp. Sta. Bul.* p. 533

- Helen, E. S and J. E. Bradshaw. 2001. Assessment of the field resistance of potato genotype with major gene resistance to late blight using inoculum comprised of two complementary races of the fungus. *Potato Res.* 44: 41-52.
- Helgeson, J.P., G.J. Hunt, G.T. Haberlach and S. Austin. 1986. Somatic hybrid between *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*: Expression of a late blight resistance gene and potato leaf roll resistance. *Plant Cell Report* p. 212-214.
- Hermunstad, S. A. and S .J. Peloquin. 1985. Germplasm enhancement with potato haploids. *J. Heredity* 76: 463-467.
- International Potato Center. 1997. *Biotechnology and the Potato*. CIP, Lima, Perú.
- Kim, B.S. 2001. GISH를 이용한 체세포 융합 감자의 세포유전적 분석. 석사학위논문 충남대학교 대학원.
- Kim, H.Y. and M.S. Chae. 1994. The studies on plant characteristics of somatic hybrids produced by protoplast fusion between *Solanum commersonii* and haplod *S. tuberosum* cv. Superior. *RDA. J. Agri. Sci.* 36:57-63
- Kim KS, Lee YS 2000. Rapid and accurate species-specific detection of *Phytophthora infestans* through analysis of ITS regions in its rDNA. *J. Microbiol. Biotechnol.* 10:651-655.
- Koo, D.H. 2003. Physical Mapping of rDNAs and Repeated DNA Sequences in Cucumber(*Cucumis sativus* L.). MD Diss. Chungnam National Univ., Daejeon, Korea.

- Lee SP, Lee YS 2002. Development of rapid molecular detection marker for *Colletotrichum* spp. in leaf and fruit tissues of sweet Persimmon. J. Microbiol. Biotechnol. 12(6):989-992.
- Leonards-Schippers C, Gieffers W, Salamini F, Gebhardt C 1992. The *R1* gene conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on potato chromosome V. Mol. Gen. Genet. 233:278-283.
- Li X, van Eck HJ, Rouppe van der Voort JNAM, Huigen DJ, Stam P, Jacobsen E 1998. Autotetraploids and genetic mapping using common AFLP markers: the *R2* allele conferring resistance to *Phytophthora infestans* mapped on potato chromosome 4. Theor. Appl. Genet. 96:1121-1128.
- Lim, Y.P., J.H. Kim and J.W. Bang. 1998. Perspective in Genomic Research of Vegetable Crops. Kor. J. Hort. Sic. & Tech. 16(2).
- Lin J-J, Kuo J, Ma J, Saunders JA, Beard HS, MacDonald MH, Kenworthy W, Ude GN, Matthews BL 1996. Identification of molecular markers in soybean: comparing RFLP, RAPD and AFLP DNA mapping techniques. Plant Mol. Biol. Rep. 14:156-169.
- Lindsay, H. 1973. A colorimetric estimation of reducing sugars in potatoes with 3,5-dinitrosalicylic acid. Potato Res. 16: 176-179.
- Melchinger AE 1991. Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. Plant Breed 104:11-19.
- Ministry of agriculture and forest. 2001. Studies on developing bacterial resistant potatoes and resistant related DNA markers with the cross hybrids and cell fusion hybrids between wild species and cultivars. Ministry of agriculture

and forest, Gwacheon, Korea.

Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M, Bhatia CR, Sasaki T 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3:87-103.

Mosa, A. A., Kato, M., Sato, N., Kobayashi, L. and Ogoshi, A. 1989. Occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* on potato in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 55: 615-620.

Naess SK, Bradeen JM, Wielgus SM, Haberlach GT, McGrath JM, Helgeson JP 2001. Analysis of the introgression of *Solanum bulbocastanum* DNA into potato breeding lines. *Mol. Genet. Genomics* 265: 694-704.

Negi MS, Devic M, Delseny M, Lakshmikumara, H 2002. Identification of AFLP fragments linked to seed coat colour in *Brassica juncea* and conversion to a SCAR marker for rapid selection. 101:146-152.

Niederhauser, J. S., 1993. The role of the potato in the conquest of hunger. In: J.F. Guenther (Eds), Past, present and future uses of potatoes-Proceedings of the Symposium, Potato Association on America Annual Meeting. College of Agriculture MS 164, University of Idaho, Moscow, Idaho, 35pp.

Oberhagemann P, Chatot-Balandrass C, Schafer-Pregl C, Wegener D, Palomino C, Salamini F, Bonnel E, Gebhardt C 1999. A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: towards marker-assisted selection. *Molecular Breeding* 5:399-415.

- Parokonny, A.S., A.Y. Kenton, Y.Y. Gleba and M.D. Bennett. 1992. Genome reorganization in *Nicotiana* asymmetric somatic hybrids analysed by in situ hybridization. *The Plant Journal* 2(6):863-874.
- Rastovski, A., van Es, A. et al. 1981. Storage of potatoes : Structure and chemical composition of the potato. p. 37-56. Center for Agricultural Publishing and Documentation., Wageningen.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491.
- Schwarzacher, T., A.R. Leitch and J.S. Heslop-Harrison. 1993. DNA:DNA *in situ* hybridization methods for light microscopy In: N. Harris and K.J. Oparka(ed.) *Plant Cell Biology. A practical Approach*. Oxford University Press, Oxford.
- Simmond, N. W. & R. L. Wastie. 1987. Assessment of horizontal resistance to late blight of potatoes. *Annals of Applied Biology*. 111: 213-221.
- Sinha, N. K., J. N. Cash, and R. W. Chase. 1992. Differences in sugars, chip color, specific gravity and yield of selected potato cultivars grown in Michigan. *Amer. Poto. J.* 69: 385-389.
- Stevenson, W. R., 1993. Management of early blight and late blight. In: R. C. Rowe(Eds), *Potato health management*. APS Press, St Paul, Minnesota, pp140-147.
- Stuppia, L., C. Cinti, S. Santi, R. Peila, G. Calabrese, G. Palka, N.M. Maraldi and

- A.T. Sumner. 1995. Comparison of methods for the detection of in situ restrict enzyme-nick translation using fluorochromes and confocal microscopy. *Genome* 38:1032-1036.
- Song, J., F. Dong and J. Jiang. 2000. Construction for a bacterial artificial chromosome(BAC) library for potato molecular cytogenetics research. *Genome* 43:199-204.
- Swiezynski, K. M., M. Chrzannowska, L. Domanski and E. Zimnoch-guzowska. 2001. Comparison of resistance evaluation in potato variety assessment. *Potato Res.* 44: 25-31.
- Van der Beek JG, Verker R, Zabel P, Lindhout P 1992. Mapping strategy for resistance genes in tomato based on RFLPs between cultivars: Cf9 (resistance to *Cladosporium fulvum* on chromosome I. *Theor. Appl. Genet.* 84:106-112.
- Von Malek B, Weber WF, Debener T 2000. Identification of molecular markers linked to *Rdr 1*, a gene conferring resistance to blackspots in roses. *Theor. Appl. Genet.* 101:977-983.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Rijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
- Williams, C.E., S.M. Wielgus, G.T. Haberlach, C. Guenther, H. Kim-Lee and J.P. Helgeson. 1993. RFLP Analysis of Chromosomal Segregation in Progeny from an Interspecific Hexaploid Between *Solanum brebidens* and *Solanum tuberosum*. *Genet. Soc. Amer.*

Yasuhiko Mukui 1996. 8. In Situ Hybridization. p. 155-167. In: K. Fukui and S. Nakayama (ed.). Plant chromosomes: laborotoy method. CRC Press Inc., New York.

고영진, 정희정. 1994. 우리나라 감자역병균 A2 교배형 및 Metalaxyl 저항성균의 빈도 및 분포의 변화. 한국식물병리학회지. 10: 92-98.

소만서, 이왕휴. 1993. 감자역병균 *Phytophthora infestans*의 A2 교배형의 발생. 한국 병리학회지. 9: 275-279