

T 6022190

최 종
연구보고서

고랭지 양파 응성불임 연관 DNA 표지인자 개발을
통한 우량품종 육성 및 저장성과 기능성 비교

Breeding of Long-day Onion by Male Sterile
Linkaged DNA Markers and Analysis of Storage
and Functional Characteristics

연구기관

주관연구기관 : 고령지농업연구소

협동연구기관 : 건국대학교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “고랭지 양파 응성불임 연관 DNA 표지인자 개발을 통한 우량품종 육성 및 저장성과 기능성 비교” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007년 5월 일

주관연구기관명 : 고령지농업연구소

총괄연구책임자 : 권 영 석

세부연구책임자 : 조 광 수

연 구 원 : 이 응 호

연 구 원 : 김 원 배

연 구 원 : 류 승 열

연 구 원 : 서 종 택

연 구 원 : 장 석 우

연 구 원 : 이 종 남

연 구 원 : 임 주 성

연 구 원 : 홍 수 영

연 구 원 : 서 효 원

연 구 원 : 문 지 영

연 구 원 : 윤 봉 경

협동연구기관명 : 건국대학교

협동연구책임자 : 박 세 원

연 구 원 : 고 은 영

여 백

요 약 문

I. 제 목

고랭지 양파 웅성불임 연관 DNA 표지인자 개발을 통한 우량품종 육성 및 저장성과 기능성 비교

II. 연구개발의 목적 및 필요성

고랭지 환경에 적응하는 고품질 고랭지 양파 F₁ 품종개발을 위해서는 웅성불임계통 육성이 필수적이거나 국내에서는 고랭지용 F₁ 품종육성을 위한 웅성불임 계통육성이 전무한 상태이다. 고랭지 환경에 적응하는 고품질의 장일형 계통의 웅성불임성 계통을 육성하고, 이를 이용한 F₁ 조합능력 검정을 통하여 우수한 조합을 선발한 다음 고랭지 환경에 적응하는 품종을 개발하기 위해서는 지역적응성 시험이 필요하다. 고랭지는 해발 400m 이상을 준고랭지라 하는데 양파가 재배되고 있는 지역은 해발 300-800m 사이에서 재배되고 있어 각 지역 별 기상 및 재배조건이 다르므로 각 지역 별 적응성 시험을 하여 우수한 지역적응성 품종을 개발하는 것이다.

양파는 웅성불임성을 이용한 일대잡종 종자가 대부분으로 일대잡종 종자 생산을 위해서는 유지친, 웅성불임친 및 회복친으로 구성된 3가지 계통이 필요하다. 웅성불임친 및 유지친 육성을 위해서는 세포질 및 핵내 웅성불임회복 유전자형의 구분이 필수적으로 현재까지는 웅성불임친과 교배 및 후대검정 (꽃가루 생산 유무를 관찰)하여 유전분석후 판정하는 방법을 이용하고 있다. 그러나 양파는 2년 1세대 작물로 세포질 및 웅성불임회복 유전자형 판단에만 최소 4년내지 8년이 소요되며 검정교배 집단을 유지 관리하기 위하여서도 많은 예산이 투입되어야 한다. 더구나 웅성불임성의 경우 환경에 민감하여 불임과 가임의 판단을 통한 유전분석이 어려운 실정이다. 만약 웅성불임과 연관된 DNA 표지인자를 개발하여 육종에 이용한다면 국내 양파 품종 개발의 기간을 시간적 공간적 경제적으로 줄여줄 것으로 판단된다.

따라서 본 연구의 목적은 양파의 일대잡종 품종 육성을 위한 웅성불임계통 및 유지친 선발에 필요한 육종연한 단축 및 비용 절감 위한 세포질 및 핵내 웅성불임 유전자

연관 DNA 표지인자 개발 및 실용화 기술개발을 목적으로 수행되었다

고랭지양파는 항산물을 많이 함유하고 있어 항암효과가 인정되었고, 장일형 양파는 pyruvic acid 등의 함량이 높아 기능성 채소로 개발이 가능하다. 양파는 품종이나 계통별로 크기, 모양, 색택 등의 외부 품질인자 뿐만 아니라 당이나 pyruvic acid, 황화합물(ACSO) 등의 내부인자들에 있어서 차이가 있다. 특히 황화합물(ACSO)이 기능성에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 양파 ACSOs 성분의 정량 분석 조건을 확립함으로써 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성을 비교하여 우수 품종 및 계통을 선발하고자 하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 고랭지 환경에 적합한 고품질의 고랭지양파를 육성하기 위하여 2004년 5월 부터 2007년 5월까지 3년간 고령지농업연구소와 건국대학교가 공동으로 다음과 같이 수행하였다.

1. 고랭지양파 우량 응성불임계통 육성

고랭지 환경에 적응하는 우수한 응성불임계통을 육성하기 위하여 응성불임 계통을 육성하기 위하여 B/C 조합의 후대에서 임성을 확인하여 응성불임 계통을 육성하고, B/B 및 B/C의 교배조합을 통하여 새로운 응성불임 계통을 육성하였다. 응성불임 유지친으로 확인된 것은 A line 과 교배를 통하여 A, B line을 육성하였다. 다양한 응성불임친을 육성하기 위하여 표지인자를 통하여 세포질이 N으로 확인된 개체 및 계통에 대하여 우수한 품질친을 교배하여(B/C) 및 B/B를 통하여 새로운 응성불임 계통을 육성하고자 시도하였다. 이와 같은 방법으로 숙기 및 구형 등 다른 여러 가지 계통의 응성불임 유지친 계통을 육성하였고 금후 세대진전을 통하여 고정된 다음 F₁ 품종육성의 재료로 사용할 것이다.

2. F1 조합능력 성능검정

고랭지양파 F1 품종을 육성하기 위하여 만추황 및 도입된 응성불임 계통을 이용하였고, 품질친으로 육성된 다양한 계통을 가지고 F1 성능검정을 실시하였다. 1년차 성능검정에서 우수한 조합은 2차 년도에 생산력 검정을 실시하였고, 생산력검정에서도 우수한 조합은 지역적응성을 검정하였다. 3년간 약 150조합을 작성하여 성능검정

을 실시하였다. 성능검정은 숙기, 내병성, 수량 및 품질친등을 조사하였다.

3. 고랭지양과 우량계통 지역적응 시험

F1 품종을 육성하기 위하여 조합성능검정 및 생산력 검정에서 우수한 조합은 다양한 고랭지 환경에 적응성을 알아보려고 실시하였다. 1년차에 6조합, 2년차에 2조합, 3년차에 5조합 등 총 13조합을 공시하여 '04년에는 4개 지역, '05~'06년에는 3개지역에서 실시하였다. 그 지역 및 해발을 보면 대관령(해발 800m), 진부(600m), 인제(500m), 홍천 내면(500m)이다. 이 중 인제는 2004년에만 실시하였다.

4. 생명공학기법을 이용한 응성불임 관련 DNA 표지인자 개발 및 실용화연구

본 연구는 양파의 응성불임을 조절하는 것으로 알려진 세포질 응성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자를 실제 육종에 이용하기 위한 실용화 연구, 그리고 응성불임 인자를 회복시키는 핵내 응성불임회복 유전자와 연관된 DNA표지인자의 개발로 구성되어 있다. 또한 DNA 표지인자를 이용해서 응성불임친을 유지할 수 있는 유지친의 조기육성과 핵내 응성불임회복 유전자형별 집단을 육성하고자 하였다.

먼저 세포질 응성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자 실용화 연구에서는 실시간 유전자 증폭기술을 이용한 high through-put 기술 개발 하고 다양한 계통의 세포질 응성불임인자를 동시에 판별하기 위한 multiplex PCR-RFLP 및 Real-time PCR의 검출한계 설정하였다. 세포질 응성불임인자를 이용한 유지친 육성을 위해 우수 고정계통 내의 N- 세포질 선발 및 A line 이용한 임성확인용 교배조합 작성하고 후대 유전분석을 실시하였다. 둘째 핵내 응성불임회복 유전자와 연관된 DNA표지인자의 개발하기 위해 핵내 응성불임 유전자형 확인 및 DNA표지인자 개발 용 집단육성과 응성불임회복 유전자 연관 SSR(simple sequence repeats) 표지인자 개발을 실시하였다.

5. 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성 비교

고랭지 양파의 고기능성 성분(황화합물(ACSOs) 비교분석하기 위하여 황화합물의 추출 및 분석조건 확립하였으며 품종 및 계통간 황화합물의 정성 및 정량분석하였다. 저장성이 좋은 고랭지 양파의 저장성 관련 하여 양파성분 조성파 저장성과의 상관관계 구명하고 저장기간 중 생리적 특성을 연구하였다. 고랭지양파 저장성이 기능성이 우수한 계통 선발효율을 높이기 위하여 기능성 및 저장성 평가기법 개발하였으며 외관 특성 및 간단한 분석에 의해 기능성 및 저장성 평가기법 개발하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발의 결과

가. 고랭지양파 우량 응성불임계통 육성

고랭지 환경에 적응하는 고품질의 응성불임 계통육성은 총 175조합 중 22계통이 응성불임 유지친으로 확인 후 A, B line 육성하였다. 다양한 응성불임친을 육성하고자 B/B line은 32조합을 작성하였고, 대구성의 인자를 도입하기 위하여 Exhibition 및 사뽀로기를 이용한 B/C line을 등의 조합을 작성하였다.

응성불임 유지친으로 확인된 AM 계통과 B/B line에서 우수한 계통들을 선발하였다. 도복기는 W202B/W404B-2 가 7월 25일, W205B/44166B-5가 8월 10일로 가장 늦었다. AM 계통의 도복기는 7월 25일부터 8월 5일까지 숙기가 다양하였다. 구중은 2002-213BxW202B/W404B, W205B/44166B-2이 183g, 164g 으로 높았다. AM 계통은 구중은 대구가 148g 으로 높은 것을 선발하였으나 전체적으로 구중이 낮은 편이었다.

구형은 AM 및 B/B line에서 원형이 많았으며 일부 계통은 편원형이었다. 구피색은 모두 황갈색이었으며 구형지수는 0.88~1.14로 원형~타원형을 보였다. 품질 특성을 보면 생장점수는 모두 2.0개 이하로 양호하며 생장점 사이의 거리도 1.4cm 이하여서 single centerfh 보아도 좋다. 링수는 선발계통은 모두 8.0개 이상으로 많은 편이었다. 당도는 W202B/W404Bx2002-213B는 11.3°Brix로 가장 높았다. 건물율의 비율을 보면 W202B/W404Bx2002-213B이 19.8%로 가장 높았다. 건물율은 저장성과 상관관계가 높다고 보고 되었으며 저장성 선발기준의 좋은 지표가 된다. 지금까지 선발된 AM 계통은 2007년 포장에서 특성검정을 후 종묘회사 및 연구기관에 분양을 할 예정이고, B/B line은 임성확인 및 선발을 계속할 예정이다.

나. F1 조합능력 성능검정

'04년 50조합, '05년 50조합, '06년 60조합을 공시하여 F1 조합능력을 검정하였다. 1년차에서는 만추황/월륜, W910/가무이, W205/jp6, W910/가무이 등이 종합적으로 볼 때 가장 우수하였고, 2년차에서는 NY36-4/월륜 등 4개 조합, 3년차 4개 조합은 지역적응시험에 공시하였다. 각 조합별 특성을 보면 도복기에서도 많은 차이를 보였는데 구비대지수가 높았던 W404A/swift는 7월 18일로 가장 빨랐으며 NY36-A/탑원, 만추황/jp-4 및 44165/천심 조합에서는 8월 2일로 가장 늦었다. 구중에서는 만추황/jp6 은 130.2로 가장 높았고, 만추황/radar 123.7 등 총 8개 조합에서 구중이 히구마

보다 좋았다. 당도 및 건물율에서는 히구마 7.10, 11.94% 에 비하여 W910/가무이 조합에서는 9.44, 15.69로 매우 높게 나타났다. 생장점수는 1.3~2.3개로 나타났으나 대부분 히구마와 울프의 1.7, 2.0개로 비슷한 경향을 보였다. 저장성은 대비종인 히구마가 69.7%로 매우 높았으며 울프 40.0%, 가무이 13.0%였다. 공시 조합의 경우 W205/jp-4 등 7조합은 멥아율이 0.0%로 저장성이 매우 좋았다. 이들 우수 계통은 지역적응 시험에 공시하여 고랭지 환경 적응성을 검정하였다.

다. 고랭지양과 우량계통 지역적응 시험

1년차에 6조합, 2년차에 2조합, 3년차에 5조합 등 총 13조합을 공시하여 '04년부터 06년까지 3개 지역에서 실시하였다. 구비대시기는 인제가장 빨랐으며 대관령 지역이 가장 늦었다. 구 특성을 보면 구중은 진부지역이 가장 높았고, 대관령이 가장 낮았다. 이와 같은 경향은 다른 시험에서도 비슷한 경향을 보였으며 대관령 지역의 경우 해발이 높아 생육기간이 짧은 것이 원인이라고 생각된다. 진부지역에서의 구중은 고시가-1호가 156.4g 으로 히구마 142.8g 보다 높아 우수하였다. 이와 같은 결과는 홍천지역에서도 같은 경향을 보여 고시가-1호 173.8g, 히구마 163g 이었고, 대관령에서는 고시가-1호 102.5g, 히구마 85.8g 으로 3개 지역에서 모두 우수 하였다. 나머지 계통들은 지역간의 편차가 심하였다. 3년간 3개지역을 종합할 때 고시 가-1호는 수량에서 3,585kg/10a 로 히구마의 3,457kg/10a 보다 3.7% 높았으며 저장성은 멥아율에서 37.8%로 히구마의 49.8%보다 10% 낮았다. 이상의 결과를 종합할 때 고시가-1호는 품종명 '대관황'으로 품종등록을 출원하였다. 금후 다른 계통들에 대해서는 3년간의 지적시험 요건을 갖춘 우수한 조합은 계속적으로 품종등록 할 예정이다.

라. 생명공학기법을 이용한 응성불임 관련 DNA 표지인자 개발 및 실용화연구

세포질 응성불임 연관 마커의 실용화 기술개발에 있어서 양과의 응성불임 특이 분자 표지를 이용하여 육성중인 계통의 응성불임 형태를 판단 결과 총 62개의 계통 중 "제비황" 등 7개 품종(계통)이 CMS-T type으로 판명되었다. 세포질 응성불임인의 판별법을 이용하여 한번에 몇 개 혹은 10개의 sample을 하나의 PCR tube에서 동시에 진단할 수 있는 대량판별법을 개발하고자 PCR-RFLP 및 Real-time PCR 방법을 개발하였다. 즉 N 세포질과 S 세포질 인자를 적정 농도별로 혼합 후 PCR-RFLP 및 Real-time PCR을 수행한 결과 PCR-RFLP의 경우는 10%의 혼합까지도 검출이 가능한 반면 Real-time PCR은 20%의 검출한계를 설정할 수 있었다.

본 결과를 이용할 경우 유망계통의 세포질 응성불임 형태를 대량으로 판별 할 수 있을 것으로 판단된다.

핵내 응성불임 유전자 연관 DNA 표지인자 개발에서는 양파에 특이적인 SSR (Simple sequence repeat) 마커 52종을 이용하여 pre-screening 과정을 통하여 2종의 SSR 마커를 선발하였다.

핵내 응성불임 회복 유전자 형태별 집단 육성하였으며 핵내 응성불임 회복 유전자 연관 DNA 표지인자 개발하여 SSR(Simple sequence repeats) 표지인자 개발, 염기서열 결정 및 상동성 분석하였다.

마. 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성 비교

ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분에서 각 성분별 처리간의 함량 차이를 살펴본 결과 우선 MCSO (methyl-cysteine sulfoxide)는 울프 F3에서 0.83mg/g으로 다른 처리구에 비해 높은 함량을 나타내었다.

PrenCSO(1-propenyl-cysteine sulfoxide) 성분은 JP-22 계통이 1.62mg/g으로 높았다. ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분을 지역별 함량 차이를 살펴본 결과 우선 히구마 품종의 경우 대관령에서 재배된 양파가 총 황화합물의 함량이 가장 높았으며, 홍천에서의 함량이 가장 낮았다. 만추황/울프 품종은 홍천에서 재배된 양파의 황화합물이 가장 높게 나타났으며 인제에 재배된 처리구와는 유의차는 없는 것으로 보였다.

MCW(methanol:Chloroform:Water)로 추출한 양파의 항산화 능력은 매우 낮게 나타났고 조사 품종 및 계통 중 IC50이 가장 낮게 나타난 것은 red beauty였고, 가장 높은 수치는 만추황/일본도입구selfing-4와 HDH-3 양파였다.

고랭지 양파의 품종 및 계통별로 가용성당의 함량차이는 컸으며 이중 가무이, amposta, 고정계통, HDH-3, 고정계통, 만추황 양파가 가용성 당함량이 비교적 높게 나타났다.

고랭지 양파 품종 및 계통별 pyruvic acid 함량은 5226(W202A(2001-41)/중생대구, F1), 5690(대관/울프, F2), 5241(W404A/탑원F2, F1) 계통이 높은 함량을 나타냈으며 5564(Rumba, 고정계통), 5606(H/97-1-1-5, 고정계통) 양파는 2.80mM/gFW으로 가장 낮은 함량을 나타내었다. 고랭지 양파의 계통 및 품종별 pyruvic acid와 ACSOs 함량, ACSOs과 항산화 활성정도의 상관관계는 낮게 나타났으며 가용성 당 함량과 부패

올과의 상관계수는 $r=0.2802$ 로 상관관계가 약하게 나타났다.

2. 연구개발의 결과활용에 대한 건의

본 연구는 국내 장일형 양파인 고랭지 춘파양파의 품종육성을 위한 응성불임계통 육성, 품질친 육성, F1 조합성능검정, 응성불임연관 표지인자 개발 및 육성계통에 대한 저장성 및 기능성 성분을 분석함으로써 금후 품종육성 및 보급과 육종효율을 높이는 데 그 목적이 있다. 관련 시험을 통한 결과는 다음과 같이 활용하고자 한다.

첫째 품종등록을 신청한 F1 품종인 '대관황'은 품종등록이 완료되면 종묘회사에 분양을 할 예정이다. 2006년 지적 2년차 및 1년차인 계통은 2007년 이후 지적시험을 계속하여 우수한 조합은 품종등록 할 예정이다. 응성불임성 계통 A, B 계통은 2007년 포장 특성검정 및 평가회를 실시하여 종묘회사 및 연구기관에 분양할 예정이다. 또한 세대진전 및 임성을 확인하고 있는 조합에 대해서는 연차적으로 특성평가를 계속하고 차후에 우수한 계통은 분양할 예정이다. 이들 조합 및 계통은 고랭지양파 품종육성에 있어서 우수한 재료로 사용 될 것으로 생각된다.

응성불임연관 표지인자를 개발하였고, 실시간 유전자 증폭기술을 활용한 세포질 응성불임 인자 신속 간이 진단 기술은 기술이전 요청이 있을 경우 (2005년 농촌진흥청 기술이전 자료) 기술을 전수 할 계획이다. 개발된 양파의 세포질 응성불임인자의 판별기술(CMS-S, CMS-N, CMS-T)은 보유 계통에 대한 응성불임 형태를 조기에 판별할 계획이다. 핵내 세포질 응성불임인자 판별용 집단은 금후 응성불임회복 유전자 개발을 위한 육성 재료로 이용 가능할 것이고, 이 방법을 사용할 경우 응성불임계통 육성 할 경우 시간, 노력 및 경비를 절감할 수 있다.

양파 품종 선발 및 육성을 위한 기초자료로서 활용할 계획이며 또한 국내에서 육성 되는 양파 품종들 간의 ACSOs 성분 함량 비교와 동물실험의 심혈관 기능 개선 효과를 검증 할 예정이다.

둘째 이 과제를 수행하면서 연구 결과를 가지고 박사학위 1명의 학위논문의 주요부분을 차지하였으며 원예학회, 육종학회 등에 5편의 논문을 발표하였고, SCI 논문 1편 및 KSCI 논문 1편 총 2편을 국내외 학술지에 게재하였다. 금후에도 국내 및 국제학회에 3건을 추가로 발표 및 게재 할 예정이다. 아울러 고랭지양파의 우수성과 '대관황' 품종육성에 대해 TV 및 신문에 수회에 걸쳐 홍보를 하였다.

이와 같은 결과를 종합해 볼 때 고랭지에 적응하는 우수 응성불임 계통 육성, F1 품종개발, 응성불임 연관 표지인자를 개발하여 육종효율을 향상시켰으며, 고랭지양과의 저장성 및 기능성을 분석하여 우수성을 입증하였다. 금후에는 육성된 응성불임 계통을 이용하여 더 많은 교배조합을 작성하고, 이 계통들을 이용하여 우수한 F₁ 품종을 육성할 예정이다. 현재 고랭지양과 재배면적이 점차 감소하고 있는 이유는 고랭지에 적응하는 우수한 장일형 품종이 절대적으로 부족하기 때문이다. 또한 우수한 품종을 개발할 경우 국내의 수입대체 효과는 물론 중국 등으로 종자수출도 가능할 것으로 생각된다. 국내 양과 품종 기반 육성 및 품종육성과 관련된 생명공학기술의 개발로 육종효율 증진에 긍정적인 결과를 가져 올 것으로 생각되어 앞으로 장일형 기능성 양과 및 수출용 양과 품종을 위하여 3-5년간 연구비의 추가지원이 가능했으면 한다.

SUMMARY

1. Research Results

가. Breeding of promising male sterile lines in long-day onion

In first year, a total of 175 combination was made for identifying of maintainer line(B line) using test cross. Among them, 22 lines were identified as new B line. The selected B line was selfed for multiplication and crossed with male sterile line(A line) for introducing S cytoplasmic factor to breed new A line. For the breeding of new B line , the 32 combination cross between B line and B line were made. 'Exhibition' and 'Sapporoki' were used for the cross between maintainer line and restore fertility line for introducing high yield to breeding lines.

In second year, some promising B lines were selected in combination between B lines. The lodging date of cross between W202B and W404B-2 was July 25th and that of cross between W205B and W4166B-5 was Aug. 10th. Th bulb weight of cross between 2002-213B and W202B/W404B, W205B and 44166B-2 was 183g, 164g, respectively. The bulb color was yellowish brown and bulb shape ratio was from 0.88 to 1.14 that meant circular or oval shape. The number of growing points was below 2.0 and the distance between two growing points was below 1.4cm that could be used for single center breeding program. The number of rings was above 8.0 and total sugar contents was highest in cross between W202B and (W404B cross with 2002-213B) as 11.3°Brix.

In third year, 30 male sterile lines were selected as promising breeding lines. Especially, the cross between 44166B and hybrid flamenco had high disease resistance and higher yield, 181g and high purity among the population. Two red male sterile lines which had anthocyanin were selected and further works will be made, fertility confirmation and selection.

ㄴ. Examination of F₁ hybrid combining ability

The fifty, fifty and sixty crosses were made for F₁ hybrid combining ability in 2004, 2005 and 2006 year, respectively. In first year, four F₁ hybrid cross lines 'Manchuhwang and Wolryun', 'W910 and Kamui', 'W205 and jp6' and 'W910 and Kamui' were selected for promising new F₁ hybrid lines. In second year, four F₁ hybrid corss lines 'NY36-A and Wolryun', In third year, Manchuhwang and RADAR, Manchuhwang and tuskimikari, W910A and Kamui F4, W202A/Wolf F4, were selected. In third year, selected four promising F₁ hybrid lines were tested for regional adaptation. In the lodging date, the cross between W404A and Swift was June 18th and crosses 'NY36-A and Topone', 'Manchuhwang and jp-4' and '44165 and Chunsim' were August 2nd. When we analyzed the bulb weight, the corss between 'Manchuhwang and jp-6' was shown in highest figure, 130.2g and bulb weight of 8 combination were higher than that of Higuma, control variety. The sugar content and dry matter(%) of 'Higuma' was 7.10 and 11.94, respectively but the higher sugar content and dry matter(%) of the cross between W910A and Kamu was shown in 9.44 and 15.69, respectively. The range of number of growing points was 1.3~2.3(ea/bulb) among the breeding lines and this range was similar to that of 'Higuma' and 'Kamu'. The sprouting ratio of 'Higuma', 'Wolf' and 'Kamui' was 69.7, 40.0 and 13.0%, respectively. On the other hand, the storage ability of new F₁ breeding lines was higher than that of control varieties, especially the sprouting ratio was 0% in the cross between W205 and jp-4.

ㄷ. Regional adaptation experiment of promising breeding lines

The six, two and five crosses were tested for regional adaptation at three highland areas in 2004, 2005 and 2006 year, respectively. The bulbing time was earliest in 'Inje' area and latest in 'Dargwallyeong' area. The highest average bulb weight was shown in 'Jinbu' area and the lowest average bulb weight was shown in 'Daegwallyeong' area. That was assumed that short growing period because of high altitude resulted in poor yield in 'Daegwalllyeong'. Bulb weight of

hybrid line, NIHA-GA-1, was 156.4g and that of 'Higuma' was 142.8g in average at 'Jinbu' area. There were same trend in 'Hongcheon' and 'Inje' area, the bulb weight of NIHA-GA-1 was 173.8g and 102.5g in 'Hongchoen' and 'Inje' area, respectively. The bulb weight of other lines were fluctuating depending on the area and year. After regional adaptation experiment in three year and three highland areas, the average yield of NIHA-GA-1 had 3,585kg/10a and that of 'Higuma' was 3,457kg/10a, respectively. The sprouting ratio of NIHA-GA-1 was 37.8% and that of 'Higuma' was 49.8%. In conclusion, NIHA-GA-1 was applied for new cultivar enrollment as 'Daegwanhwang'. In the future, another promising F₁ hybrid lines will be selected through regional adaptation experiment and be applied for new F₁ hybrid cultivars.

라. Application of DNA markers of CMS factors in cytoplasm and to develop of DNA markers linked to fertility restore gene in nucleus

1) Application of DNA markers linked to CMS factors

We have developed a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) marker that can identify male-fertile (N) and male-sterile (S) cytoplasm in onions. The PCR-RFLP marker is retained in a chloroplast gene *psbA* amplicon. Digesting the amplicons from different cytoplasm-containing varieties with the *MspI* restriction enzymes shows differences at this recognition sequence (CCGG). Although the N-cytoplasm has one viable *MspI* site, the S-cytoplasm plants retain a point mutation (CTGG), and thus no *MspI* site. Moreover, this marker can discriminate between N- and S-cytoplasms in the same DNA sample mixture at a ratio of up to 10-fold, indicating its high diagnostic precision. Furthermore, we assessed the validity of the SNP detected in *psbA* gene for high-throughput discrimination of CMS factors using Real-time PCR and a TaqMan probe assay. For the identification of CMS type in onion, two different DNA markers, *cob* and *orf501A*, have been used for 60 breeding lines. Among these breeding lines, 7 lines were shown in CMS-T.

2) Development of DNA markers linked to restore fertility gene

For the making population of restore fertility, we selected N-cytoplasm plants from "Manchuhwang(open-pollinated cultivar)" which was bred by NIHA using SCAR marker. When CMS-factor of 150 plants from 'Manchuhwang' was analyzed, 124 plants had N-cytoplasm. N-cytoplasm plants were crossed with male sterile inbred line(W202A, bred by Wisconsin Univ.). Total 66 crosses were accomplished, but 34 crosses could be analyzed for the nuclear restore allele. Among 34 combination, the offsprings of one combination showed all male sterility and this lines thought be the maintainer line in the 'Manchuhwang'. This maintainer line was just available with materials for F₁ hybrid seed production without fixing of characters. To develop DNA markers linked to fertility restore gene in onion, we investigated DNA polymorphism between two different DNA bulks that is dominant and recessive plants in 'Manchuhwang', respectively using onion SSR(simple sequence repeats) based on GeneBank ([Http://www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Among the SSR in onion, ACM103 which has TCC motif in genome was shown in polymorphism in those two DNA bulks. Dominant and recessive fertility restore allele plants has 150bp and 180bp PCR products, respectively PCR products were sequenced and analyzed multiple sequence alignment using Vector NTI(ver. 10). As a results, there is three major tandem repeats(TCC) missing in dominant fertility restore line(RfRf). This SSR marker linked to fertility restore gene in onion can be used for direct selection of male sterile line with DNA marker related to the cytoplasmic male sterile factors.

ㅁ. Comparison of storage ability and functionality among the long-day onion

When we analyzed the sulfide compounds, especially ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) compounds, in long-day onion, MCSO (methyl-cysteine sulfoxide) concentration of Wolf-F₃ line was highest figure, 0.83mg/L and the highest concentration of PrenCSO(1-propenyl-cysteine sulfoxide) was shown in JP-22 as 1.62mg/g. The total contents of

ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) compounds of onion cultivated in different area was analyzed. When 'Higuma' cultivar was grown in 'Daegwallyeong' area, the highest contents of ACSOs was appeared and vice versa results in 'Hongcheon'. But the highest contents of ACSOs was shown in 'Hongcheon' area in 'Manchuhwang/Wolf' breeding line.

The onion extracts that was extracted by MCW(methanol:Chloroform:Water) solution had low anti-oxidant ability. When IC_{50} was investigated among the breeding lines, the highest of IC_{50} was shown in 'Manchuhwang/JP_selfing_4' and HDH-3, and the lowest of IC_{50} was shown in 'Red Beauty'. In soluble solid contents(SSC), 'Kamui', 'Amposta', 'HDH-3' and 'Manchuhwang' had slightly higher contents than that of other breeding lines. When we compared the concentration of pyruvic acid in onion bulb, breeding lines such as '5226', '5690' and '5241' were higher than that of other breeding lines and '5564' and '5606' were lowest, 2.80mM/gFW. The correlation between the concentration of pyruvic acid and ACSOs, and the concentration of ACSOs and the ability of anti-oxidant was not significant in onion bulb. But when the correlation between SSC and rot ratio was shown, $r=0.2802$.

CONTENTS

Chapter I . Introduction -----	20
Section 1. Research Background -----	20
Section 2. Research Objectives -----	21
Section 3. Research range -----	22
 Chapter II. Present status of research technique of home and abroad	
Section 1. Present status of research technique in home country -----	24
Section 2. Present status of research technique in abroad -----	25
 Chapter III. Research contents and results	
Section 1. Breeding of male sterile in long-day onion -----	26
1. Introduction-----	26
2. Materials and Methods -----	26
3. Results and Discussion -----	29
4. Conclusions-----	37
 Section 2. Test of Characteristics of F1 combinations -----	38
1. Introduction-----	38
2. Materials and Methods -----	39
3. Results and Discussion -----	40
4. Conclusions-----	51
 Section 3. Test of F1 combinations adaptable in highland area -----	52
1. Introduction-----	52
2. Materials and Methods -----	53
3. Results and Discussion -----	55
4. Conclusions-----	66

Section 4. Application of DNA markers of CMS factors in cytoplasm and to develop of DNA markers linked to fertility restore gene in nucleus	
1. Introduction-----	69
2. Materials and Methods -----	71
3. Results and Discussion -----	75
4. Conclusions-----	88
 Section 5. Quantitative comparison of storage and functional components of different onion cultivars and phenotypes -----	89
1. Introduction-----	89
2. Materials and Methods -----	92
<Test 1> Studies on optimal HPLC analytical condition and seperation of onion -----	92
<Test 2> Quantification of ACSOs and antioxidant activity in different onion cultivars and phenotypes -----	100
<Test 3> Analysis of storage components in different onion cultivars and phenotypes -----	102
3. Results and Discussion -----	104
<Test 1> Studies on optimal HPLC analytical condition and seperation of onion -----	104
<Test 2> Quantification of ACSOs and antioxidant activity in different onion cultivars and phenotypes -----	108
<Test 3> Analysis of storage components in different onion cultivars and phenotypes -----	113
4. Conclusions -----	118
 Chapter IV. Achievement of the goal and its contribution -----	120
Chapter V. Plans for application of the results -----	123
Chapter VI. Collected Information from abroad during for research process ---	125
Chapter VII. References-----	126

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	
제1절	연구개발의 목적	20
제2절	연구개발 필요성	20
제3절	연구범위	21
제 2 장	국내외 기술개발 현황	24
제1절	국내기술개발 현황	24
제2절	국외기술개발 현황	25
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	26
제1절	고랭지양과 우량 육성불임계통 육성	26
1. 서 설		26
2. 재료 및 방법		26
3. 결과 및 고찰		29
4. 종합결과		37
제2절	F1 조합능력 성능검정	38
1. 서 설		38
2. 재료 및 방법		39
3. 결과 및 고찰		40
4. 종합결과		51
제3절	고랭지양과 우량계통 지역적응 시험	52
1. 서 설		52
2. 재료 및 방법		53
3. 결과 및 고찰		55
4. 종합결과		66

제4절 생명공학기법을 이용한 응성불임 관련 DNA 표지인자 개발 및 실용화연구	
1. 서 설	69
2. 재료 및 방법	71
3. 결과 및 고찰	75
4. 종합결과	88
제5절 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성 비교	89
1. 서 설	89
2. 재료 및 방법	92
<시험1>양파의 황화합물 분석조건 확립 및 분획 분리	92
<시험2>양파의 품종 및 계통간 황화합물의 정량 분석과 항산화 활성 조사	100
<시험3>고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 조사	102
3. 결과 및 고찰	104
<시험1>양파의 황화합물 분석조건 확립 및 분획 분리	104
<시험2>양파의 품종 및 계통간 황화합물의 정량 분석과 항산화 활성 조사	108
<시험3>고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 조사	113
4. 종합결과	118
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	120
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	123
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	125
제 7 장 참고문헌	126

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

고랭지 환경에 적응하는 고품질 고랭지 양파 F₁ 품종개발을 위해서는 응성불임계통 육성이 필수적이거나 국내에서는 고랭지용 F₁ 품종육성을 위한 응성불임 계통육성이 전무한 상태이다. 고랭지 환경에 적응하는 고품질의 장일형 계통의 응성불임성 계통을 육성하고, 이를 이용한 F₁ 조합능력 검정을 통하여 우수한 조합을 선발한 다음 고랭지 환경에 적응하는 품종을 개발하기 위해서는 지역적응성 시험이 필요하다. 고랭지는 해발 400m 이상을 준고랭지라 하는데 양파가 재배되고 있는 지역은 해발 300-800m 사이에서 재배되고 있어 각 지역 별 기상 및 재배조건이 다르므로 각 지역 별 적응성 시험을 하여 우수한 지역적응성 품종을 개발하는 것이다.

양파는 응성불임성을 이용한 일대잡종 종자가 대부분으로 일대잡종 종자 생산을 위해서는 유지친, 응성불임친 및 회복친으로 구성된 3가지 계통이 필요하다. 응성불임친 및 유지친 육성을 위해서는 세포질 및 핵내 응성불임회복 유전자형의 구분이 필수적으로 현재까지는 응성불임친과 교배 및 후대검정 (꽃가루 생산 유무를 관찰)하여 유전분석후 판정하는 방법을 이용하고 있다. 그러나 양파는 2년 1세대 작물로 세포질 및 응성불임회복 유전자형 판단에만 최소 4~8년이 소요되며 검정교배 집단을 유지 관리하기 위하여서도 많은 예산이 투입되어야 한다. 더구나 응성불임성의 경우 환경에 민감하여 불임과 가임의 판단을 통한 유전분석이 어려운 실정이다. 만약 응성불임과 연관된 DNA 표지인자를 개발하여 육종에 이용한다면 국내 양파 품종 개발의 기간을 시간적 공간적 경제적으로 줄여줄 것으로 판단된다.

따라서 본 연구의 목적은 양파의 일대잡종 품종 육성을 위한 응성불임계통 및 유지친 선발에 필요한 육종연한 단축 및 비용 절감 위한 세포질 및 핵내 응성불임 유전자 연관 DNA 표지인자 개발 및 실용화 기술개발을 목적으로 수행되었다

고랭지양파는 항산물을 많이 함유하고 있어 항암효과가 인정되었고, 장일형 양파는 pyruvic acid 등의 함량이 높아 기능성 채소로 개발이 가능하다. 양파는 품종이나 계통별로 크기, 모양, 색택 등의 외부 품질인자 뿐만 아니라 당이나 pyruvic acid, 황화합물(ACSO) 등의 내부인자들에 있어서 차이가 있다. 특히 황화합물(ACSO)이 기능성에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 양파 ACSOs 성분의 정량 분석 조건을 확립함으로써 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성을 비교하여 우수 품종 및 계통을 선발하고자 하였다.

제2절 연구개발 필요성

1. 기술적 측면

- 양파는 타가수정 작물로 자식열세현상이 심하고 한 세대가 2년으로 타작물에 비해 육종기간이 길어 국내 품종육성이 부진하며 고랭지양파에 대한 연구는 전무한 실정이다.
- 우수한 F1 품종을 육성하기 위해서는 반드시 옹성불임계통이 필수적이나 옹성불임계통 육성에 많은 기간 소요 : 10~20년 소요
- 외국의 경우 장일형 품종은 옹성불임계통을 이용한 F1 품종이고, 작형별, 용도별로 품종이 세분되어 있으나 국내에서는 고랭지용 F1 품종육성을 위한 옹성불임 계통육성이 전무함
- 옹성불임계통의 육종연한을 단축시키기 위해서는 세포질 및 핵내 옹성불임 유전자 연관 표지인자를 개발하여 옹성불임계통의 연한 단축이 필요함
- 고랭지양파 향산물을 많이 함유하고 있어 항암효과가 인정되었고, 장일형 양파는 pyruvic acid 등의 함량이 높아 기능성 채소로 개발이 가능함
- 양파는 품종이나 계통별로 크기, 모양, 선택 등의 외부 품질인자 뿐만아니라 당이나 pyruvic acid, 황화합물(ACSO) 등의 내부인자들에 있어서 차이가 있다. 특히 황화합물(ACSO)이 기능성에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 따라서 기능성 물질을 탐색 및 생리활성을 연구할 필요가 있으며 더 나아가 품종 육성하여 양파 수요를 창출할 필요가 있다.

2. 경제 · 산업적 측면

- 우리나라에서는 고랭지양파종자의 전량을 수입하여 재배하고 있는 형편이다
- 양파의 주생산이 추파위주로 이루어져 있어 수급 및 가격이 불안정하므로 고랭지 춘파양파 재배면적이 2,000~3,000ha로 확대되어야 한다.
- 고랭지 양파는 자연상태에서 보온만으로 저장이 가능하고, 저장성이 좋은 품종은 6개월 이상 저장이 가능하여 이듬해 봄까지 보관하므로 양파 수급에 안정을 기할 수 있다.
- 양파는 우리나라 농산물중 저온저장고의 34% 정도 차지하는 최대저장 품목이다
- 양파는 고추, 마늘, 파, 생강 등 5대 조미채소 중에서 재배 면적 측면에서는 4번째인 7%에 불과하나, 생산량에 있어서는 36%로 1위를 점하고 있어 타작물에 비하여 단위면적당 수확량이 높은 고소득 작물이다.

3. 사회·문화적 측면

- 고랭지양파의 재배면적 확대로 양파의 주년생산에 기여하고 농가의 지속적인 수입원 확보와 소비자 물가안정에 이바지함과 동시에 계획적 영농설계가 가능함으로 농민의 영농 의욕을 고취시킬 수 있다.
- 가을과 겨울 기간은 남부지방 저장양파의 품질이 저하되나 고랭지양파는 육질이 단단하고 고유의 색택이 좋으므로 소비자 기호를 충족시킬 수 있다.
- 양파는 건강식품으로서 건강에 대한 효능 즉 정혈작용, 식욕 증진, 기억력향상, 성인병 예방, 혈액순환, 콩팥 기능증진, 및 신체쇠약 및 치매예방에 효과가 인정될 뿐만 아니라 항암효과도 있어 각종 질환에 시달리는 현대인에게 필수적인 식품으로서 고품질 양파의 연중 공급은 국민건강 증진에 크게 기여할 것이다.

제3절 연구범위

본 연구는 고랭지 환경에 적합한 고품질의 고랭지양파를 육성하기 위하여 2004년 5월 부터 2007년 5월까지 3년간 고랭지농업연구소와 건국대학교가 공동으로 다음과 같이 수행하였다.

1. 고랭지양파 우량 응성불임계통 육성

고랭지 환경에 적응하는 우수한 응성불임계통을 육성하기 위하여 응성불임 계통을 육성하기 위하여 B/C 조합의 후대에서 임성을 확인하여 응성불임 계통을 육성하고, B/B 및 B/C의 교배조합을 통하여 새로운 응성불임 계통을 육성하였다. 응성불임 유지친으로 확인된 것은 A line 과 교배를 통하여 A, B line을 육성하였다. 다양한 응성불임친을 육성하기 위하여 표지인자를 통하여 세포질이 N으로 확인된 개체 및 계통에 대하여 우수한 품질친을 교배하여(B/C) 및 B/B를 통하여 새로운 응성불임 계통을 육성하고자 시도하였다. 이와 같은 방법으로 숙기 및 구형 등 다른 여러 가지 계통의 응성불임 유지친 계통을 육성하였고 급후 세대진진을 통하여 고정한 다음 F₁ 품종육성의 재료로 사용할 것이다.

2. F1 조합능력 성능검정

고랭지양파 F1 품종을 육성하기 위하여 만추황 및 도입된 응성불임 계통을 이용하였고, 품질친으로 육성된 다양한 계통을 가지고 F1 성능검정을 실시하였다. 1년차 성능검정에서 우수한 조합은 2차 년도에 생산력 검정을 실시하였고, 생산력검정에서

도 우수한 조합은 지역적응성을 검정하였다. 3년간 약 150조합을 작성하여 성능검정을 실시하였다. 성능검정은 숙기, 내병성, 수량 및 품질친등을 조사하였다.

3. 고랭지양과 우량계통 지역적응 시험

F1 품종을 육성하기 위하여 조합성능검정 및 생산력 검정에서 우수한 조합은 다양한 고랭지 환경에 적응성을 알아보려고 실시하였다. 1년차에 6조합, 2년차에 2조합, 3년차에 5조합 등 총 13조합을 공시하여 '04년에는 4개 지역, '05~'06년에는 3개지역에서 실시하였다. 그 지역 및 해발을 보면 대관령(해발 800m), 진부(600m), 인제(500m), 홍천 내면(500m)이다. 이 중 인제는 2004년에만 실시하였다.

4. 생명공학기법을 이용한 응성불임 관련 DNA 표지인자 개발 및 실용화연구

본 연구는 양파의 응성불임을 조절하는 것으로 알려진 세포질 응성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자를 실제 육종에 이용하기 위한 실용화 연구, 그리고 응성불임 인자를 회복시키는 핵내 응성불임회복 유전자와 연관된 DNA표지인자의 개발로 구성되어 있다. 또한 DNA 표지인자를 이용해서 응성불임친을 유지할 수 있는 유지친의 조기육성과 핵내 응성불임회복 유전자형별 집단을 육성하고자 하였다.

먼저 세포질 응성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자 실용화 연구에서는 실시간 유전자 증폭기술을 이용한 high through-put 기술 개발 하고 다양한 계통의 세포질 응성불임인자를 동시에 판별하기 위한 multiplex PCR-RFLP 및 Real-time PCR의 검출한계 설정하였다. 세포질 응성불임인자를 이용한 유지친 육성을 위해 우수 고정계통 내의 N- 세포질 선발 및 A line 이용한 임성확인용 교배조합 작성하고 후대 유전분석을 실시하였다. 둘째 핵내 응성불임회복 유전자와 연관된 DNA표지인자의 개발하기 위해 핵내 응성불임 유전자형 확인 및 DNA표지인자 개발 용 집단육성과 응성불임회복 유전자 연관 SSR(simple sequence repeats) 표지인자 개발을 실시하였다.

5. 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성 비교

고랭지 양파의 고기능성 성분(황화합물(ACSOs) 비교분석하기 위하여 황화합물의 추출 및 분석조건 확립하였으며 품종 및 계통간 황화합물의 정성 및 정량분석하였다. 저장성이 좋은 고랭지 양파의 저장성 관련 하여 양파성분 조성과 저장성과의 상관관계 구명하고 저장기간 중 생리적 특성을 연구하였다. 고랭지양파 저장성이 기능성이 우수한 계통 선발효율을 높이기 위하여 기능성 및 저장성 평가기법 개발하였으며 외관 특성 및 간단한 분석에 의해 기능성 및 저장성 평가기법 개발하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내기술개발 현황

- 고랭지 환경에 적응하는 장기저장성 품종 “만추황” 고정종 육성('02 고농연)
- 고랭지 장일형 양파 F1 '대관황' 육성('06 고농연)
- 장일형 융성불임계통 22계통 선발('04 고농연)
- 기능성 유색양파에 대한 인지도 및 기호도 상승으로 유색양파 재배면적이 증가
- 융성불임 연관 DNA 표지인자 개발('03 고농연)
- 양파 기능성 관련 형질 분석 및 고랭지양파의 기능성 및 효능에 대한 기초자료가 부족함
- 양파 생리활성성분 분석에 관한 연구는 많지 않고(Ha 등 1996), 더구나 생리활성 물질의 양에 대하여 정량 분석한 자료는 미진한 실정이다.

< 현 고랭지양파의 취약성 >

- 고랭지양파의 품종개발은 재배면적 감소로 인하여 민간 종묘회사에서 품종 육성 중단으로 지속적인 개발이 이루어지지 않고 있음
- 세계적으로 볼때 장일형 양파 재배가 많아 금후 고랭지 환경에 적응하는 품종이 개발되면 재배면적은 다시 증가가 가능하나 현재 육종기반이 약함
- 고랭지양파의 품종육성을 위해서 융성불임이나 계통육성은 국가기관에서 지속적으로 실시할 필요가 있으나 재배면적 감소로 어려움이 있음.

< 현 고랭지양파에서의 문제점 >

- 현재 고랭지대에서 재배되고 있는 품종은 외국품종은 종자가격이 195,000원/10a로 경영비에서 종자비가 고가이고, 환경에 따라 안정된 수량을 보여주지 못하고 있음
- 품종육성이 재배면적의 증감에 따라 지속과 중단이 반복됨으로 인해 우수한 품종육성에 어려움이 있음
- 재배농가에서 고랭지양파 장점인 작고, 단단하여 저장성이 좋은 150g 내외의 가정용을 목적으로 재배하여야 하나 대구를 목적으로 하다보니 재배가 안정적이지 못하고 마케팅에서 실패하였음
- 따라서 고랭지양파 재배면적이 증가하기 위해서는 우수한 품종과 마케팅 전략이 함께 추구되어야 할 것으로 생각됨

제2절 국외기술개발 현황

- 양파와 파의 속간교잡을 통한 노균병 저항성 품종 및 형질전환연구 활발 (와겐 니젠 대학)
- 형질전환 및 유용형질 표지인자를 통한 양파 유색계통의 유전자 개발 및 합성 경로에 대한 연구(텍사스 대학)
- 옹성불임성 계통육성을 위한 세포질 및 핵내 유전자 연관 DNA표지인자 개발 (위스콘신 대학)
- 미국의 여름양파 재배비중은 약 70~80% 정도이고, 일본은 50~60% 정도로 가을양파와 균형을 이루고 있으나 국내에서는 가을양파 재배면적이 95% 이상임
- 미국의 경우는 가을양파는 생식용 및 셀러드 용으로 사용되고 춘파양파는 저장 및 가공의 용도로 작형이 분화되었다. 또 대학과 농업기관, 민간회사의 역할 분담 및 상호연계가 잘되어 효율적인 육종을 하고 있다.
- RFLP (restriction fragment of length polymorphism) 기술을 이용하여 유전적 다양성 연구 및 EST markers 분석, 유전자 지도 작성(genetic linkage map)과 세포질 옹성불임인자 판별 표지인자 개발
- 양파 옹성불임 DNA 표지인자는 미토콘드리아 및 엽록체의 RFLP 분석을 이용하여 기존의 검정교배(test cross)보다 효율적으로 세포질 옹성불임 인자를 판별할 수 있는 기술이 개발(de Courcel et al., 1989; Havey, 1993).
- PCR을 기반으로 하는 DNA 표지인자가 개발(Alcala et al., 1997; Havey 1995; Sato 1998; Cho et al., 2001).
- 양파의 핵내 옹성불임회복 유전자는 Gokce 등(2002)이 Ms 유전자와 약 0.9cM 거리의 RFLP 표지인자를 개발하였으며 이를 이용할 경우 양파 집단내의 ms allele를 조기에 판별할 수 있을 것으로 보고하였다.
- 국외에서는 양파의 약리효과가 보고 되면서 1차 영양소 및 2차 대사 성분에 대한 연구가 활발히 진행되어 현재 혈행 기능개선, 혈당강하, 항균, 항산화 활성 등 다양한 생리활성 물질이 보고되고 있다.
- HPLC를 이용한 ACSO 분석에 이용하였고, Gustine (1985)은 *o*-phthaldehyde (OPA)와 2-mercaptoethanol로 ACSOs를 유도체화하여 MCSO를 *Brassica*에서 검출하였으며, Ziegler와 Sticher (1989)은 OPA와 2-methyl-2-propanethiol로 유도체화하여 마늘에서 MCSO와 2-PECSO를 분석하였다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 고랭지양파 우량 응성불임계통 육성

1. 서 설

양파 품종은 고정종과 F₁ 품종으로 구분되는데 세계적인 흐름은 고정종에서 순도 및 활력이 좋은 F₁ 품종 육성을 위주로 하고 있다. F₁ 품종을 이용하고 있는 양파, 당근, 고추 등 채소류에서 F₁ 품종을 육성하기 위해서는 반드시 응성불임계통이 필요하다. 양파의 응성불임성은 1925년 처음 발견되었으며 그 유전양식이 구명된 후 세계적으로 널리 이용되고 있다(Jones and Emsweller, 1925; Vandermeer and Vanbennekorn, 1971-1972). 양파는 대표적인 세포질응성불임형으로 세포질과 핵과의 상호작용에 의하여 응성불임성이 나타난다. 그러나 양파 일대잡종을 육성하기 위해서는 우량한 응성불임친(A line)과 응성불임친을 유지하는 유지친(B line), 그리고 우수한 화분친(C line)이 있어야 한다. 최근에는 C line 대신에 B line으로 C line을 대신하기도 한다. 이러한 경우에는 F₁이 100% 불임이 되어 품종의 모방이 불가능하다. 양파는 대표적인 타가수정작물로서 자식약세가 심하고 2년 1세대 작물로 타 작물에 비하여 육종연한이 많이 소요된다. 이러한 특성을 지닌 양파의 1대 잡종 품종 및 채종을 위해서는 응성불임친의 육성이 필요하다.

최근에는 생명공학 기법의 발달로 세포질 응성불임 인자인 N, S 형질을 DNA 표지인자로 구별이 가능하다. 즉 후대검정을 하지 않고도 세포질의 유전자형을 알 수가 있어 응성불임 계통 육성을 효율적으로 할 수 있다.

본 과제에서는 1999년부터 농림기술개발과제로 응성불임계통 육성을 하였고 그 이후 응성불임계통의 임성확인하고, 원예적 특성이 우수한 계통을 선발하여 F₁의 모친으로 사용할 수 있는 계통을 육성하고자 실시하였다

2. 재료 및 방법

<1년차>

2003년 응성불임계통 유지친 확인을 위해 175계통에 대한 모구를 1차 선발하여 4℃ 저장고에서 보관한 후 정식하기 직전에 한 번 더 선발 하였다. 주요 선발 기준은 저장 중 감모율, 모구 형태 및 크기 위주로 선발 하였다. 20개체를 한 집단으로 정식하였다. 모구정식은 2004년 3월 25일 대관령 비닐하우스에서 실시하

였으며 재식거리는 90 x 20cm 간격으로 이랑당 2줄씩 재배하였다. 각 처리구에는 A, B line을 함께 정식하였으며 모구정식을 위한 포장준비는 양파 재배포장과 동일하게 N-P₂O₅-K₂O = 20-20-15kg/10a를 시비하였다. 발아 후 생육촉진 및 타 집단과의 격리를 위하여 각각 망실을 설치하였다.

웅성불임친의 확인을 위하여 꽃이 개화가 시작할 때부터 불임성 여부를 확인하였다. 확인은 날씨가 맑은 날 오후에 꽃가루의 발생유무로 관찰하였으며 확인을 위하여 3회 이상 화분을 검정하였다. 화분 검정결과 100% 불임인 집단에 대해서는 웅성불임 유지친으로 추정하고 Aline 과 개체별로 교배를 실시하였다. 비록 100% 불임은 아니어도 구 특성이 우수한 개체는 A line 과 5개체씩 교배하여 후대에서 다시 웅성불임 유지친을 탐색할 예정이다

교배조합 작성은 본 웅성불임 유지친으로 확인된 계통과 다른 계통간 교배를 실시하였으며(B x B line), 기존 도입된 웅성불임 계통과 품질친을 교배하여 F1 종자를 얻었다. 이 조합은 2005년 2차년도에 조합 성능검정을 실시하였다.

<2년차>

2004년 웅성불임계통으로 유지친으로 확인된 25계통 및 B line(Nmsms)로 확인은 되지 않았으나 구 특성이 우수한 계통 등 150조합을 채종하였다. 채종된 종자는 2005년 2월 24일 406공 플러그 트레이에 바이로 상토를 사용하여 파종하였다. 육묘상은 대관령에 위치한 시험장의 비닐하우스에서 실시하였는데, 파종 후 수분 유지를 위해 얇은 부직포(테크테크)를 덮었으며, 70%정도 발아되어 묘가 1cm 정도가 되었을 때 제거하였다. 파종 후 온도 관리는 발아 할 때까지는 주간 25~30℃, 야간 18~20℃로 유지 할 수 있도록 보온 관리하였고 발아 후 분엽이 2매가 되었을 때는 온도를 다소 낮추어서 관리하여 묘가 강건하게 하도록 하였다. 정식포장은 춘파양파의 적지인 해발 600m 내외에 위치한 진부에 포장을 선정하여 포장 조성하였다. 정식은 4월 25일 실시하였으며 정식 전 pH 6.5에 맞추기 위해 소석회를 200kg/10a 및 N-P₂O₅-K₂O = 20-20-15kg/10a를 살포하였다. 비료는 질소 및 가리의 60%, 인산질 비료는 전량 기비로 포장 전면에 골고루 살포하였다. 고자리파리 등 토양 병충해 방제를 위하여 토양살충제 싸이메트를 10a 당 4kg을 포장 전면에 골고루 살포하였다. 재식거리는 이랑너비 150cm(통로30cm)에 6줄씩, 18 x 12cm 간격으로 정식하였다. 본포관리는 정식 후 15~20일 간격으로 3회 추비를 실시하였다.

특성조사는 정식 60일 후 조사하였다. 조사항목은 엽장, 엽수, 경경을 위주로 하였으며 내병성 검정은 포장에서 자연적으로 발생하는 병에 대하여 조사하였다. 도복 후 지상부가 완전히 마른 후 수확하여 모구특성을 조사하였으며 일부개체는 절단하여 품질친을 조사하였다. 저장성은 수확 후 모구를 선발한 다음 저장하였다가 이듬해 3월 20일 조사하였다.

교배조합 작성은 응성불임계통과 유망한 A/C line으로 F1 종자를 얻었고, 응성 불임 계통 육성을 위하여 B/B line, B/C line 교배조합도 작성하였다. 이 조합은 2006년도에 3차년도에 조합 성능검정 및 특성검정을 실시하였다.

<3년차>

장일형 다수 저장성 응성불임계통 육성을 위해 천주황/만추황 등 30조합 70계통을 공시하여 특성검정 및 교배조합을 작성하였다. 응성불임 계통으로 확인된 22계통에 대하여 A, B 계통의 특성을 같게 하기 위하여 A line과 여교배를 실시하여 채종하였다. 이 계통은 2007년 특성조사를 통하여 순도가 우수하고, 특성이 좋은 계통은 분양할 예정이다.

수입된 유전자원 중 우수한 계통을 바로 응성불임 유지친을 육성하기 위하여 개발된 DNA 표지인자를 이용하여 세포질이 N 계통을 선발하였으며, 2005년 이 계통의 유지친 육성을 위하여 각 개체별로 A line과 교배를 실시하였고, 각 개체는 자가수분을 실시하였다. 채종된 종자는 2년차인 2005년과 동일한 방법으로 육묘를 실시하였고, 포장에서 재배하였다. 2006년에는 포장의 잡초방제를 위하여 흑색비닐멀칭을 실시하여 재배하였다. 특성조사는 정식 60일 후 조사하였다. 조사항목은 엽장, 엽수, 경경을 위주로 하였으며 내병성 검정은 포장에서 자연적으로 발생하는 병에 대하여 조사하였다. 도복 후 지상부가 완전히 마른 후 수확하여 모구특성을 조사하였으며 일부개체는 절단하여 품질친을 조사하였다. 저장성은 수확 후 모구를 선발한 다음 저장하였다가 이듬해 3월 20일 조사하였다. 이들 집단은 2007년 현재 임성확인을 위하여 생육 중에 있다.

3년차 추가로서(실제 4년차 성적) 2007년 8월에 수확한 2년차를 세대진전한 결과가 이 보고서에 수록하였다. 당초 계획서상에는 없으나 시기적으로 보고서 수록이 가능하였기 때문에 추가 하였다. 시험방법은 2~년차의 시험방법과 동일한 방법으로 파종, 정식 및 수확 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

<1년차>

고랭지 환경에 적응하는 우수한 응성불임계통을 육성하기 위하여 고랭지양파가 많이 재배되고 있는 진부지역에서 시험을 실시하였다. 진부지역의 기상을 보면 그림 1-1과 같이 생육후반기인 7월 하순에 고온이 지속되었다. 강수량은 생육초기인 6월 상순까지는 강수량이 적어 건조하였으나 그 후부터는 장마기와 더불어 강수량이 많은 편이었고 특히 7월 중순 및 수확기인 8월 중순에 집중호우가 있었다.

응성불임성 유지친을 확인하기 위하여 천주중고황/만추황 등 5조합에서 175계통에 대한 응성불임 유지친 탐색을 위한 화분임성을 확인한 결과 22계통이 유지친인 N(msms)로 확인되었다. 임성이 확인된 22계통은 A line 과 교배를 실시하였으며 B line은 selfing 하였다. 그러므로 2005년도에는 이들 22계통에 대한 특성 및 순도를 검정하여 우량한 계통은 교배모본으로 사용이 가능할 것으로 생각된다. 이들 계통은 또한 기존 도입된 응성불임 유지친(Nmsms)와 교배를 통하여 직접적으로 다양한 응성불임 유지친을 육성하고자 교배를 실시하였다.

2004년 제1차년도에 교배조합을 작성한 내용을 보면 F1 조합능력검정을 위하여 A/C line의 조합은 약 70조합을 실시하였다. 이들 응성불임친은 도입친을 위주로 하였으며 품질친은 본 연구소에서 계통육성중인 것을 위주로 하였다. 다양한 응성불임친을 육성하고자 B/Bline은 32조합을 작성하였다. B/B line 교배는 후대가 모두 B line 이므로 B/C line처럼 후대에서 화분의 불임여부를 검색 후 유지친 여부를 결정하는 과정이 없으므로 효율적으로 응성불임 계통을 육성할 수 있다. 그리고 대구성의 인자를 도입하기 위하여 Exhibition 및 고품질의 사뽀로기를 이용한 B/C line 2조합을 작성하였다.

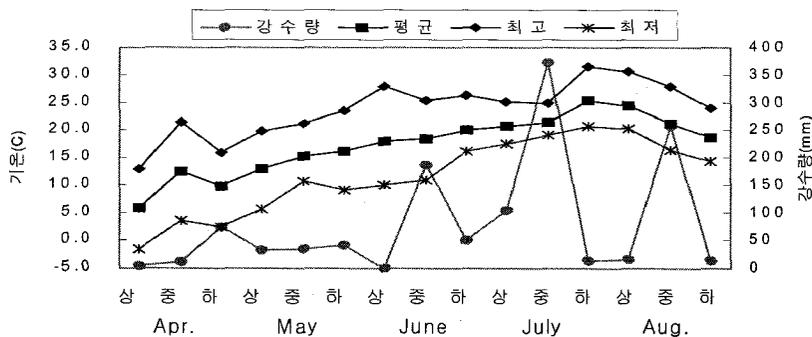


그림 1-1. 진부지역 기상분석

표 1-1. 응성불임 유지친 임성 확인

교배조합수	확인 조합수		비고
	B line(Nmsms)	C line(NMSms)	
175	22	153	천주중고황/만추황 등 5계통

표 1-2. 2004년 F1 조합능력검정 및 응성불임 계통 육성 교배조합

구분	조합수	비고
F1 조합(A/C line)	70	2005. 2.25 파종
MS 유지친(B/Bline)	32	"
MS 계통(B/Cline)	2	"

<2년차>

고랭지 환경에 적응하는 우수한 응성불임계통을 육성하기 위하여 고랭지양파가 많이 재배되고 있는 진부지역에서 시험을 실시하였다. 2005년 재배지역의 기상을 보면 평균기온은 평년과 비슷한 20~25℃ 분포를 보였으며 양파 재배에는 양호한 기후였다. 다만 강우량을 보면 구 비대기인 6월 하순부터 8월 상순까지 50~250mm 정도의 비가 내려 강우량은 전반적으로 많은 경향을 보였다.(그림 1-2)

2년차에서는 1년차에서 임성이 확인된 계통과 B/B line에 대한 특성을 조사하고 우수한 계통들을 선발하였다. 생육특성을 보면 B/B 계통 간 다양한 특성을 보여 금후 다양한 형질의 응성불임 계통을 육성할 수 있을 것으로 생각한다. 도복기는 W202B/W404B-2 가 7월 25일, W205B/44166B-5가 8월 10일로 가장 늦었다. 응성불임 유지친으로 확인된 AM 계통의 도복기는 AM 115 및 AM116이 8월 5일로 가장 늦었고, AM123 및 124가 7월 25일로 빨랐다. 검은무늬병에 대한 내병성은 중간 정도의 저항성을 보였다.

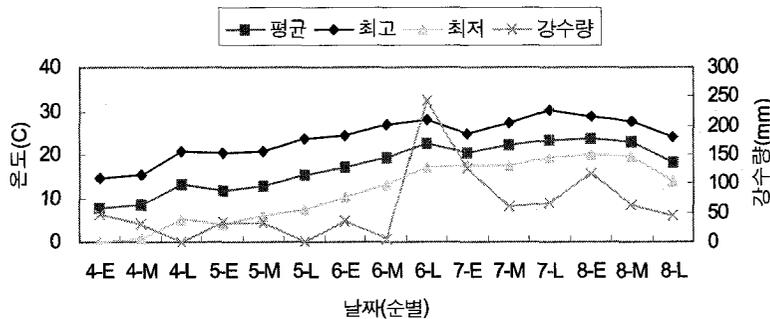


그림 1-2. 진부지역 기상분석

표 1-3. 선발된 응성불임 계통 생육특성

품종 및 계통명	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm A)	구경 (mm B)	구경지수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)
2002-213BxW202B/W404B	86.6	8.4	19.18	60.90	3.18	7.27	5
W202B/W404Bx2002-184B	59.0	9.8	16.38	45.43	2.77	7.31	5
W202B/W404Bx2002-213B	68.0	8.8	14.49	41.22	2.85	8.3	5
W205B/44166Bx2002-210B	76.4	7.4	20.55	51.98	2.53	7.27	5
W202B/W404B-1	59.0	8.2	14.95	46.46	3.11	8.2	5
W202B/W404B-2	64.4	8.0	15.13	45.63	3.02	7.25	5
W205B/44166B-3	74.0	9.4	19.72	40.11	2.03	7.27	5
W205B/44166B-4	79.6	9.8	19.35	33.89	1.75	8.7	5
W205B/44166B-5	74.0	9.2	19.98	42.83	2.14	8.10	5
W202A	78.0	8.8	15.49	40.35	2.60	8.1	5
W202B	67.0	8.4	19.00	44.22	2.33	8.5	5
44165A	63.8	8.4	17.50	49.21	2.81	7.27	5
44166B	65.6	7.4	14.64	44.57	3.04	8.2	5
NY36-4 A	90.2	10.0	22.32	39.28	1.76	8.9	5
NY36-4 B	78.7	9.5	18.91	35.54	1.88	8.9	5
NY38-64A	75.1	8.8	19.01	38.0	1.99	8.2	7
NY38-64B	78.5	8.7	18.49	30.78	1.66	7.25	5
AM 115(2001-101A)	69.8	7.8	11.38	23.54	2.01	8.5	5
AM 116(2001-101B)	63.4	8.4	16.67	22.59	1.35	8.5	5
AM 123(2001-73A)	71.6	8.8	16.79	42.21	2.51	7.25	5
AM 124(2001-73B)	65.4	8.6	17.13	36.70	2.14	7.25	5
AM 309(2009-101A)	65.6	7.7	18.39	37.20	2.02	7.31	5
AM 310(2009-101B)	62.6	7.6	18.32	33.53	1.83	7.31	5
AM 327(2009-121A)	71.0	8.2	19.99	41.88	2.09	7.28	5
AM 328(2009-121B)	71.4	7.87	18.23	41.09	2.25	7.20	5
AM 335(만추황A-3)	73.2	9.4	19.51	48.78	2.50	7.28	5
AM 336(만추황B-3)	70.2	9.4	19.41	47.81	2.46	7.28	5

※ 내병성 : 1(강) ~ 9(약)

구중을 보면 B/B line에서 2002-213BxW202B/W404B, W205B/44166B-2이 183g, 164g 으로 높았다. AM 계통에서는 AM327이 148g 으로 가장 높았으나 대체로 일반 계통들에 비해서 구중이 낮았다. 특히 AM계통에서 A line 와 B line 집단 사이에 구중의 차이가 났는데 A line 에서 구중이 높고, B line 에서 구중이 낮았다. 이와 같은 원인은 A line은 항상 A/B 형태로 유지되어 F1 hybrid vigor 현상이 나타나지만 B line은 자식약세 현상으로 인하여 생육 및 수량성이 낮아진다고 생각된다. AM 계통에서 AM 309와 AM 327은 대구성으로 유망할 것으로 생각된다. 구 특성을 보면 구형은 대부분 원형이 많았으며 일부 계통은 편원형이었다. 구피색은 모두 황갈색이었으

며 구형지수는 0.88~1.14로 원형~타원형을 보였다. 구목넓이는 W202B/W404B-2가 8.0mm로 가장 양호하였다. 양과 구목넓이는 가늘수록 도복이 일정하게 되며, 도복 후 줄기가 빨리 말라서 줄기를 통한 병해충의 침입이 불가능해져 좋은 선발지수로 사용되고 있다.

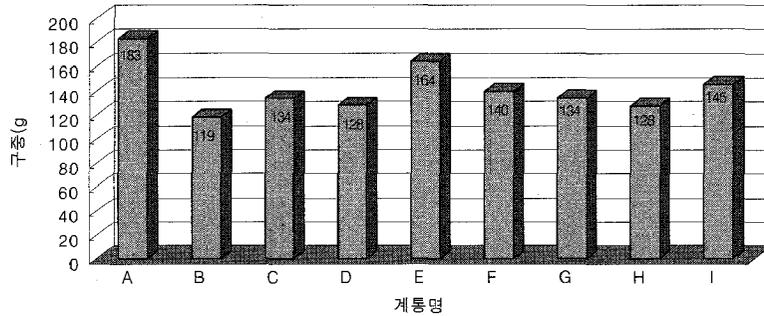


그림 1-3. 선발된 응성불임계통 구중

A: 2002-213BxW202B/W404B, B: W202B/W404Bx2002-184B
 C: W205B/44166Bx2002-210B, D: W205B/44166B-1,
 E: W205B/44166B-2, F: W205B/44166B-3
 G: W202B, H: 44166B, I: NY36-4 B,

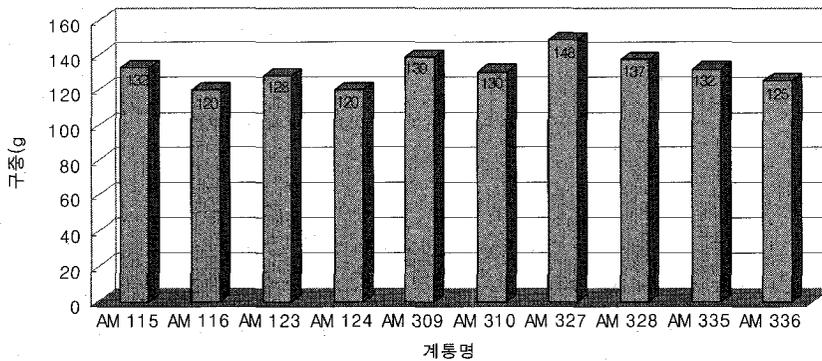


그림 1-4. 선발된 응성불임 유지친 선발계통 구중

표 1-4. 선발된 주요 응성불임 계통 구 특성

품종 및 계통명	구형	구피색	구고 (mm) A	구폭 (mm) B	구형지수 (A/B)	구목넓이 (mm)
2002-213BxW202B/W404B	원형	황갈색	60.7	69.2	0.88	11.3
W202B/W404Bx2002-184B	“	“	58.3	63.8	0.91	11.0
W202B/W404Bx2002-213B	“	“	54.7	56.6	0.97	8.5
W205B/44166Bx2002-210B	타원형	“	77.5	68.0	1.14	9.3
W202B/W404B-1	원형	“	58.9	65.6	0.90	12.2
W202B/W404B-2	편원형	“	51.4	62.9	0.82	8.0
W205B/44166B-3	원형	“	68.8	64.6	1.07	10.9
W205B/44166B-4	“	“	65.7	64.0	1.03	10.3
W205B/44166B-5	“	“	59.1	64.4	0.92	10.3
W202A	“	“	61.7	60.6	1.02	7.2
W202B	“	“	59.3	59.9	0.99	7.8
44165A	“	“	62.6	60.2	1.04	11.1
44166B	“	“	67.0	63.0	1.06	10.1
NY36-4 A	“	“	63.1	58.8	1.07	12.2
NY36-4 B	타원형	“	64.4	55.7	1.16	9.8
NY38-64A	원형	“	61.8	66.8	0.92	13.3
NY38-64B	“	“	58.6	63.8	0.92	12.2
AM 115(2001-101A)	타원형	“	59.2	56.0	1.06	12.08
AM 116(2001-101B)	“	“	58.2	55.6	1.05	11.22
AM 123(2001-73A)	편원형	황갈색	58.2	66.2	0.87	13.81
AM 124(2001-73B)	“	“	55.8	63.1	0.88	12.92
AM 309(2009-101A)	원형	“	65.9	64.3	1.02	11.23
AM 310(2009-101B)	“	“	62.9	62.2	1.01	10.02
AM 327(2009-121A)	편원형	“	60.3	66.1	0.91	12.90
AM 328(2009-121B)	“	“	59.4	68.3	0.87	12.52
AM 335(만추황A-3)	원형	“	67.0	67.0	1.00	13.90
AM 336(만추황B-3)	“	“	62.6	66.0	0.95	10.86

품질 특성을 보면 성장점수는 모두 2.0개 이하로 양호하며 성장점 사이의 거리도 1.4cm 이하여서 single centerfh 보아도 좋다. 링수는 선발계통은 모두 8.0개 이상으로 많은 편이었다. 당도는 모두 8.6 이상이었고, W202B/W404Bx2002-213B는 11.3으로 가장 높았다. 그러나 AM 계통들은 B/B line 보다 링수 및 당도에서 낮은 경향을 보였다. AM계통의 모친이 추파양파의 증생종이어서 이 영향이 있지 않나 생각된다. 그러므로 금후에는 링수가 많고 링 두께가 얇은 방향으로 선발 할 필요가 있을 것으로 생각된다. 건물율의 비율을 보면 W202B/W404Bx2002-213B이 19.8%로 가장 높았다. 건물율은 저장성과 상관관계가 높다고 보고되었으며 저장성 선발기준의 좋은 지표가 된다.

표 1-5. 선발된 주요 응성불임 계통 품질 특성

품종 및 계통명	생장점수 (개)	링수 (개)	링두께 (mm)	당도 (°Brix)	건물율 (%)	저장성
2002-213BxW202B/W404B	2.0	8.0	4.05	10.3	15.4	9.1
W202B/W404Bx2002-184B	2.0	8.0	3.69	10.5	17.0	9.7
W202B/W404Bx2002-213B	2.3	9.0	3.38	11.3	19.8	5.3
W205B/44166Bx2002-210B	2.0	8.7	4.41	9.9	13.7	0.0
W202B/W404B-1	2.0	9.3	3.49	10.9	16.4	9.1
W202B/W404B-2	1.7	9.3	3.59	10.7	18.5	0.0
W205B/44166B-3	1.7	8.3	3.26	9.3	13.7	1.0
W205B/44166B-4	1.7	8.3	3.69	8.6	14.1	5.9
W205B/44166B-5	1.7	9.3	3.70	9.5	15.1	0.0
W202A	2.2	8.6	3.41	11.2	14.7	0.0
W202B	1.4	8.8	3.16	9.6	16.1	0.0
44165A	2.0	8.4	3.62	9.0	18.3	1.5
44166B	1.4	8.4	4.00	9.6	12.7	1.6
NY36-4 A	1.3	8.7	3.36	11.0	17.3	0.0
NY36-4 B	1.3	9.0	3.17	10.8	18.6	0.0
NY38-64A	3.0	9.0	2.52	11.4	15.5	10.1
NY38-64B	2.6	8.4	3.37	12.2	14.9	0.4
AM 115(2001-101A)	1.4	7.4	2.70	8.64	22.07	0.0
AM 116(2001-101B)	1.6	7.6	2.71	9.32	20.08	0.0
AM 123(2001-73A)	2.2	8.0	2.92	8.24	22.72	5.7
AM 124(2001-73B)	1.6	7.8	2.76	7.64	15.13	5.7
AM 309(2009-101A)	2.2	7.8	2.93	7.36	17.29	3.2
AM 310(2009-101B)	2.2	7.2	2.90	7.60	15.69	4.3
AM 327(2009-121A)	1.8	8.0	2.97	7.68	22.09	0.0
AM 328(2009-121B)	1.6	8.2	2.95	7.96	16.07	4.2
AM 335(만추황A-3)	1.6	7.6	2.62	8.52	23.79	0.0
AM 336(만추황B-3)	1.8	7.8	2.34	8.08	16.36	0.0

※ 저장성 조사일 : 2006년 3월 20일 맵아울 조사

조사방법 : 8월에 수확 후 상온에서 보관, 선발 모구는 얼지 않게 0~7℃ 유지

<3년차>

고랭지 환경에 적응하는 우수한 응성불임계통을 육성하기 위하여 고랭지양파가 많이 재배되고 있는 해발 600m 평창 진부지역에서 시험을 실시하였다. 2006년 재배지역의 기상을 보면 평균기온은 평년과 비슷한 20~25℃ 분포를 보였으며 양파 재배에는 양호한 기후였다. 다만 강우량을 보면 7월 중순 폭우로 인하여 도복이 강제로 이루어져 도복기의 비교는 불가능 하였다. (그림 1-5)

응성불임계통 육성을 위하여 B/B line에서 우수한 계통들을 선발하였다. 생육특성을 보면 계통간 다양한 특성을 보여 급후 다양한 형질의 응성불임 계통을 육성할 수

있을 것으로 생각한다. 도복기는 W202B/W404B 및 W205B/44166B가 7월 20일로 폭우로 인하여 강제 도복이 되었다. 검은무늬병에 대한 내병성은 중간 정도의 저항성을 보였다.

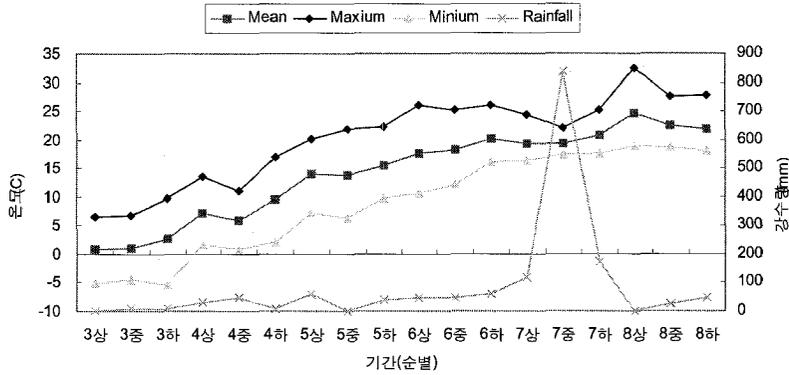


그림. 1-5 재배지역(진부) 지역 기상

표1-6. 응성불임 선발 계통의 생육특성

라벨번호	엽수 (매)	초장 (cm)	경경 (mm,A)	구경 (mm,B)	지수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)
W202B/W404B	8.8	60.2	16.19	28.03	1.73	7.20	7
W202B/44166B	8.7	64.5	14.96	31.15	2.08	7.20	7
NY 36-4 B/W404B	9.7	71.7	15.57	34.35	2.21	7.20	7
44166B/히구마	9.3	62.7	15.16	24.20	1.60	7.20	7
44166B/울프	9.3	75.0	16.20	42.57	2.63	7.20	8
44166B/HYBRID FLAMENCO(1443)	9.0	62.8	15.95	26.79	1.68	7.20	6
M5718B/월륜2호	8.8	74.8	15.76	31.97	2.03	7.20	7
NY36-4B/춘류권	9.3	73.2	15.10	22.63	1.50	7.26	6
{441120B/W205}/미상	8.8	65.5	15.04	30.79	2.05	7.23	7
{441120B/W205}/(W910A/가무이 F3)	9.3	68.5	16.94	37.33	2.20	7.20	8
{Y38-64B/W202}/(W404A/Tsukimikari)	8.7	62.7	15.31	27.27	1.78	7.18	7
C10-12	9.5	60.5	15.00	29.54	1.97	7.20	6
C10-16	8.8	60.3	14.03	31.84	2.27	7.20	8
C10-46	9.5	65.3	15.09	37.30	2.47	7.18	8
C10-60	8.2	58.7	15.35	39.12	2.55	7.18	8
C10-open	9.2	65.0	13.25	35.61	2.69	7.18	8
C12-22	9.8	72.3	15.25	34.47	2.26	7.18	8
만추황/C12-54(A)	9.7	73.7	16.82	35.22	2.09	7.20	8
C12-54(B)	9.2	67.2	15.57	24.70	1.59	7.20	8
W205	9.3	67.7	16.57	28.39	1.71	7.26	8

※ 내병성 : 1(강) ~9(약)

표 1-7. 웅성불임 선발계통의 구 특성

라벨번호	구중 (g)	구피색	구형	구고 (mm,A)	구폭 (mm,B)	구형지수 (A/B)
W202B/W404B	118.3	황갈색	원형	58.74	59.43	0.99
W202B/44166B	117.1	“	“	52.58	60.44	0.87
NY 36-4 B/W404B	126.6	담황갈	“	56.53	62.79	0.90
44166B/히구마	117.6	황갈색	“	56.70	58.90	0.96
44166B/울프	128.3	“	“	61.09	59.54	1.03
44166B/HYBRID FLAMENCO(1443)	181.0	적색	“	67.72	70.04	0.97
M5718B/월륜2호	143.0	황갈색	타원	67.96	60.37	1.13
NY36-4B/춘류권	148.7	“	원형	62.34	65.14	0.96
{441120B/W205}/미상	130.1	“	마름모	54.11	63.72	0.85
{441120B/W205}/{W910A/가무이 F3}	132.8	“	“	56.85	65.31	0.87
{Y38-64B/W202}/{W404A/Tsukimikari}	113.9	“	원형	56.65	59.01	0.96
C10-12	132.1	“	“	59.86	63.09	0.95
C10-16	121.3	“	“	61.45	59.49	1.03
C10-46	123.7	“	마름모	53.13	64.67	0.82
C10-60	134.7	“	원형	59.04	62.28	0.95
C10-open	138.8	“	“	62.04	63.02	0.98
C12-22	114.4	“	“	59.38	59.60	1.00
만추황/C12-54(A)	136.8	“	“	56.74	66.16	0.86
C12-54(B)	117.7	“	“	55.79	60.77	0.92
W205	120.9	“	“	61.48	58.98	1.04

구중을 보면 적색인 44166B/hybrid Flamenco(1443)가 181.0g 으로 가장 높았고, 구피색은 적색이 2계통이고 나머지는 대부분 황갈색이었다. 구형은 원형, 타원형 및 마름모 등으로 다양하게 분리되었으나 원형이 가장 많았다. 구형지수는 일부 계통을 제외하고는 모두 0.90이상으로 원형을 보였으며 M5718B/월륜2호는 1.13으로 타원형이었다. 이와 같이 다양한 구형 및 구피색은 금후 B/B line의 방법으로 웅성불임 계통 육성하는데 있어 매우 유리한 재료라고 생각한다.

3년차 공시된 계통은 2004년 1년차에서 우수한 것으로 선발된 계통이 대부분이다. 이들 중 B/B 계통은 비슷한 형질을 가진 개체끼리 집단 또는 개체별로 채종하면서 웅성불임 A line과 교배를 통하여 유지친으로 육성하고 있다.

B/C 인 집단은 2007년 웅성불임 A 계통과 교배를 통하여 종자를 채종하고 2008년 임성을 확인할 예정이다. 임성확인에서 후대가 100% 불임이 나오는 개체는 웅성불임 유지친으로 확인되어 선발 및 고정하여 계통으로 육성할 예정이다.

<3년차 추가>

표1-8 선발 대구 저장성 웅성불입 계통 생육 특성

라벨 번호	계통명 및 조합명	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm A)	구경 (mm B)	구경지수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)
7278	M5718A	63.6	7.6	24.84	16.98	1.46	8. 7	5
7280	NY36-4A	67.4	7.4	24.20	16.52	1.47	8. 5	5
7282	NY38-64A	72.0	8.4	33.20	20.60	1.59	7.28	5
7311	2001-235A	65.0	7.4	42.14	16.39	2.58	7.23	5
7315	2002-150A	66.4	8.2	40.83	16.17	2.59	7.23	5
7317	2002-177A	67.6	7.8	39.24	16.27	2.41	8. 6	3
7321	2002-210A-1	60.4	7.2	44.65	13.43	3.39	7.28	5
7323	2002-210A-2	58.6	8.2	44.64	16.47	2.74	7.28	5
7341	2005-8A	66.0	7.0	37.73	16.81	2.27	7.28	7
7343	2005-12A	67.2	7.8	52.62	19.09	2.81	7.26	7
7347	2005-33A	72.2	8.4	52.81	14.20	3.78	7.18	7
7382	만추황A-3(C12-6)	79.6	8.6	37.10	19.49	1.94	7.28	5
7431	W202A(2001-41)	75.4	7.4	31.54	17.06	1.88	8. 1	7

※ 내병성 : 1(강) ~9(약)

※ 웅성불입 A line 성적을 표시하였고, 유지친인 B line은 특성이 유사하므로 생략하였음

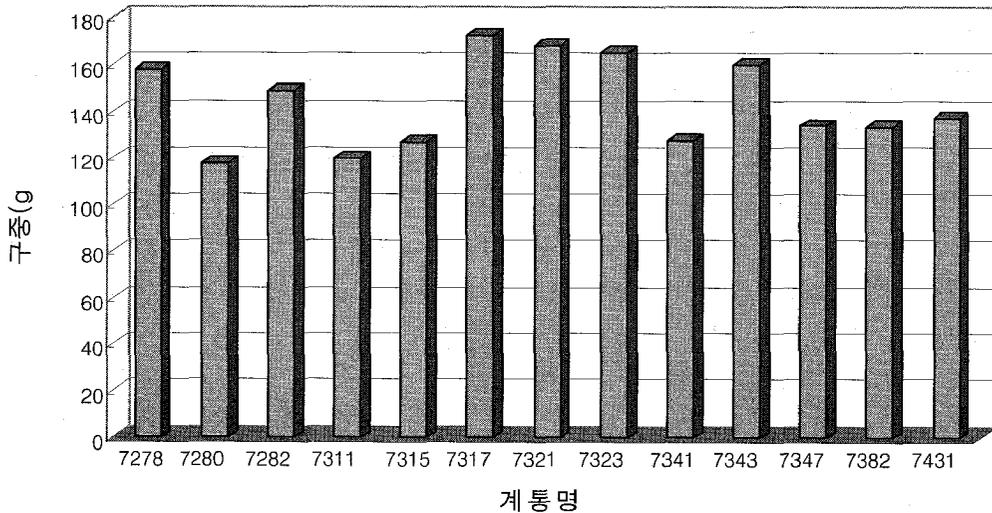


그림 1-6. 선발 웅성불입성 계통 구중 특성

※ 계통명은 표1-8과 같음

표 1-9 선발 대구 저장성 웅성불임 계통 구 특성

라벨 번호	구중 (g)	구형	구피색	구고 (mm A)	구폭 (mm B)	구형지수 (A/B)	구목넓이 (mm)	비 고
7278	157.7	원형	황갈색	60.35	67.52	0.90	12.24	대구성, 만생
7280	117.5	“	“	55.41	60.09	0.92	11.96	구피색, 만생
7282	149.2	“	“	61.20	65.23	0.95	11.76	대구성
7311	119.7	“	담갈색	54.45	63.10	0.87	8.98	순도양호, 조생
7315	127.1	“	황갈색	56.23	63.54	0.89	10.97	구형양호
7317	172.6	“	“	60.71	70.09	0.87	9.77	초세, 만생, 대구
7321	167.9	“	“	64.40	69.25	0.93	9.21	초형, 구목, 대구
7323	165.2	“	“	64.64	67.39	0.96	9.85	초형, 구형, 대구
7341	127.9	“	“	57.56	65.06	0.89	10.58	초형, 앞색
7343	159.9	“	“	57.19	72.28	0.79	10.54	엽색질음, 내병약
7347	134.1	“	“	57.77	64.71	0.90	9.82	조생
7382	133.8	“	“	60.53	63.81	0.95	8.97	만추황 A
7431	137.3	“	“	63.77	62.05	1.03	10.69	W202A

3년차 추가 성적(실제 4년차)을 보면 초장, 엽수에서 만추황이 79.6cm, 8.6매로 으로 가장 높았고, 구경지수는 2005-33A가 3.78로 가장 높아 조생으로 추정되었으며, 실제 도복기에서도 7월 18일로 가장 빨랐다. 그런 도입종인 M5718은 8월 7일로 도복기가 가장 늦었으며 구경지수에서도 낮게 나타나 구경지수가 낮을 수록 만생종인 경향을 보였으며 이는 금후 선발 지표로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

내병성은 2002-177A는 지수 3정도의 저항성을 보였으나 나머지 계통은 중간정도의 저항성이 대부분이었다.

구중은 7321이 159.9g으로 가장 높았고, 7323 165.27g 등 다수성 계통이 다소 있었고, 7280은 구중은 적었으나 만생의 특성을 보여 중국 수출용 계통으로 유망시 되었다.

구형은 모두 원형이었으며, 구피색은 7311이 담갈색이고 나머지는 모두 황갈색으로 구피색이 양호하였다. 선발 기준은 구피색, 만생, 초형, 구목이 작은 것, 조생, 엽색등 다양한 형태적 특성을 가진 계통을 선발하였다.

이들 선발된 계통은 품질친이 우수한 계통들과 교배조합을 작성하여 F1 품종육성에 이용하고자 한다.

4. 종합결과

고랭지 환경에 적응하는 고품질의 응성불임 계통육성은 총 175조합 중 22계통이 응성불임 유지친으로 확인 후 A, B line 육성하였다. 다양한 응성불임친을 육성하고자 B/B line은 32조합을 작성하였고, 대구성의 인자를 도입하기 위하여 Exhibition 및 사뽀로기를 이용한 B/C line을 등의 조합을 작성하였다.

응성불임 유지친으로 확인된 AM 22계통과 B/B line에서 우수한 계통들을 선발하였다. 도복기는 W202B/W404B-2 가 7월 25일, W205B/44166B-5가 8월 10일로 가장 늦었다. AM 계통의 도복기는 7월 25일부터 8월 5일까지 숙기가 다양하였다. 구중은 2002-213BxW202B/W404B, W205B/44166B-2이 183g, 164g 으로 높았다. AM 계통은 구중은 대구가 148g 으로 높은 것을 선발하였으나 전체적으로 구중이 낮은 편이었다.

구형은 AM 및 B/B line에서 원형이 많았으며 일부 계통은 편원형이었다. 구피색은 모두 황갈색이었으며 구형지수는 0.88~1.14로 원형~타원형을 보였다. 품질 특성을 보면 생장점수는 모두 2.0개 이하로 양호하며 생장점 사이의 거리도 1.4cm 이하여서 single centerfh 보아도 좋다. 링수는 선발계통은 모두 8.0개 이상으로 많은 편이었다. 당도는 W202B/W404Bx2002-213B는 11.3°Brix로 가장 높았다. 건물율의 비율을 보면 W202B/W404Bx2002-213B이 19.8%로 가장 높았다. 건물율은 저장성과 상관관계가 높다고 보고 되었으며 저장성 선발기준의 좋은 지표가 된다. 지금까지 선발된 AM 계통은 2007년 포장에서 특성검정을 후 종묘회사 및 연구기관에 분양을 할 예정이고, B/B line은 임성확인 및 선발을 계속할 예정이다.

제2절 F₁ 조합능력 성능검정

1. 서 설

양파는 국내에서 주요한 조미채소 중의 하나로써 양파의 생산 및 공급의 99% 이상이 남부지방 및 제주를 중심으로 이루어지고 있다. 국내 남부 추파 양파는 수확기인 5~6월부터 제주도 극조생종 양파가 출하되는 이듬해 3월까지 저온저장고를 이용한 장기저장을 통해 공급되고 있다(Lee et al, 1996). 양파 저장은 과도한 저장비용 뿐만 아니라 저장기간 동안의 부패와 감모율이 많은 실정이며 장기간 저장으로 인해 신선도가 떨어지는 단점이 있다. 그러나 여름철 온도가 서늘한 고랭지에서 8월경에 생산된 양파는 자연상태에서 1월 말까지 저장이 가능하고 저온 저장시에도 그 기간을 최소로 하여 저장비용을 줄일 수 있을 뿐만 아니라 소비자에게도 신선한 양파를 공급할 수 있다는 장점이 있다. 국내 춘파양파의 재배면적이 늘어날 경우 연중 신선한 양파의 이용이 가능하다. 외국의 경우 미국은 춘파양파 비중이 85%, 일본은 55% 이상을 차지하고 있다.

국내에서 장일형 품종의 재배는 해발 600m 이상인 고랭지 지대가 가능하다. 이는 여름철 서늘한 기후를 이용하는 것으로 비록 위도 상으로 불가능하나 해발이 높아 가능한 상태이나 고위도지방보다는 기후적으로 안정적인 상황이 아니다. 그러므로 이와 같은 고랭지 환경에 적응하는 고품질의 저장성 품종의 개발이 요구된다. 그러나 아직 까지도 우리나라에서 육성한 품종이 전무한 실정일 뿐만 아니라 농가에서 주로 재배되고 있는 일본산 품종은 북위 45도의 북해도에서 과거에 재배되었던 조생종으로서 북위 37~38도의 저위도 지방의 고랭지에서 충분히 성능을 나타내지 못하고 있고, 저장력이 약한 문제점을 갖고 있다(최 등, 1998).

국내 고랭지 환경에 적응하는 우수한 품종 육종을 위하여 본 과제에서는 고정종 '만추황'을 2002년 육성하였으며, 그 이후 연구를 지속하여 많은 계통들을 보유하고 있다. 본 연구소에서 육성중인 응성불임계통과 품질친들과의 교배조합을 작성하고 그 특성을 검정하여 우수한 F1 조합은 품종 등록하여 농가에 보급하고자 본 시험을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

<1년차>

고랭지양파 우량계통 선발을 위하여 시험장 보유계통 및 대비품종 등 40조합에 대한 특성을 평가하기 위하여 2004년 3월 2일 406공 플러그 트레이에 바이로 상토를 사용하여 파종하였다. 육묘상은 대관령에 위치한 시험장의 비닐하우스에서 실시하였는데, 파종 후 수분 유지를 위해 얇은 부직포(테크테크)를 덮었으며, 70% 정도 발아되어 묘가 1cm정도가 되었을 때 제거하였다. 파종 후 온도 관리는 발아할 때까지는 주간 25~30℃, 야간 18~20℃로 유지 할 수 있도록 보온 관리하였고 발아 후 본엽이 2매가 되었을 때는 온도를 다소 낮추어서 관리하여 묘가 강건하게 하도록 하였다.

정식포장은 춘파양파의 적지인 해발 600m 내외에 위치한 진부에 포장을 선정하여 포장 조성하였다. 정식은 5월 3일 실시하였으며 정식 전 pH 6.5에 맞추기 위해 소석회를 200kg/10a 및 N-P₂O₅-K₂O = 20-20-15kg/10a를 살포하였다. 비료는 질소 및 가리의 60%, 인산질 비료는 전량 기비로 포장 전면에 골고루 살포하였다. 고자리파리 등 토양 병충해 방제를 위하여 토양살충제 싸이메트를 10a 당 4kg을 포장 전면에 골고루 살포하였다.

재식거리는 이랑너비 150cm(통로30cm)에 6줄씩, 18 x 12cm 간격으로 정식하였다. 본포관리는 정식 후 15~20일 간격으로 3회 추비를 실시하였다.

특성조사는 정식 50일 후 조사하였다. 조사항목은 엽장, 엽수, 경경을 위주로 하였으며 내병성 검정은 포장에서 자연적으로 발생하는 병에 대하여 조사하였다. 도복 후 지상부가 완전히 마른 후 수확하여 모구특성을 조사하였으며 일부개체는 절단하여 품질친을 조사하였다.

<2년차>

고랭지양파 우량계통 선발을 위하여 시험장 보유계통 및 대비품종 등 40조합에 대한 특성을 평가하기 위하여 2005년 2월 24일 406공 플러그 트레이에 바이로 상토를 사용하여 파종하였다. 육묘 방법 및 정식은 1년차와 동일한 방법으로 동일 포장에서 수행하였다.

<3년차>

고랭지양파 우량계통 선발을 위하여 시험장 보유계통 및 대비품종 등 60조합

에 대한 특성을 평가하기 위하여 2006년 2월 25일 406공 플러그 트레이에 바이로 상토를 사용하여 파종하였다. 육묘 방법은 1년차 시험과 동일하고, 정식 포장은 해발 600m인 진부지역의 동일한 포장에서 수행하였다. 1,2년차와 차이점은 3년차 시험에서는 흑색비닐멀칭을 실시하여 재배하였다. 흑색비닐의 설치하는 구의 크기를 크게 하고 잡초 방제 효과를 얻기 위하여 실시하였다. 그 외 방법은 1, 2년차와 동일하게 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

<1년차>

2003년도에 교배된 50여 조합에 대한 2004년 포장성능검정을 실시한 결과를 보면 묘 소질은 만추황/radar에서 27.9cm로 가장 좋았고, 경경은 W910/가무이 조합에서 2.71매, 엽수는 사뿐로기가 3.34매로 가장 많았다. 엽수에서 양과 정식시는 본엽이 4-5매가 좋다고 보고되었으나 본 시험에서는 3매 내외였다. 이것은 육묘일수가 50일로 남부의 60일보다 짧았고, 저온기 육묘이기 때문이라 생각한다.

포장에서의 생육특성은 초장은 만추황/jp-6이 84.30으로 가장 좋았다. 구경지수는 히구마, 만추황/radar, 만추황/jp6 조합에서 각각 2.26, 2.26, 2.22로 구 비대가 빨리 이루어졌다. 그러나 도복기는 7월 17-19일로 거의 차이가 없음을 알 수 있다. 즉 히구마, 울프의 경우 구 비대 시작은 빠르나 도복되는 시점은 다소 늦어 다른 품종보다 구 비대 기간이 오랫동안 이루어질 수 있다고 생각된다. W910/가무이 조합이 비슷한 경향을 보였는데 2005년에 다시 검토할 예정이다. 내병성은 특별히 강한 조합은 발견하지 못하였고 히구마 울프와 비슷한 경향을 보였다. 구중은 히구마 112.7g, 울프 105.3g 으로 나타났고, 특히 울프가 히구마보다 대구성이나 금년에는 히구마가 더 높게 나타났는데 이것은 고온과 조기 도복에 원인이 있다고 생각되어진다. 만추황/jp6은 130.2로 가장 높았고, 만추황/radar 123.7 등 총 8개 조합에서 구중이 히구마보다 좋았다. 이 8개 조합은 2005년 생산력 검정을 통하여 다시 한번 검정할 예정이다. 그러나 전체적인 구중은 예년에 비하여 낮았다. 이와 같은 원인은 구 비대기 후반기인 7월 중하순에 고온에 의해 구 비대가 급속히 이루어져 조기 도복되었기 때문이라 생각된다. 진부지역에서 도복기는 7월 하순이 정상이나 금년에는 7월 17-20일로 약 10일 이상 도복이 빨리 이루어졌다. 공시된 F1 조합의 구형 및 구피색은 모두 원형, 황갈색으로서 기존의 대비 품종과 큰 차이가 없었다. 이는 현재 양과 선호도가 구형이면서 짙은 황갈색을 선호하는데 이에 부합한다고 할 수 있다. 구형지수는 NY36/창녕

대고를 제외하고는 모두 0.9 이상으로 원형이었고 일부는 1.0이상이었다. NY36/창녕대고 조합은 양친 모두 조생종 조합으로 구형지수가 다소 낮은 것으로 생각된다. 그러나 고랭지에 적응하는 장일형 친들의 조합의 경우는 모두 구형지수가 0.9 이상으로 양호하여 앞으로 구형부분은 특별한 문제가 없을 것으로 생각된다. 부패율은 고정종인 사뽀로기가 23.3%로 매우 높게 나타났으며 이것은 품종 자체가 부패에 약한 것으로 생각한다. 그러나 선발 조합 중 만추황/jp-6, 만추황/radar 조합은 11.0, 11.3%로 다른 조합 보다 높게 나타났다. 앞으로 부패율 부분은 조합 작성시 보완해야 할 부분으로 생각되며 내병성 소재에 대한 탐색 및 내병성 검정을 보다 강하게 선발하여야 할 필요가 있다.

품질 특성을 보면 성장점수는 1.6~2.2개로 나타났으나 대부분 히구마와 울프의 1.9, 1.7개와 비슷한 경향을 보였다. 고랭지양과의 경우 성장점은 보통 1.0개 정도가 대부분이다. 실제로 성장점간의 거리는 1.5cm 이내로, 조사기준상으로 하면 1개로 볼 수도 있으나 본 시험에서는 성장점 수를 차이를 명확하게 하기 위하여 기준을 보다 엄격하게 적용하다보니 성장점수가 많아지는 원인이 되었다. 그러나 당도 및 건물율에서는 히구마 7.10, 11.94% 에 비하여 W910/가무이 조합에서는 9.44, 15.69로 매우 높게 나타났다. 양파에서 당도와 건물율은 저장성과 정의 상관성이 있다고 보고되었는데 선발조합의 저장성이 양호할 것으로 생각된다.

표 2-1. F1 조합능력검정 주요 조합별 묘 소질

품종 및 계통명	초장 (cm)	경경 (mm)	엽수 (매)	생체중 (g/주)	건물중 (g/주)	건물율 (%)
사뽀로기	25.08	2.56	3.34	1.18	0.09	7.33
히구마	22.94	2.49	3.17	1.06	0.07	6.68
울프	26.29	2.31	3.13	1.22	0.08	6.16
고랭지여름	20.57	1.84	3.00	0.93	0.06	6.80
만추황	25.59	2.04	3.10	1.11	0.09	8.08
F1(만추황/월륜)	22.33	1.52	3.00	0.78	0.06	7.71
F1(만추황/jp6)	23.63	1.02	2.73	0.80	0.05	6.65
F1(만추황/radar)	27.99	2.62	2.93	1.07	0.07	6.68
F1(만추황/Tuskimikari-3)	21.84	1.90	3.00	0.78	0.05	5.91
F1(W910A/가무이 F3)	24.32	2.71	3.00	1.12	0.07	6.30
F1(W202A/울프 F3)	22.30	1.23	2.93	0.68	0.05	7.24
F1(W205A/jp4)	23.33	1.43	2.47	0.75	0.05	6.62
F1(W205A/radar)	24.45	1.26	2.93	0.82	0.05	6.40

표 2-2. F1 조합능력검정 주요 조합별 생육특성

품종 및 계통명	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm A)	구경 (mm B)	구경지수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)
사뿐로기	74.00	8.20	16.54	35.36	2.14	7.19	7
히구마	67.60	7.40	13.03	29.47	2.26	7.19	6
울프	79.60	7.80	14.77	37.15	2.51	7.21	5
고랭지여름	61.80	7.60	15.05	28.77	1.91	7.17	7
만추황	64.25	7.78	15.35	28.51	1.86	7.17	6
F1(만추황/월륜)	75.70	8.60	15.12	29.79	1.97	7.17	5
F1(만추황/jp6)	84.30	9.00	23.49	52.09	2.22	7.17	5
F1(만추황/radar)	70.70	7.80	17.92	40.45	2.26	7.17	5
F1(만추황/Tuskimikari-3)	71.80	8.40	20.40	39.28	1.93	7.17	5
F1(W910A/가무이 F3)	83.80	9.80	22.79	45.89	2.01	7.19	6
F1(W202A/울프 F3)	81.20	9.00	19.81	40.27	2.03	7.17	5
F1(W205A/jp4)	72.40	9.40	19.14	32.74	1.71	7.19	5
F1(W205A/radar)	62.00	8.40	18.78	28.14	1.50	7.19	5
F1(NY36-4A/창녕대고)	75.60	7.80	15.49	27.66	1.79	7.17	5
F1(NY36-4A/울프 F3)	77.60	8.20	18.86	32.20	1.71	7.17	5

※ 내병성 : 1(강) ~ 9(약)

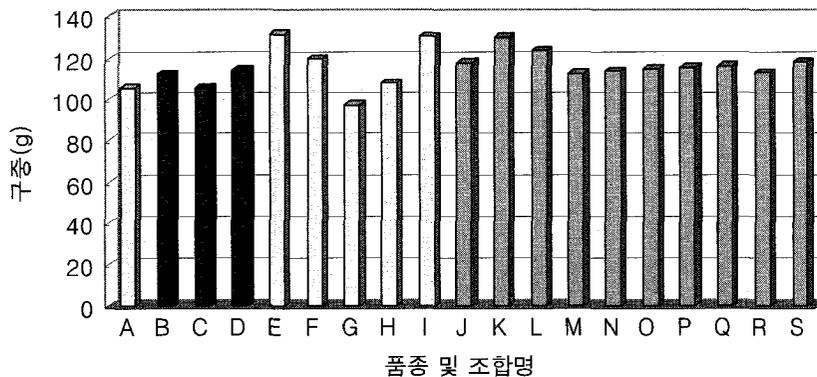


그림 2-1. F1 조합능력검정 주요 조합별 구경

A: 사뿐로기, B: 히구마, C: 울프, D:가무이, E:창녕대고, F:천주대고
 G: 고랭지여름, H:만추황, I: radar, J: F1(만추황/월륜),
 K:F1(만추황/jp6), L: F1(만추황/radar), M:F1(만추황/Tuskimikari-3)
 N: F1(W910A/가무이 F3), O: F1(W202A/울프 F3), P: F1(W205A/jp4),
 Q: F1(W205A/radar), R:F1(NY36-4A/창녕대고), S: F1(NY36-4A/울프 F3)

표 2-3. F1 조합능력검정 주요 조합별 구 특성

품종 및 계통명	구형	구피색	구 고 (mm,A)	구 폭 (mm,B)	구형 지수 (A/B)	구 목넓이 (mm)	부패율 (%)
사뿐로기	원형	황갈색	56.36	54.45	1.04	10.18	23.3
히구마	“	“	56.51	59.40	0.95	10.56	3.3
울프	“	“	57.47	57.55	1.00	10.35	2.0
고랭지여름	“	“	55.81	56.55	0.99	13.49	3.7
만추황	“	“	57.96	62.49	0.93	11.68	8.6
F1(만추황/월륜)	“	“	59.24	59.84	0.99	11.44	9.2
F1(만추황/jp6)	“	“	67.64	60.94	1.11	14.10	11.0
F1(만추황/radar)	“	“	58.45	64.06	0.91	11.42	11.3
F1(만추황/Tuskimikari-3)	“	“	58.39	59.77	0.98	13.15	6.0
F1(W910A/가무이 F3)	“	“	56.75	59.14	0.96	12.41	2.6
F1(W202A/울프 F3)	“	“	61.60	59.35	1.04	12.98	8.6
F1(W205A/jp4)	“	“	60.51	60.41	1.00	11.93	4.0
F1(W205A/radar)	“	“	59.11	60.40	0.98	10.40	4.0
F1(NY36-4A/창녕대고)	“	“	53.59	61.69	0.87	11.54	8.0
F1(NY36-4A/울프 F3)	“	“	57.37	61.47	0.93	13.60	15.3

표 2-4. F1 조합능력검정 주요 조합별 품질 특성

품종 및 계통명	생장점수 (개)	링수 (개)	링두께 (mm)	당도 (°Brix)	건물율 (%)
사뿐로기	2.00	6.20	27.94	7.16	-
히구마	1.90	8.00	27.26	7.10	11.94
울프	1.70	8.10	25.46	7.64	12.78
만추황	1.90	8.10	24.84	8.96	14.28
F1(만추황/월륜)	1.80	8.70	25.41	8.34	14.91
F1(만추황/jp6)	1.70	8.40	29.22	7.96	12.05
F1(만추황/radar)	1.70	7.90	24.41	7.72	13.11
F1(W910A/가무이 F3)	1.60	8.00	26.41	9.44	15.69
F1(W202A/울프 F3)	1.80	8.60	26.85	9.26	14.42
F1(W205A/jp4)	1.70	8.00	29.12	8.70	12.77
F1(W205A/radar)	1.80	7.80	26.66	8.36	13.95
F1(NY36-4A/창녕대고)	2.20	8.60	26.33	8.72	13.95
F1(NY36-4A/울프 F3)	1.20	8.80	26.99	8.50	13.64

<2년차>

2004년도에 교배된 50여 조합에 대한 포장성능검정을 실시한 결과를 보면 포장에서의 생육특성은 초장 및 엽수는 NY36-A/탑원이 88.4cm, 106매로 가장 좋았다. 그러나 경경 역시 24.69mm로 가장 넓었다. 경경은 가늘수록 도복이 유리하고, 도복 후 저장과정에서 병원균의 침입이 적다, 그러므로 경경이 작은 계통의 선발이 필요하다. 구경지수는 W404A/swift 가 3.21로 가장 높았고, NY36-A/탑원이 1.50d,로 가장 낮았다. 구경지수는 클수록 구비대 시기가 빠른 경향을 보인다. NY36-A/탑원은 구 비대가 늦은 만생종의 경향을 보였다. 도복기에서도 많은 차이를 보였는데 구비대지수가 높았던 W404A/swift는 7월 18일로 가장 빨랐으며 NY36-A/탑원, 만추황/jp-4 및 44165/천심 조합에서는 8월 2일로 가장 늦었다. 본 시험에 공시된 조합에서는 이와 같이 구 비대 개시 시점이 빠르면서 도복이 늦은 조합은 없었다. 내병성은 특별히 강한 조합은 발견하지 못하였고 울프와 비슷한 경향을 보였다. 그러나 히구마는 내병성이 다소 약한 경향을 보였다. 구중은 히구마 145g, 울프 144g 으로 나타났다. 2004년에는 울프의 구중이 높았으나 금년에는 차이가 없었다. 이와 같은 원인은 2004년에는 고온과 조기 도복에 원인이 있다고 생각되어진다. F1 조합에서는 Ny36-4/월륜이 167g, W404/swift 163g, W205/jp-4 162로 높은 경향을 보였다. 이와 같이 구중이 우수한 계통은 2006년 조합성능 검정을 실시할 예정이다. 공시된 F1 조합의 구형 및 구피색은 모두 원형, 황갈색으로서 기존의 대비 품종과 큰 차이가 없었다. 이는 현재 양과 선호도가 구형이면서 짙은 황갈색을 선호하는데 이에 부합한다고 할 수 있다. 구형지수는 W404/swift 0.78, NY36/swift 0.84로서 2계통만 0.90 이하이고 나머지 계통은 모두 0.90 이상으로 원형이었다. 고랭지에 적응하는 장일형 친들의 조합의 경우는 모두 구형지수가 0.9 이상으로 양호하여 앞으로 구형부분은 특별한 문제가 없을 것으로 생각된다. 구형지수가 낮은 조합의 특성을 보면 모두 swift가 부계친으로 사용되었는데 swift 자체가 편원형이므로 이 특성이 F1 에서도 나타난 것으로 생각된다. 그러므로 swift는 금후부터는 교배친으로 적당하지 않다고 생각된다.

품질 특성을 보면 생장점수는 1.3~2.3개로 나타났으나 대부분 히구마와 울프의 1.7, 2.0개로 비슷한 경향을 보였다. 또한 생장점과의 거리가 1.4cm 이하로 single center로 규정하여도 무방하였다. 고랭지양과는 생장점수에 있어서 남부 추파양과와는 달리 적은 것이 특징이고 비록 생장점수는 2-3개 형성이 되었다더라도 생장점들과의 거리가 짧아 절단 하였을 경우 single center처럼 보인다. 실제로 생장점간의 거리는 1.4cm 이내로, 조사기준상으로 하면 1개로 볼 수도 있으나 본 시험에서는 생장점 수를 차이

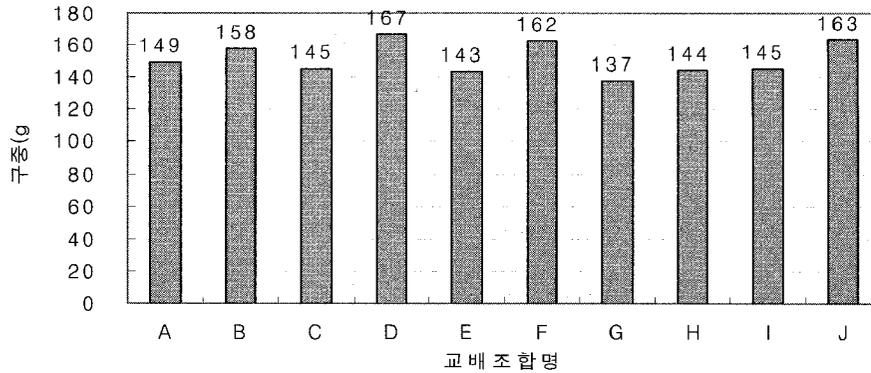


그림 2-2. F1 조합능력검정 선발계통 및 조합별 구중

A: NY36-4A/swift, B: NY36-4A/일본도입구selfing-7, C: NY36-4A/탐원F2,
 D: NY36-4A/월륜, E: W404A/탐원F2, F: W205A/일본도입구selfing-4
 G: 가무이, H: 울프, I: 히구마, j: W404A/swift

표 2-5 F1 조합능력검정 계통 및 조합 생육특성

품종 및 계통명	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm A)	구경 (mm B)	구경 지수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)
히구마	76.0	9.0	17.28	49.20	2.85	7.27	7
울프	79.6	9.0	18.64	52.58	2.82	7.31	5
가무이	69.6	8.8	17.00	46.44	2.73	8.2	5
만추황/일본도입구selfing-4	76.2	9.6	19.09	42.29	2.22	7.27	5
W205A/일본도입구selfing-4	86.2	8.8	20.34	45.73	2.25	7.27	5
W205A/Radar	80.2	8.2	19.33	53.52	2.77	7.20	5
W404A/탐원F2	75.4	8.8	16.08	42.68	2.65	7.27	5
W404A/일본도입구selfing-4	70.2	9.4	14.96	47.72	3.19	7.25	5
W404A/swift	79.8	7.6	17.56	56.29	3.21	7.18	5
44165A/천심F3	73.8	9.6	19.86	42.20	2.13	8.2	5
NY36-4A/월륜	86.0	9.4	20.61	37.44	1.82	7.31	6
NY36-4A/탐원F2	88.4	10.6	24.69	37.10	1.50	8.2	6
NY36-4A/Tamara F3	64.6	8.8	17.96	39.08	2.18	7.31	7
NY36-4A/일본도입구selfing-7	82.4	8.8	15.92	41.49	2.61	7.31	7
NY36-4A/swift	79.6	8.2	17.26	48.17	2.79	7.27	5
NY38-64A/대관령1호-1	81.2	8.8	15.20	31.06	2.04	7.31	5
W205A/창녕대고	68.4	8.6	13.77	47.85	3.47	7.23	5

※ 내병성 : 1(강) ~ 9(약)

를 명확하게 하기 위하여 기준을 보다 엄격하게 적용하다보니 성장점수가 많아지는 원인이 되었다. 그러나 당도 및 건물율에서는 히구마 7.10, 11.94% 에 비하여 W910/가무이 조합에서는 9.44, 15.69로 매우 높게 나타났다. 양파에서 당도와 건물율은 저장성과 정의 상관성이 있다고 보고되었는데 선발조합의 저장성이 양호할 것으로 생각된다. 당도는 NY36-4/jp-7 이 11.2로 가장 높았다. 대비종인 히구마가 9.5로 나타났으며 공시된 조합은 대부분 히구마와 비슷한 경향을 보였다. 건물율 역시 히구마 16.6%로 나타났으며 비슷한 경향을 보였다. 저장성은 대비종인 히구마가 69.7%로 매우 높았으며 울프 40.0%, 가무이 13.0%였다. 공시 조합의 경우 W205/jp-4 등 7조합은 멥아율이 0.0%로 저장성이 매우 좋았다. 그러나 swift가 부계친으로 사용된 조합에서는 81.1% 및 27.3%로 매우 높았다. 앞서 설명한 구비대에서도 swift 가 빨랐는데 구비대가 빠른 조생종 이다 보니 저장성이 약한 것으로 생각된다. 그러므로 금후에는 이 계통은 도태를 하거나 조생종 품종개발에 사용할 수 있으리라 생각된다.

본 조합 성능검정에서 선발된 조합 중 현재까지의 성적을 보면 구중이 양호한 NY36-4/월륜 등 4조합은 지역적응 시험에 공시하여 지역적응성 검정을 실시한 후 품종등록을 할 예정이다.

표 2-6. F1 조합능력검정 계통 및 조합 구 특성

품종 및 계통명	구형	구피색	구고 (mm) A	구폭 (mm) B	구형지수 (A/B)	구목넓이 (mm)
히구마	원형	황갈색	56.4	63.9	0.88	9.7
울프	“	“	58.4	60.3	0.97	9.9
가무이	“	“	53.7	61.3	0.88	9.5
만추황/일본도입구selfing-4	“	“	66.0	70.3	0.94	10.7
W205A/일본도입구selfing-4	“	“	62.8	68.4	0.92	7.5
W205A/Radar	“	“	62.5	66.8	0.94	8.8
W404A/탐원F2	“	“	59.9	70.4	0.85	9.6
W404A/일본도입구selfing-4	“	“	62.3	61.1	1.02	10.1
W404A/swift	편원형	“	55.6	70.8	0.78	10.4
44165A/천심F3	원형	“	56.8	56.0	1.02	8.8
NY36-4A/월륜	“	“	65.5	70.1	0.93	10.2
NY36-4A/탐원F2	“	“	62.2	64.9	0.96	8.5
NY36-4A/Tamara F3	“	“	62.6	65.3	0.96	15.0
NY36-4A/일본도입구selfing-7	“	“	64.0	62.4	1.03	10.1
NY36-4A/swift	“	“	60.4	71.7	0.84	10.0
NY38-64A/대관령1호-1	“	“	62.0	62.0	1.00	10.9
W205A/창녕대고	“	“	58.8	60.1	0.98	8.3

표 2-7. F1 조합능력검정 계통 및 조합 품질 특성

품종 및 계통명	생장점 수(개)	링수 (개)	링두께 (mm)	1개 링두께 (mm)	당도 (°Brix)	건물율 (%)	저장성
히구마	1.7	8.3	31.0	3.72	9.5	16.6	69.7
울프	2.0	8.0	24.0	3.00	8.4	22.1	40.0
가무이	2.0	8.3	28.9	3.47	9.5	17.9	13.0
만추황/일본도입구selfing-4	2.2	8.4	30.3	3.61	8.9	12.8	19.6
W205A/일본도입구selfing-4	2.3	9.0	32.6	3.62	9.9	16.3	0.0
W205A/Radar	1.7	6.7	30.6	4.59	9.5	15.4	14.8
W404A/탐원F2	1.7	8.3	33.7	4.04	10.5	15.9	3.7
W404A/일본도입구selfing-4	2.0	9.0	30.4	3.38	10.7	-	5.6
W404A/swift	2.3	7.7	27.9	3.64	9.7	-	81.8
44165A/천심F3	1.3	7.3	28.8	3.92	10.2	19.0	0.0
NY36-4A/월륜	2.3	9.0	37.5	4.16	8.3	13.3	0.0
NY36-4A/탐원F2	2.0	8.0	28.4	3.55	12.0	21.4	0.0
NY36-4A/Tamara F3	1.0	9.0	36.3	4.03	9.4	20.7	0.0
NY36-4A/일본도입구selfing-7	1.3	9.0	26.2	2.91	11.2	17.2	0.0
NY36-4A/swift	2.3	7.7	32.3	4.21	9.0	13.5	27.3
NY38-64A/대관령1호-1	1.0	7.3	32.2	4.39	10.2	16.9	0.0
W205A/창녕대고	2.0	8.7	31.3	3.61	11.6	19.0	28.0

※ 조사일 : 2006년 3월 20일

조사방법 : 8월에 수확 후 상온에서 보관, 선발 모구는 얼지 않게 0~7℃ 유지

<3년차>

2005년도에 교배된 60여 조합에 대한 포장2006년 포장 성능검정을 실시한 결과를 보면 구비대 지수는 만추황/Tamara F4 2.39를 제외하고는 모두 2.0 이하였다. 생육조사는 정식 후 60일경에 실시하였는데 이와 같이 구 비대가 늦은 것은 기상적인 원인이라고 생각한다. 도복기는 7월 20일 도복이 대부분 이루어 졌다. 이 원인은 앞서 응성불임계통 육성에서 언급한 바와 같이 폭우로 인하여 강제도복이 되었기 때문이다. 그러므로 3년차에서 도복기는 의미가 없으며 2007년에 다시 조사할 필요가 있다.

구중은 W202/jp-6조합에서 165.9g 으로 가장 높았고 150g이상의 대구 조합도 2조합이 있었다. 구피색은 대부분 황갈색이 많았으며 이는 양친이 모두 황갈색이기 때문이라 생각한다. 그러나 W404/jp-22등 5개 조합에서는 담갈색으로 나타났다. 고행지양파의 특성은 구피색이 진하고 색택이 우수한 것이 장점이다. 그러므로 금후 선발에 있어서 황갈색으로 진한 것을 위주로 선발할 필요가 있다. 구피색의 조사는 육안으로 구별하는 방법도 있으나 색차 색도계를 이용하면 보다 정확한 구피색을 선발할 수 있다. 색차색도계의 원리는 그림 2-3과 같다.

표 2-8. F1 조합능력검정 계통의 생육특성

계통명	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm,A)	구경 (mm,B)	구 비대 지수 (B/A)	도복 기	내병 성
M5718A/창녕대고	72	9.6	13	24.08	1.90	7.18	8
M5718A/{K/H-4-4}	76	10.0	20	32.09	1.64	7.20	7
M2935A/jp-6	73	9.3	17	23.55	1.36	7.20	7
44165A/jp-22	70	10.0	16	28.31	1.72	7.18	7
44165A/jp-6	73	9.0	18	32.65	1.77	7.18	8
44165A/{K/H-4-4}	75	9.8	19	34.97	1.83	7.18	8
W44119A/Tarama F4	77	9.8	21	34.10	1.64	7.20	7
W404A/jp-22	79	10.0	19	34.02	1.76	7.20	7
W404A/중생대구 F4	75	10.5	18	30.69	1.68	7.20	8
W404A/창녕대고	77	9.6	17	33.69	1.98	7.18	7
W404A/{K/H-4-4}	75	10.0	18	30.70	1.74	7.20	8
W205A/중생대구 F3	76	9.5	15	22.07	1.46	7.20	7
W205A/가무이F4	85	9.5	17	28.16	1.65	7.20	7
W205A/천심 F4	81	9.3	19	30.09	1.59	7.20	7
W205A/T-406 F4	86	9.5	16	25.29	1.55	7.20	7
W205A/천주대고	83	9.5	18	33.84	1.87	7.20	7
W205A/조생대구	86	10.3	21	32.24	1.57	7.20	7
W205A/{K/H-4-4}	81	10.6	18	27.68	1.54	7.20	7
W205A/{H/97-1-0}	76	9.6	17	23.32	1.39	7.20	7
W202A(2001-41)/jp-6	67	9.6	13	20.78	1.56	7.20	8
W202A(2001-41)/중생대구 F3	72	10.1	16	25.13	1.60	7.20	6
W202A(2001-41)/가무이 F4	84	10.0	18	35.38	1.92	7.20	7
W202A(2001-41)/월륜 F4	77	10.1	17	27.08	1.62	7.20	7
W202A(2001-41)/천주대고	74	10.1	16	36.72	2.35	7.20	7
W202A(2001-41)/{K/H-4-4}	75	9.3	15	25.00	1.69	7.20	7
만추황/Tamara F4	77	9.3	18	43.99	2.39	7.20	7
만추황/Tuskhikari F3	68	8.5	14	24.21	1.71	7.18	8

구형은 원형이 많아 고랭지양파 고유의 특성을 나타내는 것이 대부분이었다. 고랭지양파는 장일형으로 추파 양파에 비하여 원형의 비율이 높으며 일반적으로 구고/구폭의 비율을 0.9 이상이면 원형으로 판단한다.

F1 조합에 대한 품질 특성을 비교해 보면 성장점은 W205/가무이 F4에서 1.0개로 가장 낮았고, 대부분 2.0개 이하였다. 성장점은 개수가 낮을 수록 품질이 좋으며 고랭지 양파의 경우 추파양파에 비하여 2차 생장이 적어 성장점이 적은 것이 장점이다. 당도는 M5718/창녕대고에서 10.13으로 가장 높았으며 대부분 8.0이상으로 높은 편이

었다. 고랭지양파의 당도는 추파양파에 비하여 높다. 그러나 식용으로 하였을 경우 매운맛이 강하여 단맛을 느끼기는 어렵다.

구피색은 양파 품질을 결정하는 중요한 요소인데 색차색도계의 L, a 및 b 값 중 a 값이 구피색의 결정에 가장 큰 영향을 미친다. 구피색은 황갈색으로 진한 것이 좋다.

이상의 결과를 종합할 때 우수한 조합은 생산력 검정 및 지역적응시험에 공시하여 3년간 시험을 거친 후 수량 및 품질 특성 등이 우수할 경우 품종등록할 예정이다.

표 2-9. F1 조합능력검정 선발 계통의 구 특성

계통명	구중 (g)	구피색	구형	구고 (mm,A)	구폭 (mm,B)	구형지 수(A/B)	경경 (mm)
M5718A/창녕대고	120.80	황갈색	원형	56.74	61.19	0.93	9.95
M5718A/{K/H-4-4}	136.00	“	“	60.71	64.19	0.95	11.83
M2935A/jp-6	127.70	“	“	61.68	60.17	1.03	11.23
44165A/jp-22	133.90	“	“	62.85	62.33	1.01	11.03
44165A/jp-6	146.00	“	“	62.71	65.39	0.96	10.28
44165A/{K/H-4-4}	155.90	“	“	69.74	66.38	1.05	9.93
W44119A/Tarama F4	145.30	“	“	64.20	63.95	1.00	7.59
W404A/jp-22	133.90	담갈색	마름모	57.55	63.62	0.90	7.34
W404A/중생대구 F4	117.30	황갈색	원형	58.80	60.14	0.98	9.69
W404A/창녕대고	133.20	“	마름모	52.81	66.28	0.80	7.62
W404A/{K/H-4-4}	123.70	“	원형	56.36	62.28	0.90	7.73
W205A/중생대구 F3	121.00	“	“	55.80	61.97	0.90	7.98
W205A/가무이F4	139.10	“	“	62.14	62.80	0.99	10.74
W205A/천심 F4	141.20	담갈색	“	66.26	62.77	1.06	10.44
W205A/T-406 F4	147.20	“	“	66.48	64.32	1.03	10.34
W205A/천주대고	138.70	“	마름모	67.47	66.10	1.02	9.82
W205A/조생대구	140.10	담갈색	원형	59.69	65.05	0.92	8.81
W205A/{K/H-4-4}	142.30	황갈색	“	64.15	58.82	1.09	9.54
W205A/{H/97-1-0}	147.80	“	“	64.22	64.40	1.00	11.01
W202A(2001-41)/jp-6	165.90	“	“	64.08	65.68	0.98	8.33
W202A(2001-41)/중생대구 F3	145.70	“	“	62.95	64.44	0.98	10.11
W202A(2001-41)/가무이 F4	130.00	담갈색	“	59.24	62.42	0.95	9.95
W202A(2001-41)/월륜 F4	143.30	황갈색	“	64.71	62.68	1.03	8.82
W202A(2001-41)/천주대고	150.50	황갈색	원형	64.11	66.49	0.96	9.52
W202A(2001-41){K/H-4-4}	125.70	“	“	60.26	62.42	0.97	8.20
만추황/Tamara F4	153.00	“	“	61.11	67.16	0.91	7.60
만추황/Tuskhikari F3	130.20	“	“	60.73	62.71	0.97	8.91

표 2-10. F1 조합능력검정 선발계통의 품질 특성

계통명	생장점수 (개)	링수 (개)	링두께 (mm)	당도 (° Brix)	색차색도		
					L	a	b
M5718A/창녕대고	1.67	9.33	3.81	10.13	60.69	12.17	27.33
M5718A/{K/H-4-4}	2.67	7.33	4.27	7.20	58.09	14.08	25.47
M2935A/jp-6	1.33	8.00	4.03	10.07	60.34	12.11	26.12
44165A/jp-22	2.00	8.50	3.95	6.47	61.30	13.28	27.75
44165A/jp-6	1.67	8.67	3.37	8.40	57.86	13.27	26.21
44165A/{K/H-4-4}	2.67	8.00	4.19	5.53	60.62	12.01	30.99
W44119A/Tarama F4	2.33	8.00	3.60	5.53	59.82	11.52	27.29
W404A/jp-22	2.00	9.67	2.93	8.60	64.49	8.63	27.38
W404A/중생대구 F4	1.33	7.67	3.83	10.13	58.48	12.73	28.35
W404A/창녕대고	2.33	8.67	3.73	10.00	57.88	12.85	26.02
W404A/{K/H-4-4}	2.33	8.33	4.02	5.73	60.34	11.35	30.60
W205A/중생대구 F3	1.00	8.00	3.74	8.67	60.19	10.05	24.90
W205A/가무이F4	1.00	9.00	3.75	8.60	61.32	10.63	27.80
W205A/천심 F4	2.00	8.00	4.22	8.60	65.41	8.68	28.20
W205A/T-406 F4	2.00	9.00	3.67	10.00	61.65	12.34	27.83
W205A/천주대고	2.00	8.33	3.67	8.53	63.77	10.31	28.03
W205A/조생대구	2.00	8.00	4.28	8.53	64.83	8.49	27.19
W205A/{K/H-4-4}	1.67	8.67	3.85	10.07	56.20	10.20	27.39
W205A/{H/97-1-0}	2.00	9.00	3.47	10.13	59.06	12.77	23.59
W202A(2001-41)/jp-6	2.33	8.67	4.30	8.67	61.55	10.80	28.18
W202A(2001-41)/중생대구 F3	1.67	7.33	4.13	5.60	60.48	10.64	28.40
W202A(2001-41)/가무이 F4	1.67	8.00	3.88	7.20	63.86	9.51	28.03
W202A(2001-41)/월륜 F4	2.67	8.33	4.04	8.67	61.24	12.18	29.56
W202A(2001-41)/천주대고	1.67	10.00	3.13	10.13	60.91	11.84	25.09
W202A(2001-41)/{K/H-4-4}	2.67	8.67	3.58	8.47	61.96	10.67	30.11
만추황/Tamara F4	1.67	8.33	4.17	10.07	63.95	8.57	26.33
만추황/Tuskhikari F3	2.00	9.33	3.63	10.13	61.16	12.94	28.94

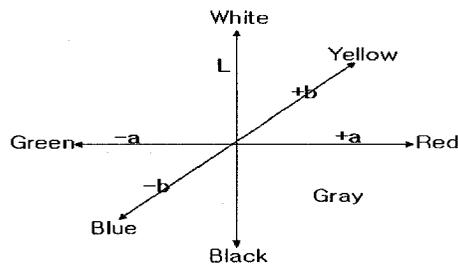


그림 2-3 색차색도계 기준표

4. 종합결과

'04년 50조합, '05년 50조합, '06년 60조합을 공시하여 F1 조합능력을 검정하였다. 1년차에서는 만추황/월륜, W910/가무이, W205/jp6, W910/가무이 등이 종합적으로 볼 때 가장 우수하였고, 2년차에서는 NY36-4/월륜 등 4개 조합, 3년차 4개 조합은 지역적응시험에 공시하였다. 각 조합별 특성을 보면 도복기에서도 많은 차이를 보였는데 구비대지수가 높았던 W404A/swift는 7월 18일로 가장 빨랐으며 NY36-A/탑원, 만추황/jp-4 및 44165/천심 조합에서는 8월 2일로 가장 늦었다. 구중에서는 만추황/jp6 은 130.2로 가장 높았고, 만추황/radar 123.7 등 총 8개 조합에서 구중이 히구마보다 좋았다. 당도 및 건물율에서는 히구마 7.10, 11.94% 에 비하여 W910/가무이 조합에서는 9.44, 15.69로 매우 높게 나타났다. 생장점수는 1.3~2.3개로 나타났으나 대부분 히구마와 울프의 1.7, 2.0개로 비슷한 경향을 보였다. 저장성은 대비종인 히구마가 69.7%로 매우 높았으며 울프 40.0%, 가무이 13.0%였다. 공시 조합의 경우 W205/jp-4 등 7조합은 멥아율이 0.0%로 저장성이 매우 좋았다. 이들 우수 계통은 지역적응 시험에 공시하여 고랭지 환경 적응성을 검정하였다.

제3절 고랭지양파 우량계통 지역적응 시험

1. 서 설

양파는 생태형으로 장일형과 단일형으로 분류하는데(Pike, 1986) 우리나라 추파 양파는 단일형, 고랭지양파는 장일형에 속한다. 고랭지에서 재배되는 품종군은 이 지역에 맞는 생태형이 필요하나 아직 이것에 대한 보고는 전무한 실정이다.

고랭지양파는 해발 600m 전후한 강원도 고랭지 지역에서 주로 일본산 품종을 도입하여 재배되고 있다. 국내에서 양파가 재배되는 고랭지는 위도는 37정도로 장일형 양파를 재배하기는 낮은편이나 해발 400-800m로 높아 여름에 기온이 낮아 양파 재배가 가능하다. 그러나 고랭지는 산악기후로서 기후변화가 다양하여 양파 재배에 적지라고 하기는 어렵다.

외국에서 도입된 고위도 품종을 재배한 결과 도복이 되지 않았고 추파 만생종은 구비대력은 좋으나 분구율이 높아 상품성이 없었다. 고랭지 지역에 적응하는 전용 품종을 육성하기 위해서는 우선 이 지역에 맞는 최적의 생태형을 구명하는 것이 중요하다.

양파에서 구비대는 일장과 온도에 영향을 받으며 특히 일장에 의하여 비대가 촉진되고 품종에 따라 일장반응이 다르며 단일에서는 구비대가 진행하지 못한다고 보고하였다(Steer, 1980; Magruder and Allard, 1937; Heath, 1943; Abe, 1955). 일장이 길고 온도가 높으면 구비대시기가 빨라지고 비대 속도도 빨라져 구비대가 조기에 일어난다(Steer, 1980; Austin, 1971). 고랭지에서의 일장반응은 6월 하지 무렵 15시간에서 가장 길고 점차 일장이 짧아져 8월 5일 14.1시간 정도이다. 장일형 양파의 구비대 한계일장이 14시간을 기준으로 할 때는 7월 하순~8월 상순이 여기에 해당된다. 그러나 이 시기는 온도가 가장 높은 시기이고, 그 이후는 온도가 급격히 하강하고 일장이 짧아져 도복이 불안정해진다. 그러므로 고랭지 환경에 적응하는 품종 및 계통을 육성하여 안정적으로 재배할 수 있고 지역에 따라 적응하는 품종을 개발하기 위해서는 필수적으로 육성된 계통에 대한 지역적응성 시험이 필요하다. 본 시험은 응성불임성을 이용한 F1 조합에 대하여 성능검정 및 생산력 검정에서 우수하다고 판단된 계통에 대하여 기후대가 다른 지역 즉 해발별로 구분하여 지역을 선정하여 계통에 대한 적응성 검정을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

<1년차>

과종 및 정식은 각 지역 특성에 맞게 하였다. 각 지역별 과종 수확 및 재배특성은 표 1과 같다. 정식포장의 준비는 각지역의농가에서 재배하는 재배법에 준하였다. 재식거리는 이랑너비 140cm(통로30cm)에 6줄씩, 18 x 12cm 간격으로 3반복으로 하였으며 반복당 150주를 식재하였다. 인제지역은 흑색 멀칭을 하였고 나머지 지역은 무피복 재배하였다.

특성조사는 정식 60일 후 조사하였다. 조사항목은 엽장, 엽수, 경경을 위주로 하였으며 도복기는 80% 도복된 시점을 도복기로 하였고. 기타 재배법은 농가 수준으로 관리하였다.

표 3-1. 2004년 지역적응성 검정 경종개요

지역	과종	정식	수확	비고
진부	3. 4	5. 3	8. 16	600m, 무멀칭
대관령	3. 4	5. 6	8. 30	800m, 흑색멀칭
홍천	3. 4	4. 30	8. 20	500m, 흑색멀칭
인제	3. 4	5. 10	8. 31	800m, 흑색멀칭

<2년차>

각 지역별 과종 수확 및 재배특성은 표 3-2과 같다. 육묘방법은 1년차와 동일한 하우스에서 육묘하였다. 정식포장의 준비는 각지역의농가에서 재배하는 재배법에 준하였다. 재식거리는 이랑너비 140cm(통로30cm)에 6줄씩, 18 x 12cm 간격으로 3반복으로 하였으며 반복 당 150주를 식재하였다.

특성조사는 정식 60일 후 조사하였다. 조사항목은 엽장, 엽수, 경경을 위주로 하였으며 도복기는 80% 도복된 시점을 도복기로 하였고. 기타 재배법은 농가 수준으로 관리하였다.

표 3-2. 2005년 지역적응성 검정 경종개요

지역	과종	정식	수확	비고
진부	2. 25	4. 21	8. 20	600m, 무멀칭
대관령	2. 25	4. 25	8. 22	800m, 흑색멀칭
홍천	2. 25	4. 28	8. 17	500m, 흑색멀칭

<3년차>

3년간 지역별 공시된 계통 및 년차수는 표 3-3과 같다. 각 지역별 파종 수확 및 재배특성은 표 3-4과 같다. 육묘방법은 1년차와 동일한 하우스에서 육묘하였다. 정식포장의 준비는 각지역의농가에서 재배하는 재배법에 준하였다. 재식거리는 이랑너비 140cm(통로30cm)에 6줄씩, 18 x 12cm 간격으로 3반복으로 하였으며 반복 당 150주를 식재하였다.

특성조사는 정식 60일 후 조사하였다. 조사항목은 엽장, 엽수, 경경을 위주로 하였으며 도복기는 80% 도복된 시점을 도복기로 하였고, 기타 재배법은 농가 수준으로 관리하였다.

표 3-3. 지역적응시험에 공시된 13계통 및 대비품종

계통명	교배조합	지역 및 년차		
		진부	대관령	홍천
고시가-1호	만추황/울프	3	3	3
고시가-2호	만추황/A-36010	3	3	3
고시가-3호	만추황/창녕대고	3	3	3
고시가-4호	만추황/고랭지여름	3	3	3
고시가-5호	W202A/만추황	3	3	3
고시가-6호	W202A/울프	3	3	3
고시가-7호	만추황/월륜	2	2	2
고시가-8호	만추황/jp6	2	2	2
고시가-9호	만추황/RADAR	1	1	1
고시가-10호	만추황/Tuskimikari	1	1	1
고시가-11호	W910A/가무이 F3	1	1	1
고시가-12호	W202A/울프 F3	1	1	1
고시가-13호	W205A/jp-4	1	1	1
대비품종	히구마			

표 3-4 2006년 지역적응시험 경종개요

지역	파종	정식	수확	비고
진부	2월 하순	4월 하순	8월 중순	600m,
대관령	3월 상순	5월 상순	8월 중순	800m
홍천	2월 하순	4월 하순	8월 중순	500m

3. 결과 및 고찰

<1년차>

2003년도에 조합성능검정에서 구 수량 및 품질특성이 좋은 만추황/울프 등 6개 조합을 선발하여 2004년도에 대관령(800m), 진부(600m), 홍천(500m), 인제(500m) 등 4개 지역에 적용성 검정을 실시하였다. 생육특성을 보면 진부 및 인제에서의 초장, 엽수, 경경이 홍천, 대관령지역보다 각각 좋은 것으로 나타났다. 구비대 개시점은 인제지역이 가장 빨랐으며 대관령지역이 가장 늦었다. 이와 같은 원인은 홍천이 정식시기도 빨랐지만 해발이 낮아 온도가 높은 조건이기 때문이라고 생각된다. 대관령의 경우는 정식시기가 늦고 대관령 기후 조건상 잦은 안개로 인하여 일조가 부족하여 생육이 전체적으로 늦지 않았나 생각된다. 이와 같은 결과는 도복기에서도 잘 나타나고 있다. 진부지역이 7월 17일 경으로 도복기가 빠른 것은 고온 및 총채벌레의 발생으로 전반적으로 도복이 빨랐으며 대관령의 경우는 8월 10일 전후로 늦으나 구형이나 구피색은 4개 지역 모두 정상적으로 발현되었다

구 특성을 보면 구형지수는 고시가-1호의 경우 진부 및 대관령에서는 0.93, 홍천, 인제에서는 각각 0.86으로 나타났다. 히구마의 경우는 0.91~0.96으로 비슷한 결과를 보였다. 다만 홍천, 인제에서 0.86으로 낮은 것은 조기 비대에 의한 결과가 아닌가 생각되며, 이 부분은 보완해야 할 사항으로 생각된다. 지역에 따라 다소 차이는 있으나 생장점수, 링수, 당도 등은 기존 품종인 히구마와 비슷하거나 좋은 것으로 나타났다. 특히 고시 가-1호의 경우는 저장성이 히구마보다 좋은 것으로 나타났다. 금년도 결과는 아직 조사하지 않았지만 2003년도 1차 성능 검정시 3월 20일 조사한 결과를 보면 맹아율이 고시가-1호는 25.8%, 히구마는 37.3%로 유의한 차이를 보였다. 그러므로 본 연구과제의 목표인 장기저장성 F1 품종육성은 가능성이 있으며 현재 품종등록 요건인 3년차 지역적응성 검정 중 2005년도에 2년차 시험을 실시할 예정이다.

구중 및 수량특성을 보면 지역별로는 진부, 인제 지역이 홍천 및 대관령지역 보다 수량성이 높게 나타났다. 대관령 지역은 기상악화에 의해 수량성이 낮았으나 홍천의 경우는 재배농가에서 친환경농법으로 재배한 결과 전체적으로 부패율이 높았기 때문인 것으로 생각된다. 금후 친환경 농산물의 중요성은 확산되고 있으나 본 시험의 목적과는 다르기 때문에 2차년도부터는 다른 재배농가에서 실시할 예정이다. 공시계통별 수량성을 보면 진부, 홍천에서 고시가-1호는 구중이 141.8, 123.0g 으로 히구마의 143.7, 124.0과 차이가 없었다. 다른 계통에서는 전반적으로 낮았으나 고시 가-5호는 인제지역에서 134.8g 으로 히구마 보다 구중이 높았다. 금년에는 후반기 고온으로 인하여 전체적으로 구중이 적은 편이었다. 저장성은 앞서 기술한

것과 같이 2003년 조합능력 검정시에는 하였으나 2004년 지역적응성 시험 저장성은 4월 상순에 저장성을 조사할 예정이다. 그러므로 본 시험에 공시된 6계통과 2004년도에 조합성능검정에서 우수한 것으로 판단된 4계통 등 총 10계통에 대하여 2년차 지역적응시험을 실시할 예정이다

표 3-5. 2004년 육성계통 지역적응성 시험 생육특성

지역	계통명	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm) A	구경 (mm) B	비대지 수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)	구형	구피색
진부	고시 가-1호	82.6	8.60	19.60	39.76	2.03	7.17	5	원형	황갈색
	고시 가-2호	76.2	9.27	18.79	41.85	2.24	7.17	7	“	“
	고시 가-3호	82.7	9.00	22.99	43.85	1.91	7.17	7	“	“
	고시 가-4호	83.3	8.20	19.99	43.88	2.20	7.17	5	“	“
	고시 가-5호	72.4	9.00	18.23	41.09	2.26	7.19	5	“	“
	고시 가-6호	83.1	9.20	22.95	43.33	1.89	7.19	7	“	“
	히구마	83.0	9.00	19.51	48.78	2.51	7.17	5	“	“
	울프	85.2	9.00	19.41	47.81	2.46	7.17	5	“	“
대관령	고시 가-1호	68.8	8.20	15.39	21.80	1.42	8.10	7	원형	황갈색
	고시 가-2호	65.2	8.20	14.22	19.45	1.36	8.8	7	“	“
	고시 가-3호	69.2	7.80	14.60	19.67	1.35	8.8	8	“	“
	고시 가-4호	60.2	8.60	14.95	23.88	1.60	8.10	7	“	“
	고시 가-5호	69.5	8.70	15.48	22.12	1.41	8.13	8	“	“
	고시 가-6호	66.0	8.20	13.73	16.85	1.23	8.13	7	“	“
	히구마	67.8	8.33	13.62	18.72	1.35	8.10	7	“	“
	울프	79.4	8.13	15.36	21.27	1.38	8.10	7	“	“
홍천	고시 가-1호	70.6	8.00	14.02	16.71	1.19	7.25	7	원형	황갈색
	고시 가-2호	67.4	9.00	13.03	16.63	1.28	7.25	7	“	“
	고시 가-3호	67.0	8.00	14.32	17.08	1.19	7.23	8	“	“
	고시 가-4호	87.3	10.00	18.38	26.94	1.47	7.25	7	“	“
	고시 가-5호	69.6	8.60	13.61	15.73	1.16	7.27	7	“	“
	고시 가-6호	69.0	8.20	12.53	16.17	1.29	7.27	7	“	“
	히구마	72.8	9.20	13.34	17.67	1.32	7.25	7	“	“
	울프	79.6	9.20	15.93	22.98	1.44	7.25	7	“	“
인제	고시 가-1호	81.6	9.20	17.17	52.78	3.07	7.23	5	원형	황갈색
	고시 가-2호	71.8	8.60	15.61	50.89	3.26	7.23	7	“	“
	고시 가-3호	74.7	10.33	19.09	50.40	2.64	7.25	7	“	“
	고시 가-4호	67.0	8.00	14.25	43.84	3.08	7.25	7	“	“
	고시 가-5호	60.2	7.80	14.60	56.14	3.84	7.25	5	“	“
	고시 가-6호	83.7	10.00	18.23	55.09	81.46	7.25	7	“	“
	히구마	72.4	9.60	14.55	59.75	4.11	7.25	5	“	“
	울프	80.6	8.80	14.59	56.01	3.84	7.25	5	“	“

표 3-6. 2004년 육성계통 지역적응성 시험 생육특성

지역	계통명	구고 (mm), A	구폭 (mm), B	구형지 수 (A/B)	목넓이 (mm)	생장점 수 (개)	링수 (개)	당도 (°Brix)	건물율 (%)
진부	고시 가-1호	61.00	65.85	0.93	11.43	2.0	7.8	8.72	15.9
	고시 가-2호	58.71	64.37	0.91	10.81	2.0	7.8	8.44	15.4
	고시 가-3호	59.12	60.95	0.97	12.17	1.6	7.8	7.64	15.1
	고시 가-4호	56.42	56.22	1.00	10.45	2.0	8.2	8.64	15.9
	고시 가-5호	60.12	62.96	0.95	10.63	1.5	7.5	8.58	22.5
	고시 가-6호	57.21	58.54	0.98	11.13	1.6	7.6	9.32	20.1
	히구마	62.27	64.93	0.96	12.20	2.0	7.0	7.68	16.4
	울프	57.60	63.05	0.91	9.87	1.6	7.9	7.89	17.9
대관령	고시 가-1호	53.36	57.45	0.93	9.38	2.0	8.4	9.28	17.8
	고시 가-2호	50.01	57.74	0.87	9.46	2.0	7.4	9.84	24.1
	고시 가-3호	49.58	53.66	0.92	9.23	1.2	8.0	9.44	18.3
	고시 가-4호	51.12	56.19	0.91	9.60	1.8	8.6	9.88	18.7
	고시 가-5호	51.85	57.40	0.90	10.11	1.7	8.4	9.98	22.0
	고시 가-6호	50.07	54.61	0.92	10.08	1.8	8.4	9.64	23.6
	히구마	48.28	52.80	0.91	8.96	1.8	8.4	8.73	15.5
	울프	54.09	59.38	0.91	9.64	1.8	8.4	9.55	19.6
홍천	고시 가-1호	44.29	51.55	0.86	10.19	1.8	8.2	7.60	19.8
	고시 가-2호	46.13	51.41	0.90	9.63	2.0	7.7	8.38	18.5
	고시 가-3호	47.58	48.36	0.98	8.29	1.0	7.6	8.28	20.5
	고시 가-4호	44.53	44.34	1.00	8.80	1.8	7.6	8.68	25.1
	고시 가-5호	47.30	52.48	0.90	8.69	2.2	7.7	8.64	17.3
	고시 가-6호	45.42	50.99	0.89	10.06	1.6	8.0	8.64	20.9
	히구마	50.08	55.31	0.91	8.97	2.0	8.4	7.97	15.9
	울프	44.84	52.75	0.85	10.26	1.8	8.2	7.88	15.2
인제	고시 가-1호	54.89	63.86	0.86	9.10	2.6	7.6	6.80	14.1
	고시 가-2호	53.11	63.07	0.84	10.47	2.5	7.7	7.62	13.5
	고시 가-3호	49.08	56.02	0.88	7.37	1.8	8.4	7.56	13.2
	고시 가-4호	50.88	50.56	1.01	5.95	1.4	7.6	7.40	16.1
	고시 가-5호	56.93	64.67	0.88	10.34	2.4	8.4	7.84	17.0
	고시 가-6호	43.78	55.67	0.79	8.79	1.8	8.8	8.52	16.4
	히구마	57.58	62.13	0.93	9.53	2.0	8.0	7.08	13.7
	울프	55.12	60.94	0.90	8.63	2.1	8.0	6.64	17.4

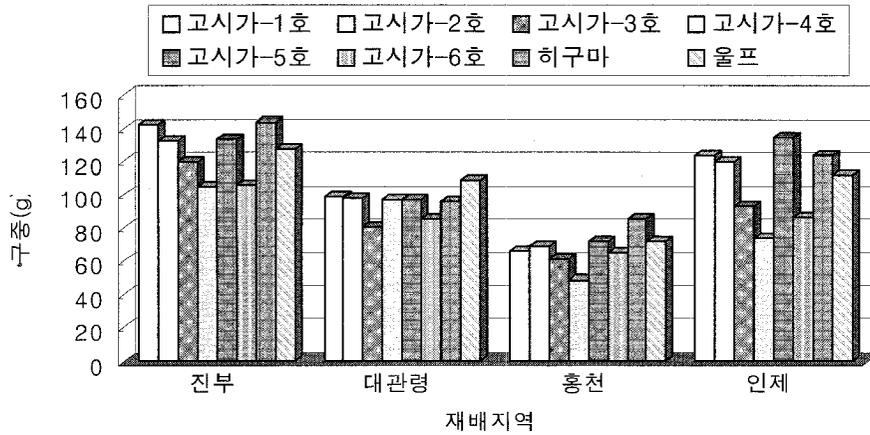


그림 3-1. 재배지역별 구종

표 3-7. 2004년 육성계통 고시 가-1호의 저장성

품종 및 계통	총갯수	맹아수	맹아율
히구마	67	25	37.3
만추황/울프	66	17	25.8

※ 조사일 : 2004년 3월 20일

조사방법 : 8월에 수확 후 11월부터 4℃ 저온저장고에 보관 후
3월 1일 실온에 둔 상태로 맹아율 조사

<2년차>

지역적응성 검정은 2003년도에 조합성능검정에서 구 수량 및 품질특성이 좋은 만추황/울프 등 5개 조합, 2004년도 3계통을 선발하여 총 8계통을 공시하였다. 시험장소는 대관령(800m), 진부(600m), 홍천(500m) 등 3개 지역에서 실시하였다. 생육특성을 보면 초장은 3개 지역에서 비슷한 경향을 보였으나 엽수는 진부지역이 적은 것으로 나타났다. 구 비대 개시점은 진부지역이 가장 빨랐으며 대관령 지역이 가장 늦었다. 이와 같은 원인은 진부 정식시기도 빨랐고, 해발이 낮아 온도가 높은 조건이기 때문이라고 생각된다. 대관령의 경우는 정식시기가 늦고 대관령 기후 조건상 잦은 안개로 인하여 일조가 부족하여 생육이 전체적으로 늦지 않았나 생각된다. 홍천의 경우 구비대 지수가 낮은 것은 정식시기가 두 지역보다 다소 늦은 것이 원인이라 생각된다. 이와 같은 결과는 도북기에서도 잘 나타나고 있다. 진부지역이 7월

25~31일로 도복기가 가장 빨랐다. 그러나 2004년 보다는 약 1주일 정도 늦은 경향을 보였다. 계통별 특성을 보면 진부지역에서 고시가-5호의 도복기가 5월 31일로 가장 늦었으며, 고시가 3호 등가 가장 빨랐다. 두 계통간의 도복기 차이는 약 6일 정도였다. 내병성은 3개지역 모두 비슷한 경향을 보였다.

구 특성을 보면 구중은 진부지역이 가장 높았고, 대관령이 가장 낮았다. 이와 같은 경향은 다른 시험에서도 비슷한 경향을 보였으며 대관령 지역의 경우 해발이 높아 생육기간이 짧은 것이 원인이라고 생각된다. 진부지역에서의 구중은 고시가-1호가 156.4g 으로 히구마 142.8g 보다 높아 우수하였다. 이와 같은 결과는 홍천지역에서도 같은 경향을 보여 고시가-1호 173.8g, 히구마 163g 이었고, 대관령에서는 고시가-1호 102.5g, 히구마 85.8g 으로 3개지역에서 모두 우수 하였다. 나머지 계통들은 지역간의 편차가 심하였다. 구중에서는 고시가-1호를 제외하고는 히구마보다 높은 계통은 보이지 않았다. 그러나 품종은 지역 및 년차간 편차가 발생하므로 2006년에 3년차 시험을 실시하여 우수한 조합은 품종등록을 실시할 예정이다. 현재 고랭지양파는 모두 수입품종에 의존하고 있으며 국내에서 개발된 F1 품종은 없는 실정이다. 그러므로 본 연구에서 우수한 고시 가-1호가 품종등록을 실시한다면 국내에서 최초의 고랭지 장일형 F1 품종이 되며, 보급시 농가 소득 향상 및 외국 종자의 수입 대체도 될것으로 생각된다.

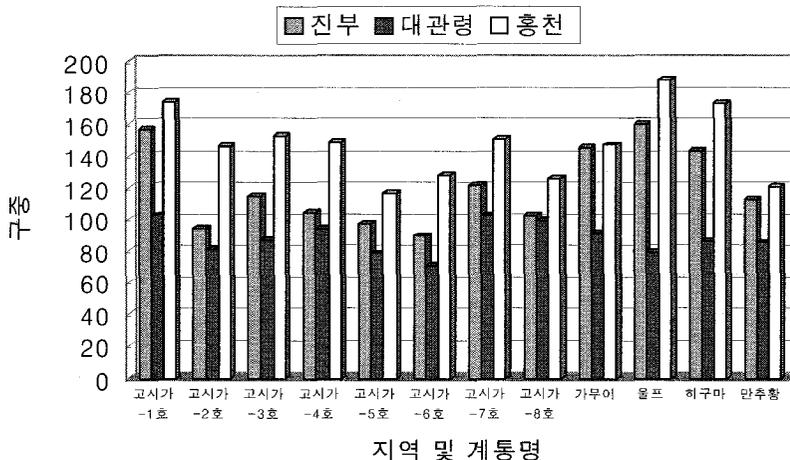


그림 3-2. 2005년 육성계통 지역별 및 계통간 구중 비교

표 3-8. 2005년 육성계통 지역적응성 시험 생육특성

지역	교배조합	초장 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm) A	구경 (mm) B	비대지수 (B/A)	도복기 (월.일)	내병성 (1~9)
진부	고시 가-1호	77.7	8.9	17.84	37.60	2.11	7.27	5
	고시 가-2호	63.1	8.5	18.49	44.90	2.43	7.27	7
	고시 가-3호	72.9	9.5	18.32	45.71	2.49	7.25	7
	고시 가-4호	76.7	9.3	17.01	39.67	2.33	7.27	5
	고시 가-5호	80.8	9.1	17.60	39.59	2.25	7.31	5
	고시 가-6호	71.6	9.2	18.28	40.20	2.20	7.27	7
	고시 가-7호	81.9	8.9	17.86	43.72	2.45	7.27	5
	고시 가-8호	75.6	7.3	14.42	53.11	3.68	7.31	5
	히구마	76.7	7.9	17.24	56.46	3.28	7.25	5
대관령	고시 가-1호	67.0	9.7	18.41	30.37	1.65	8.1	7
	고시 가-2호	60.8	10.3	19.77	37.55	1.90	8.1	7
	고시 가-3호	67.2	10.5	17.88	35.77	2.00	8.3	8
	고시 가-4호	70.3	9.8	17.17	41.92	2.44	8.5	7
	고시 가-5호	83.3	10.7	18.39	29.61	1.61	8.1	8
	고시 가-6호	72.2	9.9	16.96	26.58	1.57	8.1	7
	고시 가-7호	84.0	10.5	18.02	35.09	1.95	7.31	5
	고시 가-8호	74.3	8.2	15.08	45.33	3.01	8.1	5
	히구마	66.3	10.3	16.46	48.37	2.94	7.31	5
홍천	고시 가-1호	76.7	10.3	16.92	30.20	1.79	7.27	7
	고시 가-2호	59.2	9.7	15.43	28.02	1.82	7.27	7
	고시 가-3호	69.7	12.0	18.45	30.34	1.64	7.25	8
	고시 가-4호	77.1	11.0	18.18	32.42	1.78	7.28	7
	고시 가-5호	78.5	10.8	17.34	31.04	1.79	7.31	7
	고시 가-6호	70.2	13.0	18.38	29.09	1.58	7.31	7
	고시 가-7호	77.0	9.8	16.59	35.49	2.14	8.2	5
	고시 가-8호	72.9	9.4	12.63	45.62	3.61	7.27	5
	히구마	76.8	10.0	17.50	47.06	2.69	7.30	5

구형 및 구피색은 원형, 황갈색으로 모두 우수하였다. 구형지수는 모든 계통에서 0.9 이상으로 원형이었다. 홍천의 경우 구형지수가 진부, 대관령 보다는 다소 높은 경향을 보였는데 이것은 초기 구 비대는 양호하나 후기 비대가 불량하였기 때문이라 생각된다. 구형지수는 고시가-1호의 경우 진부 0.91, 대관령 홍천은 1.07, 1.01로 나타났다. 히구마의 경우는 0.97~1.03으로 고시 가-1호와 비슷한 결과를 보였다. 생장점수는 1.0~2.0개로 나타났다. 고시 가-1호의 경우 1.7~2.2로 나타났으며 히구마는 1.3~2.1로 나타나 비슷한 경향을 보였다. 품질특성인 생장점, 링수 및 링 두께 등은 계통간 큰 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 원인은 화분친

으로 사용한 계통들이 모두 장일형인 고랭지에서 적응할 수 있는 계통들로서 품질적인 측면에서는 우수한 계통이기 때문이라 생각된다.

품종등록을 실시하기 위해서는 3년간의 지역적응성 검정 결과가 있어야 가능하다. 지역적응성 검정은 2006년이 3년차가 된다. 그러나 2004년부터 공시된 계통은 5계통이며, 2005년 3계통은 2년차가 되고, 2006년에 실시하는 4계통은 1년차가 된다. 그러므로 2006년의 결과가 우수하면 금년부터는 매년 품종 등록이 가능할 것으로 생각된다.

표 3-9. 2005년 육성계통 지역적응성 시험 구 특성

지역	라벨번호	구형	구피색	구고 (mm), A	구폭 (mm), B	구형지수 (A/B)	구목넓이 (mm)
진부	고시 가-1호	원형	황갈색	59.5	65.7	0.91	10.6
	고시 가-2호	“	“	62.6	65.3	0.96	15.0
	고시 가-3호	“	“	53.3	57.4	0.93	10.9
	고시 가-4호	“	“	66.3	67.8	0.98	8.0
	고시 가-5호	“	“	61.2	63.6	0.96	12.2
	고시 가-6호	“	“	50.3	48.2	1.04	10.5
	고시 가-7호	“	“	65.7	66.3	0.99	10.7
	고시 가-8호	“	“	59.7	62.6	0.95	8.5
	히구마	“	“	61.4	63.2	0.97	10.7
대관령	고시 가-1호	원형	황갈색	60.4	56.2	1.07	8.5
	고시 가-2호	“	“	57.8	61.1	0.95	9.3
	고시 가-3호	“	“	54.9	55.9	0.98	9.4
	고시 가-4호	“	“	54.1	59.4	0.91	9.3
	고시 가-5호	“	“	47.2	54.4	0.87	9.9
	고시 가-6호	“	“	48.8	51.7	0.94	10.1
	고시 가-7호	“	“	57.9	58.8	0.99	10.8
	고시 가-8호	“	“	57.8	57.2	1.01	8.5
	히구마	“	“	64.7	63.1	1.03	10.5
홍천	고시 가-1호	원형	황갈색	71.6	70.9	1.01	11.1
	고시 가-2호	“	“	62.7	71.4	0.88	11.9
	고시 가-3호	“	“	72.6	66.0	1.10	9.7
	고시 가-4호	“	“	68.0	61.6	1.10	11.5
	고시 가-5호	“	“	63.3	62.5	1.01	11.4
	고시 가-6호	“	“	65.4	65.6	1.00	12.3
	고시 가-7호	“	“	62.8	64.2	0.98	9.8
	고시 가-8호	“	“	60.7	60.6	1.00	9.3
	히구마	“	“	71.1	70.1	1.01	11.1

표 3-10. 2005년 육성계통 지역적응성 시험 품질특성

지역	라벨번호	생장점수 (개)	링수 (개)	1링두께 (mm)	당도 (°Brix)	건물율 (%)	비 고
진부	고시 가-1호	2.0	8.7	3.47	8.4	14.5	2년차
	고시 가-2호	1.0	9.0	4.03	9.4	26.7	“
	고시 가-3호	1.0	9.0	3.42	10.3	19.3	“
	고시 가-4호	2.0	8.0	3.59	8.2	24.5	“
	고시 가-5호	2.0	8.7	3.25	10.5	16.4	“
	고시 가-6호	1.0	9.0	2.66	11.5	24.4	1년차
	고시 가-7호	1.7	9.0	3.83	10.6	16.3	“
	고시 가-8호	1.3	8.7	3.54	9.9	19.0	“
	히구마	1.3	9.0	3.64	8.2	15.6	대비
대관령	고시 가-1호	1.7	7.7	3.77	9.8	17.8	2년차
	고시 가-2호	1.5	8.5	3.40	9.7	17.1	“
	고시 가-3호	1.8	7.6	3.61	10.0	19.5	“
	고시 가-4호	1.4	7.8	3.68	10.1	18.1	“
	고시 가-5호	1.7	7.9	3.33	11.5	21.3	“
	고시 가-6호	1.0	8.2	3.29	11.5	24.0	1년차
	고시 가-7호	1.6	8.4	3.56	11.2	18.7	“
	고시 가-8호	2.9	7.0	3.67	10.9	19.5	“
	히구마	2.1	7.8	3.75	9.5	16.1	대비
홍천	고시 가-1호	2.2	8.3	3.90	9.5	14.2	2년차
	고시 가-2호	2.0	9.8	3.53	10.4	14.4	“
	고시 가-3호	1.7	7.7	3.76	10.6	19.0	“
	고시 가-4호	2.2	8.0	3.83	10.1	15.2	“
	고시 가-5호	1.7	8.6	3.29	11.2	17.4	“
	고시 가-6호	2.0	9.2	3.51	10.4	16.3	1년차
	고시 가-7호	2.1	8.4	3.63	11.0	16.5	“
	고시 가-8호	2.7	7.4	4.03	11.2	17.8	“
	히구마	1.9	8.3	3.98	8.7	13.6	대비

<3년차>

2006년 재배지역의 기상을 보면 평균기온은 평년과 비슷한 20~25℃ 분포를 보였으며 양파 재배에는 양호한 기후였다. 다만 대관령을 제외한 진부 및 홍천 지역 강우량을 보면 7월 중순 폭우로 인하여 도복이 강제로 이루어져 도복기의 비교는 불가능하였다. (그림 3-3)

도복기는 3지역이 비슷하게 이루어져 7월 18-23일경 도복되었다. 고시 가-11호 및 12호가 도복이 다소 늦은 편이나 다른 계통들과 3일 정도 차이를 보여 큰 차이가 있다고 볼 수는 없다.

구주은 고시 가-1호의 경우 진부에서 168.3g으로 히구마의 161.9g 보다 높게 나타났다. 그러나 대관령과 홍천지역에서는 히구마보다 작았으나 유의성은 없었다. 고시 가-10호의 경우 대관령에서 124.2g 으로 히구마의 1113.6g 보다 높았다. 대관령의 경우 일조시간이 타 지역보다 적은 지역으로서 다시 한번 검토해볼 필요가 있을 것으로 생각된다.

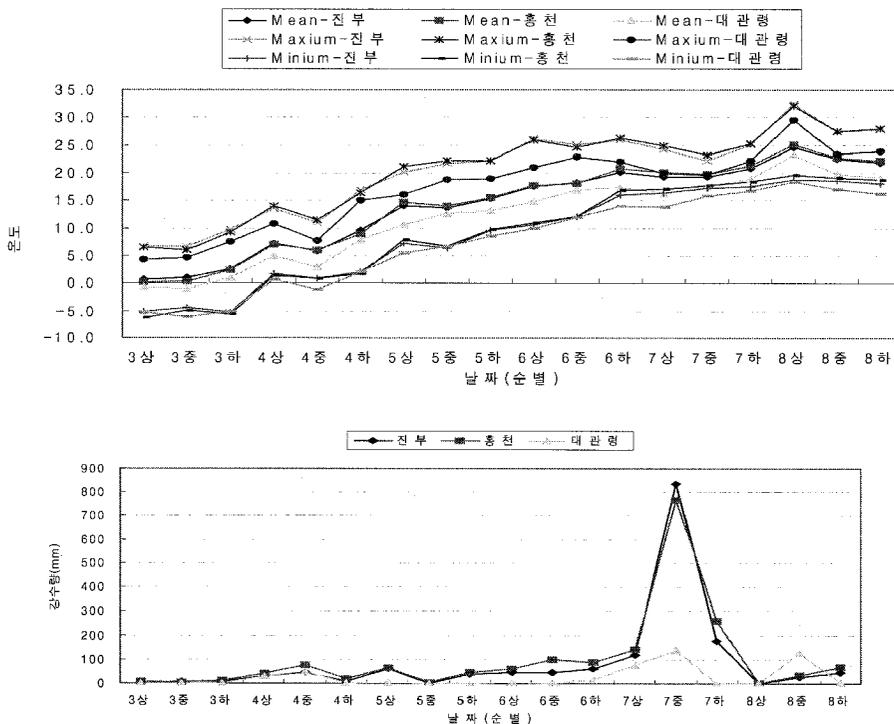


그림 3-3 2006년 지역적응시험 지역별 기상

표 3-11. 2006년 육성계통 지역적응성 계통의 생육특성

지역	라벨번호	엽수 (매)	초장 (cm)	경경 (mm,A)	구경 (mm,B)	구형지수 (B/A)	도복기	내병성
진부	고시가-1호	9.7	77.6	17.57	28.95	1.65	7.20	5
	고시가-2호	9.2	81.4	16.49	39.05	2.37	7.18	5
	고시가-3호	8.8	69.8	16.03	32.19	2.01	7.20	6
	고시가-4호	9.2	69.1	15.91	29.85	1.88	7.20	5
	고시가-5호	8.7	77.8	17.18	33.53	1.95	7.23	5
	고시가-6호	9.1	71.9	18.02	35.04	1.94	7.21	6
	고시가-7호	8.5	65.4	13.61	26.97	1.98	7.20	7
	고시가-8호	9.0	67.6	18.70	29.28	1.57	7.23	6
	고시가-9호	8.3	69.8	15.89	32.98	2.08	7.23	6
	고시가-10호	9.3	71.6	18.05	27.88	1.54	7.23	7
	고시가-11호	8.8	69.8	15.91	30.33	1.91	7.26	7
	고시가-12호	9.1	73.4	17.26	25.19	1.46	7.23	7
	고시가-13호	9.5	75.4	18.22	31.96	1.75	7.26	5
	히구마	9.4	77.9	17.21	42.10	2.45	7.18	5
대관령	고시가-1호	8.2	72.3	18.60	44.09	2.37	7.20	7
	고시가-2호	7.3	86.3	19.89	53.82	2.71	7.20	7
	고시가-3호	8.2	78.7	20.63	48.35	2.34	7.20	7
	고시가-4호	6.8	57.8	18.90	50.42	2.67	7.20	7
	고시가-5호	7.0	72.3	19.31	42.56	2.20	7.23	8
	고시가-6호	8.0	81.3	19.93	45.05	2.26	7.18	8
	고시가-7호	7.5	76.0	19.61	40.36	2.06	7.20	7
	고시가-8호	6.3	73.3	20.61	43.56	2.11	7.20	7
	고시가-9호	7.5	80.7	19.73	47.78	2.42	7.20	7
	고시가-10호	7.3	79.8	20.73	54.08	2.61	7.20	7
	고시가-11호	7.3	79.5	19.88	59.98	3.02	7.23	7
	고시가-12호	6.3	64.8	17.73	36.28	2.05	7.20	7
	고시가-13호	6.8	69.3	19.12	39.42	2.06	7.26	7
	히구마	8.0	74.2	19.02	44.18	2.23	7.20	7
홍천	고시가-1호	8.3	83.5	15.70	46.86	2.98	7.20	6
	고시가-2호	9.0	76.2	16.84	38.22	2.27	7.18	5
	고시가-3호	8.2	84.5	13.91	22.91	1.65	7.20	6
	고시가-4호	8.2	82.8	14.03	21.69	1.55	7.20	6
	고시가-5호	7.5	75.3	14.03	25.94	1.85	7.23	5
	고시가-6호	8.0	85.2	17.12	24.45	1.43	7.21	6
	고시가-7호	8.3	82.2	18.52	23.69	1.28	7.20	6
	고시가-8호	7.5	88.3	17.70	24.05	1.36	7.23	6
	고시가-9호	6.5	73.3	16.06	35.16	2.19	7.23	6
	고시가-10호	8.5	85.8	15.62	31.54	2.02	7.23	6
	고시가-11호	9.2	82.8	14.97	27.32	1.82	7.26	6
	고시가-12호	8.2	85.3	15.31	24.51	1.60	7.23	6
	고시가-13호	7.5	80.2	17.24	25.76	1.49	7.26	6
	히구마	7.9	82.0	15.09	27.13	1.80	7.18	6

표 3-12. 2006년 육성계통 지역적응성 계통의 구 특성

지역	라벨번호	구중	구고 (cm,A)	구폭 mm,B)	구형지수 (A/B)	경경 (mm)
진부	고시가-1호	168.3	63.22	69.32	0.91	9.02
	고시가-2호	115.3	57.53	56.58	1.02	8.61
	고시가-3호	118.8	58.38	57.84	1.01	8.06
	고시가-4호	144.2	60.67	64.84	0.94	7.88
	고시가-5호	128.2	58.50	61.55	0.95	7.65
	고시가-6호	135.8	62.15	62.34	1.00	9.40
	고시가-7호	116.0	62.26	58.77	1.06	14.76
	고시가-8호	106.0	58.53	55.56	1.05	9.67
	고시가-9호	128.2	61.90	61.84	1.00	9.30
	고시가-10호	96.9	51.28	56.84	0.90	9.82
	고시가-11호	120.8	57.12	59.68	0.96	8.49
	고시가-12호	112.4	58.76	58.13	1.01	10.26
	고시가-13호	128.3	59.90	59.93	1.00	8.89
	히구마	161.9	65.72	65.17	1.01	10.27
대관령	고시가-1호	111.6	62.48	64.99	0.96	9.78
	고시가-2호	73.1	53.57	50.11	1.07	9.14
	고시가-3호	76.9	51.21	50.76	1.01	11.05
	고시가-4호	77.5	49.00	52.16	0.94	9.37
	고시가-5호	86.0	56.68	51.54	1.10	9.76
	고시가-6호	94.8	53.64	56.16	0.96	8.46
	고시가-7호	91.3	52.15	46.32	1.13	10.19
	고시가-8호	101.6	53.59	58.79	0.91	7.40
	고시가-9호	100.8	52.91	58.52	0.90	8.96
	고시가-10호	124.2	57.48	61.84	0.93	9.13
	고시가-11호	112.8	55.69	61.21	0.91	9.01
	고시가-12호	103.2	55.67	55.78	1.00	7.69
	고시가-13호	99.2	51.03	55.34	0.92	8.87
	히구마	113.6	59.59	58.49	1.02	8.43
홍천	고시가-1호	126.6	59.53	61.22	0.97	9.82
	고시가-2호	98.6	56.30	55.47	1.01	9.24
	고시가-3호	101.7	56.64	54.22	1.04	9.71
	고시가-4호	98.5	54.31	55.62	0.98	9.76
	고시가-5호	112.6	58.74	57.41	1.02	10.59
	고시가-6호	79.9	51.41	50.61	1.02	10.68
	고시가-7호	70.9	51.88	48.26	1.08	9.35
	고시가-8호	84.1	51.59	56.10	0.92	9.33
	고시가-9호	126.7	56.67	61.99	0.91	9.93
	고시가-10호	118.8	59.42	59.50	1.00	8.83
	고시가-11호	100.4	53.18	57.41	0.93	8.88
	고시가-12호	95.7	48.03	51.58	0.93	10.00
	고시가-13호	108.6	52.39	59.17	0.89	11.15
	히구마	130.1	60.39	61.12	0.99	10.75

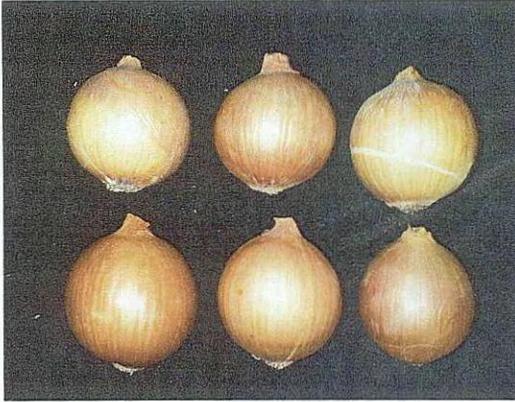
표 3-13. 고시 가-1호 계통의 연차간 수량특성

연도	고시 품종	진부		대관령		홍천	
		수량 (kg/10a)	지수	수량 (kg/10a)	지수	수량 (kg/10a)	지수
2004	고시가-1호	3,930	101	2,755	103	3,415	99
	히구마	3,892	100	2,664	100	3,437	100
2005	고시가-1호	4,148	109	2,706	119	4,588	107
	히구마	3,769	100	2,265	100	4,303	100
2006	고시가-1호	4,443	104	2,946	98	3,342	97
	히구마	4,274	100	2,999	100	3,434	100
평균	고시가-1호	4,174	105	2,802	106	3,781	102
	히구마	3,978	100	2,642	100	3,725	100

구중은 지역별로 큰 편차를 나타내었으며 대관령이 가장 적었다. 이는 대관령은 해발 800m로서 타 지역보다 정식시기가 늦어 포장에서 생육일수가 부족하기 때문이라 생각된다.

4. 종합결과

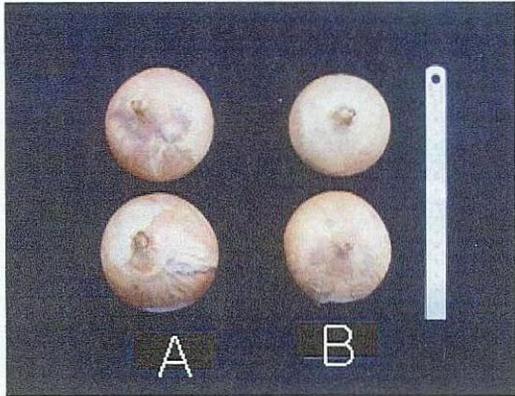
1년차에 6조합, 2년차에 2조합, 3년차에 5조합 등 총 13조합을 공시하여 '04년부터 06년까지 3개 지역에서 실시하였다. 구비대시기는 인제가장 빨랐으며 대관령 지역이 가장 늦었다. 구 특성을 보면 구중은 진부지역이 가장 높았고, 대관령이 가장 낮았다. 이와 같은 경향은 다른 시험에서도 비슷한 경향을 보였으며 대관령 지역의 경우 해발이 높아 생육기간이 짧은 것이 원인이라고 생각된다. 진부지역에서의 구중은 고시가-1호가 156.4g으로 히구마 142.8g보다 높아 우수하였다. 이와 같은 결과는 홍천지역에서도 같은 경향을 보여 고시가-1호 173.8g, 히구마 163g이었고, 대관령에서는 고시가-1호 102.5g, 히구마 85.8g으로 3개 지역에서 모두 우수하였다. 나머지 계통들은 지역간의 편차가 심하였다. 3년간 3개지역을 종합할 때 고시 가-1호는 수량에서 3,585kg/10a로 히구마의 3,457kg/10a보다 3.7% 높았으며 저장성은 멥아울에서 37.8%로 히구마의 49.8%보다 10% 낮았다. 이상의 결과를 종합할 때 고시가-1호는 품종명 '대관황'으로 품종등록을 출원하였다. 금후 다른 계통들에 대해서는 3년간의 지적시험 요건을 갖춘 우수한 조합은 계속적으로 품종등록 할 예정이다.



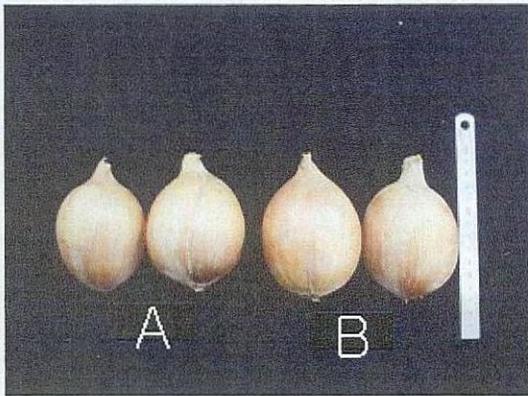
<F1 품종 '대관황'>



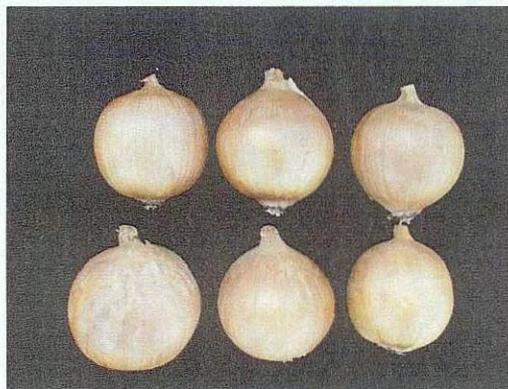
<대관황과 히구마>



<AM 123A, AM 124B>



<AM 327A, AM 328B>



<W205B/44166B>



<(2002-21B/W202)/W404B>



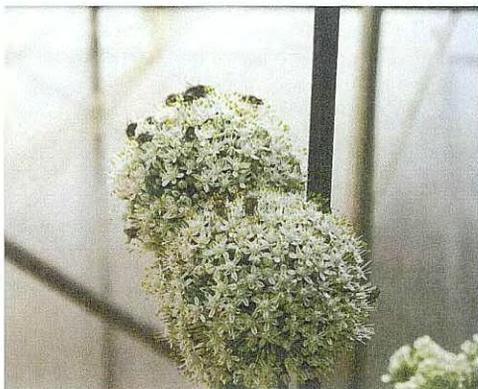
<개체간 교배>



<집단 교배>



<응성 가임 및 불임>



<파리이용 교배>



<교배 후 화퇴>

제4절 생명공학기법을 이용한 옹성불임 관련 DNA 표지 인자 개발 및 실용화연구

1. 서 설

양파는 국내 조미 채소 중 주요 작물중의 하나로 2006년 재배면적은 15,135ha, 생산량은 889,619 MT 이다(Ministry of Agri. and Forestry 2006). 이는 전체 채소면적(333.6천ha)의 5%정도이지만 종자시장은 12.92백만불로 전체 채소종자 시장의 11%를 점유하고 있다(박효근, 2004). 양파의 재배작형은 춘파재배 및 추파 재배의 두 가지 형태로 분화 되어 재배되고 있으며 추파재배(Short-day onions)는 남부지방을 중심으로 재배되는 반면 춘파재배(Long-day onion)는 2월에 파종하여 4월부터 5월경에 정식 후 9월부터 10월경에 수확하는 작형이다. 국내 양파는 대부분 추파재배에 의존하고 있는 실정이다. 그러나 춘파재배는 수확 후 기온이 감소하여 특별한 저장시설이 필요치 않아 강원도 고랭지 지역에 새로운 경제작물로 평가되고 있다. 그러나 강원 고랭지 지역을 중심으로 한 춘파양파와 남부 조생 및 극조생의 양파 90%이상이 외국 종자를 이용하고 있어 이에 대한 연구가 더욱 절실한 실정이다.

잡종강세는 서로 다른 두 양친간의 교배를 통한 후대세대의 수량 증가, 병해충 저항성 증가 등 작물육종에 가장 많이 이용되어 왔다. 이러한 잡종강세 현상을 이용한 일대잡종 종자 생산은 벼, 옥수수, 양파, 고추 등 주요 작물에서 사용되고 있다. 일대잡종 종자를 생산하기 위해서는 옹성불임성, 자가불화합성, 기계적 화분제거 등의 방법이 이용되며 이중 옹성불임성을 이용할 경우 순도가 매우 높은 일대잡종 종자를 생산 할 수 있어 많은 작물에서 이를 이용하기 위한 시도를 하고 있다.

CGMS(Cytoplasmic genic male sterility)는 핵내 유전자와 세포질 유전자의 상호작용으로 옹성불임 및 가임 현상을 나타낸다. 특히 세포질 유전자는 미토콘드리아에 존재하는 옹성불임 관련 유전자에 의해 유기된다. 이렇게 유기된 옹성불임은 핵내에 존재하는 옹성불임 회복 유전자(restore fertility)에 의해 옹성불임 유기 유전자 발현에 영향을 미쳐 옹성불임이 회복되는 경우가 보고되었다(Pruitt and Hanson, 1991).

양파를 비롯한 주요 채소의 세포질 옹성불임은 균일한 일대잡종 종자를 생산하기 위해 필수적이다. 이러한 옹성불임성은 유전자적 옹성불임성(GMS), 세포질 옹성

불임성(CMS) 및 세포질-유전자적웅성불임성(CGMS)이 있다. 이중 세포질-유전자적웅성불임성을 이용하기 위해서는 3가지 다른 계통이 필요하다. 1. 웅성불임 계통 2. 유지친 3. 회복친. 이중 웅성불임친과 유지친은 핵내의 웅성불임 회복유전자만 다르고 다른 유전자는 거의 같은 근동질 계통(Near isogenic line)이다. 식물의 웅성불임성은 비정상적인 화분을 생성하는 현상으로 모계유전 하는 것으로 알려져 있다. 웅성불임친은 유지친의 화분을 이용하여 증식 및 유지하며 세포질 유전자는 화분을 통해 이동하지 못하므로 웅성불임친은 지속적으로 웅성불임성을 유지할 수 있다.

양과의 CMS는 두 가지 형태, CMS-S와 CMS-T가 보고되었다(Jones and Clark 1943, Berninger 1965). 특히 CMS-S는 안정적인 웅성불임으로 인해 양과의 일대잡종 종자 생산에 많이 이용되고 있다(Havey 2000). CMS-S는 세포질에 있는 S-cytoplasm과 핵내에 존재하는 하나의 웅성불임 회복 유전자(MS)의 상호작용에 의해 웅성불임이 유지되는 것으로 보고되었다(Jones and Clark 1943). CMS 시스템에서 웅성불임친(A line), 유지친(B line)과 회복친(C line)의 육성은 일대잡종 종자를 위해 필수적인 계통이다. 웅성불임친은 포장에서 발견되거나 인위적으로 유지되는 반면 유지친은 역교배, 검정교배, 후대의 표현형 분리 등 여러 가지 과정이 필요하다. 그러나 양과의 핵내 웅성불임 인자판별을 위해서는 교배 및 후대검정 후 꽃가루 생산 유무를 관찰하여 유전분석후 판정하여야 하나 양과는 2년 1세대 작물로 웅성불임회복 유전자형 판단에만 4년이 소요되며 환경에 따른 불임과 가임의 판단이 어려운 실정이다. Havey (1995)는 양과의 유지친 육성이 4년 내지 8년이 소요되어 유지친 육성에 많은 시간과 노력이 필요한 것으로 보고하였다. 따라서 웅성불임과 연관된 DNA 표지인자를 개발하여 육종에 이용한다면 국내 양과 품종 개발의 기한을 시간적 공간적 경제적으로 줄여줄 것으로 판단된다.

세포질 웅성불임 연관 분자표지인자는 벼(Akagi *et al.* 1995), 당근 carrot(Nakajima *et al.* 1999)과 양배추(Wang *et al.* 2000) 호밀(Stojalowski 등, 2004), 수수(Jaiswal 등, 1998) 등에서 보고되었다. 특히 PCR(Polymerase Chain Reaction) 마커는 표현형 조사방법 보다 간편하고 쉬워 S-cytoplasm과 N-cytoplasm이 혼재된 방임수분 품종 양과의 세포질 웅성불임인자 판별에 유용한 것으로 보고되었다(Cho *et al.* 2001, Engelke *et al.* 2003, Lilly and Havey 2001, Sato 1998). 또한 양과의 회복유전자와 밀접하게 연관된 DNA 표지인자를 개발하여 이용할 경우 웅성불임친의 유지

친 육성 효율이 높아질 것으로 보고하였다 (Gocke et al. 2002).

이에 본 연구는 양파의 응성불임을 조절하는 것으로 알려진 세포질 응성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자를 실제 육종에 이용하기 위한 실용화 연구, 그리고 응성불임 인자를 회복시키는 핵내 응성불임회복 유전자와 연관된 DNA 표지인자의 개발로 구성되어 있다. 또한 DNA 표지인자를 이용해서 응성불임친을 유지할 수 있는 유지친의 조기육성과 핵내 응성불임회복 유전자형별 집단을 육성하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 세포질 응성불임 DNA 표지인자의 실용화 기술 개발

1) DNA 추출

양파의 모구로부터 발생한 싹초를 약 3cm 가량 절단 후 급속 냉동하여 보관하였다. 보관된 sample은 DNeasy plant mini kit(Quiagen, Germany)를 이용하여 DNA를 추출 후 정량하여 사용하였다.

2) psbA 유전자 변이 탐색

양파의 세포질 응성불임인자와 연관된 것으로 알려진 N-세포질과 S-세포질 개체의 엽록체 유전자 psbA 유전자의 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 Multiple sequence alignment(Cluster W)를 이용하여 상호간의 상동성을 비교 분석하였다.

3) PCR primers 와 probe 설계

psbA 유전자를 증폭하기 위한 forward와 reverse primer를 각각 25, 23bp의 크기로 design 하였다. 단일염기쌍 치환(SNP)를 검출하기 위한 Real-time 용 probe는 3' 말단에 quencher로서 MGB를 이용하였고 5"에는 각기 다른 형광 dye를 붙여 Taqman probe를 제작하였다(그림 2). Taqman probe와 PCR 프라이머는 PriemrExpress(Applied Biosystems, USA) 프로그램을 이용하였다.

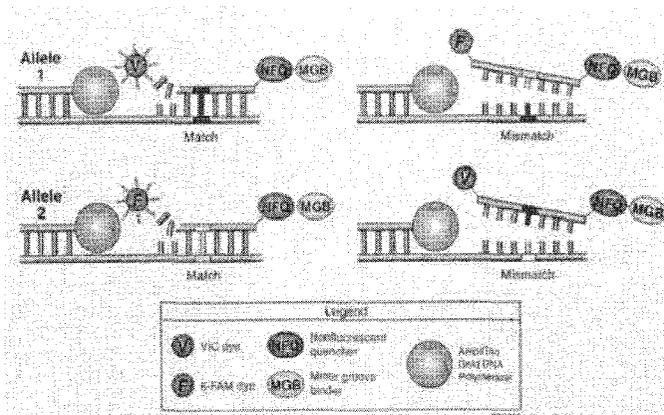


Fig. 4-1. TaqMan SNP Genotyping Assays methods. This methodss use the 5' nuclease assay for amplifying and detecting specific SNP alleles in purified genomic DNA samples(AppliedBiosystems 제공)

4) Real-time PCR

실시간 유전자 증폭은 ABI Prism 7700 Sequence Detection System(ABI, USA) PCR machine을 이용하였다. 총 반응액은 20 μ l로, 2X TaqMan Universal PCR Mastermix, 20ng template DNA와 200nM 프라이머가 포함되도록 조절하였고 Hot-start PCR 조건은 다음과 같은 조건으로 수행하였다. AmpErase UNG 활성을 위해 2분 처리 후 92 $^{\circ}$ C에서 15초간 denaturation, 60 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 extension 과정을 40cycles 반복하였다. 최종적으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 final-extension 후 SNP를 분석하였다

5) 고령지 적응 유망 춘파 품종의 세포질 융성불임인자 판별

제1세부과제에서 선발된 유망계통의 모구를 이용하여 N-세포질을 선발하였고 선발된 식물체는 융성불임 계통(W202A 등)과 개체 간 교배를 수행하였다.

6) 세포질 융성불임 type 결정 : 양파의 세포질 융성불임 type은 CMS-S, CMS-N, 그리고 CMS-T type이 있는데 이들을 판단할 수 있는 DNA 표지인자를 이용하여 고령지농업연구소에서 보유, 육성중인 계통에 대하여 분석하였다.

7) PCR-RFLP 및 Real-time PCR의 검출 한계 설정 :

- DNA 검출 한계 : N 세포질과 S-세포질 DNA를 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5로 섞어 10ng/ul로 맞추어 template DNA로 이용하였다

- PCR-RFLP 검출한계 설정 : *psbA* 유전자를 증폭하기 위한 forward와 reverse primer를 design 하였다 (표 1). 증폭된 *psbA* 유전자는 *MspI* enzyme을 이용하여 digestion 후 절단유무를 통하여 세포질 용성불임인자를 판단하였다. 즉 *psbA* 유전자가 *MspI* 제한효소로 절단될 경우 N-세포질로 판단하였으며 제한효소 site가 없어서 절단되지 않을 경우는 S-세포질로 판단하였다.

Table. 4-1. Real-time PCR primers and probe sequences for performing CMS factor genotyping of onions using SNPs in the *psbA* gene.

Primer and probes	Sequences	Remarks
<i>psbA</i> -F	GGTCAAGGAAGTTTCTCTGATGGTA	Forward primer
<i>psbA</i> -R	TGTGCTCTGCCTGGAATACAATC	Reverse primer
N-factor	6-FAM -ATAAAATTGAAAGTACCAGAAAT	Probes of N-cytoplasm
S-factor	VIC-AATTGAAAGTACCGGAAAT	Probes of S-cytoplasm

- Real-time PCR의 검출 한계 설정 : 실시간 유전자 증폭은 ABI Prism 7700 Sequence Detection System(ABI, USA) PCR machine을 이용하였다. 총 반응액은 20 μ l로, 2X TaqMan Universal PCR Mastermix, 20ng template DNA와 200nM 프라이머가 포함되도록 조절하였고 Hot-start PCR 조건은 다음과 같은 조건으로 수행하였다. AmpErase UNG 활성을 위해 2분 처리 후 92 $^{\circ}$ C에서 15초간 denaturation, 60 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 extension 과정을 40cycles 반복하였다. 최종적으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 final-extension 후 검출한계를 설정 하였다.

나. 핵내 융성불임 회복유전자 DNA표지인자 개발

- 1) 식물재료 : 핵내 융성불임회복 유전자 연관 DNA 표지인자 개발을 위하여 만추황 품종내의 핵내 유전자형을 확인한 *Rf/Rf*와 *rf/rf* 두 집단을 이용하였다.
- 2) DNA 추출 : 양과의 모구로부터 발생한 싹초를 약 3cm 가량 절단 후 급속냉동하여 보관하였다. 보관된 sample은 Genomic DNA extraction kit (iNTRON, Korea)를 이용하여 DNA를 추출 후 정량하여 사용하였다.
- 3) DNA 표지인자 개발 : 만추황 품종의 핵내 융성불임회복 유전자를 확인한, 우성(*Rf/Rf*) 및 열성호모 유전자(*rf/rf*) 두 집단과 양과의 SSR(simple sequence repeats) 마커 52개 (appendix 1)를 이용하였다. DNA 표지인자를 개발하기 위해 Bulked Segregant Analysis (BSA) 방법을 응용하여, 융성불임 계통(*rf/rf*)와 융성가임 계통(*Rf/Rf*)의 각 5개체의 DNA를 동량으로 섞어 두개의 DNA bulk를 제작하였다. PCR 조건은 전변성(pre-denaturation)을 94℃에서 5분 후, 94℃에서 변성(denaturation) 45초, 어닐링(annealing)은 55℃에서 45초간 수행하였고 72℃에서 1분동안 신장(extention)하기를 45회 반응시켰다. 끝으로 72℃에서 5분간 마지막 신장 단계를 수행하였다. PCR 기기는 DNA Engine(MJ Research, USA)를 이용하였고 PCR 반응 후 2.0 % 아가로스 젤에서 전기영동을 하여 에티디움 브로마이드(ethidium bromide) 염색 후 이미지 분석기(Alpha Imager2200, Alpha Innotech, USA)를 이용하여 촬영하였다.
- 4) DNA 표지인자 염기서열 및 상동성 분석 : 열성 및 우성 호모 유전자 집단간의 다형성을 나타내는 DNA 밴드를 선별하였다. 선별된 DNA 밴드는 PCR direct sequencing을 통해 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열을 바탕으로 Vector NTI (ver. 10)를 이용하여 다중 상동성 분석(Multiple sequence alignment, Cluster W)과 SSR(simple sequence repeats)의 motif를 분석하였다

3. 결과 및 고찰

가. 세포질 응성불임 DNA 표지인자의 실용화 기술 개발

1) PCR-RFLP를 이용한 SNP 표지인자 개발

양파의 응성불임은 세포질에 존재하는 응성불임인자 및 핵내에 존재하는 응성불임회복 유전자의 상호 작용에 의해 나타난다. 본 연구에서는 세포질 응성불임인자 (S, N)을 판별할 수 있는 DNA 표지인자의 개발 및 실용화를 위하여 양파의 세포질에 존재하는 엽록체 유전자 psbA 유전자의 염기서열을 분석하였다. S-세포질과 N-세포질을 가진 양파의 유전자 염기서열 분석 결과 S-세포질의 양파는 467bp에 T를 가진 반면 N-cytoplasm의 양파는 C로 나타나 단일염기쌍 치환(SNP, Single nucleotide polymorphism)으로 나타났다.

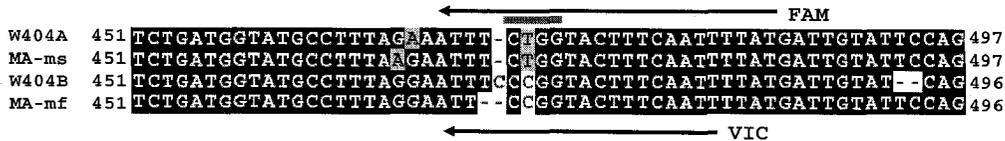


Fig. 4-2. Multiple sequence alignments of the psbA nucleotide sequence in four individual onions. W404A and W404B are near isogenic lines containing S- and N-cytoplasm, respectively. The MA-ms and MA-mf are male sterile individuals and male fertile individuals found in an OP variety "Manchuwhang", respectively. Haplotypes are distinguished by occurrence of the MspI site (467bp) in N-cytoplasm (CCGG; redbar) and point mutation at one nucleotide in S-cytoplasm (CTGG; redbar), respectively. Gaps are designated by dashes in the alignment. The TaqMan probe primers are indicated by arrows. Alignments of the entire sequence are shown in Appendix 2.

SNP는 최근 인간의 질병관련 분자 표지인자 및 식물에서도 중요한 표지인자로 이용되고 있다. 본 연구결과에서도 SNP가 양파의 세포질 응성불임인자 표지인자로 이용될 가능성을 검토하고자 SNP를 두 가지 다른 형광염색(FAM, VIC)으로 검출할 수 있는 프라이머를 설계하였다. 이때 SNP를 효과적으로 검출할 수 있는 5' nuclease assay 방법을 응용한 Taqman MGB probe의 프라이머를 디자인 하였다. Taqman MGB probe를 이용할 경우 실시간 유전자 증폭을 이용하여 보다 정확하게 두 가지 다른 allele을 구분할 수 있다는 장점과 두 가지 다른 형광염색의 background를 줄여 줄 수 있고 SNP의 특이성을 효과적으로 검출할 수 있었다.

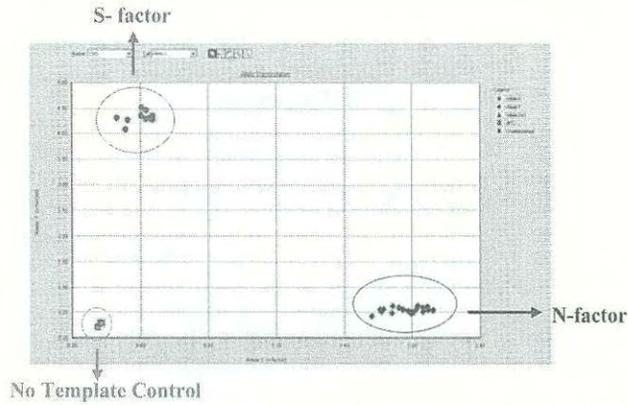


Fig. 4-3. Allelic discrimination using allele-specific probes in the *psbA* gene. After performing the PCR amplification, an end point fluorescent reading was taken and a scatter plot of the A-versus G-allele reactions in the *psbA* gene was performed with SDS software. Spots on the figure represent the reading from a well.

실시간 유전자 증폭 결과 FAM dye로 염색된 N-cytoplasm과 VIC dye로 염색된 S-cytoplasm을 4시간 안에 판별이 가능하였다. 또한 본 실험의 결과를 STS(Sequenced Tagged Site) 표지인자와 비교한 결과 일치함을 알 수 있었다. 즉 N-세포질은 약 1.1kb를 S-세포질은 1.0kb로 증폭되어 Real-time PCR 결과와 일치하였다(Fig. 4-4).

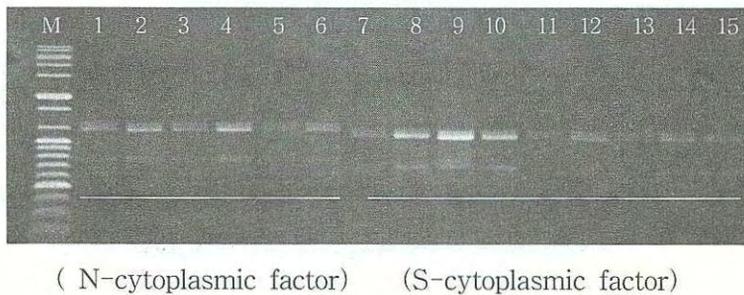


Fig. 4-4. Identification of CMS factors using STS markers onion. N-cytoplasm plants (lane 1 to 6) have 1.1kb and S-cytoplasm plants (lane 7 to 15) have 1.0kb band.

고랭지 적응 춘파 품종의 세포질 응성불임을 판별하고 여기서 N-cytoplasm 개체를 선발후 응성불임 개체와 검정교배 및 후대 유전분석을 통하여 유망 계통의 유지친을 선발하고자 하였다. 일본 북해도 지방의 춘파양파인 사포로끼의 경우 약 절반 정도가 N-cytoplasm을 나타내었고 조생대구는 모두 S-cytoplasm, Rando는 모두 N-cytoplasm으로 나타났다. 따라서 조생대구의 경우 직접 유지친을 선발하기 어려운 것으로 판단된 반면 Rando와 사포로끼는 후대 유전분석을 통하여 고정종내에서 직접 유지친을 선발 할 가능성이 있는 것으로 판단되었다. 또한 미국 농무성(USDA)로부터 도입된 적색계통의 경우 일부 계통의 경우 판별이 어려운 결과를 나타내었는데 이는 양파의 CMS의 두가지 형태, CMS-S, CMS-T 중 하나라고 판단되며 이에 대한 연구가 지속적으로 필요할 것으로 생각된다.

Table 4-2. Identification of CMS factors in individual plants of breeding lines.

Line	Total number of plants	The number of plants which had S factor	The number of plants which had N factor	Remark
Sapporoki	35	17	18	Japan OP variety
Josaengdaegu	19	19	0	-
Rando	18	0	18	-
PI546212	29	- ^z	-	Red onion collected from USDA
PI546248	19	-	-	"
PI547267	14	-	-	"
PI546319	29	-	-	"
PI546323	44	-	-	"
Manchuhwang	150	26	124	NIHA OP variety
Higuma	150	150	0	Japan F1 hybrid variety

z: Not determined

2) 양파 응성불임 type (CMS-S, N, T) 판별

식물의 응성불임성은 비정상적인 화분을 생성하는 현상으로 모계유전 하는 것으로 알려져 있다. 응성불임친은 유지친의 화분을 이용하여 증식 및 유지하며 세포질 유전자는 화분을 통해 이동하지 못하므로 응성불임친은 지속적으로 응성불임성을 유지할 수 있다. 양파의 응성불임 기작은 세포질과 핵내 유전자의 상호작용(CGMS)에

의해 유기되는 것으로 알려져 있는데 CMS-S와 CMS-T 등 2종류가 알려져 있다. CMS-S는 세포질 유전인자와 핵내에 있는 하나의 회복유전자(Rf)에 의해 조절되는 반면 CMS-T는 세포질 유전인자와 핵내에 있는 3개의 유전자에 의해 조절되어 양파 육종에서는 CMS-S가 많이 이용되고 있다. 고령지농업연구소 보유 양파 계통(품종)의 웅성불임 형태(CMS-S, T)를 구분하고자 표 1과 같은 프라이머를 디자인하였다. *cob* 유전자는 미토콘드리아의 cytochrome oxidase b로 CMS-S의 경우 이 부위에 *orf1708*(담배 유전자)가 삽입되어 있어 CMS-N과 구분이 가능하며 *orfA501*은 chives의 웅성불임(CMS-S₁)을 판별할 수 있는 마커로 양파의 CMS-T를 구분하기 위하여 이용하였다.

Table 4-3. PCR primers for the determining CMS factor genotyping of onions using mitochondrial genes.

Primer		Sequence (5' → 3')
<i>cob</i> gene	S-specific	GTCCAGTTCCTATAGAACCTATCACT
	N-specific	TCTAGATGTCGCATCAGTGGAAATC
	Common	CTTTTCTATGGTGACAACCTCCTCTR
<i>orfA 501</i> gene	Forward	ATGGCTCGCCTTGAAAGAGAGC
	Reverse	CCAAGCATTTGGCGCTGAC

양파의 웅성불임 type을 결정하기 위하여 우선 *cob* 유전자 특이 프라이머를 이용하여 각 개체별로 PCR을 수행하여 180bp의 밴드가 증폭되면 CMS-N, 180bp와 414bp가 동시에 나타나면 일단 CMS-S로 구분하였다. 이후 CMS-N으로 선발된 개체에 대해 *orfA 501* 특이 프라이머를 이용하여 PCR을 수행하여 473bp가 증폭되면 CMS-T로 결정하였다 (표 4).

Table 4-4. Identification methods of CMS type in onion using PCR products of *cob* and *orfA 501* gene in onion.

Cytoplasm	<i>cob</i> gene		<i>orfA 501</i> gene
	180bp	414bp	473bp
N	+	-	-
T	+	-	+
S		+	+

+; present, -; absent

실험결과 총 62개의 계통(품종) 중 7개 (천주대고, 마르시노330, 제비황, Sundance, Red Wethersfield, Red Kingball)가 CMS-T type으로 판별되었다 (그림 4-5, 6, 표 5). CMS-T는 환경에 대한 응성불임성의 변화가 CMS-S보다 심해 응성불임성을 이용한 양과 일대잡종품종 육성에 이용이 힘들 것으로 판단된다. 특히 천주대고, 마르시노330과 제비황은 남부지방에서 주로 이용되고 있는 고정종으로 보다 상세한 육종계보를 파악할 필요가 있을 것으로 판단된다.

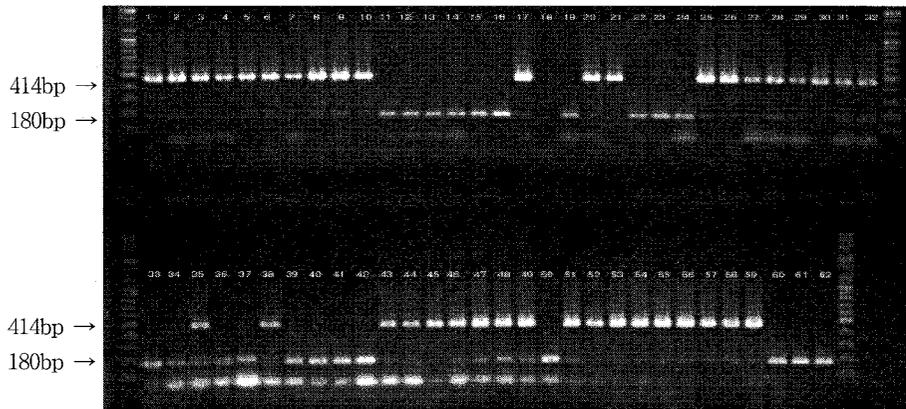


Fig. 4-5. Electrophoresis patterns of breeding lines using cob gene specific primer in onion.

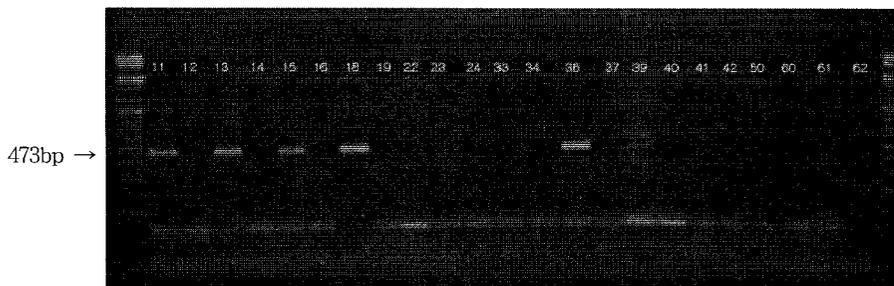


Fig. 4-6. Electrophoresis patterns of breeding lines using orfA 501 gene specific primer in onion.

Table 4-5. Identification of CMS type in breeding lines using PCR products of *cob* and *orfA 501* gene.

No	Line	180bp	414bp	473bp	CMS-type
1	장일황	+	+		S
2	천심	+	+		S
3	월광	+	+		S
4	뉴월광	+	+		S
5	일본도입종	+	+		S
6	탑원	+	+		S
7	춘륜원	+	+		S
8	스프링골드	+	+		S
9	월륜	+	+		S
10	위륜2호	+	+		S
11	천주대고	+	-	+	T
12	창녕대고	+	-	-	N
13	마르시노330	+	-	+	T
14	삼남조생	+	-	-	N
15	제비황	+	-	+	T
16	천주중고	+	-	-	N
17	Cinzia	+	+		S
18	Sundance	+	-	+	T
19	Exhibition	+	-	-	N
20	BGS 211	+	+		S
21	Brahma	+	+		S
22	Red burger	+	-	-	N
23	red wethersfield	+	-	+	T
24	red grand	+	-	-	N
25	Electric	+	+		S
26	red beauty	+	+		S
27	Cpoosolrt cipolla	+	+		S
28	Rossana	+	+		S
29	Primarossa	+	+		S
30	Sabroso	+	+		S
31	Rumba	+	+		S
32	Flamento	+	+		S
33	Moulin rough	+	-	-	N
34	Bunching	+	-	-	N
35	red one	+	+		S
36	red king ball	+	-	+	T
37	florence	+	-	-	N

No.	Line	180bp	414bp	473bp	CMS-type
38	Rubino	+	+		S
39	Zwiebeln	+	-	+	T
40	Stockion red	+	-	-	N
41	대구성x울프	+	-	-	N
42	흰색양파	+	-	-	N
43	NY 36-4 A/고랭지여름양파	+	+		S
44	Odesskii-7	+	+		S
45	non 909-0-1	+	+		S
46	red salad-2-2	+	+		S
47	시교 029-0-1	+	+		S
48	red one-L-1	+	+		S
49	non 902-0-4	+	+		S
50	Red ball-0	+	-	-	N
51	red beauty-0	+	+		S
52	Cipolla Rossa di Firenze Rubino-0	+	+		S
53	Cipolla Bianca Agostana Di Chiog	+	+		S
54	Rossana-0	+	+		S
55	Lilia-0	+	+		S
56	Rumba-0	+	+		S
57	기다모미지-0	+	+		S
58	Malaga-0	+	+		S
59	Brahma-0	+	+		S
60	Amposta-0	+	-	-	N
61	G 32055	+	-	-	N
62	PI 546248	+	-	-	N

+; Present, -; Absent

3) 양파 세포질 응성불임인자 검출 한계 설정

분자표지인자를 육종 계통에 적용하기 위해서는 목적형질을 가지고 있는 계통을 신속하게 판별하고 대량으로 판별하여 비용을 절감할 수 있어야 한다. 양파의 고정종 및 계통은 자식열세 현상이 심하여 대부분 방임으로 품종(계통)을 유지하여 같은 계통내에서도 세포질 응성불임인자가 N-, S-세포질인자가 혼합되어 있다. 양파의 세포질 응성불임인자를 대량으로 판별하기 위하여 개발된 DNA 표지인자의 검출 한계를 설정하였다. S-, N-세포질의 DNA를 1:9의 비율로 섞어준 DNA를 주형으로 하여 psbA 유전자를 증폭한 후 MspI 효소로 PCR 산물을 절단 하였을 때 절단 유무 판별이 가능하여 (그림 4-7) 10%의 혼합 개체를 구분할 수 있었다. 본 연구결과를 이

용하여 하나의 tube에 반응에 10개의 샘플 DNA를 혼합하여 PCR을 수행한 후 MspI으로 절단하여 세포질 응성불임인자를 구분한다면 한번(96well PCR machine)에 하루에 1,000개 샘플의 세포질 응성불임인자 판별이 가능할 것으로 판단된다.

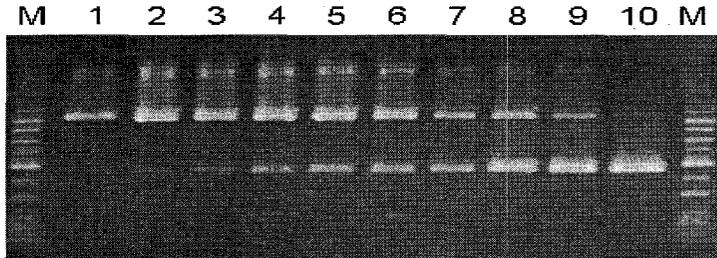


Fig. 4-7. PCR-RFLP using serial mixtures of DNA derived from S- and N-cytoplasm. The PCR-amplified psbA gene is digested with MspI. Mixtures of N- and S-cytoplasmic DNA samples were prepared as follows: lanes 1 and 10 are male-sterile (S) and normal (N) male-fertile cytoplasmic DNAs (total 10ng), respectively. Lanes 2-9 are mixtures of S and N cytoplasm DNA samples: lane 2 = 9ng S/ 1ng N; lane 3 = 8ng S/ 2ng N; lane 4 = 7ng S/ 3ng N; lane 5 = 6ng S/ 4ng N; lane 6 = 5ng S/ 5ng N; lane 7 = 4ng S/ 6ng N; lane 8 = 2ng S/ 8ng N; lane 9 = 1ng S/ 9ng N. M: DNA marker (100bp DNA ladder)

Real-time PCR을 위한 primer와 probe는 Primer Express Software(Applied Biosystem Co., USA)를 이용하여 디자인하였다. Probe는 6-carboxyfluorescein (FAM)을 부착하여 5' 말단에서 형광을 나타내는 TaqMan MGB를 N-cytoplasm의 reporter로 이용하였다. Real-time PCR 반응은 ABI Prism 7000 Sequence Detection System(Applied Biosystem Co., USA)을 이용하여 수행하였다.

Real-time PCR을 이용한 N-, S- 세포질의 검출한계를 설정하기 위하여 N-, S- 세포질 DNA의 비율을 각각 10:0, 8:2, 6:4, 2:8, 0:10으로 섞어 검출하였다. 그 결과 그림 4-3와 같은 amplification plot을 나타내었다. Real-time PCR은 PCR을 처음 할 때의 농도를 알 수 있는 장점을 가지고 있어 N-, S- 세포질 DNA의 양을 구분할 수 있는 방법으로 이용하였다. 그림 4-3를 보면 N-factor가 발현되는 양을 나타낸 것으로 제일 왼쪽의 커브가 N-, S- 비율이 10:0으로 혼합된 것으로 가장 빨리 검출되었다. 이 amplification plot을 이용하여 standard curve를 작성하였다(그림 4-8와 4-9)

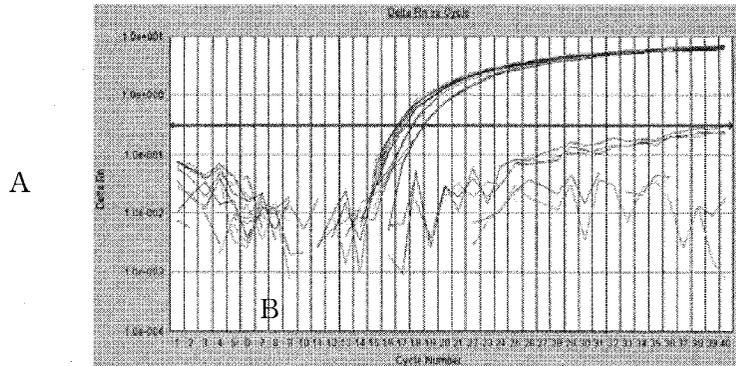


Fig. 4-8. Real-time PCR amplification plot of DNA samples prepared from different mixtures. Each DNA samples were tested in triplicate.

E

Ct 값과 DNA 혼합비율과의 상관관계는 0.99로 나타났다. 이 standard curve를 이용하여 N-과 S-의 비율이 10:0에서 2:8 사이의 혼합정도를 검출할 수 있으며 최대 20%의 N 세포질 혼합시까지 검출이 가능하였다.

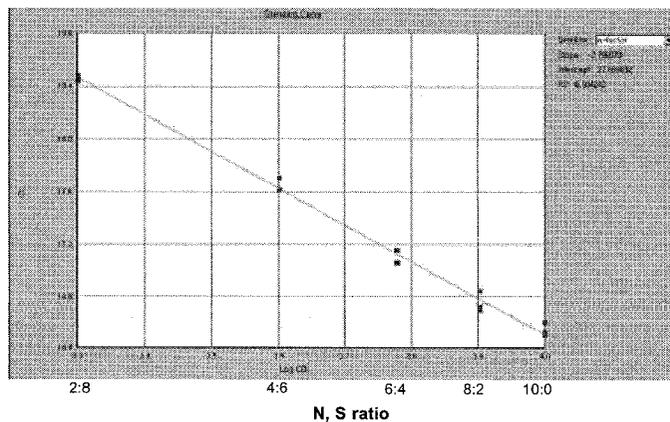


Fig. 4-9. Change of Ct ratio according to the different mixture of N and S-cytoplasm DNA concentration. Each DNA samples were tested in triplicate (Red spots). Mixtures of N- and S-cytoplasmic DNA samples were prepared as follows: A, 8 and 2 are male-sterile (S) and normal (N)male-fertile cytoplasmic DNAs (total 10ng), respectively. B, 6ng S/ 4ng N; C, 4ng S/ 6ng N; D, 2ng S/ 8ng N; E, 0ng S/ 10ng N.

나) 핵내 응성불임 회복유전자 DNA표지인자 개발

양파의 CMS-S는 세포질에 존재하는 응성불임인자(S)와 핵내에 존재하는 하나의 열성 회복유전자(rs)에 의해 조절된다. 응성불임의 회복은 핵내 회복유전자가 우성 allele이 있어야 회복되는 것으로 알려져 있다(Jones and Clark 1943). 만추황 품종의 핵내 회복 유전자형 판단을 위해 위스콘신 대학에서 육성된 응성불임계통(W202A)과 검정교배를 수행하였다. 만약 N-cytoplasm을 가진 개체가 핵내 유전자형이 우성 homo(*RfRf*)라면, 그 후대는 모두 응성가임으로 나타나고, hetero(*Rf/rf*)일 경우는 응성불임 및 가임이 1:1로 분리되며 열성 homo(*rf/rf*)일 경우 모두 응성불임으로 나타날 것이다(그림 4-10).

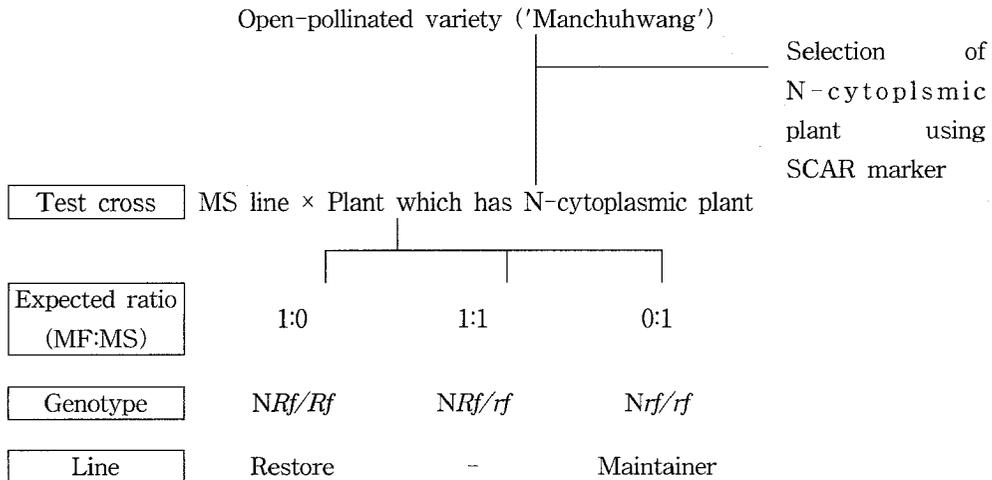


Fig. 4-10. Experimental strategy for selection of maintainer line using STS marker and test cross in open-pollinated variety 'Manchuhwang'. MF; Male fertile, MS; Male sterile.

총 66조합을 작성하였으나 후대 분석이 가능한 조합은 34조합으로 그중 오직 한 조합의 후대에서 모두 응성불임이 나타났으며 이 화분친은 만추황 응성불임계통의 유지친으로 판단되었다. 또한 23 개체는 우성 homo, 10개체는 hetero alleles을 가진 것으로 나타났다. 이는 만추황이 약 10여년간 작은 집단으로 유지되어 왔기 때문에 유전적 부동(genetic drift) 현상이 나타난 것으로 판단된다. 유지 집단 크기는 유전자형에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 그 크기가 작을수록 hetero allele이 줄어든다. 본 연구에서는 방임수분 품종의 핵내 응성불임 회복유전자 형을 파악할 수 있는 집단을

육성하였고 이 집단은 웅성불임 회복유전자와 연관된 DNA 표지인자 개발 및 유전자 tagging에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다. 양파는 2년생 작물로 세포질 유전자형 판단을 위해서는 검정교배 후 유전분석 과정이 필요하며 이에 4내지 8년이 필요하며 특히 유지친 육성은 8내지 10년이 소요되는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 연구결과 DNA 표지인자를 이용할 경우 3년만에 방임수분 품종내에서 유지친을 직접 선발할 수 있었다. 이러한 결과는 2년생 작물이면서 강한 자식열세 현상을 가진 양파의 일대잡종 품종 육성에 MAS(marker assisted selection)가 매우 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 판단되었다.

SSR(simple sequence repeats)은 염색체에는 단위반복구조(tandem repeat sequence)가 존재하는 것으로 반복단위의 반복 횟수는 적게는 1회에서 많게는 수 십 회까지 이루어져 여러 형태로 나타나는 유전자좌(locus) 존재한다. 반복단위의 염기서열이 대개 14-70bp인 것을 VNTR(variable number of tandem repeats)로, 2-7bp인 것을 SSR Microsatellites라고 부른다. 이러한 SSR은 일정한 중심염기서열(core sequence)이 직렬반복됨으로써 나타나는 반복염기서열로 개체마다 반복되는 횟수가 달라짐으로써 나타나는 길이의 다형성을 이용하여 유용한 DNA 표지인자로 이용될 수 있다. 양파의 웅성불임은 세포질 인자와 핵내 웅성불임회복 유전자의 상호작용으로 유기되며 핵내 웅성불임회복 유전자는 단인자 우성으로 유전한다. 양파의 핵내 웅성불임회복 유전자 연관 DNA 표지인자를 개발하기 위하여 유전자은행에 등록된 양파 SSR(simple sequence repeats)를 증폭하기 위한 프라이머를 합성 후(appendix 1) 1년차에 확인된 두 가지 계통 (*Rf/Rf*, *rf/rf*)간에 대하여 PCR 수행하여 두 계통간 다형화 밴드를 나타내는 SSR 프라이머를 선발하였다(그림 4-11).

선발된 SSR 표지인자의 염기서열 결정 결과(appendix 3) 양파의 SSR 반복염기서열인 (TCC)가 우성 호모(*RfRf*)의 경우 3개가 결실되어 6개의 motif가 존재한 반면 열성 호모(*rf/rf*)의 경우 9개의 motif로 나타나 두 집단 유전자형간의 다형성을 나타낸 것으로 판단되었다 (그림 4-12).

선발된 핵내 웅성불임회복 유전자와 연관된 SSR 표지인자(ACM103)을 이용하여 각 개체별 유전자형을 판단한 결과는 그림 14와 같다. 핵내 웅성불임회복 유전자가 열성인 경우는 48개체 모두에서 180bp의 특이 밴드(A)가 우성일 경우는 48개체 모두에서 150bp의 밴드(B)가 특이적으로 증폭되었다. 개발된 SSR 표지인자를 이용할 경우 우

성과 열성의 allele을 구분할 수 있었으나 표지인자 개발을 위해 이용된 집단이 고정종으로 유전적 거리를 유추하기는 어려울 것으로 판단되며 다른 응성불임회복 유전자형 집단에 이용하여 유전적 거리를 추정할 필요가 있는 것으로 판단되었다.

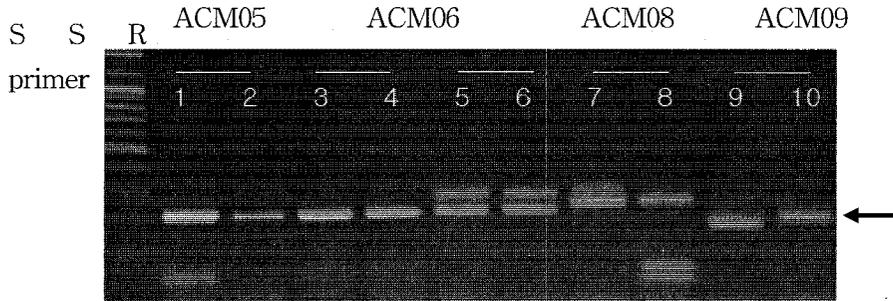


Fig. 4-11. Agarose gel electrophoresis patterns using onion SSR marker(ACM05, ACM06, ACM08, ACM09, ACM13) between restore line(*Rf/Rf*) and sterile maintainer line(*rf/rf*). Arrow indicates polymorphic band between fertile restore line(*Rf/Rf*) and sterile maintainer line(*rf/rf*). Lane 1, 3, 5, 7, 9; DNA bulks of fertility restore line (*NRfRf*). Lane 2, 4, 6, 8, 10; DNA bulks of maintainer line (*Nrfrf*).

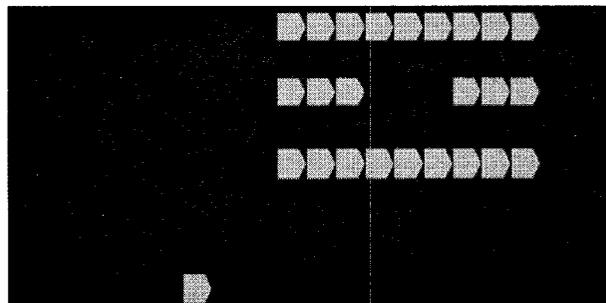
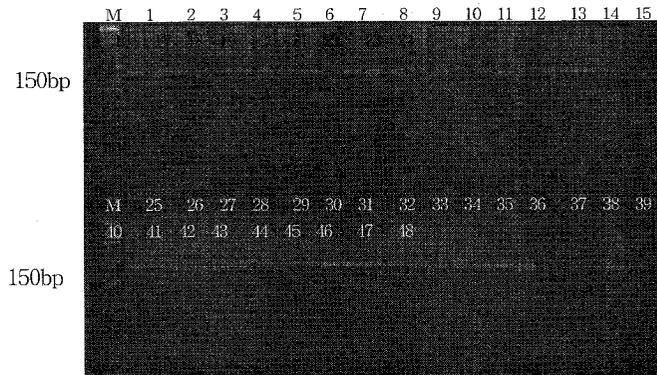


Fig. 4-12. The structural difference between dominant fertility restore (*RfRf*) and recessive fertility restore(*rfrf*) of the genome in onion lines (*Allium Cepa* L.) Three major tandem repeats are missing in dominant fertility restore line (*RfRf*) : light green (3bp tandem repeat, TCC); Nucleotide sequences of the tandem repeats are indicated. Multiple sequence alignment indicating these structures is provided in Appendix 3.



<A>

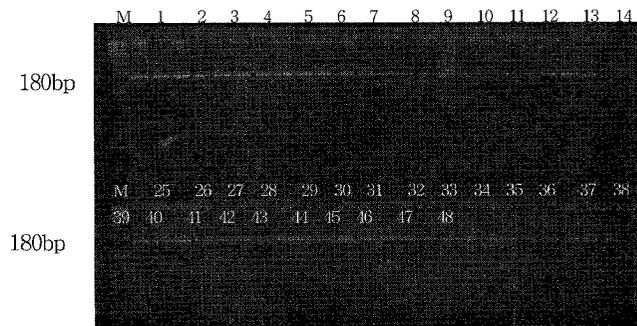


Fig. 4-13. Electrophoresis patterns obtained by SSR marker linked to restore fertility of homo dominant and recessive allele in individual plant. A; Onion lines has homo dominant allele in restore fertility (*RfRf*) B; Onion lines has homo recessive allele in restore fertility (*rfrf*)

4. 종합결과

세포질 응성불임 연관 마커의 실용화 기술개발에 있어서 양과의 응성불임 특이 분자 표지를 이용하여 육성중인 계통의 응성불임 형태를 판단 결과 총 62개의 계통 중 “제비황” 등 7개 품종(계통)이 CMS-T type으로 판명되었다. 세포질 응성불임인의 판별법을 이용하여 한번에 몇 개 혹은 10개의 sample을 하나의 PCR tube에서 동시에 진단할 수 있는 대량판별법을 개발하고자 PCR-RFLP 및 Real-time PCR 방법을 개발하였다. 즉 N 세포질과 S 세포질 인자를 적정 농도별로 혼합 후 PCR-RFLP 및 Real-time PCR을 수행한 결과 PCR-RFLP의 경우는 10%의 혼합까지도 검출이 가능한 반면 Real-time PCR은 20%의 검출한계를 설정할 수 있었다. 본 결과를 이용할 경우 유망계통의 세포질 응성불임 형태를 대량으로 판별 할 수 있을 것으로 판단된다.

핵내 응성불임 유전자 연관 DNA 표지인자 개발에서는 양과에 특이적인 SSR (Simple sequence repeat) 마커 52종을 이용하여 pre-screening 과정을 통하여 2종의 SSR 마커를 선발하였다.

핵내 응성불임 회복 유전자 형태별 집단 육성하였으며 핵내 응성불임 회복 유전자 연관 DNA 표지인자 개발하여 SSR(Simple sequence repeats) 표지인자 개발, 염기 서열 결정 및 상동성 분석하였다.

제5절 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성

비교

1. 서 설

국내에서 보고된 *Allium*속 식물에 함유된 물질들의 생리적 유용성에 대한 연구결과에 따르면 마늘 및 양파를 중심으로 향미생물 활성(Kim 등, 1996), 항산화 활성(Mun 등, 1994), 항혈전 활성(Kim 등, 1998), 암세포 치사활성(Lim과 Kim, 1997), 암예방 활성(Kim 등, 1997), 독성물질에 대한 간독성 완화작용(Park 등, 1991) 등에 효능이 있는 것으로 보고되고 있다. 이 중 황 화합물은 원료 식물에 독특한 향미를 부여할 뿐만 아니라 다양한 생리적 기능성을 발휘하는 주된 물질로서 기능성 식품소재로서의 활용가치가 높다. 양파는 *Allium*속 식물로 약 500여종으로 이루어져 있으며 향신료 및 약리작용으로 말미암아 수세기동안 경험적으로 이용되어 왔으나 효능에 대한 과학적인 연구는 1970년대 후반부터 산발적으로 이루어져 왔으며(Block, 1986, 1992). 또한 전통적으로 마늘 및 양파를 비롯한 *Allium*속 식물을 다양하게 섭취하고 있는 식습관을 고려할 때 *Allium*속 식물의 생리적 기능에 관한 연구는 추출물에 대한 단편적인 효능 검색에 국한되어 있으며 활성성분의 분리, 동정 및 작용기작 등에 관한 연구는 극히 제한적이다. 최근 마늘의 성분을 대상으로 연구하여 혈전 억제 및 동맥경화 방지를 통한 혈류개선효과, 심장기능 보호효과 등과 같은 긍정적인 효과를 나타낸다는 보고가 많이 나오고 있지만 같은 *Allium* 속이면서 성분이 마늘과 비슷한 것으로 알려져 있는 양파의 효능에 대해서는 잘 알려져 있지 않고 있다.

양파는 품종이나 계통별로 크기, 모양, 색깔 등의 외부 품질인자 뿐만아니라 당이나 pyruvic acid, 황화합물(ACSO) 등의 내부인자들에 있어서 차이가 있다. 특히 황화합물(ACSO)이 기능성에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 따라서 기능성 물질을 탐색이 필요가 있으며 더 나아가 품종 육성하여 양파 수요를 창출할 필요가 있다. 양파의 독특한 향과 풍미는 비단백질 황 아미노산 전구체인 S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides (ACSO)로부터 나온다 (Lancaster & Boland 1990). 예를 들어 methyl-(MCSO), 1-propenyl (1-PECSO), 2-propenyl (allyl, 2-PECSO) cysteine sulfoxide등이 양파나 마늘을 자르거나 분쇄하였을 때 나타나는 전형적인 ACSO이다 (Saghir 등 1964, Freeman & Whenham 1976, Kim & Chun 1999). 양파조직에 있는 아리인 (alliin) isomer (1-PECSO)와 아리신 isomer를 포함한 그의 분해 산물은 혈전 용해, 항당뇨, 항암효과가 있는 것으로 알려지고 있다 (Kim & Chun 1999, S대 등 1996,

Kang & Kang 1997). 따라서 이 같은 화합물들의 정량 분석 결과는 양파의 품질을 개선할 수 있는 좋은 척도가 될 수 있을 것이며, 또한 양파에서 특정 화합물을 약용 목적으로 생산하기 위한 좋은 조건의 육종과 저장방법을 개발하는데 이용할 수 있을 것이다.

양파는 고추, 마늘, 파, 생강 등 5대 조미채소 중에서 재배 면적 측면에서는 4번째인 7%에 불과하나, 생산량에 있어서는 36%로 1위를 점하고 있어 타작물에 비하여 단위면적당 수확량이 높은 고소득 작물이다. 그러나 타 작물에 비하여 소득이 높은 관계로 최근에 양파의 생산 면적이 급격히 증가함에 따라 1999년의 경우 연간 소비량이 70만 톤인데 비하여 95만톤이 생산되었다. 이러한 양파 생산량의 급격한 증가는 국내 소비 시장에서 가격의 폭락을 가져와 농민에게 막대한 경제적 손실을 입게 하였다. 특히 양파는 국내 소비 용도가 가정용으로 편중되어 있고, 2005년도 기준으로 양파 가공 생산량은 총 양파 생산량의 1.5%에 불과하였다. 또한 양파는 저장성이 낮아 부패에 의한 폐기율이 30%이상이 되고 있어 이에 대한 대책이 필요한 실정이다.

양파 농가의 소득을 안정화하기 위해서는 생산기술의 개발과 함께 양파의 유통 및 소비시장의 안정적 확보가 매우 중요하다. 양파의 부가가치를 높이고 소비시장을 안정화하는 현실적인 방법은 가공용 소비를 확대하는 방법과 기능성이 우수한 품종을 선별하거나 육성하는 방법이다. 이 두 가지를 동시에 만족하기 위해서는 소비자들이 필요로 하는 양파관련 제품을 생산하는 것이다. 따라서 본 연구를 통하여 고령지에서 생산되는 양파의 생리활성 기능이 확인되고 이러한 성분을 이용하여 기능성 양파 제품이 생산되면, 이들 양념채소류의 소비가 확대될 수 있으므로 농가의 소득을 안정화할 수 있을 뿐만 아니라 양파를 이용한 식품산업이 활성화 될 수 있을 것이다.

전세계적으로 양파에 있어서 S-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides(ACSOs) 성분이 중요하다는 것은 알고 있지만 식물체에서 어느 정도로 존재하고 있는지에 대해서는 많은 논란이 되고 있는 실정이다. ACSOs 물질을 측정하기 위해 여러 가지 직접 혹은 간접 방법을 시도하고 있으나 아직 분석방법을 표준화하지 못하고 있다(Thomas & Parkin 1994, Tokimoto & Kobayashi 1992, Yamagi 등 1980, Zeigler & Sticher 1989, Block 등 1992, Gustine 1985). 그 이유는 이상의 생리활성물질의 경우 조건에 따라 다양한 형태가 존재하며 구조적으로 매우 불안정하여 쉽게 다른 물질로 전환되기 때문이다. 예를 들어 S-propyl-L-cysteine sulfoxide (PCSO)가 주요 황 화합물이라고 Matikkala와 Virtanen(1898-1900), Lancaster와 Boland(1990)등은 주장한 반면, 혹자는 미량으로만 존재한다고 주장하기도 하였다 (Ziegler & Sticher 1989, Yamagi 등

1980). 비록 간접적이기는 하지만 여러 가지 다양한 방법이 *S*-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides(ACSOs)를 측정하기 위해서 시도되었다. *S*-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides(ACSOs)가 alliinase와 반응하였을 때 나오는 pyruvate를 측정하는 방법이 가장 대표적이나 (Schwimmer & Guadagni 1962), 이 방법은 ACSOs들의 상대적인 양이나 profile을 알 수는 없다. Nakata 등(1970)은 alliinase의 반응 산물인 thiosulfinates을 측정하는 방법을 제안하였으나 이 역시 원래의 상대적인 ACSOs양을 측정하지는 못하였고, 분쇄된 상태의 양파나 마늘이 가지고 있는 상대적인 thiosulfinates와 *S*-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides(ACSOs)의 양도 다르게 나타났다 (Thomas 등 1992). 그 후, 이들 thiosulfinates분석을 정확히 할 수 있는 새로운 액체 크로마토그래피 (GC)나 가스-액체 크로마토그래피 (GLC)를 이용한 방법이 개발되었다 (Block 등 1992). GLC를 이용하여 원래의 ACSOs양을 측정하려는 시도가 많이 이루어졌고, 그중 Tokitomo와 Kobayashi (Tokimoto & Kobayashi 1992)는 GLC를 이용하여 양파를 분석한 결과, *n*-propyl 형태가 주종을 이루고 있다고 보고한 바 있으나, 이 형태가 원래의 PCSO로부터 나온 것인지 시료 전처리나 분석 중에 1- 혹은 2-propenyl 형태의 반응산물로 *n*-propyl 형태가 나온 것인지는 확실치 않다. 이에 반해 Freeman과 Whenham (Freeman & Whenham 1975)은 위의 결과는 GLC 분석중 높은 온도나 내재되어 있던 환원력 때문에 나온 변형일 것이며, PCSO : 1-PECSO : MCSO = 2 : 80 : 18의 비율로 존재한다고 주장하였고, Block등 (Block 등 1992, Block 등 1992)도 같은 정도로 존재한다고 보고하였다. 이러한 혼란을 줄이기 위해서 분쇄되지 않은 양파 등에서 ACSOs양을 직접적으로 측정하려는 시도 역시 많이 이루어졌다. Silica gel을 사용한 박층 전기영동과 크로마토그래피를 이용한 이차원적 분리를 통해서 Granroth (1968)는 양파 구근에는 MCSO와 1-PECSO만 존재한다고 발표한 바 있으나, 유사한 실험방법으로 Lancaster와 Kelly (Lancaster & Kelly)는 pyruvate 방법으로 측정한 것보다 4배 이상의 ACSOs양이 검출되었고 PCSO : 1-PECSO : MCSO = 66 : 14 : 20의 비율로 존재한다고 보고하였다. 위 결과는 서로 맞지 않을뿐더러, Matikkala와 Virtanen (Matikkala & Vertanen 1967)이 측정한 결과 (미량 : 92 : 8)와도 다르다. 위의 예들은 특정 식물에서의 상대적인 ACSOs양을 분석한 결과에 많은 혼란이 있었다는 것을 보여주는 것이다.

GC나 GLC에서 측정한 결과가 일치되지 않은 결과가 나타나자 최근 HPLC를, 양파를 비롯한 *Allium*속에 존재하는 ACSO 분석에 이용하려는 시도가 이루어졌다.

Gustine (1985)은 *o*-phthaldehyde (OPA)와 2-mercaptoethanol로 ACSOs를 유도체화하여 MCSO를 *Brassica*에서 검출하였으며, Ziegler와 Sticher (1989) 역시 OPA와 2-methyl-2-propanethiol로 유도체화하여 마늘에서 MCSO와 2-PECSO를 분석한 바 있다. 이후에도 계속된 분석으로 마늘에서는 2-PECSO가 가장 많이 존재한다는 것을 알게 되었으며 PCSO나 1-PECSO는 존재하지 않거나 극미량으로만 있다는 사실도 밝혀졌다 (Block 등 1992, Block 등 1992). 또한 불안정한 OPA와 다른 유도체화 방법으로 9-fluorenylmethyl chloroformate (FMOC)를 이용하는 방법도 개발되고 있다 (Cunico 등 1986, Thomas & Parkin 1994).

국내에서도 양파에 대한 연구논문은 비교적 많이 발표되었으나 (Kang & Kang 1997, Kim & Chun 1999, Seo 등 1996), 생리활성성분 분석에 관한 연구는 많지 않고 (Ha 등 1996), 더구나 생리활성 물질의 양에 대하여 정량 분석한 자료는 미진한 실정이다.

2. 재료 및 방법

<시험1> 양파의 황화합물 분석조건 확립 및 분획 분리

가. 공시재료

본 실험에 사용된 공시재료는 고령지농업연구소에서 재배한 48개 품종 및 계통을 수집하여 사용하였다. 수집된 양파시료는 상부와 하부의 뿌리부분을 제거하고 껍질을 벗겨 과육과 과피로 구분하여 -70℃의 deep-freezer에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

나. HPLC 분석조건 확립

1) S-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides(ACSOs) standard chemical 합성

양파의 풍미특성을 나타내는 thiosulfinates의 전구물질인 S-alk(en)yl-L-cystein sulfoxides(ACSOs)의 정량분석을 위하여 본 실험에서 실시한 HPLC분석법은 standard 표준물질을 필요로 하지만, thiosulfinates 화합물은 매우 민감하고 불안정하여 상업적으로 존재하지 않기 때문에 인공합성을 통한 표준물질을 만들어 사용하였으며 NMR(핵자기공명)과 HPLC(고속액체크로마토그래피)을 통하여 성분을 확인하였다.

실험에서 사용한 standard 표준물질의 합성방법은 다음과 같다.

가) PrenCSO(1-S-Propenyl-L-cysteine sulfoxide)

환류 냉각기가 연결된 500ml의 삼구 플라스크에 L-cysteine 24.23g과 ethanol 250ml를 넣고 50℃에서 30분간 환류하였다. 10M의 NaOH 수용액 20ml를 서서히 첨가하고 30분간 반응 시킨 후 ethanol 35ml에 allyl bromide 17.28ml를 녹여 서서히 첨가한 후 3시간동안 반응 시켰다. 30℃로 식혀 acetic acid를 pH 5.0~5.5가 될 때까지 첨가하여 산성화 하였고 acetic acid를 첨가하면 결정이 생긴다. 이를 냉동고에서 2시간 보관하고 여과하여 50℃에서 건조하였다. Ethanol로 재결정하여 18%의 흰색 고체인 S-allyl-L-cysteine을 획득하였다(Fig. 5-1).

500ml의 삼구 플라스크에 위에서 합성한 S-allyl-L-cysteine 5.60g과 건조된 DMSO 200ml를 넣고 아르곤 하에 상온에서 30분간 교반하였다. 건조된 DMSO 40ml에 potassium *tert*-butoxide 5.60g을 녹여 6~10℃에서 서서히 첨가하였으며 완전히 첨가되고 나면 상온에서 18시간 동안 반응시켰다. Acetic acid를 pH 5.0~5.5가 될 때까지 첨가하여 산성화하고, 냉동고에서 2시간 보관 후 여과하여 건조하였다. Ethanol로 재결정하여 20%의 흰색 고체인 1-S-propenyl-L-cysteine를 획득하였다(Fig. 5-2).

250ml의 삼구 플라스크에 위에서 합성한 1-S-propenyl-L-cysteine 1.1g과 distilled water(Dw) 50ml를 넣고 30분간 교반하였다. H₂O₂ 1ml를 Dw 20ml에 녹여 서서히 첨가한 후 상온에서 24시간 반응 시키고 감압하여 Dw를 제거하였다. 노란색의 액체에 methanol을 넣고 흔들어주면 흰색의 고체가 생기며, 여과한 후 Dw 0.2ml와 methanol 5ml로 재결정하여 12%의 흰색 고체인 1-S-propenyl-L-cysteine sulfoxide를 획득하였다(Fig. 5-3).

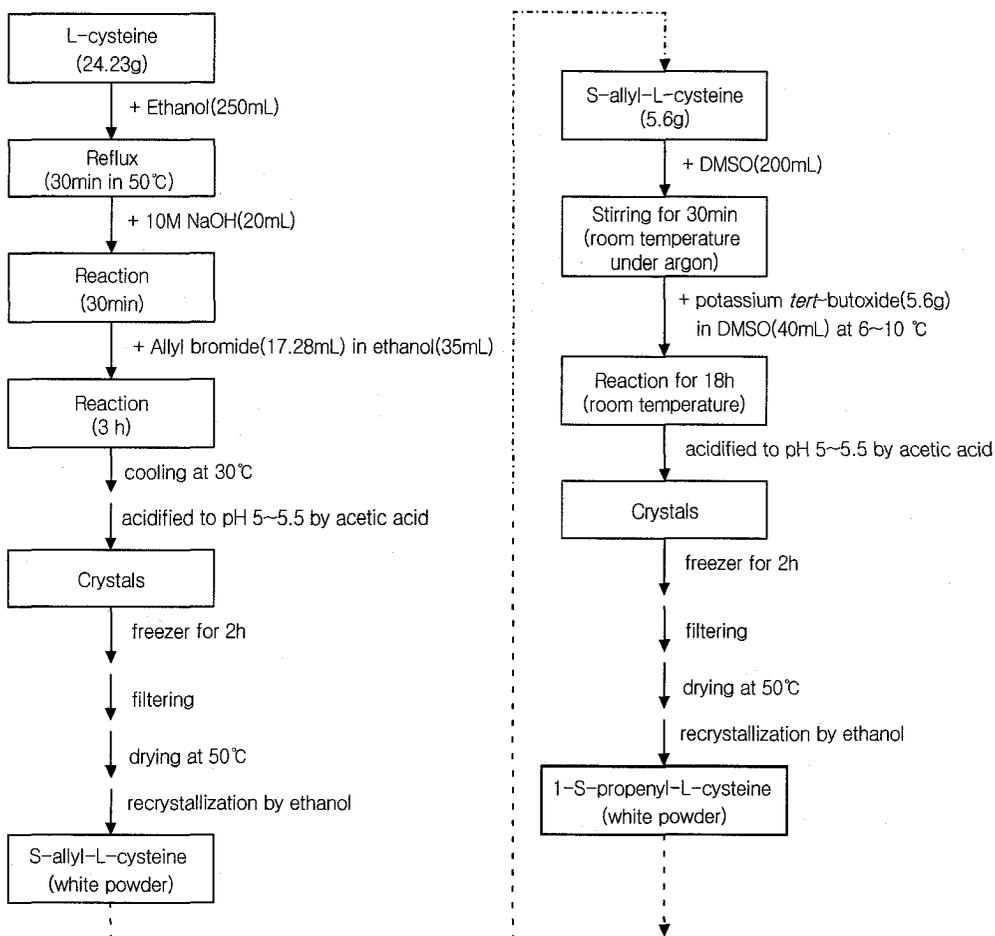


Fig. 5-1. The diagram 1-S-propenyl-L-cysteine sulfoxide synthesis.

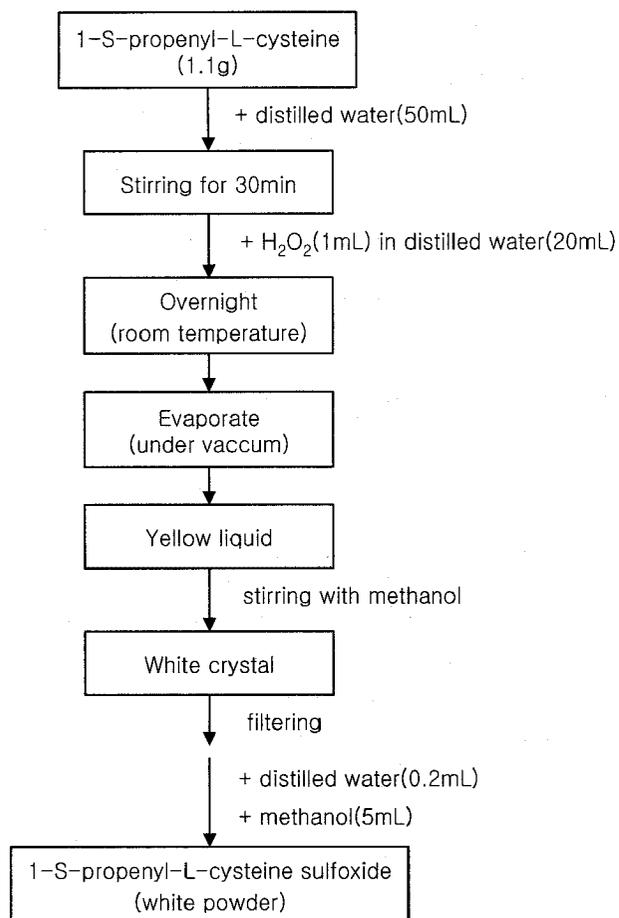


Fig. 5-2. The diagram 1-S-propenyl-L-cysteine sulfoxide synthesis.

나) PCSO(*S*-propyl-L-cysteine sulfoxide)

환류 냉각기가 연결된 500ml의 삼구 플라스크에 L-cysteine 19.46g과 ethanol 200ml를 넣고 50℃에서 30분간 환류하였다. 10M의 NaOH 수용액 10ml를 서서히 첨가하여 30분간 반응 시켰으며, propyl bromide 14.56ml를 ethanol 35ml에 녹여 서서히 첨가 하고 3시간 동안 반응 시켰다. 30℃로 식히고 acetic acid를 pH 5.5가 될 때까지 첨가하여 산성화하였다. Acetic acid를 첨가하면 결정이 생기며, 이를 냉동고에서 2시간 보관 후 여과하여 50℃에서 건조하였다. Ethanol로 재결정하여 23%의 흰색 고체인 *S*-propyl-L-cysteine을 획득하였다(Fig. 5-4).

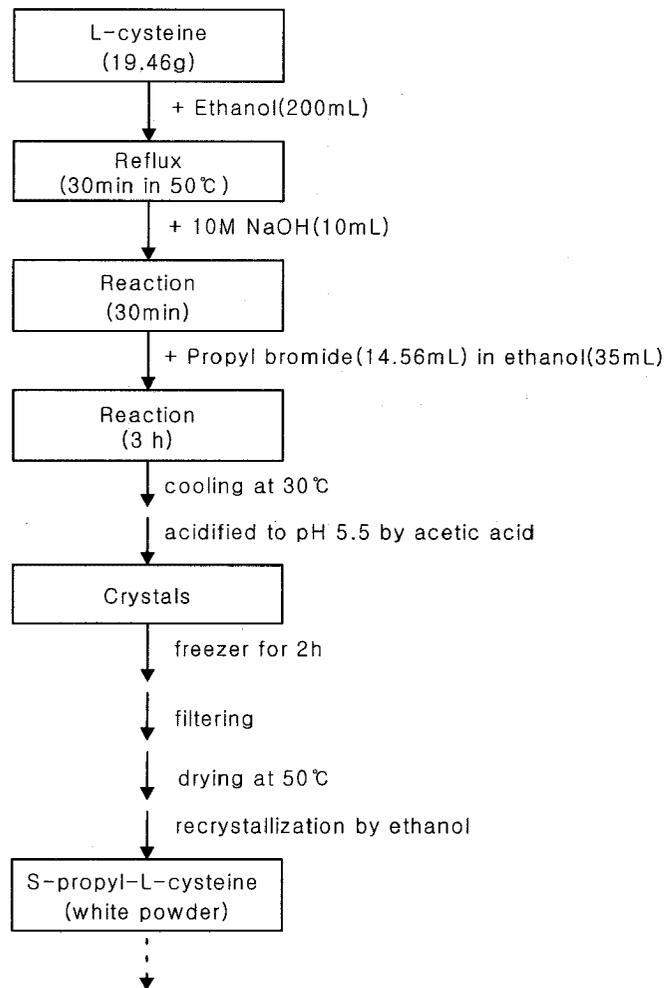


Fig. 5-3. The diagram of *S*-propyl-L-cysteine sulfoxide synthesis.

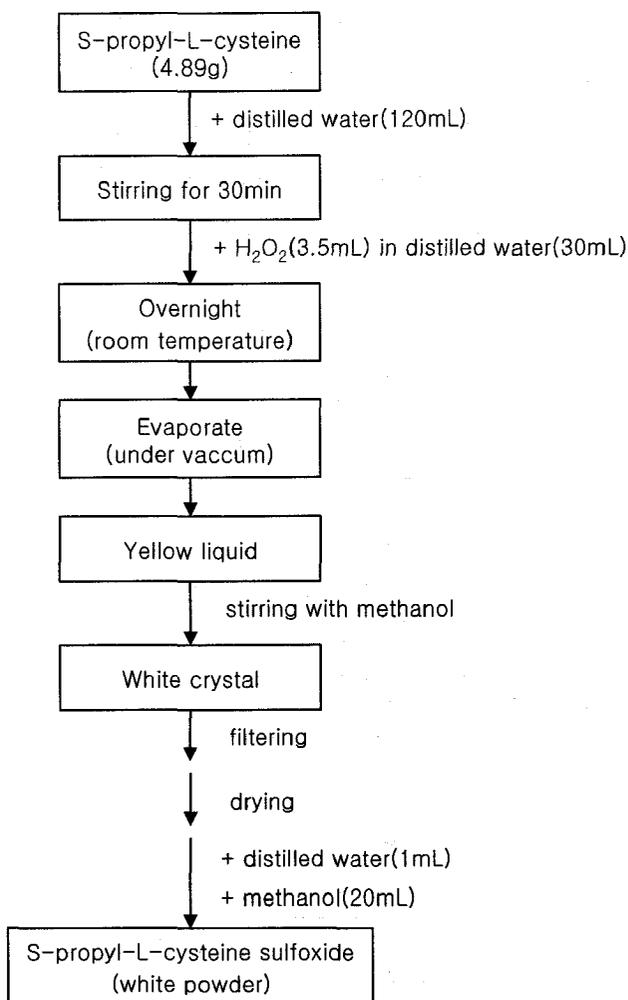


Fig. 5-4. The diagram of S-propyll-L-cysteine sulfoxide synthesis.

250ml의 삼구 플라스크에 위에서 합성한 S-propyl-L-cysteine 4.89g과 Dw 120ml를 넣고 30분간 교반하였다. H₂O₂ 3.5ml를 Dw 30ml에 녹여 서서히 첨가하고 상온에서 24시간 반응 시킨 후 감압하여 Dw를 제거하면 노란색의 액체가 생긴다. 여기에 methanol을 넣고 흔들면 흰색 결정이 생기며 여과, 건조 한 뒤 Dw 1ml와 methanol 20ml로 재결정하여 20%의 흰색 고체인 S-Propyl-L-cysteine sulfoxide을 획득하였다 (Fig. 5-5).

다) MCSO(S-methyl-L-cysteine sulfoxide)

250ml의 삼구 플라스크에 S-methyl-L-cysteine 4.05g과 Dw 50ml를 넣고 30분동안 교반하였다. H₂O₂ 3.5ml를 Dw 30ml에 녹여 서서히 첨가한 후 상온에서 24시간 반응시켜 Dw를 감압 하에서 제거하였다. 노란색의 액체에 methanol을 넣어 흔들면 흰색 결정이 생기며 여과, 건조 후 Dw 1ml와 methanol 20ml로 재결정하여 23%의 흰색 고체인 S-methyl-L-cysteine sulfoxide를 획득하였다(Fig. 5-5).

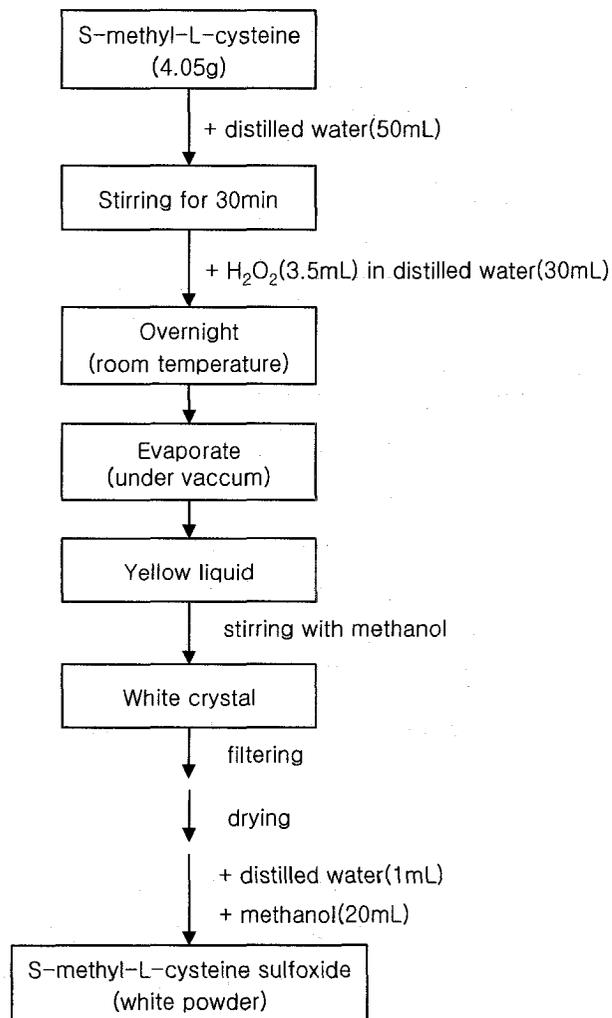


Fig. 5-5. The diagram of S-methyl-L-cysteine sulfoxide synthesis.

2) 유도체화

추출샘플의 유도체화를 위한 유도체액의 조제는 Ziegler와 Sticher(1989)의 방법에 따라 다음과 같은 순서로 조제하였다(Fig. 5-6). OPA(*o*-phthaldialdehyde) 140mg을 5ml의 methanol에 용해시킨 후 0.2ml의 2-methylpropanethiol을 첨가하여 voltex mixer (KMC-1300V, Vision scientific, Korea)로 잘 혼합하였다. 이 혼합액에 0.05M sodium tetraborate buffer(pH 9.5) 50ml을 첨가함으로써 희석하였으며, 이 유도체 용액은 조제된 12시간 이후부터 사용하였다.

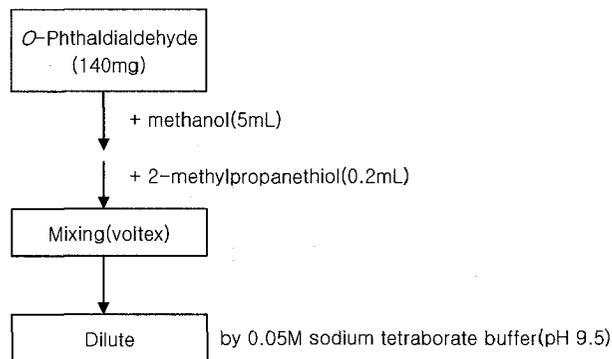


Fig. 5-6. The diagram of derivatization reagent be prepare.

2) HPLC 분석을 위한 양파의 ACSOs 성분 추출

ACSOs 성분 추출방법은 David와 Kirk(1994)의 방법을 응용하여 실시하였다. freezing한 양파구근 50g을 최대 속도로 homogenize하여 MCW(methanol:chloroform:water = 12:5:3v/v/v) 용액 100ml에 침지시켜 -20℃의 냉동고에서 24h동안 overnight하였다. 24h후 냉동고의 양파추출물을 꺼내어 감압여과하여 고형물과 추출액을 분리한 후 추출액에 chloroform과 water(chloroform:water = 2:3v/v) 100ml을 첨가하여 층을 분리하였다. 두 개의 분획중 하층의 chloroform층은 버리고 상층의 methanol/water층만을 취하여 vacuum evaporator(N-2N, Eyela, Tokyo, Japan)로 60℃에서 추출액이 50ml이 될 때까지 감압농축 하였다. 농축된 용액 중 1ml만을 따로 취하여 speed vacuum을 이용해 완전 건조시켰으며 -20℃의 냉동고에 보관해 두었다가 HPLC 분석실험에 사용하였다(Fig. 5-8).

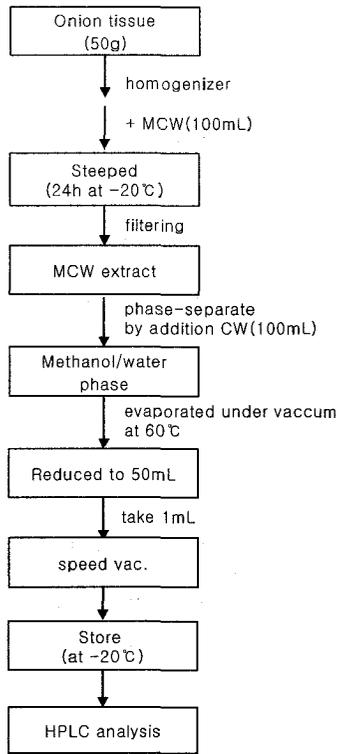


Fig. 5-7. The diagram of ACSOs extraction.

<시험2> 양파의 품종 및 계통간 황화합물의 정량 분석과 항산화 활성 조사
가. 공시재료

본 실험에 사용된 공시재료는 Table 5-1과 같이 고령지농업연구소에서 재배한 총 37개 양파 품종 및 계통을 사용하였다.

나. 양파 내 ACSOs 성분 함량 조사

ACSOs 성분 추출방법은 HPLC 분석조건 확립하는데 사용한 추출 방법 및 조건과 동일하다. 정량에 필요한 외부표준물질로서 표준곡선을 작성하였고 이때의 상관결정계수는 MCSO(*S*-methyl-L-cysteine sulfoxide), PrenCSO(1-*S*-Propenyl-L-cysteine sulfoxide), PCSO(*S*-Propyl-L-cysteine sulfoxide) 각각 0.9991, 0.9883, 1 이었다. 양파 추출액에서의 *S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides 성분 분리를 위해 유도체화 하였으며 마지막으로 계통 및 품종별 *S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides 성분을 HPLC로 분리·정량하였다.

Table 5-1. Cultivars and phenotypes of onion

품종 및 계통명	구분	비고
만추황/일본도입구selfing-4	F1, 성능검정	5221
W202A(2001-41)/중생대구	“	5226
W205A/일본도입구selfing-4	“	5229
W404A/탑원F2	“	5241
NY36-4A/월륜	“	5254
NY36-4A/울프F3	“	5257
W205A/창녕대고	“	5285
amposta	고정계통	5551
red beauty	고정계통	5558
Rumba	고정계통	5564
사뽀로기	시판종, 고정종	
히 구 마	시판, F1	
울 프	“	
창녕대고	시판 고정종, 추과품종	
천주대고	“	
만 추 황	육성품종, 고정종	
가무이	F1, 시판종	
T-406 F3	육성계통	44605
천심F3	“	44614
월륜F3	“	44619
가무이F3	“	44624
가무이F3	“	44626
울프F3	“	44631
울프F3	“	44634
Tamara F3	“	44667
일본도입구selfing-11	“	44678
일본도입구selfing-22	“	44680
품종 및 계통명	구분	비고
H/97-1-1-5	고정계통	5606
K/H-3-0-0	고정계통	5622
W202/DK-1-1	고정계통	5667
Brahma-0	고정계통	5813
HDH-3	고정계통	5895
W205B/44166Bx2002-210B	F1(3 way), 분리되고 있는 계통임	5329
2002-213Bx(W202B/W404B)	F1(3 way), 분리되는 있는 계통임	5309
대구성x만추황	F2	5681
W404A/월륜 X 97/K-6-0	F2	5688
대관/울프	F2	5690

다. DPPH free radical scavenging

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl)의 환원에 의해 free radical 소거활성을 관찰하기 위한 DPPH 소거활성은 Tagashira와 Ohtake의 방법으로 측정하였다. 농축 시료 50, 100, 500, 1000ug/400ul를 80% MeOH에 녹여 0.1mM DPPH methanol solution 3ml을 혼합하여 상온에서 10분 동안반응 시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하였으며 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도에 대한 sampledml 흡광도의 감소를 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 백분율 (%)로 나타내었다.

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A-B)/A] \times 100$$

A : absorbance of not adding samples

B : : absorbance of adding samples

<시험3> 고령지 양파의 품종 및 계통간 저장성 조사

가. 공시재료

본 실험에 사용된 공시재료는 Table 5-2와 같이 고령지농업연구소에서 재배한 24개 품종 및 계통을 사용하였다.

Table 5-2. Cultivars and phenotypes of onion

품종 및 계통명	구분	비고
가무이	F1	가무이
울프	F1	울프
히구마	F1	히구마
만추황	고정종 품종	만추황
만추황/일본도입구selfing-4	F1	5221
W202A(2001-41)/중생대구	F1	5226
W205A/일본도입구selfing-4	F1	5229
W404A/탑원F2	F1	5241
NY36-4A/윌룬	F1	5254
NY36-4A/울프F3	F1	5257
W205A/창녕대고	F1	5285
amposta	고정계통	5551
red beauty	고정계통	5558

품종 및 계통명	구분	비고
Rumba	고정계통	5564
H/97-1-1-5	고정계통	5606
K/H-3-0-0	고정계통	5622
W202/DK-1-1	고정계통	5667
Brahma-0	고정계통	5813
HDH-3	고정계통	5895
W205B/44166Bx2002-210B	F1(3 way), 분리되고 있는 계통임	5329
2002-213Bx(W202B/W404B)	F1(3 way), 분리되는 있는 계통임	5309
대구성x만추황	F2	5681
W404A/월륜 X 97/K-6-0	F2	5688
대관/울프	F2	5690

나. 가용성 당

양과 5g을 2차 증류로 추출하여 0.45 μ m-filter로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석 조건은 Table 5-3과 같다.

Table 5-3. Instrument and operating conditions for HPLC analysis of soluble sugar

Conditions	
Instrument	Agilent Tech.
Column	Prevail carbohydrate ES 5u(4.5×250mm)
Detector	CAD(charged aerosol detector)
Mobile phase	75% acetonitrile
Flow rate	1ml/min
Injection volumn	10 μ l

다. Pyruvic acid

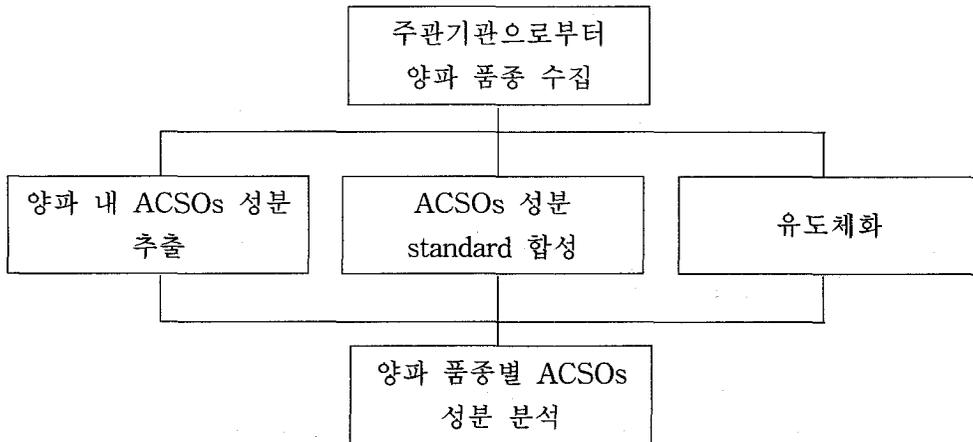
양과 3g에 BHT를 조금 넣어 마쇄한 후 필터에 걸러 놓아 반응을 시킨다. 샘플 100 μ l에 2N HCl의 125ppm dinitrophenylhydrazine과 반응 시킨 후 40℃에서 10분간 발색, 0.6N NaOH 처리의 과정을 거쳐 spectrophotomeer로 420nm에서 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

<시험1> 양파의 황화합물 분석조건 확립 및 분획 분리

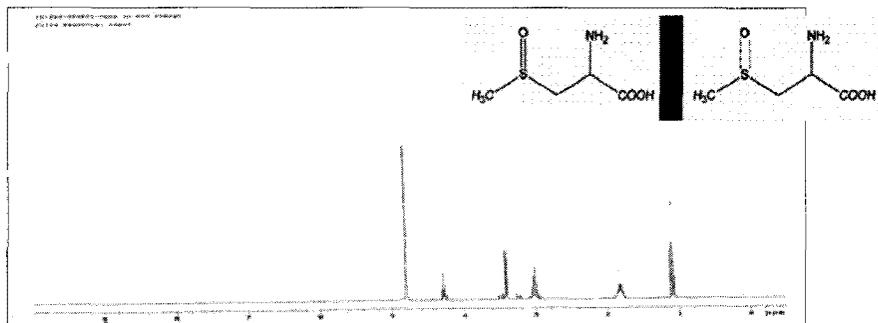
가. HPLC 분석 조건 확립

양파 내 ACSOs 성분 분석을 위해서 우선 standard를 합성하였고, 분획 분리를 하고자 유도체화 하였으며 마지막으로 품종별 ACSOs성분을 HPLC로 분리·분석하였다.

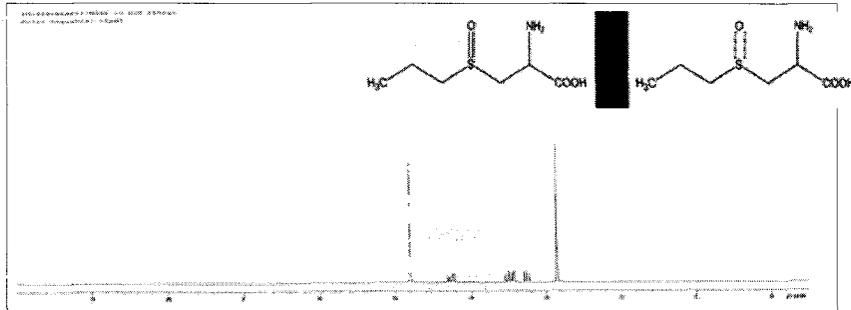


1) ACSOs 성분 standard 합성

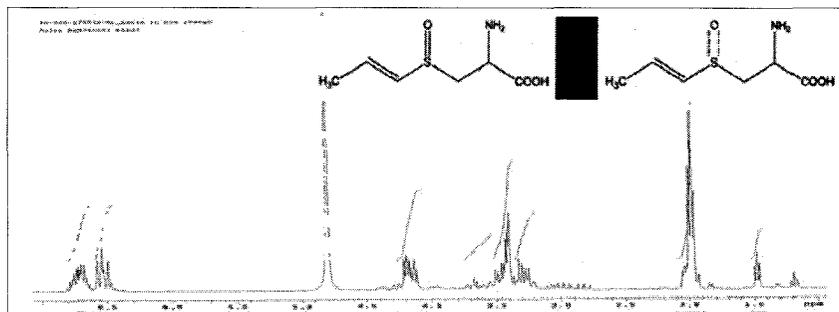
양파 내의 S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides 성분 분석을 위해서 최우선으로 실시한 standard 합성에서 백색 침상의 결정모양의 인공합성물질을 얻을 수 있었다 (Fig 5-9).



(a) MCSO



(b) PCSO



(c) PrenCSO

Fig. 5-8. NMR spectra synthesised of ACSOs standard

2) 유도체화 유·무에 따른 분리

각각의 MCSO(*S*-methyl-L-cystein sulfoxide)와 PrenCSO (1-*S*-Propenyl-L-cystein sulfoxide), PCSO(*S*-propyl-L-cystein sulfoxide)을 혼합하여 만든 standard를 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. standard를 유도체화 하지 않을 경우 3분 전후로 peak가 검출됨으로써 각 성분의 분획분리가 불가능하였다(a). 따라서 Krest 등(2000)의 방법을 응용하여 유도체화 과정을 거친 후 분석실험을 실시한 결과 Fig. 5-3(b)와 같이 분획 분리가 가능하였다.

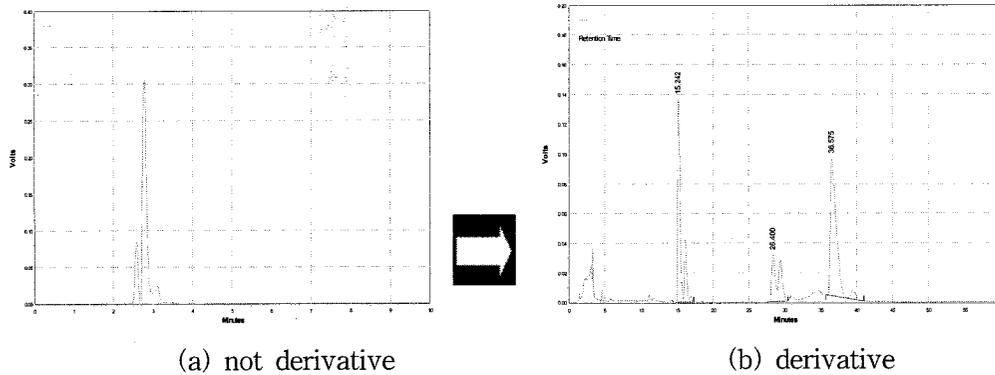


Fig. 3. HPLC chromatogram of standard(0.5mg/ml)

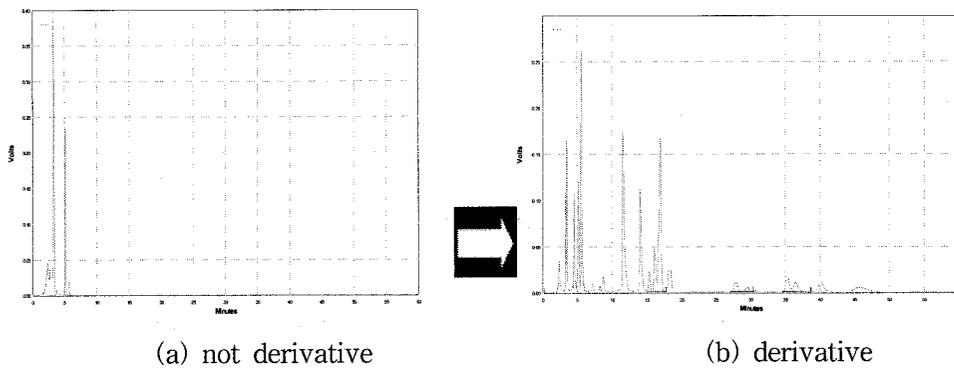
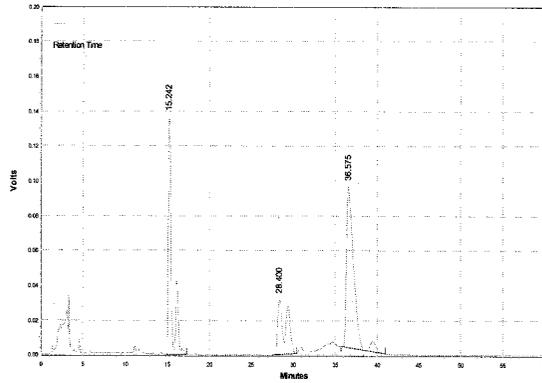


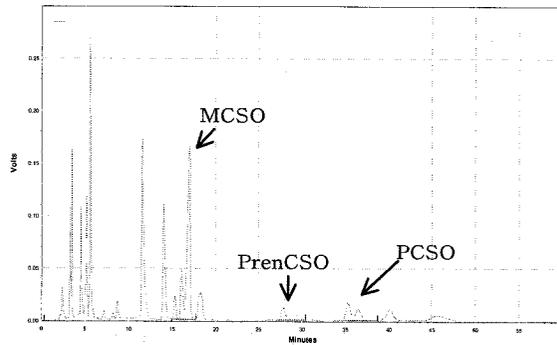
Fig. 5-9. HPLC chromatogram in extracts of onion tissue.

3) ACSOs 성분 peak의 분리

양파 구근 내의 ACSOs 성분 분획 분리를 위해 standard 혼합물을 HPLC로 분석한 결과 MCSO(*S*-methyl-L-cystein sulfoxide)는 15.2분으로 가장 먼저 검출되었고 다음으로 PrenCSO(1-*S*-Propenyl-L-cystein sulfoxide)는 28.4분, PCSO(*S*-propyl-L-cystein sulfoxide)는 36.6분에 검출되었다 (Fig. 5-10(a)).



(a) standard



(b) onion extract

Fig. 5-10. HPLC chromatogram of standard and onion extract.

양파에서 ACSOs 성분을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 5-4(b)와 같다. Fig. 5-4(a)에
 서 나온 결과에 비추어 볼 때 두 품종 모두에서 MCSO, PrenCSO와 PCSO 성분이 차
 례로 검출되었다. 우선 추파양파 터보의 ACSOs 성분을 조사한 결과 MCSO 함량은
 0.158 mg, PrenCSO는 0.352 mg, PCSO는 0.033 mg으로 PrenCSO 성분이 MCSO와
 PCSO 성분에 비해 높게 나타났다. 또한 춘파양파 울프에서도 MCSO는 0.135 mg,
 PrenCSO는 0.325 mg, PCSO는 0.035 mg으로 터보 양파에서 분리된 성분과 마찬가지로
 의 결과를 나타내었다. 두 품종간의 ACSOs 성분 비교 차는 없는 것으로 나타났다.

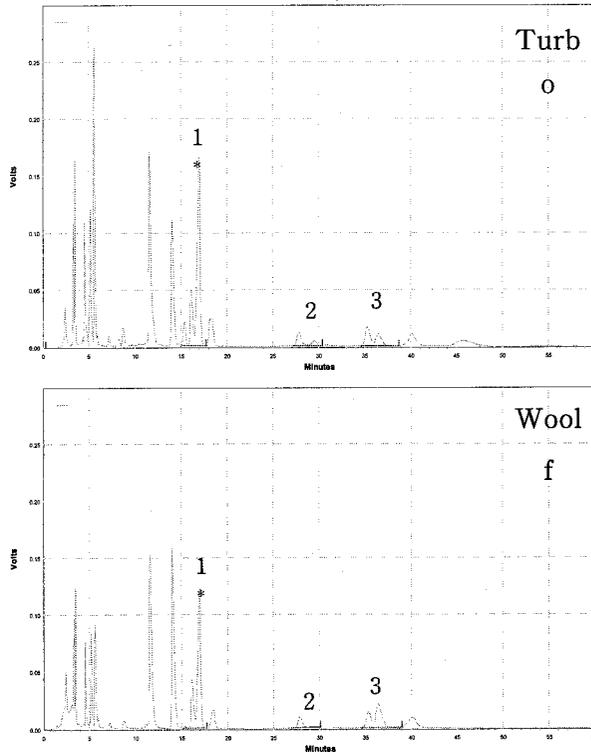


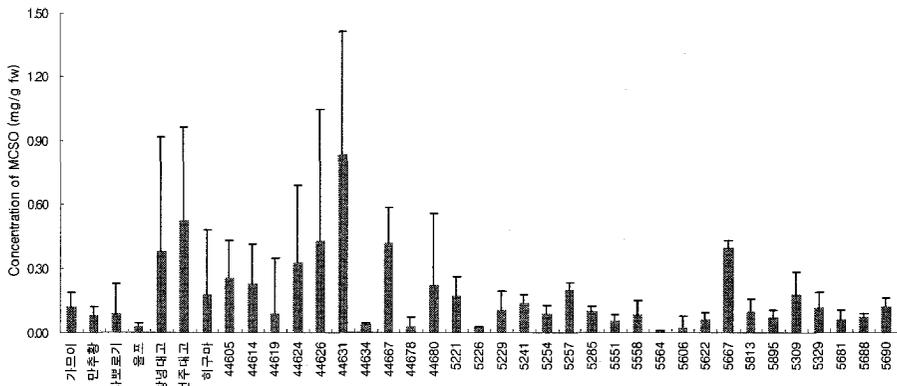
Fig. 5-11. HPLC chromatogram of Turbo(upper) and Woolf(bottom).

* 1: MCSO(methyl-cystein sulfoxide), 2: PrenCSO(1-propenyl-cysteine sulfoxide),
3: PCSO(propyl-cysteine sulfoxide).

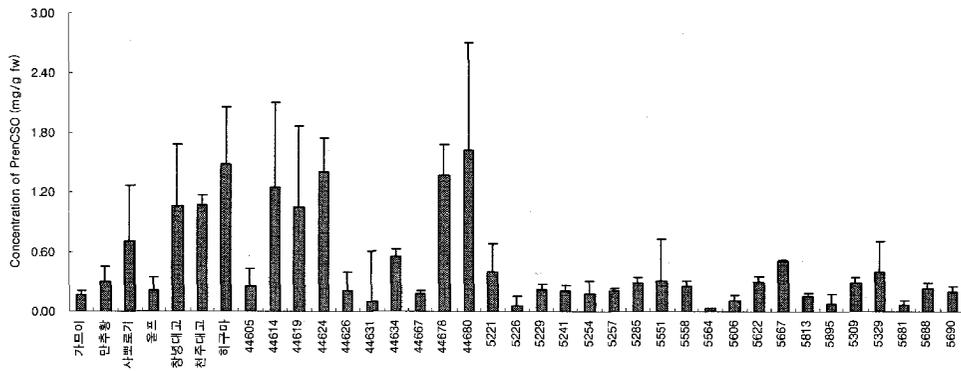
<시험2> 양파의 품종 및 계통간 황화합물의 정량 분석과 항산화 활성 조사
가. 양파의 품종 및 계통별 ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분 함량 비교
주관기관으로부터 수집한 양파시료를 품종 및 계통별로 ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분 비교·분석한 결과 양파에서의 주요 황화합물은 PrenCSO임을 알수 있었고, 품종 및 계통별로 함량차이가 있음을 확인할 수 있었다.

ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분에서 각 성분별 처리간의 함량 차이를 살펴본 결과 우선 MCSO (methyl-cysteine sulfoxide)는 44631 계통이 0.83mg/g으로 다른 처리구에 비해 높은 함량을 나타내었다. PrenCSO(1-propenyl-cysteine sulfoxide) 성분은 44680 계통이 1.62mg/g으로 높았으며 PCSO(propyl-cysteine sulfoxide)의 경우 5667 계통이 1.92mg/g으로 다소 높은 함량을 나타내었다. 총

ACSOs(*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 함량을 비교한 결과 44680(일본도입구 slelfing-22), 44624(가무이 F3), 5667(W202/DK-1-1) 계통이 다른 계통에 비해 높은 황화합물 함량을 나타냈으며 서로간의 유의차는 없었다. 본 연구결과 중 MCSO (methyl-cysteine sulfoxide)와 PCSO(propyl-cysteine sulfoxide) 성분이 기존 연구결과에 비해 높은 함량을 나타냈는데 이는 재배지역, 재배환경, 분석방법의 차이가 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

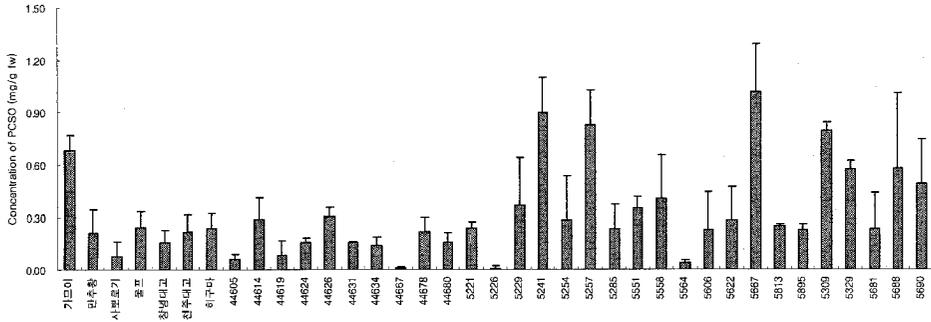


(a) MCSO

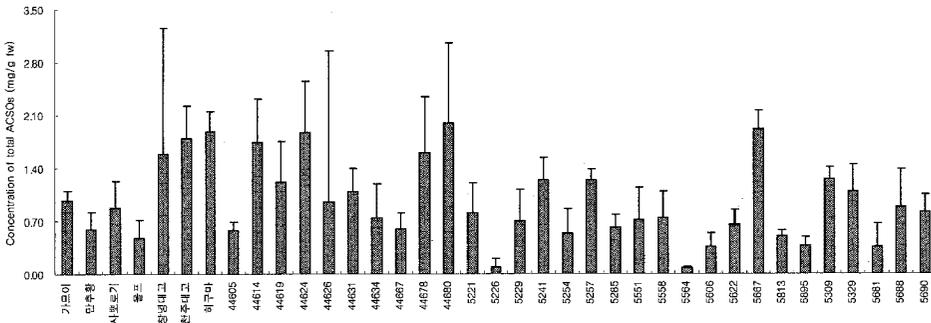


(b)

PrenCSO



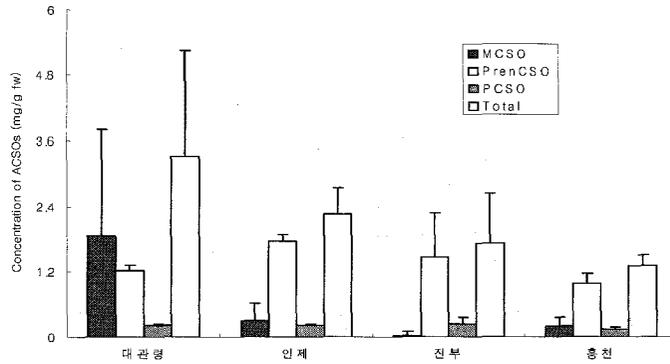
(c) PCSO



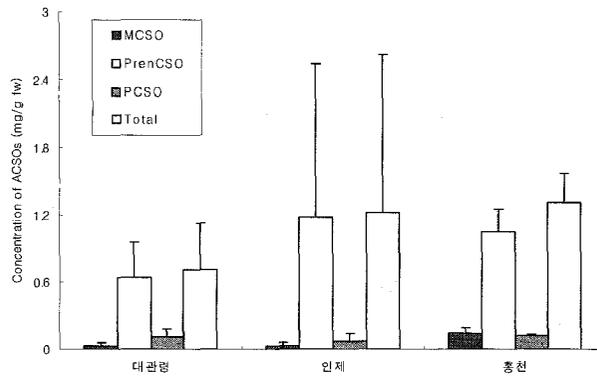
(d) Total ACSOs

Fig. 12. Comparative analysis of ACSOs content of cultivars and phenotypes
 나. 양파의 지역별 ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분 함량 비교

ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분을 지역별 함량 차이를 살펴본 결과 우선 히구마 품종의 경우 대관령에서 재배된 양파가 총 황화합물의 함량이 가장 높았으며, 홍천에서의 함량이 가장 낮았고 대관령의 1/2수준이었다 (Fig. 5-13(a)). 만추황/울프 품종은 홍천에서 재배된 양파의 황화합물이 가장 높게 나타났으며 인제에 재배된 처리구와는 유의차는 없는 것으로 보였다. 위와 같은 결과도 기존 결과와 마찬가지로 같은 품종이라 할지라도 재배환경에 따라서 ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분 차이가 나타났다 (Fig. 5-13(b)).



(a) 히구마



(b) 만추황/울프

Fig. 5-13. Comparative analysis of ACSOs content and cultivation areas of cultivars

다. DPPH 조건 확립

Fig. 5-14는 DPPH solution 농도에 따라 DPPH inhibition (%)을 살펴본 결과 DPPH 농도가 낮을수록 DPPH activity가 높게 나타났다. Figure 14에서 16까지 사용된 시료는 garlic acid 1 mg/ml을 사용하였다. 본 실험의 DPPH solution 농도는 0.1 mM 농도로 사용하기로 결정하였다.

Fig. 5-15는 시료 농도에 따른 DPPH inhibition (%)을 나타낸 결과이다. 시료 농도가 증가할수록 DPPH activity가 높게 나타났으며 100 ug/ml 농도부터는 일정하게 나타났다.

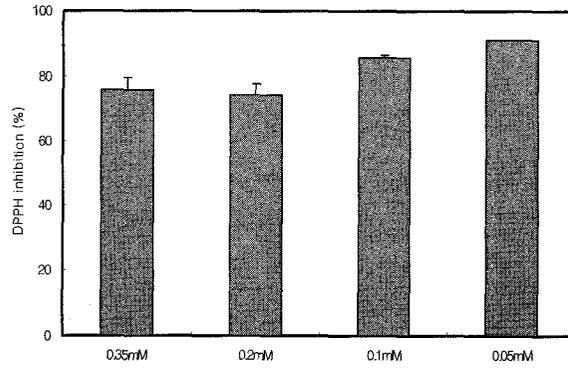


Fig. 5-14. DPPH inhibition by DPPH solution concentrations

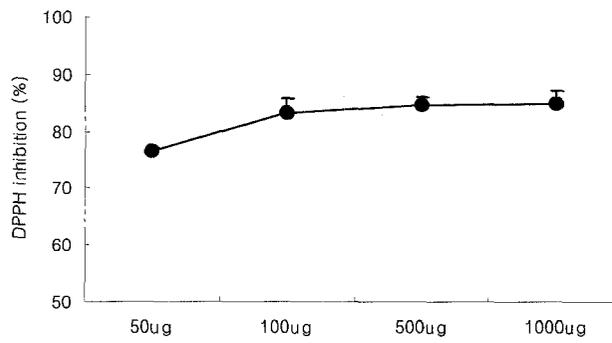


Fig. 5-15. DPPH inhibition(%) by sample concentrations

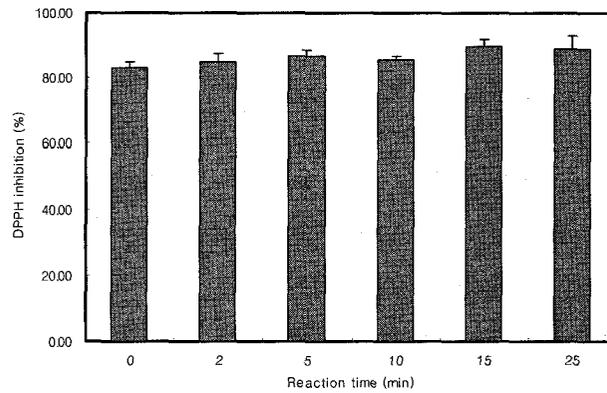


Fig. 5-16. DPPH inhibition by reaction time

Fig. 5-16은 반응 시간별로 DPPH inhibition (%)을 나타낸 결과이다. 0분에서 10분까지는 DPPH activity 차이가 없었으며 15분 이후에는 다소 높게 나타났다.

Fig. 5-17은 추출한 양파 샘플을 농축해 농도별로 처리한 후 항산화 능력을 IC50으로 표현한 결과이다. 양파의 항산화 능력은 매우 낮게 나타났고 조사 품종 및 계통 중 IC50이 가장 낮게 나타난 것은 5558, 5688이었으며 가장 높은 수치는 5221와 5895 계통이었다. 본 결과는 추출방법에 있어서 극성 분획물만을 사용했기 때문이라 사료된다.

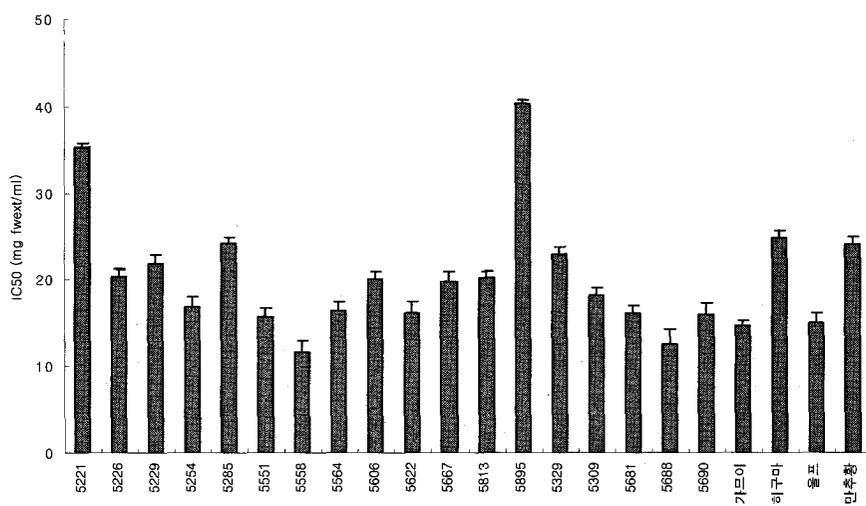


Fig. 17. Scavenging capacity of onion extracts expressed as IC50

<시험3> 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 조사

가. 저장성 관련 탄수화물의 HPLC 분석 조건 확립 및 정량적 분석

고랭지 양파의 품종 및 계통별로 저장 6개월 후 가용성당을 조사한 결과 환원당인 glucose와 fructose였으며 각각 이 두성분의 평균은 14.09mg/gFW과 14.43mg/gFW으로 비슷한 함량을 나타내었으며 sucrose는 4.89mg/gFW으로 낮은 함량을 나타내었다 (Fig. 5-18, Table 5-4). 이 결과를 통해 저장중 양파의 가용성당은 sucrose가 가장 많이 감소됨을 알 수 있었다. 품종 및 육성계통간 함량차이는 컸으며 이중 가쓰이, 5551(amposta, 고정계통), 5895(HDH-3, 고정계통), 만추황 양파가 가용성 당함량이 비교적 높게 나타났으며 5221(만추황/일본도입구stelfing-4, F1), 5681(대구성x만추황, F2) 양파는 18.37mg/gFW과 18.09mg/gFW로 다른 품종 및 계통에 비해 현저히 낮은 함량을 나타내었다.

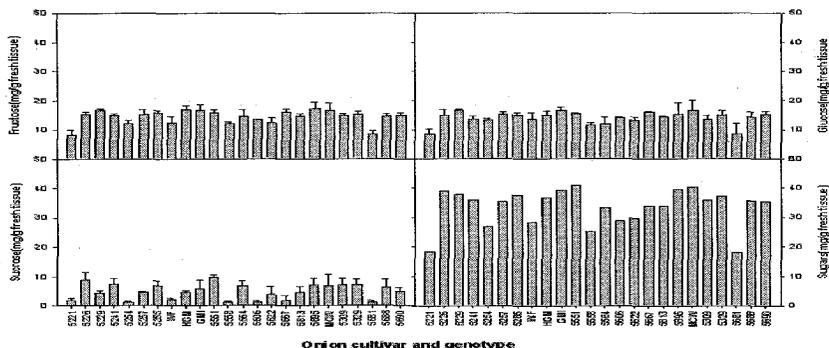


Fig. 5-18. Comparative analysis of soluble sugar content of cultivar and phenotypes

Table 5-4. Soluble sugar content of from different cultivar and phenotypes

Cultivar	Content of Soluble sugar in onion tissue (mg/g fw)			
	Fructose	Glucose	Sucrose	Sugar
울프	12.55±2.17	13.46±2.49	2.08±0.60	28.09
히구마	16.93±1.35	15.03±1.29	4.73±0.60	36.69
가무이	16.70±1.93	16.67±1.12	5.85±3.03	39.22
만추황	16.68±2.66	16.71±3.27	6.98±3.78	40.37
만추황/일본도입구slelfing-4	8.15±1.66	8.49±1.66	1.73±0.97	18.37
W202A(2001-41)/중생대구	15.17±1.05	14.88±2.14	8.91±2.52	38.96
W205A/일본도입구slelfing-4	16.79±0.47	16.64±0.32	4.40±0.80	37.83
W404A/탑원F2	14.87±0.57	13.44±1.20	7.50±1.87	35.81
NY36-4A/월륜	12.17±1.26	13.26±0.58	1.22±0.23	26.65
NY36-4A/울프F3	15.36±1.49	15.18±1.08	4.62±0.38	35.16
W205A/창녕대고	15.93±0.76	14.92±0.85	6.78±1.82	37.63
amposta	15.79±1.12	15.65±0.17	9.60±1.03	41.04
red beauty	12.21±0.41	11.72±0.81	1.17±0.38	25.10
Rumba	14.64±2.48	12.00±2.34	6.77±1.86	33.41
H/97-1-1-5	13.62±0.09	14.12±0.22	1.12±0.74	28.86
K/H-3-0-0	12.48±1.61	13.42±0.92	3.71±2.99	29.61
W202/DK-1-1	16.17±1.00	16.00±0.40	1.80±1.78	33.97
Brahma-0	14.69±0.94	14.32±0.27	4.73±1.77	33.74
HDH-3	17.14±2.29	15.14±4.05	7.12±2.33	39.40
W205B/44166Bx2002-210B	15.00±0.67	13.64±1.21	7.08±2.38	35.72
2002-213Bx(W202B/W404B)	15.15±1.39	15.04±1.59	7.18±2.10	37.37
대구성x만추황	8.40±1.30	8.54±3.50	1.15±0.74	18.09
W404A/월륜 X 97/K-6-0	14.69±0.77	14.58±1.49	6.35±2.80	35.62
대관/울프	15.11±0.88	15.27±1.26	4.85±1.52	35.23

나. 고랭지 양파의 품종 및 계통별 Pyruvic acid 함량 비교

고랭지 양파 품종 및 계통별 pyruvic acid 함량은 평균 4.53mM/gFW 정도였으며 이중 5226(W202A(2001-41)/중생대구, F1), 5690(대관/울프, F2), 5241(W404A/탑원F2, F1) 계통이 높은 함량을 나타냈으며 5564(Rumba, 고정계통), 5606(H/97-1-1-5, 고정계통) 양파는 2.80mM/gFW으로 가장 낮은 함량을 나타내었다(Fig. 5-19).

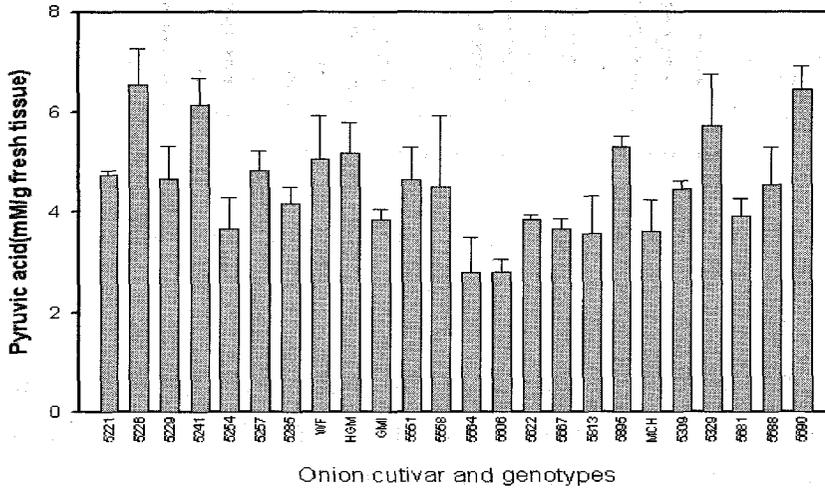


Fig. 5-19. Comparative analysis of pyruvic acid content of cultivars and phenotypes

다. 고랭지 양파 품종 및 계통별 멩아울 및 부패율 비교

고랭지 양파의 멩아 발생은 5226(W202A(2001-41)/중생대구, F1), 5229(W205A/일본도입구selfing-4, F1), 5254(NY36-4A/월륜, F1), 5257(NY36-4A/울프F3, F1), 5667(NY36-4A/울프F3, 고정계통), 5329(W205B/44166Bx2002-210B, F1(3 way), 분리되고 있는 계통임) 계통에서는 전혀 나타나지 않았고 5551(amposta, 고정계통), 5564(Rumba, 고정계통), 5606(H/97-1-1-5, 고정계통), 5895(HDH-3, 고정계통)에서는 각각 90.3%, 70.8%, 65%, 58%로 높은 멩아 발생율을 보였다. 부패율은 52577(NY36-4A/울프F3, F1), 5285(W205A/창녕대고, F1), 5895(HDH-3, 고정계통), 5690(대관/울프)은 전혀 발생하지 않았으며 울프, 히구마, 5254(NY36-4A/월륜, F1), 5606(H/97-1-1-5, 고정계통), 5813(Brahma-0, 고정계통), 5681(대구성x만추황, F2)은 25~30%정도의 부패율을 나타내었다.

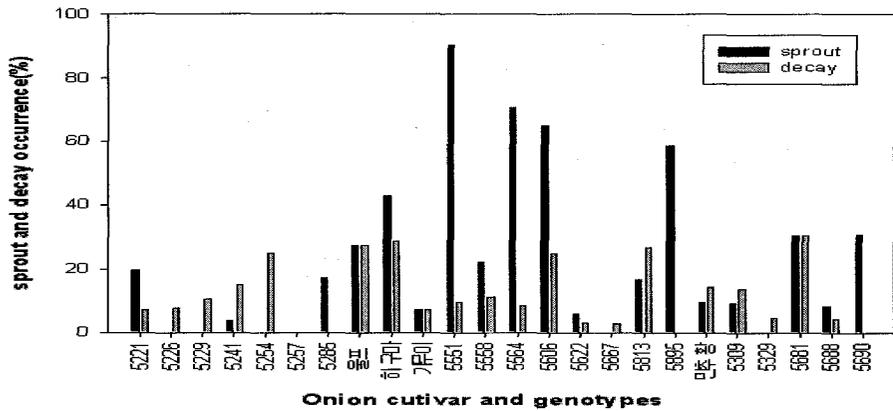


Fig. 5-20. Comparative analysis of sprout and decay rate of cultivars and phenotypes

고랭지 양파의 계통 및 품종별 pyruvic acid 함량과 ACSOs의 상관계수는 $r=0.3151$ 으로 약하게 나타났으며(Fig. 5-21), ACSOs와 항산화 활성정도의 상관계수는 $r=0.0082$ 로 상관관계가 매우 낮게 나타났다 (Fig. 5-22).

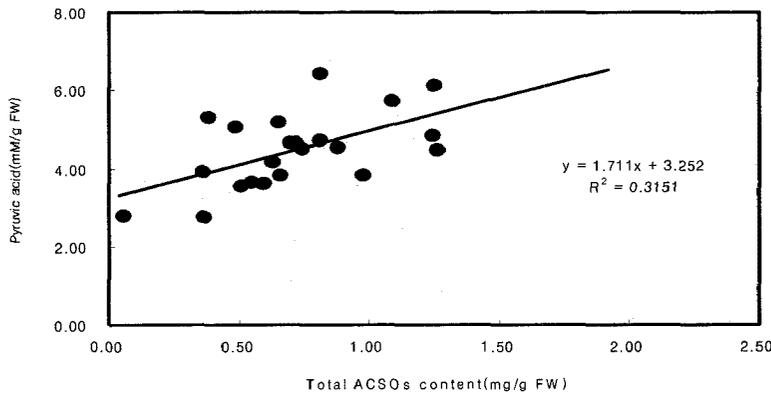


Fig. 5-21. Correlation between pyruvic acid and total ACSOs in onion

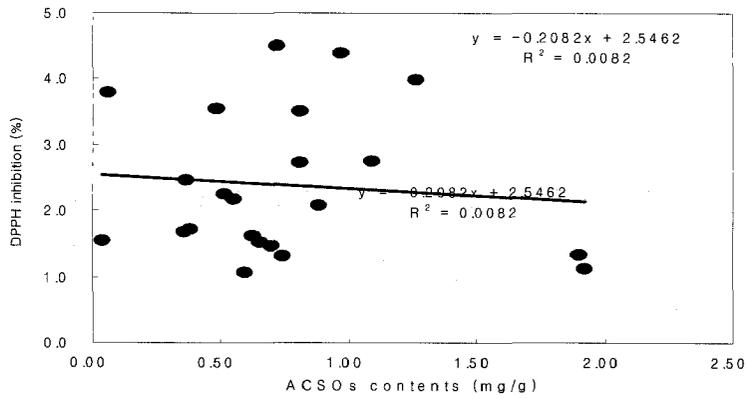


Fig. 5-22. Correlation between antioxidant activity and total ACSOs in onion

고랭지 양파의 계통 및 품종별 가용성 당 함량과 부패율과의 상관계수는 $r=0.2802$ 로 상관계수가 약하게 나타났다(Fig. 5-23).

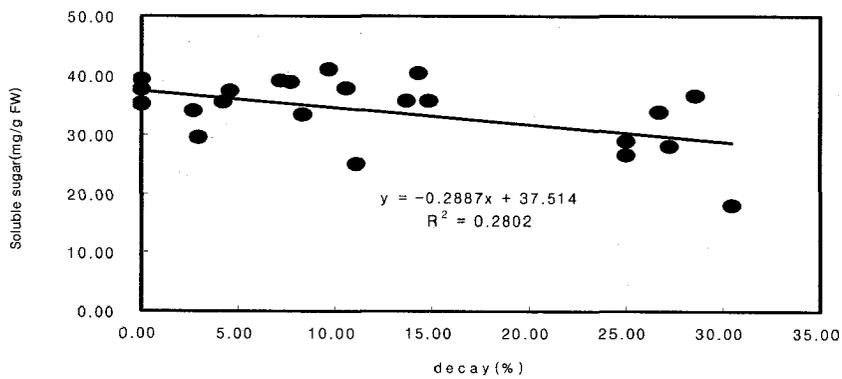


Fig. 5-23. Correlation between soluble sugar and decay in onion

4. 종합결과

양과의 thiosulfinates의 전구물질인 S-alk(en)yl-L-cystein sulfoxides(ACSOs)의 정량분석을 위하여 본 실험에서 실시한 HPLC분석법은 standard 표준물질을 필요로 하지만 매우 민감하고 불안정하여 상업적으로 존재하지 않기 때문에 인공합성을 통한 표준물질을 만들어 사용하였으며 NMR(핵자기공명)과 HPLC(고속액체크로마토그래피)을 통하여 성분을 확인하였으며, MCSO(S-methyl-L-cystein sulfoxide)와 PrenCSO(1-S-Propenyl-L-cystein sulfoxide), PCSO(S-propyl-L-cystein sulfoxide)의 수율은 각각 23, 18, 23%의 흰색 고체를 획득하였다. 각각의 standard를 HPLC로 분석할 경우 분획분리가 불가능하였으나 유도체화 과정을 거친 후 분석이 가능하였으며 MCSO, PrenCSO와 PCSO 성분이 차례로 검출되었다.

ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분에서 각 성분별 처리간의 함량 차이를 살펴본 결과 우선 MCSO (methyl-cysteine sulfoxide)는 울프 F3 계통이 0.83mg/g으로 다른 처리구에 비해 높은 함량을 나타내었다. PrenCSO(1-propenyl-cysteine sulfoxide) 성분은 일본도입구slselfing-22계통이 1.62mg/g으로 높았으며 PCSO(propyl-cysteine sulfoxide)의 경우 W202/DK-1-1 계통이 1.92mg/g으로 다소 높은 함량을 나타내었다. 총 ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 함량을 비교한 결과 44680(일본도입구 slselfing-22), 44624(가무이 F3), 5667(W202/DK-1-1) 계통이 다른 계통에 비해 높은 황화합물 함량을 나타냈으며 계통간의 유의차는 없었다. ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분을 지역별 함량 차이를 살펴본 결과 우선 히구마 품종의 경우 대관령에서 재배된 양파가 총 황화합물의 함량이 가장 높았으며, 홍천에서의 함량이 가장 낮았다. 만추황/울프 품종은 홍천에서 재배된 양파의 황화합물이 가장 높게 나타났으며 인제에 재배된 처리구와는 유의차는 없는 것으로 보였다. 위와 같은 결과도 기존 결과와 마찬가지로 같은 품종이라 할지라도 재배환경이나 조건에 따라서 ACSOs(S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides) 성분 차이가 나타나는 것으로 보인다.

MCW(methanol:Chloroform:Water)로 추출한 양파의 항산화 능력은 매우 낮게 나타났고 조사 품종 및 계통 중 IC50이 가장 낮게 나타난 것은 red beauty, W404A/월륜 X 97/K-6-0이었으며 가장 높은 수치는 F1(만추황/일본도입구slselfing-4) 와 육성 계통 HDH-3 였다. 본 결과는 추출방법에 있어서 극성 분획물만을 추출해서 사용했기 때문이라 사료된다.

고랭지 양파의 품종 및 계통별로 가용성당의 함량차이는 컸으며 이중 가무이(근1, 시판종), 5551(amposta, 고정계통), 5895(HDH-3, 고정계통), 만추황 양파가 가용성 당 함량이 비교적 높게 나타났으며 5221(만추황/일본도입구selfing-4, F1), 5681(대구성x 만추황, F2) 양파는 다른 품종 및 계통에 비해 현저히 낮은 함량을 나타내었다.

고랭지 양파 품종 및 계통별 pyruvic acid 함량은 5226(W202A(2001-41)/중생대구, F1), 5690(대관/울프, F2), 5241(W404A/탑원F2, F1) 계통이 높은 함량을 나타냈으며 5564(Rumba, 고정계통), 5606(H/97-1-1-5, 고정계통) 양파는 2.80mM/gFW으로 가장 낮은 함량을 나타내었다.

마지막으로 고랭지 양파의 계통 및 품종별 pyruvic acid와 ACSOs 함량, ACSOs과 항산화 활성정도의 상관관계는 낮게 나타났으며 가용성 당 함량과 부패율과의 상관계수는 $r=0.2802$ 로 상관관계가 약하게 나타났다.

제4장 목표달성도 및 관련분야에서의 기여도

제1절 목표달성도

1. 고랭지양파 우량 응성불임계통 육성

고랭지 환경에 적응하는 우수한 응성불임계통을 육성하기 위하여 응성불임 계통을 육성하기 위하여 B/C 조합의 후대에서 임성을 확인하여 응성불임 계통을 육성하고, B/B 및 B/C의 교배조합을 통하여 새로운 응성불임 계통을 육성하였다. 응성불임 유지친으로 확인된 AM 계통 22계통의 A, B line을 육성하였고 이는 종묘회사 및 연구기관에 분양이 가능하고 품질친과의 교배를 통하여 우수한 F₁ 품종 육성재료로 사용이 가능하다. 다양한 응성불임친을 육성하기 위하여 표지인자를 통하여 세포질이 N으로 확인된 개체 및 계통에 대하여 우수한 품질친을 교배하여(B/C) 및 B/B를 통하여 새로운 응성불임 계통을 육성하고자 시도하였고, 이와 같은 방법으로 숙기 및 구형 등 다른 여러 가지 계통의 응성불임 유지친 계통을 육성하여 급후 세대진전을 통하여 고정한 다음 F₁ 품종육성의 재료로 사용할 것이다.

2. F₁ 조합능력 성능검정

고랭지양파 F₁ 품종을 육성하기 위하여 만추황 및 도입된 응성불임 계통을 이용하였고, 품질친으로 육성된 다양한 계통을 가지고 F₁ 성능검정을 실시하였다. 3년간 약 150조합을 작성하여 성능검정을 실시하였다. 성능검정은 숙기, 내병성, 수량 및 품질친등을 조사하였다. 성능검정 및 생산력 검정 2회에 걸쳐 검정한 우수한 조합 13계통을 지역적응성 시험에 공시하였다.

3. 고랭지양파 우량계통 지역적응 시험

F₁ 품종을 육성하기 위하여 조합성능검정 및 생산력 검정에서 우수한 조합은 다양한 고랭지 환경에 적응성을 알아보려고 실시하였다. 1년차에 6조합, 2년차에 2조합, 3년차에 5조합 등 총 13조합을 공시하여 '04년에는 4개 지역, '05~'06년에는 3개지역에서 실시하였다. 그 지역 및 해발을 보면 대관령(해발 800m), 진부(600m), 인제(500m), 홍천 내면(500m)이다. 3년간 13계통을 공시하여 시험한 결과 고시 가-1호가

수량 및 저장성에 있어서 기존의 히구마보다 우수하여 '대관황'으로 품종등록을 출원하였다.

4. 생명공학기법을 이용한 옹성불임 관련 DNA 표지인자 개발 및 실용화연구

본 연구는 양파의 옹성불임을 조절하는 것으로 알려진 세포질 옹성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자를 실제 육종에 이용하기 위한 실용화 연구, 그리고 옹성불임 인자를 회복시키는 핵내 옹성불임회복 유전자와 연관된 DNA표지인자의 개발로 구성되어 있다. 또한 DNA 표지인자를 이용해서 옹성불임친을 유지할 수 있는 유지친의 조기육성과 핵내 옹성불임회복 유전자형별 집단을 육성하고자 하였다.

먼저 세포질 옹성불임 인자와 연관된 DNA 표지인자 실용화 연구에서는 실시간 유전자 증폭기술을 이용한 high through-put 기술 개발 하고 다양한 계통의 세포질 옹성불임인자를 동시에 판별하기 위한 multiplex PCR-RFLP 및 Real-time PCR의 검출 한계 설정하였다. 세포질 옹성불임인자를 이용한 유지친 육성을 위해 우수 고정계통 내의 N- 세포질 선발 및 A line 이용한 임성확인용 교배조합 작성하고 후대 유전분석을 실시하였다. 둘째 핵내 옹성불임회복 유전자와 연관된 DNA표지인자의 개발하기 위해 핵내 옹성불임 유전자형 확인 및 DNA표지인자 개발 용 집단육성과 옹성불임회복 유전자 연관 SSR(simple sequence repeats) 표지인자 개발을 실시하였다.

5. 고랭지 양파의 품종 및 계통간 저장성 및 기능성 비교

고랭지 양파의 고기능성 성분(황화합물(ACSOs) 비교분석하기 위하여 황화합물의 추출 및 분석조건 확립하였으며 품종 및 계통간 황화합물의 정성 및 정량분석하였다. 저장성이 좋은 고랭지 양파의 저장성 관련 하여 양파성분 조성파 저장성과의 상관관계 구명하고 저장기간 중 생리적 특성을 연구하였다. 고랭지양파 저장성이 기능성이 우수한 계통 선발효율을 높이기 위하여 기능성 및 저장성 평가기법 개발하였으며 외관 특성 및 간단한 분석에 의해 기능성 및 저장성 평가기법 개발하였다.

제2절 관련분야의 기여도

1. 고랭지 양파 품종육성

본 과제를 수행함에 있어 고랭지양파 품종육성을 위하여 우수한 많은 계통을 육성하였으며 특히 ‘대관황’을 육성하여 품종출원 하였다. 이 품종은 종자증식을 하여 2009년 농가에 보급할 예정이다.

2. 응성불임 계통 유지친 육성으로 F₁ 품종육성 기반 마련

국내에서 장일형 양파는 F₁ 품종육성이 거의 전무한 실정이나 본 과제에서 응성불임계통을 육성함으로써 F₁ 육종을 할 수 있는 기반이 조성되었다. 응성불임계통으로 육성된 만추황 ms 및 AM 22계통은 종묘회사에 분양하거나 또 다른 계통을 육성하는 재료로 사용될 수 있다.

3. 생명공학 기법을 이용한 응성불임 연관 표지인자 개발

응성불임계통을 육종하는데 있어 세포질 및 핵내 연관 표지인자를 개발함으로써 응성불임 유지친을 육성하는데 시간, 노력 및 경비를 획기적으로 절감할 수 있다. 지금까지는 임성확인을 위해 모든 개체와 교배를 하였지만 표지 인자를 개발함으로써 세포질이 N 개체만 불임개체에 교배하여 후대의 임성만 확인하면 되므로 육성 기간도 단축하였다

4. 고랭지양파의 저장성 및 기능성 분석

본 연구를 통하여 현재까지 양파의 육종은 다수확 및 내병성 육성 방향으로 수행되어 왔고 최근에는 맛이나 저장성 등의 내부 품질특성에 대한 개선에 육성노력을 기울이고 있지만 국내 농업 경쟁력의 제고를 위해서는 기능성 농산물의 생산과 공급을 위한 기술개발에 노력을 집중하리라 판단된다. 따라서 본 과제를 통해 양파의 기능성이란 새로운 양파 육성 목표를 설정하여 신품종을 개발할 수 있는 기초성과를 제공하는데 기여할 것으로 보인다.

한편 기존에 ACSOs 물질을 측정하기 위해 여러 가지 직접 혹은 간접 방법을 시도 하였으나 본 연구팀의 HPLC 분석조건 기술을 확립함으로써 직접적인 ACSOs 정량평가를 가능하게 되었다.

제5장 연구개발 결과의 활용계획

본 연구는 국내 장일형 양과인 고랭지 춘과양과의 품종육성을 위한 응성불임계통 육성, 품질친 육성, F1 조합성능검정, 응성불임연관 표지인자 개발 및 육성계통에 대한 저장성 및 기능성 성분을 분석함으로써 금후 품종육성 및 보급과 육종효율을 높이는 데 그 목적이 있다. 관련 시험을 통한 결과는 다음과 같이 활용하고자 한다.

첫째 품종등록을 신청한 F1 품종인 ‘대관황’은 품종등록이 완료되면 종묘회사에 분양을 할 예정이다. 2006년 지적 2년차 및 1년차인 계통은 2007년 이후 지적시험을 계속하여 우수한 조합은 품종등록 할 예정이다. 응성불임성 계통 A, B 계통은 2007년 포장 특성검정 및 평가회를 실시하여 종묘회사 및 연구기관에 분양할 예정이다. 또한 세대진전 및 임성을 확인하고 있는 조합에 대해서는 연차적으로 특성평가를 계속하고 차후에 우수한 계통은 분양할 예정이다. 이들 조합 및 계통은 고랭지양과 품종육성에 있어서 우수한 재료로 사용 될 것으로 생각된다.

응성불임연관 표지인자를 개발하였고, 실시간 유전자 증폭기술을 활용한 세포질 응성불임 인자 신속 간이 진단 기술은 기술이전 요청이 있을 경우 (2005년 농촌진흥청 기술이전 자료) 기술을 전수 할 계획이다. 개발된 양과의 세포질 응성불임인자의 판별기술(CMS-S, CMS-N, CMS-T)은 보유 계통에 대한 응성불임 형태를 조기에 판별할 계획이다. 핵내 세포질 응성불임인자 판별용 집단은 금후 응성불임회복 유전자 개발을 위한 육성 재료로 이용 가능할 것이고, 이 방법을 사용할 경우 응성불임계통 육성 할 경우 시간, 노력 및 경비를 절감할 수 있다.

양과 품종 선발 및 육성을 위한 기초자료로서 활용할 계획이며 또한 국내에서 육성되는 양과 품종들 간의 ACSOs 성분 함량 비교와 동물실험의 심혈관 기능 개선 효과를 검증 할 예정이다.

둘째 이 과제를 수행하면서 연구 결과를 가지고 박사학위 1명의 학위논문의 주요부분을 차지하였으며 원예학회, 육종학회 등에 5편의 논문을 발표하였고, SCI 논문 1편 및 KSCI 논문 1편 총 2편을 국내외 학술지에 게재하였다. 금후에도 국내 및 국제학회에 3건을 추가로 발표 및 게재 할 예정이다. 아울러 고랭지양과의 우수성과 ‘대관황’ 품종육성에 대해 TV 및 신문에 수회에 걸쳐 홍보를 하였다.

이와 같은 결과를 종합해 볼 때 고랭지에 적응하는 우수 응성불임 계통 육성, F1 품종개발, 응성불임 연관 표지인자를 개발하여 육종효율을 향상시켰으며, 고랭지양과

의 저장성 및 기능성을 분석하여 우수성을 입증하였다. 금후에는 육성된 옹성불임 계통을 이용하여 더 많은 교배조합을 작성하고, 이 계통들을 이용하여 우수한 F₁ 품종을 육성할 예정이다. 현재 고랭지양과 재배면적이 점차 감소하고 있는 이유는 고랭지에 적응하는 우수한 장일형 품종이 절대적으로 부족하기 때문이다. 또한 우수한 품종을 개발할 경우 국내의 수입대체 효과는 물론 중국 등으로 종자수출도 가능할 것으로 생각된다. 국내 양과 품종 기반 육성 및 품종육성과 관련된 생명공학기술의 개발로 육종효율 증진에 긍정적인 결과를 가져 올 것으로 생각되어 앞으로 장일형 기능성 양과 및 수출용 양과 품종을 위하여 3-5년간 연구비의 추가지원이 가능했으면 한다.

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

1. 응성불임계통 육성체계 확립

외국에서는 이미 오래전부터 응성불임계통 육성을 하였기 때문에 이에 대한 기술이 축적되어 있어 효율적인 응성불임 육성체계에 대한 기술을 도입하였다. 미국 및 호주를 방문하여 선진기관의 선발기법등을 습득하였다.

2. 응성불임 연관 표지인자를 개발하여 응성불임 유지친 육성시 세포질의 N, S type를 구별할 수 있는 DNA 표지인자 개발기술을 도입하여 자체적으로 세포질 응성불임 유전자 연관 표지인자를 개발하여 기술이전 및 실용화 하고 있다.

3. 응성불임 및 계통 육성을 위하여 외국으로부터 유전자원을 다수 도입하여 새로운 응성불임친 및 계통 육성의 재료로 사용하고 있다.

4. 육종선발을 효율적으로 실시하기 위한 pyruvic acid, 당도 등을 신속간이 측정할 수 있는 기술을 미국 Texas A&M 대학 유길선 교수로부터 도입하였다.

제 7 장 참고문헌

<제1절, 제2절, 제3절 : 고랭지양파 우량품종 육성 분야>

Abe, S. H. Katsumata and H. Nagayoshi. 1955. Studies on the photoperiodic requirement for bulb formation of japanese varieties of onion, with special reference to their ecological differentiation. J. Jan. Soc. Hort. Sci. 24(1):6-16

Austin, R. B. 1963. Yield of onions from seed as affected by place and method of seed production. J. Horticultural Sci. 38:277-285

Austin, R. B. 1971. Bulb formation in onions as affected by photoperiod and spectral quality of light. J. Hort. Sci. 47:493

阿部定夫. 1948. 玉葱の採種立地條件. 農業及園藝 23(1): 81-84

Bierhuizen, J. F. and W. A. Wagenvoort. 1974. Some aspects of seed germination in vegetables. I. The determination and application of heat and minimum temperature for germination. Sci. Hortic. 2:213

Braden, J. M., and M. J. Hevay. 1995. Randomly amplified polymorphic DNA in bulb onion and its use to assess inbred integrity. J. Amer. Hort. Sci. 120(5):752-758

Campion, B. and M.T. Azzimonti. 1988. Evolution of ploidy level in haploid plants of onion (*Allium cepa* L.) obtained through *in vitro* gynogenesis. In: 4th EUCARPIA Allium Symposium, Wellesbourne, UK, September 6-9, 1988, p. 85-89.

平尾陸郎. 1966. 高緯度寒冷地のタマネギ栽培とその問題點. 農業及園藝. 41(7): 1061-1065

Clarke A. E., H. A. Jones and T. M. Little. 1944. Inheritance of bulb color in the onion. Genetics 29:569

Dowker, B. D. Winarno and J. F. M. Fennell. 1981. Germanation studies on onion seed lots, Hortic. Res. 21: 41

遠藤政太郎. 1939. 葱頭の抽臺に就て. I. 播種期並に施肥期の影響. 1939. 日本園藝學雜誌. 10(1):398-404

江口庸雄, 加藤照孝. 1935. 葱頭の花粉の發芽試験に就て(豫報). 日本園藝學雜誌. 6(2):217-221

Ha I. J., J. K. Suh, H. J. Hwang, W. I. Kim and B. S. Kim. 1998. Effect of sowing date and seedling age at planting on growth and yield for growing plug seedling in onion(*Allium cepa* L.). RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 40(2):90-97

Hahn, G. P. and S. K. Choi. 1987. Effect of planting time on the advanced production of onion in the southern area of korea. RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 29(2):228-232

Harrington, J. E. 1962. The effect of temperature on the germination of several kinds of vegetable seeds. in XVth international Horticultural Congress. Vol. 2.

Heath, O.V.S. 1943. Studies in the physiological of the plant. II. Effects of daylength and temperature on the onion grown from sets, and general discussion. Ann. Appl. Biol. 30:308

Hwang, H. J., J. K. Suh, I. J. Ha and Y. W. Ryu. 1998. Effect of pollinating insects on seed yield in seed production of onion(*Allium cepa* L.). RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 40(2):27-30.

石黒嘉門, 草光平三. 1941. 雨除けの方法が葱頭の採種量に及ぼす影響. 農業及園藝. 16(6) : 1085-1090

Iwama, S. and N. Hamashima. 1953. Ecological studies of vegetable at the regions of different of altitudes. 5. Ecological behaviors of onion under varying daylength and temperature conditions. J. Jan. Soc. Hort. Sci. 22(2):96-99

Jones, H. W. 1929. Spacing time of planting and size of seeding studies wit California Early Red onion. Proc. Ame. Soc. Hort. Sci. 26:114-118

Jones, H, A and C. E. Peterson. 1952. Complementary factors for light-red bulb color in onions. Proc. Ame. Soc. Hort. Sci. 59:457

Jones, H, A and S. L. Emsweller. 1936. A male sterile onion. Proc. Amr. Soc. Hort. Sci. 47:33-34

Kato. T. 1963. Physiological studies on the bulbing and dormancy of onion plant. I. The process of bulb formation and development. J. Jan. Soc. Hort. Sci. 32(3):229-237

Kato. T. 1963. Physiological studies on the bulbing and dormancy of onion plant. II. Histological observations on the bulb formation and development. J. Jan. Soc. Hort. Sci. 32(4):303-310

Kato. T. 1964. Physiological studies on the bulbing and dormancy of onion plant. III. Effects of external factors on the bulb formation and development. J. Jan. Soc. Hort. Sci. 33(1):53-61

Kotowski, F. 1927. Temperature relations to germination on vegetable seed. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 23:176

Kwon, B. S., E. T. Lee, D. H. Chung, H. J. Park and S. R. Lee. 1995. The effects of the planting time of mother bulb and mulching materials for the seed production. J. Oriental Bot. Res. 8(3):247-252

Lee, E T, D. H. Chung, B. S. Kwon, B. C. Jeong, J. J. Hwang and J. T. Lim. 1996. Varietal classification by multivariate analysis in onion(*Allium cepa* L.) J. Kor. Soc. Hort. Sci. 37(1): 37-41

Lee, E T, I. H. Choi, Y. B. Oh, J. K. Kim and B. S. Kwon. 1996. Cultivating and marketing status of onion in southwestern region of korea. RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 38(2):454-461

Lee, Y. S., K. S. Lee, K. Y. Han and J. S. Kang. 1981. Study on the spring growing of onion in the southern highland areas. RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 23:18-23

Luo, G., A.G. Hepburn, and J.M. Widholm. 1992. Extraction of restrictable DNA from plants of the genus *Nelumbo*. *Plant Mol. Biol. Reporter* 10:316-318

Magruder, R. and H. A. Allard. 1937. Bulb formation in some American and European varieties of onion as affected by length of day. *Proc, Amer. Soc. Hort. Sci.* 33:489-490

Mann, L. K and B. J. Hoyle. 1945. Use of the refractometer for selecting onion bulbs high in dry matter for breeding. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* :285292

McCollum, C. D. 1966. Heritability and genetic correlation of some onion bulb traits estimates from S1 offspring-on-parent regression. *J. heredity* 57:105-110

McCollum, C. D. 1968. Heritability and genetic correlation of soluble solids, bulb size and shape in white sweet spanish onion. *Can. J. Genet. Cytol.* 10:508

McCollum, C. D. 1971. Heritability of onion bulb shape and size estimates from half-sib families. *J. Heredity* 62:101-104

Nam, I. H., C. H. Song and J. I. Chang. 1971. Study on onion for spring culture; Selection of suitable onion varieties for spring culture and time of sowing on the yield of onion. *RDA. J. Agri. Sci.(Hort)* 13:47-56

Ogawa T. 1961. Studies on the seed production of onion. I. Effects of rainfall and humidity on the fruit setting. *J. Jan. Soc. Hort. Sci.* 30(3):222-231.

Pike, L. M. 1986. Breeding vegetable crops. pp357-394

Rabinowitch, H. D. 1990. Onions and Allied crops Vol. I. botany, physiology, and genetics.

Roy, S. 1989. Differentiation and anther culture of *Allium cepa*. In: Intl. Symp. Hort. Germplasm, Cultivated and Wild. Part II. Vegetables, 1988, p. 267-272. Acad. Publ., Beijing.

Steer, B. T. 1980. The bulbing response to day-length and temperature of some australasian cultivars of onion(*Allium cepa* L). Aust. J. Agric. Res. 31:511

Suh, J. K. and W. S. Lee. 1987. Effects of seeding and transplanting dates on bulbing of spring crop onion in low land. RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 29(2):208-214

Suh, J. K. and W. S. Lee. 1987. Effects of polyethylene-film mulching and tunnel on bulbing of onion, *Allium cepa* L. RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 29(2):215-227

Suh, J. K. and Y. B. Kim. 1996. Influence of sowing dates and seedling ages on growth and yield under mulching culture in onion(*Allium cepa* L.). RDA. J. Agri. Sci.(Hort) 38(1):633-639

Vandermeer, Q. P. and J. L. Vanbennekorn. 1971. Frequencies of genetical factors determining male sterility in onion(*Allium cepa* L.) and their significance for the breeding of hybrids. Euphytica 20:51-56

Vandermeer, Q. P. and J. L. Vanbennekorn. 1972. Influence of the environment on the percentage of self-fertilization in onions and some consequences for breeding. Euphytica 21:450-453

Whiteside W. F., J. S. Vandemark and A. A. Pirimger. 1975. Seeding date and supplemental light effects on onion growth. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 71:568-578

Yamaguchi M., K. N. Paulson, M. N. Kinsella and R. A. Bernhard. 1975. Effect of soil temperature on growth and quality on onion bulbs(*Allium cepa* L.) used for dehydration. J. Amer. Hort. Sci. 100(4):415-419

이우승. 1994a. 한국의 채소. 경북대학교 출판부. p. 381-392.

이우승. 1994b. 백합과채소재배기술. 경북대학교 출판부. p. 81-169.

지광현. 1975. 춘파양파 재배법 개선에 관한 시험. 고령지시험장 보고서 178-185

지광현. 1976. 춘파양파 적응품종 선발시험. 고령지시험장 보고서 217-228

- 지광현, 김삼보. 1985. 춘파양파 신품종 육성시험. 고령지시험장 보고서
- 지광현, 김삼보. 1986. 춘파양파 신품종 육성시험. 고령지시험장 보고서 165-177
- 지광현. 1983. 모계선발법에 의한 춘파양파 신품종 육성. 169-180
- 최유미, 김원배. 1998. 고랭지 양파 저장에 관한 연구. 고령지농업시험장 보고서
- 최상진. 1997. 식물조직배양학. 선진문화사. p. 465-498.
- 함봉주, 김경희, 이경국. 1998. 춘파양파 재배법 시험. 강원도농업기술원 보고서
- 한병희, 박영섭, 지광현, 이문웅. 1972. 춘파양파 품종 선발시험. 고령지시험장 보고서 153-158
- <제3절 : 생명공학 기법을 이용한 음성불임 연관 표지인자 개발>
- Akago H, Sakamoto M, Shinjyo C, Shimada H, Fujimura T. 1995. Genetic diagnosis of cytoplasmic male sterile cybrid plants of rice. *Theor Appl Genet* 90:948-951
- Alcala J, Pike L, Giovannoni J 1999. Identification of plastome variants useful for cytoplasmic selection and cultivar identification in onion. *J Am Soc Hort Sci* 124:122-127
- Berninger B 1965. Contribution a l'etude de la sterile-male de l'oignon(*Allium cepa* L.). *Ann Amelior Plant* 15:183-199
- Burger G, Gray WM, Franz Lang B 2003. Mitochondrial genomes: anything goes. *Trends in Genetics* 19,709-716
- Cho KS, Yang TJ, Kwon YS, Woo JG 2001. Development and application of SCAR markers related to cytoplasmic factor of male sterility in onion. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42(5):527-532
- Cho, K.S., Hong, S.Y., Kwon, Y.S., Woo, J.G., Moon, J.Y., Ryu, S.Y., and Park, H.G. (2005) Selection of maintainer line in open-pollinated onion using SCAR marker linked to cytoplasmic male sterile factor. *Korean. J. Breed.* 37,133-137

- Cho, Y., Mower, J.P., Qiu, Y.L., and Palmer, J.D. (2004) From the Cover: Mitochondrial substitution rates are extraordinarily elevated and variable in a genus of flowering plants. *Proc.Natl.Acad.Sci.*101,17741-17746
- de Courcel, A., Vedel, F., and Boussac, J. (1989) DNA polymorphism in *Allium cepa* cytoplasm and its implications concerning the origin of onions. *Theor. Appl. Genet.*77,793-798.
- Engelke T, Terefe D, Tatilglu T. 2003. A PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS-(T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.) *Theor Appl Genet* 107:162-167
- Frey, J.E., Muller-Scharer, H., Frey, B., and Frey, D. (1999) Complex relation between triazine-susceptible phenotype and genotype in the weed *Senecio vulgaris* may be caused by chloroplast DNA polymorphism. *Theor. Appl. Genet.*99,578-586.
- Gokce, A.F., J. McCallum, Y. Sato, and M.J. Havey. 2002. Molecular tagging fo the Ms locus in onion. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127:576-582
- Gokce, A.F., McCallum, J., Sato, Y., and Havey, M.J. (2002) Molecular tagging of the Ms locus in onion. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.*127,576-582
- Harn, C.Y. 1993. Rearrangement of mitochondrial DNA underlying the cytoplasmic male sterility in higher plants. *Kor. J. Breeding.* 24(4):368-375
- Havey M 1993. A putative donor of S cytoplasm and its distribution among open-pollinated population of onion. *Theor. Appl. Genet.* 86:128-134
- Havey M 1995. Cytoplasmic determination using the polymerase chain reaction to aid the extraction of maintainer lines from open-pollinated populations of onion. *Theor. Appl. Genet.* 90:263-268
- Havey MJ 2000. Diversity among male-sterility-inducing and male-fertile cytoplasm of onion. *Theor Appl Genet* 101:778-782
- Havey, M.J, J.J. King, J.M. Bradeen, and O.H. Bark. 1996. Molecular markers and mapping in bulb onion, a forgotten monocot. *HortScience* 31:1116-1118

- Havey, M.J. and Daniela, L.L. (1999) Toward the identification of cytoplasmic male sterility in leek: Evaluation of organellar DNA diversity among cultivated accessions of *Allium ampeloprasum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124,163-165
- Holford P, Croft J, Newbury H 1991. Difference between, and possible origins of the ctoplasm found in fertile and male-sterile onions(*Allium cepa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 82:737-744
- Holland, P.M., Abramson, R.D., Watson, R., and Gelfland, D.H. (1991) Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-->3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88,7276-7280.
- Jaiswal, P., A.P. Sane, S.A. Ranade, P. Nath, and P.V. Sane. 1998. Mitochondrial and total DNA RAPD patterns can distinguish restorers of CMS lines in sorghum. *Theor. Appl. Genet.* 96:791-796
- Jang, S.Y., Van, K., Kim, M.Y., Gwang, J.G., Jang, H.J., and Lee, S.H. (2004) SNP discovery and mapping of a major gene *Rhg4* conferring resistance to soybean cyst nematode. *Korean J. Breed.* 36,76-80
- Jones HA, Clark AE 1943. Inheritance of male sterility in the onion and seed production of hybrid seed. *Proc Am Hortic Sci.* 43: 189-194
- Kim, K.T. 2000. Development and application of DNA markers linked to resistant genes of bacterial leaf spot and phytophthora root rot in chilli(*Capsicum annum*). PhD Diss., Seoul National Univ., Seoul, Korea
- Kota, R., Wolf, M., Michalek, W., and Graner, A. (2001) Application of denaturing high-performance liquid chromatography for mapping of single nucleotide polymorphism in barley. *Genome* 44,523-528
- Lilly JW, Havey MJ. 2001. Sequence analysis of a chloroplast intergenic spacer for phylogenetic estimates in *Allium* section *Cepa* and a PCR-based polymorphism detecting mixtures of male-fertile and male-sterile cytoplasmic onion. *Theor Appl Genet* 102:78-82
- Luo, G., A.G. Hepburn, and J.M. Widholm. 1992. Extraction of restrictable DNA

- from plants of the genus *Nelumbo*. *Plant Mol. Biol. Reporter* 10:316-318
- Madan, M., S. Nair, A. Bhagwat, T.G. Krishna, M. Yano, C.R. Bhatia and T. Sasaki. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3:87-103
- Michelmore, R.W., I. Paran, and R.V. Kessel. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Aca. Sci.* 88:9828-9832
- Ministry of Agri. and Forestry, Korea. 2003. Crop's statistics
- Nakajima Y, Yamamoto T, Muranaka T, Oeda K. 1999. Genetic variation of petaloid male sterile cytoplasm of carrots revealed by sequence tagged sites(STSs). *Theor Appl Genet* 99:837-843
- Nakajima Y, Yamamoto T, Muranaka T, Oeda K. 1999. Genetic variation of petaloid male sterile cytoplasm of carrots revealed by sequence tagged sites(STSs). *Theor Appl Genet* 99:837-843
- Paran, I and R.W. Michelmore. 1993. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance gene in lettuce. *Theor. Appl. Genet.* 85:985-993
- Park, J.I., Yang, S.H., Nou, I.S., Park, Y.S., and Lee, S.S. (2000) Identification of S-halotype by PCR-RFLP in Brassica. *Kor.Soc.Hort.Sci.*41,21-26
- Pruitt, K.D. M.R. Hanson. Transcription of the *Petunia* mitochondrial CMS-associated Pcf locus in male sterile and fertility restored lines. *Mol. Gen. Genet.* 227:348-355
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989) *Molecular cloning. A laboratory Manual*. 2nded. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y..
- Sato Y 1998. PCR amplification of CMS-specific mitochondrial nucleotide sequences to identify cytoplasmic genotypes of onion (*Allium Cepa* L.). *Theor Appl Genet* 96:367-370

- Satoh, Y., M. Nagai, T. Mikami, and T. Kinoshita. 1993. The use of mitochondrial DNA polymorphism in the classification of individual onion plants by cytoplasmic genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 86:345-348
- Schnable PS, Wise RP 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trend Plant Sci.* 3:175-180
- Schweisguth, B. 1973. Etude d'un nouveau type de sterilité male chez l'oignon. *Ann. Amélior. Plant* 23:221-233
- Stojalowski, S., M. Lapinski, and P. Masoic. 2004. RAPD markers linked to restorer genes for the C-source of cytoplasmic male sterility in rye. *Plant Breeding* 123:428-433
- Sugiyama Y, Watase Y, Nagase M, Makita N, Yagura S, Hirai A, Sugiura M. 2005 The complete nucleotide sequence and multipartite organization of the tobacco mitochondrial genome: comparative analysis of mitochondrial genomes in higher plants. *Mol. Gen. Genomics* 272:603-615
- Tsumamura, Y., Kawahara, T., Wicknes, R., and Yoshimura, K. (1996) Molecular phylogeny of Diptero carpaeae in Southeast Asia using RFLP of PCR-amplified chloroplast genes. *Theor. Appl. Genet.* 93,22-29.
- Vedel F., Pla, M., Vitart, V., Gutierrez, S., Chetrit, P., and de Paepe, R. (1994) Molecular basis of nuclear and cytoplasmic male sterility in higher plants. *Plant Physiol. Biochem.* 32,601-618
- Wang X, Fang Z, Huang S, Sun P, Liu Y, Yang L, Zhuang M, Qu D. 2000. An extended random primer amplified region(ERPAR) marker linked to a dominant male sterility gene in cabbage(*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Euphytica* 112:267-273
- Wang, H., M. Qi, and J.C. Adrain. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acid Research.* 21:4153-4154
- 박효근. 2004. 한국 종자 산업의 현황과 발전방안. *한국종자연구회지* 1:9-23

<제5절 : 고랭지양파 저장성 및 기능성 분석>

Block E. 1986. Antithrombotic organosulfur compounds from garlic. *J. Am. Soc.* 108:1945.

Block E. 1992. The organosulfur chemistry of the genus *allium*-Implications for the organic chemistry of sulfur. *Angew. Chem. Int. Ed. Engi.* 31:1135-1178.

Block, E., S. Naganathan, D. Putnam and S-H Zhao. 1992. *Allium* chemistry: HPLC analysis of thiosulfinates from onion, garlic, wild garlic (ramsoms), leek, scallion, shallot, elephant (great headed) garlic, chive and Chinese chive. Uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. *J Agric Food Chem.*, 40, 2418-2430.

Block, E., D. Putnam and S-H Zhao. 1992. *Allium* chemistry: GC-MS analysis of thiosulfinates and related compounds from onion, leek, scallion, shallot, chive and Chinese chive. *J Agric Food Chem.*, 40, 2431-2438.

Cunico, R. A.G. Mayer, C.T. Wehr and T.L. Sheehan. 1986. High sensitivity amino acid analysis using a novel automated precolumn derivatization system. *BioChromatography*, 1, 6-14.

David J. T. and Kirk L. P. 1994. Quantification of Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides and related amino acids in *Alliums* by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 42(8):1632-1638.

Freeman, C.G. and R.J. Whenham. 1976. Thiopropanol S-oxide, alk(en)yl thiosulfinates and thiosulfonates: simulation of flavour components of *Allium* species. *Phytochemistry*, 15, 187-190.

Freeman, C.G. and R.J. Whenham. 1976. Synthetic alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides-allinase fission products: simulation of flavour components of *Allium* species. *Phytochemistry*, 15, 521-523.

Freeman, C.G. and R.J. Whenham. 1975. A survey of volatile components of some

Allium species in terms of S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides present as flavour precursors. *J Sci Food Agric.*, 26, 1869-1886.

Granroth, B. 1968. Separation of Allium sulfur amino acids and peptides by thin-layer electrophoresis and thin-layer chromatography. *Acta Chem Scand.*, 22, 3333-3335.

Gustine, D.L. 1985. Determination of S-methyl cysteine sulfoxide in Brassica extracts by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr.*, 319, 450-453.

Kang, J.A. and J.S, Kang. 1997. Effect of garlic and onion on plasma and liver cholesterol and triacylglycerol and platelet aggregation in rats fed basal or cholesterol supplemented diets. *J Kor Nutr Soc.*, 30, 132-138.

I. Krest, J. Glodek and M. Keusgen. 2000. Cysteine sulfoxides and alliinase activity of Some *Allium* species. *J. Agric. Food Chem.* 48(8):3753-3760.

Kim E. S., Chun H. J., Kim B. K. and Rhee K. C. 1997. Garlic and cancer prevention. *J. Food Sci. Nutr.* 2:180-190.

Kim, H.J. and H.S. Chun. 1999. Biological functions of organosulfur compounds in *Allium* vegetables. *J Kor Soc Food Sci Nutr.*, 28, 1412-1423.

Kim O. M., Kim M. K., Lee S. O., Kee K. R. and Kim S. D. 1998. Antimicrobial effect of ethanol extracts from spices against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from kimchi. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 27:455-460.

Kim Y. S., Park K. S., Kyung K. H., Shim S. T. and Kim H. K. 1996. Antibacterial activity of garlic extract against *Escherichia coli*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28:730-735.

Lancaster, J.E. and M.J. Boland. 1990. Flavor Biochemistry. In *Onions and Allied Crops, vol. 3, Biochemistry, Food Science, and Minor Crops*; JL Brewster, HD Rabinowitch eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, pp 33-72.

Lancaster, J.E. and K.E. Kelly. 1983. Quantitative analysis of S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides in onion (*Allium cepa* L.). *J Sci Food Agric.*, 34, 1229-1235.

Leighton T., Ginther C., Fluss L., Harter W. K., Candado J. and Nortario V. 1992. *Molecular characterization of Quercetin and Quercetin Glycosides in Allium Vegetables, Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II.* ACS. Washington D. C. p220-221.

Lim S. W. and Kim T. H. 1997. Physiological activity of alliin and ethanol extracts from Korean garlic(*Allium sativum* L.). *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29:348-354.

Matikkala, E.J. and A.I. Vertanen. 1967. On the quantitative determination of the amino acids and γ -glutamylpeptides of onion. *Acta Chem Scand.*, 13, 2891-2893.

Matikkala, E.J. and A.I. Vertanen. 1959. The isolation of S-methylcysteine-sulphoxide and S-n-propylcysteine sulphoxide from onion (*Allium cepa*) and the antibiotic activity of crushed onion. *Acta Chem Scand.*, 13, 1898-1900.

Mun S. I., Ryu H. S., Lee H. J. and Choi J. S. 1994. Further screening for antioxidant activity of vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum schinifolium*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23:466-471.

Nakata, C., T. Nakata and A. Hishikawa. 1970. An improved colorimetric determination of thiosulfinate. *Anal Biochem.*, 37, 92-97.

Ra K. S., Chung S. H., Suh H. J. Son J. Y. and Lee H. K. 1998. Inhibitor of Xanthine Oxidase from Onion Skin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30:697-701.

Saghir, A.R. L.K. Mann, R.A. Bernhard and J.V. Jacobson. 1964. Determination of aliphatic mono- and disulfides in *Allium* by gas chromatography and their distribution in common food species. *Proc Am Soc Hortic Sci.*, 84, 386-398.

Schwimmer, S. and D.G. Guadagni. 1962. Relationship between olfactory threshold concentration and pyruvic acid content of onion juice. *J Food Sci.*, 27, 94-97.

Seo, D.C. S.M. Chung and J.Y. Lee. 1996. Effect of oriental onion (*Allium fistulosum*) on platelet aggregation. *J Food Hyg Safety*, 11, 273-276.

Thomas, D.J., K.L. Parkin and P.W. Simon. 1992. Development of a simple pungency indicator test for onions. *J Sci Food Agric.*, 56, 499-504.

Thomas, D.J. and K.L. Parkin. 1994. Quantification of S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides and related amino acids in alliums by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem.*, 42, 1632-1638.

Tokimoto, Y and A. Kobayashi. 1992. Isolation of the volatile components of fresh onion by thermal desorption cold trap capillary gas chromatography. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 56, 1865-1866.

Yagami M., Kawakishi S. and Namiki M. 1980. Identification of intermediates in the formation of onion flavour. *Agr. Biol. Chem.* 44:2533-2538.

Ziegler S. J. and Sticher O. 1989. HPLC of s-alk(en)yl-L-cystine derivatives in garlic including quantitative determination of (+)-s-allyl-L-cystine sulfoxide (alliin). *Plants Medica.* 55:372-378.

Appendix 1. Primer combinations amplifying regions carrying SSR (simple sequence repeats) in onion.

Primer sets	Genebank accession	SSR motif	Forward primer
			Reverse primer
ACM003	BQ580088	(TCT)4	ATCGGCCATGGCGGCTAA GGCAGTTTCGGAAGTCCAG
ACM005	BI095610	(ACA)5	CGCTTCAGCAGTGAGTTGTT TGTTGTCCGATACAGAGTTGCT
ACM006	BQ580184	(CTC)7	GCAGTTCTCCCTTTGTAAAATCA GTGATGGATGAGTGGATGGA
ACM008	BQ580221	(AAG)6	GCCGGAAGAGGAGAAGAAGT CATAATCCCATGGCTTTGC
ACM009	CF436678	(AGC)6	GCAACGGTAGAAGAACCCTGC AACCTCTTTTGGTGCCTCCT
ACM013	CF439398	(TCC)9	CAACCTCGAAGAACTCACCG GCGAATCTTGTTTTTGGGAA
ACM014	CF435432	(TTC)5	ACCACCAGCCTCACAAAAG GGCCTTTTGCCAACAGTAGA
ACM015	CF437894	(GAA)5	ACCAAAACAGCCTTCACCAC TTTTTGAGTGGAGATTGGGG
ACM016	CF451662	(CT)6	ATGGAAGCCTCGGGTCTG GCCGTAAGTCGAGGGTAGAA
ACM018	CF438995	(CTT)6	GGGGAATGGTGGAGAATAGA AACAGAGGCAAGAGGAGCG
ACM019	CF447030	(CTC)5	GCTCCCAACTGCTATCCCTA TCCCTCGCTCTATCTTCCG
ACM021	CF445600	(GAG)5	AAAACCCTCAACATCTCACTCC TCTCTTCTTCCTCGTCTCTGC
ACM023	CF448941	(CAG)5	CCCACTCGCTTTCATACTGC CCACTCCTCTTACTGCTTCCC
ACM024	CF446873	(GCA)10	CCCATTCTTCTCATTCTCTCA TGCTGTTGTCCTTGTTGTTG
ACM031	CF434744	(AC)6	CCAAAGCCGACCTCCTCT CGTGGGAAGACCAAGGGT
ACM032	CF434791	(GAT)6	ATAGCGACGATGAGGACGAT CCCTGGCTTTCTTTTCCATA
ACM033	CF439498	(CAT)5	CCTTCTCCCCATTCTCTTCC ATCATCGTCTCGTCCTCAT

Primer sets	Genebank accession	SSR	Forward primer
			Reverse primer
ACM034	CF439416	(AGA)5	CACCTTGGACCGTGAAGAAC CTGCTGTTTGGAGATGTGGA
ACM036	CF439502	(CAG)5	AAAACATTGCGGAGAAAGC TCATCAACATCACAAGAACACA
ACM037	CF438925	(ACA)7	GACCGACTCCAAAGCCATA CTCTCCCGTTCTCAAAATGC
ACM038	CF439086	(GAA)5	ATGCCAGACTACGACAACGA ACGCCTACCAACCTTCAATG
ACM039	CF439618	(CGA)5	TGGGTCAGCAAGAGGGTG CCAGTGTGTGTAATGCGGTC
ACM041	CF439558	(TGA)5	CCAATGATGGAAAGGTGGAA CTCAGAATCGTCGTCCTCGT
ACM042	CF446969	(ATA)5	TCATCAACACCAACAACAACA TCTGTGAACCTCCTCAAGCA
ACM044	CF444072	(GAT)5	GTCAAAGGCGAGAAAAGTGC CCCCAAAACAATCATCCTCA
ACM045	CF450372	(TC)6	AAAACGAAGCAACAACAACAAA CGACGAAGGTCATAAGTAGGC
ACM047	CF447522	(CT)9	CATTCATCTACTCTCTTCTCAGCC GAGGTCATTGGTTTGGTTAGC
ACM049	CF447728	(CCG)6	TAACGACATCCCTACCGC GCTTCTTCTTCCACTTTCGG
ACM052	CF448654	(CAG)7	CAGCAGCAACAAAGAATGC CTGGGGAGAATGAGAAGCAC
ACM053	CF449031	(CAG)6	CTGGGCTCTTTTGTTCATCC ATGGTGGAGGTATGTGAGGG
ACM054	CF435073	(AAG)6	GAGTGAGAGGGGAAATGGAA AAAGATGGTTTGTGGGTGGC
ACM056	CF448740	(AT)6	TGTGTGGAAATCAGTAGGCT ATGACAACAGAACCGCTGG
ACM058	CF435771	(AT)11	GGAGTCACACAACAGAAACACAA AAGAAGGAATAGAGATGTAGCCGA
ACM061	CF445186	(AGC)6	GCGTTTGCTGAGAGATTAGGA TTTCTTGCTGATGATGCTGC
ACM063	CF439318	(TA)6	TGCCAAGGTGCATAAAAACA TCACGCACATACCTCTCTGC
ACM065	CF449328	(TG)24	GCTCTGATGGAGGATGGTTC TTCTTGCCATCTTTGTTCGGT

Primer sets	Genebank accession	SSR	5' primer 3' primer
ACM066	CF437209	(CT)8	CTCCCCGCAACCAGTAATAA GCTTGGGTTTTTGTTCCTCCA
ACM068	CF450463	(TA)6	CGAAGGTGAAGGTGTACGGT CAAATGGCTGCAATAAGCAA
ACM069	CF449825	(AG)6	TTCTGCGCTCTTCCCAGTAT CAAGCGGTTTGAAAAAGGAG
ACM071	CF449595	(AG)10	TCTCATTTCAACTTTCTACCTATCC CTGACATTTGCTCGACTGGA
ACM072	CF441584	(TG)6	TGAATTCAGGCCAAACATGA GAGGAAAGCCTGAAGAGTAGCA
ACM077	CF445960	(GCG)5	AAATTATGGGCCACCTCCTC CAAGATTGTCGACTCCCAT
ACM080	CF449068	(GGT)6	GCATTATGCAGTAACGGGCT GCAGCAGCATTGATTGAAC
ACM081	CF447998	(AAG)6	CTGAAAAGAAACCCGCAGAG TCAGGATGCACTTGCTTCAG
ACM091	CF440522	(TCT)10	TCTCCTCCTCTAACCAGCCA GGTGCTCCAGTTGAGCTTTC
ACM093	CF442585	(CCA)7	GCCAACAGTTTTTCGTAAGTTGA ATTCTCTTCGGCTTTCGTGA
ACM096	CF446191	(TAC)5	TGTGGGCAATTCACGTTATG AAAAGTTGTGAACGGCATCC
ACM101	CF443425	(TCC)5	CCTTTGCTAACCAAATCCGA CTTGTTGAGAAGGAGGACGC
ACM104	CF444221	(GCG)6	ACGATTGTTTAATCGTCCGC TATTCCAGCAGCAACTGTCTG
ACM107	CF449837	(ACC)5	CCTTCATTCCCAAAGCACAT GCGATAAAGAGGGACAGCAG
ACM112	CF450008	(TCC)5	TTCCCAACAAACGTTTCATCA GTGAAGGGAGAGCAGTGGAG
ACM115	CF441525	(CAC)6	TCCATCTATGCATCTGCCAC CTATTCTTCCACTGGGGCAA
ACM121	CF441947	(TAT)5	GCAAACATCATATAGTGCCGC GAACCGATTCTACGAGCAGC

<Appendix 2> CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment of the PsbA genes derived from four onion individuals. W404A and W404B are near isogenic lines containing S- and N-cytoplasm, respectively. The MA-ms and MA-mf are male sterile individual (lane no. 12 of Fig. 1) and male fertile individual of Manchuwang (lane no. 8 in Fig. 1), respectively.

```

w404A CTATCACTGAAAACCGTCTTTACATCGGATGGTTCAGTGTTTTGATGATCCCTACCTTAT 60
MA-ms CTAGCACTGAAAACCGTCTTTACATCGGATGGTTCGGTGTTTTGATGATCCCTACCTTAT 60
w404B CTAGCACTGAAAACCGTCTTTACATCGGATGGTTCGGTGTTTTGATGATCCCTACCTTAT 60
MA-mf CTAGCACTGAAAACCGTCTTTACATCGGATGGTTCGGTGTTTTGATGATCCCTACCTTAT 60
***
w404A TGACCGCAACTTCTGTATTATATATCGCCTTCATTTGCTGCTCCAGTAGATATTGATG 120
MA-ms TGACCGCAACTTCTGTATTATATATCGCCTTCATTTGCTGCTCCAGTAGATATTGATG 120
w404B TGACCGCAACTTCTGTATTATATATCGCCTTCATTTGCTGCTCCAGTAGATATTGATG 120
MA-mf TGACCGCAACTTCTGTATTATATATCGCCTTCATTTGCTGCTCCAGTAGATATTGATG 120
*****
w404A GTATTTCGTGAACCTGTTTCTGGGTCTTTACTTTATGGAAACAATATTATCTCTGGTGCCA 180
MA-ms GTATTTCGTGAACCTGTTTCTGGGTCTTTACTTTATGGAAACAATATTATCTCTGGTGCCA 180
w404B GTATTTCGTGAACCTGTTTCTGGGTCTTTACTTTATGGAAACAATATTATCTCTGGTGCCA 180
MA-mf GTATTTCGTGAACCTGTTTCTGGGTCTTTACTTTATGGAAACAATATTATCTCTGGTGCCA 180
*****
w404A TTATTCCCTACTTCTGCAGCTATAGGTTTGCATTTTACCAGATATGGGAAGCAGCATCTG 240
MA-ms TTATTCCCTACTTCTGCAGCTATAGGTTTGCATTTTACCAGATATGGGAAGCAGCATCTG 240
w404B TTATTCCCTACTTCTGCAGCTATAGGTTTGCATTTTACCAGATATGGGAAGCAGCATCTG 240
MA-mf TTATTCCCTACTTCTGCAGCTATAGGTTTGCATTTTACCAGATATGGGAAGCAGCATCTG 240
*****
w404A TTGATGAGTGGTTATACAATGGTGGTCCCTPATGAGCTAATTGTTTTACACTTCTTACTTG 300
MA-ms TTGATGAGTGGTTATACAATGGTGGTCCCTPATGAGCTAATTGTTTTACACTTCTTACTTG 300
w404B TTGATGAGTGGTTATACAATGGTGGTCCCTPATGAGCTAATTGTTTTACACTTCTTACTTG 300
MA-mf TTGATGAGTGGTTATACAATGGTGGTCCCTPATGAGCTAATTGTTTTACACTTCTTACTTG 300
*****
w404A GTGTAGCTTGTTACATGGGTCGTGAATGGGAACCTGAGTTTTCGTCTGGGTATGCGTCCCT 360
MA-ms GTGTAGCTTGTTACATGGGTCGTGAATGGGAACCTGAGTTTTCGTCTGGGTATGCGTCCCT 360
w404B GTGTAGCTTGTTACATGGGTCGTGAATGGGAACCTGAGTTTTCGTCTGGGTATGCGTCCCT 360
MA-mf GTGTAGCTTGTTACATGGGTCGTGAATGGGAACCTAATTTTCGTCTGGGTATGCGTCCCT 360
*****
w404A GGATTGCTGTTGCATATTCAGCTCCTGTTGCAGCTGCTACTGCTGTTTTCTTGATCTATC 420
MA-ms GGATTGCTGTTGCATATTCAGCTCCTGTTGCAGCTGCTACTGCTGTTTTCTTGATCTATC 420
w404B GGATTGCTGTTGCATATTCAGCTCCTGTTGCAGCTGCTACTGCTGTTTTCTTGATCTATC 420
MA-mf GGATTGCTGTTGCATATTCAGCTCCTGTTGCAACTGCTACTGCTGTTTTCTTGATCTATC 420
*****
w404A CTATTGGTCAAAGAAAGTTTCTCTGATGGTATGCCTTTAGAAATTT-CTGGTACTTTCAAT 479
MA-ms CTATTGGTCAAAGAAAGTTTCTCTGATGGTATGCCTTTAAGAAATTT-CTGGTACTTTCAAT 479
w404B CTATTGGTCAAAGAAAGTTTCTCTGATGGTATGCCTTTAGAAATTTCCCGTACTTTCAAT 480
MA-mf CTATTGGTCAAAGAAAGTTTCTCTGATGGTATGCCTTTAGAAATTT-CCCGTACTTTCAAT 478
*****
w404A TTTATGATTGTATTCCAGCCAGAGCACAAACATCTTTATGCATCCATTTACATGTTAGGC 539

```

MA-ms TTTATGATTGTATTCAGGCAGAGCACAACATCCTTATGCATCCATTCACATGTTAGGC 539
W404B TTTATGATTGTATTCAGGCAGAGCACAACATCCTTATGCATCCATTCACATGTTAGGC 538
MA-mf TTTATGATTGTATTCAGGCAGAGCACAACATCCTTATGCATCCATTCACATGTTAGGC 538

W404A GTAGCTGGTGTATTCGGCGGCTCCCTATTTAGTGCTATGCATGGTTCCTTGGTAACTCT 599
MA-ms GTAGCTGGTGTATTCGGCGGCTCCCTATTTAGTGCTATGCATGGTTCCTTGGTAACTCT 599
W404B GTAGCTGGTGTATTCGGCGGCTCCCTATTTAGTGCTATGCATGGTTCCTTGGTAACTCT 598
MA-mf GTAGCTGGTGTATTCGGCGGCTCCCTATTTAGTGCTATGCATGGTTCCTTGGTAACTCT 598

W404A AGTTTAATCAGGAAACTACTGAAAATGAGTCTGCTAATGAAGGTTACAGATTCGGTCAA 659
MA-ms AGTTTAATCAGGAAACTACTGAAAATGAGTCTGCTAATGAAGGTTACAGATTCGGTCAA 659
W404B AGTTTAATCAGGAAACTACTGAAAATGAGTCTGCTAATGAAGGTTACAGATTCGGTCAA 658
MA-mf AGTTTAATCAGGAAACTACTGAAAATGAGTCTGCTAATGAAGGTTACAGATTCGGTCAA 658

W404A GAGGAAGAACTTATAATATCGTTGCTGCTCATGGTTATTTGGCCGATTGATCTTCCAA 719
MA-ms GAGGAAGAACTTATAATATCGTTGCTGCTCATGGTTATTTGGCCGATTGATCTTCCAA 719
W404B GAGGAAGAACTTATAATATCGTTGCTGCTCATGGTTATTTGGCCGATTGATCTTCCAA 718
MA-mf GAGGAAGAACTTATAATATCGTTGCTGCTCATGGTTATTTGGCCGATTGATCTTCCAA 718

W404A TATGCTAGTTTCAACAATTCCTCGTCCCTACATTTCTTCTTGGCTGCTTGGCCTGTAGTA 779
MA-ms TATGCTAGTTTCAACAATTCCTCGTCCCTACATTTCTTCTTGGCTGCTTGGCCTGTAGTA 779
W404B TATGCTAGTTTCAACAATTCCTCGTCCCTACATTTCTTCTTGGCTGCTTGGCCTGTAGTA 778
MA-mf TATGCTAGTTTCAACAATTCCTCGTCCCTACATTTCTTCTTGGCTGCTTGGCCTGTAGTA 778

W404A GGTATCTGGTTCAGTCTTTAGGTATTTAGTACTATGGCTTTCACCTAAATGGTTTCAAT 839
MA-ms GGTATCTGGTTCAGTCTTTAGGTATTTAGTACTATGGCTTTCACCTAAATGGTTTCAAT 839
W404B GGTATCTGGTTCAGTCTTTAGGTATTTAGTACTATGGCTTTCACCTAAATGGTTTCAAT 838
MA-mf GGTATCTGGTTCAGTCTTTAGGTATTTAGTACTATGGCTTTCACCTAAATGGTTTCAAT 838

W404A TTCAACCAATCTGTAGTTGATAGTCAAGGTCGTGTTATTAACACTTGGGCTGATATCATC 899
MA-ms TTCAACCAATCTGTAGTTGATAGTCAAGGTCGTGTTATTAACACTTGGGCTGATATCATC 899
W404B TTCAACCAATCTGTAGTTGATAGTCAAGGTCGTGTTATTAACACTTGGGCTGATATCATC 898
MA-mf TTCAACCAATCTGTAGTTGATAGTCAAGGTCGTGTTATTAACACTTGGGCTGATATCATC 898

W404A AATCGTGCTAACCTTGGTATGGAAGTTATGCACGAACGTA 939
MA-ms AATCGTGCTAACCTTGGTATGGAAGTTATGCACGAACGTA 939
W404B AATCGTGCTAACCTTGGTATGGAAGTTATGCACGAACGTA 938
MA-mf AATCGTGCTAACCTTGGTATGGAAGTTATGCACGAACGTA 938

Appendix 3. Multiple sequence alignment of the dominant restore fertility(*Rf*) and recessive restore fertility (*rf*) alleles derived from four onion individuals.

		Section 1									
		(1)	10	20	30	40	50	53			
CF439398	(1)	GAAAGCTCAAGCTCGAAGAACTCAAGGCGATCCGGGCTCCTCGGGCGGGGGGGCA									
S: Trimming	(1)	-----AAG-GATCTCGGC-GGGGTCGGA									
S: Trimming#2	(1)	-----AACCAGGCTTTCCGGCGGGGGAT									
Consensus	(1)	CAAGCTCAAGCTCGAAGAACTCAAGGCGATCCGGGCTCCTCGGGCGGGGGCCA									
		Section 2									
		(54)	54	60	70	80	90	106			
CF439398	(54)	TGGGCAC--GTCTTCTT--GG-TGAGCACC-ACAG--CCTCATCCTCCTCCTC									
S: Trimming	(22)	TGGGCAC--GTCTTCTT--GGTACCACG-ACAG--CCTCCTCCTCCTCCTC									
S: Trimming#2	(28)	TGGGCACGTNGTCATTCTTGGATNACCAAGGNNAGGCCCTCATCCTCCTCCTC									
Consensus	(54)	TGGGCACC GTCTTCTT GG TCACCACC ACAG CCTCATCCTCCTCCTC									
		Section 3									
		(107)	107	120	130	140	150	159			
CF439398	(100)	GT---CCCTCTCC-TCCCTCCTCACTTT--CCCTTC--T-TTC--GCCTTAA-A									
S: Trimming	(68)	-----AGC-TCTCTTTACTTAA-CCCTTCGT-TTC--GCCTTAA-A									
S: Trimming#2	(81)	GCATCCTGCCCTCCATCCTCCTCACTGTATCCCTTCCCTGTTCGGCCTTAAAG									
Consensus	(107)	CTCCTCCTCCTCC TCCCTCACTTT CCCTTC T TTC GCCTTAA A									
		Section 4									
		(160)	160	170	180	190	200	212			
CF439398	(142)	GGTCA-TCCATAAAT-CCTCCAGTCCCAAAAAAAGATTCCCTCAAAAGGAG									
S: Trimming	(105)	GGTCA-TCCATAAAT-CCTCCAGTCCCAAAAAAAGATTCCA-CA-----									
S: Trimming#2	(134)	GGTCACTCCATAAATACCTCCAGTACCCAAAAAAGATTCCG--AG-----									
Consensus	(160)	GGTCA TCCATAAAT CCTCCACTTCCCAAAAAACAAGATTCCGCTCAAAAGAGC									