

토마토 황화잎말림바이러스(TYLCV) 저항성 품종 선발 및 원예특성 분석

김우일¹ · 김광환² · 김영봉¹ · 이흥수¹ · 손길만¹ · 박영훈^{2*}

¹경상남도농업기술원, ²부산대학교 원예생명과학과

Selection and Characterization of Horticultural Traits of *Tomato leaf curl virus* (TYLCV)-resistant Tomato Cultivars

Woo-Il Kim¹, Kwang-Hwan Kim², Young-Bong Kim¹, Heung-Su Lee¹,
Gil-Man Shon¹, and Young-Hoon Park^{2*}

¹Gyeongsangnam-do Agricultural Research & Extension Services, Jinju 663-985, Korea,

²Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

Abstract. This study was conducted to evaluate imported tomato F₁ cultivars as breeding materials for the resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) by molecular markers and bioassay. From marker genotyping and disease evaluation of 40 F₁ cultivars, most of the cultivars declared as TYLCV-resistance carried heterozygous marker genotype for the TYLCV resistance genes *Ty-1*, *Ty-3*, or *Ty-3a*, and showed low disease rates. Whereas, 4 of 5 F₁ cultivars declared as intermediate resistance showed marker genotype for susceptibility and disease rates ranged 18.1-33.3%. However, the xx cultivars showed inconsistency in marker genotype and disease rate. Characterization of horticultural traits of the F₁ cultivars with TYLCV-resistance indicated that large-size fruit cultivars were higher in yield and similar in sugar contents and solid-acid ratio compared to a control cultivar preferred in the domestic market, although hardness remained to be a problem. On the other hand, cherry tomato cultivars showed lower yield and brix, but longer internode compared to a control cultivar, indicating that breeding for TYLCV-resistance using these cultivars will require more efforts and time compared to large-sized.

Additional key words: crossing over, *Solanum lycopersicum*, *Ty-2*, *Ty-4*, *Ty-5*

서 언

토마토(*Solanum lycopersicum* L.)는 채소 작물 중 생산량과 소비량이 전 세계적으로 1위로서 연간 146백만 톤이 생산되며 생산액은 62조원, 재배면적은 4,339천ha에 이르고 있다(FAO, 2010). 우리나라의 경우 다이어트 식품, 건강식품, 항산화 및 항암기능으로서의 인식이 확산되어 2000년 4,746ha에서 269천 톤이 생산된 것에 비해 2011년 기준 5,850ha의 재배 면적에 370천 톤이 생산되어 재배면적은 19%, 생산량은 27% 정도 증가하였다(http://www.krei.re.kr/kor/statistics). 하지만, 국내에 등록되어 있는 토마토 품종은 2011년 3월을 기준으로 619종이지만 실제 재배되고 있는

품종은 70% 이상 일본이나 유럽 등 해외에서 개발된 품종에 의지하고 있는 실정이다(RDA, 2012).

최근 국내에서는 토마토 생산량과 농가소득 감소의 주요 원인이 되고 있는 황화잎말림바이러스(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)의 심각성이 대두되고 있다. TYLCV는 담배가루이(*Bemisia tabaci* Genn.)를 매개충으로 전염되며, 2008년 경남 통영에서 최초로 보고가 되었고 그 해 경남, 전남, 전북, 제주 등 10개 지역에서 발병되었다. 최근에는 경기도까지 확산되어 발병되는 것으로 보고되고 있어 병피해를 최소화할 수 있는 재배관리 기술이나 저항성 품종의 재배가 필요하다. 하지만, TYLCV 저항성을 가지는 국내 품종 개발은 뒤쳐져 있는 상황이며, 저항성이라고 표기된 몇몇 유럽품종이 시판되

*Corresponding author: ypark@pusan.ac.kr

†These authors contributed equally to this work.

※ Received 20 September 2012; Revised 4 February 2013; Accepted 8 February 2013. 본 연구는 농촌진흥청 지역특화기술개발사업에 의해 이루어진 것임. 또한 본 연구는 농림수산식품부 생명산업기술개발사업에 의해 이루어진 것임.

어 농가에서 재배되고 있지만, 이들 품종의 내병성 수준과 원예형질에 대한 객관적인 평가는 이루어지지 못하고 있다.

현재까지 토마토의 TYLCV 저항성 유전자로는 야생종 *S. chilense* 계통인 ‘LA1969’, ‘LA1932’, ‘LA2779’에서 *Ty-1* (Hoogstraten et al., 2005; Ji et al., 2007a), *Ty-3*, *Ty-3a*(Ji and Scott, 2006; Ji et al., 2007a), *S. habrochaites* 계통인 ‘B6013’에서 *Ty-2*(Garcia et al., 2007), *S. chilense* 계통 ‘LA1932’(Ji et al., 2009)에서 *Ty-4*(Ji et al., 2009), *S. peruvianum* 계통인 ‘TY172’에서 *Ty-5*(Anbinder et al., 2009) 등이 보고되었다. 이들 저항성 유전자의 위치는 *Ty-1*은 6번, *Ty-2*는 11번, *Ty-4*는 3번, *Ty-5*는 4번 염색체이며, *Ty-3*과 *Ty-3a*는 6번 염색체의 동일한 유전자좌에 존재하는 대립유전자로 보고되었다. 최근 유전자지도 분석에 따르면 *Ty-1*과 *Ty-3*이 매우 근접하게 위치하여 동일한 유전자좌의 대립유전자일 가능성이 있다고 하였다(Verlaan et al., 2011). 이들 유전자원을 이용한 저항성 계통 및 품종 육성이 활발히 이루어지고 있는데, *Ty-1*과 *Ty-3* 유전자를 지니는 대표적 고정계통으로는 ‘Gc9’, ‘Gc171’, ‘Gc173’, ‘Gc2711’ 등이 미국(University of Wisconsin-Madison)과 과테말라(University of San Carlos)에서 개발되었으며, *Ty-2*를 지니는 고정계통으로는 ‘CLN2498E’, ‘CLN2498O’, ‘CNL2545A’, ‘CLN2545B’, ‘CLN2679A’, ‘PT4922A’ 등이 아시아채소개발연구소(AVRDC)에서 개발된 바 있다(Park et al., 2010). 상용품종 육성도 활발히 이루어지고 있어 TYLCV 저항성을 지닌 다수 유럽계 품종들이 국내에 시판되고 있으며, 특히 국내에서도 TYLCV 저항성이 주요 육종목표가 되고 있다.

QTL 분석 및 분자표지를 이용한 유전자 지도작성을 통해 TYLCV 유전자들의 염색체상 위치 및 근접 표지들이 개발되고 있는데, *Ty-1*은 마커 ‘Ty-seminis’(Hoogstraten et al., 2005), *Ty-2*는 마커 ‘TO302’(Hanson et al., 2006), *Ty-3*와 *Ty-3a*는 마커 ‘P6-25’(Ji et al., 2007)가 개발되어 사용되고 있으며, 최근에는 Verlaan et al.(2011)이 정밀유전자지도 작성을 통해 더욱 정확한 *Ty-1*과 *Ty-3*(또는 *Ty-3a*) 유전자의 염색체상 위치를 밝히고 이전 마커보다 저항성 유전자에 더욱 근접한 cleaved amplified polymorphic sequence(CAPS) 마커를 보고하였다. Park et al.(2010)은 TYLCV 저항성 유전자와 연관된 마커들을 이용하여 다양한 TYLCV 저항성 도입계통 및 국내 유전자원들의 유전자형에 대해 평가하였으며, Kim et al.(2011)은 분자표지이용선발(marker-assisted selection, MAS)을 통해 TYLCV 저항성 유전자(*Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *3a*)들의 집적(gene pyramiding)을 시도한 바 있다.

본 연구에서는 해외에서 TYLCV 저항성 품종으로 개발되어 시판되고 있는 F₁ 품종들에 대해 분자표지와 포장 병

리검정을 통해 각 품종이 지니는 저항성 유전자형과 내병성 수준을 분석하고, 주요 저항성 품종을 대상으로 원예형질 특성평가를 통해 TYLCV 저항성 계통육성을 위한 분리육종에 적절한 품종선발을 목표로 수행되었다.

재료 및 방법

식물재료

TYLCV 저항성 평가를 위해 내병성이라고 표기된 시판종 34품종과 표기가 확인되지 않는 4품종, 그리고 이병성으로 알려진 대비종 2품종을 포함한 총 40품종이 사용되었다(Table 1). 또한, TYLCV 저항성 연관 분자마커 검정을 위한 표준식물재료로서 저항성 계통인 ‘Gc9’(*Ty-1*, *Ty-3* 보유), ‘Gc171’(*Ty-3a* 보유), ‘Gc2711’(*Ty-1*, *Ty-3* 보유), 그리고 저항성 F₁ 품종인 ‘FAVI-9’이 사용되었으며(Table 2), 이병성 대비종 계통으로 ‘TTC04’를 사용하였다.

TYLCV 접종

경남농업기술원 온실 내에서 2010년 2월 육묘용상토와 50공 트레이를 사용하여 한 반복당 각 품종별 10립씩 파종하였으며 본 실험 5-7엽기에 난괴법을 이용하여 2010년 4월 품종 간 거리 10cm를 두고 16cm 좌우 교차 정식(주간거리 32cm)하였다. 정식은 실험간의 오차를 줄이기 위하여 세계의 비닐하우스를 이용하여 3반복으로 하였으며, 정식 후 관비용 양액(140L/일, 1000L/주, 요소 1540g 질산칼륨 2600g·1000L⁻¹)을 제조하여 두상관수하였다.

TYLCV 접종은 Ji et al.(2009)과 유사한 방법으로 진행하였으며 온실 내에서 비병원성, 또는 TYLCV를 보독시킨 담배가루이를 반복당 2,000마리씩 총 3회 방사하였다. 1차 접종(2010년 5월 20일)은 경남 진주의 토마토 재배 농가에서 TYLCV에 감염된 개체 2-3주를 구하여 비닐하우스 내에 식재 후 보독되지 않은 담배가루이를 방사하여 자연발병과 유사한 형태의 감염을 유도 하였다. 2차(2010년 5월 25일)와 3차(2010년 6월 1일) 접종은 감염된 식물체를 채취하여 망으로 싸인 용기 속에 배양된 비병원성담배가루이와 함께 넣어 하루 동안 보독시킨 후 검정포에 방사함으로써 1차 감염보다 확실한 감염을 유도하였다.

분자마커 검정 및 포장발병률 조사

Genomic DNA 추출은 Park et al.(2010)의 방법을 이용하여 육묘기에 진행하였다. 수집된 품종의 TYLCV 저항성마커 검정은 1차적으로 SCAR 마커인 ‘Ty-seminis’(연관 유전자: *Ty-1*), ‘TO302’(연관 유전자: *Ty-2*), ‘P6-25’(연관 유전자:

Table 1. Results of bioassay and molecular marker evaluation for the TYLC- resistance of diverse F₁ tomato cultivars.

EN	Cultivar	Company	Information ^z for resistance level	Test result			
				Incidence ^y	Marker genotype ^x		
					Ty-1	Ty-2	Ty-3 or 3a
1	TT 229	Hazera	M	18.1	S	S	S
2	TT 239	Hazera	H	0	H	S	H-a
3	TT 240	Hazera	H	3.3	H	S	H-a
4	TT 420	Hazera	M	20	S	S	S
5	TT 424	Hazera	M	23.3	S	S	S
6	TT 404	Hazera	M	33.3	S	S	S
7	TT 443	Hazera	M	3.3	H	S	H
8	TT 346	Hazera	-	60	S	S	S
9	AGN T9	Hazera	P	0	H	S	H-a
10	JN T53	Hazera	P	0	R	S	H-a
11	EXP 9161	Top seeds	P	3.3	H	S	H-a
12	EXP 9173	Top seeds	P	0	H	S	H-a
13	TOP 1199	Top seeds	-	0	H	S	H-a
14	EXP 8893	Top seeds	P	7	H	S	H-a
15	EXP 9337	Top seeds	P	0	H	S	H-a
16	Bacus	Seminis	P	9.5	R	S	H-a
17	HNS 12860544	Seminis	P	40	H	S	H-a
18	Tytrade	Synzenta	P	0	R	S	H-a
19	Ty-Mamoru	Synzenta	P	0	H	S	S
20	Dafnis	Synzenta	P	0	H	S	H
21	Daylos	Synzenta	P	3.3	H	S	H
22	RAFITO	De ruiters seeds	N	53.3	S	S	S
23	EXP 8731	Top seeds	P	3.3	H	S	H
24	Top 1184	Top seeds	-	86.7	S	S	S
25	80087	Enza zaden	P	30	H	S	H-a
26	80122	Enza zaden	P	3.3	H	S	H-a
27	80129	Enza zaden	P	6.7	H	S	H-a
28	80138	Enza zaden	P	0	H	S	H-a
29	80151	Enza zaden	P	0	H	S	H-a
30	TC 30882	Synzenta	P	67.8	H	S	S
31	TC 31583	Synzenta	P	0	R	S	H-a
32	TC 32347	Synzenta	P	0	R	S	R-a
33	TC 32857	Synzenta	P	0	H	S	H-a
34	TC 32957	Synzenta	P	3.3	S	S	S
35	TC 32961	Synzenta	P	13.3	S	S	S
36	TC 33018	Synzenta	P	20	S	S	S
37	TC 33069	Synzenta	P	6.7	S	S	S
38	TC 33086	Synzenta	P	0	H	S	H-a
39	TC 33089	Synzenta	P	0	R	S	R-a
40	Red Yoyo	Gonong	N	23.3	S	S	S

^zM, Medium resistance; H, High resistance; P, resistance possessed; N, None TYLCV resistance; -, unknown.

^yDisease incidence was calculated based on the ratio of plants with TYLCV disease symptom in the total number of plants.

^xS, Susceptibility (*ty/ty*); H, Heterozygosity (*Ty/ty*); R, Resistance (*Ty/Ty*); H-a, Heterozygosity of *Ty-3a* (*Ty-3a/ty-3a*); R-a, Resistance of *Ty-3a* (*Ty-3a/Ty-3a*).

Table 2. TYLCV- resistant genes, their origins and chromosomal locations.

Gene	Accession	Species	Regions	Chromosome
<i>Ty-1</i>	LA1969	<i>S. chilense</i>	South America, Europe	6
<i>Ty-2</i>	B6013	<i>S. habrochaites</i>	Israel, Taiwan	11
<i>Ty-3</i>	LA1932	<i>S. chilense</i>	South America, Europe	6
<i>Ty-3a</i>	LA2779	<i>S. chilense</i>	South America, Europe	6

Table 3. Genotype evaluation of markers mapped in the genomic region of chromosome 6 that covers genomic region carrying the loci of TYLCV resistance gene *Ty-1* and *Ty-3*.

Marker ^z	Distance ^y (Mbp)	Cultivar							
		GC9	Gc171	TCC04	FAVI-9	EN8	EN16	EN17	EN25
DSI (%)						60	9.5	40	30
TG97	26.00	b	a	a	ab	a	b	ab	ab
M-M067G18	29.10	ac	bcd	bcd	abcd	bcd	abcd	abcd	abcd
T1563	29.25	bcd	ab	ab	abcd	ab	abcd	abcd	abcd
MSc01216-6*	29.55								
M-M026P 18*	29.80								
M-H302A23	30.00	ade	bc	bc	bc	bc	abc	abc	abc
T0774*	30.00								
M-M082G10*	30.20								
MSc05732-3	30.55	a	a	a	a	a	ab	ab	ab
MSc05732-4	30.60	bc	a	a	abc	a	abc	abc	abc
cLEG-31-16	30.90	b	a	c	bc	c	ac	ac	ac
MSc05732-14*	31.20								
PG3*	31.55								
MSc05732-18*	31.57								
PG9	31.65	ac	ac	b	ab	b	bd	bd	bd
C2_At3g11210	31.72	ab	ab	cd	abcd	cd	abcd	abcd	abcd
M-M005H10*	31.75	cd	bd	a	abcd	a	abcd	abcd	abcd

^zMarkers used in the genotyping of all 40 F₁ cultivars (Table 2) were indicated by bolded letters. MSc05732-4 and MSc05732-14 are the flanking markers of *Ty-1* (Verlaan et al., 2011). M-H302A23 and cLEG-31-16 are the flanking markers of *Ty-3* (Hutton et al., 2010). *The genotype of these markers were not tested in this study.

^yDistances were approximately calculated based on the schematic physical maps reported in Verlaan et al. (2011).

자: *Ty-3* 또는 *Ty-3a*)를 이용하여 수행하였다(Park et al., 2010)(Table 2). 마커 유전자형과 표현형이 일치하지 않는 품종의 경우 유전자-마커 간 재조합 가능성을 검정하기 위해 2차적으로 8개의 CAPS 마커(Verlaan et al., 2011)를 이용하여 수행하였다(Table 3). 각 품종의 포장발병률은 보독된 담배가루이 방사 42일 후 각 반복당 전체 식물 개체수로부터 뚜렷한 병징을 보이는 식물 개체수의 비율을 조사하고, 3 반복에 대한 평균값으로 구하였다.

원예형질 특성조사

시험한 품종들의 원예형질 특성조사는 국립종자원 품목별 특성조사요령(토마토)에 근거하여 엽자세는 주축과 연결된 소엽의 자세를 직립(서다), 반개장(수평), 개장(처지다)의 3가지로 분류하였으며, 엽장 및 엽폭은 6월 14일 최대 엽의

길이를 실측하였고, 절간장은 1단-4단까지의 길이를 실측하여 환산하였다. 수량은 6월 1일부터 7월 27일까지 일주일에 2회 수확하여 상품 및 비상품으로 구분 조사하여 주당 상품과 수 및 1과중을 환산하였으며, 과실 경도는 7월 7일에 수확한 과실을 SMS P/3 모델의 물성측정기로 test speed 2.0 mm·s⁻¹, post test speed 5.0mm·s⁻¹, distance 10mm, force 20g의 조건으로 측정하였고, 당도는 Brix 당도계를 활용하였으며, 산도는 pH 8.3으로 적정하여 구연산 계수로 환산하였다.

결과 및 고찰

TYLCV 저항성 분자마커 및 생물검정

40개 공시 품종에 대한 생물검정 및 1차 마커검정 결과 (Table 1), TYLCV 이병성 대비품종 'Rafito'(대과)와'Red

Yoyo'(소과)에서는 저항성 유전자 연관 마커가 발견되지 않았으며, 발병률도 각각 53.3%와 23.3%로 비교적 높았다. 높은 저항성(H)으로 표기된 두 품종(EN2, 3)에서는 모두 *Ty-1* 과 *Ty-3a* 유전자 연관마커가 이형접합으로 발견되었으며, 발병률은 0%와 3.3%로 매우 낮았다. 중간 저항성(M)으로 표기된 5품종(EN 1,4,5,6,7) 중 'TT443'을 제외한 4품종은 18.1-33.3%의 발병률을 보였으며, 마커검정에서도 저항성 유전자를 지니지 않는 것으로 나타났다.

각 종자회사에서 TYLCV 저항성을 지니는 것(P)으로 표기된 28 품종에서는 'Ty-Mamoru'와 'TC30882'가 *Ty-1* 유전자 마커를 이형접합으로 지니지만, 발병률에서는 각각 0.0%와 67.8%로 매우 상반된 결과를 보여주었다. 'TC32957'를 비롯한 4 품종(EN 34,35,36,37)에서는 저항성 마커가 발견되지 않았으며, 발병률은 3.3%-20.0%로 분포하였다. 나머지 22 품종들은 모두 *Ty-1*과 *Ty-3*, 또는 *Ty-3a* 유전자 마커를 동시에 이형접합 또는 동형접합으로 지니는 것으로 분석되었는데, 발병률 또한 'HNS12860544'(40%)과 '80087'(30%) 'TC30882'(67.8%)를 제외하고는 비교적 낮은 수준(0.0-3.3%)으로 관찰되었다. 저항성이 표기되지 않은(-) 3품종 중 두 품종에서는 저항성 마커가 관찰되지 않았는데, 발병률에 있어서는 'TT346'과 'Top1184'가 각각 60.0%, 86.7%로 이병성 대비종에 비해 높은 발병률을 보였으나, 'TOP1199'는 마커와 발병률(0.0%) 모두 저항성으로 관찰되었다.

모든 공시품종에서 *Ty-2* 유전자에 대한 마커가 발견되지 않아 사용된 대부분 유럽 품종의TYLCV 저항성은 모두 *Ty-1* 과 *Ty-3* 또는 *Ty-3a* 유전자를 지니는 *S. chilense*로부터 유래하였을 것이라 유추된다. 실제 *Ty-2* 유전자의 경우 이스라엘과 대만에서 저항성 재료로 사용해진 *S. habrochaites*로부터 유래한 것으로서 유럽국가의 품종특성에는 맞지 않을 가능성이 크다. *Ty-3*와 *Ty-3a* 유전자는 *S. chilense*의 'LA1932', 'LA2779'에서 발견된 동일 유전자좌의 대립유전자로 보고되었는데, 사용된 공시품종의 대부분 품종이 *Ty-3a* 유전자를 지니고 있어, 'LA2779'가 저항성 육종소재로 광범위하게 쓰였을 가능성을 보여준다.

마커형과 표현형을 비교해 볼 때 전반적으로 *Ty-1*, *Ty-3*, 또는 *Ty-3a* 대립유전자 마커 중 하나의 마커만 지녀도 발병률이 7.0% 이하로 이병성 대비종(23.3%)에 비해 매우 낮고, 저항성 마커가 관찰되지 않는 품종들에 있어서는 발병률이 전반적으로 이병성 대비종과 비슷하거나 높은 수치를 보여 마커와 표현형간의 일치성을 확인할 수 있었다. 하지만 'HNS12860544'(Seminis), '80087'(Enza zaden), 'TC30882'(Syngenta) 세 품종은 저항성 유전자 마커를 지님에도 불구하고 이병성 대비종과 비슷한 경향의 발병률을 보였고,

Syngenta 사의 'TC32957'과 'TC33069'은 저항성 마커가 관찰되지 않았지만 이병성 대비종에 비해 매우 낮은 수준의 발병율을 보여 마커-표현형간 일치하지 않는 것으로 관찰되었다.

마커와 표현형 간 불일치 하는 경우는 크게 생식세포의 감수분열에서 마커와 저항성 유전자 사이에 교차가 일어난 경우나 마커와 연관된 유전자와 저항성 유전자가 상이할 경우라 생각된다. 본 연구에서 활용한 *Ty-1*, 2, 3, *3a* 연관 마커들인 'Ty-seminis', 'TO302', 그리고 'P6-25'는 실제 유전자로부터 근접한 위치의 마커들로서 마커와 유전자간 재조합이 일어날 가능성이 있다(Hanson et al., 2006; Hoogstranten et al., 2005; Ji et al., 2007a). 이러한 사례는 xx 마커를 이용한 F2 분리집단 유전자형 검정연구에서도 보고된 바 있다(Ji et al., 2007b). 염색체 교차에 의한 유전자형 검정 오류는 유전자의 양측에 근접하게 연관되어 있는 마커(flanking marker)들을 동시에 이용한 교차 분석을 통해 가능할 수 있다(Tsilo et al., 2010).

생물검정에서는 저항성으로 관찰되지만, 마커 검정에서는 이병성으로 나온 품종의 경우에는 저항성 유전자를 *Ty-1*, 3, 또는 *3a*가 아닌 *Ty-4* 또는 *Ty-5*를 육종과정을 통해 도입하였을 가능성이 있다. Ji et al.(2009)의 보고에 의하면 'LA1932'(*S. chilense*)을 저항성 재료로 사용하여 육성된 계통들의 3번 염색체상에서 14cM 정도 크기의 'LA1932' 염색체 절편이 도입되었으며, C2_At4g17300과 C2_At5g60160 두 마커 간(2.3 cM) *Ty-4* 유전자가 존재한다고 하였다. 또한 Anbinder et al.(2009)은 TYLCV 저항성 유전자원 *S. peruvianum* 으로부터 유래된 계통인 TY172(Friedmann et al., 1998)의 QTL 분석을 통해 4번 염색체에 1개의 주동 유전자와 1, 7, 9, 11번 염색체에 4개의 미동 유전자가 있음을 보고하였다. 따라서 이들 유전자와 연관된 마커를 이용한다면 본 연구에서 마커와 표현형 간 불일치 하는 품종들이 실제 지니고 있는 저항성 유전자를 유추해 볼 수 있을 것이다.

Flanking Marker를 이용한 교차 분석

마커는 저항성이지만 생물검정에서 이병성을 보인 품종에 대한 교차분석을 위한 마커 검정에는 *Ty-1*, *Ty-3(3a)* 마커 이외에 최근 정밀 유전자지도 작성을 통해 *Ty-1*과 *Ty3(3a)* 유전자좌에 더욱 근접한 마커들로 보고된 8개의 CAPS 마커(Verlaan et al., 2011)를 사용하였다. 이들 CAPS 마커는 저항성 유전자좌가 위치하는 6번 염색체의 물리적 지도로 볼 때 약 26.0에서부터 31.75Mbp 범위에 분포되어 있으며, 특히 *Ty-1*은 마커 MSc05732-4(30.60Mbp)와 MSc05732-14(31.20Mbp)사이에, *Ty-3*는 T0774(30.00Mbp)와 본 연구

에서 *Ty-3* 마커로 사용된 P6-25와 동일한 위치의 마커인 cLEG-31-P16(30.90Mbp) 사이에 존재하는 것으로 보고되었다. 따라서 본 실험에서는 이들 CAPS 마커들을 활용하여 마커 유전자형과 TYLCV 저항성 표현형 간 일치하지 않았던 3개의 품종들에 대해 마커와 저항성 유전자와 사이의 재조합 가능성을 알아보았다. 분석에 사용한 CAPS 마커들에 있어 저항성 또는 이병성과 연관된 DNA 절편(밴드)의 크기에 대한 정보를 얻기 위해 *Ty-1* 유전자 도입(introgression) 계통인 'Gc9'와 *Ty-3a* 유전자 도입 계통인 'Gc171'를 비롯하여 *Ty-1*, *Ty-3* 유전자를 지닌 내병성 F₁ 품종인 'FAVI-9' (Park et al., 2010), 그리고 이병성인 국내 고품질 완숙형 계통 'TCC04'과 'TT346'(EN8)을 대비종으로 사용하였으며, 재조합 검정대상으로 'Bacus'(EN16), 'HNS12860544'(EN17), '80087'(EN25)를 사용하였다.

8개의 CAPS 마커 중 MSc05732-4를 제외한 모든 마커에서 저항성, 이병성 대비종 간 다형성 밴드가 관찰되어 *Ty-1*와 *Ty-3* 유전자 특이적 밴드들을 유추할 수 있었다(Fig. 1). 두 이병성 대비종 계통은 모든 마커에서 유전자형이 동일하게 나왔으며, 저항성 계통인 'Gc171'은 cLEG-31-16(30.90Mbp)에서부터 하위에 위치하는 3개의 마커에서 이병성 계통과 다형성으로 나와 유전자가 MSc05732-4(30.60Mbp)과 cLEG-

31-16(30.90Mbp) 사이로 범위가 더욱 좁아질 수 있는 가능성을 제시하였다. 'FAVI-9'에서는 저항성 계통과 이병성 계통간 다형성 마커들이 이형접합으로 나와 마커검정결과에 신뢰성을 가질 수 있었다.

본 마커들에 대해 3개의 F₁ 품종을 검정한 결과 마커와 유전자위 사이에 염색체 재조합(교차)이 일어났을 가능성을 찾을 수는 없었다(Table 3 and Fig. 1). 모든 F₁ 품종들이 *Ty-1*, 또는 *Ty-3* 유전자 연관마커를 이형접합으로 지니고 있었다. 단 PG9(31.70Mbp)에서는 저항성 밴드(a,c)가 아닌 이병성 밴드(b)만 관찰되었지만, 이 마커는 *Ty-1*와 가장 가깝게 위치하면서 저항성밴드를 보였던 cLEG-31-P16보다 더 멀리 연관되어 있어(Verlaan et al., 2011), 재조합이 일어났다 하더라도 저항성표현형에는 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다. 이상의 마커검정 결과로 볼 때, 3개의 F₁ 품종 모두 *Ty-1* 또는 *Ty-3* 유전자를 지니고 있는 것으로 판단되었지만, 표현형 검정에서 이병성으로 나온 이유는 보독된 담배가루이 집단의 밀도가 이들 품종군에서 예외적으로 높아 다수 개체에서 저항성이 무너졌을 가능성이 있다. Lapidot et al.(1997)에 따르면, 다수 TYLCV 내병성 F₁ 품종의 포장 검정 결과 TYLCV가 높은 농도로 식물체 내 증식될 수 있으며 이러한 경우 심한 병징과 수확량 감소를 보여 *Ty-1*과

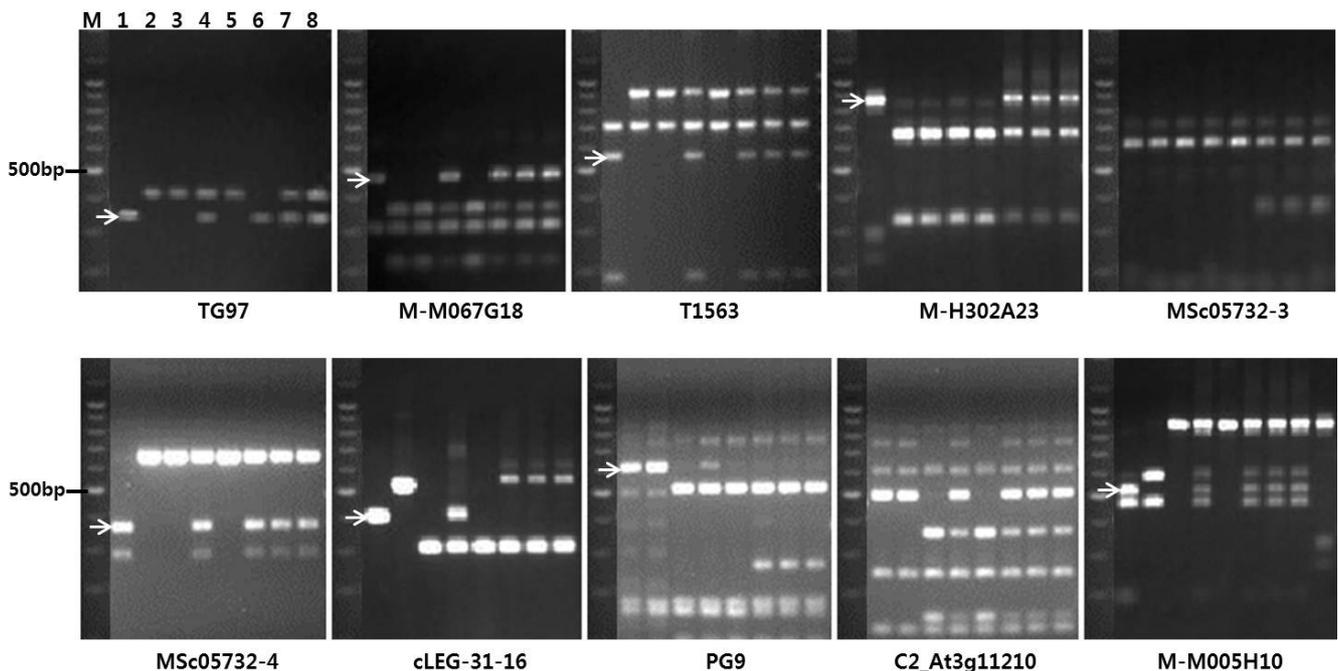


Fig. 1. Analysis for possible genetic recombination between markers and TYLCV-resistance genes. Agarose gel image of 8 cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers tested on various TYLCV-resistant or susceptible tomato accessions. The name of each CAPS markers are located at the bottom of gel pictures. TG97 and cLEG-31-16 are the name of clones from which marker 'Ty-seminis' for *Ty-1* and 'P6-25' for *Ty-3* (3a) were derived, respectively. Each lane from 1 to 8 corresponds to the tomato accession 'Gc9', 'Gc171', 'TCC04', 'FAVI-9', 'TT346' (EN8) 'Bacus' (EN16) 'HNS12860544' (EN17), and '80087' (EN25), respectively. DNA fragments produced were scored in alphabet order from the largest band (Table 3). DNA fragments specific to TYLCV-resistance gene are indicated by arrows. M, 100-bp size marker.

Ty-3에 의한 저항성이 접종 농도에 따라 크게 약화될 수 있음을 알 수 있다.

본 연구 결과와 같이 TYLCV 저항성 유전자에 기존 마커보다 더욱 근접한 CAPS 마커의 활용가능성이 확인되었으므로 이들 마커를 이용할 경우 향후보다 보다 정확한 MAS가 가능하리라 본다. 다만 CAPS 마커의 특성상 전기영동 이전에 PCR 증폭산물을 특정 제한효소로 전처리해야 하는 번거로움이 있어, 제한효소를 이용하지 않는 single nucleotide polymorphism(SNP)기반의 자동화분석 마커형(Hwang et al., 2011; Liew et al., 2004)으로 전환한다면 대량샘플분석을 통한 효율적인 MAS가 가능할 것이다.

TYLCV 내병성 품종의 원예형질 검정

분자마커 및 병리검정결과에서 발병률 3.3% 이하의 강한

내병성을 보인 품종들에 대한 원예특성 및 수량 검정을 실시하였다(Table 4). TYLCV 내병성으로 선발된 대과종에 속하는 13개 품종 중 8 품종이 대비종과 동일한 반개장의 엽자세를 보였으며, 나머지 품종은 개장형이었다. 엽장과 엽폭에 있어 ‘EXP9173’이 각각 가장 높은 55.8과 49.6cm로 대비종(47.4와 46.3cm)에 비해 높게 관찰되었으며, ‘JNT53’ 품종에서 39.3과 35.3cm으로 가장 낮게 나타났다. 절간장은 대비종(8.2cm)에 비해 ‘EXP9173’에서 10.1cm로 가장 길었으며, ‘Ty-mamoru’에서 6.1cm로 가장 짧았다. 수량에서는 가장 높은 ‘AGN19’(3150.8g)을 비롯하여 6품종에서 대비종(2412.0g)보다 높았다. 당도는 ‘TT443’(4.7°Bx)에서 가장 높게 나타났으며, 다른 4품종에서도 대비종의 4.0°Brix보다 같거나 높게 나타났다. 신미를 결정짓는 당산비는 ‘JN153’이 14로 가장 높았으며, ‘TT239’를 비롯한 6 품종에서 대비

Table 4. Characterization of horticultural traits of TYLCV-resistant F₁ cultivars selected by molecular markers and bioassay.

EN ^z	Cultivar	Leaf position	Leaf length (cm)	Leaf range (cm)	Internode Length (cm)	No. of fruit per plant	Fruit Weight (g)	Yield ^y (g)	Longitude (g)	Brix (°Brix)	Acidity (%)	Solid-acid ratio ^x
2	TT 239	SO	47.1	52.1	7.1	21.8	89.3	1946.7	1,116	4	0.29	13.9
3	TT 240	Open	48.1	43.3	7.9	11.8	163.3	1926.9	1,070	3.9	0.36	11.1
7	TT 443	Semi open	43.2	45.9	9.1	10.9	110.6	1205.5	1,153	4.7	0.44	10.8
9	AGN T9	Open	47.6	53.7	8.7	16.1	195.7	3150.8	1,021	4	0.38	10.5
10	JN T53	Open	39.3	35.3	8.6	20.5	127	2603.5	1,008	3.6	0.26	14
11	EXP 9161	Open	51.8	46.3	8.6	11.5	217.3	2499.0	1,010	3.5	0.33	10.6
12	EXP 9173	Open	55.8	49.6	10.1	10.6	213.1	2258.9	1,313	3.9	0.41	9.8
13	TOP 1199	Semi open	46.4	44	8.4	11.3	169.3	1913.1	981	3.7	0.39	9.4
15	EXP 9337	Semi open	48.2	48.9	7.3	13.4	211.3	2831.4	1,230	3.5	0.28	12.7
18	Tyade	Semi open	50.1	53	7	14.8	170.9	2529.3	947	3.8	0.27	13.9
19	Ty-Mamoru	Semi open	48.4	43.2	6.1	12.6	160.2	2018.5	764	4.2	0.44	9.6
20	Dafnis	Semi open	46.1	43	6.4	14.6	166.9	2436.7	1,055	4.2	0.34	12.4
21	Daylos	Semi open	45.4	47	7.6	13.7	156	2137.2	1,291	4.3	0.35	12.5
22	Rafito F₁	Semi open	47.4	46.3	8.2	14.4	167.5	2412.0	761	4	0.36	11
23	EXP 8731	Open	43.8	40.1	9	56	16.5	924.0	937	4.9	0.45	11
26	80122	Stand erect	36.2	37.3	6.4	56.8	15	852.0	1,096	4.5	0.35	13
28	80138	Stand erect	39.6	35.9	6.7	67.5	14.4	972.0	1,103	4.5	0.36	12.6
29	80151	Semi open	42.9	38.7	6.3	55.1	15.8	870.6	1,053	4.6	0.42	11.1
31	TC 31583	Semi open	32	25	10.2	99.2	11.9	1180.5	1,403	4.9	0.36	13.6
32	TC 32347	Semi open	38.3	38	7.5	59.4	15.2	902.9	1,360	4.9	0.32	15.5
33	TC 32857	Semi open	33.1	31.2	7.6	55.3	14.3	790.8	1,513	4.7	0.39	12.3
34	TC 32957	Semi open	40.3	42.1	6.9	60.8	18.2	1106.6	1,162	4.4	0.45	9.9
38	TC 33086	Semi open	40	41.3	7.6	48.1	24	1154.4	1,281	4	0.42	9.6
39	TC 33089	Stand erect	38.3	37.9	7.6	53.1	17.4	923.9	1,508	4.7	0.35	13.3
40	Redyoyo	Stand erect	45.2	40.4	6	89.3	13.4	1196.6	913	5.2	0.39	13.3

^zEN, entry number. EN2-22 are general fruit type cultivars. EN23-40 are cherry type cultivars. Control cultivars for each tomato type are indicated by bolded letters.

^yYield was calculated by multiplying no. of fruit per plant and fruit weight.

^xSolid-acid ratio was calculated by dividing the value of brix with acidity.

중(11)보다 높게 나타났다. 하지만 과실의 경도에 있어서는 대비종이 761인데 반해 대부분 품종들이 이보다 높거나 1,000g 이상으로 높아 생식용보다는 가공용에 적합한 것으로 판단되었다.

TYLCV 내병성으로 선발된 소과종에 속하는 10개 품종 중 3품종이 대비종(Red Yoyo)와 동일한 직립의 엽자세를 보였으며, 개장형의 'EXP8731'을 제외하고 나머지 품종은 모두 반개장형이었다. 엽장의 경우 모든 품종이 대비종(45.2cm)보다 짧았으며, 엽폭에서도 두 품종을 제외하고 대비종보다 짧아 소형의 엽크기를 보였다. 절간장은 'TC31583'(10.2cm)을 비롯하여 모든 품종에서 대비종(6.0cm)보다 길었다. 수량은 모든 품종이 대비종(1196.6g)보다 낮았는데, 이는 낮은 주당 과실수에 기인하는 것이었으며 실제 과실당 무게는 대부분 품종이 대비종보다 높아 국내에서 선호하는 과크기보다는 비교적 큰 것으로 나타났다. 당도는 전체적으로 소과종에서 대과종보다 높았으나, 대비종(5.2°Brix)보다는 약간 낮은 경향을 보였다. 'TC31583'과 'TC32347'에서 가장 높은 당도(4.9°Brix)를 보였다. 하지만 당산비에서는 이들 두 품종이 대비종(13.3)보다 높았으며 특히 'TC32347'은 낮은 산도(0.32)에 의해 당산도가 15.5로 매우 높았다. 경도는 대과종에서와 유사한 경향을 보여 대비종(913)과 비슷한 'EXP8731'을 제외하고 모든 품종이 1,000 이상으로 경도가 높았다.

종합적으로 판단할 때 유럽형 TYLCV 저항성 대과종 품종은 국내 선호 품종보다 비교적 수량이 높고 당도 및 당산도도 크게 떨어지지 않아 국내용 품종 육성재료로 적합하리라 판단되지만, 높은 과실 경도는 해결되어야 할 문제로 판단된다. 반면에 소과종 품종들은 수량, 당도 등에서 국내 선호 품종보다 낮고 절간장도 길어 이들을 활용한 고품질 TYLCV 저항성 품종 육성을 위해서는 대과종에 비해 많은 시간과 노력이 소요될 것으로 판단된다.

TYLCV 병피해를 최소화하기 위해서는 적절한 재배와 관리기술과 더불어 내병성 품종의 육성과 보급이 필요하다. 또한 단기간에 우수 내병성 계통육성을 위해서는 기존 F₁ 품종을 육성재료로 활용하는 분리육종법이 용이할 수 있다. 따라서, 향후 해외 TYLCV 저항성 F₁ 품종들에 대한 지속적인 평가와 선발, 그리고 기 확보된 분자마커를 활용한 MAS를 육종과정에 복합적으로 적용한다면, TYLCV 저항성 토마토 국내 신품종육성이 조기에 가능하리라 기대한다.

초 록

본 연구는 외국 종자 회사의 토마토 F₁ 품종들을 대상으

로 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV) 저항성 분자마커 분석과 포장병리검정을 통해 각 품종의 저항성 유전자형과 내병성 수준을 분석하고, 원예형질 특성평가를 통해 TYLCV 저항성 품종보급과 분리육종에 적절한 품종선발을 위해 수행되었다. 40개 공시품종의 분자마커 및 병리검정 결과, 대부분 저항성으로 표기된 품종들이 TYLCV 저항성 유전자인 *Ty-1*, *Ty-3*, 또는 *Ty-3a* 유전자를 이형접합 또는 동형접합으로 지니고 있으며, 표현형에서도 매우 낮은 발병률을 보였다. 반면, 중간 저항성으로 표기된 4 품종 중 3 품종은 18.1-33.3%의 발병률을 보였으며, 마커형이 이병성이었다. 내병성이 확인된 F₁ 품종들을 대상으로 원예형질 특성조사 결과, 유럽형 TYLCV 저항성 대과종 품종은 국내 선호 대비종보다 비교적 수량이 높고 당도 및 당산도도 크게 떨어지지 않아 국내용 품종 육성재료로 적합하였지만, 높은 과실 경도의 문제점이 있었다. 반면, 소과종 품종들은 수량, 당도 등에서 국내 선호 품종보다 낮고 절간장도 길어 이들을 활용한 고품질 TYLCV 저항성 품종 육성을 위해서는 대과종에 비해 많은 시간과 노력이 소요될 것으로 판단되었다.

추가 주요어 : 염색체 교차, *Solanum lycopersicum*, *Ty-2*, *Ty-4*, *Ty-5*

인용문헌

- Anbinder, I., M. Reuveni, R. Azari, I. Paran, S. Nahon, H. Shlomo, L. Chen, M. Lapidot, and I. Levin. 2009. Molecular dissection of tomato leaf curl virus resistance in tomato line Ty172 derived from *Solanum peruvianum*. *Theor. Appl. Genet.* 119: 519-530.
- Garcia, B.E., E. Graham, K.S. Jensen, P. Hanson, L. Mejía, and D.P. Maxwell. 2007. Co-dominant SCAR markers for detection of the begomovirus-resistance *Ty2* locus derived from *Solanum habrochaites* in tomato germplasm. www.plantpath.wisc.edu/GeminivirusResistantTomatoes/Markers
- Hwang, J.H., S.G. Ahn, J.Y. Oh, Y.M. Choi, J.S. Kang, and Y.H. Park. 2011. Functional characterization of watermelon (*Citrullus lanatus* L.) EST-SSR by gel electrophoresis and high resolution melting analysis. *Sci. Hort.* 130:715-724.
- Hoogstraten, J., C. Braun, and H. McDonough. 2005. Methods for coupling resistance alleles in tomato. United States Patent Application. US 20050278804A1.
- Ji, Y. and J.W. Scott. 2006. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus linked to *Ty-1* on chromosome 6. *Rpt. Tomato Genet. Coop.* 56:22-25.
- Ji, Y., M. Salus, B. Van Betteray, J. Smeets, K. Jensen, C. Martin, L. Mejia, J. Scoot, M. Havey, and D. Maxwell. 2007a. Co-dominant SCAR markers for detection of the *Ty-3* and *Ty-3a* loci from *Solanum chilense* at 25 cM of chromosome 6 of Tomato. *Tomato Genet. Coop.* 57:25-29.

- Ji, Y., D.J. Schuster, and J.W. Scott. 2007b. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomatoyellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. *Mol. Breeding* 20:271-284.
- Ji, Y., J.W. Scott, D.J. Schuster, and D.P. Maxwell. 2009. Molecular mapping of *Ty-4*, a new Tomato yellow leaf curl virus resistance locus on chromosome 3 of Tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 134:281-288.
- Kim, K.H. 2011. Gene pyramiding of disease resistances using molecular markers in tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). M.S. Thesis, Pusan National University, Miryang, Korea.
- Lapidot, M., M. Friedmann, O. Lachman, A. Yehezkel, S. Nahon, S. Cohen, and M. Pilowsky. 1997. Comparison of resistance level to Tomato Yellow Leaf Curl Virus among commercial cultivars and breeding lines. *Plant Dis.* 8:1425-1428.
- Liew, M., R. Pryor, R. Palais, C. Meadows, M. Erali, E. Lyon, and C. Wittwer. 2004. Genotyping of single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting of small amplicons. *Clin. Chem.* 50:1156-1164.
- Park, Y.H., K.H. Kim, Y.M. Choi, H.S. Choi, Y. Chae, Y.H. Park, and S.M. Chung. 2010. Evaluation of TYLCV-resistant tomato germplasm using molecular markers. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:89-97.
- Tsilo, T.J., Y. Jin, and J.A. Anderson. 2010. Identification of flanking markers for the stem rust resistance gene *Sr6* in wheat. *Crop Sci.* 50:1967-1970.
- Verlaan, M.G., D. Szinay, S.F. Hutton, H. Jong, R. Kormelink, R.G.F. Visser, J.W. Scott, and Y. Bai. 2011. Chromosomal rearrangements between tomato and *Solanum chilense* hamper mapping and breeding of the TYLCV resistance gene *Ty-1*. *Plant J.* 68:1093-1103.