

과제구분	기관고유	수행시기	전반기	
어젠다코드	4-1-1	기술분야 및 품목표준코드	C02 VC01080301	
과 제 명		수행기간	과제책임자	
토마토 신품종 개발		'17~'19	원예연구과	이선영
1) 완숙용 토마토 신품종 육성		'17~'19	원예연구과	이선영
색인용어	토마토, 품종, 육종 (tomato, variety, breeding)			

토마토 황화잎말림바이러스 저항성 계통 육성

Development of Tomato Lines with Tomato Yellow Leaf Curl Virus Resistance Genes

Sun-Young Lee*, Chul-Geon An*, Jae-Uk An*, Bo-Kyung Park*, and Hee-Dae Kim*

**Gyeongnam Agricultural Research and Extension Services, Jinju, Korea*

ABSTRACT : Tomato(*Solanum lycopersicum* L.) which belongs to the family *Solanaceae* is a typical vegetable most highly grown and consumed worldwide. Since the Tomato Genome Sequencing Project was completed in 2012, commercial seed company has developed genome-based selection in the breeding system. There are important marketable fruit yield, disease resistance and fruit quality in F1 hybrid. Disease resistance is one of the most essential traits in breeding lines and TYLCV(Tomato Yellow Leaf Curl Virus) causes especially major damage to tomato production. This study was carried out to investigate the characteristics of genetic resources and develop homozygous parental lines with TYLCV resistant gene. We selected eighteen lines carrying *ty1* and *ty3* resistance gene and one line carrying *ty2* by screening 126 genetic resources. F5 generation of nineteen selected lines were produced by continuous self-pollination. Two lines (19-157, 19-158) of *ty1* gene and one line (19-163) of *ty2* gene were selected for potential parental lines. Two backcross lines (19-203, 19-204) possessing *ty1* and *ty2* were generated from 19-157, 19-158, and 19-163 and were developed using marker-assisted selection for enhancing the resistance of TYLCV. These resistant lines would be useful materials for multi-resistance breeding program in the future.

Key word : tomato, tomato yellow leaf curl virus, resistance gene, variety

1. 연구목표

토마토는 가지과 채소로 전 세계적으로 생산량과 소비량이 많아 2010년 443만 ha에서 2018년 476만 ha로 재배면적이 증가하였고, 생산량은 2010년 1억 5331만 톤에서 2018년 1억 8225만 톤으로 증가하였다. 우리나라는 2017년을 기점으로 재배면적과 생산량의 증가가 폭은 둔화되었지만 기능성 채소로 인식되면서 소비량은 꾸준히 유지되고 있다. 2012년 토마토의 유전체 해독이 완료된 후, 민간종자회사에서는 이를 기반으로 한 육종시스템이 구축되어 육종 연한을 획기적으로 단축하고 있다(김동현 등, 2019; Jung YJ et al., 2016). 국내에서는 골든 시드프로젝트가 진행되면서 토마토 품종의 국산화 비율은 증가하였으나, 90% 이상이 국산 품종인 방울토마토와 달리 일반 대과종은 30% 내외 수준이다. 국산 토마토 품종의 지속적인 개발을 위해서는 우량형질뿐만 아니라 토마토 생산량에 직접적인 영향을 주는 토마토황화잎말림바이러스 내병성 품종의 개발이 무엇보다 필요하였다. 이에 다양한 유전자원을 확보하여 특성을 평가하고 우량계통을 선발·육성하고자 이 과제를 수행하게 되었다.

2. 재료 및 방법

본 시험은 경남농업기술원 채소 온실에서 2017년부터 3년간 수행하였으며 내병성 집단 육성을 위해 대과종인 시판품종을 포함하여 유전자원 126종을 수집하였다. 수집 유전자원의 내병성 검정을 위해 20일간 육묘한 후, CTAB(cetyltrimethyl ammonium bromide)법을 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 Nanodrop spectrophotometer(Nanodrop Technologies, USA)로 농도를 측정하여 $10\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ 로 희석하여 표 1의 저항성 관련 분자 마커를 활용하여 PCR을 시행하였다(Peter hanson et al, 2016). DNA 산물은 1~2% agarose 젤에서 전기영동을 통해 확인하여 저항성과 감수성을 판별하였다. 내병성 중 TYLCV(황화잎말림바이러스) 저항성 유전자가 이입된 자원을 1차적으로 선발하고 초장, 엽수, 엽크기 등의 생육 특성과 과중, 과크기, 당도 등 과실 특성이 우수한 자원을 종합적으로 고려하여 기본집단을 선발하였다. 황화잎말림바이러스 저항성 유전자 중 *ty1*과 *ty3*는 유전적 거리가 가까워서 같은 유전자로 판별되어 *ty1*과 *ty2* 유전자에 대해서만 선발을 진행하였다. 선발된 계통의 고정을 위해 F5~F6세대까지 자가수분을 하였고 헤테로인 저항성 계통에 대해서는 분자마커를 이용하여 육묘상에서 선발하여 세대진전을 진행하였다. 토마토황화잎말림바이러스 저항성 향상을 위해 *ty1*과 *ty2* 두 유전자를 가지고 있는 계통을 육성하기 위해 품종의 형질 특성이 우수하고 *ty1* 유전자를 가진 계통을 모본으로 하고 *ty2* 유전자를 가지고 있는 계통을 부분으로 하여 여교잡을 실시하였고 마커를 활용하여 *ty1*과 *ty2* 저항성 개체를 선발하였다.

표 1. 토마토 내병성 관련 분자마커 정보

Disease	Resistance gene tagged	Restriction enzyme	primer sequence(5'→3')
Tomato yellow leaf curl virus	<i>ty1</i>	<i>Taq</i> I	TAATCCGTCGTTACCTCTCCTT CGGATGACTTCAATAGCAATGA
	<i>ty2</i>	—	TGGCTCATCCTGAAGCTGATAGCGC AGTGTACATCCTTGCCATTGACT
	<i>ty3</i>	—	GGTAGTGGAAATGATGCTGCTC GCTCTGCCTATTGTCCCATATATAACC
Fusarium wilt	<i>I2</i>	<i>Hha</i> I	CGAAGAGGCTGTCAGATGCT GCTAGCTTGGGAATTTAATCCA
	<i>I3</i>	<i>Hinf</i> I	CTGATACGGATGGCCTTTTT AATGCACTAGCAAAGCTTGACTGA
Bacterial speck	<i>Pto</i>	<i>Hinf</i> I	TCTGATTTTAATTCGCAAGAAGAA CAACATTGGTCGGCTTACCT
Spotted wilt virus	<i>SW5</i>	—	TCCATTCATTCTCGAACACATC GCTCTTGTTTTGGGTAATCAGC
Verticillium wilt	<i>Ve</i>	—	GTTCTGAATAGCAAAAACAACT ACGTAGTTATTTAGTGTTAAG
Tomato mosaic virus	<i>Ptomv</i>	<i>Hinf</i> I	GAGTTCCTCCGTTCAAATCCTAAGCTTGAGAAG CTACTACACTCACGTTGCTGTGATGCAC
Alternaria stem canker	<i>Asc</i>	<i>Mnl</i> I	GAATTTGTTGATCTTCTTCCCCT CCCAGTTTTCTTCCCTCCTC
Root knot nematode	<i>Prex</i>	—	TGGAAAAATGTTGAATTTCTTTTG GCATACTATATGGCTTGTTTACCC
Leaf mold (<i>Fulvia fulva</i>)	<i>CF5</i>	—	ACCCTTCTCAACATGACAAAGAAAGA CCAGTCCTTGCATGCATTAGAAGCTT
	<i>CF9</i>	—	TGTGGTGGTGAAGATCAAGTGA TTTCCGATGTAAAAGAAGGCATA
Late blight	<i>ph3</i>	—	TGATTCAAAAATTGGCAGTAGG TTAATGCAATAGGCAATCATTG
Fusarium crown root rot	<i>J3</i>	<i>Mbo</i> I	CAGCTGAAAGATGTCACCCA TGATCATTTACAAGGCGCA

3. 결과 및 고찰

토마토에서 우수한 기본집단 및 inbred 계통을 육성하기 위해 시판품종을 포함하여 126종의 유전자원을 수집하였다. 수집된 자원으로 황화잎말림바이러스, 반점위조바이러스, 잎곰팡이병, 시들음병, 역병 등 14종의 저항성 관련 분자마커를 활용하여 스크리닝한 결과(표 2), 잎곰팡이병 중 *CF9*는 유전자원 모두 저항성을 나타냈으며 황화잎말림바이러스에 저항성을 보이는 자원은 19종, 역병 저항성은 19종, 반점위조바이러스 저항성은 23종이었다. 특히, 황화잎말림바이러스에 대해 저항성을 보이는 유전자원은 모집단 양성의 주축이 되었다. 토마토 우량 품종 육성에서는 내병성뿐만 아니라 생육 및 과실 특성 등 표현형도 중요한 선발 기준이 되었다. 유전자원들의 특성을 5화방 전개 시점에서 조사한 결과(표 3) 아프리카에서 수집된 자원인 CAL J, Milele F1, TENERU, TENERU 97, RIO grande는 무한신장형인 다른 자원들에 비해 초장이 54.3cm ~ 106.3cm로 짧았다. 과중은 114.6g ~ 311.0g, 당도는 3.9°Brix ~ 6.4°Brix로 핑크계 대과가 레드계 대과보다 높은 경향이었다.

표 2. 유전자원(품종) 내병성 검정 결과

자원명	TYLCV			ph3	Fusarium wiltLeaf mold				Ve	SW5	Pto	Prex	Ptomv	J3	ASC
	ty1	ty2	ty3		I2	I3	CF5	CF9							
라피토	S	S	S	S	H	S	H	R	R	S	S	H	R	H	R
슈퍼선골드	S	S	S	S	H	S	H	R	R	S	S	H	R	H	R
대프니스	H	S	Ha	S	H	S	H	R	R	S	S	S	R	S	R
메리바	H	S	Ha	S	R	S	R	R	H	S	S	H	R	S	R
TY P115	H	S	Ha	S	S	S	R	R	R	S	S	H	R	S	R
TY 153	H	S	Ha	S	S	S	H	R	R	S	S	S	S	S	R
F1S T172	H	S	Ha	S	S	S	H	R	H	S	S	S	S	S	R
사라 127호	R	S	Ha	S	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R
시교100	S	H	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	H	R
TPK-10	R	S	Ha	R	R	S	H	R	H	S	S	S	R	S	R
Z-CC	R	S	Ha	S	R	S	S	R	R	S	H	S	H	S	R
마라도나	H	S	Ha	R	S	H	R	R	H	H	H	H	R	H	R
시교 101	H	S	Ha	R	R	S	R	R	R	H	S	H	R	S	R
시교 102	H	S	Ha	S	R	S	H	R	R	H	S	S	H	S	R
시교 103	H	S	Ha	S	R	S	R	R	R	H	S	H	R	H	R
시교 110	H	S	Ha	S	R	S	R	R	R	H	S	H	R	H	R
시교 111	H	S	Ha	S	R	S	R	R	R	H	S	H	H	H	R
시교 112	H	S	Ha	S	R	S	R	R	R	H	S	H	R	H	R
시교 113	H	S	Ha	S	R	S	R	R	R	H	S	H	H	H	R
코모로	H	S	Ha	H	R	S	R	R	H	H	S	H	H	H	R
E27. 34756	H	S	Ha	H	H	S	H	R	H	H	S	S	R	H	R
CAL J	S	S	S	S	S	S	S	R	H	S	S	R	S	S	R
Milele F1	S	S	S	H	S	S	S	R	H	S	S	R	S	S	R
TENGERU	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R
TENGERU 97	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R
RIO Grande	S	S	S	S	R	S	H	R	S	S	S	R	S	S	R

* R : 저항성, S : 감수성, H : 헤테로

표 3. 유전자원(품종) 생육 및 과실 특성

자원명	생육 특성(5화방)					과실 특성			
	초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수 (매)	경경 (mm)	과중 (g)	과고 (mm)	과경 (mm)	당도 (°Brix)
라피토	121.7	44.0	46.7	19.5	14.8	301.7	73.4	85.9	5.8
슈퍼선골드	123.5	41.0	49.0	19.0	12.2	155.6	58.7	70.1	6.4
대프니스	117.7	38.2	41.5	18.0	11.2	265.0	72.4	80.1	4.8
메리바	101.7	40.7	41.5	17.0	12.5	221.0	67.5	77.4	4.1
TY P115	109.7	41.7	42.2	18.5	12.5	158.5	63.8	65.1	5.1
TY 153	107.7	37.2	35.8	19.5	9.7	189.2	64.8	74.1	4.7
F1S T172	139.0	38.6	42.0	19.0	10.8	173.0	58.7	71.1	5.1
사라 127호	101.7	41.5	40.2	17.0	11.7	214.3	64.3	79.2	4.2
시교100	131.7	41.5	42.2	19.0	10.4	202.3	63.5	73.6	5.4
TPK-10	99.6	43.1	44.6	15.0	10.7	232.0	68.2	74.3	4.4
Z-CC	109.3	42.3	41.0	18.6	11.1	232.2	64.0	74.1	4.7
마라도나	143.6	45.0	42.6	16.6	11.3	248.3	67.4	79.7	4.1
시교 101	130.0	34.6	35.5	18.0	11.8	142.3	61.0	64.6	4.3
시교 102	151.1	38.8	38.3	19.6	10.9	158.0	61.2	66.7	4.6
시교 103	130.6	43.1	44.6	18.0	9.9	202.5	72.8	67.9	4.3
시교 110	128.1	43.5	42.5	17.3	11.0	117.0	56.7	61.4	5.1
시교 111	133.5	43.3	42.3	16.0	10.1	268.0	64.3	82.3	5.5
시교 112	139.3	39.5	36.8	17.3	10.1	125.5	55.2	60.7	4.9
시교 113	140.1	43.3	43.3	16.6	10.3	178.0	64.1	69.5	4.9
코모로	131.0	45.8	32.6	17.0	12.7	196.0	62.2	72.9	5.2
E27. 34756	95.3	39.1	42.0	17.0	9.7	311.0	73.2	80.1	4.9
CAL J	54.3	50.3	59.0	11.3	13.4	128.5	66.8	59.9	5.5
Milele F1	106.3	53.7	53.7	16.7	11.1	114.6	58.7	55.1	5.3
TENGERU	55.3	59.0	56.0	13.7	12.9	158.3	58.8	67.4	5.2
TENGERU 97	72.0	52.7	50.3	12.3	12.6	119.8	46.4	48.8	3.9
RIO Grande	96.3	51.7	56.7	14.3	11.0	120.5	66.0	57.5	5.0

유전자원 126종 중 토마토황화잎말림바이러스에 감수성인 107종은 도태하고 나머지 19종에 대해 세대진전을 진행하였고 개체별로 내병성을 검정한 결과는 표 4와 같다 (그림 1).

표 4. F3세대 진전 계통의 내병성 검정 결과

TYLCV 저항성		계통명		
ty1	ty2	F1	F2	F3
R	S	15, 22, 100	22-1 등 13계통	22-1(1,3,5,11) 등 46계통
R	S	25	12-2 등 5계통	12-2(1, 3), 13-3(3, 5) 등 5계통
H	S	03 등 28계통	03-6 등 26계통	03-6(1,2,3), 04-5(1) 등 16계통
H	S	12, 13	26-6 등 6계통	-
S	H	18	18-2, 7, 8, 10, 11	18-2(1,3,5,7,8,11), 18-7(2,4,10) 18-8(1,2,3,4,6,7,10), 18-10(2,7,9,10,11) 18-11(1,2,4,6,9,12)
S	R			18-2(10,12), 18-7(1,3,5,11) 18-8(5), 18-10(3,10)
S	S	23, 79, 93	26-2 등 13계통	-

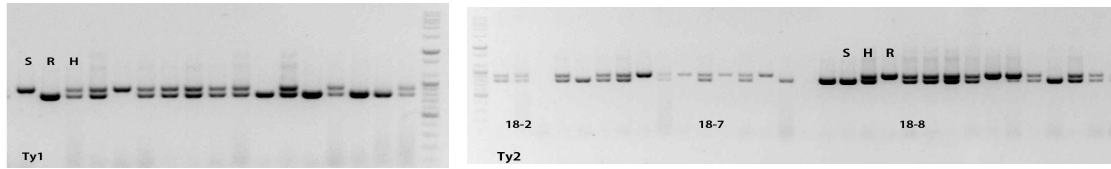


그림 1. F3세대진전계통의 TYLCV 저항성 분자마커를 이용한 PCR 결과

F5~F6세대진전계통은 유전적으로 안정적인 것으로 판단되어 모·부분으로 활용하고자 내병성과 과실 특성을 조사하였다. F6세대진전계통인 19-8 등 6계통은 TYLCV 내병성 *ty1* 저항성 유전자를 가지고 있으며 과형이 어느 정도 안정화 되어있으며 유전자원(시교 100)에서 선발된 계통인 19-163는 TYLCV 내병성 *ty2* 유전자를 가지고 있지만, 심실수가 8개로 표현형적으로 개선할 필요가 있으리라 판단되었다(표 5).

표 5. 교배친 선발 계통의 내병성과 과실특성

계통명	과중 (g)	과고 (mm)	과경 (mm)	당도 (°Brix)	심실수 (개)	과피두께 (cm)	비교 (과형/과색)	내병성*	
								<i>ty1</i>	<i>ty2</i>
19-8	195.0	72.6	71.8	5.6	3	0.7	L(F5)/R	R	S
19-157	195.0	72.6	71.8	5.6	3	0.7	L(F6)/R	R	S
19-158	213.7	69.2	82.0	4.3	4	0.7	L(F6)/R	R	S
19-160	204.8	59.5	78.1	5.3	5	0.7	L(F6)/R	R	S
19-161	107.3	52.5	62.5	5.2	2	0.8	L(F6)/R	R	S
19-163	226.9	65.5	79.2	5.9	8	0.6	L(F6)/R	S	R
19-167	167.2	65.5	70.2	5.4	2~3	0.8	L(F6)/R	R	S
19-168	279.1	59.0	83.7	6.3	5~6	0.8	L(F3)/R	S	S
19-31	42.3	44.2	42.2	8.6	2	0.5	M(F5)/Y	S	S
19-196	44.2	42.3	43.6	7.0	2	0.6	M(F5)/R	S	S
19-141	15.4	29.5	29.8	10.0	2	0.5	S(F4)/Y,R	S	S
19-80	15.3	27.7	31.0	7.8	2	0.3	S(F4)/R	S	S
19-177	39.5	50.5	38.5	5.6	2	0.6	S1(F3)/R	R	S
19-191	20.0	38.1	29.1	8.3	2	0.4	S1(F2)/R	S	S

* *ty1*, *ty2* : TYLCV, R : 저항성, S : 감수성, H : 헤테로

토마토황화잎말림바이러스 저항성 향상과 형질이 우수한 계통의 선발을 위해 *ty1* 유전자와 우수형질을 지닌 19-157과 19-158 계통을 모본으로 하고 *ty2* 유전자를 가진 19-163을 부분으로 하여 여교배를 하여 BC₁F₁ 식물체를 육성하였으며 분자마커를 활용하여 내병성을 검정하였다(표 6). 과실의 심실수는 다소 분리되는 경향이었으나, *ty1*이 저항성(R)이고 *ty2*도 저항성(H)인 2계통을 선발하였다. 선발된 계통은 자가수분과 여교잡을 지속적으로 시행하여 모본의 형질은 유지하면서 부분의 *ty2* 저항성 유전자(R)가 유입될 수 있도록 하여 향후 다른 계통과의 교배조합을 통해 복합내병성 품종을 육성하고자 한다.

표 6. 황화잎말림바이러스 저항성 여교잡 계통의 내병성과 과실특성

계통명	과중 (g)	과고 (mm)	과경 (mm)	당도 (°Brix)	심실수 (개)	과피두께 (cm)	교배조합	내병성*	
								ty1	ty2
19-203	217.4	62.6	76.1	5.9	3~7	0.9	19-157 x 19-163	R	H
19-204	221.3	64.0	78.9	6.1	5~9	0.5	9-157x 19-163	R	H

* ty1, ty2 : TYLCV, R : 저항성, S 감수성, H : 헤테로

4. 적요

본 시험은 토마토 황화잎말림바이러스 저항성 계통을 육성하고자 수행하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 가. 유전자원 126종의 내병성 검정 결과, 곰팡이병 중 CF9는 유전자원 모두 저항성을 나타냈으며 황화잎말림바이러스에 저항성을 보이는 자원은 19종, 역병 저항성은 19종, 반점위조바이러스 저항성은 23종이었음.
- 나. 유전자원 중 아프리카 수집종인 CAL J 등 5종은 유한신장형이 3종이었고 초장은 다른 유전자원들에 비해 짧은 편이었음.
- 다. 유전자원 중 토마토황화잎말림바이러스(TYLCV) 저항성인 19종을 계통으로 선발하여 F5~F6세대까지 자가수분하여 고정하였음.
- 라. 토마토황화잎말림바이러스 저항성 계통 중 18계통은 ty1 저항성 유전자를 가지고 있었고, 1계통은 ty2 저항성 유전자를 가지고 있었음.
- 마. ty1 저항성 유전자와 우량형질을 지닌 2계통(19-157, 19-158)을 선발하였고, ty2 유전자를 가진 1계통(19-163)을 각각 모·부본으로 선발하였음.
- 바. 선발된 3계통으로 여교잡을 실시하여 ty1와 ty2 저항성 유전자를 가지고 있는 2계통(19-203, 19-204)을 최종적으로 선발하였으나, 심실수가 불안정하여 여교잡을 지속적으로 시행하여 교배친으로 활용할 예정이음.

5. 인용문헌

- Je Min Lee, C.-S. O., Inhwa Yeom, 2015, Molecular Markers for Selecting Diverse Disease Resistances in Tomato Breeding Programs, *Plant Breed. Biotech.*, 3(4): 308-322.
- Peter Hansona, Shu-Fen Lua, Jaw-Fen Wanga, Wallace Chena, Lawrence Kenyona, Chee-Wee Tana, Kwee Lian Teeb, Ya-Ying Wanga, Yun-Che Hsua, Roland Schafleitnera, Dolores Ledesmaa, Ray-Yu Yang, 2016, Conventional and molecular marker-assisted selection and pyramiding of genes for multiple disease resistance in tomato, *Scientia Horticulturae* 201: 346-354.
- Samuel F. Hutton¹, J. W. S., and David J. Schuster, 2012, Recessive Resistance to Tomato yellow leaf curl virus from the Tomato Cultivar Tyking Is Located in the Same Region as Ty-5 on Chromosome 4, *HORTSCIENCE* 47(3):324-327.
- Huei-Mei Chen, C.-Y. L., Miho Yoshida, Peter Hanson and Roland Schafleitner, 2015, Multiplex PCR for Detection of Tomato Yellow Leaf Curl Disease and Root-Knot Nematode Resistance Genes in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.), *International*

Journal of Plant Breeding and Genetics 9(2): 44-56.

김동현, 정유진, 김중희, 김희경, 남기홍, 이효주, 김명권, 노일섭, 강권규, 최영하, 2019, MABC를 이용한 토마토 응성불임 엘리트 계통육성, 원예과학기술지 37(6) :744 ~755.

Jung YJ, Nou IS, Cho YG, Kim MK, Kim HT, Kang KK, 2016, Identification of an SNP variation of elite tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines using genome resequencing analysis, Horticulture, Environment, and Biotechnology 57: 173~181.

6. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
						'17	'18	'19
1) 완숙용 토마토 신품종 육성	책임자	원예연구과	농업연구사	이선영	총괄수행	○	○	○
	공동연구자	원예연구과	농업연구사	오주열	수행조사	○	○	
	공동연구자	원예연구과	농업연구사	박보경	수행조사		○	○
	공동연구자	원예연구과	농업연구사	안재욱	수행조사			○
	공동연구자	원예연구과	농업연구관	안철근	결과검토	○	○	○
	공동연구자	환경농업연구과	농업연구관	최시림	결과검토	○	○	
	공동연구자	원예연구과	농업연구관	김희대	총괄검토		○	○