

사업구분	지역특화기술개발	수행구분	전반기	연구기간	'03 ~ (2년차)
연구과제명	가시오갈피 우량계통 선발 및 대량 증식기술 개발			연구책임자	강안석
세부과제명	가시오갈피 우량계통 선발을 위한 DNA marker 개발				
세부과제책임자	북부농업시험장 지방농업연구사 최강준 (033-458-4783)				
색인용어	가시오갈피, 우량계통, DNA marker				

1. 당해연도 목표

- 가. 지역수집계통에 대한 생리 활성 및 형태적 특징에 대한 특성조사표 작성
- 나. 지역 수집계통 유연관계 분석 및 지역 특이 DNA band 염기서열 분석 시스템 구축

2. 수행방법

(시험 1) 지역별 수집지역계통 생육 특성 검정

- 가. 조사 대상 조사시기 : 전 생육기간 수시조사
 - 국내자생종 : 35 지역 (철원 대성산 등) 896계통
 - 국외수집종 : 2지역 (중국, 일본 북해도) 17계통
- 나. 생육특성 검정 : 신초 발생량, 생육속도, 개화 및 결실특성, 병 발생양상 등

(시험 2) 지역 수집종간 유연관계 분석 및 우수 지역계통 선별 marker 개발

- 가. 수집 지역 간의 유전적 다형성 분석 방법 : RAPD 분석기술 이용
 - 분석 대상 : 가시오갈피 21개지역, 오갈피 4종(당오갈피, 섬오갈피 등)
 - 2차 선발된 random primer 20종 이용 72지역계통 다형성 분석
- 나. RAPD 분석결과에 따른 유연관계 분석 : NTSYS program 이용
- 다. 선발 DNA band 추출 : agarose gel에서 직접 추출
- 라. 특정 DNA band cloning : pGEM-T Easy Vector system 이용
- 마. 염기서열 분석 : BigDye Terminator kit, DNASTAR program 이용
- 바. URP primer 이용 오갈피속 및 가시오갈피내 변이 분석

3. 시험성적

(시험 1) 지역별 수집지역계통 생육 특성 검정

- 가. 1차선발(331계통) : 국내외 수집종 총 913계통 중 수형, 재배적응성 기준
- 나. 2차선발(국내수집종 34계통) : 성장량, 내병성 등 기준
- 다. 계통별로 전엽, 화아분화, 낙엽기 등이 크게는 30일 이상 차이가 나타났으며 신초발생량, 및 성장속도 또한 큰 변이를 보임

<표 1-1> 2차선발계통(국내 34계통) 및 국외수집계통의 생육특성

계통명	화사길이 분류군	전엽기 (월.일)	화아분화기 (월.일)	낙엽기 (월.일)	수고 (cm)	신초발생수 (개)	신초장 (cm)	신초경경 (cm)	병반면적 비율(%)
GN010001	장	4.19	5.16	11.3	120	2	21.0	0.8	3
GN010002	장	4.18	5.19	10.30	140	4	48.5	0.6	1
GN010004	중	4.20	5.14	11.1	160	4	16.7	0.7	1
GN020001	단	4.18	5.19	10.30	145	3	15.0	0.8	4
GN020002	중	4.19	5.20	11.1	139	4	16.0	1.0	4
GN020005	단	4.18	5.16	11.3	190	3	39.0	0.8	8
GN030029	단	4.18	5.12	10.12	178	4	55.0	0.8	4
GN030033	장	4.17	5.12	10.23	112	10	52.0	0.7	4
GN030039	단	4.22	5.15	11.1	170	2	37.5	0.8	6
GN030082	장	4.24	5.19	10.25	140	11	58.7	0.8	6
GN030098	중	4.12	5.13	10.27	139	4	106.3	1.0	5
GN030113	중	4.15	5.13	10.30	160	1	120.0	0.8	5
GN030119	단	4.19	5.23	11.1	110	14	76.3	0.8	7
GN030132	단	4.15	5.11	10.23	200	3	77.7	0.8	5
GN030193	장	4.15	5.20	10.15	157	8	71.3	0.9	9
GN030195	단	4.17	5.17	10.25	158	7	72.3	0.8	8
GN030199	장	4.12	5.17	10.27	215	7	74.7	0.8	9
GN030205	장	4.18	5.14	11.3	178	6	97.7	0.9	1
GN030255	장	4.17	5.18	10.20	220	6	68.0	0.6	8
GN030256	장	4.18	5.14	10.25	210	5	62.3	0.8	5
GN030259	단	4.24	5.14	11.3	200	3	51.7	0.8	6
GN030266	중	4.18	5.15	10.30	185	3	90.0	1.0	6
GN030290	장	4.26	5.17	10.30	146	13	18.3	0.5	7
GN030296	장	4.17	5.19	10.23	220	6	64.0	0.7	8
GN030300	장	4.25	5.18	10.27	195	2	48.0	0.7	8
GN030345	장	4.27	5.18	11.1	147	3	39.3	0.6	7
GN030372	단	4.23	5.15	11.3	195	3	33.3	0.7	5
GN060003	단	4.19	5.13	11.3	186	2	28.0	0.8	9
GN070001	중	4.16	5.11	10.30	128	2	14.5	0.8	9
GN120033	장	4.17	5.16	10.30	200	3	9.3	0.6	8
GN120040	단	4.17	5.18	11.3	200	2	31.5	0.7	7
GN120068	단	4.19	5.18	11.3	150	3	12.2	0.8	8
GN250002	-	4.30	-	10.30	103	3	12.3	0.7	1
GN250003	-	5.4	-	10.30	140	2	20.5	0.9	1
일본도입계통1	단	4.21	5.12	10.30	183	4	22.0	0.5	1
일본도입계통2	단	4.19	5.10	11.1	167	2	84.0	1.2	15
일본도입계통3	장	4.20	5.15	11.1	210	4	56.3	0.7	24
중국도입계통1	장	4.10	5.14	10.25	157	5	42.3	0.9	27
중국도입계통2	장	4.9	5.12	11.1	200	2	67.5	0.8	6
중국도입계통3	단	4.12	5.13	11.1	220	4	62.7	0.7	21

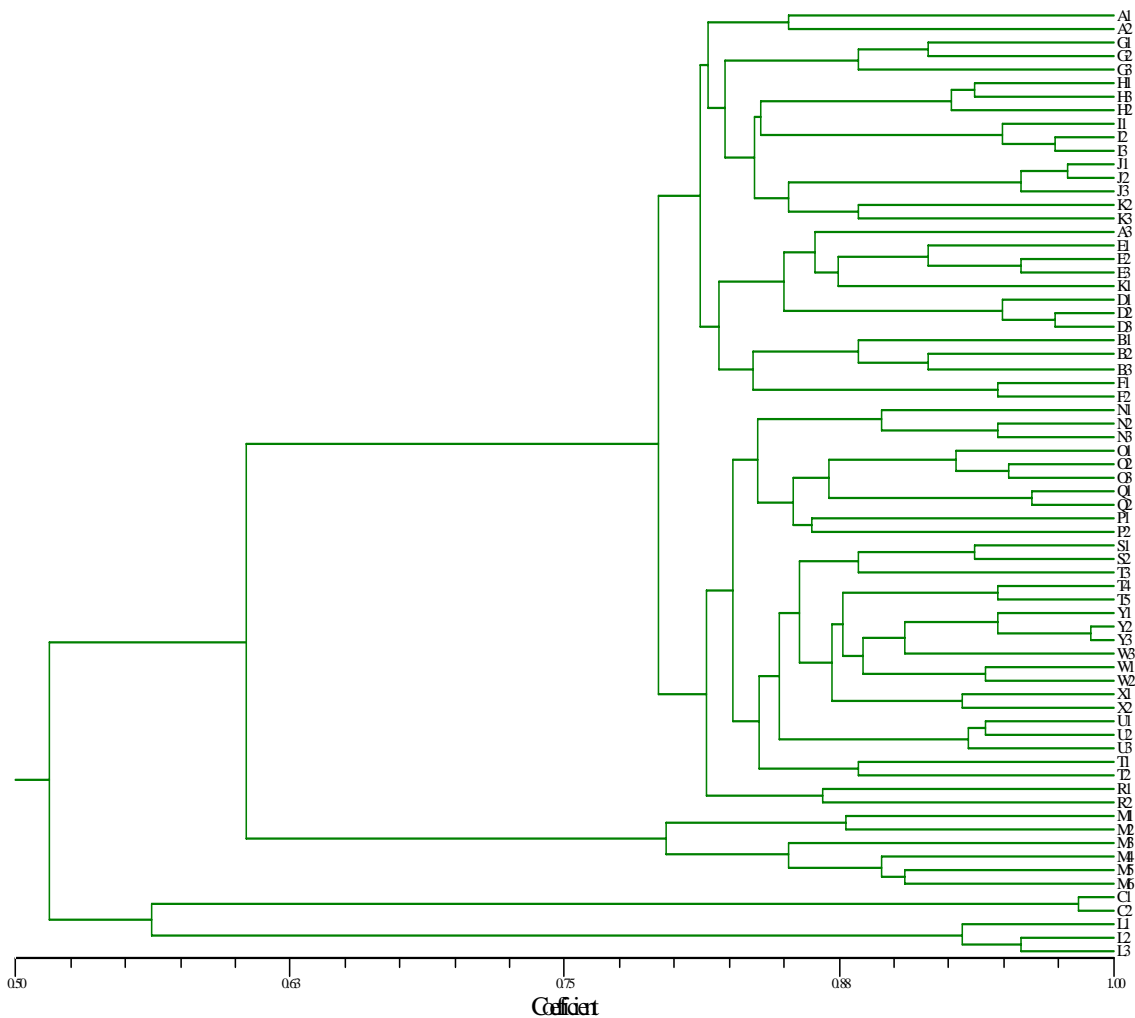
(시험 2)지역 수집종간 유연관계 분석 및 우수 지역계통 선별 marker 개발

가. 오갈피 속의 genomic DNA 분리 및 RAPD 분석

- 가시오갈피 21개 지역, 오갈피 4종 300여 개체 genomic DNA 분리,정제
- 1차 선발된 26개 primer 중 다형성과 재현성이 우수한 16개 primer 분석
- Phoretix 1D program 이용 band 크기 및 200개 band 다형성 분석

나. RAPD의 다형성 band를 통한 유연관계 분석

- 16개 primer 200개 band 분석 : NTSYS program 이용
- 가시오갈피 종내 유사도는 0.793이내에서 변이를 보였고, 같은 수집지역내 개체간 변이는 0.84~0.96으로 지역별로 변이편차에 많은 차이를 보여 군락 내 실생 및 영양번식 등 군락간 유전 변이폭 확인함.



[2-1] A dendrogram of *Eleutherococcus* spp. based on RAPD data by NTSYS program

- 다. 특정 DNA band 추출 : 공통 band 360개, 지역 특이 band 80개 분리
- 라. 가시오갈피 공통 DNA band cloning 및 염기서열 분석
 - 12개 지역 36 band cloning 및 염기서열 분석
 - NCBI web site 이용 2개 유전자 확인
 - *Populus alba* ecotype 2AS11 glycosyl transferase protein A gene (90~81%상동)
 - *Panax ginseng* chloroplast fragment (96% 상동)
 - SCAR marker 개발을 위한 특정 염기서열 자료 분석 : 1종
- 마. URP primer 이용 가시오갈피 종내 및 종간 판별 가능성 확인
 - 가시오갈피 8지역, 오갈피속 3종에 대한 URP primer 6종 분석
 - 8번 primer에서 가시오갈피 종내 변이 확인
 - 7번 primer에서 오갈피 종내 변이 확인

4. 주요결과요약

(시험 1) 지역별 수집지역계통 생육 특성 검정

- 가. 913 계통 특성표 작성 및 331계통 1차선발
- 나. 성장량, 내병성 등 기준으로 국내수집종 34계통 2차선발

(시험 2) 지역 수집종간 유연관계 분석 및 우수 지역계통 선별 marker 개발

- 가. 오갈피 속의 genomic DNA 분리 및 RAPD 분석 : 16개 primer, 200개 band
- 나. RAPD의 다형성 band를 통한 유연관계 분석
- 다. SCAR marker 개발을 위해 36종에 대한 염기서열 분석
- 라. URP primer 이용 가시오갈피 종내 및 종간 판별 가능성 확인

5. 금후계획

- 가. 우수 지역계통에 대한 분자생물학적인 객관적인 검정을 통한 특산 브랜드화 구축 필요
- 나. 생육 및 유효 성분이 높은 가시오갈피 대량 보급(2006년 시책건의)
- 다. 우량 형질을 가진 가시오갈피 육종의 선별 marker 개발(2006년 기초자료)
- 라. 우량지역계통 판별 DNA marker 제작 및 판별력 검정