

사업구분	지역특화기술개발	수행구분	전반기	연구기간	2003(신규)
연구과제명	가시오갈피 우량계통 선발 및 대량 증식 기술개발			연구책임자	강 안 석
세부과제명	가시오갈피 우량계통 선발을 위한 DNA marker 개발				
세부과제책임자	북부농업시험장 지방농업연구사 최 강 준 (033-458-4783)				
색인용어	가시오갈피, 우량계통, DNA marker				

1. 당해연도 목표

- 지역수집계통 수집 확대 및 계통별 생육특성 검정
- 지역별 유연관계 분석 및 특이 primer 및 DNA band 선발

2. 수행방법

(시험1) 지역별 수집지역계통 생육 특성 검정

- 조사 대상
 - 국내자생종 : 17 지역계통(철원 대성산 등 17개 지역 수집)
 - 국외수집종 : 2종(중국, 일본 북해도)
- 조사내용
 - 생육특성 검정 : 출아시, 가시 및 엽, 줄기 형태, 병저항성 등
 - 개화특성 검정 : 개화시기, 화기 구조 및 발육 특성, 결실 능력 검정

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

- Genomic DNA 분리, 정제 : Stacey와 Isaac의 CTAB 방법
- 수집 지역종 간의 유전적 다형성 분석 방법 : RAPD 분석기술 이용
- 1차 primer 선발 : random primer(10-mer) 80종 분석
- 2차 primer 및 DNA band 선발 : 1차 선발 26종 primer 이용
- RAPD 분석결과에 따른 유연관계 분석 : NTSYS program 이용

3. 시험성적

(시험1) 지역별 수집지역계통 생육 특성 검정

- 지역계통에 대한 시기별, 특성별 사진 profile 작성 : 약 2,500 사진
- 후기 생육 특성중 잎의 노화 지연정도에서 우수 계통 확인
 - 국내 3개 지역계통에서 매우 우수(10월 중순까지 낙엽 지연)
 - 국내외 6개 지역계통에서 양호
- 국내 수집 7개 지역계통에서 개화되어 3개 지역 계통에서 결실 확인
- 결실 종자 형태적 특성은 종자 백립중은 $1.3 \pm 0.4g$, 종자 길이 $6.4 \pm 0.7mm$
- 폭 $2.8 \pm 0.4mm$, 두께 $1.2 \pm 0.2mm$ 의 반원형을 나타냄

(시험2) 지역 수집종간 유연관계 분석 및 우수 지역계통 선별 marker 개발

- Genomic DNA 분리 및 정제
 - 가시오갈피 20개지역 120개체 (국내수집 18지역 112개체)
 - 오갈피 4종 20개체 (당오갈피, 섬오갈피, 오갈피, 지리오갈피)
- 오갈피속내 및 가시오갈피 지역계통간 다형성을 보이는 primer 1차 선별
 - random primer 80종에서 다형성 band를 보이는 26종 선별
- 2차 RAPD PCR 분석
 - 분석대상 : 가시오갈피 20지역중 61개체, 오갈피 4종 12개체
 - 1차 선별된 random primer 26종 PCR 반응 및 DNA 다형성 분석
- 지역 수집종간 유연관계 분석
 - 재현성을 보인 7개 primer에서 66개 DNA band 분석(그림1 참조)

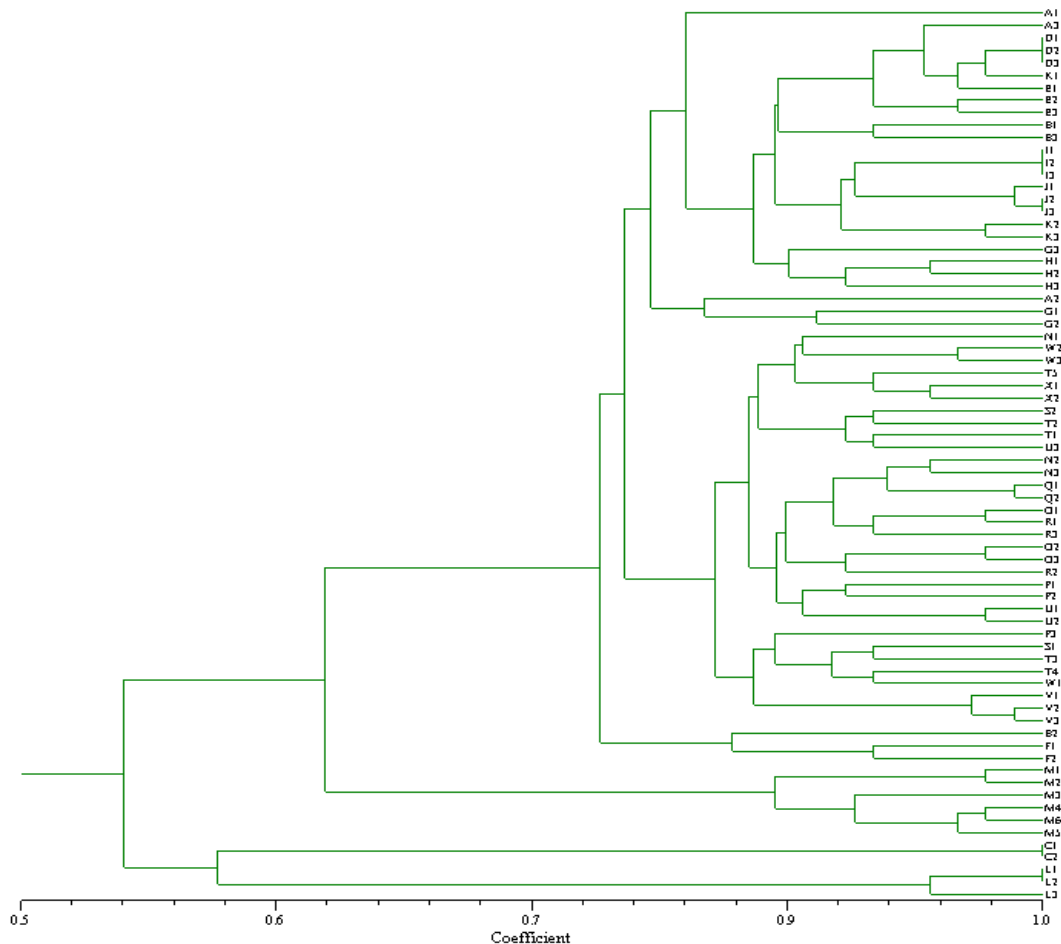


그림. 1. RAPD를 이용한 가시오갈피 수집계통의 계통도 (NTSYS 프로그램 이용).

표 1. 오갈피 종류별 증폭되는 DNA band 선발

구 분	가시오갈피	오갈피	섬오갈피	당오갈피	오갈피나무속 공 통
DNA band	3	2	6	5	2

- 지역수집계통간 유전변이 확인 및 오갈피속 판별 가능성 확인

4. 주요결과요약

(시험1) 지역별 수집지역계통 생육 특성 검정

- 오갈피속 23지역계통에 대한 시기별, 특성별 사진 profile 작성
- 앞의 노화(하고현상) 지연되는 3계통 및 결실 3계통 확인

(시험2) 지역 수집종간 유연관계 분석 및 우수 지역계통 선별 marker 개발

- 오갈피속내내 RAPD primer 1차 선발 : 80개 primer에서 26종 선발
- 지역 수집종간 유연관계 분석 : 66개 다형성 band 분석
- 종 특이 DNA band 선발 : 가시오갈피 3개 등 총 16개 band 선발

5. 금후계획

- 생육 및 유효성분이 높은 가시오갈피 대량 보급시책건의('06)
- 우량 형질을 가진 가시오갈피 판별 DNA marker 개발기초자료('06)