

Near Isogenic Lines으로 부터 벼 도열병 저항성인 RAPD Marker 선발

경상대학교 농과대학 : 이미경¹, 김석현¹, 김희규², 강규영³,
강원대학교 농과대학 : 김남수⁴

Selection of RAPD Markers for a Rice Blast Disease Resistant Gene in Nearly Isogenic Rice Lines

Mi-Kyung Lee¹, Seok-Hyeon Kim, Hee-Kyu Kim², Nam-Soo Kim⁴
and Kyu-Young Kang³

Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center Chinju, Dept. of Agronomy¹,
Dept. of Agricultural Biology², Dept. of Agricultural Chemistry³, Gyeongsang National
University, Chinju,
Dept. of Agronomy⁴, Kangweon National University, Chuncheon.

실험목적

벼 도열병은 벼의 품종-도열병 race 간의 상호작용에 의해 이루어지며 이는 도열병균에 의한 병원성, 기주 특이성 및 도열병균에 대한 저항성 기작에 의해 결정된다고 할 수 있겠다. 본 연구에서는 벼의 Near Isogenic Lines을 분자수준에서 연구함으로써 기주-병원성 상호작용의 model system을 구축하고 병에 대한 저항성을 갖는 벼를 창출하고자 하였다.

재료 및 방법

1. Near isogenic line YR10780-B-B-15-3, YR10780-B-B-8-3과 YR11779 Acp17의 교배조합을 도열병 race KJ101, KJ301로 접종하여 X^2 검정을 하였다.
2. NIL을 육성하기 위해 저항성 F_1 , F_2 세대를 반복친인 15-3과 Acp17로 backcrossing하였다.
3. PCR을 하기 위해 NILs로 부터 벼 잎을 분쇄하여 DNA를 추출하였다.
4. 700개의 primer로 RAPD 분석하여 specific marker를 선발했다.
5. Specific marker로 southern blot하여 molecular marker가 유전산물인지를 확인하였다.
6. DNA sequencing 하기 위해 specific marker를 cloning했고, RAPD map을 조사하였다.

결과 및 고찰

밀양 농업시험장에서 얻은 Near Isogenic Lines으로 부터 RAPD을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. NIL인 YR10780-B-B-15-3은 KJ301에 저항성이며 YR10780-B-B-8-3은 KJ101, KJ301에 저항성이고, YR 11779 Acp17은 KJ101에 저항성으로써 벼 도열병에 저항성인 marker를 분리할 수 있었다.
2. NILs인 15-3, 8-3의 교배조합과 15-3, Acp17의 교배조합에서 F_2 와 F_3 세대에서 도열병균 KJ101, KJ30로 접종한 결과 X^2 검정에서 single gene 임을 확인할 수 있었다.
3. 700개의 primer로 RAPD분석을 실시한 결과 specific한 primer는 219, 411, 521과 544이었고 그 중에서 표현형과 유전자형이 일치한 것은 primer 411과 primer 544로 판명되었다.
4. Primer 411과 544가 specific한지 알아보기 위해 southern blot방법인 CSPD로 molecular marker가 유전 산물인지를 확인한 결과 Primer 544가 유전산물임을 알 수 있었다.
5. RAPD map에서 Chromosome 12중 7번 염색체에 specific primer411 marker가 위치해 있었다.

Table. The primers showing polymorphic amplified band between NILs 8-3, 15-3 and Acp17

| Primer | Sequences | Specific band for | | | GC content (%) | Supplier |
|--------|---------------|-------------------|--------|--------|----------------|----------|
| | | 8-3 | 15-3 | ACP17 | | |
| 126 | CTT TGG TGC T | 700bp | | | 50 | UBC* |
| 219 | GTG ACC TCA G | | 1800bp | | 60 | UBC |
| 254 | CGC CCC CAT T | | | 1600bp | 70 | UBC |
| 373 | CTG AGG AGT G | 700bp | | | 60 | UBC |
| 411 | GAG GCC CGT T | | 230bp | | 70 | UBC |
| 453 | AGT ACA AGG A | 1100bp | | | 40 | UBC |
| 521 | CCG CCC CAC T | 600bp | 800bp | 600bp | 80 | UBC |
| 544 | TAG AGA CTC C | | 900bp | | 50 | UBC |
| 638 | GCG GTA ACT A | | 1000bp | | 50 | UBC |
| 664 | GCC TGA AAA C | 400bp | | | 50 | UBC |

*University of British Columbia

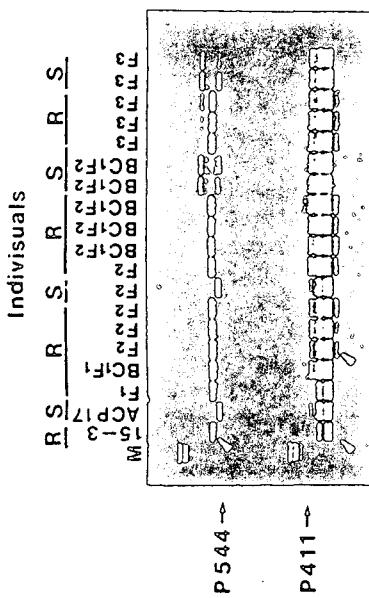


Figure. RAPD analysis of polymorphic markers from parents, F_1 , BC_1F_1 , F_2 , BC_1F_2 , F_3 segregations of NIL 15-3 X Acp17. The segregating marker bands were pointed by arrow.

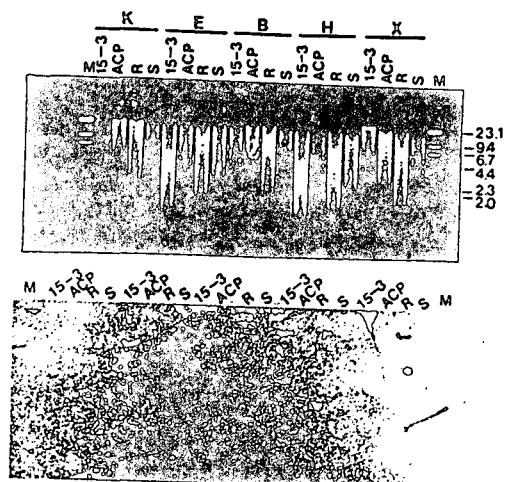


Figure. Electrophoretic and southern blot analysis of DNAs of NILs 15-3, Acp17 and bulked segregants of resistant and susceptible plants. A) Total DNA was digested with *Kpn*I, *Eco*RI, *Bam*HI, *Hind*III, *Xba*I. B) DNA was probed with 800bp polymorphic DNA from blast resistant plant against race KJ301 generated by UBC primer 544.