

AFLP, RAPD 기술을 이용한 바나나 품종의 유전적 다양성 비교 분석

이 영 일 · 이 인 석*

한국원자력연구소

Comparative Analysis of Genetic Diversity in Banana Assessed by AFLP
and RAPD Techniques

Y. I. Lee, I. S. Lee

Korea Atomic Energy Research Institute

실험목적

바나나의 polymorphism을 PCR을 기초로 한 AFLP, RAPD marker들을 사용하여 유전적 다양성을 비교 분석하고 품종 판별을 위한 표지인자 개발 및 AFLP 방법을 정립하고자 함.

재료 및 방법

공시품종 : Intan의 4품종.

RAPD 분석 : 한국작물학회지 Volume 42 Supplement 1참조.

AFLP 분석

- DNA 절단 : *Eco* RI/*Mse* I(*Tru* 91).
- Adapters 및 Primers : 표 1 참조.
- Preamplification PCR : 94°C 30초, 56°C 1분, 72°C 1분
20회 증폭 후 4°C에 보관.
- Selective PCR
Primer 표시 : γ -³²P ATP *Eco* RI-primer를 labelling.
Template DNA : Preamplification PCR DNA.
Primer 조합 : Labelled *Eco* RI-primer / *Mse* I-primer (표 1).
DNA 합성 온도조건 : 94°C 60초, 65°C 60초, 72°C 90초간 1회 합성 후 9회동안 annealing온도를 56°C까지 1°C씩 낮추면서 수행하고, 94°C 30초, 56°C 30초, 72°C 1분간 33회 반복하여 DNA를 합성하였다.
- 전기영동 : 증폭된 DNA를 95°C에서 3분간 변성시킨후 6% denaturing polyacrylamide gel에서 1700V에서 3시간 전기영동 후 X-ray 필름에 노출.
- Culster분석 : UPGMA 분석방법에 의한 Dendrogram 작성.

실험결과

1. 분석된 7개 primer 조합당 평균 73개 band가 증폭되었으며 5개 품종에 대하여 37.7%가 polymorphism을 보였고, RAPD에서는 5개 품종에 대하여 60.9%의 polymorphism을 보였다.
2. AFLP dendrogram도 RAPD dendrogram과 같은 3군으로 나눌 수 있었다.
3. RAPD culstering 분석에서 같은 지역에서 자란 GIA와 Monkey Banana가 상당히 먼 유연관계를 나타냈지만 AFLP culstering 분석에서는 RAPD보다는 가깝게 나타나고 있다.

Table 1. Oligonucleotide adapters and primers used for AFLP analysis

<i>Eco</i> RI-adapters ^a	CTCGTAGACTGCGTACC CATCTGACGCATGGTTAA
<i>Mse</i> I-adapters ^a	GACGATGAGTCCTGA GTA ^{CT} CAGGACTCAT
AFLP primers ^b	<i>Eco</i> RI+1 : GACTGCGTACCAATTC+A <i>Mse</i> I+1 : GATGAGTCCTGAGTAAT+C
<i>Eco</i> RI+3 E1 GACTGCGTACCAATTC+ACG	<i>Mse</i> I+3 M1 GATGAGTCCTGAGTAA+CAT M2 GATGAGTCCTGAGATT+CAA M3 GATGAGTCCTGAGATT+CAG M4 GATGAGTCCTGAGATT+CTC M5 GATGAGTCCTGAGATT+CTA M6 GATGAGTCCTGAGATT+CTT M7 GATGAGTCCTGAGATT+CTG

Primer combinations analyzed in this experiment

E1/M1, E1/M2, E1/M3, E1/M4, E1/M5, E1/M6, E1/M7

a : *Eco* RI and *Mse* I adapters were ligated onto the ends of restriction fragments of template genomic DNAs.

b : *Eco* RI+1 and *Mse* I+1 primers were used in the preamplification of template DNA. The AFLP fingerprint was generated using *Mse* I+3 primers.

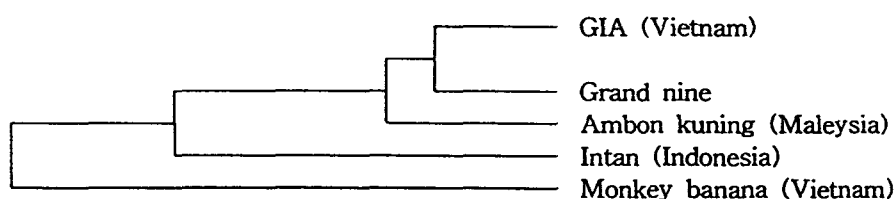


Fig. 1. Dendrogram obtained from the UPGMA cluster analysis based on genetic similarity estimated by using 63 RAPD bands for 5 banana accessions.

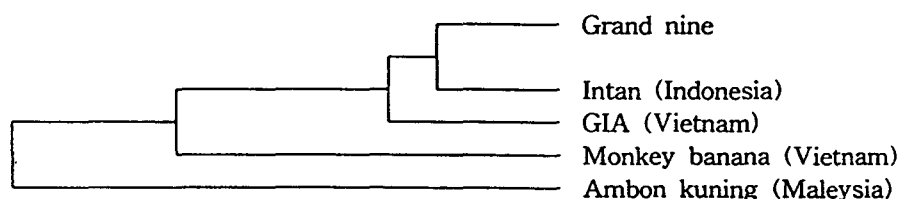


Fig. 2. Dendrogram obtained from the UPGMA cluster analysis based on genetic similarity estimated by using AFLP bands for 5 banana accessions.