

## 꽃사과 품종의 생리 및 유전적 분석을 통한 ‘후지’ 사과의 수분수 선발

손광민<sup>1†</sup> · 최동근<sup>2†</sup> · 권순일<sup>3</sup> · 김병오<sup>4</sup> · 최철<sup>1</sup> · 강인규<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 원예과학과, <sup>2</sup>전북대학교 원예학과, <sup>3</sup>국립원예특작과학원 사과시험장, <sup>4</sup>경북대학교 생물응용전공

### Selection of Crabapple Pollinizers for ‘Fuji’ Apple through Physiological and Genetic Analysis

KwangMin Son<sup>1†</sup>, Dong Geun Choi<sup>2†</sup>, Soon-Il Kwon<sup>3</sup>, Byung Oh Kim<sup>4</sup>,  
Cheol Choi<sup>1</sup>, and In-Kyu Kang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Horticultural Science, Kyungpook National Univ., Daegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Horticulture Science, Chonbuk National University, Jeonju 570-752, Korea

<sup>3</sup>Apple Research Station, National Institute of Horticultural & Herbal Science,  
Rural Development Administration, Gunwi 716-812, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Applied Biology, Kyungpook National Univ., Sangju 742-711, Korea

**Abstract.** We investigated characteristics and self-incompatibility genotypes of 11 crabapple cultivars to introduce a new pollinizer of ‘Fuji’ apple tree in Korea. Flowering dates of eleven crabapples were two to seven days earlier than that of ‘Fuji’. The rate of pollen germination *in vitro* was ranged from 85.6% to 98.0% except ‘Virginia’. Controlled pollination treatment with each crabapples to ‘Fuji’ increased fruit set rate about 20.4% to 34.4%, the number of seed per fruit about 13.8% to 42.3% and fruit weight about 7.4% to 16.7% compared to open pollination. Tested crabapples were resistant to peach fruit moth, brown leaf spot and sooty blotch in general. A PCR amplification method using S-RNase primers was carry out in eleven crabapples. S-alleles, S<sub>3</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>9</sub>, S<sub>10</sub>, S<sub>20</sub>, S<sub>26</sub> from six crabapples were determined. Through sequencing analysis, S<sub>5</sub> (‘Manchurian’, ‘Virginia’) and S<sub>9</sub> (‘Yantaishagou’) showed 100% homologous to previous result. Based on our results, it was recommended that ‘Manchurian’, ‘Hopa A’, ‘Hanyeahanakaidou’, ‘Spectabilis’ could be promising pollinizers for ‘Fuji’ apple cultivar.

**Additional key words :** flowering date, pollen germination, S-genotype, fruit quality

## 서 론

국내에 있어 ‘후지’(Malus domestica Borkh)는 사과의 주요 품종으로 자리잡고 있으며 안정적인 결실과 고품질 과실생산을 위하여 농가 및 연구기관에서 많은 노력을 하고 있다. 사과는 타가수정작물로 결실을 위해서는 화합성이 있는 수분수를 일정비율 이상으로 혼식해 주어야 한다(Goldway 등, 2001; Schneider 등, 2001). 사과가 타가수정을 하는 이유는 거의 모든 사과품종이 자가수정을 하지 못하는 배우체형 자가불화합성(GSI; Gametophytic self incompatibility)기구를 가지고 있기 때문이다(Alston, 1996). 자가수분 후 수정이 억제되는 자가불화합성 현상은 S-유전자좌에 복대립유전자가 존재하여(S-gene) 자성

측 자가불화합성 유전자인 S-RNase와 음성측 유전자가 상호작용하여 자가화분관의 RNA를 분해함으로써 자식을 방어하는 것으로 알려져 있다(Broothaerts 등, 1995; Golz 등, 1995; Hegedus, 2006).

현재 대부분의 농가는 수분수 품종을 재배종으로 혼식하고 있으며, 재배적 측면에서 주품종과 혼식된 수분수용 품종 간 나무의 생육특성, 과실의 수확시기, 병해충 종류와 발생시기가 다른 경우 전정에서부터 과실을 수확할 때까지 많은 작업들을 확일적으로 행하지 못하는 재배상의 문제점이 발생한다(Kang 등, 2002). 한편 꽃사과는 1년생 가지에서도 꽃눈이 형성되어 익년에 개화되므로 화분생산량이 많고, 병해충에도 강한 특성이 있다(Ha와 Shim, 1995; Kang 등, 2002). 따라서 이를 수분수로 이용할 경우 소면적에서는 시장성이 높은 단일 품종을 재식하거나, 대면적일 경우에는 재배특성이 다른 품종을 구획을 나누어 일정비율로 재배할 수 있으므로 제반관리 작업을 확일적으로 하여 효율을 높일 수 있는 장점이

\*Corresponding author: kangik@knu.ac.kr

Received April 11, 2013; Revised May 20, 2013;

Accepted May 22, 2013

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this work.

있다(Kang, 2004). 이에 따라 영국(Church와 Williams, 1983; Church 등, 1971; Williams와 Church, 1983)과 미국(Paik, 1997; Way, 1978)에서도 수분수로 꽃사과 유용성에 대해 검정하였고 현재 이용되고 있는 실정이다.

따라서 수분수로서 우수한 꽃사과 품종들의 자가불화합성 유전자형이 확인되면 앞으로 재배품종에 대한 수분수 적합성 검정에 있어 기초자료로 이용될 수 있기 때문에 꽃사과 품종의 S-genotyping 연구가 진행될 필요가 있다.

따라서 본 연구는 꽃사과 품종의 생리적 특성 및 자가불화합성 유전자형을 분석하여 국내 주요재배품종인 '후지'의 수분수로서 이용가능성을 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험재료

경북 군위에 위치한 사과시험장 포장에 재식되어 있는 꽃사과 품종인 'Manchurian', 'Hopa A', 'Sentinel', 'Yantaishagou', 'Adam's', 'Purple lemone', 'Virginia', 'Asiatica', 'Hanyaehanakaidou', 'Prunifolia', 'Spectabilis' 등 11품종을 대상으로 하였다. 꽃사과 품종의 자가불화합성 유전자형 동정을 위해서 각 품종들의 신초엽과 풍선기 상태의 꽃에서 암술을 채집한 후 실험실 내에서 암술을 분리하여 사용하였다.

### 2. 꽃사과 품종의 특성

개화특성은 꽃사과 품종들이 '후지'와 개화기가 일치하는지 조사하였고, 화기당 수술의 수는 꽃사과 품종들을 각각 3주씩 선정하여 나무 당 20개씩 총 60화기를 채취하여 조사하였다. 화분발아율은 20%의 sucrose가 첨가된 1% agar 배지에 소량의 정제된 화분을 3반복으로 골고루 뿌린 뒤 24시간 동안 25°C의 배양실에서 발아시킨 후 광학현미경 10배하에서 조사하였다.

11개 꽃사과 품종에서 충분히 성숙된 개화 직전의 화기로부터 약을 채취하여 25°C의 배양실에서 개약시킨 후 화분을 정제한 다음 -80°C의 초저온냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

꽃사과 품종들의 병해충방제는 재배품종의 관행방제에 준하여 실시하면서 재배품종에서 문제시되고 있는 복숭아심식나방, 그을음병 및 갈색무늬병에 대한 피해정도를 조사하였다. 꽃사과 품종당 3주를 선정하고, 갈색무늬병은 1주당 각각 8개의 신초씩, 총 24개 신초에서 총 잎수와 피해 잎수의 반점양상을, 복숭아심식나방과 그을음병은 전수 과실을 대상으로 피해정도를 조사하였다.

### 3. 인공수분

인공수분시 화분매개충의 접근을 막기 위하여 개화전

4월 20일에 '후지' 사과나무에 모기장을 설치한 후 11개 꽃사과 품종에서 미리 채취해 둔 화분을 부분으로 하여 '후지' 품종의 중심화에 전수를 대상으로 중심화 만개기인 4월 28일에 인공수분을 실시하였고, 무처리구는 자연방임상태에서 수분이 이루어지도록 한 후 착과율과 종자수를 조사하였다. 착과율은 인공수분을 실시한 총 화수에 대하여 2주 후에 착과된 과실수를 조사하여 백분율로 나타내었고, 종자수는 각 처리구당 과실 30과씩 총 90과에서 조사하여 평균값으로 나타내었다.

### 4. 과실 특성

'후지' 과실 특성으로는 과중, 과형지수, 종자수, 경도, 가용성 고형물 및 산 함량, 착색도(Hunter a값)를 조사하였다. 과실의 경도는 fruit tester(FT011, Italy)를 이용하여 측정된 후 Newton으로 환산하였고, 가용성 고형물 함량은 Atago 디지털 굴절당도계(DBX-55, Japan)를 사용하여 측정하였다. 산 함량은 0.1N NaOH로 적정하여 능급산으로 환산하였고, 과피색은 색차계(Color Techno. System JX777, Japan)로 적도면을 중심으로 과실당 3부위를 측정하여 Hunter a값으로 나타내었다.

### 5. 자가불화합성 유전자형 동정을 위한 Total RNA, DNA 추출 및 RT-PCR

Total RNA 추출은 개화직전의 사과꽃의 암술을 채취한 후 100mg을 액체질소에 넣고 막자사발로 마쇄한 후 RNeasy Plant Mini Kit(QIAGEN, Germany)을 이용하여 Spectrophotometer(Bio-Rad, USA)로 정량하여 -80°C에서 보관하면서 시료로 이용하였다. RT-PCR은 SuperScript<sup>TM</sup>III first strand synthesis system for RT-PCR(Invitrogen, USA)을 이용하였으며, PCR 증폭은 TP600(Takara, Japan)을 이용하였으며, 반응조건은 denature(65°C, 5분), cDNA synthesis(4°C, 2분 → 50°C, 50분), terminate reaction(85°C, 5분), remove RNA(37°C, 20분)로 실행하였다. RT-PCR산물은 Spectrophotometer(Bio-Rad, USA)로 정량 후 -80°C에 보관하였다.

Genomic DNA추출은 5월 하순에 신초에서 발생한 어린 잎을 채취하여 이물질 제거한 다음 엽신 100mg을 이용하여 CTAB방법으로 추출하였고(Torres 등, 1993), RNase A 2μl를 넣고 37°C에서 20분간 반응시킨 후 정량하고 -20°C에서 보관하였다.

### 6. 자가불화합성 유전자 S-RNase의 PCR분석

자가불화합성 유전자 S-RNase의 PCR분석을 위해 genomic DNA와 cDNA를 template DNA로 이용하였다. S-allele 특이적 primer 조합은 사과의 S-allele 재정립에 사용된 primer(Broothaerts, 2003)와 이 후 동정된 S-allele

**Table 1.** Nucleotide sequences and conditions for S-alleles-specific PCR analysis in crabapple.

S-allele	Primers	Sequence	PCR program	Size of PCR product (bp)
S <sub>1</sub>	FTC168	5'-ATATTGTAAGGCACCGCCATATCAT-3'	Standard	530
	FTC169	5'-GGTCTGTATTGGGGAAGACGCACAA-3'		
S <sub>2</sub>	OWB122	5'-GTTCAAACGTGACTTATGCG-3'	Standard	449
	OWB123	5'-GGTTTGGTTCCTTACCATGG-3'		
S <sub>3</sub>	FTC177	5'-CAAACGATAACAAATCTTAC-3'	A 57°C	437
	A3PR	5'-ATTGGTGGGGCAGAAAAATG-3'		
S <sub>4</sub>	FTC5	5'-ACAAGGAATCGTCGGAAGAGA-3'	Standard	274
	OWB249	5'-GATTGGGGCAATCAATGAAAT-3'		
S <sub>5</sub>	FTC10	5'-CAAACATGGCACCTGTGGGCTCC-3'	Standard	346
	FTC11	5'-TAATAATGGATATCATTGGTAGG-3'		
S <sub>7</sub>	FTC143	5'-ACTCGAATGGACATGACCCAGT-3'	Standard	302
	FTC144	5'-TGTCGTTTCATTATTGTGGGATGTG-3'		
S <sub>9</sub>	FTC154	5'-CAGCCGGCTGTCTGCCACTT-3'	Standard	343
	FTC155	5'-CGGTTTCGATCGAGTACGTTG-3'		
S <sub>10</sub>	FTC12	5'-CCAAACGTAACAATCGAAG-3'	Standard	209
	FTC228	5'-ATGTCGTCCCGTGTCTGAATC-3'		
S <sub>16</sub>	FTC5	5'-TCCCACAATACAGAACGAGA-3'	Standard, <i>Taq</i> I	274 (243)
	OWB249	5'-CAATCTATGAAATGTGCTCTG-3'		
S <sub>19</sub>	FTC229	5'-TCTGGGAAAGAGAGTGGCTC-3'	Standard	304
	FTC230	5'-TTTATGAACTTCGTAAAGTCTC-3'		
S <sub>20</sub>	FTC141	5'-ATCAGCCGGCTGTCGGCCACTC-3'	Standard, <i>Nar</i> I	920 (800)
	FTC142	5'-AGCCGRGCTCTTAATACTGAATAC-3'		
S <sub>22</sub>	FTC5	5'-TCCCACAATACAGAACGAGA-3'	Standard, <i>Taq</i> I	274 (199)
	OWB249	5'-CAATCTATGAAATGTGCTCTG-3'		
S <sub>23</sub>	FTC222	5'-CAATCGAACCAATCATTGGT-3'	Standard	237
	FTC224	5'-GGTGTTCATATTGTTGGTACTAATG-3'		
S <sub>24</sub>	FTC231	5'-AAATATTGCAACGCACAGCA-3'	Standard	580
	FTC232	5'-TTGAGAGGATTTAGCAGATG-3'		
S <sub>26</sub>	FTC14	5'-GAAGATGCCATACGCAATGG-3'	A 55°C	194
	FTC9	5'-TTTAATACCGAATATTGGCG-3'		
S <sub>29</sub>	A29PL	5'-TATAAACATGGCTCCTGTGCG-3'	Standard	217
	A29PR	5'-TCGTTTGGCACTTGAGTTTTG-3'		
S <sub>31</sub>	S31L	5'-AACATTATTCAATGGGGACGG-3'	Standard	356
	S31R	5'-TAAAAATTTGGTCGCCCTAGC-3'		
S <sub>32</sub>	S32L	5'-CCACGGTGGGATACGATTATT-3'	Standard	356
	S32R	5'-AACTGGGCTGTCAGATTGCT-3'		
S <sub>33</sub>	S33L	5'-TTGTTTACGGTTCACGGTTG-3'	Standard	270
	S33R	5'-CCAAATCATTTCCTCAACTGGGT-3'		

를 Whitehead Institute/MT Center for Genome Research 사의 Primer 3 program을 이용하여 디자인하였다(Table 1). PCR 증폭은 TP600(Takara, Japan)을 이용하였다. 기본 프로그램은 94°C에서 2분, 30회 반복(94°C 30초, 60°C 30초, 72°C 45초), 그리고 72°C에서 5분으로 하였다. PCR 후 증폭산물은 FMC사의 NuSieve 3:1 agarose 2% gel에 전기영동하였고, ethidium bromide로 염색한 후 UV trans-illuminator(UVP, UK)로 band를 분석하였다.

### 결과 및 고찰

1. 주요 재배품종과 수분수용 꽃사과 품종의 개화기  
우리나라 주요 재배품종인 ‘후지’와 꽃사과 품종의 개

화특성을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 재배품종인 ‘후지’의 개화시작은 4월 24일, 만개기는 4월 28일이었으며, 개화기간은 15일이었다. 11개 꽃사과 품종의 개화기를 보면 4월 17일부터 5월 5일까지로 개화기간이 11일부터 18일까지 다양한 결과를 보였다. 수분수의 필수조건인 개화기가 주재배품종과 일치하지 않을 경우에는 수분수로 이용하기 곤란하지만(Crassweller 등, 1980) 공시된 11개 꽃사과 품종들은 ‘후지’보다 개화시기가 2~7일 정도 빨라 수분수로서 이용 가능성을 보여주었다.

### 2. 꽃사과 품종의 화분 특성

꽃사과 품종의 화당 수술의 수와 화분발아율을 조사한 결과는 다음과 같다(Table 2). 화당 수술의 수는

꽃사과 품종의 생리 및 유전적 분석을 통한 '후지' 사과의 수분수 선발

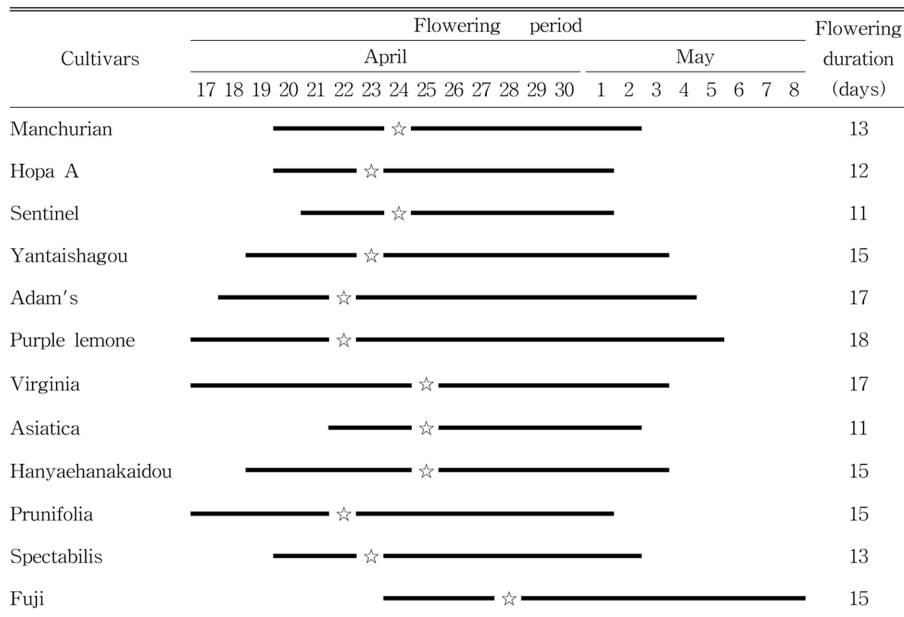


Fig. 1. Flowering dates of crabapples and 'Fuji' apple. \* -: Flowering period, : Full bloom.

Table 2. Numbers of anther per flower and pollen germination rate of crabapples.

Cultivar	Anther/Flower	Pollen germination rate (%)
Manchurian	19.6 ± 1.0 <sup>z</sup>	95.8 ± 3.2 <sup>y</sup>
Hopa A	20.1 ± 1.6	97.2 ± 2.5
Sentinel	20.2 ± 1.8	96.4 ± 3.4
Yantaishagou	20.8 ± 1.2	85.6 ± 8.1
Adam's	17.9 ± 1.0	97.8 ± 2.0
Purple Lemoine	20.0 ± 1.0	96.4 ± 1.5
Virginia	17.9 ± 1.5	74.4 ± 8.1
Asiatica	19.6 ± 1.2	88.2 ± 7.5
Hanyaehanakaidou	23.4 ± 2.5	97.8 ± 2.0
Prunifolia	12.3 ± 1.5	98.0 ± 2.0
Spectabilis	25.0 ± 0.6	97.0 ± 2.6

<sup>z</sup>Data are average of 60 replications.

<sup>y</sup>Data are average of 5 replications.

'Prunifolia'는 12.3개로 가장 적었고, 'Virginia'와 'Adam's'는 17.9개였고, 'Hanyaehanakaidou'는 23.4개, 'Spectabilis'는 25.0개로 가장 많았다. 그리고 나머지 꽃사과 품종들은 20개 내외였다. 수분수로서의 적합성을 검토하는 가장 보편적인 방법은 화분 발아율을 검정하는 것으로 알려져 있다(Howlett, 1926). Florin(1927)은 사과 품종을 화분 발아율에 따라 3 그룹으로 나누었는데 30% 이하의 화분발아율일 때 불량 수분수, 30~70%의 화분 발아율을 나타낼 때 양호한 수분수, 70% 이상일 때 우수한 수분수라고 하였다. 이러한 기준으로 볼 때 공시품종들의 화분 발아율은 'Virginia'는 74.4%, 나머지 품종들은 85.6~98.0%로 우수한 화분발아율을 보여 11개 품종 모

Table 3. Percent of fruit set of 'Fuji' cultivar pollinated with selected crabapple.

Cultivar	Fruit set (%)
Control	65.4a <sup>z</sup>
Manchurian	94.5bc
Hopa A	86.7b
Sentinel	93.6bc
Yantaishagou	87.2b
Adam's	76.8b
Purple Lemoine	92.5bc
Virginia	89.5bc
Asiatica	95.2bc
Hanyaehanakaidou	100.0c
Prunifolia	100.0c
Spectabilis	100.0c

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P = 0.05.

두 화분발아율 측면에서는 우수한 수분수로 판단되었다.

### 3. 인공수분에 따른 '후지' 품종의 착과율

11개 꽃사과 품종의 화분을 이용하여 '후지'에 인공수분을 실시한 후 착과율을 조사한 결과는 다음과 같다 (Table 3). 자연방임으로 둔 무처리구의 경우 착과율이 65.4%였고, 인공수분을 실시한 처리구의 경우 'Adam's'만 76.8%의 착과율을 보였고, 나머지 품종들은 86~100%로 우수한 착과율을 보였다. 일반적으로 수분수로서 이용가능성은 착과율이 60%만 되어도 수분수로서의 충분한 역할을 하는 것으로 알려져 있으므로(Florin, 1927; Kang 등,

**Table 4.** Fruit characteristics of 'Fuji' pollinated with selected crabapple cultivars.

♀	♂	Fruit weight (g)	L/D ratio (%)	Soluble solids (°Brix)	Titratable acidity (%)	No. of seed	Flesh firmness (N)	Hunter a value
	Control	322.8a <sup>z</sup>	0.82a	13.4a	0.37a	6.44a	32.4a	25.6a
	Manchurian	361.4b	0.88b	13.3a	0.40a	8.67b	32.7a	22.3a
	Hopa A	371.6b	0.87b	12.9a	0.38a	9.22b	31.1a	24.9a
	Sentinel	346.7b	0.86b	13.5a	0.37a	9.00b	32.5a	28.3a
	Yantaishagou	364.4b	0.85b	13.7a	0.37a	8.44b	31.7a	26.8a
Fuji	Adam's	347.6b	0.86b	12.8a	0.41a	8.78b	32.2a	24.1a
	Purple Lemoine	351.7b	0.85b	12.9a	0.38a	7.33ab	30.0a	22.0a
	Virginia	369.9b	0.87b	12.5a	0.41a	8.33b	32.8a	21.1a
	Asiatica	367.2b	0.85b	12.8a	0.37a	8.78b	32.8a	20.0a
	Hanyaehanakaidou	367.1b	0.87b	13.3a	0.40a	8.78b	32.4a	20.2a
	Prunifolia	376.8b	0.88b	12.9a	0.37a	8.00b	32.3a	24.3a
	Spectabilis	376.6b	0.87b	13.3a	0.40a	7.67ab	31.9a	25.2a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, *P* = 0.05.

2002; Kang, 2004) 본 시험에 이용된 11개 품종은 대부분 착과율이 86% 이상으로 나타나 수분수품종으로서 우수한 결과를 보였다.

**4. 꽃사과 품종과 '후지' 품종 간의 교배조합별 과실 특성**

꽃사과의 화분으로 '후지' 품종에 인공수분을 실시한 과실과 자연방임 수분된 과실의 특성을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 무처리구의 경우 종자수는 6.44개인 반면 인공수분한 과실의 종자수는 7.33~9.22개로 13.8~43.2% 증가되었다. 일반적으로 과실의 종자수는 수확기 과실중과 관련이 깊은 것으로 보고되고 있는데(Kang 등, 2002; Kang, 2004; Park 등, 1998) 본 시험 결과, 수확기 과실중이 무처리구는 322.8g이었고, 인공수분 처리구들은 346.7~376.8g으로 약 20~50g 정도 증가되어 종자수의 확보가 과중을 향상시키는 중요한 역할을 하고 있음을 확인할 수 있었다.

과실의 모양은 사과의 품질을 평가하는 중요한 요인 중 하나인데 과형지수에 따른 사과의 정형과 기준은 0.87 이상이고, 비정형과는 0.84 이하라고 기준을 설정하고 있다(Park 등, 1998). 본 시험 결과, 과형지수는 무처리구의 경우 0.82로 비정형과 수준이었고, 'Yantaishagou', 'Purple lemone', 'Asiatica'를 수분수로 사용한 경우는 0.85로 정형과 기준에 약간 미달되었고, 'Manchurian', 'Hopa A', 'Virginia', 'Prunifolia', 'Spectabilis' 등의 경우, 0.87~0.88로 정형과 기준에 포함되어 과형이 개선되었음을 보여주었다. 한편 과실의 품질요인 중 가용성고형물, 산 함량, 경도 및 착색도 등은 무처리구와 차이가 없는 것으로 조사되었는데 이러한 결과는 수분수의 필수 기준(Crassweller 등, 1980)인 과실품질이 기존의 재배품종을 수분수로 이용하였을 때와 최소한 동일하여야 한다

는 기준(Kang 등, 2002)을 충족함을 알 수 있었다.

수분수로 이용하기 위한 품종선발 기준인 개화기, 수술의 수, 착과율, 과중, 과형지수에 대한 결과를 종합해 보면, 'Manchurian', 'Hopa A', 'Hanyaehanakaidou', 'Spectabilis' 등 4품종의 꽃사과가 '후지' 품종에 수분수로서 가장 우수한 품종으로 판단되며, 'Virginia'와 'Prunifolia' 품종도 화당 수술의 수는 적지만 착과율과 과형지수 면에서는 좋은 결과를 보여 '후지' 품종의 수분수로 이용 가능하다고 판단되었다.

**5. 꽃사과 품종의 병해충 발생 정도**

공시된 꽃사과 품종의 병해충방제는 재배품종의 관행 방제에 준하였으며, 복숭아심식나방, 갈색무늬병 및 그을음병을 대상으로 병해충 발생율을 조사하였다(Table 5). 복숭아심식나방의 피해는 'Manchurian' 등 10품종은 없었고, 'Adam's'에서 0~5%로 미약하게 나타났다. 병해에

**Table 5.** Percentage of infected diseases and insect in crabapples.

Cultivars	Peach fruit moth	Brown leaf spot	Sooty blotch
Manchurian	ND <sup>z</sup>	Very low <sup>y</sup>	ND
Hopa A	ND	Very low	ND
Sentinel	ND	Very low	ND
Yantaishagou	ND	Very low	ND
Adam's	0~5%	Very low	ND
Purple Lemoine	ND	Very low	ND
Virginia	ND	Very low	ND
Asiatica	ND	Very low	ND
Hanyaehanakaidou	ND	Very low	ND
Prunifolia	ND	Very low	ND
Spectabilis	ND	Very low	ND

<sup>z</sup>ND: Non-damage.

<sup>y</sup>Very low: 0-2 spots/leaf.

서도 꽃사과 11품종 모두 피해가 미미한 것으로 나타났다. 수분수는 병해충의 근원지로서 역할을 한다면 당연히 수분수로는 부적합하기 때문에 필수조건 중의 하나가 병해충에 저항성이 있어야 한다(Crassweller 등, 1980). 따라서 공시된 11개 꽃사과 품종 모두 병해충에 대한 피해가 극히 미미하여 문제가 없는 것으로 판단되었다.

6. PCR분석을 통한 자가불화합성 유전자형 분석

꽃사과 11품종의 신엽에서 추출한 genomic DNA를 template DNA로 하여 19가지의 S-allele 특이적 primer와 PCR반응을 수행한 결과(Fig. 2), 'Manchurian'과 'Virginia'는 S<sub>5</sub>가, 'Yantaishagou'에서는 S<sub>9</sub>가 확인되었다. 11개 꽃사과 품종 중 3품종에서 2개의 S-genotype만 증폭되어 RNA를 역전사시켜 합성한 cDNA를 template로 하여 PCR을 수행한 결과(Fig. 3과 Table 6), S<sub>3</sub>('Asiatica'), S<sub>5</sub>('Manchurian', 'Virginia'), S<sub>9</sub>('Yantaishagou'), S<sub>10</sub>('Asiatica'), S<sub>20</sub>('Adam's', 'Hopa A'), S<sub>26</sub>('Sentinel', 'Adam's', 'Asiatica', 'Hanyaehanakaidou')을 확인할 수 있어 genomic DNA로 PCR을 수행했던 결과보다 많은 자가불화합성 유전자형

Table 6. Determination of S-genotype of crabapple cultivars by PCR analysis.

Cultivar	S-genotype
Manchurian	S <sub>5</sub> S <sub>?</sub>
Hopa A	S <sub>20</sub> S <sub>?</sub>
Sentinel	S <sub>26</sub> S <sub>?</sub>
Yantaishagou	S <sub>9</sub> S <sub>?</sub>
Adams	S <sub>20</sub> S <sub>26</sub>
Purple Lemoine	S <sub>?</sub> S <sub>?</sub>
Virginia	S <sub>5</sub> S <sub>?</sub>
Asiatica	S <sub>3</sub> S <sub>10</sub> S <sub>26</sub>
Hanyaehanakaidou	S <sub>26</sub> S <sub>?</sub>
Prunifolia	S <sub>?</sub> S <sub>?</sub>
Spectabilis	S <sub>?</sub> S <sub>?</sub>

? : unknown.

을 확인할 수 있었다.

적 요

본 연구는 '후지' 품종에 대한 수분수로서 이용가능성을 확인하기 위하여 꽃사과 11품종의 특성 및 자가불화합성 유전자형을 분석하였다.

꽃사과 품종의 개화기는 '후지'에 비하여 개화시기가 2~7일 정도 빨랐고 화분발아율도 'Virginia'(74.4%) 외에 다른 꽃사과 품종들은 85.6~98.0%로 높은 결과를 보였다. '후지' 품종에 꽃사과 화분을 인공수분시킨 결과 착과율이 자연방입의 65.4%에 비해 'Adam's'는 76.8%로 11.4% 높았고, 나머지 품종들은 86~100%로 20.4~34.4% 높은 결과를 보였다. 꽃사과 화분으로 결실된 '후지' 품종의 중자수는 자연방입으로 결실된 과실에 비하여 13.8~42.3% 향상되었고, 과중은 346.7~376.8g으로 7.4~16.7% 정도 향상되었다. 과형지수는 무치리구 과실은 0.82로 비정형과 기준이었는데 비해 'Manchurian', 'Hopa A', 'Virginia', 'Prunifolia', 'Spectabilis' 등을 인공수분한 경우 0.87~0.88로 정형과 기준에 도달하였다.

PCR분석을 통한 꽃사과 품종의 자가불화합성 유전자형을 확인한 결과 'Manchurian', 'Virginia', 'Sentinel', 'Adam's', 'Asiatica', 'Yantaishagou', 'Hanyaehanakaidou'에서 S<sub>3</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>9</sub>, S<sub>10</sub>, S<sub>20</sub>, S<sub>26</sub>이 확인되었고, 염기서열 분석을 통해 S<sub>5</sub>('Manchurian', 'Virginia')와 S<sub>9</sub>('Yantaishagou')가 보고된 자가불화합성 유전자형과 일치하였다.

추가 주제어 : 개화기, 화분발아율, S-genotype, 과실품질

사 사

본 연구는 농림수산식품부 사과수출연구사업단과 2012

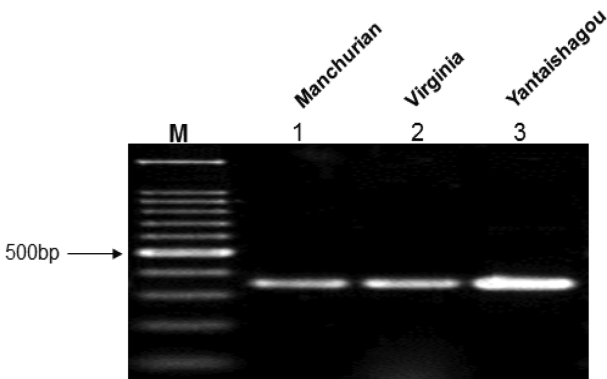


Fig. 2. Allele-specific PCR analysis. The alleles S<sub>5</sub> (lane 1, 2), S<sub>9</sub> (lane 3). M 100 bp- to 2-kb DNA size marker in 100-bp increments.

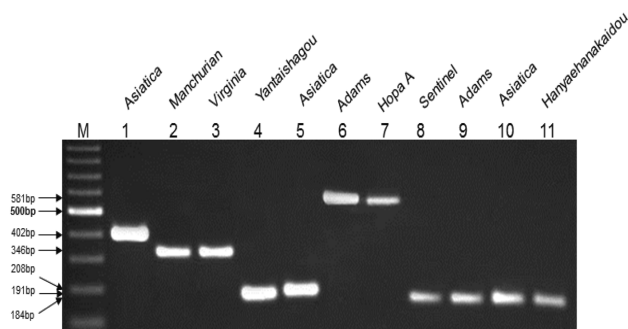


Fig. 3. Allele-specific PCR analysis. The alleles S<sub>3</sub> (lane 1), S<sub>5</sub> (lane 2, 3), S<sub>9</sub> (lane 4), S<sub>10</sub> (lane 5), S<sub>20</sub> (lane 6, 7), S<sub>20</sub> (lane 8, 9), S<sub>26</sub> (lane 10, 11). M 100 bp- to 2-kb DNA size marker in 100-bp increments.

년 경북대학교 학술연구보조지원금에 의해 수행되었음.

### Literature Cited

- Alston, F.H. 1996. Incompatibility alleles and apple pollination. *Acta Hort.* 423:119-124.
- Broothaerts, W., G.A. Janssens, P. Proost, and W.F. Broekaert. 1995. cDNA cloning and molecular analysis of two self-incompatibility alleles from apple. *Plant molecular biology.* 27:499-511.
- Broothaerts, W. 2003. New finding in apple S-genotype analysis resolve previous confusion and request the re-numbering of some S-alleles. *Theoretical and Applied Genetics* 106:703-714.
- Broothaerts, W., I.V. Nerum, and J. Keulemans. 2004. Update on and review of the incompatibility(S-) genotypes of apple cultivars. *J. Hort. Sci.* 39:943-947.
- Church, R.M. and R.R Williams. 1971. Artificial pollination. *J. Long Ashton Res. Sta. Rpt. for 1970:*20.
- Crassweller, R.M., D.C. Ferree, and L.P. Nichols. 1980. Flowering crabapples as potential pollinizer for commercial apple cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:475-477.
- Florin, R. 1927. Pollen production and incompatibility in apples and pears. *Mem. Hort. N.Y.* 3:87-118.
- Goldway, M., D. Schneider, H. Yehuda, A. Matityahu, D. Eisikowitch, and R.A. Stern. 2001. The effect of apple S-allele compatibility on fruit set levels in non-optimal fertilization conditions. *Acta Hort.* 561:231-234.
- Golz, J.F., A.E. Clarke, and E. Newbiggin. 1995. Self-incompatibility flowering plant. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 5:640-645.
- Ha, Y.M. and K.K. Shim. 1995. Selection of new crabapple cultivars as pollinizers for apple orchard. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 36:281-291.
- Hegedus, A. 2006. Review of the self-incompatibility in apple. *Intl. J. Hort. Sci.* 12:31-36.
- Howlett, F.S. 1926. Some factors of importance in fruit setting studies with apple varieties. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 23:307-315.
- Kang, I.K., G.J. Lee, M.J. Kim, S.I. Kwon, P.Y. Paek, and D.G. Choi. 2002. Selection of crab apples as pollinizers for major apple cultivars in apple orchard. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 20:330-334.
- Kang, I.K. 2004. Selection of crab apple as pollinizers for 'Hongro' apple cultivar. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 22:212-215.
- Paik, S.G. 1997. Evaluation of ornamental *Malus* species and cultivars as pollinators for single-cultivar commercial apple orchards. MS Thesis, Cornell Univ.
- Park, J.G., J.S. Hong, I.M. Choi, J.B. Kim, S.H. Kim, and H.S. Park. 1998. Applications of artificial pollination, spraying gibberellin A<sub>4+7</sub> plus benzyladenine for production of uniform fruits in 'Fuji' apples. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 16: 27-29.
- Sakurai, K., S.K. Brown, and N. Weede. 2000. Self-incompatibility alleles of apple cultivars and advanced selections. *J. Hort. Sci.* 35:116-119.
- Schneider, D., R.A. Stern, D. Eisikowitch, and M. Goldway. 2001. Analysis of S-alleles by PCR for determination of compatibility in the 'Red Delicious' apple orchard. *J. Hort. Sci. Biotech.* 76:596-600.
- Torres, A.M., N.F. Weeden, and A. Martin. 1993. Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vinciafaba*. *Theoretical and Applied Genetics* 85:937-945.
- Way, R.D. 1978. Crabapple pollinizers. *N.Y. State. Hort. Soc. Proc.* 123:93-101.
- Williams, R.R. 1967. A pollinator system for the single variety Cox's orange pippin orchard. *Long Ashton Res. Sta. Rpt.* 1966:112-114.
- Williams, R.R. and R.M Church. 1983. Growth and flowering of ornamental *Malus* pollinators in apple orchards. *J. Hort. Sci.* 58:337-342.