

## Estimation of storability for Korean apples (*Malus domestica*) using *Md-ACS1* and *Md-ACO1* DNA marker

Young Soon Kwon<sup>1,2</sup>, Soon-Il Kwon<sup>1</sup>, Seon Ae Kim<sup>1</sup>, Hun-Joong Kweon<sup>1</sup>, Jingi Yoo<sup>2</sup>,  
Seulgi Ryu<sup>2</sup>, In-Kyu Kang<sup>2</sup>, Jeong-Hee Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Apple Research Institute, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Gunwi 39000, Korea

<sup>2</sup>Department of Horticultural Science, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

### *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 분자표지를 이용한 국내육성사과의 저장성 예측

권영순<sup>1,2</sup> · 권순일<sup>1</sup> · 김선애<sup>1</sup> · 권현중<sup>1</sup> · 유진기<sup>2</sup> · 류슬기<sup>2</sup> · 강인규<sup>2</sup> · 김정희<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립원예특작과학원 사과연구소, <sup>2</sup>경북대학교 원예과학과

#### Abstract

Apple (*Malus domestica*) is a climacteric fruit because of its high respiration and ethylene production. Ethylene affects the fruit by decreasing its quality and storability. *Md-ACS1* and *Md-ACO1* genes are involved in ethylene biosynthesis in apple; the *Md-ACS1-2* and *Md-ACO1-1* alleles are associated with low ethylene production. We conducted an analysis to study *Md-ACS1* and *Md-ACO1*, and to examine ethylene production and softening rate of fruit at room temperature (20°C) storage in 'Fuji (FJ)', 'Golden Supreme (GS)', and 5 cultivars of Korean apples ('RubyS (RS)', 'Hongro (HR)', 'Arisoo (AS)', 'Summer King (SK)', 'Greenball (GB)'). The result showed that an increase in the number of the alleles (*ACS1-2*, *ACO1-1*) decreased the ethylene production and softening rate. The presence of *ACS1-1/1*, *ACO1-1/2* was confirmed in GS and the highest ethylene production and softening rate was observed. Ethylene production and softening rate of SK and GB expressing *ACS1-1/2*, *ACO1-1/2* were higher than that of HR and AS, expressing *ACS1-2/2*, *ACO1-1/2*, but lower than GS. FJ with *ACS1-2/2*, *ACO1-1/1* showed the lowest ethylene production and softening rate among all cultivars except RS. The *Md-ACS1* and *Md-ACO1* DNA markers could potentially be used to estimate storability and applied in marker assisted selection the improve the efficiency of apple breeding.

**Key words** : DNA marker, ethylene, firmness, *Malus domestica*

#### 서 론

과실의 성숙과 노화를 촉진하는 것으로 알려진 식물호르몬 에틸렌은 methionine을 전구물질로 하여 생성된다(1). 에틸렌 생합성의 첫 번째 과정은 S-adenosylmethionine (AdoMet)을 에틸렌의 직접적인 전구체인 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid(ACC)로 전환하는 것인데 ACC synthase

(ACS)에 의해 이루어진다. AdoMet으로부터 전환된 ACC는 ACC oxidase(ACO)에 의해 최종적으로 에틸렌이 된다(2). 식물체 내에서 에틸렌의 수준은 ACS와 ACO 유전자 활성에 의해 결정되며, 사과에서도 *Md-ACS*와 *Md-ACO* 유전자들이 밝혀져 있다. *Md-ACS* 유전자에는 *Md-ACS1*, *Md-ACS2*, *Md-ACS3a*, *Md-ACS3b*, *Md-ACS3c*, *Md-ACS5A*, *Md-ACS5B* 등 19개가 보고 되어있으나, *Md-ACS1*이 사과의 에틸렌 발생과 성숙에 가장 우세하게 작용한다(3). *Md-ACO* 유전자들 중에서는 *Md-ACO1*이 에틸렌 생합성에 가장 우세하게 발현되며, *Md-ACS1*에 비해서는 에틸렌 생합성에 미치는 영향이 약한 편이지만 독립적으로 역할을 하는 것으로 알려져 있다(4). *Md-ACS1*와 *Md-ACO1*은 대립 유전자 조합에 따라 에틸렌 발생량의 차이를 보인다. *ACS1*

\*Corresponding author. E-mail : peat1004@korea.kr

Phone : 82-54-380-3132, Fax : 82-54-380-3125

Received 6 September 2017; Revised 7 November 2017;

Accepted 8 November 2017.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

의 대립유전자 조합에 따른 에틸렌 발생량은 *ACSI-2/2*가 가장 낮고, *ACSI-1/2*은 중간 정도이며 *ACSI-1/1*은 가장 많이 발생된다. *ACO1*의 경우에는 *ACO1-1/1*가 가장 낮고, *ACO1-1/2*은 중간 정도이며 *ACSI-2/2*은 가장 많이 발생된다(5).

에틸렌은 과실 내 호흡, 조직 연화 등 여러 가지 생리 반응을 조절하고 저장이나 유통 중 경도, 중량 및 유기산 함량을 감소시켜 상품성을 급격히 떨어뜨리는 원인이 된다(6). 또한 저장 중 과실로부터 발생된 에틸렌은 다시 과실에 영향을 미쳐서 노화를 더욱 촉진한다. 사과는 성숙이 진행되면서 에틸렌에 의해 호흡량이 일시적으로 상승하는 호흡 급등형 과실이다. 에틸렌 발생은 세포벽 분해효소 활성화 및 세포벽 연화를 진행시켜 사과의 상품성과 저장성을 떨어뜨리는 원인된다(7).

과육의 연화와 분질화를 막고, 과실 품질 유지 기간을 늘리기 위해서 에틸렌 작용 억제제인 1-methylcyclopropene (1-MCP)와 에틸렌 생합성 억제제인 aminoethoxyvinylglycine (AVG) 처리기술에 대한 많은 연구가 진행되고 있으며 사과 'Jonathan', 'Fuji', 'Gamhong' 품종의 저장 중 경도, 산 함량 등 과실 특성 유지 및 에틸렌 발생량 감소에 효과를 나타내는 것으로 보고되었다(8-10). 사과뿐만 아니라, 토마토, 복숭아 등 호흡급등형 과실의 에틸렌 제어제 개발, 처리기술과 관련한 많은 노력과 비용이 투입되고 있다(11,12).

사과의 저장성은 수많은 환경적 요인, 재배관리, 수확시기, 저장방법에 따라 달라지지만 품종이 가지고 있는 고유한 유전적 요인이 에틸렌 발생, 경도 등 저장성 특성에 가장 큰 영향을 미친다(13). 따라서 에틸렌 발생이 낮은 유전적 특성을 가진 품종은 저장성이 좋아서 유통 기간을 안정적으로 확보할 수 있으며, 소비자들에게 품질 변화가 적은 과실을 제공할 가능성을 높일 수 있다. 또한 에틸렌 제어제 개발 및 처리에 대한 경제적 부담을 줄일 수 있을 것이다.

국외에서는 *Md-ACSI*와 *Md-ACO1* 분자표지를 사과의 저장성 예측과(14) 육종과정 중 저장성 형질과 관련된 한 조기 선발 marker assisted selection(MAS)에 적용하고 있으나(15), 아직 국내에서는 연구된 바가 없다. 본 연구에서는 국내에서 개발된 사과 28품종의 *Md-ACSI*와 *Md-ACO1* 대립유전자형을 구명하고 수확 후 에틸렌 발생량 및 경도 연화율을 조사하여 *Md-ACSI*와 *Md-ACO1* 분자표지를 국내의 사과 저장성 예측 및 육종 효율 향상을 위한 MAS에

활용할 수 있는지를 검증하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 DNA 추출

농촌진흥청 국립원예특작과학원에서 육성한 28품종과 국외에서 개발된 저장성이 강한 'Fuji'와 저장성이 약한 'Golden Supreme' 품종을 실험재료로 선정하고, 경상북도 군위군에 위치한 농촌진흥청 국립원예특작과학원 사과연구소의 유전자원 보존포에 재식된 나무를 사용하였다. *Md-ACSI* 및 *Md-ACO1* 대립유전자형 분석은 30품종 모두 실시하였고, 대립유전자형 조합별로 대표되는 7품종('Fuji', 'RubyS', 'Hongro', 'Arisoo', 'Summer King', 'Greenball', 'Golden Supreme')을 대상으로 과실의 에틸렌 발생량 및 경도 조사를 수행하였다.

품종별 genomic DNA 추출은 신초를 채취하여 액체질소와 막자사발로 곱게 마쇄한 후 DNeasy plant mini kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 사용하였다. 추출한 DNA는 0.8% agarose gel에 전기 영동하여 순도를 확인하고 분광광도계(BioTek, Winooski, VT, USA)로 정량분석하였다. PCR 분석에 이용하기 위하여 DNA를 20 ng· $\mu\text{L}^{-1}$ 의 농도로 희석하였다.

### *Md-ACSI* 및 *Md-ACO1* primer를 이용한 PCR 분석

*Md-ACSI* 및 *Md-ACO1* 대립유전자형 분석을 위하여 Sunako 등(16)과 Costa 등(5)이 보고한 primer를 실험에 사용하였다(Table 1). PCR 반응은 Maxime PCR Premix kit(i-starTaq, iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)를 이용하여 gDNA 20 ng, primer 10  $\mu\text{M}$ , distilled water 17  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 총 20  $\mu\text{L}$  반응액으로 수행하였다. PCR은 C1000 thermocycler(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 95°C에서 1분간 초기 변성 후 95°C에서 15초, 58°C 및 65°C에서 15초, 72°C에서 10초로 35회 반복하고 72°C에서 10분간 처리 후 반응을 종료하였다. PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기 영동하여 확인하였다.

### 에틸렌 발생량 측정

에틸렌 발생량은 과실 수확일 부터 상온저장(20°C) 25일

Table 1. Primer sequences used for amplifying *Md-ACSI* and *Md-ACO1* genes

Gene	Primer sequences	Amplicon size (bp)	Annealing temperature (°C)	Reference
<i>Md-ACSI</i>	Forward 5' AGAGAGATGCCATTTTGTTCGTAC 3'	1:489	58	Sunako et al (17)
	Reverse 5' CCTACAAACTTGCCTGGGGATTATAAGTGT 3'	2:655		
<i>Md-ACO1</i>	Forward 5' TCCCCCAATGCACCACTCCA 3'	1:525	65	Costa et al (5)
	Reverse 5' GATTCCTTGGCCTTCATAGCTTC 3'	2:587		

까지 조사하였다. 조생종으로 품질변화가 빠르게 발생하는 ‘Golden Supreme’과 ‘Summer King’은 2일 간격으로 측정하였고, 그 외 ‘Arisoo’ 등 5품종은 3일 간격으로 측정하였다. 3개의 과실을 1반복으로 하여 15개의 과실을 조사 하였다. 1.6 L 밀폐용기에 사과종인 ‘RubyS’는 3개의 과실을 넣고, 나머지 품종들은 1개의 과실을 넣고 1시간 후 head space에서 1 mL gas 시료를 채취하여 각각 FID(flame ionization detector)와 TCD(thermal conductivity detector)를 장착한 gas chromatography(GC2010, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 측정하였다. FID 분석조건은 Porapak Q(80/100 2 m, Restek, Bellefonte, PA, USA) column을 이용하였고, injector, oven, detector 온도는 각각 100, 90, 200°C로 설정하였으며, flow rate는 He carrier, H<sub>2</sub>, Air를 각각 25, 40, 400 mL/min로 하였다.

**경도 조사**

과실의 경도는 수확일 및 수확 후 상온 저장 20일에 각각 조사하였다. 조사 방법은 과실 당 적도면 세 방향에 과피를 얇게 벗겨내고 11 mm plunger를 장착한 과실경도계(Fruit firmness tester, DFT-01, TR snc, Italy)를 이용하여 측정 후 평균값을 사용하였다. 3과실을 1반복으로 총 3반복하여 평균(Mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였다.

경도 연화율은 수확일의 경도에서 수확 후 상온 저장 20일의 경도를 뺀 값에서 상온 저장 기간 20일을 나누어 계산하였다. 통계분석은 Statistic Analysis System(SAS v 9.4 Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA 분석을 행한 후 p<0.05 수준에서 Duncan’s multiple range test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**사과 국내육성품종의 *Md-ACS1*와 *Md-ACO1* 유전자형**

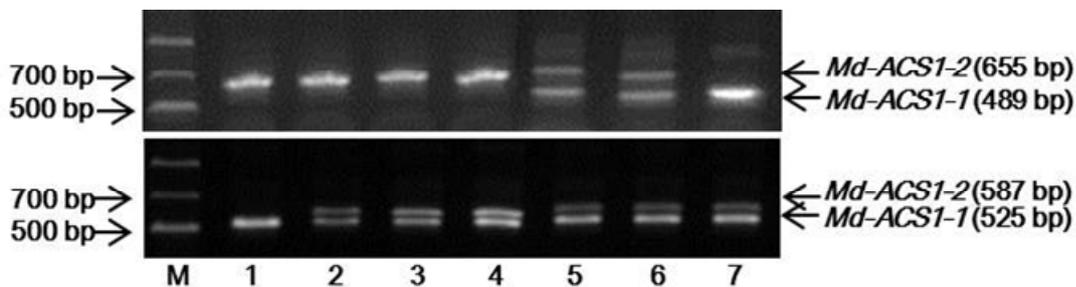
사과 국내육성 28품종의 과실 특성과 *Md-ACS1*와 *Md-ACO1* 유전자형을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

*ACS1-2*와 *ACO1-1*은 낮은 에틸렌 발생량과 관련 된 대립유전자(favorable alleles(FA))로 밝혀져 있다(5). *ACS1-2/2*, *ACO1-1/1*로 FA 4인 품종은 전체의 10.7%로 ‘Yeohong’, ‘Danhong’, ‘Hwayoung’으로 확인되었다. *ACS1-2/2*, *ACO1-1/2*로 FA 3인 품종은 전체의 53.6%로 ‘Hongro’, ‘Arisoo’, ‘RubyS’ 등 가장 많은 품종이 해당되었다. *ACS1-1/2*, *ACO1-1/2*로 FA 2인 품종은 ‘Summer King’, ‘Greenball’ 등 28.6%였고, *ACS1-1/1*, *ACO1-1/2*로 FA 1인 품종은 7.1%로 ‘Rosebell’, ‘Summerprince’로 확인되었다. 저장성이 강한 것으로 알려진 ‘Fuji’는 *ACS1-2/2*, *ACO1-1/1*로 FA 4인 것으로 확인 되었으며(Fig. 1), Zhu와 Barritt(17)이 보고한 연구 결과와 같았다. ‘Danhong’과 ‘Hwayoung’은 ‘Fuji’의 아조변이 품종으로 각각 단과지, 조기 착색과 관련 된 변이지에서 선발되었기 때문에 ‘Fuji’와 같은 대립유전자형을 가지는 것으로 판단된다. ‘Golden Supreme’은 *ACS1-1/1*, *ACO1-1/2*로 FA 1인 것으로 확인되었다(Fig. 1).

***Md-ACS1*와 *Md-ACO1* 유전자형에 따른 에틸렌 발생량**

수확일로부터 상온저장(20°C) 25일간 조사 된 에틸렌 발생량은 품종별로 큰 차이를 보였으나, 낮은 에틸렌 발생량과 관련 된 대립유전자 *ACS1-2*, *ACO1-1*이 많을수록 에틸렌 발생량도 낮은 경향을 보였다(Fig. 2). 가장 낮은 에틸렌 발생량을 보인 ‘RubyS’(*ACS1-2/2*, *ACO1-1/2*, FA 3)를 제외 하면, ‘Fuji’(*ACS1-2/2*, *ACO1-1/1*, FA 4), ‘Hongro’(*ACS1-2/2*, *ACO1-1/2*, FA 3), ‘Arisoo’(*ACS1-2/2*, *ACO1-1/2*, FA 3), ‘Summer King’(*ACS1-1/2*, *ACO1-1/2*, FA 2), ‘Greenball’(*ACS1-1/2*, *ACO1-1/2*, FA 2), ‘Golden Supreme’(*ACS1-1/1*, *ACO1-1/2*, FA 1) 순으로 에틸렌 발생량이 낮은 것으로 조사 되었다. 평균 과중 80-90 g인 사과종 ‘RubyS’는 에틸렌 발생량이 0.1-0.2  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  으로 매우 낮은 수치를 보였는데, 이 결과를 설명하기 위해서는 다른 사과종과의 비교 실험이 필요할 것으로 생각된다.

‘Golden Supreme’의 에틸렌 발생은 다른 품종들에 비해 매우 높았으며, 저장 9일에 45.4  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  으로 가장 높은 수치를 보였다가 빠르게 감소하였다. ‘Golden Supreme’ 다



**Fig. 1. *Md-ACS1* and *Md-ACO1* banding patterns for the seven apple cultivars.**

The top panel shows *Md-ACS1* allelic forms. The bottom panel shows *Md-ACO1* allelic forms: ‘Fuji’ (lane 1), ‘RubyS’ (lane 2), ‘Hongro’ (lane 3), ‘Arisoo’ (lane 4), ‘Summer King’ (lane 5), ‘Greenball’ (lane 6), ‘Golden Supreme’ (lane 7); 1 Kb DNA ladder (M).

Table 2. The fruit characteristics and *Md-ACSI*, *Md-ACO1* genotype of 28 Korean apples

Cultivar	Year released	Fruit shape	Fruit skin color	Harvest time <sup>1)</sup>	Acidity <sup>2)</sup>	Sweetness <sup>3)</sup>	Fruit weight <sup>4)</sup>	Genotype		No. favorable alleles (FA) <sup>5)</sup>
								<i>ACSI</i>	<i>ACO1</i>	
Hongro	1988	Globose-conical	Red	2	1	5	3	2/2	1/2	3
Chukwang	1992	Flat-globose	Red	2	1	3	4	2/2	1/2	3
Gamhong	1992	Oblong	Red	3	3	5	4	2/2	1/2	3
Hwahong	1992	Globose	Red	3	1	3	3	1/2	1/2	3
Seokwang	1995	Globose	Red	1	4	2	3	2/2	1/2	3
Saenara	1997	Conical	Red	2	4	3	3	2/2	1/2	3
Sunhong	2000	Conical	Light-red	1	2	3	4	2/2	1/2	3
Honggeum	2004	Oblong	Light-red	2	3	4	3	2/2	1/2	3
Seohong	2004	Globose	Light-red	1	3	3	2	2/2	1/2	3
Summer-dream	2005	Flat-globose	Light-red	1	2	3	2	1/2	1/2	2
Manbok	2006	Flat-globose	Dark-red	1	2	3	2	1/2	1/2	2
Hongso	2006	Globose-conical	Light-red	2	3	4	2	1/2	1/2	2
Hongan	2006	Globose	Red	2	1	3	2	2/2	1/2	3
Yeohong	2007	Globose	Red	3	5	4	4	2/2	1/1	4
Danhong	2008	Oblong	Red	3	3	4	3	2/2	1/1	4
Picnic	2008	Globose-conical	Red	2	4	5	2	2/2	1/2	3
Greenball	2008	Oblong-conical	Yellow-green	1	3	3	4	1/2	1/2	2
Hwayoung	2008	Oblong	Red	3	3	4	3	2/2	1/1	4
Hwasa	2009	Globose-conical	Light-red	3	3	3	2	2/2	1/2	3
Hwangok	2009	Globose-conical	Yellow	2	5	5	2	2/2	1/2	3
Summer King	2010	Globose-conical	Light-red	1	4	3	3	1/2	1/2	2
Arisoo	2010	Globose	Light-red	2	3	4	3	2/2	1/2	3
Goldenbell	2011	Globose	Yellow	2	5	0	1	1/2	1/2	2
Rosebell	2011	Globose	Yellow	1	5	0	1	1/1	1/2	1
Tinkerbelle	2012	Globose	Dark-red	1	5	1	1	1/2	1/2	2
Decobell	2013	Oblong	Red	2	5	1	1	1/2	1/2	2
Summer-prince	2014	Globose-conical	Light-red	1	4	2	3	1/1	1/2	1
RubyS	2014	Globose	Red	1	4	3	1	2/2	1/2	3

<sup>1)</sup>Harvest time: 1=from July to September, 2=September, 3=October.

<sup>2)</sup>Acidity: 0=No acidity, 1=Weak, 2=Medium-weak, 3=Medium, 4=Medium-strong, 5=strong.

<sup>3)</sup>Sweetness: 0=Not sweet, 1=Weak, 2=Medium-weak, 3=Medium, 4=Medium-strong, 5=strong.

<sup>4)</sup>Fruit weight: 1= <100 g, 2=150-250 g, 3=250-300 g, 4= >300 g.

<sup>5)</sup>Mean to add up number of the alleles (*ACSI-2*, *ACO1-1*) of low ethylene production.

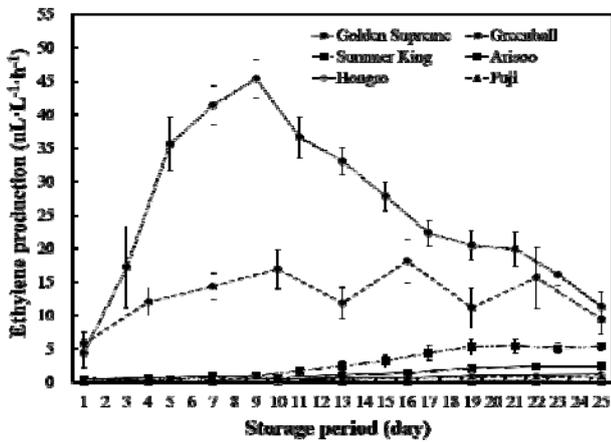


Fig. 2. Change ethylene production in the seven apple cultivars over 25 days after harvest at room temperature (20 °C).

Bars represent ±SD (n=15).

음으로 높은 에틸렌 발생량을 보인 ‘Greenball’은 저장 16일에 18.1  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  으로 가장 높은 발생량을 보였다. ‘Summer King’은 같은 유전자형을 가진 ‘Greenball’ 보다 낮은 에틸렌 발생량을 보였으며 저장 19일에 5.5  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  으로 가장 높은 발생량을 보였다. ‘Arisoo’는 저장 10일까지 ‘Hongro’, ‘Fuji’와 에틸렌 발생량이 비슷한 수치였으나 그 이후부터 조금 더 높아졌으며, ‘Hongro’의 에틸렌 발생량은 ‘Arisoo’ 보다 낮은 반면 ‘Fuji’와는 비슷하거나 조금 높았다. ‘Arisoo’는 저장 22일에 2.4  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , ‘Hongro’는 저장 25일에 1.2  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , ‘Fuji’는 저장 25일에 1.0  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 으로 가장 높은 발생량을 보였다. ‘Fuji’는 다른 품종들에 비해 에틸렌 발생량이 낮고 저장성이 좋다고 보고되어 있다 (5,18). 본 실험에서도 ‘RubyS’를 제외한 다른 품종들 보다 낮은 에틸렌 발생량을 확인할 수 있었다. ‘Fuji’의 에틸렌 발생이 낮은 것은 *ACS1-2/2* promoter region의 SINE retroposon insertion에 의한 것으로 밝혀져 있는데(17), ‘Fuji’와 비슷한 발생 양상을 보인 ‘Hongro’와 더 낮은 발생량을 보인 ‘RubyS’도 이와 같은 변이에 대한 확인이 필요할 것으로 생각된다.

*ACO1* 대립유전자형이 *ACO1-1/2*로 동일한 품종들의 *ACS1* 대립유전자형에 따른 에틸렌 발생량은 *ACS1-1/1*인 ‘Golden Supreme’이 가장 높았으며, *ACS1-2/2*인 ‘RubyS’, ‘Hongro’, ‘Arisoo’는 다른 대립유전자형을 가진 품종들에 비해 낮은 에틸렌 발생량을 보였다. ‘Golden Delicious’ (*ACS1-1/2*)와 ‘Braeburn’(*ACS1-1/2*)의 교배실생들의 에틸렌 발생량은 *ACS1-2/2*이 가장 낮았으며 *ACS1-1/1*은 가장 높았고, *ACS1-1/2*는 중간이었다고 보고한 Costa 등(19)의 결과와 유사하였다. 또한 *ACS1-2/2*는 *ACS1-2/2*와 *ACO1-1/1*의 유전자형을 가지는 품종들 보다 내생에틸렌 발생량이 낮았으며, *ACS1* mRNA의 발현양이 다른 품종들에 비해 적었음이 보고 된 바 있다(20).

상온저장 후 경도 연화율

수확일의 경도는 품종 특성에 따라 다른 것으로 확인되었으나 상온저장 20일 후 경도 연화율은 에틸렌 발생 양상과 비슷한 경향을 보였다(Table 3). 에틸렌 발생량이 가장 높았던 ‘Golden Supreme’은 경도 연화율이 가장 높았다. 에틸렌 발생량이 가장 낮았던 ‘RubyS’의 경도 연화율은 가장 낮았고, 다음으로 경도 연화율이 낮은 품종은 ‘Fuji’, ‘Hongro’, ‘Arisoo’, ‘Greenball’, ‘Summer King’의 순이었다. ‘Greenball’은 에틸렌 발생량이 ‘Summer King’ 보다 높았지만 경도 연화율은 조금 낮은 것으로 확인되었다.

Oraguzie 등(21)은 저장기간 중 경도 연화율이 *ACS1-2/2*인 만생종인 경우 가장 낮았고, *ACS1-1/1*인 조생종의 경우 가장 높았다고 보고하였는데, *ACS1-1/1*인 조생종 ‘Golden Supreme’의 경도 연화율이 가장 높았고, ‘RubyS’를 제외하고 *ACS1-2/2*인 만생종 ‘Fuji’가 가장 낮았던 것으로 조사된 본 실험의 결과와 유사하였다. 따라서, 국내육성품종들의 숙기와 *ACS1*, *ACO1* 유전자형에 따른 에틸렌 발생, 경도 등 저장성 특성을 검토해 볼 필요성이 있을 것으로 생각된다.

Zhu와 Britt(17)은 수확일 및 저온저장 60일 후 경도는 *ACS1-2/2*인 경우에 *ACS1-1/2*, *ACS1-1/1* 보다 높았고, *ACO1-1/1*인 경우 *ACO1-1/2*, *ACO1-2/2* 보다 높았으나, 경도 연화율에 있어서는 *ACS1* 및 *ACO1* 대립유전자형과의 밀접한 관계를 찾을 수 없었다고 하여 본 실험의 결과와는 조금 달랐다. 그러나, *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 분자표지를 이용하여 교배조합 작성 및 교배실생 조기선발을 통한 저장성이 강한 사과 육종이 가능 할 것이라고 보고하였다.

과거에 개발 된 사과 품종들의 *ACS1-2/2* 빈도는 20% 미만에 불과하였으나 과실 품질을 개량하기 위한 현대의 사과 육종 프로그램이 적용 된 최근에 등록된 품종은 50% 이상의 높은 비율을 차지한다는 분석 결과가 보고된 바

Table 3. Fresh fruit firmness at harvest, firmness after 20 days of room temperature (20 °C) storage and softening rate (difference between firmness at harvest and firmness after storage, divided by number of storage days) in the seven apple cultivars

Cultivars	Firmness (Newton/11 mm plunger)		Softening rate
	Harvest time	after storage	
Fuji	68.52±0.39 <sup>1(a2)</sup>	61.03±0.25 <sup>ab</sup>	0.37 <sup>a</sup>
RubyS	71.00±0.35 <sup>a</sup>	68.43±0.38 <sup>a</sup>	0.13 <sup>a</sup>
Hongro	71.14±0.72 <sup>a</sup>	55.98±0.63 <sup>b</sup>	0.76 <sup>ab</sup>
Arisoo	74.93±0.33 <sup>a</sup>	58.30±0.71 <sup>ab</sup>	0.83 <sup>ab</sup>
Summer King	70.38±0.24 <sup>a</sup>	47.46±0.28 <sup>b</sup>	1.15 <sup>b</sup>
Greenball	57.07±0.37 <sup>b</sup>	34.42±0.10 <sup>b</sup>	1.13 <sup>b</sup>
Golden Supreme	70.38±0.24 <sup>a</sup>	44.93±0.17 <sup>c</sup>	1.27 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Values are means±SD (n=9).

<sup>2</sup>Means followed by the same letters within the column per parameter are not significantly different (p<0.05).

있다(22). 이것은 사과 품질 중 저장성 형질이 아주 중요한 육종 목표이며, 저장성 형질과 관련 된 *Md-ACS1*와 *Md-ACO1* 분자표지의 검증 및 활용은 육종 효율 향상을 위한 MAS에 꼭 필요하다는 의미가 될 것이다. 본 실험의 결과, 수확 후 저장기간 동안의 에틸렌 발생 및 경도 연화율은 *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 대립유전자형과 상관성이 있는 것으로 확인되었다. 따라서 사과의 저장성 형질과 관련 된 *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 분자표지를 이용한 간단한 PCR 분석을 통해 사과 국내육성품종의 저장성 예측 및 육종 효율 향상을 위한 교배조합 작성, 교배실생의 조기선발이 가능할 것으로 생각 된다.

## 요 약

사과는 에틸렌에 의해 호흡량이 일시적으로 상승하는 호흡급등형 과실이다. 에틸렌 발생은 세포벽분해효소 활성화와 세포벽 연화를 진행시켜 사과의 상품성과 저장성을 떨어뜨리는 원인이 된다. 사과의 에틸렌 생합성 과정에는 *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 유전자가 연관되어 있으며, 두 유전자는 과실의 에틸렌 발생량과 경도에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 사과 국내육성 28품종의 *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 대립유전자형을 분석하고, ‘Fuji(FJ)’, ‘RubyS(RS)’, ‘Hongro(HR)’, ‘Arisoo(AS)’, ‘Summer King(SK)’, ‘Greenball(GB)’, ‘Golden Supreme(GS)’을 대상으로 수확 후 25일까지의 에틸렌 발생량 및 상온저장(20°C) 20일 동안의 경도 연화율을 조사하였다. 그 결과, 낮은 에틸렌 발생량과 관련 된 대립유전자(favorable alleles0(FA)) *ACS1-2*, *ACO1-1*이 많을수록 에틸렌 발생량과 경도 연화율이 낮은 경향을 보였다. GS은 *ACS1-1/1*, *ACO1-1/2*(FA 1)으로 모든 품종 중 가장 높은 에틸렌 발생 수치와 경도 연화율을 보였다. SK와 GB은 *ACS1-1/2*, *ACO1-1/2*(FA 2)으로 *ACS1-2/2*, *ACO1-1/2*(FA 3)인 HR와 AS 보다는 높고 GS 보다 낮은 에틸렌 발생량과 경도 연화율을 보였다. *ACS1-2/2*, *ACO1-1/1*(FA 4)인 FJ는 RS를 제외한 모든 품종 중에 에틸렌 발생량과 경도 연화율이 가장 낮았다. 본 실험의 결과 *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 대립유전자형과 사과의 에틸렌 발생량 및 경도 연화율은 상관성이 있는 것으로 확인되었다. 따라서, *Md-ACS1* 및 *Md-ACO1* 분자표지를 사과 국내육성 품종의 저장성 예측과 육종 효율 향상을 위한 Marker-assisted selection에 활용할 수 있을 것으로 생각 된다.

## 감사의 글

본 연구는 2017년도 농촌진흥청 국립원예특작과학원 기 관고유사업(과제번호: PJ011220)의 지원에 의해 수행되었

습니다.

## References

- Ahn YJ, Choi JS, Min BH, Yi KU (1996) Effect of ethylene adsorbent on apple fruit quality during storage. J Natural sci Paichai Univ, 8, 169-173
- Taiz L, Zeiger E (2013) Plant Physiology. Life Science publishing co, Soeul, Korea, p 622-625
- Li T, Tan D, Yang X, Wang A (2013) Exploring the apple genome reveals six ACC synthase genes expressed during fruit ripening. Sci Hortic, 157, 119-123
- Wakasa Y, Kudo H, Ishikawa R, Akada S, Senda M, Niizeki M, Harada T (2006) Low expression of an endopolygalacturonase gene in apple fruit with long-term storage potential. Postharvest Biol Technol, 39, 193-198
- Costa F, Stella S, Van de Weg WE, Guerra W, Cecchin M, Dallivina J, Koller B, Sansavini S (2005) Role of the genes *Md-ACO1* and *Md-ACS1* in ethylene production and shelf life of apple (*Malus domestica* Borkh). Euphytica, 141, 181 - 190
- Yang X, Song J, Campbell-Palmer L, Fillmore S, Zhang Z (2013) Effect of ethylene and 1-MCP on expression of genes involved in ethylene biosynthesis and perception during ripening of apple fruit. Postharvest Biol Technol, 78, 55-66
- Johnston JW, Hewett EW, Hertog MLATM, Harker FR (2001) Temperature induces differential softening responses in apple cultivars. Postharvest Biol Technol, 23, 185-196
- Park JY, Kim KO, Yoo JG, Win NM, Lee JW, Choung MG, Jung HY, Kan IK (2016) Effects of aminoethoxyvinylglycine (AVG) and 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatments on fruit quality attributes in cold-stored ‘Jonathan’ apples. Korean J Food Preserv, 23, 453-458
- Yoo JG, Kang BK, Lee JW, Kim DH, Lee DH, Jung HY, Choi DG, Choung MG, Choi IM, Kang IK (2015) Effect of preharvest and postharvest 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatments on fruit quality attributes in cold-stored ‘Fuji’ apples. Kor J Hort Sci Technol, 33, 542-549
- Yoo JG, Kim DH, Lee JW, Choi DG, Han JS, Kwon SI, Kweon HJ, Kang IK (2013) Effect of preharvest sprayable 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on fruit quality attributes in cold stored ‘Gamhong’ apples.

- Protected Hortic Plant Factory, 22, 279-283
11. Choi SJ (2005) Comparison of the change in quality and ethylene production between apple and peach fruits treated with 1-methylcyclopropane (1-MCP). *Kor J Food Preserv*, 12, 511-515
  12. Watkins CB (2008) Overview of 1-methylcyclopropane trials and uses for edible horticultural crops. *HortScience*, 43, 86-94
  13. Johnston JW, Hewett EW, Hertog MLATM (2002) Postharvest softening of apple (*Malus domestica*) fruit: A Review. *N Z J Crop Hortic Sci*, 30, 145-160
  14. Nybom H, Ahmadi-Afzadi M, Sehic J, Hertog M (2013) DNA marker-assisted evaluation of fruit firmness at harvest and post-harvest fruit softening in a diverse apple germplasm. *Tree Genet Genomes*, 9, 279-290
  15. Zhu Y, Mattheis J, Barritt B, Peace C (2009) Functional genomics and marker development for apple sensory qualities. Final Report of USDA, ARS
  16. Sunako T, Sakuraba W, Senda M, Akada S, Ishikawa R, Niizeki M, Harada T (1999) An allele of the ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene (*ACS1*) in apple fruit with a long storage life. *Plant Physiol*, 119, 1297-1303
  17. Zhu Y, Barritt BH (2008) *Md-ACS1* and *Md-ACO1* genotyping of apple (*Malus domestica* Borkh.) breeding parents and suitability for marker-assisted selection. *Tree Genet Genomes*, 4, 555-562
  18. Kondo S, Uthaibutra J, Gemma H (1991) Comparison of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, abscisic acid and anthocyanin content of some apple cultivars during fruit growth and maturation. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 60, 505-511
  19. Costa F, Cappellin L, Farneti B, Tadiello A, Romano A, Soukoulis C, Sansavini S, Velasco R, Biasioli F (2014) Advances in QTL mapping for ethylene production in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Postharvest Biol Technol*, 87, 126-132
  20. Harada T, Sunako T, Wakasa Y, Soejima J, Satoh T, Niizeki M (2000) An allele of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene (*Md-ACS1*) accounts for the low level of ethylene production in climacteric fruits of some apple cultivars. *Theor Appl Genet*, 101, 742 - 746
  21. Oraguzie NC, Iwanami H, Soejima J, Harada T, Hall A (2004) Inheritance of the *Md-ACS1* gene and its relationship to fruit softening in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Theor Appl Genet*, 108, 1526-1533
  22. Nybom H, Sehic J, Garkava-Gustavsson L (2008) Modern apple breeding is associated with a significant change in allelic ratio of the ethylene production gene *Md-ACS1*. *J Hortic Sci Biotechnol*, 83, 673-677