

미량요소 첨가가 자가불화합성 억제에 미치는 영향

정일경*, 손태권¹, 김민지대구가톨릭대학교 생명공학과, ¹(주)아이에스생명공학Studies on Inhibition of Self-Incompatibility with
Micronutrients in AppleIl Kyung Chung*, Tae Kwon Son¹ and Min Ji Kim

Department of Biotechnology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-702, Korea

¹IS Life Technology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-702, Korea

Abstract - Self-incompatibility (SI) system is a genetic barrier that prevents self-fertilization and promotes cross-pollination among different S genotypes. In many of these species, SI is controlled by a single genetic locus known as S locus, which prevents the fertilization by pollen with same locus. S RNases are the products of the S-locus expressed in the stylar tissue of Fuji Apple with gametophytic self-incompatibility system. This study investigated the various types of chemicals in order to select more effective inhibitors and activators. The effect on the inhibition of S RNase of Fuji apples was investigated *in vitro*. The result showed that the enzyme activity was reduced 24.3% by Iron(II) Sulfate, significantly. *In vitro* studies of pollen growth tube showed that pollen tube growth had a higher germination rate (90%) in 10% Sucrose than in 2% sucrose extension medium. Data on the fruit set of apples treated with inhibitor and activator. Double application of A⁺(Apple Plus, ISTECH Co. Ltd.)+Vitamin B6 had the highest central fruit set as 86.1%(Andong). One time application of A⁺⁺Vitamin B1 in Yeongju obtained the highest central fruit set (91.9%).

Key words - Fertilization rate, Fruit tree, Inorganic compound, Pollen tube, Protein

서 언

이 지구상에서 개화식물 중 약 반 이상이 자가불화합성의 특성을 가지고 있다(Boris and Kohn, 2001; Chung *et al.*, 1994b; Chung *et al.*, 1995). 개화식물에서의 자가불화합성은 S locus로 알려져 있는 유전자군에 의해 자가수정을 억제하는 성질을 가진다(Kao and McCubbin, 1996; Lee *et al.*, 1994). 이러한 성질은 자기 화분의 유전자형을 구별하는 화주의 능력과 자기화분의 성숙 또는 생장을 억제하는 화분 조직의 수용 능력을 기준으로 크게 배우자체 자가불화합성과 포자체 자가불화합성으로 분류된다(Chung, 1997; Chung *et al.*, 1995).

배우자체 자가불화합성은 화분과 암술의 상호작용에 의해 나타나기 때문에 반수체 계통을 가진 화분과 이배체 계

통을 가진 암술의 조직에 의해 유전적으로 조절된다. 즉, 어떤 유전자를 가지는 접합체에 그와 같은 유전자를 가지고 배우자가 접합하는 경우, 서로 이반되어 수정이 되지 않는 것을 뜻한다. 이러한 현상은 S 대립유전자를 공유하는 자가불화합성 식물에서 S₁S₂ 유전자형을 가진 암술에 S₁S₂ 유전자형을 가진 화분이 도달하면 불화합인자를 가진 개체간에는 불화합(Incompatible)으로 종자가 맺지 못하고, S₁S₂ 유전자형을 가진 암술에 S₃S₄ 유전자형을 가진 화분이 도달하면 불화합인자를 가지지 않는 개체간에는 화합(Compatible)으로 종자가 형성되게 된다. 자가불화합성이란 결국 화분과 암술과의 상호작용이며 화분이 암술에서 발아를 시도할 때 암술이 화분의 유전자형을 인식하여 선택적으로 받아들여 수정을 유도하는 식물의 가장 잘 진화된 유전적 기구의 한 형태라 할 수 있다(Cornish *et al.*, 1987; Newbigin *et al.*, 1993). 포자체형의 자가불화합성의 기구에서는 S locus 산물이 여러 종류 발견되어 S locus

*교신저자(E-mail) : chungik@cu.ac.kr

glycoprotein(SLG), S locus related protein(SLR), S locus receptor Kinase(SRK) 유전자 산물인 당 단백질의 상호작용에 의해 자가불화합성이 조절된다고 보고 있다. 배우자체형에 속하는 식물로는 사과, 배와 같은 장미과, 가지과, 양귀비과, 백합과 등이 있으며 포자체형에는 무, 배추와 같은 십자화과, 국화과가 있다.

*Nicotiana glauca*에서 S 대립유전자와 Co-segregate되며 암술에서 많이 발현되는 당단백질을 분리하여 그 단백질을 S-Protein(S-allele-associated protein)이라 이름 지었다(Anderson, 1986). 그 후 S-Protein의 N-말단 아미노산 서열을 알아내어 S2와 S6-allele에 해당하는 S-Protein의 cDNA를 분리 하였다(Anderson, et al., 1989). *Aspergillus oryzae*로부터의 RNase T2와 S-Protein의 아미노산 서열을 비교하여 S-Protein의 C2, C3 domain 과 RNase T2의 해당지역이 매우 비슷함을 보였는데 그 지역이 Ribonuclease의 활성 부위라는 점에서 흥미로운 결과였다(Kawata et al., 1988). 그 후 그 두 단백질의 아미노산 서열이 비슷한 것은 우연이 아니라 S-Protein이 실제로 Ribonuclease 활성을 가지고 있다고 증명하였다(McClure et al., 1989). 또한 *Petunia inflata*와 *P. hybrida*에서도 S-Protein이 Ribonuclease 활성을 가지고 있음이 발표되었다(Broothaerts et al., 1991; Singh et al., 1991).

S 단백질의 기능적 연구는 이 단백질에 대한 상동성의 비교 결과 곰팡이의 RNase와 유사한 구조를 가진다는 사실이 시발점이 되어 이들 단백질에 대한 기능이 조사되었다(Chung and Shin, 1997; Sims, 1993). 이들 단백질의 기능을 밝히기 위해 *In vitro* 상태에서 자기화분과 비자기 화분에 방사선 동위원소인 ³²P로 인식한 화분을 이용하여 화분관의 신장에 대한 연구가 진행된 결과, 자기화분의 화분관은 화주조직의 상부에서 그 신장이 저해되는 것으로 나타났다(McClure et al., 1990). 또한 이들 당단백질의 기능과 S-RNase의 정확한 기능은 불명확하였으나(Kao and Huang, 1994; Newbigin et al., 1993), 최근 같은 유전자의 꽃가루가 암술 주두에서 발아하여 화분관 신장을 통하여 수정이 이루어지게 되는데, 근친 꽃가루가 들어오면 화주 조직에서 독소 즉 S-RNase를 분비하여 화분의 rRNA가 특이적으로 분해되어 화분관 신장이 되지 못하도록 하는 것을 밝혀내었다(Ariel et al., 2006; McClure et al., 1990). 이때부터 자가불화합성에 직접적으로 관여하는 S 단백질을 S RNase라고 불리어 지게 되었다. 그러나 최근

에는 자기화분이 화주 조직에서 신장할 때 화주조직 상부에서 이미 화분관을 파괴되어 자연적으로 rRNA는 분해되므로 화분관의 신장조직에서 rRNA의 분해가 자가불화합성의 원인인지 결과인지에 대한 논란이 되고 있다.

가지과 식물체인 담배(*Nicotiana glauca*)와 페추니아(*Petunia inflata*)와 같은 배우자체형 자가불화합성의 경우 S RNase 유전자를 Sense 혹은 Anti-Sense의 구조로 형질전환 하였을 때 도입된 식물체에서 자가불화합성의 기능을 ‘회복’ 혹은 ‘타파’ 되는 결과를 가져오게 되었다(Lee et al., 1994; McClure et al., 1989). 그러나 형질전환 식물체의 화분을 이용한 교배실험에서 자가불화합성의 성질이 도입된 화분에서는 그 기능이 나타나지 않는 결과를 얻었다(Lee et al., 1994). 결국 배우자체형의 S RNase 유전자는 자가불화합성의 Mechanism에 있어서 최종 단계에서 그 역할을 하고, 자기화분의 화분관 신장의 저해과정에는 S RNase와 반응하는 화분측의 Factor가 존재한다는 의견이 지배적이다.

본 연구는 사과의 자가불화합성 현상에 결정적인 역할을 하는 S RNase를 화주조직에서 추출 및 정제하여 이 효소에 대한 저해제의 선발 및 효율적인 자가불화합성 저해 효과를 나타내는 화분 첨가제 선발에 목표를 두었다. 또한, 우리나라 사과 재배면적은 과수 중 재배 면적이 가장 많은데 경북지방의 사과재배 면적이 20,128 ha로 전국 재배면적의 63%를 점유하는 가장 큰 주산지를 형성하고 있다. 이 점을 고려하여 사과 재배가 많은 안동지역과 영주지역을 선정하여 선발된 저해제와 저해 효과를 나타내는 첨가제 처리에 의한 Field내의 사과 자가수정율을 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료

후지 사과(*Malus domestica cv 'Fuji'*) 꽃을 개화시기에 화주조직 1,000개 채취한 다음 액체질소에 넣어 동결 후 -70°C에 보관하였다. 보관된 화주조직은 단백질 추출과 정제에 사용되었다.

화분 채취는 개화 직전의 꽃봉우리를 채집하여 꽃잎을 제거한 후 petridish에 유산지를 깔고 약을 올려놓은 후 20~25°C에서 1~2일 두면 꽃밥이 터져 나오는데 이것을 e-tube에 담아 -70°C 보관하였다. 보관된 화분은 화분 발아 실험에 사용되었다.

후지 사과 화주조직의 특이적 S 단백질 분리 및 단백질 정량

후지 사과의 화주 조직을 채취하여 액체질소로 급속 냉동시켜 분말상태로 만든 후 protein extraction buffer [10 mM sodium phosphate, pH 6.0, 10 mM EDTA, 1 mM PMSF, 1%(W/V) polyvinyl pyrrolidone]를 넣어 더 미세하게 마쇄하였다. 마쇄시킨 시료를 4°C에서 14,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다.

단백질 농도는 Bradford 방법(Blank and McKeon, 1991)으로 정량하였고, standard curve를 결정하기 위하여 1 mg/ml의 BSA를 사용하여 UV spectrophotometer 상의 흡광도 595 nm에서 측정하였다.

In vitro 상에서 후지 사과의 화분관 신장 억제 효과 분석

화분관 신장에 대한 조사를 하기 위하여, 화분을 배양액 [20 mM Mes-KOH (pH 6.0), 0.07% Ca(NO₃)₂·4H₂O, 0.02% MgSO₄·7H₂O, 0.01% KNO₃, 0.01% H₃BO₃, sucrose]으로 구성된 배지를 사용하였다. 화분신장에 대한 RNase 억제 효과를 비교하기 위해 후지 사과의 수술에서 분리 및 정제된 RNase를 화분 배양액에 첨가한 후 28°C에서 암상태로 36시간 동안 배양하였다. 화분관의 신장은 광학현미경(×10) (Olympus, Japan)으로 관찰한 다음 사진을 촬영하였다.

후지 사과의 화주조직에서 분리한 S RNase 활성분석 및 저해제와의 상호작용 분석

S 단백질의 특이적 활성을 조사하기 위하여 표준 반응액으로 0.1 M sodium phosphate를 사용하였고, torula yeast RNA(sigma, USA)를 기질로 사용하여 활성 측정을 하였다. 각종 저해제들의 농도별 RNase 활성 변화를 측정하기 위하여 torula yeast RNA(sigma, USA) 기질과 0.1 M sodium phosphate를 37°C에서 10분간 Preincubate시킨 다음, 각종 저해제들을 농도별로 넣은 후 1.3 µg의 단백질을 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응을 정지시키기 위하여 0.75%(W/V) uranyl acetate와 25% perchloric acid를 첨가한 후, 원심분리하여 상층액을 UV spectrophotometer 상의 흡광도 260 nm에서 측정하였다.

후지 사과의 저해제 및 화분활력제 처리에 따른 착과율 조사

국내 사과 생산이 가장 많은 경북 지역 중 Field에서의

실험을 위해 경북 안동시 일직면과 경북 영주시 안정면의 후지 사과를 대상으로 개화기에 효소 저해제 및 화분 활력제 처리를 한 후 착과율을 조사하였다. 착과율 조사는 약제 처리 3주 후 조사하였으며, 중심화와 측화로 나누어 사과의 착과 개수를 조사하여 통계처리 하였다.

결 과

S RNase의 활성분석 및 저해제와의 상호작용 분석

저해제로 알려진 Iron(II) Sulfate, Boric Acid, Copper (II) Sulfate, Calcium Nitrate 등과 같은 이가 이온을 포함한 무기물을 이용하여 후지 사과에서 분리한 S RNase와 기질인 Torula yeast RNA를 사용하여 효소 활성을 조사하였다. 그 결과 S RNase의 활성이 Iron(II) Sulfate에서 24.3%(Fig. 1), Boric Acid에서 6.5%(Fig. 2), Copper(II) Sulfate에서 2.8%(Fig. 3), Calcium Nitrate에서 1%(Fig. 4) 각각 활성이 감소되는 것으로 나타났다. In vitro에서 S RNase의 효소 활성은 각종 저해제 중 Iron(II) Sulfate와 반응하였을 때 현저하게 활성이 24.3% 감소되어 저해효과가 뛰어난 것으로 나타났다.

In vitro 상에서 후지 사과의 화분관 신장 억제효과

Fig. 5는 In vitro 상에서 후지 사과의 Sucrose 농도에 따른 화분관 발아 실험을 나타낸 것이다. 화분은 10% Sucrose 화분관 신장배지에서 36시간 암배양 하였을 때, 2% Sucrose 화분관 신장배지 보다 약 90% 이상의 높은 화분 발아율을 나타내었다. 이러한 결과는 키위의 경우 sucrose 5~10%에서(Keiichi and Takahashi, 1989), 개암은 25%에서 화분 발아와 화분관의 신장이 양호하다는 결과(Kim et al., 1985)와는 다소 차이를 나타내었다. 화분 발아시

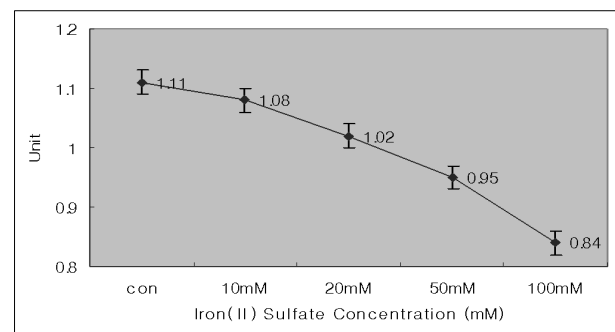


Fig. 1. Analysis of RNase activity with iron(II) sulfate.

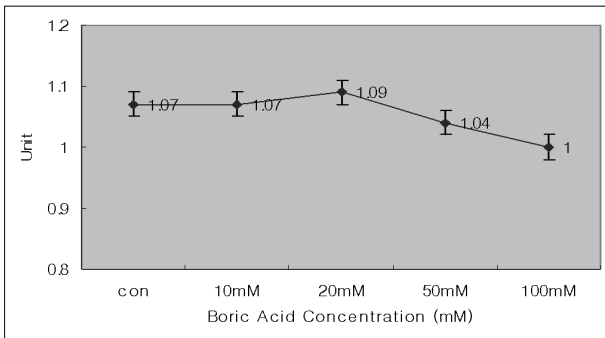


Fig. 2. Analysis of RNase activity with boric acid.

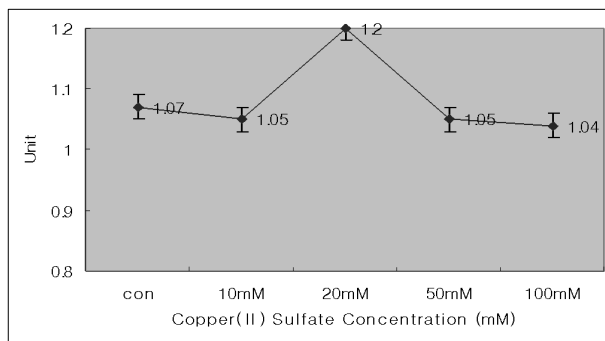


Fig. 3. Analysis of RNase activity with copper(II) sulfate.

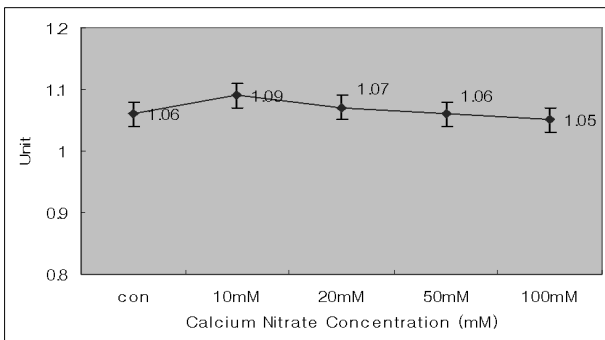


Fig. 4. Analysis of RNase activity with calcium nitrate.

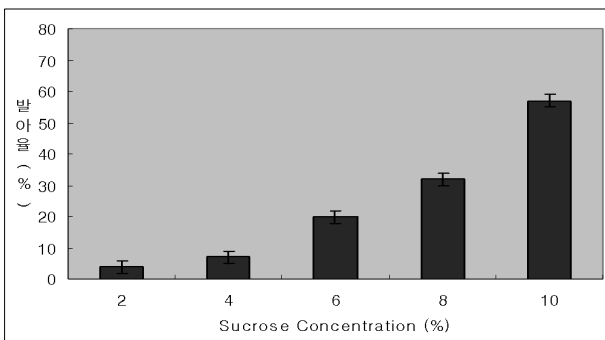


Fig. 5. Pollen elongation test by sucrose concentration.

Sucrose의 주된 역할은 화분세포와 용액과의 삼투압을 조절해주며, 화분관이 신장할 때 세포막의 구성성분의 재료로 이용되어 발아촉진에 기여한 것으로 해석된다(Visser, 1995). 화분 발아에 봉소의 역할은 화분립의 파열방지 및 당분의 흡수와 전이를 향상시켜 화분 발아와 화분관 신장을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Iwanami and Yamada, 1984). 그리고 칼슘 또한 화분의 대사 작용에 관여하여 발아를 촉진한다는 보고와 유사한 결과라 생각된다(Shivanna and Johri, 1985).

후지 사과의 저해제 및 화분 활력제 처리에 따른 착과율 분석

Table 1은 과수 작물 수정 향상 활력제의 종류와 처리횟수에 따른 착과율을 조사하기 위하여, 안동지역에서 후지를 대상으로 살포 실험을 실시하였다. 활력제의 종류로는 무처리구, A⁺(Apple Plus, ISTECH Co. Ltd.): 수정향상제 A⁺+V1(Vitamin B1), A⁺+V6(Vitamin B6), A⁺+V1+V6, A⁺+A,A(Amino acid standards, basics), A⁺+V1+V6+A,A로 구성하였으며, 처리횟수는 각각 1회 및 2회로 2반복으로 처리하였다. 1회 처리는 중심화 개화기, 2회 처리는 1회 처리수 2~3일 후에 처리하였다. 중심화 착과율의 경우 무처리구는 72.9%로 나타났으나 A⁺ 1회 및 2회 처리구에서 각각 78.4%, 59.3%, A⁺+V1 1회 및 2회 처리구 64.7% 및 84.4%, A⁺+V6 1회 및 2회 처리구에서 80.7% 및 86.1%, A⁺+V1+V6 1회 및 2회 처리구에서 78.0%, 81.0%, A⁺+A,A 1회 및 2회는 처리구에서 79.3% 및 70.8%, A⁺+V1+V6+A,A 1회 및 2회 처리구 각각 82.3% 및 85.5%로 나타났다. 1회 처리구 중에서는 A⁺+V1+V6+A,A 처리구에서 착과율이 82.3%로 가장 높게 나타났고, A⁺+V1 처리구에서 64.7%로 가장 낮은 착과율을 보였다. 또한 2회 처리구에 있어서는 A⁺+V6 처리구에서 86.1%의 가장 높은 착과율을 보여 수정향상 제제의 종류 및 처리횟수에 따라 착과율의 차이가 나타나는 것으로 조사되었다. A⁺+V6, A⁺+V1+V6, A⁺+V1+V6+A,A 처리구가 무처리구 보다 높게 나타났으며 특히 수정향상 활력제 1회 처리구중 A⁺+V1+V6+A,A의 중심화 결실율이 85.5%로 가장 높았으며 2회 처리구중에서는 A⁺+V6 활력제가 86.1%로 가장 높게 조사되었다. 측화의 결실율에서 수정향상 활력제의 효과는 대부분의 처리구에서 유의성이 인정되지 않았으며 결실율이 저조하게 나타났다. 이는 활력제의 약효 지속기간을 중

심화에 맞추어서 살포시기를 조절하였기 때문에 추측된다.

Table 2는 영주지방에서 과수 작물에 대한 수정향상 활력제의 종류 및 처리횟수에 따른 착과율을 나타낸 것으로 사과 품종중 후지 품종을 대상으로 실험을 실시하였다. 무처리구, A⁺, A⁺+V1, A⁺+V6, A⁺+V1, A⁺+A.A, A⁺+V1+

V6+A.A 활력제를 이용하여 처리횟수는 1회 및 2회로 실시하였다. 무처리구의 중심화 착과율은 47.2% 로 나타났으며 A⁺의 1회 및 2회 처리구에는 각각 81.3%, 50.0%, A⁺+V1활력제 1회 및 2회 처리구에서는 각각 91.9% 및 87.8% A⁺+V6 처리구 1회 및 2회 처리구에서는 각각 87.5%

Table 1. The ration of self-pollination applied with S-RNase inhibitors and pollen activator (Andong, Fuji)

활력제종류	처리횟수	처리수		착과율(%)	
		중심화	측화	중심화	측화
cont.		70	268	72.9	69.8
A ⁺	1	80	270	78.4	76.7
	2	57	285	59.3	74.2
A ⁺ +V1	1	42	198	64.7	76.1
	2	81	296	84.4 **	77.1
A ⁺ +V6	1	51	183	80.7	71.5
	2	62	198	86.1 **	68.8
A ⁺ +V1+V6	1	67	263	78.0	76.5
	2	68	236	81.0 **	70.2
A ⁺ +A.A	1	73	277	79.3	75.3
	2	68	283	70.8	73.7
A ⁺ +V1+V6+A.A	1	79	261	82.3	68.0
	2	71	240	85.5 **	72.3

cont; 대조구, A.A; Amino acid standards, basics, V1; vitamin B1, V6; vitamin B6, A⁺; Apple plus.

Table 2. The ration of self-pollination applied with S-RNase inhibitors and pollen activator (Yeongju, Fuji)

활력제종류	처리횟수	처리수		착과율(%)	
		중심화	측화	중심화	측화
cont.		34	209	47.2	72.6
A ⁺	1	78	240	81.3	62.5
	2	48	141	50.0	36.7
A ⁺ +V1	1	79	233	91.9 **	67.7
	2	65	150	87.8 **	50.7
A ⁺ +V6	1	84	244	87.5 *	63.5
	2	85	181	88.5 **	47.1
A ⁺ +V1+V6	1	81	237	84.4	61.7
	2	80	199	83.3 **	51.8
A ⁺ +A.A	1	83	224	86.5 *	58.3
	2	59	149	90.8 **	57.3
A ⁺ +V1+V6+A.A	1	77	204	80.2	53.1
	2	48	119	53.3	33.1

cont; 대조구, A.A; Amino acid standards, basics, V1; vitamin B1, V6; vitamin B6. A⁺; Apple plus.

및 88.5%, 수정축진향상 제재 A⁺+V1처리구 1회 및 2회에 서는 각각 84.4% 및 83.3%, A+A,A처리구 1회 및 2회 처 리구에서는 각각 86.5% 및 90.8%, A⁺+V1+V6+A,A활력 제 1회 및 2회 처리구에서는 각각 80.2% 및 53.3%로 나 타났으며 A⁺+V1 1회 처리구에서 91.9%의 착과율로 가장 높은 결과를 나타내었다. 반면 A⁺ 2회 처리구에서 착과율 50%로 가장 낮은 결과를 나타내었다. 1회 처리구에서는 80.2~91.9%의 착과율을 보였고, 2회 처리구에서는 50.0 ~90.8%의 착과율을 보여 2회 처리 보다는 1회 처리구에서 수정율이 안정적이며 효과적인 것으로 조사되었다. 측 화 착과율은 무처리구 보다 모두 낮은 착과율이 있었는데 이는 활력제의 약효를 중심화에 맞춘 것에 기인된 것으로 판단되어진다.

고 찰

자가불화합성의 기작을 이해하기 위해서 몇 가지 model 들이 제기되어 왔다. 그 예로 S locus의 유전적 구조가 3부 분으로 구성되어서 각기 다른 기능을 하는 tripartite model 을 가설로 제시하였다(Lewis, 1960; Liang and Pardee, 1992). Tripartite model의 3부분 중 특이적인 부분은 화 주와 화분조직에서 대립유전자 특이성에 의해 결정된다. 화주와 화분조직에서 활성이 있는 부분은 각각 특정 산물 을 포함한다. 이 model은 화분과 화주에서 자가불화합성 작용에 대한 변이체를 기초로 설명하였다. 자가불화합성에 대한 최근 연구의 결과, 화주에서 활성을 가지는 산물은 S RNase인 것으로 나타났으나, 화분조직에서의 활성 부분은 많은 연구가 진행되고 있는데도 불구하고 아직까지 보고되 고 있지 않다. 이와 반대로, 자가화합성의 식물체인 *P. hybrida*가 자가불화합성 식물체인 *P. inflata*와 교배시켰 을 때 몇몇의 교배된 식물체는 자가불화합성을 나타내었다 (Ai *et al.*, 1990). 이것은 modifier 유전자가 자가화합성 식물체의 화주에서 발현되었고, S RNase의 활성을 조절하 는 것으로 추측하였다. 또 다른 가능성으로는 자가화합성 의 기능을 가진 몇몇 교배된 식물체는 유전적 재조합에 의 해 자가불화합성의 유전자 군을 획득했을 가능성이 제시되 었다. 그러므로 modifier 유전자가 자가화합성 식물체에서 존재하는 S RNase와 상호작용을 하는지 그렇지 않은지에 대한 직접적인 증거는 아직까지 알려진 바가 없다. 또 하나 의 model은 화분의 구성 요소가 self 또는 non-self 화분

을 구별하기 위해 S RNase의 억제 또는 수용체로서의 작 용을 할 것이라고 Thompson과 Kirch에 의해 제안되었다 (Xu *et al.*, 1990). McClure *et al.*(1989)에 따르면 S RNase는 자가의 화분관이 화주내의 전이조직에서 신장을 할 때 그 화분관으로 침투하여 rRNA를 공격한다고 추측하 였다. 자가 화분관에서 자기 화분의 거부는 S RNase의 기 능적인 역할에 있어서 S RNase가 자가 화분관에 들어갈 수 있는 지 없는지에 대한 의문을 생기게 했다. 이런 의문 은 Gray가 기내에서 신장한 화분관에 의해 방사능 ³⁵S로 반응시킨 S 단백질이 화분관으로 흡수되는 과정을 증명하 였다. S RNase는 *in vitro* 상에서 그 특이성에 관계없이 어떠한 유전자형의 화분관으로도 침투가 가능한 것으로 나 타났다(Gray *et al.*, 1991). 그러나, S RNase 기능에서 대 립유전자적 특이성은 여전히 의문인 채로 남아 있다.

인공적으로 포자체자가불화합성의 타파방법은 아래와 같이 5가지가 알려져 있다. ① 미숙한 雷에 성숙한 화분을 수분시키는 사수분에 의해 타파된다. 이러한 원리는 雷 상 태의 주두에는 자가불화합성에 관여하는 S protein이 아직 발현되지 않았기 때문이다. ② CO₂ gas 처리(3~5%) ③ 전기적 제어처리 ④ NaCl 처리 ⑤ 단백질 합성을 제어하 는 항생제인 cyclohexamide 처리에 의해 불화합성이 타파 되는 것으로 알려져 있다(일시적인 단백질 합성의 정지). 이러한 처리는 유두세포의 metabolism이 정상인 상태에 서 가능하며, 완전하게 죽어버린 유두세포에서 화분은 발 아하지 않는다.

이와 반면에 배우자체형 자가불화합성의 타파방법에 대 해서는 현재까지 뇌수분 이외에 화학적인 타파 방법은 알 려진 바가 없다. 배우자체 자가불화합성을 유발하는 S RNase의 활성을 저해함으로 자가불화합성을 타파하는 화 학물질에 관해 보고하였다(Kim *et al.*, 2001).

적 요

본 연구는 사과의 자가불화합성 현상에 효과적인 저해제 와 활력제를 탐색하기 위해 여러 종류의 물질을 조사하였 다. 후지 사과의 화주조직에서 분비되는 S RNase에 대한 저해효과를 조사하기 위해 *In vitro* 상에서 효소 저해제를 넣어 효소활성을 측정 한 결과, Iron(II) Sulfate에서 현저 하게 활성이 24.3% 감소되어 저해효과가 뛰어난 것으로 나타났다. *In vitro* 상에서 후지 사과의 화분관 신장 억제

효과를 분석한 결과, 후지 사과의 화분은 2% Sucrose 신장 배지 보다 10% Sucrose 신장배지에서 약 90% 이상의 높은 발아율을 나타냈다. 또한 저해제와 첨가제 처리에 의한 안동지역과 영주지역의 Field에서 후지 사과 착과율 조사 결과, 안동지역에서는 A⁺+V6 2회 처리가 86.1%로 중심화 착과율이 가장 높았으며, 영주지역에서는 A⁺+V1 1회 처리가 91.9%로 중심화 착과율이 가장 높은 것으로 나타났다.

사 사

본 연구는 2010년 대구가톨릭대학교 학술연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Ai, Y., E. Kron and T.H. Kao. 1990. S-alleles are retained and expressed in a self-compatible cultivar of *Petunia hybrida*. *Mol. Gen. Genet.* 230:353-358.
- Anderson M.A., E.C. Cornish, S.L. Mau, E.G. Williams, R. Hogart, A. Atkinson, I. Bonig, B. Gergo, R. Simpson, P.J. Rocht, J.D. Haley, J.D. Penschow, H.D. Niall, G.W. Tregear, J.P. Coghlan and A.E. Clarke. 1986. Cloning of cDNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *Nature* 321:38-44.
- Anderson, M.A., G.I. McFadden, R. Bernatzky, A. Atkinson, T. Orpin, H. Dedman, G. Tregear, R. Fernley and A. E. Clarke. 1989. Sequence variability of three alleles of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca*. *Plant Cell* 17:483-491.
- Ariel, G., K. Kondo, C.B. Lee, C.N. Hancock, M. Sivaguru, S. Vazquez-Santana, S. Kim, T.E. Phillips, F. Cruz-Garcia and B. McClure. 2006. Compartmentalization of S-RNase and HT-B degradation in self-incompatible *Nicotiana*. *Nature* 439:805-810.
- Blank, A. and T.A. McKeon. 1991. Three RNase in senescent and non-senescent wheat leaves: characterization by activity staining in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels. *Plant Physiol.* 97:1402-1408.
- Boris I. and J.R. Kohn. 2001. Evolutionary relationships among self-incompatibility RNases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 13167-13171.
- Broothaerts, W.J., P. Vanvinckenroye, B. Decock, J. Van Damme and J.C. Vendrig. 1991. *Petunia hybrida* S-proteins: Ribonuclease activity and the role of their glycan side chains in self-incompatibility. *Sex Plant Reprod.* 4:258-266.
- Chung, I.K. 1997. Characterization of S glycoprotein Associated with Gametophytic self-incompatibility of *Lycopersicon peruvianum*. *J. Korean Soc. Hort. Sci.* 38(3):205-210 (in Korean).
- Chung, I.K. and D.I. Shin. 1997. Structure and evolution features of S-RNases of gametophytic self-incompatibility in *solanaceous*. *Plant Korean J. Hort. Ind. Sci.* 1:12-18 (in Korean).
- Chung, I.K., T. Ito, H. Tanaka, A. Ohta, H.G. Nam and M. Takagi. 1994. Molecular diversity of three-allele cDNAs associated with gametophytic self-incompatibility in *Lycopersicon peruvianum*. *Plant Mol. Biol.* 26:757-762.
- Chung, I.K., S.Y. Lee, T. Ito, H. Tanaka, H.G. Nam and M. Takagi. 1995. The 5' Flanking sequences of two S alleles in *Lycopersicon peruvianum* are highly heterologous but contain short block of homologous sequences. *Plant Cell Physiol.* 36:1621-1627.
- Cornish, E.C., J.M. Petit, I. Bonig and A.E. Clarke. 1987. Developmentally controlled expression of a gene associated with self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *Nature* 326: 99-102.
- Gray, J.E., B.A. McClure, I. Bnig, M.A. Anderson and A.E. Clarke. 1991. Action of the style product of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca* (S-RNase) *in vitro* grown pollen tubes. *Plant Cell* 3:271-283.
- Kao T.H. and A.G. McCubbin. 1996. How flowering plant discriminate between self and non-self pollen to prevent inbreeding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:12059-12065.
- Kao, T.H. and S. Huang. 1994. Gametophytic self-incompatibility: A mechanism for self/nonself discrimination during sexual reproduction. *Plant Physiol.* 105:461-466.
- Kawata, Y., F. Sakiyama and H. Tamaoki. 1988. Amino-acid sequence of ribonuclease T2 from *Aspergillus oryzae*. *Eur. J. Biochem.* 176:683-697.
- Keiichi, W. and B. Takahashi. 1989. Factors influencing pollen longevity, germination and tube growth in vitro Kiwifruit, *Actinidia chinensis* cv. *Matua*. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 57:591-596.
- Kim, M.H., D.I. Shin, H.S. Park and I.K. Chung. 2001. In vitro function of S RNases in *Lycopersicon peruvianum*. *Mol. Cells.* 12:329-335 (in Korean).
- Kim, S.K., H.B. Lagerstedt and L.S. Daley. 1985. Germination responses of filbert pollen to pH, temperature, glucose,

- fructose, and sucrose. Hort Sci. 20:944-946.
- Lee, H.S, H. Shihshieh and Kao T.H. 1994. S proteins control rejection of incompatible pollen in *Petunia inflata*. Nature 367:560-563.
- Lewis, D. 1960. Genetic control of specificity and activity of the S-antigene in plants. Proc. R. Lond. Ser. B. 151:468-477.
- Liang, P. and A.B. Pardee. 1992. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. Science 257:967-971.
- McClure, B.A., J.E. Gray, M.A. Anderson and A.E. Clarke. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana alata* involves degradation of pollen rRNA. Nature 347:757-760.
- McClure, B.A., V. Haring, P.R. Ebert, M.A. Anderson, R.J. Simpson, F. Sakiyama and A.E. Clarke. 1989. Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana alata* are ribonucleases. Nature 342:955-957.
- Nathanael R.H., H. Yamane, R. Tao and F. Iezzoni. 2002. Self-compatibility and incompatibility in tetraploid sour cherry(*Prunus cerasus* L.). Sex Plant Report 15:39-46.
- Newbiggin, E.D., M.A. Anderson and A.E. Clarke. 1993. Gametophytic self-incompatibility system. Plant Cell 5: 1315-1324.
- Shivanna, K.R. and B.M. Johri. Viability and storage. 1985. The *Angiosperm* pollen. Wiley Eastern Ltd. pp. 84-162.
- Sims, T.L. 1993. Genetic regulation of self-incompatibility. Crit. Rev. Plant Sci. 12:129-167.
- Singh, A., Y. Ai and T.H. Kao. 1991. Characterization of ribonuclease activity of three S-allele associated proteins of *Petunia inflata*. Plant Physiol. 96:61-68.
- Visser, T. 1995. Germination and storage of pollen. Meded. Landbouwhoges. Wageningen 55:1-68.
- Xu, B., J. Mu, D.L. Nevins, P. Grun and T.H. Kao. 1990. Cloning and sequencing of cDNAs encoding two self-incompatibility associated proteins in *Solanum chacoense*. Mol. Gen. Genet. 224:341-346.

(접수일 2010.10.26; 수정일 2011.3.4; 채택일 2012.4.23)