

석사학위논문

Ethychlozate 엽면살포에 의한 온주 밀감
과실의 부위별 당 농도와 관련 효소 활성



제주대학교 대학원

원예학과

채 치 원

2002년 12월

Ethychlozate 엽면살포에 의한 온주 밀감 과실의 부위별 당 농도와 관련 효소 활성

지도교수 문 두 길

채 치 원

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함.

2002년 12월



채치원의 농학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 _____

위 원 _____

위 원 _____

제주대학교 대학원

2002년 12월

Sugar Concentration and Activity of Related
Enzymes in Different Parts of Satsuma
Mandarin Fruit Affected by Foliar
Spray of Ethychlozate

Chi-Won Chae

(Supervised by Professor Doo-Khil Moon)

 제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY
A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for
the degree of Master of Agriculture

2002. 12

Department of Horticulture
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

목차	i
Summary	ii
List of Tables	iii
I. 서 론	1
II. 연구사	3
1. 감귤 과실의 발육 및 당 농도와 조성	3
2. 당 관련 효소 활성	5
3. 과실의 당 농도와 식물 성장조정제	6
III. 재료 및 방법	8
1. 시험재료 처리 및 포장 배치	8
2. 시료 채취와 보관	8
3. 당도 및 당 농도 분석	8
4. 효소 추출	9
5. 효소활성 분석	9
IV. 결과 및 고찰	11
V. 적 요	25
VI. 인용문헌	26

Summary

This study was conducted to identify key factor of sugar accumulation through analyzing the change in sugar concentration and activity of related enzymes including sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase (SS) in juice at fruit maturing stage of 15-year-old satsuma mandarin trees (*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa Wase) grafted on *Poncirus trifoliata* as affected by foliar spray of ethychlozate (ethyl 5-chloro-1H-3-indazolyl-acetate), direction of fruit apex (upward and downward), and portion of fruit (blossom half and stem half).

Foliar spray of ethychlozate increased total soluble solids (TSS) and sugar concentration of juice, still with similar tendency at all developmental stages.

Direction of fruit apex did not affect TSS and total sugars in juice, but affected sugar composition. Upward fruit apex resulted in higher fructose and glucose concentration, and lower sucrose concentration. Blossom half of fruit showed significantly higher TSS and sugar concentration during all developmental stages.

Ethychlozate increased SS and SPS activity until mid maturing stage with higher extent in SS than SPS, but increased in SS and SPS activity by ethychlozate was not recognized at late maturing stage. Downward fruit apex resulted in higher SS activity. Blossom half of fruit showed higher SS activity.

The significant positive correlations between SS activity and juice characters including TSS, sugar concentration, and sucrose concentration were recognized. Consequently, these results suggest that SS is a predominant factor controlling sink strength in the pulp of satsuma mandarin fruits.

List of Tables

- Table 1. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the total soluble solids (TSS) of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.
- Table 2. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the fructose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.
- Table 3. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the glucose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.
- Table 4. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the sucrose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.
- Table 5. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the total sugar concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma Mandarin.
- Table 6. Effect of the foliar spray of ethychlozate, direction of fruit apex and portion of fruit on the sugar composition (%) of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma Mandarin.
- Table 7. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the SS activity of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.
- Table 8. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the SPS activity of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Table 9. Correlation between the SS and SPS activity and the total soluble solids (TSS), total soluble sugars, glucose, fructose, and sucrose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.



I. 서 론

우리 나라 감귤생산량은 과수 전체 생산량의 25%인 50~70만톤 수준으로 생산량 면에서 제1의 과수가 되고 있다(Agricultural and forestry statistical yearbook, 1991~2001). 제주도 감귤은 출하량의 90% 이상이 국내 생과용으로 소비되고 있지만, 과실의 당도가 낮고 산도가 높아서 고품질에 대한 소비자의 욕구를 충족시키지 못하는 실정이다(고 등, 1999). 더욱이 국내 타과종은 물론 수입 과실과도 경쟁해야 하는 처지에서 품질저하에 따른 낮은 과실가격과 농가소득의 감소는 감귤산업의 기반마저 위협하고 있다.

이러한 상황에 맞춰 제주도의 여러 연구기관과 농가에서는 결실조절(고 등, 1998; Kang 등, 2002), 시비관리(Kim과 Kim, 1999), 높은 이랑재배(Kim 등, 2000), 수분스트레스의 유발(현 등, 1990, 1994) 등 재배법 개선을 통하여 과실의 당도를 높이려는 다양한 노력들을 기울이고 있다. 그러나 감귤 과실의 당 축적과 관련된 효소활성, 핵심 조절단계 구멍 등 기초 생리·생화학적 당 축적 기작에 대한 국내 연구는 미미하다. 이와 달리, 미국, 일본 등 선진국에서는 당대사 관련 효소활성 분석과 당대사 기작 구멍(Tomlinson 등, 1991; Song 등, 1998; Hockema와 Echeverria, 2001), 관련효소를 암호화하는 유전자 탐색 및 발현조절(Komatsu 등, 1999) 등 기초연구가 활발하게 추진되고 있는 실정이다.

한편, ethychlozate는 일본에서 1981년 이후 온주밀감 적과제 및 숙기촉진제로 등록되어 실용화되고 있다. 그런데, 국내에서는 적과보다는 착색촉진과 당도증진을 목적으로 사용되고 있는 실정이다(Go 등, 1984; 문 등, 1997; Kim 등, 1998). 과실의 당도증진은 과실의 수용부위 활력의 증가와 관계된다. 그러므로 ethychlozate의 처리와 당대사 관련효소 활성과의 관계를 구명하게 된다면 감귤 과실에 있어서 수용부위 활력에 관계되는 각 조절단계의 상대적인 평가가 가능할 것이다. 이는 과실의 당 축적 기작을 밝히는데 중요한 기초자료를 제공함은 물론 당도증진을 위한 다양한 재배적 기술에 대한 이론적 바탕의 정립에도 크게 기여하게 될 것이다.

따라서 본 연구에서는 온주밀감에 적과제이면서 과즙의 당도를 증가시키는 것으로 알려져 있는 ethychlozate (ethyl 5-chloro-1H-3-indazolyl-acetate)의 엽면살포

여부, 과실의 과정부의 방향(상향 및 하향), 과실의 적도를 경계로 한 부위(과정부 및 과경부) 등 각 2수준 3요인을 세세구배치법으로 조합 처리하여 과실 성숙기에 과즙의 당 농도 변화와 당대사 관련효소인 sucrose synthase (SS, EC 2.4.1.13)와 sucrose phosphate synthase (SPS, EC 2.4.1.14)의 활성변화를 분석하였다.



II. 연구사

1. 감귤 과실의 발육 및 당 농도와 조성

감귤류의 과실은 여러 가지 심피를 구성하고 있는 단일 씨방이 발달하여 액상의 가식부를 형성하는 감과(柑果; hesperidium)에 속하는 과실로서 크게 과피와 과육으로 나눈다(Bain 등, 1958). 과피는 외과피인 플라베도(flavedo)층과 중과피인 알베도(albedo)층으로 구성된다. 과육은 내과피의 한 부분인 양낭(보통 6~20실)과 사양으로 이루어져 있으며, 특히 사양은 실질적인 식용가능 부위로 양낭 표면에 방추형의 돌기형태로 종자의 반대편에 과실의 과정부 방향으로 발달한다. 그 크기는 종에 따라 다양한데, 밀감의 경우도 사양 길이의 절반 이상을 차지하는 자루(stalk)까지 포함한다면 30mm를 넘는 경우도 있다. 각각의 사양은 왁스층으로 덮여 있으며 자루를 통하여 과경의 유관속과 연결된 양낭이 다양하게 분화된 유관속들과 연결되어 있다. 사양체와 자루는 사양의 크기가 0.7mm 정도일 때 분화가 일어나는데, 자루의 크기는 사양 크기의 절반 이상을 차지한다. 자루에는 어떠한 유관속 또는 가도관(tracheid)의 발달도 없으며 유조직 세포의 얇은 세포벽에 풍부하게 발달한 원형질 연락사를 통하여 서로 연결된다. 사양의 크기가 최대가 되었을 때 apoplast와 simplast를 통해 가용성 고형물의 축적이 급속히 진행된다(Schneider, 1968; Fahn 등, 1974; Albrigo와 Carter, 1977; Koch 등, 1984, 1986, 1990; Nii와 Coombe, 1988).

감귤의 과실 생육기간은 보통 6~12개월 정도인데(Baldwin, 1993), 과실 발육단계를 오렌지에서 3단계(Bain, 1958)로, 온주밀감에서 4단계(Matsumoto, 1980; 백, 1994)로 구분하고 있다. 오렌지의 경우, 만개 후 5~10주까지 기본적인 과실 구조가 형성되는 발육 I 단계의 세포 분열기, 사양의 발달 및 과실생장과 동화물질의 전류와 축적이 증가하는 II단계의 세포 비대기, 그리고 과실의 당과 질소 화합물은 증가하지만 산이 감소하는 III단계의 과실 성숙 및 완숙 단계로 구분한다. 온주밀감의 경우, 발육 I 단계의 세포 분열기, II단계의 세포질 증가기, III단계의 액포 발달기, 그리고 IV단계의 성숙기로 구분한다. 세포 분열기의 기간은 만개 후 20~30일인 5월 중순~6월 중순(제 2차 생리적 낙과시작)까지인데, 개화 19일 후부터 사양돌기의 발달은 시작되고, 이때 원형질연락사의 발달이 병행된다(Nii와 Coombe, 1990). 세포

질 증가기는 과육의 비대생장이 일어나는 6월 중하순~8월 하순까지의 기간이다. 액포 발달기는 세포질의 증가와 액포의 발달이 이루어지는 시기로서 만개 후 90~140일인 8월 하순 이후 11월 중순 이전까지이다. 성숙기는 만개 후 140일~180일인 11월 중하순까지이다. 또한 이러한 과실 발육 단계는 품종, 수체의 영양상태, 다양한 환경조건 등에 따라 달라질 수 있다.

감귤 과실의 발육과 더불어 당은 점진적으로 증가하고 산은 액포발달기까지 급증하였다가 이후 점차 감소한다. 과실의 당은 가용성 고형물의 75~80%를 차지하는데, 품종, 대목, 재배환경 및 재배방식 등에 따라 달라진다(Davies와 Albrigo, 1994). 가용성 고형물은 과즙의 10~20%를 차지하는데, 탄수화물, 유기산, 아미노산, 비타민 C, 무기양분, 미량의 플라보노이드, 카로티노이드, 휘발성물질 및 지방 등 400개 이상의 성분으로 이루어져 있다(Albrigo와 Carter, 1977).

감귤 과즙의 당조성은 자당, 포도당, 과당으로 이루어지는데, 그 비율은 대체로 2:1:1이다. 성숙 이전까지는 거의 같은 비율로 축적되다가, 성숙기가 시작되면서 자당의 축적이 급격히 증가하게 된다(Han 등, 1970; Ting과 Attaway, 1971; Takebayashi 등, 1993; Mataa 등, 1996; Song, 1997; Song과 Ko, 1997; Mukai 등, 2000). 이러한 당의 축적과 조성은 온도, 광 및 토양수분에 따라 크게 영향을 받게 된다. 나무에 과실이 달린 위치, 특히 빛에 노출되어 있는 과실의 당이 높다(Sites와 Reitz, 1949; Synvertsen과 Albrigo, 1980; Daito 등, 1981; Izumi와 Yoshida, 1990; Mukai 등, 2000; Kim, 2002). 토양수분이 낮을수록 과실의 당도와 총당이 증가하는데, 이는 비환원당인 자당보다 환원당의 급격한 증가에 기인한다(Mukai 등, 1996; Yakushiji 등, 1996; Hockema와 Echeverria, 2001; Moon, 2001). 과실의 부위에 따라서도 당 조성과 농도가 달라지는데, 가용성 당은 과경부로부터 과정부 부위순으로 증가하며(Hass와 Klotz, 1935; Song 등, 1998), 중심부보다 과경부와 과정부에서 환원당은 낮고 비환원당은 높다고 하였다(Ting, 1969). Moon(2001)에 의하면 온주밀감에서 만개 후 158일된 가지에 $^{13}\text{CO}_2$ 를 처리할 경우, 처리 24시간 후의 ^{13}C 의 분포가 과경부보다 과정부에서 더 높은 것으로 나타났다. Grapefruit의 경우 잎의 광합성 동화산물(^{14}C)은 주로 사양조직으로 전류되었지만 과실(과피)의 광합성 동화산물은 대부분 과피에 잔류하여 과피발달에 중요한 역할을 한다(Baldwin, 1993).

2. 당 관련 효소 활성

자당의 합성은 SPS와 SS에 의해 이루어진다. SPS는 F6P 와 UDPG를 이용하여 sucrose-6-P를 합성하며, SPP (sucrose phosphate phosphatase)에 의해 최종적으로 유리 자당이 합성된다. SPS는 G6P에 의한 탈인산화로 활성화되고, 유리 인산에 의해 불활성화되는 입성체성 조절효소이며, 동일 식물체에서도 활성형 및 비활성형의 두 가지 형태로 존재하고, 광 및 온도 등의 환경요인에 따라 활성의 차이를 보인다(Doehlert와 Huber, 1983; Komatsu 등, 1999; Dennis와 Blakeley, 2000).

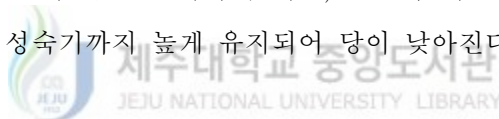
SS는 UDPG 와 fructose를 이용하여 자당과 UDP를 합성하기도 하고, 반대로 자당을 포도당과 과당으로 분해하기도 하는데(Winter 등, 1997; Hockema와 Echeverria, 2001), 많은 식물에서 자당의 합성은 물론 체관부에서의 loading 및 unloading, 수용부위에서의 활력 등 분배에 관여한다(Moriguchi 등, 1991; Balibrea 등, 1996). Winter와 Huber(2000)에 의하면 SS는 세포질에 분포하는 가용형, 원형질막 결합형, 액틴 필라멘트 결합형의 3개 형태가 존재한다고 하였다.

감귤류의 과실에서는 오렌지(Song과 Ko, 1997), grapefruit(Lowell 등, 1989), acid lime(Echeverria, 1992) 등과 앞에서는 오렌지(Schabber 등, 1987; Song과 Ko, 1997)에서 발육단계별 당대사 관련 효소활성의 변화에 대한 연구가 이루어져 왔다. Grapefruit 과실의 발육단계에서 AI (acid invertase)는 발육 I 단계인 어린 과실에서만 활성을 나타냈으나 alkaline invertase와 SPS는 자당 저장조직인 사양에서 가장 활성이 높게 나타났으며, SS는 발육II와 III 단계 동안 유관속과 양낭막의 전류조직에서 높은 활성을 가진다(Lowell 등, 1989). 오렌지 과실에서는 SPS보다 SS 활성이 높고 시기별로는 성숙이 진행될수록 SS 활성은 감소하는데 SPS는 거의 일정한 수준을 유지하는 것으로 나타났다(Song과 Ko, 1997).

과실내 당의 축적은 잎, 체관부 및 과실간 순차적인 자당 농도의 구배적인 차이에 의하여 사양 안으로 당이 전류되는데, 이때 세포벽에 결합되어 있는 SS와 AI가 unloading을 촉진하게 되고, 세포질에 존재하는 SPS와 SS에 의해 자당은 재합성되며 최종적으로 액포내 pH와 액포막의 ATPase의 작용으로 액포 속으로 저장된다(Winter 등, 1997; Koch와 Avigne, 1990; Tommlinson 등, 1991; Song 등, 1998; Kubo 등, 2001; Hockema와 Echeverria, 2001). 당의 대사에 관여하는 이들 효소의

역할은 sweet orange의 embryogenic nucellar calli 배양시 배지의 탄수화물 공급원을 자당대신 glycerol을 사용하는 경우 조직내 가용성 당, 전분의 축적, SPS 및 SS 활성이 증가한 연구를 통하여 분명하게 밝혀졌다(Vu 등, 1995). 또한 온주 밀감에서 SPS는 3종류의 동위효소 형태가 존재하는데 이들의 활성은 조직에 따라 차이를 보인다고 하였다(Komatsu 등, 1999).

온도, 토양수분, 결실 등의 재배환경은 감귤류 과실의 당 축적과 관련 효소들의 활성에도 영향을 미친다. Richardson 등(1997)은 비닐 하우스에서 재배하는 온주밀감 과실이 발육초기 단계에 노지에 비해 비대와 당 농도가 증가하였는데, 이 시기의 유관속 조직내 SS 활성의 증가와 관계된다고 하였다. 수분스트레스 부여에 의한 과실의 당 증가와 당 조성의 변화는 SS의 활성변화에 기인한다고 알려졌다(Hockema와 Echeverria, 2001). Kubo 등(2001)에 의하면 온주밀감에서 결실량을 달리할 경우 과실의 당 농도와 관련 효소활성이 달라지는데, 결실이 많은 나무의 과실에서 SS의 활성이 높아 당은 증가하게 되고, 결실이 적은 나무의 과실에서는 비가용성 AI의 활성이 성숙기까지 높게 유지되어 당이 낮아진다고 하였다.



3. 과실의 당 농도와 식물 성장조정제

감귤에서 식물 성장조정제의 사용은 Gardner (1941)가 오렌지에서 100ppm의 NAD (Naphthaleneacetamide)를 살포하여 낙과를 방지한 연구결과를 보고한 이래 1950년대부터 과실의 결실 및 품질 관리에 널리 연구되기 시작하였다. 대부분 합성 옥신류, 지베렐린과 에틸렌 또는 유도물질이 사용되었다(Spiegel-Roy와 Goldschmidt, 1996). 이들 성장조정제들은 감귤에서 낙과방지, 과실비대와 착과 촉진, 과실 성숙지연 등 다양한 효과가 있는 것으로 보고되었다(Hield등, 1962; Coggins와 Hield, 1968).

Guardiola와 Lázaro (1987)는 온주밀감에서 합성 옥신인 2,4-D와 2,4,5-T를 살포하면 과실의 비대 효과, 과실생육 촉진, 적과 억제 효과와 부피과 발생억제 효과가 있다고 하였다. 또한 Guardiola 등(1993)도 온주 밀감에 2,4,5-T를 처리하면 사양이 신장하여 과실의 크기가 증대되고 또한 과경의 유관속 발달을 증대시킨다고 하였다.

초기의 과실비대와 결실관리에 대한 연구와는 달리 1980년을 전후하여 과실의 품질에 대한 연구가 시작되었다. GA(Mataa 등, 1997)와 ABA(Kojima 등, 1995),

ethephon 및 methionine의 처리(Oh 등, 1979)에 대한 일부 연구도 있었으나 대부분의 연구가 일본에서 실용적으로 사용되고 있는 ethychlozate와 관련하여 이루어졌다. β -Indole acetic acid와 구조가 유사하여 옥신 활성을 가지는 ethychlozate는 1981년 이후 일본에서 온주밀감 적과제 및 숙기촉진제로 등록되어 실용화되었다(Hirose, 1981). Kawase 등(1985)에 의하면 온주밀감에서 적과를 위하여 100ppm의 ethychlozate를 만개 60일과 70일 후 2회 엽면 살포할 경우에 과실의 당도는 증가하고 수용성 pectin 농도가 감소하여 과실의 부피과 발생을 증가시키지는 않는다고 하였다. Iwagaki(1997)도 ethychlozate를 67-100ppm을 만개 50-60일과 70-80일 후 2회 엽면살포하면 과실의 당도가 0.5-1.0 정도 증가함은 물론 과피 착색이 5-10일 정도 빨라지게 된다고 하였다.

과실품질에 대한 ethychlozate의 효과는 살포시기와 횟수는 물론 여름철의 온도, 가을철의 일조 및 토양수분 등의 환경요인과 나무의 수령, 결실량, 수세, 영양상태 등 수체요인에 따라서도 달라질 수 있다(Moon 등, 1993). Go 등(1984)은 온주밀감에 ethychlozate를 만개 60일(100ppm)과 70일(67ppm) 후에 2회 엽면 살포할 경우 만개 70일(100ppm) 후 1회 살포시보다 당 농도가 증가하였다고 하였다. 또한 Kim(1998)은 궁천조생에 만개 100일, 115일, 145일 후에 ethychlozate $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 각각 살포한 결과 과육의 포도당은 살포횟수간 차이를 나타내지 않았으나 과당과 자당이 살포횟수가 많을수록 증가하여 총당이 증가하였다고 하였다.

Ethychlozate의 과실 착색 및 품질에 미치는 영향에 관해서는 명백히 밝혀져 있지 못하다. Kamuro와 Hirai(1981)는 엽면 살포된 ethychlozate가 뿌리에 전류 되어 수분과 미네랄의 흡수를 조장하여 과실의 품질을 향상시킨다고 보고하였다. 그런데 이와 달리 Manago와 Hirobe(1984)는 ethychlozate 살포 후에 1~3주간 뿌리의 수분 흡수와 N, P, K, Ca의 흡수가 억제되어 나무에 수분스트레스를 가함으로서 건조효과를 유발하여 당이 농축되고 산이 높아진다고 하였다.

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 시험재료 처리 및 포장 배치

공시재료는 서귀포시 토평동에 위치한 제주대학교 아열대 농업연구소의 포장에 재식된 탕자대목 접목묘 15년생 궁천조생(*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa Wase)을 이용하였다.

Ethychlozate (ethyl 5-chloro-1H-3-indazolyl-acetate) 엽면살포 여부 2수준을 주구, 상향과 하향으로 구분한 과정부 방향 2수준을 세구, 과정부와 과경부로 구분한 과실부위 2수준을 세세구로 배치한 세세구 배치법 4반복 시험을 실시하였다. 나무를 주구로 하고 재식 위치와 수세가 비슷한 나무 2그루를 한 집구로 하였으며 나무당 과실 100개를 임의로 선정하여, 그 중 50과는 상향, 50과는 하향으로 하였다. 2001년 7월 9일과 22일에 각각 ethychlozate $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 을 엽면 살포하였는데 약액에 잎이 흠뻑 젖을 정도로 충분히 살포하였다. 과실의 방향 조절은 7월 9일에 분재용 철사(연철)와 끈을 이용하여 강제로 과정부가 위로(상향) 또는 아래로(하향) 향하도록 과경부를 고정시켰다. 바람의 피해가 발생되지 않도록 방풍망을 시험수 주위에 설치하였다.

2. 시료 채취와 보관

당도, 당 농도, 그리고 효소 분석을 위한 과실시료는 수관 중앙의 동·서·남·북에 위치한 과실을 2001년 9월 28일, 11월 9일, 12월 7일 오전에 3회 채취하였다. 운반 시 과실내부의 변화를 최소화하기 위하여 냉장 박스를 사용하였으며 운반 즉시 과실을 세척하고 kimwipes을 이용하여 바로 물기를 제거한 후 사양조직을 절취하였다. 과피와 양낭피를 제거하였고 과실의 적도를 중심으로 과경부 부위와 과정부 부위로 나눈 후 사양조직만을 액체 질소를 사용하여 즉시 냉동시켜 초저온 냉동고(-70°C)에 분석 전까지 보관하였다.

3. 당도 및 당농도 분석

당도 측정은 초저온 냉동고에 보관중인 사양조직을 냉장고(4°C)에 옮겨 서서히

녹인 후 2층의 가아제로 싸서 착즙하여 당도 측정기(NH-2000, Horiba)를 이용하여 시기별로 측정하였다. 유리당 측정 분석을 위하여 착즙액 5ml를 취하여 3,000rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상정액을 취하여 0.45 μ m micro membrane filter (Osmonics inc.)로 여과한 후 200배로 희석하여 실험에 사용하였다.

유리당 분석은 HPLC Waters 2690 XE (Waters co. USA)와 검출기는 Alltech ELSD 2000 (Alltec co.)을 이용하여 수행하였다. 이동상은 acetonitril과 3차 증류수를 75 : 25의 비율로 혼합하여 유기용매용 0.25 μ m 여과지로 여과한 후 이용하였다. 당분석 컬럼으로는 carbohydrate column (3.9 \times 300mm water co.)을 사용하였다. 분석조건은 유속 1.0mL \cdot min⁻¹, 시료주입 10ul, 분리시간 20분으로 하였다. 표준곡선은 자당, 포도당, 과당의 표준 용액 각각 50, 100, 250, 500, 1000ppm을 이용하여 계산하였다(Lee와 Nagy, 1988).

4. 효소 추출

효소추출은 Kubo(2001)의 방법을 일부 변형하여 수행하였다. 사양조직 4g을 10ml 추출 용액[0.5M Hepes buffer (pH 7.5), 1mM EGTA, 5mM MgCl₂, 150mM NaCl, 5mM DTT, 0.1% BSA, 1mM CaCl₂]과 혼합하여 유발 및 유봉으로 완전 마쇄하고 glass wool를 이용하여 여과 한 후 20,000xg (4 $^{\circ}$ C)에서 10분간 원심분리하였다. desalting buffer [10mM Hepes (pH 7.0), 2mM DTT, 1M MgCl₂]를 이용하여 전처리된 Sephadex PD-10 column (Pharmacia Biotech co.)에 상정액 2.5ml를 loading한 후 3.5ml을 회수하였고, 이를 조효소액으로 사용하였다.

5. 효소활성 분석

효소활성분석은 Song과 Echeverria(1998)의 일부 방법을 변형하여 SS 및 SPS 활성에 대하여 수행하였다.

SS 활성 분석을 위하여 조효소액이 첨가된 [1M Hepes (pH 7.2), 0.1M MgCl₂, 240mM UDPG, 240mM Fructose, dH₂O]을 30 $^{\circ}$ C 항온수조를 이용하여 일정시간(0분, 20분, 40분, 60분) 반응시킨 후 2분간 가열하여 반응을 종결시켰다. 곧바로 얼음을 이용하여 식힌 후 50ul 반응액을 취하고 30% KOH 100ul를 가하여 잘 혼합한

후 10분간 가열하고 합성된 자당 농도를 분석하였다.

자당 농도 분석은 anthrone 방법(Van Handel, 1968)을 이용하였다. 미리 3시간 전에 조제하여 안정화시킨 anthrone solution 3ml를 냉각된 반응액과 10분간 발색 시키고 620nm에서 비색계로 흡광도를 측정하여 표준 용액으로 비교 정량하였다. SPS 효소 활성분석은 SS활성 기질 중 fructose 대신에 F6P와 G6P를 첨가하여 동일한 방법으로 측정하였다.



IV. 결과 및 고찰

Ethychlozate를 엽면 살포한 후 시기별로 감귤의 당도를 조사한 결과를 표 1에 나타냈다. 처리구가 대조구에 비해 당도가 높게 나타나는 경향을 보였으며, 특히 9월과 12월에는 처리구가 대조구에 비해 당도가 유의하게 높았다. 그러나 과실의 과정부 방향을 상향과 하향으로 처리한 결과에서는 처리간에 차이가 없었다. 과실의 적도를 기준으로 과정부와 과경부간 비교에서는 과정부 부위의 당도가 유의하게 높았다.

Iwagaki(1997)와 Kawase 등(1985)은 온주 밀감에 ethychlozate 67~100ppm을 만개 후 50~60일과 70~80일에 2회 엽면 살포하면 과실의 당도가 0.5~1.0 정도 증가하였다고 보고하였는데, 본 연구결과도 유사하게 나타났다. 그러나 ethychlozate의 처리가 당도에 미치는 영향은 여름철의 온도, 가을철의 일조, 온도 및 토양수분 등이 환경요인과 나무의 수령, 결실량, 수세, 영양상태 등 수체요인에 따라서도 변화될 수 있기 때문에(Moon 등, 1993), 당도 증진 효과 적용을 위해서는 홍진 조생 및 일남 1호 등 품종별 반응과 다양한 요인의 관계를 보다 상세하게 연구해야 할 것으로 생각된다. 또한 과경부보다 과정부의 당도가 높게 나타난 것은 감귤류에서 과실의 적도를 기준으로 과경부 부위보다 과정부 부위에 광합성 산물의 전류량이 많아 당도가 높다는 보고와 일치하였다(Hass와 Klotz, 1935; Ting, 1969; Mukai 등, 1996; Song 등, 1998; Moon, 2001).

Ethychlozate를 살포 후 시기별로 가용성당 조성의 변화는 표 2, 표 3, 표 4 및 표 5와 같다. 과실의 과당 농도(표 2)는 대조구에 비해 ethychlozate 엽면살포 처리구에서 높은 경향을 보였다. 과실의 과정부 방향을 상향과 하향으로 처리한 결과에서는 과정부의 방향을 상향으로 처리한 과실의 과당 농도가 높은 경향을 보였으며, 특히 11월과 12월에는 유의하게 높은 수준을 나타냈다. 과실의 적도를 기준으로 과정부와 과경부 부위로 나누어 과당 농도를 조사한 결과 과당 농도는 과정부 부위에서 모든 시기에 유의하게 높았다.

과실의 포도당 농도(표 3)에서는 ethychlozate 엽면살포 처리구가 대조구에 비해 높은 경향을 보였다. 과실의 방향에 따른 처리에서는 과정부의 방향을 상향으로 처리

Table 1. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the total soluble solids (TSS) of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	Total soluble solids (TSS)		
			Sept.28	Nov.09	Dec.07
Spray					
	Upward	Stem half	8.74	10.55	11.06
		Blossom half	9.01	11.53	12.05
		Mean	8.88	11.04	11.56
	Downward	Stem half	8.41	10.18	10.68
		Blossom half	8.74	11.81	12.39
		Mean	8.58	11.00	11.54
	Mean		8.73	11.02	11.55
Non-spray					
	Upward	Stem half	7.94	9.79	10.43
		Blossom half	8.13	10.99	11.63
		Mean	8.04	10.39	11.03
	Downward	Stem half	7.80	9.74	10.09
		Blossom half	8.64	10.94	11.54
		Mean	8.22	10.34	10.82
	Mean		8.13	10.67	10.93
Significance ^z			A,C,B×C	C	A,C,B×C

^zFactors significant at 5% level are indicated.

Table 2. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the fructose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	Fructose concentration ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)		
			Sept.28	Nov.09	Dec.07
Spray					
	Upward				
		Stem half	1.36	2.11	2.18
		Blossom half	1.47	2.28	2.41
		Mean	1.42	2.20	2.30
	Downward				
		Stem half	1.34	1.88	1.92
		Blossom half	1.45	2.11	2.21
		Mean	1.40	2.00	2.07
	Mean		1.41	2.10	2.19
Non-spray					
	Upward				
		Stem half	1.30	1.95	2.00
		Blossom half	1.41	2.23	2.32
		Mean	1.36	2.09	2.16
	Downward				
		Stem half	1.22	1.76	1.81
		Blossom half	1.37	2.09	2.01
		Mean	1.30	1.93	1.91
	Mean		1.33	2.01	2.04
Significance ^z			C	B,C	B,C

^zFactors significant at 5% level are indicated.

Table 3. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the glucose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	Glucose concentration (g · L ⁻¹)		
			Sept.28	Nov.09	Dec.07
Spray					
	Upward	Stem half	1.15	1.78	1.79
		Blossom half	1.19	1.87	1.92
		Mean	1.17	1.83	1.86
	Downward	Stem half	1.10	1.58	1.50
		Blossom half	1.20	1.77	1.78
		Mean	1.15	1.68	1.64
	Mean		1.16	1.76	1.75
Non-spray					
	Upward	Stem half	1.11	1.63	1.63
		Blossom half	1.13	1.83	1.90
		Mean	1.12	1.73	1.77
	Downward	Stem half	1.03	1.48	1.46
		Blossom half	1.14	1.74	1.62
		Mean	1.09	1.61	1.54
	Mean		1.11	1.67	1.66
Significance ^z			C	B,C	B,C

^zFactors significant at 5% level are indicated.

Table 4. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the sucrose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	Sucrose concentration (g · L ⁻¹)		
			Sept. 28	Nov. 09	Dec.07
Spray					
	Upward	Stem half	2.99	4.70	5.22
		Blossom half	3.20	5.44	5.84
		Mean	3.10	5.07	5.53
	Downward	Stem half	3.00	4.68	5.56
		Blossom half	3.49	5.46	6.54
		Mean	3.25	5.07	6.05
	Mean		3.18	5.07	5.79
Non-spray					
	Upward	Stem half	2.56	4.22	4.73
		Blossom half	2.83	4.90	5.65
		Mean	2.70	4.56	5.15
	Downward	Stem half	2.54	4.20	5.12
		Blossom half	3.18	5.34	5.92
		Mean	2.86	4.77	5.52
	Mean		2.78	4.67	5.34
Significance ^z			A,B,C,B×C	C	B,C

^zFactors significant at 5% level are indicated.

한 과실의 포도당 농도가 높은 경향을 보였고, 특히 11월과 12월에는 유의하게 높게 나타났다. 과실의 부위를 과정부 부위와 과경부 부위로 나누어 포도당 농도를 조사한 결과 과정부 부위에서 포도당 농도가 모든 시기에 유의하게 높게 나타났다.

과실의 자당 농도의 변화는 표 4에서와 같이 ethychlozate 엽면 살포 처리구가 대조구에 비해 높게 나타났으며, 특히 9월달에는 대조구에 비해 처리구에서 자당 농도가 유의하게 높았다. 과실의 방향에 있어서는 과정부의 방향을 하향으로 처리한 과실의 자당 농도가 높은 경향을 보였으며, 9월과 12월에는 유의하게 높았다. 과실의 부위에 따른 자당 농도에 있어서는 과정부 부위가 모든 시기에 유의하게 높았다.

이상의 결과를 종합해 보면 ethychlozate의 처리에 있어서는 대조구에 비해 과당, 포도당 및 자당 모든 성분의 농도가 증가(표 2, 표 3 및 표 4)하는 경향을 나타내어 총당이 증가(표 5)하는 것으로 나타났다. 특히 9월달에는 처리구가 대조구에 비해 총당 농도가 유의하게 높았다. 과실의 적도를 기준으로 과정부와 과경부 부위로 나누어 총당 농도를 조사한 결과, 과경부에 비해 과정부 부위에서 총당 농도가 모든 시기에 유의하게 높았다(표 5). 이는 ethychlozate 처리 및 과실의 방향 처리와 상관없이 과정부에서 모든 당 성분이 유의하게 증가한 것과 관계되었다(표 2, 표 3 및 표 4). 그러나 과실의 방향에 따른 총당의 농도는 차이가 없었다(표 5). 이는 과실의 방향을 상향으로 유지했을 때 과당과 포도당의 농도는 높았으나(표 2와 표 3) 자당의 농도는 오히려 감소하였기 때문이다(표 4).

Kim(1998)은 ethychlozate의 처리시 포도당보다는 과당과 자당의 농도를 증가시켜 총당의 농도를 증가시키며 환원당보다는 비환원당에 대한 영향이 높다고 하였는데, 본 연구결과와 유사하였다. ethychlozate의 처리에 따른 환원당과 비환원의 조성비에 미치는 영향(표 6)을 보면 비환원당인 자당의 비율이 증가하는 것으로 나타났다. 그러므로 ethychlozate의 처리에 대해서는 자당의 합성과 관련된 대사가 가장 민감하게 반응하는 것으로 보아진다. 한편 본 연구에서 과실의 부위별 비교시 과경부보다 과정부가 높은 과당, 포도당 및 자당의 농도를 나타낸 것은 밀감(Moon, 2001)과 오렌지(Song 등, 1998)에서의 연구보고와 일치하였다. 또한 과경부에 비해 과정부 부위에서 자당의 조성비가 높은 반면 포도당과 과당의 조성비는 낮은 경향을 보였는데(표 6), 이는 Mukai 등(1996)이 감귤과실 부위별 당 조성비를 조사한 결과

Table 5. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the total sugar concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma Mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	Total sugar concentration (g · L ⁻¹)		
			Sept.28	Nov.09	Dec.07
Spray					
		Upward			
		Stem half	5.50	8.66	9.19
		Blossom half	5.85	9.60	10.18
		Mean	5.68	9.13	9.69
		Downward			
		Stem half	5.44	8.14	8.98
		Blossom half	6.13	9.34	10.53
		Mean	5.79	8.74	9.76
		Mean	5.74	8.94	9.73
Non-spray					
		Upward			
		Stem half	4.96	7.76	8.35
		Blossom half	5.37	8.97	9.87
		Mean	5.17	8.37	9.11
		Downward			
		Stem half	4.80	7.45	8.39
		Blossom half	5.69	9.17	9.55
		Mean	5.25	8.31	8.97
		Mean	5.21	8.34	9.04
Significance ^z			A,C,B×C	C	C

^zFactors significant at 5% level are indicated.

Table 6. Effect of the foliar spray of ethychlozate, direction of fruit apex, and portion of fruit on the sugar composition (%) of juice in ‘Miyagawa Wase’ satsuma mandarin.

Treatment	Sugar composition (%)								
	Glucose			Fructose			Sucrose		
	Sep.28	Nov.09	Dec.07	Sep.28	Nov.09	Dec.07	Sep.28	Nov.09	De.07
Ethychlozate spray	20.2	19.6	18.0	24.4	23.5	22.4	55.3	56.7	59.6
Non-spray	21.1	20.0	18.3	25.5	24.1	22.5	53.4	56.0	59.2
Direction up	21.2	20.3	19.3	25.5	24.5	23.7	53.3	55.1	57.0
Direction down	20.3	19.2	17.0	24.5	23.0	21.3	55.3	57.7	61.8
Stem half	21.2	20.3	18.3	25.1	24.1	22.7	53.5	55.6	59.1
Blossom half	20.1	19.4	18.0	24.7	23.5	22.3	55.0	57.1	59.7

과정부 부위에서 자당 조성비가 높게 나타났으나 포도당과 과당의 조성비는 낮은 경향을 보였다고 한 연구결과와 일치하는 것이다.

Ethychlozate를 엽면살포한 후 과실의 SS 활성을 조사한 결과를 표 7에 나타내었다. 성숙이 진행될수록 SS의 활성은 점차 증가하였는데 성숙 중기인 11월까지의 처리구가 무처리구에 비해 SS 활성이 높게 나타났다. 특히, 11월달에는 처리구의 SS 활성이 무처리구보다 유의하게 높게 나타났다. 그러나 12월달에는 무살포의 경우에 효소활성이 급격히 증가하여 살포처리에 따른 SS 활성의 차이가 없었다.

그러므로 ethychlozate의 살포시 가용성 당의 증가가 SS 활성의 증가와 관계되는 것으로 보인다. 특히, 처리시 성숙 중기인 11월까지의 당 농도가 급격히 증가하고 이후의 과실의 가용성 당 농도의 차이는 감소하였으며(표 5), 이때의 SS 활성도 성숙 중기인 11월까지의 차이가 있었으나 이후 차이가 없는 것으로 나타났기 때문에(표 7), ethychlozate 처리에 따른 당 증가가 주로 성숙 초반의 당축적 대사의 활성화와 관계되는 것으로 생각된다. 그러나 ethychlozate 처리에 따른 성숙 초반과 후반의 효소활성의 차이가 전사단계에서 영향을 받는 것인지 또는 전사 이후의 단계에서 영향하는 것인지, 아니면 단백질량의 차이에 기인하는 것인지는 분명치 않았으며, 이에 대해서는 더 상세한 연구가 필요하다.

Table 7. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the SS activity of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	SS activity ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g FW}$)		
			Sept.28	Nov.09	Dec.07
Spray					
	Upward	Stem half	2.55	3.38	4.58
		Blossom half	4.26	4.37	5.25
		Mean	3.41	3.88	4.92
	Downward	Stem half	2.79	4.43	5.40
		Blossom half	4.39	4.94	5.86
		Mean	3.59	4.69	5.63
	Mean		3.50	4.29	5.28
Non-spray					
	Upward	Stem half	2.13	2.10	4.37
		Blossom half	2.25	2.38	5.43
		Mean	2.19	2.24	4.90
	Downward	Stem half	2.67	2.73	5.36
		Blossom half	2.86	2.97	6.36
		Mean	2.77	2.85	5.86
	Mean		2.48	2.55	5.38
Significance ^z			C,A×C	A,B,C	B,C

^zFactors significant at 5% level are indicated.

과실의 과정부의 방향을 상향과 하향으로 처리한 결과, 과정부의 방향을 하향으로 처리한 과실이 상향으로 한 과실에 비해 SS의 활성이 높은 경향을 보였으며, 특히 11월과 12월의 SS의 활성은 과실의 하향처리에서 유의하게 높게 나타났다. 이는 하향처리에서 환원당은 감소(표 2와 표 3)한 반면 비환원당인 자당의 농도가 증가(표 4)한 것과 관계되는 것으로 보아진다. 그런데, 감귤류 과실의 AI의 활성이 성숙 단계 초기에 급격히 감소하여 이후 수확기까지는 측정하기 어려울 정도로 매우 낮다는 보고(Kato와 Kubota, 1978; Song 등, 1998)와는 달리 최근에 Kubo 등(2001)은 밀감에서 결실상태에 따라 비가용성 acid invertase의 활성이 늦게까지 상당한 수준에서 유지되어 과실비대에 영향을 한다고 하였다. 또한 Winter 등(1997)과 Hockema와 Echeverria(2001) 등은 SS가 가역적인 반응을 조절하는데 수용부위와 공급부위에 따라 다른 방향으로 조절된다고 하였으나, Fu와 Park(1995)는 감자에서 서로 다른 SS의 이형체가 존재하여 수용부위와 공급부위에 따라 작용하는 형태가 다르다고 하였다. 그러므로 하양의 과실에서 과실로 전류되는 자당의 과실조직내 자연적인 분해가 SS의 증가된 합성방향의 활성에 의하여 자당의 증가인지, 아니면 상향의 과실에서 비가용성 AI등과 같은 여러 가지 AI들의 작용으로 환원당이 증가하게 된 것인지는 분명치 않았으며, 여러 형태의 AI활성에 대한 평가가 필요한 것으로 여겨진다.

과실의 부위별 비교에서는 SS 활성이 과정부 부위에서 높게 나타났으며, 특히 9월, 11월과 12월 모든 시기에 SS의 활성은 과실의 과정부 부위에서 유의하게 높게 나타났다. Song 등(1998)은 ‘Valencia’ 오렌지 과실의 부위별 당 농도와 효소활성 변화의 연구에서 과정부 쪽이 과경부 쪽보다 당 농도가 높은 것이 SS의 높은 활성과 관계되어 SS가 수용부위의 활력을 나타낸다고, 본 실험결과도 일치하였다. 그리고 온주밀감에서 결실량이 많을 경우 적은 경우보다 과실의 자당이 증가하여 총가용성 당이 증가하고, 이는 자당을 합성하는 방향의 SS 활성이 높은 것과 관계된다는 연구보고(Kubo 등, 2001)와도 유사하였다. 또한 Moriguchi 등(1991)은 4종류의 복숭아 과실의 SS 활성을 조사한 결과 SS의 활성이 증가하면 자당의 집적도 증가하였다고 하였으며, Balibrea 등(1996)도 염 스트레스하에서 토마토의 SS의 활성이 높으면 수용부위 활력이 강화되어 자당농도를 증가시켰다고 보고하였다. 그러나

Hockema와 Echeverria (2001)의 경우 오렌지에서 수분스트레스 부여가 당도를 증가시켰는데, 이는 SS의 분해방향 활성증가와 관계되어 수용부위 활력을 높였기 때문이라고 하였는데, 본 연구결과에서의 합성방향 증가와는 차이가 있는 것이다.

Ethychlozate 엽면 살포 후 시기별 SPS 활성을 조사한 결과는 표 8에 나타났다. SS 활성보다 낮은 약 50~60% 수준이며, 시기별로는 증가하는 경향을 나타내었다. ethychlozate 처리에서 과실 성숙 중기까지 SPS 활성이 무처리구에 비해 높은 경향이었으나 성숙후기에는 차이가 없었다. 과실의 방향에 따라서는 하향처리에서 높은 경향을 보였다. 또한 과실의 부위별 비교에서 SPS의 활성은 과정부 부위에서 높은 경향이였다. 그러므로 ethychlozate 처리, 과실의 하향 처리, 그리고 과실의 과정부 부위에서 자당 또는 총당의 증가와 SPS 활성과도 관련이 있다고 보아진다. 그러나 SS보다 SPS와 관련된 대사경로에 미치는 영향은 매우 낮은 편이다. Kubo 등(2001)은 감귤과실의 당 집적과 관련이 없다고 하였고 Moriguchi 등(1991)도 복숭아 과실의 당 집적과 SPS 활성과는 관련이 없다고 보고하였다. 그러나 Komatsu 등(1999)은 온주 밀감에서 SPS가 3개 이형체로 존재하며, 이중 과육의 당증가는 CitSPS2의 합성증가와 관계된다고 하였다. 그러므로 이들 SPS 이형체들의 온도 및 pH 등 최적 반응조건이 달라질 수도 있는데, 이를 고려하지 않은 일정반응조건에서 SPS 활성을 분석한 본 연구결과는 SPS의 기여도를 과소평가할 수도 있다고 보아진다. 따라서 보다 정확한 평가를 위해서는 이들 이형체 효소들에 대한 정확한 특성연구가 선행되어야 할 것으로 생각된다.

Table 8. Effect of the foliar spray of ethychlozate (A), direction of fruit apex (B), and portion of fruit (C) on the SPS activity of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

Ethychlozate	Direction	Portion	SPS activity($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g FW}$)		
			Sept.28	Nov.09	Dec.07
Spray					
	Upward	Stem half	1.75	2.43	3.17
		Blossom half	1.77	1.98	3.36
		Mean	1.76	2.21	3.27
	Downward	Stem half	1.59	2.77	2.76
		Blossom half	1.85	2.95	3.02
		Mean	1.72	2.86	2.89
	Mean		1.74	2.54	3.08
Non-spray					
	Upward	Stem half	1.08	1.48	3.20
		Blossom half	1.13	1.82	3.25
		Mean	1.11	1.65	3.23
	Downward	Stem half	1.61	1.63	3.32
		Blossom half	1.92	2.00	3.99
		Mean	1.77	1.82	3.66
	Mean		1.44	1.74	3.45
Significance ^z				A	

^zFactors significant at 5% level are indicated.

Table 9. Correlation between the SS and SPS activity and the total soluble solids (TSS), total soluble sugars, glucose, fructose, and sucrose concentration of juice in 'Miyagawa Wase' satsuma mandarin.

		SS activity			SPS activity		
		$(\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g FW})$			$(\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g FW})$		
		Sept.28	Nov.09	Dec0.7	Sept.28	Nov.09	Dec.07
TSS	9/28	0.49030**			0.32445		
	11/09	0.49907**	0.45452**		0.24760	0.22870	
	12/07	0.51851**	0.41942*	0.28085	0.27156	0.20686	0.02899
Fructose	9/28	0.36885*			0.10340		
	11/09	0.19313	0.1667		0.15664	0.11085	
	12/07	0.21958	0.13147	-0.05422	0.10194	-0.09088	-0.04889
Glucose	9/28	0.29105			0.08446		
	11/09	0.16587	0.15178		0.22093	0.14645	
	12/07	0.18377	0.04003	0.05931	0.14364	-0.11980	0.01121
Sucrose	9/28	0.57278**			0.16617		
	11/09	0.49451**	0.44105*		0.21557	0.27855	
	12/07	0.46272**	0.58456**	0.35560*	0.29279	0.44145*	-0.09564
Total soluble sugars	9/28	0.55359**			0.15949		
	11/09	0.41508*	0.38194*		0.22683	0.25080	
	12/07	0.44168*	0.45933**	0.21402	0.27518	0.24564	-0.07901

* and ** indicated significances at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively.

종합적으로 처리에 상관없이 시기별 과실의 당도, 포도당 농도, 과당 농도, 자당 농도, 그리고 총당 농도와 효소활성과의 상관을 분석하여, 이를 표 9에 나타냈다. 과실의 당도, 포도당, 과당, 자당, 그리고 총당 농도와 SPS의 활성간에는 어느 성분 과도 상관이 인정되지 않았으나 SS의 활성은 당도, 자당 농도, 총당 농도와 유의한 정도의 상관을 보였다. 특히 12월달 자당 및 총당 농도가 각각 11월달 SS의 활성과 고도의 정의 상관을 나타내었다. 따라서 ethychlozate $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 을 과실의 낙과기가 끝난 직후 과실의 비대기에 2회 엽면 살포는 과실의 당도 및 당 농도의 증진 효과를 얻을 수 있었는데, 이는 성숙 중반까지의 당축적이 증가한 것과 관계되었다. 과실의 방향 그리고 과실의 부위별 비교를 포함하여 과실의 당축적과 관련효소 활성과의 비교 분석에서, 온주밀감의 수용부위 활력 증가에는 SPS보다는 SS의 기여도가 상대적으로 높은 것으로 판단되었다. 그러나 감귤류에서 당축적은 과실의 유관속 분화, 자당운반체, 과즙내 pH, 세포막의 ATPase 활성 등 다양한 요인이 복합적으로 작용하여 나타나게 되는 수용부위 활력과 관계되므로, 온주밀감에서 과실의 당축적 기작을 정확히 이해하기 위해서는 이들 요인에 대한 더 상세하고 종합적인 연구가 있어야 할 것으로 생각한다.

V. 적 요

본 연구는 탕자대목에 접목한 15년생 궁천조생(*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa Wase)에 온주밀감의 적과제이면서 과즙의 당도(°Brix)를 증진시키는 ethylchlozate (ethyl 5-chloro-1H-3-indazolyl-acetate)의 엽면살포 여부, 과실 과정부의 방향(상향 및 하향), 과실의 적도를 경계로 한 부위(과정부 및 과경부) 등 각 2수준 3요인의 세세구배치법으로 조합 처리하여 과실의 성숙기 과즙의 당 농도 변화와 당관련 효소인 sucrose synthase (SS) 와 sucrose phosphate synthase (SPS)의 활성 분석을 통해 과실의 당축적 기작의 핵심요인을 구명하고자 수행하였다.

Ethylchlozate 엽면살포는 과즙 당도와 당의 농도를 증가시켰으나 처리간 당 농도 차이의 폭은 변화가 없었다. 과실의 방향에 따른 과즙의 당도와 총당은 차이가 없었으나 당조성은 차이를 나타냈다. 과정부가 상향인 경우 과당과 포도당의 농도가 증가한 반면 자당의 농도는 감소하여 하향의 경우와는 정반대로 나타났다. 과실의 부위에 따른 당도 및 당은 성숙 초기부터 후기까지 모든 시기에 과경부보다 과정부에서 높게 나타났고 과당, 포도당 및 자당의 모든 성분이 높게 나타났으며 자당의 비율이 증가하였다.

Ethylchlozate 엽면살포는 성숙 중기까지 SS와 SPS의 활성을 증가시켰고 그 증가폭은 SS에서 더 컸으나, 성숙 후기에는 처리간 활성의 차이가 없었다. 과정부의 하향 처리는 상향보다 SS의 활성이 높게 나타났다. 과실의 부위별 비교에서는 과정부가 과경부에 비해 SS의 활성이 높게 나타났다.

과즙의 당도, 당 농도 및 자당 농도와 SS의 활성간에 유의한 정상관이 인정되어 SS가 온주밀감 과실의 수용부위 활력과 관련하여 상대적인 중요도가 높은 것으로 나타났다.

인용문헌

- Albrigo, L.G. and R.D. Carter. 1977. Structure of citrus fruits in relation to processing, p.38-73. In: S. Nagy., P.E. Shaw and M.K. Veldhuis (eds.). Citrus science and technology. Vol. I. The AVI publishing Co. Inc., Westport, CT.
- 백자훈. 1994. 과실 생리학, p.60-224. 광문당.
- Bain, J.M. 1958. Morphological, anatomical and physiological changes in the developing fruit of the 'Valencia' orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Austr. J. Bot. 6:1-28.
- Balibrea, E.M., A.M. Santa Cruz, M.C. Bolarin, and F. Perez-Alfocea. 1996. Sucrolytic activities in relation to sink strength and carbohydrate composition in tomato fruit growing under salinity. Plant Sci. 118:47-55.
- Balwin, E.A. 1993. Citrus fruit, p.107-137. In: G.B. Seymour., J.E. Taylor, and G.A. Tucker (eds.). Biochemistry of fruit ripening, Chapman & Hall.
- Coggins, C.W. Jr. and H.Z. Hield. 1968. Plant-growth regulators, p.371-389. In: W. Reuther, L.D. Batchelor, and H.J. Webber (eds.). The Citrus Industry. Vol. II. Univ. of California Press, Berkeley.
- Daito, H., S. Tominaga, and S. Ono. 1981. Yield of differently trained trees and fruit quality at various location within canopies of differently trained satsuma mandarin trees. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 50(2):131-142.
- Davies, F.S. and L.G. Albrigo. 1994. Citrus. p.204-205. CAB International, Wallingford.
- Dennis, D.T. and S.D. Blakeley. 2000. Carbohydrate metabolism, p.630-674. In: B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Jones (eds.). Biochemistry & molecular biology of plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville.
- Doehlert, C.D. and S.C. Huber. 1983. Spinach leaf sucrose phosphate synthase activation by glucose 6-phosphate and interaction with inorganic phosphate. FEBS lett. 153:293-297.

- Echeverria, E. 1992. Activities of sucrose metabolizing enzymes during sucrose accumulation in developing acid limes. *Plant Sci.* 85:125-129.
- Fahn, A., I. Shomer, and I. Ben-Gera, 1974. Occurrence and structure of epicuticular wax on the juice vesicles of citrus fruits. *Ann. Bot.* 38:869-892.
- Fu, H. and W.D. Park. 1995. Sink- and vascular-associated sucrose synthase functions are encoded by different gene classes in potato. *Plant Cell* 7:1369-1385.
- Gardner, F.E. 1941. Practical applications of plant growth substances in horticulture. *Proc. Fla. State. Hort. Soc.* 54:20-26.
- Go, G.D., D.Y. Moon, and H.M. Kwon. 1984. Effect of ethychlozate spray on rind color development and quality in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit. *Res. Rept. ORD.* 26-1(H):38-44.
- Guardiola, J.L. and E. Lázaro. 1987. The effect of synthetic auxins on fruit growth and anatomical development in 'Satsuma' mandarin. *Sci. Hortic.* 31:119-130.
- Guardiola, J.L., M.T. Barrés, C. Albert, and A. García-luis. 1993. Effect of exogenous growth regulators on fruit development in *Citrus unshiu*. *Ann. Bot.* 71:169-176.
- Haas, A.R.C. and L.J. Klotz. 1935. Physiological gradients in citrus. *Hilgardia* 9(3):181-217.
- Han, H.R., H.L. Kim, and S.S. Kang. 1970. Studies on the changes of acid and sugar content of citrus varieties at different growing stages in Cheju-do. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 7:35-40.
- Hield, H.Z., R.M. Burns, and C.W. Coggins Jr. 1962. Some fruit thinning effects of naphthaleneacetic acid on wilking mandarin. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 81:218-222.
- Hirose, K. 1981. Development of chemical thinners for commercial use for satsuma mandarin in Japan. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 1:256-260.
- Hockema, R.B. and E. Echeverria. 2001. Metabolic contributors to drought-enhanced accumulation of sugar and acids in oranges. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126(5):599-605.

- 현해남, 한해룡, 문두길, 임한철. 1990. 감귤시설내 토양수분 조절이 잎 수분포텐셜과 과실 품질에 미치는 영향. 1. 토양수분, 잎수분포텐셜 및 과즙의 당도와의 관계. 농시논문집(농업산학협동편). 33:81-89.
- 현해남, 한해룡, 문두길, 임한철, 문두경. 1994. 감귤시설내 토양수분 조절이 잎 수분포텐셜과 과실 품질에 미치는 영향. 2. 단수처리가 과실 품질에 미치는 영향. 농시논문집(농업산학협동편). 36:31-36.
- Iwagaki, I. 1997. Citrus production in japan: news trends in technology. FFTC. p.1-10.
- Izumi, H., T. Ito and Y. Yoshida. 1990. Sugar and ascorbic acid contents of satsuma mandarin fruits harvested from exterior and interior canopy of trees during fruit development. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 58(4):877-833.
- Kamuro, K. and K. Hirai. 1981. Physiological activity of ethychlozate fruit thinning and maturity accelerating effects for citrus. Pro. Int. Soc. Citriculture 1:260-263.
- Kang, J.H., S.G. Kang, Y.C. Park, and S.T. Yun. 2002. Effect of control of alternate years on tree growth and fruit quality in satsuma mandarin (*Citrus unshiu*). Kor. J. Hort. Sci. Technol. 20(1):84.
- Kato, T. and S. Kubata. 1978. Properties of invertases in sugar stroage tissue of citrus fruits and changes in their activities during maturation. Physiol. Plant. 42:67-72.
- Kawase, K., K. Hirai, and Y. Kamuro. 1985. Effects of ethychlozate on suppressing the rind puffing of satsuma mandarin. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 54(2):171-177.
- Kim, C.M. 2002. Effects of climatic parameters on flowering, fruiting and fruit quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). Ph.D. Thesis. Univ. of Cheju.
- Kim, Y.H. 1998. Effect of ethylchozate on the fruit quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa Early). J. Bio. Fac. Env. 7(4): 276-282.
- Kim, Y.H. and C.M. Kim. 1999. Effects of calcium formulae foliar spray on the fruit quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) in the plastic film house. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 40:88-92.

- Kim, Y.H., C.M. Kim, and S.K. Chung. 2000. Effects of ridge - up bed cultivation on the fruit quality of satsuma mandarin (Miyagawa Wase) in a plastic film house. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 18(5):599-604.
- Koch, K.E. 1984. Translocation of photosynthetic products from source leaves to aligned juice segments in citrus fruit. *Hortsci.* 19(2):260-261.
- Koch, K.E. and W.T. Avigne. 1990. Postphloem, nonvascular transfer in citrus: kinetics, metabolism and sugar gradient. *Plant Physiol.* 93:1405-1416.
- Koch, K.E., C.A. Lowell, and W.T. Avigne. 1986. Assimilate transport through citrus juice vesicle stalks: a nonvascular portion of the transport path, p.247-258. In: A.R. Liss (eds.). *Phloem transport*. Inc. New York, NY.
- Kojima, K., Y. Yamada, and M. Yamamoto. 1995. Effects of abscisic acid injection on sugar and organic acid contents of citrus fruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64(1):17-21.
- Komatsu, A., Y. Takanokura, T. Moriguchi, M. Omura, and T. Akihama. 1999. Differential expression of three sucrose-phosphate synthase isoforms during sucrose accumulation in citrus fruits (*Citrus unshiu* Marc.). *Plant Sci.* 140:169-178.
- 고상욱, 문영일, 한해룡. 1998. 온주밀감의 품질향상 및 격년결과 해소를 위한 적정 착과 조절에 관한 연구. 원예시험연구보고서(CD). 원예연구서. p.100-103.
- 고성보, 강경선, 현공남. 1999. 감귤 및 오렌지의 소비행태와 선호분석. 농업정책연구 26(2):121-143.
- Kubo, T., I. Hohjo, and S. Hiratsuka. 2001. Sucrose accumulation and its related enzyme activities in the juice sacs of satsuma mandarin fruit from trees with different crop loads. *Sci. Hortic.* 91:215-255.
- Lee, H.S. and S. Nagy. 1988. Quality changes and non-enzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. *J. Food Sci.* 53:168-172.
- Lowell, C.A., D.T. Tomlinson, and K.E. Koch. 1989. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissue and adjacent sink structures in developing citrus fruit. *Plant Physiol.* 90:1394-1402.
- Manago, M. and M. Hirobe. 1984. Effect of ethychlozate (ethyl-chloro-1H-3-indazol-acetate) on the absorption of water and nutrient elements in a young tree and its growth in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Bul. Kanagawa Hortic. Exp. Stn.* 31:10-15.

- Mataa, M., S. Tominaga, and I. Kozaki. 1996. Seasonal changes of carbohydrate constituents in ponkan (*Citrus reticulata* Blanco). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65(3):513-523.
- Mataa, M., S. Tominaga, and I. Kozaki. 1997. Effect of exogenous growth regulator application on source-life carbohydrate accumulation patterns in ponkan (*Citrus reticulata* Blanco). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 66(2):245-251.
- Matsumoto, K. 1980. Citriculture. P.165-170. Yokendo. Ltd. Tokyo, Japan(In Japanese).
- Ministry of agriculture and forestry. 1991-2001. Agricultural and forestry statistical yearbook.
- Moon, D.G. 2001. Changes in soluble solids, acidity and abscisic acid contents in different portions of fruit during maturation of satsuma mandarin. Ph.D. Thesis. Univ. of Ehime.
- Moon, D.K., G.K. KO, and H.R. Han. 1993. Influence of foliar spray of ethephon and ethephon on fruit-drop and fruit quality in satsuma mandarin. Subtrop. Agric. Cheju Nat. Univ. 10:7-27.
- 문두길, 한해룡, 김창명, 김영효, 고상욱, 강종훈, 양창식. 1997. 조생온주의 화학적 적과와 품질향상. 농림부 연구보고서. p.1-132.
- Moriguchi, T., Y. Ishizawa, T. Sanada, S. Teramoto, and S. Yamaki. 1991. Role of sucrose synthase and other related enzymes in sucrose accumulation in peach fruit. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 60(3):531-538.
- Mukai, H., T. Takagi, N. Kajita, S. Nishikawa, H. Harada, and Y. Murai. 2000. Sugar accumulation in fruit of several satsuma mandarin cultivar. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 69(5):624-628.
- Mukai, H., T. Takagi, Y. Teshima, and T. Suzuki. 1996. Sugar contents in parts of fruit of satsuma mandarin tree under water stress in autumn. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65(3):478-485.
- Nii, N. and B.G. Coombe. 1988. Anatomical aspects of juice sacs of satsuma mandarin in relation to translocation. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 56(4): 375-381.

- Nii, N. and B.G. Coombe. 1990. Ultrastructural changes in the primordia of juice sacs of satsuma mandarin fruits. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 59(1):35-41.
- Oh, S.D., Y.Y. Kim, S.B. Hong, and S.K. Chung. 1979. Effect of photharvest application of ethephon, ethylene and methionine on color and quality of satsuma orange fruit (*Citrus unshiu* Marc.). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 20(2):142-147.
- Richardson, C.A., K.B. Marsh, and E.A. Macrae. 1997. Temperature effects on satsuma mandarin development. *J. Hort. Sci.* 72(6): 919-929.
- Schabber, A.A., O. Sagee, E.E. Goldschmidt, and R. Goren. 1987. Invertase and sucrose synthase activity, carbohydrate status and endogenous IAA levels during citrus leaf development. *Plant Physiol.* 69:151-155.
- Schneider, H. 1968. The anatomy of citrus, p.1-85. In: W. Reuther, L.D. Batchelor, and H.J. Webber (eds.). *The Citrus Industry. Vol.II.* Univ. of California Press, Berkeley.
- Sites, J.W. and H.J. Reitz. 1949. The variation in individual Valencia oranges from different locations of tree as a guide to sampling methods and spot-picking for quality. I. soluble solids in the juice. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 54:1-10.
- Song, E.Y. 1997. Quality characteristics of citrus fruits according to harvest date and variety. MS. Univ. of Cheju.
- Song, K.J., E. Echeverria, and H.S. Lee. 1998. Distribution of sugars and related enzymes in the stem and blossom halves of Valencia oranges. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123(3):416-420.
- Song, K.J. and K.C. Ko. 1997. Relationship between sugar content and sucrose synthase activity in orange fruit. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38(3): 242-245.
- Spiegel-Roy, P. and E.E. Goldschmidt. 1996. *Biology of citrus.* p.149-150. Cambridge Uni. press.
- Syvertsen, J.P. and L.G. Albrigo. 1980. Some effect of grapefruit tree canopy position on microclimate, water relations, fruit yield, and juice quality. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105(3):454-459.

- Takebayashi, T., T. Kataoka, and H. Yukinaga. 1993. Classification of 98 different citrus species and cultivars by fruit quality and their disorders as related to delayed harvest. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 62(2):305-316.
- Ting, S.V. 1969. Distribution of soluble components and quality factors in the edible portion of citrus fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94:515-519.
- Ting, S.V. and J.A. Attaway. 1970. Citrus fruits, p.107-161. In: A.C. Hulme (ed.). *The biochemistry of fruits and their products*. Vol. I. Academic press, London & New York.
- Tomlinson, T.P., E.R. Duke, K.D. Nolte, and K.E. Koch. 1991. Sucrose synthase and invertase in isolated vascular bundles. *Plant Physiol.* 97:1249-1252.
- Van Handel, E. 1968. Direct microdetermination of sucrose. *Anal. Biochem.* 22:280-283.
- Vu, J.C.V., R.P. Niedz, and G. Yelenosky. 1995. Activities of sucrose metabolism enzymes in glycerol-grown suspension cultures of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Environ. Exp. Bot.* 35(4):455-463.
- Winter, H., J.L. Huber, and S.C. Huber. 1997. Membrane association of sucrose synthase: changes during the graviresponse and possible control by protein phosphorylation. *FEBS lett.* 420: 151-155
- Winter, H. and S.C. Huber. 2000. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzyme. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 35:253-289.
- Yakushiji, H., H. Nonami, T. Fukuyama, S. Ono, N. Takagi, and Y. Hashimoto. 1996. Sugar accumulation enhanced by osmoregulation in satsuma mandarin fruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 121(3):466-472.

감사의 글

짧은 글로서 고마움을 표현하기란 그렇게 쉽게 되지 않습니다.

아마도 긴 세월을 살아가면서 그 고마움을 표현하여야 하지 않을까 싶습니다.

본 연구가 완성되기까지 지성으로 지도해주신 문두길 교수님, 바쁘신 일정에도 불구하고 시간을 내어 논문을 심사해 주시고 세심한 조언을 아끼지 않으신 강훈 교수님과 송관정 교수님께 마음 깊이 감사 드립니다. 그리고 평소에 많은 가르침과 비평을 해주신 장전익 교수님, 박용봉 교수님, 소인섭 교수님께 감사 드립니다.

낮선 작업에 당황해 하는 저에게 귀중한 조언을 아끼지 않으신 박영철 연구사님과 문영일 연구사님께 감사 드립니다.

늘 곁에서 편안한 웃음과 많은 인생의 의미를 선사해주신 오진보 선배님, 김상엽 선배님, 귀찮은 자문 부탁에도 늘 명쾌한 답을 해주신 성욱이형, 현우형, 윤규형, 상철이형에게 고마움을 전합니다.

학과 사무실에서 묵묵히 일하면서 여러 가지로 도움을 준 승진이형, 강석범 조교와 박시중 조교, 늘 곁에서 따뜻한 커피한잔을 권하며 삶의 여유를 느끼게 해준 임찬규 조교, 그리고 2년 동안 묵묵히 실험실을 꾸리며 많은 응원을 해주신 시현이형, 귀찮은 부탁을 마다하지 않고 도움을 준 보경, 미선 그리고 일본에서 열심히 공부하고 있는 막내 재응이에게 고마움을 전합니다.

지난 학부때 많은 정이 들었던 상우, 재진, 광일, 형주, 재영, 성미, 왕석, 세철, 명성, 기필 등 동기들과 늘 곁에서 힘이 되어준 친구들 승철, 동수, 광철, 덕현, 정우, 제우 정말 고맙고, 앞으로 밝은 미래가 오기를 바란다. 그리고, 세상의 아름다움을 느끼게 해준 윤하야 고맙다.

언제나 학업에 정진할 수 있도록 염려와 따뜻한 마음으로 격려해주신 부모님께 이 논문을 바칩니다.

매번 바쁘다는 핑계로 챙겨주지 못한 동생 광원, 동원, 윤성 사랑한다.

본 연구는 제주대학교 지원 연구비에 의해 수행되었습니다.