

석사학위논문

온주밀감 생리적낙과기에 Ethychlozate와  
Ethephon 처리에 대한 이층내  
효소활성의 반응

제주대학교 대학원

원예학과



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

고 익 진

1996년 12월

온주밀감 생리적낙과기에 Ethychlozate와  
Ethephon 처리에 대한 이층내  
효소활성의 반응

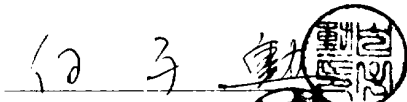
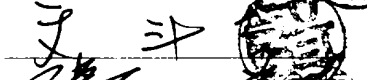

지도교수 문 두 길

고 익 진

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함



고익진의 농학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장   
위 원   
위 원 

제주대학교 대학원

1996년 12월

---

Response of Enzyme Activity in Abscission Zone  
During June-drop to Exogenous Ethychlozate and  
Ethephon in Satsuma Mandarin

**Ik-Jin Ko**

(Supervised by Professor Doo-Khil Moon)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF  
AGRICULTURE



DEPARTMENT OF HORTICULTURE  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1996. 12.

# 목 차

Summary	1
I. 서론	3
II. 연구사	5
III. 재료 및 방법	9
시험 1. 옥신류와 ethephon의 혼용처리시 낙과 및 낙엽 에 미치는 영향	
시험 2. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎에서의 에틸렌 발생 변화	
시험 3. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎의 이층부위에서 단백질 및 효소활성의 반응	
IV. 결과 및 고찰	14
시험 1. 옥신류와 ethephon의 혼용처리시 낙과 및 낙엽 에 미치는 영향	
시험 2. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎에서의 에틸렌 발생 변화	
시험 3. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎의 이층부위에서 단백질 및 효소활성의 반응	
V. 적요	35
VI. 참고문헌	37

---

## Summary

In order to elucidate the mechanism of the additive increase in fruit-drop by the mixture of ethephon and ethchlozate and the alleviation of leaf-drop caused by ethephon, the effects of the combination of ethephon and auxins were examined. And ethylene production from leaf and fruit, protein profiles, and peroxidase and cellulase activities in abscission zone of fruit and leaf were determined.

The results obtained were summarized as follows;

1. The addition of 3,5,6-TPA(3,5,6-trichloro-2-piridil-oxyalo acetic acid) to ethephon increased both fruit and leaf drops, while the addition of 2,4-D(2,4-dichlorophenoxy acetic acid) decreased the both. The addition of ethchlozate increased fruit-drop, but decreased leaf-drop.
2. The most ethylene was produced with peak 4 days after treatment from the fruit treated with the mixture of ethephon and ethchlozate, which showed the highest fruit-drop.
3. From the leaf, the most ethylene was produced with peak 6 days after treatment by ethephon alone with the highest leaf-drop.
4. Protein profiles in fruit abscission zone affected by the mixture of ethephon and ethchlozate showed the sum of those by the single components, while those by the mixture in leaf abscission zone showed the middle of the two by the single components.

5. The peroxidase activities in the abscission zone were well correlated with the drop ratios of fruit and leaf, without any difference in isozyme profile.
6. The activities and isozyme profiles of cellulase showed the same trend as those of peroxidase.
7. Differences in fruit-drop and leaf-drop by the mixture of ethephon and ethchlorzate were suggested to be resulted from the difference in ethylene production from fruit and leaf, and changes in protein profiles, and peroxidase and cellulase activities in abscission zone.

## I. 서론

온주밀감에서 화학적 적과제로 선발되어 사용되고 있는 것들 중에 옥신류인 ethychlozate(5-chloroindazol-8-acetic acid etylester)와 ethephon(2-chloroethylphosphonic acid) 이 있으며, 1990년대에 들어 스페인에서 감귤 품질 향상제로 개발되고 있는 3,5,6-TPA(3,5,6-trichloro-2-piridil-oxyalo acetic acid)를 온주밀감의 유과기에 살포하면 적과효과가 있는 것으로 보고 되어 있다(Agusti 등, 1994). Ethephon은 낙과를 조장하지만 동시에 낙엽을 조장시킨다. 그렇지만 ethephon과 ethychlozate를 혼용하면 낙과는 상가적으로 증가하지만 ethephon에 의한 낙엽은 ethychlozate 가용으로 경감된다고 한다(문 등, 1993;鈴木 등, 1990).

대부분의 식물에서 잎, 꽃, 과실의 탈리 현상은 그 조직의 밑부분에 이층조직이 발달됨으로써 비롯되는데 이층은 엽병의 수직분열에 의해(유관속은 제외) 생성된 얇은 벽의 유조직세포가 하나 또는 그 이상의 층을 형성하고 있다. 어떤 식물에서 이러한 세포들은 잎이 성숙하기 전에 이미 형성되었다가 탈리가 일어나기 직전에 이층말단(줄기로부터 가장 먼 부위) 일부 세포들 사이에 있는 세포벽의 중층의 분해가 일어난다. 이때 가수분해효소가 합성되어 세포질로부터 세포벽으로 분비되는 과정이 포함된다. 이러한 효소는 이층의 기저부(가지쪽에 가까운 부분) 세포에서 호흡이 급격하게 증가하면서 생성된다. 이러한 호흡증가는 지나치게 성숙된 과실에서 일어나는 것과 유사하며, 활발하게 단백질을 합성하는 세포에서 볼 수 있는 특징적인 폴리좀의 증가도 함께 일어난다. 이러한 기저부 세포층들의 세포의 크기는 증가하나 분리점의 이층 발달부 세포들의 크기는 증가하지 않는다. 이층의 노쇠된 말단부 세포와 확장하는 기저부 세포 사이의 불균등한 성장과 동시에 세포벽 분해가 일어나 두 세포들의 분리가

일어나게 된다. 어떤 식물에서 에틸렌은 세포확장과 세포벽 분해를 위해 가수분해효소의 분비를 유발한다. 탈리를 촉진하는 요인들은 먼저 노쇠를 촉진하는데 아마 이 요인이 이층에서 에틸렌 생성을 유도하고, 이 에틸렌은 기저부 세포의 생장과 이 세포에서 세포벽 분해효소의 생성을 촉진하는 것으로 추측된다고 하였다(Salisbury와 Ross, 1992).

이에 본 시험은 온주밀감에서 ethchlorzate와 ethephon의 단용처리시와 혼용처리시 낙엽율과 낙과율의 차이가 생기는 현상이 다른 옥신류를 처리했을 때에도 나타나는지를 조사하고 혼용처리시 낙과와 낙엽 반응이 다른 이유를 알아보기 위하여 처리후 과실과 잎의 에틸렌 발생량 변화와 탈리층내 단백질 조성 변화에 차이가 없는지를 전기영동으로 분석하고 또한 효소의 활성을 측정하였다.





## II. 연구사

생장조절제를 이용하여 감귤 적과작업의 생력화를 이루기위한 시험은 Pomeroy 와 Aldrich(1943)가 '와싱턴네블' 오렌지와 '마쉬' 그레이프후룻트에 있어서 NAA의 적과효과를 보고한 이후 감귤 주산국(미국, 일본 등)을 중심으로 하여 활발히 진행되어 왔다. 일본에서 온주밀감의 적과제로 NAA가 우수한 것으로 선발되어 1975년까지 사용되어 왔다. 우리나라에서도 문(1976)에 의하여 실용성이 검토된 바 있다. 그러나 1976년 만성독성 시험의 실패로 제조가 중단되게 되었다. 따라서 새로운 적과제를 탐색하기 위해 鈴木 등은 1970년대말에 10여종의 화학물질을 공시하여 검토하였고, 그 결과 ethychlozate (ethychlozate:5-chloroindazol-8-acetic acid ethylester:J-45)가 선발되어 1981년에 농약으로 등록되었다. 이후 ethychlozate를 이용한 약제 적과방법이 광범위하게 검토되었다. 우리나라에서도 만개 후 40-50일경 100-200mg/ℓ의 ethychlozate 살포로 적과효과를 얻을 수 있었다는 보고가 있다(한, 1985; 한과 문, 1983; 김, 1982; 김과 예, 1981; 예와 문, 1980). Chapman(1984)은 mandarin 품종인 'Murcott'에서 2년간 ethephon 150mg/ℓ 와 300mg/ℓ 를 처리한 결과 300mg/ℓ 처리구에서 과실의 크기가 커지고 수량이 더 많았다고 보고하였다. 그 외에도 만다린류와 탄제린류에서 ethephon의 살포로 적정 적과효과를 얻었다는 보고가 있다(Galliani 등, 1975; Smith, 1976; Jahn, 1981).

또한 옥신계통의 하나인 3,5,6-TPA(Trichlopyr acid; 3,5,6-trichloro-2-pyridinyl; 상품명:Maxim)는 최근 온주밀감에서 과실의 크기를 증가시키며 낙과를 조장하는데 처리시의 과실크기에 따라 그 효과가 다르다고 보고하였다(Agusti 등, 1994). Guardiola 등(1988)은 온주밀감에 2,4-DP(2,4-dichloro phenoxyaectic acid)등 여러 옥신류에서 적과효과가 인정되었고 초기 생육에 영향을 미치며 최종적으로 과실의 크기를 증가시켰다고 하였

다. Ethychlozate와 ethephon이 처리된 궁천조생 성엽에서 조사된 에틸렌의 발생변화는 ethephon 처리구는 ethychlozate 처리구보다 에틸렌 발생이 처리 직후부터 급증되었고, 시일이 경과됨에 따라 감소되는 경향을 보였는데 결국 ethychlozate는 생리적 낙과시에 에틸렌 발생을 촉진하고 이로 인하여 낙과율이 증가하는 것이라고 하였다(한, 1985). Salisbury 와 Ross (1992)도 모든 합성 옥신이 에틸렌생성을 증가시킨다고 하였으며 Sagee 등(1980)도 감귤류에 ABA(Abscisic acid)를 처리하였을 때 에틸렌 생성량이 증가하여 탈리를 촉진시켰다고 하였다. 그외에도 에틸렌이 탈리를 촉진한다는 보고가 많이 있다(Elmo 등, 1975; Marynick, 1977; Einset, 1980; Reid, 1985).鈴木 등(1990)은 온주밀감 만개후 30일에 ethychlozate 100ppm과 ethephon 25~50ppm을 처리했을때 적과효과는 높았으나 낙엽율은 증가하지 않았으며 ethychlozate 100ppm과 ethephon 5~10ppm을 처리했을때 높은 적과효과가 있었다고 하였다. 그리고 ethychlozate 처리시 과실에서 에틸렌과 이산화탄소의 발생량이 증가하였으며 적과 효과도 높았는데 잎에서의 에틸렌 발생은 감소하였고 그에 따라 낙엽율도 역시 감소하였다고 하였다. 그리고 ethychlozate 처리후 고온에서 낙과가 조장되는 것은 에틸렌 발생과 호흡의 증가에 의한 것이라는 보고도 있다(廣瀬, 1982). 岩垣 등(1977)은 ethychlozate 처리후 과실의 비대는 일시적으로 억제되어 이층형성이 촉진된다고 하였다.

에틸렌의 효과는 발생조직에 따라 여러 효소의 합성을 증가시킴으로써 나타난다. 에틸렌이 잎의 탈리를 촉진시킬 때, 이층에는 cellulase와 다른 세포벽 분해효소가 나타나는데 아직까지는 에틸렌이 효소합성에 어떻게 촉진작용을 하는지에 대해서는 알지 못하고 있다(Salisbury와 Ross, 1992).

에틸렌이 단백질함량과 peroxidase의 활성을 변화시킨다는 보고가 있으며 (Ganz'alez 등, 1991; Gahagan 등, 1968), Henry 등(1974)은 담배에 에틸렌을 처리하였을 때 화경의 이층부위에서 peroxidase의 활성이 증가하였

다고 하였다. 그리고 Poovaiah와 Rasmussen(1973)은 콩잎의 이층부위에서 낙엽이되기 바로 전에 peroxidase의 활성이 증가하였다고 하였다. Gahagan 등(1968)은 콩의 엽병에서는 peroxidase의 활성은 이층부위에 국한되어 나타나며 전기영동을 했을때 2개의 새로운 band가 나타났다고 하였다. Rasmussen(1980)은 이층형성시 에틸렌 발생량과 가수분해효소의 활성 그리고 낙과율이 정의 상관관계를 갖는다고 하였다.

한편 에틸렌과 cellulase의 관계에서는 몇 가지 식물에서 에틸렌이 세포에서의 cellulase 합성을 증가시키고 그것의 분비를 증가시킨다는 보고가 있으며(Abeles와 Leather, 1971; Abeles 등, 1971), 감귤 속의 잎과 과실의 이층부위에서 cellulase의 활성은 에틸렌에 의해 자극되어진다고 하였다(Abeles, 1968과 1969). Lima와 Davies(1984)는 네블오렌지의 생리적 낙과기에 이층부위의 에틸렌 발생량과 cellulase의 활성이 증가하였다고 보고하였고, Rasmussen(1973)은 Valencia orange(*Citrus sinensis* L. Osbeck)에 cycloheximide 20  $\mu$ g/ml를 처리 1일후에 이층부위의 조직에서 cellulase의 활성이 증가하였다고 하였으며 Kossuth와 Biggs(1977)도 release (pyrazle)와 ethephon처리후 cellulase의 활성이 증가하였다고 보고하였다.

Lewis와 Varner(1970)는 강남콩(*Phaseolus vulgaris*)의 외편체에서 두가지 형태의 cellulase를 구별하였는데(가용성·비가용성 cellulase) 나중에 이 두가지 cellulase는 등전점전기영동에서 4.5와 9.5에서 나타나는 동위효소였는데 이층형성이 일어나기 전에 채취한 이층부위에서는 산성의 cellulase 즉 pI 4.5만 검출되었고 이층이 형성된 부분의 시료를 채취하였을 때는 pI 4.5 cellulase 외에 적어도 한가지 이상의 염기성 cellulase 즉 pI 9.5 cellulase가 검출되었다고 하였다(Lewis 등, 1972). 또한 Philip 등(1974)에 의하면 강남콩의 이층부위에서 cellulase( $\beta$ -1, 4-glucan- glucanohydrolase EC 3.2.1.4)의 활성은 적어도 두가지의 다른 분자형태의것이 나타났는데 pI 4.5인 것은 이층부위나 비이층부위 모두에서 나타났고 pI 9.5인 것은

단지 탈리가 일어나고 있는 조직에서만 나타났다고 하였다. Bonghi 등 (1992)은 복숭아에서 에틸렌에 의해 낙엽되는 잎과 과실의 탈리시 cellulase의 활성이 과실에서 보다는 잎에서 훨씬 높았다고 하였는데 잎의 탈리는 등전점이 다른 형태의 cellulase가(pi 6.5와 pi 9.6) 증가함에 따라 일어난다고 하였다.

이상과 같이 탈리현상이 일어나는 동안 탈리층내 효소활성 변화가 일어난다는 보고가 많은데 ethychlozate와 ethephon 혼합살포시 탈리층내 효소활성변화에 대한 연구결과는 없다.

### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 시험 1. 옥신류와 ethephon의 혼용처리가 낙과 및 낙엽에 미치는 영향

1995년도에 남원읍소재 '해성농장'과 서귀포시 동홍동에 위치한 제주대학교 농과대학 부속감귤원에서 각각 탱자대목에 접목한 20년생 홍진조생과 탱자대목 20년생 궁천조생을 공시하여 시험하였다. 남원읍 시험포의 시험구는 수세가 중간 정도였으며 만개일은 5월 22일이었는데 나무에 따라 착화정도가 달라 비교적 착화량이 많은 나무를 골라서 시험구를 설정하였다. 시험구 배치는 대조구, 3,5,6-TPA 15mg/ℓ, ethychlozate 67mg/ℓ 살포구를 주구로 하고 ethephon 20mg/ℓ 살포여부를 세구(덧원가지)로 한 분할구 배치법 5반복으로 시험하였다. 6월 17일(만개후 26일)에 약제를 살포했는데 나무당 50과의 횡경을 측정 평균하여 살포시의 과실크기로 나타냈으며 약제살포 직전에 200~300잎이 달린 곁가지를 선정하여 엽수와 과실수를 약제살포일과 7월 29일에 조사하여 낙과율과 낙엽율을 계산하였다.

한편 서귀포 시험포의 시험구는 수세가 다소 약한편이었으며 만개일은 5월 20일이었다. 시험구 배치는 대조구, ethychlozate 50mg/ℓ, 3,5,6-TPA 15mg/ℓ, 2,4-D 20mg/ℓ 등 4처리를 주구(시험구당 나무한그루)로하고 ethephon 성분농도 0, 10, 20, 40, 80mg/ℓ의 5수준을 세구로 한 분할구 배치법 5반복으로 시험하였다. 약제살포는 만개후 53일인 7월 12일이었으며 조사방법은 남원읍 시험포에 준하였다.

## 시험2. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎에서의 에틸렌 발생 변화

1996년도에 제주대학교 구내에 있는 농과대학 부속 감귤원에서 궁천조생 15년생을 공시하여 7월 15일에 ethychlozate 0mg/ℓ와 50mg/ℓ 처리를 주구로 하고 ethephon 0mg/ℓ와 50mg/ℓ을 세구로한 분할구 배치법 3반복으로 시험하였다.

낙과율 및 낙엽율은 시험1에 준하여 조사하였다.

에틸렌 측정을 위한 시료는 1, 2, 3, 4, 6, 9일째에 결가지 중간부위, 바깥쪽에 있는 건전한 구엽(작년 봄순에서 나온엽) 20매와 과실 5과씩을 각각 채취하였다. 에틸렌 측정은 손(1995)의 방법을 변형하여 실시하였는데 1ℓ용기(Nalge Co.)에 시료를 넣어 뚜껑을 닫고 parafilm으로 밀폐시켰다. 그리고, 30℃의 항온기에서 3시간 동안 항온처리한 다음 head space에서 1ml 주사기로 gas를 취해서 gas chromatograph (PYE UNICAM series 304 Chromatograph FID, 2m alumina column, 130℃ oven temp., 120℃ inj. temp., 180℃ det. temp., 30ml/min. flow rate, N<sub>2</sub> carrier gas)로 에틸렌량을 측정하였다. 가스 크로마토그래피 측정이 끝난 후에 생체중을 조사하였다.

## 시험 3. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎의 이층부위에서 단백질 및 효소활성의 반응

단백질의 추출 및 전기영동 : 시험 2의 처리구에서 처리후 3일과 6일째에 과실과 잎의 이층부위(과실쪽 이층부위와 엽신쪽 이층부위)를 낙과와 낙엽이 이루어지기 전에 각 처리별로 과실이층 30개와 잎이층 50개씩 채취하였다. 단백질의 추출은 Yamauchi와 Takao(1986)의 방법을 따랐는데

과실과 잎의 이층부위를 각각 4mm정도 길이로 채취하여(약 1g정도 되  
게) 막자사발에 넣고 액체질소를 가하여 마쇄한 후 0.2g을 취하여 2ml의  
0.1M borate buffer(pH 8.0)와 약간의 PVP (Polyvinil-polypyrrolidone)  
를 넣어 잘 혼합한 후, 15,000×g(비전과학(주), Vs-15CF)로 40분간 원심  
분리하여 상정액을 시료로 하였다.

전기영동은 Phastsystem(Pharmacia, Sweden)을 이용하여 SDS-PAGE  
(Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)를 실시  
(200V, 1.0mA, 3.5W, 4℃, 300Vh)하였다. 단백질 시료는 filter paper(4×  
4mm) 3장을 겹쳐서 흡착시킨 후 gel(PhastGel;gradient 10-15) 에  
loading 시킨 후 buffer strip holder에 buffer strip을 넣고 올려놓았다. 전  
기영동이 끝난 후 gel은 'Phastsystem Owner's Manual(1994)'에 따라  
Silver staining 하였다(표 1).

**Peroxidase 활성측정** : 단백질의 추출 및 전기영동을 위한 시료중의 일  
부를 peroxidase 활성측정 시료로 사용하였다. 액체질소를 가하여 마쇄한  
후 0.2g을 취하여 4ml 0.01M phosphate buffer(pH 6.0)를 넣어 잘 혼합한  
후 4℃에서 10,000×g(비전과학(주), Vs-15CF)로 50분간 원심분리하여 상  
정액을 취했다. Spectrophotometer를 이용한 활성측정은 파장 460nm에서  
했는데 0.8ml의 효소추출액과 0.5% guaiacol, 1.3ml, 5mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1.3ml를  
넣은 직후부터 460nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. 대조용액은 효소  
추출액 대신 증류수를 0.8ml의 증류수를 넣었다(poovaiah, 1973). 전기영  
동은 Phastsystem을 이용하여 IEF(isoelectric focusing)를 실시(150V,  
1.5mA, 3.5W, 4℃, 500Vh)하였다. 액체질소를 가하여 마쇄한 시료에 0.8%  
NaCl, 1.0ml와 0.1% NaNO<sub>3</sub>(pH 5.9), 1.0ml를 넣고 잘 혼합하여 4℃에서 1  
시간 10,000×g로 원심분리하여 상정액을 취하여 사용하였다. 시료는  
filter paper(4×4mm) 3장을 겹쳐서 흡착시킨 후 gel(PhastGel; IEF 5-8)  
에 loading 시켰다.

Table 1. Silver staining method optimized for SDS-PAGE with PhastGel gradient media to be programmed into the development method file.

Step Number	Solution	In	Out	Time (min)	Temp (°C)	Remarks
1	10% ethanol, 5% Acetic acid	3	0	2	50	Wash solution
2	10% ethanol, 5% Acetic acid	3	0	4	50	Wash solution
3	5% glutaraldehyde	4	0	6	50	Protein sensitization
4	10% ethanol, 5% Acetic acid	3	0	3	50	Wash solution
5	10% ethanol, 5% Acetic acid	3	0	5	50	Wash solution
6	Reagent grade water(D.W.)	5	0	2	50	Wash solution
7	Reagent grade water(D.W.)	5	0	2	50	Wash solution
8	0.4% silver nitrate	6	0	6.5	40	Staining solution
9	Reagent grade water(D.W.)	5	0	0.5	30	Wash solution
10	Reagent grade water(D.W.)	5	0	0.5	30	Wash solution
11	2.5% Sodium carbonate 2.0% Formaldehyde	7	0	0.5	30	Developing solution
12	2.5% Sodium carbonate 2.0% Formaldehyde	7	0	4.0	30	Developing solution
13	1.6% Sodium thiosulphate	8	0	2.0	30	Background reducing solution
14	10% glycerol	9	0	5	50	Stop solution



전기영동이 끝나면 발색시약(0.7% Benzidine in ethanol, 5ml, 100mM Potassium acetate(pH 4.76), 25ml, 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0.15ml)을 넣고 30℃의 암 상태에서 15분간 발색시켰다. 발색시킨 후 50% Glycerin에 20~30분간 담가 색이 짙어졌을 때 다시 50% trichloro acetic acid(TCA)액에 5~10분간 고정 후 10% Glycerin용액에 보관했다(Esen and Soost 1976).

**Cellulase** : 단백질의 추출 및 전기영동을 위한 시료중의 일부를 Cellulase의 활성측정 시료로 사용하였다. 시료 0.1g을 0.1M phosphate buffer(pH 7.0) 1ml, 1M NaCl 1ml와 약간의 PVP를 넣어 잘 혼합한 후 4℃, 10,000×g에서 1시간 원심분리하여 상정액을 취하였다. 활성측정은 1% CMC(carboxymethyl cellulose) 100ml에 효소추출액 1ml을 넣어 40℃에서 2.5시간 반응시킨 후 Viscometer(Tokimec BM-7586, Japan)를 이용하여 점도를 측정하였다(Rasmussen, 1973).

전기영동은 Bonghi 등(1992)의 방법을 따랐다. 액체질소를 넣어 마쇄한 시료 0.2g과 Loading buffer(4% LiDS, 30% sucrose, 120mM DTT, 120mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.05 BPB) 1ml를 넣고 추출한 후 4℃에서 15,000×g로 1시간동안 원심분리하여 상정액을 취하여 시료로 하였다. Phastsystem을 이용하여 IEF를 실시하였는데(120V, 1.2mA, 3.5W, 4℃, 900Vh) 시료는 filter paper(4×4mm) 5장을 겹쳐서 흡착시킨 후 gel(PhastGel:IEF 3-9)에 loading시켰다. Gel은 running시키기 전에 미리 0.1%, CMC 10% glycerol 용액에 4℃에서 1.5시간 정도 담근 후 사용하였다. 전기영동이 끝나고 20mM phosphate buffer(ph 5.5), 10mM DTT를 차게하여 5회정도 총 30분간 gel을 washing하였는데 최종적으로는 20mM phosphate buffer(ph 5.5)로만 하였다. 이 buffer와 함께 용기에 넣어 37℃에서 10시간 동안 밀폐시킨 후 congo red 용액(0.1g/100ml)으로 20분간 염색하고 1M NaCl로 탈색한 후 10% acetic acid, 40% methanol로 고정시켰다.

#### IV. 결과 및 고찰

##### 시험 1. 옥신류와 ethephon의 혼용처리가 낙과 및 낙엽에 미치는 영향

3,5,6-TPA 15mg/ℓ 또는 ethychlozate 65mg/ℓ 에 ethephon 20mg/ℓ 의 가용여부에 따른 낙과율과 낙엽율은 표 2에 나타낸 바와 같다. 낙과율은 3,5,6-TPA나 ethychlozate 살포로 증가되었고 ethephon 가용으로 더욱 증가되었는데 낙엽율은 3,5,6-TPA살포구는 낙과율과 같은 경향이었으나 ethychlozate 살포구는 ethephon 가용 여부와 관계없이 대조구와 같았다.鈴木 등(1990)은 온주밀감 만개후 30일에 ethychlozate 100mg/ℓ 와 ethephon 25~50mg/ℓ 를 처리했을 때 적과효과는 높았으나 낙엽율은 증가하지 않았다고 보고하였는데 본시험에서도 유사한 결과를 나타내었다.

Table 2. Effect of 3,5,6-TPA and ethychlozate with and without ethephon on fruit-drop and leaf-drop ratio in 'Okitsu Early' Satsuma mandarin (1995, Namwon)

Treatment <sup>z)</sup>		Fruit-drop ratio(%)	Leaf-drop ratio(%)
Auxin	Ethephon	June 17-July 29	June 17-July 29
0	0mg/l	68.1c <sup>y)</sup>	11.5b
	20	79.2bc	13.8ab
3,5,6-TPA 15mg/ℓ	0	86.1ab	14.3ab
	20	94.0a	21.6a
Ethychlozate 65mg/ℓ	0	72.0c	9.3b
	20	78.0bc	10.7b

z) Treated 26 days after full bloom(June 17), at fruit diameter of 11.2mm

y) Mean separation by Duncans multiple range test, 5% level

표 3에서 보는 바와 같이 ethephon 단독 살포시와 ethychlozate 50mg/ℓ 에 혼합살포시에는 ethephon 농도가 증가함에 따라 낙과율이 증가했으나 3,5,6-TPA 15mg/ℓ 와 혼합살포시에는 ethephon 농도증가에 따른 낙과율 증가가 나타나지 않았다. 2,4-D 20mg/ℓ 와 혼합살포시에는 ethephon 농도 증가에 따라 낙과율이 증가하긴 했지만 ethephon 단독살포구 보다는 낮았다. 본 시험결과는 Otto(1981)와 Chapman(1984)이 각각 'Dancy' tangerin과 'Murcott' mandarin에 ethephon의 농도별 처리시 농도가 높을 수록 낙과율이 증가한다고 보고하였고 ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 에세폰의 농도가 증가함에 따라 낙과율이 증가한다고 보고한 결과 (문 등,1993;鈴木 등,1990)와 유사하였다.

Table 3. Effect of of auxins with ethephon on fruit-drop ratio (July 12 ~ July 30) in 'Miyagawa Early' Satsuma mandarin (1995, Sogwipo) (unit : %)

Auxin	Ethephon(mg/ℓ)				
	0	10	20	40	80
Control	12.5	14.9	19.5	35.4	87.6
Ethychlozate 50mg/ℓ	8.9	28.5	27.5	49.7	62.6
3,5,6-TPA 15mg/ℓ	13.0	15.5	12.8	19.3	13.4
2,4-D 20mg/ℓ	8.9	12.6	17.9	20.4	34.7

※ Treated 53 days after full bloom(July 12), at fruit diameter of 23.6mm

표 2와 표 3을 비교하였을 때 표 3의 낙과율이 전반적으로 낮은 것은 낙과율을 계산하기위한 1차 조사일에서 차이가 있었기 때문이다. 또한 각각

의 대조구와 비교 하였을 때에도 비슷한 처리인 ethychlozate 단용 처리구와 3,5,6-TPA 단용 처리구에서 표 3의 낙엽율 증가가 적었는데 이는 처리일이 각각 만개후 26일(과경, 1.2mm)과 53일(과경, 23.6mm)로 달랐기 때문이라고 생각된다. 처리시 과경이 클수록 즉 처리시기가 늦을수록 낙과효과가 적다(문 등, 1993; 한, 1985; 김 등, 1981; 예와 문, 1980).

표 4에서 보면 낙엽율은 ethephon 단독살포시 농도가 증가함에 따라 낙엽율이 증가한다는 보고(문 등, 1993; 鈴木 등, 1990; 한, 1985; Chapman 1984)와 같은 결과를 나타내었다. Ethychlozate 50mg/ℓ 에 ethephon을 혼합하여 살포했을때는 ethephon 40mg/ℓ 까지는 낙엽율 증가가 전혀 없었고 대조구와도 차이를 인정할수 없어 ethychlozate 50mg/ℓ +ethephon 0~40mg/ℓ 는 낙엽율에 영향을 주고 있지 않지만 ethephon 80mg/ℓ 에서 낙엽율이 증가하였으나 ethephon 80mg/ℓ 단독살포구 보다는 낮았고 대조구에 비하여는 2.6배 증가하였다. 이 결과는 ethychlozate와 ethephon의 혼용 처리시 ethephon의 농도증가에 따른 낙엽율의 증가가 경감된다는 보고(문 등, 1993; 鈴木 등, 1990)와 일치하였다.

3,5,6-TPA 15mg/ℓ 에 ethephon을 혼합하였을 때는 ethephon 20mg/ℓ 까지는 대조구에 비하여 낙엽율 증가가 없었다가 ethephon 40mg/ℓ 이상에서는 ethephon 단독살포구와 비슷한 낙엽율을 보였다. 2,4,-D 20mg/ℓ 살포는 낙엽은 ethephon 40mg/ℓ 까지의 혼합살포는 대조구보다 낙엽율이 낮았으며 특히 2,4,-D 20mg/ℓ 단용처리구에서는 낙엽율이 0%로 낙엽을 방지하는 효과가 매우 높았으나 ethephon 80mg/ℓ 가용시는 ethephon 80mg/ℓ 단독살포구와 비슷한 낙엽율을 나타냈다. 따라서 낙엽율에 영향을 주지 않은 ethephon의 농도는 10~40 mg/ℓ 였고 80mg/ℓ 농도의 살포는 대조구에 비하여 2.7~3.5배 높은 낙엽율을 나타내었다. 표 2에서 같은 처리인 ethephon 단용 처리구와 비슷한 낙엽율을 보인것은

ethephon의 살포시기에 따른 낙엽율 차이의 유의성이 없었다는 보고와 같은 결과를 보였다(문 등, 1993).

Table 4. Effect of auxins with ethephon on leaf-drop ratio(July 12 ~ July 30) in 'Miyagawa Early' Satsuma mandarin(1995, Sogwipo) (unit : %)

Auxin	Ethephon(mg/ℓ)				
	0	10	20	40	80
Control	10.4	11.8	19.9	14.1	36.5
Ethychlozate 50mg/ℓ	7.0	11.0	11.0	7.0	28.0
3,5,6-TPA 15mg/ℓ	10.1	10.4	9.9	14.6	33.2
2,4-D 20mg/ℓ	0.0	7.8	6.4	8.4	35.9

\* Treated 53 days after full bloom(July 12), at fruit diameter of 23.6mm

결론적으로 ethephon에 3,5,6-TPA 혼합시는 낙과와 낙엽이 모두 증가되었으며, 2,4-D 혼합시는 낙과와 낙엽이 모두 감소된 반면 ethychlozate 혼합시는 낙과는 증가되었지만 ethephon에 의한 낙엽증가는 억제되었다.

시험2. Ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎에서의 에틸렌 발생 변화

표 5는 ethychlozate 50mg/ℓ와 ethephon 50mg/ℓ의 단용 또는 혼용처리가 낙과 및 낙엽에 미친 영향을 나타낸 것이다.

낙과율은 ethephon 살포에 의해서 증가되었으며 ethychlozate 가용으로 더욱 증가되었다. 그러나 낙엽율은 ethephon 살포에 의해서 대조구의 약 3.6배로 증가된 반면 ethychlozate 가용구의 낙엽율은 ethephon 단용구의 53% 정도로 경감되어 시험1의 결과, 그리고 기존의 보고(문 등, 1993;鈴木 등, 1990)와 같은 경향이였다.

Table 5. Effect of ethychlozate with and without ethephon on fruit-drop and leaf-drop ratio in 'Miyagawa Early' Satsuma mandarin (Cheju,1996)

Treatment <sup>z)</sup>	Fruit-drop ratio(%)	leaf-drop ratio(%)
	July 15-Aug. 12	July 15-Aug. 12
Control	55.8	6.8
Ethephon 50mg/ℓ	81.9	24.4
E + F <sup>y)</sup>	85.9	12.9
Ethychlozate 50mg/ℓ	50.5	9.5

z)Treated 44 days after full bloom, at fruit diameter of 20.7mm (July 15)

y)Ethephon 50mg/ℓ + ethychlozate 50mg/ℓ

표 6은 ethychlozate 50mg/ℓ 와 ethephon 50mg/ℓ 를 단용 및 혼용처리하여 과실에서의 에틸렌 발생량을 처리후 일자별로 조사한 것으로 대조구의 발생량을 100으로 한 상대수치로 나타내었다. 처리후 1일째에서는 혼용처리구나 대조구는 같은 수준에 있었고, ethychlozate 처리와 ethephon 처리구는 대조구에 비하여 40~67% 수준으로 오히려 에틸렌 발생을 억제시켜 2일째까지 지속되었다. 처리후 3일째에는 혼용구에서 급격히 에틸렌 발생량이 증가하여 4일째에서는 대조구에 비하여 약 14.3배의 에틸렌 발생량을 나타내다가 점차 감소하였으며 ethephon 단용구에서는 3일째부터 증가하여 4일째 최고치에 이르고 9일째는 급격히 감소하였다. 이러한 경향은 ethychlozate에서도 같은 경향을 나타내어 살포후 3일째까지는 큰 변동이 없다가 4일째는 모든 처리에서 최고치를 나타내다가 6일째부터 점차 감소하여 9일째에는 대조구에 비하여 큰 차이가 없었다.

Table 6. Changes in ethylene evolution by 'Miyagawa' Satsuma mandarin fruits as affected by the foliar application of ethychlozate and ethephon (1996, Cheju)

Treatment	Days after application					
	1	2	3	4	6	9
Control	100 <sup>y)</sup>	100	100	100	100	100
Ethephon 50mg/ℓ	67	65	143	1,356	1,152	130
E + F <sup>z)</sup>	103	69	223	1,428	706	153
Ethychlozate 50mg/ℓ	40	35	98	264	135	120

z) Ethephon 50mg/ℓ + Ethylchlozate 50mg/ℓ

y) Relative numerical value of the amount of ethylene production to that control

본 시험과 유사한 시험을 시행한 鈴木 등(1990)의 결과에서는 처리후 1, 3, 5, 7일 중 과실에서는 처리후 5일째 최고치를 나타내었다고 보고하였는데 본 시험 결과에서는 4일째 최고치를 나타내어 비슷한 경향치를 보였다. 또한 3일째와 4일째 ethephon과 ethychlozate 혼용구에서가 ethephon 단용구에서 보다 에틸렌 발생량이 많아 낙과율의 증가와 일치하였다.

Table 7. Changes in ethylene evolution of 'Miyagawa Wase' Satsuma mandarin leaves as affected by the foliar application of ethychlozate and ethephon (1996, Cheju)

Treatment	Days after application					
	1	2	3	4	6	9
Control	100 <sup>y)</sup>	100	100	100	100	100
Ethephon 50mg/ℓ	289	86	1,027	918	1,639	689
E + F <sup>z)</sup>	247	99	492	875	1,199	99
Ethychlozate 50mg/ℓ	90	51	160	114	326	61

z) Ethephon 50mg/ℓ + Ethylchlozate 50mg/ℓ

y) Relative numerical value of the amount of ethylene production to that control

표 7은 ethychlozate 50mg/ℓ 와 ethephon 50mg/ℓ 의 단용 및 혼용처리 시 잎의 에틸렌 발생량의 변화를 대조구의 발생량을 100으로한 상대치로 나타낸 것인데 처리후 1일째 ethychlozate와 ethephon의 혼용구, ethephon 단용구에서 대조구보다 2.5~2.9배 정도 많이 발생했으나 2일째는 오히려 감소경향을 나타냈다. 그리고 3일째부터 ethephon 단용구에서 급격히 증



가하였는데 혼용구에서는 훨씬 낮은 수치를 나타내었다. 6일째 및 9일째에서도 ethephon 처리구의 에틸렌 발생량이 다른 처리구보다 많았으며 조사 전 기간에서 2일째를 제외하고 9일째까지 대조구 및 타 처리구보다 에틸렌 발생량이 월등히 많았다.

표 6과 7의 결과에서 낙과율과 낙엽율이 가장 높은 처리에서 에틸렌 발생량이 최고치를 나타냈는데 이는 에틸렌 발생량과 낙과 및 낙엽율이 정적 상관관계를 갖는다고 보고한 Rasmussen(1980)의 결과와 같았다. 따라서 ethephon과 ethychlozate 혼합살포시 낙과율은 상가적으로 증가하지만 ethephon에 의한 낙엽의 경감효과는 과실과 잎에서의 에틸렌 발생량과 깊은 관계가 있는 것으로 생각되었다.



시험 3. Ethychlozat와 ethephon의 혼용처리시 과실과 잎의 이층부  
위에서 단백질 및 효소활성의 반응

그림 1은 처리후 3일째 과실의 이층부위에 있는 총 단백질의 band  
pattern으로 처리구는 대조구에 비해 밑에쪽 밴드하나가 없어졌으며 특  
히 ethychlozate 맨 위쪽 밴드도 하나 줄어들었다.

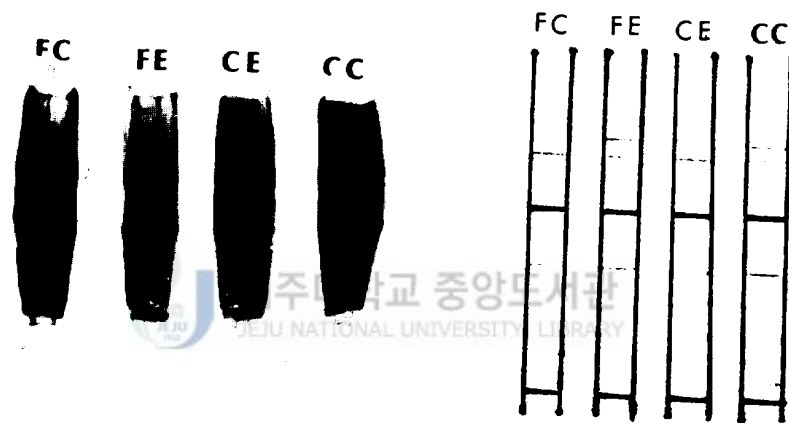


Fig. 1. SDS-PAGE patterns of total soluble proteins in the fruit abscission zone 3 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control, CE, ethephon 50mg/l, FE, ethychlozate 50mg/l+ethephon 50mg/l, FC, ethychlozate 50mg/l).

처리후 6일째 과실의 이층부위에 있는 총 단백질의 band pattern은 처리 후 3일째의 밴드양상과 다소 다르게 나타났다(그림 2). Ethychlozate 50mg/ℓ 단용구의 맨 위쪽 밴드가 위치가 바뀌어 나타나고 아래쪽에 하나가 더 생겼다. 그리고 ethephon 50mg/ℓ 과 ethychlozate 50mg/ℓ 의 단용 및 혼용구의 위쪽 밴드가 없어졌다. 특히 혼용구는 ethychlozate 단용구에서 생긴 band와 ethephon 단용구에서 생긴 band의 합으로 나타나 낙과율이 상가적으로 증가되는 경향과 관련이 있는 것으로 생각되었다.

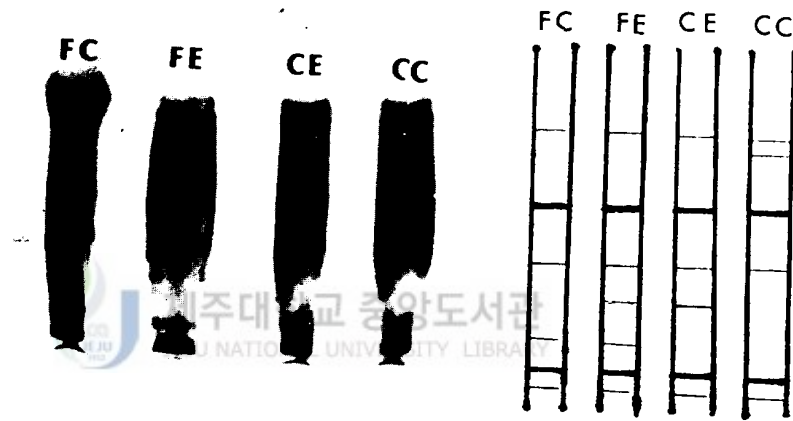


Fig. 2. SDS-PAGE patterns of total soluble proteins in the fruit abscission zone 6 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control, CE, ethephon 50mg/ℓ, FE, ethychlozate 50mg/ℓ + ethephon 50mg/ℓ, FC, ethychlozate 50mg/ℓ).

그림. 3은 처리후 3일째 잎의 이층부위에 있는 단백질의 band pattern인데 대조구에 비해 처리구의 밴드수가 적게 나타났으며 과실에서의 양상과는 약간 다르게 나타났다. ethychlozate 50mg/ℓ 과 ethephon 50mg/ℓ 의 난용 및 혼용구에서 가장 위쪽의 밴드가 없어졌다.

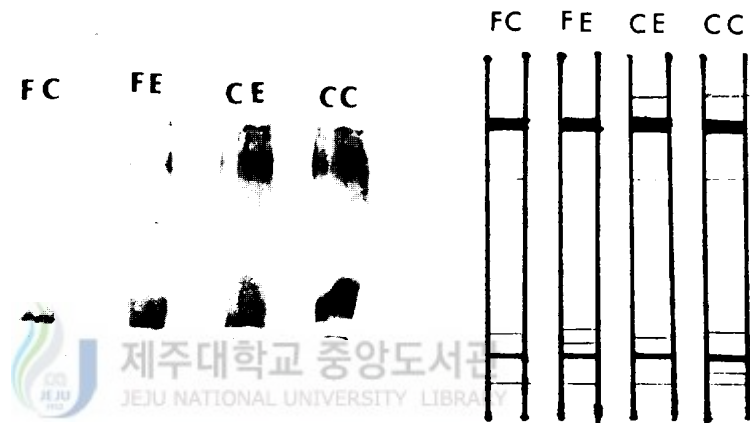


Fig. 3. SDS-PAGE patterns of total soluble proteins in the leaf abscission zone 3 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control, CE, ethephon 50mg/ℓ, FE, ethychlozate 50mg/ℓ + ethephon 50mg/ℓ, FC, ethychlozate 50mg/ℓ).

처리후 6일째 잎의 이층부위에 있는 단백질의 band pattern인데 처리후 3일째의 것과는 다른 양상을 보였다. Ethychlozat와 ethephon 혼용구이 단백질 조성은 두 약제 각각의 난용구 단백질 조성의 중간형태를 띠었다. 이는 낙엽율이 ethephon 난용구에서 가장 많고 혼용구는 각각의 난용구의 중간이었다는 것과 관련하여 추론해 보면 약제치리에 의한 단백질 조성의 변화와 낙엽과는 밀접한 관련이 있는 것으로 보였다.

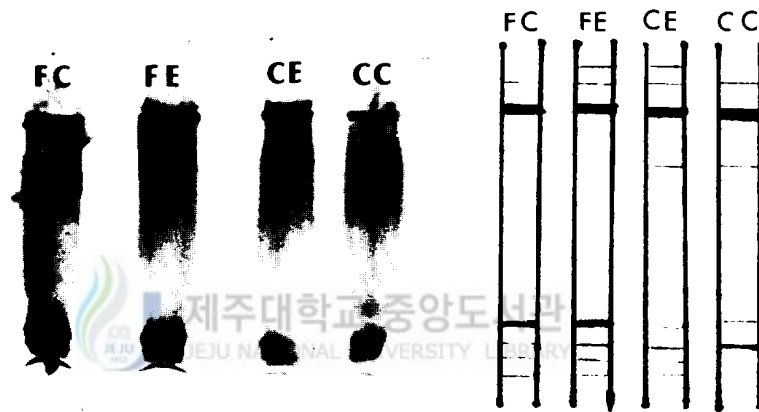


Fig. 4. SDS-PAGE patterns of total soluble proteins in the leaf abscission zone 6 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control, CE, ethephon 50mg/ℓ, FE, ethychlozate 50mg/ℓ + ethephon 50mg/ℓ, FC, ethychlozate 50mg/ℓ).

그림 5와 6은 과실과 잎의 이층부위 peroxidase의 동위효소를 IEF 전기영동에 의해 분석한 결과를 나타낸 것인데 처리간 차이를 뚜렷하게 확인 할 수는 없었다. ethephon 50mg/ℓ 단용처리구의 band가 짙게 나타났으나 처리간 차이를 뚜렷하게 확인할 수는 없었다. 과실과 잎의 이층부위간 차이점도 확인할 수는 없었으며 처리후 일수간의 차이점도 구분되지는 않았다.

그림 7은 처리후 3일째 과실의 이층부위에서 peroxidase의 활성을 측정 한 결과이다. Ethychlozate 50mg/ℓ와 ethephon 50mg/ℓ 혼용처리구의 효소활성이 상대적으로 가장 높게 나타났는데 이는 에틸렌 발생량과 유사한 경향이였다. 즉 낙과율이 가장높은 처리구에서 poeroxidase의 활성이 가장 높게 나타났으며 처리후 6일째에도 이와 비슷한 양상을 나타냈다. 이 결과는 이층형성시 에틸렌 발생량과 가수분해효소의 활성 그리고 낙과 발생율이 정의 상관관계를 갖는다는 보고(Rasmussen, 1980)와 일치하다.

잎의 이층부위에서 처리후 3일째 peroxidase의 활성을 측정한 결과는 과실의 이층부위에서와는 달리 etychlozate 50mg/ℓ, ethephon 50mg/ℓ의 혼용처리구보다 ethephon 50mg/ℓ의 단용처리구에서 효소의 활성치가 높았다(그림 8). 즉 낙엽율이 가장 높았고 또한 에틸렌 발생량이 가장 높은 처리구에서 peroxidase의 활성이 가장 높게 나타났는데 이층부위에서 낙엽이 되기 전에 peroxidase의 활성이 증가하였다고 보고한 Povaiah 등 (1973)의 결과를 반영하고 있다고 본다.

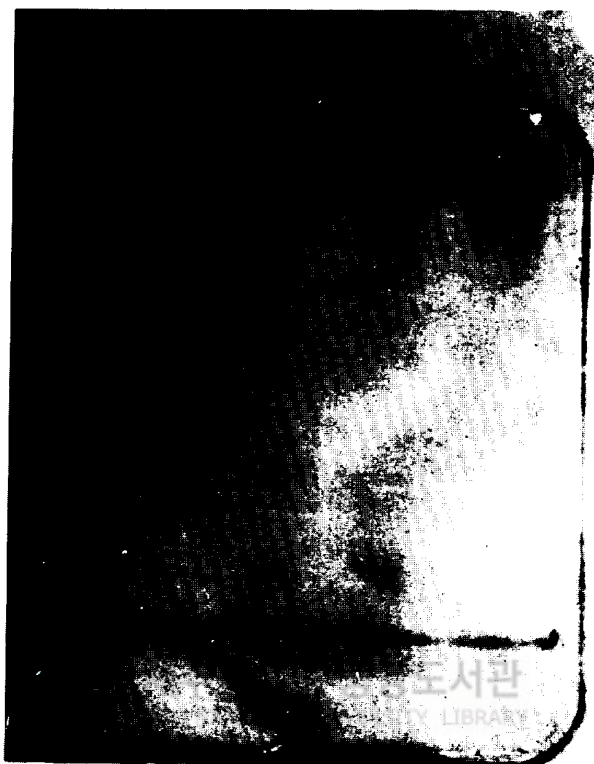


Fig. 5. Isozymes of peroxidase by IEF in the fruit abscission zone 3 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control; CE, ethephon 50mg/l, FE, ethychlozate 50mg/l + ethephon 50mg/l; FC, ethychlozate 50mg/l).



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 6. Isozymes of peroxidase by IEF in the leaf abscission zone 3 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control; CE, ethephon 50mg/ℓ, FE, ethychlozate 50mg/ℓ+ethephon 50mg/ℓ; FC, ethychlozate 50mg/ℓ).



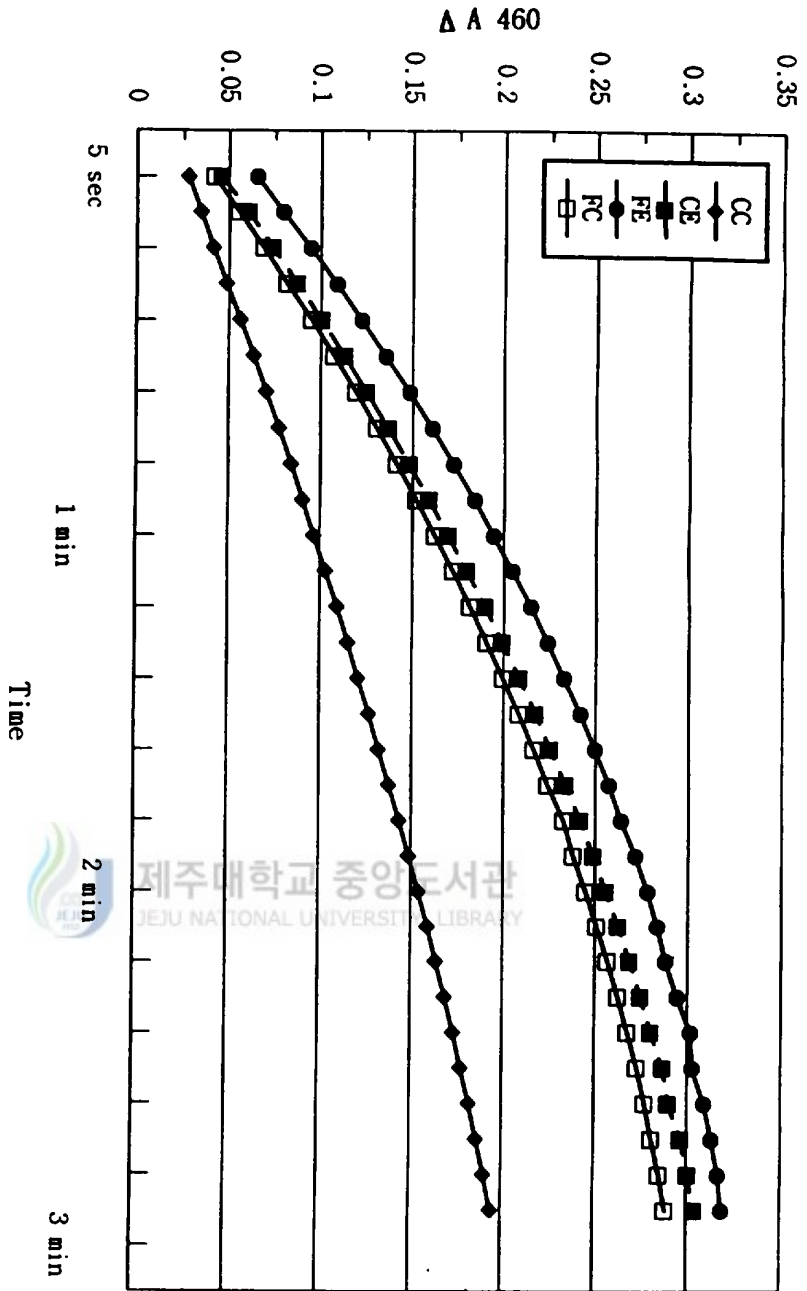


Fig. 7. Peroxidase activity in fruit abscission zone 3 days after treatment of ethychlozate and ethephon (CC, control; CE, ethephon 50mg/l; FE, ethychlozate 50mg/l+ethephon 50mg/l; FC, ethychlozate 50mg/l).

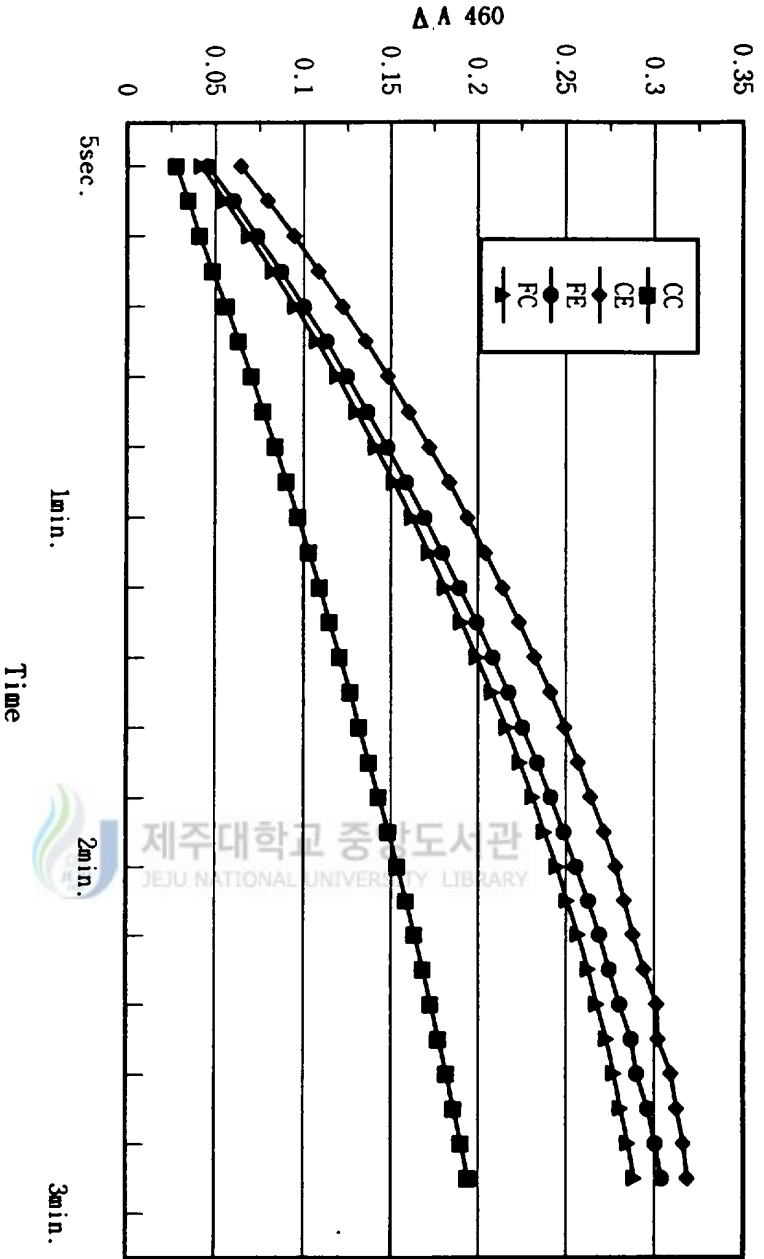


Fig. 8. Peroxidase activity in leaf abscission zone 3 days after treatment of ethychozate and ethephon (CC, control; CE, ethephon 50mg/l; FE, ethychozate 50mg/l+ethephon 50mg/l; FC, ethychozate 50mg/l).

그림 9와 10은 과실과 잎의 이층부위에 있는 cellulase의 동위효소를 등전점 전기영동으로 분석한 결과이다. 모든 처리구에서 pH 9와 4부근에서 각각 1개의 동위효소가 관찰되었다. 이층이 형성되기 전에는 산성의 cellulase만 검출되고 이층이 형성된 후에는 염기성 cellulase가 형성된다고 알려져 있는데(Lewis 등, 1972) 이시험에서 시료채취 기간은 잎과 과실 모두 탈리현상이 진행된 시기이므로 대조구에서도 2개의 동위효소가 모두 관찰된 것으로 생각된다.

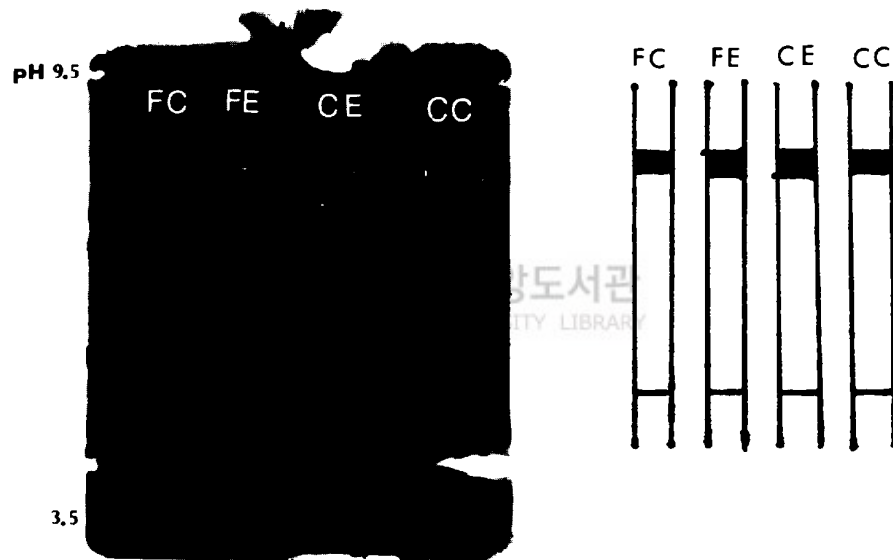


Fig. 9. Isozymes of cellulase by IEF in the fruit abscission zone 3 days after treatment of ethychlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control; CE, ethephon 50mg/ℓ, FE, ethychlozate 50mg/ℓ+ethephon 50mg/ℓ; FC, ethychlozate 50mg/ℓ).

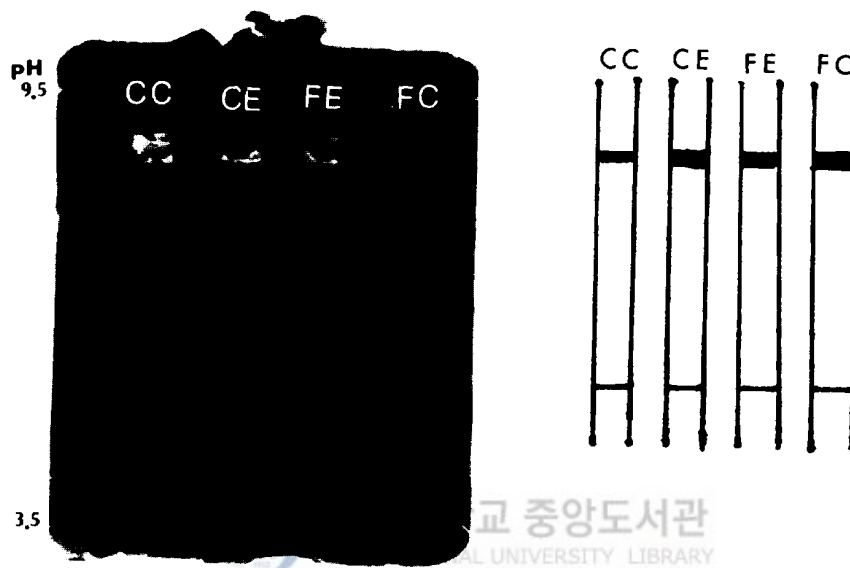


Fig. 10. Isozymes of cellulase by IEF in the leaf abscission zone 3 days after treatment of ethchlozate and ethephon in 'Miyagawa' satsuma mandarin (CC, control; CE, ethephon 50mg/l, FE, ethephon 50mg/l + ethchlozate 50mg/l; FC, ethchlozate 50mg/l).

표 8은 과실과 엽의 이층부위에서 처리후 3일과 6일째에 cellulase의 활성을 조사한 결과이다. 처리별로 비교해 보면 낙과율이 가장 높은 etychlozate 50mg/ℓ 와 ethephon 50mg/ℓ 혼용처리구의 효소활성이 상대적으로 가장 높게 나타났으며 처리후 일수에 따른 활성변화를 보면 대체적으로 3일째 보다 6일째에 활성이 더 높게 나타났다. 역시 앞에서의 효소활성 변화도 과실에서와 같은 양상을 나타냈는데 즉, 낙엽율이 가장 높은 ethephon 50mg/ℓ 의 단독처리구에서 효소활성이 가장 높게 나타났고 처리후 일수에 따른 활성변화도 6일째에 활성이 더 높게 나타났다.

Table 8. Effect of ethychlozate and ethephon on cellulase activity of <sup>z)</sup> fruit and leaf abscission zone in 'Miyagawa Early' Satsuma mandarin unit in CPS<sup>-1</sup>

	fruit abscission zone		leaf abscission zone	
	3 <sup>y)</sup>	6	3	6
Control	0.013986	0.014493	0.014363	0.014519
Ethephon 50mg/ℓ	0.015444	0.015414	0.016129	0.016842
E + F <sup>y)</sup>	0.015748	0.015748	0.015873	0.015905
Ethychlozate 50mg/ℓ	0.014898	0.015123	0.015296	0.015656

z)Cellulase activity was represented in terms of the reciprocal number of viscosity(CPS) of 1% CMC after incubation for 2.5hr with homogenate including cellulase.

x)Ethephon 50mg/ℓ +Ethychlozate 50mg/ℓ

y)Days after treatment

이 결과는 이층형성시 가수분해효소의 활성 그리고 낙과발생율이 정의 상관관계를 갖는다는 보고(Rasmussen, 1980)와 일치하다. 또한 Rasmussen(1973)은 Valencia orange(*Citrus sinensis* L. Osbeck)에

cycloheximide  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  처리 1일후에 이층부위의 조직에서 cellulase의 활성이 증가하였다고 하였으며 Kossuth와 Biggs(1977)도 release(pyrazle)와 ethephon처리후 cellulase의 활성이 증가하였다고 보고하였다.

이상에서 본 에틸렌 발생량, peroxidase 활성, cellulase 활성차이를 종합해 보면 모두 처리에 따른 낙과율 또는 낙엽율의 변화와 일치하고 있다. 따라서 ethychlozate와 ethephon 혼용살포시 과실에서는 에틸렌 발생량이 상대적으로 증가하여 세포벽 가수분해 효소의 활성을 증가시켜 낙과율이 증가되는 반면 잎에서는 ethephon에 의한 에틸렌 발생량 증가가 ethychlozate 혼용으로 감소됨에 따라 가수분해효소 활성증가도 감소되어 결국 낙엽이 경감되는 것으로 결론되었다.



## V. 적요

온주밀감에서 옥신류 ethychlozate와 ethephon의 단용시와 혼용처리시 낙과율과 낙엽율의 차이를 조사하고, ethychlozate와 ethephon의 혼용처리시 낙과와 낙엽 반응이 다른 이유를 알아보기 위하여 처리후 잎과 과실의 에틸렌 발생량 변화와 탈리층내 단백질 조성변화 및 효소활성을 측정 한 결과는 다음과 같다.

1. Ethephon에 3,5,6-TPA 혼합시는 낙과와 낙엽이 모두 증가되었으며, 2,4-D 혼합시는 모두 감소하였고 ethychlozate 혼합시는 낙과는 증가되었지만 ethephon에 의한 낙엽증가는 억제되었다.
2. 과실에서의 에틸렌 발생량은 낙과율이 가장 높은 ethychlozate ethephon의 혼용 처리구가 가장 높았고 처리후 4일째 최고치를 나타냈다.
3. 잎에서의 에틸렌 발생량은 낙엽율이 가장 높은 ethephon 단독처리구가 가장 높았고 처리후 3일째부터 급격히 증가하여 6일째 최고치를 나타냈다.
4. Ethychlozate와 ethephon의 혼용구에서 처리 3일 후 과실 이층부위의 단백질 조성은 단용구 단백질 조성의 합으로 나타난 반면 잎의 이층에서는 혼용구의 단백질 조성이 두 단용구 조성의 중간형태로 나타났다.



5. Ethychlozate와 ethephon 단용 또는 혼용처리 3일 후 과실과 잎이 이층부위 peroxidase 활성의 처리간 차이는 낙과 및 낙엽율의 처리간 차이와 일치하였으나 동위효소 조성은 처리효과가 없었다.
6. Cellulase의 활성과 동위효소 조성은 peroxidase의 그것과 일치하였다.
7. Ethychlozate와 ethephon 혼용시 낙과는 상가적으로 증가되는 반면 ethephon 에 의한 낙엽은 경감되는 이유는 과실과 잎에서의 에칠렌 발생량, 이층내 단백질 조성 및 가수분해효소 활성의 차이에서 비롯되는 것으로 추정되었다.



## VI. 참고문헌

1. Abeles, F. B. 1968. Abscission: role of RNA and protein synthesis. *Plant Physiol.* 43:1577-1586.
2. Abeles, F. B. 1969. Abscission: role of cellulase. *Plant Physiol.* 44:447-452.
3. Abeles, F.B. and G. R. Leather. 1971. Abscission control of cellulase secretion by ethylene. *Planta* 97:87-91.
4. Abeles, F.B., G. R. Leather, L.E. Forrence, and L.E. Craker. 1971. Abscission: regulation of senescence, protein synthesis and enzyme secretion by ethylene. *Hortscience* 6:371-376.
5. Agusti, M., V. Almela, M. Juan, E. Primo-Millo, I. Trenor, and S. Zaragoza. 1994. Effect of 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyacetic acid on fruit size and yield of 'Clausellina' mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Jour. Hort. Sci.* 69(2):219-223.
6. Beyer E. M. Jr. 1975. Abscission: The initial effect of ethylene is in the leaf blade. *Plant Physiol.* 55:322-327.
7. Bonghi, C., N. Rascio, A. Ramina and G. Casadoro. 1992. Cellulase and polygalacturonase involvement in the abscission of leaf and fruit explants of peach. *Plant Molecular biology.* 20:839-848.
8. Chapman J. C. 1984. Ethephon as a fruit thinning agent for 'Murcott' mandarins. *Scientia Horticulturae.* 24:135-141.
9. 제주통계연보. 1995. 제주도. 35:126-127.
10. Einset, J. W., A. Cheng, and H. Elhag. 1980. Citrus tissue culture: regulation of stylar abscission in excised pistils. *Can. J. Bot.* 58:1257-1261.

11. Esen, A. and R.K. soost. 1976. Peroxidase polymorphism in *Citrus*.  
J. Hered. 67:199-203.
12. Gahagan H. E., R. E. Holm, and F. B. Abeles. 1968. *Physiologia Plantarum*. 21:1270-1279.
13. Gonz'alez A., R. S. Tam'es, and R. Rodriguez. 1991. Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons. *Physiologia Plantarum*. 83:611-620.
14. Guardiola J. L., V. Almela and M. T. Barres. 1988. Dual effect of auxins on fruit growth in satsuma mandarin. *Scientia Horticulturae*. 34:229-237.
15. 한해룡. 1985. Ethychlozate가 온주밀감의 낙과와 과실품질 및 수체에 미치는 영향. 충남대학교대학원 박사학위논문. p.1-28.
16. 한해룡. 문두길. 1983. Figaron 撒布時期가 温州蜜柑의 摘果와 果實成熟 및 品質에 미치는 影響. 濟州大學論文集. 15:35-43.
17. Henry E. W., J. G. Valdovinos, and T. E. Jensen. 1974. Peroxidases in tobacco abscission zone tissue; II. Time course studies of peroxidase activity during ethylene-induced abscission. *Plant Physiol*. 54:192-196.
18. 廣瀨和榮, 1982. 農業技術大系(果樹編)1-1. ガンギツルイ農文協. 東京. pp. 76-79.
19. 岩垣功, 廣瀨和榮, 鈴木邦彦. 1977. ウンシュミカンにおけるJ-45の摘果效果に及ぼす温度の影響. 農業及園藝. 52(12):1527-1528.
20. 김광식, 예병우. 1981. 감귤원 생력화 재배에 관한 연구. 농촌진흥청 제주시험장. 시험연구보고서. p:223-238.
21. 김영용. 1982. J-45처리가 온주밀감의 적과, 품질 및 저장성에 미치는 영향. 제주교육대논문집. 12:211-220.

22. Kossuth S. V. and R. H. Biggs. 1977. Fruit removal force, cellulase, and ethylene production in release and ethphon-treated oranges. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102(5):609-612.
23. Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685.
24. Lewis, L. N., F. T. Lew, P.D. Reid, and J. E. Barnes. 1972. Isozyme of cellulase in the abscission zone of *Phaseolous vulgaris*. In: D. J. Carr, ed. Plant Growth Substances, 1970. Springer-Verlag, Berlin. pp.234-239.
25. Lewis, L. N. and J. E. Varner. 1970. Synthesis of cellulase during abscission of *Phaseolous vulgaris* leaf explants. Plant Physiol. 46:194-199.
26. Lima J. E. O. and F. S. Davies. 1984 Ethylene, Cellulase, 2,4-D, and summer fruit drop of navel orange in florida. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109(1):100-104.
27. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
28. Marilyn C. Marynick. 1977. Patterns of ethylene and carbon dioxide evolution during cotton explant abscission. Plant Physiol. 59:484-489.
29. 문두길. 1976. 温州蜜柑에 있어서 NAA 摘果效果에 關與하는 樹體條件. 제주대학 논문집 8:89-95.
30. 문두길, 고강호, 한해룡. 1993. 휘가론과 에스렐 엽면살포가 온주밀감 과실의 낙과 및 과실 품질에 미치는 영향. 제주대학교아열대농업연구소. 1:7-27.

31. Otto L. Jahn. 1981. Effects of Ethephon, Gibberellin, and BA on fruiting of 'Dandy' Tangerines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106(5):597-600.
32. Pharmacia. 1994. Phastsystem Owner's Manual. Pharmacia AB, Uppsala, Sweden.
33. Pomery, C. S. and W. W. Aldrich. 1943. Set fo citrus fruits in relation to applications of certain growth substance. *Proc. Agri. Soc.* 42:146-148.
34. Poovaiah, B. W., H. P. Rasmussen. 1973. Peroxidase activity in the abscission zone of bean leaves during abscission. *Plant Physiol.* 52:263-267.
35. Rasmussen G. K. 1980. Relative evvectiveness of dilute and concentrated abscission-chemical sprays in loosing 'Valencia' oranges from trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:145-147.
36. Rasmussen G. K. 1973. Changes in dellulase and pectinase activities in fruit tissues and separation zones of citrus treated with cycloheximide. *Plant Physiol.* 51:626-628.
37. Reid M.S. 1985. Ethylene and abscission. *Hortscience* 20:45-50.
38. Reid P. D., H. G. Strong, F. Lew, and L. N. Lewis. 1974. Cellulase and abscission in the red kidney bean(*Phaseolus vulgaris*). *Plant Physiol.* 53:732-737.
39. Sagee O., R. Goren, and J. Riov. 1980. Abscission of Citrus leaf explants. *Plant Physiol.* 66:750-753.
40. Salisbury F. B. and C. W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. Wadsworth Belmont Cal. pp. 393~407.

41. 손기철, 변혜진, 임정현. 1995. Methionine, Ethionine, DNP가 카네이션 'Virginia'의 노화시 내생 폴리아민 및 ACC 함량, Lipoxygenase와 EFE활성, 그리고 Ethylene생성량에 미치는 영향. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 36(5):730-739.
- 42.鈴木邦彦. 1977. ウンシュウミカン用摘果に関する最近の研究. 農業および園藝. 第52巻 第12号 p. 1459-1464.
- 43.鈴木邦彦,河瀬憲次,平井康市. 1990. ウンシュウミカン用摘果エチワロセートに対するエテホン加用が摘果効果及び落果た及びその影響. 果樹試報. 17:45-54.
- 44.鈴木邦彦,廣瀬和榮,土井正規. 1977. ウンシュウミカンの新葉率の違いによるJ-45の摘果効果及び果實の品質について. 日本果樹試興津年報(育,栽,貯,加). 4:34-35.
45. Yamauchi D. and Takao M. 1986. In vivo Studies on Protein Synthesis in Developing Seeds of *Canavalia gladiata* D.C. Plant and Cell Physiol. 27(6):1033-1041.
46. Yang S. F. and N. E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 35:155-189.
47. 예병우, 문덕영. 1980. 감귤원의 생력화 재배에 관한 연구. 농촌진흥청 제주시험장 시험연구보고서. p:126-130.

## 감사의 글

우선 본 논문의 연구수행을 위하여 연구비를 지원하여 주신 아열대원에 산업연구센터에 깊은 감사를 드립니다.

본 논문이 완성되기까지 아낌없는 지도와 격려를 하여주신 문두길 지도 교수님께 감사드리며 바쁘신 가운데에도 세심하게 논문을 바로잡아주신 백자훈 교수님, 장전익 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 평소 가르침을 주시고 이끌어 주신 한애봉 교수님, 박용봉 교수님, 소인섭 교수님, 강훈 교수님께 감사드립니다.

본 연구를 수행하는 동안 많은 도움을 주신 최영훈 연구사님께도 감사드립니다. 그리고 현우택, 임상우 조교선생님, 대학원 선배님들과 동기님들, 상엽이 형, 현우 영매도 감사드리며 봉수와 원예학과 학형들께도 고맙다는 말 전합니다.

그동안 많은 위로와 격려를 아끼지 않은 수미, 그리고 경옥이형, 영준이형, 정준이 등 '91학번들과 '원앙회' 여러분들께 감사드리며 끝으로 늘 염려해 주시며 뒷바라지 해주시고 언제나 힘이 되어주신 아버님, 어머님, 형님·영수님들과 매형·누님들, 동생, 조카들에게 진심으로 감사드리며 이 작은 결실을 전합니다.