

## Abscisic acid의 처리농도가 포도 '거봉'의 착색에 미치는 영향

한 동현\*

고려대학교 생명산업과학부

Received April 8, 2005 / Accepted April 18, 2005

**Influence of Exogenous Abscisic Acid Concentration on the Coloration of 'Kyoho' Grapes.** Dong-Hyeon Han\*. Division of Bioscience and Technology, Korea University, Seoul 136-701, Korea – This experiment was carried to investigate the optimum concentration of abscisic acid (ABA) treatment for enhancing fruit coloration of 'Kyoho' grapes. Cluster and berry weights showed a tendency that increased in proportion to concentration of ABA treatment, but were not significant in all treatments. Also, soluble solids and titratable acidity were not significant during fruit development in all treatments. L-phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity showed a tendency that decreased after rapidly increased in all treatments, and was the highest in 1000 mg/l ABA treatment at final harvest. Anthocyanin and total phenolics contents were high in proportion to ABA treatment concentration, and anthocyanin content in 1000 mg/l ABA treatment was 2.5 folds of that in control. Fructose and glucose as soluble sugars were detected, but sucrose was not detected. Both fructose and glucose contents increased during fruit development, but showed little difference in all treatments.

**Key words** – veraison, PAL enzyme activity, anthocyanin

성숙기에 놓여진 포도 과실은 급격한 당의 축적, 유기산의 감소 등의 과즙성분의 변화와 더불어 각각 품종 고유의 색을 드러내게 된다. 포도의 착색은 과피 조직내 안토시아닌의 축적에 의해서 일어나는 현상으로 과실 성숙을 나타내는 지표로 이용된다. 그렇지만 포도 과실의 안토시아닌 발현은 환경적, 재배적 요인 및 식물생장조절제에 의해서 현저한 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 과피 조직내의 안토시아닌 색소의 축적을 조장하여 품질을 향상시키려는 노력은 이에 영향을 미치는 환경인자, 관련효소 및 식물생장조절물질에 초점이 맞춰져 연구가 이루어져 왔다[6,8,12,13,17,18].

환경 요인 중 온도의 영향에 관해서는 많은 보고[12,13]가 있으나, 안토시아닌 발현은 식물체의 온도환경에 의한 것보다도 오히려 과실 주변부의 온도환경이 더 큰 영향을 미치는 것으로 보고[14,15]되고 있다. 온도 외에도 광도[1], 질소시비량과 미량요소[4] 등이 안토시아닌 발현과 직접적인 관계가 있으며, 이러한 여러 요인에 의해 포도 과실의 과피 조직 중 abscisic acid (ABA) 수준에 변화가 일어나고, 그 변화가 안토시아닌 생합성에 관련된 효소계에 영향을 미침으로써 안토시아닌 생합성을 제어하는 것으로 보인다.

따라서 과실내 ABA 수준을 높여준다면 안토시아닌의 생합성이 촉진되리란 것에 초점을 맞춰 포도의 안토시아닌 발현을 촉진시키기 위해 ABA를 처리하여 착색을 증진시키려는 연구가 활발히 진행되어 왔다. Coombe와 Hale[5]은 포도가 성숙되면서 ABA가 증가하는 것을 관찰하고 성숙의 개시

와 성숙 정도는 ABA와 관련이 있다고 하였다. Kataoka 등 [9]은 포도 'Muscat of Alexandria', '거봉' 및 'Super Hamburg'에서 PAL 활성의 변화를 조사하여 '거봉'과 'Super Hamburg'에서는 과실의 성숙개시와 함께 점차적으로 증가하였고, 'Super Hamburg'는 더 높은 안토시아닌 함량과 L-phenylalanine ammonia-lyase (PAL) 활성을 나타냈다고 하였으며, ABA는 각 품종에서 성숙의 초기 단계에 빠르게 축적되었고 상당히 높은 수준을 유지하였다고 보고하였다.

따라서 본 실험은 포도 '거봉'을 공시재료로 하여 ABA의 처리농도가 착색에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고, 착색 촉진을 위한 ABA의 적정 처리농도를 구명하고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 공시재료 선정 및 ABA 처리방법

본 실험은 경기도 안성군에 소재한 개인농장에 재식되어 있는 10년생 포도 '거봉'을 공시재료로 하여 실시하였다. ABA 처리를 하기 전, 결과지당 2송이만 남기고 그 외의 송이는 속아낸 다음 그 중 1송이만을 실험에 이용하였으며, 덧 송이를 제거하고, 상단의 지경과 수축의 끝부분도 절단하여 약 8 cm가 되도록 한 다음 만개 후 20일경 착립이 안정되었다고 판단하여 각 실험 과방을 40㎠으로 적립하였다. 실험구는 1과방을 1반복으로 하여 4반복을 두었으며, 변색기 (8월 5일)에 ABA 0, 100, 500, 1000 mg/l 용액에 과방을 침지처리하였다. ABA 용액 처리 후 10일 간격으로 수확하여 과방중량, 과립중량, 가용성고형물, 적정산, PAL 활성, 안토시아닌, 전페놀 함량과 HPLC를 이용하여 가용성당의 경시적인 변화를 측정하였다.

\*Corresponding author

Tel : +82-2-3290-3484, Fax : +82-2-921-2891  
E-mail : dr-handh@hanmail.net

### 과방중량과 과립중량

과방중량은 전자저울을 이용하여 과방 1개의 무게를 g 단위로 측정하였으며, 과립중량은 과방 중간부위에 있는 과립 8개를 무작위로 선택하여 각 과립의 무게를 측정한 후 평균값을 구하였다.

### 가용성고형물 및 적정산

가용성고형물은 과즙을 굴절당도계로 측정하였고, 적정산은 과즙 10 ml를 0.05 N NaOH로 적정하여 사용된 NaOH의 양을 % tartaric acid 함량으로 환산하여 표시하였다.

### PAL 효소 활성

PAL 활성은 Camm과 Towers의 방법[3]에 따라 4°C의 저온실에서 유발에 과피 0.5 g을 넣고 borate buffer 5 ml (20 mM 2-mercaptoethanol과 0.5 g polyvinylpyrrolidone 함유)를 가하여 곱게 마쇄한 후 4°C에서 20분간 20,000 g에서 원심분리한 다음 상동액 0.8 ml를 취하여 test용에는 상동액 0.4 ml, L-phenylalanine 0.8 ml와 buffer 1.2 ml를, reference용에는 상동액 0.4 ml, D-phenylalanine 0.8 ml와 buffer 1.2 ml를 가하고, 40°C shaking incubator에서 2시간 반응시켰다. 그 다음 6 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 중지시키고, buffer를 blank로 하여 각각의 test용과 reference용 반응액의 흡광도를 분광광도계로 측정한 후 test용에서 reference용의 흡광도를 뺀 흡광도를 trans-cinnamic acid의 양으로 환산하여 정량한 다음 시료 g당 1시간 동안 생성된 trans-cinnamic acid의 μmole 수로 표시하였다.

### 안토시아닌

과피 1 g을 채취하여 1% HCl-methanol을 10 ml를 가하고 4°C의 암소에서 12시간 동안 진동추출 후 10,000 rpm으로 5분 동안 원심분리를 하여 그 상동액을 취한 다음 1% HCl-methanol로 적절히 회석하여 분광광도계로 530 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

### 전페놀 함량

전페놀 함량은 Budini 등의 방법[2]을 따랐는데, 과피 1 g을

채취하여 homogenizer를 이용하여 균질화한 후 2M HCl 10 ml를 즉시 부가하여 산화를 방지하고 95°C에서 30분간 온탕 추출하였다. 추출 후 식힌 다음 여과지로 여과하였으며 (Whatman No. 2), 여과한 추출액의 최종 부피가 500 ml가 될 때까지 증류수를 계속 부가하면서 찌꺼기 중에 잔류되어 있는 폐놀이 없도록 하였다. 그 후 3 ml를 취하여 0.008 M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 200 μl와 0.1 M FeCl<sub>3</sub>-0.1 M HCl 200 μl를 부가하여 5분간 반응시킨 후 700 nm에서의 흡광도를 측정하고, 이 흡광도를 epi-catechine의 양으로 환산하였다.

### 가용성당 함량

가용성당의 분석은 과육 5 g에 증류수 20 ml를 넣어 homogenizer로 마쇄한 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상동액을 취한 다음 Sep-Pak plus C<sub>18</sub> cartridge로 정제하고, 다시 0.45 μm millipore filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였는데, column으로는 carbohydrate analysis column (3.9×300 mm), detector로는 RI detector, eluent로는 80% acetonitrile, flow rate는 1.5 ml/min의 분석조건으로 수행하였다[19].

### 결과 및 고찰

10년생 포도 '거봉'을 공시재료로 변색기인 8월 5일에 ABA 0, 100, 500, 1000 mg/l 용액을 침지처리하여 ABA 처리농도에 따른 과실의 생장 및 성분변화를 조사한 결과, 과방중량과 과립중량은 농도가 높아짐에 따라 약간 증가하는 경향을 나타내었으나 그 증가폭은 극히 미미하였고, 유의차가 인정되지 않았다(Table 1).

이는 ABA가 성숙을 촉진하는 작용을 하기는 하나 auxin, gibberellic acid 또는 cytokinin류 등과는 달리 세포분열이나 세포비대생장을 자극하지 못하기 때문에 과방중량과 과립중량에 큰 영향을 미치지 못한 것으로 생각되었다.

가용성 고형물과 적정산 함량은 생장기간 내내 처리간에 유의차가 인정되지 않았다(Table 2).

이러한 결과는 Lee 등[16]이 포도 'Campbell Early'와 'Black Olympia'에 ABA를 처리하였을 때 가용성 고형물과 적정산

Table 1. Effects of ABA concentration on seasonal changes of cluster and berry weights in 'Kyoho' grape

Treatments (mg/l)	Cluster weight (g)				Berry weight (g)			
	Aug. 5 <sup>z</sup>	Aug. 15	Aug. 25	Sep. 4	Aug. 5	Aug. 15	Aug. 25	Sep. 4
Control	246	275NS <sup>y</sup>	302NS	327NS	6.6	7.0b <sup>x</sup>	7.6NS	8.1NS
ABA 100	246	281	307	335	6.6	7.3a	7.7	8.2
ABA 500	246	286	305	344	6.6	7.4a	7.8	8.4
ABA 1000	246	285	312	343	6.6	7.3a	8.0	8.4

<sup>z</sup>Sampling date

<sup>y</sup>Not significance

<sup>x</sup>Mean separation within treatments of same sampling date by Duncan's multiple range test, 5% level. Different alphabets mean that there is significance within treatments of same sampling date.

Table 2. Effects of different ABA concentrations on seasonal changes of soluble solids and titratable acidity in 'Kyoho' grape

Treatments (mg/l)	Soluble solids (°Bx)				Titratable acidity (%)			
	Aug. 5 <sup>z</sup>	Aug. 15	Aug. 25	Sep. 4	Aug. 5	Aug. 15	Aug. 25	Sep. 4
Control	9.2	13.4NS <sup>y</sup>	15.2NS	16.8a <sup>x</sup>	0.26	0.14NS	0.10NS	0.09NS
ABA 100	9.2	13.7	15.4	16.5a	0.26	0.13	0.11	0.09
ABA 500	9.2	13.5	15.2	16.2b	0.26	0.14	0.10	0.08
ABA 1000	9.2	13.7	15.5	16.6a	0.26	0.12	0.09	0.08

<sup>z</sup>Sampling date<sup>y</sup>Not significance

<sup>x</sup>Mean separation within treatments of same sampling date by Duncan's multiple range test, 5% level. Different alphabets mean that there is significance within treatments of same sampling date.

함량에 차이가 없었다는 보고와 일치하는 것으로, 많은 연구 결과들이 ABA의 처리는 과즙내 가용성 고형물이나 적정산 함량에는 거의 영향을 미치지 않고 성숙을 촉진하는 것으로 보고하고 있다[5,8].

PAL 효소의 활성을 각 처리구 공히 처리후 급속히 증가하다가 감소하는 경향을 보였는데, ABA 처리농도가 높으면 높을수록 증감의 폭은 더욱 커졌다. 또한 처리농도가 높을수록 효소의 활성도 높았으며, 최종수확기에 가서도 다른 처리구에 비해 높은 수준을 유지하였다(Fig. 1).

PAL 효소는 페놀화합물 생합성 첫 단계인 phenylalanine 이 *trans-cinnamic acid*로 전환되는 과정을 촉매하는 효소로서 성숙과정 중 생성되는 페놀화합물의 합성에 있어서 매우 중요한 역할을 한다[20]. 특히 포도 과실의 착색을 좌우하는 안토시아닌 역시 페놀화합물의 한 부류로 안토시아닌 색소 축적의 정도가 성숙의 지표로 이용되기도 한다. 따라서 성숙과 관련하여 촉진적 역할을 하는 ABA의 외생적 처리는 PAL 효소의 활성을 증가시키며, ABA 처리농도가 높아짐에 따라 효소의 활성도 증가되는 것으로 보고되고 있다[9].

안토시아닌 함량은 모든 처리구에서 생육기간 동안 계속 증가하는 경향을 보였고, ABA 처리농도가 높아짐에 따라 더 높은 함량을 나타내었는데, 특히 ABA 1000 mg/l 처리구는 최종수확기에 무처리구에 비해 2.5배 이상의 함량을 나타내었다(Fig. 2).

착색 포도품종의 주요한 색소인 안토시아닌은 shikimic acid pathway에서 유래한 flavonoid 화합물이다. 포도 과피 내 안토시아닌의 축적의 정도는 과실의 품질을 판단하는 기준이 되는데, 안토시아닌의 생합성 과정에는 여러 가지 환경적, 생리적, 생화학적 요인에 의해 조절된다. 특히 내생 ABA는 안토시아닌 생합성과 관련된 식물생장조절물질로서 안토시아닌이 합성되어 축적되는 과피 조직의 내생 ABA 수준에 의해 그 합성되는 양에 있어서 큰 차이를 나타낸다. 이러한 이유로 해서 인위적으로 ABA를 외부에서 처리하여 줄으로써 안토시아닌의 함량을 증가시키려는 노력이 진행되고 있는데, 적절한 시기에 적절한 농도의 처리는 그 노력의 주안점이 되어 왔다. 적절한 농도는 ABA에 대한 품종의 감수성

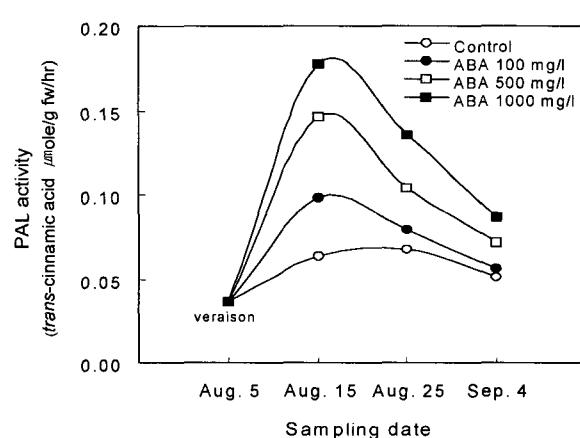


Fig. 1. Effects of ABA concentration on seasonal changes of PAL activity in 'Kyoho' grape.

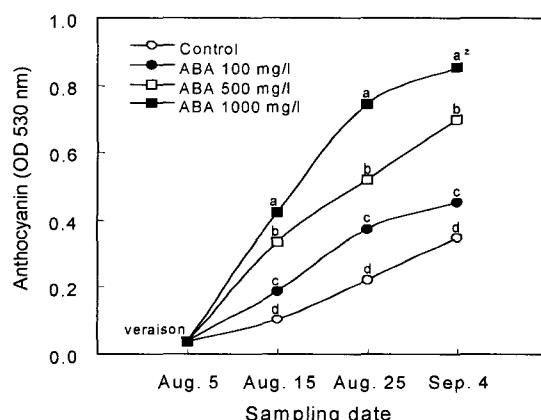


Fig. 2. Effects of ABA concentration on seasonal changes of anthocyanin in 'Kyoho' grape.

<sup>z</sup>Mean separation within treatments of same sampling date by Duncan's multiple range test, 5% level. Different alphabets mean that there is significance within treatments of same sampling date.

에 따라 차이를 보이는데, 일반적으로 ABA의 처리농도가 높아질수록 안토시아닌의 생성량은 많아지지만 지나친 고농도의 처리는 경제성이라는 측면에서도 문제가 되므로, 포도

'거봉'에 있어서는 1000 mg/l 정도의 농도가 적절한 것으로 판단되고 있다[8].

과피의 전페놀 함량은 안토시아닌 함량과 마찬가지로 모든 처리구에서 생육기간 내내 증가하는 경향을 나타내었고, ABA의 처리농도가 높아짐에 따라 더 높은 함량을 나타내었다(Fig. 3).

전페놀 함량의 증가는 PAL 효소의 활성과 안토시아닌 함량 증가와 관련하여 생각할 수 있는데, Kataoka 등[9]은 '거봉'과 'Super Hamburg' 포도 품종에서 성숙과 함께 PAL 효소 활성이 증가하였고, 'Super Hamburg'는 '거봉'에 비해 더 높은 효소 활성을 나타내어 더 많은 안토시아닌 함량과 전페놀 함량을 보였다고 했으며, Budini 등[2]은 전페놀 함량의 증가는 안토시아닌 색소의 증가에 의한 것이고, 안토시아닌을 제외한 폐놀 함량은 성숙과 함께 감소한다고 하였다. 또한 Kataoka 등[8]은 처리한 ABA의 농도가 증가함에 따라 과피중 전페놀 함량이 증가하였다고 하여 본 실험과 일치된 결과를 보고한 바 있다.

HPLC를 이용하여 가용성당 함량을 분석한 결과, 과당과 포도당만이 검출되었으며, 자당은 전혀 검출되지 않았다. 과당과 포도당 함량 역시 변색기 이후 계속 증가하는 경향을 보였으며, 처리간에 유의성 있는 차이는 보이지 않았다(Figs. 4, 5).

Kliewer[10,11]는 포도 'Tompson Seedless' 과실의 생육과정을 유과기, 성숙의 진행기, 성숙의 완성기, 과숙기의 4단계로 나누어 수확한 다음 당함량을 paper chromatography를 이용하여 분리정량한 결과, 유과기에서는 포도당이 과당보다 2배 정도의 함량을 나타내었고, 성숙의 진행기에서는 포도당이 과당보다 조금 많기는 하지만 거의 비슷한 함량을 나타내고, 3단계인 성숙의 완성기에서는 과당이 포도당보다 조금 많아지며, 과숙의 단계에서는 포도당보다는 과당 함량이 점차 많아지게 된다고 하였다. 또한 Hardy[7]는 포도 'Tompson Seedless'에 있어서 자당이 주요 전이당 이지만 과실내에는 과당과 포도당이 발견되는데, 이는 전이당인 sucrose가 sucrose synthetase 반응의 역반응에 의하여 분해되어 UDP-glucose와 fructose가 생성되기 때문이며, 과실의 발육 초기에는 포도당이 과당보다 5배 이상의 함량을 나타내지만 성숙의 시점에서는 거의 비슷한 수준의 함량을 나타낸다고 하였다. 따라서 본 실험에서도 성숙의 시점에서 과당과 포도당의 함량이 거의 비슷한 수준으로 성숙이 진행되는 동안 계속 증가하여, 기존의 연구 결과와 일치하는 결과를 보였다.

이상의 결과로부터 ABA의 처리는 '거봉' 포도의 착색 촉진에 상당한 효과가 있으며, 처리농도가 높아짐에 따라 더 나은 효과를 보여 ABA의 가격을 고려한 실제 농가에서 실효성 있는 ABA의 적절한 처리 농도는 1000 mg/l인 것으로 결론내릴 수 있었다.

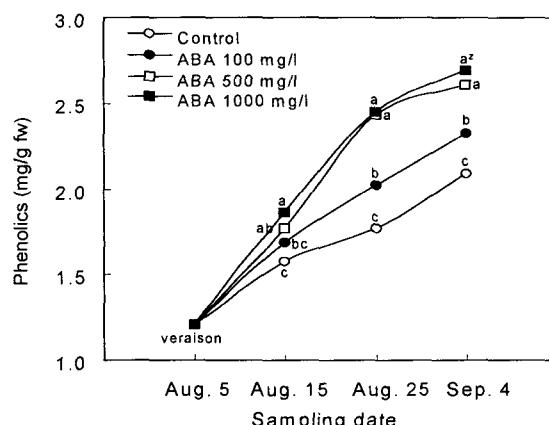


Fig. 3. Effects of ABA concentration on seasonal changes of phenolics in 'Kyoho' grape.

<sup>a</sup>Mean separation within treatments of same sampling date by Duncan's multiple range test, 5% level. Different alphabets mean that there is significance within treatments of same sampling date.

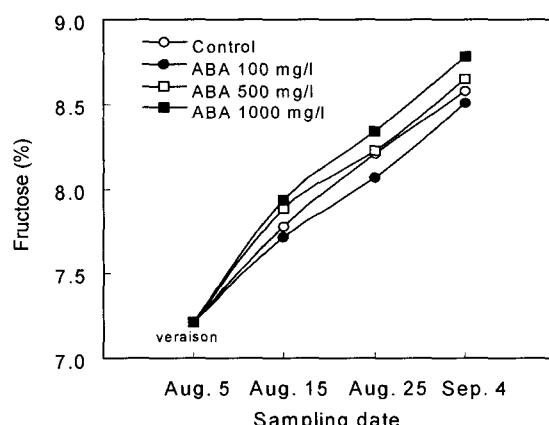


Fig. 4. Effects of ABA concentration on seasonal changes of fructose in 'Kyoho' grape.

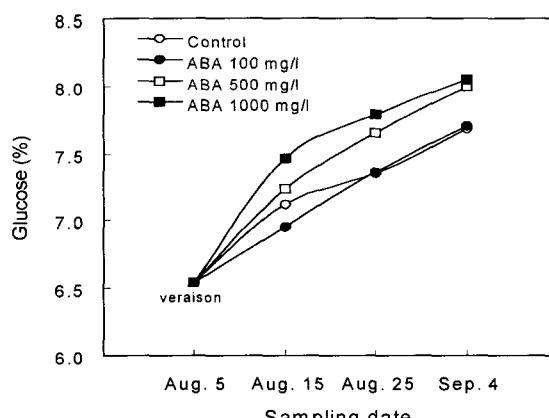


Fig. 5. Effects of ABA concentration on seasonal changes of glucose in 'Kyoho' grape.

## 요 약

본 실험은 착색 불안정 때문에 재배적 어려움이 있는 '거봉' 포도를 이용하여 변색기에 ABA를 농도별로 처리하여 봄으로써 착색증진을 위한 최적의 처리 농도를 구명하고자 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다. ABA의 처리 농도에 따라 과방중량과 과립중량은 약간 증가하는 경향을 나타내었으나, 유의차가 인정되지 않았다. 가용성 고형물과 적정산 함량 역시 생장기간 내내 처리구간에 유의차가 인정되지 않았다. PAL 효소의 활성은 각 처리구 공히 처리후 급속히 증가하다가 감소하는 경향을 보였는데, ABA 처리농도가 높으면 높을수록 증감의 폭은 더욱 커졌다. 또한 처리농도가 높을수록 최종수확기에 가서도 다른 처리구에 비해 높은 수준을 유지하였다. 안토시아닌 함량은 모든 처리구에서 생육기간 동안 계속 증가하는 경향을 보였고, ABA 처리농도가 높아짐에 따라 더 높은 함량을 나타내었는데, 특히 ABA 1000 mg/L 처리구는 최종수확기에 무처리구에 비해 2.5배 이상의 함량을 나타내었다. 과피의 전폐놀 함량은 안토시아닌 함량과 마찬가지로 모든 처리구에서 생육기간 내내 증가하는 경향을 나타내었고, ABA의 처리농도가 높아짐에 따라 더 높은 함량을 나타내었다. 가용성당 함량은 과당과 포도당만이 검출되었으며, 자당은 전혀 검출되지 않았다. 과당과 포도당 함량 역시 변색기 이후 계속 증가하는 경향을 보였으며, 처리구간에 큰 차이는 보이지 않았다.

주요어: 변색기, PAL 효소 활성, 안토시아닌

## 참 고 문 헌

- Arakawa, O. 1988. Photoregulation of anthocyanin synthesis in apple fruit under UV-B and red light. *Plant Cell Physiol.* **29**, 1385-1389.
- Budini, R., D. Tonelli and S. Girotti. 1980. Analysis of total phenols using the prussian blue method. *J. Agric. Food. Chem.* **28**, 1236-1238.
- Camm, E. L. and G. H. Neil Towers. 1973. Phenylalanine ammonia-lyase. *Phytochem.* **12**, 961-973.
- Chandler, S. F. and J. H. Dodds. 1983. The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasodine in callus cultures of *Solanum laciniatum*. *Plant Cell Rep.* **2**, 205-208.
- Coombe, B. G. and C. R. Hale. 1973. The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance treatments. *Plant Physiol.* **51**, 629-634.
- Craker, L. E. and P. J. Wetherbee. 1973. Ethylene, light, and anthocyanin synthesis. *Plant Physiol.* **51**, 436-438.
- Hardy, P. J. 1968. Metabolism of sugars and organic acids in immature grape berries. *Plant Physiol.* **43**, 224-228.
- Kataoka, I., A. Sugiura, N. Utsunomiya and T. Tomana. 1982. Effect of abscisic acid and defoliation on anthocyanin accumulation in Kyoho grapes (*Vitis vinifera* L.  $\times$  *V. labruscana* Bailey). *Vitis* **21**, 325-332.
- Kataoka, I., Y. Kubo, A. Sugiura and T. Tomana. 1983. Changes in L-phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis during berry ripening of three grape cultivars. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **52**, 273-279.
- Kliewer, W. M. 1964. Influence of environment on metabolism of organic acids and carbohydrates in *Vitis vinifera*. I. Temperature. *Plant Physiol.* **39**, 869-880.
- Kliewer, W. M. 1966. Sugars and organic acids of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* **41**, 923-931.
- Kliewer, W. M. 1970. Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **95**, 693-697.
- Kliewer, W. M. and L. A. Lider. 1970. Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **95**, 766-769.
- Lee, J. C., T. Tomana, N. Utsunomiya and I. Kataoka. 1979. Physiological study on the anthocyanin development in grape. I. Effect of fruit temperature on the anthocyanin development in 'Kyoho' grape. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **20**, 55-65.
- Lee, J. C. and T. Tomana. 1981. Physiological study on the coloration in grape. III. Effect of fruit temperature on the changes of total sugar, total phenol and abscisic acid in 'Delaware' and 'Muscat Bailey A' grape berries. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **22**, 283-288.
- Lee, S. M., D. H. Han, C. H. Lee and S. B. Kim. 1996. Effects of ABA and kinetin treatments on the coloration and quality of 'Campbell Early' and 'Black Olympia' grapes. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **37**, 263-268.
- Mancinelli, A. L. and I. Rabino. 1984. Photoregulation of anthocyanin synthesis X. Dependence on photosynthesis of high irradiance response anthocyanin synthesis in *Brassica oleracea* leaf disks and *Spirodela polyrrhiza*. *Plant Cell Physiol.* **25**, 1153-1160.
- Miura, H., M. Shimizu, A. Tazuke and M. Iwata. 1989. Effect of monochromatic light on anthocyanin content in seedlings of Benitade (*Polygonum hydropiper* L.). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **58**, 123-129.
- Richmond, M. L., S. C. C. Brandao, J. Ian Gray, P. Markakis and C. M. Stine. 1981. Analysis of simple sugars and sorbitol in fruit by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 4-7.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 1991. Plant physiology. pp 473-489, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.