

질소시용 수준에 따른 담배 엽중의 생육시기별 지베렐린 함량변화

정 형 진 · 김 길 응*

한국인삼연초연구소 대구지장 · 경북대학교 농과대학*

CHANGES OF GIBBERELLIN CONTENT IN TOBACCO (*N. TABACUM L.*) LEAVES AT DIFFERENT GROWTH STAGES AS AFFECTED BY NITROGEN APPLICATION RATE

H. J. Jung and K. U. Kim*

Daegu Experiment Station, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute.

**College of Agriculture, Kyungpook National University*

(Received for Publication, October 5, 1984)

Abstract

This experiment was conducted to determine Gibberellin content in tobacco leaves at different growth stages in relation to nitrogen levels applied.

Some of the results obtained can be summarized as follows:

1. The content of Gibberellin showed an increasing tendency as the levels of nitrogen increased.
2. The highest content of Gibberellin was observed at 60 days after transplanting, showing much higher than those of 30 and 90 days after transplanting.
3. The content of Gibberellin at various growth stages under different nitrogen levels ranged from 0.2490 ng to 10.9308 ng per 1Kg of fresh leaf weight of Burley 21.
4. The kinds of Gibberellin present in tobacco leaf appeared to be Gibberellin 1, 9, 19 and 20.

서 론

지베렐린은 식물체 내의 세포의 분열 신장, 그리고 분화에 큰 영향을 주는 것으로 알려져 있으며 특히 엽의 증가 효과와 밀접한 관계가 있다고 한다¹⁰⁾. 지베렐린이 1809년 벼의 키다리병에서 처음 시사된 후 82속에 속하는 86종 식물의 줄기와 잎에서 정량되었으며 지베렐

린의 종류는 62종에 이른다고 보고되고 있다^{3, 4, 8, 11, 12)}. 담배에서 지베렐린에 관한 연구는 초장의 신장, 종자의 발아촉진, 엽수의 증가, 개화의 촉진, 액아의 발생 및 억제등의 연구^{1, 2, 5, 6)}와 담배의 Crown gall내에 내생하는 지베렐린의 종류가 연구⁸⁾ 보고 되고있다. 특히 적십함으로 인한 액아발생과의 관계를 정확히 구명하기 위하여 식물체에서 anti-auxin 작용을 해주

는 지베렐린의 동정에 착수하였으며 동시에 담배에 있어서 질소는 엽장, 폭의 증가, 개화시기, 액아발생량과 밀접한 관계가 있으므로 질소시용수준에 따른 담배 엽내의 지베렐린 함량간의 관계를 구명하고자 지베렐린를 동정 하였던 바 얻어진 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

Burley 21을 공시하여 파종은 2월10일 이식은 4월10일 개량말칭으로 본포에 하였고 재배법은 버어리종 표준재배법에 준하였다. 포지의 토양 이화학적 특성은 Table 1과 같다.

Table 1. Physico - Chemical properties of the soil sample.

Soil	Texture	pH (1:5)	O.M (%)	T-N (%)	P ₂ O ₄ (ppm)	Ex - Cation (me/100g)			C. E. C (me/100g)
						K	Ca	Mg	
S.C.L.		5.6	0.77	0.06	64	0.19	2.19	1.60	8.8

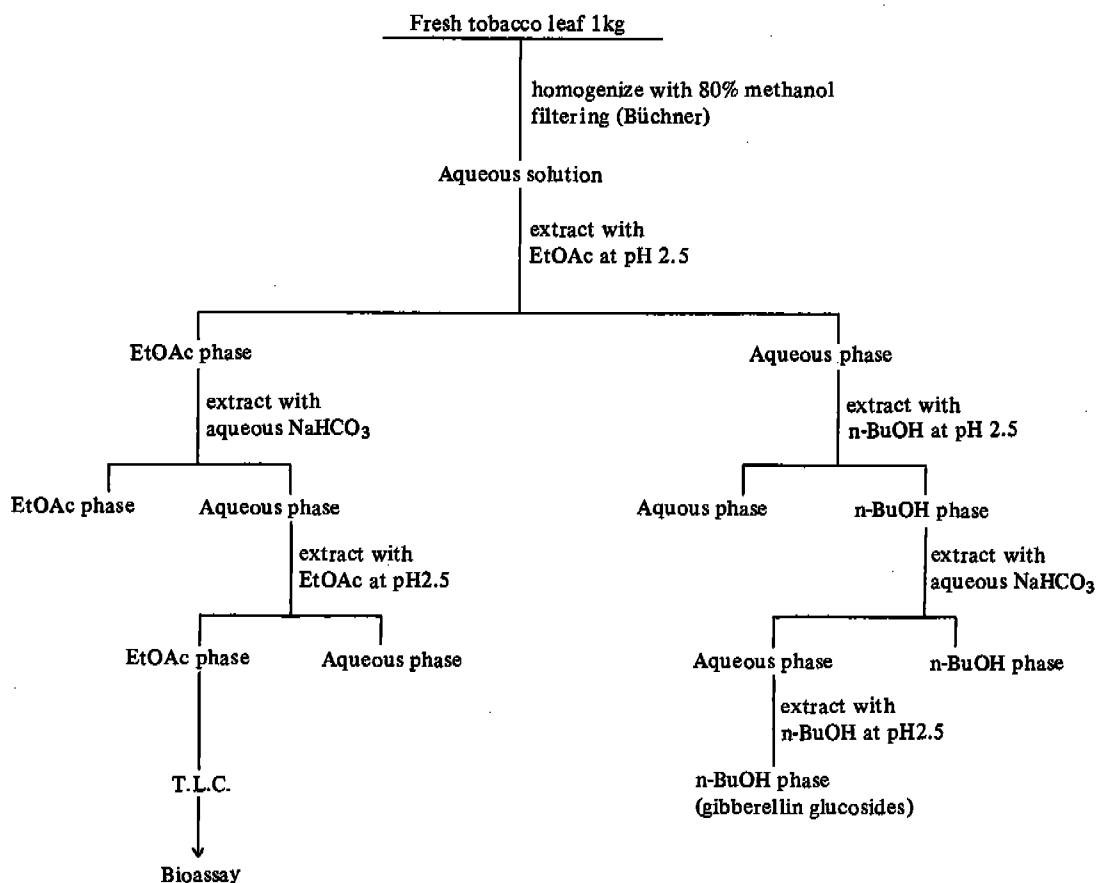


Fig. 1. Flow sheet for extract and separation of gibberellin from fresh tobacco leaf.

비료수준은 P와 K는 중과석과 황산칼리로 이식전 10a당 10kg, 20kg 질소는 10a당 0kg, 17.5kg, 22.8kg을 전량기비로 사용하였다. 시료 채취는 이식후 30, 60, 90일에 상위엽에서 15매까지 채취하였으며 시비수준별로 각각 3kg을 채취하여 이 중 1kg을 분석용으로 사용하였다. 분석시기는 추출 후 시료채취 즉시 수행하였으나 다른 것은 냉동보관하여 동시에 분석하였다.

추 출

추출 및 분리는 MacMillan과 Takashi¹⁰⁾ 법에 의하여 행하였으며 Fig. 1과 같다. 담배 생엽 1kg을 수확 즉시 80% methanol에 homogenize하여 Büchner type로 여과했다. 이때 homogenize는 3회반복 실시하였다. rotary evaporator에서 증류하여 추출한것을 200~300ml로 줄인뒤 5N-NaOH로 pH7.0으로 조정하여 수용층을 2N-HCl로 pH2.5로 맞춘뒤 용량의 반에 해당하는 ethyl acetate로 2회 추출하였다. 결합된 ethyl acetate층을 sodium carbonate로 추출하고 다시 ethyl acetate로 2회 추출하여 acidic fraction을 anhydrous sodium sulfate로 정제하여 농축시켰다.

정 제

유기층은 charcoal column(활성 charcoal: 10g재료1g)에 통과시켜 다시 정제하였는데 column의 길이는 직경의 10~15배의 용량이 되도록 하였으며 acetone과 water로 elution 하였는데 acetone의 농도를 점차 증가시키면서 정제하였으며 이어서 농축시킨 후 2ml의 methanol에 용해시켰다.

정량분석을 위하여 thin-layer chromatography (thin layers of silicagel GR254 and PF 254: Merck Darmstadt, Germany)에 methanol에 용해된 0.5ml를 발라 chamber내에서 정성분석시의 용액인 chloroform:ethyl acetate:acetic acid = 15:5:1로 전개시켜 T. L. C. 판에 90%정도 전개된 후 T. L. C. 판을 건조시킨 후 Rf별로 Silicagel을 떼어 MeOH:ethyl acetate = 90:10의 비율에 녹여 24시간 경과뒤

Silicagel를 제거하기 위하여 Büchner type의 여과를 거쳐 용매는 농축시켜 건조시킨 후 50% acetone 10 μ l에 녹여서 지베렐린를 bioassay하는데 이용했다.

검 정

bioassay는 1968년도 Murakami¹¹⁾가 행한 Micro drop method법으로 수행하였으며 이는 Fig 2와 같다. 품종은 수도 왜생품종인 Tan-Jinbozu를 사용했다. bioassay때는 발아시의 인큐베이션 온도는 30 $^{\circ}$ C, 조도 200Lux였고 항온 항습기에서 제 2엽초의 신장시의 온도는 30 $^{\circ}$ C, 조도는 5000Lux로 행하였다.

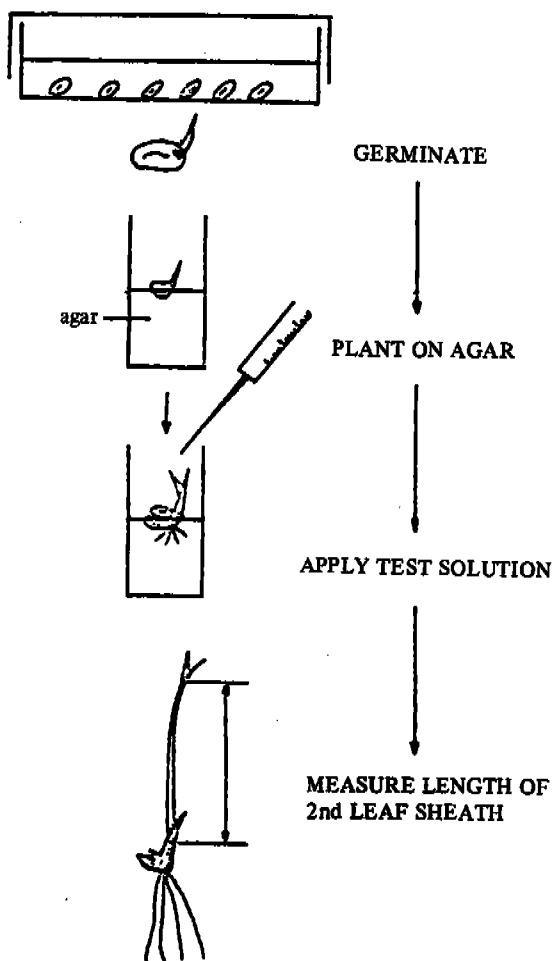


Fig. 2. Procedure of microdrop application method using rice seedling (Murakami 1968)

결과 및 고찰

Gibberellin 3에 대한 왜생 수도품종 (Tan-Jinbozu)의 반응

극단간종인 Tan-Jinbozu를 Fig. 2와 같은 방법으로 제 1엽초와 초엽사이에 Gibberellin 3를 Micropipette로 10ng에서 10^3 ng을 떨어뜨린 결과 10ng에서 제 2엽초가 42mm, 10^3 ng에서 13mm 무척러 11mm가 신장하여 Gibberellin 3양과 제 2엽초의 신장과는 상관계수가 0.98로 고도의 상관관계가 인정되었다. 회귀직선의 방정식은 $\hat{Y} = 0.115X + 1.487$ 이었으며 이 식으로 담배에서 추출한 것을 bioassay 했을시 제 2엽초의 길이를 Gibberellin 3과 비교하여 담배엽중의 지베렐린 양을 추정 조사하였다.

시료채취시의 담배의 생육특성

이식후 30일에는 대체로 질소시용 수준이 증가 할수록 초장 간경 엽수 및 최대엽의 장·폭은 증가하는 경향을 보이고 있으며 이식후 60일

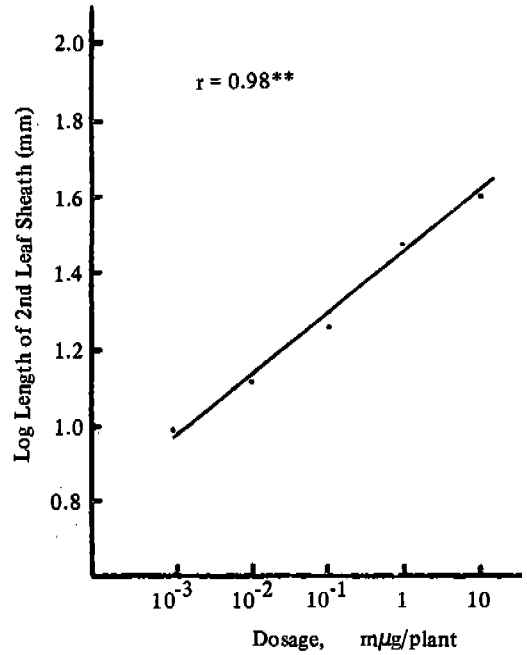


Fig. 3. Response of the second leaf sheath of rice seedlings to GA_3 .

Table 2. Plant height and leaf number of tobacco at the time of determination.

Time of determination	N levels (kg/10a)	Plant height (cm)	Stem height (cm)	Stem diameter (cm)	Total number of leaves	Largest leaf	
						Length (cm)	Width (cm)
30 DAT ^{a)}	0	36.6	—	1.47	12.5	33.3	15.3
	17.5	79.5	—	2.73	20.5	52.6	30.3
	22.8	82.3	—	2.90	20.3	53.5	30.8
	28.0	84.2	—	2.80	21.1	54.5	31.7
60 DAT	0	42.9	—	1.60	17.1	33.9	16.4
	17.5	101.3	—	3.00	26.0	57.0	30.4
	22.8	103.8	—	2.95	26.0	58.0	32.0
	28.0	104.3	—	3.10	25.0	56.2	32.1
90 DAT	0	42.9	64.5	1.80	15.6	35.5	16.5
	17.5	101.3	94.3	3.10	24.0	64.3	30.8
	22.8	103.8	127.3	3.00	23.9	64.4	32.1
	28.0	104.3	122.3	3.20	23.8	63.4	32.1

a) DAT: days after transplanting

에는 질소시용 수준이 증가 할수록 초장은 증가 하나 간경, 엽수 최대엽의 장·폭은 질소가 0 kg/10a인 것을 제외한 수준은 비슷하였으며 이 식후 90일도 60일과 비슷한 경향을 보였다.

생육시기별 제 2엽초의 신장

Fig. 4는 이식후 30일엽을 질소시용 수준에 따라 1 kg을 Fig. 2와 같은 방법으로 추출하여 Fig 3과 같은 방법으로 bioassay 하여 본 결과 지베렐린의 활성을 보이는 histogram이다.

10a당 0 kg에서는 Rf0.3에서 13.0mm, 0.4에서 12.0mm, 0.7에서 12.5mm 정도 신장하고 17.5 kg에서는 Rf0.3은 16.0mm, Rf0.4에서 15.5mm,

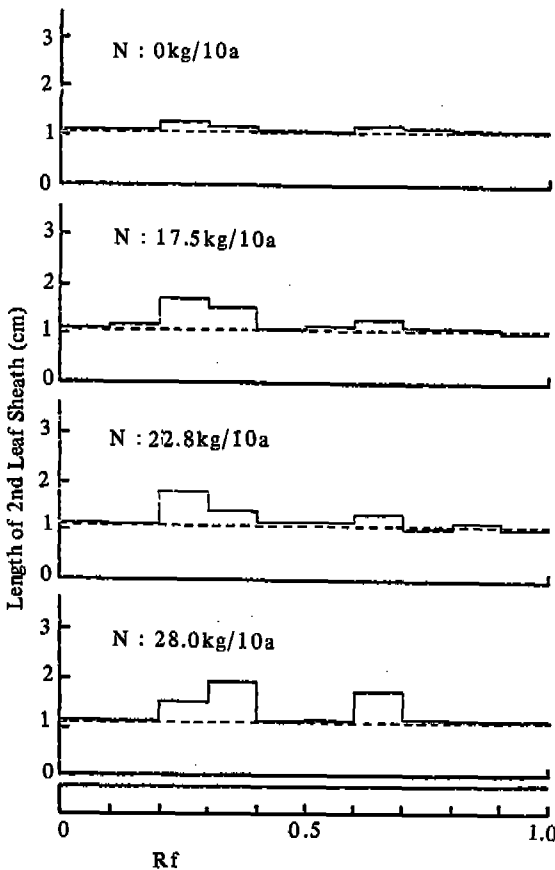


Fig. 4. Histograms showing gibberellin activities of the acidic ethyl acetate fraction from fresh tobacco leaf at 30 days after transplanting.

Rf0.7에서 13.5mm 신장하였으며, 22.8kg 에서는 Rf0.3에서 18.0mm, Rf0.4에서 14.0mm, Rf0.7에서 13.5mm정도 신장하였으며 28.0kg 에서는 Rf0.3에서 14.5mm, Rf0.4에서 19.0mm, Rf0.7에서 17.0mm 신장하였다. 여타 Rf 치에서는 대체로 무처리와 비슷한 11.0mm 정도였다. Rf값중 Rf0.4에서 제 2엽초의 신장이 가장 높았다. bioassay방법에서 표준 즉 무처리에서 보다 10% 이상 신장한 Rf값만이 지베렐린의 작용이 있다고 한다. 이는 생물학적 방법의 오차를 없애주기 위한 것이다. 대체로 질소시용 수준이 증가 할수록 제 2엽초의 길이는 신장되었으나 Rf치간의 뚜렷한 경향은 없었다. 특히 본 시험에 사용한 solvent로 보아서 Rf0.3 은 Gibberellin 1이 Rf0.4는 Gibberellin 19, Rf0.7 은 Gibberellin 9, 20가 담배 엽중에는 존재하는 것으로 추정된다⁶⁾. 박⁶⁾에 의하여 담배의 Crown gall에서 함유되어 있는 지베렐린은 Gibberellin 1, 9, 19, 20가 있다고 보고하고 있어 본 시험의 결과와 유사하였다. Fig5는 이식후 60일 즉 적심시의 담배 엽을 채취하여 분석한 지베렐린의 활성을 나타내는 histogram이다.

10a당 22.8kg 질소시용구중 Rf0.2 에서 11.5mm, Rf0.3에서 15.0mm, Rf0.4에서 25.0mm, Rf0.7에서 15.0mm 신장하여 질소처리중에서 제2엽초가 가장 크게 신장되어, 즉 지베렐린의 활성이 가장 높은것을 의미한다. 60%증비한 28.0kg에서는 Rf치가 상당히 넓게 분포 되어 있었다. 이 식후 30일과 유사하게 Rf별로는 시비량간에 뚜렷한 경향은 없으나 전반적으로 제 2엽초의 길이에 있어서 10a당 0, 17.5, 22.8kg 사이에 질소의 증비의 효과가 커지는 경향이나 60% 증비한 수준은 30%증비한 수준과 제 2엽초와의 길이는 비슷하였다. 이는 질소시용 수준이 일정한 수준까지는 증비할수록 지베렐린의 양은 증가하지만 어떤 한계를 넘으면 증가하지 않는 것으로 사료 되어진다. 이식후 60일째에서도 30일째와 유사한 지베렐린이 함유되어 있음을 추정할 수 있었고 박⁶⁾에 의한 조사와 유사하였다.

Fig 6은 이식후 90일에서 질소시용 수준별 지

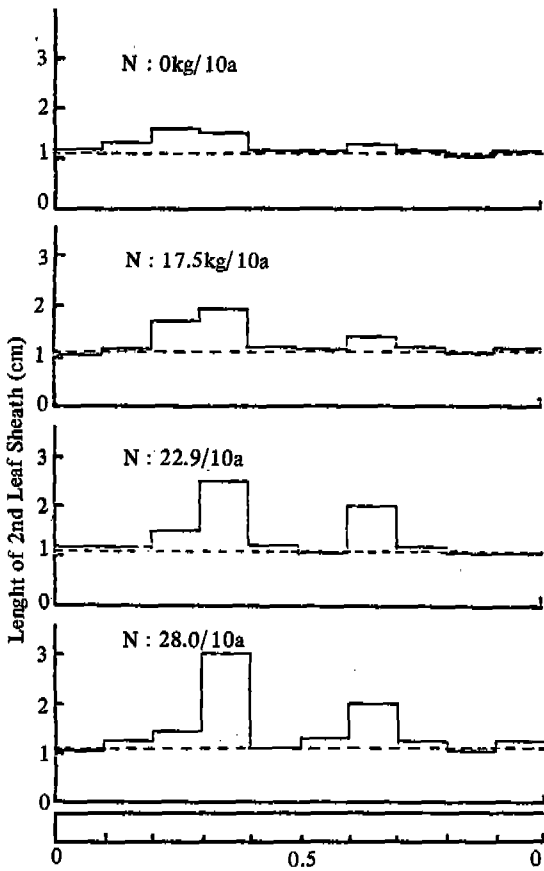


Fig. 5. Histograms showing gibberellin activities of the acidic ethyl acetate fraction from fresh tobacco leaf at 60 days after transplanting.

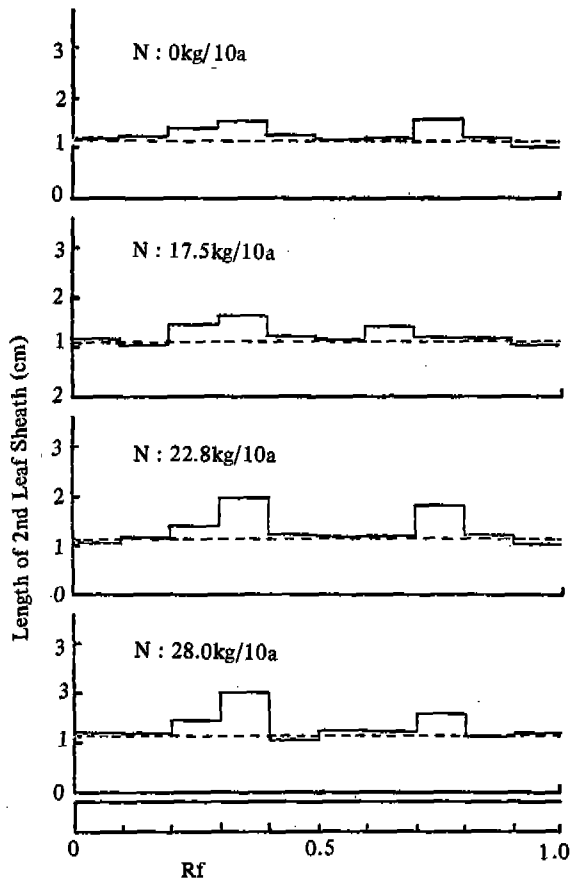


Fig. 6. Histograms showing gibberellin activities of the acidic ethyl acetate fraction from fresh tobacco leaf at 90 days after transplanting.

베렐린의 활성을 나타낸 histogram이다. 10a당 0 kg에서 제 2엽초가 처리중 가장 작게 신장했다. 이식후 90일째에서도 역시 질소를 증비할 수록 제 2엽초의 길이는 신장되었고 지베렐린 종류도 역시 유사하였다.

생육시기별 질소수준에 따른 지베렐린 함량 :

Table 3은 질소사용 수준 및 생육시기별 엽중 지베렐린 함량을 조사한 것으로 이는 담배의 지베렐린 활성을 보이는 제 2엽초의 길이 즉 Fig. 4, 5, 6에서 Fig. 3의 회귀직선 식에 대입하여 지베렐린의 함량을 정량한 수치이다.

담배생엽 1 kg 내에는 지베렐린 3과 비교한 양

은 질소수준에 따라 이식후 30일이 0.2930ng에서 1.3765ng 이식후 60일이 0.3611ng에서 10.3308ng으로 이식후 90일이 0.2490ng에서 1.7452 ng 정도의 free 지베렐린이 함유되어 있는 것으로 추정되었으며, 생육시기별 함량간에 차이가 컸다. 그리고 이식후 60일 즉 적심직전이 지베렐린 함량이 가장 많았다. 질소사용 수준에 따른 생육시기별 지베렐린 함량은 0 kg에서 이식후 60일, 30일, 90일 순으로 많았으며 22.8 kg에서는 60일, 90일, 30일 순으로 지베렐린 함량이 많았다. 이식후 60일의 10a당 0 kg과 17.5 kg, 22.8kg과 28.0kg을 제외한 모든 처리에서 지베렐린의 함량간에 유의성이 있었다.

Table 3. Gibberellin content of tobacco leaf as affected by nitrogen levels.

Nitrogen levels (kg/10a)	Time of determination ^{b)}		
	30 DAT	60 DAT (ng/kg) ^{a)}	90 DAT
0	0.2930 a	0.3611 a	0.2490 a
17.5	0.4839 b	1.3453 a	0.4091 b
22.8	0.6923 c	10.3308 b	1.5078 c
28.0	1.3765 d	10.3137 b	1.7452 d

a) Gibberellin: ng GA₃ equiv. per 1kg fr. wt.

b) Means within a column the same letter are not significantly different p=0.05
(Duncan's multiple range test)

결 론

질소시용 수준에 따른 담배 엽중의 생육시기별 지베렐린 함량을 추정할 결과는 다음과 같다.

1. 질소시용 수준에 따라서 질소시용이 증가할수록 지베렐린 함량은 증가 하였다.

2. 생육시기 별로는 이식후 60일이 이식후 30일, 90일에 비하여 지베렐린 함량이 많았다.

3. 담배 생엽 1kg당 지베렐린 함량은 Gibberellin 3과 비교해보면 0.2490ng~10.9308ng으로 함유되어 있었다.

4. 정성분석 해 본 결과 대체로 담배 엽중에는 Gibberellin 1, 9, 19, 20이 함유되어 있는 것으로 추정되어진다.

참 고 문 헌

- Gray, R.A., Alteration of leaf size and shape and other changes caused by gibberellin in plants. gibberellin., p. 600 (1959).
- Gricorieva, N.Y.A., and V.F. Kucherov, and V.N. Loznikova and M.K. Challakmian. Long-short day plants phytochemistry., 10: 509-517. (1971).

- 高橋信孝., 自然界に孝在ゾベムリソ植物の化学調節, 16: 65-72. (1981)
- Hayashi, Y.T., Communication to the editor. 14:1526. J. Agric. Chem. Soc. Jpn., (1938).
- 張權烈, 지베렐린총론, 郷文社, p. 64. (1962)
- MacMillian, J., paper and thin layer chromatography. Encyclopedia of plant physiology., 9:156-168. (1981).
- Murakami, Y. ツペレリソの新レムイネモテ "点適法" 方あび亡のイネ, 子井ちオ 抽出物入の適用. Bot. Mag., 81: 33-43 (1968)
- 朴根亨, タベエの内生ヅバレリンの同定. 東京大学校 大学院 博士学位 論文. (1983)
- Takahashi, N., Recent progress in the chemistry of gibberellins. pp. 229-239, Japan Tokyo. Univ. (1980).
- Wareing P.F. and I.D.J. phillips. Growth and differentiation in plant. 3rd Edpp 125-126 pergaman oxford. U.S.A. (1981).
- Yabuta, Y., Sumiki, K.A. and T. Hayashi. Biochemistry of the Bakane fungus of

- rice. (1944).
12. Yabuta, Y., Sumiki, K.A. and T. Hayashi.
The chemical constitution of gibberellins.
17:975-984. J. Agric. Chem. Soc. Jpn.,
- (1942).
13. Yabuta, T.K.Y., Sumiki, K.A. and T. Haya-
shi. (1941).