1990년도 제23회 학술발표회 논문초록

◀ 특별강연 ▶

Immunochemical Determination of Plant Constituents

Chung-Ki Sung

College of Pharmacy, Chonnam National University, 500-757 Kwangju

ABSTRACT

Untill relatively recently plant scientists have made little use of immunological techniques. Now, however, more and more researchers are discovering the powder of these techniques for the screening of immunomodulators and for the detection, quantitative determination and localization of compounds in plant materials. Especially, the recent developments in the fields of plant biotechnology and plant genetic engineering make it even more important for workers in the plant sciences to becnme acquainted with the more sophisticated methods. The possible methods include onestep purification of antigens, visualization *in situ* by immunocytochemistry and on polyacrylamide gels by nitrocellulose Western blotting and quantification by various immunoassay. Among them, in this reviews, the quantitative determination methods are to be reviewed.

There are several kinds of methods for the quantitative determination of plant constituents such as colorimetry, TLC, GLC, DCC, UV derivatization, densitometry and HPLC. When the complexity of plant constituents is considered. densitometry and HPLC have many advantages in sensitivity and separation ability. After all some advantages of two methods mentioned above, all of these methods have many disadvantages and inconveniences. Previous purification for the application of all these methobs make them less sensitive and more tedious. Immunoassay can solve these problems in part. But immunoassay also has some limitations. Specificity of immunoassay, contrary, can be considered to be disadvantages. Including this the advantages and disadvantages of immunoassay are to be discussed.

T-DNA에 의하여 형질전환된 연초조직으로부터 재분화 양상

양덕춘, 최광태

한국인삼연초연구소 유전생리부

식물세포의 형질전환용 운반체로 사용하고 있는 *Agrobacterium* spp.의 plasmid는 T-DNA라는 유전물질을 식물세포내로 전이할 수 있는 특수한 기작을 가지고 있다. T-DNA의 구조는 plasmid마다 매우 차이가 있어 형질전환체의 재분화 양상도 매우 다르게 나타났다. 국내 토양에서 선발한 *A. tumefaciens*의 Ti-plasmid에 의하여 형질전환된 연초 callus는 정상적인 식물체로 재분화되지 않고 많은 teratoma shoot만이 형성하였다. Teratoma shoot의 형성율은 20%이었으며, BA을 첨가하여도 형성율에는 차이가 없었다.

A. tumefaciens A_4 T의 Ri-plasmid에 의하여 형질전환된 연초 callus는 4-8%의 shoot분화가 되었으며 Ti-plasmid와는 달리 정상적인 식물체로 재분화되었다. 자연상태에서 cane gall을 형성하는 *A. rubi* IFO 13260에 의하여 형질전환된 callus도 Ti-plamsid의 tumor callus와 비슷하게 식물호르몬 무첨가배지에서 미색의 반구형 callus로 생장하였다. 이런 callus는 계대배양동안 일부 초록색으로 변하면서 shoot가 발생하였으며 shoot의 분화율은 38%이었고 모두 정상적인 식물체로 생장하였다.

내염성 세포주의 당대사와 재분화된 식물체의 특성

김갑식, 손중현, 최광태

한국인삼연초연구소 유전생리부

연초의 NaCl 내성 세포주의 환원당, invertase activity, 총단백질량 및 재분화된 식물체의 변이를 조사하였다. 세포내의 환원당 함량에 있어 내염성 세포주는 정상 세포주보다 높았으며 배지내 NaCl 농도에 따른 환원당 함량 변화는 정상 세포주에서 뚜렷하였다. 단백질 함량에 있어서는 선발세포주는 배지내에 NaCl 농도가 증가할수록 증가하였으나 정상 세포주의 경우 감소하였다. 세포내 Invertase activity는 정상 및 내염성 세포주 공히 NaCl에 의하여 증가하였으며 200mM NaCl을 첨가하여 배양한 내성 세포주에서 검출되지 않았다.

내염성 세포주 유래 식물체는 정상 식물체와는 달리 여러가지 변형의 화기를 보였으며 이들의 화분 발아율은 정상에 비하여 현저히 낮아 자가 수정이 불가능하였다.

정상 BY_4의 수분으로 얻는 F_1 종자의 발아율은 정상 종자에 비하여 발아율이 감소하였으며 F_1 식물체의 내염성을 검증한 결과 고염의 토양에서 생육이 매우 불량하였다.

*N. africana*의 감자 바이러스 Y - Vein Necrosis에 대한 저항성 유전

금완수, 정윤화, 정석훈, 최상주, 이승철

한국인삼연초연구소 경작시험장

*N. africana*의 감자 바이러스 Y-vein necrosis (이하 PVY-VN)에 대한 저항성을 연초 재배 품종에 도입하기 위하여 종간교배 및 PVY-VN에 대한 저항성의 유전양상을 조사하였다.

N. tabacum (cv. NC82)과 *N. africana*를 교배하여 얻은 F_1 잡종은 불임이었으며 그 염색체를 배가하여 얻은 복이배체는 임성이었고 소량의 종자를 얻을 수 있었다. *N. tabacum* (cv. NC82) × *N. africana*의 F_1과 그 복이배체는 PVY-VN에 대하여 저항성이였으며, 복이배체를 자식하여 얻은 F_2세대 및 *N. tabacum* (cv. NC82)와 복이배체를 교배한 BC_1 세대에서의 저항성과 이병성의 분리비는 저항성이 단일 우성 인자에 의하여 좌우 될때의 이론적인 분리비인 35:1 및 5:1에 각각 잘 일치되었다.

연초 세균성 마름병 저항성 개체 선발이 효율

정윤화*, 이승철*, 김달웅**

한국인삼연초연구소 경작시험장*, 경북대학교**

황색종 연초 품종 BY_4와 NC95를 교배한 F_1 식물에서 약배양(ADH) 및 *N. africana*와의 종간교배로 육성한 반수체 배가 계통(MDH)과 F_2세대에서 세균성 마름병에 저항성으로 선발된 개체로부터 육성한 ADH 및 MDH를 각각 30계통씩 교배친과 같이 공시하였다.

F_1-ADH 및 MDH에 비하여 F_2-ADH 및 MDH의 세균성마름병 이병지수가 약 20% 낮았으며 세균성 마름병 이병지수의 유전 획득량은 약 2배정도 높았다. 세균성 마름병 저항성 개체의 선발에 따른 타형질의 반응은 수량, 초장, 엽수 및 개화일수가 F_1 및 F_2의 ADH 및 MDH에서 모두 정의 방향으로 나타났으며, 엽장과 엽폭은 F_1-ADH 및 MDH에서 정의 방향, F_2-ADH 및 MDH에서 부의 방향으로 나타났다.

생육온도와 수분시기가 종간교배에 의한 반수체 출현 빈도에 미치는 영향

조천준*, 금완수, 이승철

한국인삼연초연구소 전주시험장*, 경작시험장

Nicotiana tabacum cv. NC 2326과 *N. africana*의 종간교배시 모 부본의 생육온도와 수분시기가 반수체 출현빈도에 미치는 영향을 조사하였다. 반수체의 출현빈도는 모 부본, 특히 부본, 의 생육온도에 따라 크게 좌우되었으며, 생육온도가 높았을 때(30℃) 반수체 출현 빈도가 높았다. 제웅 후 수분시기에 따른 반수체 출현빈도는 제웅 당일 수분구에서 가장 높았고, 제웅 후 1-4일간에는 큰 차이가 없었다.

*Nicotiana tabacum*과 *N. rustica* 체세포 잡종식물의 특성

최상주*, 이승철*, 홍병희**

한국인삼연초연구소* 고려대학교**

N. tabacum cv. Burley 21과 *N. rustica*의 세포융합으로 육성한 잡종식물의 특성은 다음과 같다.

잡종식물은 양친에 비하여 초세가 매우 왕성하였고 꽃의 형태 및 화색은 양친의 중간형을 보였으며 화분 활성도는 30% 내외로 낮은 경향을 보였으나 소량의 종자를 얻을 수 있었다. 잡종식물과 *N. tabacum*간의 여교배에 있어서는 *N. tabacum*을 화분친으로 이용할 경우에만 소량의 종자를 얻을 수 있었다. 또한 체세포 잡종 엽조직의 peroxidase isozyme pattern은 양친의 pattern 특성을 함께 나타내고 있었다.

궐련벌레(*Lsaioderma serricorne* F.)의 담배 선호성에 관한 연구

오명희*, 박규택**

한국인삼연초연구소* 강원대학교 농생물학과**

버어리종 담배에서는 궐련벌레가 증식되지 않았으며 황색종과 향끽미종에서도 6세대부터는 증식량이 적었다. 버어리종의 엽후 구별없이 전 등급과 황색종 후엽 및 박엽 4,5등급엽은 권련

벌레의 피해를 받지 않고 다만 황색종 고품질엽과 향끽미종종 Izmir만이 80%이상 피해를 받았다. 궐련벌레 성충은 동일 품질이라도 높은 곳에 위치한 것을 선호하는 경향이 있고, 버어리종보다는 황색종을, 저품질보다는 고품질 담배를 선호하였다. 인공사료로 사육한 성충보다 담배를 먹고 자란 성충이 담배에 더 많이 산란하였으며 산란하는 경향은 담배의 종류나 품질에 따라 달리 나타나지 않았고 다만 박엽보다 후엽에 더 많이 산란하였다.

담배에서의 궐련벌레 유충의 발육정도는 인공먹이(Whealfeed 95% + Yeast 5%)에서보다 더 나빴으며 온도가 높아질수록 그 폭은 좁혀졌다. 30℃에서는 버어리종 담배에서도 궐련벌레 유충이 발육하였다. 개체군 증식은 담배내 진당의 함량과는 정의 상관을, 니코틴과는 부의 상관을, 니코틴과는 부의 상관을 보였으며 상관계수는 공히 고도의 유의성이 인정되었다.

비병원성 Bacteriocin 생성 *Pseudomonas solanacearum*을 이용한 담배 세균성 마름병 방제

이 영 근

한국인삼연초연구소 경작시험장

미국 노스, 캐롤라이나 주립대학교 식물병리학과에 보존되어 있는 11개 *Pseudomonase solanacearum*균주로부터 담배 세균성 마름병에 대하여 bacteriocin을 생성하는 20개균주를 재분리하였다. 이 가운데 13개 균주가 담배에 대하여 비병원성이었다. 이 13개 비병원성 *P. solanacearum* 균주의 현탁액에 Hicks를 포함한 3개 품종의 담배 뿌리를 각각 침지 처리하고, 담배 뿌리 및 줄기에서 처리된 균주의 밀도 변화를 조사하였다. 대부분의 균주들은 접종 후 12주까지 시일이 경과함에 따라 급격히 그 밀도가 감소되었으나, 5개균주(Y8, Y37, Y39, Y40, Y62)는 담배 뿌리에서, 4개균주(Y36, Y41, Y61, Y62)는 담배줄기 속에서 매우 높은 밀도가 접종후 8주까지 유지되었다. 이들 가운데 4개균주(Y8, Y36, Y37, Y62)를 담배 뿌리에 처리하고 세균성 마름병 상습 발병포장에서 이식한 결과, Y62 균주처리에 의해 수확말기까지 50% 이상의 병발생이 억제되었다. 따라서 이 시험결과 비병원성 bacteriocin 생성 *P. solanacearum*을 이용한 담배세균성마름병 방제를 위해서는, 이들 균주의 bacteriocin생성능력뿐 아니라 담배의 근권 및 줄기속에서 이들 균주가 얼마나 증식, 생존할 수 있느냐 하것도 매우 중요하다는 것이 제시되었다.

살구(*Prunus armeniaca*)의 휘발성 향기성분 및 비휘발성 진구체로부터 향기성분의 생성

김영희, 곽재진, 권영주, 양광규*, 박준영, 김용태

한국인삼연초연구소 화학부, *담배제조부

살구에서 SDE법, dynamic ges-purging에 의한 dynamic headspace trapping법에 의해 분리된 flavor concentrates로부터 alcohol류 11종, aldehyde 및 ketone류 11종, ester류 5종, hydrocarbon류 5종, lactone류 8종, acid류 11종, terpene 및 terpene alcohol류 12종, 기타 성분으로서 trimethyltetrahydronaphthalene유도체를 포함한 17종이 확인되었다. 추출 방법별 비교시 SDE법에 의해 얻어진 flavor concontrate에는 monoterpene alcohol류가 특징적으로 많이 존재하였다. Amberlite XAD-2 흡착에 의한 glycosidic fraction을 분리한 다음 almond α-glycosidase 및 산 가수분해물의 분석결과 살구향기의 주성분인 linalool, α-terpineol, nerol, geraniol, benzyl alcohol 및 β-phenyl ethyl alcohol 등은 주로 유리 형태로서 보다는 glycoside 형태로 존재하는 것이 확인되었으며 두 종의 가수분해물로부터 잎담배 향기의 key flavor components로서 작용하는 것으로 알려진 3,4-didehydro-β-ionol, 3-hydroxy-7,8-dihyro-β-ionol, 3-hydroxy-β-ionone, 3-oxo-7,8-dihydro-α-ionol 이외에도 3,7-dimethyl-2,6-octadiene-3,7-diol, cis 및 trans-2,6-dimethyl-2,7-octadiene-1,6-diol 등이 잠정적으로 확인되었다.

CLASSIFICATION OF SOIL FERTILITY AND IT'S APPLICATION IN KOREAN TOBACCO FIELD

Yun, Byong Ick, Lee, Yun Hwan, Jeong, Hun Chae, Kim, Yong Yun

Korea Ginseng & Tobacco Research Instititue

Morphology and physico-chemical characteristics of soil and cultivation system were investigated to find out soil productivity at the 154 major districts in korea from 1984 to 1987. The results obtained in the field and pot experiments by non-fertilized cultivation were as follows;

1) Nitrogen, pH and Ca in the field experiment and nitrogen, phosphorus and Mg in the pot experiment influenced on the dry weight of tobacco leaves.
2) Correlation coefficients between soil morphological characteristics and dry

weight of tobacco leaves were higher than those between soil chemical characteristics and dry weight of tobacco leaves.

3) Residual fertilization effects for the prior crops(such as vegetables, ginseng, pepper and corn) were very significant.

4) The regression equation was $Y=-32.614-12.763X_1+14.968X_2+41.021X_3+11.330X_4+14.476X_5$ ($R=0.706$, X_1 : Topography. X_2 : Slope, X_3 : Topsoil Depth, X_4 : Soil Texture, X_5 : Prior Crop).

5) NO_3-N and/or exchangable NH_4-N content of the soil was also thougt as a recommendable indicator of soil fertility.

6) Responces of plant growth were accelerated in proportion to the increment of fertilizer application at each grade of soil fertility.

7) The major factors, location slope and nitrate content of soil were allocated with heavy indices by twice, and wide interval of indices sum should be convenient to apply quick testing method of tobacco field productivety for the farmers without confusion.

Evaluation of Cigarette Quality by Measurement of Oxygen Free Radicals in Smoke

Haung Bin Lim, Sook Young Kim, Dong Wook Lee
and Yong Tae Kim
Division of Chemical Research, Korea Ginseng & Tobacco
Research Institute

To evaluate tobacco quality, so far several methods including sensory test, or measurement of some toxic compounds such as tar, nicotine and carbon monoxide in cigarette smoke have been used. However, many harmful effects of smoking on the physiologcal functions including respiratory system reported were turned out to be the action of reactive oxygen species. Therefore, the amounts of oxygen free radicals such as superoxide, hydroxy radical, even hydrogen peroxide in the cigarette smoke are thought the very important factors.

In the present study, we have determined the generation of superoxide and content of hydrogen peroxide using superoxide dismutase and catalase in the gas phase and tar obtained from cigarette smoke, respectively. In the aque-

ous extracts of tar, superoxide and hydrogen peroxide were detected, and there was an excellent correlation between oxygen free radicals and the sort of cigarettes.

It is concluded that the measurement of oxygen free radicals in cigarette smoke may be a useful index for evaluation of cigarette quality in the phase of smoking and health.

Toxicological Assessment for Pyrolyzates of Pyroglutamates

Young Gu Lee, Ja Young Moon, Dong Wook Lee and Yong Tae Kim
Division of Chemcial Research, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Many kinds of humectants such as propylene glycol, glycerol or others are widely used to restore elasticity, to prevent freezing, or as preservatives in food, cosmetie, pharmaceutical or tobacco industry. Some of them, however, have often caused the biological demage by misapplication or abuse.
Recently, pyroglutamates are considered as a new very effective humectant. However, a paucity of data exists relative to the toxicolgical terms of these compounds.

In the present report, we have examined the mutagenicity using *Salmonella typhimurium* TA 98, and the formation of reactive oxygen species and the inducibility of lipd peroxidation in microsomal membrane by pyrolyzates of sodium or potassium pyroglutamates(PG. Na or PG.K). The results showed that pyrolytic products obtained from PG. Na formed the revertant colonies of *Salmonella typhimurium* TA 98 and the formation of colonies was dose dependent, but not in PG. K. Both pyrolyzates from PG. Na and PG. K produced superoxide and hydrogen peroxide in the aqueous solution. Those from PG. Na formed more reactive oxygen species. However, these pyrolyzates did not induce the lipid peroxidation in microsomal membrane and rather inhibited strongly by unknown mechanism under the present of ferrous ion(50uM)

In conclution, data indicate that pyrolytic products of PG. Na have cytotoxicity, but further studies are necessary to evaluate the safety of PG.K.

수분함량이 잎담배의 부패 및 탄화에 미치는 영향

민영근, 조대휘*, 이경구, 안동명, 이완남**, 이상하***

한국인삼연초연구소, 담배제조부, 분석센타** 경작시험장*, 대구시험장***

저장기간 중 잎담배의 수분함량은 품질의 양, 불량화에 매우 중요한 요인이다. 특히 부패, 탄화엽의 발생은 수분함량에 따라 결정된다고 할 수 있을 것이다. 부패, 탄화엽을 유발하기 위하여 4수준의 수분처리를 한 후 잎담배의 물리, 화학적 변화와 부패, 탄화엽의 발생시점을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 저장 1년으로는 부패엽발생은 있으나, 탄화엽발생은 없었다.
2. 발열현상은 30～150일경에 일어나며 고수분구에서 품온이 높았다.
3. 20% 이상의 수분함량은 주변부의 함수분 증가를 유발한다.
4. 부패엽은 수분함량이 20% 이상에서 발생하는데 20%구는 약 8개월 후부터, 24%구는 4개월 후부터 부패엽이 발생하며 이로 인한 중량의 감소는 10～30% 정도이다.

잎담배의 지역별, 년도별, 이화학성에 관한 연구

안동명*, 이경구*, 민영근*, 이완남**

한국인삼연초연구소, 담배제조부*, 분석센타**

국내에서 재배되고 있는 잎담배의 이화학적 특성을 황색종 7개지역(65개소), 버어리종 4개지역(40개소)에서 5년간('85～'89) 조사한 바 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 황색종 잎담배의 니코틴은 북부지방인 춘천과 수원이 전당은 남부 및 산간지방인 진주와 안동에서, 전질소는 대구에서 높았으며 매년 니코틴은 약간씩 증가 추세이며 전당은 '88년까지는 감소하다 '89년까지는 증가하였으며,
2. 버어리종은 잎담배의 니코틴은 전주와 대구에서 높았으나 매년 감소 경향이며, 부풀성은 각 지역 비슷하나 춘천이 약간 높았고, 색상은 구산지인 전주, 대전, 광주에서 급건엽이 심하여 황색화 현상이 있었으며 이러한 현상은 갈수록 심화되는 경향이다.

권련 담배연기 응축물의 pH에 관한 연구

안기영, 지상운

한국인삼연초연구소 분석센타

Puff수에 따른 권련담배 연기 응축물의 pH변화와 pH, TPM, CO의 상호관계를 실험한 것이다. Puff 수를 1회에서 10회까지 증가시키면서 TPM, TPM의 pH 및 CO를 측정하였다.

Puff 수가 증가함에 따라 TPM의 pH가 낮아지며 Puff 수가 6이상일 때는 pH 강하율이 증가하였다. 84㎜ 제품에 비하여 100㎜ 제품에 TPM의 pH가 높았고 제품의 길이가 같을 때 양절길이가 길수록 pH가 높았다. 같은 Puff에서는 TPM이 작을수록 pH가 높았다.