

MH 및 FA이 황색종 잎담배의 몇가지 대사산물 변화에 미치는 영향

III. Invertase Activity 및 당질 대사물

한상빈, 육창수*, 조성진*

한국인삼연초연구원 분석부, 충북대학교 농화학과*
대전직할시 유성구 신성동 302, 충북 청주시 개신동산 48*

Effect of MH and FA on the Change of Several Metabolites in Flue - cured Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)

III. Invertase Activity and Sugar metabolites

Sang Bin Han, Chang Soo Yook and Seong Jin Cho

Div. of Chem. Anal., KGTRI, Dept. of Agri. Chem., Chungbuk Nat. 1 Univ*.
302 Shinsung - dong Yuseong - Ku Taejeon, Korea 305 - 345.

ABSTRACT : Using a flue - cured tobacco variety, KF 109, effect of growth regulators (Fatty Alcohol and C - MH) on the change of invertase activity and sugar metabolites were investigated.

Invertase activity in untreated leaf tissue was decreased along with maturation of leaf. However, a momentary increase of the activity was observed in leaves by the dual treatment of fatty alcohol and C - MH regardless of leaf position while sole C - MH treatment resulted in activity increase by 14 days after the treatment. Similar tendency was observed in stalk.

Sugar content in leaf was increased immediately after the treatment but no significant increase at large resulted until 14 days after treatment. After harvest, reducing sugar was increased by the growth regulators. Nevertheless, in case of dual treatment, the total sugar content was not different with that of untreated control.

R/T ratio was gradually increased after topping stage and reached maximum at 14 days after treatment of growth regulators. It decreased a little after harvest but the R/T ratio was relatively higher due to increase of reducing sugar resulted by the treatment of the chemicals. Upon treatment of growth regulators, reducing sugar content was increased in lugs and leaves compared to untreated control and the content of sugar metabolites was increased by the use of the chemicals either at lower or higher than recommended dose.

Key words : MH, FA, invertase activity, total sugar, reducing sugar

* 연락처자 : 한상빈, 305 - 345, 대전직할시 유성구 신성동 302, 한국인삼연초연구원
Corresponding Author : Sang Bin Han, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
302. Shinsong - Dong, Yusong - Ku, Taejeon City, 305 - 345, Korea.

서 론

식물체에 흡수된 Maleic hydrazide(MH)는 탄수화물 수준에 따라 이동과 흡수율이 다르고 핵산의 합성을 저지하거나 교란하여 정상적인 액아발생을 억제함으로써 담배잎의 화학성분 조성비 변화를 유도하는 것으로 알려져 있다.^{3, 4, 7, 15, 17).}

황색종 담배에서 MH처리로 잎담배의 당함량이 증가되어 제품담배에서의 향각미를 저해하는 인자로 문제시 되고 있는 실정이다. 일반적으로 MH를 처리하면 당함량은 증가하고 알칼로이드 함량은 감소하는데 이는 당질대사작용에 대한 간접효과^{1, 2, 13)}로 보고 있으나, Hatzio와 Penner¹¹⁾는 MH는 식물체내에서 유리 또는 결합형태로 존재하며 유리MH는 신세포분열을 억제하고 결합형태의 MH는 일종의 대사산물로 배당체를 형성하여 세포벽에 부착, MH의 독성을 완화시켜 액아 억제효과를 높여준다고 하였다. 뿐만 아니라 독일은 MH 잔류량을 80ppm이하로 규제하고 있다. MH의 당질대사에 대한 당함량의 증가와 잔류량의 규제라는 부정적 측면에도 불구하고 MH사용은 적아작업의 생력화라는 면에서 효용이 크기때문에 근래에는 MH 대체 약제개발 또는 사용량을 줄이는 방안이 요구되고 있다.

Fatty alcohol(FA)의 유효용액을 병행하여 처리함으로써 MH의 잔류량도 낮추고 액아억제효과도 높혀 수량과 품질을 향상시키려는 연구가 활발히 진행되고 있다.^{5, 6, 8, 16, 20, 22, 23)}

본 연구는 당질대사에서 비가역반응으로 관여하는 Invertase activity와 당질대사 산물의 변화를 중심으로 최근에 국내에 보급하기 시작한 C-MH와 FA에 대한 영향을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

재배방법 및 식물체시료

전보^{9, 10)}에서 발표한 바와 같이 황색종 신품종 담배 KF 109(*Nicotiana tabacum* L.)를 한국인삼연초연구원 일반말칭 표준재배법에 준하여 Pot시험과 포장시험을 병행하여 실시하였다. 시료채취는 적심직후 MH처리전(1회), 처리 2시간 후(2회), 1일 후(3회), 3일 후(4회), 7일 후(5회), 14일 후(6회) 및 건조후(7회)에 각각 실시하였으며, 생체시료는 -70°C의 deep freezer에 보관하여 사용하였다.

약제처리 및 실험구의 구성

FA(83.3%)는 물 30배액을 만든후 발리기때 1cm 이상의 액아를 제거하고 20ml/주 씩 소형주사기로 식물체의 액아발생부위에 고루 처리하였다. C-MH(39%)는 적심후 처리농도에 따라 18.5배에서 74배의 물로 희석 상위엽 부위에 처리하였다.

실험구의 구성은 무처리 수제거구를 대조구(T₀)로 하여 C-MH 1/2량 처리구(60mg/주 : T₁), 적량처리구(120mg/주 : T₂), 2배량 처리구(240mg/주 : T₃) 및 FA+C-MH 1/2량 처리구(T₄), FA+C-MH적량처리구(T₅), FA+C-MH 2배량 처리구(T₆)로 구성, 본 연구를 수행하였다.

Invertase activity 측정¹⁷⁾

생체시료 0.5g을 액체질소와 함께 분쇄후 2.0mM의 citrate buffer(pH 5.0) 1.0ml로 단백질을 추출하고, 추출용액 0.1ml를 효소용액으로 하여 30mM의 sucrose, 20mM의 citrate buffer로 2.0ml의 효소반응액을 만든후 37°C에서 60분간 invertase를 incubation시켜 sucrose가 환원당으로 변환값을 자동분석장치로 비색정량하여 효소의 활성도를 측정하였다.

전당 및 환원당의 정량

한국인삼연초연구원 담배성분분석법¹²⁾에 준하여 건물시료 0.5g, 활성탄 0.5g, 2% acetic acid 100ml를 가한 후 20분간 진탕 추출하고, Toyo사의 5B 여과지로 여과 후 potassium hexacyanoferrate(0.4g/L)가 들어있는 1N-sodium hydroxide용액으로 발색시켜 Technicon사의 자동분석기로 역비색정량 하였다.

결과 및 고찰

1. Invertase Activity이 변화

Sucrose를 비가역적으로 glucose와 fructose로 전환시키는 invertase activity를 적심 후 약제처리 전에서부터 경시적으로 표 1에서와 같이 실시한 결과, 대조구에서는 적심시기(187µg/min)를 정점으로 서서히 감소하다가 약제처리 14일 후는 다시 증가하는 경향이였다. 또한 발리기때 FA를 처리한 FA+MH 처리구에서는 MH 단독처리구보다 민감하게 반응하여 약제처리 2시간 경과 후 237µg/min을 정점으로 하여 대조구와 동일한 경향으로 약제처리 14일까지 지속적으로 감소하는 경향을 보였고, 약제처리 14일 경과 후 처리간에 invertase의 활성은 대차 없이 162

Table 1. Changes in invertase activities in accordance with the post-treatment sampling time on fresh tobacco leaves, KF 109

Treatment		Post-treatment sampling time					
		Before	2 Hrs	1 Day	3 Days	7 Days	14 Days
		μg/min					
Control (T ₀)	Tips	231	238	203	221	213	206
	Leaf	215	193	198	180	195	189
	Cutters	156	169	142	163	143	132
	Lugs	144	132	119	140	144	119
	Mean	187	183	166	176	174	162
MH (T ₂)	Tips		266	265	215	179	177
	Leaf		229	218	191	164	231
	Cutters		141	178	162	131	212
	Lugs		109	156	160	130	129
	Mean		186	204	182	151	187
FA+MH (T ₅)	Tips		330	254	231	198	187
	Leaf		259	265	186	182	233
	Cutters		195	163	172	146	157
	Lugs		162	195	139	203	118
	Mean		237	219	182	182	174

μg/min(대조구)~187μg/min(MH 처리구) 수준으로 성장조절제 처리구에서 7.4~15.4% 높았던 것은 FA이나 MH에 의하여 환원당함량이 증가된다는 연구결과^{7, 15)}를 입증할 수 있었다.

엽위별 invertase activity의 변화는 전반적으로 감소하였으나 MH처리구에서는 상위엽에서 민감한 반응과 함께 일시적으로 증가한 후(2시간-1일) 서서히 감소하는 경향은 같았으나 약제처리 14일후에는 본, 중엽에서 현저히 증가하는 특이한 현상을 보였다. FA+MH 처리구에서는 MH 처리구보다 더욱 두드러지게 invertase의 활성이 일시적으로 증가하였고 약제처리 14일 후에는 중엽에서 MH처리구와 같은 증가현상을 보여 이들 성장조절제에 의한 효소활성이 자극을 받은 결과라고 판단된다.

잎담배의 줄기와 뿌리에 대한 invertase activity를 경시적으로 조사한 결과, 그림 1과 같이 줄기에서는 잎에서와 같이 전반적으로 감소하는 경향을 보였으나 FA+MH처리구에서 MH처리 7일 후 일시적으로 두드러지게 감소하였다가 다시 증가하면서 14일 후에는

FA+MH처리구(193μg/min)>대조구(182μg/min)>MH처리구(169μg/min)순으로 처리간에 근소하였다. 또한 뿌리에서는 약제처리 7일 후에 전반적으로 증가하는 경향을 보여 줄기와는 상이한 결과로서 invertase activity 전체적으로는 물질대사간에 평형을 보이는 것으로 생각되었다. 줄기와 효소활성이 일시적으로 감소하였던 FA+MH 처리구가 뿌리에서 효소활성이 가장 높았던 점이나 줄기와 뿌리의 activity를 합한 값에서도 처리간에 매우 근소하여 MH나 FA과 같은 성장조절 물질에 의하여 부분적 또는 일시적인 대사작용의 교란으로 이 효소의 활성이 다소 증가되었으나 전체적으로는 처리간에 근소하였음을 확인하였다.

2. 전당과 환원당의 변화

앞서 검토한 invertase activity의 변화에서 예측할 수 있었던 전당과 환원당에 대한 처리간의 함량변화(그림 2)는 전당이나 환원당 모두 전처리구에서 약제처리 2시간과 3일후에 처리간 차를 보이면서 일시적인 증가현상을 보였는데, 2시간 후에는 MH단

MH 및 FA이 황색증 잎담배의 몇가지 대사산물 변화에 미치는 영향
 III. Invertase Activity 및 당질 대사물의 변화

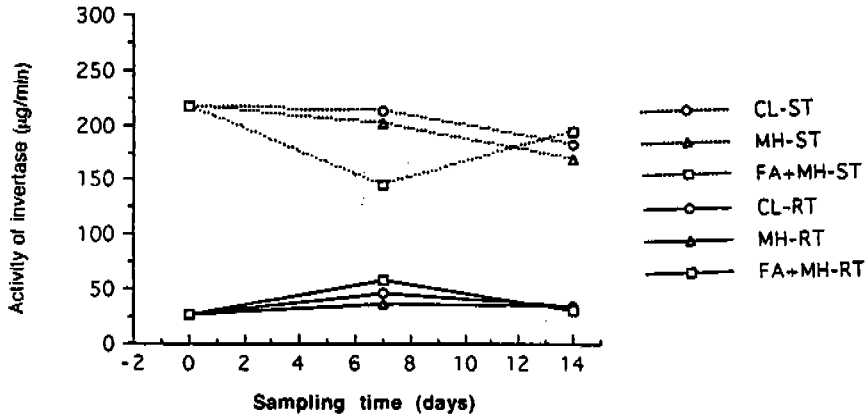


Fig. 1. Changes in invertase activity depending upon the post-treatment sampling time and fresh stalk and root.
 * ST : Stalk, RT : Root.

독처리구에서, 3일후에는 FA+MH처리구에서 현저하게 증가하였고, 경시적으로 물질대사작용이 진행되면서 약제처리 7일 이후 부터는 이들 생장조절제에 의한 영향을 볼 수 없을 정도로 처리간에 유의차 없이 근소한 값을 보였다. 수확 후의 환원당은 대조구(17.2%)보다 MH처리구와 FA+MH처리구(18.4%)에서 1.2% 증가하였고, 전당함량은 FA+MH처리구(21.3%)에서 대조구(21.6%)보다 0.3% 감소한 결과를 보

였다. 따라서 전당에 대한 환원당의 비(R/T)가 상대적으로 증가하였는데, 이는 FA+MH처리구의 invertase의 활용이 MH처리 1일 후 대조구 보다 월등히 높았고 14일 후에는 MH단독처리구(187µg/min)보다 낮은 174µg/min에 그치므로 수확 후에는 전당함량이 대조구와 대등한 결과를 보인 것으로 생각된다. R/T에서는 적심 후 약제 처리전 60.5%를 시작으로 전처리구에서 경시적으로 서서히 증가하기 시작하여

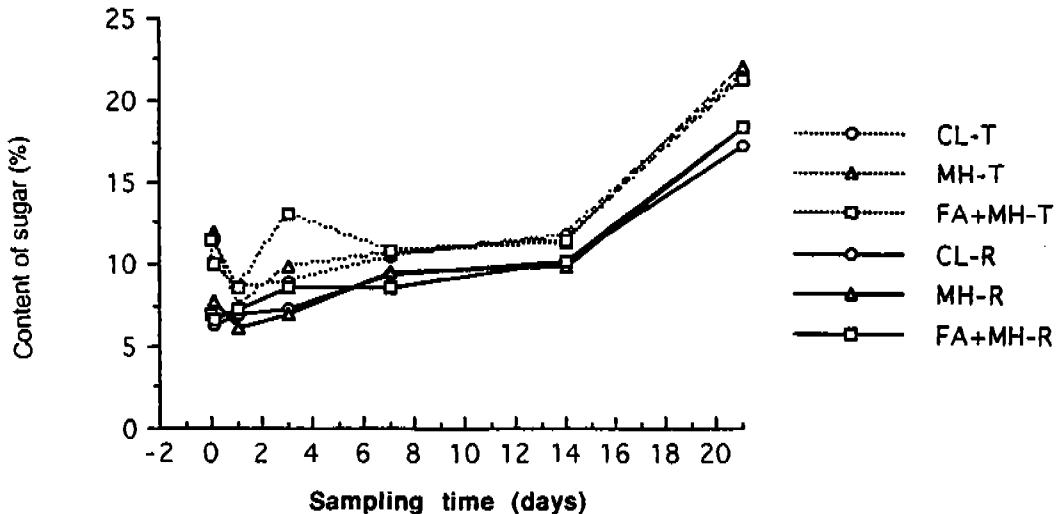


Fig. 2. Changes in total and reducing sugar contents of flue-cured tobacco leaves depending upon the post-treatment sampling time.

대조구와 MH처리구에서는 7일 후 89.5%와 88.8%를 정점으로 다시 감소하였고 FA+MH처리구에서는 14일 후 88.7%를 보였으며, 수확 후에는 FA+MH처리구(86.4%)>MH처리구(83.2%)>대조구(79.6%)순으로 R/T비가 이들 성장조절제에 의하여 6.8~3.6% 증가되었음이 확인되었다.

이와 같은 결과는 잎이 신장하는 동안 엽육에 저장되어 있던 sucrose가 다른 기관으로 이동하면서 일부는 세포막을 구성하는 pectin이나 cellulose형태로 전환되고 일부는 식물체의 생육과 에너지 생산에 필요한 전분이나 sucrose자체로 비축되는데, 이들 당질대사산물이 건조과정중에 amylase나 invertase 같은 효소작용에 의하여 현저히 증가된 것으로 보인다. 특히 MH나 FA처리에 의하여 전분과 가용성 당질대사물질이 보다 많이 축적되었거나 앞서 검토한바 있는 invertase의 활성이 이들 성장조절제 처리에 의하여 약제처리 14일 후에 현저히 증가한데 그 원인이 있는 것으로 판단된다.

엽위별 전당과 환원당의 변화는 그림 3에서 보는

바와 같이 적심 후 약제처리전에는 전당 함량이 하(13.3%)>중(12.0%)>상(11.4%)>본엽(8.9%) 순으로 분포하였고, R/T비도 중엽(65.0%)> 하엽(62.4%)> 본엽(61.8%)> 상엽(50.8%) 순으로 당질대사물질이 아랫쪽에 높게 분포하고 있었으나 약제처리 2시간 후에는 발육기에 FA을 처리 하였던 FA+MH처리구에서 본엽을 제외한 전엽에서 전당과 환원당 함량이 다소 낮은 결과를 보였고 1일 후에는 모든 처리구에서 당질함량이 대등하다가 3일에는 처리간 차를 보이면서 엽위별 전당과 환원당의 함량분포가 매우 불균형하였고, 경시적으로 상, 본, 중엽에서는 현저히 증가 하였으나 하엽에서는 엽이 성숙되면서 증가폭이 매우 완만 하였다. 따라서 수확 후의 환원당(T-S)/전당(R-S)의 함량은 중엽(20.9/25.4%)> 상엽(19.7/22.8%)> 본엽(18.7/21.0%)> 하엽(12.7/17.5%) 순으로 적심시의 당함량 분포와는 상이하였다.

또한 이들 성장조절물질에 의하여 환원당이 전반적으로 대조구보다 현저한 증가를 보였는데 그 증가

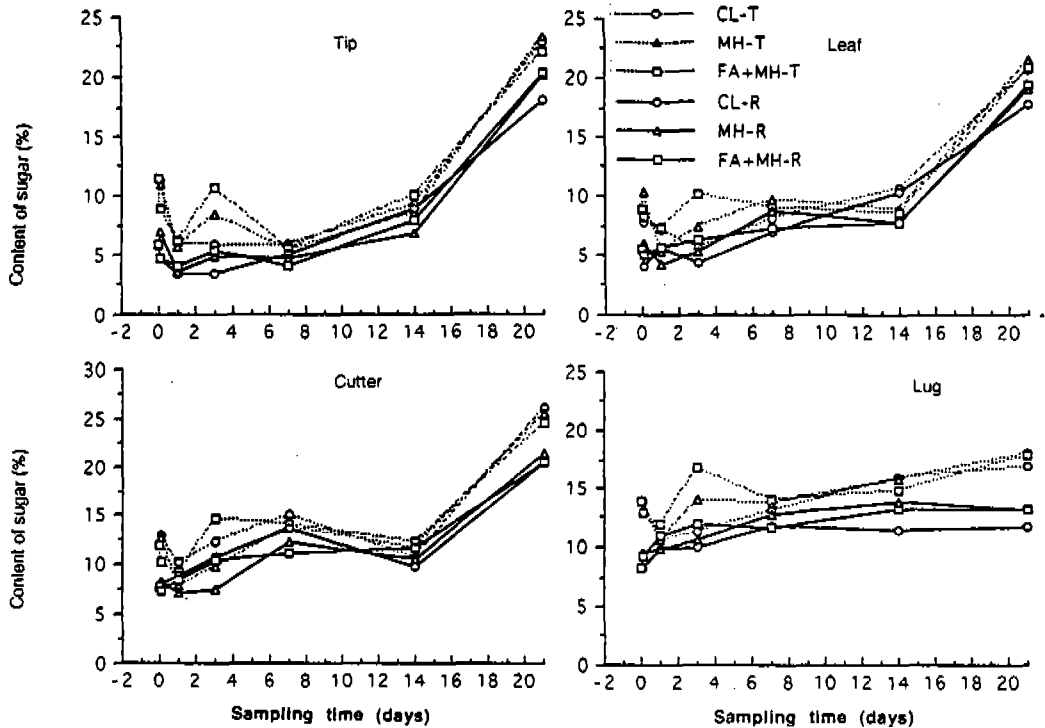


Fig. 3. Changes in total and reducing sugar contents depending upon the post-treatment sampling time and leaf positions.

MH 및 FA이 황색증 잎담배의 몇가지 대사산물 변화에 미치는 영향
 III. Invertase Activity 및 당질 대사물의 변화

폭은 12.7% (FA+MH 처리구 하엽)에서 3.8% (MH 단독처리구 중엽) 수준으로 FA처리구에서 다소 높은 경향이였다.

생장조절제의 처리농도에 따른 엽중 당함량의 변화 (그림 4)를 보면, 약제처리 3일 후에 전당과 환원당이 일시적으로 증가되었으나 그 이후는 경시적으로 처리간 대등하게 증가폭선을 보였고, 수확 후에는 전당함량이 1/2량 처리구에서 3.7%, 환원당은 1/2량 처리구에서 9.8%, 2배량 처리구에서 8.1% 증가된 반면 적량처리구에서는 3.4%만 증가되어 MH의 적정사용량(120mg/plant)을 줄이거나 초과하면 환원당 함량이 현저히 증가되는 결과를 보였다.

잎담배의 줄기와 뿌리에 대한 전당과 환원당함량의 변화를 표 2에서 보면, 줄기에서는 전당과 환원당 모두 적심시기를 기준으로 모든 처리구에서 감소되는 경향을 보였으며, 약제처리 14일 후에는 MH처리구 (10.5/15.2%) > 대조구 (10.2/14.7%) > FA+MH처리구 (9.3/13.5%) 순으로 MH처리구는 대조구보다 전당은 3.4%, 환원당은 2.9% 증가 되었다. 또한 줄기의 환원당에 있어서 T₆ 처리구를 제외하고는 약제처리 7일후 전처리구에서 일시적인 증가현상을 보였는데, 이는 당질대사산물이 기관별로 이동하면서 나타나는 일시적인 축적현상으로 판단된다.

뿌리에 있어서는 줄기에서의 전당과 환원당 함량의

Table 2. Changes in total and reducing sugar contents in accordance with the post-treatment sampling time on stalk and root of flue-cured tobacco

Treatment	Item	Before		7 days		14 days	
		T-S	R-S	T-S	R-S	T-S	R-S
		%					
Control (T ₀)	Stalk	17.1	12.6	15.8	14.5	14.7	10.2
	Root	3.0	1.4	3.1	1.8	2.4	0.6
Half MH (T ₁)	Stalk			14.8	13.9	13.5	9.1
	Root			3.3	2.3	2.9	0.6
Prop. MH (T ₂)	Stalk			15.3	14.5	16.3	11.5
	Root			3.3	2.6	3.2	0.8
Twice MH (T ₃)	Stalk			15.9	14.4	15.7	10.8
	Root			3.9	2.9	3.8	0.7
FA+Half MH(T ₄)	Stalk			17.0	15.9	13.9	9.5
	Root			3.0	2.1	3.5	0.8
FA+Prop. MH(T ₅)	Stalk			15.9	13.0	13.3	9.0
	Root			2.2	1.6	2.9	0.6
FA+Twice MH(T ₆)	Stalk			14.5	10.8	13.3	9.5
	Root			2.5	1.9	3.3	0.6
Mean of MH	Stalk			15.3	14.3	15.2	10.5
	Root			3.5	2.6	3.3	0.7
Mean of FA+MH	Stalk			15.8	13.2	13.5	9.3
	Root			2.6	1.9	3.2	0.7

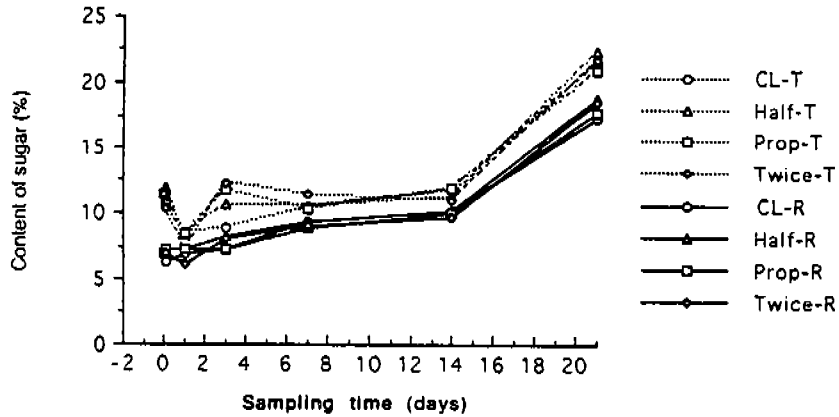


Fig. 4. Changes in total and reducing sugar contents depending upon the post-treatment sampling time and MH concentrations.

변화 경향과 유사하였으나 약제처리 14일 후에는 MH처리구(0.7/3.3%) > FA+MH처리구(0.7/3.2%) > 대조구(0.6/2.4%) 순으로 성장조절제에 의한 당함량이 잎에서와 같이 증가되었다. 잎에서의 전당에 대한 환원당의 비(R/T)가 81~98%까지 높았던 것과는 상대적으로 뿌리에서는 21.2~25.0%로 환원당 함량은 매우 낮은 편이었다. 약제의 사용 농도별로 일정한 증감 경향을 볼 수 없었으나 MH 단독처리구의 당질대사산물이 높았다.

따라서 앞서 검토한 바 있는 낱미 향상을 위한 당함량 감소를 목적으로 볼 때 줄기와 뿌리는 현재까지 제품담배의 주원료로 이용되지 않고 있으므로 가능한 한 당질 대사산물이 잎으로 이동되기 전 수확방법을 모색하거나, 잎에서 검토한 바 있는 이들 성장조절제의 적정량 사용만이 원료잎담배의 당함량을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

황색종 KF 109담배에 대한 성장조절물질(FA, C-MH) 처리가 Invertase activity와 당질대사물의 변화에 미치는 영향을 구명하고자 경시적으로 종합분석하였던 바, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

Invertase의 활성은 MH를 FA와 병행처리할 때 상, 본, 중엽에서 일시적으로 증가된 반면, MH를 단독처리할 때는 약제처리 14일 후에 현저히 증가되었다. 줄기에서도 잎의 경향과 대등하였다.

엽중 전당과 환원당 함량은 성장조절물질 처리초

기에 일시적으로 증가되었으나, 경시적으로 14일까지는 유의차가 없었고, 수확 후에는 이들조절물질에 의하여 환원당이 증가되었으나, FA를 병행처리할 때는 전당함량이 대조구와 대등하였다.

성장조절물질을 처리하면 중, 하엽에서 대조구보다 환원당이 현저히 증가되었고, 적정사용량보다 줄이거나 초과하여 사용시에는 당대사물질이 증가되었다.

참고문헌

1. Akehurst, B.C.(1981) Tobacco, 2nd ed. p. 579 - 582, Longman Ground Lit. NY., U.S.A.
2. Andersen, R.A. and C.C. Liton(1979) Tob. Sci. 19 : 69 - 70.
3. Ashton, F.M. and A.S. Crafts(1981) Mode of Action of Herbicides, p. 20 - 39, John Wiley and Sons ed., NY., U.S.A.
4. Bacon, C.W., R. Wenger and J.F. Bullock(1952) Ind. Eng. Chem. 44 : 292.
5. Cheng, A.L.S. and G.L. Steffens(1983) Beit. Tabakforeschung 12(1) : 15 - 19.
6. Cheng, A.L.S. and G.L. Steffens(1975) Tob. Sci. 20 : 75 - 76
7. Douglase, E.A., C.T. Mackown, S.L. Gay and L.P. Bush (1986) Tob. Sci. 30 : 11 - 15.
8. Guthrie, F.E.(1968) Beit. Tabakforeschung 4(6) : 229 - 246.

9. 한상빈, 육창수, 조성진(1993) 한국연초학회지 15 (2) : 145 - 151.
10. 한상빈, 육창수, 조성진(1993) 한국연초학회지 15 (2) : 152 - 160.
11. Hatzios, K.K. and D. Penner(1982) Metabolism of Herbicides in Higher Plants, P. 52 - 58, Burgess Publishing, Mineapolis, MN., U.S.A.
12. 김찬호외 12명(1991) 담배성분분석법 p. 98 - 99, 한국인삼연초연구소
13. Link, L.A., W.O. Atkison, B.C. Nichols and H. Seltmann(1982) Tob. Sci. 26 : 36.
14. Nooden, L.D.(1972) Plant and Cell Physiology 13 : 609 - 621.
15. Priest, J.A. and H. Seltmann(1983) Tob. Sci. 27 : 156 - 157.
16. Schaeffer, G.W. and G.L. Steffens(1965) Tob. Sci. 9 : 146 - 148.
17. Schone, D.L. and O.L. Hoffmann(1949) Science 109 : 588 - 590.
18. Seltmann. H. and B.C. Nichols(1984) Agronomy J. 76 : 375 - 378.
19. Seltmann. H. and R.D. Decker(1965) 19th TCRC Congress, Lexington KY. 126 - 131.
20. Sheets, T.J. and L.A. Nelson(1989) Tob. Sci. 33 : 5 - 8.
21. Smith, W.C. and W.D. Smith(1987) Tob. Sci. 31 : 5 - 7.
22. Steffens, G.L., et al.(1969) Tob. Sci. 13 : 113 - 116.
23. Steffens, G.L. and S.J. Barer(1984) Beit. Tabak-foreschung 12(5) : 279 - 284.