

담배의 生育段階 및 環境條件에 따른 Diterpenoids 含量 變化

琴完洙* · 鄭潤和* · 崔祥周* · 趙明助*

Changes of Diterpenoids Levels under Different Environmental Condition Tobacco Leaves

Wan Soo Keum*, Yun Hwa Chung*, Sang Ju Choi* and Myung Cho Cho*

ABSTRACT : This experiment was conducted to determine the influences of growth stage, stalk position and growth environment on divatrienediols(DVT-diols) and *cis*-abienol production in *Nicotiana tabacum* L. The leaves of plants at transplanting stage contained very small amount of divatrienediols and *cis*-abienol. Comparing leaves on different stalk position at flowering stage, upper and middle leaves contained more DVT-diols and *cis*-abienol than lower leaves.

Plants grown under controlled environmental room at 30°C contained more DVT-diols and *cis*-abienols than room at 18°C, 25°C and glass room. Tobacco plant grown under field condition produced lower levels of divatrienediols and *cis*-abienol contents than glass room-grown plants. The amounts of divatrienediols and *cis*-abienol of tobacco leaves significantly decreased after rain under field conditions.

Key words : *Nicotiana tabacum* L., Divatrienediols, *cis*-abienol, Stalk position.

담배(*N. tabacum* L.)生葉의 主要한 表皮(cuticular) 成分은 hydrocarbons, diterpenes fatty alcohols 그리고 sugar esters 등이다. 이들 成分中 diterpenes는 大部分의 栽培品種에서 豊富하게 存在하며 遺傳的, trichome의 密度와 形態, 植物發育, 栽培의 要因 및 環境에 따라 큰 影響을 미친다고 한다¹²⁾.

앞표면 물질은 害蟲 및 病抵抗性 그리고 식물체의 生理的 功能 등 복잡한 役割을 하며¹³⁾ 특히 생엽 표면 물질 중 α 와 β -4,8,13-divatriene-1,3-diols(DVT-diols)와 *cis*-abienol은 乾燥中 分解가 되어 乾燥葉의 香氣成分과 매우 깊은 관련이 있다고 한다^{4,7,8,12,13)}. 일반적으로 황색종과 버어리종에는 DVT-diols이 存在하나 *cis*-abienol

은 거의 存在하지 않고 오리엔트종, cigar, 남미 품종 및 재래종 등의 品種에 많이 생성된다^{11,12,13,15)}.

*N. tabacum*은 *N. sylvestris*와 *N. tomentosiformis*의 자연교잡 후 染色體가 배가된 복이배체이며¹⁶⁾ 이 두종 중 DVT-diols이 *N. sylvestris*에서, 그리고 *cis*-abienol은 *N. tomentosiformis*에서 유래된 것이라고 보고되고 있다¹⁰⁾. 담배의 생엽 表皮 成分은 주로 gas chromatography에 의하여 分析이 되나 이 方法은 많은 개체를 대상으로 選拔하기에는 많은 시간이 소요된다. Reid⁹⁾가 이용한 TLC 분석법은 단시간내에 많은 개체를 DVT-diols와 *cis*-abienol을 分析할 수 있으므로 이들 두 成分이 많은 系統 選拔에 有用하

* 한국인삼연구소 수원시험장 (Suwon Experiment Station, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, P. O. Box 59, Suwon, 440-600, Korea) <'96. 4. 8 接受>

게 이용될 수 있다. 따라서 본 시험은 연초 乾葉의 香氣成分과 關聯이 깊은 DVT-diols와 *cis-abienol*의 생성에 影響을 미치는 要因을 조사하기 위하여 시험재료의 生育環境條件, 生育段階別 및 엽위별로 DVT-diols와 *cis-abienol*의 함량을 TLC 방법으로 조사하였던 바 얻은 結果를 보고하고자 한다.

材料 및 方法

試驗材料는 앞에서 DVT-diols만 생성되는 우리나라 黃色種 주종품종인 NC 82와 DVT-diols와 *cis-abienol*이 많이 생성되는 TI 1068을 사용하였다. 이들 試驗材料는 이식묘(8매묘)에 달하였을 때 pot(직경 17cm)에 이식하여 自然光室과 人工光室에서 栽培하였다. 自然光室의 條件은 最低 氣溫이 22℃이고 最高氣溫은 맑은 날에 30℃ 이상 올라가며 일장은 自然狀態였다. 人工光室의 條件은 溫度가 18℃, 25℃ 및 30℃, 조도는 30klux, 일장은 18℃ room에 8시간, 25℃와 30℃ room에 12시간씩 處理하였다. 이식묘에 대한 DVT-diols와 *cis-abienol* 分析은 파종 후 45일된 묘를 사용하였고, 試料 點적량에 따른 두 성분의 含量 조사는 이식 60일 된 TI 1068 묘에서 시료를 採取하였다. 環境條件에 따른 DVT-diols와 *cis-abienol* 含量 조사는 이식 후 20일, 40일, 60일 때의 상위엽을 採取하여 分析하였다.

自然光室과 圃場에서 재배된 담배에서 duvatrienediols와 *cis-abienol* 含量의 비교는 개화기 때 조사하였다. 강우 前後의 duvatrienediols와 *cis-abienol* 含量의 비교에 있어서 비가 오기전 試料採取는 7월 13일, 비가 온 後 試料採取는 7월 15일에 비가 44.2mm 온 다음날 7월 16일에 하였다. 分析用 試料는 주맥을 피하여 直徑 1cm인 cork borer를 이용하여 주당 4편의 잎조직을 採取하였으며 이들 조직은 5ml methylene chloride가 含有된 試料병(직경 1.2cm, 높이 7cm)에 넣은 후 20초간 흔들어서 잎표면의 化學물질을 추출하였다. 추출된 시료는 TLC 분석을 할 때까지 -20℃ 저온 냉장고에 보관하였다. TLC 분석을 위하여 추출된 液을 0.5ml씩 採取하여 eppendorf

튜브에 넣은 후 뚜껑을 닫지 않은 狀態에서 methylene chloride를 완전히 증발시킨 후 다시 methylene chloride 50 μ l를 넣고 흔들어 준 다음 TLC판(Silicagel plate, 20 \times 20cm, thickness 0.2mm)에 點적하였다. 點적은 TLC 판을 밑면에서 2.5cm 위치에 연필로 선을 표시하고 그 선 위에 1.5cm 간격으로 표시한 다음 마이크로 피펫으로 하였다. 分획은 developing chamber(23.5 \times 12.0 \times 21cm)에 2cm 깊이 용매(900ml chloroform+100ml methanol)를 넣고 20분 정도 뚜껑을 닫은 후 點적을 끝낸 TLC 판을 넣어 용매가 TLC 판의 3/4 위치에 도달했을 때 꺼내어 드라이어로 완전히 말렸다. 染色은 5% ethanol sulfuric 95ml에 5ml p-anisaldehyde를 混合한 液을 스프레이어로 TLC 판에 균일하게 뿌린 다음 다시 드라이어로 말려 DVT-diols와 *cis-abienol*의 含量을 조사하였다.

結果 및 考察

담배(*N. tabacum* L.) 生葉으로부터 추출한 試料液의 양에 따른 DVT-diols와 *cis-abienol*의 含量을 分析한 結果는 그림 1과 같다. TLC 分析法

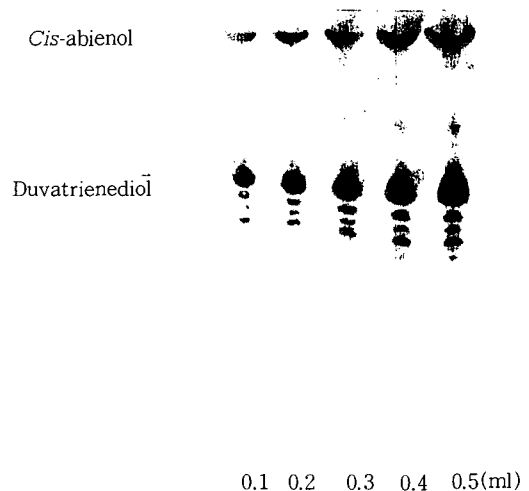


Fig. 1. Comparison of the spot areas of increasing amounts of surface lipids applied.

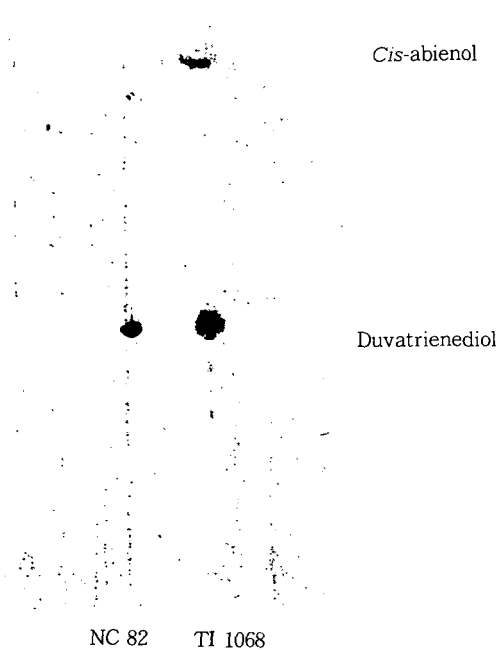


Fig. 2. Thin layer chromatogram of diterpenoids from fresh tobacco leaves at transplanting stage.

으로 어떤 成分을 分析할 때 TLC판에 나타나는 spot의 크기는 成分의 含量이 많을 수록 크게 나타나며³⁾, 그림 1에 있어서도 추출시료액의 양을 달리 했을 때 處理間의 spot의 크기가 뚜렷한 差異를 나타내었으며 추출시료액의 양이 많을수록 크게 나타났다. 따라서 담배의 品種間 비교 및 系統內의 高含有 DVT-diols와 *cis-abienol* 選拔에 TLC 方法은 有用하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

그림 2는 이식묘(파종 후 45일 묘)에 대한 DVT-diols와 *cis-abienol*을 分析한 結果이다. NC 82의 DVT-diols의 含量은 매우 낮았으나 TI 1068은 NC 82에 비하여 DVT의 含量이 현저히 높게 나타났고 또 *cis-abienol*의 生成도 確認할 수 있었다. 담배의 DVT-diols의 含量은 이식묘 이전에는 매우 낮고 이식 후 2~6주 사이에 상당한 增加를 보이다가 開花期인 6~8주 사이에는 減少가 된다고 한다⁴⁾.

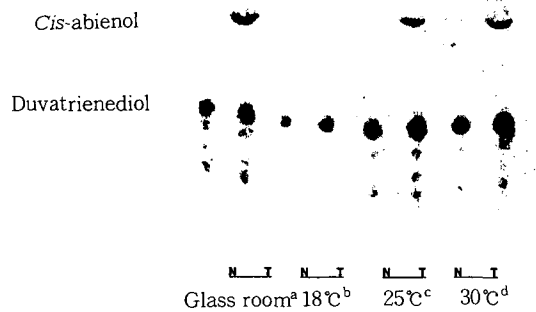


Fig. 3. Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves at 20 days after transplanting.

- a : Glass room was natural photoperiods, minimum temperature of 22°C and higher than in bright sunny days.
 - b : The controlled-environment room programmed for temperature of 18°C and 8-hr photoperiods of 30klux.
 - c : The controlled-environment room programmed for temperature of 25°C and 12-hr photoperiods of 30klux.
 - d : The controlled-environment room programmed for temperature of 30°C and 12-hr photoperiods of 30klux.
- N ; NC 82, T ; TI 1068

그림 3~5는 담배의 生育環境에 따른 DVT-diols와 *cis-abienol*의 含量을 調査한 結果이다.

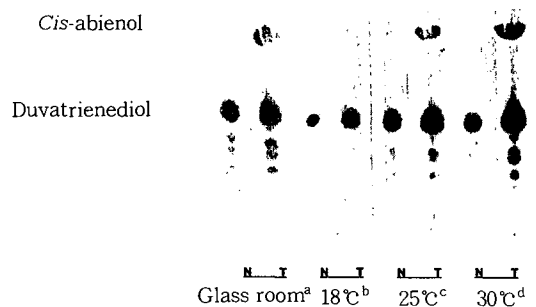


Fig. 4. Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves at 40 day after transplanting(See footnote of Fig. 3).

DVT-diols와 *cis-abienol*의 含量은 30°C 人工光室이 가장 높았고, 그 다음은 25°C 人工光室과 자

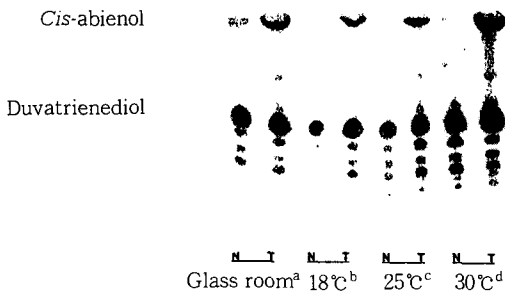


Fig. 5. Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves at 60 days after transplanting(See footnote of Fig. 3).

然光室이었으며 18°C 人工光室에서는 매우 낮았다. 煙草生葉의 DVT-diols의 生成은 土性, 施肥 수준, 栽培地域, 수분의 stress 등에 따라 큰 차이를 나타낸다⁶⁾. 生育環境(溫度, 빛)에 따른 DVT-diols의 含量은 低溫일때 낮고 高溫 및 햇볕에 의한 열의 stress 條件에서는 높아진다고 한다. 본 試驗에서 30°C 人工光室이 다른 處理區보다 DVT-diols의 含量이 높게 나타난 것은 高溫 長日 조건에 의한 stress에 기인된 것으로 생각되며, 18°C의 人工光室에 栽培된 試驗材料의 DVT-diols가 매우 낮았는데 이러한 原因은 低溫, 短日條件으로 다른 處理區에 비하여 土壤수분의 豊富 및 습한 生育條件에 기인된 것으로 생각된다.

生育段階別로는 開花期까지 生育段階가 지날수록 모든 環境條件에서 DVT-diols와 cis-abienol의 含量이 높았다. 이러한 結果는 開花期까지 生育段階가 지날수록 DVT-diols 含量이 높다고 報告한 Gamou와 Kawashima⁵⁾, Severson 등¹⁶⁾, Court²⁾의 報告와 一致하는 傾向이다. NC 82와 TI 1068 간 비교에 있어서는 TI 1068은 모든 環境條件 및 모든 生育段階에서 NC 82보다 DVT-diols의 含量이 현저히 높게 나타났다.

그림 6에서 自然光室과 圃場栽培시의 DVT-diols와 cis-abienol을 分析한 結果이다.

DVT-diols와 cis-abienol의 含量은 溫室에서 栽培된 담배가 圃場에서 栽培된 煙草보다 높았

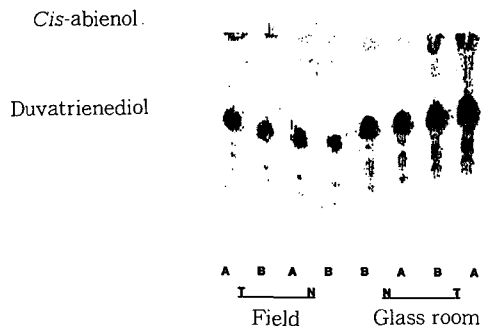


Fig. 6. Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves grown under glass room and field conditions.

N ; NC 82 T ; TI 1068
A ; Upper leaf B ; Middle leaf

다. Johnson 등⁶⁾은 圃場에서 栽培된 담배는 溫室에서 栽培된 담배보다 수분의 stress를 많이 받고 충분한 일조 등으로 葉육이 두꺼워 DVT-diols와 cis-abienol의 含量이 높다고 하였다. 그림 7에서는 이와 반대 現象으로 나타났는데 이러

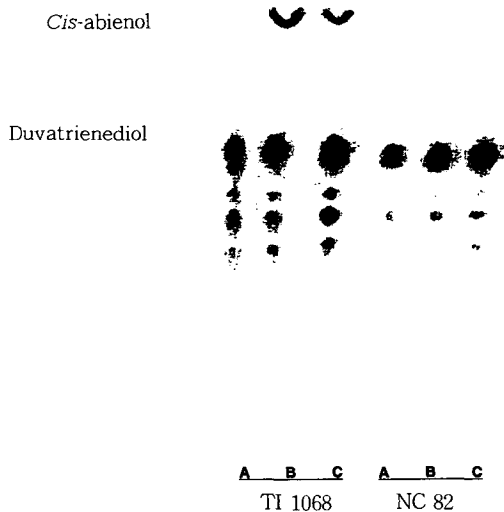


Fig. 7. Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves at flowering stage.

A ; lower leaf B ; middle leaf C ; upper leaf

한 原因은 본 試驗에 이용된 自然光室은 最低氣溫 22℃ 最高氣溫은 햇빛이 있는 맑은 날에는 30℃ 이상인 條件으로 포장조건보다 水分 stresses가 많았고 또 溫度가 높았기 때문이라고 생각된다.

그림 7은 開花期 때 NC 82와 TI 1,068의 DVT-diols와 *cis*-abienol의 含量을 分析한 結果이다. NC 82와 TI 1068 두 품종 모두다 상위엽 중위엽 하위엽 순으로 높게 나타났다. 담배의 DVT-diols의 含量은 적십전까지 葉위가 높을 수록 높다고 하며²⁾ 또 잎의 성숙이 進行됨에 따라서는 減少된다고 한다¹⁾. 하위엽은 중상위 葉에 비하여 DVT-diols의 含量이 현저히 낮게 나타난 것은 하위엽이 과숙이 되었기 때문인 것으로 생각된다.

그림 8은 開花期 때 담배生葉에서 비가 오기 前과 비가 온 後의 試料들을 採取하여 DVT-diols와 *cis*-abienol의 含量을 조사한 結果이다. 비가 온 後에 採取한 試料는 비가 오기 前에 採取한 試料보다 DVT-diols와 *cis*-abienol의 含量이

현저히 낮았다. 이러한 原因은 강우가 담배의 表皮 物質을 除去했기 때문이다¹³⁾.

摘 要

담배의 生育段階 및 環境條件에 따른 duvatrienediols와 *cis*-abienol의 含量을 조사하였던 바 얻어진 結果는 다음과 같다.

1. 담배生育 段階別 duvatrienediols와 *cis*-abienol의 含量은 이식묘일 때 매우 낮았고 이식 후 40일 후부터 많은 양이 生成되었다.
2. 담배生育 環境條件에 따른 duvatrienediols와 *cis*-abienol의 含量은 30℃ 人工光室이 가장 높았고 그 다음은 25℃ 人工光室과 自然光室 그리고 18℃ 人工光室은 매우 낮았다.
3. 自然光室에 栽培된 煙草는 圃場에서 栽培된 담배보다 duvatrienediols와 *cis*-abienol의 含量이 높았다.
4. 開花期 때 葉위엽 duvatrienediols와 *cis*-abienol의 含量은 하위엽이 가장 낮았고 중위엽과 상위 葉은 비슷하였다.
5. 降雨 前에 採取한 試料는 降雨 後 즉시 採取한 試料 보다 duvatrienediols와 *cis*-abienol의 含量이 현저히 높았다.

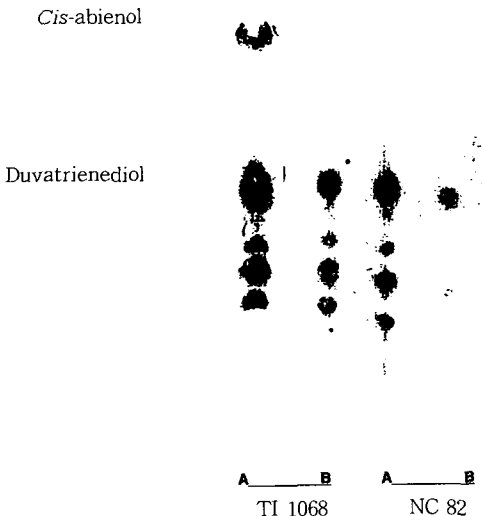


Fig. 8. Thin layer chromatograms of diterpenoids from fresh tobacco leaves: sampled before and after rain under field conditions.

A ; Before rain, B ; After rain

引用文獻

1. Chang, S. Y. and C. Grunwald. 1976. Duvatrienediols, alkanes, and fatty acid in cuticular wax of tobacco leaves of various physiological maturity. *Phytochem.* 15:961-963
2. Court, W. A. 1982. Factors affecting the concentration of the duvatrienediols of flue-cured tobacco. *Tob. Sci.* 24:40-43.
3. Egon Stahl, M. R. F. Ashworth. 1973. *Thin-Layer Chromatography A Laboratory Handbook* George Allen & Unwin Ltd London Springer-Verlag Berlin Heidel-

- berg. New York. 9p.
4. Enzell, C. R. 1976. Terpenoid components of leaf and their relationship to smoking quality and aroma. *Rec. Adv. Tob. Sic.* 2:32-60.
 5. Gamou, K. and N. Kawashima. 1979. Studies on leaf surface lipid of tobacco. I. Changes in leaf surface lipid and divatriendediols during growth, senescence and curing of tobacco leaves. *Agric. Biol. Chem.* 43:2163-2168.
 6. Johnson, A. W., R. F. Severson, D. M. Jackson, G. R. Gwynn and J. F. Chaplin. 1981. Tobacco budworm infestation on early, late-planted, and sucker regrowth resistant and susceptible tobacco. 29th Tobacco Workers Conference, Lexington, KY, January 19-22.
 7. Nielsen, M. T. 1991. Altering flavor and aroma constituents of burley tobacco. *Tob. Sci.* 35:69-73.
 8. _____, R. F. Severson. 1992. Inheritance of diterpenes constituent in tobacco trichome exudate. *Crop Sci.* 32:1148-1150.
 9. Reid, W. W. 1974. The cuticular and cytoplasmic lipids of *Nicotiana tabacum*. *Ann. du Tabac. SEITA, Sect.* 11:151-159.
 10. _____. 1979. The diterpenes of *Nicotiana* species and *N. tabacum* cultures. In : Linnean Society Symposium # 7 : The Biology and Taxonomy of the Solanaceae. (J. G. Hawkes, R. N. Lester, and A. D. Skelding, Ees.)pp. 173-278. Academic Press, New York, NY.
 11. Sato, M., T. Komari, and K. Asaine. 1982. Varietal differences in the composition of leaf surface diterpenoids in tobacco. *Iwata Tob. Exp. Stn. Bull.* 14:59-71.
 12. Severson, R. F. 1990. The cuticular chemistry of *N. tabacum* p. 34-54. CORESTA Symp. Infor. Bull.
 13. _____, A. W. Johnson, D. M. Jackson. 1985. Cuticular constituents of tobacco : Factors affecting their production and their role in insect and disease resistant and smoke quality. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 11:105-174.
 14. _____, D. M. Jackson and J. F. Chaplin. 1982. The effect of plant age and curing on cuticular leaf chemical levels and composition. 36th Tobacco Chemist' Research Conference, Raleigh, NC, October 25-27.
 15. Smeeton, B. W. 1987. Genetic control of tobacco quality. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 13: 3-26.
 16. Smith, H. H. 1968. Recent cytogenetic studies in the genus *Nicotiana*. *Adv. Genet.* 14:1-54.