

연초(*N. tabacum* L.) 버어리종과 중국 양건종 교잡 후대의 DVT 및 cis-abienol 유전

이호림* · 조천준¹ · 류점호

전북대학교 생물자원과학부, ¹한국인삼연초연구원 전주시험장
(2000년 3월 5일 접수)

Inheritance of DVT and Cis-abienol in F₁ Generation among Burley and Sun-cured Cultivars of China(*N. tabacum* L.)

Li Hu Lin*, Jo Chun Joon¹, and Ryu Jeom Ho

Jeonbuk Natl. Univ., Chonju Exp. Stn., Korea Ginseng & Tobacco Res. Inst.

(Received March 5, 2000)

ABSTRACTS : To obtain the genetic information about DVT(α - and β -4,8,13- duvatriene-1,3-diols) and cis-abienol contents, two burley(Burley 21, KB 108), three sun-cured cultivars(*N. tabacum* L. cv. Yonbyun 3, Jahengyon and Jaraehong), TI 1068, and thirty F₁ hybrids derived from them were sampled and the diterpenes were analysed using thin layer chromatography (TLC) procedures. DVT exudation from the leaf scerface could le detected in all coltivars and F₁ hybrids tested. TI 1068 and Yonbyun 3 had cis-abienol exudates. Burley 21, KB 108, Jaheungyon, and Jaraehong had no spot of cis-abienol. It is considered that cis-abienol exudation might be controlled by dominant gene(s). The cytoplasmic effect on the cis-abienol exudation was not detected.

Key words : *Nicotiana tabacum*, DVT, cis-abienol, sun-cured.

서 론

연초(*Nicotiana tabacum* L.)의 품질은 종류(types)간에 매우 다르며 유전적인 조성, 재배기술, 건조방법이나 재배환경의 영향을 크게 받는다(Severson et al. 1985). 최근 화학분석 기술의 진보로 연초에서도 품질에 관련되는 물질들이 육종의 대상형질로 다루어지고 있다(Nielsen & Severson,

1990., 1992., Nielsen, 1991. Smeeton 1987). 이러한 물질들 중 cis-abienol (Z-labda-12.14-diene-8 α -ol)과 DVT(diterpenes α - and β -4,8,13- duvatriene-1,3-diols)는 담배 잎의 피표성분(tobacco trichome exudate components)으로 그 분해 물질이나 열분해 산물은 독특한 향기특성을 나타낸다(Enzell, 1976.,Severson, 1990). Cis-abienol은 대부분의 오리엔트종 품종에는 존재하나 버어리종과

*연락처 : 561-756 전주시 덕진구 덕진동 1가 664-14, 전북대학교 농과대학 생물자원학부

*Corresponding author : Faculty of Biological Resources Science Chonbuk National University 664-14 1-ga, Deokjin-dong ChonJu 561-765, Korea

황색종에는 거의 없고 DVT는 세 종류 모두에 존재하나 종류간에 함량차이가 크다(Severson, 1990., Severson *et al.* 1985., Smeeton, 1987). Cis-abienol은 단일 우성인자에 의하여 지배되며(Kubo *et al.* 1982) DVT는 2쌍의 유전자에 의하여 지배된다는 보고(Severson, 1990)가 있다. Cis-abienol과 DVT의 정량분석과 정성분석은 각각 gas chromatography (Severson *et al.* 1989)와 Thin layer chromatography(TLC) 방법(Severson, 1990)으로 할 수 있다. 이중 TLC 방법은 분석과정이 비교적 단순하여 성분육종에서 개체선발을 위하여 실용적으로 이용할 수 있는 방법이다.

현재 중국에서 많이 재배되고 있는 양건종(*N. tabacum* L. cv. dark sun-cured)은 권련 제조의 주 원료로 사용된다. 양건종은 향긋미(aroma)가 많고 니코틴함량이 매우 높으나 수량은 버어리종에 비하여 적은 편이다. 반면에 버어리종은 양건종에 비하여 수량은 많으나 향긋미가 떨어진다. 이상의 두 종류의 단점을 상호 보완하기 위하여 육종적인 조작을 통하여 양건종은 수량성을 높이고, 버어리종은 향긋미를 개선할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 버어리종과 양건종의 육종을 위한 기초 자료를 얻기 위하여 버어리종 2품종과 양건종 3품종 및 TI 1068를 이면교잡하여 30조합의 F₁을 육성하고 교배친과 함께 TLC방법으로 cis-abienol 및 DVT를 분석하였던 바 얻은 결과를 보고한다.

재료 및 방법

Plant materials : 교배 모부본(parents)은 버어리종은 Burley 21과 KB 108 및 Tobacco Introduction(TI) 1068(아르헨티나에서 수집된 Galpao Commun-type으로 pale-yellow의 특성을 갖고 있음)이고, 양건종은 현재 중국의 주 재배품종인 연변3호(Yonbyun 3), 자흥연(Jaheungyon), 자래홍(Jaraehong) 등 6품종이었다. 이들의 6품종을 1998년 한국인삼연초연구원 전주시험장 온실에서 파종하여 정역으로 이면교잡(full diallel cross)하여 30조합의 F₁종자를 얻었다. 교배친과 F₁의 종자는 1999년 4월에 파종하고 5월 25일에 포트에 이식하여

온실에서 재배하였다.

TLC : Thin layer chromatography(TLC) 분석을 위한 시료는 이식 후 70일 경에 교배친과 F₁에서 각각 3주씩 엽장이 20cm 정도인 상위엽에서 채취하였다. 시료는 중·지골을 피하여 일정한 위치에서 엽편(3.14cm/disk)을 10장씩을 취하여 각각의 절편을 준비해둔 시약(20ml 시료병에 10ml의 methylene chloride를 넣음)에 10회씩 담그었다가 꺼내어 엽표면 물질을 추출하였다. 시료 채취가 끝난 시료병은 냉장고(-20℃)에 보관하였다. 그 다음 시료병에서 상등액 2ml을 취하여 2ml 시료병에 넣은 후 뚜껑을 닫지 않은 상태에서 methylene chloride를 완전히 증발시킨 후 다시 methylene chloride 50 μ l을 넣고 흔들어 준 다음 TLC판(Silica gel plate. 20×20cm, thickness 0.2mm)에 점적하였다. 점적은 TLC판 밑변으로부터 2.5cm높이에 연필로 선을 표시하고 그 위에 1.5cm간격으로 시료를 점적할 점을 표시하고 여기에 각 시료별로 마이크로 피펫을 사용하여 50 μ l의 시료가 완전히 없어질 때까지 여러 번 반복하였다. 분획은 developing chamber(30×9.5×27.5cm)에 2cm 깊이로 용매(900ml chloroform+100ml methanol)를 넣고 20분 정도 뚜껑을 닫고 방치하였다가 점적을 끝낸 TLC판을 넣어 약 30분 후 용매가 TLC판의 3/4위치에 도달했을 때 꺼내어 드라이어로 완전히 말렸다. 염색은 5% ethanolic sulfuric acid 95ml에 5ml의 p-anisaldehyde를 혼합한 액을 스프레이어로 TLC 판에 균일하게 뿌린 다음 다시 드라이어로 말렸다. cis-abienol (Z-labda-12,14-diene-8 α -ol)과 DVT (α - and β -4,8,13-duxatriene-1,3-diols)의 존재 유무의 판정은 Nielsen & Severson(1990)의 방법을 따랐다.

결과 및 고찰

6개 교배친의 TLC 분석결과는 표 1 및 그림 1과 같다.

시험한 버어리종과 양건종 교배친은 모두 DVT를 분비하는 것으로 나타났다. 버어리종 중 Burley 21과 KB 108은 cis-abienol을 분비하지 않은 것으

Table 1. Nuber of plants having cis-abienol or DVT in the parents.

Genotype	number of plants				
	Tested	cis- ⁺	cis- ⁻	DVT ⁺	DVT ⁻
Burley 21 (B1)	3	0	3	3	0
KB 108 (B2)	3	0	3	3	0
TI 1068 (B3)	3	3	0	3	0
Yonbyun 3 (S1)	3	3	0	3	0
Jaheungyon (S2)	3	0	3	3	0
Jaraehong (S3)	3	0	3	3	0

+, -: number of plants having cis-abienol or DVT and not. respectivety.

로 나타났고 TI 1068에서는 cis-abienol의 분비가 뚜렷하게 나타났다. 이러한 결과는 조 등(1993), Nielsen & Severson(1990)의 보고와 일치하다. 중국에서 재배되고 있는 양건종 중 Yonbyun 3는 cis-abienol을 분비하는 것으로 나타났고 Jahengyon과 Jaraehong은 cis-abienol을 함유하고 있지 않은 것으로 나타났다. 중국에서 재배되고 있는 양건종은 재배 특성과 수확 건조방법 및 용도가 오리엔트종과 매우 유사한 것으로 보아 향기성분(aroma)도 오리엔트종과 크게 다르지 않을 것으로 추정되어 시험한 3품종 모두 cis-abienol을 분비할 것으로 생각되었으나 Yonbyun 3만 cis-abienol을 분비하는 것으로 나타났다. 이러한 시험 결과는

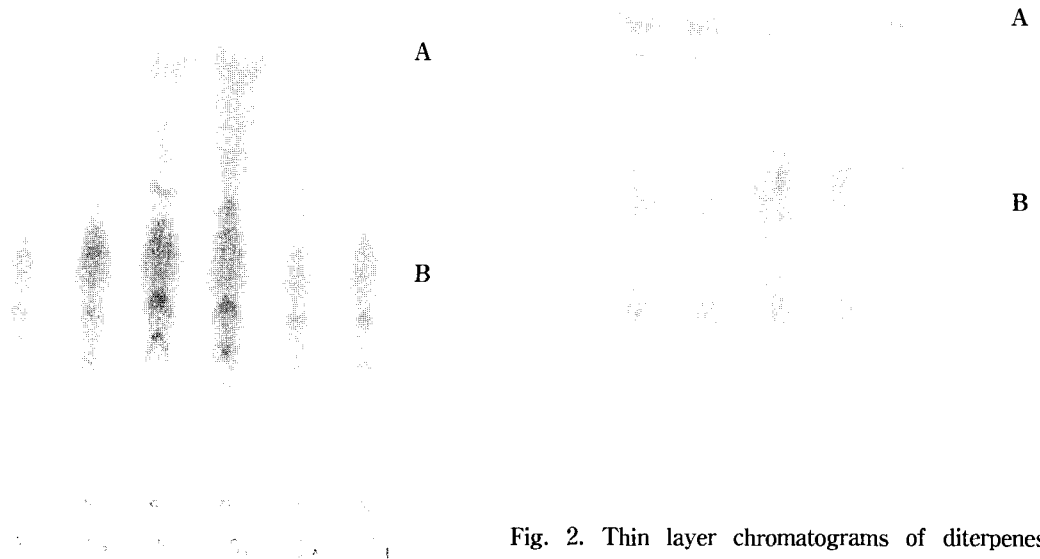


Fig. 1. Thin layer chromatograms of diterpenes from fresh tobacco leaves of parents

A : cis-abienol, B: DVT.
 B₁=Burley 21, B₂=KB 108, B₃=TI 1068,
 S₁=Yonbyun 3, S₂=Jahengyon, and
 S₃=Jaraehong.

Fig. 2. Thin layer chromatograms of diterpenes from fresh tobacco leaves of F₁ generations.

A : cis-abienol, B: DVT.
 1=Burley 21 x KB 108,
 2=Burley 21 x TI 1068,
 3=Burley 21 x Yonbyun 3
 4=Burley 21 x Jahengyon,
 5=Burley 21 x Jaraehong,
 6=KB 108 x TI 1068

Table 2. Number of plants having cis-abienol or DVT in the F1.

Genotype	Number of plants				
	Tested	cis- ⁺	cis- ⁻	DVT ⁺	DVT ⁻
1) Burley 21 x KB 108	3	0	3	3	0
2) Burley 21 x TI 1068	3	3	0	3	0
3) Burley 21 x Yonbyun 3	3	3	0	3	0
4) Burley 21 x Jaheungyon	3	0	3	3	0
5) Burley 21 x Jaraehong	3	0	3	3	0
6) KB 108 x TI 1068	3	3	0	3	0
7) KB 108 x Yonbyun 3	3	3	0	3	0
8) KB 108 x Jaheungyon	3	0	3	3	0
9) KB 108 x Jaraehong	3	0	3	3	0
10) TI 1068 x Yonbyun 3	3	3	0	3	0
11) TI 1068 x Jaheungyon	3	3	0	3	0
12) TI 1068 x Jaraehong	3	3	0	3	0
13) Yonbyun 3 x Jaheungyon	3	3	0	3	0
14) Yonbyun 3 x Jaraehong	3	3	0	3	0
15) Jaheungyon x Jaraehong	3	0	3	3	0
16) KB 108 x Burley 21	3	0	3	3	0
17) TI 1068 x Burley 21	3	3	0	3	0
18) Yonbyun 3 x Burley 21	3	3	0	3	0
19) Jaheungyon x Burley 21	3	0	3	3	0
20) Jaraehong x Burley 21	3	0	3	3	0
21) TI 1068 x KB 108	3	3	0	3	0
22) Yonbyun 3 x KB 108	3	3	0	3	0
23) Jaheungyon x KB 108	3	0	3	3	0
24) Jaraehong x KB 108	3	0	3	3	0
25) Yonbyun 3 x TI 1068	3	3	0	3	0
26) Jaheungyon x TI 1068	3	3	0	3	0
27) Jaraehong x TI 1068	3	3	0	3	0
28) Jaheungyon x Yonbyun 3	3	3	0	3	0
29) Jaraehong x Yonbyun 3	3	3	0	3	0
30) Jaraehong x Jaheungyon	3	0	3	3	0

+, -: number of plants having cis-abienol or DVT and not, respectively.

재배 품종의 선정에 참고자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

버어리종과 양건종 및 TI 1068 등 6개 품종을 정역으로 교잡(full diallel crosses)하여 얻은 30조합의 F₁을 TLC로 분석한 결과는 표 2 및 그림 2, 3과 같다.

시험한 30조합의 F₁은 모두 DVT를 분비하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 교배한 모본(maternal parents)과 부본(paternal parents)이 모두 DVT를 함유하는 품종이었기 때문이다. 다만 DVT를 나타내는 밴드의 면적이 조합간에 차이가 있는 것으로 보아 F₁ 조합간에 DVT함량에 다소 차이가 있을 것으로 추정되었다.

시험한 30조합의 F₁ 중 18개 F₁에서 cis-abienol이 분비되는 것이 확인되었고 12개 F₁은 cisabienol

abienol을 함유하지 않은 것으로 나타났다.

cis-abienol을 분비하는 것으로 나타난 18개 F₁은 양친이 cis-abienol을 분비하는 경우(TI 1068와 Yonbyun 3)이거나 교배친 중 한쪽이 cis-abienol을 함유하는 경우(TI 1068 또는 Yonbyun 3)이었다. 그리고 교배한 양친이 모두 cis-abienol을 분비하지 않은 F₁은 cis-abienol을 분비하지 않았다. 이러한 결과로 보아 cis-abienol은 우성인자에 의하여 유전되는 것으로 생각되며 정역교배간에 차이가 없는 것으로 보아 세포질과는 관계없이 핵 유전자에 의해 지배되는 것으로 생각된다. 본 결과는 금 등(1995), 조 등(1993), Kubo *et al*(1982)의 보고와 일치하는 것이었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 시험에서 사용한 TLC 방법은 육종집단의 분리세대에서 DVT나 cis-abienol 함유계통을 선발하는 데 유용한 방법으로 생각된다. 그리고 버어리종에 TI 1068이나 Yonbyun 3이 가지고 있는 cis-abienol 분비에 관련된 유전자의 도입이 가능할 것으로 생각되며 양건종이면서도 cis-abienol이 분비되지 않는 품종에 cis-abienol 관련 유전자를 쉽게 도입할 수 있을 것으로 생각된다.

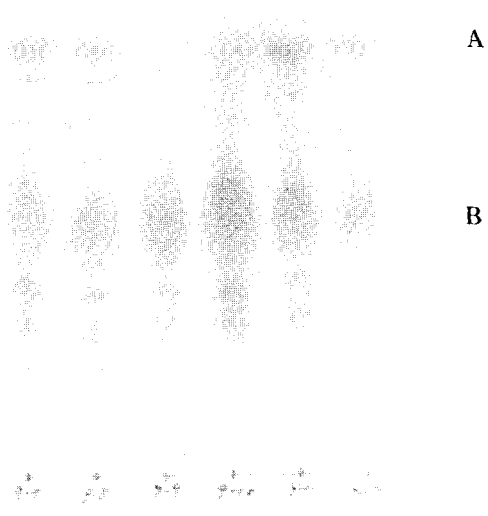


Fig. 3. Thin layer chromatograms of diterpenes from fresh tobacco leaves of F₁ generations.

- A : cis-abienol, B: DVT.
 13=Yonbyun 3 x Jahengyon,
 14=Yonbyun 3 x Jaraehong,
 19=Jahengyon x Burley 21,
 23=Jahengyon x KB 108,
 26=Jahengyon x TI 1068,
 28=Jahengyon x Yonbyun 3

결 론

버어리종(*N. tabacum* L. cv. burley)과 양건종(*N. tabacum* L. cv. dark sun-cured)의 성분육종을 위한 기초 자료를 얻기 위하여 버어리종 3품종과 양건종 3품종을 이면교잡하여 30조합의 F₁을 육성하여 교배친과 함께 Thin Layer Chromatography 방법으로 cis-abienol (Z-labda-12,14-diene-8 α -ol)과 DVT(α - and β -4,8,13-duvatriene-1,3-diols)를 분석하였던 바 얻은 결과는 다음과 같다.

시험한 버어리종과 양건종 및 TI1068 교배친과 30조합의 F₁은 모두 DVT를 분비하였다. TI 1068과 양건종 중 Yonbyun 3는 cis-abienol을 함유하고 있었고 버어리종에서 Burley 21과 KB 108, 양건종에서 Jaheungyon과 Jaraehong은 cis-abienol을 분비하지 않았고 F₁ 세대에서 cis-abienol의 분비는 우성 유전자에 의해 지배되었으며 세포질의 영향은 없었다.

인 용 문 헌

- Court, W.A. 1992.. Factors affecting the concentration of the divatrienediols of flue-cured tobacco. *Tob. Sci.* 26:40~43.
- Coussirat, J.G., P. Schiltz, W.W. Reid, Y. Bou-teraou. 1983~1984. Diterpenes in *Nicotiana tabacum*. L. Genetic control of the production of (Z)-abienol and α and β -cembra-triene diols. *Ann. du Tabac. SEITA* 2:123~130.
- Enzell, C.R. 1976. Terpenoid components of leaf and their relationship to smoking quality and aroma. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 6:32~60.
- 조천준, 김대승, 정석훈, 최성주, 조명조. 1993. 고 DVT 및 cis-abienol 함유 버어리종 계통 선 발. *한국연초학회지*. 15(2):111~114.
- 금완수, 정윤화, 조명조. 1995. 연초(*N. tabacum L.*)의 diterpenes에 대한 유전분석. *한국작물 학회지* 40(5):644~648.
- 금완수, 정윤화, 최성주, 조명조. 1995. TLC 방 법에 의한 우리 나라 재래종 향초의 cis-abienol 유전분석. *한국육종학회지*. 27(4) : 394~397.
- Kubo, T, M. Sato, H. Tomilta, N. Kawashima. 1982. Identification of monosomics in *Nicoti-ana tabacum L.* *Tob. Sci.* 26:126~128.
- Nielsen, M.T., R.F. Severson. 1990. Variation of flavor components on leaf surface of tobacco genotypes differing in trichome density J. *Agric. Food Chem.* 38(2):467~471.
- Nielsen, M.T. 1991. Altering flavor and aroma constituents of burley tobacco. *Tob. Sci.* 35:69~73.
- Nielsen, M.T. R.F. Severson. 1992. Inheritance of diterpene constituent in tobacco trichome exudate. *Crop Sci.* 32:1148~1150.
- Severson, R.F. 1990. The cuticular chemistry of *N. tabacum*. *CORESTA Symp. Infor. Bull.* 34~54.
- Severson, R.F., A.W. Johnson, D.M. Jakson. 1985. Cuticular constituents of tobacco : Factors affecting their production and their role in insect and disease resistance and smoke quality. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 11:105~174.
- Severson, R.F., M.G. Stephenson, M.G. Johnson, A.W. Johnson, D.M. Jakson, and O.T. Chortyk. 1989. Isolation and preparative chromatography of the major cuticular diter- pene of green tobacco. *Tob. Sci.* 32:92~103.
- Smeeton, B.W. 1987. Genetic control of tobacco quality, *Rec. Adv. Tob. Sci.* 13:3~26.