

高 DVT 및 cis - abienol 함유 버어리종 계통 선발

조천준, 김대승, 정석훈*, 최상주*, 조명조*
한국인삼연초연구원 전주시험장, 수원시험장*

Selection Procedure for DVT and Cis - abienol in Burley Tobacco

C.J Jo, D.S. Kim, S.H. Jung*, S.J. Choi*, and M.C. Cho*

Chonju, Suwon* Experiment Station, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute
Chonbuk, 565 - 850, Korea

ABSTRACT : This study was carried out to obtain the basic information for breeding of aromatic burley tobacco, and to select the breeding lines with higher DVT (diterpenes α - and β -4, 8, 13 - duvatriene - 1, 3 - diols) and cis - abienol (Z - labda - 12, 14 - diene - 8 α - ol) concentrations. The parental genotypes used to develop the F₁ and F₂ generations were Burley 21, Ky 17, male - sterile(MS) NC 107, TC 612, TC 613, Va 509 and TI 1068. To estimated the modes of inheritances of DVT and cis - abienol known as the flavor and aroma compounds, the method of thin - layer chromatography (TLC) was used. It was considered that TLC procedure being relatively simple and reproducible in the selection of the breeding lines with higher DVT and cis - abienol. DVT was present in all of parents except MS NC 107, but cis - abienol presented only in TI 1068. It was estimated from the TLC analysis of parents and F₁'s that DVT and cis - abienol were each inherited by dominant gene or genes. But it was less clear to determine the presence or not of sucrose ester(SE) on the TLC plate. The eleven plants which had burley leaf color and also estimated to have DVT and cis - abienol were selected in the F₂ population of three combinations.

서 론

서로 다른 종류의 담배(*Nicotiana tabacum* L.)는 관능적 특성(organoleptic properties)이 매우 다르며 이러한 특성은 유전적인 차이, 재배법, 건조방법 및 재배환경 등 복합인자의 영향을 크게 받는다^{1, 9)}. 지금까지 밝혀진 잎담배 성분중 수종의 화합물이 잎담배 향기(flavor and aroma)에 관여하는 것으로 알려졌는데 이 중 cis - abienol(Z - labda - 12, 14 - diene - 8 α - ol)과 sucrose esters(6 - O - acetyl - 2, 3, 4 - tri - O - acyl - α - D - glucopyranosyl - β - D - fructofuranosides, SE)는 담배 잎의 표피성분(cu-

ticular components)으로 알려져 있다. 이 두 성분은 오리엔트종을 포함한 수종의 담배 종류에서 발견되는데 버어리종과 황색종에는 거의 존재하지 않는다^{8, 9, 10)}. 그리고, DVT(diterpenes α - and β -4, 8, 13 - duvatriene - 1, 3 - diols)는 오리엔트종, 버어리종 및 황색종의 잎표면 왁스층(cuticular wax)에 존재하는데 세 종류간에 함량 차이가 매우 크다. cis - abienol, SE 및 DVT의 분해 물질이나 열분해 산물은 담배 맛에 영향을 미치는 독특한 향기 특성을 나타낸다^{3, 6)}. cis - abienol, DVT와 SE는 glandular secreting trichome의 선(腺)세포에서 합성되며^{5, 6)} 유전적인 특성으로 알려져 있다^{3, 4)}. 특히 cis - abienol과

3-methylvaleric acid를 다량으로 함유하고 있는 SE's는 각각 단인자에 의하여 지배되는 것으로 보고되어 있다. DVT는 연구재료(plant genotype)에 따라 약간의 차이는 있으나 2쌍의 유전자에 의하여 지배되는 것으로 보고된 바 있다²⁾. 이상의 모용 특이성 물질(trichome-specific compounds)은 유전양상이 비교적 단순하며, 또한 TLC(thin layer chromatography)방법은 변이 집단에 대한 포장 선발 수단으로 이용될 수 있어서 이상의 세가지 화합물은 육종의 대상 형질로 취급할 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 버어리종이 갖고 있는 유전적 배경(genetic background)에 다른 종류가 가지고 있는 엽표면의 화학적 특성을 도입한 품종 육성도 가능하리라 생각된다.

본 연구는 1) 버어리종 향기 성분 육종에 TLC방법의 이용 가능성을 검토하고, 2) cis-abienol과 SE를 함유하고 DVT 함량을 높인 버어리종 품종 육성을 위한 기초자료를 얻고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 공시 재료 및 재배법

웅성불임 일대잡종 모본으로는 male-sterile(MS) NC 107, TC 612와 TC 613을 공시하였고, 임성(稔性) 계통 육성을 위한 모본으로는 Burley 21, Ky 17, Va 509 및 TI 1068을 공시하였다. MS NC 107은 감자 바이러스 Y에 저항성인 NC 107 계통을 *N. megalosiphon*에서 온 웅성불임 계통에 여교배하여 육성한 웅성불임계통으로 엽표면 물질이 분비되지 않는 모용(non-secreting glandular trichomes, NSGT)을 가지고 있다. Burley 21, Ky 17, TC 612, TC 613과 Va 509는 버어리종 재배 품종으로 엽표면 물질을 분비하는 모용(secreting glandular trichomes, SGT)을 가지고 있으며 DVT를 함유하고 있다. TI 1068은 Argentina에서 수집된 galpao commun-type으로 분류되며 Pale-yellow 특성을 나타낸다. 그리고 SGT형 모용을 가지고 있으며 cis-abienol, DVT 및 SE를 모두 함유하고 있다.

TLC 분석을 위하여 1992년 한국인삼연초연구원 전주시험장 포지에서 버어리종 절충말칭 관행 재배법에 준하여 교배 모본 및 F₁, F₂를 재배하였다.

2. 시료 채취 및 TLC

TLC분석을 위한 시료채취는 이식 후 60일 경에 교배 모·부분을 각각 5주씩, F₁은 10주씩 그리고 F₂는 버어리종 엽색 특성을 나타내는 주를 대상으로 하여 각 주별로 엽장이 20±1 cm정도 되는 상위엽을 따서 중·지골을 피하여 일정한 위치에서 면적이 3.14 cm² 되는 엽편(leaf disks)을 3 장씩을 취하여 각각의 엽편을 미리 준비해둔 시료병(20 ml scintillation vial)에 10ml의 methylene chloride, sigma 17-3, 를 넣음)에 0.5초씩 10회를 담겼다 꺼내어 엽표면 물질을 추출하였다. 이렇게 시료 채취가 끝난 시료병은 -20 °C 냉장고에 보관하였다.

그 다음 시료병에서 상등액 2 ml를 취하여 2 ml Scintillation vial에 붓고 병뚜껑을 열어 놓은 채로 실온에 하룻밤을 방치하였다가 시료가 완전히 증발되면 여기에 methylene chloride 5μl를 넣고 가볍게 흔들어 TLC판 위에 점적(dotting)하였다. 점적 방법은 TLC 판(silica gel plates, baxter #5497-22, K6F type, 20×20 cm, 250μm thickness) 위에 밀면으로부터 2.5 cm 높이에 연필로 실선을 긋고 그 위에 1.5 cm 간격으로 시료를 점적할 점을 표시하고 여기에 각 시료별로 마이크로피펫을 사용하여 5μl의 시료가 완전히 없어질 때까지 25~30회를 반복하여 점적하였다. 분획은 developing chamber (Baxter #C5030-1, glass rectangular tank with lid)에 2 cm 깊이로 용매(9:1=990ml chloroform:100ml methanol)를 붓고 뚜껑을 닫아 20분간 방치하였다가 여기에 점적이 다 끝난 TLC판을 세워두었다. 용매가 TLC판의 3/4 위치에 도달할 때까지이다. 그 다음 TLC판을 꺼내어 드라이어로 완전히 말렸다. 염색은 95ml 5% ethanolic sulfuric acid+5ml P-anisaldehyde를 스프레이어(sigma spray unit)에 넣어 TLC판 위에 균일하게 뿌린 다음 다시 드라이어로 말려서 하였다.

cis-abienol과 DVT의 존재 유무 판정은 Nielsen과 Severson²⁾의 방법에 준했다.

결과 및 고찰

DVT의 유전양상을 구명하기 위하여 교배 모·부본 및 F₁을 TLC로 분석한 결과는 표 1과 같다.

동일한 genotype 안에서는 개체간에 DVT 밴드에 전혀 차이가 없었으며 교배 모본으로 공시하였던 MS NC 107은 TLC 방법으로 확인할 수 있을 정도 함량의 DVT는 함유하고 있지 않았고, 교배 부분으로 공시한

高 DVT 및 cis-abienol 함유 버어리종 계통 선발

TC 612와 TC 613에서는 DVT의 존재가 분명하게 확인되었다. 그리고 이들 모·부분에서 얻어진 2개의 F₁에서도 DVT의 존재를 분명히 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 보아 DVT는 우성인자에 의해 유전되어지는 것으로 추정되며 TLC 방법은 비교적 간단하고 재현성이 높아 고향성 버어리종 품종 육성시 분리 세대에서의 DVT 계통 선발에 좋은 수단으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 1. Number of plants having DVT or not in the parents and F₁ generation.

Genotype	Number of plants		
	Tested	DVT ^{a)}	○DVT ^{b)}
MS NC 107	5	0	5
TC 612	5	5	0
TC 613	5	5	0
(MS NC 107×TC 612)F ₁	5	5	0
(MS NC 107×TC 613)F ₁	5	5	0

a, b: number of plants having DVT and not, respectively.

교배 모·부분으로 공시한 Burley 21 등 버어리종 3 품종과 TI 1068, 여기에서 얻어진 F₁, F₂를 TLC 방법으로 분석한 결과는 표 2와 같다.

교배 모본으로 공시한 버어리종 3 품종은 모두 DVT는 함유하고 있었으나 cis-abienol은 함유하고 있지 않은 것으로 나타났다. 향기 성분 중의 하나인 육종의 대상 형질로 삼았던 SE의 경우는 TLC 방법으로는 판독하기가 용이하지 않았다. 반면에 TI 1068

은 DVT와 cis-abienol을 모두 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Nielsen과 Severson¹⁾의 보고와 일치하는 것이었다.

F₁ 두 조합(Burley 21×TI 1068 조합은 분석하지 못함)은 모두 DVT와 cis-abienol을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 표 1과 이 결과를 종합하여 볼 때 DVT는 우성인자에 의하여 유전되어지는 것으로 추정되며 cis-abienol도 본 표의 결과로 보아 우성인자에 의하여 지배되는 것으로 추정된다.

F₂ 집단에서는 고향성 버어리종 품종 육성을 위한 계통 선발을 위하여 버어리종 고유의 엽색 특성을 나타낸 개체(유백색을 띠며 이는 두 쌍의 열성유전자에 의하여 지배됨)에 대해서만 TLC 분석을 실시하여 DVT와 cis-abienol을 모두 함유하고 있는 것으로 판단된 11 개체를 선발하였다. 버어리종 type 개체만을 대상으로 하였기 때문에 조사 개체수가 너무 적어 분리비를 계산하지는 않았으나 cis-abienol은 단순하게 유전되는 것으로 추정되며, DVT의 경우는 교배 모본에 DVT를 함유하지 않은 품종이 포함되지 않아서 F₂에서의 분리 양상을 추정할 수 없었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 TLC 방법은 버어리종 성분육종에 있어서 포장 선발을 위한 좋은 수단으로 이용될 수 있을 것으로 보이며, 버어리종의 향기 성분에 관여하는 형질의 우전양상이 비교적 단순하여 고향성 버어리종 품종 육성이 가능할 것으로 생각된다.

Table 2. Number of plants having DVT or cis-abienol in the parents, F₁ and F₂ generations.

Generation Pedigree	Number of plants				
	Tested	DVT ^{a)}	○DVT ^{b)}	Cis - ^{a)}	○Cis - ^{b)}
BURLEY 21	5	5	0	0	5
KY 17	5	5	0	0	5
VA 509	5	5	0	0	5
TI 1068	5	5	0	5	0
F ₁ Burley 21×TI 1068	10	10	0	10	0
F ₁ Ky17×TI 1068	10	10	0	10	0
F ₁ Va 509×TI 1068	NT	—	—	—	—
F ₂ Burley 21×TI 1068	6	1	—	1	—
F ₂ Ky17×TI 1068	17	5	—	5	—
F ₂ Va 509×TI 1068	19	5	—	5	—

a, b: number of plants having DVT or cis-abienol and not, respectively.
Cis - means cis-abienol. NT means not tested.

결 론

고향성 버어리종 신품종 육성을 위한 기초자료를 얻고, 고향 계통 선발 시 TLC 방법의 이용가능성을 검토하고자 버어리종 NSGT형인 MS NC 107과 SGT형간의 F_1 및 버어리종 재배 품종과 TI 1068을 교배 모·부본으로 한 F_1 과 F_2 를 TLC 방법으로 분석한 결과를 요약하면,

1. TLC 방법은 버어리종 향기성분 육종시 포장에서의 계통선발 수단으로 이용 가능할 것으로 보였으며,
2. cis-abienol과 DVT는 각각 우성 인자에 의하여 유전되는 것으로 추정되었고,
3. SE는 TLC 방법으로는 판독하기가 용이하지가 않았다.

참고문헌

1. Akehurst, B.C. 1981. Tobacco. p. 29-44. 2nd Ed. Longman. London.
2. Coussirat, J.C., P. Schiltz, W.W. Reid, and Y. Bouterrou. 1983-1984. Ann. du. Tabac. SEITA 2, 123-130.
3. Enzell, C.R. 1976. Rec. Adv. Tob. Sci. 6 : 32-60.
4. Gwynn, G.R., R.F. Severson, D.M. Jackson, and M.G. Stephenson. 1985. Tob. Sci. 29 : 79-81.
5. Kandra, L., and G.J. Wagner. 1988. Arch. Biochem. Biophys. 265 : 425-432.
6. Keene, C.K., and G.J. Wagner. 1985. Plant Physiol. 79 : 1026-1032.
7. Nielsen, M.T., and R.F. Severson. 1990. J. Agric. Food. Chem. 38 : 467-471.
8. Severson, R.F. 1990. CORESTA Symp. Infor. Bull. p. 34-54.
9. Severson, R.F., A.W. Johnson, and D.M. Jackson. 1985. Rec. Adv. Tob. Sci. 11 : 105-174.
10. Smeeton, B.W. 1987. Rec. Adv. Tob. Sci. 13 : 3-26.