

煙草 (*Nicotiana tabacum* L.)의 Diterpene類의 遺傳

琴完洙* · 鄭潤和* · 趙明助*

Inheritance of Diterpenes in *Nicotiana tabacum* L.

Wan Soo Keum*, Yun Hwa Chung* and Myung Cho Cho*

ABSTRACT : This study was conducted to determine the inheritance of duvatrienediol(DVTs) and *cis*-abienol concentration from flesh tobacco leaves.

NC744, which has a very low levels of DVTs and no *cis*-abienol was used as a parent in cross to TI 1068 producing a normal amount of DVTs and *cis*-abienol. Presence of DVTs and *cis*-abienol on the leaf surface was determined using thin layer chromatography(TLC). Segregation pattern from F₂ and BC₂[(TI 1068 × NC744) × NC744] generations revealed that TI 1068 have a single dominant gene controlling DVTs and *cis*-abienol production. And DVTs production was inherited independently of the ability to produce *cis*-abienol.

Key words : Davatrienediol, *Cis*-abienol, Thin layer chromatography, Segregation pattern.

煙草의 上表面은 構造의 및 化學的으로 매우 複雜한 物質로 構成되어 있으며, 이 物質은 害蟲 및 病抵抗性 그리고 植物體의 生理的 機能等 複合的인 役割을 한다¹²⁾. 煙草 上表面의 主要 化學物質 가운데 α 와 β -4,8,13-duvatriene-1,3-diols (DVTs)와 *cis*-abienol은 乾燥中에 分解가 되어 잎담배의 香氣와 關聯이 있는 物質을 生成한다고 報告되고 있다^{2,4,7,11,12)}. 이 두 성분은 모든 煙草에서 生成되는 것이 아니고 一般的으로 黃色種과 버어리種에서는 典型的으로 duvanes 특히 α 와 β -4,8,13-duvatriene-1,3-diols (DVTs)가 높으며 대부분의 Orient 種과 南美的 黃色種, cigar 및 一部在來種 등에서는 DVTs는 물론 *cis*-abienol이 生成된다고 한다^{10,11,12,13)}. *N. tabacum* 종은 *N. sylvestris* 와 *N. tomentosiformis*와 自然交雜後 染色體가 倍加된 複二倍體이며¹⁴⁾ 이 두 種 중 DVTs는 *N. sylvestris*에서 그리고 *cis*-abienol은

*N. tomentosiformis*에서 由來된 것이라고 報告되고 있다⁹⁾. 또, DVTs와 *cis*-abienol은 葉表面에 密生하는 모용의 gland 細胞에서 生成되며, 非分泌型 glandular trichome를 가진 品種은 DVTs 含量이 거의 生成되지 않고 分泌型 trichome를 가진 品種은 DVTs 含量이 1 μ g/cm² 미만에서 190 μ g/cm² 까지 生成되어 진다고 하며, DVTs 含量의 遺傳은 trichome의 特性和 DVTs의 生成에 影響하는 要素에 의하여 支配된다⁶⁾.

DVTs含量에 대한 遺傳樣相에 있어서 Coussirat等은¹⁾ 몇개의 品種에서 2개의 遺傳因子에 의해 支配된다고 하였으며 Komari等³⁾은 單純遺傳因子에 의하여 支配된다고 하였다. 最近 煙草 育種가들은 黃色種이 버어리種에 거의 含有하지 않은 香氣成分과 關聯이 깊은 *cis*-abienol과 DVTs含量이 높은 品種 育成에 매우 관심이 많으며^{1,4,7,11)} 또 이들 두 物質과 煙草害蟲과의 관계에 대

* 한국인삼연구소연구원 수원시험장 (Suwon Experiment Station Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, P.O. Box 59, Suwon, 440-600, Korea) <95. 8. 3 接受>

한 研究로 많이 이루어지고 있다²⁾. DVTs와 *cis-abienol* 含量은 주로 gas chromatography에 의하여 分析이 이루어지며²⁾ 이 方法은 많은 集團을 대상으로 選拔하기에는 매우 많은 勞力과 時間이 소요된다. Reid⁸⁾가 이용한 TLC방법은 煙草의 DVTs와 *cis-abienol*의 결정에 매우 널리 利用되고 育種에 淸급하는 많은 集團에 대해서도 단시간 내에 分析으로 이들 두 成分의 높은 系統을 選拔할 수 있을 것이라 생각된다. 따라서 본 試驗은 DVTs와 *cis-abienol*의 含量이 높은 煙草 新品種 育成의 基礎資料를 얻고자 TLC 方法을 利用하여 DVTs와 *cis-abienol*의 遺傳樣相을 調查하였던 바 몇 가지 얻은 結果를 報告코자 합니다.

材料 및 方法

供試材料는 煙草의 잎에서 α 와 β -4,8,13-duvatriene-1,3-diols(DVTS)와 *cis-abienol*을 生成하는 T1 1068과 DVTs와 *cis-abienol*을 거의 生成하지 않는 NC744를 使用하였다. 이 두 品種을 交配母父本으로 하여 F₁, F₂, BC₁ 및 BC₂ 世代를 育成하였다. 交配母父本과 雜種集團은 '95年 1月 9日 溫室에서 播種하여 2月 25日 pot(直徑 12 cm)에 母父本과 F₁은 각각 5주, F₂ 世代는 168주, BC₁과 BC₂ 世代는 60주씩 移植하였으며 이들 供試材料는 人工氣象室에서 栽培하였다. TLC 分析 方法에 의한 DVTs와 *cis-abienol*의 分析은 移植後 60日 經에 하였다. 分析用 試料 採取는 直徑 1cm cork borer를 利用하여 주당 4편의 葉組織을 採取하였으며 이들 組織은 5ml methylene chloride가 含有한 vial에 넣은後 20초간 左右로 흔들어 葉表面의 化學物質을 抽出하였다. 抽出된 試料는 TLC 分析을 할 때까지 -20℃ 低溫 冷藏庫에 保管하였다. TLC 分析은 抽出한 試料를 각각 0.5ml씩 Eppendorff 튜브에 pipetting한後 뚜껑을 닫지 않은 狀態에서 methylene chloride가 완전히 증발된 다음 다시 methylene chloride를 50 μ l 넣고 흔들어준 다음 TLC판 (silica gel 60, 20×20cm, layer thickness 0.2mm)에 點적하였다. 點적은 TLC판을 밑면에서 2.5cm 되는

位置에 鉛筆로 線을 그은 다음 그 線위에 1.5cm 間隔으로 標示한後 마이크로 피펫으로 하였다. 分割은 developing chamber(가로 23.5cm, 세로 12.0cm, 높이 21.0cm)에 2cm 깊이의 溶媒(900 ml chloroform+100ml methanol)를 넣고 뚜껑을 닫은後 20분경에 點적이 끝난 TLC판을 넣어 溶媒가 TLC판의 3/4位置에 到達하였을 때 꺼내어 그늘에서 dryer로 말렸다. 染色은 5% ethanol sulfuric acid 95ml에 5ml P-anisaldehyde를 混合한 液을 스프레이어(sprayer)로 TLC판에 均一하게 뿌린 다음 다시 dryer로 말려 DVTs와

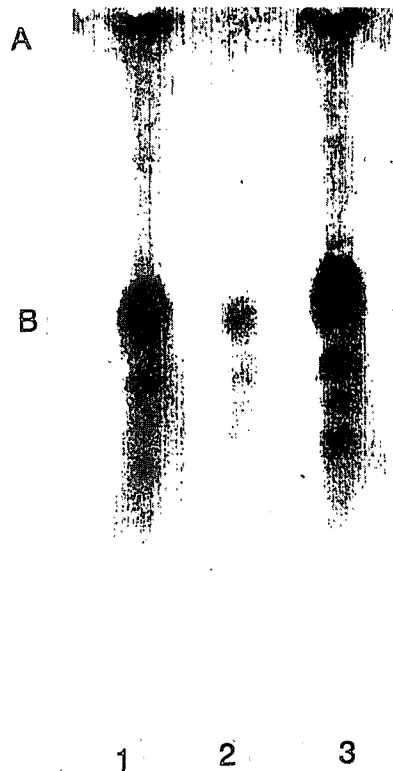


Fig. 1. Thin layer chromatogram of diterpenoids from fresh tobacco leaves of parents and F₁ generation of a cross between T11068 and NC744.

A : *Cis-abienol*
 B : Duvatrienediol
 1 : T11068, 2 : NC744 3 : F₁

Table 1. Segregations for duvatrienediol production in cross of TI1068×NC744

| Genotype | No. of plants | | Chi-square value |
|-----------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|
| | Normal ^a | Defective ^b | |
| TI1068 | 5 | 0 | |
| NC744 | 0 | 5 | |
| TI1068×NC744 F ₁ | 5 | 0 | |
| TI1068×NC744 F ₂ | 132 | 36 | 1.143 ^c |
| (TI1068×NC744) × TI1068 | 60 | 0 | |
| (TI1068×NC744) × NC744 | 31 | 29 | 0.067 ^d |

$\chi^2(0.05)=3.84$

- a : Normal in duvatrienediol production
- b : Defective in duvatrienediol production
- c : Chi-square value for a 3 : 1 ratio
- d : Chi-square value for a 1 : 1 ratio

cis-abienol의 有無를 調査하였다.

結果 및 考察

1. TLC 方法에 의한 煙草의 DVTs와 *cis*-abienol의 分析

煙草(*N. tabacum* L.) 乾燥葉의 香氣物質과 關聯이 있는 DVTs와 *cis*-abienol을 生成하는 TI 1068과 前述한 두 物質을 거의 生成하지 않는 NC744를 使用하여 育成한 雜種集團과 交配母父本에 대하여 DVTs와 *cis*-abienol을 分析한 結果는 그림 1 및 2와 같다. F₁ 世代는 DVTs와 *cis*-abienol의 두 物質이 모두 生成되었고(그림 1), F₂ 世代 및 BC₂ [(TI 1068×NC744)×NC744]세대(그림 2)는 4가지 表現型으로 나타났다. 本 試驗에서와 같이 分離世代에서 DVTs와 *cis*-abienol의 含量을 나타내는 TLC spot가 뚜렷하게 나타나 이 TLC 방법은 연초의 DVTs와 *cis*-abienol을 含有한 系統選拔에 매우 有用하게 利用될 수 있을 것으로 생각된다.

2. DVTs와 *cis*-abienol의 遺傳分析

DVTs의 遺傳樣相은 表 1에서 나타난 結果와 같이 F₁ 世代에서 優性으로 나타났고 分離世代에

Table 2. Segregations for *cis*-abienol production in a cross of TI1068×NC744

| Genotype | No. of plants | | Chi-square value |
|-----------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|
| | Normal ^a | Defective ^b | |
| TI1068 | 5 | 0 | |
| NC744 | 0 | 5 | |
| TI1068×NC744 F ₁ | 5 | 0 | |
| TI1068×NC744 F ₂ | 129 | 39 | 0.286 ^c |
| (TI1068×NC744) × TI1068 | 60 | 0 | |
| (TI1068×NC744) × NC744 | 32 | 28 | 0.267 ^d |

$\chi^2(0.05)=3.84$

- a : Normal in *cis*-abienol production
- b : Defective in *cis*-abienol production
- c : Chi-square value for a 3 : 1 ratio
- d : Chi-square value for a 1 : 1 ratio

서 DVTs가 生成되는 系統과 生成되지 않는 系統의 比에 있어서 F₂ 世代는 3 : 1, BC₂ [(TI 1068×NC744)×NC744]에서는 1 : 1로 각각 나타나 DVTs는 單一優性因子에 의하여 支配되는 것으로 나타났다. 表 2에서 나타난 *cis*-abienol의 遺傳樣相은 F₁ 世代에서 *cis*-abienol이 生成이 되었고 F₁와 BC₂ [(TI 1068×NC744)×NC744]에서는 3 : 1 및 1 : 1로 각각 나타나 *cis*-abienol도 單一優性因子에 의하여 支配되는 것으로 나타났다.

DVTs와 *cis*-abienol의 遺傳樣相이 獨立的인지 아닌지를 調査한 結果는 表 3과 같다. 前述한 그림 2에서 나타난 것과 DVTs와 *cis*-abienol은 獨立的으로 遺傳하는 것으로 나타났고, 表 3의 分離世代에서 DVTs와 *cis*-abienol을 生成하는 系統, DVTs는 生成되지 않고 *cis*-abienol만 生成하는 系統, DVTs는 生成되고 *cis*-abienol은 生成되지 않는 系統 및 DVTs와 *cis*-abienol의 生成이 되지 않는 系統의 分離比가 F₂ 世代에서는 9 : 3 : 3 : 1, BC₂ [(TI 1068×NC744)×NC744]에서는 1 : 1 : 1 : 1로 각각 나타났다. 그러므로 DVTs와 *cis*-abienol은 각각 獨立的으로 單一優性因子에 의하여 支配되는 것으로 나타났다. 煙草에 있어서 DVTs 生成은 生葉의 單位葉面積當 DVTs 含量을 測定하고⁶⁾ 煙草 生葉의 glandular trichome의 樣相에 따라 다르며⁵⁾ 또

Table 3. Independence for divatrienediol and *cis*-abienol production in a cross of TI1068×NC744

| Genotype | No. of plants | | | | Chi-square value |
|-----------------------------|---------------------|----|------------------------|----|--------------------|
| | Normal ^a | | Defective ^b | | |
| | + | - | + | - | |
| TI1068 | 5 | 0 | 0 | 0 | |
| NC744 | 0 | 5 | 0 | 5 | |
| TI1068×NC744 F ₁ | 5 | 0 | 0 | 0 | |
| TI1068×NC744 F ₂ | 101 | 31 | 28 | 8 | 1.439 ^c |
| (TI1068×NC744)×TI1068 | 60 | 0 | 0 | 0 | |
| (TI1068×NC744)×NC744 | 16 | 15 | 16 | 13 | 0.401 ^d |

$\chi^2(0.05)=7.82$

a : Normal in divatrienediol production

b : Defective in divatrienediol production

+: With *cis*-abienol production

- : Without *cis*-abienol production

c : Chi-square value for a 9 : 3 : 3 : 1 ratio

d : Chi-square value for a 1 : 1 : 1 : 1 ratio

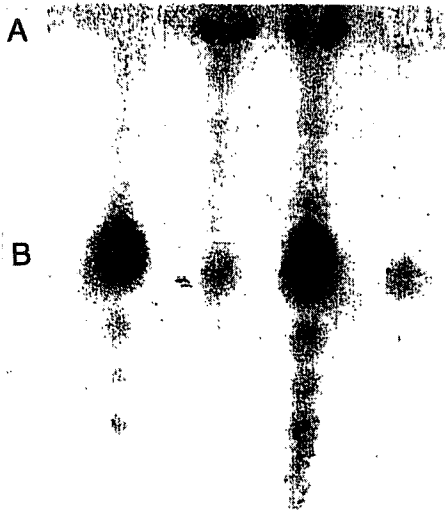


Fig. 2. Thin layer chromatogram of diterpenoids from fresh tobacco leaves of F₂ and BC₂ generations of a cross between TI1068 and NC744.

A : *Cis*-abienol

B : Divatrienediol

生葉表面의 trichome 密度에 따라 다르다고 한다⁶⁾. 또 煙草 DVTs 遺傳 樣相은 두개의 遺傳因子¹⁾나 單一遺傳因子에³⁾ 의하여 支配되는 것으로 報告 되고 있으며 本 試驗에서 DVTs 生成의 遺傳 樣相은 單一優性因子에 의하여 支配되는 것으로 나타났는데 이러한 原因은 本 試驗에 使用된 交配 母父本中 NC744의 非分泌型 glandular trichome이 單一劣性因子에⁵⁾ 의하여 支配되기 때문으로 생각된다. 또 本 試驗에서 *cis*-abienol의 遺傳 樣相이 單一優性因子에 의하여 支配되고 DVTs 와 *cis*-abienol이 서로 獨立的으로 單純優性因子에 의하여 支配되는 結果는 Komari와 Sato³⁾가 日本在來種 Enshu와 Awa를 交配한 雜種集團에서 나타난 結果와 같은 傾向이었다. 煙草의 香氣 成分과 關聯이 있는 DVTs 와 *cis*-abienol은 각각 單一因子에 의하여 支配되기 때문에 黃色種과 버어리種에 이들 두 成分의 導入은 쉽게 이루어질 수 있을 것으로 생각된다.

摘要

煙草의 高香品種 育成의 基礎資料를 얻기 위하여 香氣成分과 關聯이 있는 DVTs와 *cis*-abienol의 遺傳樣相을 調查하였던 바 얻은 結果는 다음과 같다.

1. TLC 方法은 煙草 分離集團에서 DVTs와 *cis*

-abienol의 分析 및 이들 成分을 含有한 系統 選拔에 매우 有用하게 利用될 수 있었다.

2. DVTs와 *cis*-abienol의 遺傳樣相은 각각 單一 優性因子에 의하여 支配되었고 서로 獨立的으로 遺傳을 하였다.
3. DVTs와 *cis*-abienol의 遺傳樣相이 單一 優性因子에 의하여 支配됨으로 煙草 高香 品種 育成에 있어서 이들 形質의 導入은 쉬울 것으로 생각된다.

引用文獻

1. Coussirat, J. C., P. Schiltz, W. W. Reid and Y. Bouteraou. 1983. Diterpenes in *Nicotiana tabacum*, 1. Genetic control of the production of (*Z*)-abienol and α and β -cembratriene diols. *Ann. du Tabac. SEITA* 2 : 123-130.
2. Enzell, C. R. 1976. Terpenoid components of leaf and their relationship to smoking quality and aroma. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 2 : 32-60.
3. Komari, T., T. Kubo, and M. Sato. 1986. Inheritance of the low-duvatrienediol trait in *Nicotiana tabacum* L. *Tob. Sci.* 30 : 68-71.
4. Nielsen M. T. 1991. Altering flavor and aroma constituents of burley tobacco. *Tob. Sci.* 35 : 69-73.
5. _____, G. A. Jones and G. B. Collins. 1982. Inheritance pattern for secreting and nonsecreting glandular trichomes in tobacco. *Crop Sci.* 22 : 1051-1053.
6. _____ and R. F. Severson. 1990. Variation for flavor components on leaf surfaces of tobacco genotypes differing in trichome density. *J. Agric. Food Chem.* 38 : 467-471.
7. _____, _____. 1992. Inheritance of diterpenes constituent in tobacco trichome exudate. *Crop Sci.* 32 : 1148-1150.
8. Reid, W. W. 1974. The cuticular and cytoplasmic lipids of *Nicotiana tabacum*. *Ann. du Tabac. SEITA, Sect.* 11 : 151-159.
9. _____. 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, Eds.)pp. 273-278. Academic Press, New York, NY.
10. 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.
11. Severson, R. F. 1990. The cuticular chemistry of *N. tabacum* p. 34-54. CORESTA Symp. Infor. Bull.
12. _____, 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.
13. Smeeton, B. W. 1987. Genetic control of tobacco quality. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 13 : 3-26.
14. Smith, H. H. 1968. Recent cytogenetic studies in the genus *Nicotiana*. *Adv. Genet.* 14 : 1-54.