

Rutin 및 GABA 침식이 누에 성장에 미치는 영향

방혜선 · 이완주

농촌진흥청 잠사곤충연구소

Effect of Mulberry Leaf Sprayed with Rutin and GABA on Silkworm Growth

Hae Sun Bang and Won Chu Lee

National Sericulture and Entomology Research Institute, RDA, Suwon, Korea

Abstract

This experiment was carried out to investigate the feeding effect of rutin (quercetin-3-o- β -rutinoside) and γ -aminobutyric acid(GABA) sprayed on mulberry leaves on silkworm growth. Amount of ingest, digest and feces showed no difference statistically except rutin. Rutin made 6% increase of amount of digest, compared to the control. However, rutin or GABA decreased maximally silkworm weight by 28% during the experimental period. GABA showed body weight loss by 15%, rutin by 7% respectively, compared to the control. Rutin and GABA extended three days larval period and extended one day mounting period and decreased 15.4% and 9.1% in number of mounted silkworm compared with the control, respectively.

Key words : Rutin, GABA, mulberry, silkworm

서 론

음악이 식물의 생육을 촉진시키는 물론 병해충의 발생을 감소시킨다는 사실이 보고되었다. 음악을 들려 준 식물에서 진딧물의 産仔數와 수명이 음악을 처리하지 않은 구에 비해 약 30%가 각각 감소된 때문으로 보고되었다(이 등, 1996).

이러한 결과를 보이는 것은 음악의 본질인 음파가 해충에 주는 직접적인 영향과 식물체 내에서 모종의 성분 변화가 해충에게 주는 간접적인 영향으로 나누어 생각해 볼 수 있을 것이다.

두번째 추정을 구명하기 위해 음악 처리구와 무처리구의 식물을 HPLC에 걸어 분석해 본 결과 처리구에서 무처리구에 비해 높은 극점이 대략 4개 정도 나타났는데, 이 중 2성분은 rutin(quercetin-3-o- β -rutinoside)과 GABA(γ -aminobutyric acid) 으로 동정되었다.

기존의 보고에서 rutin은 flavonoid 계통의 물질로 인체내에서 모세혈관 강화작용과 수축작용을 나타내

므로 순환계질환 치료제(Makam, 1989)나 항당뇨 활성제(홍 등, 1987), 혈압강하제(홍 등, 1988; 문 등 1990)로 이용되고 있다. 그러나, 곤충에 있어서는 nicotine, atropine 류와 같이 신경계에 독성을 나타내므로, 기주 식물로부터 섭취한 rutin이 조직에 어느 정도 이상 함유되어 있을 때는 섭식후 대사작용에 악영향을 미쳐 곤충의 발육을 비정상적으로 만드는 것으로 알려져 있다(Harborne, 1993).

한편 GABA(γ -aminobutyric acid)는 비단백태 아미노산의 일종으로 glutamic acid decarboxylase의 촉매 작용에 의해 glutamic acid로부터 생합성되는데(岡井, 1990), 식물계에 널리 분포되어 있다(Hunt, 1991). 인체에서는 중추신경계의 억제성 신경전달 물질로 혈압 상승 억제(Omori *et al.*, 1987) 및 식욕과 포만감을 조절하는 성분으로 작용한다는 보고(Narayan and Nair, 1990)가 있고, 곤충에서는 근육을 지배하는 운동신경 세포에 대한 억제성 neurotransmitter 작용과 곤충의 휴면 호르몬 분비를 억제 하는 작용을 갖는 것으로 알려져 있다(Hasegawa and Shimizu, 1990).

이 시험은 음과의 작용에 의해 식물체에서 증가된 rutin 과 GABA가 곤충에게 어떤 영향을 미치는가를 알기 위해 대상 곤충으로 누에를 시험재료로 하여 수행하였다.

재료 및 방법

누에 품종으로 백옥잠을 공시하여 처리당 100두씩 3반복으로 하고 사육환경은 전령기간 동안 온습도를 25°C와 80%로 조절하였다.

무처리 뽕잎으로 2령 말까지 사육하고 3령기잡부터 뽕잎에 화학물질을 첨식하여 먹였다.

처리내용은 무처리를 대조로 물처리(증류수), 0.1% rutin, 0.1% GABA 등 4처리로 하고 rutin은 불수용성이므로 최소량의 methanol에 녹여서 증류수로 농도를 맞추었으며, GABA는 수용성이므로 바로 증류수로 녹여 농도를 조절하였다. 0.1% rutin과 0.1% GABA는 뽕잎 생체무게 g당 0.4 ml를 분무하고 물기가 마르기를 기다려서 급상을 하였다.

처리후 매일 殘桑量과 糞, 糞體重을 조사하였으며, 食下量은 給桑量에서 殘桑量을, 消化量은 食하량에서 잠분량을 빼서 각각 계산하였다.

뽕잎의 rutin 분석은 건조시료 1g을 취하여 곱게 마쇄후 85% MeOH 100 ml로 80°C에서 2시간 2회 반복하여 추출하고, 추출액을 syringe filter로 여과한 다음 HPLC 분석시료로 사용하였다.

뽕잎의 GABA는 다음과 같이 추출하였다. 생체 시료 1g을 미리 냉각시킨 유발에 4% sulfosalicylic acid 10 ml를 가하여 마쇄한 후 4°C에서 60분간 방치해 두었다. 이것을 12,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액과 같은 양의 uriprep을 가하여 상온에서 5분간 방치하였다가 13,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 그 여과액을 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. rutin 및 GABA의 분석을 위한 분석 조건은 표 1, 2와 같다.

결과 및 고찰

1. 뽕잎의 rutin 및 GABA 함량

뽕잎에 rutin과 GABA를 분무하고 물기가 마른후에 이들 성분을 분석한 결과는 그림 3과 같았다.

뽕잎중의 rutin 함량은 대조구 86 mg/100 g FW 인 상태에서 0.1% rutin 처리구에서는 약 163 mg/100 g FW 으로 대조구의 2배 수준으로 증가했다. 그러나 물을 처리한 구에서도 125 mg/100 g FW 으로 대조구 보다 약 1.4배나 높은 함량을 보였다. 용액의 오염을 막기 위해 철저히 용기를 구분하여 썼으므로 오염으로 판단되지는 않는다. 다만 시료에 따른 성분 함량의 차에서 오는 것이 아닌가 추정된다.

즉 윤과 이 (1995 a)의 보고에 의하면 뽕잎의 염위에 따라 rutin의 함량은 큰 차를 보여 상위엽을 100이

Table 2. Effect of rutin and GABA on silkworm weight (g/head)

Treatment	4th instar 3rd day	5th instar		
		1st day	3rd day	5th day
Control	1.10 ^a	0.99 ^a	2.79 ^a	4.20 ^a
0.1% rutin	0.99 ^b	0.88 ^c	2.00 ^b	3.92 ^b
0.1% GABA	0.91 ^c	0.83 ^d	1.99 ^b	3.57 ^c
Water	1.02 ^b	0.92 ^b	2.55 ^a	3.81 ^b
C.V.(%)	3.91	2.11	7.65	2.78

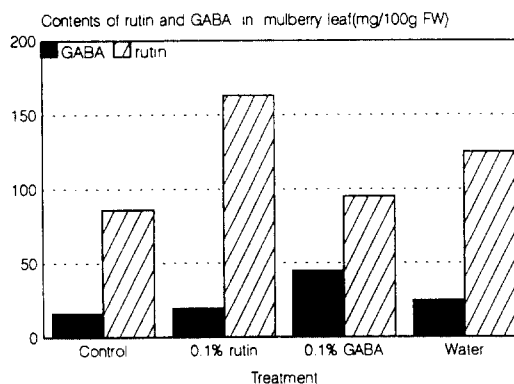


Fig. 1. Comparison of contents of rutin and GABA in the various treatment of mulberry leaf

Table 1. Operating conditions for rutin and GABA analysis

	Rutin	GABA
Column	Symmetry C ₁₈ (3.9 × 150 mm)	Cation exchange (3 × 150 mm)
Detector	UV/VIS, 350 nm	UV/VIS, 350 nm
Mobile phase	2.5% AcOH : MeOH : Acetonitrile = 70:10:20	Lithium citrate buffer, gradient elution
Flow rate	0.4 ml/min	0.3 ml/min
Reagent		Ninhydrin

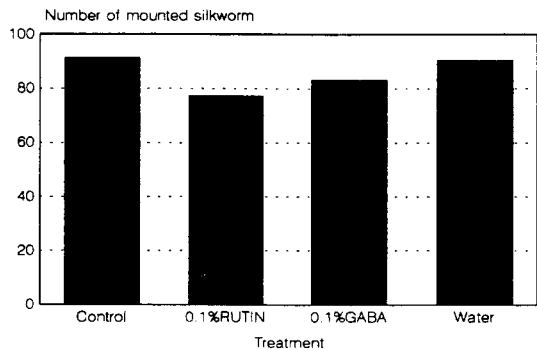


Fig. 2. Comparison of number of mounted silkworm in each treat

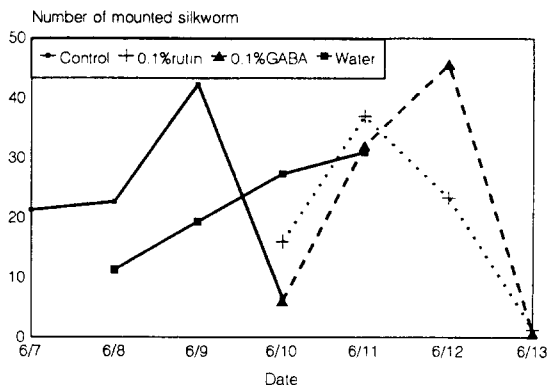


Fig. 3. Comparison of mounted state in each treat during a week after first mounting

라고 했을 때 중위엽은 60, 하위엽은 48에 불과하다. 따라서, 시료로 쓴 뽕잎의 老若의 차에 따른 결과가 아닌가 생각된다.

뽕잎의 GABA함량은 대조구에서 16 mg/100 g FW 인데 비해 GABA처리구에서는 이것의 2.8배인 45 mg/100 g FW 이었으며, 물처리구에서는 1.5배가 높았다. GABA도 rutin과 마찬가지로 상위엽에 많고 하위엽으로 갈수록 떨어지는 것으로 보아 (윤과 이, 1995 b) 분석에 사용한 시료의 차에서 온 것으로 판단되어진다. 그러나 누에에 먹인 뽕잎은 매우 양이 많아서 이러한 오차는 발생하지 않았을 것으로 추정되었다.

2. Rutin과 GABA 첨식에 따른 蠶體重의 변화

처리에 따른 누에의 체중 변화는 표 3에서와 같이 대조구 대비 물처리와 rutin 및 GABA를 첨식한 경우에 모두 전기간 동안 통계적으로 유의성 있게 잠체중이 낮았다.

Table 3. Amount of mulberry ingestion, digestion, feces from 3 instar 1th to 5 instar 5th

Treatment	Amount of Ingestion	Amount of feces	Amount of digestion
Control	55.2 ^a	14.3 ^b	40.9 ^b
0.1% Rutin	56.2 ^{ab}	12.9 ^a	43.6 ^a
0.1% GABA	56.0 ^{ab}	14.5 ^a	41.5 ^{ab}
Water	57.2 ^b	15.3 ^b	42.0 ^{ab}
C.V.(%)	1.45	6.02	2.10

4령 3일째 대조구의 누에 체중이 1.10 g이었던 반면에 각처리에서 대조구 대비 7-17% 낮았으며, 5령 1일째부터 5일째 까지 대조구 대비 6-28% 낮았으며, GABA처리구에서 가장 낮은 수치를 보였다.

물처리구의 체중 감소는 대체로 무처리구에 비해 체중의 저하를 가져온 것으로 보아(홍,1996) 뽕잎중의 과잉 수분함량이 누에 생리를 해친 때문으로 보인다.

물처리와 rutin과 GABA 를 첨식한 처리를 비교하면 대부분의 경과에서 물처리 보다는 rutin과 GABA 처리에서 더 낮은 체중 증가를 보여 이들 성분이 누에 체중 증가를 억제시켰음을 알 수 있었다.

공식 화학물질간의 처리 효과를 비교한 결과 GABA가 rutin 처리보다 더 체중의 증가를 둔화시켰다.

즉 처리에 따른 체중 변화를 보면 대조구 대비 물처리, rutin, GABA의 순으로 체중 증가를 억제 시켜서 같은 농도를 처리하였어도 GABA가 rutin보다 더 누에에 영향이 큰 것으로 나타났다.

3. rutin 및 GABA 첨식에 따른 뽕잎의 消化量

처리에 따라 누에가 뽕을 먹은 식하량과 배출한 잠분량을 3령 기잡일부터 5령 5일까지 조사하고 식하량에서 잠분량을 빼서 소화량을 계산한 결과 표 2와 같았다.

식하량은 처리에 관계 없이 대체로 56g내외였으며 처리간 유의차는 없었다.

잠분량은 대조구의 14.3g과 다른 처리구 사이에 큰 차를 보이지 않았으나, rutin처리구에서 만이 12.9g으로 대조구 대비 90%에 불과했다. 그러나 측정치 간에 변이가 비교적 커서 통계적인 유의차는 인정되지 않았다.

그러나 소화량을 보면 rutin처리구 만이 대조구와 통계적인 유의차를 보였다.

Rutin을 첨식한 구에서는 대조구 대비 소화량이 많았던 것으로 나타났다. 즉 대조구에서는 5령 5일째까지 소화량이 마리당 40.9 g이었던데 비해 rutin구에서는 43.6 g으로 2.7 g 높았으며 이 양은 대조구 대비 6% 정도 높은 것이었다. 그러나 체중의 증가는 오히려 대조구 대비 rutin구에서 7% 낮은 것으로 보아 소화율은 높았지만 rutin의 섭취로 인하여 생리적인 장애가 많아 에너지의 소모가 컸기 때문에 이런 결과가 나타난 것으로 판단되었다.

4. 上簇 經過 및 頭數

처음 상簇이 시작된 시기와 상簇이 지속된 기간은 그림 3과 같이 대조구에 비해 다른 처리구에서 모두 늦게 시작되었고 상簇이 지속되는 기간도 길었다.

대조구의 상簇이 6월 7일 시작되었던 반면에 물처리구는 대조구보다 1일이, rutin과 GABA 처리구에서는 3일이 각각 지연되었다. 상簇이 지속된 기간은 대조구와 물처리구의 경우 3일이 걸렸으나, rutin과 GABA 처리구에서는 이 보다 1일이 더 걸렸다. 상簇이 늦게 시작되었다는 것은 유충의 경과기간이 대조구에 비해 길었다는 것을 의미한다.

공시두수 100마리 중 상簇된 수는 대조구에서 91.3마리 였으며, rutin구에서는 77.2 마리, GABA구에서는 83.0 마리, 물처리구에서는 90.3 마리였다. 이 결과는 대조구 대비 rutin구에서는 15.4%, GABA구에서는 9.1%, 물처리구에서는 1.1% 감소한 것이다. 반복사이에 변이가 커서 통계적인 유의차는 인정되지 않았지만 rutin구에서 가장 높은 不結繭蠶이 발생하였으며 그 다음으로 GABA구였다. (Fig. 2)

결과적으로 rutin과 GABA의 첨식은 누에의 체중 증가를 억제시키고 유충의 경과일수를 연장시켰다. 따라서 rutin과 GABA가 이미 보고된 바와 같이 누에를 비롯한 여러가지 곤충에 해를 준다는 사실이 확인되었다(Harborne, 1993; Narayan and Nair, 1990; Hasegawa and Shimizu 1990)

적 요

Flavonol glycoside의 일종인 Rutin 과 free amino acid의 일종인 GABA(γ -aminobutyric acid)가 누에 성장에 어떤 영향을 미치는가를 알기 위해 뽕잎에 각각 0.1%의 수용액을 분무하여 3령 기잡부터 상簇까지 누에를 사육한 결과 다음과 같았다.

1. rutin과 GABA 0.1%를 분무한 뽕잎의 rutin과

GABA 함량은 대조구 86 mg/100 g FW, 16 mg/100 g FW 에 비해 각각 2, 2.8배 높았다.

2. rutin 및 GABA를 첨식한 뽕잎으로 사육한 누에의 잠체중은 대조구에 비해 최고 28%까지 감소하였으며 5령 5일에 대조구 대비 각각 7%, 15%의 감소를 보여 rutin보다는 GABA가 잠체중 증가에 더 큰 악영향을 주는 것으로 나타났다.

3. 처리간에 식하량, 배분량, 소화량 등은 거의 차를 보이지 않았으나 rutin 처리구에서 소화량이 대조구 대비 6% 정도 높은 것으로 나타났다.

4. rutin 및 GABA 처리는 유충의 경과일수를 연장시켜 상簇의 개시가 대조구에 비해 3일 정도 늦었으며, 상簇기간도 대조구에 비해 1일이 길었으며, 상簇 마리수도 대조구 대비 각각 15.4%, 9.1% 떨어지는 것으로 나타났다.

인용문헌

- Harborne J. B. (1993) The Flavonoids. In 'Flavonoids as feeding deterrents'. 598-618
- Hasegawa K. and I. Shimizu (1990) Gabaergic control of the release of diapause hormone from the suboesophageal ganglion of the silkworm, *Bombx mori*. *J. Insect Physiol.* **36**(12) : 909-915
- 홍기원(1996) 잠사곤충연구소. 사진
- 홍남두·노영수·원도희·김남재 (1987) 두충나무의 향당노화활성에 관한 연구. *생약학회지* **18**(2) : 112
- 홍남두·노영수·김종무·조보선 (1988) 두충나무의 일반 약리활성 연구. *생약학회지* **19**(2) : 102
- Hunt, S. 1991. Non-protein amino acids: In 'Methods in Plant Biochemistry' Vol. 5, Academic press : 1-52
- 이완주·이근영·윤성중·이동우·방혜신 (1996) 음악에 의한 식물생육 촉진 및 성분 함량의 변화. 한국 정신과학 학술대회 논문집 71-79
- 町井博明(1990) 桑葉中 γ -アミノ酪酸含量について. *日蠶雜* **59**(5) : 381-382
- Makam, K. R(1989) Methods in Plant Biochemistry. In 'Flavone, flavonols and their glycosides'. **1** : 197-235.
- 문영희·정명현·주홍규·유호진(1990) 소풍탕이 흰쥐의 혈압에 미치는 영향. *생약학회지* **21**(2) : 173
- Narayan. V.S and P.M. Nair(1990) Metabolism, enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants. *Phytochemistry* **29**(2) : 367-375
- Omori, M.T. Yano, J. Okamoto, T. Tsushida, T. Murai and M. Higuchi. (1987). Effect of anaerobically treated tea(Gabaron tea) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Nippon Nigeikagaku Kaishi* **61**(11) : 1449-1451
- 윤성중·이완주(1995 a) 蠶桑物質中 藥理成分 實用化

研究 1. 뽕잎중 Flavonol glycoside 成分의 品種 및 季節的 含量 變化. 농업논문집(94박사후 연수과정) 37 : 201-205
윤성중 · 이완주(1995 b) 蠶桑物質中 藥理成分 實用

化 研究 2. 뽕잎중 γ -Aminobutyric acid(GABA) 含量과 嫌氣的 處理가 GABA含量에 미치는 影響. 농업논문집(94박사후 연수과정) 37 : 207-213