

담배의 엽 발달 및 노화과정 중 이화학성 변화

이상각* · 강병화 · 석영선¹⁾ · 배길관¹⁾ · 노재영¹⁾
고려대학교 자연자원대학, ¹⁾충북대학교 농과대학
(1996년 8월 14일 접수)

Changes of Physico-chemical Properties during the Leaf Development and Senescence of Tobacco Plant

Sang-Gak Lee*, Byeung-Hoa Kang, Yeong-Seon Seok¹⁾,
Kill-Kwan Bae¹⁾ and Jae-Yong Roh¹⁾

College of Natural Resources, Korea University, ¹⁾College of Agriculture, Chungbuk National University
(Received Aug. 14, 1996)

ABSTRACT : This experiment was conducted to obtain the basic information on the morphological and physiological changes in tobacco leaf during the growth period by measuring the changes of chlorophyll, sugar, lipid and mineral contents in tobacco plant. Leaf length and width have been fully developed at 25 days after leaf emergence. Dry weight was rapidly increased between 10 and 15 days after leaf emergence and reached the highest at 30 days. Crude lipid content, palmitic acid, and the major saturated fatty acid were increased with progressing senescence, while unsaturated fatty acid including linolenic acid was decreased as the senescence was advanced. The total nitrogen content showed the highest value at 15 days after leaf emergence. On the other hand, the total sugar content showed the highest value at 45 days after leaf emergence and glucose, fructose and sucrose were decreased with leaf development and increased at the end of senescence. The content of chlorophyll showed the highest value at 15 days after leaf emergence and began to decrease at 30 days after leaf emergence. The contents of P, Cu, Zn, and Fe in tobacco leaves were decreased by the end of senescence after leaf emergence but those of Ca, Mg, and Mn in leaves were increased.

Key words : *Nicotiana tabacum*, chlorophyll, fatty acid, senescence.

* 연락처자 : 136-701, 서울시 성북구 안암동 5-1, 고려대학교 자연자원대학 식량자원학과

* Corresponding Author : Dept. of Agronomy, Korea Univ., 5-Ka Anam-Dong, Sungbuk-Ku, Seoul 136-701, Korea.

잎의 노화는 생육단계중의 하나로서 자연적인 시간의 경과외에 생육의 후반기에 생리적인 변화와 유전자발현의 변화로 여러 가지 대사가 저해되고 개체전체나 또는 잎과 같은 일부 기관의 활성이 저하되어 일어난다고 한다(Nooden and Leopold, 1988; Thimann, 1980; Woolhouse, 1982). 담배는 잎을 경제적인 수확물로 이용하는 작물로서 수확기에 잎의 물질축적상태와 조성은 수량과 품질에 큰 영향을 준다(Lee et al., 1995; Crafts-Brandner, 1991; Tso, 1990). 담배의 수확은 관행적으로 잎의 형태적 변화가 정지하고 외관적으로 엽록소의 감소가 일어나 황화현상이 시작되는 시기에 이루어진다. 특히 수확기의 전질소, 지방 및 당 함량은 담배의 품질에 큰 영향을 주며, 이러한 물질들의 변화는 담배의 품종이나 재배방법의 차이에 영향을 받는 것으로서 세포소기관에서 일어나는 대사과정과 밀접한 관계가 있다(Roh 1976; Stumpf and Conn, 1989; Goenaga et al., 1989; Rideout et al., 1992; Tso et al., 1960; Akehust, 1981). 즉 담배의 경우 노화정도에 따른 엽의 성숙정도는 수확 적기를 결정하는데 크게 영향을 줄 수 있으므로 노화과정 중 이러한 물질의 변화에 대한 연구는 중요하다.

본 실험은 잎의 발달과정과 생육단계별 엽록소, 당, 지방 및 무기물함량의 변화를 파악하여 담배의 노화연구에 필요한 기초자료를 제공하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시품종은 황색종담배(*Nicotiana tabacum* cv. NC82)로서 3월 12일 파종하여 엽수가 8매인 균일한 묘를 선발하여 5월 2일 경기도 덕소에 위치한 고려대학교 자연자원대학 부속농장 포장에 재식거리 105×45cm의 밀도로 이식하여 개량 멀칭 표준재배법에 준하여 개화시 적십없이 재배하였다. 시비량은 연초용복합비료(N-P₂O₅-K₂O:13-7-25) 90kg/10a를 전량기비로 시여하였다. 시험토양은 pH 6.72, CEC 10.25me/100g, 전질소함량 0.09%, 가급태인산함량 26.53ppm, 유기화합물 1.37%의 미사질 양토였

다. 시료는 각 식물 개체당 엽위가 지상부로부터 12번째인 중위엽을 출엽 후 10일부터 5일 간격으로 엽장, 엽폭, 엽면적, 건물중을 12회 조사하였고, 분석 시료는 80℃의 건조기에서 48시간 건조시켜 사용하였다.

전질소는 micro-kjeldahl법으로, 전당 및 환원당은 자동분석기(Technicon사), 엽록소함량은 담배성분분석법에 준하여, 지방함량은 Soxhlet 추출법으로 분석하였다. 무기물 분석은 습식분해법을 이용하여 건조시료 2g을 삼각플라스크에 넣고 질산 5ml을 가하여 180-200℃으로 가열한후 ternary solution (HNO₃:H₂SO₄:HClO₄=10:1:4) 20ml을 넣고 200℃전열판에서 분해한 다음 여지(Toyo No.2)로 여과하여 원자흡광분광광도계(Perkin-Elmer, Model 2380)을 사용하여 측정하였다. 전당의 조성은 건조시료 1g에 증류수로 10ml을 넣어 진탕한 후 15,000g로 15분간 원심분리하여 상정액을 취하여 sep-pak과 0.5μm membrane filter로 여과한 후 HPLC(Water.US)로 분석하였다. 지방산 분석은 sodium methoxide를 촉매로하는 methanolysis에 따라 건조시료 1g을 이형플라스크에 넣고 Na-CH₃OH 1ml, n-hexane 25ml를 첨가하여 65℃의 탕욕상에서 환류냉각시켜 지방산을 ester화하였고, 냉각 후 1% phenolphthalein을 지시약으로하여 1N 황산으로 중화시킨 다음 분액여두로 hexan층을 분리하여 증류수로 세척한 후 삼각플라스크에 여과 sodium sulfate anhydrous를 넣어 탈수하여 hexane을 휘발시켜 지방을 얻었다. 이 지방에 ethyl ether 1ml을 넣은 후 2μl를 취하여 gas chromatography (Shimadzu, GC-6A형)로 분석하였다.

결과 및 고찰

잎의 크기나 성장속도는 지하부의 양분, 수분흡수와 지상부의 재배 및 환경조건에 따라 크게 영향하는데, Fig. 1은 엽의 생육과정별 엽장, 엽폭, 엽면적 및 건물중의 변화를 조사한 결과이다. 잎의 출현은 포장 이식 7일 후 부터 시작되었으며, 본 실험을 수행하기 위해 출엽 후 육안으로 잎을

감지할 수 있는 시기(잎의 크기가 0.5cm 이상)를 출엽일로 잡고 이 기간으로부터 잎의 생육기간을 산출하였으며 조사한 12번째 잎의 출현은 이식 후 30일이 걸렸다. 엽장은 출엽 후 4일에서 15일까지 성장속도는 컸으며, 출엽 후 25일에 완전한 성숙엽으로 전개되었다. 엽폭과 엽면적의 경우도 엽장과 같은 변화 양상을 보였다. 건물중은 잎이 출엽하여 출엽 후 30일까지 증가하였고 그 후 일정한 폭으로 감소하였으며 출엽 후 10일에서 15일 사이에 증가폭이 가장 컸고 출엽 후 50일까지의 변화폭은 작았다. 결과적으로 잎의 생장은 세포분열에 의한 세포수의 증가와 개개의 세포신장에 의해 진행되지만, 외적·내적으로 복잡한 변화에 크게 지배되어 엽장, 엽폭 및 엽면적은 출엽 후 25일을 기준으로하여 최대치에 이르렀다.

건물중은 출엽 후 30일에 가장 크게 나타났는데 이것은 전보(Lee et al., 1995)에서 광합성율의 결과와 같이 잎전개가 완전히 이루어진 후 대사작용이 왕성히 일어나 상대적 인 축적량이 증가되었기 때문으로 사료된다.

생육단계별 전질소, 당, 지방 및 엽록소함량은 Table 1과 같다. 단백질의 대사와 관련된 질소함량의 변화는 출엽 후 15일까지 증가하다가 일정하게 감소하여 출엽 후 65일까지 일정량을 유지하는 경향으로, 초기 증가폭이 큰 것은 담배의 생육시 질소는 포장이식 후 7 주 이내에 80% 이상(Raper and McCants, 1966)흡수를 하므로 상대적으로 증가된 것으로 사료된다. 엽내 질소의 함량이 노화말기까지 유지되는 것은 잎 자체가 고사하더라도 NH_4^+ 와 같은 여러 화합물형태로 존재하기 때문으

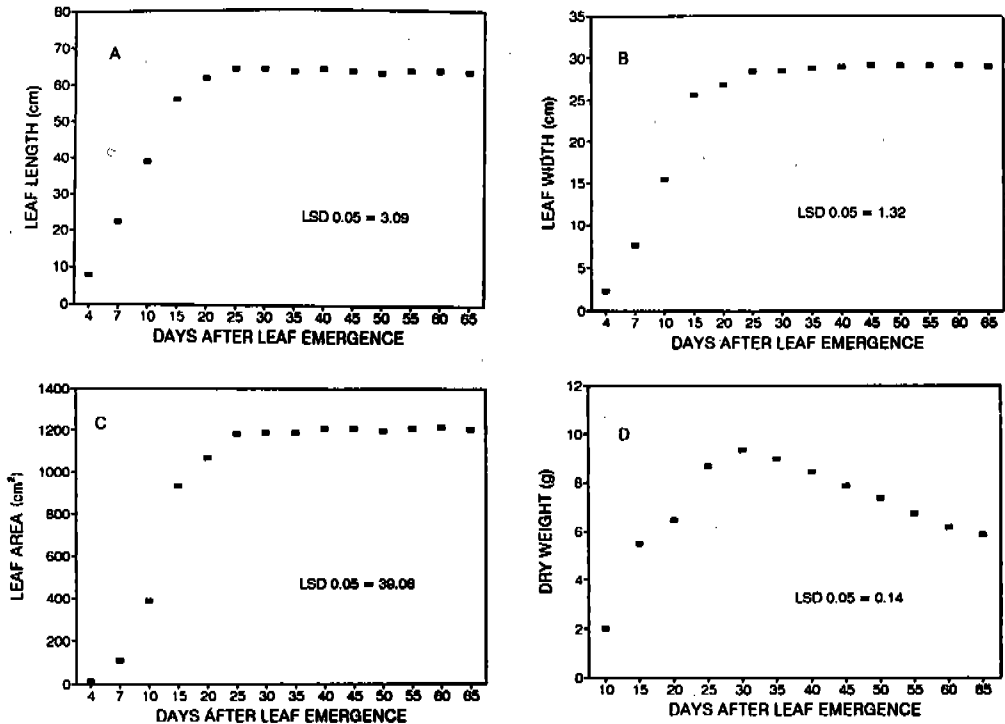


Fig. 1. Changes in length, width, leaf area and dry weight in the 12th leaf of tobacco plant according to the leaf development. A : length, B : width, C : leaf area, D : dry weight.

Table 1. Changes in total nitrogen, crude lipid, total sugar, reducing sugar and chlorophyll contents according to the leaf development in tobacco plant.

Days after leaf emergence	Total nitrogen	Crude lipid	%		Total chlorophyll mg/g f.w.
			Reducing sugar	Total sugar	
10	4.86±0.16	1.05±0.06	7.02±0.22	7.15±0.13	4.72±0.11
15	4.91±0.07	1.24±0.06	6.31±0.12	6.54±0.12	6.94±0.12
20	3.51±0.11	1.36±0.07	3.14±0.13	3.36±0.07	6.87±0.13
25	3.39±0.07	1.81±0.05	3.83±0.17	4.18±0.11	6.42±0.11
30	2.44±0.20	2.26±0.05	4.58±0.09	4.73±0.11	5.32±0.11
35	2.17±0.07	2.32±0.08	5.46±0.16	5.80±0.14	5.27±0.10
40	2.06±0.05	2.36±0.06	5.37±0.10	5.44±0.32	3.55±0.27
45	2.03±0.03	2.42±0.06	6.32±0.17	6.62±0.12	3.47±0.09
50	2.30±0.07	2.77±0.05	2.53±0.04	2.70±0.33	2.34±0.05
55	2.60±0.03	2.94±0.08	3.66±0.08	3.73±0.14	2.15±0.04
60	1.96±0.16	3.88±0.21	5.67±0.10	5.87±0.11	0.63±0.05
65	1.74±0.06	2.71±0.09	7.85±0.15	8.08±0.15	0.55±0.05
LSD (5%)	0.30	0.18	0.28	0.36	0.19

로 사료된다.

전당과 환원당은 잎의 생육초기에는 서서히 감소하다가 출엽 후 30일부터 증가하고 다시 감소하여 노화말기에는 증가하였다. Fig. 2는 당의 조성을 나타낸 결과로서 fructose, glucose, sucrose는 전

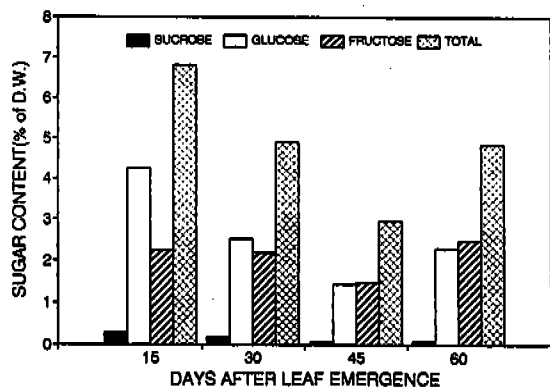


Fig. 2. The total sugar composition of the 12th leaf of tobacco plant according to the leaf development.

반적으로 감소하다 60일 경의 노화말기에 증가하였다. 이러한 결과는 노화말기 당함량의 증가보다는 전분함성이 저하되었기 때문으로 사료된다.

조지방함량은 출엽 후 잎이 전개되면서부터 증가하여 60일까지 계속 증가되다가 65일 지나 잎이 고사에 이르는 단계에서 감소하였다. Fig. 3은 지방산 조성을 나타낸 것으로서 각각의 함량은 잎이 전개되면서 시기별 큰 차이는 없었지만 60일이 지난면서 점차 감소하는 경향이였다. 지방산의 조성은 linolenic acid의 함량이 가장 많았으며 palmitic acid, linoleic acid, stearic acid, oleic acid 순이었다. 엽 생육단계별 각 조성간의 변화는 포화지방산인 palmitic acid는 출엽 후 15일부터 60일까지 점진적으로 증가하였고 stearic acid는 감소하였다. 불포화지방산인 linolenic acid, linoleic acid는 노화가 진행되는 30일부터 감소하였지만 oleic acid는 노화말기에 증가하였다. 포화지방산과 불포화지방산의 엽 생육단계별 비율은 포화지방산은 잎이 노화하면서 증가하고 불포화지방산은 감소하며 구성 비율은

출엽 후 15일에는 0.26이었으나 60일에는 0.34로 증가하는 것으로 나타나 다른 연구들(Stedman, 1968; Tso and Chu, 1970)과 일치하였다. 그러나 이러한 지방산조성의 변화는 세포막의 구조와 특성을 변화시키는데 포화지방산의 증가는 막의 유동성을 변화시켜 전자전달을 비롯한 중요한 생체막에 일어나는 전반적인 생화학적 반응의 불활성화와 막의 물질이동에 혼란이 일어나 노화를 가속화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

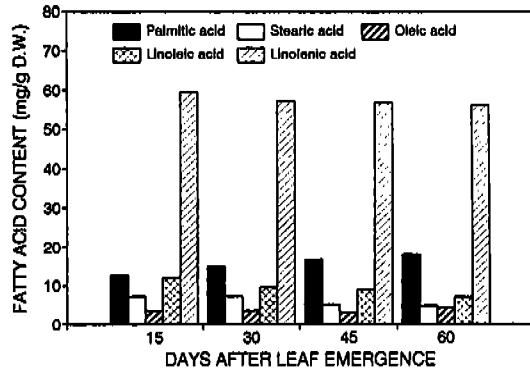


Fig. 3. The fatty acid composition of the 12th leaf of tobacco plant according to the leaf development.

식물의 생리 상태의 일반적 기준이 되는 엽록소 함량의 변화는 잎의 전개 초기에 함량이 증가하여 출엽 후 15일에 최고치를 보인 후 그 후 점진적으로 감소하였다. 엽록소함량의 변화율은 출엽 후 15일에 약 32% 증가하다가 25일까지는 일정한 비를 유지하고 30일부터 엽록소의 분해가 일어나 노화의 가시적인 증상이 나타났다. 출엽 후 45일에는 최대치의 50%로 감소되어 육안으로 노화의 현상을 정확히 파악할 수 있으며 출엽 후 50일에는 외관상 황록색을 띠며, 전보(Lee *et al.*, 1995)에서 보고된 광합성량의 감소와 단백질분해기간을 고려할 때 잎이 출엽해서 노화에 이르기까지의 잎 자체의 활성을 유지시키는 최대한의 기간은 출엽 후 55일로 생각되며 60일 이후에는 전체 엽록소중 92%가 분해되어 거의 황백색으로 변화되며, 미량

의 엽록소 만이 기부와 세맥부위에 부분적으로 분포하여 노화는 잎의 선단부위에서 기부쪽으로 진행되는 것으로 관찰되었다. 엽록소의 대사과정의 생화학적경로는 확실하게 알려져 있지는 않으나 엽록소의 분해는 광산화(Anderson, 1981)에 의해 일어난다고 하며, 이는 노화가 진행됨에 따라 증가하는 lipoxygenase의 활성에 의한 막 붕괴의 한 요인으로서 작용하는 것으로서 chlorophyllase, chlorophyll oxidase, peroxidase 등의 효소도 관여한다고 한다(Kato and Shimizu, 1985; Maunders *et al.*, 1983; Maunders and Brown, 1983). 담배의 생육단계별 무기성분의 변화는 Table 2의 결과와 같다. 앞전개에 따른 P 함량 변화는 잎의 출엽으로부터 노화 말기까지 감소하였는데, 이러한 결과는 담배의 생육 초기에 세포분열과 뿌리생장이 빨리 일어날 때에는 흡수량이 크고 생육후반기의 노화기 진행됨에 따라 새롭게 출현하는 상위엽으로 P가 이동되고 더불어 뿌리에서의 흡수량이 점차 감소되었기 때문으로 사료된다. 그러나 기공 개폐 및 각종 효소·활성에 관여하는 K 함량은 전생육

Table 2. Changes in composition of the various minerals according to the leaf development in tobacco plant.

Days after leaf emergence	%				ppm			
	P ₂ O ₅	K ₂ O	MaO	MgO	Cu	Zn	Mn	Fe
10	0.28	3.16	1.01	0.79	16	81	15	373
15	0.17	3.18	1.40	0.50	17	70	158	292
20	0.10	3.20	1.08	0.62	9	67	137	162
25	0.09	3.32	1.51	0.79	9	70	165	210
30	0.07	2.99	1.41	0.99	9	79	214	159
35	0.07	2.58	1.23	0.65	9	70	193	162
40	0.06	2.48	1.51	0.83	9	73	231	217
45	0.07	2.25	1.62	0.67	8	54	167	162
50	0.09	2.80	1.80	0.71	8	70	167	197
55	0.09	3.15	2.24	1.04	6	52	167	162
60	0.09	3.03	2.08	1.09	6	75	335	243
65	0.07	2.59	1.97	1.01	4	64	193	162

기간중 큰 변화폭은 없었다. 그 밖에 Ca, Mg은 변화의 폭은 작았으나 노화말기에는 약간 증가하였고, Mn은 잎이 전개되면서 증가하다가 감소하여 노화말기에 증가하였다. 전반적으로 P, Cu, Zn Fe은 출엽 후 전개초기부터 노화말기까지 감소하고 Ca, Mg, Mn은 노화가 진행되는 세포에 축적되어 증가하는 경향이였다.

이상의 결과를 종합하면 잎의 소질이나 내부물질의 변화는 출엽후 25일을 기준으로 이루어지고 있고 출엽 후 60일경에는 세포내 물질의 합성, 분해, 그리고 조절기능의 완전한 정지 시기로 보여진다. 담배는 특히 수확 시기가 수량과 품질에 크게 영향을 주는 작물로서 위의 결과를 토대로 수확 시기를 고려하면 건물중은 출엽 후 20일부터 급격한 증가가 시작되고 출엽 후 45-50일까지 감소폭이 적어, 이 기간이 제조 담배의 껍미를 저해하는 단백질과 전분 함량이 줄어드는 반면 당과 아미노산함량(Lee et al., 1995)은 증가하여 수량의 감소는 적고 품질의 향상을 꾀할수 있는 시기로 사료된다.

결 론

본 실험은 담배생육단계별 엽록소, 당, 지방 및 무기물함량의 변화를 파악하여 노화가 진행되는 과정에서 잎의 발달 형태와 생리적인 변화의 기초 자료를 얻고자 실시하였다. 엽장과 엽폭의 완전 전개시기는 출엽 후 25일 이었고, 건물중은 출엽 후 10일부터 15일 사이에 증가폭이 컸고 출엽 후 30일에 가장 높았다. 전질소함량은 출엽 후 15일, 전당은 출엽 후 45일에 높았고, glucose, fructose, sucrose 조성은 잎생장에 따라 감소하다가 노화말기에 증가하였다. 조지방 함량과 지방산 조성 중 포화지방산인 palmitic acid는 노화가 진전됨에 따라 증가하고 불포화지방산들은 감소하였다. 엽록소함량은 출엽 후 15일에 가장 높았고 출엽 후 30일부터 감소하기 시작하였다. 무기 양분 중 P, Cu, Zn 및 Fe은 잎이 출엽하여 전개초기부터 노화말기까지 감소하였고 Ca, Mg, Mn은 증가하는 경향

을 보였다.

참 고 문 헌

1. Akehust, B. K. (1981) *Tobacco*. Longman group Ltd. U.K. pp.45-95.
2. Anderson, J. M. (1981) Consequences of spatial separation of photosystem 1 and 2 thylakoid membranes of higher plant chloroplast. *Febs Lett.* 124:1-10.
3. Crafts-Brandner, S. J. (1991) Nonstructural carbohydrate metabolism during leaf aging in tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Physiol. planta* 82:299-305.
4. Goenaga, R. J., R. J. Volk and R. C. Long (1989) Uptake of nitrogen by flue-cured tobacco during maturation and senescence. I. Partitioning of nitrogen derived from soil and fertilizer sources. *Plant and Soil* 120:133-139.
5. Kato, M., and S. Shimisu (1985) Chlorophyll metabolism in higher plants. VI. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation. *Plant Cell Physiol.* 26:1291-1301.
6. Lee, S. G., S. I. Shim, B. H. Kang (1995) Changes in photosynthetic rate and protein content in the leaf during the senescence of tobacco plant (*Nicotiana tabacum* L.). *J. KSTS* 17 : 20-26.
7. Maunder, M. J., S. B. Brown and H. W. Woolhouse (1983) The appearance of chlorophyll derivatives in senescing tissue. *Phytochemistry* 22:2443-2446.
8. Maunder, M. J., and S. B. Brown (1983) The effect of light on chlorophyll loss in senescing leaves of sycamore (*Acer pseudoplatanus* L.). *Planta* 158:309-311.
9. Nooden, L. D., and A. C. Leopold (1988) *Senescence and Aging in Plants*. Academic Press Inc. 2-171.

10. Raper, C. D., Jr., and C. B. McCants (1966) Nutrient accumulation in flue-cured tobacco. *Tobacco Science* 10:109.
11. Rideout, J. W., C. D. Raper, Jr and G. S. Miner (1992) Changes in ratio of soluble sugar and free amino nitrogen in the apical meristem during floral transition of tobacco. *Int. J. Plant Sci.* 153:78-88
12. Roh, J. Y. (1976) Analytical studies on the relationship between leaf production and environmental factors in tobacco culture (I-VIII). *Tobacco Reserch* 3:71-104.
13. Stedman, R. L. (1968) The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. *Chem. Rev.* 68:153-207.
14. Stumpf, P. K., and E. E. Conn (1989) The Biochemistry of Plants. Academic Press. Vol.12. Physiology of Metabolism. p.87-113.
15. Thimann, K. V. (1980) Senescence in plant. CRC Press, Boca Raton. Florida. pp.86-109.
16. Tso, T. C. (1990) Production, physiology, and biochemistry of tobacco plants. IDEALS, Inc. p.243-569.
17. Tso, T. C., J. E. McMurtrey, Jr., and T. Sorokin (1960) Mineral deficiency and organic constituents in tobacco plants. I. Alkaloids, sugars and organic acids. *Plant Physiol.* 35:860-64.
18. Tso, T. C., and H. Chu (1970) Effect of growth, senescence and flue-curing on fatty acid composition of tobacco. *Agron. J.* 62:512-14.
19. Woolhouse, H. W. (1982) "Leaf senescence." In: The Molecular Biology of Plant Development (H. Smith and D. Grierson, eds). p.256-281. Blackwell, Oxford.