

良質大豆 품종 육성을 위한 高含黃 蛋白質 및
lipoxygenase 低活性度 품종의 探索과 그의 遺傳 및 選拔效果
2. Lipoxygenase 低活性度 품종의 탐색과 그 遺傳 및 選拔效果 研究

李弘和* · 朴義浩** · 具滋煥*

Studies on Search for Varieties of Higher Sulfur Containing
Protein with Lower Lipoxygenase Activity and
Their Inheritance and Selection Efficiency for
Breeding of Good Quality Soybean Cultivar

2. Variation of Lipoxygenase Activity
and its Inheritance with Selection Efficiency

Hong Suk Lee* · Eui Ho Park** and Ja Hwan Ku*

ABSTRACT : Lipoxygenase activity of soybean seeds of approximately 507 genotypes as well as its inheritance and selection efficiency in early breeding generation was measured in the Department of Agronomy, Seoul National University to facilitate breeding for low lipoxygenase activity of soybean. Average seed lipoxygenase activity of 507 cultivars and strains was 350 unit (unit: $\Delta 0.01/\text{min.}/\text{mg}$ at 234nm) and ranged from 50 to 670 unit. There was no difference in mean lipoxygenase activity according to apparent seed characters such as seed coat and embryo color. But early mature soybean genotypes had fairly low lipoxygenase activity. Lipoxygenase activity was inherited quantitatively, in which additive effect was greater than dominant one and proportion of gene with positive effects was similar to that with negative ones. Estimated narrow- and broad-sense heritabilities were 0.78 and 0.86 for lipoxygenase activity, respectively. Heritability measured from selection in early breeding lines for high or low lipoxygenase activity was 64~76% or 54~62%, respectively. And selection for high lipoxygenase activity increased by 29.7~44.7%, whereas that for low ones decreased by 21.8~27.3%, respectively, when compared to random population. Clear effect in selecting of lipoxygenase activity was present in early generation.

Key word : Soybean, Lipoxygenase, Selection efficiency, Inheritance

* 서울대학교 農業生命科學大學 (College of Agriculture and Life Science, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea)

** 嶺南대학교 農畜大學 (College of Agriculture and Animal Science, Yeungnam University., Kyeongsan, Kyungbuk 712-749, Korea)

*** 이 論文은 '90年度 韓國科學財團研究費支援에 의한 研究結果의 일부임

〈'94. 3. 10 接受〉

우리나라의 콩 需要量은 연간 150만톤에 이르나 自給率은 20% 이하로 떨어졌으며 이러한 추세는 앞으로도 계속 진전될 것으로 생각된다. 이에따라 국산콩의 자급을 향상을 위한 노력이 절실히 필요한 실정에 있고 이의 극복을 위하여 生産性의 向上 및 그의 安定化, 경영 규모의 확대 및 省力 機械化 재배 등과 더불어 品質의 向上 및 改良을 통한 식품의 고급화가 매우 긴요한 실정에 있다.

콩은 직접 또는 가공을 통하여 여러가지 식품으로 多樣하게 이용되고 있는데 열처리를 가하지 않았을 때는 加工 過程에서 날비린내와 같은 이미(異味), 이취(異臭)가 발생하여 기호성을 떨어뜨리고 영양적인 면에서나 가공과정에서 문제가 되고 있다. 이와같은 이미, 이취가 발생하는 주 요인은 種實中에 존재하는 효소의 일종인 lipoxygenase의 작용에 의하여 촉발된 複合化合物에 기인하는 것으로 알려져 있다. 콩의 lipoxygenase는 1947년 Theorell 등²³⁾에 의하여 처음으로 분리된 이후 여러 종류의 lipoxygenase 同位酵素가 보고 및 확인되어왔다^{6,7,9)}. 콩에 있어서 lipoxygenase 活性은 콩 종실을 식품으로 가공 이용함에 있어 産物의 불쾌한 냄새 및 맛의 형성에 관여한다고 한다^{14,18,19,20)} 이러한 가공산물의 불쾌한 냄새와 비린맛의 주요 원인은 lipoxygenase가 종실 내의 불포화 지방산의 酸化를 촉매함으로써 생성되는 알콜류와 알데하이드류 때문이라 여겨지고 있다²²⁾. Hammond 등¹⁴⁾과 Kalbrener 등¹⁶⁾의 보고에 의하면 콩은 lipoxygenase의 활성이 높기 때문에 加工時 비린맛을 일으킨다고 하였고, lipoxygenase의 작용에 의하여 생성되는 過酸化脂質은 비타민과 단백질을 파괴하여 영양가치를 떨어뜨리며 과산화지질 및 이에 의하여 생성된 산물은 毒性作用을 일으킨다고 한다^{11,12,20)}. 콩의 가공시 이러한 lipoxygenase의 활성을 없애거나 떨어뜨리는 방법으로 열처리^{18,19)}·증기가열²¹⁾·알코올¹⁾이나 유기용매추출^{10,20)}, 항산화제 첨가²¹⁾ 등과 기타 다양한 처리를 하고 있으나 이에 병행하여 비용의 상승과 영양가치의 저하를 가져오는 단점이 있다. 따라서 근원적인 방법으로 lipoxygenase 활성이 낮거나 동위효소가 결핍된 것을 探索하여 이를 품종개량에 이용하고자 하는 育種의 방법이 모색되고 있으며²⁾ 또한 품질적

향상의 한 방법으로도 모색되고 있다^{8,15)}. lipoxygenase 활성은 환경보다는 유전적 작용에 의하여 주로 영향을 받으므로^{5,14)} 낮은 lipoxygenase 활성을 갖는 품종을 육성할 수 있다고 한다. Hafez¹³⁾는 lipoxygenase 활성은 脂肪含量과 $r=0.42^{**}$ 정도의 有意相關을 갖는다고 보고하였다. 대체로 未成熟 종실은 lipoxygenase 활성이 낮으며, 저장기간 동안에는 성숙 정도에 관계없이 lipoxygenase의 활성이 떨어진다고 한다²⁴⁾.

본 연구에서는 lipoxygenase 活性度가 낮은 품종의 육성을 위한 유전 육종학적 기초 연구를 실시한 바 그 결과를 보고하고자 한다.

材料 및 方法

본 실험은 서울대학교 농학과에서 保存 維持해 오고 있는 품종 및 系統 중 134점에 대하여 1990년도에 일차적으로 lipoxygenase 활성을 분석 측정 한 후 lipoxygenase 활성의 遺傳 및 選拔效果를 알아보고자 LC7862(150 unit; $\Delta 0.001$ /min. /mg, 234nm), LC7603(248 unit), LC7701(296 unit), 황금콩(348 unit), 옥우27(384 unit) 등의 5 품종을 二面交雜하여 91년도에 2반복 亂塊法으로 전개하여 F₂ 종자들을 분석하여 유전 및 遺傳力을 추정하였다. 그리고 추가로 선발효과를 알아보고자 LC7852(255 unit)×황금콩(460 unit), LC8101(230 unit)×순천(540 unit), T-208(290 unit)×순천(540 unit) 등의 각 3組를 交配(1990년) 수확 후 半量의 종자는 보관하여 분석하고 나머지 반량의 종자를 전개시키는 방법으로 世代를 진전시킨 후 F₂ 세대 (1991)에서 lipoxygenase 활성이 높고 낮은 양 방향으로 10% 정도씩 선발 한 후 그의 自殖 종자와 더불어 이들 (F₃, 1992년)을 분석하여 선발 효과 및 유전력을 추정하였다.

그리고 2차적으로 91년도에 계속하여 국내외에서 수집 및 분양받은 계통중 373 계통에 대하여 서울대학교 실험농장에서 표준재배하여 얻은 種實의 lipoxygenase 활성을 각각 분석하였다.

Lipoxygenase 활성의 측정¹⁷⁾은 콩을 곱게 마쇄한 후 30mg을 秤量하여 20mM CaCl₂를 포함하는

Tris-buffer(pH 7.0) 1ml에 넣고 실온에서 2시간 동안 진탕한 후 원심분리시키고 그 상등액 50 μ 를 취하여 2ml의 반응기질에 첨가하여 234nm에서 흡수율 변화를 측정하였으며 분당 0.001의 흡광도 증가를 1 unit로 하였다($\Delta 0.001$ /min. /mg). 반응기질은 4.82ml의 증류수에 Tween20 0.18ml의 비율로 혼합 교반시킨 다음 linoleic acid 1.5mg을 넣고 완전히 분산되도록 잘 흔든 다음 2N NaOH 0.28ml를 첨가하고 0.2M Tris buffer(pH 9.0)로 50ml로 부피를 맞추후 -25 $^{\circ}$ C에 보관하면서 사용시마다 녹여 定量에 이용하였다.

그리고 供試系統에 대하여 蛋白質, 脂肪 및 糖含量 등을 分析 調査하였는데 단백질 함량 및 지방 함량 분석은 근적외분광분석기(NIR-4500)를 이용하였고 당함량은 Chaplin¹⁾이 기술한 방법을 이용하여 분석하였다.

生育特性的 조사는 포장 재배시에 觀察 조사 기록하였으며 그 외 종실의 특성 조사는 파종 후 남은 종자와 수확 후 종자를 대상으로 測定 조사하였다. 그리고 供試系統들을 수집지역, 성숙일수 및 종실특성별로 분류하여 lipoxygenase 활성평균을 비교하였으며 수집지역별 분류는 행정구역상 도단위로 하였고, 성숙군 분류는 파종(1991. 5. 28)에서 수확까지의 일수를 120일부터 20일 간격으로 4 그룹으로 구분하였고, 종실특성별 분류는 종피색, 피분유무, 자엽색 별로 분류하였다.

結果 및 考察

1. Lipoxygenase 活性的 變異

콩 종실의 lipoxygenase 활성도 측정은 총 501 품종 및 계통이 분석 조사되었고 最低 50 unit에서 最高 670 unit를 나타내었는데 대체로 平均 350 unit를 중심으로 한 연속적 변이를 나타내었다(그림 1). 500 unit 이상의 높은 활성을 보이는 품종 및 계통이 12% 였고, 100 unit 이하의 낮은 활성을 보이는 품종 및 계통이 7% 정도였다. 그리고 250 unit에서 500 unit 사이에 포함되는 것이 전체의 73%로 대부분을 차지하였다. 우리나라 各地의 수집 有色 재래콩을 위주로 한 본 조사 집단에서의 이러한 분

포는 lipoxygenase 활성의 변이가 栽培大豆에서 폭 넓게 분포되어 있음을 나타낸다 하겠다. 그런데 100 unit 이하의 低活性으로 측정된 계통들도 그 정도는 낮지만 대부분 비린 맛을 지니고 있었다.

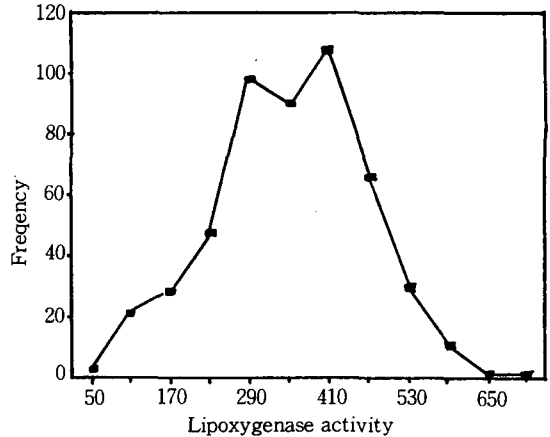


Fig. 1. Variation of lipoxygenase activity in seeds of collected soybeans.

Kalbrener 등¹⁶⁾에 의하면 리놀산과산화물 10 ppm과 리놀렌산과산화물 10ppm에서도 현저하게 불쾌한 향취가 난다고 한다. Lipoxygenase의 동위효소 중 Lx2와 Lx3이 최적활성을 나타내는 산도는 pH 6~7 정도이고³⁾ Lx2 동위효소는 불포화 지방산의 과산화산물 중 불쾌한 맛과 냄새의 主因子로 지적되고 있는 n-hexanol, n-hexanal을 주로 파생시키고 있는 것으로 알려져 있다^{16,20)}.

재배 환경과 형질 특성에 따라 lipoxygenase 활성의 차이가 존재하는지 알아보기 위하여 수집지역 및 주요 특성에 따라 분류하여 차이를 비교한 결과는 표 1과 같다.

Table 1. Analysis of variance for lipoxygenase activity classified by collection sites, maturity groups, and seed characters

	Region of collection	Maturity group	Seed coat color	Seed coat bloom	Cotyledon color
F value	1.835 ^{NS}	5.672 ^{**}	2.553 ^{NS}	3.554 ^{NS}	2.575 ^{NS}
Degree of freedom	8	3	3	1	2

** : Significant at the 1% level NS: Non significant

수집된 지역별로 분류하여 lipoxygenase 활성을 비교한 결과 평균간에 유의적인 차이가 나타나지 않아 地域의인 차이는 없는 것으로 나타나 Chapman등⁵⁾이 성숙 그룹별로 재배. 지역을 달리하여 재배한 결과 lipoxygenase의 활성은 栽培環境에 의해 영향을 받지 않고 遺傳的인 배경에 의해서만이 영향을 받는다고 하는 결과와 일치함을 알 수 있다. 成熟群 별로 분류하여 비교한 결과는 성숙이 이른 계통이 성숙이 늦은 계통보다 활성 평균이 낮은 양상을 보여 전체적으로 早生 그룹이 lipoxygenase 활성이 낮은 특성을 보였다. 이것으로 보아 淸콩으로 이용되는 조생 계통들의 lipoxygenase 활성이 낮은 경우가 많을 것으로 생각된다. 종실의 특성에 따라 種皮色, 종피의 皮分 有無, 子葉色 별로 그룹으로 나누어 lipoxygenase 활성을 비교한 결과 차이가 없는 것으로 나타나 lipoxygenase 활성과 이들 형질과는 무관한 것으로 생각되었다.

다음으로 lipoxygenase 활성과 種實成分 및 생육 특성과의 相關關係를 분석한 결과는 표 2와 같다.

Lipoxygenase 활성과 開花期 간에 낮은 정도의 상관이 나타났으나 다른 농업 형질과는 유의적 상관이 나타나지 않았으며 이로 미루어 이들 形質과 lipoxygenase 활성과는 상관이 별로 없는 것으로 생각된다.

Table 2. Correlations between lipoxygenase activity and other characters in the collected soybeans.

	Protein	Fat	Sugar	Flo ⁺	Mat	FM	WT
lipoxygenase activity	-0.01	-0.01	0.04	0.12*	0.09	0.05	0.02

* Significant at the 5% level

+ Flo: Flowering days Mat: Maturity days

FM: Days from flowering to maturity WT: Seed weight

2. Lipoxygenase 활성의 遺傳 및 選拔效果

콩 種實의 lipoxygenase 활성도의 유전적 정보와 선발효과를 알아보기 위하여 활성 차이가 있는 母本과 父本의 3組合 LC7852(255 unit)×Hwan-

geumkong(460 unit), LC8101(230 unit)×Suncheon(540 unit), T-208(290 unit)×Suncheon(540 unit)의 F₂ 세대에 있어서 lipoxygenase 활성의 分離樣相을 살펴 본 결과는 그림 2와 같다.

대체로 F₁은 양친의 중간 정도를 나타내었고 F₂의 분리 양상은 양친의 범위보다 넓은 연속적인 變

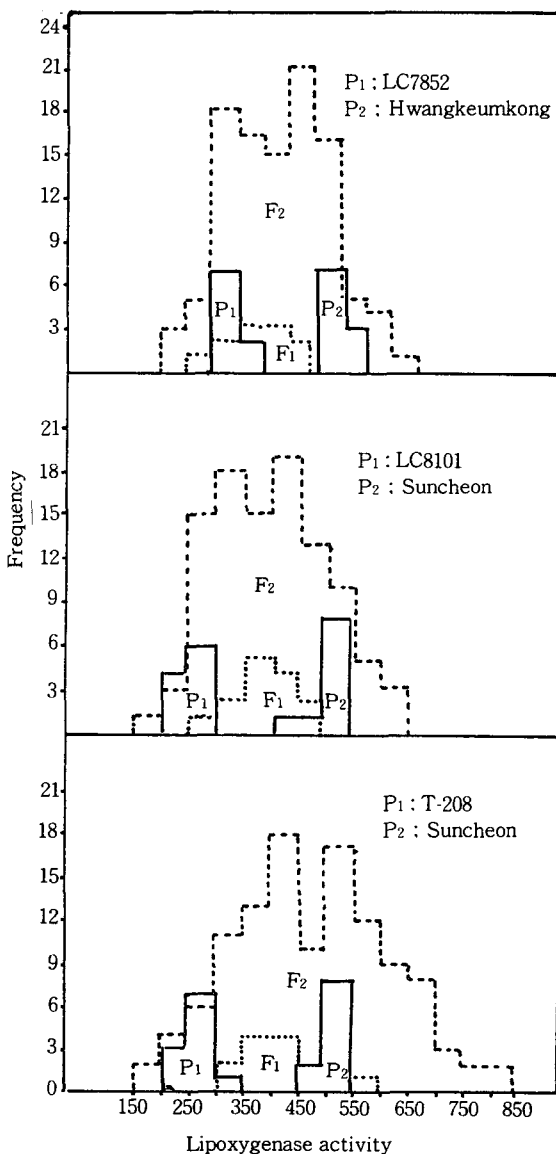


Fig. 2. Frequency distribution of lipoxygenase activity of the parents, F₁ and F₂ generation of the single crosses.

異樣相을 나타내었다

또한 LC7862(150 unit), LC7603(248 unit), LC7701(296 unit), 황금콩(348 unit), 육우27(384 unit) 등의 5개 품종의 二面交雜에 의한 20組合의 F₂ 종실과 그들의 母本種實에 대하여 lipoxygenase 활성을 조사 분석한 결과는 그림 3 및 표 3과 같다.

Vr-Wr 그래프에 의하면 回歸直線이 원점 위를 지나고 또한 표 3에서 보는 바와 같이 우성정도 (H₁/D)^{1/2}도 0.46으로써 부분우성임을 나타내고 있다. 상가적효과(D)는 우성효과(H₁)보다 크게

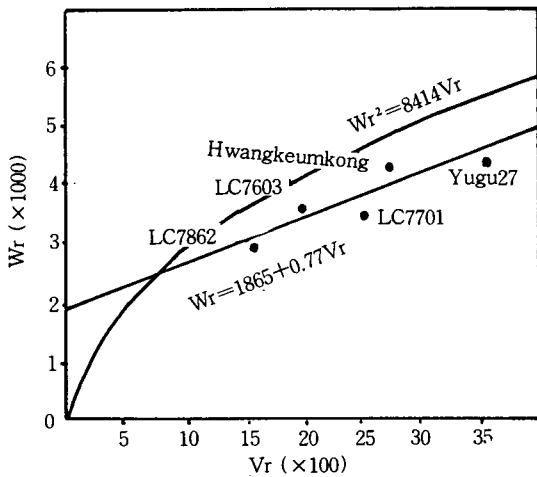


Fig. 3. Vr. Wr graph for lipoxygenase activity in a 5x5 diallel crosses.

나타났고 lipoxygenase 활성을 높게 하는 유전자와 낮게 하는 遺傳子의 비(H₂/4H₁)는 0.23으로써 0.25와 비슷하여 交配親들 사이에 유전자의 분포가 거의 비슷한 것으로 추정된다. 그리고 遺傳力에 있어서는 依意의 遺傳力은 0.78이고 廣意의 遺傳力은 0.86으로써 매우 높은 것으로 나타났다.

또한 選拔效果를 알아보려고 F₂ 세대에서 높고 낮은 兩方向으로 10% 정도씩 선발한 후 그의 自殖종자(F₃)를 분석하여 선발효과 및 유전력을 추정 한 결과는 표 4와 같다.

Lipoxygenase 활성의 유전력은 위 3組合 평균

Table 3. Estimated genetic parameters and propotional value for lipoxygenase activity

Notation	Estimated value	Notation	Estimated value
D	7805	(H ₁ /D) ^{1/2}	0.46
F	947	H ₂ /4H ₁	0.23
H ₁	1647	Hn	0.78
H ₂	1491	Hb	0.86
E	610		

Note:

D: Additive, F: Excess of dominance alleles, H₁: Dominance H₂: Dominance, weighted, E: Environment, (H₁/D)^{1/2}: Average degree of dominance H₂/4H₁: Proportion of genes with positive and negative alleles in the parents. Hn: Narrow sense heritability. Hb: Broad sense heritability

Table 4. Selection efficiency and heritability of lipoxygenase activity estimated in early generation (unit: unit /mg D. W)

Cross	F ₂ population				F ₃ population				Selection response				
	unselected		selected		Random		selected		R	G _s	h ²		
	N	\bar{x}	S	N	\bar{x}	N	\bar{x}	S				N	\bar{x}
LC7852x Hwangeum kong	104	329	98	10	525	182	331	160	50	463	196	132**	67.3
LC8101x Suncheon	102	352	107	10	551	173	340	207	50	492	199	152**	76.4
T-208x Suncheon	117	487	147	11	718	195	499	216	49	647	231	148**	63.9
				11	242				57	363	-245	-136**	55.5

G_s=F₃ selected-F₃ random: R=F₂ selected-F₂ unselected: h²=G_s/R

N: Population size, \bar{x} : mean, S: standard deviation, G_s: genetic gain R: selection difference h²: heritability

63% 정도의 遺傳力을 보였다. 특히 활성이 높은 쪽의 유전력은 3組合 평균 69%로서 활성이 낮은 쪽의 유전력 3 조합 평균 57%보다 높은 것으로 나타나 활성을 높게 하는 方向으로의 경향이 큰 것으로 생각된다.

선발에 의한 lipoxygenase 활성의 변이는 높은 方向으로 선발했을 때에 비선발 집단 평균에 대해 선발 집단 평균이 29.7~44.7% 증가(132~148 unit 증가) 하였고 낮은 方向으로 선발했을 때 21.8~27.3% 저하(74~136 unit 저하)되었으며 모든 경우 유의하게 선발효과가 있었다. 따라서 잡종 초기 세대에 있어서 활성이 낮은 쪽으로의 선발효율은 높은 쪽으로의 선발 효율 보다는 다소 떨어지지만 평균 57% 정도의 유전력을 보이고 또 21.8~27.3%의 선발 효과가 있어 저활성 품종의 육성 가능성을 시시해주는 것이라 할 수 있을 것이다.

摘 要

콩의 lipoxygenase 활성이 낮은 품종의 육성을 위한 遺傳育種學的 기초연구의 일환으로 서울대학교 농학과에서 유지해오고 있는 품종 및 계통과 국내 수집계통 등 507점을 공시재료로 하여 lipoxygenase 活性의 變異, 그리고 雜種初期世代를 통한 lipoxygenase 활성의 遺傳 및 選拔效果를 조사한 결과는 다음과 같다.

供試品種 및 系統들의 lipoxygenase 활성은 50~670 unit(unit; $\Delta 0.001 / \text{min} / \text{mg}$, 234nm)의 範圍(507 품종 및 계통)였으며 平均 350 unit로 나타났다.

수집지역과 종실색 구분에 의한 각 그룹별 lipoxygenase 활성의 평균간 차이가 없었으며 成熟이 이른 계통의 집단이 lipoxygenase 活性平均이 낮았다.

Lipoxygenase 활성은 量的인 遺傳現象을 나타냈으며 활성을 높게하는 遺傳子의 상가적 效果가 優性效果보다 큰 것으로 나타났고 활성을 높게하는 유전자와 낮게하는 유전자의 분포비율은 비슷한 것으로 추정되었다. 추정된 협의의 유전력과 광의의 유전력은 0.78(H_n), 0.86(H_b)이었고, 선발효

율은 고, 저 양 方向으로의 초기세대 선발에 의해 원집단에 비해 높은 方向의 선발에서 29.7~44.7% 증가하였고 낮은 方向의 선발에서 21.8~27.3% 저하되었으며 모든 경우에 有意하게 선발효과가 있었다.

引用文獻

1. Ashraf, H. L. and H. E. Snyder. 1981. Influence of ethanolic soaking of soybeans on flavor and lipoxygenase activity of soymilk. *J. Food Sci.* 46:1201-1204.
2. Asian Vegetable Research and Development Center. 1987. Breeding for nonbeany Flavor. In Progress Report. 1985. Shanhua, Taiwan; AVRDC(1987):182-183.
3. Axelrod, B., T. M. Cheesbrough, and S. Laakso. 1981. Lipoxygenase from soybean. *Methods Enzymol.* 71:441-451.
4. Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy. 1986. Carbohydrate analysis - a practical approach. IRL Press
5. Chapman, G.W., J.A. Robertson, D. Burdick, and M.B. Parker. 1976. Chemical composition and lipoxygenase activity in soybeans as affected by genotype and environment. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 53:54-56.
6. Christopher, J. P., E. K. Pistourius, and B. Axelrod. 1970. Isolation on isoenzyme of soybean lipoxygenase. *Biochem. Biophys. Acta.* 198:12-19.
7. Christopher, J. P., E. K. Pistourius, and B. Axelrod. 1972. Isolation of a third isoenzyme of soybean lipoxygenase. *Biochem. Biophys. Acta.* 284:54-62.
8. Davies, C. S., S. S. Nielsen, and N. C. Nielsen. 1987. Flavor important of soybean preparations by genetic removal of lipoxygenase-2. *Journal of the American Oil*

- chemistry Society 64(10):1428-1433.
9. Diel, E. and Hans-Jürgen Stan. 1978. Purification and characterization of two isoenzymes of lipoxygenase from soybeans. *Planta* 142:321-328.
 10. Dolev, A., W. K. Rohwedder, and H. J. Dutton. 1967. *Lipids*. 2:28-32.
 11. Gardner, H. W. 1979. Lipid hydroperoxide reactivity with protein and amino acids; A review *J. Agric. Food Chem.* 27:220-229.
 12. Gordon, M. H. and I. S. Barimalaa. 1989. Co-oxidation of fat-soluble vitamins by soybean lipoxygenase. *Food Chemistry* 32(1):31-37
 13. Hafez, Y.S. 1983. Nutrition composition of different varieties and strains of soybean. *Nutrition Reports*. 28:1197-1206.
 14. Hammond, E. G., W. R. Fehr, and H. E. Snyder. 1972. Improving soybean quality by plant breeding. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 49:33-35
 15. Hilderbrand, D. F., T. R. Hamilton-Kemp, J. H. Loughrin, Ali Kadum, and R. A. Andersen, 1990. Lipoxygenase 3 reduces hexanal production from soybean seed homogenates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38(10):1934-1936
 16. Kalbrener, J. E., K. Warner, and A. C. Eldridge. 1974. Flavors derived from linoleic and linolenic acid hydroperoxides. *Cereal Chem.* 51:406-416
 17. Kitamura, K. 1984. Biochemical characterization of lipoxygenase lacking mutants, L-1-less, L-2-less, and L-3-less soybeans. *Agric. Biol. Chem.* 48:2339-2346.
 18. Mustakas, G. C. et al. 1968. Lipoxygenase deactivation to improve stability, odor and flavor of full-fat soy flours. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 46:623-629.
 19. Nelson, A. I., M. P. Steinberg, and L. S. Wei. 1976. Illinois process for preparation of soymilk. *J. Food Sci.* 41:57-61.
 20. Rackis, J. J., D. J. Sessa, and D. H. Honig. 1979. Flavor problems of vegetable food proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56: 262-271.
 21. Rice, R. D. et al. 1981. Effects of enzyme inactivation on the extracted soybean meal and oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 578-583.
 22. Sessa, D. J. 1979. Biochemical aspects of lipid-derived flavor in legume. *J. Agric. Food Chem.* 27:234-239.
 23. Theorell, H., R. H. Holmen, and A. Akenson. 1947. Crystalline lipoxygenase. *Acta Chem. Scand.* 1:571-576.
 24. Yao, J. J., L. S. Wei, and M. P. Steinberg. 1983. Effects of maturity on chemical composition and storage stability of soybeans. *J. Amer. Chem. Sci.* 60:1245-1249.