

선녹콩 개체간 및 개체내 단백질 함량 변이

임무혁* · 정명근**†

*식품의약품안전청 식품평가부, **강원대학교 생약자원개발학과

Intra- and Inter-Variation of Protein Content in Soybean Cultivar Seonnogkong

Moo-Hyeog Im* and Myoung-Gun Choung**†

*Dept. of Food Safety Evaluation, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

**Dept. of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-711, Korea

ABSTRACT Soybean [*Glycine max* (L.)] is a major source of protein for human and animal feed. Inter- and intra-genotype variation of soybean protein has been investigated by soybean researchers. However, limited sample amount of soybean single seed there is no report that investigated intra-plant variation of soybean protein within soybean plant. Recently a non-destructive NIR (near-infrared reflectance) spectroscopy using single seed grain to analyze seed protein was developed. The objectives of this study were to understand variation of seed protein content within plant and to determine the amount of minimum sample size which can represent protein content for a soybean plant. Frequency distribution of protein content within plant showed normal distribution. There was an intra-cultivar variation for protein content in soybean cultivar Seonnogkong. Difference of protein content among single plants of Seonnogkong was recognized at 5% level. Seeds in lower position on plant stem tended to accumulate more protein than in higher position. There was significant difference for protein content between sample size 5 seeds and sample size of more than 5 seeds (10, 20, 30, 40, and 50 seeds) at a soybean plant with 57 seeds however no difference was recognized among sample size (5, 10, 20, and 30 seeds) at a soybean plant with 33 seeds. Around 20% seeds of soybean from single plant needed to determine the protein content to represent protein content of single soybean plant. This study is the first one to report evidence of intra-plant variation for protein content which detected by non-destructive NIR spectroscopy using single seed grain in soybean.

Keywords : soybean, protein, single seed, single plant, NIR

콩[*Glycine max*(L.) Merr]은 우리나라의 주요 식량작물로서 약 40%의 단백질과 약 20%의 지질을 함유하여 영양면에서 우수한 식품이며, 콩이 재배된 이래 동양에서는 콩에 함유된 단백질이 인간의 주요 단백질 공급원으로 이용되어 왔다. 근대에 들어 콩을 도입하여 세계적으로 가장 많이 생산하고 있는 아메리카 대륙의 경우 콩 단백질은 대부분 가축의 주요한 단백질 공급원으로 이용이 되고 있다(Wilson, 2004). 최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 동서양을 막론하고 콩을 이용한 음식에 대한 관심이 높아지고 소비가 촉진되고 있으며, 대표적인 콩 단백질 음식인 두부와 두유의 경우 동서양을 막론하고 인기 있는 콩 음식으로 자리를 잡고 있다.

콩 유전자원의 단백질 함량을 조사한 결과 건물중 대비 34-57% 범위의 변이를 보인다고 보고된 바 있고(Wilson, 2004), 콩 함유 단백질의 축적은 품종과 재배환경간의 상호작용에 의해서 좌우되나, 주로 생식생장기에 저온으로 성숙하였을 때 단백질을 더 많이 축적하는 것으로 알려져 있다(Wolf *et al.*, 1982; Wilson, 2004). 그러나 몇몇 관련 연구에 의하면 품종 간 단백질의 함량변이가 환경에 의한 변이 폭보다 더 크다고 보고된 바 있다(Schutz & Bernard, 1967; Shorter *et al.*, 1977).

일반적으로 육종에 의해 선발된 고도로 고정된 품종 내에서는 변이나 선발에 대한 효율이 떨어진다는 이론에 의해 고정된 품종 내에서의 변이체 선발 연구는 많이 수행되지 않았다. 그러나 벼, 밀 및 옥수수 등 몇몇 작물에서는 선발된 우수 품종 내에서의 변이가 관찰된 바 있으며(Fasoula, 1990; Fasoula & Fasoula, 2000; Tokatlidis, 2000; Tokatlidis *et al.*, 2004 & 2006), 콩에서도 품종 내 변이에 대한 연구결과가 일부 보고된 바 있다(Fasoula & Boerma, 2005 & 2007).

†Corresponding author: (Phone) +82-33-570-6491
(E-mail) cmg7004@kangwon.ac.kr

<Received November 26, 2008>

Fasoula & Borerma(2005)는 ultra-low plant density법을 이용하여 3개의 우수품종, 즉 Benning, Haskell 및 Cook을 이용하여 재 선발한 결과 품종 내에서 단백질 함량과 지질 함량이 높은 개체를 선발 할 수 있었으며, 여러 환경에서 검정한 결과 선발된 단백질 및 지질 함량이 높은 개체(계통)가 선발된 함량이 낮은 개체(계통)와 통계적으로 유의적인 차이를 보인다고 하였으며, 종자의 크기, 경장, 성숙기 및 도복에서도 품종 내 변이가 있었음을 보고 하였다(Fasoula & Boerma, 2007).

일반적으로 콩에 함유된 단백질의 함량분석은 Kjeldahl 분석법(AOAC, 1994)을 주로 사용하여 왔으나, 이 방법은 콩을 분쇄하여 습식분해 및 분석하는 과정에 많은 시간과 노동력이 요구된다. 따라서 최근에는 근적외선 흡수스펙트럼(Near-infrared reflectance spectroscopy)을 이용한 간이분석에 의해 콩 함유 단백질을 측정하는 방법이 연구되었으며, 실제 육종현장에서 많이 이용되고 있다(Rinne *et al.*, 1975; Helms & Orf, 1998; Sebolt *et al.*, 2000; Choung *et al.*, 2001a & 2001b). 그러나 이 방법 또한 콩 함유 단백질 함량을 측정하기 위해서는 수에서 수습 그래프의 분석시료가 필요하다.

최근 기존 파괴적 혹은 대량시료가 필요한 근적외 분광분석법을 개선하여 종자 1립 상태로 비파괴적 방법을 적용하여 단백질 함량을 측정하는 기술이 국내에서 개발 된 바 있다(Choung *et al.*, 2004). 현재까지 콩 품종 간 혹은 동일 품종 내에서 재배환경에 따른 단백질 함량의 변이에 대한 연구는 많이 진행되었지만, 단백질 분석에 소요되는 콩 분석 시료의 양 제한에 의해 동일한 콩 품종의 개체 내에서 콩 종실의 착협 부위에 따른 단백질 변이에 대한 연구는 진행되지 못하였다. 앞서 언급한 것처럼 콩에서 단백질은 가장 많이 함유된 성분 중 하나로, 단백질 함량과 단백질의 품질을 향상시키고자 하는 것은 국내 콩 육종사업의 중요한 목표 중의 하나이다. 따라서 콩 개체 내에서 단백질 함량의 변이를 이해한다면 콩 단백질 관련 연구에 크게 기여 할 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 동일품종의 개체 내에서 콩이 달린 착협 위치에 따른 단백질 함량 변이를 검토하고, 콩에서 단백질 함량을 분석하기 위해 개체 내에서 분석시료를 취할 때 개체를 대표 할 수 있는 최소의 분석시료 양을 제시하고자 실시하였다.

재료 및 방법

본 시험에 사용된 콩 품종은 선녹콩(Kang *et al.*, 2001)이었으며, 2005년 6월 상순 농촌진흥청 영남농업연구소 전작물 재배포장에 재식밀도 60×10 cm로 파종 하였으며, 성숙기인 9월 중순에 시험구에서 5개체를 임의로 선발하여 단백질 함량 측정에 이용하였다.

선발된 5개체는 임의로 P1-P5로 개체 이름을 부여 하였으며, 개체 내의 콩 착협 위치별로 단백질 함량을 측정하기 위해 탈협 전 기록지에 개체별로 개체내의 콩 착협 위치를 모두 기록하였다(Fig. 1). 즉 마디 및 분지의 위치, 마디별, 분지별로 콩 종실이 달린 위치 및 협내 종실의 수를 기록한 후 개개의 종실에 번호를 부여한 후 단백질 함량 측정을 실시하였다.

콩 종실 1립의 단백질 함량 측정은 Choung *et al.*(2004)이 개발한 근적외선 흡수스펙트럼을 이용한 1립 비파괴 측정법을 이용하였다.

개체 내 착협 위치별 단백질 함량의 변이를 조사하기 위해 각 마디에 달린 콩의 단백질 함량을 이용하여 계산하였다. 분지에 달린 콩의 경우에는 분지가 달린 마디에 달린 콩으로 간주하여 계산을 하였다. 마디의 번호는 지표면에 가장 가까운 마디를 첫 번째 마디로 하여 윗부분으로 가면서 번호를 부여 하였고, 마디별 단백질 함량은 P1-P5 개체의 평균값을 이용하여 표시하였다.

단백질 함량 분석을 위해 필요한 개체 내 최소 시료채취량 평가 실험은 본 실험에 사용된 첫 번째(P1)와 다섯 번째(P5) 개체에서 수확된 콩을 이용하여 분석을 실시하였다. 즉 첫 번째 개체는 57개의 종자를 생산하였으며, 다섯 번째 개체는 33개의 종자를 생산하였다(Fig. 1 및 2).

개체별로 최소 시료채취량 평가를 위한 시료의 종자 갯수는 P1의 경우 5, 10, 20, 30, 40 및 50립으로 하였고, P5의 경우는 5, 10, 20 및 30립으로 하여 계산하였다. 각 개체 내에서 종자별로 100번의 임의 시료를 취하였고, 100번 시료를 취 한 후 각 시료별로 단백질 함량의 범위와 평균을 계산하였으며, 시료별 단백질 함량의 평균 간 차이는 SAS version 9.1(SAS Institute, 2004)로 통계분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

단백질 함량 분석을 위해 선발된 5개체(P1-P5)는 각 개체별로 단백질 함량의 범위와 평균 함량에 차이를 보였으며, 대체적으로 정규분포를 보였다(Fig. 2). 개체별 단백질 함량

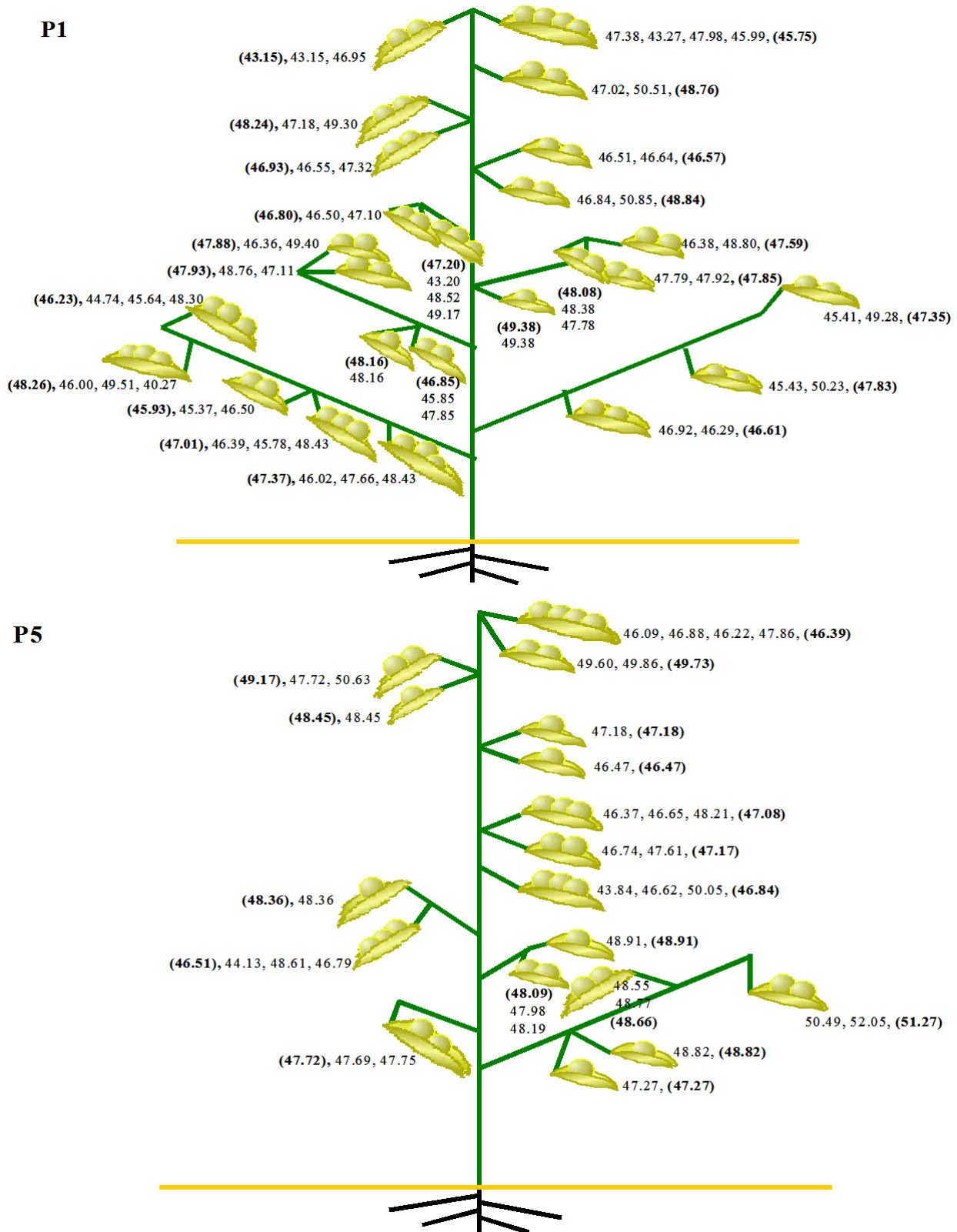


Fig. 1. Protein content of each single seed in single plant of cultivar Seonnogkong estimated by non-destructive single seed NIR spectroscopy. Digits in parenthesis indicate mean content of protein in each pod.

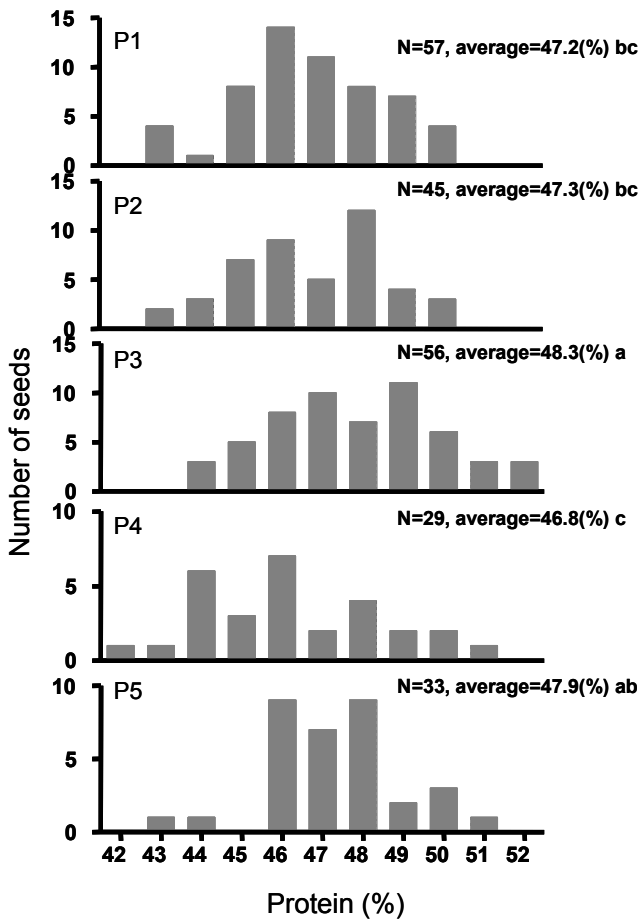


Fig. 2. Frequency distribution of protein in seeds of single plant of cultivar Seonnogkong estimated by non-destructive single seed NIR spectroscopy. P1-P5 mean each plant of cultivar Seonnogkong. Same letters among average protein(plant) are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ probability level.

은 P1-P5가 각각 43.2-50.9%, 43.8-50.8%, 44.8-52.3%, 43.0-51.0% 및 43.8-52.1%의 범위를 나타내었고, 개체별 단백질의 평균 함량은 각각 47.2%, 47.3%, 48.3%, 46.8% 및 47.9%를 나타내었으며, 개체별 단백질 함량은 통계적으로 유의적인 차이를 나타내었다. 이 결과는 Fasoula & Boerma(2005)의 연구결과와 유사한 양상을 나타내었으며, Fasoula & Boerma(2005)는 3개의 육성된 품종에서 300개 이상의 개체를 이용하여 단백질 함량을 재 선발한 결과 개체 간 단백질 함량은 정규분포를 보였으며, 여러 환경에서 단백질 함량을 검정한 결과 선발된 단백질 함량이 높은 개체들이 선발된 낮은 개체들과 유의적인 차이를 보인다고 하였다. 본 실험에서도 개체 간 단백질의 평균 함량에 차이가

있었으며, 개체 간에 통계적으로 유의적인 차이를 보였다. 그러나 이러한 차이가 환경에 의한 차이인지 품종 내 개체 간 변이에 의한 차이 인지는 검정하지 않았으며, 향후 더 많은 개체를 공시하여 재 선발 후 여러 환경에서 체계적으로 검정 할 필요가 있을 것으로 판단된다.

본 실험에 이용된 5개체의 평균 단백질 함량은 47.5%로 선녹콩의 육성 당시 단백질 함량인 40.6%(Kang *et al.*, 2001)와 다소 차이가 있었다. 이러한 차이는 두 가지로 설명될 수 있는데, 첫 번째는 재배환경에 의해 단백질 함량의 재배 연차 간 변이로 해석할 수 있을 것이며, 다른 한 가지의 경우는 1립 비파괴 근적외 흡수 스펙트럼을 이용한 단백질 함량 분석의 오차에 기인한 것일 수도 있다. 그러나 1립 비파괴 근적외 흡수 스펙트럼을 이용한 단백질 분석용 측정 검량식이 습식으로 분석한 단백질 함량과 고도로 높은 결정계수 ($r^2 = 0.955$)를 보여주므로(Choung *et al.*, 2004), 기계적인 분석 오차이기 보다는 재배환경에 의한 차이로 추정 된다.

본 실험의 재료로 사용한 선녹콩의 착협 위치에 따른 단백질 함량 변이를 검토한 결과 착협 위치가 지표면에 가까운 곳에서부터 식물체의 윗부분으로 올라 갈수록 단백질 함량은 소량 감소하는 경향을 나타내었다. 일반적으로 콩의 단백질 함량은 재배조건, 개화기, 등숙 기간, 종실크기 등에 따라서도 다양하게 변할 수 있으며, 특히 선행연구에 의하면 생식생장기 때의 저온요인에 의해 함량이 높아진다는 보고도 있다(Wolf *et al.*, 1982; Wilson, 2004). 선행 연구결과로 볼 때 개체 내에서도 콩의 착협 위치에 따라 노출되는 온도에 차이가 있을 수 있을 것이다. 예를 들어 지표면 가까이 위치할 콩 일수록 상위에 존재하는 과변무한 잎에 의해 빛이 차단되는 효과를 받으므로 상위 마디에 존재하는 콩 보다 낮은 온도가 유지될 수 있을 것이며, 관개수에 의해 상대적으로 낮은 온도, 또 대기보다 낮은 지온의 영향에 의한 환경조건에서 성숙되게 되면 상대적으로 착협 부위가 낮은 위치에서 성장한 콩이 상위에 착협 되어 성장한 콩에 비해 단백질 함량이 높은 양상을 나타낼 수도 있을 것으로 추측되며, 향후 재배 생리적 측면에서 체계적인 검토가 필요할 것으로 판단된다.

콩 함유 단백질 함량의 증진은 국내 콩 육종사업의 중요한 목표 중의 하나이다. 본 실험의 결과 동일 품종 내에서도 개체 간에, 또 동일 개체 내에서도 착협 위치에 따라 단백질 함량의 변이가 있는 것으로 조사되었다(Fig. 2). 따라서 품종 간 혹은 품종 내 단백질 함량의 차이를 비교 분석하기 위해 각 품종과 각 개체를 대표 할 수 있는 적정 시료 채취

Table 1. Range and mean protein content as number of sampling seeds calculated from 100 times random sampling within two single plants (P1 and P5) of Seonnogkong.

Number of sampling seeds	Protein (%) (P1)		Protein (%) (P5)	
	Range	Mean	Range	Mean
5	45.2-48.8	47.17 b [†]	45.6-49.2	47.75 a [†]
10	44.9-48.3	47.29 a	46.5-49.1	47.80 a
20	46.6-48.0	47.27 a	47.4-48.5	47.86 a
30	46.7-47.9	47.30 a	47.6-48.2	47.87 a
40	47.0-47.7	47.29 a		
50	47.1-50.0	47.29 a		
Whole seeds [‡]	43.2-50.9	47.28	43.8-52.1	47.86

[†]Same letters within column are not significantly different at the $\alpha=0.05$ probability level.

[‡]Number of whole seeds from P1 and P5 was 57 and 33, respectively.

및 채취량 구명 실험은 분석의 정확도 향상을 위해 매우 중요한 일이라 할 수 있을 것이다.

Table 1은 한 개체 내에서 얼마의 시료량을 취하면 그 개체의 단백질 함량을 대표 할 수 있는지에 대한 결과를 나타내었다. 각 개체 내에서 시료량 별로 100번의 임의 샘플을 해 본 결과 콩 종자수가 많은 P1($n=53$) 개체의 경우 샘플양 별로 단백질 함량이 유의적인 차이를 나타내었다. 개체 내에서 5립(8.7%)을 취하였을 때는 단백질의 함량이 47.17%로 전체 종자수인 53개(100%)의 평균 함량보다 0.11% 정도 낮게 조사 되었다. 그러나 10립(17.5%) 이상을 취하였을 때는 전체 콩 종자의 평균 함량과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 한편 콩 종자의 수가 33개인 개체(P5)에서는 전체 종자량의 15.1%인 5립 이상을 취하였을 때 전체 콩 종자의 평균 함량과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 개체 내 콩 종자의 수가 서로 다른 두 개체를 통해 단백질 함량 분석을 위한 개체 내 최소 시료채취량을 추정 해 본 결과, 개체 내에서 최소 20% 이상의 콩 종자를 취하면 개체를 대표하는 단백질 값을 얻을 수 있는 것으로 평가 되었다.

현실적으로 10립 수준의 콩 종자(약 1-3 g 수준)를 분쇄하여 수분 측정 및 습식 분해과정을 거쳐 단백질 함량을 측정하는 것은 어려움이 있으므로, 보통 수에서 수십 그램의 콩을 이용하여 분쇄 후 일정량의 샘플을 취하여 분석을 하여 왔다. 본 연구 결과로 비추어 볼 때 선행 연구자들이 단백질 함량을 분석하기 위해 합리적인 수준의 시료를 취하여 분석한 것으로 판단되며, 근적외선을 이용한 비파괴 분석 혹은 소량 분석 시 최소 10립 이상 혹은 개체 내 최소 20% 이상의 시료가 이용되어야 개체를 대표하는 단백질 함량을 측정할 수 있는 것으로 판단된다.

적 요

콩에 함유된 성분 중 가장 많은 양으로 존재하며, 인축의 주요 단백질 공급원으로 이용되고 있는 콩 단백질의 함량을 1립 비파괴 근적외 분광분석법을 이용하여 동일품종의 개체 내에서 콩이 달린 착협 위치에 따라, 또 콩에서 단백질 함량을 분석하기 위해 개체 내에서 분석시료를 취할 때 개체를 대표할 수 있는 최소 양을 실험적으로 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 선녹콩 개체 내 단백질 함량은 정규분포를 보였으며, 개체 간에 단백질 함량의 차이가 인정되었다.
2. 콩의 착협 위치에 따른 단백질 함량은 지표면에 가까울수록 단백질 함량이 높았고, 콩 식물체의 윗부분으로 갈수록 단백질 함량이 낮아지는 경향을 나타내었다.
3. 콩에 함유된 단백질의 함량을 정량적으로 분석하기 위해 필요한 최소 시료량을 추정한 결과 최소 10립 이상 혹은 개체 내 총 종자량의 20% 이상을 취하면 개체를 대표하는 단백질 함량을 얻을 수 있는 것으로 조사되었다.

인용문헌

- AOAC. 1994. Official methods of analysis of the AOAC, W. Hortwitz (ed). AOAC, Washington, DC, USA.
- Choung, M. G., I. Y. Baek, S. T. Kang, W. Y. Han, D. C. Shin, H. P. Moon, and K. H. Kang. 2001. Determination of protein and oil contents in soybean seed by near infrared reflectance spectroscopy. Korean J. Crop Sci. 46 : 106-111.
- Choung, M. G., I. Y. Baek, S. T. Kang, W. Y. Han, D. C. Shin, Y. H. Kwack, and H. P. Moon. 2004. Non-destructive analysis method of one seed grain by near infrared reflectance spec-

- troscopy. Korean patent 10-0433263.
- Fasoula, D. A. 1990. Correlations between auto-, all- and nil-competition and their implications in plant breeding. *Euphytica*. 50 : 57-62.
- Fasoula, V. A. and D. A. Fasoula. 2000. Honeycomb breeding: Principles and applications. *Plant Breed. Rev.* 18 : 177-250.
- Fasoula, V. A. and H. R. Boerma. 2005. Divergent selection at ultra-low plant density for seed protein and oil content within soybean cultivars. *Field Crops Res.* 91 : 217-229.
- Fasoula, V. A. and H. R. Boerma. 2007. Intra-cultivar variation for seed weight and other agronomic traits within three elite soybean cultivars. *Crop Sci.* 47 : 367-373.
- Helms, T. C. and J. H. Orf. 1998. Protein, oil and yield soybean lines selected for increased protein. *Crop Sci.* 38 : 707-711.
- Kang, S. T., I. Y. Baek, D. C. Shin, M. G. Choung, W. Y. Han, S. B. Song, Y. H. Kwack, and H. P. Moon. 2001. A new high yielding vegetable soybean variety with large seed and good seed quality "Seonnogkong". *Korean J. Breed.* 33(3) : 238-239.
- Rinne, R. W., S. Gibbons, J. S. R. Bradley, and C. A. Brim CA. 1975. Soybean protein and oil percentage determined by infrared analysis. *Agri. Res. Pub. ARS-NC 26 USDA, Washinton DC.*
- SAS Institute, 2004. SAS/STAT 9.1; User's guide. Cary, NC, USA.
- Schutz, W. M. and R. L. Bernard. 1967. Genotype x Environment interactions in the regional testing of soybean strains. *Crop Sci.* 7 : 125-130.
- Sebolt, A. M., R. C. Shoemaker, and B. W. Diers. 2000. Analysis of a quantitative trait locus allele from wild soybean that increases seed protein concentration in soybean *Crop Sci.* 40 : 1438-1444.
- Shorter, R., D. E. Byth, and V. E. Mungomery. 1977. Estimates of selection parameters associated with protein and oil content of soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merr.). *Aust. J. Agric. Res.* 28 : 211-222.
- Tokatlidis, I. S. 2000. Variation within maize lines and hybrids in the absence of competition and relation between hybrid potential yield per plant with line traits. *J. Agric. Sci.* 134 : 391-398.
- Tokatlidis, I. S., I. N. Xynias, J. G. Tsialtas, and I. I. Papadopoulos. 2006. Single-plant selection at ultra-low density to improve stability of a bread wheat cultivar. *Crop Sci.* 46 : 90-97.
- Tokatlidis, I. S., J. G. Tsialtas, I. N. Xynias, E. Tamoutsidis, and M. Irakli. 2004. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. *Field Crops Res.* 86 : 33-42.
- Wilson, R. F. 2004. Seed composition. p. 621-677. *In* H.R. Boerma and J.E. Specht (ed.) *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*. 3rd ed. Agron. Monogra. 16. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- Wolf, R. B., J. F. Cavins, R. Kleiman, and L. T. Black. 1982. Effect of temperature on soybean seed constituents: Oil, protein, moisture, fatty acids, amino acids, and sugars. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59 : 230-232.