

Variation of Fatty Acid Composition in Soybean ‘Pungsannamul’ Mutation Population from EMS Treatment

Jong-Hyun Chae, Krishna Hari Dhakal, Sovetgul Asekova, Jong Tae Song, Jeong-Dong Lee*
School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Republic of Korea

EMS 처리에 의한 풍산나물 콩 돌연변이 집단에서 지방산 조성 변이

채종현 · 다칼크리쉬나하리 · 아세코바소베틀 · 송종태 · 이정동*
경북대학교응용생명과학부

Abstract

Mutagenesis is used to study gene function and obtain new genetic resources for plant breeding. Soybean is an important oil crop in the world. Thus, to find new genetic resources, a mutation population was developed from the soybean cultivar Pungsannamul using 0.3% ethyl methane sulfonate. The variation of fatty acids was then evaluated among 892 M4 generation mutant lines selected from 3,774 mutant lines. While the wild type Pungsannamul showed 11.6, 3.4, 23.8, 53.3, and 7.8% for palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acid, respectively, the fatty acid variations in the mutant lines ranged from 7.4 to 19.7%, 2.2 to 13.0%, 14.7 to 49.0%, 31.8 to 63.9%, and 3.9 to 15.9% with an average of 10.8, 3.8, 25.3, 52.0, and 8.1% for palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acid, respectively. Thus, two mutation lines with higher palmitic acid, PE1542 (17.1%) and PE3058 (17.0%), one line with lower stearic acid, PE2166 (1.9%), one line with higher stearic acid, PE977 (12.7%), two lines with higher oleic acid, PE450 (44.4%) and PE2742 (47.7%), and two lines with lower linolenic acid, PE594 (4.6%) and PE1690 (3.7%), were selected from this study. The newly selected fatty acid variants will be good genetic sources for gene function analyses and breeding soybean varieties with altered fatty acids for various industrial and human food applications.

Keywords : Ethyl methane sulfonate, Fatty acid, Soybean

서 론

콩(*Glycine max* L.)은 한반도를 포함한 중국, 일본 등 동북아시아 지역이 원산지인 작물로 우리나라에서는 예로부터 5곡 중 하나로 널리 재배되어 왔고 쌀, 보리와 더불어 우리의 식생활에 빼놓을 수 없는 중요한 식량작물이다. 콩은 우리나라에서 수천년 동안 재배되면서 간장, 된장, 두부, 콩나물, 밥밀 콩 등 우리 국민의 전통식품으로 이용되어 왔다. 그리고 콩은 대표적인 식물성 단백질원으로서 약 40%의 단백질을 함유하고 있으며, 20% 내외의 지방을 함유하고 있다. 또한 이소플라본, 레시틴, 피틴산, 사포닌, 올리고당 등 다양한 건강기능성 성분이 함유되어 있어 항암, 항산화 능력 및 면역성 강화, 심혈관계 질병예방과 같은 생리활성 및 영양학적 중요성이 보고됨에 따라 이와 관련한 연구가 활발히 이루어지고 있다 (Bae et al. 1997; Liu 1999; Lee

and Sang 2001). 콩의 일반적인 지방산 조성은 palmitic acid (16:0), stearic acid (18:0), oleic acid (18:1), linoleic acid (18:2), linolenic acid (18:3)가 각각 12%, 4%, 23%, 53%, 8%로 구성되어 있으며, 불포화지방산이 약 84%를 차지하는 것으로 보고되고 있다 (Wilson 2004). 각각의 지방산은 인간의 건강과 산업적 이용면에서 서로 다른 특성이 있는데, 포화지방산인 palmitic acid와 stearic acid는 함량이 높을수록 고형 지방, 마가린, 쇼트닝과 같은 특정식품을 만드는데 유용하나, palmitic acid는 포화지방산의 콜레스테롤 수치와 연관되어 심장질환 유발에 기여를 한다. 반면 stearic acid는 palmitic acid와 달리 심장병과 관련하여 혈청콜레스테롤 감소에 효과가 있다. Oleic acid는 높은 온도에서 기름의 안정성을 높여주고 혈압을 조절하는 기능이 있으며, linolenic acid는 함량이 높을 경우 상온에서 콩기름의 산패

Received: March 4, 2013 / Revised: March 19, 2013 / Accept: March 20, 2013

*Corresponding Author: Jeong-Dong Lee, Tel. 82-53-950-5709, Fax. 82-53-950-6758, Email. jdlee@knu.ac.kr

This work was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ907034)” Rural Development Administration, Republic of Korea

©2012 College of Agricultural and Life Science, Kyungpook National University

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, Provided the Original work is Properly cited.

가 빨리되는 원인이 된다. 한편으로는 식물성 omega-3 지방산으로써의 기능을 보유하고 있다고 보고되었다 (Lee et al. 2007; Teres et al. 2008). 콩 지방산의 기능을 높이기 위해 형질전환, 돌연변이유발, 인공교잡과 같은 방법을 사용하여 지방산의 조성을 개량하고 있는데, 돌연변이 육종을 통한 콩의 지방산 연구에 대한 내용은 이 등(Lee et al. 2007)이 잘 고찰 하였다. 몇 가지 예를 보면 ethyl methane sulfonate (EMS)를 이용하여 16%에서 18%의 palmitic acid 함량을 보이는 계통을 선발하였다는 보고가 있었으며 (Toyoaki et al. 2012), EMS 처리를 통해 stearic acid가 향상된 계통을 선발하였고 유전자의 변이가 일어난 것을 확인하였다는 보고가 있었다 (Jeffrey et al. 2012). Bay라는 품종에 X-ray를 이용하여 육성한 M23은 약 46%의 oleic acid 함량을 보이며 (Rahman et al. 1994), 17D는 Williams 82라는 품종에 EMS를 처리하여 FAD2-1A 유전자에 mis-sense 돌연변이가 일어나 약 35%의 oleic acid 함량을 보인다고 하였다 (Dierking and Bilyeu 2009). Linolenic acid 함량은 FAD3 유전자에 의해 지배를 받는 것으로 보고되었는데 (Wilcox and Cavins 1987), A29는 현재까지 알려진 5가지의 allele들 중 A5에서 fad3a, A26에서 fad3b, A23에서 fad3의 각각 서로 다른 세 개의 fad 유전자들을 교배 및 선발을 통해 모은 것으로 1%의 linolenic acid 함량을 보인다고 하였다 (Hammond and Fehr 1983; Fehr et al. 1992; Ross et al. 2000). 돌연변이는 물리적 방법이나 화학적 방법으로 유전자의 변이 또는 염색체 구조의 변화 등을 일으켜 형질의 변이 및 유전자의 기능을 연구하는 중요한 방법으로 이용되어 왔다. 그중 EMS는 점돌연변이를 유발하는 대표적인 기술로 별도의 고가장비를 필요로 하지 않으며, 소량의 유효성분량으로도 돌연변이를 일으킬 수 있는 장점을 가지고 있어 X-ray와 함께 콩의 돌연변이를 일으키는 대표적인 방법으로 사용되고 있다 (Ryan et al. 1983).

우리나라 콩 유전자원은 야생콩 자원 2,871점을 포함해 농업유전자원센터에 20,326여점을 보유하고 있다 (<http://www.genebank.go.kr>). 하지만 다양한 용도의 지방산 함량개선을 통한 콩 품종육성 분야에서는 국내 유전자원의 선발 및 개발에 대한 연구가 부족하여 이와 관련한 콩 품종육성의 성과가 거의 없는 실정이다.

본 연구는 새로운 유전자원을 창출하기 위해 풍산나물콩 (Suh et al. 1997)에 EMS를 처리한 후 돌연변이 집단을 육성하고, 돌연변이 계통 중 지방산 함량을 검정하여 콩 유전육종 재료를 선발하고자 실시하였다.

재료 및 방법

돌연변이 집단육성

돌연변이 집단육성은 나물용 콩 품종인 풍산나물콩을 이용하였다. 2010년 EMS 0.3% 액제에 풍산나물콩 2kg(약 20,000립)을 24시간 침지한 후 수돗물로 여러 번 씻어내고

M1 종자를 육묘상에 파종을 하였다. 육묘상에 파종 후 발아한 M1 개체가 제1 본엽기에 도달했을 때 경북대학교 군위 실습포장에 이식을 하였다. 이식된 개체 중 정상적인 종자를 맺은 3,774개의 M1 개체들을 성숙기에 개체별로 수확을 하여 M2 계통을 육성하였다. 2011년에 M2 계통을 계통재배 하였고, 계통재배는 계통당 1열 재배로 하였다. 이랑의 길이는 100cm, 이랑폭은 70cm 이었다. 2011년에 계통재배를 하는 동안 육안으로 형태적인 변이체를 가진 계통을 확인하였고, 수확된 M3 3,774 계통 중 형태적 변이를 보인 1,000계통을 선발하였다. 선발된 M3 1,000 계통은 2012년 군위 실습포장에 6월 11일에 파종을 하였는데, 재식거리는 70 x 10cm이었고, 이랑길이는 2m 이었으며 계통당 1열씩, 열당 20립씩 파종하였다. 2012년 가을 수확시기에 정상적으로 종자를 생산한 892 계통 내에서 개체선발을 하였고, 각 계통 전체의 수확 및 탈곡도 이루어졌다.

표현형 조사

EMS에 의한 표현형 돌연변이 조사는 2012년 7월 30일에서 8월 4일 사이에 실시하였다. 4개의 표현형 변이를 조사하였는데, 야생형인 풍산나물콩의 표현형을 대조로하여 초장이 30cm 이상 차이가 나는 것을 난쟁이형, 엽의 형태나 수적인 변이가 생긴 것을 엽형변이, 전체 또는 일부분에 대한 엽록소 결핍이 발생한 것을 엽록소결핍으로 구분하였고, 야생형의 꽃색(자색)이 아닌 계통도 표현형 변이에 포함시켰다.

지방산 분석

정상적으로 종자를 생산한 892 계통에서 개체 선발된 892 개체를 대상으로 1차 지방산 분석을 하였다. 개체별 임의로 5립을 선발하여 분석에 이용하였으며, 야생형인 풍산나물 콩은 5립씩 10반복으로 분석을 하여 변이를 보이는 개체를 선발하기 위한 기준으로 이용하였다. 1차 분석을 통하여 얻어진 결과를 바탕으로 선발된 개체들은 야생형인 풍산나물콩을 포함하여 1립씩 5반복으로 재분석을 실시하였다. 지방산분석은 종자를 종이봉투에 넣고 망치로 부순 후 test tube에 추출용매 (Chloroform: hexane: methanol=8:5:2)를 첨가하여 상온에서 추출하였다. 추출된 지방산은 1.5mL vial에 0.25M methanolic sodium methoxide : petroleum ether : ethyl ether = 1:5:2(v/v/v)로 조제된 methylation reagent 75 μ L를 넣은 후 hexane으로 1mL이 되도록 한 후 GC(Aglient Technologies, USA)로 분석을 하였으며, 지방산분석을 위한 GC의 조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

돌연변이 집단의 형태적 변이

M4 1000 계통 중 총 87계통에서 변이체가 관찰되었다. 그 중 난쟁이형이 33계통으로 가장 많이 관찰되었으며, 엽형

Table 1. GC conditions for analysis of fatty acid in soybean

Item	Condition
Instrument	Agilent 7890A
Column	0.25 μm i.d. \times 30 m DB-FFAP capillary column
Detector	Flame ionization detector
Oven temperature	230 $^{\circ}\text{C}$
Injection temperature	210 $^{\circ}\text{C}$
Detector temperature	250 $^{\circ}\text{C}$
Carrier gas	N ₂ (1.5 mL/min)
Injection volume	1 μL

변이 26계통, 엽록소결핍 15계통, 꽃 관련변이 11계통이 관찰되었다. 또한 난쟁이형을 보이면서 엽형변이를 보이³⁾는 2계통이 관찰되었다. 2.6% 변이율을 보인 엽형의 경우 변이형태는 잎의 수가 늘어나거나, 세엽에서 둥근형으로의 변이가 관찰되었다. 1.5% 변이율을 보이는 엽록소결핍의 경우 식물체 전체 또는 잎의 일부분에서 관찰이 되었으며, 잎몸에 부분적으로 관찰되는 경우와 잎맥을 따라서 관찰되는 경우가 있었다. 1.1%의 변이율을 보이는 꽃색변이 형태들은 야생형인 풍산나물콩이 자색을 나타내는 것에 반해 흰색으로 변이된 계통들이 가장 많이 관찰되었으며, 꽃의 밀도가 높아진 계통들도 관찰이 되었다.

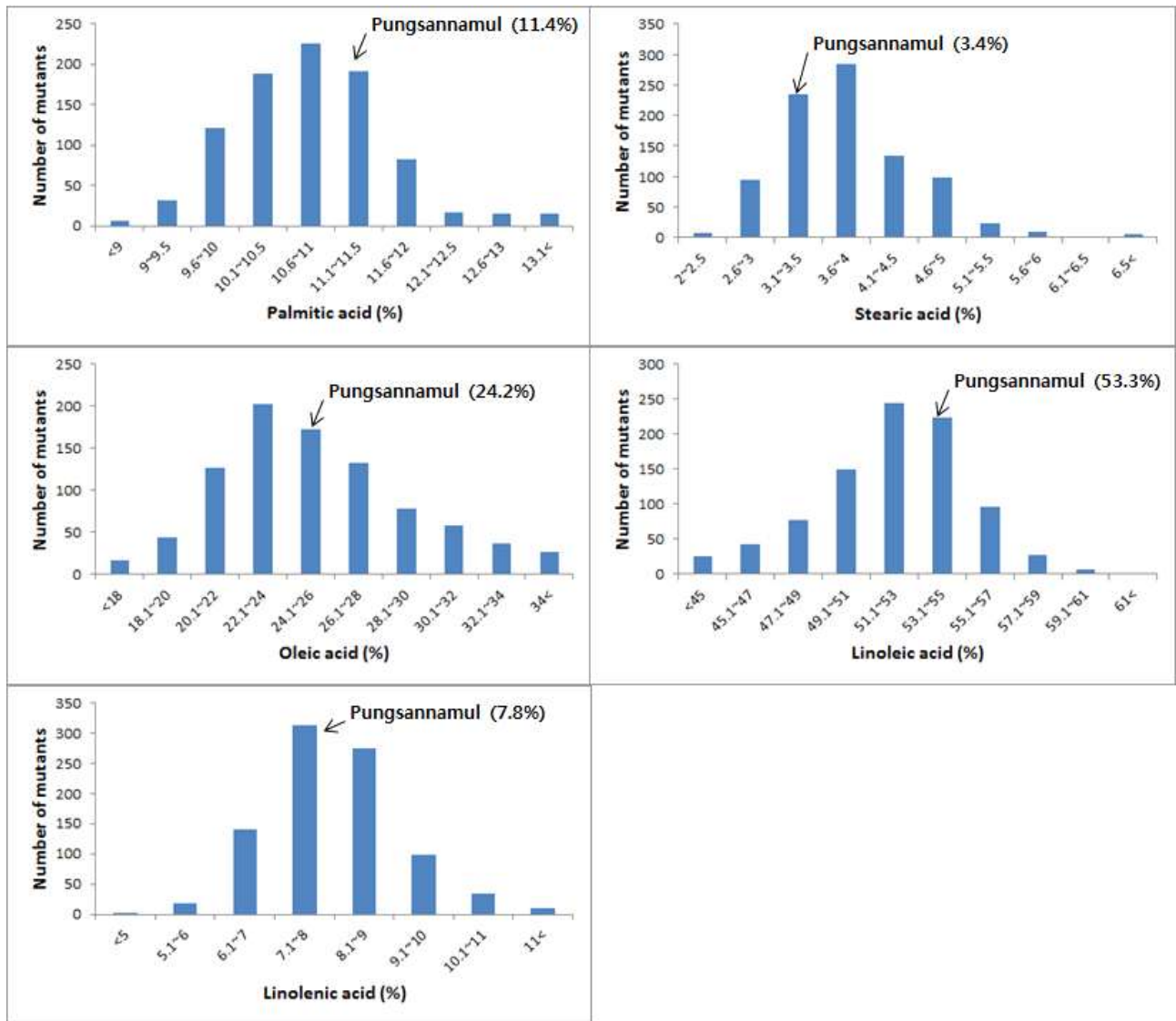


Figure 1. Distribution of fatty acid in 'Pungsannamul' mutation population by EMS treatment.

돌연변이 집단의 지방산 변이

M4 892계통에서 개체 선발된 892개체를 대상으로 1차 지방산 함량을 분석한 결과는 Figure 1과 같다. Palmitic acid 함량의 평균은 $10.8 \pm 0.6\%$ 이었으며, 가장 적은 함량을 나타내는 개체는 PE2179 (7.4%)이었고, 가장 많은 함량을 나타내는 계통은 PE1544 (19.7%)이었다. 야생형인 풍산나물콩의 palmitic acid 함량은 $11.4 \pm 0.3\%$ 이었다. Stearic acid의 함량의 평균은 $3.8 \pm 0.5\%$ 였으며, 가장 적은 함량을 나타내는 개체는 PE2166 (2.2%)이었고, 가장 많은 함량을 나타내는 계통은 P980 (13.0%) 이었다. 야생형인 풍산나물콩의 stearic acid 함량은 $3.4 \pm 0.2\%$ 이었다. Oleic acid 함량의 평균은 $25.3 \pm 2.9\%$ 이었으며, 가장 적은 함량을 나타내는 개체는 PE2628 (14.7%)이었고, 가장 많은 함량을 나타내는 개체는 PE2485 (49.0%) 이었다. 야생형인 풍산나물콩의 oleic acid 함량은 $24.2 \pm 1.4\%$ 이었다. Linoleic acid와 linolenic acid 함량의 평균은 각각 $52.0 \pm 2.0\%$, $8.1 \pm 0.2\%$ 이었으며, 가장 적은 함량을 나타내는 개체는 각각 PE2485 (31.8%), PE1690 (3.9%)이었고, 가장 많은 함량을 나타내는 개체는 각각 PE294 (63.9%), PE2628 (15.9%)이었다. 야생형인 풍산나물콩의 linoleic acid와 linolenic acid의 함량은 각각 $53.3 \pm 1.1\%$, $7.8 \pm 0.4\%$ 이었다. 야생형인 풍산나물콩의 지방산함량을 바탕으로 하여 육종의 재료로 가치가 있다고 판단된 개체를 선발하였고, 이들 개체를 대상으로 재분석을 실시한 결과는 Table 2와 같다. 야생형인 풍산나물콩의 palmitic acid 함량이 11.6%를 나타내는 것에 비해 PE1542와 PE3058은 palmitic acid가 각각 $17.1 \pm 3.5\%$, $17.0 \pm 1.4\%$ 로 증가하여 Toyaki 등 (Toyaki et al. 2012)이 X-ray를 이용하여 16~18%의 palmitic acid 함량을 나타내는 계통을 선발하였다는 보고

와 비슷한 함량을 나타내었다. 유전자들의 돌연변이로 인해 palmitic acid 함량이 높아진 연구사례들을 살펴보면, palmitic acid 함량은 *3-keto-acyl-ACP synthase II (KAS II)* 유전자의 영향을 받는데, *KAS IIA* 유전자의 점돌연변이로 인해 palmitic acid 함량이 증가한 A21, A27 그리고 *KAS IIB* 유전자의 돌연변이로 인해 함량이 증대된 A25가 보고되었다 (De Vries et al. 2011).

풍산나물콩의 stearic acid 함량 (3.4%)에 비해 PE977 (12.7%)은 높아졌으며, PE2166 (1.9%)은 낮게 나타났다. 현재 콩에서 stearic acid 함량의 변화는 *delta-9stearoyl-acyl carrier protein desaturase (SACPD)*의 영향을 받으며, *SACPD-A*, *SACPD-B* 두 가지 유전자가 보고되었으나, stearic acid 함량에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났고 (Byfield et al. 2006), 다른 식물조직에서는 약하거나 전혀 발현되지 않으면서 콩의 종자에서만 특이적으로 높게 발현되는 *SACPD-C* 유전자가 보고되었다 (Zhang et al. 2008). 'Elgin 87'에 EMS를 처리하여 얻은 RG7 (12% stearic acid)은 *SACPD-C* 유전자에서 점돌연변이가 일어난 것으로 보고되었고 (Boersna et al. 2012), stearic acid 함량이 높을수록 수량이 낮아진다는 결과가 보고되어 있다 (Hayes et al. 2002). 야생형인 풍산나물콩의 oleic acid 함량이 23.8%를 나타내는 것에 비해 PE450와 PE2742은 oleic acid 함량이 $44.4 \pm 3.9\%$, $47.0 \pm 2.3\%$ 로 증가하였다.

돌연변이에 의한 oleic acid 함량 증가는 주로 *FAD2* 유전자들의 변이에 의한 것으로 보고가 되었는데, Rahman 등 (Rahman et al. 1994)에 의해 육성된 M23이 콩의 ω -6 fatty 약 48%의 oleic acid 함량을 나타낸다고 하였고 (Sandhu et al. 2007), 17D는 Williams 82라는 품종에 EMS를 처리하여

Table 2. Fatty acid concentration of selected lines in M4 mutant lines derived from cultivar Pungsannamul by 0.3% EMS treatment

Line	Fatty acid concentration (%) ²⁾				
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
PE450	11.7±0.6	3.6±0.6	44.4±3.9	33.8±2.8	6.6±0.6
PE594	10.4±0.6	3.8±0.3	27.5±4.8	53.7±3.7	4.6±0.7
PE977	9.4±0.2	12.7±1.2	16.6±0.5	52.6±2.4	8.7±1.4
PE1542	17.1±3.5	3.6±0.8	23.4±5.8	49.4±1.7	6.5±1.0
PE1690	10.8±0.4	3.1±0.7	28.9±2.8	53.5±3.2	3.7±0.4
PE2166	10.8±0.4	1.9±0.2	22.4±8.3	53.6±4.7	12.6±4.2
PE2742	10.4±0.5	3.7±0.3	47.0±2.3	34.4±2.0	4.6±0.4
PE3058	17.0±1.4	3.7±0.3	33.4±5.7	40.6±4.7	5.5±0.8
WT ¹⁾	11.6±0.3	3.4±0.2	23.8±1.0	53.3±0.8	7.8±0.3
LSD(5%)	0.8	5.8	4.0	2.0	2.0

¹⁾WT- wild type 'Pungsannamul'

²⁾Values are mean of five replicate determinations (n= 5) ± standard deviation.

FAD2-1A 유전자의 mis-sense 돌연변이가 일어나 약 35%의 oleic acid 함량을 보인다고 하였다 (Dierking and Bilyeu 2009). 그리고 PI283327는 *FAD2-1B* 유전자의 mis-sense 돌연변이에 의해서 약 29.4%의 oleic acid 함량을 나타낸다고 보고되었다 (Pham et al. 2010). PE594과 PE1690은 linolenic acid가 각각 $4.6 \pm 0.7\%$, $3.7 \pm 0.4\%$ 로 7.8%를 보이는 풍산나물콩에 비해 함량이 줄어든 것을 확인할 수가 있었다. Linolenic acid 함량의 변이는 주로 *FAD3* 유전자의 변이에 의한 것으로 보고가 되었는데, 기존의 선행연구들을 살펴 보면 *FAD3A*의 변이에 의한 linolenic acid 변이개체는 A5 (3.4%, Bilyeu et al. 2003), C1640 (3.4%, Chappel and Bilyeu 2006), RG10 (2.5%, Reinprecht et al. 2009)이 보고 되었으며, *FAD3B*에 대한 linolenic acid 변이개체는 A26 (6.3%), *FAD3C*에 대한 linolenic acid 변이개체는 A23 (5.6%)가 보고되었다 (Bilyeu et al. 2006). CX1512-44 (3%, Bilyeu et al. 2005)는 *FAD3A*와 *FAD3C* 두 유전자에서 돌연변이가 확인되었으며, RG10 (2.5%, Bilyeu et al. 2011)은 *FAD3A*와 *FAD3B* 두 유전자에서 돌연변이가 확인되었다. A29는 A5, A26, A23에서 각각 서로 다른 세 개의 돌연변이 유전자를 교배 및 선발을 통해 모아서 1%의 linolenic acid 함량을 나타낸다고 하였다 (Ross et al. 2000; Bilyeu et al. 2006).

풍산나물콩에 EMS를 처리하여 육성한 돌연변이 집단에서 지방산의 함량을 분석한 결과 다양한 변이가 관찰되었다 (Figure 1 and Table 2). 각 지방산별로 함량의 증감이 확인된 계통에 대하여 생합성에 관련된 유전자들에 대한 염기서열 분석을 통해 유전자 돌연변이 유무를 확인할 것이며, 돌연변이 집단으로부터 새로이 선발된 계통들에 대한 농업적 형질검정 및 DNA 마커개발을 진행할 것이다. 이들 선발된 계통들은 콩지방의 이용성을 높이는 콩품종 육성재료로 이용할 것이다.

요약

새로운 유전자원을 창출하기 위해 풍산나물콩에 EMS를 처리한 후 돌연변이 집단을 육성하고, 돌연변이 계통 중 지방산 함량에 대한 변이체를 찾아 콩 유전육종 재료를 선발하고자 실시한 결과를 요약하면 다음과 같다.

M2 3,744개체중 형태적 변이를 보이는 1,000개체를 선발하여 M4 세대에서 난쟁이형 (3.3%), 엽형변이 (2.6%), 엽록소결핍 (1.5%), 꽃색변이 (1.1%), 엽형변이를 보이는 난쟁이형 (0.2%)의 변이가 관찰되었다. 야생형인 풍산나물콩의 지방산 함량은 palmitic acid 11.6%, stearic acid 3.4%, oleic acid 25.3%, linoleic acid 52.0%, linolenic acid 8.1%를 나타내었다. M4 892 개체의 종자지방산 함량을 분석한 결과 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid 함량은 각각 7.4~19.7%, 2.2~13.0%, 14.7~49.0%, 31.8~63.9%, 3.9~15.9%의 범위를 나타내었고, 10.8%, 3.8%, 25.3%, 52.0%, 8.1%의 평균을 보였다. 각각의 지방산 별로

선발된 돌연변이 개체들은 다음과 같다. 고 palmitic acid 함량을 나타내는 PE1542 (17.1%), PE3058 (17.0%), 고 stearic acid 함량을 나타내는 PE977 (12.7%)와 저 stearic acid 함량을 나타내는 PE2166 (1.9%), 고 oleic acid 함량을 나타내는 PE450 (44.4%), PE2742 (47.7%), PE3058 (33.4%), 저 linolenic acid 함량을 나타내는 PE594 (4.6%), PE1690 (3.7%)와 고 linolenic acid 함량을 나타내는 PE2166 (12.6%) 등이 선발되었다.

사사

This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ907034)" Rural Development Administration, Republic of Korea

참고문헌

- Bae, EA, Kwon TW, Moon GS (1997) Isoflavone contents and antioxidative effects of soybean, soybean curd and their by-products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(3): 371-375.
- Byfield GE, Xue H, Upchurch RG (2006) Two genes from soybean encoding soluble $\Delta 9$ Stearoyl-ACP desaturase. *Crop Sci* 46: 840-846.
- Bilyeu KD, Palavalli L, Sleper DA, Beuselinck PR (2003) Three microsomal omega-3 fatty acid desaturase genes contribute to soybean linolenic acid levels. *Crop Sci* 43: 1833-1838.
- Bilyeu KD, Palavalli L, Sleper DA, Beuselinck PR (2005) Mutations in soybean microsomal omega-3 fatty acid desaturase genes reduce linolenic acid concentration in soybean seeds. *Crop Sci* 45: 1830-1836.
- Bilyeu KD, Palavalli L, Sleper DA, Beuselinck P (2006) Molecular genetic resources for development of 1% linolenic acid soybean. *Crop Sci* 46: 1913-1918.
- Bilyeu KD, Gillman JD, LeRoy AR (2011) Novel *FAD3* mutant allele combinations produce soybeans containing 1% linolenic acid in the seed oil. *Crop Sci* 51: 259-264.
- Boersma JG, Gillman JD, Bilyeu GK, Ablett GR, Grainger C, Rajcan I (2012) New mutations in a delta-9-stearoyl-acyl carrier protein desaturase gene associated with enhanced stearic acid levels in soybean seed. *Crop Sci* 52: 1736-1742.
- Chappell AS, Bilyeu KD (2006) A *GmFAD3A* mutation in the low linolenic acid soybean mutant C1640. *Plant Breeding* 125: 535-536.
- Dierking EC, Bilyeu KD (2009) New sources of soybean seed meal and oil composition traits identified through tilling. *BMC Plant Biol* 9: 89.
- De Vries BD, Fehr WR, Welke GA, Dewey RE (2011) Molecular analysis of mutant alleles for elevated palmitate

- concentration in soybean. *Crop Sci* 51: 2554-2560.
- Fehr WR, Welke GA, Hammond EG, Duvick DN, Cianzio SR (1992) Inheritance of reduced linolenic acid content in soybean genotypes A16 and A17. *Crop Sci* 32: 903-906.
- Hammond EG, Fehr WR (1983) Registration of A5 germplasm line of soybean. *Crop Sci* 23: 192.
- Hayes MF, Fehr WR, Welke GA (2002) Association of elevated palmitate with agronomic and seed traits of soybean. *Crop Sci* 42: 1117-1120.
- Jeffrey GB, Jason DG, Kristin DB, Gary RA, Christopher G, Istvan R (2012) New mutations in a delta-9-stearoyl-acyl carrier protein desaturase gene associated with enhanced stearic acid levels in soybean seed. *Crop Sci* 52: 1736-1742.
- Lee DS, Sang YB (2001) Effects of dietary mixture of isoflavone on osteoporosis. *Korea J Biotechnol Bioeng* 16: 420.
- Lee JD, Bilyeu KD, Shannon JG (2007) Genetic and breeding for modified fatty acid profile in soybean seed oil. *J Crop Biotech* 10: 201-210.
- Liu K (1999) Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization. Aspen Publishers Inc. pp 25~144.
- Pham AT, Lee JD, Shannon JR, Bilyeu KD (2010) Mutant alleles of *FAD2-1A* and *FAD2-1B* combine to produce soybeans with the high oleic acid seed oil trait. *BMC Plant Biology* 10: 195.
- Rahman SM, Takagi Y, Kubota K, Miyamoto K, Kawakita T (1994) High oleic mutant in soybean induced x-ray irradiation. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 58: 1070-1072.
- RDA genebank (2013) <http://www.genebank.or.kr>
- Reinprecht Y, Luk-Labey SY, Larsen J, Poysa VW, Yu K, Rajcan I, Ablett GR and Pauls KP (2009) Molecular basis of the low linolenic acid trait in soybean EMS mutant line RG10. *Plant Breeding* 128: 253-258.
- Ross AJ, Fehr WR, Welke GA, Cianzio SR (2000) Agronomic and seed traits of 1%-linolenate soybean genotypes. *Crop Sci* 40: 383-386.
- Ryan SA, Nelson RS and Harper JE (1983) Mutagenesis of soybeans. *Soybean Genet. News* 10: 29-32.
- Sandhu D, Alt JL, Scherder CW, Fehr WR, Bhattacharyya MK (2007) Enhanced oleic acid content in the soybean mutant M23 is associated with the deletion in the *Fad2-1a* gene encoding a fatty acid desaturase. *J Am Oil Chem Soc* 84: 229-235.
- Suh SK, Kim HS, Oh YJ, Kim KH, Cho SK, Kim YJ, Kim SD, Park HK, Park MS, Cho SY (1997) A new soybean variety for sprout with small seed and high yielding "Pungsan-namulkong" *Korean J Breed* 29: 503.
- Teres S, Barcelo-Coblijn G, Benet M, Alvarez R, Bressani R, Halver JE, Escriba PV (2008) Oleic acid concentration is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 13811-13816.
- Toyoaki A, Tomoki H, Naoko I, Yutaka T (2012) Molecular characterization of two high-palmitic-acid mutant loci induced by X-ray irradiation in soybean. *Breed Sci* 61: 631-638.
- Wilcox JR, Cavins JF (1987) Gene symbol assigned for linolenic acid mutant in the soybean. *J Heredity* 78: 410.
- Wilson RF (2004) Seed composition. In H.R. Boerma and J.E. Specht (ed.) Soybean: Improvement, production, and uses. 3rd ed. Agron. Monogra. 16 (ASA. CSSA. and SSSA. Madison, Wisconsin, USA), pp. 621-677.
- Zhang P, Burton JW, Upchurch RG, Whittle E, Shanklin J, Dewey RE (2008) Mutations in a $\Delta 9$ -stearoyl-ACP-desaturase gene are associated with enhanced stearic acid levels in soybean seeds. *Crop Sci* 48: 2305-2313.