

잣나무 생장과 관련이 있는 주요 대사물질 인자(II)

이위영^{1*} · 박웅준¹ · 김현태¹ · 한상억²

¹국립산림과학원 산림생명공학과, ²국립산림과학원 임목육종과

Identification of Key Metabolites Involved in Quantitative Growth of *Pinus koraiensis* trees (II)

Wi Young Lee^{1*}, Eung-Jun Park¹, Hyun-Tae Kim¹ and Sang Urk Han²

¹Division of Forest Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

²Division of Forest Tree Improvement, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

요약: 잣나무의 주요생장관련 대사물질 인자를 구명하기 위하여 3개 지역에 풍매차대 가계로 조성한 29년생 잣나무의 대사물질을 GC/MS를 이용하여 대사체분석을 실시하였다. 분리한 110종의 대사 물질 중 62종이 우수가계와 저조가계 간에 유의적 차이($p < 0.05$)가 있었으며 모두 상대적으로 우수가계에서 대사물질 함량을 높게 함유하고 있는 것으로 나타났다. Phosphoric acid, alanine, glycine, malic acid, sucrose, d-turanose, succinic acid 등 22종의 물질은 생장 저조 가계에 비해 생장 우수 가계에서 1.5배 이상 높게 함유되어 있었다. 한편 생장특성과 대사물질간의 상관관계를 분석한 결과 생장 우수가계와 생장 저조가계 그룹 간에 유의적 차이가 있었던 alanine, malic acid, sucrose, d-turanose, succinic acid 등 15종에서 고도의 정의 상관관계($p < 0.01$)가 있었다. 또한 생장과 유의적 상관관계($p < 0.05$)가 있으면서 지역간에 변이가 적어 환경에 영향을 적게 받고 있는 대사물질로는 acetic acid, succinic acid, butanoic acid, glutamic acid 및 inositol로 분석되었다. 이들 물질은 잣나무 생장 우수개체에 유의적으로 높게 함유하고 있는 대사물질 인자로 추정되었다.

Abstract: A metabolomic study using GC/MS analysis was conducted to identify key metabolic components regulating the growth of open-pollinated *Pinus koraiensis* families, which were grown for 29 years at three different locations. Among 110 individual metabolites identified, the contents of 62 metabolites were higher in the superior than in the inferior families ($p < 0.05$), together with 22 metabolites, such as phosphoric acid, alanine, glycine, malic acid, and sucrose, being accumulated 1.5-fold higher in the superior families. In addition, 15 metabolites including alanine, malic acid, sucrose, d-turanose, and succinic acid showed positive correlation with the growth ($p < 0.01$). Furthermore, the metabolites, of which contents were correlated with the growth but not significantly changed at different locations, were acetic acid, succinic acid, butanoic acid, glutamic acid, and inositol. Therefore we suggest that several metabolites selected in this study may be used as metabolic markers for quantitative growth trait in *P. koraiensis*.

Key words: *Pinus koraiensis*, metabolite, metabolic marker, tree breeding, growth

서론

식물의 바이오메스 생산량, 종자 생산량, 환경 저항성 등의 생물학적인 형질특성 인자들은 대사물질 특성과 밀접한 연관관계가 있다(Schauer et al., 2006; Meyer et al., 2007; Lisek et al., 2008). 애기장대의 경우 생장량, 스트레스 저항성 등의 특정 형질을 갖는 품종 간의 교배를 통하여 이들 교배조합 간의 형질 특성과 대사체의 연관관계를

분석, 대사물질의 특성분석으로 차대의 형질특성을 추정할 수 있음을 제시하였다(Meyer et al., 2007; Kerwin et al., 2011; Korn et al., 2010). 이러한 연구결과들은 대사체의 조성이나 대사물질 함량의 비교분석을 통하여 앞으로의 생물학적인 특성을 예측할 수 있음을 의미한다. 즉 대사체의 분석은 대사 물질군과 유전형 및 표현형간의 관계를 구명하여 특정형질의 대사체 표지자나 선발 대사물질의 연관 유전자들을 구명하여 육종을 목적으로 특성의 형질을 갖은 개체들을 선발하거나 확인하는데 이용할 수 있다(Fernie and Schauer, 2008; Thissen et al., 2011). 특히

*Corresponding author
E-mail: lwy20@forest.go.kr

식물 생장의 조절 과정은 유전적, 환경적으로 매우 복잡하나 궁극적으로는 대사물질이 생장을 조절하는 주요한 기능을 함으로 대사체 연구가 생장특성을 구명할 수 있는 중요한 수단이 되고 있다(Okazaki and Saito, 2012). 작물에서는 현재 축적된 대사체를 기반으로 한 대사체 지원 작물육종에 효율적으로 이용하고 있고(Fernie and Schauer, 2009), 임목분야에서도 대사체는 생장 및 발달과정을 구명하는 유용한 접근방법 중에 하나임으로 대사물질을 이용한 우량개체선발로 개량효과를 증진하기 위한 기술개발 연구가 진행되고 있다(Robinson et al., 2005; Lee and Han, 2012). 장기간이 소요되는 임목 육종에 있어 개량효과를 높이기 위한 육종기간의 단축이 주요한 목표가 되고 있으며(Greenwood and Volkaert, 1992), 이러한 육종기간의 단축을 위해서는 대사체 연구의 결과가 임목 조기선발의 중요한 도구가 된다.

잣나무는 국내에서 생장이 우수함으로 그간 우리나라의 주요조림수종으로 식재되어왔으며 유전적 개량효과를 높이기 위한 육종연구가 진행되고 있다. 잣나무의 단위시간당 유전적 개량효과를 극대화시키기 위해 수고의 수령간 상관을 통하여 5-6년생에서 조기선발효율이 가장 높은 것으로 추정하였다(Kim and Chon, 1990; Han et al., 1995). 또한 조기에 생장이 우수한 개체를 선발하기 위해 파종 후 4년생의 잣나무 묘목으로부터 대사체를 분석하여 TCA관련한 대사물질과 sucrose, inositol 등 당류가 생장과 상관관계가 있는 주요 대사물질임을 추정하였다(Lee et al., 2012). 그러나 임목의 대사물질의 특성은 유전적인 형질과 더불어 환경적인 인자의 영향이나 유묘와 성목의 성장단계별에 따라서도 대사물질의 특성에 차이가 있을 것으로 추정되어 이러한 인자에 대한 연구가 필요하다 하겠다.

본 연구는 잣나무 성목의 생장 관련한 주요대사물질을 구명하고자 3개의 지역에 조성된 28년생 잣나무시험지로부터 생장이 우수한 우수가계와 생장이 저조한 저조가계를 지역별로 선발, 선발 가계의 대사물질 특성을 비교분석하여 잣나무의 생장관련 대사 표지자를 발굴하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 잣나무 시험목 선발

잣나무 시험목은 1984년도에 강원 춘천(경도 127° 48'23", 위도 37° 52'16", 해발고 430 m), 경기 군포(경도 126° 53'40", 위도 37° 20'60", 해발고 120 m) 및 충북 청원(경도 127° 32'58", 위도 36° 37'52", 해발고 189 m)의 3지역에 조성된 잣나무 수형목 품매 차대 검정림에 식재되어 있는 31가계의 잣나무의 수고, 흉고 직경, 재적량을

조사하여 생장이 우수한 가계로 강원14, 경기47 및 강원22를, 생장이 저조한 가계로 경기33, 전남9 및 전북1 가계를 선정하였다. 선정된 가계를 각 시험지별로 가계당 5 개체목을 임의 선발하였다. 선발된 개체목의 생장량을 조사하기 위해 2012년 8월 중순(10~12일)에 흉고와 수고를 측정하였다.

2. 분석시료의 채취 및 조제

잣나무의 생장과 대사체간의 상관관계를 밝히기 위하여 선정된 생장우수 3가계와 생장저조 3가계를 각 시험지별로 가계당 5 개체목을 임의 선발하였다. 선발된 잣나무 개체목으로 부터 수고 생장에서 부피 생장이 진행되는(Kozłowski, 1991) 8월 중순경(10-12일)에 흉고 높이(1.2 m)에서 편칭을 이용하여 수피 즉 외피와 내피(체관부를 포함한 형성층 조직)를 각 4 × 4 cm의 넓이의 편칭을 이용하여 등고선 방향과 맞은편 방향에서 각각 1점씩 2점을 채취하였다. 채취 즉시 액체질소에 넣어 동결, 운반하였고, 동결건조기로 건조하였다. 동결 건조된 시료는 수피의 표피부분을 제거한 후 내피 조직을 분쇄하여 대사체 분석 시료로 사용하였다.

3. 대사체 분석

대사체 분석을 위한 대사물질의 추출, 분리 및 정량은 Lee and Han(2012)의 방법으로 수행하였다. 요약하면 대사물질을 추출 및 분리하기 위하여 분쇄된 시료 60 mg에 600 μ L의 MeOH, 40 μ L의 H₂O 및 50%-MeOH에 녹인 5,000 μ g/L의 Phenyl-b-D glucopranoside 20 μ L(내부 표준물질)를 첨가한 후 70°C 진탕 항온기에서 15분간 진탕 후 원심 분리하여 상등액(1번 추출액)을 분리하였다. 침전물에 다시 CHCl₃ 800 μ L를 첨가하여 10초간 교반을 한 후 5분간 35진탕 항온기에서 진탕하여 상등액(2번 추출액)을 분리하였다(Ossipov et al., 2008). 분리된 1번 및 2번 추출액을 합한 후 600 μ L의 H₂O를 첨가, 교반 후 원심 분리하여 수용성의 methanol층과 chloroform층으로 각각 분액, 분취하였다. 이들 분취액은 gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS; Trace GC-PolarisQ, Thermo Electron Co, Finnigan, USA)로 성분 분석을 하기위한 methylation 전처리 시료로 사용하기까지 -20°C에 저장, 보관하였다. 분취된 methanol 층은 수용성물질의 대사물질 분석에 사용하였다. GC-MS로 수용성물질을 분석하기 위해 분취액 400 μ L를 취해 2 mL GC-MS용 바이알에 넣고, 45°C 이하에서 고속원심 감압 농축기(EZ-2Plus, Genevac, UK)를 이용하여 건조하였다. 건조시료는 50 μ L의 methoxyamine hydrochloride solution 및 200 μ L N-methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamide(MSTFA)로 methylation을 행하였다(Robinson et al., 2007). Methylation처리를 한 시료 액은

TR-5 칼럼(Thermo, fused silica, 60 m, 0.25 mm ID, stationary phase: diphenyl 5% dimethyl 95% polysiloxane)을 장착한 AS2000 auto-sampler와 split/splitless injector를 갖춘 Trace GC-PolarisQ ion trap 시스템(Thermo Electron Co, Finnigan, USA)에 주입하여 대사체 성분을 분리, 분석을 하였다.

분석시료의 물질성분 확인 및 함량분석은 GC/MS로부터 각 분리된 시료의 크로마토그램과 크로마토그램의 각 피크(성분)들에 대한 이온 피크와 이온의 강도(Ion intensity)는 Thermo사의 Xcalibur(v 2.0) software을 이용하여 수집하였다. 수집된 피크들은 각 피크의 이온들에 대해 라이브러리(NIST) 검색을 수행하여 성분을 확인하였다. 각 시료부터 수집된 각 피크(물질 성분) 농도를 표준화하기 위하여 각 분리된 피크의 면적을 내부표준물질의 상대적 면적의 값으로 환산하였다. 이 환산된 각 성분의 함량은 다시 채취목의 흉고부위의 표면적당(1 cm²)값으로 환산하여 시료 간에 따른 성분함량을 비교분석하였다.

분석된 성적은 SAS 통계프로그램 (version 9.1; SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 통계분석을 실시하였다. 지역 및 성장특성에 따른 성장 우수가계 및 저조가계 그룹간의 대사물질의 주성분분석 및 변이계수를 분석하였고, 성장특성과 대사물질간의 상관관계 분석을 하였다. 또한 성장특성 그룹간의 성장량 차이를 확인하기 위해 분산분석 및 던컨다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 잣나무 선발 가계별 성장특성 비교

잣나무의 개량효과(재적 생산량)을 높이기 위해 수형목을 선발하고 선발목의 차대를 산지에 조성하여 초기에 우량목을 선발하기 위한 성장특성의 조사 분석 연구가 진행되고 있다(Han and Lee, 1995; Yi et al., 2007; Lee et al., 2010). Table 1은 잣나무의 가계 및 지역 간의 대사물질 함량을 비교 분석하기 위하여 일반 조합능력이 우수한 가계를 선발 목적으로 수형목 유래 품매 가계묘의 성장 검정림을 3개 지역에 조성된 시험림으로부터 생장이 우수(성장 우수가계)한 3가계와 상대적으로 생장이 저조(성장

Table 1. Analysis of variance for site and family effects on the growth characteristics of 29-year-old *Pinus koraiensis*. DBH represents stem diameter at breast height.

Sources of variation	df	Mean of square		
		DBH	Height	Volume index
Site	2	66.21*** ^a	2.86*	2,307***
Family	5	287.41***	17.93***	9,941***
Site × Family	10	12.94**	1.55 ^{ns}	362*
Error	72	4.80	0.84	155

^a: ^{ns}, *, ** or *** mean non significant or significant at $p = 0.05, 0.01, 0.001$, respectively.

저조가계)한 3 가계를 선발하여 성장특성에 대한 분산분석표이다. 선발된 6가계는 지역 간 및 가계 간에 수고, 흉고직경 및 재적성장량에서 모두 유의적 차이가 있는 것으로 나타났다. 잣나무 품매 가계는 가계 간에 성장차이가 있으며 또한 식재 장소에 의해서도 성장 특성에 차이가 있어 환경에 영향을 받고 있는 것을 의미한다.

선발 가계간의 성장특성을 비교한 결과 성장 우수가계로 선발된 강원14, 강원22 및 경기47이 성장 저조가계로 선발된 경기33, 전남9 및 전북1보다 유의적으로 우수한 것으로 나타났다. 한편 강원14와 경기47이 흉고직경과 재적성장량에서 가장 우수가계로 나타났다(Table 2). 선발 가계의 지역간에 따른 생장은 일부 가계가 흉고나 재적성장에서 차이가 있었으며, 춘천지역과 청원지역 간에는 차이가 없었으나 군포지역은 상대적으로 생장이 일부 가계에서 저조하였던 것으로 나타났다(Table 3).

2. 잣나무의 지역간 대사물질 함량 비교

본 연구는 지역 즉 환경에 따른 잣나무 수체 내의 대사물질들의 함량 변이에 대한 특성을 평가하기 위하여 동일 가계로 동일 연도에 3개 지역에 식재되어 있는 수령 29년 생의 잣나무 품매 차대 검정림을 대상으로 지역에 따른 내피조직 내의 대사물질 함량 변이를 분석하였다. 주간의 내피조직은 체관부와 형성층 조직이 포함되어있는 대사물질의 이동 통로로 대사물질과 에너지를 sink로 제공하는 중심적 역할을 하고 있는 조직임으로(Dinant and Lemoine, 2010) 대사체분석에 이용되고 있다(Robinson et

Table 2. Mean values of growth performance among 29-year-old families of *Pinus koraiensis*.

Family	Growth performance	DBH (cm)	Height (m)	Volume index (m ³)
Gangwon 14	Superior	24.3±2.2 ^a ^{ab}	13.1±0.7a	0.784±0.161a
Gangwon 22	Superior	22.7±3.1b	13.0±0.5a	0.688±0.199b
Geonggi 47	Superior	24.4±3.0a	13.4±0.6a	0.816±0.205a
Geonggi 33	Inferior	18.3±2.3c	11.8±1.3b	0.402±0.092c
Jeonnam 9	Inferior	15.6±1.9d	10.9±0.7c	0.274±0.067d
Jeonbuk 1	Inferior	14.6±3.1d	11.1±1.4c	0.251±0.134d

^a: Mean±S.D., ^b:Duncan's multiple ranges test at 0.05% level

Table 3. Mean values of growth characteristics of 29-year-old *Pinus koraiensis* at three different field trials [Chuncheon(CC), Chungwon(CW) and Gunpo(GP)].

Family	Growth performance	Site	DBH (cm)	Height (m)	Volume index (m ³)
Gangwon 14	Superior	CC	24.7±2.2 ^a _b	13.7±0.9a	0.950±0.176a
		CW	25.4±1.5a	13.0±0.4ab	0.943±0.098a
		GP	22.8±2.5a	12.6±0.4b	0.660±0.147a
Gangwon 22	Superior	CC	25.3±2.5a	13.1±0.4a	0.945±0.146a
		CW	22.6±3.4ab	13.0±0.6a	0.693±0.232ab
		GP	20.3±1.3b	13.0±0.5a	0.537±0.069b
Geonggi 47	Superior	CC	26.9±0.8a	13.4±0.7a	0.964±0.072a
		CW	25.0±3.1a	13.5±0.4a	0.960±0.209a
		GP	21.5±2.0b	13.2±0.7a	0.616±0.126b
Geonggi 33	Inferior	CC	20.2±2.0a	11.0±1.6b	0.453±0.106a
		CW	17.9±0.7ab	13.0±0.5a	0.411±0.041a
		GP	17.1±2.9b	11.6±1.0ab	0.342±0.093a
Jeonnam 9	Inferior	CC	15.7±2.6ab	10.7±0.5a	0.269±0.082ab
		CW	14.3±1.0b	11.0±0.7a	0.227±0.032b
		GP	17.0±1.0a	11.2±1.1a	0.325±0.045a
Jeonbuk 1	Inferior	CC	17.4±3.3a	11.0±2.0a	0.355±0.191a
		CW	12.4±1.5b	12.0±0.5a	0.195±0.040a
		GP	14.1±2.3ab	10.2±1.3a	0.213±0.091a

^a: Mean±S.D., ^b:Duncan's multiple ranges test at 0.05% level

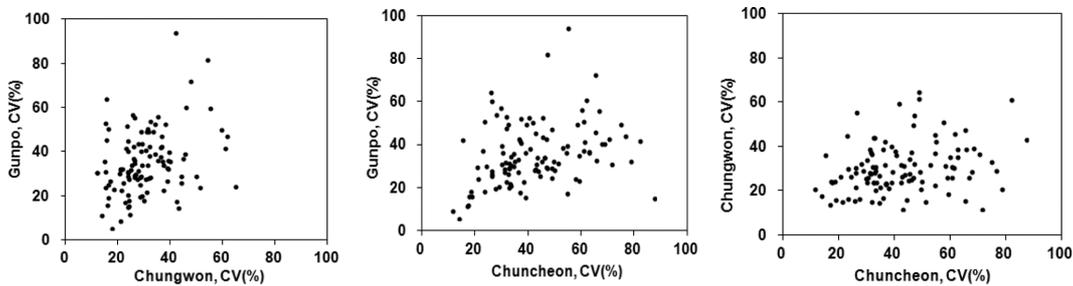


Figure 1. Scatter plot of coefficient of variation (CV) of 110 metabolites in the inner bark tissues of *Pinus koraiensis* grown in three different field trials. CV (%) = standard deviation/mean value × 100.

al., 2005; Lee and Han, 2012).

GC/MS로 분리된 수용성 물질 110종을 대상으로 지역 별로 6개 가계의 대사물질 평균 변이계수를 분석하여 지역 간의 변이계수 분포도를 비교하였다(Figure 1). 지역별 가계 간에 따른 대사물질들의 평균 변이계수는 춘천지역이 42%, 청원이 30% 및 군포에서 35%로 지역 간에 차이가 있는 것으로 나타났다. 또한 지역 간의 대사물질들에 대한 변이분포를 비교하면 군포와 청원 간에는 물질 간의 변이 계수 분포가 유사한 형태를 보이나 춘천은 청원이나 군포 지역 간에서 대사물질들의 변이계수가 분포가 차이가 있는 경향으로 나타났다. 이와 같이 변이계수 값이 춘천지역에서 높게 나타났고 변이 분포가 차이가 있는 것은 춘천지역에서의 가계별 성장량이 다른 지역에 비해 높았고 또한 가계간 차이도 크게 나타난 것과 관련이 있는 것

으로 사료된다(Table 3). 따라서 잣나무는 성장 및 수체의 대사물질 함량은 온도, 해발고, 위도 및 경도 등 환경 인자에 영향을 받는 것으로 추정된다. 한편 잣나무 유묘의 경우는 이와는 반대로 성장 저조 그룹의 대사물질들의 변이계수가 42.7%로 우수그룹에 비해 높게 나타나(Lee and Han, 2012) 본 연구의 결과와 차이가 있었다. 이와 같은 이유는 잣나무 유묘의 경우 생장이 왕성한 시기에 시료를 채취하였기 때문에 시료의 채취시기의 차이에 기인 한 것으로 추정된다.

한편 잣나무의 대사물질들 간의 환경에 따른 영향을 비교, 분석하기 위하여 지역 간의 수체내 대사물질을 대상으로 주성분분석을 실시한 결과 지역 간에 변이가 높은 대사물질은 alanine, sucrose, L-proline, glycerol 등으로, 반면 지역간에 변이가 낮은 대사물질은 acetic acid,

Table 4. Variations of the metabolite contents in the inner bark tissues of 29-year-old *Pinus koraiensis* grown at three different field trials.

Metabolites showing strong variation among sites	Metabolites showing weak variation among sites
Alanine, L-Lysine, Glycerol, Glyceric acid, Propanoic acid, Malic acid, Erythronic acid, L-proline, Sucrose, Catechine, Unknown (25 species)	Acetic acid, Phosphoric acid, Succinic acid, Butanoic acid, Glutamic acid, Inositol, Unknown (12 species)

phosphoric acid, succinic acid, glutamic acid 등인 것으로 나타났다(Table 4). 지역간에 변이가 낮은 대사물질들은 환경적인 영향보다 유전적인 영향이 큰 것으로 반면 지역간 변이가 높은 대사물질은 환경적인 영향을 크게 받는 것으로 추정된다. 한편 지역 간에 변이가 큰 대사물질은 개체목 간에서도 변이가 큰 경향이 있었다. 식물체의 대사물질 함량은 유전적인 인자와 더불어 환경적인 인자의 상호작용에 의한 결과물(Nicholson and Lindon, 2008; Viant, 2008)이기 때문에 특히 지역 간에 즉 환경변이에 상대적으로 변이가 적은 대사물질들은 결과의 해석이 용이한 것으로 사료되어 특정 형질의 개체를 선발하기 위한 선발 대사물질인자로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 추정된다.

3. 잣나무의 성장 우수가계 및 저조가계 간의 대사물질 특성

3개 지역에서 잣나무 성장 우수가계인 강원14 및 경기47 가계와 생장이 상대적으로 저조하였던 성장 저조가계인 전남9 및 전북1 가계를 두 그룹으로 분류하여 내피조직내의 대사물질의 함량을 비교하였다.

주간 내피조직의 대사물질을 두 그룹 간에 t-test을 실시하여 유의적 차이가 있는 대사물질은 Table 5와 같다. 110종의 대사물질 중 62종(미지 물질 38종 포함)이 유의적 차이가 있었으며 모두 성장 우수가계에서 대사물질 함량을 높게 함유하고 있는 것으로 나타났다. 유의적 차이가 있던 62종 중 phosphoric acid, alanine, glycine, malic acid, sucrose, d-turanose, succinic acid 등 22종의 대사물질은 성장 저조가계에 비해 성장 우수가계에서 1.5배 이상 높게 함유되어 있었다(Table 5). 한편 지역 불문하고 재적지수 등 성장특성과 대사물질간의 상관관계를 분석한 결과 대사물질 110종중 31종이 유의적 상관관계($p>0.05$)가 있었다(Table 6). 특히 두 그룹 간에 유의적 차이가 있었던 acetic acid, alanine, malic acid, sucrose, fructose, inositol, d-turanose, succinic acid 등 31종(미지 물질 16종 포함)에서 고도의 정의 상관관계($p>0.01$)가 있었다. 잣나무의 성장과 상관관계가 있는 malic acids와 succinic acid는 식물에서 중추적인 대사작용을 하는 TCA 회로(tricarboxylic acid cycle)의 구성 물질이고(Meyer, et al., 2007), sucrose는 식물의 성장과 발달에 관여하는 신호 대

Table 5. Relative contents of metabolites between superior and inferior families of 29-year-old *Pinus koraiensis*.

Metabolites	Ratio : Superior / Inferior (families)	Student T-Test P
Acetic acid	1.22	0.050
Alanine	1.80	0.028
L-Lysine	1.48	0.003
L-Norvaline	1.87	0.005
Glycerol	1.25	0.038
Phosphoric acid	2.01	0.000
Glycine	1.60	0.004
Succinic acid	1.55	0.001
Glyceric acid	1.44	0.003
L-Serine	1.29	0.029
Propanoic acid	1.44	0.000
Malic acid	1.59	0.000
Erythronic acid	1.45	0.002
Butanoic acid	1.65	0.001
L-Proline	1.46	0.000
Glutamic acid	1.44	0.003
Xyonic acid	1.45	0.007
Benzoic acid	1.80	0.000
D-Fructose	1.27	0.008
Inositol	1.44	0.000
Myo-Inositol	1.28	0.008
Sucrose	1.55	0.000
Catechine	1.32	0.031
D-turanose	1.60	0.002

사물질로 간주되고 있다(Sinha, et al., 2002). Inositol 화합물류는 세포벽의 구성성분으로 생장이 우수한 개체목에 높게 함유하고 있다(Stevenson et al., 2000; Lee et al., 2012). 4년생 잣나무의 줄기내 물질 성분 함량과 성장량과의 상관분석에서도 malic acid, inositol 및 sucrose가 성장량과 정의 상관관계가 있어 이들 물질은 성장량과 관련이 있는 물질인자로 추정된 바가 있다(Lee and Han, 2012). 이러한 결과로 생장이 우수한 개체는 성장 저조 개체에 비해 수체내에서 TCA 회로관련 대사물질이나 당 화합물인 sucrose, fructose 및 inositol의 함량이 잣나무의 유시목 및 성목에서 모두 높은 것으로 추정된다. 특히 acetic acid, succinic acid 및 inositol은 환경의 영향을 적게 받으면서도 성장과 유의적 상관관계가 있어 성장우수개체를 선발할 수 있는 대사물질로 추정된다.

Table 6. Determination of Pearson's correlation coefficients between growth parameters (DBH, height and volume index) and the levels of metabolites in the inner bark tissues of 29-year-old *Pinus koraiensis* (n=89).

Metabolites	DBH		Height		Volume index	
	Correlation coefficients	<i>p</i> value	Correlation coefficients	<i>p</i> value	Correlation coefficients	<i>p</i> value
Malic acid	0.481	0.000	0.488	0.000	0.506	0.000
Propanoic acid	0.466	0.000	0.436	0.000	0.503	0.000
Sucrose	0.455	0.000	0.487	0.000	0.497	0.000
Inositol	0.451	0.000	0.454	0.000	0.503	0.000
D-turanose	0.433	0.000	0.379	0.000	0.454	0.000
L-Proline	0.419	0.000	0.485	0.000	0.450	0.000
D-Fructose	0.408	0.000	0.381	0.000	0.453	0.000
Glutamic acid	0.397	0.000	0.276	0.008	0.406	0.000
Succinic acid	0.388	0.000	0.303	0.004	0.406	0.000
Glyceric acid	0.316	0.002	0.309	0.003	0.324	0.002
L-Threonine	0.311	0.003	0.237	0.024	0.351	0.001
Alanine	0.310	0.003	0.225	0.033	0.336	0.001
Acetic acid	0.303	0.004	0.245	0.020	0.310	0.003
Butanoic acid	0.302	0.004	0.275	0.009	0.303	0.004
Catechine	0.298	0.004	0.307	0.003	0.328	0.002

결 론

잣나무의 생육 지역에 따른 성장 우수가계와 성장 저조가계간의 대사물질의 특성을 비교, 분석하여 우량가계 선발 대사물질 인자를 구명하고자 29년생의 잣나무 주간 내피의 대사물질과 성장특성간의 관계를 분석하였다.

GC/MS로 분리된 110종의 대사물질을 대상으로 지역별에 따른 대사물질들의 변이계수는 청원 30%, 군포 35% 및 춘천이 42%로 지역 간에 차이가 있는 것으로 나타났다. 지역 간에 변이가 높은 대사물질은 alanine, sucrose, L-proline, glycerol 등으로 분석되었고, 반면 지역간에 변이가 낮은 대사물질은 acetic acid, phosphoric acid, succinic acid, glutamic acid, inositol과 12종의 미확인 물질로 나타났다.

성장 우수가계와 저조가계 간에 유의적 차이($p < 0.05$)가 있는 물질은 62종으로 우수가계에서 대사물질 함량을 높게 함유하고 있는 것으로 나타났으며 phosphoric acid, alanine, glycine, malic acid, sucrose, d-turanose, succinic acid 등 22종의 물질은 성장 저조가계에 비해 성장 우수가계에서 1.5배 이상 높게 함유되어 있었다. 또한 성장특성과 대사물질간의 상관관계를 분석한 결과 성장 우수와 성장 저조가계 그룹 간에 유의적 차이가 있었던 acetic acid, phosphoric acid, alanine, malic acid, succinic acid, sucrose, d-turanose 등 15종에서 고도의 정의 상관관계($p < 0.01$)가 있었다.

이상의 결과로 잣나무 수체내의 대사물질은 환경에 영향을 받고 있었으며, 지역간에 변이가 적고 성장과 상관관계가 있는 acetic acid, succinic acid, inositol 등의 물질

은 잣나무의 성장 우수가계에서 유의적으로 높게 함유하고 있는 것으로 추정되었다.

References

- Dinant, S. and Lemoine, R. 2010. The phloem pathway: new issues and old debates. *Comptes Rendus biologie*. 333: 307-319.
- Fernie, A.R. and Schauer, N. 2009. Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends Genetic* 25: 39-48.
- Fernie, A.R. and Schauer, N. 2008. Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends in Genetics* 25: 39-48.
- Greenwood, M.S. and Volkaert, H.A. 1992. Morphophysiological traits as markers for the early selection of conifer genetic families. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 1001-1008.
- Han, S.U. and Lee, J.S. 1995. Estimate of early selection efficiency for height growth using age-age correlation in *Pinus koraiensis*. *Journal of Korean Forest Society* 84(3): 356-360.
- Kerwin, R.E., Jimenez-Gomez, J.M., Fulop, D., Harmer, S.L., Maloof, J.N., and Kliebenstein, D.J. 2011. Network quantitative trait loci mapping of circadian clock outputs identifies metabolic pathway-to-clock linkages in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23: 471-485.
- Kim, D.E. and Chon, S.K. 1990. Trends in genetic parameters with age and site for early implications of genetic improvement in Korean white pine. *Journal of Korean Forestry Society* 79(1): 56-70.
- Korn, M., Gaertner, T., Erban, A., Kopka, J., Selbig, J., and Hinch, D.K. 2010. Predicting *Arabidopsis* freezing toler-

- ance and heterosis in freezing tolerance from metabolite composition. *Molecular Plant* 3(1): 224-235.
- Kozłowski, T.T., Kramer, P.J., and Pallardy, S.G. 1991. The physiological ecology of woody plants. Academic Press. pp. 13-15.
- Lee, W.Y. and Han, S.U. 2012. Identification of key metabolites in the regulation of metabolism and clonal growth of *Populus davidiana* Dode. *Korean Journal of Breeding Science* 44(3): 318-327.
- Lee, W.Y., Park, E.J., and Han, S.U. 2010. Correlation of growth performance with total nitrogen, carbon and nitrogen isotope compositions in the xylem of *Pinus koraiensis*. *Journal of Korean Forest Society* 99(3): 353-358.
- Lee, W.Y., Park, E.J., and Han, S.U. 2012. Identification of Key Metabolites Involved in Quantitative Growth of *Pinus koraiensis*. *Journal of Korean Forest Society* 101(4): 640-647.
- Lisec, J., Meyer, R.C., Steinfath, M., Redestig, H., Becher, M., Witucka-Wall, H., Fiehn, O., Torjek, O., Selbig, J., Altmann, T., and Willmitzer, L. 2008. Identification of metabolic and biomass QTL in *Arabidopsis thaliana* in a parallel analysis of RIL and IL populations. *Plant Journal* 53: 960-972.
- Meyer, R.C., Steinfath, M., Lisec, J., Becher, M., Witucka-Wall, H., Torjek, O., Fiehn, O., Eckardt, A., Willmitzer L., Selbig, J., and Altmann, T. 2007. The metabolic signature related to high plant growth rate in *Arabidopsis thaliana*. *Proceeding of National Academic Science USA* 104: 4759-4764.
- Nicholson, J.K. and Lindon, J.C. 2008. Metabonomics. *Nature* 455: 1054-1056.
- Okazaki, Y. and Saito, K. 2012. Recent advances of metabolomics in plant biotechnology. *Plant Biotechnology Report* 6: 1-15.
- Ossipov, V., Ossipova, S., Bykov, V., Oksanen, E., Koricheva, J. and Haukioja, E. 2008. Application of metabolomics to genotype and phenotype discrimination of birch trees grown in a long-term open-field experiment. *Metabolomics* 4: 39-51.
- Robinson, A.R., Gheneim, R., Kozak, R.A., Ellis, D.D., and Mansfield, S.D. 2005. The potential of metabolite profiling as a selection tool for genotype discrimination in *Populus*. *Journal of Experimental Botany* 56: 2807-2819.0-647.
- Sinha, A.K., Hofmann, M.G., Römer, U., Köckenberger, W., Elling, L., and Roitsch, T. 2002. Metabolizable and non-metabolizable sugars activate different signal transduction pathways in tomato. *Plant Physiol* 128: 1480-1489.
- Schauer, N., Semel, Y., Roessner, U., Gur, A., Balbo, I., Carrari, F., Pleban, T., Perez-Melis, A., Bruedigam, C., Kopka, J., Willmitzer, L., Zamir, D., and Fernie, A.R. 2006. Comprehensive metabolic profiling and phenotyping of interspecific introgression lines for tomato improvement. *Nature Biotechnology* 24: 447-454.
- Stevenson, J.M., Perera, I.Y., Heilmann, I., Persson, S., and Boss, W.F. 2000. Inositol signaling and plant growth. *Trends in Plant Science Reviews* 5: 252-258.
- Thissen, U., Coulier, L., Overkamp, K.M., Jetten, J., Van der Werf, B.J.C., Van de Ven, T., and Van der Werf, M.J. 2011. A proper metabolomics strategy supports efficient food quality improvement: A case study on tomato sensory properties. *Food Quality and Preference* 22: 499-506.
- Viant, M.R. 2008. Recent developments in environmental metabolomics. *Molecular BioSystems* 4: 980-986.
- Yi, J.S., Song, J.H., and Han, S.U. 2007. Estimate of early selection using age-age correlation by stem analysis in *Pinus koraiensis*. *Korea White Pine* 2: 51-61.

(2014년 3월 13일 접수; 2014년 5월 7일 채택)