

## 배추 종간 잡종의 소포자배양에 의한 Double haploid 집단의 플라보노이드 함량 분석

서미숙 · 원소윤 · 강상호 · 김정선

### Analysis of flavonoids in double haploid population derived from microspore culture of F<sub>1</sub> hybrid of *Brassica rapa*

Mi-Suk Seo · So Youn Won · Sang-Ho Kang · Jung Sun Kim

Received: 6 February 2017 / Revised: 1 March 2017 / Accepted: 14 March 2017  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** One of the most important species, *Brassica rapa* encompasses a variety of commercial vegetables, such as the Chinese cabbage, pak choi and oilseed crops. The LP08 of yellow sarson (*Brassica rapa* ssp, *tricoloris*) have a distinct morphology, with yellow seed color and a unique tetralocular ovary. LP21 of pak choi (*Brassica rapa* ssp, *chinensis*) have a dark brown seed color and bilocular ovary. In this study, we generated double haploid plants by crossing the LP08 (maternal variety) and LP21 (paternal variety), using microspore culture. A total of 66 accessions with various morphological characteristics were used for content analysis of flavonoids. The three flavonoids, quercetin, naringenin and kaempferol, showed differing contents in the two crossing parents. The Chinese cabbage type 'Chiifu' was used as the control. The highest accumulation of total flavonoids was observed in LP08. The lowest mean total flavonoids were found in 'Chiifu'. Among the 66 DH accessions, the quercetin contents of 18 accessions showed higher content than LP08. Kaempferol content was also high, and was found to be 79.7% of the total flavonoid content. Naringenin content was low at 2.8%, and was not detected in 22 accessions. Interestingly, the quercetin content positively correlated with the kaempferol content. These results can be used to identify genetic locus and genes related to useful traits. Phenotypic analysis of 66 DH accessions can further be used for natural selection of good breeding materials in *B. rapa*.

**Keywords** *Brassica rapa*, Double haploid, Microspore culture, Homozygous plant, Flavonoid

#### 서론

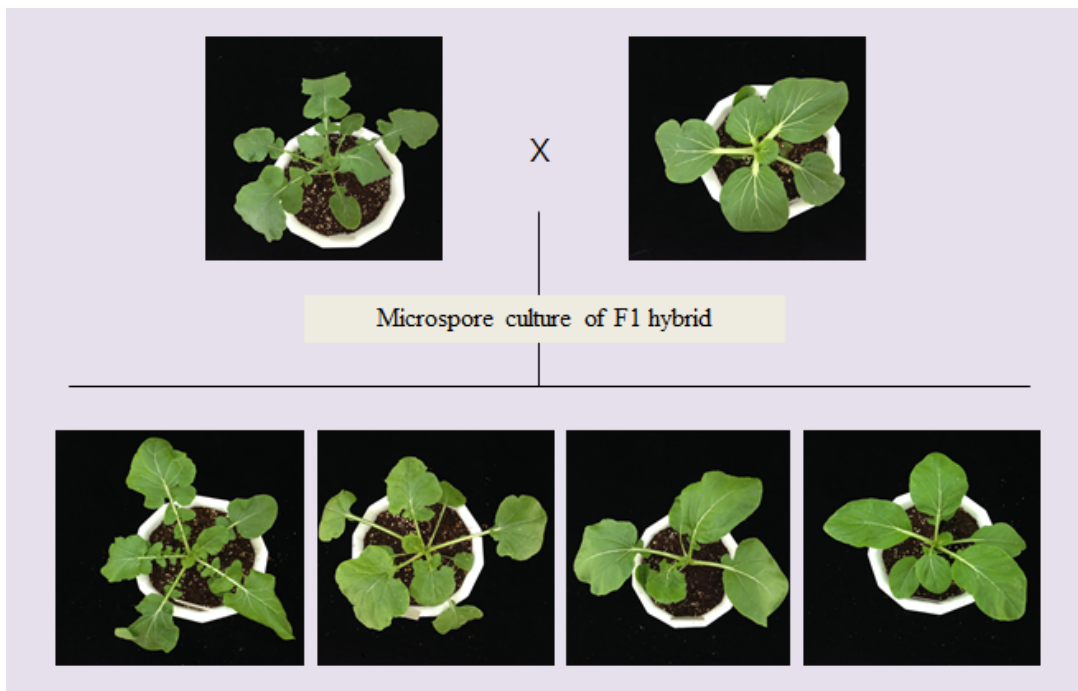
무기질, 섬유질 및 비타민 등의 다양한 영양 성분을 포함하고 있는 식물자원들은 단순히 생명 유지를 위한 영양분 섭취의 역할을 넘어서서 노화와 질병을 예방하고 건강한 삶과 활동 유지에 기여하고 있다. 노화와 질병을 일으키는 원인은 다양하지만, 특히 생체내의 활성산소의 축적으로 인한 산화스트레스는 세포손상을 일으키는 가장 큰 원인 중 하나로 알려져 있다(Chung et al. 2006). 따라서 신체의 항산화 시스템을 정상적으로 유지시켜주는 식물의 이차대사산물이 항산화 물질로써 크게 각광을 받고 있다(Podsędek 2007). 플라보노이드는 대표적인 식물의 이차대사산물로 알려져 있으며, 항균, 항암, 항바이러스, 항염증 및 강력한 항산화 기능을 가진 물질로 모델 식물인 애기장대를 포함하여 옥수수, 페튜니아 등 다양한 식물에서 연구되고 있다(Jacobs et al. 1995; Truswell 2002; Koes et al. 2005; Routaboul et al. 2012). 생합성 경로가 복잡한 플라보노이드 화합물은 약 5,000종 이상으로 다양하며, 기후, 재배 조건 및 식물의 유전형 등에 따라 함량에 차이를 보인다(Holden et al. 2005; Schmidt et al. 2010).

배추과(Brassicaceae=Cruciferae)는 350개 속(genera), 3,500개 종(species)에 속하는 식물들이 존재하며, 최근까지 다양한 배추과 식물에서 표준 유전체 해독이 이루어지고 있다(CoGePEDIA\_Sequenced plant genomes). 특히, 우리나라를 포함한 중국, 일본 등의 아시아를 중심으로 널리 재배되고 있는 배추(*Brassica rapa*)의 경우 표준 유전체 해독의 완료와 함께 배추과 식물에서 다배체 식물의 진화 연구의 모델 식

M.-S. Seo · S. Y. Won · S.-H. Kang · J. S. Kim (✉)  
농촌진흥청 국립농업과학원 농업생명자원부  
(Department of Agricultural Biotechnology, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wansan-gu, Jeonju, 54578, S. Korea)  
E-mail: jsnkim@korea.kr



**Fig. 1** Phenotypic variation of the DH population of LP08 and LP21 as crossing parents



**Fig. 2** Phenotypic variation of DH population derived from the  $F_1$  hybrid of LP08 and LP21

물로 활발한 연구가 진행 중에 있다(Wang et al. 2011). 타식성 작물인 배추는 주로  $F_1$  육종으로 품종을 개발하는데, 교배 양친으로 사용하는 다양한 고정종을 육종하는데 많은 시간과 노력이 소요된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서 배추과 식물에서는 반수체를 이용하여 고정된 식물체를 대량으로 유기할 수 있는 소포자 배양 기술이 널리 사용되고 있다(Seo et al. 2015). 배추의 소포자 배양은 순무형(*ssp. rapa*) 및 청경채형(*ssp. cheneisis*) 등의 일부 아종(subspecies)에서 제한적으로 이루어져 왔으나 최근에는 다양한 배추 유전자원에서 소포자 배양을 통한 고정 계통의 육성이 이루어지고 있다(Burnett et al. 1992; Cao et al. 1994; Seo et al. 2014). 본 연구에서는 자방의 형태, 종자의 크기 및 색깔, 엽의 형태, 그리고 개화 시기 등 유전적 다양성이 풍부한 유지형 배추와 청경채형 배추를 교배친으로 정하였다. 모본으

로 사용된 LP08의 경우 평균 3.3개의 결각수를 가진 엽모양을 보이며, 한 꼬투리 속에 4개의 실(locule)로 구획(1협4실)되어 있는 자방을 형성하고, 일반적인 배추 종자에 비해 크고 노란 종피색의 특징을 가지고 있다(Fig. 1). 부분으로 사용된 청경채형 배추 LP21은 결각이 없는 타원형의 엽모양을 가지며, 1협2실의 자방과 흑갈색 종피색의 종자를 생산한다. 유용 육종 형질을 다수 보유한 LP08과 LP21의 교잡종  $F_1$ 의 소포자 배양을 통해 고정 계통을 생산하였다.

본 연구에서는 이들 고정 계통들을 대상으로 플라보노이드 함량을 분석하였다. 배추과 식물에서 플라보노이드는 페닐알라닌(L-phenylalanine) 생합성 경로로부터 합성된다(Fig. 2). Chalcone synthase (CHS)에 의해서 형성된 4-coumaryl-CoA는 다시 CHS에 의해서 tetrahydroxychalcon을 형성하고 chalcone isomerase (CHI)에 의해 naringenin을 형성하게 된다.

Naringenin은 flavanone 3-hydroxylase (F3H)에 의해 dihydrokaempferol로 전환되고 flavonol synthase (FLS)를 통해 quercetin과 kaempferol을 유발하게 된다(Cartea et al. 2011). 배추과 식물에서 플라보노이드 함량 분석에 관한 연구는 케일, 브로콜리 및 청경채형 배추등에서 보고된 바 있으나, 플라보노이드 생합성 기작에 관련된 연구는 아직까지 미흡한 실정이다(Vallejo et al. 2004; Harbaum et al. 2007; Olsen et al. 2009).

따라서 본 연구에서는 유전적 다양성을 가진 DH 고정 집단의 플라보노이드 함량을 분석함으로써 플라보노이드 생합성 기작과 관련된 유전자좌 및 후보 유전자 탐색을 위한 소재로 활용할 예정이다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

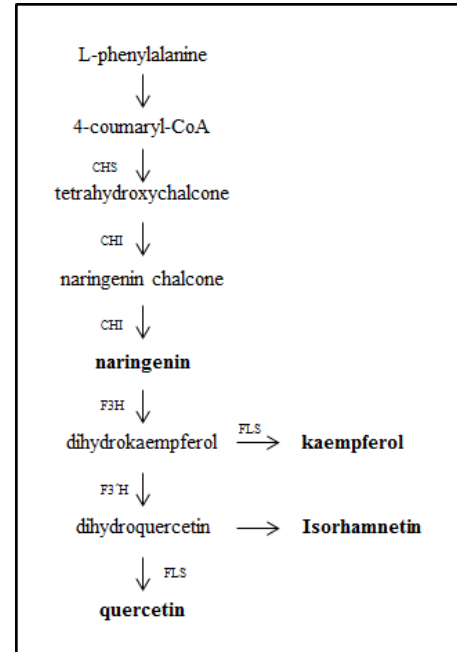
유지형 배추인 LP08(*B. rapa* ssp. *tricoloris*)을 모본으로 하고, 청경채형 배추인 LP21(*B. rapa* ssp. *chinensis*)을 부분으로 하여 교배한 F<sub>1</sub>을 Seo 등(2014)의 방법을 이용하여 소포자 배양하여 다수의 고정 계통을 획득할 수 있었다(Fig. 3). 본 실험에서는 이들 중 66개 고정 계통을 선발하여 플라보노이드 분석을 위한 재료로 사용하였다. 또한 일반적인 결구 배추와 양친 및 고정 계통의 플라보노이드 함량의 비교 분석을 위하여 배추 유전체 해독 재료로 사용된 ‘Chiifu’ (*B. rapa* ssp. *pekinensis*) 품종을 분석하였다.

#### 시료의 추출

66개 고정 계통의 식물들은 온실에 파종하여 25°C, 16/8h 광주기로 재배하였다. 파종 후 4~6주된 식물체의 어린 잎을 채취하여 동결건조 하였다. 동결건조가 끝난 시료는 막사 사발로 마쇄한 후 시료 당 100 mg을 실험에 사용하였다. 플라보노이드 함량은 Hertog 등(1992)의 방법에 준하여 분석하였다. 총 플라보노이드 함량의 측정을 위해 시료 100 mg에 50% Methanol, 1.2 M HCL의 추출 용액을 첨가하여 120 rpm, 80°C에서 2시간동안 반응시켰다. 반응액은 실온에서 냉각시킨 후, 10,000 rpm, 25°C에서 10분간 원심분리하여 상층액을 필터링한 후 총 플라보노이드 분석에 사용하였다.

#### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량을 측정하기 위하여 필터링이 끝난 시료는 HPLC (Aglient system)를 사용하여 분석하였다. 컬럼은 Nova-Pak C18 4 μm (3.9×150mm)을 사용하였고 컬럼 온도의 온도는 30°C, 이동상은 10% methanol (solvent A)과 100% methanol (solvent B)을 사용하여 유속은 분당 0.5 ml로 variable



**Fig. 3** Flavonoid biosynthesis pathways of *Brassica* crops. CHI, chalconeisomerase; CHS, chalconesynthase; F3H, flavanone-3-hydroxylase; F3'H, flavonoid3'-hydroxylase; FLS, flavonol synthase

wavelength detector를 사용하여 210 nm에서 분석하였다. 표준물질로 quercetin, naringenin, kaempferol을 사용하여 표준 검량곡선을 작성하여 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

### 결과 및 고찰

#### 소포자 배양에 의한 고정 계통 유도과 선발

유지형 배추 LP08과 청경채형 LP21을 교배한 교잡종 F<sub>1</sub>을 소포자 배양하여 다수의 재분화 식물체가 획득되었다. 이들 재분화 식물체는 조직배양을 통해 자연배가된 이배체가 확인된 식물체를 배수체 검증을 통하여 선발하였고 자가 수분으로 종자를 획득할 수 있었다. 본 실험에서는 이들 고정 계통 중에서 66계통을 대상으로 엽의 결각수 형성에 관한 형질 조사를 실시하였다(Fig. 2). 그 결과 32계통에서는 부계 형질과 같은 결각이 없는 타원형의 엽 모양이 관찰되었고, 3 계통은 모계인 LP08과 비슷한 평균 3.4개의 결각수를 보였으며, 한 계통에서는 모계보다 많은 평균 3.67개의 결각수가 관찰되었다. 이들 계통을 제외한 나머지 30계통에서는 평균 0.67~2.67의 결각수를 가지고 있었으며, 이러한 결과는 배추 엽 결각 형질에 있어서 결각이 없는 계통(32계통)과 결각을 형성하는 계통(34계통)의 비율이 약 1:1의 분리비를 가지고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 소포자 배양을 통해 고정된 66 고정 계통들은 엽의 형태, 개화기, 꼬투리 모양 등 형태학적으로 다양한 특징을 가지고 있어 향후

**Table 1** Flavonoid content ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  (dw)) of the two parent lines and chiifu

| Variety | Quercetin         | Naringenin        | Kaempferol        |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Chiifu  | 0.027 $\pm$ 0.02  | 0.023 $\pm$ 0.013 | 0.16 $\pm$ 0.084  |
| LP08    | 0.047 $\pm$ 0.011 | 0.02 $\pm$ 0.010  | 0.834 $\pm$ 0.034 |
| LP21    | 0.012 $\pm$ 0.017 | 0.044 $\pm$ 0.018 | 0.23 $\pm$ 0.110  |

이들 형질에 관한 표현형 분석을 통하여 배추의 유용 형질 관련 교배 육종 및 품종 개발을 위해 활용할 예정이다.

#### 양친과 지부 배추의 플라보노이드 함량

LP08과 LP21의 교잡종인 F<sub>1</sub>을 소포자 배양하여 획득한 66 계통을 대상으로 플라보노이드 분석을 실시하였다. 먼저, 양친으로 사용된 LP08과 LP21, 그리고 배추 유전체 해독 재료로 사용된 결구 배추형 chiifu의 총 플라보노이드 함량을 조사한 결과, quercetin과 kaempferol 함량이 모계 LP08에서 평균 0.047  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 과 0.834  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 를 나타내었는데, 이러한 결과는 chiifu와 부계인 LP21과 비교하여 약 2배 이상 높은 함량을 보였다(Table 1). 반면에 naringenin의 함량은 부본인 LP21에서 평균 0.044  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 LP08과 chiifu 보다 약 2배 높은 함량이 관찰되었다. 또한, Kaempferol의 경우, quercetin과 naringenin의 함량과 비교하여 세가지 계통 모두에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 배추과 식물에서 플라보노이드는 유전적 요인에 영향을 받는다고 알려져 있다. 특히 다른 식물종, 혹은 품종에 따라 함유되어 있는 플라보노이드 종류는 유사하지만, 함량에서는 많은 차이가 보고되었다(Krumbein et al. 2007; Rochefort et al. 2006). Murtaza 등(2005)은 케일(*Brassica oleracea* var. *sabellica*)의 다양한 품종에서 플라보노이드 함량의 유전적 효과에 관하여 보고하였고, Harbaum 등(2008)은 청경채형 배추(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*)를 대상으로 플라보노이드 함량을 분석하였다. 본 연구 결과, 양친으로 사용된 유지배추형 LP08과 청경채형 LP21, 그리고 일반 결구배추형 Chiifu에서 다양한 플라보노이드 함량이 확인되었다. 특히 유지배추형인 LP08에서 가장 높은 플라보노이드 함량을 보였고 결구 배추형 chiifu 품종에서 가장 낮은 플라보노이드 함량을 확인하였다. 이와 같이 본 연구에서 일반 결구형, 청경채형, 그리고 유지배추형 배추에서 다양한 플라보노이드 함량을 관찰할 수 있었으나, 유전형에 따른 플라보노이드 함량의 영향을 증명하기 위해서는 배추 아종 유전형에 따른 다양한 품종에서 플라보노이드 함량 분석을 수행할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

#### 66개 고정 계통의 플라보노이드 함량

소포자 배양을 통해 고정된 66 계통을 대상으로 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. Quercetin은 평균

0.009-0.096  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 의 범위로 분포하였고 가장 낮은 함량을 보인 DH1의 0.009  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 은 가장 높은 0.096  $\mu\text{g}/\text{mg}$  농도를 보인 DH65 사이에 약 10배 이상의 함량 차이를 보였다. 또한 18개 고정 계통에서는 모계인 LP08 보다 높은 quercetin 함량을 나타내었다. 가장 낮은 quercetin 함량을 보인 DH1 계통은 0.025  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 의 가장 높은 naringenin의 함량을 보였으며 10 계통에서는 naringenin의 함량을 확인할 수 없었다. Kaempferol의 함량은 DH14에서 0.086  $\mu\text{g}/\text{mg}$ 의 가장 낮은 농도를 보였고 이보다 약 4배 높은 농도를 가진 DH64(0.350  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) 계통이 가장 높은 kaempferol 농도를 보였다.

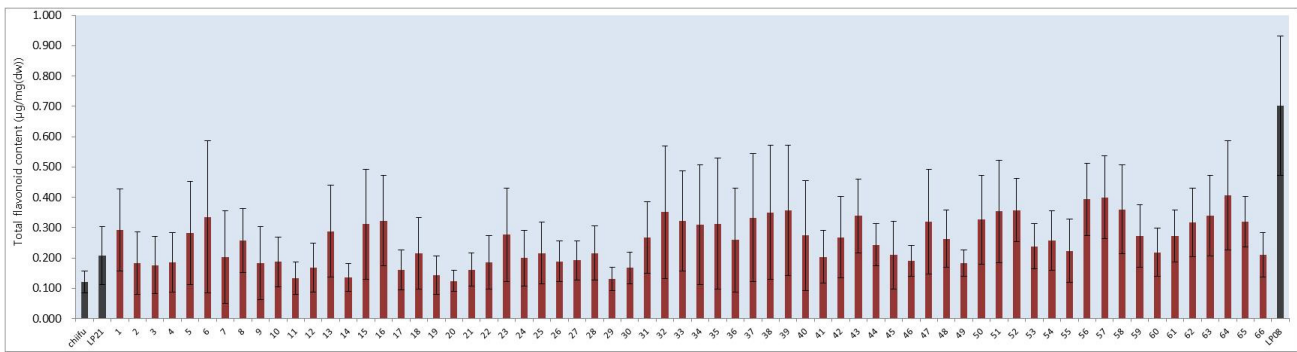
본 실험에서 측정된 quercetin, naringenin 그리고 kaempferol의 함량을 합산한 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 부계인 LP21 보다 낮은 총 플라보노이드 함량을 보인 계통이 22계통 존재하였고 높은 kaempferol 함량을 보인 DH64계통에서 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 보였다(Fig. 4). 그러나 66개 고정 계통에서 모계인 LP08 보다 높은 총 플라보노이드 함량을 가진 계통은 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 LP08 보다 높은 quercetin 함량을 보이는 계통이 다수 존재함에도 불구하고 총 플라보노이드 함량에서 quercetin이 차지하는 비율이 낮기 때문일 것으로 추정되었다. 따라서 66개 고정 계통을 대상으로 총 플라보노이드 함량에 있어서 각 플라보노이드(quercetin, naringenin 그리고 kaempferol)의 비율을 분석하였다(Fig. 5A). 그 결과, kaempferol은 79.7%, quercetin은 17.4%의 함량비율을 보였고 naringenin의 경우 2.8%로 거의 대부분의 계통에서 가장 낮은 함량을 보였다. 또한 플라보노이드 함량 간 상관관계 분석을 실시한 결과 quercetin과 kaempferol의 함량간에 유의한 상관관계가 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 5B). 따라서, quercetin의 함량이 높은 계통에서는 kaempferol의 높은 함량을 관찰할 수 있었다. 그러나, naringenin의 경우 quercetin 및 kaempferol 과 유의한 상관관계는 관찰되지 않았다. 본 실험과 유사한 결과는 다양한 배추과 작물에서 보고된 바 있다(Schmidt et al. 2010; Rochefort et al. 2006). Rochefort 등(2006)은 11개의 청경채형 배추 품종을 대상으로 플라보노이드 함량을 분석한 결과 3.2 ~ 6.1 mg/100g (dw)의 quercetin 및 36.0 ~ 102.6 mg/100g (dw)의 kaempferol 함량을 확인하였다. 또한 kaempferol은 청경채형 배추에 포함된 플라보노이드의 주요 성분으로 보고된 바 있다(Harbaum et al. 2007). 본 연구결과에서 유지배추형 LP08과 청경채형 LP21의 교잡종의 소포자 배양으로부터 획득한 66개 고정 계통들에서 플라보노이드 함량을 비교한

**Table 2** Flavonoid content ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) in 66 DH accessions derived from the  $F_1$  hybrid plants of *B. rapa*

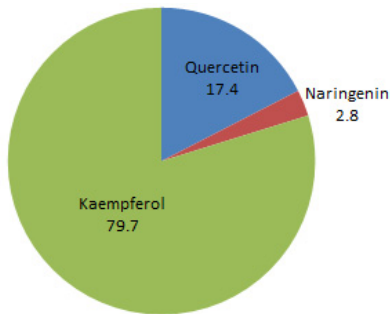
| Dh accession | Quercetin   | Naringenin  | Kaempferol  |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| 1            | 0.009±0.012 | 0.025±0.012 | 0.255±0.140 |
| 2            | 0.029±0.020 | 0.020±0.008 | 0.143±0.113 |
| 3            | 0.013±0.018 | 0.015±0.005 | 0.141±0.106 |
| 4            | 0.036±0.004 | 0.013±0.005 | 0.152±0.110 |
| 5            | 0.046±0.012 | 0.011±0.005 | 0.237±0.152 |
| 6            | 0.049±0.009 | 0.000±0.000 | 0.291±0.244 |
| 7            | 0.042±0.004 | 0.000±0.001 | 0.162±0.150 |
| 8            | 0.043±0.006 | 0.006±0.005 | 0.205±0.101 |
| 9            | 0.040±0.010 | 0.000±0.000 | 0.144±0.110 |
| 10           | 0.040±0.010 | 0.001±0.001 | 0.149±0.074 |
| 11           | 0.041±0.008 | 0.000±0.000 | 0.093±0.047 |
| 12           | 0.041±0.009 | 0.000±0.000 | 0.127±0.073 |
| 13           | 0.045±0.010 | 0.009±0.007 | 0.241±0.147 |
| 14           | 0.042±0.007 | 0.015±0.012 | 0.086±0.050 |
| 15           | 0.035±0.004 | 0.011±0.008 | 0.273±0.184 |
| 16           | 0.039±0.009 | 0.010±0.008 | 0.282±0.145 |
| 17           | 0.029±0.021 | 0.004±0.005 | 0.119±0.063 |
| 18           | 0.034±0.003 | 0.003±0.005 | 0.186±0.114 |
| 19           | 0.023±0.016 | 0.013±0.011 | 0.113±0.061 |
| 20           | 0.027±0.019 | 0.004±0.006 | 0.087±0.032 |
| 21           | 0.036±0.007 | 0.007±0.004 | 0.118±0.049 |
| 22           | 0.033±0.004 | 0.004±0.005 | 0.153±0.086 |
| 23           | 0.070±0.007 | 0.013±0.010 | 0.221±0.138 |
| 24           | 0.032±0.004 | 0.003±0.004 | 0.165±0.092 |
| 25           | 0.038±0.010 | 0.007±0.006 | 0.183±0.093 |
| 26           | 0.041±0.011 | 0.003±0.005 | 0.146±0.065 |
| 27           | 0.034±0.005 | 0.003±0.005 | 0.156±0.065 |
| 28           | 0.038±0.008 | 0.007±0.003 | 0.173±0.085 |
| 29           | 0.023±0.016 | 0.004±0.006 | 0.097±0.041 |
| 30           | 0.038±0.009 | 0.003±0.004 | 0.129±0.054 |
| 31           | 0.063±0.007 | 0.006±0.004 | 0.217±0.104 |
| 32           | 0.051±0.038 | 0.004±0.004 | 0.288±0.195 |
| 33           | 0.048±0.034 | 0.004±0.006 | 0.265±0.154 |
| 34           | 0.055±0.040 | 0.012±0.015 | 0.235±0.166 |
| 35           | 0.044±0.013 | 0.004±0.005 | 0.270±0.209 |
| 36           | 0.038±0.009 | 0.003±0.005 | 0.216±0.172 |
| 37           | 0.062±0.008 | 0.004±0.005 | 0.283±0.201 |
| 38           | 0.040±0.012 | 0.007±0.003 | 0.302±0.215 |
| 39           | 0.045±0.008 | 0.003±0.004 | 0.319±0.204 |
| 40           | 0.034±0.007 | 0.003±0.004 | 0.240±0.176 |
| 41           | 0.035±0.009 | 0.008±0.003 | 0.161±0.084 |
| 42           | 0.045±0.016 | 0.007±0.005 | 0.212±0.129 |
| 43           | 0.039±0.012 | 0.005±0.004 | 0.286±0.121 |
| 44           | 0.054±0.015 | 0.004±0.006 | 0.184±0.065 |
| 45           | 0.041±0.015 | 0.005±0.004 | 0.167±0.095 |
| 46           | 0.055±0.022 | 0.003±0.004 | 0.135±0.048 |
| 47           | 0.061±0.009 | 0.004±0.005 | 0.260±0.166 |
| 48           | 0.065±0.002 | 0.004±0.005 | 0.189±0.100 |
| 49           | 0.040±0.002 | 0.001±0.002 | 0.132±0.040 |
| 50           | 0.048±0.018 | 0.001±0.002 | 0.281±0.130 |
| 51           | 0.049±0.017 | 0.002±0.002 | 0.296±0.159 |
| 52           | 0.085±0.015 | 0.004±0.005 | 0.287±0.092 |
| 53           | 0.042±0.020 | 0.003±0.004 | 0.198±0.060 |
| 54           | 0.043±0.020 | 0.002±0.003 | 0.212±0.084 |

**Table 2** Continued.

| Dh accession | Quercetin   | Naringenin  | Kaempferol  |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| 55           | 0.035±0.027 | 0.004±0.006 | 0.173±0.095 |
| 56           | 0.037±0.012 | 0.002±0.003 | 0.326±0.109 |
| 57           | 0.041±0.029 | 0.003±0.003 | 0.345±0.137 |
| 58           | 0.093±0.013 | 0.000±0.000 | 0.274±0.133 |
| 59           | 0.037±0.029 | 0.016±0.012 | 0.228±0.088 |
| 60           | 0.038±0.029 | 0.001±0.001 | 0.170±0.068 |
| 61           | 0.037±0.029 | 0.001±0.001 | 0.227±0.077 |
| 62           | 0.051±0.020 | 0.001±0.001 | 0.269±0.101 |
| 63           | 0.057±0.019 | 0.002±0.003 | 0.282±0.121 |
| 64           | 0.066±0.016 | 0.002±0.003 | 0.350±0.166 |
| 65           | 0.096±0.011 | 0.011±0.009 | 0.236±0.086 |
| 66           | 0.047±0.016 | 0.002±0.003 | 0.168±0.060 |



**Fig. 4** Total flavonoid content (µg/mg) in the 66 DH accessions and the two parent lines



(A)

|            | Quercetin | Naringenin | Kaempferol   |
|------------|-----------|------------|--------------|
| Quercetin  |           | -0.206     | <b>0.379</b> |
| Naringenin |           |            | -0.042       |

(B)

**Fig. 5** Ratio (A) and correlation coefficient (B) of the three flavonoids in the total flavonoid content in the 66 DH accessions derived from F<sub>1</sub> hybrid

으로써 플라보노이드 생합성 기작 관련 유전자 및 유전자 좌 탐색의 자료로써 활용이 가능할 것으로 기대된다. 또한

소포자 배양을 통해 획득한 고정 계통을 대상으로 다양하고 광범위한 형질 조사를 실시하여 배추의 우수 육종 소재를 개발할 예정이다.

**적 요**

본 연구에서는 유지형 배추인 LP08과 청경채형 LP21을 교배한 교잡종 F<sub>1</sub>을 소포자 배양하여 유전적으로 고정된 계통을 획득하였다. 엽의 결각 유무 및 결각수에서 다양한 형태적 특징을 보이는 66개 고정계통을 대상으로 항암 및 항산화 물질로 알려진 플라보노이드의 함량을 분석하였다. 66개 고정 계통의 엽의 결각 유무와 플라보노이드 함량 간 상관관계는 관찰되지 않았다. 양친으로 사용된 LP08, LP21 그리고 결구 배추형 품종인 Chiifu를 대상으로 플라보노이드 분석을 실시한 결과, quercetin, naringenin, 및 kaempferol 함량의 다양한 분포가 관찰되었다. 또한 모계인 LP08에서 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 나타내었고 결구 배추형인 Chiifu에서 가장 낮은 함량을 보였다. 66개 고정 계통을 대상으로 플라보노이드 함량을 분석한 결과, quercetin은 LP08 보다 높은 함량을 보이는 18 계통이 확인되었으나 naringenin과 kaempferol에서는 교배친 보다 높은 함량을 보이는 계통을 발견할 수 없었다. 총 플라보노이드 함량에서 kaempferol

은 79.7 %, quercetin은 17.4 %의 비율을 보였고 naringenin의 경우 2.8 %로 거의 대부분의 계통에서 가장 낮은 함량을 보이고 22개 계통에서는 전혀 발견되지 않았다. 또한 성분간 상관관계를 분석한 결과 quercetin과 kaempferol의 함량간에 유의한 상관관계가 있음을 확인할 수 있었다. 본 실험의 결과는 향후 플라보노이드 생합성 기작 관련 유전자 탐색을 위한 자료로 활용할 예정이다. 또한 고정 계통을 대상으로 다양하고 광범위한 형질 조사를 실시하여 배추의 품종 개발이 가능할 것으로 기대된다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 어젠다 사업(과제번호: PJ010157)의 지원에 의하여 수행되었습니다. 본 연구 수행에 있어서 연구적 조언과 정보를 제공해 주신 국립농업과학원 생물안정성과 오선우, 박수운 박사님께 감사드립니다.

## References

- Burnett L, Yarrow S, Huang B (1992) Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica rapa* L ssp. *oleifera*. Plant Cell Rep 11:215-218
- Cao MQ, Li Y, Liu F, Dore C (1994) Embryogenesis and plant regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) via in vitro isolated microspore culture. Plant Cell Rep 13:447-450
- Cartea ME, Francisco M, Soengas P, Velasco P (2011) Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. Molecules 16:251-280
- Chung HY, B. Sung B, Jung KJ, Zou Y, Yu BP (2006) The molecular inflammatory process in aging. Antioxid Redox Sign 8:572-581
- CoGePEDIA\_Sequenced Plant Genome Website: [https://genomevolution.org/wiki/index.php/Sequenced\\_plant\\_genomes#Phylogenetic\\_Tree](https://genomevolution.org/wiki/index.php/Sequenced_plant_genomes#Phylogenetic_Tree)
- Harbaum B, Hubbermann EM, Wolff C, Herges R, Zhu Z, Schwarz K (2007) Identification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in pak choi varieties (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) by HPLC-ESI-MSn and NMR and their quantification by HPLC-DAD. J Agric Food Chem 55:8251-8260
- Harbaum B, Hubbermann EM, Zhu Z, Schwarz K (2008) Impact of fermentation on phenolic compounds in leaves of pak choi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) and Chinese leaf mustard (*Brassica juncea* Coss). J Agric Food Chem 56:148-157
- Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB (1992) Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. J Agric Food Chem 40:2379-2383
- Holden JM, Bhagwat SA, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Dwyer JT, Peterson J, Beecher GR, Eldridge AL, Balentine D (2005) Development of a database of critically evaluated flavonoids data: application of USDA's data quality evaluation system. J Food Compos Anal 18:829-844
- Jacobs DR, Slavin J, Marquart L (1995) Whole grain intake and cancer: A review of the literature. Nutr Cancer 24:221-229
- Koes R, Verweij W, Quattrocchio F (2005) Flavonoids: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. Trends Plant Sci 10:236-242
- Krumbein A, Saeger-Fink H, Schonhof I (2007) Changes in quercetin and kaempferol concentrations during broccoli head ontogeny in three brokkoli cultivars. J appl bot food qual 81:136-139
- Murtaza I, Beigh GM, Shah TA, Hussain A, Khan AA, Kaur C (2005) Antioxidant activity and total phenolic content of kale genotypes grown in Kashmir vally. J plant biochem biot 14:215-217
- Olsen H, Aaby K, Borge GIA (2009) Characterization and quantification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in curly kale (*Brassica oleracea* L. convar. *acephala* var. *sabellica*) by HPLC-DAD-ESI-MSn. J Agric Food Chem 57:2816-2825
- Podsedek A (2007) Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. Lwt-Food Sci Technol 40:1-11
- Rochefort SJ, Imsic M, Jones R, Trenerry VC, Thomkins B (2006) Characterization of flavonol conjugates in immature leaves of pak choi [*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* L. (Hanelt.)] by HPLC-DAD and LC-MS/MS. J Agric Food Chem 54:4655-4860
- Routaboul JM, Dubos C, Beck G, Marquis C, Bidzinski P, Loudet O, Lepiniec L (2012) Metabolite profiling and quantitative genetics of natural variation for flavonoids in *Arabidopsis*. J exp Bot 63:3749-3764
- Schmidt S, Zietz M, Schreiner M, Rohn S, Kroh LW, Krumbein A (2010) Genotypic and climatic influences on the concentration and composition of flavonoids in kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*). Food Chem 119:1293-1299
- Seo MS, Sohn SH, Park BS, Ko HC, Jin M (2014) Efficiency of microspore embryogenesis in *Brassica rapa* using different genotypes and culture conditions. J Plant Biotechnol 41:116-122
- Seo MS, Won SY, Kang SH, Sohn SH, Kim JS (2015) Development of tissue culture technology for haploid production in *Brassica* species. Korean J Int Agric 27: 522-528
- Truswell AS (2002) Cereal grains and coronary heart disease. Eur J Clin Nutr 56:1-14
- Vallejo F, Tomas-Barberan FA, Ferreres F (2004) Characterisation of flavonols in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) by liquid chromatography-UV diode-array detection-electrospray ionization mass spectrometry. J Chromatogr 1054:181-193
- Wang XW, Wang HZ, Wang J, Sun RF, Wu J, Liu SY, Bai YQ, Mun JH, Bancroft I, Cheng F, Huang SW, Li XX, Hua W, Wang JY, Wang XY et al. (2011) The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. Nat Genet 43:1035-1040