

Improvement of a Black Soybean Line With Green Cotyledon and Triple Null Alleles for P34, 7S α' Subunit, and Lectin Proteins

Sarath Ly¹, Sang In Shim¹, Min Chul Kim¹, Jin Young Moon² and Jong Il Chung^{1*}

¹Department of Agronomy, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

²Department of Crop Research, Gyeongnam Agricultura Research & Extension Services, Jinju 52733, Korea

Received April 12, 2024 / Revised April 26, 2024 / Accepted April 27, 2024

Cultivars or genetic resources with a black seed coat and green cotyledons are rich in lutein, which can promote eye health, and anthocyanin, known for its numerous health benefits. However, mature seeds also contain P34, 7S α' subunit, and lectin proteins, which are allergenic and degrade quality. Here, we report the breeding of a new soybean line with a black seed coat, green cotyledon, and free of P34, 7S α' subunit, and lectin proteins. A total of 157 F₂ seeds with black seed coats and green cotyledons were selected by crossing a female parent with a brown seed coat, green cotyledon, and lacking the 7S α' subunit and lectin proteins with a male parent with a black seed coat, green cotyledon, and lacking the P34 and lectin proteins. The P34 and 7S α' subunit proteins were consistent with a ratio of 9:3:3:1, indicating that they are independent of each other. From 14 F₂ seeds that were recessive (*cgylcgy1p34p34*) for both proteins, one individual F₂ plant (F₃ seeds) with the desired traits – black seed coat, green cotyledon, and lacking P34, 7S α' subunit, and lectin proteins – was finally selected. The triple null genotype (absence for P34, 7S α' subunit, and lectin proteins) was confirmed in random F₃ seeds. The selected line has a black seed coat and green cotyledons, and when sown on June 14 in the greenhouse, the maturity date was approximately October 3, the height was about 68 cm, and the 100-seed weight was about 26.5 g.

Key words : Black seed coat, green cotyledon, lectin, P34, soybean

서 론

콩(*Glycine max* (L.) Merr. 2n=40)은 식물성 단백질과 지방을 얻기 위하여 전 세계적으로 널리 재배되고 있는 주요 두과작물이다. 성숙 콩 종자는 건조중량 기준으로 약 40%의 단백질, 30%의 탄수화물, 20%의 지방을 가지고 있으며[7], 녹색자엽과 검정종피를 가진 품종이나 유전자원에는 루테인 및 안토시아닌 성분이 많이 함유되어 있다. 녹색자엽에 풍부한 루테인은 carotenoid 성분의 하나로 몸에서 합성될 수 없어 음식으로만 섭취 가능하고 섭취 시 눈병, 시력 저하, 눈의 피로 등 시신경 보호에 도움이 되며 눈 질환 예방에 도움을 줄 수 있는 것으로 알려져 있다[10]. 검정종피에 다량으로 함유된 안토시아닌 성분은 안토시아닌의 화합물인 플라보노이드에 속하는 수용성 색소로 인체 내 활성산소 제거, 콜레스테롤 저하, 항산화

및 항암 작용, 면역증강, 노화 방지 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있고[14], 종양세포 억제에도 효과가 있는 것으로 보고되어 있다[9]. 검정종피와 녹색자엽을 가진 품종이나 유전자원의 성숙 종자에는 알러지 유발 및 품질이나 가공적성을 저하시키는 항영양성분인 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질도 포함되어 있다.

콩이 발아한 후 46 kDa의 단백질 전구체로부터 생성되어지는 P34 단백질은 Gly m Bd 30K로 불리며 258개의 아미노산으로 구성되어 있고, 전체 종자 단백질의 1% 미만을 함유하고 있지만 콩 알러지 반응자의 65% 이상이 이 단백질 하나에만 반응을 일으킬 정도로 강력한 알러지 유발원으로 알려져 있다[17]. 콩 유전자원 중에서 성숙 종실에서 P34 단백질이 거의 없거나 함량이 매우 낮은 두 가지 유전자형(PI 567476 및 PI 603570A)이 확인되었으며 [8], P34 유전자는 콩 8번 염색체에 위치하며 *p34p34*의 열성동형접합형일 경우에는 성숙 종자에서 P34 단백질이 없거나 함량이 매우 낮은 것으로 알려져 있다. 콩 종실 저장 단백질의 약 70%는 glycinin (11S)과 β -conglycinin (7S)으로 이루어져 있다[22]. 7S은 11S에 비하여 methionine, tryptophan, cysteine과 같은 함황아미노산의 함량이 5-6배 정도 더 낮아 콩 단백질의 품질이나 영양적 가치를 떨어뜨린다. 7S 단백질은 α' , α , β subunit로 구성되어 있고

*Corresponding author

Tel : +82-55-772-1872, Fax : +82-55-772-1879

E-mail : jongil@gnu.ac.kr

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.

[21], gel을 연화시키는 특성이 있어 두부 등의 제품을 만들 때 가공적성을 저하시키며 잠재적인 알레르기를 일으키는 원인으로 알려져 있다[15]. 성숙 종자에서 7S α' subunit 단백질(72 kDa)의 존재여부는 *Cgy1* 유전자에 의하여 지배되고 *cgy1cgy1*의 열성동형접합일 경우 7S α' subunit 단백질이 콩 종실에 존재하지 않는다. PI506876 유전자원에서는 7S α' subunit 단백질이 존재하지 않는 것으로 보고 되어 있고, *Cgy1* 유전자는 염색체 10번에 위치하고 있다 [12, 13]. Lectin 단백질은 당에 특이적으로 결합하며 구조가 안정하여 단백질분해 효소에 의해 쉽게 분해되지 않는 특성을 가지며, 섭취 시 장내 상피세포와 결합하여 구조와 기능을 변형시키고 소화와 흡수를 저해한다[19]. 또한 림프구 세포 분열 유도, 적혈구 및 악성 세포의 응집 등 다양한 역할을 하며[5], 콩 섭취 후 메스꺼움, 구토, 설사 등의 급성 대사장애를 유발한다[16]. 염색체 2번에 위치하는 *Le (le)* 유전자가 성숙 종실에서 lectin 단백질의 존재 여부를 결정하며 *lele* 유전자형을 가질 때 lectin 단백질이 존재하지 않는 것으로 알려져 있다[18].

항영양성분으로 알려진 Kunitz Trypsin Inhibitor, lectin, lipoxygenase 및 stachyose 성분이 없으면서 녹색자엽과 검정종피를 가진 계통 육종에 대한 보고는 있지만[1, 2, 3, 11], 현재까지 검정종피 및 녹색자엽을 가지면서 P34, 7S α' subunit 및 lectin의 세 가지 단백질이 모두 없는 계통 선발에 대한 보고는 없는 편이다. 따라서, 본 연구는 성숙 종자에서 녹색자엽과 검정종피를 가지면서 P34 및 7S α' subunit 단백질의 유전과 세 가지 단백질이 모두 없는 계통을 선발하기 위하여 진행되었다.

재료 및 방법

모본과 유전집단

녹색자엽 및 검정종피를 가진 콩에서 알리지 유발 및 품질과 가공적성을 떨어뜨리는 P34 및 7S α' subunit 단백질의 유전과 lectin 단백질을 포함하여 세 가지 단백질이 모두 없는 계통을 선발하기 위하여 2개의 모본이 이용되었다. 이용된 모본에 대한 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질의 유무, 종피색 및 자엽색에 대한 형질은 Table 1과 같다.

21H 모본(P1)은 갈색종피와 녹색자엽을 가지고 있으며 7S α' subunit 및 lectin 단백질은 부재하지만 P34 단백질은

존재하는 *P34P34cgy1cgy1lele* 유전자형을 나타낸다. 반면에 22B1 모본(P2)은 검정종피와 녹색자엽을 가지면서 P34 및 lectin 단백질은 부재한 *p34p34Cgy1Cgy1lele* 유전자형을 가져 7S α' subunit 단백질은 존재한다. 두 모본을 온실에 파종하여 21H x 22B1의 조합으로 개화 시 교배하여 F₁ 종자를 수확하였다. 수확한 F₁ 종자를 다시 파종하였고, 잡종성이 검정된 F₁ 식물체에서만 F₂ 종자를 수확하였다. 수확한 F₂ 종자 중 검정종피와 녹색자엽을 가진 종자를 선발하여 P34 및 7S α' subunit 단백질 분석에 이용하였다. 분석 결과 2가지 단백질에 대하여 모두 열성인 F₂ 종자를 선발하여 온실에 파종한 후, 형질이 양호하면서 검정종피와 녹색자엽을 가지고 성숙 종자에서 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질이 모두 부재한 F₂ 식물체를 선발하였다. 선발개체에 대한 파종일, 수확일, 경장 및 백립중이 조사되었다.

Western blot을 이용한 P34 단백질 분석

양 모본의 종자 및 검정종피와 녹색자엽을 가진 개개의 F₂ 종자에 함유된 P34 단백질의 함량은 Western blot 방법을 이용하여 분석되었다. 각각의 재료로부터 추출된 단백질 시료를 UV spectrophotometer를 사용하여 농도를 정량한 후 12% SDS PAGE를 이용하여 전기영동을 실시하였다. Gel에서 분리된 단백질을 PVDF membrane에 옮긴 후 2시간 동안 blocking buffer (20 mM Tris (pH 7.5), 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20, 5% nonfat dried milk)에 담갔다. 이후 P34 antibody와 1시간 동안 반응시킨 후 TTBS buffer (20 mM Tris (pH 7.5), 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20)에 5분씩 3번 씻고, 2차 antibody와 1시간 동안 반응시켰다. 2차 antibody 처리가 끝난 membrane들은 TTBS에서 5분씩 3회에 걸쳐 washing 하였고, washing이 완료된 membrane들을 detection reagent kit (Ab signal, Abclon Inc.)에 처리하여 Chemi-luminescence Bioimaging Instrument (CheBI, NeoScience Co., Ltd)를 통해 P34 단백질 존재 여부를 확인하였다.

SDS-PAGE에 의한 7S α' subunit 단백질 분석

모본 및 검정종피와 녹색자엽을 가진 개개의 F₂ 종자에 함유된 7S α' subunit 단백질의 존재 여부를 확인하기 위해서 SDS-PAGE를 실시했다. 두 개의 유리판을 70% ethanol을 이용해 먼지를 제거한 후 spacer를 유리판 사이에 끼워

Table 1. Seed coat color, cotyledon color, presence or absence of P34, 7S α' subunit and lectin proteins for two parents (P1 and P2) used in this experiment

Parents	Proteins			Seed Coat color	Cotyledon color
	P34	7S α' subunit	lectin		
21H(P1)	Presence	Absence	Absence	Brown	Green
22B1(P2)	Absence	Presence	Presence	Black	Green

gel caster를 조립했다. 조립 후 12% separating gel (30% acrylamide/0.8% bisacrylamide 14.1 ml, 4 × Tris-Cl/SDS (pH 8.8) 8.81 ml, ddH₂O 12.34 ml, 10%(w/v) ammonium persulfate 0.05 ml, TEMED 0.02 ml) 35 ml를 넣은 후 70% ethanol을 넣어 30분에서 60분 정도 굳히고 gel이 굳으면 에탄올을 따라 버리고 증류수로 세척했다. 세척 후 3.9% stacking gel (30% acrylamide/0.8% bisacrylamide 0.65 ml, 4 × Tris- Cl/SDS (pH 6.8) 1.25 ml, ddH₂O 3.05 ml, 10%(w/v) ammonium persulfate 0.05 ml, TEMED 0.005 ml) 5 ml를 넣고 comb을 꽂은 후 20분에서 40분 정도 굳혔다. 단백질 분석을 위한 sample (단백질 10 μl, 4 × Laemmli buffer (Bio-Rad Laboratories) 5 μl, ddH₂O 5 μl)을 5분간 중탕시켰다. Stacking gel이 굳은 후 comb을 제거하고 sample을 loading 하고 전기영동을 시작했다. 전기영동은 1차로 30분간 90 V 조건에서 실시하고 2차로 6시간 120 V 조건에서 실시하였다. 전기영동 후 gel을 염색통에 넣고 염색약 (Coomassie staining solution (methanol 50%, acetic acid 10%, coomassie brilliant blue R-250 0.1%, ddH₂O 40%))을 넣어 10시간 이상 염색하였다. 염색이 끝난 후 탈색한 뒤 7S α' subunit (72 kDa) 단백질 유무를 확인했다. P34와 7S α' subunit 단백질 각각의 유전 및 두 단백질 간 독립유전 관계를 확인하기 위하여 Chi-square 방법을 이용하였다.

선발 개체의 F3 종자를 이용한 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질 부재 검증

선발된 F₂ 개체로부터 수확된 F₃ 종자 중에서 random 종자를 이용하여 P34, 7S α' subunit 및 lectin의 3가지 단백질에 대한 triple null 유전자형 고정을 확인하였다. 검정종피와 녹색자엽을 가진 장려품종으로 “청자3호”를 비교품종으로 이용하였다. “청자3호”와 선발 개체의 random 종자를 이용하여 단백질을 추출하였다. 추출된 단백질은 정량된 후 7S α' subunit 단백질은 SDS-PAGE 방법으로 존재여부가 확인되었으며, P34 및 lectin 단백질은 western blot 방법에 의하여 존재여부가 확인되었다.

결과 및 고찰

P34 및 7S α' subunit 단백질의 유전

갈색종피와 P34P34cgy1cgy1lele 유전자형(7S α' subunit 및 lectin 단백질 부재, P34 단백질 존재)을 가진 P1(21H)과 검정종피와 p34p34Cgy1Cgy1lele 유전자형(7S α' subunit 단백질 존재, P34 및 lectin 단백질 부재)을 가진 P2(22B1)와의 교배로부터 검정종피와 녹색자엽을 가진 157개의 F₂ 종자를 얻었다. 모본 및 개개의 F₂ 종자에서 P34 단백질은 Fig. 1과 같이 분리되었다.

전체 157개의 F₂ 종자에서 P34 단백질의 분리 결과는 Table 2와 같다.

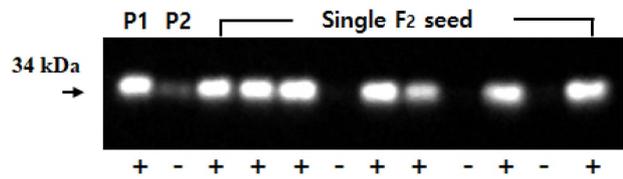


Fig. 1. Segregation of P34 protein in the parents and F₂ seeds using by Western blot method. Arrows indicate the P34 protein of 34 kDa. P1: P34P34cgy1cgy1lele genotype, P2: p34p34Cgy1Cgy1lele genotype. +, -: Presence or absence of P34 protein, respectively.

Table 2. Observed and expected segregation of P34 protein in 157 F₂ seeds derived from the cross of 21H (P34P34cgy1cgy1lele) and 22B1(p34p34Cgy1Cgy1lele) parents

P34	Seed number		χ^2 value (3:1)	p
	Observed	Expected		
Presence	105	117.75	5.523	0.025-0.01
Absence	52	39.25		
Total	157	157		

Critical χ^2 value at 1% significant level = 6.635
 p < 0.01 at 1% significant level

얻어진 157개의 F₂ 종자 중에서 105개의 종자에서는 P34 단백질이 존재하였으며 52개의 종자에서는 부재하였다. 이러한 결과는 1% 유의수준에서 존재 및 부재의 비율이 3:1의 비율과 일치하였다(χ^2 value : 5.523, p value : 0.025 – 0.01). 이러한 결과는 이전의 연구결과와 일치하였다. Han et al. [6]은 검정종피 및 녹색자엽을 가진 07B1 계통과 PI567476의 교배로 얻어진 479개 F₂ 종자 중에서 P34 단백질이 존재하는 종자가 363개, 부재하거나 함량이 매우 낮은 종자가 116개로 3:1의 분리를 보고하였다. Choi et al. [4]은 녹색종피와 자엽을 가진 자원과의 교배에서 얻어진 72개의 F₂ 종자로부터 22개의 종자에서는 P34 단백질이 관찰되지 않아 3:1의 비율과 일치하는 결과를 보였다. 모본과 개개의 F₂ 종자에서 7S α' subunit 단백질에 대한 분리는 Fig. 2와 같다.

얻어진 157개의 F₂ 종자에서 7S α' subunit 단백질의 분

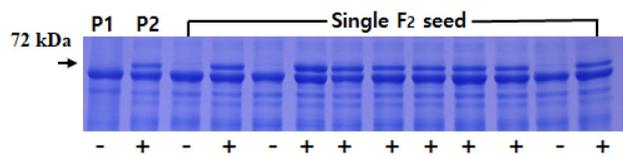


Fig. 2. Segregation of 7S α' subunit protein in the parents and F₂ seeds. Arrows indicate the 7S α' subunit protein of 72 kDa. P1: P34P34cgy1cgy1lele genotype, P2: p34p34Cgy1Cgy1lele genotype. +, -: Presence or absence of 7S α' subunit protein.

Table 3. Observed and expected segregation of 7S α' subunit protein in 157 F₂ seeds derived from the cross of 21H(*P34P34cgy1cgy1lele*) and 22B1(*p34p34Cgy1Cgy1lele*) parents

7S α' subunit	Seed number		χ^2 value (3:1)	<i>p</i>
	Observed	Expected		
Presence	120	117.75	0.171	0.9-0.5
Absence	37	39.25		
Total	157	157		

Critical χ^2 value at 5% significant level = 3.841
p < 0.05 at 5% significant level

리 결과는 Table 3과 같다.

전체 157개의 F₂ 종자 중에서 120개의 종자에서는 7S α' subunit 단백질이 존재하였으며 37개의 종자에서는 부재하였다. 이러한 결과는 5% 유의수준에서 존재 및 부재의 비율이 3:1의 비율과 일치하였고(χ^2 value : 0.171, *p* value : 0.9–0.5), 이는 이전의 연구결과와 일치하였다. Sarath et al. [20]은 노란종피를 가진 모본으로부터 얻어진 322개의 F₂ 종자에서 243개의 종자는 7S α' subunit 단백질을 가지고 있었으며 79개의 종자에서는 단백질이 존재하지 않아 3:1의 분리에 적합하였다고 보고하였다. Table 2에서 얻어진 P34 단백질에 대한 분리비 및 Table 3에서 나타난 7S α' subunit 단백질의 유전 분리비를 이용하여 두 단백질의 독립유전에 대한 Chi-square 분석 결과는 Table 4와 같다.

Table 4에서처럼 전체 F₂ 종자 157개 중에서 P34 단백질과 7S α' subunit 단백질이 모두 존재하는 종자는 82개, P34 단백질이 존재하고 7S α' subunit 단백질이 부재한 종자가 23개, P34 단백질이 부재하고 7S α' subunit 단백질이 존재하는 종자가 38개, P34 단백질과 7S α' subunit 단백질이 모두 부재하는 종자가 14개로 분리되었다. P34 단백질과 7S α' subunit 단백질의 유무에 따른 후대 종자의 분리비는 9:3:3:1 (χ^2 value : 6.137, *p* value : 0.5–0.1)이었으며, 이는 *p34* 유전자와 *cgy1* 유전자의 대립유전자들은 각각 독립적으로 분리됨을 확인하였다. Sarath et al. [20]은 노란

Table 4. Segregation for P34 and 7S α' subunit proteins in 157 F₂ seeds derived from the cross of 21H(*P34P34cgy1cgy1lele*) and 22B1(*p34p34Cgy1Cgy1lele*) parents

P34	7S α' subunit	Seed number		χ^2 value (9:3:3:1)	<i>p</i>
		Observed	Expected		
Presence	Presence	82	88.3125	6.137	0.5-0.1
Presence	Absence	23	29.4375		
Absence	Presence	38	29.4375		
Absence	Absence	14	9.8125		
Total		157	157		

Critical χ^2 value at 5% significant level = 7.815
p < 0.05 at 5% significant level

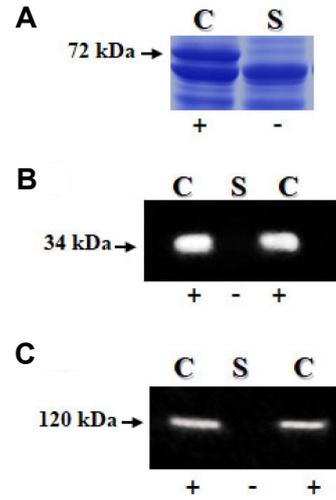


Fig. 3. Confirmation of absence for 7S α' subunit (A), P34 (B), and lectin (C) proteins in mature seed of the selection line (S) with black seed coat, green cotyledon and the triple null genotype (*p34p34cgy1cgy1lele*). Arrows indicate 7S α' subunit protein of 72 kDa, P34 protein of 34 kDa and lectin protein of 120 kDa. C: Check cultivar (“Chungja#3”- (*P34P34Cgy1Cgy1LeLe* genotype). +, -: presence or absence of 7S α' subunit, P34 and lectin proteins.

종피를 가진 모본으로부터 얻어진 322개의 F₂ 종자에서 P34 단백질과 7S α' subunit 단백질 간에는 9:3:3:1의 분리비를 보여(χ^2 value : 4.77, *p* value : 0.5–0.1) 독립적임을 보고하였다. 전체 157개의 F₂ 종자 중에서 P34 및 7S α' subunit 단백질이 모두 없는 *p34p34cgy1cgy1*의 열성유전자형을 가진 것으로 나타난 14개의 F₂ 종자가 선발되었다.

선발 개체의 F3 종자를 이용한 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질 부재 검증

p34p34cgy1cgy1 유전자형을 가져 P34 및 7S α' subunit 단백질이 모두 없는 14개의 F₂ 종자가 온실에 파종되어 발아부터 각각의 F₂ 식물체를 대상으로 초형, 수확기, 종피색, 자엽색 및 백립중을 조사하여 형질이 가장 양호한

Table 5. Traits of selection line with black seed coat and green cotyledon developed in this experiment

Planting date	Maturing date	Stem height (cm)	Traits			
			100-seed weight(g)	P34 protein	7S α' subunit	Lectin protein
Jun. 14	Oct. 3	68	26.5	Absence	Absence	Absence



Fig. 4. Appearance of F₂ plant (F₃ seeds) with black seed coat, green cotyledon and *p34p34cgy1cgy1le* genotype (absence of P34, 7S α' subunit and lectin proteins).

1개의 F₂ 식물체가 선발되었다. 선발된 개체의 F₃ 종자에서 P34, 7S α' subunit 및 lectin의 3가지 단백질에 대한 부재 (triple null 유전자형, *p34p34cgy1cgy1le*)를 확인한 결과는 Fig. 3과 같다.

P34P34Cgy1Cgy1LeLe 유전자형과 검정종피 및 녹색자엽을 가진 대조품종으로 이용된 “청자3호”는 성숙 콩 종실에서 7S α' subunit, P34 및 lectin의 3가지 단백질이 모두 존재하였지만, 선발 개체의 F₃ 종자에서는 3가지 단백질이 모두 부재하였다. 이러한 결과는 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질의 존재여부는 single 유전자에 의해 좌우되고 열성일 경우 부재하여 선발과 함께 유전적으로 고정된 (*p34p34cgy1cgy1le* 유전자형) 상태임을 나타내었다[6, 8, 12, 18].

선발 개체의 형질

P34 및 7S α' subunit 단백질이 모두 없는 *p34p34cgy1cgy1*의 열성유전자형을 가진 것으로 나타난 14개의 F₂ 종자가 온실에 파종하여 F₂ 식물체로 양성한 후 경장, 수확기, 백립중 등 농업형질을 조사하였다. 검정종피와 녹색자엽을 가지면서 형질이 가장 양호한 한 개의 개체가 선발되었다. 선발된 개체에 대한 온실에서의 파종일, 수확일, 경장 및 백립중은 Table 5와 같다.

온실에서 6월 14일 파종 시 선발 개체의 성숙일은 10월 3일 정도였고 경장은 68 cm로 다소 길었으며, 백립중은 26.5 g으로 중대립이었다. 성숙 종실에서 P34, 7S α' subunit 및 lectin 단백질은 모두 부재한 *p34p34cgy1cgy1le* 유전자형(triple null allele)을 가지고 있었다. 선발 개체의

수확기 초형과 수확 후 F₃ 종자 모양은 Fig. 4와 같다.

선발된 계통은 녹색자엽과 검정종피를 가지면서 알리지 유발 및 품질이나 가공적성을 저하시키는 P34 및 7S α' subunit 단백질이 모두 없으며, 녹색자엽을 가진 유색콩 품종육성을 위한 중간모본으로 이용될 수 있을 것으로 보인다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Choi, S., Han, S., Sung, M. and Chung, J. 2016. Breeding of black soybean line with *ti* and *le* allele. *Plant Breed. Biotech.* **4**, 170-175.
- Choi, S., Kang, J., Lee, S., Ly, S. and Chung, J. 2021. Breeding of black soybean with green cotyledon and four recessive alleles for lipoxygenase, kunitz trypsin inhibitor, lectin, and stachyose. *Agronomy* **11**, 309.
- Choi, S., Kim, J., Shim, S., Kim, M. and Chung, J. 2019. Breeding of a recessive soybean genotype (*titirs2rs2*) with green cotyledons and black seed coats. *J. Life Science* **29**, 147-151.
- Choi, S., Ly, S., Lee, J., Oh, H., Kim, S., Kim, N. and Chung, J. 2022. Breeding of green soybean line with green cotyledon and triple null genotype for KTI, lectin and P34 proteins. *J. Agriculture & Life Sci.* **56**, 1-6.
- Chrispeels, M. J. and Raikhel, N. V. 1991. Lectins, lectin

- genes, and their role in plant defense. *The Plant Cell* **3**, 1-9.
6. Han, E., Sung, M., Baek, W., Shim, S., Kim, M. and Chung, J. 2012. Inheritance of kunitz trypsin inhibitor and p34 protein in soybean seed. *Korean J. Crop Sci.* **57**, 78-82.
 7. Hymowitz, T. and Collins, F. I. 1974. Variability of sugar content in soybean of *Glycine max* (L.) Merrill and *G. soja* Sieb. And Zucc. *Agro. J.* **66**, 239-240.
 8. Joseph, L. M., Hymowitz, T., Schmidt, M. A. and Herman, E. M. 2006. Evaluation of *glycine* germplasm for nulls of the immunodominant allergen P34/Gly m Bd 30k. *Crop Sci.* **46**, 1755-1763.
 9. Kamei, H., Kojima, T., Hasegawa, M., Koide, T., Umeda, T., Yukawa, T. and Terabe, K. 1995. Suppression of tumor cell growth by anthocyanins *in vitro*. *Cancer Investig.* **13**, 590-594.
 10. Kanamaru, K., Wang, S., Abe, J., Yanada, T. and Kitamura, K. 2006. Identification and characterization of wild soybean (*Glycine soja* et. Zecc) strains with high lutein content. *Breed. Sci.* **56**, 231-234.
 11. Kang, G., Choi, S., Chae, W. and Chung, J. 2020. Accumulation of triple recessive alleles for three antinutritional proteins in soybean with black seed coat and green cotyledon. *J. Plant Biotechnol.* **47**, 118-123.
 12. Kitamura, K., Davies, C. S. and Nielsen, N. C. 1984. Inheritance of alleles for *Cgy1* and *Cgy4* storage protein genes in soybean. *Theor. Appl. Genet.* **68**, 253-257.
 13. Kitamura, K. and Kaizuma, N. 1981. Mutant strains with low levels of subunits of 7S globulin in soybean [*Glycine max* (Merr.)] seed. *Japan J. Breed.* **31**, 353-359.
 14. Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F. and Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* **61**, 923-933.
 15. Krishnan, H. B., Kim, W. S., Jang, S. and Kerley, M. S. 2009. All three subunits of soybean beta-conglycinin are potential food allergens. *J. Agricultural and Food Chemistry* **57**, 938-943.
 16. Miyake, K., Tanaka, T. and McNeil, P. L. 2007. Lectin-based food poisoning: a new mechanism of protein toxicity. *PLoS One* **2**, e687.
 17. Ogawa, T., Bando, N., Tsuji, H., Okajima, H., Nishikawa, K. and Sasaoka, K. 1991. Investigation of the IgE-binding proteins in soybeans by immunoblotting with the sera of the soybean-sensitive patients with atopic dermatitis. *J Nutr. Sci. Vitaminol.* **37**, 555-565.
 18. Orf, J., Hymowitz, T., Pull, S. and Pueppke, S. 1978. Inheritance of a soybean seed lectin. *Crop Science* **18**, 899-900.
 19. Pan L., Farouk, M. H., Qin, G., Zhao, Y. and Bao, N. 2018. The influences of soybean agglutinin and functional oligosaccharides on the intestinal tract of monogastric animals. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 554.
 20. Sarath, L., Oh, H., Kim, S., Choi, S. and Chung, J. 2023. Stacking of recessive alleles for antinutritional factors of P34, lectin, KTI and 7S α' subunit proteins in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Euphytica* **219**, 115.
 21. Thanh, V. H. and Shibasaki, K. 1976. Heterogeneity of beta-conglycinin. *Biochimica et Biophysica Acta*, **439**, 326-338.
 22. Tsukada, Y., Kitamura, K., Harada, K. and Kaizuma, N. 1986. Genetic analysis of subunits of two major storage proteins (β - conglycinin and glycinin) in soybean seeds. *Japanese J. Breed.* **36**, 390-400.

초록 : P34, 7S α' Subunit 및 Lectin 단백질이 없는 녹색자엽을 가진 검정콩 계통 개발리사랏¹ · 심상인¹ · 김민철¹ · 문진영² · 정종일^{1*}(¹경상국립대학교 농학과, ²경상남도 농업기술원)

검정종피와 녹색자엽을 가진 콩 품종이나 유전자원은 눈의 피로 등 시신경 보호와 눈 질환 예방에 도움을 줄 수 있는 루테인 성분과 인체 내 활성산소 제거, 콜레스테롤 저하, 항산화 및 항암 작용, 면역증강, 노화 방지 등의 작용을 하는 안토시아닌 성분을 풍부하게 함유하고 있다. 그러나, 성숙 종자에는 알리지유발 및 품질을 저하시키는 P34, 7S α' subunit 및 렉틴 단백질도 포함되어 있다. 따라서, 본 연구는 P34, 7S α' subunit 및 렉틴의 3가지 단백질이 부재하면서 검정종피와 녹색자엽을 가진 콩 계통을 개발하기 위하여 진행되었다. 갈색종피와 녹색자엽을 가지면서 7S α' subunit 및 렉틴 단백질이 부재한 모본과 검정종피와 녹색자엽을 가지면서 P34 및 렉틴 단백질이 부재한 부분과의 교배로 검정종피와 녹색자엽을 가진 157개의 F₂ 종자가 선발되었다. P34 및 7S α' subunit 단백질의 존재와 부재는 각각 3:1로 관찰되었고, 두 단백질 간에는 9:3:3:1의 분리비와 일치하여 서로 독립적임을 나타내었다. 두 단백질에 대하여 모두 열성(*cgylcgylp34p34*)을 보인 14개의 F₂ 종자로부터 형질이 양호하면서 P34, 7S α' subunit 및 렉틴 단백질이 모두 없고 검정종피와 녹색자엽을 가진 한 개의 개체가 선발되었다. 선발 개체의 F₃ 종자를 이용하여 3가지 단백질의 부재에 대한 유전적 고정이 확인되었다. 온실에서 6월 14일 파종 시 선발 개체의 성숙일은 10월 3일, 경장은 약 68 cm였고 백립중은 26.5 g 정도였다. 선발 개체는 항영양성분이 부재하면서 녹색자엽을 가진 유색콩 품종 육성을 위한 모본으로 이용될 수 있을 것으로 보인다.